



肌肉活检技术在神经肌肉疾病诊断中的应用

戴廷军

(山东大学齐鲁医院神经内科, 济南 250012)

Muscle biopsy in the diagnosis of neuromuscular diseases

Dai Tingjun

(Department of Neurology, Qilu Hospital of Shandong University)

【中图分类号】R741

【文献标志码】A

【收稿日期】2021-05-06

肌肉活检又称肌肉活体组织检查,是临床上对神经肌肉疾病诊断、病理机制研究以及病因探索有重要价值的一项微创检查手段。除了临床查体、肌电图、实验室检查及分子遗传学检测外,肌肉活检常能够对一些临床上表现为急性或慢性进展性肌无力的患者明确诊断或缩小鉴别诊断范围。一些具有特征性病理改变的肌病可以通过肌肉活检病理直接明确诊断,包括炎症性肌病(如皮肌炎、多发性肌炎、包涵体肌炎和免疫介导坏死性肌病)、部分类型肌营养不良[如进行性假肥大性肌营养不良(Duchenne muscular dystrophy, DMD)/贝克肌营养不良(Becker muscular dystrophy, BMD)和肢带型肌营养不良 2B 型等]、部分代谢性肌病(如脂肪沉积性肌病、线粒体病、糖原累积病、溶酶体病等)和一些具有特殊病理结构的先天性肌病(如杆状体肌病、中央轴空病等)。另外,临床上部分多系统受累疾病,如线粒体病、系统性血管炎等,常同时累及肌肉和神经,可通过肌肉和神经联合活检明确诊断。

掌握肌肉活检的一些基本知识和肌肉病理改变,有助于临床医师及神经病理医师更好地认识和理解神经肌肉疾病。

1 肌肉活检适应证

肌肉活检主要是结合肌酸激酶(creatine kinase, CK)与肌电图对临床上以肌无力和(或)肌萎缩为主要表现的患者进行诊断和鉴别诊断。包括①原发性骨骼肌疾病的诊断,如 DMD/BMD、先天性肌营养不良、肢带型肌营养不良等;②系统性疾病伴骨骼肌受累的诊断,如线粒体病及其他代谢性疾病(神经元蜡样脂褐质沉积);③部分神经源性疾病的诊断,

如脊髓性肌萎缩(spinal muscular atrophy, SMA)等,肌肉病理上可呈现特征性神经源性病理改变;④临床和电生理检查提示神经源性和肌源性混合损害的鉴别诊断;⑤无症状高 CK 血症(包括 DMD/BMD 基因携带者)。

2 肌肉活检部位的选择

理论上所有受累的肌群均可作为活检部位的选择,但临床上肌肉活检部位的选择通常取决于疾病病程,同时兼顾取材方便、安全的原则。对于急性骨骼肌疾病(如炎症性肌病),因其病程较短(数周或数月),可以选取受累最重的肌肉进行活检,以便更好地发现特征性肌肉病理改变。而对于慢性肌肉疾病(如肌营养不良),由于其病程较长(数年),通常选择中等程度受累(肌力 4 级)的肌肉进行活检,而非选取受累最重的肌肉(通常被脂肪组织取代)。对于部分取材部位选择困难的病例(如肌营养不良晚期或无症状高 CK 血症),可以在肌肉磁共振影像指导下选取肌肉活检部位。另外,注意避免选取近期曾行针极肌电图、局部注射药物或局部有创伤的肌肉进行活检,以免影响肌肉病理结果的判读。

临床上常用的肌肉取材部位包括肱二头肌、三角肌、腓肠肌、胫骨前肌、股外侧肌等,其中最常选取的是肱二头肌,主要是由于肱二头肌取材方便、安全,且纤维类型均衡(I: II A: II B ≈ 1:1:1)。

3 肌肉活检标本的取材

临床上有 2 种肌肉活检取材方式,分别为针刺活检和开放式活检。为提高肌肉病理诊断阳性率,通常选取开放式活检。图 1 为肱二头肌开放式活检示意图。具体方法如下:选定活检部位,常规消毒,2%利多卡因局麻,切开皮肤(切口长一般为 3 cm),分离皮下组织,暴露皮下筋膜,切开筋膜暴露肌肉,用血管钳沿肌纤维走行小心分离出直径 5 mm、长 1~1.5 cm 的肌纤维束,用粗线结扎一端,先剪断另一端,提起结扎线,再剪断结扎的一端,用生理盐水浸透的纱布轻轻包起

作者简介:戴廷军,神经病学博士、副主任医师。现任中华医学会神经病学分会神经病理学组委员、山东省神经科学学会神经病学分会委员、山东省医学会神经病学分会神经肌肉病学组委员、山东省疼痛研究会老年病专业委员会委员。主持国家自然科学基金(青年)和山东省自然科学基金(青年)各 1 项,以第一作者或通信作者发表 SCI 及中文核心期刊论文 10 余篇。研究方向:神经肌肉病及神经免疫性疾病。Email:tingjundai@sdu.edu.cn。

优先出版:<https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20210622.1713.002.html>

(2021-06-23)

所取肌肉,置于冰壶内。然后缝合肌外膜,缝合皮肤,活检结束。为避免影响病理结果的判读,术中要避免烧灼、钳夹和缝合肌肉,以免产生病理伪差。

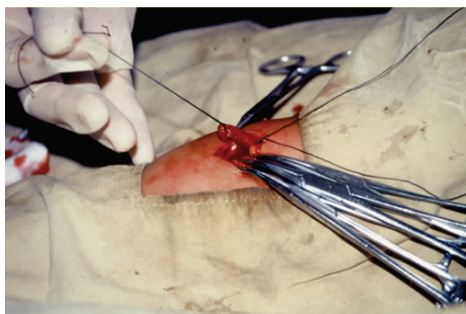


图 1 肱二头肌开放式活检取材

相较于开放式活检,针刺活检的优点是取材方便,且创伤小,所需切口仅 5~10 mm,而开放式活检切口通常至少需要 30 mm,缺点是取材量少(约 100 mg),容易缺失关键病理(局灶性或肌束膜病理),而且需要专门的活检穿刺针。另外,针刺活检不能够直视取材,并且取材时如果出血的话不能同开放式活检一样直视下钳夹止血,甚至有时需要转为开放式活检而止血。

4 肌肉活检标本的处理

4.1 转运

用生理盐水浸湿的纱布轻轻包裹新鲜取材的肌肉(避免肌肉直接浸泡在生理盐水、固定剂或其他液体中),放入密封塑料袋或塑料容器中,置于冰壶内(避免肌肉直接接触冰块),尽快转运至专门实验室冻存(最好 30 min 内),以免肌肉组织丧失酶活性。

4.2 冻存

通常采用异戊烷速冻法冻存肌肉,即将肌肉放置在预先以液氮冷却至 -160°C 的异戊烷溶液中快速冻存。该步骤在肌肉标本的处理过程中至关重要,若冻存不良,将极大影响后续病理染色结果的判读。具体方法如下:首先将新鲜肌肉标本用黄蓍胶固定在直径 1.5 cm、厚 0.5 cm 的圆形软木块上,将盛有 20 mL 异戊烷的小烧杯置于液氮内并用玻璃棒不停地搅拌异戊烷,待烧杯底部出现白色结晶时将准备好的标本投入异戊烷中,并不停搅拌 10~20 s 即可。冻存后的肌肉标本需存放在 -80°C 低温冰箱内长期保存。需要注意的是,在肌肉活检标本的转运和冻存过程中,如处理不当均有可能产生病理伪差,影响后续病理观察。

5 肌肉冰冻切片和病理染色

取出冻存肌肉标本放置于冰冻切片机内,切成 8~10 μm 的切片。根据诊断目的及实验室条件的不同,选择不同的染色方法(图 2)。主要包括:①普通组织化学染色,包括苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色、改良 Gomori(modified Gomori trichrome, MGT)染色、过碘酸希夫(periodic acid Schiff, PAS)染色、油红 O(oil red O,ORO)染色及刚果红染色;②酶

组织化学染色,包括还原型辅酶 I-四氮唑蓝还原酶(NADH-tetrazolium reductase, NADH-TR)染色、琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)染色、细胞色素 C 氧化酶(cytochrome C oxidase, CCO 或 COX)染色、腺苷三磷酸酶(adenosine triphosphatase, ATPase)染色、酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)染色、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)染色等;③免疫组织化学染色(抗体包括 CD3、CD4、CD8、CD20、CD68、dystrophin-C/N/Rod、sarcoglycan、merosin、dysferlin、collagen VI、desmin、MHC-1、dystroglycan、caveolin、laminA/C、emerin 等)。

6 肌肉活检标本的其他用途

新鲜肌肉活检标本除了上述冻存用于冰冻切片病理染色外,还可应用于以下几个方面:①电镜检查:取新鲜活检肌肉标本少许,放入 2.5%~4% 的戊二醛溶液固定后,中性树脂包埋,然后在电镜下观察肌肉超微结构的变化。②酶学分析:常温下,骨骼肌离体后酶活性很快降解,冰冻组织能够很大程度上保存酶活性,但长期冰冻保存的组织酶活性仍会降低,不利于酶活性分析,临床上通常选取新鲜活检标本进行酶学分析,以检测酶活性缺陷。③蛋白质组学:选取冰冻组织或新鲜活检组织提取蛋白,进行 Western blot,以检测蛋白功能的缺陷。④基因分析:选取冰冻组织或新鲜活检组织提取 DNA 或 RNA,行 PCR 或二代测序等,从分子水平直接检测致病基因突变。

7 肌肉活检病理诊断的注意事项

实施肌肉活检病理诊断,需要注意以下几点:

第一,熟悉正常肌肉组织结构,注意识别肌间质内血管、肌内神经、肌梭和肌腱联合处等正常病理改变。

第二,明确不同年龄、不同性别和不同部位肌肉的病理改变存在差异。例如,新生儿肌纤维直径为 10 μm 左右,儿童肌纤维直径为 40~60 μm ,而成人肌纤维直径为 80~100 μm 。

第三,认识肌肉活检取材的局限性。与针极肌电图可以同时选取多块肌肉进行检测不同,肌肉活检通常仅能取材单一一块肌肉,对于一些选择性肌肉受累的患者,如果没有取到病变肌肉,可能就发现不了典型的病理改变。此种情况下,通常需要借助肌肉磁共振明确受累肌群,然后再做肌肉活检。

第四,学会识别各种常见病理性伪差,包括肌肉标本取材、转运、冻存、切片及染色过程中的各种伪差,避免将伪差误认为病理性改变。

第五,熟悉常见神经肌肉病的特征性病理改变。肌肉活检病理改变主要分为肌源性损害和神经源性损害两大类,其中肌源性损害病理改变主要包括:①坏死性肌病,以肌纤维坏死、吞噬和再生为主要病理改变,而炎症细胞浸润少见。以坏死性肌病为主要病理改变的肌肉病主要见于急性横纹肌溶解、免疫介导坏死性肌病和肌营养不良。急性横纹肌溶解表现为短时间内大量肌纤维处于同一时相的坏死或再生;免疫介导坏死性肌病的病理上坏死和再生肌纤维处于不同时相且呈散在分布,若病程较长,也可伴有明显间质结缔组织增生,容易误诊为肌营养不良;肌营养不良(如 DMD/BMD)的

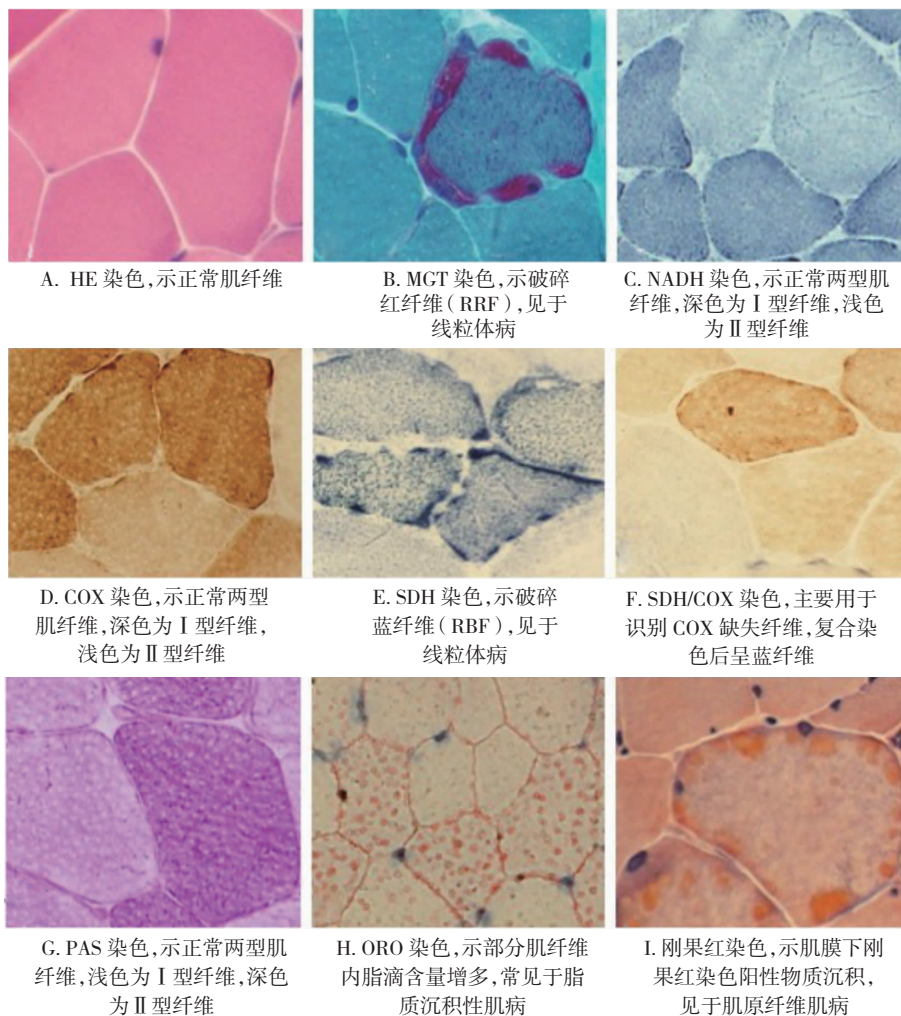


图 2 常用肌肉活检病理染色方法

坏死和再生肌纤维呈小群分布, 且处于不同时相, 同时伴有高收缩肌纤维及肌间质脂肪和结缔组织增生。②炎症性肌病, 病理上同时有炎症细胞浸润和显著的肌纤维坏死、吞噬和再生, 主要见于多发性肌炎、皮肌炎和包涵体肌炎。③空泡性肌病, 以肌纤维内空泡形成为主要病理改变, 主要包括脂质沉积性肌病 (肌纤维内脂滴空泡)、糖原贮积性肌病 (糖原空泡) 及溶酶体肌病 (自噬性空泡) 等。④线粒体肌病, 以肌纤维内异常线粒体聚集为主要病理改变, 病理上表现为破碎红纤维、破碎蓝纤维、COX 酶活性缺失肌纤维等。⑤蛋白聚集性肌病, 表现为肌纤维内异常蛋白的聚集, 病理上表现为肌纤维内各种包涵体形成, 包括胞浆体、球形体等, 主要见于肌原纤维肌病。⑥先天性肌病, 包括杆状体肌病、中央轴空病、中央核肌病等。

8 总 结

肌肉活检是临床医师诊断神经肌肉疾病所致肌无力的一个非常有价值的诊断工具。在临床查体、电生理及实验室检查结果的基础上, 肌肉活检病理能够提供关键的诊断线索, 从而有助于患者的早期诊断和早期治疗。另外, 虽然肌肉

活检方法相对直观简单, 但要得到高质量的肌肉病理结果, 尚需要临床医师、手术医师、实验室技术人员及病理医师的通力合作, 建议有条件的地方可设立肌病多学科小组, 提前做好规划设计, 包括肌肉活检部位的选取、手术方法的选择、标本的运送和处理, 以及各种病理染色的选择等。

参 考 文 献

- [1] Nix JS, Moore SA. What every neuropathologist needs to know: the muscle biopsy[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2020, 79(7): 719-733.
- [2] Pearl GS, Ghatak NR. Muscle biopsy[J]. Arch Pathol Lab Med, 1995, 119(4): 303-306.
- [3] Joyce NC, Oskarsson B, Jin LW. Muscle biopsy evaluation in neuromuscular disorders[J]. Phys Med Rehabil Clin N Am, 2012, 23(3): 609-631.
- [4] Cai C, Anthony DC, Pytel P. A pattern-based approach to the interpretation of skeletal muscle biopsies[J]. Mod Pathol, 2019, 32(4): 462-483.
- [5] Engel AG, Franzini-Armstrong C. Myology: basic and clinical[M]. 3rd ed. New York: McGraw-Hill, 2004.

(责任编辑: 冉明会)