

巨噬细胞和 T 淋巴细胞在骨肉瘤瘤体周围假包膜形成中的作用

朱全胜¹ 丘钜世¹ 廖威明² 梁惠珍¹

(中山医科大学 1 病理教研室; 广州, 510089 2 附属第一医院骨科)

摘要 用病理形态学与免疫组织化学方法,对 6 例无假包膜、12 例有假包膜和 16 例术前化疗后有假包膜的骨肉瘤瘤体周围假包膜结构,进行形态学观察,以及对浸润的炎症细胞进行免疫学分类计数和统计学分析。结果显示假包膜组和化疗组瘤体周围浸润的巨噬细胞和 T 淋巴细胞显著高于无包膜组 ($P < 0.01$),认为巨噬细胞和 T 淋巴细胞浸润在瘤体周围假包膜形成中起着重要作用,化疗有促进假包膜变成真性包膜的作用。

关键词 骨肿瘤 病理学; 白细胞; 抗肿瘤药

中图分类号 R 738.1

骨肉瘤和软组织恶性肿瘤常被纤维组织膜包裹,因膜内有瘤细胞浸润,称为假包膜。辅以放疗和化疗,假包膜可转变为真性包膜,为截肢术提供了外科切除的界限^[1,2]。假包膜由内层富含纤维母细胞和胶原纤维的压缩区与外层富含炎症细胞和新生毛细血管的反应区构成^[3],形成机制还不清楚,国外报道巨噬细胞浸润在假包膜形成中起重要作用^[4]。我们用病理形态学方法与免疫组化方法,对骨肉瘤无包膜组、假包膜组和化疗组瘤体周围浸润的炎症细胞进行研究,以探讨假包膜形成的机制。

1 材料和方法

1.1 病例选择

中山医科大学附属第一医院 1990 年 1 月至 1995 年 7 月术前未化疗骨肉瘤患者 18 例,其中无假包膜 6 例,有假包膜 12 例,术前局部动脉化疗后有假包膜形成 16 例(化疗组);全部为男性股骨下段或胫、腓骨上段肿瘤患者。发病年龄 14~29 岁,平均 20.5 岁。入院前病程 20 日至 10 个月,全部病例经病理切片诊断,做 X 线平片及 CT 检查,化疗组病人做血管造影检查。病理类型见表 1。

1.2 化疗方案

将导管选择性插入病变区动脉内,向导管内分别注入卡铂和阿霉素,卡铂剂量为 300 mg/m^2 ,阿霉素剂量为 25 mg/m^2 ,用 5% 葡萄糖 100 ml 稀释。

表 1 骨肉瘤病理组织学类型 (例数)

| 组别 | 病理亚型 | | | | | 合计 |
|------|-------|--------|--------|-----|-------|----|
| | 骨母细胞型 | 纤维母细胞型 | 软骨母细胞型 | 混合型 | 血管扩张型 | |
| 无包膜组 | 3 | 2 | | 1 | | 6 |
| 假包膜组 | 6 | 3 | 2 | | 1 | 12 |
| 化疗组 | 9 | 3 | 1 | 3 | | 16 |
| 合计 | 18 | 8 | 3 | 4 | 1 | 34 |

1.3 病理形态学观察与免疫组化方法

选择瘤体与周围组织交界处多处组织,石蜡包埋切片进行病理形态学观察和免疫组织化学研究。

用 DAKO 公司的抗 CD45 (LCA)、CD45RO (UCHL1)、CD20(L26)和 Mac387 抗体分别作淋巴细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和单核巨噬细胞的标

① 第一作者,男,1963 年出生,1994 级在职博士生,讲师

记物。用 LSAB方法染色,以活检淋巴结作各种炎症细胞免疫标记阳性对照。

1.4 细胞计数与统计

每例分别在瘤体与周围组织交界处的肿瘤区、压缩区和反应区中随机选择 10个高倍视野,统计各免疫标记物阳性的细胞数,算出每个高倍视野阳性细胞数的平均值,并将同一标记物在 3组中的阳性细胞数平均值进行配对 *t*检验,压缩区内纤维母细胞及纤维细胞计数的视野选择同上。

2 结果

2.1 瘤体周围假包膜的病理形态特点

在无包膜组病例瘤体周围可见反应区,难于查见致密压缩区,并见肿瘤组织直接向周围软组织和肌肉组织浸润。化疗组和假包膜组瘤体周围可见一

膜样结构,由此可清楚地分为肿瘤区、致密压缩区和外侧的反应区(图 1)。化疗组和假包膜组包膜结构明显不同。化疗组致密区和肿瘤区、反应区分界清楚,厚薄较一致,约 1~ 5 mm不等,胶原纤维围绕瘤组织呈致密紧密排列,并发生玻璃样变,内纤维细胞多,纤维母细胞则少见,可见淋巴细胞和单核巨噬细胞浸润(图 2)。反应区内可见大量淋巴细胞、单核巨噬细胞浸润和新生毛细血管形成,毛细血管内皮肿胀,管壁有淋巴细胞浸润,类似亚急性血管炎改变(图 3)。假包膜组压缩区内胶原纤维平行疏松排列,厚薄不一致,约 0.1~ 0.5 mm靠近肿瘤区处可见肿瘤细胞呈小簇状向包膜内浸润,纤维母细胞相对较多。压缩区和反应区内也有较多淋巴细胞和单核细胞浸润。

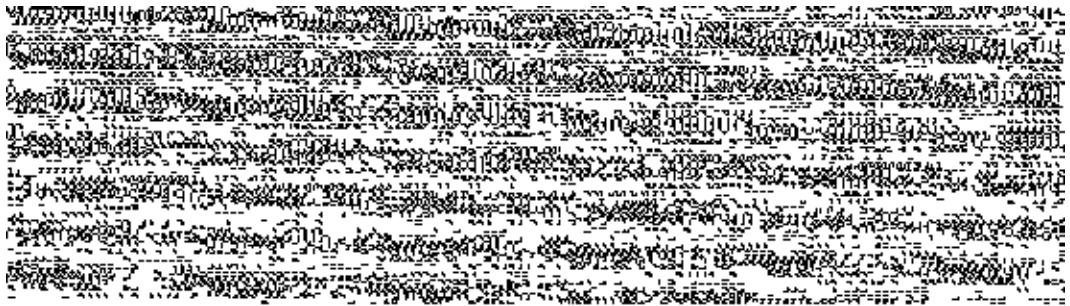


图 1 骨肉瘤瘤体周围的假包膜
假包膜由压缩区 (C)和反应区 (R)构成 HE \times 40

图 2 骨肉瘤瘤体周围假包膜的反应区
反应区内见大量吞噬含铁血黄素的巨噬细胞 HE \times 100



图 3 骨肉瘤化疗组假包膜的反应区
反应区内见亚急性血管炎的改变 HE \times 100

图 4 骨肉瘤假包膜的免疫组化
抗体 UCHL1示假包膜内浸润的 T淋巴细胞 LSAB \times 100

2.2 免疫组化结果

免疫组化结果见表 2

表 2 骨肉瘤瘤体周围相关细胞抗体检测

| 组 别 | LCA | | | UCHL1 | | | L26 | | | Mac387 | | | 纤维母细胞 | | 纤维细胞 | |
|------|-----|----|-------|-------|-------|-------|------|------|------|--------|-------|------|-------|-------|------|-------|
| | R | C | T | R | C | T | R | C | T | R | C | T | R | C | R | C |
| 无包膜组 | 16 | 82 | 9.68 | 5.36 | 2.52 | 6.35 | 4.63 | 3.32 | 1.02 | 12.54 | 7.24 | | | | | |
| 假包膜组 | 18 | 33 | 14.63 | 10.49 | 11.58 | 10.65 | 3.14 | 6.68 | 3.02 | 4.45 | 9.86 | 8.85 | 2.10 | 20.48 | 4.68 | 8.43 |
| 化疗组 | 20 | 56 | 10.24 | 9.64 | 12.67 | 6.41 | 3.45 | 8.46 | 2.27 | 5.61 | 10.30 | 6.53 | 2.35 | 26.54 | 1.42 | 13.85 |

表中数据为每个视野的平均细胞数; R 反应区, C 压缩区, T 肿瘤区

表 2 中,单核巨噬细胞和 T 淋巴细胞(图 4)在假包膜组和化疗组的反应区和压缩区浸润的数量高于无包膜组 ($P < 0.01$);假包膜组压缩区纤维母细胞的数量多于化疗组而纤维细胞少于化疗组。

3 讨 论

骨肉瘤为高度恶性肿瘤,生长迅速,转移早,尽管做了范围很广的手术,预后也很差。自从采用术前放疗和化疗措施后,患者的 5 年生存率从低于 20% 升高到 74%^[5,6]。骨肉瘤很少或没有包膜,但瘤细胞生长迅速,刺激周围组织引起炎症反应并产生大量反应性组织^[7],形成一假性包膜,辅以放疗和化疗,这一假性包膜可变成真性包膜。从我们的材料看,假包膜组和化疗组在瘤体周围明显可见一假性包膜,假包膜由外侧的反应区和内侧的致密压缩区构成,其内主要为淋巴细胞和单核巨噬细胞浸润。化疗后压缩区胶原纤维排列更加紧密,纤维母细胞少而纤维细胞较多,并可在反应区内见到亚急性血管炎病变,可见化疗可限制肿瘤细胞沿血道播散。

致密压缩区的形成,有人猜测是由于肿瘤细胞不断生长,对周围组织的推压作用引起的,但被一些学者否定,原因是异物在体内并不发挥挤压作用,却在它的周围出现一纤维性包膜。从我们的材料看,也不支持这一观点,因为无包膜组肿瘤细胞照样增生活跃,周围却没有致密压缩层,反应区内浸润的淋巴细胞、单核巨噬细胞很少,化疗后肿瘤中央大片坏死,内压减轻,瘤体周围的压缩区反而更致密。Miura^[4]等认为免疫刺激,尤其是巨噬细胞的浸润在假包膜形成中起着重要作用。巨噬细胞直接或间接产生的分泌物有 80 多种^[8],其中纤维母细胞生长因子和白细胞介素 1(IL1)有刺激纤维母细胞增生的活性,并使纤维母细胞产生胶原纤维转变为纤维细胞。我们发现除单核巨噬细胞外,假包膜组和化疗组 T 淋巴细胞在压缩区和反应区内浸润明显多于无包膜

组,认为 T 淋巴细胞浸润和它释放的淋巴因子在假包膜形成中也起一定作用。化疗除可杀死肿瘤细胞外,也可通过目前尚不清楚的机制促进纤维母细胞产生胶原纤维转变为纤维细胞。文献也报道假包膜经过适当治疗后可变为真性包膜^[5,6]。

我们在实验中还观察到另一现象,即瘤体周围反应区内亚急性血管炎的改变,这使我们意识到局部化疗后激起的肿瘤免疫排斥反应也可能起到一定作用。肿瘤细胞表面的 HLA 在通常情况下难于被机体免疫系统识别,化疗后引起肿瘤细胞变性,肿瘤细胞表面 HLA I 类抗原暴露^[9],被 T4 细胞识别后将抗原信息传给抗原呈递细胞——巨噬细胞,使巨噬细胞分泌 IL1 及其它淋巴因子,致敏 T8 细胞,发挥它杀伤肿瘤的作用,同时还释放 IL2 TNF IFN- γ 、巨噬细胞活化和武装因子等,将浸润假包膜中的肿瘤细胞杀灭,假包膜变成真性包膜,肿瘤界限清楚,便于手术切除。

参 考 文 献

- 1 Gitelis S, Thomas R, Templeton A, *et al.* Characterization of the pseudocapsule of soft-tissue sarcoma. *Clin Orthop*, 1989, 246(9): 285
- 2 Hirano T, Iwasaki K, Kumashiro T, *et al.* Encapsulation around malignant bone tumors after pre-operative adjuvant treatment. *J Jpn Orthop Assoc*, 1992, 66(1): 31
- 3 Enneking W F. *Musculoskeletal tumor surgery*. New York Churchill Livingstone, 1983. 3~ 11
- 4 Miura Y, Suda A, Watanabe Y, *et al.* Inflammatory cells in the pseudocapsule of osteosarcoma. *Clin Orthop*, 1994, 300(3): 225
- 5 Carter SK. Osteogenic sarcoma treatment overview and some comment interpretation of clinical trial data. *Cancer Treat Rep*, 1978, 62(2): 199

- 6 Jaffe N. Intraarterialisplation in the management of stage II B osteosarcoma in the pediatric and adolescent age group. Clin Orthop, 1991, 270 (9): 15
- 7 Enneking WF, Spanier SS, Goodman AA, *et al.* A system for surgical staging of musculoskeletal sarcoma. Clin Orthop, 1980, 153(11): 106
- 8 叶天星主编. 医学免疫学基础. 上海: 上海医科大学出版社, 1992. 58- 61
- 9 Restifo NP, Esquivel F, Kawakami Y, *et al.* Identification of human cancer deficient in antigen processing. J Exp Med, 1993, 177(2): 265

(1996-09-09收稿 1996-11-04修回)

THE ROLES OF MACROPHAGES AND T-CELLS IN THE FORMATION OF PSEUDOCAPSULE OF OSTEOSARCOMA

Zhu Quansheng¹ Qiu Jushi¹ Liao Weiming² Liang Hui zheng¹

(1 Department of Pathology 2 Department of Orthopedics of First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou)

Morphologic and immunohistochemical methods were used in studying 6 cases of osteosarcoma without pseudocapsule, 12 osteosarcoma with pseudocapsule and 16 osteosarcoma after chemotherapy with pseudocapsule formation. The structure of pseudocapsule was observed. The type and number of inflammatory cells surrounding the tumor were investigated. The results showed that the numbers of macrophages and T-cells in the compression zone and reactive zone of the two groups with pseudocapsule were significantly higher than that of the group without pseudocapsule ($P < 0.01$). This result strongly supported that macrophages and T-cells play very important roles in the formation of pseudocapsule. It was also observed that the pseudocapsule could be converted to a true capsule by preoperative chemotherapy.

Subject headings bone neoplasm /pathology; leukocytes; antineoplastic agents

(上接第 24页)

were analyzed with SPSS system. Ultrastructural changes in medulla oblongata reticular formation were studied by transmission electron microscope (TEM). Results show that Axonal diameter has no significant difference among 0.5h, 1h antemortem injuries and postmortem injuries, but has significant difference between 3h injuries and postmortem injury. There wasn't significant increase in the number of astrocytes in 0.5h antemortem injury. However, the number of astrocytes increased remarkably in 1h, 3h injury groups. Myelin disruption and NF disarrangement were seen through TEM. The results demonstrated that early death induced by craniocerebral injury was the result of brain-stem injury. NF-GFAP double staining may diagnose 1h brain-stem injury in rats. These results were expected to be testified in forensic practise.

Subject headings brain stem/injury; brain stem /ultrastructure; intermediate filaments /pathology