

格雷夫斯病及格雷夫斯眼病靶向 TSHR 及 IGF-1R 治疗策略展望

郑薇¹ 王萱¹ 李宁¹ 芮忠颖¹ 谭建¹ 孟召伟¹ 贾强¹ 孙丹阳² 于旸¹

¹天津医科大学总医院核医学科 300052; ²天津医科大学总医院空港医院核医学科 300308

通信作者: 郑薇, Email: chriess99@hotmail.com

【摘要】 目前临床治疗格雷夫斯病(GD)的方法主要有抗甲状腺药物(ATD)治疗、放射性碘(RAI)治疗及外科手术治疗。治疗格雷夫斯眼病(GO)需要在控制甲状腺功能的同时,选择糖皮质激素治疗、眼眶局部放射治疗或手术治疗,然而上述疗法均为对症治疗,并非针对疾病发病机制进行治疗。研发直接靶向促甲状腺素受体(TSHR)或胰岛素生长因子1(IGF-1)受体(IGF-1R)的药物,有望成为从病因而角度对GD及GO进行根治的新方法。本文对上述2种治疗方法的进展及存在的不足进行综述。

【关键词】 格雷夫斯病;受体,促甲状腺素;受体,生长调节素;发展趋势

基金项目:国家自然科学基金(81601523)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20190730-00153

Prospects for the targeted treatment research of TSHR and IGF-1R in Graves disease and Graves ophthalmopathy

Zheng Wei¹, Wang Xuan¹, Li Ning¹, Rui Zhongying¹, Tan Jian¹, Meng Zhaowei¹, Jia Qiang¹, Sun Dan-yang², Yu Yang¹

¹Department of Nuclear Medicine, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China;

²Department of Nuclear Medicine, Tianjin Medical University General Hospital Airport Site, Tianjin 300308, China

Corresponding author: Zheng Wei, Email: chriess99@hotmail.com

【Abstract】 Anti-thyroid drug (ATD), radioactive iodine (RAI) and thyroidectomy are treatment options for Graves disease (GD). Treatment strategies for Graves ophthalmopathy (GO) patients include thyroid function control, oral or intravenous corticosteroids, orbital radiotherapy or orbital decompression surgery. However, current treatments for GD and GO are also less ideal because they target the signs and symptoms rather than the pathogenic mechanisms. The development of treatment strategies that targeting the thyroid-stimulating hormone receptor (TSHR) or insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-1R) alone or in combination may yield effective and better tolerated treatments for GD and GO. This paper reviews the progress and limitations of the 2 methods.

【Key words】 Graves disease; Receptor, thyrotropin; Receptors, somatomedin; Trends

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81601523)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20190730-00153

甲状腺功能亢进症(简称甲亢)是临幊上常见的内分泌疾病之一。格雷夫斯病(Graves disease, GD)约占甲亢的80%以上,因此临幊医师常把GD等同于甲亢。格雷夫斯眼病(Graves ophthalmopathy, GO)是一种与眼外肌、眼眶脂肪组织和结缔组织有关的器官特异性、多因素、多种基因遗传模式的自身免疫反应性疾病^[1],约50%的GD患者会合并眼部症状。目前临幊上针对GD和GO的治疗方法均为对症治疗,并不能从病因而的角度彻底对疾病进行根治,且均存在不足。本文拟从GD及GO发病机制的角度,对靶向促甲状腺素受体(thyroid-stimulating hormone, TSH)受体(TSH receptor, TSHR)和胰岛素生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)受体(IGF-1 receptor, IGF-1R)在治疗GD和GO中的

作用进行综述。

一、GD 和 GO 的治疗现状

目前临幊上治疗GD的方法主要为抗甲状腺药物(anti-thyroid drug, ATD)治疗、放射性碘(radioactive iodine, RAI)治疗及外科手术治疗。甲状腺手术和RAI治疗可能会导致急性并发症,而ATD治疗则可能出现粒细胞缺乏症和(或)肝功能异常等不良反应。长期低剂量的甲巯咪唑治疗可以安全有效地控制GD,尤其是合并GO患者,但停药后易复发^[2-3]。

轻~中度GO患者通过有效控制甲状腺激素水平,积极治疗GD即可改善GO的症状;中~重度GO患者可以选择口服或者静脉给予糖皮质激素治疗、球后放射治疗或者手术治

疗,但上述治疗手段均为对症治疗且具有一定的局限性,因此学者们尝试从不同角度对 GO 进行治疗。一项随机对照双盲试验显示,硒类药物对轻度 GO 的治疗有效,但对于重度患者或硒富足地区的患者是否适用尚不清楚^[4]。此外有报道显示使用糖皮质激素联合生长抑素、雷公藤多苷,以及糖皮质激素联合曲安奈德球后注射治疗 GO 安全有效^[5-6]。也有学者尝试使用霉酚酸酯、甲氨蝶呤、小檗碱、云克(^{99m}Tc-亚甲基二膦酸盐注射液)等药物对中~重度 GO 患者进行治疗,取得一定的安全有效的治疗效果^[7-10]。利妥昔单克隆抗体(简称单抗)(Rituximab, RTX)作为一种人源化嵌合抗 CD20 单抗,可以清除机体成熟阶段的 B 淋巴细胞和短寿命浆细胞,从而对于活动期中~重度 GO 起到治疗作用^[11]。Salvi 等^[12]的研究显示,相对于静脉甲泼尼龙琥珀酸钠治疗,RTX 对于活动期中~重度 GO 的治疗效果更好,不良反应更小。但是在另一项随机对照研究中,RTX 的治疗效果与安慰剂组相比并无显著优势^[13]。

二、TSHR 和 IGF-1R 在 GD 及 GO 中的重要作用

TSHR 负责调节甲状腺功能、控制甲状腺细胞的大小和数量,合成和分泌的甲状腺激素在甲亢、甲状腺功能减退症(简称甲减)、甲状腺肿瘤等多种甲状腺疾病中起重要作用^[14]。

眼眶脂肪组织和眼外肌中可以观察到 TSHR 的表达,在人工培养的眼眶成纤维细胞和正常眼眶脂肪组织中 TSHR 低表达,而在 GO 患者的眼眶成纤维细胞中可以观察到 TSHR 高表达^[15]。本课题组的前期研究表明,TSHR 抗体(TSHR antibody, TRAb)作为 GD 发病的独立危险因素,会影响 GD 患者尤其是女性患者的治疗效果及预后^[16]。TRAb 又包含甲状腺刺激性自身抗体(thyroid-stimulating auto-antibody, TSAb)和甲状腺刺激阻断性抗体(thyroid stimulation-blocking antibody, TSBAb),其中 TSAb 是 GD 的主要致病因素,与 GO 的严重程度之间直接相关,可作为判断 GO 预后的重要指标。

1993 年 Weightman 等^[17]首先发现 IGF-1 结合位点对人眼眶成纤维细胞的高度亲和性,随后 IGF-1R 被确定为 GO 的致病抗原之一。IGF-1 通过与 IGF-1R 结合发挥作用,参与多种细胞的生长、分化、增殖及代谢。有研究发现,与对照组相比,GO 患者的眼眶成纤维细胞可见 IGF-1R 的过度表达。即使经过 RAI 治疗,活动期 GO 患者血清中的 IGF-1 水平也明显高于对照组^[18]。

1986 年 Tramontano 等^[19]首次在大鼠甲状腺细胞中发现了 TSH 和 IGF-1 通路之间的功能联系。2008 年, Tsui 等^[20]发现了一种单抗,其可以特异性阻断 IGF-1R 并抑制 TSHR 诱导的蛋白激酶的信号转导, TSHR 和 IGF-1R 的共定位现象被证实。TSHR 和 IGF-1R 可以从人甲状腺细胞和眼眶成纤维细胞中通过免疫沉淀反应获取,这 2 种受体可以通过其同源配体被选择性激活,同时 TSH 和 IGF-1 已被证明能刺激 GO 患者的眼眶成纤维细胞分泌透明质酸,而透明质酸是一种成纤维细胞样细胞,可在 GO 患者眼眶减压术切除的组织中观察到^[21]。研究表明 TSHR 和 IGF-1R 间存在相互作用,使得 TSAb 诱导的 GO 患者的眼眶成纤维细胞中透明质酸产量增加^[22]。TSHR 和 IGF-1R 是导致 GO 患者眼眶成纤维细胞增生的重要因素^[23]。

三、TSHR 和 IGF-1R 拮抗剂在治疗 GD 和 GO 中的作用

目前针对 GD 和 GO 的治疗均为对症治疗,主要用于缓解患者的症状和体征,而非针对于疾病的发病机制,且尚无公认的直接针对 TSHR 或 IGF-1R 进行治疗的方法。鉴于 GD 和 GO 之间的密切联系,理想的治疗方法是选择一种可以同时治疗 GD 和 GO 的药物。未来的治疗策略包括可以靶向 TSHR 的阻断性抗体或者小分子以及抗原特异性免疫治疗^[24],而鉴于 IGF-1 在 GO 发病过程中的作用,IGF-1R 可以作为 GO 的治疗靶点^[23]。因此,研发靶向 TSHR 及 IGF-1R,单独或联合的治疗策略是可取的。表 1 中总结了多种潜在新疗法的作用机制及优缺点。

1. TSHR 拮抗剂在治疗 GD 和 GO 中的作用。TSHR 是糖蛋白激素受体(glycoprotein hormone receptors, GPHRs)家族成员之一,GPHRs 还包括黄体生成素(luteinizing hormone, LH)受体、绒毛膜促性腺激素受体及卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)受体等,均属于 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)。TSH 和 TSAb 主要与 TSHR 细胞外区域结合,通过细胞内跨膜螺旋和 TSHR 羧基端构象变化,介导 GPCRs 信号转导。选择合适的拮抗剂,通过与 TSHR 结合对 GD 进行干预,是非常有前途的治疗手段。

GO 患者 TSHR 的高表达刺激眼眶成纤维细胞增生,导致眼眶周围组织浸润,这是 GO 发病机制的重要因素^[23]。目前对于 GO 的研究多采用 GO 患者眼眶手术分离出来的组织进行原代培养。实验证明,被 TSAb 激活的 TSHR 可以导致前脂肪成纤维细胞或脂肪细胞的增殖,从而刺激透明质酸的增生和一部分前脂肪细胞分化为成熟的脂肪细胞。由此可见,TSHR 拮抗剂对于由 TSHR 激活的 GO 眼眶成纤维细胞有抑制作用,这是 GO 的药物治疗过程中的重要环节。

(1) 单抗。最先从 GD 患者的 B 细胞中分离出来的人类单克隆阻断性抗体被命名为 5C9,其与 TSHR 的高亲和力可以竞争性抑制 TSAb 或 TSH 与 TSHR 结合。另一种 TSHR 阻断性抗体 K1-70 则来源于 1 例患有自身免疫性甲状腺眼病的甲减患者。该患者血清中可以同时检测到刺激性抗体和阻断性抗体,从而首次证实了同一患者可以同时存在 TSAb 和 TSBAb。从治疗的角度上看,这些“天然”抑制剂的优点包括对于 TSHR 的高亲和性及长达几周的半衰期。然而,由于这些抗体需要静脉给药,其生产、纯化和质量控制都制约着临床应用。尽管大多数被 TSAb 激活的 TSHR 可以被 5C9 和 K1-70 抑制,但是由于这 2 种抗体与 TSHR 结合的方式有所不同,其在抑制 TSAb 过程中的适用性会受到影响。此外,这类抗体的治疗效果和潜在的毒性及不良反应尚不明确。

(2) 小分子拮抗剂(small molecule antagonist, SMANTAG)。近年来,研发作用于 TSHR 的 SMANTAG 也被作为治疗 GD 和 GO 的手段。迄今为止,报道的 SMANTAG 都是与 TSHR 跨膜区的变构位点结合,而不是与 TSH 和 TSAb 所在胞外区的正性结合位点结合。2008 年,Neumann 等^[25]报道了首个选择性拮抗 TSHR 的中性 SMANTAG,其被命名为 NIDDK-CEB-52。在模型细胞株中,NIDDK-CEB-52 可抑制被 TSH 和 TSAb 激活的 TSHR,并通过与人原代甲状腺细胞中的激动剂结合,抑制甲状腺过氧化物酶(thyroperoxidase, TPO)表达的

表 1 靶向 TSHR 或 IGF-1R 治疗 GD 及 GO 的潜在新疗法的作用机制及优缺点

类型	药物	作用机制	优点	缺点
单克隆抗体	5C9	抑制 TSHR 活性	具有治疗 GD 及 GO 的潜能 高亲和性 长半衰期(长达几周)	需静脉给药
	K1-70			生产、纯化、质量控制困难 量产困难 半衰期短
小分子拮抗剂	NIDDK-CEB-52	抑制 TSHR 活性	具有治疗 GD 及 GO 的潜能 口服给药 易于生产和质量控制	
	NCCG00161870			
	NCGC00242595			
	NCGC00161856			
	NCCG00229600 (ANTAG2)		具有治疗 GO 的潜能	
	NCGC00242364 (ANTAG3)			仅在细胞水平验证 尚未进行动物体内实验
	Org 274179-0			需静脉给药 可能出现严重的免疫反应
	环肽	抑制 TSHR 活性	具有治疗 GD 及 GO 的潜能	
肽类	CP829			
	CP835			
	CP836			
	混合肽	抑制 TSHR 和 T 细胞活性	具有治疗 GD 的潜能 已用于 GD 患者 I 期临床试验 安全且耐受性良好	皮内注射给药 注射部位免疫反应
	ATX-GD-59			有加重甲状腺功能亢进症的风险
单克隆抗体	Teprotumumab (RV001, R1507)	抑制 IGF-1R 活性	具有治疗 GO 的潜能 长半衰期(长达几周) 已用于 GO 患者 II 期临床试验 可降低 CAS 评分	需静脉给药 量产、质量控制均困难 非 GO 特异性抗体

注:ANTAG 为拮抗剂,CAS 为临床活动度评分,GD 为格雷夫斯病,GO 为格雷夫斯眼病,IGF-1R 为胰岛素生长因子受体,Teprotumumab 为替普罗单克隆抗体,TSHR 为促甲状腺素激素受体

上调。在随后的研究中,Neumann 等^[26]通过化学修饰的方法改变 TSHR 激动剂的结构支架,研制出 TSHR 拮抗剂 NCCG00161870 及 NCCG00242595,后者为 TSHR 中性拮抗剂,可以很好地区分 TSHR 的激活是由 TSH 还是 TSAb 刺激导致,故其不仅具有临床应用的潜能,还可作为 TSHR 功能探针。

NCCG00161856 是第 1 个被发现的 TSHR 反向激动剂^[27]。在模型细胞株中,其可以用来抑制被 TSH 刺激信号激活的 TSHR 和具有活性的突变 TSHR。在人原代甲状腺细胞中,使用 NCCG00161856 进行治疗可以同时降低甲状腺球蛋白(thyroglobulin, Tg)、TPO、钠碘转运体(sodium iodide symporter, NIS)和 TSHR 4 种甲状腺特异性基因的表达。要具备治疗 GD 及 GO 的潜能,SMANTAG 需要抑制大部分被 TSAb 激活的 TSHR。由于 TSAb 与 TSHR 胞外区结合,而 SMANTAG 的结合位点在跨膜区,由 TSAb 发起的信号转导可以被 SMANTAG 屏蔽。有研究表明,在 30 例 GD 患者的原代甲状腺细胞中,65% 可以观察到 TSAb 诱导的 TPO 基因高表达,可被进一步化学修饰的拮抗剂(antagonist, ANTAG)2(NCCG00229600)抑制^[28],ANTAG2 是一种反向激动剂。由此可见,类似于 ANTAG2 的拮抗剂可以有效抑制 TSAb,从而治疗 GD。

对 ANTAG2 进行进一步的化学修饰获得 ANTAG3(NCCG00242364),ANTAG3 可以选择性抑制 TSHR,而对 LH 受体和 FSH 受体无影响;此外,ANTAG3 可以在小鼠体内抑

制 TSHR 的激活过程,是目前唯一被证明可以有效抑制体内 TSHR 介导的一系列反应的小分子药物^[29]。在通过内源性 TSH 刺激甲状腺建立的小鼠甲亢模型中,ANTAG3 除了可以抑制血清游离甲状腺素(free thyroxine, FT₄)的升高,还可以通过持续作用于促甲状腺激素释放激素(thyrotropin releasing hormone, TRH)来抑制 TPO 和 NIS 表达的增加。在使用人 TSAb 的单抗 M22 构建的小鼠甲亢模型中,ANTAG3 可以抑制 FT₄ 的升高、降低 TPO 和 NIS 的滴度^[29]。虽然用 M22 构建的小鼠甲亢模型不能持续表达 TSAb,但是上述研究可以证明 ANTAG3 可以在活体中抑制小鼠甲状腺功能亢进的状态,从而治疗 GD。

在体外实验中,Org 274179-0 可以抑制由 TSH、TSAb、M22 刺激导致的 GO 眼眶成纤维细胞的增生,从而抑制其向脂肪细胞分化。Neumann 等^[28]研究表明 ANTAG2 作用于未分化的 GO 眼眶成纤维细胞,可以抑制其分化;且 ANTAG2 可以同时抑制由 TSH、M22 介导的细胞分化。此外,由于 ANTAG2 是选择性 TSHR 拮抗剂,不会抑制与 TSHR 使用同一种 cAMP 信号通路的前列腺素 D2 受体的激活信号。进一步的研究显示,在未分化的眼眶成纤维细胞中,ANTAG2 可以抑制 TSAb 诱导的透明质酸增生^[30]。

由此可见,TSHR 的 SMANTAG 具有治疗 GD 和 GO 的潜能。与 ATD 相比,SMANTAG 可以直接将 TSHR 作为靶点进行治疗,且可同时治疗 GD 和 GO。使用阻断性 TSHR 单抗进行治疗,同样具备上述优势。但与单抗相比,SMANTAG 半衰

期较短,利于口服治疗,易于生产和质量控制。TSHR 拮抗剂长期治疗有利于 GD 和 GO 的控制,小剂量 SMANTAG 可以有效控制甲亢,同时避免甲减的出现。

(3) 肽类。Holthoff 等^[31]成功使用表达人 TSHR A 亚单位的重组腺病毒 (recombinant adenovirus expressing human TSHR A subunit, Ad-TSHR) 免疫小鼠,建立疾病模型,并诱导模型处于长期稳定的疾病状态。在 Ad-TSHR 免疫的小鼠中观察到 TSHR 结合 cAMP 刺激抗体后,可使甲状腺增大、血清甲状腺素水平升高、心动过速、心脏肥大和眼眶发生病变。进一步的实验发现,在人类白细胞 DR 抗原 3(human leukocyte antigen DR3, HLA-DR3)转基因小鼠构建的 GD 模型中,使用 T 细胞表位衍生的环肽(CP829、CP835、CP836),以每月 1 次的频率分别对模型小鼠进行治疗,共治疗 6 次,疗后 3~4 个月 TSHR 结合抗体的滴度明显受到抑制, GD 症状明显改善(如缩小甲状腺体积、降低血清甲状腺素水平、缓解心动过速和眼眶后凸的程度)。此种可以拮抗 TSHR 的环肽可能成为未来治疗 GD 的方法之一。

ATX-GD-59 是基于人 TSHR 序列的 2 种可溶性合成肽—9B-N 及 5D-K1 的混合物,这 2 种肽在 HLA-DR3 转基因 GD 小鼠模型中被证明与 TSHR 免疫显性 T 细胞表位的残基类似。因此,ATX-GD-59 被认为与淋巴结中未成熟树突状细胞表面的 HLA-DR 分子具有高度的亲和力,从而降低了抗原呈递细胞活化的风险。Jansson 等^[32]使用 ATX-GD-59 治疗经过人 TSHR 免疫的 HLA-DR3 转基因 GD 模型小鼠,T 细胞和 TRAb 可被不同程度抑制。2019 年 Pearce 等^[33]首次在人体使用 ATX-GD-59 皮内注射治疗 GD,并进行了 I 期临床试验,结果证明其是一种安全且耐受性良好的治疗方法。在所有接受不同剂量 ATX-GD-59 治疗的 10 例患者中,7 例患者 FT₄ 下降,其中 5 例同时出现游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine, FT₃)下降,与此同时,患者血清 TRAb 水平随 FT₄ 同步下降,但仍处于较高水平。其余 3 例患者甲亢症状加重。治疗过程中会出现注射部位轻度肿胀和疼痛。

2. IGF-1R 拮抗剂在治疗 GD 和 GO 中的作用。IGF-1R 是隶属于酪氨酸激酶受体家族的一种跨膜受体,通过与 IGF-1 结合发生磷酸化而被激活。在眼眶成纤维细胞和循环纤维细胞中可以观察到 IGF-1R 的表达。与正常人相比,GO 患者的眼眶成纤维组织中 IGF-1R 表达增高,其可能在 GO 的病生理过程中与 TSHR 具有协同作用^[23]。1993 年 Weightman 等^[17]发现,在 GO 患者的眼眶成纤维细胞中,来自患者的抗体可与放射性标记的 IGF-1 竞争性结合,从而首次提出了 IGF-1R 介导信号在 GO 中有潜在作用。有研究者认为,在一部分 GO 患者中,由于循环抗体刺激 IGF-1R 而导致了 GO 的发病。另外一些研究者得出的结论则与之相反,认为 IGF-1R 抗体不能刺激 IGF-1R 信号的产生,反而会抑制 IGF-1 介导的受体活化,因而 IGF-1R 抗体不会导致 GO 的发生。还有一种假设认为,通过自分泌或旁分泌产生的局部 IGF-1,可能会参与自身免疫反应。最为重要的是,GO 发病过程中 IGF-1R 配体的激活是由 IGF-1R 刺激性抗体还是内源性 IGF-1 所致,尚无定论。目前的研究仍集中在如何对 IGF-1R 直接作用于受体的信号进行阻断。人抗 IGF-1R 替普罗单抗(Teprotumumab) (RV001, R1507)可以通过与细胞外 α-亚单位的结构域

相结合阻断受体的活化。在纤维细胞水平,Teprotumumab 可以通过降低细胞表面 IGF-1R 和 TSHR 的表达,抑制 IGF-1 和 TSH 诱导的蛋白激酶磷酸化,从而降低 TSHR 介导的白介素-6 和白介素-8 的表达^[34]。IGF-1R 和 TSHR 之间的互相干扰,进一步展现了这种 IGF-1R 阻断性抗体在 GO 治疗中的潜能。Smith 等^[35]的研究表明 Teprotumumab 表现出良好的安全性,不良事件程度轻微,不用间断给药即可自行缓解。与对照组相比,Teprotumumab 可以使 GO 患者突眼临床活动度评分明显降低。目前应用 IGF-1R 抑制剂治疗 GO 面临 2 个主要挑战:其一,如何避免在治疗过程中将调节血糖水平的胰岛素受体(insulin receptor, IR)和 IGF-1R 同时抑制;其二,由于 IGF-1R 信号轴在哺乳动物组织的生长、分化和发育过程中发挥重要作用,而如何在治疗中避免对 IGF-1R 正常生理功能的影响,显得尤为重要。

研究表明在 GO 治疗过程中同时靶向 TSHR 和 IGF-1R 可以取得更好的治疗效果。TSH 和 IGF-1 同时对 GO 成纤维组织进行刺激,会协同增加透明质酸的分泌,提示这些受体在功能上相互依赖。在 GO 患者原代眼眶成纤维组织细胞中,通过拮抗 TSHR 或 IGF-1R 可以抑制透明质酸的分泌,在抑制由 TSAb 刺激的透明质酸分泌上 TSHR 拮抗剂效果优于 IGF-1R 拮抗剂,其中 TSHR 拮抗剂 ANTAG2 可以完全抑制透明质酸的分泌。在 GO 成纤维组织中,由 TSAb/M22 诱导的 IGF-1R 和 TSHR 的双向串扰似乎都可以直接激活 TSHR,同时间接触发 IGF-1R 信号,达到以 TSHR 和 IGF-1R 同时作为靶点治疗 GO 的目的^[36]。

在本课题组的前期研究中,通过重组质粒 pcDNA3.1/TSHR268 腓肠肌注射+注射部位电穿孔方法免疫 BALB/c 小鼠,可以建立较稳定的 GD 小鼠模型^[37-38],后期在此基础之上改进实验方法,进一步建立了重复性高、阳性率高、稳定性好的 BALB/c 小鼠 GD 伴 GO 模型^[39]。在之后的研究中,本研究组尝试以细胞间黏附分子 1(intracellular adhesion molecule 1, ICAM-1)及 TSHR 作为靶点,制备抗 ICAM-1 单抗及筛选并设计合成小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA),将 siRNA 及抗 ICAM-1 单抗腹腔注射于模型小鼠体内,可以观察到实验性治疗的各组小鼠血清甲状腺素、TSAb、TSBAb 均较治疗前明显下降,TSH 较治疗前明显上升,治疗后小鼠体质量较对照组有所增高,可见 siRNA 及抗 ICAM-1 单抗对 GD 伴 GO 模型小鼠有一定的治疗效果。除此之外,本研究进一步尝试以 TSHR 作为靶点合成模拟 TSHR 环状结构功能的小环肽,使之与模型小鼠体内的 TSHR 抗体结合,形成竞争性的抑制作用,从而对模型小鼠的 GD 及 GO 起到治疗作用^[31,40]。在此基础之上,本研究组同时尝试辅以白藜芦醇,发挥其抗炎、抗氧化及免疫抑制的作用对模型小鼠进行协同治疗,其还可以抑制环肽治疗过程中可能出现的免疫反应。

四、结论和展望

近年来许多学者尝试将 TSHR 和 IGF-1R 作为治疗靶点对 GD 及 GO 进行单独或联合治疗,试图从发病机制的角度对 GD 和 GO 进行根治,在细胞水平和动物体内研究中均取得了一定的进展。相对于传统的治疗方法,其具有病因治疗、靶向性强的优势,具有良好的应用前景,为治疗 GD 和 GO 提供了新思路。在进一步的研究中,如何提高治疗的安

全性、降低毒性及不良反应并成功向临床转化,将是研究者面临的挑战。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中华医学会核医学分会. ^{131}I 治疗格雷夫斯甲亢指南(2013版)[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2013, 33(2): 83-95. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2013.02.002.
- Chinese Society of Nuclear Medicine. Clinical guidelines for ^{131}I treatment of Graves hyperthyroidism[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2013, 33(2): 83-95. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2013.02.002.
- [2] Ross DS, Burch HB, Cooper DS, et al. 2016 American Thyroid Association guidelines for diagnosis and management of hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis[J]. Thyroid, 2016, 26(10): 1343-1421. DOI: 10.1089/thy.2016.0229.
- [3] Kahaly GJ, Bartalena L, Hegedüs L, et al. 2018 European Thyroid Association guideline for the management of Graves hyperthyroidism[J]. Eur Thyroid J, 2018, 7(4): 167-186. DOI: 10.1159/000490384.
- [4] Ruchała M, Sawicka-Gutaj N. Advances in the pharmacological treatment of Graves orbitopathy[J]. Expert Rev Clin Pharmacol, 2016, 9(7): 981-989. DOI: 10.1586/17512433.2016.1165606.
- [5] 岳筱, 王妍妍, 杨阳, 等. 糖皮质激素联合生长抑素、雷公藤多苷治疗甲状腺相关眼病临床疗效及安全性分析[J]. 河南医学研究, 2017, 26(1): 31-33. DOI: 10.3969/j.issn.1004-437X.2017.01.012.
- Yue X, Wang YY, Yang Y, et al. Clinical efficacy and safety of glucocorticoid combined with somatostatin and Tripterygium glycoside in the treatment of thyroid associated ophthalmopathy [J]. Henan Med Res, 2017, 26(1): 31-33. DOI: 10.3969/j.issn.1004-437X.2017.01.012.
- [6] 朱红云, 张福仙, 马蓉, 等. 甲泼尼龙冲击联合曲安奈德球后注射治疗甲状腺相关眼病的临床效果[J]. 中国当代医药, 2016, 23(5): 152-154.
- Zhu HY, Zhang FX, Ma R, et al. Clinical effect of methylprednisolone combined with triamcinolone acetonide retrobulbar injection in the treatment of thyroid-associated ophthalmopathy [J]. China Mod Med, 2016, 23(5): 152-154.
- [7] Ye X, Bo X, Hu X, et al. Efficacy and safety of mycophenolate mofetil in patients with active moderate-to-severe Graves orbitopathy [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2017, 86(2): 247-255. DOI: 10.1111/cen.13170.
- [8] Rivera-Grana E, Lin P, Suhler EB, et al. Methotrexate as a corticosteroid-sparing agent for thyroid eye disease[J]. J Clin Exp Ophthalmol, 2015, 6(2). pii: 422. DOI: 10.4172/2155-9570.1000422.
- [9] 范景丽, 马玉琴, 汪春雷. 锝(^{99}Tc)亚甲基二膦酸盐注射液与泼尼松治疗中重度甲状腺相关性眼病疗效比较[J]. 中国基层医药, 2017, 24(1): 56-59, 60. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2017.01.015.
- Fan JL, Ma YQ, Wang CL. Evaluation of the therapeutic effect of "YunKe" and prednisone on moderate and severe thyroid associated ophthalmopathy[J]. Chin J Prim Med Pharm, 2017, 24(1): 56-59, 60. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2017.01.015.
- [10] 欧阳明, 刘桂琴, 樊宁, 等. 小蘖碱对甲状腺相关眼病眼眶脂肪细胞分化的影响[J]. 眼科新进展, 2016, 36(1): 12-14. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2016.0004.
- Ouyang M, Liu GQ, Fan N, et al. Effects of berberine on differentiation of orbital preadipocytes of TAO patients *in vitro* [J]. Rec Adv Ophthalmol, 2016, 36(1): 12-14. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2016.0004.
- [11] Ginter A, Migliori ME. The role of biological agents and immunomodulators in treatment strategies for thyroid eye disease: an evidence-based review[J]. R I Med J (2013), 2016, 99(6): 26-29.
- [12] Salvi M, Vannucchi G, Currò N, et al. Efficacy of B-cell targeted therapy with rituximab in patients with active moderate to severe Graves orbitopathy: a randomized controlled study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(2): 422-431. DOI: 10.1210/jc.2014-3014.
- [13] Stan MN, Garrity JA, Carranza Leon BG, et al. Randomized controlled trial of rituximab in patients with Graves orbitopathy[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(2): 432-441. DOI: 10.1210/jc.2014-2572.
- [14] Smith TJ, Hegedüs L. Graves disease[J]. N Engl J Med, 2016, 375(16): 1552-1565. DOI: 10.1056/NEJMra1510030.
- [15] Shan SJ, Douglas RS. The pathophysiology of thyroid eye disease [J]. J Neuroophthalmol, 2014, 34(2): 177-185. DOI: 10.1097/WNO.0000000000000132.
- [16] Zheng W, Jian T, Guizhi Z, et al. Analysis of ^{131}I therapy and correlation factors of Graves disease patients: a 4-year retrospective study[J]. Nucl Med Commun, 2012, 33(1): 97-101. DOI: 10.1097/MNM.0b013e32834d3bb9.
- [17] Weightman DR, Perros P, Sherif IH, et al. Autoantibodies to IGF-1 binding sites in thyroid associated ophthalmopathy[J]. Autoimmunity, 1993, 16(4): 251-257. DOI: 10.3109/08916939309014643.
- [18] 张立颖, 褚俏梅, 李方都. Graves 眼病患者经 ^{131}I 治疗后血清 IL-17、IGF-1、ICAM-1 检测分析及临床意义[J]. 陕西医学杂志, 2019, 48(3): 393-396. DOI: 10.3969/j.issn.1000-7377.2019.03.030.
- Zhang LY, Chu QM, Li FD. Determination of IL-17, IGF-1, ICAM-1 in the patients with graves ophthalmopathy treated by ^{131}I and its clinical significance [J]. Shanxi Med J, 2019, 48(3): 393-396. DOI: 10.3969/j.issn.1000-7377.2019.03.030.
- [19] Tramontano D, Cushing GW, Moses AC, et al. Insulin-like growth factor-I stimulates the growth of rat thyroid cells in culture and synergizes the stimulation of DNA synthesis induced by TSH and Graves-IgG[J]. Endocrinology, 1986, 119(2): 940-942. DOI: 10.1210/endo-119-2-940.
- [20] 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. DOI: 10.4049/jimmunol.181.6.4397.
- [21] Krieger CC, Gershengorn MC. A modified ELISA accurately measures secretion of high molecular weight hyaluronan (HA) by Graves disease orbital cells[J]. Endocrinology, 2014, 155(2): 627-634. DOI: 10.1210/en.2013-1890.
- [22] Krieger CC, Place RF, Bevilacqua C, et al. TSH/IGF-1 receptor cross talk in Graves ophthalmopathy pathogenesis [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(6): 2340-2347. DOI: 10.1210/jc.2016-1315.
- [23] Smith TJ. TSH-receptor-expressing fibrocytes and thyroid-associated ophthalmopathy[J]. Nat Rev Endocrinol, 2015, 11(3): 171-181. DOI: 10.1038/nrendo.2014.226.
- [24] Rapoport B, Banuelos B, Aliesky HA, et al. Critical differences between induced and spontaneous mouse models of Graves disease with implications for antigen-specific immunotherapy in humans [J]. J Immunol, 2016, 197(12): 4560-4568. DOI: 10.4049/jimmunol.1601393.

- [25] Neumann S, Kleinau G, Costanzi S, et al. A low-molecular-weight antagonist for the human thyrotropin receptor with therapeutic potential for hyperthyroidism [J]. Endocrinology, 2008, 149(12): 5945-5950. DOI:10.1210/en.2008-0836.
- [26] Neumann S, Huang W, Titus S, et al. Small-molecule agonists for the thyrotropin receptor stimulate thyroid function in human thyrocytes and mice[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(30): 12471-12476. DOI:10.1073/pnas.0904506106.
- [27] Neumann S, Huang W, Eliseeva E, et al. A small molecule inverse agonist for the human thyroid-stimulating hormone receptor[J]. Endocrinology, 2010, 151(7): 3454-3459. DOI:10.1210/en.2010-0199.
- [28] 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. DOI:10.1210/jc.2010-1935.
- [29] Neumann S, Nir EA, Eliseeva E, et al. A selective TSH receptor antagonist inhibits stimulation of thyroid function in female mice [J]. Endocrinology, 2014, 155(1): 310-314. DOI:10.1210/en.2013-1835.
- [30] 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. DOI:10.1210/jc.2013-1149.
- [31] Holthoff HP, Li Z, Faßbender J, et al. Cyclic peptides for effective treatment in a long-term model of Graves disease and orbitopathy in female mice[J]. Endocrinology, 2017, 158(7): 2376-2390. DOI:10.1210/en.2016-1845.
- [32] Jansson L, Vrolix K, Jahraus A, et al. Immunotherapy with epitopes blocks the immune response to TSH receptor in HLA-DR transgenic mice[J]. Endocrinology, 2018, 159(9): 3446-3457. DOI:10.1210/en.2018-00306.
- [33] Pearce SHS, Dayan C, Wraith DC, et al. Antigen-specific immunotherapy with thyrotropin receptor peptides in Graves hyperthyroidism: a Phase I study[J]. Thyroid, 2019, 29(7): 1003-1011. DOI:10.1089/thy.2019.0036.
- [34] Chen H, Meester T, Raychaudhuri N, et al. Teprazumab, an IGF-1R blocking monoclonal antibody inhibits TSH and IGF-1 action in fibroblasts[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99(9): E1635-1640. DOI:10.1210/jc.2014-1580.
- [35] Smith TJ, Kahaly GJ, Ezra DG, et al. Teprazumab for thyroid-associated ophthalmopathy[J]. N Engl J Med, 2017, 376(18): 1748-1761. DOI:10.1056/NEJMoa1614949.
- [36] Krieger CC, Neumann S, Place RF, et al. Bidirectional TSH and IGF-1 receptor cross talk mediates stimulation of hyaluronan secretion by Graves disease immunoglobulins [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(3): 1071-1077. DOI:10.1210/jc.2014-3566.
- [37] 郑薇, 谭建, 李宁. BALB/c 小鼠格雷夫斯病模型的构建[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2014, 34(5): 390-395. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.05.013.
- Zheng W, Tan J, Li N. Establishment of BALB/c mice models for Graves disease[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 34(5): 390-395. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.05.013.
- [38] Zheng W, Wang R, Tan J, et al. An improved method for the establishment of a model of Graves disease in BALB/c mice[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(4): 1471-1478. DOI:10.3892/mmr.2017.6181.
- [39] 李宁, 冯思源, 孙磊, 等. TSHR 基因免疫诱导 BALB/c 小鼠 Graves 甲亢伴 Graves 眼病的实验研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2019, 35(5): 417-424. DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2019.05.012.
- Li N, Feng SY, Sun L, et al. An experimental study on the induction of Graves hyperthyroidism with Graves ophthalmopathy in BALB/c mice by TSHR gene immunization[J]. Chin J Endocrinol Metab, 2019, 35(5): 417-424. DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2019.05.012.
- [40] Faßbender J, Holthoff HP, Li Z, et al. Therapeutic effects of short cyclic and combined epitope peptides in a long-term model of Graves disease and orbitopathy[J]. Thyroid, 2019, 29(2): 258-267. DOI:10.1089/thy.2018.0326.

(收稿日期:2019-07-30)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于论文写作中的“志谢”

对给予实质性帮助但不符合作者条件的单位或个人可在文后给予志谢,但必须征得志谢人的书面同意。被志谢者包括:(1)对研究提供资助的单位和个人、合作单位;(2)协助完成研究工作和提供便利条件的组织和个人;(3)协助诊断和提出重要建议的人;(4)给予转载和引用权的资料、图片、文献、研究思想和设想的所有者;(5)做出贡献又不能成为作者的人,如提供技术帮助和给予财力、物力支持的人,此时应阐明其支援的性质;(6)其他。不宜将应被志谢人放在作者的位置上,混淆作者和被志谢者的权利和义务。