

基础研究

嗅鞘细胞体外诱导神经干细胞分化的实验研究

闫慧博¹,金大地¹,张忠民¹,鲁凯伍²,江建明²

(1 南方医科大学第三附属医院脊柱外科 510630 广州市;

2 南方医科大学南方医院脊柱骨病外科 510515 广州市)

【摘要】目的:研究嗅鞘细胞(olfactory ensheathing cells, OECs)体外诱导神经干细胞(neuron stem cells, NSCs)分化的作用。**方法:**分别从 3 月龄 SD 大鼠的嗅球和新生 SD 大鼠的海马中分离 OECs 及 NSCs,进行体外分离、培养及免疫荧光鉴定。构建 OECs 与 NSCs 共培养体系,分为 3 组,纯化培养的 OECs+NSCs 组,未纯化培养的 OECs+NSCs 组,单纯 NSCs 组。共培养后 4、8、12d 行神经元特异性烯醇化酶(NSE)免疫荧光鉴定,统计 NSCs 分化为神经元的百分率。**结果:**经 P75 和 S100 双重免疫荧光鉴定所培养的细胞为 OECs,经巢蛋白抗体(Nestin)免疫荧光鉴定所培养的细胞为 NSCs。荧光显微镜观察可见被特异性烯醇化酶-异硫氰酸荧光素(NSE-FITC)荧光标记的神经元大多为多极神经元,少部分为双极神经元或假单极神经元,带有较长的轴突。在各时间点,共培养组中可见到多个神经元聚集生长,神经元数目明显多于单纯 NSCs 培养组,而共培养组之间无明显差别。共培养后 12d,共培养组中 NSCs 分化为神经元的百分率大约为 23%,而单纯 NSCs 培养组约为 4%。在各时间点,共培养组神经元的转化率与单纯 NSCs 培养组神经元的转化率之间有显著性差异($P<0.001$),而共培养组之间的差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**OECs 在体外能够有效诱导 NSCs 向神经元转化。

【关键词】嗅鞘细胞;神经干细胞;神经元;共培养;诱导分化

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2009.06.16

中图分类号:Q813.1 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2009)-06-0464-06

In vitro study of differentiation of neural stem cells induced by olfactory ensheathing cells/YAN Hui-bo, JIN Dadi, ZHANG Zhongmin, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2009, 19 (6):464~469

【Abstract】 Objective:To study the effect of differentiation of neural stem cells induced by olfactory ensheathing cells in vitro.**Method:**Olfactory ensheathing cells(OECs) and neuron stem cells(NSCs) were isolated from olfactory bulb of the 3-month-old SD rats' and the hippocampus of neonatal SD rat respectively, cultured and identified by immunofluorescence in vitro. The co-cultured system of OECs with NSCs were established and divided into three groups, purified OECs+NSCs group, unpurified OECs+NSCs group, simple NSCs group. Neuron-specific enolase(NSE) immunofluorescence identification and the neuron differentiation ratio from neural stem cells were performed at 4, 8, 12 days respectively after co-culture.**Result:**The OECs were identified from cultured cells by double immunofluorescence with P75 and S100, and NSCs were identified by immunofluorescence with Nestin. All of neurons were labeled by NSE-FITC fluorescence in fluorescence microscope, most of them were multi-polar neurons, and less were bipolar or pseudounipolar neurons with a long axon. At each time point, some assembling neurons were observed in co-culture group, the number of neurons in co-culture group were obviously more than those in NSCs group, while there is no significant difference with respect to proportion of neurons among co-culture groups. At 12th days after co-culturing, the proportion of differentiation into neurons from NSCs was about 23% in co-culture group and 4% in simple NSCs group. At each time point, there was no significant difference ($P>0.05$) of the neurons differentiation ratio between co-culture groups, however significant difference existed between co-culture group and NSCs group ($P<0.001$).

Conclusion:Olfactory ensheathing cells can effectively induce neural stem cells differentiation into neurons in

基金项目:国家自然科学基金(30471761); 广东省自然科学基金(04020415)

第一作者简介:男(1975-),医学博士,研究方向:脊髓损伤的修复研究

电话:(020)62784380 E-mail:yhb2096@163.com

通讯作者:鲁凯伍

vitro.

【Key words】 Olfactory ensheathing cells; Neural stem cells; Neuron; Co-culture; Induce differentiation

【Author's address】 Spinal Surgery, No.3 Affiliated Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, 510630, China

神经干细胞(neuron stem cells, NSCs)是一种具有自我更新及多分化潜能的多能干细胞。能分化成神经元、星形胶质细胞,少突胶质细胞等^[1],具有低免疫源性、自我更新、多分化潜能、良好的组织融合性、迁徙能力、长期存活等特点,是修复中枢神经系统损伤的理想移植材料。但其在体内自然分化为神经元的比例仅占 1%^[2],严重制约了移植后对脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)的修复效果。诱导 NSCs 向神经元分化对今后 SCI 损伤的干细胞移植治疗具有重要意义。本研究拟在体外将嗅鞘细胞(olfactory ensheathing cells, OECs)与 NSCs 共培养,利用嗅鞘细胞自身可分泌多种神经营养因子的特性对 NSCs 进行生物诱导,观察 OECs 是否可以提高 NSCs 向神经元的转化率,为今后应用细胞联合移植治疗 SCI 提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

3 月龄雄性 SD 大鼠、新生 24h 内 SD 大鼠各 5 只,由南方医科大学实验动物中心提供。

1.2 材料与试剂

胎牛血清(FBS)、DMEM-F12 培养基(均为 GIBCO 产品),多聚赖氨酸(Poly-L-Lysine, PLL)、阿糖胞苷(arabinoside cytosine, Ara-c)、牛垂体提取液(bovine pituitary extract, BPE)、Forskolin、胰蛋白酶、表皮生长因子(EGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、5-溴尿嘧啶(BrdU)(均为 Sigma 产品),P75 抗体(Santa Cruz 产品),S100 抗体、巢蛋白抗体(Nestin,兔抗大鼠)、神经元特异性烯醇化酶(NSE,兔抗大鼠)、B27 添加剂、羊抗兔 Cy3-IgG、羊抗兔异硫氰酸荧光素(FITC)-IgG、SABC 免疫组化试剂盒(均为武汉博士德公司),25cm²塑料培养瓶,嵌套式培养皿(Transwell)(Corning 产品)。

1.3 OECs 原代培养、纯化及鉴定

参照笔者已发表的 OECs 原代培养及鉴定方法^[3]:无菌条件下完整分离 5 只 3 月龄 SD 大鼠双侧嗅球,置于 4℃ D-Hanks 液中冰浴,解剖显微

镜下剥除嗅球表面的软脑膜和血管膜(不可过分剥离,避免其下富含嗅鞘细胞的神经层和颗粒层被一同剥离),D-Hanks 液清洗嗅球 2 次,显微剪机械分离嗅球成 1mm³ 组织小块,用 0.125%胰酶于 5%CO₂、37℃孵箱中消化 20min,直至悬液浑浊不清(期间火焰抛光滑滴管吹打 20~25 次,注意勿产生过多气泡),用 10% FBS 完全培养基中止消化 5min。经 200 目钢网滤过组织残渣,收取细胞悬液,1000r/min 离心 10min,弃上清加入无血清 DMEM-F12 培养基清洗,再次离心(同上)。最后用 10% FBS 完全培养基重悬细胞成单细胞悬液,以 1×10⁶ 个/ml 密度接种于 25cm² 培养瓶和 6 孔培养板中。采用改良 Nash 差速贴壁法和阿糖胞苷(Ara-c)化学抑制纯化培养 OECs。最后以 S100 和 P75 兔抗血清按 SABC 法进行细胞免疫组化/免疫荧光鉴定。OECs 通过免疫荧光鉴定可见细胞膜发出红色荧光(Cy3)/黄绿色荧光(FITC),证实为 OECs。将荧光染色细胞置于荧光显微镜下观察,随机选取 20 个视野(0.45cm²)计算阳性细胞百分率,取平均值,即为 OECs 的纯化率。

1.4 NSCs 的分离、培养、传代及鉴定

取出生 24h 内的 SD 大鼠 5 只无菌条件下打开颅脑组织,仔细剔除脑膜和血管组织,在大小脑交界处将大脑皮质向上卷起,可见紧贴皮质下的条状海马,分离钳取海马组织,迅速置于 Hank's 缓冲液中,用 Hank's 液漂洗 3 次,并移至预先加入适量 DMEM-F12 培养液的小瓶中。将组织块剪成 1mm³ 左右的小块,用抛光的巴斯德滴管吹打呈细胞匀浆状,用 200 目滤网过滤细胞匀浆制成单细胞悬液。经 0.4%台盼蓝染色观察细胞存活率,调整细胞密度为 5×10⁵ 个/ml,接种于 25cm² 培养瓶中,同时加入适量的条件培养液[无血清细胞条件培养液:bFGF(20ng/ml)+EGF(20ng/ml)+B27(2ml/100ml)+DMEM-F12],放入 37℃、5%CO₂、80%湿度培养箱培养。隔 2~3d 换半量培养液一次。原代培养 7~9d 后,待神经干细胞球长满细胞培养瓶,且大小基本一致时,用吸管在原代培养瓶中轻轻吹打,使沉在瓶底而没有贴壁的神神经球浮起,并将所有培养液移入离心管内,1000r/min×

5min 收集,弃半量上清液后用尖头抛光的小吸管轻轻吹打,机械分离神经球为单细胞悬液,台盼蓝拒染试验计数 10 个显微镜视野下活细胞数,取平均值计算细胞存活率,以 5×10^5 个/ml 的密度分瓶,传代培养,每 2~3d 换半量培养液一次。

将 Brdu 溶于条件培养基,过滤除菌后种入原代和第 3 代的单细胞悬液中,Brdu 终浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$,培养 5d 待新的神经球形成后,将神经球转移至涂布 0.1%多聚赖氨酸的盖玻片上,放入 37°C 、5% CO_2 、80%湿度条件下培养 2h。取出盖玻片,用 0.01M PBS(pH 7.2)洗涤,行 Brdu 细胞免疫荧光鉴定。Brdu 在 DNA 合成时可替代胸腺嘧啶标记细胞核,并随细胞分裂增殖后进入子代细胞,因此单个神经干细胞增殖为神经干细胞球时表现出 Brdu 表达阳性。

取原代培养和第 3 代培养的神经球滴在涂布 0.1%多聚赖氨酸的无菌盖玻片上, 37°C 、5% CO_2 、80%湿度(HR)培养箱孵育 2h 后,取出盖玻片,用 0.01M PBS(pH 7.2)洗涤,行 Nestin 神经干细胞免疫组化及免疫荧光鉴定,Nestin 免疫组化染色下的神经干细胞球颜色深染,荧光显微镜下神经球发绿色荧光。

将 NSCs 培养液中的 bFGF、EGF 去除,加入 10% FBS,将神经球滴在涂布 0.1%多聚赖氨酸的无菌盖玻片上, 37°C 、5% CO_2 、80%湿度(HR)培养箱孵育,观察其分化情况,并于 7d 后取出盖玻片,用 0.01M PBS(pH 7.2)洗涤,行 NSE 免疫组化鉴定,分化的阳性神经元胞浆深染,胞核淡染且带有长的轴突。将染色细胞于明视野和相差显微镜下观察,随机选取 20 个视野(0.45cm^2),计算阳性细胞百分率,取平均值,即为 NSCs 自然分化为神经元的比率。

1.5 OECs 与 NSCs 共培养、诱导分化

共分 3 组:纯化培养的 OECs+NSCs 组(A 组),未纯化培养的 OECs+NSCs 组(B 组),单纯 NSCs 组(C 组)。将纯化培养的 OECs 与未纯化的 OECs 以 1×10^6 个/ml 密度各接种于 4 个嵌套式培养皿上层的半透膜上,半透膜为直径 12mm、孔径 $0.4 \mu\text{m}$ 的聚碳酸酯膜,只允许条件培养基(10%FBS+20 $\mu\text{mol/L}$ Forskolin+20 $\mu\text{g/L}$ BPE+DF12)和 OECs 分泌的蛋白因子通过半透膜,细胞无法通过。将分离培养的第 3 代 NSCs 球接种于 12 孔板的 4 个孔中,将嵌套式培养皿置于 12 孔板中,每组 4 个

孔,完成 OECs 与 NSCs 共培养体系;C 组将分离培养的第 3 代 NSCs 球接种于 12 孔板的 4 个孔中。每 2~3d 半量换液,共培养后 4、8、12d,每组 4 个孔均行神经元 NSE 免疫荧光鉴定。经 NSE-FITC 免疫荧光鉴定呈现绿色荧光的细胞即为阳性神经元。将荧光标记细胞于荧光相差显微镜下观察,每组随机从 4 个孔选取 10 个视野(0.45cm^2),计算阳性细胞百分率,取平均值,即为 NSCs 分化为神经元的比率。

1.6 统计学分析

分析软件为 SPSS 13.0。所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用重复测量数据的方差分析和 LSD 法进行多重比较,显著性水平 α 定为 0.05。

2 结果

2.1 OECs 原代培养、纯化及免疫组化/荧光鉴定

原代培养的 OECs 主要呈双极、三极和煎蛋样三种形态,偶见多极状生长;细胞胞体较小,梭形、三角形或椭圆形为主,立体感强,折光性好,发亮;细胞突起纤细且长相互交织成网状;S100 与 Cy3 共轭使 OECs 膜发出红色荧光,P75 与 FITC 共轭使 OECs 膜发出绿色荧光(图 1、2)。纯化培养的 OECs 纯度可达 93%左右。

2.2 NSCs 的分离、培养、传代及免疫鉴定

自新生大鼠海马分离的单个细胞呈圆形,大小近似,细胞存活率 90%以上,培养 2~3d 后大部分细胞死亡,少数细胞进入有丝分裂期,镜下观察有明显的细胞核分裂相,分裂的细胞逐渐形成细胞团。这些细胞团体积较小,折光性强,无明显的突起,多呈褐色,边界清楚,边缘可见较小毛刺,称“神经球”。神经球经传代后重新制备成单细胞悬液,培养 2~3d 后可见悬浮在培养液中的单个细胞出现分裂现象,并形成小细胞团,培养 5~6d 可见培养液中有散在大小不等的神经球,7d 时可形成较大的神经球,细胞边界清楚,折光性强(图 3)。表明自海马分离的细胞具有自我增殖能力。

标记性蛋白 Nestin 在原代及第 3 代培养的神经球均有表达,神经球发绿色荧光(图 4),表明分离培养的神经球具有胚胎源性。原代培养神经球经 Brdu 共孵育 5d 后,75%左右的细胞 Brdu 表达阳性,细胞核着色,第 3 代神经球亦有 65%左右的细胞 Brdu 表达阳性。提示分离培养的细胞是神经干细胞并具有分裂增殖能力。

培养液中除去 bFGF、EGF, 加入 10% 胎牛血清, 12h 后细胞贴壁, 细胞团在贴壁 24h 后就可明显观察到细胞团中细胞自细胞团向外伸出突起开始向四周迁移(图 5), 培养 7d 后神经球内细胞逐渐向外迁出, 相互之间形成网络联系。12d 后免疫组化染色观察, 只有少部分细胞表达 NSE(图 6), 大部分细胞分化为星形胶质细胞, NSCs 自然分化成神经元的比率 <5%。

2.3 OECs 与 NSCs 共培养、诱导分化

荧光显微镜观察可见被 NSE-FITC 荧光标记的神经元发出绿色荧光, 大多为多极神经元, 少部分为双极神经元或假单极神经元, 带有较长的轴突(图 7)。A 组(图 8)、B 组中可见到多个神经元聚集生长, 神经元数目明显多于 C 组, 而 A 组与 B 组之间未见明显差别。A、B、C 各组组内第 8、12 天时 NSCs 分化成神经元的分化率(神经元的转化率)与第 4 天时比较有一定的提高($P < 0.01$), 但第 12 天与第 8 天比较无显著性差异($P > 0.05$); 而

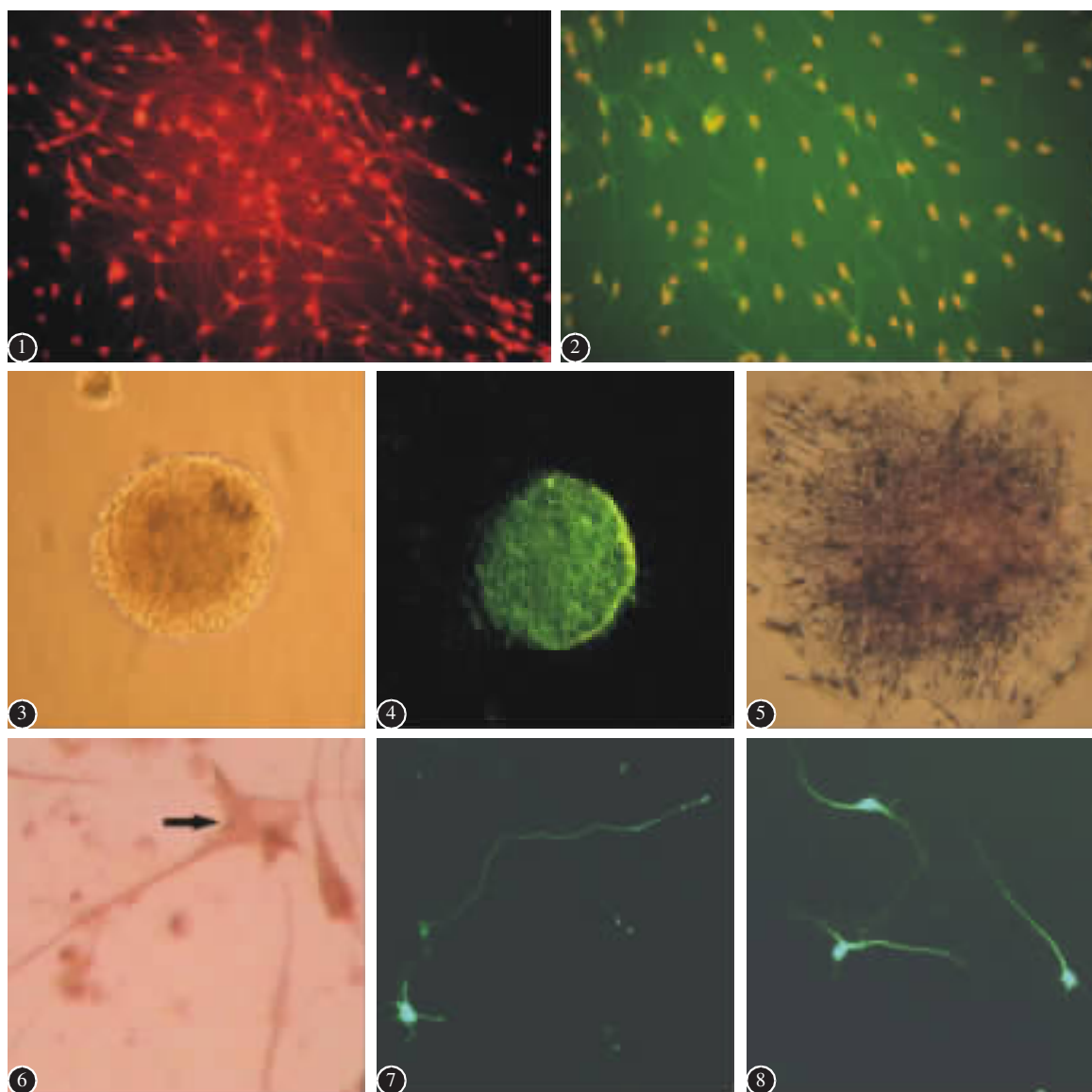


图 1 纯化培养 14d 时的嗅鞘细胞 (OECs), S100 标记为阳性, 细胞膜标记为红色 (免疫荧光, Cy3, EB 标记细胞核 $\times 200$) 图 2 纯化培养 14d 时的 OECs, P75 标记为阳性, 细胞膜标记为绿色 (免疫荧光, FITC, EB 标记细胞核 $\times 200$) 图 3 光镜下第 3 代神经干细胞球折光性强, 无明显的突起, 边界清楚, 边缘可见较小毛刺 ($\times 200$) 图 4 第 3 代神经干细胞球 Nestin 免疫荧光标记为阳性, 神经球发出绿色荧光 (FITC, 绿色荧光 $\times 200$) 图 5 第 3 代神经干细胞球贴壁 24h 后开始迁徙、分化 (Nestin $\times 400$) 图 6 第 3 代神经干细胞在诱导分化第 12 天时自然分化成神经元, 箭头所示神经元轴突 (NSE 免疫组化 $\times 400$) 图 7 C 组第 3 代神经干细胞在诱导分化第 12 天时神经元 NSE 免疫荧光标记为阳性, 神经元发出绿色荧光 (免疫荧光, FITC $\times 200$, 下同) 图 8 A 组第 3 代神经干细胞在诱导分化第 12 天时可见聚集生长的神经元

同一时间点组间比较, A、B 组神经元的转化率明显高于 C 组 ($P<0.001$), A 组与 B 组比较无显著性差异 ($P>0.05$, 表 1)。

表 1 3 组 NSCs 分化为神经元的分化率 ($\bar{x}\pm s$, %, $n=10$)

	培养 4d	培养 8d	培养 12d
A 组	21.93 $\pm$ 2.49 ^{①②}	23.30 $\pm$ 1.83 ^{①②}	23.18 $\pm$ 1.64 ^{①②}
B 组	21.23 $\pm$ 1.68 ^②	23.48 $\pm$ 1.54 ^②	23.41 $\pm$ 1.14 ^②
C 组	3.81 $\pm$ 0.83	4.31 $\pm$ 0.75	4.28 $\pm$ 0.68

注: A 组为纯化 OECs+NSCs 组, B 组为未纯化 OECs+NSCs 组, C 组为 NSCs 组; ①与 B 组比较 $P>0.05$, ②与 C 组比较 $P<0.001$

3 讨论

CNS 损伤后修复与再生一直是神经科学领域研究的重点和难点, 目前尚无有效的治疗方法。大量实验和临床研究表明^[4-6], 移植 OECs 可促进近端轴突再生并穿过损伤部位到达远端靶细胞, 部分恢复神经功能。OECs 是唯一可跨越周围神经系统和中枢神经系统的细胞, 兼具星形胶质细胞和雪旺细胞双重特性的成鞘细胞。OECs 在体内可持续分裂、增殖, 不仅诱导神经轴突再生, 并可使损伤轴突再髓鞘化, 重建朗飞氏结, 恢复信号传导^[7], 兼具有保护、支持作用。OECs 还能分泌多种促进神经元发育、生长、分化、存活的营养因子, 如脑源性神经生长因子 (BDNF), 神经生长因子 (NGF), 神经营养素 3、4 (NT3、NT4), S100, 神经肽等^[8、9], 同时还可表达与细胞粘附和轴突生长相关的黏附分子如 Tenascin、N-CAM、Laminin 等^[10]。

NSCs 作为一种具有多种分化潜能的细胞群, 不仅能够大量增殖, 自我更新, 还可分化为星形胶质细胞、神经元和少突胶质细胞, 是理想的移植种子细胞。但 NSCs 在体内自然分化为神经元的比例仅占 1%, 而星形胶质细胞和少突胶质细胞分别占 31.2% 和 50.3%^[2], 严重影响 NSCs 移植后对脊髓损伤的修复效果, 因此诱导 NSCs 向神经元分化成为目前研究的热点。NSCs 定向诱导分化为神经元十分困难, 有学者采用药物或各种神经生长因子进行体外诱导取得了一定效果^[11、12], 但分化为神经元的比例各家报道差别很大。药物或神经因子体外诱导增加了实验的周期及成本, 同时亦不能将此方法完全复制到体内移植诱导中, 影响了 NSCs 移植在修复脊髓损伤中的应用。

为此, 本研究设想在体外将 OECs 与 NSCs 共培养, 利用 OECs 自身可分泌多种神经营养因子

的特性对 NSCs 进行长期生物诱导, 如果能提高 NSCs 向神经元的转化率, 则本方法可完全复制到体内脊髓修复当中, 节省时间、降低成本, 并且可以使 OECs 和 NSCs 优势互补, 增强 SCI 修复的效果。本研究结果证实了 OECs 在体外诱导 NSCs 可以明显提高其向神经元的转化率, 如果通过继续研究可以确定哪种神经因子或基因可以极大地促进 NSCs 向神经元转化或抑制其转化, 则可以构建含有该因子基因克隆或沉默该基因克隆的基因修饰 OECs, 进一步在体内提高神经元的转化率, 更好地修复 SCI, 为今后细胞联合移植提供了理论依据和新的思考角度。

4 参考文献

1. McKay R. Stem cells in the central nervous system[J]. Science, 1997, 276 (5309): 66-71.
2. Parr AM, Kulbatski I, Tator CH. Transplantation of adult rat spinal cord stem/progenitor cells for spinal cord injury [J]. Neurotrauma, 2007, 24(5): 835-845.
3. 闫慧博, 鲁凯伍, 江建明, 等. 大鼠嗅鞘细胞体外培养及免疫组化研究[J]. 中国临床解剖学杂志, 2006, 24(2): 186-189.
4. Sasaki M, Hains BC, Lankford KL, et al. Protection of corticospinal tract neurons after dorsal spinal cord transection and engraftment of olfactory ensheathing cells[J]. Glia, 2005, 53(4): 352-359.
5. Naghmeh KF, Geoffrey R, Ying L. Functional repair of the corticospinal tract by delayed transplantation of olfactory ensheathing cells in adult rats[J]. Neurosci, 2003, 23 (28): 9428-9434.
6. Rubèn López-Vales, Joaquim Forés, Xavier Navarro, et al. Olfactory ensheathing glia graft in combination with FK506 administration promote repair after spinal cord injury[J]. Neurobiology of Disease, 2006, 24(3): 443-454.
7. Sasaki M, Black JA, Lankford KL, et al. Molecular reconstruction of nodes of ranvier after remyelination by transplanted olfactory ensheathing cells in the demyelinated spinal cord[J]. Neurosci, 2006, 26(6): 1803-1812.
8. Ramón-Cueto A, Plant GW, Avila J, et al. Long-distance axonal regeneration in the transected adult rat spinal cord in promoted by olfactory ensheathing glia transplants [J]. J Neurosci, 1998, 18(10): 3803-3815.
9. Woodhall E, West AK, Chuah MI. Cultured olfactory ensheathing cells express nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, glia cell line-derived neurotrophic factor and their receptors [J]. Brain Res Mol Brain Res, 2001, 88 (1-2): 203-213.
10. Sonigra RJ, Brighton PC, Jacoby J, et al. Adult rat olfactory nerve ensheathing cells are effective promoters of adult

central nerves system neurite outgrowth in co-culture [J].
Glia, 1999, 25(300):256-269.

11. Watt FM, Hogan BLM. Out of eden: stem cells and their niches [J]. Science, 2000, 287(5457):1427-1430.

12. Hermanson O, Jepsen K, Rosenfeld MG. N-CoR controls

differentiation of neural stem cells into astrocytes [J]. Nature, 2002, 419(6910):934-939.

(收稿日期: 2008-12-04 修回日期: 2009-04-07)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 李伟霞)

(上接第 450 页)



图 1 胸椎 MRI 矢状位 T1 加权像示脊髓背侧硬膜外等信号梭状肿物, 肿物与脊髓之间可见低信号硬脊膜影 图 2 冠状位 T1 增强显示 T5~T10 梭形占位, 由两侧椎间孔向外生长, 呈均一强化 图 3 矢状位 T1 增强显示 T5~T10 梭形占位, 呈均一强化, 似有“鼠尾征” 图 4 轴位像 T1 增强显示肿物位于脊髓后、侧方, 脊髓受压向前移位, 肿物强化明显, 经椎间孔向外生长 图 5 术后 3 个月冠状位 T1 加权像显示肿瘤完整切除, 脊髓受压解除, 恢复正常形态 图 6 术后 3 个月矢状位 T2 加权像显示肿瘤完整切除, 脊髓受压解除, 恢复正常形态

参数成像, 是目前椎管内肿瘤的定位及定性诊断的最佳方法。椎管内硬膜外海绵状血管瘤在 T1 加权像上可呈等信号或稍高信号, T2 加权像上呈高信号, 增强常显示血管瘤明显均一强化; 脊柱 MRI 常显示椎管内硬膜外海绵状血管瘤位于椎管内脊髓后方硬膜外, 沿脊柱纵轴生长, 呈梭形或长椭圆形, 跨越多个脊柱节段, 累及范围较长, 边界清楚, 包膜完整, T2 矢状位显示病变与受压脊髓之间可见线状低信号的硬脊膜, 对定位诊断有重要的临床价值^[3]。本例患者脊柱 MRI 具有椎管内硬膜外海绵状血管瘤典型的影像学特征。但海绵状血管瘤的 MRI 表现特异性较少, 术前定性诊断比较困难, 常需要与转移瘤、淋巴瘤等疾病相鉴别^[3,4]。椎管内硬膜外海绵状血管瘤累及范围较长, 有匍行性生长的趋势, 呈“钳”状向前包绕脊髓, 同时部分患者可能伴发椎体血管瘤, 这些特点均有助于提示椎管内硬膜外海绵状血管瘤的诊断。

椎管内硬膜外海绵状血管瘤一旦临床诊断成立, 应尽早手术切除, 海绵状血管瘤多位于脊髓硬脊膜外背侧, 无粗大的供血动脉和引流静脉, 且包膜完整, 境界清楚, 与硬脊膜无明显粘连, 术中容易剥离, 故完整切除硬脊膜外海绵状血管瘤并不困难, 大多数病灶能够达到手术全切,

手术切除效果好^[1,2,5]。本例患者术后 3 个月时复查 MRI 示肿瘤完整切除, 脊髓受压解除, 恢复正常形态。

参考文献

1. Caruso G, Galarza M, Borghesi I, et al. Acute presentation of spinal epidural cavernous angiomas: case report [J]. Neurosurgery, 2007, 60(3):575-576.
2. Minh NH. Cervicothoracic spinal epidural cavernous hemangioma: case report and review of the literature [J]. Surgical Neurology, 2005, 64(1):83-85.
3. Andrea GD', Ramundo OE, Trillò G, et al. Dorsal foramenal extraosseous epidural cavernous hemangioma [J]. Neurosurg Rev, 2003, 26(4):292-296.
4. Lee JW, Cho EY, Hong SH, et al. Spinal Epidural Hemangiomas: Various types of MR imaging features with histopathologic correlation [J]. AJNR, 2007, 28(7):1242-1248.
5. Nagi S, Megdiche H, Bouzaïdi K, et al. Imaging feature of spinal epidural cavernous malformation [J]. J Neuroradiol, 2004, 31(3):208-213.

(收稿日期: 2009-02-26 修回日期: 2009-04-08)

(本文编辑 彭向峰)