

# 基于动态增强磁共振测定大鼠股骨近端骨髓血流灌注功能及稳定性\*☆☆

张亚峰<sup>1</sup>, 程琼<sup>2</sup>, 祝勇<sup>1</sup>, 刘璠<sup>1</sup>

## Perfusion function of rat proximal femur bone marrow and its stability determined using dynamic contrast-enhanced MRI

Zhang Ya-feng<sup>1</sup>, Cheng Qiong<sup>2</sup>, Zhu Yong<sup>1</sup>, Liu Fan<sup>1</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Due to improvement of MRI surface coil and new-type contrasts, it is possible to use dynamic contrast-enhanced MRI to measure bone marrow blood perfusion function in rats.

**OBJECTIVE:** To explore the methodology using dynamic contrast-enhanced MRI to measure the perfusion function of rat proximal femur bone marrow and explore its reliability.

**METHODS:** Contrast agents were injected from tail vein into Wistar rats. Dynamic contrast-enhanced MRI was measured using 1.5T whole body MRI scanner. One week later, the measurement was repeated. Then, time-signal intensity curve was explored. Maximum enhancement (ME) and enhancement slope (ES) were calculated.

**RESULTS AND CONCLUSION:** ME of test 1 and test 2 were (140.42±17.17)% and (136.57±13.87)%, respectively. ES of test 1 and test 2 were (3.81±0.17)%/s and (3.71±0.20)%/sec, respectively. There was no statistically significant difference in ME and ES between the two tests. The methodology explored in this study which used dynamic contrast enhanced MRI to measure the perfusion function of rat proximal femur bone marrow were reliable and repeatable.

Zhang YF, Cheng Q, Zhu Y, Liu F. Perfusion function of rat proximal femur bone marrow and its stability determined using dynamic contrast-enhanced MRI. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(35): 6551-6554. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 随着磁共振成像线圈的改进和新对比剂的使用, 利用动态增强磁共振测定大鼠骨髓血流灌注功能已成为可能。

**目的:** 建立基于动态增强磁共振测定大鼠股骨近端骨髓血流灌注功能的方法, 并观察其稳定性。

**方法:** Wistar 大鼠尾静脉注射对比剂, 基于动态增强磁共振, 利用 1.5T 全身磁共振系统采集股骨近端骨髓的时间-信号强度数据。1 周后重复测量 1 次。通过时间-信号强度曲线计算最大增强率和增强系数。

**结果与结论:** 前后两次测量的最大增强率分别为(140.42±17.17)%和(136.57±13.87)%, 增强系数分别为(3.81±0.17)%/s 和(3.71±0.20)%/s, 两次检测的最大增强率和增强系数差异无显著性意义。说明基于动态增强磁共振的大鼠股骨近端骨髓血流灌注功能测定方法稳定可靠。

**关键词:** 动态增强磁共振; 股骨; 骨髓; 血流灌注功能; 大鼠

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.35.021

张亚峰, 程琼, 祝勇, 刘璠. 基于动态增强磁共振测定大鼠股骨近端骨髓血流灌注功能及稳定性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(35):6551-6554. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

<sup>1</sup>Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Neural Regeneration, Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zhang Ya-feng ☆, Doctor, Lecturer, Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China  
zyfcus@163.com

Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2010285\*; the Natural Science Foundation of Jiangsu Universities, No. 10KJB320015\*

Received: 2011-06-09  
Accepted: 2011-07-27

## 0 引言

骨髓血流灌注的定量测定对于许多骨与关节疾病的诊断和预后判断至关重要。这些疾病包括创伤<sup>[1]</sup>、炎症<sup>[2]</sup>、关节炎<sup>[3]</sup>、缺血性骨疾病和骨移植<sup>[4-5]</sup>。近年来, 骨髓血流灌注功能与骨质疏松的关系越来越受到研究者的重视<sup>[6-8]</sup>。有研究显示, 老年受访者脊柱椎体血流灌注功能与骨密度呈正相关<sup>[9-10]</sup>, 这提示骨髓血流灌注功能减低在骨质疏松发病过程中起重要作用。因此, 骨髓血流灌注功能的测定对于骨质疏松的风险和疗效判定具有非常重要的意义。既往由于方法学的限制, 没有可靠的大鼠骨髓血流灌注功能测定方法。由于磁共振成像线圈的改进和新对比剂的使用, 使得目前利用动态增强磁

共振测定大鼠骨血流灌注功能成为可能<sup>[11]</sup>。

本实验基于动态增强磁共振建立大鼠股骨近端骨髓血流灌注功能测定方法, 并对其稳定性进行观察, 为后续的实验建立稳定可靠的大鼠股骨近端骨髓血流灌注功能测定方法。

## 1 材料和方法

**设计:** 自身对照实验。

**时间及地点:** 于2011-03/04在南通大学附属医院完成。

**材料:**

**实验动物:** 6月龄雄性Wistar大鼠6只, 体重(400±15) g, 购于南通大学动物实验中心, 动物许可证号: SYXK(苏)2001-0021。单只分笼饲养于南通大学动物实验中心, 采用标准鼠

<sup>1</sup>南通大学附属医院骨科, 江苏省南通市 226001; <sup>2</sup>南通大学神经再生重点实验室, 江苏省南通市 226001

张亚峰 ☆, 男, 1980 年生, 江苏省如皋市人, 汉族, 2009 年香港中文大学毕业, 博士, 讲师, 主要从事骨退行性疾病研究。  
zyfcus@163.com

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225  
(2011)35-06551-04

收稿日期: 2011-06-09  
修回日期: 2011-07-27  
(20110609001/GW-W)

粮喂养, 自由食水。所有动物在6月龄时行右股骨近端骨髓动态增强磁共振扫描(测试1), 1周后重复测量1次(测试2)。

**磁共振扫描系统:** 对比剂为钆喷酸锰盐(Guerbet Group, Roissy CDG Cedex, France)。磁共振扫描采用飞利浦公司的1.5-T全身磁共振系统(Intera NT, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands), 最大梯度磁场是30 mT/m。

**实验方法:**

**动物麻醉及尾静脉穿刺:** 采用甲苯噻嗪(剂量10 mg/kg)与氯胺酮(剂量90 mg/kg)联合腹腔注射麻醉, 麻醉后采用肝素化(浓度为100 U/mL)的24 G套管针(Introcan Safety, B.Braun Medical Bethlehem, PA)行尾静脉穿刺置管, 见图1所示, 套管针以502胶粘于大鼠尾部防止脱落。套管针尾部连接50 cm长自制连接管(利用麻醉连接管改制)及1 mL注射器, 用于对比剂注射<sup>[12]</sup>。



Figure 1 Tail vein was cannulated with 24 G heparinized catheter  
图1 利用肝素化的24 G套管针行大鼠尾静脉穿刺

**动态增强磁共振测量方法:** 磁共振扫描采用飞利浦公司的1.5-T全身磁共振系统, 最大梯度磁场是30 mT/m。自制扫描盒, 在扫描盒底部安置一直径4.7 cm的表面线圈, 作为射频接收器, 见图2。大鼠仰卧于扫描盒中, 使得表面线圈位于大鼠的髌部, 见图3。



Figure 2 Self-made scanning box and the surface coil placed on the bottom  
图2 自制的扫描盒及其底部安置的表面线圈

首先进行定位扫描, 接着分别于股骨头、股骨颈及股骨干各取1个定位点, 利用3点平面扫描确定一个经过股骨全长的扫描截面。然后进行T1加权扫描, 扫描参数如下: T1加权快速自旋回波序列, 层厚2 mm, 重复时间425 ms, 回波时间24 ms, 回波链长度3, 层内分辨率0.25 mm×0.25 mm, 矩阵304×243, 信号采集次数为5。



Figure 3 The scanning position of rat  
图3 大鼠的扫描体位

T1加权扫描结束后, 进行动态增强磁共振扫描, 扫描参数如下: 短T1加权梯度回波序列, 重复时间4 ms, 回波时间1.4 ms, 激发角度为15°, 层厚5 mm, 矩阵128×51, 层内分辨率0.625 mm×0.625 mm, 信号采集次数为1。每帧图像采集的时间分辨率为0.6 s。对比剂为钆喷酸锰盐。剂量为0.3 mmol/kg, 在最初的60帧基线扫描结束后, 在1 s内, 通过尾静脉快速注入对比剂。对比剂的注射由熟悉小动物实验的同一实验者操作。动态磁共振扫描持续8 min, 采集约800帧图像。整个磁共振成像实验时间, 包括动物的准备, 大约需要0.5 h。

**磁共振数据分析:** 磁共振数据上传到磁共振成像工作站工作站, 利用其自带软件, 采集感兴趣区域的信号强度。感兴趣区域的定义见图4所示, 包括股骨近端1/3的髓腔, 不包括骨皮质。



Figure 4 Interest region of dynamic contrast enhanced magnetic resonance  
图4 动态增强磁共振的感兴趣区域

所有感兴趣区域均手工在磁共振成像工作站绘制完成。利用得到的时间信号强度数值绘制时间-信号强度曲线。采用最初快速上升阶段时间-信号强度曲线, 利用GraphPad Prism软件, 计算最大增强率和增强系数。最大增强率和增强系数的计算公式如下<sup>[13-14]</sup>:

$$\text{最大增强率} = \frac{(\text{最大信号强度} - \text{基础信号强度})}{\text{基础信号强度}} \times 100\%$$

$$\text{增强系数} = \frac{((\text{最大信号强度} - \text{基础信号强度}) \times 0.8) / [\text{基础信号强度} \times (90\% \text{信号强度对应的时间} - 10\% \text{信号强度对应的时间})]}{100\%}$$

**主要观察指标:** 大鼠存活情况以及动态增强磁共振的最大增强率和增强系数。

**统计学分析:** 由第一作者采用SPSS11.5软件完成统计学计算, 统计学采用配对 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 定义为差异有显著性意义。

## 2 结果

**2.1 实验动物数量分析** 所有动物均顺利完成右侧股骨近端骨髓动态增强磁共振扫描。实验后所有动物均存活, 正常摄食饮水, 与检查前无明显差异。

**2.2 大鼠右侧股骨近端骨髓两次动态增强磁共振检测的最大增强率与增强系数** 见表1。

表1 大鼠右侧股骨近端骨髓两次动态增强磁共振检测的最大增强率与增强系数  
Table 1 Detection of maximum enhancement ratio and enhancement factor of right proximal femur bone marrow by dynamic enhanced magnetic resonance twice ( $\bar{x} \pm s$ )

Item	Test 1	Test 2	P
Maximum enhancement (%)	140.42 $\pm$ 17.17	136.57 $\pm$ 13.87	0.574
Enhancement slop (%/s)	3.81 $\pm$ 0.17	3.71 $\pm$ 0.20	0.470

由表1可见, 前后两次检测的最大增强率与增强系数差异无显著性意义。

## 3 讨论

实验中6只Wistar大鼠均顺利完成右侧股骨近端骨髓动态增强磁共振检测, 得到了血流灌注参数, 实验结果显示两次测量的结果无差异。这说明实验建立的基于动态增强磁共振的大鼠骨髓血流灌注功能测定方法稳定可靠, 为骨髓血流灌注功能测定建立了可靠的实验方法, 为进一步研究骨髓血流灌注功能与相关疾病的关系, 提供了稳定可靠的实验手段。

动态增强磁共振检测, 是目前测量血流灌注功能的主要技术手段, 临床上广泛应用<sup>[15-16]</sup>。在基础研究方面, 其多应用于神经外科和心理学等领域<sup>[17-18]</sup>。在骨科研究领域, 其应用并不广泛, 仅有报道使用其判断激素性股骨头缺血坏死的预后<sup>[19]</sup>。这主要是因为由于技术手段的限制, 对于小动物还没有稳定可靠的实验方法。目前骨质疏松的小动物模型主要是去卵巢和去睾丸大鼠。该模型建模方法简单, 应用广泛, 为了研究骨髓血流灌注功能与骨质疏松的关系, 迫切需要建立应用动态增强磁共振测量大鼠骨髓血流灌注的实验方法。由于大鼠的脊椎椎体为非负重区, 为了更好模拟人体的生理状态, 实验选择股骨近端做为测量区域, 这相对于脊椎椎体测量更为困难<sup>[20]</sup>。

实验中一些技术关键点, 对本实验的成功至关重要, 详述如下: ①大鼠尾静脉穿刺。大鼠尾静脉穿刺主要用于对比剂的注射, 它的成功与否, 对实验的顺利完

成非常重要。最初阶段使用输液用头皮针, 但多次实验发现, 虽然能够顺利完成穿刺, 但是留置以后, 非常容易刺破静脉壁, 造成实验失败。后来采用24 G留置针, 由于它质地较软, 避免了留置时刺破静脉壁。穿刺部位的选择尽量从鼠尾远端开始。穿刺针的固定, 最初阶段使用临床用纸胶带进行固定, 同样发现固定不牢固, 在留置和磁共振成像扫描过程中容易脱出, 后来使用强力502胶将留置针粘于大鼠尾部, 该方法固定牢固, 而且不会发生留置针突出和穿刺部位出血。②扫描体位的选择和表面线圈的安放。实验中为了更好地采集动态增强磁共振信号, 使用直径4.7 cm的表面线圈, 并将其安置于大鼠的髌部, 为此设计并制作了扫描盒, 将表面线圈固定于扫描盒中。将大鼠双侧小腿固定, 将尾巴从大腿间穿出, 这样会使大鼠的双侧股骨近乎平行于扫描盒底部, 方便磁共振成像扫描。③磁共振成像扫描和股骨全长截面的获取。实验使用1.5T全身扫描磁共振系统。首先进行定位扫描, 该步骤能够在不同的扫描截面显示股骨头、股骨颈、股骨近端、股骨干和股骨远端。接着使用3点定位方法, 将3点分别置于股骨头、股骨近端、股骨干中远端。以这3点进行位置扫描, 将会得到一个经过股骨全长的截面, 如果截面不理想, 再次使用3点定位方法, 调整位于股骨近端的点, 重复上述步骤, 直到获得一个满意的经过股骨全长的截面。以上述扫描截面为基础, 进行T1加权扫描, 得到股骨全长的T1加权图像, 再基于上述图像, 进行动态增强扫描。④动态增强磁共振扫描和对比剂的注射。进入动态增强扫描序列后, 先进行约60帧的基线扫描, 这有利于后续计算基础信号强度。然后在1 s内注入对比剂。对比剂的快速注入使得对比剂成团进入循环系统, 对于动态增强扫描至关重要。临床上患者进行增强磁共振扫描时, 多采用高速注射泵, 但是临床使用的高速注射泵不适用于大鼠。虽然针对于动物实验也有微量高速泵, 但是价格昂贵, 医院的放射科没有购买, 因此实验中采用人工方法进行注射, 这相对于高速注射泵不够精确。但在现有的条件下, 实验中的注射都由1人完成, 尽量减少实验误差, 实验结果也显示操作在可接受的范围。⑤扫描结束后实验动物的处理。扫描完成后, 拔除尾静脉穿刺管, 局部乙醇棉球压迫止血2 min。将大鼠单只分笼饲养与动物实验中心, 单只分笼饲养非常重要。因为实验中大鼠麻醉后苏醒时间不尽相同, 如果多只饲养于1笼中, 极易发生先苏醒大鼠对后苏醒大鼠的伤害。即使都苏醒后也不主张多只大鼠饲养于1笼中, 因为尾静脉穿刺后, 或多或少有血液渗出, 在血腥味道的刺激下, 大鼠间会相互撕咬对方的尾巴, 造成大鼠尾巴损害, 不利用后续实验。⑥动态增强磁共振数据分析。动态增强磁共振数据的分析, 主要是在磁共振工作站完成的。在T1加权图像上画出感兴趣区域, 得到时间-信号强度数据, 然后利用

Excel处理完数据后, 将其导入GraphPad Prism软件计算最大增强率和增强系数。具体的计算公式和计算方法, 既往的文献已有详细叙述<sup>[12-13]</sup>。需要注意的是, 在确定感兴趣区域时不要圈入皮质骨, 可以将T1加权图像放大后, 再绘制感兴趣区域, 这既能够将尽可能多的骨髓区域圈入感兴趣区, 也能够避免圈入骨皮质。

实验基于临床用1.5T全身磁共振系统成功建立了大鼠股骨近端骨髓血流灌注功能测定的方法学, 结果显示该方法稳定可靠。该测定方法为后续的相关实验提供了可靠的方法学, 将推动骨髓血流灌注功能与相关疾病关系的研究。

#### 4 参考文献

- [1] Donneys A, Tchanque-Fossuo CN, Farberg AS, et al. Quantitative analysis of vascular response after mandibular fracture repair using microcomputed tomography with vessel perfusion. *Plast Reconstr Surg.* 2011;127(4):1487-1493.
- [2] Pape HC, Marcucio R, Humphrey C, et al. Trauma-induced inflammation and fracture healing. *J Orthop Trauma.* 2010; 24(9):522-525.
- [3] Foster W, Carruthers D, Lip GY, et al. Inflammation and microvascular and macrovascular endothelial dysfunction in rheumatoid arthritis: effect of treatment. *J Rheumatol.* 2010; 37(4):711-716.
- [4] Chan WP, Liu YJ, Huang GS, et al. Relationship of idiopathic osteonecrosis of the femoral head to perfusion changes in the proximal femur by dynamic contrast-enhanced MRI. *AJR Am J Roentgenol.* 2011;196(3):637-643.
- [5] Hansen-Algenstaedt N, Joscheck C, Wolfram L, et al. Sequential changes in vessel formation and micro-vascular function during bone repair. *Acta Orthop.* 2006;77(3):429-439.
- [6] Griffith JF, Yeung DK, Tsang PH, et al. Compromised bone marrow perfusion in osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2008;23(7): 1068-1075.
- [7] Griffith JF, Wang YX, Zhou H, et al. Reduced bone perfusion in osteoporosis: likely causes in an ovariectomy rat model. *Radiology.* 2010;254(3):739-746.
- [8] Wang YX, Griffith JF, Kwok AW, et al. Reduced bone perfusion in proximal femur of subjects with decreased bone mineral density preferentially affects the femoral neck. *Bone.* 2009;45(4):711-715.
- [9] Griffith JF, Yeung DK, Antonio GE, et al. Vertebral marrow fat content and diffusion and perfusion indexes in women with varying bone density: MR evaluation. *Radiology.* 2006; 241(3): 831-838.
- [10] Griffith JF, Yeung DK, Leung JC, et al. Prediction of bone loss in elderly female subjects by MR perfusion imaging and spectroscopy. *Eur Radiol.* 2011;21(6):1160-1169.
- [11] Wang YX, Zhang YF, Griffith JF, et al. Vertebral blood perfusion reduction associated with vertebral bone mineral density reduction: a dynamic contrast-enhanced MRI study in a rat orchietomy model. *J Magn Reson Imaging.* 2008;28(6): 1515-1418.
- [12] Zhang YF, Wang YX, Griffith JF, et al. Proximal femur bone marrow blood perfusion indices are reduced in hypertensive rats: a dynamic contrast-enhanced MRI study. *J Magn Reson Imaging.* 2009;30(5):1139-1144.
- [13] Griffith JF, Yeung DK, Antonio GE, et al. Vertebral bone mineral density, marrow perfusion, and fat content in healthy men and men with osteoporosis: dynamic contrast-enhanced MR imaging and MR spectroscopy. *Radiology.* 2005;236(3):945-951.
- [14] Ma HT, Griffith JF, Yeung DK, et al. Modified brix model analysis of bone perfusion in subjects of varying bone mineral density. *J Magn Reson Imaging.* 2010;31(5):1169-1175.
- [15] Griffith JF, Yeung DK, Chow SK, et al. Reproducibility of MR perfusion and (1)H spectroscopy of bone marrow. *J Magn Reson Imaging.* 2009;29(6):1438-1442.
- [16] Griffith JF, Yeung DK, Ahuja AT, et al. A study of bone marrow and subcutaneous fatty acid composition in subjects of varying bone mineral density. *Bone.* 2009;44(6):1092-1096.
- [17] Lee TH, Liu HL, Yang ST, et al. Effects of aging and hypertension on cerebral ischemic susceptibility: evidenced by MR diffusion-perfusion study in rat. *Exp Neurol.* 2011;227(2):314-21.
- [18] He J, Devonshire IM, Mayhew JE, et al. Simultaneous laser Doppler flowmetry and arterial spin labeling MRI for measurement of functional perfusion changes in the cortex. *Neuroimage.* 2007; 34(4):1391-1404.
- [19] Sheng H, Zhang G, Wang YX, et al. Functional perfusion MRI predicts later occurrence of steroid-associated osteonecrosis: an experimental study in rabbits. *J Orthop Res.* 2009;27(6):742-747.
- [20] Wang YX, Zhou H, Griffith JF, et al. An in vivo magnetic resonance imaging technique for measurement of rat lumbar vertebral body blood perfusion. *Lab Anim.* 2009;43(3):261-265.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 江苏省自然科学基金项目(BK2010285); 江苏省高校自然科学基金项目(10KJB320015)。

**作者贡献:** 张亚峰负责实验设计、动物实验、统计学分析与论文书写, 程琮负责动物实验和磁共振扫描, 祝勇负责磁共振数据分析, 刘璠股则理论指导, 张亚峰对论文负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理批准:** 实验方案经过南通大学附属医院伦理委员会审批。

**本文创新性:** 以“dynamic contrast enhanced MRI, rat, bone marrow”为关键词检索 PubMed 数据库 2000/2011 文献, 共检索到 4 篇, 显示目前尚缺乏可靠的大鼠骨髓血流灌注功能测定方法。实验基于动态增强磁共振建立了大鼠股骨近端骨髓血流灌注功能测定方法, 结果显示基于动态增强磁共振的大鼠股骨近端骨髓血流灌注功能测定方法稳定可靠。