

甲状腺激素在多发性硬化动物模型中的应用

赵 琼, 王文敏*

昆明医科大学第一附属医院 神经内科, 云南 昆明 650032

摘 要: 多发性硬化是一种免疫介导的中枢神经系统炎症性脱髓鞘性疾病, 目前尚无治愈方法。近年来利用甲状腺激素对多发性硬化的动物模型进行治疗, 发现甲状腺激素可促进髓鞘再生, 对轴索和神经元有保护作用, 这就对治疗多发性硬化症开辟了一条新思路。综述了利用甲状腺激素在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)模型, 双环己铜草酰二胺(CPZ)诱导脱髓鞘模型等动物模型中的研究进展, 以期为临床应用以及新药研发提供参考。

关键词: 多发性硬化; 甲状腺激素; 动物模型; 髓鞘再生

中图分类号: R976 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2016)01-0148-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.01.028

Application of thyroid hormone in animal models of multiple sclerosis

ZHAO Qiong, WANG Wen-min

The First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China

Abstract: Multiple sclerosis is an immune-mediated inflammatory demyelinating disease of central nervous system. There is no cure method. In the study of the treatment of multiple sclerosis, demyelinating animal model has played an important role. At present, the study found in animal models of multiple sclerosis, thyroid hormone (TH) can promote the remyelination and protect the axon and neurons. Those studies open the possibility to future investigation on the therapy of MS. This article will take a review for relative researches in past years, to provide some reference for clinical application.

Key words: multiple sclerosis; thyroid hormone; animal models; remyelination

多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一种免疫介导的中枢神经系统多发性炎症性脱髓鞘性疾病。主要临床特点是时间多发性 and 空间多发性, 即时间上反复发作, 空间上病灶为多个。该病的症状及预后主要与中枢神经系统脱髓鞘病变的严重程度、炎症情况、缓解期髓鞘再生和轴索修复情况相关^[1]。MS 致残率高, 严重影响患者生存质量, 给患者经济和心理带来巨大损害。MS 的病因尚不清楚, 治疗多为抑制免疫治疗, 但效果不佳, 目前尚无治愈方法^[2]。

临床工作中发现, 多发性硬化症患者常合并甲状腺功能异常^[3]。那么甲状腺激素水平异常到底是多发性硬化的原因还是结果, 目前还不得而知。临床一些病例提示, 甲状腺激素可能在决定多发性硬化患者的类型及病程进展方面有重要作用^[3]。甲状腺激素可能通过影响 MS 缓解期的髓鞘再生修复来

影响疾病预后。目前临床上尚无甲状腺激素治疗多发性硬化的案例, 不过国内外学者在多发性硬化的动物模型上进行了一系列研究。本文旨在对目前相关的动物实验研究结果进行综述, 为多发性硬化的治疗提供一个方向和假设, 并且为该假设的临床及临床前期的试验提供一定参考。

甲状腺激素(thyroid hormones, TH)是由甲状腺滤泡合成分泌到血循环中的化合物, 包括四碘甲状腺原氨酸(T₄)、三碘甲状腺原氨酸(T₃)和反向三碘甲状腺原氨酸(r-T₃), 它们分别占分泌总量的 90%、9%和 1%^[4]。其中 T₃ 的生物活性为 T₄ 的 5 倍, 且引起生物效应潜伏期短, r-T₃ 无生物活性。TH 有促进新陈代谢和生长发育, 促进神经系统发育, 提高神经系统的兴奋性, 调节心肌收缩功能, 增加细胞的氧化速率, 促进代谢和产生热量, 提高交感神经的敏感性等作用。

收稿日期: 2015-05-26

作者简介: 赵 琼, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为神经病学。Tel: 15877932051 E-mail: 1046310914@qq.com

通信作者 王文敏, 研究方向为神经病学。E-mail: wmw85@hotmail.com

甲状腺激素用于先天性甲状腺功能减退症(克汀病)与儿童及成人的各种原因引起的甲状腺功能减退症的长期替代治疗,也可用于单纯性甲状腺肿,慢性淋巴性甲状腺炎,甲状腺癌手术后的抑制(及替代)治疗,以及诊断甲状腺功能亢进的抑制试验。目前研究表明,甲状腺激素是中枢神经系统发育不可或缺的激素之一,它参与髓鞘神经发育和髓鞘再生的过程。综述甲状腺激素与多发性硬化相关的动物模型以及可能的作用机制研究进展,以期多发性硬化症的临床治疗以及有关的新药研发提供參考。

1 动物模型研究

在多发性硬化等中枢神经系统脱髓鞘疾病的研究中,有众多动物模型,如实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)模型、毒素诱导脱髓鞘模型、病毒介导脱髓鞘模型和转基因和基因敲除模型等。其中实验性自身免疫性脑脊髓炎模型和双环己铜草酰二胺(cuprizone, CPZ)诱导脱髓鞘动物模型都是常用的经典模型,常用来研究多发性硬化症的发病机制、病理改变和治疗等^[5]。在上述动物模型髓鞘修复的实验性研究中,甲状腺治疗策略是较为成功的。

1.1 实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)模型

多种动物均可诱发出 EAE 模型,其中以啮齿动物中的鼠类常用,近些年也常用狨猴这样的灵长类动物来诱发,因为狨猴与人类基因更像,EAE 模型与人类的 MS 免疫过程更接近。EAE 模型的制作通常利用鼠类的脊髓组织均浆或髓蛋白与完全弗氏佐剂混合制成抗原乳剂,然后注射到实验动物体内致敏。抗原致敏后的 T 细胞可穿过血脑屏障作用于脑和脊髓的自身髓鞘抗原,发生自身免疫性脱髓鞘改变。经过一定时间的潜伏期,即可诱导 EAE 的产生^[6]。

2011 年 D'Intino 等^[7]应用甲状腺激素在狨猴的 EAE 模型中进行进行了一系列实验,用外源的 T3 治疗实验模型后发现动物视神经中的转录因子、脊髓中标记少突胶质前体细胞(oligodendrocyte precursor cells, OPCs)的血小板衍生生长因子 α 受体 mRNA 的表达均有所升高,这提示 T3 可以使神经干细胞分化为新生成的 OPCs。在 OPCs 向成熟的成髓鞘的少突胶质细胞(oligodendrocytes, OLGs)转化的过程中,T3 通过与其核受体结合使血小板衍生生长因子 α 受体表达上调,促进 OPCs 停止分裂

并成熟分化为 OLGs 而起到直接神经保护作用。因此认为短期的 T3 治疗可以使髓鞘再生。

2012 年, Dell'Acqua 等^[8]通过小鼠 EAE 模型进行研究,试验对象分为正常空白对照组、正常组+T3、EAE 组、EAE+T3 组,对以上小鼠的脊髓组织活检、免疫组化检查,并对其神经感觉诱发电位进行测定。发现 TH 对脱髓鞘和髓鞘再生的平衡有积极的作用,在轴索生长及再生过程中调控细胞骨架蛋白的表达,调节轴索及 OLGs 的相互作用,以保证正常的蛋白质结构及功能恢复。通过观察 EAE 模型鼠尾神经感觉诱发电位及皮层电位的变化指出,T3 治疗后受损鼠尾神经感觉诱发电位及皮层电位波形、潜伏期及传导速度的改善及损伤的可逆性均较对照组显著,提示甲状腺激素能提高神经冲动的传导速度及保护轴索。

同样, Fernández 等^[9]也在小鼠的 EAE 模型中给予分别予甲状腺激素补充和抑制甲状腺激素分泌处理,通过免疫组化等方法,对比其神经系统中髓鞘的修复情况,得出甲状腺激素可以促进小鼠髓鞘再生。

还有研究发现在小鼠及狨猴的 EAE 模型的体内实验中 TH 可激活和释放 OPCs,促进他们成熟成为成髓鞘 OLGs,有利于髓鞘再生及保护轴索,最终改善临床预后^[10-11]。此外, T3 可以恢复在 EAE 模型中失去的少突胶质细胞群,且促进其从神经祖细胞成熟^[11]。T3 治疗可以纠正 EAE 模型脊髓中甲状腺激素受体 mRNAs 的表达不规律的情况。

1.2 双环己铜草酰二胺(CPZ)诱导脱髓鞘模型

CPZ 是一种选择性铜离子螯合剂,具有特异性诱导少突胶质细胞死亡作用,最终导致髓鞘损伤。CPZ 诱导脱髓鞘动物模型属于毒素诱导脱髓鞘模型中的一种。使用混有 CPZ 的动物饲料喂养小鼠即可建立 CPZ 模型。可分为急性脱髓鞘和慢性脱髓鞘模型^[12]。这一动物模型被广泛用来研究脱髓鞘和髓鞘再生修复过程。

2012 年我国詹晓黎等^[13]通过利用 CPZ 诱导小鼠脱髓鞘,然后通过撤除药物模拟 MS 疾病的缓解期,观察此期髓鞘再生修复情况。在模拟的 MS 疾病缓解期分别给实验动物喂食硫脲嘧啶抑制甲状腺激素分泌、外源补充甲状腺激素及喂食饮用水进行对比研究。发现在髓鞘再生修复过程中,维持正常的甲状腺激素水平,对小鼠体重的恢复、运动能力的修复和自发活动能力的修复具有决定性作用。

补充甲状腺激素能够明显促进小鼠髓鞘再生, 促进小鼠运动能力恢复。

Franco 等^[14]也在 CPZ 诱导所致慢性脱髓鞘的小鼠模型进行了研究, 同样发现 T3 有利于 OPCs 分化为 OLGs。既往的实验室研究发现在急性慢性脱髓鞘模型中 TH 可提高髓鞘再生的进程和临床病程, 总之起到神经保护作用。

Bernal^[15]进行的大量动物体内实验表明髓鞘再生过程依赖甲状腺激素。Calzà 等^[10]研究发现, 在小鼠和灵长类动物狨猴 EAE 模型及 CPZ 诱导小鼠模型中, 通过甲状腺激素管理可将脱髓鞘及髓鞘再生的博弈转向为髓鞘再生的过程, 从而提高急性及慢性的多发性硬化的髓鞘生成能力。Fernández 等^[16]实验发现补充 TH 可激活和释放 OPCs, 促进他们成熟成为形成髓鞘的 OLGs。

Fernandez 等^[17]对基因修饰导致的甲亢和甲减动物模型进行研究, 发现 TH 在调节少突胶质细胞群及其成熟的不同阶段中扮演重要角色。甲状腺激素诱导更多的多能神经干细胞分化为少突胶质细胞^[9]。从分子机制来看, 甲状腺激素受体作为转录因子, 可调节不同细胞类型的增殖、分化和最终成熟, 其中包括 OPCs^[18]。最后, 甲状腺激素可刺激 OLGs 糖蛋白 (myelin-oligodendrocyte glycoprotein, MOG)、髓鞘碱性蛋白 (myelin-basic protein, MBP) 和谷氨酰胺合成酶等多个基因的表达, 刺激少突胶质细胞的形态和功能的成熟^[19]。

甲状腺激素用在多发性硬化动物模型研究中时, 一般用于脱髓鞘模型诱导出来以后的缓解期, 即相当于多发性硬化的缓解期, 通过观察这一时期的动物的体质量变化、运动能力的改变、中枢神经系统髓鞘再生的情况及神经传导速度等指标来评判治疗效果。研究中的具体用药剂量目前还没有统一标准, 还需要进行更加深入的动物试验, 探索出最佳的用量来指导临床试验。

2 治疗多发性硬化可能的作用机制

髓鞘是包裹在神经轴索外周的结构, 对神经元及轴索有保护及支持作用。在周围神经系统, 髓鞘由施万细胞构成, 而在中枢神经系统, 髓鞘由少突胶质细胞形成。长期以来复发缓解型多发性硬化被认为是病灶脱髓鞘和髓鞘再生交替进行, 最终髓鞘再生失败、轴索和神经元变性导致转变为继发进展型。由少突胶质细胞产生的保护和支撑轴索的髓鞘结构的消失导致了永久的轴索缺失。在疾病早期,

髓鞘可以有一定程度的再生, 病情有所缓解, 但随着病程延长, 髓鞘再生能力逐渐下降, 疾病呈进行性进展^[20]。

很多证据表明髓鞘再生是对神经轴索保护最有效的方法。髓鞘再生是指在已脱髓鞘的轴索周围中新的髓鞘再生修复。中枢神经系统的少突胶质前体细胞 (OPCs) 保证了髓鞘的修复能力, 这群细胞能被膜相关硫酸软骨素蛋白多糖 NG2 和促血小板生成因子的受体识别^[21]。

OLGs 是由 OPCs 分化成熟而来。研究发现在多发性硬化中 OPCs 仅在早期的病灶中的大量存在^[22], 随着病情进展, 病灶周围 OPCs 逐渐减少。而且 OPCs 分化为 OLGs 的过程发生停滞^[23], 原因尚不清楚。通过慢性多发性硬化病灶的分析得出在大多数病灶中斑块的边界髓鞘的再生受限。OPCs 的数量减少及功能低下导致髓鞘形成失败, 将会影响轴索完整性的因素, 最终导致轴索和神经元的破坏^[24]。

3 结语

甲状腺激素有促进新陈代谢和生长发育, 促进神经系统发育, 提高神经系统的兴奋性等作用。外源补充的甲状腺激素多为人工合成的四碘甲状腺原氨酸钠, 在体内转变成三碘甲状腺氨酸而活性增强。目前研究发现髓鞘再生障碍是多发性硬化症疾病进展及神经功能缺损的主要原因。然而适当的 TH 在多发性硬化的髓鞘再生中可起到关键性的作用。

在多发性硬化等中枢神经系统脱髓鞘疾病的研究中, 实验性变态反应性脑脊髓炎 (EAE) 和双环己铜草酰二胺 (CPZ) 诱导脱髓鞘动物模型都是常用的经典模型。在动物的多发性硬化模型中, 对甲状腺激素进行尽早的管理并选择合适的时机, 可促进缓解期髓鞘修复和轴索再生, 有神经保护作用^[25], 可以保护髓鞘和轴索, 保证神经传导功能。

但甲状腺激素治疗多发性硬化疾病还处在动物实验阶段, 未进行临床试验。目前没有任何一种动物模型能够模拟出多发性硬化症的所有特征, 尽管动物模型存在缺陷, 但它仍是研究 MS 最有效的工具。甲状腺激素在多发性硬化动物模型中有效, 但并不能代表在 MS 的患者身上有效。所以还需要大量的临床试验的研究, 而且现在还未找到甲状腺激素治疗的最合适的时机和治疗剂量^[25]。若能将以上这些问题解决了, 甲状腺激素即为多发性硬化等中枢脱髓鞘疾病的治疗开辟了一种可能性。

甲状腺激素有价格低廉、易制备、服药简单、

依从性高等优点,且为正常人体分泌激素,在不过量情况下没有毒副作用,故在治疗多发性硬化症的设想中,至少有安全性的保证。至于有效性还需要大量的动物试验和临床研究进行评价。目前的动物研究至少给多发性硬化的治疗指明了一个方向,给未来的临床研究提供了一些理论依据。甲状腺激素要最终应用于多发性硬化还有很多问题要解决,待以后动物模型不断完善,再经过大量的动物和临床试验研究论证后有望成为促进MS缓解期髓鞘再生的治疗药物。

参考文献

- [1] Green A J, McQuaid S, Hauser S L, *et al.* Ocular pathology in multiple sclerosis:retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration [J]. *Brain*, 2010, 133: 1591-1601.
- [2] Lublin F D, Reingold S C, Cohen J A, *et al.* Defining the clinical course of multiple sclerosis: The 2013 revisions [J]. *Neurology*, 2014, 83: 1-9.
- [3] Dobson R, Giovannoni G. Autoimmune diseases in people with multiple sclerosis and their relatives:a systematic review and meta-analysis [J]. *J Neurol*, 2013, 260:1272-1285.
- [4] Gereben B, Zavacki A M. Cellular and molecular basis of deiodinase regulated thyroid hormone signaling [J]. *Endocr Rev*, 2008, 29(7): 898-938.
- [5] Denic A, John A J, Bieber A J, *et al.* The relevance of animal models in sclerosis research [J]. *Pathophysiology*, 2011, 18: 21-29.
- [6] Bert A H, Bruno G, Robert W. EAE: imperfect but useful models of multiple sclerosis [J]. *Trend Mol Med*, 2011, 17(3): 119-125.
- [7] D'Intino G, Lorenzini L, Fernandez M, *et al.* Triiodothyronine administration ameliorates the demyelination/remyelination ratio in a non-human primate model of multiple sclerosis by correcting tissue hypothyroidism [J]. *J Neuroendocrinol*, 2011, 23: 778-790.
- [8] Dell'Acqua M L, Lorenzini L, D'Intino G, *et al.* Functional and molecular evidence of myelin and neuroprotection by thyroid hormone administration in experimental allergic encephalomyelitis [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2012, 38: 454-470.
- [9] Fernández M, Paradisi M, Del Vecchio G, *et al.* Thyroid hormone induces glial lineage of primary neurospheres derived from non-pathological and pathological rat brain: implications for remyelination-enhancing therapies [J]. *Int J Develop Neurosci*, 2009, 27: 769-778.
- [10] Calzà L, Fernandez M, Giardino L. Cellular approaches for stimulating CNS remyelination: thyroid hormone to promote myelin repair via endogenous stem and precursor cells [J]. *J Mol Endocrinol*, 2010, 44: 13-23.
- [11] Fernandez M, Pirondi S, Manservigi M, *et al.* Thyroid hormone participates in the regulation of neural stem cells and oligodendrocyte precursor cells in the central nervous system of adult rat [J]. *Eur J Neurosci*, 2004, 20: 2059-2070.
- [12] Denic A, Johnson A J, Bieber A J, *et al.* The relevance of animal models of multiple sclerosis research [J]. *Pathophysiology*, 2011, 18: 21-29.
- [13] 詹晓黎, 姚忠祥. 甲状腺激素促进多发性硬化症缓解期髓鞘再生修复的实验研究 [D]. 重庆: 第三军医大学, 2012: 26-35.
- [14] Franco P G, Silvestroff L, Soto E F, *et al.* Thyroid hormones promote differentiation of oligodendrocyte progenitor cells and improve remyelination after cuprizone-induced demyelination [J]. *Exp Neurol*, 2008, 212: 458-467.
- [15] Bernal J. Thyroid hormone receptors in brain development and function [J]. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2007, 3: 249-259.
- [16] Fernández M, Paradisi M, Del Vecchio G, *et al.* Thyroid hormone induces gliallineage in neurospheres derived from healthy and pathological rat brain:implications for remyelination enhancing therapies [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2009, 27: 769-778.
- [17] Obregon M J, Calvo R M, Del Rey F E, *et al.* Ontogenesis of thyroid function and interactions with maternal function [J]. *Endocr Dev*, 2007, 10: 86-98.
- [18] Tsui K H, Hsieh W C, Lin M H, *et al.* Triiodothyronine modulates cell proliferation of human prostatic carcinoma cells by downregulation of the B-cell translocation gene 2 [J]. *Prostate*, 2008, 68: 610-619.
- [19] Baumann N, Pham-Dinh D. Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system [J]. *Physiol Rev*, 2001, 81: 871-927.
- [20] Deshmukh V A, Tardif V, Lyssiotis C A, *et al.* A regenerative approach to the treatment of multiple sclerosis [J]. *Nature*, 2013, 502(7471): 327-332.
- [21] Nishiyama A, Komitova M, Suzuki R, *et al.* Polydendrocytes [NG2 cells]: multifunctional cells with lineage plasticity [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10: 9-22.
- [22] Wilson H C, Scolding N J, Raine C S. Co-expression of PDGF alpha receptor and NG2 by oligodendrocyte precursors in human CNS and multiple sclerosis lesions [J]. *Neuroimmunol*, 2006, 176: 162-173.
- [23] Kuhlmann T, Miron V, Cui Q, *et al.* Differentiation block of oligodendroglial progenitor cells as a cause for remyelination failure in chronic multiple sclerosis [J]. *Brain*, 2008, 131: 1749-1758.
- [24] Irvine K A, Blakemore W F. Remyelination protects axons from demyelination-associated axon degeneration [J]. *Brain*, 2008, 131: 1464-1477.
- [25] Crawford D K, Mangiardi M, Xia X, *et al.* Functional recovery of callosal axons following demyelination: a critical window [J]. *Neuroscience*, 2009, 164: 1407-1421.