·论著·

青光眼睫状体炎综合征房水 CMV IgG 抗体 白蛋白校正比值的研究

王晓蕾 王朱健 汤荔 曹文俊 孙兴怀

【摘要】 目的 研究巨细胞病毒(CMV)免疫球蛋白G(IgG)抗体经白蛋白校正后比值在检测青 光眼睫状体炎综合征(PSS)患者房水 CMV IgG 抗体表达中的应用价值。方法 病例对照研究。收集 2009年10月至2015年10月在复旦大学附属眼耳鼻喉科医院眼科确诊为PSS患者42例(42只眼)作 为病例组,其中男性26例,女性16例,年龄27~71岁。同期收集POAG患者20例作为青光眼对照组, 细菌性眼内炎和视网膜坏死共30例作为炎性对照组。3组患者均常规抽取外周血和房水,分别采用 ELISA 法检测血清及房水中的 CMV IgG 抗体, 散射免疫比浊法检测血清及房水中的白蛋白浓度; PCR 检测房水中的 CMV 脱氧核糖核酸(DNA)。房水和血清 CMV IgG 抗体测定值经房水和血清白蛋白校 正后得出房水 CMV IgG 校正比值,比值>0.60 认为有眼内抗体生成。以受试者特征曲线评估房水 CMV IgG 抗体校正比值在 CMV DNA 阳性 PSS组及对照组的诊断效能。采用 SPSS Statistics 19 统计软 件进行 ANOVA、Mann-Whitney 秩和检验及卡方检验。结果 PSS 组、炎性对照组和 POAG 组房水 CMV IgG 抗体的检出率分别为76.2%、100.0%和10.0%, PSS组房水中抗体水平高于POAG组, 差异具 校正比值的阳性率分别为71.4%、3.3%和0.0%, PSS组房水CMV IgG校正比值阳性率高于炎性对照组 和 POAG 组, 差异具有统计学意义(χ^2 =30.38, P<0.01; χ^2 =24.89, P<0.01)。校正比值的灵敏度为75.0%, 特异度为98.0%,曲线下面积为0.942(95%置信区间,0.859~0.984),高于CMV lgG抗体测定值的曲线下 面积(Z=6.19, P<0.01)。PSS 组房水 CMV IgG 抗体校正比值阳性率(71.4%)高于 CMV DNA 阳性率 (47.6%),差异具有统计学意义 $(\chi^2=4.00, P=0.045)$ 。结论 经房水和血清白蛋白校正后的房水CMVIgG抗体校正比值,可有效提高房水 CMV IgG抗体检测的特异性,与 PCR 联合检测,可提高检测的敏感 性,该方法有助于提升病毒核酸检测阴性 PSS患者的实验诊断水平。(中华眼科杂志,2017,53:104-108)

【关键词】 青光眼; 虹膜睫状体炎; 眼房水; 巨细胞病毒; 免疫球蛋白G; 血清白蛋白基金项目:中国科技部重大仪器专项(2012YQ12008003);国家卫计委公益性行业科研专项(201302015);上海市卫生计生委课题(20124093)

Determination of cytomegalovirus IgG synthesis by the albumin correction in the aqueous humor of posner-schlossmann syndrome Wang Xiaolei, Wang Zhujian, Tang Li, Cao Wenjun, Sun Xinghuai. Eye & ENT Hospital, Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200031, China Corresponding author: Cao Wenjun, Email:wgkjyk@aliyun.com

[Abstract] Objective To evaluate the usefulness of albumin correction in determination of cytomegalovirus IgG in the aqueous humor of Posner-Schlossman syndrome (PSS) patients. Methods Cases series studies. Forty-two patients (26 men and 16 women) who were diagnosed as PSS were enrolled from Oct. 2009 to Oct. 2015 at the Eye and ENT Hospital. During the same period, 20 patients with primary open-angle glaucoma (POAG) and 30 patients with bacterial endophthalmitis or retinal necrosis were enrolled as negative control group and inflammatory disease control group, respectively. Aqueous humor and serum samples were assayed to detect CMV IgG by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and albumin by scattering immunonephelometry. CMV DNA in aqueous humor was assayed by polymerase chain reaction (PCR). The ratio which was calculated as the (aqueous humor CMV IgG / serum CMV IgG) / (aqueous humor concentration of albumin / serum albumin concentration) over 0.6 was considered as intraocular antibody formation. Performance of differentiating control eyes from eyes with CMV-positive PSS

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2017.02.007

作者单位:200031上海,复旦大学附属眼耳鼻喉科医院眼科(王晓蕾、孙兴怀),检验科(王朱健、汤荔、曹文俊)通信作者:曹文俊,Email:wgkjyk@aliyun.com

was evaluated by the receiver operating characteristic curve. The ANOVA test, Mann-Whitney test and Chi-square test were performed to compare the differences among groups. **Results** The detectable rate of CMV IgG antibody in the aqueous humor was 76.2%, 100.0% and 10.0% in PSS, inflammatory disease control and POAG groups, respectively. The levels of CMV IgG antibody in the PSS groups were significantly higher than that of POAG groups (Z=4.23, P<0.001). The positive rate corrected by the albumin was 71.4%, 3.3% and 0.0%. The corrected positive rate in PSS groups was significantly higher than that of the inflammatory disease control and POAG groups (χ^2 =30.38, P<0.01; χ^2 = 24.89, P<0.01), with a sensitivity of 75.0% and a specificity of 98.0%. The area under the curve for calibrated ratio was 0.942 (95% CI: 0.859 to 0.984) which was higher than that of CMV IgG (Z=6.19, P<0.001). The corrected positive rate of CMV IgG antibody (71.4%) was higher than that of CMV DNA (47.6%, χ^2 =4.003, P=0.045). **Conclusions** CMV IgG antibody ratio which was corrected by aqueous humor and serum albumin could effectively improve aqueous antibody specificity in PSS patients. Furthermore, CMV IgG antibody ratio combined with PCR could improve the sensitivity of CMV detection. All of which help clarify the CMV infection in PSS in CMV DNA negative eyes. (Chin J Ophthalmol, 2017, 53:104-108)

[Key words] Glaucoma; Iridocyclitis; Aqueous humor; Cytomegalovirus; Immunoglobulin G; Serum albumin

Fund program: National Major Scientific Equipment Program (2012YQ12008003); Special Scientific Research Project of Health Professions (201302015); Scientific Research Project of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning (20124093)

青光眼睫状体炎综合征(posner-Schlossman syndrome, PSS)是一种特殊类型的继发性青光眼,好发于男性青壮年,主要表现为反复发作的眼压升高和虹膜睫状体炎[1-2]。研究表明病毒感染可能是PSS 的发病机制之一,其中以巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染的研究报道为主[3-5]。证明PSS CMV 感染的手段主要是检测房水中 CMV脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)的表达,但PSS患者 CMV DNA 阳性率不高,其阳性率在37.5%~52.2%[3.6]。

在感染性葡萄膜炎中,检测房水病原体抗体的表达是对检测病原体核酸表达的一个有用补充^[7-8]。De Schryver等^[9]曾报道过在5例CMV DNA阳性的虹膜睫状体炎患者房水中检测到4例CMV IgG的表达。但房水中CMV IgG抗体的表达不一定能证明就是病原体,因为人群中血清CMV IgG抗体的阳性率为87%^[10],眼内的CMV IgG抗体的表达不能排除是由外周血通过血-房水屏障渗入,因此检测房水中CMV抗体的临床应用受到限制。笔者研究以PSS患者房水和血清的白蛋白浓度比值来校正房水和血清的CMV IgG抗体比值,并评估该比值对PSS患者眼内CMV感染的的诊断价值,为后续的抗病毒治疗提供依据。

资料与方法

一、研究资料

2009年10月至2015年10月在复旦大学附属 眼耳鼻喉科医院眼科确诊为PSS患者42例(42只

眼)纳入本研究。PSS诊断纳入标准符合 Posner-Schlossman 所描述的特点回。其中,男性26 例,占61.9%,年龄30~71岁,平均(49±12)岁;女性 16 例,占38.1%;年龄27~69岁,平均(43±14)岁。 纳入年龄相关性白内障患者30例作为房水抗体检 查的基础值测量组;POAG患者20例作为疾病对 照,其诊断纳入标准为:至少2次眼压≥22 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa),房角开放;具有典型的青光 眼性视乳头改变和视网膜神经纤维层缺损及相对 应的视野改变;炎性对照组30例,包括细菌性眼内 炎10例,视网膜坏死20例,均经过PCR或细菌培养 结果确诊,排除CMV感染。所有患者的HIV筛查 结果均为阴性。经复旦大学附属眼耳鼻喉科医院 伦理委员会批准并获得所有受检者的知情同意后, 收集房水100 μl 及静脉血3 ml,静脉血离心后分离 血清。所有标本均放于-80℃储存。

二、研究方法

1. 房水和血清 CMV IgG 抗体的测定:采用 ELISA 试剂盒(Virion/Serion,德国)检测受检者房水及血清中 CMV IgG 抗体。检测步骤根据试剂盒说明书进行操作。酶标仪型号为 Tecan Sunrise(瑞士 TECAN 贸易有限公司)。房水检测的吸光度(A)值大于年龄相关性白内障对照组样本的基准值即平均 A 值加 2 倍标准差(95%可信限)为检出,小于或与其相等时为未检出。CMV IgG 抗体水平根据试剂盒所带标准曲线,通过 A 值计算出,结果用 U/ml 值表示。

房水及血清中的白蛋白浓度通过散射免疫比 浊法测定(深圳国赛生物技术有限公司)。房水 CMV IgG抗体以房水/血清白蛋白校正后计算校正比值的计算公式为:(房水 CMV IgG/血清 CMV IgG)/(房水白蛋白浓度/血清白蛋白浓度)。当房水中检出 CMV IgG,且房水/血清校正比值大于0.60时,可认为有眼内的 CMV IgG抗体生成^[11]。

2. 房水病毒 DNA 的检测:采用 DNA 抽提试剂 盒(FlexiGene DNA Kits, QIAGEN,中国)从房水中提取病毒 DNA,检测步骤根据试剂盒说明书进行操作。采用 PG biotech 人 CMV 核酸扩增荧光检测试剂盒,使用实时 PCR进行 CMV DNA 检测。

三、统计学分析方法

应用 MedCalc 7.5 软件绘制散点图,采用 IBM SPSS Statistics 19 统 计 软 件 进 行 方 差 分 析、 Mann-Whitney 秩和检验及卡方检验。P<0.05 为差 异有统计学意义。

结果

一、3组CMV 特异性 IgG 抗体表达比较

- 1. 房水中 CMV IgG 抗体检出率比较: 30 例炎性对照组房水中均检出 CMV IgG 抗体,中位数39.95 (0.40,1346.20) U/ml; PSS 组房水中有32 例 (76.2%)检出 CMV IgG 抗体,中位数1.05 (0.00,785.00) U/ml; POAG组中则只有2例(10.0%),中位数0.00(0.00,3.10) U/ml。经 Mann-Whitney 秩和检验,炎性对照组房水中的 CMV IgG 抗体水平要高于PSS组,差异具有统计学意义(Z=3.80 P<0.01),PSS组房水中的抗体水平高于POAG组,差异具有统计学意义(Z=4.23, P<0.01)。
- 2.3组房水中白蛋白检测值比较:3组房水白蛋白浓度经方差分析检验,发现炎性对照组的浓度 (4.73 ± 5.27) g/L高于 PSS组 (0.18 ± 0.21) g/L,差异有统计学意义(F=27.36, P<0.01),而 PSS组的房水白蛋白浓度 (0.18 ± 0.21) g/L和 POAG组 (0.13 ± 0.09) g/L差异无统计学意义(F=2.87, P=0.095)。
- 3.3组房水CMV IgG抗体表达以校正比值进行比较:3组房水CMV IgG抗体校正比值经房水和血清白蛋白校正后计算得出校正比值。PSS组30例(71.43%)出现CMV IgG的眼内生成,而炎性对照组中只有1例(3.33%)阳性(比值>0.60),POAG组中CMV IgG的校正比值均为阴性(比值<0.60)。PSS组的房水CMV IgG校正比值阳性率高于炎性和POAG组,差异有统计学意义(χ²=30.38, P<0.01, χ²=124.89, P<0.01)。

二、房水 CMV IgG 抗体校正比值对 PSS 眼内 CMV 感染的诊断效能评价

20例 CMV DNA 阳性 PSS 患者为阳性组,POAG 及炎性对照患者为阴性对照组,则房水 CMV IgG 抗体校正比值的眼内感染检出灵敏度为75.0%,特异度为98.0%。对房水 CMV IgG 抗体及校正比值进行受试者特征曲线分析(图1),房水 CMV IgG 抗体校正比值的曲线下面积为0.942(95%置信区间,0.859~0.984),高于房水 CMV IgG 抗体测定值的曲线下面积(0.547,95%置信区间,0.423~0.666),差异有统计学意义(Z=6.19,P<0.01)。

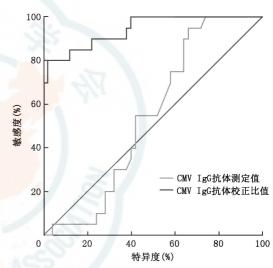


图1 20例青光眼睫状体炎综合征患者房水CMV IgG抗体校正比值与房水CMV IgG抗体测定值的受试者特征曲线

三、房水中 CMV IgG 抗体校正比值与 DNA 表达的比较

42 例 PSS 患者中,房水 CMV DNA 与 CMV IgG 抗体校正比值均为阳性者 15 例,占 35.7%; CMV DNA 阳性而房水 CMV IgG 抗体校正比值阴性者 5 例,占 11.9%; CMV DNA 阴性而房水 CMV IgG 抗体校正比值阳性者 15 例,占 35.7%。房水 CMV DNA或 CMV IgG抗体校正比值有一项阳性者共35例,阳性率为 83.3%。PSS 房水 CMV IgG 抗体校正比值阳性率 (71.4%)要高于 CMV DNA的阳性率 (47.6%),差异有统计学意义(χ^2 =4.00,P=0.045)。

讨 论

本研究发现炎性对照组和PSS组房水中CMV IgG抗体的检出率及抗体水平都要高于POAG对照 组,而炎性对照组的房水白蛋白浓度却要显著高于 PSS组和POAG组,PSS和POAG组的房水白蛋白浓

度则没有差异。我们认为炎性对照组可能是由于 血-房水屏障的破坏,外周血清中的成分渗入眼内, 其中包括白蛋白及CMV IgG抗体。有研究表明,与 其他疱疹病毒相比,CMV感染引起的前葡萄膜炎 的炎症表现较轻四,炎症发展有自限性,血-房水屏 障相对完整,因此PSS组房水内白蛋白的浓度没有 显著升高,反映受外周血渗入的影响要小于炎性对 照组。此外,由于白蛋白是由肝实质细胞合成,眼 内无法生成,因此房水中白蛋白浓度的升高可起到 提示血眼屏障破坏的作用,在一些研究中房水白蛋 白浓度检测也曾被用于帮助判断眼内抗体的生 成[11-12]。据此,我们推测通过房水和血清白蛋白浓 度校正房水 CMV IgG 抗体的校正比值有助于判断 PSS 患者房水中的 CMV IgG 抗体是眼内生成而非 外周渗入,比值越高则抗体由眼内生成的概率越 高。本文检测结果发现,虽然炎性对照组房水 CMV IgG 抗体水平要显著高于PSS组,但通过白蛋 白校正后,PSS组的房水CMV IgG抗体校正比值显 著高于炎性对照组及POAG组,阳性率为71.4%,炎 性对照组中仅有一例比值为0.65,稍高于界限值 0.60, POAG组中则无一例高于界限值。此外, 在之 前研究中,我们用同样的方法同时检测了PSS患者 房水中的CMV、单纯疱疹病毒、水痘-带状疱疹病毒 的IgG,发现仅CMV IgG抗体有表达(未发表数据), 也进一步提示 PSS 患者房水中的 CMV IgG 抗体是 眼内生成而非外周血渗入。房水 CMV IgG 抗体校 正比值经受试者特征曲线分析发现有较好的诊断 效能,曲线下面积可达0.942(P<0.01),显示该校正 比值可以较好地分辨眼内 CMV 特异 IgG 抗体生成, 排除外周血渗入的干扰,弥补仅作房水 CMV IgG 抗体检测的不足。

房水检测CMV DNA的表达与房水CMV IgG抗体校正比值进行比较发现,单独检测CMV DNA的阳性率为47.6%,单独使用房水CMV IgG抗体校正比值的阳性率为71.4%,校正比值的灵敏度要高于核酸检测,这可能是由于眼内病毒感染的DNA往往出现在疾病的早期,存在时间较短,而 IgG抗体的出现则在后期,并且持续更长时间[7.13]。Takase[14]曾报道疱疹病毒感染引起的前葡萄膜炎中CMVDNA的房水检出率在发作初期要低于其他疱疹类病毒,而PSS患者的发作虽反复,但时间相对较短,这可能导致了病毒核酸的检出率要相对低于抗体的检出率。抗体生成检测联合DNA检测可以使PSS患者CMV的检出率提高到83.3%,说明两种方

法有较好的互补性。

Goldmann-Witmer 系数是评估眼内病原体 IgG 抗体生成的有效指标^[15]。由于PSS患者的眼内炎症表现较轻,房水中总 IgG 表达量很低,大部分的房水的总 IgG 浓度均在检测限以下,因此我们未能计算出 Goldmann-Witmer 系数与房水和血清 CMV IgG 抗体校正比值的结果进行比较。

本研究表明,在PSS患者的房水中,CMV IgG 校正比值明显升高,提示CMV IgG表达与PSS密切相关,通过将该指标与相关指标的综合运用和分析,将有助于提升病毒核酸检测阴性PSS病例的实验诊断水平,为临床眼科医生进行抗病毒的针对治疗提供依据。

参考文献

- [1] Posner A, Schlossman A. Syndrome of unilateral recurrent attacks of glaucoma with cyclitic symptoms[J]. Arch Ophthal, 1948, 39(4): 517-535.
- [2] 郑曰忠, 时冀川. 前葡萄膜炎的临床诊治分析[J]. 中华眼科杂志, 2010, 46(1): 25-28. DOI: 10.3760/cma.j.issn. 0412-4081. 2010. 01.007.
- [3] Chee SP, Jap A. Presumed fuchs heterochromic iridocyclitis and Posner-Schlossman syndrome: comparison of cytomegalovirus-positive and negative eyes[J]. Am J Ophthalmol, 2008, 146(6): 883-889.e1. DOI: 10.1016/j. ajo.2008.09.001.
- [4] Su CC, Hu FR, Wang TH, et al. Clinical outcomes in cytomegalovirus-positive Posner-Schlossman syndrome patients treated with topical ganciclovir therapy[J]. Am J Ophthalmol, 2014, 158(5): 1024-1031.e2. DOI: 10.1016/j. ajo.2014.08.007.
- [5] Woo JH, Lim WK, Ho SL, et al. Characteristics of cytomegalovirus uveitis in immunocompetent patients[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2015, 23(5): 378-383. DOI: 10.3109/ 09273948.2014.950384.
- [6] Chee SP, Bacsal K, Jap A, et al. Clinical features of cytomegalovirus anterior uveitis in immunocompetent patients [J]. Am J Ophthalmol, 2008, 145(5): 834-840. DOI: 10.1016/j. ajo.2007.12.015.
- [7] De Groot-Mijnes JD, Rothova A, Van Loon AM, et al. Polymerase chain reaction and Goldmann-Witmer coefficient analysis are complimentary for the diagnosis of infectious uveitis[J]. Am J Ophthalmol, 2006, 141(2): 313-318. DOI: 10.1016/j.ajo.2005.09.017.
- [8] 郑曰忠. 葡萄膜炎的常见实验室检查项目与选择[J]. 中华 眼 科 杂 志, 2004, 40(8): 573-576. DOI: 10.3760/j:issn: 0412-4081.2004.08.020.
- [9] de Schryver I, Rozenberg F, Cassoux N, et al. Diagnosis and treatment of cytomegalovirus iridocyclitis without retinal necrosis[J]. Br J Ophthalmol, 2006, 90(7): 852-855. DOI: 10.1136/bjo.2005.086546.
- [10] Wong A, Tan KH, Tee CS, et al. Seroprevalence of cytomegalovirus, toxoplasma and parvovirus in pregnancy[J]. Singapore Med J, 2000, 41(4): 151-155.
- [11] Dernouchamps JP, Magnusson CG, Michiels J, et al.

- Immunoglobulin E in aqueous humour[J]. Exp Eye Res, 1985, 40(2): 321-325.
- [12] Murray PI, Hoekzema R, Luyendijk L, et al. Analysis of aqueous humor immunoglobulin G in uveitis by enzyme-linked immunosorbent assay, isoelectric focusing, and immunoblotting[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1990, 31(10): 2129-2135.
- [13] Sobolewska B, Deuter C, Doycheva D, et al. Long-term oral therapy with valganciclovir in patients with Posner-Schlossman syndrome[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2014, 252(1): 117-124. DOI: 10.1007/s00417-013-2535-9.
- [14] Takase H, Kubono R, Terada Y, et al. Comparison of the ocular characteristics of anterior uveitis caused by herpes simplex virus, varicella-zoster virus, and cytomegalovirus[J]. Jpn J Ophthalmol, 2014, 58(6): 473-482. DOI: 10.1007/ s10384-014-0340-6.
- [15] GOLDMANN H, WITMER R. [Antibodies in the aqueous humor][J]. Ophthalmologica, 1954, 127(4-5): 323-330.

(收稿日期:2016-06-20) (本文编辑:赵巍)

·读者·作者·编者·

2017年本刊各期重点报道内容介绍

本刊由中华医学会主办,创刊于1950年10月1日,现为月刊。编辑委员会由全国百余位知名眼科专家组成。荣誉总编辑谢立信(中国工程院院士),现任总编辑王宁利,副总编辑姚克、孙兴怀、阴正勤、葛坚、何守志、黎晓新、史伟云、汤欣、刘祖国、魏文斌,编辑部主任黄翊彬。本刊多年来发行量以及影响因子、总被引频次等各项指标,均在国内本专业期刊中名列前茅。所载论文被美国《医学索引(IM/MEDLINE)》等国内外十余种重要数据库收录,为中国科学技术信息研究所等国内重要数据库核心期刊。本刊曾先后荣获国家科委、中国科学技术协会等重要奖项,连续数年获得"中国科协精品科技期刊工程示范项目"称号,为精品科技期刊工程培育计划期刊,并入围中国科技部300种精品期刊、"百种中国杰出学术期刊"行列,是我国最具社会影响力和学术导向性的眼科名牌期刊,是眼科医师的良师益友。

为了能够及时报道我国眼科临床和科研的重大进展及创新性成果,促进国内外眼科学术交流,本刊每期制定重点报道内容,以重点报道内容文章为主,其他内容文章为辅(表1)。

本刊主要刊登内容类型:(1)学术导向类:引导或反映眼科临床与基础某一学术领域的发展方向,如专家述评、焦点论坛、标准与规范探讨及文献综述等。(2)研究创新类:深入探讨或反映眼科领域某一专题的临床或基础研究结果,如论著、研究快讯、短篇论著等。(3)学术争鸣类:不同学术观点之间争鸣与讨论,如学术争鸣、读者来信及学术动态等。(4)临床实用类:对临床工作有实践意义的经验和新技术以及在城乡开展防盲治盲工作的收获和体会,如技术交流、病例报告、专家讲座、临床病例讨论及图片精粹等。(5)其他类:为眼科工作者提供有价值的信息,如人才交流、时讯、书讯及眼科会议信息等。

欢迎全国眼科同仁根据以上信息,积极、踊跃投稿,使最前沿的观点、最新的科研成果、丰富的临床经验得以在高水平的学术交流平台展示和记载。

刊期	重点内容	责任编委
2017年第1期	近视眼控制	褚仁远
2017年第2期	青光眼	孙兴怀
2017年第3期	角膜病	史伟云
2017年第4期	白内障	鲍永珍
2017年第5期	眼底病	魏文斌
2017年第6期	甲状腺相关眼病	孙丰源、罗清礼
2017年第7期	流行病学调查	邹海东
2017年第8期	眼眶病与眼整形	范先群
2017年第9期	角膜病	孙旭光
2017年第10期	眼免疫学	张美芬
2017年第11期	屈光手术	王雁
2017年第12期	斜视与小儿眼科	亢晓丽

表1 2017年本刊各期重点报道内容及责任人员