DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.14.003
第26卷第14期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 14
1308 2004年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2004

论著

文章编号:1000-5404(2004)14-1308-03

星形细胞瘤MRI定量参数与微血管密度的关系

张 冬,邹利光,王文献,文 利,戴书华,孙清荣 (第三军医大学新桥医院放射科,重庆 400037)

提 要:目的 探讨星形细胞瘤MRI定量参数与微血管密度的关系。方法 收集手术病例病理证实的脑星形细胞瘤32例,计算MRI定量分析指标:T1WI、T2WI上的相对信号强度(RSI_0)、增强后相对信号强度(RSI_{Gd})及信号强度增加百分率(EP)。采用免疫组化的方法标记内皮细胞,测量微血管密度。对照二者的关系。结果 恶性组与偏良性组之间,上述MRI定量参数均有统计学差异;增强后相对信号强度(RSI_{Gd})及信号强度增加百分率(EP)与微血管密度呈正相关。结论 增强后相对信号强度(RSI_{Gd})及信号强度增加百分率(EP)可以较好地反映星形细胞瘤的微血管密度和病理分级。

关键词:星形细胞瘤;血管新生化;磁共振成像
中图法分类号:R730.264;R730.44 文献标识码:A

Correlation of MRI quantitative parameters with microvessel density in astrocytoma

ZHANG Dong, ZOU Li-guang, WANG Wen-xian, WEN Li, DAI Shu-hua, SUN Qing-rong (Department of Radiology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To explore the correlation of MRI quantitative parameters with microvessel density (MVD) in astrocytoma. Methods A total of 32 cases of astrocytoma proved by operation and pathology were reviewed. MRI quantitative parameters, the relative signal intensity on T1WI, T2WI (RSI_0), Gd-enhanced T1WI (RSI_{Gd}) and EP were measured. Factor Ⅷ related antigen on the specimens of the respected tumors was stained by immunohistochemical method, and MVD was measured. The results were compared with MRI quantitative parameters. Results A significant difference in MRI quantitative parameters was found between the malignant group and the benign group. RSI_{Gd} and EP were positively correlated with MVD. Conclusion RSI_{Gd} and EP are very helpful to evaluate the pathological grades and MVD of astrocytoma.

Key words: astrocytoma; neovascularization; magnetic resonance imaging

MRI定量分析为星形细胞瘤的MRI诊断提供了量化标准,使得MRI评估星形细胞瘤的病理级别更加科学化,规范化。星形细胞瘤的发展及临床预后与血管生成密切相关,微血管密度(microvessel density, MVD)是反映血管生成的"金标准",是星形细胞瘤的一个独立预后指标。本研究通过对照MRI定量指标与微血管密度的关系,试图找出能活体反映微血管密度的MRI定量指标。

1 材料与方法

1.1 对象

收集我院手术后病理证实、接受MRI平扫和增强扫描的脑星形细胞瘤32例,按Krenohan氏分类法将其分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ级,其中Ⅰ级8例,Ⅱ级4例,Ⅲ级11例,Ⅳ级9例。由于本组病例较少,为了能科学的反映研究结果,将Ⅰ、Ⅱ级病例归为一组,为偏良性组,Ⅲ、Ⅳ级病例归为一组,为恶性组。

1.2 MRI定量指标分析

使用GE SignaCounter 0.5T磁共振机,头颅线圈,先行常规轴位T1WI、PDWI及T2WI,静脉注射造影剂后行轴位T1WI增强扫描。层厚层距均为10 mm。扫描结束后,选择兴趣区,兴趣区选择同样的大小范围,选择病变实体区及对侧半球相应的脑白质区,测定各自的信号强度。参照耿道颖[1]和王文献[2]的方法计算下列定量指标。

1.2.1 相对信号强度(relative signal intensity, RSI_0) 为肿瘤区增强前SI与对应半球脑白质的SI之比值,分别在T1WI、T2WI上测定。

1.2.2 增强后相对信号强度(relative signal intensity after contrast, RSI_{Gd}) 为增强后肿瘤区SI与对应半球脑白质的SI之比值,在T1WI上测定。

1.2.3 信号强度增加百分率(ehancement percentage, EP) 为增强前后肿瘤信号强度的差值与增强前信号强度的比值。

作者简介:张 冬(1973-),男,重庆市南川市人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事中枢神经系统疾病的影像诊断方面的研究。电话:(023)68774676

收稿日期:2002-12-13;修回日期:2003-04-25

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

1.3　F Ⅷ免疫组化染色及结果分析

选取病变实质区所对应的石蜡切块，常规脱蜡至水。采用兔抗人抗 F ⅧAg 多克隆抗体，按常规 S-P 法行免疫组化染色（所有试剂均购自福建迈新公司）。步骤按 S-P 试剂盒说明书进行。每次免疫组化染色均设立阴性和阳性对照参照目前常用的方法，先在低倍镜下（10×）全面观察切片以确定肿瘤内血管密度最高处，找出血管密度最高处后，在高倍镜下（20×，0.74 mm^2/视野）下计数。记录 5 个视野内的微血管数，取其平均数作为该病例的 MVD。

1.4　统计学处理

计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示，用统计软件 SPSS 10.0 行组间 t 检验；两变量间相关分析采用 Pearson 法。

2　结果

2.1　星形细胞瘤病理类型与 MVD 的关系

血管壁经内皮细胞特异性标记物 F ⅧAg 免疫组化染色后呈棕色或棕黄色。偏良性组星形细胞瘤 MVD 为（57.2±15.7），恶性组星形细胞瘤 MVD 为（76.3±20.5），后者明显高于前者，差异显著（t=5.641，P<0.01），见表 1。

表 1　星形细胞瘤病理类型与 MVD 的关系

Tab 1　Correlation of MVD with pathological type of astrocytoma

Pathological type	n	MVD
Benign	12	57.2±15.7
Malignant	20	76.3±20.5 **

**：P<0.01，*vs* benign

2.2　星形细胞瘤 MRI 定量参数与病理类型的关系

在 T1WI，恶性组星形细胞瘤的 RSI_0 高于偏良性组星形细胞瘤（t 为 3.457，P<0.01）；在 T2WI，前者的 RSI_0 低于后者，有统计学意义。对于 RSI_{Gd}，EP，恶性组也明显高于偏良性组（t 分别为 2.812，4.173，P<0.01），见表 2。

表 2　MRI 定量参数与病理类型的关系

Tab 2　Correlation of MRI quantitative parameters with pathological type of astrocytoma

Pathological type	T1WI RSI_0	T2WI RSI_0	RSI_{Gd}	EP
Benign	0.68±0.06	2.85±0.20	0.75±0.05	27.2±3
Malignant	0.89±0.02 **	2.41±0.40 **	1.49±0.01 **	65.7±5 **

**：P<0.01，*vs* benign

2.3　星形细胞瘤 MRI 定量参数与 MVD 的关系

RSI_{Gd}，EP 与 MVD 呈正相关，相关系数分别为 0.85、0.67（P<0.01）。T1WI RSI_0、T2WI RSI_0 与 MVD 没有相关性，相关系数分别为 0.23、0.32（P>0.05）。

3　讨论

肿瘤的血管生成与肿瘤的生长、发展、转移及预后密切相关，目前临床病理通常通过测定肿瘤 MVD 来反映肿瘤的血管生成活性。研究表明肿瘤 MVD 是许多肿瘤的一个独立预后因素，在许多肿瘤中它已成为判断其预后的一个普遍采用的可靠方法。我们分析了 32 例星形细胞瘤的 MVD 与临床病理的关系，Ⅲ~Ⅳ级 MVD 明显高于Ⅰ、Ⅱ级（P<0.01），与 Leon[3] 的结果相一致。

另外文献报道肿瘤的血管生成在低度恶性星形细胞瘤向高度恶性转化过程中也起着主导作用。正由于此，目前抗肿瘤血管生成为肿瘤治疗的一个新方法。可见活体评价星形细胞瘤血管生成对于其治疗方案的制定、预后评估有着很重要的价值。影像学特别是 MRI 在这方面有着独特的优势，不需要病理标本，不受肿瘤部位的限制是其优点，但究竟哪些 MRI 定量参数可以较客观的反映星形细胞瘤的血管生成活性，目前尚无这方面的研究。

本研究结果显示恶性组 T1WI RSI_0 明显高于偏良性组，而偏良性组 T2WI RSI_0 明显高于恶性组，说明恶性星形细胞瘤 T1WI 信号强度高于偏良性星形细胞瘤，但 T2WI 信号强度却低于偏良性星形细胞瘤，这提示 MRI 平扫信号强度对于鉴别星形细胞瘤良恶性有价值，但能否鉴别Ⅰ~Ⅳ级还需大宗病例研究。而且结果还显示 T1WI RSI_0、T2WI RSI_0 均与 MVD 没有相关性，说明 T1WI RSI_0、T2WI RSI_0 反映星形细胞瘤血管生成的价值有限。

恶性组 RSI_{Gd}、EP 均明显高于偏良性组（P<0.01），与国内外研究结果相符[1,4]，表明增强程度是鉴别星形细胞瘤良恶性的重要依据。Tovi 等[5] RSI_{Gd} 值将 1.16 作为区别低度恶性与高度恶性星形细胞瘤的界值。耿道颖等[1] 也发现 89%的低恶性星形细胞瘤的 RSI_{Gd}<1.16，84%的高度恶性星形细胞瘤的 RSI_{Gd}>1.16。我们研究也发现 RSI_{Gd}、EP 不仅可以反映星形细胞瘤的病理分级，而且还与 MVD 密切相关。MVD 高的星形细胞瘤微血管丰富，而且这类血管大多不成熟，没有完整的基底膜，内皮细胞之间连接不完整，血管通透性大，反映在 MRI 增强扫描上则表现为造影剂容易从血管内溢出，进入组织间质，从而使得微血管丰富的肿瘤明显强化。相反 MVD 低的星形细胞瘤微血管不丰富，新生血管结构接近正常微血管，基底膜完整，造影剂不易从血管进入组织间隙内，肿瘤强化轻。因此星形细胞瘤的定量参数 RSI_{Gd}、EP 可以较好的活体反映星形细胞瘤的血管生成。从而指导选择治疗方案和评估患者预后。

应用 MRI 活体评价星形细胞瘤血管生成一直是 MRI 研究热点，国外研究方法发展很快，最初大多采用钆造影剂，肿瘤局限于乳腺癌。随后软件的开发使得 MRI 评价其血容量、血流量及血管通透性成为可能[7]，

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

而且扩大了肿瘤研究的范围。各种小分子和大分子造影剂的成功研制使得结果也越来越客观,可靠。最近几年已经深入到分水水平[6]。因此应用 MRI 评价血管生成有很大前景。国内在这方面起步较晚,研究多局限于影像学表现与血管生成的指标相对照。相信随着软硬件的进一步完善,国内影像学工作者也会逐步着手这方面的研究并能取得较好的成果。

参考文献:

[1] 耿道颖, 沈天真, 陈星荣. 星形胶质细胞瘤 MR 诊断有关定量参数研究[J]. 中国医学计算机成像杂志, 1996, 2(2): 75-79.
[2] 王文献, 邹利光, 张 冬, 等. MRI 定量分析在星形细胞瘤鉴别诊断中的作用[J]. 中国医学影像学杂志, 2002, 10(5): 332-334.
[3] Leon S P, Folkerth R D, Blank P M. Microvessel density is a prognostic indicator for patients with astroglial brain tumors[J]. Cancer, 1996, 77(2): 362-372.
[4] Tovi M, Lilja A, Bergstrom M, *et al*. Delineation of gliomas with magnetic resonance imaging using Gd-DTPA comparision with computed tomography and position emission tomography[J]. Acta Ragiol, 1990, 31(5): 417-429.
[5] Abramovitch R, Dafni H, Smouha E, *et al*. *In vivo* prediction of vascular susceptibility to vacular endothelial growth factor withdrawl magnetic resonance imaging of C6 rat glioma in nude mice[J]. Cancer Res, 1999, 59(19): 5012-5016.
[6] Sipkins D A, Cheresh D A, Kazemi M R, *et al*. Detection of tumor angiogenesis *in vivo* by alphaVbeta3-targeted magnetic resonance imaging[J]. Nat Med, 1998, 4(5): 623-626.

(编辑 王 红)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2004)14-1310-02

豚鼠内淋巴囊透明质酸合成酶原位杂交方法的初探

Detection of hyaluronan synthase in the endolymphatic sac of guinea pigs by *in situ* hybridization

陈 剑, 姬长友 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所耳鼻咽喉头颈外科, 重庆市内耳疾病研究所, 重庆 400042)

目前在豚鼠内淋巴囊进行原位杂交的方法欠稳定,本研究总结出一种豚鼠内淋巴囊透明质酸合成酶原位杂交的方法,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 探针来源

查阅基因文库,得出透明质酸合成酶的保守序列,设计寡聚核苷酸探针为: 5′-RAA RTA NSW YTT NGT CCA NCK NGT YTG YTG-3′ R=A or G, N=A、C、G or T, W=A or T, Y=C or T, K=G or T, S=C or G,由上海生物制品研究所合成。

1.2 标本预处理

1.2.1 固定 取新鲜内淋巴囊, 4%多聚甲醛固定 3 h, 30%蔗糖脱水 24 h 至标本悬浮(因内淋巴囊很小,投入液体中是漂在液面上)。

1.2.2 载玻片和组织切片的处理 载玻片先经酸处理,然后用热的肥皂水浸泡 24 h,清水清洗干净,然后用蒸馏水浸泡 4 h, 160 ℃以上烘烤干,去 RNA 酶备用。然后用推片法在载玻片上涂一层多聚赖氨酸(PLL,北京中山生物技术有限公司, 0.1~0.5 %), 4 ℃备用。

1.2.3 制片 用涂有多聚赖氨酸的载玻片冰冻切片, 14 μm,置-20 ℃备用。最好是新鲜制片。

1.3 杂交前预处理

预处理标本 38 ℃烤箱, 10 min,除去载玻片上的水分。PBS 漂洗 10 min×2 次。蛋白酶 K(10 μg/ml, DEPC 水配制): 37 ℃, 5 min。PBS 漂洗 10 min×2 次。

1.4 预杂交和杂交

1.4.1 预杂交 滴加预杂交液(100%甲酰胺 5 ml, 50 Denherolts 1 ml, 20× s 2.5 ml, 5 mg/ml 鲑鱼精 DNA 40 μl, DEPC 水 1.46 ml)37 ℃, 30 min 至 1 h。

1.4.2 杂交 在预杂交的同时,将探针用封口膜封好,然后沸水水浴加热 10 min。探针解链,然后在预杂交液中加入探针(100∶1),除去载玻片上的预杂交液,每张载玻片上滴加约 30 μl 的杂交液,加盖盖玻片, 37 ℃, 12~16 h。

1.5 杂交后处理

2× s, 0.4% Triton-X-100, 42℃ 漂洗 10 min×2 次。0.1× s, 0.4% Triton-X-100, 42 ℃ 漂洗 10 min×2 次。bufferⅠ (mol/L)(0.15 NaCl, 0.1 马来酸)漂洗 10×2 次 min。bufferⅡ (bufferⅠ 配制,含 10%的阻断剂),封阻, 30 min。加 Dig-AP(bufferⅡ配制, 1∶1 000), 37 ℃, 2~3 h。bufferⅠ,漂洗 10 min×次。bufferⅢ (mol/L) (0.1 Tris-HCl pH9.5, 0.1 NaCl, 0.05 MgCl): 平衡, 10 min。NBT-BCIP 避光显色,(bufferⅢ配制, 1∶100), 2~4 h。1× TE: 中

(下转 1313 页)

基金项目: 重庆市应用基础研究资助项目(1999)
Supported by the Research Project Foundation for Basic Research and Application of Chongqing (1999)
作者简介: 陈 剑(1978-),男,四川省仁寿县人,技师,主要从事耳鼻咽喉头颈外科方面的研究。电话: (023)68757630
收稿日期: 2002-02-23; 修回日期: 2003-09-28

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