

骨肿瘤骨膜异常的 MRI 表现与病理对照实验研究

张小玲 陈应明 孟俊非 张中伟

【摘要】 目的 研究兔 VX₂ 骨肿瘤模型中各种骨膜改变的 MRI 表现及其病理基础, 评价 MRI 显示骨膜改变的价值。方法 制作 32 只兔 VX₂ 骨肿瘤模型, 并设 36 只阳性对照和 4 只阴性对照。制作模型后每 5 d 对所有肿瘤模型进行 X 线及 MR 检查, 每次影像检查之后随机处死 4 只实验兔, 取材后制作病理切片, 进行影像与病理对照观察。结果 肿瘤模型制作后第 5 ~15 天, 发现 32 只兔实验侧胫骨骨膜水肿; 第 20 天, 发现 19 只实验侧胫骨骨膜增厚; 第 25 天, 发现 11 只实验侧胫骨骨膜新生骨并骨膜增厚; 第 30 天, 发现 11 只实验侧胫骨被肿瘤掀起的骨膜新生骨; 第 35 ~40 天, 骨膜新生骨及骨膜被肿瘤破坏。结论 兔 VX₂ 骨肿瘤中骨膜改变依次包括骨膜水肿、骨膜增厚、骨膜新生骨、骨膜新生骨破坏、骨膜破坏。MRI 能够显示各种骨膜改变, 对骨膜改变的评价有重要价值。

【关键词】 骨肿瘤; 骨膜; 磁共振成像; 动物实验

Comparison of MRI and pathology of periosteal change in experimental bone tumor ZHANG Xiao-ling, CHEN Ying-ming, MENG Quan-fei, ZHANG Zhong-wei. Department of Radiology, First Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

Corresponding author: MENG Quan-fei, Email: cjr. mengquanfei@vip.163.com

【Abstract】 Objective To study MRI features and pathologic basis of various periosteal changes in rabbit VX₂ bone tumor and to evaluate the role of MRI in the change of periosteum in bone tumor. Methods Bone tumor models were induced by injection of VX₂ carcinoma cell suspension into the medullary cavity of right tibiae in 32 rabbits. Thirty-six positive contrast cases and 4 negative contrast cases were established. Serial plain films and MRI examinations were performed at an interval of 5 days following the implantation. Every 4 rabbits were sacrificed immediately after imaging. The findings of periosteal changes were compared between imaging features and pathologic results. Results From the 5th to 15th day after implantation of VX₂ carcinoma, periosteal edema was demonstrated in 32 tibiae. On the 20th day, periosteal thickening was revealed in 19 tibiae. On the 25th day, periosteal new bone with the thickened periosteum attaching to its outer surface was found in 12 tibiae. On the 30th day, periosteal new bone with the thickened periosteum were elevated by the tumor in 11 tibiae. On the 35th to 40th day, destruction of periosteal bone and periosteum were revealed. Conclusions The progress of periosteal changes in rabbit VX₂ bone tumor included periosteal edema, periosteal thickening, periosteal new bone, destruction of periosteal new bone and destruction of periosteum. Various periosteal changes could be demonstrated on MRI and MRI is useful in evaluating periosteal changes.

【Key words】 Bone neoplasms; Periosteum; Magnetic resonance imaging; Animal experimentation

骨膜反应是骨关节病变的常见征象之一, 是骨膜对全身或局部各种病理变化的一种反应性改变。传统影像学定义的骨膜反应是骨膜受到刺激后反应性增生并具有足够的钙盐沉着而形成骨膜新生骨在 X 线平片上显示出来的一种征象。传统的 X 线平片所显示的骨膜反应有多种表现, 可作为评价病变生物学特性的重要征象^[1]。但在骨膜新生骨形成

之前及骨膜反应形成及变化过程中是否有尚未在 X 线影像中观察到的骨膜改变, 其病理基础如何, 笔者通过建立兔 VX₂ 骨肿瘤模型, 采用多种影像检查手段观察骨膜改变, 对肿瘤生长进行全程动态的影像与病理观察, 以扩展对骨膜反应的认识, 评价 MRI 显示骨膜改变的价值, 从中总结骨肿瘤中骨膜改变的发生和演变规律。

资料与方法

一、动物模型

作者单位: 510080 广州, 中山大学附属第一医院放射科

通信作者: 孟俊非, Email: cjr. mengquanfei@vip.163.com

36 只新西兰大白兔(中山大学实验动物中心提供), 体重 2.5 ~3.0 kg, 雌雄不限, 进行标准兔舍圈养、饮用水及标准兔饲料喂养。本实验遵循中山大学关于保护和使用实验动物的有关规定。

对 36 只兔依次编号, 用随机数字表法将其随机分为 2 组, 32 只为实验组, 4 只为对照组。将新鲜的活 VX₂ 肿瘤(中山大学实验动物中心提供) 研磨, 并经 Hanks 液滤过制成 1×10^6 细胞/ml 的肿瘤细胞悬液。在无菌条件下经兔耳缘静脉注射 3% 戊巴比妥钠(1 ml/kg) 麻醉动物。将实验组 32 只兔的右膝关节打开, 用 18 G 的骨穿针从胫骨近端关节面穿刺进入胫骨骨髓腔中上段, 注入 0.3 ml 肿瘤细胞悬液。拔针, 穿刺点用骨蜡封口并缝合软组织。左侧胫骨作为阳性对照组, 进行相同的操作, 但不注射肿瘤细胞悬液。将 4 只对照组兔的右侧胫骨纳入阳性对照组, 操作方法同上; 左侧胫骨为阴性对照, 不作任何操作。

二、影像检查

根据预实验中肿瘤生长速度及骨质破坏进程, 制定影像检查计划。于肿瘤种植后每 5 d 对 36 只动物在麻醉状态下行 X 线平片及 MR 检查。X 线平片检查包括双侧胫骨的正侧位片。MR 检查在 Siemens MR 扫描仪 (Magnetom Trio Tim 3.0 T, Germany) 上进行, 应用标准肢体线圈。动物右侧卧位, 后腿置入线圈中心, 进行 SE 序列扫描, 包括 T₁WI (TR 700 ms, TE 10 ms), T₂WI (TR 2000 ms, TE 70 ms) 及静脉注射钆喷替酸葡甲胺 (Gd-DTPA) 0.1 mmol/kg 后 T₁WI (TR 700 ms, TE 10 ms), 并采用了脂肪抑制序列扫描。通过影像检查连续观察 VX₂ 肿瘤的生长情况、骨质破坏范围及骨膜改变, 总观察期为 40 d。

三、病理检查

每次影像检查之后, 用静脉注射过量戊巴比妥钠深麻醉法处死 4 只实验组动物, 4 只对照兔在第 40 天用相同方法处死。于膝关节水平离断肢体, 将标本浸泡于 4% 的甲醛溶液固定, 4% 盐酸脱钙 1 周后石蜡包埋、切片并行 HE 染色, 由病理科医师观察并与影像结果相对照。实验设计见表 1。

表 1 各组兔不同时间进行影像检查的胫骨数(只)

组别	胫骨数	影像检查时间							
		5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d	35 d	40 d
实验组	32	32	28	24	20	16	12	8	4
阴性对照组	4	4	4	4	4	4	4	4	4

结 果

一、实验组

32 只实验组动物右侧胫骨在影像及病理检查均可见 VX₂ 肿瘤生长。

1. 影像结果: X 线平片显示实验侧胫骨进行性骨质溶解破坏。在肿瘤种植后第 20 天之前骨质破坏局限于髓腔而不累及骨皮质。在肿瘤种植后第 25 ~30 天, 于 15 只实验侧胫骨可见骨皮质破坏并骨膜新生骨形成。在肿瘤种植后第 35 ~40 天, 于所观察的 8 只实验侧胫骨发现骨皮质破坏范围进一步扩大, 并出现中断的骨膜新生骨。

MR 检查中, 由于 T₁WI 对骨膜改变显示较差, 所以对骨膜改变的观察主要在 T₂WI 及增强 T₁WI 上进行。在肿瘤种植后的第 5 ~15 天, MR 图像上所有 32 只实验侧胫骨骨髓腔内均可见肿瘤, 骨皮质未受累, 此期间于横断面 T₂WI 及增强 T₁WI 上可见骨皮质周围有细线状环形高信号影, 于长轴面图像上, 为紧贴骨皮质的细线状高信号影(图 1, 2)。在第 20 天的 MR 图像上, 肿瘤在骨髓腔内范围增大, 骨皮质仍未破坏, 于 19 只实验侧胫骨发现前期 T₂WI 及增强 T₁WI 上所见的骨皮质旁细线状高信号增粗并毛糙, 于横断面上呈现为“晕征”(图 3 ~5)。在第 25 天的 MR 图像上, 骨皮质破坏可在各个序列上显示, 于 8 只实验侧胫骨, 可见肿瘤区域骨皮质增厚、信号不均, T₂WI 上线形高信号影包绕在增厚的骨皮质表面(图 6, 7)。另外 3 只实验侧胫骨近段可见同心圆状高低信号交替, 即骨皮质与其外的线状低信号影之间有高信号间隔, 该低信号线外又可见到粗线状高信号。在第 30 天的 MR 图像上, 于 11 只实验侧胫骨可见 VX₂ 肿瘤破坏骨皮质全层, 局部肿瘤表面可见低信号的骨膜新生骨及其外高信号线形影(图 8, 9)。第 35 ~40 天, 骨皮质以外的肿瘤继续生长并破坏骨膜新生骨, Codman 三角是此期特征性的表现, 于长轴面图像上可见肿瘤两端骨皮质呈楔形增厚。在骨膜新生骨中断破坏的区域, 肿瘤表面仍可见到呈等信号的“包膜”。亦有部分区域此“包膜”破坏消失, 肿瘤侵犯肌肉(图 10 ~13)。

2. 病理结果与影像结果对照: 在肿瘤种植后的前 15 d 内, 病理观察可见 VX₂ 肿瘤细胞位于骨髓腔内, 未侵犯骨皮质。MRI 所见的骨皮质旁细线影在镜下为骨膜水肿, 主要表现为骨膜组织结构疏松, 纤维层间隙增大, 骨膜以外的疏松结缔组织内可见

血管增生(图 14)。第 20 天, MRI 所显示的“晕征”在镜下为增厚的骨膜, 骨膜纤维层的胶原及成纤维细胞增多, 细胞形成层则细胞数量增多、体积增大, 密集排列在骨皮质表面(图 15)。偶见单个肿瘤细胞散在于骨皮质内。从第 25 天起, 骨膜新生骨在镜下即非常明显。第 25 天, 骨皮质内即可见多处骨质溶解破坏区, 但大部分区域骨皮质外缘尚保持完整而未被肿瘤破坏。骨膜新生骨为短而细小的骨小梁

垂直或平行于骨皮质外表面排列, 与骨皮质板层骨相连形成 X 线平片及 MR 图像所见的骨皮质增厚的表现(图 16)。在局部区域, 散在的肿瘤细胞穿过扩大的 Haversian 孔到达骨膜下间隙, 将新生骨小梁与骨皮质分离, 这是 MR 图像上高低信号交替变换的组织学基础。在第 30 ~35 天, 骨皮质被肿瘤完全破坏, 肿瘤表面可见骨膜新生骨和增厚的骨膜(图 17) 这些骨膜新生骨的形态在不同部位有所不同, 即

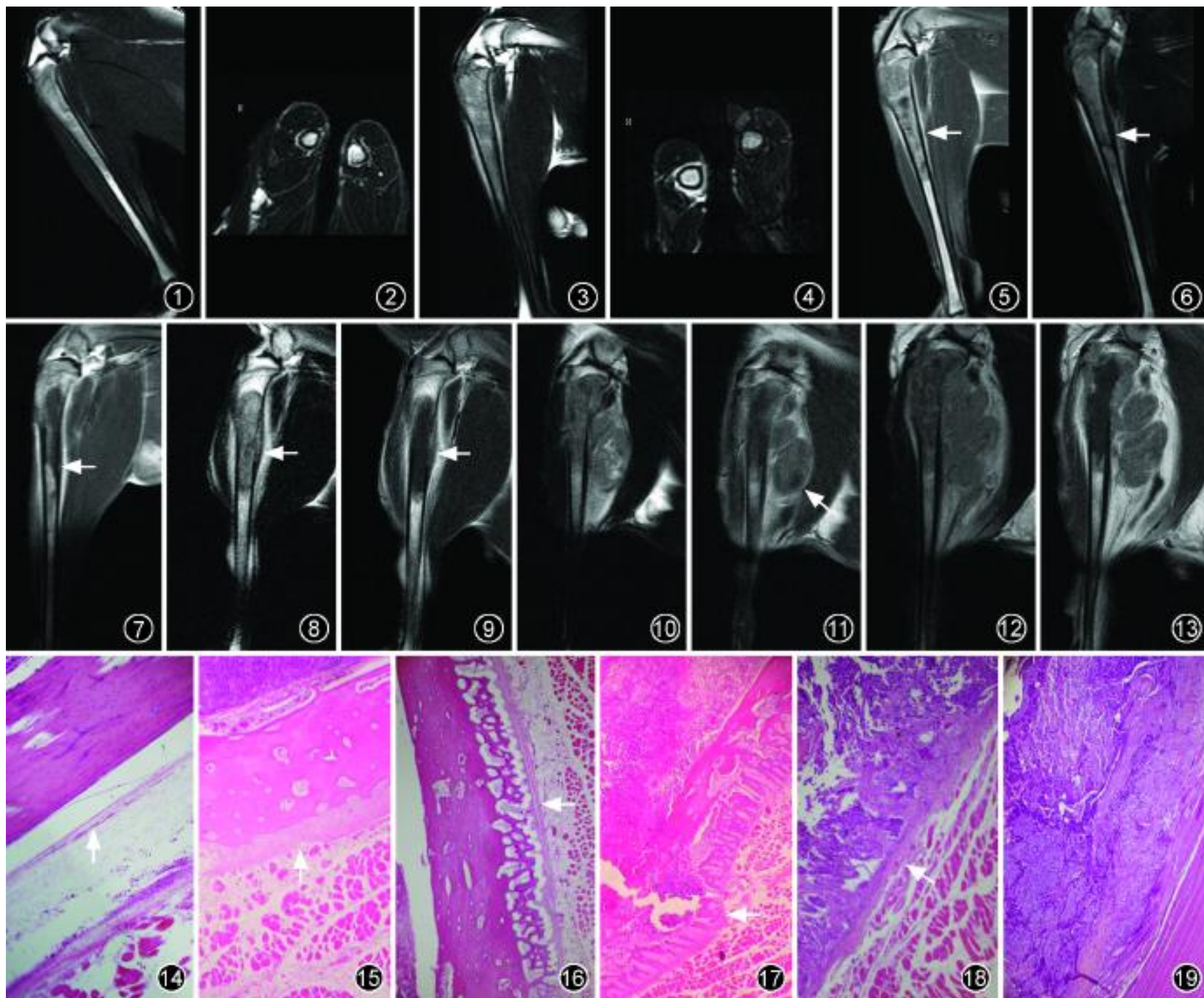


图 1,2 骨膜水肿。T₂WI 示实验侧胫骨(右)骨皮质外细线状高信号影(图 1)或环形高信号影(图 2)。阳性对照侧胫骨亦见骨膜水肿
图 3,4 骨膜增厚。T₂WI 示实验侧胫骨(右)骨皮质外细线状高信号影增粗(图 3),横断面呈“晕征”(图 4)。阳性对照侧胫骨未见骨膜显影
图 5 增强 T₁WI 示增厚的骨膜可强化(箭)
图 6,7 骨膜新生骨形成。T₂WI(图 6),增强 T₁WI(图 7)上骨膜新生骨与骨皮质相连,表现为骨皮质局部增厚,其外为高信号的增厚的骨膜(箭)
图 8,9 骨膜新生骨掀起。T₂WI(图 8)、增强 T₁WI(图 9)上肿瘤破坏骨皮质后将骨膜新生骨及其外层增厚的骨膜掀起(箭)
图 10,11 骨膜新生骨破坏。T₂WI(图 10)、增强 T₁WI(图 11)上肿瘤破坏骨皮质及骨膜新生骨,肿瘤表面有“包膜”(箭)与肌肉分隔
图 12,13 骨膜破坏。T₂WI(图 12)、增强 T₁WI(图 13)上肿瘤表面的“包膜”破坏消失,肿瘤侵犯肌肉
图 14 骨膜水肿在镜下表现为骨膜结构疏松,纤维层间隙增大(箭, HE × 40)
图 15 骨膜增厚在镜下表现为骨膜双层结构增生(箭),细胞形成层细胞明显增多(HE × 100)
图 16 骨膜新生骨在镜下表现为骨皮质外新生骨小梁及其外增厚的骨膜双层结构(箭, HE × 40)
图 17 镜下见肿瘤破坏骨皮质后将骨膜新生骨掀起,骨膜新生骨和骨膜(箭)位于肿瘤表面(HE × 100)
图 18 镜下见肿瘤破坏骨皮质及骨膜新生骨,肿瘤与肌肉之间可见骨膜(箭, HE × 40)
图 19 镜下见肿瘤破坏骨膜并侵犯肌肉(HE × 40)

靠近骨膜的新生骨为不成熟的骨小梁,靠近骨皮质者为编织状成熟的骨小梁。此期,骨膜内、外层的细胞均增生,尤其是细胞形成层的成骨细胞增生呈多层排列,部分成骨细胞伸入到新生骨小梁的间隙中附着于骨小梁表面,靠近骨皮质的骨小梁受肿瘤侵蚀破坏,但骨膜细胞形成层与纤维层内未见到肿瘤细胞。MR 图像上见到的骨膜新生骨外的高信号线即镜下所见增厚的骨膜。第 35 及 40 天时,增大的肿瘤破坏了骨膜新生骨并侵犯其外侧的骨膜组织,骨膜内层的细胞形成层首先被肿瘤细胞代替,而纤维层尚保持完整,此时骨膜部分中断,骨膜成骨活动终止,未被破坏的骨膜纤维层如一包膜位于肿瘤与周围肌肉之间(图 18)。在骨膜的纤维层及细胞形成层均受肿瘤破坏的区域,肿瘤侵犯周围肌肉。生长于骨膜以外的肿瘤组织内无新生的骨膜形成骨(图 19)。未被破坏的骨膜纤维层即 MRI 上所见到的等信号线形影。

二、对照组

在阳性对照胫骨的近段,可见骨质有轻微破坏,但其严重程度不呈进行性加重,X 线平片上未显示骨膜新生骨。MR 图像上,于手术后的第 5~15 天,36 只中的 31 只在 T₂WI 及增强 T₁WI 上可见到胫骨骨皮质旁细线状高信号影(图 2),镜下病理证实为骨膜水肿。在随后连续的 MR 及病理检查中水肿的骨膜渐恢复为正常骨膜结构(图 4)。在 X 线平片和 MR 图像上,4 只阴性对照侧胫骨未发现任何骨质异常或骨膜异常,均为病理证实。实验结果见表 2。

讨 论

骨膜分骨内膜和骨外膜,笔者在此只讨论后者在 VX₂ 骨肿瘤生长过程中的变化。骨外膜在组织学上包括 2 层结构,即外层的纤维层和内层的细胞形成层,二者之间可能存在过渡层^[1]。静止状态下,骨膜含较少的细胞成分,主要为成熟的纤维组织组成,在各种影像检查中均不能显示。当骨骼发生

肿瘤时,包括大多数良性与恶性病变,骨膜即发生各种可为影像检查所显示的改变,其中包括 X 线平片可显示的骨膜新生骨及其不能显示的其他骨膜改变。MR 作为一种先进的影像检查方法,不但可以清楚地显示 X 线所显示的各种形式的骨膜形成骨^[2-6],而且可以显示多种骨肿瘤中骨膜改变的特点^[7-10]。笔者通过建立兔 VX₂ 骨肿瘤模型,用影像方法对骨膜在肿瘤生长进程中的变化进行全程、动态观察,并与病理对照,证明 MRI 可显示骨膜新生骨及多种 X 线不能显示的骨膜改变,同时展现了骨膜演变的全过程。

在动物模型的建立中,由于 VX₂ 肿瘤对骨质有局限性侵犯及破坏作用,应用其作为瘤源可模拟人体溶骨性转移瘤^[11]。在 VX₂ 肿瘤的种植中,通过经胫骨近侧关节面穿刺将肿瘤种植在胫骨中上段的骨髓腔内,避免了对骨膜的机械损伤。因此,本次实验所建立的用以观察骨肿瘤骨膜异常改变的动物模型是一种有效的、可重复建立的骨内肿瘤模型。

在肿瘤种植后的第 5~15 天,骨膜呈水肿表现。相同的反应亦见于阳性对照胫骨,所以认为肿瘤种植所致骨髓内损伤及血运变化可引起骨膜水肿,而本研究中肿瘤本身对骨膜水肿的作用尚待研究。但是,对临床骨肿瘤患者的观察发现,骨膜水肿见于肿瘤发生的早期及与肿瘤不直接相邻的肿瘤邻近区域。因此,可以认为骨膜水肿是骨肿瘤中骨膜的早期变化,当肿瘤所致的压力和充血持续存在时,骨膜双层结构均发生细胞增殖,而导致骨膜增厚,尤其以细胞形成层细胞增生明显。骨膜增生时纤维层的成纤维细胞转变成前体成骨细胞,后者进一步增大并发生有丝分裂形成成骨细胞^[11]。增生的细胞形成层由许多密集排列的成骨细胞组成。骨膜水肿及骨膜增厚是骨肿瘤中尚未发生骨化的早期骨膜改变,均可被 MRI 显示,而在 X 线平片上均不能被显示,所以 MRI 是显示早期骨膜改变的敏感方法。

肿瘤种植后约 2 周时,骨膜新生骨即可为 X 线

表 2 不同时间实验侧胫骨及阳性对照侧胫骨骨膜改变的影像对照(只)

观察时间(d)	实验侧胫骨				阳性对照侧胫骨			
	MRI		X 线平片		MRI		X 线平片	
	检查数	异常数	检查数	异常数	检查数	异常数	检查数	异常数
5~15	32	32	32	0	36	31	36	0
20	20	19	20	0	24	0	24	0
25	16	11	16	11	20	0	20	0
30	12	11	12	11	16	0	16	0
35	8	7	8	7	12	0	12	0
40	4	4	4	0	8	0	8	0

平片及 MRI 显示。本实验中, MRI 不但可以显示骨膜新生骨, 而且显示了骨膜新生骨以外增厚的骨膜, 它是由增生的骨膜双层结构组成的, 包裹在骨膜新生骨外缘。但骨膜新生骨从骨膜向骨皮质方向由骨样组织逐渐到成熟骨小梁的变化均不能被 MRI 和 X 线平片显示。

当骨膜被肿瘤侵蚀破坏后, 中断的骨膜不能继续产生骨膜新生骨, 在骨膜以外的肿瘤中亦不能见到骨膜新生骨的形成。镜下, 当骨膜内层的细胞形成层破坏, 而外层的纤维层仍保持完整时, 骨膜新生骨就不能继续形成了, 即骨膜的成骨活动在骨膜尚未完全破坏时就已经停止了。骨膜外层的纤维层可由骨周的软组织转化而来, 包括筋膜、脂肪或肌肉^[1], 此时纤维层可作为“包膜”分隔肿瘤与周围组织, 肿瘤细胞的增殖在此“包膜”内进行。当肿瘤细胞继续增生破坏了此纤维“包膜”后, 便侵犯周围组织。因此, 在观察肿瘤的侵犯范围时, 如能考虑到骨膜的完整性是否受到破坏, 则能得出更准确的判断, 而 MRI 此时可提供较为准确的信息。

本实验 VX₂ 骨肿瘤模型中, 骨膜的连续动态变化可在 MRI 上显示并为组织学所证实, 这一过程依次包括骨膜水肿、骨膜增厚、骨膜新生骨形成、骨膜新生骨破坏及骨膜破坏。骨膜增厚存在于骨膜水肿后至骨膜破坏之前的每个时期, 为骨膜新生骨的形成准备了条件。此时, 如仍将各种骨膜改变笼统称为骨膜反应或骨膜新生骨则不能正确地反映其病理过程和影像表现, 于是提出以“骨膜新生骨”代表传统的“骨膜反应”, 以“骨膜反应”代表骨膜新生骨以外的骨膜水肿、骨膜增厚及骨膜破坏, 而“骨膜异常”包括“骨膜新生骨”和“骨膜反应”, 从而更全面、准确地描述骨膜改变。

虽然笔者所建立的兔 VX₂ 骨肿瘤模型不能完

全模拟人体各种骨肿瘤, 但仍从 MRI 及组织学上完整、全面的展现了骨肿瘤中骨膜异常的发展变化过程, 并证明了 MRI 对骨膜异常的评价有重要价值, 扩展了对骨膜异常及其组织学基础的认识, 为骨肿瘤影像学研究提供了新的依据。

参 考 文 献

- [1] Ragsdale BD, Madewell JE, Sweet DE. Radiologic and pathologic analysis of solitary bone lesions. Part II: periosteal reactions. *Radiol Clin North Am*, 1981, 19: 749-783.
- [2] Spaeth HJ, Chandnani VP, Beltran J, et al. Magnetic resonance imaging detection of early experimental periostitis: comparison of magnetic resonance imaging, computed tomography, and plain radiography with histopathologic correlation. *Invest Radiol*, 1991, 26: 304-308.
- [3] Wenaden AE, Szyszko TA, Saifuddin A. Imaging of periosteal reactions associated with focal lesions of bone (Review). *Clinical Radiol*, 2005, 60: 439-456.
- [4] Greenfield GB, Warren DL, Clark RA. MR imaging of periosteal and cortical changes of bone. *Radiographics*, 1991, 11: 611-623.
- [5] Dosda R, Marti-Bonmati L, Menor F, et al. Comparison of plain radiographs and magnetic resonance images in the evaluation of periosteal reaction and osteoid matrix in osteosarcomas. *MAGMA*, 1999, 9: 72-80.
- [6] Woertler K, Brinkschmidt C. Imaging features of subperiosteal aneurysmal bone cyst. *Acta Radiol*, 2002, 43: 336-339.
- [7] Murphey MD, Jelinek JS, Temple HT, et al. Imaging of periosteal osteosarcoma: radiologic-pathologic comparison. *Radiology*, 2004, 233: 129-138.
- [8] Krishnan A, Shirkhoda A, Tehranzadeh J, et al. Primary bone lymphoma: radiographic-MR imaging correlation (Review). *Radiographics*, 2003, 23: 1371-1383.
- [9] Kaim AH, Hugli R, Bonel HM, et al. Chondroblastoma and clear cell chondrosarcoma: radiological and MRI characteristics with histopathological correlation. *Skeletal Radiol*, 2002, 31: 88-95.
- [10] Gross M, Stevens K. Sunburst periosteal reaction in osteogenic sarcoma. *Pediatr Radiol*, 2005, 35: 647-648.
- [11] Young DM, Fioravanti JL, Prieur DJ, et al. Hypercalcemic VX₂ carcinoma in rabbits: a clinicopathologic study. *Lab Invest*, 1976, 35: 30-46.

(收稿日期: 2007-10-22)

(本文编辑: 隋行芳)