

胃癌扩散加权成像 ADC 值与 EGFR、Ki-67 表达的相关性

郑欢欢, 刘松, 季长风, 陈玲, 何健, 管文贤, 周正扬

【摘要】 目的:初步探讨胃癌磁共振扩散加权成像(DWI)表观扩散系数(ADC)值与表皮生长因子受体(EGFR)、Ki-67 表达的相关性。**方法:**回顾性分析 68 例胃癌患者的临床及 MRI 资料,同时采用免疫组化法检测胃癌中 EGFR 及 Ki-67 的表达,分析 ADC 值(包括平均 ADC 值和最小 ADC 值)与 EGFR、Ki-67 表达的关系。**结果:**平均 ADC 值及最小 ADC 值在不同 EGFR 表达状态中差异均有统计学意义($P < 0.05$),其中 EGFR 表达中阴性组的平均 ADC 值和最小 ADC 值均高于 EGFR 阳性组 $[(1.106 \pm 0.196) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 和 $(0.918 \pm 0.164) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, $P < 0.001$; $(0.989 \pm 0.198) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 和 $(0.835 \pm 0.170) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, $P = 0.002$]。EGFR 表达与平均 ADC 值、最小 ADC 值间均存在显著相关性($r = -0.432$, $P < 0.001$; $r = -0.382$, $P = 0.001$),而 Ki-67 表达与 ADC 值间无明显相关性($P > 0.05$)。**结论:**胃癌 ADC 值与肿瘤细胞 EGFR 表达间存在相关性,ADC 值有望作为临床治疗胃癌时辅助评估 EGFR 表达的指标。

【关键词】 胃肿瘤; 磁共振成像; 扩散加权成像; 受体,表皮生长因子; Ki-67 抗原

【中图分类号】 R735.2; R445.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2017)09-0923-04

DOI:10.13609/j.cnki.1000-0313.2017.09.006

Correlation of ADC value of MR diffusion-weighted magnetic resonance imaging with EGFR and Ki-67 expression in gastric cancer ZHENG Huan-huan, LIU Song, JI Chang-feng, et al. Department of Radiology, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China

【Abstract】 Objective: To preliminarily investigate the correlation of apparent diffusion coefficient (ADC) value acquired from MR diffusion-weighted imaging (MR DWI) with molecular markers (EGFR and Ki-67) in patients with gastric cancer. **Methods:** The clinical and MRI materials of 68 patients with gastric cancer were analyzed retrospectively, EGFR and Ki-67 expression by immunohistochemistry were acquired simultaneously. Correlation between ADC values, including the mean and minimal ADC value, and EGFR, Ki-67 expression were analyzed, respectively. **Results:** There were significant differences in ADC values (mean and minimal) with different status of EGFR expression ($P < 0.05$). In EGFR-negative group, the mean and minimal ADC value were significantly higher than those of EGFR-positive group, respectively $[(1.106 \pm 0.196) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ vs $(0.918 \pm 0.164) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, $P < 0.001$; $(0.989 \pm 0.198) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ vs $(0.835 \pm 0.170) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, $P = 0.002$]. The mean and minimal ADC value correlated significantly with EGFR expression, respectively ($r = -0.432$, $P < 0.001$; $r = -0.382$, $P = 0.001$). However, there was no significant difference between Ki-67 expression and ADC value ($P > 0.05$). **Conclusion:** Correlation do exist between ADC values and EGFR expression; ADC value might be used as a noninvasive biological marker to evaluate the EGFR expression in clinical treatment of gastric cancer.

【Key words】 Stomach neoplasms; Magnetic resonance imaging; Diffusion weighted imaging; Apparent diffusion coefficient; Receptor, Epidermal growth factor; Ki-67 antigen

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤之一^[1],虽然胃镜活检可以确诊胃癌,但它是一种侵入性检查且依赖操作者经验。磁共振扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)在对治疗前胃癌的准确分期中具有重要辅助作用,并且可以通过其表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)值评估胃癌病理分级及淋巴结性质^[2-5]。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)及 Ki-67 的表达对胃癌肿瘤细胞增殖、转移侵袭及预后评估有重要意义^[6,7]。本文

旨在探讨胃癌 DWI 的 ADC 值与 EGFR、Ki-67 表达的关系。

材料与方法

1. 病例资料

回顾性搜集 2011 年 12 月—2016 年 10 月间在南京鼓楼医院行 MRI 检查的 68 例胃癌患者。病例纳入标准:①术后病理证实为胃癌;②术前行 DWI 检查;③病例资料完整,包括患者性别、年龄、肿瘤分期、磁共振图像及相关免疫组化信息。病例排除标准:①手术前行放化疗等治疗;②术后病理类型为黏液腺癌;③磁共振图像有伪影或病灶小于 5 mm。68 例患者中男 45 例,女 23 例,年龄 28~79 岁(中位年龄 61 岁);腺癌

作者单位: 210008 南京,南京大学医学院附属鼓楼医院医学影像科(郑欢欢、刘松、何健、周正扬),病理科(陈玲),普通外科(管文贤); 210008 南京,南京医科大学鼓楼临床医学院(季长风)

作者简介: 郑欢欢(1992—),女,安徽蚌埠人,硕士研究生,主要从事腹部影像诊断工作。

通讯作者: 周正扬, E-mail: zyzhou@nju.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81371516)

58 例(低分化腺癌 29 例,中分化腺癌 27 例,高分化腺癌 2 例),印戒细胞癌 10 例。按照 AJCC 第七版 TNM 分期进行肿瘤分期诊断,其中 I 期 3 例,II 期 17 例,III 期 44 例,IV 期 4 例。

2. 检查方法

MRI 检查采用 3.0T 磁共振扫描仪(Philips 3.0T MR; Philips Medical Systems, Best, the Netherlands),32 通道腹部线圈,所有患者均行 T₂WI 及 DWI 检查,检查前患者空腹 8 h,在排除禁忌症(严重心脏病、前列腺肥大等)后,于检查前 10 min 给患者肌肉注射 20 mg 丁溴东莨菪碱(1 mL:20 mg,成都第一药业有限公司)以减少胃肠蠕动,随后饮用温水 800~1000 mL 以充盈胃腔。患者取仰卧位,头先进,扫描范围从膈顶至肾门水平。扫描参数:T₂WI 采用轴面快速自旋回波(turbo spin echo, TSE)序列,TR 1210~1220 ms,TE 70 ms,视野 36 cm×36 cm,矩阵 256×198,层厚 4 mm,层间距 1 mm;DWI 横轴面扫描采用单次激发自旋回波平面成像(SS-SE-EPI),TR 2280~3600 ms,TE 40~50 ms,视野 38 cm×38 cm,矩阵 236×186,层厚 4 mm,层间距 1 mm,同时采用化学位移脂肪抑制和呼吸触发门控技术采集原始图像,b 值分别为 0 和 1000 s/mm²。

3. 图像分析

将采集的 DWI 原始图像传输到后处理工作站,感兴趣区(region of interest, ROI)选定原则:由于胃是空腔脏器,胃癌多沿胃壁浸润纵行生长,故选取边缘勾画法,将不规则形 ROI 尽量放置在病灶最大层面,避开血管、坏死及囊变区,分别由两位放射科医生独立测量每例病灶图像的 ADC 值(包括平均 ADC 值和最小 ADC 值),两位医生仅知道病灶位置,不知道胃镜及手术病理结果等其他情况。以上测量值均取两者的平均值以减少误差。

4. 术后病理、免疫组化分析

采集所有入组患者的术后标本,经 10%的中性福尔马林固定,常规石蜡包埋,将蜡块行 4 μm 厚连续切片,每例切片至少计数 10 个 400 倍视野,应用免疫组化 SP 法检测。免疫组化染色结果判定标准:Ki-67 阳

性着色为细胞核呈棕黄色,Ki-67 值为阳性细胞所占比例,以 10%为界(1000 个细胞中阳性细胞数所占比例),阳性细胞所占比例≥10%为阳性(+),<10%为阴性(-)。另外,Ki-67 标记指数(Ki-67 labeled index, Ki-67 LI)的计算根据 Ki-67 阳性中肿瘤表达百分数(即随机选取 10 个高倍视野,计算 1000 个肿瘤细胞中阳性细胞比例),<50%的肿瘤细胞着色为低表达组,≥50%的肿瘤细胞着色为高表达组。EGFR 以细胞膜或胞质呈棕黄色颗粒为阳性,根据肿瘤阳性细胞数所占比例及染色强度进行分级:无着色或<10%的细胞出现膜反应(0);>10%的细胞出现微弱膜反应(1+);>10%的细胞出现弱至中度基底外侧或侧膜反应(2+);>10%的细胞出现强基底外侧或侧膜反应(3+)。

5. 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。对连续资料进行正态性检验,如符合正态分布,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用独立样本 *t* 检验比较不同 EGFR 表达状态及高、低 Ki-67 组间 ADC 值(包括平均 ADC 值和最小 ADC 值)的差异。应用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线计算其敏感度和特异度,通过约登指数法确定界值。采用 Spearman 法分析 ADC 值与 EGFR 间的相关性,采用 Pearson 相关分析研究 ADC 值与 Ki-67LI 间的相关性,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 胃癌免疫组化结果

68 例胃癌患者中,EGFR 及 Ki-67 表达阳性率分别为 38.2%、98.5%。67 例 Ki-67 阳性表达者中,低 Ki-67LI 组 23 例,高 Ki-67LI 组 44 例。病灶在 DWI 图像上表现为高信号影,在 ADC 图上表现为低信号影,病理切片可见 EGFR 及 Ki-67 阳性表达(图 1)。平均 ADC 值及最小 ADC 值在 EGFR 不同表达中差异均有统计学意义(*P*<0.001; *P*=0.002),而高、低 Ki-67 组间 ADC 值差异无统计学差异(*P*>0.05,表 1)。ROC 曲线分析结果显示,EGFR 表达的平均

表 1 不同胃癌 EGFR 及 Ki-67 表达组间的 ADC 值间比较 (×10⁻³mm²/s)

参数	例数	平均 ADC 值			最小 ADC 值		
		均值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	均值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
EGFR							
阳性	26	0.918±0.164	4.087	<0.001*	0.835±0.170	3.288	0.002*
阴性	42	1.106±0.196			0.989±0.198		
Ki-67 LI							
高组	44	1.039±0.230	-0.325	0.746	0.927±0.219	0.052	0.959
低组	23	1.021±0.155			0.930±0.169		

注:* 平均 ADC 值及最小 ADC 值在 EGFR 不同表达中差异有统计学意义,*P*<0.05。

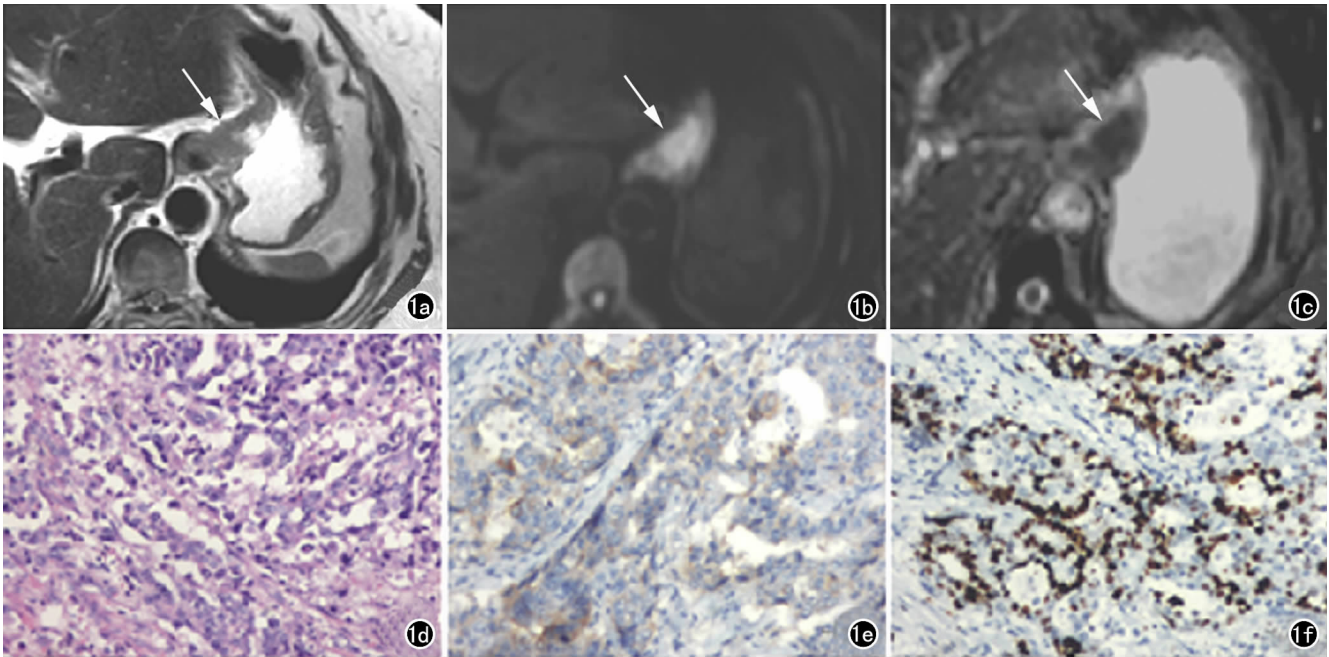


图1 贲门-胃体近小弯侧溃疡型低分化腺癌。a) T₂WI 图示贲门-胃体近小弯侧胃壁局限性增厚,呈等、低信号影(箭); b) DWI 图示病灶呈明显高信号(箭); c) ADC 图示病灶呈明显低信号(箭); d) 病理图示低分化腺癌(20×10, HE); e) EGFR (3+)在胃癌组织中阳性表达; f) Ki-67 (+, 60%)在胃癌组织中阳性表达。

ADC 值和最小 ADC 值的诊断界值分别为 $1.020 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 和 $0.895 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, 曲线下面积分别为 0.753 和 0.717, 敏感度、特异度分别为 66.7%、76.9% 和 64.3%、73.1% (图 2)。

2. ADC 值与 EGFR、Ki-67 的相关性分析

相关性分析结果显示, 平均 ADC 值、最小 ADC 值与 EGFR 的表达程度均有显著相关性 ($r = -0.432, P < 0.001$; $r = -0.382, P = 0.001$); 而 Ki-67 的表达与 ADC 值无明显相关 ($P > 0.05$, 表 2)。

表2 ADC 值与 EGFR、Ki-67LI 的相关性分析

参数	平均 ADC 值		最小 ADC 值	
	r 值	P 值	r 值	P 值
EGFR	-0.432	<0.001*	-0.382	0.001*
Ki-67 LI	-0.004	0.971	-0.020	0.873

注: * EGFR 表达程度与平均 ADC 值、最小 ADC 值呈显著相关性。

讨 论

DWI 是反映水分子扩散运动的一种成像方法, ADC 值作为 DWI 的定量指标, 不仅可反映组织中水分子扩散的快慢, 而且具有可重复性测量、评估的优势^[8]。肿瘤免疫组化表达在肿瘤发生发展中具有重要作用。DWI 是一种无创性检查, 且受检者可以自由呼吸, 这为 DWI 作为常规检查评估肿瘤相关免疫组化状态提供了基础, 目前在临床工作中已经得到一些应用^[9,10]。

EGFR 与 HER2 同为酪氨酸激酶受体家族成员,

可调控细胞生长、分化、凋亡和血管生成, 在不同癌组织高表达时, 可促进肿瘤细胞增殖、侵袭和转移, 如乳腺癌、肾癌、直肠癌等^[11]。EGFR 高表达是胃癌患者预后不良的独立因素之一^[7]。之前已有研究表明胃癌肿瘤 ADC 值与 HER2 表达间存在相关性^[10], 但与 EGFR 表达间的关系尚未见报道。本组资料显示, 平均 ADC 值和最小 ADC 值在鉴别 EGFR 的表达状态上, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中 EGFR 表达状态中阴性组的平均 ADC 值和最小 ADC 值均高于 EGFR 阳性组, 原因可能为随着肿瘤的进展, EGFR 高

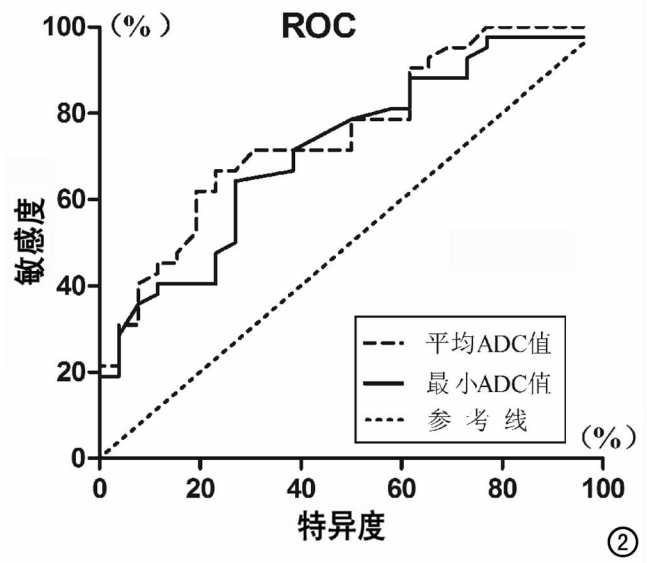


图2 以“EGFR 表达”为参数指标的 ROC 曲线图。

表达促进肿瘤细胞增殖,细胞密度增大,细胞间隙变窄,水分子自由扩散的空间减小,从而导致水分子扩散受限,ADC 值减低。根据 ROC 曲线结果显示,平均 ADC 值和最小 ADC 值在鉴别 EGFR 阳性表达时的诊断界值分别为 $1.020 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 和 $0.895 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$,敏感度、特异度分别为 66.7%、76.9% 和 64.3%、73.1%。表皮生长因子受体的激活在肿瘤细胞的抗化疗和放射治疗中发挥了重要作用,已有研究初步表明在肿瘤靶向治疗中表皮生长因子受体抑制剂可以抑制肿瘤的生长^[12]。另外本研究的相关性分析表明,EGFR 表达与平均 ADC 值、最小 ADC 值均存在显著弱相关($r = -0.432, P < 0.001; r = -0.382, P = 0.001$),因此平均 ADC 值及最小 ADC 值也许可以作为临床治疗胃癌患者时监测 EGFR 动态表达的指标。

本研究结果显示 Ki-67 的表达与 ADC 值无明显相关性($P > 0.05$),与之前的一些研究结果不一致^[13],这可能与 Ki-67 阳性表达中高低比例不同有关,本研究 Ki-67 阳性表达比例中,34.3% 为低表达组,65.7% 为高表达组,与之前的研究报道不同(46.2% 为低表达,53.8% 为高表达)。另外,本研究中 Ki-67 低表达组和 Ki-67 高表达组的 ADC 值相近(平均 ADC 值分别为 $1.021 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 和 $1.039 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$;最小 ADC 值分别为 $0.930 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 和 $0.927 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$),而其他研究结果较此 ADC 值略低^[13],分析原因可能是之前研究的腺癌病例中 67.3% 为低分化腺癌,而本组资料的低分化腺癌占腺癌的 50%。有文献报道称胃癌分化程度与肿瘤 ADC 值呈显著正相关^[2,13],肿瘤分化程度越低,肿瘤细胞生长越密集,细胞多形性增加,细胞间隙更易变窄,水分子扩散更易受限,则 ADC 值越低,从而导致研究结果不一致。Ki-67 的表达与 ADC 值的关系尚不明确,还有待今后扩大样本量进一步研究证实。

本研究存在以下不足:①样本量少且本研究属于回顾性分析,所搜集的样本类型不均,大多数病例为腺癌,印戒细胞癌病例较少;②ROI 选取的位置与术后病理观测的位置没有逐一对应;③本研究中 ROI 仅选取病灶单一层面,而未采用近期出现的全容积画法,在今后的研究中会考虑对比两种 ROI 画法以寻求一种更为准确的测量方法,尽量减小误差。

综上所述,胃癌 ADC 值与肿瘤细胞 EGFR 表达存在相关性,ADC 值有望作为临床治疗胃癌时辅助评估 EGFR 表达的指标。

参考文献:

- [1] Rahman R, Asombang AW, Ibdah JA. Characteristics of gastric cancer in Asia[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(16): 4483-4490.
- [2] Liu S, Guan W, Wang H, et al. Apparent diffusion coefficient value of gastric cancer by diffusion-weighted imaging: correlations with the histological differentiation and Lauren classification[J]. Eur J Radiol, 2014, 83(12): 2122-2128.
- [3] 陆志华, 姚鸿欢, 周晓伟, 等. 胃癌的 ADC 值与组织病理学因素的相关性研究[J]. 放射学实践, 2016, 31(3): 240-244.
- [4] Liu S, Wang H, Guan W, et al. Preoperative apparent diffusion coefficient value of gastric cancer by diffusion-weighted imaging: correlations with postoperative TNM staging[J]. J Magn Reson Imaging, 2015, 42(3): 837-843.
- [5] 赵妮妮, 全志永, 陈燕, 等. DWI 及 ADC 值在胃癌淋巴结性质判断及化疗疗效评估中的作用[J]. 放射学实践, 2015, 30(5): 566-570.
- [6] Li N, Deng W, Ma J, et al. Prognostic evaluation of Nanog Oct4, Sox2, PCNA, Ki67 and E-cadherin expression in gastric cancer[J]. Med Oncol, 2015, 32(1): 433.
- [7] Park JS, Kim HS, Bae YS, et al. Prognostic significance and frequency of EGFR expression and amplification in surgically resected advanced gastric cancer[J]. Jpn J Clin Oncol, 2016, 46(6): 507-516.
- [8] Koh DM, Blackledge M, Collins DJ, et al. Reproducibility and changes in the apparent diffusion coefficients of solid tumours treated with combretastatin A4 phosphate and bevacizumab in a two-centre phase I clinical trial[J]. Eur Radiol, 2009, 19(11): 2728-2738.
- [9] Meng X, Li H, Kong L, et al. MRI In rectal cancer: correlations between MRI features and molecular markers Ki-67, HIF-1alpha, and VEGF[J]. J Magn Reson Imaging, 2016, 44(3): 594-600.
- [10] He J, Shi H, Zhou Z, et al. Correlation between apparent diffusion coefficients and HER2 status in gastric cancers: pilot study[J]. BMC Cancer, 2015, 15(1): 749.
- [11] Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004, 59(2 Suppl): 21-26.
- [12] 吴楠蝶, 魏嘉, 刘宝瑞. 胃癌分子靶向治疗的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2014, 27(12): 1318-1322.
- [13] 陆志华, 姚鸿欢, 周晓伟, 等. 磁共振扩散加权成像的表观扩散系数与胃癌 Ki-67 表达及分化程度的关系[J]. 中华胃肠外科杂志, 2016, 19(2): 204-208.

(收稿日期: 2016-10-26 修回日期: 2017-02-20)