

❖ 实验研究

Effects of melatonin on diffusion weighted imaging and expression of Fas, FasL, cleaved Caspase-3 proteins in rats of focal cerebral ischemia

WANG Haiyu¹, CHEN Lanfen¹, WANG Xiaoli^{1,2*}, YAN Shaozhen¹, MU Qingjie³, ZHAO Yansong⁴

(1. Department of Medical Imaging, Weifang Medical University, Weifang 261053, China;

2. Medical Imaging Center, 4. Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of

Weifang Medical University, Weifang 261031, China; 3. Department of Hematology,

Clinical Medicine College of Weifang Medical University, Weifang 261053, China)

[Abstract] **Objective** Based on middle cerebral artery occlusion (MCAO) model, to investigate the effects of melatonin (MT) on DWI and expression of Fas, FasL and cleaved Caspase-3 proteins in rat model with focal cerebral ischemia. **Methods** Eighty SD rats were randomly divided into Sham group ($n=16$), MCAO group ($n=32$) and MT group ($n=32$). The rats in sham group were treated with sham-operation. And the rats in MCAO and MT groups were peritoneally injected with saline and MT respectively. The behavioral scores were assessed in the three groups. The rats in MCAO and MT group with the behavioral scores of 1—3 points were selected in the study. The DWI relative signal intensity (rDWI-SI), Fas, FasL and cleaved Caspase-3 proteins were respectively examined by MR scanning and immunohistochemical staining in all rats of each group at 6 h, 24 h, 72 h and 7 days after ischemia reperfusion (IR) or sham-operation. And the DWI and immunohistochemical results for each group were compared. **Results** At last, there were 16 rats in sham group, 29 rats in MCAO group and 30 rats in MT group, respectively. There was significant difference of the behavioral scores among the three groups ($\chi^2=50.125$, $P<0.01$). The behavioral scores of MT and MCAO groups were higher than those of sham group (all $P<0.05$). And the behavior scores of the MT group were lower compared with MCAO group after IR. Compared with the rDWI-SI values measured at 6 h, 24 h and 72 h, 7 days in sham group, the rDWI-SI values of MT and MCAO groups were significantly higher (all $P<0.01$). And the rDWI-SI was higher in MCAO group than those in MT group at 6 h, 24 h and 72 h after IR (all $P<0.01$). And there was no significant difference of rDWI-SI at 7 days after IR between MT and MCAO groups ($P>0.05$). The immunohistochemical staining results showed that the number of Fas, FasL and cleaved Caspase-3 positive cells in MCAO and MT groups were significantly higher than those in sham group (all $P<0.01$). And there were less Fas, FasL and cleaved Caspase-3 positive cells in MT groups compared with MCAO group (all $P<0.05$) at 6 h, 24 h and 72 h after IR. There was no significant difference of Fas, FasL and cleaved Caspase-3 positive cells among the three groups at 7 days after IR ($P>0.05$). **Conclusion** MT can effectively alleviate the rDWI-SI value and inhibit the expression of Fas, FasL and cleaved Caspase-3 proteins in rats of focal cerebral ischemia.

[Key words] Diffusion magnetic resonance imaging; Brain ischemia; Melatonin

DOI:10.13929/j.1003-3289.201701073

[基金项目] 山东省自然科学基金(ZR2014HQ077、ZR2014JL049)、国家自然科学基金(81000268)。

[第一作者] 王海宇(1992—),男,山东日照人,在读硕士。研究方向:脑损伤疾病的影像学研究。E-mail: wanghy_wfmc@163.com

[通信作者] 王晓莉,潍坊医学院医学影像学系,261053; 潍坊医学院附属医院医学影像中心,261031。E-mail: wxlpine@163.com

[收稿日期] 2017-01-12 **[修回日期]** 2017-06-26

褪黑素对局灶性脑缺血大鼠扩散加权成像及脑组织中 Fas、FasL、活性 Caspase-3 蛋白表达的影响

王海宇¹, 陈岚芬¹, 王晓莉^{1,2*}, 闫少珍¹, 牟青杰³, 赵岩松⁴

(1. 潍坊医学院医学影像学系, 山东 潍坊 261053; 2. 潍坊医学院附属医院影像中心, 4. 眼科, 山东 潍坊 261031; 3. 潍坊医学院临床医学院血液科, 山东 潍坊 261053)

[摘要] **目的** 基于大脑中动脉栓塞(MCAO)模型,探讨褪黑素(MT)对局灶性脑缺血大鼠脑 DWI 及脑组织中 Fas、FasL、活性 Caspase-3 蛋白表达的影响。**方法** 将 80 只 SD 大鼠随机分为 Sham 组($n=16$)、MCAO 组($n=32$)及 MT 组($n=32$)。MCAO 组及 MT 组建立大鼠 MCAO 模型后,于脑缺血再灌注(IR)前后 30 min,分别腹腔注射生理盐水与 MT; Sham 组进行假手术操作,腹腔注射生理盐水。对各组大鼠进行行为学评分,于 MCAO 组及 MT 组中选取评分为 1~3 分者纳入研究。分别于假手术或 IR 后 6 h、24 h、72 h、7 天,行大鼠脑 DWI 扫描,计算相对 DWI 信号强度(rDWI-SI);并于每一时间点各组随机选取大鼠进行 Fas、FasL 及活性 Caspase-3 免疫组化染色观察,并比较各组 Fas、FasL、活性 Caspase-3 阳性细胞数(个/ mm^2)。**结果** 最终 Sham 组 16 只、MCAO 组 29 只、MT 组 30 只大鼠纳入研究。3 组间大鼠行为学评分差异具有统计学意义($\chi^2=50.125, P<0.01$),MT 组及 MCAO 组行为学评分均高于 Sham 组(P 均 <0.01),MT 组行为学评分低于 MCAO 组($P<0.01$)。IR 后 6 h、24 h、72 h、7 天,MCAO 组及 MT 组 rDWI-SI 值均高于 Sham 组假手术后相应时间 rDWI-SI 值(P 均 <0.01);IR 后 6 h、24 h、72 h,MCAO 组 rDWI-SI 值均高于 MT 组(P 均 <0.05);IR 后 7 天 MT 组与 MCAO 组间 rDWI-SI 值差异无统计学意义($P>0.05$)。IR 后 6 h、24 h、72 h,MT 组及 MCAO 组 Fas、FasL 染色及活性 Caspase-3 染色阳性细胞数均较 Sham 组增多(P 均 <0.01),MT 组较 MCAO 组减少($P<0.05$);IR 后 7 天,3 组间阳性细胞数差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 在大鼠局灶性脑缺血损伤模型中,MT 可有效减低 rDWI-SI 值,并可抑制 Fas、FasL、活性 Caspase-3 蛋白表达。

[关键词] 扩散磁共振成像;脑缺血;褪黑素

[中图分类号] R-332; R445.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2017)09-1309-06

脑缺血后恢复血液灌注,对脑组织会造成更严重的损伤,即缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)损伤。局灶性脑缺血损伤的形成与神经细胞凋亡密切相关^[1]。通过 DWI 在活体组织内检测水分子弥散运动,可早期、准确发现脑缺血性病灶。褪黑素(N-acetyl-5-methoxytryptamine, MT)是一种广谱抗氧化剂和有效的自由基清除剂,可通过抗氧化、抗凋亡、抗炎等多种途径起到神经保护作用^[2]。本课题组前期研究^[3]发现利用 DWI 技术可反映 MT 对脑缺血后神经保护作用,但其减轻细胞凋亡、促进神经修复的机制尚不明确。本实验于建立大鼠大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型前后注射 MT,对大鼠做行为学评分,并通过 DWI 技术观察脑组织信号,分析 DWI 信号变化情况,进一步结合免疫组织化学染色探讨 MT 对局灶性脑缺血细胞凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 大鼠 MCAO 模型建立及分组 成年雄性 SD 大鼠 80 只购自济南实验动物和动物实验中心,并由其授权使用[批号 SCXK(鲁 2015-0001)],体质量 280~

320 g,平均(296.37 ± 9.48)g。采用随机数字表法随机分为 3 组,于腹腔注射 10%水合氯醛(剂量 3.5 ml/kg 体质量)麻醉后分别对各组进行不同操作。对 MCAO 组 32 只大鼠采用 Longa 等的方法^[4]并结合本课题组前期实验^[3,5-6]的经验建立 MCAO 模型,于 IR 前后 30 min 分别腹腔注射生理盐水(剂量 5 ml/kg 体质量);对 MT 组 32 只大鼠建立 MCAO 模型,于 IR 前后 30 min 分别腹腔注射 MT(剂量 5 ml/kg 体质量);对 Sham 组 16 只大鼠分离右侧颈总动脉后缝合,手术前后 30 min 分别腹腔注射生理盐水(剂量为 5 ml/kg 体质量)。

1.2 行为学评价 待大鼠麻醉清醒,采用 Longa 等^[4]的方法对 3 组大鼠进行行为学评分并记录神经功能缺失症状:0 分,无行为学异常改变;1 分,梗死对侧前肢屈曲呈抱拳样;2 分,梗死对侧肢体肌力及侧推力减弱;3 分,行走时向对侧转圈或倾倒;4 分,意识障碍、瘫痪或死亡。将 MCAO 组及 MT 组中评分为 1~3 分者纳入研究。

1.3 MR 检查 各组大鼠均于假手术或 IR 后 6 h、24 h、72 h、7 天行脑冠状位 DWI 扫描,采用 GE Signa Excite HDXT 3.0T MR 扫描仪,腹腔注射 10%水合

氯醛(剂量 3.5 ml/kg 体质量)进行麻醉后,将大鼠俯卧位放置于腕关节线圈内。DWI 扫描参数: $b=0$ 、1 000 s/mm², TR 2 400 ms, TE 94.5 ms, NEX 3, 矩阵 160×160, 层厚 3 mm, 层间距 0.2 mm。

利用 GE AW 4.2 工作站及 Functool 图像后处理软件进行图像分析,选择脑缺血损伤最大层面,于患侧病灶中心和对侧镜像区分别放置 3 个面积为 2 mm² 的 ROI,测量病变侧及对侧镜像区 DWI 信号强度(diffusion weighted imaging signal intensity, DWI-SI)值并计算其平均值。而后计算相对 DWI 信号强度(relative diffusion weighted imaging signal intensity, rDWI-SI),即病变侧与对侧镜像区 DWI-SI 的比值。

1.4 Fas、FasL、活性 Caspase-3 免疫组化染色观察 分别于假手术或 IR 后 6 h、24 h、72 h、7 天进行组织学观察。Sham 组各时间点随机选取 4 只大鼠;MCAO 组术后 6 h 随机选取 8 只大鼠,24 h、72 h、7 天各随机选取 7 只大鼠;MT 组 6 h、24 h 随机选取 8 只大鼠,72 h、7 天随机选取 7 只大鼠。腹腔注射 10%水合氯醛(剂量 3.5 ml/kg 体质量)麻醉后,采用生理盐水及 4%多聚甲醛进行心脏灌注,断头取脑后以 4%多聚甲醛固定,将大鼠脑组织包埋并制成 5 μ m 切片。进行 Fas、FasL 及 Caspase-3 免疫组化染色后,观察染色情况并于高倍镜(×400)下随机选取梗死灶 5 个视野,利用 CellSens Dimension 1.6 软件测量图片面积,计算 Fas、FasL、活性 Caspase-3 阳性细胞数(个/mm²),取平均值。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 22.0 统计学分析软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。大鼠行为学评分比较采用 Kruskal-Wallis H 秩和检验;rDWI-SI 值及免疫组化阳性细胞数的比较采用单因素方差分析,方差齐时组间两两比较采用 LSD 法,方差不齐时采用 Tamhan's 法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学评分 麻醉清醒后,Sham 组 16 只大鼠行为学评分均为 0 分,神经功能正常;MCAO 组 3 只、

MT 组 2 只大鼠评分为 4 分,不纳入实验;最终 Sham 组 16 只、MCAO 组 29 只、MT 组 30 只大鼠纳入研究。3 组大鼠行为学评分差异有统计学意义($\chi^2=50.125, P<0.01$);Sham 组大鼠评分保持稳定,无神经功能缺失症状;MCAO 组和 MT 组大鼠行为学评分均明显高于 Sham 组(P 均 <0.01),MT 组行为学评分低于 MCAO 组($P<0.01$),见图 1。

2.2 DWI 分析 Sham 组 DWI 未见异常信号。MCAO 组及 MT 组患侧大脑皮质及纹状体 DWI 呈明显高信号(图 2A);IR 后 6~72 h,MT 组异常信号范围较 MCAO 组减小(图 2B)。IR 后 6 h、24 h、72 h, MCAO 组及 MT 组 rDWI-SI 值均随时间延长呈升高趋势,于 72 h 达到峰值,而后逐渐减低。MCAO 组及 MT 组 IR 后 6 h、24 h、72 h、7 天 rDWI-SI 值均高于 Sham 组假手术后相应时间 rDWI-SI 值(P 均 <0.01);IR 后 6 h、24 h、72 h, MCAO 组 rDWI-SI 值均高于 MT 组(P 均 <0.05);IR 后 7 天,MT 组与 MCAO 组间 rDWI-SI 值差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

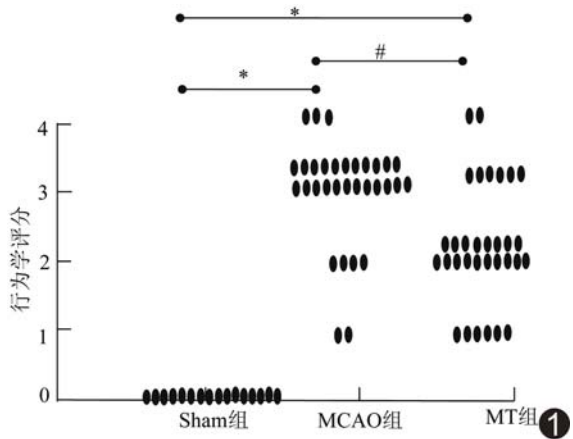


图 1 各组大鼠行为学评分比较 (与 Sham 组比较, * : $P<0.01$; # : 与 MCAO 组比较, $P<0.01$)

2.3 免疫组化

2.3.1 Fas、FasL 染色 Sham 组脑皮质细胞排列整

表 1 各组大鼠 IR 后不同时间点 rDWI-SI 值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	6 h	24 h	72 h	7 天
MCAO 组($n=29$)	$1.67 \pm 0.17^*$	$2.08 \pm 0.19^*$	$2.50 \pm 0.19^*$	$1.45 \pm 0.05^*$
MT 组($n=30$)	$1.39 \pm 0.20^{* \#}$	$1.74 \pm 0.26^{* \#}$	$2.14 \pm 0.26^{* \#}$	$1.30 \pm 0.12^*$
Sham 组($n=16$)	1.09 ± 0.14	1.08 ± 0.13	1.10 ± 0.13	1.10 ± 0.18
F 值	23.556	58.951	120.421	9.882
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注: * : 与 Sham 组比较, $P<0.01$; # : 与 MCAO 组比较, $P<0.05$

齐、走行规律, Fas、FasL 标记细胞较少, 间隙无水肿。IR 后 6~72 h, MT 组及 MCAO 组皮质细胞皱缩变形, Fas、FasL 阳性细胞增多, 排列紊乱, 组织间隙水肿较重, 阳性细胞与 Sham 组比较差异均有统计学意义 (P 均 <0.01)。MT 组皮质细胞排列较规律, 周围水肿轻, 阳性细胞数较 MCAO 组减少 (P 均 <0.05)。IR 后 7 天, 3 组间阳性细胞数差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2、3、图 3、4。

2.3.2 活性 Caspase-3 染色 Sham 组海马 CA1 区细胞排列整齐、紧密, 仅见少数活性 Caspase-3 细胞。IR 后 6 h, MT 组及 MCAO 组 CA1 区细胞皱缩变形, 间隙增宽, 活性 Caspase-3 细胞增多; IR 后 24、72 h 阳性细胞数进一步增多, 细胞形态更加不规则, 水肿进一步加重, 部分细胞呈空泡样改变。MCAO 组及 MT 组 IR 后 6、24、72 h 阳性细胞数均较 Sham 组假手术后相应时间增多, 差异均有统计学意义 (P 均 <0.05); 但 MT 组细胞排列较为规律, 周围水肿较轻, 活性 Caspase-3 阳性细胞数较 MCAO 组减少 (P 均 <0.05)。IR 后 7 天, 3 组间阳性细胞数差异无统计学

意义 ($P>0.05$)。见表 4、图 5。

3 讨论

目前认为局灶性脑缺血损伤涉及细胞凋亡、自由基损伤、氧化应激、 Ca^{2+} 超载、炎症等多种因素, 各因素相互作用, 构成复杂的级联损伤反应, 加重神经功能损伤^[1]。急性应激状态时机体 MT 浓度降低、功能紊乱, MT 对局灶性脑缺血损伤中具有神经保护作用^[7]。本实验采用 DWI 技术观察 MT 对局灶性脑缺血大鼠的影响, 结合行为学评分、Fas、FasL、活性 Caspase-3 免疫组织化学染色, 探讨 MT 治疗局灶性脑缺血的神经保护作用机制。

行为学评分是对 MCAO 模型重要且极易获得的参考指标, 可用于评价神经功能损伤及修复情况。本实验研究结果表明, MT 组和 MCAO 组行为学评分均不同程度增高, 但 MT 组行为学评分低于 MCAO 组, 提示 MT 组神经功能恢复更快, MT 治疗可起到神经保护的作用。DWI 技术已在缺血性脑卒中的早期发现及早期诊断中得到广泛应用, 可准确评估机体水分子的弥散运动。rDWI-SI 值可用于判断急性脑缺血损

表 2 各组大鼠 IR 后不同时间点 Fas 阳性细胞数比较 (个/ mm^2 , $\bar{x} \pm s$)

组别	6 h	24 h	72 h	7 天
MCAO 组 ($n=29$)	322.80 $\pm$ 35.23 *	436.99 $\pm$ 43.50 *	498.47 $\pm$ 70.99 *	153.71 $\pm$ 28.00
MT 组 ($n=30$)	223.98 $\pm$ 40.04 * #	270.09 $\pm$ 46.97 * #	333.78 $\pm$ 38.51 * #	127.36 $\pm$ 21.40
Sham 组 ($n=16$)	116.57 $\pm$ 19.26	117.98 $\pm$ 22.47	118.58 $\pm$ 31.44	120.78 $\pm$ 22.78
F 值	49.615	82.952	72.485	2.588
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05

注: * : 与 Sham 组比较, $P<0.01$; # : 与 MCAO 组比较, $P<0.05$

表 3 各组大鼠 IR 后不同时间点 FasL 阳性细胞数比较 (个/ mm^2 , $\bar{x} \pm s$)

组别	6 h	24 h	72 h	7 天
MCAO 组 ($n=29$)	289.86 $\pm$ 45.67 *	346.96 $\pm$ 50.67 *	426.01 $\pm$ 66.51 *	109.80 $\pm$ 17.36
MT 组 ($n=30$)	191.05 $\pm$ 39.28 * #	283.27 $\pm$ 52.31 * #	351.35 $\pm$ 32.01 * #	96.62 $\pm$ 19.64
Sham 组 ($n=16$)	82.26 $\pm$ 18.34	81.66 $\pm$ 15.93	74.66 $\pm$ 21.12	87.86 $\pm$ 11.85
F 值	40.792	51.764	87.182	2.210
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05

注: * : 与 Sham 组比较, $P<0.01$; # : 与 MCAO 组比较, $P<0.05$

表 4 各组大鼠 IR 后不同时间点活性 Caspase-3 阳性细胞数比较 (个/ mm^2 , $\bar{x} \pm s$)

组别	6 h	24 h	72 h	7 天
MCAO 组 ($n=29$)	118.23 $\pm$ 18.65 * *	174.33 $\pm$ 22.89 * *	227.67 $\pm$ 17.65 * *	79.19 $\pm$ 14.47
MT 组 ($n=30$)	93.49 $\pm$ 15.91 * #	125.38 $\pm$ 20.26 * * #	193.02 $\pm$ 22.37 * * #	76.99 $\pm$ 13.33
Sham 组 ($n=16$)	72.14 $\pm$ 8.34	68.94 $\pm$ 10.83	68.74 $\pm$ 15.31	65.74 $\pm$ 12.06
F 值	11.902	39.663	100.120	1.466
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05

注: * : 与 Sham 组比较, $P<0.05$; * * : $P<0.01$; # : 与 MCAO 组比较, $P<0.05$

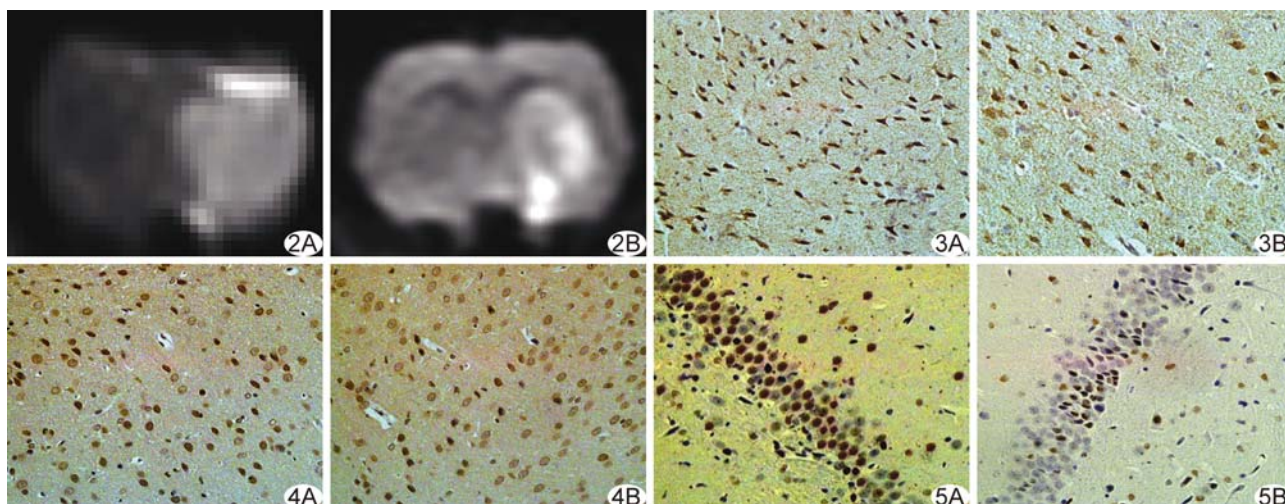


图 2 大鼠 MCAO 模型建立后 72 h DWI 图 A. MCAO 组右侧大脑半球可见大片状高信号; B. MT 组右侧大脑半球异常信号范围较小

图 3 大鼠 MCAO 模型建立后 72 h 大脑皮质 Fas 免疫组化染色图($\times 400$) A. MCAO 组阳性细胞增多, 水肿较重; B. MT 组细胞排列较规律, 阳性细胞较少, 水肿减轻

图 4 大鼠 MCAO 模型建立后 72 h 大脑皮质 FasL 免疫组化染色图($\times 400$) A. MCAO 组阳性细胞增多, 水肿较重; B. MT 组细胞排列较规律, 阳性细胞较少, 水肿减轻

图 5 大鼠 MCAO 模型建立后 72 h 海马区活性 Caspase-3 免疫组化染色图($\times 400$) A. MCAO 组细胞皱缩变形, 活性 Caspase-3 阳性细胞较多; B. MT 组活性 Caspase-3 阳性细胞较少

伤且具有较大潜力^[8]。本研究发现, MT 组及 MCAO 组 rDWI-SI 值明显升高, 于 IR 后 72 h 达到峰值, 此后逐渐减低, 这可能由于缺血早期, 脑血流量降低, 细胞缺血缺氧, 细胞外水分子进入细胞内, 细胞毒性水肿导致 DWI-SI 升高, 而随着缺血再灌注时间进一步延长, 血脑屏障进一步破坏, 细胞外间隙水分子弥散强度降低, 此时 DWI-SI 值有所下降。此外, 本研究中 MT 组 rDWI-SI 值低于 MCAO 组, 提示 MT 可减轻局灶性脑缺血异常水分子弥散运动, 抑制缺血损伤反应。

Fas、FasL 可调控细胞凋亡信号传导, 减轻组织神经功能损害^[9]。本研究结果显示, IR 后 6 h、24 h、72 h MT 组和 MCAO 组阳性细胞增多, 提示凋亡细胞数明显增加, 组织水肿严重, 但 MT 组阳性细胞数较 MCAO 组减少, 表明 MT 能阻断 Fas、FasL 凋亡通路, 减少神经细胞凋亡, 促进神经功能恢复, 与王晓天等^[10]的研究结果相符。Fas、FasL 相协同, 可改变机体内环境激活 Caspase, 促进细胞凋亡。Caspase-3 作为 Caspase 家族最重要的成员之一, 是调控多条凋亡途径的关键蛋白, 其激活将促进细胞凋亡^[11]。有研究^[12]表明, Caspase-3 激活将发生一系列损伤反应, 引起梗死灶及缺血半暗带区大量迟发性细胞凋亡。而在缺血性神经损伤过程中, 抑制 Caspase-3 活化可产生神经保护作用^[13]。本研究发现 MT 可减少活性 Caspase-3 表达, 从而抑制损伤级联反应, 发挥神经修复功能。

综上所述, 神经行为学评分结合 DWI 对评估神经功能恢复具有重要意义。DWI 显示 MT 可使 rDWI-SI 值减低。MT 可通过降低 Fas、FasL 蛋白的表达, 抑制活性 Caspase-3 的活化, 减轻局灶性脑缺血大鼠缺血侧脑组织神经细胞的凋亡, 具有神经保护作用。

[参考文献]

- [1] Yasuda N, Ishii T, Oyama D, et al. Neuroprotective effect of nobilentin on cerebral ischemia-reperfusion injury in transient middle cerebral artery-occluded rats. *Brain Res*, 2014, 1559:46-54.
- [2] Bavithra S, Selvakumar K, Sundareswaran L, et al. Neuroprotective effect of melatonin against PCBs induced behavioural, molecular and histological changes in cerebral cortex of adult male Wistar rats. *Neurochem Res*, 2017, 42(2):428-438.
- [3] 蔡立珍, 闫少珍, 王晓莉, 等. MRI-DWI 评估褪黑素对脑缺血再灌注损伤保护作用的实验研究. *临床放射学杂志*, 2015, 34(12):1999-2002.
- [4] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 1989, 20(1):84-91.
- [5] 闫少珍, 王晓莉, 赵月华, 等. DWI 评估 N-乙酰-5-羟色胺对脑缺血再灌注大鼠脑水肿的影响. *中国医学影像技术*, 2016, 10(32):1475-1479.
- [6] Zhao Y, Wang X, Dong P, et al. Bone marrow derived mesenchymal stem cells alleviated brain injury via down-regulation of interleukin-1 β in focal cerebral ischemic rats. *Am J Transl Res*, 2016, 8(3):1541-1550.

- [7] Koh PO. Melatonin regulates the calcium-buffering proteins, parvalbumin and hippocalcin, in ischemic brain injury. *J Pineal Res*, 2012, 53(4):358-365.
- [8] Madai VI, Galinovic I, Grittner U, et al. DWI intensity values predict flair lesions in acute ischemic stroke. *PLoS One*, 2014, 9(3):e92295.
- [9] Niu FN, Zhang X, Hu XM, et al. Targeted mutation of Fas ligand gene attenuates brain inflammation in experimental stroke. *Brain Behav Immun*, 2012, 26(1):61-71.
- [10] 王晓天, 刘晓梅, 尤红娟, 等. P38MAPK 介导的 Fas/FasL 凋亡通路在缺血性脑损伤中的作用研究. *中国医药指南*, 2014, 12(31):1-2.
- [11] Yin X, Yin Y, Cao FL, et al. Tanshinone IIA attenuates the inflammatory response and apoptosis after traumatic injury of the spinal cord in adult rats. *PLoS One*, 2012, 7(6):e38381.
- [12] Zhao LD, Wang JH, Jin GR, et al. Neuroprotective effect of Buyang Huanwu Decoction against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats-time window and mechanism. *J Ethnopharmacol*, 2012, 140(2):339-344.
- [13] Chelluboina B, Klopfenstein JD, Gujrati M, et al. Temporal regulation of apoptotic and anti-apoptotic molecules after middle cerebral artery occlusion followed by reperfusion. *Mol Neurobiol*, 2014, 49(1):50-65.

Ultrasound features of liver atypical adenoma: Case report

肝脏非典型腺瘤超声表现 1 例

卢春雨, 唐少珊

(中国医科大学附属盛京医院超声科, 辽宁 沈阳 110004)

[Key words] Liver neoplasms; Adenoma; Ultrasonography [关键词] 肝肿瘤; 腺瘤; 超声检查

DOI: 10.13929/j.1003-3289.201701113

[中图分类号] R735.7; R445.1 [文献标识码] B [文章编号] 1003-3289(2017)09-1314-01

患者男, 24 岁, 因“发现肝占位性病变 13 天”入院。患者 10 年前曾因右手蜘蛛叮咬接受局部清创手术, 2 年前外院诊断为过敏性紫癜, 同年外院超声提示肝右叶结节, 直径约 1 cm, 考虑血管瘤。既往无肝炎及家族遗传病史。实验室检查: AFP、CEA 及 CA199 均未见异常。超声检查: 肝右后叶可见 5.1 cm × 4.5 cm 肿物, 边界较清, 分叶状, 内呈中等回声, 周边呈低回声, 肿物边缘可见门静脉及右肝静脉分支穿行(图 1A); CDFI 可探及较丰富血流信号。CEUS: 静脉注入超声造影剂后 11 s(动脉相)病灶周边呈高增强, 内部呈不均匀增强, 18 s 后病灶整体呈高增强(图 1B), 23 s 病灶内造影剂开始减退, 肿瘤物周边回声略高; 肿瘤整体呈非均匀性“快进快出”强化模式。超声诊断: 肝右叶富血供实性肿物, 不排除恶性可能。肝脏肿瘤切除术中见肿物位于右后叶 S6 段, 直径约 5 cm, 完整切除包括肿瘤在内的 S6 段肝脏。大体病理: 肝脏肿物切面呈黄白色并可见暗红色坏死, 质中。病理检查: 镜下见瘤组织由呈索条状排列的肝细胞构成, 无异型性, 细胞排列较密集, 中心部未见明确汇管区(图 1C)。免疫组化: AFP



图 1 肝脏非典型腺瘤 A. 常规超声示肝右后叶肿物; B. CEUS 示肿物动脉相整体呈高增强; C. 病理图(HE, ×100)

(—), GPC3(—), HSP70(阳性细胞约 30%), CD34(+), P53(—), Ki-67(阳性细胞 < 2%)。病理诊断: 符合肝非典型腺瘤。

讨论 肝腺瘤是一种罕见的良性肿瘤, 常见于有口服避孕药史的育龄期女性, 临床表现无特异性。超声检查多表现为肝区孤立性病灶, 包膜完整, 边界清楚, 内呈不均质中或低回声, CDFI 多表现为丰富的门静脉样和低速动脉样血流; CEUS 增强模式多为“快进慢出”。肝腺瘤主要需与以下疾病进行鉴别: ①原发性肝癌, 乙肝表面抗原及 AFP 多阳性, 病灶形态不规则, CEUS 多为“快进快出”; ②肝脏局灶性结节增生(focal nodular hyperplasia, FNH), 典型的 FNH 具有中央瘢痕, CEUS 表现为动脉相离心型轮状强化; ③肝血管瘤, CEUS 多表现为渐进性增强。本例患者临床表现不典型, 通过超声检查显示肿瘤为富血供, 不能确定其性质, 且整体呈非均匀“快进快出”强化模式, 因此超声诊断倾向于恶性。最终确诊仍需依靠病理学检查。

[第一作者] 卢春雨(1993—), 女, 辽宁盘锦人, 在读硕士。

E-mail: 18642733104@139.com

[收稿日期] 2017-01-20 [修回日期] 2017-03-09