

常用特殊染色在神经病理学诊断中的应用

付永娟 朴月善 卢德宏

【摘要】 特殊染色在神经系统疾病诊断中发挥着不可替代的作用。某些特殊染色方法可以标记神经元特有的结构,如 Nissl 染色标记尼氏体,用于观察神经元并判断其损伤程度;或应用于神经系统疾病的诊断,如在原发性脱髓鞘疾病的诊断中,Luxol Fast Blue 染色所显示的髓鞘脱失、Bodian 染色所显示的相对保留的轴索、Holzer 染色所显示的反应性增生的星形细胞等。病理科医师在日常神经病理诊断工作中如果能够正确、巧妙地应用特殊染色往往可以达到事半功倍的效果。

【关键词】 神经系统疾病; 染色与标记; 病理学; 综述

The application of special staining in neuropathological diagnosis

FU Yong-juan, PIAO Yue-shan, LU De-hong

Department of Pathology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

Corresponding author: LU De-hong (Email: xwludehong@sina.com)

【Abstract】 Special staining plays an important role in the clinical neuropathological diagnosis. Some special staining is used to distinguish the specific structure of neuron, such as Nissl staining for Nissl body. It can distinguish neuron from other cells, and can be used to judge the degree of neuron injury. Some special staining is used as the assistance of pathological diagnosis of some nervous system diseases. For example, in the primary demyelinating disease, Luxol Fast Blue staining is used to mark the demyelinating region; Bodian staining is used to label the relatively preserved axon; Holzer staining can show the abundant fine processes of reactively proliferative astrocytes, and so on. It will get twice the result with half the effort if pathologists use special staining as the assistance of clinical neuropathological diagnosis.

【Key words】 Nervous system diseases; Staining and labeling; Pathology; Review

This study was supported by Science and Technology Program and Natural Science Program of Beijing Municipal Commission of Education (No. KM201110025014).

随着生物科学技术的发展,越来越多的新抗体被研发出来,免疫组织化学染色在病理诊断中的应用越来越广泛。这虽然给特殊染色在临床病理诊断中的地位带来了一定冲击,但是一些经典的特殊染色方法非但未被淘汰,反而在某些疾病,特别是神经病理学领域疾病的诊断中仍然发挥着不可替代的作用。本文将重点介绍几种临床常用的特殊染色方法在神经病理学诊断中的应用,以指导病理科医师熟练而巧妙地应用特殊染色。

一、特殊染色在显示神经系统组织结构中的应用

神经组织主要由神经元、神经纤维、神经髓鞘和神经胶质细胞组成。大多数神经元胞质除了含有其他细胞都有的细胞器外,还含有神经细胞特有的结构——尼氏体(Nissl body)和神经原纤维。

1. 尼氏体 分布于神经元除轴突和轴丘以外的胞质内,为颗粒状或斑块状物质。最常用于显示尼氏体的特殊染色方法有两种:一种是 Thionine 硫堇染色,一种是 Cresyl Violo 染色。前者将尼氏体染成深蓝色,胞核呈淡蓝色;后者将尼氏体染成紫红色,胞核呈淡紫色。尼氏体染色常应用于以下两种情况:(1)判断是否为神经元。尼氏体为神经元特有的细胞内结构,换言之,尼氏体染色阳性的神经细胞即为神经元。对某些涉及神经元的中枢神经系

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2014.01.003

基金项目:北京市教育委员会科技计划、社科计划项目(项目编号:KM201110025014)

作者单位:100053 北京,首都医科大学宣武医院病理科

通讯作者:卢德宏(Email: xwludehong@sina.com)

统病变的诊断,如节细胞胶质瘤(GG),可以通过尼氏体染色确定肿瘤组织中的神经节细胞。(2)判断神经元损伤程度。尼氏体与神经元的功能状态关系密切,当神经元受到损伤时,尼氏体的变化最为敏感,主要表现为尼氏体溶解和消失,即中央性尼氏体溶解(胞核周围的尼氏体消失)和周围性尼氏体溶解(胞膜下分布的尼氏体溶解),前者提示神经元轻度损伤,而后者则往往预示神经元即将死亡。值得指出的是,在正常情况下,脑组织中的一些神经核团(如迷走神经背核、室旁核等)的神经元胞核周围无尼氏体分布,应注意与中央性尼氏体溶解谨慎鉴别^[1-3]。

2. 神经原纤维 存在于神经元轴突内,常规 HE 染色无法显示,可以通过镀银染色进行观察。传统的染色方法有 Bielschowsky 染色(包括经典的冰冻切片染色法和改良的石蜡切片染色法)、Bodian 染色和 Gallyas-Braak 染色。这些染色方法可将神经元、神经原纤维、轴突和树突染成黑色,而神经原纤维缠结(NFTs)、老年斑(SP)、颗粒空泡变性中的颗粒和 Pick 小体等则呈阳性反应。

3. 神经纤维 根据有无髓鞘包绕分为有髓神经纤维和无髓神经纤维两种。在中枢神经系统,髓鞘由少突胶质细胞构成,而在周围神经系统,髓鞘由神经膜细胞构成。常用的显示正常髓鞘的特殊染色方法有 Luxol Fast Blue-焦油紫染色(Kluver 和 Barrera 修正法,即 KB 染色)。该染色方法将髓鞘染成蓝色、胞核呈紫红色、神经元内尼氏体呈紫红色。另外,还有一种 Weil 正常髓鞘染色法,可将髓鞘染成深蓝色至黑色,灰质呈灰黄色至无色,而变性和崩解的髓鞘则不着色。与之相反,Marchi 染色则是选择性地使变性的髓鞘染成黑色,而正常髓鞘和其他组织不着色^[4]。

4. 神经胶质细胞 包括星形细胞、少突胶质细胞、室管膜细胞和小胶质细胞。星形细胞在大脑发育阶段起指导神经元迁徙的作用,出生后其作用是为神经元提供支持和营养、保护神经元免受兴奋性神经递质的影响、参与构成血-脑屏障和维护内环境稳定等。星形细胞分为原浆型和纤维型,前者存在于灰质中,缺乏胶质纤维;后者存在于白质中,富含胶质纤维。病理状态下,原浆型星形细胞可向纤维型转化。少突胶质细胞呈小圆形、染色质丰富,在皮质中围绕神经元呈“卫星”样排列,调节神经元周

围环境;在白质中沿髓鞘排列成行,参与髓鞘的形成。小胶质细胞数目较少,主要位于胶质界膜以内、血管邻近区域和神经元胞体周围。大多数学者认为,其来源于中胚叶,是在胚胎发育后期开始生成脑血管时进入脑组织内的,正常情况下呈现“静止”的小胶质细胞形态,在某些缺血、缺氧、感染等疾病中发生反应性改变,呈现“双极杆状”细胞外观。它们或围绕死亡的神经元呈现嗜神经节现象,或聚集成团形成小胶质细胞结节,或转化为巨噬细胞,吞噬类脂质等碎屑,形成“格子细胞”。除室管膜细胞外,常规 HE 染色仅能显示神经胶质细胞胞核,因此,在临床诊断过程中常需要借助特殊染色来观察神经胶质细胞胞质和突起,以了解其在不同病变中的反应。常用染色方法包括采用 Holzer 星形细胞染色法来显示反应性增生的星形细胞,该方法可将星形细胞胞体和突起染成紫蓝色。而改良 Cajal 星形细胞氯化金升华法可将星形细胞及其突起染成棕黑色,用于显示正常的星形细胞、反应性增生的星形细胞和肿瘤性星形细胞。Del Rio-Hortega 少突胶质细胞染色法可以将少突胶质细胞胞质和突起染成黑色。Penfield 神经胶质细胞染色法可将少突胶质细胞和小胶质细胞胞质和突起染成黑色。

二、特殊染色在神经系统脱髓鞘疾病诊断中的应用

凡是外源性致病因素或内源性遗传因素引起或导致的髓鞘崩解、坏死和脱失,而轴索相对保持正常的病变统称为髓鞘疾病(myelinopathy)或原发性脱髓鞘病变(myelin disorders)。以多发性硬化为例,典型的原发性脱髓鞘病变之病理表现为髓鞘崩解、消失,而轴索相对保留,病灶内淋巴细胞、吞噬细胞浸润,伴星形细胞反应性增生。其中,轴索的相对保留是其与继发性脱髓鞘病变(原发性轴索变性等轴索病变伴髓鞘脱失或崩解)的鉴别特点。在病理诊断过程中,通过 Bielschowsky 染色或 Bodian 染色能够观察到病灶区域相对正常的轴索。Luxol Fast Blue 染色可以显示髓鞘脱失,典型的 Balo 病变可见髓鞘脱失区域与保留区域呈同心圆样排列;在病变活动期,吞噬细胞胞质内可以观察到呈蓝色的被吞噬的髓鞘断片。采用 Holzer 染色或 Mallory 磷钨酸苏木精(PTAH)染色可以发现呈反应性增生的星形细胞丰富的细长突起(图 1)。

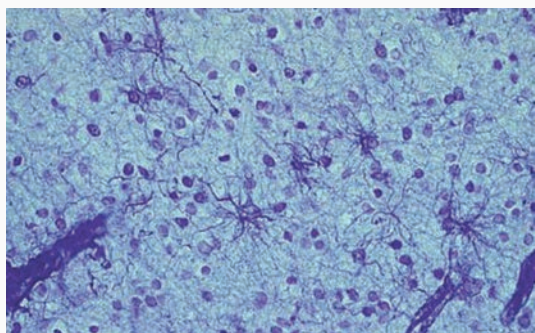


图 1 光学显微镜观察显示,呈反应性增生的星形细胞有着丰富的细长突起 Holzer 染色 高倍放大

Figure 1 Optical microscopy findings. Reactively proliferative astrocytes had rich slender processes. Holzer staining high power magnified

三、特殊染色在脑血管病诊断中的应用

1. 动脉粥样硬化 脑血管病大致可以分为缺血性和出血性脑血管病。约有 85% 的脑卒中为缺血性卒中, 60%~80% 的缺血性卒中患者与动脉粥样硬化有关。动脉粥样硬化好发于动脉开口等血流冲击较大的部位, 而在脑供血动脉中, 易发生于颈内动脉起始部、基底动脉、大脑中动脉和 Willis 环等部位。动脉粥样硬化是以脂质由动脉内膜向中膜局灶性沉积、弥漫性动脉粥样硬化和慢性炎症为特征的动脉病变。典型的粥样硬化斑块由脂质核和纤维帽构成, 大体外观呈动脉内膜上白色或淡黄色突起, 切面上表层纤维帽为白色坚韧组织, 纤维帽下方脂质沉积呈黄色或黄白色, 质地柔软。光学显微镜观察, 除平滑肌细胞、巨噬细胞、白细胞等细胞成分, 以及胶原、弹力纤维、蛋白聚糖等结缔组织和细胞外基质外, 尚可见细胞内和细胞外脂质沉积。临床病理诊断借助弹力纤维染色可以观察到发生动脉粥样硬化的动脉内膜弹力纤维连续性中断, 沉积的类脂质油红“O”染色阳性。

2. 颅内动脉瘤 颅内动脉瘤破裂是蛛网膜下隙出血的常见病因, 常见的动脉瘤包括囊状动脉瘤、梭形动脉瘤、感染性动脉瘤、夹层动脉瘤和海绵窦动脉瘤等。弹力纤维染色可以很好地勾画出动脉瘤的轮廓, 可以显示动脉瘤破裂部位的状态。

3. 脑血管畸形 包括动-静脉畸形、静脉血管畸形、海绵状血管畸形和毛细血管扩张等。其中以动-静脉畸形最为常见, 是一种先天性颅内血管发育异常, 病变部位的动脉与静脉之间无毛细血管沟通

而直接交通, 供血动脉内膜不规则、肥厚, 管腔狭窄或阻塞, 静脉管壁菲薄, 伴血管壁玻璃样变性, 管腔内可见血栓形成或钙化。临床病理诊断过程中需借助弹力纤维染色来明确病变血管是动脉还是静脉(图 2)。

4. 淀粉样脑血管病 为老年性脑叶出血十分常见的非创伤性原因, 主要侵犯小动脉和细动脉, 静脉亦会受累, 导致反复发生的脑叶出血, 同时出现小的缺血性卒中和白质脑病, 也可伴认知功能障碍。据推测, 约有 2/3 的 70 岁以上的脑叶出血患者为淀粉样脑血管病(CAA)。对 70 岁以上脑血管病患者的尸检结果显示, 约 8% 为淀粉样脑血管病, 而家族性淀粉样脑血管病常于 50 岁前发病, 约 25% 的阿尔茨海默病患者尸检结果显示存在淀粉样脑血管病。其病理学表现为皮质和软脑膜动静脉扩张, 血管壁中膜可见节段性淀粉样物质沉积。有淀粉样物质沉积的脑血管一般保持开放状态, 呈各种各样的血管病性改变, 如“双层筒”状、肾小球样小动脉改变、血管周围或血管壁内淋巴细胞浸润、微动脉瘤形成, 最终表现为纤维素样坏死。刚果红染色于光学显微镜下可以观察到淀粉样物质呈“鲑鱼肉”样红色, 在偏振光下显示为双色性、蓝-绿色双折光, 具有诊断意义(图 3)。

5. 脂肪栓塞 外伤时脂肪栓塞亦可导致栓塞的大脑动脉供血区域发生缺血性卒中, 借助油红“O”染色可以证实脂肪栓子的存在。

四、特殊染色在神经系统肿瘤诊断中的应用

中枢神经系统肿瘤分为神经上皮组织肿瘤、脑膜及其他间叶肿瘤等。特殊染色特别是网状纤维染色有助于明确肿瘤组织来源, 脑实质以外组织发生的肿瘤如脑膜瘤、神经鞘瘤多含丰富的网状纤维; 而脑实质内发生的肿瘤, 如各种类型胶质瘤, 一般仅在肿瘤间质血管周围存在网状纤维, 而肿瘤细胞间无网状纤维分布。如果脑实质肿瘤侵及脑膜或血管, 也可引起网状纤维增生即所谓的“促纤维生成”, 如婴儿促纤维增生性星形细胞瘤(DIA)、婴儿促纤维增生性节细胞胶质瘤(DIG)、多形性黄色瘤型星形细胞瘤(PXA)及脑膜血管瘤病(MA)等^[5]。

五、特殊染色在神经系统变性疾病诊断中的应用

神经系统变性疾病的共同特点之一是选择性破坏一个或多个系统的神经元, 表现为神经元不同

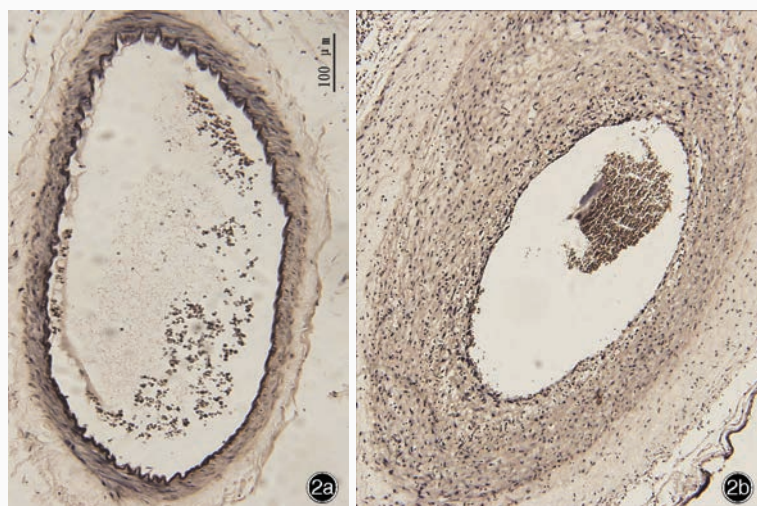
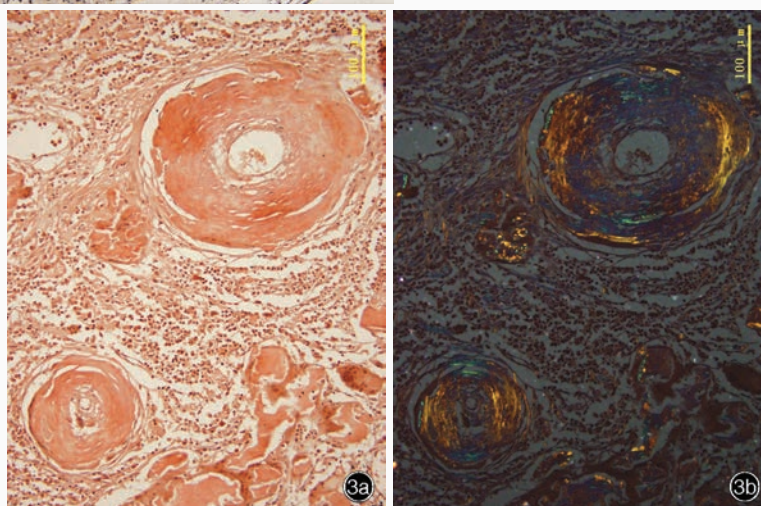


图 2 光学显微镜观察静脉高压性脑病中的血管 弹性纤维染色 中倍放大 2a 可见有着弹力纤维的动脉 2b 可见管壁不规则增厚的静脉

Figure 2 Optical microscopy findings of vessels in venous hypertensive encephalopathy. Elastic tissue staining medium power magnified Artery with elastic fibers could be seen (Panel 2a). Vein with irregularly thickening wall could be seen (Panel 2b).

图 3 光学显微镜观察脑内类淀粉瘤 刚果红染色 中倍放大 3a 可见淀粉样物质呈“鲑鱼肉”样红色 3b 偏振光可见双色性、蓝-绿色双折光

Figure 3 Optical microscopy findings of cerebral amyloidoma. Congo red staining medium power magnified Salmon red amyloid could be seen (Panel 3a). Dichroism and blue - green birefringence was seen under polariscope (Panel 3b).



程度脱失和星形细胞增生,神经元和神经胶质细胞内包涵体形成。一些包涵体被视为某些神经变性疾病的特征性标志物,特殊染色可以将这些包涵体的形态学细节很好地勾画出来。Bodian 染色可以勾画出老年斑的形态;Gallyas-Braak 染色标记神经原纤维缠结,可以清楚地观察到阿尔茨海默病脑组织中的神经原纤维缠结多呈“火焰”状,而进行性核上性麻痹中的神经原纤维缠结则多呈球形;Gallyas-Braak 染色还可以区分进行性核上性麻痹中的丛状星形细胞 (tufted astrocyte) 与皮质基底节变性 (CBD) 中的星形细胞斑 (astrocytic plaque) 等^[6]。

六、特殊染色在神经系统感染性疾病诊断中的应用

中枢神经系统感染性疾病发病率极高,病原体包括病毒、立克次体、螺旋体、细菌、原虫、真菌和寄生虫,由于神经系统解剖结构的特异性,它们侵入

机体后,大多选择性地侵犯神经系统或仅侵犯神经系统的某一部分:脑膜和脊膜易受细菌侵犯,而脑实质易受病毒感染,例如脊髓灰质炎病毒选择性损伤脊髓前角运动神经元,而其他器官的病变轻微。

中枢神经系统感染性疾病的基本病理改变是炎症,包括变质、渗出和增生等病理过程。变质表现为神经细胞变性、坏死,往往引起继发性脱髓鞘改变;渗出表现为血管周围 Virchow-Robin 间隙 (VRS) 以淋巴细胞、单核细胞为主的炎性细胞浸润,形成特征性的血管周围“袖套”样结构,常伴不同程度的炎性水肿;增生表现为神经胶质细胞增生,可见星形细胞增生和肥胖变性,晚期形成胶质瘢痕,小胶质细胞增生和单核细胞共同参与对变性和坏死组织的吞噬,形成所谓的“格子细胞”,另外少突胶质细胞也可发生增生性改变^[2-3]。

入侵的病原体主要借助特殊染色明确诊断。

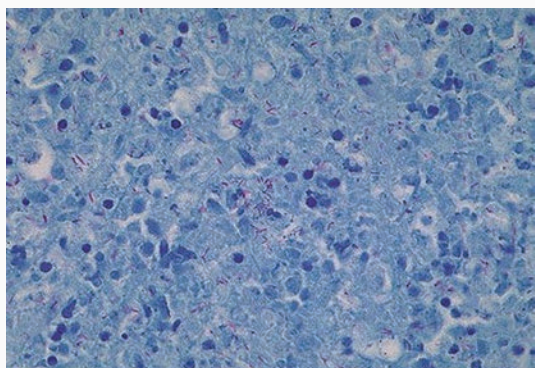


图 4 光学显微镜观察显示,紫红色杆状物为抗酸染色阳性的结核分枝杆菌 抗酸染色 高倍放大

Figure 4 Optical microscopy showed claret-colored shafts were positive mycobacterium tuberculosis. Acid-fast staining high power magnified

例如,革兰染色可以帮助鉴别入侵的球菌、链球菌,若细菌菌体被染成蓝色为革兰阳性菌、不着色为革兰阴性菌;结核灶内可以发现抗酸染色阳性、呈紫红色的结核分枝杆菌(图4);高碘酸-雪夫(PAS)染色或六胺银染色可以确定毛霉菌、曲霉菌等真菌感染;墨汁染色可以发现脑脊液中的隐球菌;Masson三色染色可以将阿米巴滋养体的胞质染成浅绿色、核质呈绿色、核仁呈红色,且核周可见空晕。

综上所述,特殊染色在某些神经系统疾病的病

理诊断中发挥着不可替代的作用。了解和掌握特殊染色的染色效果,阳性着色部位及其意义对于更好地理解疾病、诊断疾病具有很大的帮助。因此,我们病理科医师在应用免疫组织化学染色辅助诊断的同时,巧妙地应用特殊染色有时可达到事半功倍的效果。

参 考 文 献

- [1] Huang KW, Wu LJ. Clinical neuropathology. Beijing: People's Military Medical Press, 1999: 1-88.[黄克维, 吴丽娟. 临床神经病理学. 北京: 人民军医出版社, 1999: 1-88.]
- [2] Guo YP, Xu QZ. Neurology: clinical neuropathology. Beijing: People's Military Medical Press, 2008: 18-70.[郭玉璞, 徐庆中. 神经病学: 临床神经病理学. 北京: 人民军医出版社, 2008: 18-70.]
- [3] Guo YP, Xu QZ. Neurology: clinical neuropathology. Beijing: People's Military Medical Press, 2008: 335-360.[郭玉璞, 徐庆中. 神经病学: 临床神经病理学. 北京: 人民军医出版社, 2008: 335-360.]
- [4] Wang BY, Li YS, Huang GS, Zhang YQ. Pathological techniques. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000: 175-200.[王伯沅, 李玉松, 黄高昇, 张远强. 病理学技术. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 175-200.]
- [5] Graham DI, Lantos PL. Greenfield's neuropathology. 7th ed. London: Georgina Bentliff, 2002: 767-979.
- [6] Dickson DW. Neurodegeneration: the molecular pathology of dementia and movement disorders. Basel, Switzerland: ISN Neuropath Press, 2003: 103-123.

(收稿日期:2014-01-06)

欢迎订阅 2014 年《中国现代神经疾病杂志》

《中国现代神经疾病杂志》为国家卫生和计划生育委员会主管、中国医师协会主办的神经病学类专业期刊。办刊宗旨为:理论与实践相结合、普及与提高相结合,充分反映我国神经内外科临床科研工作重大进展,促进国内外学术交流。所设栏目包括述评、专论、论著、临床病理报告、应用神经解剖学、神经影像学、综述、短篇论著、临床医学图像、学术争鸣、病例报告、临床病理(例)讨论、新技术新方法、技术改进、临床药学查房、药物与临床、会议纪要以及国外研究动态等。

《中国现代神经疾病杂志》为国家科技部中国科技论文统计源期刊,国内外公开发行。中国标准连续出版物号:ISSN 1672-6731;CN 12-1363/R。国际大 16 开型,彩色插图,48 页,月刊,每月 25 日出版。每期定价 15 元,全年 12 册共计 180 元。2014 年仍由邮政局发行,邮发代号:6-182。请向全国各地邮政局订阅,亦可直接向编辑部订阅(免邮寄费)。

编辑部地址:天津市河西区气象台路 122 号天津市环湖医院内,邮政编码:300060。

联系电话:(022)60367623;传真:(022)60367927。