

水通道蛋白 4 在视神经脊髓炎发病机制中的研究进展

宋德禄 综述 钟 勇 审校

The research advance of AQP4 in immunopathogenesis of neuromyelitis optica

Song Delu, Zhong Yong. Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Peking Union Medical College Hospital Eye Center, Beijing 100730, China

Abstract Neuromyelitis optica (NMO) is a severe idiopathic immuno-mediated inflammatory demyelinating and necrotizing disease that predominantly involves the optic nerve and spinal cord. An IgG autoantibody (NMO-IgG), which can binds aquaporin 4 (AQP4), has been identified in the sera of NMO patients. NMO-IgG is not the only autoantibody found in sera of NMO patient, but the correlation of pathology of central nervous system (CNS) with some tissues that normally express high level of AQP4 suggests that NMO-IgG might be pathogene. It is important to identify and understand the mechanism of an immune response-induced against AQP4. This review focuses on the AQP4 associated with pathogenesis of NMO and AQP4 B cell epitopes and explores its relationship to pathogenesis, priming of AQP4-specific B and T cells.

Key words neuromyelitis optica; immunologic mechanism; aquaporin 4

摘要 视神经脊髓炎(NMO)是主要累及视神经和脊髓的特发性炎性脱髓鞘和致坏死性疾病。在 NMO 患者血清中发现一种与水通道蛋白 4(AQP4)结合的自身 IgG 抗体(NMO-IgG)。NMO-IgG 并非在 NMO 患者血清中发现的唯一自身抗体,但与正常高表达 AQP4 的中枢神经系统的组织病理关系说明 NMO-IgG 可能具有致病性。就 AQP4 在 NMO 发病中的作用, AQP4 的 B 细胞表位和发病的关系以及 AQP4 特异性 B 细胞和 T 细胞的启动进行综述。

关键词 视神经脊髓炎; 免疫机制; 水通道蛋白 4

分类号 R 744.5⁺2 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)07-0637-04

视神经脊髓炎(neuromyelitis optic, NMO)是主要累及视神经和脊髓的特发性炎性脱髓鞘和致坏死性疾病。在亚洲,复发的 NMO 曾被认为是多发性硬化(multiple sclerosis, MS)的眼脊髓型^[1]。最近的研究显示 NMO 复发率较高,而且是由于对中枢神经系统(central nervous system, CNS)星型胶质细胞足突上的主要水通道蛋白 4(aquaporin-4, AQP4)的攻击而发病。NMO-IgG 是能与 AQP4 结合的高特异性和高亲和性 IgG 抗体。

1 NMO 的特点

NMO 是一种好发于年轻女性的破坏性疾病,男性亦可患病,青少年较少见。该病主要累及视神经与脊髓,可致盲和瘫痪^[2]。它与 MS 最显著的不同在于 NMO

较少发生脑损伤,尤其在疾病早期^[3]。大约 75% 的 NMO 患者可发现自身抗体 NMO-IgG^[4]。在 NMO 患者血清和脑脊液中也发现其他自身抗体,包括抗核抗体、SS 抗体以及抗髓鞘少突胶质糖蛋白(myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG)抗体^[5-7]。在一些 NMO 患者中还可见到细胞外或细胞内抗原特异的抗体。这些自身抗体可能是死亡细胞释放的新的抗原诱发的,而非引起 NMO 的初始原因,但这些抗体可通过 III 型超敏反应参与疾病的复发过程^[6,8]。在 NMO 发病中血管周围 IgM 和 IgG 的沉积与体液免疫反应同样重要。另外,在 NMO 患者脊髓损伤处发现补体 C₉ 的激活与抗体的沉积同时存在^[9]。

2 NMO 的病理学变化

NMO 的基本组织病理学改变已被认识^[10-12]。NMO 的特征性病理学改变包括血管周隙 IgG 和补体沉积,中性粒细胞和嗜酸性粒细胞浸润以及血管壁透

作者单位:100730 北京,中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院眼科中心

通讯作者:钟勇 (Email: yzhong_eye@yahoo.com.cn)

明样变性。这些特点将 NMO 与其他脱髓鞘性疾病,如 MS 和急性脱髓鞘性脑脊髓病,区分开来。在疾病急性期脊髓的病理学改变有弥散性水肿和多发性脊髓节段软化,偶见整个脊髓软化。组织病理学检查发现灰质和白质有坏死性改变,并伴巨噬细胞浸润和髓磷脂、轴突消失,血管周围有不同程度的炎性浸润改变。病程晚期,病变视神经和脊髓节段发生萎缩和空泡形成,伴神经胶质的增生和囊样变性。在坏死区及其周围,微血管壁增厚并有透明样变性发生。

3 AQP4 与 NMO 的联系

3.1 AQP4 的重要性

AQP4 是一种 III 型跨膜蛋白,调节大脑内特异细胞的水进出,与神经纤维网和脑室周围的血管相互连接。AQP4 是人类和啮齿类动物脑内最重要的水通道。AQP4 在大脑皮层、海马和小脑的星形胶质细胞中表达,还存在于许多脑室周围器官组织,如视上核的神经胶质板和脑穹隆下的嗅觉感受器^[13]。在视网膜星形胶质细胞有高水平的 AQP4 表达,在非突触膜和微绒毛表达则相对较少^[14]。在视神经纤维性星形细胞有 AQP4 表达^[14]。AQP4 在突触膜呈高表达,在轴突膜的表达则较少,在无髓鞘的视盘也有 AQP4 表达。人类和大鼠的星形胶质细胞和上皮组织的 AQP4 主要有 M1 和 M23 亚型^[15-17]。

3.2 AQP4 在视神经的分布

研究发现,NMO 患者 CNS 炎症反应区与高表达 AQP4 的区域一致^[18-19]。NMO 特异损害的靶器官为视神经和脊髓。AQP4 由视神经周围的星形胶质细胞表达,视盘是 CNS 中血脑屏障最易通透的部位^[20]。NMO 患者可伴发视神经炎(optic neuritis, ON)和广泛的纵向贯穿性脊髓炎(longitudinal extensive transverse myelitis, LETM),他们在出现时间上不同,ON 先出现而 LETM 在数周到数月后出现^[5]。通过完整的血脑屏障免疫染色标记证实,视盘筛板前区是 CNS 血脑屏障具有通透性的部位^[21]。通过恒河猴的示踪研究发现,血液转染蛋白可以通过视盘内的周围组织到达视神经轴突^[22]。AQP4 在视神经纤维性星形细胞内表达,在生理情况下,存在于纤维性星形细胞内的 AQP4 可使视神经免受脑脊液量变化的影响。NMO 患者发生 ON 并出现抗 AQP4 特异性抗体比 LETM 常见,其中一个原因可能为视神经组织在 AQP4 功能障碍后对于脑脊液量改变的敏感性高于 CNS 的其他部分^[14]。Moe 等^[17]发现视神经的软脑膜和纤维性隔膜均无渗漏,因此在 NMO 的炎症反应中血清成分通过血脑屏障,视

盘要比视神经其他部位更易提前受累。

3.3 AQP4 的 B 细胞抗原决定簇及其与疾病的关系

B 细胞抗原决定簇是能与抗体的抗原结合部位结合的分子结构。抗体的抗原结合部位由抗体的重链和轻链可变区组成。抗体结合位点构型可随着结合于其表面的小分子或大分子蛋白质而改变。与多种 AQP4 水通道单环相连接的细胞外环形结构是暴露在外的。其中最长的 C 环含多个非极性残基,且位于 AQP4 中心凹陷的部位^[23]。另外 A 环和 E 环相对较小,含有亲水性残基并可与抗体发生 H 键或离子键作用,对于抗体结合亲和力非常重要。

Lennon 等^[24]用小鼠组织作为免疫组织化学的抗原,发现 NMO-IgG 可结合的部位包括微血管内面、软脑膜、软脑膜下和鼠类 CNS 固定切片的 Virchow-Robin 鞘膜。AQP4 的结构序列在小鼠、大鼠和人类之间的差别就在于 A 环中部暴露的残基^[23,25]。在小鼠和大鼠,A 环残基有 62S、63E 和 64N,而在人类的残基为 62T、63E 和 64K。因此对于人类 NMO-IgG 与鼠 AQP4 结合说明:A 环不是 B 细胞抗原决定簇;如果 A 环序列为 B 细胞抗原决定簇,人与鼠类之间的差别不会影响抗体结合;结构序列改变会影响抗 AQP4 抗体结合,但还存在其他的 AQP4 表位,而且一个表位缺乏免疫原性时,抗体对 AQP4 的结合有足够的反应性。第 2 点表明在 A 环或 E 环结构中,有像 B 细胞表位一样的确定的线性序列表达。Nagy 等^[26]对鼠 AQP4 多肽制备单克隆抗体发现可能存在其他的 AQP4B 细胞表位。由 206~231 个残基构成的低亲和力 IgM,形成水通道螺旋结构以及 E 环。通过 AQP4 晶状体模型发现 206-231 残基的多肽只有 N-端和 C-端是表面暴露的,因此能够形成 B 细胞表位的残基也是有限的。B 细胞表位主要位于 AQP4 模型的外侧,因此具有原位趋近性。

由于 AQP4 特异性的 T 辅助细胞的存在,高亲和力的 AQP4 特异性 B 细胞克隆扩增、活化或者免疫偏离等变化,或许可以反映 ON 和 LETM 的时间间隔问题。可能通过低水平的酶反应,NMO-IgG 和 AQP4 特异性的 T 细胞 ON 即被直接引发,因为纤维性星形胶质细胞比脊髓内星形胶质细胞对抗 AQP4 抗体更加敏感。对于表达 MOG 的 T 细胞受体转基因 ON 小鼠模型,问题是为什么 MOG 特异的 T 细胞受体转基因小鼠仅会发生 ON,而不出现实验性变应性脑脊髓炎(experimental allergic encephalomyelitis, EAE)。而经过诱发血脑屏障改变,ON 的表现更加明显,而非 EAE,这说明 MOG 活化的 T 细胞对于脊髓或脑的反应还不足以导致 EAE 的发生。Bettelli 等^[27]建立 MOG-

ON 模型,并提出炎症反应发生部位可通过自身抗原肽的不同浓度、自身免疫肽的类型、遗传学背景和目标抗原组织定位等来解释。其他易发生 EAE 的 MOG 模型也说明 MOG 特异的 T 细胞参与疾病发生。

3.4 AQP4 特异性 T 细胞和 B 细胞的启动

AQP4 的组织来源可能对 AQP4 特异性 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞的启动效率和频率非常重要。小胶质细胞可表达 II 级限制因素,且通过调节或增强致病性的免疫反应而递呈抗原。他们在未致敏 AQP4 特异性 T 细胞淋巴引流中的作用较小,但在 NMO 发病中与 AQP4 特异性 T 细胞的相互作用非常肯定^[28-29]。CNS 的抗原可以通过筛板下的组织引流和进入鼻黏膜而进入外周^[30-31]。另外,血管周围内 CNS 巨噬细胞监视吞噬 CNS 内可溶性衰老的膜碎片和细胞外突起,并通过淋巴引流进入 CNS^[29-30]。CNS 的巨噬细胞迁移到颈部淋巴结与 MHC-II 类分子共同使 CNS 来源聚集的多肽成分表达,从而在无共同刺激的条件使 T 细胞维持外周耐受^[31]。

因为 AQP4 反应性 B 细胞、T 细胞在淋巴结间的运输,初始启动既可发生在 CNS 引流,也可发生在非 CNS 淋巴结引流,一旦被激活正常稳定状态的自身抗原递呈,便在 CNS 中的运输中激活 T 细胞,递呈可通过多种抗原递呈细胞(如树突状细胞、血管周隙、软脑膜和脉络膜的巨噬细胞),小胶质细胞或星形胶质细胞完成。提前活化 CNS 淋巴结引流的 T 细胞可以放大 AQP4 反应性淋巴细胞作用,增强进入 CNS 的能力。AQP4 特异性 T 细胞可致血脑屏障产生裂隙,从而使 AQP4 抗体浓度升高,和其他的免疫效应物进入星形胶质细胞顶膜表达 AQP4 的组织。AQP4 特异性 T 细胞的进一步活化,即使数量较少也可维持突破血脑屏障,以及补充效应物导致病理改变。AQP4 特异性 B 细胞活化的另一种方式是激活 AQP4 反应性 B 细胞的旁路途径,由感染或增强 B 细胞生存和分化的自身免疫反应中的细胞因子和相关的树突状细胞膜改变而实现。AQP4 特异性 B 细胞一旦被激活则有非常强的抗原递呈作用,在接下来通过有 B 细胞受体的 AQP4 激活 AQP4 特异性 T 细胞起重要作用。

感染和自身免疫反应可导致血脑屏障变化,AQP4 特异性抗体和 T 细胞进入 CNS。一些细胞因子和免疫系统常见调节细胞作用于血脑屏障,同时也表达胶质细胞相关性 AQP4。在大鼠星形胶质细胞内 IL-1 β 和干扰素(interferon, IFN) β 上调 AQP484,但并非 IL-1 β 或 TNF- α ,而是 IFN- γ 在体内增加人星形胶质细胞 AQP4 的表达^[32]。胶质细胞和内皮细胞之间的作用对

于血脑屏障的功能非常重要^[33-34]。当血脑屏障功能降低,任何可以活化和上调 AQP4 的条件均导致与抗 AQP4 特异性抗体结合的抗原表位密度增加,从而破坏细胞功能导致水通道功能失调,使得水进出细胞障碍,这可能也是 NMO 最初的病理学改变。K⁺通道与 AQP4 同样位于星形胶质细胞的足突部,K⁺通道的抗体是否也参与引起 NMO 有待进一步研究。

4 小结

研究发现 AQP 在眼部很多细胞中表达并起作用,如睫状体非色素上皮细胞^[35]、晶状体上皮细胞^[36]、角膜内皮细胞^[37]及角膜正常发育过程^[38]。但 NMO-IgG 与 NMO 之间的具体作用机制尚未完全明确。确定 NMO-IgG 在 NMO 中是否有致病性十分重要。抗 AQP4 抗体自身可以引起病理改变是因为其在血脑屏障较易通过的部位进入 CNS,因此损伤处有免疫炎症因子进入 CNS 的星形胶质细胞。通过 AQP4 功能发生障碍和血脑屏障容易通透时,发生免疫病理学改变,说明 AQP4 对调节脑组织水肿的重要性。对于 NMO 发病而言,在特异位置(视神经和脊髓)高表达 AQP4 的不同种类,但对自身抗体有一定特异性的抗原和血脑屏障对血清蛋白的通透是 2 个必需条件。如果自身抗体无致病性,自身反应性 B 细胞可以捕获同类抗原,递呈抗原给非反应性 MOG 或 AQP4 特异性 T 细胞,也可以引发 NMO。来自外周和 CNS 的 AQP4 诱发 AQP4 特异性的 T 细胞和 B 细胞有很多途径。炎症反应和潜在的自身免疫异常可增加 AQP4 的表达,促抗原特异性淋巴细胞成熟,为进行自身免疫反应提供条件。AQP4 特异性的抗体是否代表一种引起 CNS 的免疫病理改变的新方式? AQP4 特异性 T 细胞是否是可有可无的或者是否属于抗 AQP4 特异性抗体的复杂致病机制的一部分? 其中抗 AQP4 特异性抗体是否与一般抗原特异性 T 细胞一起在 CNS 自身免疫反应中起重要作用? 这些问题均有待进一步的研究。

参考文献

- 1 Lana-Peixoto MA, Devic's neuromyelitis optica; a critical review [J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2008, 66(1): 120-138
- 2 Graber DJ, Levy M, Kerr D, et al. Neuromyelitis optica pathogenesis and aquaporin 4 [J]. *J Neuroinflamm*, 2008, 5(1): 22
- 3 Wingerchuk DM, Lucchinetti CF. Comparative immunopathogenesis of acute disseminated encephalomyelitis, neuromyelitis optica, and multiple sclerosis [J]. *Curr Opin Neurol*, 2007, 20: 343-350
- 4 Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, et al. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel [J]. *J Exp Med*, 2005, 202: 473-477
- 5 Pittock SJ, Lennon VA, de Seze J, et al. Neuromyelitis optica and non organ-specific autoimmunity [J]. *Arch Neurol*, 2008, 65: 78-83

- 6 Haase CC, Schmidt S. Detection of brain-specific autoantibodies to myelin oligodendrocyte glycoprotein, S100beta and myelin basic protein in patients with Devic's neuromyelitis optica [J]. *Neurosci Lett*, 2001, 307: 131 - 133
- 7 Correale J, Fiol M. Activation of humoral immunity and eosinophils in neuromyelitis optica [J]. *Neurology*, 2004, 63: 2363 - 2370
- 8 Lalive PH, Menge T, Barman I, et al. Identification of new serum autoantibodies in neuromyelitis optica using protein microarrays [J]. *Neurology*, 2006, 67: 176 - 177
- 9 Lucchinetti CF, Mandler RN, McGavern D, et al. A role for humoral mechanisms in the pathogenesis of Devic's neuromyelitis optica [J]. *Brain*, 2002, 125: 1450 - 1461
- 10 Mandler RN, Davis LE, Jeffery DR, et al. Devic's neuromyelitis optica: a clinicopathological study of 8 patients [J]. *Ann Neurol*, 1993, 34: 162 - 168
- 11 Cloys DE, Netsky MG. Neuromyelitis optica. // Vinken PJ, Bruyn GW, eds. *Handbook of clinical neurology* [M]. Vol 9. Amsterdam; North Holland, 1970: 426 - 436
- 12 Prineas JW, McDonald WI. Demyelinating diseases. // Graham DI, Lantos PL, eds. *Greenfield's neuropathology* [M]. 6th ed. London; Arnold, 1997: 813 - 896
- 13 Nielsen S, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, et al. Specialized membrane domains for water transport in glial cells: high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain [J]. *J Neurosci*, 1997, 17: 171 - 180
- 14 Nagelhus EA, Veruki ML, Torp R, et al. Aquaporin-4 water channel protein in the rat retina and optic nerve: polarized expression in Müller cells and fibrous astrocytes [J]. *J Neurosci*, 1998, 18: 2506 - 2519
- 15 Neely JD, Christensen BM, Nielsen S, et al. Heterotetrameric composition of aquaporin-4 water channels [J]. *Biochemistry*, 1999, 38: 1156 - 1163
- 16 Rash JE, Davidson KG, Yasumura T, et al. Freeze-fracture and immunogold analysis of aquaporin-4 (AQP4) square arrays, with models of AQP4 lattice assembly [J]. *Neuroscience*, 2004, 129: 915 - 934
- 17 Moe SE, Sorbo JG, Sogaard R, et al. New isoforms of rat aquaporin-4 [J]. *Genomics*, 2008, 91: 367 - 377
- 18 Misu T, Fujihara K, Kakita A, et al. Loss of aquaporin 4 in lesions of neuromyelitis optica; distinction from multiple sclerosis [J]. *Brain*, 2007, 130: 1224 - 1234
- 19 Sinclair C, Kirk J, Herron B, et al. Absence of aquaporin-4 expression in lesions of neuromyelitis optica but increased expression in multiple sclerosis lesions and normal-appearing white matter [J]. *Acta Neuropathol*, 2007, 113: 187 - 194
- 20 Guy J, Rao NA. Acute and chronic experimental optic neuritis. Alteration in the blood-optic nerve barrier [J]. *Arch Ophthalmol*, 1984, 102: 450 - 454
- 21 Hofman P, Hoyng P, van Werf F, et al. Lack of blood-brain barrier properties in microvessels of the prelaminar optic nerve head [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42: 895 - 901
- 22 Tso MO, Shih CY, McLean IW. Is there a blood-brain barrier at the optic nerve head [J]? *Arch Ophthalmol*, 1975, 93: 815 - 825
- 23 Hiroaki Y, Tani K, Kamegawa A, et al. Implications of the aquaporin-4 structure on array formation and cell adhesion [J]. *J Mol Biol*, 2006, 355: 628 - 639
- 24 Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica; distinction from multiple sclerosis [J]. *Lancet*, 2004, 364: 2106 - 2112
- 25 Lu M, Lee MD, Smith BL, et al. The human AQP4 gene: definition of the locus encoding two water channel polypeptides in brain [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 10908 - 10912
- 26 Nagy G, Szekeres G, Kvell K, et al. Development and characterization of a monoclonal antibody family against aquaporin 1 (AQP1) and aquaporin 4 (AQP4) [J]. *Pathol Oncol Res*, 2002, 8: 115 - 124
- 27 Bettelli E, Pagany M, Weiner HL, et al. Myelin oligodendrocyte glycoprotein-specific T cell receptor transgenic mice develop spontaneous autoimmune optic neuritis [J]. *J Exp Med*, 2003, 197: 1073 - 1081
- 28 Carson MJ. Microglia as liaisons between the immune and central nervous systems: functional implications for multiple sclerosis [J]. *Glia*, 2002, 40: 218 - 231
- 29 Becher B, Bechmann I, Greter M. Antigen presentation in autoimmunity and CNS inflammation; how T lymphocytes recognize the brain [J]. *J Mol Med*, 2006, 84: 532 - 543
- 30 Hickey WF. Basic principles of immunological surveillance of the normal central nervous system [J]. *Glia*, 2001, 36: 118 - 124
- 31 Carson MJ, Doose JM, Melchior B, et al. CNS immune privilege; hiding in plain sight [J]. *Immunol Rev*, 2006, 213: 48 - 65
- 32 Satoh J, Tabunoki H, Yamamura T, et al. Human astrocytes express aquaporin-1 and aquaporin-4 in vitro and in vivo [J]. *Neuropathology*, 2007, 27: 245 - 256
- 33 Abbott NJ. Dynamics of CNS barriers: evolution, differentiation, and modulation [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2005, 25: 5 - 23
- 34 Abbott NJ, Ronnback L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7: 41 - 53
- 35 李嘉文, 李平华, 张黎. 局部碳酸酐酶抑制剂对睫状体非色素上皮细胞 AQP1 表达的影响 [J]. *眼科研究*, 2006, 24(3): 292 - 295
- 36 熊新春, 苗娟, 席祖莲, 等. 地塞米松对体外培养的晶状体上皮细胞水通道蛋白-1 表达的影响 [J]. *眼科研究*, 2006, 24(5): 472 - 475
- 37 张红旭, 张明昌. 水通道蛋白-1 在角膜内皮细胞液体转运中的作用研究 [J]. *眼科研究*, 2007, 25(3): 205 - 207
- 38 李艳, 张文芳, 鲁建华, 等. 水通道蛋白 1.4 在正常大鼠角膜和晶状体生长发育过程中的表达 [J]. *眼科研究*, 2008, 26(9): 649 - 651

(收稿: 2008-09-16 修回: 2009-05-21)

(本文编辑: 王莉红)

读者·作者·编者

本刊对“作者单位”的要求

本刊要求以完成论文研究和写作的单位为作者单位。作者单位放于文章首页左下角, 写法举例: “作者单位: 450003 郑州, 河南省眼科研究所(李×、王×); 广州, 暨南大学医学院眼科(刘×)”。院所名体现城市名者不必重复, 例如“100005 北京市眼科研究所”。文稿中只 1 名作者或几名作者同属一个单位者, 只注邮政编码、城市、单位, 不必注姓名。作者中第一作者的工作单位变更时, 则用中括号加小括号注出, 例如: “[陈×(研究生, 现在××医院眼科)]”。作者单位的英文译名放在英文文题之下、作者姓名汉语拼音之后。论文如属国家自然科学基金资助项目或省部级以上重点攻关课题, 请在首页左下角脚注中注明“本课题为××基金资助(基金号: ×××××)”, 列在作者单位之前一行。通讯作者的 Email 地址列在作者单位的后一行。

(本刊编辑部)