

激光扫描共聚焦显微镜技术检测脑脊液单核细胞早期分泌抗原靶-6在结核性脑膜炎早期诊断中的应用

李美杰 邹月丽 何俊瑛

【摘要】 目的 探讨激光扫描共聚焦显微镜(LSCM)技术检测脑脊液单核细胞早期分泌抗原靶-6(ESAT-6)在结核性脑膜炎早期诊断中的应用价值,为早期诊断寻找一种更特异性的检测方法。**方法** 采用免疫荧光双标法检测ESAT-6抗原,LSCM观察脑脊液单核细胞着色情况(ESAT-6阳性细胞胞核呈蓝色荧光、胞质呈红色荧光,ESAT-6阴性细胞胞核呈蓝色荧光、胞质不着色)并分析三维成像结果。**结果** ESAT-6抗原主要表达于结核性脑膜炎患者脑脊液单核细胞胞质,呈红色荧光。结核性脑膜炎组有28例(80%)ESAT-6阳性、对照组仅1例(2.86%)阳性,组间差异具有统计学意义($\chi^2 = 42.918, P = 0.000$);ESAT-6检测灵敏度80%,特异度97.14%。**结论** ESAT-6抗原检测可为结核性脑膜炎的早期诊断提供一定依据,且特异性较高。LSCM技术可实现多重荧光同时观察并形成清晰的断层扫描和三维图像,把细胞学研究提高到新水平。

【关键词】 结核,脑膜; 脑脊髓液; 单核细胞; 荧光抗体技术; 显微镜检查,共焦

Study on the value of detecting early secretory antigenic target-6 in cerebrospinal fluid monocytes by laser scanning confocal microscopy techniques in the early diagnosis of tuberculous meningitis

LI Mei-jie, ZOU Yue-li, HE Jun-ying

Department of Neurology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei, China

Corresponding author: HE Jun-ying (Email: hjy_zn@126.com)

【Abstract】 Objective To explore the value of detecting early secretory antigenic target-6 (ESAT-6) in cerebrospinal fluid (CSF) monocytes by laser scanning confocal microscopy (LSCM) techniques in early diagnosis of tuberculous meningitis (TBM), and to find a more specific method for early diagnosis. **Methods** Double immunofluorescence staining was applied to detect ESAT-6, and LSCM was used to observe the dyeing result of CSF monocytes and to analyze three-dimensional images. ESAT-6 positive cells will present red fluorescence cytoplasm and blue fluorescence nuclei, and negative cells present blue fluorescence nuclei while the cytoplasm is not stained. **Results** ESAT-6 was mainly expressed with red fluorescence in cytoplasm of CSF monocytes in patients with TBM. Among 35 cases of TBM patients, there were 28 patients (80%) ESAT-6 positive, one case (2.86%) ESAT-6 positive in the control group, and the difference was statistically significant ($\chi^2 = 42.918, P = 0.000$). ESAT-6 sensitivity was 80% and specificity was 97.14%. **Conclusions** The detection of ESAT-6 can provide a certain basis for the early diagnosis of TBM and has high specificity. LSCM techniques can realize simultaneously the observation of multiple fluorescence and provide clear tomography and three-dimensional images. The cytological research has been improved to a new level.

【Key words】 Tuberculosis, meningeal; Cerebrospinal fluid; Monocytes; Fluorescent antibody technique; Microscopy, confocal

结核性脑膜炎(TBM)是由结核分枝杆菌(以下

简称结核杆菌)引起的中枢神经系统感染性疾病,为严重结核病类型之一,早期诊断治疗与预后密切相关^[1],提高早期诊断率为改善预后之关键。近年来,由于多重耐药结核杆菌的流行、流动人口的增加、人类免疫缺陷病毒(HIV)感染,以及应用免疫抑制剂、酗酒、吸毒、贫穷等因素使结核性脑膜炎患病

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2016.08.010

作者单位:050000 石家庄,河北医科大学第二医院神经内科
[李美杰(现在河北省保定市第二中心医院神经内科,邮政编码:072750)]

通讯作者:何俊瑛(Email:hjy_zn@126.com)

率呈逐年上升趋势,目前缺乏一种可靠实用的诊断方法以满足临床诊断之需要。笔者采用免疫荧光双标法和激光扫描共聚焦显微镜(LSCM)技术对脑脊液单核细胞早期分泌抗原靶-6(ESAT-6)表达水平进行检测,以探讨该项技术在结核性脑膜炎早期诊断中的应用价值。

对象与方法

一、研究对象

1. 结核性脑膜炎组(TBM组) (1)诊断标准:参考 Ahuja 等^[2]诊断标准,临床表现为发热、头痛、呕吐并脑膜刺激征阳性或伴局灶性神经功能缺损;腰椎穿刺脑脊液检查白细胞计数显著增加、蛋白定量升高、葡萄糖和氯化物水平降低、阿利新蓝(AB)染色未见新型隐球菌生长;头部CT或MRI显示基底池渗出、脑积水或梗死灶;存在颅外结核病如肺结核;抗结核药物治疗有效;排除其他中枢神经系统疾病。(2)一般资料:选择2009年1月-2010年8月在河北医科大学第二医院神经内科和儿科住院或门诊治疗且诊断明确的结核性脑膜炎患者共35例,男性18例,女性17例;年龄2~66岁,中位年龄为30.94岁;病程3~180 d(<15 d者13例、15~30 d者15例、>30 d者7例),中位病程92 d。临床主要表现为发热(35例)、头痛(34例)、恶心呕吐(33例)、脑膜刺激征(33例)、脑局灶性体征(21例)和意识障碍(19例);合并颅外结核病患者9例(血型播散性肺结核2例、淋巴结结核1例、陈旧性肺结核6例)。本组有16例患者入院后行脑电图(EEG)检查,表现为弥漫性异常;19例行头部MRI检查,其中18例异常,表现为脑膜增厚强化(6例)、脑积水和脑水肿(6例)、结核瘤(3例)、脑沟变窄并脑肿胀(1例)、脑膜炎伴脑脓肿(1例)和脑梗死(1例);所有患者脑脊液墨汁染色和阿利新蓝染色均呈阴性。

2. 对照组 选择同期于我院神经内科和儿科住院或门诊治疗的其他神经系统疾病患者35例,男性15例,女性20例;年龄1~62岁,中位年龄30.43岁;病种为病毒性脑膜炎(18例)、化脓性脑膜炎(4例)、新型隐球菌性脑膜炎(4例)、脑囊虫病(3例)、脑肿瘤(2例,听神经瘤和肺癌脑转移各1例)、静脉窦血栓形成(2例)和脊髓炎(2例);临床症状与体征分别为发热(27例)、头痛(32例)、恶心呕吐(25例)、脑膜刺激征(24例)、脑局灶性体征(12例)和意识障碍(10例);病程7~154 d,中位病程53 d。本组20例

患者入院后行脑电图检查,15例呈现广泛异常表现(5例明显异常、3例中度异常、7例轻度异常)、5例正常;17例行头部MRI检查,15例显示异常影像(脑膜炎或脑膜脑炎12例、脑囊虫病1例、脊髓炎1例、静脉窦血栓形成1例);4例患者行脑脊液墨汁染色和阿利新蓝染色,结果均呈阳性反应,可见新型隐球菌生长,诊断为新型隐球菌性脑膜炎。

二、研究方法

1. 标本采集 所有患者均于入院后24~48 h行腰椎穿刺脑脊液检查,采集脑脊液标本6~9 ml,分别置于3个无菌试管(每管2~3 ml)、玻片离心法行脑脊液常规、生化、细胞学及墨汁染色和阿利新蓝染色。

2. 免疫荧光双标记法检测早期分泌抗原靶-6表达变化 (1)主要试剂与药品: I 抗工作液为鼠抗人ESAT-6单克隆抗体(1:100),由西宝生物科技(上海)股份有限公司提供;Cy5标记的山羊抗鼠IgG II抗(1:200)为北京康为世纪生物科技有限公司产品;4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI, 100 ng/ml)由美国Sigma-Aldrich公司提供;抗荧光淬灭封片液购自北京中杉金桥生物技术有限公司。(2)实验仪器: Shandon Cytospin 4型玻片离心机购自美国Thermo公司, Olympus FV 10-ASW 1.7共聚焦系统由日本Olympus公司提供。(3)检测方法:以Cy5标记的山羊抗鼠IgG II抗标记I抗鼠抗人ESAT-6单克隆抗体、DAPI标记所有细胞核DNA。脑脊液细胞玻片以质量分数为4%中性甲醛溶液固定10 min、蒸馏水冲洗;0.01 mol/L磷酸盐缓冲液浸泡5 min、体积分数为3%过氧化氢(H₂O₂)室温孵育5~10 min消除内源性过氧化物酶活性;磷酸盐缓冲液冲洗5 min(×3次)、体积分数为10%的正常羊血清封闭、室温孵育10~15 min;去血清(勿洗)、滴加I抗鼠抗人ESAT-6单克隆抗体,4℃孵育过夜;磷酸盐缓冲液冲洗5 min(×3次),滴加Cy5标记的山羊抗鼠IgG II抗、室温避光孵育60 min,磷酸盐缓冲液洗涤5 min(×3次);滴加DAPI、室温避光孵育20 min;磷酸盐缓冲液洗涤5 min(×3次),抗荧光淬灭封片液封片。(4)阳性结果判定:脑脊液细胞玻片置LSCM观察,光源为波长405和635 nm激光器激发的红色和蓝色双重荧光标记,分别以CHS1(Cy5通道)和CHS2(DAPI通道)双通道同时接收信号成像,经Olympus FV 10-ASW 1.7操作系统进行分析并三维成像。其中CHS1通道接收Cy5发射波长,定位于脑脊液单核细胞胞质

呈红色荧光;CHS2通道接收DAPI发射波长,定位于所有细胞核DNA呈蓝色荧光;双通道重叠部分,阳性细胞胞核呈蓝色荧光、胞质呈红色荧光。

3. 统计分析方法 采用SPSS 13.0统计软件进行数据处理与分析。计数资料以相对数构成比(%)或率(%)表示,采用 χ^2 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

免疫荧光双标法显示,结核性脑膜炎组患者ESAT-6呈阳性者28例(80%)、阴性者7例(20%),对照组阳性者1例(2.86%)、阴性者34例(97.14%),组间差异有统计学意义($\chi^2 = 42.918, P = 0.000$);ESAT-6检测灵敏度为80%、特异度为97.14%。LSCM观察,Cy5荧光Ⅱ抗(CHS1通道)定位于脑脊液单核细胞胞质,ESAT-6阳性图像呈红色荧光(图1),DAPI(CHS2通道)定位于所有细胞核DNA,ESAT-6阳性图像呈蓝色荧光(图2),CHS1与CHS2通道成像互相重叠后胞核呈蓝色荧光、胞质呈红色荧光者,提示脑脊液单核细胞ESAT-6阳性(图3),而两通道重叠后仅胞核呈蓝色荧光、胞质未着色者为ESAT-6阴性。利用LSCM的光学切片功能,将ESAT-6阳性细胞进行一系列断层扫描(图4),可在不同层面观察到细胞形态结构,增加结果的准确性,还可合成三维立体图像(图5),从不同角度观察细胞形态结构。

讨 论

结核性脑膜炎临床表现缺乏特异性,实验室诊断主要集中于细菌学、免疫学和分子生物学领域,其中以细菌学脑脊液细胞涂片抗酸染色检出结核杆菌为诊断“金标准”,但该项检查方法阳性检出率较低,仅约10%^[3-4];而结核杆菌培养时间较长且阳性率仅为20%~30%,发病初期难以明确诊断^[5-6];分子生物学技术具有敏感、快速、高效等优点,但对实验室条件要求较高、结果差异较大,缺乏特异性;其中免疫学诊断技术根据抗原与抗体反应之原理,利用已知抗原检测未知抗体或利用已知抗体检测未知抗原的实验室诊断方法,具有简便、快速、价格低廉、无需贵重仪器和易在基层实验室推广等优点,已广泛应用于各种疾病的临床诊断,脑脊液结核杆菌抗原/抗体检测对诊断结核性脑膜炎具有实用价值^[7]。

结核杆菌为细胞内寄生菌,主要寄生于单核巨噬细胞内,既可被单核巨噬细胞吞噬,亦可通过单核巨噬细胞胞膜受体主动进入细胞内而存活。感染结核杆菌后,可于体内检出结核杆菌特异性抗原,此为结核杆菌存在的直接证据,同时可避免结核病患者由于免疫功能低下导致的体液免疫或细胞免疫检测出现假阴性结果,有研究证实,脑脊液单核细胞结核杆菌抗原检测对结核性脑膜炎的早期诊断与鉴别诊断具有重要意义^[8]。结核菌素纯蛋白衍生物(PPD)试验用于结核杆菌的诊断、筛查和流行病学研究已有50余年,是一种包含多种不同变性阶段蛋白质的混合物,其中许多成分与卡介苗(BCG)和非结核杆菌抗原成分相同,实验室敏感性较好但特异性较差,不能准确区分PPD试验阳性源于卡介苗接种、环境中多种非结核杆菌致敏或结核杆菌感染。随着基因组学技术的不断进步,陆续发现一些新的结核杆菌抗原,为进一步寻找特异性抗原和制作单克隆抗体提供理论基础。经研究发现,结核杆菌与BCG基因组序列之间存在明显差异区域,其中RD1区仅存在于结核杆菌毒力株,而在其他卡介苗亚株中均缺失,提示RD1区基因与结核杆菌致病性相关,其编码的ESAT-6是有效的T细胞抗原,为结核杆菌之毒性成分。ESAT-6仅存在于结核杆菌菌群(包括人型、牛型和非洲型分枝杆菌)及其他数种致病性分枝杆菌,而在卡介苗及其他非致病性分枝杆菌中缺失^[9],在结核杆菌早期感染中发挥重要作用。ESAT-6既有T细胞又有B细胞抗原决定簇,故能同时引起细胞免疫应答和体液免疫应答,鉴于其较高的特异性和良好的免疫活性,使其成为一项特异性抗原用于结核病的早期诊断^[10]。国内学者通过不同实验方法对脑脊液单核细胞ESAT-6抗原进行检测,均证实其对结核性脑膜炎的早期诊断具有较高的应用价值^[11-14]。

LSCM技术是在荧光成像基础上加装激光扫描装置,利用计算机进行图像的集中处理,具有高分辨力、高敏感性、“光学切片”、三维重建、动态分析等优点,在生命科学研究中具有非常重要的意义,尤其成为研究生物细胞组织的三维成像最有效技术^[15]。免疫荧光双标法是在LSCM技术基础上发展起来的一种新兴检测技术,充分显示LSCM之优势。孔繁元等^[16]首次在国内运用LSCM技术观察脑脊液细胞形态学特征,使我们了解脑脊液细胞的了解上升至立体结构。近年来,国内窦春阳等^[17]和何俊

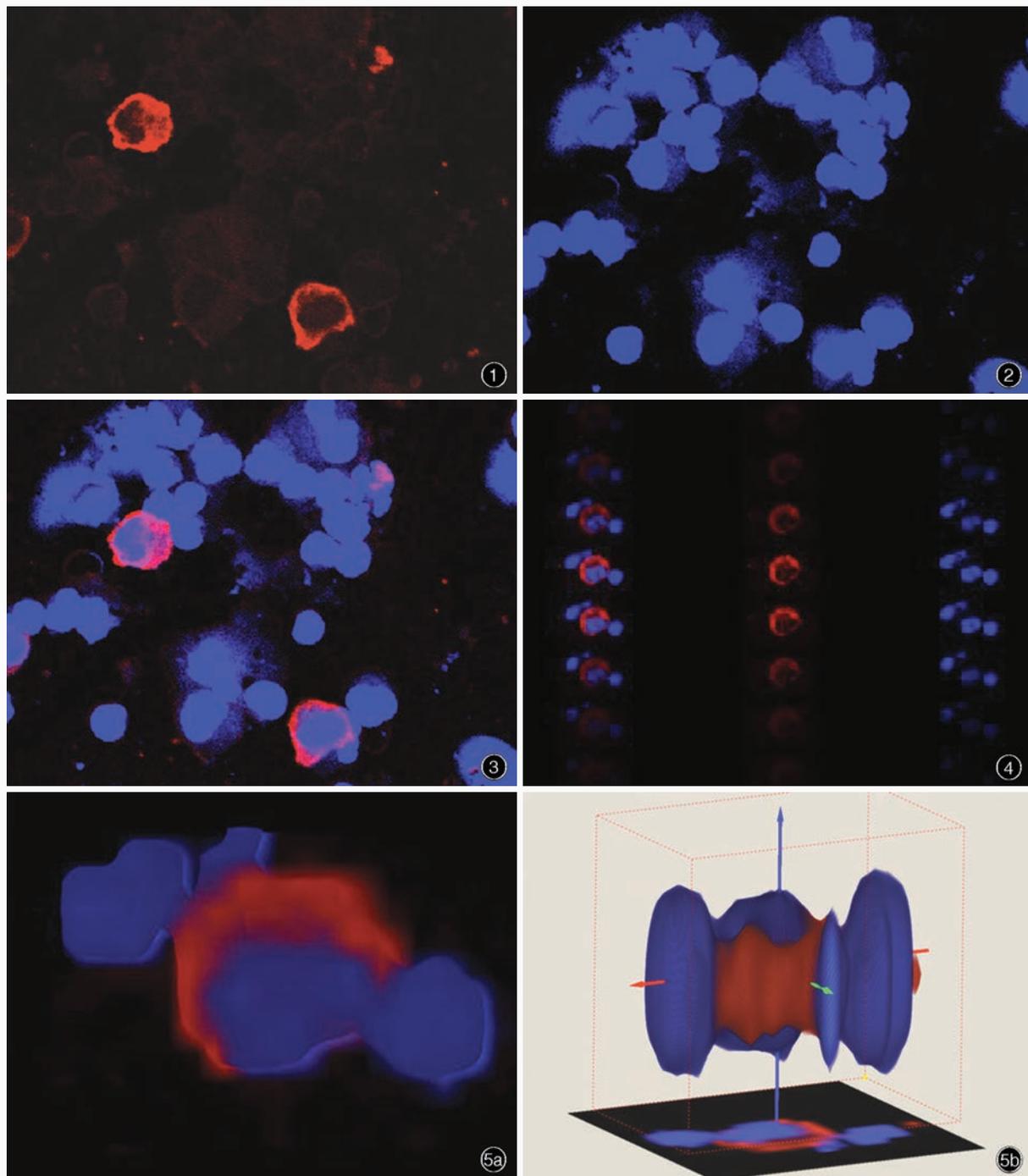


图1 LSCM观察显示,CHS1通道图像仅显示细胞质,ESAT-6阳性细胞胞质呈红色荧光 ×400 图2 LSCM观察显示,CHS2通道图像仅显示细胞核,所有细胞核均呈蓝色荧光 ×400 图3 LSCM观察显示,CHS1与CHS2通道重叠图像显示ESAT-6阳性细胞胞核呈蓝色荧光、胞质呈红色荧光,阴性细胞胞核呈蓝色荧光、胞质不着色 ×400 图4 LSCM断层扫描图像显示细胞内部结构及空间关系 ×400 图5 LSCM三维立体图像显示ESAT-6阳性细胞及其他细胞形态特征和立体结构 ×400 5a 俯视图 5b 平视图

Figure 1 LSCM findings CHS1 channel image only showed the cytoplasm, and ESAT-6 positive cells showed red fluorescence. ×400 **Figure 2** LSCM findings CHS2 channel image only showed the nuclei, and all the cell nuclei showed blue fluorescence. ×400 **Figure 3** LSCM findings CHS1 and CHS2 channel overlapped images showed blue nuclei and red cytoplasm in ESAT-6 positive cells, and blue nuclei and not stained cytoplasm in negative cells. ×400 **Figure 4** The tomography figure of LSCM showed cell internal structure and spatial relationships. ×400 **Figure 5** LSCM three-dimensional image showed the morphological characteristics and three-dimensional structure of ESAT-6 positive cells and other cells. ×400 Overlooked view (Panel 5a). Eye level view (Panel 5b).

瑛等^[18]陆续报告 LSCM 技术在脑膜癌病诊断中的应用,但鲜见 LSCM 技术在结核性脑膜炎中的应用报道。在本研究中,我们采用免疫荧光双标法和 LSCM 技术对脑脊液单核细胞 ESAT-6 抗原进行检测,灵敏度为 80%、特异度达 97.14%,TBM 组与对照组阳性检出率差异有统计学意义($P=0.000$);检测时间为病程第 3~180 天,尤以发病早期阳性检出率较高,随着病程延长其敏感性逐渐下降,大多数患者在病情好转后其脑脊液单核细胞结核杆菌抗原转为阴性,持续阳性患者考虑与结核杆菌不断释放有关。本研究 TBM 组有 7 例患者 ESAT-6 抗原阴性,考虑与单核细胞内结核杆菌抗原被降解或清除、病程较长、脑脊液阳性细胞少、标本保留或实验过程存在失误等因素有关;对照组 1 例患者呈假阳性,其原因为部分荧光素未与蛋白质结合形成聚合物和衍化物而不能被去除、所用 I 抗和 II 抗孵育后清洗不充分,或者由于患者存在结核杆菌潜伏期感染,机体抵抗力较强,病程中未表现出明显的结核杆菌感染症状。

采用 LSCM 技术对结果进行观察,以免疫荧光双标法在 Cy5 标记 ESAT-6 单克隆抗体的同时,以 DAPI 标记细胞核 DNA,CHS1 和 CHS2 通道图像重叠可呈现 ESAT-6 阳性细胞胞核蓝色荧光、胞质红色荧光的完整细胞结构,ESAT-6 阴性细胞仅胞核呈蓝色荧光,对比鲜明,使细胞结构更加清晰,体现 LSCM 技术定位之优势。采用 LSCM 细胞 CT 技术,以 0.60 μm 步进距离分别对脑脊液 ESAT-6 阳性细胞及其他细胞进行断层扫描形成一系列连续光学切片,细胞内部结构及空间关系清晰可见。除获得二维图像,尚可将一系列光学切片数据合成三维图像,从而观察细胞各层面和侧面之形态特征和立体结构,使对细胞的平面了解上升至立体水平。

综上所述,结核性脑膜炎患者脑脊液单核细胞内存在 ESAT-6 抗原,该抗原检测阳性可为结核性脑膜炎的早期诊断提供一定的依据且具特异性。与传统光学显微镜相比,LSCM 技术分辨力和敏感性明显提高,实现多重荧光同时观察、形成清晰断层扫描和三维图像。

参 考 文 献

- [1] Thwaites GE. Advances in the diagnosis and treatment of tuberculous meningitis. *Curr Opin Neurol*, 2013, 26:295-300.
- [2] Ahuja GK, Mohan KK, Prasad K, Behari M. Diagnostic criteria for tuberculous meningitis and their validation. *Tuber Lung Dis*, 1994, 75:149-152.
- [3] Trusov A, Bumgarner R, Valijev R, Chestnova R, Talevski S, Vragoterova C, Neeley ES. Comparison of Lumin LED fluorescent attachment, fluorescent microscopy and Ziehl-Neelsen for AFB diagnosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2009, 13:836-841.
- [4] Ulrichs T, Lefmann M, Reich M, Morawietz L, Roth A, Brinkmann V, Kosmiadi GA, Seiler P, Aichele P, Hahn H, Krenn V, Göbel UB, Kaufmann SH. Modified immunohistological staining allows detection of Ziehl-Neelsen-negative *Mycobacterium tuberculosis* organisms and their precise localization in human tissue. *J Pathol*, 2005, 205:633-640.
- [5] Ho J, Marais BJ, Gilbert GL, Ralph AP. Diagnosing tuberculous meningitis: have we made any progress? *Trop Med Int Health*, 2013, 18:783-793.
- [6] Kashyap RS, Ramteke SS, Morey SH, Purohit HJ, Taori GM, Dagainawala HF. Diagnostic value of early secreted antigenic target - 6 for the diagnosis of tuberculous meningitis patients. *Infection*, 2009, 37:508-513.
- [7] Ma ZY, Chen P, Fan XW. Clinical research progress of tuberculous meningitis. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2014, 14:664-670. [马占云, 陈鹏, 范学文. 结核性脑膜炎临床研究进展. *中国现代神经疾病杂志*, 2014, 14:664-670.]
- [8] Li Q, Xia MW, Lei YB. The value of detecting the tuberculosis antigens in the monocytes of CSF for early diagnosis of tuberculous meningitis. *Dang Dai Yi Xue*, 2015, 21:51-52. [李青, 夏明万, 雷源标. 脑脊液单核细胞内结核抗原检测对结核性脑膜炎早期诊断的意义. *当代医学*, 2015, 21:51-52.]
- [9] Qiao D, Yang BY, Li L, Ma JJ, Zhang XL, Lao SH, Wu CY. ESAT-6- and CFP-10-specific Th1, Th22 and Th17 cells in tuberculous pleurisy may contribute to the local immune response against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Scand J Immunol*, 2011, 73:330-337.
- [10] Armand S, Vanhuls P, Delcroix G, Courcol R, Lemaitre N. Comparison of the Xpert MTB/RIF test with an IS6110-TaqMan real-time PCR assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol*, 2011, 49:1772-1776.
- [11] He JY, Liu SF, Zhu YX, Guo WB, Hong K, Li MJ, Zou YL. The value of the ESAT-6 detection in the monocytes of CSF in diagnosis of tuberculous meningitis. *Nao Yu Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2010, 18:209-212. [何俊瑛, 刘士甫, 朱艳霞, 郭伟宾, 洪坤, 李美杰, 邹月丽. 脑脊液单核细胞内 ESAT-6 检测对结核性脑膜炎的诊断意义. *脑与神经疾病杂志*, 2010, 18:209-212.]
- [12] Yang X, Guo M, Xie P. The value of ESAT - 6 in the mononuclear of CSF in diagnosis of tuberculous meningitis. *Zhongguo Shen Jing Jing Shen Ji Bing Za Zhi*, 2012, 38:330-333. [杨笑, 郭旻, 谢鹏. 脑脊液单核细胞内 ESAT-6 对结核性脑膜炎的诊断价值. *中国神经精神疾病杂志*, 2012, 38:330-333.]
- [13] Yang J. Diagnostic value of detection of cerebrospinal fluid cell ESAT - 6 for tuberculous meningitis. *Shi Yong Yi Yuan Lin Chuang Za Zhi*, 2014, 11:84-86. [杨璟. 检测脑脊液单核细胞内结核分支杆菌早期分泌性抗原对结核性脑膜炎的诊断价值. *实用医院临床杂志*, 2014, 11:84-86.]
- [14] He L, Chang M, Lü XM, Wang YZ, Chu FN, Li W, Lin HX, Wang D, Cui L. Diagnostic value of early secretory antigenic target-6 and interferon- γ in cerebrospinal fluid for the diagnosis of tuberculous meningitis. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2011, 11:543-547. [何玲, 常明, 吕晓民, 王玉芝, 初凤娜, 李伟, 林会香, 王丹, 崔俐. 脑脊液 ESAT-6 和干扰素- γ 检测对结核性脑膜炎的诊断价值. *中国现代神经疾病杂志*, 2011,

- 11:543-547.]
- [15] Li Y, Huang HP, Lin PQ, Lu XL, Li QF, Zheng YQ. On the laser scanning confocal microscopy. *Shi Yan Shi Yan Jiu Yu Tan Suo*, 2015, 34:262-269.[李叶, 黄华平, 林培群, 卢雪莲, 李勤奋, 郑勇奇. 激光扫描共聚焦显微镜. 实验室研究与探索, 2015, 34:262-269.]
- [16] Kong FY, Hu QH, Pan YY, Liu MF. CT analysis of cerebrospinal fluid cell components. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 1996, 29:309-311.[孔繁元, 胡庆和, 潘月英, 刘铭福. 脑脊液细胞成分的CT分析. 中华神经科杂志, 1996, 29:309-311.]
- [17] Dou CY, Fan XW, Wu RF, Zhu HQ, Chen GS, Kong FY. Evaluation of immunofluorescence cytochemistry staining and laser - scanning confocal microscopy in the diagnosis of meningeal carcinomatosis. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2011, 11:534-537.[窦春阳, 范学文, 吴若芬, 朱海清, 陈桂生, 孔繁元. 免疫荧光细胞化学染色联合激光扫描共聚焦显微技术对脑膜癌病的诊断价值. 中国现代神经疾病杂志, 2011, 11:534-537.]
- [18] He JY, Chen Q, Liu K, Wang LJ, Yang XB, Zou YL. Early diagnosis of patients with meningeal carcinomatosis combining carcino - embryonic antigen immunocytochemical stain examination with laser scanning confocal microscope. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2009, 42:412-416.[何俊瑛, 陈倩, 刘科, 王丽靖, 杨小彬, 邹月丽. 免疫细胞化学染色及激光扫描共聚焦显微镜技术在脑膜癌病早期诊断中的应用. 中华神经科杂志, 2009, 42:412-416.]
- (收稿日期:2016-05-03)

Comparison between the 2007 and the 2016 WHO classification of tumours of the central nervous system (I)

The 2007 edition

Tumours of the cranial and paraspinal nerves

Schwannoma (neurilemoma, neurinoma)

- Cellular
- Plexiform
- Melanotic

Neurofibroma

- Plexiform

Perineurioma

- Perineurioma, NOS
- Malignant perineurioma

Malignant peripheral nerve sheath tumour (MPNST)

Epithelioid MPNST

MPNST with mesenchymal differentiation

Melanotic MPNST

MPNST with glandular differentiation

Tumours of the sellar region

Craniopharyngioma

- Adamantinomatous
- Papillary

Granular cell tumour

Potuiocytoma

Spindle cell oncocytoma of the adenohypophysis

The 2016 edition

Tumours of the cranial and paraspinal nerves

Schwannoma

- Cellular schwannoma
- Plexiform schwannoma
- Melanotic schwannoma

Neurofibroma

- Atypical neurofibroma
- Plexiform neurofibroma

Perineurioma

Hybrid nerve sheath tumours

Malignant peripheral nerve sheath tumour

- Epithelioid MPNST
- MPNST with perineurial differentiation

Tumours of the sellar region

Craniopharyngioma

- Adamantinomatous craniopharyngioma
- Papillary craniopharyngioma

Granular cell tumour of the sellar region

Potuiocytoma

Spindle cell oncocytoma