

论 著

基于MR Q-Dixon序列和QCT测量小鼠肝脏脂肪含量的可行性研究*

蒋海波¹ 陈其春¹ 倪良平¹
张 岱¹ 胡 锐³ 薛 琦³
张 野³ 王龙胜^{1,2}

1.安徽医科大学第二附属医院放射科

(安徽 合肥 230601)

2.安徽医科大学医学影像研究中心

(安徽 合肥 230000)

3.安徽医科大学第二附属医院麻醉与围

术期医学科 (安徽 合肥 230601)

【摘要】目的 探讨定量CT(QCT, quantitative CT)与MR Q-Dixon序列测量小鼠肝脏脂肪含量的可行性研究。**方法** 本研究采用高脂饮食诱导的肥胖(Diet-induced obesity, DIO)的小鼠动物模型,6周龄C57BL/6小鼠30只,随机分成三组,每组10只,第一组给予普通饲料饲养40周,第二组给予高脂饮食20周,第三组给予高脂饮食40周,2名医师利用QCT和MR Q-Dixon序列对小鼠肝脏脂肪含量进行测量,对QCT测得的肝脏脂肪含量(Fat%Q)和MR Q-Dixon序列测得的肝脏脂肪含量(Fat%M)进行一致性检验和相关性分析。**结果** 本实验QCT肝脏脂肪含量测量值为17.6(6.00,28.95)%,MR Q-Dixon序列肝脏脂肪含量测量值为19.6(5.70,29.55)%。两种方法评估脂肪肝严重程度比较,无显著差异($\chi^2=4.000, P=0.216$),且一致性较高(Kappa=0.816, $P<0.001$);两种方法的测量结果呈正相关($r=0.978, P<0.01$)。**结论** 在定量测量小鼠肝脏脂肪含量方面,定量CT与MR Q-Dixon序列具有较好的一致性和相关性,即可在体定量研究小鼠脂肪肝动物实验。

【关键词】 脂肪肝; 定量CT; Q-Dixon; 小鼠

【中图分类号】 R445.3

【文献标识码】 A

【基金项目】 中国红十字基金2022年医学赋能-领航菁英科研项目专项(XM_LHJY2022_05_07);
安徽医科大学校基金资助项目
(2022xkj043)

DOI:10.3969/j.issn.1672-5131.2024.08.029

Feasibility of Measuring Mouse Liver Fat Content Based on MR Q-Dixon Sequence and QCT Sexual Studies*

JIANG Hai-bo¹, CHEN Qi-chun¹, NI Liang-ping¹, ZHANG Dai¹, HU Rui³, XUE Qi³, ZHANG Ye³,
WANG Long-sheng^{1,2}.

1.Department of Radiology, The Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, Anhui Province, China

2.Medical Imaging Research Center, Anhui Medical University, Hefei 230000, Anhui Province, China

3.Department of Anesthesia and Perioperative Medicine, The Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, Anhui Province, China

ABSTRACT

Objective To explore the feasibility study of quantitative CT (QCT) and MR Q-Dixon sequence for measuring liver fat content in mice. **Methods** In this study, 30 6-week-old C57BL/6 mice were randomly divided into three groups with 10 mice in each group. The first group was fed ordinary Diet for 40 weeks, the second group was fed high-fat diet for 20 weeks, and the third group was fed high-fat diet for 40 weeks. Two physicians used QCT and MR Q-dixon sequences to measure the liver Fat content of mice, and conducted consistency test and correlation analysis for the liver Fat content measured by QCT (Fat%Q) and MR Q-dixon (Fat%M). **Results** The liver fat content measured by QCT and MR Q-Dixon sequences was 17.6 (6.00, 28.95) % and 19.6 (5.70, 29.55) % respectively. There was no significant difference between the two methods in evaluating the severity of fatty liver ($\chi^2=4.000, P=0.216$), and the consistency was high (Kappa=0.816, $P<0.001$). The results of the two methods were positively correlated ($r=0.978, P<0.01$). **Conclusion** In terms of quantitative measurement of liver fat content in mice, quantitative CT has a good agreement and correlation with MR Q-dixon sequence, then it can quantitatively study mouse fatty liver in vivo animal experiments.

Keywords: Fatty Liver Disease; Quantitative Computed Tomography; Q-Dixon; Mice

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是除过度饮酒、肝炎等原因所引起的以巨大泡状的肝细胞脂肪变性为主要特征的临床病理综合征,其后期可发展为肝硬化和肝细胞癌^[1-2]。早期诊断并及时干预可逆转该疾病^[3],肝活检是诊断NAFLD的“金标准”,但具有高成本、创伤性、采样变异性等缺点,而不适用于筛查^[2,4]。因此,通过无创影像学检查方法早期诊断和量化肝脂肪变性具有重要临床意义。超声以无创和低成本成为最常用的成像技术,但其无法准确检测低于20%的肝脂肪变性及病态肥胖个体的肝脂肪变性^[5],氢质子磁共振波谱成像(proton magnetic resonance spectroscopy, ¹H-MRS)是准确定量评估肝脂肪变性的无创技术^[6],但价格昂贵、费时、禁忌症多。肝脾衰减差异(CTL-S)、肝脾衰减比(CTL/S)等指标可用于平扫CT肝脂肪变性的评估^[7],但脾脏CT值因多种影响因素在不同个体间有差异,使得CT评估肝脂肪变性在不同受试者之间存在差异。定量CT(quantitative CT, QCT)最初应用于骨密度的测量,近年来对定量评估脂肪肝成为可能,相比于磁共振简便且成本低。本研究通过对定量CT和MR Q-Dixon序列在评价小鼠肝脏脂肪含量的实验研究,以评估定量CT测量小动物肝脏脂肪含量的价值,以期能否作为测量小动物肝脏脂肪含量的定量工具之一。

1 资料和方法

1.1 实验动物模型的制作 本研究采用高脂饮食诱导的肥胖(diet-induced obesity, DIO)的小鼠动物模型,6周龄C57BL/6小鼠30只,随机分成三组,每组10只,第一组给予普通饲料饲养40周,第二组给予高脂饮食20周,第三组给予高脂饮食40周。

1.2 检查方法

1.2.1 检查前准备 动物禁食12h,以1.0%戊巴比妥钠(0.1mL/25g)注射小鼠腹腔,麻醉生效后立即分别CT、MRI检查,检查完成待小鼠苏醒后送回临床试验中心。

1.2.2 QCT检查 所有小鼠均采用Siemens Healthineers 32排64层螺旋CT扫描仪,小鼠成功麻醉后俯卧与检查床上,扫描范围为小鼠全身。扫描参数:层厚1.0mm,层间隔1.0mm,管电压120kV,管电流88mA,像素0.156mm,扫描时间2.5s。

1.2.3 MRI检查 在QCT扫描的当天,所有小鼠均进行MR Q-Dixon扫描,采用3.0T MAGETOM Vida MR扫描仪,内置16通道老鼠试验线圈,采集了VIBE_Q-DIXON序列,扫描参数:翻转角4°,TR 8.97ms,TE 1.27ms,带宽1260kHz,层厚1.0mm,间距0.2mm,重复扫描次数10,扫描时间57.4s。

1.2.4 图像分析 在MRI后处理工作站,有1名具有2年以上工作经验及1名具有5年以上工作经验的影像科医师选择vibe_Q-dixon_脂肪序列图,在肝脏上、中、下各取一个层面,ROI分别放置在肝右叶、肝中叶、肝左叶,大小约2~5mm²,计算3个ROI脂肪含量的平均值为小鼠肝脏脂肪百分比(Fat%M)值。MRI评估脂肪肝严重程度^[8]: Fat%M 小于

【第一作者】蒋海波,男,住院医师,主要研究方向:肌骨系统影像定量研究。E-mail: jianghaibo2022@163.com

【通讯作者】王龙胜,男,主任医师,主要研究方向:儿科及神经影像诊断。E-mail: long9y8r@163.com

5.5%为“正常”，5.5%~16.2%为“轻度”，16.3%~21.6%为“中度”，大于21.7%为“重度”。CT原始图像传至QCT工作站，使用自动校正的QCT软件进行分析。2名医师尽量在相同层面选择大小相当的ROI，同理计算3个ROI脂肪含量的平均值为小鼠肝脏脂肪百分比(Fat%Q)值。当肝脏脂肪图测量Fat%Q值显示为负值时，默认Fat%Q为0。QCT评估脂肪肝严重程度^[9]：Fat%Q小于5%为“正常”，5%~14%为“轻度”，14%~28%为“中度”，大于28%为“重度”。CT和MRI操作员和图像数据测量人员对小鼠的饲养情况不知情。

1.3 统计分析 采用SPSS 27.0软件进行统计学分析，正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示，不符合正态分布的计量资料以M(P25, P75)表示，Q-Dixon序列与QCT评估脂肪肝严重程度的比较采用McNemar检验，应用加权Kappa分析方法评价两种方法评估脂肪肝严重程度的一致性，使用Spearman相关系数探讨小鼠肝脏Fat%Q和Fat%M的相关性，Kappa系数的接受范围^[10]：Kappa值<0为一致性极差；0~0.20为一致性微弱；0.21~0.40为一致性弱；0.41~0.60为一致性中度；0.61~0.80为一致性高度；0.81~1.00为一致性最强，用组内相关系数(intraclass correlation coefficient, ICC)来评价测量者间一致性检验，ICC越接近1表示结果的一致性越好。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 正态性检验及测量者内一致性检验 Shapiro-Wilk检验结果显示，小鼠肝脏对应的Fat%Q和Fat%M测量值均不符合正态分布(Fat%Q: W=0.884, P<0.01; Fat%M: W=0.896, P<0.01)，QCT测量肝脏脂肪含量，医师1和医师2的Fat%Q的ICC值为0.986，MR Q-Dixon序列测量肝脏脂肪含量，医师1和医师2的Fat%M的ICC值为0.991。

2.2 影像检测结果 本实验QCT肝脏脂肪含量测量值为17.6(6.00,28.95)%，MR Q-Dixon序列肝脏脂肪含量测量值为19.6(5.70,29.55)%，根据MRI定义的脂肪肝分级标准，正常肝脏7例(23.33%)，脂肪肝23例(76.67%)，中-重度脂肪肝19例(56.67%)。两种方法评估脂肪肝严重程度比较，无显著差异($\chi^2=4.000$, P=0.216)，且一致性较高(Kappa=0.816, P<0.001)。见表1。QCT和MR Q-Dixon序列测量小鼠肝脏脂肪含量示意图(图1)。

表1 Q-Dixon与QCT测量值评估脂肪肝严重程度比较(只)

Q-Dixon	QCT分级				合计
	正常	轻度	中度	重度	
正常	6	1			7
轻度		5	1		6
中度			4		4
重度			2	11	13
合计	6	6	7	11	30

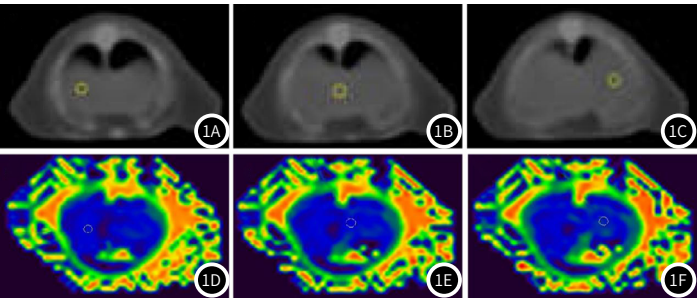


图1A-图1F QCT和MR Q-Dixon序列对14号小鼠的肝脏脂肪测量图。1A QCT测量图上肝右叶ROI的肝脏脂肪百分比为30.7%；1B QCT测量图上肝中叶ROI的肝脏脂肪百分比为20.1%；1C QCT测量图上肝左叶ROI的肝脏脂肪百分比为25.7%；1D MR Q-Dixon序列测量图上肝右叶ROI的肝脏脂肪百分比为29.8%；1E MR Q-Dixon序列测量图上肝中叶ROI的肝脏脂肪百分比为23.9%；1F MR Q-Dixon序列测量图上肝左叶ROI的肝脏脂肪百分比为27.7%。

2.3 相关性分析 Spearman 秩相关分析结果显示，小鼠肝脏脂肪测量值Fat%Q和Fat%M(r=0.978, P<0.01)呈正相关(图2)。

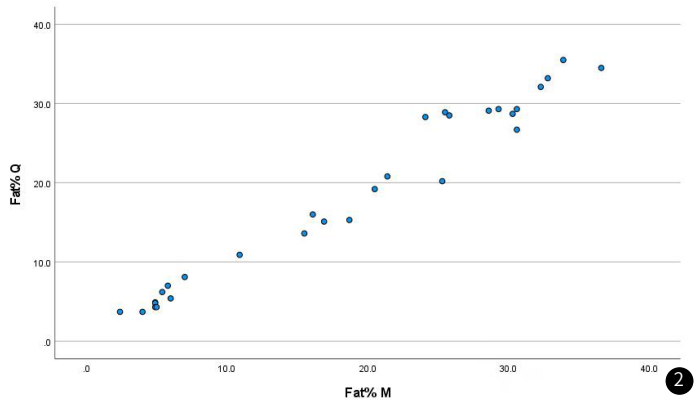


图2 Fat%Q和Fat%M的相关性散点图

3 讨 论

NAFLD通常被认为肝细胞有超过5%的脂肪变。近年来，随着肥胖和部分代谢综合征患病率的增加，全球NAFLD的发生也日渐增多，总体患病率为32.4%^[11]。因此人们越来越多地关注于肝脏脂肪含量早期诊断和治疗监测，这对肝脏脂肪含量或脂肪变性的评估提出了更高的要求。

本研究采用定量CT测量小鼠的脂肪含量，结果显示定量CT测量Fat%Q值在测量者间具有良好的一致性，可重复性好，这与既往报道相符^[12]。¹H-MRS是目前作为定量测量肝脏脂肪含量的无创技术金标准^[13]。有研究证明，MRI多回波Dixon序列与MRS在量化肝脏脂肪含量方面具有较好的相关性，且Dixon序列对全肝脂肪定量更具有优势^[14]。Dixon技术是基于化学位移原理进行成像，因水和脂肪中所含的质子具有不同的化学位移，通过设定不同的回波时间TE，当水和脂肪中的氢质子分别处于相反的相位状态时进行信号的采集，就可获得水脂分离图像，即Dixon两点法^[15]。Q-Dixon是基于Dixon技术发展而来，可以补偿对磁场B0不均匀敏感，避免了相位误差，增加了组织对比的效果^[16]。Bae J S等^[17]对120例肝切除手术患者的病理活检取得的肝脂肪含量为参考标准，用MRI、平扫CT和US技术来评估肝脂肪变性的严重程度，得出MR多回波Dixon序列所测得质子密度脂肪分数(proton density fat fraction, PDFF)最为准确。所以本研究以MRI-PDFF为参考标准来评估QCT能否准确定量测量小鼠肝脏脂肪含量。

本研究结果显示，定量CT与MR Q-Dixon评估小鼠脂肪肝严重程度方面比较，差异无统计学意义，且两种方法评估脂肪肝严重程度的一致性较好，即定量CT脂肪百分比能够反应肝脏脂肪浸润严重程度。Zhe Guo等^[9]以CSE-MRI所测量的PDFF为参考标准，证明了定量CT肝脂肪与使用化学位移编码MRI测量的质子密度脂肪分数具有良好的相关性和准确性，徐黎等^[18]通过对比MR mDixon-quant的肝脏测量结果，也证明了QCT能准确测量人体肝脏脂肪含量，这与本研究结果相符，但他们只研究了健康人群，所测得的肝脏脂肪百分比较小，不能代表患有中重度脂肪肝的人群，本研究采用对照试验研究，发现正常小鼠和患有不同程度脂肪肝小鼠的Fat%Q与Fat%M均存在较好的相关性(r=0.978, P<0.01)。

徐黎等^[19]以化学萃取法作为参考标准，证明了QCT能够准确定量测量离体动物肝脏脂肪含量。而本研究在小鼠存活麻醉状态下进行了CT和MRI扫描，结果显示Fat%Q和Fat%M有较好的相关性，即证明QCT能够定量测量在体动物肝脏脂肪含量。目前，仅少数研究提示定量CT在动物脂肪肝定量中的潜在价值，对于定量CT在定量测量人体脂肪成分方面，已有较多研究，包括胰腺^[20]、椎旁肌肉^[21]、腹部^[22]等部位，均证明定量CT能够准确量化脂肪含量，这与本探究在小鼠肝脏脂肪定量方面得到的结论相一致。另外，本研究发现，当肝脏CT值较高时(约65HU以上)，QCT脂肪测量结果会为负值，此时默认Fat%Q为0。可能的解释

为QCT测量肝脏脂肪含量的原理是将肝脏组织视为纯脂肪(含0%的脂肪)和纯脂肪(含100%的脂肪)两种成分的混合物,但国际原子能委员会(international commission on radiation units and measurements, ICRU)定义的除脂肪组织以外的组织内可能含有少量脂肪组织(5%~10%),而并非纯肝脏组织,当脂肪含量很少或0%时,就可能出现负值。徐黎等^[18]认为依据ICRU Report 46对脂肪组织和除脂肪组织以外的组织原子组成的定义,所计算的纯脂肪组织和纯肝脏组织的等效密度值不准确,就依据动物脂肪中脂肪酸链的原子组成重新计算了纯脂肪组织的等效密度值和对14位健康志愿者进行了双能量(80和120kV)QCT扫描,获得了纯肝脏组织的等效密度值。使用校正后的公式,解决了原公式计算所得的测量值为负值的问题。这为本研究结果提供了另一角度的理论依据。

综上所述,本研究利用QCT和MR Q-Dixon定量评估小鼠肝脏脂肪含量,具有良好的可靠性及可重复性,推广应用于小动物脂肪肝实验研究有一定可行性。

参考文献

- [1] Cataldo I, Sarcognato S, Sacchi D, et al. Pathology of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Pathologica*, 2021, 113(3): 194-202.
- [2] Chalasani N, Younossi Z, Lavine J E, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases[J]. *Hepatology*, 2018, 67(1): 328-357.
- [3] Shi Y W, Fan J G. Surveillance of the progression and assessment of treatment endpoints for nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2023, 29(Suppl): S228-S243.
- [4] Ooi G J, Clouston A, Johari Y, et al. Evaluation of the histological variability of core and wedge biopsies in nonalcoholic fatty liver disease in bariatric surgical patients[J]. *Surg Endosc*, 2021, 35(3): 1210-1218.
- [5] Zhou J H, Cai J J, She Z G, et al. Noninvasive evaluation of nonalcoholic fatty liver disease: current evidence and practice[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(11): 1307-1326.
- [6] Thiagarajan P, Bawden S J, Aithal G P. Metabolic imaging in non-alcoholic fatty liver disease: applications of magnetic resonance spectroscopy[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(4): 632.
- [7] Byun J, Lee S S, Sung Y S, et al. CT indices for the diagnosis of hepatic steatosis using non-enhanced CT images: development and validation of diagnostic cut-off values in a large cohort with pathological reference standard[J]. *Eur Radiol*, 2019, 29(8): 4427-4435.
- [8] Jang W, Song J S. Non-invasive imaging methods to evaluate non-alcoholic fatty liver disease with fat quantification: a review[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2023, 13(11): 1852.
- [9] Guo Z, Blake G M, Li K, et al. Liver fat content measurement with quantitative ct validated against mri proton density fat fraction: a prospective study of 400 healthy volunteers[J]. *Radiology*, 2020, 294(1): 89-97.
- [10] Langis J R, Koch G G. The measurement of observer agreement for categorical data[J]. *Biomet- rics*, 1977, 33(1): 159-174.
- [11] Riazi K, Azhari H, Charette J H, et al. The prevalence and incidence of nafld worldwide: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7(9): 851-861.
- [12] 屈敏, 张潇琳, 李永丽, 等. 应用定量CT测量肝脏脂肪含量的可重复性分析[J]. *中华健康管理学杂志*, 2020, 14(4): 318-321.
- [13] 中华医学会内分泌学分会. 非酒精性脂肪性肝病与相关代谢紊乱诊疗共识(第二版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(10): 2103-2108.
- [14] Yurdaisik I, Nurili F. Accuracy of multi-echo dixon sequence in quantification of hepatic steatosis[J]. *Cureus*, 2020, 12(2): e7103.
- [15] Dixon W T. Simple Proton Spectroscopic Imaging[J]. *Radiology*, 1984, 153(1): 189-194.
- [16] 连媛媛, 徐俊, 徐琦, 等. 磁共振Dixon技术鉴别脊柱血管瘤和脊柱常见恶性肿瘤的价值[J]. *临床医学进展*, 2022, 12(7): 6026-6032.
- [17] Bae J S, Lee D H, Suh K S, et al. Noninvasive assessment of hepatic steatosis using a pathologic reference standard: comparison of CT, MRI, and US-based techniques[J]. *Ultrasonography*, 2022, 41(2): 344-354.
- [18] 徐黎, MBlake G, 过哲, 等. 定量CT与MR mDixon-quant测量肝脏脂肪含量的相关性研究[J]. *放射学实践*, 2017, 32(5): 456-461.
- [19] 徐黎, 端木羊羊, 张勇, 等. 定量CT测量动物肝脏脂肪含量的实验研究[J]. *放射学实践*, 2017, 32(5): 466-470.
- [20] Yao W J, Guo Z, Wang L, et al. Pancreas fat quantification with quantitative CT: an MRI correlation analysis[J]. *Clin Radiol*, 2020, 75(5): 397.e1-397.e6.
- [21] 张雯双, 王玲, 郎昭, 等. 定量CT与化学位移编码磁共振成像测量椎旁肌肉脂肪含量的相关性研究[J]. *中华骨与关节外科杂志*, 2022, 15(9): 669-674.
- [22] Wu Y, Guo Z, Fu X, et al. The study protocol for the China Health Big Data (China Biobank) project[J]. *Quant Imaging Med Surg*, 2019, 9(6): 1095-1102.

(收稿日期: 2023-10-09)

(校对编辑: 翁佳鸿)