

超小型超顺磁性氧化铁颗粒可增强MRI对头颈部淋巴结转移的评估价值

李文晋, 牛金亮, 朱 莉, 王 涛, 王 瑜(山西医科大学第二医院, 山西省太原市 030001)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0993

ORCID: 0000-0002-4555-5857(李文晋)

文章快速阅读:

超小型超顺磁性氧化铁颗粒(USPIO)诊断头颈部淋巴结转移的临床应用价值



建立头颈部肿瘤淋巴结转移模型兔

MRI 平扫;
USPIO 增强扫描

病理结果检查

诊断准确率高

李文晋, 女, 1976年生, 山西省太原市人, 汉族, 2011年山西医科大学毕业, 博士, 副主任医师。

通讯作者: 牛金亮, 博士, 教授, 山西医科大学第二医院, 山西省太原市 030001

中图分类号: R318

文献标识码: B

稿件接受: 2018-08-07



文题释义:

颈浅淋巴结: 位于颈筋膜(位于下颌静脉注入颈外静脉和舌静脉分叉处)浅深层之间, 它收集头部及颈部的淋巴液, 输出管进入颈淋巴干。

颈深淋巴结: 位于环状软骨侧面胸骨甲状肌深层, 颈总动脉分出颈内、颈外动脉分叉处的腹面, 收集舌根、咽部、喉头、鼻部的淋巴结, 输出管进入颈淋巴干。

摘要

背景: 研究表明超小型超顺磁性氧化铁颗粒(ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles, USPIO)增强扫描提高了盆腔、乳腺、胸部恶性肿瘤的恶性淋巴结检测的特异性和敏感性, 但关于 USPIO 在头颈部肿瘤颈部淋巴结转移的研究国内外文献报道较少。

目的: 建立头颈部淋巴结转移的动物模型, 分析淋巴结转移 USPIO 增强扫描的 MRI 表现, 探讨 USPIO 在诊断头颈部淋巴结转移中的临床应用价值。

方法: 建立 20 只头颈部肿瘤淋巴结转移模型兔。建模 4 周后, 行 MRI 平扫, 耳缘静脉注射 90 $\mu\text{mol Fe/kg}$ (约 4 mg/kg) 新型 MR 对比剂 USPIO, 于注射前、注射后 24 h 行 MRI 扫描。扫描后取出头颈部淋巴结, 进行组织病理学苏木精-伊红染色、普鲁士蓝染色, 确定淋巴结的性质, 定性及定量分析不同 MRI 检查方法头颈部转移淋巴结的特点, 比较 MRI 平扫及新型 MR 对比剂 USPIO 增强扫描鉴别 VX2 瘤株头颈部肿瘤转移和未转移淋巴结的能力。

结果与结论: ① 20 只兔子共分离出 57 个淋巴结, 其中 25 个病理检测证实淋巴结转移, 腮腺淋巴结发生转移的有 19 个, 颌下淋巴结发生转移的有 6 个。病理学证实 4 个转移淋巴结皮质浸润、3 个髓质浸润及 10 个皮髓质均浸润; ② MRI 平扫 13 枚转移的淋巴结为真阳性, 真阳性率为 52%(13/25); 假阳性为 10 枚, 假阳性率为 40%(10/25); MRI 诊断未转移淋巴结 34 枚, 病理学阴性淋巴结 32 枚, 真阴性率为 69%(22/32), 假阴性率为 38%(12/32); ③ 新型 MR 对比剂 USPIO 增强扫描 21 枚淋巴结经病理学证实淋巴结转移, 真阳性率为 84%(21/25), 假阳性率为 8%(2/25), MRI 诊断未转移淋巴结 34 枚, 真阴性率为 94%(30/32), 假阴性率为 13%(4/32); ④ 定量分析未转移淋巴结 $\Delta\text{SNR} = -57.20 \pm 16.03$, 转移淋巴结 $\Delta\text{SNR} = -16.20 \pm 5.03$, 增强扫描前后 ΔSNR 差值具有显著性意义 ($P < 0.05$); ⑤ 结果证实, 新型 MR 对比剂 USPIO 增强扫描和常规 MRI 比较的优势是新型 MR 对比剂 USPIO 增强扫描是诊断淋巴结转移的新方法, 诊断准确率高。

关键词:

超小型超顺磁性氧化铁颗粒; VX2 瘤株; 头颈部; 兔; 腮腺淋巴结转移; 颌下淋巴结转移; MRI 平扫; 病理学染色; 诊断准确率

主题词:

组织工程; 腮腺; 淋巴结

基金资助:

山西省卫生厅科技攻关计划项目(20100141); 山西省基础研究青年科技研究基金项目(2011021035-4); 山西省研究生优秀创新项目(20093066); 山西医科大学第二医院博士启动基金(2013-6); 山西医科大学第二医院教学基金(201603-5); 山西省教育厅高等学校科技创新项目(20141105); 山西省留学办山西省回国留学人员科研资助项目(2016-122); 山西省人社厅山西省留学回国人员科技活动项目择优资助经费(晋财社<2017>19号)

缩略语:

超小型超顺磁性氧化铁颗粒: ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles, USPIO

Li Wenjin, MD, Associate chief physician, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Corresponding author: Niu Jinliang, MD, Professor, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Ultra-small superparamagnetic iron oxide particles enhance MRI diagnosis of lymph node metastasis of the head and neck

Li Wenjin, Niu Jinliang, Zhu Li, Wang Tao, Wang Yu (Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Studies have shown that ultra-small superparamagnetic iron oxide particles (USPIO) enhanced scanning improves the specificity and sensitivity of malignant lymph node detection in pelvic, breast, and chest malignancies. However, USPIO is rarely reported in the literature addressing lymph node metastasis of the head and neck.

OBJECTIVE: To establish an animal model of lymph node metastasis of the head and neck, to analyze USPIO enhanced MRI performance of the lymph metastasis, and to explore the clinical value of USPIO in the lymph node metastasis of the head and neck.

METHODS: Animal models of lymph node metastasis of the head and neck were made in 20 healthy New Zealand rabbits. At 4 weeks after modeling, a plain MRI scan was performed. A novel MR contrast agent, USPIO, was injected into the rabbit ear vein at 90 $\mu\text{mol Fe/kg}$ (about 4 mg/kg). MRI scan was performed before and 24 hours after injection. After scanning, the head and neck lymph nodes were taken out, and hematoxylin-eosin staining and Prussian blue staining were performed to determine the nature of lymph nodes. The characteristics of head and neck metastatic lymph nodes in different MRI examinations were qualitatively and quantitatively analyzed. MRI plain scan and USPIO enhanced scan were used to identify the ability of rabbit VX2 tumor metastasis and non-metastatic lymph nodes in the head and neck.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Fifty-seven lymph nodes were isolated from 20 rabbits, 25 of which were confirmed to be metastatic by pathological examination (19 parotid lymph nodes and 6 submandibular lymph nodes). Pathological findings confirmed cortex invasion in 4 metastatic lymph nodes, medullary infiltration in 3 metastatic lymph nodes, and cortex and medulla infiltration in 10 metastatic lymph nodes. (2) The plain MRI scan detected 13 metastatic lymph nodes were true positive and the positive rate was 52% (13/25); 10 lymph nodes were false positive and the false-positive rate was 40% (10/25). MRI scans showed 34 lymph nodes without metastasis, and 32 pathology-negative lymph nodes. The true negative rate was 69% (22/32), and the false negative rate was 38% (12/32). (3) USPIO enhanced scan detected 21 metastatic lymph nodes that were confirmed pathologically. The true positive rate was 84% (21/25), and the false positive rate was 8% (2/25). MRI scans showed 34 lymph nodes without metastasis, and the true negative rate was 94% (30/32) and the false negative rate was 13% (4/32). (4) Quantitative analysis of lymph nodes without metastasis was as follows: $\Delta\text{SNR} = -57.20 \pm 16.03$, and that of metastatic lymph nodes was as follows: $\Delta\text{SNR} = -16.20 \pm 5.03$. ΔSNR values showed statistically significant differences before and after enhanced ($P < 0.05$). To conclude, USPIO enhanced MRI is a new method for the diagnosis of lymph node metastasis, and has high diagnostic accuracy compared with conventional MRI scan.

Subject headings: Tissue Engineering; Parotid Gland; Lymph Nodes

Funding: the Scientific Research Project of Shanxi Provincial Health Department, No. 20100141; the Shanxi Basic Research Foundation for Youth Science and Technology Research, No. 2011021035-4; the Graduate Innovation Project of Shanxi Province, No. 20093066; Doctoral Start Fund of Shanxi Medical University Second Hospital, No. 2013-6; the Teaching Fund of Shanxi Medical University Second Hospital, No. 201603-5; Science and Technology Innovation Project for High Educations of Shanxi Provincial Department of Education, No. 20141105; Shanxi Provincial Returned Overseas Students Research Funding Project of Shanxi Provincial Office for Study Abroad, No. 2016-122; the Shanxi Provincial Project Funding for Overseas Returnees, Shanxi Provincial Department of Human Resources and Social Sciences, No. <2017>19

0 引言 Introduction

头颈部肿瘤淋巴结转移的定位是决定治疗方案的依据,也是影响患者预后的重要因素。目前临床触诊检查对淋巴结定性诊断准确率较低。有颈部淋巴结转移的患者5年生生存率下降,同时肿瘤复发率明显增加;无颈部淋巴结转移的患者约7%发生远处转移,相反超过3个颈部淋巴结转移的患者远处转移的发生率约为50%^[1]。头颈部淋巴结的转移与远处转移密切相关^[2],因此正确判断头颈部肿瘤患者颈部淋巴结的性质意义重大。CT和超声等影像学检查以形态大小作为诊断淋巴结良恶性的标准,一般认为恶性淋巴结的直径大于10 mm,但诊断的敏感性不高。当没有囊外延伸或局灶性淋巴结坏死作为依据时,单纯以形状作为诊断指标^[3],其诊断价值有限。与其他影像学检查方法相比,MRI成像软组织分辨率高,是目前诊断淋巴结的主要影像学方法。近年来,新型MR对比剂超小型超顺磁性氧化铁颗粒(ultra-small superparamagnetic iron oxide particles, USPIO)增强扫描应用于淋巴结成像,是目前淋巴结定性诊断研究的热点。研究表明USPIO增强扫描提高了盆腔、乳腺、胸部恶性肿瘤的恶性淋巴结检测的特异性和敏感性^[4],但关于USPIO在头颈部肿瘤颈部淋巴结转移

的研究国内外文献报道较少。

实验旨在建立头颈部淋巴结转移的动物模型,分析淋巴结转移USPIO增强扫描的MRI表现,探讨USPIO在诊断头颈部淋巴结转移中的临床应用价值。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 于2015年1月至2017年5月在山西医科大学骨科实验室完成。

1.3 材料

实验动物: 20只3-5月龄新西兰杂交白兔,购自山西医科大学动物中心,许可证号:SCXK(晋)2015-0001,体质量2.0-2.5 kg,雌雄不限,无特殊病原体。该动物在使用前至少3 d的时间适应环境,饲养环境封闭,无隔离系统,符合动物保健使用委员会指南规定。实验动物个别笼养,每天喂兔约100 g全饲粮颗粒饲料,随意的酸化自来水(盐酸, pH值2.7),减少水细菌污染造成动物感染的风险。环境温度保持在18-20 $^{\circ}\text{C}$,空气相对湿度约为60%。每天通风以保持空气新鲜。

VX2瘤株: VX2瘤细胞株荷瘤兔由北京协和医院病理

科提供。

1.4 实验方法

1.4.1 头颈部肿瘤转移性淋巴结动物模型的建立

麻醉方法: 据兔体质量, 按30 mg/kg戊巴比妥钠(购于sigma公司)耳缘静脉注射用于麻醉。耳缘静脉注射致死剂量(90 mg/kg)戊巴比妥钠用于处死。

荷瘤兔的制备: 种兔麻醉后, 仰卧位固定, 皮肤进行剃毛、消毒, 放置无菌洞巾, 从皮肤分层剖开, 穿过肌肉将VX2肿瘤细胞移植在兔的大腿后方, 观察肿瘤的生长, 2周后制成荷瘤兔。

制备肿瘤细胞悬液: 荷瘤兔常规麻醉, 无菌条件下剥离肿瘤, 用生理盐水冲洗, 剔除坏死组织后, 用手术刀片切取肿瘤边缘生长旺盛的灰白色鱼肉样组织, 将其置于烧杯中用眼科剪刀将其剪碎, 再放入匀浆器中匀浆, 生理盐水稀释制成肿瘤组织细胞悬液。

建模: 实验动物模型的建立采用耳部VX2瘤株种植, 见图1, 操作方法为常规麻醉, 耳后部常规术区备皮消毒后, 种植部位为侧耳廓边缘和耳中央动脉之间, 双耳的下1/3入颅处。用18号针头在种植部位前约1 cm处入针, 潜行注入0.5 mL的肿瘤细胞悬液, 缓慢退出针头, 并用无菌纱布块压迫针孔数分钟, 防止瘤细胞渗漏。术毕肌注青霉素 40×10^4 U/只, 1次/d, 连续5 d, 预防感染。20只兔接种VX2瘤株4周后可形成头颈部肿瘤转移性淋巴结兔模型。MRI检查结束后分析图像, 记录淋巴结的解剖位置, 编号, 与解剖部位相对应。



图1 兔耳部注射 VX2 瘤株 4 周后形态

Figure 1 Morphology of the rabbit ear at 4 weeks after VX2 tumor inoculation

1.4.2 影像学检查 动物MRI检查采用GE公司1.5T磁共振扫描仪, 膝关节线圈。检查序列包括: 磁共振平扫, USPIO增强扫描。检查步骤如下: 所有动物先行MRI磁共振平扫, 静脉注射含Fe 90 μ mol/kg(约4.0 mg/kg)USPIO (购自美国大洋公司, 直径30 nm, USPIO含Fe浓度0.376 mmol/mL), 24 h后行USPIO增强扫描。动物头颈部扫描范围是头至胸骨上。所有序列行冠状面、矢状位、轴位成像。所有动物麻醉后(麻醉方法同前)仰卧位、脚先进扫描。

(1) MRI平扫及DWI扫描:

扫描序列包括: T1WI成像参数: 重复时间(repetition time, TR)560 ms, 回波时间(echo time, TE)11.0 ms, 层厚3 mm, 层间距0.3 mm, 激励次数(number of excitation, NEX)4, 矩阵(Matrix)384×256, 视野(field of view, FOV)18 cm×18 cm。

T2WI成像参数: TR: 5120 ms, TE: 87.5 ms, 层厚: 3 mm, 层间距: 0.3 mm, NEX: 4, Matrix: 384×256,

FOV: 16 cm×16 cm。

T2加权梯度回波(GRE)成像参数: TR 500 ms, TE 15 ms, 翻转角 15° – 20° , 层厚3 mm, 层间距0.3 mm, Matrix 256×256, FOV 18 cm×18 cm。

DWI扫描参数: 采用平面回波(EPI)技术, 扫描层厚: 3 mm, 层间隔厚: 1 mm, 层数: 18, TR: shortest, TE: 95 ms, Flip angle: 90° , EPI factor: 77, X, Y, Z空间轴上同时施加弥散加权梯度场, b值为0和600, 扫描矩阵: 128×128, NSA: 1, 扫描时间20 s。

(2) GD-DTPA增强MRI扫描: 耳缘静脉注射Gd-DTPA, 注射剂量为0.2 mL/kg, 扫描序列为T1WI。

(3) USPIO增强扫描MRI检查: GD-DTPA增强MRI扫描结束后24 h, 静脉注射含Fe 90 μ mol/kg(约4.0 mg/kg)USPIO, 24 h后行USPIO增强T2加权梯度回波(GRE)成像。

(4) MRI扫描淋巴结定性及定量分析: MRI图像分析由2名高年资放射科医师分别进行头颈部磁共振影像的图像分析。图像的顺序为随机给予, 所有磁共振图像经过图片存档和通信系统工作站的后处理。

MR平扫: 转移淋巴结: MRI平扫T1WI多呈中低信号, T2WI呈中高信号, 或中心信号不均匀, 圆形或球形, 最小横径大于1 cm, 淋巴结纵径/横径(L/T)< 2; 反之, 认为其为良性淋巴结。

DWI图像分析: 以病理诊断为标准, 分别测出转移淋巴结和未转移淋巴结的ADC值, 测量方法为在ADC图上设置感兴趣区, 读出所测ADC值并记录, 分析比较不同性质淋巴结ADC值的差异。

GD-DTPA增强扫描: 依据病理证实的转移淋巴结和未转移淋巴结标记的位置, 对照影像学部位, 分别在增强扫描前后淋巴结及周围正常组织设置感兴趣区, 测量信号强度。计算SI比率, SI比率的结果用平均值±标准差表示。SI比率=[SI淋巴结post/SI肌肉post]/[SI淋巴结pre/SI肌肉pre]。Post指增强扫描后, Pre指增强扫描前, 肌肉组织指同视野胸锁乳突肌。

USPIO增强扫描: 检查序列为快速自旋回波T2WI (TR/TE 5 120/87.5 ms, SE); 梯度回波(GRE)T2加权(T2WI), TR/TE 500 ms/15 ms, 翻转角 15° – 20° , 2个序列的扫描, 扫描的层厚均为3 mm, 采用0.3 mm的间隔。参考国外文献资料^[5], 确定USPIO诊断淋巴结的标准如下: 良性淋巴结诊断标准为USPIO增强T2WI上淋巴结呈均匀的低信号, 形态规则, 伴宽窄不一的环形强化区, 或均匀的低信号区内可见中性点状高信号区; 恶性淋巴结诊断标准为USPIO增强T2WI上淋巴结无明显信号减低区, 或结内不规则信号减低区, 具体见图2。

USPIO增强扫描良性淋巴结诊断标准: USPIO增强MR T2WI上淋巴结呈均匀的低信号, 形态规则, 伴宽窄不一的环形强化区, 或均匀的低信号区内可见中性点状高信号区。恶性淋巴结诊断标准: USPIO增强MR T2WI上淋巴结无明显信号减低区, 或结内不规则信号减低区。

测量注射USPIO增强扫描前、后淋巴结T2 * WI信号强度(SI), 将所测SI除以背景SI, 淋巴结信噪比(SNR)。

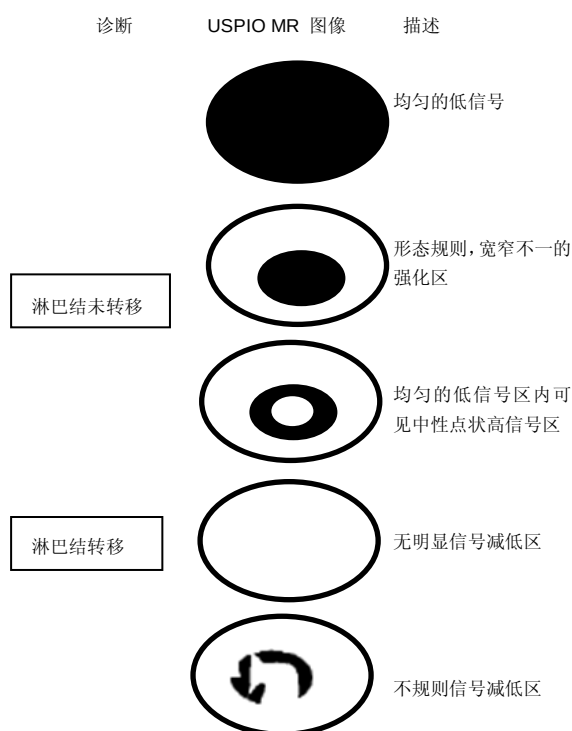


图2 超小型超顺磁性氧化铁颗粒(USPIO)增强扫描良恶性淋巴结鉴别示意图

Figure 2 Ultra-small superparamagnetic iron oxide particles enhanced scanning of benign and malignant lymph nodes

计算SNR变化(Δ SNR): Δ SNR=[(SNRpost-SNRpre)/SNRpre]×100%, SNRpost为USPIO增强后淋巴结SNR, SNRpre为USPIO增强前淋巴结SNR。将淋巴结增强前SNR与增强后SNR行配对t检验。

1.4.3 淋巴结病理组织学检查 MRI检查结束后,处死实验动物,由1名头颈外科医师对肿瘤兔的头颈部腮腺淋巴结和颌下淋巴结进行分离,切除淋巴结周围组织(图3)。淋巴结的实测体积采用水浸法测量,在X, Y, Z轴上获得最长径及与之垂直的最短径。用体积分数4%甲醛固定。解剖前同一医师对淋巴结的MR成像以及与组织病理学的关系进行了回顾。在每只兔的淋巴结磁共振图像上编号,确认与解剖位置一致。对分离的所有淋巴结进行病理组织学检查。通过常规苏木精-伊红染色、普鲁士蓝铁染色观察淋巴结转移的组织病理学表现。

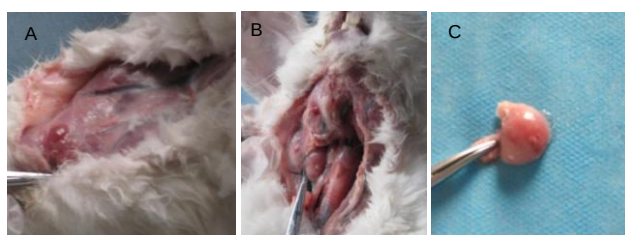


图3 淋巴结病理组织学检查图示

Figure 3 Histopathological examination of lymph nodes

图注:图A, B为接种VX2肿瘤4周后,处死实验兔,解剖示多个腮腺及颈部淋巴结;C为解剖出的淋巴结形态。

1.5 主要观察指标 分析不同MRI检查方法头颈部转移

淋巴结的特点,比较MRI平扫及USPIO增强扫描鉴别VX2瘤株头颈部肿瘤转移和未转移淋巴结的能力。

1.6 统计学分析 采用SPSS 13.0软件进行数据分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用百分率表示,组间比较用配对t检验,率的比较用卡方检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 纳入新西兰兔20只,均进入结果分析,无死亡和感染。

2.2 淋巴结病理组织学检查结果 20只兔共分离出57个淋巴结,其中25个病理检测证实淋巴结转移,见图4,32个淋巴结未发生转移。57个淋巴结中腮腺淋巴结20个、颌下淋巴结27个。腮腺淋巴结发生转移的有19个,颌下淋巴结发生转移的有6个。

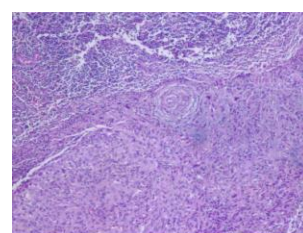


图4 临床分离出转移淋巴结的病理图片,淋巴结内有癌细胞浸润(苏木-伊红染色,×40)

Figure 4 Pathological sections of metastatic lymph nodes with cancer cell infiltration (hematoxylin-eosin staining, ×40)

转移的淋巴结在病理学检查发现有4个在淋巴结皮质存在癌细胞浸润,其中1个发现癌细胞浸润突破淋巴结皮质;有3个在淋巴结髓质可见癌细胞浸润;有10个在淋巴结皮质及髓质均可见癌细胞浸润;8个发现浸润的癌组织中可见坏死灶,表现为细胞核固缩或溶解,细胞内结构消失。

2.3 MRI检查结果

常规MRI检查: 20只兔中分离出57个淋巴结。淋巴结MRI平扫T1WI多呈中低信号,T2WI呈中高信号,或中心信号不均匀,圆形或球形,液化坏死区T2WI表现为明显高信号,被膜侵犯淋巴结边界欠清晰(图5A, B)。按淋巴结形态分为转移淋巴结及未转移淋巴结标准,符合转移淋巴结标准的23个,与病理学淋巴结检查结果对照,13枚淋巴结为真阳性,真阳性率52%(13/25),假阳性10枚,假阳性率40%(10/25);MRI诊断未转移淋巴结34枚,病理学阴性淋巴结32枚,真阴性率69%(22/32),假阴性率38%(12/32)。

DWI检测方法的ADC值: DWI显示与未转移淋巴结相比,转移淋巴结信号强度增加,液化坏死区DWI为低信号(图5C)。ADC图测量发现未转移淋巴结的ADC值为 $(1.39 \pm 0.12) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$,转移淋巴结的ADC值为 $(0.76 \pm 0.08) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$,两组的ADC值差异有显著性意义($P < 0.05$)。

Gd-DTPA增强扫描SI比率值: 结合病理学检查结果,Gd-DTPA增强扫描转移淋巴结强化明显,呈薄环状、不规则或锯齿状,或较均匀强化,中央淋巴结坏死区未见强化,未转移淋巴结强化不明显(图5D)。定量测量发现未转移淋巴结T1WI Gd-DTPA增强扫描SI比率值为 1.499 ± 0.012 ,转移淋巴结Gd-DTPA增强扫描SI比率值为 2.934 ± 0.020 ,二者差异具有显著性意义($P < 0.05$)。

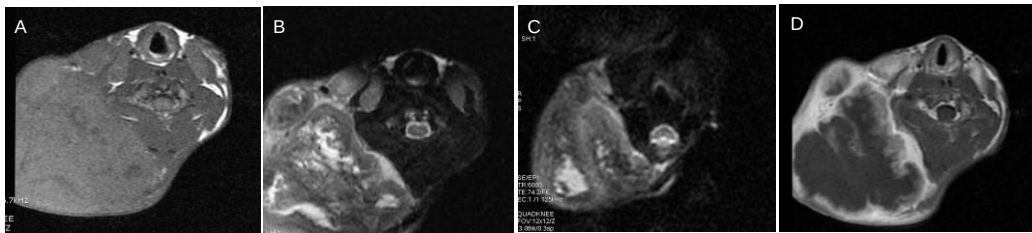


图5 接种 VX2 肿瘤 4 周后兔影像学检查结果
Figure 5 Imaging examination of the rabbit at 4 weeks after VX2 tumor inoculation

图注: 图 A 为兔仰卧位平扫 MR 轴位 T1WI 扫描显示: 转移淋巴结呈等信号, 与周围组织分界较清; B 为兔仰卧位平扫 MR 轴位 T2WI 扫描显示: 转移淋巴结呈等高信号, 与周围组织分界较清, 肿瘤内信号不均, 可见液化坏死; C 为兔仰卧位平扫 MR 轴位 DWI 扫描显示: 转移淋巴结呈稍高信号; D 为兔仰卧位 Gd-DTPA 磁共振增强扫描显示: 转移淋巴结明显强化, 肿瘤周边可见明显强化, 其内可见低信号液化坏死区。

USPIO 增强扫描结果: 定性分析: 未转移淋巴结 USPIO 增强扫描 T2WI 上淋巴结呈均匀的低信号, 形态规则, 伴宽窄不一的环形强化区, 或均匀的低信号区内可见中性点状高信号区。转移淋巴结 USPIO 增强扫描 T2WI 上淋巴结无明显信号减低区, 或结内不规则信号减低区。按 USPIO 增强扫描诊断良恶性淋巴结的标准: 符合转移淋巴结标准的 23 枚, 其中 21 枚淋巴结均病理学淋巴结转移, 真阳性率为 84%(21/25), 假阳性为 2 枚, 假阳性率 8%(2/25); MRI 诊断未转移淋巴结 34 枚, 病理学结果对照, 真阴性率为 94%(30/32), 假阴性率为 13%(4/32)。

定量分析: 未转移淋巴结: 注射 USPIO 24 h 后, T2 * WI 信号下降, 增强扫描前 SNR 值为 38.61±11.48, 增强扫描后 SNR 值为 15.30±3.69, ΔSNR= -57.20±16.03; 转移淋巴结: USPIO 增强后 T2 * WI 信号下降, SNR 下降不明显, 增强扫描前 SNR 值为 37.43±9.46, 增强扫描后 SNR 值为 32.30±2.67, ΔSNR=-16.20±5.03。增强扫描前后 ΔSNR 差值具有显著性意义。

2.4 USPIO 增强扫描与 MRI 平扫诊断淋巴结阳性率比较 按照以上转移及未转移淋巴结诊断标准, USPIO 增强扫描与 MRI 平扫诊断淋巴结阳性率比较见表 1, 两种不同检查方法对淋巴结的转移诊断阳性率差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。

表 1 超小型超顺磁性氧化铁颗粒 (USPIO) 增强扫描与 MRI 平扫诊断转移淋巴结阳性率 (%) 比较

Table 1 Positive rate of lymph node metastasis diagnosed by ultra-small superparamagnetic iron oxide particles enhanced scanning versus MRI plain scanning

检查方法	阳性		阴性		合计
	真阳性	假阳性	真阴性	假阴性	
MRI 平扫	52	40	69	38	100
USPIO	84 ^a	8 ^a	94 ^a	13 ^a	100

表注: 与 MRI 平扫比较, ^a $P < 0.05$ 。

3 讨论 Discussion

3.1 兔头颈部 VX2 肿瘤淋巴结转移动物模型的建立 头颈部淋巴结转移对头颈部肿瘤治疗方案的制定起着决定性作用, 淋巴结转移的有无在很大程度上影响局部肿瘤的控制和患者 5 年的存活率, 以及远处转移的可能性^[6]。为了更好地了解淋巴结转移蔓延的机制, 需要建立一种转移机制与人体接近的动物模型, 此模型的建立为进一步了解头颈

部淋巴结转移的机制, 以及准确鉴定良恶性淋巴结的研究提供依据。文献报道鼠淋巴血管系统和淋巴结分布的研究较早, 但是大鼠的鳞状细胞癌转移主要通过血源性扩散^[7], 这种动物模型对研究淋巴转移扩散价值有限。以往研究报道家兔的食管癌区域淋巴结转移的详细位置, 腹部及下肢的肿瘤区域淋巴结转移的特点^[8], 研究表明家兔恶性肿瘤淋巴结转移率高。目前关于兔 VX2 肿瘤淋巴结转移的模型, 国内外主要集中在腮腺淋巴结转移上^[9], 这是因为该解剖部位只有一个淋巴结, 便于取材和定位, 使得病理切片与影像扫描参数断面基本保持一致, 保证淋巴结的断面病理结构与 MRI 图像的精确对照。

淋巴转移是兔 VX2 肿瘤的一大特点, 且兔头颈部的淋巴结分布与人类的头颈部淋巴结分布极其相似^[10], 这对研究人头颈部淋巴结的转移有很大帮助。第一部分研究表明 VX2 肿瘤兔头颈部移植瘤, 病理组织学检查表明为鳞状细胞癌; 移植的肿瘤呈浸润性生长, 头颈部淋巴结转移率高, 是进行人类头颈部肿瘤淋巴结转移实验研究的理想动物模型; 兔头颈部不同部位 VX2 瘤生长各具特点, 可根据研究目的选择不同的种植部位。

3.2 兔颈部 VX2 肿瘤淋巴结转移的特点 Dunne 等^[10]对新西兰白兔头颈部的淋巴结进行了详细的描述。Dunne 等^[10]将蓝色染料注射于耳廓以后, 其引流的第 1 站淋巴结为腮腺淋巴结, 第 2 站为颈部淋巴结, 将 VX2 肿瘤接种于耳背后, 出现腮腺淋巴转移, 但没有描述其他颈淋巴结的情况。先前的研究表明头颈部 VX2 肿瘤淋巴结转移的途径分别为: 耳部肿瘤淋巴结转移先是腮腺淋巴结^[11], 再是颌下淋巴结; 舌部及鼻咽部肿瘤淋巴结转移的途径先是颈部淋巴结, 再是颌下淋巴结。摘除颈浅淋巴结需打开颈筋膜, 剥离颌下淋巴结需要分离从下颌角至下颌肌之间的颈筋膜的表面结构, 腮腺淋巴结在剥离开腮腺筋膜后容易发现, 与此形成鲜明对比, 手术切除的颈深淋巴结很难发现, 因为切开气管鞘暴露喉才能找到位于胸骨甲状肌深面的环状软骨旁的颈深淋巴结。因此, 实验采用新西兰白兔耳部接种 VX2 瘤株造模建立头颈部肿瘤淋巴结转移的动物模型, 发生淋巴结转移的部位是腮腺和颌下, 便于解剖。实验分离出 57 个实验兔头颈部的淋巴结。57 个淋巴结中腮腺淋巴结 20 个、颌下淋巴结 27 个。腮腺淋巴结发生转移的有 19 个, 颌下淋巴结发生转移的有 6 个。

3.3 兔头颈部 VX2 肿瘤淋巴结转移的特征

淋巴结的形态、大小: 正常或反应增生性头颈部淋巴

结通常为椭圆形或长椭圆形,极少数为长条形或球形,而转移性淋巴结大多数趋向于圆形或球形。早期研究认为主要用纵横比(L/T)来鉴别转移性与反应增生性淋巴结,亦即淋巴结长短径比,又称圆球指数^[12]。Steinkamp等^[13]对730个增大的颈部淋巴结研究结果显示,L/T大于2且形状呈长圆形的淋巴结诊断为反应增生性淋巴结的诊断符合率为95%,L/T小于2且形状为圆形或球形的诊断为转移性淋巴结的诊断符合率亦为95%,而临界线大小的球形淋巴结则很可能是转移性病变。纵横比结合淋巴结形态,可更准确地区分反应性增生淋巴结和转移性淋巴结。

关于淋巴结大小的标准,在颈部无淋巴结转移(N0期)尤其重要。Brekel等^[3]研究表明,常用的标准大约10 mm(最小横径)是不可靠的,最佳淋巴结大小的标准应是诊断结果的灵敏度和特异度均较高;最低横径为7 mm,对其余的颈部淋巴结为6 mm的诊断标准在颈部无明显的转移时有较高敏感性和特异性。然而,据报道以往的研究在没有降低特异度的前提下灵敏度不超过75%^[14],这可能是造成微转移普遍存在的原因。实验发现转移淋巴结的纵横比(L/T)小于2,同相关研究结果一致。但转移淋巴结的大小可在2-12 mm,因为淋巴结中心的转移灶并不总是引起体积的明显变化。如果单纯以大小作为判断标准有局限性,可能导致许多转移性淋巴结漏诊,因此,除淋巴结大小、形态外,其内部结构的改变也应纳入评价标准中。

淋巴结中央坏死:中央坏死在转移性淋巴结中较为常见,同时坏死也是头颈部鳞癌转移淋巴结的特征性表现之一。对比增强MRI和CT图像显示有中央坏死的不均匀强化的淋巴结是恶性淋巴结的表征。Brekel等^[12]的研究显示,74%的转移淋巴结病理证明有坏死或囊性区,而影像学只能辨认32%。因此影像学显示淋巴结密度均一的尚不能排除是否转移。但Brekel等认为阳性淋巴结是否能观察到中心坏死与其大小有相关性,即中心坏死更容易在大淋巴结中发现。有研究报道,直径>1.5 cm和<1.0 cm的转移性淋巴结中央坏死的发生率分别为56%-63%和10%-33%^[15]。Eida等^[16]对N₀期口腔癌患者的随访研究表明,最短径<1.0 cm的转移性淋巴结,其中35%可出现坏死。

实验在8个转移的淋巴结中发现坏死存在,其中有6个的直径大于10 mm,也充分证实坏死与其大小有相关性,即中心坏死更容易在大淋巴结中发现,但直径小于10 mm也会发生坏死。

囊外蔓延:肿瘤浸润淋巴结囊外蔓延指转移的肿瘤突破受侵的淋巴结包膜而侵犯其周围组织,它是转移性淋巴结的一个特征,它导致约50%患者的预后不良。囊外蔓延常表现为淋巴结边界不清、周围脂肪间隙模糊或消失。一旦发生囊外蔓延,肿瘤就可能侵犯到周围的一些重要结构,如颈内动脉、神经以及颅底骨质等。有研究表明,区域淋巴结转移与淋巴结囊外的区域性转移的蔓延明显影响患者的生存^[17]。有囊外蔓延的患者比没有囊外蔓延的患者或无病理淋巴结的患者有较高的区域复发和远处转移率。

文献报道一般认为囊外蔓延与淋巴结大小有相关性^[18],随着淋巴结的增大,囊外蔓延的可能性也随之增加,通常

直径>3.0 cm的恶性淋巴结,约3/4存在囊外蔓延。实验发现有1个转移淋巴结发生囊外蔓延,这个淋巴结的直径为8 mm,与相关报道一致。

3.4 兔头颈部VX2肿瘤淋巴结转移磁共振成像诊断 目前临床触诊检查是诊断淋巴结转移的基本方法,由于检查者的经验不一,淋巴结的大小、部位、外科手术疤痕或放射治疗后纤维化等因素,其准确率受到一定的影响,如位于胸锁乳突肌深面、气管食管沟及咽后组等深部的淋巴结很难触及,临床触诊的假阴性率能达到50%。常规CT和超声检查以形态做为诊断淋巴结良恶性的标准,一般认为恶性淋巴结的直径大于10 mm^[12-13],但头颈部转移淋巴结的最大横径往往都在10 mm以下,有的甚至<5 mm,诊断的敏感性并不高。当没有囊外延伸或没有局灶性淋巴结坏死作为依据时,以形状做为诊断指标,其诊断的价值也有限^[3]。

尽管PET/CT的总准确度较高,但对于颈部N0期患者,由于PET/CT对小转移灶的诊断的敏感度较低以及相对较高的假阳性率,因此该期TNM分期不能仅仅依靠PET/CT的检查结果。此外,由于该检查技术价格昂贵,其临床应用也因此受到一定限制,推广使用尚有一定困难^[19]。

CT软组织分辨率较低,诊断淋巴结性质应用价值有限^[20]。根据不同淋巴结病变的TDC走势结合形态学表现,可以提高淋巴结病变的诊断水平。因此,需要一种有效的方法能够可靠地用来识别小的淋巴结转移。

目前MRI是诊断转移淋巴结的主要方法。目前研究表明DWI在实体肿瘤治疗后活性的评价具有重要的意义^[21],转移淋巴结肿瘤取代正常组织后,肿瘤组织细胞间隙减小,与正常淋巴结相比,水分子弥散能力下降,因此可用于转移淋巴结的诊断。USPIO是一种新型磁共振对比剂^[22],直径<30 nm,血浆半衰期200 min,具有血池造影和单核巨噬细胞特异吞噬两个重要特性,是分子影像学领域研究的重要方法。USPIO颗粒分布于吞噬细胞或血管内^[23],造成局部磁场不均匀,水分子(质子)扩散通过此不均匀磁场时改变质子横向磁化的相位,加速质子去相位的过程,使质子的T2值缩短,称为磁化率效应。USPIO也具有缩短T1值,低浓度时T1增强效应较明显的作用。淋巴结内的巨噬细胞虽位于皮质淋巴窦、副皮质区、髓索及髓质淋巴窦等各个部位,但主要分布于髓索及髓质淋巴窦,即淋巴结的中心^[25],由于USPIO能够被淋巴结中的巨噬细胞吞噬,并暂时在淋巴结蓄积,使得淋巴结的T2弛豫时间显著缩短,导致T2WI淋巴结信号强度的下降。但关于头颈部肿瘤头颈部淋巴结转移的研究国内外较少,实验旨在采用兔子头颈部淋巴结转移的MR增强影像学表现与病理标本的准确对照,通过研究淋巴结USPIO增强MR影像特征,从病理显微结构上探讨USPIO对恶性淋巴结鉴别诊断的临床应用价值。研究通过对接种VX2肿瘤的兔子头颈部行MRI平扫、DWI、Gd-DTPA增强扫描及USPIO增强扫描,且与病理检查进行对照,来评价4种方法对肿瘤转移性淋巴结的鉴别潜力。

兔头颈部VX2肿瘤淋巴结转移MRI平扫:实验结果显示转移淋巴结与未转移淋巴结信号强度并无明显差异,T1WI表现为低信号,T2WI表现为不均匀高信号,囊变坏

死区表现为明显长T2信号。因此依靠MRI平扫的信号特点鉴别转移淋巴结比较困难。相反57个淋巴结大小及形态差异明显。实验依据淋巴结的大小、形态进行良、恶性淋巴结的鉴别,认为最小横径>1 cm、纵径/横径(L/T)<2且形状为圆形或球形的为转移性淋巴结,反之,认为其为良性淋巴结。结果显示符合转移淋巴结标准的23个,与病理学淋巴结检查结果对照,13枚淋巴结为真阳性,真阳性率为52%(13/25),假阳性为10枚,假阳性率为40%(10/25);MRI诊断未转移淋巴结34枚,病理学证实阴性淋巴结32,真阴性率为69%(22/32),假阴性率为38%(12/32)。单纯以形态学做为区分淋巴结性质的标准出现假阳性的原因可能是动物模型中存在炎性淋巴结增生的可能。新西兰白兔在接受VX2瘤株后,局部组织在肿瘤破坏生长的同时,动物抵抗力下降,可能存在炎性反应淋巴结体积增大。同理出现假阴性的结果说明体积较小的淋巴结也可能发生转移。因此,单纯依靠体积大小及形态来鉴别头颈部淋巴结性质有一定局限性。有学者认为频率选择性脂肪抑制(化学位移)和短T1的反转恢复(STIR)序列^[3]。应成为头部和颈部扫描的标准成像序列,因为大多数颈部淋巴结位于在T1加权图像成高信号的脂肪组织内,脂肪抑制能增加淋巴结与周围组织的对比度。实验认为淋巴结周围高信号的脂肪组织有助于显示低信号包膜,当淋巴结出现包膜侵犯时,边缘欠光整,与高信号脂肪组织对比鲜明,有助于观察淋巴结包膜的形态。另外在人体多种肿瘤分期中,肿瘤组织是否突破包膜均是分期重要因素,如前列腺癌、宫颈癌的分期^[27]。因此实验认为在形态学研究中,将包膜是否完整、受侵作为鉴别转移淋巴结的因素,可提高转移淋巴结的检出率,该领域的确切结论有待于进一步研究。

兔头颈部VX2肿瘤淋巴结转移MR弥散加权成像(DWI): DWI是一种在分子运动水平上,细胞外水分子运动及灌注是组织DWI信号形成的主要原因。研究表明恶性淋巴结由于细胞内大分子含量的增加及核浆比增加,细胞结构紧密,细胞外间隙减小,水分子的扩散能力减低,在DWI上表现为高信号,而未转移淋巴结在DWI上呈等低信号, DWI信号的改变与相应的病理学特点一致^[28]。鉴于DWI具有图像清晰,背景信号抑制充分及无辐射、在活体上可重复实施等优点,有望用于恶性肿瘤患者原发灶及转移灶的早期筛查。实验结果表明,与未转移淋巴结相比,转移淋巴结DWI显示信号强度增加,液化坏死区DWI为低信号。ADC图测量未转移淋巴结的ADC值为 $(1.39\pm 0.12)\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$,转移淋巴结的ADC值为 $(0.76\pm 0.08)\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$,两组的ADC值差异有显著性意义。说明ADC值可作为MRI定量研究方法,分析淋巴结的性质。文献报道可以把中央结节状坏死作为判断转移性淋巴结的特异性指征^[15],但此征象在转移性淋巴结中出现率为32%~78%,当转移淋巴结发生坏死时,局部组织弥散能力增强,ADC值增加,出现正常淋巴结的ADC表现。因此与常规MRI检查序列相比,DWI可以提供更为有用的功能方面的诊断信息,在转移淋巴结的定性诊断方面有很好的应用前景。

兔头颈部VX2肿瘤淋巴结转移Gd-DTPA增强扫描: 实

验结果表明Gd-DTPA增强扫描转移淋巴结强化明显,呈薄环状、不规则或锯齿状,或较均匀强化,这种强化特征与淋巴结转移机制有关,一般认为肿瘤细胞随区域淋巴引流而侵入头颈部淋巴结后,先暂时停留于淋巴结皮层边缘的网状窦穴内,而后肿瘤细胞向淋巴结间质的漏斗部浸润,弥漫整个淋巴结,MRI增强扫描表现转移早期呈薄环状、不规则或锯齿状,后期肿瘤浸润整个淋巴结时表现为均匀强化。未转移淋巴结未见明显强化。定量测量未转移淋巴结T1WI Gd-DTPA增强扫描SI比率值及转移淋巴结Gd-DTPA增强扫描SI比率值差异有显著性意义。

兔头颈部VX2肿瘤淋巴结转移USPIO增强扫描:

USPIO增强扫描检查方法分析:①浓度:不同大小USPIO造影剂粒子单位摩尔浓度所含USPIO的量不同,文献报道USPIO扫描剂量为Fe 30 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 到1 mmol/kg ^[29],实验认为计算每公斤体重铁含量更为准确,综合各家文献报道,采用粒子直径30 nm的USPIO颗粒,稀释后4 mg/kg 静脉注射,结果证实图像质量能满足诊断研究要求;②扫描时间:目前研究表明USPIO经静脉注射后通过血管内皮细胞进入间质^[23],并最终被正常功能的淋巴结和炎性淋巴结摄取,由网状内皮系统吞噬,如巨噬细胞或组织细胞。静脉注射USPIO后24 h,淋巴结巨噬细胞能充分吞噬USPIO颗粒,是检查局部巨噬细胞吞噬能力的最佳时相^[30];③检查序列:USPIO颗粒分布于吞噬细胞或血管内,造成局部磁场不均匀,水分子(质子)扩散通过此不均匀磁场时改变质子横向磁化的相位,加速质子去相位的过程,使质子的T2值缩短,称为磁化率效应。USPIO也具缩短T1值,低浓度时T1增强效应较明显,目前认为梯度回波T2WI对USPIO增强扫描T2信号衰减^[31]。

增强扫描转移淋巴结定性分析:实验按USPIO增强扫描诊断良恶性淋巴结的标准:符合转移淋巴结标准的23枚,其中21枚淋巴结均病理学证实淋巴结转移,真阳性率为84%(21/25),假阳性为8%(2/25);MRI诊断未转移淋巴结34枚,与病理学结果对照,真阴性率为94%(30/32),假阴性率为13%(4/32)。病理学对照分析假阳性原因主要是动物模型中存在炎性淋巴结增生的可能,表现为皮质增生,皮质结构含巨噬细胞较少,吞噬USPIO减少,信号强度未见明显改变,误认为转移淋巴结。假阴性的原因是肿瘤主要侵犯皮质结构,中央髓质未见明显侵犯,因此淋巴结巨噬细胞仍能吸收USPIO。与常规MRI增强扫描相比,USPIO诊断真阳性淋巴结的水平提高。

USPIO增强扫描转移淋巴结定量分析:未转移淋巴结注射USPIO 24 h后,T2 * WI信号下降。转移淋巴结USPIO增强后T2 * WI信号下降,SNR下降不明显。说明USPIO作为巨噬细胞特异性造影剂在诊断转移淋巴结有重要意义。

总之,MRI是诊断淋巴结转移的重要方法,常规MRI检查以形态学评估淋巴结转移有一定的局限性。USPIO增强扫描是诊断淋巴结转移的新方法,诊断准确率高。

作者贡献: 实验设计为第一作者和通讯作者。实验实施为第三、四、五作者。实验评估为第二作者和通讯作者。资料收集为第一、二作者。

经费支持: 该文章接受了“山西省卫生厅科技攻关计划项目(20100141), 山西省基础研究青年科技研究基金项目(2011021035-4), 山西省研究生优秀创新项目(20093066), 山西医科大学第二医院博士启动基金(2013-6), 山西医科大学第二医院教学基金(201603-5), 山西省教育厅高等学校科技创新项目(20141105), 山西省留学办山西省回国留学人员科研资助项目(2016-122), 山西省人社厅山西省留学回国人员科技活动项目择优资助经费(晋财社<2017>19号)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程不存在利益冲突。

机构伦理问题: 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例, 实验方案中有关动物伦理问题已经山西医科大学实验动物伦理委员会讨论批准。

写作指南: 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实施与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

生物统计学声明: 本文统计学方法已经山西医科大学第二医院生物统计学专家审核。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- Hoffmann TK, Schuler PJ, Laban S, et al. Response evaluation in head and neck oncology: definition and prediction. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2017;79(1):14-23.
- Maruyama T, Nishihara K, Saio M, et al. Kikuchi-Fujimoto disease in the regional lymph nodes with node metastasis in a patient with tongue cancer: a case report and literature review. *Oncol Lett*. 2017;14(1):257-263.
- Van den Brekel M, Castelijns J, Snow G. The size of lymph nodes in the neck on sonograms as a radiologic criterion for metastasis: how reliable is it? *A JNR Am J Neuroradiol*. 1998;19:695-700.
- Kim SH, Oh SN, Choi HS, et al. USPIO enhanced lymph node MRI using 3D multi-echo GRE in a rabbit model. *Contrast Media Mol Imaging*. 2016;11(6):544-549.
- Lahaye MJ, Engelen SM, Kessels AG, et al. USPIO-enhanced MR imaging for nodal staging in patients with primary rectal cancer: predictive criteria. *Radiology*. 2008;246(3):804-811.
- Crott R, Lawson G, Nollevaux MC, et al. Comprehensive cost analysis of sentinel node biopsy in solid head and neck tumors using a time-driven activity-based costing approach. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016;273(9):2621-2628.
- Werner JA. Untersuchungen zum Lymphgefäßsystem der oberen Luft-und Speisewege. Aachen: Shaker. 1995.
- Kim SH, Oh SN, Choi HS, et al. Ultra-small superparamagnetic iron oxide mediated magnetic hyperthermia in treatment of neck lymph node metastasis in rabbit pyriform sinus VX2 carcinoma. *Tumour Biol*. 2015;36(10):8035-8040.
- Payabvash S, Meric K., Cayci Z. Differentiation of benign from malignant cervical lymph nodes in patients with head and neck cancer using PET/CT imaging. *Clin Imaging*. 2016;40(1):101-105.
- Dunne AA, Plehn S, Schulz S, et al. Lymph node topography of the head and neck in New Zealand white rabbits. *Lab Anim*. 2003;37:37-43.
- 李文晋, 牛金亮, 朱莉, 等. 头颈部不同部位肿瘤动物模型的建立及生长转移特性比较[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(5):748-753.
- Van den Brekel MW, Stel HV, Castelijns JA, et al. Cervical lymph node metastases: assessing of radiological criteria. *Radiology*. 1990;177(2):379-384.
- Steinkamp HJ, Hosten N, Richter C, et al. Enlarged cervical lymph nodes at helical CT. *Radiology*. 1994;191(3):795-798.
- Iannessi A, Ouvrier MJ, Thariat J, et al. Imaging in head and neck cancers. *Bull Cancer*. 2014;101(5):469-480.
- Sun J, Li B, Li CJ, et al. Computed tomography versus magnetic resonance imaging for diagnosing cervical lymph node metastasis of head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. *Onco Targets Ther*. 2015;8:1291-1313.
- Eida S, Sumi M, Yonetsu K, et al. Combination of helical CT and Doppler sonography in the follow-up of patients with clinical N0 stage neck disease and oral cancer. *AJNR*. 2003;24(3):312-318.
- 李文晋, 牛金亮, 金慧兰, 等. 头颈部肿瘤颈部淋巴结隐匿性转移的病理实验研究[J]. *中国药物与临床*, 2012, 12(12):1533-1535.
- Poantà L, Pop S, Cosgarea M, et al. The role of contrast enhanced ultrasound in the assessment of superficial lymph nodes. *Rom J Intern Med*. 2012;50(3):189-193.
- Manca G, Vanzi E, Rubello D, et al. (18)F-FDG PET/CT quantification in head and neck squamous cell cancer: principles, technical issues and clinical applications. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2016;43(7):1360-1375.
- Lu L, Li Y, Li W. The role of intravoxel incoherent motion MRI in predicting early treatment response to chemoradiation for metastatic lymph nodes in nasopharyngeal carcinoma. *Adv Ther*. 2016;33(7):1158-1168.
- 蓝美红, 牛金亮, 李文晋, 等. 相对表观弥散系数与钆喷替酸葡甲胺增强 MRI 诊断兔头颈转移淋巴结的对比研究[J]. *中国中西医结合影像学杂志*, 2012, 10(2):105-108.
- Triantafyllou M, Studer UE, Birkhäuser FD, et al. Ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide allow for the detection of metastases in normal sized pelvic lymph nodes of patients with bladder and/or prostate cancer. *Eur J Cancer*. 2013;49(3):616-624.
- Froehlich JM, Triantafyllou M, Fleischmann A, et al. Does quantification of USPIO uptake-related signal loss allow differentiation of benign and malignant normal-sized pelvic lymph nodes? *Contrast Media Mol Imaging*. 2012;7(3):346-355.
- Schramm N. Macrophage imaging for differentiation between infectious spondylitis/spondylodiscitis and sterile vertebral inflammation: new options for the use of USPIO-enhanced MRI beyond lymph node characterization. *Radiology*. 2010;50(3):205-207.
- Wu L, Cao Y, Liao C, et al. Diagnostic performance of USPIO-enhanced MRI for lymph- node metastases in different body regions: a meta-analysis. *Eur J Radiol*. 2011;80(2):582-589.
- Choi SH, Kim KH, Moon WK, et al. Comparison of lymph node metastases assessment with the use of USPIO-enhanced MR imaging at 1.5 T versus 3.0 T in a rabbit model. *J Magn Reson Imaging*. 2010;31(1):134-141.
- Bandini M, Gandaglia G, Fossati N, et al. An Explanatory Case on the Limitations of Lymph Node Staging in Recurrent Prostate Cancer. *Urol Case Rep*. 2017;12:34-36.
- Kawai Y, Sumi M, Nakamura T. Turbo short tau inversion recovery imaging for metastatic node screening in patients with head and neck cancer. *Am J Neuroradiol*. 2006;27(6):1283-1287.
- Smits LP, Coolen BF, Panno MD, et al. Noninvasive differentiation between hepatic steatosis and steatohepatitis with mr imaging enhanced with USPIOs in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a proof-of-concept study. *Radiology*. 2016;278(3):782-791.
- Seyfer P, Pagenstecher A, Mandic R, et al. Cancer and inflammation: differentiation by USPIO-enhanced MR imaging. *J Magn Reson Imaging*. 2014;39(3):665-672.
- Liang L, Luo X, Lian Z, et al. Lymph node metastasis in head and neck squamous carcinoma: efficacy of intravoxel incoherent motion magnetic resonance imaging for the differential diagnosis. *Eur J Radiol*. 2017;90:159-165.