

❖ 实验研究

Comparison of ultrasound and serology index in evaluation of rabbits with rheumatoid arthritis

CHEN Shuqiang^{1*}, YE Zhen¹, ZHENG Qing², ZENG Jinshu¹, XU Xiang¹, LIU Hui¹

(1. Department of Ultrasound, 2. Department of Hematology and Rheumatology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the application value of ultrasound and serological markers in evaluation of rheumatoid arthritis (RA) based on rabbit models. **Methods** Thirty male New Zealand white rabbits were randomized divided into model group ($n=25$) and control group ($n=5$). Ovalbumin inducing method was used to establish rabbit RA model, and saline was injected in control group. Ultrasonic examination and C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1) detection were carried out. Synovium thickness and blood flow signal were measured and classified respectively. Synovium inflammation pathological score was performed, and statistical analysis was done. **Results**

The experiment were completed successfully in a total of 23 rabbits (46 joints) in model group. In model group, arthrodema and synovium hyperplasia were started in the 2nd—3rd week. It reached the peak in about 8th week and enter into plateau period. Synovium hyperplasia were not found in control group. For the degree of blood flow, there were 1 joint of grade 0, 4 joints of grade I, 22 joints of grade II, 19 joints of grade III in model group. Synovium blood flow in control group were grade 0 in all rabbits. The level of TNF- α , CRP and IL-1 started to rise slowly since 5th week, and reached the peak from the 8th week and keep relatively stable. TNF- α , CRP and IL-1 level in control group remained low all the time. The difference of synovium thickness and blood flow grade had statistical significance in mild and serious arthromeningitis (both $P<0.05$). Synovium thickness and pathological score had correlation ($r=0.798$, $P<0.05$), and blood flow grade and pathological score had correlation ($r=0.557$, $P<0.05$), TNF- α , IL-1, CRP level and pathological score had moderate correlation ($r=0.450$, 0.503 , 0.529 , all $P<0.05$). **Conclusion** Ultrasound can diagnose joint arthromeningitis more accurately and earlier than serological markers.

[Key words] Arthritis, rheumatoid; Ultrasonography; Serology

DOI:10.13929/j.1003-3289.2016.08.002

超声与血清学指标评估兔类风湿关节炎的对比分析

陈树强^{1*}, 叶真¹, 郑擎², 曾锦树¹, 许翔¹, 刘晖¹

(1. 福建医科大学附属第一医院超声影像科, 2. 风湿血液科, 福建 福州 350005)

[摘要] **目的** 探讨超声与血清学指标评估兔类风湿关节炎(RA)的应用价值。**方法** 将雄性新西兰大白兔 30 只随机分为模型组(25 只)和对照组(5 只)。对模型组采用卵蛋白诱导法, 建立兔 RA 模型, 对照组注射生理盐水。进行超声检查及血清 C-反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及白介素-1(IL-1)检测。对滑膜血流信号、滑膜厚度进行分级, 对滑膜炎的严重程度进行病理评分, 并进行统计分析。**结果** 模型组中 23 只兔完成实验, 共 46 个关节。模型组于 2~3 周发生关节腔积液及滑膜增生, 随后增生加剧, 第 8 周达到高峰并进入平台期; 对照组均无滑膜增生。模型组 46 个关节

[基金项目] 福建医科大学附属第一医院中青年骨干教师基金(JGG201307)。

[第一作者] 陈树强(1976—), 男, 福建莆田人, 博士, 副主任医师。研究方向: 腹部与浅表超声影像学

[通信作者] 陈树强, 福建医科大学附属第一医院超声影像科, 350005。E-mail: chenshu0518@163.com

[收稿日期] 2015-10-12 **[修回日期]** 2016-05-15

中,血流为 0 级 1 个,Ⅰ级 4 个,Ⅱ级 22 个,Ⅲ级 19 个;对照组滑膜血流均为 0 级。模型组 TNF- α 、CRP、IL-1 自第 5 周起开始缓慢上升,至第 8 周到达高峰期,并保持相对稳定;对照组 TNF- α 、CRP、IL-1 均呈现稳定低水平。模型组轻、重度滑膜炎的滑膜厚度和血流分级差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。滑膜厚度与病理评分呈正相关($r=0.798, P<0.05$),血流分级与病理评分呈正相关($r=0.557, P<0.05$),TNF- α 、IL-1、CRP 与滑膜病理评分均呈正相关($r=0.450、0.503、0.529, P<0.05$)。结论 超声可较血清学指标更早、更准确诊断关节滑膜炎病变。

[关键词] 关节炎,类风湿;超声检查;血清学

[中图分类号] R-332; R445.1 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2016)08-1160-05

近年来,在类风湿关节炎(rhemeutoid arthrosis, RA)的临床诊疗评估中,部分患者出现“临床指标”与“病理状态”的分离,即尽管临床上出现好转,但关节仍有持续的破坏^[1-2]。用于评估 RA 的传统指标(血清学、体征等)并不能准确反映关节的病理状态。分析滑膜炎的病变情况,可了解 RA 的发病机制,有助于评估预后。目前鲜有超声滑膜炎评分、血清生物学指标和活体滑膜病理的对照研究。本研究建立兔 RA 模型进行分析,以期为临床提供有价值的参考信息。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料 选取雄性新西兰大白兔 30 只,6 月龄,体质量 2.5~3.0 kg。随机分为模型组(25 只)和对照组(5 只)。主要试剂包括鸡卵清蛋白(OVA, Sigma)、弗氏完全佐剂(Sigma)和兔肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(TSZ)。

1.2 模型建立 依据文献[3]建立卵蛋白诱导的 RA 模型,包括:①基础致敏,于兔背部皮下注射 1 ml OVA 弗氏完全佐剂溶液(20 g/L),每周注射 1 次,连续注射 3 周;②局部致敏,第 4 周于兔后腿双膝关节分别注入 1.6 ml OVA 弗氏完全佐剂溶液(5 g/L)。对照组兔的处理时间点和试剂注射部位与模型组相同,但每次注射试剂均为 1 ml 生理盐水。

1.3 超声检查 采用 Philips iU 22 超声诊断仪,频率 5~12 MHz。实验开始后每周进行 1 次超声检查,共 10 周。选择骨骼、肌肉低速血流条件,以前后位或侧位对后腿膝关节进行扫查。主要观察有无关节腔积液、关节滑膜血流信号,并测量滑膜厚度。依据文献[4]将血流信号分为 4 级:0 级,无血流信号;Ⅰ级,滑膜内见少许星点状血流信号;Ⅱ级,滑膜内见条状血流信号,充盈面积 $<$ 滑膜面积的 50%;Ⅲ级,滑膜内见条状丰富血流信号,充盈面积 $\geq$ 滑膜面积的 50%。对滑膜最厚处测量 3 次,取平均值。参考文献[4]的标准,

以关节头及骨干为界将滑膜增厚程度分为 4 度:0 度,未见增生滑膜;Ⅰ度,可见最低程度的增厚滑膜,范围不超过双侧骨面最高点连线;Ⅱ度,滑膜组织增厚范围达到关节骨面的最高点连线,但不超过任何一侧骨干;Ⅲ度,滑膜组织增厚范围超过关节双侧骨面的最高点连线,且超过一侧骨干。

1.4 血清指标的检测 两组分别于膝关节注射后 24 h 进行血清指标的检测,每周 1 次,共 10 次。于耳中央动脉采血 2 ml,分离血清, -80℃ 低温冰箱冷冻保存,采用 ELISA 法测定 CRP、TNF- α 、IL-1 水平。

1.5 病理检查与评分 于第 8 周经腹腔注射戊巴比妥钠 40~45 mg/kg 体质量,麻醉后进行超声引导下滑膜活检。采用 BARD Magnum 18G 活检穿刺针,于超声引导下由髌韧带附着点上方进针,采集滑膜标本。将标本以 4% 甲醛固定 24 h、脱水、浸蜡、包埋、HE 染色。镜下观察增生的滑膜被覆细胞、炎性浸润、基质和血管翳的增殖程度。依据文献[5]的标准对滑膜炎症程度进行病理评分:0 分,无滑膜炎症;1 分,轻度炎症;2 分,中度炎症;3 分,重度炎症。每个标本分别由 2 名病理医师进行 3 次评分,记录一致的评分。病理评分 0 分和 1 分记为轻度滑膜炎,2 分和 3 分为重度滑膜炎。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计分析软件,计量资料以中位数表示。模型组轻重度滑膜炎的滑膜厚度分级和血流分级的比较采用 Fisher 确切概率法;滑膜厚度、血流分级、TNF- α 、IL-1、CRP 水平与滑膜病理评分的相关性采用 Spearman 秩相关分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

对模型组中 23 只兔完成实验,共 46 个关节,2 只兔由于麻醉深度不足,未能对其完成活检。第 4 周后,模型组双侧膝关节均出现不同程度的红肿。对照组双侧膝关节生长正常,无明显变化。

模型组超声均显示为滑膜炎症,于 2~3 周发生关节腔积液及滑膜增生,随后增生加剧,第 8 周达到高峰

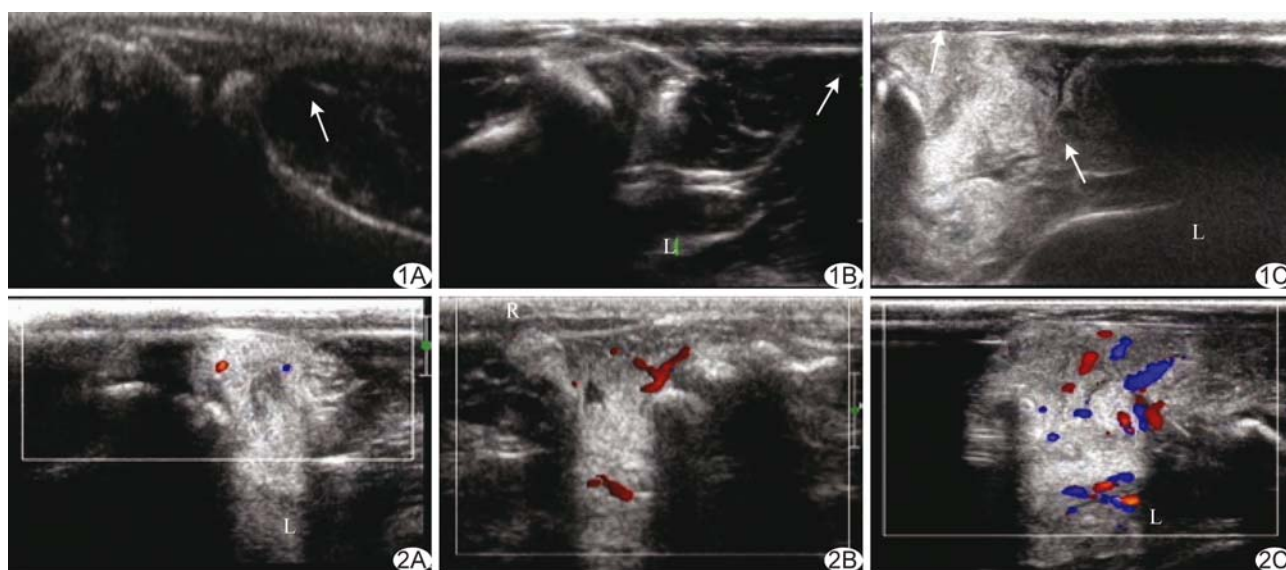


图 1 滑膜炎分度 A. I 度, 关节腔内可见少量低回声滑膜, 填充两个关节之间, 范围不超过双侧骨面最高点连线(箭); B. II 度, 滑膜组织增厚, 范围达到关节骨面的最高点连线(箭), 但不超过任何一侧骨干; C. III 度, 滑膜组织增厚, 范围超过关节双侧骨面的最高点连线(箭), 且超过一侧骨干 (L: 左侧) 图 2 滑膜血流信号分级 A. I 级, 滑膜内见少许星点状血流信号; B. II 级, 滑膜内见条状血流信号, 充盈面积 $<$ 滑膜面积的 50%; C. III 级, 滑膜内见条状丰富血流信号, 充盈面积 $\geq$ 滑膜面积的 50% (L: 左侧; R: 右侧)

并进入平台期。I 度、II 度、III 度滑膜炎关节分别为 12、19 和 15 个(图 1)。对照组滑膜与关节囊、软骨超声区分不清。滑膜炎血流分级超声表现见图 2。模型组 46 个滑膜炎关节中, 血流为 0 级 1 个, I 级 4 个, II 级 22 个, III 级 19 个。对照组滑膜血流均为 0 级。

模型组的 TNF- α 、CRP、IL-1 自第 5 周起开始缓慢上升, 至第 8 周到达高峰期, 并保持相对稳定。对照组的 TNF- α 、CRP、IL-1 均呈现稳定低水平, 见图 3。

模型组 46 个滑膜炎关节的病理评分结果为: 0 分, 1 个; 1 分, 9 个; 2 分, 20 个; 3 分, 16 个(图 4), 平均评分为 (2.14 ± 0.78) 分。对照组滑膜病理评分均为 0 分。

模型组轻、重度滑膜炎的滑膜厚度和血流分级差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05 , 表 1)。滑膜厚度与病理评分呈正相关 ($r = 0.798$, $P < 0.05$), 血流分级与病理评分呈正相关 ($r = 0.557$, $P < 0.05$), TNF- α 、IL-1、CRP 均与滑膜病理评分均呈正相关 ($r = 0.450$ 、 0.503 、 0.529 , P 均 < 0.05)。

表 1 模型组轻、重度滑膜炎关节的滑膜厚度分度和血流分级比较(个)

滑膜炎程度	滑膜厚度分度				血流分级			
	0 度	I 度	II 度	III 度	0 度	I 度	II 度	III 度
轻度	0	10	0	0	1	5	3	1
重度	0	2	12	22	0	7	13	16
P 值	< 0.05				< 0.05			

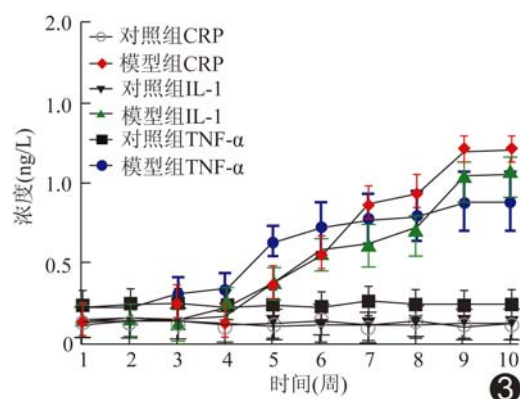


图 3 血清学检查结果 模型组的 CRP、IL-1、TNF- α 自第 5 周起逐渐上升, 第 8 周时达到稳定; 对照组的 CRP、IL-1、TNF- α 在 1~10 周内均保持低水平

3 讨论

临床医师习惯采用临床和血清学指标(如疾病活动评分、血沉、CRP 和抗环瓜氨酸肽抗体等)评估 RA 的活动性^[6], 未直接关注 RA 的局部炎症病理改变, 且可能受到主观和客观因素的影响^[7]。目前认为 RA 的治疗不但是为了缓解临床症状, 更重要的是取得病理好转和关节功能的保护^[8], 否则易导致临床“缓解”, 但出现持续不断的软骨—骨侵蚀, 乃至关节破坏。这可能是部分 RA 患者接受系统治疗后仍出现骨性或纤维性关节强直的原因。国外研究^[7]也提出类似观点, 并称之为“临床缓解与关节侵蚀的分离”。

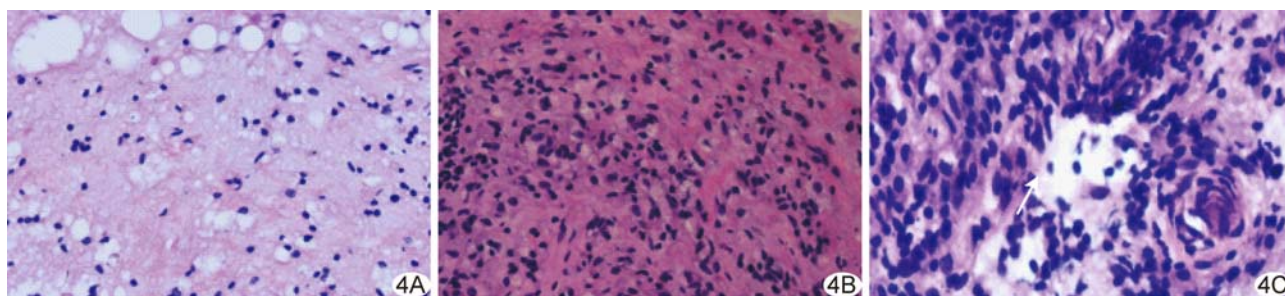


图 4 病理图(HE, ×400) A. 轻度滑膜炎, 被覆细胞增殖, 轻度炎性细胞浸润; B. 中度滑膜炎, 中度炎性细胞浸润, 可见少量中性粒细胞; C. 重度滑膜炎, 重度炎性细胞浸润, 炎性细胞密集, 血管增生, 见淋巴滤泡(箭)

理想的 RA 动物模型应满足发病机制、病理学特征、临床表现、血清学指标变化与人类相似, 且模型易建立, 成模后稳定^[9]。兔抗原诱导 RA 模型造模成功率较高, 其血清学、病理生理变化与人类接近, 因此多用于 RA 的影像学研究^[10]。Qiu 等^[11]研究发现, 将 8 mg 的 OVA 注入兔关节, 造模成功率可达 100%。本研究关节内注射采用 1.6 ml OVA 弗氏完全佐剂溶液(5 g/L), 此外, 为排除雌激素的干扰, 实验动物均采用雄性。

本研究中, 超声于 2~3 周发现模型组关节腔积液及滑膜增生, 随后增生加剧, 第 8 周达到高峰并进入平台期, 与人 RA 在第 8 周前后为进展期的病程相似; 而 TNF- α 、CRP、IL-1 自第 5 周起开始缓慢上升, 至第 8 周到达高峰期, 并保持相对稳定, 因此认为超声可更早发现 RA 病变, 并提示在血清学变化之前, 已存在滑膜的病变, 与近年提出的亚临床型 RA 研究^[12-13]相符。由于滑膜炎病变情况与是否会出现骨质侵蚀和“治疗抵抗”密切相关, 因此笔者认为滑膜超声和超声引导下滑膜活检可评估骨质侵蚀以及出现“治疗抵抗”的可能性, 与 Filer 等^[14]的观点相似。分子生物学研究^[15]亦有相似研究结果, 但方法繁琐。虽然同一只兔的两个膝关节病变程度不同, 但血清学指标相同, 提示单纯血清学指标不能反映局部的滑膜病理学改变, 考虑因为 RA 病理涉及血液和滑膜炎局部相互作用, 血清学指标更多反映 RA 的全身状况, 而超声则更多关注病变关节的局部情况。有研究^[10-11]采用关节肿胀、温度和关节腔积液等指标评价 RA 的严重程度, 由于这些指标主观性强和测量难度大, 本研究未予采用。

综上所述, 超声可较血清学指标更早、更准确地诊断兔 RA 模型关节滑膜炎病变。

[参考文献]

[1] Aletaha D, Smolen JS. Joint damage in rheumatoid arthritis pro-

gresses in remission according to the Disease Activity Score in 28 joints and is driven by residual swollen joints. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(12):3702-3711.

- [2] Wechalekar MD, Lester S, Proudman SM, et al. Active foot synovitis in patients with rheumatoid arthritis: Applying clinical criteria for disease activity and remission may result in underestimation of foot joint involvement. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(5): 1316-1322.
- [3] Atkinson EG, Dinning WJ, Kasp E, et al. Precipitation of experimental autoallergic uveoretinitis by cyclosporin A withdrawal: An experimental model of uveitis relapse. *Clin Exp Immunol*, 1989, 78(1):108-114.
- [4] Szkudlarek M, Court-Payen M, Jacobsen S, et al. Interobserver agreement in ultrasonography of the finger and toe joints in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(4):955-962.
- [5] Krenn V, Morawietz L, Burmester GR, et al. Synovitis score: Discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis. *Histopathology*, 2006, 49(4):358-364.
- [6] Cohen S. 2012 challenges in rheumatoid arthritis care. *Rheumatology (Oxford)*, 2012, 51 (Suppl 6):vi3-vi4.
- [7] Brown AK, Conaghan PG, Karim Z, et al. An explanation for the apparent dissociation between clinical remission and continued structural deterioration in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(10):2958-2967.
- [8] Pavelka K, Kavanaugh AF, Rubbert-Roth A, et al. Optimizing outcomes in rheumatoid arthritis patients with inadequate responses to disease-modifying anti-rheumatic drugs. *Rheumatology (Oxford)*, 2012, 51 (Suppl 5):v12-v21.
- [9] Schurgers E, Billiau A, Matthys P. Collagen-induced arthritis as an animal model for rheumatoid arthritis: Focus on interferon- γ . *J Interferon Cytokine Res*, 2011, 31(12):917-926.
- [10] Chan MW, Nathanael G, Kis A, et al. Systematic protocol for assessment of the validity of BOLD MRI in a rabbit model of inflammatory arthritis at 1.5 tesla. *Pediatr Radiol*, 2014, 44(5): 566-575.
- [11] Qiu L, Jiang Y, Luo Y, et al. Antigen-induced arthritis in rabbits: A comparative study between high-resolution ultrasound and contrast-enhanced ultrasound and pathologic findings. *Rheumatol Int*, 2012, 32(6):1569-1580.

- [12] Chew LC, Chandra Mohan P, Chan LP, et al. Use of magnetic resonance imaging in detecting subclinical synovitis in rheumatoid arthritis and correlation of imaging findings with interleukin-18 levels. *Int J Rheum Dis*, 2014. [Epub ahead of print]
- [13] Dinser R. Animal models for arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2008, 22(2):253-267.
- [14] Filer A, de Pablo P, Allen G, et al. Utility of ultrasound joint counts in the prediction of rheumatoid arthritis in patients with very early synovitis. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(3):500-507.
- [15] Nakasa T, Shibuya H, Nagata Y, et al. The inhibitory effect of microRNA-146a expression on bone destruction in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(6):1582-1590.

Duodenum malignant fibrous histiocytoma: Case report 十二指肠恶性纤维组织细胞瘤 1 例

刘珊珊, 于 森, 张 蓓, 杨林林
(吉林大学第一医院放射科, 吉林 长春 130026)

[Key words] Duodenum; Malignant fibrous histiocytoma; Diagnostic imaging

[关键词] 十二指肠; 恶性纤维组织细胞瘤; 诊断显像

DOI: 10.13929/j.1003-3289.2016.08.003

[中图分类号] R735.31; R814.42 [文献标识码] B [文章编号] 1003-3289(2016)08-1164-01

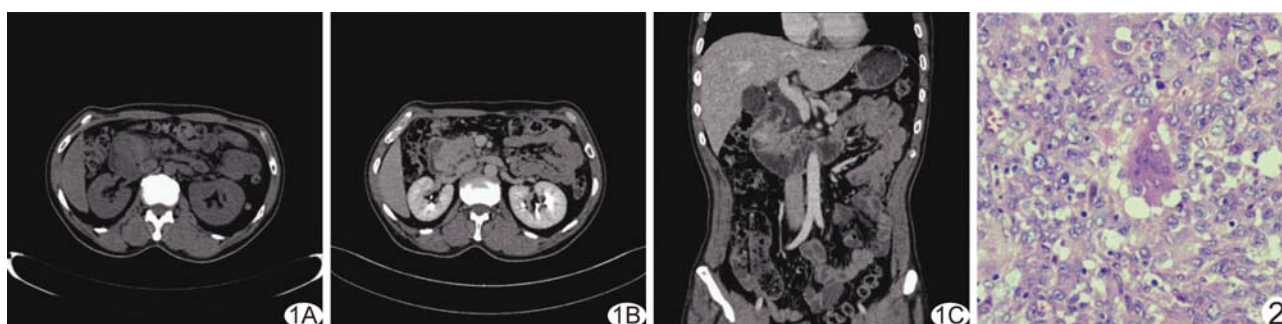


图 1 十二指肠恶性纤维组织细胞瘤 CT 表现 A. 平扫示十二指肠降段内侧密度均匀软组织影, 边缘可见分叶; B. 增强扫描病灶均匀明显强化, 邻近肠管清晰; C. 肿物形态不规则, 胆总管明显扩张 图 2 病理图(HE, ×400)

患者男, 52 岁, 因“上腹部不适 3 个月”入院。实验室检查: 未见胃肠道肿瘤标志物升高。胃镜提示: 十二指肠降段可见一巨大隆起型肿物, 无法窥及全貌, 表面粗糙, 覆污秽苔。CT 检查: 平扫(图 1A)示十二指肠降段内侧壁累及壶腹部见不规则团块状软组织密度影, 可见分叶, CT 值约 49 HU, 大小约 4.8 cm×3.8 cm, 增强(图 1B、1C)见均匀明显强化, 病变与胆总管及胰管末端分界不清, 肝内外胆管及胰管扩张。术中探查: 肿物位于十二指肠降段内侧, 呈分叶状, 质硬韧, 肿物周围、肠系膜上动脉根部及主动脉旁未触及明显肿大淋巴结。术后病理示组织细胞样细胞、成纤维细胞样细胞、单核/多核瘤巨细胞以及炎症细胞, 病理性核分裂象多见。免疫组化: AACT(+),

CD68(+), Vim(+), Ckpan(灶状+), SMA(-), S-100(+), CD99(部分+), Desmin(-), Ki-67(+40%)。诊断为恶性纤维组织细胞瘤(malignant fibrous histiocytoma, MFH; 图 2)。

讨论 MFH 是以成纤维细胞样细胞和组织细胞样细胞为主要成分的未分化多形性肉瘤, 恶性程度高, 复发率高, 中老年发病率较高, 男性多见, 好发于四肢和腹膜后间隙, 十二指肠罕见。发生于十二指肠者, 常表现为腹部不适、肿块局部浸润性等症状, 如侵犯胆总管末端时, 患者可出现不同程度的黄疸。十二指肠恶性纤维组织细胞瘤恶性程度高, 易转移至肺、淋巴结、肝和骨。手术切除为其主要治疗方式。本病例影像学表现为分叶状、不规则、向周围浸润性生长、密度均匀、增强扫描明显强化。该病需与十二指肠腺癌相鉴别: 腺癌多密度不均, 常伴有坏死, 增强扫描轻中度强化, 与肠壁间无明确边界; 腺癌常伴有胃肠道肿瘤标志物 CA19-9 升高。十二指肠恶性纤维组织细胞瘤属罕见肿瘤, 确诊需依靠病理学。

[第一作者] 刘珊珊(1983—), 女, 山东莱芜人, 在读硕士。

E-mail: liuss1031@126.com

[收稿日期] 2015-11-23 [修回日期] 2016-01-21