

# 新型隐球菌性脑膜炎

王云灿 何俊瑛 卜暉 邹月丽 丁文婷

**【摘要】** 新型隐球菌系具有荚膜结构的酵母真菌,因其嗜中枢性而使中枢神经系统成为主要攻击部位,可通过跨细胞途径、细胞旁途径或“木马机制”突破血-脑脊液屏障,引起致命性新型隐球菌性脑膜炎。获得性免疫缺陷综合征合并新型隐球菌性脑膜炎病死率可达 10%~25%,至少有约 1/3 的患者经历抗菌药物治疗失败。因此了解其致病机制、尽快明确诊断、探索更为有效合理的治疗方案至关重要。

**【关键词】** 脑膜炎,隐球菌性; 脑脊髓液; 细胞学技术; 抗真菌药; 综述

## Cryptococcal meningitis

WANG Yun-can, HE Jun-ying, BU Hui, ZOU Yue-li, DING Wen-ting

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

Corresponding author: HE Jun-ying (Email: hejunyingqqq@yahoo.com.cn)

**【Abstract】** Cryptococcus neoformans is a kind of encapsulated fungal organism that widely exists in the nature. Because of its neurotropic nature, the central nervous system becomes its major target organ. Cryptococcus neoformans can use "transcellular pathway", "paracellular pathway" and "Trojan horse approach" to cross blood-brain barrier, and then make the devastating diffusion. Despite antifungal therapy, the mortality rate remains between 10% and 25% in patients with cryptococcal meningitis (CM) and acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), and at least one-third of patients have experienced failure of antifungal therapy. Consequently, it is very important for us to understand the pathogenesis of CM, to diagnose as soon as possible and to explore more reasonable treatment.

**【Key words】** Meningitis, cryptococcal; Cerebrospinal fluid; Cytological techniques; Antifungal agents; Review

新型隐球菌性脑膜炎(CM)因其临床表现不典型,发病隐匿、病程长、病死率高,而使临床治疗十分棘手。本文通过对新型隐球菌性脑膜炎的疾病特点、发病机制、免疫反应,以及诊断与治疗的阐述,加深对新型隐球菌性脑膜炎的了解。

## 流行病学研究

新型隐球菌性脑膜炎是由新型隐球菌感染脑膜(或脑实质)引起的中枢神经系统感染性疾病,亦是中枢神经系统最为常见的真菌感染。近年来,随着广谱抗菌药物、糖皮质激素和免疫抑制剂的广泛或不恰当应用,以及免疫缺陷性疾病和器官移植病

例的增加,使新型隐球菌性脑膜炎在世界范围来势凶猛。来自加拿大不列颠哥伦比亚省的流行病学调查资料表明,1999-2007年共报道218例格特变种型隐球菌感染病例,平均每年24.20例,自1999年的6例增至2006年的38例<sup>[1]</sup>。对河北医科大学第二医院神经内科1996-2000年和2001-2005年常见中枢神经系统感染性疾病资料的统计显示,新型隐球菌性脑膜炎增长率为77.27%,位居首位,显著高于病毒性脑膜炎和结核性脑膜炎(图1)。

## 临床表现

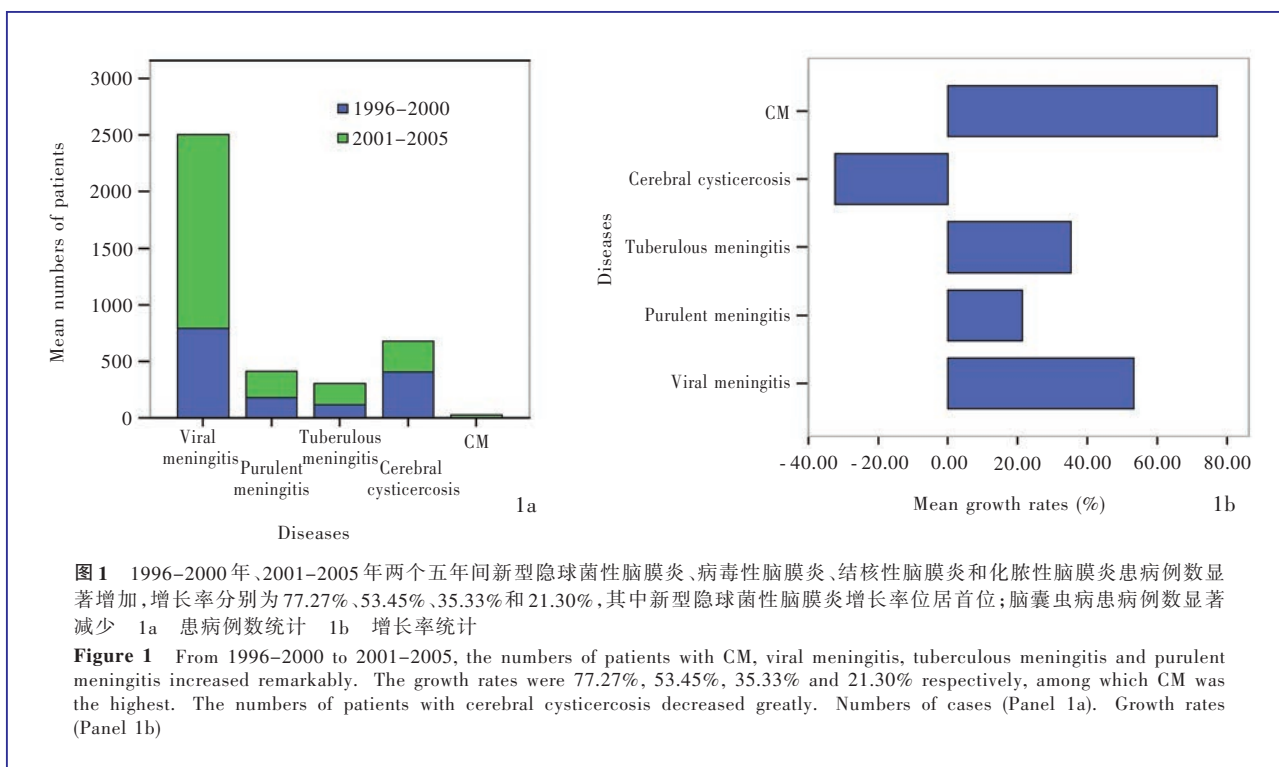
### 一、感染特点

新型隐球菌性脑膜炎多为机会性感染,呈亚急性或慢性发病,少数可急性发病。临床表现多样化,不易与其他中枢神经系统感染区分,尤其是结核性脑膜炎。患者大多合并全身性基础疾病。

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2013.01.006

作者单位:050000 石家庄,河北医科大学第二医院神经内科,河北省神经病学重点实验室

通讯作者:何俊瑛(Email:hejunyingqqq@yahoo.com.cn)



## 二、临床分型

1. 脑膜炎型 临床最为常见, 患者主要表现为难以忍受的头痛, 伴发热, 恶心、呕吐, 脑膜刺激征阳性等脑膜炎的症状与体征, 视乳头水肿较常见。

2. 脑膜脑炎型 除脑膜受累外, 可有脑实质(大脑、小脑、脑桥或延髓)受累, 因脑实质受累部位不同而出现相应的局灶性损害征象, 病情严重者甚至可形成脑疝。

3. 肉芽肿型 临床较为少见, 为隐球菌侵犯脑实质后形成的一种炎性肉芽肿病变, 称为隐球菌性肉芽肿。临床症状与体征随肉芽肿病变的部位和范围, 以及是否并发脑膜损害而异。

4. 囊肿型 系隐球菌刺激脑膜形成囊肿所致, 临床表现为颅内占位性病变, 易诱发癫痫。影像学检查显示颅内占位性病变, 神经外科手术可见蛛网膜明显增厚, 蛛网膜腔隙内形成单个或多个囊肿, 囊肿内为无色透明液体。

### 发病机制

新型隐球菌性脑膜炎的发病过程包括肺内生长, 进入血液循环、逃避免疫杀伤机制, 穿越血-脑脊液屏障, 最终感染中枢神经系统<sup>[2-4]</sup>。在发病的不同环节均存在菌体毒性作用与宿主免疫系统防御之间的抗衡。

## 一、隐球菌毒性因子

毒性因子系影响病原微生物毒性的重要因素。就菌体而言, 毒性因子是菌体得以在宿主体内存存繁殖的武器; 就宿主而言, 毒性因子能够抵御宿主免疫防御系统的清除, 破坏宿主器官、系统功能, 引发疾病。

1. 荚膜 (1) 荚膜的合成代谢: 包绕在菌体周围的厚荚膜是隐球菌最具特征性的结构, 由高度亲水性多糖构成, 约占荚膜总质量的 99%<sup>[5]</sup>。荚膜多糖主要分为葡萄糖醛酸木糖甘露聚糖(GXM)和半乳糖木糖甘露聚糖(GalXM), 同时还包括少量的甘露糖蛋白(MP)。有研究显示, 不同于细菌荚膜, 隐球菌荚膜多糖系胞内合成, 确切的说是在高尔基体内合成, 而后通过“囊泡运输”至胞外高尔基体衍生的分泌小泡与胞质膜融合, 并将其内容物释放至胞外用于荚膜合成<sup>[6-7]</sup>。已知有多种基因参与荚膜的合成, 包括 *CAP10*、*CAP59*、*CAP60* 和 *CAP64* 基因, 同时还受许多外部因素的影响<sup>[8]</sup>。中性或微碱性环境有利于荚膜生长和毒性表达, 高二氧化碳浓度和低铁离子水平环境有利于荚膜增厚。早期研究显示, 在高浓度氯化钠环境中荚膜生长受到抑制, 推测是由于葡萄糖醛酸残基负电荷的单价中和和作用所致。(2) 荚膜在新型隐球菌性脑膜炎中的致病性: 荚膜是隐球菌的特征性结构, 折光性强, 在化学染色过

程中有较高的分辨力,因此有助于诊断,例如墨汁染色、阿利新蓝染色等。此外,针对荚膜多糖特异性抗原的检测,乳胶凝集试验对细胞涂片、细菌培养阴性者更具诊断价值。荚膜抗原阳性滴度与感染程度呈正相关,因此对抗原检测除诊断价值外尚可用于评价疗效和预后。新型隐球菌在感染和播散期间,须穿越上皮细胞和内皮细胞屏障,通过跨细胞作用穿越脑微血管内皮细胞;而多糖荚膜则促使隐球菌与上皮细胞结合,二者之间相互作用导致上皮细胞生存能力下降,通过细胞紧密结构断裂和细胞骨架改变从而完成跨细胞作用。在穿越血-脑脊液屏障时,荚膜大小和多糖骨架结构的改变发挥重要作用,电子显微镜观察显示,无荚膜或小荚膜菌株侵入血管内皮细胞的能力强于大荚膜菌株,荚膜越小的细胞穿透力越强,荚膜大小与隐球菌毒力呈负相关<sup>[9-10]</sup>。宿主细胞的吞噬作用是其清除体内致病菌的重要保护机制。新型隐球菌的荚膜在这一过程中具有诱导吞噬的作用,这一作用基于荚膜表面具有特异性的识别位点,诱导抗体和补体介导的细胞吞噬作用。

2. 黑色素 (1) 黑色素的合成代谢:黑色素是新型隐球菌的又一重要毒性因子,为高分子质量、负电荷、疏水性强的色素,大多呈褐色或黑色,主要位于菌体的细胞壁内。新型隐球菌可利用各种儿茶酚胺前体,如多巴、多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素来合成黑色素。研究发现,中枢神经系统内含有大量的儿茶酚胺前体,如颅内基底部,为隐球菌性脑膜脑炎最易侵害的部位,这可能是隐球菌嗜中枢的原因<sup>[11]</sup>。合成隐球菌黑色素的酶为漆酶(laccase),可合成黑色素保护菌体,且其本身即是毒性因子。漆酶在隐球菌从肺内播散入血液循环时即发挥重要作用。有研究显示,向小鼠气管内分别接种 Laccase(+)和 Laccase(-)两种不同隐球菌菌株,感染 30 天后 Laccase(+)组小鼠 70% 死亡,而 Laccase(-)组全部存活<sup>[12]</sup>。值得注意的是,两组小鼠肺内清除率、白细胞募集、炎症反应、迟发型过敏反应及细胞因子分泌功能几乎无差异,唯一不同的是 Laccase(+)组小鼠更多发生肺外感染,提示漆酶在隐球菌播散过程中起作用。(2) 黑色素的毒性作用:黑色素的毒力主要与其清除吞噬细胞内产生的抗微生物氧化物有关。Jacobson 和 Compton<sup>[13]</sup>发现,一株产生黑色素的隐球菌所产生的黑色素数量足以清除大量由激活巨噬细胞产生的细胞氧化

剂。黑色素具有疏水性,并带有大量负电荷,可降低 T 细胞免疫应答反应。黑色素还具有抑制细胞因子产生的作用,如高产黑色素菌株(HKC-145)能够抑制肿瘤坏死因子(TNF)的产生,而低产黑色素菌株(Strain 52)则促进肿瘤坏死因子的产生<sup>[14]</sup>。黑色素可以阻断 T 细胞反应和细胞因子的分泌、降低由抗体介导的吞噬作用,并对治疗药物(如两性霉素 B)具有较强的抗抵力,因此黑色素合成与真菌的免疫逃避有关<sup>[15]</sup>。

3. 尿素酶 尿素酶的作用是催化尿素水解为氨和氨基甲酸盐,亦为隐球菌毒性因子之一。隐球菌经血液传播过程中,其菌体利用尿素酶,经内吞作用加速扩散至中枢神经系统。采用野生型 H99 隐球菌菌株和尿素酶阴性菌株分别感染小鼠,结果显示,被野生型 H99 菌株感染的小鼠于 6 周内全部死亡;而尿素酶阴性菌株感染小鼠在预定 8 周的实验时间内仅死亡 30%,存活下来的小鼠无中枢神经系统感染的明显证据<sup>[12]</sup>。尿素酶能够促进隐球菌侵入脑血管内皮细胞,其可能的机制是:尿素或其他含氮物质分解后使血清氨离子水平升高,导致隐球菌在血管内皮细胞的黏附率增加;氨离子可提高菌体对脑血管内皮细胞的毒性,影响血管内皮细胞与星形胶质细胞的连接,破坏血-脑脊液屏障的完整性,从而有利于隐球菌穿越血-脑脊液屏障<sup>[16]</sup>。

4. 磷脂酶 该酶的作用底物为磷脂,后者普遍存在于细胞膜和肺泡表面,通过破坏膜性结构有利于隐球菌在体内播散<sup>[17]</sup>。绝大多数隐球菌病原体是通过呼吸系统传播,即与磷脂酶破坏呼吸道及其他部位细胞膜而使菌体更易侵入组织有关。另外有研究发现,磷脂酶 B 能够清除肺泡表面物质二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC),从而使肺组织物理特性改变,菌体更易侵入肺组织<sup>[18]</sup>。

5. 降解酶 部分致病真菌在体外或感染宿主过程中能够分泌内源性和外源性胞外蛋白酶,是潜在的毒性因子。这些酶具有蛋白质水解活性,并参与菌体对组织的黏附、渗透及调节感染宿主的免疫功能,在脑组织损伤过程中可增加血-脑脊液屏障的通透性。徐赤宇等<sup>[19-20]</sup>观察发现,新型隐球菌分泌的丝氨酸蛋白酶可上调血-脑脊液屏障基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、微管相关蛋白(Tau-LRP)和低密度脂蛋白受体相关蛋白(LDL-LRP)的表达水平,诱导内皮细胞基质降解,使细胞自身微管结构及紧密连接发生异常变化。他们还分别对 A、B、D 型和(或)AD

型 4 种血清型菌株,以及荚膜缺陷株进行比较,其结果显示,胞外蛋白水解酶类成分与荚膜多糖抗原性无关,但与荚膜缺陷株相比其 CH 值[菌落半径/(菌落半径+廓清晕环半径)]却存在显著差异,表明胞外蛋白水解酶和丝氨酸蛋白酶与新型隐球菌菌株的多糖荚膜是具有协同作用的毒性因子。

## 二、宿主防御机制

1. 细胞免疫 由 T 细胞介导的细胞免疫在抵御新型隐球菌的过程中具有重要意义。既往研究表明,去除 T 细胞可以增加动物对新型隐球菌的易感性;T 细胞缺陷小鼠对新型隐球菌更具易感性;将具有免疫能力的 T 细胞转移至裸鼠,可使其获得保护能力<sup>[21]</sup>。由此证实在宿主防御过程中 T 细胞具有重要作用。宿主 T 细胞抗新型隐球菌的作用机制分为直接作用、分泌 Th1 细胞因子和 Th1/Th2 模式。其中直接作用如 CD4<sup>+</sup> T 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞和自然杀伤细胞(NK)均有直接抗真菌作用,T 细胞与真菌靶细胞密切接触后产生抑制真菌作用,其相互作用无需补体或特异性抗体的参与。T 细胞分泌的 Th1 因子对巨噬细胞的募集和活化起重要作用<sup>[12]</sup>。例如小鼠感染新型隐球菌后数天肺组织即可产生肿瘤坏死因子- $\alpha$ ,若于感染当日给予抗肿瘤坏死因子- $\alpha$ 抗体则易增加肺内隐球菌感染数量并出现向肺外脑和脾的播散。干扰素- $\gamma$ (INF- $\gamma$ )为另一重要 Th1 细胞因子,可以控制隐球菌繁殖数量,改善治疗效果。IL-18 为干扰素- $\gamma$ 诱导因子,除能诱导干扰素- $\gamma$ 抑制隐球菌外,还可降低血清荚膜多糖——GXM 的产生,从而增强机体对新型隐球菌的抵御能力。颗粒溶素(GNLY)是存在于细胞毒性 T 细胞(CTL)和自然杀伤 T 细胞(NKT)中的细胞免疫效应分子,当细胞毒性 T 细胞发挥胞吐颗粒作用时,颗粒溶素易于进入靶细胞,通过 Caspase-3 途径使 DNA 裂解,导致细胞凋亡。CD4<sup>+</sup> T 细胞分为两种亚型,分别为 Th1 和 Th2 模式。Th1 可直接杀伤抗原细胞,活化杀伤性细胞毒性 T 细胞和自然杀伤 T 细胞;Th2 则诱导单核细胞向吞噬细胞转化,对细胞毒性 T 细胞和自然杀伤 T 细胞起负调节作用。Th1 细胞因子对被感染宿主起保护作用、Th2 细胞因子则加剧感染。由此可见,T 细胞既具有活化抗新型隐球菌吞噬效应细胞如多形核白细胞、吞噬细胞等的作用,又可通过对新型隐球菌产生的直接抑制作用而促进巨噬细胞和肉芽肿形成,介导产生抗隐球菌抗原抗体反应,通过多种途径发挥其对隐球菌的免疫作用。

2. 体液免疫 单克隆抗体的产生是基于新型隐球菌荚膜 GXM 表面的特异性识别位点,也是清除体内隐球菌的重要作用机制。免疫球蛋白 IgG 是通过其 Fc 受体(FcR I 或 FcR III)与新型隐球菌荚膜相结合而发挥诱导吞噬作用,但 IgM 并无 Fc 受体,它是通过多糖纤维结合于补体受体从而介导吞噬作用。近年研究发现,抗体对新型隐球菌的作用十分复杂。一些针对 GXM 的保护性抗体的大量产生反而促进了疾病的进展,因为大剂量抗体会干扰机体的某些免疫反应,如吞噬细胞的氧化杀伤作用等,虽然增加了吞噬细胞数量但却降低了其杀伤力,最终有利于隐球菌的播散<sup>[22-23]</sup>。

3. 巨噬细胞 隐球菌感染机体后,主要被巨噬细胞和自然杀伤细胞等吞噬,巨噬细胞作为机体抗新型隐球菌的第一道屏障,是十分重要的非特异性细胞免疫机制。隐球菌的潜在生存模式即进入宿主的巨噬细胞内,有研究表明,巨噬细胞对隐球菌具有双重作用,在免疫功能正常的人群中巨噬细胞吞噬并杀死新型隐球菌,而对于免疫功能受损的人群,吞噬细胞还可作为携带新型隐球菌的载体,使其能够在宿主体内存活并在细胞内复制,新型隐球菌的这一生存方式被称为“木马机制”<sup>[24-25]</sup>。菌体复制最终导致吞噬细胞裂解和破坏,并释放出活的隐球菌。新型隐球菌尚可通过吞噬和排挤作用逃避被感染的吞噬细胞而不必裂解,从而使宿主细胞与隐球菌共存,但这需要特定宿主和包括多糖荚膜等在内的微生物因子作为前提条件<sup>[26-27]</sup>。因此,对于免疫功能低下的宿主,吞噬细胞通过提供新型隐球菌复制场所,从而成为其在血液循环内生存继而播散的工具。

## 诊 断

单纯的临床病例特点如发热、头痛、脑膜刺激征阳性等不易从常见的中枢神经系统感染性疾病中区分出新型隐球菌性脑膜炎,但出现难以忍受的剧烈头痛、听视觉损害、免疫力低下等病史时,需格外警惕新型隐球菌性脑膜炎的发生。此外,新型隐球菌性脑膜炎的诊断还包括脑脊液一般性状检查和病原体检测,河北医科大学第二医院神经内科脑脊液细胞学实验室创新采用脑脊液改良墨汁染色、阿利新蓝染色和迈-格-姬(MGG)染色方法(图 2,3),从而大大提高了新型隐球菌的阳性检出率,使新型隐球菌性脑膜炎的诊断快速、精准。



图 2 脑脊液墨汁染色镜检法检测新型隐球菌 ×1000 2a 传统墨汁染色显示,墨汁的碳颗粒不能穿透新型隐球菌荚膜,因而围绕隐球菌双层折光荚膜壁产生宽阔的光晕 墨汁染色 2b 改良墨汁染色显示,脑脊液经离心后再行墨汁染色使新型隐球菌阳性检出率显著提高 改良(离心后)墨汁染色

Figure 2 Cryptococcus tests by cerebrospinal fluid (CSF) ink staining (for the same patient) ×1000. Carbon particles can not penetrate the cryptococcal capsule, so there is a wide halo around the cryptococcal capsular wall India ink staining (Panel 2a). Take ink staining after CSF was centrifuged, which will greatly improve the detection rate of the cryptococcus in the CSF Improved India ink staining (Panel 2b)

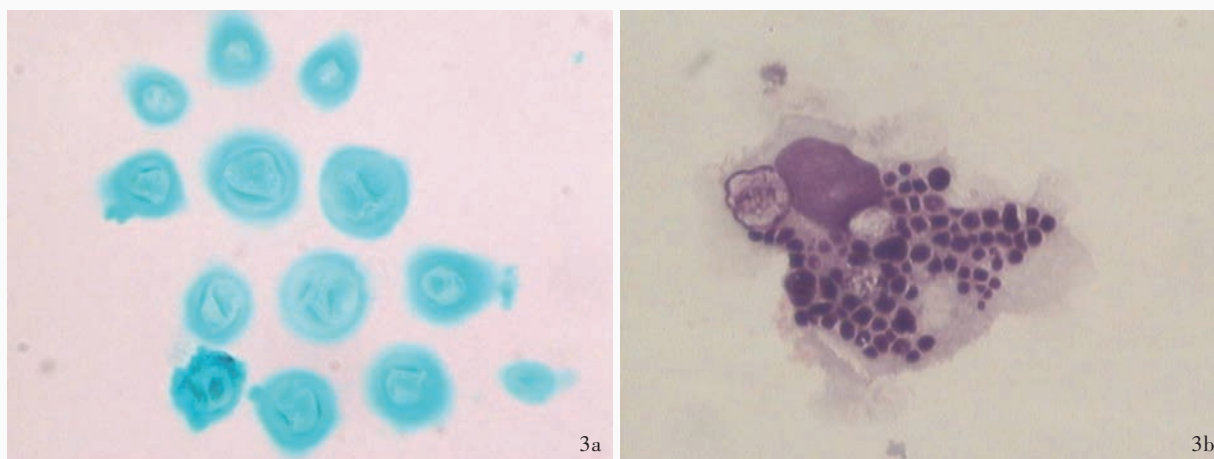


图 3 脑脊液细胞学染色检测新型隐球菌 ×1000 3a 阿利新蓝染色可见成堆出现的新型隐球菌,周围炎性细胞不着色,对比清晰 阿利新蓝染色 3b MGG 染色可见被吞噬细胞吞噬的新型隐球菌,即隐球菌吞噬细胞 MGG 染色

Figure 3 Cryptococcus tests by CSF cytologic staining ×1000. Cryptococcus is in heaps. Inflammatory cells around the cryptococcus can not be stained, so it is very clear to detect the cryptococcus Alcian blue staining (Panel 3a). Cryptococcal phagocyte can be seen MGG staining (Panel 3b)

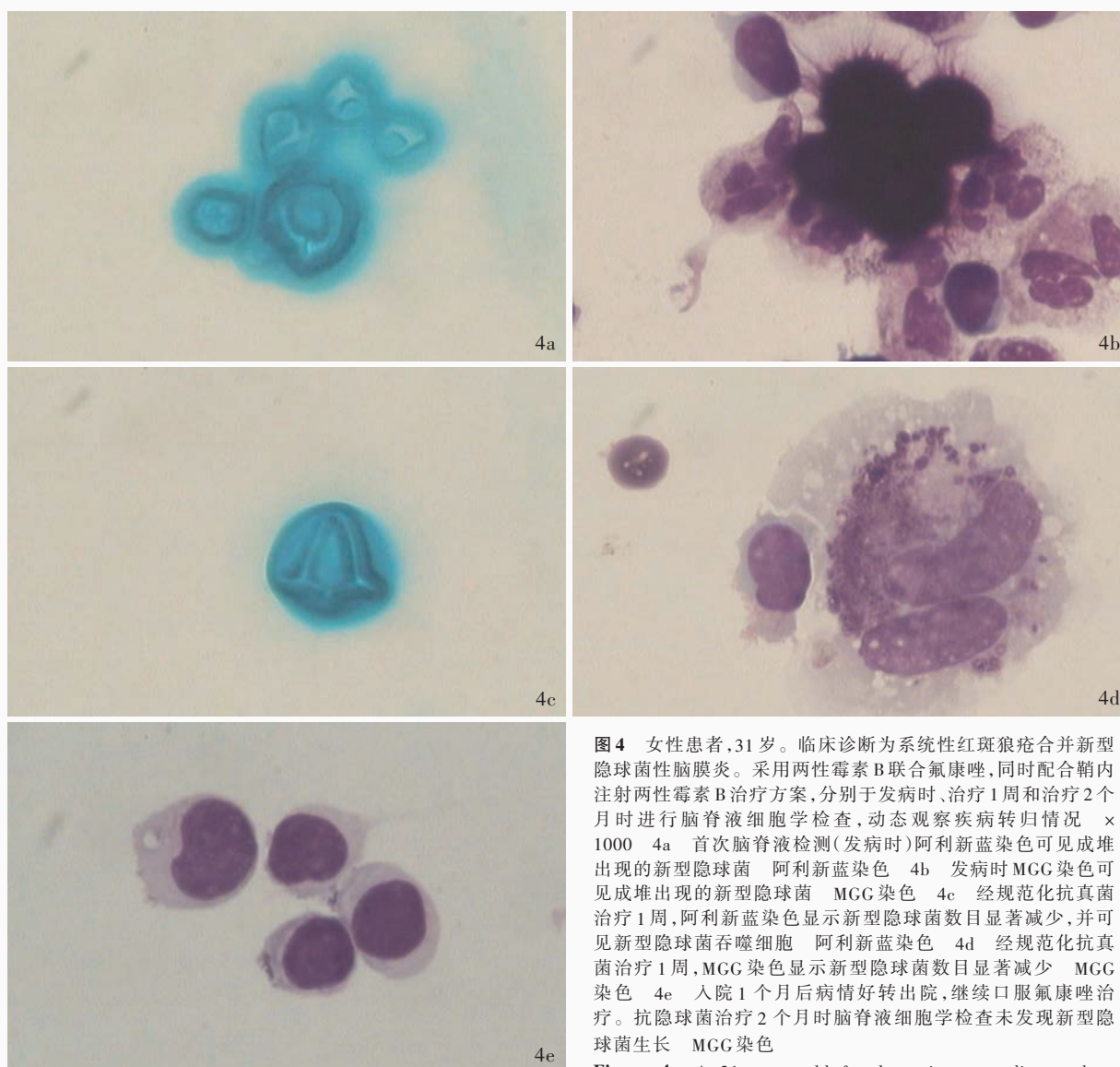
### 一、脑脊液一般性状检查

正常情况下,脑脊液外观澄清,当大量隐球菌存在时可变的黏稠;颅内压常升高,大多数被感染的患者颅内压可达 300 mm H<sub>2</sub>O(1 mm H<sub>2</sub>O = 9.81 × 10<sup>-3</sup> kPa)以上,甚至达 900 mm H<sub>2</sub>O 以上,90% 以上的患者脑脊液白细胞计数升高超过 0.20 × 10<sup>6</sup>/L,淋巴细胞比例高于中性粒细胞,以混合细胞反应为主。此外,蛋白定量升高、葡萄糖和氯化物水平下降,尤以葡萄糖水平降低更为显著,严重者可降至零。值得注意的是,获得性免疫缺陷综合征(艾滋

病,AIDS)患者合并新型隐球菌性脑膜炎时,脑脊液一般性状检查各项指标可于正常值范围,但病原体检测呈阳性。

### 二、脑脊液病原体检测

脑脊液病原体检测发现新型隐球菌是诊断新型隐球菌性脑膜炎的金标准。目前临床常用的诊断方法包括脑脊液墨汁染色、改良墨汁染色、MGG 染色、阿利新蓝染色、细胞培养和聚合酶链反应(PCR)等。我院实验室通过对传统墨汁染色进行改良,应用离心后的脑脊液进行染色,使得新型隐球



**图 4** 女性患者, 31 岁。临床诊断为系统性红斑狼疮合并新型隐球菌性脑膜炎。采用两性霉素 B 联合氟康唑, 同时配合鞘内注射两性霉素 B 治疗方案, 分别于发病时、治疗 1 周和治疗 2 个月时进行脑脊液细胞学检查, 动态观察疾病转归情况 × 1000 4a 首次脑脊液检测(发病时)阿利新蓝染色可见成堆出现的新型隐球菌 阿利新蓝染色 4b 发病时 MGG 染色可见成堆出现的新型隐球菌 MGG 染色 4c 经规范化抗真菌治疗 1 周, 阿利新蓝染色显示新型隐球菌数目显著减少, 并可见新型隐球菌吞噬细胞 阿利新蓝染色 4d 经规范化抗真菌治疗 1 周, MGG 染色显示新型隐球菌数目显著减少 MGG 染色 4e 入院 1 个月后病情好转出院, 继续口服氟康唑治疗。抗隐球菌治疗 2 个月时脑脊液细胞学检查未发现新型隐球菌生长 MGG 染色

amphotericin B and fluconazole as well as intrathecal injection. CSF cytologic tests were taken at onset, 1 week after treatment and 2 months after treatment respectively × 1000. Cryptococcus was in heaps in the first CSF test (at onset) Alcian blue staining (Panel 4a). Cryptococcus was in heaps in the first CSF test (at onset) MGG staining (Panel 4b). The number of cryptococcus decreased greatly after standard treatment for 1 week, and cryptococcal phagocyte can be seen Alcian blue staining (Panel 4c). The number of cryptococcus decreased greatly after standard treatment for 1 week MGG staining (Panel 4d). The patient left hospital after 1 month for relieved symptoms, and continuously took oral fluconazole. The test after 2 months' treatment showed no cryptococcus MGG staining (Panel 4e)

菌阳性检出率明显提高(图 2)。目前我院实验室常规应用脑脊液 MGG 染色联合阿利新蓝染色检测新型隐球菌, 操作方便、灵敏, 既可弥补传统墨汁染色阳性检出率低、易受杂质影响的缺点, 又摆脱了脑脊液培养或 PCR 技术操作复杂、耗时长等弊端。阿利新蓝染色为针对新型隐球菌的特殊染色, 荚膜呈深蓝色、菌体为淡蓝色, 周围炎性细胞不着色, 对比清晰, 即使真菌含量极低时也很容易被检出(图 3);

MGG 染色菌体数量多时常成堆、成簇排列, 呈紫红色, 无胞核, 周边染色较深, 荚膜不着色, 首次阳性检出率为 84%~100%(图 3)。墨汁染色、MGG 染色和阿利新蓝染色联合应用可显著提高新型隐球菌的阳性检出率, 有文献报道, 三者阳性检出率分别为 66.17%、84.10% 和 81.13%<sup>[28]</sup>。在快速锁定新型隐球菌的同时也可以观察到脑脊液背景细胞, 有利于动态监测疾病转归(图 4), 值得推广。

### 三、鉴别诊断

新型隐球菌性脑膜炎患者临床症状不典型,不易与其他中枢神经系统感染性疾病相鉴别,特别是结核性脑膜炎和不典型的病毒性脑膜炎。我院实验室对 189 例临床诊断为病毒性脑膜炎的患者进行 MRI 和脑脊液检查<sup>[29]</sup>,发现 MRI 影像异常者脑脊液细胞学异常率为 72.92%,而且在 MRI 尚无明显结构性改变时,脑脊液细胞学异常率已为 63.44%。病毒性脑膜炎的 MRI 影像改变在疾病早期落后于脑脊液的变化,但二者对指导临床诊断、及时治疗意义均较大。对于结核性脑膜炎,脑脊液抗核抗体(ANA)、早期分泌抗原靶-6(ESAT-6)、培养分泌蛋白-10(CFP-10)的免疫组织化学染色,以及结核分枝杆菌抗酸染色和 PCR 反应等均可辅助诊断<sup>[30]</sup>。新型隐球菌性脑膜炎常伴有颅内高压,病史中常有难以忍受的剧烈头痛,此可作为该疾病特点之一。但脑脊液检查,包括墨汁染色、MGG 染色、阿利新蓝染色等仍是明确诊断的关键。值得注意的是,对于不典型患者,常需反复行脑脊液细胞学检查才能与其他中枢神经系统感染性疾病,特别是结核性脑膜炎区别开来。

### 治疗原则

与其他脑深部真菌感染相比,新型隐球菌感染的治疗在过去数十年经历了显著进展。在 20 世纪 50 年代,播散性隐球菌感染几乎无生还可能,随着多烯类抗真菌药物,特别是两性霉素 B 的临床应用,新型隐球菌性脑膜炎治愈率可达 60%~70%,但临床应用仍需依据疾病严重程度和患者全身情况进行选择。20 世纪 70 年代初期,5-氟胞嘧啶(5-FC)作为强有力的抗真菌药物在临床广泛应用,但是其作为单一药物应用时会产生快速耐药,因而限制了其临床疗效;两性霉素 B 联合 5-氟胞嘧啶则可提高治疗效果且治疗周期从 10 周缩短至 4~6 周。至 20 世纪 80 年代,唑类抗真菌药物,尤其是伊曲康唑和氟康唑进一步提高了新型隐球菌性脑膜炎的治疗效果,然而与此同时,由于艾滋病在世界范围的流行和免疫抑制剂的大量应用,新型隐球菌性脑膜炎的发病率亦显著升高。对于新型隐球菌性脑膜炎的治疗方案,建议采取分期(诱导期/巩固期)治疗的方式进行。在感染初期的诱导治疗过程中,采用两性霉素 B 联合 5-氟胞嘧啶作为诱导治疗,已得到全球相关专家的广泛认可;氟康唑作为后续治疗药物也

得到普遍肯定,2010 年新型隐球菌诊断与治疗专家共识提倡诱导期应用两性霉素 B 联合 5-氟胞嘧啶至少要治疗 8 周,之后的巩固期唑类药物至少要治疗 12 周<sup>[31]</sup>。由于 5-氟胞嘧啶购买困难,我院采用两性霉素 B 联合三唑类药物亦取得满意疗效,值得推荐(图 3)。另外,鞘内注射两性霉素 B 可直接杀伤脑脊液内的隐球菌,缓解颅内高压并可避免静脉滴注所引起的不良反应,从而缩短了灭菌治疗时间,提高治愈率,为了缓解刺激反应可在鞘内注射前予以小剂量地塞米松。此外值得提出的是,对于颅内压较高的患者,置换脑脊液一定要采取“穿刺针半梗阻”法滴取,鞘内注射剂量应与脑脊液留取量基本平衡,以防止脑疝形成。经过联合治疗方案,同时配合鞘内注射,脑脊液隐球菌数量可于治疗 1 个月内显著减少(图 4)。

对于新型隐球菌性脑膜炎的诊断,改良墨汁染色、MGG 染色和阿利新蓝染色联合应用可快速锁定新型隐球菌。新型隐球菌性脑膜炎的治疗提倡规范化(分期),足疗程、足剂量,联合用药方案,推荐在两性霉素 B 联合氟康唑分期(诱导期/巩固期)治疗的同时配合鞘内注射两性霉素 B,对控制新型隐球菌脑膜炎可取得良好效果。

### 参 考 文 献

- [1] Galanis E, Macdougall L. Epidemiology of *Cryptococcus gattii*, British Columbia, Canada, 1999–2007. *Emerg Infect Dis*, 2010, 16:251-257.
- [2] Wilder JA, Olson GK, Chang YC, Kwon-Chung KJ, Lipscomb MF. Complementation of a capsule deficient *Cryptococcus neoformans* with CAP64 restores virulence in a murine lung infection. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2002, 26:306-314.
- [3] Noverr MC, Williamson PR, Fajardo RS, Huffnagle GB. CNLAC1 is required for extrapulmonary dissemination of *Cryptococcus neoformans* but not pulmonary persistence. *Infect Immun*, 2004, 72:1693-1699.
- [4] Olszewski MA, Noverr MC, Chen GH, Toews GB, Cox GM, Perfect JR, Huffnagle GB. Urease expression by *Cryptococcus neoformans* promotes microvascular sequestration, thereby enhancing central nervous system invasion. *Am J Pathol*, 2004, 164:1761-1771.
- [5] Maxson ME, Cook E, Casadevall A, Zaragoza O. The volume and hydration of the *Cryptococcus neoformans* polysaccharide capsule. *Fungal Genet Biol*, 2007, 44:1802-1806.
- [6] Yoneda A, Doering TL. A eukaryotic capsular polysaccharide is synthesized intracellularly and secreted via exocytosis. *Mol Biol Cell*, 2006, 17:5131-5140.
- [7] Rodrigues ML, Nakayasu ES, Oliveira DL, Nimrichter L, Nosanchuk JD, Almeida IC, Casadevall A. Extracellular vesicles produced by *Cryptococcus neoformans* contain protein components associated with virulence. *Eukaryot Cell*, 2008, 7:58-67.
- [8] Ellerbroek PM, Walenkamp AM, Hoepelman AI, Coenjaerts FE. Effects of the capsular polysaccharides of *Cryptococcus*

- neofmans on phagocyte migration and inflammatory mediators. *Curr Med Chem*, 2004, 11:253-266.
- [9] McClelland EE, Perrine WT, Potts WK, Casadevall A. Relationship of virulence factor expression to evolved virulence in mouse - passaged *Cryptococcus neoformans* lines. *Infect Immun*, 2005, 73:7047-7050.
- [10] Charlier C, Chrétien F, Baudrimont M, Mordet E, Lortholary O, Dromer F. Capsule structure changes associated with *Cryptococcus neoformans* crossing of the blood-brain barrier. *Am J Pathol*, 2005, 166:421-432.
- [11] Casadevall A, Rosas AL, Nosanchuk JD. Melanin and virulence in *Cryptococcus neoformans*. *Curr Opin Microbiol*, 2000, 3:354-358.
- [12] Eisenman HC, Casadevall A, McClelland EE. New insights on the pathogenesis of invasive *cryptococcus neoformans* infection. *Curr Infect Dis Rep*, 2007, 9:457-464.
- [13] Jacobson ES, Compton GM. Discordant regulation of phenoloxidase and capsular polysaccharide in *Cryptococcus neoformans*. *J Med Vet Mycol*, 1996, 34:289-291.
- [14] Huffnagle GB, Chen GH, Curtis JL, McDonald RA, Strieter RM, Toews GB. Down-regulation of the afferent phase of T cell-mediated pulmonary inflammation and immunity by a high melanin - producing strain of *Cryptococcus neoformans*. *J Immunol*, 1995, 155:3507-3516.
- [15] Buchanan KL, Murphy JW. What makes *Cryptococcus neoformans* a pathogen? *Emerg Infect Dis*, 1998, 4:71-83.
- [16] Zhang JY, Wen H. The research progress of cryptococcus neoformans passing through blood-brain barrier. *Zhongguo Zhen Jun Xue Za Zhi*, 2010, 5:61-64. [张俊勇, 温海. 新生隐球菌通过血脑屏障的研究进展. *中国真菌学杂志*, 2010, 5:61-64.]
- [17] Santangelo RT, Nouri -Sorkhabi MH, Sorrell TC, Cagney M, Chen SC, Kuchel PW, Wright LC. Biochemical and functional characterisation of secreted phospholipase activities from *Cryptococcus neoformans* in their naturally occurring state. *J Med Microbiol*, 1999, 48:731-740.
- [18] Chen SC, Muller M, Zhou JZ, Wright LC, Sorrell TC. Phospholipase activity in *Cryptococcus neoformans*: a new virulence factor? *J Infect Dis*, 1997, 5:414-440.
- [19] Xu CY, Luo P, Wang XG, Liu H. Regulation effect of extracellular proteinase secreted by *Cryptococcus neoformans* on MMP - 9, Tau - LRP, LDL - LRP of brain microvascular endothelial cell. *Shi Yong Yi Xue Za Zhi*, 2008, 24:2759-2761. [徐赤宇, 罗平, 王喜国, 刘辉. 新生隐球菌丝氨酸蛋白酶对脑血管内皮细胞 MMP-9、Tau-LRP、LDL-LRP 的调控作用. *实用医学杂志*, 2008, 24:2759-2761.]
- [20] Xu CY, Wen H, Wang XT, Zhu HM, Gu JL, Xu H. Activity detection of extracellular proteinase and serine protease secreted by *Cryptococcus neoformans*. *Di Er Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2006, 27:125-128. [徐赤宇, 温海, 王溪涛, 朱红梅, 顾菊林, 徐红. 新生隐球菌的胞外蛋白水解酶及丝氨酸蛋白酶活性检测. *第二军医大学学报*, 2006, 27:125-128.]
- [21] Hang XF, Wen H. T lymphocyte and the immunity of *cryptococcus neoformans*. *Yi Xue Zong Shu*, 2006, 12:15. [杭小峰, 温海. T 淋巴细胞与新生隐球菌免疫. *医学综述*, 2006, 12:150.]
- [22] Taborda CP, Rivera J, Zaragoza O, Casadevall A. More is not necessarily better: prozone-like effects in passive immunization with IgG. *J Immunol*, 2003, 170:3621-3630.
- [23] Rivera J, Zaragoza O, Casadevall A. Antibody - mediated protection against *Cryptococcus neoformans* pulmonary infection is dependent on B cells. *Infect Immun*, 2005, 73:1141-1150.
- [24] Shao X, Mednick A, Alvarez M, van Rooijen N, Casadevall A, Goldman DL. An innate immune system cell is a major determinant of species - related susceptibility differences to fungal pneumonia. *J Immunol*, 2005, 175:3244-3251.
- [25] Tucker SC, Casadevall A. Replication of *Cryptococcus neoformans* in macrophages is accompanied by phagosomal permeabilization and accumulation of vesicles containing polysaccharide in the cytoplasm. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99:3165-3170.
- [26] Ma H, Croudace JE, Lammas DA, May RC. Expulsion of live pathogenic yeast by macrophages. *Curr Biol*, 2006, 16:2156-2160.
- [27] Alvarez M, Casadevall A. Phagosome extrusion and host - cell survival after *Cryptococcus neoformans* phagocytosis by Macrophages. *Curr Biol*, 2006, 16:2161-2165.
- [28] He JY, He HY, Meng ZH, Jin BF. Early diagnosis and treatment of cryptococcal meningitis: 30 cases report. *Zhongguo Shen Jing Jing Shen Ji Bing Za Zhi*, 2007, 33:433-435. [何俊瑛, 何红彦, 孟兆华, 金便芬. 新型隐球菌性脑膜炎早期诊断及疗效探讨(附 30 例报道). *中国神经精神疾病杂志*, 2007, 33:433-435.]
- [29] He JY, Zhang N, Li YJ, Zou YL, Li MJ, Gu JX, Zhang HH. Study on the significance of MRI and cerebrospinal fluid cytology in the diagnosis of viral encephalitis (meningitis). *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2011, 11:538-542. [何俊瑛, 张楠, 李玉静, 邹月丽, 李美杰, 谷聚贤, 张环环. 磁共振成像及脑脊液细胞学对病毒性脑(膜)炎的诊断性研究. *中国现代神经疾病杂志*, 2011, 11:538-542.]
- [30] He JY, Li MJ, Zhang N, Zhang HH, Gu JX, Zou YL. Laboratory diagnosis of tuberculous meningitis. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2011, 11:495-498. [何俊瑛, 李美杰, 张楠, 张环环, 谷聚贤, 邹月丽. 结核性脑膜炎的实验室诊断. *中国现代神经疾病杂志*, 2011, 11:495-498.]
- [31] Editorial Board of Chinese Journal of Mycology. Expert consensus on diagnosis and treatment of cryptococcal infection. *Zhongguo Zhen Jun Xue Za Zhi*, 2010, 5:65-68. [《中国真菌学杂志》编辑委员会. 隐球菌感染诊治专家共识. *中国真菌学杂志*, 2010, 5:65-68.]

(收稿日期:2012-11-07)

**下期内容预告** 本刊 2013 年第 3 和第 4 期报道专题为血管内治疗, 重点内容包括: 解析支架植入与强化药物治疗预防颅内动脉狭窄再发脑卒中对照试验; 颈内动脉床突旁动脉瘤影像学分类探讨; 颈静脉孔区脑静脉窦脑血管造影及临床意义分析; 缺血性脑血管病的血管内治疗; 颅内动脉粥样硬化性狭窄支架血管成形术治疗相关并发症; 血管内支架植入术治疗症状性锁骨下动脉起始段狭窄的临床研究; 压力导丝在颈动脉支架成形术中的应用; 颈动脉扭曲的血管内治疗; 青年颅内动脉瘤流行病学和影像学临床研究; 破裂小脑前下动脉动脉瘤的外科治疗; 颅内动-静脉畸形的治疗评价; Onyx 胶结合弹簧圈经静脉入路治疗硬脑膜动-静脉瘘; 颅内静脉窦血栓形成临床研究; 颅内静脉窦血栓形成的临床治疗