

## Regional changes of T2 relaxation on porcine patellar cartilages in vitro by means of degradation enzymatically at 7.0T MR

ZHOU Zhi-yang<sup>1,4</sup>, SHAN Hong<sup>2</sup>, ZOU Xue-nong<sup>3,4\*</sup>, Steffen Ringgaard<sup>4</sup>, ZOU Li-jin<sup>4</sup>,  
LI Hai-sheng<sup>4</sup>, XIE Xue-bin<sup>5</sup>, Hans Stødkilde-Jørgensen<sup>4</sup>, Cody Bünger<sup>4</sup>

(1. Department of Radiology, the Sixth Affiliated Hospital of Sun Yet-Sen University, Guangzhou 510655, China; 2. Department of Radiology, the Third Affiliated Hospital of Sun Yet-Sen University, Guangzhou 510630, China; 3. Department of Orthopaedic Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yet-Sen University, Guangzhou 510080, China; 4. Orthopaedic Research Laboratory and MRI Research Center, Aarhus University Hospital, Aarhus C 8000, Denmark; 5. Department of Radiology, Kiang Wu Hospital, Macao 515031, China)

[Abstract] **Objective** To investigate signal changes in transverse relaxation (T2) from porcine articular cartilages after the trypsin digestion in vitro. **Methods** T2 relaxation times were measured from porcine patellar cartilages. The samples ( $n=20$ ) were assigned to 2 groups. Group A of right patellar samples ( $n=10$ ) were immersed in PBS and served as self-control group. The left patellar samples ( $n=10$ ) were immersed in PBS with trypsin for 4 h and served as treated group (B). T2-images were collected with a spin-echo sequence on a 7.0T scanner. Using a home-built analysis program, T2-maps were obtained and the cartilage from each sample was manually segmented by drawing regions-of-interest. This segmentation separated the patellar cartilage into four layers (superficial, middle, deep and calcified), which represented the superficial, transitional, radial, calcified zones respectively, to investigate regional differences of T2 in patellar cartilage. **Results** T2 relaxation in full, superficial and middle layers ( $P<0.05$ ) increased significantly in samples after 4 h trypsin digestion, whereas T2 relaxation showed no difference on both deep and calcified layers when compared to the control group. **Conclusion** T2 relaxation changes at the articular cartilage with a hyperintense lamina are sensitive to trypsin digestion, which might correlate to PG loss and increased water content. Thus, T2 measurements can be used as non-invasive evaluation method for on-set cartilage disease.

[Key words] Magnetic resonance imaging; Trypsin; Digestion; Cartilage, articular

## 家猪体外胰蛋白酶消化关节软骨的 7.0T 磁共振 T2 弛豫时间图与量化分析

周智洋<sup>1,4</sup>, 单 鸿<sup>2</sup>, 邹学农<sup>3,4\*</sup>, Steffen Ringgaard<sup>4</sup>, 邹立津<sup>4</sup>,  
李海声<sup>4</sup>, 谢学斌<sup>5</sup>, Hans Stødkilde-Jørgensen<sup>4</sup>, Cody Bünger<sup>4</sup>

(1. 中山大学附属第六医院放射科, 广东 广州 510655; 2. 中山大学附属第三医院放射科, 广东 广州 510630; 3. 中山大学附属第一医院骨科, 广东 广州 510080; 4. 丹麦奥胡斯大学医院骨科与磁共振研究中心, 丹麦 奥胡斯 8000; 5. 澳门镜湖医院放射科, 澳门 515031)

[摘要] **目的** 应用超高场 7.0T 磁共振 T2 加权成像技术、弛豫时间图和量化分析的方法评价体外胰蛋白酶消化与未消化家猪髌骨软骨 T2 弛豫时间的改变。 **方法** 选择 10 头家猪, 各取左、右侧髌骨。左侧髌骨 10 个为实验组, 右侧髌骨 10 个为对照组, 分别浸泡于含有胰蛋白酶的 PBS 溶液及 PBS 中, 4 h 后取出。利用 7.0T 磁共振机, 分别采用多回波 SE 序列进行扫描, 获得离体家猪髌骨关节软骨的 T2 加权图像。用自行编制的软件重构 T2 弛豫时间图, 人工标注感兴趣区, 分层定

[基金项目] 中丹(麦)政府间科技合作项目(AM14:29NNP44), 科技部国际科技合作重点项目计划(2005DFA30570), 广东省科技厅国际科技合作项目(2005B5030101)。

[作者简介] 周智洋(1961-), 男, 江西德兴人, 博士, 副教授。研究方向: 骨与关节影像学。E-mail: zhouzyang@hotmail.com

[通讯作者] 邹学农, 中山大学附属第一医院骨科, 510655。E-mail: zxnong@hotmail.com

[收稿日期] 2008-09-22 [修回日期] 2008-12-24

量测定关节软骨的 T2 值。结果 经酶诱导消化的离体家猪髌骨关节软骨 T2W 成像清晰,呈分层状表现,对比度好,无异常伪影。对照组与实验组关节软骨 T2WI 关节软骨未见局部信号异常改变。与对照组比较,实验组软骨全层、表层、中间层 T2 值差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而两者的深层与钙化层差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 经胰蛋白酶诱导消化可引起退变软骨 T2 弛豫时间改变,在软骨的表层及中间层变化明显,提示 T2 弛豫时间是较敏感、特异的检测指标,可进一步应用于关节软骨退变的早期诊断。

[关键词] 磁共振成像;胰蛋白酶;消化;软骨;关节

[中图分类号] R445.2 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2009)03-0355-04

早期骨关节炎(osteoarthritis, OA)软骨退变的最初表现包括蛋白多糖(proteoglycans, PG)的丢失、胶原网络结构的变化和水含量的增加<sup>[1]</sup>。传统的影像学方法包括磁共振常规序列均不能发现软骨形态学变化之前的生化改变。本研究以胰蛋白酶消化家猪髌骨软骨模拟关节软骨退变,在超高场强 7.0T 磁共振机上,采用 T2 加权成像技术与 T2 弛豫时间图量化分析技术评价胰蛋白酶消化与未消化的家猪髌骨软骨 T2 弛豫时间的改变。

## 1 材料与与方法

1.1 试剂与器械 磷酸盐缓冲液(PBS), pH 7.2, 不含有金属钙、镁等离子(Gibco 公司,批号 14190, 丹麦)。胰蛋白酶(St. Louis, MO, Sigma 公司,批号 Trypsin Difco Laboratories 0152-13-1, 丹麦)。标本盒及容积器皿。

1.2 动物和髌骨标本 丹麦雌性长白猪 10 头,平均体质量 45 kg, 静脉推注戊巴比妥(20 mg/kg)处死后,立即取出左右侧髌骨共 20 个。去除周围脂肪、肌肉等组织,放置 -20℃ 冰箱保存待处理。

1.3 酶消化髌骨诱导软骨退变标本制备 实验组左侧髌骨 10 个,对照组右侧髌骨 10 个,分别浸泡于含有 100 μg/ml 胰蛋白酶的 40 ml PBS 溶液中和 40 ml PBS 溶液中,室温下孵化 4 h,其中用振荡器低速振荡 1 h,然后取出待测(图 1)。

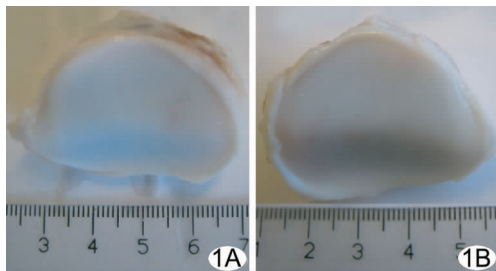


图 1 待测离体猪髌骨 A. 对照组; B. 实验组

1.4 组织切片制备与染色 取实验组髌骨 10 个和对照组髌骨 2 个,沿髌骨水平横断面正中部分锯开,取一半髌骨,以 70% ~ 99% 乙醇分级脱水并固定,甲基丙烯酸甲酯(methyl methacrylate, MMA)包埋,切片(厚 7 μm)。取制备的切片脱水,Weigert 氏铁苏木精溶液染色 4 min, 1% 盐酸酒精分化 15 s, 双蒸水洗涤 15 s。0.02% 固绿水溶液染色 3 min, 1% 冰醋酸洗涤去除残留固绿;0.1% 番红 O 染色 5 min。95% 乙醇、无水乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。

1.5 成像设备 Varian Palo Alto 7.0T 超导型磁共振扫描系

统,主机操作系统:SUN UNIX。采用外径为 11 cm、内径为 6 cm 的圆柱形鸟笼<sup>23</sup> 钠-氢射频线圈(<sup>23</sup>Na-H coil; Rapid Biomedical, Würzburg, Germany), Varian Vnmr J 图像后处理工作站。

1.6 扫描方法 用自带的匀场系统对磁体进行常规匀场,时间为 6 min。将髌骨标本从 PBS 溶液中取出后,置于操作台上晾干 30 min,软骨表面呈湿润状态,无水珠形成。用白色泡沫制成圆柱形标本盒,并根据髌骨形状进行塑形,用胶带将髌骨固定其中,然后密封防止软骨干裂。髌骨关节软骨面朝上水平于磁体。T2 扫描序列:采用 6 个回波 SE 序列 T2 加权图像轴位成像。扫描参数:TR = 2000 ms, TE = 15、30、45、60、75 和 90 ms, FOV = 64 mm × 64 mm, 矩阵 256 × 128; 层厚 3 mm。扫描时间 25 min 41 s。

1.7 图像重构与分析 将图像原始数据下载到 Varian Vnmr J 工作站,利用自行编制的软件进行重建 T2 加权图像,并根据公式:  $S(t) = S_0 \times \exp(-t/T2)$  进行像素与像素转换,重构 T2 弛豫时间图。T2 弛豫时间图量化分析:选择髌骨软骨 T2 加权图像,根据关节软骨分层表现,以表面线状高信号、深部高信号与骨质低信号为标志,分别画表层、中间层、深层、钙化层和软骨全层的 ROIs(图 2),避免把伪影画入 ROIs;再将 ROIs 保存在 Vnmr J 图像终端系统内。在髌骨软骨 T2 弛豫时间图上,分别复制已经保存的 ROI,计算软骨表层、中间层、深层、钙化层和软骨全层的 T2 值。计算结果保存在 Vnmr J 工作站系统内。

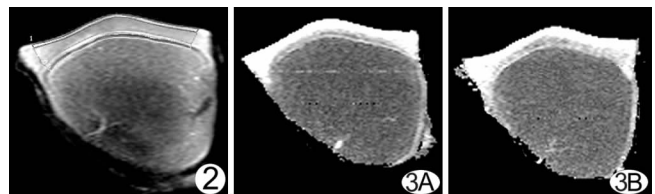


图 2 髌骨 T2 加权图像分层标注 ROIs 图 3 T2 弛豫时间图 A. 例 1 右侧髌骨(对照组); B. 例 1 左侧髌骨(实验组)

1.8 数据处理与统计分析 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用 SPSS 13.0 进行双因素(处理 × 分层)方差分析(two-way ANOVA)。当主效应差异有统计学意义时,各层的消化组与对照组间比较用 Student-t 检验,各层间比较用单因素方差分析(one-way ANOVA)。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

表 1 T2 弛豫时间值加标准差( $\bar{x} \pm s$ , ms)

组别	全层	表层	中间层	深层	钙化层
消化组	49.97 ± 3.94*	72.82 ± 10.05*	43.13 ± 2.83*	40.68 ± 4.63	25.11 ± 1.13
对照组	43.06 ± 4.05	55.97 ± 6.18	38.93 ± 4.15	37.87 ± 3.49	25.31 ± 0.99

注: \* :  $P < 0.05$ 

2.1 经胰蛋白酶消化后,消化组与对照组比较,在全层、表层与中间层的 T2 弛豫时间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。两组比较,T2 弛豫时间在深层和钙化层差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。各层间的 T2 弛豫时间比较结果表明,除中间层与深层间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )外,其他各层间差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,图 3,表 1)。

2.2 对照组可见关节软骨呈红色分层状表现,形态与结构未见改变。消化组可见关节软骨自表层向深层染色变淡,形态与结构未见改变(图 4)。

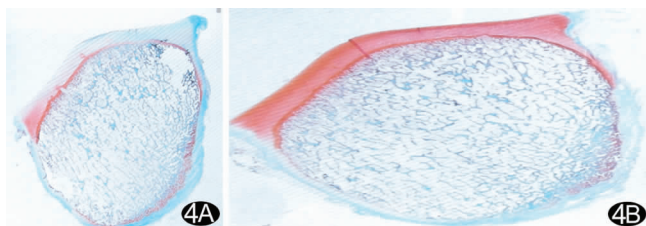


图 4 大体组织切片,软骨染色呈红色(番红 O/固绿染色, × 1.5)

A. 例 1 右侧髌骨(对照组); B. 同一例左侧髌骨(消化组)

### 3 讨论

3.1 早期 OA 的生化变化 OA 早期关节软骨退变主要表现为软骨组织内生化成分和结构的改变,即 PG 的丧失、胶原网络结构的破坏与水含量的增多。最近研究<sup>[2]</sup>在转基因动物上证实 ADAMTS5,一种可以特异性地作用于聚蛋白多糖位点的酶,可以降解 PG,引发软骨退变。这个阶段关节软骨在形态学上多无明显变化,而这些软骨组织结构内细微的生物化学差异可以作为磁共振分子成像对比分辨的病理基础。因此,磁共振分子成像和软骨形态学变化之前的生化改变的量化分析已成为 OA 早期诊断和治疗效果评价无创、有效、敏感的临床新技术。

3.2 关节软骨 T2 值与早期 OA 国内外对动物和人体关节软骨的实验研究<sup>[3-5]</sup>都显示关节软骨内 T2 值的变化与组织结构生化成分相关。T2 弛豫时间图能够是无创性探测软骨退变的量化指标之一,因为它对软骨组织中水化作用和分子改变较为敏感,可在关节软骨形态没有发生明显变化之前用以探测 OA 早期软骨内基质大分子的变化<sup>[6-7]</sup>。关节软骨各层胶原纤维的方向与主磁场之间的角度也可影响 T2 的变化,即魔角效应。本研究使髌骨关节软骨面朝上平行于主磁场,以减少魔角效应对数据的影响。

软骨基质中与胶原和 PG 结合的水分子可使 T2 信号减弱,导致 T2 加权图像上软骨低信号。退变软骨中胶原和 PG 的减少,引起自由水增加,使 T2 加权图像上信号升高。随着基质成分的进一步丢失,软骨中自由水含量增多,信号也进一

步增强。有作者<sup>[8]</sup>用软骨素酶 ABC 消化软骨,使 PG 含量减少后,T2 没有变化;当用胶原酶消化后,可使 T2 升高。Dardzinski 等<sup>[4]</sup>测量正常自愿者及经关节镜证实软骨病变患者的髌软骨的 T2 空间分布,得到关节软骨的 T2 时间约为 35 ~ 70 ms,越接近软骨表层,T2 时间越长。T2 时间长短与软骨内水的含量成正比,与 PG 含量成反比。病变软骨内 T2 明显高于正常,推测是由于软骨退变,对水的通透性增加,软骨内水分含量增高所致。本研究实验组中软骨表层及中间层的 T2 值增加,与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示经胰蛋白酶消化后,软骨中 PG 的减少造成软骨中自由水增加,使 T2 加权图像上信号升高变化,量化测定 T2 值增加,并且以表层的变化明显,并向中层发展,与文献报道<sup>[3]</sup>一致。

3.3 关节软骨 T2 弛豫时间图技术应用前景 近年来,随着磁共振分子成像技术的发展,一些可检测软骨代谢和生化信息的磁共振分子成像新技术开始从实验研究进入临床应用<sup>[9-10]</sup>。T2 弛豫时间图技术与旋转坐标系下的自旋晶格弛豫时间(the spin-lattice relaxation in the rotating frame, T1 $\rho$ )、软骨延迟增强磁共振成像(delayed gadolinium enhanced MRI of cartilage, dGEMRIC)和<sup>23</sup>Na 磁共振成像新技术是目前国外研究的热点。研究者选择动物模型如大鼠、犬、猪、牛<sup>[11-12]</sup>等的离体标本或 OA 模型,采用磁共振成像新技术对在体或离体标本进行扫描,并测定软骨 PG 含量和胶原网络结构等特异性改变与磁共振参数的变化关系。作为关节软骨生理成像最常用的技术,T2 弛豫时间图技术与其他三项技术不同,对硬件要求不高,也不需要增加特殊的软件,可通过探测软骨形态学改变之前软骨基质大分子的早期变化,为临床提供可靠、敏感、无创的量化评价方法,在临床上的应用更为普遍<sup>[9]</sup>。

本研究用酶诱导消化离体猪髌骨关节软骨,进行磁共振多回波 T2 加权成像的实验研究,结果显示磁共振 T2 弛豫时间图和量化分析是一种可行的、敏感的、特异的关节软骨分子成像技术。随着临床上对早期骨关节炎的诊断、药物治疗效果的监测、软骨修复过程的评价以及长期随访的需要,这项分子影像诊断技术将发挥重要作用。但本研究仅选择了一种胰蛋白酶,尚未与多种特异性消化酶进行比较研究;采用的是离体动物标本,所以具有一定的局限性。

### [参考文献]

- [1] Rieppo J, Töyräs J, Nieminen MT, et al. Structure-function relationships in enzymatically modified articular cartilage. *Cells Tissues Organs*, 2003, 175(3): 121-132.
- [2] Glasson SS, Askew R, Sheppard B, et al. Deletion of active ADAMTS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis. *Nature*, 2005, 434(7033): 644-648.
- [3] Dunn TC, Lu Y, Jin H, et al. T2 relaxation time of cartilage at MR imaging: comparison with knee osteoarthritis. *Radiology*, 2004, 232(2): 592-598.
- [4] Dardzinski BJ, Laor T, Schmithorst VJ, et al. Mapping T2 relaxation

time in the pediatric knee: feasibility with a clinical 1.5T MR imaging system. Radiology, 2002, 225(1): 233-239.

[5] Zhou ZY, Shan H, Zou XN, et al. T2 mapping and quantitative assessment of articular cartilage at 7.0T MR. Chin J Med Imaging Technol, 2008, 24(2): 171-175.  
周智洋, 单鸿, 邹学农, 等. 7.0T 磁共振关节软骨 T2 弛豫时间与量化分析的实验研究. 中国医学影像技术, 2008, 24(2): 171-175.

[6] Nissi MJ, Toyras J, Laasanen MS, et al. Proteoglycan and collagen sensitive MRI evaluation of normal and degenerated articular cartilage. J Orthop Res, 2004, 22(3): 557-564.

[7] Watrin-Pinzano A, Ruaud JP, Cheli Y, et al. T2 mapping: an efficient MR quantitative technique to evaluate spontaneous cartilage repair in rat patella. Osteoarthr Cartil, 2004, 12(3): 191-200.

[8] Nieminen MT, Toyras J, Rieppo J, et al. Quantitative MR microscopy of enzymatically degraded articular cartilage. Magn Reson Med, 2000,

43(5): 676-681.

[9] Li X, Ma CB, Link TM, et al. In vivo T1ρ and T2 mapping of articular cartilage in osteoarthritis of the knee using 3T MRI. Osteoarthr Cartil, 2007, 15(7): 789-797.

[10] Kang N, Zu DL, Zhang HJ. Quantitative magnetic resonance imaging of spin density ρ, relaxation times T1 and T2. Chin J Med Imaging Technol, 2004, 20(12): 1944-1947.  
康宁, 俎栋林, 张宏杰. 自旋密度 ρ 弛豫时间 T1 和 T2 定量磁共振成像. 中国医学影像技术, 2004, 20(12): 1944-1947.

[11] Watrin A, Ruaud JP, Olivier PT, et al. T2 mapping of rat patellar cartilage. Radiology, 2001, 219(2): 395-402.

[12] Nissi MJ, Toyras J, Laasanen MS, et al. Proteoglycan and collagen sensitive MRI evaluation of normal and degenerated articular cartilage. J Orthop Res, 2004, 22(3): 557-564.

## Thrombus in left and right atrium with pulmonary embolism with echocardiography: case report

### 超声心动图诊断左右心房血栓合并肺栓塞 1 例

潘旭晴, 施月芳, 舒先红, 潘翠珍

(复旦大学附属中山医院心超室, 上海市心血管病研究所, 上海 200032)

[Key words] Pulmonary embolism; Echocardiography; Thrombosis [关键词] 肺栓塞; 超声心动描记术; 血栓  
[中图分类号] R563.5; R445.1 [文献标识码] B [文章编号] 1003-3289(2009)03-0358-01

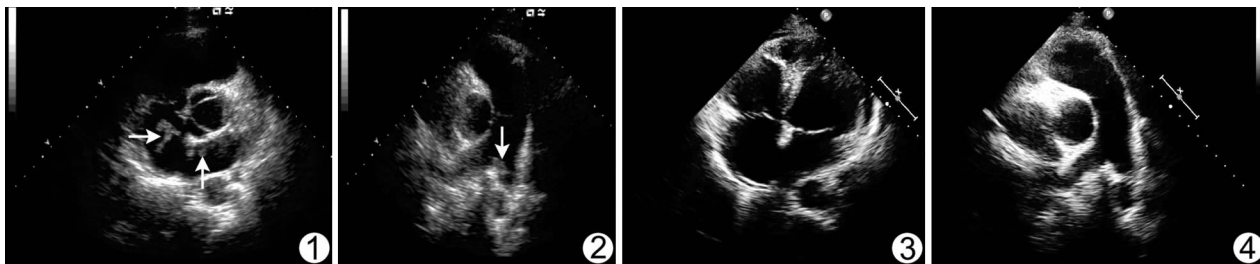


图 1、2 入院超声心动图 房间隔左右心房面及左右肺动脉交叉处可见条状物飘动(箭) 图 3、4 抗凝溶栓治疗后超声心动图

患者男, 35 岁。因“左下肢肿胀伴胸闷气促 1 周余”入院。患者 3 个月前左下肢曾有外伤史, 2 个月前行左膝关节镜检查及治疗后长期卧床制动。血管彩超示左下肢深静脉血栓。超声心动图(图 1、2): 右心房、右心室轻度增大, 肺动脉增宽为 32 mm, 房间隔中段右心房面见一长条状物附着在右心房内飘动, 长度为 70 mm × 7 mm, 房间隔下段左心房面亦可见一小条状物飘动, 大小为 13 mm × 5 mm, 左右肺动脉交叉处可见一 20 mm × 7 mm 大小条状物向左肺动脉延伸, 条状物回声低, 且较均匀, 连续多普勒据中度三尖瓣反流估测肺动脉收缩压为 53 mmHg。胸部增强 CT: 肺动脉多发栓塞, 肺动脉高压。该患者入院后经低分子

肝素及华法令抗凝, 尿激酶溶栓及中药活血化瘀治疗, 并在局麻下行下腔静脉滤器植入术后, 于一周后复查超声心动图(图 3、4)示房间隔左右心房及肺动脉分叉处条状飘动物消失, 肺动脉内径缩小为 28 mm, 连续多普勒据轻度三尖瓣反流估测肺动脉收缩压为 39 mmHg。

讨论 右心房内血栓较少见, 常见原因为肺源性心脏病, 右心室心肌梗死或心肌病, 心内膜炎, 右心起搏器等, 且多为团块状, 附壁型。右心房及左心房内合并血栓形成则更为罕见。该患者左右心房均可见长条状物飘动。右心房血栓需与右心房黏液瘤鉴别。右心房黏液瘤通常基底较宽, 可附着于房间隔或房壁。该患者心房内长条状物活动幅度大, 可变形, 且患者经抗凝溶栓治疗后条状物消失, 故基本可排除右心房黏液瘤的诊断。左心房内的小条状物较小, 可能为右心房内血栓脱落经卵圆孔未闭到达左心房。

[作者简介] 潘旭晴(1982 -), 女, 上海人, 硕士, 医师。  
E-mail: pan.xuqing@163.com  
[收稿日期] 2008-09-25 [修回日期] 2008-11-05