

✧头颈部影像学

CEUS in evaluating invasiveness of papillary thyroid carcinoma and relationship with pathological microvessel density

ZHOU Yi, LIANG Lei, MENG Xiaoxuan, LU Yiyan, GUO Jun*

(Department of Ultrasound, Aero Space Central Hospital, Beijing 100049, China)

[Abstract] **Objective** To explore the value of CEUS in evaluating invasiveness of papillary thyroid carcinoma (PTC) and the relationship with pathological microvessel density (MVD). **Methods** CEUS characteristics of 52 patients with PTC confirmed by surgical pathology were analyzed. MVD was counted in the postoperative pathological sections, and the relationship between MVD and CEUS features was analyzed. **Results** The peripheral MVD of PTC was higher than that in the central PTC ($t=0.024$, $P=0.041$), and peripheral MVD in patients with cervical lymph node metastasis were higher than that of non-metastatic patients ($P=0.039$). The time-intensity curve AUC of the peripheral area of the nodules was positively correlated with MVD count of the peripheral areas of the nodules and the total nodules ($r=0.45$, 0.41 , both $P<0.05$). **Conclusion** CEUS characteristics of papillary thyroid carcinoma are correlated with MVD. CEUS quantitative analysis technique has certain value of evaluating the invasiveness PTC.

[Keywords] thyroid neoplasms; ultrasonography; contrast media; microvessel density

DOI:10.13929/j.1003-3289.201812036

实时 CEUS 评估甲状腺乳头状癌侵袭性及其与病理微血管密度的关系

周易, 梁 蕾, 孟晓暄, 卢一艳, 郭 君*

(北京大学航天临床医学院 航天中心医院超声科, 北京 100049)

[摘要] **目的** 探讨 CEUS 评估甲状腺乳头状癌(PTC)侵袭性的价值及其与病理微血管密度(MVD)的关系。**方法** 分析 52 例经手术病理证实的 PTC 的 CEUS 特征,并对术后病理切片进行 MVD 计数,分析 MVD 计数与 CEUS 特征的关系。**结果** PTC 结节周边区计数高于中心区($t=0.024$, $P=0.041$),同时有颈部淋巴结转移 PTC 患者结节周边区 MVD 计数高于无颈部淋巴结转移的 PTC 患者($P=0.039$)。PTC 结节周边区时间-强度曲线 AUC 与结节周边区、结节总体 MVD 计数呈正相关($r=0.45$ 、 0.41 , P 均 <0.05)。**结论** PTC 的 CEUS 表现差异与病理 MVD 计数相关;CEUS 定量分析对评估 PTC 侵袭性具有重要价值。

[关键词] 甲状腺肿瘤;超声检查;造影剂;微血管密度

[中图分类号] R653; R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2019)07-0993-04

甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)是最常见的甲状腺恶性肿瘤^[1]。目前超声是评估甲状腺肿瘤的首选影像学方法,能够全面评价甲状腺结节的位置、大小、形态和性质,且实时 CEUS 还能

[基金项目] 航天中心医院科研立项(YN201610)。

[第一作者] 周易(1993—),女,四川广安人,硕士,医师。研究方向:超声造影。E-mail: yiyizhou1993@163.com

[通信作者] 郭君,北京大学航天临床医学院 航天中心医院超声科,100049。E-mail: guojun0316@sohu.com

[收稿日期] 2018-12-06 **[修回日期]** 2019-05-13

进一步反映肿瘤微循环灌注情况。病理微血管密度 (microvessel density, MVD) 是常用的量化及预测肿瘤血管生成的指标^[2]。本研究探讨 PTC 的 CEUS 特征及其与病理 MVD 的关系, 旨在为评估 PTC 的侵袭性提供影像学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1—12 月在我院接受诊治并经病理证实的 52 例 PTC 患者, 男 17 例, 女 35 例, 年龄 19~84 岁, 平均 (42.7±12.9) 岁。所有患者均接受手术切除+颈部淋巴结清扫, 并根据病理检查淋巴结结果分为转移组 (n=28) 和未转移组 (n=24)。

1.2 仪器与方法

1.2.1 超声检查 采用 Philips iU22 彩色超声诊断仪, L9-3 探头, 频率 3~9 MHz。嘱患者仰卧, 充分暴露颈部。首先行二维超声检查, 观察甲状腺结节的位置、大小、形态、边界、纵横比、内部回声、后方回声、有无钙化及与被膜接触程度等; 对可疑恶性结节行 CEUS, 选择脉冲反相谐波造影条件, 机械指数 0.07, 造影剂采用声诺维, 剂量 2.4 ml, 经肘静脉团注, 随后注入 5 ml 生理盐水。嘱患者在注入造影剂后保持体位, 不移动、不说话、勿吞咽; 在注射造影剂的同时启动图像采集, 选择病灶最大纵切面, 观察甲状腺病灶在 160 s 内的回声变化。

1.2.2 实时 CEUS 定量分析 采用 QLAB 定量分析软件对甲状腺 ROI 进行动态分析, 分别在结节中心区与周边区放置取样框, 以结节最大径的内 1/2 类圆形区域为结节中心区, 剩余环形区域为结节周边区, 然后描记结节轮廓; 如结节与周围正常组织分界不清或结节呈分叶状, 则以分界清楚部分确定最大径, 或包括分叶在内选定最大径。软件自动获得甲状腺病变各部分血流灌注时间-强度曲线及定量参数, 包括达峰时间 (time to peak, TTP)、峰值强度 (peak intensity, PI)、AUC 以及拟合曲线上支斜率和下降支斜率。

1.2.3 MVD 计数方法 手术切除标本均以 10% 甲醛溶液固定, 常规处理后石蜡包埋, 厚度 4 μm 连续切片, 600℃烘烤过夜, 并分别进行 HE 和免疫组织化学染色。采用 EnVision 两步法进行 CD34 免疫组织化学染色。

本研究在 Weidner 计数方法的基础上, 采用 Tissue FAXS PLUS (Tissue Gnostics GmbH) 全景组织细胞定量分析系统进行甲状腺 CD34 免疫组织化学切片图像采集和病灶内 MVD 分析。以 Tissue FAXS 软件自动识别组织区域, 利用 20 倍物镜对全玻片免疫

组织化学图像进行多视野 (单视野面积 0.23 mm²) 自动成像和图像自动无缝拼接, 最终获取 200 倍组织全景图及细胞解析度图像; 然后利用 Strata Quest (Tissue Gnostics GmbH) 软件对结节中心和周边区域 (选择方法同上) MVD 进行分析, 获得 MVD 计数。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 18.0 统计分析软件。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 对转移组与未转移组间、结节中心与结节周边采用 *t* 检验比较。采用 Pearson 相关分析评价病理 MVD 与 CEUS 指标的相关性。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PTC 中 CD34 的表达 PTC 中, 多数 CD34 阳性血管内皮细胞位于乳头的纤维血管轴心, 呈节段性分布, 滤泡亚型 PTC 常见微血管位于滤泡之间的间质中; 肿瘤内坏死纤维区域多无阳性血管内皮细胞, 纤维结缔组织呈非特异性着色, 与背景分界不清; 肿瘤周边血管分布较密集, 部分癌巢呈浸润性生长, 与周围正常甲状腺组织分界不清, 也可呈非特异性着色 (图 1、2)。

2.2 MVD 比较 52 例 PTC 中 MVD 分布不均, 结节总体 MDV 计数平均值为 (276.81±95.49) 个/mm², 结节周边区 MVD 计数平均值 [(296.94±107.72) 个/mm²] 高于中心区平均值 [(256.68±92.08) 个/mm²], 差异有统计学意义 (*t*=0.024, *P*=0.041)。转移组结节周边 MVD 计数高于未转移组 (*P*=0.039), 2 组结节中心区 MVD 计数差异无统计学意义 (*P*=0.200), 见表 1。

表 1 转移组与未转移组 PTC 患者 MVD 计数比较 (个/mm², $\bar{x} \pm s$)

组别	结节中心	结节周边
转移组 (n=28)	272.78±98.26	325.80±103.57
未转移组 (n=24)	230.58±74.33	249.64±89.03
<i>t</i> 值	1.310	2.159
<i>P</i> 值	0.200	0.039

2.3 CEUS 定量参数与 MVD 的相关性 结节周边区时间-强度曲线 AUC 与结节周边区、结节总体 MVD 计数呈正相关 (*r*=0.45、0.41, *P* 均<0.05), 余参数间均未见明显相关性, 见表 2。

3 讨论

常用 MVD 计数方法中, 需避开肿块内出血、坏死及液化区域, 计数肿瘤内“热点”的血管密度 (high-MVD, hMVD); 但肿瘤周边与正常组织接触区域肿瘤生长活跃, 新生血管丰富, 肿瘤中心常发生坏死纤维

表 2 PTC 的 CEUS 定量参数与 MVD 计数的相关性

参数	结节中心区		结节周边区		中心区与周边区差值		总体	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
TTP								
周边区	0.31	0.11	0.34	0.08	0.08	0.70	0.34	0.08
中心区	0.37	0.06	0.28	0.16	-0.12	0.54	0.33	0.09
PI								
周边区	0.28	0.15	0.30	0.13	0.08	0.70	0.31	0.12
中心区	0.18	0.38	0.19	0.35	0.08	0.71	0.19	0.34
AUC								
周边区	0.37	0.06	0.45	0.03	0.13	0.50	0.41	0.02
中心区	0.32	0.10	0.36	0.07	0.12	0.54	0.36	0.07
上升支斜率								
周边区	0.05	0.80	-0.12	0.57	-0.26	0.19	-0.04	0.85
中心区	0.31	0.11	0.08	0.70	-0.34	0.08	0.20	0.32
下降支斜率								
周边区	-0.05	0.80	-0.15	0.45	-0.17	0.40	-0.11	0.59
中心区	-0.06	0.80	-0.20	0.33	-0.23	0.24	-0.14	0.50

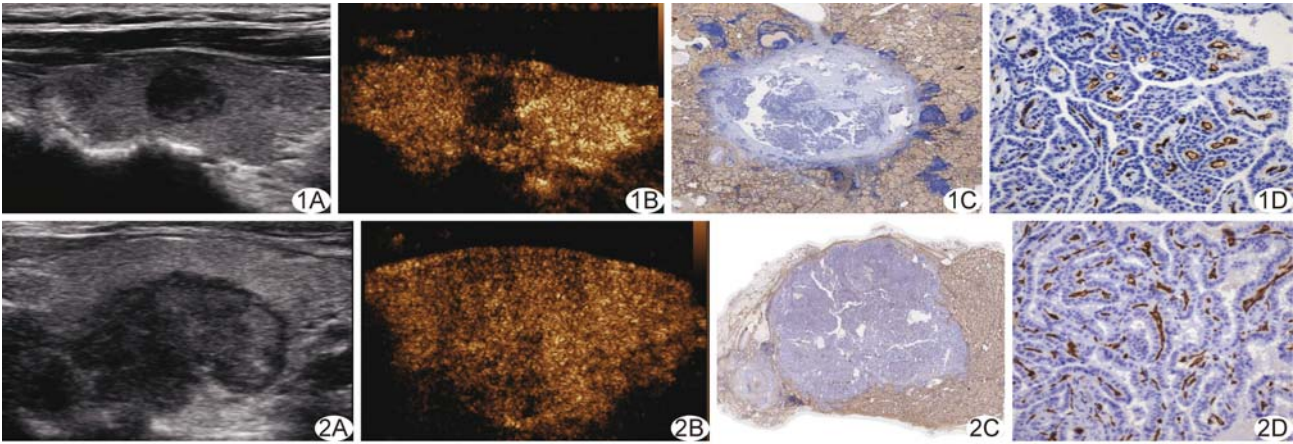


图 1 PTC 患者,男,33 岁,未转移组 A. 二维超声示甲状腺右叶中部低回声结节,边界清,形态规则; B. CEUS 呈低增强; C. 结节 CD34 染色全景图像示结节中心区及周边区可见多发坏死及纤维化区域(CD34 染色,×10); D. 结节内微血管呈特异性棕黄色染色,结节中心区 MVD 计数为 85.88 个/mm²,周边区为 99.93 个/mm²(CD34 染色,×200) 图 2 PTC 患者,女,47 岁,转移组 A. 二维超声示甲状腺右叶低回声结节,边界欠清,形态不规则,内可见点状钙化; B. CEUS 呈中等增强; C. 结节 CD34 染色全景图像显示结节微血管丰富(CD34 染色,×10); D. 结节内微血管呈特异性棕黄色染色,结节中心区 MVD 计数为 395.55 个/mm²,周边区为 417.71 个/mm²(CD34 染色,×200)

化,血供减少,且局部区域的 MVD 难以反映肿瘤的整体微血管灌注。本研究在既往 MVD 计数方法的基础上,运用 Tissue FAXS PLUS 全景组织细胞定量分析系统,使计数区域与肿瘤 CEUS 分析区相对应,在同一计数标准下分别获得肿瘤中心区与周边区域整体 MVD 计数,能更加真实地反映肿瘤微血管的生成情况。

CEUS 评估肿瘤内 MVD 已广泛用于肝脏肿瘤、前列腺癌、肾脏肿瘤等方面,且 CEUS 特征及定量参数与 MVD 具有相关性^[3-6]。Du 等^[7]认为乳腺病变中高 MVD 组与低 MVD 组的 CEUS 模式不同,高 MVD

组的 CEUS 表现为非均匀增强伴有灌注缺损。本研究也发现 PTC 结节 MVD 不均,周边区 MVD 计数高于中心区,同时转移组结节周边 MVD 计数高于未转移组。其原因可能是肿瘤新生毛细血管由肿瘤周围宿主组织原有小血管壁发出,并由外向内生长,肿瘤周边细胞增殖活跃,但肿瘤细胞的生长速度快于微血管的形成速度,使中心区域易出现缺血坏死及血管重构,故结节整体 MVD 有所差异,且结节中心区 MVD 通常低于结节周边区;而发生颈部淋巴结转移的 PTC 具有更高的侵袭性,代谢水平更高,周边肿瘤细胞增殖更活跃,微循环灌注更丰富,故转移组周边 MVD 较未转移

组更高,而结节中心 MVD 无显著性差异。

本研究发现 PTC 结节周边区、结节总体 MVD 计数与结节周边区时间-强度曲线的 AUC 呈正相关($r=0.45, 0.41, P$ 均 <0.05)。Liu 等^[8]同样发现乳腺癌 CEUS 周边强化组的肿瘤周边 MVD 明显高于非周边强化组。Kabakci 等^[9-12]认为肿瘤 CEUS 定量分析时间-强度曲线中的 AUC 参数与肿瘤 MVD 相关。肿瘤内微血管形成是 CEUS 的基础,时间-强度曲线的 AUC 反映造影剂进入 ROI 的总体情况,代表病变内 ROI 的平均血流量,能够反映肿瘤微循环灌注情况。因此,PTC 结节不同部位的 MVD 和相应部位的 CEUS 定量参数能够更准确地反映肿瘤真实微循环情况,结节周边区时间-强度曲线的 AUC 与结节周边 MVD 具有相关性。

总之,CEUS 定量分析对评估 PTC 的侵袭性具有重要价值;病理 MVD 可为评价 PTC 的侵袭性提供病理学依据。

(致谢:衷心感谢 Tissue Gnostics China Division 提供的全景组织细胞定量分析系统对课题的支持,诚挚感谢庄新品博士在微血管密度 MVD 计数中对课题的帮助。)

[参考文献]

- [1] Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*, 2010, 60(5):277-300.
- [2] Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast-carcinoma. *N Engl J Med*, 1991, 324(1):1-8.
- [3] 袁惠,牛锦东,王丹,等.甲状腺乳头状癌超声造影定量参数与微血管密度相关性研究. *云南医药*, 2010, 31(3):292-294.
- [4] Sedelaar JP, van Leenders GJ, Hulsbergen-van de Kaa CA, et al. Microvessel density: Correlation between contrast ultrasonography and histology of prostate cancer. *Eur Urol*, 2001, 40(3):285-293.
- [5] Kabakci N, Igci E, Secil M, et al. Echo contrast-enhanced power Doppler ultrasonography for assessment of angiogenesis in renal cell carcinoma. *J Ultrasound Med*, 2005, 24(6):747-753.
- [6] 张波,姜玉新,戴晴,等.甲状腺实性结节超声造影与免疫组织化学分析. *中国医学影像技术*, 2011, 27(9):1783-1787.
- [7] Du J, Li FH, Fang H, et al. Correlation of real-time gray scale contrast-enhanced ultrasonography with microvessel density and vascular endothelial growth factor expression for assessment of angiogenesis in breast lesions. *J Ultrasound Med*, 2008, 27(6):821-831.
- [8] Liu H, Jiang Y, Dai Q, et al. Peripheral enhancement of breast cancers on contrast-enhanced ultrasound: Correlation with microvessel density and vascular endothelial growth factor expression. *Ultrasound Med Biol*, 2014, 40(2):293-299.
- [9] Kabakci N, Igci E, Secil M, et al. Echo contrast-enhanced power Doppler ultrasonography for assessment of angiogenesis in renal cell carcinoma. *J Ultrasound Med*, 2005, 24(6):747-753.
- [10] Kwak JY, Kim EK, Son EJ, et al. Papillary thyroid carcinomamamifested solely microcalcifications on sonography. *AJR Am J Roentgenol*, 2007, 189(1):227-231.
- [11] 谭旭艳,王奕萍,武心萍.乳腺浸润性导管癌的超声造影增强参数与微血管密度相关性研究. *中国肿瘤外科杂志*, 2012, 4(4):206-208, 226.
- [12] 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 Ultrasound Med*, 2014, 33(7):1257-1263.

本刊可以直接使用的英文缩略语(二)

经胸超声心动图(transthoracic echocardiography, TTE)
经食管超声心动图(transesophageal echocardiography, TEE)
彩色多普勒血流显像(color Doppler flow imaging, CDFI)
彩色多普勒能量图(color Doppler energy, CDE)
组织速度成像(tissue velocity imaging, TVI)
应变率成像(strain rate imaging, SRI)
速度向量成像(velocity vector imaging, VVI)

脉冲多普勒(pulsed wave Doppler, PWD)
多普勒组织成像(Doppler tissue imaging, DTI)
彩色多普勒成像(color Doppler imaging, CDI)
超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)
斑点追踪成像(speckle tracking imaging, STI)
高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)
机械指数(mechanical index, MI)
阻力指数(resistance index, RI)