DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.03.010

骨肉瘤病理组织学特点和免疫组织化学的研究

高奉浮 李增鹏 苏 红* (第三军医大学大坪医院病理科) 630042

提 要 本文报告 120 例骨肉瘤,光镜复查全部组织切片,典型肿瘤性骨样组织只见于 83%的骨肉瘤中。查见肿瘤性骨样组织不是诊断骨肉瘤不可缺少的条件,但肉瘤性基质、异型性骨母细胞、间变型巨细胞、软骨肉瘤和纤维肉瘤性肿瘤背景有诊断意义。文章论讨了肿瘤性骨样组织与假性骨样组织(纤维透明胶原)的鉴别诊断。应用免疫组化 ABC 法,对 48 例外科切除的骨肉瘤标本与 5 种特异性标记物(actin 多克隆抗体,BMP、vimentin、IV 型胶原单克隆抗体和 UEA-1)进行检测。结果表明单克隆 BMP、vimentin、IV 型胶原,多克隆 actin 和 UEA-1 阳性表达;BMP、vimentin、UEA-1 和/或 actin 阳性表达以及 BMP、vimentin 和/或 actin 阳性表达时,对骨肉瘤的诊断有价值。但是,必须指出 5 种标记物对纤维透明胶原与骨样基质的鉴别无价值。作者认为标记物的正确配套使用,可提高对骨肉瘤的病理诊断和鉴别诊断的可靠性。

关键词 肉瘤;骨肉瘤;临床病理;免疫组织化学

骨肉瘤是骨、关节系统中较常见的恶性肿瘤,特别是青少年。鉴于其组织构象复杂,病变类型繁多,在实际工作以及在文献中各家对其病理诊断标准还存在争议[1~3],诊断上有时与某些具有假性骨样组织(Pseudo-osteoid,Po)的软组织肿瘤发生混淆[4~6];加上国内文献对骨肉瘤的免疫组化报道又少。为此,我们将收集到的 120 例骨肉瘤进行观察,并应用电镜和免疫组化技术对过去的诊断进行重新估价,主要探讨骨肉瘤病理组织学的特征,与具有 Po 软组织肿瘤的鉴别诊断以及免疫组织化学的研究,为临床和病理提供有价值的参考。

1 材料与方法

材料为 1965~1992 年本单位及院外提供的四肢长骨、髂骨、肋骨及锁骨(不包括颌骨)手术切除的骨肉瘤标本 110 例和活检标本 10 例,全部用 10%福尔马林液固定,石蜡包埋切片,常规 HE 染色,选择性特染。少数行碱性磷酸酶染色。

1.1 电镜检查

20 例骨肉瘤,其中 16 例前已报道[7]。另 4 例按同样方法行电镜标本常规处理和制作,JES-100$_{SX}$透射电镜观察摄相。

1.2 免疫组织化学

48 例骨肉瘤(骨母细胞型 18 例、纤维母细胞型 16 例及软骨母细胞型 14 例)和 8 例腱鞘巨细胞瘤作对照,共 56 例蜡块。使用能在石蜡切片上行免疫组化染色的单、多克隆抗体及凝集素。(1)骨形成蛋白(bone morphogenetic protein,BMP);(2)波形蛋白(vimentin);(3)IV 型胶原(collagen type IV);(4)荆豆凝集素(UEA-1);(5)肌动蛋白(actin)。以上(1)、(2)、(3)为单克隆抗体和(4)用 ABC(鼠)法;(5)为多克隆抗体用 ABC(兔)法,均用 DAB 显色。除 BMP 为第四军医大学产品外,余皆为 DAKO 和 Vector 公司商品化免疫试剂。按常规确定稀释度行阳性及阴性对照。

1.3 统计学处理

χ^2 检验,秩和检验分组比较。

2 结果

2.1 主要临床资料

本组男 75 例,女 45 例,男女之比为 1.66∶1。年龄 11~68 岁(平均 25.1 岁),其中 10~19 岁有 62 例。病程除1例达16年外,余为1周~6年,平均7.08

* 进修生,张家口解放军 251 医院

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

月，半年以内 86 例(72%)。主要临床表现为局部肿胀 67 例，有明显包块 85 例，疼痛 115 例；血清碱性磷酸酶增高 65 例。肿瘤发生于长骨，多位于干骺端，沿髓腔向骨干扩张。本组侵犯软组织 100 例(83.3%)。肿瘤最小者直径≤5cm，最大者 25cm，平均 10cm。发生在下肢 106 例(88.3%)，其中股骨下端 58 例，胫骨上端 25 例，共 83 例(69%)。X 线检查：溶骨型 68 例(56.7%)，成骨型 17 例(14.1%)，混合型 28 例(23.4%)，弥漫型 7 例(5.8%)。有 Codman 三角者 50 例(42%)。

2.2 病理变化

2.2.1 光镜检查：组织学分类，按 Dahlin 的传统分型，骨母细胞型 48 例，纤维母细胞型 33 例，软骨母细胞型 24 例。其它亚型有恶性纤维组织细胞样(MFH-like)型[6]5 例，小细胞型 5 例、血管扩张型 3 例和富于细胞型 2 例。在对本组复检中，有 100 例(83%)可找见肿瘤性骨样组织(点滴状、花边样、周围伴有异型性骨母细胞)，成熟者为片状、条索状、小梁状和钙化小梁状（肿瘤性成骨)的骨样组织[8]。另 20 例未见到这种典型成分，但多型性和异型性的骨肉瘤背影(肉瘤性基质、异型性骨母细胞、间变型巨细胞、软骨肉瘤和纤维肉瘤性组织)(图 1)，却是非常显著的。

2.2.2 电镜观察：本组 20 例电镜下的改变，基本上与我们以往观察的相似[7]，有 8 种细胞(图 2)和由长间距胶原纤维(Long-spacing collagen)(图 3)或附有羟基磷灰石结晶及无定型基质的骨样基质所组成。只是细胞的数量和分布每例不尽相同。

2.3 免疫组化观察

免疫组织化学结果见附表。BMP 免疫反应(图 4)骨母、纤维母和软骨母三组与腱鞘巨细胞瘤组比较，有显著差异($P<0.05$)。vimentin 免疫反应(图 5)除骨母型组与腱鞘巨细胞瘤组比较，有非常显著差异($P<0.001$)，其它两组为显著差异($P<0.05$)。actin 免疫反应(图 6)与腱鞘巨细胞瘤组比较，皆 $P<0.05$，有显著差异。UEA-1 和 IV 型胶原免疫反应与腱鞘巨细胞瘤组比较，皆 $P>0.05$，各组间比较无意义。

附表 免疫组织化学结果

Tab Immunohistochemical results

pattern	number of cases	BMP				vimentin				IV-C				UEA-1				actin			
		−	+	++	%	−	+	++	%	−	+	++	%	−	+	++	%	−	+	++	%
osteoblastic osteosarcoma(O)	18	0	4	14	(100)	0	5	13	(100)	13	5	0	(27.7)	5	10	3	(72.2)	0	7	11	(100)
fibroblastic osteosarcoma(F)	16	0	6	10	(100)	0	3	13	(100)	11	5	0	(31.3)	2	12	2	(87.5)	0	7	9	(100)
chondroblastic osteosarcoma(C)	14	0	6	8	(100)	2	4	8	(85.7)	4	4	6	(71.4)	5	7	2	(64.3)	0	6	8	(100)
giant cell tumor of tendon sheath(G)	8	4	4	0	(50)	5	1	2	(37.5)	6	2	0	(25.0)	3	5	0	(62.5)	4	2	2	(50)
total	56	4	20	32	(92.8)	7	13	36	(87.5)	34	16	6	(39.2)	15	34	7	(73.2)	4	22	30	(92.8)
values of P	O and G				$P<0.01$				$P<0.001$				$P>0.05$				$P>0.05$				$P<0.01$
	F and G				$P<0.01$				$P<0.01$				$P>0.05$				$P>0.05$				$P<0.05$
	C and G				$P<0.05$				$P<0.05$				$P>0.05$				$P>0.05$				$P<0.05$

Symbols: "−" non-reactivity, negative; "+" weak reactivity, some positive cells; "++" intense positive reactivity, many positive cells.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

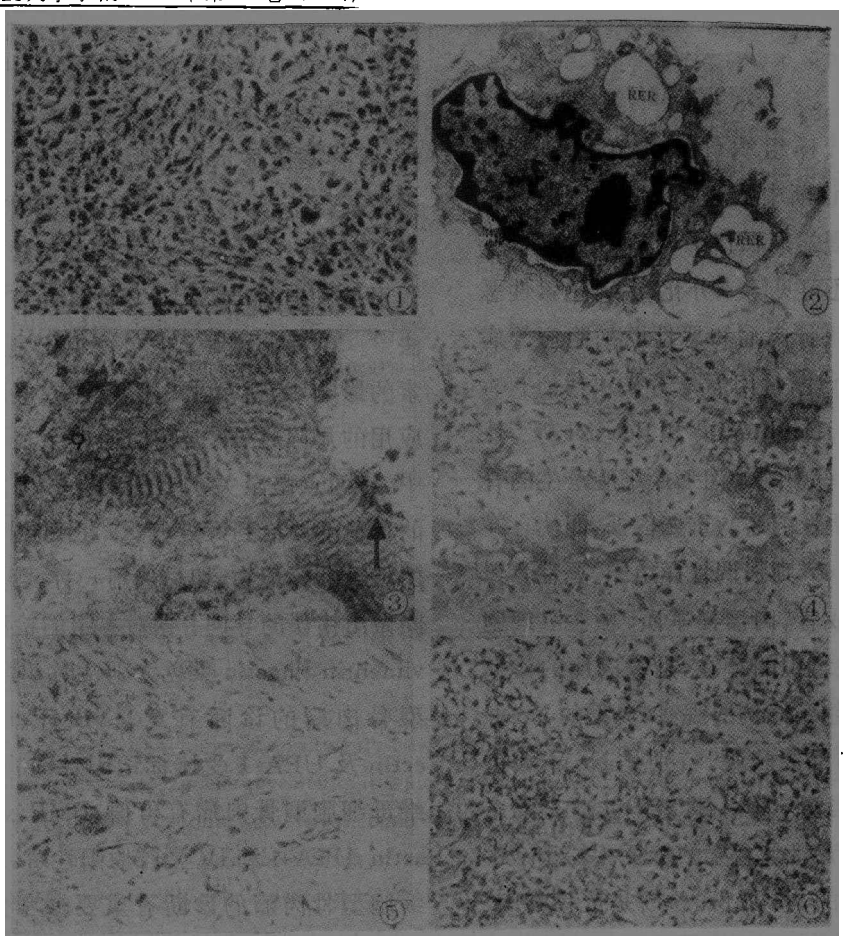


图 1 骨肉瘤背景，瘤细胞显多型性及异型性 HE×210

Fig 1 **Background of the osteosarcoma showing numerous tumor cells, polymorphism and pheomorphism.** HE×210

图 2 恶性骨母细胞，胞核和胞质外形不规则，异染色质多边集，RER 丰富扩张 TEM×1 000

Fig 2 **The nucleus and cell membrane of malignant osteoblasts are irregular in outline. The heterochromatin of the nucleus are dense and scattered in the periphery of the nucleus near the nuclear membrane, and cytoplasm are rich in RER or dilated.** TEM×1 000

图 3 长间距胶原，附有羟基磷灰石结晶（↑） TEM×2 000

Fig 3 **The long-spacing collagen fibers deposited with hydroxya-patite crystals.** TEM×2 000

图 4 骨母细胞型骨肉瘤，肿瘤性骨小梁间瘤细胞胞质及胞膜上 BMP 相应抗原阳性 ABC×210

Fig 4 **Osteoblastic osteosarcoma, the corresponding antigens of BMP positive seen in cytoplasm and cell membrane of osteoblasts between woven bone.** ABC×210

图 5 纤维母细胞型骨肉瘤，瘤细胞胞质及胞膜 vimentin 相应抗原阳性 ABC×210

Fig 5 **Fibroblastic osteosarcoma, the corresponding antigens of vimentin positive seen in cytoplasm and membrane of tumor cells.** ABC×210

图 6 骨母细胞型骨肉瘤，瘤细胞胞质及胞膜 actin 相应抗原阳性 ABC×210

Fig 6 **Osteoblastic osteosarcoma, the corresponding antigens of actin positive seen in cytoplasm and membrane of tumor cells.** ABC×210

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

肿瘤性骨样组织(Neoplastic osteoid, No)在骨肉瘤诊断中的意义:No 是否为骨肉瘤所特有,病理学家已作了明确的回答[1~3]。除此之外,它还可见于未分化癌、无色素性恶性黑色素瘤、软骨肉瘤和恶性巨细胞瘤等病变中[3]。关于诊断骨肉瘤是否必须找到 No,目前还有争议。Dahlin 等[1]和 Bertoni 等[2]认为在骨或软组织中的骨肉瘤瘤细胞产生的骨样组织,是诊断骨肉瘤的重要依据,即使存在微量。而 Mirra[3]则强调骨样组织、恶性骨母细胞、肿瘤性成骨、肉瘤样基质、恶性巨细胞和软骨肉瘤性组织的存在,是骨肉瘤的诊断标准。据对本组 120 例的观察,典型的 No 并非每例骨肉瘤都能找见,特别是 No 不典型时,诊断的依据要依赖总体组织像,骨肉瘤多形性和异型性背景是重要的特征。本组有 20 例未找见典型的 No 成份,诊断是依赖临床、影像学和病理"三结合"最后确定的。因此,典型的 No 对骨肉瘤的诊断是有重要价值,但并非找不到就完全否定该瘤的诊断。经多处取材、切片,仍找不见 No 时,则应注意:①组织切片中有无骨肉瘤背影;②排除其它疾病的可能;③密切依靠临床、影像学和病理"三结合"进行全面审视,最后作出诊断。

No 与 Po 的鉴别:Po 是一种纤维原性透明胶原[4],该胶原常出现在腱鞘巨细胞瘤、MFH[4]、纤维肉瘤、透明细胞软骨肉瘤[5]、滑膜肉瘤和血管外皮瘤[6]等处,光镜下类似 No,极易与骨肉瘤混淆。据对本组资料的观察,并参考文献,特提出以下鉴别点:①No 常伴有瘤细胞多形性和异型性骨肉瘤背景,而 Po 则无;②骨样组织中有钙盐沉着往往提示肿瘤性,而非 Po;③碱性磷酸酶染色,No 常呈阳性或弱阳性;④电镜下见瘤细胞成份多样,骨样基质显示长间距胶原纤维并附有羟基磷灰石结晶,对区别 Po 有重要意义。

免疫组织化学技术在肿瘤病理诊断上的作用是肯定的,尽管对其评价尚有不同的看法[9]。在石蜡切片上做免疫组化是受众多因素的影响,为避免出现假阳性或假阴性及其应用的局限性,根据我们的体会在诸多因素中,有两点是至关重要的:其一,确定标记物的稀释度要恰到好处;其二,应使用多种配套的特异性标记物,切忌选用一种,否则会使诊断做出错误的导向。据对本组的检测,BMP、vimentin 和 actin 染色为阳性时,对骨母细胞型骨肉瘤的诊断有意义;BMP、vimentin、actin 及 UEA-1 受体标记阳性时,对确定纤维母细胞型骨肉瘤有价值;BMP、vimentin、actin、UEA-1 和 IV 型胶原阳性时,对软骨母细胞型骨肉瘤的诊断有重要参考价值。如 BMP 阴性,仅 vimentin、actin、UEA-1 和 IV 型胶原其中任何 2 种、3 种或 4 种阳性时,只能作为诊断参考。此外,特别应提出的是以上 5 种标记物是对骨肉瘤瘤细胞的免疫反应上有诊断和鉴别意义,但是对 Po 和 No 本身,则无诊断和鉴别意义。

参考文献

1. Dahlin DC, Unni KK. Bone Tumors. 4th ed, Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1986: 269~321
2. Bertoni F, Dallera F, Bacchini P, et al. The istituto rizzoli-beretta experience with osteosarcoma of the jaw. Cancer, 1991; 68: 1555~1563
3. Mirra JM. Lessions which may contain woven bone or it's osteoid precusor, In: Coulson WF, et al eds. Surgical Pathology. Vol. 2, Philadelphia &

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Toronto: J. B. Lippincott Company, 1978: 1179～1184

4. Chung EB, Enzinger FM. Extraskeletal osteosarcoma. Cancer, 1987; 60: 1132～1142
5. Bjornsson J, Unni KK, Dahlin DC, et al. Clear cell chondrosarcoma of bone: observations in 47 cases. Am J Surg Pathol, 1984; 8: 223～230
6. Ballance WA, Mendelsohn G, Carter JR, et al. Osteogenic sarcoma: malignant fibrous histiocytoma subtype. Cancer, 1988; 62: 763
7. 高奉浔。16 例骨肉瘤的电镜观察。中华病理学杂志，1991；20：146
8. 王 东 高奉浔。骨肉瘤肿瘤性骨样组织分型的立体计量学与预后的研究。中华病理学杂志，1990；19：263
9. Rosai J. Special techniques in surgical pathology. In: Rosai J ed. Ackerman's Surgical Pathology. Vol I, ST. Louis: C. V. Mosby Company, 1989: 31～51

（收稿：1992-07-15；修回：1993-04-04）

A study of pathohistological and immunohistochemical features of 120 cases of osteosarcoma

Gao Fengxun, Li Zengpeng, Shu Hong (Department of Clinical Pathology, Daping Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630042)

Abstract One hundred and twenty cases of osteosarcoma were reported. Re-examination of all the tissue specimens revealed that typical neoplastic osteoid was found only in 83% of the cases. It is now generally accepted that the demonstration of osteoid is not essential for the diagnosis, but the microscopic features of sarcomatous stroma, pheomorphism of osteoblasts, anaplastic giant cells, chondrosarcomatous and fibrosarcomatous tissue are of diagnostic importance. The differential diagnosis between neoplastid osteoid and pseudo-osteoid (fibrillar hyalinized collagen) were discussed.

Forty-eight surgical specimens were stained with polyclonal actin, monoclonal BMP, vimentin, collagen type IV and UEA-1 with immunohistochemical ABC. It was found that when there was combined positive expression of monoclonal BMP, vimentin, collagen type IV, UEA-1 and polyclonal actin, or monoclonal BMP, vimentin UEA-1 and/or polyclonal actin, or monoclonal BMP, vimentin and/or polyclonal actin, it was of diagnostic value. However, the five markers were of no value to distinguish fibrillar hyalinized collagen from osteoid stroma. It is believed that the appropriate combination of the immunohistochemical markers is imperative to promote the accuracy of the pathological diagnosis of osteosarcoma and its differential diagnosis.

Key words sarcoma; osteosarcoma; pathology, clinical; immunohistochemistry

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net