

• 乳腺影像学 •

3.0T DCE-MRI 定量参数联合外周血 micro RNA21 和金属硫蛋白-1E 对乳腺癌诊断价值

王琳琳, 刘源源

【摘要】 目的:研究 3.0T 动态增强磁共振成像(DCE-MRI)定量参数联合外周血 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 对乳腺良恶性病变的诊断价值。**方法:**选取 2017 年 2 月—2019 年 10 月收治 156 例乳腺病变患者均行 3.0T DCE-MRI 检测,检测患者外周血 microRNA21、金属硫蛋白-1E 水平。根据组织病理学以及影像学检测结果分为良性组、恶性组,比较两组患者 3.0T DCE-MRI 定量参数以及外周血 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 水平差异;用 Pearson 相关分析定量参数与外周血 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 水平相关性;绘制受试者工作特征曲线(ROC),评估 3.0T DCE-MRI、micro RNA21、金属硫蛋白-1E 单项或联合检测对乳腺良恶性病变鉴别诊断价值。**结果:**组织病理学结果示良性组患者 60 例,恶性组 96 例。恶性组患者 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 水平以及 Ktrans、Kep、Ve 均显著高于良性组患者($P < 0.05$)。Ktrans、Kep、Ve 分别与外周血 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 水平具有正相关性($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示 micro RNA21 诊断恶性病变截断值 3.535, AUC(95% CI) 0.872 (0.816~0.928), 金属硫蛋白-1E 诊断恶性病变截断值 1.955 ng/mL, AUC(95% CI) 0.838 (0.773~0.902)。联合检测 micro RNA21、金属硫蛋白-1E、3.0T DCE-MRI 联合诊断敏感度(92.5%)、阴性预测率(88.1%)以及准确率(90.4%)均明显高于单独检测。**结论:**乳腺癌患者外周血 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 高表达与 3.0T DCE-MRI 定量参数具有相关性,三者联合检查对于乳腺良恶性病变诊断有重要临床价值。

【关键词】 磁共振成像; 金属硫蛋白; 乳腺癌; 诊断

【中图分类号】 R44; R341.3; R445.2; R737.9 **【文献标识码】** A

【文章编号】 1000-0313(2020)10-1263-06

DOI: 10.13609/j.cnki.1000-0313.2020.10.010

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Diagnostic value of quantitative parameters of 3.0T DCE-MRI combined with peripheral blood micro RNA21 and metallothionein-1E in breast cancer WANG Lin-lin, LIU Yuan-yuan, Department of Radiology, People's Hospital Affiliated to Hubei Medical College, 442000, China

【Abstract】 Objective: To study the diagnostic value of quantitative parameters of 3.0T dynamic contrast-enhanced MRI (DCE-MRI) combined with peripheral blood micro RNA21 and metallothionein-1E in benign and malignant breast lesions. **Methods:** 156 cases of breast lesions admitted to our hospital from February 2017 to October 2019 were examined by 3.0T DCE-MRI. Micro RNA 21 and metallothionein-1E levels in peripheral blood were detected. According to the results of histopathology and imaging results, the patients were divided into the benign group and the malignant group. The quantitative parameters of 3.0T DCE-MRI, the levels of microRNA21 and metallothionein-1E in peripheral blood of the two groups were compared. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between quantitative parameters and the levels of microRNA21 and metallothionein-1E in peripheral blood, and the ROC curve was drawn to evaluate the value of single or combined detection of 3.0T DCE-MRI, microRNA21 and metallothionein-1E in the differential diagnosis of benign and malignant breast lesions. **Results:** Histopathological results showed that there were 60 cases in benign group and 96 cases in malignant group. The levels of microRNA21, metallothionein-1E, Ktrans, Kep and Ve in the malignant group were significantly higher than those in benign group ($P < 0.05$).

作者单位: 442000 湖北医药学院附属人民医院放射科

作者简介: 王琳琳(1983—), 女, 湖北十堰人, 主治医师, 主要从事医学影像诊断研究。

Ktrans, Kep and Ve were positively correlated with the levels of microRNA21 and metallothionein-1E in peripheral blood, respectively ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the cut-off value of microRNA21 in the diagnosis of malignant lesions was 3.535, AUC (95% CI) was 0.872 (0.816~0.928), the cutoff value of metallothionein-1E in the diagnosis of malignant lesions was 1.955 ng/mL, AUC (95% CI) was 0.838 (0.773~0.902). The sensitivity (92.5%), negative predictive rate (88.1%) and accuracy (90.4%) of combined diagnosis of micro RNA21, metallothionein-1E and 3.0T DCE-MRI were significantly higher than that of single detection. **Conclusion:** The expression of microRNA21 and metallothionein-1E in peripheral blood of patients with breast cancer is high, which is correlated with the quantitative parameters of 3.0T DCE-MRI. The combined examination has important clinical value in the diagnosis of benign and malignant breast lesions.

【Key words】 Magnetic resonance imaging; Metallothionein; Breast cancer; Diagnosis

乳腺癌是女性癌种中第 1 大癌症且近年来发病率逐年上升, 渐趋年轻化。主要治疗方式为改良根治术、保乳术等, 其中早期乳腺癌患者经治疗后生存率高达 90%^[1-2]。肿瘤新生血管与肿瘤的发生、发展密切相关, DCE-MRI 可通过动态监测对比剂在肿瘤微循环中分布从而定量评估肿瘤血管情况如肿瘤新生血管密度、血管通透性等。肿瘤微环境中血管丰富以及通透性高、血流迅速, 故而对对比剂在微循环中代谢、分布相关常数偏高^[3-4]。分子生物学快速发展, 对乳腺癌研究逐步转入基因、蛋白组学水平, 蛋白分子、miRNAs 与肿瘤增殖、迁移、侵袭密切相关, micro RNA21 通过调节抑癌基因、细胞分化及细胞凋亡(抑制程序性细胞死亡因子表达)等作用促进肿瘤生长^[5], 金属硫蛋白-1E 可能通过上调 Cyclin D1 使得细胞进入 S 期, 从而导致细胞增殖、凋亡失衡, 引起细胞恶化^[6]。肿瘤发生、发展中肿瘤血管新生以及肿瘤细胞恶性增殖是关键因素, 其中 DCE-MRI 检测可有效评估血流状态, 而血清金属硫蛋白-1E、micro RNA21 则可反映肿瘤恶性增殖、侵袭等生物学过程且已有研究发现 DCE-MRI、血清因子联合诊断良恶性肿瘤、转移等具有良好效能^[7], 故而推测联合检测可提高 DCE-MRI 诊断效能。本文探讨 3.0T DCE-MRI 定量参数联合外周血 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 对乳腺癌诊断价值。

材料与方法

1. 一般资料

回顾性研究 2017 年 2 月—2019 年 10 月收治 156 例乳腺病变患者(共 164 个病灶), 年龄 28~52 岁, 平均年龄(38.58 ± 4.98)岁。根据组织病理学检测结果显示良性肿瘤 60 例, 恶性肿瘤 96 例。本次研究已获得伦理委员会批准。

纳入标准: ①临床触诊、乳腺钼靶 X 线检查或者超声检查初诊为乳腺病变, 并同意 3.0T 动态增强磁共振成像检查; ②既往未接受放疗、化疗、靶向治疗; ③图

像清晰, 没有明显运动及呼吸伪影; ④检查 1 周内经组织病理学检查确诊。排除标准: ①严重伪影, 影响图像质量, 病理病灶与 MRI 检查病灶不对应; ②怀孕、哺乳期妇女; ③检查禁忌症如对比剂过敏者。本次研究纳入初始病例数 162 例, 剔除影像资料不清晰、病历资料不完整病例, 最终纳入 156 例。

2. 检查方法

影像学检查: 采用 3.0T DCE-MRI 磁共振扫描仪(德国西门子有限公司 Magnrtome Skyra)进行检查, 选取 8 通道双侧乳房相控线圈。指导患者取俯卧位, 保证双侧乳房自然悬垂于线圈内, 扫描范围为双侧乳腺组织和腋窝。扫描序列: 横轴面 T_2 WI, 设置扫描层厚 3 mm, 层间隔 1.5 mm, TR/TE 为 4060 ms/70 ms, FOV 340 mm×340 mm 以及采集矩阵 358×448。横轴面 DWI: 设置扫描层厚 2.5 mm, 层间隔 0.5 mm, TR/TE 为 5700 ms/66 ms, b 值分别为 0、800 s/mm²。 T_1 多翻转角 (T_1 -mapping): TR/TE 为 5.64 ms/2.46 ms, 翻转角分别为 5°、10°、12°、15°。 T_1 动态增强序列: 注射对比剂前扫描, 约扫描 40 s 时则按体重采用高压注射器于前臂静脉团注磁共振对比剂(钆双胺, 美国 GE 公司)0.1 mmol/kg, 流率 2.5 mL/s, 注射完成后追加 15 mL 生理盐水, 连续采集 5 期增强图像, 总扫描时相 70 次, 其中第 1 时相 17.3 s, 之后时相 4.58 s, 总扫描时间 5~6 min。

MRI 数据处理: 将动态增强图像导入 Omni-Kinetics 软件(GE 公司 V2.0.10 软件)并结合 DWI、 T_2 WI、灌注图像确定病变范围和具体位置。选取肿物实质成分强化最明显处为感兴趣区, 即为病灶中央, 选取 3~5 个 ROI, 面积 ≥ 2 mm², 尽量避开坏死、囊变以及出血区域, 每个病变区测量 3 次取均值。以病灶感兴趣区层面主动脉为输入动脉拟合获取动脉输入函数, 并借助 Extended Tofts 线性模型计算定量参数: 速率常数(Kep)为组织间对比剂重新回到血管内速率常数; 容量转移常数(Ktrans)为对比剂从血管内扩散

到血管外速率常数,血管外细胞外间隙容积比(V_e)则为 K_{trans} 、 K_{ep} 比值,是血管外细胞外间隙占整个体素容积比。

血清金属硫蛋白-1E 表达水平测定 所有患者入组后清晨空腹抽取外周肘静脉血 5 mL,3000 rpm 离心 10 min,取上层血清保存于一80℃待测。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清金属硫蛋白-1E 水平,取金属硫蛋白-1E 配制标准品溶液,在酶标仪(赛默飞世尔科技有限公司)上测得各溶液对应吸光度值(OD),以 OD 值为纵坐标,标准品浓度为横坐标绘制标准曲线,将测得的 OD 值代入标准曲线计算得各样品浓度,所有操作步骤均参照说明书进行,检测试剂盒购自中国台北亚诺法生技股份有限公司。

血清 micro RNA21 表达水平测定 采用 TRIzol 试剂盒(赛默飞世尔中国公司)提取血清总 RNA,然后使用反转录试剂盒(赛默飞世尔中国公司)将总 RNA 进行反转录,得到模板单链 cDNA,调整模板浓度至 400 ng/ μ L,使用 PCR 试剂盒对 cDNA 进行 PCR,反应条件为 95℃ 预变性 1 min,95℃ 变性 30 s,60℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 34 s,连续循环 40 次。以 U6 作为内参因子,根据 micro RNA21 与 U6 的 C_t 值计算相对表达量,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示相对表达量,其中 $\Delta\Delta C_t = (C_t \text{ 结肠癌目的基因} - C_t \text{ 结肠癌 U6}) - (C_t \text{ 对照目的基因} - C_t \text{ 对照 U6})$ 。

3. 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件(Version 1.1,2000 版,IBM SPSS Statistics)对数据进行统计分析,数据服从正态分布且组间方差齐,计量资料以均($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用最小显著性差异法检验。采用 ROC 曲线分析外周血 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 诊断价值,采用 Pearson 相关分析 3.0T DCE-MRI 定量参数与外周血 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 水平相关性, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. 两组患者基线资料比较

两组患者入组前基线资料(表 1)差异无统计学意义($P > 0.05$)。组织病理学结果显示良性组患者 60 例,恶性组 96 例。156 例患者共有 164 个病灶,其中良性组 62 个,恶性组 102 个。良性组病理类型包括纤维腺瘤 41 例,囊肿 10 例,浆细胞性乳腺炎 9 例。恶性组病理类型包括浸润性导管癌 67 例,粘液腺癌 7 例,导管原位癌伴

微浸润 22 例。

表 1 基线资料				
组别	良性组	恶性组	χ^2/t	P
n	60	96		
年龄(岁)	38.33±4.95	38.74±5.02	0.494	0.622
体质指数(kg/m ²)	22.16±1.28	22.38±1.33	1.020	0.310

2. 两组患者外周血 micro RNA21 和金属硫蛋白-1E 水平比较

恶性组患者 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 水平显著高于良性组($P < 0.05$,表 2)。

表 2 外周血 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 水平比较				
组别	良性组	恶性组	t	P
n	60	96		
micro RNA21	2.57±0.43	3.79±0.80	12.290	0.000
金属硫蛋白-1E(ng/mL)	1.67±0.29	2.25±0.47	9.600	0.000

3. 两组患者 3.0T DCE-MRI 定量参数比较

恶性组患者 K_{trans} 、 K_{ep} 、 V_e 均显著高于良性组患者($P < 0.05$,表 3)。良性患者、恶性患者典型病例 3.0T DCE-MRI 图(图 2、3)。

表 3 两组患者 3.0T DCE-MRI 定量参数比较				
组别	良性组	恶性组	t	P
n	60	96		
$K_{trans}(\text{min}^{-1})$	0.054±0.008	0.178±0.027	42.895	0.000
$K_{ep}(\text{min}^{-1})$	0.578±0.175	1.174±0.305	15.474	0.000
V_e	0.098±0.020	0.143±0.029	11.348	0.000

4. 3.0T DCE-MRI 定量参数与外周血 micro RNA21 和金属硫蛋白-1E 水平相关性

K_{trans} 、 K_{ep} 、 V_e 分别与外周血 micro RNA21、金属硫蛋白-1E 水平具有正相关性($P < 0.05$,表 4)。

5. 3.0T DCE-MRI 以及外周血 micro RNA21 和金属硫蛋白-1E 诊断价值

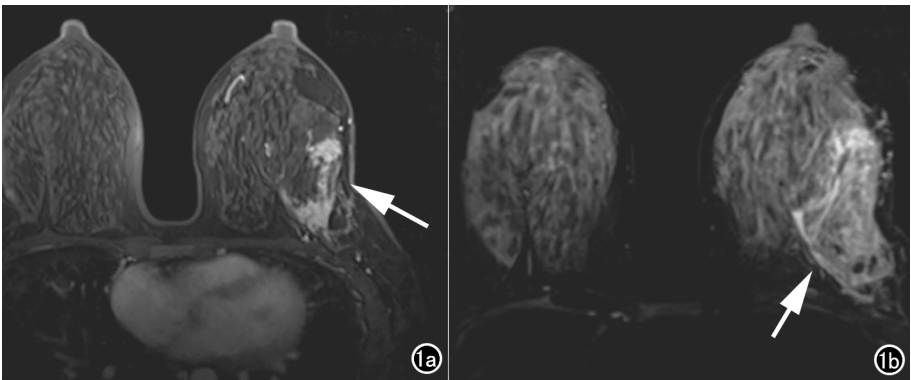


图 1 DCE-MRI 影像学检查。女,38 岁,乳腺浸润性导管癌Ⅲ级。a) 动态增强扫描见片状强化,边界模糊,形态不规则,左乳血管明显强化、增粗;b) 左乳外上象限腺体中后 1/3 处呈现异常信号,T₁WI 呈稍低信号。ADC 值 $0.840 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 。

表 4 外周血 micro RNA21 和金属硫蛋白-1E 水平相关性

因子	micro RNA21	金属硫蛋白-1E
Ktrans(min ⁻¹)	0.666,0.000	0.597,0.000
Kep (min ⁻¹)	0.490,0.000	0.497,0.000
Ve	0.463,0.000	0.376,0.000

以组织病理学检查判断为金标准,micro RNA21 诊断恶性病变的截断值为 3.535,AUC(95% CI)为 0.872(0.816~0.928),金属硫蛋白-1E 诊断恶性病变的截断值 1.955 ng/mL,AUC(95% CI)为 0.838(0.773~0.902)如图 4。MicroRNA21、金属硫蛋白-1E 以及 3.0T DCE-MRI 联合诊断敏感度(92.5%)、阴性预测率(88.1%)以及准确率(90.4%)均明显高于单独检测(表 5)。

讨 论

影像学方法在乳腺癌早期诊断以及预后评估中越来越重要,其中 MRI 诊断早期乳腺癌敏感度高达 90%。但乳腺 MR 诊断一般基于动态增强定性、半定量分析,其中定性分析诊断恶性病变时呈现出有一定

重叠 II 型曲线,而半定量分析在高时间分辨率下仅能完成肿瘤区局部灌注,或者完成双乳扫描时间分辨率较低,故而对于乳腺癌良性、恶性诊断效能有待改善^[8-9]。乳腺癌是血管依赖性肿瘤即其的发生、发展以及转归与血管新生关系密切,肿瘤新生血管具有数量多、流速快、微循环血容量大、结构紊乱、渗透性高等特点^[10-11]。

以上特点构成了肿瘤微循环在时空上不平衡,其中乳腺癌良性肿瘤血管形成相对成熟,其微血管密度略高于正常血管,渗透性明显低于恶性肿瘤。针对以上区别采用 T₁ 加权 DCE-MRI 分析异常肿瘤微循环系统可有效动态监测对比剂在肿瘤微循环中吸收、分布以及代谢消除等药动学过程,通过药动学参数评估定量评估肿瘤血管情况,从而诊断良性、恶性肿瘤。

本次研究结果显示恶性组患者 Ktrans、Kep、Ve 均显著高于良性组患者(P<0.05),与窦瑞雪报道一致^[12],乳腺癌患者 DCE-MRI 定量参数随着肿瘤恶性程度增加而增加。分析认为乳腺癌新生血管迅速增

表 5 不同检查方法诊断效能比较 [n(%)]

诊断方法	敏感度	特异度	最大约登指数	阳性预测率	阴性预测率	准确率
micro RNA21	71.9%(69/96)	98.3%(59/60)	1.702	98.6%(69/70)	68.6%(59/86)	82.1%(128/156)
金属硫蛋白-1E	76.0%(73/96)	90.0%(54/60)	1.660	92.4%(73/79)	70.1%(54/77)	81.4%(127/156)
3.0T DCE-MRI	81.3%(78/96)	83.3%(50/60)	1.646	88.64%(78/88)	73.53%(50/68)	82.1%(128/156)
三者联合	92.5%(89/96)	86.7%(52/60)	1.763	91.8%(89/97)	88.1(52/59)	90.4%(141/156)

注:三者联合即 micro RNA21、金属硫蛋白-1E、3.0T DCE-MRI 的联合诊断

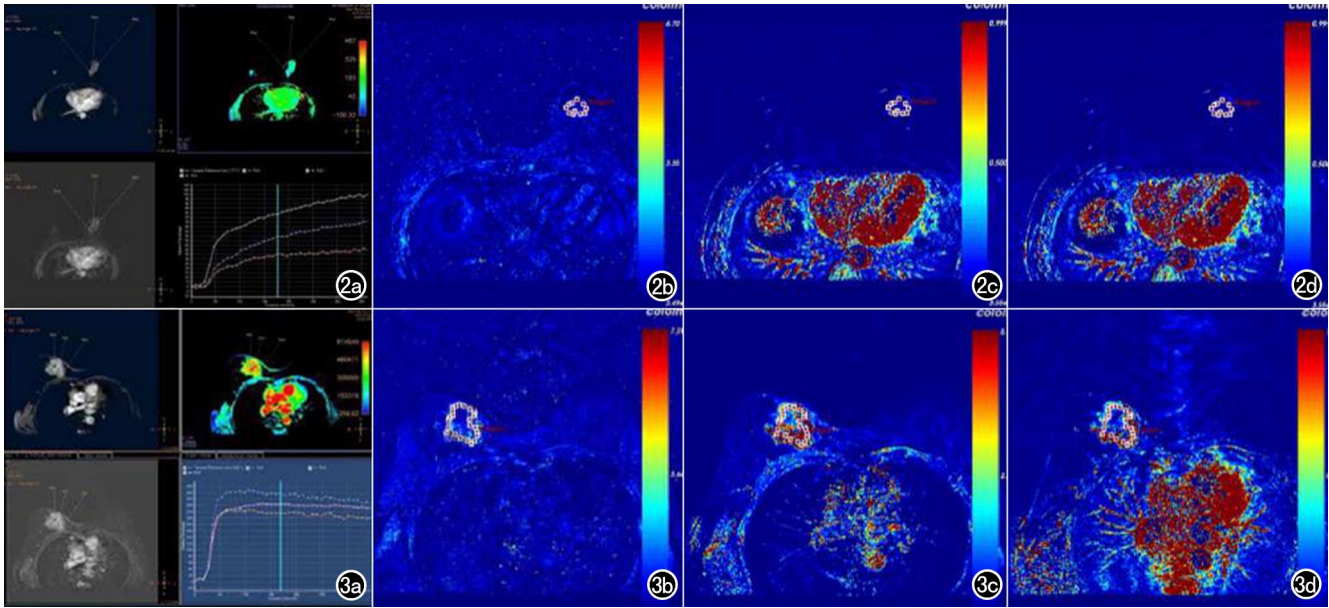


图 2 女,42 岁,左乳良性占位。a)横轴面 DCE-MRI 图,TIC 曲线,见左乳内上肿块影;b) Ktrans; c) Kep; d) Ve 伪彩图,红色最亮处为病灶强化最明显,Ktrans、Kep、Ve 值分别为 0.053/min、0.533/min、0.125。

图 3 女,40 岁,右乳浸润性导管癌。a) 横轴位面 DCE-MRI 图,TIC 曲线,见右乳内上强化肿块影,边缘见毛刺影;b) Ktrans ;c) Kep;d) Ve 伪彩图,红色最亮处为病灶强化最明显,Ktrans、Kep、Ve 值分别为 0.159/min、1.166/min、0.145。

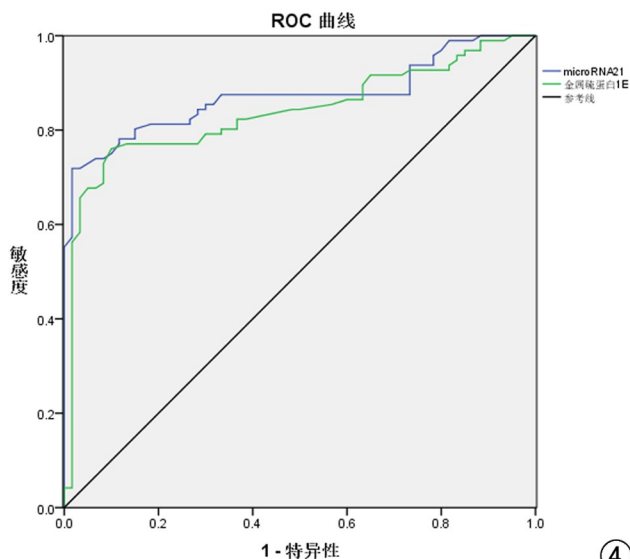


图 4 ROC 曲线分析

加,引起微循环系统结构紊乱和动静脉瘘的产生,从而造成血管内皮不完整,血管壁薄而脆,管径增粗,血管基底膜减少可升高血管通透性,注射对比剂后可迅速分布,由于恶性程度增加,肿瘤中微循环系统运转更加流畅,故而对对比剂分布更加迅速,容量转移、分布速率等相关常数明显增加^[13-14],其中良性病变胶原纤维增生可增加细胞外血管外间隙结构致密性,阻滞对比剂流通,故而表现为良性肿瘤患者定量常数明显小于恶性肿瘤。研究认为当恶性肿瘤患者 K_{trans} 、 K_{ep} 均明显增加时两者比值(V_e)并未明显增加,故而使得良性、恶性肿瘤患者 V_e 值重叠影响医师判断^[12]。本次研究发现 3.0T DCE-MRI 诊断乳腺良性、恶性病变的敏感度特异度约为 80%,作为单一诊断效能稍显不足,故而在实际临床诊断过程中需配合联合诊断以提高诊断效能。

肿瘤标记物因其特异性已逐步成为早期肿瘤筛查重要指标,例如越来越多研究发现微小 RNA(microRNA)参与肿瘤发生与发展且肿瘤基因突变累积, microRNA 可在血液系统、实体瘤中检测到其异常表达^[15],如 microRNA21 在肺癌、胃癌以及乳腺癌中高表达,通过作用于骨形态发生蛋白通路相关基因、P53 等基因促进肿瘤细胞增殖以及抑制细胞凋亡^[6]。金属硫蛋白-1E 也在乳腺癌中高表达,其外周血表达水平与肿瘤淋巴结转移、分化程度、临床分期等存在相关性。本次研究结果显示恶性组患者 microRNA21、金属硫蛋白-1E 水平显著高于良性组($P < 0.05$),表明随着肿瘤恶性程度的增加,其表达水平存在增加趋势。Pearson 相关性分析结果显示 K_{trans} 、 K_{ep} 、 V_e 分别与外周血 microRNA21、金属硫蛋白-1E

水平具有正相关性($P < 0.05$),故而外周血肿瘤标志物水平也可反应肿瘤血管活跃程度。microRNA21 并不是乳腺癌特异性标志物,因此用于乳腺良性、恶性病变判断仍需要结合临床治疗或者其他肿瘤标志物。本次研究以组织病理学检查判断为金标准,ROC 曲线分析结果显示外周血 microRNA21、金属硫蛋白-1E 诊断恶性病变的 AUC(95% CI)为 0.872(0.816 ~ 0.928)、0.838(0.773 ~ 0.902),均高于 0.8,表明具有较好诊断价值。同时, MicroRNA21、金属硫蛋白-1E 以及 3.0T DCE-MRI 联合诊断敏感度(92.5%)、阴性预测率(88.1%)以及准确率(90.4%)均明显高于单独检测,表明联合诊断可显著提高诊断效能。3.0T DCE-MRI 定量参数可反映肿瘤新生血管情况,肿瘤恶性病变会诱导内皮细胞产生间质胶原酶、纤溶酶原激活物等,增加毛细血管壁通透性,丰富的血供保证了充分营养物质和氧气,微血管密度明显增加,故而可在一定程度上代替组织学检查^[16-17]。结合血清 microRNA21、金属硫蛋白-1E 水平,从分子生物学角度解释肿瘤细胞恶性情况,评估肿瘤细胞浸润、转移潜力如淋巴结转移患者、高分化程度患者金属硫蛋白-1E 高于未转移者或者低分化患者^[18],三者之间互补性有效降低单一指标造成的漏诊率、误诊率,指导医师诊断乳腺癌患者,对于治疗方案制定以及患者生存质量和远期生存率具有重要临床价值。

综上所述,乳腺癌患者外周血 microRNA21、金属硫蛋白-1E 高表达与 3.0T DCE-MRI 定量参数具有相关性,三者联合检查对于乳腺良恶性病变诊断有重要临床价值。

参考文献:

- [1] 谢容.保乳术治疗早期乳腺癌患者的临床疗效及对生活质量的改善作用[J].实用癌症杂志,2018,33(3):383-385.
- [2] 周薇,张志将,毕勇毅,等.中国女性 1987-2014 年乳腺癌死亡趋势的 Joinpoint 回归分析[J].中南大学学报(医学版),2018,43(2):210-215.
- [3] 冯煜森.定量 DCE-MRI 在宫颈癌疗效评估中的研究进展[J].实用放射学杂志,2017,33(4):622-624,631.
- [4] 张叶,李佳余,王敏杰.3.0T 读出方向上分段扩散加权成像在鉴别诊断前列腺癌与前列腺增生的应用价值[J].影像研究与医学应用,2020,4(12):95-96.
- [5] 胡俊庭,鲍蕴文,白艳,等.肺癌患者血清 microRNA-21 表达临床意义探讨[J].中华肿瘤防治杂志,2014,21(1):39-42.
- [6] Tuzel E, Yorukoglu K, Ozkara E, et al. Association of metallothionein expression and clinical response to cisplatin based chemotherapy in testicular germ cell tumors[J]. Central Eur J Urology, 2015, 68(1):45-50.
- [7] 桂丹,黄山见,赵小瑞,等.动态对比增强磁共振成像联合血清肿瘤标志物检测对肝细胞肝癌术后患者肿瘤转移诊断效能的影响[J].中国肿瘤临床与康复,2018,25(4):399-402.
- [8] 张海燕,汪秀玲.磁共振动态增强及扩散加权成像在乳腺癌中的应