

# 双源双能量CT碘图定量预测纯磨玻璃样肺腺癌浸润性与MVD和Ki-67表达水平的相关研究

孙丹丹 蔡兆诚 朱瑞萍 曹源于 晶\* 伍建林  
大连大学附属中山医院放射科 辽宁大连 116001

**摘要:** **目的:** 探讨双源双能量增强CT碘图定量相关参数预测纯磨玻璃样(pGGN)肺腺癌的浸润性及与MVD、Ki-67的相关性。**方法:** 收集经病理证实并行胸部双源双能量增强CT扫描43例患者共65个pGGNs病灶,分为腺体前驱病变组(31个)和浸润性肺腺癌组(34个)。分析双能量CT碘图参数时分别在动、静脉期测量病灶Mix CT值、overlay值、碘含量(IC)。同时,收集病灶免疫组化参数(MVD值和Ki-67表达水平)。将具有统计学意义的参数纳入logistic回归模型分析,绘制ROC曲线,得到AUC。以Spearman相关检验分析影像学参数与MVD、Ki-67相关性。**结果:** (1) 双能量CT碘图参数中,浸润性肺腺癌组的静脉期IC高于腺体前驱病变组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。(2) logistic回归分析中,长径和静脉期IC是预测pGGNs样肺腺癌浸润性的独立危险因素,IC的ROC曲线显示较好的诊断性能(AUC为0.750,敏感度为79.4%,特异度为61.3%)。(3) 浸润性肺腺癌组MVD、Ki-67值均高于腺体前驱病变组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。(4) 静脉期IC与MVD具有中等相关性( $r=0.515, P < 0.001$ ),静脉期IC与Ki-67表达水平具有弱相关性( $r=0.391, P=0.010$ );长径与Ki-67表达水平具有中等相关性( $r=0.548, P < 0.001$ ),与MVD具有弱相关性( $r=0.270, P=0.030$ )。**结论:** 双源双能量增强CT碘图中静脉期IC对pGGNs浸润性预测价值较好,且静脉期IC与MVD值、长径与Ki-67表达水平具有密切相关性,有助于无创性评估肺腺癌的血管生成及细胞增殖水平。

**关键词:** 肺腺癌; 双能量成像; 浸润性; MVD; Ki-67

早期肺癌在病理学分类中大多为肺腺癌,并在CT上多为磨玻璃结节(ground-glass nodules, GGNs)形式<sup>[1]</sup>。2021年WHO肺癌新分类第5版发布<sup>[2]</sup>,将非典型腺瘤样增生(atypical adenomatous hyperplasia, AAH)、原位腺癌(adenocarcinoma in situ, AIS)归为腺体前驱病变,微浸润腺癌(minimally invasive adenocarcinoma, MIA)及浸润性腺癌(invasive adenocarcinoma, IA)归为浸润性肺腺癌,前者术后5年生存率接近100%,而后者预后较差。

纯磨玻璃结节(pure ground-glass nodules, pGGNs)中约有20%~40%病理学上为浸润性肺腺癌<sup>[3]</sup>。通常pGGN样肺腺癌的浸润性的判别依赖于术后病理学检查,而通过术前无创的影像学方法预测和鉴别pGGNs浸润性可能性及其临床价值逐渐成为目前研究热点。

肺结节强化程度有助于鉴别其生物学行为及病理亚型<sup>[4]</sup>,亦有助于鉴别pGGNs的浸润性。双源双能量

CT成像可获得碘图及相关定量参数,更加敏感和精准量化pGGNs强化程度及其规律,从而间接反映其血供情况<sup>[5]</sup>。Yang等<sup>[6]</sup>发现pGGNs样浸润性肺腺癌碘含量高于腺体前驱病变,但未能与有关病理参数进行对照。肺腺癌浸润程度与血管生成、细胞异常增殖相关,微血管密度(microvessel density, MVD)被视为定量评估肿瘤组织血管生成的金标准<sup>[7]</sup>,而反映肿瘤增殖程度的Ki-67与恶性程度呈正相关<sup>[8]</sup>。故笔者推测pGGNs双源双能量增强CT碘图参数与其病理学指标在反映肿瘤浸润性方面具有相关性。因此,本研究旨在通过浸润性肺腺癌MVD值与Ki-67表达水平高于腺体前驱病变的演变规律寻找出与其关系最为相关的碘图参数,实现术前对pGGNs样肺腺癌浸润性与生物学行为的预测,为临床治疗方案提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

回顾性收集2019年7月1日-2020年8月31日本院术前行双源双能量增强CT扫描发现肺内pGGNs疑及肺癌且经手术切除、病理证实为AAH、AIS、MIA、IA患

**基金项目:** 2019SKY影像科研基金(Z-2014-07-1912-13)

者资料43例共计65个病灶, 其中31个归为腺体前驱病变(AAH、AIS)、34个归为浸润性肺腺癌(MIA、IA)。纳入病例均有完整的临床资料、优质的双源双能量增强CT资料及准确病理结果, 免疫组织化学指标包括MVD、Ki-67, 且pGGNs直径均 $\leq 3\text{cm}$ 。最终纳入43例患者中男16例(37.2%), 女27例(62.8%), 年龄31~83岁, 平均(59 $\pm$ 13.5)岁。

## 1.2 检查设备与方法

### 1.2.1 CT检查设备与方法

采用双源双能量CT机(Simens Somatom Definition Flash)行CT平扫、增强扫描。参数如下: 管电流230mAs, 管电压120kV, 螺旋距0.85; 增强扫描时, 两球管电流分别为190mAs、162mAs, 电压分别为100kV、Sn140kV, 螺旋距为0.55。当主动脉达阈值100HU后6s扫描动脉期, 再延时60s扫描静脉期。将图像传至影像归档和通信系统(PACS)和西门子后处理工作站。

### 1.2.2 病理检查与免疫组化

检查步骤: (1) HE染色: 标本投入固定液中使蛋白质变性, 行冲洗30分钟, 再将标本依次放入二甲苯、已溶化的石蜡中进行包埋、凝固、切片、展片、烤片, 使用梯度乙醇脱水, 用苏木精及伊红溶液染色。(2) CD31免疫组化染色: 将鼠抗人CD31单克隆抗体试剂、DAB染色液、苏木素染色液、返蓝染色液、缓冲液、清洗液注入BenchMark XT染色仪中进行全自动染色。(3) Ki-67免疫组化染色: 将Ki-67抗体试剂、染色液、缓冲液、清洗液注入BenchMark XT染色仪中进行全自动染色。

## 1.3 图像分析方法

### 1.3.1 双源双能量CT碘图

选取病灶所在最大层面, 避开血管及支气管, 分别在轴位、冠状位及矢状位图像上各放置一个ROI(包括50%以上), 自动获取参数: Mix CT值、overlay值和IC, 取轴位、冠状位及矢状位所获参数的平均值记为Mix CT值、overlay值、IC值。

### 1.3.2 病理免疫组化分析方法

(1) MVD计数。依据Weidner计数法<sup>[9]</sup>, 先在低倍镜( $\times 100$ )下选择3个微血管最丰富的区域, 即“热点区”, 再转为高倍镜( $\times 400$ )对“热点区”进行计数, 计数3个视野取平均值。

(2) Ki-67计数。Ki-67在肿瘤细胞核内表达, 胞

浆内出现棕黄色颗粒为阳性。计数时, 先在低倍镜( $\times 100$ )下选取3个“热点区”, 然后转为高倍镜( $\times 400$ )估计阳性细胞数及肿瘤细胞数, 二者比值为Ki-67, 计数3个视野取平均值。

## 1.4 统计学分析

应用SPSS 23.0统计软件, 采用独立样本t检验分析正态分布的计量资料, 秩和检验分析非正态分布的计量资料, 卡方或Fisher检验分析计数资料。对于有统计意义的参数纳入logistic回归进行分析, 绘制受试者工作特征(ROC)曲线, 得到各参数对于鉴别两组的ROC曲线下面积(AUC)。Spearman相关检验用于分析影像学参数与MVD、Ki-67的相关性, 相关系数(r)用于评估相关程度, |r|为0~0.2、0.2~0.4、0.4~0.6、0.6~0.8、0.8~1对应相关性极弱、弱、中等、强、极强。P小于0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般资料分析

本研究共纳入43例患者65个pGGNs, 其中34例(占79.1%)为单个pGGN, 4例(占9.3%)各有2个pGGNs, 3例(占7.0%)各有4个pGGNs, 另2例(均占2.3%)分别有5个、6个pGGNs。依据病理组织学结果, 65个pGGNs分为腺体前驱病变组31个(47.7%), 包括AAH 8个和AIS 23个; 浸润性肺腺癌组34个(52.3%), 包括MIA 11个和IA 23个。

### 2.2 两组双能量CT碘图参数比较

在两组pGGNs的碘图定量参数中, 浸润性肺腺癌组静脉期IC均高于腺体前驱病变组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 而两组间动脉期MIX CT值、overlay、IC及静脉期MIX CT值、overlay差异均无统计意义( $P > 0.05$ )。详见表1及图1。

表1 两组pGGNs的CT碘图定量参数比较

碘图定量参数	腺体前驱病变 (n=31)	浸润性肺腺癌 (n=34)	P值
动脉期MIX (HU)	-620.53 $\pm$ 77.47	-590.69 $\pm$ 67.88	0.103
动脉期overlay (HU)	27.63 $\pm$ 12.67	32.69 $\pm$ 9.95	0.077
动脉期IC (mg/ml)	1.43 $\pm$ 0.62	1.60 $\pm$ 0.55	0.231
静脉期MIX (HU)	-630.17 $\pm$ 112.90	-584.35 $\pm$ 104.31	0.094
静脉期overlay (HU)	22.26 $\pm$ 9.97	23.72 $\pm$ 9.74	0.555
静脉期IC (mg/ml)	1.06 $\pm$ 0.37	1.44 $\pm$ 0.42	<0.001

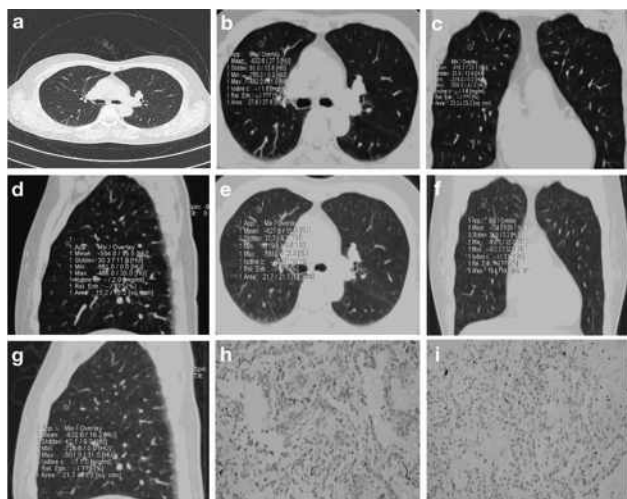


图1

图1, 女, 55岁, 右肺上叶pGGN, 病理为原位腺癌; a为常规CT平扫图, pGGN长径0.66cm, CT值-648.7HU; b~g为融合碘图, 其中b~d分别为动脉期横轴位、冠状位和矢状位图, 动脉期病灶MIX CT值-615.0HU, overlay值22.0HU, IC为1.73mg/mL; e~g分别为静脉期横轴位、冠状位和矢状位图, 静脉期病灶MIX CT值-657.6HU, overlay值19.4HU, IC为1.03mg/mL; h~i免疫组化图( $\times 400$ ), 其中h示MVD值为16, I示ki-67表达水平为2.4%。

### 2.3 pGGNs浸润性相关因素分析

本团队前期研究结果表明pGGN样浸润性肺腺癌组的长径、CT值、分叶征出现的概率均高于腺体前驱病变组, 且差异具有统计学意义。因此, 本研究

拟将pGGN样肺腺癌的浸润性作为因变量, 将单变量分析结果中有统计学意义的参数(即分叶征、长径、CT值、静脉期IC)及年龄、性别作为协变量纳入logistic回归, 得到的模型有统计学意义( $\chi^2=24.765$ ,  $P < 0.001$ ), 该模型能够正确分类83.1%的研究对象。

该模型纳入的协变量中, 长径和静脉期IC是预判pGGNs样肺腺癌浸润性的独立危险因素, 其中静脉期IC值的OR值最高, 静脉期IC值ROC曲线显示: 以IC为1.17为界值判断浸润性肺腺癌的敏感度为79.4%, 特异度为61.3%。详见表2。

### 2.4 两组pGGN病灶MVD、Ki-67表达水平比较

浸润性肺腺癌组MVD值( $41.00 \pm 10.00$ )高于腺体前驱病变组( $13.00 \pm 16.00$ ), 差异有统计学意义( $Z=-6.657$ ,  $P < 0.001$ ); 而在Ki-67表达水平上, 浸润性肺腺癌组( $4.90 \pm 2.30\%$ )高于腺体前驱病变

表2 二元logistic回归模型分析结果

参数	OR	P值	95%CI
性别	0.943	0.928	0.263 ~ 3.380
年龄	1.006	0.856	0.941 ~ 1.076
分叶征	0.841	0.812	0.202 ~ 3.509
长径 (cm)	3.024	0.042	1.039 ~ 8.802
CT值 (HU)	1.005	0.075	0.999 ~ 1.011
静脉期IC (mg/ml)	12.654	0.010	1.818 ~ 88.100

组( $2.70 \pm 2.00\%$ ), 差异有统计学意义( $Z=-3.695$ ,  $P < 0.001$ )。

### 2.5 两组CT影像参数与MVD、Ki-67的相关性分析

将二元logistic回归模型中预测pGGNs样肺腺癌浸润性的独立危险因素(静脉期IC和长径)与病理参数作相关性分析, 结果示静脉期IC与MVD相关性中等( $r=0.515$ ,  $P < 0.001$ ), 静脉期IC与Ki-67相关性弱( $r=0.391$ ,  $P=0.010$ ); 长径与Ki-67相关性中等( $r=0.548$ ,  $P < 0.001$ ), 长径与MVD相关性弱( $r=0.270$ ,  $P=0.030$ )。

## 3 讨论

在肺腺癌领域, 术前通过无创性手段来预测其浸润性, 进行分类、分型规范管理意义重大。浸润性肺腺癌的生物行为较差, 淋巴结转移多, 手术范围广, 存在一定的复发概率<sup>[10]</sup>。因此, 准确评估浸润性对辅助临床规范诊疗是相当重要的。

同时, 近年来反映肺腺癌血管生成及细胞增殖的病理学因子已成为当下研究的热点内容。研究证实<sup>[11-12]</sup>肺腺癌新生血管数目越多、细胞异常增殖越活跃, 往往提示病变生物学行为越差, 但病理学因子的获取有赖于手术切除或穿刺活检取样, 存在耗时较长、有创及可导致潜在并发症等问题。因此, 若得到无创、快速、可重复性强的影像学参数术前预测肺腺癌的血管生成及细胞增殖水平, 进而实现指导、优化临床处理方案具有十分重要的意义。

### 3.1 双能量CT碘图定量参数预测pGGNs样肺腺癌浸润性的价值

血管重构或新血管生成是肿瘤发展早期的始发事件之一<sup>[13]</sup>。而肿瘤强化程度可反映其内部新生血管生物学及病理特点, 故有助于预测肺结节或肿块的病理组织学特点<sup>[14-15]</sup>。pGGNs特点是病灶密度低、微血管稀少, 常规CT增强常变化不明显和难以评估病理改变特点, 而基于物质分离原理的双能量CT经后处理可得到碘图, 不仅可减轻部分容积效应干扰, 还可以客观、准确、量化

pGGNs的强化程度。

肿瘤强化程度取决于血管内对比剂碘积聚的浓度,故碘浓度是反映血供的良好指标<sup>[16]</sup>。本研究发现,浸润性肺腺癌组静脉期IC高于腺体前驱病变组,并且静脉期IC是预测pGGN浸润性的独立危险因素,这与客观病理改变相符,并可能为无创性鉴别pGGNs浸润性提供了理论依据,其机制与肿瘤新生血管数量和渗漏到细胞间隙的碘对比剂多少有关<sup>[16]</sup>。而肺癌病灶中新生微血管的内皮细胞连接松散、基底膜不完整、通透性增加及多种促血管生成因子进一步增加血管通透性构成上述结果的病理基础。但本研究中动脉期IC在两组间差异无统计学意义,推测可能于肺腺癌微血管网紊乱、扭曲导致动脉期大部分微血管充盈不良,而静脉期则对比剂流速加快和渗漏增多,从而可更加真实反映肺癌病灶的微循环情况。此外,两组间MIX CT值、overlay差异无统计学意义,表明不适于预测pGGNs肺腺癌浸润性。

### 3.2 两组间MVD、Ki-67差异比较及其意义

实体瘤在缺乏新生血管的情况下可达到的临界大小约1-2mm<sup>3</sup>,超过这个体积再生长不仅仅依靠氧气等营养物质的支持,还需要新鲜血液的直接供应<sup>[17]</sup>。肺癌中存在着血管生成拟态,与其浸润密切相关<sup>[18]</sup>。MVD是计数血管生成的金标准,本研究中浸润性肺腺癌组的MVD(41.00±10.00)高于腺体前驱病变组(13.00±16.00),可能是由于随着肺腺癌浸润性的发展,肿瘤细胞增多,所需的营养物质及血供增加,新生血管生成增多,相应MVD值增加。赵娇等<sup>[19]</sup>研究发现,随着GGNs浸润性进展,MVD逐渐升高。因此,MVD可能是评估肺腺癌浸润性的重要病理学指标,具有潜在的临床应用价值。

细胞增殖失控被认为是癌症的特征,Ki-67是一项公认的反应细胞增殖能力的生物标志物,与浸润性密切相关<sup>[11]</sup>。本研究发现,浸润性肺腺癌组的Ki-67表达水平高于腺体前驱病变组Ki-67表达水平,随浸润性发展,肿瘤细胞增殖愈加旺盛,肿瘤生长速度也相应加快,Ki-67表达水平增高,故Ki-67表达水平在评估肺癌浸润性方面具有至关重要的价值。

### 3.3 pGGNs影像学参数与MVD、Ki-67表达水平相关分析

本研究显示影像学参数中的静脉期IC和长径是预测浸润性独立危险因素,而病理学参数中浸润性肺腺癌组MVD、Ki-67表达水平高于腺体前驱病变组。并发现静脉期IC与MVD具中等的正相关性,可能的机制是随着

pGGN肺腺癌的发生、发展与浸润性不断增强,出现大量不成熟新生血管,即MVD增高,其基底膜不完整性致使更多碘对比剂渗出,引起静脉期IC增高,因此与MVD增高体现处良好一致性,该结果不仅从病理学水平印证静脉期IC预测pGGNs样肺腺癌浸润性的可靠性,而且为术前通过静脉期IC预测肺腺癌MVD水平非侵入性途径提供依据。本研究还发现,pGGNs长径与Ki-67表达水平具有中度正相关性,Lin等<sup>[8]</sup>也发现肺癌病灶大小与Ki-67表达水平呈正相关,即肿瘤越大,Ki-67越高,因此,可通过术前准确测量pGGNs长径来实现预测其Ki-67表达水平和评估其生物学行为,为临床判定预后提供参考。此外,本研究中静脉期IC与Ki-67表达水平、长径与MVD虽然同样呈正相关,但相关系数较低,可能受到肿瘤内部生长不均匀出现瘤内局部坏死引起微环境异质性变化等因素的影响有关,有待于今后进一步深入细致探究。

本研究也存在以下局限性:首先,难以实现ROI所在病理标本取材层面与CT层面之间的完全匹配,可能存在一定的抽样误差;其次,我们重点分析了动脉期、静脉期的碘图参数,而延迟期的测量值效能未知,再次,样本量较少,将在未来的研究中加以补充和完善。

综上所述,双源双能量增强CT碘图中静脉期IC值及病灶长径具有较高的预测pGGNs浸润性的效能,有望术前实现对pGGNs样腺体前驱病变抑或浸润性肺腺癌的鉴别诊断;且静脉期IC与MVD值、长径与Ki-67表达水平具有密切相关性,可实现无创性评估肺腺癌的血管生成及细胞增殖水平,为临床确定随访时间、治疗方式及干预时机提供更多有价值的生物学信息和科学依据。

### 参考文献:

- [1] Goo J M, Park C M, Lee H J. Ground-glass nodules on chest CT as imaging biomarkers in the management of lung adenocarcinoma[J]. AJR Am J Roentgenol, 2011, 196(3): 533-543.
- [2] WHO Classification of Tumours of the Lung, 2021.
- [3] Lee H J, Goo J M, Lee C H, et al. Predictive CT findings of malignancy in ground-glass nodules on thin-section chest CT: the effects on radiologist performance[J]. Eur Radiol, 2009, 19: 552-560.
- [4] Zhang Y, Tang J, Xu J R, et al. Analysis of pulmonary pure ground-glass nodule in enhanced dual energy CT imaging for predicting invasive adenocarcinoma: comparing with

conventional thin-section CT imaging[J]. J Thorac Dis, 2017, 9: 4967-4978.

[5] 卢光明. 双能量CT临床应用指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 135.

[6] Yang Y, Li K H, Sun D D, et al. Invasive Pulmonary Adenocarcinomas Versus Preinvasive Lesions Appearing as Pure Ground-Glass Nodules: Differentiation Using Enhanced Dual-Source Dual-Energy CT[J]. AJR Am J Roentgenol, 2019, 213: 114-122.

[7] Jureidini R, da Cunha JE, Takeda F, et al. Evaluation of microvessel density and p53 expression in pancreatic adenocarcinoma[J]. Clinics (Sao Paulo), 2016, 71(6): 315-319.

[8] Lin L Y, Cheng J J, Tang D Q, et al. The associations among quantitative spectral CT parameters, Ki-67 expression levels and EGFR mutation status in NSCLC[J]. Sci Rep, 2020, 10: 3436.

[9] Weidner N. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma[J]. Am J Pathol, 1993, 143(2): 401-409.

[10] Yu Y, Cheng J J, Li J Y, et al. Determining the invasiveness of pure ground-glass nodules using dual-energy spectral computed tomography[J]. Transl Lung Cancer Res, 2020, 9: 484-495.

[11] Ji W D, Li Y H, He Y, et al. AIP1 expression in tumor niche suppresses tumor progression and metastasis[J]. Cancer Research, 2015, 75(17): 3492-3504.

[12] Gu Q B, Feng Z C, Liang Q, et al. Machine learning-based radiomics strategy for prediction of cell proliferation in non-small cell lung cancer[J]. Eur J Radiol, 2019, 118: 32-37.

[13] Lee S M, Park C M, Goo J M, et al. Invasive Pulmonary Adenocarcinomas versus Preinvasive Lesions Appearing as Ground-Glass Nodules: Differentiation by Using

CT Features[J]. Radiology, 2013, 268(1):265-273.

[14] Jin X, Zhao S H, Gao J, et al. CT characteristics and pathological implications of early stage (T1N0M0) lung adenocarcinoma with pure ground-glass opacity[J]. European Radiology, 2015, 25(9): 2532-2540.

[15] Yi C A, Lee K S, Kim E A, et al. Solitary pulmonary nodules: dynamic enhanced multi-detector row CT study and comparison with vascular endothelial growth factor and microvessel density[J]. Radiology, 2004, 233(1): 191-199.

[16] Li Q, Li X, Li X Y, et al. Spectral CT in Lung Cancer: Usefulness of Iodine Concentration for Evaluation of Tumor Angiogenesis and Prognosis[J]. AJR Am J Roentgenol, 2020, 215: 595-602.

[17] Chen Y S, Sun Y, Cui Y M, et al. High CTHRC1 expression may be closely associated with angiogenesis and indicates poor prognosis in lung adenocarcinoma patients[J]. Cancer Cell Int., 2019, 19: 318.

[18] 南静. 多层螺旋CT在肺内 $\leq 1\text{cm}$ 纯磨玻璃结节浸润性腺癌与浸润前病变鉴别诊断中的价值[J]. 国际肿瘤学杂志, 2017, 44(8): 573-577.

[19] 赵娇. Image-Pro Plus联合Photoshop图像分析软件评估肺磨玻璃结节微血管密度与CT征象的相关性研究[D]. 大连: 大连医科大学, 2018: 51[2021-3-21].



#### 作者简介:

孙丹丹(1994-), 女, 大连大学附属中山医院在读硕士研究生, 主要从事胸部影像诊断系列研究, Tel: 13352260632, E-mail: dandan056@163.com;

于晶\*(1969-), 女, 大连大学附属中山医院放射科主任, 教授, Tel: 13052794942, E-mail: yujing1969@163.com。