

◆ 实验研究

CT perfusion in assessment on radiation effect of rabbit VX2 enterocoelia implanted tumor

LI Yu-ze, REN Ke*, WANG Qiang, ZHAO Yu, ZHAO Li, XU Ke

(Department of Radiology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China)

[Abstract] **Objective** To explore the application value of CT perfusion in assessment on radiotherapy effect of rabbit VX2 enterocoelia implanted tumor. **Methods** VX2 enterocoelia implanted tumor rabbit models were built, and then were divided into treated group and control group randomly. The rabbits in treated group were treated with radiotherapy, yet rabbits in control group were only fed. Rabbits in two groups underwent CT perfusion (CTP) before and one week after radiotherapy or feeding. The first and the second CTP parameters (blood flow [BF], blood volume [BV] and permeability surface [PS]) were compared between treated group and control group. Then, the correlation of tumor size, CTP parameters and MVD in two groups were analyzed. **Results** There were 10 experimental rabbits in the treated group and control group, respectively. One week after radiotherapy, BF, BV and PS of the VX2 tumors in treated group noticeably decreased compared to before radiotherapy (all $P < 0.01$), which were obviously lower than those in control group (all $P < 0.01$). There was no statistical different in BF, BV and PS of control group between the two times. MVD in the two groups were statistical different ($t = 12.67$, $P < 0.01$). In solid area of tumor, BF and BV were positively correlated with MVD ($r = 0.72$, 0.63 , both $P < 0.05$), but PS was not correlated with MVD ($r = 0.40$, $P > 0.05$). **Conclusion** CTP can be used to evaluate radiotherapy effect of rabbit VX2 enterocoelia implanted tumor.

[Key words] Perfusion imaging; Animal experimentation; Enterocoelia implanted tumor model; Radiotherapy

CT 灌注扫描评价兔 VX2 腹腔移植瘤放疗疗效

李玉泽,任克*,王强,赵宇,赵丽,徐克

(中国医科大学附属第一医院放射科,辽宁沈阳 110001)

[摘要] **目的** 探讨 CT 灌注成像在评价兔 VX2 腹腔移植瘤放疗疗效中的应用价值。**方法** 建立兔 VX2 腹腔移植瘤模型,将实验兔随机分为治疗组和对照组,治疗组接受肿瘤放射治疗,对照组单纯饲养 1 周。对治疗组放疗前和放疗 1 周后及对照组均行 CT 灌注扫描。比较治疗组及对照组前后两次 CT 灌注参数[血流量(BF)、血容量(BV)及血管表面通透性(PS)],对两组肿瘤大小变化、灌注参数与 MVD 进行相关分析。**结果** 治疗组和对照组各纳入 10 只实验兔,放疗 1 周后治疗组实验兔瘤区 BF、BV 和 PS 均较放疗前明显降低(P 均 < 0.01),且均低于对照组(P 均 < 0.01)。对照组瘤区前后两次 BF、BV 和 PS 的差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。治疗组与对照组 MVD 计数的差异有统计学意义($t = 12.67$, $P < 0.01$)。肿瘤实质区 BF、BV 与 MVD 计数呈正相关($r = 0.72$ 及 0.63 , P 均 < 0.05);而 PS 与 MVD 计数无明显相关($r = 0.40$, $P > 0.05$)。**结论** CT 灌注成像技术能够用于评价兔 VX2 腹腔移植瘤的放疗疗效。

[关键词] 灌注成像;动物实验;腹腔移植瘤模型;放射治疗

[中图分类号] R814.42; R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2013)03-0321-04

[基金项目] 辽宁省教育厅科学技术研究项目计划基金(05L582)、辽宁省科技厅科学技术计划项目(2012225013)。

[作者简介] 李玉泽(1976—),男,辽宁沈阳人,硕士,主治医师。现工作于中国人民解放军第 202 医院放射科。研究方向:腹部疾病影像诊断。
E-mail: liyuze2004@126.com

[通讯作者] 任克,中国医科大学附属第一医院放射科,110001。E-mail: renke815@sina.com

[收稿日期] 2012-08-31 **[修回日期]** 2013-01-24

腹腔恶性肿瘤类型较多,早期诊断率较低,临床治疗以手术切除为主^[1-3],但大部分病例发现时已是晚期,失去了根治性切除的机会,这时姑息性治疗措施显得尤为重要。随着放射治疗设备的更新及技术方法的提高,近年来出现的三维适形放射治疗技术在恶性腹腔肿瘤治疗中的应用逐渐增多,能够缩小肿瘤体积、减少并发症,提高患者生活质量^[4-6]。

本实验将兔 VX2 瘤株种植于胆总管周围组织,建立腹腔移植瘤模型,通过观察兔 VX2 腹腔移植瘤模型放疗前后肿瘤体积、胆道梗阻程度、周围脏器转移情况、CT 灌注参数及肿瘤 MVD 的变化情况,探讨 CT 灌注成像技术在腹腔恶性肿瘤放疗疗效评价中的应用价值。

1 材料与方法

1.1 建立兔 VX2 腹腔移植瘤模型 选取健康新西兰大白兔 30 只(中国医科大学动物部提供),雌雄不限,体质量 1.8~4.1 kg,平均(2.50±0.50)kg。自荷瘤兔后腿取出 VX2 肿瘤,并制成组织块悬液。将兔全麻后(麻醉剂为速眠新)仰卧保定于自制手术台上,于剑突下沿腹白线正中切开约 4~5 cm,轻轻翻出胃及十二指肠,沿胆囊向下寻找胆总管。使用注射器将 VX2 瘤组织块混悬液注入胆总管周围结缔组织中,注入约 1 ml 后缓慢退针,边退针边滴 α-氰基丙烯酸酯快速医用胶,以防止瘤组织自针眼漏出造成腹腔种植。

1.2 CT 灌注检查

1.2.1 仪器 Siemens Definition 双源 CT 机及工作站软件;24GA 一次性静脉留置针;碘海醇注射液(300 mgI/ml);高压注射器。

1.2.2 扫描参数 术后每 3 天行一次 CT 检查,观察肿瘤大小,当直径为 1~2 cm 时行 CT 灌注扫描。实验兔扫描前 12 h 停饲,不禁水,腹部加腹带以抑制呼吸运动造成的伪影。扫描兔中上腹部,灌注扫描以腹腔移植瘤最大层面为中心;以 0.3 ml/s 流率注入 3 ml 碘海醇,采用电影扫描技术(0.5 s/rot),层厚 1.2 mm,FOV 153 mm,管电压 100 kV,管电流 120 mAs,总扫描时间 50 s。

1.2.3 图像后处理 将灌注图像传送至工作站,流入动脉 ROI 取于腹主动脉,采用灌注软件处理数据后获得病灶、靶动脉的时间-密度曲线(time-density curve, TDC),通过 TDC 计算血流量(blood flow, BF)、血容量(blood volume, BV)和血管表面通透性(permeability surface, PS),同时得到 BF、BV、PS 的伪彩图。

1.3 放射治疗 将实验兔随机分为治疗组及对照组。

采用 Siemens PRIMUS-M 型医用电子直线加速器对治疗组行放射治疗,采用两倾斜角度对穿照射野,肿瘤组织中心剂量为 17 Gy。放疗 1 周后行第二次 CT 灌注扫描。对照组单纯饲养 1 周后行第二次 CT 灌注扫描。

1.4 组织学检查 第二次 CT 灌注扫描后处死实验兔,取出移植瘤脱水、固定,尽量保证组织切片与 CT 所选层面一致,行 HE 染色及免疫组化检查。依照链霉素抗生物素蛋白-过氧化物(SP 法)试剂盒说明书步骤行单抗 CD34(武汉博士德公司)免疫组化染色。CD34 阳性标准采用 Weidner 改进式方法。MVD 计数:肿瘤内孤立的棕黄色血管内皮细胞或细胞簇代表 1 条单独的微血管。于低倍镜下(×100)浏览全片,找出 MVD 较大的“热点”区域,换高倍镜(×200),每张切片记录 5 个“热点”,取其平均数作为 MVD。

1.5 统计学分析 应用 SPSS 13.0 统计软件包做统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,治疗组、对照组前后两次 CT 灌注的参数值、肿瘤大小的组内、组间数据比较均采用 *t* 检验;两组第二次 CT 灌注后肿瘤实质区 BF、BV、PS 变化与 MVD 计数变化采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 腹腔移植瘤生长情况 30 只实验兔中,术前麻醉意外死亡 1 只,术后两周因感染死亡 2 只,第一次 CT 灌注后死亡 2 只,5 只实验兔未见肿瘤生长,最终 20 只实验兔纳入本研究,治疗组和对照组各 10 只。

放疗前治疗组实验兔肿瘤直径为(1.86±0.91)cm,对照组为(1.89±0.90)cm,差异无统计学意义($t=0.07, P > 0.05$)。放疗 1 周后治疗组实验兔肿瘤直径为(1.59±1.16)cm;对照组肿瘤直径为(3.61±1.77)cm,与 1 周前肿瘤直径的差异有统计学意义($t=2.73, P < 0.05$)。治疗组实验兔放疗 1 周后肿瘤直径明显小于对照组($t=3.62, P < 0.01$)。

20 只实验兔均有胆道梗阻、肝脏转移和周围淋巴结转移。放疗后 1 周,与对照组比较,实验组照射范围内转移灶缩小、肿瘤坏死程度明显,胆道梗阻程度明显减轻;而对照组转移灶明显增多、增大。

2.2 灌注参数 放疗前两组实验兔瘤区各 CT 灌注参数的差异均无统计学意义。放疗 1 周后治疗组实验兔瘤区 BF、BV 和 PS 均较放疗前明显降低(P 均 < 0.01 , 表 1, 图 1、2),而对照组瘤区各 CT 灌注参数的差异均无统计学意义(P 均 > 0.05 , 表 2)。1 周后的治疗组实验兔瘤区 BF、BV 及 PS 均明显低于对照组(P 均 < 0.01)。

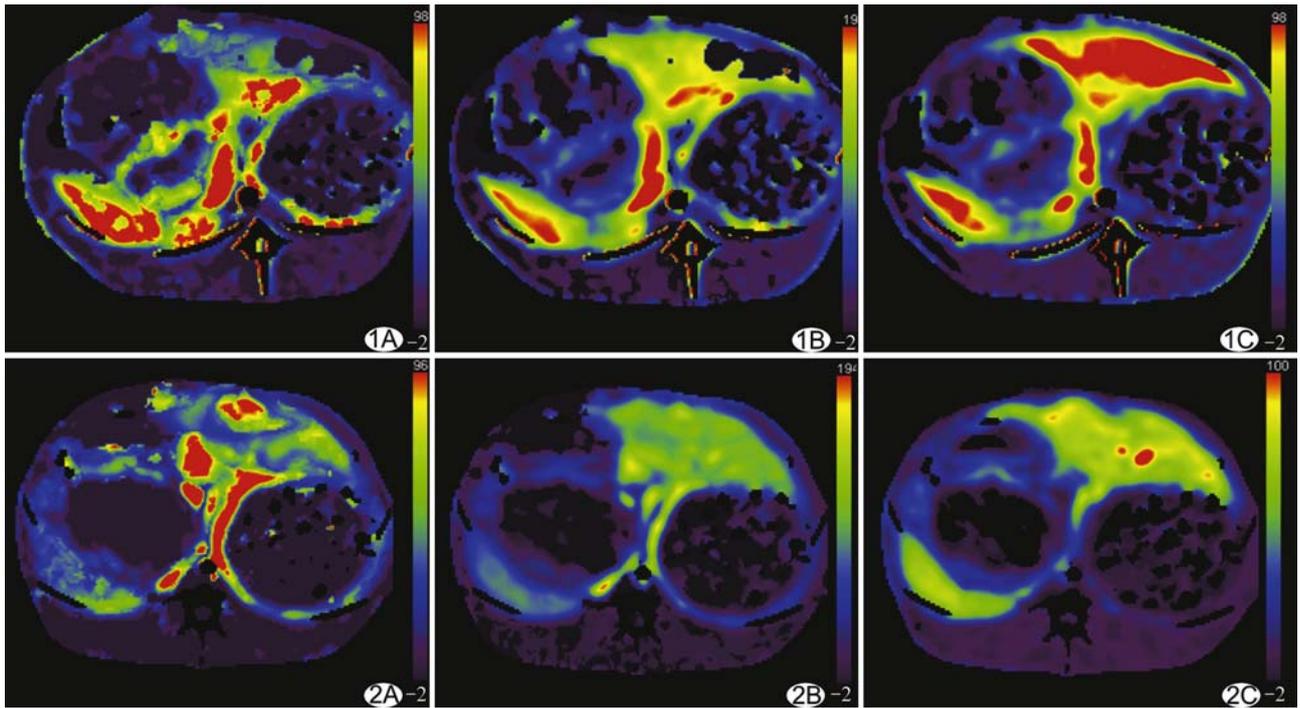


图 1 兔 VX2 腹腔移植瘤放疗前 CT 灌注图 肿瘤实性部分于 BF 灌注图上呈黄绿色(A), BV 灌注图上呈蓝绿色(B), PS 灌注图上呈蓝绿色(C), 表明肿瘤呈中等程度血流灌注状态 图 2 兔 VX2 腹腔移植瘤放疗后肿瘤 CT 灌注图 A~C. 肿瘤周边实性部分于 BF、BV 及 PS 灌注图上均呈蓝紫色, 表明肿瘤呈明显低灌注状态

表 1 放疗前后治疗组兔 VX2 腹腔移植瘤 CT 灌注参数对照 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	BF	BV	PS
	[ml/(min · 100 g)]	(ml/100 g)	[ml/(min · 100 g)]
放疗前	55.60 ± 5.42	53.21 ± 1.27	33.56 ± 5.10
放疗后 1 周	27.60 ± 4.83	25.32 ± 1.31	18.51 ± 4.69
t 值	12.20	48.34	6.74
P 值	<0.01	<0.01	<0.01

表 2 单纯饲养 1 周前后对照组兔 VX2 腹腔移植瘤灌注参数对照 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	BF	BV	PS
	[ml/(min · 100 g)]	(ml/100 g)	[ml/(min · 100 g)]
未治疗	55.29 ± 4.78	52.02 ± 4.70	33.49 ± 4.06
饲养 1 周后	56.08 ± 5.90	53.67 ± 7.20	34.97 ± 4.91
t 值	0.32	0.61	0.36
P 值	>0.05	>0.05	>0.05

2.3 免疫组化 治疗组及对照组的肿瘤 CD34 抗体均呈阳性表达, 呈棕黄色至棕褐色、于肿瘤细胞间质中散在分布, 管腔不规则, 管壁不完整。放疗 1 周后治疗组 MVD 计数为 31.14 ± 2.31 , 对照组 MVD 计数为 50.28 ± 4.19 , 前者低于后者 ($t=12.67, P<0.01$)。肿瘤实质区 BF、BV 与 MVD 计数呈正相关($r=0.72$ 、

$0.63, P$ 均 <0.05); 而 PS 与 MVD 计数无明显相关关系($r=0.40, P>0.05$)。

3 讨论

放疗可破坏肿瘤细胞的 DNA 结构, 诱导肿瘤细胞凋亡; 射线照射还能激发血管内皮细胞和血小板黏附性活性物质的释放, 导致肿瘤血管内血栓形成, 血管腔狭窄或闭塞^[7-8], 从而引起肿瘤血流灌注下降。

MVD 能够准确反映肿瘤内血管数, 目前已成为评价肿瘤血管生成情况的“金标准”; 但 MVD 需取得癌组织标本后进行测定, 对于丧失手术机会的中晚期恶性肿瘤患者, 因无法取得病理标本而无法检测其血管生成情况。因此, 寻找可评价肿瘤血管生成, 并可在活体上重复实施的无创的检查方法具有重要意义。

CT 灌注成像基于核医学灌注成像的放射性示踪剂稀释原理和中心容积原理的 CT 成像技术^[9], 通过在静脉内注射对比剂的同时对选定层面进行连续扫描, 获得该层面内每一像素的 TDC, 计算出组织器官的灌注参数, 从而反映肿瘤血管增生情况, 常用参数有 BF、BV 及 PS。随着时间延长, 注入的对比剂离开血管内间隙、穿过毛细血管基底膜进入血管外间隙。血管内间隙的对比剂含量与组织的血供量有关, 而血管外间隙的对比剂含量与毛细血管对组织的通透性有

关。CT 灌注量主要反映对比剂在血管内间隙运输的情况,而 PS 主要反映渗透性,即对比剂由血管内间隙进入血管外间隙的情况^[10-11]。

肿瘤生长过程中不断生成新的血管,使肿瘤的血流灌注和血容量增加;同时,由于肿瘤的微血管基底膜不完整,在血管内循环的一些大分子物质(如对比剂)易渗漏到血管外间隙,造成毛细血管渗透性增加,为应用 CT 灌注成像反映肿瘤微血管情况奠定了基础。肿瘤 CT 灌注成像的基本原理是基于不同肿瘤或在同一肿瘤的不同时期,由于肿瘤组织 MVD 的不同而导致灌注情况出现差异^[12]。国内外研究^[13-15]及本研究结果均证实,兔 VX2 肿瘤的 BF、BV 与肿瘤内微血管状况密切相关,能够用于反映肿瘤血管生成活性。

CT 灌注成像属于功能成像,在肿瘤放射治疗中的应用价值在于能够在放疗后肿瘤形态学发生改变前,通过观察血流灌注早期变化而判断治疗效果,有利于及时调整治疗方案。CT 灌注参数 BF、BV 与组织学参数 MVD 具有相关性,可以作为活体评价放疗前后肿瘤微血管生成的参考指标。

综上所述,CT 灌注成像技术能够用于评价兔 VX2 腹腔移植瘤的放疗疗效,值得进一步深入研究。

[参考文献]

[1] Burges A, Schmalfeldt B. Ovarian cancer: Diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int*, 2011, 108(38):635-641.

[2] Strauss DC, Hayes AJ, Thomas JM. Retroperitoneal tumours: Review of management. *Ann R Coll Surg Engl*, 2011, 93(4): 275-280.

[3] 赵静,郭庆乐,刘景旺,等. 64 层容积 CT 后处理技术在诊断肝外胆管癌中的应用. *中国医学影像技术*, 2011, 27(3):577-580.

[4] Anderson C, Kim R. Adjuvant therapy for resected extrahepatic

cholangiocarcinoma: A review of the literature and future directions. *Cancer Treat Rev*, 2009, 35(4):322-327.

[5] Soreide K, Berg M, Skudal BS, et al. Advances in the understanding and treatment of colorectal cancer. *Discov Med*, 2011, 12(66):393-404.

[6] Al Husaini H, Soudy H, Darwish A, et al. Evaluation of adjuvant therapy in women with uterine papillary serous cancer. *Ann Saudi Med*, 2012, 32(1):27-31.

[7] Sapundzhiev N, Dünne AA, Ramaswamy A, et al. The auricular VX2 carcinoma: Feasibility of complete tumor resection. *Anticancer Res*, 2005, 25(6B):4209-4214.

[8] Maruyama H, Matsutani S, Saisho H, et al. Sonographic shift of hypervascular liver tumor on blood pool harmonic images with definity: Time-related changes of contrast-enhanced appearance in rabbit VX2 tumor under extra-low acoustic power. *Eur J Radiol*, 2005, 56(1):60-65.

[9] Pandharipande PV, Krinsky GA, Rusinek H, et al. Perfusion imaging of the liver: Current challenges and future goals. *Radiology*, 2005, 234(3):661-673.

[10] Miles KA. Functional computed tomography in oncology. *Eur J Cancer*, 2002, 38(16):2079-2084.

[11] 尚瑶,李选. CT 灌注成像在外周动脉梗阻性疾病中的应用. *中国介入影像与治疗学*, 2010, 7(5):567-570.

[12] Jiang HJ, Zhang ZR, Shen BZ, et al. Quantification of angiogenesis by CT perfusion imaging in liver tumor of rabbit. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2009, 8(2):168-173.

[13] 金观桥,苏丹柯,谢东,等. 鼻咽癌放疗前后 CT 灌注成像及与微血管密度的相关性. *中国医学影像技术*, 2009, 25(8):1378-1380.

[14] Zhang J, Wang R, Lou H, et al. Functional computed tomographic quantification of angiogenesis in rabbit VX2 soft-tissue tumor before and after interventional therapy. *J Comput Assist Tomogr*, 2008, 32(5):697-705.

[15] 姜慧杰,徐克,张慧博,等. 多层螺旋 CT 灌注成像活体评价肝 VX2 移植瘤新生血管生成. *中国医学影像技术*, 2007, 23(7): 967-970.

《中国医学影像技术》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版(第六版)

2012 年 1 月《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会公布了第六版名单,《中国医学影像技术》杂志入编临床医学/特种医学类的核心期刊。