

论著 · 基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.18.006

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210625.1036.004.html\(2021-06-25\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210625.1036.004.html(2021-06-25))

Dixon IP/OP 序列评估肝纤维化大鼠脂肪、铁质病理分级价值^{*}

金明丽¹, 潘志华^{1△}, 舒 健², 王小凤²

(1. 成都医学院第二附属医院·核工业四一六医院放射科, 成都 610000;
2. 西南医科大学附属医院放射科, 四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 探讨 Dixon IP/OP 序列评估肝纤维化大鼠脂肪、铁质病理分级的价值。**方法** 36 只不同肝纤维化分期模型大鼠进行双 Dixon IP/OP 序列扫描, 分析大鼠肝脏图像, 观察信号强度并计算脂变指数 (FI)、肝脏相对信号强度值 (RSI), 扫描完成后进行肝纤维化分期、脂肪及铁质病理分级。**结果** 36 只肝纤维化大鼠中, 与同相位图像比较, 反相位图像中 8 只呈低信号 (22%), 10 只呈稍低信号 (28%), 18 只呈等信号 (50%)。脂肪病理分级 0 级 6 只 (17.0%), 1 级 9 只 (25.0%), 2 级 13 只 (36.0%), 3 级 8 只 (22.0%)。铁质病理分级 0 级 9 只 (25.0%), 1 级 10 只 (28.0%), 2 级 9 只 (25.0%), 3 级 4 只 (11.0%), 4 级 4 只 (11.0%)。FI 与脂肪病理分级存在相关性 ($r_s=0.570, P<0.05$), 不同脂肪病理分级 FI 存在明显差异 ($P<0.05$)。RSI 与铁质病理分级存在相关性 ($r_s=0.496, P<0.05$), 不同铁质病理分级 RSI 存在明显差异 ($P<0.05$)。FI、RSI 不受肝纤维化分期的影响 ($P>0.05$)。FI 对鉴别脂肪沉积的存在 [曲线下面积 (AUC)=0.922 (0.880, 0.997)]、评估重度脂肪沉积 [AUC=0.844 (0.696, 0.992)] 效果较好; RSI 适用于评估铁质病理分级大于或等于 3 级的铁质沉积 [AUC=0.902 (0.802, 1.000)]。**结论** Dixon IP/OP 序列能够一定程度评估肝纤维化大鼠脂肪、铁质病理分级。

[关键词] Dixon IP/OP 序列; 大鼠; 肝纤维化; 脂肪变性; 铁
[中图法分类号] R445.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)18-3090-05

Value of Dixon IP/OP sequence to evaluate the pathological grading of fat and iron in rats with liver fibrosis^{*}

JIN Mingli¹, PAN Zhihua^{1△}, SHU Jian², WANG Xiaofeng²

(1. Department of Radiology, the Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College/
Nuclear Corporation 416 Hospital, Chengdu, Sichuan 610000, China; 2. Department of Radiology,
the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the value of Dixon IP/OP sequence in assessing steatosis and iron pathological grade in rats with liver fibrosis. **Methods** A total of 36 different stages of liver fibrosis model rats were scanned with dual Dixon IP/OP sequence, the rat liver images were analyzed, the signal intensity was observed, and fat index (FI) and relative signal intensity values (RSI) were calculated. Liver fibrosis staging, steatosis and iron pathological grade were performed after the scan was completed. **Results** Hypointense, slight hypointense and isointense found on out-of-phase images was 8 cases (22%), 10 cases (28%) and 18 cases (50%), respectively. Steatosis pathological grade 0, 1, 2 and 3 was 6 cases (17.0%), 9 cases (25.0%), 13 cases (36.0%) and 8 cases (22.0%), respectively. Iron pathological grade 0, 1, 2, 3 and 4 was 9 cases (25.0%), 10 cases (28.0%), 9 cases (25.0%), 4 cases (11.0%) and 4 cases (11.0%), respectively. There was a correlation between FI and steatosis pathological grade ($r_s=0.570, P<0.05$), and there was significant difference in FI with different steatosis pathological grades ($P<0.05$). There was a correlation between RSI and iron pathology grade ($r_s=0.496, P<0.05$), and there was significant difference in RSI with different iron pathology grade ($P<0.05$). FI and RSI values were not affected by the stages of liver fibrosis ($P>0.05$). FI was effective in identifying the presence of fatty deposits [area under the curve (AUC)=0.922 (0.880, 0.997)] and heavy fatty deposits [AUC=0.844 (0.696, 0.992)]; RSI was suitable for assessing iron deposition with iron pathological grade ≥ 3 [AUC=0.902 (0.802, 1.000)]. **Conclusion** Dixon IP/OP sequence could assess steatosis and iron pathological grade in rats with liver fibrosis.

^{*} 基金项目: 四川省卫生和计划生育委员会科研课题 (17PJ436)。 作者简介: 金明丽 (1986—), 主治医师, 硕士, 主要从事腹部 MRI 研究。

[△] 通信作者, E-mail: 1242037853@qq.com。

[Key words]

dual-echo (in-and oppose-phase) T1 weighted;rats;liver fibrosis;steatosis;iron

肝纤维化是由多种原因导致的慢性肝脏疾病的共同病理过程,常合并不同程度的脂肪变及铁质沉积^[1]。穿刺活检是评估脂肪变性、铁质沉积的金标准,存在很多局限性^[2]。Dixon IP/OP 成像利用水和脂肪相位抵消效应、主磁场不均导致的 T2 穿透效应,分别用于含脂肪病变的诊断与鉴别诊断、肝脏脂肪及铁质含量的定量研究^[3],同时用于评估肝纤维化脂肪、铁的研究较少,因此,本研究拟探讨 Dixon IP/OP 成像对肝纤维化大鼠脂肪、铁病理分期的诊断价值,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

36 只 2~3 月龄超级清洁级 SD 雄性大鼠,由西南医科大学动物实验中心提供,体重(202.0±3.2)g。实验动物生产许可证[SCXK(川)2013-17]、实验动物使用许可证[SCXK(川)2013-181],本研究经伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 不同肝纤维化分期模型大鼠的建立

所有大鼠每周 2 次按 0.3 mL/100 g 分别于腹腔或后腿内侧皮下注射 40% 的四氯化碳食用调和油悬浊液,注射 6~12 周,建立不同肝纤维化分期大鼠并进行脂肪、铁质病理分级。(1)肝纤维化分期参照肝脏 Masson 染色纤维化病理分期^[4],S0 期:无纤维化;S1 期:汇管区扩大、纤维化;S2 期:汇管区周围纤维化,纤维间隔形成,小叶结构保留;S3 期:纤维间隔伴小叶结构紊乱,无肝硬化;S4 期:早期肝硬化。(2)肝脏脂肪病理分级标准参照肝脏苏木素-伊红(HE)染色脂肪病理分级^[5],0 级:<5% 肝细胞受累;1 级:5%~<34% 肝细胞受累;2 级:34%~<66% 肝细胞受累;3 级:≥66% 肝细胞受累。(3)肝脏铁质病理分级标准参照肝脏铁质普鲁士蓝染色病理分级^[6],0 级:无铁颗粒;1 级:在极少数肝细胞中可见铁颗粒;2 级:在 5%~10% 肝细胞中可见铁颗粒;3 级:40% 肝细胞可见铁颗粒;4 级:在大多数肝细胞中可见丰富的铁颗粒。

1.2.2 不同肝纤维化分期模型大鼠的扫描

注射第 6~12 周,每周选 1~6 只体重较轻、毛色枯黄较深、精神状态欠佳大鼠,皮下注射 2% 的戊巴比妥钠 0.2 mL/100 g 麻醉后进行上腹部磁共振成像(MRI)检查。扫描设备为飞利浦 3.0T 超导全身磁共振扫描仪(Philips MR Achieva 3.0T),16 通道腕关节线圈;扫描序列为横断位双回波化学位移(dual fast field echo,dual FFE)T1 加权成像(T1 weighted imaging,T1WI);扫描参数为 TE=2.3 ms(IP)/1.15 ms(OP),TR=170 ms,回波链长度 56,NSA=1,FOV=120×120,层厚 2.5 mm,层间距 1.0 mm,矩阵 240×240,翻转角度 55°。扫描范围为膈顶至双肾下缘水平;扫描完成后处死大鼠进行肝纤维化分期、肝脏脂

肪及铁质病理分级。

1.2.3 图像分析

在飞利浦 MRI 工作站上使大鼠肝脏 Dixon IP/OP 同相位、反相位图像窗宽及窗位一致,选择肝脏较大层面,观察肝脏的信号强度;与同相位比较,将反相位图像分为稍低、等、稍高信号。相对信号强度值的测量:在工作站上,先在反相位图上放置感兴趣区(region of interest,ROI)为提高准确性,ROI 放置在肝脏较大横截面层面,尽量位于肝脏中心并避开伪影、血管影、局灶性肝脏损伤等,其大小在 30~40 mm²。所有 ROI 均为圆形或椭圆形;将反相位图像 ROI 复制到同相位图相同区域,测量肝脏同、反相位序列信号强度值,同一层面图像放置 3 个不同 ROI,取均值为最后测量值。在不知道病理结果的前提下,由 2 位有 6 年以上腹部 MRI 诊断经验的医师按照一致的观察项目和标准分析、观察和整理图像;定量的数据则由每位医师单独测量 1 次,取 2 位医师测量值的均值作为最后结果。脂变指数(fat index,FI)及肝脏相对信号强度值(relative signal intensity values,RSI)计算如下:FI=(liverSIIP-liverSIOP)/liverSIIP×100%,RSI=(liverSIOP-liverSIIP)/liverSIOP×100%。

1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件进行数据分析,计数资料以频数或百分率表示,计量资料以 $M(Q_1,Q_3)$ 表示,两组间比较采用非参数 Mann-Whitney 检验,多组间比较采用非参数多独立样本 Kruskal-Wallis H 秩和检验。Spearman 相关系数分析相关性,绘制受试者工作特征(ROC)曲线,计算曲线下面积(AUC),确定诊断效果并计算灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肝纤维化分期、脂肪及铁质病理分级结果

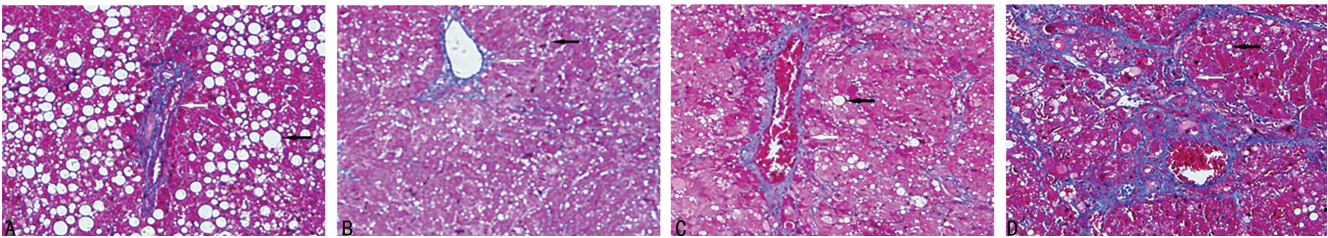
大鼠肝纤维化分期、脂肪及铁质病理分级结果见表 1。S1~4 期肝纤维化大鼠肝脏组织 Masson 染色见图 1。

表 1 大鼠肝纤维化分期、脂肪及铁质病理分级($n=36$)	
项目	占比[$n(\%)$]
肝纤维化分期	
S0 期	6(17.0)
S1 期	8(22.0)
S2 期	10(28.0)
S3 期	7(19.0)
S4 期	5(14.0)
肝脏脂肪病理分级	
0 级	6(17.0)
1 级	9(25.0)
2 级	13(36.0)
3 级	8(22.0)
肝脏铁质病理分级	

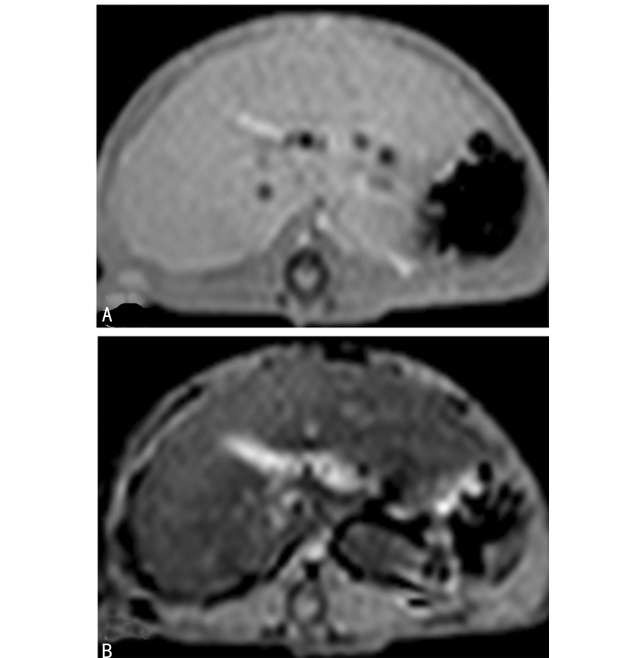
续表 1 大鼠肝纤维化分期、脂肪及铁质病理分级($n=36$)

项目	占比[$n(\%)$]
0 级	9(25.0)
1 级	10(28.0)
2 级	9(25.0)
3 级	4(11.0)
4 级	4(11.0)

2.2 不同肝纤维化分期大鼠肝脏 Dixon IP/OP 序列



A;S1 期;B;S2 期;C;S3 期;D;S4 期;白色箭头:蓝染,显示为纤维化;黑色箭头:肝细胞脂肪变性,显示为圆形边界清楚的空泡,位于细胞质。
图 1 不同肝纤维化分期大鼠肝脏组织 Masson 染色($\times 200$)



A:同相位图像;B:反相位图像;与同相位图像比较,反相位图像呈低信号。

图 2 大鼠 Dixon IP/OP 序列肝脏图像

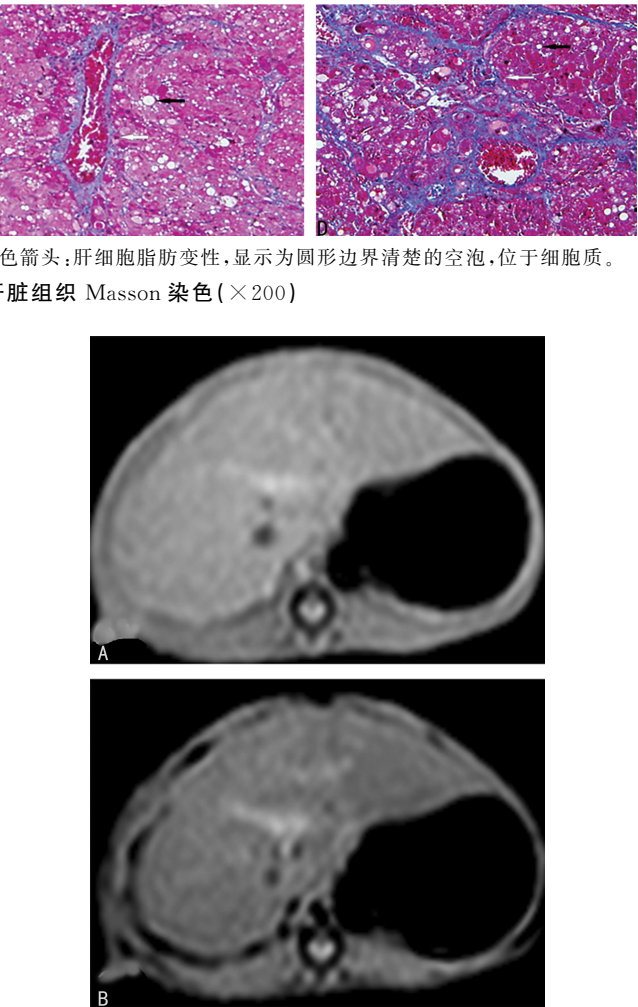
表 2 肝脏脂肪病理分级与 FI 差异分析		
肝脏脂肪病理分级	n	FI
0 级	6	0.107(0.009,0.115)
1 级	9	0.142(0.125,0.183)
2 级	13	0.155(0.134,0.164)
3 级	8	0.189(0.151,0.209)
H		14.046
P		0.003

信号视觉分析

与同相位图像比较,反相位图像中 8 只呈低信号(22%),10 只呈稍低信号(28%),18 只呈等信号(50%),见图 2~4。

2.3 肝脏脂肪病理分级与 FI 之间 Spearman 相关性 及差异性分析

肝脏脂肪病理分级与 FI 之间 Spearman 相关系数 $r_s=0.570(P<0.05)$,随着肝脏脂肪病理程度的增高,FI 测量值逐渐增大,见表 2。



A:同相位图像;B:反相位图像;与同相位图像比较,反相位图像呈稍低信号。

图 3 大鼠 Dixon IP/OP 序列肝脏图像

2.4 肝脏铁质病理分级与 RSI 之间 Spearman 相关性 及差异性分析

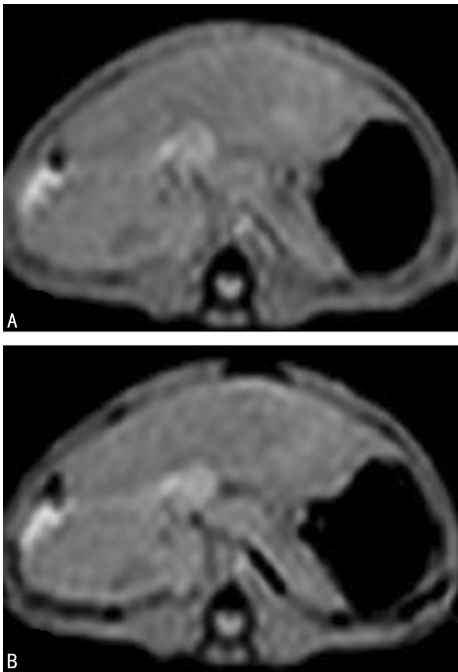
肝脏铁质病理分级与 RSI 之间 Spearman 相关性系数 $r_s=0.496(P<0.05)$,随着肝脏铁沉积的增加,RSI 逐渐增大,见表 3。

表 3 肝脏铁质病理分级与 RSI 差异性分析		
肝脏铁质病理分级	n	RSI
0 级	9	-0.197(-0.282,-0.119)
1 级	10	-0.182(-0.237,-0.136)

续表 3 肝脏铁质病理分级与 RSI 差异性分析		
肝脏铁质病理分级	n	RSI
2 级	9	-0.182(-0.281,-0.110)
≥3 级	8	-0.128(-0.162,-0.103)
H		12.103
P		0.001

2.5 FI 及 RSI 对不同肝脏脂肪及铁质病理分级的诊断效能

表 4 FI 及 RSI 对不同肝脏脂肪及铁质病理分级的诊断效能			
项目	0 级 vs. 1~3(≥3)级	0~1 级 vs. 2~3(≥3)级	0~2 级 vs. 3(≥3)级
FI			
AUC(95%CI)	0.922(0.880,0.997)	0.740(0.557,0.922)	0.844(0.696,0.992)
灵敏度(%)	86.67	85.71	75.00
特异度(%)	93.28	66.67	92.85
阳性预测值(%)	87.80	78.26	75.00
阴性预测值(%)	83.90	76.92	92.85
RSI			
AUC(95%CI)	0.683(0.463,0.904)	0.721(0.547,0.896)	0.902(0.802,1.000)
灵敏度(%)	66.67	70.59	87.50
特异度(%)	77.78	73.68	85.71
阳性预测值(%)	90.00	70.59	63.64
阴性预测值(%)	43.15	73.68	85.71



A:同相位图像;B:反相位图像;同、反相位图像信号相等。

图 4 大鼠 Dixon IP/OP 序列肝脏图像

3 讨 论

急性、慢性肝脏疾病损伤肝细胞引起炎症反应，肝星状细胞的增殖活化，胶原、结构性糖蛋白等沉积于细胞外基质，从而导致肝纤维化、肝硬化，甚至发生肝细胞癌。

肝纤维化常伴有不同程度脂肪、铁质沉积，脂肪变性的肝细胞分泌脂连素、瘦素等多种脂质因子，影

响肝细胞的代谢。铁质沉积使 Kupffer 细胞坏死和肝星状细胞大量活化，促进肝纤维化的进展^[7]。研究证实，肝脂肪变性、铁质沉积与纤维化进展存在较高的风险相关，肝细胞脂肪变性及铁质沉积的严重程度，可以评估肝脏疾病的预后^[8-10]。生化或血清学检测不能对脂肪、铁进行定量评估，目前穿刺活检是评估肝纤维化及铁质、脂肪沉积的金标准，但侵入性检查不能用于大规模患者的筛查，也不能用于肝纤维化患者治疗过程中肝脏脂肪、铁质的动态评估^[11]。

临床上广泛应用常规超声进行脂肪肝、铁质的定性诊断，但对于轻度脂肪、铁质沉积的诊断灵敏度较低，且不能定量^[12]。超声瞬时弹性成像脂肪衰减参数可以对肝纤维化患者脂肪含量进行分级，与穿刺活检具有良好的相关性，但容易受到 BMI 的影响^[13]。CT 平扫是一种简便、客观的定量肝脏脂肪沉积、铁质含量的方法，CT 值诊断中重度脂肪、铁质沉积患者的特异度较高，但存在辐射，且 CT 衰减指数与脂肪组织学相关性较 MRI 及磁共振波谱成像低^[14]。

FI 鉴别脂肪沉积的存在、评估重度脂肪沉积效果较好，RSI 适用于评估大于或等于 3 级铁质病理分级，见表 4。

2.6 不同肝纤维化分期大鼠与 FI、RSI 差异性分析

采用非参数多独立样本 Kruskal-Wallis H 秩和检验比较不同肝纤维化分期与 FI、RSI 间的差异，结果显示差异无统计学意义($H=3.960,P=0.450$)，表示 FI、RSI 不受肝纤维化分期的影响。

王跟琦等^[15]研究显示，MRidealIQ 序列评估 45 例健康患者脂肪分数与铁含量，并证实脂肪分数和肝铁含量存在明显相关性。LEE 等^[16]研究发现，因为肝铁沉积的 T2 穿透效应，MRI 不能量化肝纤维化患者的脂肪含量。FRANCAN 等^[17]对 109 例慢性肝脏疾病患者进行研究，发现 MECSE-MR 量化肝脏的脂肪、铁含量准确性较高，且不受肝脏炎症活动度及纤维化程度影响。本研究结果证实：Dixon IP/OP 序列 FI 和 RSI 对诊断脂肪、铁质病理分级具有一定的相关

性,可以作为评估肝纤维化大鼠脂肪、铁质的无创方法,FI 及 RSI 评估脂肪、铁质病理分级均不受肝纤维化程度的影响,FI 鉴别脂肪沉积的存在、重度脂肪沉积效果较好,RSI 适用于评估大于或等于 3 级铁质沉积;同时,对各纤维化分期大鼠肝脏同反相位序列图像的视觉评估发现,18 只大鼠肝脏同、反相位图像相信号强度相似(50%),18 只显示信号强度差异。可能原因是,梯度回波序列中,TE 时间的不同,使得水和脂肪质子处于同相位和反相位,同相位信号强度表现为水和脂肪的信号强度之和,反相位表现为水和脂肪的信号强度之差,梯度双回波序列同反相位成像,未剔除主磁场的不均造成的质子失相位的影响,铁质 T2 穿透效应一定程度影响脂肪信号的产生。早期肝纤维化患者铁沉积较少,S0 期几乎无铁质沉积,肝脏损害主要表现为肝细胞的水肿、脂肪变性,使肝脏 TE 时间缩短,反相位图像较同相位呈低及稍低信号,可以鉴别脂肪沉积的存在、评估重度脂肪沉积。随着纤维化进展,肝脏细胞水肿及脂肪变性减轻,肝脏铁质及纤维基质沉积增加,S3、S4 期肝细胞铁明显滞留,铁质 T2 穿透效应使肝脏的横向磁化矢量消失快,同相位采集时间较多,因此,同时存在铁质沉积和脂肪变性的纤维化大鼠,肝脏的信号强度在同反相位图像上可以表现为一致或反相位图像信号增高,然而此次实验中,尚未发现肝脏反相位相对高信号,可能原因是样本量较少或视觉分析不能评估轻微的信号变化。

本研究未得出 FI、RSI 对脂肪及铁质病理分级的诊断界值;且由于条件限制,大鼠肝脏脂肪、铁质病理分级为视觉分析半定量指标,而分光光度法、Soxhlet 化学萃取法等可以对肝脏脂肪、铁质进行更准确的定量检测,进一步反映 Dixon IP/OP 序列对肝纤维化大鼠的脂肪诊断效能,后续可开展。

参考文献

[1] LAI M,AFDHAL N H. Liver fibrosis determination[J]. *Gastroenterol Clin North Am*,2019,48(2):281-289.

[2] 刘圣源,马春忠. 磁共振生物定量分析在非酒精性脂肪肝的临床应用和进展[J]. *实用放射学杂志*,2015(10):1727-1730.

[3] MAKHIJA N,VIKRAM N K,KAUR G,et al. Role of magnetic resonance imaging in the monitoring of patients with nonalcoholic fatty liver disease:comparison with ultrasonography,lipid profile,and body mass index[J]. *J Clin Exp Hepatol*,2020,10(2):139-149.

[4] 王贵强,王福生,庄辉,等. 慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)[J]. *临床肝胆病杂志*,2019,35(12):2648-2669.

[5] ROUT G,KEDIA S,NAYAK B,et al. Con-

trolled attenuation parameter for assessment of hepatic steatosis in indian patients[J]. *J Clin Exp Hepatol*,2019,9(1):13-21.

[6] BARTON J C,BERTOLI L F,ALFORD T J,et al. Hepatic iron in African Americans who underwent liver biopsy[J]. *Am J Med Sci*,2015,349(1):50-55.

[7] PUCHE J E,SAIMAN Y,FRIDEMAN S L. Hepatic stellate cells and liver fibrosis [J]. *Compr Physiol*,2013,3(4):1473-1492.

[8] 杨华,赵亚娟,欧强. 非酒精性脂肪性肝纤维化小鼠模型的建立及炎症因子的表达[J]. *实验动物与比较医学*,2017,37(1):20-24.

[9] 霍新梅,黄会芳. 脂肪细胞因子在肝纤维化进展中的作用及机制[J]. *临床肝胆病杂志*,2019,35(3):644-647.

[10] MEHTA K J,FARNAUD S J. Iron and liver fibrosis: mechanistic and clinical aspects [J]. *World J Gastroenterol*,2019,25(5):521-538.

[11] MARCHISELLO S,DI PINO A,SICALI R,et al. Pathophysiological,molecular and therapeutic issues of nonalcoholic fatty liver disease:an overview[J]. *Int J Mol Sci*,2019,20(8):1948-1981.

[12] KARANJIA R N,CROSSEY M M,Cox I J,et al. Hepatic steatosis and fibrosis:non-invasive assessment[J]. *World J Gastroenterol*,2016,22(45):9880-9897.

[13] 李凤舞,孙晓慧,何琼,等. 脂肪衰减参数评估不同程度脂肪肝的临床初步研究[J]. *中国超声医学杂志*,2019,35(8):702-705.

[14] 龚筑,段庆红,阮志兵,等. 定量 CT 技术定量诊断脂肪肝的临床应用[J]. *实用放射学杂志*,2016,32(6):950-954.

[15] 王跟碛,彭屹峰. 3.0T MRI IdealIQ 序列评价成人肝铁浓度与脂肪分数的相关性[J]. *中国医学影像技术*,2015,31(12):1844-1847.

[16] LEE S S,LEE Y,KIM N,et al. Hepatic fat quantification using chemical shift MR imaging and MR spectroscopy in the presence of hepatic iron deposition:validation in phantoms and in patients with chronic liver disease[J]. *J Magn Reson Imaging*,2011,33(6):1390-1398.

[17] FRANCAN M,ALBERICH-BAYYARRI Á, MARTI-BONMATI L,et al. Accurate simultaneous quantification of liver steatosis and Iron overload in diffuse liver diseases with MRI[J]. *Abdom Radiol (NY)*,2017,42(5):1434-1443.