

论著·临床研究

新蝶呤和 S100b 在诊断儿童中枢神经系统感染中的价值

张利亚 李岩 金美芳

(苏州大学附属儿童医院神经内科, 江苏 苏州 215003)

[摘要] **目的** 研究脑脊液中新蝶呤(NPT)、S100b水平在诊断儿童中枢神经系统感染中的价值。**方法** 采用ELISA法测定中枢神经系统感染患儿脑脊液NPT及S100b浓度,对比感染及非感染患儿之间指标的异同,并采用ROC法评价两种指标的诊断价值。**结果** 病毒性脑炎患儿脑脊液中NPT及S100b浓度较对照组及化脓性脑膜炎患儿明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$);化脓性脑膜炎和对照组患儿之间脑脊液NPT浓度差异无统计学意义($P>0.05$),但化脓性脑膜炎患儿S100b水平明显高于对照组($P<0.01$);通过ROC曲线分析得出,S100b在诊断病毒性脑炎中的价值较NPT强,当脑脊液S100b浓度大于0.384 ng/mL时,敏感度及特异度分别达到93.3%及97.9%,且两指标联合对病毒性脑炎诊断价值更高,敏感度及特异度分别为96.7%及97.9%。**结论** NPT及S100b在儿童中枢神经系统感染的诊断中有一定的价值,且在诊断病毒性脑炎中作用明显,尤以S100b指标为佳。**[中国当代儿科杂志, 2014, 16(4): 380-383]**

[关键词] 新蝶呤; S100b; 病毒性脑炎; 化脓性脑膜炎; 儿童

Diagnostic values of neopterin and S100b for central nervous system infections in children

ZHANG Li-Ya, LI Yan, JIN Mei-Fang. Children's Hospital Affiliated to Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215003, China (Li Y, Email: yan62bh@126.com)

Abstract: Objective To study the diagnostic values of cerebrospinal concentrations of neopterin (NPT) and S100b for central nervous system infections in children. **Methods** Enzyme-linked immunosorbent assay was used to determinate the cerebrospinal concentrations of NPT and S100b in children with central nervous system infections and control children. The two groups of children were compared in terms of the two indicators, and the diagnostic values of the two indicators were evaluated by ROC curve analysis. **Results** Children with viral encephalitis had significantly increased cerebrospinal concentrations of NPT and S100b compared with the control group and children with purulent meningitis ($P<0.01$); there was no difference in the cerebrospinal concentration of NPT between children with purulent meningitis and the control group, while the concentration of S100b in the purulent meningitis group was significantly higher than in the control group ($P<0.01$). According to the ROC curves, S100b was more valuable than NPT in the diagnosis of viral encephalitis; when cerebrospinal concentration was more than 0.384 ng/mL, S100b had a sensitivity of 93.3% and a specificity of 97.9%; a combination of the two indicators had a higher diagnostic value for viral encephalitis, with a sensitivity of 96.7% and a specificity of 97.9%. **Conclusions** Both NPT and S100b have certain values in the diagnosis of central nervous system infections in children, and S100b is better than NPT.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(4): 380-383]

Key words: Neopterin; S100b; Viral encephalitis; Purulent meningitis; Child

病毒性脑炎及化脓性脑膜炎是儿童神经系统常见感染性疾病,病原自身及其所释放的毒素直

接对神经系统造成损害,同时病原体所激发的机体免疫激活,将产生瀑布式炎症反应,加重神经

[收稿日期] 2013-07-21; [接受日期] 2014-01-23

[作者简介] 张利亚,女,学士,副主任医师。

[通信作者] 李岩,男,主任医师。

系统的损伤,造成诸如认知和行为障碍、癫痫、精神改变、局灶性神经功能缺失等严重后果^[1-2]。新蝶呤(neopterin, NPT)是体内三磷酸鸟苷代谢衍生的低分子化合物,主要由单核细胞/巨噬细胞合成^[3];S100b是一种酸性钙结合蛋白,特异性地存在于神经系统中^[4]。两者都参与机体免疫调节过程,近些年来,两者和神经系统感染性疾病的关系备受关注^[5-6]。鉴于儿童中枢感染性疾病的严重危害,临床中需要及早进行诊断及鉴别诊断,然而目前广泛使用的脑脊液常规指标在诊断及鉴别诊断上有一定的局限性。故本文回顾性分析中枢神经系统感染患儿脑脊液中NPT及S100b浓度,探索脑脊液NPT及S100b在儿童中枢神经系统感染的价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取我院神经科在2012年1月至2012年12月之间收治的中枢神经系统感染患儿47例及外科收治的需腰椎穿刺蛛网膜下腔麻醉的非感染性疾病患儿31例为研究对象,其中男40例,女38例,平均月龄65.5个月。所有病例入院后进行脑脊液常规、生化、脑电图、头颅CT/MRI等检查,结合临床并参照《诸福棠实用儿科学》的相关诊断标准^[7-8],47例中枢神经系统感染患儿中,化脓性脑膜炎患儿17例,病毒性脑炎患儿30例。

1.2 标本采集

中枢神经系统感染患儿在治疗前急性期内进行腰椎穿刺,采集脑脊液标本1 mL(排除穿刺有损伤者标本),冻存于-20℃低温冰箱中,同时送其余常规脑脊液检测项目(包括脑脊液常规、生化、免疫球蛋白等)。对照组均为手术前麻醉过程中经家属知情同意下采集脑脊液标本。

1.3 检测方法

应用ELISA法检测脑脊液中NPT及S100b浓度,其中NPT ELISA试剂盒购自德国IBL-International GmbH公司;S100b ELISA试剂盒由上海西唐生物科技有限公司提供,操作过程严格按照各试剂盒说明书由检验科专人操作。

1.4 统计学分析

应用SPSS 20.0软件对数据进行统计学分析,

计数资料以例数表示,多组比较采用卡方检验;符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用t检验;不符合正态分布的计量资料采用中位数(四分位数间距)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,多组计量资料组间比较采用Kruskal-Wallis H法,组间两两比较采用Mann-Whitney U检验;采用Spearman法分析脑脊液中NPT及S100b水平与年龄是否相关;Logistic回归法计算联合检测预测因子;采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)方法评价NPT及S100b在儿童中枢神经系统感染尤其是病毒性脑炎诊断中的价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床一般资料

各组男女性别组成上差异无统计学意义($\chi^2=0.173, P=0.917$),化脓性脑膜炎患儿年龄在1个月23 d至10岁10个月之间(中位值43个月),病毒性脑炎患儿年龄在5个月至14岁5个月之间(中位值86个月),对照组患儿年龄分布在5个月至13岁7个月(中位值60个月),病毒性脑炎患儿发病年龄较对照组及化脓性脑膜炎组高(分别 $U=307.00, 116.50$,均 $P < 0.05$),而化脓性脑膜炎组和对照组相比差异无统计学意义($U=181.50, P=0.076$)。化脓性脑膜炎患儿起病后平均就诊时间与病毒性脑炎患儿相比差异无统计学意义($t=-1.316, P=0.195$)。化脓性脑膜炎患儿中,脑脊液共计培养出细菌6例,阳性率35%,其中肺炎链球菌3例,流感嗜血杆菌2例,大肠杆菌1例;病毒性脑炎患儿中有2例脑脊液EV-71 DNA检测阳性。见表1。

表1 不同组患儿资料基线情况比较

组别	n	性别 (男/女,例)	年龄 [$M(P_{25}, P_{75}),$ 月]	就诊时间 ($\bar{x} \pm s, d$)
对照组	31	16/15	60.0(12.0,84.0)	-
化脓性脑膜炎组	17	8/9	43.0(4.5,73.0)	3.9 ± 2.2
病毒性脑炎组	30	16/14	86.0(53.2,108.2) ^{ab}	3.1 ± 1.8
$\chi^2/H/t$ 值		0.173	11.658	-1.316
P值		0.917	0.003	0.195

注: a为与对照组比较, $P < 0.01$; b为与化脓性脑膜炎组比较, $P < 0.01$ 。

2.2 脑脊液 NPT 及 S100b 浓度和年龄的相关性分析

为了解年龄因素对 NPT 及 S100b 浓度的影响,本研究进行了对照组脑脊液 NPT 及 S100b 与年龄的相关性分析。发现脑脊液 NPT 及 S100b 与年龄(月)的 Spearman 相关系数分别为 0.159 ($P=0.392$) 及 0.261 ($P=0.157$),提示两种因子和儿童年龄之间无明确相关性。

2.3 三组脑脊液 NPT、S100b 水平的比较

脑脊液 NPT 在化脓性脑膜炎、病毒性脑炎及对照组 3 组患儿之间差异有统计学意义 ($H=12.03, P=0.002$),病毒性脑炎患儿 NPT 明显高于化脓性脑膜炎组及对照组(分别 $U=159.00, 238.50$, 均 $P<0.05$),而化脓性脑膜炎组和对照组之间 NPT 水平差异无统计学意义 ($U=204.50, P=0.203$);脑脊液 S100b 水平在化脓性脑膜炎、病毒性脑炎及对照组 3 组患儿之间差异也有统计学意义 ($H=58.899, P<0.001$),病毒性脑炎患儿 S100b 水平明显高于化脓性脑膜炎组及对照组(分别 $U<0.001, U=20.50$, 均 $P<0.001$),且化脓性脑膜炎组较对照组高 ($U=143.00, P=0.009$)。提示 NPT 及 S100b 在临床筛选病毒性脑炎患儿中有一定的价值。见表 2。

表 2 不同组患儿脑脊液 NPT 及 S100b 水平的比较

[$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	n	NPT (nmol/L)	S100b (ng/mL)
对照组	31	6.59(2.40,16.44)	0.22(0.21,0.27)
化脓性脑膜炎组	17	8.29(5.76,22.59)	0.27(0.25,0.29) ^a
病毒性脑炎组	30	48.13(6.38,149.70) ^{ab}	0.57(0.52,0.59) ^{ab}
H 值		12.03	58.899
P 值		0.002	<0.001

注: a 为与对照组比较, $P<0.01$; b 为与化脓性脑膜炎组比较, $P<0.01$ 。

2.4 脑脊液 NPT 和 S100b 在儿童病毒性脑炎中的诊断价值分析

绘制 NPT 及 S100b 在病毒性脑炎及非病毒性脑炎患儿的 ROC 曲线,发现当脑脊液中 NPT 浓度设定为 54.85 nmol/L 时,病毒性脑炎组和非病毒性脑炎组比较,曲线下面积(Area under the curve, AUC)、敏感度、特异度分别为 0.724、50%、95.5%,约登指数为 0.455;脑脊液中 S100b 设定

为 0.384 ng/mL 时,病毒性脑炎组和非病毒性脑炎组比较,AUC 值、敏感度、特异度分别为 0.985、93.3%、97.9%,约登指数为 0.912,提示 S100b 相对于 NPT 在儿童病毒性脑炎中更具诊断价值。以疾病状态为应变量,NPT 浓度及 S100b 浓度为自变量,建立 Logistic 回归模型,绘制联合预测因子 P 的 ROC 曲线,发现当 P 值为 0.419 时,病毒性脑炎组和非病毒性脑炎组比较,AUC 值、敏感度、特异度分别为 0.992、96.7%、97.9%,约登指数为 0.946,提示联合使用该两种指标,有助于提高诊断准确率。见图 1~2。

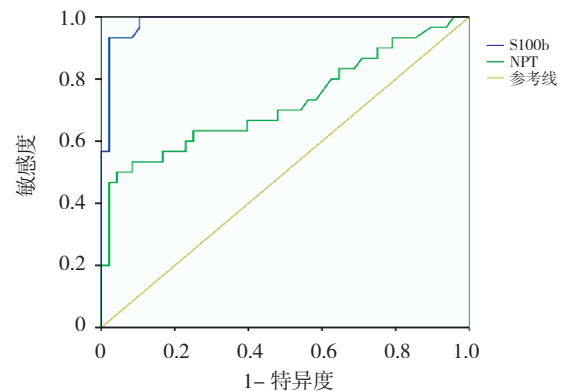


图 1 脑脊液 NPT 及 S100b 浓度 ROC 图

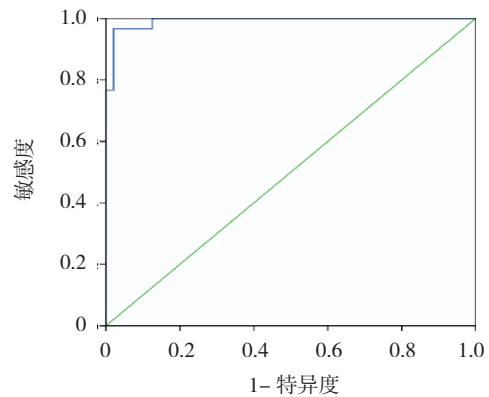


图 2 联合预测因子 ROC 图

3 讨论

NPT 生物稳定性好,对疾病的诊断、鉴别诊断及预后评估有一定的意义。中枢神经系统 NPT 是由人类单核/巨噬细胞及树突状细胞经由 γ 干扰素 (IFN- γ) 刺激所得^[3],故脑脊液 NPT 是一个较敏感的炎症标记物^[5]。本研究发现病毒性脑炎患儿 NPT 浓度明显高于对照组及化脓性脑膜炎组,

和 Kawakami 等^[9]报道一致,但是本研究中还发现化脓性脑膜炎组患儿脑脊液 NPT 浓度和对照组无区别,与文献报道存在出入,分析可能有以下几个原因:(1)化脓性脑膜炎时脑脊液 IFN- γ 的增加幅度小于病毒性脑炎^[6],而 IFN- γ 在 NPT 的产生中有着极其重要的作用,免疫反应的级联放大作用导致本组化脓性脑膜炎患儿脑脊液 NPT 浓度尚未升高到具有统计学意义的数值;(2)细菌感染时机体主要发生由 Th2 细胞介导的免疫反应,诸如 IL-4、IL-5、IL6、IL-9、IL-10、IL13、IL25 等细胞因子增加^[10],但是这些细胞因子并不能诱导 NPT 的生成;(3)本研究中化脓性脑膜炎患儿病例数较少,检出效能相对较低,扩大样本量后可能会检出存在的差异。

S100b 存在于细胞增殖、分化、存活及迁移等过程^[4]。在脑内主要是由活化的神经胶质细胞分泌^[11],故能特异性地代表中枢神经系统损伤。目前研究发现,早产儿脑损伤、格林巴利综合征等疾病中均有 S100b 的增高^[12-13]。Park 等^[14]在检测中枢神经系统感染后脑脊液 S100b 浓度的同时通过 MRI 技术评估神经元损伤程度,发现 MRI 证实感染后存在神经元损伤患者的脑脊液 S100b 水平明显高于感染后未损伤组及正常对照组。本研究中化脓性脑膜炎及病毒性脑炎脑脊液中 S100b 浓度均比对照组高,而且病毒性脑炎组较化脓性脑膜炎组升高更为明显,提示中枢神经系统感染后存在神经元的损伤,病毒性脑炎尤甚。

另外,本研究采用 ROC 法发现,当脑脊液 NPT 浓度分界点设定为 54.85 nmol/L 时,可以很好地区分病毒性脑炎及非病毒性脑炎,特异度为 95.5%,但是敏感度不强,约登指数仅 0.455,提示 NPT 并非一个很好的鉴别诊断病毒性脑炎的指标。而 S100b 浓度为 0.384 ng/mL 时对病毒性脑炎的诊断灵敏度及特异性均在 90% 以上,约登指数也达到了 0.912,说明 S100b 是一个很好的诊断病毒性脑炎的指标。Logistic 回归分析法提示在临床上可以联合测定两种标记物浓度,进行一定的运算,以提高临床诊断率。

综上,两种脑脊液中的标记物在儿童中枢神经系统感染性疾病中均发生了改变,但在病毒性脑炎中增高尤其明显,提示病毒性脑炎神经损伤较明显。脑脊液中 NPT 及 S100b 的检测对儿童中枢神经系统感染的诊断及鉴别诊断有一定意义。

而且,针对 NPT、S100b 的快速临床检测试剂的研制已经取得进展^[15-16],故上述两种标记物有望在临床上对儿童神经系统感染尤其是病毒性脑炎的诊断提供帮助。

[参 考 文 献]

- [1] Schmidt H, Heimann B, Djukic M, et al. Neuropsychological sequelae of bacterial and viral meningitis[J]. Brain, 2006, 129(Pt 2): 333-345.
- [2] Rufa A, Cerase A, Annunziata P, et al. Transient supranuclear paresis of the abduction in viral encephalitis of the brainstem[J]. Neurol Sci, 2010, 31(5): 653-655.
- [3] Cano OD, Neurauter G, Fuchs D, et al. Differential effect of type I and type II interferons on neopterin production and amino acid metabolism in human astrocyte-derived cells[J]. Neurosci Lett, 2008, 438(1): 22-25.
- [4] Donato R, Cannon BR, Sorci G, et al. Functions of S100 proteins[J]. Curr Mol Med, 2013, 13(1): 24-57.
- [5] Dale RC, Brilot F, Fagan E, et al. Cerebrospinal fluid neopterin in paediatric neurology: a marker of active central nervous system inflammation[J]. Dev Med Child Neurol, 2009, 51(4): 317-323.
- [6] 李山, 李灵真, 孔繁元. 颅内感染患者脑脊液和血清中 IFN- γ 、IL-10、S100B 蛋白含量的变化及其意义[J]. 宁夏医科大学学报, 2010, 32(2): 207-210.
- [7] 照日. 病毒性脑炎概述[M]//胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 759-763.
- [8] 樊寻梅, 周永涛. 化脓性脑膜炎[M]//胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 912-921.
- [9] Kawakami Y, Fukunaga Y, Hashimoto K. Changes of neopterin in cerebrospinal fluid and serum in children with meningitis[J]. No To Hattatsu, 1996, 28(1): 23-29.
- [10] Luckheeram RV, Zhou R, Verma AD, et al. CD4(+)T cells: differentiation and functions[J]. Clin Dev Immunol, 2012: 925135.
- [11] Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2001, 33(7): 637-668.
- [12] 谢利娟, 李华君, 朱建幸. 早产儿血清 S100B 蛋白与脑损伤的关系[J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(7): 485-488.
- [13] Wang XK, Zhang HL, Meng FH, et al. Elevated levels of S100B, tau and pNFH in cerebrospinal fluid are correlated with subtypes of Guillain-Barre syndrome[J]. Neurol Sci, 2013, 34(5): 655-661.
- [14] Park JW, Suh GI, Shin HE. Association between cerebrospinal fluid S100B protein and neuronal damage in patients with central nervous system infections[J]. Yonsei Med J, 2013, 54(3): 567-571.
- [15] Zhang H, Qi S, Rao J, et al. Development of a rapid and high-performance chemiluminescence immunoassay based on magnetic particles for protein S100B in human serum[J]. Luminescence, 2013, 28(6): 927-932.
- [16] Cernoch I, Schleicher E, Franek M. Production and analytical characterization of neopterin immunoreagents for biosensor developments[J]. Anal Bioanal Chem, 2011, 399(2): 979-986.

(本文编辑: 王庆红)