

文章编号:1000-5404(2014)06-0587-05

论著

## 肿瘤相关中性粒细胞在胃癌中的分布、表型及其免疫抑制功能研究

王婷婷<sup>1</sup>, 庄园<sup>1</sup>, 陈娜<sup>1</sup>, 彭六生<sup>1</sup>, 程平<sup>1</sup>, 李文华<sup>1</sup>, 赵永亮<sup>2</sup>, 余佩武<sup>2</sup>, 邹全明<sup>1</sup> (400038 重庆, 第三军医大学; 药理学系微生物与生化药理学教研室暨国家免疫生物制品工程技术研究中心<sup>1</sup>, 西南医院普通外科<sup>2</sup>)

**[摘要]** **目的** 分析胃癌患者外周血中及不同类型胃组织中的中性粒细胞的分布情况,并研究其表型,探讨胃癌组织培养上清诱导的条件性中性粒细胞对 CD3<sup>+</sup> T 细胞功能的影响。**方法** 采用流式细胞术检测并分析 42 例胃癌患者的胃癌组织、癌旁组织、正常胃组织及外周血中 CD66b<sup>+</sup> 中性粒细胞的比例及表型,同时采用免疫组织化学染色技术针对中性粒细胞表面标志 CD15 原位分析不同类型胃组织石蜡切片中中性粒细胞的浸润情况,最后用胃癌组织培养上清诱导的条件性中性粒细胞与 CD3<sup>+</sup> T 细胞共培养,检测其对 T 细胞增殖能力的影响。**结果** 胃癌患者外周血中性粒细胞比例明显高于健康成人( $P < 0.01$ ),胃癌组织中的中性粒细胞的频率也高于癌旁组织( $P < 0.05$ )和正常胃组织( $P < 0.05$ );在胃癌患者外周血及不同类型胃组织浸润的中性粒细胞可能主要为成熟的分叶核粒细胞;相较于正常胃组织,胃癌组织培养上清诱导的条件性中性粒细胞能显著抑制 CD3<sup>+</sup> T 细胞增殖( $P < 0.01$ )。**结论** 中性粒细胞在胃癌微环境中浸润增高,其可能通过抑制 CD3<sup>+</sup> T 细胞增殖而促进胃癌进展。

**[关键词]** 胃癌;中性粒细胞;CD3<sup>+</sup> T 细胞

**[中图分类号]** R331.123;R730.23;R735.2

**[文献标志码]** A

## Distribution, phenotype and immunosuppressive function of tumor-associated neutrophils in gastric cancer

Wang Tingting<sup>1</sup>, Zhuang Yuan<sup>1</sup>, Chen Na<sup>1</sup>, Peng Liusheng<sup>1</sup>, Cheng Ping<sup>1</sup>, Li Wenhua<sup>1</sup>, Zhao Yongliang<sup>2</sup>, Yu Peiwu<sup>2</sup>, Zou Quanming<sup>1</sup> (<sup>1</sup> Department of Microbiology and Biochemical Pharmacy, National Engineering Research Center for Immunological Products, College of Pharmacy, <sup>2</sup> Department of General Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze the distribution and phenotype of neutrophils in periphery blood and different types of gastric tissues from gastric cancer (GC) patients, and to investigate the influence of GC tissue culture supernatants induced-conditioned neutrophils (GCSI-CNs) on CD3<sup>+</sup> T cells. **Methods** Flow cytometry was employed to detect and analyze the ratio and phenotype of CD66b<sup>+</sup> neutrophils in tumoral, peritumoral and normal gastric tissues and peripheral blood of 42 GC patients. Then, paraffin-embedded tissues of GC patients were investigated immunohistochemically with anti-human CD15 antibody to analyze the infiltration of neutrophils *in situ*. Finally, GCSI-CNs were cocultured with CD3<sup>+</sup> T cells, and the proliferation of CD3<sup>+</sup> T cells was analyzed by flow cytometry. **Results** The percentage of neutrophils in periphery blood of GC patients was much higher than that in healthy donors ( $P < 0.01$ ). The frequency of neutrophils was significantly higher in tumoral gastric tissues than in peritumoral ( $P < 0.05$ ) or in normal gastric tissues ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, neutrophils infiltrated in different types of gastric tissues and in periphery blood of GC patients were probably mainly mature segmented neutrophils. In addition, GCSI-CNs significantly inhibited the proliferation of CD3<sup>+</sup> T cells. **Conclusion** Neutrophils are accumulated in GC microenvironment and may facilitate the progression of GC by inhibiting the proliferation of CD3<sup>+</sup> T cells.

**[Key words]** gastric cancer; neutrophils; CD3<sup>+</sup> T cells

Corresponding author: Zou Quanming, E-mail: qmzou@tmmu.edu.cn; Zhuang Yuan, E-mail: yuanzhuang1983@yahoo.com

**[通信作者]** 邹全明, E-mail: qmzou@tmmu.edu.cn

庄园, E-mail: yuanzhuang1983@yahoo.com

**[优先出版]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131219.1915.005.html> (2013-12-19)

中性粒细胞是人类外周血中最主要的白细胞,其占总白细胞的比例可达50%~70%,在宿主抗感染免疫中发挥着重要作用。当局部组织发生感染时,中性粒细胞能够渗出血管,通过趋化运动等机制到达感染部位,释放活化的细胞因子,如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素(interleukin, IL)、干扰素(interferon, IFN)、防御素等,以及抗感染相关效应分子如毒性物质和活性氧类等,吞噬并杀死入侵的如细菌、真菌等病原微生物,发挥机体免疫防御功能<sup>[1]</sup>。与此同时,中性粒细胞还释放一些蛋白酶,引起组织损伤和炎症反应<sup>[2]</sup>。中性粒细胞在宿主防御中所起的作用早已为人们熟知。然而,随着研究的进展,人们发现,除了发挥抗感染作用,中性粒细胞与肿瘤的发生、发展也有着密切关系<sup>[3]</sup>。

胃癌(gastric cancer, GC)是全球病死率位居第二的恶性肿瘤,并且预后很差<sup>[4]</sup>,全球每年因胃癌而死亡的病例高达100万<sup>[5]</sup>。肿瘤患者的预后跟肿瘤组织中各种免疫细胞所形成的抑制性免疫微环境密切相关<sup>[6]</sup>。在肿瘤微环境中浸润的促炎性免疫细胞中,中性粒细胞占了很大的比例<sup>[7]</sup>,肿瘤相关中性粒细胞的作用也慢慢为人们所重视<sup>[8]</sup>。为了研究胃癌微环境中的中性粒细胞的作用,我们检测了临床胃癌患者外周血及术后胃癌标本中中性粒细胞的比例及表型,同时利用胃癌组织培养上清诱导的条件性中性粒细胞来模拟胃癌微环境中的中性粒细胞,分析其免疫抑制相关功能。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

收集2012年9月至2013年7月在第三军医大学西南医院普通外科实施胃大部或全切术的42例患者的胃组织及外周血标本,不同类型的胃组织标本均经病理组织学确认,胃癌患者的临床资料由第三军医大学西南医院普通外科按相关标准收集保存。纳入标本的胃癌患者中男性29例,女性13例,年龄40~59岁。

### 1.2 实验材料

PE-Cy7标记抗人CD45抗体、FITC标记抗人CD66b抗体、PerCP-Cy5.5标记抗人CD16抗体、APC标记抗人CD62L抗体等用于流式细胞染色的抗体均购自美国Biolegend公司,羧基荧光素二醋酸琥珀酰亚胺酯(carboxylfluorescein succinimidyl ester, CFSE)购自美国eBioscience公司,RPMI1640培养基,IV型胶原酶和胎牛血清购自美国Gibco公司,I型DNA酶、辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗小鼠IgG购自生工生物工程股份有限公司,CaCl<sub>2</sub>和MgCl<sub>2</sub>购自重庆川东化工集团,4%多聚甲醛购自博士德公司,鼠抗人CD15抗体购自丹麦DAKO公司,DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,红细胞裂解液购自美国BD公司,淋巴细胞分离液购自美国GE healthcare

公司,CD3磁珠分选试剂盒购自德国美天旎生物技术公司。实验所用仪器:FACSCanto II型流式细胞分析仪(美国BD公司)、全自动组织单细胞分离器(德国Miltenyi公司)、A5082酶标分析仪(奥地利TECAN公司)。

### 1.3 标本处理

无菌条件下处理胃大部或全切术后的新鲜胃癌标本,包括胃癌组织、癌旁组织(距胃癌边缘0~5 cm处)、正常胃组织(距胃癌边缘5 cm以上)。组织的处理:用0.01 mol/L的PBS将组织冲洗2~3次后,剪成小块,转移至含有IV型胶原酶(终浓度为1 mg/mL)、I型DNA酶(终浓度为100 μg/mL)以及CaCl<sub>2</sub>(终浓度为0.002 mol/L)和MgCl<sub>2</sub>(终浓度为0.002 mol/L)的不完全RPMI1640培养基中,使用全自动组织单细胞分离器分离组织后,将组织放入孵箱,37℃,7 r/min,孵育1 h;过200目筛网并研磨,收集得到单细胞悬液;1 500 r/min,离心5 min,弃上清。外周血则直接用于流式细胞染色。

### 1.4 流式细胞染色及分析

用PE-Cy7标记的抗人CD45抗体、FITC标记的抗人CD66b抗体、PerCP-Cy5.5标记的抗人CD16抗体、APC标记的抗人CD62L抗体分别标记胃癌组织、癌旁组织和正常胃组织单细胞悬液以及新鲜外周血,4℃放置30 min后,100 μL 1% BSA的PBS洗涤1次,1 800 r/min离心5 min;4%多聚甲醛固定,4℃,20 min;100 μL 1% BSA的PBS洗涤1次,1 800 r/min离心5 min;弃上清,150 μL PBS重悬细胞;外周血染色后需先裂解其中红细胞再进行固定。采用BD流式细胞仪检测各样本,然后用Flowjo软件分析获取的数据,以CD45<sup>+</sup>CD66b<sup>+</sup>表示中性粒细胞群,分析不同标本(外周血、胃癌、癌旁及正常胃组织)中性粒细胞占CD45<sup>+</sup>白细胞的比例。

### 1.5 免疫组织化学染色

将胃癌组织、癌旁组织及正常胃组织进行石蜡包埋,制成切片,厚约4 μm;二甲苯脱蜡2次,每次10 min,酒精梯度水化各5 min;EDTA进行抗原修复后,用3%过氧化氢溶液去除内源性过氧化物酶;用1%BSA封闭,37℃,孵育1 h;加入鼠抗人CD15一抗,4℃过夜;复温后,PBS洗3次,每次5 min;加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗小鼠IgG,37℃,孵育1 h;PBS洗3次,每次5 min;用配好的DAB显色液进行显色;苏木精染细胞核。光学显微镜下观察染色结果,并对染成棕色的中性粒细胞进行计数,以平均每高倍镜视野(HPF)中的中性粒细胞数量来表示。

### 1.6 胃癌组织和正常胃组织培养上清的制备

分别取1 cm×1 cm大小的胃癌组织和正常胃组织块,放入含1 mL完全RPMI1640培养基的24孔板中,置于37℃的CO<sub>2</sub>孵箱中,培养24 h。收集胃癌组织培养上清和正常胃组织培养上清,置于-20℃冰箱中,备用。

### 1.7 分离外周血中性粒细胞及T淋巴细胞

取健康成人外周血,加入到淋巴细胞分离液上,2 000 r/min,加减速调零,离心20 min。收集白膜层和最下层细胞,用红细胞裂解液裂解最下层细胞,即得中性粒细胞;用PBS洗涤白膜层细胞2次后,用CD3磁珠分选试剂盒分选,即得CD3<sup>+</sup>T细胞。

### 1.8 细胞共培养及检测

取分离的中性粒细胞,用胃癌组织培养上清刺激12 h,得

到的中性粒细胞作为胃癌组织培养上清诱导的条件性中性粒细胞(GCSI-CN<sub>s</sub>),同时用同一胃癌患者的正常胃组织培养上清刺激的中性粒细胞作为对照(normal gastric tissue culture supernatants induced- conditioned neutrophils, NCSI-CN<sub>s</sub>)。收集上清刺激后的细胞,按1:1的比例与CFSE标记的T细胞共培养,以T细胞单独培养孔作为阴性对照,以加入PHA的T细胞培养孔作为阳性对照;72 h后,收集细胞。用PE-Cy7标记的抗人CD3和PE标记的抗人CD66b抗体对细胞进行染色,上流式仪检测。

### 1.9 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用Graphpad Prism5统计软件,胃癌患者外周血和健康成人外周血中性粒细胞频率的比较采用独立样本t检验,同一胃癌患者不同类型胃组织(胃癌、癌旁、正常胃组织)两两之间的比较及T细胞增殖实验采用配对样本t检验。

## 2 结果

### 2.1 胃癌患者与健康成人外周血中性粒细胞频率检测及分析

外周血流式分析结果显示,胃癌患者外周血中性粒细胞比例明显高于健康成人(78.1% vs 66.6%,  $P < 0.01$ ,图1)。提示中性粒细胞可能在胃癌免疫的外周应答中发挥一定的作用。

### 2.2 胃癌患者不同类型胃组织中中性粒细胞的频率检测及分析

对不同类型胃组织的流式结果分析发现:胃癌组织中的中性粒细胞的频率(5.88%)显著高于癌旁组织(3.34%,  $P <$

0.05)和正常胃组织(3.06%,  $P < 0.05$ ,图2)。说明中性粒细胞特异性地在胃癌微环境中浸润增高,提示中性粒细胞在胃癌微环境中发挥了一定的潜在作用。

### 2.3 胃癌患者不同类型胃组织中中性粒细胞的原位检测及分析

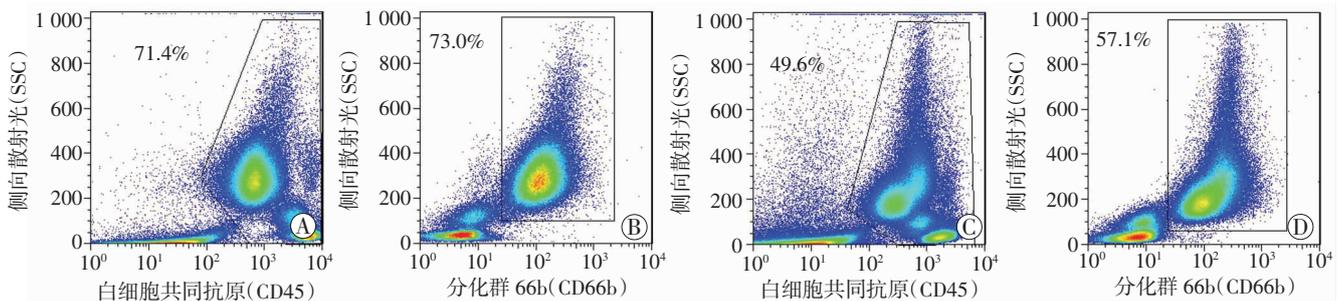
对胃癌组织、癌旁组织和正常胃组织中CD15<sup>+</sup>中性粒细胞进行免疫组织化学染色,图3中棕色所示为中性粒细胞,可见胃癌组织中中性粒细胞的数量(44/HPF)明显多于癌旁(19/HPF,  $P < 0.05$ )和正常胃组织(20/HPF,  $P < 0.05$ )。

### 2.4 胃癌患者外周血中及胃组织浸润的中性粒细胞的表型分析

对胃癌患者外周血及胃组织单细胞悬液进行流式染色,所染抗体为抗人CD45、CD66b、CD16及CD62L抗体,分析流式结果发现:各种标本中的CD66b<sup>+</sup>中性粒细胞主要为CD16<sup>bright</sup>CD62L<sup>bright</sup>细胞,其占外周血、胃癌组织、癌旁及正常胃组织中中性粒细胞的比例分别为96.7%、95.2%、94.1%和94.5%,各组数据无统计学差异。通过分析流式数据,我们推测,在胃癌患者外周血中及胃组织浸润的中性粒细胞可能主要为成熟的分叶核粒细胞。

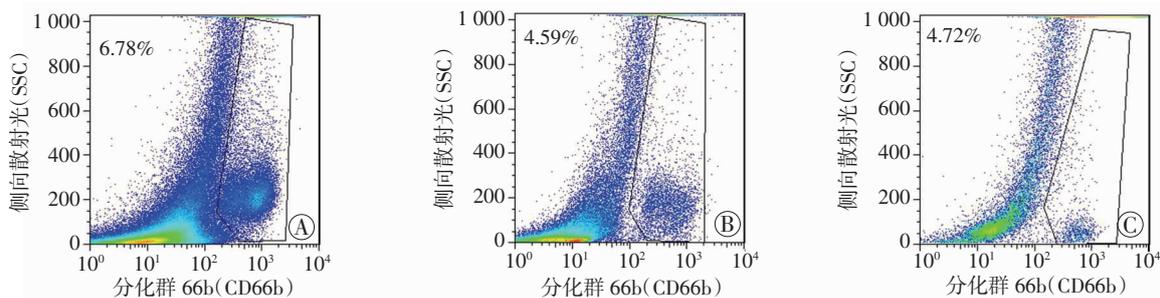
### 2.5 胃癌组织培养上清诱导的条件性中性粒细胞对T细胞功能的影响

通过对共培养体系流式检测结果分析,发现相较于正常胃组织培养上清,胃癌组织培养上清刺激后的中性粒细胞抑制了T细胞的增殖( $P < 0.01$ ,图4)。



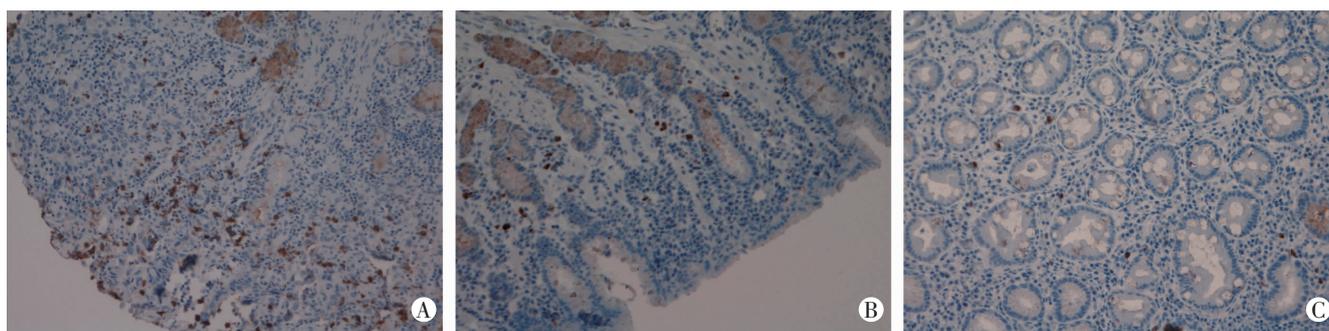
A:胃癌患者外周血CD45<sup>+</sup>白细胞;B:胃癌患者外周血CD66b<sup>+</sup>中性粒细胞;C:健康成人外周血CD45<sup>+</sup>白细胞;D:健康成人外周血CD66b<sup>+</sup>中性粒细胞

图1 胃癌患者和健康成人外周血中性粒细胞的频率分析

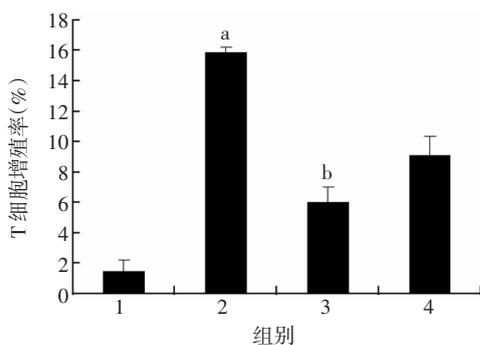


A:胃癌组织;B:癌旁组织;C:正常胃组织

图2 胃癌患者不同类型胃组织中CD66b<sup>+</sup>中性粒细胞流式分析



A:胃癌组织;B:癌旁组织;C:正常胃组织

图3 胃癌患者不同类型胃组织中 CD15<sup>+</sup> 中性粒细胞免疫组织化学染色观察 (×200)

1: 阴性对照;2: 阳性对照;3: T 细胞与胃癌组织培养上清刺激后的中性粒细胞共培养;4: T 细胞与正常胃组织培养上清刺激后的中性粒细胞共培养 a:  $P < 0.01$ , 与阴性对照比较; b:  $P < 0.01$ , 与 T 细胞与正常胃组织培养上清刺激后的中性粒细胞比较

图4 条件性中性粒细胞对 T 细胞功能的影响

### 3 讨论

在肿瘤发生、发展过程中,肿瘤微环境会发生一系列复杂的免疫应答反应,并伴有多种免疫细胞的浸润,其中中性粒细胞占了很大的比例<sup>[7]</sup>。Fridlender 等<sup>[9]</sup>的研究表明,在肿瘤微环境中存在着 N1 型(抑瘤)和 N2 型(促瘤)两种肿瘤相关中性粒细胞。N1 表型的中性粒细胞,其与免疫激活相关的细胞因子及趋化因子表达增加,而与免疫抑制相关的分子如精氨酸酶表达降低,因此具有更强的肿瘤杀伤作用<sup>[9]</sup>。N2 表型的中性粒细胞则可以通过分泌血管生成因子<sup>[10]</sup>和基质降解酶类<sup>[3]</sup>来抑制机体的抗肿瘤免疫反应<sup>[11]</sup>,进而发挥促进肿瘤生长的效应。

目前关于胃癌与中性粒细胞的研究主要集中在肿瘤相关中性粒细胞与胃癌预后的关系上。在早期胃癌患者中,外周血中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil/lymphocyte ratio, N/L)低组生存率要明显高于 N/L 值高组<sup>[12]</sup>。此外,肿瘤浸润中性粒细胞的数量跟胃癌淋巴结转移、远隔器官转移及肿瘤 UICC 分期正相关,且是胃癌总生存率的一个独立预测因素<sup>[13]</sup>。

本研究发现,胃癌患者外周血中的中性粒细胞比例是明显高于正常成人的,并且胃癌微环境中浸润的

中性粒细胞数量也是高于癌旁和正常胃组织的,说明中性粒细胞可能在胃癌免疫中发挥着重要的作用。那么,在胃癌患者外周血及胃癌微环境中存在的这一群中性粒细胞与发挥抗炎作用的中性粒细胞在表型和功能上是否存在不同呢?文献<sup>[14]</sup>报道,通过给志愿者静注 LPS 诱导急性系统性炎症反应,3 h 后分离外周血中的中性粒细胞,通过流式染 CD62L 和 CD16,发现受试者外周血中的中性粒细胞可以分为 3 群:CD16<sup>dim</sup> CD62L<sup>bright</sup> 的杆状核中性粒细胞、CD16<sup>bright</sup> CD62L<sup>bright</sup> 的分叶核中性粒细胞及 CD16<sup>bright</sup> CD62L<sup>dim</sup> 的多分叶核中性粒细胞,且三群细胞的功能也不尽相同。受此启发,我们用同样的标志检测了胃癌患者外周血及不同类型胃组织中的中性粒细胞的表型,发现其中的中性粒细胞主要表现为 CD16<sup>bright</sup> CD62L<sup>bright</sup>,据此推测在胃癌患者外周血中及胃组织浸润的中性粒细胞可能主要为成熟的分叶核粒细胞。那么,这群中性粒细胞的功能又如何呢?体外实验发现,相较于正常胃组织培养上清,胃癌组织培养上清刺激后的中性粒细胞可以抑制 T 细胞的增殖,说明胃癌微环境中的中性粒细胞可能通过抑制 T 细胞功能而发挥一定的“促瘤”作用。我们前期研究也发现,相对于健康成人外周血,胃癌患者外周血及胃癌组织中 CD3<sup>+</sup> T 细胞的数量是明显降低的<sup>[15]</sup>,这与我们体外实验结果所得结论一致。由于中性粒细胞寿命较短且较脆弱,以及实验标本取之不易,分选胃组织中的中性粒细胞有一定的难度,因此,我们没有分选胃癌组织中的中性粒细胞来验证其表型及其免疫抑制功能;在后期的实验中,我们将完善上述实验,并进一步探讨胃癌微环境中的中性粒细胞是通过怎样的机制来影响 T 细胞的功能以及主要影响的是哪一亚群的 T 细胞。

总之,胃癌相关中性粒细胞在胃癌免疫中发挥着重要作用。全面而细致地研究胃癌相关中性粒细胞促瘤或抑瘤作用及其机制,对于引导免疫系统发挥抗肿瘤作用至关重要,也可为寻找胃癌治疗新靶点提供科学依据。

## 参考文献:

- [1] Smith J A. Neutrophils, host defense, and inflammation: a double-edged sword [J]. *J Leukoc Biol*, 1994, 56(6): 672-686.
- [2] Pham C T. Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(7): 541-550.
- [3] Piccard H, Muschel R J, Opdenakker G. On the dual roles and polarized phenotypes of neutrophils in tumor development and progression [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2012, 82(3): 296-309.
- [4] Hartgrink H H, Jansen E P, van-Grieken N C, et al. Gastric cancer [J]. *Lancet*, 2009, 374(9688): 477-490.
- [5] Jemal A, Bray F, Center M M, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [6] Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance [J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(4): 263-274.
- [7] Jensen H K, Donskov F, Marcussen N, et al. Presence of intratumoral neutrophils is an independent prognostic factor in localized renal cell carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(28): 4709-4717.
- [8] Fridlender Z G, Albelda S M. Tumor-associated neutrophils: friend or foe? [J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(5): 949-955.
- [9] Fridlender Z G, Sun J, Kim S, et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN [J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(3): 183-194.

- [10] Shojaei F, Singh M, Thompson J D, et al. Role of Bv8 in neutrophil-dependent angiogenesis in a transgenic model of cancer progression [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(7): 2640-2645.
- [11] Schmielau J, Finn O J. Activated granulocytes and granulocyte-derived hydrogen peroxide are the underlying mechanism of suppression of t-cell function in advanced cancer patients [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(12): 4756-4760.
- [12] Hirashima M, Higuchi S, Sakamoto K, et al. The ratio of neutrophils to lymphocytes and the phenotypes of neutrophils in patients with early gastric cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1998, 124(6): 329-334.
- [13] Zhao J J, Pan K, Wang W, et al. The prognostic value of tumor-infiltrating neutrophils in gastric adenocarcinoma after resection [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33655.
- [14] Pillay J, Kamp V M, van-Hoffen E, et al. A subset of neutrophils in human systemic inflammation inhibits T cell responses through Mac-1 [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(1): 327-336.
- [15] Zhuang Y, Peng L S, Zhao Y L, et al. CD8(+) T cells that produce interleukin-17 regulate myeloid-derived suppressor cells and are associated with survival time of patients with gastric cancer [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(4): 951-962. e8.

(收稿:2013-09-26;修回:2013-11-05)

(编辑 吴培红)

(上接 582 页)

## 2 讨论

神经纤维瘤病 I 型 (neuro fibromatosis, NF-I) 又称 Von Recklinghausen 综合征, 是一种常染色体显性遗传性疾病, 主要表现为皮肤的牛奶咖啡斑和多发性神经纤维瘤, 神经系统损害多因神经纤维瘤对邻近组织及相关结构的压迫引起相应的症状与体征, 鲜见合并先天性脑膜脑膨出者, 尤其罕见并发眶内脑膜脑膨出<sup>[1]</sup>。Hekmatnia 等<sup>[2]</sup>曾报道 1 例 NF-I 型枕骨发育畸形脑膜脑膨出病例。鲜有蝶骨大翼缺损, 眶上裂异常伴脑膜脑膨出<sup>[3]</sup>。Suwanwela 等<sup>[4]</sup>将眶内脑膜脑膨出分为两型: I 型为脑膜脑膨出于眶内或鼻根部, 可伴发视神经纤维瘤或颅骨缺损; II 型为脑膜脑膨出于眶后部, 多经视神经孔或眶上裂膨出, 以搏动性突眼和眼球运动障碍为突出表现, 搏动性突眼而无杂音有别于动静脉海绵窦漏<sup>[5]</sup>。CT 扫描提示眶骨缺失及眶内软组织块影<sup>[6]</sup>是诊断的可靠依据。本例从临床表现及影像学检查结果看既有 I 型的临床特点, 又有 II 型的颅骨发育异常特征, CT 检查发现蝶骨大翼部分缺损, 属于混合型眶内脑膜脑膨出, 是为对 Suwanwela 分型的补充。

本病的治疗手段以手术修补为主<sup>[7]</sup>。手术的关键在于将膨出的脑组织还纳入眶内, 解除疝人物对视神经及眼球的压迫, 修补颅底及眼眶的缺损, 恢复眶后壁的解剖结构。由于颅底骨质缺损的形态、部位各异, 多数患者脑膜脑膨出组织与缺损周围粘连紧密, 致分离困难, 加上进入眼眶的神经、血管多从眶上裂及视神经管进入眼眶, 增加了手术难度。本例采用经硬膜内外联合入路, 即开颅后经硬膜内锐性分离脑组织与硬脑膜在疝出口处的粘连, 将其从眶内完整牵出、还纳, 再经硬膜外分

离粘连, 充分显露蝶骨大翼缺损边缘, 根据缺损大小及形状, 修剪合适的钛网, 修复缺损的蝶骨大翼, 阻止脑膜及脑组织向眶内疝出, 恢复眶后壁的解剖结构。术后 1 年随访, 效果良好。患者搏动性包块消失, 眶周的胀痛症状消失, 面部容貌及右眼功能得到明显改善, 复查头颅 CT 示眼眶部的解剖结构恢复良好。

## 参考文献:

- [1] 李丽, 宋国祥, 田文芳, 等. 神经纤维瘤病合并眶内脑膜脑膨出 10 例 [J]. *中华眼科杂志*, 1994, 30(6): 459-460.
- [2] Hekmatnia A, Ghazavi A, Marashi-Shoostari M J, et al. Imaging Review of Neurofibromatosis: Helpful Aspects for Early Detection [J]. *Iran J Radiol*, 2011, 8(2): 63-74.
- [3] 杨振海, 赵毅凯, 尹智, 等. 神经纤维瘤病眼眶受累影像学诊断 (附 12 例分析) [J]. *放射学实践*, 2010, 25(5): 497-500.
- [4] Suwanwela C, Suwanwela N. A Morphological classification of sincipital encephalomeningoceles [J]. *J Neurosurg*, 1972, 36(2): 201-211.
- [5] 宁俊恩, 冯淑珍. 眼眶脑膜脑膨出误诊 3 例 [J]. *中国实用眼科杂志*, 2002, 20(2): 136.
- [6] 鲜军舫, 田其昌, 兰宝森, 等. 神经纤维瘤病的眶面部影像学表现: 附 11 例报告 [J]. *中华放射学杂志*, 1996, 30(3): 189-192.
- [7] Dadlani R, Sadanand V, Ghosal N, et al. Congenital giant plexiform neurofibroma with occipital calvarial dysplasia in association with meningoencephalocele in neurofibromatosis Type 1 and segmental neurofibromatosis, report of 2 cases [J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2013, 12(5): 458-464.

(收稿:2014-01-05;修回:2014-02-10)

(编辑 王小寒)