

## <sup>18</sup>F-FDG PET/CT 显像检测SD大鼠肝纤维化

苏舒, 唐刚华, 聂大红, 熊鸷, 马慧, 林丽萍, 元龚骏, 向贤宏  
(中山大学附属第一医院影像医学与核医学科, 广东广州 510080)

**摘要:**【目的】探讨<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像评价SD大鼠肝纤维化疾病。【方法】12只(170±10)g雄性SD大鼠随机分为模型组(TAA组)和对照组,每组6只。模型组大鼠每周两次腹腔注射4%硫代乙酰胺,每次剂量200 mg/kg;对照组腹腔注射等比例生理盐水。注射6周后对两组大鼠行<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像,检测肝组织摄取<sup>18</sup>F-FDG情况。显像后解剖两组大鼠观察肝脏解剖形态学变化并取其肝脏用于HE染色、Masson染色和羟脯氨酸含量测定。【结果】模型组解剖形态显示肝脏肿胀、表面欠光滑、边缘圆钝,对照组肝脏大小及比例正常、外表光滑、边缘锐利;HE染色显示模型组大鼠肝血窦区和肝细胞周围中性粒细胞大量募集;Masson染色显示模型组大鼠肝组织明显纤维增生和胶原沉积;羟脯氨酸含量测定显示模型组大鼠肝组织羟脯氨酸含量增高( $P<0.001$ );<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像模型组大鼠肝脏放射性摄取增加,其<sup>18</sup>F-FDG摄取值明显高于对照组( $P<0.001$ )。【结论】<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像可用于无创诊断肝纤维化。

**关键词:**肝纤维化;诊断;PET/CT;<sup>18</sup>F-FDG

中图分类号:R445.5

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2019)01-0124-06

### Molecular PET/CT Imaging with <sup>18</sup>F-FDG for Diagnosis of SD Rat's Liver Fibrosis

SU Shu, TANG Gang-hua, NIE Da-hong, XIONG Ying, MA Hui, LIN Li-ping, YUAN Gong-jun,  
XIANG Xian-hong

Department of Imaging and Nuclear Medicine, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080

Corresponding to: XIANG Xiao-hong; E-mail: med.interventional@163.com

**Abstract:**【Objective】To assess the value of <sup>18</sup>F-FDG PET/CT for imaging liver fibrosis. 【Methods】12 male SD rats (170±10 g) were divided into model group (TAA group) and control group. In the model group, 200 mg/kg thioacetamide dissolved in sterile saline was administered to rats by means of intraperitoneal injection twice a week for a total of 6 weeks. In the control group, rats were treated with the same volume of saline. At week 6 after injection, <sup>18</sup>F-FDG PET/CT imaging was performed on two groups and measurement of the liver <sup>18</sup>F-FDG uptake in two groups was taken. After PET/CT scans, all rats were sacrificed to observe anatomical morphological changes. Liver tissues were harvested for hematoxylin and eosin (H&E) staining, Masson staining and measurement of hydroxyproline levels. 【Results】Liver anatomical morphology of the TAA-induced rats was roughness with blunt margins and coarse surfaces, while control rats showed sharp margins and smooth surfaces. HE staining showed visible histological changes that hepatocyte and liver sinus area surrounded by plentiful recruited hepatocyte neutrophils in the model group. Masson staining showed that obvious proliferation of fibroblasts and deposition of collagen in liver tissues in the model group. Model group showed higher hydroxyproline content than that in the control group ( $P<0.001$ ). The results of <sup>18</sup>F-FDG imaging indicated that apparent liver radioactivity concentration in the model group. <sup>18</sup>F-FDG uptake value of liver tissues in the model group was higher than that in the control group ( $P<0.001$ ). 【Conclusion】<sup>18</sup>F-FDG PET/CT imaging could be used for diagnosis of liver fibrosis noninvasively.

**Key words:** hepatic fibrosis; diagnosis; PET/CT; <sup>18</sup>F-FDG

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2019, 40(1): 124-129]

收稿日期:2018-08-12

基金项目:国家自然科学基金(81671719);广东省科技计划项目(2016B090920087, 2013B021800264);广州市科技计划项目(201604020169, 201510010145);广东省医学科学基金(2015A030313067)

作者简介:苏舒,硕士研究生, E-mail: 15626214090@163.com;向贤宏,通信作者,副教授,硕士生导师,研究方向:影像医学与核医学, E-mail: med.interventional@163.com

肝纤维化是各种慢性炎症刺激导致的常见病理结果,其主要病理变化为肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化,并诱导过量细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在肝血窦区和肝细胞周围积聚,逐渐形成纤维瘢痕<sup>[1]</sup>。肝纤维化持续受到炎症因子刺激将导致肝硬化、肝细胞癌等终末期肝病。一般而言,肝纤维化可以逆转,而肝硬化目前除了针对病因治疗或肝移植之外,没有可用于肝硬化的有效治疗措施<sup>[2]</sup>,因此,有必要建立灵敏度和特异性高的诊断方法用于检测肝纤维化疾病严重程度和评估抗纤维化疗效。目前临床上用于肝纤维化诊断所采用的病理学和影像学检查方法主要是肝组织活检<sup>[3]</sup>和超声弹性成像<sup>[4]</sup>、MRI弹性成像<sup>[5]</sup>,但以上诊断方法均有不足和缺陷。近年来,正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)已被广泛应用于评估传染性、炎症性和退行性疾病<sup>[6-7]</sup>。其中<sup>18</sup>F-FDG是目前临床上最常使用的放射性示踪剂,在肿瘤、炎症等代谢活性高的疾病组织中会出现特异性浓聚及高摄取现象。在一项评估肝脏脂肪变性疾病对肝脏代谢活性影响的研究中,Bural等<sup>[8]</sup>报道了弥漫性肝脏脂肪变性患者具有更大的肝脏平均SUV值和肝脏最大SUV值及更大的肝脏代谢体积,作者认为与弥漫性肝脂肪变性有关的活动性炎症可能是导致这些患者肝脏代谢活动增加的一个可能原因,肝纤维化疾病的主要病理特征是炎症,参与肝脏炎症进程的炎症细胞包括库否细胞,浸润性巨噬细胞,T淋巴细胞,嗜中性粒细胞和树突细胞等<sup>[9]</sup>。已有多项研究证明,<sup>18</sup>F-FDG作为非特异性示踪剂,已经发现其可在感染部位和炎症部位累积<sup>[10]</sup>。以上结果为本实验提供了启示:探究<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像用于无创诊断慢性炎症刺激引起的肝纤维化的可行性。本实验研究旨在通过观察并分析模型动物肝纤维化病灶处<sup>18</sup>F-FDG浓聚情况与肝组织纤维化病理变化的关系,探讨<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像是否可无创应用于肝纤维化的显像诊断,为肝纤维化疾病进展程度和抗纤维化疗效评估提供有效检测手段。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 试剂及设备 <sup>18</sup>F-FDG由中山大学附属第

一医院核医学科提供,2%戊巴比妥钠、酒精、注射器购置于武汉谷歌生物科技有限公司,羟脯氨酸含量测试盒购置于Abcam公司,硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA, 98%)购置于Sigma-Aldrich公司,小动物PET/CT显像仪器(Siemens, Knoxville, TN)购置于Siemens公司。

1.1.2 实验动物 成年SD雄性大鼠(SPF级),体质量为160~180 g,由中山大学实验动物中心东校区提供[SYXK(粤)2016-0112]。

### 1.2 方法

1.2.1 大鼠肝纤维化模型的建立及分组 成年雄性SD大鼠在SPF级环境下饲养,其饲养在25℃室内温度及12 h明/暗周期更替的环境中并可自由获得标准饲料和饮用水。动物研究实验方案符合中山大学动物伦理委员会的相关伦理规定并通过委员会批准。12只大鼠随机分为模型组(TAA)和对照组(CTL),每组6只。模型组给予每周两次腹腔注射4%硫代乙酰胺200 mg/kg,持续时间为6周;对照组大鼠每周两次腹腔注射等量的灭菌生理盐水,持续时间为6周。

1.2.2 <sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像 腹腔注射6周后,所有大鼠在进行显像前均需禁食至少6 h。两组大鼠以2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后经尾静脉注入<sup>18</sup>F-FDG生理盐水溶解液(37 MBq/kg, 1 mCi/kg)。尾静脉注射1 h后将大鼠仰卧位置于小动物PET/CT显像仪器进行PET/CT扫描,扫描时间为25 min,包括10 min CT扫描及15 min PET扫描。观察两组大鼠肝组织的<sup>18</sup>F-FDG摄取情况和测量肝脏纤维化区域<sup>18</sup>F-FDG摄取值(%ID/g)。

1.2.3 解剖形态学、HE染色、Masson染色和羟脯氨酸含量测定 经<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像后,两组大鼠经2%戊巴比妥钠过量麻醉后颈椎脱臼处死,解剖大鼠打开腹腔暴露肝区,观察模型组和对照组肝脏解剖形态学。大鼠经生理盐水灌注取材后分离出肝脏组织,取肝脏左叶组织样本经40 g/L多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋,制成4 μm切片,行HE染色用于常规组织病理学检查及Masson染色用于评估纤维化程度。显微镜下观察两组大鼠肝脏组织病理组织学情况和纤维、胶原增生情况。另取肝脏右叶组织样本用于肝组织羟脯氨酸含量测定,测定方法按照试剂盒的说明进行。肝脏组织羟脯氨酸浓度与胶原蛋白密切相关,测量其含

量可作为肝纤维化严重程度的指标<sup>[11]</sup>。

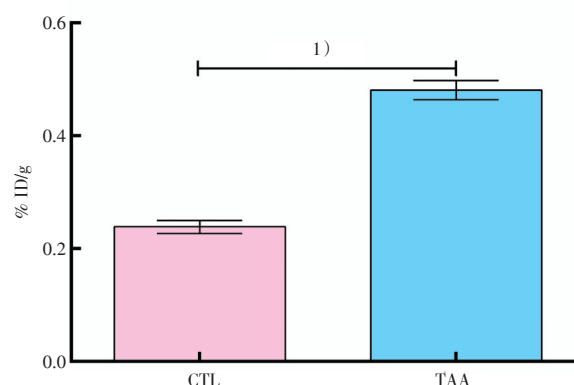
### 1.3 统计学分析

实验所有数据采用Graphpad Prism 6软件进行统计分析,计量资料均采用平均值±标准差( $\bar{X} \pm S$ )表示。两个独立样本比较采用Student-*t*检验。当 $P < 0.05$ 时,认为两组样本的差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠肝脏纤维化的<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像结果

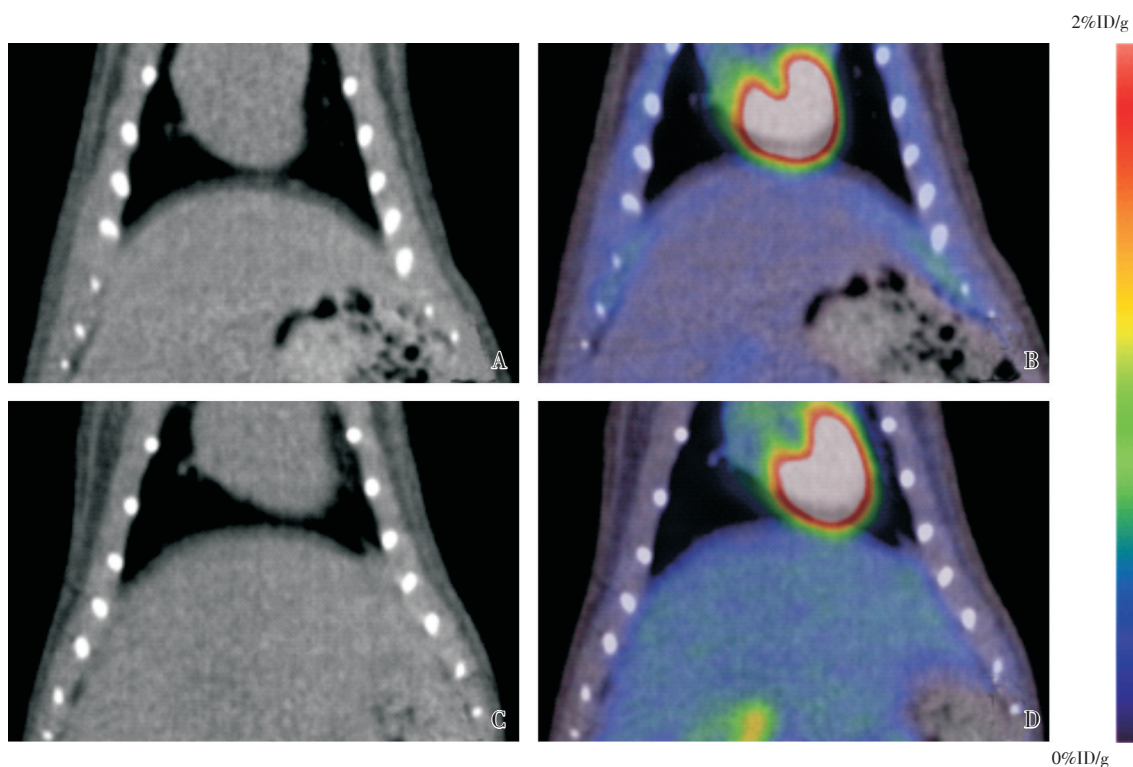
观察并分析<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像图,CT图结果显示低分辨CT不能鉴别对照组及模型组大鼠肝脏密度差异。PET与CT融合图结果显示对照组大鼠肝脏组织未见明显放射性浓聚;模型组大鼠肝脏处可见较高的放射性浓聚(图1)。模型组大鼠肝脏组织感兴趣区<sup>18</sup>F-FDG的摄取值明显高于对照组[( $0.481 \pm 0.010$ ) vs ( $0.238 \pm 0.007$ )]% ID/g,  $t = 20.46$ ,  $P < 0.001$ ;图2]。



1)  $P < 0.001$ , CTL: Control, TAA: thioacetamide; <sup>18</sup>F-FDG uptake of liver tissues showed that TAA group was significantly higher than that in the control group ( $n = 6$  per group,  $P < 0.001$  vs Control).

图2 两组大鼠肝组织的<sup>18</sup>F-FDG摄取值比较

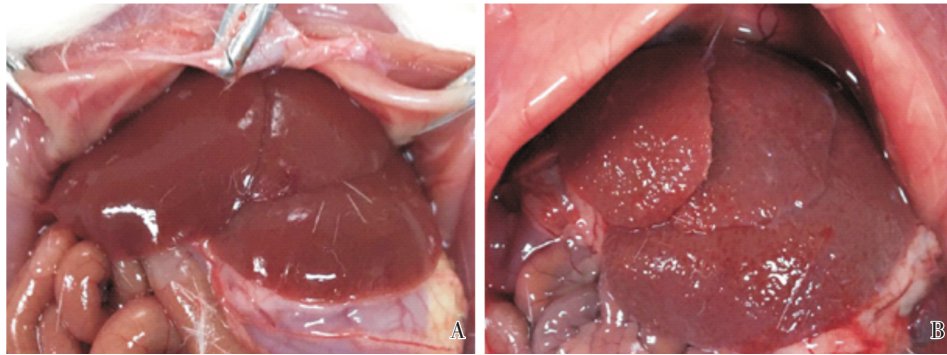
Fig.2 <sup>18</sup>F-FDG uptake of liver tissues in control and TAA group



A: CT image of the control group; B: Fused PET/CT image of the control group; C: CT image of the model group; D: Fused PET/CT image of the model group.

图1 两组大鼠肝组织的<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像图

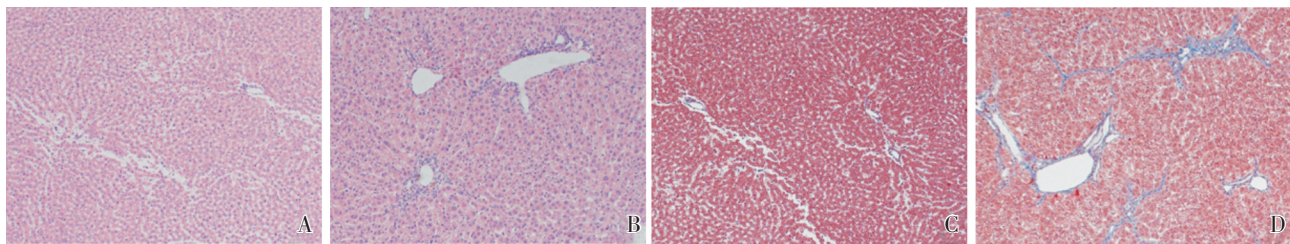
Fig.1 <sup>18</sup>F-FDG PET/CT images of liver tissues in control and model group



A: Gross image of liver treated with saline; B: Gross image of liver treated with TAA.

图3 两组大鼠6周后肝组织的解剖形态学改变

Fig.3 Anatomical morphological changes of liver tissues in control and TAA-induced rats



A: HE staining of liver treated with saline; B: HE staining of liver treated with TAA; C: Masson staining of liver treated with saline; D: Masson staining of liver treated with TAA.  $\times 40$ .

图4 两组大鼠6周后肝组织的病理组织学变化及胶原沉积情况

Fig.4 Pathological changes and collagen deposition of liver tissues in control and TAA-induced rats

## 2.2 解剖形态学改变、病理组织学变化和羟脯氨酸含量检测

在<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像结束后,两组大鼠经解剖暴露肝区,对照组肝脏大小及比例正常,肝脏表面光滑平整,边缘锐利;模型组大鼠肝脏表面则粗糙不均,呈微小细颗粒观(图3)。对照组大鼠肝组织镜下HE染色及Masson染色切片观察结构正常,无明显病理变化。模型组大鼠肝组织HE染色显示肝组织结构紊乱,肝血窦区和肝细胞周围中性粒细胞募集;Masson染色结果显示大鼠肝组织内纤维增生,胶原纤维伸入肝细胞和肝血窦区(图4)。检测两组大鼠肝组织的羟脯氨酸含量用以评估肝组织内纤维增生和胶原沉积情况。结果显示模型组大鼠肝组织羟脯氨酸含量明显高于对照组[(3.507 ± 0.144) vs (0.317 ± 0.053) mg/L,  $t=20.74$ ,  $P<0.001$ ;图5]。

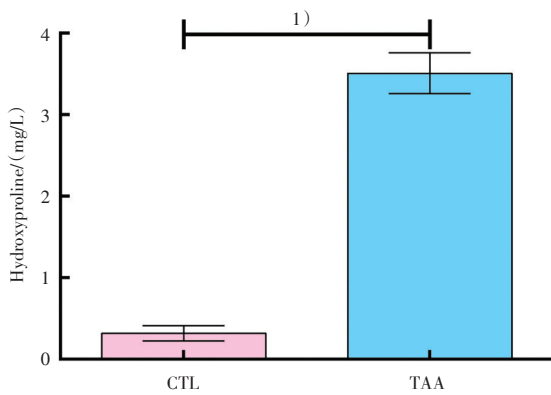
## 2.3 肝组织<sup>18</sup>F-FDG摄取值与纤维化程度的关系

造模6周后,模型组肝细胞周围和肝血窦区可见明显的纤维增生和胶原沉积。与病理结果显

示一致,两组大鼠显像图在相同的放射性本底值处理下,模型组肝组织纤维化区<sup>18</sup>F-FDG可见较高浓聚,且<sup>18</sup>F-FDG摄取量明显高于对照组。数据分析结果显示,模型组<sup>18</sup>F-FDG摄取值与羟脯氨酸含量具有密切相关性( $R^2=0.9321$ ,  $P=0.0018$ ;图6)。

## 3 讨论

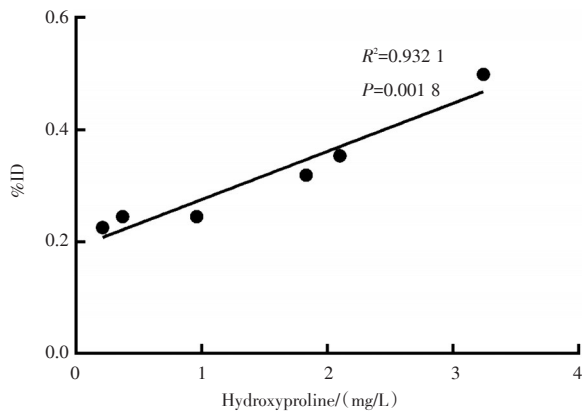
肝纤维化是各种慢性肝病进展中由于肝内细胞外基质合成与降解失衡,致使过多的胶原在肝内沉积,并逐渐形成纤维性瘢痕,常伴有炎症并可进展为肝硬化甚至肝癌<sup>[1,12]</sup>。肝硬化是全球肝病相关发病率和死亡率的主要原因,慢性肝病在我国是常见病、多发病,在中国约3亿人受肝病困扰<sup>[13]</sup>。因此非侵入性、准确的诊断方法对于诊断早期肝纤维化疾病,监测肝纤维化疾病进展和评估抗纤维化治疗疗效具有重要意义。目前,肝组织活检是临床肝纤维化诊断和分期的金标准<sup>[3]</sup>。



1)  $P < 0.001$ , CTL: Control, TAA: thioacetamide; The graph showed that the hydroxyproline content of TAA group was significantly higher than that in the control group ( $n=6$  per group,  $P < 0.001$  vs Control).

图5 两组大鼠肝组织中羟脯氨酸含量的测定

Fig.5 Hydroxyproline content of liver in two groups



A strong correlation relationship between  $^{18}\text{F}$ -FDG uptake and hydroxyproline content ( $R^2=0.9321$ ,  $P=0.0018$ ).

图6 肝组织  $^{18}\text{F}$ -FDG 摄取值与羟脯氨酸含量的相关性分析

Fig.6 Correlation between  $^{18}\text{F}$ -FDG uptake and hydroxyproline content in liver tissues

抗纤维化药物的所有临床试验都需要肝活检来评估治疗前后的纤维化病情分期。但由于活检的侵入性、抽样随机性、高价格等性质对临床试验设计施加了若干限制<sup>[14]</sup>。超声瞬时弹性成像和磁共振弹性成像可应用于测量与纤维化相关的肝硬度检查。这两种检查方法能可靠地诊断中度和重度纤维化,但在早期纤维化时期,具有腹水或病态肥胖

的患者中测试性能较低<sup>[15]</sup>。与超声瞬时弹性成像和磁共振弹性成像相比, $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT 显像技术能够分析评估局部及整体肝脏的功能代谢情况并提供准确的解剖定位信息,应用于无创诊断早期肝纤维化疾病并监测纤维化活动度具备一定可行性。近年来研究表明, $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT 显像诊断肝脂肪变性疾病具有一定的特异性,肝脂肪变性患者肝病灶处呈现明显的  $^{18}\text{F}$ -FDG 放射性浓聚<sup>[16]</sup>。炎症因子介导、炎性细胞浸润等炎症反应的参与在肝纤维化形成的机制中起到重要作用<sup>[17]</sup>。在存在肝脏炎症的情况下,由于炎性细胞中不可逆的  $^{18}\text{F}$ -FDG 积聚,肝脏  $^{18}\text{F}$ -FDG 摄取可增加,这表明  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT 也可作为肝纤维化的潜在成像方法。

本实验结果显示,两组大鼠进行  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT 显像后,对照组大鼠肝组织无异常放射性浓聚,呈低摄取显像;模型组大鼠肝组织内可见  $^{18}\text{F}$ -FDG 放射性浓聚增高。解剖两组大鼠发现两组大鼠解剖形态学可见差异,模型组观察到肝脏表面粗糙不均呈细颗粒感,边界不均匀;对照组肝脏大小及比例正常,表面光滑平整。为了确定肝组织  $^{18}\text{F}$ -FDG 的摄取水平是否和肝纤维化疾病具备相关性,本实验研究对两组大鼠肝组织进行病理检查和羟脯氨酸含量测定。病理结果表现为模型组大鼠 HE 染色显示组织病理学改变即肝脏正常结构破坏,肝小叶结构紊乱,中性粒细胞在肝细胞周围及肝血窦区大量募集;Masson 染色显示模型组大鼠肝细胞及肝血窦周围大量纤维间隔包绕,出现明显的纤维增生、胶原沉积等表现;对照组大鼠肝组织结构无明显异常,也未见纤维、胶原沉积。模型组大鼠肝组织内羟脯氨酸含量明显增高,进一步证实模型组肝组织内纤维化活动明显。从实验获得的显像数据和病理数据分析,肝纤维化  $^{18}\text{F}$ -FDG 浓聚情况与肝组织纤维化病理改变结果表现出一致性,肝脏  $^{18}\text{F}$ -FDG 摄取值与肝组织纤维化程度相关,证实了  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT 显像在肝纤维化的诊断具有一定的特异性。

综上,本实验研究通过模型组大鼠肝纤维化疾病进展时肝脏组织  $^{18}\text{F}$ -FDG 摄取增加,表明  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT 技术有可能发展为无创诊断肝纤维化的潜在成像方法,并应用于监测肝纤维化疾病进展及评估抗纤维化疗效。

## 参考文献:

- [1] Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis[J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6: 425-456.
- [2] Sun M, Kisseleva T. Reversibility of liver fibrosis[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2015, 39 Suppl 1: S60-S63.
- [3] Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, et al. Liver biopsy[J]. *Hepatology*, 2009, 49(3): 1017-1044.
- [4] Thielsen P, Wilkens R, Rafaelsen SR, et al. Liver fibrosis can be assessed by non-invasive ultrasound elastography[J]. *Ugeskr Laeger*, 2015, 177(24): 1155-1158.
- [5] Venkatesh SK, Yin M, Takahashi N, et al. Non-invasive detection of liver fibrosis: MR imaging features vs. MR elastography[J]. *Abdom Imaging*, 2015, 40(4): 766-775.
- [6] Alavi A, Kung JW, Zhuang H. Implications of PET based molecular imaging on the current and future practice of medicine[J]. *Semin Nucl Med*, 2004, 34(1): 56-69.
- [7] Musiek ES, Chen Y, Korczykowski M, et al. Direct comparison of fluorodeoxyglucose positron emission tomography and arterial spin labeling magnetic resonance imaging in Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2012, 8(1): 51-59.
- [8] Bural GG, Torigian DA, Burke A, et al. Quantitative assessment of the hepatic metabolic volume product in patients with diffuse hepatic steatosis and normal controls through use of FDG-PET and MR imaging: a novel concept[J]. *Mol Imaging Biol*, 2010, 12(3): 233-239.
- [9] Koyama Y, Brenner DA. Liver inflammation and fibrosis[J]. *J Clin Investig*, 2017, 127(1): 55-64.
- [10] Zhuang H, Alavi A. 18-fluorodeoxyglucose positron emission tomographic imaging in the detection and monitoring of infection and inflammation[J]. *Semin Nucl Med*, 2002, 32(1): 47-59.
- [11] Kusunose M, Qiu B, Cui T, et al. Effect of Sho-saiko-to extract on hepatic inflammation and fibrosis in dimethylnitrosamine induced liver injury rats[J]. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25(11): 1417-1421.
- [12] 肝纤维化诊断及疗效评估专题研讨会. 肝纤维化诊断及疗效评估共识[C]. 宜昌: 全国第十一届中医肝胆病学术会, 2004: 220-222.
- A Symposium of the Diagnosis and Efficacy Assessment of Liver Fibrosis. Consensus on evaluation of the diagnosis and efficacy of hepatic fibrosis [C]. Yichang: The 11th Academic Association of Hepatobiliary Diseases in China, 2004: 220-222.
- [13] Wang FS, Fan JG, Zhang Z, et al. The global burden of liver disease: the major impact of China[J]. *Hepatology*, 2014, 60(6): 2099-2108.
- [14] Huang Y, De-boer WB, Adams LA, et al. Image analysis of liver biopsy samples measures fibrosis and predicts clinical outcome [J]. *Hepatology*, 2014, 61(1): 22-27.
- [15] Cohen EB, Afdhal NH. Ultrasound-based hepatic elastography: origins, limitations, and applications [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2010, 44(9): 637-645.
- [16] Keramida G, Potts J, Bush J, et al. Accumulation of (18)F-FDG in the liver in hepatic steatosis[J]. *Am J Roentgenol*, 2014, 203(3): 643-648.
- [17] Ramadori G, Saile B. Inflammation, damage repair, immune cells, and liver fibrosis: specific or nonspecific, this is the question. [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127(3): 997-1000.

(编辑 王晓鹰)