



· 专题论著 ·



王文平，教授，复旦大学附属中山医院博士研究生导师。主要社会兼职：上海市超声质量控制中心主任，中国声学学会生物医学超声工程分会副主任委员，海峡两岸医药卫生交流协会超声医学分会副主任委员，国家肿瘤质控中心肝癌质量控制专家委员会委员，中华医学会超声医学分会第九届委员会副主任委员，上海市医学会超声医学专科分会第十届委员会主任委员，上海市影像医学研究所副所长，复旦大学超声医学与工程研究所副所长。以第一作者和通信作者发表论文近百篇，主编和参编各种专业书籍10余部，同时承担和参与多项国家自然科学基金等科研项目。2015年被评为上海市医学领军人才。

超声声衰减成像评估兔脂肪肝模型肝脂肪变性程度的实验研究

包静文¹，吴惠宁¹，吕越明²，王 坤³，王文平⁴

1. 河西学院医学院医学影像教研室，甘肃 张掖 734000；

2. 张掖市第二人民医院普外科，甘肃 张掖 734000；

3. 滨州医学院附属医院超声科，山东 滨州 256600；

4. 复旦大学附属中山医院超声科，上海 200032

[摘要] 目的：探讨超声声衰减成像（attenuation imaging, ATI）技术在定量评估兔脂肪肝模型肝脂肪变性程度中的应用价值。方法：高脂高胆固醇饲料喂养20只雄性新西兰大白兔，构建不同程度兔脂肪肝模型。在高脂饲料喂养前（第0周）及喂养后（1~36周）每4周随机取2只实验兔进行灰阶超声及ATI检查，从第4周开始，2只实验兔在灰阶超声及ATI检查后处死并行肝组织取材。以病理学检查为金标准，观察并分析脂肪肝形成及发展过程中ATI技术测得的声衰减系数（attenuation coefficient, AC）值的变化。结果：兔脂肪肝形成及发展过程中肝脏AC值呈逐渐上升趋势，于第12周开始，兔肝脏AC值 $[(0.909 \pm 0.189) \text{ dB}/(\text{cm} \cdot \text{MHz}^{-1})]$ 与第0周AC值 $[(0.592 \pm 0.131) \text{ dB}/(\text{cm} \cdot \text{MHz}^{-1})]$ 相比差异有统计学意义（ $P=0.015$ ）。以病理学检查结果为参照，AC值随肝脂肪变性程度的增加而增加，其中S0与S2、S3之间，S1与S2、S3之间的AC值差异有统计学意义（ $P<0.008$ ），S0与S1、S2与S3之间差异无统计学意义（ $P=0.030$ ， $P=0.021$ ）。进一步分析发现兔肝脏AC值与肝脂肪变性程度呈显著正相关（ $r=0.912$ ， $P<0.001$ ）。结论：AC值在脂肪肝形成及发展过程中呈稳定上升趋势，AC值与肝脂肪变性程度的相关性高，ATI技术能够定量检测肝脂肪变性程度并动态监测其病程变化。

[关键词] 脂肪肝；声衰减成像；声衰减系数；兔脂肪肝模型

中图分类号：R575.5；R445.1 文献标志码：A DOI: 10.19732/j.cnki.2096-6210.2023.04.004

Experimental study of ultrasound attenuation imaging to assess the extent of hepatic steatosis in a rabbit fatty liver model BAO Jingwen¹, WU Huining¹, LÜ Yueming², WANG Kun³, WANG Wenping⁴ (1. Department of Medical Imaging, School of Medicine, Hexi University, Zhangye 734000, Gansu Province, China; 2. Department of General Surgery, Zhangye Second People's Hospital, Zhangye 734000, Gansu Province, China; 3. Department of Ultrasound, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou 256600, Shandong Province, China; 4. Department of

基金项目：河西学院校长基金青年科研项目（QN2022009）

通信作者：王文平 E-mail: puguang61@126.com

Ultrasound, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Correspondence to: WANG Wenping E-mail: puguang61@126.com

[**Abstract**] **Objective:** To discuss the value of ultrasound attenuation imaging (ATI) technique in the quantitative assessment of hepatic steatosis in a rabbit fatty liver model. **Methods:** Feeding 20 male New Zealand white rabbits with high fat and high cholesterol diet to construct a rabbit model of fatty liver. Every four weeks, two rabbits were randomly selected for conventional ultrasound and ATI examinations before high fat and high cholesterol diet feeding and after high fat and high cholesterol diet feeding. From the 4th week, the two experimental rabbits who had undergone ultrasound and ATI examinations were executed. Pathological results were used as the gold standard to observe and analyze the changes of attenuation coefficient (AC) value measured by the ATI technique in the formation and development of fatty liver in rabbit liver. **Results:** The AC value of the rabbit liver showed a gradual increase during the formation and development of fatty liver. The significant difference of AC value in the rabbit liver was detected began the 12th week [$(0.909 \pm 0.189) \text{ dB}/(\text{cm} \cdot \text{MHz}^{-1})$] compared with the 0th week [$(0.592 \pm 0.131) \text{ dB}/(\text{cm} \cdot \text{MHz}^{-1})$] ($P=0.015$). The pathological results showed that the rabbit liver had obvious steatosis from the 12th week. Using pathology as a reference, the differences between S0 and S2, S0 and S3, S1 and S2, S1 and S3 were statistically significant ($P<0.008$), the differences between S0 and S1, S2 and S3 was not statistically significant ($P=0.030$, $P=0.021$). In addition, the AC value of rabbit liver was significantly positively correlated with the degree of hepatic steatosis ($r=0.912$, $P<0.001$). **Conclusion:** The AC value showed an upward trend during the formation and development of fatty liver in the rabbit liver, and the AC value was highly correlated with the degree of hepatic steatosis. The ATI technique is capable of quantifying the extent of hepatic steatosis and dynamically monitoring the course of the disease.

[**Key words**] Fatty liver; Attenuation imaging; Attenuation coefficient; Rabbit fatty liver model

脂肪肝是代谢相关性疾病，而非一种独立的疾病。一般而言，脂肪肝属可逆性疾病，早期诊断并及时干预通常可恢复正常。脂肪肝超声检查时肝细胞内的脂滴对入射声波产生散射，大量散射使总衰减加重^[1-2]，超声声衰减成像（attenuation imaging, ATI）技术则是根据发生脂肪变性的肝组织对声波的衰减程度，计算并得到声衰减系数（attenuation coefficient, AC）从而定量检测肝脂肪变性程度的一项新技术^[3]。本研究旨在建立兔脂肪肝模型并应用超声ATI技术评估兔脂肪肝形成过程中AC值的变化，初步探究ATI技术评估肝脂肪变性程度的应用价值，从而为临床研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

雄性新西兰大白兔20只，体重约4 kg。普通饲料喂养1周后，改为国产自配高脂高胆固醇饲料（主要成分：1%胆固醇+15%蛋黄粉+10%猪

油+74%普通饲料）喂养，水自由摄入，建立实验兔不同程度脂肪肝模型。在高脂高胆固醇饲料喂养前（第0周）及喂养后（1~36周）每4周随机取2只实验兔进行灰阶超声及ATI检查，从第4周开始，2只实验兔在灰阶超声及ATI检查后经耳缘静脉取血并用空气栓塞法处死获取肝组织标本。

1.2 实验仪器和方法

采用日本Canon公司的Aplio i900彩色多普勒超声诊断仪，探头i8CX1，频率1~8 MHz，深度7~9 cm。在室温条件下，实验兔经耳缘静脉注射10%水合氯醛（3 mL/kg）麻醉后，兔腹部脱毛后取仰卧位，首先行灰阶超声检查，观察兔肝脂肪变性程度及肝内有无异常回声团块，随后选择较大的肝脏切面并进入ATI模式，调节ATI取样感兴趣区（region of interest, ROI）并测量ROI至最小，在图像较为稳定时冻结图像并进行测量，选择质控因子 $R^2>0.70$ 或测值颜色显示为白色或黄色的数值（图1）。以第0周兔肝脏AC值作为本研究的基线值。

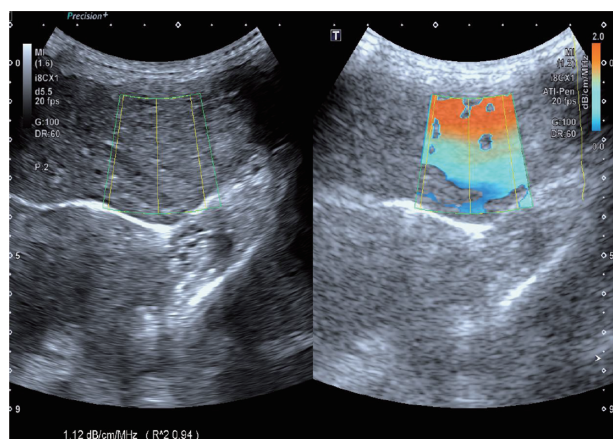


图1 ATI测量示意图

左侧为灰阶超声图, 右侧为ATI图, 绿色框为采样框, 内部黄色框为测量框, 左下角显示AC值为 $1.12 \text{ dB}/(\text{cm}\cdot\text{MHz}^{-1})$, $R^2 > 0.90$, 测量值为白色, 说明测量值高度可靠。

1.3 病理学检查

取灰阶超声及ATI扫描切面的肝组织, 油红染色观察肝细胞内脂滴分布情况并将脂肪肝程度分为S0 ($< 5\%$)、S1 ($5\% \sim 33\%$)、S2 ($33\% \sim 66\%$)、S3 ($> 66\%$)。

1.4 统计学处理

采用SPSS 24.0软件分析数据。用Shapiro-Wilk检验计量资料的正态性, 符合以 $\bar{x} \pm s$ 表示,

用两独立样本 t 检验分析高脂喂养后每4周兔AC值与第0周兔AC值的统计学差异。组间比较用单因素方差分析, 组间两两比较用最小显著性差异法, 以调整后的检验水准 $P < 0.008$ 为差异有统计学意义。相关性分析用Spearman相关, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物一般情况及分组

实验过程中, 实验兔一般情况良好, 在实验第8周时1只实验兔因麻醉意外死亡, 第28周有1只不明原因死亡, 建模存活率为90.0% (18/20)。根据病理学检查结果最终建模正常(S0)组4只, 轻度肝脂肪变性(S1)组3只, 中度肝脂肪变性(S2)组4只, 重度肝脂肪变性(S3)组7只。

2.2 二维灰阶超声检查结果

建模前, 灰阶超声显示兔肝脏回声分布均匀, 包膜光滑, 后场回声无衰减, 肝内管道清晰(图2A)。随高脂高胆固醇饲料喂养周数的增加, 肝脏体积逐渐增大, 回声逐渐密集增强, 肝内管道显示欠清(图2B)。

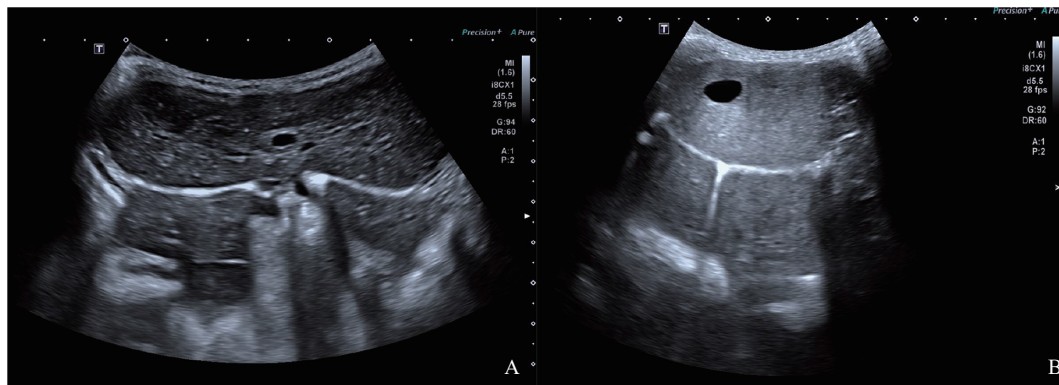


图2 兔肝脏灰阶超声表现

A: 高脂饲料喂养前; B: 高脂饲料喂养第20周。

2.3 兔肝脏AC值在高脂高胆固醇喂养过程中的变化趋势

兔肝脏AC值随实验周数呈上升趋势(图3), 并于第12周开始, 脂肪肝模型兔肝脏

AC值 [$(0.909 \pm 0.189) \text{ dB}/(\text{cm}\cdot\text{MHz}^{-1})$] 与第0周 [$(0.592 \pm 0.131) \text{ dB}/(\text{cm}\cdot\text{MHz}^{-1})$] 相比差异有统计学意义 ($P=0.015$)。

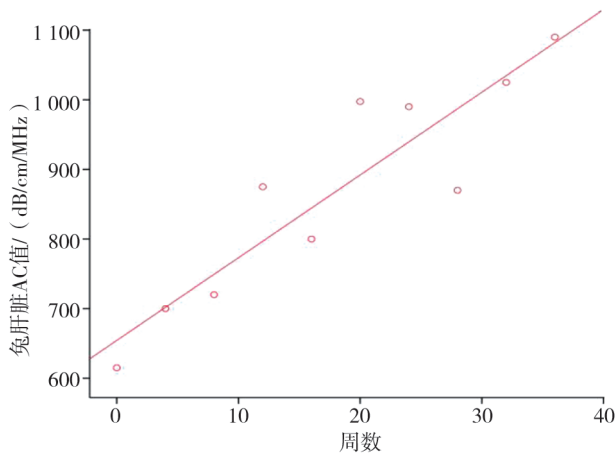


图3 兔肝脏AC值随实验周数的变化

2.4 兔肝脏AC值与肝脂肪变性程度的差异及相关性分析

兔肝脏AC值随肝脂肪变性程度的增加而增加，差异有统计学意义（ $F=35.122$ ， $P<0.001$ ），其中S0与S2、S3之间，S1与S2、S3之间差异有统计学意义（ $P<0.008$ ），S0与S1、S2与S3之间差异无统计学意义（ $P=0.030$ ， $P=0.021$ ，表1）。相关性分析显示兔肝脏AC值与肝脂肪变性程度呈显著正相关（ $r=0.912$ ， $P<0.001$ ）。

表1 不同程度脂肪肝组间的AC值

组别	<i>n</i>	AC/ [dB/ (cm·MHz ⁻¹)]
S0	4	0.606 ± 0.094
S1	3	0.743 ± 0.021
S2	4	0.934 ± 0.105 ^{ab}
S3	7	1.054 ± 0.052 ^{ab}

^a: 与S0组比较, $P<0.008$; ^b: 与S1组比较, $P<0.008$ 。

3 讨论

脂滴在肝细胞中的过度堆积可造成肝脏代谢和功能异常，进而引起肝脏炎症、肝纤维化，甚至肝癌^[4-5]，此外，脂肪肝与胰岛素抵抗等代谢相关疾病的发生、发展密切相关^[6-7]。采用敏感、简便、无创的影像学方法识别并检测脂肪肝在临床诊疗中至关重要。2016年欧洲肝脏研究协会（European Association for the Study

of the Liver, EASL）、欧洲糖尿病研究协会（European Association for the Study of Diabetes, EASD）和欧洲肥胖研究协会（European Association for the Study of Obesity, EASO）发布的非酒精性脂肪肝临床实践指南^[8]推荐灰阶超声作为临床筛查脂肪肝的首选检查，但其受操作者主观评价影响大、诊断灵敏度低，不能对肝脂肪变性程度进行量化评估^[9]。超声ATI技术是一项定量检测肝脂肪变性程度的新技术，可量化肝组织对超声波的衰减^[10]，有效弥补了灰阶超声的不足。目前临床定量检测超声信号衰减程度的最常用指标为受控衰减参数，可区分10%以上的肝脂肪变性，但该技术缺乏二维图像的引导，无法有效避开肝内的占位性病变及管道结构，对严重超重的患者检测成功率较低，其诊断脂肪肝的标准因仪器生产厂家的不同而不同，在临床上的应用受到限制^[11]。ATI技术是将灰阶超声图像及ATI图像同屏显示，在灰阶超声图像的引导下，可以全面实时地观察肝脏整体形态、回声、是否有占位性病变等，在测量时可以有效地避开伪影、占位性病变，进而优化选择测量区域，提高测量准确度^[3, 12-13]。此外，有研究^[14]表明，ATI技术操作的成功率高，ATI在预测 $\geq 10\%$ 和 $> 33\%$ 肝脂肪变性方面的诊断性能优于受控衰减参数。因此，ATI可作为一种评估肝脂肪变性的无创、定量筛查工具。

本研究结果显示，兔脂肪肝模型建模成功率较高（90.0%），不同阶段不同程度脂肪肝模型比例较好（S0 : S1 : S2 : S3为3 : 4 : 4 : 7）。兔脂肪肝形成及发展过程中AC值呈上升趋势。与病理学检查结果对照分析显示，兔肝脏的AC值随肝脂肪变性程度增加而增加，但S0与S1期、S2与S3期的AC值差异无统计学意义，Jesper等^[10]和Hsu等^[15]以肝穿刺活检为标准，分别对40例和28例入组患者行ATI检查，结果表明，ATI技术在S0与S1期、S2与S3期的AC值差异无统计学意义，与本研究一致，Sugimoto等^[3]的研究则表明，AC值仅在S2与S3期之间差异无统计学意义，但研究均显示S3期的AC值要高于S2

期, S1期的AC值要高于S0期。本研究相关性分析发现AC值与肝脂肪变性程度呈显著正相关 ($r=0.912$, $P<0.001$), 与既往研究^[16]相符, 提示AC值可较好地评估肝脂肪变性程度, 可用于临床无创评估脂肪肝患者的严重程度。

本研究存在以下不足: ① 本研究的样本量较小, 仅为初步验证该技术评估肝脂肪变性严重程度的可行性, 进一步分析需后期大样本量研究的验证; ② 仅设置肝脂肪变性发展进程的前后对照, 未设立正常空白对照组; ③ 兔的高脂代谢能力与人类不尽相同, 其脂肪肝的进程与人类也不完全相同, 有待进一步开展临床研究。

综上所述, ATI技术能够有效地对兔脂肪肝肝脂肪变性程度进行分级诊断, 能较早、较准确地检测肝脏超声信号衰减程度, 从而无创定量地反映脂肪肝严重程度。

参 考 文 献

- [1] YILMAZ Y, ERGELEN R, AKIN H, et al. Noninvasive detection of hepatic steatosis in patients without ultrasonographic evidence of fatty liver using the controlled attenuation parameter evaluated with transient elastography [J] . Eur J Gastroenterol Hepatol, 2013, 25(11): 1330-1334.
- [2] FUJII Y, TANIGUCHI N, ITOH K, et al. A new method for attenuation coefficient measurement in the liver: comparison with the spectral shift central frequency method [J] . J Ultrasound Med, 2002, 21(7): 783-788.
- [3] SUGIMOTO K, MORIYASU F, OSHIRO H, et al. The role of multiparametric US of the liver for the evaluation of nonalcoholic steatohepatitis [J] . Radiology, 2020, 296(3): 532-540.
- [4] ANSTEE Q M, REEVES H L, KOTSILITI E, et al. From NASH to HCC: current concepts and future challenges [J] . Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(7): 411-428.
- [5] 薛 芮, 范建高. 代谢相关脂肪性肝病新定义的国际专家共识简介 [J] . 临床肝胆病杂志, 2020, 36(6): 1224-1227.
- [6] 高 鑫. 非酒精性脂肪性肝病更名带来的新思考 [J] . 临床肝胆病杂志, 2020, 36(6): 1201-1204.
- [7] ESLAM M, NEWSOME P N, SARIN S K, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: an international expert consensus statement [J] . J Hepatol, 2020, 73(1): 202-209.
- [8] European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease [J] . Diabetologia, 2016, 59(6): 1121-1140.
- [9] BAE J S, LEE D H, LEE J Y, et al. Assessment of hepatic steatosis by using attenuation imaging: a quantitative, easy-to-perform ultrasound technique [J] . Eur Radiol, 2019, 29(12): 6499-6507.
- [10] JESPER D, KLETT D, SCHELLHAAS B, et al. Ultrasound-based attenuation imaging for the non-invasive quantification of liver fat—a pilot study on feasibility and inter-observer variability [J] . IEEE J Transl Eng Health Med, 2020, 8: 1800409.
- [11] FRULIO N, TRILLAUD H. Ultrasound elastography in liver [J] . Diagn Interv Imaging, 2013, 94(5): 515-534.
- [12] 包静文, 朱宇莉, 徐庆玥, 等. 超声声衰减成像评估代谢相关脂肪性肝病肝脂肪变程度的应用价值 [J] . 中华超声影像学杂志, 2021, 30(10): 868-873.
- [13] 包静文, 朱宇莉, 王文平. 代谢相关脂肪性肝病的影像学无创评估研究进展 [J] . 肿瘤影像学, 2022, 31(2): 208-213.
- [14] BAO J W, LV Y M, WANG K, et al. A comparative study of ultrasound attenuation imaging, controlled attenuation parameters, and magnetic resonance spectroscopy for the detection of hepatic steatosis [J] . J Ultrasound Med, 2023, 42(7): 1481-1489.
- [15] HSU P K, WU L S, SU W W, et al. Comparing the controlled attenuation parameter using FibroScan and attenuation imaging with ultrasound as a novel measurement for liver steatosis [J] . PLoS One, 2021, 16(10): e0254892.
- [16] JANG J K, KIM S Y, YOO I W, et al. Diagnostic performance of ultrasound attenuation imaging for assessing low-grade hepatic steatosis [J] . Eur Radiol, 2022, 32(3): 2070-2077.

(收稿日期: 2023-07-02 修回日期: 2023-07-20)