

· 基础研究 ·

3.0T 磁共振质子波谱成像评价吉西他滨联合黄芪多糖注射液治疗胰腺癌模型兔的研究

郝利国^{1,2} 张淑丽¹ 崔红升³ 杨艳丹³ 张广凤³ 梁明辉¹ 陈大同¹

摘要 **目的** 观察 3.0T 磁共振质子波谱成像评价吉西他滨联合黄芪多糖注射液治疗胰腺癌模型的效果。**方法** 选取家兔 60 只成功制备胰腺癌模型,采用随机数字表法分为治疗 1 组、治疗 2 组及对照组,每组 20 只。治疗 1 组家兔给予尾静脉注射多西他滨联合黄芪多糖注射液,治疗 2 组家兔给予尾静脉注射多西他滨注射液,对照组家兔同期给予生理盐水等量注射,共治疗 2 周。对 3 组家兔同时行 3.0T 磁共振质子波谱成像检查,选择单体素点分辨波谱(PRESS)序列,分析波谱成像中代谢物的表现,比较 3 组家兔代谢物峰显示率并计算胆固醇与不饱和脂肪酸的混合峰(Chol + Unsat)与脂肪峰(Lip)峰高的比值(Chol + Unsat/Lip)。**结果** 3 组家兔磁共振质子波谱成像主要代谢峰包括 Lip 峰、Chol + Unsat 峰及胆碱峰(Cho),3 组家兔 Cho 峰显示率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);对照组(Chol + Unsat)/Lip 值为 0.316 ± 0.125 ,治疗 1 组(Chol + Unsat)/Lip 值为 0.224 ± 0.095 ,治疗 2 组(Chol + Unsat)/Lip 值为 0.267 ± 0.101 ,治疗 1 组、治疗 2 组分别与对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),治疗 1 组与治疗 2 组比较,差异亦有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 吉西他滨联合黄芪多糖注射液对胰腺癌模型具有较好的治疗效果,采用 3.0T 磁共振质子波谱成像可通过对代谢物波谱表现等指标评估胰腺癌模型的治疗效果。

关键词 磁共振质子波谱成像;吉西他滨;黄芪多糖注射液;胰腺癌

Treatment of Pancreatic Cancer Model Rabbits by Docetaxel Combined with Astragalus Polysaccharide Injection Evaluated by 3.0T Proton Magnetic Resonance Spectroscopy HAO Li-guo^{1,2}, ZHANG Shu-li¹, CUI Hong-sheng³, YANG Yan-dan³, ZHANG Guang-feng³, LIANG Ming-hui¹, and CHEN Da-tong¹ 1 Medical Technology School of Qiqihar Medical University, Heilongjiang (161000); 2 Faculty of Protein Structure and Function, Academy of Medical Sciences of Qiqihar, Heilongjiang (161000); 3 MR Room, Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Heilongjiang (161000)

ABSTRACT **Objective** To observe the evaluation of 3.0T magnetic resonance spectroscopy imaging (¹H MRS) for clinical efficacy of treating pancreatic cancer by docetaxel combined with Astragalus Polysaccharide Injection (API). **Methods** Recruited were 60 rabbits in which pancreatic cancer model were successfully prepared. Then they were divided into treatment group 1, treatment group 2, and the control group by random number table, 20 in each group. Rabbits in treatment group 1 were injected with docetaxel and API from tail vein. Rabbits in treatment group 2 were injected with gemcitabine from tail vein. Rabbits in the control group were injected with equal volume of normal saline. All rabbits were treated for 2 weeks. Rabbits received 3.0T magnetic resonance proton spectroscopy at the same time. Proton spectroscopy sequence (PRESS) was discriminated by selecting singular point. The performance of metabolites in spectral imaging was analyzed. (Chol + Unsat/Lip) of the mixed peak of cholesterol and unsaturated fatty acids (Chol + Unsat) and the peak of fat (LIP) were calculated and compared among the three groups. **Results** The main metabolic peaks in the magnetic resonance proton spectroscopy of the three groups

基金项目:黑龙江中医药中青年科技攻关项目(No. ZQG-077);齐齐哈尔医学院内科研基金资助项目(No. QY2016M-06)

作者单位:1. 齐齐哈尔医学院医学技术学院(黑龙江 161000); 2. 齐齐哈尔医学科学院蛋白质结构与功能研究室(黑龙江 161000); 3. 齐齐哈尔医学院附属第三医院 MR 室(黑龙江 161000)

通讯作者:张淑丽, Tel:0452-2663500, E-mail: zhangshuli63105@163.com

DOI:10. 7661/j. cjim. 20170614. 135

mainly included Lip peak, Chol + Unsaturated peak and choline (Cho) peak. There was no significant difference in Cho peak rate among the three groups ($P > 0.05$). The mean value of (Chol + Unsaturated)/Lip was (0.316 ± 0.125) in the control group, (0.224 ± 0.095) in treatment group 1, and (0.267 ± 0.101) in treatment group 2. Statistical difference existed between treatment group 1/2 and the control group ($P < 0.05$) as well as between treatment group 1 and treatment group 2 ($P < 0.05$). Conclusions Gemcitabine combined with API had favorable curative effect on pancreatic cancer. The therapeutic effect on pancreatic cancer model could be evaluated by performance of metabolite using 3.0T magnetic resonance proton spectroscopy.

KEYWORDS proton magnetic resonance spectroscopy; gemcitabine; Astragalus Polysaccharide Injection; pancreatic cancer

受近年来全球老龄化社会加剧以及人们生活环境的改变,胰腺癌的发病率与病死率逐年递增,患者 5 年生存率低于 1%,是目前临床上预后效果最差的恶性肿瘤之一^[1]。化疗是胰腺癌的临床主要治疗手段之一,而化疗药物的应用可造成患者的免疫功能低下及其他多种不良反应,中西医结合治疗是近年来临床治疗胰腺癌研究热点^[2],本实验旨在探讨采用 3.0T 磁共振质子波谱成像(¹H MRS)评价吉西他滨联合黄芪多糖注射液治疗胰腺癌模型的效果。

材料与方法

1 动物 60 只家兔,雄性 30 只,雌性 30 只,4~5 月龄,体重 2~3 kg,由齐齐哈尔医学院动物实验中心提供,实验动物许可证号:SYXK(黑)2016-001,动物饲养于齐齐哈尔医学院医学影像与生物医学工程实验中心,饲养环境:室温(20 ± 3)℃,湿度为(55 ± 15)%,光照正常,饮用水及专用标准饲料均经灭菌后提供给实验动物食用,正常喂养。

2 药物 黄芪多糖注射液由四川康尔好药业有限公司提供,20 μg/mL,10 mL/支,批号:150301;吉西他滨注射液由江苏豪森药业股份有限公司生产提供,2.5 mg/mL,批号:150512。

3 试剂及仪器 试剂:脱毛剂(硫化钠与蒸馏水 1:9 配比制成)、75%乙醇、乌拉坦(氨基甲酸乙酯,国药集团化学试剂有限公司,批号:20120327)、安尔碘溶液、生理盐水、注射用氨曲南(海南中化联合制药工业有限公司生产)。仪器:Vivid S6 型超声诊断仪(美国 GE 公司),3.0T Tesla 超导磁共振(美国 GE 公司)。

4 动物模型制备 将已经成功于后腿种植的荷瘤兔(VX-2)2 只用乌拉坦稀释液耳缘静脉麻醉后处死,无菌条件下,对荷瘤兔解剖,取出后腿原位种植的肿瘤团块,置于无菌的培养皿中,用生理盐水反复进行冲洗,剥离肿瘤块边缘坏死组织及其他杂质,取出灰白色鱼肉样肿瘤组织,用手术刀或眼科剪剪成 60 份 0.5~

1 mm³的组织碎块,加入一定量的生理盐水混匀,制成瘤块组织悬液^[3]。将 60 只家兔术前禁食 24 h,禁水 8 h,采用乌拉坦稀释液通过耳缘静脉注射麻醉后,腹部备皮,安尔碘消毒,在剑突下 2cm 处,沿腹白线纵向做 3~4 cm 的切口,用拉钩将皮肤撑开,在腹腔内沿十二指肠找到胰腺的位置,用 50 mL 注射针头、2.5 mL 注射器在胰腺内注射瘤块组织悬液,每只 1 mL,缝合被膜。建模后 1 周内进行消炎治疗,过程如下:2.0 g 注射用氨曲南溶入 0.9% 氯化钠注射液 250 mL 中,50 mL/只,3~5 min 内耳缘静脉推注,1 次/天,连用 7 天。1 周后开始按照实验方案设计,进行治疗。

5 动物分组和给药 采用随机数字表法将 60 只胰腺癌家兔模型分为治疗 1 组、治疗 2 组及对照组,每组 20 只,治疗 1 组胰腺癌家兔模型给予皮下注射黄芪多糖注射液,0.1 mL/kg,1 次/天,连用 2 周;同时将吉西他滨注射液溶入到 0.9% 氯化钠注射液 100 mL 中,尾静脉滴注,剂量 1 000 mg/m²,静脉滴注 30 min,1 次/周,连用 2 周;治疗 2 组胰腺癌家兔模型给予尾静脉注射吉西他滨注射液治疗,剂量、方法同治疗 1 组;对照组胰腺癌家兔模型给予尾静脉滴注 0.9% 氯化钠注射液 100 mL,连用 2 周。

6 检测指标及方法

6.1 荷瘤兔肿瘤以及治疗后肿瘤生长情况监测 应用 Vivid S6 型超声诊断仪对 3 组胰腺癌模型胰腺癌生长情况进行评估,在胰腺癌建模后 1 周开始进行,对胰腺癌模型腹部备皮后进行超声检测。

6.2 磁共振质子波谱分析 测量胆固醇和不饱和脂肪酸的混合峰(Chol + Unsaturated)、脂肪峰(Lip)峰值,计算(Chol + Unsaturated)/Lip 峰高比值。

方法:3 组家兔治疗 2 周,应用 3.0T Tesla 超导磁共振进行检查,应用 8 通道相控表面线圈成像。分别采用快速扰相梯度回波(FSPGR)以及单体素点分析波谱(PRESS),FSPGR 扫描参数为 T₁WI 轴面:TR 200 ms,TE 2.7 ms,激励次数为 0.8,作为磁共振质子

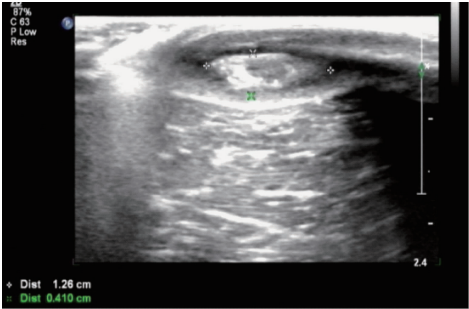
波谱成像定位图像,选择胰腺癌模型胰腺 MRS 兴趣容积(VOI)时应避开胰腺周围脂肪组织;MRS PRESS 序列:TR 1250 ms,TE 35 ms,激励次数 8 次,体素大小为 8 mm × 8 mm × 8 mm,可根据胰腺癌模型胰腺大小适当调整,图像采集时间 150 s,VOI 设置在胰腺癌模型胰腺形态丰满的胰头,以胰头肿物为中心 VOI,在 VOI 前后、左右、上下屈分别设置饱和带,消除胰腺周围脂肪信号的影响。磁共振质子波谱成像前行常规自动预扫描完成匀水和抑水,当线宽(LW) < 25 Hz、抑水率 > 80%时进行波谱成像,每组胰腺癌模型至少获取 1 个满意 VOI 波谱数据。应用 GE 影像工作站中采用 SAGE 7 软件对磁共振质子波谱成像结果进行后处理,计算波谱主要代谢物峰的显示率,在波谱线中 5.4 ~ 5.6 ppm 处测量胰腺癌模型 Chol + Unsat,在 1.3 ppm 处测量 Lip 的峰值,计算胰腺癌模型胰腺磁共振质子波谱成像中 (Chol + Unsat)/Lip 指标。

6.3 (Chol + Unsat)/Lip 峰高比值 ROC 曲线制作 应用 IBM SPSS 17.0 进行数据录入,第一列录入诊断标准结果[即 MRI 最初诊断,并计算的 (Chol + Unsat)/Lip 结果],第二列录入采用 3 组治疗方法后进行检测的数值,应用 ROC 曲线分析,生成曲线坐标值,根据各取值的特异度和灵敏度之和最大的原则求得 cutoff。

7 统计学方法 采用 IBM SPSS 17.0 中文版, (Chol + Unsat)/Lip 指标等计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方有效期分析,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,家兔代谢物异常显示率进行特征曲线 (ROC) 分析,计数资料应用百分率表示,采用 χ^2 检验比较。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

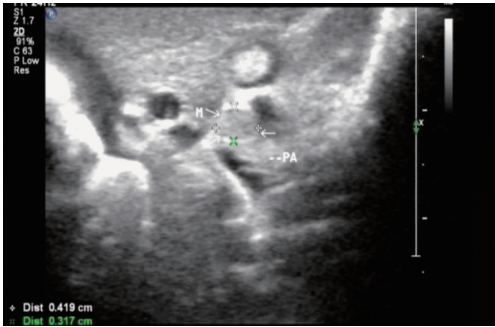
结 果

1 各组家兔生存状态 荷瘤兔肿瘤生长情况 (图 1),见被膜完好,能够进行肿瘤提取。胰腺癌原位

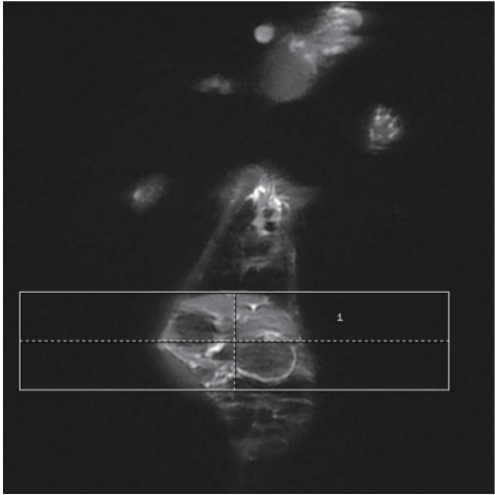


注:右后腿见 1.26 cm × 0.41 cm 肿瘤
图 1 荷瘤兔超声监测图像

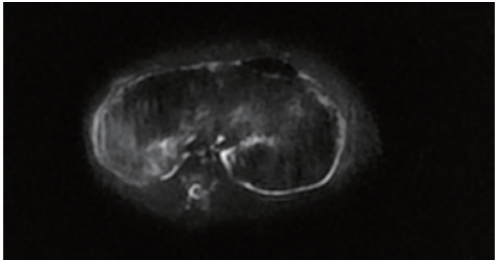
种植后,第 1 周内家兔精神状态均良好,能够自由行走,并可以独立进食。胰腺癌原位种植 1 周后,进行超声检查 (图 2),箭头所示为肿瘤移植成功。治疗第 2 周,进食开始逐渐减少,活动减少,精神状态基本正常,MR 检查图像 (图 3 - 5)。



注:于胰头区见 0.42 cm × 0.32 cm 肿瘤
图 2 原位种植肿瘤超声监测情况

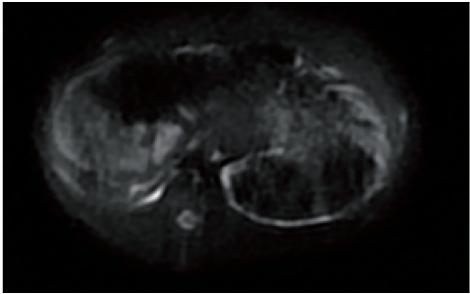


注:扫描区域设定为模型兔整个腹部
图 3 家兔胰腺癌 MRI 扫描区



注:胃体后部脊柱左前方胰头区见高信号影
图 4 胰腺癌原位移植后,治疗 1 组在治疗 2 周后 MRI 图像

2 各组胰腺癌家兔治疗 2 周¹H MRS 代谢物显示率比较 (表 1) 3 组家兔磁共振质子波谱成像主要



注:胃体后部脊柱正前方见稍高信号影

图 5 胰腺癌原位移植后,治疗 2 组在
治疗 2 周后 MRI 图像

代谢峰包括 Lip 峰、Chol + Unsat 峰及胆碱峰(Cho),部分家兔可表现出肌酸峰(Cr),3 组家兔 Cho 峰、Chol + Unsat 峰显示率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 各组胰腺癌家兔治疗 2 周¹H MRS
代谢物显示率比较 [只(%)]

组别	n	Lip 峰	Chol + Unsat 峰	Cho 峰	Cr 峰
治疗 1	20	20(100.00)	19(95.00)	14(70.00)	12(60.00)
治疗 2	20	20(100.00)	19(95.00)	15(75.00)	14(70.00)
对照	20	20(100.00)	18(90.00)	15(75.00)	15(75.00)
χ^2 值			0.367	0.126	1.033
P 值			1.000	1.000	0.501

3 各组胰腺癌家兔治疗 2 周(Chol + Unsat)/Lip 峰高比值比较(表 2) 治疗 1 组和治疗 2 组中各有 1 只未出现 Chol + Unsat 峰,对照组 2 只未出现 Chol + Unsat 峰。治疗 1 组和治疗 2 组(Chol + Unsat)/Lip 比值明显低于对照组($P<0.01$),且治疗 1 组效果优于治疗 2 组($t=4.577, P<0.01$)。

表 2 各组家兔治疗 2 周(Chol + Unsat)/Lip
峰高比值比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	(Chol + Unsat)/Lip	95% CI
治疗 1	19	0.224 ± 0.095 * [△]	0.173 - 0.224
治疗 2	19	0.267 ± 0.101 *	0.196 - 0.308
对照	18	0.316 ± 0.125	0.241 - 0.408

注:与对照组比较,* $P<0.01$;与治疗 2 组比较,[△] $P<0.01$

4 各组家兔(Chol + Unsat)/Lip 峰高比值 ROC 曲线(图 6) 治疗 1 组曲线下面积为 0.78,治疗 2 组曲线下面积为 0.70,对照组曲线下面积为 0.65,胰腺¹H MRS 对代谢物的异常显示率较高,当(Chol + Unsat)/Lip 取值为临界值 0.299 时,¹H MRS 对治疗 1 组代谢物异常显示率的敏感性为 65%,特异性 85%,准确性为 80%。

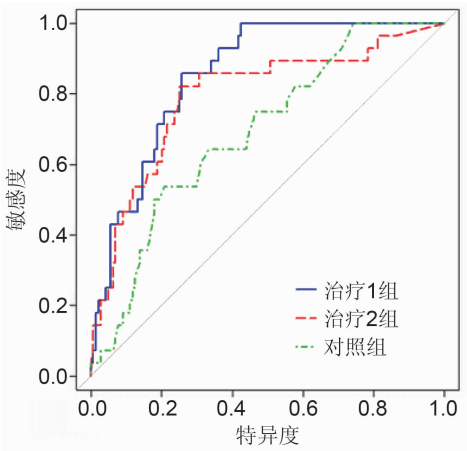


图 6 各组家兔(Chol + Unsat)/
Lip 峰高比值 ROC 曲线

讨 论

胰腺癌是一种恶性程度极高的消化道恶性肿瘤。由于胰腺癌是腺管上皮的导管腺癌并且早期临床症状不典型,因此早期胰腺癌临床检出率并不高^[4]。¹H MRS 是近年来临床应用的磁共振功能成像新技术,与传统 MRI 功能成像不同,MRS 侧重于对感兴趣区代谢物的显示以及图像后处理获取的数据对诊断结果的影响^[5],目前¹H MRS 在临床上普及率不高,国内对于¹H MRS 在胰腺癌诊断的相关报道较少。

吉西他滨是近年来晚期恶性肿瘤化疗主力药物之一,具有较好的临床疗效,但与其他化疗药物一样,吉西他滨同样具有较强的药物毒性^[6],临床肿瘤患者应用治疗后均可出现不同程度的骨髓抑制等不良反应,临床研究已证实黄芪多糖对免疫功能具有显著的调节作用^[7],并且不仅局限于增强免疫器官和细胞的功能,还能刺激细胞因子的释放,影响神经—内分泌—免疫系统网络,促进相关基因的合成和表达^[8,9]。

目前临床对于¹H MRS 的研究主要集中在鉴别胰腺癌与胰腺炎中的应用^[10],对于 Lip 峰高的定义为反映细胞内外脂肪酸的亚甲基(—CH₂—)含量,在胰腺炎中可出现胰腺间质水肿以及炎性细胞浸润,胰腺内外脂肪坏死,其中脂肪坏死的实质是胰脂酶将脂肪分解为脂肪酸和甘油,甘油被吸收,脂肪酸则与钙离子结合,这表明¹H MRS 中代表脂肪酸亚甲基(—CH₂—)含量的 Lip 峰高低并不受影响^[11]。而对于实验中所有家兔胰腺癌模型均出现 Lip 峰、Chol + Unsat 峰、Cho 峰及部分 Cr 峰,表明根据显示率无法准确评估吉西他滨联合黄芪多糖注射液对胰腺癌模型的疗效。而且有研究显示胰腺癌中脂肪组织会因部分胰腺组织

癌变纤维化以及坏死而减少^[12],并且肿瘤本身很少含有脂肪组织,因此胰腺癌模型 Lip 峰值会降低,而正常胰腺组织中的脂质会随着年龄的增长而增多,同时有研究显示在某些恶性肿瘤组织中 Chol 的表达会有所增加^[13],因此是否可以通过各类峰值的比值不同来区分胰腺癌的病变程度,即分析药物对胰腺癌的疗效;通过 ROC 曲线进一步分析可证实,当 (Chol + Unsaturated)/Lip 取值为临界值 0.299 时,¹H MRS 对治疗后家兔胰腺癌免疫功能损伤(代谢物峰值比值异常)^[14]具有较高的诊断水平,这也间接表明¹H MRS 通过对代谢物峰值比值的准确测量评估吉西他滨联合黄芪注射液对胰腺癌的治疗效果。

本实验通过建立家兔胰腺癌模型,研究磁共振质子波谱成像在评估吉西他滨联合黄芪多糖注射液治疗胰腺癌模型的疗效,实验结果显示,吉西他滨联合黄芪多糖注射液治疗的胰腺癌家兔与单纯生理盐水注射的家兔在胰腺代谢物显示率以及 (Chol + Unsaturated)/Lip 峰高比值比较中存在显著差异,初步证实吉西他滨联合黄芪多糖注射液治疗胰腺癌的有效性,同时也表明¹H MRS 在评估胰腺癌疗效中的应用价值。

综上所述,吉西他滨联合黄芪多糖注射液对胰腺癌家兔模型具有一定效果,而采用 3.0T 磁共振质子波谱成像可通过对代谢物波谱表现等指标评估胰腺癌的治疗效果,具有一定的应用及推广价值。

参 考 文 献

- [1] Chakraborty S, Baine MJ, Sasson AR, et al. Current status of molecular markers for early detection of sporadic pancreatic cancer [J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1815(1): 44-64.
- [2] 戴志京,姚世文,严循成. 磁共振波谱对胰腺癌的诊断价值[J]. 放射学实践, 2014, 29(9): 1064-1065.
- [3] 王梓旭,孟鑫,周蕾,等. VX-2 组织悬液原位种植与 Panc-1 细胞悬液原位种植在家兔胰腺癌模型建立中的效果比较[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(3): 302-305.
- [4] Huang WC, Sheng J, Chen SY, et al. Differentiation between pancreatic carcinoma and mass-forming chronic pancreatitis: usefulness of high b

value diffusion-weighted imaging [J]. J Dig Dis, 2014, 12(5): 401-408.

- [5] 苏天昊,申皓,靳二虎,等. 3.0 T 质子磁共振波谱在鉴别诊断胰腺癌和胰腺炎中的初步应用[J]. 国际医学放射学杂志, 2011, 34(5): 413-417.
- [6] Schmid AI, Chmelik M, Szendroedi J, et al. Quantitative ATP synthesis in human liver measured by localized ³¹P spectroscopy using magnetization transfer experiment [J]. NMR Biomed, 2008, 21(5): 437-443.
- [7] 陈卓,于卫江. 注射用黄芪多糖对非小细胞肺癌放疗的作用及对机体免疫的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 309-310.
- [8] 赵美蓉,周洁. 黄芪多糖对恶性肿瘤化疗后骨髓抑制的影响[J]. 天津中医药, 2007, 24(2): 114-115.
- [9] 姜琛璐,汤承,骞宇,等. 黄芪多糖免疫调节作用研究进展[J]. 视频科学, 2013, 34(11): 330-333.
- [10] 印隆林,潘艳霞,陈加源,等. MRI 联合序列检查在胰腺癌与慢性肿块型胰腺炎鉴别诊断中的价值探讨[J]. 四川医学, 2015, 36(3): 410-415.
- [11] Parsons HM, Ludwig C, Viant MR. Line-shape analysis of J-resolved NMR spectra: application to metabolomics and quantification of intensity errors from signal processing and high signal congestion [J]. Magn Reson Chem, 2009, 47(S1): 86-95.
- [12] Kim JK, Altun E, Elias J Jr, et al. Focal pancreatic mass: distinction of pancreatic cancer from chronic pancreatitis using gadolinium-enhanced 3D-gradient-echo MRI [J]. J Magn Reson Imaging, 2007, 26(12): 313-319.
- [13] Vachiranubhap B, Kim YH, Balci NC, et al. Magnetic resonance imaging of adenocarcinoma of the pancreas [J]. Top Magn Reson Imaging, 2009, 20(15): 3-10.
- [14] Schima W, Ba-Ssalamah A, Köblinger C, et al. Pancreatic adenocarcinoma [J]. Eur Radiol, 2007, 17(3): 638-649.

(收稿:2016-06-30 修回:2017-04-16)

责任编辑:李焕荣

英文责编:张晶晶