

甲状腺乳头状癌超声造影定量参数与微血管密度的相关性

陈萍 唐春霖 陈凯旋 谭鹰 林勇 吴峰 陈小情 郭燕丽

摘要 **目的** 探讨甲状腺乳头状癌(PTC)超声造影特征与微血管密度(MVD)的相关性。**方法** 回顾性分析于我院超声科行甲状腺超声造影检查的甲状腺结节患者61例(共61个结节),分析其超声造影增强特征,并与其手术病理结果对照。应用CD31免疫组化法计数PTC结节的微血管密度(MVD),采用Pearson法分析超声造影定量参数与MVD的相关性。**结果** 超声造影显示55个结节呈不均匀低增强,其诊断准确率为90.1%。PTC超声造影时间-强度曲线的峰值强度(PI)及曲线下面积(AUC)分别为(14.47±6.42)dB、(603.1±222.80)dB·s,低于周围正常甲状腺实质的(21.06±5.65)dB、(1025.43±260.37)dB·s,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。CD31免疫组化染色计数PTC结节的平均MVD值为(64.99±17.51)条/HP,低于周边正常甲状腺组织的(91.71±7.54)条/HP,差异有统计学意义($P<0.05$)。相关性分析显示,PI、AUC与MVD均呈正相关($r=0.811, 0.734$,均 $P<0.001$)。**结论** 超声造影定量参数可以反映PTC的微血管,为临床评估PTC的MVD提供了一种无创性术前检测方法。

关键词 超声检查;造影剂;峰值强度;微血管密度;甲状腺乳头状癌

[中图法分类号]R445.1;R736.1

[文献标识码]A

Correlation between contrast-enhanced ultrasound quantitative parameters and microvascular density in papillary thyroid carcinoma

CHEN Ping, TANG Chunlin, CHEN Kaixuan, TAN Ying, LIN Yong, WU Feng, CHEN Xiaoqing, GUO Yanli
Department of Ultrasound, the First Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400038, China

ABSTRACT Objective To investigate the correlation between the characteristics of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) and microvascular density (MVD) in papillary thyroid carcinoma (PTC). **Methods** Sixty-one patients with thyroid nodules (61 nodules) who underwent thyroid CEUS examination in the ultrasound department of our hospital were retrospective analyzed. The enhanced features of CEUS were analyzed and the surgical pathological results were compared. MVD of PTC nodule was counted by CD31 immunohistochemistry. Pearson method was used to analyze the correlation between CEUS quantitative parameters and MVD. **Results** CEUS indicated that 55 nodules were heterogeneous and low enhancement pattern. The accuracy of CEUS in diagnosing PTC was 90.1%. The peak intensity and area under the curve of time intensity curve, in 55 nodules were (14.47±6.42)dB and (603.1±222.80)dB·s, respectively, which were lower than those of (21.06±5.65)dB and (1025.43±260.37)dB·s in the surrounding normal thyroid tissues, and differences were statistically significant (both $P<0.05$). The mean MVD of CD31 immunohistochemical staining PTC nodules was (64.99±17.51)twigs/HP, which was lower than that of (91.71±7.54) twigs/HP in surrounding normal thyroid tissue, and the differences was statistically significant ($P<0.05$). The significantly positive correlation were observed between PI, AUC and MVD in PTC ($r=0.811, 0.734$, both $P<0.001$). **Conclusion** CEUS quantitative parameters can reflect the microvessels of PTC. This study provides a non-invasive preoperative detection method for clinical evaluation of MVD of PTC.

KEY WORDS Ultrasonography; Contrast agent; Peak intensity; Microvascular density; Papillary thyroid carcinoma

基金项目:国家国际科技合作专项项目(2015DFA30920);重庆市科技研发基地建设计划(国际科技合作)项目(cstc2014gjh110004)
作者单位:400038 重庆市,陆军军医大学第一附属医院超声科(陈萍、唐春霖、陈凯旋、谭鹰、郭燕丽),病理科(林勇、吴峰、陈小情)
通讯作者:郭燕丽, Email: guoyanli71@aliyun.com

近年甲状腺乳头状癌(PTC)的发病率有所上升^[1],约占甲状腺恶性肿瘤的70%~80%^[2],虽然PTC预后良好,但其具有侵袭性,如甲状腺外侵犯、远处转移、局部淋巴结转移和局部复发等。目前高频超声是检查甲状腺的首选方法,其可以有效评估甲状腺结节,但隐匿性PTC缺乏特殊的超声表现。超声造影是超声成像的重要进展之一,第二代微泡造影剂如SonoVue[®],作为信号增强剂,使脏器实质灌注和微循环实现可视化^[3]。微血管密度(MVD)是衡量肿瘤血管生成的重要指标,被认为是血管量化的参考标准^[4],然而使用手术和活检标本进行计数MVD有创,因此建立一种可重复使用、无创评估肿瘤血管的检测手段非常重要。本研究旨在探讨PTC的超声造影定量参数与MVD的相关性。

资料与方法

一、临床资料

选取于2016年8月~2018年9月我院超声科行超声造影检查,并行手术切除获得病理结果的PTC结节患者61例(共61个结节),男24例,女37例,年龄10~79岁,平均(41.2±7.6)岁。结节直径0.5~3.3 cm,平均(1.7±0.9)cm。入选标准:①0.5 cm<结节直径<4.0 cm;②单发实性结节;③病理类型为PTC。排除标准:①蛋壳样钙化或纯钙化的结节;②不愿意签署超声造影知情同意书;③既往曾行甲状腺手术;④妊娠患者。本研究经我院医学伦理委员会批准,入选者均知情同意。

二、仪器与方法

1. 仪器与试剂:使用迈瑞 Resona 7 彩色多普勒超声诊断仪, L11-3U 线阵探头, 频率 5~9 MHz; 机械指数 0.04~0.06。造影剂为 SonoVue (意大利博莱科公司), 使用前注入 5.0 ml 0.9% 无菌生理盐水溶解造影剂白色冻干粉, 反复摇匀, 配制成乳白色微泡造影剂混悬液。

2. 检查方法:受检者取仰卧位, 首行二维超声评估甲状腺结节的情况, 选取感兴趣结节最佳成像切面。切换至超声造影模式, 经肘部静脉团注 1.5~2.0 ml 配制好的造影剂混悬液, 开启计时, 同时注入 3.0~5.0 ml 0.9% 无菌生理盐水冲管, 启动录像按键, 录制超声造影动态影像过程不少于 120 s。

3. 超声造影观察指标及定量分析:进入软件对动态图像进行离线分析, 以不均匀低增强模式作为 PTC 的诊断标准; 选择感兴趣区 (ROI), 避开结节内的粗大钙化, 在结节和周围甲状腺

实质分别绘制 3 个 ROI, 取平均值, 获得两条时间-强度曲线 (TIC) 和两组定量参数值, 包括 4 个指标:造影剂开始增强时间 (AT)、峰值时间 (TTP)、峰值强度 (PI)、曲线下面积 (AUC)。

4. CD31 免疫组化染色及 MVD 检测:采用鼠抗人 CD31 单克隆抗体 (福州迈新生物技术开发有限公司), 按常规方法进行染色, 标记血管内皮细胞。参照 Weidner^[5] 的计数方法, 在光学显微镜下, 由我院经验丰富的病理学专家 (双盲) 测定 MVD。首先在 40 倍光镜下寻找切片的“热点”区域, 即 5 个 MVD 最高的区域, 然后在 400 倍光镜下记录血管数, 取 5 个微血管平均数为肿瘤的 MVD。

三、统计学处理

应用 SPSS 22.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较行 *t* 检验; 超声造影各参数与病理 MVD 的相关性分析采用 Pearson 直线相关法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、PTC 的超声特征及 TIC 定量分析结果

61 个结节常规超声表现: 58 个结节为低回声 (图 1A), 3 个结节为等回声; 57 个结节边界模糊; 41 个结节伴钙化; 48 个结节纵横比 > 1 ; 55 个结节 CDFI 示血流信号不丰富。

61 个结节均行手术切除, 并经病理证实, 超声造影显示 55 个 (90.1%) 结节呈不均匀低增强 (图 1B), 3 个结节呈高增强或环状增强, 3 个结节呈等增强, 超声造影诊断 PTC 的准确率为 90.1%。

TIC 定量分析显示, PTC 峰值向后移, 曲线低平, 上升段和下降段平缓, 造影剂呈慢慢退模式 (图 1C、D)。PTC 的 PI 和 AUC 分别为 (14.47 ± 6.42) dB、 (603.1 ± 222.80) dB·s, 低于周围正常甲状腺组织的 (21.06 ± 5.65) dB、 (1025.43 ± 260.37) dB·s, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$); TTP、AT 比较差异均无统计学意义。见表 1。

二、PTC 结节与周围正常甲状腺实质的 MVD 比较

PTC 结节 MVD 计数平均值为 (64.99 ± 17.51) 条/HP, 周围正常甲状腺实质 MVD 计数平均值为 (91.71 ± 7.54) 条/HP, 两者比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2。

三、超声造影定量参数与 MVD 的相关性分析

PI、AUC 与 MVD 均呈显著正相关 ($r = 0.811, 0.734$, 均 $P < 0.001$), AT、TTP 与 MVD 无相关性, 见图 3、4。

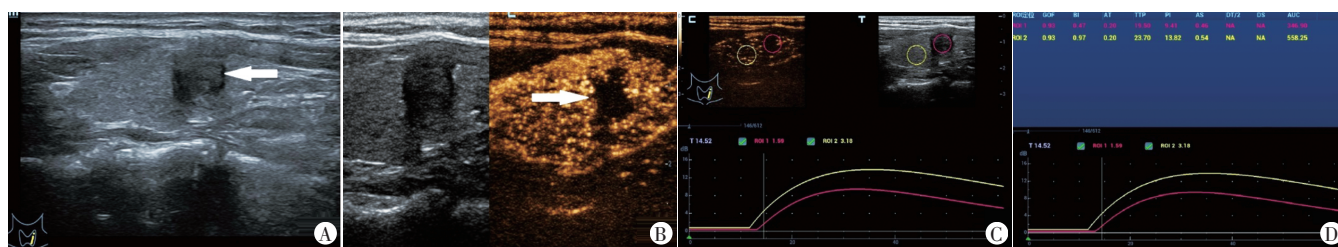


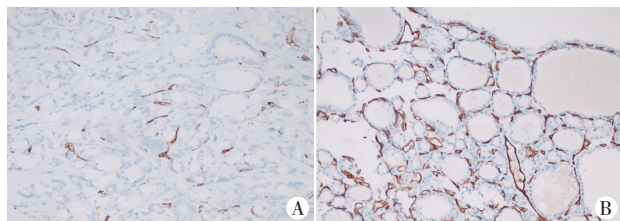
图 1 PTC 结节超声图像及 TIC 定量分析图

图 1 PTC 结节超声图像及 TIC 定量分析图

表1 PTC结节与周围正常甲状腺实质的超声造影定量参数和MVD比较($\bar{x}\pm s$)

部位	超声造影参数				MVD(条/HP)
	AT(s)	TTP(s)	PI(dB)	AUC(dB·s)	
PTC结节(61)	1.87±1.21	17.38±7.73	14.47±6.42	603.1±222.80	64.99±17.51
周围正常实质(61)	2.23±2.29	13.87±4.53	21.06±5.65	1025.43±260.37	91.71±7.54
P值	0.935	0.825	0.008	0.003	0.016

AT:开始增强时间;TTP:峰值时间;PT:峰值强度;AUC:曲线下面积;MVD:微血管密度



A: PTC 结节 MVD 为 61.2 条/HP; B: 周围正常甲状腺实质 MVD 为 89.5 条/HP

图2 PTC 结节与周围正常甲状腺实质病理图(HE 染色, ×400)

讨 论

肿瘤生长和转移依赖于血管生成, MVD是反映血管生成活性和强度的标志^[6]。然而, 通过活检来计数肿瘤的MVD有创, 且由于肿瘤的异质性, 活检部位不能充分反映整个肿瘤的微血管系统, 无法对微血管循环进行动态监测。

超声造影是无创性成像方式, 是检测脏器病变有效的、独特的筛查工具, 可连续、动态观察肿瘤血管灌注情况, 有助于肿瘤的形态学分析、微循环和血流动力学的评估^[7]。本研究将超声造影应用于PTC结节, 分析其造影特征及TIC定量参数, 结果显示, PTC结节的AUC和PI均较周围甲状腺实质低, 差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。另外, 本研究免疫组化染色结果显示, PTC的MVD较周围甲状腺实质低; 相关性分析提示AUC和PI均与病理MVD呈显著正相关($r=0.734, 0.811$, 均 $P<0.05$)。关于超声造影对肿瘤血管生成评估的研究很多, Guo等^[8]证实超声造影参数可以反映膀胱尿路上皮肿瘤的MVD, 有助于评估肿瘤血管生成情况。Li等^[9]研究发现乳腺癌患者的ITP、DS、PI、AUC等参数与病理MVD显著相关, 根据灌注特征可以评价乳腺良恶性病变。本研究结果显示, PTC的MVD可以通过超声造影来评估, 这为超声造影检测PTC提供了有价值的依据和一定的病理学基础, 与文献^[10]报道一致。

本研究也存在不足之处: 超声造影仅能从病灶部位选择一个特定的切面来评估增强模式和参数, 不可能完全观察病灶; 入选病例由已经选择手术的患者组成, 因此选择偏倚不可避免; 本研究样本量小, 需要更多病例进行多中心研究来验证。

综上所述, 应用超声造影定量分析技术可以间接反映PTC的MVD, 能够客观反映PTC的基本病理特征, 可作为PTC术前评估的补充检查, 对PTC的诊断、治疗有指导意义。

参 考 文 献

[1] Li F, Wang Y, Bai B, et al. Advantages of routine ultrasound

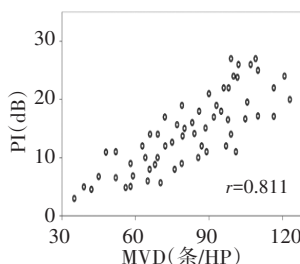


图3 PI与MVD的相关性散点图

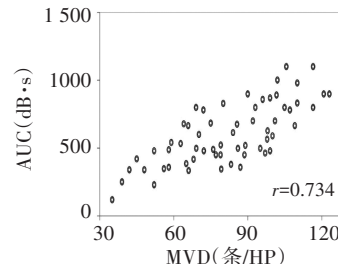


图4 AUC与MVD的相关性分析散点图

combined with contrast-enhanced ultrasound in diagnosing papillary thyroid carcinoma[J].Ultrasound Q, 2017, 33(3): 213-218.

[2] Asioli S, Erickson LA, Sebo TJ, et al. Papillary thyroid carcinoma with prominent hobnail features: a new aggressive variant of moderately differentiated papillary carcinoma. A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of eight cases [J]. Am J Surg Pathol, 2010, 34(1): 44-52.

[3] Beekers I, van Rooij T, van der Steen AFW, et al. Acoustic characterization of the CLINIcell for ultrasound contrast agent studies [J]. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control, 2019, 66(1): 244-246.

[4] Lan J, Li J, Ju X, et al. Relationship between microvessel density and cancer stem cells in tumor angiogenesis: a meta-analysis [J]. Biomark Med, 2016, 10(8): 919-932.

[5] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors [J]. Breast Cancer Res Treat, 1995, 36(2): 169-180.

[6] Zhuang H, Yang ZG, Chen HJ, et al. Time-intensity curve parameters in colorectal tumours measured using double contrast-enhanced ultrasound: correlations with tumour angiogenesis [J]. Colorectal Dis, 2012, 14(2): 181-187.

[7] Forsberg F, Ro RJ, Liu JB, et al. Monitoring angiogenesis in human melanoma xenograft model using contrast-enhanced ultrasound imaging [J]. Ultrason Imaging, 2008, 30(4): 237-246.

[8] Guo S, Xu P, Zhou A, et al. Contrast-enhanced ultrasound differentiation between low- and high-grade bladder urothelial carcinoma and correlation with tumor microvessel density [J]. J Ultrasound Med, 2017, 36(11): 2287-2297.

[9] Li X, Li Y, Zhu Y, et al. Association between enhancement patterns and parameters of contrast-enhanced ultrasound and microvessel distribution in breast cancer [J]. Oncol Lett, 2018, 15(4): 5643-5649.

[10] Jiang J, Shang X, Zhang H, et al. Correlation between maximum intensity and microvessel density for differentiation of malignant from benign thyroid nodules on contrast-enhanced sonography [J]. J Ultrasound Med, 2014, 33(7): 1257-1263.

(收稿日期: 2019-06-16)