

卵巢癌患者经阴道彩色多普勒超声血流参数与血管新生及肿瘤恶性程度的关系

韩建梅 葛玲 任冰 陈波

摘要 目的 探讨卵巢癌患者经阴道彩色多普勒超声血流参数与血管新生及肿瘤恶性程度的关系。方法 选取我院收治的卵巢肿瘤患者 94 例,根据病理结果分为卵巢癌患者 49 例(恶性组)和卵巢良性肿瘤患者 45 例(良性组);另选同期健康志愿者 30 例作为对照组。比较三组血流参数的变化情况,包括血管搏动指数(PI)、阻力指数(RI)、峰值流速(PSV)、舒张末期流速(EDV)及平均流速(VM);比较良性组与恶性组微血管密度(MVD)、促血管生成素-2(Ang-2)阳性表达率及血清中血管内皮生长因子(VEGF)水平,分析卵巢癌患者血流参数与 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平的关系。**结果** 与对照组比较,良性组和恶性组 PI 和 RI 均明显降低,PSV、EDV 及 VM 均显著升高,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);恶性组 PI 和 RI 明显低于良性组,EDV 和 VM 显著高于良性组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);随着病理分期的升高,恶性组 PI 和 RI 均明显降低,EDV 和 VM 均显著升高,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。恶性组 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均明显高于良性组(均 $P<0.05$);随着病理分期升高,恶性组 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均显著升高(均 $P<0.05$)。卵巢癌患者的 PI、RI 与 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均呈负相关(均 $P<0.05$),PSV、EDV 及 VM 与 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均呈正相关(均 $P<0.05$)。**结论** 卵巢癌患者经阴道彩色多普勒超声血流参数与血管新生及肿瘤恶性程度密切相关。

关键词 超声检查,多普勒,彩色,经阴道;血流参数;卵巢肿瘤,恶性;血管新生;恶性程度

[中图分类号]R737.3;R445.1

[文献标识码] A

Relationship between blood flow parameters of ovarian cancer patients by transvaginal color Doppler ultrasound and angiogenesis and tumor malignant degree

HAN Jianmei, GE Ling, REN Bing, CHEN Bo

Department of Ultrasound, Liangxiang Hospital of Fangshan District, Beijing 102401, China

ABSTRACT Objective To explore the relationship between the blood flow parameters of ovarian cancer patients by transvaginal and color Doppler ultrasound and angiogenesis and tumor malignant degree.**Methods** According to the pathological results, 94 patients with ovarian tumors in our hospital were divided into ovarian cancer patients (malignant group, $n=49$) and ovarian benign tumors patients (benign group, $n=45$), in addition, 30 patients healthy volunteers during the same period were selected as control group. The blood flow parameters, including pulsation index (PI), resistance index (RI), peak flow velocity (PSV), end-diastolic velocity (EDV) and mean velocity (VM) of three groups were compared. The microvascular density (MVD), angiogenin-2 (Ang-2) positive expression rate and serum vascular endothelial growth factor (VEGF) levels of benign and malignant group were compared. Additionally, the correlation between blood flow parameters of patients with ovarian cancer and MVD, Ang-2 positive expression and VEGF was analyzed.**Results** Compared with control group, the PI and RI in malignant and benign group were significantly decreased, while the PSV, EDV and VM were significantly increased, the differences were statistically significant (all $P<0.05$). At the same time, the PI and RI in malignant group were significantly lower than those in benign group (all $P<0.05$), while the EDV and VM were significantly higher than those in benign patients (all $P<0.05$). With the increase of pathological stage, the PI and RI in malignant group were significantly decreased, while the EDV and VM were significantly increased, the differences were statistically significant (all $P<0.05$). The MVD, Ang-2 positive expression rate and VEGF in malignant group were significantly higher than those in benign group (all $P<0.05$). With the increase of pathological

stage, MVD, Ang-2 positive expression rate and VEGF level in malignant group were significantly increased (all $P < 0.05$). The PI and RI in ovarian cancer patients were negatively correlated with MVD, Ang-2 positive expression rate and VEGF level ($P < 0.05$), while the PSV, EDV and VM were positively correlated with MVD, Ang-2 positive expression rate and VEGF level ($P < 0.05$), respectively. **Conclusion** The blood flow parameters of ovarian cancer patients by transvaginal color Doppler ultrasound are closely related to angiogenesis and tumor malignant degree.

KEY WORDS Ultrasonography, Doppler, color, transvaginal; Blood flow parameters; Ovarian tumor, malignant; Angiogenesis; Malignant degree

卵巢癌作为危害女性生殖健康的常见恶性肿瘤, 由于其发病隐匿, 早期临床症状不典型, 给临床诊断造成较大困难, 发现时多为晚期, 错过了最佳的治疗时机, 死亡率居高不下^[1]。研究^[2]证实肿瘤组织新生的血管为恶性肿瘤的转移及营养供应提供帮助, 在肿瘤的发展过程中发挥重要作用。以往临床上筛选卵巢癌的方法主要是经腹部超声检查, 但其受环境、内分泌等因素影响, 诊断准确性并不理想。经阴道彩色多普勒血流显像(transvaginal ultrasonography color Doppler flow imaging, TV-CDFI)为技术成熟的影像学检查手段, 其将普通二维超声与彩色多普勒血流参数有机结合起来, 可以提供清晰的血流图像, 通过检测血流参数为卵巢癌的诊断和治疗提供参考建议。本研究旨在探讨卵巢癌患者 TV-CDFI 血流参数与血管新生及肿瘤性质的相关性, 为临床诊断卵巢癌提供理论依据。

资料与方法

一、研究对象

选取 2015 年 3 月至 2017 年 4 月我院经病理证实的卵巢肿瘤患者 94 例, 所有患者术前均行常规超声及彩色多普勒超声检查。纳入标准: ①伴随出现阴道分泌物异常、阴道出血及腹胀痛等症状; ②均于我院进行手术, 并进行病理诊断; ③临床资料及检查报告完整, 其依从性高; 排除标准: ①合并心、肝、肾等重大脏器病变; ②其他部位同时出现恶性肿瘤; ③精神意识障碍患者; ④病情严重者。

根据病理组织切片结果分为卵巢癌 49 例(恶性组), 年龄 29~76 岁, 平均(48.23±5.07)岁; 体质指数 19.04~23.82 kg/m², 平均(21.69±1.73)kg/m²; 参考 2000 年国际妇产科联盟(FIGO)分期标准^[3], I 期 13 例, II 期 12 例, III 期 12 例, IV 期 12 例。卵巢良性肿瘤 45 例(良性组), 年龄 28~76 岁, 平均(48.19±5.13)岁; 体质指数 19.09~23.56 kg/m², 平均(21.33±1.68)kg/m²。另选取同期于我院进行体检的健康志愿者 30 例作为对照组, 年龄 27~77 岁, 平均(48.37±5.02)岁; 体质指数 19.14~23.86 kg/m², 平均(21.06±1.51)kg/m²。各组年龄和体质指数比较差异均无统计学意义。本研究经我院医学

伦理委员会批准, 受检者均签署知情同意书。

二、仪器与方法

1. TV-CDFI 检测: 使用 GE Voluson E10 彩色多普勒超声诊断仪, IC-5-9-D 探头, 频率 6.0~7.5 MHz。检查前受试者排空膀胱, 取截石位, 将探头置入阴道内, 首先使用二维超声观察肿瘤的位置、大小、形态及回声等情况, 然后启用 CDFI 模式, 待血流频谱图像稳定后, 测定相关血流参数, 包括: 动脉血管搏动指数(pulsation index, PI)、阻力指数(resistance index, RI)、峰值流速(peak systolic velocity, PSV)、舒张末期流速(end-diastolic velocity, EDV)及平均流速(mean velocity, VM)。所有参数连续测定 3 个稳定周期, 取平均值。比较三组各超声血流参数的差异。

2. 微血管密度(microvascular density, MVD)检测: 取患者手术切除的肿瘤组织, 常规切片, 采用免疫组织化学 SP 染色法进行染色, 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司, 染色指标为鼠抗人 CD34 单克隆抗体, 购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 严格按照说明书严格操作。应用 Weidener 法计数: 首先在低倍镜(×100)下找到微血管分布最多的区域作为“热点区”, 然后转换高倍镜(×400)观察, 每个“热点区”选择 5 个独立视野, 计算被 CD34 标记且血管内皮细胞呈棕黄色的微血管条数, 求平均值, 得到 MVD。微血管的评价标准^[4]为单个内皮细胞独立存在, 并且游离于附近的血管, 或者单独存在形成内皮细胞簇作为微血管的计数单位, 排除血管腔过大(直径超过 8 个红细胞之和, 或具备明显肌层的血管)。

3. 促血管生成素-2(Angiogenesis-2, Ang-2)阳性表达率检测: 取患者手术后切除的肿瘤组织, 使用 10% 甲醛溶液固定 24 h 后, 修复好的石蜡组织, 连续切片, 常规脱蜡。采用免疫组化 SP 法检测 Ang-2 阳性表达率, 按照染色的程度及染色细胞占比评估 Ang-2 阳性表达情况^[5]。

4. 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平检测: 卵巢肿瘤患者在入组当天抽取肘静脉血, 采用酶联免疫吸附测定法检测血清中 VEGF 水平, 试剂盒购自南京建成生物工程研究所, 严

格按照说明书进行操作。

三、统计学处理

应用 SPSS 19.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组比较行独立样本 t 检验, 多组比较采用单因素方差分析; 计数资料以率表示, 行 χ^2 检验; 相关性分析采用 Pearson 相关性分析法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、各组超声血流参数比较

各组间各血流参数比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。与对照组比较, 良性组和恶性组 PI 和 RI 明显降低, PSV、EDV 及 VM 均显著升高; 恶性组 PI 和 RI 均明显低于良性组, EDV 和 VM 均显著高于良性组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组超声血流参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	PI	RI	PSV(cm/s)	EDV(cm/s)	VM(cm/s)
对照组(30)	1.86±0.52	0.98±0.35	15.26±3.18	6.25±1.75	5.24±1.98
良性组(45)	1.39±0.37*	0.75±0.29*	24.68±5.81*	10.98±2.69*	13.36±3.51*
恶性组(49)	0.81±0.25**	0.42±0.14**	25.16±5.97*	15.64±3.27**	17.12±4.21**
F 值	76.972	46.001	36.967	110.094	107.624
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与良性组比较, ** $P < 0.05$ 。PI: 血管搏动指数; RI: 阻力指数; PSV: 峰值流速; EDV: 舒张末期流速; VM: 平均流速。

二、恶性组不同病理分期患者超声血流参数比较

恶性组不同病理分期的患者各血流参数比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。随着病理分期的增高, PI 和 RI 明显降低, EDV 和 VM 显著升高, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 恶性组不同病理分期患者超声血流参数比较($\bar{x} \pm s$)

分期	PI	RI	PSV(cm/s)	EDV(cm/s)	VM(cm/s)
I 期(13)	1.12±0.26	0.61±0.23	24.71±4.62	11.53±2.51	14.57±3.65
II 期(12)	0.82±0.19 [#]	0.42±0.18 [#]	25.13±4.79	14.62±2.83 [#]	16.68±3.92 [#]
III 期(12)	0.71±0.15 [#]	0.38±0.14 [#]	26.35±5.02	17.41±3.06 [#]	18.12±4.06 [#]
IV 期(12)	0.56±0.16 ^{#&}	0.25±0.12 ^{#&}	28.05±5.17	19.35±3.71 [#]	19.39±4.58 [#]
F 值	18.307	9.177	1.147	15.601	3.253
P 值	0.000	0.000	0.340	0.000	0.030

与 I 期比较, [#] $P < 0.05$; 与 II 期比较, [#] $P < 0.05$; 与 III 期比较, [#] $P < 0.05$ 。PI: 血管搏动指数; RI: 阻力指数; PSV: 峰值流速; EDV: 舒张末期流速; VM: 平均流速。

三、良性组与恶性组 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平比较

恶性组 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均明显高于良性组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 3。

表 3 良性组与恶性组 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平比较

组别	MVD(个/400×)	Ang-2 阳性表达率(%)	VEGF(ng/ml)
良性组(45)	16.51±5.17	15.56	105.62±15.69
恶性组(49)	42.38±9.23	73.47	326.18±29.37
$t\chi^2$ 值	16.562	31.700	44.831
P 值	0.000	0.000	0.000

MVD: 微血管密度; Ang-2: 促血管生成素-2; VEGF: 血管内皮生长因子。

四、恶性组不同病理分期患者 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平比较

病理分期越高, 恶性组 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均显著升高, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 4。

表 4 恶性组不同病理分期患者 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平比较

病理分期	MVD(个/400×)	Ang-2 阳性表达率(%)	VEGF(ng/ml)
I 期(13)	22.08±6.21	46.15	258.62±20.61
II 期(12)	29.86±7.35 [#]	75.00 [#]	298.83±22.54 [#]
III 期(12)	40.15±8.06 [#]	76.92 [#]	368.25±32.09 [#]
IV 期(12)	79.12±9.69 ^{#&}	91.67 ^{#&}	384.65±39.17 ^{#&}
$F\chi^2$ 值	125.669	6.377	50.363
P 值	0.000	0.041	0.000

与 I 期比较, [#] $P < 0.05$; 与 II 期比较, [#] $P < 0.05$; 与 III 期比较, [#] $P < 0.05$ 。MVD: 微血管密度; Ang-2: 促血管生成素-2; VEGF: 血管内皮生长因子。

五、卵巢癌患者血流参数与 MVD、Ang-2 阳性表达及 VEGF 的相关性

卵巢癌患者的 PI 和 RI 与 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均呈负相关(均 $P < 0.05$), PSV、EDV 及 VM 与 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均呈正相关(均 $P < 0.05$)。见表 5。

表 5 卵巢癌患者血流参数与 MVD、Ang-2 阳性表达及 VEGF 的相关性

血流参数	MVD		Ang-2 阳性表达率		VEGF	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
PI	-0.691	0.039	-0.722	0.028	-0.708	0.033
RI	-0.703	0.035	-0.687	0.041	-0.717	0.030
PSV	0.698	0.037	0.714	0.031	0.702	0.035
EDV	0.721	0.028	0.705	0.034	0.695	0.038
VM	0.681	0.043	0.726	0.027	0.685	0.042

PI: 血管搏动指数; RI: 阻力指数; PSV: 峰值流速; EDV: 舒张末期流速; VM: 平均流速; MVD: 微血管密度; Ang-2: 促血管生成素-2; VEGF: 血管内皮生长因子。

讨 论

目前临床上诊断卵巢肿瘤的影像学方法有 MRI、超声等,其中超声检查操作简便、经济、无创伤性,在临床应用越来越广泛。相对于传统的经腹部超声,TV-CDFI 检查方式靠近卵巢,避免了腹部脂肪组织和肠道气体对图像的干扰,提高图像的清晰度和分辨率,从而对病情进行准确的评估。通过超声评估卵巢组织供血情况为卵巢癌的诊断提供依据,不同类型的肿瘤组织血管组成和血供各具特点^[6]。本研究旨在探讨卵巢癌患者 TV-CDFI 血流参数与血管新生及肿瘤恶性程度的关系。

恶性肿瘤的血流参数呈高流速和低阻力的特征,彩色多普勒超声通常采用 PI 和 RI 作为诊断恶性肿瘤的参考标准,预测血流频谱,用于反映血流阻力^[7],同时 PSV、EDV 及 VM 作为辅助参考标准,在诊断恶性肿瘤方面起着重要作用^[5]。本研究对三组受试者的血流参数进行比较,结果发现,与对照组比较,恶性组和良性组 PI 和 RI 均明显降低,而 PSV、EDV 及 VM 均显著升高,同时恶性组 PI 和 RI 明显低于良性组,EDV 和 VM 显著高于良性组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),说明肿瘤组织的血流参数呈低阻力和高流速的特点,与刘艳丽等^[8]研究结果一致。本研究中,随着病理分期的增高,恶性组 PI 和 RI 均明显降低,而 EDV 和 VM 均显著升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),证实卵巢癌患者的血流参数与病理分期密切相关。PI 和 RI 随着卵巢癌病理分期的升高而下降,提示血流阻力下降可用于反映早期卵巢癌病变的可能性,因为卵巢癌发生和发展过程中,肿瘤组织处于高代谢状态,肿瘤细胞的增殖、分化及生长过程均需要大量的新生血管生成,导致血管阻力下降和血流灌注的增加^[9]。

MVD 是衡量和评价卵巢癌新生血管情况的金标准,FIGO 分期越低,MVD 越高,表明大量的新生血管,为肿瘤组织的生长发育提供营养物质,也为肿瘤细胞的转移提供路径^[2]。MVD 的检测需要手术切除肿瘤组织,然后通过免疫组化染色进行评估,因此早期肿瘤组织无法通过 MVD 评估血供情况,需要超声进行无创性检查。Ang-2 作为特异性血管生成刺激因子,其破坏血管的完整性,影响细胞间的连接,促进肿瘤血管的生成,并且可以与 VEGF 协同发挥作用,可以反映早期恶性肿瘤的状态^[5]。VEGF 是促进血管新生的细胞因子,与新生血管的情况密切相关,通过与膜上相应的受体

结合加速内皮细胞增殖及血管新生,另外扩张血管,增加肿瘤组织的供应^[1]。本研究恶性组患者 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均明显高于良性组(均 $P < 0.05$),表明恶性肿瘤患者出现大量的新生血管。同时随着病理分期越严重,恶性组患者 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均显著升高(均 $P < 0.05$),提示卵巢癌患者病理分期越严重,新生血管的数量越多,上述结果与 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平的生物学功能联系紧密。

本研究还对卵巢癌患者的超声血流参数与 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平进行了相关性分析,结果表明,卵巢癌患者的 PI 和 RI 与 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均呈负相关(均 $P < 0.05$),PSV、EDV 及 VM 与 MVD、Ang-2 阳性表达率及 VEGF 水平均呈正相关(均 $P < 0.05$),进一步说明卵巢癌患者的血流参数与血管新生及恶性程度密切相关。

综上所述,卵巢癌患者 TV-CDFI 血流参数特点呈现低阻力和高流速的特点,与血管新生及肿瘤恶性程度密切相关,可为临床诊断和评估卵巢癌病情提供参考,具有重要的临床价值。

参考文献

- [1] 胥琳璟,刘国江,欧丽红,等.卵巢癌患者经阴道彩色多普勒血流特征分析及对肿瘤恶性程度的评估价值[J].海南医学院学报,2016,22(5):503-505,508.
- [2] 张洁.抗血管生成药物联合化疗在复发性卵巢癌治疗中的研究进展[J].国际妇产科学杂志,2016,43(1):70-74.
- [3] Kornblith AB, Huang HQ, Walker JL, et al. Quality of life of patients with endometrial cancer undergoing laparoscopic international federation of gynecology and obstetrics staging compared with laparotomy: a Gynecologic Oncology Group study[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(32):5337-5342.
- [4] 张芳,张周龙.超声检查联合肿瘤标志物检测对卵巢良恶性肿瘤诊断意义研究[J].中国妇幼保健,2015,30(31):5482-5485.
- [5] 王娟娟,于冰.卵巢肿瘤彩超血流指标与微血管密度及促血管生成素的相关性[J].中国临床医学影像杂志,2015,26(10):728-731.
- [6] 齐进利,马兴艳.彩色多普勒超声对卵巢肿瘤血流参数与微血管密度相关性的评估价值[J].实用癌症杂志,2017,32(6):933-935.
- [7] 郑明阳,王莉.多普勒超声阻力指数联合肿瘤标志物对卵巢癌的诊断价值[J].中国医学创新,2015,12(2):27-29.
- [8] 刘艳丽,刘淑霞,顾彩珑,等.彩色多普勒超声预测卵巢肿瘤良恶性的前瞻性研究[J].社区医学杂志,2015,13(17):37-39.
- [9] Astorgues-Xerri L, Riveiro ME, Tijeras-Raballand A, et al. OTX008, a selective small-molecule inhibitor of galectin-1, downregulates cancer cell proliferation, invasion and tumour angiogenesis[J]. Eur J Cancer, 2014, 50(14):2463-2477.

(收稿日期:2017-10-22)