

• 胸部影像学 •

肺癌 CT 能谱成像:定量分析及与 TTF-1 和 EGFR 表达水平的相关性

周航,武峰

【摘要】 目的:探讨能谱 CT 成像相关参数在反映肺癌生物学特征中的作用。**方法:**搜集我院 60 例经病理证实的肺鳞癌和腺癌患者的病例资料,所有患者采用能谱模式行 CT 平扫和增强扫描,获得病灶的定量参数值,包括标准化碘浓度(NIC)、能谱曲线斜率(K)和钙含量。采用免疫组化法测量 EGFR 和 TTF-1 在癌细胞中的表达水平。**结果:**27 例肺腺癌中 EGFR 表达阳性 20 例、阴性 7 例,阳性组和阴性组中 NIC 分别为 0.27 ± 0.16 和 0.15 ± 0.10 ,K 分别为 2.04 ± 0.17 和 1.79 ± 0.25 ,两组间的差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。33 例肺鳞癌中 EGFR 表达阳性 19 例、阴性 14 例,阳性组和阴性组中 NICs 分别为 0.30 ± 0.18 和 0.16 ± 0.04 ,K 分别为 2.75 ± 1.10 和 2.06 ± 0.38 ,病灶内钙含量分别为 6.57 ± 0.67 和 4.73 ± 1.56 ,两组间的差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**能谱 CT 成像参数中标准化碘含量和曲线斜率(K)可反映肺癌病灶的血供情况及微血管密度,肺鳞癌中钙含量是反映肺鳞癌生长状态的参考指标。

【关键词】 肺癌; 体层摄影术, X 线计算机; 能谱成像; 免疫组织化学检查

【中图分类号】 R814.42; R735.41 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2017)08-0839-04

DOI:10.13609/j.cnki.1000-0313.2017.08.012

Study on lung cancer characteristics using energy spectrum CT imaging: quantitative parameters measurement and its correlation with the expression level of TTF-1 and EGFR ZHOU Hang, WU Feng. Department of Radiology, Xiangyang Central Hospital, the Affiliated Hospital of Hubei Liberal arts and Science College, Hubei 441000, China

【Abstract】 Objective: To explore the performance of quantitative parameters obtained in CT spectral imaging on reflecting the biological characteristics of lung cancer. **Methods:** 60 patients with pathologically confirmed squamous cell carcinomas (SCs) or adenocarcinomas (ACs) of lung underwent plain and enhanced CT scan using spectral imaging mode, and quantitative parameters of the cancer including normalized iodine concentration (NIC), slope of spectral curve (K) and calcium content (CC) were measured. And expression level of TTF-1 and EGFR in cancer cells were detected using immunohistochemical experiments. **Results:** Among the 27 cases with ACs, there were 20 cases in the EGFR positive group and 7 cases in the EGFR negative group, and the NIC and K of the two groups were 0.27 ± 0.16 vs 0.15 ± 0.10 and 2.04 ± 0.17 vs 1.79 ± 0.25 , respectively; statistically significant difference was observed between the two groups ($P < 0.05$). Among the 33 patients with SCs, there were 19 cases in the EGFR positive group and 14 cases in the negative group, and the NIC, K and CC in the two groups were 0.30 ± 0.18 vs 0.16 ± 0.04 , 2.75 ± 1.10 vs 2.06 ± 0.38 , and 6.57 ± 0.67 vs 4.73 ± 1.56 , respectively; statistically significant differences were observed between the two groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** In the CT spectral imaging of lung cancer, NICs and slope of the spectral curve can reflect the microvessel density and blood supply of lung cancer, and the calcium content is a index to reflect the growth status of lung squamous cell carcinoma.

【Key words】 Lung cancer; Adenocarcinoma; Squamous cell carcinoma; Tomography, X-ray computed; Spectral imaging; Immunohistochemistry examination

目前,肺癌的发病率和死亡率在世界范围内居癌症之首^[1-3]。肺癌基因决定了肿瘤的异质性和复杂性,且在肺癌的发生发展中起到至关重要的作用,可调控肺癌的发生、发展及预后,与疾病的诊断及治疗亦有一定关联^[4-5]。免疫组织化学染色技术通过抗原与抗体特异性反应,对组织中存在的某一种特定抗原进行显色,可进一步明确肿瘤的诊断和鉴别诊断,还可对肿瘤

进行组织学分类和病理分型,对临床治疗方案的选择和手术范围的确定有重要作用^[6]。免疫组化检测在肺癌的诊断中准确性很高^[7],其作用已得到广泛认可。宝石能谱 CT 能获得病灶的能谱分析图及能谱衰减曲线,可进行多参数定量分析,能在一定程度上反映病变的组织学特性^[8-9]。本研究选择术前行能谱 CT 平扫及增强扫描的肺鳞癌和腺癌患者,将能谱成像分析所获得的多项参数与术后标本免疫组化检测(immunohistochemistry, IHC)标记物(TTF-1 和 EGFR)的表达情况进行相关性分析,评估能谱 CT 参数在反映肺癌的生物学特征和组织学特性中的作用,旨在为肺癌

作者单位: 441000 湖北,湖北省襄阳市中心医院放射科(湖北文理学院附属医院)
作者简介:周航(1989—),男,黑龙江佳木斯人,硕士,住院医师,主要从事胸部 CT 诊断工作。
通讯作者:武峰, E-mail: wf740214@qq.com

患者的术前诊断以及预后评估提供更多信息。

材料与方法

1. 临床资料

将在本院行能谱 CT 增强检查并经手术病理证实的 60 例肺癌患者纳入本研究,其中腺癌 27 例、鳞癌 33 例。纳入标准:①单发直径在 2 cm 或以上的肺部肿瘤病灶;②感兴趣区选取无脂肪性改变,无影响测量的空洞、钙化及肺不张;③患者能配合屏气,图像质量较好;④且无碘对比剂过敏史及其它 CT 检查禁忌症;⑤在能谱 CT 扫描前无抗肿瘤治疗;⑥所有患者均行手术切除并得到病理证实。全部患者增强扫描检查前均告知患者本人或者家属能谱 CT 检查、使用对比剂和高压注射器的可能风险及注意事项,并签署知情同意书。

2. 检查方法

使用 GE 宝石能谱 CT 扫描仪,采用能谱成像方式行 CT 平扫及增强扫描。扫描参数:80/140 kVp,管电流自动调节技术,准直宽度 40 mm,0.6 s/r,层厚和间隔均为 5.0 mm,螺距 0.984,辐射剂量 21.5 mGy。增强扫描使用对比剂碘海醇(300 mg I/mL),注射流率 3 mL/s,按照个体化体质指数设定剂量。扫描完成后重建成层厚为 1.25 mm 的 Mono 图像传至 AW 4.4 工作站。软件自动生成 40~140 keV 的各单能量图像和碘、水基物质图像。由 2 位具有十年以上经验的胸部影像诊断医师,于病灶显示较好的层面选取 ROI,ROI 面积为 25~27 mm²。平扫及增强扫描 ROI 的设置尽量选取相同层面、相同部位且病灶内密度均匀的区域,中央型肺癌的 ROI 尽量选在肺门周围,避开血管、钙化及肺不张。测量病变的能谱特征参数值:①测量平扫图像上病灶的钙含量;②在增强扫描的碘基图上测量病变和同层面动脉的碘含量(iodine concentration, IC),以两者的比值作为病灶的标准化碘含量(normalized iodine concentration, NIC);③测量 40~140 keV 各单能量图像(间距为 10 keV)上病灶的 CT 值,计算能谱曲线的斜率(K)。

3. 免疫组化与基因表达

所有标本均用 10%甲醛溶液固定(>8 h),石蜡包埋,4 μm 连续切片,组织切片脱蜡至水,高压抗原热修复,严格依照说明书进行 PV-9000 二步法免疫组化检测,所用单克隆抗体 EGFR、TTF-1 以及试剂盒均为北京中杉金桥公司产品。EGFR、TTF-1 评分标准:每张切片在高倍镜下随机选取 10 个视野共记录 1000 个细胞,使用半定量法计算 EGFR 细胞膜和细胞浆染色数目的百分比(棕色为阳性,图 1a~b):>10%为阳性,反之为阴性;计算 TTF-1 细胞核染色数目的百分

比(棕色为阳性,图 1c~d):>10%为阳性,反之为阴性。

4. 统计分析

所有数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析。采用 *t* 检验对肺鳞癌和腺癌组内 EGFR 和 TTF-1 表达阳性组与阴性组间钙含量、NIC 及 K 值进行比较,若方差不齐则取校正结果。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

27 例肺腺癌中 TTF-1 表达阳性 18 例、TTF-1 阴性 9 例;EGFR 表达阳性 20 例、阴性 7 例。33 例肺鳞癌中 TTF-1 表达阳性 6 例、TTF-1 阴性 27 例;EGFR 表达阳性 19 例、阴性 14 例。

肺腺癌患者中 TTF-1 阳性组和阴性组能谱参数测量值及统计分析结果见表 1。两组间 NIC、斜率 K 及钙含量的差异均无统计学意义(*P*>0.05)。

表 1 肺腺癌 TTF-1 阳性组和阴性组能谱参数值及比较

参数	TTF-1 阳性	TTF-1 阴性	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
NIC	0.24±0.17	0.19±0.07	0.99	>0.05
斜率 K	1.51±0.09	1.47±0.07	-2.99	>0.05
钙含量	3.82±1.08	3.90±3.59	-0.92	>0.05

肺鳞癌患者中 TTF-1 阳性组和阴性组能谱参数测量值及统计分析结果见表 2。两组间 NIC、斜率 K 及钙含量的差异均无统计学意义(*P*>0.05)。

表 2 肺鳞癌 TTF-1 阳性组和阴性组能谱参数值及比较

参数	TTF-1 阳性	TTF-1 阴性	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
NICs	0.26±0.06	0.28±0.19	-0.57	>0.05
斜率 K	2.39±0.21	2.14±0.67	0.90	>0.05
钙含量	3.48±0.48	3.42±0.56	-0.93	>0.05

肺腺癌患者中 EGFR 阳性组和阴性组能谱参数测量值及统计分析结果见表 3。两组间 NIC、斜率 K (图 2、3)的差异有统计学意义(*P*<0.05),而钙含量的差异无统计学意义(*P*>0.05)。

表 3 肺腺癌 EGFR 阳性和阴性组能谱参数值及比较

参数	EGFR 阳性	EGFR 阴性	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
NICs	0.27±0.16	0.15±0.10	3.31	<0.05
斜率 K	2.04±0.17	1.73±0.29	2.65	<0.05
钙含量	3.90±1.34	4.08±3.05	-0.89	>0.05

肺鳞癌患者中 EGFR 阳性组和阴性组能谱参数测量值及统计分析结果见表 3。两组间 NIC、斜率 K (图 4、5)和钙含量(图 6、7)的差异均有统计学意义(*P*<0.05)。

表 4 肺鳞癌 EGFR 阳性、阴性组 NICs、斜率 K 及钙含量比较

参数	EGFR 阳性	EGFR 阴性	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
NIC	0.30±0.28	0.16±0.29	14.27	<0.05
斜率 K	2.75±0.42	2.06±0.29	5.25	<0.05
钙含量	6.57±0.55	4.73±0.30	12.27	<0.05

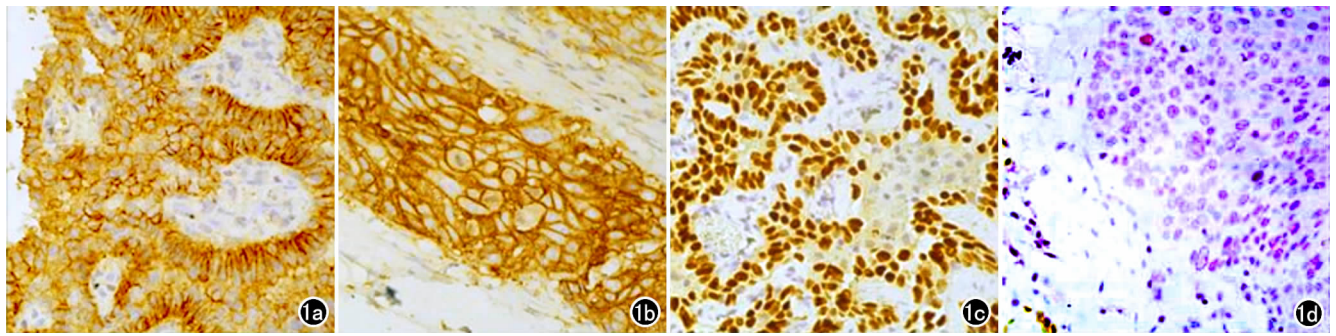


图 1 免疫组化染色病理图(PV-9000, $\times 200$)。a) 肺腺癌细胞内 EGFR 阳性表达(棕色染色); b) 肺鳞癌 EGFR 阳性表达(棕色染色); c) 肺腺癌 TTF-1 阳性表达(棕色染色); d) 肺鳞癌 TTF-1 阴性表达(无棕色染色)。

讨 论

免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)的深入研究已证明肿瘤组织内微血管密度、癌细胞增殖情况、多种细胞因子及受体均与肺癌的临床及病理有密切关系^[6]。但由于不同患者间个体差异较大,部分患者无法进行穿刺活检或者术前支气管镜病理取材量较少,导致免疫组化检测时信息量不足,不能够准确反映肿瘤的全貌,这些因素都限制了其术前诊断和应用。EGFR 是一种受体性酪氨酸激酶,其高表达可导致组织癌变,促进肿瘤细胞生长、侵袭、新生血管形成及远处转移^[10]。由于 EGFR 受体信号通路的激活,肿瘤血管内皮细胞的周转率显著高于正常器官的血管,

正常的人体器官每天的血管内皮细胞的增殖率 $< 0.01\%$,而肿瘤血管内皮细胞达 $2\% \sim 9\%$ ^[11]。TTF-1 是一种存在于肺内的特异基因表达的蛋白,可调控肺癌的发生、发展及预后,与疾病的诊断、治疗及预后亦有一定的关联。有研究发现 TTF-1 主要出现在 II 型肺泡上皮中,而 I 型肺泡上皮始终不表达^[12-13]。

能谱 CT 临床研究的广泛开展显示出其在多种肿瘤疾病的诊断中具有极大潜力^[14]。本研究中通过肺鳞癌及腺癌能谱 CT 增强检查获得 NIC、斜率 K,并与其肺癌基因(EGFR、TTF-1)表达情况进行对照分析,结果显示肺鳞癌和腺癌 TTF-1 表达阳性组的 NIC、斜率 K 均高于阴性组(表 2、3);EGFR 表达阳性的肺鳞癌及腺癌的 NIC、斜率 K 均高于阴性组(图 3、4),

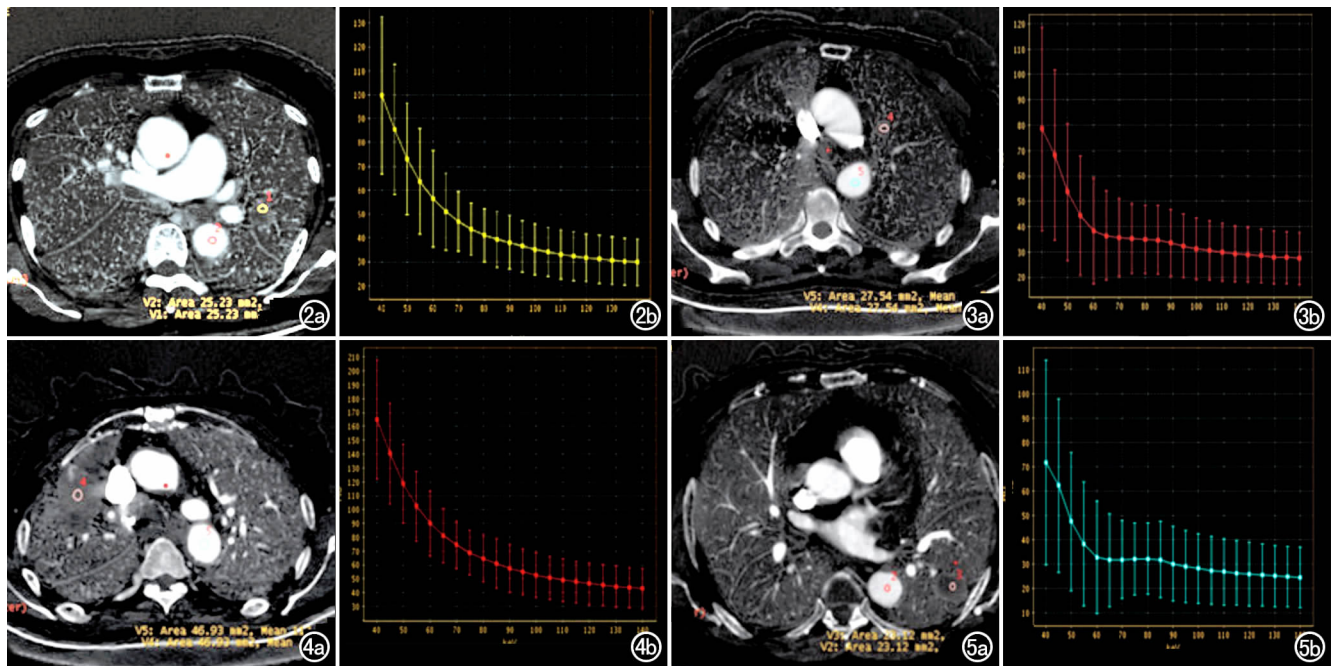


图 2 肺腺癌(EGFR 表达阳性)。a) CT 增强扫描图像,测量病灶和主动脉的碘浓度,计算病灶的 NIC=0.18; b) 能谱曲线的斜率 K=1.24。图 3 肺腺癌(EGFR 表达阴性)。a) CT 增强扫描图像,测量病灶和主动脉的碘浓度,计算病灶的 NIC=0.08; b) 能谱曲线的斜率 K=0.92。图 4 肺鳞癌(EGFR 表达阳性)。a) CT 增强扫描图像,测量病灶和主动脉的碘浓度,计算病灶的 NIC=0.14; b) 能谱曲线的斜率 K=2.14。图 5 肺鳞癌(EGFR 表达阴性)。a) CT 增强扫描图像,测量病灶和主动脉的碘浓度,计算病灶的 NIC=0.06; b) 能谱曲线的斜率 K=0.84。

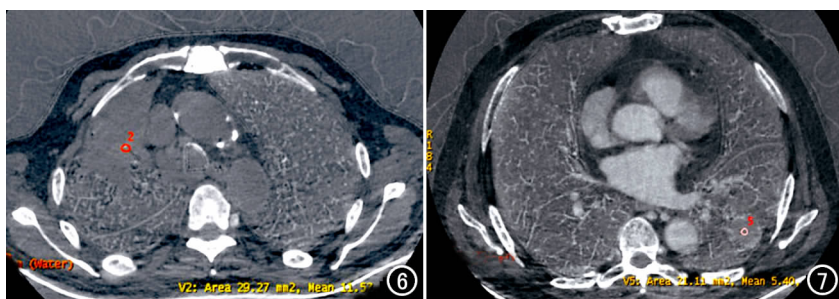


图 6 肺鳞癌(EGFR 表达阳性),钙基图上测量病灶的钙含量=11.57。

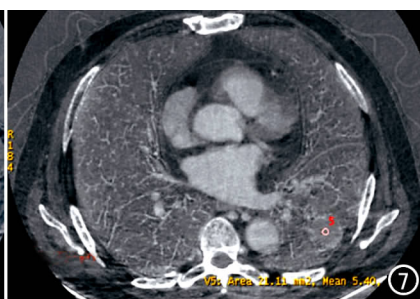


图 7 肺鳞癌(EGFR 表达阴性),钙基图上测量病灶的钙含量=5.40。

NIC、斜率 K 的数值越大,EGFR 表达越强,提示肺鳞癌及腺癌病灶内肿瘤细胞代谢旺盛、血供丰富,可能正处于细胞增殖期。NIC 和斜率 K 能在术前一定程度上反映肺鳞癌及腺癌 EGFR 表达情况,并通过能谱 CT 增强扫描技术,从宏观影像学方面来评估肺癌微血管密度、肿瘤血供及肿瘤增殖情况。肺鳞癌和腺癌中 TTF-1 表达阳性组与阴性组间 NIC、斜率 K 的差异均无统计学意义($P>0.05$),提示 TTF-1 基因的表达可能对于肺腺癌微血管的增殖作用较弱,亦或是本组中样本量较少所致。而肺鳞癌细胞中 TTF-1 的表达较少见,其免疫组化染色结果可能由于癌肿包含了少量肺终末气道细胞,所以在部分肺鳞癌肿块中也可以见到 TTF-1 阳性染色,但 TTF-1 基因表达与肺鳞癌血管密度及细胞增殖是否有相关性有待于进一步研究。

钙化是肺癌中相对较少见的病理改变。有相关研究发现鳞癌较其他病理类型肺癌更易钙化,这可能是由于鳞癌瘤体一般较大,压迫或阻塞周围血管,导致细胞缺血、缺氧而发生变性、坏死,局部酸碱度发生改变,诱发钙离子沉积^[15]。本研究结果显示,肺鳞癌 EGFR 表达阳性组中病灶的钙含量明显高于阴性组(表 4,图 6、7),考虑为 EGFR 的过度表达刺激肿瘤血管内皮细胞增殖,导致肿瘤生长过快、体积增大,继而影响肿瘤的血液供应而导致钙质沉积,而能谱 CT 增强扫描获得能谱参数评估的是肺癌微血管密度、肿瘤血流供应增加及肿瘤增殖情况,说明能谱参数钙含量也是反映肺鳞癌肿瘤组织生长一个有意义的参考指标。肺鳞癌中 TTF-1 表达阳性、阴性组中病灶内钙含量的差异无统计学意义($P>0.05$),考虑由于 TTF-1 在绝大部分腺癌中均可表达,所以与鳞癌的能谱参数无显著相关性。肺腺癌病灶内钙化更为少见,本研究结果显示肺腺癌中 EGFR 表达阳性和阴性组间病灶内钙含量的差异无统计学意义($P>0.05$)。

总之,通过肺癌能谱 CT 检查与免疫组化技术的相关研究发现,能谱 CT 成像参数与肺癌免疫组化标记物间具有一定相关性。结合形态学表现及能谱 CT 成像参数进行综合分析,能够在一定程度上反映肺癌的某些病理学特性,从新的角度为临床提供更加客观详细的影像学信息,有助于肺癌治疗方案的选择及预后判断。

参考文献:

- [1] de Angelis R, Sant M, Coleman MP, et al. Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EURO CARE: 5a population-based study[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(1): 23-34.
- [2] Gansler T, Ganz PA, Grant M, et al. Sixty years of CA[J]. *CA Cancer J Clin*, 2010, 60(6): 345-350.
- [3] Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(1): 9-29.
- [4] 吴明松, 樊萌萌, 马占山, 等. 肺癌消减杂交文库中共同基因的生物信息学分析及验证[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2015, 31(2): 199-206.
- [5] 姜春阳, 胡晓丽, 吴琦, 等. 肺癌发生发展的相关分子标志物研究进展[J]. *环境与健康杂志*, 2014, 31(7): 655-658.
- [6] 王志佳. 结肠癌能谱 CT 相关参数与多种免疫组化标记物相关性的初步研究[D/OL]. 吉林大学, 2014. <http://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10183-1014268467.htm>
- [7] 刘一臻. 肺癌分子标记物及其临床相关性研究[D]. 北京协和医学院, 2013. <http://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10023-1013311697.htm>
- [8] 林晓珠, 李卫侠, 朱延波, 等. 能谱 CT 在肿瘤诊断中的初步应用[J]. *诊断学理论与实践*, 2010, 9(2): 155-160.
- [9] 李剑颖. CT 能量成像技术进展和临床应用[J]. *CT 影像杂志*, 2010, 11(3): 10-13.
- [10] 赵俊, 胡向阳. EGFR 和 K-ras 在肺癌中的表达及其临床意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2012, 47(7): 824-827.
- [11] Eberhard A, Kahlert S, Goede V, et al. Heterogeneity of angiogenesis and blood vessel maturation in human tumors: implications for antiangiogenic tumor therapies[J]. *Am J Pathol*, 2001, 158(2): 563-570.
- [12] 田华, 梅霞, 黄文斌, 等. P63, CK5/6, TTF-1 和 napins A 联合检测在肺鳞癌和肺腺癌鉴别诊断中的价值[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2012, 32(2): 99-103.
- [13] 韩高华, 周晓军, 孟奎, 等. TTF-1 在肺腺癌中的表达及其诊断意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2002, 18(6): 595-597.
- [14] Karcaaltuncba M, Aktaş A. Dual-energy CT revisited with multidetector CT: review of principles and clinical applications[J]. *Diagn Interv Radiol*, 2011, 17(3): 181-194.
- [15] 王雪梅, 石华, 杨露露, 等. 能谱 CT 定量分析在鉴别诊断肺鳞癌与腺癌中的应用价值[J]. *宁夏医科大学学报*, 2013, 35(4): 415-418.

(收稿日期: 2016-09-07 修回日期: 2017-01-11)