

剪切波弹性成像评估大鼠非酒精性脂肪肝病 肝纤维化程度

周 琴 郭海欣 李靖云 张少波 陈永健 吕国荣

摘要 **目的** 探讨剪切波弹性成像(SWE)技术评估大鼠非酒精性脂肪肝病(NAFLD)肝纤维化程度的应用价值。**方法** 将88只SD大鼠随机分为对照组(40只)和实验组(48只),对照组给予普通饲养,实验组通过饮食调配建立不同肝纤维化分期的NAFLD模型,分别于第1、2、3、8、12周末随机抽取对照组大鼠8只,与预定饲养结束的实验组大鼠一起行SWE检查获取肝脏杨氏模量平均值(E_{mean}),并处死行病理检查;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析E_{mean}预测不同肝纤维化程度的诊断效能。**结果** 肝纤维化F0期、F1期、F2期、F3期、F4期分别有52只、6只、6只、18只、6只,考虑建模成功,其对应的E_{mean}分别为(5.46±0.37)kPa、(6.28±0.33)kPa、(6.42±0.41)kPa、(9.01±0.95)kPa及(15.88±2.49)kPa,不同肝纤维化分期E_{mean}比较差异有统计学意义($F=25.5, P<0.05$);除F1期与F2期比较差异无统计学意义外,其余任意两两比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。所有大鼠肝脏E_{mean}与肝纤维化程度呈显著正相关($r=0.82, P<0.001$)。SWE诊断肝纤维化 \geq F1、 \geq F2、 \geq F3、F4期的截断值分别为6.3 kPa、7.4 kPa、8.6 kPa、9.7 kPa,曲线下面积分别为0.87、0.89、0.93、0.98,敏感性和特异性分别为83.3%、93.3%、100%、100%和85.5%、83.1%、91.3%、92.7%。**结论** SWE技术可有效评估大鼠NAFLD肝纤维化程度。

关键词 剪切波弹性成像;脂肪肝,非酒精性;肝纤维化;大鼠
[中图分类号]R445.1 [文献标识码]A

Research on liver fibrosis for rat models of nonalcoholic fatty liver disease by shear wave elastography

ZHOU Qin, GUO Haixin, LI Jingyun, ZHANG Shaobo, CHEN Yongjian, LYU Guorong

Department of Ultrasound, the Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fujian 362000, China

ABSTRACT **Objective** To explore the application value of shear wave elastography (SWE) used to evaluate hepatic fibrosis for rat models of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods** Eighty-eight SD rats were randomly divided into control group ($n=40$) and experimental group ($n=48$). Normal diet was fed to rats of the control group. Different diets were fed to rats of experimental group to produce various stages of hepatic fibrosis model. Eight rats were imaged by SWE in the time of 1st, 2nd, 3rd, 8th, 12th week, respectively. Livers were subjected to histopathologic evaluation every time after SWE. The diagnostic efficacy of E_{mean} in predicting different degree liver fibrosis by ROC curve. **Results** Number of rats in liver fibrosis stage F0, F1, F2, F3 and F4 were 52, 6, 6, 18, and 6, their E_{mean} were (5.46±0.37)kPa, (6.28±0.33)kPa, (6.42±0.41)kPa, (9.01±0.95)kPa and (15.88±2.49)kPa, respectively, there were significant differences between different stages of liver fibrosis ($F=25.5, P<0.05$). And except for the difference between F1 and F2, there were statistically significant difference among other stages (all $P<0.05$). E_{mean} of rats was significantly positively correlated with the degree of liver fibrosis ($r=0.82, P<0.001$). According to the ROC curve, the cutoff value for SWE in diagnosis of liver fibrosis \geq F1, \geq F2, \geq F3, and F4 were 6.3 kPa, 7.4 kPa, 8.6 kPa, and 9.7 kPa, respectively, and the areas under the curve were 0.87, 0.89, 0.93 and 0.98, respectively. The sensitivity and specificity were 83.3%, 93.3%, 100%, 100% and 85.5%, 83.1%, 91.3%, 92.7%, respectively. **Conclusion** SWE is potentially helpful for staging the degree of hepatic fibrosis in rat models of NAFLD.

KEY WORDS Shear wave elastography; Fatty liver disease, nonalcoholic; Hepatic fibrosis; Rat

基金项目:福建省临床重点专科建设项目[(2017)739]

作者单位:362000 福建省泉州市,福建医科大学附属第二医院超声科(周琴、郭海欣、李靖云、陈永健);晋江市安海医院超声科(张少波);泉州

医高专母婴健康服务应用技术协同创新中心(吕国荣)

通讯作者:吕国荣, Email: lgr_feus@sina.com

对于慢性肝功能不全的患者,准确评估肝纤维化程度具有重要意义。剪切波弹性成像(shear wave elastography, SWE)是新近应用于临床的弹性成像技术,其能在二维超声图像的引导下实时、定量、直观地评价肝脏硬度。目前应用SWE技术评估非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)肝纤维化的相关研究尚少。本实验应用SWE技术检测不同纤维化分期的NAFLD大鼠肝脏的杨氏模量平均值(E_{mean})并分析其诊断效能,旨在为临床无创性评估肝纤维化提供参考。

材料与方 法

一、实验动物及模型制备

选取体质量250~270 g的健康雄性SD大鼠88只[由浙江省实验动物中心提供,许可证号SCXK(浙)2014-0001],将其随机分为对照组(40只)和实验组(48只)。对照组采用普通饲喂(购自上海斯莱克实验动物有限责任公司)。实验组采用蛋氨酸/胆碱缺乏饲料(MCDD,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司)和高脂饲料[HFD,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,其成分为2%胆固醇+15%猪油+5%蛋黄粉+0.5%胆盐+2%白糖+75.5%普通基础颗粒饲料]。具体喂养方式和时间见图1。



图1 实验动物模型建立(MCDD:蛋氨酸/胆碱缺乏饲料;HFD:高脂饲料;CCl₄:四氯化碳)

二、仪器与方法

1. SWE检查:使用法国声科 Supersonic Imagine Aixplorer彩色多普勒超声诊断仪,线阵探头,频率4~15 MHz;配备SWE功能。分别于第1、2、3、8、12周末随机抽取对照组大鼠8只,与预定喂养周期结束的实验组大鼠进行SWE检测。检查前实验动物均空腹10 h,麻醉后肝区备皮,启用SWE模式,统一选取肝中叶避开肝脏大血管、胆道和叶间裂的区域,于距离体表1.0 cm处选择感兴趣区域(ROI),ROI设定为直径约2 mm的圆形,开启Q-BOX测量ROI的E_{mean},测量

5次,取其均值。

2. 病理学检测:SWE检查完成后处死大鼠,取肝中叶固定于10%中性福尔马林,包埋后切片行HE染色、Masson染色。病理学诊断参考Kleiner等^[1]的方法进行肝纤维化分期:F0期,无纤维化;F1期,窦周或门静脉周围纤维化;F2期,窦周和门静脉/门静脉周围纤维化;F3期,桥接纤维化;F4期,肝硬化。

三、统计学处理

应用SPSS 23.0统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较行LSD检验;计数资料以例或率表示,组间比较行 χ^2 检验。相关性分析采用Spearman等级相关分析法。以病理分级为金标准,绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析SWE对NAFLD大鼠不同肝纤维化的诊断效能,并确定截断值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、病理结果

对照组和HFD-1W组大鼠肝脏均无纤维化形成(F0期);MCDD-2W组中F0期2只,F2期6只;HFD-3W组中F0期2只,F1期6只;MCDD-8W组和MCDD-12W组大鼠均为F3期;MCDD-12W/CCl₄组中F3期2只,F4期6只。本实验最终获取F0期52只,F1期6只,F2期6只,F3期18只,F4期6只;考虑建模成功。

二、肝脏E_{mean}与肝纤维化分期的关系

F0期、F1期、F2期、F3期、F4期E_{mean}分别为(5.46±0.37) kPa、(6.28±0.33) kPa、(6.42±0.41) kPa、(9.01±0.95) kPa和(15.88±2.49) kPa,不同肝纤维化分期E_{mean}比较差异有统计学意义($F=25.5, P < 0.05$);除F1期与F2期比较差异无统计学意义外,其余任意两两比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见图2。所有大鼠肝脏E_{mean}与肝纤维化程度呈显著正相关($r=0.82, P < 0.001$)。

三、ROC曲线分析

SWE诊断 $\geq F1$ 、 $\geq F2$ 、 $\geq F3$ 、F4期的ROC曲线下面积分别为0.87、0.89、0.93、0.98。肝脏E_{mean}对大鼠NAFLD肝纤维化的诊断效能见表1和图3。

表1 肝脏E_{mean}对大鼠NAFLD肝纤维化分期的诊断效能

肝纤维化分期	截断值(kPa)	敏感性(%)	特异性(%)	曲线下面积
$\geq F1$ 期	6.3	83.3	85.5	0.87
$\geq F2$ 期	7.4	93.3	83.1	0.89
$\geq F3$ 期	8.6	100	91.3	0.93
F4期	9.7	100	92.7	0.98

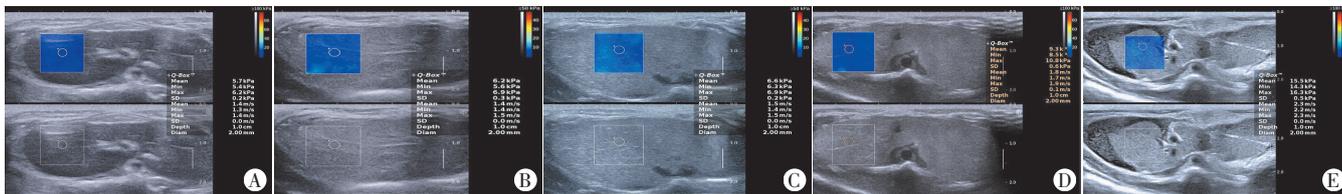


图2 大鼠NAFLD肝纤维化分期SWE图

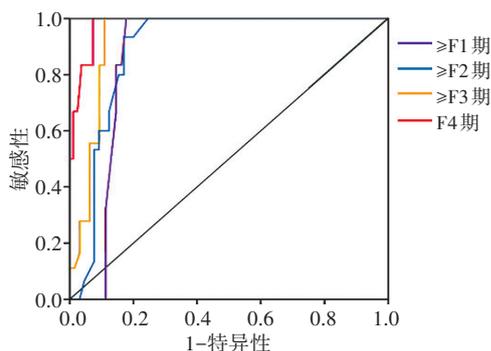


图3 SWE诊断大鼠NAFLD肝纤维化分期的ROC曲线图

讨论

NAFLD是我国第一大慢性肝病^[2],肥胖是其主要因素。MCDD模型是制备NAFLD的经典模型^[3],但由于其炎症的迅速发展难以产生单纯脂肪变性,且诱发肝硬化所需的时间长,故Fan和Qiao^[4]通过HFD饲喂和腹腔注射CCl₄克服这些缺陷,从而构建与NAFLD患者组织病理学特点相似的动物模型。经本实验验证,该建模方法安全有效,可成功构建NAFLD大鼠模型。慢性肝病的治疗和预后在很大程度上取决于肝纤维化的程度和进展,因此,准确评估纤维化程度是治疗慢性肝病的重要环节^[5]。目前,肝活检仍是确诊肝脏纤维化程度的金标准,但其具有有创性及抽样误差所致的不准确性,在临床上不能广泛开展。因此,非侵入性检查在评估肝纤维化中的重要性越来越受到重视。

本实验应用的SWE技术是一种新型超声成像技术,可定量评估肝脏硬度。其原理是通过发射高速聚焦的声辐射力脉冲在纵向不同深度上连续聚焦,使不同深度的组织几乎同时产生横向位移,通过“马赫锥”原理,在聚焦部位产生剪切波,随后应用颜色编码技术实时显示组织弹性图。以往国内外有众多研究^[6-8]报道了SWE在评估慢性肝炎患者肝纤维化方面的高诊断性能,但用其评估NAFLD肝纤维化的研究较少。对于NAFLD进展而来的肝纤维化,SWE技术是否同样具有高诊断效能值得进一步探讨。本实验建立了不同肝纤维化分期的NAFLD大鼠模型,旨在探讨SWE技术对大鼠NAFLD肝纤维化程度的诊断效能。

本实验结果表明,肝脏 Emean 与肝纤维化程度有

较好的相关性($r=0.82, P<0.001$),肝脏 Emean 随着纤维化程度加重而升高,与Kazemirad等^[9]研究结论一致。进一步分析发现不同纤维化分期的 Emean 值比较差异有统计学意义($F=25.5, P<0.05$),除F1期与F2期肝脏 Emean 比较差异无统计学意义外,其余任意两两比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。说明 Emean 值可在一定程度上反映肝纤维化严重程度的特征,提示SWE技术可用于NAFLD肝纤维化程度的评估,但对于轻度肝纤维化的评估存在一定的局限。本实验结果还显示,肝脏 Emean 提示诊断 \geq F1期、 \geq F2期、 \geq F3期、F4期的截断值分别为6.3 kPa、7.4 kPa、8.6 kPa、9.7 kPa,且对应的曲线下面积分别为0.87、0.89、0.93、0.98,表明SWE技术评估NAFLD肝纤维化程度同样具有较好的诊断效能。

综上所述,SWE技术可有效评估大鼠NAFLD肝纤维化程度,具有一定的临床应用价值。

参考文献

- [1] Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2005, 41(6): 1313-1321.
- [2] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组, 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 更新版)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2018, 6(3): 195-203.
- [3] Denk H, Abuja PM, Zatloukal K. Animal models of NAFLD from the pathologist's point of view[J]. *Biochimica Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(5): 929-942.
- [4] Fan JG, Qiao L. Commonly used animal models of non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2009, 8(3): 233-240.
- [5] Chaowen D, Zheng G, Guoxin H. An excerpt of Asian-Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) consensus guidelines on invasive and non-invasive assessment of hepatic fibrosis (2016) [J]. *J Clin Hepatol*, 2017, 33(3): 413-416.
- [6] Lee ES, Lee JB, Park HR, et al. Shear wave liver elastography with a propagation map: diagnostic performance and inter-observer correlation for hepatic fibrosis in chronic hepatitis[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2017, 43(7): 1355-1363.
- [7] Leung VY, Shen J, Wong VW, et al. Quantitative elastography of liver fibrosis and spleen stiffness in chronic hepatitis B carriers: comparison of shear-wave elastography and transient elastography with liver biopsy correlation[J]. *Radiology*, 2013, 269(3): 910-918.

[8] Herrmann E, de Lédinghen V, Cassinotto C, et al. Assessment of biopsy-proven liver fibrosis by two-dimensional shear wave elastography: an individual patient data-based meta-analysis [J]. *Hepatology*, 2018, 67(2): 260-272.

[9] Kazemirad S, Zhang E, Nguyen BN, et al. Detection of steatohepatitis in a rat model by using spectroscopic shear-wave US elastography [J]. *Radiology*, 2017, 282(3): 726-733.

(收稿日期: 2019-09-10)

· 病例报道 ·

Ultrasonic manifestations of tuberculous flexor tenosynovitis of hand : a case report

手部结核性屈肌腱鞘炎超声表现 1 例

袁安娜 方海燕 容蓉 钟兴

[中图法分类号] R445.1; R686.1

[文献标识码] B

患者男, 63岁, 右手腕部、拇指及中指近端肿块7年余, 无红肿、热痛、麻木, 因近日肿块逐渐增大, 偶有疼痛入院。既往有陈旧性肺结核病史。体格检查: 于右手腕部、拇指、中指近端分别见大小约5 cm×4 cm、2 cm×3 cm、2 cm×3 cm肿块, 质韧、表面光滑、活动度差、无压痛, 握拳困难。实验室检查: 白细胞计数 $7.2 \times 10^9/L$ 、嗜中性粒细胞0.75、淋巴细胞0.14、红细胞沉降率104 mm/h、C反应蛋白82.32 mg/L、降钙素原0.069 ng/ml。超声检查: 右侧腕关节拇长、指浅、指深、右侧拇指、中指、小指屈肌腱周边被弥漫性低回声包绕, 最厚约19 mm; 低回声内见条状无回声区(图1); CDFI示低回声内可探及少许血流信号。超声提示: 右侧腕关节拇长、指浅、指深、右手拇指、中指、小指屈肌腱鞘弥漫性改变, 考虑为炎症并局限性积液。术中于右腕部、拇指、中指腱鞘可见大小分别为4.0 cm×3.0 cm×3.5 cm、2.0 cm×3.0 cm×3.5 cm、1.0 cm×2.0 cm×1.0 cm黄白色病灶, 腱鞘明显增厚, 内可见清亮积液, 部分肌腱受侵蚀发生断裂, 脆性增加, 但肌腱、腱鞘与周围组织粘连不紧密(图2)。术后病理检查: 镜下见广泛病变由类上皮细胞构成的结节病灶, 伴干酪样坏死, 可见多核朗格汉斯巨细胞, PAS/抗酸染色(-), 符合结核肉芽肿病变诊断(图3), 确诊为结核性腱鞘炎。

讨论: 手部结核性腱鞘炎可以是原发性肺外结核, 也可由肺结核血行转移所致, 其中结核分枝杆菌导致的手部腱鞘炎

非常罕见, 常累及手部掌侧屈肌腱鞘^[1]。疼痛、肿胀及运动受限是其最常见的症状。实验室检查可有红细胞沉降率、C反应蛋白增高, 但结核菌素试验、抗酸杆菌染色、结核分枝杆菌培养等阳性率很低。文献^[2]提示超声常表现为弥漫性屈肌腱及腱鞘增厚、腱鞘积液及低回声的米粒体。由于缺乏特异性, 结核性腱鞘炎较易误诊为腕管综合征、慢性腱鞘炎、骨髓炎、类风湿性关节炎等^[3], 导致确诊延误。本例患者既往有肺结核病史, 根据其实验室检查及屈肌腱鞘弥漫性增厚、腱鞘积液的超声表现, 予以诊断。随着病情发展, 结核性腱鞘炎会导致骨和肌腱断裂, 严重影响运动功能。因此, 可考虑早期在超声引导下对增厚的腱鞘进行活检、抽吸并化验腱鞘积液等处理^[2], 以协助早期确诊结核性腱鞘炎。本病最终确诊仍需依赖术后病理诊断。

参考文献

[1] Probst FA, Koch M, Lohmeyer J, et al. Tuberculous extensor tenosynovitis of the hand [J]. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2012, 132(8): 1141-1145.

[2] Chau CL, Griffith JF. Musculoskeletal infections: ultrasound appearances [J]. *Clin Radiol*, 2005, 60(2): 149-159.

[3] Vijay PG, Joseph MV. Retrospective analysis of varied clinical presentations and delayed diagnosis in tuberculosis affection of extremities [J]. *J Orthop Case Rep*, 2016, 2(3): 12-16.



A: 横切面观; B: 纵切面观

图1 手部结核性屈肌腱鞘炎二维超声图像(黑三角示拇长屈肌腱; 白三角示拇长屈肌腱周围明显增厚的腱鞘, 表现为包绕肌腱的弥漫性低回声; *示无回声腱鞘积液)

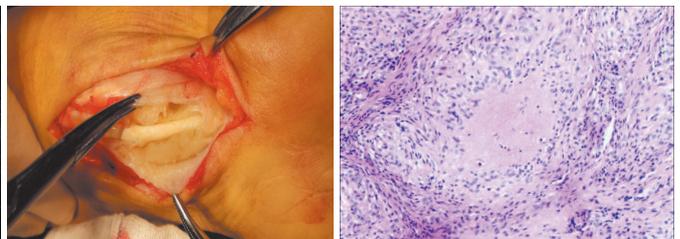


图2 右腕部明显增厚的黄白色腱鞘, 包绕拇长屈肌腱, 但肌腱、腱鞘与周围组织粘连不紧密

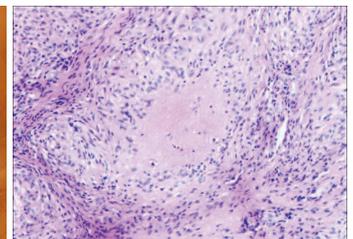


图3 右腕部拇长屈肌腱鞘病理图(HE染色, ×100)

(收稿日期: 2019-03-17)