

❖ 实验研究

Tissue dispersion elastography quantitative analysis software in evaluation on hepatic fibrosis staging in rats

DING Jing, QIAN Lin-xue*

(Department of Ultrasound, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective** To explore the feasibility of tissue dispersion quantitative analysis software in evaluation on hepatic fibrosis stages in rats with real-time ultrasonic elastography (RTE). **Methods** Forty-eight rats of different hepatic fibrosis stages and 8 normal rats were examined by RTE. Characteristic parameters of elastography imaging, including average relative strain value, standard deviation of relative strain value, area ratio of low-strain region, complexity, kurtosis, skewness, contrast, entropy, inverse different moment, angular second moment and correlation were obtained using tissue dispersion quantitative analysis software. The above parameters in the rats of different hepatic fibrosis stages were compared, and their correlation with pathological stages were analyzed. **Results** There were significant differences of all parameters among rats of different hepatic fibrosis stages, except for complexity and angular second moment. All parameters except for complexity and angular second moment had correlation with pathological stages (all $P < 0.05$), in which the area ratio of low-strain region had the highest related coefficient ($r = 0.75$, $P < 0.001$). The area under ROC curve for area ratio of low-strain region was 0.88 (\geq F1 stage), 0.92 (\geq F2 stage), 0.90 (\geq F3 stage) and 0.94 (F4 stage), respectively. **Conclusion** Tissue dispersion quantitative analysis software is helpful to the evaluation on hepatic fibrosis stages in rats with RTE.

[Key words] Liver cirrhosis; Rats; Elasticity imaging techniques; Tissue dispersion quantitative analysis

组织弥散弹性成像定量分析软件 评价大鼠肝纤维化分期

丁 静, 钱林学*

(首都医科大学附属北京友谊医院超声科, 北京 100050)

[摘要] **目的** 探讨组织弥散弹性成像定量分析软件评价大鼠肝纤维化分期的可行性。**方法** 对 48 只不同肝纤维化分期的大鼠及 8 只正常大鼠进行实时超声弹性成像(RTE)检查,通过组织弥散定量分析软件分析弹性图,获得弹性特征参数,包括应变均值、标准差、低应变区面积百分比、复杂度、峰度、偏度、对比度、均等性、杂乱度、一致性和相关性;比较不同肝纤维化分期大鼠上述参数的差异,分析其与肝纤维化分期的相关性。**结果** 除复杂度和一致性外,其他参数在不同肝纤维化分期大鼠间差异均有统计学意义($P < 0.05$);相关分析显示除复杂度和一致性外,其他参数均与病理分期具有相关性($P < 0.05$),其中低应变区面积百分比与病理分期相关性最好($r = 0.75$, $P < 0.001$)。以低应变区面积百分比判断肝纤维化分期绘制 ROC 曲线,曲线下面积分别为 0.88(\geq F1 期)、0.92(\geq F2 期)、0.90(\geq F3 期)、0.94(F4 期)。**结论** RTE 中应用组织弥散定量分析软件可评估大鼠肝纤维化分期。

[关键词] 肝硬化;大鼠;弹性成像技术;组织弥散定量分析

[中图分类号] R-332; R575.2; R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2013)08-1243-05

[作者简介] 丁静(1978—),女,河北定州人,硕士,主治医师。研究方向:腹部及小器官超声。E-mail: dj966543@126.com

[通讯作者] 钱林学,首都医科大学附属北京友谊医院超声科,100050。E-mail: qianlinxue2002@yahoo.com.cn

[收稿日期] 2013-02-24 **[修回日期]** 2013-04-10

肝硬化严重威胁人类健康,肝纤维化是肝硬化的早期阶段,在此阶段及时治疗可逆转病情,因此及时、准确地判断肝纤维化分期对诊断疾病、制定治疗方案及预测预后具有重要意义^[1]。实时超声弹性成像(real-time tissue elastography, RTE)是近年发展的一项新技术,诊断甲状腺、乳腺占位性病变的准确性和特异性较高^[2-3],但诊断肝脏弥漫性疾病标准尚不统一^[4]。本研究对肝纤维化模型大鼠行 RTE 检查,采用组织弥散定量分析软件分析检查结果,观察其对大鼠肝纤维化分期的诊断价值。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性清洁级 Wistar 大鼠 80 只(北京华阜康生物科技股份有限公司),体质量 280~350 g,平均(301.3±14.9)g,3 月龄,中国医学科学院药物研究所饲养,饲喂标准丸状饲料,外部环境通风好,噪音小,温度 20~29℃,空气湿度 50%~70%;随机分为肝纤维化模型组(72 只)和正常对照组(8 只)。

1.2 造模 肝纤维化模型组:在大鼠饮用水中加入苯巴比妥 0.35 mg/ml;1 周后改为纯净水,腹腔注射 40%CCl₄ 橄榄油溶液(2 ml/kg 体质量),每周 2 次;自第 4 周始每周随机对 8~10 只大鼠停止注射,建立不同分期肝纤维化模型,直至第 8 周^[5]。正常对照组:大鼠饮用纯净水,与肝纤维化模型组大鼠同期腹腔注射生理盐水。

1.3 检查方法 采用 HI Vision Preirus 彩色多普勒超声诊断仪,EUP-L74M 线阵探头,频率 5~13 MHz。以 10%水合氯醛 3 ml/kg 体质量麻醉大鼠后将其仰卧位保定、备皮,扫查肝右叶,尽量避开肝内较粗的管道结构,启动弹性成像;将 ROI 置于肝包膜下 1 mm 处,大小 15 mm×10 mm,利用大鼠心脏搏动作为外力,待出现随心跳波动的稳定波形后冻结图像,选取波谷截点图像进行分析。稳定的弹性图表现为蓝、红、绿 3 色相间,其中绿色表示 ROI 内组织的平均硬度,红色代表较平均硬度软,蓝色代表较平均硬度硬^[6]。启动

组织弥散定量分析软件,分析区域面积为 100~150 mm²,获得弹性图像的量化数据,包括应变均值、标准差、低应变区面积百分比、复杂度、峰度、偏度、对比度、均等性、杂乱性、一致性和相关性(图 1);重复操作 5 次,取平均值。

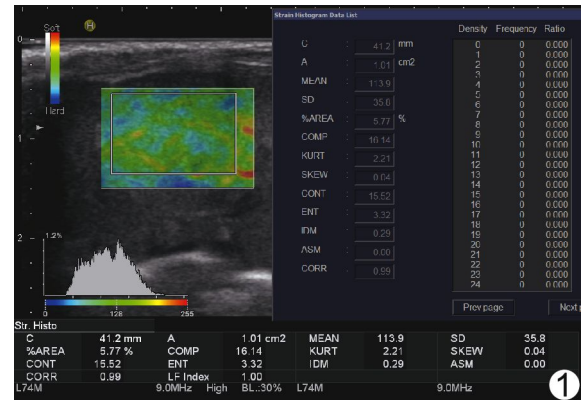


图 1 大鼠肝脏弹性图及 11 个特征量

1.4 病理观察 完成超声检查后处死大鼠,取肝右叶组织,置于 10%的中性福尔马林溶液中固定、脱水,石蜡包埋,进行 HE 染色和 Masson 染色,置于显微镜下观察。大鼠肝纤维化病理分期按 Metavir 分期标准:F0 期,无肝纤维化;F1 期,汇管区有纤维化但无分隔;F2 期,汇管区有纤维化伴少量分隔;F3 期,有大量分隔但无肝硬化;F4 期,肝硬化。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计分析软件,以单因素方差分析比较各纤维化分期间弹性变量的差异;采用 Spearman 等级相关分析评价弹性特征量与肝纤维化分期的相关性;筛选相关系数最高的参数绘制 ROC 曲线,计算曲线下面积(area under curve, AUC)。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模 肝纤维化模型组大鼠成功造模 48 只,死亡 13 只,11 只无纤维化形成。以病理结果为金标准,

表 1 大鼠 F0~F4 期肝纤维化实时组织弹性特征量(̄x±s)

分期	应变均值	标准差	低应变区面积百分比(%)	复杂度	峰度	偏度	对比度	均等性	杂乱度	一致性	相关性
F0 期	126.72±4.47	32.91±2.75	3.48±1.15	19.31±4.85	2.65±0.18	0.07±0.17	21.86±3.56	3.38±0.04	0.25±0.02	0	0.99±0.00
F1 期	119.18±4.69	33.32±2.44	4.10±1.38	19.96±3.19	2.66±0.31	-0.03±0.25	14.32±1.87	3.26±0.04	0.29±0.01	0	0.99±0.00
F2 期	113.15±6.73	34.34±2.68	6.55±3.73	21.88±5.18	2.41±0.16	-0.02±0.18	12.71±2.43	3.24±0.05	0.31±0.02	0	1.00±0.01
F3 期	110.46±6.54	35.50±3.30	7.57±2.47	20.10±3.99	2.46±0.15	0.09±0.18	13.92±3.74	3.25±0.76	0.31±0.03	0	1.00±0.01
F4 期	106.75±7.64	38.69±4.71	12.02±2.72	20.84±2.70	2.51±0.26	0.27±0.12	15.59±4.94	3.27±1.00	0.31±0.03	0	1.00±0.01

造模成功大鼠中 F1 期 12 只、F2 期 9 只、F3 期 15 只、F4 期 12 只, F4 期大鼠中 3 只出现腹腔积液。

2.2 超声弹性成像 除复杂度和一致性外, 其余指标纤维化分期间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 1、图 2); 除复杂度和一致性与病理分期无相关性外, 其余指标与病理分期均具有相关性 ($P < 0.05$, 表 2), 其中低应变区面积百分比与病理分期相关系数最高 ($r = 0.75, P < 0.001$)。

2.3 低应变区面积百分比诊断各期肝纤维化的 ROC 曲线 以低应变区面积百分比判断大鼠肝纤维化分期绘制 ROC 曲线 (图 3), $\geq F1$ 期、 $\geq F2$ 期、 $\geq F3$ 期和 F4 期 AUC 分别为 0.88、0.92、0.90 和 0.94, 根据 Youden 指数最高点获得诊断阈值分别为 4.41%、5.08%、5.83% 和 8.31%, 其诊断各纤维化分期的敏感度、特异度和准确度见表 3。

表 2 11 个弹性特征量与肝纤维化病理分期的相关分析

特征量	r 值	P 值
应变均值	-0.73	<0.001
标准差	0.37	0.002
低应变区面积百分比	0.75	<0.001
复杂度	0.09	0.476
峰度	-0.28	0.040
偏度	0.38	0.004
对比度	-0.32	0.017
均等性	-0.29	0.029
杂乱度	0.53	<0.001
相关性	0.39	0.003

表 3 低应变区面积百分比分期诊断大鼠肝纤维化的敏感度、特异度和准确率 (%)

分期	敏感度	特异度	准确率
$\geq F1$ 期	83.3	75.0	82.1
$\geq F2$ 期	86.1	85.0	85.2
$\geq F3$ 期	85.2	82.8	83.9
F4 期	91.7	86.4	87.5

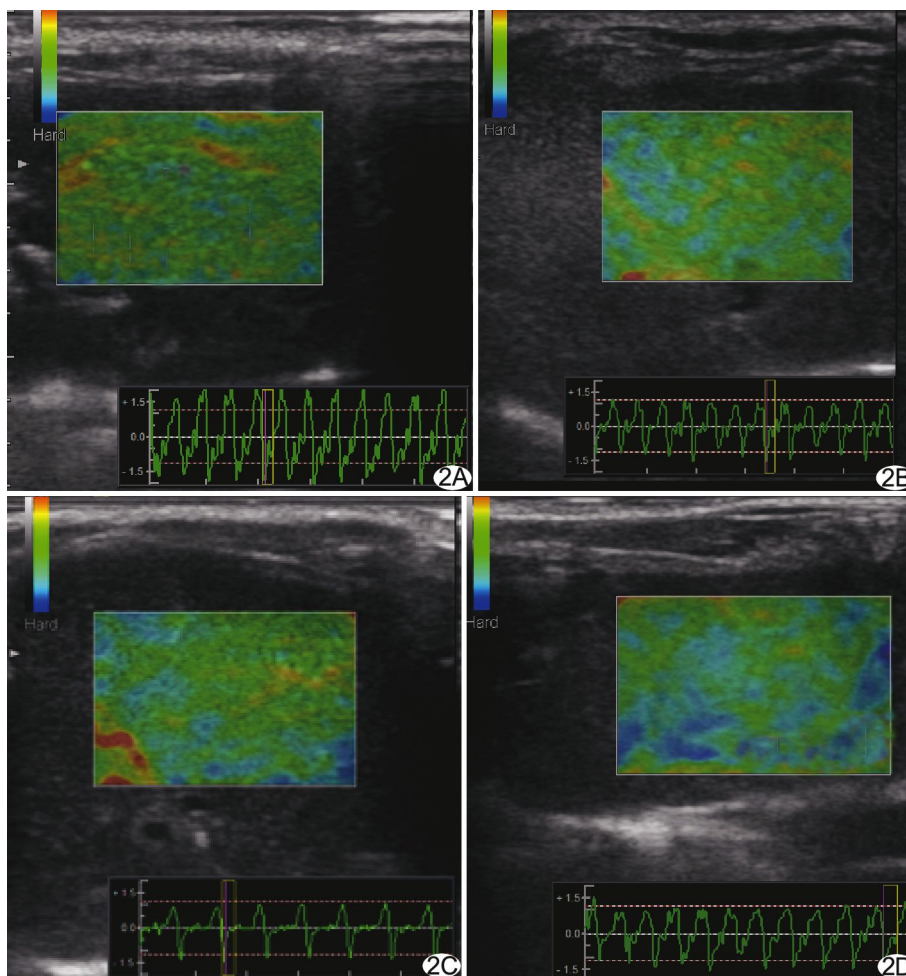


图 2 不同肝纤维化分期大鼠肝脏弹性图 A. F1 期, 绿色区域均匀分布, 杂以少量星点状蓝色区域; B. F2 期, 以绿色区域为主, 散在少许片状蓝色区域; C. F3 期, 绿色、蓝色区域各半; D. F4 期, 以蓝色区域为主, 散在少许绿色区域

3 讨论

经皮肝穿刺活检是诊断肝纤维化的金标准, 但为有创检查, 并存在取样误差。研究者们一直在寻找一种无创、可重复应用的肝纤维化检测方法。近年来, 超声弹性成像评估肝纤维化被广泛用于临床研究。

瞬时超声弹性成像根据回声检测低频弹性波在肝组织中的传导速度, 计算获得组织的弹性数值; 剪切波在组织中的传导速度越快, 弹性数值越大, 表示肝组织质地越硬, 其诊断早期肝硬化的敏感度和特异度均较高^[7-9], 但受肥胖、腹腔积液和肋间隙狭窄等因素限制。声脉冲辐射力成像是最近发展的无创评估肝组织弹性的超声成像技术, 探头对 ROI 发射低频推力脉冲波, 组织受到作用力后产生纵向压缩和横向振动, 通过这些细微变化可计算横向剪切波速度, 间接反映该区域的弹性程度; 剪切波速度与肝纤维化程度具有相关性, 易受腹腔气体、肥胖、大血管波动的影响。本研究采用 RTE 技术, 根据不

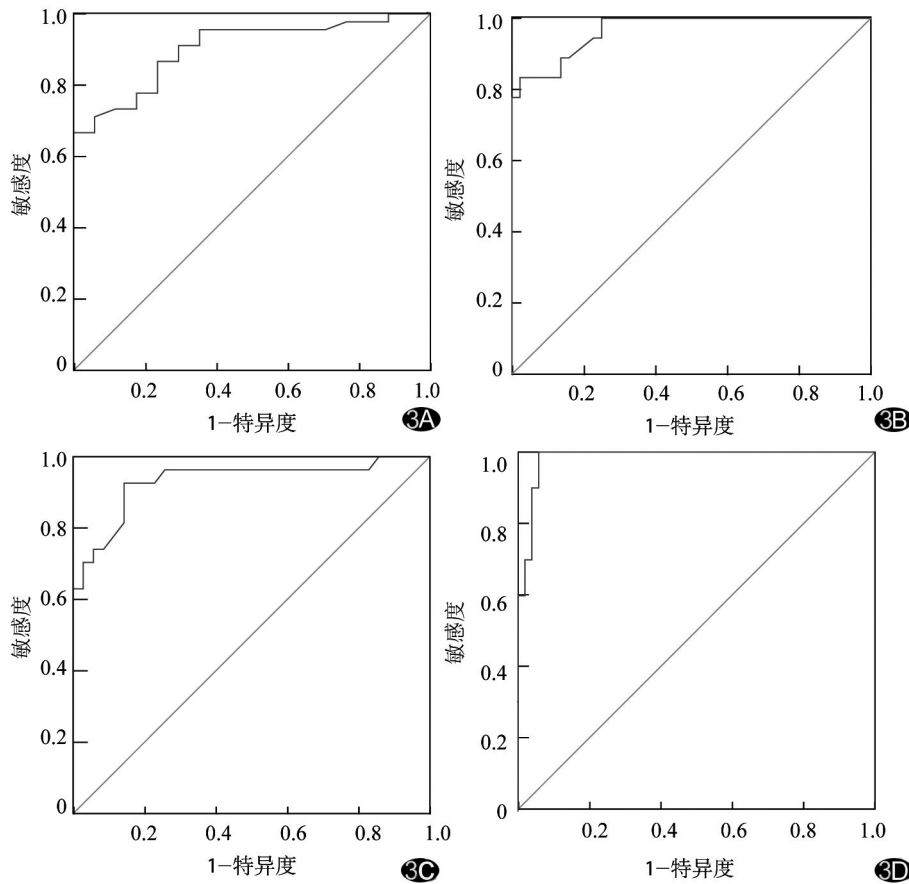


图 3 低应变区面积百分比判断大鼠肝纤维化分期 ROC 曲线 A. $\geq F1$ 期; B. $\geq F2$ 期; C. $\geq F3$ 期; D. F4 期

散定量分析结果相似;以低应变区面积百分比判断大鼠肝纤维化分期绘制 ROC 曲线, AUC 分别为 0.88 ($\geq F1$ 期)、0.92 ($\geq F2$ 期)、0.90 ($\geq F3$ 期)和 0.94 (F4 期), 诊断敏感性、特异性和准确性较高, 提示此法具有良好的诊断价值。

本研究对 56 只大鼠均获得满意图像, 不受肝萎缩和腹腔积液的影响; 选择 ROI 时避开肝内管道系统, 减少了取样误差; 依靠大鼠自身心脏搏动产生的力量对肝脏进行加压获得图像, 减少了手动施压的人为因素的影响。不足之处在于样本较小, 未能综合分析多个量化数据以提高诊断准确性; 另外大鼠的呼吸亦可影响弹性图质量, 使弹性测值存在偏差。

综上, 基于 RTE 的组织弥散定量分析软件检测大鼠肝纤维化无创、便捷, 有助于评估肝纤维化分期, 将来很可能成为一种新的非侵入性肝纤维化检测方法。

同组织在受到外力压迫后发生变形程度的不同, 将受压前后回声信号移动幅度的变化转化为实时彩色图像, 借图像色彩反映组织的硬度。目前有关 RTE 的研究多采用评分法^[10]判定肝纤维化分期, 但易受观察者主观因素的影响, 存在一定误差。

本研究应用组织弥散定量分析软件, 提取彩色弹性图的特征, 自动分析组织弥散程度分级, 获得 11 个弹性图量化数据, 定量分析组织弹性^[11], 与既往研究^[10]中所采用的评分法相比, 可提供组织软硬度的定量信息, 相对客观。本研究结果表明, 11 个弹性特征量中, 除复杂度和一致性与大鼠肝纤维化病理分期无相关外, 其余弹性特征量均与病理分期相关; 相关分析显示低应变区面积百分比是诊断大鼠肝纤维化分期最有意义的参数, 随肝纤维化分期增加, 低应变区面积百分比增高, 这是由于肝纤维化分期越高, 肝脏越硬, 受到压迫后变形越小, 低应变区面积百分比可直接代表肝脏弹性。本研究结果与曾婕等^[6,12]对乙型肝炎肝纤维化及 Morikawa 等^[13]对丙型肝炎肝纤维化的组织弥

[参考文献]

- [1] Kanamoto M, Shimada M, Ikegami T, et al. Real time elastography for noninvasive diagnosis of liver fibrosis. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 2009, 16(4):463-467.
- [2] Zhi H, Ou B, Luo BM, et al. Comparison of ultrasound elastography, mammography, and sonography in the diagnosis of solid breast lesions. J Ultrasound Med, 2007, 26(6):807-815.
- [3] Hong Y, Liu X, Li Z, et al. Real-time ultrasound elastography in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules. J Ultrasound Med, 2009, 28(7):861-867.
- [4] Kim SG, Kim YS, Jung SW, et al. The usefulness of transient elastography to diagnose cirrhosis in patients with alcoholic liver disease. Korean J Hepatol, 2009, 15(1):42-51.
- [5] 高红英, 李国玉, 王航宇, 等. 腹腔注射四氯化碳致 Wistar 大鼠肝纤维化模型制作的探讨. 中国药师, 2010, 13(10):1383-1386.
- [6] 曾婕, 郑荣琴, 苏中振, 等. 弹性成像定量分析与肝纤维化分期的相关性研究. 中华超声影像学杂志, 2011, 20(4):311-313.
- [7] Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. J Hepatol, 2008, 48(5):835-847.

- [8] Sirli R, Sporea I, Tudora A, et al. Transient elastographic evaluation of subjects without known hepatic pathology: Does age change the liver stiffness? J Gastrointest Liver Dis, 2009, 18(1):57-60.
- [9] Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: A meta analysis. Gastroenterology, 2008, 134(4):960-974.
- [10] 裴书芳, 丛淑珍, 冯占武, 等. 实时组织弹性成像诊断肝纤维化. 中国医学影像技术, 2010, 26(5):893-895.
- [11] Tatsumi C, Kudo M, Ueshima K, et al. Non-invasive evaluation of hepatic fibrosis for type C chronic hepatitis. Intervirology, 2010, 53(1):76-81.
- [12] 蒋长秀, 何云, 杨红, 等. 实时组织弹性成像弹性特征量定量与肝纤维化程度的相关分析. 广西医学, 2011, 33(10):1246-1249.
- [13] Morikawa H, Fukuda K, Kobayashi S, et al. Real-time tissue elastography as a tool for the noninvasive assessment of liver stiffness in patients with chronic hepatitis C. J Gastroenterol, 2011, 46(3):350-358.

《中国医学影像技术》杂志 2014 年征订启事

《中国医学影像技术》杂志于 1985 年创刊,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,主编为李坤成教授、姜玉新教授。刊号:ISSN 1003-3289,CN 11-1881/R。是百种中国杰出学术期刊、中国精品科技期刊、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、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、《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》(JSTChina)收录期刊。

《中国医学影像技术》杂志刊登放射、超声、核医学、介入治疗、影像技术学、医学物理与工程学等方面的基础研究及临床实验研究最新成果,信息量大、发刊周期短,注重医、理、工相结合,是影像医学发展和学术交流的良好平台,本刊论文是医学影像专业人员晋升中、高级职称和完成硕士、博士学业的重要依据,也是图书馆必备的学术刊物。

《中国医学影像技术》为月刊,160 页,大 16 开本,彩色印刷。单价 20 元,全年定价 240 元。订户可随时向当地邮局订阅,邮发代号 82-509;亦可向编辑部直接订阅,免邮资费(欢迎通过银行转账,附言栏请注明订阅杂志名称)。

联系电话:010-82547903 传真:010-82547903

E-mail:cjmit@mail.ioa.ac.cn 网址:www.cjmit.com

编辑部地址:北京市海淀区北四环西路 21 号大猷楼 502 室 邮编:100190

银行账户名:《中国医学影像技术》期刊社 账号:110907929010201

开户行:招商银行北京分行清华园支行 联系人:孟辰凤

