

组织声学结构定量技术评估慢乙肝肝脏纤维化分级的研究价值

万 颖,郑 慧,李晓金,王 迪,姚 翀,李朝密

摘要 目的 评估组织声学结构定量技术(ASQ)与慢乙肝所致肝脏纤维化分级之间的关系。**方法** 对90例明确肝脏病理穿刺结果的慢乙肝患者及60例健康志愿者进行腹部常规超声检查和ASQ检查,收集图像,每一幅图像选定规定感兴趣区(ROI),用ASQ分析软件脱机分析,比较分析其 χ^2 直方图,计算红色曲线众数(Redmode)、红色曲线均值(Redave)、红色曲线标准差(Redstd)、蓝色曲线众数(Bluemode)、蓝色曲线均值(Blueave)、蓝色曲线标准差(Bluestd)及红蓝曲线下面积比(FD ratio)。比较相应肝脏穿刺结果,经统计分析后,研究各项参数与肝脏穿刺肝纤维化分级结果的统计学差异。**结果** 随着肝纤维化程度的增加,红蓝曲线分布由平滑、锐利变得粗糙、增宽,蓝色曲线下面积逐渐增大。其中,Redmode在正常对照组与S0-1、S1组;S0-1与S1组及

S1-2与S2组之间差异无统计学意义,其余各组之间差异均有统计学意义($P < 0.01$)。Redave在正常对照组与S0-1、S1组;S0-1与S1组及S1-2与S2组、S2-3组之间差异无统计学意义,其余各组之间差异均有统计学意义。Redstd、Blue-mode、Blueave及FD ratio在正常对照、S0-1、S1、S1-2、S2与S3组间差异均有统计学意义($P < 0.05$),Bluestd在任意两组间差异均无统计学意义。**结论** ASQ技术作为一项无创性评价肝纤维化程度的技术,其红蓝曲线 χ^2 直方图及7个参数值对肝纤维化分级的评估具有重要价值,其中,Redmode及Redave参数意义最大。

关键词 组织声学结构定量技术;肝纤维化;慢性乙型肝炎

中图分类号 R 512.6; R 445.11

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2015)10-1500-04

2015-06-29 接收

基金项目:安徽省高校自然科学基金重点项目(编号:KJ2013A166)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院超声科,合肥 230022

作者简介:万 颖,女,硕士研究生;

郑 慧,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: zhenghuiyafysk@163.com

作为各种病因所致慢性肝病的共同病理过程,肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)成为慢性肝病发生发展至肝硬化的早期和必经阶段^[1],是肝炎-肝硬化-肝癌三步曲的中间环节。由于其缺乏特异性的临床症状,尚难以早期诊断。临床研究^[2]表明,及时

Correlation study between indoleamine 2,3-dioxygenase(IDO) and T lymphocytes in cervical cancer and CINⅢ

Du Shihua, Hu Chuanyu, Lu Dawei, et al

(Dept of Obstetrics and Gynecology, The Affiliated Hefei Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230011)

Abstract Objective To investigate the expression of indoleamine 2,3-dioxygenase(IDO) how to effect on T lymphocyte activity, in order to understand the mechanism of immune escape of cervical cancer. **Methods** Selected 20 patients with CINⅢ, 20 cases with cervical cancer and 20 cases with normal cervical for comparison, used flow cytometry to detect the number of each group CD3⁺T, CD4⁺T, CD8⁺T, CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Tregs and CD4⁺/CD8⁺. Used semi-quantitative RT-PCR and Western blot to detect IDO mRNA and expression of IDO, and to analyze the effect on T lymphocyte active in cervical tissue. **Results** The expression of IDO was significantly different among the three group ($P < 0.001$). The positive rate of IDO in cervical cancer was significantly higher than that in CINⅢ and normal cervical ($P < 0.001$). The positive rate of IDO in CINⅢ was significantly higher than that in normal cervical ($P < 0.001$). The number of CD3⁺T, CD4⁺T, CD8⁺T and CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Tregs was significantly different among the three group ($P < 0.001$). The positive expression of IDO was negatively correlated with the number of CD3⁺T, CD4⁺T, CD8⁺T, and positively correlated with CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Tregs. **Conclusion** IDO inhibits T lymphocyte activity. Cervical cancer patients with low immune function can cause the tumor cells escape from immune surveillance, may lead to disease progression.

Key words indoleamine 2,3-dioxygenase; cervical cancer; CINⅢ; T lymphocytes

给予肝纤维化早期有效治疗不仅可以有效防止肝硬化的产生,甚至逆转肝纤维化发展。因此,早期、及时、准确评估肝纤维化程度,并对其进行干预治疗,对防止肝硬化及原发性肝癌具有重要的临床意义。组织声学结构定量技术(acoustic structure quantification, ASQ)是近年来出现的一种无创性检测技术,不仅能避免有创性检查,而且客观性、准确性和可重复性高,可为临床应用提供重要参考依据。该研究主要对 ASQ 技术对肝脏纤维化分级评估的价值进行阐述。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取2013年6月~2015年2月于安徽医科大学第一附属医院经肝组织穿刺活检确诊肝纤维化的慢性乙型肝炎患者90例作为肝纤维化组,其中男53例,女37例;年龄17~63(38.93 ± 11.33)岁,排除肝炎合并脂肪肝者及其他肝脏疾病者。《病毒性肝炎防治方案》慢性肝炎纤维化分级标准^[3]病理学诊断分级为:S0级为无纤维化;S1级为汇管区纤维化扩大,局限窦周及小叶内纤维化;S2级为汇管区周围纤维化,纤维隔形成,小叶结构保留;S3级为纤维间隔伴小叶结构紊乱,无肝硬化;S4级为早期肝硬化。研究S0-1至S3级,将肝纤维化组按肝穿结果分为S0-1组($n=17$)、S1组($n=14$)、S1-2组($n=14$)、S2组($n=22$)、S2-3组($n=12$)、S3组($n=11$)。选取同期于本院体检合格的健康者60例作为正常对照组,其中男34例,女26例;年龄22~59(35.16 ± 9.48)岁,无肝病史及肝病临床表现,血生化指标正常,病毒感染标志物阴性。两组性别、年龄^[4]相匹配,差异无统计学意义($t = -1.613, P > 0.05$)。

1.2 仪器 Aplio500 彩色多普勒超声诊断仪(日本东芝公司),凸阵探头,THI 5.0 MHz,内置 ASQ 成像技术软件。

1.3 研究方法与步骤 受检者取平卧位或左侧卧位,充分暴露上腹部,双手抱头以增宽肋间隙。首先行常规二维超声条件检查,选取肝穿刺感兴趣区(region of interest, ROI)(肝右叶 S7、S8 段),冻结存储二维图像。选取 ROI 应最大限度的避开 Glisson's 系统。研究^[5]表明,肝右叶 S7、S8 段切面可以最低的无效检测获得最佳的 ASQ 评估;随后嘱受检者屏住呼吸,开启 ASQ 检测功能,存储动态影像 3~4 s。行 ASQ 检查后当天于同一部位行肝穿刺组织病理活检;最后运用 ASQ 分析软件对图像进行脱机分

析:ROI 尽可能与该切面肝包膜垂直,置于肝包膜下 3~6 cm 处,取样框不小于 3.0 cm × 2.0 cm,焦点 4.0 cm,分析获得红色曲线众数(Redmode)、红色曲线均值(Redave)、红色曲线标准差(Redsd)、蓝色曲线众数(Bluemode)、蓝色曲线均值(Blueave)、蓝色曲线标准差(Bluesd)及红蓝曲线下面积比(FD ratio),同一受检者选取 3 处 ROI,取 3 次结果平均值行统计分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析。方差齐性检验水准为 0.5。

2 结果

2.1 ASQ χ^2 直方图红蓝曲线变化 正常对照组红蓝曲线走行平滑,红线峰值略偏向 100 cm² 位置右侧,肝纤维化时,随着纤维化程度的增加,红蓝曲线走行粗糙不平,且蓝线曲线下面积增大,蓝线峰值增大,偏离 100 cm²。见图 1。

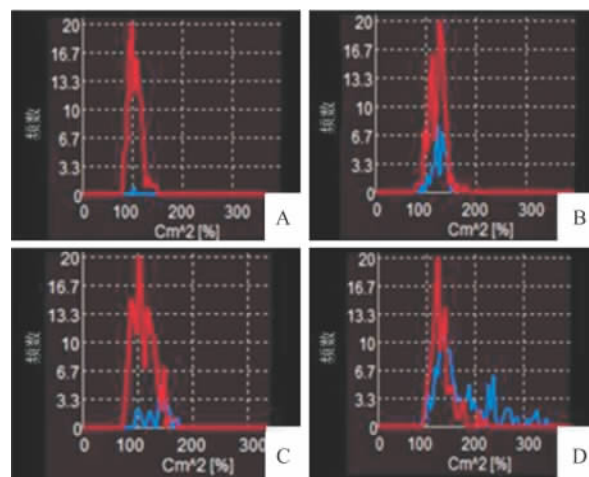


图1 各组的 ASQ 红蓝 χ^2 直方图曲线
A: 正常对照组; B: S1 组; C: S2 组; D: S3 组

2.2 红蓝曲线参数各级肝纤维化比较

2.2.1 红色曲线参数 Redmode 值: 正常对照、S0-1、S1 3 组分别与 S1-2、S2、S2-3、S3 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$); S1-2 和 S2 组分别与 S2-3、S3 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$); S2-3 组与 S3 组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。Redave 值: 正常对照组分别与 S2、S2-3、S3 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$); S0-1 组分别与 S1-2、S2、S2-3、S3 组,差异均有统计学意义($P < 0.01$); S1-2 组分别与 S1、S3 组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$); S2-3 组分别与 S2、S3 组比较,差异有统计

表1 正常对照组及各级肝纤维化组的 ASQ 定量参数($\bar{x} \pm s$)

组别	Redmode	Redave	Redsd	Bluemode	Blueave	Bluesd	FD ratio
正常对照	102.59 ± 3.15 ^{##△□□▲▲}	107.53 ± 4.52 ^{△△□□▲▲}	16.56 ± 2.15 [▲]	122.03 ± 7.23 [▲]	131.56 ± 7.78 [▲]	24.61 ± 7.01	0.14 ± 0.81 ^{□▲}
S0-1	103.92 ± 3.94 ^{##△□□▲▲}	107.54 ± 3.35	15.59 ± 1.47 [▲]	120.33 ± 6.50 [▲]	126.53 ± 6.52 [▲]	20.89 ± 4.28	0.99 ± 0.65 ^{□▲}
S1	104.19 ± 3.64 ^{##△□□▲▲}	106.91 ± 3.89	15.73 ± 1.84 [▲]	119.60 ± 9.78 [▲]	125.97 ± 11.13 [▲]	22.18 ± 7.35	0.96 ± 0.76 ^{□▲}
S1-2	108.18 ± 3.98	112.50 ± 2.75 ^{▲▲**}	16.35 ± 1.13 [▲]	123.77 ± 7.11 [▲]	129.41 ± 5.08 [▲]	19.84 ± 3.99	0.15 ± 0.82 ^{□▲}
S2	107.61 ± 3.72	110.32 ± 4.67	15.87 ± 1.80 [▲]	120.35 ± 6.35 [□]	127.60 ± 6.15 [▲]	20.31 ± 6.11	0.13 ± 0.55 ^{□▲}
S2-3	111.70 ± 3.41 ^{##△△}	114.19 ± 3.90 ^{△△▲▲}	16.85 ± 1.97	125.22 ± 4.58	131.21 ± 8.61	21.60 ± 7.49	0.24 ± 0.12
S3	116.40 ± 6.10 ^{##△△}	118.02 ± 5.33	18.04 ± 2.49	129.35 ± 9.44	136.35 ± 8.30	22.71 ± 6.74	0.34 ± 0.24

与 S1 组比较: ** $P < 0.01$; 与 S1-2 组比较: ## $P < 0.01$; 与 S2 组比较: △△ $P < 0.01$; 与 S2-3 组比较: □ $P < 0.05$, □□ $P < 0.01$; 与 S3 组比较: ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

学意义($P < 0.01$)。Redsd 值: 正常对照、S0-1、S1、S1-2、S2 组分别与 S3 组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。以上参数中, Redmode 及 Redave 参数在各组别之间比较差异有统计学意义, 相关 P 值见表 2、3。

表2 Redmode 值在任意两组间比较的 P 值

组别	正常对照	S0-1	S1	S1-2	S2	S2-3	S3
正常对照	-	0.310	0.664	0.000	0.000	0.000	0.000
S0-1	-	-	0.610	0.003	0.005	0.000	0.000
S1	-	-	-	0.001	0.001	0.000	0.000
S1-2	-	-	-	-	0.675	0.026	0.000
S2	-	-	-	-	-	0.005	0.000
S2-3	-	-	-	-	-	-	-
S3	-	-	-	-	-	-	-

表3 Redave 值在任意两组间比较的 P 值

组别	正常对照	S0-1	S1	S1-2	S2	S2-3	S3
正常对照	-	0.995	0.256	0.001	0.028	0.000	0.000
S0-1	-	-	0.027	0.001	0.036	0.000	0.000
S1	-	-	-	0.000	0.002	0.000	0.000
S1-2	-	-	-	-	0.120	0.239	0.001
S2	-	-	-	-	-	0.009	0.000
S2-3	-	-	-	-	-	-	0.026
S3	-	-	-	-	-	-	-

2.2.2 蓝色曲线参数 Bluemode 值: 正常对照、S0-1、S1、S1-2、S2 组分别与 S3 组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Blueave 值: 正常对照、S1、S1-2、S2 组分别与 S3 组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Bluesd 在任意两组中差异均无统计学意义。见表 1。

2.2.3 FD ratio 正常对照、S0-1、S1、S1-2、S2 组分别与 S2-3 和 S3 组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

3 讨论

目前肝纤维化诊断的“金标准”^[6] 为肝脏病理

穿刺活检, 其为有创性, 昂贵, 可重复性差, 而且肝脏穿刺仅能评估 1/50 000 的肝实质^[6], 对于较小或碎片状病灶, 可能低估肝纤维化程度, 诊断准确性可能受到非目的样本及观察者变异的影响, 不适用于普通人群的普查和随访。

超声对组织结构声学特性的改变具有高敏感性, 正常肝实质结构与纤维化肝实质结构形成不同的散射结构, 回声幅值的统计学特性存在差异。ASQ 技术利用回声差异的原理, 将系统内置的正常肝组织回声信号强度做为分析标准, 对实测肝组织 ROI 的回声强度(振幅)进行 χ^2 检验。经 ASQ 软件处理得红、蓝曲线, 分别代表 ROI 内正常回声强度取样点($\mu + 4\sigma$ 范围内的取样点)及高回声强度取样点($\mu + 4\sigma$ 范围外的取样点), 计算后得 χ^2 直方图。 χ^2 值越大, 回声信号差异性越大, 表明肝组织均匀性越差。

本研究对 90 例不同肝纤维化等级患者的肝脏回声进行研究, 其中 Redmode 值与 Redave 值对临床肝纤维化分级意义最大, 与研究^[7] 结果一致。且两者随肝纤维化程度的增加呈递增趋势, S0-S3 组多数组间差异有统计学意义。Toyoda et al^[8] 采用 ASQ 技术研究了慢性丙型肝炎患者的肝纤维化程度, 与活检比较显示, ASQ 定量参数与肝纤维化等级有很好的相关性, 本研究结果与之一致。本研究中, Redmode 值在正常对照组与 S0-1、S1 组; S0-1 与 S1 组及 S1-2 与 S2 组之间差异无统计学意义, 说明 Redmode 值在上述相关对应的肝纤维化级别的组间诊断尚存质疑, 可能由于分期过近、肝脏组织回声差异性过小、肝脏穿刺误差所致, 需要更大的样本量及实验方法改良等进行后续研究。Redave 值在正常对照组与 S0-1、S1 组; S0-1 与 S1 组及 S1-2 与 S2 组、S2-3 组之间差异无统计学意义, 说明 ASQ 技术 Redave 值在上述相关对应的肝纤维化级别的组间的差异也须更深层侧的研究。而 Redsd、蓝线参数

(除 Bluesd 外) 及 FD ratio 均在正常对照、S0-I、S1、S1-2、S2 组与 S3 组间差异有统计学意义,是由于慢性乙肝患者肝内异常基质增多,纤维化条索及结节的结构大于超声波长,形成不同的散射结构,声阻抗增大,对肝纤维化准确分级意义较小,与王云忠等^[9]观点相悖。红蓝两线标准差在肝纤维化组间比较无明显规律性变化,可能由于随机高强度样本过多,各级纤维化信号强度差异较小所致^[10]。

参考文献

- [1] 欧阳瑾,唐锐先,李 伟. 肝纤维化的诊断与治疗进展[J]. 吉林医药学院学报, 2008, 29(4): 223-7.
- [2] 袁晓英. 肝纤维化的药物治疗[J]. 中国实用医药, 2010, 5(13): 153-4.
- [3] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(6): 324-9.
- [4] 杨国春,宫 建,王学梅,等. 组织结构声学定量技术评估正常成人肝脏组织声学结构的初步研究[J]. 中国医学工程,

- 2013, 21(7): 22-3.
- [5] Ricci P, Marigliano C, Cantisani V, et al. Ultrasound evaluation of liver fibrosis: preliminary experience with acoustic structure quantification (ASQ) software[J]. Radiol Med, 2013, 118(6): 995-1010.
- [6] Bravo A A, Sheth S G, Chopra S. Liver biopsy[J]. N Engl J Med, 2001, 344(7): 495-500.
- [7] 程 蕾. 超声组织结构声学定量分析在肝纤维化分级和肝硬化分型中的价值研究[D]. 第二军医大学, 2013.
- [8] Toyoda H, Kumada T, Kamiyama N, et al. B-mode ultrasound with algorithm based on statistical analysis of signals: evaluation of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C[J]. AJR Am J Roentgenol, 2009, 193(4): 1037-43.
- [9] 王云忠,王学梅,李银燕,等. 组织结构声学定量技术在肝脏弥漫性病变中的应用价值[J]. 世界华人消化杂志, 21(5): 448-53.
- [10] 王 迪,郑 慧,李晓金,等. 组织声学结构定量技术对肝纤维化程度的定量研究[J]. 安徽医科大学学报, 2014, 49(12): 1780-82.

The value of acoustic structure quantification technology in grading liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B

Wan Ying, Zheng Hui, Li Xiaojin, et al

(Dept of Medical Ultrasonics, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective Assess the relationship between acoustic structure quantification technology and the grade of liver fibrosis resulted from chronic hepatitis B. **Methods** 60 healthy volunteers and 90 patients with histologically proven chronic hepatitis B virus were examined by B-Mode ultrasound with ASQ software. Collected images, select ROI specifically in each image. Then analyzed them with ASQ analysis software offline, compared analysis of their χ^2 histogram, calculated Redmode, Redave, Redsd, Bluemode, Blueave, Bluesd and FD ratio. Compared the corresponding pathologic results of the liver biopsy. After statistical analysis, then examined the statistical differences between each parameter of ASQ and grade of pathologic result of liver fibrosis. **Results** Red histogram curve and blue histogram curve in the horizontal distribution were more rough, broader, the area under blue curve was much larger than the red as with the degree of liver fibrosis increased. Redmode showed a statistical difference between two groups ($P < 0.01$) except for the normal control group, S0-I and S1 group, S0-I and S1 group, S1-2 and S2 group; Redave showed a statistical difference between two groups ($P < 0.05$) except for the normal control group, S0-I and S1 group, S0-I and S1 group, S1-2 and S2 and S2-3 group; Redsd, Bluemode, Blueave and FD ratio all showed significant difference between the normal control group, S0-I, S1, S1-2, S2 group, S2-3 and S3 group ($P < 0.05$). There was no significant difference between any two groups in Bluesd. **Conclusion** As a noninvasive assessment of measuring liver fibrosis, ASQ technology's 7 parameters and χ^2 parameter histograms of red and blue curves play an important role in regarding the grade of liver fibrosis, in which, Redmode and Redave show the greatest significance.

Key words acoustic structure quantification; hepatic fibrosis; chronic hepatitis B