

• 综述 •

肝豆状核变性患者免疫功能状况的研究进展

余小玲 胡文彬

肝豆状核变性(hepatolenticular degeneration)是一种常染色体隐性遗传性铜代谢障碍疾病。本病的致病基因ATP7B已明确位于染色体13q14.3,编码一种铜转运P型ATP酶。ATP7B基因突变导致ATP酶功能障碍,引起在肝脏的铜蓝蛋白合成障碍和胆道排铜障碍,造成铜在体内全身各脏器尤以大脑基底核、肝脏、肾脏及角膜等部位大量沉着,而出现复杂多样的临床表现^[1]。本病1912年由Samuel A. K. Wilson首先进行详细描述,此后该病的发病机制、临床与病理特征等都被进行了深入的研究。长期临床观察表明多数肝豆状核变性患者体质虚弱,易于合并感染。该病对患者免疫功能的影响国内外文献报道较少。本文在搜集国内外相关文献的基础上,试图从肝豆状核变性对患者免疫功能状况影响的角度作一综述。

一、目前国内外有关肝豆状核变性患者免疫功能状态的研究

1998年Zhirmova等^[2]几位学者发表的一篇文章中详细阐述了通过对30例肝豆状核变性患者和37例正常人进行T、B、NK细胞亚群及体液免疫进行比较的一项课题研究。结果发现肝豆状核变性患者T淋巴细胞比率较正常人低,而B淋巴细胞、NK细胞及循环免疫复合物IgM则高于正常人群。提示肝豆状核变性患者可能存在免疫紊乱的情况。这是国外文献中较早对肝豆状核变性患者免疫状况进行研究的文章。此后,与肝豆状核变性免疫相关的文章甚少,可能与肝豆状核变性本身是一种罕见病,搜集足量的患者资料难度较大有关。较之国外,许力等^[3]为了了解中国人汉族人群肝豆状核变性患者的免疫功能状况的特点,对19例正常人和21例肝豆状核变性患者进行了散射比浊法和流式细胞术分别测定血清免疫球蛋白、补体水平及外周静脉全血T淋巴细胞亚群的研究比较。结果发现肝豆状核变性患者体液指标CD19⁺比例、IgG、IgM高于正常人($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.05$),细胞免疫指标CD4⁺比例、CD4⁺/CD8⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺低于正常人($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$),从而认为肝豆状核变性患者确实存在体液免疫亢进、细胞免疫低下的免疫紊乱状态。谢文光等^[4]为了了解儿童肝豆状核变性患者的体液免疫和急性期反应蛋白变化,对11例肝豆状核变性患儿和50名正常儿童进行血清补体成分、免疫球蛋白、急性期反应蛋白水平的测定。结果表明,肝豆状核变性患儿的血清C-1抑制物、IgG、IgM、FN、Pg、 α_2 M的含量均极显著高于正常儿童,而血清C4、C5、C9、Bf、PA、Alb、 α_1 AG、 α_1 AT、CP、HP的含量均比正常儿童极显著降低。这说明肝豆状核变性不仅是铜蓝蛋白显著改变和铜代谢异常,而且伴抗原刺激机体介导体液免疫应答,这种特异性应答的抗体可能导致自身组织受害。

二、治疗措施对肝豆状核变性患者免疫功能的影响

目前针对肝豆状核变性的治疗,仍以药物驱铜治疗为主,肝移植术尚未广泛普及,同时辅以低铜饮食、脾切除术、康复治疗等,才能取得满意疗效。而各项治疗措施究竟会对肝豆状核变性患者免疫功能产生怎样的影响?具体表现在如下几个方面。

1. 青霉胺:目前国内大多数神经病学教科书和参考书推荐青霉胺作为各型肝豆状核变性的首选药物^[5-8]。然而根据多年的临床实践显示,接受青霉胺治疗的肝豆状核变性患者25%~30%可出现各种不良反应:除了出现骨髓抑制、蛋白尿等亚急性毒性反应,尚可能出现了影响胶原和免疫系统的慢性中毒反应,如皮肤皱纹、系统性红斑狼疮及重症肌无力等较严重的免疫系统疾病。杨斌等^[9]报道1例肝豆状核变性患者长期服用青霉胺而罹患了系统性红斑狼疮。杨任民等^[10]针对接受口服青霉胺治疗的128例肝豆状核变性患者的观察发现,45例(35%)于用药后数小时至66d,不但发生了食欲不振、呕吐、蛋白尿,而且出现了发热、药疹、周围血白细胞或(和)血小板减少等和免疫反应相关的不良反应。

2. 曲恩汀:曲恩汀是一种新型的多胺类金属螯合剂。Walsh早年认为,曲恩汀的尿排铜疗效与青霉胺接近,甚至优于青霉胺,而不良反应甚少。但关于曲恩汀毒副作用的研究尚缺乏大样本的确切研究结果。小样本研究报道,在开始服药后的几周内,患者可以出现骨髓抑制蛋白尿,长期服药可出现系统性红斑狼疮、肺出血-肾炎综合征等免疫性疾病^[11-12]。

3. 二巯基丙磺酸钠:二巯基丙磺酸钠是前苏联学者于1954年合成的巯基金属络合剂。有学者认为二巯基丙磺酸钠是目前排铜量及有效率均最好的络合剂之一,且近期副反应较青霉胺少^[13]。许力等^[14]为了了解肝豆状核变性免疫功能及二巯基丙磺酸钠短期驱铜治疗和长期综合驱铜治疗对其影响,选取正常对照组19例、未经治疗和长期正规综合驱铜治疗 ≥ 2 年的肝豆状核变性患者各21例。长期综合驱铜治疗肝豆状核变性患者、未经治疗肝豆状核变性患者在接受二巯基丙磺酸钠短期治疗前、后及正常对照组均采取空腹静脉血;散射比浊法测定血清免疫球蛋白、补体水平及流式细胞术进行外周静脉全血T淋巴细胞亚群、CD3⁺CD16⁺CD56⁺及CD19⁺分析。结果发现肝豆状核变性未经治疗组体液免疫指标之CD19⁺、IgG、IgM均较正常对照组显著升高,C4较正常对照组显著减低;细胞免疫指标中CD4⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺及CD4⁺/CD8⁺均较正常对照组减低。二巯基丙磺酸钠短期驱铜治疗后CD19⁺、IgG显著减低。长期综合驱铜治疗后CD19⁺、IgG、IgM、C3、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺均有显著恢复。因此可以看出肝豆状核变性患者存在免疫紊乱的情况,表现体液免疫亢进,细胞免疫低下;二巯基丙磺酸钠短期驱铜治疗仅可恢复部分免疫学指标;长期综合驱铜治疗对免疫功能有显著恢复。

4. 中成药:鉴于西药大多具有难以忍受的毒副作用,一部分患者不能坚持长期治疗。近十余年来国内许多学者致力于祖国传统医学的研究,取得了一定成果。胡文彬等^[15]通过研究发现

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.09.119

基金项目:国家自然科学基金(81072738)

作者单位:230038 合肥,安徽中医学院(余小玲);安徽中医学院神经病学研究所附属医院二病区(胡文彬)

通讯作者:胡文彬,Email:hwzbzhx@163.com

肝豆状核变性患者口服肝豆片 I 号 4 周后,粪便排铜量较使用前显著增加(有效率 71%, $P < 0.05$)。汪瀚等^[16]研究了 58 例肝豆状核变性患者使用中成药肝豆灵片联合西药综合排铜和 54 例肝豆状核变性患者单用西药排铜治疗前后对 T 细胞亚群及 NK 细胞的影响,结果发现治疗组和对照组中的 T 细胞即 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 淋巴细胞的疗前、疗后百分比差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗组患者疗前、疗后 NK 细胞差异无统计学意义($P < 0.01$),对照组 NK 细胞差异无统计学意义;治疗组与对照组疗后比较有统计学意义($P < 0.05$)。因此认为中成药肝豆灵片在调节主动免疫方面比单纯使用排铜西药更有优势。

5. 脾切除术:肝豆状核变性患者长期服用驱铜药物易引起白细胞和血小板减少,加之肝硬化导致其门静脉高压、脾肿大和脾功能亢进,白细胞和血小板进一步降低,驱铜治疗往往难以继续进行下去,故需要行脾切除术治疗,从而恢复患者的血常规,继续完成其驱铜疗程。喻宗繁等^[17]分析了 26 例肝豆状核变性门脉高压症患者行脾切除术后对机体体液免疫功能的影响。发现脾切除术后 3 周肝豆状核变性门脉高压症患者机体 IgA、C3、C4 较术前显著升高($P < 0.01 \sim 0.001$),而 IgG、IgM 无明显变化($P > 0.05$)。从而认为淤血肿大的脾脏对机体的细胞和体液免疫功能有抑制作用,脾切除后机体免疫功能可获得改善。

6. 肝移植:由于本病代谢紊乱引起的体内铜沉积,首先发生在肝脏,因此,肝脏损害往往早于其他脏器^[1]。并且随着疾病的进展,肝脏损害也渐渐加重。近几十年来,随着肝移植技术的不断改进和围手术期处理的不断完善,肝移植治疗肝豆状核变性成为可能并获得了明显的进步^[18]。肝移植能为肝豆状核变性患者提供正常的肝组织,以纠正其遗传缺陷,改善铜代谢异常,改善肝硬化所致的各种临床症状^[19]。但肝移植术后容易发生感染,发生率高达 37% ~ 86%,感染病原中细菌占 49% ~ 70%^[20],其他包括病毒、真菌等。刘骅等^[21]报道,在肝移植后长期存活而形成耐受的受者中,细胞毒性 T 细胞前体细胞明显减少,Th 与 Ts 细胞数量也有所减少。由此推测移植肝并非只是被动地接受受者免疫系统的攻击,对受者的免疫系统也会产生抑制^[22]。因此不论是术后感染、排斥反应、免疫抑制作用都实实在在影响了肝豆状核变性肝移植术后患者原本低下的免疫功能。

三、肝豆状核变性患者免疫功能紊乱的原因与机制的探讨

肝脏是体内铜中毒的原发靶器官和铜主要沉积的部位;过量铜在肝细胞内沉积,从而导致肝细胞的变性坏死。多灶性肝细胞坏死可使肝小叶支架塌陷,被挤压的网状纤维形成纤维间隔,并向邻近肝小叶延伸、包围肝细胞结节,逐渐演变成坏死后性肝硬化。肝硬化时肝脏处理体内抗原能力减弱,增加的抗原使体液免疫亢进,从而抑制细胞免疫。且肝脏受损使其正常分泌的细胞因子减少,释放免疫抑制因子增加,抑制免疫应答,使免疫系统协调作用降低。Dong 等^[23-25]发现不同类型肝炎的肝纤维化患者中,肝组织中细胞因子 IL-10 明显高于正常。

肝豆状核变性患者体内广泛铜沉积及血铜蓝蛋白浓度的降低不仅导致神经-内分泌细胞结构功能损害,还影响了单胺递质代谢酶功能,使得肝豆状核变性临床上神经系统表现为锥体外系、锥体系症状外,尚有癫痫发作、明显的精神症状和自主神经症状等其他表现。在内分泌系统方面:肝豆状核变性患者生长激素显著降低,而生长激素具有使血 $CD4^+$ 细胞比例及 $CD4^+/CD8^+$ 比值升高,增加成人 NK 细胞数量及活性的作用。另外,肝

豆状核变性患者多水平调节下的雌激素水平低下。雌激素通过免疫细胞表面的雌激素受体发挥对免疫细胞的调节作用,可以降低 $CD4^+$ 淋巴细胞比例进而抑制免疫应答,还可以抑制辅助性 T 淋巴细胞分泌 IL-2 间接发挥对 NK 细胞的抑制作用,活化 B 淋巴细胞,刺激抗体分泌,促进体液免疫。

肝豆状核变性患者铜代谢障碍引起体内多种微量元素代谢异常。一方面,过量的铜与各脏器的细胞亚结构、巯基分子、羧基或胺基结合,产生分子水平的结构和功能障碍,从而对免疫功能产生影响。另一方面,铜蓝蛋白作为铜的一种载体运输蛋白因本身浓度很低,完成供给其他铜酶合成之用的功能及参与正常铁代谢功能也减低,故而调节血液或组织中单胺递质的浓度、参与维持中枢神经系统递质的正常功能的作用也减退,间接影响机体免疫功能。肝豆状核变性的血细胞锌减低,血锌/铜比降低。血锌/铜比降低对免疫功能有明确的影响^[26]。此外,血锌可通过与表达在所有淋巴细胞上的 p56Lck 形成所谓的“锌扣”核结构影响淋巴细胞尤其是 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 的发育和活化^[27]。锌缺乏的人和动物都表现出胸腺萎缩,淋巴细胞减少,且丝裂原增殖反应降低,外周血 $CD4^+$ T 细胞选择性减少及 $CD4^+/CD8^+$ 比率降低甚至倒置。

肝豆状核变性引起铜在肾脏的沉积,肝豆状核变性患者肾脏组织的铜含量较正常肾脏高 10 ~ 20 倍,这可能与肝豆状核变性的基因产物 ATP7B 在肾脏组织的高度表达有关^[28]。肝豆状核变性患者的肾脏铜沉积损害以近端肾小管上皮细胞最明显,远端肾小管及肾小球囊也可受损^[29]。铜造成肾损害原因中铜离子介导的免疫损伤即铜离子作为一种半抗原,进入人体后与蛋白质结合而成为抗原,刺激免疫系统而导致免疫反应损伤肾脏是一个很重要的方面^[30]。而肾脏的损害对免疫又有着明确的影响。

综上所述,肝豆状核变性患者本身确实存在着免疫功能紊乱的状况。而各种治疗措施又加剧或缓和了这一状况的进展。了解肝豆状核变性免疫紊乱的作用机制可以为临床医生选择治疗方案提供参考,对于肝豆状核变性患者预后及提高他们的生活质量都大有裨益。

参 考 文 献

- [1] 孙怡,杨任民.实用中西医结合神经病学.2版.北京:人民卫生出版社,2011:736-737.
- [2] Zhirnova IG, Kuznetsva AV, Rebrova OY, et al. Logical and statistical approach for the analysis of immunological parameters in patients with Wilson's disease. Russ J Immunol, 1998, 3: 173-184.
- [3] 许力,杨任民,洪铭范.肝豆状核变性患者的免疫功能监测.蚌埠医学院学报,2006,31:458.
- [4] 谢文光,魏钰书,周良玉.儿童肝豆状核变性的体液免疫和急性期反应蛋白变化.四川医学,2000,21:108-109.
- [5] 贾建平.神经病学.6版.北京:人民卫生出版社,2008:285-286.
- [6] 吴江.神经病学.北京:人民卫生出版社,2005:258.
- [7] 王维治.神经病学.5版.北京:人民卫生出版社,2006:1110-1111.
- [8] 王新德.实用临床神经病学.北京:科学技术文献出版社,2007:391-392.
- [9] 杨斌,蔡永亮,杨任民.肝豆状核变性患者服青霉胺致系统性红斑狼疮 1 例报告.临床神经病学,2000,13:331.
- [10] 杨任民,鲍远程,江停战,等.青霉胺副反应的探讨.中国新药与临床杂志,1986,5:91-93.
- [11] Brewer GJ. Recognition, diagnosis, and management of Wilson's disease. Proc Soc Exp Biol Med, 2000, 223: 39-46.
- [12] 杨任民.肝豆状核变性驱铜治疗的再认识.医药专论,2010,31:258.

- [13] 胡纪源,韩咏竹,杨任民,等. 六种金属中毒解毒药治疗肝豆状核变性的临床研究. 安徽医学,2004,25:361-365.
- [14] 许力,杨任民,洪铭范,等. 驱铜治疗对 Wilson 病免疫功能影响的观察. 中华全科医学,2008,6:776.
- [15] 胡文彬,杨任民. 肝豆片 I 号对肝豆状核变性患者微量元素排泄的影响. 中国临床康复,2003,7:4165.
- [16] 汪瀚,杨文明,鲍远程,等. 肝豆灵片对 58 例肝豆状核变性 T 细胞亚群及 NK 细胞的影响. 中医药临床杂志,2010,22:963-964.
- [17] 喻宗繁,于庆生,王汉明,等. Wilson 病病理性脾切除对体液免疫功能的影响. 安徽医学,2009,30:504.
- [18] Arnon R, Annunziato R, Schilsky M, et al. Liver transplantation for children with Wilson disease; comparison of outcomes between children and adults. Clin Transplant, 2011, 25: E52-E60.
- [19] 张洪涛, 窦科峰, 陶开山, 等. 肝移植与肝豆状核变性. 器官移植, 2012, 3: 183.
- [20] Losada I, Cuervas-Mons V, Millán I, et al. Early infection in liver transplant recipients; incidence, severity, risk factors and antibiotic sensitivity of bacterial isolates. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2002, 20: 422-430.
- [21] 刘骅,曹晖,吴志勇. 肝移植免疫耐受的研究进展. 中华器官移植杂志, 2005, 26: 381.
- [22] Smith MA, Naziruddin B, Poindexter NJ, et al. Liver transplant recipient sera derived soluble HLA mediates allele specific CTL apoptosis. Transplantation, 2000, 69: 157-162.
- [23] Dong Y, Xi H, Yu Y, et al. Effects of oxymatrine on the serum levels of T helper cell 1 and 2 cytokines and the expression of the S gene in hepatitis B virus S gene transgenic mice; a study on the anti-hepatitis B Virus mechanism of oxymatrine. J Gastroenterol Hepatol, 2002, 17: 1299-1306.
- [24] Zhang LH, Pan JP, Yao HP, et al. Intrasplenic transplantation of IL-18 gene-modified hepatocytes; an effective approach to reverse hepatic fibrosis in schistosomiasis through induction of dominant Th1 response. Gene Ther, 2001, 8: 1333-1342.
- [25] Farah IO, Mola PW, Kariuki TM, et al. Repeated exposure induces periportal fibrosis in Schistosoma mansoni-infected baboons; role of TGF-beta and IL-4. J Immunol, 2000, 164: 5337-5343.
- [26] Van Weyenbergh J, Santana G, D'Oliveira A Jr, et al. Zinc/copper imbalance reflects immune dysfunction in human leishmaniasis; an *ex vivo* and *in vitro* study. BMC Infect Dis, 2004, 4: 50.
- [27] Kim PW, Sun ZY, Blacklow SC, et al. A zinc clasp structure tethers Lck to T cell coreceptors CD4 and CD8. Science, 2003, 301: 1725-1728.
- [28] Hung IH, Suzuki M, Yamaguchi Y, et al. Biochemical characterization of the Wilson disease protein and functional expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. J Biol Chem, 1997, 272: 21461-21466.
- [29] 张月华,李明,秦炯,等. 儿童肝豆状核变性的神经系统外表现. 实用儿科临床杂志, 1999, 14: 277.
- [30] 蒋季杰,范亚平. 现代肾脏病学. 北京:人民军医出版社, 2001: 675.

(收稿日期:2013-02-04)

(本文编辑:戚红丹)

余小玲,胡文彬. 肝豆状核变性患者免疫功能状况的研究进展[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2013, 7(9): 4033-4035.