

脑转移癌血脑屏障变化的免疫组化及超微结构研究*

王瑞林 宋文广 付占昭 张志勇 吴瑜 钟延丰^① 王胜兰^①
河北医科大学附属唐山工人医院 (河北省唐山市 063000)

摘要 **目的:**探讨脑转移癌的免疫组化和电镜特征以阐明其局部血脑屏障的变化及临床意义。**方法:**应用免疫组化法分别对16例脑转移癌和16例脑胶质瘤标本作CD34、F-Ⅷ、S-100、GFAP、NF、NSE、SYN和MBP染色,观察其在两类组织中的表达情况;并对4例脑转移癌和2例脑胶质瘤新鲜标本作电镜观察。**结果:**CD34、F-Ⅷ在脑转移癌组织和脑胶质瘤组织中均有丰富表达,提示脑转移癌和脑胶质瘤组织中均有新生血管的建立;脑转移癌组织中几乎不表达S-100、GFAP、NF、NSE、SYN和MBP等神经组织标记,而脑胶质瘤组织中则强烈表达,提示脑转移癌中没有血脑屏障的基本结构—胶质膜成分;电镜观察显示,脑转移癌血管保留原发病灶的特性,内皮细胞常见空泡变性,连接松紧不一,基底膜较薄,周围没有胶质细胞终足。**结论:**脑转移癌组织缺乏构成血脑屏障的神经胶质膜,血管内皮也非均一的紧密连接,所以脑转移癌组织不存在完整的血脑屏障。

关键词 脑肿瘤 血脑屏障 免疫组织化学 电镜 化疗

中图分类号:R739.41 文献标识码:A 文章编号:1000-8179(2004)17-0977-03

An Investigation on Changes of Blood-brain-barrier in Lesions of Brain Metastasis with Immunohistochemical and Electron Microscope

Wang Ruilin Song Wen-guang Fu Zhanzhao et al

Tangshan Worker's Hospital of Hebei Medical University, Tangshan

Abstract Objective: To investigate the immunohistochemical and ultramicroscopic features of blood-brain-barrier in the metastatic tumor tissue and its clinical meaning. **Methods:** With immunohistochemistry staining, CD34、F-Ⅷ、S-100、GFAP、NF、NSE、SYN and MBP were detected in tumor tissue which were resected from 16 patients with brain metastasis and 16 with glioma. Meanwhile 4 metastatic tumors and 2 gliomas were observed under the electron microscope. **Results:** CD34、F-Ⅷ were richly expressed both in the metastatic tumor and glioma tissues, which indicates the foundation of new blood vessels; on the other hand S-100、GFAP、NF、NSE、SYN and MBP, markers of nervous tissue, were rarely expressed in metastatic tumor tissue, which indicates that there is no fundamental structure of blood-brain-barrier neuroglial membrane. Just the same as those in their primary lesions, the ultramicroscopic characters of metastatic tumors include that endothelium vacuolate, the conjunction of endothelium cells do not always tightly, and the basilar membrane is slightly thinner than that of glioma, besides there is no neuroglial foots around the blood capillary. **Conclusion:** Neuroglia, the basic integrant of blood-brain-barrier is defective in brain metastatic tumor tissue, thus there is no blood-brain-barrier existing in brain metastatic tumor lesions.

Key words Brain tumor Blood-brain-barrier Immunohistochemistry
Electron microscope chemotherapy

* 本文课题受唐山市科学技术研究与发展计划项目资助(编号:02146013A-9)

① 北京大学医学部病理系

约有 25%~35%的恶性肿瘤患者在其疾病过程中发生脑转移,甚至最终死于脑转移^[1,2]。脑转移癌与脑原发肿瘤对治疗的反应不同,尤其是化疗,水溶性药物在脑胶质瘤很难取得疗效;而在脑转移癌则可取得与原发病灶相似的疗效^[3-5]。为探讨其内在的差异性,我们分别用免疫组化和电镜的方法对二者的微结构进行分析,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

1.1.1 免疫组化标本 我院 1989 年 1 月~2002 年 12 月收治的脑转移癌患者切除标本蜡块 16 例,14 例原发病为肺癌,病理类型:腺癌 4 例,鳞癌 2 例,小细胞癌 7 例,腺鳞癌 1 例;1 例来源于肝细胞癌,1 例为乳腺浸润性导管癌。随机取同时期脑胶质瘤术后标本 16 例作对照。病理分级:Ⅰ~Ⅱ级 4 例,Ⅱ~Ⅲ级 10 例,多形性胶质母细胞瘤(Ⅳ级)2 例。

1.1.2 电镜标本 我院神经外科 2002 年 1 月~2003 年 12 月手术切除的脑肿瘤新鲜标本。脑转移癌 4 例,肺癌 2 例,低分化腺癌 1 例,低分化鳞癌 1 例;肝细胞癌 1 例,乳腺浸润性导管癌 1 例;脑胶质瘤 2 例,均为Ⅱ~Ⅲ级。

1.2 主要试剂

一抗鼠抗人 GFAP、S-100、NSE、NF、CD34 和兔抗人 SYN、MBP、FV-Ⅲ,SP 试剂盒等均购自福建迈新生物技术公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化 SP 法 石蜡切片经二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化。抗原暴露:将切片置于 10mmol/L 柠檬酸钠缓冲液(pH6.0)内高温高压抗原修复 2min,加一抗工作液,4℃温育过夜。DAB 显色,苏木素对比染色。以 PBS 代替一抗作阴性对照,以迈新公司

提供的阳性对照片作阳性对照。

1.3.2 电镜标本制作 手术切除的新鲜标本置 3%戊二醛固定液密封贮存于 4℃冰箱备用。1%四氧化锇后固定 1.5h,50%~100%酒精逐级脱水,环氧树脂包埋,超薄切片(50~70nm),铀铅染色,用 JEM-100 电镜观察。

1.3.3 结果判定 每张切片在光镜下随机选取 400 倍视野计 100 个目标结构细胞,按染色强度和阳性细胞百分率计:无染色或阳性细胞≤10%为阴性,>10%为阳性。

2 结果

2.1 免疫组化

2.1.1 CD34 和 F-Ⅷ的表达 (图 1) 脑转移癌组 CD34 和 F-Ⅷ的阳性例数分别为 10 例(62.5%)和 13 例(81.3%);脑胶质瘤组 CD34 和 F-Ⅷ的阳性例数分别为 9 例(56.3%)和 15 例(93.8),两者无显著差别。

2.1.2 S-100、GFAP、NF、NSE、SYN 和 MBP 的表达 在脑转移癌组中除 NSE 有 3 例(来源于小细胞肺癌)阳性外,其余均为阴性(表 1)。

图 1 CD34 在脑转移癌中呈阳性表达 免疫组化 SP×100

表 1 神经组织相关标记在两种组织中的表达情况

分类	例数	S-100	GFAP	NF	NSE	SYN	MBP
脑转移癌	16	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(18.8)	0(0.0)	0(0.0)
脑胶质瘤	16	12(75.0)	14(87.5)	14(87.5)	12(75.0)	11(68.8)	11(68.8)

2.2 电镜观察

脑胶质瘤有明显的小血管增生,内皮细胞肥大,部分有变性,血管壁增厚,内皮细胞下基底膜样物质增多,并可见少量胶原纤维,血管周隙可见胶质细胞终足包绕。脑转移癌毛细血管密度较胶质瘤中略少,但内皮细胞多有空泡变性,部分区域间隙扩大,基底膜薄且不均一,瘤细胞间可见散在淋巴细胞浸润,毛细血管外周未见胶质细胞终足(图 2)。此外,来源于肝癌的病例可见部分微小血管呈血窦样结构。

图 2 脑转移癌血管内皮部分连接松散 电镜×6 700

3 讨论

在恶性肿瘤的各器官转移中,脑转移占第3位,仅次于肺转移和肝转移^[6]。由于脑转移的症状较重,严重影响患者的生活质量,如不积极治疗,多数患者于4周左右死亡^[6,7]。多年来,由于受血脑屏障理论的束缚,化疗在脑转移癌的治疗中地位一直没有得到确立^[4,8]。曾有学者观察到全身化疗对脑转移也有与原发病灶相似的疗效,并推测脑转移癌的血脑屏障可能有部分破坏^[8,9],但未见有更深入的研究。

血脑屏障的结构基础是:1)毛细血管内皮细胞之间的紧密连接;2)毛细血管基膜;3)毛细血管基膜外有星形胶质细胞终足围绕形成的胶质膜^[10]。本研究采用血管内皮标志物和多种神经组织相关性标志物分别对脑转移癌和脑胶质瘤进行免疫组化染色。CD34和FⅧ是定位于血管内皮细胞膜的膜蛋白,它的存在标志着组织中毛细血管的建立^[11]。S-100、GFAP、NF、NSE、SYN和MBP反映神经胶质细胞的终丝或微丝结构的标志物,特别是胶质纤维酸性蛋白(GFAP),它与星形胶质细胞突起的形成和维持有关^[6,12],此类成分的存在与否,可表明血脑屏障的基本结构中的胶质膜成分是否存在。

本组结果表明,血管内皮标志CD34和F-Ⅷ在脑转移癌组织和脑胶质瘤组织中均有丰富表达,提示脑转移癌和脑胶质瘤组织中均有其自身的供血血管。脑转移癌组织中基本不表达S-100、GFAP、NF、SYN和MBP等神经组织标记,而脑胶质瘤组织中则强烈表达,提示脑转移癌病灶中无血脑屏障的基本结构—胶质膜成分,即脑转移癌间质中的血管壁周围缺乏由星形胶质细胞终足围绕形成的胶质膜;而NSE在部分脑转移灶中有表达也只是与其来源的小细胞肺癌相一致,与血脑屏障无关。电镜观察进一步显示,脑转移癌毛细血管内皮细胞连接不均一,并常伴有空泡变性或其他炎性改变,血管周围基底膜很薄,没有胶质细胞终足存在,而是肿瘤间质细胞或瘤细胞。肝癌脑转移的微小血管呈现血窦样结构进一步说明,转移瘤的血管具有其原发病灶的特点,而不因为转移至脑内就具有中枢神经系统的特征。因此我们认为,脑转移癌在其形成转移灶的过程

中,自始至终就没有形成完整的血脑屏障。这一结论将对临床上药物治疗脑转移癌提供有价值的理论依据。

(致谢:本研究得到中国医学科学院肿瘤医院张湘茹教授的热情指导,谨此致谢。)

参考文献

- 1 孙燕,主编.内科肿瘤学[M].北京:人民卫生出版社,2001.504
- 2 Hoskin P, Crow J, Ford HT. The influence of extent and local management on the outcome of radiotherapy for brain metastasis [J]. *Int J radiat Oncol Biol Phys*, 1990, 19(1):111~115
- 3 Kleisbauer JP, Vesco D, Orehek J, et al. Treatment of brain metastases of lung cancer with high dose of etoposide (VP16-213). Cooperative study from the Group Francais Pneumo-cancerologie[J]. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1988, 24(2):131~135
- 4 Tummarello D, Lippe P, Bracci R, et al. First line chemotherapy in patients with brain metastases from non-small and small cell lung cancer[J]. *Oncol Rep*, 1998, 5(4):897~900
- 5 Franciosi V, Cocconi G, Michiara M, et al. Front-line chemotherapy with cisplatin and etoposide for patients with brain metastases from breast carcinoma, nonsmall cell lung carcinoma, or malignant melanoma[J]. *Cancer*, 1999, 85(7):1599~1605
- 6 汤钊猷,主编.现代肿瘤学[M].第2版.上海:上海医科大学出版社,2000.88~90
- 7 Kantarjian H, Farha PA, Spitzer G, et al. Systemic combination chemotherapy as primary treatment of brain metastasis from lung cancer[J]. *South Med J*, 1984, 77(4):426~430
- 8 Patchell RA. Brain metastases and carcinomatous meningitis. In: Abbeloef MD, Armitage JO, Lichter AS, et al. *Clinical Oncology* [M]. 2nd ed. Churchill Livingstone, New York. 2000. 820~835
- 9 Greig N, Jones H, Cavanagh J. Blood brain barrier integrity and host responses in experimental metastatic brain tumors [J]. *Clin exp Metastasis*, 1983, 1(3):229~246
- 10 成令忠,主编.组织学与胚胎学[M].第4版.北京:人民卫生出版社,1996.101~105
- 11 Stephen S, Sternberg, 主编. 回允中, 主译. *Diagnostic Surgical Pathology(诊断外科病理学)* [M]. Third Edition. 北京:北京大学医学出版社,2003.139~140
- 12 徐庆中,主编.中枢神经系统肿瘤诊断病理图谱[M].北京:科学技术文献出版社,2000.11~15

(2004-01-30 收稿)

(2004-04-13 修回)

(柏敏霜校对)