文章编号:1000-5404(2006)01-0041-03

论著

肝细胞癌动态增强MRI定量分析的血供基础实验研究

卫 静,邹利光,廖翠薇 文 利 (第三军医大学新桥医院放射科,重庆 400037)

提 要:目的 探讨不同病理级别肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)动态增强磁共振(magnetic resonance imaging, MRI)首次增强斜率的血供基础。**方法** 用二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)长期小剂量灌喂大鼠诱发肝细胞癌,于不同时相行MRI动态增强扫描,绘制时间-信号强度曲线,计算首次增强斜率,并且在相应部位取材做病理观察及微血管密度(microvessel density, MVD)测定。**结果** 肝细胞癌MRI动态增强扫描时间-信号强度曲线S_{first}与病理学分级有关,肿瘤恶性程度越高,其值越大。肝细胞癌MVD也与病理学分级有关,高分化肝细胞癌MVD值最小,而低分化肿瘤MVD值最大。**结论** MVD是导致不同病理级别肝细胞癌MRI首次增强斜率显著差异的重要原因之一。

关键词:肝细胞癌;MRI;动态;微血管密度
中图法分类号:R445.2;R730.21;R735.7 **文献标识码**:A

Blood supply analysis based on quantitative dynamic contrast-enhanced MRI in hepatocellular carcinoma

WEI Jing, ZOU Li-guang, LIAO Cui-wei, WEN Li (Department of Radiology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To analyze the status of blood supply at appearance of the first enhanced signal on dynamic contrast-enhanced MRI of hepatic cell cancer (HCC) of differentiated degree. **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 contrast-enhanced MRI examination on week 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25. The time-intensity curve was drawn and the slope rate of the first enhanced signal (S_{first}) was counted, then specimens were taken and observed of microvessel density (MVD) with light microscope. **Results** The differentiated degree of HCC was correlated with S_{first} and MVD. The poorer HCC differentiation, the bigger S_{first}. Well differentiated HCC had low MVD, while poorly differentiated had higher MVD. **Conclusion** MVD is the main influence factor for that the S_{first} were significantly different between HCC of differentiated degree.

Key words: hepatocellular carcinoma; magnetic resonance imaging; dynamic; microvessel density

目前在肝细胞癌的MRI诊断中,动态增强扫描技术的应用已较普遍,有关其MRI表现的研究在国内外已有较多的报道,但有关不同病理级别肝细胞癌MRI动态增强定量分析结果的血供基础的研究极少报道。我们通过建立大鼠肝细胞癌模型,行MRI动态增强扫描,绘制时间-信号强度曲线,计算首次增强斜率,并且与肿瘤相应部位的MVD进行对照,探讨动态增强MRI定量分析的血供基础。

作者简介:卫 静(1977-),女,山西省晋城市人,硕士,医师,主要从事影像诊断学方面的研究。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**:2005-11-12

1 材料与方法

1.1 动物模型的建立

结合文献[1]报道,取健康清洁级雄性Wistar大鼠90只,9~11周龄,体质量150~180 g(由第三军医大学实验动物中心提供),完全随机分为实验组和对照组,其中实验组80只,对照组10只,分笼饲养。实验组大鼠灌喂2‰二乙基亚硝胺生理盐水溶液,每日1次,每次1 ml,每周5次,剩余2 d自由饮水。灌喂满14周后停药,大鼠自由饮水。对照组以同样的方法灌喂等量的生理盐水。

1.2 MRI检查及分析

实验组大鼠分别于灌喂后第16、18、20、21、22、23、24周行MRI检查,每次完全随机取5只大鼠,第25周取4只,共取39

只大鼠，对照组每次取1～2只。采用美国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。先行MRI平扫，检查结束后，选取肿瘤最明显层面，采用快速多层面扰相梯度回波（FMPSPGR）序列T1WI，TR=51 ms，TE=5 ms，翻转角80°，层厚=3 mm，层间距=0，FOV=12 cm。先于未增强前行MRI平扫1次，扫描结束后，立即通过Gd-DTPA 0.8 ml。从开始注射造影剂时行MRI扫描，最小间隔时间扫描5 min。观察肿瘤增强情况，选定肿瘤或邻近的正常肝脏的某一感兴趣区绘制时间－信号强度曲线，依公式$S_{first}=(SI_1-SI_0)/(T_1-T_0)$，计算肿瘤首次增强斜率（$SI_1$为增强后首次采集图像的信号强度，$SI_0$为增强前的信号强度，$T_1$、$T_0$分别为与$SI_1$、$SI_0$相对应的时间）。

1.3 肿瘤病理检查及微血管密度测定

对照MRI，按照扫描层面对应部位取材，部分标本常规HE染色，观察肝细胞癌病理情况。部分标本采用S-P方法进行肝细胞癌CD34的免疫组化检查。先在低倍镜下（×100）全面观察切片以确定肿瘤内血管密度最高处，然后在高倍镜下（×200）计数。微血管计数选择标准：凡是染成棕黄色、单个或数个内皮细胞均作为1个血管计数。不以红细胞的出现来确定是否有血管，也不以是否出现管腔来计数血管，管腔大于8个红细胞直径，带有较厚的肌层的血管也不作为血管计数。记录5个视野内的微血管数，取其平均数作为该肿瘤的MVD（单位：个/视野）。

1.4 统计学处理

所有资料均用统计软件包SPSS 10.0处理。计量资料用$\bar{x}\pm s$表示，采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 动物诱癌情况

诱癌成功39只大鼠，均可见肝脏弥散分布大小不等的灰白色结节，结节大小差异很大，取其中直径≥4 mm共41个结节做MRI动态增强扫描。

2.2 MRI平扫

SE序列T1WI，肝细胞癌主要表现为低或等信号，2个低分化结节表现为混杂信号；FSE序列T2WI，肿瘤表现以高信号为主，部分肿瘤还可表现为混杂信号或等信号。

2.3 动态增强MRI

2.3.1 时间－信号强度曲线形态　观察肝细胞癌增强情况，选定肿瘤或邻近的正常肝脏的某一感兴趣区绘制时间－信号强度曲线。正常肝组织时间－信号强度曲线较平直，增强后不同时间点肿瘤信号强度变化不大，而肝细胞癌时间－信号强度曲线表现为增强后可见一较快速的上升阶段，然后随着时间的延长曲线随之下降，肿瘤信号强度随时间的改变而改变。

2.3.2 定量分析　首次增强斜率（S_{first}）本组41个结节在注入造影剂后首次增强斜率为1.64～5.28 unit/s，与肿瘤病理学分级有很好的相关性，高分化肿瘤该值较小，低分化组斜率最大，中分化组居两者之间，并且此三者中两两之间存在显著性差异（$P<0.01$）（表1）。

表1 肝细胞癌S_{first}与病理学分级

病理学分级	结节数	S_{first}（unit/s）
高分化	9	1.64±0.50
中分化	18	3.17±0.56[a]
低分化	14	4.92±0.36[ab]

a：$P<0.01$，与高分化比较；b：$P<0.01$，与中分化比较

2.4 微血管密度

CD34免疫组织化学染色结果，正常肝组织的血窦不着色，汇管区极少量大血管阳性染色，但不符合微血管计数标准。41个肝细胞癌结节血窦内皮细胞均见不同程度的黄染，MVD值为27.1～51.6，高分化癌MVD值最低（图1），低分化癌MVD值最高（图2），不同病理级别之间MVD值差异显著（$P<0.01$）（表2）。

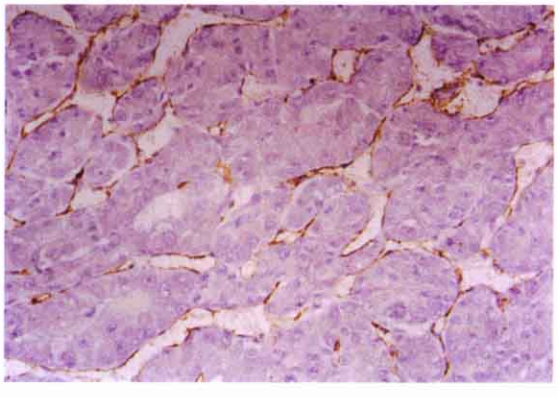


图1 高分化肝细胞癌MVD值较小（S-P×200）

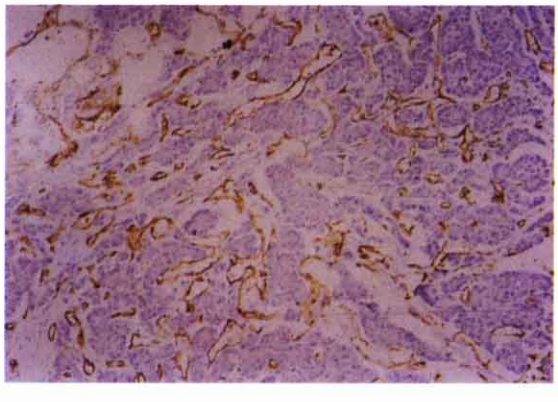


图2 低分化肝细胞癌MVD值较大（S-P×100）

表2 肝细胞癌病理学分级与MVD

病理学分级	结节数	MVD
高分化	9	27.1±4.3
中分化	18	38.4±6.0[a]
低分化	14	44.4±7.2[ab]

a：$P<0.01$，与高分化比较；b：$P<0.01$，与中分化比较

3 讨论

众所周知，血管在肿瘤生长及转移过程中发挥着

极其重要的作用，若肿瘤缺乏血管而供养不足，肿瘤就不能增殖，反之，肿瘤一旦有血管长入，就会急剧发展，并且肿瘤的恶性程度也与肿瘤内血管的丰富程度有关，肿瘤恶性程度越高，血管越丰富[2,3]，此观点我们在实验中也得到证实。

以往对于肿瘤血供丰富程度的判断主要是通过测定肿瘤组织的微血管密度。近来随着影像学新技术的迅猛发展，尤其是 MRI 的应用，在肿瘤诊断方面显示出越来越突出的优势。通过肿瘤影像学表现与血管生成的相关性研究，一致认为 MRI 检查能够无创性地反映肿瘤的血管情况，并且能够对病变强化形式进行解释，可加深对影像表现的认识，从而有利于诊断[4]。为此我们对肝细胞癌动态增强 MRI 首次增强斜率与肿瘤病理学分级及 MVD 进行相关性分析，结果显示两者显著相关，肝细胞癌恶性程度越高，MVD 及动态增强 MRI 首次增强斜率值越大。

斜率为某段时间内时间 - 信号强度曲线的变化率，即在该时段内的 MRI 信号强度增加值与时间增加值的比值。由于动态增强曲线反映的是不同时段造影剂经过某一组织引起信号改变的动态过程，而 Gd - DTPA 是一种细胞外间隙非特异性顺磁性造影剂，体积小，进入血管后可以快速从血管内间隙进入血管外间隙，在各组织的分布因组织的血供及微血管的通透性不同而异[5,6]。研究表明，MRI 动态增强早期强化主要受肿瘤血管生成度影响，晚期强化主要与血管的通透性和血管外间隙有关，当造影剂首过肿瘤组织时，渗透到血管外的造影剂极少，主要位于血管内，此时肿瘤血管内不含造影剂的血液快速被含高浓度造影剂的血液替代且血流速度慢不会引起信号丢失，从而引起 T1 增强效应，此时增强效应主要是由于血管内造影剂增多引起的。肿瘤血管生成越多，进入单位体积肿瘤组织造影剂的量越多，T1 增强效应越明显。而只有在快速注入造影剂，在最初的扫描上，造影剂才能主要分布在血管内，才能够充分显示血管特征，随着时间的延长，造影剂进入组织间隙，不利于血管的显示。故我们选用快速注入造影剂的方式，用增强后首次扫描时肿瘤组织信号变化值与所用时间的比值来反映组织的血供情况。

本研究结果显示不同分化的肿瘤与首次增强斜率之间存在明显的相关性，恶性程度越高，其增强率越大。以往的研究表明，肿瘤恶性程度越高，其血供越丰富，由于单位体积内血管数量增多，一定时间内通过的造影剂也多。Yamashita 等[7]观察到组织学上中、低分化肿瘤的窦状血管腔较分化好的肿瘤明显扩张。马捷等[8]使用免疫组化的方法观察肝癌中窦壁内皮细胞及基膜的形态也有类似的结果。上述实验结果表明：含造影剂的血液首次通过肿瘤血管时，恶性程度越高的肿瘤单位体积内血管数多，管腔扩大，进入血管内的造影剂越多，其信号增加值越大。由于单位时间内有更多的造影剂经过，故肿瘤信号增加越高，增强率越大。

综上所述，我们认为通过分析肝细胞癌动态增强 MRI 时间 - 信号强度曲线首次增强斜率，不仅有利于肝细胞癌的诊断，而且还可以对肝细胞癌恶性程度及肿瘤的血管分布有一很好的认识，首次增强斜率越大，说明肿瘤恶性程度越高，血供越丰富。由于本实验的研究对象为大鼠，我们所得出的首次增强斜率值与人类肝细胞癌首次增强斜率具体数值存在一定的差异，因此在临床工作中所计算出的首次增强斜率不能与大鼠的数值相对照来分析肿瘤的病理学分级，而人类不同病理级别肝细胞癌的动态增强 MRI 首次增强斜率值有待进一步研究。

参考文献：

[1] 蔡金华，丁仕义，张　琳. 大鼠肝细胞癌演进过程中的 MR 成像研究[J]. 中国医学影像学杂志，2001，9(4)：274 - 275，278.

[2] TURETSCHEK K，HUBER S，FLOYD E，*et al*. MR imaging characterization of microvessels in experimental breast tumors by using a particulate contrast agent with histopathologic correlation[J]. Radiology，2001，218(2)：562 - 569.

[3] HANAHAN D，FOLKMAN J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis[J]. Cell，1996，86(3)：353 - 364.

[4] 廖伟华，王小宜，刘　凡，等. 星形细胞瘤动态增强 MRI 与 VEGF 表达的相关性研究[J]. 临床放射学杂志，2004，23(2)：95 - 99.

[5] KUDO M. Imaging blood flow characteristics of hepatocellular carcinoma[J]. Oncology，2002，62(Suppl 1)：48 - 56.

[6] 卫　静，孙清荣，邹利光，等. 大鼠肝细胞癌 MRI 信号特征的病理、基础研究[J]. 第三军医大学学报，2004，26(15)：1360 - 1363.

[7] YAMASHITA Y，FAN Z M，YAMAMOTO H，*et al*. Spin-echo and dynamic gadolinium-enhanced FLASH MR imaging of hepatocellular carcinoma：correlation with histopathologic findings[J]. J Magn Reson Imaging，1994，4(1)：83 - 90.

[8] 马　捷，周晓军，张太和，等. 人体肝癌中窦壁内皮细胞及基膜的病理形态学研究[J]. 中华消化杂志，2000，20(5)：311 - 314.

（编辑　栾　嘉）