

【全科临床研究】

驱铜治疗对 Wilson 病免疫功能影响的观察

许力, 杨任民, 洪铭范, 胡文彬, 韩咏竹, 翟志敏

【摘要】目的 了解 Wilson 病(WD)免疫功能及二巯基丙磺酸钠(DMPS)短期驱铜治疗和长期综合驱铜治疗对其影响;进而评价 DMPS 短期驱铜治疗及长期综合驱铜治疗的有效性、安全性、科学性。方法 选取正常对照组 19 名、未经治疗和长期正规综合驱铜治疗 ≥2 年的 WD 患者各 21 例,长期综合驱铜治疗 WD 患者、未经治疗 WD 患者在接受 DMPS 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 WD 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;细胞免疫指标之 CD4⁺、CD3⁻CD16⁺CD56⁺及 CD4⁺/CD8⁺均较正常对照组减低。DMPS 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。结论 WD 免疫功能紊乱;表现为体液免疫亢进,细胞免疫低下;DMPS 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。从免疫学角度看,长期综合驱铜治疗是安全、必要的。

【关键词】 Wilson 病;免疫功能;流式细胞术;二巯基丙磺酸钠

【中图分类号】 R742.4 【文献标识码】 A 【文章编号】 1672-1764(2008)08-0776-02

Effect of Decoppering Therapy on Immune Function in Wilson's Disease XU Li, YANG Ren-min, HONG Ming-fan, et al. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Anhui 233004, China

【Abstract】 Objective To investigate the immune function of patients with Wilson's Disease (WD), and the effects of short term decoppering therapy with Sodium dimercaptosulphonate (DMPS) and long term complex decoppering therapy in hopes of evaluating their validity, security and scientificness. Methods 21 WD patients without treatment previously (group A), 21 WD patients with 2 years or more of routine complex decoppering therapy history (group B) and 19 normal individual (control group) were enrolled in this experiment. Group A were given the short term of decoppering therapy with DMPS. The concentration of serum immunoglobulins and complement were measured by immune turbidimetry, peripheral blood T-lymphocyte subsets, CD3⁻, CD16⁺, CD56⁺, CD19⁺ were determined by flow cytometer. Results CD19⁺, IgG and IgM in group A were higher than that in control, but C4, CD4⁺, CD3⁻CD16⁺CD56⁺ and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ in group A were lower than that in control group. After the short term of decoppering therapy with DMPS, CD19⁺ and IgG in group A decreased. CD4⁺, CD19⁺, CD3⁻CD16⁺CD56⁺, IgG, IgM, C4 and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ were all recovered distinctly after the long term of complex decoppering therapy (group B). Conclusions The study showed that there is the disorder of the immunological state in WD, manifested by the activation of humoral immunity and depression of cellular immunity. The short term decoppering therapy with DMPS could ameliorate some of the immunological indexes. The immunological homeostasis had recovered obviously by the long-term complex decoppering therapy, which is safe and indispensable for the WD patient.

【Key words】 Wilson's Disease (WD); Immune function; Flow cytometry (FCM); Sodium dimercaptosulphonate

Wilson 病 (Wilson's Disease, WD) 是一种以青少年为主的常染色体隐性遗传性铜代谢障碍疾病,临床表现为大量铜离子在体内沉积造成不同脏器为主的全身功能损害。研究表明^[1-2]:未经治疗的 WD 患者的免疫功能同样有着明显的异常,主要表现为体液免疫亢进、细胞免疫低下。国内研究证明二巯基丙磺酸钠 (sodium dimercaptosulphonate, DMPS) 比右旋青霉素 (D-penicillamine, D-PCA)、二巯基丁二酸 (dimecaptosuccinic acide, DMSA) 等有更强大的驱铜疗效;且副作用相对较轻^[3],但 DMPS 驱铜治疗对免疫功能的影响至今均无报道。由于本病需要终生驱铜治疗,因此全面评价驱铜药及驱铜治疗方案的安全性、有效性和科学性已引起临床医生的重视。

1 资料与方法

1.1 临床资料 未经治疗及长期综合驱铜治疗的 WD 各 21 例,为 2004 年 10 月 - 2005 年 4 月间安徽中医学院神经病学研究所住院确诊患者。短期驱铜治疗组:男 11 例,女 10 例,年龄 12 ~ 22 岁;既往未进行过驱铜治疗,入院后经 DMPS 驱铜治疗 6 ~ 8 疗程。长期综合驱铜治疗组:男 10 例,女 11 例,年龄 10 ~

28 岁,为多种驱铜药物综合治疗 ≥ 2 年^[4]。正常对照组 19 例,男 13 例,女 6 例,年龄 16 ~ 25 岁,排除 WD 及病毒性肝炎等其他相关疾病。

1.2 检测仪器、试剂 ① C3、C4 及 IgA、IgG、IgM 测定试剂盒:上海捷门生物技术合作公司。② Monoclonal Antibodies: CD4⁺ FITC/CD8⁺ PE/CD3⁻ PE-CY5、CD3⁻ FITC/CD16⁺ CD56⁺ PE、CD19⁺ FITC; 同型阴性对照 M3IgG-FITC/M3IgG-CY5 均购自 IMMUNOTECH FRA NCE。③ 流式细胞仪 (Flow Cytometry, FCM): 型号 Coulter EPICS XL-MCL。

1.3 检测方法 正常对照组、短期驱铜治疗组接受 DMPS 治疗前、后和长期综合驱铜治疗组均于晨 7:30 分别采取空腹静脉血;当日透射比浊法检测血清 C3、C4 及 IgA、IgG、IgM;肝素抗凝管取 2 ml 血行流式细胞仪分析法进行淋巴细胞 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺、CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 分析检查。

1.4 统计学方法 所有数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用独立样本 t 检验、配对样本 t 检验,由 SPSS 11.5 软件统计分析。

2 结果

本研究采用免疫学相关经典指标:反映细胞免疫功能的血 T 淋巴细胞亚群分析:CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比值和血 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 等;反映体液免疫功能的血 CD19⁺ 和血清免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig): IgG、IgA、IgM 及 C3、C4 定

作者单位:233004 安徽省蚌埠医学院第一附属医院神经内科(许力), 230061 安徽中医学院神经病学研究所附属医院(杨任民,洪铭范,胡文彬,韩咏竹),230001 合肥市,安徽省立医院检验科(翟志敏)

量分析等,实验结果见表 1。

表 1 驱铜治疗对肝豆状核变性患者免疫功能的影响($\bar{x} \pm s$)

试验免疫指标	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD3 ⁻ CD16 ⁺ 56 ⁺ (%)
正常对照组	19	66.13 ± 4.15	36.89 ± 3.52	22.43 ± 3.48	1.69 ± 0.35	17.26 ± 4.59
短期驱铜治疗组治疗前	21	63.00 ± 8.01	31.53 ± 6.51 [*]	25.67 ± 5.68 [*]	1.29 ± 0.43 [*]	12.03 ± 5.65 [*]
短期驱铜治疗组治疗后	21	63.67 ± 4.59	30.78 ± 6.79	26.48 ± 3.28	1.18 ± 0.32	11.34 ± 4.70
长期综合驱铜治疗组	21	67.31 ± 6.92	38.56 ± 6.10 ^Δ	22.48 ± 4.43 ^Δ	1.79 ± 0.48 ^Δ	15.95 ± 5.95 ^Δ

试验免疫指标	n	CD19 ⁺ (%)	C3 (g/L)	C4 (g/L)	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)
正常对照组	19	5.53 ± 1.57	1.68 ± 0.27	0.39 ± 0.09	9.45 ± 1.86	1.69 ± 0.30	1.32 ± 0.28
短期驱铜治疗组治疗前	21	11.70 ± 5.14 [*]	1.67 ± 0.41	0.27 ± 0.05 [*]	13.78 ± 5.64 [*]	1.99 ± 0.86	1.59 ± 0.41 [*]
短期驱铜治疗组治疗后	21	9.50 ± 3.21 ^Δ	1.61 ± 0.36	0.27 ± 0.05	11.52 ± 3.69 ^Δ	1.87 ± 0.53	1.55 ± 0.35
长期综合驱铜治疗组	21	6.98 ± 2.88 ^Δ	1.81 ± 0.36	0.35 ± 0.10 ^Δ	9.30 ± 3.11 ^Δ	1.61 ± 1.61	1.30 ± 0.35 ^Δ

注:与正常对照组比较,^{*}P<0.01,^{*}P<0.05;与短期驱铜治疗组治疗前比较,^ΔP<0.01,^ΔP<0.05。

2.1 WD 短期驱铜治疗组治疗前和正常对照组各免疫指标比较 利用独立样本 t 检验分析显示:WD 细胞免疫指标 CD4⁺、CD3⁻CD16⁺CD56⁺及 CD4⁺/CD8⁺ 比值显著低于正常对照组 (P<0.01);CD8⁺ 显著高于正常对照组 (P<0.05)。WD 体液免疫指标 CD19⁺、IgG 及 IgM 显著高于正常对照组 (P<0.01, P<0.01, P<0.05), C4 显著低于正常对照组 (P<0.01)。

2.2 WD 短期驱铜治疗组治疗前、后各免疫指标比较 利用配对样本 t 检验分析显示:DMPS 短期驱铜治疗后可使 CD19⁺、IgG 有显著减低 (P<0.05)。

2.3 长期综合驱铜治疗组、短期驱铜治疗组前各免疫指标比较 利用独立样本 t 检验分析显示:长期综合驱铜治疗组之细胞免疫 CD4⁺、CD3⁻CD16⁺CD56⁺和 CD4⁺/CD8⁺ 比值均较短期治疗组前显著升高 (P<0.01);CD8⁺ 显著减低 (P<0.05);反应体液免疫指标中长期综合驱铜治疗组之 C4、IgG 和 IgM 均较短期治疗组前明显减低 (P<0.01, P<0.01, P<0.05)。

2.4 长期综合驱铜治疗组、正常对照组各免疫指标比较 利用独立样本 t 检验分析显示:无论细胞免疫还是体液免疫的各指标 2 组均无显著差异。

3 讨论

本研究提示 WD 免疫功能紊乱,表现为细胞免疫低下,体液免疫亢进,与既往研究结果相符^[1-2];其机制十分复杂^[5],根本原因在于其 WD 基因外显子的突变而致铜代谢障碍;过量的铜离子在全身各组织器官的沉积所致的损害以及对相关酶的抑制而产生的病理生理失常是 WD 产生千变万化临床症状的基本环节。免疫紊乱可能与其广泛存在的肝脏损害、神经-内分泌系统结构和功能异常、体内多种微量元素代谢异常、肾脏损害等多种综合因素有关。

目前国内外对 WD 的治疗^[6],仍以药物驱铜治疗为主要手段。D-PCA 以其较高尿排铜量至今仍然是国内外临床医师治疗 WD 的首选药物之一;但随用药时间延长排铜量渐减,长期应用毒副作用较多。DMSA 排铜效果较强,但对凝血系统影响较大,限制了它的应用^[7]。DMPS 排铜作用强,而副反应较 D-PCA 为少,是治疗 WD 最有前途的药物之一^[8]。我们采用了定期 DMPS 短期冲击驱铜,间歇期交替口服 DMSA、D-PCA 并伍以低毒、低廉的葡萄糖酸锌、肝豆片应用的长期综合驱铜方案对 WD 进行系统综合治疗,临床上已显示了明显的远、近期疗效,尤其远期疗效显著^[4],成为国内 WD 患者驱铜治疗方法中较为成熟的治疗方案。

本研究结果显示:DMPS 短期驱铜治疗仅可使体液免疫指标中血 CD19⁺、IgG 显著性的恢复;而对其他免疫指标的紊乱无显著改善作用,也就是说 DMPS 短期驱铜治疗使 WD 免疫紊乱的临床表现仍然得不到全面改善。推测其原因为:DMPS 短期驱铜不能解决长期沉积下来并与组织牢固结合的铜;驱铜药物

虽已将铜离子从组织中排出,已经在结构和功能上蒙受铜损伤了的各脏器机能按病理生理规律则需要一定时间方可得以修复^[4]。

本试验显示长期综合驱铜治疗后可使各项免疫指标均有不同程度的恢复,且各指标结果与正常对照组相比均无显著性差异。杨任民等^[4]对 198 例 WD 患者综合驱铜治疗的近期疗效及随访观察的结果显示:随访达 12 年甚至更长时间的 WD 患者,如果服药依从性佳,临床痊愈率与显效率均随着时间的延长而显著增高;其他的各项研究结果也均证实长期坚持驱铜治疗的 WD 患者肝脏、神经系统等各脏器的功能均会得到明显改善^[9-10]。因此表明坚持长期驱铜治疗,可因机体各器官功能的恢复,使对免疫紊乱的促进因素得以消除,故而免疫功能得以恢复。然而本试验结果并没有出现既往所报道的 D-PCA 较长期治疗使机体 IgA 下降至正常人水平以下现象,我们采用长期综合和驱铜治疗既减轻了药物的毒副作用,使对机体的不利影响降至较低水平,又保证了强大的驱铜疗效,从而显示了可使免疫功能恢复至正常或基本正常状态的结果,提示从免疫学角度看其具有较强的安全性、有效性。结合本研究结果,认为对患者必须经常进行宣教,告知本病必须坚持规则、系统服药,也反面说明了长期综合驱铜治疗的必要性。

参考文献

- [1] G. Zhirmova, Ludmila, V Komelkova, et al. Logical and statistical approach for the analysis of immunological parameters in patients with Wilson's disease [J]. Russ J Immunol, 1998, 3(2): 173-184.
- [2] 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 [J]. 四川医学, 2000, 21(2): 108-109.
- [3] 胡纪源,杨任民,韩咏竹,等. 六种金属中毒解毒药治疗肝豆状核变性的临床研究 [J]. 安徽医学, 2004, 25(5): 361-365.
- [4] 杨任民,程楠. 198 例肝豆状核变性中西医结合治疗的近期疗效及随访观察 [J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(9): 657-659.
- [5] 许力,洪铭范,杨任民. 肝豆状核变性患者的免疫功能监测 [J]. 蚌埠医学院学报, 2006, 31(5): 456-458.
- [6] 杨任民. 肝豆状核变性的药物治疗 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2005, 22(3): 196-199.
- [7] 韩咏竹,王训,杨任民. 4 种驱铜新药治疗肝豆状核变性的临床不良反应 [J]. 中国新药杂志, 1998, 7(2): 128-130.
- [8] 韩咏竹,王训,杨任民. DMPS 治疗肝豆状核变性的临床评价 [J]. 安徽医学, 1998, 19(4): 6-8.
- [9] 黄丽,李海桦,梁秀龄. 影响肝豆状核变性患者预后及疗效因素的研究 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2006, 32(1): 11-14.
- [10] 苏荣,温玲兰. 肝豆状核变性治疗前后肝脾的超声影像改变 [J]. 内蒙古医学杂志, 2006, 38(5): 465-466.

(收稿日期:2008-04-08)