

食管癌 CT 灌注参数与 MVD 相关性分析

周胜利, 袁刚, 白玲, 黄连庆, 王宗盛

【摘要】 目的:分析食管癌多层螺旋 CT(MSCT)灌注成像参数与肿瘤微血管密度(MVD)间的相关性,探讨 MSCT 灌注成像在评价肿瘤血管生成中的应用价值。**方法:**79 例经手术病理证实的食管癌患者行 MSCT 灌注成像,绘制兴趣区(ROI)的时间-密度曲线(TDC),计算血流量(BF)、血容量(BV)、平均通过时间(MTT)、毛细血管通透性(PS);切取同层肿瘤组织切片,测定微血管密度,分析不同分化程度、组织学分型及浸润深度的肿瘤组织的 CT 灌注参数差异及各参数与 MVD 之间的相关性。**结果:**79 例食管癌 BF、BV、MTT、PS 平均值分别为 $(93.07 \pm 54.31) \text{ ml}/(\text{min} \cdot 100\text{g})$ 、 $(6.35 \pm 1.77) \text{ ml}/100\text{g}$ 、 $(9.17 \pm 7.07) \text{ s}$ 、 $(12.71 \pm 7.79) \text{ ml}/(\text{min} \cdot 100\text{g})$; MVD 计数为 $(24.69 \pm 8.61) \text{ 条}/\text{高倍视野}$ 。BF、BV 值与 MVD 呈正相关($P < 0.05$, r 值分别为 0.445、0.341),不同侵袭深度的肿瘤组织的 BF 值的差异有统计学意义($P = 0.034$)。**结论:**MSCT 灌注成像可间接反映活体食管癌血管生成情况,为治疗方案的制定、疗效判定及预后评估提供依据。

【关键词】 食管肿瘤; 体层摄影术, X 线计算机; 灌注成像; 微血管密度

【中图分类号】 R814.42; R735.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2012)08-0854-04

Esophageal carcinoma: MSCT perfusion parameters and microvessel density ZHOU Sheng-li, YUAN Gang, BAI Ling, et al. Department of Radiology, the First People's Hospital of Lianyungang, Jiangsu 222002, P. R. China

【Abstract】 Objective: To correlate multi-slice computed tomography (MSCT) perfusion parameters with micro-vessel density (MVD) and to explore the value of MSCT perfusion in the evaluation of tumor angiogenesis of esophageal carcinoma. **Methods:** Seventy-nine patients with pathologically confirmed esophageal carcinoma underwent perfusion MSCT examination, tumor blood flow (BF), blood volume (BV), mean transit time (MTT) and permeability surface-area product (PS) were determined. After surgery, resected specimens were sectioned and stained immunohistochemically for quantification of microvessel density (MVD). Perfusion MSCT measurements were correlated with MVD. **Results:** Mean BF, BV, MTT and PS were $(93.07 \pm 54.31) \text{ ml}/(\text{min} \cdot 100\text{g})$, $(6.35 \pm 1.77) \text{ ml}/100\text{g}$, $(9.17 \pm 7.07) \text{ s}$ and $(12.71 \pm 7.79) \text{ ml}/(\text{min} \cdot 100\text{g})$, respectively. The mean value of MVD was $(24.69 \pm 8.61) \text{ item}/\text{hpf}$ in 79 patients with esophageal carcinoma. BF ($r = 0.445$, $P < 0.05$) and BV ($r = 0.341$, $P < 0.05$) correlated positively with MVD. **Conclusion:** MSCT perfusion is a feasible technique for quantifying tumor microvasculature and angiogenesis in esophageal carcinoma and facilitates the diagnostic workup of esophageal carcinoma for treatment plan, monitoring to antitumor therapy and prognosis.

【Key words】 Esophageal neoplasms; Tomography, X-ray computed; Perfusion imaging; Microvessel density

食管癌是我国的高发肿瘤,因其起病隐匿,患者就诊时绝大多数已属中晚期^[1]。丰富的血管是肿瘤生长的物质条件,与肿瘤的发展密切相关,肿瘤微血管密度(microvessel density, MVD)是反映肿瘤新生血管的“金标准”^[2],但 MVD 测定需依赖活体组织。随着多层螺旋 CT 的普及,CT 灌注成像已逐渐应用于多种器官及肿瘤的功能成像,可以定量反映病变或肿瘤微循环方面的特征改变。本研究通过分析食管癌 MSCT 灌注参数与 MVD 之间的相关性,旨在探讨 MSCT 灌注成像评价食管癌血管生成的价值及可行性。

材料与方 法

选择本院 2008 年 6 月—2011 年 6 月经手术病理证实的食管癌患者 79 例,其中男 49 例,女 30 例,年龄 45~66 岁,中位年龄 58 岁。所有患者术前行 CT 灌

注扫描,术后行病理学检查,鳞癌 68 例,腺癌 11 例;高中分化 56 例,低分化 23 例;根据 1997 年国际抗癌联盟(UICC)食管癌国际 TNM 分期,79 例中 T₁ 期 29 例, T₂ 期 23 例, T₃ 期 18 例, T₄ 期 9 例。

扫描前训练患者呼吸,并禁做吞咽动作,采用 GE LightSpeed Ultra 16 层螺旋 CT 机,常规 5 mm 层厚对病变区进行 CT 平扫,选取病变中心最大直径相邻 4 层作为靶层面,采用“Toggling-Table”技术进行 CT 灌注扫描,扫描参数:120 kV, 120 mA, 1 s/r, 5 mm×4i, 选用非离子型对比剂碘佛醇(300 mg I/ml, 江苏恒瑞公司),总剂量 50 ml,采用高压注射器经肘静脉注入,注射流率 4 ml/s,扫描延迟时间 5.0 s,数据采集时间 60 s。扫描结束后共获得 320 帧图像,数据传送至 AW4.3 工作站,根据去卷积法原理^[3],使用 GE 公司的 Perfusion 3 灌注软件体部肿瘤软件包进行制图、分析和计算,流入动脉选择同层面的降主动脉,若病变位于主动脉弓上层面,则选择头臂干或左侧颈总动脉作为流入动脉,分别测定病变的血流量(blood flow,

作者单位:222002 江苏,连云港市第一人民医院影像科

作者简介:周胜利(1955—),男,江苏连云港人,主任医师,主要从事影像诊断及介入治疗工作。

通讯作者:王宗盛, E-mail: wzslyg@sina.com

BF)、血容量(blood volume, BV)、平均通过时间(mean transit time, MTT)和表面通透性(permeability surface, PS)。选取 3~5 个病变兴趣区(region of interest, ROI),得到相关灌注参数并取其平均值,ROI 选择应避开坏死、伪影、病灶边缘等。

所有患者均经手术切除肿瘤,取得术后尽量保持其取材部位与 CT 图像后处理所测 ROI 一致,以血管内皮细胞表面抗原 CD34 单抗标记测定组织 MVD,采用 MaxVision TM 快捷免疫组化法,以 PBS 替代第一抗体作为空白对照,确定其特异性。MVD 计数采用 Weidner 方法,结果判定在双盲法下进行。

所有数据均用统计软件包 SPSS 16.0 处理,用平均值±标准差表示。参考值采用 95%可信区间,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。比较 CT 灌注参数与 MVD 间相关性采用 Pearson 法。采用独立样本 t 检验分析不同组织病理特征(不同分化程度、组织学分型浸润及深度)肿瘤的 CT 灌注参数及 MVD 测量差异有无统计学意义。

结 果

1. CT 灌注成像结果

79 例食管癌患者 BF、BV、MTT、PS 平均值分别为 $(93.07\pm54.31)\text{ml}/(\text{min}\cdot100\text{g})$ 、 $(6.35\pm1.77)\text{ml}/100\text{g}$ 、 $(9.17\pm7.07)\text{s}$ 、 $(12.71\pm7.79)\text{ml}/(\text{min}\cdot100\text{g})$,部分病例见图 1~2。

不同病理特征食管癌患者 CT 灌注参数差异比较:不同侵及深度的肿瘤 BF 差异有统计学意义($P=0.034$),不同组织学分型、分化程度的肿瘤 BF 差异均无统计学意义(表 1~3)。

2. MVD 计数结果

79 例食管癌患者 MVD 计数平均值为 (24.69 ± 8.61) 。对不同病理类型食管癌患者 MVD 测量参数差异进行比较,根据 MVD 测量值分析结论为不同肿

瘤分化程度、组织学分型及浸润深度的 MVD 差异均无统计学意义(表 4)。

表 1 不同分化程度的食管癌 CT 灌注参数比较

灌注参数	分化程度		t 值	P 值
	高中分化	低分化		
BF	90.14 ± 49.03	97.46 ± 62.83	-0.413	0.682
BV	6.48 ± 1.62	6.16 ± 2.00	0.559	0.579
MTT	9.18 ± 7.19	9.02 ± 7.13	0.05	0.169
PS	14.01 ± 7.30	10.62 ± 8.28	1.403	0.833

表 2 不同组织学分型的肿瘤组织 CT 灌注参数比较

灌注参数	组织学分型		t 值	P 值
	鳞癌	腺癌		
BF	93.69 ± 55.08	81.29 ± 49.71	0.31	0.758
BV	6.36 ± 1.74	6.22 ± 3.12	0.10	0.921
MTT	9.22 ± 7.25	8.34 ± 2.42	0.169	0.867
PS	12.52 ± 7.39	16.25 ± 17.93	-0.292	0.818

表 3 不同侵及深度的肿瘤组织 CT 灌注参数比较

灌注参数	侵及深度		t 值	P 值
	侵及纤维膜	未侵及纤维膜		
BF	109.39 ± 53.33	73.13 ± 49.88	-2.201	0.034*
BV	6.49 ± 1.89	6.17 ± 1.64	-0.58	0.565
MTT	7.27 ± 5.78	11.49 ± 7.94	1.945	0.059
PS	10.92 ± 6.95	14.89 ± 8.39	1.636	0.110

注: * $P<0.05$,BF 单位为 $\text{ml}/(\text{min}\cdot100\text{g})$,BV 单位为 $\text{ml}/100\text{g}$,MTT 单位为 s ,PS 单位为 $\text{ml}/(\text{min}\cdot100\text{g})$ 。

表 4 不同病理类型肿瘤组织 MVD 比较

病理特征	MVD(条/高倍视野)	t 值	P 值
分化程度		1.112	0.273
高中分化	24.93 ± 8.02		
低分化	24.33 ± 9.68		
组织学分型		0.212	0.833
鳞癌	24.81 ± 8.43		
腺癌	22.50 ± 15.80		
侵及深度		0.166	0.869
未侵及纤维膜	24.95 ± 8.18		
侵及纤维膜	24.49 ± 9.13		

CT 灌注参数与 MVD 相关性分析:BF、BV 与 MVD 呈正相关($P<0.05$),MTT、PS 与 MVD 无相关性($P>0.05$,表 5)。

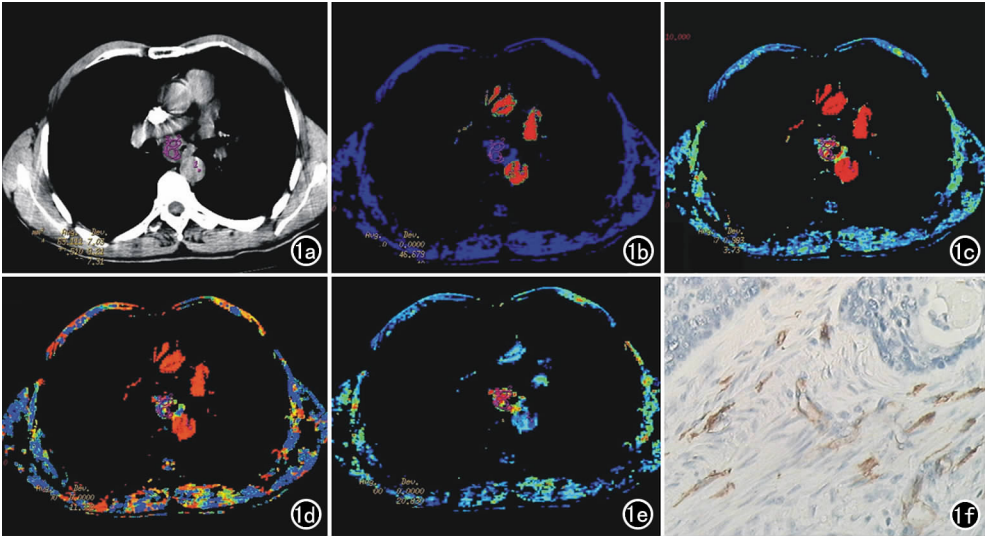


图 1 食管高分化鳞癌。a) CT 灌注 ROI 选取图; b) BF 伪彩图,BF 值为 $64.03\text{ml}/(\text{min}\cdot100\text{g})$; c) BV 伪彩图,BV 值为 $8.38\text{ml}/100\text{g}$; d) MTT 伪彩图,MTT 值为 13.51s ; e) PS 伪彩图,PS 值为 $22.80\text{ml}/(\text{min}\cdot100\text{g})$; f) CD34 单抗标记后的 MVD 病理图($\times200$)。

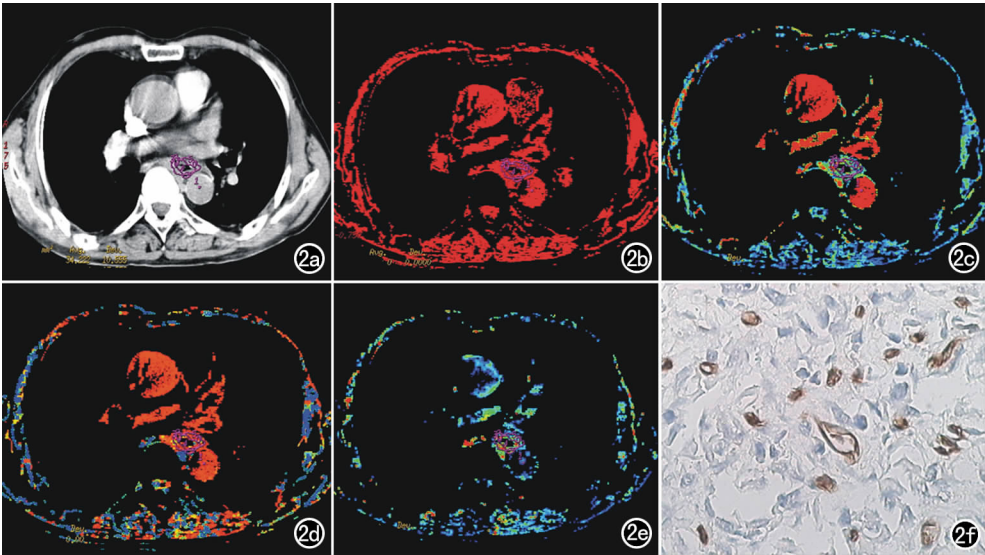


图2 食管中分化腺瘤。a) CT灌注 ROI 选取图; b) BF 伪彩图, BF 值为 97.36ml/(min·100g); c) BV 伪彩图, BV 值为 6.25ml/100g; d) MTT 伪彩图, MTT 值为 5.98s; e) PS 伪彩图, PS 值为 15.85ml/(min·100g); f) CD34 单抗标记后的 MVD 病理图(×200)。

表5 CT灌注参数与MVD相关性

灌注参数	MVD	
	P 值	r 值
BF	0.004*	0.445
BV	0.031*	0.341
MTT	0.205	-0.205
PS	0.079	0.281

注: * $P<0.05$ 。

讨 论

1. 食管癌的病理分型及常规检查局限性

食管癌是我国临床常见的消化系统肿瘤之一,组织学分型以鳞癌多见,腺癌少见。食管癌因其形态特殊性,早期很难发现,多误认为胸闷及胃炎等,就诊时多为中晚期。目前,食管癌的诊断及疗效评估常规多依靠X线钡餐及CT检查,而这些检查只局限在其病态及间接征象,确诊依靠内镜活检,超声内镜、MRI及核素扫描仪对其诊断起到补充作用,均无法直接检测肿瘤的血供及肿瘤血管生成状况。

2. CT灌注成像原理及食管癌灌注成像可行性

CT灌注成像技术是一种无创的功能性影像学成像,在静脉注射对比剂后对选定的层面进行连续多次扫描,以获得此层面内每一像素的时间-密度曲线,根据此曲线利用不同的数学模型计算出BF、BV、MTT、达峰时间(time of peak, TTP)、PS等参数,以此来评价组织器官的灌注状态。运用CT灌注成像技术,可以通过灌注参数判断微血管密度,进而对肿瘤的活动性、病理分级及预后进行评估,定量反映病变或肿瘤微循环方面的特征改变,比传统成像方法更准确、更早期反映病变的变化^[4]。因此,应用灌注成像不仅可以区分肿瘤内的成分以及对肿瘤实际大小进行精确的评价,而且可以对肿瘤的血流动力学进行定量评估。本研究采用去卷积法和“Toggling-Table”技术,测得79例食管癌患者BF、BV、MTT、PS值,对于肿瘤的血流

灌注情况进行了准确测定。目前国内关于食管CT灌注成像的文献很少,大多都是仅涉及食管病变良恶性鉴别及评估肿瘤放疗效果等^[5-6]。

3. MVD研究进展及在食管癌中的应用

1971年, Fofkman首次提出肿瘤血管生成的概念,认为实体瘤的生长和转移依赖于肿瘤内新生血管的形成^[7],此观点后来被实验及临床病理研究证实。肿瘤血管生成在实体肿瘤发生、发展、周围浸润、转移等各个环节皆起重要作用,肿瘤组织微血管构建水平反映了肿瘤生长、转移和预后。目前评估肿瘤内的血管数,多采用免疫组织化学技术标记血管内皮细胞的间接方法。本研究选用了抗原特异性最高的CD34作为血管内皮细胞标记物。目前国内外学者对MVD可以定量反映食管癌血管生成状态已达成共识^[8-9],但MVD的检测依赖于手术病理,在临床使用中具有很大的局限性。

食管是后纵隔器官,受呼吸运动影像较小,在不做吞咽动作情况下多处于闭合状态,受内容物伪影影响较小,并且食管癌发现时肿块多较大,有利于CT灌注检查,但在食管癌管壁增厚不明显呈弥漫生长时对ROI的选择造成困难。手术也容易导致CT灌注选择层面ROI与病理组织切片不完全匹配;对比剂注入时可能引起的不适感及呼吸训练不到位、年龄等原因引起的呼吸运动不均匀会导致错层位移,这些影响因素在检查时应尽量避免。

4. 不同病理类型食管癌患者CT灌注参数及MVD测量值差异统计学分析

通过统计学分析发现,不同分化程度、组织学分型食管癌CT灌注参数及MVD测量值差异无统计学意义,仅不同浸润深度肿瘤的BF值差异有统计学意义,这与部分文献报道吻合,如国内赵建龙等^[10]研究表明食管癌组织中VEGF、bFGF、MVD的表达与病理分

级无相关性,与肿瘤浸润深度和淋巴结转移有相关性; Igarashi 等^[11]报道食管癌 MVD 与病灶部位、组织学分级无相关性,与肿瘤大小、分期和淋巴结侵犯有相关性。

5. 食管癌 CT 灌注参数与 MVD 相关性分析

新生血管为肿瘤的生长提供营养物质,是肿瘤细胞转移和侵袭的病理基础,其结构不同于正常血管,主要表现为基底膜不完整、血管壁薄而缺乏平滑肌、通透性高,不仅能促进肿瘤的生长和转移,还会引起血容量、灌注量及毛细血管通透性的变化。肿瘤血管占肿瘤体积的 1%~10%^[11]。按照定义,BF 主要由肿瘤的血流特点与肿瘤内部的微血管密度所决定,反映的是局部区域血流量。BV 的变化不仅取决于血管直径和毛细血管开放数量,还主要受微血管数量的影响,现在普遍认为 MVD 是评价 BV 的金标准,MVD 越大即表明单位体积内微血管数量越多,其血流量亦越大;同样,微血管密度越大,单位体积内血管成分与非血管成分的比重越大,单位体积内血容量必然相应较高;此外,肿瘤血管通透性高,对比剂在灌注期间发生外渗,肿瘤血管越多,滞留在间质中的血液越多,BV 也就越大。本研究结果表明 BF、BV 与 MVD 呈正相关($P < 0.05$),进一步证实了其用于评价肿瘤血管生成的准确性和可靠性,与 Dreves 等^[12-13]研究结果一致。

本研究发现 MTT、PS 与 MVD 无相关性($P > 0.05$),考虑为以下原因:肿瘤晚期血管生成数量与其通透性往往不一致,随着时间的延长,肿瘤血管生成并不是一直进行性增殖,会出现高峰限制,达到一定的水平后可能出现下降趋势,而肿瘤血管通透性的发展过程可能与其数量增殖过程不一致,当血管生成数量到达高峰并开始下降时,其新生血管通透性却进一步提高,更多反映的是肿瘤细胞异质性及不成熟性,故 PS 值与 MVD 不具有相关性。MTT 指血流流经血管系统(动脉、毛细血管、静脉窦、静脉)的平均时间,肿瘤内存在大量大小不等、不同级别、不同途径的动静脉直接通路,并且对比剂注射流率及个人血管情况也会影响 MTT,虽然随着肿瘤血管增多,血容量应该增大,但随着肿瘤血管增多,间质压力也会增高,会引起肿瘤内部血容量减少,多种因素导致 MTT 与 MVD 无明显相关性。

总之,MVD 是反映食管癌血供的“金标准”,MSCT 灌注成像具有无创、可重复性强、准确可靠等优点,可间接反映活体肿瘤血管生成情况,为临床治疗方法选择、疗效判定及预后评估提供依据。

参考文献:

- [1] 殷蔚伯. 肿瘤放射治疗学[M]. 中国协和医科大学出版社,2008: 546.
- [2] Weidner N. Tumour vascularity and proliferation: clear evidence of a close relationship[J]. J Pathol, 1999, 189(3): 297-299.
- [3] Cenik A, Nabavi DG, Craen RA, et al. Dynamic CT measurement of cerebral blood flow: a validation study[J]. AJNR, 1999, 20(1): 63-73.
- [4] Jackson A, Kassner A, Annesley-Williams D, et al. Abnormalities in the recirculation phase of contrast agent bolus passage in cerebral gliomas: comparison with relative blood volume and tumor-grade[J]. Am J Neuroradiol, 2002, 23(1): 7-14.
- [5] 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.
- [6] 王承伟, 胡曙东, 程茵. 64 层螺旋 CT 灌注成像在食管癌放疗中的应用[J]. 江苏大学学报(医学版), 2008, 18(5): 635-637.
- [7] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications[J]. N Engl J Med, 1971, 285(21): 1182-1186.
- [8] 汪洋, 李小秋, 何少琴, 等. 血管内皮生长因子和微血管密度在食管癌中的临床意义[J]. 中国肿瘤临床, 2004, 31(15): 848-853.
- [9] Hironaka S, Hasebe T, Kamijo T, et al. Biopsy specimen microvessel density is a useful prognostic marker in patients with T(2-4)M(0) esophageal cancer treated with chemoradiotherapy[J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(1): 124-130.
- [10] 赵建龙, 张晶. 食管癌中 VEGF、bFGF 的表达及其与 MVD 的关系[J]. 山东医药, 2007, 47(30): 4-5.
- [11] Igarashi M, Dhar DK, Kubota H, et al. The prognostic significance of microvessel density and thymidine phosphorylase expression in squamous cell carcinoma of the esophagus[J]. Cancer, 1998, 82(7): 1225-1232.
- [12] Dreves J, Muller-Driver R, Wittig C, et al. PTK787/ZK 222584, a specific vascular endothelial growth factor-receptor tyrosine kinase inhibitor, affects the anatomy of the tumor vascular bed and the functional vascular properties as detected by dynamic enhanced magnetic resonance imaging[J]. Cancer Res, 2002, 62(14): 4015-4022.
- [13] Fan G, Zang P, Jing F, et al. Usefulness of diffusion/perfusion-weighted MRI in rat gliomas: correlation with histopathology[J]. Acad Radiol, 2005, 12(5): 640-451.

(收稿日期: 2011-11-04 修回日期: 2012-07-16)