

自身免疫病的特异性防治策略

The Specific Immunotherapeutic Strategies of Autoimmune Disease

刘学彬
(北京医科大学免疫学系, 博士研究生 北京 100083)
谢蜀生
(北京医科大学免疫学系, 教授 北京 100083)

机体的免疫系统处于严密的调节控制之下, 正常情况下机体对自身组织抗原不产生免疫应答, 即自身耐受(self-tolerance), 只有当自身耐受遭到破坏时才发生自身免疫病(autoimmune disease, AD)。自身免疫病是一种难治性疾病。据统计, 自身免疫病在人群中的患病率高达 5~7%, 而且还有逐年增加的趋势。目前已被公认的自身免疫病已有数十种之多, 由于自身免疫病是一种严重破坏自身组分的慢性衰竭性疾病, 对人类健康危害极大。自身免疫病的治疗一直是一个困扰医学家的难题, 目前临床上对自身免疫病的治疗, 主要是采取非特异地抑制机体的免疫功能的措施。免疫抑制药物的使用, 虽然在一定程度上可起到减轻自身免疫病症状的作用, 但不能从根本上控制疾病的发展, 而且由于这类治疗降低机体的整体免疫功能, 导致微生物感染和肿瘤发病率上升, 加之这些药物的细胞毒副作用, 给病人的生活质量带来严重影响。长期以来, 用诱导特异的免疫耐受的方法防治自身免疫病, 一直是免疫学家和临床学家不懈追求的目标。近十几年来, 免疫耐受的基础研究取得了许多重要进展。目前已证明, 不但发育中的淋巴细胞可以产生耐受, 成年动物成熟淋巴细胞也可以诱导耐受, 这就为人工诱导免疫耐受治疗自身免疫病和防止器官移植排斥奠定了基础。近年来, 通过诱导免疫耐受防治自身免疫病的研究取得了许多令人瞩目的进展, 为临床自身免疫病的治疗展示了令人鼓舞的前景。

一、口服抗原诱导耐受治疗自身免疫病的现状

1. 口服耐受的历史

早在 1911 年威尔斯(Wells)就发现给豚鼠喂

食外源性蛋白数周后, 对注射该蛋白引起的严重过敏反应有预防作用, 并第一次称此现象为口服耐受(oral tolerance)。1946 年, 查斯(Chase)也报道了口服半抗原可导致机体对该半抗原免疫应答的抑制。但是这一简便而有效的免疫耐受诱导方法并未引起人们的重视。80 年代起, 由于相继建立了数种自身免疫病动物模型, 如实验性变态反应性脑脊髓膜炎(experimental allergic encephalomyelitis, EAE)、类风湿关节炎(adjuvant arthritis, AA)、实验性自身免疫性眼葡萄膜炎(experimental autoimmune uveoretinitis, EAU)等, 才极大地推动了口服耐受防治自身免疫病的研究, 其结果是直接促进了口服耐受在治疗人类自身免疫性疾病中的应用。

2. 口服耐受治疗自身免疫病的实验动物研究

1986 年, 汤姆森(Thompson)和安德森(Ander son)等分别报告给小鼠口服 II 型胶原成功地抑制胶原诱导性关节炎(CIA)。1988 年至 1992 年间, 威尼尔(Weiner)小组和怀特(Whitacre)小组通过口服耐受对实验性自身免疫性脑脊髓膜炎(EAE)的防治进行了系统的研究, 发现髓鞘碱性蛋白(MBP)是 EAE 的主要自身靶抗原, 口服 MBP 能有效地抑制 EAE 的发生。另外对发病的 EAE 大鼠, 口服 MBP 也能成功地通过诱发免疫耐受达到明显的治疗效果。此外, 在大鼠和小鼠的多种自身免疫性疾病模型中, 通过口服相应的自身抗原(II 型胶原、S-抗原、GAD、AChR)抑制了胶原性关节炎、眼葡萄膜炎、NOD 鼠糖尿病和重症肌无力等器官特异的自身免疫性疾病的发生。这众多的研究结果表明, 口服抗原诱导的免疫耐受是高度特异的, 而且是非常有效的, 并且所有动物口服耐受实验均未发现任何毒副及不良反应。因为上述自身抗原种属间同源性高, 因此在研究中自身抗原常取源于动物, 如 MBP 可取自牛、豚鼠和大鼠等。由于从动物神经组织中

提取抗原难以标准化,且研究发现,口服同种抗原诱导耐受的效果更好,因此用于治疗人类自身免疫病的抗原最好人源化。80年代以来,由于分子生物学技术的迅猛发展,基因工程技术日趋成熟,加之人类的某些自身靶抗原的基因及致病氨基酸序列(如致脑炎MBP片段的氨基酸序列及基因组成)已经阐明,为用基因重组和人工合成方法制备自身抗原肽段治疗自身免疫病以及自身抗原肽产业化生产奠定了基础。

3. 口服耐受的临床研究

口服耐受由于其简便易行、安全无毒及确切的疗效,于90年代开始应用于临床。目前口服自身抗原已用于临床治疗人类多发性硬化症(MS)、类风湿关节炎(RA)、眼色素层炎等自身免疫性疾病。1993年,威尼尔(Weiner)等采用双盲法给30例慢性复发性MS患者每天口服300mg牛髓磷脂或安慰剂,服用期为1年,结果发现治疗组病人外周血细胞中MBP反应性T细胞明显减少,同时出现了MBP特异的分泌TGF- β 的细胞,相当一部分治疗组病人病情稳定或得到改善,且未发现任何毒副作用。此外,60例RA病人口服鸡II型胶原或安慰剂,结果治疗组病人关节肿胀程度明显减轻。考虑到上述临床实验中所有受试者都是多年的慢性复发性病人,而且接受的均为单独口服自身抗原治疗,所以结果是相当令人满意的。上述试验结果在《科学》杂志上发表后,立刻引起世界各国免疫学家的的高度重视,一些国家投入巨额资金进行药物开发。目前美国正采用双盲法对500例MS病人(随机分组)进行III期临床实验,对280例RA患者进行口服耐受治疗的II期临床实验,对人类眼葡萄膜类、I型糖尿病、超敏反应等的临床治疗研究也在进行中。

4. 口服耐受的机理

口服抗原诱导耐受的形成涉及多种机制。目前研究表明,口服耐受机制主要包括主动细胞抑制、克隆失活和克隆排除。其决定性因素在于口服抗原的剂量。低剂量口服抗原通过主动抑制起作用,而高剂量抗原则主要诱导克隆失活和克隆排除。

(1) 主动抑制 许多研究表明主动抑制(active suppression)是口服耐受的一个重要机制。口服耐受诱导的成功得益于肠道具有诱导耐受形成的独特的特性,肠粘膜由肠相关淋巴组织(GALT)组成,它是发育良好的免疫网络,能够使机体免遭外来病原体的侵害,同时也能防止机体对消化吸收的蛋白质产生免疫应答。主动抑制是由肠相关淋巴组织(GALT)中的Peyer's结节产生的调节性T细胞介导的。最近的研究证明,口服抗原在GALT内可优先活化TH₂细胞,产生IL-4、IL-10等细胞因子。它们一方面辅助B细胞活化产生IgA类抗体参与肠道局部免疫;另一方面同时抑制介导自身免疫病

的TH₁细胞。此外,肠道淋巴组织中的淋巴细胞在口服抗原的刺激下,还可以产生具有强免疫抑制作用转化生长因子TGF- β ,抑制自身反应T细胞的作用。产生TGF- β 的细胞除CD₄⁺的T细胞外,还有某些CD₄⁺T细胞亚类。这些粘膜来源于主要分泌TGF- β 的CD₄⁺T细胞,它似乎是一种独立的T细胞亚群,为了与TH₁、TH₂细胞区分,有人称之为TH₃细胞,最终确定尚待深入研究。在肠道局部活化的TH₁细胞的调节性CD₄⁺T细胞,可迁移到全身各淋巴器官中,或迁移到特异的靶器官,通过释放非特异性抑制因子TGF- β 和IL-4、IL-10抑制自身反应性TH₁细胞的活化,阻止免疫病理反应的发生,称之为“旁观者抑制效应”(bystander suppression)。诱导“旁观者抑制效应”的抗原是特异的,而发挥效应则是非特异性的。这种口服抗原诱导免疫耐受的特点解决了在抗原设计中一个主要问题,即在疾病中的自身抗原可以并不清楚。由于某种自身免疫病可能涉及多种自身抗原,例如,在多发性硬化症(MS)患者中,已发现至少有3种髓磷脂抗原:MBP、PLP(蛋白脂蛋白)、MOG(髓磷脂少突脂质细胞糖蛋白)都参与自身免疫反应。在I型糖尿病中,有多种胰岛细胞抗原可能作为自身免疫应答的靶抗原,包括谷氨酸脱羧酶、胰岛素原和热休克蛋白(HCP)等。因为口服任何一种自身抗原产生的调节性T细胞都可迁移到自身抗原所在的病变部位,抑制自身反应性T细胞引起的病理作用。因此,“旁观者抑制效应”在口服耐受诱导方面具有重要的实际意义。

(2) 克隆失活或克隆排除 研究表明,口服高剂量抗原,可导致抗原特异的T细胞克隆失活(colone anergy)或克隆排除(colone deletion)。所谓克隆失活,就是指T淋巴细胞不能对相应的抗原产生免疫应答。在研究EAE中已证明高剂量口服耐受鼠体内有MBP特异性的T细胞克隆型存在,只是对MBP抗原不能产生应答,但在IL-2的作用下,这种自身反应性T细胞的失活状态可以逆转。最近有人报道在高剂量耐受鼠存在克隆排除机制,因为在这种情况下,即使给予外源IL-2也不能逆转耐受状态,表明MBP反应性淋巴细胞在高剂量耐受鼠中已被消除。口服高剂量抗原产生克隆排除的机制目前尚不完全清楚。

二、T细胞疫苗接种(TCV)与自身免疫性疾病

1. 原理

机体淋巴细胞通过抗原识别受体(TCR, BCR)上独特型决定基的相互识别而形成一个稳固的独特型调节网络,对自身耐受的维持起着重要作用。

一般认为, 在一个内环境稳定的机体中, 自身反应性 T 细胞受抗独特型 T 细胞的制约, 处在数量较少和活性低下的静止状态。由于种种原因, 当外来因素一旦打破这一内稳状态, 自身反应性 T 细胞逃脱了独特型网络的调节而异常活化, 可导致自身免疫病的发生。因此可以将自身反应性 T 细胞看作是引起自身免疫病的“病原体”, 它们被灭活后可作为疫苗用于自身免疫病的防治, 这一过程与传统预防感染性疾病的疫苗相似, 故称为 T 细胞疫苗接种(T cell vaccination, TCV)。其机制可能是将自身反应 T 细胞在体外进一步活化并灭活后, 注入患病动物体内, 激发强有力的抗独特型 T 细胞, 从而重新将自身反应 T 细胞置于强大的独特型网络的控制之下, 达到治疗自身免疫病的效果。

2. TCV 动物实验的证实

T 细胞疫苗接种的实验研究首先在 EAE 动物模型中获得成功。1981 年, Bun- nun 等在 EAE 鼠分离到一株 MBP 特异的 T 细胞克隆(Zla), 用某种方法(如 X 射线、静水压、戊二醛或丝裂霉素 C)处理细胞可将该致病性 T 细胞克隆灭活, 观察到这些 MBP 特异 T 细胞疫苗接种正常动物后发挥出对诱导 EAE 的预防作用。在实验性甲状腺炎(EAT)、佐剂性关节炎等 T 细胞介导的疾病模型中, 不但观察到 TCV 的预防作用, 而且结果还显示出自身反应性 T 细胞接种对这些自身免疫性疾病具有明显的治疗作用。同时研究发现, 只有用 MBP 特异的 T 细胞接种, 才能诱导对 EAE 的预防作用, 若用其它抗原特异性 T 细胞接种则无效, 显示了这种 T 细胞疫苗诱导耐受的特异性。

3. T 细胞疫苗接种的临床观察

T 细胞疫苗接种已用于临床治疗 MS 和 RA。瓦拉勒(VanLaar)等报道了从 RA 患者关节滑液中分离的 T 细胞疫苗, 用于治疗 13 例 RA 患者, 观察到部分患者症状及其它实验室指标, 如类风湿因子等都有较明显的改善。臧敬伍等近期报道 6 名 MS 患者接种经过照射的 MBP 特异性 T 细胞后, 可使循环的 MBP 特异性 T 细胞数量迅速降低。3 次接种后, 病人中已测不到 MBP 特异性 T 细胞, 也就是说自身反应性 T 细胞已被完全清除。而且, 病人中循环 MBP 特异性 T 细胞的消除是特异性的, 因为在同样时间内其它 T 细胞如破伤风毒素特异性 T 细胞的数量并没有显著改变。MBP 特异性的 T 细胞的体内消除可能与抗克隆型 T 细胞的直接效应有关, 因为从接种病人中分离出来的 CD₈ 细胞毒性 T 细胞, 可特异地杀伤用于接种的克隆, 这是对 T 细胞疫苗作用机理的一个新的认识。初步临床应用表明 T 细胞接种技术上可行, 对人体无毒副作用, 具有临床应用可行性。虽然目前的 I 期临床实验因病人

数量有限, 尚不能作出有关疗效的定论, 但其结果为下一步的双盲性临床实验, 即对数量更多和处在不同阶段的病人进行治疗打下了基础。

三、联合诱导免疫耐受防治
自身免疫病

尽管口服耐受和 TCV 在动物实验和临床验证中都取得了可喜进展, 但最终真正将它们应用于临床仍存在诸多问题。首先诱导口服耐受时, 即使反复大量的口服耐受原, 所产生的耐受作用通常也不是完全的, 而且在已经发生自身免疫病的宿主诱导耐受相对比较困难。至于 TCV 其诱导免疫耐受的作用也还需进一步深入研究, 如 TCV 免疫的途径、量、次数, T 细胞的活化、灭活, 免疫原性增强等与免疫效应有关的指标还有待全面考察。因此, 如何将免疫耐受的治疗策略更有效地付诸临床实施, 即制定一个最佳的免疫耐受诱导方案已成为当前该领域研究的焦点。

基础免疫学研究表明, 免疫系统对自身耐受稳定的维持是一个多机制共同起作用的过程, 免疫网络调节是由多种细胞、细胞因子和抗体等共同参与的。单一细胞因子调节网络或单一克隆型调节网络机制尚不能获得足够深度持久的免疫耐受。我们的实验结果也证明了这一点, 我们分别通过口服 MBP 诱导耐受和 T 细胞疫苗接种诱导耐受防治 EAE, 均获得与国外相似的结果, 但口服耐受组仍有近 30% 的动物发病, T 细胞接种组有 40% 的动物未诱导成功。因此若将口服耐受和 T 细胞疫苗接种耐受诱导法联合应用, 加深耐受深度, 理论上会达到更有效地治疗自身免疫病的效果。目前我们设计的这种联合诱导免疫耐受治疗 EAE 的研究正在进行中。

四、结 语

诱导机体对自身抗原特异性的免疫耐受是治疗自身免疫病理想的方法。10 多年来, 大量的基础和临床研究证明, 口服耐受具有简便、无毒及特异性好等优点; T 细胞疫苗接种也是临床简便易行的方法。为了进一步全面评价免疫耐受诱导在自身免疫病治疗中的效果, 为临床提供一个最适宜、合理、方便和有效的治疗方法, 继续有组织地开展大样本的、多方案的临床综合研究是非常必要的。免疫耐受的基础及应用研究已成为当代生物医学研究的前沿领域之一。开展多途径联合应用诱导免疫耐受不但可进一步证明自身免疫病的特异治疗的可能性, 而且具有直接的临床应用前景, 在理论上和实践上都有重要意义。 (责任编辑 肖庆山)