

第三篇

多发性硬化的治疗

25

I 多发性硬化发病机制
与治疗的关系

多发性硬化(MS)的发病机制十分复杂且受多种因素的影响。它是一种由遗传因素引起的复杂的病变,但不是典型的、严格的孟德尔遗传(显性、隐性、伴性),且包括两个或两个以上基因的相互作用,既不是安排好的,也不是随机的。除了基因的影响外,还有其他遗传因素,主要表现为微生物感染的形式。这一复杂疾病的发病风险受到大量后基因 DNA 改变的影响。在 MS 发现这些包括基因重排编码成大量各种各样的 T 细胞受体和免疫球蛋白、细胞突变、后转录调节机制和病毒序列的合并。最终,感染因素、营养因素、气候及其他环境因素相互作用可能在很大程度上影响遗传易感性(表 25.1)。

表 25.1 复杂的遗传性疾病

未知的遗传参数(交点)和遗传模型

非基因组因素的重要作用

致病基因(单基因改变)

基因伴随罕见的等位基因但有很强的效力和外显率(如突变、扩增、易位)

易态基因(多基因改变)

基因伴随常见的或者罕见的等位基因及以较弱的但新增的效力和外显率(如多态性)

这些因素的复杂组合导致免疫反应失调,丧失免疫内环境的稳态和自身耐受性以及中枢神经系统结构成分变态性炎症(自身免疫)致病的应答。以脱髓鞘、胶质增生、不同程度的轴突病变而进行性神经功能障碍告终,例如感觉缺失、肌力下降、视觉损害、眩晕、共济失调、括约肌功能障碍、认识功能的改变。MS 发病机制的自身免疫模型,为疾病的免疫治疗做了铺垫。最初是用抗炎药物进行全身的免疫抑制。最近,使用选择免疫应答的特殊部位作为靶点进行治疗。过去的几年里,在确定 MS 分子基础的其他方面取得了进步,这为新的治疗方法做了准备,而这些治疗方法又是以更正原有的基本发病机制为基础的。

MS 的易感性等位基因的不完全外显率很可能反映了它与其他基因的相互作用,如后转录调节机制,以及环境作用的重要性。

25.1 MS 的损伤

MS 的病理特点是斑块。一个界限清楚的灰色或粉红色的损伤,组织学特征有炎症反应、脱髓鞘、星形胶质细胞增生,接着发生胶原增生和反复不定的轴突变性。典型的 MS 斑块是多发的和不对称的,集中分布在侧脑室附近的白质深部、胼胝体、第四脑室底部,导水管周围深层,视神经及其传导束,皮质延髓束,以及脊髓颈段。斑块的直径从一两毫米到数厘米不等。尽管皮质损伤的发病率并不清楚,但运动与感觉皮质的损伤可以导致行走障碍与认知障碍。通过影像学和分子学技术分析出 MS 大脑白质常见的弥漫的病例特征,也是很重要的一点。

单核细胞浸润血管周围及脑实质,包括 T 细胞和巨噬细胞,这都是急性 MS 损伤的特点,但很少见于尸检中。脑实质及血管周围 T 细胞由不定数量的 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞组成。尽管大多数具有常见类型的抗原受体(如 α - β 异二聚体),但 T 细胞带有其他类型的受体, γ - δ 异二聚体也可以被识别,在一定时期选择性地聚积。有活性的 T 细胞到斑块的周围提示了 T 细胞对损伤的特殊反应形式,同时指出免疫应答对分散的抗原分子是有效的。尽管数量少,但 B 细胞和浆细胞同样对炎症反应有作用。

就炎症反应而言,BBB 受到破坏而血管壁本身是完好的,这就将 MS 与脉管炎区别开来。在一些炎症损伤当中,紧密包裹在轴突周围的多层髓鞘可能出现分解,至少有些患者会出现。髓鞘特异的自身抗体黏附在囊泡状的髓鞘片段上,这些自身抗体可以引起脱髓鞘,随着损伤进展穿过斑块的轴突呈现出不规则的串珠状。星形胶质细胞开始增生,出现吞噬髓鞘片段的带有胶原的巨噬细胞。进展型的胶原纤维增生出现,同时单核细胞逐渐消失。在一些 MS 损伤中,但不是全部,最初会出现少突细胞增生,但在胶原增生进展时,这些细胞明显受损。在慢性 MS 损伤中会出现明显的脱髓鞘,密集的胶原增生,少突神经胶原损失。在某些慢性活动性 MS 的损伤中,由组织学发现从中心向损伤边缘分级,这表明损伤的扩展是沿中心向外发展的。

MS 患者大脑的冠状位图片表现的是急性脑室周围区域的脱髓鞘和左颞侧白质的水肿以及对侧相同位置的很小的线性排列的斑块,陈旧性的斑块水肿轻一些,表现清楚一些。轴状位发现,在下橄榄核水平通过延髓的低水平节段,表明多病灶不对等的边界清楚的髓鞘缺失表现非常清楚。显微镜下的近期损伤片段,其中淋巴细胞和巨噬细胞呈黑色,在一些血管周围绕成环状,一些炎症细胞深入转移到脑实质。来自皮层下白质的活检,MS 髓鞘病变的电镜图片上,裂碎的髓鞘脱失,在轴突周围被转化为囊泡状的网,星形神经胶原纤维进展,轴突裸露。

MHC 的上调被认为是斑块活动的标志。I 类 MHC 分子在内皮细胞、浸润的淋巴细胞、星形胶质细胞形成的斑块组织中被发现,II 类 MHC 分子在内皮细胞、巨噬细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞均有表达。另一方面,Bo 等的研究提出有力的证据证实,在活动性损伤中表达 II 类抗原的细胞只有巨噬细胞和小胶质细胞。MS 患者脑中 II 类 MHC 分子高水平表达提示 MHC-激活因子如干扰素(IFN) γ 可以改善局部微环境,并且这一抗原可能提呈给 T 细胞。因为细胞表面 II 类 MHC 分子的水平直接影响免疫应答的质和量,所以对发病机制的研

究包括了 MS 斑块中 II 类分子的表达。这对于理解受影响的大脑炎症反应是必不可少的。II 类转录激活蛋白(C II TA)是负责基本的 IFN γ 介导的 MHC II 类分子表达的关键调节物, C II TA 也抑制了恒定链(Ii)和 HLA 人类白细胞抗原(DM)的表达,两类分子参与 MHC II 生物合成和抗原过程。Soos 等报道,鼠星形胶质细胞表达 C II TA、LI、DM 和共同刺激分子 B7-1,提示非专职的中枢神经系统抗原提呈细胞参与处理和表达自身抗原并激活 T 细胞。因此,对 C II TA 表达和功能的调节可以为 MS 提供重要的治疗机会,调节细胞因子转移生成因子(TGF)- β 和 IFN β 通过 IFN γ 介导的 C II TA 转录和活动干扰来抑制 II 类 MHC 的表达。然而,需要指出的非常重要的一点是,许多无症状的斑片缺乏 T 细胞浸润,II 类 MHC 可能在有活性的小胶质细胞上高水平表达。另外,II 类 MHC 抗原的上调,对 MS 组织不是特有的,在神经系统变性疾病和创伤后亦可发现。某个学派提出神经胶原细胞中 II 类 MHC 的表达是必要的,但对致脑炎 MCD4T 细胞有效的抗原递呈来说还不够。体外研究指出,在一定条件下,II 类表达的小胶质细胞实际上可能通过介导 T 细胞凋亡保护中枢神经系统不受自身反应的 T 细胞影响。尽管共同刺激分子 ICAMI 和 B7 同样在人和啮齿目动物的小胶质细胞中发现,但大脑有效的抗原提呈情况还并不完全清楚。MS 损伤后还伴有其他分子不同,如各种各样的细胞因子、黏附分子、纤维粘连蛋白、尿激酶浆胞浆素激活受体、张力蛋白等。非常有趣的是,在 MS 损伤时可以观察到各种细胞都分泌大量的生长因子。因为在其他神经系统疾病中,这些与组织的损伤修复关系密切。在最近的一个小型的非人类的非配对试验中,用重组的髓鞘少突胶质细胞脂蛋白免疫后 7 d,脑室内给予神经生长因子,观察到一个没有预料到的抗炎反应,即由 NGF 传递的效果,这一传递很可能是由星形胶质细胞上的 IL-10 介导的。事实上导致了实验性变态反应性脑脊髓炎临床与组织学标志的减少。

近年来技术的发展推动了对 MS 脑中基因表达数据的积累。构建基因表达数据库,使确定短暂的颞部的转录形式成为可能,最重要的是通过完整的 MS 疾病基因排序了解髓鞘过程的分子特征。最近报道了大量疾病大脑表达的转录序列,非常规脑 cDNA 库是由脑损伤及应用大脑控制对照产生的。运用这一数据库,mRNA 总体表达在脑样本中得到了精确的描述,使对转录进行定量估计成为可能。11 000 多的克隆得到测序,分析集中在多发性硬化库的基因表达,但是缺乏对照库。这样产生的 423 个基因,其中 26 个新基因。 α - β -晶体蛋白在 MS 中可以诱导 HSP 聚集在髓鞘成为 T 细胞的靶点。它的转录量是 MS 斑块中最大的,转录量其次的有前列腺素 D 合成酶、前列腺黏附蛋白、核糖蛋白 L17、ostepontin(OPN,也称作早 T 细胞激活基因-1,具有多种功能,包括组织重塑、延长细胞寿命、细胞免疫中的作用)。OPN 共同刺激 T 细胞扩增,被归为 T 细胞辅助细胞 I 型(Th₁)细胞因子,因为它具有上调 IFN γ 和 IL-12 和下调 IL-10 的能力。对于多种细胞来说,OPN 在休克、心肌坏死、肉瘤样病(结节病)中也是一种化学诱导剂,包括对巨噬细胞、T 细胞、星形胶质细胞。在 EAE 损伤也可找到 OPN,疾病的复发和缓解期,OPN 广泛表达在血管周围症反应损伤附近的小胶质细胞中;此外,EAE 在疾病的急性期和复发期均发现在神经元上有表达,但缓解期没有。在诱导 LEW 大鼠的 EAE 急性单相型中,OPN 主要表达在急性损伤的小胶质细胞和神经元上。OPN 缺乏的小鼠,可以抵抗 EAE 的进展,且时有缓解。最终 OPN $-/-$ 小鼠的髓鞘反应 T 细胞比 OPN $+/+$ 小鼠产生较多的 IL-10 和较少的 IFN γ 与 IL-12。OPN 可能调节中枢神经系统自身免疫反应中 Th₁ 应答,这样依赖它可能成为阻止进展型 MS 进展的新的治疗设计的一个有吸引力的目标。

在 MS 和对照脑数据库中发现的转录包括:髓鞘碱性蛋白(MBP)、HSP-70、胶原纤维酸

性蛋白(GFAP)、突触小泡蛋白。MS在对照组中MBP高水平的表达提示这一蛋白的高逆转率。髓鞘折叠时,HSP-70-1的表达在MS组显著提高。髓鞘修复发生在MS损伤与EAE中,其原因是MS斑块形成,髓鞘再生发生在少突胶质细胞前体分化,引起新的损伤过程中。髓鞘在不同病例或损伤中再生的程度,可能取决于原始池的保护以及成熟的少突胶质细胞的新陈代谢活动。尽管不是特异表达,GFAP是所有库中最突出的三种之一,在多发性硬化脑中与星形胶质细胞的应答相协调。突触小泡蛋白的转录在对照组脑中更丰富,MS突触小泡蛋白转录的减少也许与轴突损失有关,因为这一分子属于小的完整的内膜蛋白家族,专门作用于神经元的突触囊泡。

MBP和蛋白脂质蛋白(PLP)是髓鞘的主要组成成分,重量上各自大约占髓鞘蛋白的30%和50%,这就提示由于脱髓鞘,离子通道暴露,在动作电位经过轴突脱髓鞘区域时影响其传播。最初的临床研究证明,4-氨基吡啶(4-aminopyridine,4-AP)有一定疗效,在MS和脊髓损伤中,4-AP是快速激活电压闸门镁通道的阻断剂,但神经病理学的观点强调,MS损伤这一重大事件发生在斑块之中,早期关于MS的文献已经描述了大量轴突损伤发生在活动的脱髓鞘损伤过程中。目前并不清楚这一过程是独立的还是脱髓鞘的连续过程,但是这一多发性硬化病理学新的兴趣大量集中在这一疾病的神经变性(组织退化)方面。最近的研究证实部分和完全的轴突横断伤是在病理早期开始出现,并指出进行性的轴突损伤最终会导致神经学上的残疾。组织病理学研究表明,大量横断和营养障碍的轴突位于急性炎症反应和脱髓鞘处,轴突损伤可能主要引起多发性硬化中的退化萎缩,尽管脱髓鞘也可能降低组织的质量/体积之比。轴突损伤和空洞形成突出表现在视神经炎(或称Devic综合征)这一多发性硬化类型上。轴突损伤可以通过淀粉样物/前体蛋白(APP)累积和轴突密度减少来确定,同时还可以出现在静止的髓鞘再生的损伤中、皮质和外观正常的白质中。NAA是中枢神经系统轴突的化学成分,包括在能量贮存中,提供了轴突变性相对特异的病理学标记。在急性损伤中NAA的减少部分是可逆的,提示早期由炎症性脱髓鞘引起的轴突损伤是可逆的,这与临床恢复期观察到了同步的缓解相一致。

多发性硬化髓鞘连接区域的分子结构表现为,髓鞘由少突胶质细胞膜扩展形成,它包裹轴突,髓鞘中心含75.80%脂类和20%~25%蛋白质。PLP大约是髓鞘蛋白总量的50%,MBP占30%,髓鞘结合糖蛋白(MAG)和MOG各占3%,PLP与髓鞘结合为一体。MBP是一种细胞溶解蛋白,MAG位于髓鞘周围区域,MOG位于髓鞘表面,所以它是对体液、细胞免疫应答显露最充分的蛋白,PLP、MBP、MOG对易感动物有致脑炎作用。

必须强调的是,多发性硬化斑块在其结构和免疫病理形式上的表现是多样的。Lucchineffietoll报道,尽管大多数损伤包含了炎症反应,但仍然可以观察到多种多样的髓鞘损伤。其中,大多数活动的多发性硬化损伤以髓鞘损伤处免疫球蛋白和补体的沉积为特征,这与MOG诱导的EAE模型中观察到的结果相似。其他情况病例更支持少突胶质细胞营养障碍,反映为缺乏髓鞘结合蛋白以及少突胶质细胞的凋亡。这些损伤更加提示了病毒-缺血-毒性-诱导的变性。这些不同类型的损伤协调存在于各自的病例中(同一种病例的所有损伤,属于同一种类型)。涉及病理多样性的治疗是很重要的,因为这可以从根本上反映确切的免疫病理发病机制。

25.2 MS 的发病机制模型

在理解 MS 发病机制的一个重要概念的发展就是将发病过程划分为 2 个确切的而又相互重叠、相互联系阶段,即炎症反应和神经变性。在炎症的最初阶段,具有致脑炎能力的淋巴细胞在中枢神经系统中枢和外周被激活,与内皮细胞膜上受体结合继续穿过 BBB,通过内皮与内皮下基底直接进入基底间隙。值得注意的是,具有自身免疫潜力的免疫活性细胞的出现是有脊椎动物免疫系统的显著特征。这些细胞可以为创伤恢复、血管再生、神经保护及其他维护功能提供非常重要的炎症信号。这一从生理到病理的自身免疫的改变至少包括以下两个因素:①丧失免疫标志,通常这是由抑制信号通路维持的,由无反应性、凋亡和抗特异性的网状系统诱导;②通过辅助信号,包括可以想象的、周期暴露的外源性病原体来激活和结合淋巴细胞。

MS 的发病机制模型,疾病起始与进展的关键步骤包括:外周具有自身活性的淋巴细胞的激活,引导向中枢神经系统,渗透过 BBB,通过外露的自身抗原再激活 T 细胞,分泌细胞因子,激活小胶质细胞和星形胶质细胞,激发抗体的瀑布效应,髓鞘损伤,轴突变性。这些可能通过由细菌性或病毒性抗原激活的 T 和 B 细胞的非特异性多克隆而发生,或者两者取其一。作为自身蛋白与病原体蛋白结构同源性的结果,这是一个普遍的涉及分子模拟的过程。值得注意的是,如果这一髓鞘的成分与麻疹病毒、流感病毒、疱疹病毒、乳头状瘤病毒、腺病毒的蛋白具有同源氨基酸,同源性仅仅在很少的一部氨基酸是必要的,以促进有效的 T 细胞识别的发生。例如,MBP - PVVHFFKNTVTP 的残基 88 和 99 之间的带,通常可以被人的 MBP 激活 T 细胞和抗体识别,这一区域与 EB 病毒乳头状病毒、麻疹病毒、12 型腺病毒、A 型流感病毒,具有相同的 4~6 个氨基酸片段。这些病原体获得大量同源性以允许结合 HLA 和与 MBP 特异 T 细胞相互作用,从而具有引导错误应答的能力。此外,氨基酸的相同并不需要自身抗原与拟似剂的交叉反应来确定,只需要它们在关键的基因具有相同化学特征,允许锚定 HLA 以及与 T 细胞受体的相互作用。

MS 的发病机制中涉及了各种各样的微生物。80 年前,螺旋体被认为是多发性硬化的病因,梅毒可以引起复发-缓解中枢神经系统炎症疾病,在其脑脊液中有寡克隆的免疫球蛋白的合成,单就这一点上,这一假设是合理的。以后,超过 20 种以上的感染因子,从逆转录病毒到分支杆菌都被发现与多发性硬化的发作和复发相关。

对 MBP 抗原特征的彻底解析导致了一个引人注目的治疗策略的发展。运用自身抗原肽键修饰 TCR 结合位点[例如改变肽键配体(APLs)], APLs 可以改变能量、TCR 拮抗作用和旁路抑制,这一最后提到的机制,涉及引入一种 APL 特异性的 2 型 T 细胞辅助细胞(Th₂),就像一种一旦释放就可以与自身抗原发生交叉反应的物质那样,来抑制免疫应答敏感性的细胞。

最近一个时期,具有免疫显性 MBP 肽键(氨基酸 83~99)的 APL 在临床试验中得以测试,出现了一些有趣的现象。在疾病加重期,ALP 没有增加,并且在一个有安慰剂对照、双盲、144 例患者参与的试验中,患者的残疾没有加重。磁共振扫描时发现白质中新的损伤缩小,在治疗前例行扫描的 21 例患者中有 17 例经过 4 个月的治疗后 MRI 增强的值降低,9% 患者出现局部变态反应,类似于用醋酸格拉默治疗的患者,与 Th₂ 免疫反应相互协调有关。

Bielekova 和同事研究了 8 例应用相同的 APL 治疗。他们报道有 3 例加重,其中 1 例病情加重者 MBP(myelin basic protein) - 反应 T 细胞增加,另 1 例同时有中枢神经系统脱髓鞘和周围神经系统疾病的患者出现复发,还有 1 例在研究过程中疾病加重。最初有慢性症状和 MRI 扫描征象改善者,5 个月后,有 1 例复发,但经过改变肽键治疗,MBP 反应的 T 细胞消失。

尽管研究表明最终由特殊病原体引入的基本概念很可能是正确的,同时也强调,APL 的正确剂量和给予途径需要进一步研究,高剂量让一些患者出现疾病加重,这是由于 APL 特异 Th₁ 细胞与自身 MBP 肽链发生交叉反应引起。相反,低剂量时临床上出现好转倾向,很可能是经过 Th₂ 转化,给药的最终剂量和时间需要在这些方法上进一步试验,包括改变细胞分子的平衡状态,由自身攻击到抑制。最近表明,髓鞘抗原可以诱导经典的过敏反应,虽然这一反应很容易被抗组胺药控制。诱导 Th₂ 的改变,最初可以有利于 T 细胞调节的身体免疫,但也可以增加病原抗体的滴度。

一个可供选择的假说是,自身免疫细胞激活的发生是中枢神经系统细胞感染病毒的结果,这些感染可以无症状的,但可以引起抗病毒过程中靶细胞的细胞病变效应。神经系统抗原的延长释放,可以诱导自身免疫反应,最终成为自身永久的病理变化。例如,抗 MBP 反应被发现在麻疹病毒脑炎和人类 T 细胞白血病病毒感染时,这一过程甚至开始于胚胎期和出生后不久。Zinkernagel 提出,这一保护程度上的缺陷来自于母体血浆和乳汁中的中和抗体,可以影响病毒传染源从胃肠道传播到其他解剖结构产生隐性的自身免疫的可能性。

一旦被激活,T 细胞表达表面分子称为整合素,可提供结合 BBB 特异的毛细血管内皮细胞,这样的一种整合素,整合素 VLA - 4 (very late antigen 4) 结合血管细胞黏附分子 (VCAM),在炎症反应中由 TNF - α 和 IFN γ 诱导,后表达在毛细血管内皮细胞上。在 EAE 中,阻断 VLA - 4 可逆转临床上的瘫痪并阻断进一步复发。应用抗体对 VLA - 4 的临床试验现在处于三期,根据二期试验的结果,我们知道治疗后可以降低患者的复发率。当激活的 T 细胞穿过 BBB 到达中枢神经系统实质,它表达明胶酶 (MMP) 以供溶解厚的内皮下基底膜。MMP 的临床意义在于我们从多发性硬化患者的脑脊液中观察到这一分子家族的某些成员而对照组都没有。同时值得注意的是,假定解开 TNF - α 前体的序列,与解开 MMP 的序列具有同源性,因此,MMP 细胞通过 BBB 的调节剂,同时也可以通过 TNF 处理增加炎症反应和归巢反应。此外也要提出,MMP 直接的神经毒性效应,对实验动物的白质区域注射微量有活性的 MMP,可以导致轴突损伤,甚至在没有局部炎症反应时也出现。用酶抑制剂抑制明胶酶可以在体外抑制细胞通过内皮,也可以在 EAE 中促进临床症状的改善。不良反应的发生率高,阻碍了合理设计的金属蛋白酶抑制剂应用于人类疾病。IFN β 在另一方面是明胶酶转录翻译的强有力的抑制剂,并具有可接受的不良反应。

不同种类的分子参与血细胞的归巢和外渗,包括可溶的化学诱导剂(化学因子)及其受体。化学因子是一个很大的家族,它是一些小的血清蛋白,相对分子质量 7 000 ~ 16 000,主要参与感染和炎症中选择性地派出和归巢白细胞、骨髓中白细胞成熟、组织修复、血管再生、造血和循环中的白细胞更新。化学因子在时间和空间上的表达与 EAE 和 MS 中疾病的活动性相关联。此外,化学因子受体可以调节微生物进入靶细胞,同时也参与病毒传播以及对 Th₁ 细胞因子的诱导,两者均是致脑炎反应的潜在介质。尽管化学因子的网状系统非常丰富而杂乱,但一些研究者提出化学因子及其受体可能是 MS 治疗干预的合理的靶点。

在穿过 BBB 以后,认为致病 T 细胞被髓鞘抗原的片段激活,递呈给抗原提呈细胞(巨噬

细胞、小胶质细胞,也许还有星形胶原细胞)表面的Ⅱ类 MHC 分子体系。激活诱导炎症反应前体细胞因子的释放,进一步打开 BBB,刺激趋化性导致炎症细胞的聚集高峰以及其他物质和血浆蛋白渗漏到神经系统,致病的 T 细胞在没有继发的白细胞聚集作用时不可能产生或引起组织损伤。例如,在 EAE 中只由 MBP 激活致脑炎 T 细胞采用的转移方法来传播的,这些炎症细胞先渗入中枢神经系统,但只渗入完全肿胀的损伤部位的局部。

MS 的潜在自身抗原包括髓鞘碱性蛋白(MBP)、蛋白脂质蛋白(PLP)、髓鞘少突细胞糖蛋白(MOG)、髓鞘相关糖蛋白(MAG)、髓鞘少突胶质细胞碱性蛋白(MOBP)、星形胶质细胞的钙结合蛋白(SLOOGB)、HSP(α, β 晶体蛋白)、半乳糖脑苷脂 β 蛋白、胶原纤维酸性蛋白(GFAP)、转醛醇酶、钠通道、少突胶质细胞 Alu - 肽、少突胶质细胞特异蛋白(OSP)等。神经炎症反应过程已在多发性硬化的鼠模型中概括介绍,表达为疾病相关的 HLA - DR 同源二聚体(DRA * 0101/DRB * 1501),该二聚体是一个由 DR - 2 结合的有免疫活性和 MMBP84 - 102 肽链特性。来自多发性硬化患者的 T 细胞克隆的受体和人类 CD4 有共同受体,伴随 MBP 肽键及辅助剂和百日咳毒素的免疫,引起小鼠出现局灶的中枢神经系统炎症反应,脱髓鞘和瘫痪者疾病的复发。转基因小鼠中 4% 出现自发性疾病,当这些动物通过反向杂交具有 RAG - 2 缺乏的背景,自发性疾病的发生率增加,提示 DR2 的 MBP 三分子肽复合物对于自身免疫脱髓鞘是必须的和重要的。在 DR2/TCR RAG2 - 1 - 转基因中自发性疾病的发生率高,其原因在于动物不能产生调节的 T 细胞。

因为低水平的自身反应表现为生理性的,一些专家推断对自身的和非自身的不同反应一定程度上取决于与反应相联系的细胞因子微环境的特殊性。通过免疫组织化学和分子学对中枢神经系统样本进行分析,尤其是由活检的组织和脑脊液细胞得来的分成小块的多发性硬化斑块,为 Th₁ 型炎症反应引发的损伤模型的发展提供了支持。尽管局部炎症反应前体细胞因子产生的形式与多发性硬化实验模型中的疾病密切关联,但就据此武断地对人的脱髓鞘应用 Th₁、Th₂ 似乎还是有点过分简单。用于逆转录聚合酶链反应(RT - PCR)详细分析 8 例有活动性脱髓鞘损伤的多发性硬化患者的脑样品中 56 个基因的定量表达形式。分析结果表明, Th₁ 细胞因子的显性表达形式,主要是由 MIP - 12 - RANTES - CCR5 和 CASPASE - 1 - IL - 1B - IL - 18。出人意料的是,关键的炎症性分子如 IL - 2、IFN γ 和 TNF - α ,并没有呈现一贯的量的增加形式。另一方面,同时伴有 IL - 5、IL - 6 和 IL - 6R 表达的增加,自始至终都可检测到 Th₂ 型分子如 IL - 4、IL - 10、IL - 13 和 CCR5。

总而言之,细胞因子表达的转录形式提示人类自身免疫脱髓鞘病变的局部免疫应答是复杂的并非完全极化的调节。人们希望通过细胞因子基因的过度表达及淘汰性的试验来提供对细胞因子在中枢神经系统炎症中作用的有价值的观察。然而,撇开固有的技术,基本的开关式表达和控制复制数量及整合位点的困难,妨碍了表现型的直接翻译。由催化剂诱导改善允许复制的以及不平衡的细胞因子应答反应的生理序列可能提供帮助。

大量的实验数据充分阐明髓鞘特异的 T 细胞在多发性硬化患者出现的数量多于健康对照组,有较低的激活阈值和不同的效应形式。这也阐明了 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞作为始动因子和调节因子在中枢神经系统炎症反应中的作用,它们作为髓鞘损伤直接的效应物的作用还不能确定。髓鞘损伤潜在的 T 细胞调节机制在体外已建立, TNF - α 自然杀死髓鞘生成细胞,抗 MBP CD4⁺ 细胞可以显示溶细胞功能,而 CD8⁺ 细胞在神经炎时诱导细胞骨架的破坏。有趣的是,轴突损伤与 CD8⁺ T 细胞和巨噬细胞的出现相关联程度强于 CD4⁺ T 细胞。然而,明显清楚的是,多发性硬化损伤并不只是由 T 细胞调节的,而是协同的细胞和体液反应

以产生脱髓鞘和轴突损伤(表 25.2)。最有说服力的组织损伤机制包括抗体结合和补体的激活以及巨噬细胞 - 小胶质细胞激活伴随髓鞘吞噬作用和毒性因子的释放。

表 25.2 MS 致病机制中的细胞成分

(1) MS 作为 T 细胞调节的疾病

- ① T 细胞表达的明胶酶对 BBB 外渗是必要的
- ② 急性损伤中重要的 T 细胞渗透
- ③ 外周髓鞘特异 T 细胞在体内呈现激活形式
- ④ 损伤处 T 细胞诱导的细胞因子(非致病、非保护)的表达
- ⑤ MS 脑损伤来源的重组的 TCR 编码, CDR3 区别与 T 细胞中发现的可识别 MBP 有同源性
- ⑥ 在 MS 和 EAE 中, T 细胞受体影响疾病的易感性
- ⑦ MHC I 类有限的 CD8⁺ T 细胞可以在体外溶解少突胶质细胞和轴突
- ⑧ EAE 可以被髓鞘敏感的 T 细胞转移, 在啮齿目动物和非人的灵长目动物
- ⑨ T 细胞灵活阻止和治疗 EAE
- ⑩ T 细胞凋亡与 EAE 缓解相联系

(2) MS 作为 B 细胞调节的疾病

- ① 限定的鞘内合成免疫球蛋白的水平上调
- ② 多发性硬化患者血浆免疫球蛋白诱导体外髓鞘溶解
- ③ 多发性硬化患者中枢神经系统免疫球蛋白诱导体外髓鞘溶解
- ④ 中枢神经系统发现的扩增克隆的 B 细胞
- ⑤ 脑和脑脊液中抗 MBP 抗体
- ⑥ EAE 和多发性硬化中抗 MOG 抗体结合非整合的髓鞘
- ⑦ 抗 MOG 抗体诱导体外髓鞘溶解
- ⑧ EAE 中需要抗 MOG 抗体诱导脱髓鞘
- ⑨ 损伤边缘补体沉淀
- ⑩ 免疫球蛋白沉积在巨噬细胞接触蛋白

(3) MS 作为巨噬细胞和小胶原细胞调节的疾病

- ① 急性损伤时大量的巨噬细胞渗透
- ② 分子的表达和释放对抗原呈递和炎症是必须的
- ③ 髓鞘损伤时介质的分泌
- ④ 对少突胶质细胞有毒性的因子的分泌
- ⑤ 巨噬细胞缺乏阻止 EAE

尽管这些抗体的特异性还不清楚, 但已经发现抗 MBP 特性。Warrenerd 报道 116 例进展型多发性硬化患者的 111 份脑脊液中有抗 MBP 抗体。这一对人 MBP 抗体应答反应的抗原

决定簇是适合 HLA - DRB1 * 1501 限制 T 细胞的最小抗原决定基因 PVVHFFKNTVTP。Warren 等假定这一抗体应答直接针对 MBP 片段的进行加工处理, MBP 提呈给 MBP 特异性的 B 细胞, 然后触发 T 细胞对相同抗原决定簇的反应。以这种方式, 抗体不会在髓鞘中以本来的构象针对 MBP, 但可以针对加工处理过的 MBP 抗原决定基因或与抗原决定基因有同源性的分子模式。在多发性硬化患者脑中发现髓鞘特异性浸润的 B 细胞, 克隆扩增 B 细胞的频率增高, 同时伴有受影响患者的脑和脑脊液中出现后胚胎中心记忆有关抗体形成的淋巴细胞特征。

在 EAE 和体外实验中已举例说明了抗体的可能病因, 通过注射纯净的 MBP 或 MBP 激活的淋巴细胞, 用来诱导 EAE 的路易斯鼠中可以观察到没有或者很少有脱髓鞘, 但在静脉内注射抗 MOG 单克隆抗体引起 BBB 破坏后可观察到广泛的脱髓鞘。Gemain 等运用髓鞘免疫球蛋白肽链和高倍显微镜, 在非人类原始的 EAE 和人多发性硬化中观察到 MOG 特异的自身抗体原位结合的髓鞘崩解损伤。

抗体可以通过不同机制参与髓鞘的破坏, 如调整作用通过巨噬细胞或补体固定作用(或两者同时作用)促进吞噬作用。中枢神经系统免疫球蛋白通过激活钙依赖的髓鞘溶解蛋白酶作用于 MBP, 诱导髓鞘脱失。有趣的是, 在 Theiler 病毒的脱髓鞘模型中, 一种有某些特性的抗体, 引起唯一中枢神经系统成分的髓鞘再生。因此, 正如前面提到的 T 细胞一样, 体液免疫应答的致病和恢复作用是必要的。最近研究表明, MBP 和 MOG 专门的 T 细胞链, 以及 B 细胞和单核细胞都有产生脑衍生的亲神经因子的能力, 这就为在多发性硬化脑中炎症反应通过一定的形式, 具有神经保护的作用这一假说提供了很多的支持。

第三级细胞, 实际是存在于小胶质细胞被局部释放的细胞因子激活, 小胶质细胞作为清道夫细胞可以消除碎片, 作为抗原递呈细胞可以将加工处理的抗原提呈给 T 细胞, 以促进局部的克隆扩增。T 细胞和巨噬细胞通过诸如 IL - 2 和克隆刺激因子等分子作为介质相互作用, 诱导这两类细胞的增殖。此外, 内皮细胞和 T 细胞继续激活巨噬细胞, 阻止细胞凋亡或死亡。小胶质细胞可能通过直接释放介质如自由基(氮氧化物和超氧化阴离子)、血管活性胺、补体、蛋白酶、细胞因子(例如 IL - 2 和 TNF - α)以及花生酸类, 诱导髓鞘损伤和少突胶质细胞死亡。在炎症反应期间, 小胶质细胞和巨噬细胞过多的释放酪氨酸盐, 同时伴有氨基酸摄入增多、代谢减少, 可以激活对少突胶质细胞与神经元有毒性的 α - 氨基 - 3 - 羟基 - 5 - 甲基 - 4 - 异恶唑 - 丙酸 (AMPA)。用 AMPA 拮抗剂阻断 AMPA 敏感的谷氨酸盐受体在 EAE 中可以改善神经疾病的结局, 增加少突胶质细胞生存率, 降低神经丝 H 的脱磷酸(这是轴突损伤的一个指标)。同时也要考虑小胶质细胞在保护少突胶质细胞存活及髓鞘再生中的作用。巨噬细胞和脱髓鞘, 在多发性硬化的炎症反应中巨噬细胞是关键参与者。

随着疾病的进展, 不可逆的中枢神经系统损伤积累, 进入某些专家提出的神经变性阶段。目前已经找到脑和脊髓轴突缺失和萎缩的证据, 并与广泛的功能损伤相联系。这一多发性硬化免疫致病机制的模型, 提供了一个概念体系以更好的理解这一疾病既有理论的作用机制、失败的理论和正处在发展中的药物的基本原理。如 IFN β 具有多向性的效果, 包括对抗 IFN γ 介导的 MHC 上调对抗原的呈递细胞作用, 改变细胞因子表达成 Th₂ 形式的外观, 阻断通过内皮乙酸可以影响细胞因子的表达形式, 并诱导有活性的 T 细胞对 MBP 的抑制作用以及促进 MHC 分子渗透抗原提呈细胞, 阻止自身抗原提呈(表 25.3)。皮质类固醇是抗原提呈功能的强有力的抑制剂, 化疗药物环磷酰胺有促进淋巴细胞溶解和刺激 Th₂ 细胞因子产物的作用。大多数经验性治疗集中在干扰抗原提呈给脑炎 T 细胞(如改变肽链配体、静

脉注射抗原),诱导 Th₂ 应答(口服剂量)T 细胞缺乏(抗 - CD52、抗 - VB5),阻断黏附分子(抗 - VLA4、抗体),给予抗炎细胞因子或中和炎症前细胞因子(IV 型磷酸二酯酶抑制剂、神经生长因子、TNFRP55IG 功能蛋白、抗 TNF - α 免疫球蛋白 G₁)。有趣的是,最近对 1 例患者提出了多发性硬化发作与青少年类风湿性关节炎抗 TNF 治疗的关系,同时也提出了对无活性的抗 MOG 抗体拟似物的运用。抗体片段已证明可以保护动物,防止出现重症肌无力。

表 25.3 IFN β 对 MS 的生物效应

①抗增殖效应	⑧抑制 RANTES 产生
②抗凋亡效应	⑨刺激 IL - 10 产生
③降低淋巴细胞 MMP 的表达	⑩恢复缺陷抑制细胞功能
④降低活性标记物的表达	⑪抗病毒效应
⑤降低 MHC 的表达和抗原呈递	⑫降低诱导含氮氧化物产生
⑥降低自然杀伤细胞活性	⑬限制星形胶质细胞增殖
⑦抑制 IL - 12 产生	

其他方法如运用他汀类可以抑制 LFA - 1,并阻滞 EAE 的发展。还有抗阻胺药,它可以在多发性硬化脑中发现组胺(H)1 - 受体,并且当口服时可以阻止 EAE。这些方法可以为以前证明的药物提供新的途径,这些可以阻断谷氨酸盐受体亚型药物的运用,为治疗休克和神经生成抑制状态的发展提供了新的方向。同时这一方法对治疗多发性硬化慢性变性期的作用也得到证明。通过观察用乙酸免疫的小鼠发现,神经保护作用可以抵抗谷氨酸盐的损害,这可能是激活可调节的 T 细胞的结果。目前可以逆转 EAE 模型进展中的瘫痪,这是通过载体偏移编码可调节的细胞因子和炎症因子抑制物或是通过注射 DNA 编码的髓鞘抗原,以及 DNA 编码的 TH2 细胞因子 IL - 4 以在免疫系统中诱导耐药性实现的。DNA 接种已经在感染性疾病和癌症中应用于临床,目前试验正计划将这一方法应用于自身免疫疾病,包括多发性硬化。这其中的一些方法在试验和临床上表现出部分微不足道的不良反应,这反映了在自身免疫中复杂分子的相互作用以及用假设模型作为多发性硬化致病机制真实反应的局限性。

25.3 MS 作为遗传疾病的假设

令人信服的数据表明,多发性硬化的易感性是可以遗传的(表 25.4、表 25.5、表 25.6)。在 19 世纪,Charcot 就发现多发性硬化有家庭聚集性,多发性硬化患者同胞比正常人群发病的相对风险高 20% ~ 40%。姐妹、兄弟更容易在同一年龄段发病而不是在同一时间,多发性硬化患者的二、三级亲属发生多发性硬化的风险也会增加,这就支持遗传因素相较一般环境因素对易感性的影响更明显。最近以第一、二次发作中神经和脊髓表现的模型以及残疾或残疾评分报道了多个病例家庭的遗传一致性。

表 25.4 MS 作为一种遗传疾病的假设

-
- ①MS 病例的家族聚集性
 - ②同胞的相对危险率增加($\lambda_s = 20 \sim 40$)
 - ③多发性硬化同胞容易集中在同一年龄发病而不是同一年发病
 - ④多发性硬化易感性对处于同一环境的第一级非血缘亲属(配偶、被领养者)无有害作用
 - ⑤同卵双胞胎的疾病的遗传一致性(25% ~ 30%) 高于双卵双胞胎和非双胞胎同胞(3% ~ 5%)
 - ⑥多发性硬化病例的种族集中,伴随抵抗种族群体存在高的发病区域
 - ⑦一定的多态性位点与疾病易感性暗藏的关联
-

表 25.5 MS 作为一种复杂的遗传疾病的假设

-
- ①病因多样性:相同基因,不同表现型
 - ②遗传多样性:不同基因,相同表现型
 - ③未知的遗传参考/变量:单对多基因,显性对隐性遗传模式,不完全外显率
 - ④基因 - 基因相互作用
 - ⑤后基因机制
 - ⑥未识别的非遗传的(环境)因素
-

表 25.6 对 MS 起作用的遗传模型

-
- ①有共同等位基因变异体的多基因的小的或适量累积效应
 - ②非主要多发性硬化病基因或除外 MHC 以外的位点
 - ③易感性与疾病修饰基因
 - ④复杂的基因 - 基因和基因 - 环境相互作用
 - ⑤基因多态性可以导致临床相同形式
-

对半同胞和被收养者的研究支持遗传因素及非环境因素是家庭聚集性是主要原因这一观点。此外,临床对不同人群中孪生同胞研究表明,多发性硬化患者的单卵双胞胎同胞的发病率(25% ~ 30%一致性)比双卵双胞胎同胞发病率(2% ~ 5%)高,这就为遗传病提供了重要的但比较复杂的证据。为所有多发性硬化建立一个简单的孟德尔遗传模型是不太可能的,因为它不能解释随着与渊源者遗传距离的增加家族中发病率非线性减少的现象。对家族中疾病再发风险的估计结合双胞胎数据,预测到有多发性硬化倾向的基因来自多个独立的或相互作用的多态的基因,这些基因每个都能对总体风险产生较小但至少是适当的影响。因此,虽然孟德尔式的遗传病因素不能排除诸系中小的子集,但总的的数据支持我们长期持有的观点,那就是多发性硬化是一种多基因疾病。同样主要的遗传多样性也可能存在于多发性硬化中,这就意味着不同基因可能导致相同或相似的疾病形式。

25.3.1 后基因时代的基因发现

尽管 MS 中的基因成分已清楚地表达,但仍缺乏一个明显的和同源传递的方式,这就妨

碍了经典的遗传流行病学技术的应用。自 1950 年以来,应用统计学技术来确定疾病位点,然而最近才有新技术应用于发现易感性的位点。对复杂疾病的基因发现来说,一种合适的方法首先包括通过连锁分析确定基因组效应的染色体区带。遗传联系的建立需要收集一个以上感染成员的家系,追踪不连续的染色体片段的遗传途径,这些片段是伴随疾病从独立的基因中脱离和相互分离形成的,一旦这些区带被识别和证实,可以收集到一个详细的确定系列的候补基因用于分析,甚至在没有一个统一的致病机制的模型时也可以做到。POE 在复发性阿尔茨海默病中的作用的发现和所有染色体高度多态性标志的详细映射图的有效性,这些复杂的方法成功地巩固了其在非孟德尔遗传病中广泛应用的理论基础,遗传学的映射在复杂疾病基因识别的能力突出地表现在 2 型糖尿病的研究中。研究者根据包含 2 号染色体长臂末端并能确定钙蛋白酶-10 中疾病连锁的内含子多态性,钙蛋白酶-10 是一种普遍表达钙蛋白酶样半胱氨酸的蛋白酶家族的成员。1996 年确立了与 Crohn 病相关的位点在 16 号染色体上,最近又确定了 NOD2 的编码突变。NOD2 是与疾病易感性相联系的凋亡调节子,属于 APAT-18/CED-4 超家属的一员。

19 世纪 90 年代多发性硬化的遗传学研究,受 3 个大的多级别的全基因组筛选的影响,它们在多个病例家庭中进行筛选,这些家族来自美国、英国、加拿大。第 4 个研究集中在芬兰的一个遗传的孤立区域,而以少数的家族为基础。随后对证实的附加数据集的筛选也完成了。这些研究将已确定的约 60 个基因组区带与多发性硬化可能性联系起来,但总体基因显性的复制在不同的筛选之间是空缺的。这在一定程度上取决于实验设计策略,认识到假阳性结果可能伴随真阳性结果产生,对每个病例的研究设计可能低估疾病遗传性的复杂影响和统计分析参数方法的局限性。值得注意的是,每个研究运用的是一个稍有重叠但有不同基因标记位点和不同临床症状的标准,对直接的结果比较并不明确。

然而,对这些综合发表数据的仔细分析,从 4 个原始基因图谱中确定了 13 个有趣的普遍的区域。此外,对以前已发表的数据的变位分析选出个别重叠的多发性硬化易感区带在染色体 5、6、17 和 19 上。最近来自基因组筛选的原始基因型数据被集中用于全球变位分析,8 个区带总和累加的阳性(不过分的)分数,包括 17q11 和 6p21 节段。第 2 种类型的变位分析尝试从 23 名成年人及实验免疫介导的疾病包括多发性硬化和 EAE 的联系中的结果进行比较,收集自身免疫易感性位点,发现了易感性位点的重叠。这提示在一些病例中,临床特定的自身免疫疾病的部分病理生理特点可能由相同的基因位点控制。

尽管需要更深入的工作来更好地确定多发性硬化位点的完整性,这些研究在绘制多发性硬化联系的所有基因位点体现了真正的优势。下一步工作是系统化的开发变异性的程序,首先是编码以及调节和内含子区带,还有映射到与疾病直接相关的候补区的基因。单核细胞的多态性是在人类基因组中最常发现的 DNA 序列变异事件。SNPS 被认为代表了老的固定的突变,甚至分散串穿了整个基因组。这些特征使其成为遗传研究较好的标记。此外,虽然大多数 SNPS 是不致病的,但一些可能引起疾病的易感性或耐药性并可直接标记“致病”序列的不同。研究需要收集大量多样的核心家族或配比的病例和对照组。研究成功的关键在于变量的快速可靠,高产的多态性筛选的方法。在所有联系中,运用表现型流行病学的人口统计学变量以处理自身免疫的脱髓鞘过程中基因型-表现型联系的基本问题变得越来越重要,这些研究需要与最新的数学模型设计发展相联系以确定合适的遗传效应以及多基因的相互作用和遗传、临床、环境因素共同作用。

25.3.2 MS 主要的组织相容复合体 - MS1

MHC 中的 HLA - DR2 单体(DRB11501DQB1 * 0602)位于 6 染色体短臂上,在多发性硬化中可确定有最强的遗传效应。在家族和病例对照研究中不断的证实有连锁和联系。I 类 MHC 和 II 类分子是多态的细胞表面糖蛋白,它们最初的作用是在免疫应答中呈递短抗原肽片断给肽类或 MHC 特异的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞,它们可以通过二级刺激信号激活,启动免疫应答。此外,胸腺基质细胞上的 MHC 分子在发展过程中可帮助确定所有成熟 T 细胞的特性。MHC(即 HLA 系统)包含位于 6p21.3 上的联系的基因群,跨越了大约 400 万碱基对。大多 HLA 基因是高度多样性的,因而导致大量多种多样不同的基因的组合或表现型,这些多样性的基因决定一个 HLA 等位基因,且群集于分子的抗原 - 肽结合部位。因此,应答外源性或自身抗原的能力,及以应答特性的范围是很广的,这是由 HLA 等位基因唯一的氨基酸序列决定的,观察提供的解释集中在 HLA 基因型和自身免疫疾病易感性的联系上。

对于 HLA - DRB1 * 1501 - DQA1 * 0102 - DQB1 * 0602 与多发性硬化之间遗传联系的机制并不十分清楚,这些 MHC 分子在未成熟的胸腺微环境中有可能不能反向选择自身激活的 T 细胞。换言之,HLA - DRA1 * 0101 - DRB1 * 1501 或 DQA1 * 0102 - DQB1 * 0602 基因可以编码 II 类识别分子,并有趋向结合髓鞘抗原肽和刺激致脑炎 T 细胞能力。HLA - DR20101 - DRB1501 异二聚体与 MBP89 - 98 肽结合有高度亲和力。DR - MBP 肽复合物的 X 射线晶体照相术揭示了 DRB1501 与其他 DRB 分子在结构上的不同,因为芳香族基因更容易位于肽腱后合区的 P4 袋处。此外还发现 P85 - 99MBP 免疫显性肽的 2 肽链 - VAL89 和 PHE92 是最初的启动因子,并能解释 MBP 肽与 HLA - DRA0101/DRB1501 的高亲和力的结合,结构分析同时揭示只有 MBP P85 - 99 的 2 个最基本的 T 细胞变体接触基因可以被保存以适当激发抗原特异性克隆。这些数据增加了仅含与自身肽相同的规定序列的微生物肽更好激活自身活性 T 细胞的可能。运用家族数据,Haines 等估计总 λ_s 的比例,并通过 HLA - DR 位点来解释,在高粒端及乘法遗传模型中,且假定 λ_s 为 15,HLA - DR 可以关联多发性硬化 60% 的遗传病因。在低粒端加法模型中,且假定 λ_s 为 40,它只能稀释 17% (D7)。总之,这些可利用的数据揭示,虽然 MHC 区在多发性硬化易感性中起到了很重要的作用,但还有许多多发性硬化的遗传效应有待解释。

25.3.2.1 MS2 染色体 19q13

在 1993 年第一次提到染色体 19q13,其与结果的正相关引起了大家一致的兴趣。基因组筛选已显示了支持这一区带的联系。对 4 个基因经筛选变位分析,确定 19q13 作为 MHC 的第二重要的区带。其他证据来自研究相联系的等位基因,随访分析在研究的基础上估计位点特异的 λ_s 为 1.519q13 位点的效应可能很小,因此可以解释多发性硬化中全部遗传成分的 4% ~ 6%。作为最复杂的病症,这些数据不全都是一致的,不是所有研究都能证明有相关性,且关联的结果是以不同标记物的多态性为基础的。

这一区域包括了许多值得注意的候补基因。在神经疾病中,APOE 已被证明牵涉其中。例如,多发性硬化研究中这一基因已成为有趣的候补成员。APOE 蛋白已经与中枢和周围神经组织损伤后的轴突、髓鞘多样性相联系,并且它的异构体显示对神经元生长有不同的效果。外来启动的候补基因,包括 TGF - β 1、免疫球蛋白样转录因子、杀伤细胞抑制受体、白细胞相关抑制受体、FC 受体、IL - 11、MHC、FC 受体重链和 APOC4 也日益受到重视。

25.3.2.2 位点多样性

位点多样性是指不同基因可以引起相同或相似的疾病形式,这是理解多发性硬化病理机制的关键要素。最近在美国对 184 个不止一名成员患病的家族的精确分析发现,其均与 HLA - DR 位点相关,同时还发现与特异的 DR2 表现型有更强的联系。值得注意的是,所有这些联系信息和证据均来自于最少一个核心成员呈现 DR2 的家族。而在 DR2 阴性家族群中,没有发现 HLA - DR 位点的遗传效应。事实上,无论是常染色体显性或隐性模型,只要是 DR2 阴性家族,至少在 HLA - DR 的联系结果上为多发性硬化中 HLA 位点的存在提供了有利的证据,并且在没有其他 DR 位基因和 HLA 基因可辨别的遗传影响下,在 DR2 阴性家族中建立了基本不同的发病机制。

1999 年由 MHC 序列组完成并报道了 MHC 区的全序列。从 224 确定的位点中,128 个预测有表达且大约 40% 有免疫应答功能,这个因素显示了在抗原呈递中 I 类、II 类位点的相关位置,其他基因映射到 MHC 区包含补体蛋白、21 - 羟化酶的基因、肿瘤坏死因子和热休克蛋白,总的归为 III 类。假若这一区域的广泛联系失去平衡,可发现 HLA - DR2 等同位基因同时也会失去平衡且伴有位于广泛 6p21 节段的易感生等位基因。

通过对日本患者的研究提供了另一个多发性硬化多态性的例子,一种类型的多发性硬化以广泛的中枢神经系统受累为明显特征,并与 HLA - DR2 单体相联系,但疾病受局限的形式如眼神经或脊髓受累与 DR2 无关,非 DR2 相关的损伤往往更严重且易引起坏死。原发进展型多发性硬化与 DR2 之间的联系强度也不是很清楚。大量小型研究最终不能证明原发进展型多发性硬化与 DR2 的关联,虽然最近北爱尔兰的一个大型研究似乎可以证明他们的联系,但多态性包含的内容很多因为它们可以从本质上明确反映免疫病理机制。在多发性硬化中 HLA 位点多态性的遗传药理结果同样重要,也可能解释对醋酸格拉默个体不同的治疗应答。MBP 第一区带的分子拟似剂对 HLA - DR2 阳性患者是有免疫显性,基因型是否要求不同的多发性硬化类型以应答共同的诱导剂和触发剂,或是基因型是否通过不同的环境因素反应不同疾病都不清楚。显然,临床和药理学变量在多发性硬化遗传研究中至关重要。

25.3.2.3 易感性基因对基因修饰

多发性硬化的临床症状十分多变,病程可以是复发 - 缓解,或是进行性,或严重或减轻,它可以弥漫地引起脑炎或突出的影响脊髓和视神经。人们对多发性硬化中疾病的多变性的原因知之至少,例如,MHC 位点在病例对照和家族研究中一致展示了它与多发性硬化的联系及连锁。然而这一区带中基因决定了临床特点或多发性硬化亚型的作用仍不清楚。各方面均报道 HLA DRB1 * 1501 - DQA1 * 0102 - DQB1 * 0602 单型与发作的早期年龄、患者性别、疾病严重性、复发 - 缓解病程、疾病的缓解有关或没有影响。在 EAE 中,MHC 基因似乎首先影响易感性和外显率,然而,其他位点调节特异的表现型,如脑和脊髓的部位、脱髓鞘、炎症的严重程度。这就好比确定哪个位点在最初的病理过程中受累或是影响疾病的发展和进程是值得我们关注的。

某些研究已经报道了 APOE4 等位基因与更多严重疾病的联系。另一项研究报道通过观察初次发病类型为复发 - 缓解型的患者到达再次进展期的时间发现,APOE2/3 基因型要比 APOE3/3 和 APOE3/4 基因型病情轻,这就为 APOE 的保护效应提供了证据。同时 MR2 研究为 APOE - 4 与疾病进展的联系提供了一些生物学上的支持。MR2 显示 APOE - 4 携带者的多发性硬化患者,有更广泛的组织损伤和更少的有效修复。在 MS 数据库中可以观察

到, APOE - 4 携带者在重症组中的比例明显比非重症组明显高。另一方面, APOE - 2 携带者在疾病缓解组中的比例比非缓解组明显高, 另有一些研究检测其他非 HCA 基因(例如 IL - 1R、TNF、TGFBCTLA 和 CCR5)对多发性硬化病理和严重性的影响, 这方面已有报道且尚待证实。他们的特征有助于确定疾病的基本病因, 改善估计风险, 并影响治疗。

25.3.2.4 遗传药理学的前景

目前可用于多发性硬化治疗的方法部分是有效的, 但大多数患者对这些方法没有反应。许多患者也经历了治疗方法带来的不良反应, 这些方法既不方便而且药物的花费也很大。因为缺乏临床神经放射有关免疫治疗反应的标记, 所以假设 10% ~ 15% 患者为疾病的相对良性形式, 神经病学家也难以确定治疗开始和终止的时间。遗传药理学领域集中在基因多态性, 以及它们如何转为可以遗传的对药物治疗应答的不同形式。一些在药物受体、代谢酶、载体、靶点上的基因交互点与许多药物在效力和毒性上有各自不同相联系, 遗传因素作用于疾病途径的水平也在患者对治疗方式不同应答中起重要作用。例如: 遗传药理学研究证明, APOE - 4 不仅与阿尔茨海默病进展风险上调有关, 而且也预示对乙酰胆碱酯酶抑制剂治疗的反应不佳。在多发性硬化中, 遗传药理学的文献相对较少, 但现有不同的实验室正在付出大量的努力, 通过分析不同基因型与临床治疗形式反应的联系, 能直接处理基因多态性和免疫治疗反应的问题。

26

多发性硬化中神经系统 损伤和残疾的评估

在北美和北欧,多发性硬化(MS)是一种最常见的中枢神经系统脱髓鞘性疾病。尽管MS的病因还不太清楚,针对髓鞘抗原的自身免疫反应这一发病机制已被广泛接受。支持这一假说的发现包括MS损害的组织病理学,这包括主要由与HLA-2类抗原有关的淋巴细胞和巨噬细胞引起的炎症过程和与已被广泛研究的自身免疫性脱髓鞘疾病的动物模型,实验性过敏性脑脊髓炎相一致。从病理解剖上来说,MS以脑室周围炎性损害为特征,这种损害可广泛发生于脑和脊髓的白质中,并通常在脑室周围,显示出不同程度的脱髓鞘以及出现轴索损害。由于病变的广泛分布,几乎任何中枢神经系统损害的症状都可出现。临床过程高度可变,但最常见的是表现为RRMS开始,然后进展为SPMS或PRMS。在少数情况下,疾病从开始就表现为进展(PPMS)。多变和无法预测的疾病过程使对治疗的评价非常困难。本文中不仅概述在最近十几年中标准治疗的进展,同时也论及以调节免疫为目标的新的治疗策略。读者应该注意到治疗方法的区域性差异。由于是否支持特殊治疗在不同国家之间存在差异,或者由于可获得的药物在不同国家之间不同,这就造成了治疗差异的更加显著。本章将对MS治疗方法提供一般性的介绍。

26.1 MS 的临床表现

26.1.1 临床过程

MS是一种主要发生在年轻人的疾病,好发年龄在20~40岁之间。仅少数患者在15岁之前或55岁之后发病。女性的发病率是男性的1.5~2.0倍。通常,MS以RRMS开始,表现为急性发作后数周在未经任何治疗的情况下,神经系统症状得到改善或完全好转。年轻患者的临床表现与年龄较大发病者有些小的差异。在年轻患者,RRMS通常以单个神经症状开始,视神经炎(36%),瘫痪(33%)。超过50%的患者在发生视神经炎后发展为确诊的MS。在发生视神经炎时,MRI显示病灶超过3个者,以后发展为MS的可能性超过50%,但