

· 实验研究 ·

剪切波弹性成像监控离体猪肝组织温度变化的实验研究

张存程 杨 扬

摘 要 **目的** 应用剪切波弹性成像(SWE)监控离体猪肝组织硬度值随温度变化情况,探讨SWE在监控光热治疗中的作用。**方法** 以水浴法对新鲜离体猪肝进行加热。应用SWE检测肝组织自35℃升温至85℃时的组织硬度值,以及肝组织维持一定温度10 min前、后组织硬度值变化;并与病理组织学进行对照分析。**结果** 40℃~50℃时肝组织硬度值分别与35℃时比较差异均无统计学意义;55℃~85℃时肝组织硬度值分别与35℃组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);35℃~50℃肝组织硬度值两两比较差异均无统计学意义;55℃~85℃肝组织硬度值分别与35℃~50℃时两两比较,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。肝组织病理图显示,随温度升高肝窦变窄,细胞逐渐水肿直至破裂。50℃~85℃时肝组织硬度值与连续升温实验中对应温度比较差异均无统计学意义;50℃~85℃时肝组织维持温度10 min前、后组织硬度值比较差异均无统计学意义;85℃时肝组织维持温度恒定10 min前、后组织硬度值比较差异有统计学意义[(119.31±2.91)kPa vs. (158.64±1.49)kPa, $P<0.05$]。肝组织病理图显示,50℃~85℃维持温度10 min前、后肝组织无明显变化。**结论** 应用SWE可精确评价光热治疗时离体猪肝组织硬度随温度变化情况。

关键词 剪切波弹性成像;光热治疗;离体猪肝;温度;弹性模量

[中图法分类号]R445.1;R73.33;R735.7

[文献标识码]A

Porcine liver temperature changes evaluated by shear wave elastography: a experimental study

ZHANG Cuncheng, YANG Yang

Institute of Ultrasound Imaging and Department of Ultrasound, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Key Laboratory of Ultrasound Molecular Imaging, Chongqing 400016, China

ABSTRACT **Objective** To study the value of porcine liver temperature changes by shear wave elastography (SWE) in photothermal ablation. **Methods** Fresh porcine livers were heated with water bath method. The stiffness of liver tissue, with temperature rising from 35℃ to 85℃ and maintaining at a certain level for 10 min, was respectively tested by SWE, and meanwhile, compared with histopathology respectively. **Results** There were no significant difference between the stiffness of liver tissue at 40℃~50℃ and 35℃, and there were significant difference between the stiffness of liver tissue at 55℃~85℃ and 35℃ (all $P<0.05$). There were no significant difference of liver tissue hardness at 35℃~50℃ in pairwise comparison, and there were significant difference between the liver tissue hardness at 55℃~85℃ and 35℃~50℃, respectively (all $P<0.05$). Histopathology showed that the hepatic sinus structure narrowed with the increase of temperature, and the cells were gradually edema and rupture. There were no significant difference between liver tissue hardness at 50℃~85℃ and the corresponding temperature in the continuous heating experiment. There were no significant difference between the stiffness of liver tissue at 50℃~85℃ and that at the specified temperature of 10 min after maintenance, the difference in tissue stiffness values before and after the liver tissue was maintained at a constant temperature for 10 min at 85℃ was statistically significant [(119.31±2.91)kPa vs. (158.64±1.49)kPa, $P<0.05$]. The liver histopathology showed that there were no significant changes in the liver tissue between 50℃~85℃ and the temperature maintained for 10 min. **Conclusion** SWE can accurately evaluate the temperature changes of porcine liver tissue during photothermal therapy.

KEY WORDS Shear wave elastography; Photothermal ablation; Porcine liver; Temperature; Elastic modulus

基金项目:重庆市自然科学基金一般项目(cstc2016jcyjA0156)

作者单位:400016 重庆市,重庆医科大学超声分子影像重庆市重点实验室 重庆医科大学附属第二医院超声科

通讯作者:杨扬, Email: yangyang1983818@163.com

肝癌是全球高发的恶性肿瘤之一。局部热消融是治疗单发直径 <3 cm 肝癌首选的治疗方法^[1-2]。相对于目前应用广泛的射频消融和微波消融治疗,光热疗法具有温度低、非侵入性、高选择性、高精度,对正常组织无害等优点^[3-4]。对于光热疗法的监控目前多采用表面红外成像和针式温度计测量两种方式,二者在一定程度上可以反映光热治疗时肿瘤周边正常组织的温度变化,但也易出现治疗温度过高损伤正常组织或者治疗温度不足而引起肿瘤复发的情况^[5]。寻求精确评价光热疗法中治疗温度及治疗范围的检测方法十分必要。MRI 可以用于热消融治疗监控^[6],但其设备昂贵且操作复杂,推广应用受限。有研究^[7-8]显示,肝组织硬度值增加与肝组织凝固坏死具有相关性,利用肝脏射频消融或微波消融治疗前、后组织硬度值变化可以推断肝组织消融灶的面积。剪切波弹性成像(shear wave elastography, SWE)在光热疗法中是否有上述作用目前鲜见报道。本实验应用 SWE 监测离体猪肝组织硬度值随温度变化情况,旨在探讨 SWE 在监测光热治疗中的作用。

材料与方法

一、主要材料与仪器

新鲜离体猪肝(离体时间 <2 h,购自生猪屠宰场,4℃低温冷链运输);HH-S4 数显型大功率恒温水浴锅(江苏新瑞仪器);法国声科 Supersonic Imagine Aixplorer 彩色多普勒超声诊断仪,SL15-4 探头,频率 4~15 MHz;针式电子温度计(-50℃~200℃,台湾泰仕)。

二、实验装置设置及肝组织温度、硬度参数获取方法

1. 实验装置的设置:使用水浴加热的方式对肝组织进行升温,选取完整猪肝左叶(厚度 <2 cm),将其置于恒温水浴锅中固定,水面以上露出约 0.5 cm。将超声探头垂直朝下,固定放置于水面以上部分猪肝表面,超声发射方向对准猪肝内部水面以下部分进行实验。

2. 肝组织温度值参数的获取:将两支探针式电子温度计插入到猪肝内部,以两支温度计读数相差小于 1℃时的平均值为肝内的实时温度。

3. 肝组织硬度值参数的获取:校正超声仪器时钟,超声图像深度取 >3.0 cm, SWE 取样框放在肝组织图像正中,大小为 20 mm $\times$ 10 mm(宽 $\times$ 深),彩色灰阶值设置为 0~95 kPa。在肝组织温度值低于 35℃时,以

取样框内肝组织完全显示为均质蓝色为图像质量合格,固定超声探头及取样框位置不再变化。实验中测量肝组织硬度值时按下超声仪器图像采集按键,储存超声图像。结束实验后,在储存超声图像上靠近电子温度计并避开肝内管道结构的区域取直径 4 mm 的正圆区域为感兴趣区,通过超声仪器自带软件获得该区域肝组织硬度平均值,每张图片取相邻的 4 个兴趣区进行测量,以 4 次测量数值的平均值为此时肝组织的平均硬度值。

三、连续升温实验

将恒温水浴锅设定为连续加热模式,加热功率设置为最大,连续观察温度计读数,采集肝脏 35℃、40℃、45℃、50℃、55℃、60℃、65℃、70℃、75℃、80℃、85℃时的超声图像,获取组织硬度值,每次升温过程耗时约 6 min,均重复测量 20 次取其均值,并进行比较。于 35℃、45℃、55℃、65℃、75℃、85℃时取肝边缘组织行病理学检查,光镜下进行对比观察。

四、时间累积实验

将恒温水浴锅设置为恒温模式,加热功率设置为最大,采集肝脏 50℃、55℃、60℃、65℃、70℃、75℃、80℃、85℃时与保持温度恒定 10 min 后的超声图像,获取肝组织硬度值,每次升温过程最长耗时约 7 min,均重复 20 次取其均值。比较达到预定温度时与保持温度恒定 10 min 后肝组织硬度值。分别在预定温度值达到 55℃、65℃、75℃、85℃时,以及维持温度 10 min 后取肝边缘组织行病理学检查,光镜下进行对比观察。

五、统计学处理

应用 SPSS 25.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组比较行 t 检验;多组两两比较行 SNK- q 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、连续升温实验

1. 不同温度时肝组织硬度值比较:随温度升高,组织硬度值由低到高,见图 1。40℃~50℃时肝组织硬度值分别与 35℃时比较差异均无统计学意义;55℃~85℃时肝组织硬度值分别与 35℃组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。35℃~50℃时肝组织硬度值两两比较差异均无统计学意义;55℃~85℃时肝组织硬度值分别与 35℃~50℃时两两比较,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 1。

2. 不同温度值时肝组织 SWE 图像变化:肝组织

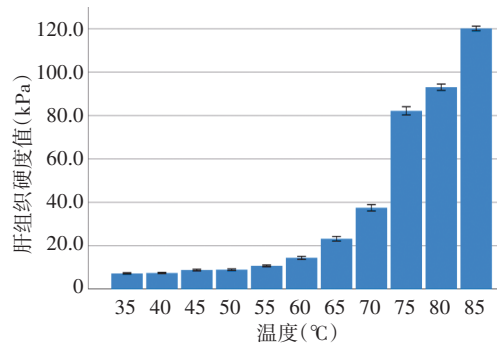


图1 连续升温实验中35℃~85℃时肝组织硬度值变化趋势

SWE图像在<50℃时,图像呈蓝色,随着肝组织温度值升高变化不明显;在>55℃时,随温度值升高肝组织SWE图像由蓝到红(图2 A1~D1)。

3. 肝组织病理:随着肝组织温度值增加,细胞外液逐渐减少,肝窦逐渐变窄,细胞体积逐渐增大,当温度值≥60℃时,肝窦逐渐难以辨认,细胞体积增大明显,升至85℃时,可以观察到部分细胞破裂,部分区域肝细胞结构消失。见图2 A2~D2。

二、时间积累实验

根据连续升温实验结果的分析,本研究将时间积累实验探讨的范围局限在了肝组织硬度值发生明显变化的50℃~85℃。

1. 时间积累对肝组织硬度值的影响:50℃~85℃时

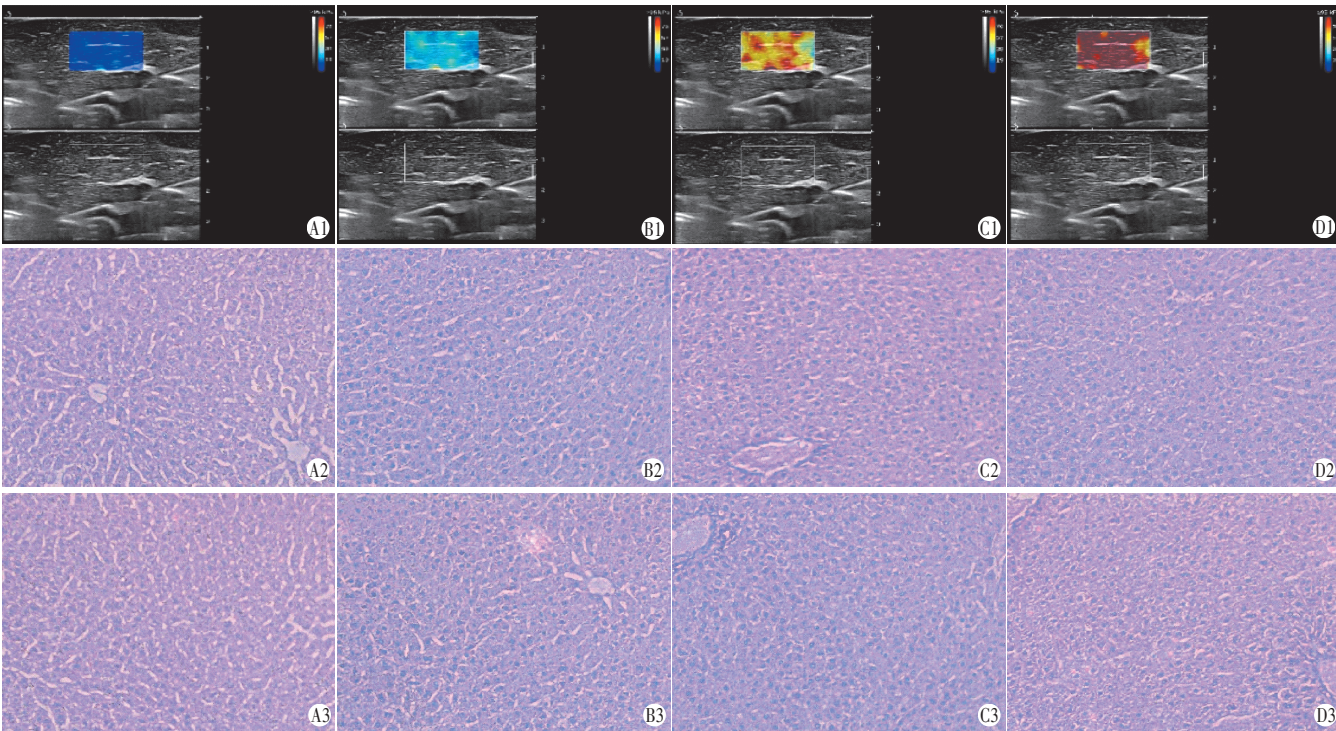
肝组织硬度值与连续升温实验中对对应温度肝组织硬度值比较差异均无统计学意义;50℃~85℃时肝组织维持温度恒定10 min前、后组织硬度值比较差异均无统计学意义;85℃时肝组织维持温度恒定10 min前、后组织硬度值比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2. 肝组织病理:50℃~85℃维持温度10 min前、后肝组织无明显变化。见图2 A3~D3。

表1 连续升温实验及时间积累实验所测离体猪肝组织硬度值比较($\bar{x}\pm s$) kPa

温度	连续升温实验	时间积累实验	
		达到温度时	维持温度10 min后
35℃	7.22±0.61	—	—
40℃	7.42±0.56	—	—
45℃	8.77±0.78	—	—
50℃	8.92±0.83	9.19±0.63	9.10±0.67
55℃	10.72±0.76*	10.76±0.94	10.80±0.69
60℃	14.40±1.49*	14.54±1.48	14.32±1.21
65℃	23.20±2.35*	24.05±1.79	24.50±1.88
70℃	37.46±3.16*	38.08±3.06	38.52±2.48
75℃	82.14±4.05*	83.12±3.39	84.30±3.90
80℃	93.06±3.08*	94.06±3.04	95.91±2.90
85℃	120.12±2.25*	119.31±2.91	158.64±1.49#

与连续升温实验中35℃时比较,* $P<0.05$;与时间积累实验中达到85℃时肝组织硬度比较,# $P<0.05$



A1、B1、C1、D1分别为肝组织55℃、65℃、75℃、85℃时SWE图;A2、B2、C2、D2分别为肝组织达到55℃、65℃、75℃、85℃时病理图(HE染色,×400);A3、B3、C3、D3分别为肝组织55℃、65℃、75℃、85℃维持10 min后病理图(HE染色,×400)

图2 连续升温实验与时间积累实验离体猪肝组织SWE图及病理图

讨 论

在肝癌治疗领域,光热消融疗法因为创伤小、恢复快、肝脏功能损害小等优点,有极高的临床应用价值。普通 B 型超声对热消融治疗的监控是以高温导致的空化或汽化微泡活动产生的高回声为标志^[9],但光热消融法相对传统治疗低温,仅为 50℃~80℃^[10]。治疗时组织内很少发生空化或汽化,使用普通 B 型超声对其监测效果欠佳。由于对光热治疗监控手段的缺乏,光热治疗技术难以向临床转化。有研究^[11-12]显示,在肝组织热消融治疗中,热凝固区域的肝组织因热膨胀、组织结构变化等原因,与其组织硬度等特性相关的声速会发生变化。利用超声领域中 SWE 组织硬度测量技术监控肝组织光热消融治疗的研究,目前鲜见报道。本实验对离体猪肝进行升温实验,利用 SWE 对升温过程中的肝组织硬度值变化进行分析。在对离体猪肝进行连续升温实验和时间积累实验中发现:55℃~80℃时,肝组织温度值与硬度值有对应关系,且随温度值升高,组织硬度值增加;35℃~50℃时,随温度升高,肝组织硬度值的变化难以被观测到;当温度升至 85℃时,肝组织硬度值与温度值不再有对应关系,随着高温持续的时间延长其硬度值也会增加。在后续实验中发现,组织温度值>90℃时组织内逐渐出现较多的气体干扰,严重影响超声图像质量及硬度值数据采集,故本研究将肝脏的最高温度设置为 85℃。

本实验从组织病理学的角度对肝组织硬度值随温度变化而变化的原因进行分析,通过对连续升温实验及时间积累实验中取下的肝组织病理学切片进行观察发现,肝组织结构也随着肝组织温度值的变化而改变:当肝组织温度值升高且≥55℃时,肝细胞体积逐渐增大,肝窦结构逐渐变窄,但整体结构尚无明显破坏;当肝组织温度升至 85℃时,肝组织对比于实验中其他温度值的肝组织,破裂的肝细胞明显增多,肝组织细胞结构的完整性开始消失,并在局部出现结构完全消失的区域;各预定温度维持 10 min 前、后比较,肝组织的结构未发现明显变化。可见,肝组织温度的升高伴随着肝细胞水肿、细胞间质减少等结构的变化,可能是导致肝组织硬度值升高的原因,而对于有完整细胞结构的肝组织,持续的高温并不会引起其硬度值的改变。

本实验发现肝组织硬度值与温度值有对应关系的温度值范围与光热治疗的温度值范围相近,因此认为应用 SWE 监测肝组织硬度数值,实时评价光热消融治疗过程中肝脏肿瘤边缘正常组织温度值具有可行性。本实验结果还显示,随着光热治疗的进行,正常猪肝

组织硬度值的增加可以反映肝组织温度值的升高,而且在温度不变的情况下,组织硬度值不会随时间延长发生改变;结合肝脏 SWE 图像的变化,可以通过蓝色与红色区域的分布判断肝肿瘤光热治疗的治疗范围。

本实验的局限性:仅对正常猪肝组织硬度值随温度升高的变化进行了研究,未对慢性肝病、肝癌等异常肝组织的硬度值与温度值关系进行实验,也未对肝组织温度升高是如何导致组织生物力学变化的具体机制进行深入研究。未来将尝试在肝硬化等复杂背景下利用 SWE 对组织温度值进行监测,并结合细胞学、蛋白组学、组织病理学等深入分析肝组织温度与肝组织硬度变化的内在联系。

综上所述,应用 SWE 可以精确评价离体猪肝组织硬度值随温度变化情况;利用 SWE 对光热治疗进行监控是可行的。

参考文献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Vogl TJ, Nour-Eldin NA, Hammerstingl RM, et al. Microwave ablation (MWA): basics, technique and results in primary and metastatic liver neoplasms - review article[J]. Rofo, 2017, 189(11): 1055-1066.
- [3] Kim JW, Shin SS, Heo SH, et al. Ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation of liver tumors: how we do it safely and completely[J]. Korean J Radiol, 2015, 16(6): 1226-1239.
- [4] Calandri M, Mauri G, Yevich S, et al. Fusion imaging and virtual navigation to guide percutaneous thermal ablation of hepatocellular carcinoma: a review of the literature[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2019, 42(5): 639-647.
- [5] 刘映江, 张炼, 肖智博, 等. 磁共振 T1 fl2d 监控高强度聚焦超声消融的可行性研究[J]. 重庆医科大学学报, 2015, 40(12): 1515-1519.
- [6] Lee DH, Lee JM, Lee JY, et al. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma as first-line treatment: long-term results and prognostic factors in 162 patients with cirrhosis[J]. Radiology, 2014, 270(3): 900-909.
- [7] Crocetti L, Calcagni F, Gherarducci G, et al. Monitoring of thermal-induced changes in liver stiffness during controlled hyperthermia and microwave ablation in an ex vivo bovine model using point shear wave elastography[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2019, 42(5): 744-750.
- [8] 吴水才, 王月, 周著黄, 等. 基于超声组织定征技术的肿瘤热疗无创监测方法研究进展[J]. 北京工业大学学报, 2017, 43(10): 1488-1496.
- [9] Zhou Z, Sheng L, Wu S, et al. Ultrasonic evaluation of microwave-induced thermal lesions based on wavelet analysis of mean scatterer spacing[J]. Ultrasonics, 2013, 53(7): 1325-1331.
- [10] 张源, 翟博. 大肝癌的微创介入治疗[J]. 介入放射学杂志, 2019, 28(4): 394-399.

[11] 吴珊, 尚少强, 王雪维, 等. 基于 Nakagami 统计参量的活体微波热消融超声监控成像研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2019, 36(3): 371-378.

[12] Sugimoto K, Oshiro H, Ogawa S, et al. Radiologic-pathologic

correlation of three-dimensional shear-wave elastographic findings in assessing the liver ablation volume after radiofrequency ablation [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(33): 11850-11855.

(收稿日期: 2019-07-03)

· 病例报道 ·

Ultrasonic features of Kimura's disease: a case report

木村病超声影像特征 1 例

陈蕊 赵佳琦

[中图分类号] R445.1

[文献标识码] B

患者男, 15岁。因“发现双侧颈部皮下多发无痛性肿物5年, 左腮腺区肿块肿胀进行性加重”来院就诊。5年前因上臂硬性肿物行手术治疗, 具体不详。体格检查: 左侧腮腺区触及一大小约4 cm×3 cm肿块, 质韧, 无触痛, 边界欠清; 另双侧腮腺区、双侧颌下区及耳下触及数枚肿大淋巴结, 质韧, 可活动, 无触痛, 全身余部位淋巴结未触及明显肿大。超声检查: 双侧腮腺区及双颈部Ⅱ、Ⅲ区可见多发实性低回声团, 较大约3.5 cm×1.4 cm, 形态规则, 呈椭圆形, 边界尚清晰, 内回声不均匀, 内见小片状无回声; CDFI于其内可探及丰富血流信号(图1, 2)。超声提示: 双侧腮腺区及双颈部多发异常肿大淋巴结。MRI检

查: 横断状和冠状位T1、T2及增强显示双侧腮腺、颌下腺、颌面部皮下多个分叶状肿块, 边界清晰, 增强可见轻度强化, 部分肿块内可见坏死信号(图3)。MRI结果与超声提示一致。实验室检查: 外周血嗜酸性粒细胞绝对值 $2.31 \times 10^9/L$, IgE 3356 U/ml。临床初步诊断: 左腮腺肿块、双颈部淋巴结肿大。后行左腮腺浅叶切除+左颈部淋巴结清扫术。术后肿块组织病理检查: 可见大量嗜酸性粒细胞和淋巴细胞浸润, 并可见淋巴滤泡增生(图4)。病理诊断: 左侧腮腺、左颈部肿块系嗜酸性淋巴肉芽肿。术后予以抗感染、止血、神经营养、糖皮质激素及对症治疗, 出院时患者一般情况可, 生命体征平稳, 切口愈合佳。

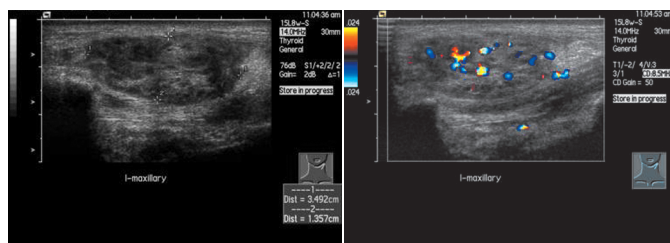


图1 声像图示左侧上颌骨区实性团块状低回声, 形态规则, 边界清晰, 内回声不均匀, 内可见小片状无回声区

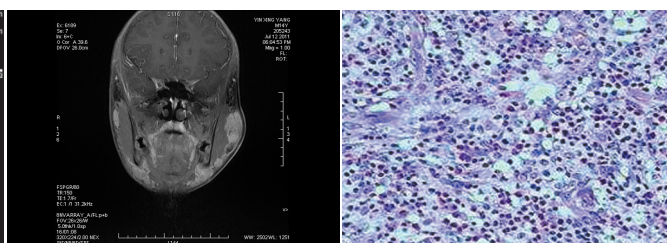


图2 CDFI示肿块内血流信号丰富, 增强显示轻度强化, 部分肿块内可见坏死信号

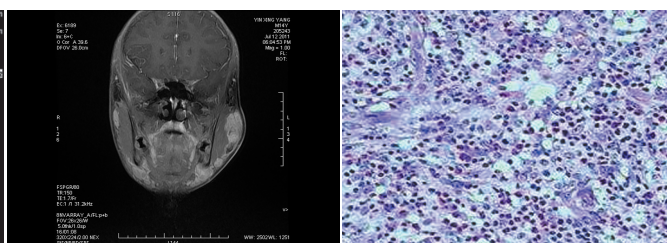


图3 MRI示双侧颌面部皮下多个分叶状肿块, 边界清晰, 增强见轻度强化, 部分肿块内可见坏死信号

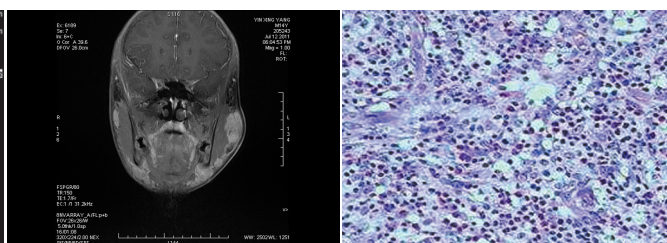


图4 病理图示大量嗜酸性粒细胞和淋巴细胞浸润(HE染色, ×100)

讨论: 木村病又称嗜酸性淋巴肉芽肿, 临床较少见, 病因尚不明确, 可能与IgE介导的I型变态反应有关^[1]。木村病临床表现多样, 最常见为头颈部多发无痛性肿物, 常累及腮腺、颌下腺, 可伴局部淋巴结肿大(如口腔、腹股沟、四肢等), 极易漏误诊。病变无特异性影像学表现, 本病例高频超声表现为双侧腮腺及双侧颈部多发团状实性低回声, 边界清晰, 纵横比<1, 类似淋巴结回声, 未见明显淋巴门结构, 因对木村病认识不足且未结合患者实验室检查, 超声误诊为双侧腮腺颈部多发异常肿大淋巴结。临床确诊主要依赖病理结果, 病理改变主要特点是淋巴滤泡形成、血管增生、大量淋巴细胞及嗜酸性细胞浸润, 可有嗜酸性细胞脓肿及不同程度的纤维化^[2]。该病需与血管淋巴样增

生伴嗜酸性粒细胞增多症相鉴别。木村病是一种良性病变, 预后较好, 但容易复发, 手术切除肿块是首选的治疗方法^[3]。

参考文献

- [1] Rajpoot DK, Pahl M, Clark J. Nephrotic syndrome associated with Kimura's disease[J]. Pediatr Nephrol, 2000, 14(6): 486-488.
- [2] 汪跃平, 游云华, 梁军, 等. 头颈部多发性的Kimura病临床与病理分析[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2009, 3(6): 662-666.
- [3] 陈红艳, 谢红霞, 罗燕, 等. 颌面部木村病的超声特征分析[J]. 临床超声医学杂志, 2019, 21(9): 715-716.

(收稿日期: 2019-02-27)