

声学结构定量技术无创性评价肝纤维化程度的初步研究

张求 李荔 王爱光 张玮 张文花

【摘要】 目的 初步探讨声学结构定量技术(ASQ)在无创性评价肝纤维化程度中的应用价值。方法 运用装有ASQ软件的超声仪器对100例正常对照组及120例病理明确的慢性乙型肝炎患者进行肝脏扫查,分析肝实质回声的原始回波信号,记录比较并分析其卡方直方图和参数:Mode(众数)、Average(均数)、SD(标准差)、B/R(蓝红曲线下面积之比)。将以上参数与病理肝纤维化程度进行相关性分析,对相关性较好的参数指标分别以肝纤维化程度 $S \geq 1$ 及 $S \geq 3$ 为不同研究终点分组进行受试者工作特征曲线(ROC)分析并确定最佳界值。结果 随着肝纤维化程度的增加,红色曲线及蓝色曲线的走行由平滑、锐利变得粗糙、曲折,蓝色曲线下面积逐渐增大。红色曲线Mode值、Average值在各组之间比较有显著性差异($P < 0.01$),SD值在除中度(S_3)与重度(S_4)肝纤维化组以外各组之间均有显著性差异($P < 0.01$)。蓝色曲线Mode值与Average值在各组之间有显著性差异($P < 0.01$)。B/R值在各组之间均有显著性差异($P < 0.01$)且与肝纤维化程度有较好正相关($r = 0.77, P < 0.05$),对B/R进行ROC分析, $S \geq 1$ 时受试者特征曲线下面积(AUROC)为0.88, $S \geq 3$ 时AUROC为0.96。结论 声学结构定量技术是一项非侵入性评价肝纤维化程度的新技术,在肝纤维化分期尤其是早期肝硬化的诊断中有广阔的应用前景。

【关键词】 肝硬化; 肝炎,乙型,慢性; 超声检查; 声学结构定量技术

Noninvasive assessment of liver fibrosis: preliminary experience with acoustic structure quantification
ZHANG Qiu*, LI Li, WANG Ai-guang, ZHANG Wei, ZHANG Wen-hua. *Tai Shan Medical College, Taian 271000, China

Corresponding author: LI Li, Email: lily-qfs@126.com

【Abstract】 **Objective** To explore the diagnostic value of acoustic structure of quantitative techniques (ASQ) in the assessment of liver fibrosis. **Methods** 100 normal subjects and 120 patients with histologically proven chronic hepatitis B virus were examined by B-Mode ultrasound with ASQ software. The raw echo signal of images was analyzed and parameters such as mean, average, standard deviation, the ratio of blue and red color histogram curve area were observed to evaluate the correlation between ASQ values and the pathologic result of liver fibrosis. For well-correlation parameter, ROC was analyzed to get the optimal cutoff value for liver fibrosis $S \geq 1$ and $S \geq 3$. **Results** With the degree of liver fibrosis increased, red histogram curve and blue histogram curve in the horizontal distribution was rough, right moved, the area under blue curve was much larger than the red. RedMode, RedAverage, BlueMode and BlueAverage showed a statistical difference between each two groups ($P < 0.01$). RedSD showed a statistical difference between each two groups ($P < 0.01$) except that between s_3 subgroup and s_4 subgroup ($P > 0.05$). The relative gap of standardized ratio of blue and red color histogram curve area in each group were much larger than the other six indicators. The areas under ROC curves were 0.88 for $S \geq 1$ and 0.96 for $S \geq 3$. **Conclusion** The ASQ technology is a novel, noninvasive and promising tool for the assessment of liver fibrosis, especially in early cirrhosis.

【Key words】 Liver cirrhosis; Hepatitis B, chronic; Ultrasonography; Acoustic structure quantification

肝纤维化是各种慢性肝病进展的可逆环节。准确地评估肝纤维化程度对患者的临床诊断治疗与预后至

关重要。长期以来组织病理学检查被视为评估肝纤维化程度的“金标准”^[1-2]。但是组织病理学检查的有创性、可重复性差等多种局限性限制了此项检查在临床的广泛应用^[3]。因此,这就需要一种客观简单无创的检查肝纤维化的手段。本研究主要探讨声学结构定量技术(acoustic structure quantification, ASQ)在肝纤维化分期中的诊断价值。

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.18.022

作者单位: 271000 山东泰安,泰山医学院(张求); 山东大学齐鲁医院青岛院区超声科(李荔、张玮、张文花); 山东省千佛山医院肿瘤科(王爱光)

通讯作者: 李荔, Email: lily-qfs@126.com

资料与方法

一、一般资料

选取2012年9月至2013年8月来我院就诊的慢性乙型肝炎患者及体检中心健康志愿者。正常对照组100例(包括病理证实为S0期的23例):男53例,女47例,年龄20~62岁,平均年龄38岁,无任何肝病表现,肝功能正常,病毒标志物阴性。慢性乙型肝炎组120例:男73例,女47例,年龄23~71岁,平均年龄44岁。将120例乙型肝炎患者分为三组:轻度肝纤维化组(S1~S2期)53例;中度肝纤维化组(S3期)37例;重度肝纤维化组(S4期)30例。所有患者乙肝标志物均为阳性且全部病例经肝组织穿刺活检确诊。脂肪肝、肝内合并占位性病变、门脉内栓子的患者不纳入本研究,全部受试者均签署知情同意书。

二、方法与步骤

1. 肝脏穿刺活检:患者取仰卧位或左侧卧位,常规消毒,铺洞巾,在超声引导下实时监控,应用穿刺探头按90度引导定位,以2%利多卡因局部麻醉,采用一次性16G×16cm半自动活检枪取得完好肝脏组织条,长为2.2cm。肝纤维化病理诊断标准采用Scheuer方案^[4],按肝纤维化程度不同分为5期:0期:无纤维化;S1期:汇管区纤维化扩大,局限窦周及小叶内纤维化;S2期:汇管区周围纤维化,纤维间隔形成,小叶结构保留;S3期:大量纤维间隔形成伴小叶结构紊乱,无肝硬化;S4期:早期肝硬化。

2. 超声检查:肝脏活检第三天进行超声检查。采用东芝AplioXG 790A彩色多普勒超声诊断仪,凸阵探头,THI 5.0 MHz,内置ASQ条件及ASQ分析软件。受检者取仰卧位,充分暴露腹部,双手举过头顶拉大肋间隙。先用传统二维超声对所研究对象行常规超声检查,观察肝脏包膜光滑度、肝实质回声均匀度、胆囊壁情况、脾脏厚度及肋下长度等。再将仪器设置进入ASQ条件,在患者肋间隙对肝脏进行扫查,尽量避开胆管及血管,取三个切面:肝右叶第7、8肋间冠状位及轴位各一幅,肝左叶轴位一幅,冻结图像,使用ASQ分析软件进行脱机分析,每个切面取三个不同的ROC(感兴趣区),取样框大于20mm×20mm,取样深度约6~8cm,焦点6.0cm。获得对应的卡方直方图(红蓝两条曲线)和七个参数值:Mode(ROC内出现次数最多的卡方值)、Average(ROC内所有取样点卡方值的均值)、SD(ROC内取样点的离散度)、B/R(蓝色曲线下面积与红色曲线下面积之比)。

三、统计学分析

计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS 16.0软件对数据进行处理。采用Spearman秩相关检验,分析定量参数与纤维化分级间有无相关性,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。对于有意义的指标,不同组间比较采用单因素方差分析,检验水准 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。应用ROC曲线分析评价其诊断肝纤维化的价值。

结 果

一、各组ASQ定量参数

单因素方差分析表明,四个组中的七个参数均有统计学意义($P < 0.05$),由表1可以得出,随着肝纤维化程度的增加,超声下肝脏取样组织逐渐不均匀,七个参数呈现增大的趋势。红色曲线由平滑、较窄逐渐变粗糙、增宽。蓝色曲线众数右移,曲线下面积增大,如图1。

二、红色卡方直方图曲线参数统计结果

Mode: 对照组与各组之间均有显著性差异($P < 0.01$),轻度与重度肝纤维化组之间有显著性差异($P < 0.01$)。Average: 各组之间均有显著性差异($P < 0.01$)。SD: 在除中重度肝纤维化组之间外的各组之间均有显著性差异($P < 0.01$)。

三、蓝色卡方直方图曲线参数统计结果

Mode与Average: 各组间均有显著性差异($P < 0.01$)。SD: 对照组与轻度、重度肝纤维化组之间有显著性差异($P < 0.05$)。对照组与中度肝纤维化组之间无显著性差异($P = 0.21$),中度与重度肝纤维化组之间无显著性差异($P = 0.15$)。

四、各参数定量相关性分析

由表2可看出,B/R Ratio与肝纤维化程度呈较好相关性($r = 0.77, P < 0.05$),BlueSD与肝纤维化相关性较弱($r = 0.29, P < 0.05$),其余五项参数与肝纤维化程度均有一定相关性。

五、ROC曲线分析

由图2得,以肝纤维化 $S \geq 1$ 及 $S \geq 3$ 为阳性判断标准,B/R Ratio的ROC曲线下面积分别为0.88、0.96。以B/R Ratio ≥ 0.51 作为诊断S1的界值,ASQ诊断肝纤维化($S \geq 1$)的灵敏度为90%,特异性为69%,以B/R Ratio ≥ 0.74 作为诊断S3的界值,ASQ诊断肝纤维化($S \geq 3$)的灵敏度为91%,特异性为92%。

讨 论

肝纤维化程度的评估对慢性肝病患者极为重要,组织病理学检查虽然被视为“金标准”,但其无论是

表1 正常对照组与肝纤维化组的 ASQ 定量参数 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	RedMode	RedAverage	RedSD	BlueMode	BlueAverage	BlueSD	B/R Ratio
正常对照组	100	114.20±6.08	116.88±5.94	14.23±1.53	124.40±7.16	129.42±6.47	19.39±5.46	0.45±0.19
轻度肝纤维化	53	117.22±5.49 ^a	118.21±14.90	15.01±1.41 ^a	128.15±6.20 ^a	132.97±5.96 ^a	20.18±4.23 ^a	0.60±0.14 ^a
中度肝纤维化	37	119.82±6.14 ^a	123.02±4.70 ^{ab}	16.11±1.81 ^{ab}	130.74±4.57 ^{ab}	135.69±5.98 ^{ab}	21.21±3.60	0.92±0.21 ^{ab}
重度肝纤维化	30	121.15±6.25 ^{ab}	124.44±5.50 ^{ab}	17.40±2.36 ^{ab}	132.36±8.39 ^{ab}	139.79±7.10 ^{abc}	22.90±5.00 ^a	1.15±0.45 ^{abc}
F 值		14.84	8.42	19.15	15.19	24.04	4.48	86.31
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与轻度肝纤维化组比较,^b $P < 0.05$;与中度肝纤维化组比较,^c $P < 0.05$ 。RedMode:红色曲线众数,RedAverage:红色曲线均值,RedSD:红色曲线标准差,BlueMode:蓝色曲线众数,BlueAverage:蓝色曲线均值,BlueSD:蓝色曲线标准差,BR Ratio:蓝色曲线下面积与红色曲线下面积之比

表2 肝纤维化程度与 ASQ 参数的 Spearman 分析

统计值	ASQ 参数						
	RedMode	RedAverage	RedSD	BlueMode	BlueAverage	BlueSD	B/R Ratio
r 值	0.41	0.48	0.50	0.41	0.50	0.29	0.77
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

创性或易造成腹膜内出血的危险性都限制了此项检查的广泛应用。所以,不管是实验室检查还是各种影像手段均试图用无创的方法客观评价慢性肝病所处的炎症和纤维化阶段,目前研究较多并具有一定前景的有超声造影检查,瞬时弹性成像技术(FibroScan,FS)、CT灌注成像(CT perfusion,CTP)、磁共振弹性成像(magnetic resonance elastography,MRE)等。文献报道^[5],FS对临床II~IV期肝纤维化诊断的灵敏度为70%,特异度为84%,有望用于肝纤维化程度的临床评估。Guan等^[6]采用大鼠模型评价CTP研究早期肝弥漫性病变的价值,结果说明CTP可以评价肝弥漫性病变早期血流变化,有利于早期诊断。MRE作为一种新型的无创成像方法,能直观显示和量化组织弹性,对肝纤维化亦有较高的诊断价值,Huwart等^[7-8]报道,MRE的肝脏弹性值可以界定S2~S4的分期。但是以上检查方法无创指标难以准确地判断肝脏炎症和纤维化程度,同时由于操作性和价格等因素,尚少有在临床广泛应用。

理论上,以固定频率超声波入射绝对均匀的组织目标时,回声信号强度即振幅(Amplitude)的概率密度函数(PDF)严格符合瑞利分布^[9]。然而,组织的病理学结构改变会导致回声信号的改变,当我们限定发射声波的频率时,不同病理改变的组织回声信号的特征是有差异的^[10],ASQ就是一种提供给我们对回声信号的差异进行量化的技术,我们将绝对均匀组织回波信号强度的PDF作为总体,将实测目标的回波强度(原始数据)作为样本,利用卡方检验的方法获得量化的统计学结果,也即是统计学上的卡方直方图(图1)。横轴是卡方值,纵轴表示每一个卡方值出现的次数。

我们认为 $\mu + 4\sigma$ 范围内的取样点为正常回声强度取样点,对这些取样点进行计算可得正常强度取样点的卡方值直方图,用红色曲线表示;利用回声强度超过 $\mu + 4\sigma$ 范围以外的非正常取样点进行计算,可得高回声强度取样点的卡方值直方图,用蓝色曲线所示。当样本方差与总体方差越接近时,说明ROI内的组织越接近均匀状态,此时红色直方图曲线在横轴分布较窄且光滑,亦说明其内组织的声学特征是均匀的,此时样本间的标准差(SD)较小。当样本方差与总体方差偏离较大时,说明ROI内的组织偏离于均匀状态,此时红色直方图曲线在横轴分布较宽且布满切迹,此时样本间的SD偏大。所以可以简单地说ASQ是一种检测原始回波信号均匀度的技术。

在2009年Toyoda等^[11]提出一种利用装有组织原始回波信号统计分析算法的B型超声评价肝纤维化程度,即ASQ技术,他对148例慢性丙型肝炎患者进行研究,结果发现,ASQ定量参数与肝纤维化病理结果有很好的相关性,并界定了F1~F3的分期。Kuroda^[12]以FD-ratio作为参数对小鼠肝脏脂肪含量进行定量研究发现,当小鼠肝内脂肪含量由5周量增加到8周量时,常规超声下并未发现肝实质亮度的变化,而FD-ratio却有显著减小,并得出FD-ratio与肝内脂滴面积及直径呈显著负相关($r = -0.7211, P = 0.0017; r = -0.9811, P = 0.0052$)。由此推断ASQ对肝弥漫性病变定量诊断有重要意义。Kuroda所选的参数FD-ratio相当于本研究中的B/R Ratio(蓝红曲线下面积的比),可以对目标声学的不均匀度更直观的分析,由实验结果我们可以看出,随着肝纤维化程度的加重,蓝色直方曲线下面积逐渐增大,甚至超过红色直方曲线下

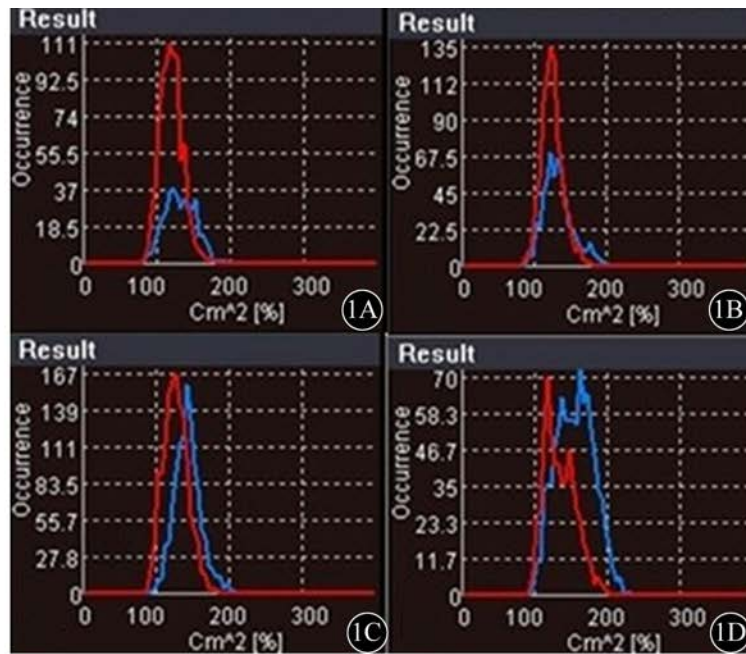


图1 各组的ASQ/红卡直方图曲线。1A: 正常对照组; 1B: 轻度肝纤维化组; 1C: 中度肝纤维化组; 1D: 重度肝纤维化组

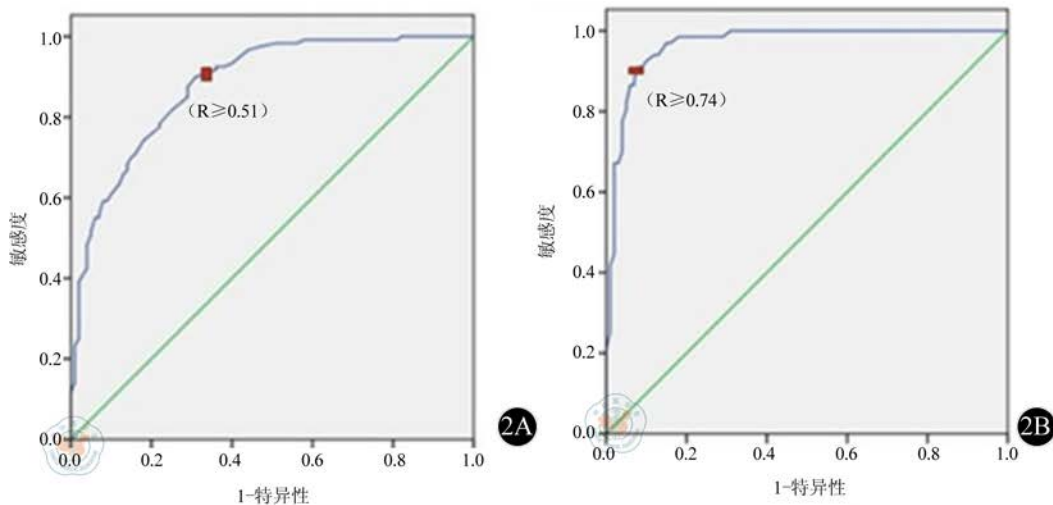


图2 2A: 根据B/R Ratio诊断肝纤维化 ($S \geq 1$) 的ROC曲线, 以 $R \geq 0.51$ 为界值, ASQ诊断肝纤维化 ($S \geq 1$) 的灵敏度为90%, 特异性为69%。2B: 根据B/R Ratio诊断肝纤维化 ($S \geq 3$) 的ROC曲线, 以 $R \geq 0.74$ 为界值, ASQ诊断肝纤维化 ($S \geq 3$) 的灵敏度为91%, 特异性为92%

积, B/R Ratio 值逐渐增大, 且增大幅度明显优于其他六个定量参数。Wang 等^[13]也研究发现正常人、轻度脂肪肝、中-重度脂肪肝、纤维化、肝硬化的 BR Ratio 分别为 39%, 20%, 17%, 6% 和 18%, 5 组中平均 BR Ratio 有显著差异。Ricci 等^[14]研究发现, ASQ 诊断 $F \geq 1$ 肝纤维化的曲线下面积为 0.71, 诊断早期肝硬化 ($F \geq 1$) 的曲线下面积为 0.77, 进一步肯定了 ASQ 在肝脏弥漫性病变中的可行性。

本研究发现, 红色直方图中, Mode 及 SD 在各组之间均有显著性差异, 说明随着肝纤维化程度的增加, 肝脏回声增强、不均匀, 实测区域内高回声信号逐渐

增多、增强, 而 Average 则在中重度肝纤维化中无显著性差异, 可能原因是样本量小, 中度与重度肝纤维化组之间存在着重叠数据导致肝脏整体回声都普遍增强, 虽均高于轻度肝纤维化, 但二者之间增强的差异不明显。蓝色直方图中, Mode 值在中重度肝纤维化中无显著性差异, 蓝色 Mode 表示的是取样内的异常高回声, 由于肝硬化内纤维条索、管壁、钙化灶等各种回声杂乱交织在一起, 使得较严重的肝纤维化及早期肝硬化难以区分, 都呈现一种高强度信号增多的表现。Average 值在各组之间均有显著性差异表明各人群中肝脏回波声阻抗差有显著性差异, 随着肝纤维化程

度的增加,肝内纤维条索及结节形成,其结构远大于超声波长,形成不同的散射结构,因此各组间存在统计学差异。**SD**只在对照组与轻度及重度之间有统计学意义,其余各组之间均无统计学意义,由于各个小的**ROI**内取样的回声信号强弱不均,同时又包含过多的随机高强度样本,使各级肝纤维化信号强度差异减小。**B/R Ratio**值在各组间有显著性差异且与肝纤维化病理结果具有较高的正相关性,通过计算得**S4**期肝纤维化**B/R Ratio**= 1.15 ± 0.45 ,说明早期肝硬化的回声信号具有极大的离散性,异常高回声所占总体取样的数量非常大。由于**B/R Ratio**是一个比值结果,能减少不同受试对象呼吸、取样等因素的影响,所以更具有可观性、准确性。这一观点与Toyoda等^[11]一致。

ASQ技术也存在着一定的局限性,如在实验中我们也观察到,有些正常组或轻度纤维化组的某些参数异常增高,甚至超过中重度肝纤维化组,有几种造成这种结果的可能性,一个是取样的不准确,因为我们分析这部分图片时发现,往往这种情况都在取样时无意圈入了较大血管或胆管,旁瓣效应及声衰减也影响数据的分析结果;或者是在较深部位取样时,圈取了肝脏以外的组织。此外,各组之间样本参数也有一部分重叠而且病理检查结果并不能代表整个肝脏的纤维化等级。因此,本研究存在很多需要改进的地方,扩大样本量及**ASQ**的准确无误的**ROI**取样是我们下一步努力的方向。

综上所述,**ASQ**技术可作为无创评价肝纤维化程度的参考依据,特别是对早期肝硬化,**ASQ**的某些参数的改变与肝纤维化病理改变是同步的,虽然不能取代病理金标准,但是在定量诊断肝弥漫性病变中具有广泛的临床应用前景。

参 考 文 献

- [1] Standish R, Cholongitas E, Dhillon A, et al. An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis. *Gut*, 2006, 55: 569-578.
- [2] Stanley MW, Gutter G, Pochapin M, et al. Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration Cytology Diagnosis of Solid-Pseudopapillary Tumor of the Pancreas: A Rare Neoplasm of Elusive Origin but Characteristic Cytomorphologic Features. *Am J Clin Pathol*, 2004, 121: 654-662.
- [3] 胡锡琪. 肝穿刺活组织检查是评估肝纤维化的金标准吗. *中华肝脏病杂志*, 2012, 20: 568-572.
- [4] 中华医学会传染病与寄生虫学分会、肝病学会联合修订. 病毒性肝炎防治方案. *肝脏*, 2000, 5: 257-262.
- [5] Talwalkar JA, Kurtz DM, Schoenleber SJ, et al. Ultrasound-based transient elastography for the detection of hepatic fibrosis: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2007, 5: 1214-1220.
- [6] Guan S, Zhao WD, Zhou KR, et al. CT perfusion at early stage of hepatic diffuse disease. *World J Gastroenterol*, 2005, 11: 3465-3467.
- [7] Huwart L, Salameh N, ter Beek L, et al. MR elastography of liver fibrosis: preliminary results comparing spin-echo and echo-planar imaging. *Eur Radiol*, 2008, 18: 2535-2541.
- [8] Huwart L, Sempoux C, Vicaux E, et al. Magnetic Resonance Elastography for the Noninvasive Staging of Liver Fibrosis. *Gastroenterology*, 2008, 135: 32-40.
- [9] Tuthill T, Sperry R, Parker K. Deviations from Rayleigh statistics in ultrasonic speckle. *Ultrasonic imaging*, 1988, 10: 81-89.
- [10] Yamada H, Ebara M, Yamaguchi T, et al. A pilot approach for quantitative assessment of liver fibrosis using ultrasound: preliminary results in 79 cases. *J Hepatol*, 2006, 44: 68-75.
- [11] Toyoda H, Kumada T, Kamiyama N, et al. B-Mode ultrasound with algorithm based on statistical analysis of signals: evaluation of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *AJR Am J Roentgenol*, 2009, 193: 1037-1043.
- [12] Kuroda H. Non-invasive determination of hepatic steatosis by acoustic structure quantification from ultrasound echo amplitude. *World J Gastroenterol*, 2012, 18: 3889-3895.
- [13] Wang T, Liu C, Hung C, et al. Acoustic Structure Quantification Analysis for Liver Parenchymal Disease: Experiences at a Medical Center. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2011, 37: S82.
- [14] Ricci P, Marigliano C, Cantisani V, et al. Ultrasound evaluation of liver fibrosis: preliminary experience with acoustic structure quantification (ASQ) software. *La radiologia medica*, 2013, 118: 995-1010.

(收稿日期: 2013-09-02)

(本文编辑: 张岚)