论著

文章编号:1000-5404(2014)09-0914-05

聚乳酸-聚己内酯组织工程纤维环支架的制备及其性能研究

李玉东[1],徐 源[1],周 强[1],宋 磊[1],刘 威[2],甘翼搏[1],李 培[1],李松涛[1],莫秀梅[2] (400038 重庆,第三军医大学西南医院全军矫形外科中心,组织工程国家地方联合工程实验室,重庆市再生重建医学工程技术研究中心,重庆市组织工程实验室[1];201620 上海,东华大学化工与生物工程学院[2])

[摘要] **目的** 探讨新的静电纺丝方法制备聚乳酸-聚己内酯[P(LLA-CL)]纳米纱作为组织工程纤维环支架的可行性,检测其理化性能及细胞相容性。**方法** 在传统静电纺丝方法制备P(LLA-CL)纳米纤维支架的基础上,改用动态水流接收装置制备相同成分的纳米纱支架,并对材料的表面形态、纤维直径、孔径、孔隙率、力学性能进行评估,分离培养兔纤维环细胞种植到支架上,观察细胞在材料上的生长形态、黏附、增殖、渗透情况。**结果** P(LLA-CL)纳米纤维支架表面呈致密的网状结构,纤维排列无方向性,而P(LLA-CL)纳米纱支架表面呈疏松的网状结构,纤维排列有一定的取向;纳米纤维支架的孔径为(4.57±1.87)μm,孔隙率(74.2±1.5)%,纳米纱的孔径为(38.43±15.54)μm,孔隙率(86.7±9.3)%,两者比较差异有统计学意义($P<0.05$);两者的力学性能相似。扫描电镜(SEM)显示纤维环细胞在纳米纤维支架上呈多边形生长,在纳米纱支架上呈长梭形生长;CCK-8结果显示细胞在两种支架材料上的黏附均很好,细胞在纳米纱上的增殖较纳米纤维支架明显增加;HE染色提示细胞虽然只能生长在纳米纤维支架表面,但却很好地渗透到纳米纱支架内部。**结论** 静电纺丝方法制备的P(LLA-CL)纳米纱支架具有良好的三维孔隙结构和细胞相容性,有望成为较理想的组织工程纤维环支架。

[关键词] 纤维环;组织工程;支架;聚乳酸-聚己内酯;纳米纱

[中图法分类号] R318.08; R322.7 [文献标志码] A

Fabrication and analysis of a novel tissue engineered scaffold for annulus fibrosus

Li Yudong[1], Xu Yuan[1], Zhou Qiang[1], Song Lei[1], Liu Wei[2], Gan Yibo[1], Li Pei[1], Li Songtao[1], Mo Xiumei[2] ([1]Department of Orthopedics, National and Regional United Engineering Laboratory of Tissue Engineering, Chongqing Research Center of Regeneration and Reconstruction Medical Engineering Technology, Chongqing Laboratory of Tissue Engineering, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]College of Chemistry, Chemical Engineering and Bioechnology, Donghua University, Shanghai, 201620, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the feasibility of Poly(L-lactide-co-caprolactone) [P(LLA-CL)] nanoyarn prepared by a novel electrospinning method as annulus fibrous tissue engineering scaffold, and evaluate the physicochemical properties and cytocompatibility of the scaffold. **Methods** On the basis of traditional electrospinning method which used to prepare P(LLA-CL) nanofiber scaffold, a novel P(LLA-CL) nanoyarn scaffolds were prepared by dynamic liquid electrospinning. These scaffolds were characterized in terms of fiber morphology, fiber diameter, pore size, porosity, and mechanical properties. Rabbit annulus fibrous (AF) cells were isolated and seeded on the scaffolds. Cell morphology, attachment, proliferation and infiltration of AF cells on the scaffolds were evaluated respectively. **Results** The surface of nanofiber scaffolds presented compact reticular structure in random fibers arrangement. Surface of nanoyarn scaffolds showed loose porous structure but in certain orientation arrangement. The pore size and porosity were 38.43±15.54 μm, and (86.7±9.3)% respectively of the nanoyarn scaffolds, significantly higher than the nanofiber scaffolds [4.57±1.87 μm, (74.2±1.5)%, $P<0.05$]. The mechanical properties of both scaffolds were similar. CCK-8 assay results showed that cell proliferation in the nanoyarn scaffolds were obviously higher than in the nanofiber scaffolds ($P<0.05$). Hematoxylin-eosin staining showed considerable AF cells were infiltrated into the nanoyarn scaffolds, while only grew on the surface of the nanofiber scaffolds. **Conclusion** Electrospinning P(LLA-CL)

[基金项目] 国家自然科学基金(81272029)

[通信作者] 周 强,E-mail: zq_tlh@163.com

莫秀梅,E-mail: xmm@dhu.edu.cn

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140314.1519.001.html(2014-03-14)

nanoyarn scaffolds present 3-D porous structure and good cytocompability. It would be a promising scaffold for annulus fibrosus tissue engineering.

[**Key words**] annulus fibrous; tissue engineering; scaffold; Poly(L-lactide-co-caprolactone); nanoyarn

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81272029). Corresponding author: Zhou Qiang, E-mail: zq_tlh@163.com; Mo Xiumei, E-mail: xmm@dhu.edu.cn

椎间盘退变性疾病是引起腰背疼痛的主要原因之一,椎间盘退变后难以逆转,目前各种治疗方法的效果仍未令人满意[1]。采用组织工程的方法构建功能化椎间盘为椎间盘疾病治疗提供了新的策略[2]。纤维环支架是构建组织工程椎间盘的关键环节之一。目前组织工程纤维环支架材料的选择和构建的方式没有统一的标准。研究开发具有良好性能的纤维环支架材料是当前研究的热点和难点之一[3]。本研究旨在探索采用新型的动态-液体水流接受系统改进传统静电纺丝方法,制备出模拟天然纤维环基质取向、三维、大孔的微观结构的静电纺丝 P(LLA-CL)纳米纱,探讨其作为组织工程纤维环支架材料的可行性。

1 材料与方法

1.1 实验材料及主要试剂

新西兰大白兔(第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心),P(LLA-CL)(PLLA∶PCL = 75∶25)(济南岱罡生物工程有限公司)、六氟异丙醇(上海达瑞化工有限公司),胰蛋白酶、Ⅱ型胶原酶、CCK-8 试剂(美国 Sigma 公司)。

1.2 实验仪器

高压电源经典发生器(BGG6-358 型,北京机电院高技术股份有限公司),真空干燥箱(上海恒科技有限公司),微量注射泵(789100C 型,美国 Cole-pamer 公司),扫描电镜(S-3400N 型,日本日立公司),H5K-S 万能材料测试机(Hounsfield 型,英国),D-78532Tuttlingen 离心机(德国)。

1.3 纳米纱、纳米纤维的制备

纳米纱支架的制备使用动态-液体静电纺丝的方法[4]。将 P(LLA-CL)溶于六氟异丙醇中配制浓度为 8% 的溶液搅拌均匀后,被置于 5 mL 医用注射器中,在 15 kV 电压下以 1 mL/h 的速度从 9 号医用针头口高速喷出,在离针尖下方 15 cm 处置一底部有孔的水盆,当纳米纤维飘落到水面后,随着涡流从孔中顺水流下,扭转成束形成纳米纱线。在盆底孔下放置一个以 60 r/min 的速度接收纳米纱线的转轴,最后在转轴上形成纳米纱。从转轴上取下纳米纱放进 -80 ℃冰箱预冻 2 h,再冷冻干燥 36 h 后得到成型的纳米纱三维支架,纳米纱支架存放于真空干燥器中。相同的静电纺丝参数,采用传统的静电纺丝方法,用平整的铝箔片代替动态水流接收装置,制备纳米纤维支架。

1.4 形貌分析

取纳米纱、纳米纤维支架样本,固定于样品台上,表面喷金后置于扫描电镜下观察。采用图像分析软件 Image J 1.46 测量材料电镜照片中纤维的直径分布范围以及孔径大小(每组测量 100 根纤维)。

1.5 孔隙率

取纳米纱、纳米纤维支架样本,用游标卡尺精确测量支架样品的体积(V)。测量干样品的质量(W1),以及浸泡在无水乙醇(密度为 ρ)中 2 h 后的质量(W2)。样品的孔隙率(P)计算公式为 $P = [(W2 - W1)/\rho]/V$(每组测量 3 个标本)。

1.6 力学性能测试

取纳米纱、纳米纤维支架样本(长 × 宽:1 cm × 5 cm),用螺旋测微器测量样品的厚度,将样品两端 1 cm 处固定于材料测试机的夹具上,在室温 20 ℃、相对湿度 60% 环境下,采用 H5K-S 型万能材料实验机施 50 N 的力,10 mm/min 的速度进行拉伸测试。通过应力-应变曲线计算样本的断裂强度、断裂伸长及杨氏模量(每组测量 5 个标本)。

1.7 纤维环细胞分离培养与接种

新西兰大白兔(4 周龄,体质量 1 kg)5 只,安乐死后每只无菌条件下切取胸腰段椎间盘纤维环组织,剪成 1 mm^3 碎组织块,0.25% 胰酶消化 15 min 后,0.2% Ⅱ型胶原酶于 37 ℃消化 2 h,消化后的纤维环组织经 200 μm 的滤网过滤,纤维环细胞采用 DMEM/F-12 培养液(10% 胎牛血清、1% 双抗)于 37 ℃、5% 二氧化碳孵箱中培养,每 2 天更换培养液,细胞达到 80% ~ 90% 融合时,用 0.25% 的胰蛋白酶分离传代备用。用自备的空心打孔器将纳米纱、纳米纤维支架材料制成直径为 14 mm 大小样品。将样品置于 24 孔培养板中,加入 75% 的乙醇消毒 30 min,然后用 PBS 漂洗 3 次,将胰酶消化好的第二代兔纤维环细胞接种到 24 孔板中(10^5/孔),未放置材料的 24 孔板为对照组,置于 37 ℃、5% 二氧化碳培养箱中培养 4 h,待细胞充分黏附后,每孔加入 2 mL 含 10% 胎牛血清的 DMEM/F-12 培养基继续培养至 7 d,每 2 天换液 1 次。

1.8 CCK-8 法检测细胞黏附和增殖

通过 CCK-8 法检测纤维环细胞在纳米纱及纳米纤维支架上的黏附及增殖情况。分别于 4 h、1 d、4 d、7 d 取纳米纤维支架组、纳米纱支架组及对照组的样品。每孔中加入 400 μL 新鲜无血清 DMEM/F-12 培养液和 40 μL CCK-8 溶液,置于孵箱中继续培养 4 h,每孔取 100 μL 加入 96 孔板中,然后在酶标仪上 450 nm 波长段测定光密度值。每组实验支架材料 3 个复孔,并重复实验 3 次。

1.9 SEM 观察细胞形态

取培养 4、7 d 后的细胞支架复合物,2.5% 的戊二醛溶液固定 2 h,然后梯度(30%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%)乙醇脱水,自然干燥,真空喷金,SEM 观察细胞在支架表面的生长情况。

1.10 苏木精-伊红染色

取培养 7 d 后的细胞支架复合物,4% 多聚甲醛溶液固定 4 h,经过脱水、透明、浸蜡和包埋后,切片(厚 10 μm)于倒置显微镜下观察拍照。

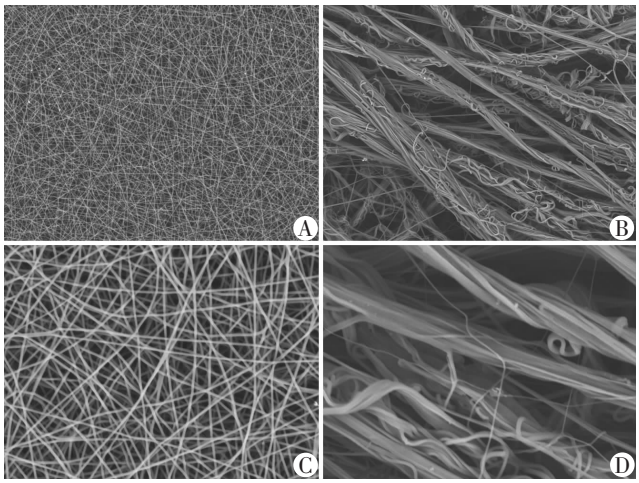
1.11 统计学分析

采用 SPSS 14.0 统计软件行单因素方差分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 支架材料扫描电镜观察

支架材料SEM图像结果显示:纳米纤维支架的纤维走向呈现无规则形态,纤维间形成致密的三维网络状结构(图1A、C)。通过动态水流接收装置,纳米纤维在水涡流作用下,成束形成纳米纱,纱有一定的方向性,纱与纱之间形成疏松的三维网络状结构(图1B、D)。



A:纳米纤维(×500);B:纳米纱(×500);C:纳米纤维(×2 000);D纳米纱(×2 000)

图1 不同支架材料SEM观察

2.2 支架纤维直径、孔径以及孔隙率

通过用Image J 1.46软件作图分析表明:纳米纱与纳米纤维支架的纤维直径呈正态分布,纳米纱的纤维直径为(19.61±5.91)μm,孔径为(38.43±15.54)μm,纳米纤维的纤维直径为(634±65)nm,孔径为(4.57±1.87)μm。采用液体侵泡法测得纳米纱的孔隙率为(86.7±9.3)%,纳米纤维的孔隙率为(74.2±1.5)%,两者差异有显著性($P<0.05$)。

2.3 力学性能测试

2组样品的应力-应变曲线如图2所示,纳米纱的断裂强度为(4.61±1.00)MPa,断裂伸长为(66.48±6.28)%,杨氏模量为(23.93±5.88)MPa;无规则纳米纤维支架的断裂强度为(4.16±1.02)MPa,断裂伸长为(146.28±20.51)%,杨氏模量为(29.42±5.18)MPa。两者的断裂强度和杨氏模量比较均无统计学意义($P>0.05$)。

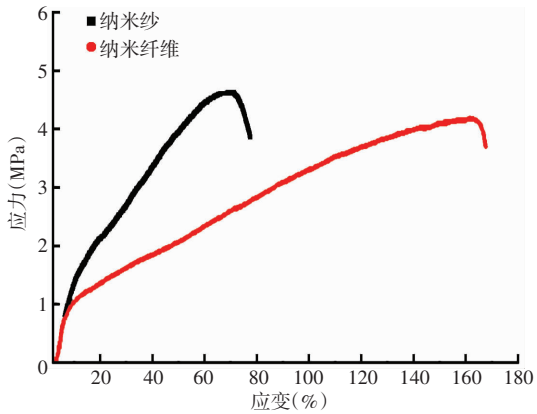
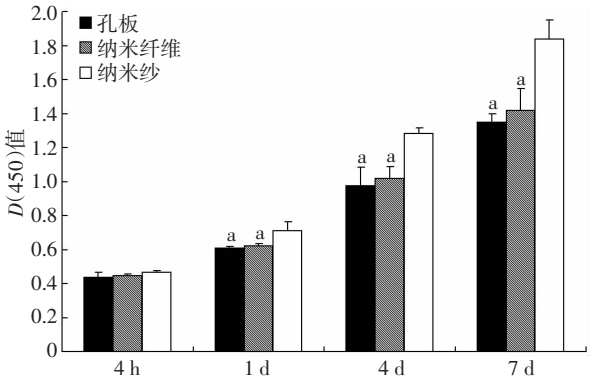


图2 不同支架材料应力-应变曲线

2.4 细胞黏附和增殖

纤维环细胞在3组中培养4 h后,CCK-8法检测的光密度值结果(图3)表明纤维环细胞在纳米纱、纳米纤维和24孔板上黏附的细胞数量没有明显差异。纤维环细胞在3组中培养1、4 d和7 d后,纳米纱组、纳米纤维组与孔板组的光密度值都随着共培养时间的增加而增大,在各检测时间点,纳米纱组光密度值均大于纳米纤维组、孔板组;纳米纤维组光密度值均大于孔板组;纳米纱组相对于纳米纤维组和孔板组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

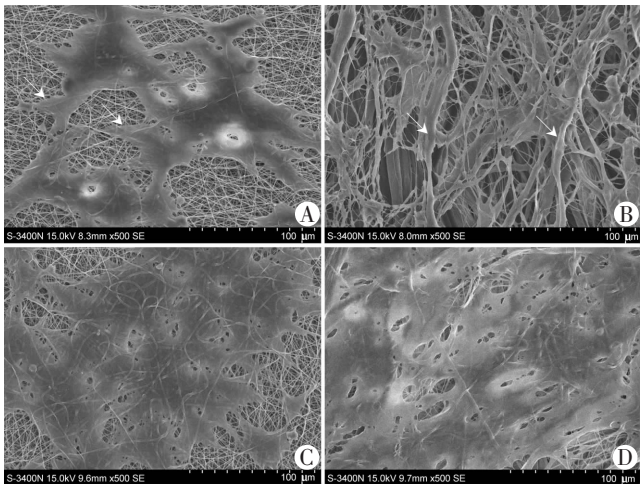


a:$P<0.05$,与纳米纱比较

图3 兔纤维环细胞在孔板、纳米纤维和纳米纱上的黏附和增殖情况

2.5 纳米纱和纳米纤维支架上细胞形态学观察

细胞与支架材料复合培养后的扫描电镜观察结果提示:培养第4天,纳米纤维支架上的细胞呈多角形生长(图4A箭头示),没有一定的方向性;纳米纱支架上的细胞主要沿着纳米纱纤维走向呈梭形生长(图4B箭头示),一些细胞生长在纳米纱三维大孔内。第7天,纳米纱及纳米纤维支架上的细胞数明显增加,细胞分泌大量细胞外基质融合在一起,覆盖在支架的表面(图4C、D)。



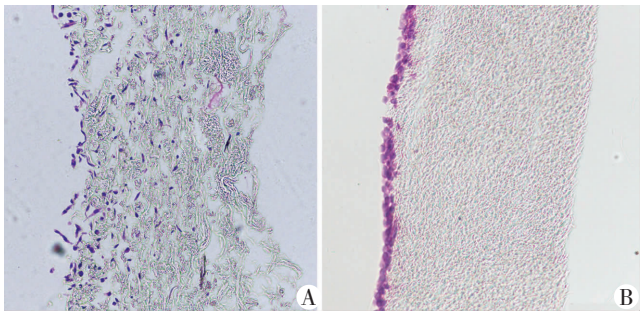
A、C:纳米纤维培养4、7 d;B、D:纳米纱培养4、7 d

图4 SEM观察兔纤维环细胞在不同支架材料上的生长情况

2.6 HE染色分析

细胞接种到支架上7 d后,HE染色表明纤维环细胞能很好地黏附在纳米纱支架表面并渗透生长到纳米纱支架的内部空间结构中(图5A);而纤维环细胞只能在纳米纤维支架的表

面生长,形成薄的细胞层,不能渗透生长到支架的内部空间结构中(图 5B)。



A:纳米纱;B:纳米纤维

图 5 HE 染色观察兔纤维环细胞在不同支架材料上的生长及渗透 (×200)

3 讨论

近年来,静电纺丝纳米纤维支架在皮肤血管[5]、神经[6]、软骨[7]、肌腱[8]、心肌[9]等组织工程中得到广泛应用。静电纺丝聚氨酯[10]、聚己内酯[11]纳米纤维支架也用于作为纤维环细胞的载体。然而,传统静电纺丝方法制备支架的孔径不利于细胞渗透性生长[12]。Leong 等[13]采用低温静电纺丝技术,利用冰晶体作为致孔剂制备较大孔径的纳米纤维支架。Blakeney 等[14]设计了一种新型的静电纺丝接收系统,制备未压缩的棉花球样支架,显著促进细胞在支架中的生长和渗透。虽然这些方法能够改善细胞的渗透,但不可避免地损害了支架的完整性或机械性能。在本研究中,我们改进传统的静电纺丝技术,采用动态-水流静电纺丝方法制备了三维的、大孔径 P(LLA-CL)纳米纱支架,它不仅保存了 P(LLA-CL)纳米纤维支架的力学强度,同时为细胞的生长提供了足够的内部空间。

SEM 显示 P(LLA-CL)纳米纱支架里面的纱是由许多纳米纤维成束形成的,呈同向排列,纱的直径较纳米纤维的直径明显增加;同时 P(LLA-CL)纳米纱支架相对于 P(LLA-CL)纳米纤维支架的孔径和孔隙率也明显增加。孔径和孔隙率是支架的基本特征,为细胞黏附、增殖和迁移提供足够空间,在细胞的营养运输,代谢产物排出中发挥重要作用[15-16]。

组织工程支架应具有良好的力学性能,以抵抗外力作用,保持自身形态稳定,从而为细胞生长和组织形成提供一个稳定的微环境。支架材料的孔径和孔隙率的增加会降低材料的力学性能[17]。本实验结果提示 P(LLA-CL)纳米纱支架在孔隙及孔径增加时,断裂强度及弹性模量与 P(LLA-CL)纳米纤维支架相当,这可能是纳米纱支架中大量纳米纤维同向成束形成纱的结构提高了支架的力学性能。根据 CCK-8 和 SEM 结果显示,兔纤维环细胞均能很好的在两种支架上黏附生长,同时细胞在纳米纱支架上较纳米纤维支架增殖能力更强,这可能与纳米纱支架能提供一个更广阔的三维生长空间有关;一个理想的组织工程支架不仅要适合于细胞的黏附和增殖,而且还需适合于细胞的渗透,以促进整个组织的形成。HE 染色结果提示,经过 7 d 的复合培养,纤维环细胞只能生长在 P(LLA-CL)纳米纤维支架表面,而随着时间的推移,纤维环细胞能够完全迁移入整个纳米纱支架内部空间结构中。

相对于传统静电纺丝方法制备的 P(LLA-CL)纳米纤维支架,使用动态-水流静电纺丝方法构建的 P(LLA-CL) 纳米纱支架有一个三维取向的微观结构,孔径更大,孔隙率更高,力学性能却相当,同时利于兔纤维环细胞在其上增殖和渗透。本研究表明,静电纺丝 P(LLA-CL)纳米纱是一种新型的、三维、大孔的支架,能更好地模拟天然纤维环组织的基质结构,在纤维环组织工程中有很好的应用前景,为其在椎间盘疾病治疗中的临床应用奠定实验基础。

参考文献:

[1] Setton L A, Chen J. Mechanobiology of the intervertebral disc and relevance to disc degeneration[J]. J Bone Joint Surg Am, 2006, 88 Suppl 2: 52-57.

[2] Richardson S M, Hoyland J A, Mobasheri R, *et al*. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine: opportunities and challenges for articular cartilage and intervertebral disc tissue engineering[J]. J Cell Physiol, 2010, 222(1): 23-32.

[3] Jeong C G, Hollister S J. A comparison of the influence of material on in vitro cartilage tissue engineering with PCL, PGS, and POC 3D scaffold architecture seeded with chondrocytes[J]. Biomaterials, 2010, 31(15): 4304-4312.

[4] Teo W E, Gopal R, Ramaseshan R, *et al*. A dynamic liquid support system for continuous electrospun yarn fabrication[J]. Polymer, 2007, 48(12): 3400-3405.

[5] Zhou J, Cao C, Ma X, *et al*. Electrospinning of silk fibroin and collagen for vascular tissue engineering[J]. Int J Biol Macromol, 2010, 47(4): 514-519.

[6] Bini T B, Gao S J, Tan T C, *et al*. Electrospun poly(L-lactide-co-glycolide) biodegradable polymer nanofibre tubes for peripheral nerve regeneration[J]. Nanotechnology, 2004, 15(11): 1459-1464.

[7] Thorvaldsson A, Stenhamre H, Gatenholm P, *et al*. Electrospinning of highly porous scaffolds for cartilage regeneration[J]. Biomacromolecules, 2008, 9(3): 1044-1049.

[8] Barber J G, Handorf A M, Allee T J, *et al*. Braided nanofibrous scaffold for tendon and ligament tissue engineering[J]. Tissue Eng Part A, 2013, 19(11/12): 1265-1274.

[9] Mukherjee S, Gualandi C, Focarete M L, *et al*. Elastomeric electrospun scaffolds of poly(L-lactide-co-trimethylene carbonate) for myocardial tissue engineering[J]. J Mater Sci Mater M, 2011, 22(7): 1689-1699.

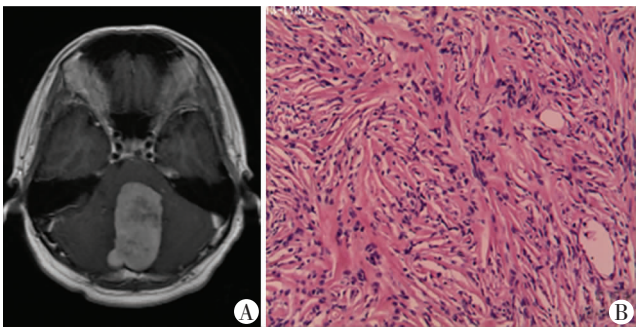
[10] Nerurkar N L, Elliott D M, Mauck R L. Mechanics of oriented electrospun nanofibrous scaffolds for annulus fibrosus tissue engineering[J]. J Orthop Res, 2007, 25(8): 1018-1028.

[11] Gruber H E, Hoelscher G, Ingram J A, *et al*. Culture of human anulus fibrosus cells on polyamide nanofibers: extracellular matrix production[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2009, 34(1): 4-9.
[12] Zhong S, Zhang Y, Lim C T. Fabrication of large pores in electrospun nanofibrous scaffolds for cellular infiltration: a review[J]. Tissue Eng Part B Rev, 2012, 18(2): 77-87.
[13] Leong M F, Rasheed M Z, Lim T C, *et al*. *In vitro* cell infiltration and *in vivo* cell infiltration and vascularization in a fibrous, highly porous poly(D, L-lactide) scaffold fabricated by cryogenic electrospinning technique[J]. J Biomed Mater Res A, 2009, 91(1): 231-240.
[14] Blakeney B A, Tambralli A, Anderson J M, *et al*. Cell infiltration and growth in a low density, uncompressed three-dimensional electrospun nanofibrous scaffold[J]. Biomaterials, 2011, 32(6): 1583-1590.
[15] Agrawal C M, Ray R B. Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering[J]. J Biomed Mater Res, 2001, 55(2): 141-150.
[16] Zeltinger J, Sherwood J K, Graham D A, *et al*. Effect of pore size and void fraction on cellular adhesion, proliferation, and matrix deposition[J]. Tissue Eng, 2001, 7(5): 557-572.
[17] Ramay H R, Zhang M. Biphasic calcium phosphate nanocomposite porous scaffolds for load-bearing bone tissue engineering[J]. Biomaterials, 2004, 25(21): 5171-5180.

(**收稿**:2013-12-20;**修回**:2014-02-24)
(编辑 黄 超)

(上接901页)

化:Vimentin(+),CD99(+),CD34(+),Bcl-2(+),Ki-67<1%(+),α-SMA(-/+)。病理诊断:四脑室孤立性纤维性肿瘤。



A:MRI示肿瘤T_1WI呈等T_1信号表现,增强病灶明显均匀强化;B:病理学观察(HE ×100)

图2 四脑室孤立性纤维性肿瘤的MRI表现和病理学观察

2 讨论

ISFT是中枢神经系统肿瘤中脑(脊)膜间质肿瘤的一种良性肿瘤,目前认为该病中老年人好发,病程呈慢性经过,其组织主要起源于硬脑膜、大脑镰、小脑幕及硬脊膜等间质细胞,而起自蛛网膜的ISFT极为罕见。尹卫宁等[2]2008年报道28例ISFT患者,其好发部位为幕上、椎管和后颅窝。临床表现主要为头痛、呕吐等颅高压和局部占位症状,文献[3]报道约25%的患者可伴低血糖、杵状指等副肿瘤综合征的表现,术后副肿瘤综合征可消失。

MRI是诊断ISFT重要的辅助检查,本组2例患者的MRI表现为肿瘤实性部分呈等T_2、T_1信号,增强扫描实性部分明显均匀强化;囊性部分呈长T_2、T_1信号,增强后无强化。目前多数学者认为SFT起源于成纤维细胞,镜下多以致密的梭形细胞为主,所以其在MRI上的信号与肌肉信号相似,在T_1、T_2WI上多表现为等或稍低信号,而这种T_2WI上低信号并在增强后显著强化被Clarencon等[4]认为是SIFT的特征性表现。根据Kim等[5]观点,T_2WI低信号区对应的是肿瘤的致密胶原纤维,而黏液样变性或坏死区域及血管间质区则表现为高信号。

临床上除了MRI的典型表现外,确诊主要依靠病理学检查。巨检ISFT多呈类圆形,边界清楚,部分肿瘤表面可有纤维性假性包膜,通常血供丰富,切面呈灰白色或灰褐色,质地较硬并富有弹性,可伴有黏液样变性和坏死。镜下见肿瘤细胞主要由梭形、圆形或椭圆形细胞构成,分布不均,细胞质少或不清,染色均匀,核仁不明显,无明显异型性,核分裂象无或少见。可见交替分布的细胞密集区(富细胞区)和细胞稀疏区(少细胞区),构成典型的"无特征构象",其间见粗细不等、形状不一红染的胶原纤维穿插。细胞密集区可见数量不等的薄壁血管,管壁常发生胶原变性。尹卫宁等[2]认为肿瘤的"无特征构象"正是其最具特征的形态,可据此对病灶组织作出诊断。富细胞型ISFT一般细胞丰富,肿瘤细胞至少有局灶性中度至重度异型性,有肿瘤坏死,大量核分裂象≥4/10高倍视野和(或)边缘浸润生长。免疫组化中ISFT瘤细胞表现为Valentine、CD34、CD99、Bcl-2阳性,Ki-67<1%、α-SMA(-/+)为弱阳性或可疑阳性。本组2例患者的免疫组化结果与此一致。CD34和Bcl-2曾被许多学者看作是SFT的特异性标记物,但Wang等[6]则认为Bcl-2只能反映肿瘤细胞的凋亡被抑制程度,而CD34在脑膜瘤、神经纤维瘤和血管肿瘤也广泛存在,故现在认为CD34和Bcl-2并非是SFT的特异性标记物,但尹卫宁等[2]认为CD34的表达程度可能与肿瘤的性质有关系。对于富细胞型ISFT目前最佳的治疗方法就是术中全切肿瘤,且术后不易复发,但对于少数富细胞型ISFT而言,单纯切除病灶后的复发率较典型ISFT明显增高,故主张采取手术切除后联合放化疗。本组2例患者术中都基本全切病灶,术后分别随访3个月和1年,日常生活活动能力评分均为100分,目前仍在随访中。ISFT的影像表现极似脑膜瘤和血管外皮肿瘤,术前容易误诊,借此2例病例希望广大同仁对该病诊治有一个更清楚的认识。

参考文献:

[1] Carneiro S S, Scheithauer B W, Nascimento A G, *et al*. Solitary fibrous tumor of the meninges: a lesion distinct from fibrous meningioma. A clinicopathologic and immunohistochemical study[J]. Am J Clin Pathol, 1996, 106(2): 217-224.
[2] 尹卫宁, 蔡博文, 陈卉娇, 等. 中枢神经系统孤立性纤维瘤的诊断与治疗: 附28例报告[J]. 中国临床神经外科杂志, 2009, 14(1): 1-3.
[3] 李建鹏, 谢传淼, 张嵘, 等. 孤立性纤维瘤的影像学表现与临床病理特征[J]. 中华肿瘤杂志, 2010, 32(5): 363-367.
[4] Clarencon F, Bonneville F, Rousseau A, *et al*. Intracranial solitary fibrous tumor: imaging findings[J]. Eur J Radiol, 2011, 80(2): 387-394.
[5] Kim K A, Gonzalez I, McComb J G, *et al*. Unusual presentations of cerebral solitary fibrous tumors: report of four cases[J]. Neurosurgery, 2004, 54(4): 1004-1009.
[6] Wang H, Zhang W, Yan L, *et al*. Clinical pathological Analysis and immunohistochemical study of ten solitary fibrous tumors[J]. Chin Med J (Engl), 2002, 115(9): 1412-1414.

(**收稿**:2013-11-22;**修回**:2014-01-20)
(编辑 王小寒)