

食管鳞癌淋巴结转移与 CT 灌注参数及血管生成的关系

宋涛, 李祥, 张建伟, 骆俊朋, 黎海亮

【摘要】 目的:探讨食管鳞癌淋巴结转移与其 CT 灌注参数及血管生成的关系。方法:50 例食管癌患者行 MSCT 灌注扫描,采用免疫组织化学 SP 法检测术后标本中 MVD 及 VEGF 的表达。分析食管癌淋巴结转移与 CT 灌注参数中血容量(BV)、血流量(BF)、平均通过时间(MTT)、表面通透性(PS)及 MVD、VEGF 表达之间的关系。结果:食管鳞癌 CT 灌注参数中 BF、BV、MTT 值在有和无淋巴结转移组中分别为(128.81±50.05)和(105.55±43.18)ml/(100g·min)、(7.64±3.11)和(6.33±1.71)ml/100g、(5.62±1.97)和(7.16±3.32)s,差异均无统计学意义($P>0.05$),而 PS 值在有和无淋巴结转移组分别为(18.32±5.39)和(9.66±2.46)ml/(100g·min),差异有高度统计学意义($P<0.01$);以 PS 值 >10 ml/(100g·min)为阈值预测淋巴结转移的敏感度、特异度、阳性及阴性似然比分别为 95.8%、65.4%、2.77 和 0.06;VEGF 及 MVD 值与食管鳞癌淋巴结转移有显著正相关关系(r 值分别为 0.752 和 0.384, $P<0.01$)。结论:CT 灌注成像有助于食管鳞癌淋巴结转移的术前诊断,其中 PS 值是最有价值的诊断指标。

【关键词】 食管肿瘤; 体层摄影术, X 线计算机; 灌注成像; 淋巴结转移

【中图分类号】 R814.42; R735.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2012)07-0750-04

Correlation of lymph node metastasis with CT perfusion parameters and angiogenesis in esophageal squamous cell carcinoma

SONG Tao, LI Xiang, ZHANG Jian-wei, et al. Department of Radiology, Henan Cancer Hospital, Zhengzhou, 450003, P. R. China

【Abstract】 Objective: To evaluate the relationship of lymph node metastasis with CT perfusion parameters and angiogenesis in esophageal squamous cell carcinoma. **Methods:** Multi-detector row spiral CT (MDCT) perfusion was performed in 50 patients with esophageal carcinoma. The micro-vascular density (MVD) and VEGF expression were examined by means of SP immuno-histochemical technique. The correlation of lymph node metastasis with CT perfusion parameters, including blood volume (BV), blood flow (BF), mean transit time (MTT), surface permeability (PS), MVD and VEGF expression were analyzed. **Results:** The BF, BV and MTT values of esophageal squamous cell carcinoma with and without lymph node metastasis were (128.81±50.05) ml/(100g·min), (7.64±3.11) ml/100g, (5.62±1.97) s and (105.55±43.18)ml/(100g·min), (6.33±1.71)ml/100g, (7.16±3.32)s respectively, with no significant statistical differences ($P>0.05$). Significant difference of the PS value [(18.32±5.39) vs (9.66±2.46)ml/(100g·min)] was found between patients with or without lymph node metastasis ($P<0.01$). Taking PS value (>10 ml/100g·min) as the threshold for the diagnosis of lymph node metastasis, the sensitivity, specificity, positive and negative likelihood ratio were 95.8%, 65.4%, 2.77 and 0.06 respectively. The lymph node metastasis showed positive correlation to MVD and VEGF expression with r values as 0.752 and 0.384 respectively ($P<0.01$). **Conclusion:** CT perfusion imaging is helpful for the preoperative diagnosis of lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma, and PS value is the most valuable diagnostic index.

【Key words】 Esophageal neoplasms; Tomography, X-ray computed; Perfusion imaging; Lymph node metastasis

淋巴结转移是食管癌最常见的转移途径,也是影响外科治疗效果并导致复发、死亡的主要原因之一,但其术前检查手段有限,诊断准确性也存在一定争议^[1]。本文通过对 50 例食管鳞癌患者行多排螺旋 CT 灌注扫描,并应用免疫组织化学技术检测术后标本的 MVD 值及 VEGF 表达,分析食管鳞癌 CT 灌注参数、MVD 及 VEGF 值与淋巴结转移之间的关系,旨在为食管鳞癌淋巴结转移的术前诊断提供功能学参考指标。

材料与方法

1. 临床资料

搜集河南省肿瘤医院 2010 年 3 月—2011 年 5 月行 CT 灌注成像的 50 例食管癌患者的病例资料,其中女 14 例,男 36 例,年龄 44~80 岁,中位年龄 62 岁。所有患者均无远处转移。全部食管癌患者于手术前 1 周内行胸部 CT 平扫、增强以及灌注扫描,且扫描前均未做任何抗肿瘤治疗。

2. CT 灌注扫描方法

使用 GE Lightspeed 32 排螺旋 CT 扫描仪。扫描参数:120 kV, 150 mAs, 层厚 5 mm, 螺距 1, 视野

作者单位:450003 郑州,河南省肿瘤医院(郑州大学附属肿瘤医院)放射科
作者简介:宋涛(1980—),男,河南开封人,硕士,主治医师,主要从事肿瘤影像诊断工作。
通讯作者:黎海亮, E-mail: cjr. lihailiang@vip. 163. com

36 cm×36 cm, 标准重建法。先行常规胸部 CT 平扫以确定食管癌病灶位置及肿瘤最大层面, 以此为中心选取 8 层行 CT 灌注扫描, 经肘静脉注射碘佛醇 (320 mg I/ml) 50 ml, 注射流率 4 ml/s, 延迟 5 s 后对选取层面行连续动态 CT 增强扫描, 一次扫描采集 8 层, 1r/s, 扫描间隔 1 s, 扫描时间约 45 s。CT 灌注扫描后行常规胸部 CT 增强扫描。

3. CT 灌注图像后处理

采用 CT perfusion-3 体部肿瘤软件包对原始图像进行分析, 首先选择主动脉为输入动脉, 以动脉内最高密度点为兴趣区 (region of interest, ROI), 大小 2~6 个像素, 生成输入动脉 ROI 的时间-密度曲线 (time-density curve, TDC); 选择肿瘤大小及强化最明显的层面为病灶 ROI (图 1a、2a), 其范围不小于同层面肿瘤面积的 90%, 软件自动生成肿瘤 ROI 的 TDC, 并计算出肿瘤 CT 灌注参数值, 包括血容量 (blood volume, BV)、血流量 (blood flow, BF)、平均通过时间 (mean transit time, MTT) 及表面通透性 (permeability surface, PS), 同时得到其伪彩图 (图 1b~e、2b~e)。

4. 免疫组织化学检查

采用过氧化物酶标记的链霉素卵白素法染色, 检测 50 例食管癌组织中 MVD 及 VEGF 蛋白表达。采用 CD31 标记血管内皮细胞测定 MVD (图 1f、2f), 以

血管内皮细胞的胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性判定标准, 采用 Weidner 法作为微血管数判定标准进行计数。VEGF 表达以肿瘤细胞胞浆或细胞膜内含有棕黄色或黄色颗粒者为染色阳性细胞 (图 1g、2g), 无着色的细胞为染色阴性细胞。染色阳性细胞数 >5% 者为阳性, 染色阳性细胞数 <5% 以及无着色者为阴性。

5. 统计学处理

CT 灌注参数 BV、BF、MTT、PS 及 MVD 均采用平均值±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, VEGF 表达以阳性计数百分比表示。采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析, 两样本间 CT 灌注参数值的比较采用 *t* 检验, 两变量相关性采用 Spearman 相关性分析, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

结果

1. 术后病理结果

本组 50 例患者均为食管鳞状细胞癌, 无淋巴结转移者 26 例 (52%), 有淋巴结转移者 24 例 (48%)。

2. 食管鳞癌淋巴结转移与 CT 灌注参数的关系

食管癌有和无淋巴结转移组 CT 灌注参数值及统计分析结果见表 1。统计结果显示, 食管癌 CT 灌注参数 BV、BF、MTT 值在两组中的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 PS 值在两组中差异有高度统计学意义

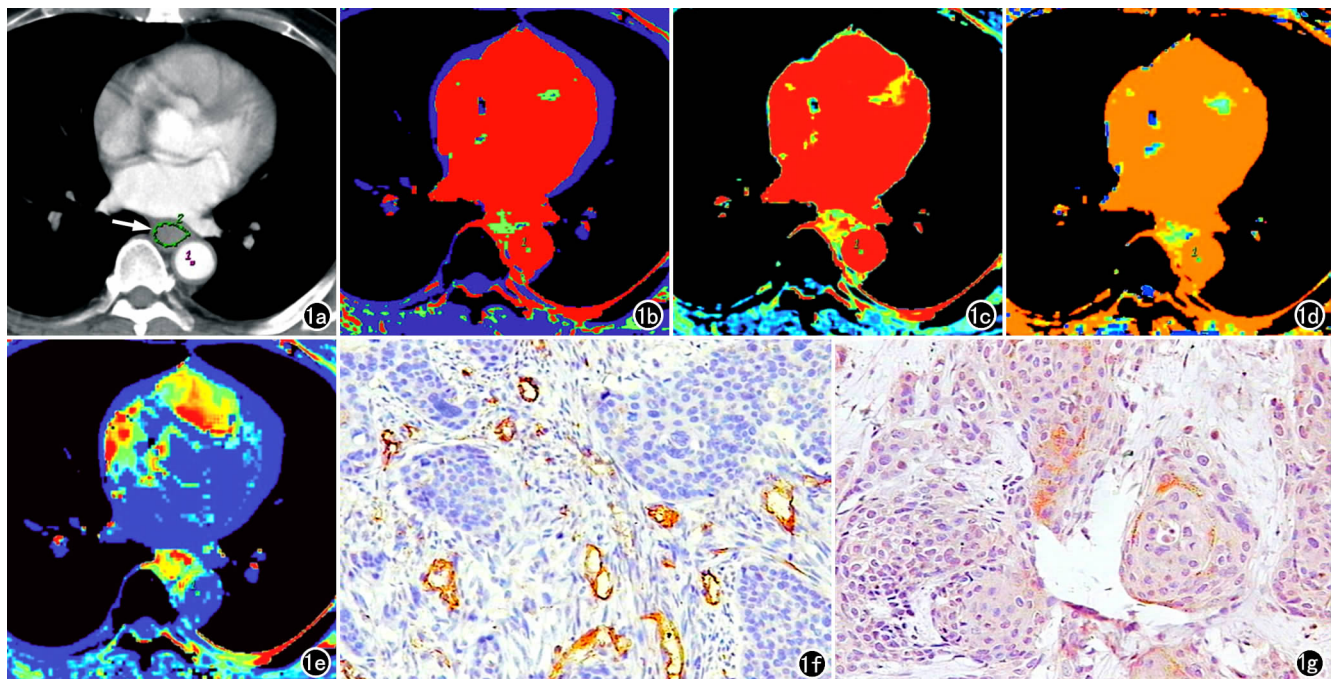


图 1 食管下段鳞状细胞癌, 无淋巴结转移。a) 在 CT 灌注扫描图上确定输入动脉 (降主动脉) 和肿瘤 (箭) ROI; b) BF 图示肿瘤边缘呈红色, 中心呈绿色, 表明肿瘤边缘血流量较高 (前壁较明显), 中心血流量较低; c) BV 图示肿瘤中心呈红色, 边缘大部分呈绿色, 表明肿瘤中心血容量较大; d) MTT 图示肿瘤边缘呈橙色, 中心大部分呈绿色, 表明肿瘤边缘平均通过时间较短; e) PS 图示肿瘤边缘呈少许红色, 其余部分呈黄色及绿色, 表明肿瘤血管通透性较低, 肿瘤边缘血管通透性相对较高; f) CD31 免疫组化染色图, 镜下示微血管内皮细胞被染成棕黄色 ($\times 100$, SP 法); g) VEGF 免疫组化染色图, 镜下示少许肿瘤细胞被染成黄色, 染色较淡。

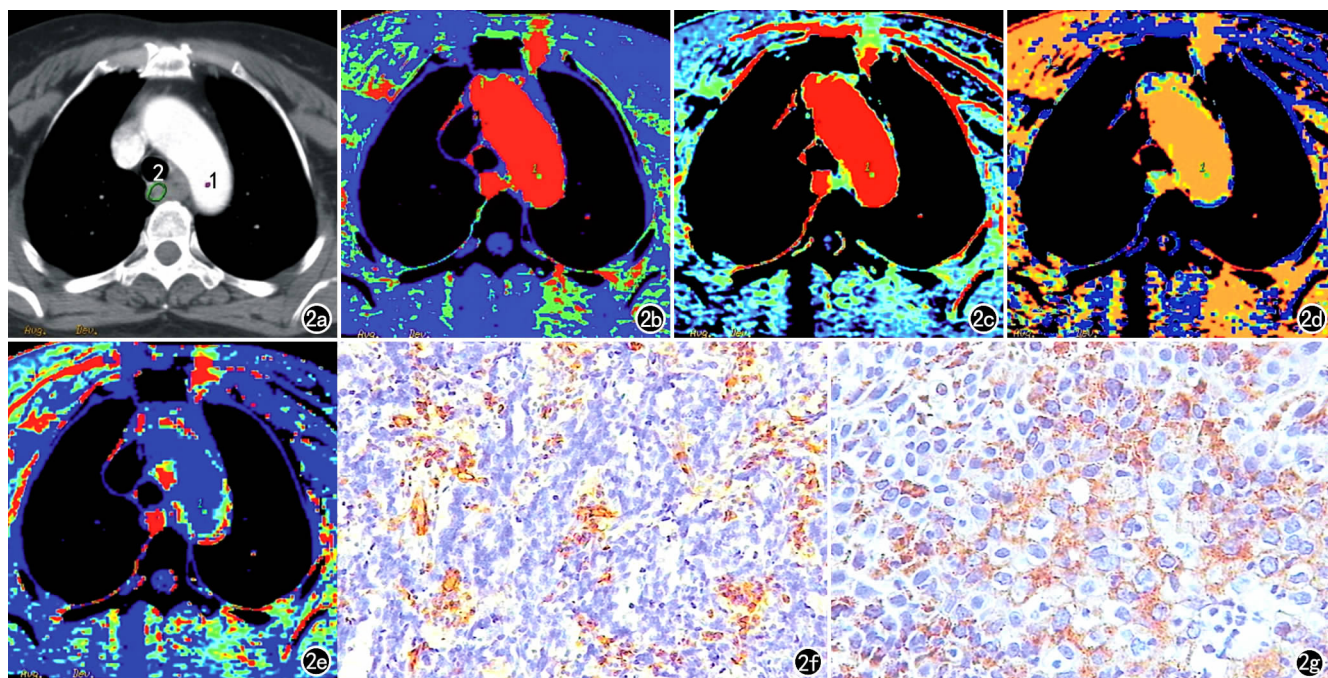


图2 食管胸上段鳞状细胞癌并淋巴结转移。a) CT灌注扫描层面上确定输入动脉(主动脉弓)ROI(1)和肿瘤ROI(2); b) BF图示肿瘤绝大部分区域血流量高呈红色; c) BV图示肿瘤绝大部分区域血容量大呈红色; d) MTT图示肿瘤大部分呈橙黄色,表明平均通过时间较短; e) PS图示肿瘤大部分区域肿瘤血管通透性高呈红色; f) CD31免疫组化染色图镜下示微血管内皮细胞被染成棕黄色,微血管多($\times 200$, SP法); g) VEGF免疫组化染色图,镜下示大量肿瘤细胞被染成棕黄色,染色深($\times 200$, SP法)。

($P < 0.01$)。

表1 食管鳞癌淋巴结转移与CT灌注成像参数的关系

灌注参数	无淋巴结转移组	有淋巴结转移组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
BF[ml/(100g·min)]	105.55±43.18	128.81±50.05	1.763	>0.05
BV(ml/100g)	6.33±1.71	7.64±3.11	1.825	>0.05
MTT(s)	7.16±3.32	5.62±1.97	-1.981	>0.05
PS[ml/(100g·min)]	9.66±2.46	18.32±5.39	6.588	<0.01

3. 食管鳞癌淋巴结转移与PS值的关系

本组中PS平均值 >10 ml/(100g·min)者32例, ≤ 10 ml/(100g·min)者18例,PS值与淋巴结转移的关系见表2。以PS平均值 >10 ml/(100g·min)为标准诊断淋巴结转移的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比分别为95.8%、65.4%、2.77和0.06。

表2 食管鳞癌淋巴结转移与PS值的关系 (例)

PS值 [ml/(100g·min)]	淋巴结转移	
	有	无
>10	23	9
≤ 10	1	17
合计	24	26

4. 食管鳞癌淋巴结转移与MVD及VEGF的相关性

MVD值及VEGF阳性表达与淋巴结转移呈显著正相关($P < 0.01$),分析结果见表3。

表3 有和无淋巴结转移组的MVD值及VEGF阳性例数

淋巴结转移	例数	VEGF阳性例数(%) [*]	MVD [△]
无	26	7(26.9%)	27.71±16.55
有	24	24(100.0%)	41.73±20.66

注:^{*}与淋巴结转移的Spearman相关系数为0.752, $P < 0.001$;
[△]与淋巴结转移的Spearman相关系数为0.384, $P = 0.006$ 。

讨论

CT灌注成像是一种功能成像技术,其不仅可以显示肿瘤形态学方面的变化,而且可以用来评价肿瘤组织的血流灌注状况。以往的CT灌注成像研究多关注肿瘤良恶性的鉴别以及对肿瘤放化疗疗效的评价,而用于食管癌淋巴结转移术前诊断的尚不多见。

本研究将CT灌注成像与免疫组化技术相结合来评价食管鳞癌淋巴结转移,结果显示食管鳞癌淋巴结转移与MVD值及VEGF表达呈显著正相关($P < 0.01$),CT灌注参数中PS值在有和无淋巴结转移中差异有统计学意义,表明食管鳞癌是否发生淋巴结转移与肿瘤血管的生成及其功能状况密切相关。

MVD及VEGF已广泛应用于肿瘤血管生成的评价,尤其是MVD已成为评价肿瘤血管生成的金标准。大量新生的肿瘤血管不仅可以增加肿瘤细胞进入血液循环的机会,而且肿瘤细胞还能侵入与毛细血管伴行的淋巴管,或通过淋巴静脉连接进入淋巴管,从而形成

淋巴转移,因此,MVD高、VEGF表达阳性的食管癌发生淋巴结转移的概率也大,二者呈正相关。肿瘤血管的生成还会引起血流量、血容量以及毛细血管通透性的变化,在增强CT图像上表现为肿瘤组织的强化程度较正常食管壁高,在CT灌注成像中,有学者研究证明食管癌组织的CT灌注参数BV、BF、MTT及PS值均高于正常食管壁的灌注参数值^[2]。虽然CT灌注图像不能直接显示肿瘤新生血管,但新生血管导致的组织外间隙灌注容量增加和毛细血管通透性的提高可通过BV、BF、MTT及PS值得以反映^[3]。其中BV、BF反映了肿瘤的血流灌注状况,与肿瘤的微血管生成有关;PS值则反映了肿瘤血管功能状态,与肿瘤血管的通透性高低有关^[4]。本组病例中有淋巴结转移组食管癌的PS值明显高于无淋巴结转移组,其差异有高度统计学意义($P < 0.01$)。笔者认为这是由于新生的肿瘤血管具有广泛的内皮间连接及大量的网膜孔,其基底膜连续性中断或缺失,较正常血管可通过较大的颗粒,包括肿瘤细胞,因此肿瘤血管通透性高的食管癌更易发生淋巴结转移。Zhang等^[5]及孙亚娟等^[6]在胃癌的CT灌注研究中也发现PS值在胃癌有无淋巴结转移之间的差异具有统计学意义。

虽然本组病例以PS平均值 $> 10 \text{ ml}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$ 为阈值诊断淋巴结转移的敏感度(95.8%)及特异度(65.4%)较高,但影响PS值大小的因素较多,如CT机型、灌注软件、扫描方法、对比剂、肿瘤ROI的选择以及患者的个体差异等等,且本组病例样本量较小,因此,此标准有较大的局限性,相信随着对大样本量肿瘤患者的进一步研究以及灌注扫描方法及标准的统一,PS值将成为肿瘤诊断及预后评价的重要指标之一。

关于BV及BF与肿瘤转移的关系,在不同的研究中尚无一致性结论。本组病例中有淋巴结转移食管癌较无淋巴结转移食管癌的BV、BF值高,而MTT值短,但其差异无统计学意义($P > 0.05$)。而印隆林等^[7]研究认为,食管及贲门癌转移组(包括淋巴结及脏器转移)较未转移组具有更高的BF值,其差异有统计学意义;转移组的BV较未转移组高,但无统计学意义。这可能表明有淋巴结转移的肿瘤组织较无淋巴结

转移者具有更丰富的血管生成及更多的动静脉通路开放,导致血容量增加及血流阻力减小,从而引起BV增高、MTT缩短、BF增高^[8]。国外学者在55例食管癌灌注研究中称BF值与血行转移相关,有血行转移的食管癌BF值较高,并认为这与肿瘤血管生成增加了肿瘤细胞进入血管的概率有关^[9]。

总之,通过食管鳞癌淋巴结转移状况与CT灌注参数、MVD及VEGF表达的相关分析,笔者认为当PS值、MVD值较高,VEGF阳性表达时,提示发生淋巴结转移的可能性较大。由于MVD值及VEGF表达需要取得癌组织标本后才能测定,因此PS值是术前预测淋巴结转移最有意义的指标,同时结合淋巴结的形态、大小及强化特征,相信可以对食管鳞癌淋巴结转移做出更加准确的术前诊断。

参考文献:

- [1] 王旭广,陈哲. CT和MRI检查对食管癌术前TN分期的价值[J]. 肿瘤, 2005, 25(3): 281-283.
- [2] 郭君武,翟冬枝,马宏君,等. 多层螺旋CT灌注成像在食管癌诊断中的应用价值[J]. 放射学实践, 2006, 21(7): 670-673.
- [3] Sahani DV, Kalva SP, Hamberg LM, et al. Assessing tumor perfusion and treatment response in rectal cancer with multisection CT: initial observation[J]. Radiology, 2005, 234(3): 785-792.
- [4] Lee TY, Purdie TG, Stewart E. CT imaging of angiogenesis[J]. Quarterly J Nuclear Medicine, 2003, 47(3): 171-187.
- [5] Zhang H, Pan ZL, Du LJ, et al. Advanced gastric cancer and perfusion imaging using a multidetector row computed tomography: correlation with prognostic determinants[J]. Korean J Radiol, 2008, 9(2): 119-127.
- [6] 孙亚娟,尚乃舰,李鹏飞,等. 多层螺旋CT灌注成像在胃癌诊断中价值的研究[J]. 实用肿瘤学杂志, 2009, 23(1): 58-60.
- [7] 印隆林,杨志刚,李媛,等. 食管及贲门癌多层螺旋CT灌注成像的初步研究[J]. 四川大学学报(医学版), 2008, 39(5): 788-791.
- [8] Bize PE, Platon A, Becker CD, et al. Perfusion measurement in acute pancreatitis using dynamic perfusion MDCT[J]. AJR, 2006, 186(1): 114-118.
- [9] Makari Y, Yasuda T, Doki Y, et al. Correlation between tumor blood flow assessed by perfusion CT and effect of neoadjuvant therapy in advanced esophageal cancers[J]. J Surg Oncol, 2007, 96(3): 220-229.

(收稿日期:2011-12-21 修回日期:2012-04-11)