

论 著

磁共振T1 ρ 在大鼠肝纤维化模型中的应用价值*

1. 深圳市宝安区妇幼保健院影像中心(广东 深圳 518133)

2. 南方医科大学珠江医院影像中心(广东 广州 510282)

3. 飞利浦医疗保健事业部(中国 香港)

4. 南方医科大学珠江医院病理科(广东 广州 510282)

胡根文¹ 全显跃² Queenie Chan³
李余发⁴ 林 婷² 史 达²

【摘要】目的 研究磁共振T1 ρ 在肝纤维化进程中的变化特征, 探讨T1 ρ 在肝纤维化大鼠模型中的应用价值。方法 SD大鼠65只(对照组15只, 模型组50只), 模型组采用四氯化碳诱导不同时间以获取不同程度的肝纤维化。使用3.0T磁共振应用5个自旋锁定时间获得T1 ρ 值。扫描后行肝脏病理学检查, 将影像结果与病理结果行对照分析。结果 5只大鼠在造模过程中死亡, 60只大鼠纳入分析, 肝纤维化各期的T1 ρ 值在5组间整体比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。单因素方差分析, T1 ρ 值在F1期和F2期之间没有差异, 在其余各期之间均有统计学差异。相关性分析结果为T1 ρ 值与肝纤维化程度呈正相关($r = 0.863$, $P < 0.05$)。结论 磁共振T1 ρ 可以作为一种无创、敏感的新技术用于探测肝纤维化进程中病理及生理改变, 有助于早期检测和定量诊断肝纤维化。

【关键词】T1rho(T1 ρ); 磁共振; 肝纤维化

【中图分类号】R445.2

【文献标识码】A

【基金项目】广东省自然科学基金(2015A030313269)

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2016.05.027

通讯作者: 全显跃

Application of MRI with T1 Relaxation Time in the Rotating Frame in Liver Fibrosis in Rats*

HU Gen-wen, QUAN Xian-yue, Queenie Chan, et al., Department of Medical Image Center, Shenzhen Bao'an Maternal and Child Health Hospital, Shenzhen 518133, Guangdong Province, China

[Abstract] **Objective** To explore the value of T1 relaxation times in the rotating frame (T1 ρ or T1rho) for liver fibrosis. **Methods** Liver fibrosis model rats (N=50) were produced by carbon tetrachloride (CCl₄) injection. Five rats died during the experiment. Surviving model rats (N=45) and controls (N=15) were subjected to 3.0-T MRI and T1 ρ values were determined. Liver fibrosis stage (F0 - F4) was defined based on METAVIR scoring. **Results** T1 ρ values associated positively ($r = 0.863$, $P < 0.05$) with severity of fibrosis stage. **Conclusion** T1 ρ may be a new kind of noninvasive technique to show the changes of liver in pathology and histology during the progression of fibrosis.

[Key words] T1 Relaxation Time in the Rotating Frame(T1 ρ or T1rho); MRI; Liver Fibrosis

肝纤维化严重威胁人类健康, 早期治疗可阻遏或延缓其向肝硬化及肝癌的恶性发展^[1], 所以, 肝纤维化的早期诊断对临床有着非常重要的意义。但传统的影像学对肝纤维化的诊断缺乏准确性^[2]。T1 relaxation time in the rotating frame(T1 ρ or T1rho)是近年出现的一种最新磁共振成像技术, 但其在肝纤维化中的研究报道较少^[3]。本研究通过分析不同病理程度的大鼠肝纤维化模型磁共振T1 ρ 结果, 探讨T1 ρ 在肝纤维化中的应用价值。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性SD大鼠65只, 体质量(200 $\pm$ 20)g, 由南方医科大学实验动物中心提供, 动物许可证编号: SCXK(粤)2011-0015。在SPF级环境下分笼饲养, 动物饲养条件为室温18-20℃, 湿度60-70%, 明暗各12小时。实验期间所有实验动物均采标准大鼠饲料喂养、用饮用蒸馏水; 并定期记录大鼠情况。所有研究人员在动物实验期间严格遵守动物实验的各项伦理条例。

1.2 造模方法 大鼠随机(数字表法)分成模型组50只, 正常对照组15只。采用经典肝纤维化制备方法^[4]: 适应性喂养一周后, 模型组于大鼠后腿外侧(左右交替)皮下注射50%的四氯化碳橄榄油溶液0.3ml/100g, 每周2次, 整个实验过程中每周称体重2次(注射前)以调节药量。

适应性喂养一周后, 对照组15只大鼠在麻醉后行MRI及病理等检查。同时模型组开始注射药物制模, 于制模后第14天、21天、28天、35天、42天、49天、56天、63天、70天从模型组随机取出5只大鼠(造模过程中模型组共死亡5只大鼠)麻醉后行MRI及病理等检查。

1.3 MR检查方法 应用Philips 公司生产的Achieve 3.0T TX超导电性磁共振扫描仪, 以动物线圈为接收线圈。大鼠在3%戊巴比妥钠2ml/kg腹腔注射麻醉后, 头先进、俯卧位, 并在大鼠腹部垫海绵以限

制运动。采用三维定位法定位,扫描范围覆盖整个肝脏。常规序列使用快速自旋回波序列。

常规序列参数:
(A)轴位T1WI(TSE)[TR/TE=400/10ms;FOV=60×60mm;matrix=120×93;slice thickness=3mm];
(B)轴位T2WI(TSE)[TR/TE=1080/120ms;FOV=60×60mm;matrix=120×88;slice thickness=3mm]。

T1 ρ 采用TFE序列,扫描参数:TR 4.9 ms,TE 2.4 ms,FOV 60mm×60mm,翻转角40°,矩阵100×100,层厚2mm,自旋锁定频率500 Hz,自旋锁定时间分别为0、10、20、40、60 ms,每一自旋锁定时间采集5帧图像,像素0.54mm×0.54mm。

1.4 图像后处理 T1 ρ 成像原始数据导入工作站中的后处理软件,得到T1 ρ 参数图,将参数图导入Image J(NIH, Bethesda, MD, USA)软件,结合T1WI、T2WI扫描图像,在图像信噪比最高的层面肝实质内放置5个圆形ROI测值,取其平均值。ROI大小约3-4mm²,避开肝脏边缘及胆管、血管。

1.5 肝脏组织病理学检查 检查结束后使用过量麻醉法处死大鼠,取肝组织并固定、包埋、切片,行HE及Masson's三色染色。由两位病理医生在不知道磁共振结果的情况使用专用显微镜(Leica DM2000)评估分期并拍照。肝纤维化的分期按照METAVIR^[5]分级标准:S0期,无纤维化;S1期,汇管区及其周围纤维化和局限窦周纤维化;S2期,纤维间隔形成,但小叶结构大部仍保留;S3期,大量纤维间隔,分隔并破坏肝小叶,但尚无肝硬

化;S4期,早期肝硬化。我们将模型组S0及S1期归为肝纤维轻度组,S2及S3期归为中度组,S4(肝硬化)归为重度组。

1.6 统计方法 采用SPSS20.0软件,以 $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。计量数据用($\bar{x} \pm s$)表示,以肝病理结果为诊断金标准,肝纤维不同分组之间采用单因素方差分析法分析(one-way ANOVA),各参数结果与分组之间采用Spearman相关检验法分析。

2 结果

2.1 一般结果 对照组15只大鼠全部完成实验;模型组45只大鼠完成实验(造模过程中死亡5只)。经病理诊断模型组出现不同程度肝纤维化,分组结果为:正常组15只,轻度组11只,重度组22只,重度组12只,见图1-4。

2.2 肝纤维与T1 ρ 值分析 将各组的肝脏T1 ρ 值进行单因素方差分析,T1 ρ 值在四组间两两比较均有统计学差异($P < 0.05$),见表1。相关性分析结果为T1 ρ 值与肝纤维化程度呈正相关($r = 0.841$, $P < 0.05$),见表1,见图5-8。

3 讨论

肝纤维化的早期诊断对临床有着非常重要的意义。目前在临床工作中,肝纤维化的诊断方法包括肝穿刺病理学活检、血清学检查及影像学检查三类。肝穿刺病理学活检是诊断肝纤维化的“金标准”,但这“金标准”是一个有创性的检查,且存在一些不足,不便于重复检查、动态观察^[6];血清学检查因为不够敏感或因特异性低,被认为仍有较大局限性^[7];传统的影像学对肝纤维化的诊断也缺乏准确性^[2]。临床医生一直努力寻求准确、无创、敏感的诊断方法。

磁共振扩散加权成像的ADC值常被用于肝纤维化的研究及应用^[8-10]。然而传统的ADC值不仅受到组织内水分子的扩散的影响,也受微循环毛细血管灌注等其他因素的影响^[11]。同时肝内脂肪和铁质含量的改变,也影响着ADC值的改变。导致其对肝纤维化诊断的准确性存在争议^[12]。

T1 ρ 成像为无创性诊断肝纤维化提供了新思路。T1 ρ 弛豫主要反映水分子与周围大分子之间相互作用引起的弛豫^[13]。其原理为位于纵轴方向的磁化矢量翻转到横断面上,然后施加两次相位不同的自旋锁定(Spin Lock)脉冲在这个横向磁化矢量的方向。此时,磁化矢量的自旋被“锁定”了,这时的横向弛豫,类似于在

表1 T1 ρ 在肝纤维化各组的均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)

	n(60)	T1 ρ (ms)
分组		
正常组	15	41.051 $\pm$ 3.381
轻度组	11	48.444 $\pm$ 3.905
中度组	22	52.798 $\pm$ 5.669
重度组	12	59.446 $\pm$ 4.901
F		36.72
P value		<0.05

注:经LSD方差分析,组间两两比较均有统计学差异($P < 0.05$)。

主磁场B0中的T1弛豫,在自旋锁定期间,自旋被锁定的磁化矢量将按照T1 ρ 时间常量在旋转坐标系中进行自旋晶格弛豫^[14]。采用两次相位不同的自旋锁定脉冲的目的是为了重聚由于射频场不均匀造成的影响。组织中水分子经常与大分子结合在一起,两者之间经常发生能量或质子交换等相互作用。因为这种交换作用的存在会引发T1 ρ 弛豫,所以该弛豫可以反映自由水与结合水之间的相互作用。因其视角独特,被尝试用于活体探查病变早期的多种病理机制。如Alzheimer's 综合征^[15], 关节软骨^[16], 椎间盘^[17]等。

目前T1 ρ 在肝纤维化中的研究较少,有文献^[3, 18, 19]报道T1 ρ 能早期探测肝纤维化病理改变。也有文献^[20]报道T1 ρ 在慢性肝纤维化中价值有限。我们研究表明T1 ρ 值随着肝纤维化程度增加而增加,并有很好的-致性,并且在组间两两比较也有较好的分辨能力。

在肝纤维病理进程中,各种损肝因子引起肝细胞损伤、坏死、凋亡及炎症反应,激活分泌多种细胞因子、脂质过氧化物等化学递质,共同作用于肝星状细胞,合成大量的细胞外基质(ECM),ECM中最重要的结构成分有胶原蛋白、蛋白多糖类等。

目前在关节软骨及椎间盘方面,共识为T1 ρ 的变化与蛋白多糖-粘多糖含量密切相关^[21]。是否因为肝纤维化是ECM含有大量蛋白多糖而引起T1 ρ 值升高,需要以后中进一步深入研究。尽管目前对于肝纤维化引起T1 ρ 值升高的机理尚未完全明确,但T1 ρ 仍可能是非常有潜力的监测和评估肝纤维化的方法。

研究的不足之处:1,我们通

过大鼠模型来研究人类肝纤维化过程的影像改变,但目前任何一种实验动物模型与人类的病理变化过程都仍存在差异,不能全面准确地反映人类肝纤维化病理变化的本质。2,对肝纤维化的评估限于评级,缺乏定量分析。3,未能揭示肝纤维化引起T1 ρ 值升高的原因,需要在以后进一步深入研究。

结论:我们的研究结果表明:T1 ρ 值与肝纤维化程度高度相关。磁共振T1 ρ 可以作为一种无创、敏感的新技术用于探测肝纤维化进程中病理及生理改变,有助于肝纤维化的早期诊断。

参考文献

- [1] Marcellin P, Gane E, Buti M, et al. Regression of cirrhosis during treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B: a 5-year open-label follow-up study[J]. *Lancet*, 2013, 381(9865): 468-475.
- [2] Wang Y X, Yuan J. Evaluation of liver fibrosis with T1 ρ MR imaging[J]. *Quant Imaging Med Surg*, 2014, 4(3): 152-155.
- [3] Zhao F, Yu J, Wang Y J, et al. MR T1 ρ as an imaging biomarker for monitoring liver injury progression and regression: an experimental study in rats with carbon tetrachloride intoxication[J]. *European radiology*, 2012, 22(8): 1709-1716.
- [4] Constandinou C, Henderson N, Iredale J P. Modeling liver fibrosis in rodents[J]. *Methods Mol Med*, 2005, 117: 237-250.
- [5] Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group[J]. *Hepatology*, 1996, 24(2): 289-293.
- [6] 陆伦根, 胡俊杰. 肝纤维化研究进展

- [J]. *肝脏*, 2012(09): 617-620.
- [7] Tsukamoto T, Yamamoto T, Ikebe T, et al. Serum markers of liver fibrosis and histologic severity of fibrosis in resected liver[J]. *Hepatogastroenterology*, 2004, 51(57): 777-780.
- [8] Annet L, Peeters F, Abarca-Quinones J, et al. Assessment of diffusion-weighted MR imaging in liver fibrosis[J]. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2007, 25(1): 122-128.
- [9] 孙骏, 施裕新, 张志勇. MR扩散加权成像对肝纤维化诊断的初探[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2008(06): 35-38.
- [10] 张冬艳, 薛雁山. 磁共振扩散成像肝脾ADC比值评价肝纤维化程度的研究[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2012(03): 46-49.
- [11] Luciani A, Vignaud A, Cavet M, et al. Liver cirrhosis: intravoxel incoherent motion MR imaging--pilot study[J]. *Radiology*, 2008, 249(3): 891-899.
- [12] Bülow R, Mensel B, Meffert P, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for staging liver fibrosis is less reliable in the presence of fat and iron[J]. *European Radiology*, 2013, 23(5): 1281-1287.
- [13] Duvvuri U, Poptani H, Feldman M, et al. Quantitative T1 ρ magnetic resonance imaging of RIF-1 tumors in vivo: detection of early response to cyclophosphamide therapy[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(21): 7747-7753.
- [14] Santyr G E, Henkelman R M, Bronskill M J. Spin locking for magnetic resonance imaging with application to human breast[J]. *Magn Reson Med*, 1989, 12(1): 25-37.
- [15] Haris M, Mcardle E, Fenty M, et al. Early marker for Alzheimer's disease: hippocampus T1 ρ (T1 ρ) estimation[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2009, 29(5): 1008-1012.

- [16] Schooler J, Kumar D, Nardo L, et al. Longitudinal evaluation of T1rho and T2 spatial distribution in osteoarthritic and healthy medial knee cartilage[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2014, 22 (1): 51-62.
- [17] Vadala G, Russo F, Battisti S, et al. Early Intervertebral Disc Degeneration Changes in Asymptomatic Weightlifters Assessed by T1rho MRI[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2014.
- [18] Zhao F, Deng M, Yuan J, et al. Experimental evaluation of accelerated T1rho relaxation quantification in human liver using limited spin-lock times[J]. Korean J Radiol, 2012, 13 (6): 736-742.
- [19] Wang Y X, Yuan J. Evaluation of liver fibrosis with T1rho MR imaging[J]. Quant Imaging Med Surg, 2014, 4 (3): 152-155.
- [20] Takayama Y, Nishie A, Asayama Y, et al. T rho Relaxation of the liver: A potential biomarker of liver function[J]. J Magn Reson Imaging, 2014.
- [21] Johannessen W, Auerbach J D, Wheaton A J, et al. Assessment of human disc degeneration and proteoglycan content using T1rho-weighted magnetic resonance imaging[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2006, 31 (11): 1253-1257.

(本文图片见封二)

(本文编辑: 汪兵)

【收稿日期】2016-03-30

(上接第 77 页)

- [5] M A, V G, B K, et al. Changes in ALDEHYDE DEHYDROGENASE-1 expression during neoadjuvant chemotherapy predict outcome in locally advanced breast cancer[J]. Breast Cancer Research: BCR, 2014, 16 (2): 4375-4375.
- [6] Algirdas Bogusevicius MD P, MD D C, Sepetauskiene E. The Integrated Evaluation of the Results of Oncoplastic Surgery for Locally Advanced Breast Cancer[J]. The Breast Journal, 2014, 20 (1): 53-60.
- [7] Dhillon S. Trastuzumab Emtansine: A Review of Its Use in Patients with HER2-Positive Advanced Breast Cancer Previously Treated with Trastuzumab-Based Therapy[J]. Drugs, 2014, 74 (6): 675-686.
- [8] 胡芸, 金朝林, 王翔等. 乳腺癌的磁共振强化方式与新辅助化疗后退缩模式间的相关性及其临床意义[J]. 中国肿瘤临床, 2014, (22): 1446-1449.
- [9] 刘锋, 张艳, 陈洋等. 彩色多普勒超声在乳腺癌新辅助化疗疗效评价中价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, (10): 1017-1018.
- [10] Morrow M, MLS J W, Morris E. MRI for breast cancer screening, diagnosis, and treatment[J]. Lancet, 2011, (9805): 1804-1811.
- [11] 张磊, 陈东风, 王丽娟等. 声脉冲辐射力弹性成像技术评价乳腺癌新辅助化疗疗效的初步探讨[J]. 济宁医学院学报, 2014, 37 (4): 260-262.
- [12] Mishima M, Toh U, Iwakuma N, et al. Evaluation of contrast Sonazoid-enhanced ultrasonography for the detection of hepatic metastases in breast cancer[J]. Breast Cancer, 2014.
- [13] TD O, A L, JH C, et al. Optical imaging correlates with magnetic resonance imaging breast density and reveals composition changes during neoadjuvant chemotherapy[J]. BREAST CANCER RESEARCH, 2013, 15 (1): 61-62.

(本文编辑: 黎永滨)

【收稿日期】2016-03-22