



免疫吸附治疗自身免疫疾病的研究进展*

姬芳玲** 吴 健** 贾凌云***

(大连理工大学生物工程学院, 辽宁省分子识别与成像重点实验室, 大连 116024)

摘要 自身免疫疾病治疗的常规方法(如免疫抑制剂和血浆置换等)缺乏足够的安全性和有效性, 因此, 寻找新的治疗方法十分必要。免疫吸附(immunoadsorption, IA)是一种通过选择性或非选择性去除自身致病抗体, 从而实现对自身免疫疾病治疗的方法。本文介绍了免疫吸附在扩张型心肌病、特发性膜性肾病、系统性红斑狼疮、重症肌无力4种自身免疫疾病中的研究和临床应用, 讨论了该治疗方法的有效性和安全性; 同时指出, 免疫吸附要在更多的疾病中实现临床应用, 还需要在可信度、地域性、样本量等方面做更加深入的临床前试验。

关键词 自身免疫疾病, 免疫吸附, 自身抗原, 自身抗体

中图分类号 R45, Q51

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0384

自身免疫疾病(autoimmune diseases, AID)是指机体对正常组织发生异常免疫反应, 导致自身抗体过度产生, 这些自身抗体会攻击机体自身的细胞、组织、器官, 引起炎症反应, 最终对机体造成损害的一类慢性系统性疾病^[1]。自身免疫性疾病具有高发病率(7%~9%)和高死亡率的临床特点, 其中大多数患者是女性^[2]。根据免疫反应发生的部位可以分为系统性自身免疫病和器官特异性自身免疫病两类。其中系统性自身免疫病包括: 系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、原发性干燥综合征(primary Sjogren syndrome, SS); 器官特异性自身免疫病包括: I型糖尿病(type 1 diabetes, T1D)、特发性膜性肾病(idiopathic membranous nephropathy, IMN)、多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)、重症肌无力(myasthenia gravis, MG)、扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)等30多种。

常规的治疗自身免疫性疾病的方法包括: 免疫抑制剂、单克隆抗体药物、器官切除、血浆置换(plasma exchange, PE)等^[3-4]。然而, 这些方法在很大程度上都是非特异性的, 而且伴随着各种副作用和感染风险, 患者通常需要终生的免疫抑制治疗, 因此研发更有针对性的方法来治疗该类疾病是

相关领域一个重要的目标^[5]。近年来, 针对性去除免疫系统中特定自身免疫成分的新疗法——免疫吸附(immunoadsorption, IA)——成为了治疗自身免疫疾病的热门研究方向。

1 免疫吸附的原理

免疫吸附的治疗方法是将患者血液引出后, 首先通过血浆分离器将血液的血细胞成分(包括红细胞、白细胞和血小板)和血浆分开, 血细胞成分输回患者体内, 血浆进入吸附器, 利用具有高度亲和力的吸附剂(包括具有物理化学亲和力的某些特定物质、抗原或抗体)结合特定物质, 吸附后的血浆再回输至患者体内(图1)。IA主要是通过吸附柱的物理静电吸附或通过抗原抗体结合的原理去除血液中的致病因子, 包括乙酰胆碱受体(acetylcholine receptor, AChR)、神经节苷酯抗体及N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR)抗体等疾病特异性的自身抗体、补体和炎症因子^[6]。

* 国家自然科学基金(U20A20263)和中央高校基本科研业务费(DUT21LK10)资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 0411-84706125, E-mail: lyjia@dlut.edu.cn

收稿日期: 2021-12-10, 接受日期: 2021-12-22

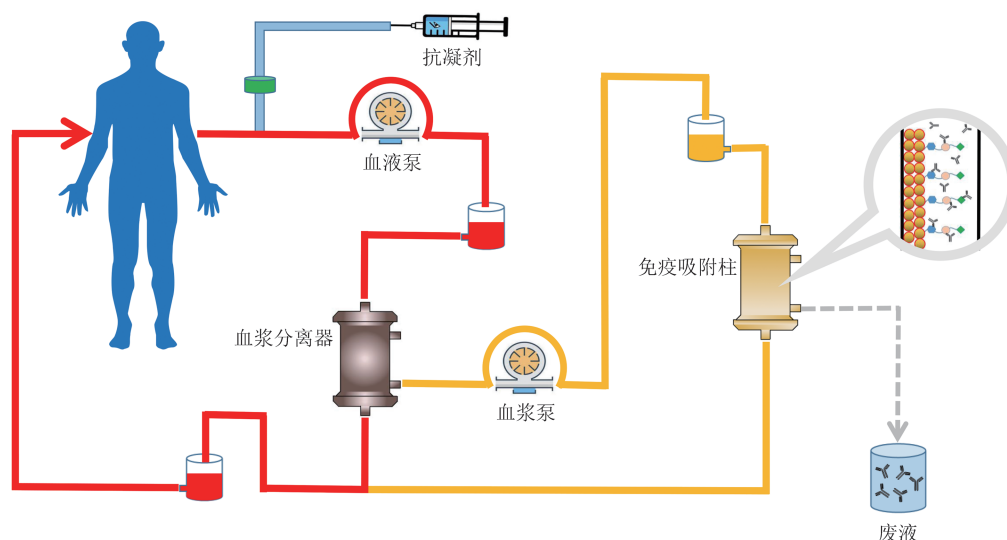


Fig. 1 Schematic diagram of immunoadsorption therapy^[7]

图1 免疫吸附治疗的示意图^[7]

2 常用的免疫吸附类型

根据吸附柱的吸附原理,可以将免疫吸附分为非选择性免疫吸附和选择性免疫吸附。

2.1 非选择性免疫吸附

非选择性免疫吸附是指吸附剂可以结合多种非致病蛋白质或者参与自身免疫疾病的一类特定蛋白质。此类吸附包括蛋白A吸附、抗人IgG多克隆抗体吸附和色氨酸吸附。

2.1.1 蛋白A吸附

蛋白A是从A型金黄色葡萄球菌细胞壁分离而得的一种分子质量约42 ku的蛋白质,其氨基末端有4个高度类同的Fc结合区,可与免疫球蛋白IgG1、IgG2和IgG4的Fc部分结合,并对IgG3、IgA、IgM和IgE有较低亲和力^[8]。此外,蛋白A还能有效与免疫复合物结合^[9]。由于蛋白A的免疫吸附对IgG不同亚类的亲和力并不相同,其对不同类型抗体吸附效果的不同^[10]。因此,蛋白A能通过非选择免疫吸附多种抗体(包括致病抗体)从而改善疾病程度。现有产品Immunosorba®和Prosorba®,可动态吸附-洗脱再生,重复使用。这适用于DCM、MG、SLE、T1D等。

2.1.2 多克隆抗人IgG抗体吸附

多克隆抗人IgG抗体通过用高度纯化的人IgG抗体对动物进行免疫,然后从动物的血浆中分离出抗原特异性的抗人IgG抗体。常采用多克隆羊抗人

IgG抗体共价结合到Sephacryl® CL-4B制成吸附柱^[11-12]。由于不同免疫球蛋白类不同Fc表位之间的交叉反应性,IgG、IgA、IgM和部分IgE被吸附到绵羊抗体上,从而去除患者血浆中的Ig^[8]。产品有Ig-Therasorb®,应用范围和IgG吸附清除效果与蛋白A吸附相近。

2.1.3 色氨酸吸附

色氨酸在其分子结构上同时具有亲水性和疏水性基团,因此致病物质可通过离子和疏水相互作用吸附在色氨酸柱表面^[13]。聚乙烯醇基质上的色氨酸与IgG、IgM、IgA和一些IgE结合。色氨酸吸附后的血浆中补体成分C3、C1、C3b和C4b下降均超过50%^[14-15]。色氨酸柱的显著特征是免疫原性低、对IgG3亚类亲和力高、IA后感染风险最小。因此,在色氨酸柱完成IA程序后,不需要进行免疫球蛋白产物的替代^[16]。产品有Immunosorba TR350®,适用于重症肌无力、慢性炎性脱髓鞘性根神经炎、格林-巴利综合征等。

2.2 选择性免疫吸附

选择性免疫吸附,即抗体特异性免疫吸附,是将与某种特定致病抗体受体相同结构的合成肽偶联到琼脂糖柱或其他吸附柱上,通过选择性吸附特定致病抗体(例如,抗 β 1肾上腺素受体抗体(anti- β 1-adrenoceptor antibodies, β 1-AR Ab)^[17]、抗VRT-101抗体(anti-VRT-101 antibodies)^[18]和抗乙酰胆碱受体抗体(anti-AChR antibodies, AChR-Ab)^[19]

等), 从而改善疾病程度。

3 IA在自身免疫疾病中的研究

3.1 扩张型心肌病 (DCM)

DCM是一种慢性心肌疾病, 其特征是与心脏扩张相关的收缩功能障碍, 这是心力衰竭的常见原因, 也是心脏移植的主要适应症之一^[20]。研究人员在DCM患者中发现了针对各种心脏细胞蛋白的抗体, 如 $\beta 1$ 肾上腺素受体($\beta 1$ -adrenoceptor, $\beta 1$ -AR)(图2)、线粒体蛋白、心肌肌球蛋白、毒蕈碱受体和收缩蛋白等^[7, 21-22]。其中, 有充分的证据表明针对 $\beta 1$ 肾上腺素受体的抗体, 直接影响心功能及其病理生理学^[23]。此外, 在动物中, 这些自身抗体已被证明可诱导类似于人类DCM患者的心脏功能障碍^[24-25]。这些针对心脏蛋白的抗体主要属于IgG类^[26], 因此, 针对这些自身抗体的免疫吸附治疗对DCM患者来说可能是一种很有前途的新治疗选择。

Cooper等^[7]使用蛋白A-琼脂糖免疫吸附柱(Immunosorba®)对4名患有DCM和NYHA II-III级充血性心力衰竭的患者进行了连续5 d的IA试验, 每日治疗时间为3~5 h, 在此期间, 每个吸附柱循环处理患者血容量2倍体积的血浆。5 d的治疗结束后, 4名患者总IgG和IgG3平均下降95%和61%。治疗后6个月, 左心室舒张末期容积(LVEDV)、左心室收缩末期容积(LVESV)、左心室射血分数(LVEF)和整体收缩末期应变(global ES)均得到了改善, 同时心力衰竭患者生活问卷(LHFQ)以及健康状况调查问卷(SF-36)也显示出患者的生活质量有所改善。

Felix等^[27]对18例DCM患者的羊抗人IgG抗体免疫吸附(Ig-Therasorb®)治疗与常规药物治疗的血流动力学效果进行了比较。在本次试验中, IA组患者在IA后进行了多克隆IgG替代治疗, 以降低感染的风险, 并防止抗体产生的反弹。在IA/IgG组中, 患者最初连续3 d每天接受1次IA治疗, 每隔1个月, IA组再重复3个疗程, 连续2 d每天重复一次IA疗程, 直到第3个月。每次疗程都保持5 L血浆通过IA柱, 这一过程导致每次疗程中IgG血浆水平下降约40%。在第一个IA疗程和IgG替代后, 心脏指数(CI)、中风容量指数(SVI)、全身血管阻力(SVR)得到改善, 并且在3个月后持续改善。相比之下, 常规药物治疗组的3个月血流动力学没有变化。这些结果表明, 免疫吸附和随

后的IgG替代物改善了DCM的心血管功能, 有望成为DCM的一种有效治疗方法。

Staudt等^[26]对9例DCM患者进行了蛋白A的免疫吸附治疗(对IgG3的亲合力较低), 对另外9例DCM患者进行了抗IgG免疫吸附治疗(可以去除所有IgG亚类)。免疫吸附分4个疗程进行, 具体治疗操作和以上Felix等^[27]的相同, 同样在IA后进行了多克隆IgG替代治疗。两组治疗结束后, 蛋白A组和抗IgG组免疫吸附去除总IgG水平相当(~80%), 去除IgG1、IgG2、IgG4和IgM水平也没有差异, 但是, IgG3水平在第一个IA疗程后, 蛋白A组减少37%, 而抗IgG组减少89%, 在随后的疗程中, IgG3也表现出相似的减少。3个月后, 蛋白A组在最后一个疗程之前, 测量的血流动力学参数与基线时没有任何差异; 相反, 抗IgG免疫吸附后血流动力学持续改善。该研究确定了属于IgG3的自身抗体可能在DCM的心功能障碍中发挥重要作用, IgG3亚类抗体的去除可能是DCM免疫吸附的一个重要机制。

Staudt等^[28]的另一项研究里, 通过延长每次疗程天数、减少蛋白质柱的装载量, 改进了蛋白A免疫吸附的治疗方案, 使得IgG3降低率相比于未改进组的36%, 增强至65%, 并且3个月后, 改进组血流动力学持续改善, 左室射血分数显著增加。结果表明, 改进蛋白A免疫吸附治疗方案, 有助于IgG3自身抗体的去除, 并且改善DCM患者的血流动力学。在Burgstaler等^[29]的研究中, 也证实了这个发现。

Nagatomo等^[16]利用色氨酸柱(Immunosorba TR)对16例DCM患者进行3~5次IA治疗, 每次治疗2 000 ml血浆, IA后未进行IgG替代。在进行一个IA疗程后, 总IgG降低了30%, 其中IgG3亚类的去除程度比其他亚类要大。在每次IA疗程后血浆炎症细胞因子(TNF- α 和IL-6)水平都没有变化。在IA后B型利钠肽(BNP)显著降低, 3个月后, 左心室射血分数(LVEF)显著改善。结果证明了使用IgG3特异性色氨酸柱对DCM导致的晚期心衰患者的安全性和短期疗效。

除了以上各种非选择性的IA, 研究者们针对选择性IA治疗DCM也做了大量的研究。例如, Wallukat等^[30]用模拟了 $\beta 1$ 肾上腺素受体的自身抗体结合表位的肽柱(Coraffin)对8例DCM患者进行选择IA治疗, 连续5 d的抗体去除后, $\beta 1$ 肾上腺素受体的自身抗体显著减少, 1年后, 射血分

数、左心室尺寸、自身抗体水平均显著改善。通过选择性免疫吸附去除抗 $\beta 1$ 肾上腺素受体抗体,可以认为选择性免疫吸附优于全IgG类去除,因为无需免疫球蛋白替代,减少氧化应激,从而对DCM患者更有益。

各种临床研究表明,通过免疫吸附消除心脏自身抗体,迅速改善了DCM患者的左心室功能,并且可维持到治疗后12个月以上^[31]。随着对DCM免疫病理研究的不断深入,抗体吸附技术已经广泛应用于DCM患者的治疗,并取得很好的效果。

3.2 特发性膜性肾病 (IMN)

IMN是以肾小球基底膜上皮细胞下免疫复合物沉积伴基底膜弥漫性增厚为病理特点的自身免疫性疾病,是成人肾病综合征最常见的病因之一,其中25%~35%的特发性膜性肾病会发展至终末期肾病,极大威胁患者身体健康及生命安全^[32-33]。其临床表现为蛋白尿、血尿和水肿。研究发现,70%~80%的IMN患者可检测到M型磷脂酶A2受体(PLA2R)的抗体,约有5%~10%的IMN患者中可发现I型血小板反应蛋白7A结构域(THSD7A)抗体,并且抗足细胞PLA2R和THSD7A的肾源性自身抗体与膜性肾病相关^[34-36](图2)。这两个抗体主要为IgG4亚类,但所有IgG亚类均可检测到^[37-38]。有报道提出,使用免疫吸附去除抗体可短期减少蛋白尿,以保护肾脏免受自身免疫介导的组织损伤^[39]。

1999年,Esnault等^[40]首次报道免疫吸附在IMN中的治疗应用。他们对4例膜性肾病患者进行3~5个疗程的蛋白A免疫吸附(Immuno-sorba[®]),每个疗程吸附血浆容量的2.5倍体积,患者未接受伴随的免疫抑制治疗。治疗结束时,患者的蛋白尿从12.64 g/d降至3.35 g/d,血细胞比容从37.32%降至32.64%,血清白蛋白减少26.4%。IA停止后,蛋白尿在1个月内恢复到基线水平。因此,IA在短期内减少蛋白尿方面效果显著,这表明IA可缓解重症膜性肾病患者疾病程度。

2018年,Hamilton等^[41]进行了肽GAM免疫吸附治疗特发性膜性肾病II期试验,研究肽GAM免疫吸附在抗PLA2R阳性的特发性膜性肾病中的安全性和可行性。他们利用肽GAM免疫吸附柱(可特异性去除IgG,特别是IgG1、IgG2和IgG4,以及较小程度的IgG3),对12例IMN患者进行每天1个疗程的IA治疗,连续治疗5 d。结果显示,

在第14天检测到血清抗PLA2R抗体的减少,同时评估了肽GAM免疫吸附治疗对IMN患者的安全性和耐受性、蛋白尿和肾功能的改善程度。

Weinmann-Menke等^[42]使用羊抗人Ig抗体(TheraSorb-Ig)免疫吸附柱(可以去除IgG(IgG1-IgG4)、IgA、IgM、IgE和免疫复合物),对2例THSD7A抗体阳性IMN患者分别进行16 d内9次IA治疗和18 d内10次IA治疗,在每个疗程中,处理2倍血浆体积。IA治疗后,患者THSD7A抗体滴度降低,蛋白尿快速减少;停止免疫吸附治疗,两名患者的蛋白尿立即增加。因此,免疫吸附可能是治疗THSD7A抗体阳性膜性肾病患者有效方法。同时作者指出,使用免疫吸附去除自身抗体可能仅适用于非常严重的蛋白尿患者。

关于免疫吸附治疗特发性膜性肾病的报道非常少见,但是已知的研究已经证明IA可以迅速减少蛋白尿和缓解疾病程度。因此它有可能为IMN患者提供一种更直接的治疗方法,而不会产生免疫抑制治疗时常见的短期和长期副作用。鉴于停止IA后蛋白尿的迅速反弹和IA治疗的昂贵费用,进行IA和免疫抑制的联合治疗以实现长期缓解具有更广泛的应用前景^[43]。此外,未来还应该针对抗PLA2R抗体和THSD7A抗体选择性IA进行研究,从而选择性去除致病抗体。

3.3 系统性红斑狼疮 (SLE)

SLE是一种较常见的累及多系统、多器官的自身免疫性疾病,主要以免疫系统攻击自身组织,产生大量自身抗体。在中国SLE发病率约为0.3‰~0.7‰,如不及时治疗,可造成受累脏器的不可逆损害、多累及肾脏成狼疮性肾炎(LN),严重的可导致患者死亡^[44-45]。自身抗体是SLE的标志,其中有些抗体是致病性的,它们直接或通过形成免疫复合物与细胞和底物结合,诱导细胞激活、炎症和组织损伤,例如抗dsDNA抗体、抗核糖体P蛋白抗体、抗核小体抗体、抗组蛋白抗体^[46]。研究已经证明,针对细胞外膜成分的狼疮抗体可与肾脏结合并造成损害,抗原目标表位是位于层黏连蛋白 α 链球状部分的21肽,命名为VRT-101(图2)。抗VRT-101抗体的滴度与疾病活性相关,其致病特性也在小鼠实验中得到了证实^[18, 47]。自身抗体(主要是IgG类)是SLE主要的致病因子,因此可以通过免疫吸附治疗降低患者血浆中的致病抗体,缓解病情、减缓靶器官的损伤。

Stummvoll 等^[46]使用偶联羊抗人免疫球蛋白多克隆抗体的吸附柱,对16例患有严重SLE和肾脏疾病的患者进行每周3次(连续3个月)IA治疗,每次处理的血浆体积为6~8 L。患者蛋白尿从6.4 g/d减少到4.5 g/d,抗dsDNA抗体血清水平从391 IU/ml下降至146 IU/ml,SLE疾病活动指数和SLE索引分数显著下降。接着对11例选择延长IA的患者,继续进行每周1次(持续到第12月)的治疗,蛋白尿继续下降至2.9 g/d,抗dsDNA抗体血清水平下降至53 IU/ml,SLE疾病活动指数和SLE索引分数与3个月时相比无变化,疾病活动稳定在低至中度。治疗后致病抗体水平的降低反映了IA对抗体去除的有效性,结果表明IA对严重SLE患者有治疗作用。

Hershko 等^[48]利用Lupusorb吸附柱(通过肽VRT-101与溴化氰(CNBr)活化的琼脂糖珠共价结合制备),对10例轻度疾病活动的SLE患者进行单次IA治疗,选择性去除抗VRT-101抗体,处理血浆体积约2 L。综合检测结果发现,IgG、IgA和IgM水平无显著变化,抗VRT-101抗体水平下降(最大值:~38.75%),在后续随访中收集的随访数据并没有显示出反弹效应,且系统性红斑狼疮疾病活动指数(SLEDAI)持续改善。这些发现清楚地表明,选择性消除抗VRT-101抗体是一种安全的治疗方式,可以有效抑制SLE患者的炎症,缓和疾病状态。

Wen 等^[49]使用蛋白A吸附柱,对1例女性神经精神性系统性红斑狼疮(NPSLE)患者,进行了3个疗程的IA治疗,每次处理血浆体积3.6 L。治疗结束后,血浆中各类Ig显著下降,而且脑脊液中的IgGs也降低,磁共振成像(MRI)上发现的脑病变明显减少,然后改善了NPSLE的临床症状。2周后,患者出院;1个月后,患者意识和力量完全恢复。本次研究中,使用了IA联合免疫抑制进行治疗,免疫抑制可以防止自身抗体反弹,因此当使用免疫抑制剂时,联合IA治疗效果可能会更好。

Yang 等^[50]通过1990年至2020年期间已经发表的18例随机对照试验,系统性地评价了IA与非IA治疗中国人群中SLE的疗效和安全性。结果表明,IA+药物治疗组的IgG、抗dsDNA抗体、SLEDAI评分、24 h尿蛋白和TNF- α 等均低于单纯药物治疗。这与Huang等^[51]的研究结果一致。这

些结果表明,IA在治疗SLE患者方面可能优于非IA治疗方式。

IA可迅速降低体内致病抗体水平、减少肾脏损害、控制狼疮活性、降低大剂量药物治疗的毒性和副作用,从而在一定程度上降低死亡率,并且具有良好的、较长期的疗效。这种方法为治疗SLE提供了一个安全的额外选择。然而,对于吸附柱类型的选择、治疗的强度和伴随的免疫抑制治疗,未来还需要做更多的高质量、多中心、大样本量、随机和双盲试验进行验证,为临床治疗提供更丰富的研究证据。

3.4 重症肌无力(MG)

MG是一种以肌肉无力和骨骼肌疲劳为特征,针对骨骼肌神经肌肉接点(NMJ)的抗体介导的自身免疫性疾病。在大多数MG患者中(~85%),自身抗体针对肌肉乙酰胆碱受体(AChR)^[52-53](图2)。抗AChR抗体,主要属于IgG1和IgG3亚类。AChR由5个同源亚基组成,胎儿和成人肌肉中的化学计量分别为(α 1)2 β 1 γ δ 和(α 1)2 β 1 ϵ δ ^[54-55]。虽然AChR有几个靶向表位,但大多数抗AChR抗体是针对主要免疫原性区(MIR),这是位于AChR α 亚基上的一组重叠表位,这些亚基的核心是由氨基酸67~76形成的^[3]。参与MG的大多数抗原表位位于AChR亚基的胞外结构域(ECD),而超过一半的自身抗体针对所谓的主要免疫原性区域,因此免疫吸附可以作为适合MG患者治疗的技术^[56]。

1994年,Berta等^[57]利用蛋白A免疫吸附柱(Immunosorba)对3例重度治疗MG患者进行IA治疗,每隔3 d进行1个疗程治疗(共3个疗程),每次处理1.5~2个血浆体积。IA治疗后,血清IgA、IgM、IgG和抗AChR抗体分别下降22%、47%、71%和82%,所有患者疾病状态均有显著改善,肌无力和疲劳能力迅速发生显著降低。同时观察到血清免疫球蛋白和自身抗体逐渐增加,免疫吸附后3~4周达到治疗前水平。他们将IA与血浆置换(PE)治疗结果做了比较,显示出利用蛋白A进行IA治疗MG具有更高的选择性和安全性,对于特定MG患者,IA可能还具有更高的有效性。

另外,王明军等^[58]在一项对24例MG患者进行常规治疗和在常规治疗的基础上给予蛋白A免疫吸附治疗的研究中,再次证明了使用蛋白A进行IA治疗MG,不仅症状改善快、安全有效,而且持

续时间长。

Shibuya等^[59]在常规治疗的基础上,使用色氨酸连接的聚乙烯醇凝胶柱(IM-TR),10 d内对20例严重MG患者分别进行了5次IA治疗,每次处理1个血浆体积。治疗后,所有患者的循环抗AChR抗体均减少了约60%,抗体反弹缓慢,即使在处理后30 d也低于预处理值的80%,其中11例患者,肌无力明显改善,且得到长期缓解。结果表明,IM-TR的IA治疗有助于控制严重重症肌无力患者的症状,免疫吸附治疗和免疫抑制药物的联合使用是必要的,这可以避免IgG耗尽引起的AChR抗体反弹增加。

2004年,Ptak^[60]利用偶联绵羊抗人IgG多克隆抗体的免疫吸附柱(IgG-Adsopak),对5例严重MG患者累计进行了178次IA治疗,结果显示IgG、IgM和IgA的去除量分别为55.7%、42.8%和43.4%,抗乙酰胆碱受体抗体去除60.9%,而其他血浆蛋白的亲合力较低,去除率仅为19.8%。另一项Blaha等^[61]的研究也获得了相似的结果,他们利用羊抗人IgG多克隆抗体的免疫吸附柱(Adsopak 200Ig)对6例严重MG患者进行IA治疗后,患者IgG下降53.9%,IgM下降42.5%,IgA下降44.7%。在所有患者中,术后抗AChR抗体水平平均下降约57.7%。这两组研究均反映出,羊抗人IgG多克隆抗体IA在治疗MG中表现良好。

1998年,Miyahara等^[62]开发了一种将加州电鳐AChR的 α 183~200片段合成肽共价固定多孔纤维素珠上的免疫吸附柱,其可以选择性结合抗AChR阻断抗体。临床上,对19例MG患者进行了77次IA治疗,显示出该柱可选择性去除阻断抗体,但不显著降低IgG和白蛋白水平,78%的病例出现症状改善,且未观察到任何不良反应。

2005年,Psaridi-Linardaki等^[63]利用重组人AChR的 α 亚基N端胞外结构域(α 1~210)固定在不溶性载体(Sepharose-CNBr)的吸附柱,对抗AChR α 亚基抗体阳性的MG患者血清进行选择IA。吸附柱平均可有效去除69%抗AChR抗体,几乎所有的抗 α 亚基抗体都被去除,总IgG免疫球蛋白的减少不显著。这表明,免疫吸附速度快、高效,而且吸附柱可重复使用,因此抗体特异性MG

免疫吸附治疗是可行的。

此外,2017年Lazaridis等^[64]则使用偶联了AChR α 和 β 亚基胞外结构域(ECDs)合成肽的吸附柱,对MG的大鼠模型进行连续3周、每周3次的IA。结果检测到 α ECD和AChR抗体的免疫吸附效率分别为82%和69%,IA治疗组的大鼠体重较对照组高45%,且治疗组疾病症状显著改善,而对照组没有变化。这些数据进一步支持了选择性IA治疗的有效性,同时为人类MG临床治疗研究提供了参考。

数十年来对IA治疗MG的研究已经证明这是可行的。然而,由于研究对象数量较少,缺乏随机和对照等,导致结果存在偏差,很难将这种方法推广成标准临床应用。同时,为了避免IgG耗尽引起的AChR抗体反弹增加,免疫吸附治疗和免疫抑制药物的联合是必要的。到目前为止,这种治疗还没有产生成本效益,效果并没有优于当前的标准治疗,而且成本更高,程序也更复杂^[65]。尽管如此,在更接近临床应用条件下的体内实验,仍可更好地评估IA治疗潜力。此外,使用表达AChR胞外结构域突变体或多亚基合成肽作为选择性吸附剂,这样的动物模型和临床试验也在探索中^[66]。

4 展 望

自身免疫疾病是一种常见的慢性系统性疾病,常见的临床治疗主要是免疫抑制治疗、血浆置换等。然而,这些方法在很大程度上都是非特异性的,因此可能伴随着各种副作用和感染风险。IA已经成为自身免疫疾病治疗的一种有吸引力的新选择。本文总结了IA目前在几种自身免疫疾病中的研究和应用,表明IA治疗是有效且安全的,在经过大量的研究之后,有广阔的临床应用前景。但是目前临床应用的IA柱绝大多数是非选择性的吸附,这可能会耗尽整个免疫球蛋白谱而导致严重不良反应和自身抗体反弹。而选择性免疫吸附能特异性去除致病抗体,且吸附效率更高。因此,选择性免疫吸附剂的开发成为了当前热门的研究方向。随着对自身免疫疾病病理机制的深入研究,越来越多体外免疫吸附的潜在靶点被确定,选择性免疫吸附被正式用于临床治疗的希望正在快速实现。

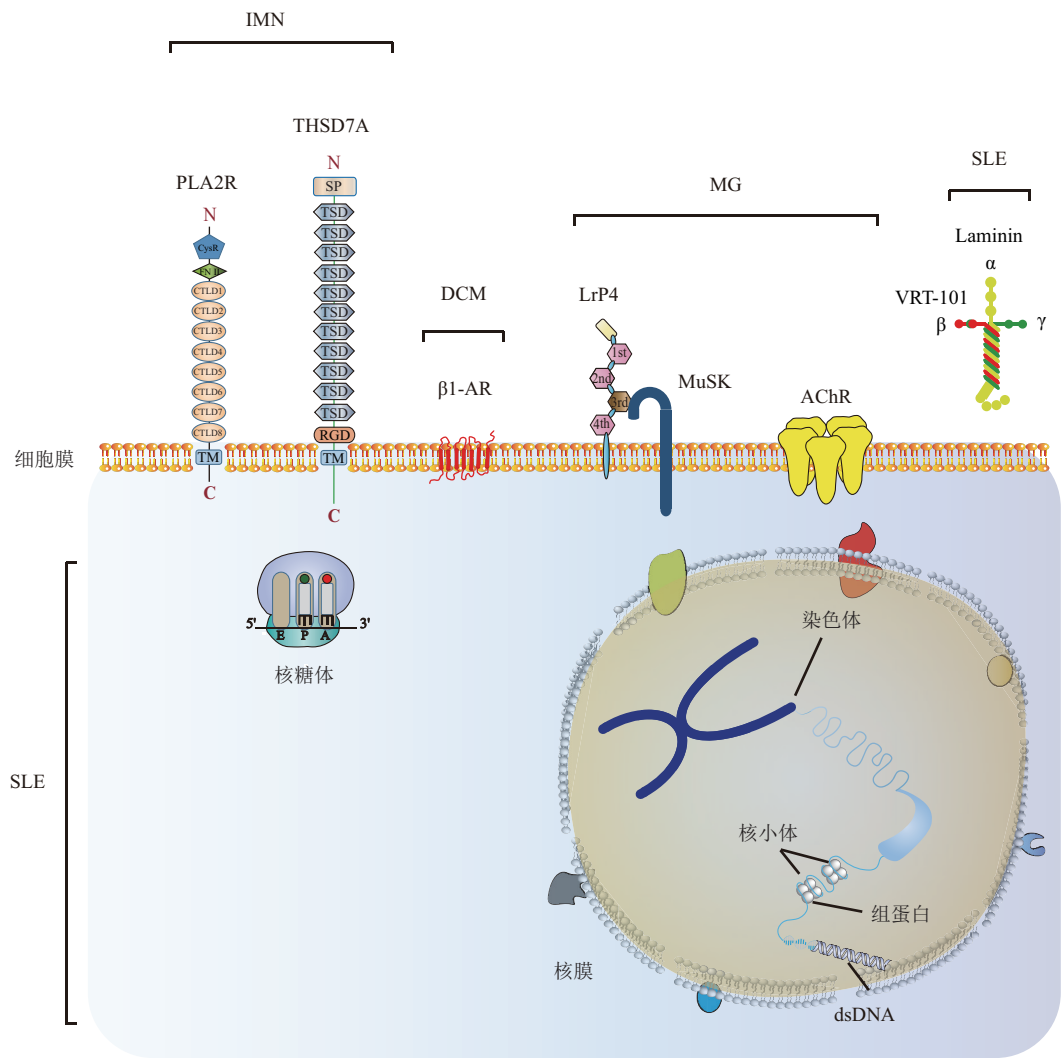


Fig. 2 Schematic showing of autoantigens in IMN, DCM, MG and SLE [67-70]

图2 IMN、DCM、MG和SLE中自身抗原的示意图 [67-70]

IMN的主要自身抗原是位于肾小球足细胞膜上的PLA2R和THSD7A; DCM的主要自身抗原是位于心肌细胞膜上的β1-AR; MG的两种主要自身抗原是位于神经肌肉接点表膜上的MuSK和AChR; SLE有多种自身抗原, 包括dsDNA、VRT-101、核糖体P蛋白、核小体和组蛋白。β1-AR, β1肾上腺素受体; LrP4, 低密度脂蛋白受体相关蛋白4; MuSK, 肌肉特异性受体酪氨酸激酶; AChR, 乙酰胆碱受体; dsDNA, 双链DNA; VRT-101, 一种位于层粘连蛋白α链球状部分的肽。

参 考 文 献

[1] Deng Q C, Luo Y Y, Chang C, *et al.* The emerging epigenetic role of CD8+T cells in autoimmune diseases: a systematic review. *Front Immunol*, 2019, **10**: 856

[2] Theofilopoulos AN, Kono DH, Baccala R. The multiple pathways to autoimmunity. *Nat Immunol*, 2017, **18**(7): 716-724

[3] Gilhus N E, Skeie G O, Romi F, *et al.* Myasthenia gravis - autoantibody characteristics and their implications for therapy. *Nat Rev Neurol*, 2016, **12**(5): 259-268

[4] Barnett C, Tabasinejad R, Bril V. Current pharmacotherapeutic options for myasthenia gravis. *Expert Opin Pharmacol*, 2019, **20**(18): 2295-2303

[5] Lazaridis K, Tzartos S J. Autoantibody specificities in myasthenia gravis; Implications for improved diagnostics and therapeutics. *Front Immunol*, 2020, **11**: 212

[6] Oji S, Nomura K. Immunoabsorption in neurological disorders. *Transfus Apher Sci*, 2017, **56**(5): 671-676

[7] Cooper L T, Belohlavek M, Korinek J, *et al.* A pilot study to assess the use of protein A immunoabsorption for chronic dilated cardiomyopathy. *J Clin Apheresis*, 2007, **22**(4): 210-214

[8] Braun N, Bosch T. Immunoabsorption, current status and future developments. *Expert Opin Investig Drugs*, 2000, **9**(9): 2017-2038

[9] Braun N, Gutenberger S, Erley C M, *et al.* Immunoglobulin and circulating immune complex kinetics during immunoabsorption onto protein A sepharose. *Transfus Sci*, 1998, **19**: 25-31

[10] 王玉鸽,马晓宇,杨渝,等. 蛋白A免疫吸附治疗自身免疫脑炎

- 疗效的回顾性分析. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2021, **28**(3): 224-227
- Wang Y G, Ma X Y, Yang Y, *et al.* Chin J Neuroimmunol Neurol, 2021, **28**(3): 224-227
- [11] 姚国乾, 韩志武. 免疫吸附疗法与临床应用进展. 内科急危重症杂志, 2006, **1**: 40-43
- Yao G Q, Hang Z W. Journal of Critical Care in Internal Medicine, 2006, **1**: 40-43
- [12] Dumoulin A, Mullerderlich J, Bieber F, *et al.* Antibody-based immunoadsorption as a therapeutic means. Blood Purificat, 1993, **11**(3): 145-149
- [13] Hirata N, Kuriyama T, Yamawaki N. Immusorba TR and PH. Ther Apher Dial, 2003, **7**(1): 85-90
- [14] Bucka C, Kohler W, Hertel G, *et al.* Immunoadsorption in myasthenia-gravis-mechanisms of action, immunological markers and clinical course. Aktuelle Neurologie, 1993, **20**(6): 207-213
- [15] Fadul J E M, Danielson B G, Wikstrom B. Reduction of plasma fibrinogen, immunoglobulin G, and immunoglobulin M concentrations by immunoadsorption therapy with tryptophan and phenylalanine adsorbents. ArtifOrgans, 1996, **20**(9): 986-990
- [16] Nagatomo Y, Baba A, Ito H, *et al.* Specific immunoadsorption therapy using a tryptophan column in patients with refractory heart failure due to dilated cardiomyopathy. J Clin Apheresis, 2011, **26**(1): 1-8
- [17] Cooper L T. The natural history and role of immunoadsorption in dilated cardiomyopathy. J Clin Apheresis, 2005, **20**(4): 256-260
- [18] Amital H, Heilweil-Harel M, Ulmansky R, *et al.* Antibodies against the VRT101 laminin epitope correlate with human SLE disease activity and can be removed by extracorporeal immunoadsorption. Rheumatology, 2007, **46**(9): 1433-1437
- [19] Takamori M, Maruta T. Immunoadsorption in myasthenia gravis based on specific ligands mimicking the immunogenic sites of the acetylcholine receptor. Ther Apher, 2001, **5**(5): 340-350
- [20] Dandel M, Wallukat G, Englert A, *et al.* Immunoadsorption therapy for dilated cardiomyopathy and pulmonary arterial hypertension. Atherosclerosis Supp, 2013, **14**(1): 203-211
- [21] Doesch A O, Konstandin M, Celik S, *et al.* Effects of protein A immunoadsorption in patients with advanced chronic dilated cardiomyopathy. J Clin Apheresis, 2009, **24**(4): 141-149
- [22] Staudt A, Felix S B. Immunoadsorption in dilated cardiomyopathy. Transfus Apher Sci, 2007, **37**(2): 187-190
- [23] Jane-Wit D, Altuntas C Z, Johnson J M, *et al.* Beta(1)-adrenergic receptor autoantibodies mediate dilated cardiomyopathy by agonistically inducing cardiomyocyte apoptosis. Circulation, 2007, **116**(4): 399-410
- [24] Matsui S, Fu M L X, Katsuda S, *et al.* Peptides derived from cardiovascular G-protein-coupled receptors induce morphological cardiomyopathic changes in immunized rabbits. J Mol Cell Cardiol, 1997, **29**(2): 641-655
- [25] Jahns R, Boivin V, Hein L, *et al.* Direct evidence for a beta(1)-adrenergic receptor-directed autoimmune attack as a cause of idiopathic dilated cardiomyopathy. J Clin Invest, 2004, **113**(10): 1419-1429
- [26] Staudt A, Bohm M, Knebel F, *et al.* Potential role of autoantibodies belonging to the immunoglobulin G-3 subclass in cardiac dysfunction among patients with dilated cardiomyopathy. Circulation, 2002, **106**(19): 2448-2453
- [27] Felix S B, Staudt A, Dorffle W V, *et al.* Hemodynamic effects of immunoadsorption and subsequent immunoglobulin substitution in dilated cardiomyopathy - three-month results from a randomized study. J Am Coll Cardiol, 2000, **35**(6): 1590-1598
- [28] Staudt A, Dorr M, Staudt Y, *et al.* Role of immunoglobulin G3 subclass in dilated cardiomyopathy: results from protein A immunoadsorption. Am Heart J, 2005, **150**(4): 729-736
- [29] Burgstaler E A, Cooper L T, Winters J L. Treatment of chronic dilated immunoadsorption using cardiomyopathy with the staphylococcal A-Agarose column: a comparison of immunoglobulin reduction using two different techniques. J Clin Apheresis, 2007, **22**(4): 224-232
- [30] Wallukat G, Muller J, Hetzer R. Specific removal of beta(1)-adrenergic autoantibodies from patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. New Engl J Med, 2002, **347**(22): 1806
- [31] 邹贵勉, 邹和群. 扩张性心肌病的免疫吸附治疗. 中国血液净化, 2009, **8**(9): 503-507
- Zou G M, Zou H Q. Chinese Journal of Blood Purification, 2009, **8**(9): 503-507
- [32] Dong D, Fan T, Wang Y, *et al.* Relationship between renal tissues phospholipase A2 receptor and its serum antibody and clinical condition and prognosis of idiopathic membranous nephropathy: a meta-analysis. BMC Nephrol, 2019, **20**(1): 444
- [33] 李冰, 张迎春, 孙景. 环磷酰胺联合甲泼尼龙、醋酸泼尼松口服治疗特发性膜性肾病患者的疗效及安全性分析. 贵州医药, 2021, **45**(7): 1067-1068
- Li B, Zhang Y C, Sun J. Guizhou Med J, 2021, **45**(7): 1067-1068
- [34] Beck L H. PLA2R and THSD7A: disparate paths to the same disease?. J Am Soc Nephrol, 2017, **28**(9): 2580-2590
- [35] Tomas N M, Hoxha E, Reinicke A T, *et al.* Autoantibodies against thrombospondin type 1 domain-containing 7A induce membranous nephropathy. J Clin Invest. 2016; **126**(7): 2519-2532
- [36] Sethi S, Debiec H, Madden B, *et al.* Neural epidermal growth factor-like 1 protein (NELL-1) associated membranous nephropathy. Kidney Int, 2020, **97**(1): 163-174
- [37] von Haxthausen F, Reinhard L, Pinnschmidt H O, *et al.* Antigen-specific IgG subclasses in primary and malignancy-associated membranous nephropathy. Front Immunol, 2018, **9**: 3035
- [38] 李珺, 曲贞, 张宜苗, 等. 检测血、尿IgG4在特发性膜性肾病中的临床意义. 北京大学学报(医学版), 2010, **42**(6): 671-674
- Li J, Qu Z, Zhang Y M, *et al.* J Peking Univ (Health Sci), 2010, **42**(6): 671-674
- [39] Lutz J. Pathophysiology, diagnosis, and treatment of membranous nephropathy. Nephrol Ther, 2021, **17S**: S1-S10
- [40] Esnault V L M, Besnier D, Testa A, *et al.* Effect of protein A immunoadsorption in nephrotic syndrome of various etiologies. J Am Soc Nephrol, 1999, **10**(9): 2014-2017
- [41] Hamilton P, Kanigicherla D, Hanumapura P, *et al.* Peptide GAM immunoadsorption therapy in primary membranous nephropathy (PRISM): phase II trial investigating the safety and feasibility of

- peptide GAM immunoadsorption in anti-PLA(2)R positive primary membranous nephropathy. *J Clin Apheresis*, 2018, **33**(3): 283-290
- [42] Weinmann-Menke J, Holtz S, Sollinger D, *et al.* Treatment of membranous nephropathy in patients with THSD7A antibodies using immunoadsorption. *Am J Kidney Dis*, 2019, **74**(6): 849-852
- [43] Kronbichler A, Gauckler P, Lee K H, *et al.* Immunoadsorption in nephrotic syndrome: where are we now and where are we going from here?. *Atherosclerosis Supp*, 2019, **40**: 55-60
- [44] Rees F, Doherty M, Grainge M J, *et al.* The worldwide incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: a systematic review of epidemiological studies. *Rheumatology*, 2017, **56**(11): 1945-1961
- [45] 郭佳, 李祥, 张理涛. 系统性红斑狼疮的用药进展. *中国中西医结合皮肤性病学杂志*, 2021, **20**(5): 525-528
- Guo J, Li X, Zhang L T. *Chin J Dermatovenereol Integr Tradit West Med*, 2021, **20**(5): 525-528
- [46] Stummvoll G H, Aringer M, Smolen J S, *et al.* IgG immunoadsorption reduces systemic lupus erythematosus activity and proteinuria: a long term observational study. *Ann Rheum Dis*, 2005, **64**(7): 1015-1021
- [47] Amital H, Heilweil M, Ulmansky R, *et al.* Treatment with a laminin-derived peptide suppresses lupus nephritis. *J Immunol*, 2005, **175**(8): 5516-5523
- [48] Hershko A Y, Scheiman-Elazari A, Aamar S, *et al.* Extracorporeal immunoadsorption of antibodies against the VRT-101 laminin epitope in systemic lupus erythematosus: a feasibility evaluation study. *Immunol Res*, 2013, **56**(2-3): 376-381
- [49] Wen F, Wu X L, Liao R Y, *et al.* Protein A immunoadsorption combination with immunosuppressive therapy improves neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: a case report. *Clin Case Rep*, 2020, **8**(11): 2158-2162
- [50] Yang M, Liao C F, Zhu Q H, *et al.* Meta-analysis on the efficacy and safety of immunoadsorption for systemic lupus erythematosus among Chinese population. *Clin Rheumatol*, 2020, **39**(12): 3581-3592
- [51] Huang J X, Song G X, Yin Z H, *et al.* Rapid reduction of antibodies and improvement of disease activity by immunoadsorption in Chinese patients with severe systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*, 2016, **35**(9): 2211-2218
- [52] Verschuuren J J G M, Huijbers M G, Plomp J J, *et al.* Pathophysiology of myasthenia gravis with antibodies to the acetylcholine receptor, muscle-specific kinase and low-density lipoprotein receptor-related protein 4. *Autoimmun Rev*, 2013, **12**(9): 918-923
- [53] Meriggioli M N, Sanders D B. Autoimmune myasthenia gravis: emerging clinical and biological heterogeneity. *Lancet Neurol*, 2009, **8**(5): 475-490
- [54] Changeux J P. The nicotinic acetylcholine receptor: the founding father of the pentameric ligand-gated ion channel superfamily. *J Biol Chem*, 2012, **287**(48): 40207-40215
- [55] Tsetlin V, Kuzmin D, Kasheverov I. Assembly of nicotinic and other Cys-loop receptors. *J Neurochem*, 2011, **116**(5): 734-741
- [56] Unwin N. Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4 angstrom resolution. *J Mol Biol*, 2005, **346**(4): 967-989
- [57] Berta E, Confalonieri P, Simoncini O, *et al.* Removal of antiacetylcholine receptor antibodies by protein-A immunoadsorption in myasthenia-gravis. *Int J Artif Organs*, 1994, **17**(11): 603-608
- [58] 王明军, 廖蕴华, 周红卫. 蛋白A免疫吸附治疗重症肌无力的临床观察. *中国血液净化*, 2008, **7**(8): 417-419
- Wang M J, Liao Y H, Zhou H W. *Chinese Journal of Blood Purification*, 2008, **7**(8): 417-419
- [59] Shibuya N, Sato T, Osame M, *et al.* Immunoadsorption therapy for myasthenia-gravis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1994, **57**(5): 578-581
- [60] Ptak J. Changes of plasma proteins after immunoadsorption using Ig-Adsopak columns in patients with myasthenia gravis. *Transfus Apher Sci*, 2004, **30**(2): 125-129
- [61] Blaha M, Pit'ha J, Blaha V, *et al.* Extracorporeal immunoglobulin elimination for the treatment of severe myasthenia gravis. *J Biomed Biotechnol*, 2010, **2010**: 419520
- [62] Miyahara T, Oka K, Nakaji S. Specific immunoadsorbent for myasthenia gravis treatment: development of synthetic peptide designed to remove antiacetylcholine receptor antibody. *Ther Apher*, 1998, **2**(3): 246-248
- [63] Psaridi-Linardaki L, Trakas N, Mamalaki A, *et al.* Specific immunoadsorption of the autoantibodies from myasthenic patients using the extracellular domain of the human muscle acetylcholine receptor alpha-subunit. Development of an antigen-specific therapeutic strategy. *J Neuroimmunol*, 2005, **159**(1-2): 183-191
- [64] Lazaridis K, Dalianoudis I, Baltatzidi V, *et al.* Specific removal of autoantibodies by extracorporeal immunoadsorption ameliorates experimental autoimmune myasthenia gravis. *J Neuroimmunol*, 2017, **312**: 24-30
- [65] Gilhus N E, Owe J F, Hoff J M, *et al.* Myasthenia gravis: a review of available treatment approaches. *Autoimmune Dis*, 2011, **2011**: 847393
- [66] Lazaridis K, Evaggelakou P, Bentevidi E, *et al.* Specific adsorbents for myasthenia gravis autoantibodies using mutants of the muscle nicotinic acetylcholine receptor extracellular domains. *J Neuroimmunol*, 2015, **278**: 19-25
- [67] Liu W B, Gao C, Liu Z Y, *et al.* Idiopathic membranous nephropathy: glomerular pathological pattern caused by extrarenal immunity activity. *Front Immunol*, 2020, **11**: 1846
- [68] de Lucia C, Eguchi A, Koch W J. New insights in cardiac beta-adrenergic signaling during heart failure and aging. *Front Pharmacol*, 2018, **9**: 904
- [69] Bronstrup M, Sasse F. Natural products targeting the elongation phase of eukaryotic protein biosynthesis. *Nat Prod Rep*, 2020, **37**(6): 752-762
- [70] Ohkawara B, Kobayakawa A, Kanbara S, *et al.* CTGF/CCN2 facilitates LRP4-mediated formation of the embryonic neuromuscular junction. *EMBO Rep*, 2020, **21**(8): e48462

Research Progress of Immunoabsorption in The Treatment of Autoimmune Diseases: a Review*

JI Fang-Ling**, WU Jian**, JIA Ling-Yun***

(Liaoning Key Laboratory of Molecular Recognition and Imaging, School of Bioengineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract Autoimmune disease refers to a kind of chronic systemic disease in which the body is mistakenly attacked by the immune system, causing damages to cells, tissues and organs. Studies show that the incidence of autoimmune diseases now accounts for 7%–9% of the global population, and is increasing year by year. Current methods for the treatment of autoimmune diseases (such as immunosuppressant and plasma exchange) lack sufficient safety and effectiveness. Therefore, it is necessary to develop new treatment methods. Immunoabsorption (IA) is a method of selective or nonselective removal of autopathogenic antibodies to achieve the therapeutic effect on autoimmune diseases. Immunosorbent therapy can effectively avoid various side effects such as fever, nausea and infection caused by current treatment, and quickly improve the degree of disease in a short time. At present, the vast majority of IA columns in clinical application are nonselective adsorption, which may deplete the whole immunoglobulin spectrum and lead to serious adverse reactions and autoantibody rebound. Selective immunoabsorption can specifically remove pathogenic antibodies without immunoglobulin replacement, and the adsorption efficiency is higher. Thus, selective immunoabsorption is a better treatment option, but long-term research shows that the development of its adsorbent is also more difficult. However, with the in-depth study of the pathological mechanism of autoimmune diseases and the rapid development of biomedical engineering, more and more potential targets of *in vitro* immunoabsorption have been identified, and the research of selective immunoabsorption has entered a stage of rapid development. This paper introduces the research and clinical application of immunoabsorption in four autoimmune diseases: dilated cardiomyopathy (DCM), idiopathic membranous nephropathy (IMN), systemic lupus erythematosus (SLE) and myasthenia gravis (MG), discusses the effectiveness and safety of this treatment method, and emphasizes the need to strengthen the study on the treatment of selective immunoabsorption to remove pathogenic antibodies. At the same time, it is pointed out that in order to realize the clinical application of immunoabsorption in more diseases, more in-depth preclinical trials need to be done in terms of reliability, regionality and sample size.

Key words autoimmune diseases, immunoabsorption, autoantigen, autoantibody

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0384

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (U20A20263) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (DUT21LK10).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

Tel: 86-411-84706125, E-mail: lyjia@dlut.edu.cn

Received: December 10, 2021 Accepted: December 22, 2021