文章编号：1000-5404(2005)03-0227-03

论著

相干对比造影成像观察兔肝 VX2 肿瘤血管影像的价值

王　翔，杜文华，杨未晓，李　陶，熊秀勤　（第三军医大学大坪医院野战外科研究所超声诊断科，重庆 400042）

提　要：目的　探讨相干对比造影成像技术(CCI)检测肿瘤特征性血供的价值。**方法**　选用肝 VX2 肿瘤模型兔 8 只，利用 Sequoia512 彩色多普勒超声仪，以相干对比成像模式观察自制声学造影剂注射后肿瘤血管影像的动态增强变化。同时，利用血管铸型方法，建立兔肝 VX2 肿瘤血管三维构筑模型。**结果**　肝脏 VX2 肿瘤声学造影大致可分为 3 个时相，即动脉相、门静脉相、肝实质相。其中 7 只肿瘤兔在动脉相出现了特异性的肿瘤血管增强，肿瘤区见强回声网络状血管结构显影。血管铸型可清晰显示肿瘤周边的滋养动脉包绕并伴有分支伸入肿瘤内，肿瘤内密集、紊乱、吻合丰富的动脉网也显示清晰。**结论**　通过血管铸型技术可为超声造影所见的特征性图像提供解剖形态学依据；CCI 技术可观察到特征性的肿瘤血管增强影像，提高诊断特异性。

关键词：相干对比造影成像；肝 VX2 肿瘤；血管铸型
中图法分类号：R445.1；R735.7　　**文献标识码**：A

Observation of vascular enhancement in rabbits with liver VX2 tumor by using coherent contrast imaging

WANG Xiang, DU Wen-hua, YANG Wei-xiao, LI Tao, XIONG Xiu-qin (Department of Ultrasonography, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective　To evaluate the value of coherent contrast imaging (CCI) in vascular enhancement of liver VX2 tumor in rabbits. **Methods**　Model of liver VX2 tumor was established in 8 New Zealand rabbits. The vascular enhancement after the injection of self-made contrast agent was evaluated by using CCI and a Sequoia512 color Doppler ultrasound scanner. Meanwhile, blood vessel cast was proceeded to establish a three-dimensional model of liver VX2 tumor in rabbits. **Results**　During the CCI contrast process, there appeared three dynamic phases sequentially including arterial phase, portal phase, and parenchymal phase. Specific vascular enhancement of liver tumor emerged in 7 rabbits at the arterial phase, with network-like imaging of blood vessels with strong echo in the region of the tumor. Blood vessel cast could clearly show that the tumor was encysted by nutrient arteries with some division arteries extending into the tumor, inside which dense, disorderly and anastomotic arterial network could be seen obviously. **Conclusion**　Blood vessel cast can provide anatomical and morphological basis for characteristic signs of VX2 tumors detected by ultrasound imaging observation. In the meantime, by means of CCI, the characteristic vascular enhancement signs of VX2 tumors can be seen, which is beneficial to the improvement of specificity for tumor detection.

Key words: coherent contrast imaging; liver VX2 tumor; blood vessel cast

研究肝脏肿瘤的血供方式对临床诊断、治疗均具有重要的意义[1]。本研究应用新型超声灰阶造影技术—相干对比造影成像技术(coherent contrast imaging, CCI)，经静脉注入自制氟碳微泡造影剂，观察兔肝肿瘤血管影像增强的动态变化，同时采用血管铸型方法，建立兔肝 VX2 肿瘤血管三维构筑模型。通过分析二者间的关系，探讨相干对比造影成像技术检测肿瘤特征性血供的价值。

1　材料和方法

1.1　动物模型的制备[2]

新西兰大白兔 8 只，雌雄不限，体质量 2.4～3.0 kg，平均 2.6 kg，购自本院实验动物中心。以速眠新(购自长春农牧大学

基金项目：国家自然科学基金资助项目(30070227)，重庆市科委自然基金资助项目(7446)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30070227) and the Natural Science Foundation of Chongqing Science Committee (7446)

作者简介：王　翔(1976－)，男，山西省太原市人，硕士研究生，医师，主要从事超声造影方面的研究。电话：(023)68757421，E-mail：wangx1976@163.com
通讯作者：杜文华，电话：(023)68757441

收稿日期：2004-11-11；修回日期：2005-01-15

兽医研究所)0.2 ml/kg经肌肉注射麻醉。以8%硫化钠脱去腹部肝区体毛,外用生理盐水洗净,剑突下正中切口,暴露肝右叶。以眼科镊在肝右叶刺一个深约2 cm的窦道。从患有VX2肿瘤的种兔体内取出有活力的肿瘤组织约1 cm×1 cm×1 cm,无菌生理盐水漂洗,修剪成约2~3 mm^3的组织块。将修剪好的组织块2块植入窦道内,伤口局部明胶海绵止血。然后,依次缝合腹膜、肌层和皮肤。肿瘤植入后,饲养兔14 d后进行实验。

1.2 声学造影剂的制备[2]

自制声学造影剂,将5%人血白蛋白和40%的低分子右旋糖苷以1:3充分混匀,JY92-2D声振仪(宁波新芝科器研究所产品)声振,功率280 W,声振时间90 s。声振时缓慢加入1.5 ml全氟丙烷气体,此造影剂浓度为1.6×10^9/ml,平均直径(4.3±2.1) μm。

1.3 仪器及材料

采用美国Acuson公司Sequoia 512型彩色多普勒超声诊断仪,6L-3探头,探头二次谐波频率为4.0~8.0 MHz。选用腹部CCI条件,机械指数(MI)设定为0.1,发射功率为-16.8 dB。实验过程中每只动物的显像深度、增益、TGC等均保持不变。

血管铸型中血管填充剂主质选用过氯乙烯,铸型材料的配方及用量:过氯乙烯20 g,溶剂乙酸乙酯100 ml,增塑剂邻苯二甲酸二辛酯5 ml,红色、蓝色和白色油画颜料适量,配料时将其分成3份,于过氯乙烯内加入溶剂、增塑剂和油画颜料,充分搅拌均匀,备用。

1.4 检测方法

1.4.1 声学造影 使用CCI技术成像,造影剂的剂量为0.01 ml/kg,经耳缘静脉以团注方式注入后即刻以1 ml生理盐水冲洗,并用磁光盘连续记录声学造影前后的声像图变化过程。重复注射造影剂时,每次间隔不少于15 min。

1.4.2 血管铸型 取材和插管:超声检查完即刻处死动物,连同膈肌取下肝,尽量多保留肝门处管道及下腔静脉的上、下端。细心分离肝动脉及门静脉,以小口径套管针插入肝动脉,以较大口径套管针插入肝静脉及门静脉内,固定,滴注肝素盐水,洗净血管内血液,至肝脏呈苍白色。

灌注:依次分别使用红色铸型材料灌注肝动脉、白色材料灌注门静脉、蓝色材料灌注肝静脉,直至肝脏表面有广泛的铸型剂渗出,灌注完毕后,取出血管插管并结扎各管道。将注有铸型剂的肝脏置于清水中硬固2周。

腐蚀及修整:铸型剂完全固化后,将铸型标本浸泡于25%的盐酸溶液内腐蚀,腐蚀3~5 d后酌情进行冲洗,直至铸型标本被清晰、充分的显示。最后,将定型的血管铸型模型封存入盛有5%甲醛的有机玻璃标本盒中长期保存。

2 结果

2.1 超声造影表现

8例新西兰大白兔经解剖证实均接种成功移植性VX2肝肿瘤,8只兔共有17个肿瘤结节,直径在0.6~3.1 cm,肿瘤多呈圆形或类圆形,较大呈分叶状,边界欠清晰,未见包膜。

造影前,肝脏二维灰阶影像中无血流显示,肿瘤与肝脏均为低回声,肿瘤轮廓不清。7例(87.5%)动物在注入造影剂后约5~15 s出现了特异性的肿瘤血管增强,超声切面适当时清晰可见肿瘤滋养动脉显影,来源于第一肝门部,并向肿瘤延伸,肿瘤区可见紊乱的网络状强回声血管结构显影,包绕或覆盖肿瘤。造影剂在肿瘤内不断蓄积,而此时肝实质尚未增强,肿瘤呈强回声(图1),此过程平均持续约10 s。注入造影剂后约20~30 s,8例(100%)动物均观察到门静脉内出现强回声造影剂灌注,正常肝实质回声缓慢增强,VX2肿瘤血管影像逐渐减弱,此过程平均持续时间约20 s。注入造影剂约40 s后,门静脉内造影剂灌注影像逐渐减弱直至消失,正常肝实质回声进一步增强,约90 s左右达到高峰,VX2肿瘤显影相对减弱,与周围显著增强的肝实质形成鲜明对比,呈边界清晰的"负显影"(图2)。

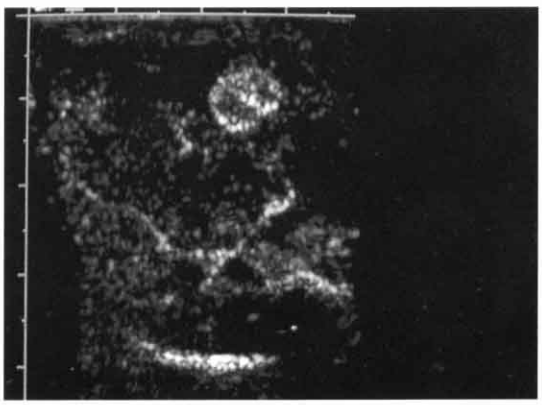


图1 肝VX2肿瘤声学造影动脉相

Fig 1 Arterial phase of coherent contrast imaging of liver VX2 tumor

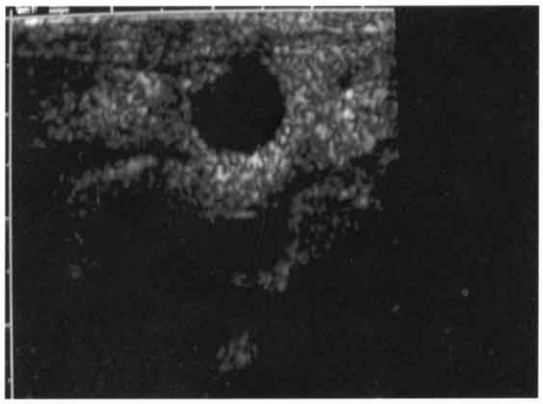


图2 肝VX2肿瘤声学造影实质相

Fig 2 Parenchymal phase of coherent contrast imaging of liver VX2 tumor

2.2 血管铸型表现

兔肝VX2肿瘤血管铸型特点:①动脉血管为肿瘤的营养血管,肿瘤周边可见多条滋养动脉,自肝门区延续至肿瘤周边,迂曲、变形包绕于肿瘤周边或伴有小分支深入肿瘤内部;②肿瘤内部见密集的动脉血管网,血管网排列紊乱,杂乱无章,肿瘤内几乎未见门静脉及肝静脉血管(图3);③正常肝实质主要血管为门静脉及肝静脉。



图 3　肝 VX2 肿瘤血管铸型标本（箭头示肿瘤内动脉血管网）

Fig 3　Blood vessel cast of liver VX2 tumor (arrow shows the dense arterial network in tumor)

3　讨论

近年来，随着对超声造影剂的深入研究，新型超声造影剂及新技术层出不穷。有学者认为[3,4]，超声造影二维灰阶图像正逐渐成为观察评价肝脏肿瘤血流灌注的有力工具，经外周静脉注射氟碳微泡造影剂后，利用二次谐波技术及间歇成像技术能敏感地发现微小血管中微气泡的存在，微泡造影剂可作为标记物进入感兴趣的靶器官或组织内，反映组织血流灌注情况。

CCI 技术是近 1 年内才推出的 1 种低机械指数下灰阶造影成像技术，采用动态发射聚焦，单脉冲删除技术，无闪烁伪像，增加了成像的均匀性。由于采用低机械指数的方法，减少了超声波对造影剂微泡的破坏，故可以实时、连续地观察到肿瘤血管增强的特征性动态变化。本研究应用自制氟碳微泡造影剂，以 CCI 技术观察兔肝 VX2 肿瘤的造影过程，结果表明，肝脏肿瘤声学造影大致可分为 3 个时相，即动脉相：造影后 5 ~ 15 s，可以观察到肿瘤血管特征性的早期增强；门静脉相：造影后 20 ~ 30 s，门静脉开始增强，肿瘤回声逐渐减弱；肝实质相：造影后 30 s，肝实质开始增强，肿瘤呈相对弱回声。

肿瘤（特别是恶性肿瘤）最基本的生物学特征就是瘤组织的无限增殖，而血管新生是肿瘤生长和转移的必要条件[5]。当肿瘤直径超过 1 ~ 2 mm 时，肿瘤细胞释放各种血管新生因子，诱导新血管生成，形成以动脉为基础的肿瘤滋养血管网，肿瘤组织获得进一步生长的能力，从而迅速生长并发生转移[6]。血管铸型技术是解剖学标本制作的一项专门技术，将所研究脏器的血管腔中注入特殊的填充物质，待硬化后将组织分解清除，仅留下填充物，从而直观地反映血管的形态、结构、走向及相互间联系，显示血管系统复杂的立体构筑，血管铸型技术是观察血管最准确的一种实验方法。本研究中血管铸型结果表明，肝动脉为供养肿瘤的营养血管，肿瘤内部为密集紊乱的动脉血管网，而肝实质的血供主要来自门静脉。因此，CCI 造影过程中，由于造影剂能少经过一次微循环先期达到肿瘤组织，而且肿瘤内血管的密集、紊乱、包绕又使造影剂能够在肿瘤组织内部蓄积，故在造影早期可以观察到肿瘤血管动脉期增强影像，肿瘤血管的特征性构筑决定了肿瘤声学造影特征性动脉相的形成。进入门脉相后，肝实质影像因门脉造影剂灌注开始增强，此时，肿瘤内部的造影剂已逐渐消退。实质相中，肝实质回声进一步增强，肿瘤呈边界清晰的“负显影”，其机制尚不完全清楚，可能与造影剂微泡被肝实质内富含的网状内皮系统（Kupffer 细胞）摄取有关[7]。

应用 CCI 技术，我们清晰地观察到了肿瘤内特征性网状血管的动态影像增强过程，血管结构显示完整细致，其观察效果明显优于常规彩色多普勒，甚至优于 CT 增强扫描。而通过血管铸型技术，我们获得了兔肝 VX2 肿瘤血管特征性三维构筑模型，为超声造影检查所见的特征性图像提供了解剖形态学依据。我们认为，应用 CCI 技术，可以观察到特征性的肿瘤血管增强显像，极大地丰富了超声诊断的内容，对肝脏肿瘤的诊断与鉴别诊断都具有重要的临床意义。

参考文献：

[1] Wen Y L, Kudo M, Zheng R Q, *et al*. Characterization of hepatic tumors: value of contrast-enhanced coded phase-inversion harmonic angio[J]. AJR Am J Roentgenol, 2004, 182(4): 1019 - 1026.

[2] Du W H, Yang W X, Wang X, *et al*. Vascularity of hepatic VX2 tumors of rabbit: Assessment with conventional power Doppler US and contrast enhanced harmonic power Doppler US[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(2): 258 - 261.

[3] Tanaka S, Kitumra T, Yoshioka F, *et al*. Effectiveness of galactose-based intravenous contrast medium on color Doppler sonography of deeply located hepatocellular carcinoma[J]. Ultrasound Med Biol, 1995, 21(2): 157 - 160.

[4] Burns P N. Harmonic imaging with ultrasound contrast agents[J]. Clin Radiol, 1996, 51(Suppl 1): 50 - 55.

[5] Folkman J, Shing Y. Angiogenesis [J]. J Biol Chem, 1992, 267(16): 10931 - 10934.

[6] 杜文华. 彩色与能量多谱勒超声在检测肝脏肿瘤血管中的应用价值[J]. 中国医学影像技术, 2003, 19(1): 109 - 111.

[7] Kono Y, Moriyasu F, Nada T, *et al*. Ultrasonographic arterial portography with second harmonic imaging: evaluation of hepatic parenchymal enhancement with portal venous flow[J]. J Ultrasound Med, 1999, 18(6): 395 - 402.

（编辑　栾　嘉）