

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.18.006  
文章编号: 1005-8982 (2023) 18-0031-05

实验研究·论著

## 全肝容积灌注CT成像评估兔肝血流灌注及体积对肿瘤坏死率的影响\*

刘智俊, 罗光华, 周宏, 蒋孝先, 廖华之, 伍海彪  
(南华大学附属第一医院 放射科, 湖南 衡阳 421001)

**摘要:** **目的** 探讨全肝容积灌注CT成像(VPCT)评估兔肝血流灌注及体积对肿瘤坏死率的影响。**方法** 采用兔肝VX2移植瘤作为实验组, 并设立对照组。实验组及假手术对照组在术后14 d通过全肝VPCT并获得相应的灌注参数, 测量并计算实验组肿瘤体积(TV)、肿瘤坏死率(TNR)。检查完后对所有实验组肿瘤标本进行病理学观察。**结果** 实验组癌组织与对照组肝组织灌注血流量(BF)、灌注血容量(BV)、动脉灌注量(ALP)、门静脉灌注量(PVP)、动脉灌注指数(HPI)比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 实验组癌旁组织与对照组肝组织BF、BV、ALP、PVP、HPI比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。Pearson相关性分析显示, TNR与ALP、HPI呈负相关( $r = -0.410$ 和 $-0.356$ , 均 $P < 0.05$ ), TNR与BF、BV、PVP无相关性( $r = -0.016$ 、 $-0.155$ 和 $0.256$ , 均 $P > 0.05$ ); TV与BF、BV、PVP、ALP、HPI无相关性( $r = 0.062$ 、 $0.292$ 、 $0.140$ 、 $0.142$ 和 $0.014$ , 均 $P > 0.05$ ); 肝VX2移植瘤TNR与TV无相关性( $r = -0.098$ ,  $P > 0.05$ )。HE染色发现肿瘤边缘区为富含血管的环形癌组织, 中央为坏死区。**结论** 兔肝VX2移植瘤TNR与全肝VPCT反映的肿瘤动脉灌注高低有关, 与TV无明显关联。

**关键词:** X线计算机体层摄影; 肿瘤坏死; 肿瘤体积; 灌注; VX2移植瘤; 兔

**中图分类号:** R445.3

**文献标识码:** A

## Evaluating the effect of liver blood flow perfusion and volume on the tumor necrosis rate in rabbits via total liver volume perfusion CT\*

Liu Zhi-jun, Luo Guang-hua, Zhou Hong, Jiang Xiao-xian, Liao Hua-zhi, Wu Hai-biao  
(Department of Radiology, The First Affiliated Hospital of University of South China,  
Hengyang, Hunan 421001, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the effect of liver blood flow perfusion and volume on the tumor necrosis rate (TNR) in rabbits via total liver volume perfusion CT (VPCT). **Methods** The rabbit VX2 liver tumor models were established and set as the experimental group, and a control group was also set up. Fourteen days after the operation, total liver VPCT was performed on rabbits in the experimental group and the sham operation group to obtain perfusion-related parameters, and the tumor volume (TV) and TNR of rabbits in the experimental group were measured and calculated. After the examination, pathological observation was carried out on all tumor samples in the experimental group. **Results** There were significant differences in the liver blood flow (BF), blood volume (BV), arterial liver perfusion (ALP), portal vein perfusion (PLP), and hepatic perfusion index (HPI) between tumor tissues in the experimental group and liver tissues in the control group ( $P < 0.05$ ). There was no difference in BF, BV, ALP, PVP and HPI between adjacent tissues in the experimental group and liver tissues in the control group ( $P > 0.05$ ). Pearson correlation analysis revealed that TNA was negatively correlated with ALP and HPI ( $r = -0.410$  and  $-0.356$ , both  $P < 0.05$ ) but not correlated with BF, BV or PVP ( $r = -0.016$ ,  $-0.155$  and  $0.256$ , all  $P > 0.05$ ). TV was not

收稿日期: 2022-12-28

\* 基金项目: 湖南省卫生健康委2020年度科研项目(No:20200437)

[通信作者] 伍海彪, E-mail: wuhaibiao@163.com; Tel: 0734-8279018

correlated with BF, BV, PVP, ALP or HPI ( $r = 0.062, 0.292, 0.140, 0.142$  and  $0.014$ , all  $P > 0.05$ ). Besides, TNR was not correlated with TV of the VX2 liver tumors ( $r = -0.098, P > 0.05$ ). HE staining showed that the tumor edge was in a circular shape and rich in blood vessels, and that the center area was necrotic. **Conclusions** The rabbit VX2 liver tumor models was related to the level of tumor arterial perfusion reflected by the total liver VPCT, but not significantly correlated with TV.

**Keywords:** tomography, X-ray computed; tumor necrosis; tumor volume; perfusion; VX2 tumor; rabbit

实体肿瘤坏死程度反映了肿瘤内的缺氧水平,而缺氧与实体肿瘤放化疗敏感性及临床预后密切相关<sup>[1]</sup>。如何在术前精准评价肿瘤坏死成为肿瘤研究一大挑战之一。病理学检查作为判断肿瘤坏死程度的金标准,自身有较多不足,导致临床应用受限。而CT灌注成像特别是全脏器容积灌注成像具有相对无创性、覆盖广、可重复性高、可实时动态进行,以及与病理有较好相关性等多种优势,逐步成为研究活体肝肿瘤的血流灌注状态的首选影像学评价方法。本研究通过复制兔肝VX2移植瘤动物模型并采用全肝容积灌注CT成像(volume perfusion CT, VPCT),探讨肿瘤的有效血流灌注、肿瘤体积(tumor volume, TV)与肿瘤坏死率(tumor necrosis rate, TNR)的关系,为研究人肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)肿瘤坏死程度的影像学检测提供新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

55只不限雌雄的成年新西兰大白兔,4~5个月龄,体重2.2~2.8 kg,购自中南大学湘雅三医院动物实验中心[实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2020-0002,实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2020-0002]。采用随机抽样法选出5只进行开腹手术但不种瘤大白兔作为对照组(手术方法与实验组相同)。其余大白兔则按同一标准、同一开腹直接种瘤法<sup>[2]</sup>(严格无菌手术开腹,将小瘤块直接种植于肝左叶深部并覆盖,关腹)复制兔肝VX2移植瘤动物模型作为实验组。实验组排除经解剖和病理证实为未成功成瘤的、肿瘤种植于肝表面的、后处理图像效果不佳的大白兔,最终共38只大白兔纳入研究。

### 1.2 方法

**1.2.1 VPCT检查** 麻醉药物采用3%戊巴比妥钠非挥发性麻醉剂,按1 mL/kg体重经耳缘静脉注射。动物模型复制成功后的第14天采用双源64层螺旋CT机(德国西门子公司)对两组行全肝VPCT,具体

扫描方法及扫描参数如下:扫描完定位图像后,设计好扫描野以保证包含了全肝。采用CT机无缝连续动态往复扫描模式来实现容积灌注成像检查,采用双筒高压注射器(美国理博有限公司)注射非离子型对比剂碘佛醇(33.9 g/50 mL)(江苏恒瑞医药有限公司),按1 mL/kg、1 mL/s经留置针注入耳缘静脉,随即按同流率经静脉团注5 mL生理盐水冲洗。静脉团注完后延迟6 s,按80 kVp管电压、50 mAs管电流、1.0 mm螺距、球管每0.33 s旋转1周、48 mm探测器宽度的扫描参数连续扫描61 s,以1.5 mm层厚、1.5 mm层间距、512×512重建矩阵、B30f卷积核值进行图像重建,最终获得30组容积数据(共包含930幅图像)并全部传输至配套的图像后处理工作站(Syngo MultiModality Workplace)。

**1.2.2 TV、TNR及灌注后处理** TV、TNR及灌注后处理由2名高年资腹部影像诊断副主任医师亲自指导。同一只大白兔的TV重复处理、测量3次后取平均值,TNR及灌注参数亦按同法求平均值,如有不同意见则加入第三位高年资腹部影像诊断副主任医师讨论确定。选用在全肝VPCT动脉期肿瘤实质达强化峰值且对比最佳的肿瘤最大横截面图像作为目标图像(增强动脉期第6组肿瘤图像多呈显著环形强化且对比度最佳,符合目标图像特点,故第6组最大横截面图像作为首选)。

TV计算公式为: $V=1/2ab^2$ 。a为肿瘤最大径,两极定义为在目标图像上肿瘤最大横截面上强化的最外缘;b为肿瘤最小径,两极定义为垂直于a的最外缘<sup>[3-4]</sup>。

TNR定义为在目标图像上无强化的坏死区横截面积与肿瘤最大横截面积的比值。在工作站目标图像上手绘出中央不强化的坏死区域获得肿瘤坏死区横截面积,按同法在同一目标图像上手绘出肿瘤最大横截面上强化的最外缘得到肿瘤最大横截面积。

选择VPCT Body灌注软件中的肝脏灌注应用模块进行灌注后处理,获得肝灌注血流量(blood flow, BF)、灌注血容量(blood volume, BV)、动脉灌注量

(arterial liver perfusion, ALP)、门静脉灌注量(portal vein perfusion, PVP)、动脉灌注指数(hepatic perfusion index, HPI)等全肝 VPCT 参数及彩图。

**1.2.3 病理学检查** 实验完后立即将实验组安乐死,取出肿瘤标本进行 HE 染色。染色后,置于低倍镜下( $\times 10$ )观察切片整体坏死情况,再转至高倍镜( $\times 40$ )下观察肿瘤实质与坏死的交界区情况。

**1.3 统计学方法**

数据分析采用 SPSS 23.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。比较用单因素方差分析,两两比较用 Dunnett-*t* 检验;相关性分析用

Pearson 法。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 实验组癌组织、癌旁组织及对照组肝组织的全肝 VPCT 参数比较**

实验组癌组织、癌旁组织及对照组肝组织 BF、BV、ALP、PVP、HPI 比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。实验组癌组织与对照组肝组织 BF、BV、ALP、PVP、HPI 比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),实验组癌旁组织与对照组肝组织 BF、BV、ALP、PVP、HPI 比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 实验组癌组织、癌旁组织及对照组肝组织的全肝 VPCT 参数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	BF/[mL/(100 mL·min)]	BV/[mL/(100 mL·min)]	ALP/[mL/(100 mL·min)]	PVP/[mL/(100 mL·min)]	HPI/%
实验组癌组织	38	248.15 $\pm$ 74.17	23.72 $\pm$ 7.17	65.07 $\pm$ 9.54	14.49 $\pm$ 2.40	82.05 $\pm$ 3.22
实验组癌旁组织	38	200.89 $\pm$ 71.44	20.02 $\pm$ 7.08	42.19 $\pm$ 7.84	121.84 $\pm$ 9.38	25.57 $\pm$ 2.96
对照组肝组织	5	204.54 $\pm$ 2.74	19.62 $\pm$ 2.03	40.43 $\pm$ 1.45	119.39 $\pm$ 5.39	25.30 $\pm$ 0.37
F 值		4.403	2.943	74.335	2 515.780	3 543.545
P 值		0.015	0.049	0.000	0.000	0.000

**2.2 相关性分析**

实验组平均 TNR 为(22.56  $\pm$  7.10)%。Pearson 相关性分析显示,TNR 与 ALP、HPI 呈负相关( $r = -0.410$  和  $-0.356$ ,  $P = 0.010$  和  $0.028$ ),TNR 与 BF、BV、PVP 无相关性( $r = -0.016$ 、 $-0.155$  和  $0.256$ ,  $P = 0.924$ 、 $0.353$  和  $0.121$ )。见图 1、2。

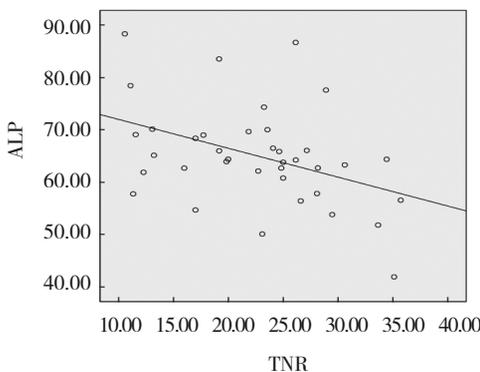


图 1 TNR 与 ALP 相关性散点图

实验组肝 VX2 移植瘤 TV 平均为(1.87  $\pm$  1.61)cm<sup>3</sup>。Pearson 相关性分析显示,TV 与 BF、BV、PVP、ALP、HPI 无相关性( $r = 0.062$ 、 $0.292$ 、 $0.140$ 、 $0.142$  和  $0.014$ ,  $P = 0.709$ 、 $0.076$ 、 $0.401$ 、 $0.396$  和  $0.933$ )。

Pearson 相关性分析显示,肝 VX2 移植瘤 TNR 与

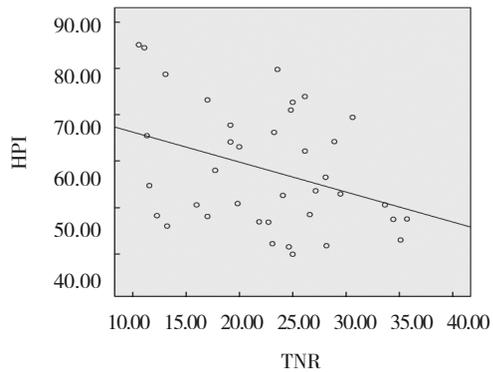


图 2 TNR 与 HPI 相关性散点图

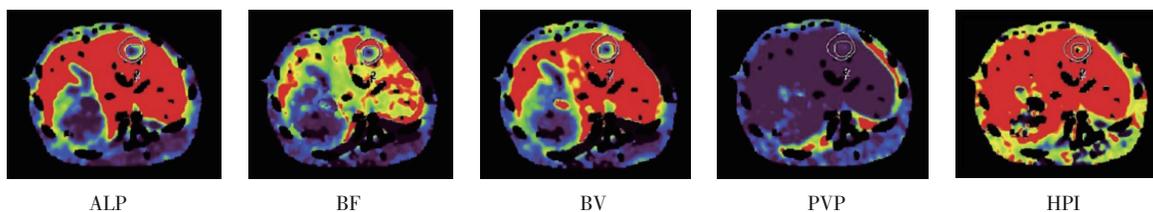
TV 无相关性( $r = -0.098$ ,  $P = 0.559$ )。

**2.3 CT 与病理学检查结果**

在图像工作站上发现,实验组肿瘤位于腹中线肝内肿瘤位置,各兔肿瘤直径不一,但可见数量均为 1 个,绝大部分呈类圆形或类椭圆形。与癌旁组织比较,平扫上肿瘤边缘区呈等、稍低混杂密度而中心呈不均匀低密度,边界不清,动态增强上肿瘤边缘区动脉期快速显著环形强化且接近腹主动脉强化程度,接着强化快速减弱,在肝动脉灌注彩图上呈现边缘环形高灌注,而中央一直无明显强化或低灌注状态。

将肿瘤标本置于低倍镜及高倍镜下观察,横截面移植瘤边缘区主要为环形异型性肿瘤细胞并夹

杂较多粗细不均的肿瘤血管,中央主要为凝固性坏死。见图 3~5。



外圈代表肿瘤最大横截面积,内圈代表坏死区横截面积。

图3 兔肝 VX2 移植瘤 ALP、BF、BV、PVP、HPI 的 CT 图

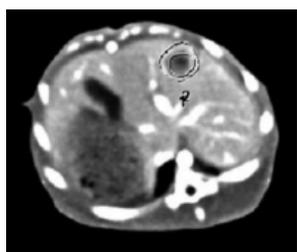
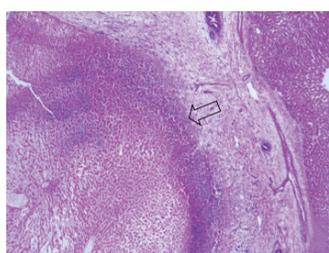


图4 全肝 VPCT 动脉期肿瘤实质达强化峰值且对比最佳的肿瘤最大横截面 CT 图



箭头示肿瘤边缘区环形分布癌组织。

图5 实验组肝 VX2 移植瘤病理切片 (HE 染色 × 40)

### 3 讨论

VX2 肿瘤是应用非常广泛的恶性肿瘤动物模型,涉及很多研究领域且根据成瘤的部位可分为如肝移植癌、骨移植癌、乳腺移植癌、肺移植癌、脑移植癌、肾移植癌、肌肉移植癌等<sup>[2,5-8]</sup>。本研究结果发现,实验组兔肝 VX2 移植瘤边缘区癌组织的 BF、BV、ALP、HPI 高于癌旁组织及对照组肝组织,而 PVP 则低于癌旁组织及对照组肝组织。TONG 等<sup>[2]</sup>通过对兔肝 VX2 移植瘤改良模型行对比增强 CT 检查, YI 等<sup>[9]</sup>通过超声引导穿刺建立兔肝 VX2 移植瘤动物模型并行对比增强超声,均实验得出兔肝 VX2 移植瘤的肝血流灌注发生了显著变化并于增强后肿瘤边缘区实质呈“快进快出”强化模式,且血供主要来自于动脉。梁长华等<sup>[10]</sup>通过对 HCC 行 CT 全肿瘤灌注显示 HCC 的血供是由门静脉供血为主渐渐过渡到动脉供血为

主。这些结果表明,兔肝 VX2 移植瘤与人 HCC 之间的血供特征有很好的相似性,因而非常适合用于研究人 HCC 的动物肝肿瘤模型。

刘晓等<sup>[11]</sup>研究发现全肝 VPCT 可替代微血管密度定量,评估兔 VX2 肝肿瘤经导管动脉化疗栓塞术治疗前后的肝血流动力学变化对肿瘤的预后有重要的指导价值。但该学者未提及对肿瘤预后有着重要影响的肿瘤坏死情况。本研究通过测量计算获得实验组兔肝 VX2 移植瘤坏死的平均 TNR 值,并与灌注参数进行相关性分析,发现 TNR 与 ALP、HPI 呈负相关,与 BF、BV、PVP 无相关性,因而提示肿瘤坏死与微血管密度有密切关系,进而影响临床预后。HUGHES 等<sup>[12]</sup>及 LUO 等<sup>[13]</sup>指出肿瘤坏死是肿瘤代谢失衡造成,并且与多种因素有关,但主要原因是由于供血、供氧不足。当肿瘤血管不足可导致肿瘤代谢失衡,相较于边缘区的肿瘤细胞,中央区域比边缘区的肿瘤细胞承受更为严重的代谢压力,导致肿瘤中央区域出现坏死。而肿瘤边缘区的肿瘤细胞代谢压力较小,这就非常有益于肿瘤血管的生成和血管生成所需的诱导因子的趋化,另外还可以通过血管共择、血供重塑等途径得到供血,因而不难理解,与肿瘤中央区域相比,肿瘤边缘区血管较为丰富<sup>[14]</sup>。本研究实验组动物肿瘤方式、肿瘤标准、从肿瘤到检查的天数均基本一致,但最终观察到各个体的 TV 及肿瘤坏死范围均不一致,这从侧面揭示了肿瘤与个体宿主之间相互作用的不一致性。随着反映肿瘤动脉灌注的 ALP、HPI 越低, TNR 就会相应地越高,反之亦然,但反映门静脉灌注的 PVP 则与 TNR 无明显关系,说明肿瘤坏死与否可能主要是由肿瘤的动脉灌注多少来决定的,而可能与门静脉灌注量无明显关系。IPPOLITO 等<sup>[15]</sup>在研究中揭示高动脉灌注的肿瘤对抗血管治疗有较好的反应,因此可作为预后因素,而本研究中 TNR 与代表肿瘤动脉灌注的 ALP、HPI 负相

关,提示肿瘤坏死程度越高,预后可能会越差。

本研究通过分析兔肝 VX2 移植瘤 TNR 与 TV 之间的关系,发现两者之间无相关性,与其他研究的结论一致。如 LI 等<sup>[16]</sup>通过对兔 VX2 移植瘤行动态 MRI 增强显示,在肿瘤后第 1 周开始出现肿瘤坏死,并且坏死程度随着 TV 增大而加大,但第 2 周后,两者的这种线性变化关系就消失了,由此推断出肿瘤的坏死程度与肿瘤快速增长而肿瘤血管形成不足导致血供不足有关。众所周知,肿瘤血管形成是肿瘤发展的标志, SZASZ 等<sup>[17]</sup>指出肿瘤血管形成不足是引起肿瘤坏死的主因,而肿瘤血管形成与多种因素有关,如缺氧、压力、毒素、温度、多种促血管生成因子、抑血管生成因子、pH 值降低、肿瘤代谢物、肿瘤的淋巴引流等,这些因素相互作用、相互影响,故所导致的肿瘤坏死情况也错综复杂,因而 TNR 与 TV 之间不一定一直会呈明显的相关性。

本研究的不足之处在于,研究样本量及病理学指标相对较少,且未对肿瘤后的全过程进行动态的检测,如今后在研究中加大样本量、检测指标并动态检查,可能更能进一步证实本实验结果或发现新的、尚未揭示的与血管生成、肿瘤坏死相关的影像学检查指标。

综上所述,本研究结果表明肿瘤坏死程度可能与全肝 VPCT 反映的肿瘤动脉灌注不足有关,与 TV 无明显关联。人 HCC 肿瘤坏死的全肝 VPCT 对临床预后具有指导价值,并可为靶向血管生成药物治疗的疗效评估、介入栓塞治疗的疗效评估等治疗反应的影像学检测提供思路。

#### 参 考 文 献 :

[1] LING Y H, CHEN J W, WEN S H, et al. Tumor necrosis as a poor prognostic predictor on postoperative survival of patients with solitary small hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 607.

[2] TONG H, DUAN L G, ZHOU H Y, et al. Modification of the method to establish a hepatic VX2 carcinoma model in rabbits[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4): 5333-5338.

[3] JIN Z, JIA B X, TAN L D, et al. Combination therapy with metformin and IL-12 to inhibit the growth of hepatic carcinoma by promoting apoptosis and autophagy in HepG2-bearing mice[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(23): 12368-12379.

[4] 李凤尧. TACE 术中应用三氧化二砷载药微球治疗兔 VX2 肝癌疗效分析[D]. 郑州: 郑州大学, 2020.

[5] 张雷, 孙松. 体素内不相干运动扩散加权成像对腹部肿瘤的诊断和疗效预测价值[J]. *国际医学放射学杂志*, 2019, 42(3): 317-321.

[6] 明志强, 胡晓莉, 陈天武. 肝细胞癌射频消融术后疗效的 CT 及 MRI 评价研究现状[J]. *国际医学放射学杂志*, 2021, 44(6): 692-697.

[7] DOEMEL L A, SANTANA J G, SAVIC L J, et al. Comparison of metabolic and immunologic responses to transarterial chemoembolization with different chemoembolic regimens in a rabbit VX2 liver tumor model[J]. *Eur Radiol*, 2022, 32(4): 2437-2447.

[8] COLLETTINI F, REIMANN C, BRANGSCH J, et al. Elastin-specific MRI of extracellular matrix-remodelling following hepatic radiofrequency-ablation in a VX2 liver tumor model[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 6814.

[9] YI H M, CAI B H, AI X, et al. Establishment of rabbit liver VX2 tumor model using percutaneous puncture inoculation of tumor fragment guided and evaluated by ultrasonography[J]. *Curr Med Sci*, 2019, 39(5): 820-824.

[10] 梁长华, 毛华杰, 岳军艳, 等. 肝细胞肝癌 CT 全肿瘤灌注值与瘤体体积、Child-Pugh 分级相关性分析[J]. *实用放射学杂志*, 2018, 34(3): 378-381.

[11] 刘晓, 邓灵灵, 郭睿, 等. 全肝 CT 灌注成像对经导管动脉化疗栓塞术联合阿帕替尼治疗兔 VX2 肝肿瘤效果的评价[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2019, 44(5): 477-484.

[12] HUGHES A, DHOOT G K. Dysregulated cancer cell transdifferentiation into erythrocytes is an additional metabolic stress in hepatocellular carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2018, 40(11): 1010428318811467.

[13] LUO G P, LIU N. An integrative theory for cancer (review)[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(2): 647-656.

[14] 张海龙, 徐迅, 韩冬, 等. 肝细胞癌切除术后早期肝内复发的 CT 影像学危险因素分析[J]. *实用放射学杂志*, 2018, 34(7): 1048-1051.

[15] IPPOLITO D, PECORELLI A, QUERQUES G, et al. Dynamic computed tomography perfusion imaging: complementary diagnostic Tool in hepatocellular carcinoma assessment from diagnosis to treatment follow-up[J]. *Acad Radiol*, 2019, 26(12): 1675-1685.

[16] LI H X, YU L J, WANG W Z, et al. Dynamics of angiogenesis and cellularity in rabbit VX2 tumors using contrast-enhanced magnetic resonance imaging and diffusion-weighted imaging[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 2978-2984.

[17] SZASZ O, VINCZE G, SZIGETI G P, et al. An allometric approach of tumor-angiogenesis[J]. *Med Hypotheses*, 2018, 116: 74-78.

(李科 编辑)

本文引用格式: 刘智俊, 罗光华, 周宏, 等. 全肝容积灌注 CT 成像评估兔肝血流灌注及体积对肿瘤坏死率的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(18): 31-35.

Cite this article as: LIU Z J, LUO G H, ZHOU H, et al. Evaluating the effect of liver blood flow perfusion and volume on the tumor necrosis rate in rabbits via total liver volume perfusion CT[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(18): 31-35.