

• 实验研究 Experimental research •

兔肝 VX2 肿瘤射频消融后即时 MRI 与病理相关性

林昭旺, 林征宇, 陈 锦, 吴志斌, 陈 杰, 汪 强

【摘要】目的 通过对比活体组和处死组兔肝 VX2 肿瘤 RFA 后 MRI 和病理学表现, 探讨肝肿瘤 RFA 后即时 MRI 与病理学表现的相关性。**方法** 观察活体组和处死组 RFA 后荷瘤兔肝 VX2 肿瘤即时 MRI 和病理学表现。分别检测 RFA 前 MRI T1WI 瘤灶最大径、消融灶 T1WI 中央低信号区最大径、活体组消融灶 T1WI 周边高信号区最大径、T2WI 低信号区最大径、病理标本瘤灶最大径以及肝实质凝固性坏死区最大径, 并进行统计学分析。**结果** 活体组消融灶 T1WI 呈靶征, 中心呈低信号, 周边呈环形包绕高信号, T2WI 大体呈低信号; 处死组消融灶 T1WI 靶征较活体组不明显, T2WI 大体呈等-稍低信号。苏木精-伊红(HE)染色显示, 活体组消融灶肝实质凝固性坏死区肝窦受热扩张充血, 肝窦内见充满热损伤红细胞, 部分红细胞血红素流失成为空泡状; 处死组消融灶肝实质凝固性坏死区肝窦轻度扩张, 红细胞数明显少于活体组。统计学分析提示, 术前 MRI T1WI 瘤灶、消融灶 T1WI 中央低信号区与病理标本瘤灶最大径相对应($P>0.05$); 活体组消融灶 T1WI 周边高信号区、T2WI 低信号区与病理标本肝实质凝固性坏死区最大径相对应($P>0.05$)。**结论** 肝肿瘤 RFA 后即时 MR 平扫, 尤其是 T1WI 具有明显特征性表现, 与术后病理学检查呈良好一致性。

【关键词】 动物实验; 肝肿瘤; 射频消融; 磁共振成像; 病理学

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2019)-011-1076-05

The correlation between MRI manifestations immediate after RFA and pathological findings of rabbit liver VX2 tumors LIN Zhaowang, LIN Zhengyu, CHEN Jin, WU Zhibin, CHEN Jie, WANG Qiang. Imaging Department, Mengchao Hepatobiliary Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian Province 350025, China

Corresponding author: LIN Zhengyu, E-mail: linsinlan@aliyun.com

【Abstract】 Objective To explore the correlation between magnetic resonance imaging (MRI) manifestations immediate after radiofrequency ablation (RFA) and pathological findings of rabbit liver VX2 tumors by comparing MRI features and pathological results both in vivo and in sacrificed specimens. **Methods** MRI manifestations immediate after RFA and the pathological findings in rabbits bearing liver VX2 tumors were recorded in living body (in vivo group) and in sacrificed specimens (sacrificed group). The maximum diameter of tumor on pre-RFA MRI T1WI image, the maximum diameter of central low-signal area of ablated lesion on T1WI, the maximum diameter of high-signal area around ablated region on T1WI in vivo group were determined; the maximum diameter of low-signal area on T2WI, the maximum diameter of tumor and hepatic parenchyma necrosis area in pathological specimen were measured. The results were statistically analyzed. **Results** In the in vivo group, the ablated area took the shape of a target sign on T1WI, which displayed low signal at its center surrounded by a circular high signal, on T2WI the ablated area was generally low signal. In the sacrificed group, the target sign of the ablated area on T1WI was less obvious than in the in vivo group, and on T2WI the ablated area was characterized by slightly iso- lower signal.

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2019.011.015

作者单位: 350025 福州 福建医科大学孟超肝胆医院影像科(林昭旺); 福建医科大学附属第一医院介入科(林征宇、陈 锦、吴志斌、陈 杰、汪 强)

通信作者: 林征宇 E-mail: linsinlan@aliyun.com

Hematoxylin-Eosin(HE) staining of the specimens revealed that in the in vivo group the hepatic sinuses at hepatic parenchyma necrosis area were dilated and congested because it was heated, the hepatic sinuses were filled with lots of heat-damaged red blood cells and part of red blood cells became vacuolated as the result of hemoglobin loss; in the sacrificed group the hepatic sinuses at hepatic parenchyma necrosis area were slightly dilated, and the number of red blood cells was significantly lower than that in the in vivo group. Statistical analysis indicated that the maximum diameters of the tumor on preoperative T1WI and the central low-signal area of ablated region on T1WI were in accordance with the maximum diameters of the tumor in the pathological specimens ($P>0.05$). In the in vivo group, the high-signal area around the ablated area on T1WI and the low-signal area on T2WI were consistent with the maximum diameters of the coagulation area of liver parenchyma in pathological specimens ($P>0.05$). **Conclusion** Plain MRI scan performed immediately after RFA of liver tumor, especially MRI T1WI, has characteristic manifestations, which are in good agreement with postoperative pathological findings. (J Intervent Radiol, 2019, 28: 1076-1080)

【Key words】 animal experiment; liver tumor; radiofrequency ablation; magnetic resonance imaging; pathology

射频消融(RFA)具有微创、局部疗效确切、可重复性好、并发症少等特点^[1-2],用于治疗小肝癌 1 年、3 年总生存率类似于外科手术^[3-4]。为保证远期生存率,RFA 后影像学即时疗效评价至关重要,而 MRI 组织分辨率高,可多参数成像,是即时疗效评价的最佳手段^[5]。目前多数学者认可肝肿瘤消融后即时 MRI 呈 T1 高信号、T2 低信号,有部分研究报道消融灶 T1 加权成像(T1WI)呈靶征,即中央瘤灶呈低信号,周围包绕环形高信号,再外围薄层水肿呈更低信号带^[6-7]。本研究通过分析活体和处死兔肝 VX2 肿瘤 RFA 后 MRI 和病理学表现,探讨消融灶 T1WI 呈高信号或靶征的形成机制,以更好地指导即时疗效评价。

1 材料与方法

1.1 VX2 肿瘤模型制备

实验用成年健康新西兰大白兔 18 只(购自福建省闽侯县吴氏动物实验中心),体重 2.0~3.3 kg,平均 (3.05 ± 0.34) kg。随机取 2 只作为 VX2 瘤种兔,双侧后肢内侧肌间隙内注入 VX2 细胞株混悬液(购自上海博舜联合医学实验中心),饲养 2 周皮下可扪及鸡蛋大小肿瘤。处死 1 只种兔,选取呈肿瘤灰白色活性成分,制成 1 mm³ 组织块备用。其余 16 只兔,按氯胺酮 1.0 mL/kg 和氯丙嗪 0.5 mL/kg 剂量予肌肉注射麻醉,根据相关文献方法^[8]种植肿瘤组织块于肝左叶。约 3 周后,MRI 扫描肝内见直径 ≥ 1.5 cm 肿瘤信号影,则建模成功。

1.2 实验分组、RFA 和 MRI

根据建模情况,选取荷瘤兔(种植后肝内瘤灶仅 1~2 枚、无广泛转移和腹水等影响 MR 图像观

察因素),随机均分为活体组和处死组,活体组以前述方法予全身麻醉,处死组以耳缘静脉注入 5 mL 空气处死。

RFA 术前,两组荷瘤兔取仰卧位固定,备皮、体表鱼肝油丸标记,Magnetom Espree 1.5T 型 MR 机(德国 Siemens 公司)行 MR 扫描(序列 3D-vibe-T1WI: TR 5.04 ms, TE 2.39 ms, FA 12°, FOV 19.9 cm \times 27.5 cm, NEX/1, ST3 mm, SG0.6 mm; fs-tse-T2WI: TR 4 000 ms, TE 76 ms, FA 90°, FOV 18 cm \times 18 cm, NEX/2, ST3.5 mm, SG0.6 mm; 范围:自膈顶至肝下极;方位:横断位)。设计 RFA 进针路径,MR 导引下经皮穿刺,17 G,15 cm UniBlate 射频单电极(美国 RITA 医疗系统公司)入肝——穿刺过程中 MR 多次扫描,以确保方向正确,针尖尽量从肿瘤中央穿透病灶,超出肿瘤边缘 1 cm 即停止扫描;接上电源行 RFA(参数设置:功率 35 W,靶温 103 °C,时间 3~5 min)。

术后即时复查 MR(扫描序列、范围、方位同术前)。

1.3 病理学检查

术后 MR 扫描完毕处死活体组瘤兔,立即取出两组瘤兔肝脏消融灶大体标本,并用 4%甲醛溶液固定,24 h 后作组织切片,苏木精-伊红(HE)染色作病理学检查。

1.4 检测指标

分别检测 RFA 前 MRI T1WI 瘤灶最大径、消融灶 T1WI 中央低信号区最大径、活体组消融灶 T1WI 周边高信号区最大径、T2WI 低信号区最大径、病理标本瘤灶最大径以及肝实质凝固性坏死区最大径,所得数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。

1.5 统计学分析

检测所得数据代入 SPSS 22.0 软件包处理。采

用配对样本 t 检验比较 RFA 前 MR T1WI 瘤灶、消融灶 T1WI 中央低信号区与病理标本瘤灶最大径间差异, 比较活体组消融灶 T1WI 周边高信号区、T2WI 低信号区与病理标本肝实质凝固性坏死区最大径间差异, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 兔肝 VX2 成瘤情况和瘤灶 MRI 表现

16 只实验兔建模 3 周后术前 MR 扫描显示, 其中 12 只成瘤(瘤灶 1~2 枚, 直径 1.5~3.5 cm), 建模成功; 3 只建模未成功, MR 未见肝内瘤灶生长; 1 只肝内和肺内瘤灶广泛转移, 伴有腹水。MRI 显示 VX2 瘤灶多呈类圆形或圆形, 边缘较清楚, 瘤灶最大径为 (2.51 ± 0.62) cm, T1WI 呈稍低信号, T2WI 呈稍高信号。

2.2 消融灶即时 MRI 和病理表现

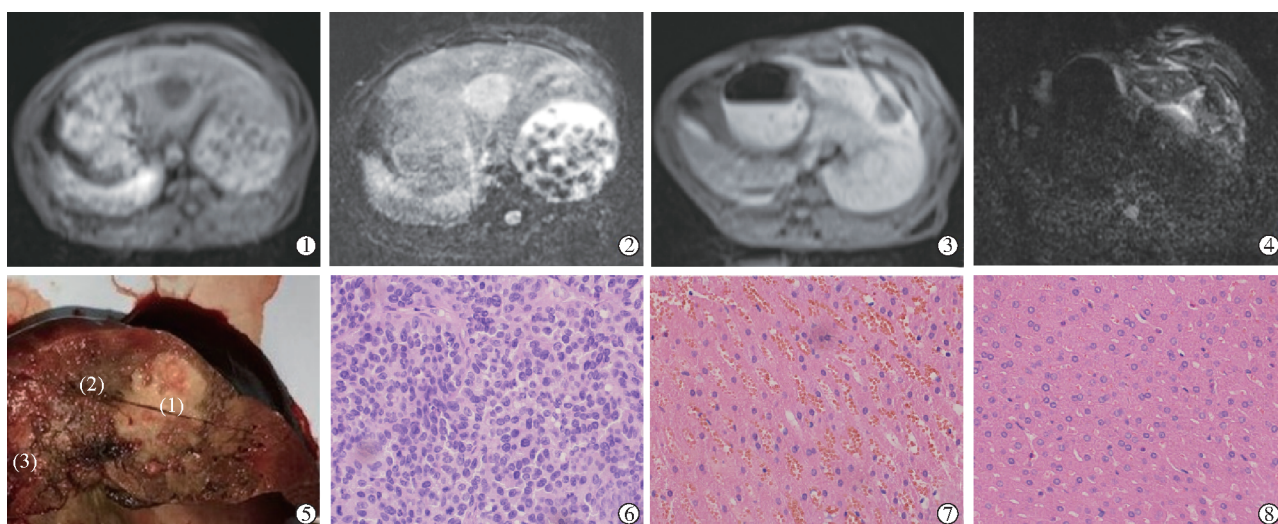
活体组 T1WI 显示消融中心原 VX2 瘤灶仍呈低信号, 外周包绕片状高信号影, 再外周呈薄层更低信号, 此即“靶征”改变, T2WI 上消融灶大体呈低信号, 再外周见薄层高信号; 大体标本和 HE 染色显示即时病理表现(由中心至外周): ①原瘤灶肿瘤细胞有轻微极性改变, 但细胞结构尚存, 可见少量炎性细胞和红细胞浸润, 周边可见炎性水肿肿瘤包膜; ②肝实质凝固性坏死区见肝细胞膨胀, 核固缩和胞质淡染, 肝索扭曲、肝窦扩张充血, 窦内见大量红细胞聚集, 部分红细胞因血红蛋白流失呈空泡状; ③水肿区肝细胞稍肿胀, 呈气球样变, 胞核和胞质均清晰, 肝索结构尚规则, 窦内见少许正常形态

红细胞和炎性细胞浸润, 见图 1。

处死组 T1WI 上靶征较活体组相对不明显, 原 VX2 肿瘤病灶仍呈低信号, 周围肝实质较术前信号无变化或略有升高, 最外围低信号影不明显, T2WI 上消融区呈等-稍低信号, 范围超过原瘤灶区, 再外围为薄层高信号影不明显; 大体标本和 HE 染色显示即时病理表现(由中心至外周): ①原瘤灶肿瘤细胞类似于活体组, 周边见纤维包膜和少量中性粒细胞、淋巴细胞浸润, 成纤维细胞皱缩; ②肝实质凝固性坏死区肝细胞胞质淡染, 细胞极性发生改变, 肝索结构尚存, 肝窦轻微扩张, 窦内肝窦内红细胞数量明显较活体组少; ③水肿区与正常肝实质界限模糊, 肝细胞极性尚存, 肝窦形态基本正常, 少许炎性细胞浸润, 见图 2。

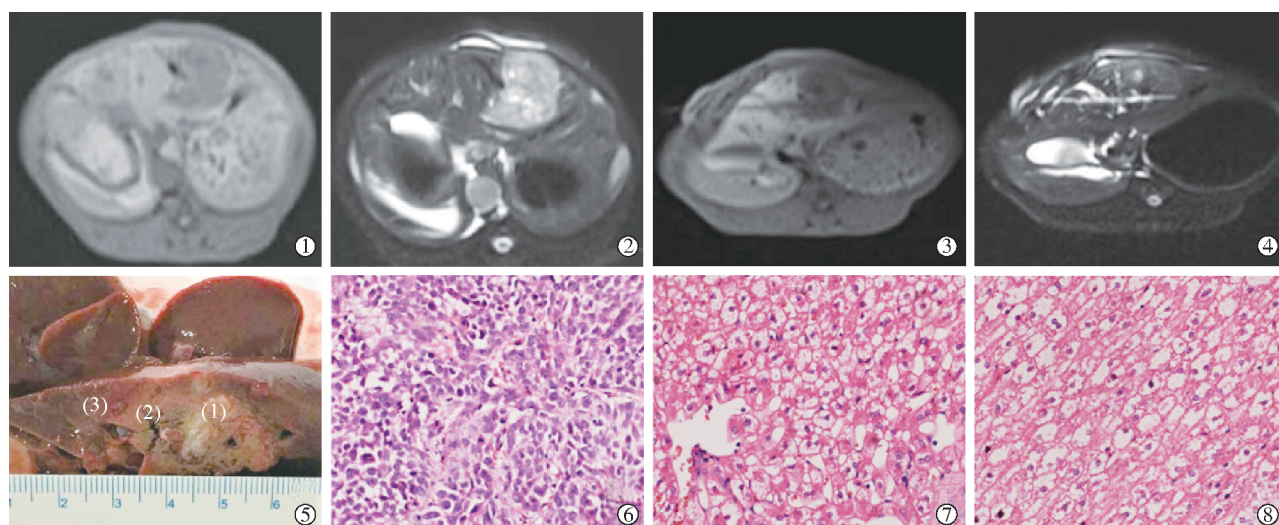
2.3 检测和统计学分析结果

检测显示, RFA 术前 MRI T1WI 瘤灶、消融灶 T1WI 中央低信号区、病理标本瘤灶最大径分别为 (2.48 ± 0.50) cm、 (2.46 ± 0.53) cm、 (2.47 ± 0.48) cm; 活体组消融灶 T1WI 周边高信号区、T2WI 低信号区、病理标本肝实质凝固性坏死区最大径分别为 (7.43 ± 1.48) cm、 (7.41 ± 1.51) cm、 (7.46 ± 1.43) cm。统计学分析提示, 术前 MRI T1WI 瘤灶、消融灶 T1WI 中央低信号区与病理标本瘤灶最大径间两两对比, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 活体组消融灶 T1WI 周边高信号区、两组 T2WI 低信号区与病理标本肝实质凝固性坏死区最大径间两两对比, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。



术前 MRI: ①稍长 T1 信号; ②稍长 T2 信号; 术后即时 MRI: ③T1WI 呈靶征改变; ④T2WI 消融区大体呈低信号; 大体标本: ⑤原瘤灶(1)、肝实质凝固性坏死区(2)和水肿区(3); (HE×40)光镜下: ⑥原瘤灶; ⑦肝实质凝固性坏死区; ⑧水肿区

图 1 活体组 VX2 肿瘤灶 RFA 即时 MRI 和病理表现



术前 MRI:①稍长 T1 信号;②稍长 T2 信号;术后即时 MRI:③T1WI 靶征欠清晰;④T2WI 呈等-稍低信号;大体标本:⑤原瘤灶(1)、肝实质凝固性坏死区(2)和水肿区(3);(HE×40) 光镜下:⑥原瘤灶;⑦肝实质凝固性坏死区;⑧水肿区

图 2 处死组 VX2 肿瘤灶 RFA 即时 MRI 和病理表现

3 讨论

RFA 后即时超声和 CT 平扫检查, 均无法清晰显示消融边界。临床上目前多采用超声造影和 CT 增强扫描评价 RFA 后疗效, 消融灶表现为边界清楚的无强化区。但超声和 CT 均不能显示消融后原瘤灶, 不能直观体现消融灶与原瘤灶位置关系, 对消融灶边缘微小残留灶无法显示^[9-10]。本研究采用 RFA 后即时 MR 扫描评价消融灶, 组织病理学检查显示术后即时 MRI 具有一定特征性, 尤其是 T1WI 呈“靶征”改变, 即中心类圆形低信号, 周围包绕高信号, 再外围薄层低信号, 而统计学分析提示消融灶 T1WI 中央低信号区、消融前 T1WI 瘤灶、病理标本瘤灶三者最大径相当, 即 T1WI 中央低信号区等同原瘤灶区; 消融灶 T1WI 周边高信号区、T2WI 低信号区与病理标本肝实质凝固性坏死区最大径相当, 即消融灶 T1WI 周边高信号区、T2WI 低信号区等同瘤周肝实质凝固性坏死区; 消融灶 HE 染色标本也进一步确认中心原瘤灶区为凝固性坏死的 VX2 肿瘤细胞, 未见正常肝细胞; 周边凝固性坏死区均为凝固性坏死的肝细胞和大量红细胞。由于 T1WI 原瘤灶低信号与肝实质凝固性坏死区高信号区灰度反差强烈, 只要各方向成像上高信号的肝实质凝固性坏死区完整覆盖低信号瘤灶, 即可判定消融完全。Koda 等^[11]研究认为, RFA 术后即时 MR 检查可清晰显示瘤灶和瘤周肝实质凝固性坏死带的位置关系, 可以凝固性坏死带完整包绕瘤灶为标准排查活性瘤灶残留。Jia 等^[12]研究认为 MRI T1WI 平扫评价 RFA 疗效优于增强扫描, 原因在于增强后消

融灶整体呈现无强化低信号, 消融后正常肝组织和原瘤灶信号差无明显, 消融区边缘微小残留灶在热损伤后强化不明显, 与边缘的热损伤水肿区信号不能区分, 因此反而不利于疗效判断。Ringe 等^[13]报道显示, RFA 后短期(2 d)复查 MR 增强扫描对于发现残留灶意义不大。

本研究中处死组 RFA 后 MRI T1WI 与活体组相比并无确切“靶征”变化, 原 VX2 瘤灶仍呈低信号, 周围肝实质信号较术前无变化或仅轻度升高, T2WI 消融区大体均呈低信号, 范围超过原瘤灶, 而 HE 染色标本显示, 处死组术后肝肿瘤组织成分与活体组相比主要区别在于肝实质凝固性坏死区内缺乏大量红细胞, 提示活体组肝实质凝固性坏死区 T1WI 呈高信号(靶征)的主要原因可能为出血, 与既往文献报道相互印证^[14-16]。

本研究探讨活体组和处死组肝脏凝固性坏死区出血量差异大的原因, 认为活体肝脏丰富的血流是主要原因, 而肝细胞呈辐射状排列的肝索也为 T1WI“靶征”形成提供了必要的组织学结构基础。活体肝脏经 RFA 后, 肝细胞在肝实质凝固性坏死区短时间内凝固, 成为鬼影细胞^[17], 但肝小叶多面棱柱体构架并未破坏, 肝索受热扭曲变形, 引起肝窦扩张、窦腔容积扩大, 毛细血管通透性增高, 肝内血流压力梯度增大, 肝小叶周边门静脉血流顺压力梯度, 透过毛细血管壁涌入肝窦, 使窦腔内短时间内聚集了大量红细胞; 在热效应催化下, 红细胞内亚铁血红蛋白随即被氧化成正铁血红蛋白。处死组肝脏经 RFA 后, 肝窦受热扩张并不明显, 机体生理活

动消失使血液循环压力梯度不复存在,血流停滞,红细胞仅少量渗入肝窦中;瘤灶区细胞无规律堆叠,缺乏可扩容构造和丰富毛细血管网,因此出血不明显,也缺乏正铁血红蛋白。

正铁血红蛋白呈显著顺磁性,可明显缩短组织弛豫时间。在活体组,正铁血红蛋白可引起被消融肝组织区 T1 值明显缩短,组织信号增高,原瘤灶消融区 T1 值无明显变化,仍呈相对低信号,从而表现为“靶征”;在处死组,缺乏大量正铁血红蛋白使 T1、T2 值缩短,同时血流循环停滞,消融产生的大量热能无法通过血液流动带走,导致局部肝实质温度短暂升高。然而 MRI 序列对温度变化敏感,信号变化与温度变化呈负相关,局部高温引起即时 T1WI 信号短暂降低。上述两方面因素叠加,导致处死后消融灶“靶征”并不显著。无论活体组还是处死组,温度升高或大量出血均引起 T2 值明显缩短,导致信号降低,因此消融灶呈等-低信号变化。

综上所述,肝肿瘤 RFA 后即时 MR 平扫,尤其是 T1WI 具有明显特征性表现,与术后病理学检查呈良好一致性,有望成为临床精确评价肝脏肿瘤 RFA 后即时疗效的主要手段。

[参考文献]

- [1] Minami Y, Nishida N, Kudo M. Therapeutic response assessment of RFA for HCC: contrast-enhanced US, CT and MRI[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20: 4160-4166.
- [2] 任衍乔, 郑传胜. 肝癌射频消融术后各种影像学评价应用与进展[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27: 993-996.
- [3] Zhu Zx, Huang JW, Liao MH, et al. Treatment strategy for hepatocellular carcinoma in China: radiofrequency ablation versus liver resection[J]. Jpn J Clin Oncol, 2016, 46: 1075-1080.
- [4] Xu XL, Liu XD, Liang M, et al. Radiofrequency Ablation versus hepatic resection for small hepatocellular carcinoma: systematic review of randomized controlled trials with meta-analysis and trial sequential analysis[J]. Radiology, 2018, 287: 461-472.
- [5] Rempp H, Unterberg J, Hoffmann R, et al. Therapy monitoring of magnetic resonance-guided radiofrequency ablation using T1- and T2-weighted sequences at 1.5 T: reliability of estimated ablation zones[J]. Invest Radiol, 2013, 48: 429-436.
- [6] Kim YS, Rhim H, Lim HK, et al. Coagulation necrosis induced by radiofrequency ablation in the liver: histopathologic and radiologic review of usual to extremely rare changes[J]. Radiographics, 2011, 31: 377-390.
- [7] Sheng RF, Zeng MS, Ren ZG, et al. Intrahepatic distant recurrence following complete radiofrequency ablation of small hepatocellular carcinoma: risk factors and early MRI evaluation[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2015, 14: 603-612.
- [8] 金光鑫, 王 军, 仇晓霞, 等. MR 导引经皮穿刺瘤块种植法构建兔 VX2 肝癌模型[J]. 介入放射学杂志, 2016, 25: 980-983.
- [9] Lin ZY, Li GL, Chen J, et al. Effect of heat sink on the recurrence of small malignant hepatic tumors after radiofrequency ablation[J]. J Cancer Res Ther, 2016, 12(Suppl): C153-C158.
- [10] Laspas F, Sotiropoulou E, Mylona S, et al. Computed tomography-guided radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: treatment efficacy and complications[J]. J Gastrointest Liver Dis, 2009, 18: 323-328.
- [11] Koda M, Tokunaga S, Miyoshi K, et al. Assessment of ablative margin by unenhanced magnetic resonance imaging after radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma[J]. Eur J Radiol, 2012, 81: 2730-2736.
- [12] Jia ZY, Chen QF, Yang ZQ, et al. Early assessment of coagulation necrosis after hepatic microwave ablation: a comparison of non-enhanced and enhanced T1-weighted images[J]. Abdom Radiol (NY), 2017, 42: 1781-1787.
- [13] Ringe KI, Wacker F, Raatschen HJ. Is there a need for MRI within 24 hours after CT-guided percutaneous thermoablation of the liver?[J]. Acta Radiol, 2015, 56: 10-17.
- [14] Sheng RF, Zeng MS, Ren ZG, et al. Intrahepatic distant recurrence following complete radiofrequency ablation of small hepatocellular carcinoma: risk factors and early MRI evaluation[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2015, 14: 603-612.
- [15] Sainani NI, Gervais DA, Mueller PR, et al. Imaging after percutaneous radiofrequency ablation of hepatic tumors: part 1, Normal Findings[J]. AJR Am J Roentgenol, 2013, 200: 184-193.
- [16] D'Onofrio M, Cardobi N, Ruzzenente A, et al. Unenhanced magnetic resonance imaging immediately after radiofrequency ablation of liver malignancy: preliminary results[J]. Abdom Radiol (NY), 2018, 43: 1379-1385.
- [17] Coad JE, Kosari K, Humar A, et al. Radiofrequency ablation causes 'thermal fixation' of hepatocellular carcinoma: a post-liver transplant histopathologic study[J]. Clin Transplant, 2003, 17: 377-384.

(收稿日期: 2019-03-15)

(本文编辑: 边 伟)