

• 胸部影像学 •

孤立性肺结节 CT 灌注成像与微血管构成的相关性研究

单飞, 张志勇, 曾蒙苏, 邢伟, 卢韶华

【摘要】 目的:探讨孤立性肺结节(SPN)CT 容积灌注(CTVP)成像参数与其微血管构成的相关性。**方法:**38 例 SPN (恶性 32 例, 良性 6 例)患者行首过法 CTVP 成像, 并进行 CD34 及 α -平滑肌免疫组织化学染色。通过完全随机 t 检验或 Wilcoxon 法非参数秩和检验比较良、恶性结节间灌注参数及血管参数间的差异, 采用 Pearson 或 Spearman 相关分析探讨 SPN 的 CTVP 参数与微血管参数, 包括有腔血管面积(LVA)、有腔血管周长(LVP)及有腔血管数目(LVN)的相关性。**结果:**恶性与良性结节组的血流量(BF)分别为 (101.98 ± 43.14) 和 (59.65 ± 31.25) ml/(100g·min), 血容量(BV)分别为 (4.56 ± 1.51) 和 (2.60 ± 1.60) ml/100g, 表面通透性(PS)分别为 (16.97 ± 7.35) 和 (6.81 ± 6.65) ml/(100g·min), LVA 分别为 (423.12 ± 183.24) 和 (165.29 ± 127.31) μm^2 /视野, LVP 分别为 (299.08 ± 138.29) 和 (134.37 ± 88.24) μm /视野, LVN 分别为 (16.15 ± 9.62) 和 (9.08 ± 6.59) 条/视野;差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。SPN 的 BV 值与 MVD 有相关性($r=0.483, P<0.05$), BF 值与 LVA、LVP 及 LVN 有相关性(r 值分别为 0.547、0.507 和 0.404), BV 值与 LVA、LVP 有相关性(r 值为 0.714、0.504), PS 值与 LVA、LVP、LVN 有相关性(r 值分别为 0.507、0.541、0.473, P 均 < 0.05)。**结论:**SPN 的 CTVP 成像参数与有腔血管参数的相关性好于与 MVD 的相关性;与血管生成相比较, CTVP 成像更多地反映 SPN 的微血管构成。

【关键词】 肺肿瘤; 孤立性肺结节; 体层摄影术, X 线计算机; 灌注成像; 血管生成

【中图分类号】 R814.42; R734.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2012)07-0746-04

Correlation study of CT volume-based perfusion imaging and micro-vascular composition in solitary pulmonary nodules SHAN Fei, ZHANG Zhi-yong, ZENG Meng-su, et al. Department of Radiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, P. R. China

【Abstract】 Objective: To investigate the relationship between CT volume-based perfusion (CTVP) parameters and micro-vascular composition of solitary pulmonary nodules (SPN). **Methods:** Thirty-eight patients with pathology proved SPNs were enrolled in the first pass CTVP, including 32 malignant nodules and 6 benign nodules. All underwent immunohistochemical staining with CD34 and α -smooth muscle action (SMA). The differences of perfusion parameters and vascular parameters of benign and malignant nodules were analyzed with student t test or Wilcoxon test. Pearson or Spearman correlation analysis was used to study the CTVP parameters and micro-vascular parameters including lumenous vascular area (LVA), lumenous vascular perimeter (LVP) and lumenous vascular number (LVN). **Results:** The blood flow (BF) of malignant and benign nodules was (101.98 ± 43.14) and (59.65 ± 31.25) ml/(100g·min); the blood volume (BV) was (4.56 ± 1.51) and (2.60 ± 1.60) ml/100g; the surface permeability (PS) was (16.97 ± 7.35) and (6.81 ± 6.65) ml/(100g·min); the LVA was (423.12 ± 183.24) and (165.29 ± 127.31) μm^2 /field; the LVP was (299.08 ± 138.29) and (134.37 ± 88.24) μm /field; the LVN was (16.15 ± 9.62) and (9.08 ± 6.59) /field respectively, with significant statistic differences, all of them showed $P<0.05$. The BV value of SPNs was positively correlated with MVD ($r=0.483, P<0.05$). The BF value was correlated with LVA, LVP and LVN ($r=0.547, 0.507$ and 0.404 respectively), the BV value was correlated with LVA and LVP ($r=0.714$ and 0.504 respectively), the PS value was correlated with LVA, LVP, LVN ($r=0.507, 0.541, 0.473$ respectively), all of them showed $P<0.05$. **Conclusion:** The CTVP parameters and lumenous vascular parameters of SPNs showed better correlation compared with that of MVD. The micro-vascular composition of SPN could be better showed in CTVP than angiogenesis.

【Key words】 Lung neoplasms; Solitary pulmonary nodule; Tomography, X-ray computed; Perfusion imaging; Angiogenesis

肺癌的 CT 强化值、灌注值与肿瘤血管生成有较

好的相关性^[1-3]。近年来,有学者发现 CT 灌注成像参数可能与肿瘤微血管构成(成熟/有腔血管)有相关性^[4]。本研究旨在探讨孤立性肺结节(solitary pulmonary nodules, SPN)的 CT 容积灌注成像(volume-based perfusion imaging, VPI)与肿瘤微血管构成的相关性。

作者单位: 200032 上海, 复旦大学附属中山医院放射科(单飞、张志勇、曾蒙苏), 病理科(卢韶华); 213003 江苏, 苏州大学第三附属医院影像科(单飞、邢伟)

作者简介: 单飞(1978—), 男, 江苏扬州人, 博士, 主治医师, 主要从事胸部放射诊断工作。

通讯作者: 张志勇, E-mail: zhangzy@fudan.edu.cn

基金项目: 上海市慈善癌症研究中心(2007 年); 苏州大学青年教师自然科学基金(Q3124942); 常州市社会发展科技项目(CS20102005)

材料与方法

2007 年 5 月—2009 年 5 月在本院行首过法 CTVPI 检查的 SPN 患者共 85 例,其中经手术切除证实的 SPN 38 例,恶性 32 例,良性 6 例,包括腺癌 23 例、鳞癌 4 例、转移性肿瘤 2 例、黏液表皮样癌 1 例、大细胞癌 1 例、结核球 3 例、炎性结节 1 例、隐球菌感染 2 例。其中男 16 例,女 22 例,中位年龄 59 岁(29~70 岁),SPN 最大径(2.24 ± 0.52) cm。进行 CTVPI 检查的 SPN 选择标准:①结节直径为 1 cm $\leq$ 实性 SPN 最大径 $\leq$ 3 cm;②无对比剂过敏;③能配合检查;④结节内无良性钙化或脂肪成份;⑤能屏气配合,横轴面图像上无明显呼吸移动伪影。

所有患者采用 GE Lightspeed 64 层螺旋 CT 机型行 CTVPI 检查。常规呼吸训练,平扫定位,以病灶最大层面为中心,行首过法同层动态增强扫描,探测器宽度 40 mm,5 mm $\times$ 8i,100 kV,120 mA,0.5 s/r,间隔 1 s、屏气 31 s、共扫描 21 次。在用双筒高压注射器以流率 5 ml/s 经前臂静脉注入对比剂(300 mg I/ml) 50 ml,然后注射 30 ml 生理盐水,延迟时间 6~10 s。CTVPI 的有效 X 线辐射剂量为 4.39 mSv。图像传入 ADW 4.3 工作站,采用 Perfusion 3 软件的体部肿瘤单血供模式分析 CTPI 参数,包括血流量(BF)、血容量(BV)、对比剂平均通过时间(MTT)和表面通透性(PS)。将输入动脉兴趣区设在升主动脉、降主动脉或颈总动脉。结节 ROI 通过手动勾勒包括全瘤,并避开钙化、较大血管及病灶边缘,计算所有可测层面的平均灌注值。

38 例患者新鲜手术标本离体后 10%中性甲醛溶液浸泡固定 24 小时。取材时尽量以肿瘤最大层面切取组织,并将肿瘤中心及边缘包含于一个组织块内。组织块常规石蜡包埋备用。采用 CD34 单克隆抗体(上海长岛)标记、免疫组化 EnvisionTM 二步法检测肿瘤微血管密度(microvascular density, MVD), α -平滑肌(smooth muscle action, SMA)免疫组化步骤同 CD34。CD34 结果判定采用 Weidner 标准^[7]:随机取肿瘤周边 4 个区域及中心 2 个区域,在 200 倍视野下分别计数所有微血管数目(图 1),取 6 个视野的均值作为 MVD(条/0.723 mm²)。SMA 主要在血管的平滑肌上呈现棕黄色颗粒,且将可见条状、裂隙状或点状管腔的阳性血管定义为有腔血管(成熟血管,图 2)^[4]。有腔血管数目(luminal vascular number, LVN)、有腔血管面积(luminal vascular area, LVA)和有腔血

管周长(luminal vascular perimeter, LVP)按 Kan 等^[4]的定义通过 Imaging Measure 1.0 软件(复旦大学上海医学院生理和病理生理教研室曹银祥研发)获得。结果判定在盲法下进行。

采用 SPSS 14.0 统计分析软件。先通过 Kolmogorov-Smirnov 及 Shapiro-Wilk 检验判断 BF、BV、MTT、PS、MVD、LVN、LVA 及 LVP 值的正态性。以 2 项研究 P 均 >0.05 为数据符合正态性分布。呈正态分布的参数使用完全随机 t 检验比较恶性结节与良性结节组的均数差异有无统计学意义,不呈正态分布的参数使用非参数秩和检验(Wilcoxon 法)比较两组数据的中位数差异有无统计学意义,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。对双变量正态分布数据,采用 Pearson 相关分析;对双变量非正态分布数据,采用 Spearman 相关分析,分析各 CTVPI 参数与 MVD 及各有腔血管参数的相关性,以 $P<0.05$ 为相关性有统计学意义。

结 果

38 例 SPN 的 CTVPI 及血管参数的描述统计见表 1。

表 1 38 例 SPN 的 CTVPI 参数及血管参数值

参数	$\bar{x} \pm s$	95%CI	范围	M
BF	95.30 $\pm$ 44.00	80.84~109.76	15.12~233.33	90.49
BV	4.25 $\pm$ 1.67	3.70~4.80	0.57~8.65	4.09
MTT	5.75 $\pm$ 6.49	3.62~7.88	1.51~42.40	4.81
PS	15.37 $\pm$ 7.94	12.75~17.97	1.27~36.27	14.49
MVD	63.22 $\pm$ 42.80	49.16~77.29	9.67~215.00	55.00
LVA	382.41 $\pm$ 198.49	317.16~447.64	22.19~941.96	363.22
LVP	273.07 $\pm$ 144.15	225.69~320.45	41.85~685.72	262.21
LVN	15.04 $\pm$ 9.50	11.91~18.16	3.50~42.00	12.42

注:BF 单位 ml/(100g $\cdot$ min),BV 单位 ml/100g,MTT 单位 s,PS 单位 ml/(100g $\cdot$ min),LVA 单位 μ m²/视野,LVP 单位 μ m/视野

良、恶性结节组 BV、PS、LVA 数据符合正态分布(P 均 >0.05);BF、MTT、LVP 及 LVN 不符合正态分布(P 均 <0.05);MVD 不符合正态分布,Shapiro-Wilk 检验 $P<0.05$,Kolmogorov-Smirno 检验 $P>0.05$ 。恶性结节组的灌注参数 BF、BV、PS(图 3)及微血管参

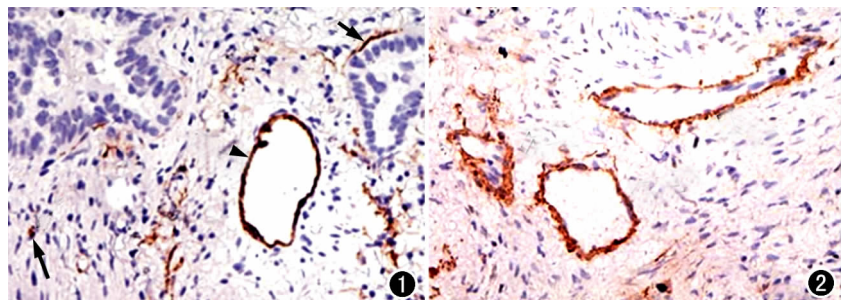


图 1 CD34 免疫组化图,阳性细胞染成棕黄色,包括有腔的腺癌微血管(箭头)及无腔微血管(短箭)及单个内皮细胞(长箭)。图 2 SMA 免疫组化图,血管平滑肌上呈现棕黄色颗粒,可见有腔的腺癌微血管及单层或多层被染成棕色的血管平滑肌细胞。

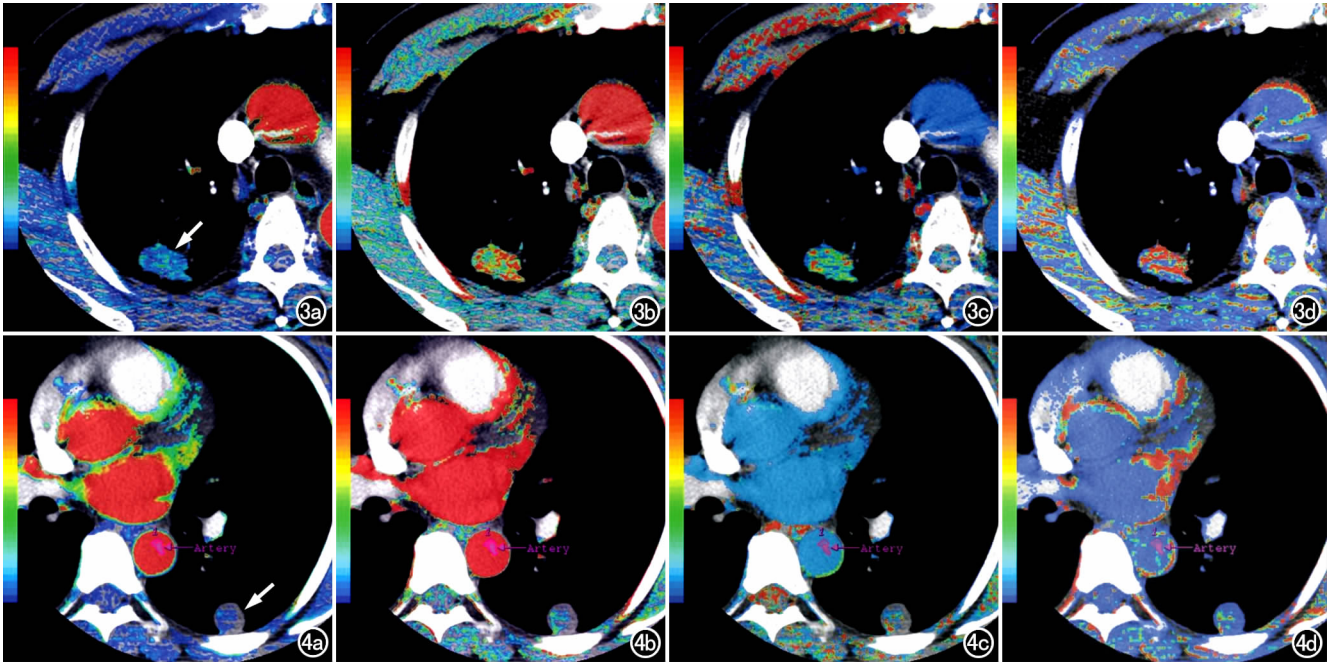


图 3 右肺上叶后段腺癌(Ⅱb 期)。a) BF 伪彩图示结节呈浅蓝色(箭),提示中等偏高灌注,定量值为 116 ml/(100g·min); b) BV 伪彩图示结节呈红绿色,提示中等偏高灌注,定量值为 8.65 ml/100g; c) MTT 伪彩图示结节呈蓝绿及少许红色,提示对比剂通过中等偏慢,定量值等于 5.85s; d) PS 伪彩图示结节呈红色为主、夹杂少许蓝色,提示结节高灌注,定量值为 20.57 ml/(100g·min)。图 4 左肺上叶尖后段结核球。a) BF 伪彩图示结节部分呈深蓝色(箭),部分无伪彩色,提示低灌注,定量值为 42.43 ml/(100g·min); b) BV 伪彩图示结节小部分呈浅蓝色,大部分无伪彩色,提示低灌注,定量值等于 1.52 ml/100g; c) MTT 伪彩图示结节部分呈蓝色及红色混杂,部分无伪彩色,提示对比剂通过偏慢,定量值等于 5.03 s; d) PS 伪彩图示结节大部分呈深蓝色,极少部分呈红绿色,提示低灌注,定量值为 3.58 ml/(100g·min)。

数 LVA、LVP、LVN 高于良性结节组的相应(图 4)参
数值,差异有统计学意义(P 均 <0.05);MTT 及
MVD 差异无统计学意义(P 均 >0.05)。各参数值及
统计分析结果见表 2。

表 2 恶性与良性结节组 CTVP 及微血管参数比较检验结果				
参数	恶性	良性	Z 或 t 值	P 值
BF	101.98±43.14 (90.99)	59.65±31.25 (55.38)	-2.242 Δ	0.023
BV	4.56±1.51 (4.37)	2.60±1.60 (2.48)	2.902*	0.006
MTT	4.65±2.29 (4.65)	11.60±15.19 (6.09)	-1.721 Δ	0.089
PS	16.97±7.35 (15.20)	6.81±6.65 (6.07)	3.224*	0.003
MVD	59.35±40.09 (55.00)	83.89±54.60 (72.75)	-0.781 Δ	0.445
LVA	423.12±183.24 (376.14)	165.29±127.31 (165.50)	3.283*	0.002
LVP	299.08±138.29 (265.83)	134.37±88.24 (118.74)	-2.122 Δ	0.033
LVN	16.15±9.62 (12.55)	9.08±6.59 (6.34)	-2.762 Δ	0.004

注:BF 单位 ml/(100g·min),BV 单位 ml/100g,MTT 单位 s,PS
单位 ml/(100g·min),LVA 单位 $\mu\text{m}^2/\text{视野}$,LVP 单位 $\mu\text{m}/\text{视野}$; Δ Z
值;* t 值;括号内为中位数。

相关性分析结果显示,MVD 与 LVA、LVP 及
LVN 无相关性;BF、MTT 及 PS 值与 MVD 无相关
性;BV 值与 MVD 有相关性;BF 值与 LVA、LVP、
LVN 均有相关性;BV 值与 LVA、LVP 有相关性,与

LVN 无相关性;PS 值与 LVA、LVP、LVN 均有相关
性;MTT 值与 LVA、LVP 及 LVN 均无相关性。38
例 SPN 各参数的相关性分析结果见表 3。SPN 的 BV
值与微血管参数相关性的散点图见图 5。

表 3 SPN 的 CTVP 参数与 MVD 及有腔血管参数的相关分析结果				
参数	MVD	LVA	LVP	LVN
BF				
r 值	0.288	0.547	0.507	0.404
P 值	0.079	<0.001	0.001	0.012
BV				
r 值	0.483	0.714	0.504	0.260
P 值	0.002	<0.001	0.001	0.115
MTT				
r 值	-0.200	0.222	-0.129	-0.196
P 值	0.906	0.180	0.442	0.239
PS				
r 值	0.307	0.507	0.541	0.473
P 值	0.061	0.001	<0.001	0.003
MVD				
r 值	1.000	0.222	0.277	0.222
P 值	—	0.180	0.092	0.181

讨 论

经典理论认为 CT 强化峰值、CT 灌注值与肿瘤血
管生成(MVD)有较好的相关性^[2,8]。但 Yi 等^[9]发现
良、恶性 SPN 的 MVD 差异无统计学意义。本组资料

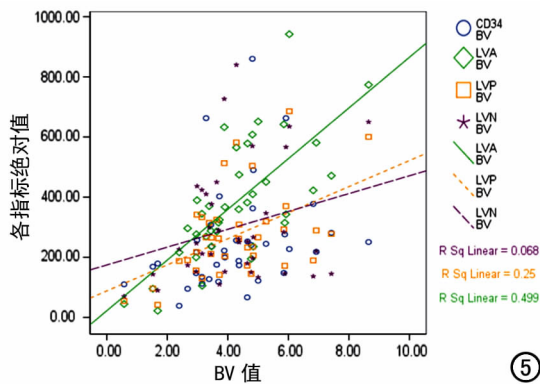


图 5 38 例 SPN 的 BV 值与 MVD、LVN、LVA 及 LVP 值的散点图。

也发现,在良、恶性 SPN 的 CTVP 参数值有统计学差异的情况下,MVD 差异却无统计学意义($P < 0.05$)。Kan 等^[4]认为 CTPI 实际反映的是有相对正常血液通透功能的、发育相对成熟的有腔血管,并不能反映无功能的单个血管内皮细胞、无腔或不成熟血管的数目。为探究肺结节 CTVPI 差异的主要原因,有必要进一步引入有腔血管参数来定量分析微血管构成。鉴于有腔血管覆盖血管平滑肌,因此运用针对平滑肌的特异性染色即可识别成熟的有腔血管^[4,10]。

本实验中,SPN 的 MVD 与有腔血管参数无相关性,说明后者相对独立,不受 MVD 影响。恶性组的 LVA、LVP 及 LVN 均大于良性组,提示良、恶性结节的 BF、BV 及 PS 间的差异可能是恶性 SPN 的有腔血管较良性结节数目多且管腔较大,而多数良性结节中的血管相对较少且管腔小所致。本组结果还发现,CTVP 与有腔血管参数有相关性,其中, BV 值与 LVA 的相关性最好($r = 0.714$),远高于 BV 与 MVD 的相关系数($r = 0.483$);其它各项参数亦均高于相应参数与 MVD 的相关系数。虽然 BV 值与 MVD 有相关性,与文献报道结果相仿^[9-10],但 BF、PS 值与 MVD 间无相关性,也提示 CTVP 主要与微血管的量和构成有关。因此,在良、恶性 SPN 的 CTVPI 参数有差异、MVD 无差异、有腔血管参数与 CTVP 各项参数的相关性高于 MVD 与 CTVPI 各项参数相关性的情况下,我们认为良、恶性 SPN 间的 CTVPI 差异可能主要由肺结节内有腔血管的量和大小,即微血管构成不同所致。但由于肺癌组织学类型和分化程度不同,血管生成和微血管构成差异大,血流灌注的差异也大;同时良性结节中既有低血供低灌注病变,如结核球,也有富血供高灌注结节,如炎性结节、隐球菌肉芽肿结节和肺硬化性血管瘤等,微血管的量和构成差异也大,是造成 CT 灌注成像诊断 SPN 不够理想的重要原因^[1,11-13]。

本研究的主要不足之处主要有 2 点。首先是良性肺结节的样本量偏小,纳入病种有限,未包括错构瘤和

肺硬化性血管瘤等病例,因此可能造成良、恶性两组 SPN 的 CTVP、MVD 和有腔血管参数对比结果出现选择性偏移。其次是分别观察和计算病理标本 CD34 和 SMA 免疫组织化学染色后的微血管,2 次选择的微血管不可能完全一致,因此可能造成计算 MVD 和有腔血管参数的选择性偏移,采用新型 CD34 和 SMA 复合染色有助于解决此项不足^[14]。

总之,良、恶性 SPN 间的 CTVP 差异与肺结节内有腔血管的量及大小有关。较微血管总量而言,CTVPI 可能更多地反映了病灶内的微血管构成。

参考文献:

- [1] Li Y, Yang ZG, Chen TW, et al. Peripheral lung carcinoma: correlation of angiogenesis and first-pass perfusion parameters of 64-detector row CT[J]. Lung Cancer, 2008, 61(1): 44-53.
- [2] Ng QS, Goh V. Angiogenesis in non-small cell lung cancer: imaging with perfusion computed tomography[J]. J Thoracic Imaging, 2010, 25(2): 142-150.
- [3] Bai RJ, Cheng XG, Qu H, et al. Solitary pulmonary nodules: comparison of multi-slice computed tomography perfusion study with vascular endothelial growth factor and microvessel density[J]. Chin Med J (Engl), 2009, 122(5): 541-547.
- [4] Kan Z, Phongkitkarun S, Kobayashi S, et al. Functional CT for quantifying tumor perfusion in antiangiogenic therapy in a rat model[J]. Radiology, 2005, 237(1): 151-158.
- [5] 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.
- [6] Provenzale JM. Imaging of angiogenesis: clinical techniques and novel imaging methods[J]. Am J Roentgenol, 2007, 188(1): 11-23.
- [7] Yi CA, Lee KS, Kim EA, et al. Solitary pulmonary nodules: dynamic enhanced multi-detector row CT study and comparison with vascular endothelial growth factor and microvessel density[J]. Radiology, 2004, 233(1): 191-199.
- [8] Goh V, Halligan S, Daley F, et al. Colorectal tumor vascularity: quantitative assessment with multidetector CT—Do tumor perfusion measurements reflect angiogenesis? [J]. Radiology, 2008, 249(2): 510-517.
- [9] 刘进康, 胡成平, 周漠玲, 等. 多层螺旋 CT 灌注成像评价非小细胞肺癌分化程度的价值及其机制[J]. 中华肿瘤杂志, 2009, 31(6): 460-464.
- [10] Zhang M, Kono M. Solitary pulmonary nodules: evaluation of blood flow patterns with dynamic CT[J]. Radiology, 1997, 205(2): 471-478.
- [11] Ma SH, Le HB, Jia BH, et al. Peripheral pulmonary nodules: relationship between multi-slice spiral CT perfusion imaging and tumor angiogenesis and VEGF expression[J/OL]. BMC Cancer, 2008, 8: 186. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/8/186>
- [12] Goh V, Halligan S, Daley F, et al. Colorectal tumor vascularity: quantitative assessment with multidetector CT—do tumor perfusion measurements reflect angiogenesis[J]. Radiology, 2008, 249(2): 510-517.

(收稿日期: 2011-08-04)