

论 著

双能CT联合临床病理特征预测结直肠癌Ki-67表达的价值

朱文玲^{1,2} 李雨蒙^{1,2} 岳思宇^{1,2}
陈新蕾^{1,2} 邱慎满¹ 李绍东^{1,*}

1.徐州医科大学附属医院影像科
(江苏 徐州 221002)
2.徐州医科大学医学影像学院
(江苏 徐州 221002)

【摘要】目的 探讨双能量CT(DECT)定量参数联合临床病理特征预测结直肠癌(CRC)增殖抗原Ki-67阳性表达的价值。方法 回顾性收集行腹盆腔DECT双期增强检查且经手术病理证实的123例结直肠腺癌患者术前影像学资料及临床病理资料。根据术后病理结果将Ki-67分为高表达和低表达两组。利用Siemens工作站进行图像后处理,获得入组患者动脉期和静脉期的碘浓度(IC)、标准化碘浓度(NIC)及能谱曲线斜率(λ_{HU})。采用 χ^2 检验比较两组间临床病理资料的差异。采用独立样本t检验/Mann-Whitney U检验比较两组间能谱参数的差异;采用受试者工作特征曲线(ROC)评估有统计学意义的参数的预测效能。结果 结直肠癌Ki-67高表达组和低表达组之间血清CA199水平差异有统计学意义($\chi^2=5.559, P<0.05$)。Ki-67高表达组双期IC值、NIC值及能谱曲线斜率均高于Ki-67低表达组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论 DECT定量参数IC、NIC、 λ_{HU} 及血清CA199可在一定程度上反映结直肠癌细胞增殖程度,预测结直肠癌Ki-67阳性表达的水平。

【关键词】结直肠癌;双能量CT;肿瘤标记物;Ki-67表达
【中图分类号】R445.3
【文献标识码】A
DOI:10.3969/j.issn.1672-5131.2024.02.044

Value of Dual-energy CT Combined with Clinicopathological Characteristics in Predicting the Expression of Ki-67 in Colorectal Cancer

ZHU Wen-ling^{1,2}, LI Yu-meng^{1,2}, YUE Si-yu^{1,2}, CHEN Xin-lei^{1,2}, Qiu Shen-man¹, LI Shao-dong^{1,*}.
1.Department of Radiology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China
2.School of Medical Imaging, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China

ABSTRACT
Objective To investigate the value of dual-energy CT (DECT) combined with clinicopathological characteristics in predicting the positive expression of proliferating antigen Ki-67 in colorectal cancer (CRC). **Methods** 123 adenocarcinoma CRC patients proved by pathological examination were postoperatively analysed. All patients underwent baseline abdominal and/or pelvic contrast enhanced dual-energy CT (DECT) scan in our institution. All patients were divided into high expression and low expression group according to the expression of Ki-67. The iodine concentration (IC), normalized iodine concentration (NIC) and slope of energy spectrum curve (λ_{HU}) were measured by DECT analysis workstation. Chisquare was used to compare the clinical data and the t/Mann-Whitney U test were used to compare energy spectrum parameters between the two groups. The parameters with statistical significance were analyzed by receiver operating characteristic curve (ROC), and the prediction efficiency of the parameters was evaluated. **Results** There was significant difference in the serum CA199 levels ($\chi^2=5.559, P<0.05$). The biphasic IC, NIC and the slope of energy spectrum curve in Ki-67 high expression group were significantly higher than those in Ki-67 low expression group. **Conclusion** DECT quantitative parameters IC, NIC, λ_{HU} and serum CA199 can reflect the proliferation degree of colorectal cancer cells to some extent and predict the positive expression level of Ki-67 in colorectal cancer.
Keywords: Colorectal Cancer; Dual-energy CT; Tumor Biomarker; Ki-67 Expression

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球第三大最常见的癌症,也是癌症死亡的第二大原因,其中直肠癌占三分之一^[1]。手术切除是早期CRC的主要治疗方式,而晚期和转移性CRC患者的预后较差。Ki-67是一种核DNA结合蛋白,是一种广泛用于肿瘤分级的增殖标记物。大量的细胞周期分析报告显示, Ki-67细胞周期的G1、S、G2和M期中存在,而在静止期(G0期)或静止的细胞中不存在,它能够快速的反映细胞的增殖活性,因此它是许多癌症中细胞增殖的指标^[2],已在乳腺癌、非小细胞肺癌、胃癌、肝癌等肿瘤中广泛应用。既往研究需要对恶性肿瘤切除后标本进行免疫组化染色方能检测Ki-67指数,但对于患者存在有创改变,在临床开展受到一定限制^[3]。若影像学方法能够对结直肠癌肿瘤细胞的增殖情况进行术前评估,对于临床的诊疗以及手术方法的选择具有积极意义。DECT可以提供多个定量参数,在疾病的检出、定性、分级、分化等方面显示出良好的应用价值。目前,双能量CT(dual-energy CT, DECT)能谱成像技术已用于评估包括肺癌、乳腺癌、喉鳞癌等多种癌症的Ki-67表达情况^[4-6]。本研究旨在探讨双能CT定量参数联合临床病理特征对结直肠癌Ki-67表达的预测价值,以期为临床治疗提供有效信息。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性收集2019年5月至2022年1月于徐州医科大学附属医院经手术病理证实的原发性CRC患者的影像学资料及临床病理资料。

纳入标准:患者术前行腹盆腔DECT双期增强扫描; DECT检查后患者在我院进行根治性结直肠癌切除手术,检查日期与手术日期间隔在两周内,术后病理资料完整且病理结果为腺癌;术后组织标本均获取Ki-67表达情况。排除标准:术前行新辅助放化疗或其他抗肿瘤治疗或行姑息性手术;图像有伪影,影响测量。

由一名放射科医师在电子病历系统获得患者的临床病理学资料,包括患者的性别、年龄、肿瘤的位置、肿瘤分化程度、肿瘤T分期、神经侵犯、脉管侵犯、术前CA199、术前CEA。

1.2 CT检查方法 患者禁食6h,检查前20分钟饮用清水600mL充盈胃肠道。采用德国Siemens公司双源CT(SO-MATOM Force)对患者行腹盆腔动、静脉期增强扫描。扫描模式:双能量扫描。扫描参数:A球管管电压90kV,管电流77mAs; B球管管电压150kV,管电流100mAs; CARE Dose4D动态调节曝光剂量。X线球管旋转速度0.25s/周,螺距1.0,探测器准直192mm×0.6mm,视野(FOV)380mm×380mm,扫描层厚为5mm,重组层厚0.75mm。扫描范围:从膈顶到耻骨联合水平。利用双筒高压注射器将碘普罗胺(300mgL/mL)对比剂以3.5mL/s的速率注入右侧肘正中静脉,注射剂量1.0mL/kg。在注射对比剂15s后,机器启动监测扫描程序,当监测到降主动脉CT值达

【第一作者】朱文玲,女,硕士研究生,主要研究方向:腹部影像诊断。E-mail: wenling811@126.com
【通讯作者】李绍东,男,主任医师,主要研究方向:胸腹部影像诊断。E-mail: lsdd6911@163.com

到100HU时，机器开始行动脉期扫描，延迟40s后进行静脉期扫描，扫描结束后获得90、150kV对应的动脉期和静脉期图像。

1.3 图像分析 扫描结束后将图像传至Siemens能谱成像后处理工作站(syngo.via VB10, Germany)。由一名经验丰富且不知晓病理结果的放射科医师在后处理工作站进行图像分割及数据测量。碘图相关的参数测量方法：进入“Dual-energy”程序，创建虚拟平扫和碘图，在选定的动脉期、静脉期肿瘤增厚的最大层面勾画感兴趣区(region of interest, ROI)，ROI的选取应避免肠腔内容物、肠周血管，尽量避免坏死、钙化和由气体和液体界面引起的伪影区域，手动记录肿瘤病灶的碘浓度(iodine concentration, IC)，在肿瘤上重复测量三次感兴趣区，最终结果取平均值；标准化碘浓度值(normalized iodine concentration, NIC)的测量方法：选取腰3椎体水平腹主动脉勾画感兴趣区，软件自动生成数据结果(图1A-图1F)。能谱曲线斜率测量方法：进入“Mono+”程序，选取肿瘤最大层面，勾画ROI，自动生成能谱衰减曲线，手动记录40keV、100keV单能量CT值CT_{40keV}、CT_{100keV}，能谱曲线斜率的计算公式为 $(\lambda_{HU}) = (CT_{40keV} - CT_{100keV}) / (100 - 40)$ 。

1.4 Ki-67表达阳性的评估方法 由病理科医师在400倍视野下随机选取20个视野观察Ki-67表达指数，以Ki-67表达含量中位数70%为临界值，≥70%为高表达组，<70%为低表达组。

表1 结直肠癌Ki-67高、低表达组间临床病理学特征比较

参数	Ki-67低表达组 (n=53)	Ki-67高表达组 (n=70)	χ^2	P值
性别				
男	32(60.4%)	42(60.0%)	0.002	0.966
女	21(39.6%)	28(40.0%)		
年龄(岁)				
≤65	27(50.9%)	35(50.0%)	0.011	0.917
>65	26(49.1%)	35(50.0%)		
肿瘤位置				
左半结肠	20(37.7%)	18(25.7%)	4.833	0.089
右半结肠	11(20.8%)	9(12.9%)		
直肠	22(41.5%)	43(61.4%)		
肿瘤分化程度				
低/中-低分化	5(9.4%)	14(20.0%)	2.652	0.266
中分化	34(64.2%)	41(58.6%)		
高-中分化/高分化	14(26.4%)	15(28.3%)		
肿瘤T分期				
T1/T2	8(15.1%)	15(50.9%)	0.796	0.372
T3/T4	45(84.9%)	55(50.9%)		
神经侵犯				
有	42(79.2%)	60(85.7%)	0.892	0.345
无	11(20.8%)	10(14.3%)		
脉管侵犯				
有	42(79.2%)	60(85.7%)	0.892	0.345
无	11(20.8%)	10(14.3%)		
CA199(ng/mL)				
≤35	39(73.6%)	63(90.0%)	5.559	0.018
>35	10(18.9%)	4(5.7%)		
缺失*	4(7.5%)	3(4.3%)		
CEA(ng/mL)				
≤5	26(49.1%)	44(62.9%)	1.881	0.170
>5	23(43.4%)	23(32.9%)		
缺失*	4(7.5%)	3(4.3%)		

注：CA199(carbohydrate antigen 199)，糖类抗原；CEA(carcinoembryonic antigen)，癌胚抗原。*：7例患者术前未做CA199、CEA检测。

1.5 统计学分析 使用统计学软件SPSS 26.0对数据进行统计分析。采用Kolmogorov-Smirnov检验计量资料是否符合正态分布，正态分布的数据以均数±标准差表示，采用独立样本t检验进行组间比较；偏态分布的数据以中位数(上、下四分位数)表示，采用Mann-Whitney U检验进行组间比较；计数资料、等级资料间的比较采用 χ^2 检验。采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线和曲线下面积(area under the curve, AUC)评估能谱参数对Ki-67高、低表达两组病灶的预测效能，并根据最大约登指数确定阈值、敏感度及特异度。将差异有统计学意义的所有变量纳入Logistic回归分析，建立联合变量，评估联合变量预测Ki-67的效能。

2 结果

2.1 患者一般资料 共纳入123例结直肠癌患者，男性74例，女性49例；年龄21~86岁，中位年龄65岁；左半结肠癌38例，右半结肠癌20例，直肠癌65例^[7]。

其中Ki-67低表达组53例，高表达组70例。Ki-67高表达组血清CA199水平低于Ki-67低表达组，差异有统计学意义(P<0.05)。性别、年龄等临床病理特征在两组间均没有统计学意义(P>0.05)(表1)。

2.2 Ki-67高表达组与Ki-67低表达组的两期各能谱参数比较 动脉期、静脉期Ki-67高表达组IC值、NIC值及 λ_{HU} 值均高于Ki-67低表达组，差异有统计学意义(P<0.05)(表2)。

2.3 临床及能谱各参数值对Ki-67高、低表达组的鉴别诊断效能 静脉期NIC值鉴别Ki-67表达两组病灶的ROC曲线下面积最大，AUC值为0.781，预测Ki-67阳性表达的敏感度为57.1%，特异度为92.5%。血清CA199预测Ki-67阳性表达的AUC为0.572，敏感度、特异度分别为94.0%和20.4%。联合DECT所有能谱参数及血清CA199水平的AUC为0.839，敏感度为68.7%，特异度为93.9%(表3，图2)。

表2 结直肠癌Ki-67高、低表达组间能谱参数特征比较

参数	Ki-67低表达组 (n=53)	Ki-67高表达组 (n=70)	t/Z值	P值
动脉期				
IC	0.764±0.306	0.996±0.444	-3.417	0.001
NIC	0.075±0.028	0.095±0.039	-3.320	0.001
λ_{HU}	1.169±0.444	1.383±0.515	-2.421	0.017
静脉期				
IC	1.300(1.200, 1.500)	1.600(1.400, 1.800)	-4.968	<0.001
NIC	0.334(0.321, 0.364)	0.393(0.351, 0.437)	-5.322	<0.001
λ_{HU}	1.799±0.390	2.066±0.441	-3.488	0.01

表3 临床及能谱参数值预测Ki-67阳性表达的ROC曲线

参数	AUC	阈值	敏感度(%)	特异度(%)
动脉期IC	0.648	0.85	62.9	64.2
动脉期NIC	0.652	0.09	54.3	73.6
动脉期 λ_{HU}	0.600	1.38	50.0	69.8
静脉期IC	0.760	1.35	82.9	50.9
静脉期NIC	0.781	0.38	57.1	92.5
静脉期 λ_{HU}	0.695	1.89	74.3	64.2
CA199	0.572	1.50	94.0	20.4
DECT能谱参数+CA199	0.839	0.65	68.7	93.9

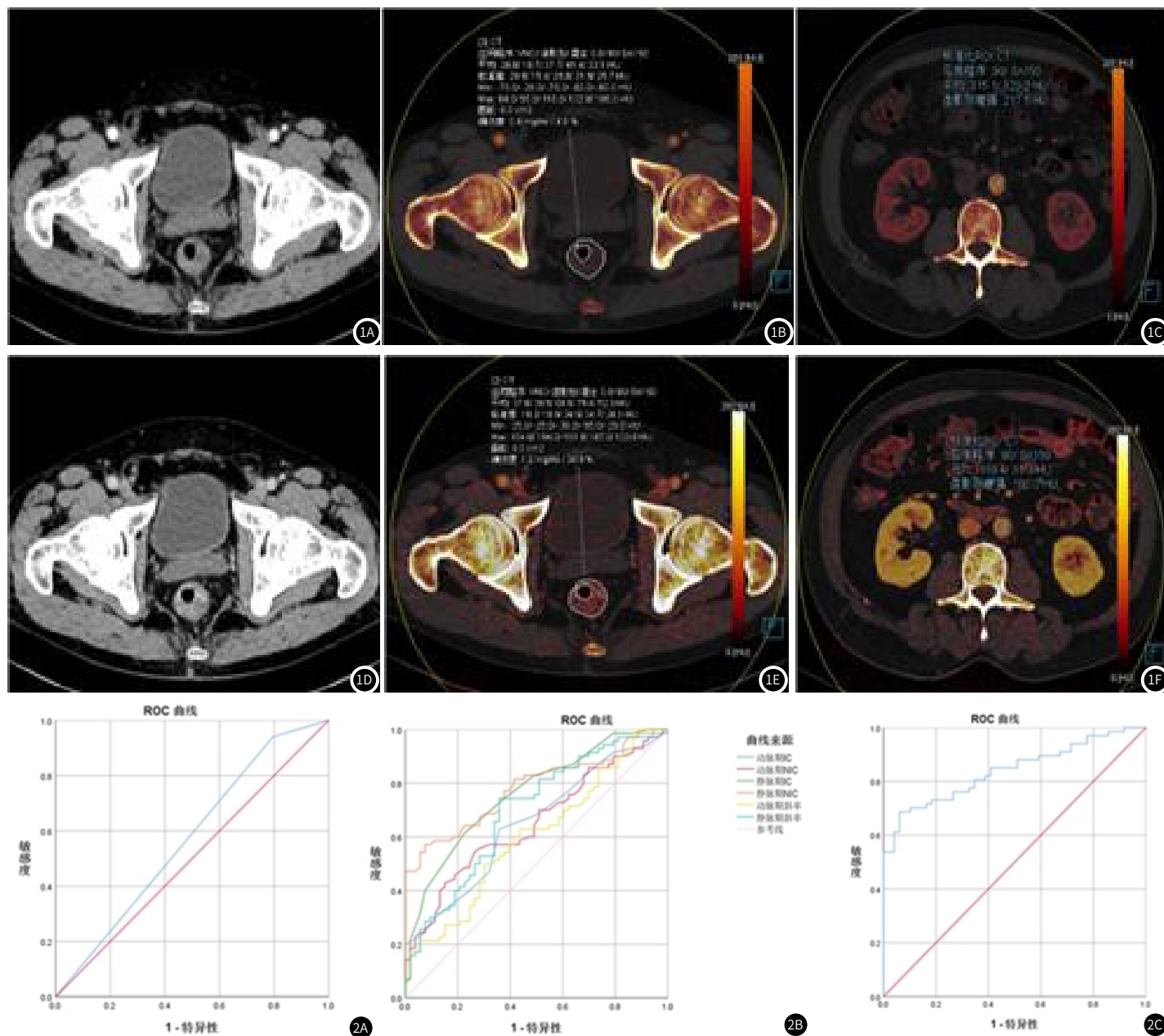


图1A-图1F 动脉期ROI放置示意图(图1A-1C), 选取肿瘤最大层面图(图1A), 在同层面的碘图上勾画ROI(图1B), 选取腰3椎体水平勾画腹主动脉ROI(图1C)。以同样方法勾画静脉期(图1D-1F), 且动、静脉期勾画层面一致。

图2A-图2C ROC曲线 血清CA199水平(图2A), DECT各参数值(图2B), DECT各参数联合血清CA199(图2C)。

3 讨论

Ki-67的表达水平与肿瘤的临床分期和转移有关, Ki-67在低分化癌组织中表达尤其高, 即Ki-67表达指数越高, 肿瘤的分化程度越差^[8]。有荟萃分析显示, 高Ki-67表达与CRC患者预后不良显著相关, 高Ki-67表达可以作为预测CRC患者预后不良的有价值的生物标志物^[9]。如今, 已经有学者利用磁共振的表观扩散系数预测直肠癌Ki-67的表达水平^[10], 但MRI存在一些缺点和检查禁忌, 如扫描范围小、扫描时间长、存在起搏器或植入装置时扫描受限等, 在应用上不如CT普遍。DECT是一种新的CT技术, 除了常规的CT图像外, 它还可以提供更客观的定量测量^[11]。同时使用两个不同的能级扫描后, 数据经过后处理可获得混合能量图像和融合图像, 如虚拟平扫、单能量、碘基物质图像。路凯等^[12]研究显示, 双源CT双能量虚拟平扫技术在结直肠肿瘤良恶性鉴别中可获得清晰图像进行疾病诊断, 具有较高的诊断效能, 且对患者辐射剂量较小。

IC值可以间接反映病灶内的血供情况^[13]。本研究发现, Ki-67高表达组在动脉期和静脉期的IC值均高于Ki-67低表达组, 这提示结直肠癌Ki-67高表达组的强化程度高于Ki-67低表达组, 即Ki-67高表达组的血供较丰富, 这之前在胃癌中的研究一致^[14], 可能是因为结直肠癌的Ki-67水平增高时, 细胞增殖活跃, 新生血管形成增多, 供给了更多的氧气和养分。因此, 当静脉注射碘造影剂时, 具有高Ki-67表达的肿瘤具有更多的碘积累和高IC值。由于患者间的体质有差异, 患者的体液循环和对比剂流速也不相同, NIC值可最大程度地减少患者由于不同循环状态和扫描时间而引起的变化^[15], 本研究结果表明动脉期、静脉期NIC的诊断效能均高于IC。不同的组织有不同的光谱衰减曲线, 根据该曲线建立的斜率(λ_{HU})值可以用作组织表征的重要定性参数, 有助于更直接地反映组织之间的差异^[16]。在本研究中, 结直肠癌Ki-67高表达组在动脉期、静脉期的 λ_{HU} 值均大于Ki-67低表达组, 推测原因是肿瘤中的

Ki-67表达越高,碘积累越多,在这些肿瘤中测量的衰减曲线更陡峭, λ_{HU} 值越高。因此,斜率值也有助于预测CRC中Ki-67的表达,从而确定肿瘤复发的能力。本研究中,虽然动脉期Ki-67高表达组的各能谱参数值都大于低表达组且具有统计学意义,但是效能低于静脉期,这可能是动脉期延迟时间较短,对比剂尚未扩散到肿瘤实质造成的,且肿瘤内部结构紊乱,毛细血管网较复杂,血流缓慢,对比剂流通的时间更长,因此动脉期强化不够明显。

CA199是糖蛋白的一种,可作为常见的肿瘤标志物之一,主要由胰腺、胃、肺、胆道和大肠癌产生^[17]。CA199检测有助于临床早期发现疑似CRC患者,结合术前影像学等辅助检测手段,可提高CRC术前分期的准确性^[18]。本研究中CA199预测Ki-67表达的AUC为0.572,敏感度高达94%,但特异度较低,只有20.4%,联合DECT能谱参数与CA199预测后可将AUC提高到0.839,具有较高的临床价值。

本研究存在一定局限性:(1)本研究是单中心的回顾性研究且样本数较少,可能造成选择偏倚,后期需扩充样本量,增加可信度;(2)研究者对于ROI勾画存在一定主观性,且可能与选取的病理切片组织不完全相符;(3)本研究中没有探索有效原子序数、水(基)图等其他双能量参数与Ki-67水平的关系;其次,我们根据中位数70%(Ki-67的二值化)作为Ki-67表达的临界值($\geq 70\%$ 表示高水平的增殖状态),但是在临床中Ki-67不是二值标记。因此,应进一步研究临床现实中的最佳Ki-67截断值。

综上所述,CRC患者的Ki-67高、低表达组的IC、NIC值及 λ_{HU} 之间有统计学差异,且静脉期鉴别两组的效能较高,从DECT中获得的定量参数及临床病理特征对CRC患者的Ki-67阳性表达有一定的预测价值。

参考文献

- [1] Keller DS, Berho M, Perez RO, et al. The multidisciplinary management of rectal cancer[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(7): 414-429.
- [2] Menon SS, Guruvayoorappan C, Sakthivel KM, et al. Ki-67 protein as a tumour proliferation marker[J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 491: 39-45.
- [3] 王军大, 杨雅琳, 李艳艳. 直肠中分化腺癌Ki-67表达与MRI形态学表现及ADC值间的相关性研究[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2022, 20(10): 128-130.
- [4] Lin L, Cheng J, Tang D, et al. The associations among quantitative spectral CT parameters, Ki-67 expression levels and EGFR mutation status in NSCLC[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 3436.
- [5] 林桂涵, 陈炜越, 陈春妙, 等. 双能量CT定量参数联合常规CT特征模型的构建及其在浸润性乳腺癌Ki-67表达水平评估中的应用[J]. *中华医学杂志*, 2022, 102(23): 1753-1759.

- [6] Wang P, Tang Z, Xiao Z, et al. Dual-energy CT in predicting Ki-67 expression in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Eur J Radiol*, 2021, 140: 109774.
- [7] 王慧, 任建琳, 张功, 等. 不同部位结直肠癌术后患者生存预后差异分析[J]. *疑难病杂志*, 2021, 20(5): 440-445.
- [8] Yang C, Zhang J, Ding M, et al. Ki67 targeted strategies for cancer therapy[J]. *Clin Transl Oncol*, 2018, 20(5): 570-575.
- [9] Luo ZW, Zhu MG, Zhang ZQ, et al. Increased expression of Ki-67 is a poor prognostic marker for colorectal cancer patients: a meta analysis[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 123.
- [10] 王铮, 苏丹柯, 赖少侣, 等. 直肠癌磁共振扩散加权成像ADC值与Ki-67表达水平的相关性[J]. *实用放射学杂志*, 2016, 32(4): 551-553, 557.
- [11] Al-Najami I, Mahmoud Sheta H, Baatrup G. Differentiation between malignant and benign rectal tumors by dual-energy computed tomography - a feasibility study[J]. *Acta Oncol*, 2019, 58(sup1): S55-S59.
- [12] 路凯, 兰国宾, 戴士林. 双源CT双能量虚拟平扫对结直肠癌恶性肿瘤的鉴别诊断价值研究[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2021, 19(9): 131-134.
- [13] Ge X, Yu J, Wang Z, et al. Comparative study of dual energy CT iodine imaging and standardized concentrations before and after chemoradiotherapy for esophageal cancer[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 1120.
- [14] Cheng SM, Ling W, Zhu J, et al. Dual energy spectral CT imaging in the assessment of gastric cancer and cell proliferation: a preliminary study[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 17619.
- [15] Shen H, Yuan X, Liu D, et al. Multiparametric dual-energy CT to differentiate stage T1 nasopharyngeal carcinoma from benign hyperplasia[J]. *Quant Imaging Med Surg*, 2021, 11(9): 4004-4015.
- [16] Sananmuan T, Agarwal M, Maleki F, et al. Dual energy computed tomography in head and neck imaging: pushing the envelope[J]. *Neuroimaging Clin N Am*, 2020, 30(3): 311-323.
- [17] Lakemeyer L, Sander S, Wittau M, et al. Diagnostic and prognostic value of CEA and CA19-9 in colorectal cancer[J]. *Diseases*, 2021, 9(1): 21.
- [18] Hao C, Sui Y, Li J, et al. The clinical value of the combined detection of enhanced CT, MRI, CEA, and CA199 in the diagnosis of rectal cancer[J]. *J Oncol*, 2021, 2021: 8585371.

(收稿日期: 2023-01-13)

(校对编辑: 韩敏求)