

宝石CT能谱成像及灌注成像评价兔VX2肝癌抗血管生成的治疗疗效

周悦, 王明月, 高剑波, 董军强, 许瀚, 侯平

背景资料
近年来, 随着计算机断层扫描(computed tomography, CT)成像技术的发展和临床需求的增加, 能谱计算机断层扫描(energy computed tomography, energy CT)成为研究的热点, 在常规CT所具备高空间分辨率和时间分辨率的基础上, 又加入了能量分辨率, 使其在临床应用上显示出巨大的潜力和广阔的应用前景。

周悦, 王明月, 高剑波, 董军强, 侯平, 郑州大学第一附属医院放射科CT室 河南省郑州市 450052
许瀚, 郑州大学第一附属医院乳腺外科 河南省郑州市 450052

周悦, 在读博士, 主要从事消化系统肿瘤的影像学表现及病理、分子生物学特性研究。

国家“十一五”科技支撑计划课题基金资助项目,

No. 2007BAI05B05

作者贡献分布: 本课题由周悦、王明月及高剑波设计; 研究过程由周悦、王明月、董军强、许瀚及侯平操作完成; 数据分析由周悦与王明月完成; 论文写作由周悦与王明月完成。

通讯作者: 高剑波, 教授, 450052, 河南省郑州市建设路1号, 郑州大学第一附属医院放射科CT室. cjr_gaojianbo@163.com

电话: 0371-66913681

收稿日期: 2014-08-11 修回日期: 2014-09-16

接受日期: 2014-09-30 在线出版日期: 2014-11-08

Evaluation of efficacy of anti-angiogenesis therapy for VX2 hepatic tumors in rabbits by spectral CT and CT perfusion imaging

Yue Zhou, Ming-Yue Wang, Jian-Bo Gao, Jun-Qiang Dong, Han Xu, Ping Hou

Yue Zhou, Ming-Yue Wang, Jian-Bo Gao, Jun-Qiang Dong, Ping Hou, Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Han Xu, Department of Breast Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Supported by: Scientific and Technological Support Plan Project of China, No. 2007BAI05B05

Correspondence to: Jian-Bo Gao, Professor, Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. cjr_gaojianbo@163.com

Received: 2014-08-11 Revised: 2014-09-16

Accepted: 2014-09-30 Published online: 2014-11-08

Abstract

AIM: To explore the efficacy of anti-angiogenesis therapy for VX2 hepatic tumors in rabbits by spectral computed tomography (CT) imaging and CT perfusion imaging.

METHODS: Sixty New Zealand white rabbits with implanted VX2 hepatic tumors were

randomly divided into two groups (A and B), with each group containing 30 rabbits. On day 14 after tumor implantation, group B received intravenous endostatin at a dose of 3 mg/kg for 7 d. Both groups underwent spectral CT and CT perfusion scans on day 21 after tumor implantation. The animals were then sacrificed, and the expression of VEGF mRNA and FGF2 protein in the tumor rim (TR) and the normal region (NR) was detected by RT-PCR and Western blot, respectively.

RESULTS: For CT perfusion parameters, group A showed increased blood flow (BF), blood volume (BV), permeability surface (PS) and hepatic arterial fraction (HAF) and decreased mean transit time (MTT) in the TR compared with NR ($P < 0.05$). From days 14 to 21, BF and PS showed an increasing trend, while MTT decreased with tumor growth ($P < 0.05$). The standardization of iodine (NIC) during arterial phase of the TR and NR exhibited a statistically significant difference ($P < 0.05$). The NIC of the TR during the arterial phase was significantly higher on day 21 than on day 14. Compared with group A on day 21, BF, BV, PS and HAF decreased, and MTT increased in group B. Pearson correlation analysis showed that these parameters were positively correlated with VEGF mRNA and FGF2 protein expression.

CONCLUSION: Spectral imaging and CT perfusion imaging can provide hemodynamic information of liver lesions and quantitatively reflect the efficacy of anti-angiogenesis therapy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Spectral CT imaging; CT perfusion; VX2 hepatic tumor; Anti-angiogenesis therapy

Zhou Y, Wang MY, Gao JB, Dong JQ, Xu H, Hou P. Evaluation of efficacy of anti-angiogenesis therapy for VX2 hepatic tumors in rabbits by spectral CT and CT perfusion imaging. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*

同行评议者
徐决, 副主任医师, 上海复旦大学附属中山医院

2014; 22(31): 4726-4733 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4726.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i31.4726>

摘要

目的: 探讨宝石能谱计算机断层(computed tomography, CT)成像及灌注成像对VX2兔肝癌抗血管生成治疗的疗效。

方法: 选取60只种植VX2肝癌的大白兔, 随机分为A、B两组各30只。B组于种植后第14天静脉滴注重组人血管内皮抑制素, 剂量3 mg/kg, 连续7 d; 采用CT灌注及能谱扫描观察两组肿瘤的情况。动物处死后, 分别用RT-PCR和Western blot检测两组肿瘤边缘区(the rim of tumor, TR)和正常肝组织(the normal region, NR)血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)mRNA和成纤维细胞生长因子2(fibroblast growth factor 2, FGF2)蛋白的表达。

结果: A组TR CT灌注参数血流量(blood flow, BF)、血容量(blood volume, BV)、表面通透性(permeability surface, PS)和肝动脉分数(hepatic arterial fraction, HAF)均高于NR, 平均通过时间(mean transit time, MTT)低于NR($P < 0.05$)。从第14天到第21天, TR灌注参数BF、PS逐渐升高, MTT减低($P < 0.05$)。在动脉期, A组TR的标准化碘含量(standardization of iodine, NIC)高于NR($P < 0.05$), TR在第21天NIC高于第14天($P = 0.03$)。抗血管生成治疗后, B组在动脉期的NIC较A组同期减低($P = 0.00$)。B组BF、BV、PS、HAF较A组第21天减低, MTT升高($P < 0.05$)。经Pearson相关性分析, 各参数均与VEGF mRNA和FGF2蛋白的表达具有相关性。

结论: 宝石CT能谱成像及灌注成像可通过NIC和血流灌注参数, 提供肝癌病灶的血流动力学信息, 定量的反映活体肝癌抗血管生成治疗疗效。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: CT能谱成像; CT灌注成像; VX2肝癌模型; 抗血管生成治疗

核心提示: 计算机断层扫描(computed tomography, CT)灌注成像及能谱成像, 分别通过灌注参数和碘基值提供肝脏肿瘤的血流灌注及能谱成像特点。同时, 经抗血管生成治疗后, 通过CT灌注成像

及能谱成像可以观察到明显的抑制肿瘤血管生成作用, 以此来评价抗血管生成治疗的效果。

周悦, 王明月, 高剑波, 董军强, 许瀚, 侯平. 宝石CT能谱成像及灌注成像评价兔VX2肝癌抗血管生成的治疗疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(31): 4726-4733 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4726.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i31.4726>

0 引言

肝癌是全球高发的恶性肿瘤之一, 其恶性程度高, 预后差^[1,2]。能谱计算机断层扫描(energy computed tomography, energy CT)能够通过单球管高低电压瞬时切换, 对双能量数据进行能谱分析, 即不仅可以展示器官组织的形态学改变, 还可以通过碘-水基物质图像以及碘含量的变化, 实现“物质分离”和最佳单能量成像^[3]。兔VX2肝癌模型是用于肝癌实验研究的大型动物模型。本实验中, 欲通过宝石CT动态500排肝脏灌注成像和宝石CT能谱成像, 来评价重组人血管内皮抑制素治疗疗效, 为临床提供更好的评价肿瘤抗血管生成治疗的无创影像学诊断方法。

1 材料和方法

1.1 材料 选取新西兰大白兔60只, 雌雄不限, 体重2000-3000 g, 随机分为A组和B组各30只。实验兔由河南省医学动物实验中心提供。速眠新II(吉林省圣达动物药品有限公司); 可吸收明胶海绵(上海同舸医疗器械有限公司); 重组人血管内皮抑制素(山东先声麦得津生物制药有限公司); CT扫描设备: 美国GE公司宝石能谱CT(GE Discovery CT 750 HD); 双筒高压注射器: Stellant双筒高压注射器(美国Medrad公司); CT增强对比剂: 碘佛醇溶液, 规格320 mgI/mL(江苏恒瑞医药股份有限公司); 总RNA提取试剂盒: TRIzol试剂盒(北京全式金生物技术有限公司); cDNA提取试剂盒: EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix, 编号: AE301-02(广州佰路生物科技有限公司); RT-PCR试剂盒: EasyTaq DNA Polymerase(含2.5 mmol/L dNTPs), 编号: AP111-12(北京全式金生物技术有限公司); 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)基因和内参 β -actin基因引物: 上海生工生物工程技术有限公司合成。FGF2 Antibody兔多克隆抗体(武汉博士德生物技术有限公司); 广谱二抗检测试剂盒(上海吉凯基因化学技术有限公司); BCA蛋白定量试剂盒(上海吉凯基因化学技术有限公司); SDS-PAGE Gel KitSDS-

研发前沿

CT能谱成像新技术, 已经成为后多排螺旋CT时代的一个新的发展方向, 使得多排螺旋CT从单纯的解剖成像技术发展到现在功能成像技术。定量的测量组织灌注参数和能谱基物质参数的变化成为功能CT成像的潜在的临床应用。

相关报道

经大量研究证实, 肿瘤灌注本质是研究肿瘤的血流特点, 所以可以用灌注量来间接反映肿瘤微血管的情况和治疗后灌注参数的变化, 了解肿瘤的治疗效果。同时, 在能谱基物质图像上, 可以测量每一个体素的密度, 从而提供物质定量分析的能力, 实现物质分离, 测量组织碘含量, 间接反映出肿瘤的血供。

PAGE凝胶制备试剂盒(上海吉凯基因化学技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 VX2细胞株制备: VX2肝癌荷瘤兔由广州中山大学医学动物实验中心购置。3 wk左右, 可扪及荷瘤兔大腿外侧实质性包块, 肌注速眠新II 0.2 mL/kg对兔行全麻, 无菌条件下剥离肿块, 寻找生长旺盛的灰白色鱼肉样组织, 将瘤组织剪成直径约2.0 mm的瘤块, 浸在4 °C生理盐水中备用。

1.2.2 VX2兔肝癌模型的制备: 动物需术前禁食12 h, 禁水4 h。采用肌注速眠新II 0.2 mL/kg麻醉, 仰卧位固定在手术台上。常规备皮、消毒、铺巾, 使用利多卡因局麻。于剑突下1 cm腹部正中逐层切开, 刀口长约1.5 cm。开腹后, 可见肝左叶位于切口正下方, 用无菌纱布轻拉肝脏, 用无齿钳在肝左叶打一小斜行隧道, 深约4 mm。棉签轻压止血后, 用眼科镊将瘤块置于隧道底部, 夹取2 mm×2 mm大小明胶海绵块植入隧道内, 用组织胶黏合隧道口, 并腹腔喷洒庆大霉素4万单位, 逐层缝合关腹。碘伏消毒手术区域。术后肌注庆大霉素8万单位, 连续3 d。

1.2.3 动态500排CT灌注扫描方案: A组分别于种植后第14天和第21天行CT扫描。扫描前禁食12 h, 仰卧于自制兔板上, 四肢固定后放置于CT扫描床上。使用美国GE公司宝石能谱CT(GE Discovery CT 750 HD), 采用动态500排容积螺旋穿梭技术(volume helical shuttle, VHS)。Z轴覆盖范围扫描范围包括膈顶至肝下缘, 对全肝进行同步动态灌注扫描。对比剂为碘海醇(300 mgI/mL), 速率0.5 mL/s, 剂量4 mL, 生理盐水注射速率同前。管电压120 kV, 管电流80 mA, 延迟2 s曝光。得到5 mm层厚图像, 将图像重建为层厚1.25 mm, 29个pass的CT灌注图像。

1.2.4 能谱CT成像扫描方案: 使用GE Discovery CT750 HD扫描仪。采用能谱模式行双期增强扫描。管电压: 80 kVp和140 kVp快速瞬时切换; 管电流选择在噪声指数为8.0时Auto mA。层厚与层间距均为5 mm, 转速0.6 s/rot, 螺距0.984: 1。采用智能追踪技术触发扫描。造影剂碘海醇(300 mgI/mL)注射100 mL, 速率0.5 mL/s, 注射量为4 mL, 生理盐水注射速率同前。

1.2.5 图像后处理: CT灌注图像采用GE CT perfusion-4.0灌注软件包分析。选取腹主动脉和门静脉主干或分支作为供血动脉和引流静脉, 感兴趣区包括肿瘤边缘区(rim of the tumor, TR)以及正常肝组织(normal region, NR)。灌注参数包括: 血流量

(blood flow, BF)、血容量(blood volume, BV)、平均通过时间(mean transit time, MTT)、表面通透性(permeability surface, PS)和肝动脉分数(hepatic arterial fraction, HAF)。TR的选取要求能显示病灶最大层面且强化最明显的区域, NR的选取要求避开血管、胆管及坏死区。用GSI能谱软件分析原始5 mm能谱CT图像重建出1.25 mm的混合能量图像和40-140 keV单能图像。将NR作为背景, 得到TR的最佳对比噪声比图像。感兴趣区的选取包括TR和NR, 分别得到不同keV下的CT值, 以及相应的能谱曲线和基物质图像。计算能谱曲线上不同单能点的斜率, 计算公式为 $K_x = (HU_{40\text{ keV}} - HU_X \text{ keV}) / (X - 40)$, K_x 为单能量点所对应的斜率, $HU_{40\text{ keV}}$ 为40 keV的CT值, $HUX \text{ keV}$ 为单能量所对应的CT值。在碘基图上分别测量TR、NR以及相应层面腹主动脉的碘含量。计算标准化碘含量(normalized iodine concentrations, NIC), 即感兴趣区的碘含量与同层面腹主动脉碘含量的比值。数值重复测量3次, 取平均值。

1.2.6 抗血管生成治疗方案: CT检查结束后, B组在种植后第14天开始抗血管生成治疗。静脉滴注重组人血管内皮抑制素, 剂量3 mg/kg, 连续7 d。1 wk治疗结束后行CT扫描, 方案同前。

1.2.7 RT-PCR检测VEGF mRNA的表达: 将A、B两组在种植后第21天处死, 切取TR与NR标本。用RT-PCR检测正常肝实质、A组第21天、B组第21天肿瘤组织活体标本VEGF的表达。兔VEGF基因和内参 β -actin的引物序列设计如下: VEGF上游引物序列为: 5'-CAG TGA ATT CGA GAT GAG CTT CCT ACA GCA C-3'; 下游引物序列为: 5'-CCT GGA ATT CTC ACC GCC TCG GCT TGT CAC-3'。扩增产物长度为: 144 bp。内参 β -actin的上游引物序列为: 5'-CCT TCC TGC GCA TGG AGT CCT GG-3'; 下游引物序列为: 5'-GGA GCA ATG ATC TTG ATC TTC-3'。扩增产物长度为: 258 bp。扩增条件: 94 °C预变性2 min, 1个循环; 94 °C变性30 s, 55 °C退火30 s, 72 °C延伸2 min, 共30个循环; 72 °C总延伸6 min。

1.2.8 Western blot检测FGF2蛋白的表达: 用剪刀将正常肝实质、A组第14天、第21天以及B组第21天肿瘤组织活体标本剪碎, 加入1 mL RIPA裂解缓冲液, 研磨、震荡、离心后取上清液, 操作按常规检测成纤维细胞生长因子2(fibroblast growth factor 2, FGF2)蛋白的表达。

统计学处理 使用SPSS19.0统计软件包进行处理。计数资料用mean±SD表示。不同生长时期

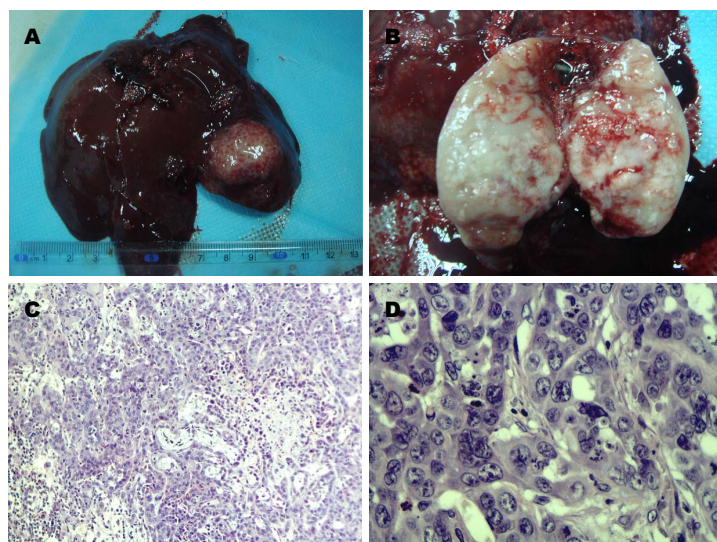


图1 兔VX2肝癌病理表现. A: 兔VX2肝癌大体标本; B: 兔VX2肝癌大体标本切面; C: 低倍镜下, 兔VX2肝癌细胞呈巢状分布(HE × 10); D: 高倍镜下, 兔VX2肝癌细胞形态不规则, 核大浓染(HE × 40).

创新盘点
在本实验通过能谱CT动态500排肝脏灌注成像和能谱成像, 来评价重组人血管内皮抑制素治疗后, 兔VX2肝移植瘤的治疗的疗效, 为临床研究提供更好的诊断及评价肿瘤抗血管治疗疗效的无创的影像学评价手段和方法.

TR与NR的CT灌注参数、NIC比较以及治疗前后VEGF mRNA和FGF2蛋白的比较采用两个独立样本的 t 检验. 相关性分析采用Pearson相关分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 兔VX2肝癌的病理情况 大体观肿瘤呈类圆形, 灰白色, 有完整的包膜, 切面质地较韧, 部分中心可见坏死区. 低倍镜下癌细胞呈巢状分布, 肿瘤间质内血管丰富, 周边见大量纤维组织增生. 高倍镜下肿瘤细胞体积大, 呈圆形或不规则形, 胞浆较少, 核大浓染, 有明显的异形性, 核分裂象多见(图1).

2.2 兔VX2肝癌多排螺旋CT灌注成像特点 CT增强动脉期兔VX2肝癌病灶边缘呈环状强化, 门脉期与周边正常肝实质对比呈相对低密度, 中心可见低密度坏死区(图2A, B). TR的TDC曲线表现为“速升缓降”型, 强化峰值明显早于NR(图2C). A组TR CT灌注参数BF、BV、PS、HAF均高于NR, MTT低于NR, 差异具有统计学意义($P < 0.05$). 从第14天到第21天, TR灌注参数BF、PS逐渐升高, MTT减低($P < 0.05$). NR随肿瘤生长灌注参数值无明显变化, 差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1).

2.3 兔VX2肝癌能谱CT成像特点 最佳单能量成像位于62 keV ± 5 keV时拥有良好的图像对比噪声比. CT能谱曲线表现为: 随着keV的增大, CT值逐渐衰减. keV越小, 走形越陡, 随着keV的增大, 走形逐渐平缓. TR的能谱曲线走形在NR的上方, 二者无交叉. 在不同keV下, TR与NR在动脉期(arterial phase, AP)和静脉期(portal venous phase, PVP)的斜率差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2, 图2D-F). A组TR与NR的NIC比较, AP差异均具有统计学

意义($P < 0.05$), PVP差异无统计学意义($P > 0.05$). 在动脉期, TR在第21天的NIC明显高于第14天($t = -2.42$, $P = 0.03$), 但NR差异无统计学意义($t = -1.86$, $P = 0.77$)(表3).

2.4 抗血管生成治疗前后对比 抗血管生成治疗后, B组与A组第21天的NIC比较, TR在AP差异有统计学意义($t = 4.24$, $P = 0.00$), PVP无统计学意义($t = 0.57$, $P = 0.58$)(表3). B组BF、BV、PS、HAF较A组第21天减低, MTT升高, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表4).

2.5 RT-PCR检测兔VX2肝癌VEGF mRNA的表达 A组第14天和第21天VEGF/ β -actin分别约为0.20 ± 0.12和0.71 ± 0.17. 两者差异有统计学意义($P = 0.00$); B组第21天约为0.38 ± 0.10, 明显低于A组第21天, 差异具有统计学意义($P = 0.00$)(图3). 经Pearson相关性分析, 参数均与VEGF mRNA的表达具有相关性(表5).

2.6 Western blot检测兔VX2肝癌FGF2蛋白的表达 A组第14天FGF2蛋白表达较弱, 其灰度值与 β -actin的比值为1.15 ± 0.09; A组第21天FGF2蛋白的表达上调, 比值为1.77 ± 0.13, 两者差异有统计学意义($P = 0.00$); B组第21天FGF2蛋白比值为0.77 ± 0.09, 明显低于A组第21天, 差异具有统计学意义($P = 0.00$)(图4). 经Pearson相关性分析, 参数均与FGF2蛋白的表达具有相关性(表5).

3 讨论

兔VX2肝癌影像学模型是由Shope病毒在兔皮肤诱发的鳞状细胞癌经72次传代而建立的转移性瘤细胞株, 以肝动脉供血为主^[4,5]. 因其肿瘤血供丰富, 易出现坏死, 表现与人类原发性肝癌类似, 容易制成原位肿瘤动物模型^[16-8]. 在肿瘤移植后2-3

应用要点

CT动态500排肝脏灌注成像和能谱成像可以提供肝脏肿瘤血管生成以及血流动力学方面的信息,从而为临床上非手术治疗的患者在治疗过程中疗效的判断提供无创的影像学依据。

表 1 A组第14天、第21天CT灌注参数比较

分组	时间(d)	BF[mL/(min•100 g)]	BV[mL/100 g]	MTT(s)	PS[mL/(min•100 g)]	HAF(100%)
TR	14	66.01 ± 13.16	21.09 ± 5.49	19.59 ± 4.38	68.05 ± 13.00	0.46 ± 0.25
	21	79.97 ± 22.85 ^a	25.74 ± 6.20	14.98 ± 3.64 ^b	78.10 ± 11.38 ^a	0.60 ± 0.17
NR	14	45.49 ± 8.05 ^c	12.27 ± 2.16 ^b	39.03 ± 6.23 ^b	51.02 ± 16.94 ^b	0.16 ± 0.20 ^a
	21	52.01 ± 8.74 ^d	12.63 ± 1.48 ^d	37.59 ± 4.05 ^d	37.78 ± 11.81 ^d	0.32 ± 0.13 ^d

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs TR 14 d; ^cP<0.01 vs TR 21 d. TR: 肿瘤边缘区; NR: 正常肝组织; BF: 血流量; BV: 血容量; MTT: 平均通过时间; PS: 表面通透性; HAF: 肝动脉分数。

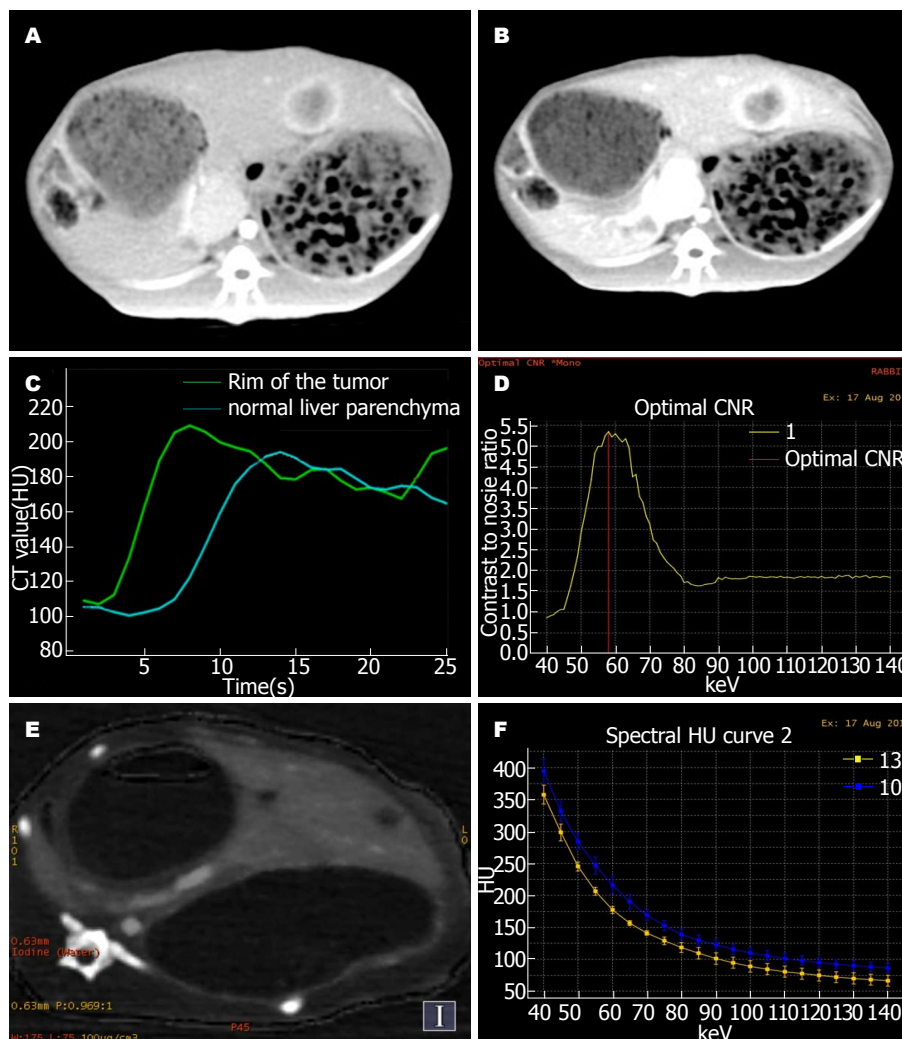


图 2 兔VX2肝癌CT灌注及能谱成像。A, B: 动脉期兔VX2肝癌病灶边缘呈环状强化, 门脉期与周边正常肝实质对比呈相对低密度, 中心可见低密度坏死区; C: 兔VX2肝癌的TDC曲线(绿色)和正常肝实质的TDC曲线(蓝色); D: 最佳单能量成像位于58 keV; E: CT能谱碘基物质图像; F: 兔VX2肝癌的能谱曲线(蓝色)和正常肝实质的能谱曲线(黄色)。

wk, 为肿瘤生长旺盛时期, 即肿瘤血管形成期, 此时期可建立早期肝癌动物模型^[9,10]。

能谱CT动态500排扫描技术借助动态螺旋容积螺旋穿梭、动态螺旋锥形束重建, 使得灌注覆盖范围远远超过了常规64排CT探测器宽度的限制, 在相对低剂量的情况下, 全器官的动态4D灌

注成像能够提供更多肿瘤血流动力学信息^[11]。本实验中, TR灌注参数BF、BV、PS、HAF高于NR, 反映出移植瘤为富血供肿瘤, 肿瘤区域存在大量的新生血管, 且新生血管的内皮细胞基底膜不完整, 血管通透性较高。随着肿瘤的生长, BF呈增高的趋势, 这说明从种植后第2-3周, 肿瘤仍处于

表 2 不同单能量成像下的能谱曲线的斜率比较										
分组	K50	K60	K70	K80	K90	K100	K110	K120	K130	K140
AP										
TR	9.80 ± 0.92	7.89 ± 0.73	6.48 ± 0.60	5.45 ± 0.51	4.67 ± 0.43	4.07 ± 0.38	3.60 ± 0.34	3.22 ± 0.30	2.91 ± 0.27	2.65 ± 0.25
NR	4.31 ± 1.95	3.47 ± 1.57	2.84 ± 1.29	2.39 ± 1.08	2.05 ± 0.93	1.79 ± 0.81	1.58 ± 0.72	1.42 ± 0.64	1.28 ± 0.58	1.17 ± 0.53
t值	6.24	6.28	6.26	6.25	6.23	6.24	6.24	6.24	6.23	6.26
P值	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PVP										
TR	10.44 ± 0.98	8.54 ± 0.84	7.00 ± 0.64	5.92 ± 0.54	5.05 ± 0.46	4.41 ± 0.40	3.90 ± 0.35	3.48 ± 0.32	3.15 ± 0.29	2.87 ± 0.26
NR	9.64 ± 1.43	7.85 ± 0.94	6.51 ± 0.78	5.48 ± 0.65	4.70 ± 0.57	4.11 ± 0.50	3.63 ± 0.45	3.25 ± 0.40	2.93 ± 0.36	2.67 ± 0.33
t值	2.14	2.50	2.26	2.36	2.15	2.13	2.12	2.11	2.11	2.10
P值	0.04	0.02	0.03	0.02	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04

TR: 肿瘤边缘区; NR: 正常肝组织.

表 3 A组TR、NR标准化碘含量随时间变化情况 (mg/mL)			
分组	A组		B组
	第14天	第21天	第21天
AP			
TR	0.61 ± 0.07	0.73 ± 0.15	0.55 ± 0.30
NR	0.42 ± 0.03	0.60 ± 0.13	0.37 ± 0.18
t值	3.75	2.35	4.98
P值	0.02	0.03	0.04
PVP			
TR	0.52 ± 0.23	0.58 ± 0.10	0.53 ± 0.26
NR	0.55 ± 0.58	0.60 ± 0.92	0.50 ± 0.02
t值	0.31	0.42	0.18
P值	0.59	0.68	0.68

TR: 肿瘤边缘区; NR: 正常肝组织.

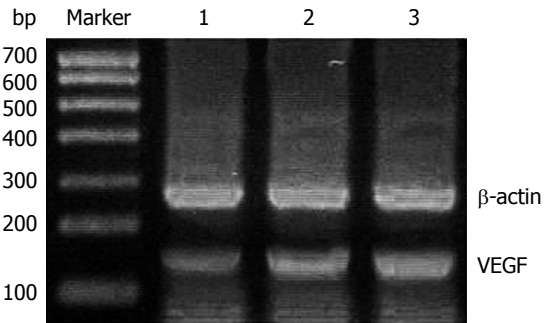


图 3 RT-PCR检测VEGF mRNA的表达. 1: A组第14天肿瘤组织; 2: B组第21天肿瘤组织; 3: A组第21天肿瘤组织. VEGF: 血管内皮生长因子.

毛细血管生成期. BV的差异无统计学意义, 可能

名词解释
energy CT: 利用物质在不同能量X线下所吸收的剂量不同, 从而提供比常规CT更多的影像信息. 能谱CT是单球管高低电压(140、80 kVp)瞬时切换实现的, 从而获得时空上完美匹配的双能量图像数据, 在原始能谱空间实现能谱分析.

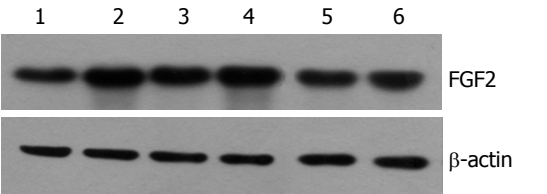


图 4 Western blot检测兔VX2肝癌FGF2蛋白的表达. 1: A组第14天正常肝实质; 2: A组第14天肿瘤组织; 3: A组第21天正常肝实质; 4: A组第21天肿瘤组织; 5: B组第21天正常肝实质; 6: B组第21天肿瘤组织. FGF2: 成纤维细胞生长因子2.

是因为部分肿瘤区域因为毛细血管增生, 血管间距离变小, 限制了血容量的增长. MTT、PS逐渐减低, 其测量值不稳定, 受多种因素的影像, 并不能真实反映新生血管的内皮细胞的基底膜情况. HAF无统计学意义, 可能与肿瘤液化坏死或动静脉瘘的形成有关.

任何结构或组织对X射线的吸收都能通过两种基物质的吸收组合来表达. 基物质的选择没有局限, 水和碘常作为基物质用于影像学研究, 他们反映的是不同组织强化程度在图像上的衰减^[12-14]. 能谱曲线反应的是不同病变和组织对X线的吸收特性^[15-17]. 本次实验进行CT能谱分析, 是为了探索一种可以反映肝癌的血流动力学新方法, 相对于常规肝脏多期CT灌注可以减少辐射剂量. 本研究结果显示, TR能谱曲线在NR的上方, TR的斜率大于相应单能点NR的斜率, 说明能谱曲线对于肝脏肿瘤的定位诊断具有一定的价值. 研究中另一结果显示, 肿瘤区域的标准化碘含量NIC值高于远处正常肝组织, 且肿瘤组织第21天的NIC明显高

同行评价

本文使用先进的能谱CT扫描技术,结合基础实验研究,体现了能谱CT在肝癌诊断及治疗的方面的优势和临床价值。全文思路清晰,结构完整,内容充实,实用性及可读性强。

表 4 抗血管生成治疗前后肿瘤边缘区CT灌注参数值比较 ($n = 30$)

分组	BF(mL/(min•100 g))	BV(mL/100 g)	MTT(s)	PS(mL/(min•100 g))	HAF(100%)
A组(第21天)	79.97 ± 22.85	25.74 ± 6.20	14.98 ± 3.64	78.10 ± 11.38	0.60 ± 0.17
B组(第21天)	67.77 ± 25.07	20.81 ± 8.07	20.63 ± 8.40	64.84 ± 17.52	0.30 ± 0.24
<i>t</i> 值	8.68	2.24	-3.41	2.77	4.75
<i>P</i> 值	0.01	0.04	0.00	0.01	0.00

TR: 肿瘤边缘区; NR: 正常肝组织; BF: 血流量; BV: 血容量; MTT: 平均通过时间; PS: 表面通透性; HAF: 肝动脉分数。

表 5 A、B两组CT灌注参数、NIC与VEGF、FGF2相关性分析

分组	BF		BV		MTT		PS		HAF		NIC during AP	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
FGF2												
A组	0.99	0.00	0.99	0.00	0.63	0.04	0.55	0.05	0.98	0.00	0.99	0.00
	0.74	0.00	0.87	0.00	0.53	0.03	0.78	0.01	0.70	0.04	0.81	0.01
B组	0.93	0.00	0.79	0.00	0.68	0.05	0.72	0.00	0.63	0.02	0.99	0.00
VEGF												
A组	0.94	0.00	0.93	0.00	0.73	0.04	0.90	0.00	0.95	0.00	0.64	0.03
	0.97	0.00	0.93	0.00	0.82	0.03	0.96	0.00	0.95	0.00	0.93	0.00
B组	0.94	0.04	0.99	0.00	0.64	0.02	0.72	0.03	0.65	0.04	0.73	0.03

BF: 血流量; BV: 血容量; MTT: 平均通过时间; PS: 表面通透性; HAF: 肝动脉分数; FGF2: 成纤维细胞生长因子2; VEGF: 血管内皮生长因子; NIC: 标准化碘含量。

于第14天,这恰恰反映出兔VX2肝癌不同时期的血供特点,说明NIC对于肝脏肿瘤血流灌注方面提供了实用的参数信息。

血管生成因子在肿瘤的生成及肿瘤的侵袭以及肿瘤的转移中发展中发挥了重要的作用^[18,19]。VEGF是血管形成的主要调控因子,FGF作为一种重要的次要调控因子,主要包括两种类型^[20-22]:酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)。FGF的编码基因与VEGF相似,二者有促进血管生成和促进细胞分裂增殖的作用^[23]。本研究经RT-PCR和Western blot检测发现,各参数均与VEGF mRNA和FGF2蛋白的表达具有相关性。这表明肿瘤组织中的新生血管丰富,但血管内皮细胞基底膜不完整,通透性高,因而血流灌注量大。MTT值受所流经的动脉、静脉、静脉窦和毛细血管不同路径的影响,因而相关系数不高。

在生理情况下,血管内皮抑素存在于血浆、血管基底膜附近及血小板中。在正常机体发育过程中,血管内皮抑素发挥了重要的调节血管形成和发育的功能。对肝癌的抑制作用表现为:降低促血管生成因子的表达及其效应并阻止FGF激活有丝分裂激酶,抑制血管内皮细胞的分裂增殖;并可以有效地阻止血管内皮细胞的迁移能动性^[24-27]。

本实验经重组人血管内皮抑制素治疗后,BF、BV、PS、HAF及动脉期NIC较A组同期减低,MTT升高,同时与FGF2蛋白的表达具有很好的相关性,反映出血管内皮抑制素对肿瘤抗血管生成的直接作用,这与部分国内外学者^[28-30]的研究结果一致。

总之,宝石能谱CT可以定量测量抗血管生成治疗后灌注参数的变化,通过碘-水基物质以及在碘基图上碘含量的测定,反映放化疗前后的血供变化和治疗的疗效,对于正确的诊断与治疗实体性肿瘤具有重要的价值。当然,本研究也存在诸多不足之处,如兔胃肠道内气体的干扰、动物出现麻醉耐受而使CT检查时呼吸频率难以控制以及实验的样本量不足也会对检查和结果造成一定影响,需要在今后的实验和研究中加以改进。

4 参考文献

- 1 蔡永娥,乔建锦,孙晓茹,崔英.我国原发性肝癌研究进展.现代肿瘤医学 2008; 16: 141-143
- 2 Choi BI. Advances of imaging for hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2010; 78 Suppl 1: 46-52 [PMID: 20616584 DOI: 10.1159/000315230]
- 3 李剑颖. CT能量成像技术进展与临床应用. CT影像杂志 2010; 11: 10-13
- 4 Hayano K, Desai GS, Kambadakone AR, Fuentes JM, Tanabe KK, Sahani DV. Quantitative characterization

- of hepatocellular carcinoma and metastatic liver tumor by CT perfusion. *Cancer Imaging* 2013; 13: 512-519 [PMID: 24334461 DOI: 10.1102/1470-7330.2013.0040]
- 5 Kuszysk BS, Boitnott JK, Choti MA, Bluemke DA, Sheth S, Magee CA, Horton KM, Eng J, Fishman EK. Local tumor recurrence following hepatic cryoablation: radiologic-histopathologic correlation in a rabbit model. *Radiology* 2000; 217: 477-486 [PMID: 11058649 DOI: 10.1148/radiology.217.2.r00nv41477]
- 6 刘煌, 刘静. 肝癌动物模型的研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1275-1278
- 7 李智, 倪才方, 董凤林, 肖荣, 刘航, 刘一之, 金泳海, 沈健. 兔VX2肝癌模型的建立及其生长转移特性的观察. *介入放射性杂志* 2009; 18: 691-694
- 8 Ma GL, Bai RJ, Jiang HJ, Hao XJ, Dong XP, Li DQ, Liu XD, Wei L. Early changes of hepatic hemodynamics measured by functional CT perfusion in a rabbit model of liver tumor. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2012; 11: 407-411 [PMID: 22893468 DOI: 10.1016/S1499-3872(12)60199-4]
- 9 曹成, 刘利平, 张炎晶, 鲁琴, 张敏, 李奕莹, 李廷廷. 超声造影评价兔肝VX2移植瘤血流灌注及其与血管生成的相关性. *中国医学影像学技术* 2013; 29: 177-180
- 10 Liang XM, Tang GY, Cheng YS, Zhou B. Evaluation of a rabbit rectal VX2 carcinoma model using computed tomography and magnetic resonance imaging. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2139-2144 [PMID: 19418587 DOI: 10.3748/wjg.15.2139]
- 11 顾卫彬, 高培毅, 薛静, 刘阳. 110mm容积螺旋扫描在全脑灌注及脑血管联合成像中应用的探讨. *中国卒中杂志* 2013; 8: 443-448
- 12 Lv P, Lin XZ, Li J, Li W, Chen K. Differentiation of small hepatic hemangioma from small hepatocellular carcinoma: recently introduced spectral CT method. *Radiology* 2011; 259: 720-729 [PMID: 21357524 DOI: 10.1148/radiol.11101425]
- 13 Lv P, Lin XZ, Chen K, Gao J. Spectral CT in patients with small HCC: investigation of image quality and diagnostic accuracy. *Eur Radiol* 2012; 22: 2117-2124 [PMID: 22618521 DOI: 10.1007/s00330-012-2485-3]
- 14 Zhang LJ, Wu S, Wang M, Lu L, Chen B, Jin L, Wang J, Larson AC, Lu GM. Quantitative dual energy CT measurements in rabbit VX2 liver tumors: Comparison to perfusion CT measurements and histopathological findings. *Eur J Radiol* 2012; 81: 1766-1775 [PMID: 21835570 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.06.057]
- 15 任国庆, 滑炎卿, 李剑颖. CT能谱成像的基本原理与临床应用. *国际医学放射学杂志* 2011; 34: 559-563
- 16 田志辉, 王琦, 时高峰, 曹彦坤. 双能CT测定体模碘含量. *中国医学影像学技术* 2012; 28: 1406-1410
- 17 Pan Z, Pang L, Ding B, Yan C, Zhang H, Du L, Wang B, Song Q, Chen K, Yan F. Gastric cancer staging with dual energy spectral CT imaging. *PLoS One* 2013; 8: e53651 [PMID: 23424614 DOI: 10.1371/journal.pone.0053651]
- 18 Yang Y, Zhang Y, Cao Z, Ji H, Yang X, Iwamoto H, Wahlberg E, Länne T, Sun B, Cao Y. Anti-VEGF- and anti-VEGF receptor-induced vascular alteration in mouse healthy tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 12018-12023 [PMID: 23818623 DOI: 10.1073/pnas.1301331110]
- 19 Belair DG, Murphy WL. Specific VEGF sequestering to biomaterials: influence of serum stability. *Acta Biomater* 2013; 9: 8823-8831 [PMID: 23816648 DOI: 10.1016/j.actbio.2013.06.033]
- 20 Kukreja I, Kapoor P, Deshmukh R, Kulkarni V. VEGF and CD 34: A correlation between tumor angiogenesis and microvessel density-an immunohistochemical study. *J Oral Maxillofac Pathol* 2013; 17: 367-373 [PMID: 24574654 DOI: 10.4103/0973-029X.125200]
- 21 Westenskow PD, Kurihara T, Aguilar E, Schepke EL, Moreno SK, Wittgrove C, Marchetti V, Michael IP, Anand S, Nagy A, Cheresch D, Friedlander M. Ras pathway inhibition prevents neovascularization by repressing endothelial cell sprouting. *J Clin Invest* 2013; 123: 4900-4908 [PMID: 24084735 DOI: 10.1172/JCI70230]
- 22 Farberov S, Meidan R. Functions and transcriptional regulation of thrombospondins and their interrelationship with fibroblast growth factor-2 in bovine luteal cells. *Biol Reprod* 2014; 91: 58 [PMID: 25061096 DOI: 10.1095/biolreprod.114.121020]
- 23 Ashki N, Chan AM, Qin Y, Wang W, Kiyohara M, Lin L, Braun J, Wadehra M, Gordon LK. Peroxynitrite upregulates angiogenic factors VEGF-A, bFGF, and HIF-1 α in human corneal limbal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 1637-1646 [PMID: 24398102 DOI: 10.1167/jovs.13-12410]
- 24 Wu Y, Zheng Y, Shen Z, Ge W, Xie Y, Li C. Endostar combined with radiotherapy increases radiation sensitivity by decreasing the expression of TGF- β 1, HIF-1 α and bFGF. *Exp Ther Med* 2014; 7: 911-916 [PMID: 24669250 DOI: 10.3892/etm.2014.1526]
- 25 Ge W, Zheng Y, Tao Z. Contrast-enhanced ultrasound analysis of tissue perfusion in tumor-bearing mice following treatment with endostatin combined with radiotherapy. *Exp Ther Med* 2014; 7: 1359-1363 [PMID: 24940439 DOI: 10.3892/etm.2014.1594]
- 26 Zhang Q, Du Y, Xue Z, Chi C, Jia X, Tian J. Comprehensive evaluation of the anti-angiogenic and anti-neoplastic effects of Endostar on liver cancer through optical molecular imaging. *PLoS One* 2014; 9: e85559 [PMID: 24416426 DOI: 10.1371/journal.pone.0085559]
- 27 Xu M, Xu CX, Bi WZ, Song ZG, Jia JP, Chai W, Zhang LH, Wang Y. Effects of endostar combined multidrug chemotherapy in osteosarcoma. *Bone* 2013; 57: 111-115 [PMID: 23912049 DOI: 10.1016/j.bone.2013.07.035]
- 28 Sun L, Ye HY, Zhang YH, Guan YS, Wu H. Epidermal growth factor receptor antibody plus recombinant human endostatin in treatment of hepatic metastases after remnant gastric cancer resection. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6115-6118 [PMID: 18023113 DOI: 10.3748/wjg.13.6115]
- 29 蹇兆成, 孙业全, 王滨, 刘峰, 刘艳, 白旭明, 宁厚法. TACE联合抗血管生成疗法治疗兔VX2肝移植瘤的实验研究. *临床放射学杂志* 2009; 28: 1013-1017
- 30 冯国全, 雷振, 徐娜, 刘璟怡, 魏强. MSCT灌注成像评价恩度抗兔门静脉VX2癌栓新生血管生成的实验研究. *实用放射学杂志* 2013; 29: 651-654

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

