

论 著

乳腺癌超声造影血流动力学参数与VEGF、Flk⁻¹/KDR表达相关性研究湖北江汉油田总医院超声科
(湖北 潜江 433100)丁 波 李秀兰 肖 艳
许 丽 孙文兵 袁 丽

【摘要】目的 探讨乳腺癌超声造影血流动力学参数与VEGF、Flk⁻¹/KDR表达的相关性。**方法** 选取我院自2012年12月-2014年12月收治的95例乳腺异常患者和25例乳腺正常志愿者,分为正常组、单纯增生组、非典型增生组、导管内原位癌组、浸润性导管癌组,测定血管密度(MVD)及VEGF、Flk⁻¹/KDR的表达情况。**结果** 各组峰值强度、曲线下面积及廓清时间有显著性差异($P < 0.001$)。各组MVD值分别为(18 ± 5)、(20 ± 5)、(30 ± 4)、(31 ± 8)、(53 ± 4),有显著性差异($P < 0.001$)。随着患者病情加重,乳腺MVD也不断升高;VEGF、Flk⁻¹/KDR值从正常组到浸润性导管癌组不断升高,有显著性差异($P < 0.001$)。**结论** 乳腺癌进展过程中伴随心血管形成及VEGF、Flk⁻¹/KDR受体表达,超声造影通过监测血管密度,可为VEGF、Flk⁻¹/KDR受体表达情况提供参考。

【关键词】 乳腺癌; 超声造影; 血流动力学; 血管内皮细胞生长因子

【中图分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2018.09.015

通讯作者: 丁 波

Breast Cancer Ultrasound Hemodynamic Parameters and VEGF, Flk⁻¹/KDR Expression

DING Bo, LI Xiu-lan, XIAO Yan, et al., Department of Ultrasound, Hubei Jiangnan Oilfield General Hospital, Qianjiang 433100, Hubei Province, China

[Abstract] Objective To explore the correlation of contrast-enhanced ultrasound of breast cancer hemodynamic parameters and VEGF, Flk⁻¹/KDR expression. **Methods** 95 cases of abnormal breast patients and 25 normal breast volunteers in our hospital were selected from December 2012 to December 2014. They were divided into normal group, simple hyperplasia group, atypical hyperplasia group, intraductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma group. The expression of MVD and VEGF and Flk⁻¹/KDR were measured. **Results** There were significant differences in peak intensity, area under the curve and clearance time in each group ($P < 0.001$). The MVD values of each group were (18 ± 5), (20 ± 5), (30 ± 4), (31 ± 8), (53 ± 4), there was significant difference between different group ($P < 0.001$). As the patient's condition worsened, the MVD of the breast increased, and the value of VEGF and Flk⁻¹/KDR increased from the normal group to the invasive ductal carcinoma group, and there was a significant difference ($P < 0.001$). **Conclusion** The progression of breast cancer is associated with cardiovascular formation and expression of VEGF and Flk⁻¹/KDR receptors. By monitoring the density of blood vessels, contrast-enhanced ultrasound can provide reference for the expression of VEGF and Flk⁻¹/KDR receptors.

[Key words] Breast Cancer; Ultrasonography; Hemodynamics; Vascular Endothelial Growth Factor

乳腺癌是发生在乳腺腺上皮组织的恶性肿瘤,乳腺癌中99%发生在女性,男性仅占1%^[1-2]。乳腺虽然并非参与人体生命活动的重要器官,乳腺癌本身不会危及患者生命,但是乳腺周围却有许多血管以及淋巴管,一旦癌细胞脱落,进入静脉或者淋巴管,很有可能发生转移。部分癌细胞脱落后甚至可能在血管中形成癌栓,造成多处血栓栓塞,危及生命。有研究^[3-4]表明,自21世纪以来,乳腺癌的发病率以及死亡率呈逐渐下降,这可能与我国大规模普查,早期发现疾病,将其控制于癌前病变有关。但与发达国家相比,我国乳腺癌检出率仍然处于较低水平,许多乳腺癌患者仅仅在出现症状或者乳腺癌晚期的时候才进行体检而发现。此时,乳腺癌治疗往往达不到满意的效果。因此,全面开展普查,并引进先进的检查技术,能有效发现早期病变,降低乳腺癌发病率。目前,临床常用的普查方法为钼靶射片,但此方法对于早期的乳腺病变敏感度较低,仍有待改进。有报道^[5-6]指出,超声微血管造影能有效发现乳腺癌早期血管增生情况,降低漏诊情况。为此,我院对120名患者进行研究,现将报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取我院自2012年12月~2014年12月收治的乳腺单纯增生妇女20例,非典型增生患者25例,导管内原位癌患者30例以及浸润性导管癌患者20例,同时征集25名乳腺正常的志愿者。按照乳腺组织病理分型分为正常组、单纯增生组、非典型增生组、导管内

原位癌组、浸润性导管癌组。其中正常组患者年龄在25~68岁之间,平均年龄为(42±17)岁,已婚女性20名,未婚女性5名;乳腺单纯增生组患者年龄在26~67岁之间,平均年龄为(44±17)岁,病程在2~8年之间,平均病程为(3.6±4.4)年,已婚女性15名,未婚女性5名;非典型增生患者年龄在27~68岁之间,平均年龄为(43±16)岁,病程在2~6年之间,平均病程为(3.7±4.4)年,已婚女性21名,未婚女性4名;导管内原位癌患者年龄在26~68岁之间,平均年龄为(45±18)岁,病程在2~7年之间,平均病程为(3.4±4.2)年,已婚女性22名,未婚女性8名;浸润性导管癌组患者年龄在25~69岁之间,平均年龄为(42±17)岁,病程在2~8年之间,平均病程为(3.8±4.9)年,已婚女性14名,未婚女性6名。参与本研究女性均避开月经期,与月经后1周进行试验。以上各组患者性别、年龄、病程等均无明显差异($P>0.05$),具有可比性。患者及家属知情并同意本次研究。

1.2 方法 采用超声造影以及免疫组化技术测定各组患者血管密度(MVD)以及血管内皮细胞生长因子(VEGF)、受体Flk⁻¹/KDR的表达情况。具体方法:超声检查选用iU22超声检查仪(购自飞利浦公司),探头选用L9-3宽频线阵探头配合脉冲反相谐波造影,机械指数调整为0.07。模式选用乳腺常规检查,彩色多普勒血流成像多切面观察之后静脉弹丸式注射提前准备的白蛋白包裹全氟丙烷全氟显造影剂0.02ml/kg,造影剂注射后3min开始同步存贮连续动态图像。此时,开启QLAB分析软件,实时观察造影剂微泡在血管床中的显像轨迹。于血流显像

最丰富的部位取样3次,获得该区域血流灌注时间。强度曲线,观察并记录:峰值强度、曲线下面积、廓清时间等参数。免疫组化染色:小鼠抗人CD34单克隆抗体、小鼠抗人VEGF单克隆抗体、兔抗人FLK⁻¹/KDR多克隆抗体按SP试剂盒说明书操作。

1.3 观察指标以及评价标准 结果判断:以细胞质或细胞膜出现棕黄色颗粒为阳性细胞判定标准。微血管密度测定:参照Weidner^[7]方法选取具有代表性的组织切片,排除肿瘤出血区及边缘反应区,低倍(10×10)观察每例切片中3个血管密度最高区域即所谓血管热点区(hotspot),高倍镜(40×10)下计数每个区域的MVD,其平均值即作为MVD值。VEGF和Flk⁻¹/KDR表达测定:采用半定量积分法判定结果^[8]:阳性细胞数≤5%为0分,6%~25%为1分,26%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分;无特异性染色为0分,染色强度黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分;两者积分相乘,0~1分为阴性(-),2~4分为弱阳性(+),5~8分为中度

1.4 统计学方法 以SPSS21.0进行数据统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,符合正态分布的采用F检验和t检验;不符合正态分布的采用非参数检验; $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者灌注下造影参数比较 各组患者峰值强度分别为(39±10)、(38±12)、(74±87)、(6±12)、(121±12db),由于方差不齐,经过非参数秩和检验发现,各组之间峰值强度差异极其明显

(Welch=200.334, $P<0.001$),且各组之间经两两比较,发现除了正常组、单纯增生组以及导管内原位癌组、非典型增生组之间无明显差异($P>0.05$),其余两组之间均差异显著($P<0.05$),具有统计学意义。此外,各组患者曲线下面积以及廓清时间经过Welch检验,差异明显(Welch=412.056; Welch=528.189, $P<0.001$),且发现除了正常组、单纯增生组以及导管内原位癌组、非典型增生组之间无明显差异($P>0.05$),其余两组之间均差异显著($P<0.05$),具有统计学意义。见表1

2.2 各组患者超声造影血流动力学与VEGF、Flk⁻¹/KDR对比 各组患者MVD值分别为(18±5)、(20±5)、(30±4)、(31±8)、(53±4),经过Welch检验发现各组患者MVD差异显著(Welch=368.124, $P<0.001$),具有统计学意义。且各组之间经两两比较,发现除了正常组、单纯增生组以及导管内原位癌组、非典型增生组之间无明显差异($P>0.05$),其余两组之间均差异显著($P<0.05$)。同时,随着患者病情的逐渐加重,患者乳腺MVD也不断升高。此外,各组患者VEGF、Flk⁻¹/KDR值从正常组到浸润性导管癌组不断升高,经过F检验发现各组患者VEGF、Flk⁻¹/KDR差异显著($F=26.41$, $F=23.65$, $P<0.001$),具有统计学意义。各组之间经两两t检验,发现除了正常组、单纯增生组以及导管内原位癌组、非典型增生组之间无明显差异($P>0.05$),其余两组之间均差异显著($P<0.05$)。见表2。

2.3 不同MVD值患者的VEGF、Flk⁻¹/KDR值比较 由图一可知随着各组患者MVD值的升高,VEGF、Flk⁻¹/KDR值也不断增大,MVD的

升高可在一定程度上反映VEGF、F1k⁻¹/KDR的变化趋势。

3 讨 论

乳腺癌是发生在乳腺腺上皮组织的恶性肿瘤^[9]，虽然乳腺癌恶性程度不如其他恶性肿瘤，手术多能切除，且预后较好，但乳腺作为女性的重要性征，乳腺癌术后，患者的心理健康恢复也是一个难点。随着人们对于女性健康的逐渐重视以及对于乳腺疾病

认识的深入，人们对于乳腺疾病已经不在仅仅停留在乳腺疾病的治疗上，更多的女性逐渐接受早预防早治疗的观点。而对乳腺癌癌前疾病的诊断，能有效阻止癌前病变发展为乳腺癌^[10-11]。目前，临床诊断方法主要有触诊、X线片(包括钼靶照相)、磁共振、活检等。但以上方法仍有不足之处。为此，近年来对于乳腺癌诊断方法的研究^[12-13]不断深入，甚至进入到了分子生物学领域。肿瘤的发生发展主要有癌前病变、

原位癌、浸润癌、淋巴转移、远处播散等阶段。癌症的发生发展有其独特的分子生物学基础，正常细胞癌变后某些基因的表达出现异常，比如细胞间粘附蛋白的缺失使得癌细胞不受束缚，是其扩散的基础；而解除抑制效应的解除，使其能无限增值，从大体来看就是畸形。而肿瘤的生长最重要的基础就是血运，肿瘤在生长过程中血运异常丰富，这使得肿瘤能不断吸收来自机体的营养，从而不断生长。然而，新生血管的不断增长，势必导致相关基因的表达增强，比如：血管内皮细胞生长因子以及F1k⁻¹/KDR。对于这些生长因子的测定虽然可以为乳腺癌的诊断做出一定的参考，但是价格昂贵，操作复杂，不利于普及。并且其无法确定肿瘤的部位，只能说明机体的血管处于增殖状态。超声作为影响学检查的一种重要方法，虽然在临床开展时间不长，但近年来发展迅速，超声已经成为临床必不可少的诊断工具^[14]。超声造影是利用造影剂使后散射回声增强，明显提高超声诊断的分辨力、敏感性和特异性的技术。随着设备的升级，目前，超声造影已经可以反映和观察正常组织和病变组织的血流灌注情况，该方法不仅无创而且简单快速，如果能在在这方面有所进展，乳腺癌的诊断必定得到重大突破。为此，我院对120名患者进行研究，并取得了一定的成果。

根据以上表1结果显示，各组患者峰值强度、曲线下面积以及廓清时间经过非参数秩和检验发现，各组之间差异极其明显(Welch=200.334 Welch=412.056; Welch=528.189, P<0.001)，且各组之间经两两比较，发现除了正常

表1 各组患者灌注下造影参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	峰值强度 (db)	曲线下面积 (dB.s)	廓清时间 (s)
正常组	25	39 ± 10	364 ± 29	31.2 ± 4.5
单纯增生组	20	38 ± 12	375 ± 79	32.5 ± 4.3
非典型增生组	25	74 ± 8	682 ± 65	50.7 ± 2.5
导管内原位癌组	30	76 ± 12	698 ± 107	52.7 ± 5.2
浸润性导管癌组	20	121 ± 12	1302 ± 126	74.7 ± 3.3
F/Welch值		200.334	412.056	528.189
P值		<0.001	<0.001	<0.001

表2 各组患者超声造影血流动力学与VEGF、F1k⁻¹/KDR对比 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MVD	VEGF (分)	F1k ⁻¹ /KDR (分)
正常组	25	18 ± 5	1.2 ± 0.9	1.2 ± 0.7
单纯增生组	20	20 ± 5	1.3 ± 0.9	1.1 ± 0.7
非典型增生组	25	30 ± 4	3.5 ± 1.8	3.3 ± 1.8
导管内原位癌组	30	31 ± 8	5.8 ± 1.6	5.4 ± 1.5
浸润性导管癌组	20	53 ± 4	7.8 ± 2.6	7.5 ± 2.4
F/Welch值		368.124	26.41	23.65
P值		<0.001	<0.001	<0.001

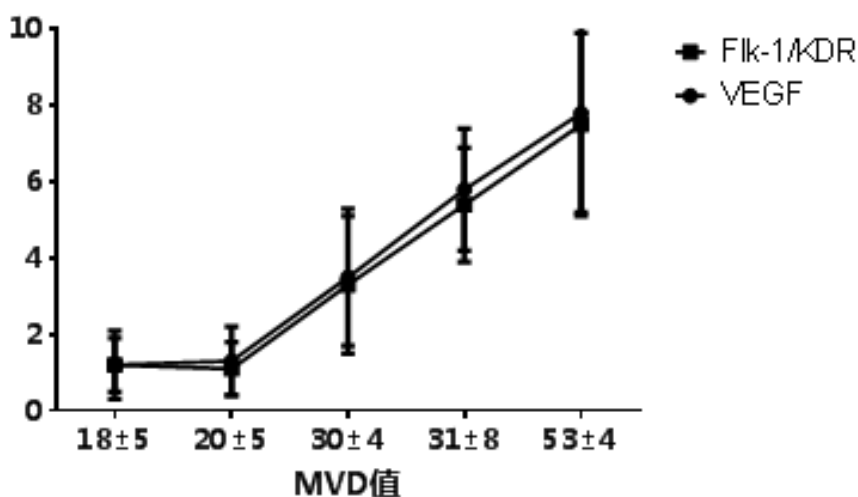


图1 不同MVD值患者的VEGF、F1k⁻¹/KDR值比较。

组、单纯增生组以及导管内原位癌组、非典型增生组之间无明显差异($P>0.05$), 其余两组之间均差异显著($P<0.05$), 具有统计学意义。此结果表明, 不同程度乳腺癌患者之间超声造影结果明显不同。表2结果显示, 经过Welch检验发现各组患者MVD差异显著(Welch=368.124, $P<0.001$), 具有统计学意义。且各组之间经两两t检验, 发现除了正常组、单纯增生组以及导管内原位癌组、非典型增生组之间无明显差异($P>0.05$), 其余两组之间均差异显著($P<0.05$)。同时, 随着患者病情的逐渐加重, 患者乳腺MVD也不断升高。此外, 各组患者VEGF、 $F1k^{-1}/KDR$ 值从正常组到浸润性导管癌组不断升高, 经过F检验发现各组患者VEGF、 $F1k^{-1}/KDR$ 差异显著($F=26.41$, $F=23.65$, $P<0.001$), 具有统计学意义。各组之间经两两t检验, 发现除了正常组、单纯增生组以及导管内原位癌组、非典型增生组之间无明显差异($P>0.05$), 其余两组之间均差异显著($P<0.05$)。图1结果显示, 随着各组患者MVD值的升高, VEGF、 $F1k^{-1}/KDR$ 值也不断增大, MVD的升高可在一定程度上反映VEGF、 $F1k^{-1}/KDR$ 的变化趋势。

综上所述, 乳腺癌发生发展

过程中伴随着心血管的形成以及VEGF、 $F1k^{-1}/KDR$ 受体的表达, 超声造影通过对血管密度的监测, 可作为VEGF、 $F1k^{-1}/KDR$ 受体的表达情况的参考。

参考文献

- [1] 孙艳娟, 米成嵘. 经静脉注射与经皮下注射超声造影剂检查乳腺癌前哨淋巴结的比较[J]. 中国超声医学杂志, 2012, 28(7): 601-604.
- [2] 黄建国, 翁高龙, 查莉等. 乳腺浸润性导管癌肝转移的超声造影特性[J]. 中国超声医学杂志, 2012, 28(5): 413-416.
- [3] 于志强, 李志旺, 韦伟等. 超声造影指导乳腺癌前哨淋巴结活检的价值[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(3): 533-535.
- [4] 张茂春, 顾鹏. 超声造影判定乳腺癌前哨淋巴结的性质[J]. 中国医学影像技术, 2012, 28(3): 516-519.
- [5] 许萍, 王怡, 汪晓虹等. 不同病理类型乳腺癌的实时灰阶超声造影研究[J]. 中国超声医学杂志, 2013, 29(3): 238-242.
- [6] 管玲, 王丽云, 段颖等. 超声造影联合超声BI-RADS分级在乳腺癌诊断中的应用[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(13): 1430-1433.
- [7] 张丹丹, 程文, 韩雪等. 经皮超声造影检测兔VX2乳腺癌前哨淋巴结的引流路径[J]. 中国超声医学杂志, 2013, 29(6): 549-552.
- [8] 黄艳丽, 司芬, 钱晓莉等. 不典型小乳腺癌超声造影征象分析[J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(5): 596-598.
- [9] 张林, 郝洁, 王立平等. 乳腺超声造

影、彩色多普勒超声及磁共振灌注成像在评估乳腺癌新辅助化疗疗效中的对比研究[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2014, 43(4): 449-452.

- [10] 王琰娟, 米成嵘, 王文等. 经皮下注射超声造影剂研究luminal A型乳腺癌前哨淋巴结的增强模式[J]. 中国超声医学杂志, 2014, 30(6): 500-502.
- [11] Cao XL, Bao W, Zhu SG, et al. Contrast-enhanced ultrasound characteristics of breast cancer: correlation with prognostic factors[J]. Ultrasound Med Biol, 2014, 40(1): 11-17.
- [12] 杨涟, 李慧, 王鸿雁, 等. 钼靶X线术前定位在触诊阴性乳腺病变定性诊断及治疗中的应用[J]. 东南大学学报(医学版), 2015, 34(1): 52-55.
- [13] Pons EP, Azcón FM, Casas MC, et al. Real-time MRI navigated US: role in diagnosis and guided biopsy of incidental breast lesions and axillary lymph nodes detected on breast MRI but not on second look US[J]. Eur J Radiol, 2014, 83(6): 942-950.
- [14] Hannick JH, Wang L, Barkan GA, et al. Positron emission tomography-avid adrenal mass and incidental renal mass in a 70-year-old woman with newly diagnosed breast cancer[J]. Urology, 2014, 83(1): 18-21.

(本文编辑: 谢婷婷)

【收稿日期】2015-06-13