

• 肝脏脂肪定量诊断影像学专题 •

定量 CT 测量动物肝脏脂肪含量的实验研究

徐黎, 端木羊羊, 张勇, Keenan Brown, 张曼玲, 程晓光

【摘要】 目的:以 Soxhlet 化学萃取法的测量结果为参考标准,探讨定量 CT(QCT)对离体动物肝脏标本脂肪含量测量的准确性。**方法:**选取 5 块猪肝、5 块鹅肝和 10 块鸭肝,分别使用 QCT 和 Soxhlet 化学萃取法测量每个样本的脂肪含量。对 QCT 测得的肝脏脂肪含量(Fat%Q)和 Soxhlet 化学萃取法测得的肝脏脂肪含量(Fat%S)进行比较,并使用线性回归分析研究 Fat%Q 与 Fat%S 之间的关系。**结果:**Soxhlet 化学萃取法测得的猪肝、鸭肝和鹅肝的脂肪含量分别为 0.5% ~ 2.3%、7.2% ~ 21.0% 和 35.0% ~ 52.6%,QCT 测得的肝脏脂肪含量低于 Soxhlet 化学萃取法,但两种方法的测量结果差异无统计学意义($P = 0.052$)。两种方法的测量结果高度相关($r = 0.962, P < 0.001$),Fat%S 可以通过线性方程 $\text{Fat}\%S = 0.74 \times \text{Fat}\%Q + 7.272$ ($r_2 = 0.965, P < 0.001$) 进行预测。**结论:**以化学 Soxhlet 萃取法作为验证参考标准,使用常规 CT 和 QCT 体模能够准确测量离体动物肝脏样本的脂肪含量。

【关键词】 肝脏脂肪含量; 定量 CT; 体层摄影术, X 线计算机; Soxhlet 化学萃取法

【中图分类号】 R575.5; R814.42 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2017)05-0466-05

DOI:10.13609/j.cnki.1000-0313.2017.05.008

Fat content measurement of animal livers using quantitative computed tomography XU Li, DUANmu Yangyang, ZHANG Yong, et al. Department of Radiology, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China

【Abstract】 Objective: To study the fat content measurement of animal livers in vitro by quantitative computed tomography (QCT) using chemical Soxhlet extraction technique as the standard reference. **Methods:** Five pig livers, 5 goose livers and 10 duck livers were collected and QCT as well as chemical Soxhlet extraction were used individually to measure fat content for each sample. Fat percentage of all samples determined by QCT (Fat%QCT) and by Soxhlet chemical extraction (Fat%Soxhlet) was compared. Furthermore, linear regression analysis was used to detect the relationship between Fat%QCT and Fat%Soxhlet. **Results:** The fat percentage of pig liver, duck liver and goose liver measured by chemical extraction ranged from 0.5% to 2.3%, 7.2% to 21%, and 35% to 52.6% respectively. The fat content of liver measured by QCT was lower than that measured by chemical Soxhlet extraction method, but there was no statistical significant difference between results of two methods ($P = 0.052$). The two measurements were highly correlated ($r = 0.962, P < 0.001$). Fat%Soxhlet could be predicted by Fat%QCT with the equation as: $\text{Fat}\%S_{\text{oxhlet}} = 0.74 \times \text{Fat}\%Q_{\text{CT}} + 7.272$ ($r_2 = 0.965, P < 0.001$). **Conclusion:** Fat content of animal liver can be measured accurately with a conventional computed tomography (CT) scanner with QCT phantom and software compared to the chemical Soxhlet extraction as standard reference.

【Key words】 Hepatic fat content; Quantitative CT; Tomography, X-ray computed; Chemical soxhlet extraction

酒精性肝脏脂肪变性 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 代表了一大类以肝脏内脂肪沉积为特点,与肥胖、糖尿病、高脂血症等代谢异常有关的疾病。全世界普通人群 NAFLD 的发病率为 9.0% ~ 37%^[1-4],发达国家中 NAFLD 是慢性肝病的最常见病因^[5,6]。

肝脏活检是诊断 NAFLD 的金标准,但是作为有创性检查,并不适用于高风险人群的疾病筛查和 NAFLD 患者的疗效评估;此外活检样本体积小,存在

取样误差^[7]。目前可用于 NAFLD 患者肝脏脂肪变性评估的影像学方法包括超声、CT、MRI 及磁共振波谱成像 (magnetic resonance spectroscopy, MRS)^[8,9]。CT 评估肝脏脂肪变性是通过测量肝组织的 CT 衰减 (hounsfield units, HU) 来实现的,而肝脏与脾脏的 CT 衰减差值 (difference in attenuation between liver and spleen, CTL-S)、肝脏衰减指数 (hepatic attenuation index, HAI)、肝脾比值 (ratio of hepatic attenuation to splenic attenuation, CT_{L/S}) 等参数均可用于肝脏脂肪变性的定量评估^[10-12];但是反映脾脏脂肪含量的 CT 测量值与很多因素有关,包括 kV、X 线滤过、受检者体型大小和其他可能影响测量感兴趣区内 X 线能量的因素,且脾脏的 CT 值在不同个体间存在差异,因此,CT 评估肝脏脂肪变性在不同受检者间也存

作者单位:100035 北京,北京积水潭医院放射科(徐黎、端木羊羊、张勇、程晓光);Mindways Software, Austin, TX, USA(Keenan Brown);100094 北京,国家食品质量监督检验中心化学分析室(张曼玲)

作者简介:徐黎(1979—),女,江苏常州人,博士研究生,主要从事肌骨系统影像诊断、人体组织成分测量工作。

通讯作者:程晓光, E-mail: xiao65@263.net

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81401407)

在差异。

定量计算机断层成像(quantitative computed tomography, QCT)最初应用于上世纪 80 年代,并被用于脊柱骨密度(bone mineral density, BMD)的测量^[13]。通过扫描前的质量控制和扫描过程中使用校准体模, QCT 技术大大降低了来自 CT 扫描仪和患者本身差异对测量结果的影响,而校准体模将组织的 CT 值转化为物理密度。QCT 测量腰椎骨密度准确、可靠,目前已经应用于临床诊断骨质疏松和监测治疗效果。QCT 体模内包含脂肪和水样本,理论上能够将组织的 CT 值转化为脂肪含量,CT 值下降代表脂肪含量增加。Nagy 等^[14]的研究证实 pQCT 对测量小动物的体脂和肝脏脂肪含量具有较高的准确度,可用于观察肝脏脂肪含量的变化。QCT 和 pQCT 的测量原理相似。目前尚无 QCT 测量肝脏脂肪含量的报道,而对肝脏脂肪含量进行测量结果的验证是有必要的。本研究以 Soxhlet 化学萃取法为参考标准,对动物肝脏脂肪含量的 QCT 测量结果进行验证。

材料与方法

1. 研究对象

2015 年 1 月—2015 年 3 月间购买的新鲜动物肝脏,包括 5 块猪肝、5 块鹅肝和 10 块鸭肝。

2. QCT 测量肝脏脂肪含量

所有样本在购买当天采用 Toshiba Aquilion 80 排螺旋 CT 扫描仪和 Mindways 固体体模(Mindways Software Inc., Austin, TX, USA)进行 QCT 扫描。样本包埋于两片猪肉中(大小为 450 mm × 250 mm × 50 mm),以模仿腹部软组织,并使样本在扫描过程中隔绝空气。扫描参数:螺距 0.985,床高 120 cm, 120 kV, 125 mA,层厚 1.0 mm,视野 500 mm × 500 mm,采用标准算法进行重建。图像传输至 QCT 工作站,使用 4.2 Version QCT PRO 3D spine module 软件(Mindways Software Inc., Austin, TX, USA)进行分析。软件处理原始数据后自动生成 3D 图像,在矢状面图像中,将 3 个圆柱形兴趣区(regions of interest, ROI)放置于样本中心,层厚为 9 mm,层间隔为 12~18 mm,横截面积为 180~200 mm²(图 1),任何含有空气、血管或肝内胆管的区域均被排除在外。软件自动输出 QCT 骨密度(BMD_{Sample}),斜率(slope)和区域一致性校正(field uniformity correction, FUC)。BMD_{Sample} 值为 3 个 ROI 的 BMD 平均值。根据 Mindways 提供的计算公式,计算样本的脂肪百分比(β):

$$\rho_{\text{Sample}} = \frac{\text{BMD}_{\text{Sample}}}{\text{FUC}}$$

$$\text{HU}_{\text{Liver}} = 1047.9 + (\text{slope} + 0.2174) \times 4.842 - 999.6$$

$$\text{HU}_{\text{Fat}} = 942.9 - (\text{slope} + 0.2174) \times 31.42 - 999.6$$

$$\rho_{\text{Liver}} = \frac{\text{HU}_{\text{Liver}}}{\text{slope}}$$

$$\rho_{\text{Fat}} = \frac{\text{HU}_{\text{Fat}}}{\text{slope}}$$

$$\beta = \frac{\rho_{\text{Liver}} - \rho_{\text{Sample}}}{\rho_{\text{Liver}} - \rho_{\text{Fat}}}$$

在上述计算公式中, ρ_{Sample} 代表样本的有效骨密度值, HU_{Liver} 和 HU_{Fat} 分别为样本中纯肝组织和纯脂肪组织的 CT 值, ρ_{Liver} 和 ρ_{Fat} 指取样组织内纯肝脏组织和纯脂肪的有效密度值, β 即为取样组织内纯脂肪的体积百分比; HU_{Liver} 和 HU_{Fat} 的数值来源于相关文献对正常肝脏组织和正常脂肪组织中平均原子组成的定义^[15],并参照 Mindways 固体 CT 校准体模中参考物质的衰减特性进行了标准化处理。

所有 QCT 扫描和 ROI 测量由同一位经过系统培训的放射科住院医师完成。所有样本间隔 1 个月由同一位医师重复测量一次,以评价两次 QCT 测量的一致性。

3. Soxhlet 化学萃取法测量肝脏脂肪含量

所有样本的 Soxhlet 化学萃取法测量脂肪含量在国家食品质量监督检验中心化学分析室进行,依据肉类和肉制品总脂肪量测定的国家标准采用 Soxhlet 萃取法进行测量^[16]。

将与 QCT 测量区域对应的中心部分切下(大小为 80 mm × 30 mm × 30 mm),避开血管和肝内胆管区域,在 (103 ± 2) °C 下烘干、称重。烘干样本的脂肪含量采用 Soxhlet 化学萃取法进行测量。样本的脂肪百分比为测量所得的脂肪重量 / 烘干前样本的重量。

4. 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。QCT 测量的观察者内一致性采用组内相关性系数(intraclass correlation coefficients, ICC)进行计算。对所有样本的 QCT 脂肪百分比测量值(Fat%Q)与 Soxhlet 化学萃取法脂肪百分比测量值(Fat%S)的比较采用非参数检验(Wilcoxon),并计算 Spearman 分析的相关性系数,采用线性回归分析计算预测方程。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

同一观察者两次 QCT 测量的 ICC 值为 0.998 (95% 可信区间为 0.995 ~ 0.999, F 值 = 1077.243, $P < 0.001$)。Soxhlet 化学萃取法测得的猪肝、鸭肝和鹅肝的脂肪含量百分比分别为 0.5% ~ 2.3%、7.2% ~ 21.0%、35.0% ~ 52.6%, QCT 测得的肝脏脂肪含量低于 Soxhlet 化学萃取法(图 2)。两种方法测量结果差值的均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 为 (-3.51% ±

6.93%),但两种方法的测量结果之间差异无统计学意义($Z = -1.941, P = 0.052$)。两种方法的测量结果高度相关($r = 0.962, P < 0.001$)。线性回归分析显示 $\text{Fat}\%S$ 可通过方程 $\text{Fat}\%S = 0.74 \text{ Fat}\%Q + 7.272$ ($r_2 = 0.965, P < 0.001$) 进行预测(图 3)。

讨 论

本研究结果显示,使用 CT 扫描仪和 QCT 体模测量动物肝脏样本得到的脂肪含量与 Soxhlet 化学萃取法得到的结果高度相关,而且肝脏样本的脂肪含量可以通过线性方程由 QCT 测得的脂肪含量进行预测,表明 QCT 可应用于临床进行 NAFLD 疾病的诊断和疗效评估。

目前,CT 扫描已经被临床应用于 NAFLD 的诊断,其中 $\text{CT}_{L/S}$ 是最常用的诊断标准之一。由于脾脏的 CT 值衰减存在个体间差异,使用 $\text{CT}_{L/S}$ 对人群进行肝脏脂肪含量的测量和治疗效果的评估并不准确。QCT 通过使用体外校准体模,能够比较不同个体之间的肝脏脂肪含量,并且检测其变化。此外,单次 CT 扫描获得的 QCT 数据能够同时测量腰椎 BMD、腹部脂肪面积和肝脏脂肪含量,有助于一次性完成老年人常见的

肝脏脂肪变性、骨质疏松和肥胖相关性疾病的诊断和评价。

采用常规 CT 扫描测量肝脏脂肪含量存在的主要争议在于 X 线辐射危害。随着 CT 扫描技术的进步,肝脏 CT 扫描的辐射剂量已大幅度降低^[17]。在不影响测量准确性的前提下,QCT 扫描的辐射剂量可以降至常规肝脏扫描的一半,而缩小扫描范围可进一步降低辐射剂量^[18]。

采用常规 CT 和 QCT 体模测量动物肝脏脂肪含量目前尚未见文献报道。本研究结果显示采用常规 CT 和 QCT 体模可以准确地测量脂肪含量为 0.5% ~ 52.6% 的动物肝脏样本。Nagy 等^[14] 采用 pQCT 测量 26 只雌性小鼠的肝脏脂肪含量,结果显示 pQCT 测量肝脏脂肪含量有较高的精确度(观察者内变异系数为 0.3%),而且 pQCT 测得的肝脏衰减与化学萃取法测得的肝脏脂肪含量有很高的相关度($r = -0.98, P < 0.01$)。Lubura 等^[19] 也进行了验证 CT 定量测量小动物肝脏脂肪含量的相关研究,参考标准为生化法测定的肝脏甘油三酯含量,结果显示 Micro-CT 测得的肝脏脂肪含量与化学萃取法测得的肝脏甘油三酯含量之间有很高的相关度($r_2 = 0.915$),与本研究结果接

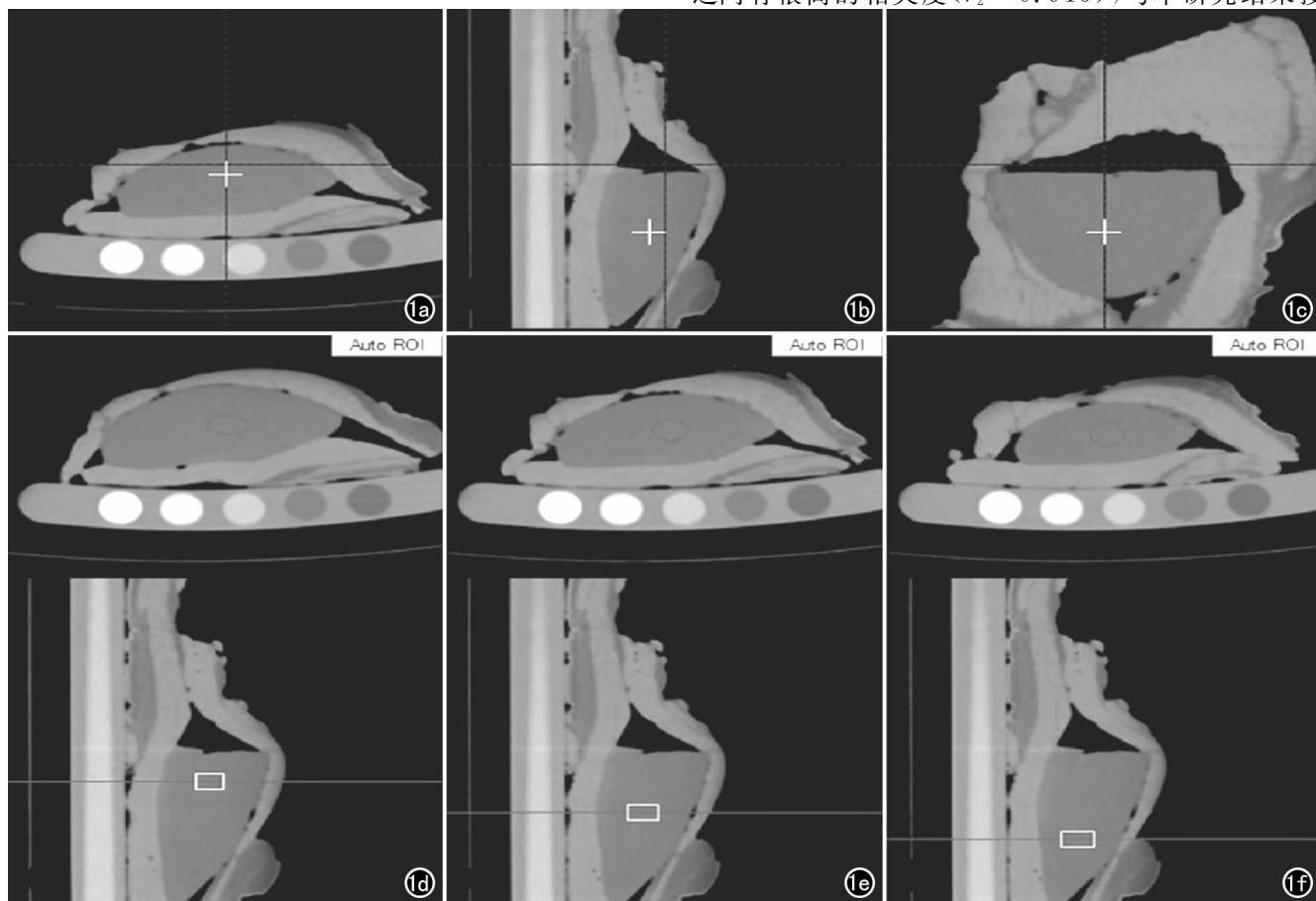


图 1 QCT 测量的 ROI 选取。QCT 后处理软件自动生成轴面、矢状面和冠状面图像。在矢状面图像的样本中心区域选取上、中、下 3 个 ROI,每个 ROI 的层厚均为 9mm,横截面积为 180 ~ 200mm²,层间隔为 12 ~ 18mm。a) 轴面图像; b) 矢状面图像; c) 冠状面图像; d) 在矢状面图像的样本中心区域选取上部 ROI; e) 选取中部 ROI; f) 选取下部 ROI。

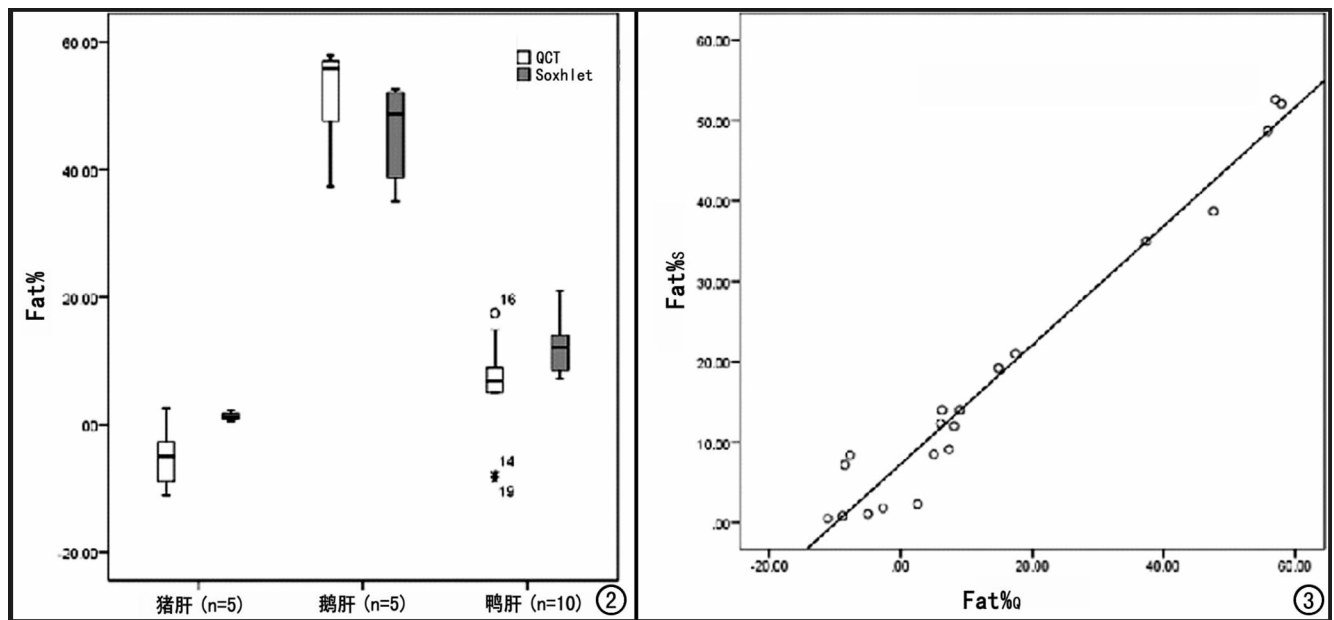


图 2 QCT 与 Soxhlet 化学萃取法对肝脏样本脂肪含量测量结果的箱形图。图 3 QCT 与 Soxhlet 化学萃取法对肝脏样本脂肪含量测量结果的分布散点图,两种测量方法之间存在线性关系,线性回归方程为 $\text{Fat}\%S = 0.74 \text{ Fat}\%Q + 7.272$ ($r^2 = 0.965, P < 0.001$)。

近($r_2 = 0.925$)。

在 NAFLD 患者和相关高风险人群中,非增强 CT 被证实能可靠而有效地定量测量肝脏脂肪含量^[20,21]。Shores 等^[20]的研究表明,肥胖患者测得的 CTL-S ($r = -0.80, P < 0.001$)、CT_{L/S} ($r = -0.80, P < 0.001$)这两个参数与针吸穿刺和楔形切除肝脏活检样本中化学法测得的甘油三酯浓度呈高度负相关。除肝脏脂肪以外,肝脏和脾脏内过多的铁沉积、服用某些药物(如胺碘酮),都可能影响 CT 衰减值,从而降低对不同患者肝脏脂肪含量定量测量和疾病进展预测的准确性^[12,22,23]。

本研究的主要不足在于所有研究样本均为离体样本,样本中含有的空气气泡可能影响 QCT 的测量准确性。此外,本研究中所有动物肝脏样本均为超市随机购买,缺乏脂肪含量为 20% ~ 35% 的肝脏样本,而这一脂肪含量分布区间在临床上对应严重的肝脏脂肪变性。

综上所述,以 Soxhlet 化学萃取法作为验证参考标准,使用常规 CT 和 QCT 体模能够准确测量离体动物肝脏样本的脂肪含量,进而可为临床诊断肝脏脂肪变性和监测疾病进展提供重要参考。

参考文献:

- [1] Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, et al. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the dionysos nutrition and liver study[J]. *Hepatology*, 2005, 42(1): 44-52.
- [2] Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011, 34(3): 274-285.
- [3] Williams CD, Stengel J, Asike MI, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(1): 124-131.
- [4] Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American association for the study of liver diseases, American college of gastroenterology, and the American gastroenterological association[J]. *Hepatology*, 2012, 55(6): 2005-2023.
- [5] Ong JP, Younossi ZM. Epidemiology and natural history of NAFLD and NASH[J]. *Clin Liver Dis*, 2007, 11(1): 1-16.
- [6] Sass DA, Chang P, Chopra KB. Nonalcoholic fatty liver disease: a clinical review[J]. *Dig Dis Sci*, 2005, 50(1): 171-180.
- [7] Ratzliff V, Charlotte F, Heurtier A, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(7): 1898-1906.
- [8] 王南, 漆剑频, 董慧, 等. ¹H-MRS 和 CT 在非酒精性脂肪肝诊疗中的应用研究[J]. *放射学实践*, 2007, 22(12): 1322-1325.
- [9] 黄子星, 宋彬. 肝纤维化和脂肪变性的影像定量研究[J]. *放射学实践*, 2012, 27(2): 126-127.
- [10] Lee SS, Park SH, Kim HJ, et al. Non-invasive assessment of hepatic steatosis: prospective comparison of the accuracy of imaging examinations[J]. *J Hepatol*, 2010, 52(4): 579-585.
- [11] Park SH, Kim PN, Kim KW, et al. Macrovesicular hepatic steatosis in living liver donors: use of CT for quantitative and qualitative assessment[J]. *Radiology*, 2006, 239(1): 105-112.
- [12] Park YS, Park SH, Lee SS, et al. Biopsy-proven nonsteatotic liver in adults: estimation of reference range for difference in attenuation between the liver and the spleen at nonenhanced

- CT[J]. Radiology, 2011, 258(3): 760-766.
- [13] Cann CE, Genant HK. Precise measurement of vertebral mineral content using computed tomography[J]. J Comput Assist Tomogr, 1980, 4(4): 493-500.
- [14] Nagy TR, Johnson MS. Measurement of body and liver fat in small animals using peripheral quantitative computed tomography[J]. Int J Body Compos Res, 2004, 1(4): 155-160.
- [15] International Commission on Radiation Units and Measurements. ICRU report No 46: Photon, electron, proton and neutron interaction data for body tissues[M]. Maryland: International Commission on Radiation Units and Measurements, 1992: 11-13.
- [16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 中华人民共和国国家标准——肉与肉制品总脂肪含量测定(2008 年版)[M]. 北京: 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2008: 1-3.
- [17] Jang HC, Lee HK, Lee H, et al. Analyzing correlation between epicardial fat area and metabolic syndrome risk factor by using low-dose Lung CT[J]. Pak J Med Sci, 2015, 31(5): 1207-1212.
- [18] 王予生, 过哲, 李端端, 等. 定量 CT 腰椎骨密度测量的低剂量研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2012, 18(11): 992-995.
- [19] Lubura M, Hesse D, Neumann N, et al. Non-invasive quantification of white and brown adipose tissues and liver fat content by computed tomography in mice[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37026.
- [20] Shores NJ, Link K, Fernandez A, et al. Non-contrasted computed tomography for the accurate measurement of liver steatosis in obese patients[J]. Dig Dis Sci, 2011, 56(7): 2145-2151.
- [21] Speliotes EK, Massaro JM, Hoffmann U, et al. Liver fat is reproducibly measured using computed tomography in the framingham heart study[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2008, 23(6): 894-899.
- [22] Pickhardt PJ, Park SH, Hahn L, et al. Specificity of unenhanced CT for non-invasive diagnosis of hepatic steatosis: implications for the investigation of the natural history of incidental steatosis[J]. Eur Radiol, 2012, 22(5): 1075-1082.
- [23] Patrick D, White FE, Adams PC. Long-term amiodarone therapy: a cause of increased hepatic attenuation on CT[J]. Br J Radiol, 1984, 57(679): 573-576.

(收稿日期: 2016-12-28 修回日期: 2017-02-23)

《放射学实践》杂志微信公众平台开通啦!

2015 年 6 月,《放射学实践》杂志入选北京大学和北京高校图书馆期刊工作研究会共同主持的国家社会科学基金项目“学术期刊评价及文献计量学研究”研究成果——《中国核心期刊要目总览》。这是继 1999, 2008 年之后的第 3 次入选临床医学 / 特种医学类核心期刊。

《放射学实践》杂志微信公众平台立足于准确地传递医学影像领域的最新信息, 为关注医学影像领域的广大人士服务, 也欢迎大家通过微信平台, 以文字、图片、音频和视频等形式与我们互动, 分享交流最新的医学影像资讯。您还可以通过微信平台免费阅读及搜索本刊所有发表过的论文, 投稿作者可以查询稿件状态等。

您可以通过以下方式关注《放射学实践》杂志微信公众平台:

1. 打开微信, 通过“添加朋友”, 在搜索栏里直接输入“放射学实践”进行搜索。
2. 或者在“查找微信公众号”栏里, 输入“放射学实践”, 即可找到微信公众号, 点击“关注”, 添加到通讯录。
3. 打开微信, 点击“扫一扫”, 将手机镜头对准下面的二维码, 扫出后点击关注即可。



期待您的加入!