

## 论 著

## DCE-MRI成像各定量参数对结肠癌裸鼠移植瘤药物治疗疗效的评价\*

新疆医科大学第二附属医院影像中心 (新疆 乌鲁木齐 830063)

古丽巴哈·耐买提 赵丽萍

王云玲 王 红 马景旭 贾文霄

【摘要】目的 利用动态增强磁共振成像技术DCE-MRI成像参数评价抗血管药物抑制肿瘤血管生成的疗效。方法 48只结肠癌裸鼠移植瘤随机分两组, 对照组: 24只、抗肿瘤药物组: 24只, 对照组注射等量的0.9%氯化钠溶液、腹腔注射5-氟尿嘧啶(5-FU) 0.02ml/天, 分别在治疗前与治疗2天、7天及14天进行常规MRI检查和动态增强检查, 治疗后每个时间段各处死6只老鼠行免疫组化染色, 与动态增强检查各参数进行相关性分析。结果 在DCE-MRI各参数, 实验组Ktrans值及Kep值与对照组差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 同时点Ktrans值及同时段的Kep值实验组与对照组比较均有统计学意义( $P<0.05$ ), 并与免疫组化结果做分析, 存在良好的相关性。参数值Ve不存在统计学意义。结论 裸鼠移植瘤模型提供了一个理想的动物模型研究肿瘤, DCE-MRI成像半定量和定量参数分析肿瘤新生血管生成或抗肿瘤药物治疗后肿瘤血管生成关闭的应用价值。

【关键词】结肠癌移植瘤; 动态增强

【中图分类号】R735.3+5

【文献标识码】A

【基金项目】国家自然科学基金(81360214)

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2016.05.032

通讯作者: 贾文霄

## Evaluation of Colon Cancer Nude Mouse Transplanted Tumor Medication Therapeutic Effect by Various DCE-MRI Imaging Quantitative Parameters\*

Gulbahar Namat, ZHAO Li-ping, WANG Yun-ling, et al., The Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang 830063, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

【Abstract】Objective Evaluation of tumor angiogenesis inhibition therapeutic effect by dynamic enhancement DCE-MRI imaging parameters. Methods 48 colon cancer nude mice transplanted tumors were randomly divided into two groups: the control group: 24 mice and the anticancer drug group: 24 mice. The control group of mice had the same amount of 0.9% sodium chloride solution injection and intraperitoneal injection of 5-FU 0.02ml/day, and routine MRI inspection and dynamic enhancement inspection respectively before treatment and 2, 7 and 14 days after treatment. In each treatment period after treatment, 6 mice were sacrificed and given immunohistochemical staining, and correlation analysis of which and various dynamic enhancement inspection parameters was made. Results Among DCE-MRI parameters of the anticancer drug group, only Ktrans value and Kep value had their difference with that of the control group of statistical significance ( $P<0.05$ ). And the contrast between the Ktrans value and Kep value of the 2 groups at the same time point and period was of statistical significance ( $P<0.05$ ), indicating a good correlation in immunohistochemical analysis. The parameter value Ve was not of statistical significance. Conclusion The nude mice transplanted tumor model is of application value for animal tumor study, analysis of tumor angiogenesis or its closing after antitumor medication with DCE-MRI imaging semi-quantitative and quantitative parameters.

【Key words】Colon Cancer Xenograft; DCE-MRI

现在MRI成像作为临床上应用最广泛的影像检查手段, 在发现和治疗恶性肿瘤后随访预后方面更是优势一等。在治疗恶性肿瘤手段中, 除了手术外, 抗肿瘤血管药物治疗已成为临床上应用最多的治疗方法。但在药物的研发过程中需要建立有效、便捷的生物标志物来监测肿瘤的血流动力学变化、细胞代谢等以评价药物的疗效、指导临床用药, 核磁共振动态增强检查技术在评价肿瘤药物疗效等方面有很大的优势。本文结合动态增强各参数与免疫组化分析, 探讨DCE-MRI在评价抗肿瘤药物治疗后预后方面的优越性及准确性。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 购买人型结肠癌HT-29细胞株, 严格试验室操作进行扩增, 配制成瘤细胞浓度为 $1 \times 10^6$ 个/ml的悬液0.1~0.2ml, 接种于BALB/c-nu, 鼠龄6~8周的裸鼠左下肢皮下, 建立结肠癌裸鼠皮下移植瘤模型。模型建立成功的标准为皮下移植瘤体积测量达200mm<sup>3</sup>。

建模成功的48只结肠癌裸鼠皮下移植瘤模型随机分为两组: 对照组(n=24)按20mg/kg腹腔注射9%生理盐水, 抗代谢抗肿瘤药物组(5-FU)按0.02ml/天腹腔注射, 随后每组均治疗前和治疗后2天、7天、14天行常规MRI检查与DCE-MRI检查并与治疗后每个时间段处死6只老鼠行病理

免疫组化染色。

**1.2 MR检查方法** 治疗前与治疗2天, 7天, 14天: (1)常规扫描方式: 采用PHILIPS 1.5T磁共振成像系统, 采用25mm实验动物专用线圈。受检裸鼠麻醉后, 放到线圈里固定, 采用TFE序列进行定位, 采用SE-T1WI、T2WI等扫描方法。分别观察裸鼠腹主动脉, 肾脏及肿瘤体积, 有无液化坏死等变化。(2)动态增强检查技术: 检查前, 在裸鼠尾静脉接针, 固定裸鼠在线圈内, 冠状位扫描。DCE-MRI扫描参数为: 连续无中断的扫描100个动态图像, 共1200幅原始图像, TR=2.56, TE=0.77, 层厚3mm, 层间距3.0mm, 层数64层, FOV=350, 采集次数(NSA)1次, 矩阵70×128。注射对比剂前6个动态时相为增强前的基础扫描, 磁共振对比剂为钆贝葡胺注射液, 原浓度0.3ml造影剂稀释在4.7ml生理盐水中, 配制对比剂, 按照0.1/10g的剂量注射, 注射部位为裸鼠尾静脉, 由同一个人按相同的速率人工推注。

**1.3 图像处理与分析** 将DCE-MRI图像输入Biomap软件进行后处理, 在腹主动脉划取感兴趣区R1(ROI), 通过Biomap软件获得老鼠的动脉输入功能函数(arterial input function, AIF), 在载瘤裸鼠移植瘤划取感兴趣区R2, 在AIF基础上Biomap软件自动计算出移植瘤中反映有关微血管通透性的各定量参数, 即转运常数( $K^{trans}$ ), 血管外细胞外间隙体积百分数( $V_e$ ), 速率常数( $K_{ep}$ )。

**1.4 组织病理学检查** 裸鼠移植瘤肿瘤组织以10%中性甲醛溶液固定, 进行免疫组化分析, 测微血管密度测定(MVD)及血管内皮

生长因子(VEGF)。

**1.5 统计学分析** 采用SPSS17.0统计学软件进行统计分析, 不同治疗组间, 同一组治疗不同时期的动态增强扫描检查获得的各项参数进行重复的方差分析。各观察指标与病理结果进行相关性分析, 检查水准取 $\alpha=0.05$

## 2 结果

**2.1 影像学实验结果** 所有结肠癌裸鼠皮下移植瘤在T1WI上呈低信号, T2WI上呈高信号, 增强后明显强化。(有部分未见明显强化区为液化坏死区)见图1、2, 实验组治疗后的增强曲线分别见图3、4, 病理图为5、6。

**2.2 治疗前后时间段的各参数比较结果** 对照组及实验组各24只, 每组治疗后处死6只。以下为对照组与实验组各参数值变化: (1)两组结肠癌裸鼠皮下移植瘤对照组及药物组不同时间段的得的 $K^{trans}$ 值见表1, 治疗前两组比较无统计学意义。治疗后2天、7天及14天对照组 $K^{trans}$ 值仍升高, 药物组则下降。 $K^{trans}$ 值小于对照

组, 两组比较有统计学意义( $P<0.05$ )。(2)两组结肠癌裸鼠皮下移植瘤对照组及药物组不同时间段测得的 $K_{ep}$ 见表2。治疗前两组比较无统计学意义。治疗后2天、7天及14天两组比较测得, 对照组仍升高, 而药物组下降,  $K_{ep}$ 值药物组低于对照组, 有统计学意义( $P<0.05$ )。(3)两组结肠癌裸鼠皮下移植瘤对照组及药物组不同时间段测得的 $V_e$ 值见表3。治疗后 $V_e$ 数值不稳定, 不存在明显在统计学意义。

**2.3 与病理实验结果相关性** 实验组与对照组治疗后的病理图片, 实验组血管较对照组稀疏, 动态增强参数 $K^{trans}$ 值及 $K_{ep}$ 值与病理结果MVD及VEGF做spearman相关分析结果见表4。

分析结果 $K^{trans}$ 值在治疗后各时间段与MVD计数及VEGF具有良好的相关性, 相关系数较高, 均存在统计学意义。参数 $K_{ep}$ 同样呈正相关, 均有统计学意义( $P<0.05$ ),  $V_e$ 值与免疫组化结果未观察到线性相关。

## 3 讨论

表1 两组结肠癌裸鼠皮下移植瘤治疗后不同时间段 $K^{trans}$ 值的测量结果  
[ $K^{trans} \times 10^{-1}$ ] (/s)

| 分组  | 治疗前             | 治疗后2天           | 治疗后7天           | 治疗后14天          |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 对照组 | 0.0478 ± 0.0129 | 0.0576 ± 0.0104 | 0.5865 ± 0.0181 | 0.0678 ± 0.0285 |
| 药物组 | 0.0501 ± 0.0211 | 0.0462 ± 0.0225 | 0.0455 ± 0.0102 | 0.0424 ± 0.0095 |
| n   | 24              | 24              | 18              | 12              |
| T   | -0.459          | 2.258           | 2.664           | 2.926           |
| P   | 0.649           | 0.031           | 0.013           | 0.011           |

表2 两组结肠癌裸鼠皮下移植瘤治疗后不同时间段 $K_{ep}$ 值的测量结果  
[ $K_{ep} \times 10^{-1}$ ] (/s)

| 分组  | 治疗前             | 治疗后2天           | 治疗后7天           | 治疗后14天          |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 对照组 | 0.0883 ± 0.0357 | 0.0964 ± 0.0300 | 0.1011 ± 0.0300 | 0.1227 ± 0.0661 |
| 药物组 | 0.1015 ± 0.0666 | 0.0797 ± 0.0425 | 0.0774 ± 0.0195 | 0.0659 ± 0.0218 |
| n   | 24              | 24              | 18              | 12              |
| T   | -1.447          | 2.154           | 2.244           | 2.823           |
| P   | 0.158           | 0.038           | 0.033           | 0.014           |

表3 两组结肠癌裸鼠皮下移植瘤治疗后不同时间段Ve值的测量结果

| 分组  | 治疗前           | 治疗后2天         | 治疗后7天         | 治疗后14天        |
|-----|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 对照组 | 0.560 ± 0.021 | 0.578 ± 0.059 | 0.609 ± 0.037 | 0.611 ± 0.231 |
| 药物组 | 0.548 ± 0.112 | 0.590 ± 0.071 | 0.595 ± 0.044 | 0.583 ± 0.108 |
| n   | 24            | 24            | 18            | 12            |
| T   | 0.512         | -0.622        | 1.030         | 0.375         |
| P   | 0.613         | 0.537         | 0.310         | 0.713         |

表4 实验组结肠癌裸鼠皮下移植瘤治疗后DCE-MRI各参数与免疫组化（MVD计数）相关性分析

| 参数   |   | 2天                 |                 |                | 7天                 |                 |                | 14天                |                 |                |
|------|---|--------------------|-----------------|----------------|--------------------|-----------------|----------------|--------------------|-----------------|----------------|
|      |   | K <sup>trans</sup> | K <sub>ep</sub> | V <sub>e</sub> | K <sup>trans</sup> | K <sub>ep</sub> | V <sub>e</sub> | K <sup>trans</sup> | K <sub>ep</sub> | V <sub>e</sub> |
| MVD  | r | 0.714              | 0.829           | 0.200          | 0.761              | 0.771           | 0.429          | 0.876              | 0.886           | 0.543          |
|      | P | 0.045              | 0.042           | 0.704          | 0.048              | 0.046           | 0.397          | 0.022              | 0.019           | 0.266          |
| VEGF | r | 0.754              | 0.776           | 0.298          | 0.707              | 0.714           | 0.321          | 0.812              | 0.825           | 0.489          |
|      | P | 0.044              | 0.029           | 0.358          | 0.037              | 0.039           | 0.451          | 0.023              | 0.011           | 0.341          |

今有治疗恶性肿瘤的方法包括外科手术和药物治疗，目前多种肿瘤不易在早期发现，所以很多时候都无法进行切除治疗，因此药物治疗成为非常重要手段。但在评估药物治疗的疗效时缺乏早期、快速、便捷与无创性地监测手段、以及确定合适的药物剂量、选择合适的给药时间及临床药物疗效观察时间。大量研究结果表明，肿瘤的发生，发展，与转归与新生血管生成关系密切<sup>[1-2]</sup>。所以，现在研发肿瘤新生血管生成的过程与机制，对肿瘤治疗及预后具有重要意义<sup>[1-2]</sup>。在

肿瘤的发生与发展过程中，评价血管生成方面微血管密(MVD)成为应用最广泛的参数。血管内皮生长因子(VEGF)是血管生成中最重要的介导因子，而很多研究表明这两个参数呈正相关，在反应肿瘤生物学行为的很重要的参数，与肿瘤的生长预后关系密切。在抗肿瘤药物的研发过程中，我们可以测定以上两个重要指标来评价药物疗效，但测定过程创伤性大，无法早患者身上重复，动态的观察，所以我们需要找更合适的方法，可以早期、快速、无创性的方法来检测肿瘤药物治疗的疗

效。

这几年来，探讨肿瘤分子生物学因素与影像之间的关系的研究逐渐成为影像学研究的重要方向<sup>[7]</sup>。现在影像技术在临床上应用广泛，尤其是核磁共振新技术的快速发展，使在发现疾病、治疗后的预后方面核磁共振技术有了很大的优势。动态增强扫描(DCE-MRI)现成为了诊断疾病及治疗后评价疗效方面重要的检查手段。DCE-MRI扫描作为无创伤性的评价肿瘤的生成技术，病理生理基础是肿瘤的血液动力学，其强化的程度及时间主要取决于肿瘤的血管化程度，血管对比剂的通透性以及肿瘤间质的压力，可以从细胞分子水平获取多个反映肿瘤血流动力学，细胞代谢障碍等的影像标记物<sup>[7]</sup>。我们选择的动态增强参数转运常数(K<sup>trans</sup>)值代表为单位时间内每单位体积组织中从血液进入血管外细胞外间隙的对比剂量。血管外细胞外间隙体积常数(V<sub>e</sub>)值代表为单位体积组织内血管血管外细胞外间隙的体积，K<sub>ep</sub>代表由单位时间内由血管外细胞外间隙进入血管的对比剂量。K<sup>trans</sup>值和K<sub>ep</sub>值反映了血管渗透性和组织灌注，同时可以反映

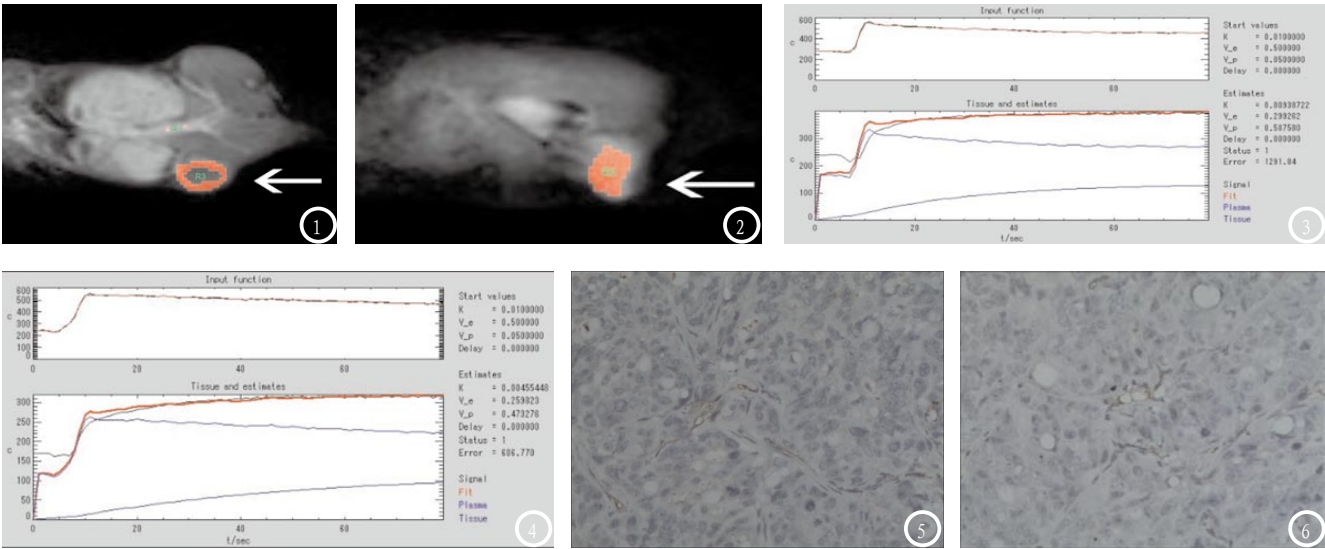


图1-2 增强后的结肠癌裸鼠，箭头指的是增强的肿瘤组织。图3-4 裸鼠结肠癌治疗前后，Biomap软件做出来的强化曲线及各参数值。图5-6 裸鼠结肠癌病理图片。



肿瘤内新生血管形成程度<sup>[7-8]</sup>。

在本实验结果中可知对照组在盐水治疗后的每个时间段里所观察的各参数都有增大的趋势,原因分析,随着观察时间的延长,肿瘤血流的灌注增加,微血管通透性增加,肿瘤新生血管数目增多,从而MVD增加,而在DCE-MRI成像中肿瘤新生血管数目的增多导致进入血管造影剂增多,相应的参数 $K^{trans}$ 值与 $K_{ep}$ 值也有增高趋势。实验组药物治疗后与对照组对比后结果显示,治疗2、7天与14天后,药物抑制肿瘤新生血管形成,肿瘤血管有明显稀疏,MVD计数有减少,相应的肿瘤血流灌注减少,微血管通透性减少,进入血管的造影剂减少,对应的 $K^{trans}$ 值与 $K_{ep}$ 值有下降。免疫组化结果表示MVD、VEGF计与动态增强检查参数 $K^{trans}$ 值及 $K_{ep}$ 值良好的正相关性。所观察的 $V_e$ 值与病理结果不存在相关性,是否还可以作为影像生物标记物来检测药物疗效,应进一步研究。我们本组实验选用的药物5-FU现在临床上广泛应用的抗肿瘤药物,是通过阻断脱氧核糖核苷酸受细胞内胸苷酸合成转为胸苷酸,干扰DNA的合成而达到抗肿瘤生成的目的。以上实验结果可以表明 $K^{trans}$ 值与 $K_{ep}$ 值能够较好的反映用抗肿瘤药物干预后肿瘤血流灌注与细胞增殖活性的变化。

综上所述,DCE-MRI是一种理

想的评价肿瘤血管生成及治疗后血管生成关闭的的成像手段,在这些DCE-MRI成像各参数中,最有意义的是我们选用的参数 $K^{trans}$ 值与 $K_{ep}$ 值,是目前最有潜力的检查手段之一。诊断良恶性及抗肿瘤治疗后复查有很好的应用价值及时为临床提供可靠的诊断依据。

## 参考文献

- [1] 丁爽,贾文霄,徐永华等. DCE-MRI联合DWI评价肿瘤血管生成的实验研究[J]. 中国医学计算机成像杂志, 2012, 18: 542-547.
- [2] 窦瑞雪,杨丽,黄宁等. 定量DCE-MRI在乳腺良恶性病变诊断中的临床价值与病理对照研究[J]. 磁共振成像, 2015, 6(8): 92-98.
- [3] 张帆,常双会,卢光明. 动态增强磁共振成像与肿瘤新生血管[J]. 医学研究生学报, 2010, (09): 977-980.
- [4] 杨斌,程鑫,张仕壮等. 动态增强MRI评价内皮抑素对小鼠结肠癌肿瘤血管生成的研究[J]. 实用放射学杂志, 2011, 04: 620-623.
- [5] 王夕富. 肿瘤微血管密度及其与医学影像学的相关研究[J]. 国外医学临床放射学分册, 2004, 11, 27(6): 337-340.
- [6] 丁爽,许永华,贾文霄等. DCE-MRI各定量参数评价抗肿瘤血管药物早期疗效的应用价值[J]. 临床放射学杂志, 2014, 33(5): 79-783.
- [7] 田迎,史红媛,袁彩云等. DCE-MRI评价恩度联合阿瓦斯汀抗肿瘤血管生成的疗效[J]. 放射学实践, 2012, 8, 27(8): 20-824.
- [8] 宋媛,丁爽,贾文霄. DCE-MRI评价肿瘤血管生成的实验研究[J]. 放射学

实践, 2014, 6: 640-643.

- [9] Wang H, Marchal G, Ni Y, Multiparametric MRI biomarkers for measuring vascular disrupting effect on cancer[J]. World J Radiol, 2011, 3(1): 16
- [10] 冯仕庭,孙灿辉,蔡华菘等. 建立荷人结肠癌裸鼠移植瘤模型及MRI成像检查[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 5: 3696-3700.
- [11] Yankeelov TE, Gore JC. Dynamic Contrast Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Oncology: Theory, Data Acquisition, Analysis, and Examples[J]. Curr Med Imaging Rev, 2009, 3(2): 91-107.
- [12] 陈晶,卢娜,郭青龙,等. 肿瘤血管生成机制及抗血管生成药物的研究进展[J]. 药学服务与研究, 2007, 7(1): 9-52.
- [13] 金松,辛小燕,沙慧子. 多时间点动态增强MRI评价裸鼠皮下移植瘤的实验研究[J]. 浙江临床医学, 2014, 09: 1368-1370.
- [14] Li Wu, Peng Lv, Haitao Zhang. Dynamic contrast-enhanced (DCE) MRI assessment of microvascular characteristics in the murine orthotopic pancreatic cancer model[J]. Magnetic Resonance Imaging, 2015, 33: 37-760.
- [15] 谢宗源,徐香玖,黄刚等. 直肠癌DCE-MRI参数与病理特征的相关性研究[J]. 磁共振成像, 2015, 6(4): 289-293.

(本文编辑: 汪兵)

【收稿日期】2016-03-31