

❖ 实验研究

In-phase and out-of-phase MRI in the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease in rats

SHI Chang-zheng¹, ZHANG Ping-ping¹, XIA Ming-han²,
ZHAO Qian³, LUO Liang-ping^{1*}

(1. Medical Imaging Center, 2. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, China; 3. Teaching and Research Section of Medical Statistics, School of Public Health, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510182, China)

[Abstract] **Objective** To explore the value of in-phase and out-of-phase MR imaging in diagnosis and judgement the degrees of non-alcoholic fatty liver disease in rats. **Methods** Forty male Wistar rats were selected, 30 rats in experimental group were fed with high fat and high cholesterol food, while 10 rats in control group were fed with normal diet. All rats underwent MRI, lipid biochemical, and pathological examination after 12 weeks breeding. The biochemical indices, hepatic fat fraction (HFF) measured by MRI and histological findings were compared between in the two groups, and the correlation analysis was made. **Results** There were 5 rats in 1 grade, 12 rats in 2 grade and 13 rats in 3 grade fatty liver in experimental group, while all the rats in control group were in 0 grade. The sensitivity, specificity and accuracy of in-phase and out-of-phase MRI for diagnosis of fatty liver was 100% (30/30), 80.00% (8/10) and 95.00% (38/40), respectively. The lipid biochemical indicators had obvious differences between the experimental group and control group (all $P < 0.05$), but there was no significant interclass difference in experimental groups (all $P > 0.05$). The histological findings were linearly related with the quantitative liver fat content by MRI ($r = 0.963$). **Conclusion** The in-phase and out-of-phase MR imaging has high value to diagnose and judge the severity of fatty liver of rats.

[Key words] Non-alcoholic fatty liver disease; Magnetic resonance imaging; In-phase; Out-of-phase

同、反相位 MRI 诊断大鼠非酒精性脂肪肝

史长征¹, 张平平¹, 夏明汉², 赵倩³, 罗良平^{1*}

(1. 暨南大学附属第一医院医学影像中心, 2. 病理科, 广东 广州 510630;
3. 广州医科大学公共卫生学院医学统计教研室, 广东 广州 510182)

[摘要] **目的** 探讨应用同、反相位 MRI 诊断大鼠非酒精性脂肪肝及评价脂肪肝病变程度的价值。**方法** 选取雄性 Wistar 大鼠 40 只, 实验组 30 只, 对照组 10 只, 实验组采用高脂、高胆固醇喂养, 对照组采用普通饮食, 12 周后行 MRI、血脂生化及病理学检查, 将两组的血脂生化指标及同、反相位 MRI 测得的肝脏脂肪分数(HFF)与病理结果进行比较及相关性分析。**结果** 实验组 30 只大鼠中脂肪肝 1 级 5 只, 2 级 12 只, 3 级 13 只, 对照组 10 只均为 0 级; 同、反相位 MRI 诊断脂肪肝的敏感度为 100% (30/30), 特异度为 80.00% (8/10), 准确率为 95.00% (38/40)。实验组与对照组的血脂生化指标差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但在实验组不同分级脂肪肝间的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。同、反相位肝脏 HFF 与组织病理学测得的脂肪变肝细胞比例呈正相关 ($r = 0.963$)。**结论** 同、反相位 MRI 对诊断大鼠脂肪肝及判定脂肪肝病变程度具有较高价值。

[基金项目] 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (21612305, 21612101)。

[作者简介] 史长征 (1978—), 男, 江苏盐城人, 硕士, 主治医师。研究方向: MR 影像诊断。E-mail: sczcn@126.com

[通讯作者] 罗良平, 暨南大学附属第一医院医学影像中心, 510630。E-mail: tluolp@jnu.edu.cn

[收稿日期] 2012-09-20 **[修回日期]** 2013-03-24

[关键词] 非酒精性脂肪肝病;磁共振成像;同相位;反相位

[中图分类号] R445.2; R-332 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2013)06-0853-04

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)与2型糖尿病、肥胖、高血脂、高血压等代谢综合征关系密切^[1],在美国发病率约30%,其中肥胖成人的发病率约75%,在儿童的发病率也超过10%^[2]。NAFLD可发展为非酒精性肝炎、肝硬化^[3-4],其标志性特征为肝脏脂肪变。目前活检是NAFLD诊断和分级的金标准,然而由于活检费用昂贵、属有创检查,临床很少使用^[5]。诊断脂肪肝的MR方法主要包括同、反相位MRI及MRS。MRS虽然对脂肪肝诊断的准确率较高,但由于成像技术复杂,目前仍不能作为脂肪肝的常规检测手段^[6]。同、反相位化学位移成像方法易于掌握,但在临床工作中很难实现脂肪肝的同、反相位MRI与病理的对照研究。本研究旨在通过动物实验研究同、反相位化学位移成像诊断脂肪肝的准确性。

1 材料与方法

1.1 研究对象 4周龄Wistar雄性大鼠40只,体重100~120g,由广州中医药大学动物实验中心提供。随机分成两组,实验组30只,对照组10只。实验组采用高脂肪、高胆固醇饲料,对照组采用普通饮食,均喂饲12周。

1.2 仪器与方法

1.2.1 MR检查 经腹腔内注射0.3%戊巴比妥麻醉大鼠并保定。采用GE Signa HD 1.5T超导型MR扫描仪,3英寸表面线圈,扫描参数:轴位T2W FRFSE序列,TR 2000 ms, TE 53.2 ms,带宽12.5 kHz,FOV 70 mm,NEX 6,矩阵128×128,层厚3 mm,层间距0.2 mm;轴位反相位成像FSPGR序列,TR 70 ms, TE 4.6 ms,带宽25 kHz,FOV 70 mm,NEX 12,矩阵128×128,层厚3 mm,层间距0.2 mm;轴位同相位成像FSPGR序列,TR 70 ms, TE 6.9 ms,带宽25 kHz,FOV 70 mm,NEX 12,矩阵128×128,层厚3 mm,层间距0.2 mm。

1.2.2 生化及病理检查 MR

检查结束后,对各组大鼠均禁饲12 h,自心脏内抽血2~3 ml,离心分离出血清,采用全自动生化分析仪测量血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(CHOL)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量。取血后处死大鼠,制作肝脏病理切片并行HE染色。

1.3 脂肪肝MR诊断标准 在大鼠肝脏内取3个相对固定的ROI,右叶2个,左叶1个,避开明显的肝内血管及胆管区,在同一只大鼠同、反相位的ROI位置一致,以腹直肌作为参照,采用相对信号强度进行定量分析。参照Borra等^[7]的研究结果,肝脏脂肪分数(hepatic fat fraction, HFF) = (SI_{in} - SI_{out}) / 2SI_{in}, SI_{in}为同相位像肝脏信号强度与肌肉信号强度的比值,SI_{out}为反相位图像上肝脏信号强度与肌肉信号强度的比值,当HFF > 5%即诊断为脂肪肝。

1.4 脂肪肝的病理分级标准 参照Brunt分级标准并结合相关研究^[8],依据单位面积内大泡性脂变细胞比例,对NAFLD病理进行如下分级:0级,未见脂肪变的肝细胞;1级,脂肪变肝细胞比例≤33%;2级,脂肪变肝细胞比例为34%~66%;3级,脂肪变肝细胞比例≥67%。

1.5 统计学分析 应用SPSS 13.0软件,采用单因素

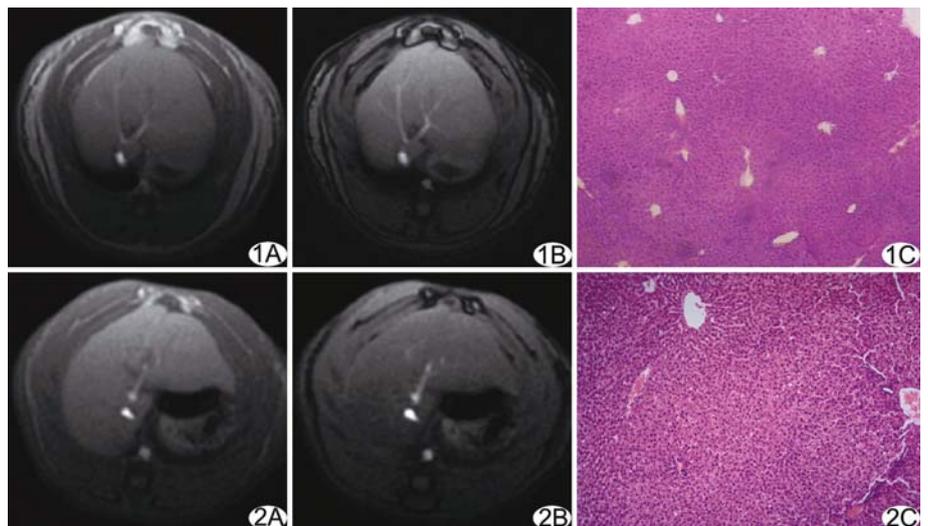


图1 对照组脂肪肝0级大鼠 与同相位MR图像(A)相比,反相位图(B)肝脏信号未见减低,HFF为0.034,病理图(C)未见肝细胞脂肪变(HE,×100) 图2 实验组脂肪肝1级大鼠 与同相位MRI(A)相比,反相位图(B)上肝脏信号有所减低,HFF为0.141,病理图(C)示脂肪变肝细胞占20%(HE,×100)

方差分析比较实验组不同病理分级间脂肪肝的同、反相位 MRI 的肝脏脂肪定量及血脂生化指标差异;计算同、反相位 MRI 诊断脂肪肝的敏感度、特异度及准确率;对同、反相位 MRI 的肝脏脂肪定量和病理中脂肪变的肝细胞数进行相关及回归分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病理结果 实验组 30 只大鼠均为脂肪肝,其中 1 级 5 只,2 级 12 只,3 级 13 只;对照组 10 只均为 0 级。

2.2 MRI 诊断结果 实验组 30 只大鼠均诊断为脂肪肝,对照组 2 只被诊断为脂肪肝。同、反相位 MRI 对脂肪肝诊断的敏感度为 100% (30/30),特异度为 80.00% (8/10),准确率为 95.00% (38/40)。

表 1 大鼠血脂生化指标与 Brunt 病理分级对照 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

病理分级	TG	CHOL	HDL-C	LDL-C
0 级	0.46 ± 0.15	1.38 ± 0.36	0.40 ± 0.08	0.27 ± 0.07
1 级	1.55 ± 0.23	3.10 ± 0.59	0.31 ± 0.05	1.90 ± 0.13
2 级	1.73 ± 0.26	3.45 ± 0.71	0.30 ± 0.06	2.10 ± 0.29
3 级	1.66 ± 0.24	3.33 ± 0.70	0.31 ± 0.07	2.01 ± 0.23

2.3 血脂生化指标与病理分级的关系 血脂相关指标与脂肪肝分级的关系见表 1。对照组和实验组大鼠血 TG、CHOL、HDL-C 及 LDL-C 的含量的差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05),其中实验组 TG、CHOL、

LDL-C 含量高于对照组, HDL-C 低于对照组,但大鼠血 TG、CHOL、HDL-C 及 LDL-C 在实验组 1~3 级脂肪肝间的差异均无统计学意义 (P>均 0.05)。

2.4 同、反相位 MRI 肝脏脂肪定量与病理分级的关系 (图 1~4) 0、1、2 和 3 级脂肪肝 HFF 分别为 0.03 ± 0.04、0.15 ± 0.03、0.26 ± 0.03 和 0.31 ± 0.02。HFF 与组织病理学测得的脂肪变肝细胞比例呈正相关 (r=0.963, R²=0.928, F=489.881, P<0.001), 回归方程: Y=2.695X-0.096 (图 5)。

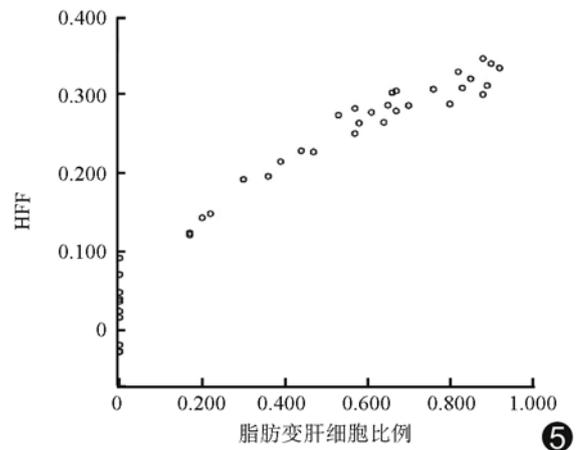


图 5 MR 同、反相位 HFF 与组织病理学脂肪变肝细胞比例的关系散点图

3 讨论

3.1 NAFLD 模型的建立 目前大鼠 NAFLD 模型主要有营养失调性脂肪肝模型和药物中毒性脂肪肝模型,其中营养失调性脂肪肝模型与人类 NAFLD 的发生、病变过程及病理组织形态学的改变相似^[9],一般选用雄性 Wistar 或 SD 大鼠,以高脂、高胆固醇饲料喂养 8~12 周建模。本研究选用高脂、高胆固醇喂养 12 周的雄性 Wistar 大鼠为研究对象,因时间偏长,故中、重度脂肪肝相对较多,占 80.00% (24/30),表明高脂、高胆固醇喂养是一种稳定、可靠的 NAFLD 建模方法;随着喂养时间延长,动物脂肪肝程度加重。

3.2 血脂生化指标与 NAFLD 的关系 本研究实验组血 TG、CHOL 含量明显高于对照组,而

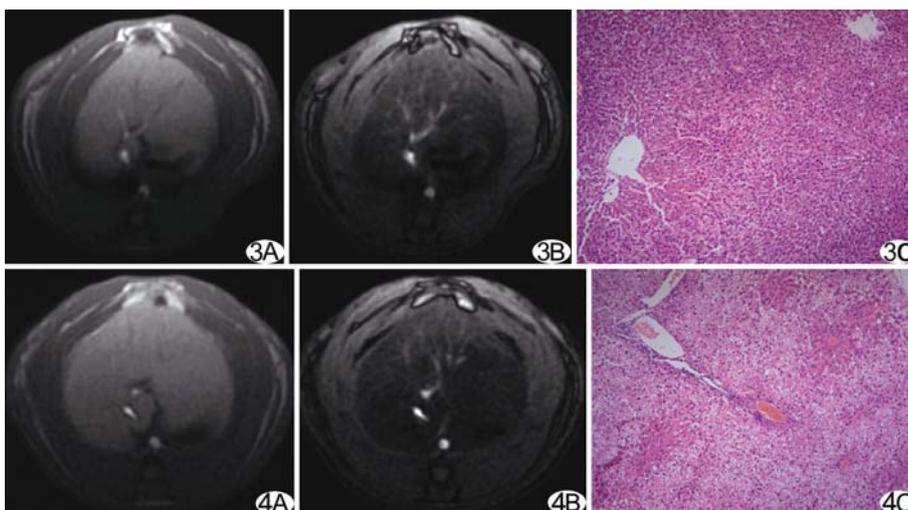


图 3 实验组脂肪肝 2 级大鼠 与同相位 MRI (A) 相比,反相位图 (B) 上肝脏信号明显减低, HFF 为 0.269, 病理图 (C) 示脂肪变肝细胞占 58% (HE, ×100) 图 4 实验组脂肪肝 3 级大鼠 与同相位 MRI (A) 相比,反相位图 (B) 上肝脏信号明显减低, 出现大片状信号极低区, HFF 为 0.319, 病理图 (C) 示脂肪变肝细胞占 87% (HE, ×100)

实验组中不同分级脂肪肝间 TG、CHOL 含量的差异无统计学意义,考虑是由于高脂、高胆固醇饮食导致血液中 TG 和 CHOL 升高,使肝脏中脂类物质堆积而发生脂肪肝,提示高脂血症、高胆固醇血症是脂肪肝的危险因素^[10];而实验组不同分级脂肪肝间 TG、CHOL 含量的差异无统计学意义,考虑是由于脂肪肝形成是多种因素共同作用的结果,高脂血症、高胆固醇血症只是引起脂肪肝的重要原因,同时也提示不能依靠血脂生化指标判断脂肪肝的程度。实验组中 LDL-C 高于对照组, HDL-C 低于对照组,而 LDL-C 和 HDL-C 在实验组不同分级脂肪肝间的差异无统计学意义,提示大鼠血浆中的胆固醇转运与人类相同,即血浆中胆固醇更多地依赖低密度脂蛋白进行转运,随着胆固醇含量增加,低密度脂蛋白会相应升高。

3.3 同、反相位 MRI 的原理及对 NAFLD 诊断的价值 同、反相位 MRI 也称为化学位移成像,成像基于脂肪和水分子中质子的化学位移效应。由于分子结构的差异,水分子中的质子所感受的磁场强度略高于脂肪中的质子,其进动频率也略高于后者,在某种特定场强下,两种质子的进动频率差别是恒定的。当水分子中的质子和脂肪中质子的相位相差 180° 时,两种质子的横向磁化矢量相互抵消,产生反相位图像;当水分子中的质子和脂肪中质子的相位完全重叠时,两种质子横向磁化矢量相互叠加,产生同相位图像。

同相位图像是由水和脂肪信号相加得到,而反相位图像则是两者信号相减,水脂混合组织的反相位图像信号与同相位图像信号相比会出现明显衰减,因此同、反相位 MRI 能够用于检查肝脏脂肪含量,其诊断脂肪肝的敏感度高于常规 MRI 和 CT^[11]。既往国内有关 NAFLD 的 MR 研究^[12-13]中,对于脂肪肝病变程度是以 CT 检查结果为参考标准;本研究以病理作为脂肪肝病变程度标准,准确度更高。

本研究结果显示,同、反相位 MRI 肝脏脂肪 HFF 与组织病理学测得的脂肪变肝细胞比例呈正相关($R^2 = 0.928$);化学位移成像不仅对检出脂肪肝具有较高的敏感度,同时可以较准确地判断脂肪肝的病变程度,与有关 NAFLD 的 MR 化学位移法检查的研究^[7]结果相似,但与阳宁静等^[14]的研究结果不完全相同,考虑是由于病理诊断标准及脂肪定量计算方法不同;本研究采用相对信号强度进行比较,因大鼠脾脏活动度较大,很多时候不能与肝脏位于同一扫描层面,同时发生脂肪肝的大鼠的脾脏存在被脂肪浸润的可能,故选取腹直肌作为参照,通过相对信号强度比,克服了因 TE

差异导致的肝脏本身信号差异,更易于定量检测肝内脂肪含量。

由于本研究实验组中各级脂肪肝的比例不均衡,1 级脂肪肝样本数偏少,而 2、3 级偏多,可能会造成一定程度的结果偏倚,在后续研究中将加大样本量进一步研究。总之,同、反相位 MRI 不仅可以敏感地发现脂肪肝,且其测得的脂肪肝 HFF 与组织病理学分级高度相关,而血脂生化指标对于鉴别脂肪肝病变程度意义不大。

[参考文献]

- [1] Yki-Järvinen H. Fat in the liver and insulin resistance. *Ann Med*, 2005, 37(5):347-356.
- [2] Fabbrini E, deHaseth D, Deivanayagam S, et al. Alterations in fatty acid kinetics in obese adolescents with increased intrahepatic triglyceride content. *Obesity (Silver Spring)*, 2009, 17(1):25-29.
- [3] Schwimmer JB. Definitive diagnosis and assessment of risk for nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents. *Semin Liver Dis*, 2007, 27(3):312-318.
- [4] Rubinstein E, Lavine JE, Schwimmer JB. Hepatic, cardiovascular, and endocrine outcomes of the histological subphenotypes of nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*, 2008, 28(4):380-385.
- [5] Bondini S, Kleiner DE, Goodman ZD, et al. Pathologic assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis*, 2007, 11(1):17-23, vii.
- [6] 昌倩,肖恩华.高场磁共振在脂肪肝诊断和脂肪分级中的研究进展. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(36):3874-3880.
- [7] Borra RJ, Salo S, Dean K, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: Rapid evaluation of liver fat content with in-phase and out-of-phase MR imaging. *Radiology*, 2009, 250(1):130-136.
- [8] Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: Definition and pathology. *Semin Liver Dis*, 2001, 21(1):3-16.
- [9] 吴丽平,张素仙,杜少英,等.脂肪肝动物模型建立的研究现状与进展. *现代预防医学*, 2011, 38(24):5111-5113, 5118.
- [10] 刘明涛,刘增权,陈万宁,等.脂肪肝与血脂浓度的相关性分析. *重庆医学*, 2009, 38(4):466-467.
- [11] 赵黎明,阳宁静,宋彬.脂肪肝影像学评价的研究进展. *中国普外基础与临床杂志*, 2008, 15(1):68-70, 73.
- [12] 张仲伟,金涵弢,陈克敏,等. MR 对非酒精性脂肪肝的评价. *放射学实践*, 2010, 25(6):642-645.
- [13] 陈麦林,曾庆玉,许惠敏,等. 3.0T MR 波谱技术在非酒精性脂肪肝中的临床应用. *中国医学影像技术*, 2009, 25(增刊):99-101.
- [14] 阳宁静,宋彬,唐鹤嵩,等.¹H-MRS 和 MR 双回波技术活体半定量评价酒精性与非酒精性脂肪肝大鼠模型. *磁共振成像*, 2010, 1(3):208-213.