

• 实验研究 •

DWI 评价无水乙醇注射治疗兔软组织 VX2 肿瘤疗效

兰为顺, 胡道予, 李震, 李维, 王梓, 胡杉, 胡遥, 朴明哲

【摘要】 目的:采用磁共振扩散加权成像(DWI)评价经皮穿刺无水乙醇注射(PEI)治疗兔软组织 VX2 肿瘤的疗效。

方法:选取 15 只健康新西兰大白兔作为实验对象,在其右侧大腿内侧注射 VX2 肿瘤组织悬浮液约 0.1 ml,制备成荷瘤兔,于肿瘤组织接种后第 14 天行常规磁共振扫描及多 b 值(300、500、700、900 s/mm²)DWI 扫描,扫描后第 2 天在磁共振导引及监视下行无水乙醇注射治疗。分别于 PEI 治疗后第 1、7、10 天行磁共振扫描。观察 PEI 治疗前、后肿瘤信号特点的变化,采用配对 *t* 检验比较肿瘤实质、正常肌肉组织、坏死组织的 ADC 值以及治疗前后肿瘤实质的 ADC 值。**结果:**PEI 治疗前肿瘤组织 T₁WI 呈等信号或稍低信号,T₂WI 呈明显高信号,DWI 上呈高信号。相同 b 值下 ADC(肿瘤实质)<ADC(正常肌肉组织)<ADC(坏死组织)(*P*<0.05);而随着 b 值的增大,各组织的 ADC 值减小。PEI 治疗后肿瘤组织 DWI 仍呈高信号,但较 PEI 治疗前低。PEI 治疗后第 1、7、10 天肿瘤实质的 ADC 值均较术前增高(*P* 值均<0.05),且治疗后 10 天的 ADC 值较治疗后 1 天的 ADC 值高(*P*<0.05)。**结论:**无水乙醇注射治疗兔软组织 VX2 肿瘤具有一定的疗效,治疗后早期肿瘤实质的 ADC 值即出现变化。DWI 可以用来评价无水乙醇注射治疗兔软组织 VX2 肿瘤的疗效。

【关键词】 磁共振成像; 扩散加权成像; 表观扩散系数; 软组织肿瘤; 经皮穿刺无水乙醇注射**【中图分类号】** R445.2; R738.6 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2013)08-0825-04

Diffusion weighted imaging for evaluation of therapeutic efficiency of percutaneous ethanol injection of rabbit soft tissue VX2 tumor LAN Wei-shun, HU Dao-yu, LI Zhen, et al. Department of Radiology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, P. R. China

【Abstract】 Objective: To evaluate the effect of percutaneous ethanol injection (PEI) of rabbit soft tissue VX2 tumor with diffusion weighted MR imaging (DWI). **Methods:** Fifteen healthy New Zealand white rabbits were involved in this study. 0.1ml of the living tumor cell suspensions was injected into the medial posterior limb proximally. All the rabbits underwent conventional MRI and multi-b-value (300, 500, 700, 900s/mm²) DWI sequence on day 14 after tumor cell inoculation. PEI was performed on day 15. Conventional MRI and DWI were performed on 1st, 7th, 10th day after PEI. The ADC values pre- and post-PEI using paired *t*-test. **Results:** Rabbit soft tissue VX2 tumor exhibited hypointense on T₁WI and hyperintense on T₂WI and DWI before PEI respectively. The mean ADC values in tumor, necrotic tissue and muscle were significantly different (*P*<0.05). The mean ADC value of the tumors was smaller than that of the necrosis tissues. The mean ADC value before PEI was significantly lower than the ADC values 1st, 7th and 10th day after PEI (*P*<0.05). The mean ADC value 1st day after PEI was significantly lower than mean ADC 10th day after PEI (*P*<0.05). **Conclusion:** Percutaneous ethanol injection is effective for rabbit soft tissue VX2 tumor. DWI may play an important role in the evaluation of effect of percutaneous ethanol injection of soft tissue tumor.

【Key words】 Magnetic resonance imaging; Diffusion weighted imaging; Apparent diffusion coefficient; Soft tissue neoplasms; Percutaneous ethanol injection

VX2 肿瘤细胞株是起源于 Shope 病毒诱发的兔乳头状瘤衍生的鳞状细胞癌,经过 72 次移植传代后正式建立株,命名为 VX2^[1]。它是一种可移植的肿瘤细胞株,可接种到兔的肾脏、肝脏等部位,建立原位肿瘤动物模型。兔 VX2 癌株原位种植建立原位肿瘤动物模型,具有模型制备简便、易操作、创伤小、成瘤率高等优点,是目前较为理想的肿瘤模型,应用于肿瘤影像学、肿瘤治疗学、药物代谢等各方面研究。目前关于兔

VX2 肿瘤模型研究的报道多集中于肝脏和肾脏,软组织的相对较少。

经皮穿刺无水乙醇注射(percutaneous ethanol injection, PEI)安全有效、操作简便、成本低廉,被人们广泛接受并应用^[2]。目前,对兔 VX2 肿瘤 PEI 治疗研究多集中于肝脏和肾脏,用功能性 MRI 评价兔软组织 VX2 肿瘤 PEI 疗效的报道不多见。本研究旨在用功能性 MRI 评价兔软组织 VX2 肿瘤 PEI 的疗效,旨在为临床上软组织肿瘤的诊断和治疗提供基础。

材料与方法

1. 材料与实验设备

作者单位: 430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院放射科(兰为顺、胡道予、李震、李维、王梓、胡杉、胡遥);武汉,湖北省妇幼保健院放射科(兰为顺);朝鲜平壤区医科大学附属医院(朴明哲)

作者简介: 兰为顺(1973—),男,湖北仙桃人,博士研究生,副主任医师,主要从事儿童影像学诊断和妇产科介入放射学工作。

通讯作者: 胡道予, E-mail: dyhu@tjh.tjmu.edu.cn

健康新西兰大白兔 15 只(华中科技大学同济医学院实验动物中心提供,雌雄不限),体重 2.5~3.0 公斤。采用 GE Signa HDxt 1.5T MR 扫描仪,麻醉药采用 10% 水合氯醛注射液,无水乙醇(广州化学试剂厂出品,乙醇浓度 $\geq 99.7\%$),19G 带测孔的磁共振相容性穿刺针等。

2. 实验方法及 MR 检查方法

15 只大白兔右侧大腿内侧肌肉内注射 VX2 肿瘤悬浮液约 0.1 ml(华中科技大学同济医学院附属协和医院放射科提供),制备成荷瘤兔,送入动物饲养中心饲养 2 周,期间观察肿瘤生长情况。饲养 2 周后行 MRI 引导及监视下的 PEI 介入治疗:采用 FRFSE T_2 WI 序列监视,在横轴面扫描图像中选择穿刺的最佳层面和穿刺点,于选好的穿刺点放置一含油脂的小胶囊,再次 MR 扫描核实,用光标测出皮肤进针点与病灶中央的距离,进针深度和角度,用 MR 扫描控制穿刺针的方向和深度,当证实穿刺针针尖插入病灶中心即可行 PEI 治疗(图 1)。手推注射器缓慢注入无水乙醇,15 只兔按肿瘤直径注入无水乙醇剂量 1 ml/cm。注射完后再行 FRFSE T_2 WI 扫描及 DWI 扫描(b 值取 500 mm^2/s)。

于肿瘤组织接种后第 14 天以及 PEI 介入治疗后第 1、7、10 天行横轴面常规 MRI、多个 b 值(300、500、700、900 s/mm^2)DWI 及常规增强扫描。扫描序列及参数:FSE T_1 WI(TR 640 ms,TE 11.5 ms,层厚 3.0 mm,间隔 1.0 mm,视野 140 mm $\times$ 140 mm,矩阵 320 $\times$ 256);FRFSE T_2 WI(TR 3220 ms,TE 74.7 ms,层厚 3.0 mm,间隔 1.0 mm,矩阵 320 $\times$ 256,视野 140 mm $\times$ 140 mm,矩阵 320 $\times$ 256,激励次数 4,层厚 3 mm,间隔 1 mm);DWI SE/EPI(TR 5000 ms,TE 68.4 ms,层厚 3.0 mm,间隔 1.0 mm,矩阵 128 $\times$ 128,视野 140 mm $\times$ 140 mm, b 值取 300、500、700、900 s/mm^2); T_1 WI FSPGR 增强扫描(扫描参数同 T_1 WI)。增强扫描对比剂为钆双胺,以 0.05 mmol/kg 剂量经耳缘静脉团注。

3. ADC 值测量方法

将 ROI 置于 DWI 图像上的兴趣区(ROI),软件自动测量该部位的信号强度,并将该 ROI 自动复制到 ADC 图的相应位置,计算 ADC 值。选择包涵肿瘤的全部层面,在每一层面勾画出肿瘤轮廓,得到该层面肿瘤 ADC 值,将全部层面获得的 ADC 值相加取平均值作为整个肿瘤的 ADC 值。选择肿瘤中心层面,取圆形 ROI(不少于 40 个像素),分别置于肿瘤实质区域、坏死区域及瘤周正常肌肉组织区域,各测量 3 次,取平均值分别作为肿瘤实质、坏死组织及瘤周正常肌肉组织的 ADC 值。

4. 观察内容及统计学分析

观察内容:①肿瘤成瘤率及肿瘤直径的变化;②肿瘤常规 MR 成像特点;③术前不同 b 值和相同 b 值之间肿瘤实质、坏死组织、正常肌肉组织的 ADC 值的变化。④术后与术前肿瘤组织 ADC 值的变化。

将所有图像传至 ADW 4.3 工作站进行后处理,利用 SPSS 17.0 软件包进行统计学分析。ADC 值的比较采用配对 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. 肿瘤种植成功率及 MRI 表现

15 只兔右大腿内侧肌肉内种植 VX2 肿瘤均成功,14 天 MRI 扫描均可见肿瘤生长,肿瘤直径 3~4 cm。肿瘤中心可见不同程度的坏死,肿瘤边缘可见不同程度的水肿。肿瘤组织在 T_1 WI 上表现为等信号或稍低信号,中心可见坏死的低信号区。 T_2 WI 上肿瘤组织为高信号,中心可见高信号坏死区,边缘可见高信号的水肿区(图 1)。增强扫描肿瘤边缘明显强化,中心可见非强化区。肿瘤实质在 DWI 上表现为高信号(图 2)。穿刺针针尖插入病灶中心即行 PEI 治疗(图 3),PEI 治疗中 T_2 WI 可见肿瘤实质信号较术前降低,表明无水乙醇的弥散(图 4)。术后第 1、7、10 天 T_2 WI 扫描肿瘤实质的信号明显逐渐升高,第 10 天最为明显(图 5),表明无水乙醇所致的肿瘤组织的坏死范围逐渐增大。PEI 治疗后 DWI 显示肿瘤实质仍成相对高信号,但与治疗前 DWI 图像相比,肿瘤实质的信号降低,治疗后第 10 天最为明显(图 6)。术后增强扫描肿瘤实质的强化程度减低,中心非强化区域增大。肿瘤直径术前、术后对比变化不明显。

2. 肿瘤实质、坏死组织、正常肌肉组织 ADC 值的比较

在 b 值为 300、500、700、900 s/mm^2 的 DWI 图像横轴面最大层面上,在肿瘤实质、坏死区及周围肌肉组织分别选取 3 个兴趣区(ROI),面积为 14 mm^2 ,计算平均值。统计采用 SPSS 分析软件,对同一 b 值时的 3 个不同部位的 ADC 值进行统计分析,两组间采用配对 t 检验。在相同 b 值($b=300、500、700、900 \text{ s}/\text{mm}^2$)下,肿瘤实质的 ADC 值 $<$ 正常肌肉组织的 ADC 值 $<$ 坏死组织的 ADC 值,三者之间两两比较差异均有统计学意义(P 值分别为 0.03 和 0.04)。而在不同 b 值下,随着 b 值的升高,肿瘤实质、正常肌肉组织、坏死组织的 ADC 值均逐渐降低,即 $\text{ADC}(b=300 \text{ s}/\text{mm}^2) > \text{ADC}(b=500 \text{ s}/\text{mm}^2) > \text{ADC}(b=700 \text{ s}/\text{mm}^2) > \text{ADC}(b=900 \text{ s}/\text{mm}^2)$,差异均有统计学意义(P 值分别为 0.042,0.035,0.043,表 1)。

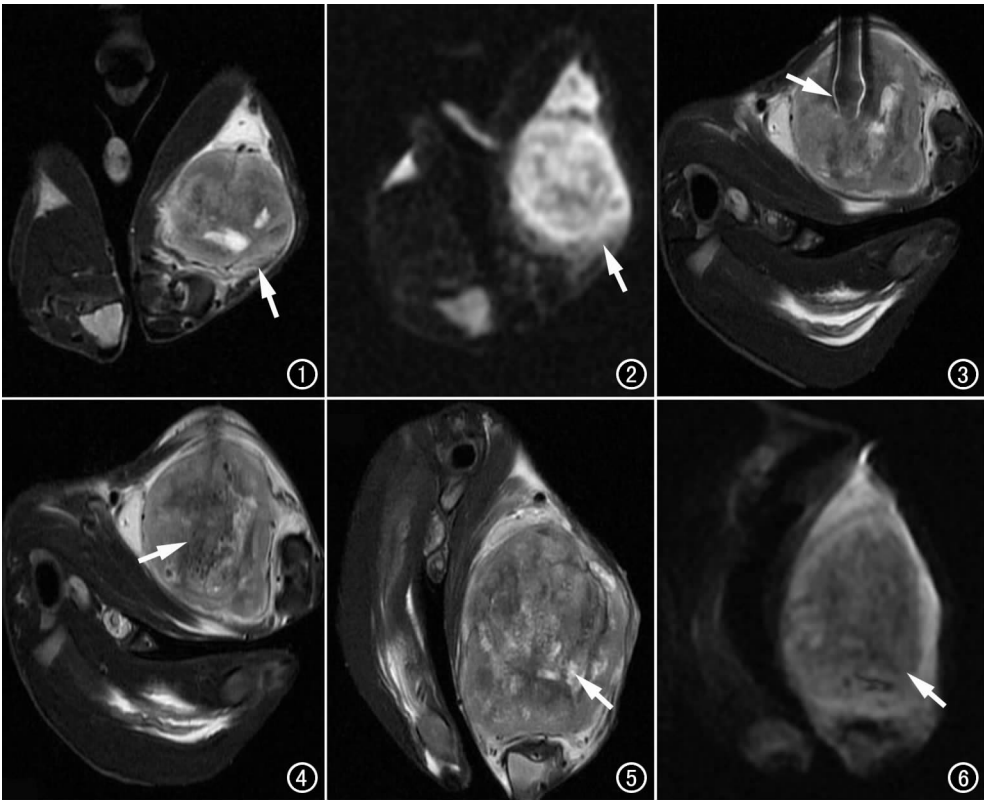


图 1 PEI 治疗前 FRFSE T₂WI 横轴面图像示肿瘤呈明显高信号(箭),肿瘤内更高信号为坏死组织。图 2 PEI 治疗前 DWI (b=500s/mm²) 示肿瘤呈明显高信号(箭)。图 3 MR FRFSE T₂WI 序列导向下 PEI 治疗,穿刺针尖位于肿瘤病灶中心(箭)。图 4 PEI 治疗中 MR FRFSE T₂WI 序列监测无水乙醇的分布,显示无水乙醇(相对低信号)较均匀地分布到肿瘤病灶内(箭)。图 5 PEI 治疗后第 10 天 FRFSE T₂WI 示肿瘤呈明显混杂信号(箭),较术前信号增高,表明肿瘤已大部分坏死。图 6 PEI 治疗后第 10 天 DWI (b=500s/mm²) 示肿瘤呈相对高信号(箭),但明显低于术前肿瘤信号。

表 1 术前不同 b 值肿瘤实质、正常肌肉组织、坏死组织的 ADC 值

b 值 (s/mm ²)	ADC 值(×10 ⁻³ mm ² /s)		
	肿瘤实质	肌肉组织	坏死组织
300	1.25±0.104	1.97±0.181	2.82±0.203
500	1.08±0.131	1.74±0.163	2.57±0.143
700	0.94±0.102	1.45±0.127	2.36±0.132
900	0.83±0.151	1.21±0.117	2.14±0.112

PEI 治疗后第 1、7、10 天肿瘤实质的 ADC 值与术前比较均升高,三者与 PEI 治疗前比较差异均有统计学意义(P 值分别为 0.023,0.008,0.001),而 PEI 治疗后第 1 天肿瘤实质的 ADC 值<PEI 后第 10 天的 ADC 值,差异有统计学意义(P=0.021),而 PEI 治疗后第 1 天与第 7 天、第 7 天与第 10 天的 ADC 值比较,差异均无统计学意义(P 值分别为 0.35,1.0,表 2)。

讨 论

1. PEI 治疗肿瘤的机制及 MRI 评价疗效分析

PEI 因其具有操作简单、价廉、不良反应轻、并发症少等优点,成为恶性肿瘤非手术疗法中广泛应用的一种治疗方法。PEI 治疗肿瘤的机制包括:①直接使

肿瘤细胞凝固、沉淀和脱水,胞质内的原生质凝固变性坏死,从而破坏瘤细胞;②收敛作用,使瘤组织硬化;③破坏肿瘤细胞产生的大分子生物活性物质,如肿瘤血管生长因子等;④破坏肿瘤血管和促进血栓形成,无水乙醇进入局部小血管内,使血管内皮细胞破坏,形成血栓,中断血流,促使肿瘤组织坏死,同时引起白细胞、淋巴细胞浸润和成纤维细胞增生,继而发生纤维化,最后达到灭活肿瘤组织的目的^[3]。基于以上 PEI 治疗肿瘤的机制,本研究利用无水乙醇对兔软组织的 VX2 肿瘤进行消融治疗,并利用常规 MRI 扫描及 DWI 扫描来评价治疗的效果,结果显示治疗早期(术后第 1 天),肿瘤实质的 ADC 值就出现变化,PEI 治疗后的 ADC 值较治疗前增高。术后第 7、10 天,ADC 值的增加更明显,肿瘤坏死范围进一步增大。以上结果说明以下两个问题:①常规 MRI 扫描及 DWI 扫描作为评价肿瘤治疗效果的影像学检查方法是非常敏感的,特别是 DWI 扫描,能够在肿瘤治疗后的早期通过 ADC 值的变化来评价肿瘤治疗的效果,这是其它影像学检查方法所不能比拟的。②PEI 治疗恶性软组织肿瘤有一定

表 2 PEI 治疗前、后不同 b 值下肿瘤实质的 ADC 值比较

时间	肿瘤实质的 ADC 值(×10 ⁻³ mm ² /s)			
	b=300s/m ²	b=500s/m ²	b=700s/m ²	b=900s/m ²
治疗前	1.25±0.104	1.08±0.131	0.94±0.102	0.83±0.15
治疗后第 1 天	1.43±0.166	1.21±0.177	1.09±0.122	0.94±0.113
治疗后第 7 天	1.63±0.147	1.42±0.125	1.30±0.149	1.15±0.208
治疗后第 10 天	1.71±0.156	1.54±0.134	1.43±0.129	1.27±0.211

的疗效,为临床中肿瘤的治疗提供了实验基础。

2. MRI 导引及监视下介入治疗的优势

PEI 治疗的导引手段一般为超声或 CT,优点是成本低、实时且方便实用。但超声监控无水乙醇扩散不尽如人意。CT 平扫则难以显示肿瘤的范围,不能显示乙醇扩散,在乙醇中加入对比剂方能显示注射后的扩散范围,因此评估乙醇扩散范围的精确度受到限制。并且 CT 对患者和操作人员具有一定的辐射损害。本研究采用 MR 导引及监视下行 PEI 治疗,是因为 MRI 具有下列优势:①MR 高软组织分辨力可以发现 CT 平扫或超声无法或难以发现的病灶,多参数、多序列成像能更好地分析病变的性质,能提供更多的病变的信息;②可以清楚地显示和分辨与病灶邻近的重要的神经和血管,了解病变与邻近组织的关系;③对操作者和患者无 X 线辐射损伤;④可以任意平面成像及大视野成像;⑤在引导肿瘤消融治疗时能够监控治疗组织的药物扩散,灌注情况和病灶温度变化等功能性改变,能准确及时地判断治疗效果。本研究的实验对象是兔大腿软组织肿瘤,MR 在导引和监测内脏(如肝脏、肾脏)肿瘤的消融治疗中的优势更明显。李振伟等^[4]利用 MR 导引和监测行兔肝脏 VX2 肿瘤也取得了良好的效果。另外,本研究所用的穿刺针带有两个斜行向下测孔,有利于 PEI 术中无水乙醇在病灶中均匀的弥散^[5],提高 PEI 对肿瘤的消融效果。

3. DWI 在评价肿瘤消融治疗效果中的原理及作用

DWI 是磁共振的特殊成像序列,是一种观察活体组织内水分子的微观运动的成像方法,是目前唯一能够无创探测活体组织内水分子自由扩散运动的影像学技术,反映的是组织内水分子无序扩散运动快慢即布朗运动^[6],间接反映了组织微环境的差别。组织结构对自由水扩散限制越明显,则 DWI 上该组织信号越高。

DWI 反映的是微观的分子运动,属于功能成像,通过对水分子扩散运动的检测,提供组织空间组成和病理生理状态下各组织成分之间水分子运动状态的信息。DWI 的图像质量随着 b 值的增加扩散权重增加。b 值较低时, T_2 透过效应及血流灌注影响明显,背景噪声低,信噪比较高,但是肿瘤组织与周围正常组织的对比度差;b 值较高时,透过效应不明显,受血流灌注影响比较小,同时图像信噪比明显下降,背景噪声明显增加,但是水分子扩散速度的差异显示较好,肿瘤组织与周围正常组织的对比度增加。通过本实验,笔者认为 b 值取 500,700 s/mm^2 时图像质量比较好,能够显示病灶细节,既能突出扩散权重又能保持较高的图

像信噪比。扩散速度较快的组织具有较高的 ADC 值,在 DWI 图像上表现为较低信号,相反,扩散速度较慢的组织 ADC 值相对较低,在 DWI 图像上呈相对高信号。被检测组织及其内部分子的空间结构、分布决定了 ADC 值的大小,瘤内坏死区细胞膜皱褶允许水分子局部扩散加强,ADC 值较高,而病灶周边活力瘤组织紧密的细胞膜连接限制了水分子的扩散,ADC 值下降,传统的影像学检查手段难以显示上述变化。本研究结果显示,在相同 b 值($b = 300, 500, 700, 900 s/mm^2$)下,肿瘤实质的 ADC 值 < 正常肌肉组织的 ADC 值 < 坏死组织的 ADC 值,且三者之间相邻两两比较差异均有统计学意义,这与 van Rijswijk 等^[7]研究结果类似。主要原因在于肌肉组织水分子含量丰富,且细胞密度低于肿瘤组织,所以水分子扩散大于肿瘤组织,相应的 ADC 值就大于肿瘤组织;而坏死组织,水分子失去细胞膜的限制,扩散运动更明显。相应的 ADC 值就更大。另外,PEI 治疗后第 1、7、10 天,肿瘤组织的 ADC 值与治疗前相比要高,差异均有统计学意义;且术后第 10 天肿瘤组织的 ADC 值与术后第 1 天相比要高,差异有统计学意义。PEI 治疗后肿瘤实质的 ADC 值变化远远早于其形态学变化,主要原因在于 PEI 治疗后肿瘤组织出现凝固性坏死,水分子失去细胞膜的限制,因此 ADC 值相应的增大。而随着 PEI 治疗后时间的延长,肿瘤组织坏死更明显,其 ADC 值更高。这说明 DWI 可以用来评价肿瘤 PEI 治疗早期的疗效,并且非常敏感。

参考文献:

- [1] 刘险峰,任乐荣,苏广彦,等.兔 VX2 肿瘤细胞系的建立及其生物学特征观察[J].中华病理学杂志,2005,34(10):661-663.
- [2] Blum HE, Spangenberg HC. Hepatocellular carcinoma: an update [J]. Arch Iran Med, 2007, 10(3): 361-371.
- [3] Livraghi T, Bolondi L, Lazzaroni S, et al. Percutaneous ethanol injection in the treatment of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a study on 207 patients [J]. Cancer, 1992, 69(4): 925-929.
- [4] 李振伟,胡道予,夏黎明,等. T_2 WI 在监控 MR 介导无水乙醇消融 VX2 瘤兔的实验研究 [J]. 临床放射学杂志, 2007, 26(10): 1042-1045.
- [5] 胡道予,刘于宝,李震,等. 磁共振带侧孔介入性穿刺针的实验研究 [J]. 放射学实践, 2004, 19(8): 583-586.
- [6] García Santos JM, Ordóñez C, Torres del Río S. ADC measurements at low and high structure with b values: insight into normal brain clinical DWI [J]. Magn Reson Imaging, 2008, 26(1): 35-44.
- [7] van Rijswijk CS, Kunz P, Hogendoorn PC, et al. Diffusion-weighted MRI in the characterization of soft-tissue tumors [J]. J Magn Reson Imaging, 2002, 15(3): 302-307.

(收稿日期:2013-01-01 修回日期:2013-03-25)