

## 基础研究

## 靶向纳米微泡下高强度聚焦超声增效的声像图相关函数的应用研究

郭宇<sup>1</sup>, 邹建中<sup>1</sup>, 闵加艳<sup>1</sup>, 王冬<sup>2</sup>, 郭海英<sup>3</sup>

<sup>1</sup>重庆医科大学生物医学工程学院, 省部共建超声医学工程国家重点实验室, 超声医学工程重庆市市级重点实验室, 重庆 400016; <sup>2</sup>第三军医大学新桥医院超声科, 重庆 400037; <sup>3</sup>第三军医大学基础部细胞生物教研室, 重庆 400038

**摘要:**目的 探讨在靶向纳米微泡条件下,用高强度聚焦超声(HIFU)辐照后,声像图相关函数与HIFU辐照发生凝固性坏死的关系,以提高监控超声的判断灵敏度。方法 60只双侧第二乳腺建模成功的VX2移植性肿瘤兔随机分为90 W,120 W,150 W组,每组20只,采用HIFU定点辐照,辐照时间统一为3 s,辐照左侧肿瘤时注射微泡造影剂,右侧作对照,观测靶区辐照前后声像图变化和灰度值变化,并对靶区声像图进行相关函数运算,比较灰度判别方式与相关函数判别方式的准确性与灵敏性。结果 对120个样本进行辐照前后声像图相关函数分析,总判对率为83.3%,高于灰度判对率68.3%,其差异有明显统计学意义( $P<0.05$ );同一辐照条件下,微泡组坏死样本声像图相关函数平均值低于对照组,其差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 运用相关函数分析辐照前后靶区声像图,较灰度评价,其准确性、灵敏性更高,能有效提高HIFU疗效。

**关键词:**高强度聚焦超声;相关函数;凝固性坏死;声像图;纳米造影剂

中图分类号:R319 文献标志码:A 文章编号:1673-4254(2012)04-0527-04

doi: 10.3969/j.issn.1673-4254.2012.04.019 <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1627.R.20120405.1714.006.html>

## Study of the sonographic functions in targeted high-intensity focused ultrasound using nanoscale bubbles

GUO Yu<sup>1</sup>, ZOU Jianzhong<sup>1</sup>, MIN Jiayan<sup>1</sup>, WANG Dong<sup>2</sup>, GUO Haiying<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Chongqing Municipal Key Laboratory of Ultrasound Engineering in Medicine, State Key Laboratory of Ultrasound Engineering in Medicine Co-founded by Chongqing and MOST, College of Biomedical Engineering, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; <sup>2</sup>Department of Ultrasound, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China; <sup>3</sup>Department of Cell Biology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

**Abstract: Objective** To improve the detection sensitivity of coagulative necrosis caused by high intensity focused ultrasound (HIFU) exposure. **Methods** Sixty rabbits bearing VX2 breast neoplasms at the second bilateral breast were divided randomly into 3 groups ( $n=20$ ) for targeted HIFU exposure at 90, 120, or 150 W for 3 s. With the right breast neoplasms as the control, the left ones were irradiated following nanoscale bubble injection. The ultrasonograms generated before and immediately after the exposure were analyzed for changes in the gray scale values and for computation of the related functions in the target area. The accuracy and sensitivity of gray evaluation and analysis of the related functions were compared in the detection of coagulative necrosis. **Results** Analysis of the related functions of the 120 samples showed a significantly higher accuracy (83.3%) than gray scale-based evaluation (68.3%) in detecting the coagulative necrosis ( $P<0.05$ ). Under the same irradiation conditions, the mean values of the related function was significantly lower in microbubble group than in the control group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Analysis of the related functions of the ultrasonographic data can be used to evaluate the coagulative necrosis in the target exposure area following HIFU with a greater sensitivity and accuracy than gray-scale evaluation.

**Key words:** high-intensity focused ultrasound; correlation coefficient; coagulative necrosis; ultrasonographic; nanoscale contrast agents

收稿日期:2012-03-02

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)(2011CB707902);国家自然科学基金(30970767, 60601023)

Supported by National Key Basic Research Program (2011CB707902) and National Natural Science Foundation of China (30970767, 60601023).

作者简介:郭宇,硕士,E-mail: guoyu19870603@163.com

通讯作者:邹建中,教授,博士生导师,E-mail: zoujz@haifu.com.cn

随着高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)技术的发展,乳腺癌的治疗技术得到了更加全面的提升<sup>[1]</sup>,无创治疗技术也成了众多女性患者心仪的方式。B超灰度监控因成像快,无辐射,成本低,成为HIFU临床上应用最为广泛的监控技术,但灰度值变化情况受治疗强度,时间影响<sup>[2]</sup>,导致其存在30%的假阴性<sup>[3]</sup>,对实时疗效评价产生了一定的影响。本文通

通过对微泡组与对照组辐照前后靶区声像图进行相关函数分析,判别组织凝固性坏死情况,旨在寻求一种灵敏性、准确性更高的疗效评价方式,为今后的研究和临床运用提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

健康纯种雌性新西兰大白兔60只(购自重庆医科大学动物中心),体质量2.0~2.5 kg。7只荷瘤种兔(由超声医学工程重庆市市级重点实验室提供)。

### 1.2 材料

选取的乳腺癌靶向纳米微泡造影剂粒径大小分布于278.8~697.0 nm之间,平均值623.4 nm;微泡表面电位分布于-3.2~+9.5 mV之间,平均值1.3 mV(由第三军医大学新桥医院超声科提供)。

### 1.3 设备

彩色多普勒超声诊断仪GE Logic 9,探头频率为5.0 MHz(由第三军医大学新桥医院超声科提供)。JC200型聚焦超声肿瘤治疗系统(由重庆海扶(HIFU)技术有限公司提供),该系统包括超声实时监控定位和治疗设备2大部分。采用循环脱气水作声耦合剂,其含气<

$3 \times 10^{-6}$ (体积分数)。治疗时间3 s,治疗头频率为1.03 MHz,直径为220 mm,焦距为147 mm,治疗头可在X、Y、Z 3个方向随意移动。软件MATLAB R2010a, WEKA 3.7。

### 1.4 实验方法

1.4.1 模型的建立 无菌条件下切取VX2肿瘤种兔生长旺盛的肿瘤组织块,置于盛有生理盐水的EP管中,用眼科剪剪碎,制成组织块悬液,注入兔双侧第2乳腺皮下组织内,每侧各1 ml,于2周后于乳腺内扪及直径为10 mm大小的肿块。左侧乳腺肿瘤为微泡组,右侧为对照组,60只模型兔,随机分为90 W,120 W,150 W组,每组20只。

1.4.2 肿瘤的判别 通过彩色多普勒超声诊断仪GE Logic 9,探头频率为5.0 MHz,对肿瘤种植部位进行观测,判别患处包块的类型,观察其内部情况。

1.4.3 辐照过程 兔患部脱毛、麻醉后固定于治疗床,采用定点点打方式辐照肿瘤,将辐照点调节到肿瘤中心位置。先进行对照组的辐照,辐照结束后,在兔子耳缘静脉处打上留置针,由此处注射微泡溶液,待图像出现造影效果后进行微泡组辐照。共120个辐照点。

1.4.4 图像采集 每个样本均采集辐照前、辐照结束后即刻的声像图各1幅(图1)。

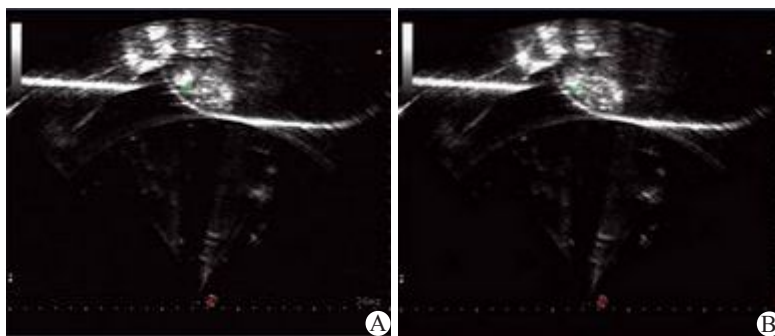


图1 微泡组辐照前后图像采集

A: 辐照前图像; B: 辐照后图像

Fig.1 Images in microbubble group taken before and after irradiation.

1.4.5 病理检查 辐照结束后处死实验兔,对辐照靶区及周边组织取材,保存于4%多聚甲醛溶液中,进行石蜡包埋、常规制片、HE染色,通过光镜观察靶区及其边缘是否发生凝固性坏死,并观察组织坏死的程度以及坏死体积的大小。把病理结果作为判别组织坏死的标准。

1.4.6 图像分析 用MATLAB R2010a软件截取辐照前后靶区声像图,像素大小 $30 \times 30$ ,用相关函数计算辐照后即刻与辐照前靶区声像图的相关函数最大值。将相关函数最大值输入WEKA 1.3.7软件支撑向量机(SVM)工具箱(SVM作为一种通用机器学习方法<sup>[4]</sup>,在解决非线性、小样本及高维模式识别中有其独特优势),通过SVM训练得出最佳的分类决策超平面。

### 1.5 统计分析

采用SPSS 17.0软件进行数据分析,计数资料采用卡方检验,计量资料使用 $t$ 检验,检验水准采用 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 各组实验兔乳腺肿瘤CDFI检查结果

对建模后的实验兔乳腺肿瘤行CDFI检查,可见肿瘤边界清楚,截面呈椭圆形,区域呈均匀团状低回声,周围有强回声环,内部血流丰富,提示建模成功(图2)。

### 2.2 病理结果与相关函数、灰度判别结果

HIFU定点辐照兔VX2乳腺肿瘤,造影组与对照组辐照前后声像图应用相关函数对凝固性坏死的诊断灵

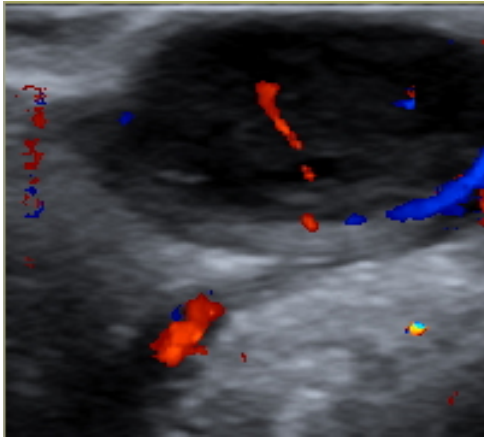


图2 辐照前肿瘤的彩色超声图像采集  
Fig.2 Color Doppler ultrasound image before irradiation.

敏度高于灰度的判别灵敏度,其差异有统计学意义, $P < 0.05$ ;120个样本应用相关函数总判对率(83.3%)高于灰度(68.3%),其差异有显著性意义, $P < 0.05$ (表1)。

2.3 各剂量组,微泡组与对照组相关函数值结果

各组坏死样本组织辐照前后靶区声像图相关函数值,微泡组低于对照组(90 W组,  $t = -2.66, P = 0.0159$ ; 120 W组,  $t = -3.60, P = 0.0011$ ; 150 W组,  $t = -2.23, P = 0.0329$ ,其差异有显著性意义,表2);其结果同病理检查一致,微泡组坏死程度和体积明显高于对照组(图3)。

表1 相关函数与灰度判别HIFU消融组织的结果

Tab.1 Related function and gray discriminant HIFU ablation organization results

分组	微泡组		对照组		总和
	坏死	非坏死	坏死	非坏死	
病理结果	44	16	35	25	120
相关函数判对率	86.4% <sup>a</sup>	81.3% <sup>a</sup>	85.7% <sup>a</sup>	76.0% <sup>a</sup>	83.3% <sup>a</sup>
灰度判对率	75.0%	62.5%	71.4%	56.0%	68.3%

与灰度判对率相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$

表2 辐照前后声像图相关函数值

Tab.2 Ultrasonogram-related function data before and after irradiation

分组	相关函数值	
	微泡组	对照组
90 W	0.56±0.02 <sup>a</sup>	0.65±0.07
120 W	0.50±0.08 <sup>a</sup>	0.61±0.09
150 W	0.48±0.08 <sup>a</sup>	0.54±0.06

与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$

3 讨论

HIFU是近年发展起来的无创技术<sup>[5]</sup>,应用于临床10余年,主要进行子宫肌瘤,乳腺肿瘤等实性肿瘤的治疗<sup>[6]</sup>。作为应用最为广泛的超声监控,存在着组织已发生凝固性坏死而灰度监控未显示的情况,导致总剂量过

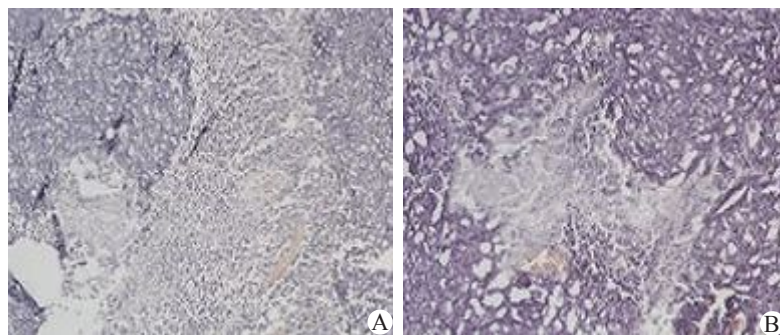


图3 HE染色图像  
A: 120 W微泡组; B: 120 W对照组

Fig.3 HE staining of the tumor tissues (Original magnification: ×400).

大、治疗时间延长,从而引起并发症<sup>[2-3]</sup>。

超声波入射粗糙界面后,其散射场会呈现无规则分布的散斑现象,二维超声图像中表现为斑纹结构,可以反映组织细节的信息。作为图像斑纹的分析方法之一的相关函数分析是两个信号之间相似性的一种量度,灵敏度高,能准确感应靶区组织的细微变化。

本研究中,对120个样本进行声像图相关函数分

析,其总判对率为83.3%,远高于灰度判对率68.3%,该结果与相关研究一致<sup>[7]</sup>。究其主要原因是:相关函数分析是两个信号之间相似性的一种量度,并对相同采集位置图像的细微变化,灵敏度高。而B超灰度判别是通过超声回波信号进行的图像转换,并屏蔽了其中的所谓超声噪音,忽略了超声散斑信号中包含的信息量,从而降低了其判别灵敏度。



实验研究中,分别提取微泡组和对照组坏死样本组织辐照前后靶区声像图的相关函数值,对比其均值和标准差可以发现,相同辐照条件下,微泡组的平均值小于对照组,其差异有统计学意义,并随着辐照剂量的增大,值减小,可以说明其坏死程度的大小,并且此结果和病理结果一致,说明通过声像图相关函数判别可以判断组织的坏死程度。原因是本研究采用的乳腺癌靶向纳米超声造影剂,其直径在278.8~697.0 nm之间,能穿过乳腺肿瘤中的血管内皮间隙,HIFU治疗时能改变组织内声学环境,增强靶区组织能量积聚<sup>[8-9]</sup>。靶区组织的变化程度以及组织发生变化的区域能通过相关函数有效的反应出来,研究中的直接反应就是通过其相关函数最大值的直接体现。

研究通过对辐照前、辐照后即刻声像图进行相关函数分析,判别其坏死情况,并通过相关值大小,对一定区域的组织坏死程度进行分析判别,从而寻求了一种有效提高HIFU治疗疗效的监控方法。但由于实验条件和样本数量有限,所选择辐照靶区内,整体坏死区域大小与局部坏死程度的深低与相关函数之间的关系还有待进一步深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 曹友德,朱辉,陈文直,等. 乳腺癌经高强度聚焦超声治疗后的病理变化[J]. 实用肿瘤杂志, 2001, 16(3): 161-3.
- [2] Liu BQ, Xiong SH, Wang ZB. The study on biological focal region of high intensity focused ultrasound under ultrasonography monitoring[J]. Chin Ultrasonogr, 2002(11): 687-8.
- [3] 邹建中,龚晓波,贺雪梅,等. 高强度聚焦超声辐照离体组织靶区无灰度变化有坏死现象的研究[J]. 临床超声医学杂志, 2008, 10(9): 581-3.
- [4] Vapnik V. The nature of statistical learning theory[M]. New York: Springer-Verlag, 1995: 5-13.
- [5] 冯若. 高强度聚焦超声无创性外科的兴起[J]. 临床超声医学杂志, 1999, 1(1): 65-7.
- [6] 冯若,朱辉,李发琪,等. 高强聚焦超声(HIFU)无创治疗肿瘤技术的崛起[J]. 中华肝胆外科杂志, 2011, 17(1): 77-8.
- [7] 冯玉洁,李雁,王华,等. 灰度相关函数应用于HIFU监控的离体研究[J]. 中国超声医学杂志, 2010, 26(6): 485-8.
- [8] 劳翼,修建成,谢昌联,等. 超声微泡造影剂对大鼠骨骼肌毛细血管通透性的影响[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(4): 542-4.
- [9] 杨珂,王冬. 纳米抗体及其应用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(4): 425-7.

(编辑:吴锦雅)