

磁共振动态监测抗肿瘤血管治疗的微环境变化分析

梁建业¹ 肖泽宇² 张冬¹ 马孟杰¹ 黄家喜¹ 史长征¹ 罗良平¹

¹暨南大学附属第一医院影像中心, 广州 510632; ²暨南大学附属第一医院分子与功能影像研究所, 广州 510632

梁建业和肖泽宇对本文有同等贡献

通信作者: 罗良平, Email: tluolp@jnu.edu.com

【摘要】 目的 探究动态增强磁共振成像(DCE-MRI)及血氧水平依赖功能磁共振成像(BOLD-MRI)在评估抗肿瘤血管治疗期间血流动力学及肿瘤侵袭性方面的可行性。方法 利用HCT116细胞株在裸鼠建立结肠癌皮下移植瘤模型,将16只雌性裸鼠(鼠龄6~8周,体质量15~18 g,实验动物许可证编号:11400700325797)随机分为两组,分别于第1、4、7、10、13天经腹腔注射给予贝伐单抗注射液(治疗组)及生理盐水(对照组)处理,然后于第0、3、6、9、12、15天进行DCE-MRI及BOLD-MRI检查。通过病理检查验证肿瘤治疗后的血管成熟程度和微环境缺氧情况。统计学上主要进行单因素方差分析及相关性分析。结果 15 d后治疗组的肿瘤体积明显小于对照组,体积分别为(712±43)和(1 051±112)mm³,差异有统计学意义($t=7.969, P<0.01$)。治疗组的容积转运常数(K^{trans})各时间点测值为(0.135±0.005)、(0.147±0.006)、(0.175±0.009)、(0.161±0.006)、(0.140±0.005)、(0.116±0.008)/min($F=81.386, P<0.01$);速率常数(K_{ep})分别为(0.788±0.030)、(0.804±0.036)、(0.983±0.059)、(1.105±0.091)、(0.840±0.047)、(0.786±0.041)/min($F=45.901, P<0.01$);血管外细胞外间隙(V_e 值)分别为(0.652±0.006)、(0.559±0.026)、(0.466±0.016)、(0.286±0.027)、(0.363±0.020)、(0.246±0.033)($F=384.290, P<0.01$);横向弛豫率($R2^*$ 值)分别为(24.813±0.961)、(24.675±1.070)、(21.425±1.371)、(17.850±0.885)、(24.613±0.640)、(27.013±0.734)/s($F=89.323, P<0.01$),差异均有统计学意义。在第3~12天期间 K^{trans} 值、肿瘤血管成熟度(VMI值)高于基态水平。CD31阳性染色率、VMI值与 K^{trans} 值的相关性最高(r 值分别为0.854、0.795),其次是AUC₁₈₀值(r 值分别为0.750、0.808),最后是 V_e 值(r 值分别为0.744、0.712)及 K_{ep} 值(r 值分别为0.729、0.758,均 $P<0.05$)。 $R2^*$ 值则与HIF-1 α 、纤维连接蛋白阳性染色率呈良好的正相关关系(r 值分别为0.810、0.816,均 $P<0.05$)。结论 DCE-MRI及BOLD-MRI可以无创、动态地观察血管抑制剂治疗期间肿瘤微循环灌注及缺氧程度的改变, $R2^*$ 值可以预测肿瘤治疗期间的转移潜能变化。

【关键词】 磁共振成像; 血管; 生长抑制物; 缺氧

基金项目:国家自然科学基金面上项目(21317241, 81971672);广东省自然科学基金-重点项目(2018B0303110011);广东省科技计划项目(2017A020215065);广州市分子与功能影像临床转化重点实验室(201905010003)

DOI:10.3760/ema.j.issn.0376-2491.2020.01.012

Value of dynamic MRI in monitoring the microenvironmental changes of anti-vascular therapy in a xenograft model

Liang Jianye¹, Xiao Zeyu², Zhang Dong¹, Ma Mengjie¹, Huang Jiayi¹, Shi Changzheng¹, Luo Liangping¹

¹Medical Imaging Center, the First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510632, China; ²Institute of Molecular and Functional Imaging, the First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510632, China

Liang Jianye and Xiao Zeyu contributed equally to the article

Corresponding author: Luo Liangping, Email: tluolp@jnu.edu.com

【Abstract】 Objective To explore the feasibility of dynamic-enhanced magnetic resonance imaging (DCE-MRI) and blood oxygen level-dependent MRI (BOLD-MRI) in assessing the hemodynamics

and tumor aggressiveness during treatment. **Methods** The colon cancer xenograft model was established in BALB/C nude mice with HCT116 cell line. Sixteen nude mice were randomly divided into treatment and control groups (aged 6 to 8 weeks, weighted 15 to 18 g, Certificate No. 11400700325797), which were treated with bevacizumab and saline by intraperitoneal injection on the 1st, 4th, 7th, 10th and 13th day. DCE-MRI and BOLD-MRI were performed before and on the 3th, 6th, 9th, 12th, and 15th day after treatment. The vascular maturity and microenvironment hypoxia were confirmed by pathology. **Results** The tumor volume of treatment group was significantly smaller than that of control group after 15 days ((712 ± 43) vs (1051 ± 112) mm³, $P < 0.01$). The measurements of K^{trans} were (0.135 ± 0.005) , (0.147 ± 0.006) , (0.175 ± 0.009) , (0.161 ± 0.006) , (0.140 ± 0.005) , (0.116 ± 0.008) /min ($F=81.386$, $P < 0.01$); K_{ep} were (0.788 ± 0.030) , (0.804 ± 0.036) , (0.983 ± 0.059) , (1.105 ± 0.091) , (0.840 ± 0.047) , (0.786 ± 0.041) /min ($F=45.901$, $P < 0.01$); V_e were (0.652 ± 0.006) , (0.559 ± 0.026) , (0.466 ± 0.016) , (0.286 ± 0.027) , (0.363 ± 0.020) , (0.246 ± 0.033) ($F=384.290$, $P < 0.01$) and $R2^*$ values were (24.813 ± 0.961) , (24.675 ± 1.070) , (21.425 ± 1.371) , (17.850 ± 0.885) , (24.613 ± 0.640) , (27.013 ± 0.734) /s ($F=89.323$, $P < 0.01$) showed different trends with time in the treatment group, and the differences were statistically significant. The K^{trans} values and tumor vessel maturity index (VMI) were higher than baseline values during 3–12 d after treatment. CD31 positive staining rate and VMI had the strongest correlations with K^{trans} values ($r=0.854$ and 0.795), followed by AUC_{180} ($r=0.750$ and 0.808), V_e ($r=0.744$ and 0.712) and K_{ep} values ($r=0.729$ and 0.758), all $P < 0.05$. $R2^*$ value positively correlated with the positive staining rate of HIF-1 α and fibronectin ($r=0.810$ and 0.816), all $P < 0.05$. **Conclusion** DCE-MRI and BOLD-MRI are adequate to observe the tumor perfusion and hypoxia during anti-vascular treatment, and the $R2^*$ value can predict the tumor metastatic potential during the process of vascular normalization.

【Key words】 Magnetic resonance imaging; Blood vessels; Growth inhibitors; Anoxia

Fund program: National Natural Science Foundation of China (21317241, 81971672); Key Program of Natural Science Foundation of Guangdong Province of China (2018B0303110011); Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2017A020215065); Guangzhou Key Laboratory of Molecular and Functional Imaging for Clinical Translation (201905010003)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2020.01.012

肿瘤的生长、侵袭和转移与肿瘤血管的生成密切相关。当新生的肿瘤血管不足以提供肿瘤生长所需要的氧气时就会形成缺氧的微环境,并诱导肿瘤细胞的上皮-间质转化,使肿瘤的侵袭性及转移能力进一步提高^[1]。抗血管治疗是当今肿瘤化疗的重要组成部分,但仍然存在一定的争议,如过度抑制新生血管将加重肿瘤缺氧及妨碍药物递送,另有研究报道抗血管治疗可以短暂诱导肿瘤血管的功能正常化,使肿瘤血供增加,乏氧改善^[2]。以往利用磁共振成像(MRI)连续监测抗血管治疗后肿瘤微环境改变的研究并不多见,明确抗肿瘤血管治疗的潜在机制、血流动力学及缺氧微环境改变对于在联合放化疗方面有重要的临床意义。因此本研究拟利用动态增强磁共振成像(DCE-MRI)及血氧水平依赖功能磁共振成像(BOLD-MRI)动态监测抗血管生成药物贝伐单抗对裸鼠皮下移植瘤模型的血供及氧供的影响,并结合免疫病理结果,全面评估抗血管治疗后的肿瘤微环境及转移潜能的变化。

材料与方法

一、材料

1. 实验动物与细胞株: 50 只 BALB/C nu/nu 裸

鼠购于北京维通利华实验动物技术有限公司(实验动物许可证编号:11400700325797), 鼠龄 6~8 周, 雌性, 体质量 15~18 g。相关动物实验操作程序已得到暨南大学实验动物使用与伦理管理委员会批准(批准文号: IACUC-20180410-02)。1% 戊巴比妥钠溶液及人源性结肠癌细胞系 HCT116 由本校药学院赠送。

2. 主要试剂和仪器: 10 ml 基质胶购于广州赛哲科技有限公司, 二甲基亚砜和胎牛血清购自美国赛默飞世尔科技公司, 抗 CD31、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、纤维连接蛋白、HIF-1 α 抗体购于赛维尔生物科技有限公司, 贝伐单抗注射液购于国药集团有限公司。主要仪器为美国 GE 公司的 Signa 1.5 T MR 扫描仪及 AW4.5 后处理工作站。

二、方法

1. 模型制备: 将细胞株培养成 1×10^6 个/ml 密度的细胞悬液并按 0.2 ml/只的量接种于裸鼠腹侧右后肢皮下。在无特定病原体级环境中饲养至瘤径约 8 mm 建立裸鼠结肠癌皮下移植瘤模型并开始实验。

2. 实验分组: 筛选出 43 只成功建模的裸鼠进行分组。成像方面, 治疗组和对照组各 8 只, 最后

一次成像结束后处死作为 15 d 时间点的病理结果, 剩余 35 只分为病理组, 其中 3 只作为两组共同的基态病理, 于第 3、6、9、12 天分别取 3 只裸鼠肿瘤作为两组的平行病理对照。

3. 给药方案: 采用间断腹腔注射方式给药, 给药时间点均为第 1、4、7、10、13 天。治疗组选用贝伐单抗注射液, 给药剂量为 5 mg/kg, 对照组选用同等剂量的生理盐水。

4. 磁共振检查: 治疗组及对照组共 16 只裸鼠分别于第 0、3、6、9、12、15 天进行 MR 成像, 扫描前使用 1% 戊巴比妥钠腹腔麻醉实验动物, 采用美国 GE 公司的 Signa 1.5 T MR 扫描仪进行成像, 小动物线圈, 头先进, 仰卧位, 将移植瘤的中心定位于线圈及磁体的中心。使用快速自旋回波序列获得 T_1 加权图像 (T_1WI) 和 T_2WI 。 T_1WI 参数如下: 重复时间 (TR)/回波时间 (TE) 540 ms/14.7 ms, 层厚/层间距 2.0 mm/0.2 mm, 扫描视野 (FOV) 5 cm×5 cm, 矩阵 192×160; T_2WI : TR/TE 2 140 ms/82.3 ms, 层厚/层间距 2.0 mm/0.2 mm, FOV 5 cm×5 cm, 矩阵为 256×192; BOLD-MRI 参数: TR 160 ms, TE 3.4~92.1 ms (共 16 个 TE: 3.4、9.3、15.2、21.2、27.1、33.0、38.9、44.8、50.7、56.6、62.5、68.5、74.4、80.3、86.2、92.1 ms), 层厚/层间距 2.0 mm/0.2 mm, FOV 8.0 cm×6.4 cm, 矩阵 192×128; DCE-MRI 参数, TR/TE 40 ms/2.4ms, 矩阵为 128×96, 层厚/层间距 2.0 mm/0.2 mm, 矩阵为 128×96, FOV 7.0 cm×5.6 cm。通过尾静脉留置针注射马根维显, 注射剂量为 0.1 mmol/kg, 注射后用 0.9% 生理盐水 0.3 ml 冲管。

5. 数据后处理: 原始数据传输至 GE AW4.5 工作站处理, BOLD 数据通过 Functool 软件包下的 R2Star 后处理程序获得横向弛豫率 ($R2^*$) 伪彩图。DCE-MRI 采用 cine tool 软件的双室药物动力学模型, 处理后得到容积转移常数 (K^{trans})、血管外细胞外间隙容积比 (V_e)、速率常数 (K_{ep}) 及团注对比剂后首过 180 s 的浓度时间曲线下面积 (AUC_{180})。感兴趣区的选择参照常规 T_1WI 及 T_2WI 图像, 勾画肿瘤最大层面面积的 80% 以上, 不同时间点感兴趣区的选择层面及位置尽量保持相同。

6. 生长情况定量: 用游标卡尺于第 0、3、6、9、12、15 天测量肿瘤的短径 (a) 和长径 (b), 肿瘤体积 = $a^2 \times b \times 0.5$ (mm³)。

7. 病理检查及结果定量: 每个肿瘤标本进行常规的 HE 染色及免疫病理染色, 荧光染色包括 α -SMA 与 CD31 双染及上皮-间质转化标记物纤维

连接蛋白单染, HIF-1 α 采用免疫组化方法染色, 其中 α -SMA 是肿瘤新生血管周细胞的标记物, 与血管成熟度有关, 纤维连接蛋白是上皮间质转化标志物, HIF-1 α 能表征肿瘤乏氧程度。图像定量分析选用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算各个指标阳性染色区域的累积光密度 (IOD) 比率 = 阳性部分 IOD / (阳性部分 IOD + 阴性部分 IOD) × 100%, 结果以百分率表示。血管成熟度 (VMI) = α -SMA 累积光密度值 / CD31 累积光密度值 × 100%^[3]。

8. 统计学方法: 选用 SPSS 13.0 统计软件对所得数据进行统计学分析, 采用 GraphPad Prism 6.0 进行统计图的绘制。定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 利用 Kolmogorov-Smirnov 法进行正态性检验, 各时间点的 K^{trans} 、 K_{ep} 、 V_e 、 AUC_{180} 、 $R2^*$ 值及 CD31、HIF-1 α 、VMI 百分数及肿瘤体积采用单因素方差分析。组间比较采用两独立样本 t 检验。选用 15 d 的 MR 指标及病理指标进行 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 肿瘤生长: 抗血管治疗期间裸鼠未见明显的异常反应及死亡等情况, 抗血管治疗 15 d 后肿瘤的平均体积 669~756 (712±43) mm³, 对照组平均体积为 939~1 164 (1 051±112) mm³, 治疗组的肿瘤体积较对照组明显缩小, 差异有统计学意义 ($t=7.969$, $P < 0.01$) (图 1, 表 1)。

2. MRI 结果: 磁共振参数值及趋势图见表 1 及图 1。治疗组裸鼠在常规 T_1WI 上 9 d 前均未见明显的信号改变, 12 及 15 d 瘤体中心可见小片状的高信号影, 意味着瘤体出血, T_2WI 上在第 3 天开始即出现数量不等的斑片状高信号影, 表示为肿瘤坏死、液化改变。对照组在 T_2WI 上亦出现高低混杂的信号影, 但未及治疗组明显。治疗组各时间点 K^{trans} 、 K_{ep} 、 V_e 、 AUC_{180} 及 $R2^*$ 值伪彩图见图 2。 K^{trans} 值在给药后逐渐升高, 直至 6 d 后出现下降趋势, 15 d 达到最低值, 差异有统计学意义 ($F=81.386$, $P < 0.01$)。 V_e 值在 0~9 d 以不同的速度下降, 在 12 d 出现短暂升高后于 15 d 再次下降, 差异有统计学意义 ($F=384.290$, $P < 0.01$)。 K_{ep} 值在给药后逐渐升高, 直至 9 d 达到峰值, 然后逐渐下降, 回到基态水平, 差异有统计学意义 ($F=45.901$, $P < 0.01$)。 AUC_{180} 值在 0~6 d 期间逐渐升高, 于 9 d 出现一个短暂的平台期后开始下降, 差异有统计学意义 ($F=23.514$, $P <$

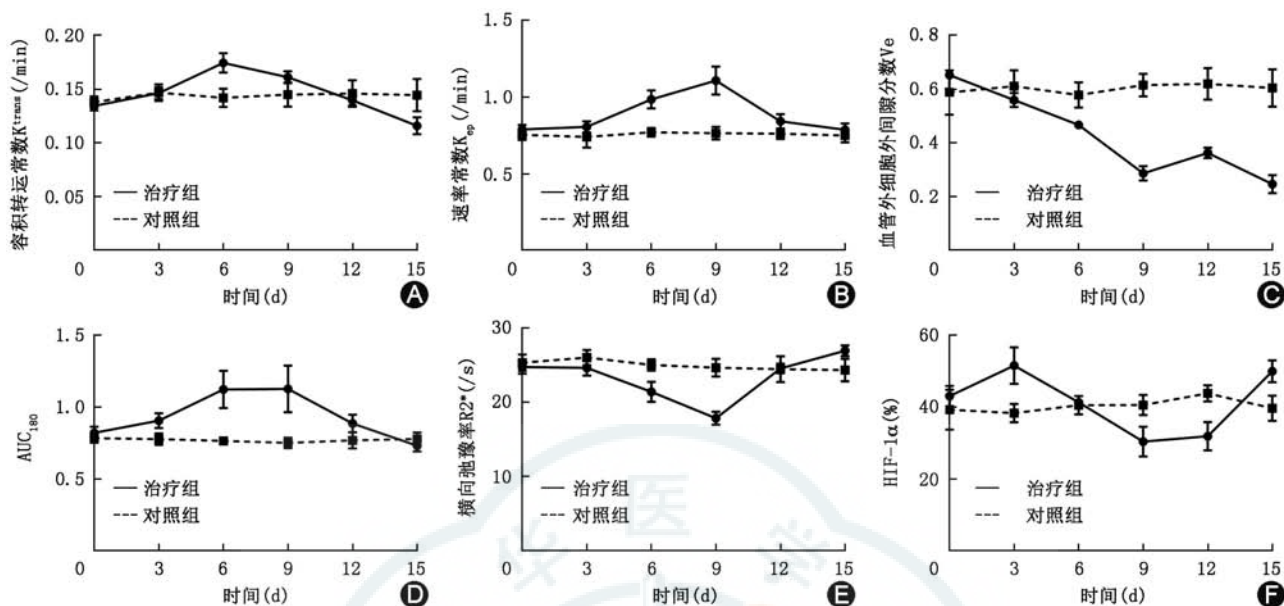


图1 治疗组与对照组各时间点的磁共振指标变化趋势图,A~D为DCE-MRI参数值变化图,E为BOLD-MRI参数变化图,F为低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)随时间变化趋势图; K^{trans} :容积转运常数, V_e :血管外细胞外间隙, K_{ep} :速率常数,AUC₁₈₀:团注对比剂后首过180 s的浓度曲线下面积,R2*值:横向弛豫率

表1 治疗组和对照组各时间点的磁共振指标及病理参数值($\bar{x} \pm s$)

组别	0 d	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d	F 值	P 值
治疗组(n=8)								
R2*(s)	24.813±0.961	24.675±1.070	21.425±1.371	17.850±0.885	24.613±0.640	27.013±0.734	89.323	0.001
K^{trans} (/min)	0.135±0.005	0.147±0.006	0.175±0.009	0.161±0.006	0.140±0.005	0.116±0.008	81.386	0.001
V_e	0.652±0.006	0.559±0.026	0.466±0.016	0.286±0.027	0.363±0.020	0.246±0.033	384.290	0.001
K_{ep} (/min)	0.788±0.030	0.804±0.036	0.983±0.059	1.105±0.091	0.840±0.047	0.786±0.041	45.901	0.001
AUC ₁₈₀	0.823±0.043	0.907±0.052	1.125±0.130	1.128±0.163	0.887±0.061	0.731±0.040	23.514	0.001
CD31(%)	36.7±5.1	50.5±0.17	56.7±4.8	45.8±2.0	32.1±6.4	29.8±5.9	17.945	0.001
血管成熟度(%)	55.6±2.0	55.7±1.7	65.3±2.8	81.5±6.8	65.9±2.8	52.1±2.6	39.867	0.001
HIF-1 α (%)	43.1±2.9	51.6±5.1	41.4±1.2	30.4±4.2	31.9±4.0	50.0±3.1	24.356	0.001
纤维连接蛋白(%)	21.3±4.5	31.4±3.2	43.6±1.4	49.6±0.9	61.4±3.6	59.6±3.4	91.069	0.001
肿瘤体积(mm ³)	230±23	277±32	301±30	360±46	478±48	712±43	174.648	0.001
对照组(n=8)								
R2*(s)	25.388±1.122	26.075±1.036	25.088±0.779	24.700±1.218	24.513±1.745	24.375±1.537	1.981	0.101
K^{trans} (/min)	0.138±0.005	0.147±0.008	0.142±0.009	0.145±0.011	0.146±0.012	0.145±0.015	0.770	0.576
V_e	0.587±0.083	0.610±0.059	0.578±0.047	0.614±0.042	0.619±0.058	0.603±0.070	0.559	0.731
K_{ep} (/min)	0.754±0.034	0.739±0.069	0.770±0.029	0.764±0.040	0.749±0.045	0.749±0.045	0.517	0.762
AUC ₁₈₀	0.785±0.032	0.778±0.040	0.766±0.030	0.752±0.036	0.770±0.057	0.779±0.046	0.654	0.660
CD31(%)	38.2±3.8	36.4±1.3	40.6±1.7	42.6±0.8	38.1±3.4	40.7±2.9	2.350	0.085
血管成熟度(%)	54.2±1.6	47.8±1.2	53.2±4.4	47.8±4.9	50.7±3.1	48.0±3.3	2.646	0.060
HIF-1 α (%)	39.3±5.6	38.4±2.6	40.6±2.6	40.6±2.8	43.9±2.3	39.7±3.5	0.937	0.482
纤维连接蛋白(%)	24.6±0.13	22.4±4.2	20.1±2.7	19.2±1.4	18.2±0.4	20.6±2.6	2.586	0.065
肿瘤体积(mm ³)	225±24	373±20	468±52	624±54	868±67	1 051±112	195.697	0.001

注:R2*值:横向弛豫率, K^{trans} :容积转运常数, V_e :血管外细胞外间隙, K_{ep} :速率常数,AUC₁₈₀:团注对比剂后首过180 s的浓度时间曲线下面积

0.01)。R2*值在0~9 d逐渐下降,于9 d达到谷值后逐渐上升,差异有统计学意义($F=89.323, P<0.01$)。对照组各项指标差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。

3. 病理结果:治疗组及对照组相关病理定量结

果及趋势图见表1及图3。治疗组HE染色、 α -SMA与CD31荧光双染、HIF-1 α 组化单染及纤维连接蛋白荧光单染切片分别见图4。HE染色显示给药后肿瘤出现数量不等的细胞坏死、凋亡改变,较对照

组更为明显。治疗组的 CD31 染色率在给药后 0~6 d 仍然出现短暂的升高趋势,然后逐渐下降,直至

15 d,差异有统计学意义($F=17.945, P<0.01$)。VMI 值在 0~9 d 逐渐上升,然后下降,差异有统计学意义($F=39.867, P<0.01$)。上皮-间质转化标记物纤维连接蛋白染色率在给药后一直升高,12 d 后达到平台期,差异有统计学意义($F=91.069, P<0.01$)。HIF-1 α 染色率在给药后短暂升高,于 3~9 d 逐渐下降,于 9~12 d 短暂平台期后再次上升,差异有统计学意义($F=24.356, P<0.01$)。对照组各指标时间点间差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。

4. 相关性分析:病理指标与磁共振指标各自具体的相关系数见表 2。CD31 阳性染色率、VMI 值与 K^{trans} 值的相关性最高(r 值分别为 0.854、0.795), AUC_{180} 值(r 值分别为 0.750、0.808)、 Ve 值(r 值分别为 0.744、0.712)及 K_{ep} 值(r 值分别为 0.729、0.758, 均 $P<0.05$)亦显示出中度至良好的正相关关系。 $R2^*$ 值则与 HIF-1 α 、纤维连接蛋白阳性染色率

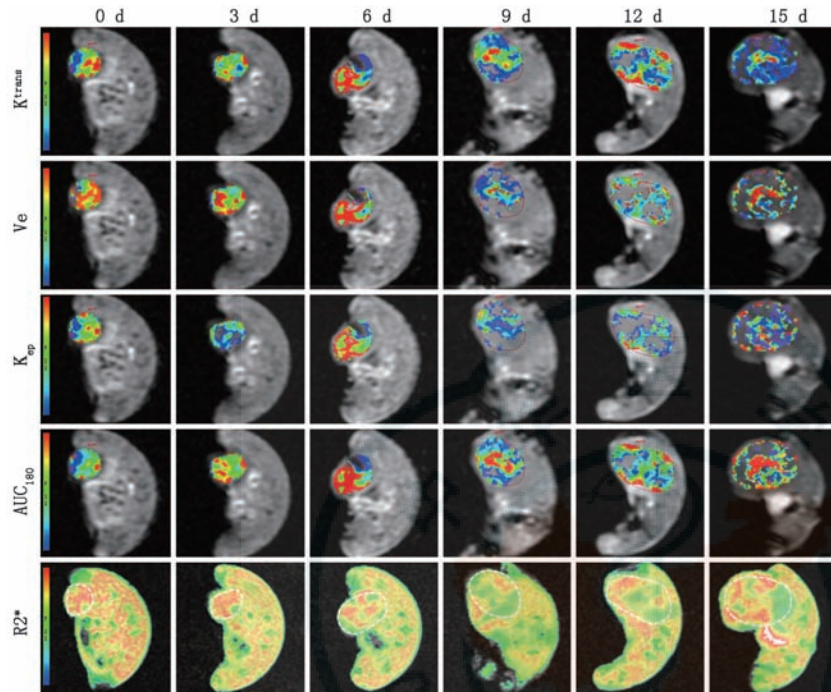


图 2 治疗组各时间点相关磁共振指标伪彩图 每张图均为肿瘤最大层面的小鼠轴位图像,色彩由蓝至红代表数值由低至高; K^{trans} :容积转运常数, Ve :血管外细胞外间隙, K_{ep} :速率常数, AUC_{180} :团注对比剂后首过 180 s 的浓度时间曲线下面积, $R2^*$ 值:横向弛豫率

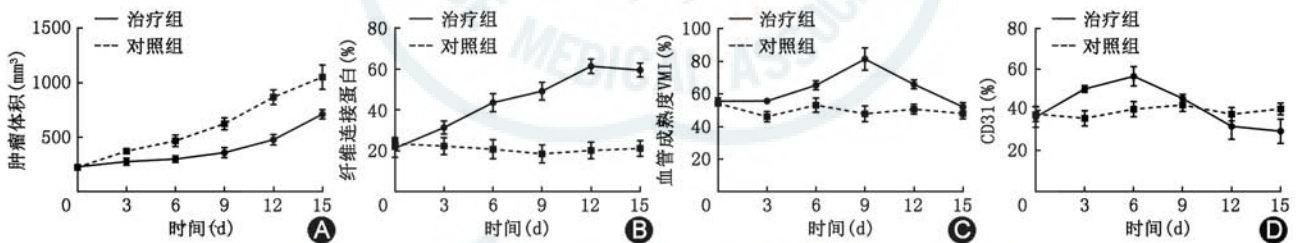


图 3 治疗组与对照组各时间点的病理指标变化趋势图 A~D 为病理相关指标变化图

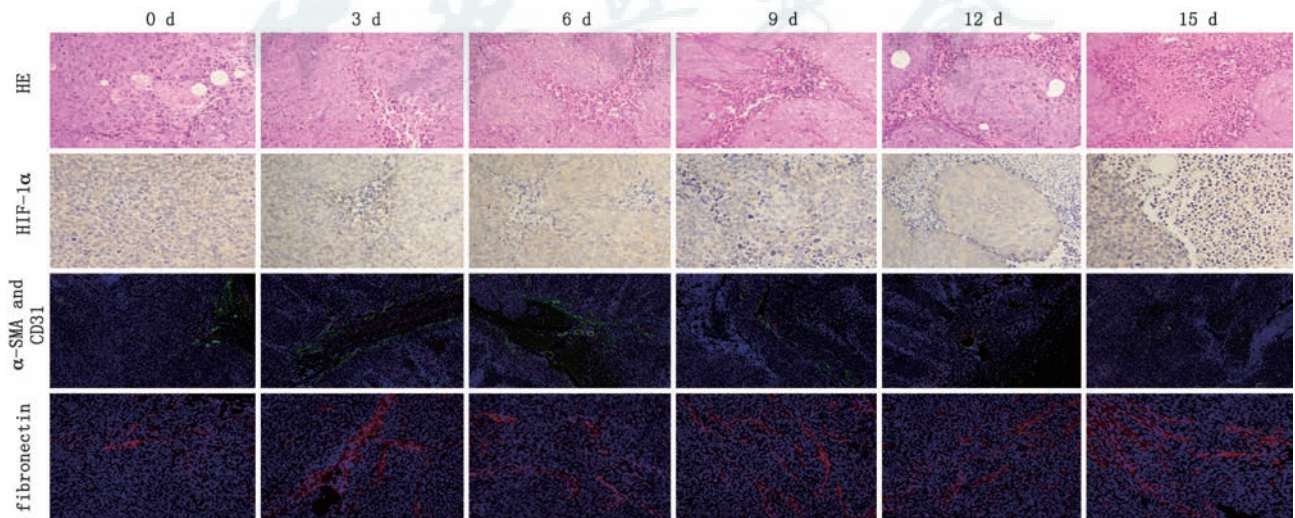


图 4 治疗组各时间点的代表性的病理图 各行图片分别为常规 HE 染色($\times 200$)、免疫组化 HIF-1 α 染色($\times 200$)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)与 CD31 免疫荧光双染($\times 100$)、纤维连接蛋白免疫荧光染色($\times 200$)。荧光双标中 α -SMA 染成绿色,CD31 及纤维连接蛋白(fibronectin)均为红色

表 2 磁共振指标与病理指标相关性比较

指标	CD31		血管成熟度		HIF-1 α		纤维连接蛋白	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
K ^{trans}	0.854	0.007	0.795	0.018	0.574	0.039	0.173	0.706
V _e	0.744	0.034	0.712	0.048	0.437	0.032	0.035	0.584
K _{ep}	0.729	0.040	0.758	0.029	0.260	0.052	0.237	0.056
AUC ₁₈₀	0.750	0.032	0.808	0.015	0.335	0.044	0.103	0.078
R2*	0.478	0.045	0.168	0.064	0.810	0.015	0.816	0.013

注:K^{trans}:容积转运常数,V_e:血管外细胞外间隙,K_{ep}:速率常数,AUC₁₈₀:团注对比剂后首过 180 s 的浓度时间曲线下面积,R2*值:横向弛豫率

相关性最高(r 值分别为 0.810、0.816,均 P<0.05)。

讨 论

K^{trans} 值大小与微循环灌注量及微血管通透性有关^[4-5]。既往研究显示血管抑制剂可以促进肿瘤血管的周细胞增生及基底膜的修复,改善新生微血管的高渗漏状态,促进血管成熟及功能正常化^[6-7],血管正常化可以起到修复血管的作用,使有效灌注的血管数量增多,血流量上升^[8],因此 K^{trans} 值上升。随后 K^{trans} 值下降,推测可能是血管正常化现象的消退及血管抑制作用的显现共同作用的结果。本研究 K^{trans} 值与 CD31 阳性染色率、VMI 值较 K_{ep}、V_e、AUC₁₈₀ 值显示出更强的相关性,变化趋势较为一致,能较好反映肿瘤血管密度及成熟度的情况。

对缺氧的检测及改善微环境缺氧是抗肿瘤治疗的重要组成部分。本研究利用 BOLD-MRI 评估血管抑制剂治疗后肿瘤微环境的氧供情况,发现 R2* 值在治疗后先降后升。R2* 值在用药后出现下降主要因为贝伐单抗的微血管修复作用而进入血管正常化时间窗内,使微循环灌注短暂提升,缺氧状态改善。后期由于血管抑制作用导致 R2* 值回升^[9-10]。在缺氧的微环境下,HIF-1 α 可以积累并诱导肿瘤细胞的上皮-间质转化,下调纤维连接蛋白的表达,获得较高的侵袭与转移能力。本研究利用贝伐单抗的血管正常化现象短暂改善了局部的微循环灌注及缺氧情况,抑制了上皮间质转化的作用,纤维连接蛋白合成增加,细胞间黏附力增强,限制细胞移动^[11]。R2* 值与纤维连接蛋白阳性染色

率呈良好的正相关关系,提示 R2* 值可以用来评估血管正常化期间肿瘤侵袭性改变。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Zhang P, Sun Y, Ma L. ZEB1: at the crossroads of epithelial-mesenchymal transition, metastasis and therapy resistance[J]. *Cell Cycle*, 2015, 14(4): 481-487. DOI: 10.1080/15384101.2015.1006048.
- [2] Viillard C, Larrivee B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets[J]. *Angiogenesis*, 2017, 20(4): 409-426. DOI: 10.1007/s10456-017-9562-9.
- [3] 熊曾, 邓彭博, 胡成平, 等. 裸鼠肺癌移植瘤抗血管生成治疗后肿瘤灌注变化的定量分析[J]. *中华医学杂志*, 2016, 96(4): 306-310. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.04.017.
- [4] Shi C, Liu D, Xiao Z, et al. Monitoring tumor response to anti-vascular therapy using non-contrast intravoxel incoherent motion diffusion-weighted MRI [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13): 3491-3501. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2499.
- [5] 陈青华, 王新艳, 张冰, 等. 动态增强磁共振成像定量参数预测和评估鼻腔鼻窦恶性肿瘤化疗效果的初步探讨[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(23): 1773-1777. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.23.004.
- [6] Diaz RJ, Ali S, Qadir MG, et al. The role of bevacizumab in the treatment of glioblastoma[J]. *J Neurooncol*, 2017, 133(3): 455-467. DOI: 10.1007/s11060-017-2477-x.
- [7] El Alaoui-Lasmali K, Faivre B. Antiangiogenic therapy: Markers of response, "normalization" and resistance [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 128: 118-129. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2018.06.001.
- [8] Chen BB, Lu YS, Lin CH, et al. A pilot study to determine the timing and effect of bevacizumab on vascular normalization of metastatic brain tumors in breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2016, 16:466. DOI: 10.1186/s12885-016-2494-8.
- [9] Liang J, Ma R, Chen H, et al. Detection of hyperacute reactions of desacetylvincristine monohydrate in a xenograft model using intravoxel incoherent motion DWI and R2* mapping [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2019, 212(4): 717-726. DOI: 10.2214/AJR.18.20517.
- [10] McPhail LD, Griffiths JR, Robinson SP. Assessment of tumor response to the vascular disrupting agents 5, 6-dimethylxanthenone-4-acetic acid or combretastatin-A4-phosphate by intrinsic susceptibility magnetic resonance imaging [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007, 69(4): 1238-1245. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2007.08.025.
- [11] Oudin MJ, Jonas O, Kosciuk T, et al. Tumor cell-driven extracellular matrix remodeling drives haptotaxis during metastatic progression [J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(5): 516-531. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-1183.

(收稿日期:2019-04-22)

(本文编辑:刘雪松)