

• 甲状腺疾病专栏 •

TSHR 信号转导通路在 Graves 眼病发病机制中的作用

孟淑华 魏军平

【摘要】 近年来 Graves 眼病发病率逐年上升,引起人们的广泛关注。目前该病的发病机制尚不明确。促甲状腺激素受体(TSHR)信号转导通路是 Graves 眼病发病的关键因素。文章综述了 TSHR 信号转导通路在 Graves 眼病发病机制中作用的相关研究,介绍了 TSHR 信号转导通路具体途径,以及在此基础上开发的能结合 TSHR 并阻断信号转导通路的低相对分子质量 TSHR 拮抗剂 NCGC00229600,为治疗 Graves 眼病开创了新前景。

【关键词】 Graves 眼病;促甲状腺激素受体;信号转导

Roles of TSHR signal transduction pathway in Graves' ophthalmopathy Meng Shuhua, Wei Junping, Department of Endocrinology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Corresponding author: Wei Junping, Email: weijunping@126.com

【Abstract】 In recent years, the incidence of Graves' ophthalmopathy (GO) has increased greatly, and caused widespread concern. Currently, the pathogenesis of GO is unclear. Studies have shown that receptor of thyroid stimulating hormone (TSHR) and its signaling pathway are key factors in GO. Here reviews the research progress of TSHR signal transduction pathway in the pathogenesis of GO. NCGC00229600, a small molecule TSHR antagonist may have great promise in the treatment or prevention of GO in the future.

【Key words】 Graves' ophthalmopathy; Thyroid stimulating hormone receptor; Signal transduction

(Int J Endocrinol Metab, 2014, 34: 84-86)

Graves 眼病(GO)又称甲状腺相关眼病,是一种器官特异性自身免疫性疾病。临床表现为突眼、睑裂增宽、上眼睑挛缩、复视、斜视、结膜炎症(畏光、流泪、充血及水肿等)、角膜溃疡、视野缺损及视力下降等。病理变化包括大量淋巴细胞和单核细胞等免疫活性细胞浸润,多种促炎细胞因子释放,引起糖胺聚糖堆积,眼外肌细胞水肿、眼外肌纤维化,眶内脂肪和结缔组织增生和水肿。目前关于 GO 的发病机制尚未十分明确,但促甲状腺激素受体(TSHR)及其信号转导通路一直被认为是其发病的关键因素。本文就 TSHR 信号转导通路在 GO 发病机制中的作用及其意义进行综述。

1 TSHR 与 GO

TSHR 存在于甲状腺滤泡上皮细胞、脂肪细胞、

骨细胞、心肌细胞中,是 G 蛋白耦联受体,为七次跨膜蛋白,受体胞外结构域识别胞外信号分子并与之结合,胞内结构域与 G 蛋白耦联。TSHR 包含 3 个部分:(1)细胞外 N 端,TSHR 的胞外区为促甲状腺激素(TSH)和促甲状腺激素受体抗体(TRAAb)识别及结合部位,有多个不连续的 TSH 结合位点,甲状腺刺激性抗体及甲状腺刺激阻断型抗体的表位分别以胞外区的 N 端和 C 端为主^[1]。(2)跨膜部分,包括疏水性跨膜 α 螺旋(I-VII),胞外环结构,胞内环结构,非活动状态的构象由一组核心的极性跨膜区 2、3、6 和 7 之间的相互作用制约,活跃状态的构象稳定,主要由非极性跨膜区 5 和 6 之间的相互作用来维持^[2]。(3)胞质内羧基端部分,其中半胱氨酸通过二硫键形成第 4 个胞内环结构。

研究表明,GO 患者的脂肪组织中有 TSHR 的表达,GO 患者的眶内前脂肪细胞分化为成熟的脂肪细胞后,其 TSHR 的表达量增加,TSHR 的活化促进人眼眶前脂肪细胞的早期分化^[3]。Douglas 等^[4]研究显示,成纤维细胞表达胰岛素样生长因子(IGF)-1 受体和

TSHR 等相关的自身抗原,并分化为脂肪细胞积聚在 GO 眼眶组织,成纤维细胞可能参与 GO 的发病^[4]。Kumar 等^[5]研究表明 TSH 和促甲状腺激素受体抗体 M22 可增加白细胞介素(IL)-6 在眼眶前脂肪细胞中的表达;TSHR 自身抗体可能对 GO 的发生起直接作用。Lehmann 等^[6]总结了 GO 的成纤维细胞活化的途径,提出触发 GO 的自身抗体结合并激活眼眶成纤维细胞,使眼眶成纤维细胞释放 T 淋巴细胞趋化因子,淋巴细胞与成纤维细胞相互作用,进一步促进 T 细胞趋化因子的产生和分泌。成纤维细胞与 T 细胞相互作用的结果是细胞外基质沉积、成纤维细胞增殖和脂肪细胞分化。

2 TSHR 信号转导通路在 GO 发病中的作用

目前已知 TSHR 信号转导通路基本通过 4 条途径对 Graves 病起作用:cAMP/蛋白激酶 A(PKA)/细胞外信号调节激酶(ERK)、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)、蛋白激酶 C(PKC)/转录因子核因子- κ B、PKC/c-raf/ERK/p90 核糖体 S6 蛋白激酶(P90RSK)和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)^[7]。由 TSHR 所介导的效应器主要包括:腺苷酸环化酶(AC)系统和磷脂酶 C 系统。AC 系统是发现最早、研究最多的,由 G 蛋白调节的系统之一,通过刺激 G 蛋白激活 AC,产生 cAMP,再进一步激活其下游信号转导通路,影响细胞的功能。磷脂酶 C 途径通过刺激 $G_{q/11}$,激活磷脂酶 C,产生磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸肌醇,水解产生三磷酸肌醇作为第二信使发挥作用。三磷酸肌醇是短时间信使,作用时间仅数秒钟,然后通过去磷酸化形成二磷酸肌醇或磷酸化形成三磷酸肌醇而终止信号转导通路。

AC/cAMP 信号转导通路是甲状腺细胞 TSHR 发挥作用的主要信号途径。Allen 等^[8]研究表明当 TSH 与 TSHR 同源二聚体高亲和力结合位点结合时,通过 G_s 可刺激 cAMP 的产生,不产生一磷酸肌醇。当 TSH 与 TSHR 同源二聚体高亲和力结合位点和低亲和力结合位点结合时,通过激活 G_s 和 $G_{q/11}$ 信号,同时增加 cAMP 和一磷酸肌醇的生成。最近研究表明,GD-IgG 抗体(由 Graves 病患者血清中提取)和 M22(是一种高亲和力的人单克隆 IgG L 链刺激性 TSHR 抗体)通过刺激诱导分化的成纤维细胞可以产生 cAMP^[9]。但此前认为成纤维细胞的分化是由 GD-IgG 抗体诱导的,并不是通过重组人 TSH(rhTSH),从而刺激透明质酸的合成,提示 TSHR 介导的 cAMP 信号转导通路在 GD-IgG 抗体诱导成纤维细胞分化而致的透明质酸合成中不起主要作用^[10]。

¹。前期一项研究显示,在未分化的 GO 眼眶成纤维细胞中,GD-IgG 抗体和 rhTSH 都不促进透明质酸的合成^[11]。正常未分化的眼眶成纤维细胞受牛 TSH 和 TRAb 两个单克隆抗体(一个刺激性和一个中性)的刺激,可激活 TSHR,诱导合成透明质酸合成酶 1 和 2,增加透明质酸的生成^[12]。上述研究结果不同的原因可能为实验中所用细胞的种类及处理方法不同,以及 GD-IgG、rhTSH 和 bTSH 对 TSHR 的亲合力和效力不同。

PI3K 是一类特异性催化磷脂酰肌醇 3-羟基磷酸化产生第二信使的激酶。通过 PI3K/Akt 信号转导通路,调节细胞增殖、抗凋亡、细胞迁移、膜泡转运等生物学事件。Kumar 等^[13]研究发现,低浓度 TRAb 通过 PI3K/Akt 信号转导通路促进眶内前脂肪细胞分化为脂肪细胞,在脂肪细胞分化中起核心作用,抑制 PI3K/Akt 信号转导通路可能在 GO 的治疗中起重要作用。其进一步研究证明 PI3K/Akt/mTOR 信号转导通路在透明质酸的合成中起重要作用^[14]。

3 TSHR 信号转导通路与其他信号转导通路的交叉作用

由于细胞信号转导通路是复杂的网络,多条信号转导途径相互交叉发挥作用。在甲状腺疾病中 TSHR 和 IGF-1 受体信号转导通路在下游存在交叉,共同致病。研究表明,成纤维细胞和脂肪组织中均表达 TSHR 和 IGF-1 受体^[12]。Tsui 等^[15]研究发现,TSHR 和 IGF-1 受体在眼眶成纤维细胞信号转导通路存在相互作用。Smith 等^[16]也证明 IGF-1 受体和 TSHR 共同参与 GO 的发病。在 GO 发病中 TSHR 和 IGF-1 受体信号转导通路具体如何作用仍需要进一步研究。

4 针对 TSHR 信号转导通路的靶点药物

目前,尚无有效的手段预防和治疗 GO。目前的治疗方式包括皮质类固醇激素、外照射辐射、免疫抑制剂和手术治疗。这些干预主要针对症状,而不是病因,并且这些治疗并不能阻止或扭转眼眶组织的病理变化。近来,许多学者将目光投向 TSHR 及其信号转导通路的关键节点,以期从疾病的发病机制入手治疗 GO 病。

Neumann 等^[17]开发了一种小分子变构 TSHR 逆激动剂,NCGC00229600,这种低相对分子质量 TSHR 的拮抗剂,能抑制 TSHR 信号转导系统的激活,减少 TSH 或 M22 刺激后的 GO 眶内成纤维细胞产生 cAMP。低相对分子质量 TSHR 拮抗剂可能用于治疗 GO^[18]。Turcu 等^[19]进一步证明 NCGC00229600 能结合

TSHR, 抑制由 M22 刺激未分化眼眶成纤维细胞产生 cAMP、磷酸化 Akt 蛋白, 并且呈剂量依赖性的抑制透明质酸的产生。该化合物还抑制 TSAb(MS-1) 和 bTSH 刺激的 cAMP、磷酸化 Akt 蛋白和透明质酸的产生。

细胞的信号转导几乎涉及细胞内所有的病理生理活动。目前对 GO 的研究已深入到细胞信号转导, 并已取得重要成果, 但细胞信号转导通路是复杂的网络, 多条信号转导途径可相互交叉作用, 对于 TSHR 各条信号途径的相互作用以及与 IGF-1 受体等的作用仍需进一步研究。TSHR 及其耦联的效应酶可作为药物的研发靶点。

参 考 文 献

- [1] Kleinau G, Mueller S, Jaeschke H, et al. Defining structural and functional dimensions of the extracellular thyrotropin receptor region[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(25):22622-22631.
- [2] Kleinau G, Hoyer I, Kreuchwig A, et al. From molecular details of the interplay between transmembrane helices of the thyrotropin receptor to general aspects of signal transduction in family A G-protein-coupled receptors (GPCRs) [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(29):25859-25871.
- [3] Zhang L, Baker G, Janus D, et al. Biological effects of thyrotropin receptor activation on human orbital preadipocytes[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(12):5197-5203.
- [4] Douglas RS, Afifyan NF, Hwang CJ, et al. Increased generation of fibrocytes in thyroid-associated ophthalmopathy [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(1):430-438.
- [5] Kumar S, Schiefer R, Coenen MJ, et al. A stimulatory thyrotropin receptor antibody (M22) and thyrotropin increase interleukin-6 expression and secretion in Graves' orbital preadipocyte fibroblasts[J]. *Thyroid*, 2010, 20(1):59-65.
- [6] Lehmann GM, Garcia-Bates TM, Smith TJ, et al. Regulation of lymphocyte function by PPARgamma: Relevance to thyroid eye disease-related inflammation[J]. *PPAR Res*, 2008, 2008:895901.
- [7] Latif R, Morshed SA, Zaidi M, et al. The thyroid-stimulating hormone receptor; impact of thyroid-stimulating hormone and thyroid-stimulating hormone receptor antibodies on multimerization, cleavage, and signaling[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2009, 38(2):319-341, viii.
- [8] Allen MD, Neumann S, Gershengorn MC. Occupancy of both sites on the thyrotropin (TSH) receptor dimer is necessary for phosphoinositide signaling [J]. *FASEB J*, 2011, 25(10):3687-3694.
- [9] van Zeijl CJ, van Koppen CJ, Surovtseva OV, et al. Complete inhibition of rhTSH-, Graves' disease IgG-, and M22-induced cAMP production in differentiated orbital fibroblasts by a low-molecular-weight TSHR antagonist[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(5):E781-E785.
- [10] 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' ophthalmopathy not only via cyclic adenosine monophosphate signaling pathways[J]. *Thyroid*, 2011, 21(2):169-176.
- [11] 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[J]. *Thyroid*, 2010, 20(5):535-544.
- [12] Zhang L, Bowen T, Grennan-Jones F, et al. Thyrotropin receptor activation increases hyaluronan production in preadipocyte fibroblasts: contributory role in hyaluronan accumulation in thyroid dysfunction [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(39):26447-26455.
- [13] Kumar S, Nadeem S, Stan MN, et al. A stimulatory TSH receptor antibody enhances adipogenesis via phosphoinositide 3-kinase activation in orbital preadipocytes from patients with Graves' ophthalmopathy[J]. *J Mol Endocrinol*, 2011, 46(3):155-163.
- [14] Kumar S, Iyer S, Bauer H, et al. A stimulatory thyrotropin receptor antibody enhances hyaluronic acid synthesis in Graves' orbital fibroblasts; inhibition by an IGF-I receptor blocking antibody[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(5):1681-1687.
- [15] 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]. *J Immunol*, 2008, 181(6):4397-4405.
- [16] Smith TJ, Hegedüs L, Douglas RS. Role of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) pathway in the pathogenesis of Graves' orbitopathy [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2012, 26(3):291-302.
- [17] Neumann S, Eliseeva E, McCoy JG, et al. A new small-molecule antagonist inhibits Graves' disease antibody activation of the TSH receptor[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(2):548-554.
- [18] Neumann S, Pope A, Geras-Raaka E, et al. A drug-like antagonist inhibits thyrotropin receptor-mediated stimulation of cAMP production in Graves' orbital fibroblasts[J]. *Thyroid*, 2012, 22(8):839-843.
- [19] 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 [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(5):2153-2159.

(收稿日期: 2013-09-21)