

免疫抑制治疗对 36 例神经系统副肿瘤综合征 相关抗体定量的动态影响

姜海伟 胡晴 鄢艳红 葛林通 高畅 曹梦莹 刘芳 尹花

【摘要】 目的 探讨免疫抑制治疗对神经系统副肿瘤综合征(PNS)相关抗体定量的动态影响。**方法** 对 36 例神经系统副肿瘤综合征进行规范化的免疫抑制治疗(包括糖皮质激素或环磷酰胺),在治疗前及治疗开始后 1 周、4 周、治疗后 1 周,结束后 3 月分别对患者血清抗-Hu 抗体、抗-Yo 抗体、抗-Ri 抗体进行定量检测(酶联免疫吸附试验,ELISA),对比治疗前后相关抗体滴度的动态变化情况。**结果** 血清抗-Hu 抗体:治疗开始后 1 周抗体滴度即开始持续下降($P<0.01$),但在治疗后 3 月,抗体滴度反弹升高,与治疗前比较没有明显差异($P>0.05$)。抗-Yo 抗体及抗-Ri 抗体在治疗开始后抗体滴度同样呈持续下降趋势,其中抗-Yo 抗体治疗开始后 1 周下降有明显差异($P<0.01$),抗-Ri 抗体在治疗后 4 周明显下降($P<0.01$),但治疗结束后 1 周、3 月抗体滴度有所上升,但与治疗前比较仍显著下降($P<0.01$)。**结论** 免疫抑制治疗在治疗期间能够一定程度上有效抑制 PNS 相关抗体的滴度,但对于血清抗-Hu 抗体远期抑制效果欠佳。

【关键词】 免疫抑制治疗 神经系统副肿瘤综合征 抗体定量 动态作用

【中图分类号】 R739.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2016)02-0080-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2016.02.002

The dynamic effects of immunosuppressive therapy on the related antibody titer for 36 cases of paraneoplastic neurological syndromes Jiang Haiwei, Hu Qing, Yan Yanhong, et al. Department of Neurology, Third people's Hospital of Hubei Province, Wuhan 430033

【Abstract】 Objective To investigate the dynamic effects of immunosuppressive therapy on the antibody titer associated with paraneoplastic neurological syndromes. **Methods** 36 cases of paraneoplastic neurological syndromes were given standardized immunosuppressive therapy (including corticosteroids or cyclophosphamide). The serum antibodies of anti-Hu, anti-Yo and anti-Ri were quantitative detected by ELISA method before treatment, one week during treatment, four weeks during treatment, one week after treatment and three months after treatment respectively. The dynamic changes of antibody titers were compared before and after treatment. **Results** The antibody titer of anti-Hu began to decline at one week during treatment ($P<0.01$), but the titer increased in three months after treatment, and there was no statistical significance compared with the titer before treatment ($P>0.05$). The titer of Anti-Yo and anti Ri both showed a downward trend after the beginning of treatment. The anti-Yo declined in one week and the anti-Ri declined in four weeks during treatment ($P<0.01$). After the end of the treatment, the titer showed an increased trend, but still significantly decreased compared with before treatment ($P<0.01$). **Conclusion** Immunosuppressive therapy can effectively inhibit the titer of antibody associated with PNS in a certain extent during the treatment, but there is not a long-term effect for Anti-Hu.

【Key words】 Immunosuppressive therapy Paraneoplastic neurological syndromes Titer of antibody Dynamic effects

目前对神经系统副肿瘤综合征(PNS)的治疗尚无特异性方法,早期诊断早期原发癌肿切除、放疗或

化疗可使少数 PNS 部分或完全缓解,但大多数有关的神经功能缺损仍需进一步治疗。目前除使用改善微循环、神经营养药物、B 族维生素等治疗外,以糖皮质激素、静脉注射免疫球蛋白、免疫抑制剂等免疫治疗为主,部分患者可进行血浆置换,但大多数研究表明,这些治疗方法疗效均不确定^[1-2],目前尚未见

基金项目:2015-2016 年度湖北省卫生计生指导性项目(项目编号为 WJ2015Z052)

作者单位:430030 武汉,湖北省第三人民医院神经内科[姜海伟 胡晴 鄢艳红 葛林通 高畅 曹梦莹 刘芳 尹花]

到有关 PNS 疗效不确定的具体原因的相关报道,本研究自 2012 年开始,以“免疫治疗对神经系统副肿瘤综合征的应用”为主题,搜集病例资料进行临床观察,目前已经有 36 例患者纳入观察,通过观察,了解免疫抑制治疗对相关抗体动态的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 1)诊断要点:参考文献全国高等学校教材(8年制及7年制临床专业)《神经病学》(第2版)“神经系统副肿瘤综合征”的确诊标准要点^[3]:(1)典型的神经综合征且在5年内发生肿瘤(神经抗体检查非必需);(2)非典型的神经综合征在对肿瘤行非免疫治疗后明显好转,而不是自发缓解;(3)非典型的神经综合征伴肿瘤神经抗体,并且在其后5年内发生肿瘤;(4)神经综合征(典型或非典型)伴特征性肿瘤神经抗体阳性,但未发现肿瘤);2)入选标准:(1)年龄20~80岁,性别不限;(2)已经确诊的实体肿瘤患者经治疗处于 RECIST 疗效标准 SD 以上者,在原发肿瘤的治疗(放疗、化疗等)间歇期者;(3)可耐受糖皮质激素或其他免疫抑制剂治疗者,且为首次接受治疗者;(4)签署知情同意书并愿意随访者;3)排除标准:(1)由其他原因引起神经系统疾病不能排除者;(2)合并其他脏器功能严重衰竭者或造血功能严重障碍者;(3)合并其他自身免疫性疾病者。(4)观察期间采用其他治疗方式者,如丙种球蛋白冲击,血浆置换可能影响抗体滴度者;4)自2012年6月-2015年3月湖北省第三人民医院神经内科、肿瘤科住院患者36例,其中已经发现并确诊为恶性肿瘤患者31例,肿瘤神经抗体阳性但尚未发现肿瘤患者5例。31例已经发现肿瘤的患者中肺癌14例,卵巢癌3例,结肠癌4例,胃癌4例,肝癌3例,乳腺癌3例,从出现神经症状至发现肿瘤的时间为35 d~23个月,所有病例均经 X 线片、CT、MRI、纤维支气管镜、胃镜等影像学或病理检查发现肿瘤;其余5例患者,均伴有典型神经综合征,同时肿瘤神经抗体阳性。36例患者年龄在39~73岁,平均年龄 54.45 ± 7.67 岁,发病病程在3月-5年,其中周围神经病变7例,边缘叶脑炎7例,僵人综合征1例,感觉神经元病1例,进行性小脑变性1例、脑干脑炎2例、重症肌无力1例、格林巴利综合征3例、运动神经元病2例、Lambert-Eaton 肌无力综合征2例、脊髓炎1例、皮炎2例,进行性多灶性白质脑病2例、门冬氨酸受体脑炎2例;5)试剂 抗 Hu 抗体(Catalog #: 10457)、抗 Yo 抗体(Catalog #:

10448)、抗-Ri 抗体(Catalog #: 10445)双抗夹-t], ELISA 试剂盒,由上海信裕生物科技有限公司提供。

1.2 治疗及副反应 针对患者个人体质及相关检查选用糖皮质激素(主要为地塞米松、泼尼松龙、甲泼尼龙等)或免疫抑制剂(环磷酰胺)治疗;疗程及服用方法依据患者具体情况及临床症状改善情况而定;二者根据情况连用,其中 26 例患者行激素冲击疗法,先静滴甲强龙注射液($500-1000 \text{ mg/d}$,连用 3d)或地塞米松($20-50 \text{ mg}$, 1 次/d,连用 3 d),后改为泼尼松片剂口服($1.5 \sim 2 \text{ mg/kg}^{-1} \text{d}^{-1}$,最大剂量 60 mg/d ,每 2 周减量 5 mg,减至 15 mg 时每 3 周减量 5 mg,直至减完),10 例采用糖皮质激素冲击治疗后改用泼尼松片,同时联用环磷酰胺治疗(1000 mg/次 ,每周 1 次,目标剂量 9000 mg , $\text{WBC} < 4.0 \times 10^9/\text{L}$ 停用);用药期间监测患者血常规、血糖及相关可能的不良反应指标,同时采用相关的预防性药物。以所有药物停止使用作为治疗终点。

1.3 观察指标 患者治疗前及治疗开始后 1 周、4 周、治疗结束后 1 周,3 月血清抗-Hu 抗体、抗-Yo 抗体、抗-Ri 抗体的定量检测(酶联免疫吸附试验,ELISA)。具体步骤为入院根据观测时间每例患者从肘静脉抽血 2 mL, 3000 r/min 离心 20 min,分离血清。 -20°C 保存备用。(1)标准品的稀释:本试剂盒提供原倍标准品一支,用户可按照说明书在小试管中进行稀释。(2)加样:分别设空白孔(空白对照孔不加样品及酶标试剂,其余各步操作相同)、标准孔、待测样品孔。在酶标包被板上标准品准确加样 50 uL ,待测样品孔中先加样品稀释液 4 uL ,然后再加待测样品 10 uL (样品最终稀释度为 5 倍)。加样将样品加于酶标板孔底部,尽量不触及孔壁,轻轻晃动混匀。(3)温育:用封板膜封板后置 37°C 温育 30 min。(4)配液:将 30 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍稀释后备(5)洗涤:小心揭掉封板膜,弃去液体,甩干,每孔加满洗涤液,静置 30 s 后弃去,如此重复 5 次,拍干;(6)加酶:每孔加入酶标试剂 50 uL ,空白孔除外;(7)温育:操作同 3;(8)洗涤:操作同 5。(9)显色:每孔先加入显色剂 A 50 uL ,再加入显色剂 B 50 uL ,轻轻震荡混匀, 37°C 避光显色 10 min;(10)终止:每孔加终止液 50 uL ,终止反应(此时蓝色立转黄色);(11)测定:以空白空调零, 450 nm 波长依序测量各孔的吸光度(OD 值)。测定应在加终止液后 15 min 以内进行。

1.4 统计学处理 用 SPSS 17.0,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,定量资料比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结 果

36 例患者均完成随访,有 31 例患者均完成计划疗程,3 例患者在治疗完成约 2/3 疗程后肿瘤出现进展,进行其他治疗,以停用时间作为治疗终点。1 例患者自行加快口服泼尼松片停药速度,第 17 周停药。1 例患者因无法耐受环磷酰胺不良反应,第 5 周停用环磷酰胺,继续口服泼尼松片完成疗程。免疫抑制治疗前后抗抗 HU、抗 RI、抗 YO 抗体定量检测水平见表 1。

表 1 免疫抑制治疗前后抗 HU、抗 RI、抗 YO 抗体定量检测水平

指标	治疗前	治疗开始后 1 周	治疗开始后 4 周	治疗结束后 1 周	治疗结束后 3 月
抗 HU	9.26±3.00	7.85±2.55▲	7.32±2.65▲	6.97±2.70▲	8.79±3.011*
抗 RI	12.86±5.38	12.47±5.46	10.23±4.14▲	10.35±3.94▲	10.53±3.84▲
抗 YO	19.08±5.01	17.11±4.29▲	16.01±4.00▲	15.39±4.11▲	15.81±4.98▲

注:与治疗前比较,▲ $P < 0.01$;与治疗后 1 周比较,* $P < 0.01$ 。

3 讨 论

PNS 的发病是由于人体免疫系统对异位表达神经抗原的肿瘤发生免疫反应,PNS 相关的免疫介导的抗体主要为抗-Hu 抗体、抗-Yo 抗体、抗-Ri 抗体三种抗体。目前,抗体的检测主要以间接免疫荧光方法定性检测为主,在诊断方面定性检测具有非常直观的作用,但治疗效果的监测过程中定性检测很难直接反映其动态变化。有研究表明,NPS 组血清抗-Hu 抗体、抗-Yo 抗体、抗-Ri 抗体的定量明显高于非 NPS 组的肿瘤患者^[4];同时在抗 Hu 抗体综合征患者的神经组织中可以检测到免疫球蛋白的沉积,这些免疫球蛋白的一部分就包括抗 Hu 抗体。anti-Hu 免疫球蛋白在神经系统中的特定区域(如海马、脑干、脊髓等)表达高于其血清,相关的 PNS 发病与抗 Hu 抗体的高表达有关^[5]。

本研究通过酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清抗-Hu 抗体、抗-Yo 抗体、抗-Ri 抗体的定量,同时通过免疫抑制治疗观察其抗体的动态变化。其结果显示,在使用激素或是环磷酰胺后 1 周内抗 HU 抗体抗体即开始下降,在免疫抑制药物使用期间,其抗体滴度呈下降趋势,但激素停止有逐渐反弹表现,

在治疗结束后 3 月,抗-Hu 抗体升高与治疗结束后 1 周比较具有显著差异($P < 0.01$),而与治疗前相比其差异已经没有统计学意义($P > 0.05$)。在使用激素或是环磷酰胺后抗-Yo 抗体呈缓慢下降趋势,治疗结束后 4 周开始显著下降,在治疗开始后 1 周抗 Ri 抗体即开始下降,二者在治疗结束后其抗体定量均值虽呈上升趋势,但与治疗前相比其差异无统计学意义。本研究表明,免疫抑制性药物对于 PNS 相关抗体定量具有一定的抑制作用。但对于抗 HU 抗体来说,有关研究表明激素或免疫调节剂对抗-HU 抗体综合征患者的临床症状改善作用有限,Dalmau 等进行的一项 71 例抗-hu 抗体综合征患者的研究发现,仅有 2 例患者的脑炎神经症状在使用皮质类固醇后改善,其余患者即使接受更高剂量的皮质类固醇及环磷酰胺和丙种球蛋白症状也没有进一步改善^[6]。Graus 等一项 200 例抗-hu 抗体综合征患者的观察中发现通过基础的肿瘤治疗后,无论是否进行免疫治疗,患者的神经症状改善的获益比仅为 4.56%^[7]。抗-hu 抗体综合征多见于小细胞肺癌患者,患者的获益比低可能与小细胞肺癌不良的预后及较短的生存期有关^[8]。本研究结果显示,抗-Hu 抗体定量在治疗结束后出现明显反弹,而抗-Yo 抗体、抗-Ri 抗体定量则反弹不明显。这就提出一个问题:临床症状改善是否与抗体定量动态改变有关?由于目前病例相对较少,进行相关性研究缺乏说服力,因此本研究下一阶段的内容将进一步搜集病例,进行抗体定量变化与临床症状评分的相关性研究,以期回答上述问题。

同时,对于 PNS 来说,其临床症状的影响因素及问题还有很多,如原发肿瘤是否得到良好的治疗,神经系统症状出现的时间与免疫治疗进行的时机,PNS 诊断的难度,确诊的时间长短等均有可能影响其临床症状的变化,新发现的不同的副肿瘤综合征有其特异性抗体,血清中的抗体滴度与脑脊液抗体滴度变化是否一致等。同时目前针对 PNS 的免疫治疗临床报道大多数均以回顾性报道为主,且病例较少,缺乏双盲、随机、对照研究。少数前瞻性研究也是以非双盲,非对照性临床试验为主,且研究病例少,缺乏具有说服力的循证医学证据的临床研究^[9-10]。

参 考 文 献

[1] Leypoldt F, Wandinger KP. Paraneoplastic neurological syndromes[J]. Clin Exp Immunol, 2014, 175(3): 336-348.