

❖ 实验研究

MR lymphography in detecting internal mammary sentinel lymph node for rabbit models of VX2 breast cancer

WANG Pan'ge, TAN Hongna, WANG Bo, XIAO Huijuan, GAO Jianbo*

(Department of Radiology, the First Hospital Affiliated Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

[Abstract] **Objective** To explore the feasibility of MR lymphography (MR-LG) in detecting internal mammary sentinel lymph node (SLN) for rabbit models of VX2 breast cancer. **Methods** Totally 75 New Zealand white rabbits were randomly divided into 2 groups to establish VX2 breast cancer (tumor group) and inflammation models (inflammation group), respectively. MR-LG examinations and lymph node dissection were performed in all the rabbits. The results of internal mammary SLN and lymphatic vessels mapping were recorded, and the influence factors were analyzed. **Results** The success rate of model establishment was 97.33% (73/75). The detection rate of internal mammary SLN and lymphatic vessels was 15.94% (11/69) and 75.36% (52/69), respectively, there was no statistical difference between the two groups (both $P > 0.05$). The rabbit's weight, time of tumor growth, tumor size, number, size and status of axillary SLN, as well as presence or not of internal mammary lymph vessels detection showed no statistical difference between detection and non-detection of internal mammary SLN (all $P > 0.05$), while the tumor size and axillary lymph node number showed statistically significant differences between detection and not detection of internal lymphatic vessels (both $P < 0.05$). The accuracy, sensitivity, specificity, false negative and false positive rate of internal mammary SLN detection with MR-LG was 76.81% (53/69), 39.13% (9/23), 95.65% (44/46), 60.86% (14/23) and 4.35% (2/46), respectively. **Conclusion** MR-LG can effectively detect internal mammary SLN and lymphatic vessels for rabbit models of VX2 breast cancer.

[Key words] Breast neoplasms; Internal mammary lymph node; Sentinel lymph node; Magnetic resonance imaging; Lymphography

DOI:10.13929/j.1003-3289.201705076

MR 淋巴造影显影兔 VX2 乳腺癌模型内乳前哨淋巴结

王攀鸽, 谭红娜, 王 博, 肖慧娟, 高剑波*

(郑州大学第一附属医院放射科, 河南 郑州 450052)

[摘要] **目的** 探讨 MR 淋巴造影(MR-LG)显影兔 VX2 乳腺癌内乳前哨淋巴结(SLN)的可行性。**方法** 将 75 只新西兰大白兔分别建立兔 VX2 乳腺癌(肿瘤组)及炎性(炎症组)实验动物模型,并对其进行 MR-LG 检查,检查后进行淋巴结清扫术。记录内乳 SLN 及淋巴管的显示情况,分析影响其显像的因素。**结果** 实验兔建模成功率为 97.33% (73/75); MR-LG 对内乳 SLN 及淋巴管的显示率分别为 15.94% (11/69)和 75.36% (52/69),其在肿瘤组与炎症组差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。肿瘤组内乳 SLN 显示与未显示实验兔间体质量,肿瘤生长时间,肿瘤长径,腋窝 SLN 数目、大小及阳性数目,内乳淋巴管显影情况差异均无统计学意义(P 均 > 0.05);内乳淋巴管显示与未显示实验兔间肿瘤大小及腋窝 SLN 数目差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。MR-LG 检出内乳 SLN 的准确率、敏感度、特异度、假阴性率及假阳性率分别为 76.81% (53/69)、39.13% (9/23)、95.65% (44/46)、60.86% (14/23)和 4.35% (2/46)。**结论** MR-LG 可有效显像兔

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(81401378)。

[第一作者] 王攀鸽(1990—),女,河南新密人,在读硕士。研究方向:乳腺及腹部肿瘤影像诊断。E-mail: wpg_wangpange@163.com

[通信作者] 高剑波,郑州大学第一附属医院放射科,450052。E-mail: cjr.gaojianbo@vip.163.com

[收稿日期] 2017-05-12 **[修回日期]** 2018-03-20

VX2 乳腺癌模型内乳 SLN 及淋巴管。

[关键词] 乳腺肿瘤;内乳淋巴结;前哨淋巴结;磁共振成像;淋巴造影

[中图分类号] R-332; R445.2 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2018)05-0641-05

淋巴结转移是乳腺癌最主要的转移途径。内乳淋巴结接受乳腺 25% 的淋巴液回流,其有无受累影响乳腺癌治疗方案的选择、临床准确分期及预后评估^[1-2]。随着前哨淋巴结(sentinel lymph node, SLN)活检技术在临床上的推广应用,内乳区 SLN 活检已成为临床外科研究的热点^[3],但常规影像学方法往往无法显示内乳 SLN。MR 淋巴造影(MR lymphography, MR-LG)已用于腋窝 SLN 显像^[4]。本研究探讨 MR-LG 显示兔 VX2 乳腺癌内乳 SLN 的可行性,旨在为临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取雌性健康新西兰大白兔 75 只(由河南省实验动物中心提供),月龄 5~8 个月,体质量 1.5~1.8 kg,分为肿瘤组($n=55$)或炎症组($n=20$)。

1.2 建立动物模型 肿瘤组:将 VX2 肿瘤(由 Shope 病毒致乳头瘤恶变形成上皮细胞恶性肿瘤,经过 72 次传代后建株)软组织块剪成约 1 mm³ 碎块,以 18G 穿刺活检针将其种植于实验兔右侧胸壁第 2 对乳头的乳垫下,2 周左右形成约“黄豆”大的实质性肿块,2~4 周后以触及实验兔腋下肿大淋巴结为建立兔 VX2 乳腺癌模型成功。炎症组:以 5 ml 注射器分别于实验兔单侧胸壁第 2 对乳垫下及上肢腋侧皮下注射 1 ml 蛋黄乳胶(新鲜鸡蛋黄与生理盐水按 10:1 配制,置匀浆器内充分乳化),5 天后重复上述操作。实验兔均按普通级动物给予分笼饲养,观察肿瘤生长情况及腋窝淋巴结是否肿大,以触及腋窝淋巴结肿大或移植肿瘤最大径 ≥ 3 cm 为 MR-LG 检查的最佳时机。

1.3 仪器与方法 采用 Philips Achieva 3.0T MR 仪,SENSE XL TORSO TWO 线圈。麻醉后将动物仰卧位、四肢伸展保定于约 35 cm $\times$ 35 cm 自制检查板上。先行常规平扫检查,扫描范围自锁骨上窝至瘤体下缘,扫描序列及参数:轴位自旋回波 T1W 序列,TE 2 ms,TR 3 ms,FOV 180 mm $\times$ 180 mm,层厚 2 mm;轴位或冠状位反转恢复快速自旋回波 T2W 序列,TE 70 ms,TR 785 ms,FOV 210 mm $\times$ 210 mm,层厚 3 mm。之后肿瘤组于 VX2 肿瘤深部及内侧缘皮下分别注射钆喷酸葡胺注射液 0.5 ml,炎症组注射于乳晕区皮下,按摩 3 min 后再次行 MR 扫描,扫描序列为轴位及冠状位 T1W,扫描参数同平扫,并于 5 min 后再重复扫描 1 次。

采用 ISP 工作站进行图像后处理,将自注射部位至内乳或腋窝方向的引流淋巴通路上最先显像的 1 个或数个淋巴结定义为 SLN,观察并记录 SLN 及其引流淋巴管显像情况,并测量淋巴结大小。

1.4 SLN 清扫术和术后病理学评价 于 MR 检查后 2 天内行淋巴结清扫术。术前 24 h 内注射^{99m}Tc-硫胶体(核素强度 0.7 mCi,直径约 10~20 nm,每个注射点注射 0.5 ml),注射方法同 MR-LG,并于注射 45~60 min 后行核素淋巴显像,以寻找腋窝和/或内乳淋巴结的放射性热点,并进行体表标记。麻醉、保定动物同 MR-LG 检查,以相同方法注射亚甲蓝(每个注射点 1 ml)并按摩 3 min 后,经耳缘静脉空气栓塞处死实验兔。沿体表标记在患侧腋窝作约 4 cm 手术切口,切开皮下组织,寻找蓝染淋巴管,并循淋巴管寻找蓝染淋巴结;然后以 γ 探测器检出有放射性热点的淋巴结。打开胸廓,在胸骨两侧寻找蓝染及放射性计数增高的内乳淋巴结。以蓝染淋巴结、蓝染淋巴管直接指向的淋巴结或放射性计数达到所检出淋巴结最高放射性计数值 10% 的淋巴结均视为 SLN,并手术摘除。记录内乳及腋窝 SLN 个数、大小,对手术摘除的淋巴结行常规 HE 染色后行病理学评价。将有癌细胞浸润的 SLN 称为阳性 SLN,反之则为阴性。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 21.0 统计分析软件。对计量资料行正态性检验,服从正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并行方差齐性检验,如方差齐,两组间比较采用两独立样本 t 检验;不服从正态分布资料用中位数(上,下四分位数)表示,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。分类资料用频数及百分比表示,以 χ^2 检验或 Fisher 精确检验比较组间差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

75 只实验兔中,73 只建模成功,成功率 97.33% (73/75);2 只失败,其中肿瘤组 1 只肿瘤未生长,炎症组 1 只因上肢、胸壁严重感染而死亡。73 只实验兔中,4 只因麻醉过度或检查后不明原因死亡,最终纳入 69 只实验兔,其中肿瘤组 51 只(图 1A、1B),炎症组 18 只。

2.1 内乳 SLN 及淋巴管显影情况 MR-LG 对实验兔内乳 SLN 及内乳淋巴管的显示率分别为 15.94% (11/69) 和 75.36% (52/69),其中显示淋巴结 16 枚、内乳淋巴管 79 条。肿瘤组与炎症组间内乳 SLN 及内

乳淋巴管显示情况差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05 , 表 1、图 1C、1D)。

2.2 肿瘤组 MR-LG 显示内乳 SLN 的影响因素 肿瘤组 MR-LG 内乳 SLN 显示与未显示实验

兔间体质量、肿瘤生长时间、肿瘤长径、腋窝 SLN 数目、长径、阳性数目、内乳淋巴管显影情况差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05 , 表 2); 肿瘤组内

表 1 肿瘤组及炎症组实验兔 MR-LG 显示内乳 SLN 及淋巴管情况

组别	内乳 SLN		内乳淋巴管	
	显示[只(枚)]	未显示(只)	显示[只(枚)]	未显示(只)
肿瘤组 ($n=51$)	9(13)	42	39(58)	12
炎症组 ($n=18$)	2(3)	16	13(21)	5
χ^2 值	0.424		0.129	
P 值	0.515		0.719	

乳淋巴管显示与未显示实验兔间原发灶肿瘤大小及腋窝 SLN 数目差异有统计学意义 (P 均 < 0.05 , 表 3)。

表 2 肿瘤组实验兔 MR-LG 显示内乳 SLN 的影响因素分析

内乳 SLN 显示情况	体质量 (kg)	肿瘤生长时间 (天)	肿瘤长径 (mm)	腋窝 SLN			内乳淋巴管(条)	
				数目(枚)	长径(mm)	阳性数目(枚)	显示	未显示
显示 ($n=9$)	2.09 ± 0.23	43(33,43)	21.61 ± 8.24	2(1,5,2)	6.46 ± 2.28	1	9	0
未显示 ($n=42$)	2.01 ± 0.25	32(28,44)	24.07 ± 10.93	2(2,2)	7.45 ± 2.71	13	30	12
$t/Z/\chi^2$ 值	0.543	0.834	-0.565	-0.173	-1.449	1.465	3.363	
P 值	0.597	0.414	0.575	0.875	0.151	0.226	0.067	

表 3 肿瘤组实验兔 MR-LG 显示内乳淋巴管的影响因素分析

内乳淋巴管显示情况	体质量 (kg)	肿瘤生长时间(天)	肿瘤大小 (mm)	腋窝 SLN 数目(枚)	腋窝 SLN 长径(mm)	腋窝 SLN 状态(枚)	
						阳性	阴性
显示 ($n=39$)	2.09 ± 0.23	40(29,44)	25.22 ± 11.48	2(1,2)	7.30 ± 2.76	13	26
未显示 ($n=12$)	2.01 ± 0.25	31(28,41)	19.47 ± 5.66	2(1,2)	7.16 ± 2.17	1	11
$t/Z/\chi^2$ 值	0.543	0.917	2.230	-2.055	0.201	2.880	
P 值	0.597	0.359	0.032	0.040	0.841	0.090	

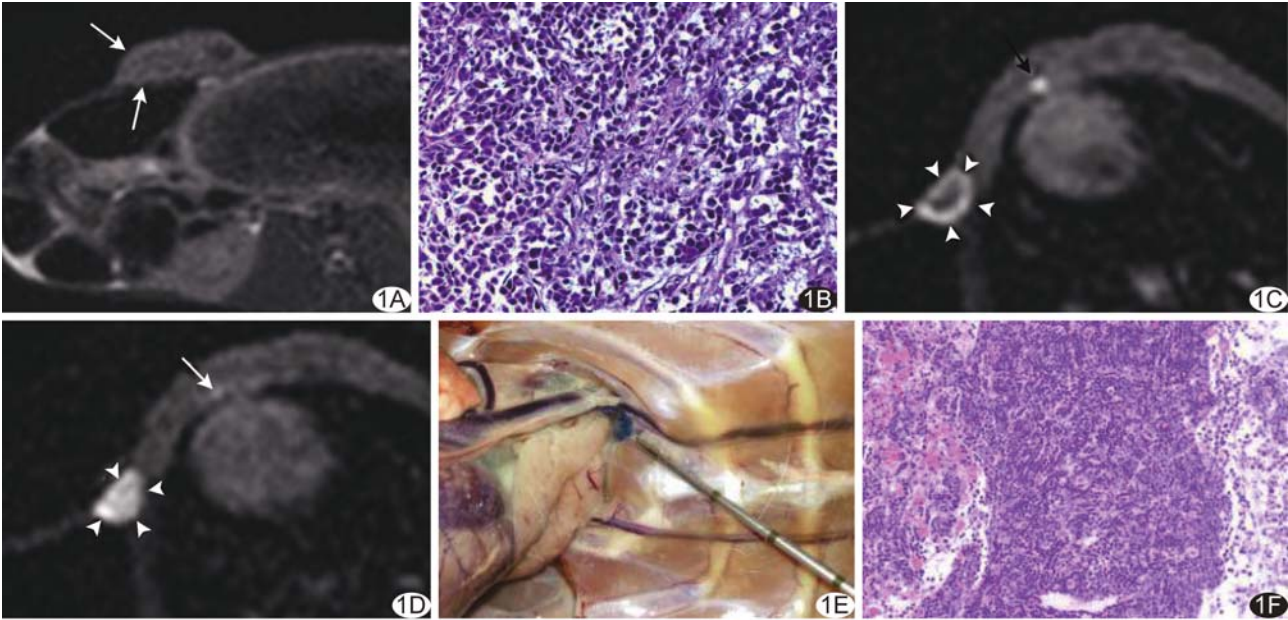


图 1 肿瘤组实验兔 A. 轴位 T2WI 示右侧腹壁皮下肿块(箭), 信号不均; B. 病理图示恶性肿瘤细胞(HE, $\times 400$); C、D. MR-LG 轴位 T1WI 示右侧胸骨旁第 2~3 肋间内乳 SLN(C, 黑箭)及内乳淋巴管(D, 白箭), 同时可见右侧腋窝 SLN(箭头)显影; E. 术中见右侧第 2~3 肋间蓝染淋巴结; F. 镜下见淋巴结内、尤其包膜下大量炎细胞浸润, 以粒细胞为主, 未见肿瘤细胞(HE, $\times 100$)

2.3 MR-LG 与 SLN 清扫术结果对比 SLN 清扫术共检出 23 只实验兔 31 枚内乳 SLN, 均为炎性改变(阴性 SLN, 图 1E、1F)。以手术结果为金标准, MR-LG 检出内乳 SLN 的准确率、敏感度、特异度、假阴性率及假阳性率分别为 76.81% (53/69)、39.13% (9/23)、95.65% (44/46)、60.86% (14/23) 及 4.35% (2/46)。MR-LG 与 SLN 清扫术检出的内乳 SLN 的特征比较见表 4, 手术标本测量内乳 SLN 长径、短径均大于 MR-LG 测量值 (P 均 < 0.05), 而两者长短径比值差异无统计学意义 ($P=0.195$)。

表 4 MR-LG 与 SLN 清扫术检出兔内乳 SLN 特征比较 ($\bar{x} \pm s$)

检出方式	长径(mm)	短径(mm)	长径/短径
MR-LG	2.64 $\pm$ 0.59	2.24 $\pm$ 0.54	1.20 $\pm$ 0.21
SLN 清扫术	3.48 $\pm$ 0.52	2.76 $\pm$ 0.49	1.27 $\pm$ 0.16
t 值	-5.721	-0.524	-1.317
P 值	< 0.001	0.001	0.195

3 讨论

既往研究^[5-7]表明, 采用 VX2 肿瘤组织块原位种植建立乳腺癌动物模型及乳晕皮下注射新鲜鸡蛋黄胶体建立兔炎性淋巴结动物模型简单有效。本组建模成功率为 97.33% (73/75)。肿瘤组 1 只未见明确肿瘤组织生长, 可能与移植肿瘤组织块活性、实验动物个体免疫状况及生长环境差异等有关; 1 只炎症组兔因上肢、胸壁形成大片脓肿、严重感染死亡, 可能与注射蛋黄乳剂量较多、进针过深、穿破筋膜及实验兔不耐受等因素有关。

乳腺 SLN 显像检查时, 对比剂注射部位(乳晕区或肿瘤周围皮下)邻近肿瘤, 对比剂流动方向与肿瘤淋巴引流方向一致, 可较好地反映肿瘤病变的局部淋巴引流情况^[8-9]。MR-LG 检查已用于显像并初步评价乳腺癌腋窝淋巴结状态^[4,10-11]。

内乳淋巴结位置较深, 主要引流乳腺内侧及深部淋巴液, 临床主要通过术前淋巴闪烁显像及术中 γ 探测器对其进行定位^[2,12]。目前多将同位素示踪剂注射于乳腺实质或肿瘤深部, 并采用双象限两点注射法^[13]等改良核素示踪剂注射技术^[14]。本研究采用两点注射法, 将对比剂/示踪剂注入乳腺实质及肿瘤深部, 以提高 SLN 显像率。本组结果显示, MR-LG 对内乳 SLN 及淋巴管的显示率分别为 15.94% (11/69) 和 75.36% (52/69), 提示 MR-LG 显示兔 VX2 乳腺癌模型的内乳 SLN 及其引流淋巴管具有可行性。以 SLN

清扫术结果为金标准, 本组 MR-LG 检出内乳 SLN 的准确率较高, 为 76.81% (53/69), 且假阴性率及假阳性率均较低, 表明 MR-LG 显示实验兔内乳 SLN 及淋巴管具有较高价值。

原发灶肿瘤大小及腋窝淋巴结有无受累与内乳淋巴结转移有关^[15-16]。本研究将触及腋窝淋巴结肿大或移植肿瘤最大径 > 3 cm 作为影像学检查的最佳时机, 理论上可提高内乳淋巴结的转移率及显像率。但本组 MR-LG 检查中 SLN 总体显示率仅为 15.94% (11/69), 且均为炎性, 与预期存在差异, 可能与本组动物模型肿瘤侵袭性较弱、实验动物个体免疫力较强或内乳区淋巴结未见增大或转移有关, 提示宜采用侵袭性较强的瘤株建立动物模型。本研究中内乳 SLN 显像与否与原发灶肿瘤大小及腋淋巴结状态等均无明显关系, 可能与显影内乳 SLN 数目较少有关; 而原发灶大小及腋淋巴结数目影响内乳淋巴管的显示, 提示可进一步调整检查时机, 以提高内乳淋巴管显示率。内乳淋巴结处于乳腺淋巴引流通路, 理论上提高内乳淋巴管显示率可相应提高内乳 SLN 显示率, 有待扩大样本量进一步观察。

本研究中手术标本测量的内乳 SLN 长、短径均大于 MR-LG 测量值, 分析原因, 手术标本测量长径为其三维最大径, 而 MR-LG 均在轴位图像测量淋巴结长、短径, 受扫描层厚及测量误差影响, 所选测量层面可能非最大截面。另外, 淋巴结长短径比值主要反映淋巴结形态, MR-LG 与手术检出内乳 SLN 比较差异无统计学意义, 表明 MR-LG 图像可基本反映淋巴结形态。

总之, 以 MR-LG 显示兔 VX2 乳腺癌模型内乳 SLN 及其引流淋巴管具有可行性, 尚需深入研究、改良方法, 以提高其显示率。

[参考文献]

- [1] Cong BB, Qiu PF, Wang YS. Internal mammary sentinel lymph node biopsy: Minimally invasive staging and tailored internal mammary radiotherapy. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21 (7): 2119-2121.
- [2] Gnerlich JL, Barreto-Andrade JC, Czechura T, et al. Accurate staging with internal mammary chain sentinel node biopsy for breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21(2):368-374.
- [3] 邱鹏飞, 赵荣荣, 丛斌斌, 等. 乳腺癌内乳区前哨淋巴结活检术对淋巴结分期和个体化治疗的影响. *中华肿瘤杂志*, 2016, 38(1): 42-47.
- [4] Lu Q, Hua J, Kassir MM, et al. Imaging lymphatic system in breast cancer patients with magnetic resonance

- lymphangiography. PLoS One, 2013, 8(7):e69701.
- [5] 刘玉玺,孙业全,王苗苗,等.改良型乳腺癌淋巴结转移模型的制备及超声表现.中国医学影像学杂志,2016,24(6):410-413.
- [6] 孟珊,李传明,杨新华,等.磁共振间质淋巴造影诊断乳腺癌腋窝淋巴结转移.中国医学影像技术,2013,29(12):1977-1980.
- [7] 王志铭,刘欣,钱颖,等.兔乳腺肿瘤及炎性病变前哨淋巴结间接CT淋巴造影实验研究.辽宁医学院学报,2010,31(4):289-292,381.
- [8] Suga K, Ogasawara N, Okada M, et al. Interstitial CT lymphography-guided localization of breast sentinel lymph node: Preliminary results. Surgery, 2003, 133(2):170-179.
- [9] Suga K, Ogasawara N, Yuan Y, et al. Visualization of breast lymphatic pathways with an indirect computed tomography lymphography using a nonionic monometric contrast medium iopamidol: Preliminary results. Invest Radiol, 2003, 38(2):73-84.
- [10] Li C, Meng S, Yang X, et al. Sentinel lymph node detection using magnetic resonance lymphography with conventional gadolinium contrast agent in breast cancer: A preliminary clinical study. BMC Cancer, 2015, 15:213.
- [11] Shiozawa M, Kobayashi S, Sato Y, et al. Magnetic resonance lymphography of sentinel lymph nodes in patients with breast cancer using superparamagnetic iron oxide: A feasibility study. Breast Cancer, 2014, 21(4):394-401.
- [12] 丛斌斌,邱鹏飞,王永胜.乳腺癌内乳区前哨淋巴结活检术研究进展.中华普通外科学文献(电子版),2013,7(4):311-314.
- [13] 邱鹏飞,刘雁冰,赵荣荣,等.乳腺癌内乳区前哨淋巴结显像新技术.中华肿瘤杂志,2013,35(11):858-862.
- [14] Qiu PF, Cong BB, Zhao RR, et al. Internal mammary sentinel lymph node biopsy with modified injection technique: High visualization rate and accurate staging. Medicine (Baltimore), 2015, 94(41):e1790.
- [15] Huang O, Wang L, Shen K, et al. Breast cancer subpopulation with high risk of internal mammary lymph nodes metastasis: Analysis of 2,269 Chinese breast cancer patients treated with extended radical mastectomy. Breast Cancer Res Treat, 2008, 107(3):379-387.
- [16] Lee HW, Kim SH. Breast magnetic resonance imaging for assessment of internal mammary lymph node status in breast cancer. J Breast Cancer, 2016, 19(2):191-198.

本刊可以直接使用的英文缩略语(一)

计算机断层摄影术(computed tomography, CT)
 多层螺旋CT(multiple-slice CT, MSCT)
 多排螺旋CT(multi-detector CT, MDCT)
 高分辨率CT(high resolution CT, HRCT)
 容积CT(volumetric computed tomography, VCT)
 CT血管造影(computed tomographic angiography, CTA)
 CT静脉造影(CT venography, CTV)
 磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)
 功能磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)
 扩散(弥散)加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)
 磁敏感加权成像(susceptibility-weighted imaging, SWI)
 扩散(弥散)张量成像(diffusion tensor imaging, DTI)
 灌注加权成像(perfusion weighted imaging, PWI)
 磁共振血管造影(magnetic resonance angiography, MRA)
 磁共振波谱(magnetic resonance spectroscopy, MRS)
 氢质子磁共振波谱(proton magnetic resonance spectroscopy, ¹H-MRS)
 表观扩散(弥散)常数(apparent diffusion coefficient, ADC)
 数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)
 经导管动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial

chemoembolization, TACE)
 经颈静脉肝内门-体分流术(transjugular intrahepatic porto-systemic shunt, TIPS)
 冠状动脉血管造影术(coronary angiography, CAG)
 最大密度投影(maximum intensity projection, MIP)
 容积再现技术(volume rendering technique, VRT)
 表面阴影成像(surface shaded displace, SSD)
 最小密度投影(minimum intensity projection, MinIP)
 多平面重建(multi-planar reconstruction, MPR)
 多平面重组(multi-planar reformation, MPR)
 容积再现(volume rendering, VR)
 容积重建(volume reconstruction, VR)
 曲面重组(curved planar reformation, CPR)
 曲面重建(curved planar reconstruction, CPR)
 自旋回波(spin echo, SE)
 快速自旋回波(fast spin echo, FSE)或者(turbo spin echo, TSE)
 快速场回波(fast field echo, FFE)
 平面回波成像(echo planar imaging, EPI)
 梯度回波(gradient echo, GRE)
 信噪比(signal noise ratio, SNR)
 对比噪声比(contrast noise ratio, CNR)