

论著 · 临床研究

两种判定鞘内合成方法的应用评价^{*}马瑞敏, 马森, 邵春青, 刘志伟, 吕虹, 司学众, 张国军[△]

(首都医科大学附属北京天坛医院检验科/北京市免疫试剂临床工程技术研究中心, 北京 100050)

摘要:目的 通过分析神经系统疾病患者脑脊液(CSF)标本中抗体来源, 对两种判定鞘内合成的检测指标进行应用评价。方法 选取 2013 年 12 月至 2017 年 7 月首都医科大学附属北京天坛医院 366 份配对送检血清和 CSF 标本, 分别检测 5 种神经系统疾病相关病毒的 IgG 和 IgM 抗体、清蛋白含量及脑脊液寡克隆区带(CSF-OCB)。根据血脑屏障(BBB)完整程度将患者分为 BBB 正常组(190 例)、轻度损伤组(66 例)、中度损伤组(85 例)和重度损伤组(23 例), 计算各组 24 h 鞘内 IgG 合成率(IgG syn)、IgG 指数(IgG I), 以 CSF-OCB 结果为金标准, 分析 IgG syn、IgG I 与其符合程度。结果 IgG I 在 BBB 轻、中、重度受损时, 与 CSF-OCB 的阴性符合率(分别为 95.24%、82.14%、71.43%)高于阳性符合率(分别为 33.33%、51.72%、55.56%), 可作为排除鞘内合成的指标; IgG syn 在 BBB 正常或轻度受损时, 与 CSF-OCB 的阴性符合率(分别为 77.06%、90.48%)高于阳性符合率(分别为 40.74%、37.50%), 可用于排除鞘内合成, 而在中度或重度受损时, 与 CSF-OCB 则表现为阳性符合率(分别为 58.62%、88.89%)高于阴性符合率(分别为 57.14%、21.43%), 可用于明确鞘内合成情况的存在。结论 根据患者 BBB 完整程度选择判定鞘内合成的检测方法, 可为临床明确诊断提供帮助。

关键词:寡克隆区带; 脑脊液; 血脑屏障; 清蛋白; 抗体, 病毒; 神经系统疾病

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.23.004

中图法分类号: R741; R446.6

文章编号: 1673-4130(2018)23-2861-04

文献标识码: A

Evaluation on the application of two methods for determining intrathecal synthesis^{*}

MA Ruimin, MA Miao, SHAO Chunqing, LIU Zhiwei, LV Hong, SI Xuezhong, ZHANG Guojun[△]

(Department of Clinical Laboratory, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University/Beijing Engineering Research Center of Immunological Reagents Clinical Research, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective To analyze the source of antibodies in cerebrospinal fluid (CSF) samples from patients with neurological diseases and evaluate the application of two detection indicators for intrathecal synthesis. **Methods** 366 paired serum and CSF samples from Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University from December 2013 to July 2017 were selected to detect IgG and IgM antibodies, albumin content and CSF-OCB of five kinds of nervous system disease-related viruses respectively. According to the integrity of blood-brain barrier (BBB), patients were divided into normal BBB group (190 cases), mild injury group (66 cases), moderate injury group (85 cases) and severe injury group (23 cases). The intrathecal IgG synthesis rate (IgG syn) and IgG index (IgG I) were calculated for 24 h in each group. The result of CSF-OCB was taken as the gold standard and IgG syn, IgG I and their coincidence were analyzed. **Results** When BBB was damaged mildly, moderately or severely, the negative compliance rates between IgG I and CSF-OCB (95.24%, 82.14% and 71.43% respectively) were higher than the positive compliance rates (33.33%, 51.72% and 55.56% respectively), and IgG I can be used as an exclusion index in the determination of intrathecal synthesis. When BBB was normal or damaged mildly, the negative compliance rates (77.06% and 90.48% respectively) between IgG syn and CSF-OCB were higher than the positive compliance rates (40.74% and 37.50% respectively), and IgG syn can be used to exclude intrathecal synthesis. However, when BBB was damaged moderately or severely, the positive compliance rates between IgG syn and CSF-OCB (58.62% and 88.89% respectively) were higher than the negative compliance rates (57.14% and 21.43% respectively), so IgG syn can be helpful for the definitive diagnosis of intrathecal synthesis. **Conclusion** Different detection methods should be selected

* 基金项目: 北京市优秀人才青年拔尖个人资助项目(2015000021223ZK34)。

作者简介: 马瑞敏, 女, 主治医师, 主要从事临床免疫学研究。 △ 通信作者, E-mail: tiantanzgj@163.com。

本文引用格式: 马瑞敏, 马森, 邵春青, 等. 两种判定鞘内合成方法的应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(23): 2861-2864.

according to the integrity of BBB, thus providing help for disease diagnosis.

Key words: oligoclonal bands; cerebrospinal fluid; blood-brain barrier; albumin; antibodies, viral; nervous system diseases

中枢神经系统是一个独立完整的免疫系统,脑脊液(CSF)为中枢神经系统提供了稳定的内环境。正常CSF中含有少量免疫球蛋白^[1]。中枢神经系统任何部位发生器质性病变时,都可引起CSF成分的改变^[2]。而在一些中枢神经系统疾病患者中,不论血脑屏障(BBB)是否受到破坏,CSF中均可检测到免疫球蛋白增加^[3]。那么增加的免疫球蛋白是由血液通过BBB进入CSF中,还是由中枢神经系统鞘内合成,对于疾病的诊断能够提供重要线索。目前临幊上常用的判断是否存在鞘内合成的方法有测定脑脊液寡克隆区带(CSF-OCB)、24 h鞘内IgG合成率(IgG syn)及IgG指数(IgG I)等^[4-5]。本文回顾性分析首都医科大学附属北京天坛医院366份配对送检的血清和CSF标本的检测结果,并对上述几种判断鞘内合成的指标进行应用评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2013年12月至2017年7月首都医科大学附属北京天坛医院366份配对送检的血清和CSF标本,分别检测5种神经系统疾病相关病毒的IgG及IgM抗体。患者包括中枢神经系统病毒感染187例,脱髓鞘疾病53例,癫痫17例及周围神经病109例。其中男184例,平均年龄(40.97±16.12)岁;女182例,平均年龄(41.26±14.30)岁。对CSF中存在病毒抗体的364例患者,根据清蛋白指数(QAlb)判断患者BBB的完整性,并将患者分为BBB正常组(190例)、轻度损伤组(66例)、中度损伤组(85例)和重度损伤组(23例)4组。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 采集患者肘正中静脉血5 mL,3 000 r/min离心5 min,分离血清。行常规腰椎穿刺术,留取CSF标本1 mL。

1.2.2 仪器与试剂 采用艾德康ELISA500全自动酶联免疫一体机、罗氏E170全自动免疫分析仪及配套试剂检测5种病毒的IgG及IgM抗体,检测结果以阴性/阳性表示。采用西门子BN II全自动蛋白分析仪检测清蛋白及IgG,采用Sebia HYDRASYS 2全自动琼脂糖凝胶电泳仪进行CSF-OCB检测。

1.2.3 计算公式及结果判定

1.2.3.1 采用QAlb判断BBB完整程度^[6] 计算公式为QAlb=Alb_{CSF}/Alb_{Serum}(Serum为血清);以QAlb≤7×10⁻³为BBB正常,7×10⁻³<QAlb≤10×10⁻³为BBB轻度损伤,10×10⁻³<QAlb≤30×10⁻³为中度损伤,QAlb>30×10⁻³为重度损伤^[7]。

1.2.3.2 采用IgG syn判断是否存在鞘内合成 计算公式为IgG syn=[(IgG_{CSF}-IgG_{Serum}/369)-

(Alb_{CSF}-Alb_{Serum}/230)×(IgG_{Serum}/Alb_{Serum})×0.43]×5。首都医科大学附属北京天坛医院IgG syn参考范围为-10~10 mg/24 h,以>10 mg/24 h为存在鞘内合成^[8]。

1.2.3.3 采用IgG I判断是否存在鞘内合成 计算公式为IgG I=(IgG_{CSF}/IgG_{Serum})/(Alb_{CSF}/Alb_{Serum}),以IgG I>0.7为存在鞘内合成。

1.2.3.4 采用CSF-OCB电泳检测判断是否存在鞘内合成 以CSF出现2条或2条以上不连续的蛋白条带,而血清未出现蛋白条带,或CSF及血清均出现两条或两条以上不连续的蛋白条带,但CSF存在不同于血清的蛋白条带为存在鞘内合成^[9]。

1.3 统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行数据分析,正态分布资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,非正态分布资料以中位数表示,计数资料比较采用 χ^2 检验,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 配对送检血清和CSF标本病毒抗体检测结果 本研究366份配对送检血清和CSF标本,有2份CSF标本中未检测到病毒抗体,364份CSF标本中均检测到至少1种病毒抗体。因此,后续研究均以364例患者为研究对象,通过CSF-OCB、IgG syn和IgG I等3种方法判断CSF中抗体的来源,分析几种方法检测结果的符合程度。

2.2 BBB完整性判断 根据QAlb判断BBB的完整性^[6-7,10],并将364例患者分为4组,计算各组的IgG syn和IgG I,非正态分布资料以中位数表示,结果显示,随着各组QAlb增加,IgG syn也逐渐增高,而4组的IgG I中位数分别为0.58、0.50、0.57及0.67。见表1。

表1 364例患者BBB完整性及鞘内合成情况

组别	n	QAlb	IgG syn (mg/24 h)	IgG I
BBB正常组	190	4.58×10 ⁻³	3.05	0.58
BBB轻度损伤组	66	8.25×10 ⁻³	2.69	0.50
BBB中度损伤组	85	13.6×10 ⁻³	9.53	0.57
BBB重度损伤组	23	58.5×10 ⁻³	64.4	0.67

2.3 4组3种鞘内合成指标的符合率比较 将4组患者的IgG syn、IgG I结果与CSF-OCB检测结果进行比较,分别计算总符合率、阳性符合率及阴性符合率,结果提示,IgG I在BBB轻、中、重度损伤时,与CSF-OCB的阴性符合率更高;IgG syn在BBB正常或轻度受损时,与CSF-OCB的阴性符合率更高,而在

重度受损时与 CSF-OCB 的阳性符合率更高, 见表 2。

表 2 各组 3 种鞘内合成指标的符合率比较

组别	检测方法	总符合率(%)	阳性符合率(%)	阴性符合率(%)	χ^2	P
BBB 正常组	CSF-OCB 检测 & IgG syn	61.58	40.74	77.06	6.001	0.014
	CSF-OCB 检测 & IgG I	58.42	48.15	66.06	0.271	0.602
BBB 轻度损伤组	CSF-OCB 检测 & IgG syn	71.21	37.50	90.48	4.544	0.033
	CSF-OCB 检测 & IgG I	72.73	33.33	95.24	7.765	0.005
BBB 中度损伤组	CSF-OCB 检测 & IgG syn	57.65	58.62	57.14	3.497	0.061
	CSF-OCB 检测 & IgG I	71.76	51.72	82.14	0.434	0.510
BBB 重度损伤组	CSF-OCB 检测 & IgG syn	47.83	88.89	21.43	9.127	0.003
	CSF-OCB 检测 & IgG I	65.22	55.56	71.43	0.096	0.757

2.4 IgG syn、IgG I 两种方法对鞘内合成的检出率比较 在 BBB 正常组和轻度损伤组, IgG syn 和 IgG I 对鞘内合成的检出率差异无统计学意义($P>0.05$); 在 BBB 中度及重度损伤组, 两种方法对鞘内合成的检出率差异有统计学意义($P<0.05$), 且 IgG syn 对鞘内合成的检出率高于 IgG I。见表 3。

表 3 IgG syn 和 IgG I 对鞘内合成的检出率比较

组别	IgG syn(%)	IgG I(%)	χ^2	P
BBB 正常组	17.37	20.53	3.735	0.053
BBB 轻度损伤组	13.64	12.12	0.474	0.491
BBB 中度损伤组	20.00	17.65	6.340	0.012
BBB 重度损伤组	34.78	21.74	9.127	0.003

3 讨 论

BBB 是由颅内毛细血管内皮细胞、星形胶质细胞终足、周细胞及细胞外基质等紧密连接而成的一种通透性屏障^[11]。在 BBB 的保护下, 中枢神经系统成为免疫赦免器官, CSF 中仅有少量免疫球蛋白。但在疾病状态时, 由于 BBB 受到破坏, 可使免疫球蛋白从血液进入 CSF, 或中枢神经系统的免疫系统被激活而合成免疫球蛋白, 均可使 CSF 中免疫球蛋白增高。CSF 中免疫球蛋白的变化可以反映中枢神经系统体液免疫应答情况^[12], 通过检测 BBB 的完整程度及是否存在鞘内合成免疫球蛋白, 可帮助判断 CSF 中免疫球蛋白的来源, 对神经系统疾病的诊断和鉴别诊断具有重要意义^[13]。

目前, 临床工作中常使用 QAlb 来判断 BBB 的完整程度^[14-15], 而用于判断是否存在鞘内合成的指标主要有 3 种, 一种是定性方法, 即 CSF-OCB 检测, 该方法采用等电聚焦电泳技术, 具有敏感、可靠的优点, 一般认为是检测的金标准^[16], 但存在实验条件要求高、检测成本高等问题。另外两种为定量方法, 即 IgG syn 和 IgG I, 这两个指标只需检测血清和 CSF 中 IgG 和清蛋白浓度, 通过公式计算得到结果, 具有容易开

展、方便实用的优点, 但这两种计算公式均建立在 CSF 中 IgG 浓度与 QAlb 呈线性关系的基础上, 在实际应用中发现, 在 BBB 受到不同程度破坏时, IgG 浓度与 QAlb 存在非线性关系, 会影响到这 2 个指标的诊断价值^[17]。因此, 本研究旨在通过分析三者在不同情况下的符合程度, 为临床医生选择检测方法提供帮助。

在本研究结果发现, 对于 IgG I, 4 组中均表现为与 CSF-OCB 的阴性符合率高于总符合率和阳性符合率, 说明 IgG I 的诊断特异性优于敏感性, 更适合用于排除鞘内合成。而对于 IgG syn, 在 BBB 正常和轻度损伤时, 阴性符合率高于总符合率及阳性符合率; BBB 中度和重度损伤时, 则表现为阳性符合率最高。分析原因, 可能因为 IgG syn 结果受到参考范围影响, 目前国内 IgG syn 的参考范围尚不统一, 本院及某些医院以 $>10 \text{ mg/24 h}$ 为存在鞘内合成^[18-19], 也有其他医院以 $>3.3 \text{ mg/24 h}$ ^[20-21]、 >5.85 或 $>7 \text{ mg/24 h}$ ^[17,22] 为存在鞘内合成。有文献报道 QAlb 与 IgG syn 呈正相关, BBB 损伤越严重, IgG syn 越高^[23], 本研究也显示出这一规律。因此, 当 BBB 正常或轻度损伤时, 若本研究采用的 IgG syn 参考范围太高, 则会导致部分阳性结果被判读为阴性, 导致其与 CSF-OCB 的总符合率和阳性符合率较差, 而阴性符合率较好。当 BBB 中度或重度损伤时, 大部分 IgG syn 的计算结果 $>10 \text{ mg/24 h}$, 阳性结果的判读不易受参考范围上限的影响, 表现出与 CSF-OCB 较高的阳性符合率。该结果提示, 在 BBB 正常及轻度损伤时, IgG syn 具有较好的诊断特异性, 而在 BBB 中度及重度损伤时则敏感性更好。在后续研究中, 作者将进一步针对 IgG syn 的参考范围进行研究。

本研究比较了两种方法对鞘内合成的检出率, 在 BBB 正常组和轻度损伤组, IgG syn 和 IgG I 对鞘内合成的检出率差异没有统计学意义($P>0.05$); 在 BBB 中度及重度损伤组, 两种方法的检出率差异有统计学意义($P<0.05$), 提示 IgG syn 对鞘内合成的检

出率高于 IgG I, 这个结果进一步证明了以上对符合率的分析, 提示对于 BBB 中、重度损伤患者, IgG syn 具有更高的敏感性, 可为明确诊断提供帮助。

4 结 论

在 BBB 正常或不同程度受损时, IgG I 与 CSF-OCB 检测的符合情况均表现为阴性符合率更高, 可作为排除指标在鞘内合成的判断中发挥作用; IgG syn 在 BBB 正常或轻度损伤时, 与 CSF-OCB 检测的阴性符合率更高, 可用于排除鞘内合成, 而在 BBB 中度或重度损伤时则表现为较高的阳性符合率, 可为鞘内合成的明确诊断提供帮助。

参考文献

- [1] 展淑琴, 岳天海, 吴海琴, 等. 脑脊液、血清免疫球蛋白及脑脊液寡克隆区带在神经系统疾病中的意义[J]. 陕西医学杂志, 2014, 43(6): 664-666.
- [2] 罗晶晶, 高枫. 多发性硬化患者的脑脊液检测[J]. 中国医师杂志, 2016, 18(9): 1432-1435.
- [3] 邵春青, 李兆伦, 刘志伟, 等. 血脑屏障完整性及鞘内 IgG 合成率在中枢神经系统疾病诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(2): 164-166.
- [4] MATTESON E L, FLAGLER D G, MESARA B W. IgG synthesis rate in evaluation of multiple sclerosis in a community hospital[J]. Neurology, 1987, 37(5): 847-849.
- [5] KARAMEHIC J, DELIC-SARAC M, SUBASIC D, et al. Reibergram and oligoclonal bands in diagnosis of multiple sclerosis[J]. Medical archives, 2012, 66(4): 222-225.
- [6] ZAJKOWSKA J, LELENTAL N, KULAKOWSKA A, et al. Application of multiplexing technology to the analysis of the intrathecally released immunoglobulins against *B. burgdorferi* antigens in neuroborreliosis [J]. Immunol Lett, 2015, 168(1): 58-63.
- [7] TIBBLING G, LINK H, OHHAN S. Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. I. Establishment of reference values[J]. Scand J Clin Lab Invest, 1977, 37(5): 385-390.
- [8] 沈霞. 中枢神经系统疾病的免疫学检验[J]. 检验医学, 2006, 21(6): 434-436.
- [9] 覃惠洵, 刘琳琳, 郝洪军, 等. OCB、抗 MBP 抗体及抗 MOG 抗体在中枢神经系统炎性脱髓鞘疾病诊断中的意义[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2014, 17(8): 11-13.
- [10] 王秋丽, 杨硕, 刘畅, 等. 40 例颅内感染患者脑脊液病原菌培养结果及脑脊液相关指标变化分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(1): 82-84.
- [11] ORTIZ G G, PACHECO-MOISÉS F P, MACÍAS-ISLAS M, et al. Role of the blood-brain barrier in multiple sclerosis[J]. Arch Med Res, 2014, 45(8): 687-697.
- [12] HACOHEN Y, RAHUL S, FORSYTH V, et al. CSF albumin and immunoglobulin analyses in childhood neurologic disorders [M]. Neurology: Neuroimmunology & Neuroinflammation, 2014: 1-5.
- [13] 李敏, 续薇, 黄晶, 等. 清蛋白和免疫球蛋白检测在神经系统疾病诊断中的临床应用[J]. 国际医药卫生导报, 2008, 14(6): 18-21.
- [14] SEYFERT S, QUILL S, FAULSTICH A. Variation of barrier permeability for albumin and immunoglobulin G influx into cerebrospinal fluid[J]. Clin Chem Lab Med, 2009, 47(8): 955-958.
- [15] SKRIPULETZ T, SCHWENKENBECHER P, PARS K, et al. Importance of follow-up cerebrospinal fluid analysis in cryptococcal meningoencephalitis [J]. Dis Markers, 2014: 162576.
- [16] PETZOLD A. Intrathecal oligoclonal IgG synthesis in multiple sclerosis[J]. J Neuroimmunol, 2013, 262(1/2): 1-10.
- [17] 孙改河. 363 例脑脊液鞘内 IgG 水平检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(22): 2809-2810.
- [18] 张金李, 闫纪亮. 脑脊液中寡克隆区带、tau 蛋白及鞘内 IgG 合成率诊断多发性硬化的价值[J]. 包头医学院学报, 2018, 34(1): 49-50.
- [19] 冀拓, 张远锦, 寿艳红, 等. 不伴脑病症状的成人急性播散性脑脊髓炎 1 例[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2016, 23(6): 451-452.
- [20] 任娜娜, 李国忠. 脑脊液标志物在多发性硬化临床工作中的应用价值[J]. 神经疾病与精神卫生, 2015, 15(5): 526-529.
- [21] 周月平, 朱德生, 胡斌, 等. Guillain-Barré 综合征患者中枢神经系统内源性免疫反应与脑脊液蛋白的相关性[J]. 临床神经病学杂志, 2017, 30(1): 13-15.
- [22] 任士卿, 郝洪军, 王薇薇, 等. 鞘内 IgG 合成不同计算公式的比较[J]. 中国免疫学杂志, 2003, 19(9): 641.
- [23] 傅珏, 周月平, 余莎莎, 等. 吉兰-巴雷综合征患者血、脑脊液屏障损伤与 24 小时鞘内免疫球蛋白 G 合成率的关系及其临床意义[J]. 中国全科医学, 2016, 19(14): 1638-1641.

(收稿日期: 2018-04-26 修回日期: 2018-07-16)