

双次灌注超声造影法对微小肝癌诊断的敏感性分析

陈曦, 李志艳, 王妍洁, 冯松, 张岩峰, 刘静, 刘晶晶

[摘要] 目的 超声造影不同灌注法诊断肝硬化微小肝癌的临床应用价值。方法 2015 年 2 月—2017 年 5 月本院收治的乙型肝炎肝硬化背景小肝癌患者 65 例, 共 71 个病灶, 诊断标准为经病理确诊或符合美国肝病研究协会 (American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD) 肝癌临床诊断标准。分别经外周静脉采用单次和双次灌注法注射造影剂, 观察增强模式, 研究不同造影方法检出微小肿瘤的敏感度。结果 71 个病灶中, 直径 < 10 mm 病灶 29 个, 直径 ≥ 10 mm 病灶 42 个, 病灶最小直径 8 mm, 最大直径 30 mm, 平均直径 (17.47 ± 7.19) mm。单次和双次灌注法对小肝癌检出敏感度分别为 69.00% 和 94.37%, 2 种方法对直径 < 10 mm 病灶检出率差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 对直径 ≥ 10 mm 病灶的检出率, 差异不具有统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 超声造影可为小肝癌的诊断提供依据, 作为 MRI 等影像诊断的互补手段, 双次灌注超声造影法显著提高了小肝癌 (尤其是直径 < 10 mm 的微小肝癌) 的检出率。

[关键词] 肝硬化; 肝肿瘤; 超声; 造影剂; 微小肝癌

[中国图书资料分类号] R445.1; R735.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-8134(2021)06-0553-04

DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2021.06.018

Sensitivity analysis of double-perfusion contrast-enhanced ultrasound for diagnosis of micro hepatocellular carcinoma

CHEN Xi, LI Zhi-yan*, WANG Yan-jie, FENG Song, ZHANG Yan-feng, LIU Jing, LIU Jing-jing

Department of Ultrasound, Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China

*Corresponding author, E-mail: lzyyuer@sina.com

[Abstract] **Objective** To analyze the clinical application value of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) with different perfusion methods on the diagnosis of micro hepatocellular carcinoma. **Methods** A total of 65 patients with small hepatocellular carcinoma in the context of hepatitis B cirrhosis who were admitted to our hospital from February 2015 to May 2017 were selected, involving 71 foci. The diagnostic criteria were based on the pathological conformation or comply with the clinical diagnostic criteria for hepatocellular carcinoma by the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD)^[1]. The contrast media was injected via peripheral vein with single and double perfusion methods. The enhancement mode was observed. The sensitivity of different ultrasound methods to detect micro hepatocellular carcinoma was investigated. **Results** There were 29 foci at a diameter of < 10 mm and 42 foci at a diameter of ≥ 10 mm. The minimal diameter of foci was 8 mm and maximal diameter was 30 mm, with an average diameter of (17.47 ± 7.19) mm. The sensitivity of single and double perfusion methods to detect small hepatocellular carcinoma was 69.0% and 94.37%, respectively. The detection rate of < 10 mm foci by 2 methods showed statistical significance ($P < 0.05$), and that of ≥ 10 mm foci was not statistically different ($P > 0.05$). **Conclusions** CEUS provides the evidence for the diagnosis of small hepatocellular carcinoma. As a complementary means of imaging diagnosis methods such as MRI, double-perfusion CEUS significantly increases the detection rate of small hepatocellular carcinoma (especially micro hepatocellular carcinoma at a diameter of < 10 mm).

[Key words] hepatic cirrhosis; liver neoplasms; ultrasonography; contrast media; micro hepatocellular carcinoma

原发性肝癌是我国病死率较高的恶性肿瘤之一, 其中最常见的是肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)。近年来, 随着影像学的发展, 小肝癌的诊断水平逐步提高。小肝癌的诊断标准即单个癌结节最大直径为 30 mm, 或癌结节数目不超过 2 个, 并且其最大直径之和 < 30 mm^[2-3]。随着病理学的发展对影像学提出了更高的要求, 希望能够发现更多、更小的肝癌病灶, 以利于患者早期接受治疗。因而有研究者提出了微小肝癌 (micro hepatocellular carcinoma, MHCC) 的概念。MHCC 是指直径 < 10 mm 的单个肝癌, 无门脉浸润及肝内转移, 且血清学检查常呈阴性。MHCC

的早期定性诊断存在一定难度。本研究通过应用超声造影技术, 比较单次及双次灌注造影方法对 MHCC 诊断的敏感性, 探讨双次灌注超声造影法对小肝癌早期发现的临床应用价值。

1 对象与方法

1.1 对象 回顾性分析 2015 年 2 月—2017 年 5 月解放军总医院第五医学中心 (原解放军第三〇二医院) 收治的有乙型肝炎肝硬化背景的小肝癌患者 65 例 (共 71 个病灶)。小肝癌的诊断标准为经病理确诊或符合美国肝病研究协会肝癌临床诊断标准, 即: 直径 > 1 cm 结节, 增强 MRI 及增强 CT 扫描时具有肝癌的典型影像学特征; 直径 ≤ 1 cm 结节, 行超声造影后间为 3 个月随访, 结节增大, 且增强 MRI 及增强 CT 扫描时具有肝癌的典型影像学特征^[1]。65 例患者中, 男 48 例, 女 17 例; 年龄 31 ~ 78 岁, 平均年龄 (54.17 ± 10.34) 岁;

[基金项目] 国家自然科学基金 (81471680)

[作者单位] 100039 北京, 解放军总医院第五医学中心超声科 (陈曦、冯松、张岩峰、刘静、刘晶晶); 518112, 深圳市第三人民医院超声科 (李志艳); 100853 北京, 解放军医学院 (王妍洁)

[通信作者] 李志艳, E-mail: lzyyuer@sina.com

25 例既往有 HCC 病史，为手术或介入治疗术后复查病例。患者病灶平均直径为 (17.47 ± 7.19) mm。全部病例在行超声造影前 1 周内进行增强 MRI 检查，并对病例进行不少于 12 个月复查随访。

1.2 仪器及试剂 采用 GE Logiq E9 彩色多普勒超声仪，凸阵探头 C1-9，频率 3.5 ~ 5.0 MHz。超声造影采用对比脉冲序列造影成像模式，机械指数为 0.13 ~ 0.15。超声造影剂使用注射用六氟化硫微泡（意大利公司 Bracco 公司的 SonoVue），使用前用生理盐水 5 ml 将其振荡摇匀（59 mg/5 ml），经肘正中静脉进行血管造影。

1.3 方法 所有病例先行单次灌注造影，至少 30 min 后行双次灌注造影。鉴于本研究中病例均有乙型肝炎肝硬化背景，单次和双次灌注法超声造影诊断小肝癌的标准均为动脉期结节相对于周围实质呈高增强（包括全部、部分或环状增强），且延迟期廓清，结节相对于周围实质呈低增强。

1.3.1 单次灌注造影 常规经肘正中静脉团注超声造影剂 1.4 ~ 1.8 ml，随后以 5 ml 0.9% 氯化钠溶液冲管。连续实时观察病灶的动态灌注过程，记录病灶动脉相（造影剂注射后 0 ~ 30 s）、门脉相（31 ~ 120 s）及延迟相（121 s 后）的灌注表现及回声情况。

1.3.2 双次灌注造影方法 首次经肘正中静脉团注超声造影剂 0.02 ml/kg，随后以 5 ml 0.9% 氯化钠溶液冲管。待造影剂动脉期灌注达高峰后，迅速经肘正中静脉快速推注首次剂量的一半（0.01 ml/kg），注射后随即注入 5 ml 0.9% 氯化钠溶液冲管。以第二次造影剂推注时间为起始时间开始计时，记录病灶动脉相（造影剂注射后 0 ~ 30 s）、门脉相（31 ~ 120 s）及延迟相（121 s 后）的灌注特征，连续记录造影图像并存档。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计学分析。计数资料以例（%）表示，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病灶位置 全部病例中，仅 2 例甲胎蛋白 > 100 ng/ml 且 < 400 ng/ml。病变位于肝左外叶上段（Ⅱ）5 个，肝左外叶下段（Ⅲ）5 个，左内叶（Ⅳ）7 个，右前叶下段（Ⅴ）10 个，右后叶上段（Ⅶ）13 个，右后叶下段（Ⅵ）10 个，右前叶上段（Ⅷ）21 个。单次灌注法对于左内叶及右叶部分病灶显示率较低，双次灌注法对于不同叶段病灶的显示率均较单次灌注提高，但 2 者比较差异无统计学意义（ P 均 > 0.05 ），见表 1。

表 1 不同部位病灶单次与双次灌注法对比

Table 1 Comparison of single and double perfusion methods for foci at different sites

病灶部位 (段)	病灶个数 (个)	单次 (个)	双次 (个)	χ^2 值	P 值
Ⅱ	5	3	4	0.476	0.490
Ⅲ	5	3	5	2.500	0.114
Ⅳ	7	2	6	4.667	0.103
Ⅴ	10	8	10	2.500	0.114
Ⅵ	13	11	13	2.167	0.141
Ⅶ	10	6	9	2.400	0.121
Ⅷ	21	16	20	3.111	0.078

2.2 病灶检出率 本研究的病例造影前声像图多数不典型，71 个病灶中仅 37 个（52.0%）病灶在灰阶超声可清晰显示，其余病灶因结节与肝硬化背景界限不清及病变所在部位受肺气及心脏搏动影响未见显示。

单次和双次灌注法对小肝癌检出率分别为 69.00%（49/71）和 94.37%（67/71）。单次灌注超声造影后呈动脉期增强且延迟期退出病灶共 49 个，其中直径 < 10 mm 病灶 11 个，直径 ≥ 10 mm 病灶 38 个，除此之外延迟期另观察到 11 个低灌注病灶（相对于周围实质呈低增强）。双次灌注超声造影动脉期增强且延迟期退出病灶共 67 个，其中直径 < 10 mm 病灶 25 个，直径 ≥ 10 mm 病灶 42 个。单次和双次灌注法对直径 ≥ 10 mm 小肝癌的检出率比较差异无统计学意义（ $P=0.116$ ），但对于 MHCC 的检出率比较差异有统计学意义（ $P=0.000$ ），见表 2。

表 2 2 种检测方法不同时相对小肝癌（直径 ≥ 10 mm）及 MHCC 检出率对比 [个（%）]

Table 2 Comparison of the detection rates of small hepatocellular carcinoma (diameter ≥ 10 mm) and MHCC at different phases by 2 detection methods [focus (%)]

检查期相	小肝癌(直径 ≥ 10 mm) (n=42)	MHCC(直径 < 10 mm) (n=29)	P 值
单次灌注			
动脉期增强 (%)	38(90)	11(38)	0.000
延迟期退出 (%)	40(95)	20(69)	0.005
双次灌注			
动脉期增强 (%)	42(100)	25(86)	0.024
延迟期退出 (%)	42(100)	25(86)	0.024
P 值(动脉/延迟)	0.116/0.494	0.000/0.207	

本研究中有 25 例 HCC 患者曾行手术或介入治疗，此次新发病灶与原病灶或术区均不在同一叶段，单次灌注超声造影后动脉期增强且延迟期退出病灶共 16 个，双次灌注后超声造影后动脉期增强且延迟期退出病灶共 23 个，2 种灌注法比较差异具有统计学意义（ $P=0.037$ ），须要说明的是在单次灌注中动脉期未见高增强但延迟期观察到 7 个低灌注病灶，在双次灌注中观察到动脉期呈高增强，延迟期可见造影剂退出。

3 讨 论

肝硬化是 HCC 发生的主要病理学基础之一, 约有 70% HCC 是在肝硬化基础上发生的^[4]。如何在肝硬化肝内多发不同阶段肝硬化结节的背景下寻找小肝癌甚至 MHCC 是临床工作中面临的困难。在从肝硬化结节到 HCC 演变过程中, 伴随着结节中毛细血管化和新生血管形成^[5-9], 结节血管的变化在 HCC 发生和发展中起着重要的作用, 应用超声造影技术可显示结节内新生血管的瞬时快速血流灌注情况, 反映癌灶内部、周围微小血管及组织微循环灌注情况, 可实时、动态、连续地观察肝脏实质及肝内结节的血流动力学的特征^[10]。对于有肝硬化背景的小肝癌, 动脉期高增强(全部或部分, 非球状或环状)即可诊断为 HCC^[11]。

本研究中, 在双次灌注法中首次造影采用的方法与常规造影一致, 待造影剂动脉期灌注达高峰后, 迅速经肘正中静脉快速推注首次剂量的一半(0.01 ml/kg), 主要用于观察首次造影中存在造影剂退出但动脉期无明确显示的结节, 观察可疑结节的动脉期灌注情况及肝内有无其他强化结节。在动物实验研究中, 应用该方法对于 MHCC 的观察取得了良好的结果^[12-13]。本研究中单次和双次灌注法对于直径 > 10 mm 小肝癌诊断无显著差异, 但对于直径 ≤ 10 mm 的病灶, 单次灌注法动脉期高增强的 MHCC 有 11 个, 延迟期除上述 11 个病灶呈低增强外, 另发现 9 个动脉期呈等增强或不确切稍高增强, 延迟期呈低增强病灶, 再次行双次灌注法造影这 9 个病灶均可见动脉期高增强, 可见对于单次灌注超声造影时发现不确切病灶, 尤其是出现延迟期低增强的结节, 再次行双次灌注法对于提高 MHCC 的检出率是有效的。双次灌注法对 MHCC 病灶的检出率明显高于常规的单次灌注法, 考虑与双次灌注法延长了灌注时间有关, 对于供给 MHCC 微小动脉血管显影相对增加, 增强了小肿瘤与肝实质影像反差, 产生鲜明的肿瘤影像。并且在二次灌注时的主要目标为前次早退结节, 靶目标更有针对性, 该方法相较于常规超声造影节省了造影剂, 对于肝硬化多发结节多病灶患者尤其适用。

在 HCC 术后复查中超声造影检查除可确定原病灶有无活性外, 明确有无复发也是超声造影重要的检查目的。HCC 患者即便行根治手术, 术后 5 年复发率仍高达 70%, MHCC 达 50%, 术后复发是 HCC 患者死亡的主要原因^[14]。HCC 的转移复发可以表现为肝内转移或是新发肿瘤^[15]。本研究中 HCC 术后复发病例, 对于复发病灶的检出, 双次灌注法明显高于单次灌注法。考虑 HCC 术后,

尤其是经肝动脉栓塞术后患者, 肝内血供有所变化, 对于部分 MHCC 复发灶, 单次灌注法超声造影不能明确动脉期灌注, 应用双次灌注法可提高动脉期高灌注显示率。目前仍无一种特异性检测指标可在临床上准确地预测或诊断肝癌及转移、复发, HCC 术后定期严密随访监测是早期发现复发和肝内转移 MHCC 的重要措施。对于有 HCC 病史尤其是有病灶栓塞治疗病史的患者, 行双次灌注超声造影是否可以有效提高复发病灶的检出, 还有待大样本进一步研究。

HCC 可发生在肝内任何叶段, 本研究中单次和双次灌注法对于不同叶段病灶的显示率比较无显著差异。3 个位于肝脏Ⅳ段、Ⅶ段和Ⅷ段膈下的病变两种灌注法均未能显示病灶。另 1 例肥胖患者同时合并重度脂肪肝, 两种灌注法也未能显示病灶。对于超声不易显示的部位和超声穿透力受限的病例, 也要认识到检查的局限性, 同时行其他增强影像学是必要的。值得注意的是, 本研究中有 2 例单次灌注和双次灌注均可见动脉期轻度灌注, 延迟期呈低增强病灶, 超声造影检查提示癌变, 同期行 CT、MRI 和数字减影血管造影均未提示癌变, 对患者持续随访观察, 病灶在 3 个月及 6 个月后行超声造影检查、MRI 均表现典型 HCC 表现。对于极早期癌变的发现, 超声造影检查是否先于其他影像学检查, 从影像学发现极早期癌变到临床明确肝癌诊断的这段时间和该段时间内的干预治疗对预后是否存在影响还有待进一步进行大样本的研究。另外本研究仅讨论了单、双次灌注法对于 MHCC 诊断的敏感性, 未进行特异性研究, 有待进一步深入研究探讨。

根据临床研究和治疗经验, HCC 确诊时病期越早, 预后越理想。早期 HCC 的预后明显优于中晚期 HCC, 其中初发 MHCC 预后更佳。通过双次灌注可以增加正常肝组织与癌组织对比度, 更加明显的发现动脉期灌注病变, 使更多 HCC 患者能在 MHCC 阶段就得以检出, 对于进一步治疗及预后的判断有重要意义。双次灌注法是一种应用较少造影剂剂量取得良好诊断结果的方法, 本研究更大程度上是一种方法学的研究实践, 但尚未研究进行第二次常规超声造影操作与双次灌注法的对比观察及医生间的一致性检验, 且样本量较少, 但并不影响双次灌注法对于 MHCC 的诊断与观察, 尤其在肝硬化肝内有较多结节, 结节位于不利观察的位置, 双次灌注法不失为一种节省造影剂、可多次重复检查的安全检查方法。目前中国内新上市的超声造影剂 SonoZoid 微泡直径较 Sonovue 更小, 可以被肝内吞噬细胞所吞噬, 具有独特的

Kupffer 相, 对于须要确切了解病灶动脉期情况的肝硬化结节, 采用双次灌注法是否更为有效还须要进一步对比分析。

【参考文献】

- [1] Heimbach JK, Kulik LM, Finn RS, *et al.* AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2018, 67(1):358–380.
- [2] Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, *et al.* Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis [J]. *N Engl J Med*, 1996, 334(11):693–699.
- [3] 周康荣. 中华影像医学肝胆胰脾[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002:33–57.
- [4] Effendi K, Sakamoto M. Molecular pathology in early hepatocarcinogenesis [J]. *Oncology*, 2010, 78(2):157–160.
- [5] Efremidis SC, Hytioglou P. The multistep process of hepatocarcinogenesis in cirrhosis with imaging correlation [J]. *Eur Radiol*, 2002, 12(4):753–764.
- [6] Cosgrove D. Angiogenesis imaging—ultrasound [J]. *Br J Radiol*, 2003, (1):S43–S49. DOI: 10.1259/bjr/86364648.
- [7] Correas JM, Bridal L, Lesavre A, *et al.* Ultrasound contrast agents: properties, principles of action, tolerance, and artifacts [J]. *Eur Radiol*, 2001, 11(8):1316–1328.
- [8] Ferrara KW, Merritt CR, Burns PN, *et al.* Evaluation of tumor angiogenesis with US: imaging, Doppler, and contrast agents [J].

Acad Radiol, 2000, 7(10):824–839.

- [9] Weidner N, Semple JP, Welch WR, *et al.* Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 1991, 324(1):1–8.
- [10] Echtenacher B, Wege AK, Schardt K, *et al.* High-resolution ultrasound including contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the detection of gas formation during aspergillus fumigatus infection in mice [J]. *Ultraschall Med*, 2016, 37(3):277–282.
- [11] Claudon M, Dietrich CF, Choi BI, *et al.* Guidelines and good clinical practice recommendations for contrast enhanced ultrasound (CEUS) in the liver—update 2012: a WFUMB-EFSUMB initiative in cooperation with representatives of AFSUMB, AIUM, ASUM, FLAUS and ICUS [J]. *Ultraschall Med*, 2013, 34(1):11–29.
- [11] 刘政, 王红, 谢峰, 等. 灌注—延迟显像方法在兔肝脏 VX2 肿瘤声学造影中的价值 [J]. *中国超声医学杂志*, 1999, 15(12):15–17.
- [13] 董晓宇, 冯卉, 李志艳, 等. 双次灌注法超声造影对兔 VX2 微小肝癌的观察 [J]. *中华医学超声杂志 (电子版)*, 2014, 11(3):63–69.
- [14] 吴薇, 陈敏华, 严昆, 等. 超声造影在肝硬化增生结节病变中的应用 [J]. *中华超声影像学杂志*, 2010, 19(9):776–779.
- [15] 张剑林, 钱叶本. 复发性肝癌的治疗选择 [J]. *中华临床医师杂志 (电子版)*, 2015, 18(9):3319–3321.

(2020–02–10 收稿 2021–10–28 修回)

(本文编辑 闫晶晶)

(上接第 538 页)

- [13] Dallas ML, Wieda D. TLR2 and TLR4-mediated inflammation in Alzheimer's disease: self-defense or sabotage? [J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(8):1552–1553.
- [14] 麦叶, 林瑶瑶, 刘海林, 等. 结核分枝杆菌对 miR-21 和 TLR-4/NF-κB 信号通路的影响研究 [J]. *重庆医学*, 2021, 50(3):367–371, 377.
- [15] 陈皋, 郭碧波, 吴孟征, 等. 肺泡灌洗液结核杆菌 RNA 和 DNA 检测在痰菌阴性肺结核诊断中的临床应用 [J]. *传染病信息*, 2019, 32(4):344–345.
- [16] Xie Y, Zhou L, Li H, *et al.* Clostridium butyricum supernatant regulates the expression of RORγt in HCT-116 cells by inhibiting the TLR2/MyD88/NF-κB signaling pathway [J]. *Curr Microbiol*, 2021, 78(4):1543–1550.
- [17] 孙付胜, 张道彬, 田桂真, 等. 菏泽市 2011–2016 年肺结

核患者转归质量的 Riddit 分析 [J]. *传染病信息*, 2019, 32(5):422–424.

- [18] Zhu L, Wu Y, Wei H, *et al.* Up-regulation of IL-23 p19 expression in human periodontal ligament fibroblasts by IL-1β via concurrent activation of the NF-κB and MAPKs/AP-1 pathways [J]. *Cytokine*, 2012, 60(1):171–178.
- [19] Martino MD, Lodi L, Galli L, *et al.* Immune response to *Mycobacterium tuberculosis*: a narrative review [J]. *Front Pediatr*, 2019, 7:350. DOI: 10.3389/fped.2019.00350.
- [20] Orgeur M, Brosch R. Evolution of virulence in the *Mycobacterium tuberculosis* complex [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2018, 41:68–75. DOI: 10.1016/j.mib.2017.11.021.

(2021–09–01 收稿 2021–11–04 修回)

(本文编辑 揣征然)