

以人脑组织为基质抗神经元抗体的检测

张 晓, 陈国庆

(中山医科大学附属第三医院内科, 广东 广州 510630)

关键词: 红斑狼疮, 系统性/诊断; 抗神经元抗体

中图分类号: R 593 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2000)02-0160-02

目前国际上采用培养的神神经胚胎瘤细胞为基质进行抗神经元抗体检测, 操作耗时费事。我们用人胚胎脑组织为基质的免疫组化方法检测抗神经元抗体, 不但简化了操作步骤, 避免了同位素污染, 同时也使检测结果更接近人体本质。

1 材料和方法

1.1 材料来源

收集本院风湿病专科 72 份系统性红斑狼疮患者血清, 其中神经精神性狼疮血清 30 份, 非神经精神性狼疮血清 42 份; 其它风湿病血清 68 份, 健康对照者血清 30 份。-20℃保存待用。系统性红斑狼疮诊断参照 1982 年美国风湿病协会修订的诊断标准, 神经精神性狼疮诊断按 Singer J1990 年报道的神经精神性狼疮诊断标准^[1]。

1.2 人脑组织切片

取 20 周左右水囊引产的胚胎大脑前回组织, OCT 4583 Tissue-Tek 包埋, 冰冻切片至 4~6 μm, 吹干, -70℃保存待用。

1.3 方法学建立

1.3.1 脑组织形态学观察 用 HE 染色观察人脑组织形态结构, 确认大脑皮质的神经元。

1.3.2 抗神经元抗体的检测 将待测血清按 1:10 的比例稀释, 滴在人胚胎脑组织切片上, 37℃孵育 30 min 后, PBS 漂洗, 加异硫氰酸荧光素标记羊抗人 IgG, 再孵育漂洗(同前), 封片, 荧光显微镜观察结果, 圆形斑点状荧光为阳性特异性荧光。

1.3.3 免疫荧光特异性的确立 应用连续切片的方法, 前一张片用 HE 染色, 后一张用组织免疫荧光法检测抗神经元抗体, 结果在 HE 染色片见到神

元元的相同部位, 后一张片见到特异性荧光。检测了 3 份阳性血清结果完全一致。

1.3.4 假阳性荧光的排除 以人脑、心、肝、肾及 Hep-2 细胞为基质, 滴加阳性血清, 其它步骤同抗神经元抗体检测, 观察不同组织中假阳性荧光情况, 并排除其它抗核抗体所产生的类抗神经元抗体特异性荧光。

1.3.5 空白及阴性对照 用 PBS 或健康自愿者血清代替患者血清, 其它步骤同抗神经元抗体的检测, 了解非特异性荧光情况。

1.3.6 最佳稀释度选择 将一份阳性血清按不同比例稀释, 分别检测抗神经元抗体, 比较同一稀释度所产生的特异性荧光与非特异荧光的比例, 选择出最佳稀释度。

1.3.7 稳定性重复试验 脑组织切片分别置-10℃保存 1 个月, -70℃保存半年, 检测同一份阳性血清, 结果未改变, 取强阳性及弱阳性血清各 3 份, 重复测定 5 次, 每次相隔 5~7 d, 结果相同。

2 结 果

抗神经元抗体在神经精神性狼疮患者中的阳性率: 在神经精神性狼疮组 30 份血清中有 40% (12/30) 抗神经元抗体阳性, 而在非神经精神性狼疮组仅 7% (3/42), 神经精神性狼疮组明显高于非神经精神性狼疮组。其它风湿病组及对照组抗体均呈阴性反应。

3 讨 论

抗神经元抗体是一种针对神经细胞胞浆的自身抗体, 它的出现既是神经系统发生免疫性病变的

收稿日期: 1999-11-16

作者简介: 张晓(1961—), 女, 江西宜春人, 医学硕士, 副主任医师。

一个病理过程,也是导致神经系统病变进一步发展的关键环节^[2,3]。国外报道它与神经精神性狼疮明显相关,而且对弥漫性狼疮脑病的诊断更有意义^[4]。文献记载10年的前瞻性研究证实抗神经元抗体诊断弥漫性狼疮脑病敏感性为100%,特异性为86%。本研究方法(免疫组化)的敏感性40%,特异性为93%,虽然其敏感性不及放免法,但更具特异性(在系统性红斑狼疮患者中特异性为93%,在其它患者中特异性为100%)。以人脑为基质的抗神经元抗体检测对临床诊断神经精神性狼疮有很大的帮助,实用性明显优于脑CT、MR等检查方法^[5]。既往抗神经元抗体检测一直沿用SK-N-SH神经胚胎瘤细胞为基质的检测方法,而且在国内未得到开展。这不仅是由于对抗神经元抗体的意义缺少充分的认识,同时也与其检测繁琐有关。我们采用间接免疫荧光的方法大大简化了操作步骤,并能较快取得结果,便于临床推广应用。

参考文献:

- [1] Singer J, Denburg J A. Diagnostic criteria for neuropsychiatric systemic lupus erythematosus [J] . J Rheumatol, 1990, 17: 1397.
- [2] 陈维政, 张乃峥, 蒋明, 等. 抗神经元抗体与神经精神性系统性红斑狼疮 [J] . 中华内科杂志, 1990, 29(3): 161.
- [3] West S G. Neuropsychiatric Lupus [J] . Rheum Dis Clin North America, 1994, 20(1): 129.
- [4] West S G, Emlen W, Wener M H, *et al.* Neuropsychiatric lupus erythematosus: a 10-year prospective study on the value of diagnostic tests [J] . Am J Med, 1995, 99(8): 153.
- [5] Bennahum D A, Messner R P, Shoop J D. Brain scan findings in central nervous system involvement by lupus erythematosus [J] . Ann Intern Med, 1994, 81(8): 763.

(编辑 黄小延)

(上接第159页)

of genotypic methods and DNA hybridization for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J] . J Clin Microbiol, 1994, 32(3): 613.

- [2] 李家泰, 魏瑾. 甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌(MRSA)感染的诊断和治疗 [J] . 中国临床药理学杂志, 1993, 9(2): 97.
- [3] 吴本权, 唐英春, 张扣兴, 等. PBP_{2a}体外诱导与MRSA的耐药关系 [J] . 中山医科大学学报, 1999, 20(3): 198.
- [4] Utsui Y, Yokota T. Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin and cephem-resistant *Staphylococcus aureus* [J] . Antimicrob Agents Chemother, 1985, 28(3): 397.
- [5] Serhat U, Joann H, Flokwitsch J E, *et al.* Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J] . J Clin Microb, 1992, 30(7): 1685.
- [6] Jevons M P. "Celbenin"-resistant *Staphylococci* [J] . Br

Med J, 1961, Jan(1): 124.

- [7] Mulligan M E, Murray Leissure K A, Riber R S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; a consensus review of the microbiology, pathogenesis and epidemiology with implications for prevention and management [J] . Am J Med, 1993, 94(3): 313.
- [8] Kobuyushi N, Tuniguchi K, Kojima K, *et al.* Genomic diversity of *mec* regulator genes in methicillin resistance *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* [J] . Epidemiol Infect, 1996, 117(2): 289.
- [9] Gerberding J L, Mückc Liu H H, Chamber H F. Comparison of conventional susceptibility tests with direct detection of penicillin-binding protein 2a in borderline oxacillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* [J] . Antimicrob Agents Chemother, 1991, 35(9): 2574.

(编辑 黄小延)