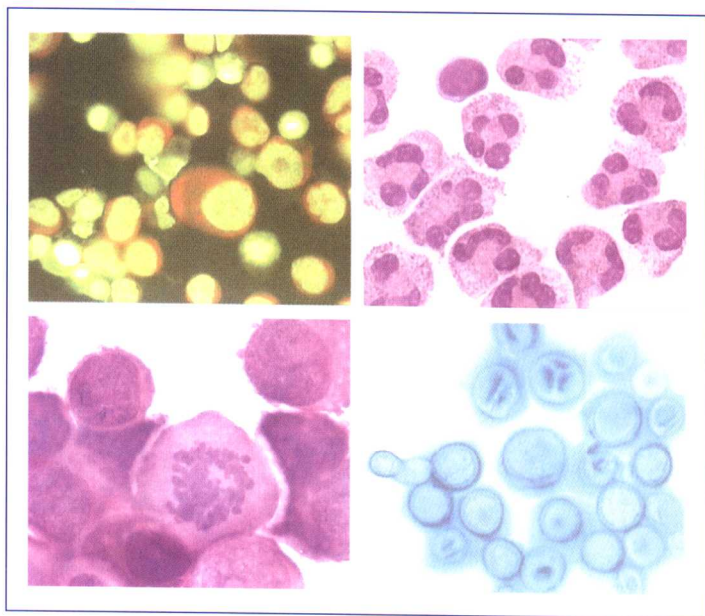


临床脑脊液细胞学诊断

脑脊液 细胞学 临床 病例 图谱

● 主编 / 何俊瑛 / 孔繁元 / 郭力



河北科学技术出版社

何俊瑛教授简介

何俊瑛，女，汉族，主任医师、教授。现任河北医科大学第二医院神经内科副主任，硕士研究生导师。兼任中华医学会神经病学脑脊液学组副组长、河北省医学会神经病学分会委员、《脑与神经疾病杂志》编委。

1978年毕业于河北医科大学，获学士学位，在河北医科大学第二医院神经内科工作，1988～1989年在日本信州大学神经内科研修，2001年晋升为教授。20多年来，在医疗、教学、科研方面积极工作，取得了较大的成绩。先后承担和参与国家级和省级攻关课题、省自然科学基金项目、省卫生厅等多项课题研究，曾获河北省卫生厅科技进步三等奖。



从事医疗教学科研工作20多年来，在中枢神经系统感染性疾病方面有较深的研究。在河北省首先开展了脑脊液细胞学检查，并建立了脑脊液库，推动了这一领域的发展。在国内率先开展了结核性脑膜炎脑脊液单核细胞内抗原检测，对脑膜癌病的脑脊液细胞学诊断和鞘内注射抗癌药并进行疗效观察等均处于国内领先水平。随着科研工作的进展，把对“感染”的研究推进到脑血管病领域，并在国内率先将外周血白细胞 HCMV - PP65 抗原的检测应用于临床，研究表明巨细胞病毒感染与动脉粥样硬化性脑梗死有密切的关系，并将抗疱疹病毒药物应用于缺血性卒中的治疗，取得了满意的效果。

目前已培养硕士研究生20余名，发表国家级及省级文章共50余篇，参与编写著作4部。

孔繁元教授简介

孔繁元，男，1938年生于湖北省长沙市，汉族，中共党员。1960年毕业于武汉医学院医疗系。同年至宁夏医学院从事医疗、教学和科研工作至今。现任宁夏医学院名誉院长、宁夏医学会神经病学研究所副所长、神经内科教授、主任医师、硕士研究生导师、中华医学会神经病学分会第三届委员会副主任委员、中华神经病学分会脑脊液细胞学组组长、《中华神经科杂志》、《中国神经免疫学与神经病学杂志》、《中风与神经疾病》、《中华神经医学杂志》、《中国实用内科杂志》、《临床神经病学杂志》、《中国现代神经疾病杂志》编委和《脑与神经疾病杂志》副总编。



从事临床医疗、教学、科研工作40多年，对临床脑脊液细胞学、癫痫流行病学、脑血管病及眩晕等有较深入的研究和造诣。特别是在脑脊液细胞学研究领域取得了突出成果，达到国内先进水平，先后取得省部级科技成果13项，其中二等奖6项，发表论文50余篇。作为主编之一，先后出版《实用脑脊液细胞学彩色图谱》、《神经系统脑脊液细胞学》、《现代神经内科急症学》和《现代脑血管病学》等5部专著。1992年享受国务院特殊贡献津贴，1994年被卫生部科技司等授予“边疆地区优秀科技人员”称号。1999年获国务院第三次“全国民族团结进步模范个人”称号。2005年度荣获宁夏科学技术杰出贡献奖，2006年被评选为宁夏首届十大新闻人物。

郭力教授简介

郭力，男，汉族，45岁，医学博士、主任医师、教授。现任河北医科大学第二医院神经内科主任、神经病学教研室主任，博士研究生导师。

1984年毕业于河北医科大学医学系，在河北医科大学第二医院神经内科工作。之后在河北医科大学和白求恩医科大学神经病学专业先后获得硕士和博士学位。在临床一线开展医疗、教学和科研工作二十余年。在国家级专业期刊发表论文40余篇。先后主持完成和参研的科学研究课题包括国家自然科学基金资助项目、河北省自然科学基金资助项目，河北省博士基金项目、河北省卫生厅重点学科技术跟踪项目等等。获河北省科技进步奖4项。曾获“河北省优秀青年教师”、“河北省有突出贡献的中青年专家”等荣誉称号。

此外，还兼任中华医学会神经病学分会青年委员、中国医师协会神经病学分会委员、河北省医学会神经病学分会主任委员、《脑与神经疾病杂志》副主编及其他6家专业杂志的编委。





2005年10月孔繁元教授到河北医科大学第二附属医院指导脑脊液细胞学工作




何俊瑛教授进行脑脊液细胞学专题讲座

序

40多年来，我国脑脊液细胞学研究从无到有、从小到大，发展迅速，致使脑脊液细胞学检查已成为国内临床上不可缺少的和不可替代的常规检查项目，已广泛应用于中枢神经系统疾病，特别是中枢神经系统肿瘤、感染、白血病、淋巴瘤、脑血管病、寄生虫病和免疫系统疾病的诊断、鉴别诊断、疗效观察和预后判断。脑脊液细胞学作为一门新兴学科已脱颖而出。

为了适应我国脑脊液细胞学迅速发展的需要，作者结合临床多年的实践经验，参考国内外大量的最新资料编写了这本书。全书以基本理论、基本知识和基本技术为重点，把脑脊液细胞学的基础和临床相结合，介绍了脑脊液细胞学的检测技术和细胞收集方法，并将常见的神经系统疾病脑脊液变化和细胞学的动态图谱做了阐述。共14章，400余幅图，40例特殊病历。它将成为神经内、外科临床医生，病理及检验科等科研人员有价值的参考书。

由于学术水平有限、经验不足，书中难免有缺点和错误，敬请国内专家同行和读者多加指正。

中国工程院院士 

2007年6月

编者的话

脑脊液细胞学这门学科研究经历了一个世纪的历史。尤其是近 20 多年来，我国脑脊液细胞学从脑脊液的细胞收集、染色技术的不断改进，到脑脊液细胞学由单纯形态学转为形态和功能结合、病原学检测与免疫指标结合交替，在脑脊液检测与细胞学的互补方面作出了巨大贡献。目前，脑脊液细胞学已成为临床医师临床诊断和鉴别诊断的依据之一。作者结合多年来的临床经验和在开展脑脊液细胞学工作中，积累了大量的资料。应广大临床同道的要求，参考了国内外最新的资料，加上多年的实践，编写了这本《临床脑脊液细胞学诊断》。书中总结了脑脊液细胞学的发展史，概述了脑脊液细胞的来源、基本结构及功能，常见的脑脊液检测及细胞的收集、染色技术，并对神经内科的感染性疾病、肿瘤、白血病、出血性疾病、免疫性疾病等进行了简要概述。重点附加了典型、特殊病例，结合临床讲脑脊液细胞学图谱，使细胞学更有趣，结合细胞学图谱讲临床，使临床诊断更有依据，做到图文并茂，由浅入深。以期给医学生、临床和检验等科研工作者提供一本实用的参考书。

在此，对多年来指导我们脑脊液细胞学工作的李春岩院士，支持我们工作的河北医大二院领导、神经内科医师研究生以及各兄弟医院同仁表示衷心的感谢。

由于临床、教学工作繁忙，专业水平有限，书中难免有缺点和错误。望各位专家、同仁批评指正。

2007 年 6 月

目 录

第一章 绪 论	(1)
一、脑脊液研究的发展历史	(1)
二、脑脊液细胞学新进展	(3)
三、展 望	(9)
第二章 脑脊液学	(12)
第一节 脑脊液的形成及循环通路	(12)
一、脑脊液的形成	(12)
二、脑脊液的循环	(14)
第二节 脑脊液的成分及功能	(16)
一、脑脊液的成分	(16)
二、脑脊液的功能	(20)
第三节 脑脊液的常规、生化、病原学检查	(21)
一、一般检查	(21)
二、生化检查	(25)
三、病原学检查	(35)
第四节 脑脊液的免疫学检测方法	(36)
一、寡克隆区带 (oligoclonal bands, OCBs) 检测	(37)
二、IgG 指数 (IgG index, IgG I) 检测	(39)
三、Protis CSF 蛋白分析	(39)
四、CSF 中特异性抗体的检测	(39)
五、特异性抗体分泌细胞的检测	(40)
六、CSF 中氨基酸含量测定	(40)
第三章 脑脊液及细胞的收集	(44)
第一节 脑脊液标本的收集	(44)
一、腰椎穿刺术	(44)
二、脑室穿刺术	(47)

三、前囟穿刺术	(48)
第二节 脑脊液标本的处理	(49)
第三节 脑脊液细胞的收集	(50)
一、FMU-5 微型脑脊液细胞玻片离心沉淀器	(50)
二、Cytospin-2 或 Cytospin-4 型细胞玻片离心沉淀仪	(51)
三、FCS-I 型离心沉淀仪的研制及其应用	(54)
四、标本的观察及图像采集	(55)
第四章 脑脊液细胞的染色法	(57)
一、迈一格—姬染色法	(57)
二、墨汁染色法	(59)
三、阿利新兰染色法	(60)
四、丫啶橙荧光染色法	(60)
五、铁染色法	(61)
六、脂肪染色法	(62)
七、PAS 染色法	(62)
八、过氧化酶染色法	(63)
九、非特异性酯酶 (ANAE) 染色法	(64)
十、硝基四氮唑蓝染色法	(65)
十一、结晶紫染色法	(65)
十二、固紫染色法	(66)
十三、Ziehl-Nielsen 染色法	(66)
十四、微孔薄膜染色法	(67)
十五、Papanicolaou 染色法	(67)
十六、佳绿—焦宁染色法	(68)
第五章 脑脊液中的细胞	(70)
第一节 脑脊液细胞的动力学	(70)
一、脑脊液细胞的来源	(70)
二、脑脊液细胞的消失	(74)
第二节 脑脊液细胞的类型	(74)
第三节 脑脊液细胞的形态特征、功能及临床意义	(75)
一、免疫活性细胞	(75)
二、单核吞噬细胞	(80)
三、巨细胞	(84)
四、粒细胞	(85)
五、脑脊液腔壁细胞	(87)
六、肿瘤细胞	(88)

七、污染细胞	(90)
八、其他细胞	(91)
第六章 脑脊液细胞学的诊断	(92)
第一节 脑脊液细胞学诊断的分类	(92)
一、正常脑脊液细胞计数、成分及比例	(92)
二、异常脑脊液细胞学成分	(93)
第二节 脑脊液细胞学反应类型对诊断的意义	(94)
一、淋巴细胞反应	(94)
二、单核吞噬细胞反应	(94)
三、多形核粒细胞反应	(94)
四、混合细胞学反应	(95)
第三节 脑脊液细胞学诊断注意事项	(95)
一、脑脊液细胞学诊断的过程	(95)
二、脑脊液细胞学诊断注意事项	(95)
第七章 中枢神经系统感染性疾病的脑脊液细胞学表现	(97)
第一节 中枢神经系统感染性疾病的脑脊液细胞学改变规律	(97)
第二节 化脓性脑膜炎的脑脊液细胞学表现	(98)
第三节 结核性脑膜炎的脑脊液细胞学表现	(110)
第四节 病毒性脑膜炎的脑脊液细胞学表现	(131)
一、单纯疱疹病毒性脑炎	(132)
二、普通病毒性脑炎	(135)
三、流行性乙型脑炎	(140)
四、各种脑炎辅助检查	(143)
第五节 真菌性脑膜炎的脑脊液细胞学表现	(144)
一、隐球菌性脑膜炎的脑脊液细胞学表现	(145)
二、毛霉菌性脑膜炎的脑脊液细胞学表现	(160)
第六节 脑寄生虫病的脑脊液细胞学表现	(162)
一、脑囊虫病的脑脊液细胞学表现	(162)
二、脑阿米巴病的脑脊液细胞学表现	(170)
第八章 脑膜癌、脑膜白血病及中枢神经系统淋巴瘤的脑脊液细胞学表现	(179)
第一节 脑膜癌病的脑脊液细胞学表现	(179)
第二节 脑膜白血病及淋巴瘤的脑脊液细胞学表现	(196)
第九章 脑血管病的脑脊液细胞学表现	(207)
第一节 缺血性脑血管病的脑脊液细胞学表现	(207)

第二节	出血性脑血管病的脑脊液细胞学表现	(208)
第三节	脑静脉窦血栓形成的脑脊液细胞学表现	(216)
第四节	脑血管病毒性脑膜炎脊液细胞学研究展望	(226)
第十章	神经系统脱髓鞘疾病的脑脊液细胞学表现	(228)
第一节	吉兰—巴雷综合症的脑脊液细胞学表现	(228)
第二节	多发性硬化的脑脊液细胞学表现	(230)
第十一章	其他疾病的脑脊液细胞学表现	(235)
第一节	颅内低压综合症的脑脊液细胞学表现	(235)
第二节	线粒体脑肌病的脑脊液细胞学表现	(241)
第三节	白塞病的脑脊液细胞学表现	(242)
第十二章	新技术在脑脊液及细胞学中的应用	(249)
第一节	免疫荧光技术	(249)
一、	免疫荧光技术基本原理	(249)
二、	免疫荧光技术基本步骤	(250)
三、	免疫荧光染色注意事项	(251)
四、	免疫荧光技术的应用	(251)
五、	免疫荧光对结核性脑膜炎的诊断价值	(252)
第二节	免疫细胞化学	(253)
一、	染色方法及基本原理	(253)
二、	免疫细胞化学技术基本步骤	(253)
三、	免疫细胞化学染色注意事项	(255)
四、	免疫细胞化学技术的应用	(255)
五、	免疫细胞化学对结脑的诊断价值	(256)
第三节	电镜在脑脊液细胞学中的应用	(256)
一、	脑脊液细胞的扫描电镜观察	(256)
二、	脑脊液细胞的透射电镜观察	(259)
第四节	淋巴细胞亚群的研究	(264)
一、	脑脊液淋巴细胞亚群及其功能	(264)
二、	脑脊液淋巴细胞亚群的检测方法	(265)
三、	神经系统疾病的脑脊液淋巴细胞亚群研究进展	(267)
四、	淋巴细胞亚群检测的临床意义	(268)
第五节	病毒的抗原抗体检查	(269)
一、	病毒抗原抗体检测技术	(269)
二、	病毒核酸的检测技术	(270)
三、	病毒分离和培养技术	(270)

第六节 单克隆抗体及基因检测	(270)
一、单克隆抗体	(270)
二、聚合酶链式反应	(272)
三、基因检测	(272)
第七节 细胞培养	(274)
一、细胞培养的基本概念	(274)
二、对细胞培养的评价	(275)
三、细胞培养发展简史	(275)
第八节 流式细胞术在脑脊液细胞学中的应用	(277)
第十三章 激光扫描共聚焦显微术对脑脊液生理和病理性淋巴细胞的 系列研究	(279)
一、脑脊液各类淋巴细胞立体、动态及 DNA、RNA 定量分析的研究	(279)
二、脑脊液鞘注前后淋巴白血病细胞立体形态特征和 DNA、RNA 含量的 研究	(282)
三、脑脊液正常淋巴细胞、淋巴白血病细胞和淋巴瘤细胞线粒体和内质网 的研究	(283)
四、展望	(286)
第十四章 脑脊液细胞学检查室及脑脊液库的建立	(288)
第一节 脑脊液细胞学检查室的建立	(288)
一、房间的准备	(288)
二、设备的准备	(288)
三、脑脊液细胞学的诊断程序	(289)
四、脑脊液标本玻片的保存	(293)
五、索引和编制	(293)
第二节 脑脊液库的建立	(293)
一、脑脊液库建立的基本条件和要求	(293)
二、CSF 的存放与整理	(293)
三、CSF 库的登记	(294)
四、建立 CSF 库的意义	(294)

第一章 绪 论

一、脑脊液研究的发展历史

脑脊液（CSF）检测是第一个应用于临床神经病学中的检查手段。在相当长的一段时间里，它是神经科医生唯一可以借助的检测手段，为临床诊断提供了非常有用的信息，如今已成为集常规、生化、免疫、病理等多学科检查为一身的诊断技术。

脑脊液研究的历史应该从脑膜、脑室的认识开始，最早可以追溯到希伯克拉底时代。在公元前 260 年，希腊的两位著名的医生 Erasistratas 和 Herophilis 就描述了脑膜和脑室系统，包括侧脑室，第三和第四脑室。随后 Galen 对脑室系统进行了更详细地描述，他的工作是基于对牛脑切片的研究。然而对脑室系统更加精确的描述经历了很长时间，直到 1543 年 Vesalius 的研究。随后 1587 年，Cinlio Aranzi 比较清晰地阐明了侧脑室的颞角和脉络丛组织，并首次提出第三脑室与第四脑室之间的通道是中脑导水管。在这期间，不可否认的是 Vinic 在这方面做了很大的工作，他于 1504 年用蜡铸型了人的脑室系统，但当时他的工作不为人知而未产生深远的影响。在认识脑室系统的同时也发现脑脊液的存在，公元二世纪，Galan 在动物试验中发现，活体脑的脑室内有清澈的液体存在，并猜测这些液体是脑产生的蒸气，为全身提供能量，这是第一次认识脑脊液。另一个具有历史意义的事件是 1692 年 Valsalva 从狗的腰椎椎管中放出清亮的液体，并证实与滑膜液不相同。1764 年 Downenico Cotugno 首次清楚完整地描述了脑脊液，并证实脑和脊髓的液体是相通的，从而拉开了现代脑脊液学的序幕。1854 年 Faivre 证实脑脊液由脉络丛组织产生。1855 年，Luschka 发现脑脊液由第四脑室侧隐窝进入蛛网膜下腔，这一发现揭示了脑脊液在脑室与蛛网膜下腔的循环通路，因而将第四脑室侧隐窝命名为 Luschka 孔。1876 年，Key 和 Retzius 确定了脑脊液的组成、流动、吸收等特征，从而阐明了脑室系统的结构和脑脊液的循环过程。

正式检测脑脊液始于腰椎穿刺技术的建立，1891 年，Heinnizh Quinke 在治疗儿童脑积水时，建立了腰椎穿刺的方法，以安全地排出过多的脑脊液，同时检测了脑脊液中的成分，进行细胞计数，蛋白测定并证实了在病理情况下脑脊液中可有细菌存在。腰椎穿刺技术的出现使脑脊液常规检测成为可能。1893 年 Ludwig Lichtheim 第一次报道了检测脑脊液中生化指标的诊断意义，他发现在化脓性脑膜炎和结核性脑膜炎

患者的脑脊液中糖的含量明显降低。脑脊液的细菌学检查也在这个时期得到快速发展，主要是由于细菌学染色技术的发展。1875年，Carl Weigert 首先描述了细菌的染色技术，1884年，Christian Hans Gram 发表了著名的革兰氏染色方法，随后 Franz Ziehl 和 Friedrich Neelsen 发表了对结核杆菌的 Ziehl-Neelsen 染色技术，这些均被应用于脑脊液的检查中，使细菌性脑膜炎的病原学诊断得到发展。

生化指标的检测建立于20世纪之初，这个时期生化技术迅速发展带动了脑脊液生化指标检测的发展。1911年，William Mestrezat 阐明了脑脊液中化学成分的组成。葡萄糖检测的发展得益于葡萄糖氧化酶法和己糖激酶法检测技术的开展，1959年 Vincent Marks 用葡萄糖氧化酶法检测了血、尿、脑脊液中的糖含量，1960年又比较脑室与腰椎穿刺的糖含量的差别。1973年 Greenwald 用己糖激酶法定量检测了脑脊液中的糖含量，并阐明了脑脊液中葡萄糖与血浆中糖的关系。另一进步是脑脊液中乳酸的检测，1924年，Kikugoro Nishimura 第一次注意到在化脓性脑膜液和结核性脑膜炎患者的脑脊液中乳酸的水平明显升高，并认为是细菌性脑膜炎的早期诊断指标，目前乳酸检测已被广泛应用于细菌性脑膜炎的鉴别诊断中。

脑脊液总蛋白的定量检测最常用的是比浊法，酸可以沉淀脑脊液中的蛋白，再用分光光度计测定沉淀物的浊度。1921年 William Mestrezat 用三氯醋酸比浊法检测脑脊液总蛋白；1926年 FP Kingsbury 等用氨基水杨酸代替三氯醋酸应用比浊法，这些是现在检测方法的基础。1952年 Howe Oliver Lowry 采用敏感性更高的比色法对脑脊液蛋白定量检测，用 Folin-Ciocalteu 试剂，蛋白与碱性溶液中的铜反应，铜—蛋白络合物和标本中含存的酪氨脂和色氨酸将钨酸钼—磷酸钼还原成有色产物而显色。但比浊法和比色法不能区分白蛋白与球蛋白。球蛋白的检测发展于1912年，胶体金技术应用于体液的检测，著名的胶体金试验的诞生，可以检测到脑脊液中的球蛋白增加，这一检测对脑脊液是特异的。

脑脊液蛋白检测的第二个里程碑是1939年 Hesselvik 提出的蛋白电泳技术，它可以研究不同蛋白的细微差别。1942年 Elvin Kabat 将蛋白电泳作为一项试验工具应用于临床，发现在神经梅毒和多发性硬化患者的脑脊液中 γ -球蛋白的增加，且这些球蛋白在血清中不存在，从而提示中枢神经系统合成免疫球蛋白。1948年 Kabat 等首次应用免疫化学方法（沉淀素法），定量检测不经过浓缩的脑脊液白蛋白和球蛋白的含量，并建立了参考值范围，同时发现在多发性硬化患者脑脊液中 γ -球蛋白的增加。沉淀素方法的缺点是需要的脑脊液量较多（6~7ml）。20世纪中期，免疫球蛋白定量检测得到发展，方法非常精确，仅需要很少的标本，一直应用于多发性硬化的诊断中。随后为了明确免疫球蛋白的来源，区别真正是颅内合成的免疫球蛋白还是由于血脑屏障破坏由血中漏出的，1972年，B Delpuch 和 E Lichtblau 提出免疫球蛋白指数的概念，这个指数由脑脊液和血液中的白蛋白和球蛋白的比计算出。同时免疫蛋白组分的定性检测也被报道，1959年，Ewald Frick 应用免疫电泳检测到寡克隆带，1972年，Delmotte 首次报道应用等电聚焦电泳技术检测脑脊液中的寡克隆带，从此等电聚焦电

泳成力检测寡克隆带的标准方法应用在复发性硬化的诊断中。

脑脊液细胞的检测始于 20 世纪初,在脑脊液细胞学出现之前,我们只对脑脊液中的细胞进行粗略的分类与计数,脑脊液细胞学的发展对我们认识脑脊液中各种细胞的形态功能及疾病诊断具有重大意义。1904 年 Dufuor 首次用离心涂片法在脑脊液中检测到肿瘤细胞,但由于离心涂片造成的细胞变形难以进行正确细胞学分类制约了脑脊液细胞学的发展。1949 年, Schonenberg 首先将盛有脑脊液的试管倒立于玻片上,让细胞自然沉淀,成为近代沉淀法的萌芽。1954 年, Saky 在沉淀法的基础上加以改进,发明了脑脊液细胞沉淀室法,又称为玻片细胞沉淀法。此法收集的细胞完整清晰,可与血涂片或骨髓片相比,是脑脊液细胞学(CSFC)发展的一个里程碑,脑脊液细胞学也进入了一个崭新的发展时期。但在带孔滤纸吸水的同时也带走了部分细胞,细胞损失率高达 30%~70%,且耗时较长。1966~1976 年, Watson Komp Woodtruff Hansen Ito 等相继应用玻片离心法收集脑脊液细胞,此法能收集到较多的细胞(90%),细胞形态和内部结构与沉淀室法同样清晰、高效、简单、快捷,是脑脊液学史上的一大改革,也使脑脊液细胞学检查成为常规。随后 20 世纪 70 年代,一些新技术应用于脑脊液的检测,如电镜、免疫荧光等技术使脑脊液细胞学的发展日新月异。

国内脑脊液细胞学的发展起步较晚,但发展甚快。脑脊液细胞学开展最早的单位是南京医学院,侯熙德在 1961 年首先建立了国内第一个脑脊液细胞学实验室。1979 年侯熙德研制出了侯氏改良细胞仪;随后粟秀初(1978)建立了脑脊液细胞学检查室,1981 年粟秀初研制成了粟氏 FMU-5 微型 CSF 细胞玻片离心机;1986 年孔繁元在国内首次引进英国 Shandon 公司制造的 Cytospin-2 型细胞玻片离心机;1993 年孔繁元等研制出了两用式 FCS-I 型和 II 型细胞玻片离心沉淀仪。国产化的脑脊液细胞离心沉淀仪的研制,对我国脑脊液细胞学工作的发展和提高起到了一定的推动作用。自 20 世纪 80 年代以来,全国多数省、市、自治区的一些医教研单位相继建立了各自的脑脊液细胞学实验室,并取得了较大成效。1985~2001 年我国相继召开了 5 次全国性的脑脊液细胞学学术会议,及时总结和交流了脑脊液细胞学的研究工作和应用成果。1985 年《脑脊液细胞学讯息》杂志(季刊)的创刊发行(1995 年改名为《脑脊液学与临床》),为国内脑脊液细胞学的学术交流提供了园地。1985 年侯熙德、周善仁编著出版了《临床脑脊液细胞学》,1989 年粟秀初、孔繁元编著出版了《实用脑脊液细胞学彩色图谱》,并于 1996 年再版,2001 年出版了《神经系统临床脑脊液细胞学》。1991 年经中华医学会神经精神科学会批准,成立了脑脊液细胞学学组。在组长孔繁元教授带领下,我国脑脊液细胞学的各项工作已形成规模,并取得了可喜的成果,现已成为我国一门具有较好发展和应用前景的科学。

二、脑脊液细胞学新进展

目前脑脊液的常规、生化和细胞学检查已经日臻完善,许多新的检测指标、新技

术不断出现，并应用于脑脊液的研究中，使之飞速发展。

（一）脑脊液细胞的再认识

1. 淋巴细胞的来源：

正常情况下脑脊液中主要为淋巴细胞，那么这些淋巴细胞来源于何处？为什么会进入脑脊液中？在免疫反应中起什么作用了这些问题一直不十分清楚。生理学的证据表明许多成熟的淋巴细胞亚群在不停地运动，经血管与淋巴管不停循环于这些组织中。那么在生理情况下淋巴细胞的运动轨迹是怎样的呢？近年来免疫学的研究给了我们一些提示——淋巴细胞的归巢。成熟淋巴细胞的迁移行动称淋巴细胞归巢，它是记忆一效应淋巴细胞群靶向定位过程，以完成免疫监视和免疫应答功能。初始淋巴细胞在骨髓或胸腺发育成熟，而后定位于外用淋巴结（二级淋巴组织），并可以在不同的二级淋巴器官之间游走，直至死亡或与特异性抗体发生应答，与特异性抗原接触使初始淋巴细胞分化成记忆一效应淋巴细胞，获得效应功能和归巢能力，并具有渗出能力，最终由淋巴结定位于特定三级淋巴组织。这些细胞包含众多有不同组织选择性归巢能力的细胞亚群，如有的记忆一效应细胞优先归巢于皮肤，有的则是黏膜。这种组织选择性的归巢行为可将免疫监视和效应机制定向于那些与抗原初次进入机体类似的部位。因此可见，归巢的意义在于初级淋巴细胞循环于二级淋巴组织（脾脏、淋巴结）之间，准备为抗原致敏分化力记忆效应细胞，记忆一效应细胞循环于次级淋巴组织与（皮肤，黏膜和其他组织）三级淋巴组织之间，监视外周组织的外物的入侵并能快速发生效应。脑脊液中的淋巴细胞是否也符合这样的规律呢，近来脑脊液的研究显示，在非感染患者脑脊液中存在各种淋巴细胞亚群，主要为 $CD4^+$ T 淋巴细胞。这些 $CD4^+$ 的 T 细胞高度表达 CCR7，L-选择素，PSGL-1。这些均属次级淋巴组织的归巢受体，表达 CCR7，CD27 的 T 细胞缺乏立即效应功能，而成为效应 T 细胞时将失去 CD27 和 CCR7。在这些 $CD4^+/CD45RO^+$ T 细胞同时高表达 CD69，一个近期激活的标志分子，激活的淋巴细胞迁移能力增强。由此可见脑脊液中主要以 $CD4^+/CD45RO^+/CD27^+/CD69^+$ 的记忆性 T 淋巴细胞为主，为近期激活的 $CD4^+$ 记忆性 T 细胞，它们在神经系统中主要执行免疫监视功能而非效应功能，他们通过表达不同的黏附分子，进入蛛网膜下腔，并可以归巢于脑组织附近的次级淋巴组织。

毫无疑问病理状态下脑脊液中的白细胞来源于血液，在多种趋化物质的调控下，进入蛛网膜下腔，引起炎症反应和免疫应答。传统认为中性粒细胞进入脑脊液在抗感染中起重要作用，杀灭入侵的细菌。但近期研究发现在脑膜炎动物模型中，脑脊液中的中性粒细胞没有减少细菌的数量，也没有改变糖、乳酸、蛋白的浓度。那么中性粒细胞为什么会进入脑脊液中呢？研究显示补体 C_5 可以趋化中性粒细胞进入脑脊液。这显示各种细胞的进入受趋化因子调控。一些研究显示脑组织的免疫反应是局部的，脑膜炎患者脑脊液中细胞因子 IL-8、MCP-1 及 MIP-1 的水平远高于非感染患者，而在血中未检测到，说明这些细胞因子是由中枢神经系统产生的。细胞因子的研究为

脑脊液细胞变化提供依据。细胞因子的时间变化趋势显示,化脓性脑膜炎脑脊液中细胞因子升高在给予抗生素治疗后要持续4周,在治疗后IL-8的水平在第一周很快降低,而单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、单核细胞炎症蛋白(MIP-1)逐渐下降持续3-4周。这与化脓性脑膜炎的细胞学的变化特征及病程是一致的。而在结核性脑膜炎则IL-8、MCP-1和MIP-1的升高会持续很长时间,32周后仍可检测到,并且看不到明显的下降趋势,治疗和给予皮质激素未影响细胞因子的变化,这也与结核性脑膜炎的细胞学的变化特征吻合,充分说明结核性脑膜炎混合细胞反应,及其慢性发病过程的特征。因此化脓性脑膜炎从一开始就是一个急性过程,其病程的长短取决于治疗的有效性,而结脑自始至终是一个慢性病程,不论给予什么治疗。因此细胞因子的水平反映了机体对入侵物的反应情况,与疾病的病程密切相关。

脑脊液来源于脉络丛组织和细胞外液是主动的过程,而不仅仅是血浆的滤过,更趋向于淋巴的作用。

(二) 技术的进步

1. 形态方面的研究

在形态学方面,染色技术不断进步,除常规染色外,尚有一些特殊的染色技术,可以鉴别不同的细胞类型和细胞的功能状态,如高碘酸雪夫染色法、过氧化酶染色法、脂类染色法、硝基四氮唑蓝染色法、非特异性脂酶染色法等。有的染色对病因诊断有意义,如吖啶橙荧光染色法、普鲁士蓝染色法、抗酸杆菌染色法、印度墨汁染色法等。免疫组化染色可以显示特定的物质和其所在的位置。电镜可以观察细胞的超微结构,细胞内部一些细胞器的变化。激光扫描共聚焦显微镜可以观察细胞内核酸的分布情况及三维结构。流式细胞技术可以定量计数某类特征的细胞,细胞亚群的分类并进行定量检测。对于病毒、结核杆菌这些胞内感染的病原体,体液的抗原抗体检测缺乏敏感性,而检测到细胞内的抗原既有较高的特异性,还可以进行定位的研究,逐渐得到广泛的应用。

2. 细胞培养——活体细胞功能的研究

脑脊液细胞的培养,在临床也有所应用。活化的B淋巴细胞可转化为浆细胞,分泌抗体,应用酶联免疫吸附的方法检测细胞分泌的抗体,就可以通过已知抗原检测是否存在针对该抗原的激活的B细胞,从而确定病原体。Baig等将这一方法并应用于结脑的诊断,通过检测脑脊液中由结核PPD抗原诱导的B细胞抗体的表达,诊断结脑显示敏感性高于抗体检测,并且早于抗体检测。

T细胞ELISAPOT方法。T细胞在免疫中起重要作用,与抗原接触会使T细胞激活,激活的T细胞再次接触结核抗原会产生效应,增殖或产生细胞因子。T细胞对抗原的识别依赖T细胞受体具有高度的特异性,通过已知抗原检测特异性T淋巴细胞产生细胞因子的效应,即ELISAPOT方法。动物实验证明经过结核纯蛋白衍生物(PPD)感染后,体外培养其外周血单个核细胞(PBMC),当再次接触到PPD