

肺隐球菌病临床病理分析

何福果(重庆市璧山县人民医院病理科 402000)

【摘要】 目的 分析肺隐球菌病(PC)的临床病理特征及鉴别诊断,提高对 PC 的认识及诊断。**方法** 应用 HE 染色、特殊染色(PAS 和银染)及免疫组织化学染色对 14 例 PC 患者进行观察及分析。**结果** 14 例患者中男女均 7 例,年龄 16~66 岁,平均 43 岁。临床主要表现为咳嗽、咳痰、咳血、发热、胸闷及胸背疼痛。影像学检查:6 例显示片状实变影;4 例呈孤立性结节影;4 例表现为多发低密度影,其中 1 例同时伴有胸椎、肝脏、脾脏多发病变。大体表现为瘤样肿块,切面灰褐色,中央区域可见坏死及囊性变。镜下为非干酪样坏死性肉芽肿伴大量炎细胞浸润。特殊染色巨噬细胞胞质及间质中可见具有诊断意义的圆形空泡状隐球菌孢子。**结论** PC 容易与肺癌、结核及组织胞质菌病等混淆,其诊断主要依靠特殊染色,免疫组织化学及形态学分析。

【关键词】 隐球菌病; 临床病理; 特殊染色; 鉴别诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.22.013 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)22-2964-02

Pulmonary cryptococcosis: a clinicopathological analysis HE Fu-guo (Department of Pathology, the People's Hospital of Bishan County, Chongqing 402000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the clinicopathologic features and differential diagnosis of pulmonary cryptococcosis (PC) to increase pathological awareness for clinical diagnosis. **Methods** 14 cases of PC were analyzed by HE staining or specific stainings (Periodic Acid-Schiff staining, PAS and Gomori methenamine silver staining, GMS) and immunohistochemistry staining. **Results** A total of 14 patients (including 7 males and 7 females with an average age of 43 years old, ranged from 16 to 66 years) were diagnosed. Their clinical symptoms presented with cough, expectoration, hemoptysis, fever, chest tightness and thoracodorsal pain. Chest imaging depicted as flake consolidation shadow in 6 cases, solitary nodule in 4 cases and multiple low-density shadow in 4 cases. One case associated with pathological changes in thoracic spine, liver, spleen, simultaneously. Grossly, the tumor-like lesion showed as a pale to tan cut surface with central necrosis and cystic change. Microscopically, non-caseating granuloma and inflammatory cells were seen in these cases. Meanwhile, specific staining revealed a diagnostic criterion that vascular spherical spores were observed in cytoplasm of macrocytes, multinuclear giant cell and mesenchyma. **Conclusion** PC is identified by specific staining and histochemical staining as well as morphological analysis. It should be distinguished from pulmonary tuberculosis and histoplasmosis.

【Key words】 cryptococcosis; clinicopathology; specific staining; differential diagnosis

肺隐球菌病(PC)是一种由新型隐球菌感染引起的慢性或亚急性侵袭性肺部真菌病,本质上为一种特异性感染性肉芽肿性炎^[1-2]。由于抗菌药物滥用、肿瘤放化疗及获得性免疫缺陷综合征(AIDS)日益增多,近年来发病率呈不断增高趋势。由于 PC 的临床表现、影像学所见以及实验室检查均缺乏特异性,往往早期诊断困难,易造成漏诊、误诊^[3-5]。现结合文献,将已确诊的 14 例报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集第三军医大学大坪医院野战外科研究所病理科及重庆市璧山县人民医院病理科 2010 年 1 月至 2013 年 1 月收治的 PC 患者 14 例,其中男 7 例,女 7 例。发病年龄 16~66 岁,平均 43 岁。临床主要表现为咳嗽、咳痰、咳血、发热、胸闷及胸背疼痛。5 例存在基础疾病,1 例合并肺鳞状细胞癌,1 例为甲状腺乳头状癌术后,1 例有 8 年糖尿病病史及主动脉瓣置换史。其中 8 例为手术切除标本,5 例在术中行快速冷冻检查及术后石蜡切片及特染确诊;其余 6 例为穿刺活检组织,光镜观察发现真菌孢子后经免疫组织化学及特殊染色证实。

1.2 方法 标本经 10% 中性甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,4 μ m 厚切片,HE 染色、过碘酸雪夫染色(PAS)及六胺银染色

(GMS),步骤按照说明书进行,光镜观察。免疫组织化学采用 EnVision 法。所选一抗 CK、LCA、CD68、EMA 和二抗分别购自福州迈新公司和北京中杉公司。电话及电子邮件随访。

2 结果

2.1 影像学检查 6 例表现为片状实变影,4 例呈孤立性团块状影(图 1A),1 例合并肺癌及胸腔积液;4 例表现为多发点、片状低密度阴影,其中 1 例见纵膈淋巴结多发结节、第 8 胸椎及周围软组织破坏及肝、脾内多发灶状低密度影(图 1B)。

2.2 病理检查

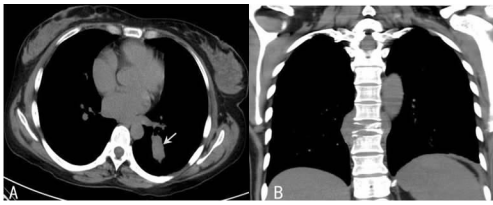
2.2.1 巨检 8 例手术切除标本,呈囊实性,病灶大小不等,边界不清,无明确包膜,切面灰白灰褐色或半透明胶冻状,中央区域似有坏死。其余 6 例为条状穿刺活检组织。

2.2.2 镜检 病变区域组织结构破坏,形成典型肉芽肿性病变,主要由隐球菌菌体及周围组织细胞、多核巨细胞、纤维母细胞及淋巴细胞构成(图 2A)。肉芽肿之间为少许含血管的间质,其中可见中性白细胞和淋巴细胞、浆细胞浸润。坏死区域部分可见组织结构轮廓,未见彻底的干酪样坏死。在巨噬细胞胞质及间质中,可见成簇状或散在空泡状的圆形或卵圆形隐球菌孢子,HE 染色呈无色或淡粉红色,大小不一,其周围有透亮空晕(图 2B)。检病灶内见非干酪性肉芽肿形成,肉芽肿纤维

组织增生,肺间质和肺泡内可见圆形或卵圆形呈空泡状的隐球菌菌体,部分多核巨细胞内见有隐球菌菌体。

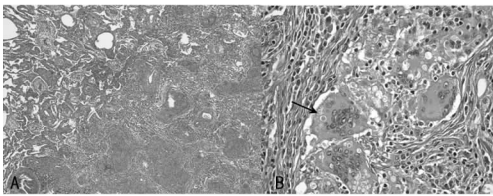
2.2.3 特殊染色 PAS 染色隐球菌细胞壁呈深红色,而胞质呈淡红色(图 3A);GMS 染色显示为黑色(图 3B)。

2.2.4 免疫组织化学 组织细胞 CD68 呈阳性(图 4)。



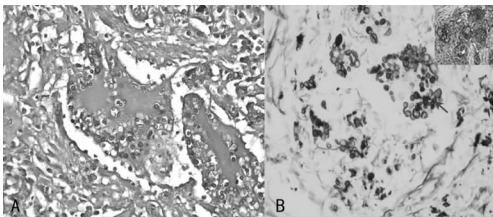
注:A 为 CT 扫描左肺下叶后段不规则块状影;B 为 CT 扫描胸 8 椎体骨质破坏及周围软组织肿块。

图 1 影像学检查



注:A 为肉芽肿样病变(H&E, ×40);B 为多核巨细胞内见孢子(H&E, ×200)。

图 2 病理检查(镜检)



注:A 为粉色孢子(PAS, ×200);B 为黑色孢子(GMS, ×200),右上角 IHC 示 CD68 阳性。

图 3 特殊染色

3 讨 论

3.1 概述 可经呼吸道、消化道或皮肤侵入人体引起感染发病,患有慢性消耗性疾病及免疫受损、营养不良者为本病的易感人群^[6]。鸟类是人类隐球菌病的重要传染源,有鸽粪接触者容易感染。有些可无基础性疾病而发病,但此类患者常有吸烟史,可能与其免疫力下降有关^[7]。儿童患者出现隐球菌感染,往往提示原发性免疫缺陷。

PC 与患者的免疫状态有关,免疫力正常者常形成非干酪性肉芽肿性病变,并可见中性粒细胞和淋巴细胞浸润。相反,免疫力低下者则不易形成肉芽肿,而易血行扩散至其他脏器,如脑膜及骨骼。隐球菌进入肺部后,早期定植在气道或肺泡,形成黄白色或粉红色胶状半透明物质。此时症状和影像学改变均不明显,进而菌体聚集,孢子在肺泡内生长,呈现发热及典型的呼吸道症状。后期形成大小不等的肉芽肿,部分区域可坏死形成小的空洞,但钙化罕见。

3.2 诊断 PC 临床表现及影像学缺乏特异性,血清学检查对 PC 确诊意义不大,分子生物学检查技术现仍主要用于研究^[2,8-9]。本组病例中入院诊断仅有 2 例考虑为隐球菌病,其余均误诊为肺结核、肺癌或炎性假瘤。1 例为鳞状细胞癌伴隐球菌,1 例为播散型隐球菌病,表现为多脏器、胸椎及皮下多发性病灶,该患者为老年女性,有中度营养不良病史。病原菌的认

定必须结合形态特征,尽管在 HE 切片上常不着色,如不仔细阅片,容易漏诊或误诊,但在组织中仔细观察仍可辨认病原体轮廓。在肉芽肿性病变的组织细胞尤其巨核细胞中查见大量圆形或卵圆形的隐球菌孢子,具有诊断价值。这些孢子直径约 4~6 μm ,个别可达 20 μm ,大小为红细胞的 2~3 倍,有的带芽孢,外被宽厚的胶样荚膜^[1,6]。

3.3 鉴别诊断 PC 需与下列病变相鉴别。(1)肺结核:常形成类上皮细胞结节,中央有典型干酪样坏死。病变组织需经抗酸染色方可显示弯曲或分枝状结核杆菌。而 PC 为非干酪样肉芽肿,大片菌团可发生死亡,但周围组织无坏死,在 HE 切片上直接可见圆形孢子。(2)肺结节病:形成大小相似的非干酪性肉芽肿,结节也可融合,其中心区域可见纤维素样坏死,细胞内及细胞外常有多种包涵物,如星状体及嗜碱性同心板层小体。而 PC 不会出现这样弥漫一致的结节样病灶。(3)卡氏肺囊虫肺炎:表现为慢性炎症,肺泡腔内充满呈泡沫状或黏液样、无定形粉染物质,有时也呈现肉芽肿病变并伴有多核巨细胞反应。在免疫功能低下患者中可能存在卡氏肺囊虫与隐球菌混合感染的可能。(4)肺组织胞质菌病:孢子较隐球菌的小,直径约 1~5 μm ,呈圆形或卵圆形,孢子外也有一透亮的空晕,PAS 染色证实为假荚膜。在间质内看不到孢子,而是稀疏位于细胞内。(5)肺曲霉病:可见特征性的菌丝和果实小体,菌丝细长、呈扇形或珊瑚状定向分布,可伴有色素沉积、草酸钙结晶和 Splendore-Hoeppli 现象。(6)肺毛霉菌病:病变组织的血管壁内发现粗大、分枝少且明显呈直角的毛霉菌丝才能确诊,其菌丝分布不均,很少分隔。而 PC 的孢子呈圆形,无菌丝。(7)肺嗜酸性肉芽肿:典型病变是由 Langerhans 细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞、浆细胞及中性粒细胞组成,Langerhans 细胞嗜酸性,可见核沟,CD1a 常阳性,无孢子。(8)肺巨细胞瘤:肿瘤性巨细胞体积较大,形态各异,部分区域似多形性肉瘤,胞质丰富,核分裂多见,常伴有明显的中性粒细胞浸润。而 PC 的孢子无细胞核,免疫组织化学标记 CK 阴性同时 CD68 阳性。(9)炎性肌纤维母细胞肿瘤(炎性假瘤):由肥胖的(肌)纤维母细胞和大量慢性炎细胞组成。肿瘤成分复杂,多样性明显,瘤组织排列疏密不均,有时可见泡沫样组织细胞、巨细胞反应及核内包涵体,形如神经节细胞,但无孢子。(10)其他:肺念珠菌病、肺放线菌病、肺马内非青霉菌病等特异性感染性疾病正如它们的名字所表达的那样,其菌丝或孢子均与 PC 的显著不同^[10]。

3.4 治疗和预后 根据美国感染性疾病协会隐球菌治疗指南^[2,8-10]。如果是孤立性隐球菌肺炎,首选氟康唑 400 mg/d,之后减为 200 mg/d,治疗 6 个月;也可用伊曲康唑、伏立康唑或泊沙康唑可作为替代用药;一般疗程为 6~12 个月。手术治疗适用于需明确诊断,或影像学持续异常且抗真菌治疗无效的患者^[7]。本组病例中 6 例内科单纯药物治疗者 2~6 个月后,肺部阴影均减小,其中 1 例播散型患者肺内结节明显缩小但未消散。其余 8 例均行手术治疗:1 例肺叶切除,4 例行肺段切除,3 例行病灶切除。术后行全身抗真菌治疗,均未见复发或出现隐球菌性脑膜炎。总而言之,提高临床医生及病理医生对 PC 的认识是关键,若诊断及及时,治疗得当,大部分患者预后良好。

参考文献

- [1] Jarvis JN, Harrison TS. Pulmonary cryptococcosis[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2008, 29(2): 141-150.
- [2] Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al. (下转第 2967 页)

续表 1 两组不同治疗术后相应情况对比($\bar{x}\pm s$)					
组名	<i>n</i>	手术时长 (min)	引流管置放 时长(d)	术后患者卧床 的时长(d)	术中出血量 (mL)
<i>t</i>	—	0.795	1.221	16.465	19.168
<i>P</i>	—	0.120	0.106	0.000	0.000

2.2 两组不同治疗术后恢复效果对比(表 2)。

表 2 两组不同治疗术后恢复效果对比($\bar{x}\pm s$)				
组名	<i>n</i>	Cobb 角的矫正率	椎体塌陷的矫正率	术后 JOA 评分
观察组	68	84.7±2.2	82.8±2.5	24.2±0.7
对照组	68	85.2±2.4	83.3±2.6	18.6±0.8
<i>t</i>	—	0.682	0.653	26.401
<i>P</i>	—	0.071	0.091	0.000

3 讨 论

伴随着社会的迅速发展,各类交通工具和现代化器械工具使用频率越来越高,发生胸腰段骨折的临床病患也逐渐增多^[3]。传统入路术式在对该病进行治疗时,对于病患脊柱的后方结构缺乏保护性考虑,从而使得治疗效果不是非常理想。据刘军等^[4]报道,传统入路方式旨在解决病患相应功能障碍,而往往忽视手术产生的椎旁肌损伤。通常肌间隙间没有明显性神经血管的界面。而若以手术把胸腰背筋膜顺着棘突双侧以纵形方式切开之后,即可发现最长肌以及多裂肌,对最长肌以及其终点的肌腱,和多裂肌组成的间隙进行钝性分离,则能够到达椎弓根的螺钉入点,从而完成螺钉置入。这样不会造成医源性的椎旁肌伤害,符合陈云生等^[5]报道结果。本文通过对此类骨折患者实施椎旁肌入路术式治疗,观察组在术后患者卧床时间和术中出血量明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。而在手术时间和引流管置放时间方面,差异无统计学意义($P>0.05$),与焦伟等^[6]报道一致。观察组术后 JOA 评分与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。在 Cobb 角的

矫正率,以及在椎体塌陷的矫正率方面,差异无统计学意义($P>0.05$),也与黄伟等^[7]报道相符。采用此种术式不仅可以在较短时间内下床运动,还具有创伤小,出血少,无需广泛对椎旁肌进行剥离等优点^[8]。综上所述,对于胸腰段骨折病患实施椎旁肌入路术式,优点多,疗效满意,值得临床推广。

参考文献

[1] 辛宏力. 胸腰段脊柱骨折经伤椎椎弓根钉固定治疗体会[J]. 中国现代医生, 2012, 50(29): 155-156.

[2] 石金平. 后路内固定融合术治疗脊柱胸腰段骨折 98 例临床疗效观察[J]. 当代医学, 2012, 18(31): 86-87.

[3] 张红, 刘战立, 常山, 等. 经前后路手术治疗胸腰段骨折伴脊髓损伤 88 例疗效分析[J]. 海南医学, 2012, 23(21): 68-69.

[4] 刘军, 王琪, 陈语, 等. 经皮单节段椎弓根螺钉固定治疗胸腰段骨折的临床研究[J]. 脊柱外科杂志, 2012, 10(6): 325-326.

[5] 陈云生, 陈荣春, 郭朝阳, 等. 经皮手法穿刺置椎弓根钉治疗无神经损伤的胸腰段骨折[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(22): 3800-3801.

[6] 焦伟, 于海洋, 梁成民. 经椎旁肌间隙入路微创小切口在胸腰段骨折术后内固定取出术中的应用[J]. 临床骨科杂志, 2011, 14(2): 168-170.

[7] 黄伟, 尹毅, 单辉强, 等. 短节段椎旁入路经伤椎椎弓根钉治疗胸腰段骨折疗效分析[J]. 实用临床医药杂志, 2012, 16(19): 134-135.

[8] 陈晓陇, 尚平, 温月凤, 等. 椎旁肌间隙入路与传统后正中入路在胸腰椎后路手术中的应用比较[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2012, 22(10): 925-930.

(收稿日期: 2013-06-25 修回日期: 2013-08-12)

(上接第 2965 页)

Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults; 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA) [J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010, 31(5): 431-455.

[3] Yokomise H. Surgical treatment of pulmonary aspergilloma and pulmonary cryptococcosis[J]. Kyobu Geka, 2011, 64(8): 747-751.

[4] Chandrashekar UK, Acharya V, Varghese GK, et al. An unusual presentation of pulmonary cryptococcosis with co-existing disseminated tuberculosis in an AIDS patient [J]. Trop Doct, 2012, 42(1): 60-62.

[5] Ghimire P, Sah AK. Pulmonary cryptococcosis and tuberculoma mimicking primary and metastatic lung cancer in 18F-FDG PET/CT[J]. Nepal Med Coll J, 2011, 13(2): 142-143.

[6] Brizendine KD, Baddley JW, Pappas PG. Pulmonary cryptococcosis[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2011, 32(6): 727-734.

[7] Ye F, Xie JX, Chen GQ, et al. Retrospective Analysis of 76 Immunocompetent Patients with Primary Pulmonary Cryptococcosis[J]. Lung, 2012, 190(3): 339-346.

[8] Limper AH, Knox KS, Sarosi GA, et al. An oficial American thoracic society statement: Treatment of fungal infections in adult pulmonary and critical care patients[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 183(1): 96-128.

[9] De PB, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group [J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(12): 1813-1821.

[10] Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease; 2010 update by the infectious diseases society of America [J]. Clin Infect Dis, 2010, 50(3): 291-322.

(收稿日期: 2013-06-17 修回日期: 2013-08-05)