

## · 论著 ·

## 抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎的抗体检测及临床意义

周晶, 杨云凤

川北医学院附属医院神经内科/四川省医学重点学科, 四川省南充市 637007

**摘要:**目的 探讨抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)脑炎的抗体检测意义及临床特征。方法 选取本院收治的脑炎病人 35 例及对照组 30 例,分析临床资料,采用转染细胞间接免疫荧光法检测两组患者其血清及脑脊液抗 NMDAR 抗体。结果 抗 NMDAR 抗体检测仅 1 例边缘叶脑炎患者结果阳性,该患者脑脊液细胞数增多、蛋白轻度升高、脑电图见双侧慢波、其余检查无异常。精神症状及意识水平障碍明显,免疫治疗有效。结论 抗 NMDAR 脑炎发病率低,临床表现复杂多样,怀疑该病时需行抗 NMDAR 抗体检测。

**关键词:**抗体; N-甲基-D-天冬氨酸受体; 抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体抗体; 脑炎

### Clinical significance of anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibody detection in patients with encephalitis

ZHOU Jing, YANG Yun-Feng. Department of Neurology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637007, China

**Abstract: Objective** To investigate the clinical features of anti-N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) encephalitis and the significance of anti-NMDAR antibody detection. **Methods** Thirty-five patients with encephalitis and 30 controls were selected in our hospital. Their clinical data were analyzed. Transfected cell-based indirect immunofluorescence assay was used to detect anti-NMDAR antibodies in serum and cerebrospinal fluid. **Results** Anti-NMDAR antibodies were detected in one patient with limbic encephalitis. This patient had an increased number of cells and mildly elevated protein levels in the cerebrospinal fluid, as well as bilateral slow waves on EEG; there were obvious disorders in psychiatric symptoms and level of consciousness; the patient was responsive to early immunotherapy. **Conclusions** Anti-NMDAR encephalitis has low incidence and various clinical manifestations, and detection of anti-NMDAR antibodies may be needed for suspected cases.

**Key words:** antibody; N-methyl-D-aspartate receptor; anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibody; encephalitis

抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptors, NMDAR)脑炎是一种抗 NMDA 受体抗体相关性自身免疫性脑炎,是近年来发现的较常见的一类边缘叶脑炎(limbic encephalitis, LE)。病理机制主要由 NMDAR 亚型 NR1 的抗体介导而产生的免疫反应<sup>[1]</sup>。2007 年 Dalmau 等<sup>[2]</sup>首次存在神经精神症状的畸胎瘤患者的血清和脑脊液中检测到抗 NMDAR 抗体,并正式使用“抗 NMDA 受体脑炎”的诊断。目前国内抗 NMDAR 抗体脑炎报道极少,本研究旨在探讨抗 NMDAR 抗体脑炎的诊断及临床特征。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集 2012 年 5 月~2013 年 11 月在川北医学院附属医院神经内科诊治的脑炎患者 35 例。其中病毒脑炎患者 28 例(男 17 例,女 11 例),年龄 18~59 岁,平均年龄 38 岁;边缘叶脑炎 7 例(男 4 例,女 3 例),年龄 18~48 岁,平均 36 岁。对照组 30 例为其他中枢神经系统疾病及一些自身免疫性疾病,病例来自我院神经外科、风湿血液科及内分泌科,包括多发性硬化 5 例、癫痫 10 例,代谢性脑病 9 例、桥本脑病 1 例,颅内原发肿瘤 3 例,颅内转

基金项目:川北医学院青年项目(CBY12-A-QN24)

收稿日期:2014-02-07;修回日期:2014-06-19

作者简介:周晶(1983-),女,住院医师,硕士学位,主要从事脑炎的基础和临床研究。

移性肿瘤2例。男性9例,女性21,发病年龄17~54,平均年龄37岁。

病毒性脑炎诊断标准<sup>[3]</sup>:至少有一项神经功能缺失的症状或体征(如意识、性格、人格改变,行为改变,癫痫,偏瘫,共济失调)。另外至少满足以下两条标准:①肛温超过38℃;②脑脊液细胞数轻度增高(白细胞计数超过8/ $\mu$ l,无细菌感染的证据);③EEG异常:局灶的或弥散性慢波;④血清学异常证据有或无,从咽,肠试纸或脑脊液中分离出的细菌。排除标准:其他疾病如细菌性脑膜炎,结核性脑膜炎或其他可以解释症状的潜在的神经性或代谢性疾病。

2004年欧洲修改的LE诊断标准<sup>[4]</sup>:①亚急性(数日至12周内)发作的癫痫、短时记忆丧失、意识模糊和精神症状;②神经病理学或放射学边缘叶受累证据;③除外其他边缘叶功能障碍可能病因;④神经症状出现5年内确诊肿瘤或特征性副肿瘤性抗体(Anti-Hu、Ma2、CV2、amphiphysin、Ri)相关边缘叶功能障碍经典症状进程。

## 1.2 方法

1.2.1 常规检查 35例患者及30例对照组均行了脑脊液检测(脑脊液生化、常规,血液中的单纯疱疹病毒抗体结核抗体、梅毒螺旋体抗体、HIV病毒抗体,一般细菌涂片及培养)、头颅MRI、抗核抗体谱筛查、胸片、腹部彩超和肿瘤标记物检测(CEA、AFP、PSA、CA 125、CA 153),并对所有患者血清和(或)脑脊液进行抗NMDAR抗体检测。

1.2.2 抗NMDAR抗体检测 采用间接免疫荧光法,通过转染重组NMDAR的细胞系表达受体来检测患者血清和脑脊液中抗NMDAR抗体。NMDAR

转染细胞(转染了NR1/NR2的HEK293细胞)、非转染细胞、磷酸盐缓冲液(PBS-T)、抗谷氨酸受体抗体阳性对照血清及阴性对照血清由EUROIMMUN公司(德国)提供。Hoechst 33258染色液由上海易利生物科技有限公司(美国)提供。具体方法:①将患者的血清或脑脊液(1:10稀释)、对照血清滴定在玻片上(含HEK293细胞和非转染细胞)。②室温(18~25℃)下孵育30min后PBS-T冲洗浸泡5min。③加入异硫氰酸荧光素(FITC)标记的抗人IgG,室温避光孵育30min后PBS-T冲洗浸泡5min。④Hoechst 33258染色液进行核染色。⑤在荧光显微镜下观察结果。根据阳性对照及免疫荧光结果判断,转染细胞胞质中显示平滑或细颗粒状荧光视为抗体阳性细胞(图1)。

## 2 结果

抗NMDAR抗体检测仅1例LE患者为阳性(图1)。阳性病例情况:19岁男性,既往身体健康,近1月因感冒受凉后出现易怒,多动等精神行为异常,症状逐渐加重。当地医院予氯丙嗪、安定等治疗无明显好转。1周前精神症状加重,并出现幻觉妄想,发作性四肢抽搐,口舌不自主运动,以前无精神病史及滥用药物。检查头颅MRI及MRA、抗核抗体谱筛查、胸片、腹部彩超和肿瘤标记物检测(CEA、AFP、PSA、CA 125、CA 153)均正常,脑脊液结核抗体、梅毒螺旋体抗体、HIV病毒抗体、一般细菌涂片及培养结果无异常。脑脊液检测显示细胞数增多(白细胞 $21 \times 10^6/L$ )、蛋白轻度升高(529 mg/L),其余无异常。脑电图见双侧慢波,未见典型癫痫样放电。患者血清和脑脊液抗NMDAR抗体检测均为阳性。

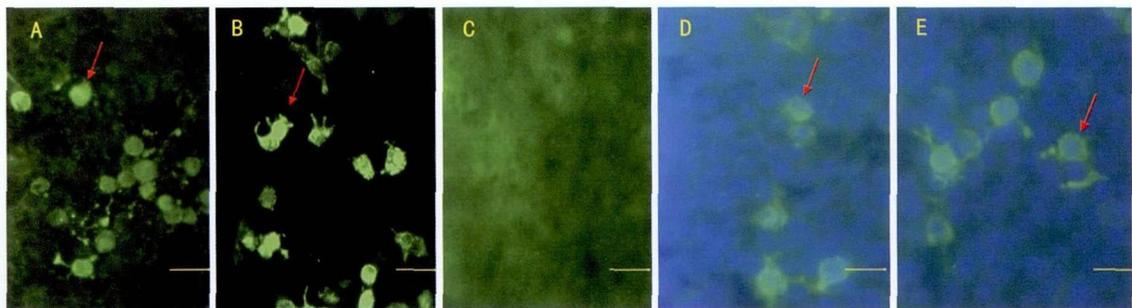


图1 间接免疫荧光检测患者血清中抗NMDAR抗体的表达,×400。A:HEK293细胞与患者血清的阳性反应;B:HEK293细胞与阳性对照血清的反应;C:HEK293细胞与阴性对照血清的反应;D:HEK293细胞与患者血清的阳性反应(Hoechst 33258核染色后);E:HEK293细胞与阳性对照血清的反应(Hoechst 33258核染色后)。

### 3 讨论

抗 NMDAR 脑炎确切发病率不详,早期报道该病主要见于年轻女性<sup>[5]</sup>,在 30 岁以下的脑炎患者中发病率甚至是常见的单纯疱疹病毒脑炎的 4 倍<sup>[6]</sup>。本研究 28 例普通脑炎和 7 例 LE 中,仅 1 例 19 岁男性 LE 患者经抗 NMDAR 抗体检测确诊为抗 NMDAR 脑炎,该患者血清和脑脊液抗体检测均为阳性表达。在普通病毒性脑炎中,有研究报道检测出 NMDAR 抗体阳性,但本研究未发现阳性病例,考虑与样本量可能有关。有资料显示约 59% 的抗 NMDAR 脑炎患者伴有肿瘤,而年龄小者肿瘤发生率较低<sup>[7]</sup>。该病开始主要表现为易暴、易怒、多动等精神症状,随疾病的发展可能出现癫痫、意识水平下降、口舌异常运动、自主神经功能紊乱<sup>[9]</sup>和(或)中枢性通气障碍等<sup>[10]</sup>。本例患者病初即表现为易怒、多动等精神症状,后续出现意识、言语障碍及发作性抽搐,口舌不自主运动等异常表现。与国内外其他病例报告症状类似,但未出现其他多数病例报道的癫痫表现。

有研究认为抗 NMDAR 抗体脑炎患者头颅 MRI 大多无特殊表现,50% 的患者可在 Flair 或 T<sub>2</sub> 表现高信号影。本研究患者头颅 MRI 未见异常。脑电图未见典型癫痫样放电。

治疗方面,本研究患者先予甲泼尼龙治疗效果差,改用丙种球蛋白治疗后抽搐,口舌不自主运动等情况好转,与文献报道一致,但记忆与认知功能仍无明显好转。文献报道抗 NMDAR 脑炎的一线治疗包括大剂量类固醇、丙种球蛋白、血浆置换,大部分病人有效。一线治疗失败,二线治疗(环磷酰胺或美罗华)常有效<sup>[11]</sup>。Titulaer 等<sup>[11]</sup>的大样本研究显示,一线治疗后 53% 的患者在 4 周内症状改善,2 年随访,81% 患者有较好结果。如果早期行免疫抑制治疗和潜在肿瘤的切除后临床效果更好<sup>[6]</sup>。Dalmau 等<sup>[2]</sup>也认为在接受肿瘤切除和免疫治疗后,约 75% 的患者完全康复或仅留有轻度后遗症。一线治疗中没有接受免疫治疗的患者复发风险较高,复发主要表现为语言障碍(61%)、精神症状(54%)、注意力不集中(38%)及癫痫发作(31%)<sup>[12]</sup>。

抗 NMDAR 脑炎早期极易被误诊为普通精神疾病或脑炎,本研究患者早期即被收入精神病院治疗,建议可疑疾病要进行血清或脑脊液抗 NMDAR 抗体检查。抗 NMDAR 脑炎的发现扩大了自身免疫性脑炎的相关抗体检测范围<sup>[13]</sup>。目前正在进行的 NMDA 受体功能的研究将对精神疾病、感染性和自

身免疫性疾病的研究及治疗产生重要影响<sup>[14]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] Dalmau J, Gleichman AJ, Hughes EG, et al. Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol*, 2008, 7(12): 1091-1098.
- [2] Dalmau J, Tüzün E. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. *Ann Neurol*, 2007, 61(1): 25-36.
- [3] Wang J, Lee PI, Huang LM, et al. The correlation between neurological evaluations and neurological outcome in acute encephalitis: a hospital-based study. *Eur J Paediatr Neurol*, 2007, 11(2): 63-69.
- [4] Graus F, Delattre JY, Antoine JC, et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2004, 75(8): 1135-1140.
- [5] Peery HE, Day GS, Dunn S, et al. Anti-NMDA receptor encephalitis. The disorder, the diagnosis and the immunobiology. *Autoimmun Rev*, 2012, 11(12): 863-872.
- [6] Gable MS, Sheriff H, Dalmau J, et al. The frequency of autoimmune N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis surpasses that of individual viral etiologies in young individuals enrolled in the California Encephalitis Project. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(7): 899-904.
- [7] Kamei S, Kuzuhara S, Ishihara M, et al. Nationwide survey of acute juvenile female non-herpetic encephalitis in Japan: relationship to anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Intern Med*, 2009, 48(9): 673-679.
- [8] Florance NR, Davis RL, Lam C, et al. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) encephalitis in children and adolescents. *Ann Neurol*, 2009, 66(1): 11-18.
- [9] 陈蕾,田志岩,吴潇哲,等.抗 N-甲基-D 天门冬氨酸受体脑炎. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2012, 39(1): 92-94.
- [10] Sansing LH, Tüzün E, Ko MW, et al. A patient with encephalitis associated with NMDA receptor antibodies. *Nat Clin Pract Neurol*, 2007, 3(5): 291-296.
- [11] Titulaer MJ, McCracken L, Gabilondo I, et al. Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study. *Lancet Neurol*, 2013, 12(2): 157-165.
- [12] Gabilondo I, Saiz A, Galán L, et al. Analysis of relapses in anti-NMDAR encephalitis. *Neurology*, 2011, 77(10): 996-999.
- [13] Lancaster E, Dalmau J. Neuronal autoantigens-pathogenesis, associated disorders and antibody testing. *Nat Rev Neurol*, 2012, 8(7): 380-390.
- [14] Punja M, Pomerleau AC, Devlin JJ, et al. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor (anti-NMDAR) encephalitis: an etiology worth considering in the differential diagnosis of delirium. *Clin Toxicol (Phila)*, 2013, 51(8): 794-797.