

TBA检测

送检单位：江西省肿瘤医院（住院部）

条形码：100406521983

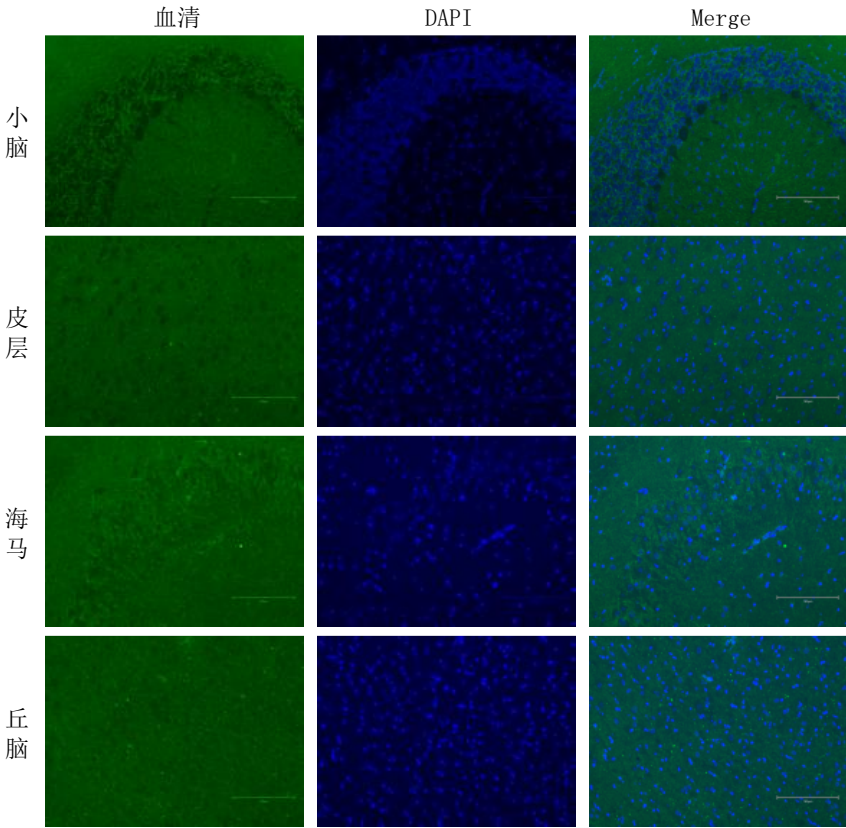
姓名：罗涛	病人类别：	科别：	送检医生：	样本类型：血清
性别：男	病人电话：	床号：	医生电话：	样本状态：外观正常
年龄：24岁	门诊/住院号：		临床诊断：	

一、临床诊断：

二、既往实验室检测：迪安脑炎17项 项目：抗AMPA1，AMPA2，CASPR2，D2R(DRD2)，DPPX(全)，DPPX(外+膜)，GABAAR α 1，GABAAR β 3，GABABR，GlyR α 1，IgLON5，KCNA4(kv1.4)，LGI1，mGluR5，Neurexin-3 α ，NMDAR1，NMDAR2A，NMDAR2B抗体检测 结果：阴性

三、TBA检测结果

1. 患者血清TBA检测为阴性(-)：		
在全脑（包括大脑皮层，海马，丘脑，及小脑等各部位）未发现信号。		
TBA基本信息	大鼠脑组织冰冻切片丙酮固定样品染色孵育时间1h	
图片解读	第一列图片	患者血清染色结果(绿色)，未见信号。
	第二列图片	DAPI染色，用来显示组织细胞核。
	第三列图片	前两列图片重叠，用来显示信号定位情况。



TBA检测

检测原理：用大鼠或猴脑组织切片来检测神经系统自身抗体的方法。

结果判断：用样本对组织切片染色后，若在荧光显微镜下观察到有明显特征的荧光信号时，则认为TBA检测结果为阳性（检出自身抗体）；若无荧光信号，或者只有微弱信号并且这些弱信号分布无明显特征可被视为背景信号时，认为TBA检测结果为阴性（未检出自身抗体）。

结果解释与建议：

1. 灵敏度与特异性

理论上脑组织切片上有神经系统的各种抗原分子，所以可检出各种神经系统自身抗体。不过由于脑组织上的抗原均为内源表达，低于CBA中抗原水平，因此TBA灵敏度可能会低于CBA法。

特异性方面，单独进行TBA检测时（比如将TBA作为神经系统自免性疾病的筛查方法），由于样品中的抗体成分复杂（全身性自免性疾病自身抗体的存在，多种自身抗体并存），脑组织切片的抗原成分复杂，这种情况下的TBA的特异性是低的。对于已知自身抗体的阳性样品（比如CBA法检测某自身抗体阳性），可以通过抗原中和实验来提高TBA检测特异性，使之与CBA的特异性相当。抗原中和实验是使用相应的抗原蛋白对样品中的抗体中和后，观察中和抗体在TBA上的染色结果有无发生变化。

2. 检测阳性时确定自身抗体的类型（自身抗体的靶向抗原）

CBA 检测结果为某自身抗体阳性时，TBA一般会被作为一个验证实验来使用。由于患者血清或脑脊液样品中的抗体种类以及脑组织切片上的抗原成分均非常复杂，即便TBA阳性信号的分布模式接近某些已知抗体的信号分布模式，或者进一步可以与这个抗原的商业化抗体共染的信号吻合时，仍需谨慎下“TBA结果与CBA或Blot方法的某抗体阳性结果相符”的结论。需要明确TBA信号是某个自身抗体引起的话，要经过抗原中和实验来最终确定，样品经过抗原蛋白中和后在TBA上信号减弱或消失，可认为TBA信号是识别该蛋白的自身抗体所引起的。

CBA或Blot方法检测一些自身抗体为阴性时，可使用TBA检测来探索患者样品中是否有自身抗体；对一些临床症状不典型的患者，有观点认为可以将TBA检测放置在在CBA或Blot方法检测之前进行，可以更及时的得到有无自身抗体的信息。这两种情况下进行TBA得到的阳性结果并不能得到抗体的具体信息，自身抗体可能是之前未用CBA或Blot方法检测过的已知抗体，也可能是某未知抗体，也有可能多种自身抗体同时存在。需要注意的是也并不一定是神经系统的自身抗体，有可能是全身性自免性疾病的自身抗体。后续工作建议结合临床表现使用CBA或Blot方法对一部分自身抗体进行筛查；或者继续扩大检测抗体谱来检测更多类型的自身抗体，这样有可能会检测到某些比较罕见的自身抗体。不过同样的，如果要证明TBA的信号就是这个抗体引起的，仍然需要使用抗原中和实验来确定。

3. TBA检测为阳性时自身抗体所识别的细胞类型

TBA检测为阳性时，一般在确定自身抗体的类型的同时，会关注TBA信号位于何种类型细胞上，即样品中含有抗哪种细胞的抗体，这部分信息也有一定的临床意义。比如一般认为抗神经元抗体能为自免性脑炎等提供一定程度的诊断证据，抗星形胶质细胞抗体则可在脱髓鞘炎性疾病（AQP4抗体），脑膜脑炎（GFAP抗体）或者部分自免性精神疾病的患者体内检出。需要注意的是这些TBA检测结果的具体临床意义需要结合临床症状综合分析。

实验室通常需要使用商业化抗体共染实验或者原代神经细胞染色实验来判断细胞类型。虽然经验丰富的实验人员可根据样品信号某些典型的分布模式来推断出更多的信息，不过由于自身抗原的种类众多，在细胞上分布可能各不相同，因此仅通过观察信号分布判断细胞类型缺乏足够的说服力。

商业化抗体共染可为判断细胞类型提供较为可靠的证据。抗体共染时使用的抗体为不同种类细胞的标志物抗体。观察样品的TBA信号分布特征，可帮助选择合适的抗体。比如患者样品在海马或者小脑颗粒层分子层部位有密集的颗粒样或者逗点样信号，提示样品中有抗神经元抗体，可选择神经元细胞核的标志物NeuN抗体，或者神经元胞体标志物b-tubulinIII抗体等。使用NeuN抗体共染时，如果患者样品在切片上的信号与NeuN抗体信号完全重叠（样品中有抗神经元核抗体），或者样品信号包裹在NeuN信号周围（样品中有抗神经元胞浆/胞膜抗体），可初步认定样品中有抗神经元抗体。使用b-tubulinIII抗体共染时，样品信号与b-tubulinIII抗体信号有比较好的重叠关系时，也可以初步判断样品中有抗神经元抗体。

商业化抗体共染实验操作需要时间较少，多数情况下可以快速的为临床提供有一定说服力的证据，不过由于组织中细胞密集结构复杂，在区分紧密相邻分布的细胞组织时可能会得到不准确的结果。为解决这类问题，可使用原代神经细胞培养并染色的方法。在鼠脑中分离各类型的神经细胞并使用合适的培养液培养，控制细胞培养密度，使用合适的条件进行细胞固定等处理后，用于TBA阳性样品的间接免疫荧光染色。结合上面提到的商业化抗体共染，观察样品会在何种细胞上染出信号，可以更为准确的判断样品抗体识别的细胞类型。

4. TBA阳性信号的亚细胞定位

对TBA阳性的未知自身抗体，尤其是抗神经元抗体，确定信号的亚细胞定位可进一步为临床提供有效信息。一般认为抗神经元表面抗原的自身抗体对神经元有较为直接的毒性作用，如自免性脑炎的抗NMDAR，GABABR等抗体均是抗神经元表面抗体。如果未知的抗神经元抗体也定位于细胞表面，提示可能也有相似作用，可为自免性脑炎等提供更进一步的诊断依据供临床参考。

对TBA荧光信号直接观察来判断信号的亚细胞定位是困难的：普通荧光显微镜的分辨率限制使之不能用于区分TBA信号的细胞表面定位和胞内定位；脑组织内细胞在空间上的不规则形状也使得观察分辨信号的胞膜/胞浆/胞核定位变得不可靠。TBA阳性的未知抗体需要通过原代细胞染色来确定细胞表面/胞浆/胞核的亚细胞定位。先将鼠脑中分离的原代神经细胞体外培养，用患者样品分别对活的神经元以及固定并通透的神经元进行间接免疫荧光染色，如果这两种条件下的染色均有信号（有些情况下活细胞信号会强于固定细胞的信号），说明抗体信号是位于细胞表面的；如果仅有固定并通透的神经元有信号，说明信号位于细胞内。胞浆信号和胞核信号可以通过分析抗体信号与细胞核信号（比如使用DAPI对细胞核染色）的位置关系来判断。

本结果只对此条码来样负责，本报告适用于科学研究，如有疑问，请在报告日期一周内提出。

第 2 页 / 共 2 页

检测者：

杨欣

审核者：

史敏怡

检测实验室：杭州迪安医学检验中心

采样时间：2024-09-29

接收时间：2024-10-02

检验时间：2024-10-02

报告时间：2024-10-02 17:42

地址：江西省南昌市高新区艾溪湖北路269号13号楼

电话：400 7118 000