论著

文章编号:1000-5404(2006)01-0038-03

实验性肝细胞癌SPIO增强MRI及其病理学对照研究

廖翠薇,邹利光,卫 静,刘卫金,梁开运 (第三军医大学新桥医院放射科,重庆 400037)

提 要:目的 探讨实验性肝细胞癌超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide,SPIO)微粒增强磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)表现及其病理基础,以期通过SPIO增强表现推测肝细胞癌的病理学分级。**方法** ①健康清洁级雄性Wistar大鼠90只,随机分为实验组80只和对照组10只,实验组灌喂2‰二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)生理盐水溶液。②大鼠分别于灌药后第16、18、20、21、22、23、24、25周行MRI扫描,先行SE-T1WI、FMPSPGR-T1WI、GRE-T2WI和FSE-PDWI、FSE-T2WI的MRI平扫检查,再采用相同序列和参数进行SPIO增强MRI检查,并选取兴趣区获取相关参数。③扫描结束后,处死大鼠,观察肿瘤的大体形态,并按照MR扫描层面对应部位取材,HE染色和PerIs染色。**结果** ①肝细胞癌的Kupffer细胞数明显低于正常肝组织($P < 0.01$),肝细胞癌的Kupffer细胞数与病理学分级相关。②肝细胞癌的SIR_{SPIO}与病理学分级及Kupffer细胞数相关。**结论** 肝细胞癌中Kupffer细胞的含量少于正常肝组织,随着分化程度的降低Kupffer细胞减少或缺乏,而相对信号强度比(SIR_{SPIO})增高。

关键词:超顺磁性氧化铁;磁共振成像;肝细胞癌;病理学分级;Kupffer细胞;序列;大鼠

中图法分类号:R445.2;R735.7;R816.5 **文献标识码**:A

Study of manifestation of HCC on SPIO-enhanced MRI with pathologic basis in rats

LIAO Cui-wei, ZOU Li-guang, WEI Jing, LIU Wei-jin, LIANG Kai-yun (Department of Radiology, Xinqiao Hospital, Third Military University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To investigate the manifestation of HCC on superparamagnetic iron oxide (SPIO)-enhanced MRI in rats and clarify its pathologic basis in hope of the application of SPIO-enhanced MRI in estimation of histological grading in HCC. **Methods** HCC was induced chronically with 1 ml of 2% DEN solution once a day in 80 rats for 14 weeks, and another 10 rats served as normal controls. All rats received dynamic MR examinations on week 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25. MR imaging was performed before and after SPIO injection using SE-T1WI, FMPSPGR-T1WI, GRE-T2WI, FSE-PDWI, FSE-T2WI, and the relative parameters were obtained. Rats were killed as soon as MRI finished. The tumors were observed grossly and the parts matched with the lesions on MRI were cut into pieces, stained with HE and PerIs, for pathologic examination. **Results** Kupffer cell number in HCCs was significantly smaller than that in normal liver tissues ($P<0.01$), and correlated with the histological grading. The SIR_{SPIO} of HCC was correlated with the histological grading and the Kupffer-cell-count ratio. **Conclusion** The number of Kupffer cell in HCCs was less than that in normal liver tissue, and decreased as the HCCs became less well differentiated, while the SIR_{SPIO} of HCC increased.

Key words: superparamagnetic iron oxide; magnetic resonance imaging; hepatocellular carcinoma; histological grading; Kupffer cell; sequence; rat

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是肝脏最常见的恶性肿瘤,也是肝硬化患者死亡的主要原因。磁共振成像(magnetic resonance imaging,MRI)以其较高的组织分辨率和多参数、多方位成像的特点为临床HCC的诊断和治疗提供了重要的影像学价值,并已成为检测HCC的不可缺少的手段[1],尤其是对比剂的应用提高了MRI对HCC的诊断准确性[2]。

超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO)微粒是近年来研制的肝脏组织特异性磁共振造影剂,其颗粒主要被肝脏的Kupffer细胞摄取,缩短组织的T2弛豫时间,引起相应区域的信号降低。过去认为HCC中不含Kupffer细胞,在SPIO增强MRI中信号不降低,借此同肝脏良性肿瘤鉴别。随着Tanaka等关于高分化HCC中含有Kupffer细胞的报道,给HCC的诊断提出了新的思路。目前,对于SPIO增强MRI与HCC病理学分级及其Kupffer细胞数相关性的动物实验国内尚少见报道。

作者简介:廖翠薇(1970-),女,重庆市人,硕士,主治医师,主要从事放射诊断学方面的研究,电话:(023)68774676

通讯作者:邹利光,电话:(023)68774676

收稿日期:2005-09-15;修回日期:2005-11-10

1　材料与方法

1.1　动物模型的建立

健康清洁级雄性 Wistar 大鼠（第三军医大学实验动物中心提供）90 只，完全随机分为实验组 80 只，对照组 10 只，分笼饲养，实验组经口咽插管灌喂 2‰二乙基亚硝胺（DEN，购自美国 Sigma 公司）生理盐水溶液，对照组以同样方法灌喂等量生理盐水，14 周后自由饮水。

实验组大鼠 80 只中死亡 41 只，用于实验观察的有 39 只；对照组大鼠全部存活。实验组分别于灌喂后第 16、18、20、21、22、23、24、25 周行 MRI 扫描，前 7 个检查时间点每次取大鼠 5 只，最后 1 个检查时间点取 4 只大鼠，对照组每次 MRI 检查随机取 1～2 只大鼠。

1.2　MRI 平扫

使用美国 GE 公司 Signa Contour 型 0.5T 超导型磁共振成像系统和 8 cm 环形表面线圈。

所有大鼠均先进行肝脏冠状位 SE 序列 T1 加权成像，再进行 SE-T1WI、FMPSPGR-T1WI、GRE-T2WI 和 FSE-PDWI、FSE-T2WI 轴位扫描，

1.3　SPIO 增强扫描

1.3.1　造影剂及使用方法　　采用美国 Advanced Magnetics 公司生产的超顺磁性氧化铁微粒（superparamagnetic iron oxide particles，SPIO）注射液，每支 5 ml，每毫升含铁 11.2 mg。MRI 平扫结束后，用 1 ml 注射器抽吸 SPIO 注射液，用量为 0.5 ml/kg，经颈外静脉插管缓慢注入，注药 30 min 后进行 MRI 扫描。

1.3.2　扫描序列和参数　　采用与 MRI 平扫相同的扫描序列、参数及扫描层面进行 SPIO 增强扫描。

1.4　图像分析

1）信号强度（signal intensity，SI）的测定：在显示器上采用兴趣区（region of interest，ROI）直接测定 SI，肿瘤的 ROI 选在其中心层面，不同序列的肿瘤 SI 测定选在同一解剖层面；肝脏的 ROI 要避开肝内管道结构，并在瘤体相位编码方向上于瘤体的上方或下方选取 ROI，ROI 的面积为 3 mm^2。背景噪声的 ROI 选在瘤体相位编码方向上的前腹壁外，其面积为 50 mm^2。

2）对比噪声比（contrast-noise-ratio，CNR）

$$CNR = \frac{SI_{tumor} - SI_{liver}}{SI_{noise}}$$

3）相对信号强度（relative signal intensity，SI_r）

$$SI_r = \frac{SI_{tumor}}{SI_{liver}}$$

4）SPIO 增强后相对信号强度比（SI_r ratio after SPIO administration，SIR_{SPIO}）

$$SIR_{SPIO} = \frac{SI_{r\ post}}{SI_{r\ pre}}$$

1.5　病理学检查

对照 MR 图像，按照扫描层面对应部位取材，分别进行 HE 染色和 PerIs 染色，并对 PerIs 染色切片进行肿瘤区和非肿瘤区的 Kupffer 细胞计数，两者的比值为 Kupffer 细胞计数比。

1.6　统计学处理

计量资料间的比较采用 t 检验和方差分析，计数资料间的比较采用 χ^2 检验和秩和检验。

2　结果

2.1　肝脏大体观察结果

实验组存活的 39 只大鼠均成功诱导出肝细胞癌。肝脏大体观察见全肝弥漫分布大小不等的结节，灰白色，最大者约 3.0 cm×3.5 cm×3.2 cm，最小者仅粟粒大小。部分结节灶内有出血、坏死，少数肝脏表面的结节与周围组织有粘连。腹腔内肿大的淋巴结多见于诱癌后期。随着诱癌时间的延长，肝脏的结节病灶增多，体积增大。对照 MR 图像，将直径≥4 mm 的 78 个结节纳入研究对象。

2.2　肝细胞癌病理学分级与 Kupffer 细胞计数

HCC 的 Kupffer 细胞均少于周围肝组织，其中高分化 HCC 的 Kupffer 细胞数较多，其计数比也较高，中分化 HCC 的 Kupffer 细胞数较少，其计数比较低，低分化 HCC 的 Kupffer 细胞数最少，其计数比最低，2 个低分化 HCC 中缺乏 Kupffer 细胞（图 1），高分化 HCC 的 Kupffer 细胞计数比与中、低分化 HCC 间有非常显著性差异（$P<0.01$），而中、低分化 HCC 间差异不显著。

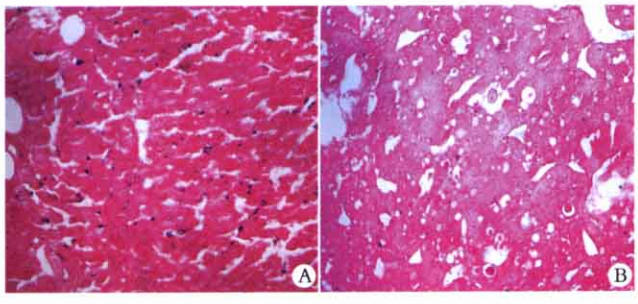


图 1　高分化肝细胞癌（A）中有较多的 Kupffer 细胞，而低分化肝细胞癌（B）中未见 Kupffer 细胞　（PerIs ×400）

2.3　实验性肝细胞癌 SPIO 增强表现与病理学基础

2.3.1　实验性肝细胞癌 SPIO 增强后 SI、CNR 与其病理学分级

SPIO 增强后，肝细胞癌多表现为大小不等、程度不同的高信号，FSE-PDWI 上，高分化肝细胞癌与中、低分化间有非常显著性差异（$P<0.01$），中分化肝细胞癌与低分化间差异不显著（$P>0.05$）。见图 2 和表 1。

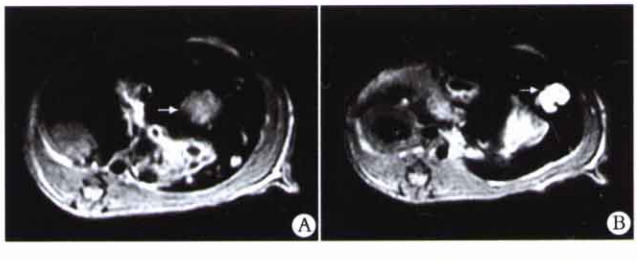


图 2　FSE-PDWI 上，高分化 HCC 的 SPIO 增强 MRI（A）；低分化 HCC 的 SPIO 增强 MRI（B）

表 1　SPIO 增强后（FSE-PDWI）肝细胞癌 SI、CNR 与病理学分级

病理学分级	SI	CNR
高分化 HCCs	69.60 ± 14.54	16.57 ± 3.78
中分化 HCCs	117.43 ± 20.90	23.22 ± 5.60[a]
低分化 HCCs	124.34 ± 22.58	25.03 ± 6.30[a]

a：$P<0.01$，与高分化组比较

2.3.2 实验性肝细胞癌 SIR_{SPIO} 与 Kupffer 细胞数、Kupffer 细胞计数比的相关性 实验性肝细胞癌的 Kupffer 细胞数或 Kupffer 细胞计数比与其 SIR_{SPIO} 呈负相关：Kupffer 细胞数或 Kupffer 细胞计数比越高，SIR_{SPIO} 越低。

3 讨论

3.1 肝细胞癌病理学分级与 Kupffer 细胞

以往的研究指出，Kupffer 细胞作为非肿瘤细胞，在肿瘤病灶中不存在。但在近年来，随着诊断手段的提高，许多早期 HCC 被手术切除，在切除标本中研究者发现了 Kupffer 细胞。本组病理结果显示，HCC 中确实存在 Kupffer 细胞但数量少于正常肝组织，随着肿瘤分化程度降低，Kupffer 细胞减少或缺乏。对于 HCC 中存在 Kupffer 细胞有两种解释：①肿瘤组织保持了正常肝组织的 Kupffer 细胞；②当肿瘤血管与正常肝窦相似时，血管腔内迁移巨噬细胞可转变成 Kupffer 细胞。后一种说法对现象的解释更理想。血管的形成是一连续的过程，高分化 HCC 由于生长较慢，血管形成的各步骤能很好地完成，成熟性较高，血管腔内的迁移巨噬细胞能转变为 Kupffer 细胞，所以高分化 HCC 中能观察到 Kupffer 细胞。随着肿瘤分化程度的降低，肿瘤生长较快，失去正常的调控机制，肿瘤血管形成较多，但形态结构明显异常于正常肝窦，血管腔内的迁移巨噬细胞较少或不转变成 Kupffer 细胞，因而肿瘤组织中的 Kupffer 细胞数明显减少或缺乏。有学者在对包含两种不同分化程度肿瘤组织的同一切片观察中发现，高分化肿瘤中的 Kupffer 细胞数几乎与周围非肿瘤组织一致，而中分化肿瘤中的 Kupffer 细胞数明显少于周围非肿瘤组织。表明 HCC 内 Kupffer 细胞的有无和多少与肿瘤的分化程度相关。

3.2 实验性肝细胞癌 SPIO 增强表现与病理学分级及 Kupffer 细胞数

SPIO 属肝脏特异性 MR 对比剂，1988 年 Stark 等首次将其应用于临床，并体现出了越来越大的诊断价值。SPIO 属纳米级的微粒，其大小与大体蛋白分子相仿，具有水溶性，微粒间不会相互聚集，进入肝脏后在调理素作用下被肝脏网状内皮系统的 Kupffer 细胞识别、吞噬，使相应区域信号减低，在造影剂分布不均匀时，此效应尤为明显。正常肝脏的 Kupffer 细胞占全身网状内皮细胞的 80%，SPIO 进入体内后绝大部分被肝脏的 Kupffer 细胞吞噬，肝脏吞噬 SPIO 的程度决定于其内的 Kupffer 细胞。

Kupffer 细胞作为肝脏非实质细胞，除了具有较强的吞噬功能外，还具有较强的抗肿瘤细胞作用，主要表现在 3 方面：①直接吞噬肿瘤细胞；②通过促进肝癌细胞的凋亡参与抑制肝细胞的癌变；③通过分泌细胞因子调节机体的免疫机能使肿瘤细胞被破坏或抑制。在原发性肝癌的多阶段发展进程中，Kupffer 细胞也表现出了多阶段的变化：肝硬化阶段肝组织的 Kupffer 细胞较正常肝脏减少，肿瘤形成后癌灶内 Kupffer 细胞减少或缺如。因而 Balci 等[3]认为 SPIO 增强后肝细胞癌不能摄取 SPIO 微粒，不表现出信号降低，而肝脏良性肿瘤由于含有 Kupffer 细胞在 SPIO 增强后出现信号下降，据此可将两者鉴别。Tanaka 等却认为肝细胞癌内存在一定数量 Kupffer 细胞的，这就给 SPIO 的诊断价值提出了质疑。本组病理结果显示：①正常肝组织内有成群出现的 Kupffer 细胞，肝细胞癌中的 Kupffer 细胞数明显减少。②肿瘤区内的 Kupffer 细胞含量依肿瘤分化程度不同表现出一定的差异：高分化肿瘤的 Kupffer 细胞少于周围肝组织，但较中、低分化肿瘤的 Kupffer 细胞多；中、低分化肿瘤的 Kupffer 细胞数明显减少，甚至缺乏。

SPIO 增强后 HCC 信号测量指标中，SIR_{SPIO} 是反映肝细胞癌 SPIO 增强特性的主要指标，当病灶摄取的 SPIO 比肝组织摄取的少时，病灶信号降低程度低于肝组织，则 $SIR_{SPIO} > 1$，反之，$SIR_{SPIO} < 1$。本实验中，肝细胞癌的 SIR_{SPIO} 均大于 1，表明肝细胞癌对 SPIO 的吞噬能力低于肝组织，癌灶 Kupffer 细胞含量比肝实质少，病理组织学资料证实了此观点[4]。本研究结果显示，肝细胞癌 SIR_{SPIO} 随着肿瘤分化程度的降低而增高，高分化肝细胞癌与中、低分化间有显著性差异，后两者差异不显著。由于高分化肝细胞癌的 Kupffer 细胞含量较多，能吞噬较多的 SPIO，导致了 T2WI 上其信号降低程度较大，而中、低分化肝细胞癌由于 Kupffer 细胞减少或缺乏，SPIO 强化后信号程度下降不显著或不下降，因而高分化肝细胞癌的 SPIO 负性增强效果显著，其 SIR_{SPIO} 最低。所以，肝脏 SPIO 增强 MRI 能反应肝组织和肝细胞癌中的 Kupffer 细胞含量，在一定程度上可预测肝细胞癌的分化程度。

参考文献：

[1] KONDO H, KANEMATSU M, HOSHI H, *et al*. Preoperative detection of malignant hepatic tumors: comparison of combined methods of MR imaging with combined methods of CT [J]. AJR Am J Roentgenol, 2000, 174(4): 947-954.

[2] KUBASKA S, SAHANI D V, SAINI S, *et al*. Dual contrast enhanced magnetic resonance imaging of the liver with superparamagnetic iron oxide followed by gadolinium for lesion detection and characterization [J]. Clin Radiol, 2001, 56(5): 410-415.

[3] BALCI N C, SIRVANCI M, DURAN C, *et al*. Hepatic adenomatosis: MRI demonstration with the use of superparamagnetic iron oxide[J]. Clin Imaging, 2002, 26(1): 35-38.

[4] IMAI Y, MURAKAMI T, YOSHIDA S, *et al*. Superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance images of hepatocellular carcinoma: correlation with histological grading[J]. Hepatology, 2000, 32(2): 205-212.

（编辑 栾 嘉）