

## 灰质异位的临床病理学特征研究

冷 慧,付 静,梁 乐,刘 瑛

(北京市海淀医院,北京大学第三医院海淀院区,北京 100080)

**〔摘要〕**目的 探讨灰质异位病理学诊断的客观依据。方法 分析17例灰质异位手术切除标本病理及临床资料,辅以免疫组化方法,计数灰质异位灶中神经元的数量和类型。结果 本组病例中灰质异位术前MRI确诊为3例,其余14例(82.4%,14/17)均依靠镜下诊断。大体改变有三型:(1)白质中孤立的皮质样结节;(2)位于皮质下、呈结节状或舌状与皮质相连;(3)大脑皮层增厚,皮白质分界不清。镜下部分灰质异位结节边界清,结节中神经元排列紊乱,无极向,无正常皮质分层结构;神经元可表现退变、坏死、形态不成熟;免疫组化GFAP可显示部分灰质异位结节的轮廓,神经元核抗原(neuronal nuclei, NeuN)、微管相关蛋白2(microtubule associated protein-2, MAP-2)染色显示神经元数量减少且其中不成熟神经元比例增高,差异有显著统计学意义( $t=-3.66, P<0.01$ )。结论 灰质异位病变范围广泛时可于影像学检测中发现,但多数的灰质异位诊断仍需依靠病理组织学确诊,免疫组化GFAP有利于观察灰质异位灶形态,NeuN和Map-2强阳性细胞计数能为灰质异位诊断提供客观依据。

**〔关键词〕** 灰质异位;病理学;免疫组化

**〔中图分类号〕**R36

**〔文献标识码〕**A

**〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.06.008

### Clinical Pathological Features of Gray Matter Heterotopias

LENG Hui, FU Jing, LIANG Le, LIU Ying

(Beijing Haidian Hospital, Beijing, Haidian Section of Peking University Third Hospital, Beijing 100080, China)

**〔Abstract〕** Objective To explore the objective basis for the pathological diagnosis of gray matter heterotopia. Methods The pathological and clinical data of 17 cases of gray matter heterotopia resection were analyzed, and supplemented by immunohistochemical method, the number and types of neurons in the gray matter heterotopia were counted. Results Only 3 cases of gray matter heterotopias were diagnosed by MRI before surgery in this group. The remaining 14 cases (82.4%, 14/17) were all diagnosed by microscopic diagnosis. There are three types of gross performance: (1) isolated gray matter nodule in white matter. (2) Gray matter heterotopia is located in the subcortical and show nodular or tongue connected to the cortex. (3) Cerebral cortical is thickening. The boundary is not clear between gray matter and white matter. Microscopically, the boundary of some heterotopic gray matter is clear, neuronal arrangement disorder within the heterotopic gray matter, polarity of dendrite and axon are disorder. There isn't normal cortical layer structure. Neurons show degenerative changes, necrosis and immature forms. Immunohistochemistry GFAP can show the outline of some gray matter heterotopic nodules. NeuN and Map-2 staining showed a decrease in the number of neurons and a increase in proportion of immature neurons. The difference was statistically significant ( $t=-3.66, P<0.01$ ). Conclusion A wide range of gray matter lesions can be found in imaging detection, But most of the heterotopia diagnosis still depends on pathology. GFAP is valuable for the observation of the shape of the gray matter heterotopias. Counting NeuN and Map-2 positive cells can provide basis for the diagnosis of gray matter heterotopia.

**〔Keywords〕** gray matter heterotopia; pathology; immunohistochemistry

灰质异位(gray matter heterotopia, GMH)是神经元迁移异常所导致的大脑发育畸形,临床可导致频繁发作的难治性癫痫。随着影像学和手术治疗癫痫技术的进展,GMH受到越来越多的关注,成为难治性癫痫研究的热点之一。但已有的相关研究大多

是关于GMH影像学改变、脑电图特征及相关的基因异常等方面的,而病理组织形态学方面的研究较少。本文观察了17例GMH的病理学改变及其中神经元的免疫组化表达,旨在探讨GMH病理学诊断的客观依据。

**〔收稿日期〕**2016-02-26

**〔作者简介〕**冷 慧,女,主治医师,研究方向:临床病理学研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

收集北京市海淀区医院 2008 年 6 月-2015 年 6 月难治性癫痫致痫灶切除标本 729 例中确诊为 GMH 的病例 17 例,记录其一般信息、临床病史、影像学资料、术后 Engel's 评级及随访情况。随机选取 10 例无明显病变处脑组织标本做为对照组。

17 例 GMH 患者占我院难治性癫痫手术治疗病例 2.3%(17/729),其中男 9 例,女 8 例;发病年龄 1 岁~31 岁(平均发病年龄 11.1 岁,中位发病年龄 10 岁);术前 MRI 确诊 3 例(17.6%)、提示高信号 11 例(64.7%)、无发现 3 例(17.6%),MRI 阳性诊断率 82.4%(14/17);病灶单侧 15 例、双侧 2 例,累及单脑叶 13 例、双脑叶 4 例,其中累及颞叶 10 例、额叶 6 例、顶叶 3 例、枕叶 2 例;术后随访时间 12~36 个月(随访率 100%,平均随访 22.9 个月,中位随访 22 月),Engel's 评级 I 级占 76.5%(13/17)、II 级占 17.6%(3/17)、III 级占 5.9%(1/17)。

### 1.2 方法

1.2.1 规范制片 手术切除脑组织样本置 10%中性甲醛固定 6 h,以 3~5 mm 间隔连续切开标本,观察大体标本皮质及白质改变,在可疑病变处取材,常规石蜡包埋、切片(厚度 4  $\mu\text{m}$ ),HE 染色。

1.2.2 免疫组化染色 采用 MaxVision 二步法,即用型鼠抗人单克隆抗体神经元核抗原(neuronal nuclei, NeuN)、微管相关蛋白 2,(microtubule associated protein-2, MAP-2)MAP-2、兔抗人单克隆抗体胶质纤维酸性蛋白,(glial fibrillary acidic protein GFAP)(ZA-0117)及即用型 MaxVision<sup>TM</sup> 试剂盒均购自北京金桥生物技术有限公司。按照试剂盒的操作说明进行免疫组化染色。所有抗体均以皮质中神经元及白质中胶质细胞为内对照。

1.2.3 镜下观察 观察 GMH 灶的位置、数量、界限、异位灶与灰质关系;观察异位灶中神经元的排列、形态及免疫组化 NeuN、MAP-2、GFAP 表达情况;每个病例在异位灶选取 10 个高倍视野( $\times 400$ ),每高倍视野分别计数 NeuN 强阳性细胞数及 MAP-2 强阳性细胞数;对照组在脑沟最深部下陷皮层中选取 10 个高倍视野进行观察。

1.2.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计学分析软件。GMH 组和对照组 NeuN、MAP-2 强阳性细胞表

达差异采用重复数据的方差分析,两组间的 MAP-2/NeuN 的比值比较采用两个独立样本的  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 GMH 大体表现有三种

(1)白质中孤立的皮质样结节,连续大体切面上结节与皮质不相连;(2)脑回中央非脑沟部位皮质呈结节状或舌状向白质延伸;(3)大脑皮层增厚,皮白质分界不清(图 1-表 1)。

2.2 镜下灰质异位灶多呈结节状或团块状(9/17),位于白质内或贴于皮层下(与皮层相连),单发或多发,部分边界清楚;结节中神经元排列紊乱、树突、轴突极性紊乱,无正常皮质分层结构;神经元退变、坏死,可见不成熟神经元。GMH 灶表面皮层均伴有局灶性皮层发育不良(图 2-5,表 1)。

表 1 17 例灰质异位的组织学形态特征

分类	特征	例数
肉眼	白质中孤立的皮质样结节	2
	皮质呈结节状或舌状向白质延伸	2
	皮层增厚,皮白质分界不清	13
镜下	结节状或团块状,	9
	位于白质内/与皮层相连	7
	单发/多发	3/14
	边界清楚/不清楚	10/7
	神经元排列紊乱、无极性	17
	神经元退变	15
	神经元形态异常	7
巨大神经元	0	
气球样细胞	0	
合并 FCD	FCD I a/FCD I b/ FCD II 级	0/17/0

### 2.3 免疫组化

通过对 GMH 组和对照组每例各 10 个高倍视野 NeuN、MAP-2 的强阳性表达细胞数计数的重复数据方差分析,GMH 灶中 NeuN 强阳性神经元数量较正常对照组的少,差异有显著统计学意义 ( $F = 15.57, P = 0.001$ ), MAP-2 强阳性细胞数量两组差异不显著 ( $F = 0.054, P = 0.818$ )。GMH 灶中 Map-2 强阳

性神经元数/NeuN 强阳性神经元数比率增高, 差异有显著统计学意义( $t=-3.66, P<0.01$ ), 提示 GMH 灶

中神经元退变、减少, 且其中未成熟神经元相对增多。见图 6~7, 表 2。

表 2 GMH 组与正常对照组 NeuN、MAP-2 强阳性细胞数的比较

分组	<i>n</i>	NeuN阳性细胞数/HPF	MAP-2阳性细胞数/HPF	MAP-2/NeuN
灰质异位组	17	30.91 ± 14.21**	13.18 ± 6.98	43.1% ± 12.3%▲▲
正常皮质对照组	10	69.51 ± 33.95	13.88 ± 7.91	22.9% ± 15.2%

注:与正常组比,\*\* $P<0.01$ ,▲▲ $P<0.01$ ,

GFAP 染色未显示 GMH 灶中存在神经胶质细胞增生。见图 8。

### 3 讨论

神经元迁移障碍可导致一系列大脑皮质畸形, 包括多小脑回畸形、巨脑回畸形、无脑回畸形、皮质结构不良、灰质异位和脑裂畸形等<sup>[1]</sup>, GMH 是其中一种程度相对较轻的大脑畸形, 临床症状常表现为难治性癫痫及智力减退<sup>[2]</sup>, 给病人带来极大的痛苦。随着 CT、MRI 等高分辨率影像技术的发展, 更多的病例可以在体诊断。同时由于外科手术在难治性癫痫治疗中的应用又使得 GMH 的诊断及其与癫痫的关系受到越来越多的关注<sup>[3]</sup>。

GMH 是由于神经元迁移过程中受缺氧、中毒、辐射等因素影响而不能到达皮层正常位置的结果<sup>[8]</sup>, 与正常皮质及正常核团的细胞构成相同。Meroni, 等<sup>[9]</sup>将 24 例结节状 GMH 分为两种:一种能被 MRI 识别, 结节中有参杂明显胶质细胞、大部分合并局灶性皮质发育不良 (FCD); 另一种病灶非常小、不能被 MRI 识别、结节中只有神经元而没有胶质细胞参与, 全部位于颞叶且都合并有 (FCD)。马勋泰等<sup>[4]</sup>用大鼠做大脑皮层发育不良 (cortical dysplasias, CD) 动物模型观察到: GMH 结节内神经元树突、轴突极性紊乱, 皮质内 GMH 结节中神经元明显固缩、死亡、丢失, 可见形态异常神经元、巨大神经元及不成熟神经元; 有神经胶质毡及胶质细胞增生; 白质和海马部位 GMH 结节中可见异常巨大神经元和气球样细胞。本文病例中 GMH 表现为孤立或多发的、边界清或不清的结节或团块, 位于白质内或贴于皮层下, 可与皮层相连, 结节中神经元排列紊乱、无正常皮质分层结构, 树突和轴突极性紊乱, 神经元退变、部分形态异常, 未见巨大神经元和气球样细胞; GMH 灶表面对应大脑皮质均伴有局灶

性皮层发育不良 I 级。

NeuN 是神经元特异性抗原, 可直观显示神经元的数量、分布和排列; MAP-2 为细胞骨架蛋白, 正常表达于神经元胞质和突起, 在未成熟神经元中呈强阳性表达; 胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 是一种 III 型中间丝状蛋白, 特异表达星形胶质细胞<sup>[5]</sup>。本组研究采用 HE 染色和 NeuN、MAP-2、GFAP 免疫组化染色重点观察了 GMH 中神经元的排列、形态、种类、数量以及胶质细胞增生的情况。除 GMH 中神经元排列紊乱、树突和轴突失去极性等组织学特点外, GMH 中神经元数量 ( $30.91 \pm 14.21$ /HPF) 明显较正常皮质中的 ( $69.51 \pm 33.95$ /HPF) 减少、平均不到正常皮质中神经元数量的一半, 不成熟神经元数量占全部神经元的比例 ( $43.1 \pm 12.3$ )% 却相对增高, 为 GMH 灶中神经元凋亡、变性、坏死致数量减少的观点提供了客观依据。此外, 实验中 GFAP 染色并未显示 GMH 灶中观察到有星形胶质细胞增生, 与 Meroni 等和马勋泰等的结论有所不同。

手术切除 GMH 致痫灶能取得较好的治疗效果<sup>[6]</sup>。本组手术后随访 12~36 个月 (随访率 100%, Engel's 评级 I 级者达 76.5% (13/17), 仅一例双侧、多发、手术无法切除全部病灶的 GMH 患者术后 1 年 Engel's 评级为 III 级。

综上所述, 本研究显示: GMH 组织形态学上多表现为孤立或多发的结节或团块, 部分边界清楚, 位于白质内或贴于皮层下, 可与皮层相连; 结节中神经元排列紊乱、无正常皮质样分层结构, 树突和轴突极性紊乱; 神经元退变、坏死、部分形态不成熟; 神经元数量显著减少、且其中不成熟神经元比例相对增高, NeuN 和 MAP-2 强阳性细胞计数能为 GMH 诊断提供客观依据。

## 参考文献:

- [1] 沈雁文,王华.儿童灰质异位症的研究进展[J].国际儿科学杂志,2013,40(6):596-598.
- [2] 夏程,郎森阳,曲方,等.双侧侧脑室旁结节样灰质异位症4例临床及影像学研究[J].国际神经病学神经外科学杂志,2013,40(3):238-240.
- [3] 章辉庆,吴昊,邱晓晖,等.先天性神经元移行异常的CT及MRI诊断价值[J].安徽医药,2014,18(2):292-294.
- [4] 马勋泰,吕洋,晏勇,等.X-射线诱导的大脑皮质发育不良模型大鼠脑皮质形成机制[J].中国现代医学杂志,2015,25(26):27-32.
- [5] 王炜,朴月善,陈莉,等.免疫组织化学标记物在难治性癫痫病理诊断中的应用[J].中国神经免疫学及神经病学杂志,2010,17(2):88-91.
- [6] 姚庆和,张华,高国栋,等.灰质异位症诊疗进展[J].立体定向与功能性神经外科杂志,2008,21(4):247-249.
- [7] 刘仕勇,安宁,杨辉,等.皮质发育障碍所致儿童癫痫176例手术治疗的临床分析[J].第三军医大学学报,2012,34(22):2244-2248.

## 附图:

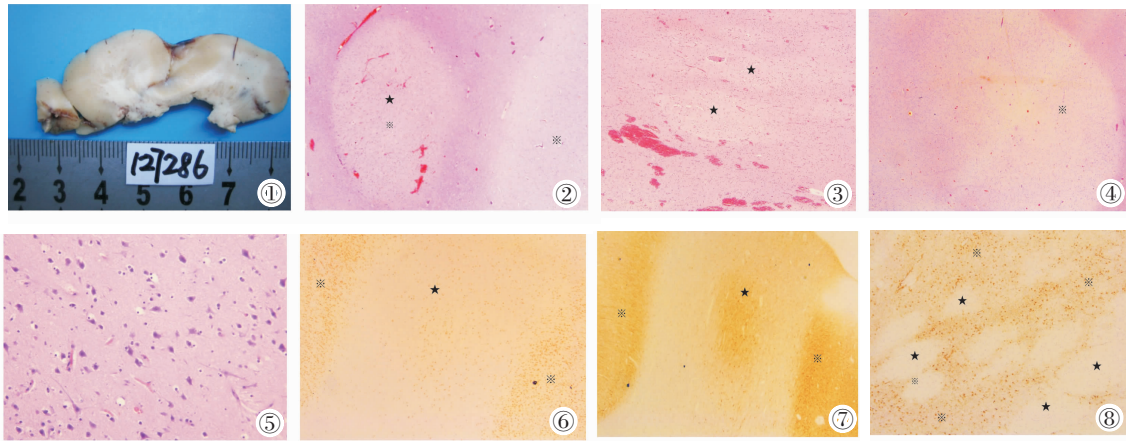


图1 皮质下广泛灰质异位大体标本:脑白质内条索状或片状浅灰色区域,部分与灰质相连,灰质增厚。

图2 (★)皮层下灰质异位结节,结节边界清楚,(※)为正常皮层区(HE染色×20)。

图3 白质内(★)为形态不规则的多个灰质异位结节,其中神经元数量较少(HE染色×40)。

图4 正常脑沟下陷的皮质横截面,有与皮质近似的神经元分层结构(HE染色×20)。

图5 神经元退变,形态不规则,有少突胶质细胞围绕神经元呈“卫星”现象(HE染色×200)。

图6 两侧区(※)为正常皮层区域,中央区(★)为灰质异位结节,灰质异位结节对比两侧正常皮层区,其中 NeuN 阳性细胞较正常皮质显著减少(IHC染色×20)。

图7 同上病例。两侧区(※)为正常皮层区域,中央区(★)为灰质异位结节,灰质异位结节中 MAP-2 强阳性细胞相对较多(IHC染色×20)。

图8 GFAP 染色可清晰的显示灰质异位结节的轮廓,(★)为白质中多个灰质异位结节,下方(※)区域显示正常白质中胶质细胞密度,而异位结节中无阳性胶质细胞(IHC染色×20)。

(本文编辑 李杰)