论著

文章编号:1000-5404(2005)03-0244-03

原发性肺隐球菌病的光镜和超微结构观察

陈 康 (重庆医科大学应用技术学院病理学教研室,重庆 400050)

提 要:目的 探讨原发性肺隐球菌病(PC)的超微结构特点及其在PC诊断中的作用。**方法** 对2例外科手术切除的PC进行组织化学染色、光镜和透射电镜观察。**结果** 光镜观察见PC病变有非干酪性肉芽肿形成,作粘液卡红(MC)、过碘酸雪夫氏染色(PAS)和Grocott六胺银(GMC)染色发现新型隐球菌(CN)呈阳性染色。透射电镜观察见CN有细胞壁、细胞质和荚膜,细胞器不发达,未见细胞核,大部分细胞退变。**结论** 在活体组织内CN的超微结构不发达,电镜观察有助于对PC做出明确诊断及鉴别诊断。

关键词: 隐球菌病;超微结构;肺

中图法分类号: R446.8; R519.4 **文献标识码:** A

Microscopic and ultrastructural observation of primary pulmonary cryptococcosis

CHEN Kang (Department of Pathology, College of Applied Technology, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400050, China)

Abstract: Objective To investigate the ultrastructural features of primary pulmonary cryptococcosis (PC) and its roles in the pathologic diagnosis. **Methods** Two cases of PC were observed by light and electron microscopy and histochemical staining. **Results** The histopathological examination found cryptococcosis granuloma formation in the 2 cases, and the cryptococcous neoformans (CN) were detected in mucicarmine (MC), periodic acid-Schiff (PAS), and Grocot's methenamine-silver (GMS), respectively. Electron microscopy revealed that most of CN had a simple structure and a few organells. The cell wall, cytoplasm, and capsule could be seen, and part of them had nuclei. **Conclusion** The ultrastructure of CN is simple. Electron microscopic observation is helpful for the correct diagnosis and differential diagnosis of PC.

Key words: cryptococcosis; ultrastructure; lung

原发性肺隐球菌病(pulmonary cryptococcosis, PC)是由新型隐球菌(cryptococcus neoformans, CN)感染引起的一种非常少见的肺部真菌病[1],国内仅有少量报道[2]。由于缺乏特征性的临床表现和影像学特点,临床常误诊为肺肿瘤进行开胸探查。在光镜下隐球菌孢子不易识别,隐球菌肉芽肿的超微结构特点在国内少有报道。现对2例外科手术切除的PC进行光镜和透射电镜观察,探讨其超微结构特点以及电镜在PC诊断中的作用。

1 材料和方法

1.1 临床资料

例1,男性,46岁。临床表现为咳嗽咳痰、痰中带血丝、低热、痰真菌培养阴性。胸部CT显示右肺下叶巨大阴影,考虑右肺癌。遂行剖胸探查右肺叶切除。例2,男性,49岁。因咳嗽咳痰、痰中带血丝、痰真菌培养阴性。胸部CT显示左右肺下叶结节影。遂行左肺叶病灶楔形切除。

1.2 HE制片和组化染色

送检标本经10%中性甲醛固定、石蜡包埋,常规HE制片,特染选用过碘酸雪夫氏(PAS)、粘液卡红(MC)及Grocott六胺银(GMS)等染色,光镜观察,分析结果。

1.3 电镜制片

取新鲜手术标本切成1 mm×1 mm×1 mm的小组织块置入2.5%戊二醛和1%锇酸中双重固定,系列酒精和丙酮脱水,618环氧树脂包埋,AO-570超薄切片机切片,醋酸铀及枸橼酸铅双重染色,JEM-100SX型透射电镜下观察并摄片。

2 结果

2.1 巨检

手术切除病灶大小为5 cm×5 cm×3.1 cm(例1)和3.3 cm×3.1 cm×2.8 cm(例2),形状不规则,边界不清,无包膜,切面呈肉红色半透明,质韧,胸膜增厚。

2.2 光镜观察

病变区有肉芽肿形成。肉芽肿主要由类上皮细胞、多核巨细胞组成,这些细胞弥漫分布,境界不清,无干酪样坏死,并见散在巨噬细胞、淋巴细胞和嗜中性粒细胞浸润,伴有多发性小脓肿形成;在多核巨细胞和巨噬细胞胞浆内、病灶间质、细支气管和肺泡腔内隐约可见多量细小圆形或卵圆形呈空泡状的隐球菌,HE染色无色或稍呈红色,不易识别(图1)。PAS染色CN胞壁呈红色(图2),MC染色隐球菌荚膜被染成胭脂红色(图3),GMS染色其胞壁呈银黑色(图4)。

作者简介:陈 康(1956-),男,福建省莆田市人,讲师,主要从事肺肿瘤病理方面的研究。电话:(023)68823332

收稿日期:2004-10-29;修回日期:2005-01-10

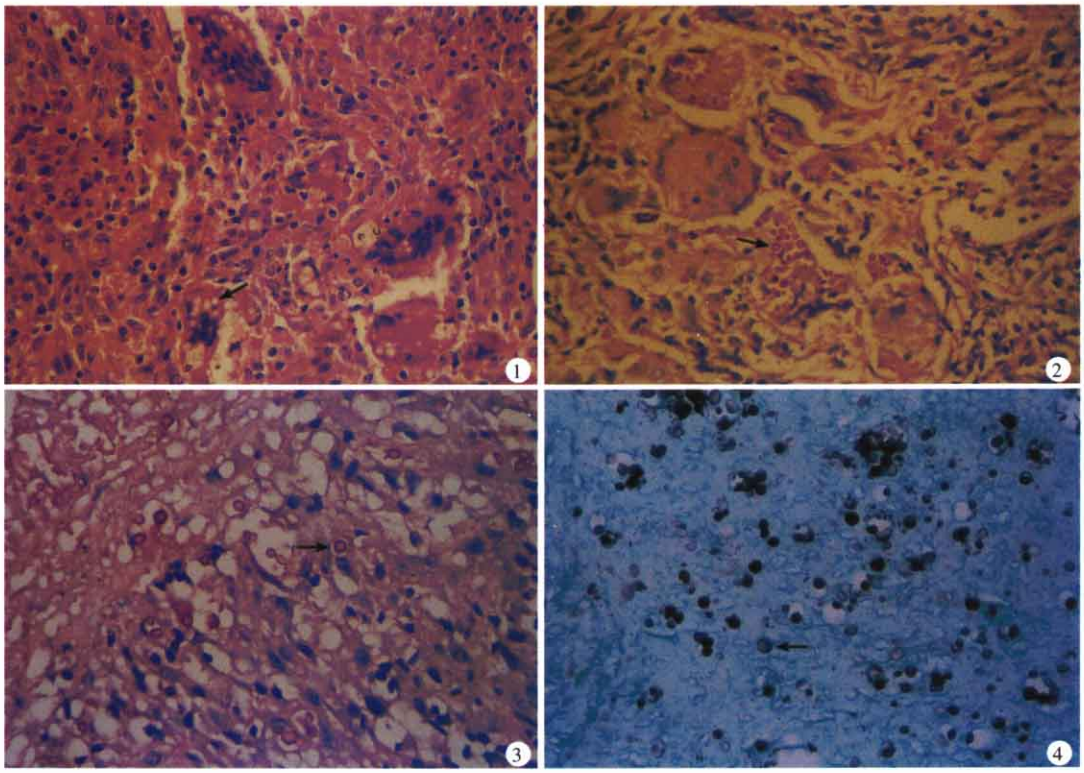


图 1　肺隐球菌肉芽肿,在多核巨细胞的胞浆中隐约可见呈空泡状的隐球菌孢子(←)　(HE × 200)

Fig 1　Pulmonary cryptococcus granuloma, vacuolar cryptococcus spore can be seen in plasma of multinuclear giant cell(←)　(HE × 200)

图 2　在细胞内和间质中呈红染的隐球菌孢子(←)　(PAS × 200)

Fig 2　Cryptococcus spore in cell and mesenchyma stain in red colour(←)　(PAS × 200)

图 3　在巨噬细胞胞浆中见荚膜被染成胭脂红色的隐球菌孢子(←)　(MC × 360)

Fig 3　In macrocyte plasma, the capsule of crptococcus spore stain in mucicarmine (←)　(MC × 360)

图 4　在肉芽肿病灶中隐球菌孢子被染成银黑色(←)　(GMS × 360)

Fig 4　In focus of granuloma, cryptococcus spore stained in silver black (←)　(GMS × 360)

2.3　电镜观察

主要细胞为单核和多核的细胞,细胞形状不规则,体积巨大有突起,胞质内有发达的线粒体、内质网和溶酶体等细胞器。在部分细胞的胞质内可见一至多个隐球菌孢子,部分隐球菌孢子游离于细胞外。隐球菌孢子有明显的细胞壁,外有荚膜。荚膜比菌体大 1 ~ 3 倍,中等电子密度,荚膜与胞体之间有明显透明带。壁内可见质膜,胞质内可有内质网,线粒体,高尔基体,糖原和大小不等的空泡。大部分 CN 细胞发生退变,除了可见荚膜和菌体外,细胞器缺如,核消失,在寄生的宿主细胞内常常留下低电子密度腔隙,为隐球菌噬斑(图 5,6)。

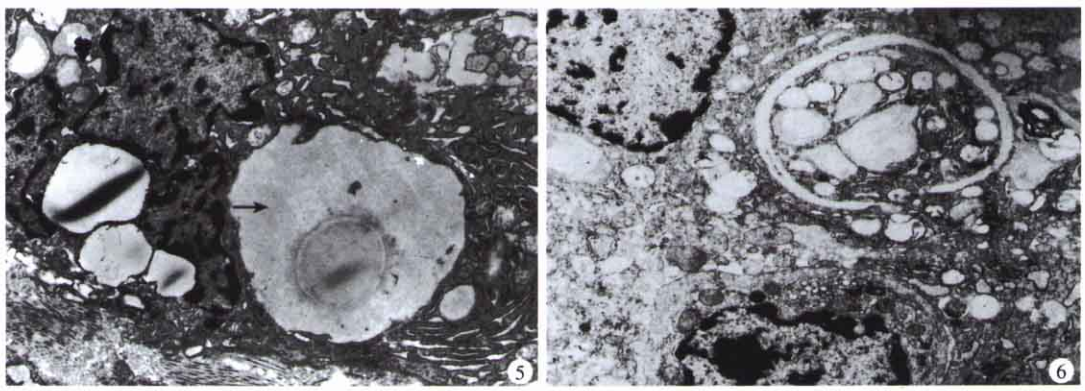


图 5　多核巨细胞胞浆中可见一隐球菌,有宽厚的荚膜(←),细胞器不易见到　(TEM × 5 000)·

Fig 5　There is a cryptococcus with thickened capsule in multinuclear giant cell plasma (←), organell not easily seen　(TEM × 5 000)

图 6　细胞内的隐球菌孢子(←),其中有线粒体、内浆网等少量细胞器　(TEM × 6 000)

Fig 6　There is a few mitochondria and endoplasm in cryptococcus spore within cells (←)　(TEM × 6 000)

3 讨论

新型隐球菌是PC的病原体，其广泛生存于土壤和鸽粪中，偶可在水果和蔬菜以及健康人体的口腔、鼻腔、咽部、胃肠及皮肤等处也可分离到[1,3]。由于细胞毒药物的使用以及免疫抑制剂的滥用等因素，隐球菌病的发病率近年呈上升的趋势，引起国际国内医学界的广泛关注[4]。本组2例术前诊断均未考虑为PC，而是通过开胸肺活检病理诊断。光镜PC的病理特征是隐球菌肉芽肿形成，免疫力正常者常形成非干酪性肉芽肿性病变，在巨噬细胞和多核巨细胞胞浆内含有被吞噬的隐球菌，而免疫力低下者则不易见到肉芽肿形成，相反，在肺泡腔内充满隐球菌孢子，病灶内有较多的粘液性物质，缺乏炎细胞浸润[1,5]。病灶主要沿支气管周围分布，巨检形状不规则、灰白色半透明、质地坚韧，肉眼标本与肺癌不易鉴别。具有病理诊断意义的是在病变组织中查见隐球菌孢子。隐球菌孢子在HE染色标本中无色或稍呈红色，不易观察和确认，经验不足往往漏诊或误诊。粘液卡红、PAS和Grocott六胺银染色显示菌体或荚膜，如果阳性染色有助于诊断[1]。但是，有时隐球菌孢子染色阴性或染色效果不理想，此时临床病理不能诊断。

隐球菌属于无菌丝的单细胞芽生的酵母型真菌，包括17个种和7个变种，其中仅新生隐球菌及其变种具有致病性[1,3]。新型隐球菌在组织中呈圆形或卵圆形，菌体较体外大，直径一般为5～10 μm，少数为3～20 μm。菌体为宽阔透明的荚膜所包裹，荚膜可比菌体大1～3倍，印度墨汁染色能清晰显示荚膜，但周围组织不能辨认，有可能出现假阳性。能保留甾革兰染色，HE染色不易识别，经验不足往往引起漏诊和误诊。非致病性PC无荚膜，不形成菌丝和孢子。隐球菌的常用染色方法是PAS和GMS染色法。但遗憾的是，所有的真菌孢子上述染色方法都可以呈阳性反应。因此，上述方法单独不能用于隐球菌与其他真菌孢子和霉菌的鉴别。

我们对PC的人体活检材料进行了透射电镜的观察，以探讨隐球菌的超微结构特点以及电镜协助PC诊断的可行性。电镜观察，隐球菌有明显的细胞壁，均有比菌体大1～3倍的荚膜，荚膜与胞体之间有明显透明带。壁内可见质膜、胞质内可见双层膜的内质网、线粒体嵴少、糖原等细胞器和大小不等的空泡，但结构皆较简单。细胞核为单核，不易看到。在寄生的宿主细胞内常常留下低电子密度腔隙(隐球菌噬斑)。可见到生芽繁殖的菌体。但大部分隐球菌发生退变，除了可见荚膜和菌体外，细胞器缺如，核消失。电镜下能准确的与其他真菌孢子和霉菌鉴别。研究结果显示，透射电镜具有重要的协助石蜡切片诊断的价值，与MC、GMC和PAS组织化学染色结合，能对PC做出明确诊断及鉴别诊断。

参考文献：

[1] Fraser R S, Müller N L, Colman N, *et al*. Fraser and par's diagnosis of diseases of the chest[A]. In: Fungi and actinomyces[M]. 4th edition. Volume Ⅱ. London: W B Saunders Company, 1999. 875－978.

[2] 易祥华，张容轩，高 文，等. 临床酷似肺癌的肺隐球菌病12例临床病理分析[J]. 诊断病理学杂志，2001，8(6)：330－333.

[3] Katzenstein A A. Cryptococcosis[A]. In: Thurlbeck W M, eds. Pathlogy of the lung: mycobacterial infections and fungal and protozoal disease[M]. New York: Stuttgart, 1988. 228－232.

[4] Aberg J A, Mundy L M, Powderly W G. Pulmonary cryptococcosis in patiemts without HIV infection[J]. Chest, 1999, 115(3): 734－740.

[5] Farmer S G, Komorowski R A. Histologic response to capsule-deficient Crptococcus neoformans[J]. Arch Pathol, 1973, 96(6): 383－387.

(编辑 薛国文)

(上接237页)

折[1]。治疗组中修复体脱落的1例就是由于剩余根长过短，造成固位力差，导致失败；另1例失败缘于根管治疗不彻底，造成继发根尖病变。

在牵引断根时，一定要使矫正牙丝通过断牙长轴，这样断根才能垂直向前出。断根牵引前出治疗时，应施加20 g左右的矫治力，使断根缓慢前出，历时5～8周，保证牙槽嵴顶有足够的冠向增生[2]，如牵引力过大、速度过快，可造成牙根松动，根尖周性密度降低、牙根外吸收。牵引时要注意支抗牙的数量，避免支抗丧失导致邻牙松动[1]，应选择断根两侧健康稳固的邻牙2～3颗。

断根成功牵引前出后，需保持2～3个月，再根据患者口腔情况，采用冠延长术或牙龈修整术，使牙龈高度与邻牙相同，达到龈缘连续协调一致，采用烤瓷冠修复，恢复牙列的完整性达到美学效果。

关键词：恒切牙；龈下牙折；牵引；烤瓷冠修复

中图法分类号：R783.3 文献标识码：B

参考文献：

[1] 方 敏，林江红，王振安. 前牙龈下冠折正畸牵引断根后烤瓷修复[J]. 口腔颌面修复学杂志，2002，3(3)：184.

[2] 宋应堃，沈丽娟，马轩祥，等. 前牙龈下冠折根牵引后的桩冠修复[J]. 口腔医学，2001，21(3)：127－128.

[3] 薛民魁. 口腔正畸学[M]. 第4版. 北京：人民卫生出版社，2003. 106－108.

(编辑 龙 亮)