

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.09.001

## 磁共振扩散张量成像在大鼠 C6 脑胶质瘤分级中的应用研究\*

李香营, 蒋锡丽, 杨光, 陈建强, 战跃福, 唐少虎, 韩向君

(中南大学湘雅医学院附属海口医院/海口市人民医院放射科, 海口 570208)

**[摘要]** 目的 探讨磁共振扩散张量成像(DTI)参数部分各向异性分数(FA)值在大鼠脑胶质瘤分级中的应用价值。方法 67 只雌性 Wistar 大鼠按照随机数字表法分成实验组 57 只, 对照组 10 只, 所有成活大鼠分别在接种后第 1~2 周(22 只)和 3~4 周(35 只)行 3.0T DTI 检查, 获得瘤体 FA 值, 并与病理结果对照。结果 57 只荷瘤大鼠, 其中低级别胶质瘤 18 只, 高级别胶质瘤 39 只, DTI 显示高级别胶质瘤瘤体 FA 值( $0.167 \pm 0.035$ )高于低级别胶质瘤( $0.147 \pm 0.015$ ), 差异有统计学意义( $t=2.34, P<0.05$ )。结论 DTI 参数 FA 值可以为术前胶质瘤分级提供准确可靠、无创的影像学信息。

**[关键词]** 胶质瘤; 磁共振弥散张量成像; 部分各向异性分数; 大鼠, Wistar

**[中图分类号]** R445.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2018)09-1153-02

## Application of magnetic resonance diffusion tensor imaging in rat C6 glioma grading\*

LI Xiangying, JIANG Xili, YANG Guang, CHEN Jianqiang, ZHAN Yuefu, TANG Shaohu, HAN Xiangjun

(Department of Radiology, Affiliated Haikou Hospital, Xiangya School of Medicine, Central South University/Haikou Municipal People's Hospital, Haikou, Hainan 570208, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the application value of fractional anisotropy(FA) values of magnetic resonance diffusion tensor imaging(DTI) parameters in rat glioma grading. **Methods** Sixty-seven female Wistar rats were divided into the experimental group( $n=57$ ) and control group( $n=10$ ) according to the random number table method. All the surviving rats were examined by 3.0T DTI at 1-2 weeks(22 cases) and 3-4 weeks(35 cases) after inoculation, and the FA values of the tumor were obtained and compared with the pathological results. **Results** Among 57 tumor-loading rats, there were 18 low-grade gliomas and 39 high-grade gliomas. DTI showed that the FA value of high-grade gliomas was higher than that of the low-grade glioma, the difference was statistically significant [ $0.167 \pm 0.035$  vs. ( $0.147 \pm 0.015$ ),  $t=2.34, P<0.05$ ]. **Conclusion** The FA value of DTI parameters can provide accurate, reliable and noninvasive imaging information for preoperative glioma grading.

**[Key words]** rat; glioma; diffusion tensor imaging; fractional anisotropy; rat, Wistar

胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤<sup>[1]</sup>, 术前准确评估胶质瘤的恶性程度对预测肿瘤生物学行为, 制定手术方案至关重要。磁共振扩散张量成像(diffusion tensor imaging, DTI)作为一种新的成像方法, 可以反映组织微观结构变化, 广泛用于胶质瘤诊断、鉴别诊断、分级及手术方案的制订<sup>[2-3]</sup>。本研究旨在探讨临床 3.0T DTI 在 Wistar 大鼠 C6 脑胶质瘤分级中的应用价值。

## 1 材料与方

**1.1 材料** C6 胶质瘤细胞株购于中国科学院上海生命科学研究细胞所, 复苏后培养于 10% 胎牛血清、1% 青霉素混合液的 RPMI-1640 培养基中, 传代接种。采用随机数字表将 67 只体质量 215~330 g 健康雌性 Wistar 大鼠分成实验组 57 只, 对照组 10 只。注射浓度大于  $1 \times 10^6/10 \mu\text{L}$ , 注射点位于 bregma 点前 1 mm, 矢状缝右旁开 3 mm 处, 注射方式采用硬脑膜下进 6 mm, 退 1 mm, 微量注射器注射速度为  $10 \mu\text{L}/\text{min}$ , 整个过程缓慢进行, 接种后大鼠先单笼喂养, 记录苏醒时间、饮水进食及精神状态等。对照组为假手术组, 注射相同剂量不含 C6 胶质细胞的全培养基。

## 1.2 方法

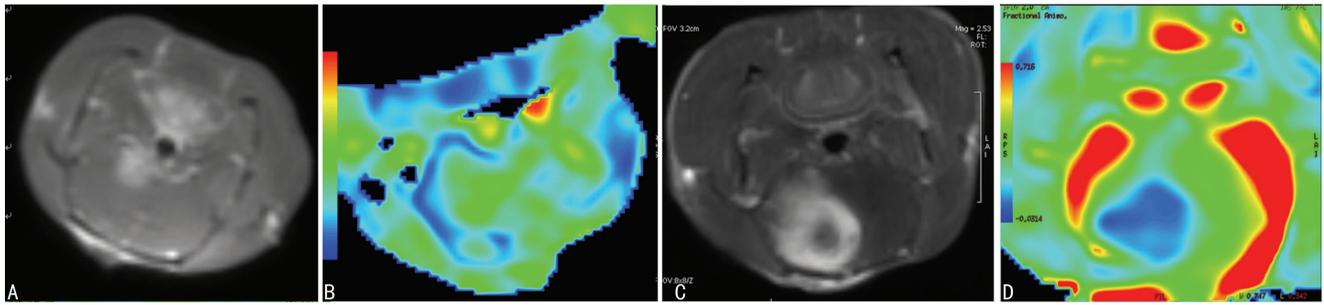
**1.2.1 DTI 扫描及图像处理** DTI 扫描采用美国 GE 公司 3.0T 医用扫描机, 配备大鼠专用线圈, 通道数目为 8, 所有成活

大鼠分别在接种后第 1~2 周(22 只)和 3~4 周(35 只)行常规 MRI 及 DTI 检查, 增强方式采用尾静脉注射钆喷替酸葡甲胺(Gd-DTPA, Mmagnevist, Schering, 德国)  $2.5 \sim 3 \text{ mL}/\text{kg}$ , 增强序列为常规轴位 T1WI 和 T1-3D-IR-FSPGR 序列。T2WI 序列参数为 TR 3 000 ms, TE 120 ms, 层间距 0 mm, 层厚 3 mm, 矩阵  $192 \times 192$ 。DTI 采用自旋回波的回波平面成像(SE-EPI), 15 个非共线梯度方向, 梯度扩散因子(b)值为  $0.800 \text{ s}/\text{mm}^2$ , TR 2 500 ms, TE 88.7 ms。

DTI 原始数据均由 GE 公司 ADW4.4 后处理工作站的 Function Tool 软件进行, 首先消除图像噪声, 经工作站自动计算产生部分各向异性分数(FA)图, 并进行图像配准, 获得瘤体感兴趣区(ROI)的 FA 值。ROI 选择避开出血、坏死、脑沟裂池等影响测量结果的区域<sup>[4]</sup>, 以降低测量误差。图像分析由两名高级职称神经影像专家共同完成, 在两人达成共识的情况下确定瘤体及对侧镜像脑组织区各多个等大( $2 \text{ mm}^2, 9\text{Pix}$ )ROI, 得到相应部位的 FA 值。

**1.2.2 HE 染色和免疫组织化学检查** 所有接受 DTI 扫描的大鼠, 1% 戊巴比妥钠( $40 \text{ mg}/\text{kg}$ )麻醉后经心脏灌注 4% 多聚甲醛固定全脑 24~48 h 切片, 取瘤体最大层面做连续冠状切片进行 HE 染色, 光镜下观察接种肿瘤的分化程度, 根据世界卫生组织(WHO)2002 年中枢神经系统肿瘤的分类分级标准

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81360228); 海南省自然科学基金资助项目(813259); 海口市重点科技计划项目(2013-72、2011-0145); 海南省卫生厅项目(琼卫 2011-67)。 作者简介: 李香营(1982-), 主治医师, 硕士, 主要从事中枢神经系统影像诊断。



A、B: T1 增强及 FA 伪彩图显示右侧大鼠大脑半球低级别 C6 胶质瘤。C、D: T1 增强及 FA 伪彩图显示右侧大鼠大脑半球高级别 C6 胶质瘤, 瘤体内出现坏死

图 1 不同级别 C6 脑胶质瘤 T1 增强和 FA 图

确定胶质瘤分级, 低级别胶质瘤为 WHO I ~ II 级, 高级别胶质瘤为 WHO III ~ IV 级。另取切片 3 张行 GFAP 免疫组织化学检查, 方法按试剂盒说明书完成。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS24.0 统计分析, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较用  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 MRI 检查结果** 实验组 57 只大鼠均成功完成 MRI 扫描, 低级别胶质瘤体积相对较小, 信号均匀, 增强后多呈轻度均匀强化。高级别胶质瘤肿瘤体积多较大, 信号不均匀, 增强后多以明显不均匀强化或环状强化为主。DTI 显示瘤体高级别胶质瘤瘤体 FA 值为  $(0.167 \pm 0.035)$ , 低级别胶质瘤瘤体 FA 值为  $(0.147 \pm 0.015)$ , 差异有统计学意义 ( $t = 2.34, P < 0.05$ ), 见图 1。10 只对照组大鼠 MRI 扫描检查未见异常信号。

**2.2 病理结果** 本组研究 57 只荷瘤大鼠中, 低级别胶质瘤 (WHO I ~ II 级) 18 只, 高级别胶质瘤 (WHO III ~ IV 级) 39 只, 其中 1 ~ 2 周时, 肿瘤级别 I ~ II 级 18 例, III ~ IV 级 4 例, 接种 3 ~ 4 周, 肿瘤级别 III 级 14 例, IV 级 21 例。HE 染色显示瘤体肿瘤细胞排列密集, 以高级别更加明显, 伴有不同程度出血和坏死, 细胞核异形性明显。对照组大鼠均未见肿瘤生长。

## 3 讨论

胶质瘤是脑内最常见的恶性肿瘤, 占原发性脑肿瘤的 80% [3], 术前准确评估胶质瘤的恶性程度对预测肿瘤生物学行为, 制定手术方案及预测转归、评估预后至关重要 [2, 5]。由于肿瘤存在不同程度的异质性, 根据活检或手术切除标本的组织学特点进行分级存在一定缺陷 [6]。DTI 作为一种新的功能成像方法, 可以反映水分子的弥散特点, 评估组织微观结构变化, 广泛用于胶质瘤诊断、鉴别诊断、分级及手术方案的制订 [1, 7]。大鼠 C6 脑胶质瘤接近于人脑胶质瘤的生物学特性, 并且实验结果具备良好的可重复性, 为此本研究通过建立鼠脑胶质瘤模型, 旨在探讨临床 3.0T DTI 在 Wistar 大鼠 C6 脑胶质瘤分级中的应用价值。

本组实验结果显示 C6 细胞在接种 1 ~ 2 周时, 肿瘤级别 I ~ II 级 18 例, III ~ IV 级 4 例, 接种 3 ~ 4 周, 肿瘤级别 III 级 14 例, IV 级 21 例, 这与已有研究结果相似 [8-9], 也进一步证实了鼠脑胶质瘤的病理级别与 C6 细胞接种后处死的时间窗有关 [10]。不过李明等 [11] 通过将 C6 细胞接种到 SD 大鼠, 并在不同时间点扫描处死大鼠后发现肿瘤的病理级别在 II ~ III 级, 推测可能与植入的细胞种类、动物个体间差异及接种后处理时间等因素有关。

本研究通过建立不同时间段大鼠 C6 脑胶质瘤模型后高

级别胶质瘤瘤体 FA 值高于低级别胶质瘤, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 这与国内外多项研究结果相似 [12-13]。不过 FA 值在胶质瘤分级中的作用研究结果也存在一定争议, EL-SEROUGY 等 [3] 在一项 35 例胶质瘤患者的 DTI 研究中发现瘤体 MD 值联合瘤周组织 FA 值对鉴别高级别胶质瘤和低级别胶质瘤有一定帮助, 而瘤体 FA 值在胶质瘤分级中作用有限。这可能有两方面原因: (1) FA 值受多种因素影响, 比如肿瘤细胞密度、细胞外间隙、白质纤维髓鞘完整性等; (2) 目前研究多针对 DTI 在胶质瘤患者分级中的应用, 因不同患者存在异质性, 缺乏实验的可重复性, 研究结果存在争议。不过, 本组研究采用接近人脑胶质瘤的大鼠胶质瘤模型, 实验结果具备良好的可重复性, 降低了个体异质性造成的实验倚倚。

综上所述, 通过建立 C6 大鼠脑胶质瘤模型发现, DTI 参数 FA 值可以为术前胶质瘤分级提供准确可靠、无创的影像学信息。不过本研究也存在一些缺陷, 首先本研究样本量较少, 无法确定胶质瘤分级的具体阈值, 这也是以后研究的方向。另外临床 3.0T 磁共振空间分辨率不足, 不能满足大鼠白质纤维示踪, 之后本课题组将进行更高场强 MRI 鼠脑胶质瘤分级研究。

## 参考文献

- [1] MOHAMMADZADEH A, MOHAMMADZADEH V, KOORAKI S, et al. Pretreatment evaluation of glioma [J]. Neuroimaging Clin N Am, 2016, 26(4): 567-580.
- [2] PAPAGEORGIOU T S, CHOURMOUZI D, DREVELENGAS A, et al. Diffusion tensor imaging in brain tumors: A study on gliomas and metastases [J]. Phys Med, 2015, 31(7): 767-773.
- [3] EL-SEROUGY L, ABDEL R A A, EZZAT A, et al. Assessment of diffusion tensor imaging metrics in differentiating low-grade from high-grade gliomas [J]. Neuroradiol J, 2016, 29(5): 400-407.
- [4] WANG W, STEWARD C E, DESMOND P M. Diffusion tensor imaging in glioblastoma multiforme and brain metastases: the role of p, q, L, and fractional anisotropy [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2009, 30(1): 203-208.
- [5] CHOI Y S, AHN S S, LEE S K, et al. Amide proton transfer imaging to discriminate between low- and high-grade gliomas: added value to apparent diffusion coefficient and relative cerebral blood volume [J]. Eur Radiol, 2017, 27(8): 3181-3189.

阳”之功,通过加热的针体,将火热通过腧穴和经脉直接导入人体,其对白癜风皮损局部或穴位的温热刺激,能疏通经络、调和气血,使局部气血畅通。并通过“引火助阳”,增加人体阳气,扶助正气,激发经气,调节脏腑,使经络通,气血行,并可开腠理,使风寒祛,湿滞化,从而扶正祛邪,治疗白癜风<sup>[13]</sup>。

本研究采用的“改良火针”,即改用毫针(普通不锈钢针灸针)做火针针具,克服了原始火针的缺点,突出了火针的优势。其特点有:针体细小,对皮肤损伤轻;易于燃烧,在火焰下烧针片刻即针体通红,针后出血少,基本不晕针;易于操作,对病变面积较大者可用多针同时治疗,减轻患者痛苦,减轻了患者的恐惧心理;普通针灸针做针具,便于普及应用。

本研究采用自身对照试验设计,选择对称或相邻两块皮损,能有效减少患者病程、年龄等引起的偏倚。对照采用他克莫司是目前白癜风治疗的阳性药物,本研究发现,采用火针治疗稳定期白癜风与他克莫司治疗白癜风的 3 个月临床疗效相当。对于 CLSM 图像特点分析发现治疗前皮损处黑色素消失,基底层及真皮乳头周围明亮的“圆形”或“椭圆形”的黑素环完全消失;火针治疗后,随着复色的出现,CLSM 观察可见皮损处树突状黑色素细胞出现,色素含量逐渐增多,逐渐形成完整的色素环,黑色素环逐渐变亮。说明 CLSM 可作为火针治疗后连续动态观察黑色素细胞恢复情况的无创性客观可靠检查手段。本研究也存在局限性。首先,纳入的白癜风患者平均病程超过 2 年,3 个月的治疗周期相对来说稍短,可能还不能完全观察到火针治疗白癜风的疗效;其次,纳入的患者全为稳定期患者,火针治疗进展期白癜风的临床疗效尚不清楚。在未来的临床研究中,将在本次研究的基础上,进一步提高研究质量,观察火针治疗白癜风的长期疗效。

## 参考文献

- [1] TARLÉ R G, NASCIMENTO L M, MIRA M T, et al. Vitiligo—part 1[J]. *An Bras Dermatol*, 2014, 89(3): 461-470.
- [2] FARIA A R, TARLÉ R G, DELLATORRE G, et al. Vitiligo—Part 2—classification, histopathology and treatment [J]. *An Bras Dermatol*, 2014, 89(5): 784-790.
- [3] ZHANG Y, CAI Y, SHI M, et al. The prevalence of vitiligo: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0163806.
- [4] 张峥,肖凤丽,杜文辉. 中国汉族人白癜风伴自身免疫疾病与遗传关系[J]. *安徽医科大学学报*, 2008, 43(2): 194-196.
- [5] AMER A A, GAO X H. Quality of life in patients with vitiligo: an analysis of the dermatology life quality index outcome over the past two decades[J]. *Int J Dermatol*, 2016, 55(6): 608614.
- [6] RADTKE M A, SCHÄFER I, GAJUR A, et al. Willingness-to-pay and quality of life in patients with vitiligo[J]. *Br J Dermatol*, 2009, 161(1): 134-139.
- [7] SILVERBERG J I, SILVERBERG N B. Quality of life impairment in children and adolescents with vitiligo[J]. *Pediatr Dermatol*, 2014, 31(3): 309-318.
- [8] 杨素清,孙微,邹存清,等. 火针疗法治疗白癜风近况[J]. *针灸临床杂志*, 2014, 30(4): 77-78.
- [9] 赖来桂,许爱娥. 几种色素减退性皮肤病的共聚焦激光扫描显微镜图像特点[J]. *中华皮肤科杂志*, 2011, 44(4): 273-275.
- [10] 李彦希,黎智,陶轶妮,等. 激光共聚焦扫描显微镜在皮肤科的应用进展及评价[J]. *重庆医学*, 2013, 42(16): 1904-1906.
- [11] 中国中西医结合学会皮肤性病专业委员会色素病学组. 白癜风治疗共识[J]. *中华皮肤科杂志*, 2014, 47(1): 69-71.
- [12] 中华中医药学会皮肤科分会. 白癜风中医治疗专家共识[J]. *中国中西医结合皮肤性病学杂志*, 2017, 16(2): 191-192.
- [13] 张婧怡,陈卫东,刘玉蕊,等. 黄蜀运用温阳法治疗白癜风经验[J]. *四川中医*, 2016(3): 11-13.

(收稿日期:2017-10-06 修回日期:2017-12-12)

(上接第 1154 页)

- [6] CHAWALPARIT O, SANGRUCHI T, WITTHIWEJ T, et al. Diagnostic performance of advanced MRI in differentiating high-grade from low-grade gliomas in a setting of routine service[J]. *J Med Assoc Thai*, 2013, 96(10): 1365-1373.
- [7] LIANG R, WANG X, LI M, et al. Potential role of fractional anisotropy derived from diffusion tensor imaging in differentiating high-grade gliomas from low-grade gliomas: a meta-analysis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(10): 3647-3653.
- [8] 陈淑玲,郭子义,钟小航. 晚期鼠脑胶质瘤模型的建立与磁共振灌注成像研究[J]. *重庆医学*, 2014, 43(25): 3317-3318, 3321.
- [9] 李香营,魏晓,刘辉,等. Wistar 大鼠 C6 脑胶质瘤晚期阶段模型的建立及 MR 成像[J]. *实用放射学杂志*, 2012, 28(3): 461-464.
- [10] 魏晓,李香营,袁园,等. 适于脑胶质瘤浸润 MRI 研究的动物模型构建[J]. *中国医学计算机成像杂志*, 2013, 19(4): 390-392.
- [11] 李明,冯华,李飞,等. 大鼠 C6 脑胶质瘤模型的病理特征与 MRI 的观察[J]. *中华神经外科杂志*, 2005, 21(5): 279-282.
- [12] 蒋玲,姚振威,冯晓源,等. DTI 定量参数对胶质瘤分级与肿瘤增殖活性的评价[J]. *中国医学计算机成像杂志*, 2013, 19(2): 106-110.
- [13] SERVER A, GRAFF B A, JOSEFSEN R, et al. Analysis of diffusion tensor imaging metrics for gliomas grading at 3 T[J]. *Eur J Radiol*, 2014, 83(3): 156-165.

(收稿日期:2017-10-20 修回日期:2017-12-04)