

眼眶成纤维细胞与甲状腺相关眼病研究进展

代佳灵, 何为民

基金项目:四川省科技计划项目资助(No. 2013SZ0029);成都市科技惠民项目资助(No. 2014-HM01-00142-SF)
作者单位:(610000)中国四川省成都市,四川大学华西医院眼科
作者简介:代佳灵,在读硕士研究生,研究方向:眼眶病。
通讯作者:何为民,博士,教授,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:眼眶病、眼病理、眼肿瘤. hewm888@hotmail.com
收稿日期:2015-03-09 **修回日期:**2015-05-12

Research advances of orbital fibroblasts and thyroid associated ophthalmopathy

Jia-Ling Dai, Wei-Min He

Foundation items: Science and Technology Planning Project of Sichuan Province (No. 2013SZ0029); Chengdu Huimin Projects of Science and Technology (No. 2014-HM01-00142-SF)
Department of Ophthalmology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610000, Sichuan Province, China
Correspondence to: Wei-Min He. Department of Ophthalmology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610000, Sichuan Province, China. hewm888@hotmail.com
Received:2015-03-09 **Accepted:**2015-05-12

Abstract

• The pathogenesis of Thyroid associated ophthalmopathy is not fully clear. Thyroid associated ophthalmopathy is lack of sustained and effective drug treatment at present. As target cells and effect cells, orbital fibroblasts are involved in the pathological processes of remodeling, inflammation and immune response in orbit tissue. The present review focuses on the study of orbital fibroblasts in the pathogenesis of thyroid related ophthalmopathy, discusses the future orientation in this field of treatment.
• **KEYWORDS:** thyroid associated ophthalmopathy; orbital fibroblasts; autoimmune

Citation: Dai JL, He WM. Research advances of orbital fibroblasts and thyroid associated ophthalmopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(6):1003-1005

摘要

甲状腺相关眼病的发病机制尚不完全清楚,临床缺乏确实有效的治疗方法。眼眶成纤维细胞作为靶细胞和效应细胞参与了自身免疫、炎症反应和组织重塑等多个病理过程。我们就眼眶成纤维细胞在甲状腺相关眼病发病机制中的作用的研究进展做一综述,并讨论该领域治疗研究方向。
关键词: 甲状腺相关眼病;眼眶成纤维细胞;自身免疫反应
DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.6.17

引用:代佳灵,何为民.眼眶成纤维细胞与甲状腺相关眼病研究进展.国际眼科杂志 2015;15(6):1003-1005

0 引言

甲状腺相关眼病(thyroid associated ophthalmopathy, TAO)是一种特异性自身免疫性疾病,与Graves病(Graves' disease, GD)密切相关^[1]。TAO的发病与炎性细胞在眼眶的浸润及眼眶组织自身抗原引起的自身免疫反应有关^[2],眼眶成纤维细胞(orbital fibroblasts, OF)是TAO自身免疫的主要靶细胞和效应细胞^[3],在TAO的发病中起了重要作用。

1 OF与自身抗原

目前发现的可能与TAO发病机制相关的自身抗原包括促甲状腺激素受体(thyroid stimulating hormone receptor, TSHR)、胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R)^[4]、肌细胞膜蛋白(G2s)、甲状腺球蛋白(thyroglobulin, TG)、肌集钙蛋白、甲状腺过氧化物酶(thyroid gland thyroidea TPO)、乙酰胆碱酶(ACHase, AChE)^[5]、线粒体琥珀酸脱氢酶黄素蛋白、成纤维细胞抗原等。

1.1 OF与TSHR 众多研究提示TSHR是甲状腺与眼眶组织之间的共同抗原。Heufelder等发现OF由TSHR RNA编码^[4],TSHR在OF的细胞核及核周围有强烈的免疫荧光特异性染色^[6],随着OF向脂肪细胞的分化,TSHR的表达也随之增多^[7],且体外刺激分化为脂肪细胞的OF上TSHR mRNA表达水平远高于没有刺激分化的OF^[8]。目前研究显示,OF的一个亚群—CD34⁺成纤维细胞产生大量的功能性TSHR,功能性TSHR与配体结合后,会产生几种不同极高水平的炎性因子,TSH诱导此类成纤维细胞产生IL-6和TNF- α ,提示TSHR途径参与了眼眶炎症反应。TSHR还可以刺激OF产生HA及cAMP等,故小分子TSHR拮抗剂有望在将来用于TAO的治疗及预防^[9]。

1.2 OF与IGF-1R 现已提出将IGF-1R作为第二种自身抗原。IGF-1R属于酪氨酸蛋白激酶受体家族,是一种细胞表面的跨膜蛋白,可被IGF-1及IGF-2激活,其过度表达可能与多发性硬化、克罗恩病、肺纤维化等恶性肿瘤及自身免疫性疾病发病相关^[4]。大部分的GD患者体内可以检测到抗IGF-1R的抗体,而正常人体内少有发现^[10],Smith等^[4]发现GD患者来源的OF高表达IGF-1R,且TAO患者OF上IGF-1R的表达水平高于正常人眼眶组织^[6],TAO患者眼外肌表面及眼眶脂肪细胞上可检测到IGF-1的免疫活性。Weightman等发现Graves'病患者血清分离的IgG(GD-IgG)可以替换IGF-1与OF表面上的位点结合^[2],IGF-1或GD-IgG可激活TAO患者来源的IGF-1R⁺的OF,从而激活Akt/FRAP/mTOR/P70s6k通道诱导OF上IL-16和RANTES的表达,促进T细胞趋化因子的合成,引起T淋巴细胞的炎性浸润和HA的产生^[4],这些都表明IGF-1R可能作为第二抗原参与了GD的发展。另外,有报道显示,IGF-1R与TSHR的下游信号

有大量重叠,且抗 IGF-1R 的单克隆抗体可以阻断 IGF-1R 的信号传导,及减弱 TSHR 通路的下游信号,减轻 TSH 引起的炎症反应,提示 IGF-1R 参与了 TSHR 信号传导,并且 IGF-1R 与 TSHR 可能形成了一个复杂的功能复合体,在 GD 相关的异常信号传导方面起着协同作用^[11]。

1.3 OF 与其他相关的自身抗原 TAO 患者眼外肌的水肿及炎症反应可以引起限制性斜视,以下直肌受累最常见^[2]。Graves 病患者体内可检测到眼外肌抗原,且浓度与眼外肌的病变程度有对应关系^[5],但在 OF 上未证实有表达。TAO 患者的眼外肌细胞在细胞因子的刺激下能分泌 CXCL10 和 CCL2 等趋化因子,此过程由 PPAR γ 调节^[12]。甲状腺球蛋白(Tg)由甲状腺滤泡上皮细胞分泌,Marin δ 等发现眼眶组织及 TAO 患者 OF 有 Tg 的表达,Fernando 等^[13]还发现 CD34⁺ 的成纤维细胞不仅表达功能性 TSHR,同时还表达 Tg,导致 GD 患者眼眶 Tg 的积累,提出 Tg 作为眼眶抗原的可能。胶原蛋白 XIII 是成纤维细胞膜蛋白,其在 OF 细胞膜上的过度表达可能会导致纤维母细胞纤维化及糖胺聚糖增加,血清中胶原蛋白 XIII 的抗体水平与 TAO 的症状严重程度相关。肌集钙蛋白在 TAO 患者的阳性抗体检测率远高于正常人,和抗胶原 XIII 抗体一起,是 TAO 的特异性标志抗体^[12,14]。抗 ACHE 抗体曾在 TAO 患者体内被发现,但是目前认为,抗 ACHE 抗体与抗 Tg 抗体,抗 TPO 抗体水平与 TAO 患者病情的活动度无明显关系^[5]。

2 OF 的效应功能

2.1 OF 与透明质酸的生成 糖胺聚糖(glycosaminoglycan)是细胞间质组成成分,能够结合大量水分,其在眼眶组织中的大量积累会导致眶组织水肿及眼外肌肌腹增粗。透明质酸(hyaluronic acid,HA)是糖胺聚糖的一类,以 D-N-乙酰氨基葡萄糖、D-葡萄糖醛酸为结构单元,HA 的合成与 HAS1, HAS2 和 HAS3 等三种透明质酸合成酶和 UDP-葡萄糖脱氢酶(UGDH)有关^[15],Tsui 等^[16]发现在基因转录因子 Sp1 的作用下,OF 具有更多的 UGDH 基因启动子活性和更丰富的 UGDH mRNA,可以表达高水平的 UGDH 以催化糖胺聚糖形成,导致 HA 的积累。体外培养的 OF 可以被 IL-1 β , 干扰素 γ 、白调素(Leukoregulin)、CD154(9, 3, 52, 53)等炎症因子激活,产生大量 HA^[4],且不能被 OF 降解,但糖皮质激素可以抑制这类细胞因子引起的 OF 上 HA 的产生。Van 等^[15]发现用 IL-1 β 刺激未分化的 OF,可以诱导 cAMP 的产生,引起三种亚型的 HAS mRNA 表达,促进 HA 的合成,说明 IL-1 β 在 TAO 早期免疫反应中对糖胺聚糖的产生有重要作用,他们同时还发现腺苷酸环化酶可以促进 HA 在 OF 的积累及 HAS1 和 HAS3 mRNA 的编码。有研究提到,TSHR 的激活可以促进 OF 合成 HA,Guo 等^[17]发现,肥大细胞产生的一种前列腺素 PGD₂ 可通过 PD1 的介导影响 OF 透明质酸的产生。最新的研究显示,被 TSH 及 IGF-1 协同刺激的 OF 产生的 HA 远远高于 TSH、IGF-1 单独刺激 OF 时的 HA 分泌量,单克隆的 GD-IgM22 可以刺激 OF/前脂肪细胞分泌 HA,这一作用与 IGF-1 和 TSH 之间的信号通路交叉有关,这种交叉作用依赖于 TSHR 的激活,以与 IGF-1R 一起协同参与 HA 的分泌^[18]。

2.2 OF 与眼眶脂肪的生成 眼外肌的增粗及眶脂肪组织的增加是 TAO 患者眶内容物体积增大,眼球突出的重要原因。Regensburg 等^[19]发现 25% 的 TAO 患者有眼外肌增粗、眼眶脂肪增生,其中 14% 的 TAO 患者表现为以眼球突

出为特征的脂肪体积的增加,所以相对于眼外肌增粗而言,眶脂肪容积的增加对 TAO 患者眼球突出严重程度影响更大。增多的眶脂肪主要来源于 OF 一个亚型-CD₉₀ 成纤维细胞分化,PPAR γ 是其向脂肪细胞分化的一个重要触发器^[8]。随着前脂肪细胞不断向脂肪细胞的分化,功能性 TSHR 的表达也随之增加^[5],被激活的 T 淋巴细胞可识别 TSHR,产生环氧化酶-2 和前列腺素,进一步促进 OF 分化为脂肪细胞^[20],继而启动一系列免疫反应。另有研究显示,低氧可以诱导 OF 向脂肪细胞分化,可能提示了吸烟会加重 TAO 病情的原因^[21]。

2.3 OF 与细胞因子 TAO 患者的眶脂肪组织及眼外肌有大量的 T、B 淋巴细胞、单核细胞、肥大细胞等炎细胞浸润^[1],它们可产生大量的细胞因子。TAO 患者 OF 上有多种细胞因子和生长因子的受体^[22],对炎性细胞因子非常易感^[3],TAO 许多炎症反应都与 T 淋巴细胞产生的细胞因子作用于 OF 有关。Hwang 等^[23]发现在 IFN γ 的作用下,TAO 来源的 OF 可以表达更高水平的 CD40,这种作用可以被地塞米松阻断,而 CD154 则可以促进 TAO 患者 OF 上 IL-6, IL-8 和 MCP-1 的表达,IL-1 β 也有类似作用。OF 在 IL-1 β 的刺激下还可以通过 IGF-1R 旁路产生 IL-16 及 RANTES^[24,25],引起 T 淋巴细胞浸润,促进炎性细胞因子在眼眶组织内过量表达和积累。细胞因子和受体在 OF 上的差异性表达可以作为 TAO 治疗的研究方向。

2.4 OF 与炎性介质和黏附分子 在细胞因子的刺激下,OF 可以表达高水平的前列腺素、脂氧合酶、趋化因子等炎性介质,从而启动一系列炎症反应。前列腺素 E₂(PGE₂) 可以影响 B 淋巴细胞的分化及肥大细胞脱颗粒,还促进幼稚 T 淋巴细胞向 Th2 分化,过量的 PGE₂ 产生可能是 OF 的一种自分泌过程,并与眼眶组织产生炎症反应和免疫应答有关。黏附分子介导了细胞之间的接触和黏附,并且与白细胞的聚集迁移等有关^[26]。在 IL-1 α 、TNF- α 、IFN- γ 等细胞因子的刺激下,OF 可以表达高水平的 ICAM-1, CD54 等细胞间黏附分子^[22],引起单核细胞的浸润。有报告显示 TAO 患者体内细胞内黏附分子(intracellular adhesion molecule-1, ICAM-1)具有基因多态性,提示 TAO 的发病可能与遗传相关。同时活动期 TAO 患者体内血清 ICAM-1 增高,ICAM-1⁺ 结膜上皮细胞可以作为活动期 TAO 患者局部炎症标志物^[27]。

3 OF 与骨髓来源的纤维细胞

最近有研究显示,TAO 患者外周血中循环纤维细胞数量增加,这些细胞表达细胞表面抗原 CD34,并能浸润眼眶结缔组织中,成为 TAO 患者 OF 的一个亚群-CD34⁺ 成纤维细胞,这些细胞来源于骨髓中的单核细胞和 B 淋巴细胞谱系,参与受伤组织的炎症反应、伤口愈合及组织重塑^[1,28],还表达趋化因子受体(CXCR4)、I 型胶原蛋白、IGF-1R 及功能性 TSHR,其分泌的功能性 TSHR 与 bTSH 或 M22 结合后,产生极高水平的 IL-6, IL-8, IL-1 β , TNF- α 等细胞因子^[1,29,30,31]。Fernando 等提出 CD34⁺ 成纤维细胞可表达高水平的 Tg 及 TSHR。这些纤维细胞还可以浸润 Graves 病患者的甲状腺,提示纤维细胞可能是联系 TAO 与 Graves 病的一个桥梁^[28,31,32]。Graves 病患者循环血中纤维细胞的大量存在以及向眼眶组织的迁徙浸润,均提示了成纤维细胞在 TAO 的病程发展中可能有重要作用。

4 OF 与 TAO 的治疗

糖皮质激素、环孢素、放疗等对 TAO 的治疗效果有限,抑制细胞因子活性是其治疗的新靶点。抗 IGF-1R 单

克隆抗体 Teprotumumab 可以抑制 OF 产生 IL-6, IL-8, 减轻 TAO 炎症反应^[33], 抗 CD20 抗体利妥昔单抗可以降低 TAO 患者 IGF-1R⁺T 细胞率及 CAS 评分^[34], 其他药物如抗 CD52 抗体阿伦单抗、TNF- α 抑制剂阿达木单抗、IL-6 及 IL-17 受体阻滞剂、小分子 TSHR 拮抗剂、PPAR γ 抑制剂等也成为未来 TAO 的治疗研究方向。

5 小结

OF 是 TAO 眼眶病变主要的靶细胞和效应细胞, 在 TAO 的病变发展过程中表现出了复杂的生物活性, 它不仅识别自身抗原, 分泌细胞因子和炎症介质, 还产生糖胺聚糖, 向脂肪细胞转化。OF 在眼眶组织免疫反应、炎症反应、结构重塑方面起了重要作用, 对 TAO 发病机制和治疗方法的研究具有指导意义。

参考文献

- 1 Wang Y, Smith TJ. Current concepts in the molecular pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(3):1735-1748
- 2 Kohm AP, Williams JS, Bickford AL, et al. Treatment with nonmitogenic anti-CD3 monoclonal antibody induces CD4⁺ T cell unresponsiveness and functional reversal of established experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2005;174(8):4525-4534
- 3 Bahn RS. Graves' Ophthalmopathy. *N Engl J Med* 2010;362(8):726-738
- 4 Smith TJ, Hegedüs L, Douglas RS. Role of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) pathway in the pathogenesis of Graves' orbitopathy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2012;26(3):291-302
- 5 Naik VM, Naik MN, Goldberg RA, et al. Immunopathogenesis of thyroid eye disease: emerging paradigms. *Surv Ophthalmol* 2010;55(3):215-226
- 6 Shanli T, Vibha N, Neil H, et al. Evidence for an association between TSH and IGF-1 receptors: A tale of two antigens implicated in Graves' disease. *J Immunol* 2008;181(6):4397-4405
- 7 Omid K, Sina N, Armin R, et al. Graves' ophthalmopathy: a review of immunogenetics. *Curr Genomics* 2011;12(8):564-575
8. van Zeijl CJ, Fliers E, van Koppen CJ, et al. Thyrotropin receptor-stimulating Graves' Disease immunoglobulins induce hyaluronan synthesis by differentiated orbital fibroblasts from patients with Graves' Ophthalmology not only via cyclic adenosine monophosphate signaling pathways. *Thyroid* 2011;21(2):169-176
- 9 Turcu AF, Kumar S, Neumann S, et al. A small molecule antagonist inhibits thyrotropin receptor antibody-induced orbital fibroblast functions involved in the pathogenesis of Graves ophthalmopathy. *Endocrine* 2013;98(5):2153-2159
- 10 Douglas RS, Gianoukakis AG, Kamat S, et al. Aberrant expression of the Insulin-like growth factor-1 receptor by T Cells from patients with Graves' disease may carry functional consequences for disease pathogenesis. *J Immunol* 2007;178(5):3281-3287
- 11 Tsui S, Naik V, Hoa N, et al. Evidence for an association between thyroid-stimulating hormone and insulin-like growth factor 1 receptors: a tale of two antigens implicated in Graves' disease. *J Immunol* 2008;181(1):4397-4405
- 12 Alessandro A, Ferrari SM, Corrado A, et al. Extra-ocular muscle cells from patients with Graves' ophthalmopathy secrete α (CXCL10) and β (CCL2) chemokines under the influence of cytokines that are modulated by PPAR γ . *Autoimmunity Reviews* 2014;13(11):1160-1166
- 13 Fernando R, Atkins S, Raychaudhuri N, et al. Human fibrocytes coexpress thyroglobulin and thyrotropin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109(19):7427-7432
- 14 Gopinath B, Musselman R, Adams CL, et al. Study of serum antibodies against three eye muscle antigens and the connective tissue antigen collagen XIII in patients with Graves' disease with and without ophthalmopathy: correlation with clinical features. *Thyroid* 2006;16(10):967-974

- 15 van Zeijl CJ, Fliers E, van Koppen CJ, et al. Effects of thyrotropin and thyrotropin-receptor-stimulating Graves' disease immunoglobulin G on cyclic adenosine monophosphate and hyaluronan production in nondifferentiated orbital fibroblasts of Graves' ophthalmopathy patients. *Thyroid* 2010;20(5):535-544
- 16 Tsui S, Fernando R, Chen B, et al. Divergent Sp1 levels may underlie differential expression of UDP glucose dehydrogenase by fibroblasts: Role in susceptibility to orbital Graves' disease. *J Biol Chem* 2011;286(27):24487-24499
- 17 Guo N, Bagloli CJ, O'Loughlin CW, et al. Mast cell-derived prostaglandin D2 controls hyaluronan synthesis in human orbital fibroblasts via DP1 activation: implications for thyroid eye disease. *J Biol Chem* 2010;285(21):15794-15804
- 18 Krieger CC, Neumann S, Place RF, et al. Bidirectional TSH and IGF-1 receptor cross talk mediates stimulation of hyaluronan secretion by Graves' disease immunoglobulins. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100(3):1071-1077
- 19 Regensburg NI, Wiersinga WM, Berendschot TTJM, et al. Do subtypes of graves' orbitopathy exist? *Ophthalmology* 2011;118(1):191-196
- 20 Feldon SE, O'Loughlin CW, Ray DM, et al. Activated human T lymphocytes express cyclooxygenase-2 and produce proadipogenic prostaglandins that drive human orbital fibroblast differentiation to adipocytes. *Am J Pathol* 2006;169(4):1183-1193
- 21 Chng CL, Lai OF, Chew CS, et al. Hypoxia increases adipogenesis and affects adipocytokine production in orbital fibroblasts - a possible explanation of the link between smoking and Graves' ophthalmopathy. *Int J Ophthalmol* 2014;7(3):403-407
- 22 Smith TJ. Insights into the role of fibroblasts in human autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol* 2005;141(3):388-397
- 23 Hwang CJ, Afifiyan N, Sand D, et al. Orbital fibroblasts from patients with thyroid-associated ophthalmopathy overexpress CD40: CD154 hyperinduces IL-6, IL-8, and MCP-1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(5):2262-2268
- 24 Smith TJ, Tsai CC, Shih MJ, et al. Unique attributes of orbital fibroblasts and global alterations in IGF-1 receptor signaling could explain thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid* 2008;18(9):983-988
- 25 Wiersinga WM. Autoimmunity in Graves' ophthalmopathy: the result of an unfortunate marriage between TSH receptors and IGF-1 receptors? *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(8):2386-2394
- 26 Griepentrog CJ, Garrity JA. Update on the medical treatment of Graves' ophthalmopathy. *Int J Gen Med* 2009;2:263-269
- 27 Park YH, Park YG. Elevated percentage of HLA-DR⁺ and ICAM-1⁺ conjunctival epithelial cells in active Graves' orbitopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2014;52(4):641-645
- 28 Douglas RS, Afifiyan NF, Hwang CJ, et al. Increased generation of fibrocytes in thyroid-associated ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(1):430-438
- 29 Li B, Smith TJ. Regulation of IL-1 receptor antagonist by TSH in fibrocytes and orbital fibroblasts. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(4):E625-633
- 30 Douglas RS, Mester T, Ginter A, et al. Thyrotropin receptor and CD40 mediate interleukin-8 expression in fibrocytes: implications for thyroid-associated ophthalmopathy. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2014;112:26-37
- 31 Gillespie EF, Papageorgiou K, Fernando R, et al. Increased expression of TSH receptor by fibrocytes in thyroid-associated ophthalmopathy leads to chemokine production. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(5):E740-746
- 32 Smith TJ. TSH-receptor-expressing fibrocytes and thyroid-associated ophthalmopathy. *Endocrinology* 2015;11(3):171-181
- 33 Chen H, Mester T, Raychaudhuri N, et al. Teprotumumab, an IGF-1R blocking monoclonal antibody inhibits TSH and IGF-1 action in fibrocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(9):E1635-1640
- 34 McCoy AN, Kim DS, Gillespie EF, et al. Rituximab (Rituxan) therapy for severe thyroid-associated ophthalmopathy diminishes IGF-1R(+) T cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(7):E1294-1299