

脑脊液细胞学检测临床应用

关鸿志

【摘要】 脑脊液细胞学检测是脑脊液诊断方法的主要项目,也是中枢神经系统疾病的重要辅助诊断方法之一,且对中枢神经系统感染性和非感染性疾病,以及中枢神经系统肿瘤的诊断具有重要意义。免疫细胞化学检测和流式细胞术在脑脊液细胞学中的应用使临床诊断水平提高,普及这一实用且费用低廉的脑脊液诊断技术具有现实意义。

【关键词】 中枢神经系统感染; 中枢神经系统肿瘤; 脑脊髓液; 细胞学技术; 综述

Clinical application of cerebrospinal fluid cytology in neurological diseases

GUAN Hong-zhi

Department of Neurology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China (Email: guanhz@263.net)

【Abstract】 Cerebrospinal fluid (CSF) cytology is a fundamental test for the diagnosis of central nervous system (CNS) diseases in neurological practice in mainland China. Some significant findings of CSF cytology will always be expected in the cases who are suspected of CNS infectious or noninfectious diseases or CNS neoplastic lesions. The immunocytochemistry and flow cytometry make the CSF cytological diagnosis more sensitive and specific. The CSF cytological diagnosis should be considered at clinical background and reevaluated bedside. Traditional CSF cytology still has its horizon in neurology and should be recommended as a routine test for CSF analysis.

【Key words】 Central nervous system infections; Central nervous system neoplasms; Cerebrospinal fluid; Cytological techniques; Review

脑脊液细胞学诊断技术始于20世纪初,当时腰椎穿刺留取脑脊液的方法始应用于临床。1904年,法国医师Dufour首次在1例脊髓神经根病患者脑脊液中发现肿瘤细胞^[1],此后有学者经进一步分析认为该例患者的肿瘤细胞可能是淋巴瘤细胞,因此Dufour被视为临床脑脊液细胞学技术的开创者。当时的脑脊液细胞学检测方法尚不成熟,直至1954年Sayk发明细胞沉淀器,才解决了脑脊液细胞采集和制片的难题,自此脑脊液细胞学技术才真正进入广泛应用时期。我国脑脊液细胞学技术的应用和研究始于20世纪60~70年代侯熙德、侯明德、粟秀初和孔繁元等神经科前辈的引进与开创性工作。经过40余年的发展,临床脑脊液细胞学逐渐成为神经科亚专业之一,在中枢神经系统疾病的诊断中发挥重要作用^[2-4]。由于神经解剖结构和脑脊液生

成、循环特点,脑脊液细胞学揭示了脑(脊)膜疾病的性质,脑实质炎症性病变和处于蛛网膜下隙的神经根病变也可引起脑脊液细胞学异常。脑脊液细胞学与中枢神经系统病理改变存在一定的对应关系,此为脑脊液细胞学诊断的重要基础。脑脊液细胞学对中枢神经系统炎症性疾病,包括感染性和非感染性炎症,以及肿瘤等疾病有重要诊断价值^[5-6]。

一、中枢神经系统感染性疾病

病原体包括寄生虫、细菌、真菌、病毒和朊蛋白等。其中,朊蛋白不引起中枢神经系统炎症反应,因此也无脑脊液细胞学异常,其他中枢神经系统感染性疾病均可见脑脊液细胞反应。(1)病毒性脑膜炎和(或)脑炎:急性期表现为以脑脊液淋巴细胞增多为主的白细胞计数增多,常见激活淋巴细胞(转化型淋巴细胞),也可见中性粒细胞短暂性增多;单纯疱疹病毒性脑炎(HSE)脑脊液可见红细胞,与出血性坏死有关。(2)化脓性脑膜炎:脑脊液呈以中性粒细胞增多为主的炎症或化脓性炎症,伴淋巴细胞和单核细胞比例增加,细胞内见病原菌生长有助于

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2014.07.003

作者单位:100730 中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院神经科,Email:guanhz@263.net

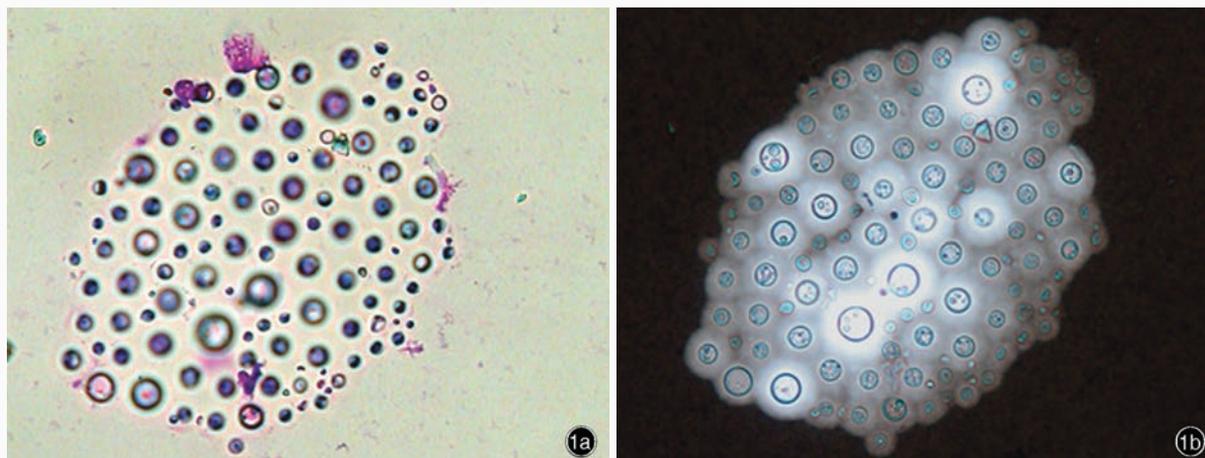


图 1 新型隐球菌性脑膜炎脑脊液细胞学检测所见 ×200 1a 沉淀池法显示成簇生长的新型隐球菌 MGG 染色 1b 墨汁染色可见同一簇新型隐球菌

Figure 1 CSF cytology findings of *Cryptococcus neoformans*. ×200 Method of settling pond revealed *Cryptococcus neoformans* growing in clusters (Panel 1a). MGG staining India ink staining showed the same cluster of *Cryptococcus neoformans* (Panel 1b).

病因诊断。(3)结核性脑膜炎:呈混合型细胞反应,即相当比例的中性粒细胞与淋巴细胞共存,可伴激活单核细胞和浆细胞比例增加。持续存在的中性粒细胞是结核性脑膜炎的脑脊液细胞学特点,未经治疗和治疗早期患者的脑脊液可以中性粒细胞为主,抗结核治疗早期可出现临床和(或)脑脊液细胞学加重的“反常现象”,改良抗酸染色和对细胞内结核分枝杆菌抗原的免疫染色能够提高脑脊液细胞学诊断率。(4)真菌性脑膜炎和(或)脑炎:脑脊液呈混合型细胞反应,与结核性脑膜炎相似。脑脊液细胞学结合特殊染色对新型隐球菌性脑膜炎的阳性检出率较高(图 1),脑脊液检测发现菌丝和孢子有助于真菌感染的诊断。(5)寄生虫性脑膜炎和(或)脑炎:以淋巴细胞浸润为主,伴嗜酸性粒细胞比例增加(>2%),脑膜型脑囊虫病和广州管圆线虫病脑脊液嗜酸性粒细胞比例可高达 80%~90%。脑囊虫病作为一种慢性感染,常伴有相当比例的淋巴细胞和浆细胞。广州管圆线虫病患者的脑脊液多以嗜酸性粒细胞(通常>50%)为主,该病几乎与急性嗜酸性粒细胞性脑膜炎等义,在北方非流行区域也可出现在旅行者和“美食家”中,2006 年北京即发生因食用福寿螺而引发的广州管圆线虫病群发^[7]。

二、中枢神经系统非感染性炎症

中枢神经系统非感染性炎症主要由自身免疫反应机制介导,包括中枢神经系统炎性脱髓鞘疾病、自身免疫性脑炎(副肿瘤性和非副肿瘤性),以及中枢神经系统血管炎等。(1)中枢神经系统炎性

脱髓鞘疾病:多发性硬化活动期患者脑脊液细胞学多异常,以轻或中度淋巴细胞性炎症反应为主,亦可见浆细胞。视神经脊髓炎脑脊液炎症反应更明显,除淋巴细胞性炎症外,部分急性期患者尚可见中性粒细胞浸润。急性播散性脑脊髓炎也呈淋巴细胞性炎症反应,部分患者脑脊液嗜酸性粒细胞比例轻度增加。(2)副肿瘤性和非副肿瘤性边缘性脑炎:由于其病理学机制的非坏死性或可逆性特点,脑脊液细胞学一般为轻度淋巴细胞性炎症反应,甚至正常。(3)中枢神经系统血管炎:包括原发性和继发性两种类型,前者十分罕见,临床以继发性多见,包括白塞病、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、结节性多动脉炎等。原发性中枢神经系统血管炎由于脑膜受累,其脑脊液细胞学多异常,以淋巴细胞性炎症反应为主,可伴中性粒细胞比例增加,可能与急性坏死性病变有关。白塞病病理表现为中性粒细胞性血管炎的特点,脑脊液细胞学可见中性粒细胞与淋巴细胞混合型细胞反应^[8],笔者曾观察到 1 例嗜酸性粒细胞性血管炎患者的脑脊液表现为以嗜酸性粒细胞反应为主,提示中枢神经系统血管炎的病理类型与脑脊液细胞学改变存在一定的对应关系。而系统性红斑狼疮的中枢神经系统并发症发生机制多种多样,部分患者可见脑脊液淋巴细胞型或混合型细胞反应,但以单核细胞激活现象更为常见,个别患者可见狼疮细胞^[9]。

三、中枢神经系统肿瘤

脑脊液细胞学检测所显示的肿瘤细胞一般由

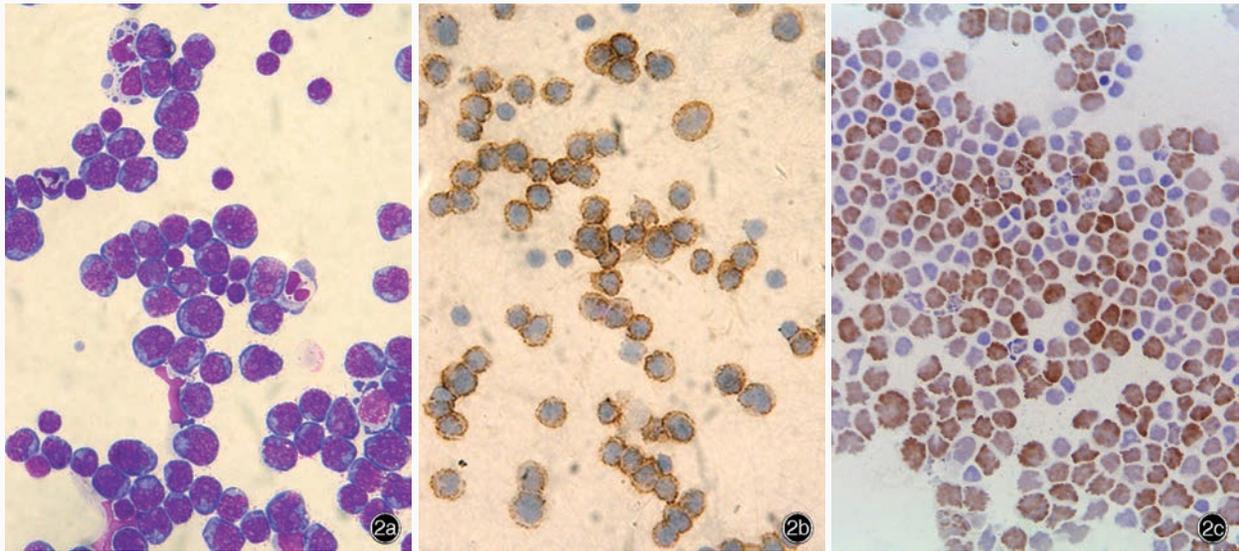


图 2 原发性中枢神经系统淋巴瘤脑脊液细胞学检测所见 ×200 2a 淋巴瘤细胞呈明显异型性 MGG 染色 2b 淋巴瘤细胞 CD20 表达阳性 免疫细胞化学染色 2c 肿瘤细胞 Ki-67 抗原标记指数约为 70% 免疫细胞化学染色

Figure 2 CSF cytology findings of primary CNS lymphoma. ×200 Lymphoma cells showed obvious atypia (Panel 2a). MGG staining Lymphoma cells were positive for CD20 (Panel 2b). Immunocytochemical staining The Ki-67 index was about 70% (Panel 2c). Immunocytochemical staining

脑脊膜表面脱落入脑脊液,因此脑脊液细胞学对肿瘤细胞的阳性检出率与肿瘤是否累及脑膜或室管膜有关。脑脊液细胞学检测可诊断的肿瘤主要包括脑膜癌病(MC)、系统性淋巴瘤和(或)白血病脑膜转移、原发性中枢神经系统淋巴瘤(PCNSL)、颅内生殖细胞瘤和神经胶质细胞来源肿瘤等。(1)脑膜癌病:在成年人,脑脊液肿瘤细胞最常见的来源为脑膜癌病。脑膜癌病是肿瘤(恶性上皮组织肿瘤)软脑(脊)膜转移的简称,随着肿瘤综合治疗水平的提高和患者生存期的延长,脑膜癌病之发生率也逐渐升高,肿瘤合并脑膜癌病的发生率约为 5%。脑膜癌病主要来源于肺癌、乳腺癌、消化系统肿瘤等,部分脑膜癌病患者以往无肿瘤病史或原发灶,以脑膜癌病首发,临床主要表现为亚急性脑膜炎症状与体征,如剧烈头痛、多脑神经病、神经根型脊髓病等,以及脑脊液压力和蛋白定量升高,葡萄糖和氯化物水平降低、细胞计数正常或单个核细胞比例轻度增加。脑脊液细胞学检测是明确诊断脑膜癌病的主要方法,其灵敏度约为 90%、特异度达 100%,免疫细胞化学检测可显示上皮组织肿瘤标志物[如癌胚抗原(CEA)、上皮膜抗原(EMA)和细胞角蛋白(CK)]表达水平升高,能够提高脑脊液细胞学检测的敏感性和特异性,有助于与淋巴瘤和胶质瘤相鉴别^[10]。(2)原发性中枢神经系统淋巴瘤:其脑脊液细胞学

阳性检出率较高,此与淋巴瘤倾向全脑性浸润而累及脑(脊)膜有关。脑脊液细胞学对淋巴瘤的阳性检出率可达 50%,结合免疫细胞化学、淋巴细胞流式细胞术和 *IgH* 基因检测等方法,可以提高诊断的阳性检出率和特异性^[11-15]。综合应用脑脊液学诊断方法可以明确诊断部分原发性中枢神经系统淋巴瘤,并不一定必须依靠脑组织活检。在原发性中枢神经系统淋巴瘤的脑脊液学诊断方法中,常规脑脊液细胞学的形态观察仍是关键步骤和诊断基础,就细胞形态的任何单一指标而言,如核异型性和核分裂象等,淋巴瘤细胞和激活淋巴细胞均无绝对的形态学差别,有时临床鉴别诊断十分困难。在炎症反应过程中,淋巴细胞的不典型性是渐变的,即可同时观察到各种中间过渡形态的激活淋巴细胞,而原发性中枢神经系统淋巴瘤细胞与正常淋巴细胞(通常为小淋巴细胞)是形态显著不同的两群细胞,缺少中间过渡形态。在脑脊液淋巴细胞性炎症反应过程中,绝大部分为 T 细胞, B 细胞比例低于 10%,如果免疫细胞化学检测显示 B 细胞占优势,即可诊断 B 细胞来源的淋巴瘤;若淋巴细胞分型不足以明确诊断淋巴瘤时,反映细胞增殖指数的 Ki-67 抗原标记指数有助于鉴别诊断,淋巴细胞性炎症反应的 Ki-67 抗原标记指数一般低于 10%^[13](图 2)。(3)其他原发性中枢神经系统肿瘤:颅内生殖细胞瘤和髓

母细胞瘤是可治愈性恶性肿瘤,二者均易发生脑脊液播散,而颅内生殖细胞瘤发生脑脊液播散对患者预后无明显影响,仍可治愈,免疫细胞化学染色有助于明确诊断^[16]。

脑脊液细胞学检测是一种定量与定性方法相结合的诊断技术,其结果中包含的信息不单纯是有无炎症或有无肿瘤,神经科医师应结合患者临床表现,深入分析脑脊液细胞学检测结果,方可从中获得更多有价值的诊断信息。我国临床脑脊液细胞学检测的总体水平较高,与我们紧密结合临床的诊断方法不无关系。40年前,我国的脑脊液细胞学实验室检测首先是由神经科前辈引进和开展的,目前国内主要的脑脊液细胞学实验室多设立在神经科,许多脑脊液细胞学诊断是由神经科医师执行的。临床与脑脊液细胞学紧密结合的诊断方法和学术方向是我们的历史传统与现实优势,值得保持与发扬。同时,为了普及这一实用且价廉的诊断方法,促进其学术和技术水平的提高,期望临床检验科和病理科的更多同仁积极地参与此项工作。

参 考 文 献

[1] Dufour H. Classics in cytology. VIII: diffuse meningeal sarcomatosis with invasion of the spinal cord and the spinal roots. Positive cytological results, especially of the cerebrospinal fluid: 1904. *Diagn Cytopathol*, 1997, 17:67-69.

[2] Hou XD, Zhou SR. Clinical cerebrospinal fluid cytology. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 1985: 1-120. [侯熙德,周善仁. 临床脑脊液细胞学. 南京:江苏科学技术出版社, 1985: 1-120.]

[3] Su XC, Kong FY. Cerebrospinal fluid cytology of neurological diseases. Beijing: People's Military Medical Press, 2001: 1-100. [粟秀初,孔繁元. 神经系统临床脑脊液细胞学. 北京:人民军医出版社, 2001: 1-100.]

[4] He JY, Kong FY, Guo L. Clinical cerebrospinal fluid cytology diagnosis. Shijiazhuang: Hebei Science and Technology Press, 2007: 1-150. [何俊瑛,孔繁元,郭力. 临床脑脊液细胞学诊断. 石家庄:河北科学技术出版社, 2007: 1-150.]

[5] Guan HZ, Wang CH, Guo YP, Chen L, Ren HT, Zhao YH. Specific findings in cerebrospinal fluid cytology. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2004, 37:65-67. [关鸿志,王长华,郭玉璞,陈琳,任海涛,赵燕环. 脑脊液细胞学检查的特异性发现. 中华神经科杂志, 2004, 37:65-67.]

[6] Prayson RA, Fischler DF. Cerebrospinal fluid cytology: an 11-year experience with 5951 specimens. *Arch Pathol Lab Med*, 1998, 122:47-51.

[7] Guan HZ, Chen L, Cui LY, Guo YP, Huang Y, Zhou Y, Wang JM, Ren HT. Eosinophilic meningitis caused by *angiostromylus cantonensis*: a clinical and cerebrospinal fluid cytology report of 9 cases. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2010, 43:268-272. [关鸿志,陈琳,崔丽英,郭玉璞,黄颜,周雁,王建国,任海涛. 广州管圆线虫病致嗜酸性细胞性脑膜炎九例患者临床和脑脊液细胞学特点. 中华神经科杂志, 2010, 43:268-272.]

[8] Guan HZ, Chen L, Wu QJ, Wang JM, Zhu YC, Ren HT, Cui LY.

A clinical and cerebrospinal fluid cytology study of neuro-behcet syndrome. *Zhongguo Shen Jing Mian Yi Xue He Shen Jing Bing Xue Za Zhi*, 2012, 19:1-4. [关鸿志,陈琳,吴庆军,王建国,朱以诚,任海涛,崔丽英. 神经白塞综合征的临床和脑脊液细胞学特点. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2012, 19:1-4.]

[9] Zhao YH, Shao YQ, Ren HT, Qian M, Guan HZ, Chen L. Cerebrospinal fluid cytology studies of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2013, 13:132-135. [赵燕环,邵宇权,任海涛,钱敏,关鸿志,陈琳. 神经精神狼疮脑脊液细胞学特点. 中国现代神经疾病杂志, 2013, 13:132-135.]

[10] Guan HZ, Chen L, Guan YZ, Zhu YC, Wang CH, Guo YP. Cerebrospinal fluid cytology and clinical observation of leptomeningeal carcinomatosis. *Zhongguo Shen Jing Mian Yi Xue He Shen Jing Bing Xue Za Zhi*, 2005, 12:111-113. [关鸿志,陈琳,管宇宙,朱以诚,王长华,郭玉璞. 脑膜癌病的脑脊液细胞学与临床观察. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2005, 12:111-113.]

[11] Guan HZ, Chen L, Guo YP, Cui W, Ren HT, Zhao YC, Gao J, Wang CH. Leptomeningeal lymphoma: cytological study of cerebrospinal fluid. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2006, 39: 113-117. [关鸿志,陈琳,郭玉璞,崔巍,任海涛,赵燕环,高晶,王长华. 脑膜淋巴瘤的临床脑脊液细胞学研究. 中华神经科杂志, 2006, 39:113-117.]

[12] Lachance DH, O'Neill BP, Macdonald DR, Jaekle KA, Witzig TE, Li CY, Posner JB. Primary leptomeningeal lymphoma: report of 9 cases, diagnosis with immunocytochemical analysis, and review of the literature. *Neurology*, 1991, 41:95-100.

[13] Guan HZ, Chen L, Liang ZY, Zhong DR, Li J, Cui W, Qian M, Ren HT, Ling Q, Wang X, Zhao YH, Guo YP. Role of cerebrospinal fluid cytology in diagnosis of primary central nervous system lymphoma. *Xie He Yi Xue Za Zhi*, 2012, 3:273-278. [关鸿志,陈琳,梁智勇,钟定荣,李剑,崔巍,钱敏,任海涛,凌庆,汪玄,赵燕环,郭玉璞. 原发中枢神经系统淋巴瘤的脑脊液细胞学诊断. 协和医学杂志, 2012, 3:273-278.]

[14] Gleissner B, Siehl J, Korfel A, Reinhardt R, Thiel E. CSF evaluation in primary CNS lymphoma patients by PCR of the CDR III IgH genes. *Neurology*, 2002, 58:390-396.

[15] Fischer L, Martus P, Weller M, Klasen HA, Rohden B, Roth A, Storek B, Hummel M, Nagele T, Thiel E, Korfel A. Meningeal dissemination in primary CNS lymphoma: prospective evaluation of 282 patients. *Neurology*, 2008, 71:1102-1108.

[16] Guan HZ, Chen L, Ren HT, Qian M, Dai YJ, Zhao YH. Diagnosis of intracranial germinoma by cerebrospinal fluid cytology: a report of 8 cases. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2011, 44:77-80. [关鸿志,陈琳,任海涛,钱敏,代英杰,赵燕环. 脑脊液细胞学在脑生殖细胞瘤诊断中的应用及八例报告. 中华神经科杂志, 2011, 44:77-80.]

(收稿日期:2014-05-27)

本期广告目次

波立维[赛诺菲(杭州)制药有限公司]	封二
和信(海南中和药业有限公司)	对封三
泰嘉(深圳信立泰药业股份有限公司)	封三
恩必普(石药集团恩必普药业有限公司)	封四