

临床研究

· 综述 ·

利妥昔单抗克隆抗体治疗 Graves 病的作用机制

黄慧 胡欣 徐一娇 刘超

【摘要】 Graves 病(GD)是一种 B 淋巴细胞介导、T 淋巴细胞依赖的器官特异性自身免疫性疾病。利妥昔单抗克隆抗体(RTX)是一种人鼠嵌合型抗 CD20 单克隆抗体,与 B 淋巴细胞膜上 CD20 抗原特异性结合,通过补体依赖性细胞毒作用、抗体依赖性细胞毒作用、以及直接诱导细胞凋亡来杀伤 B 淋巴细胞。RTX 在改善 GD 患者甲状腺功能、降低 GD 复发率及甲状腺相关抗体滴度方面卓有成效。

【关键词】 利妥昔单抗克隆抗体;Graves 病;B 淋巴细胞

基金项目:江苏省科技计划项目(BK20141037)

Mechanism of rituximab in the treatment of Graves' disease Huang Hui, Hu Xin, Xu Yijiao, Liu Chao. Endocrine and Diabetes Center, Jiangsu Province Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Branch of China Academy of Chinese Medical Science, Nanjing 210028, China

Corresponding author: Liu Chao, Email: liuchao@nfm.cn.com

【Abstract】 Graves' disease is a B lymphocyte-mediated and T lymphocyte-dependent organ specific autoimmune disease. Rituximab(RTX), the human/mouse chimeric anti-CD20 monoclonal antibody, combines with CD20 antigen of B lymphocytes' surface specifically and kills B lymphocyte through complement-dependent cytotoxicity, antibody-dependent cellular cytotoxicity and induction of direct cell death. RTX can markedly improve the thyroid function, decrease the recurrence rate and the antibody levels related to thyroid of patients with Graves' disease.

【Key words】 Rituximab; Graves' disease; B lymphocyte

Fund program: Natural Science Foundation of Jiangsu of China (BK20141037)

目前,Graves 病的治疗方式主要包括抗甲状腺药物治疗、放射性碘治疗及手术。相较于放射性碘治疗及手术,抗甲状腺药物仍作为近年来 Graves 病治疗的首选。然而,抗甲状腺药物的治疗仍存在诸多弊端,包括高复发率、治疗周期长、甲状腺肿大缓解率低,从而对患者造成了极大的经济及心理负担^[1]。

利妥昔单抗克隆抗体(RTX)是一种通过基因重组技术合成的人鼠嵌合型抗CD20单克隆抗体,由人 IgG1 抗体 Fc 段和鼠 CD20 单克隆抗体 Fab 段构成。RTX 与 B 淋巴细胞的细胞膜上 CD20 抗原特异性结合,通过补体依赖性细胞毒作用、抗体依赖性细胞毒

作用、以及直接诱导细胞凋亡来杀伤 B 淋巴细胞,从而发挥免疫调节作用^[2]。

近年来,RTX 在 Graves 病的治疗方面愈加受到关注。本文就 RTX 治疗 Graves 病的作用机制进展进行综述。

1 RTX 对 Graves 病患者 B 淋巴细胞的杀伤作用

B 淋巴细胞在 Graves 病的致病过程中发挥关键作用^[3]。研究发现,B 淋巴细胞遗传缺陷小鼠自身免疫性甲状腺炎等自身免疫性疾病的发病率大大降低^[4]。此外,B 淋巴细胞遗传缺陷小鼠的 Graves 病模型实验显示,T 淋巴细胞无法诱发出促甲状腺激素受体(TSHR)免疫反应,提示 TSHR-反应性 T 细胞的活化效应受损^[5]。综上,B 淋巴细胞的缺失不仅能够减少致病抗体的活动性,还能够抑制自身致病免疫应答,这为自身免疫性疾病的治疗提供了一种崭新的思路^[5]。而 RTX 为抗 CD20 抗体,通

过其抗原结合区与 B 淋巴细胞表面的 CD20 抗原特异性结合并杀伤 B 淋巴细胞,从而在 Graves 病的治疗中起至关重要的作用。

CD20 是一种非糖基化跨膜蛋白,在前体 B 淋巴细胞向未成熟 B 淋巴细胞的转化过程中表达于细胞表面,并在效应 B 淋巴细胞分化时脱落^[6]。CD20 与钙离子的跨膜传递、细胞周期以及 B 淋巴细胞的增殖、分化有关^[7]。不同的抗 CD20 抗体对 B 淋巴细胞的影响亦存在差异。抗 CD20 抗体 B1 主要影响 B 淋巴细胞的钙离子浓度变化的调控。细胞内钙离子浓度较低时,细胞遵循正常细胞周期生长。当抗 CD20 抗体 B1 与 CD20 结合后,在浆膜上形成钙离子通道,促使细胞内的钙离子浓度升高,抑制 B 淋巴细胞从 G1 期进入 S/G2 + M 期,最终导致 B 淋巴细胞凋亡。RTX 的抗原结合区与 B 淋巴细胞表面的 CD20 抗原特异性结合,通过 Fc 段调动宿主免疫活性细胞,从而发挥免疫抑制作用,在 Graves 病的治疗中起至关重要的作用。

2 RTX 对 Graves 病患者炎性因子的影响

Graves 眼病是 Graves 病中最常见的甲状腺外表现,目前认为,甲状腺和眼眶组织抗原之间的免疫交叉反应是其主要发病机制。在 Graves 眼病活动期,主要产生由辅助性 T 淋巴细胞 1 型衍生的细胞因子如白细胞介素(IL)-6 和 IL-1 以及干扰素- γ 诱导的趋化因子,诸如 CXCL10 趋化因子配体 10 (CXCL10),趋化白细胞向炎症反应部位聚集,而辅助性 T 淋巴细胞 2 型衍生的细胞因子,包括 IL-4、IL-5 和 IL-10,与 Graves 眼病的发展密不可分。过去的研究证明,IL-6 及其可溶性受体在活动性 Graves 眼病患者的血清中显著升高。而活动性 Graves 眼病患者血清中 CXCL10 水平越高,Graves 眼病的病程越短,这一点可能与辅助性 T 细胞 2 型衍生的细胞因子对干扰素- γ 的负反馈有关。

Vannucchi 等^[8]对 10 例 Graves 眼病患者使用 RTX 治疗后发现,血清 IL-6 和可溶性 IL-6 受体浓度在治疗后并没有明显改变,但血清 CXCL10 在 RTX 耗竭 B 淋巴细胞后的 30 周时明显升高,血清甲状腺刺激性抗体(TSAb)与促甲状腺激素受体抗体(TRAb)相关性没有明显变化。说明 RTX 治疗 Graves 眼病的过程中,并不是影响体液反应,其 CXCL10 浓度的升高与 RTX 耗竭 B 淋巴细胞,导致其裂解进而释放出 CXCL10 有关。

3 RTX 对 Graves 病患者甲状腺功能的影响

RTX 在改善 Graves 病患者甲状腺功能缓解率及降低复发率方面具有显著优势。El Fassi 等^[9]选取了 20 例甲状腺功能亢进症(甲亢)患者,先使用甲巯咪唑将患者的甲状腺功能控制到正常范围内,随后将其分为 RTX 治疗组及非 RTX 治疗组。RTX 治疗组中 4 例患者甲状腺功能均得到有效控制,其持续时间不仅长达 705 d,而且 TRAb 水平均低于 5 IU/L,优于非 RTX 治疗组。

Heemstra 等^[10]通过观察 13 例 Graves 病复发者发现,9 例 RTX 治疗者的 FT₄ 水平明显下降,血清 TSH 水平较前显著上升,甲状腺功能逐渐恢复正常并维持约 18 个月。该项研究亦表明,此类患者均为低 TRAb 水平者(平均在 4 IU/L 左右),这与 El Fassi 等^[9]的结果类似。基于上述证据,可以推测 RTX 能够提高 Graves 病的缓解率,尤其是低 TRAb 水平患者。

4 RTX 对 Graves 病患者相关抗体的影响

除了影响甲状腺功能外,RTX 亦能显著降低甲状腺相关抗体水平。El Fassi 等^[11]研究证实,在 13 周时,RTX 组、甲巯咪唑组及 RTX 与甲巯咪唑联合治疗组,TRAb 水平的下降程度没有显著差异。13 周以后,非 RTX 治疗患者的 TRAb 水平未再下降,而 RTX 治疗患者的 TRAb 水平仍持续下降。另外,Salvi 等^[12]发现,RTX 治疗 30 周后,Graves 病患者 TRAb 水平下降近 40%,而其降低 TRAb 水平的作用无异于糖皮质激素治疗。Heemstra 等^[10]研究表明,9 例 Graves 病患者在 RTX 治疗 26 周后 TRAb 水平下降了 52%。因此,RTX 能够显著降低 TRAb 水平,但与甲巯咪唑、甲强龙相比,其降低 TRAb 效应与二者无异。

Liu 等^[13]报道了 1 例接受高剂量甲强龙冲击治疗后,症状仍得不到明显好转,继而结合 RTX 治疗的 Graves 眼病活动期女性患者。治疗后其临床症状及美国甲状腺协会 Graves 眼病(NOSPECS)分级得分明显降低,并且在 RTX 治疗后 2 个月,其血清 TRAb 水平显著降低。另外,在 RTX 治疗期间和之后,患者通过用甲巯咪唑治疗维持甲状腺功能。RTX 可以通过消耗 B 淋巴细胞来减弱严重 Graves 眼病的活动度,并且可以通过降低血清 TRAb 水平来促进 Graves 病的恢复。

El Fassi 等^[11]通过对 RTX 治疗患者的血清进

行分析,发现在治疗 20 周后 TSAb 水平明显下降。Salvi 等^[12]的数据显示,在使用 RTX 治疗后 50 周,患者的抗甲状腺过氧化物酶抗体水平下降了大约 65%,其与 El Fassi 等^[11]的实验结果一致。

此外,Graves 病患者的抗双链 DNA 抗体,抗 C1q 以及抗中性粒细胞胞质抗体等抗体在 RTX 治疗后均有不同程度的下降^[14-15]。

Graves 病及其并发症严重影响患者的生活。RTX 治疗 Graves 病的作用机制主要包括:免疫抑制、调节炎症因子和甲状腺功能、影响 Graves 病相关抗体等,在 Graves 病的治疗上实现重大突破。然而,RTX 价格昂贵,使其临床应用受到限制。此外,RTX 的不良反应也需要予以重视,输液反应最为常见,约 10%~30% 首次静脉滴注患者可出现,因此,输液期间须予心电监护密切观察^[16]。严重感染及多发灶脑白质病、心血管损害等不良反应较为罕见^[17]。除此之外,El Fassi 等^[18]还报道了关节痛、结肠炎以及虹膜睫状体炎等迟发性不良反应。不良反应通常可以通过治疗前使用抗组胺药物及 100 mg 氢化可的松预防。目前关于 RTX 治疗 Graves 病的临床研究较少,样本量较少。RTX 对 Graves 病的作用机制仍需进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Okosieme OE, Lazarus JH. Current trends in antithyroid drug treatment of Graves' disease [J]. Expert Opin Pharmacother, 2016, 17 (15): 2005-2017. DOI: 10. 1080/14656566. 2016. 1232388.
- [2] Abulayha A, Bredan A, El Enshasy H, et al. Rituximab; modes of action, remaining dispute and future perspective [J]. Future Oncol, 2014, 10 (15): 2481-2492. DOI: 10. 2217/fon. 14. 146.
- [3] Ueki I, Abiru N, Kobayashi M, et al. B cell-targeted therapy with anti-CD20 monoclonal antibody in a mouse model of Graves' hyperthyroidism [J]. Clin Exp Immunol, 2011, 163 (3): 309-317. DOI: 10. 1111/j. 1365-2249. 2010. 04301. x.
- [4] Braley-Mullen H, Yu S. Early requirement for B cells for development of spontaneous autoimmune thyroiditis in NOD. H-2h4 mice [J]. J Immunol, 2000, 165 (12): 7262-7269.
- [5] Pichurin P, Aliesky H, Chen CR, et al. Thyrotrophin receptor-specific memory T cell responses require normal B cells in a murine model of Graves' disease [J]. Clin Exp Immunol, 2003, 134 (3): 396-402.
- [6] Rudnicki M. Rituximab for treatment of membranoproliferative glomerulonephritis and C3 glomerulopathies [J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 2180508. DOI: 10. 1155/2017/2180508.
- [7] Lenz G, Dreyling M, Hoster E, et al. Immunotherapy with rituximab and cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone significantly improves response and time to treatment failure, but not long-term outcome in patients with previously untreated mantle cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG) [J]. J Clin Oncol, 2005, 23 (9): 1984-1992. DOI: 10. 1200/JCO. 2005. 08. 133.
- [8] Vannucchi G, Campi I, Bonomi M, et al. Rituximab treatment in patients with active Graves' orbitopathy: effects on proinflammatory and humoral immune reactions [J]. Clin Exp Immunol, 2010, 161 (3): 436-443. DOI: 10. 1111/j. 1365-2249. 2010. 04191. x.
- [9] El Fassi D, Nielsen CH, Bonnema SJ, et al. B lymphocyte depletion with the monoclonal antibody rituximab in Graves' disease: a controlled pilot study [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92 (5): 1769-1772. DOI: 10. 1210/jc. 2006-2388.
- [10] Heemstra KA, Toes RE, Sepers J, et al. Rituximab in relapsing Graves' disease, a phase II study [J]. Eur J Endocrinol, 2008, 159 (5): 609-615. DOI: 10. 1530/EJE-08-0084.
- [11] El Fassi D, Banga JP, Gilbert JA, et al. Treatment of Graves' disease with rituximab specifically reduces the production of thyroid stimulating autoantibodies [J]. Clin Immunol, 2009, 130 (3): 252-258. DOI: 10. 1016/j. clin. 2008. 09. 007.
- [12] Salvi M, Vannucchi G, Campi I, et al. Treatment of Graves' disease and associated ophthalmopathy with the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab: an open study [J]. Eur J Endocrinol, 2007, 156 (1): 33-40. DOI: 10. 1530/eje. 1. 02325.
- [13] Liu X, Guo H, Liu J, et al. Clinical efficacy of combined rituximab treatment in a woman with severe Graves' ophthalmopathy [J]. Exp Ther Med, 2016, 12 (2): 1093-1096. DOI: 10. 3892/etm. 2016. 3367.
- [14] Vallerskog T, Gunnarsson I, Widhe M, et al. Treatment with rituximab affects both the cellular and the humoral arm of the immune system in patients with SLE [J]. Clin Immunol, 2007, 122 (1): 62-74. DOI: 10. 1016/j. clin. 2006. 08. 016.
- [15] Stasi R, Stipa E, Del Poeta G, et al. Long-term observation of patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis treated with rituximab [J]. Rheumatology (Oxford), 2006, 45 (11): 1432-1436. DOI: 10. 1093/rheumatology/kei098.
- [16] 冯凯旋, 任丽君, 夏振娜, 等. 抗 CD20 单克隆抗体研究进展 [J]. 中外健康文摘, 2013, 10 (25): 123-124.
- [17] 陈净, 李剑. 利妥昔单抗的罕见不良反应 [J]. 药物不良反应杂志, 2010, 12 (5): 321-323. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-5734. 2010. 05. 005.
- [18] El Fassi D, Nielsen CH, Junker P, et al. Systemic adverse events following rituximab therapy in patients with Graves' disease [J]. J Endocrinol Invest, 2011, 34 (7): e163-e167. DOI: 10. 3275/7411.

(收稿日期: 2017-08-05)