

亨廷顿病：免疫观点

安纳普尔纳维尔玛, 拉菲亚·纳亚克, 苏尼尔·安萨尔, 多梅尼科·马尔科·基肖尔, 乌代·博尼法蒂
神经内科, 生命科学学院, 意大利特伦托

摘要: 亨廷顿病 (HD) 是一种进行性神经退行性疾病, 由 CAG 三核苷酸重复序列的异常扩增引起。神经炎症是大多数神经退行性疾病的典型特征, 会导致大脑受影响区域出现一系列病理变化。HD 中的神经变性也是由在聚集的突变亨廷顿蛋白存在下的异常免疫反应引起的。免疫激活对 HD 神经系统的影响是一个相对未探索的研究领域。本文总结了与 HD 发展和进展相关的免疫学特征。

关键词: 亨廷顿病; 神经炎症; 病理

Education and Cognitive Functioning Across the Life Span

Annapurna Verma, Rafia Nayak, Sunil Ansar, Domenico Marco Kishore, and Uday Bonifati
Department of Neurology, School of Life Sciences, Trento, Italy

Abstract: Huntington's disease (HD) is a progressive neurodegenerative disorder that is caused by abnormal expansion of CAG trinucleotide repeats. Neuroinflammation is a typical feature of most neurodegenerative diseases that leads to an array of pathological changes within the affected areas in the brain. The neurodegeneration in HD is also caused by aberrant immune response in the presence of aggregated mutant huntingtin protein. The effects of immune activation in HD nervous system are a relatively unexplored area of research. This paper summarises immunological features associated with development and progression of HD.

Keywords: Huntington's disease, neuroinflammation, pathological

引言:

亨廷顿病 (HD) 最早由乔治·亨廷顿于 1872 年发现, 是一种常染色体显性遗传的进行性神经退行性疾病, 会影响对运动和认知的控制以及心理症状的发展。临床综合症的患病率为 3-7 : 100000, 而近 20 : 100000 是导致该疾病的基因的携带者。症状包括导致人格改变的心智能力减弱 (即抑郁、自杀倾向, 在极少数情况下还会出现暴力行为)、痴呆症的发展、由于缺乏肌肉协调而导致精神运动功能丧失以及异常突然的不自主运动统称为舞蹈病, 严重影响步态和敏捷性。虽然这种疾病有可能在从童年到老年的任何时候出现, 但它的特点是中年舞蹈病的发作 (大约 33-44 岁)。

亨廷顿病 (HD) 是一种常染色体显性遗传疾病, 在位于 4 号染色体上的 HD 基因的外显子 1 中, 三核苷酸 CAG 重复扩增 ≥ 36 。不稳定的 CAG 重复在亨廷顿 (htt) 中转化为聚谷氨酰胺 (polyQ) 延伸蛋白, 广泛表达, 包括在神经元和神经胶质细胞中广泛表达。CAG 重复次数与发病年龄呈负相关。

这种突变会导致不自主运动障碍、精神症状和认知能力下降。退化过程主要涉及中等棘状纹状体神经元和皮质神经元, 导致功能障碍和随后的神经元损失。

自 1993 年发现 HD 突变以来, 对该病的病理生理学和分子生物学的认识有了显着提高。除其他外, HD 中的组织损伤机制包括兴奋性毒性、线粒体损伤、自由基, 以及可能还有炎症机制, 包括小胶质细胞激活。新的治疗策略旨在减缓疾病进展或预防疾病发作。然而, 目前尚不清楚 HD 中的神经炎症是否只是一种反应过程, 或者是否对疾病进展有积极影响。

在 HD 患者中, Htt 基因中异常扩增的 CAG 重复导致突变亨廷顿蛋白 (mHtt) 的转录。疾病进展的强度与这些 CAG 重复的数量直接相关。例如, 在正常人中, CAG 重复次数约为 8-39, 而在 HD 中, 重复次数范围在 36 到 120 之间。这种多聚谷氨酰胺重复序列的异常扩增也与与野生型 Htt 功能一致的神经元功能障碍的发展有关。这种功能障碍有助于临床症状的表现。尽管 mHtt 通过功能获得获得毒性的机制仍存在争议, 但 CAG 重复导

致包含纤维状突变 Htt 片段的包涵体在纹状体神经元内聚集。这些异常聚集物似乎是该疾病中神经变性的主要原因。在 mHtt 的表达过程中, 前 100-150 个残基(包括多聚谷氨酰胺重复序列)被切除, 这些片段是有毒的。

HD 的神经病理学标志是位于侧脑室大脑中的基底神经节核(即尾状核)的退化。退变的强度在尾状核中可以从轻微到严重不等, 而在壳核中则不那么突出。随着疾病的进展, 尾状核的神经元损失显著增加, 同时尾状核灰质中存在反应性星形胶质细胞和小胶质细胞, 而早期未观察到明显的神经胶质增生。在新纹状体中, 在存活神经元和神经胶质细胞的细胞体和突触过程中发现了突变的 Htt。有趣的是, Htt 的表达不仅限于大脑, 而是一种普遍表达的蛋白质。

一、大脑中的免疫系统

大脑曾被认为是免疫特权器官, 无法产生体液和细胞免疫反应。血脑屏障(BBB)的存在进一步支持了这一观点, 因为它将中枢神经系统与全身免疫系统的其他部分分开。然而, 这种情况适用于没有受到任何免疫或炎症性疾病影响的健康中枢神经系统。如果发生外伤、轴切断、缺血和退化, 中枢神经系统内的免疫系统就会被激活。小胶质细胞是中枢神经系统的常驻巨噬细胞, 在健康的大脑中处于静止状态。小胶质细胞的活化导致其细胞表面抗原的上调和促炎细胞因子的分泌。这种细胞因子如 IL-6、IL-12 和 TNF- α 的分泌导致相邻小胶质细胞、星形胶质细胞、T 细胞、神经元和骨髓祖细胞之间的对话。除了慢性炎症, 这些促炎细胞因子的分泌可导致自由基产生、NMDA 介导的兴奋性毒性和半胱天冬酶激活, 从而因神经元死亡而导致大脑广泛受损。

二、亨廷顿病大脑中的免疫系统: 补体和细胞因子

脑内病理损伤的存在可以引发免疫反应。在大多数神经退行性疾病中, 对蛋白质和聚集体异常折叠的免疫反应会引发神经炎症, 而神经炎症又与神经元变性有关。与其他神经退行性疾病中神经炎症和神经退行性变的起源一致, 观察到突变的 Htt 聚集体, 新纹状体萎缩是 HD 大脑中的一个显著特征, 这表明新地层, 即壳核和尾状核中存在大量神经退行性变。致病蛋白聚集体是免疫豁免器官和局部免疫系统的抗原呈递细胞的异物, 即小胶质细胞可能识别聚集体。蛋白质聚集体也可能通过细胞凋亡导致神经元死亡, 而凋亡小体可以激活小胶质细胞和中枢神经系统先天免疫系统。HD 的进展仍然知之甚少。然而, 基因携带者不表现出典型 HD 患者的典型体征和症状的预表现 HD 为疾病进展提供了重要线索。这些包括由于 mHtt 聚集和早期神经元功能障碍导致纹状体中存在活化的小胶质细胞, 包括致病性突触外 NMDA 受体信号传导升高、突触连接性降低和脑源性神经营养因子

(BDNF) 丧失。炎症细胞因子的表达也有所增加, 见下文。

如前所述, 大脑的常驻巨噬细胞、小胶质细胞监督其微环境, 以发现任何外伤、损伤或异物的迹象。在这些刺激的情况下, 会发生小胶质细胞的激活。活化的小胶质细胞的存在是免疫激活的良好标志。最近的一项研究报告了症状前 HD 基因携带者的小胶质细胞激活, 以及激活与纹状体神经元功能障碍之间的关联。这项研究得到了早期研究的支持, 其中在 HD 的受影响区域中发现了活化的小胶质细胞, 并且其积累的强度与疾病进展的等级一致。这种小胶质细胞的积累会导致一系列事件, 最终导致神经元丢失。然而, 在 HD 中, 突变 Htt 可能导致区域特异性神经元死亡的确切机制仍不清楚。许多研究表明免疫成分可能引发神经胶质增生和神经退行性变。

参与 CNS 免疫监视的主要免疫机制之一是补体系统, 它在受到病理性肽(如突变 Htt)刺激时被激活。补体系统是几种神经退行性疾病的关键因素, 是先天免疫系统最重要和最强大的体液成分。补体系统的重要功能包括宿主防御病原微生物的作用, 清除免疫复合物和凋亡细胞, 并促进适应性免疫反应。它还介导过敏毒素(C3a、C4a 和 C5a)的产生, 通过诱导趋化性和细胞活化来触发脱粒、细胞裂解和吞噬作用。根据靶配体和识别补体成分, 补体系统通过三种途径被激活。然而, 所有三种途径的共同目标是激活补体系统的中心成分, 即 C3。补体系统激活水平的改变被认为是炎症、神经退行性和脑血管疾病的重要致病因素。

许多补体成分(如 C1q、C1r、C4、C3)以及补体调节剂、C1 抑制剂、凝聚素、MCP、DAF、CD59 在严重萎缩的 HD 脑样本中的表达表明补体系统的募集在 HD 发病机制中。

对周围神经系统参与 HD 的研究仍处于早期阶段。最近在周围神经系统 HD 患者中检测到促炎细胞因子如 IL-6、IL-8 和 TNF- α 的上调, 与疾病阶段无关。HD 患者血浆的蛋白质组学分析还检测到促炎细胞因子(尤其是 IL-6)以及其他先天免疫蛋白(如急性期蛋白 α 2-巨球蛋白(α 2M)和凝聚素)的上调。Clusterin 是一种多功能糖蛋白, 参与细胞保护、膜再循环和膜攻击复合物调节的多种机制。凝聚素的上调还涉及多种生理和病理状态, 包括细胞凋亡和对损伤的反应。Clusterin 以前与其他神经退行性疾病有关, 例如阿尔茨海默病(AD), 其中其血浆水平与神经退行性变的程度相关。有趣的是, 还发现凝聚素在外周血浆和脑脊液中都有表达, 因此表明广泛的免疫激活。在外周血浆中观察到 α 2M 的上调, 其释放受到促炎性 IL-6 的刺激。这些发现与 AD 中的观

察结果一致, 其中 α 2M 在反应性星形胶质细胞中上调, 并且还观察到与 $A\beta$ 结合, $A\beta$ 是导致 AD 中老年斑形成的致病肽。因此, 免疫蛋白和细胞因子的同时上调在 HD 的中枢和外周神经系统中都很明显。

三、HD 中的神经炎症和神经变性

胶质细胞占脑细胞总数的近 90%, 其主要功能是为神经元提供营养、生长因子和结构支持。这些细胞还负责维持 CNS 内的正常生理。正常的大脑每天没有任何免疫激活。然而, 由感染、创伤、毒素和中风引起的一系列事件和级联反应可导致病理性神经炎症和神经退行性变, 这在包括 HD 在内的大多数神经退行性疾病中可见。神经炎症被视为一把双刃剑, 即有利也有弊。急性神经炎症有助于消除毒素和坏死细胞, 它是中枢神经系统内更有益的炎症类型。小胶质细胞受到这些物质的刺激, 并随着各种细胞因子和趋化因子的分泌而发挥吞噬作用。然而, 这种类型的炎症是一种短暂的现象。尽管存在氧化和亚硝化应激, 但该过程很少对神经元的长期存活有害。因此, 它可以最大限度地减少对脑细胞的进一步损伤以及修复受损组织。另一方面, 慢性神经炎症与加剧神经元损伤有关。慢性神经炎症不仅包括小胶质细胞的延长激活和增殖, 还包括促炎细胞因子的分泌增加以及超氧化物和一氧化氮的产生增加。这种长期的炎症会影响 BBB, 进而支持巨噬细胞和骨髓祖细胞浸润到脑实质中, 从而进一步加剧已经加剧的炎症。因此, 慢性炎症的有害影响在神经退行性疾病中突出, 而不是有益的急性炎症。

在正常情况下, 小胶质细胞处于静止状态, 具有极其敏感的蜘蛛状过程监测周围的微环境, 并且缺乏 MHC I 类和 II 类蛋白。激活后, 这些细胞承担抗原呈递细胞的作用, 进而激活 T 细胞。活化的小胶质细胞在 HD 以及其他神经退行性疾病如 AD 和帕金森病的发展和进展中发挥重要作用。几项研究已经检查了小胶质细胞激活与 HD 进展的关系。一项对 HD 大脑的尸检研究显示, 在受 HD 影响的区域, 特别是基底神经节和额叶皮层, 活化的小胶质细胞之间存在显著的积累。有趣的是, 活化小胶质细胞的密度与 HD 病理的严重程度相关, 表明小胶质细胞活化与随后的神经元死亡之间存在明显关联。泰等人。是第一个报告在症状前 HD 个体和纹状体神经元功能障碍的大脑中激活小胶质细胞的证据。在早期明显的 HD 中也观察到反应性小胶质细胞的存在, 其强度随着疾病的进展再次持续增加。对症状前、表现和死后大脑的正电子发射地形图 (PET) 成像研究积极报道了与疾病进展相关的不同强度的小胶质细胞激活; 然而, 由于患者远离疾病发展的可能性, 少数症状前 HD 大脑中的小胶质细胞激活是无法检测到的。

中枢神经系统中的炎症是否是对毒性突变 Htt 引起的神经元死亡的反应, 反之亦然是有争议的。在大脑的受影响区域, 发现扩展的突变 Htt 以 N 末端片段、寡聚体和聚合物 (而不是完整的单体形式) 的形式, 主要在皮层中积累。已知突变 Htt 是直接或间接促进 HD 炎症的关键因素。然而, 现在出现的问题是炎症是由环境中表达的突变 Htt 引起的, 还是由活化的小胶质细胞引起的炎症引起的。免疫分子表达的增加以及促炎细胞因子的分泌对于其他免疫豁免的大脑来说是一种异常状态, 并且通过 CNS 和外周血浆中细胞因子的上调可以明显看出 HD 中的广泛炎症。

近年来已经开展了评估突变 Htt 的毒性及其与神经变性和神经炎症的关系的研究。突变 Htt 在胶质细胞 (包括星形胶质细胞和小胶质细胞) 中的表达与支持 HD 中观察到的炎症有关。表现出 HD 表型的 HD 小鼠模型 (R6/2 转基因小鼠) 已在神经胶质细胞中显示突变 Htt 的表达, 尤其是在星形胶质细胞中。突变 Htt 的核内表达降低了星形胶质细胞的神经保护功能, 使神经元容易退化。还已知神经胶质细胞通过清除细胞外空间中多余的兴奋性神经递质来保护神经元免受兴奋性毒性。这种突变 Htt 的核内表达被认为会导致 HD 大脑纹状体中的中等大小的多刺神经元退化, 并且还会加剧神经系统症状。此外, 已经使用免疫荧光技术鉴定了神经元细胞内的突变亨廷顿蛋白聚集体。有趣的是, 神经胶质细胞中的 N 端突变 Htt 促进了神经元 (不表达突变 Htt 的神经元) 的死亡。

如前所述, 神经炎症也是由小胶质细胞释放细胞因子和趋化因子以及随后的呼吸爆发和氧化应激引起的。在 HD 中看到的整体炎症反应可能同时发生在 CNS 和外周, 或者从外周开始并在 BBB 中集中扩散, 反之亦然, 涉及免疫调节分子。一种这样的关联是 C5a, 它激活吞噬细胞和局部肥大细胞以释放含有组胺和 $TNF-\alpha$ 的颗粒。巨噬细胞分泌的细胞因子包括 IL-6、IL-1 β 、IL-12 和 $TNF-\alpha$, 当然已经在外周发现了 HD 患者中 IL-6 的上调。 $TNF-\alpha$ 刺激携带突变 Htt 蛋白聚集体的树突细胞从外周组织迁移到淋巴结和成熟, 这将启动适应性免疫反应, 进而增强外周免疫反应。免疫细胞从外周血浆渗入中枢神经系统可能是由于神经炎症之前 BBB 的减弱。一项使用 RT-PCR 和原位杂交的研究表明, 与正常大脑相比, 包括 C1q (C 链)、C1r、C4、C3 以及补体调节剂在内的经典途径成分在 HD 大脑中的表达水平要高得多。小胶质细胞对神经元的补体激活和 C1q (经典补体途径的起始亚组分) 的生物合成增加表明经典补体途径的激活可能导致神经炎症。这种补体激活是由于突变的 Htt 聚集还是由于凋亡/坏死的神经元细胞仍不清楚。一般来

说, 广泛的神经炎症会导致神经元死亡, 反之亦然, 导致进行性记忆和运动功能丧失。

四、目前的 HD 治疗

目前没有已知的可用于 HD 的疾病缓解药物。治疗只是对症治疗。Tetrabenazine 是英国唯一获得 HD 许可适应症的药物, 用于治疗舞蹈症。用于治疗阿尔茨海默病认知问题的胆碱酯酶抑制剂试验在 HD 中基本上是阴性的。对患者来说通常最令人困扰的精神症状通常采用用于非 HD 患者的标准药物治疗。例如, 用非典型抗精神病药治疗精神病, 用选择性血清素摄取抑制剂 (SSRI) 或选择性去甲肾上腺素摄取抑制剂 (SNRI) 抗抑郁药治疗抑郁症。除了一项使用文拉法辛的开放标签试验外, 这些治疗主要得到案例研究或小系列研究的支持。目前对 HD 患者的护理涉及许多辅助医学学科, 包括言语和语言治疗、物理治疗、护理和社会护理。

结论

总之, 有大量证据表明神经炎症在几种神经退行性疾病的发展中起着关键作用。然而, 确切的潜在炎症病理机制以及先天性和适应性免疫系统在 HD 病理学中的明确影响仍未完全了解。尚未验证可能触发或可能由例如神经元死亡触发的免疫系统变化是否是 HD 病理的原因或结果。然而, HD 中免疫系统的激活是毋庸置疑的, 并且通过在小鼠模型和有症状以及症状前患者中细胞因子 (如 IL-6) 的升高表达清楚地证明了这一点。此外, 在 HD 中激活 CNS 先天免疫细胞, 如小胶质细胞和星形胶质细胞, 是神经炎症的普遍成分之一, 这些细胞类型直接与几种神经退行性疾病的发病机制有关。因此, 强烈建议炎症对 HD 神经退行性变的贡献, 但没有明确证明。

HD 是一种进行性年龄依赖性神经病理学疾病, 其中免疫激活在 CNS 和外周中均占主导地位。突变的 Htt 聚集体似乎会引发神经变性和慢性神经炎症, 这与 HD 临床综合征密切相关。确定新的免疫生物标志物及其在血浆和中枢神经系统中的水平的研究可以帮助监测疾病的进展。预表现 HD 中补体的潜在上调可能是监测疾病进展的有用免疫生物标志物。

自噬过程的一个重要作用已被证明与 HD 相关。自噬是细胞内降解的细胞稳态机制, 以确保细胞内成分的持续更新。这涉及自噬体的形成, 即与初级溶酶体融合的双膜结构。这些自噬体的内容物在溶酶体中被降解, 要么被丢弃, 要么被回收回细胞。除了管家细胞功能外, 自噬也被认为对聚合蛋白的降解很重要。在 HD 中, 含 Htt 的液泡显示出早期和晚期自噬体的超微结构特征。在体外, 含有 Htt 的细胞质空泡含有溶酶体酶组织蛋白酶 D, 因此表明自噬在 HD 中的作用。通过自噬去除可溶性

和聚集形式的突变 Htt 似乎是一种神经保护机制。然而, 最近有报道称, 由于自噬可能存在缺陷, 突变 Htt 降解缓慢且效率低下, 这可能是 HD 中突变 Htt 积累和随后的神经炎症的机制之一。自噬过程在 HD 发病机制中的贡献需要进一步研究。涉及通过降低炎症免疫蛋白和细胞因子的上调来控制中枢神经系统和外周神经变性和神经炎症的研究将为受 HD 影响的患者的更好预后铺平道路。这可以通过开发靶向补体和小胶质细胞激活的治疗剂来实现, 这反过来又会抑制促炎细胞因子的伴随释放。

参考文献:

- [1]Huntington G. On Chorea. Medical and Surgical Reporter of Philadelphia. 1872;26:317 - 321.
- [2]Walker FO. Huntington's disease. Lancet. 2007;369(9557):218 - 228.
- [3]Purdon SE, Mohr E, Ilivitsky V, Jones BD. Huntington's disease: pathogenesis, diagnosis and treatment. Journal of Psychiatry and Neuroscience. 1994;19(5):359 - 367.
- [4]Orr AL, Li S, Wang CE, et al. N-terminal mutant huntingtin associates with mitochondria and impairs mitochondrial trafficking. Journal of Neuroscience. 2008;28(11):2783 - 2792.
- [5]Reiner A, Dragatsis I, Zeitlin S, Goldowitz D. Wild-type huntingtin plays a role in brain development and neuronal survival. Molecular Neurobiology. 2003;28(3):259 - 275.
- [6]Ali NJ, Levine MS. 2006. Changes in expression of N-methyl-D-aspartate receptor subunits occur early in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. Dev Neurosci 28: 230 - 238.
- [7]Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, Telenius H, Theilmann J, Adam S, Starr E, Squitieri F, Lin B, Kalchman MA. 1993. The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. Nat Genet 4: 398 - 403.
- [8]MacDonald ME, Ambrose CM, Duyao MP, et al. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. Cell. 1993;72(6):971 - 983.
- [9]Buraczynska MJ, Van Keuren ML, Buraczynska KM, Chang YS, Crombez E, Kurnit DM. Construction of human embryonic cDNA libraries: HD, PKD1 and BRCA1 are transcribed widely during embryogenesis. Cytogenetics and Cell Genetics. 1995;71(2):197 - 202.
- [10]Cattaneo E, Zuccato C, Tartari M. Normal huntingtin function: an alternative approach to Huntington's disease. Nature Reviews Neuroscience. 2005;6(12):919 - 930.