

·学科进展与展望·

我国免疫性皮肤病基础研究现状与展望

洪 微¹ 张作文²

(1 第二军医大学附属长征医院皮肤科,上海 200003; 2 国家自然科学基金委员会生命科学部,北京 100085)

[摘 要] 本文总结近 5 年(1999—2003 年)国家自然科学基金资助免疫性皮肤病基础研究的情况,并主要介绍了结缔组织病、自身免疫性大疱病、银屑病基础研究成果和进展。

[关键词] 皮肤病,免疫,基础研究

皮肤病病种多达 4000 多种,除感染性疾病外,绝大多数病因不明,而多种皮肤病的病因、病理机制都涉及免疫学说。本文对国家自然科学基金委员会(以下简称自然科学基金会)近 5 年(1999—2003)有关免疫性皮肤病基础研究的资助情况及其研究进展做一概述和分析。

1 概 况

1986 年 Bos 等提出皮肤免疫系统概念,皮肤不仅是免疫反应的效应器官,同时也是免疫反应的启动部位,含有多种免疫活性细胞,包括固定于皮肤中的免疫细胞,或是动态进入皮肤的非固定免疫细胞。如:朗格汉斯细胞、真皮树突细胞、角质形成细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、内皮细胞、淋巴细胞、肥大细胞等,活跃地参与免疫反应。免疫性皮肤病是皮肤病学基础和临床研究的重要课题。

自然科学基金会在 1999—2003 年 5 年间,共受理皮肤病学研究申请项目 260 项,39 项得到资助,共计投入资金 766 万元。其中 20 项(51.3%)为有关免疫性皮肤病的研究项目,包括重点项目 1 项,共获得资助 456 万元,占总经费的 59.5%,涵盖了皮肤科与免疫因素致病有关的绝大多数病种,涉及各种结缔组织病、多种自身免疫性大疱性疾病、银屑病等,以及皮肤免疫系统中免疫活性细胞、免疫效应物质的基础免疫学研究。某些色素性皮肤病其发病机制可能与免疫学说有关的,如白癜风,在此仍沿用皮肤病学教科书及专业书籍使用的分类方法,暂未列入免疫性皮肤病的范畴。

2 研究进展

2.1 结缔组织病发病机制的研究

结缔组织病属于非器官特异性的自身免疫病,绝大多数常在起病时即有皮肤损害,因此是皮肤学科的重要研究课题。其基础研究目前主要围绕以下几个方面:疾病的有关易感因素分析、遗传基因、疾病相关基因的筛选、HLA 相关性研究、T、B 淋巴细胞表型及其调控、各种自身抗体在发病中的作用、细胞因子、凋亡相关因子的研究等^[1]。

红斑狼疮是最具代表性的自身免疫病,长期大量的研究工作揭示了红斑狼疮体液免疫异常及其与临床表现之间的联系;对淋巴细胞活化进行了集中研究,证实了众多细胞因子、凋亡异常或基因多态性参与调控红斑狼疮患者的淋巴细胞活化,并由此开展了一系列生物或基因疗法治疗红斑狼疮实验动物或患者;免疫遗传学主要集中于红斑狼疮家系的研究,发现了某些 MHC 位点与红斑狼疮发病的相关性^[2,3],但大多数红斑狼疮患者不呈家族性发病,并非所有患者都呈现 MHC 相关性,因此这种 MHC 相关性仅提示一种免疫遗传学趋势,尚不能说明基因水平的免疫异常。

近 5 年自然科学基金会资助有关红斑狼疮的研究项目 4 项,分别是有关抗原、抗体和相关基因的研究。“系统性红斑狼疮 DNA 甲基化状态及其与免疫异常的相关性”项目试图探讨 DNA 甲基化与自身抗原暴露的关系。分析了系统性红斑狼疮(SLE)患者血浆、单一核细胞及皮损中 DNA 甲基化状态;并在

本文于 2004 年 3 月 22 日收到。

比较患者趋化因子受体 mRNA、Th-2 细胞因子及其受体多态性基础上,筛选有意义的靶基因,研究靶基因的甲基化状态;从而明确 SLE 患者中存在着 DNA 甲基化异常,及其与自身抗原的暴露、自身抗体产生的关系。

“SSB 抗体优势对红斑狼疮组织损伤的‘保护’作用研究”课题组在长期的临床和实验观察中发现亚急性皮肤型红斑狼疮(SCLE)患者血清 SSB 抗体与其他抗体共同产生时,SSB 抗体的量远远高于其他抗体;临床上 SSB 阳性的 SCLE 患者内脏损害少、病情轻、预后好^[4]。从而提出假设:在相伴性自身抗体(或多种自身抗体)产生中,SSB 抗体可能存在优势效应,这种优势效应很可能对其他致病性强的抗体有抑制效应。课题组建立了人 Ro/SSA、La/SSB 抗原真核表达体系^[5],观察 Ro/SSA、La/SSB 抗原及 dsDNA 抗原对实验动物抗体产生的免疫诱导效应、当互相配伍免疫动物时抗体产生的特征:有无优势效应、两种抗原免疫动物产生相应自身抗体时,SSB 抗体能否抑制其他抗体的致病作用及其抑制程度。该研究结果对红斑狼疮发病机理及治疗都具有十分重要的提示。

“单卵双生 SLE 患者淋巴细胞活化调控基因的筛选和鉴定”项目利用单卵双生 SLE 家系特殊病例,筛选和鉴定 SLE 淋巴细胞活化调控相关基因,可望较为准确、方便地发现 SLE 相关基因。目前已成功构建了患者淋巴细胞长标签基因表达系列分析的标签库。

综观目前红斑狼疮免疫紊乱的研究多针对某个自身抗体、单个细胞因子、分子(与细胞增殖、凋亡相关的分子)、某一信号传导通路的孤立研究,缺乏整体、系统的研究。关于自身抗原的形成机制,尤其是基因水平的改变与自身抗原形成的关系知之甚少;体液免疫异常与细胞免疫异常之间的联系,以及它们与基因改变之间的关系尚不清楚,因此并未能从根本上揭示红斑狼疮免疫紊乱的机制。未来红斑狼疮研究热点主要有:(1)识别影响易感性与病情严重性的基因;(2)识别表达免疫活化早期信号的基因;(3)识别涉及细胞活化/凋亡的新基因;(4)识别涉及移除凋亡物质的受体;(6)针对缺陷基因的持续表达,开发基因载体。并将基因异常、体液、细胞免疫异常、细胞内信号传导等结合起来,进行纵深的整体研究,是未来国内红斑狼疮研究的方向^[6]。

2.2 自身免疫性大疱病的研究进展

自身免疫性大疱病属于器官特异性自身免疫

病,包括表皮内和表皮下大疱病。前者主要是天疱疮,后者是大疱性类天疱疮、线状 IgA 大疱病、获得性大疱性表皮松解症等一组疾病。国内研究较多的主要是天疱疮和类天疱疮,近 5 年自然科学基金会在此类疾病方面的资助项目有 4 项。

大疱病研究已进入从基因水平揭示抗原性质的时代^[7]。“寻常性天疱疮抗原表位的精确定位及抗原肽的治疗研究”利用噬菌体肽库技术对寻常性天疱疮的致病性表位进行精确定位,运用寻常性天疱疮患者血清筛选、寻找高亲和力的表位肽,并应用建立的新生鼠模型观察合成表位肽的防护与治疗作用。目前已发现七个与病人血清亲和力高、而与正常人血清亲和力低的克隆及其氨基酸序列,并可阻断病人血清与桥粒芯糖蛋白-3(Dsg-3)细胞外功能区 EC-2 结合;与已知 EC-2 序列进行对比,7 个克隆分别定位在不同的位置^[8,9]。目前正在将 7 个多肽通过在噬菌体表面展示,观察其与病人及正常人血清的反应情况。此项目不仅从抗原的分子水平探讨寻常性天疱疮的发病机理;重组表位肽还提供了简便、快速、特异的诊断方法;并可阻断致病性循环抗体,用于疾病的治疗;研究技术还可推广应用于其他自身免疫病,尤其是器官特异性自身免疫病的抗原分析。该课题组目前开始了抗体转型治疗天疱疮的研究,2003 年又获得自然科学基金会资助。基于天疱疮患者病程不同时期抗天疱疮抗体亚型的不同,通过天疱疮鼠模型观察 Th1、Th2 细胞因子干预对抗天疱疮抗体 IgG 型别产生的影响、抗体的致病性;对产生致病性抗体亚型的免疫大鼠通过注射 Th1 细胞因子,试图使其产生的致病性抗体亚型 Ig4 转型为非致病性 IgG1 亚型。这对于天疱疮治疗以及其他器官特异性自身免疫病的治疗研究开辟了新途径。

副肿瘤性天疱疮(paraneoplastic pemphigus, PNP)是 1990 年正式命名的一种自身免疫性大疱性疾病。北京大学第一医院皮肤科朱学骏教授课题组在 1999 年诊断了国内首例病人,并发现肿瘤中病理性 B 细胞克隆的存在与皮肤黏膜自身免疫现象有着直接关系,系统评价了肿瘤切除后皮肤黏膜损害的变化和自身抗体滴度变化的关系,提出该病发病可能与肿瘤细胞产生的抗体相关。对病人肿瘤 B 淋巴细胞免疫球蛋白重链可变区基因的序列特性和表达进行了研究,发现 7 名患者肿瘤 B 细胞均表达 2 种近似的 IgV_H 第 3 互补决定区(CDR3)片段,证明所有 7 例病人肿瘤中存在克隆性重排,导致相似的 IgV_H 互补决定区。并从培养细胞上清检测到与患者血清

中抗体性质一致的自身抗体,由此得到肿瘤细胞能够产生抗体的直接证据^[10],明确了 Castleman 瘤分泌的抗体与表皮桥粒蛋白反应,是副肿瘤性天疱疮发病的基本原因。据此修订了该病的治疗方案,治疗的 10 例病人全部存活,使本病的治疗达到国际领先水平。目前正在研究本病 B 细胞克隆所识别的表皮特异性蛋白的抗原表位;全长克隆病理性 B 细胞免疫球蛋白重链和轻链可变区基因,并作重排和突变分析;对致病性 B 细胞克隆及其特异性抗体的互补决定区基因结构进行分析,以达到捕获这些克隆并予以特异性清除的目的。这种途径是针对致病性 B 细胞克隆的特异性治疗,将克服目前自身免疫病的治疗缺乏特异性、副作用大等缺点,是一种值得探索的新方向。

3 银屑病

近 5 年自然科学基金会有关银屑病的研究项目 7 项,内容包括免疫遗传学、神经免疫学、转基因小鼠模型的构建、维甲酸受体、信号传导分子等方面的研究。银屑病遗传家系、易感基因的搜寻是目前银屑病基础研究的热点。自 1994 年国外共确定了 7 个银屑病易感基因位点,其中染色体 6p21.3 上的 PSORS1 在不同人种的基因组扫描中多次被证实。安徽医科大学张学军教授课题组对 61 个中国汉族人寻常型银屑病家系 355 例个体进行全基因组扫描研究,初步证实了染色体 6p21 上易感基因位点 PSORS1;同时在染色体 4q31 上发现了一个新的易感基因区域接近白种人中扫描出的易感基因位点 PSORS3^[11,12]。目前正在加大样本量对 242 个寻常型银屑病家系进行全基因组扫描和连锁分析,增加连锁的把握度,以期在新的染色体位置上鉴定出小样本定位研究未能检出的易感区域,明确与其他种族银屑病易感基因位点的差异。

神经免疫学机制在银屑病发病中的作用也是研究的新方向。角质生成细胞、成纤维细胞是神经生长因子等神经营养素的来源;感应神经释放的神经肽通过神经肽受体直接作用于角质生成细胞、朗格汉斯细胞、肥大细胞、真皮微血管内皮及其他免疫细胞。神经营养素、神经肽、神经肽受体和神经肽降解酶组成了相互关联的网络系统。“朗格汉斯细胞调控银屑病发病的神经免疫学机制”课题组的研究结果表明寻常型银屑病皮损中诱导型一氧化氮(NO)合成酶和降钙素基因相关肽在基因和蛋白水平高表达,定位于真皮层。高浓度 NO 抑制角质生成细胞

的增殖,形成凋亡小体。

围绕 T 细胞亚群介导银屑病发病,“T 细胞介导的自身免疫性转基因小鼠银屑病模型的构建”课题组建立鸡卵白蛋白重组质粒的转基因小鼠,将具有特异识别鸡卵白蛋白肽段 T 细胞受体的 CD8 T 细胞输入,但未诱导出类似银屑病的皮损和病理学变化^[13]。这从反面说明银屑病的发病机制的复杂性,如复杂的细胞(生长)因子网络系统、感染免疫因素如超抗原的参与、神经免疫学机制等。

多年来针对银屑病表皮细胞增生过度的机理,围绕角质形成细胞、皮损中生长因子、细胞因子和信号传导途径等进行了大量的研究,但存在着不连贯、缺乏整体性、系统性的缺陷,多是针对某个细胞(生长)因子、某一信号传导蛋白的孤立研究。细胞(生长)因子网络系统紊乱是银屑病发病的中间环节,其如何启动、超抗原在其中的作用、网络系统中各种因子的相互作用以及与神经内分泌系统之间的关系、各种因子在遗传易感性个体中的传递途径、对角质形成细胞等效应细胞的综合作用等等,有待进行系统、整体的研究。未来银屑病的研究热点主要围绕这些问题展开,并将基因异常、体液、细胞免疫异常、细胞内信号传导等结合起来,进行纵深的整体研究。这也是免疫性皮肤病基础研究共同问题。

参 考 文 献

- [1] 张建中,马圣清. 继续深入开展结缔组织疾病的临床和基础研究. 中华皮肤科杂志, 2003, 36(1): 2—3.
- [2] 叶冬青,施小明,陆伟等. 系统性红斑狼疮遗传流行病学研究. 中华皮肤科杂志, 2003, 36: 7—10.
- [3] 梁伶,郑文军. 广西壮族系统性红斑狼疮与 HLA-DRB1 等位基因相关性研究. 中华皮肤科杂志, 2003, 36: 23—24.
- [4] 张建中,金江,郭利劭等. 两型急性皮肤型红斑狼疮病情演变的分离现象. 中华皮肤科杂志, 2001, 29: 176—177.
- [5] 金江,夏东岚,张建中. 52000Ro/SSA 抗原结构分析及抗原片段克隆. 中华皮肤科杂志, 2002, 35: 34—37.
- [6] 陈志强,徐文严. 如何深入研究结缔组织病. 中华皮肤科杂志, 2002, 35(1): 8.
- [7] 朱学骏. 大疱病 40 年回顾与展望. 中华皮肤科杂志, 1993, 26: 67—69.
- [8] 潘萌,郑捷,李卫平等. 寻常型天疱疮抗原 ECI-2 表位的致病性研究. 中华皮肤科杂志, 2002, 35: 9—11.
- [9] 潘萌,郑捷,李卫平等. 重组寻常型天疱疮抗原抗血清的制备与纯化. 上海免疫学杂志, 2002, 22: 16—19.
- [10] Wang Liangchun, Bu Dingfang, Yang Yong et al. Castleman's tumours and production of antibody in paraneoplastic pemphigus. Lancet, 2004, 363: 525—531.
- [11] Zhang X J, He P P, Wang Z X et al. Evidence for a major psoriasis

susceptibility locus at 6p21 (PSOR1) and a novel candidate region at 4q31 by genome-wide scan in Chinese Hans. *J Invest Dermatol*, 2000, 119:1361—1366.

[12] Zhang X J, Wang H Y, Hsute Shao et al. Study on genetic epidemiology of psoriasis vulgaris in Chinese psoriatic patients. *Int J Dermatol*, 2002, 41:663—669.

[13] 高兴华, 小阪博, 陈洪铎等. 小鼠角质形成细胞 MHC-I 类限制性内源性抗原递呈系统的构建. *中华皮肤科杂志*, 2001, 34: 277—279.

OVERVIEW AND PROSPECTS OF THE FUNDAMENTAL RESEARCH ON IMMUNOLOGIC DERMATOSIS IN CHINA

Hong Wei¹ Zhang Zuowen²

(1 Department of Dermatology, Changzheng Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200003;

2 Department of Life Science, NSFC, Beijing 100085)

Abstract This paper overviews the fundamental research projects on immune dermatosis supported by National Natural Science Foundation of China from 1999 to 2003, and introduces the experimental results, progresses and prospects on etiology and pathological mechanism of the common and important immune dermatosis: connect tissue disease, autoimmune bullous dermatosis and psoriasis.

Key words dermatosis, immune, fundamental research

·资料·信息·

2004 年度申请国家自然科学基金项目数据统计

截至时间:2004 年 4 月 15 日

资助类别	亚类说明	科 学 部							合计
		数理	化学	生命	地球	工程与材料	信息	管理	
面上项目	自由申请	2139	2693	12134	2431	5212	3007	2019	29635
	青年基金	486	701	3568	685	1320	907	402	8069
	地区基金	78	146	944	129	150	68	50	1565
重点项目		80	119	548	166	148	98	67	1226
重大研究计划项目	面上项目	49	39	107	41	78	100	8	422
	重点项目	11	29	49	51	31	17	3	191
国家杰出青年· 科学基金项目	杰出青年	159	149	281	122	199	119	28	1057
	海外合作	35	25	152	26	43	40	8	329
	港澳合作	4	4	5	3	6	5	4	31
专项基金项目	学部主任	61		3				1	65
	科学仪器	12	14	14	3	6	17		66
	科普项目					1			1
	其 他	11	15	22	10	10	4	12	84
联合资助基金项目	面上项目	156	3	7	2	117	140	9	434
	重点项目	6	4	3	1	10	6		30
合 计		3287	3941	17837	3670	7331	4528	2611	43205

(注:由于篇幅有限,本表中有的项目和科学部是简称)

(计划局 供稿)