

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00443

特发性炎性肌病的免疫学研究进展

Progress in immunologic study of idiopathic inflammatory myopathy

王培珍,管剑龙*,韩星海

第二军医大学长海医院风湿免疫科,上海 200433

[摘要] 特发性炎性肌病(IIM)是一组由自身免疫介导的弥漫性结缔组织病。其发病机制未明,可能与免疫异常有关。肌细胞上主要组织相容性抗原复合物的过度表达可能是肌炎的启动因素,而肌炎的持续与发展则与机体免疫应答异常有关。皮肌炎以体液免疫损伤为主,而多发性肌炎则以细胞免疫损伤为主。各种细胞因子、趋化因子和黏附分子在 IIM 的免疫病理过程中发挥着重要作用。

[关键词] 特发性炎性肌病;主要组织相容性抗原复合物;细胞因子;趋化因子;黏附分子

[中图分类号] R 593.26 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2008)04-0443-03

特发性炎症性肌病(IIM)是一组由自身免疫介导的以侵犯横纹肌为主的,慢性、炎症性、系统性结缔组织病。临床上以多发性肌炎(PM)、皮肌炎(DM)为多见,但发病机制目前还不明确,本文主要对 PM 和 DM 的免疫学研究进展进行简要概述。

1 主要组织相容性复合物(MHC)的表达

在 DM 和 PM 患者的肌肉组织中常有 MHC 分子的异常表达,以 MHC-I 类分子的表达异常更为显著,健康人的肌肉组织仅低表达 MHC-I,而在 DM 和 PM 患者肌肉中 MHC-I 则高表达,但 MHC-I 在 DM、PM 中的分布不同。在 DM 中 MHC-I 的过度表达主要见于肌束膜和萎缩的肌纤维周围以及细胞浸润的区域;而在 PM 中 MHC-I 的表达则呈普遍性增加,甚至在无炎性细胞浸润的区域亦有表达异常。现已证实,在 PM 的发病机制中,活化的细胞毒 T 细胞主要侵犯表达 MHC-I 类抗原的肌细胞,并通过穿孔素导致肌纤维坏死^[1]。Englund 等^[2]发现,在 DM 和 PM 患者的肌肉中 MHC-I、MHC-II 表达与炎性细胞浸润无关,提示 DM 和 PM 患者的 MHC 分子表达异常可能是 DM 和 PM 发病和导致肌肉炎症的重要因素,并不是继发于炎性细胞浸润。Nagaraju 等^[3]的研究显示,在转基因鼠中,MHC-I 表达可以作为一个刺激通过肌炎特异性抗体触发 PM,但组织病理显示,该类肌炎并非典型的肌炎。在 PM 中 MHC-I 不能单独触发 T 细胞活化或向肌内膜渗透。体外实验显示,另一种 MHC 分子 HLA-G,可以保护肌纤维细胞免遭由免疫细胞介导的细胞溶解,而对肌纤维有一定保护作用^[4]。

2 自身抗体

大约在 20% 的 DM、PM 患者中可检测到针对细胞核或

细胞质成分的自身抗体,这些自身抗体可分为肌炎特异性抗体(MSAs)和肌炎相关性抗体(MAAs)两类^[5]。

最常见的 MSAs 包括抗 Jo-1 抗体、抗 tRNA^{his} 抗体、抗 Mi-2 抗体及抗-SRP 抗体等,对于肌炎具有很高的特异性。1980 年,Niskikai 从 PM 患者血清中检测到一种高特异性的自身抗体,其抗原为细胞质中的组氨酰 tRNA 合成酶,命名为抗 Jo-1 抗体。抗 Jo-1 抗体是诊断 PM/DM 的标记性抗体^[6],但阳性率仅 20%~30%,其中,50%~70% 伴发肺间质病变^[7-8],且伴发雷诺现象、关节炎、“技工手”和恶性肿瘤的机会也明显增多。国外学者认为,抗 Jo-1 抗体阳性的 DM、PM 患者临床表现相似,而称之为抗 Jo-1 抗体综合征。抗 Mi-2 抗体是肌炎特异性抗体,抗 Mi-2 抗体的靶抗原位于细胞核核质内,是相对分子质量为 340~2 400 的 8 种核蛋白质复合物,不含任何核酸成分。抗 Mi-2 抗体在 IIM 患者中的阳性率仅为 5%~15%,但抗 Mi-2 抗体阳性的患者中 97% 为 DM,故认为抗 Mi-2 抗体是 DM 特异性抗体^[9]。

抗信号识别粒子抗体(SRP)即抗 SRP 抗体,是一种少见的肌炎特异性抗体,其靶抗原是一种位于胞质中的核糖核蛋白复合物。有研究^[10]报道,抗 SRP 抗体与急性发病、病情严重程度、对药物抵抗和心脏受累等相关,提示抗 SRP 抗体是 DM、PM 患者心肌损害或临床难治性的标志。KL-6 是一种主要表达于肺泡 II 型上皮细胞表面的大分子糖蛋白,KL-6 检测在 IIM 伴肺间质病变中的诊断敏感性和特异性分别为 90.9% 和 80.6%,抗 KL-6 抗体与肺间质性疾病也有关。另外,大多数 DM、PM 患者血清中抗肌球蛋白抗体和抗肌红蛋白抗体阳性,这 2 种抗体没有特异性,但阳性率较高,且与疾病的活动性有关。其他 MAAs 还有抗 PM-Scl 抗体、抗 U₁RNP 抗体、抗-Ro52 抗体及抗-Ro60 抗体等均与肌炎相关,但缺乏特异性。

[收稿日期] 2007-07-12 **[接受日期]** 2008-01-09

[作者简介] 王培珍,硕士生,副主任医师。现在山东省临沂市人民医院干部保健病房,临沂 276000。E-mail:xf369@126.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel:021-25074698,E-mail:guanjianlong@medmail.com.cn

3 免疫病理

3.1 皮肌炎 目前认为,DM的原发病灶位于毛细血管。DM肌肉组织中的毛细血管密度明显减少,毛细血管内皮细胞明显增厚,在电镜下主要为微管网状结构,丧失了正常内皮细胞的质膜结构,胞质中细胞器也有异常,甚至在正常肌肉中的毛细血管壁上有补体和免疫球蛋白沉积和管壁肿胀;肿瘤相关性DM的毛细血管病变较轻,而在PM中则无上述异常表现。DM的淋巴细胞浸润在血管周围以B细胞为主,在肌束膜和肌内膜中则以T细胞为主,其中,又以CD4⁺T细胞占优势。目前,大多数学者认为,DM的病理变化始于免疫复合物(IC)在血管壁的沉积或对血管内皮细胞的直接损伤。

在DM中肌内膜毛细血管内皮细胞是主要的靶抗原。当自身抗体攻击内皮细胞并激活补体C3后引起发病。活化的C3导致C3b、C3bNEO、C4b片段和C5b-9、膜攻击复合物(MAC)及补体途径的细胞溶解酶成分释放。MAC、C3b和C4b可以在早期DM患者血清中检测到,也可在肌肉发生炎症或组织结构发生改变以前沉积在毛细血管。补体沉淀物诱导内皮细胞肿胀、空泡变性、毛细血管坏死、血管周围炎症、局部缺血和肌纤维结构破坏,最后导致毛细血管数量减少和残存毛细血管内腔代偿性扩张^[11],与补体激活有关的细胞因子和趋化因子释放,继而在内皮细胞上调血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)和细胞间黏附分子-1(ICAM-1)表达,并促进激活的T细胞转移到肌内膜和肌束膜表面。T细胞和巨噬细胞通过整合素结合到黏附分子上,然后穿过细胞壁到达肌肉组织。此外,DM的皮损在组织学上与系统性红斑狼疮(SLE)无法区分,由于IC在SLE中的重要性,这点也支持IC在DM发病中的病理作用。

3.2 多发性肌炎 PM并无明显的毛细血管异常,血管周围的细胞浸润也不显著;细胞浸润主要在肌束膜和肌内膜以T细胞为主,即使在无坏死的肌纤维周围也有T细胞和巨噬细胞浸润,T细胞以CD8⁺T细胞为主,这些细胞毒T细胞可能是导致肌细胞损伤的免疫效应细胞,穿孔素依赖的细胞毒作用为PM肌损害的主要机制。

4 细胞毒T细胞

在PM肌内膜的炎症渗出液中含有大量活化CD8⁺T细胞和NK细胞,而B细胞则很少。同时PM患者血清中可溶性IL-2受体的浓度明显高于正常人,亦提示有活化T细胞存在。在Nishio等^[12]的研究中,PM患者外周血中可检测到增殖活化的CD8⁺T细胞明显高于正常对照,而CD4⁺T细胞无此现象,提示CD8⁺T细胞与PM的发病有关。

目前实验证实,细胞毒T细胞杀伤靶细胞主要有两种机制,通过Fas/Fas-L信号转导途径诱导靶细胞凋亡及通过穿孔素和颗粒酶(granzyme)杀伤靶细胞,在肌肉活组织检查中发现,T细胞对自体肌小管有细胞毒作用。体外实验显示,CD8⁺T细胞发出噬菌体棘突样突起延伸到未坏死的肌纤维,并穿过基底膜侵袭肌细胞。自身侵袭性CD8⁺T细胞能表达记忆和激活标记物CD45RO和ICAM-1,并含有能直接到达肌纤维表面的穿孔素和颗粒酶。其中,穿孔素可能更为

重要。Goebels等^[13]研究了穿孔素在PM和DM中的表达,发现DM患者的穿孔素在T细胞中弥漫性分布,但在PM患者中,43%与肌细胞接触的CD8⁺T细胞的穿孔素呈偏向性分布,集中于与肌细胞接触的一侧。由此推测,DM中的穿孔素在T细胞的弥漫性分布代表T细胞的非特异性活化;PM中的穿孔素在T细胞的偏向性分布提示,T细胞识别肌细胞的表面抗原分泌穿孔素杀伤肌细胞。

尽管有肌纤维的Fas抗原和自体侵袭CD8⁺T细胞Fas-L共同表达,细胞毒T细胞损伤肌细胞并非通过Fas/Fas-L介导的凋亡途径^[14]。Nagaraju等^[15]检查了4例PM的肌肉标本,发现Fas在大部分的肌细胞和淋巴细胞中均有表达,Fas-L在变性肌细胞和浸润的单核细胞表达,但用TUNEL技术并未发现肌细胞凋亡。进一步检测一个抗凋亡分子,即Fas相关凋亡决定域样白细胞介素-1(IL-1)转换酶抑制蛋白(FLIP)的表达发现,PM患者的肌细胞和浸润淋巴细胞都有FLIP表达,正常肌肉组织经过炎性细胞因子刺激后也有FLIP的表达,用FLIP的反义寡核苷酸能明显增加肌细胞凋亡。由此可以推论,PM患者的肌肉组织处于某种炎性环境下,通过表达抗凋亡蛋白FLIP而获得对Fas介导的凋亡的抵抗。

5 共刺激分子(costimulator)、细胞因子和金属蛋白酶

5.1 共刺激分子 自体侵袭性CD8⁺T细胞受特异性抗原刺激时,肌纤维上MHC-I分子表达抗T细胞受体(TCR)抗原肽,同源细胞扩增的TCR基因重排。在这个过程中,T细胞抗原刺激物为必须的第二个信号由共刺激分子B7家族提供^[16]。肌纤维不能表达典型的共刺激分子B7-1(CD80)或B7-2(CD86);肌纤维表达一种与B7有关的功能性分子BB-1,MHC-I/BB1⁺肌纤维通过CD28或CTLA-4配体在自身侵袭性CD8⁺T细胞上发生细胞间相互作用。与B7有关的共刺激分子可诱导的共刺激物配体(LICOS)和共刺激分子CD40在肌纤维中同时表达上调^[17-18]。

5.2 细胞因子 细胞因子、炎性因子及趋化因子是炎症反应和免疫调节中的重要分子,在PM肌肉组织中可检测到IL-1 α 、IL-1 β 、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)和巨噬细胞炎症蛋白-1 α (MIP-1 α),提示促炎细胞因子在PM发病中也起一定作用。近年相关研究认为,PM/DM患者存在T辅助细胞亚群失衡,细胞因子网络出现紊乱,这与PM/DM患者血清中出现较多自身抗体是相符的。

在DM和PM患者肌肉组织中,有信号转导的过度加快和传感器-I的活化,提示细胞因子上调^[19]。各种细胞因子包括IL-1、IL-2、IL-6和IL-10,肿瘤坏死因子- α 、 γ -干扰素、TGF- β 及其mRNA在DM和PM中均过度表达。其中, γ -干扰素和IL-1 β 可能有肌细胞毒作用,TGF- β 能促进慢性炎症和纤维化^[20-21]。自身侵袭性T细胞释放的穿孔素使肌纤维发生坏死,由于平衡效应或抗凋亡分子BCL2h、拟病毒凋亡抑制蛋白的人抗凋亡分子(hILP)和FLIP在PM中表达上调,肌纤维的死亡为肌坏死,并非凋亡。在PM中也表达Fas,但并不介导肌细胞凋亡。退化的肌纤维上调的神经细胞黏附分子(NCAM)可以提高细胞的再生,有效的免疫治疗后细胞因子水平下降,随之炎症和纤维化也减轻^[22]。

5.3 基质金属蛋白酶(MMPs) MMPs是一种蛋白水解酶,参与细胞外基质的重塑,并在炎细胞浸润的过程中对细胞外基质的降解起重要作用。有研究表明,在PM患者中MMP-1主要位于肌膜和肌内衣的梭状细胞核;在DM则多位于典型束周萎缩处^[23]。人类肌内衣主要由I、III型胶原组成,其增生导致肌内衣的纤维化,而MMP-1的作用是降解I、II、III型胶原,因此,MMP-1的表达在抑制肌内衣纤维化中具有作用。骨骼肌纤维由基底膜包绕,MMP-2、MMP-9的底物特异性与基底膜的自然成分IV型胶原和层黏连蛋白相对应,该两种酶在PM和DM非坏死纤维肌膜的表达上调提示,MMP-2、MMP-9在细胞毒T细胞破坏肌膜的过程中发挥重要作用^[24]。束周萎缩是DM特征性的病理改变,DM患者中MMPs在束周的表达上调提示束周萎缩与炎症有关,可能参与了毛细血管的破坏。MMP-2、MMP-9在萎缩肌组织及CD8⁺T细胞和巨噬细胞浸润的肌纤维上表达提示,该两种酶在促进自身侵袭性T细胞黏附于肌肉的过程中起重要作用。MMPs在非坏死肌纤维膜上的表达提示,MMPs不仅在T细胞由血管到肌细胞的迁移、黏附过程中起重要作用,而且具有通过降解细胞外基质,加强T细胞介导的细胞毒作用,同时在正常肌纤维的表达,预示着肌纤维的坏死过程开始启动。

[参考文献]

- [1] Nagaraju K. Role of major histocompatibility complex class I molecules in autoimmune myositis[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2005, 17: 725-730.
- [2] Englund P, Lindroos E, Nennesmo J, Klareskog L, Lundberg I E. Skeletal muscle fibers express major histocompatibility complex class II antigens independently of inflammatory infiltrates in inflammatory myopathies[J]. *Am J Pathol*, 2001, 159: 1263-1273.
- [3] Nagaraju K, Raben N, Loeffler L, Parker T, Rochon P J, Lee E, et al. Conditional up-regulation of MHC class I in skeletal muscle leads to self-sustaining autoimmune myositis and myositis-specific autoantibodies[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 9209-9214.
- [4] Wiendl H, Mitsdoerffer M, Hofmeister V, Wischhusen J, Weiss E H, Dichgans J, et al. The non-classical MHC molecule HLA-G protects human muscle cells from immune-mediated lysis; implications for myoblast transplantation and gene therapy[J]. *Brain*, 2003, 126: 176-185.
- [5] Sordet C, Goetz J, Sibilia J. Contribution of autoantibodies to the diagnosis and nosology of inflammatory muscle disease[J]. *Joint Bone Spine*, 2006, 73: 646-654.
- [6] Hengstman G J, van Engelen B G, van Venrooij W J. Myositis specific autoantibodies: changing insights in pathophysiology and clinical associations[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2004, 16: 692-699.
- [7] Taggart A J, Finch M B, Courtney P A, Gormley G J. Anti Jo-1 myositis. 'Mechanic's hands' and interstitial lung disease[J]. *Ulster Med J*, 2002, 71: 68-71.
- [8] Fathi M, Dastmalchi M, Rasmussen E, Lundberg I E, Tornling G. Interstitial lung disease, a common manifestation of newly diagnosed polymyositis and dermatomyositis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63: 297-301.
- [9] Hengstman G J, Vree Egberts W T, Seelig H P, Lundberg I E, Moutsopoulos H M, Doria A, et al. Clinical characteristics of patients with myositis and autoantibodies to different fragments of the Mi-2 beta antigen[J]. *Ann Rheum Dis*, 2006, 65: 242-245.
- [10] Hengstman G J, Brouwer R, Egberts W T, Seelig H P, Jongen P J, van Venrooij W J, et al. Clinical and serological characteristics of 125 Dutch myositis patients. Myositis specific autoantibodies aid in the differential diagnosis of the idiopathic inflammatory myopathies[J]. *J Neurol*, 2002, 249: 69-75.
- [11] Dalakas M C. Muscle biopsy findings in inflammatory myopathies[J]. *Rheum Dis Clin N Am*, 2002, 28: 779-798.
- [12] Nishio J, Suzuki M, Miyasaka N, Kohsaka H. Clonal biases of peripheral CD8 T cell repertoire directly reflect local inflammation in polymyositis[J]. *J Immunol*, 2001, 167: 4051-4058.
- [13] Goebels N, Michaelis D, Engelhardt M, Huber S, Bender A, Pongratz D, et al. Differential expression of perforin in muscle-infiltrating T cells in polymyositis and dermatomyositis[J]. *J Clin Invest*, 1996, 97: 2905-2910.
- [14] Barry M, Bleackley R C. Cytotoxic T lymphocytes; all roads lead to death[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2: 401-409.
- [15] Nagaraju K, Casciola-Rosen L, Rosen A, Thompson C, Loeffler L, Parker T, et al. The inhibition of apoptosis in myositis and in normal muscle cells[J]. *J Immunol*, 2000, 164: 5459-5465.
- [16] Liang L, Sha W C. The right place at the right time; novel B7 family members regulate effector T cell responses[J]. *Curr Opin Immunol*, 2002, 14: 384-390.
- [17] Sugiura T, Kawaguchi Y, Harigai M, Takagi K, Ohta S, Fukasawa C, et al. Increased CD40 expression on muscle cells of polymyositis and dermatomyositis; role of CD40-CD40 ligand interaction in IL-6, IL-8, IL-15, and monocyte chemoattractant protein-1 production[J]. *J Immunol*, 2000, 164: 6593-6600.
- [18] Wiendl H, Mitsdoerffer M, Schneider D, Melms A, Lochmuller H, Hohlfeld R, et al. Muscle fibres and cultured muscle cells express the B7. 1/2-related inducible co-stimulatory molecule, ICOSL; implications for the pathogenesis of inflammatory myopathies[J]. *Brain*, 2003, 126: 1026-1035.
- [19] Illa I, Gallardo E, Gimeno R, Serrano C, Ferrer I, Juárez C. Signal transducer and activator of transcription 1 in human muscle; implications in inflammatory myopathies[J]. *Am J Pathol*, 1997, 151: 81-88.
- [20] Shelton G D, Calcutt N A, Garrett R S, Gu D, Sarvetnick N, Campana W M, et al. Necrotizing myopathy induced by overexpression of interferon-gamma in transgenic mice[J]. *Muscle Nerve*, 1999, 22: 156-165.
- [21] Murakami N, McLennan I S, Nonaka I, Koishi K, Baker C, Hammond-Tooke G, et al. Transforming growth factor-beta2 is elevated in skeletal muscle disorders[J]. *Muscle Nerve*, 1999, 22: 889-898.
- [22] Amemiya K, Semino-Mora C, Granger R P, Dalakas M C. Downregulation of TGF-beta1 mRNA and protein in the muscles of patients with inflammatory myopathies after treatment with high-dose intravenous immunoglobulin[J]. *Clin Immunol*, 2000, 94: 99-104.
- [23] 边红, 焉传祝, 刘淑萍, 吴金玲, 李大年. 金属蛋白酶在多发肌炎/皮肌炎免疫发病机制中的作用研究[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2006, 13: 193.
- [24] Dehmel T, Janke A, Hartung H P, Goebel H H, Wiendl H, Kieseier B C. The cell-specific expression of metalloproteinase-disintegrins (ADAMs) in inflammatory myopathies[J]. *Neurobiol Dis*, 2007, 25: 665-674.