

## ❖ 实验研究

## Virtual touch tissue quantification in noninvasive assessment of hypertrophic scar stiffness of rabbit ears

YOU Yu-fang<sup>1</sup>, WANG Zhi-gang<sup>1,2\*</sup>, ZHENG Yuan-yi<sup>1,2</sup>,  
ZHANG Hua<sup>1</sup>, SONG Wei-xiang<sup>1</sup>

(1. Institute of Ultrasound Imaging, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China;

2. Department of Ultrasonography, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

**[Abstract]** **Objective** To noninvasively assess the stiffness changes during the process of rabbit ear hypertrophic scar (HS) with virtual touch tissue quantification (VTQ) technique. **Methods** HS shear wave velocity (SWV) was measured by using VTQ during the day before surgery and the 1st, 3rd, 5th, 7th, 11th, 16th, 20th, 28th, 36th, 45th, 60th, 90th, 120th day postoperatively, respectively. The values of SWV were compared between the two adjacent times. B-mode grey scale was also tested and analyzed with SWV. **Results** Except the 1st preoperative day vs. the 1st postoperative day ( $P=0.099$ ), the 60th postoperative day vs. the 90th postoperative day ( $P=0.053$ ), the differences were all statistical between each other two time points (all  $P<0.05$ ). Positive correlation ( $r=0.568$ ,  $P<0.001$ ) was found between HSSWV and B-mode grey scale on the whole process of rabbit ear HS. Significant, direct, linear correlation ( $r=0.813$ ,  $P<0.001$ ) was found between HSSWV and B-mode grey scale during the 11th day to the 45th day postoperatively. **Conclusion** VTQ technique has important application value in the noninvasive assessment of HS stiffness.

**[Key words]** Shear wave velocity; Virtual touch quantification; Hypertrophic scar; Noninvasive

## 声触诊组织量化技术无创动态评估兔耳增生性瘢痕硬度

游玉芳<sup>1</sup>, 王志刚<sup>1,2\*</sup>, 郑元义<sup>1,2</sup>, 张 花<sup>1</sup>, 宋卫香<sup>1</sup>

(1. 重庆医科大学超声影像学研究所, 重庆 400010; 2. 重庆医科大学附属第二医院超声科, 重庆 400010)

**[摘要]** 探讨声触诊组织量化(VTQ)技术无创评估兔耳增生性瘢痕(HS)形成过程中的硬度变化。**方法** 运用VTQ技术在兔耳HS模型形成过程的不同时间点(术前1天, 术后第1、3、5、7、11、16、20、28、36、45、60、90、120天)测量其剪切波速度(SWV), 比较相邻时间点的SWV值, 同时测量二维图灰阶值, 对HS剪切波速度值(HSSWV)及灰阶值进行对比分析。**结果** HS形成过程中SWV值比较: 除术前1天与术后第1天( $P=0.099$ )、术后第60天与术后第90天( $P=0.053$ )差异无统计学意义外, 其余相邻时间点差异均有统计学意义( $P$ 均 $<0.05$ )。兔耳HS形成过程中, HSSWV值与灰阶值呈正相关( $r=0.568$ ,  $P<0.001$ ); 而在兔耳HS增生期(术后11~45天), HSSWV值与灰阶值高度相关( $r=0.813$ ,  $P<0.001$ )。**结论** 应用VTQ技术测得的HSSWV值在量化评估HS硬度改变方面有重要应用价值。

**[关键词]** 剪切波速度; 声触诊组织量化; 增生性瘢痕; 无创

**[中图分类号]** R445.1; R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2013)08-1237-06

**[基金项目]** 国家自然科学基金重点项目(81130025)、国家自然科学基金青年项目(30900371)、国家自然科学基金面上项目(81071158)。

**[作者简介]** 游玉芳(1984—), 女, 湖北黄冈人, 在读硕士。研究方向: 瘢痕的超声弹性成像研究。E-mail: yyfyou@foxmail.com

**[通讯作者]** 王志刚, 重庆医科大学超声影像学研究所, 400010; 重庆医科大学附属第二医院超声科, 400010。E-mail: wzg62942443@163.com

**[收稿日期]** 2013-03-21 **[修回日期]** 2013-05-15

增生性瘢痕(hypertrophic scar, HS)的形成机制及防治一直是皮肤科、创伤外科和整形科的研究热点及难点<sup>[1-2]</sup>。HS硬度的变化是评价其发生、发展、转归及疗效等方面的指标之一。目前临床常采用温哥华瘢痕量表<sup>[3-4]</sup>来判断HS的硬度,有一定的主观性,缺乏可重复性。一个可信而客观的评价方法对了解HS的严重程度、疗效十分重要。声触诊组织量化(virtual touch quantification, VTQ)技术是基于声脉冲辐射力成像(acoustic radiation force impulse imaging, ARFI)的二维超声弹性成像技术,以剪切波速度(shear wave velocity, SWV)反映受检组织的弹性,间接反映组织的硬度。本研究运用VTQ技术测量兔耳增生性瘢痕剪切波速度(hypertrophic scar shear wave velocity, HSSWV),评估HS硬度。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与器材 选用健康新西兰大耳白兔 25 只,雌雄不拘,体质量 2.0~2.5 kg,平均(2.46±0.79)kg,购自重庆医科大学动物实验中心,分笼饲养。应用配备有VTQ技术的Siemens Acuson S2000彩色超声诊断仪,线阵探头 9L-4,频率 7~12 MHz。DFY型超声图像定量分析诊断仪(重庆医科大学超声影像研究所研制)。

1.2 实验方法

1.2.1 制作兔耳 HS 模型 实验动物适应性饲养 1 周。参照文献<sup>[5-6]</sup>方法制作 HS 模型。3%戊巴比妥钠 1.0 ml/kg 体质量经耳缘静脉麻醉,常规消毒、铺巾,于兔耳腹侧中段沿长轴做 1.5 cm×0.5 cm 创面,去除兔耳腹侧创面内全层皮肤及软骨膜,尽量避开可见血管。每耳 3 个创面,创面之间至少间隔 1 cm,共 150 个。术后无菌纱布包扎,每日更换敷料 1 次。术后 1 周将已愈合的创面再次沿原切口切开,去除已形成的 HS 及肉芽组织,暴露创面,待其自然愈合。术后第 25 天去除创面痂皮,使创面再次上皮化。继续单兔单笼标准条件下饲养。

1.2.2 肉眼观察 观察创面的愈合及局部增生情况和时间,记录 HS 发生率。HS 纳入标准:炎症期、增生早期及高峰期均纳入;消退期时 HS 肤色与兔耳腹侧正常部位相比偏粉红或更深,同时突出于周围皮面者纳入。

1.2.3 HSSWV 测量 应用超声探头对兔耳创面先行常规扫查,探头方向与 HS 长轴方向保持一致,确定 HS 的位置、大小,观察其二维、彩色多普勒超声表现;之后固定探头,与受检部位垂直,进行弹性成像。切换到 ARFI 模式,按下 update 键,SWV 在屏幕右侧显

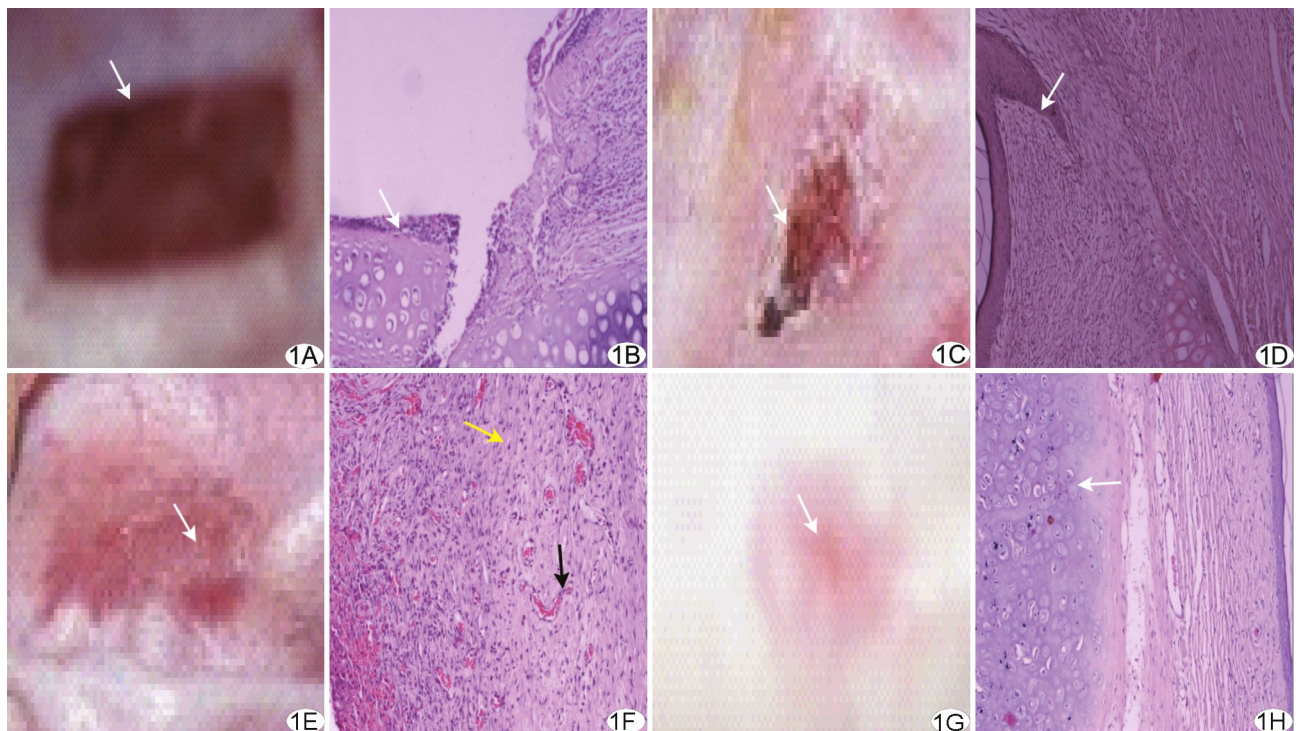


图 1 兔耳 HS 大体及病理组织(HE,×100) A、B. 术后 3 天(箭示缺口); C、D. 术后 11 天(箭示 HS、棘皮样改变); E、F. 术后 28 天(白箭示 HS,黄箭示胶原纤维,黑箭示新生血管); G、H. 术后 60 天(箭示 HS、软骨部分溶解)

示。将取样框置于瘢痕区,为 5 mm×5 mm 矩形框。由于取样框大小无法调整,在 HS 形成早期取样框范围会超过 HS 区,测量时尽量使取样框超出 HS 区的

范围一致,以确保数据有效。分别在术前 1 天、术后第 1、3、5、7 天重创前、7 天重创后、11、16、20、28、36、45、60、90、120 天测量 HSSWV 值,于不同时间点每次随

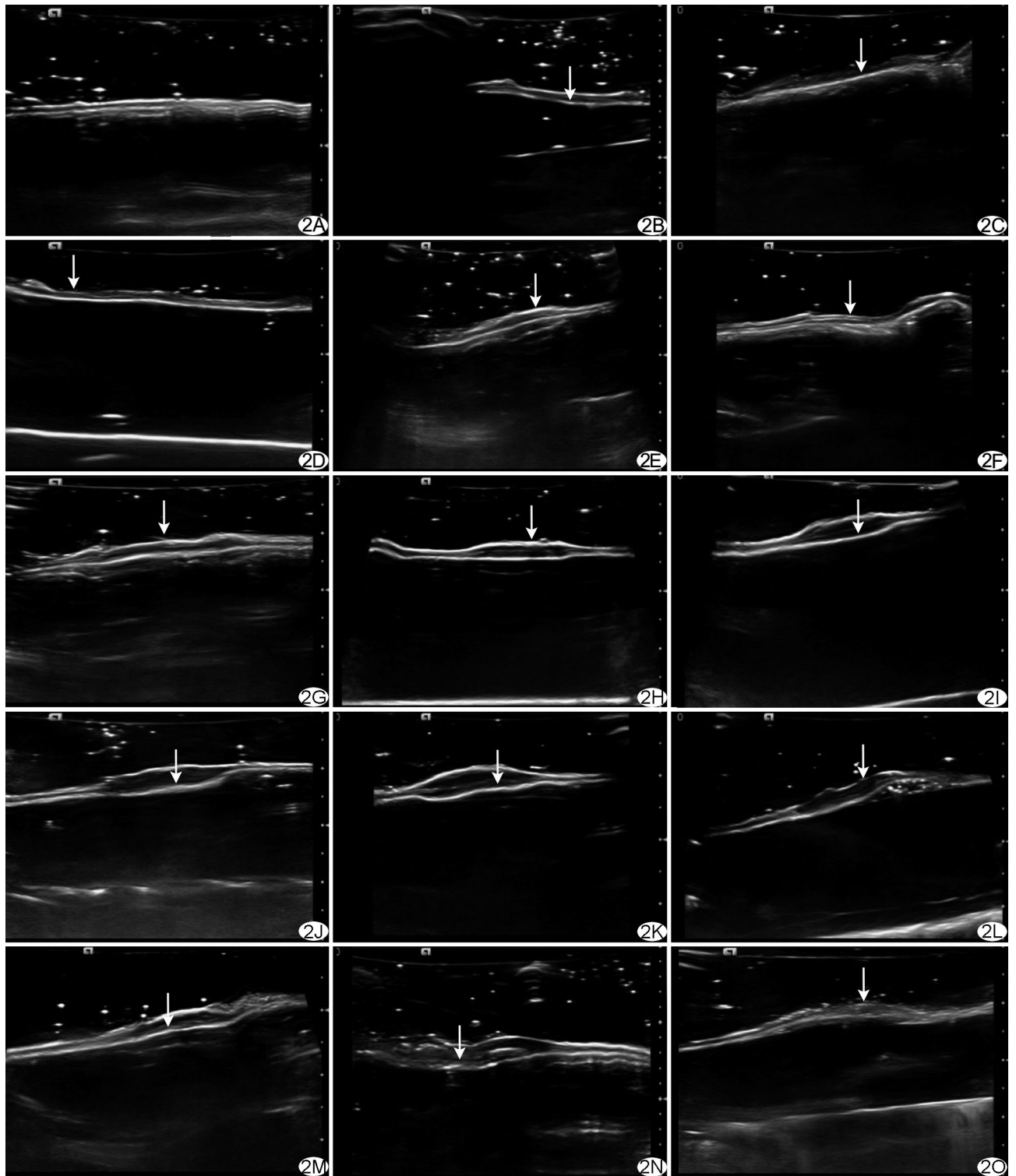


图 2 HS 形成过程二维声像图 A~O, 依次为术前 1 天、术后 1、3、5、7 天重创前、7 天重创后、11、16、20、28、36、45、60、90、120 天 (箭示瘢痕)

机选 5 只模型观察创面, 对同一部位有效测量 10 次后 取中位数, 测得 30 个数据, 按不同时间点将数据分为

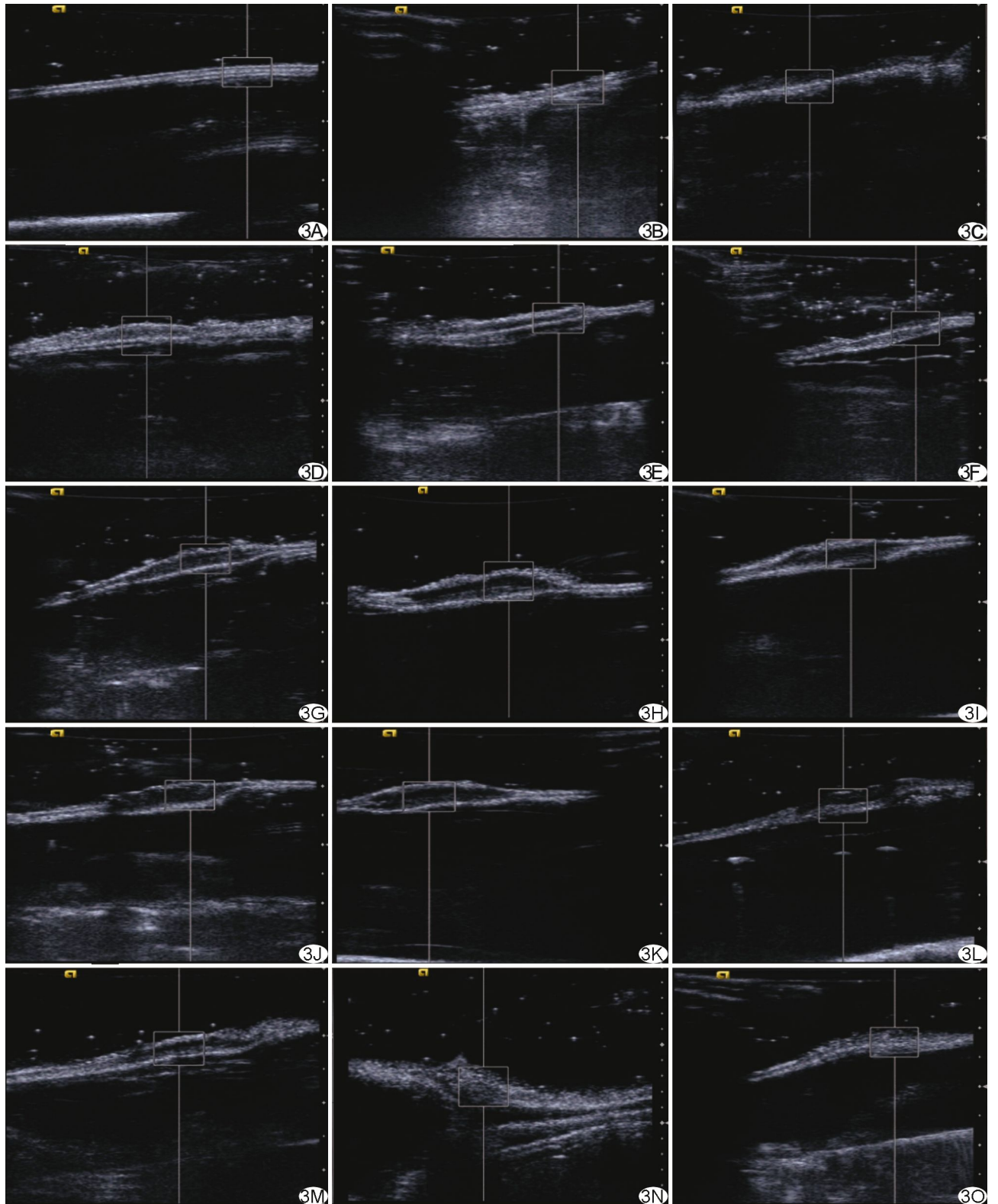


图 3 HS 形成过程弹性检测图 A~O, 依次为术前 1 天、术后 1、3、5、7 天重创前、7 天重创后、11、16、20、28、36、45、60、90、120 天, 取样框位于瘢痕区



15 组。

1.3 组织病理学观察 ARFI 检查结束后随机处死 1 只实验兔,于兔耳创面及其邻近的正常皮肤切取 6 个标本,用 4%多聚甲醛固定 24 h、脱水、包埋、切片,行 HE 染色。

1.4 二维超声图像分析 应用 DFY 定量仪<sup>[7]</sup>测量创面修复过程中各时间点的 HS 及其后方组织的平均灰阶值。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计软件包,计量结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。不同时间点相邻两组 HSSWV 比较采用 *t* 检验;采用 Pearson 相关分析对 HSSWV 值与灰阶值进行相关性分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肉眼观察 兔耳创面修复过程中,术后 3 天内(图 1A、1B)渗出较多,之后创面较快被肉芽组织取代,愈合较快(图 1C、1D)。在修复早期,HS 由创面边缘向中心生长,创面凹凸不平,耳背面可见血管处修复较快,平均愈合时间为(11.00±1.69)天(图 1C、1D)。HS 在术后约第 28 天达增生高峰(图 1E、1F),术后约 60 天进入消退期(图 1G、1H)。HS 颜色逐渐变淡,突出周围皮面厚度减小,HS 发生率降低(表 1)。

2.2 超声观察 HS 二维超声可直观显示 HS 形成过程(图 2);瘢痕在炎症阶段低于周围皮面,在增生阶段突出于周围皮面,达高峰时突出更明显,在消退期突出逐渐减小。兔耳 HS 模型形成过程中不同时间点的 HSSWV 值见表 1、图 3。相邻两组数据间比较,除术前 1 天与术后第 1 天( $P=0.099$ )、术后第 60 天与术后第 90 天( $P=0.053$ )差异无统计学意义外,其余各相邻时间点差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ , 表 1)。在兔耳 HS 形成过程中,HSSWV 值与灰阶值呈正相关( $r=0.568, P < 0.001$ );在兔耳 HS 形成的增生阶段(术后 11~45 天),HSSWV 值与灰阶值高度相关( $r=0.813, P < 0.001$ )。

2.3 组织病理结果 HS 形成过程中可见创面早期的凹陷及明显的炎症反应(图 1B),在增生期表皮较平整可见棘皮样改变向下伸展(图 1D),真皮层增厚主要由胶原纤维组成,多与皮肤表面平行伴随大量新生血管(图 1F),软骨部分或完全坏死、溶解(图 1H)。

2.4 DFY 定量仪灰阶结果 兔耳 HS 模型形成过程的不同时间点二维超声图像灰阶值见表 1。

## 3 讨论

VTQ<sup>[8]</sup>依靠超声探头向 ROI 发射固定频率的短

程、低频声脉冲波,组织受力后局部产生微小形变,产生的横向 SWV 反映受检组织硬度,组织质地越硬,SWV 越大。目前该技术已广泛应用于临床<sup>[9-11]</sup>及实验研究<sup>[12]</sup>。本实验应用 VTQ 技术检测兔耳 HS 的硬度,发现术后第 20 天 HSSWV 达最高峰;在 HS 的增生期,HSSWV 值与灰阶值呈正相关,提示二者均可用于评价瘢痕硬度。

表 1 HS 形成过程中不同时间点 HSSWV 值、灰阶值及创面与 HS 的发生率

组别	HSSWV(m/s)	灰阶值	创面及 HS 发生率[% (个)]
术前 1 天	6.18±0.68	98.38±7.67	—
术后			
第 1 天	6.43±1.09	115.36±20.60	100(150/150)
第 3 天	3.63±0.39	114.20±22.13	100(144/144)
第 5 天	3.33±0.58	103.11±15.68	100(138/138)
第 7 天重创前	3.45±0.63	96.93±7.22	100(132/132)
第 7 天重创后	2.98±0.45	80.79±7.90	100(132/132)
第 11 天	3.77±0.81	95.07±10.24	100(126/126)
第 16 天	3.20±0.43	85.27±6.61	100(120/120)
第 20 天	4.02±0.31	82.23±7.81	100(114/114)
第 28 天	2.46±0.45	70.46±4.72	100(108/108)
第 36 天	2.80±0.52	73.86±7.82	100(102/102)
第 45 天	2.23±0.16	71.68±7.39	96.88(93/96)
第 60 天	2.59±0.03	97.34±4.91	86.67(78/90)
第 90 天	2.36±0.34	95.84±6.17	79.76(67/84)
第 120 天	5.39±0.18	92.92±10.03	52.56(41/78)

本研究发现兔耳腹侧创面可产生与人类 HS 类似的真皮过度增生过程,而创伤的愈合过程通常分为炎症期、增生期、重塑期 3 个阶段。本实验中兔耳 HS 模型的增生期主要在术后 11~45 天。术前 1 天与术后第 1 天 HSSWV 值差异不大,考虑测值主要反映的是软骨及在取样框内耦合剂的均值;炎症期 HSSWV 值较增生期大,是由于兔耳 HS 模型制作时保留了软骨,而软骨膜被完全剥除,软骨由于缺乏营养而发生部分或完全坏死,肉芽组织中的炎性细胞释放各种蛋白水解酶溶解吸收坏死软骨,从坏死软骨下向中心生长,与以往研究<sup>[6]</sup>相似,故炎症期 HSSWV 值较大。研究<sup>[13-14]</sup>证实 HS 在增生期有丰富的新生血管及胶原纤维。理论上,胶原纤维增加将导致组织变硬,SWV 值也会相应增大,HSSWV 值在增生期出现先升后降趋势。然而实际动态观察兔耳 HS 同时对比病理结果发

现,术后第 11 天结痂明显,而术后第 16 天结痂已基本脱落,HSSWV 均值显示术后第 11 天较术后第 16 天大,反映结痂组织较硬;HS 增生高峰期约在术后第 28 天,胶原纤维达高峰,术后第 28 天 HSSWV 值却较术后第 20 天小,可能原因是术后第 28 天新生血管也最丰富,可能降低了 HS 整体硬度;术后第 60 天与术后第 90 天差异较小,考虑 HS 进入缓慢消退阶段,组织变化较小,故 SWV 值接近。

与正常兔耳组织相比,HS 组织呈低回声,灰度值较小。创面愈合的炎症期约在术后前 5 天,此时兔耳软骨部分或完全裸露,其灰阶值较高;术后第 7 天重创前,由于创面已基本平复,无裸露软骨,灰度值较前稍减小;重创后,由于炎性渗出等原因使 HS 处含水量增加,其灰阶值再度下降;术后第 11 天 HS 基本再次结痂愈合,灰阶值稍增高;之后逐渐进入增生高峰,呈明显低回声,灰度值减小,增生阶段的 HSSWV 值与灰阶值高度相关;术后第 60 天左右 HS 趋于成熟消退期,灰阶值升高至与正常兔耳组织接近。

应用 VTQ 技术测量 HSSWV 也存在一定局限性,由于兔耳较薄,取样框大小固定不可调,相对于 HS 面积较大,故取样框内含有耦合剂成分,耦合剂较瘢痕柔软,有可能导致所测 HSSWV 系统性偏小。本实验测量时尽量使 ROI 在取样框内,且保持同一时间点取样框内包含受检组织面积大小一致,以最大限度减轻耦合剂对测值的影响。

综上所述,VTQ 技术测量兔耳 HSSWV 具有直观无创、操作简便、可重复性较高等优点,可用于评估兔耳 HS 形成过程中的硬度改变,进而评价 HS 发生、发展、转归及疗效。

#### [参考文献]

- [1] Penn JW, Grobbelaar AO, Rolfe KJ. The role of the TGF- $\beta$  family in wound healing, burns and scarring: A review. *Int J Burns Trauma*, 2012, 2(1):18-28.
- [2] Viera MH, Amini S, Valins W, et al. Innovative therapies in the treatment of keloids and hypertrophic scars. *J Clin Aesthet Dermatol*, 2010, 3(5):20-26.
- [3] Erbatur S, Coban YK, Aydin EN. Comparison of clinical and histopathological results of hyalomatix usage in adult patients. *Int J Burns Trauma*, 2012, 2(2):118-125.
- [4] 刘海兵,唐丹,曹海燕,等.温哥华瘢痕量表的信度研究. *中国康复医学杂志*, 2006, 21(3):240-242.
- [5] Morris DE, Wu L, Zhao LL, et al. Acute and chronic animal models for excessive dermal scarring: Quantitative studies. *Plast Reconstr Surg*, 1997, 100(3):674-681.
- [6] 游玉芳,王志刚,郑元义,等.高频超声生物显微镜动态观测兔耳增生性瘢痕形成. *中国医学影像技术*, 2012, 28(12):2122-2126.
- [7] 郑元义,王志刚,冉海涛,等.DFY-II 型超声图像定量分析诊断仪的设计及应用. *临床超声医学杂志*, 2005, 7(5):338-340.
- [8] Lupsor M. Liver cirrhosis noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse imaging. *Med Ultrason*, 2011, 13(3):183-184.
- [9] 詹嘉,朱绫琳,陈林,等.超声弹性成像对比声脉冲辐射力成像鉴别诊断良恶性甲状腺小结节. *中国医学影像技术*, 2012, 28(10):2149-2151.
- [10] Bai M, Du L, Gu J, et al. Virtual touch tissue quantification using acoustic radiation force impulse technology: Initial clinical experience with solid breast masses. *J Ultrasound Med*, 2012, 31(2):289-294.
- [11] Gao J, Ran HT, Ye XP, et al. The stiffness of the liver and spleen on ARFI imaging pre and post TIPS placement: A preliminary observation. *Clin Imaging*, 2012, 36(2):135-141.
- [12] 胡艳,董磊,刘晓红,等.声脉冲辐射力成像技术评价家兔肌肉损伤后组织修复的动态变化. *中华超声影像学杂志*, 2012, 21(6):533-536.
- [13] Song R, Bian HN, Lai W, et al. Normal skin and hypertrophic scar fibroblasts differentially regulate collagen and fibronectin expression as well as mitochondrial membrane potential in response to basic fibroblast growth factor. *Braz J Med Biol Res*, 2011, 44(5):402-410.
- [14] Liu H, Gisquet H, Blondel W, et al. Bimodal spectroscopy for in vivo characterization of hypertrophic skin tissue: Pre-clinical experimentation, data selection and classification. *Biomed Opt Express*, 2012, 3(12):3278-3290.