

论 著

DCE-MRI定量参数与乳腺癌的Ki-67、VEGF、MMP9表达的关系*

徐 钰¹ 袁芸芸^{2,*} 姚 柳¹

1.无锡市锡山人民医院影像科

(江苏 无锡 214105)

2.无锡市第二人民医院影像科

(江苏 无锡 214002)

【摘要】目的 分析动态增强磁共振成像(DCE-MRI)定量参数与乳腺癌患者细胞增殖核蛋白抗原(Ki-67)、血管内皮生长因子(VEGF)、基质金属蛋白酶-9(MMP9)表达的关系。方法 回顾性选取2018年10月至2023年10月在我院诊治为乳腺癌的122例患者,设为恶性组;另选取同期在我院诊治的93例良性病变患者,设为良性组。分析两组DCE-MRI定量参数差异,比较不同Ki-67、VEGF及MMP9表达强度间DCE-MRI定量参数差异并运用Pearson相关性分析两者间的关系。结果 良性组 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平均低于恶性组,差异有统计学意义($P<0.05$);不同Ki-67、VEGF及MMP9表达强度间 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平比较差异有统计学意义($P<0.05$),进一步经Pearson相关性分析,结果显示 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平与Ki-67表达状况均呈正相关($P<0.05$), K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平与VEGF表达状况均呈正相关($P<0.05$), K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平与MMP9表达状况均呈正相关($P<0.05$)。结论 DCE-MRI定量参数与乳腺癌患者Ki-67、VEGF、MMP9表达状况密切相关,可为乳腺癌的诊断提供有价值的组织学信息。

【关键词】动态增强磁共振成像;定量参数;乳腺癌;血管内皮生长因子;基质金属蛋白酶-9

【中图分类号】R445.2

【文献标识码】A

【基金项目】江苏省卫生健康委科研项目(Z2019047)

DOI:10.3969/j.issn.1672-5131.2024.11.030

Relationship between Quantitative Parameters of DCE-MRI and the Expression of Ki-67, VEGF and MMP9 in Patients with Breast Cancer*

XU Yu¹, YUAN Yun-yun^{2,*}, YAO Liu¹.

1.Department of Radiology, Xishan People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214105, Jiangsu Province, China

2.Department of Radiology, Wuxi No.2 People's Hospital, Wuxi 214002, Jiangsu Province, China

ABSTRACT

Objective To analyze the relationship between quantitative parameters of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging (DCE-MRI) and the expression of Ki-67, vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in patients with breast cancer. **Methods** A total of 122 patients with breast cancer who were diagnosed and treated in the hospital from October 2018 to October 2023 were reviewed, and included in the malignant group. Meanwhile, 93 patients with benign lesions were selected as the benign group. Quantitative parameters of DCE-MRI in the two groups were compared. Quantitative parameters of DCE-MRI in patients with different expression intensities of Ki-67, VEGF and MMP9 were comparatively analyzed. Pearson correlation analysis was conducted to discuss the relationship between quantitative parameters of DCE-MRI and the expression of Ki-67, VEGF and MMP9. **Results** K_{ep} , V_e and K^{trans} in the benign group were lower than those in the malignant group ($P<0.05$). K_{ep} , V_e and K^{trans} in patients with different expression intensities of Ki-67, VEGF and MMP9 were significantly different ($P<0.05$). Pearson correlation analysis found that K_{ep} , V_e and K^{trans} were positively correlated with the expression of Ki-67, VEGF and MMP9 (all $P<0.05$). **Conclusion** The quantitative parameters of DCE-MRI are closely related to the expression of Ki-67, VEGF and MMP9 in patients with breast cancer, and they can provide valuable histological information for the diagnosis of breast cancer.

Keywords: Dynamic Contrast-enhanced Magnetic Resonance Imaging; Quantitative Parameter; Breast Cancer; Vascular Endothelial Growth Factor; Matrix Metalloproteinase-9

乳腺癌作为女性最常见的恶性肿瘤疾病之一,在我国新发与死亡病例均高居榜首,对女性健康造成了严重威胁^[1-2]。目前临床鉴别乳腺良恶性疾病主要依赖于乳腺动态增强MRI(DCE-MRI)定量分析,该检测方法以肿瘤生长离不开新生血管为基础,通过判断其内部血流动力学变化有效辨别病灶性质,恶性肿瘤内部新生血管网丰富,微血管密度较大,加大了对大分子对比剂的通透性,影响时间及信号强度变化,这在国内外已经大量文献证实^[3-5]。乳腺癌患者致死的主要原因为肿瘤的侵袭与转移,而这一生物学行为是多分子多步骤异常进展的复杂过程,设计多个抑癌基因失活、癌基因激活及相信号通路的异常^[6]。细胞增殖核蛋白抗原(Ki-67)在增殖肿瘤细胞中表达,能够判断肿瘤细胞的增殖活性,与肿瘤的浸润、转移及预后密切相关,已有学者证实其表达状况与脑胶质瘤患者DCE-MRI定量参数联系密切^[7]。基质金属蛋白酶-9(MMP9)是一种与肿瘤侵袭及转移密切相关的蛋白,当肿瘤病情进展时大量分泌与合成,在其降解基底膜与细胞外间质促进肿瘤侵袭与转移的过程中可生成大量血管内皮生长因子(VEGF),因此MMP9、VEGF在恶性肿瘤的疾病进展过程中占据重要地位^[8]。本文通过分析DCE-MRI定量参数与Ki-67、VEGF及MMP9表达状况的关系,以期对乳腺癌的诊治提供生物学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾分析2018年10月至2023年10月于我院展开治疗的122例乳腺癌患者临床资料,并设为恶性组。

纳入标准:满足乳腺癌诊断标准^[9];均接受手术治疗;术前均接受DCE-MRI扫描;术后经接受病理检查并获得免疫组化指标;临床资料完善。排除标准:行化疗、放疗或激素替代治疗;妊娠、哺乳期女性;合并重要脏器功能障碍;合并其他恶性肿瘤。122例乳腺癌患者中年龄36~68(51.19 ± 8.23)岁;疾病类型:74例浸润性导管癌,17例浸润性小叶癌;16例粘液腺癌,15例髓样癌。另选取同期在我院进行治疗的93例乳腺良性病变患者临床资料,设为良性组,年龄31~66(50.27 ± 8.03)岁;疾病类型:41例乳腺纤维腺瘤,16例小叶增生,10例乳腺炎性肿块,20例纤维腺病,6例其他。本文经医院伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 DCE-MRI扫描方法:所有患者均在手术治疗前接受MRI扫描检查,仪器使用西门子Magnetom Verio磁共振仪,线圈运用乳腺专用8通道表面线圈。开始扫描前于肘静脉处放置留置针,取俯卧位,双乳于同一水平线上,自然悬垂于线圈中,扫描范围为双侧乳腺组织、腋窝。首先进行常规横、轴位T₂WI扫描,扫描参数TR4060ms,

【第一作者】徐 钰,男,主治医师,主要研究方向:乳腺磁共振成像。E-mail: xuyu.0520@163.com
【通讯作者】袁芸芸,女,主管技师,主要研究方向:乳腺磁共振成像研究。E-mail: 18651511516@163.com

TE70ms, T1230ms, 层厚3mm, 层间距1.5mm, 矩阵358×448, FOV340mm×340mm。随后开始DCE-MRI扫描, 获得进行T1多翻转角的T1map原始值图, 翻转角度5°、10°、12°、15°, 扫描参数TR5.64ms, TE2.46ms, 矩阵196×320, FOV333mm×380mm, 层厚2.5mm, 层间距0.5mm; 然后使用T1W脂肪抑制序列进行动态增强扫描, 增强扫描翻转角12°, 注射扎双胺, 注射剂量为0.1mmol/kg, 注射速率2.5mL/s, 完成后使用相同速率注射生理盐水15mL, 采用无间歇扫描, 扫描时相共70次, 第1时相为17.3s, 余下单时相扫描时间均为4.58s, 扫描总时长为5min30s。所有数据均上传至工作站后应用4D tissue后处理软件, 由2名工作经验丰富的高年资影像科医师阅片, 选择病变强化最明显的区域为感兴趣区(ROI), 避开坏死、囊变区域, 参考原始T1值, 应用经典Tolfs模型, 测量定量参数包括速率常数(K_{ep})血管外细胞外间隙容积比(V_e)及容量转移常数(K^{trans}), 其中 K_{ep} : 对比剂从组织回到血管内的速率; V_e : 血管外细胞间隙/体积素; K^{trans} : $V_e \times K_{ep}$ 。

1.2.2 免疫组化检测方法: 使用试剂包括兔抗人Ki-67(Dako公司)、鼠抗人VEGF抗体(Abcam公司)及鼠抗人MMP-9抗体(Santa cruz公司)。观察组患者于术后取肿瘤实质无坏死部分进行免疫组织化学染色分析, 将组织进行石蜡切片脱蜡处理后运用缓冲液反复冲洗3次后, 加热12min, 封闭处理费特异性抗原后分别滴加。Ki-67、VEGF及MMP9单克隆抗体, 置于4℃条件下静置一夜, 复温滴入二抗试剂, 待完全显色后运用苏木素染色、冲洗, 最终于×400镜下检测观察Ki-67、VEGF及MMP9表达状况, 所有标本测量结果均由2名高年资病理科医师进行判读。结果判定: Ki-67定位于细胞核, 呈棕褐色颗粒状, 阳性细胞数<14%为低表达0, 14%~25%为+, 26%~50%为++, 51%~75%为+++, ≥76%为++++; VEGF定位于细胞细胞质, 呈棕黄色颗粒表达, 阳性细胞数<5%为0, 6%~25%为+, 26~50%为++, 51%~75%为

+++ , ≥76%为++++; MMP9定位于细胞浆, 呈棕黄色染色颗粒表达, 阳性细胞数<10%为0, 11%~25%为+, 26%~50%为++, 51%~75%为+++ , ≥76%为++++。

1.3 观察指标 (1)DCE-MRI定量参数: 比较恶性组与良性组 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平。(2)分析不同Ki-67、VEGF及MMP9表达强度间DCE-MRI定量参数差异。(3)运用Pearson相关性分析DCE-MRI定量参数与Ki-67、VEGF及MMP9表达间的关系。

1.4 统计学方法 采用SPSS 27.0软件对数据进行统计学分析, 计数资料以[n(%)]表示, 采用 χ^2 检验; 符合正态分布的计量资料($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较采用独立样本t检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组内比较运用LDS-t检验; 相关性分析采用Pearson相关性分析。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 恶性组与良性组患者DCE-MRI定量参数比较 良性组 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平均低于恶性组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 不同Ki-67表达强度间DCE-MRI定量参数差异比较 伴随Ki-67表达强度的升高, K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平逐渐升高, 且水平比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 不同VEGF表达强度间DCE-MRI定量参数差异比较 伴随VEGF表达强度的升高, K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平逐渐升高, 且水平比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 不同MMP9表达强度间DCE-MRI定量参数差异比较 伴随MMP9表达强度的升高, K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平逐渐升高, 且水平比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

2.5 DCE-MRI定量参数与Ki-67、VEGF及MMP9的相关性分析 经Pearson相关性分析, 结果显示 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 与Ki-67、VEGF、MMP9均分别呈正相关($P<0.05$)。见表5。

2.6 典型病例 见图1和图2。

表1 恶性组与良性组患者DCE-MRI定量参数比较

组别	n	$K_{ep}(\text{min})$	V_e	$K^{trans}(\text{min})$
恶性组	122	1.24±0.23	0.19±0.07	0.20±0.06
良性组	93	0.67±0.11	0.16±0.04	0.13±0.03
t		22.046	3.697	10.308
P		<0.001	<0.001	<0.001

表3 不同VEGF表达强度间DCE-MRI定量参数差异比较

表达强度	n	$K_{ep}(\text{min})$	V_e	$K^{trans}(\text{min})$
+	34	1.03±0.10	0.09±0.02	0.09±0.03
++	31	1.18±0.17*	0.18±0.04*	0.21±0.05*#
+++	32	1.35±0.22*#	0.27±0.08*#	0.36±0.09*#
++++	25	1.51±0.28*#▲	0.36±0.07*#▲	0.54±0.07*#▲
F		35.026	143.359	325.875
P		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与“+”比较, * $P<0.05$; 与“++”比较, # $P<0.05$; 与“+++”比较, ▲ $P<0.05$ 。

表5 DCE-MRI定量参数与Ki-67、VEGF及MMP9的相关性分析

项目		Ki-67	VEGF	MMP9
K_{ep}	r	0.469	0.523	0.410
	P	<0.05	<0.05	<0.05
V_e	r	典型病例0.379	0.514	0.528
	P	<0.05	<0.05	<0.05
K^{trans}	r	0.476	0.398	0.405
	P	<0.05	<0.05	<0.05

表2 不同Ki-67表达强度间DCE-MRI定量参数差异比较

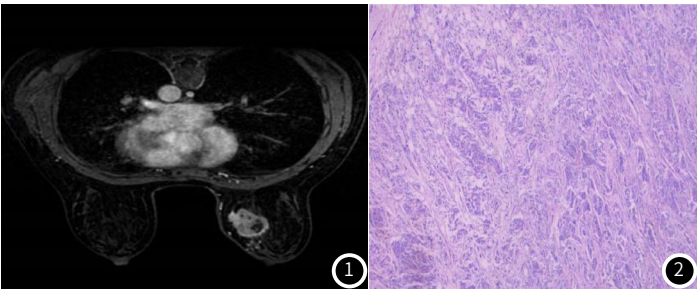
表达强度	n	$K_{ep}(\text{min})$	V_e	$K^{trans}(\text{min})$
+	31	1.01±0.11	0.10±0.02	0.10±0.02
++	33	1.16±0.18*	0.19±0.03*	0.22±0.04
+++	32	1.34±0.23*#	0.24±0.05*#	0.32±0.09
++++	26	1.52±0.29*#▲	0.31±0.08*#▲	0.47±0.11
F		34.178	104.987	155.367
P		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与“+”比较, * $P<0.05$; 与“++”比较, # $P<0.05$; 与“+++”比较, ▲ $P<0.05$ 。

表4 不同MMP9表达强度间DCE-MRI定量参数差异比较

表达强度	n	$K_{ep}(\text{min})$	V_e	$K^{trans}(\text{min})$
+	30	0.94±0.12	0.11±0.02	0.10±0.02
++	33	1.20±0.18*	0.18±0.04*	0.22±0.05*
+++	32	1.36±0.26*#	0.26±0.07*#	0.35±0.11*#
++++	27	1.58±0.31*#▲	0.38±0.09*#▲	0.60±0.15*#▲
F		43.405	126.663	179.494
P		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与“+”比较, * $P<0.05$; 与“++”比较, # $P<0.05$; 与“+++”比较, ▲ $P<0.05$ 。



女, 47岁, 右乳浸润性导管癌。
图1 见动态增强病灶呈明显强化, 内可见片状不规则坏死区。
图2 免疫组化Ki-67阳性表达>35%。

3 讨论

尽早确诊疾病是延长患者生存时间与提高患者生存质量的关键措施,目前发达国家因较高的医疗水平,落实乳腺癌早期筛查措施,乳腺癌5年内生存率已提高至89%^[10]。而乳腺癌预后与确诊时肿瘤转移状况、肿瘤直径、恶性程度等密切相关,因此,尽早明确肿瘤恶性程度、转移状况等对提高患者生存质量具有重要意义。

乳腺癌作为血管依赖性肿瘤,其生长、转移等与血管成长程度密切相关,而DCE-MRI定量分析在药代动力学模型的基础上通过计算正常乳腺组织及病变组织的渗透参数,对病灶内血管状况进行有效评估,可有效鉴别疾病性质^[11]。本文通过比较良性组与恶性组DCE-MRI定量参数,结果显示良性组 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平均低于恶性组,分析其原因,正常腺体组织中血管含量较少,血流灌注较低,而恶性肿瘤内癌细胞大量增殖,新生血管较多,微血管密度增多,血管结构紊乱导致血管管径增粗,并以不完整内皮为表现,血管壁薄且脆,基底膜减少等增加了血管通透性,此时对比剂进入组织后血管内对比剂扩散速度明显加快,而良性病变腺体组织内新生血管介于正常与恶性肿瘤之间,血流速度相对平稳,对比剂扩散速度相对缓慢^[12-13]。肿瘤在生长阶段的最初时期,其生长养分主要来源于扩散的组织间隙物质,伴随肿瘤的不断生长才有新生血管的形成,新生血管具有分布不均、结构错乱且不完整的特点,而裂隙性血管网因缺少收缩与舒张功能导致渗漏性较高;肿瘤微血管主要通过肿瘤细胞分泌的VEGF诱导生成,也可通过肿瘤化宿主血管生成,这些因素导致的肿瘤微循环在空间、时间上的不平衡性为DCE-MRI能够分析乳腺癌的生物学奠定了基础。Ki-67是由MKI67基因编码的一种核蛋白,主要位于细胞核中,与细胞活动周期密切相关,能够反映细胞增殖与生长^[14]。本文通过比较不同Ki-67表达状况,结果显示Ki-67不同表达强度间 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平比较差异有统计学意义,进一步Pearson相关性分析,结果显示Ki-67表达强度与 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平呈正相关,这提示乳腺癌肿瘤细胞增殖能力越强,DCE-MRI定量参数水平越高。分析原因Ki-67水平越高表明乳腺癌恶性程度越高,新生血管密度越大,血流速度越快,对比剂交换速度越快^[15]。MMP9是促进肿瘤血管生成的主要基质蛋白酶,其水平也能够反应肿瘤的转移与生长^[16]。文中,MMP9不同表达强度间 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平比较差异有统计学意义,进一步Pearson相关性分析,结果显示MMP9表达强度与 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平呈正相关,分析其原因与肿瘤新生血管密度高有关。VEGF是肿瘤血管生成过程中特异性最高、作用最强的促血管生长因素,其表达水平上调提示肿瘤细胞的增殖、转移等^[17]。本文中,VEGF不同表达强度间 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平比较差异有统计学意义,且Pearson相关性分析显示VEGF表达强度与 K_{ep} 、 V_e 及 K^{trans} 水平呈正相关,这可能与肿瘤新生血管越丰富,内皮细胞渗漏性越高,对比剂交换速率越快有关。

综上所述,DCE-MRI定量参数与乳腺癌患者Ki-67、VEGF、MMP9表达关系密切,作为评估乳腺癌组织生物学行为辅助预测指标。但本文为回顾性分析且样本量纳入较少,仍需扩大样本量的前瞻性分析进一步验证结论。

参考文献

- [1] Katsura C, Ogunmwoyi I, Kankam HK, et al. Breast cancer: presentation, investigation and management[J]. Br J Hosp Med (Lond), 2022, 83(2): 1-7.
- [2] 陈薇, 李思荣, 温雨珊. PD-1、PD-L1在三阴性乳腺癌中的表达及临床意义[J]. 罕少疾病杂志, 2023, 30(8): 49-50.
- [3] 张倩, 戴世鹏, 邵迎华. DCE-MRI定量参数 K^{trans} 、 K_{ep} 、 V_e 值与乳腺癌分子分型及预后的关系[J]. 临床与病理杂志, 2023, 43(10): 1778-1785.
- [4] 熊益敏, 卜学勇, 张洁, 等. 乳腺DCE-MRI定量和半定量参数、ADC值与良恶性肿瘤的关系[J]. 影像诊断与介入放射学, 2023, 32(3): 176-181.
- [5] Militello C, Rundo L, Dimarco M, et al. 3D DCE-MRI radiomic analysis for malignant lesion prediction in breast cancer patients[J]. Acad Radiol, 2022, 29(6): 830-840.
- [6] 徐小艳, 王建君, 闫琛, 等. 乳腺浸润性导管癌中JMD3、MMP-2和VEGF的表达及其与临床病理特征的关系[J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(11): 1593-1600.
- [7] 王宁, 印弘, 康晓伟, 等. DCE-MRI定量参数与脑胶质瘤Ki-67标记指数的相关性分析[J]. 放射学实践, 2019, 34(4): 417-421.
- [8] Farahi A, Abedini MR, Javdani H, et al. Crocin and metformin suppress metastatic breast cancer progression via VEGF and MMP9 downregulations: in vitro and in vivo studies[J]. Mol Cell Biochem, 2021, 476(9): 3341-3351.
- [9] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759.
- [10] Burstein HJ, Curigliano G, Thürlimann B, et al. Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021[J]. Ann Oncol, 2022, 33(10): 1216-1235.
- [11] Thawani R, Gao L, Mohinani A, et al. Quantitative DCE-MRI prediction of breast cancer recurrence following neoadjuvant chemotherapy: a preliminary study[J]. BMC Med Imaging, 2022, 22(1): 182.
- [12] 余海波, 王春红, 王珍, 等. 乳腺癌血流动力学DCE-MRI定量参数评价[J]. 中国CT和MRI杂志, 2022, 20(8): 96-98.
- [13] Slavkova KP, DiCarlo JC, Kazerouni AS, et al. Characterizing errors in pharmacokinetic parameters from analyzing quantitative abbreviated DCE-MRI data in breast cancer[J]. Tomography, 2021, 7(3): 253-267.
- [14] 王明甫, 徐玮, 秦涛. MRI定量及半定量参数对乳腺良恶性肿瘤的鉴别及与乳腺癌生物学指标的相关性分析[J]. 磁共振成像, 2020, 11(12): 1174-1177.
- [15] 韩剑剑, 马文俊, 马培旗, 等. 基于DCE-MRI影像学特征联合ADC值预测乳腺癌Ki-67表达水平[J]. 磁共振成像, 2023, 14(8): 63-67, 85.
- [16] 欧小波, 吴民华, 周密, 等. ADAM15与MMP-2、MMP-9 mRNA在乳腺癌组织中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2023, 31(6): 1056-1060.
- [17] 王倩, 刘万花, 王瑞, 等. 3.0T动态增强MRI定量参数、表观扩散系数与乳腺癌预后因子及分子分型的相关性[J]. 中国医学影像学杂志, 2019, 27(7): 517-521.

(收稿日期: 2024-02-22)

(校对编辑: 韩敏求)