经组织间隙注射 Dextran Gd-DTPA 兔腘窝淋巴结 MRI ——一种新型 MR 对比剂的初步应用

杨炼,柳熙,徐海波,焉国平,韩萍

【摘要】目的:经组织间隙注射 Dextran Gd-DTPA 行兔腘窝淋巴结 MR 成像,探讨该新型淋巴靶向对比剂在鉴别 良、恶性淋巴结病变中的价值。方法:选取 22 只新西兰大白兔,分成 Dextran Gd-DTPA 增强组和 Gd-DTPA 对照组,其中 增强组 18 只,对照组 4 只。增强组分为 3 个小组:①反应正常组 6 只;②反应增生组 6 只,于双侧兔腓肠肌注射蛋黄乳胶;③肿瘤转移组 6 只,于双侧兔腓肠肌注射 VX2 肉瘤细胞混悬液。增强组行 MRI 平扫后,再经双侧趾蹼间隙注射 10µmolGd/kg Dextran Gd-DTPA 后 30 min 及 1、3、6、12 和 24 h 行腘窝淋巴结脂肪抑制 T₁WI 扫描,测量标准化信号强度 (SI)及增强率(En%),描绘浓度-信号强度曲线及时间-增强相应曲线。Gd-DTPA 对照组 4 只,平扫后再经双侧趾蹼间隙 注射 50 µmol Gd/kg Gd-DTPA 后 5、10 和 20 min 行腘窝淋巴结脂肪抑制 T₁ WI 扫描。同时在体外检测 Dextran Gd-DTPA 溶 液中质子的自旋-晶格弛豫时间 T₁,并计算 R₁ 值。结果:Dextran Gd-DTPA 的 T₁ 值约 0.03556 s,R₁ 值约 33.37 l/(mmol·s), Dextran Gd-DTPA 经趾蹼间隙行腘窝淋巴结成像的达峰时间约 1 h,正常组及反应增生组淋巴结均表现为明显强化,信号 可均匀,亦可不均匀;VX2 肉瘤转移性淋巴结表现为强化不明显,信号可为环状、不规则偏心缺损等不均匀的强化模式,类 似邻近肿瘤的强化特征。定量分析发现,VX2 肉瘤转移性淋巴结在脂肪抑制 T₁ WI 上的标准化 SI 和强化率(E%) 2 个指标均明显低于正常组和反应性增生组。在最佳达峰点,正常组 Dextran Gd-DTPA 的增强率远离于 Gd-DTPA 对照组。 结论:Dextran Gd-DTPA 作为组织间隙淋巴靶向对比剂,用量小,强化效应明显,可以鉴别良恶性淋巴结病变。

【关键词】 组织间隙;淋巴结;对比剂;磁共振成像

【中图分类号】R445.2 【文献标识码】A 【文章编号】1000-0313(2009)09-0971-05

Initial Experience of MR Lymphography in Rabbits with Injection of a New Contrast Medium (Dextran Gd-DTPA) into Interstitial Space of Popliteal Fossa YANG Lian, LIU Xi, XU Hai-bo, et al. Depatrment of Radiology, Union Hospital, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan, 430022, P. R. China

[Abstract] Objective: MR lymphography of popliteal lymph nodes was performed by injection of Dextran Gd-DTPA into interstitial space, to evaluate the value of this new target-oriented contrast agent in the differential diagnosis of benign/ malignant lymph nodes, Methods; 22 New Zealand rabbits were chosen and divided into Dextran Gd-DTPA enhanced group (18 raabbits) and Gd-DTPA enhanced group (4 rabbits) as control. The rabbits of Dextran Gd-DTPA group were further divided into normal group (6 rabbits), reactive proliferation group (6 rabbits) with yolk-jel injected into bilateral gastrocnemius muscles, tumor metastases group (6 rabbits) with VX2 sarcoma cells emulsion injected into bilateral gastrocnemius muscles. The Dextran Gd-DTPA enhanced group had plain MR imaging, then 10umol Gd/kg Dextran Gd-DTPA were injected. T₁-weighted fat-suppressed SE sequences of the popliteal lymph nodes were performed 30min, 1h, 3h, 6h, 12h and 24h after the injection. Standardized signal intensities (SI) and enhanced rate (en %) were measured; SI concentration curve and time-enhancement correlation curve were made. For the control (Gd-DTPA injection) group (4 rabbits), after plain MRI, 50 umol Gd/kg Gd-DTPA was injected into bilateral inter-web space and T_1 -weighted fat-suppressed SE sequences of the popliteal lymph nodes were performed 5,10,20min after injection of contrast. The T_1 value (T_1) and relaxation rate (R_1) of proton in Dextran Gd-DTPA and Gd-DTPA solution were calculated in vitro. Results: T1 of Dextran Gd-DTPA was 0.03556s and R1 was 33.37l/(mmol • s). The peak of Dextran Gd-DTPA accumulating in popliteal lymph nodes was 1h. For normal and reactive proliferation groups, lymph nodes showed obvious enhancement with homogeneous/heterogeneous signal intensities; yet enhancement in metastatic lymph nodes were mild with ring-like or irregular eccentric defect of enhancement, which were similar to that of the adjacent primary tumor. By quantitative analysis, the standardized SI and En% of VX2 sarcoma metastatic lymph nodes on T₁-weighted fat-suppressed SE sequences were markedly lower than that of normal/reactive proliferation groups. At optimal peak point, the en% of Dextran Gd-DTPA in normal group was much higher than that of control group (Gd-DTPA). Conclusion: As an interstitial space injected target-oriented contrast medium for

作者单位:430022 武汉,华中科技大学附属协和医院放射科(杨炼、柳熙、徐海波、韩萍);430060 武汉,武汉工程大学材料系(焉国平) 作者简介:杨炼(1973-),女,湖北武汉人,博士,主治医师,从事肝脏肿瘤发病机制和影像学研究。

通讯作者:韩萍, Email: cjr. hanpin@vip. 163. com

基金项目:国家自然科学基金资助项目(NO. 30672067, 30700190);教育部新世纪优秀人才资助计划(NCET-07-318)

lymphography, Dextran Gd-DTPA had the advantages of small dosage, good enhancement effect and was helpful in distinguishing benign/malignant lymph nodes.

[Key words] Institial lymphography; Lymph nodes; Contrast media; Magnetic resonance imaging

MR淋巴靶向对比剂成像具有较高的软组织和空间分辨力,同时明显加大淋巴结和周围组织的对比,可以提高淋巴结的定位和定性能力^[1-3]。葡聚糖-钆-二乙烯三胺五乙酸螯合物(Dextran Gd-DTPA)是将Gd-DTPA通过化学反应键连接到作为载体的葡聚糖上, 是一种大分子对比剂,国内外尚无报道。本文就Dextran Gd-DTPA 经组织间隙注射行腘窝淋巴结成像鉴 别良恶性淋巴结的价值进行初步研究探讨。

材料与方法

1. Dextran Gd-DTPA 弛豫率的测定

将 Dextran Gd-DTPA 和 Gd-DTPA 分别溶于二次蒸馏水配成 1 mmolGd/L 的稀溶液,以返转恢复法在 NMR 上测定了溶液中质子的自旋-晶格弛豫时间 T₁,并根据公式

 $R_1 = \frac{(1/T_1)_{obsd} - (1/T_1)_d}{\lceil M \rceil}$

计算 Dextran Gd-DTPA 和 Gd-DTPA 的 R₁ 值。 其中(1/T₁)_{obsd}表示实验测得的对比剂溶液中溶 剂的纵向弛豫速率;(1/T₁)_d为纯溶剂的纵向弛豫速 率;[M]为溶液中顺磁性溶质的摩尔浓度。

2. 实验对象分组

健康成年雄性新西兰白兔 22 只,体重 2.0~2.5 kg。 每一侧腘窝淋巴结作为一个独立样本,共计 44 个。

Dextran Gd-DTPA 增强组:①A组,正常组,6 只,取正常健康新西兰白兔;②B组,反应增生组,6 只,于双侧兔腓肠肌注射 2ml 蛋黄乳胶(egg-yolk emulsion,EYE),3~4 d 一次,共2次;6~8 d 后蛋黄 乳胶刺激淋巴结反应性增生模型建立;③C组,肿瘤转 移组,6只,于双侧兔腓肠肌注射 0.5 ml 的 VX2 肉瘤 细胞混悬液,约2周后淋巴结长大至1 cm 以上,肿瘤淋 巴结转移模型建立。

以上三组均经趾蹼间隙注射 Dextran Gd-DTPA 行兔腘窝淋巴结成像,评价其在各组中的增强效应,明 确其鉴别良恶性淋巴结的诊断价值,其中正常组用于 测量该对比剂的增强峰值时间。

Gd-DTPA 对照组:取正常健康新西兰白兔4只, 经趾蹼间隙注射 Gd-DTPA 行腘窝淋巴结成像,与 Dextran Gd-DTPA 进行增强效应的比较研究。

3. 对比剂

Dextran Gd-DTPA 由武汉工程大学焉国平教授

提供,浓度 20 mmolGd/l;Gd-DTPA 由北陆制药厂提供,0.5 mmol Gd/l。

4. 扫描序列及参数

采用德国西门子公司 3.0T Magnetom Trio Tim 超导型 MR 扫描仪,体部 6 通道相控阵线圈联合 2 通 道脊柱线圈。平扫及增强扫描均采用的序列:TSE 序 列,轴面脂肪抑制 T₁WI 扫描(fat-suppression T₁ weighted imaging,FS T₁WI):TR 714 ms,TE 11 ms, 翻转角 150°,激励次数 2,矩阵 256×320 ,视野15 cm× 15 cm,层厚 3 mm。

5. 腘窝淋巴结 MR 扫描

Gd-DTPA 对照组:平扫后在对照组新西兰白兔 每侧后脚掌(趾蹼间隙)各注射 0.2 ml 浓度为 0.5 mmol/l的 Gd-DTPA,相当于 50 μmol Gd/kg 的剂 量。于注射后 5、10、20 min 扫描。

Dextran Gd-DTPA 增强组:平扫后在正常组、反应 增生组和肿瘤组新西兰白兔双侧后脚掌(趾蹼间隙)各 注射 1.0 ml Dextran Gd-DTPA,相当于 10 μ mol Gd/kg 的剂量。扫描时间点为间隙给药后 30 min、1 h、3 h、 12 h 和 24 h。各个时间点均只行 FS T₁WI 扫描。

6. 组织病理学检查

所有实验动物在完成 MRI 增强扫描后,在深麻醉 状态下经动脉插管,用断颈法处死;仔细认真暴露腘窝 淋巴结,摘除淋巴结并测量其大小;10%~15%中性福 尔马林浸泡、固定;常规石蜡包埋,所有组织切片均做 HE 染色用于观察淋巴结形态和结构的变化。

7. 数据分析

采用兴趣区(region of interest, ROI)法测量 Gd-DTPA及 Dextran Gd-DTPA 增强前后不同序列图像 上腘窝淋巴结和相同层面周围肌肉组织的信号强度。 为尽可能减少部分容积效应,避免取边缘部分像素点。 ROI 尽量包括整个淋巴结。在背景区域选取尽量大 的 ROI。计算各组淋巴结的标准化信号强度(normalized SI, NSI)和强化率(enhancing rate, E%),公式如下:

$$NSI = \frac{SI_1}{SI_m}$$
(2)

其类似于信噪比(signal to noise ratio, SNR)在本 研究中将噪声的标准差(standard deviation of the noise, SDN)以 SIM 代替,故称为标准化的 SI(NSI)

$$E\% = \frac{NSI_{pre} - NSI_{pre}}{NSI_{pre}} \times 100\%$$
(3)

上述公式中的 SI₁、SI_m 分别代表淋巴结的信号强 度和肌肉的信号强度,NSI_{pre}、NSI_{post}分别代表平扫时 淋巴结的 NSI 和增强后淋巴结的 NSI。

绘制时间-增强效应曲线时,用 En%来表示淋巴 结的强化程度。

8. 统计处理

应用 SPSS 13.0 软件包,采用单向方差分析 (One-Way ANOVA)评价各组腘窝淋巴结平扫/增强 时标准化 SI 和 En%在各个组间差异;配对 t 检验 (Paired t-Test)评价正常组腘窝淋巴结以 Dextran Gd-DTPA 和 Gd-DTPA 增强后信号强度的差异, P < 0.05认为有统计学意义。

结 果

1. Dextran Gd-DTPA 弛豫率测定

Dextran Gd-DTPA 和 Gd-DTPA 的 T₁ 和 R₁ 值 如表 1。

表1 Dextran Gd-DTPA 和 Gd-DTPA 弛豫率比较

对比剂	$[Gd^{3+}]$ (mmol/l)	T _{lobsd} (s)	$\frac{R_1}{[l/(mmol \cdot s)]}$
Gd-DTPA	0.8364	0.1746	5.67
Dextran Gd-DTPA	0.8132	0.03556	33.37

2. Dextran Gd-DTPA 时间-增强效应曲线

在正常组以 10 μmol Gd/kg 的浓度进行时间-增 强效应曲线的研究,于不同时间点测量的淋巴结信号 强度值如图 1。图 1 表明,于趾蹼皮下间隙注射 Dextran Gd-DTPA 后 30 min,腘窝淋巴结的强化率即接 近 50%,在第 1 小时,强化率达到 100%左右,在 3~ 6 h,腘窝淋巴结的强化率基本上可以维持在 60%~ 80%水平,而在第 12 小时,其强化率降至 40%~ 50%,由此可见,峰值时间在 1 h 左右。

3. 各组淋巴结信号强度的定量分析

Dextran Gd-DTPA 组织间隙增强 30 min、1、3 h 各组淋巴结的标准化 SI 和增强率(E%)见表 2、3。

表2 各组腘窝淋巴结不同时间点 NSI 比较

分组	平扫	30 min	1 h	3 h
A 组	1.21 ± 0.21	1.83 ± 0.31	2.43 ± 0.32	1.96 ± 0.28
B组	1.12 ± 0.18	1.65 ± 0.21	2.17 ± 0.24	1.77 ± 0.27
C 组	1.25 ± 0.26	1.37 ± 0.22	1.48 ± 0.16	1.23 ± 0.35

C组与A、B组间差异存在显著性意义(P<0.05); A组与B组间差异不存在显著性意义(P>0.05)。

表 3 各组腘窝淋巴结不同时间点强化率比较 (%)

分组	30 min	1 h	3 h
A 组	52	100	63
B组	50	98	61
C 组	15	23	2

A组与 B、C组间差异存在显著性意义(P < 0.05); B组与 C组间差异不存在显著性意义(P > 0.05)。在 FS T₁WI上,肿瘤转移性淋巴结的信号强度(标准化 SI)和强化率(E%)均明显低于正常组和反应性增生 组淋巴结;在 T₁WI FS上,正常组和反应性增生组淋 巴结的信号强度(标准化 SI)和强化率(E%)差异无明 显显著性意义。

4. 正常组腘窝淋巴结 Dextran Gd-DTPA 和 Gd-DTPA 组织间隙增强的强化率(E%)的对比研究

于正常组分别经组织间隙注射 Dextran Gd-DT-PA和 Gd-DTPA 后,不同时间点的强化率不同,两组 达峰时间不一致(图 2),Dextran Gd-DTPA 的达峰时 间较 Gd-DTPA 明显延迟;经组织间隙注射 Dextran Gd-DTPA和 Gd-DTPA 后,在最佳达峰点,Dextran Gd-DTPA 的增强率远高于 Gd-DTPA。

5. 组织间隙注射 Dextran Gd-DTPA 各组淋巴结 MRI 表现

经组织间隙注射 Dextran Gd-DTPA 后,各组淋 巴结在不同时间点可见不同的信号改变(图 3~5)。

由于各组淋巴结在不同时间点有不同的信号改变,因此评价信号特征时,取峰值时间点:1小时点。



图 1 正常组 Dextran Gd-DTPA 时间-增强效应曲线。 图 2 组织间隙注射 Dextran Gd-DTPA 和 Gd-DTPA 后不同时间点的强化率比较。a) 组 1 代表组织间隙注射 Dextran Gd-DTPA 增强组; b) 组 2 代表组织间隙注射 Gd-DTPA 增强组。



图 3 正常组淋巴结各时间点 FS T₁WI。a) 平扫示腘窝三角形低信号脂肪组织中隐约可见一类圆形稍高信号影(箭),中心见 点状低信号;b) 增强 30 min 扫描示腘窝淋巴结逐渐强化(箭);c) 增强 1 h 扫描示腘窝淋巴结强化较明显(箭),周边强化较明 显,中心可见点状无强化区;d) 增强 3 h 扫描示淋巴结强化程度较平扫及 1 h 有降低(箭),但范围有所扩大,可能为淋巴结周 围的毛细淋巴管强化所致。 图 4 反应增生组淋巴结各时间点 FS T₁WI。a) 平扫示腘窝三角形低信号脂肪组织中见一类 圆形稍高信号影(箭),信号尚均匀;b) 增强 30 min 扫描示腘窝淋巴结逐渐强化(箭);c) 增强 1 h 扫描示腘窝淋巴结强化较明 显(箭);d) 增强 3 h 扫描示淋巴结强化程度较平扫及 1 h 有降低,中心信号减低明显(箭)。 图 5 肿瘤组淋巴结各时间点 FS T₁WI。a) 平扫示腘窝见一不规则形状稍高信号影(箭),信号尚均匀;b) 增强 30 min 扫描示腘窝淋巴结肾化不明显 (箭);c) 增强 1 h 扫描示腘窝淋巴结呈轻度强化(箭);d) 增强 3 h 扫描示淋巴结强化程度较平扫及 1 h 有降低,但仍呈轻度强 化(箭)。

于1小时点,正常淋巴结和反应性增生淋巴结 T₁WI FS图像上表现相同的信号特点:均匀强化或环形强 化,强化程度明显;肿瘤转移性淋巴结则不同,表现出 的信号特点:轻度的强化,但强化方式可呈不均匀强化 (8例)、或均匀强化(2例)。

讨 论

组织和细胞之间的空隙为组织间隙,其分别通过 毛细血管、毛细淋巴管与血液、淋巴之间进行物质交 换。分子量小于10000的晶体可在三者之间自由地渗透扩散。组织间隙内的大分子可通过两种方式进入毛细血管:①经毛细血管壁上的窗孔速度快,效率高,但 仅限于内脏,尤其是近黏膜处;②经内皮细胞胞饮作用进入毛细血管,但速度相当慢。毛细淋巴管由单层内 皮细胞构成,其基底膜不完整或基底膜缺乏,因而淋巴 上皮细胞间隙通透性大,存在着淋巴引流的通道,大小 约在30~120 nm 左右,在癌症或炎症时可进一步扩大 为300~500 nm^[4],利于大分子物质快速进入毛细淋 巴管,并在流经淋巴结时被巨噬细胞捕获吞取。

设计组织间隙淋巴靶向对比剂时遵循如下特征: ①较高的分子量(大于10000d):理论上只进入毛细淋 巴管,不进入毛细血管;②较长的停留时间:在淋巴结 内停留较长时间,利于选择成像的时间窗;③高弛豫 率:对比剂的弛豫率增高,可以提高其强化效应,在影 响弛豫性能的诸多因素中,配合物分子的旋转相关时 间与其流体体积呈正比,大分子对比剂因其体积较大, 分子旋转速率较慢,旋转相关时间较相应的小分子配 合物有很大提高,而旋转相关时间的增加能显著提高 对比剂的弛豫性能^[5];④亲淋巴活性。

本实验使用的 Dextran Gd-DTPA 是通过化学反应键将 Gd-DTPA 与作为载体的大分子葡聚糖连接起来(具体合成步骤因涉及专利申请,省略),葡聚糖是一种天然生物高分子,研究表明其有良好的降血脂、抗血栓、抗肿瘤等多种免疫调节功能及亲淋巴等生物活性^[6]。体外实验证明,Dextran Gd-DTPA 的分子量约40000 d(Gd-DPTA 分子量约900 d),是一种大分子对比剂;同时其弛豫率为33.37 l/(mmol·s),较 Gd-DT-PA 的 5.67 l/(mmol·s)提高 5 倍,同时由于葡聚糖有亲淋巴的生物活性,所以 Dextran Gd-DTPA 经组织间隙给药,可以成为一种对淋巴有靶向作用的大分子磁共振成像对比剂。

当 Dextran Gd-DTPA 在淋巴结蓄积后,显著缩 短淋巴结的 T₁ 值,是一种 T₁ 增强对比剂。较平扫而 言,T₁WI上淋巴结信号增强,呈显著高信号改变,从 而达到淋巴靶向增强的目的。

在 Dextran Gd-DTPA 峰值时间 1 h 观察到,良、 恶性淋巴结表现出不同的增强特征:在 T₁WI FS 序列 图像上,正常和反应增生淋巴结均表现为信号明显增 高,信号可均匀,亦可不均匀呈环形强化;VX2 肉瘤转 移性淋巴结在 FS T₁WI 上表现为信号增高不明显,呈 环状、不规则偏心缺损等不均匀的强化模式,类似邻近 肿瘤的强化特征,但未见无强化者。同时定量分析亦 表明,正常组和反应性增生组淋巴结在 T₁WI FS 序列 图像上的标准化 SI 和强化率(E%)2 个指标无明显差 异,而 VX2 肉瘤转移性淋巴结在 T₁WI FS 序列图像 上的标准化 SI 和强化率(E%)2 个指标均明显低于正 常组和反应性增生组淋巴结。

本组研究结果表明,Gd-DPTA 最大的强化率在

40%左右,达峰时间约 10 min,且 Gd-DTPA 的使用浓 度为 50 μ molGd/kg; Dextran Gd-DTPA 的最大强化 率在 100%左右,达峰时间约 60 min,而使用浓度仅为 10 μ molGd/kg,用量远远下降,降低了 Gd 在体内蓄积 的毒性,故与 Gd-DTPA 比较, Dextran Gd-DTPA 具 有用量小、增强效应明显的优势。

Dextran Gd-DTPA 经组织间隙注射给药行淋巴 结成像的原理类似氧化铁类阴性对比剂(如 SPIO、 USPIO 和 MION)^[7]:在正常淋巴结,正常淋巴组织中 的吞噬细胞大量摄取随淋巴转运而来的 Dextran Gd-DTPA,使淋巴结的信号在 T₁WI 上增强明显;而在转 移性淋巴结,正常淋巴组织由肿瘤细胞取代,淋巴窦受 压变形甚至闭塞,淋巴结内的吞噬细胞数量明显减少, 使得淋巴结对 Dextran Gd-DTPA 颗粒的摄取减少或 不摄取,淋巴结的强化程度较正常淋巴结显著下降甚 至不强化。换言之,经组织间隙注射 Dextran Gd-DT-PA 的 MR 淋巴造影可根据不同性质淋巴结的增强程 度和特征的不同,从肉眼及定量分析来准确评价淋巴 结病变的性质,而不是根据特异度较低的形态学标准 去评价淋巴结病变的良、恶性。

参考文献:

- [1] Misselwitz B, Schmitt-Willich H, Michaelis M, et al. Assessment of Normal, Inflammatory, and Tumor-bearing Lymph Nodes with Contrastenhanced Interstitial Magnetic Resonance Lymphography:Prelimary Results in Rabbits[J]. J Magn Reson Imaging, 2003,18(3):328-335.
- [2] Bernd Misselwitz, Johannes Platzek, Hanns-Joachim Weinmann, et al. Early MR Lymphography with Gadofluorine M in Rabbits[J]. Radiology, 2004, 231(3):682-688.
- Christoph U. Herborn, David M. Watkins, Shannon Baumann, et al. Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Angiography P792 Blood Pool Agent Versus Gd-DOTA in Rabbits at 3. 0T Versus 1.5T[J]. Invest Radiol, 2007, 42(9):622-628.
- [4] 刘执玉.淋巴基础与临床[M].北京:科学出版社,2003.134-136.
- [5] 高元桂.磁共振成像诊断学[M].北京:人民军医出版社,1992. 113-115.
- [6] 范瑞梅,范家恒.葡聚糖的免疫作用及研究进展[J].甘蔗糖业, 2006,6(1):38-41.
- [7] Choi SH, Moon WK, Hong JH, et al. Lymph Node Metastasis: Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide- enhanced MR Imaging versus PET/CT in a Rabbit Model[J]. Radiology, 2007, 242(1): 137-143.

(收稿日期:2009-06-10)