

抗水通道蛋白-4 抗体应用于中枢神经系统脱髓鞘疾病的鉴别诊断价值

连淑芬(上海德济医院检验科 200331)

【摘要】 目的 探讨血清抗水通道蛋白-4(AQP-4)抗体应用于多发性硬化和视神经脊髓炎患者疾病诊断的临床意义。**方法** 选择 2013 年 3 月至 2014 年 10 月该院收治的 74 例多发性硬化以及视神经脊髓炎患者,回顾性分析其临床资料,对血清中 AQP-4 抗体水平进行检查。**结果** 视神经脊髓炎疾病患者各类型的阳性率分别为视神经炎(ON)51.89%、长节段横贯性脊髓炎(LETM)68.42%、视神经脊髓型多发性硬化(OSMS)57.14%、视神经脊髓炎(NMO)81.25%;而传统型多发性硬化(CMS)患者的 AQP-4 抗体检测为阴性。视神经脊髓炎疾病谱的患者脊髓受累均大于 3 个椎体节段;多发性硬化脊髓受累均小于 3 个节段。视神经脊髓炎多为急性或亚急性起病,多见于中年女性,发病年龄平均(42.1±13.9)岁,与 CMS 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。AQP-4 抗体对于视神经脊髓炎敏感性为 81.25%,特异性为 100.00%。**结论** AQP-4 抗体可以作为视神经脊髓炎疾病以及多发性硬化鉴别诊断的重要指标。

【关键词】 视神经脊髓炎; 多发性硬化; 水通道蛋白-4

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.14.032 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)14-2051-02

Clinical value of application of AQP-4 antibody in differentiation diagnosis of central nervous system demyelination diseases LIAN Shu-fen (Department of Clinical Laboratory, Shanghai Deji Hospital, Shanghai 200331, China)

【Abstract】 Objective To explore the clinical significance of the application of serum aquaporin-4(AQP-4) antibody in the diagnosis of multiple sclerosis and neuromyelitis optica(NMO). **Methods** 74 cases of multiple sclerosis and NMO in this hospital from March 2013 to October 2014 were selected and their clinical data were retrospectively analyzed. The serum AQP-4 antibody was detected. **Results** The AQP-4 antibody positive rates of various types of NMO were 51.89% for optic neuritis(ON), 68.42% for long segment transverse myelitis (LETM), 57.14% for optico-spinal multiple sclerosis (OSMS) and 81.25% for NMO; but the AQP-4 antibody detection in the conventional multiple sclerosis(CMS) was negative. (2) In the patients of NMO disease spectrum, the spinal cord was involved more than 3 vertebral segments; while in multiple sclerosis, the involved spinal cord was less than 3 segments. (3) NMO was mostly acute or subacute onset, more common in middle-aged women, the mean age at the onset was (42.1±13.9) years, the difference between NMO and CMS had no statistical difference ($P>0.05$). **Conclusion** AQP-4 antibody can be used as an important index of the differentiation diagnosis between NMO and multiple sclerosis.

【Key words】 neuromyelitis optica; multiple sclerosis; aquaporin-4

视神经脊髓炎(NMO)主要累及视神经及脊髓中枢神经系统,是一种炎性脱髓鞘病变,我国的发病率相比于欧美人群更高。大部分人认为 NMO 属于多发性硬化(MS)的亚型,但是自从发现 NMO 的特性自身抗体及靶抗水通道蛋白 4(APQ-4)后,才逐渐意识到两种疾病的发病机制不同。NMO 疾病谱包括了伴随其纵向扩展的横贯性脊髓炎(LETM)、视神经脊髓型多发性硬化(OSMS),视神经炎(ON)^[1-2]。本研究旨在探讨 AQP-4 抗体对 NMO 疾病谱疾病以及 MS 疾病的鉴别诊断价值,为临床上 AQP-4 抗体检测的开展提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 3 月至 2014 年 10 月本院神经内科收治的中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 74 例,所有患者的诊断均依据 McDonald 的相关诊断标准^[3]或 Wingerchuek 中有关于视神经脊髓炎的相关诊断标准^[4]。本研究经医院伦理委员会批准审核,随访方式为门诊或电话方式。NMO 患者的诊断需满足以下条件:(1)OSMS;(2)无复发性视神经炎(RON);(3)脊髓病变大于 3 个节段;(4)伴有其他自身免疫性

疾病的视神经炎(ON)或是脊髓炎(TM)。MS 患者排除 NMO,符合 2005 年的 MS 诊断标准^[5],本研究 74 例患者中 ON 患者 19 例(ON 组),LETM 患者 19 例(LETM 组),OSMS 患者 7 例(OSMS 组),NMO 患者 16 例(NMO 组),MS 患者 13 例(MS 组),5 组患者性别、发病年龄、复发次数、残疾状态扩展评分表(EDSS)评分等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 MS 及 NMO 患者的临床资料对比

组别	性别 (男/女)	发病年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	复发次数 ($\bar{x}\pm s$,次)	EDSS 评分 ($\bar{x}\pm s$,分)
ON 组	5/14	44.3±14.2	0.3±0.6	4.1±1.2
LETM 组	8/11	41.4±11.4	0.4±0.8	4.9±2.3
OSMS 组	3/4	46.5±12.4	0.6±1.4	6.4±2.5
NMO 组	3/13	45.9±10.7	0.5±0.3	5.9±1.7
MS 组	5/8	43.8±1.59	0.7±0.4	3.3±1.9

1.2 方法

1.2.1 数据库建立及标本收集 建立患者数据库及组织标本库,收集影像资料,血清学标本,血清标本置于-80℃条件下保存备用。

1.2.2 APQ-4 抗体测定

1.2.2.1 仪器与试剂 低温高速离心机、Multiskan FC 酶标仪(Thermo Scientific 公司生产),人 AQP-4 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海邦奕生物科技有限公司)。

1.2.2.2 原理 采用双抗体夹心法测定标本中的人 AQP-4 水平。用纯化的 AQP-4 抗体包被微孔板,制成固相抗体,往包被单抗的微孔中依次加入 AQP-4,再与 HRP 标记的 AQP-4 抗体结合,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,经过彻底洗涤后加底物 TMB 染色。TMB 在辣根过氧化物酶(HRP)的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 AQP-4 呈正相关,用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(OD 值),通过标准曲线计算样品中 AQP-4 的浓度。

1.2.2.3 血清样本处理及要求 室温血液自然凝固 10~20 min(2 000~3 000 r/min),仔细收集上清于-20℃冷冻保存,但应避免反复冻融。保存过程中出现沉淀,应再次离心。

1.2.2.4 操作过程 (1)标准品的稀释与加样:每次测定的同时做标准曲线,最好做复孔。在酶标包被板上设标准孔 10 孔,稀释后各孔加样量都为 50 μL,浓度分别为 30、20、10、5、2.5 μg/L,重复 2 次。(2)加样:分别设空白孔及样品孔,样品孔加样品稀释液 40 μL 及 10 μL 样品,轻轻晃动混匀。(3)温育:用封板膜封板后置 37℃温育 30 min。(4)洗涤:用配好的洗涤液重复洗涤 5 次,拍干。(5)加酶:每孔加入酶标试剂 50 μL,空白孔除外。(6)温育:操作同步骤(3)。(7)洗涤:操作同步骤(4)。(8)显色:每孔加入显色剂 A 50 μL,再加入显色剂 B 50 μL,轻轻振荡混匀,37℃遮光显色 15 min。(9)每孔加终止液 50 μL,终止反应(此时蓝色立转为黄色)。(10)以空白孔调零,450 nm 波长依序测量各孔的 OD 值。测定应在加终止液后 15 min 内进行。

1.2.2.5 计算 以标准物的浓度为横坐标,OD 值为纵坐标,在坐标纸上绘出标准曲线,根据样品的 OD 值由标准曲线查出相应的浓度;再乘以稀释倍数;标准或用标准物的浓度与 OD 值计算出标准曲线的直线回归方程式,将样品的 OD 值代入方程式,计算出样品浓度,再乘以稀释倍数,即为样品的实际浓度。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 的统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组抗体阳性率比较 在 5 组患者中,NMO 组患者阳性率最高 81.25%,其余依次为 LETM 组、ON 组、OSMS 组、CMS 组,且 CMS 组与 NMO 组的 AQP-4 阳性率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),其余各组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。AQP-4 抗体对于 NMO 的敏感性为 81.25%,特异性为 100.00%。见表 2。

2.2 AQP-4 抗体阳性与阴性疾病组影像学特点对比 AQP-4 阳性患者脊髓 MRI 特点:AQP-4 抗体阳性患者共出现 34 例出现脊髓异常,其中 27 例大于 3 个椎体节段病变,对称性以及横贯性受损,AQP-4 抗体阴性患者脊髓受累情况小于 3,且多

为偏侧受损。

表 2 各组患者 AQP-4 阳性率比较(n 或%)

组别	AQP-4 抗体检测		合计	阳性率
	阳性	阴性		
ON 组	11	8	19	57.89
LETM 组	13	6	19	68.42
OSMS 组	4	3	7	57.14
NMO 组	13	3	16	81.25
CMS 组	0	13	13	0

3 讨论

中枢神经系统脱髓鞘性病变的主要症状为神经髓鞘的脱失,其中 MS 是一种发生于青年人群中的常见中枢神经系统白质脱髓鞘疾病,该病有着丰富的临床表现,具体根据其累及的中枢神经系统部位而呈现特异性表现,患病后患者可出现肢体无力,感觉异常,共济失调等症状^[6]。

MRI 影像学技术已被广泛用于两种疾病的诊断,但是 MRI 只能分析病灶数量量化标准,无法对 MS 及其他类型的复发缓解性神经系统疾病进行区分,MS 因其多变的临床表现,使其和其他中枢系统脱髓鞘性疾病很难鉴别。

Lennon 等^[7]2004 年应用间接免疫荧光法检测了 NMO 患者的血清中存在着特异性抗体,他们将这种技术应用于 NMO 患者的抗体检测,敏感性为 73%,特异性为 91%,而 MS 患者血清的该抗体为阴性,Saiz 等^[8]也研究了 NMO 及 MS 患者血清 NMO-IgG 抗体水平,发现 NMO-IgG 敏感性达到了 76%,特异性达到 94%,所以 NMO 是一种独立疾病,但是二者的发病机制却是不同,该抗体检测可以对于 NMO 及 MS 予以鉴别,通过其进一步的研究发现 NMO-IgG 可以与脑内软脑膜以及微血管成分进行特异性结合,且 AQP-4 蛋白与小鼠脊髓胶质——液体界面的分布和 NMO-IgG 结合位点是相一致的^[9],所以 AQP-4 抗体可以作为 NMO 诊断的特异性诊断指标。

本研究结果发现,NMO 疾病谱中各组患者的阳性率分别为 NOM(81.25%)、LETM(68.42%)、ON(51.89%)、OSMS(57.14%),均较 CMS 组明显增高,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。Waters 等^[10]应用间接荧光免疫测定 AQP-4 的结果也证实了视神经脊髓炎的抗体阳性率达到了 73%,多发性硬化为 9%,与本研究的结果相似。

同时研究中发现:(1)多为急性起病;(2)常见于中年女性,平均(41.0±15.4)岁,与 CMS 组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);(3)患者可出现自身免疫病,如干燥综合征等;(4)典型的脊髓受累主要为颈髓,多在 3 个椎体节段以上受累,且呈横贯性,而 MS 组的脊髓受累则在 3 个椎体节段以下,呈非对称性分布。

综上所述,NMO 是一类独立的疾病,AQP-4 抗体检测技术可以作为其区别于 MS 的特异性指标。

参考文献

[1] Cheng Q, Miao L, Zhang J, et al. Clinical features of patients with multiple sclerosis from a survey in Shanghai, China[J]. Mult Scler, 2008, 10(14): 671-678.
 [2] Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock (下转第 2055 页)

2.3 两组患者的 hs-CRP、ET 测定结果比较 组内比较, 研究组患者治疗后的 hs-CRP、ET 水平均明显低于治疗前 ($P < 0.05$); 组间比较, 治疗后研究组患者的 hs-CRP、ET 水平均明显低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者的 hs-CRP、ET 测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n		hs-CRP(mg/L)	ET(ng/L)
研究组	40	治疗前	2.23 ± 1.21	63.38 ± 15.36
		治疗后	1.67 ± 0.92 ^{#*}	55.56 ± 10.08 ^{#*}
对照组	40	治疗前	2.24 ± 1.17	54.05 ± 10.02
		治疗后	2.21 ± 0.87	63.73 ± 16.30

注: 与同组治疗前比较, [#] $P < 0.05$; 与对照组比较, ^{*} $P < 0.05$ 。

2.4 两组患者治疗后的不良反应发生情况比较 两组患者治疗后的不良反应发生率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 两组患者治疗后的不良反应发生情况比较 [$n(\%)$]

组别	n	皮肤瘙痒	轻度胃肠道反应	合计
研究组	40	1(2.5)	0(0)	1(2.5) [*]
对照组	40	0(0)	2(5.0)	2(5.0)

注: 与对照组比较, ^{*} $P < 0.05$ 。

3 讨论

相关医学研究表明, 在心脏舒张功能不全合并运动高血压患者的治疗中, 阿托伐他汀能够有效改善患者的心功能等各项临床指标, 同时不会增加患者对药物的不良反应, 能够在极大程度上提高对患者的治疗效率, 并为有效改善患者的预后提供良好的前提条件, 较其他方法治疗具有无比的优越性^[8]。本研究表明, 治疗后研究组患者的静息脉压、运动最大收缩压均明显低于对照组 ($P < 0.05$), 运动时间明显长于对照组 ($P < 0.05$), 低密度脂蛋白胆固醇和总胆固醇均明显低于对照组

($P < 0.05$), hs-CRP、ET 水平均明显低于对照组 ($P < 0.05$); 运动 BNP 水平与静息 BNP 水平呈明显的正相关关系 ($r = 0.741, P < 0.05$), 与运动最大心率呈明显的负相关关系 ($r = -0.395, P < 0.05$), 与相关医学研究结果一致, 充分说明阿托伐他汀治疗心脏舒张功能不全合并运动高血压能够促进患者最大收缩压, 运动后血浆 BNP 及 hs-CRP、ET 水平的明显降低, 从而对患者的运动耐量进行有效改善, 值得在临床推广。

参考文献

- [1] 李英. 强化阿托伐他汀对经皮冠状动脉介入治疗术后对比剂肾病预防作用[D]. 天津: 天津医科大学, 2013.
- [2] 陈雯艾. 他汀对 Ang II 诱导的动脉瘤与动脉粥样硬化的影响及其机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [3] 姜铁超. PCI 术后常规剂量不同种他汀临床作用差异及机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013.
- [4] 谭炜. 复方芪麻胶囊在高血压动脉保护中的作用机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.
- [5] 耿全胜, 樊超强, 李卫平, 等. 不同剂量的阿托伐他汀钙对血脂正常的高血压患者血管内皮功能的影响[J]. 中国药房, 2014, 25(4): 348-350.
- [6] 李江红. 氨氯地平联合阿托伐他汀治疗高血压合并冠心病临床分析[J]. 医药与保健, 2014, 10(1): 59.
- [7] 许冬梅. 阿托伐他汀治疗肺心病的疗效分析[J]. 现代养生, 2013(22): 31.
- [8] 涂锦金. 阿托伐他汀对冠状动脉慢血流患者左室舒张功能和超敏 C 反应蛋白的影响[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2014, 11(5): 685-686.

(收稿日期: 2015-02-25 修回日期: 2015-04-15)

(上接第 2052 页)

SJ, et al. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica[J]. Neurology, 2006, 66(9): 1485-1489.

- [3] Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis; 2005 revisions to the "medonald criteria"[J]. Ann Neurol, 2005, 58(6): 840-846.
- [4] Ingerehuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, et al. The spectrum of neuromyelitis optica[J]. Laneet Neurol, 2007, 11(6): 805-815.
- [5] Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis; 2005 revisions to the "McDonald Criteria"[J]. Ann Neur, 2005, 58(12): 840-846.
- [6] 刘伟, 余英豪, 郑智勇, 等. 中枢神经系统原发性血管炎伴脱髓鞘病变报道并文献复习[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 27(3): 323-325.
- [7] Lennon VA, Wingerehuk DM, Klyzer TJ, et al. A serum

antibody marker of neuromyelitis optica; distinction from multiple sclerosis[J]. Laneet, 2004, 364(11): 2106-2112.

- [8] Saiz A, Zuliani L, Blanco Y, et al. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica(NMO); application in a series of suspected patients [J]. Neurol, 2007, 254(9): 1233-1237.
- [9] 龙友明, 胡学强, 王俊峰, 等. 水通道蛋白 4 抗体检测的方法学比较及其临床意义[J]. 中华神经科杂志, 2010, 43(8): 412-416.
- [10] Weinshenker BG, Wingerehuk DM, Vukusie S, et al. Neuromyelitis optica IgG predicts relapse after longitudinally extensive transverse myelitis [J]. Ann Neurol, 2006, 59(3): 566-569.

(收稿日期: 2015-03-25 修回日期: 2015-04-15)