网络出版时间:2024 - 02 - 01 15:45:24 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20240201.1112.006

全身动态^{18}F-FDG PET/CT Patlak显像定量参数MR_{FDGmax}和SUV_{max}在大鼠肝炎、肝纤维化及肝硬化阶段的应用价值

施慧敏,张金洲,王 馨,朱 干,赵学峰,汪 会

摘要 **目的** 通过全身动态^{18}F-FDG PET/CT Patlak显像,探讨定量参数MR_{FDGmax}、SUV_{max}在大鼠肝炎、肝纤维化及肝硬化阶段的应用价值。**方法** 将24只SD大鼠随机分为4组,每组6只,分别为正常组、肝炎组、肝纤维化组、肝硬化组。根据实验分组,对各组大鼠进行CCl_4油溶液复合法诱导;诱导完成分别对各组大鼠进行全身动态^{18}F-FDG PET/CT patlak显像。显像完成后,分析各组肝脏的MR_{FDGmax}、SUV_{max}、CT值;分别提取各组大鼠血清行肝功能指标(AST、ALT和ALP)检测,并对正常组、肝炎组及肝硬化组的大鼠肝脏行HE染色,肝纤维化组行Masson染色;免疫组化法分析各组肝脏中α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)的表达。数据统计分析采用单因素方差分析、两独立样本t检验和Pearson相关分析。**结果** MR_{FDGmax}、SUV_{max}值在正常组、肝炎组、肝纤维化组及肝硬化组之间差异均有统计学意义($F=84.54$、38.35,$P<0.001$)。肝纤维化组与肝硬化组之间CT值差异无统计学意义($t=-0.407$,$P=0.693$),其余各组之间比较差异均有统计学意义($F=112.25$,$P<0.001$)。与正常组相比,实验组AST、ALT及ALP呈阶段性上升,差异均有统计学意义($F=93.32$、64.63、145.03,$P<0.001$);HE染色示正常组肝细胞排列整齐,结构完整;肝炎组大量炎性细胞浸润,脂肪变性;肝硬化组假小叶形成;肝纤维化组Masson染色示胶原纤维增生,被膜增厚。免疫组化检测结果显示,肝炎组、肝纤维化组及肝硬化组α-SMA表达增加,呈阶段性上升,差异有统计学意义($F=80.57$,$P<0.001$)。相关性分析示SUV_{max}与MR_{FDGmax}呈正相关($r=0.967$,$P<0.01$)。肝炎组、肝纤维化组及肝硬化组α-SMA分别与AST、ALT、ALP呈正相关($r=0.924$、0.756、0.934,$P<0.01$)。**结论** 全身动态^{18}F-FDG PET/CT Patlak显像通过定量参数MR_{FDGmax}、SUV_{max}变化,对监测肝炎、肝纤维化和肝硬化阶段具有一定的应用价值。

关键词 全身动态PET/CT;Patlak;MR_{FDGmax};SUV_{max};肝炎;肝纤维化;肝硬化

中图分类号 R 445.6

文献标志码 A **文章编号** 1000 - 1492(2024)02 - 0230 - 06

2023 - 12 - 16 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81801736)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院核医学科,合肥 230022

作者简介:施慧敏,女,硕士研究生;

汪 会,女,副主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:wanghuixyx@163.com

doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2024.02.008

由于病毒在肝脏中连续复制的特性,机体免疫系统会对病毒感染的肝细胞持续攻击,反复的肝损伤加重了机体的炎症和纤维化,进一步转变为肝硬化,继而引发肝功能衰竭[1]。正电子发射计算机断层显像(positron emission tomography/computed tomography,PET/CT)除了对肿瘤之外,对炎症、感染和一些退行性病也适用,而氟代脱氧葡萄糖(^{18}F-Fluorodeoxyglucose,^{18}F-FDG)是PET检查中常用的放射性药物,可以定量测定肝脏中的葡萄糖代谢,可在炎症部位和感染部位累积[2]。全身动态^{18}F-FDG PET/CT patlak显像中最大标准化摄取值(maximum standardized uptake value,SUV_{max})是游离性六磷酸酶参与代谢,已被证明为有用的半定量测量方法,最大代谢率(the maximum metabolic rat of FDG,MR_{FDGmax})测得的是真实的六磷酸酶参与代谢,属于绝对化定量分析,避免了时间依赖性,具有传统显像无法获得的FDG代谢的动力学信息[3]。该实验拟构建大鼠肝炎、肝纤维化、肝硬化模型,通过全身动态^{18}F-FDG PET/CT Patlak显像,探讨定量参数MR_{FDGmax}、SUV_{max}在大鼠肝炎、肝纤维化及肝硬化阶段的应用价值。

1 材料与方法

1.1 实验试剂与仪器 98%四氯化碳(carbon tetrachloride,CCl_4)溶液购自合肥宝添科贸有限公司;橄榄油及乙醇溶液购自上海麦克林生化科技有限公司;α-平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin,α-SMA)免疫组化试剂购自武汉赛维尔生物技术有限公司。显像采用德国Siemens Biograph Vision PET/CT仪;^{18}F-FDG购自南京江原迪科正电子研究发展有限公司。

1.2 实验动物 雄性SD大鼠24只,6~7周龄,体质量170~210 g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司[许可证号(SCXK(辽)2020-0001]。所有大鼠都被饲养于温度为26±1 ℃,相对湿度为(50±1)%,

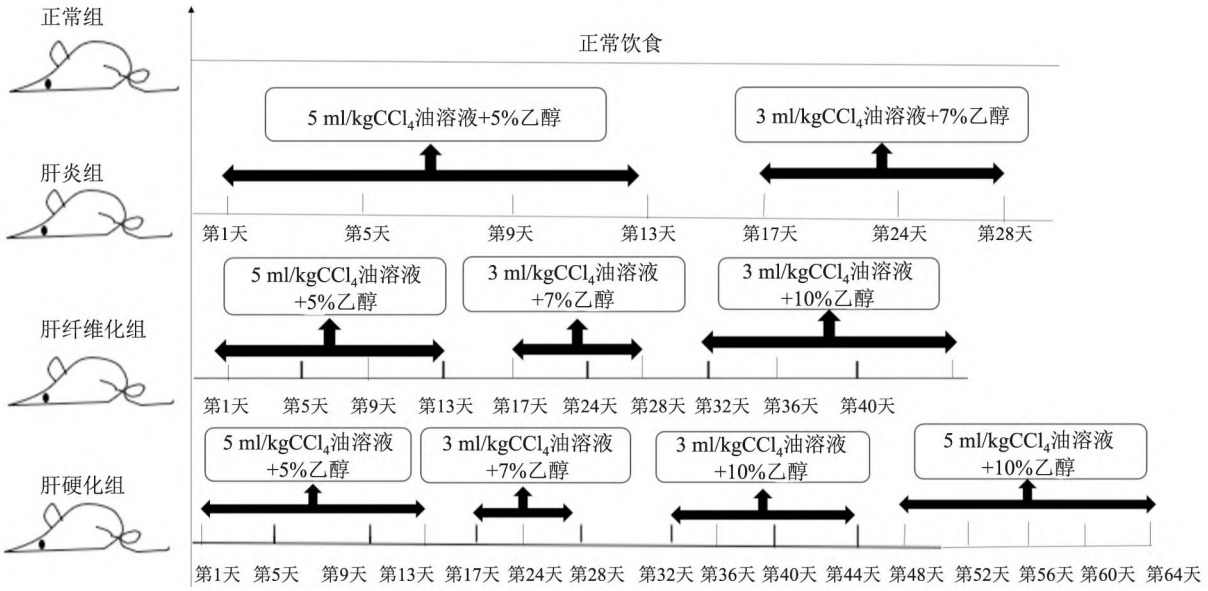

图1 各组SD大鼠模型诱导流程图

光/暗周期为12/12 h的SPF级动物房中,所有实验动物方案均获安徽医科大学实验动物伦理委员会批准,批号:LLSC20221252。

1.3 实验动物分组及处理 本研究选取造模成功的大鼠分为肝炎、肝纤维化、肝硬化、正常组,每组6只,进行实验研究分析。正常组给予正常饮食,各模型组均采用左右腹部皮下交替注射50% CCl_4 油溶液加乙醇复合法进行诱导,每4 d注射1次,乙醇溶液为唯一饮用水,详见图1 。

1.4 全身动态^{18}F-FDG PET/CT显像 分别对4组大鼠进行显像,显像前禁食8 h,可自由饮水,采集图像前将大鼠用异氟烷麻醉并仰卧位固定于PET/CT扫描床上,先进行5 s低剂量的全身CT采集(管电压120 KV,管电流160 mA,螺距5.0 mm),然后将检查床移动于PET检查视野内,在大鼠尾静脉注射37 MBq的^{18}F-FDG,注射同时开始以心脏为中心进行6 min动态单床PET扫描,随后进行18次连续全身PET扫描,动态扫描时间75 min。扫描结束后,对原始数据进行重建(参数:迭代4,子集5,矩阵为128×128),重建结束后,以左心室为感兴趣体积进行勾画,生成左心室时间-活度曲线(tumor time activity curve, TAC),并作为输入函数利用Patlak图像分析获得MR_{FDGmax},从而生成MR_{FDG}参数图像,取最后一帧动态扫描所获得的图像为SUV_{max}图像。在扫描过程中时刻关注大鼠生存状态。

1.5 图像分析 由2位资深核医学科医师对图像进行分析,选取肝组织受损最大层面勾画感兴趣区域(region of interest, ROI),测量肝脏的MR_{FDGmax}、SUV_{max}和CT值并对体质量的MR_{FDGmax}和SUV_{max}进行校正。

1.6 生化指标与组织病理检测 PET/CT显像完成后采取颈椎脱臼法处死大鼠,对大鼠进行腹主动脉取血,采血结束后迅速取出肝脏。全血标本于室温放置2 h后于2~8 ℃,3 000 r/min,离心15 min,取上清液利用自动生化分析仪检测大鼠各阶段血清中的谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的水平。取出肝脏并用体积分数4%的多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋4 μm切片,正常组、肝炎组及肝硬化组行HE染色,肝纤维化组行Masson染色。免疫组化检测α-SMA表达情况,在高倍镜视野下每张切片随机取5个视野拍照,使用Image-Pro Plus 6.0软件进行定量分析。

1.7 统计学处理 采用IBM SPSS26.0软件进行统计学分析,对符合正态分布的计量资料均以$\bar{x} \pm s$表示,多组间比较用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著差异t检验,SUV_{max}与MR_{FDGmax}、α-SMA与AST、ALT、ALP采用Pearson相关分析,以$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物造模存活情况 整个实验造模共选取48只大鼠,分别为正常组8只,肝炎组10只,肝

纤维化组 12 只,肝硬化组 18 只。见图 2。造模结束后,正常组大鼠无死亡,肝炎组大鼠死亡 1 只,肝纤维化组大鼠死亡 1 只,肝硬化组大鼠死亡 3 只,造膜成功后每组随机选取 6 只进行全身动态^{18}F-FDG PET/CT 扫描。

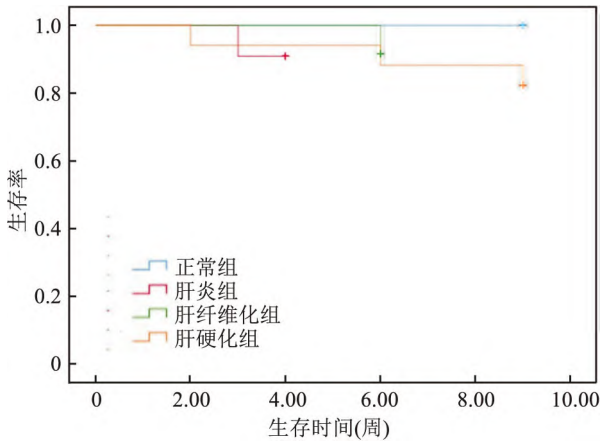

图 2 Kaplan-Meier 法分析各组 SD 大鼠生存率

2.2 全身动态^{18}F-FDG PET/CT 显像结果 全身动态 PET/CT 显像示,各组 SD 大鼠肝脏模型均有不同程度的弥漫性放射性摄取,详见图 3。各组的 MR_{FDGmax} 值与 SUV_{max} 差异均有统计学意义(F = 38.35,P < 0.001;F = 84.54,P < 0.001)。肝纤维化组和肝硬化组的 CT 值差异无统计学意义(t = −0.407,P = 0.693)。正常组、肝炎组分别与肝纤维化组及肝硬化组进行统计学分析,差异有统计学意义(F = 112.25,P < 0.001),CT 图结果显示低分辨率 CT 不能鉴别肝纤维化组及肝硬化组大鼠肝脏密度差异,详见图 4。

2.3 生化检测结果 与正常组相比,肝炎组、肝纤维化组及肝硬化组 AST、ALT 及 ALP 呈阶段性上升,差异均有统计学意义(F = 93.32、64.63、145.03,P < 0.001 或 = 0.002),详见表 1 。

2.4 病理学检测结果 镜下观察,正常组 HE 染色显示肝细胞排列整齐,小叶结构显示完整,未见肝细胞变性、淤血、增生;肝炎组HE染色可见大量的肝

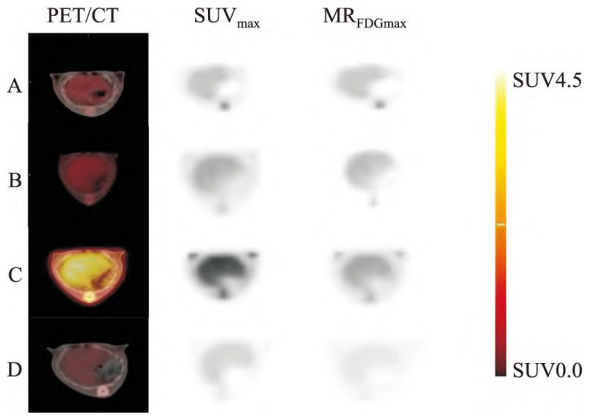

图 3 各组 SD 大鼠全身动态^{18}F-FDG PET/CT Patlak 显像图

A:正常组;B:肝炎组;C:肝纤维化组^{18}F-FDG 摄取依次增高;D:肝硬化组^{18}F-FDG 摄取减低

表 1 各组大鼠血清检测指标变化(n = 6,$\bar{x} \pm s$)

生化指标(U/L)	$\bar{x} \pm s$	t 值	P 值
正常组			
AST	139.86 ± 28.90	–	–
ALT	34.26 ± 7.44	–	–
ALP	57.75 ± 15.15	–	–
肝炎组			
AST	249.54 ± 33.53***	−6.070	<0.001
ALT	114.36 ± 44.02**	−4.308	0.002
ALP	178.61 ± 10.21***	−16.201	<0.001
肝纤维化组			
AST	395.06 ± 79.63***	−7.380	<0.001
ALT	248.41 ± 41.83***	−12.346	<0.001
ALP	257.70 ± 33.88***	−13.197	<0.001
肝硬化组			
AST	657.57 ± 67.79***	−17.21	<0.001
ALT	521.00 ± 114.92***	−10.353	<0.001
ALP	337.28 ± 29.48***	−20.655	<0.001

t 值、P 值表示实验组与正常组的显著性分析;与正常组比较:** P < 0.01, *** P < 0.001

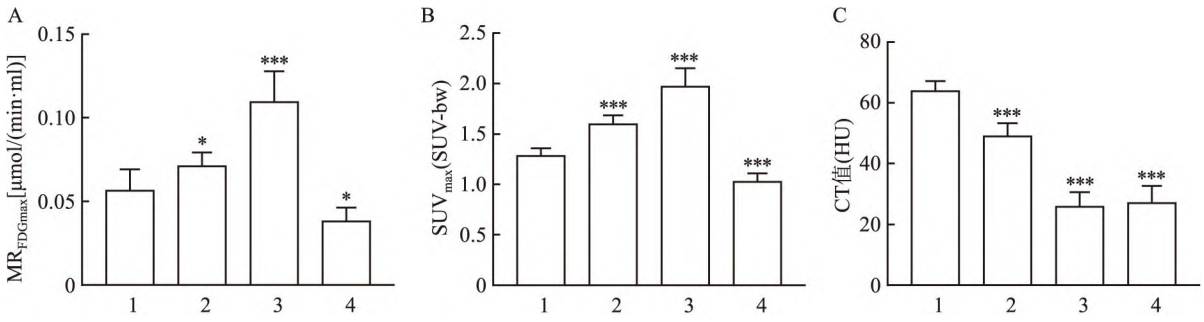

图 4 各组大鼠 MR_{FDGmax}(A)、SUV_{max}(B)及 CT 值(C)统计分析图

1:正常组;2:肝炎组;3:肝纤维化组;4:肝硬化组;与正常组比较:* P < 0.05, *** P < 0.001

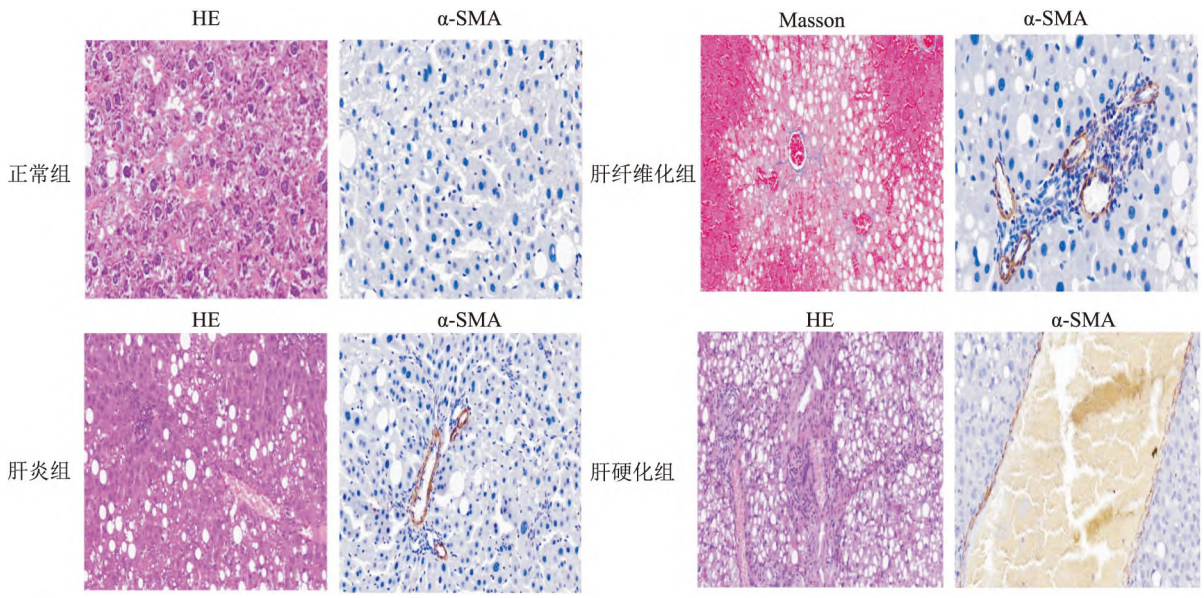

图 5　各组 SD 大鼠肝脏组织病理及免疫组织化结果 ×400

细胞脂肪变性,胞质内见大小不一的圆形空泡及炎性细胞小灶性的浸润,即造模成功;肝纤维化组 Masson 染色示肝脏组织局部可见被膜增生变厚,多见窦周或汇管区的胶原纤维增生形成短纤维间隔,即造模成功;肝硬化组 HE 染色显示组织中广泛可见大量血管周围有结缔组织增生,形成大量桥接及假小叶,伴有淋巴细胞浸润,多见核分裂像,即造模成功。肝炎组、肝纤维化组及肝硬化组 α-SMA 阳性细胞表达增加,呈阶段性上升,差异有统计学意义($F=80.57$,$P<0.001$),详见图 5、6。

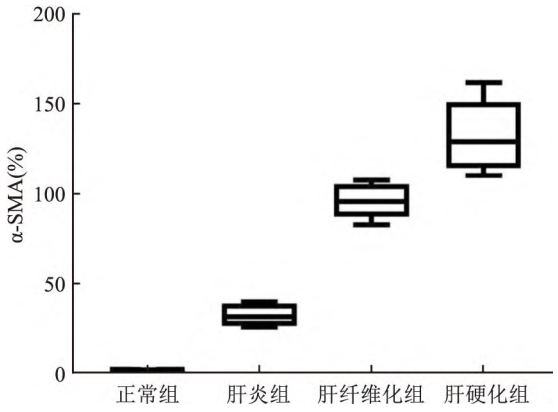

图 6　各组 SD 大鼠肝脏 α-SMA 阳性细胞表达

2.5　指标相关性分析　4 组肝脏组织 SUV_{max} 与 MR_{FDGmax} 呈明显正相关($r=0.967$,$P<0.01$),肝炎组、肝纤维化组及肝硬化组中 α-SMA 阳性细胞表达整体与 AST、ALT、ALP 均呈正相关($r=0.924$、0.756、0.934,$P<0.01$),详见图 7。

3　讨论

肝炎、肝纤维化和肝硬化均导致肝脏功能损害,而肝硬化是全球相关肝脏死亡的主要影响因素[4]。临床上主要依靠于检验、肝活检穿刺、CT 及多普勒超声等了解病变的程度,以上方法均有明显的不足之处,如肝活检穿刺为有创性检查,CT 值对于肝纤维化与肝硬化区分不明显,多普勒超声易受操作者影响,可重复性差。而全身动态^{18}F-FDG PET/CT 可以广泛监测组织代谢及炎症部位的累积,以分子水平的方式对病灶进行诊断分析。本实验通过全身动态^{18}F-FDG PET/CT Patlak 显像,由实验结果得出定量参数 MR_{FDGmax} 和 SUV_{max} 值对监测肝炎、肝纤维化和肝硬化阶段具有一定的应用价值。

动脉采血作为输入函数的“金标准”,为有创性操作且完成难度大,以心脏为 ROI 作为输入函数可减小操作难度并为无创性[5]。在此基础上,全身动态 PET/CT 通过动态监测获取左心室 TAC 作为输入函数,用于 Patlak 分析肝组织中的 MR_{FDGmax},其仅反映组织中参与代谢的葡萄糖水平,抑制了血池中葡萄糖信号、背景组织摄取及游离葡萄糖对病灶分析的影响,已经被用于更具体地评估示踪剂的摄取,能实现对病灶的定量分析[6]。SUV_{max} 反映靶组织中总葡萄糖的摄取,是最常见的半定量分析指标,SUV_{max} 与 MR_{FDGmax} 之间具有显著相关性,参数 MR_{FDGmax} 与 SUV_{max} 互补能够对病灶进行更准确的分析[7-8]。近年来,在肝炎发展为肝纤维化进一步转

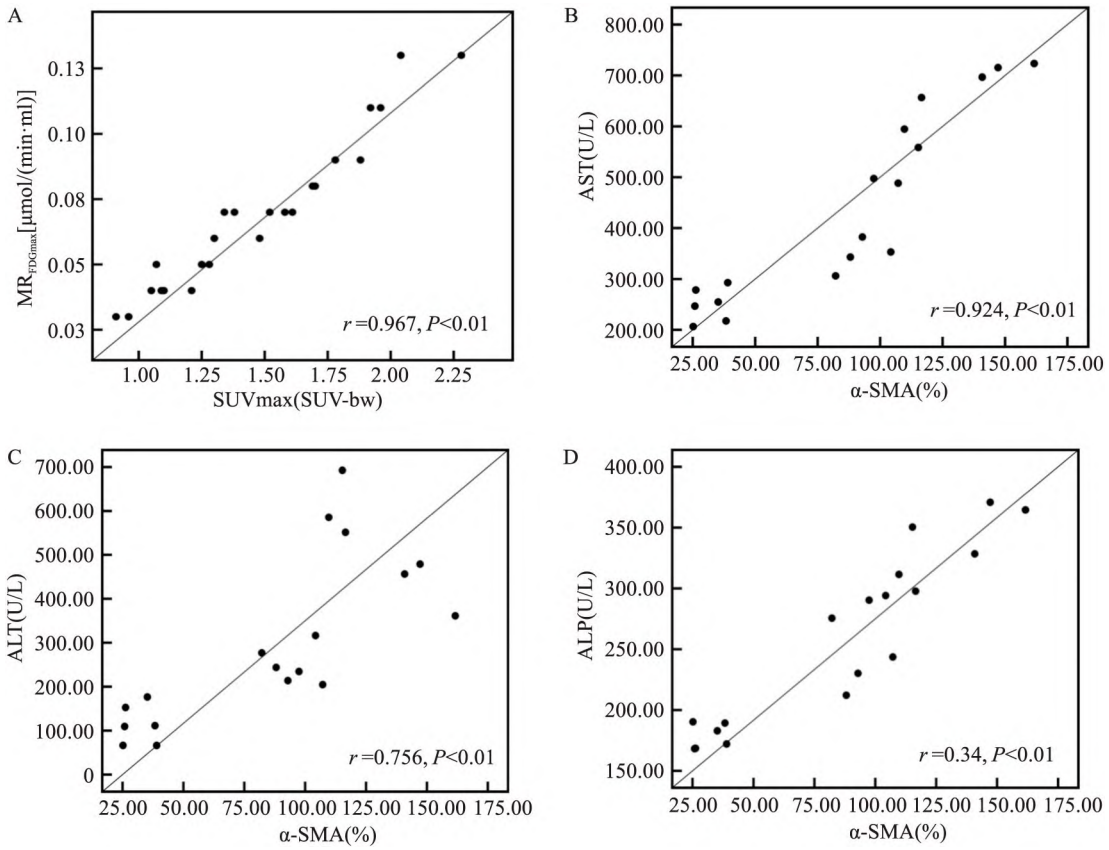

图 7 SUV_{max} 与 MR_{FDGmax}(A),α-SMA 与 AST(B)、ALT(C)、ALP(D)相关性分析

变为肝硬化的情况下,^{18}F-FDG 被用于测定肝组织中葡萄糖代谢,炎症细胞中不可逆的 FDG 积累导致肝脏 FDG 摄取的增加,随着肝脏代谢和功能下降的加重,活跃的炎症细胞减少,是肝硬化肝脏中 FDG 摄取减少的潜在原因[9]。在本实验中通过全身动态 PET/CT Patlak 分析 MR_{FDGmax} 与 SUV_{max} 的变化来反映肝脏组织对^{18}F-FDG 的摄取程度,从而反映肝组织的受损阶段;肝炎组和肝纤维化组的肝组织 MR_{FDGmax}、SUV_{max} 均较正常组增高,增加了对^{18}F-FDG 的摄取,反映出受损肝组织的炎症细胞活跃程度,而肝硬化组 MR_{FDGmax}、SUV_{max} 较正常组降低,炎症细胞减少,对^{18}F-FDG 摄取减少;综上表明在 SUV_{max} 半定量分析的基础上引入 MR_{FDGmax} 值用于确定代谢率,对影响 SUV_{max} 测量的变化表现出更大的稳健性。

组织血清中一些重要的生化指标水平可作为肝损伤的重要诊断因素,有研究[10]表明 AST、ALT 及 ALP 是肝细胞的细胞质酶,高 AST、ALT、ALP 与炎症及纤维化程度具有较高相关性。α-SMA 是肝星状细胞被激活状态下所表达的,肝细胞中 α-SMA 阳性表达的增加,参与胶原生成的蛋白质增多,加剧了肝星状细胞纤维化的进程,因此 α-SMA 被认为是肝纤维化进程中的重要标志[11-12]。生化结果显示随着肝损伤程度的增加,AST、ALT、ALP 的水平较正常组不断增高,且免疫组化结果显示 α-SMA 在肝炎组、肝纤维化组及肝硬化组中表达不断增加,α-SMA 分别与 AST、ALT、ALP 呈正相关,进一步验证了全身动态 ^{18}F-FDG PET/CT Patlak 显像结果与组织病理学检查结果一致,且在实验动物存活的情况下,用非侵入性的方法观察肝炎、肝纤维化和肝硬化阶段肝脏代谢参数的改变,对临床早发现早预防具有重要意义。

参考文献

[1] Khan S, Saxena R. Regression of hepatic fibrosis and evolution of cirrhosis: a concise review[J]. Adv Anat Pathol, 2021, 28(6): 408-14.

[2] Su S, Xiang X, Lin L, et al. Cell death PET/CT imaging of rat hepatic fibrosis with ^{18}F-labeled small molecule tracer[J]. Nucl Med Biol, 2021, 98-99: 76-83.

[3] Keramida G, Peters A M. FDG PET/CT of the non-malignant liver in an increasingly obese world population[J]. Clin Physiol Funct Imaging, 2020, 40(5): 304-19.

[4] Yang X, Li Q, Liu W, et al. Mesenchymal stromal cells in hepatic fibrosis/cirrhosis: from pathogenesis to treatment [J]. Cell Mol Immunol, 2023, 20(6): 583-99.

[5] 蔡 可, 张晴晴, 余文静, 等. 全身动态^{18}F-FDG PET/CT Patlak 显像评价大鼠胶质瘤放疗增敏早期疗效[J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(7): 1088 - 93.

[6] Laffon E, Marthan R. Is patlak y-intercept a relevant metrics? [J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2021, 48(5): 1287 - 90.

[7] Chalampalakis Z, Stute S, Filipović M, et al. Use of dynamic reconstruction for parametric Patlak imaging in dynamic whole body PET[J]. Phys Med Biol, 2021,66(18):10.

[8] Zhuang M, Karakatsanis N A, Dierckx R A J O, et al. Quantitative analysis of heterogeneous ^{18}F-FDG static (SUV) *vs.* patlak (Ki) whole-body PET imaging using different segmentation methods: a simulation study[J]. Mol Imaging Biol, 2019, 21(2):317 - 27.

[9] Keramida G, Potts J, Bush J, et al. Accumulation of ^{18}F-FDG in the liver in hepatic steatosis [J]. AJR Am J Roentgenol, 2014, 203(3): 643 - 8.

[10] Park S I, Lee J H, Ham H J, et al. HamEvaluation of 2-^{18}F-fluoro-2-deoxy-Dglucose positron emission tomography computed tomography in rat models withhepatocellular carcinoma with liver cirrhosis[J]. Biomed Mater Eng, 2015, 26: 1669 - 76.

[11] Li J, Zeng C, Zheng B, et al. HMGB1-induced autophagy facilitates hepatic stellate cells activation: a new pathway in liver fibrosis[J]. Clin Sci (Lond), 2018, 132(15): 1645 - 67.

[12] Yin L, Zhang Y, Shi H, et al. Proteomic profiling of hepatic stellate cells in alcohol liver fibrosis reveals proteins involved in collagen production[J]. Alcohol, 2020, 86: 81 - 91.

The application value of quantitative parameters MR_{FDGmax} and SUV_{max} in the stages of hepatitis, liver fibrosis and cirrhosis in rats by whole-body dynamic ^{18}F-FDG PET/CT Patlak imaging

Shi Huimin, Zhang Jinzhou, Wang Xin, Zhu Gan, Zhao Xuefeng, Wang Hui

(*Dept of Nuclear Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei* 230022)

Abstract ***Objective*** To investigate the application value of quantitative parameters MR_{FDGmax} and SUV_{max} in the stages of hepatitis, liver fibrosis and cirrhosis in rats by whole-body dynamic ^{18}F-FDG PET/CT Patlak imaging. ***Methods*** Twenty-four SD rats were randomly divided into four groups of six rats each, which were the normal group, hepatitis group, liver fibrosis group and cirrhosis group. According to the experimental grouping, rats in each group were induced by the CCl_4 oil solution complex method. Whole-body dynamic ^{18}F-FDG PET/CT patlak imaging was performed on each group of rats separately at the completion of induction. After the imaging was completed, the MR_{FDGmax}, SUV_{max} and CT values of the livers of each group were analyzed; subsequently, the serum of rats in each group was extracted for the detection of liver function indexes (AST, ALT and ALP), and HE staining was performed on the livers of rats in the normal, hepatitis and cirrhosis groups, and Masson staining was performed on those in the liver fibrosis group; the α-SMA expression in the liver tissues of each group was analyzed by immunohistochemical method. The data were analyzed by one-way ANOVA, two independent samples t-test and Pearson correlation analysis. ***Results*** MR_{FDGmax}, SUV_{max} values were statistically significant differences among normal, hepatitis, liver fibrosis and cirrhosis groups ($F = 84.54$, 38.35, $P < 0.001$). The difference in CT values between liver fibrosis and cirrhosis groups was not statistically significant ($t = -0.407$, $P = 0.693$), and the difference was statistically significant when compared between the rest of the groups ($F = 112.25$, $P < 0.001$). Compared with the normal group, AST, ALT and ALP of the experimental group showed a staged increase, and the differences were statistically significant ($F = 93.32$, 64.63, 145.03, $P < 0.001$). HE staining showed that hepatocytes of the normal group were neatly arranged and structurally intact; a large number of inflammatory cells infiltrated the hepatitis group with steatosis; pseudo lobe formation was observed in the cirrhosis group. Masson staining of the liver fibrosis group showed collagen fiber proliferation and thickening of the peritoneum. Immunohistochemistry test results showed that α-SMA expression increased in hepatitis group, liver fibrosis group and cirrhosis group, with a staged increase, and the difference was statistically significant ($F = 80.57$, $P < 0.001$). Correlation analysis showed a positive correlation between SUV_{max} and MR_{FDGmax} ($r = 0.967$, $P < 0.01$). α-SMA was positively correlated with AST, ALT and ALP in the hepatitis, liver fibrosis and cirrhosis groups, respectively ($r = 0.924$, 0.756, 0.934, $P < 0.01$). ***Conclusion*** Whole-body dynamic ^{18}F-FDG PET/CT Patlak imaging has application value in monitoring hepatitis, liver fibrosis and cirrhosis stages through quantitative parameters MR_{FDGmax} and SUV_{max} changes.

Key words whole-body dynamic PET/CT; Patlak; MR_{FDGmax}; SUV_{max}; Hepatitis; liver fibrosis; cirrhosis