

## · 中枢神经影像学 ·

## 氨基质子转移 MRI 对脑胶质瘤分级及预测肿瘤细胞增殖的诊断价值

李欣蓓, 宋玉坤, 朱筱磊, 王玉亮, 赵静, 严序, 王婧妍, 初建平

**【摘要】 目的:**探讨氨基质子转移(APT)MRI对脑胶质瘤分级的诊断价值及其与肿瘤细胞增殖标记物 Ki-67 表达水平的相关性。**方法:**经病理证实的 21 例脑胶质瘤患者术前行常规 MR 平扫、增强及 APT 扫描,其中低级别胶质瘤 8 例(WHO I~II 级),高级别胶质瘤 13 例(WHO III~IV 级)。在肿瘤实质区选取 5~10 个 ROI,测量并计算  $MTR_{asym}$  值。采用 Mann-Whitney-Wilcoxon 检验比较高低级别胶质瘤间  $MTR_{asym}$  值的差异,采用 Spearman 相关分析来分析  $MTR_{asym}$  值与肿瘤 Ki-67 表达水平的相关性。**结果:**高级别胶质瘤的  $MTR_{asym}$  值( $4.41\% \pm 2.23\%$ )明显高于低级别胶质瘤( $3.83\% \pm 2.02\%$ ),差异有统计学意义( $W=5816, Z=-3.01, P<0.05$ )。高级别胶质瘤的 Ki-67 的表达水平( $38.85\% \pm 21.03\%$ )明显高于低级别胶质瘤( $4.13\% \pm 2.64\%$ ),差异有统计学意义( $W=2606, Z=-11.54, P<0.05$ )。胶质瘤的  $MTR_{asym}$  值与 Ki-67 表达水平呈正相关( $r=0.25, P<0.001$ )。**结论:**MR 氨基质子转移成像可用于鉴别高低级别胶质瘤,对预测肿瘤细胞增殖有潜在价值。

**【关键词】** 脑肿瘤;胶质瘤;氨基质子转移成像;磁共振成像;Ki-67

**【中图分类号】** R445.2;R739.41 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2017)04-0355-05

DOI:10.13609/j.cnki.1000-0313.2017.04.013

**Diagnostic efficacy of amide proton transfer MRI in the grading of gliomas and predicting tumor cell proliferation** LI Xin-bei, SONG Yu-kun, ZHU Xiao-lei, et al. Department of Radiology, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

**【Abstract】 Objective:** To evaluate the diagnostic efficacy of amide proton transfer (APT) MRI in the grading of brain glioma and to study its correlation with the expression of cell proliferation bio-marker (Ki-67) level. **Methods:** Twenty-one patients with pathology proven brain glioma, including low-grade glioma (LGG, WHO grade I ~ II) in 8 patients and high-grade glioma (HGG, WHO grade III ~ IV) in 13 patients, underwent routine plain and contrast-enhanced MRI as well as APT MRI. Five to ten regions of interest (ROIs) were manually drawn within the tumor parenchyma, the asymmetric magnetization transfer ratio ( $MTR_{asym}$ ) was calculated and analyzed. Mann-Whitney-Wilcoxon test was used to compare the  $MTR_{asym}$  value between LGG and HGG and its correlation with the level of Ki-67 was analyzed using Spearman correlation analysis. **Results:** The mean value of  $MTR_{asym}$  of HGG ( $4.41\% \pm 2.23\%$ ) was significantly higher than that of LGG ( $3.83\% \pm 2.02\%$ ), with statistical difference ( $W=5816, Z=-3.01, P<0.05$ ), and the HGG also showed higher expression level of Ki-67 ( $38.85\% \pm 21.03\%$ ) than that of LGG ( $4.13\% \pm 2.64\%$ ), with statistical difference ( $W=2606, Z=-11.54, P<0.05$ ). The  $MTR_{asym}$  was positively correlated with Ki-67 value ( $r=0.25, P<0.001$ ). **Conclusion:** Amide proton transfer MRI might provide helpful information in the differentiation of HGG and LGG, and may have potential significance in predicting tumor cell proliferation.

**【Key words】** Brain neoplasm; Glioma; Amide proton transfer imaging; Magnetic resonance imaging; Ki-67

胶质瘤占颅内肿瘤 40% 以上<sup>[1]</sup>。随着精准医疗概念的提出,越来越多的研究发现,相同病理类型及 WHO 分级的胶质瘤,采用相同的治疗手段,但其疾病的转归及预后相差甚大<sup>[2-3]</sup>。2016 年新的脑肿瘤 WHO 分型已引入分子病理的相关信息<sup>[4]</sup>,而其中一个重要的病理标志物就是 Ki-67 抗原的表达。Ki-67

抗原是存在于增殖细胞核中的一种非组蛋白性核内蛋白,能反映肿瘤细胞的增殖速度及侵袭能力<sup>[1]</sup>,对胶质瘤的预后有重要的提示意义。

氨基质子转移(amide proton transfer, APT)成像是一种新的磁共振分子成像技术,可以无创性地探测组织内源性游离蛋白质及多肽,从而反映细胞内的代谢变化及病理生理信息<sup>[5-8]</sup>。APT 技术应用至今,在神经系统方面除了在脑卒中和帕金森病方面的研究外,大部分研究集中在对脑内肿瘤的鉴别诊断、胶质瘤放疗疗效及肿瘤的复发评估等方面<sup>[7-9]</sup>。有研究显示随着肿瘤级别的增高,瘤组中内游离蛋白质及多肽会

**作者单位:** 510080 广州,中山大学附属第一医院放射科(李欣蓓、宋玉坤、王玉亮、赵静、王婧妍、初建平);上海,西门子医疗东北亚科研合作部(朱筱磊、严序)

**作者简介:** 李欣蓓(1990-),女,辽宁丹东人,住院医师,主要从事神经和功能影像学诊断和研究工作。

**通讯作者:** 初建平, E-mail: truechu@hotmail.com

**基金项目:** 国家自然科学基金青年基金项目(81201074);中央高校基本科研业务费(中山大学青年教师培育计划,13ykpy14)

相应增加<sup>[10]</sup>,而 Ki-67 又与肿瘤细胞增殖有关,因此本研究基于 APT 成像能预测胶质瘤分级并与 Ki-67 有一定相关性,通过分析 21 例不同级别脑胶质瘤的不对称磁化转移率(asymmetric magnetization transfer ratio,  $MTR_{\text{asym}}$ ),探讨其对胶质瘤分级和预测肿瘤细胞增殖的诊断价值。

## 材料与方法

### 1. 一般资料

将 2014 年 3 月—2015 年 12 月在本院行 MR 检查的 21 例胶质瘤患者纳入研究,其中男 12 例、女 9 例,年龄 26~76 岁,中位年龄 50 岁。所有患者在 MRI 检查前未接受任何治疗或干预,最终诊断均经手术或穿刺病理证实,其中低级别胶质瘤(WHO I~II 级)8 例,包括少突胶质细胞瘤、星形细胞瘤及肥胖型星形细胞瘤;高级别胶质瘤(WHO III~IV 级)13 例,包括间变性星形细胞瘤、胶质母细胞瘤、小细胞胶质母细胞瘤、横纹肌样胶质母细胞瘤及多形性胶质母细胞瘤。

### 2. 检查方法

使用 Siemens Magnetom Trio 3.0T MR 扫描仪和 16 通道头线圈。常规扫描包括横轴面  $T_1WI$ 、 $T_2WI$  和冠状面 FLAIR 序列。对比剂为 Gd-DTPA (拜耳公司),剂量 0.1 mmol/kg,对比剂注射后行横轴面  $T_1WI$  扫描。 $T_1WI$  扫描参数:TR 500 ms,TE 8.9 ms,层厚 6 mm,层间距 0 mm,矩阵  $205 \times 320$ ,视野  $230 \text{ mm} \times 184 \text{ mm}$ ;  $T_2WI$  扫描参数:TR 4000 ms,TE 100 ms,层厚 6 mm,矩阵  $346 \times 384$ ,视野  $230 \text{ mm} \times 230 \text{ mm}$ ;  $T_2\text{-FLAIR}$  扫描参数:TR 9000 ms,TE 111 ms,层厚 6 mm,矩阵  $205 \times 320$ ,视野  $230 \text{ mm} \times 184 \text{ mm}$ 。APT 成像在增强扫描前进行,选择病灶显示最大的层面进行单层扫描,化学饱和转移(chemical exchange saturation transfer, CEST)成像序列采用施加了一定时间预饱和照射的 2D  $T_1\text{-GRE}$  序列;扫描参数:TR 1340 ms,TE 2.46 ms,层厚 6 mm,矩阵  $104 \times 128$ ,视野  $250.0 \text{ mm} \times 203.1 \text{ mm}$ ;1.6uT 的预饱和照射脉冲由 5 个 100 ms 的高斯脉冲组成,脉冲照射范围选择  $\pm 4.5 \text{ ppm}$  的频率带宽,并采取平均每  $\Delta = 0.225 \text{ ppm}$  扫描一次、对该范围分别进行 40 次扫描(预饱和照射),其中采集一个不施加饱和脉冲的基线数据  $M_0$  用于信号标准化,得到的 40 组不同频率的数据图像经由 CEST 序列自带的后处理算法进行计算,得到相应的  $MTR_{\text{asym}}$  图及 Z 谱。整个序列在扫描前均通过施加 B0 GRE Mapping 对 B0 场图像的均匀度进行校正。

### 3. APT 成像的数据处理及分析

使用 Siemens 工作站。在肿瘤病灶的实质区域随机选取 5~10 个感兴趣区(ROI),测量  $MTR_{\text{asym}}$  值,  $MTR_{\text{asym}}$  计算公式如下<sup>[11-13]</sup>:

$$MTR_{\text{asym}} = \frac{MTR_{+3.5 \text{ ppm}} - MTR_{-3.5 \text{ ppm}}}{M_0} \quad (1)$$

### 4. 病理检查及免疫组织化学分析

对脑胶质瘤标本行 HE 染色及 Ki-67 免疫组化染色,并对胶质瘤进行定性和分级。Ki-67 抗原位于细胞核,肿瘤细胞核出现棕黄色染色颗粒为阳性结果。每例患者随机观察 5 个高倍视野(200 倍),在 Ki-67 染色最密集的区域对阳性表达细胞进行计数,重复 3 次取均值,然后根据 5 个高倍镜视野的平均阳性细胞率,以百分数表示 Ki-67 抗原标记指数,代表细胞的增殖指数。

### 5. 统计学分析

使用 SPSS 20.0 统计软件(IBM, Armonk, NK)进行 Mann-Whitney-Wilcoxon 检验,比较高低级别胶质瘤的  $MTR_{\text{asym}}$  值及 Ki-67 表达水平的差异。采用 Spearman 相关分析研究各参数值与 Ki-67 的相关性。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

高级别胶质瘤的  $MTR_{\text{asym}}$  值为  $4.41\% \pm 2.23\%$ ,低级别胶质瘤的  $MTR_{\text{asym}}$  值为  $3.83\% \pm 2.02\%$ ,高低级别胶质瘤  $MTR_{\text{asym}}$  值的差异有统计学意义( $W = 5816, Z = -3.01, P < 0.05$ )。

高级别胶质瘤的 Ki-67 标记指数为  $38.85\% \pm 21.03\%$ ,低级别胶质瘤为  $4.13\% \pm 2.64\%$ ,高级别胶质瘤的 Ki-67 的表达水平明显高于低级别胶质瘤,差异有统计学意义( $W = 2606, Z = -11.54, P < 0.05$ )。 $MTR_{\text{asym}}$  值与胶质瘤的 Ki-67 标记指数具有相关关系( $r = 0.25, P < 0.001$ )。高、低级别胶质瘤的常规 MRI、APT 图及 Ki-67 图如图 1、2 所示。

## 讨 论

胶质瘤是最常见的原发性恶性脑内肿瘤,由神经上皮组织起源,2016 年 WHO 中枢神经系统肿瘤分类将胶质瘤分为 I~IV 级,其中 I、II 级为低级别胶质瘤,III、IV 级为高级别胶质瘤<sup>[14]</sup>。采用 MRI 对胶质瘤进行准确的术前分级,将有利于临床治疗方案的选择,并且能更好地评估预后。

APT 成像是基于化学饱和转移成像(CEST)的一种磁共振成像新技术,其成像原理是利用特定频率的脉冲来饱和细胞内游离蛋白质和多肽上的氨基质子,由于这些氨基质子本身的活泼性质,能够与组织环境中的自由水质子之间产生化学交换,因此使得组织中

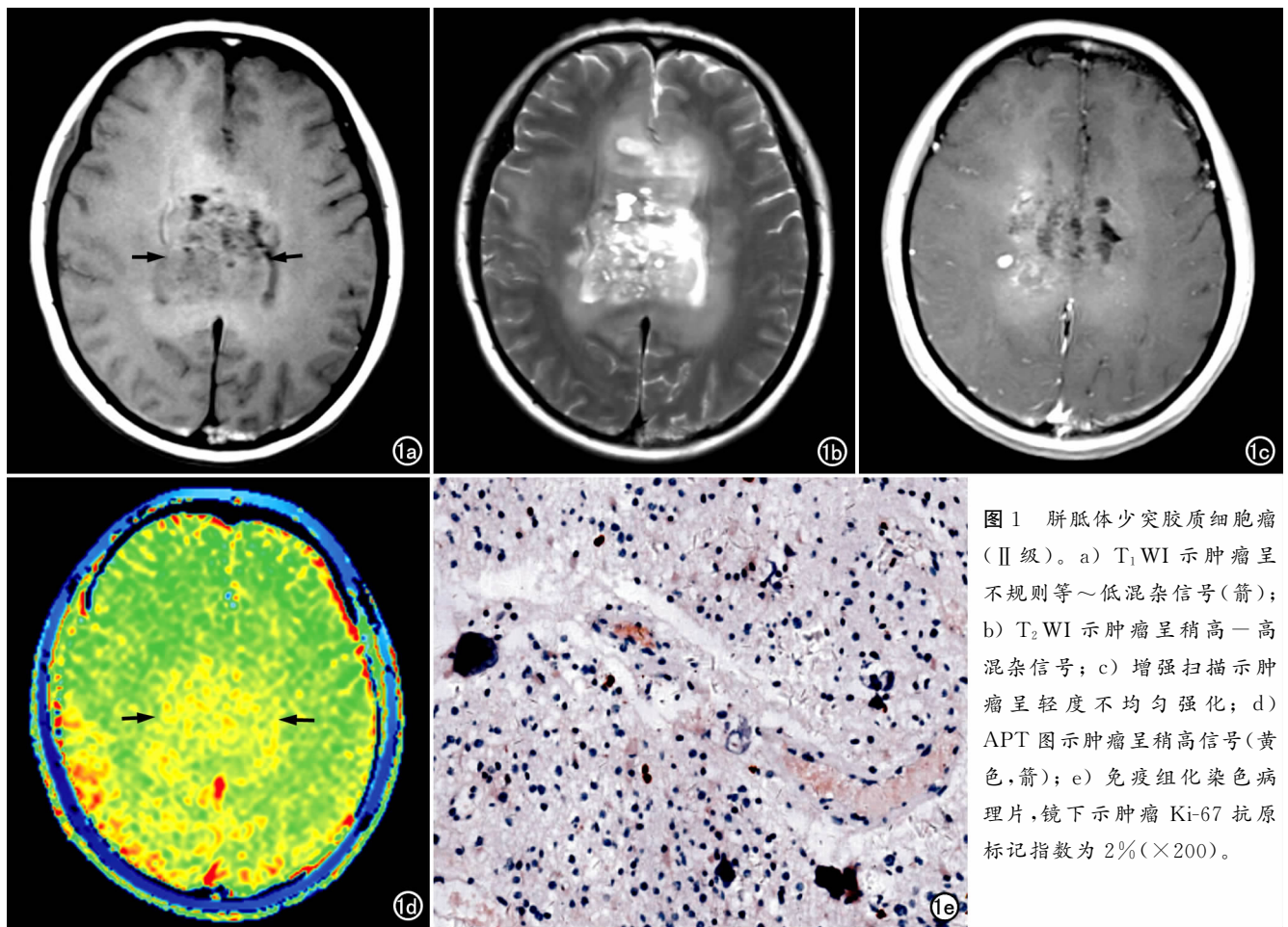


图1 胼胝体少突胶质细胞瘤(Ⅱ级)。a)  $T_1$ WI 示肿瘤呈不规则等~低混杂信号(箭); b)  $T_2$ WI 示肿瘤呈稍高~高混杂信号; c) 增强扫描示肿瘤呈轻度不均匀强化; d) APT 图示肿瘤呈稍高信号(黄色,箭); e) 免疫组化染色病理片,镜下示肿瘤 Ki-67 抗原标记指数为 2% ( $\times 200$ )。

部分水的信号也被饱和掉,进而可以通过组织环境中信号的变化来无创性的探测组织内源性低浓度的游离蛋白及多肽,从而可间接地反映活体细胞内的代谢变化和生理病理信息<sup>[5-7]</sup>。这种化学交换饱和和转移的速率与组织内氨基质子的活泼性、温度以及 pH 值相关。当有肿瘤等组织存在时,某些蛋白质和多肽代谢物的含量在这一区域显著增加,进而引起可交换的氨基质子浓度的升高,即表现为 CEST 效应的增强,其相对的磁化传递率( $MTR_{\text{asym}}$  值)增高。而当组织环境中 pH 值较低时,氨基质子电负性增大,其交换速率加快,组织环境中自由水被饱和的信号越高, $MTR_{\text{asym}}$  值越高<sup>[5,8]</sup>。

在常规 MRI 扫描中,增强扫描仅能反映血脑屏障的破坏情况,不能很好地提示肿瘤的性质及范围。约 20% 的低级别胶质瘤在增强扫描时也表现为明显强化,而有 1/3 的恶性胶质瘤增强扫描时未见明显强化<sup>[15-16]</sup>,且肿瘤强化显著的部分与细胞分化差的部分并不完全一致<sup>[17]</sup>,因此依赖传统的 MRI 平扫及增强扫描来诊断胶质瘤具有较大的局限性。但进行 APT 成像,根据病灶的信号强度及  $MTR_{\text{asym}}$  值可对胶质瘤的病理分级进行较准确的术前评估。APT 成像上信号的变化与蛋白质、多肽含量及 pH 值有关,但在脑肿

瘤中细胞内 pH 值的变化通常小于 0.1 个单位,故其对 APT 成像的影响可忽略不计,则 APT 图像上信号的改变可近似地认为仅由细胞内蛋白质和多肽的浓度改变所导致<sup>[6,18]</sup>。质子谱研究表明,随着肿瘤级别的增高,其内的蛋白质含量也会随之增加<sup>[10]</sup>。通过 APT 技术,根据其信号的强弱, $MTR_{\text{asym}}$  值的高低,可间接得知肿瘤细胞内蛋白质和多肽的含量,进一步对高低级别胶质瘤进行鉴别,提供更准确的诊断。

另外,本研究还探讨了  $MTR_{\text{asym}}$  值与 Ki-67 抗原表达水平的相关性。Ki-67 抗原是存在于增殖细胞核中的一种非组蛋白性核内蛋白,定位于 10 号染色体,由相对分子量 395kD 和 345kD 两条多肽链组成,是与增殖相关的核蛋白,能可靠的反映肿瘤细胞的增殖速度及侵袭能力。研究表明,Ki-67 与肿瘤的侵袭、转移及增殖特性有关,对胶质瘤的预后有着重要的提示意义<sup>[1]</sup>。Ki-67 抗原表达水平越高往往提示胶质瘤级别越高,细胞数量增多,细胞增殖活跃,细胞密度增大,细胞内复合蛋白质分子增多,其合成的蛋白质和多肽量也会增多<sup>[19-21]</sup>。而 APT 成像能探测组织内的游离蛋白及多肽,其浓度增高则 APT 成像时信号增高, $MTR_{\text{asym}}$  值增高,因此 APT 成像能间接反映肿瘤细胞的增殖程度,预测肿瘤的恶性程度,对临床治疗方案的

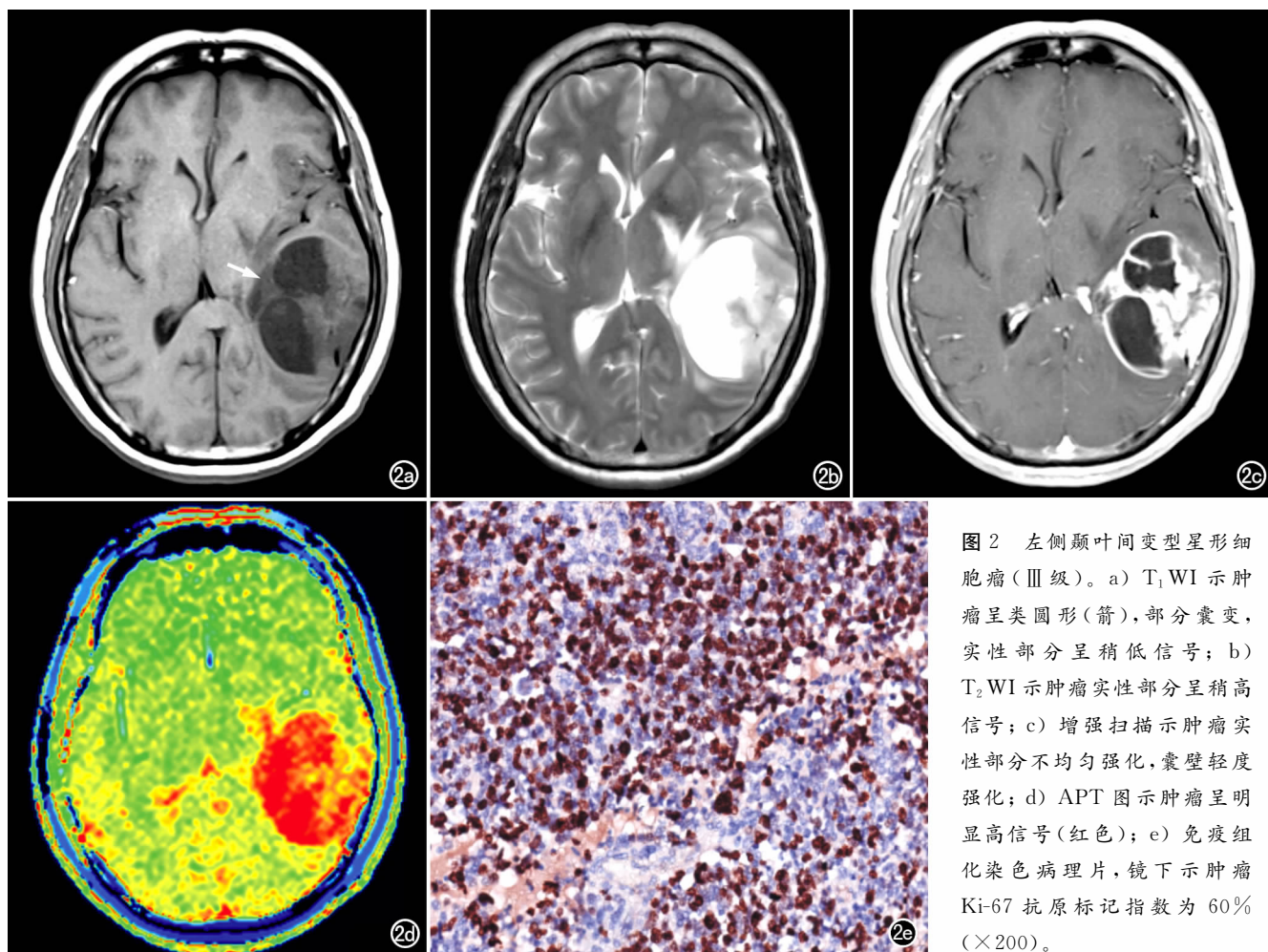


图2 左侧颞叶间变型星形细胞瘤(Ⅲ级)。a)  $T_1$  WI 示肿瘤呈类圆形(箭),部分囊变,实性部分呈稍低信号; b)  $T_2$  WI 示肿瘤实性部分呈稍高信号; c) 增强扫描示肿瘤实性部分不均匀强化,囊壁轻度强化; d) APT 图示肿瘤呈明显高信号(红色); e) 免疫组化染色病理片,镜下示肿瘤 Ki-67 抗原标记指数为 60% ( $\times 200$ )。

选择及预后评估能提供非常有价值的信息。

APT 成像的优势在于不需要特殊的硬件配备,不依赖对比剂,也不受血脑屏障的限制,可无创性探测组织内的内源性游离蛋白和多肽,反映细胞增殖情况<sup>[22]</sup>。但是,APT 技术也有一定的不足,2D 扫描序列一次扫描仅能获得单层图像,不能获取肿瘤的完整信息。且由于 APT 图像的分辨率及信噪比较低,即使参考常规 MRI 平扫及增强图像,若肿瘤病灶较小,在选择感兴趣区时可能欠精准,在一定程度上会影响测量结果的准确性。另外,本研究中样本量较小,尤其是低级别胶质瘤患者的病例数偏少,需要更大样本量的相关研究来证实本研究结果的准确性。

总的来说,APT 技术能较准确地鉴别高低级别胶质瘤并可反映胶质瘤细胞的增殖活跃程度,在胶质瘤的诊断及临床治疗中能提供非常有价值的信息。

#### 参考文献:

- [1] 张磊,张学新,苏君. Ki-67 和 MMP-2 在胶质瘤中表达的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2015, 22(5): 470-473.
- [2] Pignatti F, Bent MVD, Curran D, et al. Prognostic factors for survival in adult patients with cerebral low-grade glioma[J]. Off J Am Soc Clin Oncol, 2002, 20(8): 2076-2684.
- [3] Siegal T. Clinical relevance of prognostic and predictive molecular

markers in gliomas[J]. Advan Tech Stand Neurosurg, 2016, 43 (1): 91-108.

- [4] 苏昌亮,李丽,陈小伟,等. 2016 年 WHO 中枢神经系统肿瘤分类总结[J]. 放射学实践, 2016, 31(7): 570-579.
- [5] 李春媚,王蕊,周进元,等. 酰胺质子转移磁共振成像在帕金森病诊断中的应用价值[J]. 功能与分子医学影像学(电子版), 2014, 3 (3): 428-431.
- [6] Jiang SS, Yu H, Wang XL, et al. Molecular MRI differentiation between primary central nervous system lymphomas and high-grade gliomas using endogenous protein-based amide proton transfer MR imaging at 3 Tesla[J]. Eur Radiol, 2016, 26(1): 64-71.
- [7] 郑阳,王晓明. 酰胺质子转移成像研究进展[J]. 中国医学影像技术, 2014, 30(8): 1256-1259.
- [8] Sakata A, Okada T, Yamamoto A, et al. Grading glial tumors with amide proton transfer MR imaging: different analytical approaches[J]. J Neuro Oncol, 2015, 122(2): 339-348.
- [9] Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system[J]. Acta Neuro-pathol, 2007, 114(2): 97-109.
- [10] Zhou JY, Hong XH. Molecular imaging using endogenous cellular proteins[J]. Chin J Magn Reson, 2013, 30(3): 310-320.
- [11] Tee YK, Harston GWJ, Blockley N, et al. Comparing different analysis methods for quantifying the MRI amide proton transfer (APT) effect in hyperacute stroke patients[J]. NMR Biomed, 2014, 27(9): 1019-1029.

- [12] Yuan J, Chen SZ, King AD, et al. Amide proton transfer-weighted imaging of the head and neck at 3T: a feasibility study on healthy human subjects and patients with head and neck cancer [J]. NMR Biomed, 2014, 27(10): 1239-1247.
- [13] Togao O, Hiwatashi A, Keupp J, et al. Scan-rescan reproducibility of parallel transmission based amide proton transfer imaging of brain tumors [J]. J Magn Reson Imaging, 2015, 42(5): 1346-1353.
- [14] Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary [J]. Acta Neuropathol, 2016, 131(6): 803-820.
- [15] Law M, Yang S, Wang H, et al. Glioma grading: sensitivity, specificity, and predictive values of perfusion MR imaging and proton MR spectroscopic imaging compared with conventional MR imaging [J]. AJNR, 2003, 24(10): 1989-1998.
- [16] Schäfer ML, Maurer MH, Synowitz M, et al. Low-grade (WHO II) and anaplastic (WHO III) gliomas: differences in morphology and MRI signal intensities [J]. Eur Radiol, 2013, 23(10): 2846-2853.
- [17] 范兵, 杜华睿, 王霄英, 等. MRI 动态增强扫描定量参数对脑胶质瘤分级诊断价值的研究 [J]. 放射学实践, 2014, 29(8): 893-895.
- [18] Zhou JY, Blakeley JO, Hua J, et al. A practical data acquisition method for human brain tumor amide proton transfer (APT) imaging [J]. Magn Reson Med, 2008, 60(4): 842-849.
- [19] 张格, 王显龙, 路世龙, 等. 脑胶质瘤 MR 氨基质子转移成像与病理学特性相关性研究 [J]. 中国放射学杂志, 2014, 48(9): 736-740.
- [20] 殷悦, 佟丹, 刘晓云, 等. 表观弥散系数值与 Ki-67 在胶质瘤诊断中的相关性 [J]. 中国医学科学院学报, 2012, 34(5): 503-508.
- [21] 姜振富, 李梅, 韦鸿, 等. 脑胶质瘤中 Ki-67、Kras 和 Braf 蛋白的表达及临床意义 [J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(3): 507-510.
- [22] 赵旭娜. 氨基质子饱和转移磁共振成像方法研究 [J]. 中国医疗器械信息, 2015, 1(4): 17-21.

(收稿日期: 2016-10-01 修回日期: 2017-02-01)

## 《放射学实践》(英文稿)稿约

《放射学实践》是由国家教育部主管, 华中科技大学同济医学院主办, 与德国合办的全国性影像学学术期刊, 创刊至今已 31 周年。本刊坚持服务广大医学影像医务人员的办刊方向, 关注国内外影像医学的新进展、新动态, 全面介绍 X 线、CT、磁共振、介入放射及放射治疗、超声诊断、核医学、影像技术学等医学影像方面的新知识、新成果, 受到广大影像医师的普遍喜爱。

本刊为国家科技部中国科技论文核心期刊、中国科学引文数据库统计源期刊, 在首届《中国学术期刊(光盘版)检索与评价数据规范》执行评优活动中, 被评为《CAJ—CD 规范》执行优秀期刊。

2012 年始本刊拟在英文专栏刊发全英文文稿。

1. 文稿应具科学性、创新性、逻辑性, 并有理论和实践意义。论点鲜明, 资料可靠, 数据准确, 结论明确, 文字简练, 层次清楚, 打印工整。

2. 本刊实行盲法审稿, 来稿附上英文稿一份, 中文对照稿两份(用小 4 号字、1.5 倍行距打印), 文稿中不出现任何有关作者本人的信息。另纸打印一份中英文对照的文题、作者姓名、作者单位(应准确、规范、完整)及邮政编码。如系 2 个单位及以上者, 则在作者姓名右上角排阿拉伯数字角码, 按序将单位名称写于作者下方。并注明第一作者的性别, 职称及第一作者或联系人的电话号码, E-mail 地址。

3. 来稿须经作者所在单位审核并附单位推荐信。推荐信应证明内容不涉及保密、署名无争议、未一稿两投等项。

4. 论著采用叙述式摘要。关键词一般 3~5 个, 请采用最新版的 MeSH 词表(医学主题词注释字顺表)中的主题词。MeSH 词表中无该词时, 方可用习用的自由词。使用缩略语时, 应在文中首次出现处写明中、英文全称。

5. 表格采用三线表, 表序按正文中出现的顺序连续编码。数据不多、栏目过繁、文字过多者均不宜列表。表内同一指标数字的有效位数应一致。

6. 线条图应另纸描绘, 全图外廓以矩形为宜, 高宽比例约为 5:7, 避免过于扁宽或狭长。照片图须清晰, 像素高, 层次分明, 图题及图解说明清楚。

7. 参考文献必须以作者亲自阅读过的近年文献为主, 并由作者对照原文核实(请作者在文章发表前提供 PubMed 等数据库的所含文献页面)。文献一般不少于 30 篇。内部刊物、未发表资料、私人通讯等勿作参考文献引用。参考文献的编号按照在正文中出现的先后顺序排列, 用阿拉伯数字加方括号角注。并按引用的先后顺序排列于文末。