

❖ 实验研究

Comparison of ultrasmall superparamagnetic iron oxide and Gd-DTPA as contrast agents for MR perfusion weighted imaging in rat C6 brain gliomas

YIN Min-min, YU Yong-qiang*, HUANG Wei-yuan, QIAN Yin-feng
(Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China)

[Abstract] **Objective** To compare the similarities and differences between ultrasmall superparamagnetic iron oxide (USPIO) PWI and Gd-DTPA PWI, and to observe the feasibility of USPIO PWI in evaluating tumor angiogenesis. **Methods** C6 glioma model in 30 male rats were established and divided into two groups in random; USPIO PWI group and Gd-DTPA PWI group. Conventional MR imaging and PWI were performed at 12 days of tumor age. USPIO PWI and Gd-DTPA PWI were performed, respectively. Imaging sequences included SE T1W, FSE T2W, EPI PWI. ROIs at the largest section of tumor were selected in each rat. Perfusion curves of tumors in enhancement areas and contralateral normal brain tissue were obtained, and the maximum signal reduction ratio (SRR_{max}), regional blood volume (rBV) and the ratio of each parameter (QrBV, QSRR_{max}) between the two ROIs were calculated. Histopathology examination was performed with HE staining and immunohistochemistry of GFAP. **Results** Statistical differences of the rBV and SSR_{max} were found between tumor tissue and normal brain tissue in both USPIO PWI and Gd-DTPA PWI group ($P < 0.05$). The rBV and SSR_{max} in USPIO PWI group were higher than those in Gd-DTPA PWI group ($P < 0.05$). Statistical difference of the QrBV and QSRR_{max} were also found between the two groups ($P < 0.05$). **Conclusion** USPIO PWI can demonstrate more obvious perfusion effect than Gd-DTPA, therefore being helpful to the evaluation of tumor microcirculation.

[Key words] Glioma; Perfusion imaging; Gadolinium DTPA; Ferumoxtran-10

大鼠 C6 脑胶质瘤超小型超顺磁氧化铁灌注成像与 Gd-DTPA 灌注成像对比

殷敏敏, 余永强*, 黄薇园, 钱银锋
(安徽医科大学第一附属医院放射科, 安徽 合肥 230022)

[摘要] **目的** 比较大鼠 C6 脑胶质瘤超小型超顺磁氧化铁(USPIO)PWI 与 Gd-DTPA PWI 的异同点, 观察 USPIO PWI 评价胶质瘤微血管水平血流灌注的可行性。**方法** 对 30 只雄性 SD 大鼠接种 C6 胶质瘤, 并随机分成 2 组: USPIO PWI 组及 Gd-DTPA PWI 组, 于接种后 12 天行常规 MR 及 PWI 扫描, 之后行 SE T1W 或 FSE T2W 增强扫描。于肿瘤最大层面选取 ROI, 分别于肿瘤强化区及对侧正常脑实质区获取灌注曲线, 计算 ROI 的最大信号强度下降百分比(SRR_{max})、相对血流容积(rBV)及肿瘤组织与正常脑组织 rBV 比值(QrBV)和 SRR_{max} 比值(QSRR_{max}), 同时取肿瘤组织行 HE 及 GFAP 染色。**结果** USPIO PWI 组及 Gd-DTPA PWI 组肿瘤组织 rBV 和 SRR_{max} 值均明显高于对侧正常脑组织 ($P < 0.05$)。USPIO PWI 组肿瘤组织 rBV 和 SRR_{max} 均高于 Gd-DTPA PWI 组 ($P < 0.05$)。USPIO PWI 组与 Gd-DTPA PWI 组的肿瘤组织与正常脑组织 QrBV 和 QSRR_{max} 值之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 与 Gd-DTPA PWI 相比, USPIO PWI 具有更加明显的灌注效应, 有助于评估肿瘤微循环。

[作者简介] 殷敏敏(1982—), 女, 安徽淮南人, 硕士, 医师。研究方向: 神经影像学。E-mail: 65962199@qq.com

[通讯作者] 余永强, 安徽医科大学第一附属医院放射科, 230022。E-mail: shenyx@ustc.edu.cn

[收稿日期] 2010-08-01 **[修回日期]** 2010-08-27

[关键词] 胶质瘤; 灌注成像; 钆喷酸葡胺; 氧化铁纳米粒子

[中图分类号] R739.41; R445.2 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2011)03-0444-05

血管生成在肿瘤生长中起关键作用,许多学者致力于抗血管生成治疗肿瘤的研究^[1]。动态对比剂增强 MR PWI 可直接测量脑血流生理参数相对血流容积 (regional blood volume, rBV), 并进行定量比较, 被广泛用于脑胶质瘤的诊断及分级等方面^[2]。Gd-DTPA 是目前临床上常规应用的 MR 对比剂, 超小型分布于细胞外液, 无细胞和组织特异性。而作为一种新型网状内皮系统靶向特异性细胞内对比剂, 超小型超顺磁氧化铁 (ultrasmall superparamagnetic iron oxide, USPIO) 血浆半衰期更长, 可被组织细胞吞噬, 具有较明显的缩短 T1、T2 弛豫时间的效应; 且与 Gd-DTPA 相比, 在成像技术上具有提高对比噪声比和屏蔽血管伪影的优势。本研究建立大鼠胶质瘤模型, 比较 USPIO 与 Gd-DTPA 灌注增强扫描的异同点, 探讨 USPIO PWI 在胶质瘤模型中的可能优势及适用条件。

1 材料与方法

1.1 材料及设备 C6 胶质瘤细胞株购于中国科学技术大学细胞生物研究所细胞库。清洁级雄性 SD 大鼠 30 只, 3~4 月龄, 体质量 220~250 g。对比剂为 Gd-DTPA 及 Guerbet USPIO (1 g/瓶)。采用 GE Signa HDxt 3.0T 超导磁共振成像仪, 专用动物线圈, 于 GE ADW 4.2 工作站分析图像。

1.2 细胞培养、模型制备及分组 将对数生长期 C6 胶质瘤细胞调制成浓度 $1 \times 10^6/10 \mu\text{l}$, 用于接种。术前 12 h 停饲、停水。腹腔麻醉后保定大鼠, 定点为冠状缝前 1 mm, 矢状缝右侧旁 3 mm, 以牙科钻钻孔, 微量注射器抽取 C6 细胞悬液 $10 \mu\text{l}$, 沿钻孔垂直进针深 5 mm, 以 $1 \mu\text{l}/\text{min}$ 流率注射, 注射后留针 3~5 min, 缓慢拔针。以骨蜡封闭, 缝合切口并肌内注射青霉素, 常规饲养。SD 大鼠按随机数字表法分成 2 组, 每组 15 只, 分别为 USPIO PWI 组和 Gd-DTPA PWI 组。

1.3 MR 常规及灌注扫描

1.3.1 常规扫描 于接种 12 天后行大鼠颅脑 MR 检查, 采用专用动物线圈采集 T1WI 和 T2WI, 层厚 2.5 mm, 间隔 0, FOV $6 \text{ cm} \times 4.8 \text{ cm}$, 矩阵 320×224 , NEX 6。SE 序列 T1WI: TR 540 ms, TE 17.4 ms。FSE 序列 T2WI: TR 2000 ms, TE 72 ms。

1.3.2 灌注扫描 常规扫描后行轴位 PWI。采用 SE-EPI, TR 1800 ms, TE 43.5 ms, 层厚 4.0 mm, 间隔 0, FOV $6.0 \text{ cm} \times 4.8 \text{ cm}$, 矩阵 128×128 , NEX 1。

每一选定层面获取 4 幅基本图像后注入相应剂量的对比剂, 每层面共获取 45 幅图像, 成像时间 81 s。PWI 扫描结束后行轴位增强扫描, SE 序列 T1WI: TR 540 ms, TE 17.4 ms。FSE 序列 T2WI: TR 2000 ms, TE 72 ms。

1.4 数据后处理 在 SPARC 工作站 (Sun Microsystems) 对 MR PWI 原始数据进行处理。于肿瘤最大层面选取 ROI, 大小为 5~10 个像素, 分别于肿瘤强化区 (避开明显无强化坏死区) 及对侧正常脑实质区, 获取灌注曲线、测量相应数据。将所获得的数据输入 PC 机上相应的软件程序中, 计算各参数值。计算公式如下:

$$\text{SRR}_{\max} = (\text{SI}_{\text{pre}} - \text{SI}_{\text{min}}) / \text{SI}_{\text{pre}} \times 100\%$$

$$\Delta R2^* = -\ln(\text{SI}_t / \text{SI}_{\text{pre}}) / \text{TE}$$

$$\text{rBV} = \int \Delta R2^* dt$$

$$Q = X_{\text{tum}} / X_{\text{bra}}$$

式中 SRR_{\max} 为最大信号下降百分比, SI_{pre} 表示灌注成像平稳基线阶段图像 ROI 信号的平均值, SI_{min} 表示灌注成像中 ROI 信号的最小值。 $\Delta R2^*$ 表示 T2* 弛豫率, SI_t 表示对比剂首过期间任一时间点的 ROI 信号强度, TE 为 PWI 时的回波时间。Q 为肿瘤组织与正常脑组织 SRR_{\max} 或 rBV 比值。X 表示 SRR_{\max} 或 rBV, tum 表示肿瘤, bra 则代表正常脑组织。

1.5 病理检查 取肿瘤组织行 HE 染色, 免疫组化采用 GFAP 作为指标。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 11.0 统计软件, 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不同组间参数比较采用配对 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 平扫及增强 MR 表现 移植肿瘤后 12 天, 平扫 T1WI 肿瘤组织呈等或稍低信号, 坏死区呈明显低信号; T2WI 肿瘤组织呈稍高信号, 坏死区呈明显高信号。增强扫描: USPIO PWI 组 T2WI 肿瘤组织信号降低, 呈稍低信号, 以肿瘤周边区域显著, 坏死区无强化 (图 1); Gd-DTPA PWI 组 T1WI 肿瘤组织明显强化, 坏死区无强化 (图 2)。

2.2 PWI 图像及曲线 大鼠 C6 胶质瘤的 MR PWI 曲线表现为对比剂首过期间信号强度下降幅度加大, 回复基线的时间延长, 部分大鼠首过下降曲线紊乱、不规则。USPIO PWI 组灌注曲线平均通过时间较 Gd-

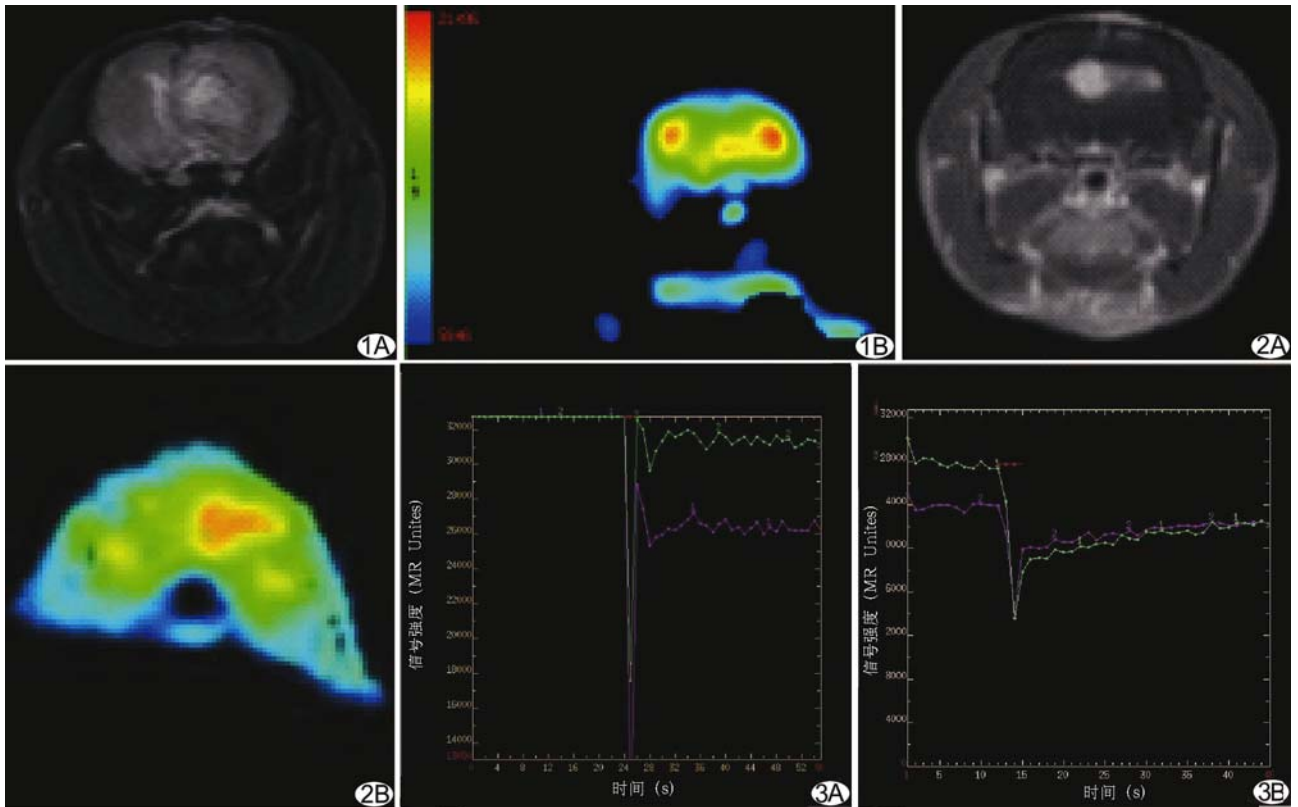


图 1 USPIO 灌注 A. 增强 T2WI 显示肿瘤组织位于右侧基底节区, 肿瘤组织周边呈低信号强化; B. CBV 伪彩图, 显示肿瘤组织呈红色高灌注区 图 2 Gd-DTPA 灌注 A. 增强 T1WI, 显示肿瘤组织位于右侧基底节区; B. CBV 伪彩图, 显示肿瘤组织呈红色高灌注区 图 3 USPIO 灌注曲线及 Gd-DTPA 灌注首过效应对比 图示对比剂首过期间信号下降。USPIO 组(A)信号下降程度大于 Gd-DTPA 组(B)。对比剂首过后肿瘤组织信号强度低于对侧正常脑组织, 这种差异在 USPIO 组(A)更明显

DTPA PWI 组时间长, 恢复基线水平后肿瘤组织信号强度低于对侧正常脑组织。Gd-DTPA PWI 组恢复基线水平后肿瘤组织信号强度稍低于对侧正常脑组织(图 3)。

USPIO PWI 组、Gd-DTPA PWI 组肿瘤组织与对侧正常脑组织的 rBV 和 SRR_{max} 值之间差异均有统计学意义(P<0.05), 肿瘤组织的 rBV 值和 SSR_{max} 均明显高于对侧正常脑组织(P 均<0.05, 表 1); USPIO PWI 组肿瘤组织 rBV 和 SRR_{max} 均高于 Gd-DTPA PWI 组(P<0.05)。USPIO PWI 组与 Gd-DTPA PWI 组 QrBV 和 QSRR_{max} 之间差异有统计学意义(P<0.05, 表 2)。

表 1 两组肿瘤组织和正常脑组织 rBV 和 SRR_{max} 值 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

| 组别 | 部位 | rBV | SRR _{max} |
|---------------|-------|-------------------|--------------------|
| USPIO PWI 组 | 肿瘤组织 | 31 749.43±209.62* | 71.39±9.22* |
| | 正常脑组织 | 29 182.39±408.79 | 46.40±3.28 |
| Gd-DTPA PWI 组 | 肿瘤组织 | 21 863.71±173.48# | 44.88±4.93# |
| | 正常脑组织 | 18 497.31±163.56 | 39.50±3.49 |

注:与正常脑组织相比, #: P<0.05, *: P<0.01

2.3 病理 病理检查证实所有大鼠肿瘤皆为胶质瘤(Ⅲ~Ⅳ级), HE 染色可见胶质瘤细胞(图 4), 免疫组化见 GFAP 阳性表达, 提示血管生成活跃(图 5)。

表 2 USPIO PWI 组和 Gd-DTPA PWI 组 QrBV 和 QSRR_{max} 值 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

| 组别 | QrBV | QSRR _{max} |
|---------------|-----------|---------------------|
| USPIO PWI 组 | 2.21±0.29 | 1.60±0.20 |
| Gd-DTPA PWI 组 | 1.83±0.30 | 1.22±0.87 |

3 讨论

常规 MR 增强扫描对胶质瘤的诊断与分级有一定作用, 但增强反映的是血脑屏障(blood brain barrier, BBB)破坏, 而非肿瘤供血及新生血管生成, 无法提供肿瘤血流灌注等方面的信息。PWI 是活体无创检测肿瘤组织的微血管水平血流灌注情况的方法, 可提供血流动力学方面的信息; 根据团注后对比剂首过期间引起的信号下降^[3], 通过脑血流灌注图(rBV 图), 可直观显示不同区域血流灌注的差异, 并能通过测量

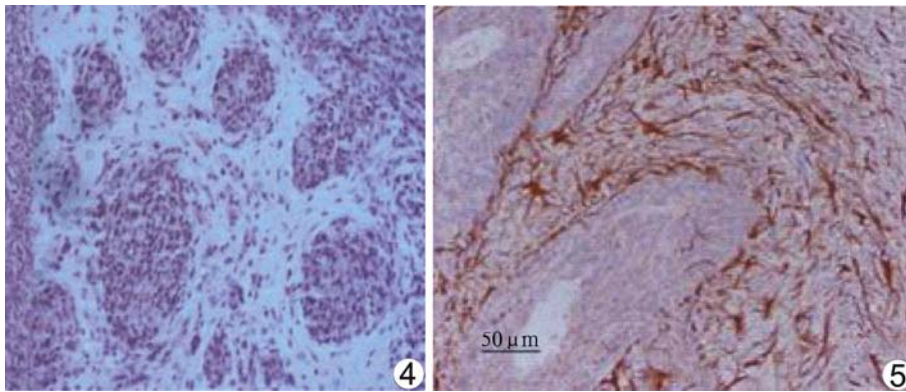


图4 胶质瘤病理切片 肿瘤细胞体积小,形态异常,细胞核大、深染(HE,×400) 图5 免疫组化 GFAP 阳性表达(×200)

ROI的rBV值,定量测量局部区域的微血管水平血流灌注情况,与肿瘤的恶性程度及病理分级有很好的相关性。胶质瘤作为脑内最常见的肿瘤,其PWI参数不仅反映肿瘤组织供血血管及新生血管血流灌注情况,也反映着BBB的破坏情况^[4-5]。

3.1 MR PWI扫描序列的选择 MR PWI常选用快速GRE-EPI及SE-EPI序列。快速GRE-EPI序列能在1s内获取10层以上图像,是较理想的快速动态增强扫描序列;但SE上T₂的横向弛豫率 ΔR_2 与GRE序列上的 ΔR_2^* 有所不同。随着血管管径的增加, ΔR_2 增加,当血管管径达1~2 μm 时, ΔR_2 达峰值;血管管径 $>3\mu\text{m}$ 时, ΔR_2^* 仍可维持较高值。另一方面,GRE较易产生磁化率伪影,尤其是在脑骨交界处的病灶,如颞叶或前额叶的病灶;同时,GRE可能由于静脉的混淆而过高估计局部脑血流量^[6-8],故SE T₂W对微血管的敏感性较高,常用于评估毛细血管水平的血管,而GE T₂W则对毛细血管和大血管均敏感,有利于提高存在较粗血管的恶性胶质瘤的诊断率。本实验中由于大鼠模型头颅体积较小,易受磁化率伪影的影响,故选用SE-EPI序列进行PWI扫描。

3.2 活体USPIO PWI的可行性 研究发现,USPIO可缩短T₁弛豫时间,显著缩短T₂弛豫时间,导致T₁WI信号增高,T₂WI/T₂^{*}WI信号减低。基于CBV的脑功能,MRI主要利用的是USPIO的T₂/T₂^{*}效应。USPIO的半衰期较长,可作为血池对比剂进行脑灌注成像。USPIO在血中达到稳态浓度后,影响血管分布周围组织的弛豫,造成局部磁场不均匀,加速质子去相位的T₂/T₂^{*}弛豫,使局部组织信号降低。通过测量CBV的相对值,可观测脑肿瘤血管的生成和血流灌注变化,反映脑肿瘤的生长功能^[9]。从高分辨

力的脑功能MRI结果推测,USPIO反映的CBV主要是源自界于皮层血管和毛细血管之间的血管结构;而且体内USPIO主要由单核巨噬细胞系统吞噬代谢,USPIO退化分解时,其中的铁进入血池,成为红细胞的原料或转入其他天然的铁代谢途径,故USPIO作为对比剂非常安全。

3.3 USPIO PWI与Gd-DTPA PWI的异同 Gd-DTPA和USPIO都能为准确诊断胶质瘤提供

有价值的信息。但Gd-DTPA用于MR PWI所需剂量较大、入血后迅速进入细胞间隙,易低估rBV^[10],且易受对比剂注射剂量、注射速率及扫描方式的影响。而USPIO颗粒直径50~150nm,漏入组织间隙的量很少;且具有较长的血浆半衰期,在灌注扫描过程中绝大部分停留在血管系统内,使测得的rBV相对准确。本实验中胶质瘤区域USPIO PWI组的rBV及SRR_{max}均高于Gd-DTPA PWI组,两组之间标准化后的QrBV及QSRR_{max}差异亦有统计学意义,提示USPIO能避免对比剂外漏造成的对rBV估计不准。USPIO PWI组肿瘤组织的rBV值和SSR_{max}均明显高于对侧正常脑组织,提示USPIO灌注成像增大了肿瘤组织与正常组织之间的对比,有助于提高诊断胶质瘤的准确性。本实验结果显示,USPIO较Gd-DTPA具有更大的CBV和SRR_{max},推测USPIO PWI对于抗血管生成治疗后引起的CBV降低可能更敏感,使得早期监测治疗效果成为可能。此外,目前采用这两种对比剂都仅能提供灌注成像的相对值,间接反映肿瘤血管生成状态,而不能直接量化评估血供情况,需后续研究加以改进。

肿瘤新生血管的血管内皮间隙较大,基膜不完整,内皮细胞周围相对缺乏平滑肌,对大分子物质多有较高的通透性^[11]。由于大量新生血管的高通透性及Gd-DTPA本身的理化特性,Gd-DTPA注入后很快漏入周围组织间隙,血管内对比剂量减少,使对比剂首过之后肿瘤组织与对侧正常脑组织之间的信号差异减小。USPIO进入血管后漏出量比较少,在血液系统中停留的时间较长,对比剂首过之后肿瘤组织信号低于对侧正常脑组织,两者之间信号强度的差异较Gd-DTPA明显。这种对比剂首过之后的信号强度变化

可在一定程度上提示新生血管的通透性及 BBB 的破坏程度,有助于预测肿瘤的恶性程度和侵袭性。

[参考文献]

[1] Kieran MW. Anti-angiogenic chemotherapy in central nervous system tumors. *Cancer Treat Res*, 2004, 117:337-349.

[2] 那婧, 谢德轩, 刘鹏飞, 等. 脑胶质瘤 MR 灌注成像和病理分级对照研究. *中国临床医学影像杂志*, 2006, 17(3):121-126.

[3] 张龙江, 包颜明, 祁吉, 等. 对比剂首过 MR 灌注成像在脑胶质瘤中的应用价值. *中国医学影像技术*, 2004, 20(5):810-813.

[4] De Bazelaire C, Siauve N, Fournier L, et al. Comprehensive model for simultaneous MRI determination of perfusion and permeability using a blood-pool agent in rats rhabdomyosarcoma. *Eur Radiol*, 2005, 15(12):2497-2505.

[5] Kostourou V, Robinson SP, Whitley GS, et al. Effects of over-expression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase on tumor angiogenesis assessed by susceptibility magnetic resonance imaging. *Cancer Res*, 2003, 63(16):4960-4966.

[6] Cha S, Johnson G, Wadghiri YZ, et al. Dynamic, contrast-enhanced perfusion MRI in mouse gliomas: correlation with histopathology. *Magn Reson Med*, 2003, 49(5):848-855.

[7] Jahan N, Narayanan P, Rockall A. Magnetic resonance lymphography in gynaecological malignancies. *Cancer Imaging*, 2010, 16(10):85-96.

[8] Su MY, Taylor JA, Villarreal LP, et al. Prediction of gene therapy-induced tumor size changes by the vascularity changes measured using dynamic contrast-enhanced MRI. *Magn Reson Imaging*, 2000, 18(3):311-317.

[9] Varallyay CG, Muldoon LL, Gahramanov S, et al. Dynamic MRI using iron oxide nanoparticles to assess early vascular effects of antiangiogenic versus corticosteroid treatment in a glioma model. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2009, 29(4):853-860.

[10] Allkemper T, Heindel W, Kooijman H, et al. Effect of field strengths on magnetic resonance angiography: comparison of an ultrasmall superparamagnetic iron oxide blood-pool contrast agent and gadopentetate dimeglumine in rabbits at 1.5 and 3.0 tesla. *Invest Radiol*, 2006, 41(2):97-104.

[11] Sugahara T, Korogi Y, Kochi M, et al. Perfusion-sensitive MR imaging of gliomas: comparison between gradient-echo and spin-echo echo-planar imaging techniques. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2001, 22(7):1306-1315.

《中国医学影像技术》被数据库收录情况

《中国医学影像技术》杂志是由中国科学院主管,中国科学院声学研究所主办的国家级学术期刊,被以下数据库收录:

- 中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)
- 中国科学引文数据库核心期刊
- 《中文核心期刊要目总览》收录期刊
- 中国科技期刊精品数据库收录期刊
- 荷兰《医学文摘》收录源期刊
- 英国《科学文摘》收录源期刊
- 俄罗斯《文摘杂志》收录源期刊
- 波兰《哥白尼索引》收录源期刊
- 荷兰《斯高帕斯数据库》收录期刊