

一、中文摘要

本研究使用高磁場(3T)磁振造影儀檢查人類體外淋巴結顯微影像及比較光學顯微鏡所見。在所有研究案例中，總共15個淋巴結經福馬林溶液固定後，完整評估。包括正常淋巴結(n=1)、淋巴增生淋巴結(n=1)、癌細胞轉移淋巴結〔乳癌n=7，甲狀腺乳突癌n=1，喉癌n=3，口腔癌n=2〕。不同磁振顯微影像造影技術，包括spin echo T₁加權影像、RARE快速T₂加權影像、經計算後的擴散影像(DWI)均被使用。前二者之解析度約為50-100 μm/像素，後者(DWI)之解析度為100-180 μm/像素，使用3500 b值。

研究結果顯示T₁及T₂加權顯微磁振造影影像可清楚區分淋巴結本身及周圍脂肪組織，但對於淋巴結內不同細胞群則因不良對比，而無法區別。RARE T₂加權影像能夠顯現血管外及血管內之紅血球聚集之susceptibility現象。而經計算後之擴散影像對於淋巴結內不同細胞群之差異能偵測到(包括癌細胞與正常淋巴球，及梗塞後壞死)。而擴散強力影像無法分辨環繞在淋巴結周圍的纖維細胞之排列。

本研究結果顯示以磁振造影顯微影像評估體外已摘除之淋巴結內細胞差異的可行性。

關鍵詞：磁振造影、顯微影像、淋巴結、擴散。

Abstract

High-field (3T) magnetic resonance (MR) microscopic imaging has been applied to evaluate ex vivo human lymph nodes and compared with the findings of pathologic result under light microscopy in this study.

There were total fifteen formalin-fixed lymph nodes completely evaluated: including normal lymph node (n=1), lymph nodes with lymphoid hyperplasia (n=1), metastatic breast cancer (n=7), metastatic thyroid papillary ca (n=1), metastatic laryngeal carcinoma (n=3) and metastatic buccal cancer (n=2). Different imaging techniques including spin echo T₁-weighted, RARE (rapid acquisition with relaxation enhancement) T₂-weighted images (resolution approximately 50-100 μm), and calculated diffusion-weighted images (DWI) resolution approximately 100-180 μm with high b value of 3500 (4 or 6 directions). The results T₁ weighted and T₂ weighted pulse sequences showed well demarcated boundary between fat and lymph node but poor contrast differentiation between normal and abnormal cell groups using T₂ weighted and diffusion-weighted pulse sequences could demonstrate the susceptibility of extravasated and intravascular red blood cell. Only DWI was capable to differentiate the intranodal cellular difference, including difference of tumor cells, normal lymphoid tissue and infarcted necrosis. Diffusion tensor images failed to demonstrate circular arrangement of fibroblasts around lymph node.

The results were suggestive of the possibility of using MR microscopic imaging to evaluate cellular difference of ex vivo human lymph nodes.

Keywords: magnetic resonance, microscopy, lymph node, diffusion.

二、緣由與目的

自 1980 年以來，磁振造影影像 (magnetic resonance imaging, MRI) 已成為十分重要的臨床醫學與基礎醫學研究工具。具有高的空間及對比解析度、不具輻射線、提供組織特性、進行代謝及功能性分析的特性。MRI 可以用來獲得組織器官的形態、代謝及功能之訊息。由於 MRI 不具侵襲性，並可以利用不同波序，改變各種參數，進而獲得不同組織特性，此為其他造影技術所不能。現階段 MRI 之功能較以往有長足之進步，不僅在空間解析度上提高，更有許多快速掃描技術 (fast imaging) 之發展，除了可以任意平面造影並獲得良好的對比解析度 (contrast resolution) 之外，更利用一些先進之技術，如磁振血管造影術 (MR angiography)、磁振膽胰管造影術 (MRCP, magnetic resonance cholangiopancreatography)、腔內表面線圈 (endoluminal surface coil)、相位排列表面線圈 (phase-array surface coil)、磁振造影頻譜儀 (magnetic resonance spectroscopy)、特异性器官對比劑 (organic specific MR contrast media) 等，獲得更多以往所無法得到的資訊。

磁振造影顯微影像 (Magnetic Resonance Microscopy, MRM) 為遠高於一般 MRI 解析度的影像之技術，目前已進展到可用來進行基礎醫學研究的階段。技術方面的進展，例如表面線圈、波序 (pulse sequence)、影像訊號及解析度之提昇等，已使磁振造影顯微影像被認為可以接受。由於生物體之生理性運動所致之解析度限制，如呼吸及心跳，已可用生理監控 (physiologic monitor) 方式來克服 [1]，因此可以進行活體組織的磁振造影顯微影像。一般 MRI 影像在檢查範圍 30x30cm、256x256pixel 時之解析度約為 $3.91 \times 3.91 \text{ mm}^2$ (1mm=100 microns)，MRM 在體內 (in vivo) 情況下可達到很好之影像解析度 (有報告可達 50 micron 或更小，但依實際磁振造影儀之磁場強弱、表面線圈、照影技術等因素而有不同)。磁振造影顯微影像 (MRM) 對於線圈及磁場等硬體之需求之要求較嚴格，且要達到 100micron

或更高之解析度需要較高之磁場梯度與較長的掃描時間。由於磁振造影顯微影像具有不破壞組織之特性，相同之檢體可以重覆檢查，可以事後利用任意平面做影像重建或利用不同波序之不同對比 (contrast) 機轉，進行細微構造的研究。使用磁振造影顯微影像之方式，對於疾病機轉的研究，也有進展。在文獻中有許多使用磁振造影顯微影像在不同組織及器官之形態變化的研究，這些研究結果顯示磁振造影顯微影像可以和組織及病理變化有很好對照 [2-8]。例如，實驗性動脈硬化的動脈壁之形態研究，也能對疾病之形態變化有所瞭解 [2]。對於中樞神經系統之顯微構造之研究，例如耳蝸 [3]、嗅神經 [4] 及腦部構造等，腹部臟器如肝脾 [5]，皮膚之細微分層 [6]，甚至微小如胚胎之觀察 [9]。對於十分微小之結構，也可以在使用適當的表面線圈及波序，在 1.5T 之磁振造影儀做到，例如 dermis、epidermis 及 hypodermis 等約 100 至 150 μm 的構造 [6]。由目前之文獻與報告看來，磁振造影顯微影像無論在臨床上對於疾病的形態、機轉，或對於基礎醫學或生理現象之探討，均有非常廣泛的價值。

臨床上，淋巴結病變與腫瘤分期有密切關聯，過去使用於淋巴結影像的檢查，如淋巴攝影術 (lymphangiography)、電腦斷層檢查 (computed tomography)、超音波檢查、傳統磁振造影檢查、核子醫學正子掃描 (FDG-18) 等，都各有其不足之處。本研究之目的為利用磁振造影技術，在體外進行淋巴結顯微影像，與相同切面的病理切片比較，以了解淋巴結顯微構造的形態、訊號、與不同磁振造影脈衝波序之變化。本淋巴結磁振造影顯微影像之研究，提供對淋巴結病變的另一種新的探討方向，而在我們的文獻資料顯示國內外並無相同或類似之研究。

三、材料與方法：

本研究採用外科手術後摘取之淋巴結，大小約等於或大於 1cm 直徑，初步測試三種狀態：新鮮切除之淋巴結、以 Formalin 固定之淋巴結及固定後以臘包埋

之淋巴結觀察在磁振造影顯微影像下之訊號是否理想。在標本準備上將所有淋巴結已先在最大徑方向做一對切，使切面平放朝下，置於大小約 2x1x1 cm 之密封之塑膠容器，並將此淋巴結以膠片固定於內，使在檢查中不會位移。初步測試後決定採用 Formalin 固定之淋巴結為檢查方法，其原因為新鮮淋巴結保存不易，而臘包埋之淋巴結已脫水，在 MRI 無訊號可得。而 Formalin 固定之淋巴結仍具有良好的訊號，足以提供 MRI 檢查所需。

使用 3T 超導磁振造影儀 (ParaVision, Bruker, Medizintechnik, German) 配備 BioSpect System (Go60 Micro-imaging System)，具有 3.5 cm 樣品管內徑。檢查中將密封塑膠容器平放置於 BioSystem 內。所檢查之波序包括(1) spin echo T_1 WI, (256x256x8 NEX, scan time about 12 minutes), (2) RARE (rapid acquisition with relaxation enhancement) T_2 WI (256x256x6 NEX, scan time about 8 minutes), (3) Diffusion weighted images (128x128x8 NEX, scan time about 2 hours)或 Diffusion tensor images (128x128x8 NEX, Scan time about 3.5 hours)。顯微影像之 pixel resolution (1)、(2)項約為 80 microns (20 mm ÷ 256)，(3)項為 156 microns (20 mm ÷ 128)。對於 Diffusion weighted images 或 Diffusion tensor image 並計算其 ADC (Apparent diffusion coefficient) mapping 及 Tensor imaging。所有計算程式在自行撰寫之 Mathematica 數學程式下運算。

本研究總共包括 18 個不同淋巴結，其中共有 15 個標本獲得完整資料，其餘淋巴結因標本固定毀損而無法完成分析。依其疾病不同總共有正常淋巴結 (n=1)、淋巴濾泡增生 (lymphoid hyperplasia) (n=1)、乳癌轉移之淋巴結 (n=7)、甲狀腺乳突癌 (thyroid papillary ca) (n=1)、喉癌轉移淋巴結 (n=4)、口腔癌轉移淋巴結 (n=2)。

所有 Formalin 病理標本均做與 MR 檢查相同之切面，在 HE 染色下與 MR 影像對照，所有結果均由一放射線科醫師與一病理科醫師討論後決定，MRI 影像代表之病理結果。

四、結果：

1. 淋巴結在 T_1 及 T_2 加權影像中，可以清楚分辨脂肪組織 (圖一、二)，脂肪組織之辨認在磁振造影顯微影像上具有一致性，可見於全部檢體。但對於同一淋巴結內含有 lymphoid follicles 及 tumor cells T_1 及 T_2 加權影像則難以區別。
2. 利用擴散影像 (Diffusion weighted imaging) 無論取 3 個方向 (DWI) 或 6 個方向 (DTI)，疊加之擴散影像或計算後之 ADC (apparent diffusion coefficient) mapping 或 trace ADC mapping 較能呈現淋巴結內部不同組成部份 (圖一、二)。然而，無法由一個淋巴結的擴散影像反過來推論那些為正常或不正常細群集處。
3. 本研究中之一淋巴結內有 Infarcted necrosis 在 T_1 WI、 T_2 WI、DWI 均可區別。
4. 淋巴結內有血管外紅血球 (extravasated RBC) 或出血 (hemorrhage) 處，在 T_1 WI 較難區別，但在 T_2 WI 及 DWI 可辨認為局部低訊號區。此結果在所有標本均有一致性。雖然淋巴結內含有光學顯微鏡下可辨認之不同大小及形態的細胞。
5. 但 Diffusion tensor imaging 呈現一致散在性 (random) 排列。即使在一例明顯 fibroblast 環狀排列，Diffusion tensor 仍然呈現散在性 (random) 排列，而不具有方向性。似乎在淋巴組織之細胞排列尚不能造成明顯向量性。

五、討論

過去有關於磁振造影顯微影像 (MR microscopic image) 之研究，使用許多不同技術，如 3D FLASE (fast large-angle spin echo)、3D GRASS (gradient acquisition steady state) [6] 或 T_2 加權影像 [10]，來研究老鼠肝脾影像 [5]、內耳影像 [3] 等。但使用擴散影像 (Diffusion weighted image) 近來較多使用於 MRM，例如曾用來評估活體狀態之老鼠的脊髓缺氧情況，在計算 ADC (apparent diffusion coefficient) 參數顯示缺

氧可造成灰質及白質 ADC 值下降[12, 13]。因為其空間及影像品質比 spin echo imaging 增加許多[11]。本研究結果顯示，經計算後之擴散影像（疊加 4 或 6 組不同方向之擴散影像）之影像品質及對於淋巴結內部不同細胞排列（例如小約 10 μ m 的 lymphoid cell 及 20 μ m 的 tumor cells）可以區分，雖然我們無法辨認到細胞的層級，但 T₁ 加權及 T₂ 加權則無法分辨。或許擴散影像足以用來偵測不同大小細胞群集後可差異。此點可能需再做更多研究。

擴散張力影像（Diffusion weighted image, DTI）是利用在分子環境下水的擴散來評估在高度有序排列組織中水分子運動的異質性（anisotropy of molecular translational motion of water），包括腦部白質[12]、脊髓（spinal cord）[13]、心肌（myocardium）[14]、肌肉[15]及椎間盤（intervertebral disc）之纖維環（annulus fibrosus）[16]。本研究使用 DTI 在淋巴結顯微影像中，雖在細胞大小排列上有不平均，但並不能有足夠的異質性（anisotropy）。足以表現出細胞的排列。以目前擴散加權影像 b 值約 3500 時，尚不足以顯現細胞排列對水分子運動的顯響。其原因可能是解晰度相關因素所致。由於組織學上的差異，此點似乎是可以理解的。

本研究之結果尚屬初步，然而我們不局限於探討來良好界面的組織（如皮膚分層或大腦灰白質，而嘗試將磁振造影顯微影像應用於不同細胞群集之區別，其未來應用尚不得而知，但希望能夠引起更多進一步之研究或進而提供使用高解晰度表面線圈來評估表淺淋巴結病變的參考。

謝誌：本研究感謝台大醫學院病理科孫家棟老師的協助，使研究得以順利完成。

六、參考文獻

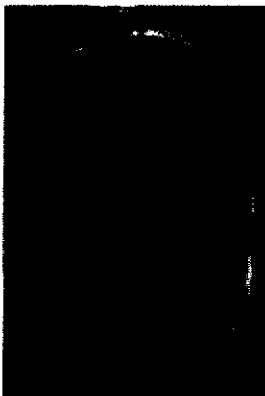
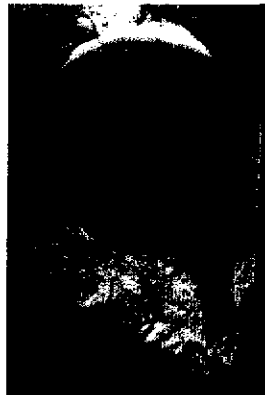
1. Johnson GA, Benveniste H, Black RD, Hedlund LW, Maronpot RR, Smith BR. Histology by magnetic resonance microscopy. *Magnet Reson Quart* 1993;9(1):1-30.
2. Ford JC, Shlansky-Goldberg RD, Golden M. MR microscopy of the arterial wall in an experimental model of atherosclerosis: preliminary results. *J Vasc Interv Radiol* 1997;8(1): 93-9.
3. Wilson JL, Henson MM, Gewalt SL, Keating AW, Henson DW Jr.. Reconstructions and cross-sectional area measurements from magnetic resonance microscopic images of the cochlea. *Am J Otol* 1996;17(2):347-53.
4. Chang C, Jang T. Magnetic resonance microscopy of hamster olfactory bulb: a histological correlation. *Anatomn Record* 1995;242(1):132-5.
5. Zhou X, Magin RL, Alameda JC Jr., Reynolds HA, Lauterbur PC. Three-dimensional NMR microscopy of rat spleen and liver. *MRM* 1993;30(1):92-7.
6. Song HK, Wehrli FW, Ma J. In vivo MR microscopy of the human skin. *MRM* 1997;37:185-191.
7. Grunder W, Wagner M, Werner A. MR-microscopic visualization of anisotropic internal cartilage structures using magic angle technique. *MRM* 1998;39:376-382.
8. Rehwald WG, Reeder SB, McVeigh ER, Judd RM. Techniques for high-speed cardiac magnetic resonance imaging in rats and rabbits. *MRM* 1997;37:124-130.
9. Jacobs RE, Fraser SE. Magnetic resonance in microscopy of embryonic cell lineages and movements. *Science* 1994;264:681-684.
10. Zhou X, Cofer GP, Suddarth SA, Johnson GA. High-field MR microscopy using fast Spin-echoes. *MRM* 1993;30:60-67.
11. Beaulieu CF, Zbou X, Cofer GP, Johnson GA. Diffusion-weighted MR microscopy with fast spin-echo. *MRM* 1993;30:201-206.
12. Pierpaoli C, Jezzard P, Basser PJ, Barnett A, Dichiro G. Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology* 1996;201:637-648.
13. Inglis BA, Yang L, Wirth ED, Plant D, Mareci TH. Diffusion anisotropy in excised normal rat spinal cord measured by NMR microscopy. *Magn Reson Imaging* 1997;15:441-450.
14. Garrido L, Wedeen VJ, Kwang KK, Spencer UM, Kantor HL. Anisotropy of

water in the myocardium of the rat. *Cir Res* 1994;74:789-793.

15. Van Doorn A, Bovendeerd PHM, Nicolay K, Drost MR, Janssen JD. Determination of muscle fiber orientation using diffusion-weighted MRI. *Eur J Morphol* 1996;34:5-10.

16. Hsu EW, Setton LA. Diffusion tensor microscopy of the intervertebral disc annulus fibrosus. *MRM* 1999;41:992-999.

圖一、乳癌細胞淋巴結轉移病移 (A) 切面照像，中央白色部份為淋巴結中央癌細胞浸潤，周圍棕褐色部位為淋巴球細胞，左上角局部為紅血球群集處，最外圍處為淋巴結周圍之黃色脂肪。(B) T_1 加權影像對於淋巴結內之細胞差異無法有對比， T_1 脂肪為高訊號。(C) T_2 加權影像，可分辨脂肪及局部紅血球群集處 (低訊號區)。(D) 計算後之擴散影像顯示淋巴結中央癌細胞與周圍明顯訊號差異。



圖二、口腔癌細胞淋巴結轉移病例 (A) 切面照像，棕褐色位於右側為淋巴結內正常淋巴球群集處，左側為癌，周圍圍繞黃色脂肪。(B) 擴散影像計算後之 ADC 圖譜，正常淋巴球群集 (右，較亮區)、癌細胞浸潤區 (左，較低訊號區)、及周圍脂肪 (最亮區) 可清楚區別。

