

Bcl-2 基因家族与重症肌无力

袁正洲 综述, 李作孝[△] 审校

(泸州医学院附属医院神经内科, 四川泸州 646000)

关键词:重症肌无力; Bcl-2; 基因家族; 淋巴细胞凋亡

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.24.029

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)24-2528-03

重症肌无力(myasthenia gravis, MG)是一种主要由乙酰胆碱受体抗体(acetylcholine receptor antibody, AchRab)介导的 CD4⁺ T 细胞依赖的自身免疫性疾病。病变部位位于神经肌肉的突触后膜,该膜上烟碱乙酰胆碱受体(nAChR)受到攻击后数量减少,导致神经肌肉接头递质传递障碍^[1]。细胞凋亡(apoptosis)又称之为细胞程序化死亡(programmed cell death),是指在特定内源和外源信号诱导下,细胞内死亡程序激活而致的细胞主动自杀,也是增殖的淋巴细胞被清除的主要方式^[2]。细胞凋亡的发生、发展受到多种凋亡相关基因调控。引起 MG 免疫应答的具体始动环节目前还不是很清楚,但有研究表明淋巴细胞凋亡基因调节失控与 MG 的发生及发展关系紧密^[3]。Bcl-2 是调控淋巴细胞凋亡的重要家族,该家族成员众多,不同成员对凋亡作用亦有差异。本文对 Bcl-2 基因家族与 MG 淋巴细胞凋亡的关系进行综述。

1 Bcl-2 基因家族的组成及功能

1.1 Bcl-2 基因家族的组成 Bcl-2 基因定位于 18 号染色体(18q21),包括 2 个内含子及 3 个外显子,其第 1 个外显子无翻译功能,第 2 个内含子具有非翻译区。第 2、3 个外显子具备编码的功能,Bcl-2 基因产物通过这两个外显子编码^[4]。Bcl-2 基因家族可分为 3 个亚家族:(1)Bcl-2 亚家族:抗细胞凋亡,成员有 Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-w、Mcl-1、Al 和 Diva 等;(2)Bax 亚家族:促进细胞的凋亡,如 Bak、Bcl-xS、Bax 及 Bok 等;(3)BH3-only(Bcl-2 homology 3 only)蛋白亚家族:具有促进细胞凋亡的功能,成员包括 Bik、Bad、Bid、Bim、Hrk、Puma、Noxa 等^[5-6]。

1.2 Bcl-2 基因家族的结构及功能 Bcl-2 家族蛋白的主要结构由 2 大结构域构建:(1)位于羧基端的跨膜结构域;(2)数量不等(1~4 个)的 BH。BH-3 结构域与促进细胞的凋亡密切相关,在促进细胞凋亡进程中扮演着至关重要的角色,被视为死亡结构域^[7]。BH-4 结构域作为抗凋亡蛋白所特有的一种结构域,在其缺失的情况下,可使抗凋亡蛋白出现功能活性的丧失。螺旋结构 BH1-4 结构域出现在大多数的抗凋亡蛋白亚家族结构域中。BH-3 结构域则为促凋亡蛋白亚家族结构所共享,但促凋亡蛋白亚家族缺少 a 螺旋片段 BH-4 结构域,而 BH3-only 蛋白亚家族结构中仅含有 BH-3 结构域。大部分成员都有跨膜结构域(transmembrane domain, TM),这有助于它们固定在如内质网及线粒体等胞内细胞器膜上。

Bcl-2 家族蛋白的相对浓度调控细胞凋亡线粒体通路,在其调控下,蛋白质由线粒体膜间隙转移到胞质中^[8]。Bcl-2 家族的促凋亡蛋白 Bak 及 Bax 作用于线粒体,通过在其外膜孔释放细胞色素 c 激活细胞的凋亡程序。Bak 和 Bax 的聚合物(二聚体或多聚体)形成细胞色素 c 通过的孔洞,而抗凋亡蛋白 Bcl-2 与 Bcl-xL 通过竞争性地与 Bak 和 Bax 结合而阻止细胞

色素 c 漏出,影响胱冬酶 3(caspase-3)的激活,从而抑制细胞凋亡^[9]。

Bcl-2 的表达在淋巴细胞成熟及建立正常免疫系统过程中呈阶段性的变化。在胸腺组织的 T 淋巴细胞进行阳性选择过程中 Bcl-2 表达出现下降趋势,从而诱导 CD4⁺ CD8⁺ 双阳性细胞进入凋亡途径,而 CD4⁺ 及 CD8⁺ 单阳性 T 淋巴细胞中的 Bcl-2 水平却表现为上升趋势,这使 T 淋巴细胞进一步发育成熟,进而建立起稳定的正常免疫系统^[10]。Bcl-2 可结合与细胞凋亡有关的 R-rasp23、Raf-1 等信号传导分子,通过影响分子信号的传导通路而抑制细胞凋亡^[11]。

2 Bcl-2 基因家族在 MG 发病中的作用**2.1 胸腺组织中 Bcl-2 基因家族表达与 MG 发病的关系**

65%以上 MG 患者胸腺增生,病理改变为淋巴生发中心增生,其中心有 B 淋巴细胞存在。10%MG 并发胸腺瘤,病理改变为淋巴细胞增生,大部分为 T 淋巴细胞。通过原位杂交技术对 MG 伴胸腺增生患者进行研究,发现正常胸腺组织中的 Bcl-2 主要表达在髓质和少量皮质中,生发中心只有很少的 Bcl-2 阳性细胞,上皮组织中则不表达阳性细胞。在 MG 合并胸腺瘤患者中,Bcl-2 的蛋白和 mRNA 在上皮组织中出现表达,同时髓质中 Bcl-2 表达高于对照组。该实验同时表明 Bax 的蛋白和 mRNA 在正常胸腺组织中表达主要在髓质、少量在皮质。而在 MG 胸腺中,Bax 蛋白和 mRNA 表达主要在上皮、少量在髓质,且生发中心高表达 Bax 产物,Bax 阳性细胞数量与 MG 的 Osserman 分型呈正相关。这意味着 Bcl-2 基因表达的上调可导致胸腺上皮细胞具备抗凋亡能力,最终致使 MG 发生进展,而 Bax 在生发中心高表达则提示高凋亡指数^[12]。

Kondo 和 Yoshino^[13]用 TUNEL 法对 MG 患者的胸腺生发中心检测原位 DNA 片段,发现 MG 发病可能是因为 Bcl-2 的上调,导致自身反应性 B 淋巴细胞逃脱阴性选择,产生了过量的 AchRab 从而引发自身性免疫反应。另有研究^[14]报道称 MG 患者的胸腺中 Bcl-2 基因表达增加,抑制了正常免疫细胞的凋亡发生。其免疫细胞成熟过程中因自身反应性胸腺细胞受损,异常克隆细胞产生免疫耐受紊乱,使淋巴细胞增殖异常而致 B 淋巴细胞持续分泌 AchRab。由此可见,Bcl-2 基因表达增加可抑制 MG 患者淋巴细胞的正常凋亡过程,这可能是导致 MG 患者自身免疫疾病发生的机制之一。

Bax 与 Bcl-2 的比例决定了细胞凋亡的易感性。通过对经过胸腺切除术治疗的 MG 患者进行研究,Salakou 等^[15]发现 MG 患者胸腺中的 Bcl-2 水平明显高于阴性对照组,阳性胸腺组织重量显著比阴性胸腺增加。Bcl-2 基因下调可破坏胸腺细胞的分化更新,长期存活的细胞大量累积,从而导致 MG 胸腺肿瘤的发生。Bax 的 mRNA 及蛋白质促进 MG 淋巴细胞凋

亡, Bax 与 Bcl-2 的比例可上调 caspase-3 从而激活和调节与 MG 进展相关的细胞凋亡。同时发现在 Bax/Bcl-2 比值小于 1 的情况下, 即使没有进行药物治疗, 也可出现病情改善甚至完全缓解的情况, 这个比值可能是一个独立的预后因素。

2.2 外周血 Bcl-2 基因家族表达与 MG 发病的关系 在 MG 患者的外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中, Bcl-2 的 mRNA 表达较对照组明显高于对照组, 且 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞亚群及 CD19⁺ 细胞 Bcl-2 蛋白表达也明显升高, 同时 CD3⁺ T 细胞蛋白表达 Bcl-2 的平均荧光强度亦升高^[16]。PBMC 中 Bcl-2 的 mRNA 相对表达量与 MG 患者病情严重程度呈正相关, 极重型、重型及中型患者 PBMC 中 Bcl-2 的 mRNA 表达水平要明显高于轻型患者^[17]。

MG 患者 PBMC 中 Bcl-2 高表达, 而 Bad、Bax 表达水平低^[18]。CD4⁺ T 淋巴细胞的凋亡程度显著低于空白对照组, 而 CD8⁺ T 淋巴细胞的凋亡程度介于二者之间, 说明 MG 患者 PBMC 中 T 淋巴细胞凋亡存在障碍, 且凋亡障碍以 CD4⁺ T 淋巴细胞为主。这导致清除活化的自身反应性 T 细胞不及时, T 辅助细胞的功能相对亢进, B 细胞在活化的 T 细胞作用下增殖活跃, 进而导致免疫应答过强, 产生众多针对自身免疫系统的抗体, 从而致使 MG 的发生^[19]。

MG 患者的 PBMC 的 CD4⁺ T 淋巴细胞凋亡程度因不同临床类型及预后而高低明显不同。与空白对照组相比, MG 患者组中 PBMC 的 CD8⁺ T 淋巴细胞所占比例显著下降, CD4⁺ T 与 CD8⁺ T 的比值明显增高, 而 CD4⁺ T 细胞所占比例无显著差异。这表明 MG 患者的 T 淋巴细胞亚群分布存在异常, 抑制性 T 淋巴细胞的数量显著降低, 导致 T 淋巴细胞的抑制能力下降, B 淋巴细胞在 T 细胞亚群异常分布的调节下失控^[20]。Bcl-2 基因在胸腺 T 淋巴细胞进行阳性选择时表达下降, 调节 CD4⁺ CD8⁺ 双阳性 T 淋巴细胞进入正常的凋亡程序, 而 CD4⁺ 及 CD8⁺ 单阳性 T 淋巴细胞的 Bcl-2 表达则上调使之进一步发育, 由此构建正常的免疫体系。MG 患者中胸腺 T 淋巴细胞进行阳性选择时, Bcl-2 基因表达显著下降, 从而促使 CD4⁺ CD8⁺ 双阳性 T 淋巴细胞进入异常的细胞凋亡程序^[21]。

Bcl-2 表达异常致使免疫细胞的凋亡失控, 因而引起 MG 患者细胞免疫调节功能紊乱。应用糖皮质激素治疗后, MG 患者血清里面 Bcl-2 的 mRNA 水平表现为明显的降低且其水平与病情严重程度相关, 这表明 Bcl-2 的 mRNA 水平可作为反映 MG 治疗的效果的一个指标^[22]。Delfino 等^[23] 的研究表明, 表达 Bcl-2 的 PBMC 在培养过程中不但能够长期生存, 还可以持续产生反应程度剧烈的抗原, 而这种抗原反应产生的变化是活化的 T 淋巴细胞凋亡被强力抑制的结果, 且与 Bcl-2 基因家族中抗凋亡亚族的表达呈正相关。

3 展 望

Bcl-2 基因家族作为调控淋巴细胞凋亡的重要因子, 在 MG 的早期诊断、判断预后及治疗中发挥重要作用。目前, 国内外治疗 MG 大多是通过胸腺切除术、胆碱酯酶抑制剂、肾上腺皮质激素及免疫抑制剂等方法^[24], 但其长期全身广泛性的免疫抑制会产生诸多的不良反应。应用基因工程表达凋亡基因细胞的外蛋白, 能有效消除自身免疫^[25]。随着 Bcl-2 基因家族作用机制逐步明确, 通过纠正其对淋巴细胞凋亡调节失控, 从而改善乃至完全缓解 MG 的病情, 可成为治疗 MG 新的研究方向。以 Bcl-2 基因家族作为靶点研发新的治疗药物和设计新的治疗方案, 对 MG 的临床治疗具有潜在重大价值。

参考文献:

- [1] Rowland, Lewis P. Merritt's Neurology [M]. 12th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2010: 845-849.
- [2] Peter ME. Programmed cell death: apoptosis meets necrosis [J]. Nature, 2011, 471(7338): 310-312.
- [3] Aruna BV, Ben-David H, Sela M, et al. A dual altered peptide ligand down-regulates myasthenogenic T cell responses and reverses experimental autoimmune myasthenia gravis via up-regulation of Fas-FasL-mediated apoptosis [J]. Immunology, 2006, 118(3): 413-424.
- [4] Wong WWL, Puthalakath H. Bcl-2 family proteins: the sentinels of the mitochondrial apoptosis pathway [J]. IUBMB Life, 2008, 60(6): 390-397.
- [5] Zhou FF, Yang Y, Xing D. Bcl-2 and Bcl-xL play important roles in the crosstalk between autophagy and apoptosis [J]. FEBS J, 2011, 278(3): 403-413.
- [6] Chipuk JE, Moldoveanu T, Llambi F, et al. The BCL-2 family reunion [J]. Mol Cell, 2010, 37(3): 299-310.
- [7] Delft MF, Huang DC. How the Bcl-2 family of proteins interact to regulate apoptosis [J]. Cell Res, 2006, 16(2): 203-213.
- [8] Salakou S, Kardamakis D, Tsamandas AC, et al. Increased Bax/Bcl-2 ratio up-regulates caspase-3 and increases apoptosis in the thymus of patients with myasthenia gravis [J]. In Vivo, 2007, 21(1): 123-132.
- [9] Lakhani SA, Masud A, Kuida K, et al. Caspases 3 and 7: key mediators of mitochondrial events of apoptosis [J]. Science, 2006, 311(5762): 847-851.
- [10] Wang YH, Yan Y, Rice JS, et al. Enforced expression of the apoptosis inhibitor Bcl-2 ablates tolerance induction in DNA-reactive B cells through a novel mechanism [J]. J Autoimmun, 2011, 37(1): 18-27.
- [11] Barbie DA, Tamayo P, Boehm JS, et al. Systematic RNA interference reveals that oncogenic KRAS-driven cancers require TBK1 [J]. Nature, 2009, 462(7269): 108-112.
- [12] Salakou S, Tsamandas AC, Bonikos DS, et al. The potential role of Bcl-2, Bax, and Ki67 expression in thymus of patients with myasthenia gravis, clinicopathologic and their correlation with parameters [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2001, 20(4): 712-721.
- [13] Kondo E, Yoshino T. Expression of apoptosis regulators in germinal centers and germinal center-derived B-cell lymphomas: insight into B-cell lymphomagenesis [J]. Pathol Int, 2007, 57(7): 391-397.
- [14] Okumura M, Fujii Y, Shiono H, et al. Immunological function of thymoma and pathogenesis of paraneoplastic myasthenia gravis [J]. Gen Thorac Cardiovasc Surg, 2008, 56(4): 143-150.
- [15] Salakou S, Kardamakis D, Tsamandas AC, et al. Increased Bax/Bcl-2 ratio up-regulates caspase-3 and increases apoptosis in the thymus of patients with myasthenia gravis [J]. In Vivo, 2007, 21(1): 123-132.

- [16] Okumura M, Inoue M, Kadota Y, et al. Biological implications of thymectomy for myasthenia gravis[J]. Surgery today, 2010, 40(2): 102-107.
- [17] 张士孟, 刘敏, 张晨, 等. 重症肌无力患者外周血单核细胞凋亡调控基因表达的研究[J]. 临床神经病学杂志, 2007, 20(3): 179-181.
- [18] Irony-Tur-Sinaia M, Grigoriadis N, Tsiantoulas D, et al. Immunomodulation of EAE by alpha-fetoprotein involves elevation of immune cell apoptosis markers and the transcription factor FoxP3[J]. J Neuro Sci, 2008, 279(1): 80-87.
- [19] Eymard B. Antibodies in myasthenia gravis[J]. Rev Neurol, 2009, 165(2): 137-143.
- [20] 李作孝, 赖成虹, 荣本兵, 等. 重症肌无力患者外周血 T 淋巴细胞亚群凋亡的研究[J]. 中华神经医学杂志, 2006, 5(8): 803-805.
- [21] Jung C, Stoeckle C, Wiesmüller KH, et al. Complementary strategies to elucidate T helper cell epitopes in myasthenia gravis[J]. J Neuroimmunol, 2008(201-202): 41-49.
- [22] Spokoini R, Kfir-Erenfeld S, Yefenof E, et al. Glycogen synthase kinase-3 plays a central role in mediating glucocorticoid-induced apoptosis[J]. Mol Endocrinol, 2010, 24(6): 1136-1150.
- [23] Delfino DV, Pozzessi N, Pierangeli S, et al. Manipulating thymic apoptosis for future therapy of autoimmune diseases[J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(29): 3108-3119.
- [24] Ropper AH, Samuels MA. Adams and victor's principles of neurology[M]. 9th Edition. New York: The McGraw-Hill Companies Inc, 2009: 1250-1259.
- [25] Yolcu ES, Gu X, Lacelle C, et al. Induction of tolerance to cardiac allografts using donor splenocytes engineered to display on their surface an exogenous fas ligand protein [J]. J Immunol, 2008, 181(2): 931-939.

(收稿日期: 2011-11-28 修回日期: 2012-02-22)

· 综 述 ·

胃转流术治疗 2 型糖尿病的研究进展

姚晓燕 综述, 汪志红[△] 审校

(重庆医科大学附属第一医院内分泌科 400016)

关键词: 胃转流术; 糖尿病, 2 型; 适应证; 并发症

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.24.030

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)24-2530-04

糖尿病是严重威胁人类健康的一种慢性疾病, 2 型糖尿病是糖尿病的主要类型。2007~2008 年的调查数据显示, 中国 20 岁以上人群中糖尿病患病率已达 9.7%, 而糖尿病前期的患病率更是高达 15.5%^[1]。其所带来的各种并发症成为致残与致死的主要原因, 严格控制血糖可控制或延缓并发症发生。而传统的治疗方法, 包括运动饮食、药物治疗等难以使血糖长期保持正常水平。

糖尿病与肥胖密切相关, 一项汇集了 46 239 名人群的调查显示, 体质指数 (BMI) 值小于 18.5 kg/m²、18.5~24.9 kg/m²、25~29.9 kg/m² 及大于 30 kg/m² 人群的糖尿病患病率分别是 4.5%、7.6%、12.8% 及 18.5%^[1], 提示肥胖者糖尿病的患病风险明显增加。研究显示男性腰身比 (腰围/身高) 及女性腰围、腰身比均较 BMI 与糖尿病更具相关性。提示脂肪分布相较于 BMI 在糖尿病发病中更为重要^[2-3]。亚洲人群以中心型肥胖为主, 与欧美国家人群相比, 在同等的 BMI 下糖尿病的患病风险增加。此外肥胖还可引起高血压、冠心病、血脂异常、睡眠呼吸暂停综合征及某些癌症等一系列慢性疾病。近年来, 通过对减肥手术的观察研究, 发现减肥手术除在降低体重方面获得理想疗效外, 还对 2 型糖尿病的控制起到了意想不到的作用, 可长期将血糖控制在正常范围内, 甚至达到治愈的效果。

1 手术方式及现状

减重手术方式主要包括以下几种: (1) 限制型手术: 可调节胃束带术 (AGB)、袖状胃切除术; (2) 胆胰分流术 (BPD); (3) 混

合型手术: 胃转流术 (GBP)。其中 GBP 以其对糖尿病良好的治疗效果及相对较少的并发症成为目前临床上最常用的手术方式。方法是沿胃小弯侧向上切, 将胃分出一个约 30 cm³ 的袋状小胃, 并在 Treitz 韧带下 50~100 cm 处切断空肠, 远端空肠与小胃吻合, 近端则于该吻合口下 100~150 cm 处与空肠行端侧吻合。腹腔镜技术的应用因可减少创伤, 放宽了对患者的手术条件要求, 加快了减重手术的发展^[5]。

从治疗效果分析, GBP 对 2 型糖尿病的治疗效果比对肥胖症更好, 因而被称为“代谢手术”或“糖尿病手术”。目前, 美国糖尿病学会的指南、国际糖尿病联盟发表的声明、中华医学会糖尿病学分会及外科学分会的专家共识均认可代谢手术可作为治疗 2 型糖尿病的一种方法。其在临床上的运用亦越来越多, 从 1998~2002 年, 美国减重手术增加了 450%, 减重手术外科医生增加了 144%, 同时增加了 146% 的减重中心^[5]。

2 GBP 治疗 2 型糖尿病的早期及长期有效性

Pories 等对 608 例进行胃旁路术的肥胖患者进行随访, 发现患者在 14 年间平均体质量从 304.4 磅降至 204.7 磅, 体质量显著下降。此外, 对 2 型糖尿病有着令人鼓舞的治疗效果, 在术后早期体质量显著下降前伴有 2 型糖尿病的肥胖患者的空腹血糖即恢复正常, 并在长达 14 年的随访观察中显示 82.9% 的病理性肥胖伴 2 型糖尿病及 98.7% 伴糖耐量受损患者的血糖、糖化血红蛋白及胰岛素水平均恢复并长期维持在正常水平^[3]。Lima 等^[11] 研究显示 19 例具有代谢综合征的绝经前妇女在接受 GBP 后 1 个月空腹血糖即从术前的 13.1

[△] 通讯作者, Tel: 15825902443; E-mail: yaoyeye1987@163.com。