

metrial carcinoma[J]. Gynecol Oncol, 2007, 104(2): 324-325.

[21] Pallares J, Martínez-Guitarte JL, Dolcet X, et al. Survivin expression in endometrial carcinoma: a tissue microarray study with correlation with PTEN and STAT-3[J]. Int J Gynecol Pathol, 2005, 24(3): 247-253.

[22] 汪欣, 杨军. Survivin 特异性 RNAi 表达载体的构建及其干扰效果鉴定[J]. 重庆医学, 2009, 38(14): 1760-1761.

[23] 邓开. Survivin 基因在肿瘤中的研究进展[J]. 重庆医学, 2008, 37(10): 1111-1113.

(收稿日期: 2010-11-18 修回日期: 2011-03-12)

· 综 述 ·

强直性脊柱炎基础研究进展

张莹综述, 初同伟 审核

(第三军医大学新桥医院骨科, 重庆 400037)

关键词: 强直性脊柱炎; 易感基因; 基因定位

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.19.036

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)19-1957-03

强直性脊柱炎(AS)在炎症性关节炎中占第 2 位, 主要侵犯中轴骨骼, 以骶髂关节炎为标志, 几乎全部累及骶髂关节、肋椎关节、脊柱关节及周围组织, 多以腰骶部不适为首发症状, 晚期可因椎间盘纤维环钙化、骨性融合及其附近韧带钙化形成脊柱强直。目前, AS 病因尚不清楚, 其发生与遗传、慢性感染、自身免疫功能紊乱和内分泌失调等有关, 特别是遗传因素与该病关系尤为密切。目前发现除了人类白细胞抗原-B27(HLA-B27)以外, 尚有人类白细胞抗原(HLA)区域内的其他易感基因的参与^[1]。

1 与强直性脊柱炎致病的相关基因

与强制性脊柱炎相关的致病基因, 目前可分为主要组织相容性复合体(major histobility complex, MHC)和非 MHC 两类。MHC 主要以 HLA-B27 及其亚型、人类白细胞抗原-B60(HLA-B60)、人类白细胞抗原-DR(HLA-DR)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等基因为代表, 非 MHC 类最具代表性的为白介素家族, 包括白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-10、IL-6。其中 IL-1 家族基因定位已鉴定, 以白介素受体拮抗基因(interleukin-1 receptor antagonist gene, IL-1RN) VNTR 等位基因为代表。

1.1 HLA 区域内的基因

1.1.1 HLA-B27 HLA-B27 基因是人类 HLA-I 类分子 B 位点上的等位基因, 它位于第 6 号染色体短臂上, HLA-B27 具有血清特异性, 至少包含 31 个密切相关的等位基因^[2], 主要通过 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 和 $\alpha 3$ 结构域的共 1~8 个氨基酸的变化而相互区别。HLA-B27 一直是 AS 的病因中最重要的基因。有研究表明, AS 的 HLA-B27 阳性个体一级亲属患病的风是无家族史的 6~16 倍^[3]。

HLA-B27 有很多亚型, 其在不同的种族和人群中频率是不相同的, 但所有的亚型都似乎与 AS 发病相关联。其中 B2705 是目前分布最广泛的 B27 亚型, 在南美洲 Cipriani 等^[4]对委内瑞拉苏里亚混血儿 AS 患者($n=48$) HLA-B27 基因外显子 2 和 3 血清型 B2705 的检出率为 68.8%。而对于亚洲人, B2704 是主要的亚型, 印度 AS 患者($n=51$) B2704 亚型检出率为 34%^[5]。崔刘福等^[6]报道中国唐山地区人群($n=66$)中 B2704 检出率为 58.5%; 林剑浩等发现 AS 患者($n=154$) B2704 亚型检出率为 54.8%。检测 B27 亚型多采用特异性引物聚合酶链反应技术(PCR-SSP)进行了 HLA-B27 亚型基因检测^[7]。

目前对 AS 与 HLA-B27 关联性和其发病机制还有如下几种假说。(1)致关节炎多肽递呈假说: B27 亚型可特异性地结合某些抗原肽, 又叫致关节炎多肽, 它们激活 CD8+CTL 细胞, 该细胞识别 AS 患者关节组织中与致关节炎多肽结构相似的关节多肽, 从而导致炎症^[8]。(2)HLA-B27 蛋白错误折叠假说: Saleki 等^[9]认为, 细胞内氧化还原环境可以改变 HLA-B27 亚型的结构状态, 造成 B27 重链的错误折叠。这种错误折叠蛋白可被细胞当成胞内或胞外的一种聚集物进行处理, 这些聚集物通常是有害的并可能会引起单核细胞主导的非特异性炎症反应。同时也有研究认为, B27 分子的错误折叠与肠内炎症密切相关, 但是它们对 AS 的发生不是至关重要的^[10]。(3)细菌感染假说: 细菌感染与 HLA-B27 之间的作用可能是 AS 发病机制的一个关键因素, 如弯曲杆菌属、衣原体属和志贺菌属等^[11]。

1.1.2 其他 HLA 区域内的基因 HLA-B60 被认为是仅次于 HLA-B27 独立的 AS 易感基因。1989 年 Robinson 等在 HLA-B 基因区寻找非 HLA-B27 的 AS 易感基因时发现, 与正常对照相比, HLA-B60 在 HLA-B27 阳性 AS 中显著增高, HLA-B60 可使 HLA-B27 阳性个体的 AS 易感性增加 3 倍。2004 年在中国台湾的研究也发现: HLA-B60 和 B61 独立与 HLA-B27 与 AS 强相关^[12]。Said-Nahal 等^[13]在 2002 年对 70 例法国 SpA 家系研究中发现, SpA 患者中 DR 4 等位基因比 HLA-B27 阳性健康同胞有明显的异常传递, 其余的 DR 等位基因未见这种异常, 这提示 SpA 患者 DR4 的传递可能不依赖 HLA-B27 而独立进行, 进一步说明了 HLA-DR 也是 AS 的易感基因。

TNF- α 是巨噬细胞分泌的一种重要的免疫调节因子, 定位在 6 号染色体短臂 HLA-III 类区域, 在炎症反应、免疫调节中起重要作用。大量研究表明 TNF- α 可能与 AS 的发病机制有关。研究发现 AS 患者骶髂关节滑液中含有大量的 TNF- α mRNA; 使用抗 TNF- α 抗体及 TNF- α 受体拮抗药治疗后, AS 患者的症状得到迅速改善和控制。陈蕊雯等^[14]在 TNF- α 与 AS 相关性研究中发现, TNF- α -857 C/T(rs 1799724)在等位基因、基因型及其单倍型分布频率上存在显著性的差异。说明 TNF- α 很有可能是独立于 HLA-B27 对 AS 易感。

1.2 非 HLA 区域内的基因 在 HLA-B27 阳性个体中只有 1%~5% 发展成为 AS, 并且越来越多的证据表明还有其他基因与 AS 的发病相关。通过全基因组扫描筛选鉴定了 6 种非

MHC 区域与 AS 连锁。这些区域定位在 1p、2q、9q、10q、16q、19q,其中白介素-1 家族编码染色体为 2q14。Kim 等^[15]发现 IL-1B 基因上的 +3953 和 -511 上位点的多态性与 AS 发病无关,此结论与 M. vander 相同。M. vander 观察到与当地对照相比 IL-1RN 显著升高($OR=1.60, 95\%CI=1.20\sim 2.80, P=0.031$),除此之外,McGarry 等^[16]发现在 IL-1B 基因上的 -889 和 -511 位点上的多态性与 AS 发病无关,与当地对照相比 IL-1Ra 携带等位基因有显著的升高。另外观察发现,VEGF、MICA 基因、TGFB1 T869C 和 TGFB1 G915C、细胞色素 P450 1A1、LMP2、LMP7、TAP1 和 TAP2、HSP70、TNF-376 位点都与 AS 发病无关。

2 强直性脊柱炎易感基因的研究和定位方法

2.1 AS 的动物模型研究 1990 年,Hammer 等^[17]用含 HLA-B2705 基因的 6.5 kb 的 EcoR 片段和含人类 β_2 微球蛋白(β_2m)基因的 15 kb 的 Sau2PvuI 片段分别转入 LEW 系的 21-4H 鼠和 F344 系的 33-3 鼠系的受精卵中,成功地培养出表达 HLA-B27 和人类 β_2 微球蛋白(β_2m)的转基因鼠,且自发地形成累及肠道、外周和脊椎关节、雄性生殖道、皮肤、指甲和心脏的炎症性疾病,这种多系统的疾病表现与 B27 相关的人类疾病有惊人的相似性,证实了 B27 在脊柱阴性关节病中的重要作用。随后,Taugog 等在此模型基础上分析 B27 表达在细胞表面的情况,发现 B27 表达水平越高,形成自发性炎症疾病的可能性越大。

2.2 AS 全基因组扫描分析 1998 年,Brown 等^[1]率先运用 259 个微卫星标记,在含有 121 个患病同胞对的 105 个英国高加索白人系进行全基因组扫描。连锁分析发现,位于 HLA-III 类区域的微卫星标记 D6S273 与 AS 有关($LOD=3.8$),紧邻 TNF 基因距 B 位点着丝粒端 300 kb 处的微卫星标记 82-2 有较高的 LOD 值(8.1),结果证实了 HLA 是与 AS 相关的重要区域。Laval 等在 Brown 研究的基础上通过增加微卫星标记和患病同胞对数再次作全基因组扫描和连锁分析,显示 HLA 区域是 AS 最主要的易感位点。2004 年,Zhang 等对含有 244 个患病同胞对的 180 个欧洲起源的家系进行全基因组扫描,发现非 HLA 区的 6q 和 11q 也存在 AS 易感位点。Gu 等^[18]对中国上海 9 个 AS 家系的进行全基因组扫描,发现位于 6p 的 D6S276 与 AS 之间存在较强的连锁关系,表明中国人群的 D6S1091~D6S276~D6S1618 区域可能存在 AS 的易感基因位点。全基因组扫描为进一步研究 HLA 区域内外的 AS 易感基因提供了实验依据。

2.3 基因芯片的应用 国内 Gu 等^[19]应用基因 CDNA 芯片技术研究 AS 的易感基因,基因芯片技术可以快捷地发现众多基因表达的异常,包括多数与炎症及免疫性疾病有关的细胞因子、细胞表面分子、信号传导与转录分子受体及黏附分子等,为今后深入大批量地开展基因研究提供了实验基础。

3 病理研究

AS 病理学特点为早期韧带、纤维环、椎间盘、骨膜和骨小梁为血管化和纤维性组织侵犯,被肉芽组织取代,导致整个关节破坏和附近骨质硬化;经过修复后,最终发生关节纤维性强直和骨性强直,椎骨骨质疏松,肌萎缩和胸椎后凸畸形。在致病过程中,有软骨的侵蚀和最终的骨性融合。原位杂交及免疫组化结果显示:活动期 AS 患者椎旁及骶髂关节部位的纤维母细胞对多种成骨因子的表达呈强阳性,而非 AS 患者椎旁成纤维细胞对成骨因子的表达呈阴性,说明成骨因子参与并导致了 AS 椎间病理骨性融合的过程^[20-25]。

在骨形成的病理过程中,成骨细胞是新骨形成的基础,成纤维细胞具有成骨潜能,表现为成纤维细胞经过诱导转化为成骨细胞,并表达成骨细胞标志物^[26-27],而成纤维细胞是脊柱韧带、小关节关节囊的主要成分。

4 结 语

AS 是一种遗传因素占主导的多基因疾病,HLA-B27、其他 HLA 区域内的基因以及非 HLA 基因都对 AS 的易感性有影响。通过全基因组扫描不仅证实了 HLA 区域是与 AS 相关的重要区域,并且发现了 HLA 外还存在其他的 AS 易感区域。将来需要更多的分子生物学、遗传学、免疫学及其他相关学科的共同研究,寻找 AS 新的易感基因位点,逐步阐明 AS 可能的发病机制,将为 AS 的诊断、预防和治疗提供新的方法和手段。

参考文献:

- [1] Brown MA. Breakthroughs in genetic studies of ankylosing spondylitis[J]. Rheumatology, 2008, 47: 132-137.
- [2] Smith JA, Mrker-Hermann E, Colbert RA. Pathogenesis of ankylosingspondylitis: Current concepts[J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2006, 20(3): 571-591.
- [3] Khan MA, Mathieu A, Sorrentino R, et al. The pathogenetic role of HLA-B27 and its subtypes[J]. Autoimmun Rev, 2007, 6(3): 183-189.
- [4] Cipriani A, Rivera S, Hassanhi M, et al. HLA-B27 subtypes determination in patients with ankylosing spondylitis from Zulia, Venezuela[J]. Hum Immunol, 2003, 64(7): 745-749.
- [5] Shankarkumar U, Ghosh K, Mohanty D, et al. HLA-B27 polymorphism in Western India[J]. Tissue Antigens, 2002, 60(1): 98-101.
- [6] 崔刘福, 宋海澄, 沈志霞, 等. HLA-B27 等位基因与强直性脊柱炎相关性研究[J]. 中华风湿病杂志, 2003, 7(1): 55-56.
- [7] Yu XY, Gu GH, Gao C, et al. Association analysis on heterogeneity of HL-B27 and Ankylosing Spondy[J]. Suzhou University Journal of Medical Science, 2006, 26(4): 605-607.
- [8] Lai E, Teodoro T, Volchuk A. Endoplasmic reticulum stress: signaling the unfolded protein response[J]. Physiology(Betesda), 2007, 22: 193-201.
- [9] Saleki K, Hartigan N, Lith M, et al. Differential oxidation of HLA-B2704 and HLA-B2705 in lymphoblastoid and transfected adherent cells[J]. Antioxid Redox Signal, 2006, 8(3-4): 292-299.
- [10] Tran TM, Dorris ML, Satumtira N, et al. Additionall human beta2-microglobulin curbs HLA-B27 misfolding and promotes arthritis and spondylitis without colitis in male HLA-B27-transgenic rats[J]. Arthritis Rheum, 2006, 54(4): 1317-1329.
- [11] Stone MA, Payne U, Schentag C, et al. Comparative immune responses to candidate arthritogenic bacteria do not confirm a dominant role for Klebsiella pneumonia in the pathogenesis of familial ankylosing spondylitis[J]. Rheumatology(Oxford), 2004, 43(2): 148-155.
- [12] Wei JC, Tsai WC, Lin HS, et al. HLA-B60 and B61 are

strongly associated with ankylosing spondylitis in HLA-B27-negative Taiwan Chinese patients[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2004, 43(7): 839-842.

- [13] Said-Nahal R, Miceli-Richard C, Gautreau C, et al. The role of HLA genes in familial spondyloarthropathy: a comprehensive study of 70 multiple x families[J]. *Ann Rheum Dis*, 2002, 61(3): 201-206.
- [14] 陈蕊雯, 段世伟, 蔡青, 等. 肿瘤坏死因子的单核苷酸多态性与中国汉族人强直性脊柱炎的关联分析[J]. *第二军医大学学报*, 2004, 25(2): 120-124.
- [15] Kim TH, Stone MA, Rahman P, et al. Interleukin 1 and nuclear factor-B polymorphisms in Ankylosing Spondylitis in Canada and Korea[J]. *Rheumatol*, 2005, 32(10): 1907-1910.
- [16] McGarry F, Neilly J, Sturrock RD, et al. A polymorphism within the interleukin 1 receptor antagonist IL-1Ra gene is associated with ankylosing spondylitis(AS)[J]. *Rheumatology*, 2001, 40: 1359-1364.
- [17] Hammer RE, Maika SD, Richardson JA, et al. Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders[J]. *Cell*, 1990, 63(5): 1099-1112.
- [18] Gu MM, Yuan WT, Yang JQ, et al. A genome wide scan for the susceptibility gene loci to ankylosing spondylitis in Chinese Han population[J]. *Yi Chuan Xue Bao*, 2004, 31(3): 217-220.
- [19] Gu JR, Huang F, Yu DE. Analysis of inflammation related gene expression spectrum in ankylosing spondylitis pa-

tients using cDNA microarray[J]. *Natl Med J China*, 2001, 81(17): 1030-1034.

- [20] 李建明, 初同伟, 周跃. BMP-2、bFGF 在强直性脊柱炎活跃期骶髂关节滑膜组织中的表达[J]. *第三军医大学学报*, 2008, 30(3): 251-253.
- [21] 李建明, 初同伟, 周跃. Cbfa1 在强直性脊柱炎活动期中的表达及意义[J]. *重庆医学*, 2008, 37(11): 1202-1204.
- [22] 钱奕铭, 初同伟, 李建明, 等. 强直性脊柱炎活动期 VEGF 和 TNF- α 在棘间韧带组织中 mRNA 表达水平的检测[J]. *第三军医大学学报*, 2008, 30(15): 1459-1461.
- [23] 钱奕铭, 初同伟, 李建明, 等. 强直性脊柱炎滑膜细胞破骨表型及分化因素的研究[J]. *第三军医大学学报*, 2008, 30(23): 2207-2210.
- [24] 钱奕铭, 初同伟. VEGF 在强直性脊柱炎活动期病理性表达临床对照试验[J]. *中国骨伤*, 2008, 21(9): 649-651.
- [25] 初同伟, 钱奕铭, 周跃, 等. 强直性脊柱炎滑膜细胞破骨表型、TNF 及 MMP-3 表达及其对软骨的破坏作用研究[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2008, 17(5): 437-441.
- [26] Bobacz K, Ullrich R, Amoyo L, et al. Stimulatory effects of distinct members of the bone morphogenetic protein family on ligament fibroblasts[J]. *Ann Rheum Dis*, 2006, 65(2): 169-177.
- [27] Inanc B, Elcin AE, Elcin YM, et al. Osteogenic induction of human periodontal ligament fibroblasts under two- and three-dimensional culture conditions [J]. *Tissue Eng*, 2006, 12(2): 257-266.

(收稿日期: 2010-12-02 修回日期: 2011-03-24)

(上接第 1944 页)

化学介质, 以前在妇产科临床中常常用于治疗盆腔炎性疾病及妇科肿瘤。目前, 甲氨蝶呤联合米非司酮治疗异位妊娠已经得到国内外妇产科医师的普遍认可。将微波热疗与甲氨蝶呤、米非司酮联合治疗, 对于异位妊娠, 由于孕卵着床在输卵管内, 张力相对增加, 血液循环相对较差, 微波对妊娠部位直接照射, 吸收产生的热量不易扩散, 达到一定程度后可以杀伤滋养细胞, 使其发生变性死亡, 同时减少异位妊娠部位局部组织水肿, 加快妊娠组织吸收, 增加输卵管复通概率^[6-7], 缩短异位妊娠包块消失时间。甲氨蝶呤是一种抗代谢药, 是叶酸的拮抗剂, 能阻断二氢叶酸转化为具有生物活性的四氢叶酸, 导致嘌呤和嘧啶的合成被抑制, 从而干扰 DNA、RNA 和蛋白质的合成。米非司酮是一种合成的强效抗孕激素和抗皮质激素药物, 药物作用主要是阻断孕酮与子宫内孕激素受体结合, 使蜕膜缺血变性而脱落, 释放内源性前列腺素, 促使黄体生成素(LH)下降, 黄体萎缩、溶解^[8], 进而间接影响绒毛组织的血液供应, 从而使依赖发育的胚囊坏死^[9]。所以, 微波热疗、甲氨蝶呤、米非司酮 3 种方法治疗异位妊娠的作用机制各不相同, 作用点不同。联合治疗可以使血 β -HCG 下降幅度大, 盆腔包块缩小明显, 并且缩短住院时间, 可以明显提高治愈率。

参考文献:

- [1] 刘京. 经阴道超声诊断异位妊娠 80 例分析[J]. *重庆医*

学, 2008, 37(11): 1238-1239.

- [2] 胡珊, 李力, 郑英如, 等. 保守性手术治疗输卵管妊娠疗效及对生育的影响[J]. *重庆医学*, 2004, 33(2): 107-108.
- [3] The practice committee of the american society for reproductive medicine. medical treatment of ectopic pregnancy [J]. *Fertil and Steril*, 2006, 51: 86-98.
- [4] Evans AT, 产科学手册[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2005: 286-298.
- [5] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 258-259.
- [6] Dudley P, Heard MJ, Sangi-haghpeykar H, et al. Characterizing ectopic pregnancies that rupture despite treatment with methotrexate [J]. *Fertil and Steril*, 2004, 82(5): 1374.
- [7] 罗喜平. 微波子宫内膜去除的临床应用[J]. *中华妇产科杂志*, 2001, 36(10): 636-637.
- [8] 林绮丽. 米非司酮保守治疗异位妊娠的临床观察[J]. *中国妇幼保健*, 2006, 21(13): 1880-1883.
- [9] 冷维春, 张爱臣, 金华, 等. 米非司酮与甲氨蝶呤保守治疗异位妊娠的对比观察[J]. *中国妇幼保健*, 2007, 22(2): 235-236.

(收稿日期: 2010-12-11 修回日期: 2011-02-17)