❖生殖泌尿影像学

Correlation of CEUS and microvessel density in inverted papilloma of bladder and bladder urothelial carcinoma

GUO Suping，*ZHOU Aiyun**，*XU Pan*，*XIAO Fan*
（*Department of Ultrasound*，*the First Affiliated Hospital of Nanchang University*，*Nanchang* 330006，*China*）

[**Abstract**] **Objective** To explore the correlation between time-intensity curve (TIC) parameters of CEUS and microvessel density (MVD) of inverted papilloma of bladder (IPB) and bladder urothelial carcinoma (BUC). **Methods** Clinical and CEUS characteristics of 30 patients with IPB and 50 patients with BUC confirmed by pathology were retrospectively analyzed. CEUS TIC parameters included rise time (RT), mean transit time (MTT), peak intensiy (PI), time from peak to one half (TPH), wash in slope (WIS), time to peak (TP), semi-descending slope (DS) were acquired by QLab software and statistical analysis was carried out. The MVD of the resectioned tissue specimens were quantified via immunohistochemistry for CD34 and the correlation with CEUS TIC parameters was investigated. **Results** In CEUS quantitative parameters, PI, TPH, TP and DS had statistical significance in IPB and BUC (all $P<0.05$). MVD of BUC was obviously higher than that of IPB ($P<0.05$); TPH and DS both correlated with MVD ($r_s=0.74$, -0.81, both $P<0.05$). **Conclusion** CEUS characteristics has certain clinical value in identification of IPB and BUC. TIC parameters of CEUS can reflect the MVD of IPB and BUC.

[**Key words**] Papilloma, inverted; Bladder urothelial carcinoma; Microvessel density; Contrast media; Ultrasonography
DOI：10.13929/j.1003-3289.201609111

膀胱内翻性乳头状瘤和膀胱尿路上皮癌 CEUS 与微血管密度的相关性

郭素萍，周爱云*，徐　盼，肖　帆
（南昌大学第一附属医院超声科，江西 南昌　330006）

[**摘　要**] **目的**　探讨膀胱内翻性乳头状瘤(IPB)与膀胱尿路上皮癌的(BUC)CEUS 时间-强度曲线(TIC)参数与微血管密度(MVD)的相关性。**方法**　回顾性分析经病理证实的 IPB 患者 30 例和 BUC 患者 50 例的临床和 CEUS 表现，采用 QLab 分析软件获得 IPB 和 BUC 的 TIC 参数，包括上升时间(RT)、平均渡越时间(MTT)、峰值强度(PI)、半洗漱时间(TPH)、上升斜率(WIS)、达峰时间(TP)、半降支斜率(DS)，并进行统计学分析。对手术标本进行抗 CD34 因子免疫组化染色测量 MVD，分析 CEUS 的 TIC 参数与 MVD 的相关性。**结果**　IPB 和 BUC 的 CEUS 定量参数中，PI、TPH、TP、DS 比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。BUC 的 MVD 明显高于 IPB($P<0.05$)。各 TIC 参数中，TPH 和 DS 与 MVD 均存在相关性($r_s=0.74$、-0.81，P 均<0.05)。**结论**　CEUS 在 IPB 与 BUC 的鉴别诊断中具有一定的临床价值；TIC 参数可定量评估肿瘤内微血管生成情况。

[**基金项目**] 江西省科技计划项目(2015BBG70234)。
[**第一作者**] 郭素萍(1992—)，女，江西九江人，在读硕士。研究方向：腹部超声造影诊断。E-mail：411525626@qq.com
[**通信作者**] 周爱云，南昌大学第一附属医院超声科，330006。E-mail：zhouaiyun1960@163.com
[**收稿日期**] 2016-09-26　[**修回日期**] 2017-02-16

[关键词] 乳头状瘤,内翻性;膀胱尿路上皮癌;微血管密度;造影剂;超声检查
[中图分类号] R737.14; R445.1 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2017)05-0756-04

根据膀胱尿路上皮癌恶性程度分级系统,膀胱尿路上皮肿瘤分为乳头状瘤、低度恶性倾向尿路上皮乳头状瘤、低分级和高分级乳头状尿路上皮癌[1]。膀胱尿路上皮癌(bladder urothelial carcinoma, BUC)在膀胱癌病理类型中最常见,约占 90%以上,易转移且复发率高,预后差[2]。膀胱内翻性乳头状瘤(inverted papilloma of bladder, IPB)是一种少见的尿路移行上皮良性肿瘤,不易复发和恶变,仅约占膀胱肿瘤的 6.0%。由于 IPB 和 BUC 的临床及影像学表现均有明显相似之处,术前 IPB 易误诊为 BUC[3]。近年来,随着 CEUS 技术的快速发展,目前已广泛应用于肝脏、甲状腺等部位的检查[4-5],但采用 CEUS 鉴别 IPB 和 BUC 的报道鲜见。微血管密度(microvessel density, MVD)作为评价肿瘤血管生成的一个重要指标,与肿瘤的浸润、转移及预后有密切关系[6]。本研究通过 CEUS 定量分析 IPB 和 BUC,并探讨 CEUS 与其 MVD 的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2009 年 9 月—2016 年 3 月我院术前接受 CEUS 检查且经手术或膀胱镜活检病理证实为 IPB 和 BUC 的患者,均为单发,排除既往有膀胱癌病史和检查前接受任何手术及其他治疗,或有严重药物过敏、心脑血管疾病患者。IPB 组 30 例,男 25 例,女 5 例,年龄 27～66 岁,平均(53.5±5.2)岁,24 例临床表现为无痛性肉眼血尿,6 例有排尿困难和尿路刺激症状;BUC 组 50 例,男 38 例,女 12 例,年龄 34～76 岁,平均(64.3±8.2)岁,临床表现为无痛性血尿 33 例,尿路刺激症 7 例,无痛性血尿合并尿路刺激症 6 例,无明显症状 4 例。

1.2 仪器与方法 采用 Philips iU22 型彩色多普勒超声诊断仪,C5-1 凸阵探头,频率 3.0～5.0 MHz,配有实时 CEUS 匹配成像技术,机械指数 0.08。检查前嘱患者适度充盈膀胱,先行常规超声选取最佳切面后切换至造影模式,经肘静脉快速团注造影剂(SonoVue)2.4 ml,后跟注生理盐水 5.0 ml,嘱患者尽量屏气或减慢呼吸幅度,采集动态图像时间 3 min,并自动保存于仪器硬盘。

1.3 图像处理 选择肿块内灌注最丰富区作为 ROI(5.0 mm×5.0 mm),尽量避开液化坏死及钙化,采用 QLab 分析软件获得时间-强度曲线(time-intensity curve, TIC)定量参数,包括上升时间(rise time, RT)、平均渡越时间(mean transit time, MTT)、峰值强度(peak intensiy, PI)、峰值强度降半时间(time from peak to one half, TPH)、达峰时间(time to peak, TP)、上升斜率(wash in slope, WIS)、半降支斜率(semi-descending slope, DS)绝对值。

1.4 免疫组化染色 术后对所有标本行 SP 法免疫组化染色(由福州迈新生物技术开发公司提供试剂),按照试剂盒说明书进行操作。MVD 计数参照 Weider 等[7]提出的方法,先于 100 倍光镜下整体观察切片,选择 5 个肿瘤内血管密度最高的区域,称为“热点”,随后在 200 倍镜下计数,任何黄染的细胞簇都计数为 1 个 MVD 值,但血管腔大于 8 个红细胞直径或有明显平滑肌包绕的较大血管不纳入记数范围,取平均值作为 MVD 计数。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计分析软件,正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,IPB 和 BUC 各定量参数的比较采用两独立样本 t 检验;将 IPB 和 BUC 各参数合并,与 MVD 的相关性采用 *Spearman* 相关分析;$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2 组 CEUS 表现及 TIC 曲线见图 1A、2A,2 组 CEUS 的 TIC 参数分析见表 1,IPB 组的 PI、TPH 和 TP 低于 BUC 组,而 DS 大于 BUC 组,差异均有统计学意义(P 均<0.05),RT、MTT、WIS 组间比较差异均无统计学意义(P 均>0.05)。

表 1 BUC 组与 IPB 组 CEUS TIC 中定量参数、MVD 值的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	RT (s)	PI (dB)	MTT (s)	TPH (s)	TP (s)	WIS (dB/s)	DS (dB/s)	MVD(个/×200 倍镜下)
IPB 组(n=30)	7.61±2.98	17.18±3.80	38.91±15.38	34.37±11.37	26.13±4.27	1.99±0.82	0.24±0.08	24.53±7.76
BUC 组(n=50)	8.68±3.81	18.83±4.89	38.44±11.87	58.42±18.00	29.43±5.41	1.98±0.79	0.19±0.07	50.91±20.41
t 值	−1.50	−2.43	0.15	−6.56	−2.85	0.09	2.76	−6.78
P 值	0.138	0.018	0.881	<0.001	0.006	0.931	0.007	<0.001

2 组肿瘤 CD34 标记的 MVD 见图 1B、2B。BUC 组 MVD 明显高于 IPB 组，差异有统计学意义（$P<0.05$）（表 1）。

CEUS 的 TIP 参数中，TPH、DS 与 MVD 存在相关性（$r_s=0.74$、-0.81，P 均 <0.05）。

3　讨论

IPB 是一种少见的泌尿系统上皮良性肿瘤，恶变、复发较少见，预后好，好发于中老年人，男性多见，其发病率约占膀胱肿瘤的 6.0%，泌尿系统肿瘤的 2.2%[8]。IPB 发病机制尚不明确，一般认为由慢性炎症长期刺激及下尿路梗阻等引起膀胱黏膜局部上皮异常增生导致，并推测吸烟等化学因素与本病有密切关系[9]。临床表现主要为无痛性肉眼血尿，尿路刺激症状，亦可因肿瘤堵塞膀胱颈部产生尿路梗阻症状，或无明显症状由体检偶然发现。膀胱癌是我国男性泌尿生殖系统常见的恶性肿瘤，易转移且复发率高，预后较差。IPB 临床表现与 BUC 的临床症状较为类似，缺乏特征性。且两者在治疗方面存在较大差异，IPB 常采用经尿道肿瘤电切术，而 BUC 需进行开放手术。故术前对 IPB 与 BUC 的鉴别诊断有重要的临床价值。

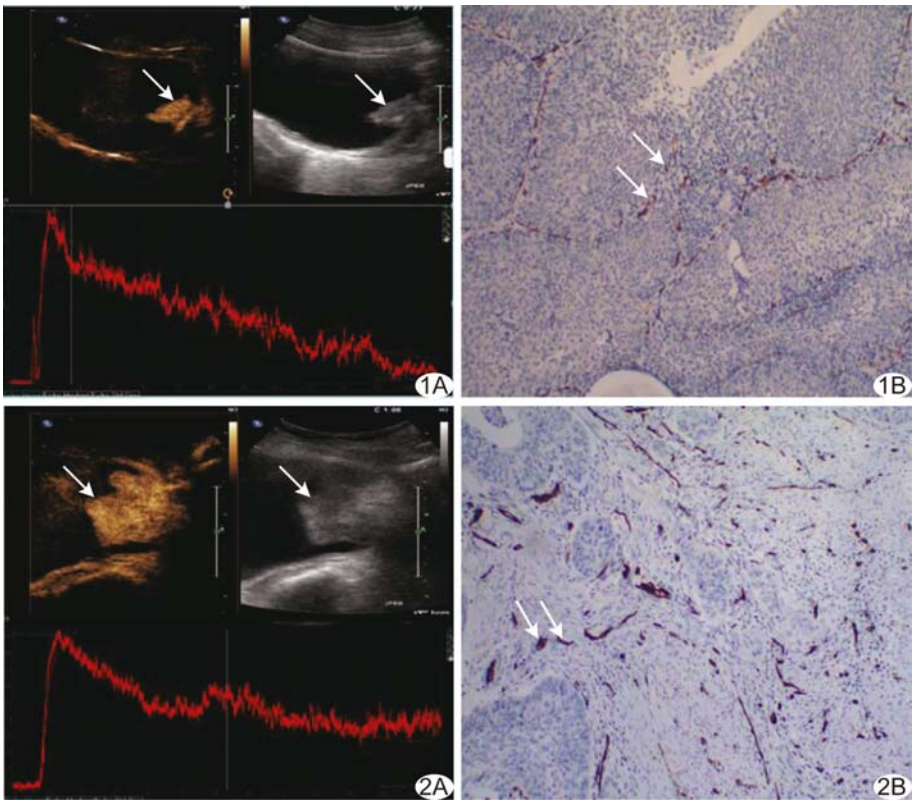


图 1　患者男，55 岁，IPB　A. CEUS 示肿瘤呈相对“快进快退”低增强（箭示肿瘤）；B. 免疫组化（CD34 染色，×200）示微血管分布较稀疏，棕黄色区域为 CD34 阳性（箭）　**图 2**　患者男，72 岁，BUC　A. CEUS 示肿瘤呈“快进慢退”高增强（箭示肿瘤）；B. 免疫组化（CD34 染色，×200）示微血管分布较密集，棕黄色区域为 CD34 阳性（箭）

本研究采用 CEUS 定量分析造影剂在膀胱肿瘤的灌注过程，旨在鉴别 IPB 与 BUC。有研究[10]表明，由于肿瘤的生长依赖于血管生成，肿瘤分化程度不同可表现为其新生血管的生长及畸形也不同，包括有无动静脉瘘、血管纡曲、管径大小、分布情况、间质水肿等均可影响造影剂在病灶内不同灌注情况，CEUS TIC 主要灌注参数可客观反映肿瘤微血管的异质性。本研究发现，在 2 组病灶 CEUS 参数中，RT、WIS、MTT 差异均无统计学意义（P 均>0.05），而 PI、TP、TPH、DS 差异均有统计学意义（P 均<0.05），IPB 组的 PI 低于 BUC 组，IPB 组 TPH 和 TP 均小于 BUC 组，而 DS 大于 BUC 组，表明相对于 BUC，IPB 多表现为相对“快进快退”的低增强，分析原因可能与以下几个因素有关：①BUC 病变级别较高且血供丰富，而 IPB 为良性肿瘤，分级较低，血供较少，故 IPB 的 PI 低于 BUC；②IPB 良性肿块内新生血管纡曲尚轻，血管走行尚规则，扭曲不严重，可出现造影剂到达时间较恶性肿块快，即 IPB 组的 TP 小于 BUC 组；③BUC 为恶性肿瘤，新生血管纡曲，间质水肿明显，致造影剂在血管内聚集滞留，形成 BUC“慢退”的表现，即 IPB 组 TPH 小于 BUC 组，DS 大于 BUC 组。

实体瘤在无自身血供的状态下，可自行生长至 1～2 mm^3，若继续生长则需新生血管的滋养[11]。肿瘤的 MVD 与其浸润、转移及预后有密切的关系，临床通常将 MVD 作为一项评价肿瘤血管生成的良好指标[6]。研究[12]发现 MVD 是膀胱癌患者的一个独立预后因素，微血管增加的患者其死亡危险性可增加 2.5 倍。文进等[13]研究表明，随着膀胱癌病理分级递增，MVD 随之上升，MVD 可作为一项评价膀胱癌的浸润及转移能力和预后判断的重要指标。本研究发现 BUC 组 MVD 明显高于 IPB 组，差异有统计学意义（$P<0.05$），与既往报道[14]一致。但临床评估肿瘤 MVD 一般采用病理免疫组化法检测，常通过活检或

手术后获得,但为有创性检查,不可重复,且方法繁琐、耗时。因此,寻找一种无创、快捷且在活体上可重复实施的检查方法评估膀胱肿瘤血管生成显得尤为重要。

目前诊断膀胱肿瘤的常规检查包括超声、CT、MRI 及膀胱镜。CT 和 MRI 对评价 BUC 分期有明显优势,尤其是向外浸润生长的程度、有无淋巴结转移及远处转移,但仍不能病理分级,且费时、价格昂贵、非实时。膀胱镜可获得病变组织并进行病理分级,但其有创,易出现感染、出血、尿道狭窄等并发症,同时膀胱镜活检易受操作者的经验不足、取材较少或取材部位不足的影响造成误诊或漏诊。由于 CEUS 中所采用的造影剂是一种纯血池显影剂,不进入组织间隙,与红细胞直径类似,故 CEUS 可清晰反映肿瘤内的微血流灌注情况。本研究发现 BUC 组 MVD 明显高于 IPB 组($P<0.05$),提示 MVD 计数越高,分级程度愈重,与既往研究[15]结果相符。同时本研究发现 TPH、DS 与 MVD 均存在相关性($r_s=0.74$、-0.81,P 均<0.05),提示 CEUS 可较好地推测两种肿瘤血管生成的情况,即膀胱肿瘤分级程度愈高,肿瘤内血流愈丰富,MVD 的增加有利于肿瘤的生长和侵袭。因此,CEUS 定量分析亦可用于反映术前膀胱肿瘤微血管灌注及血管生成情况。

本研究的不足:为回顾性研究且样本量较少,今后仍需扩大样本量进行多中心、前瞻性等研究,进一步证实研究结果。

总之,CEUS 定量分析可较好地反映 IPB 和 BUC 的微血管异质性及血流灌注情况,在鉴别诊断两者方面有较高的临床价值。同时,CEUS 可作为一项在活体可重复、相对无创、快捷地评估肿瘤血管生成的新技术。

[参考文献]

[1] Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL, et al. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. Eur Urol, 2016, 70(1):106-119.

[2] Ploeg M, Aben KK, Kiemeney LA. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. World J Urol, 2009, 27(3):289-293.

[3] 黄丽燕,柯丽明,陈志奎,等.超声鉴别诊断膀胱内翻性乳头状瘤与膀胱移行细胞癌.中国医学影像技术,2015,31(6):910-912.

[4] Zhang Y, Zhou P, Tian SM, et al. Usefulness of combined use of contrast-enhanced ultrasound and TI-RADS classification for the differentiation of benign from malignant lesions of thyroid nodules. Eur Radiol, 2017,27(4):1527-1536.

[5] 杨慧燕,温红,罗宇.超声造影与 MRI 增强扫描对肝脏局灶性病变诊断的对比研究.中国中西医结合影像学杂志,2016,14(3):269-271,277.

[6] Huang J, Ma X, Chen X, et al. Microvessel density as a prognostic factor in bladder cancer: A systematic review of literature and meta-analysis. Cancer Biomark, 2014,14(6):505-514.

[7] Weidner N. Tumoural vascularity as a prognostic factor in cancer patients: The evidence continues to grow. J Pathol, 1998, 184(2):119-122.

[8] Takeuchi M, Sasaguri K, Naiki T, et al. MRI findings of inverted urothelial papilloma of the bladder. AJR Am J Roentgenol, 2015,205(2):311-316.

[9] Cheng L, Zhang S, Alexander R, et al. Sarcomatoid carcinoma of the urinary bladder: The final common pathway of urothelial carcinoma dedifferentiation. Am J Surg Pathol, 2011, 35(5):e34-e46.

[10] 李颖嘉,杨莉,文戈.肿瘤血管生成异质性及肿瘤血管生成超声分子靶向成像研究进展.中国医学影像技术,2009,25(10):1899-1902.

[11] Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. J Biol Chem, 1992, 267(16):10931-10934.

[12] Ajili F, Kacem M, Tounsi H, et al. Prognostic impact of angiogenesis in nonmuscle invasive bladder cancer as defined by microvessel density after immunohistochemical staining for CD34. Ultrastruct Pathol, 2012,36(5):336-342.

[13] 文进,严维刚,李汉忠.VEGF 与膀胱尿路上皮癌微血管密度及预后的相关性研究.现代泌尿生殖肿瘤杂志,2009,1(4):216-218.

[14] Tian D, Hu H, Sun Y, et al. Expression of brainspecific angiogenesis inhibitor1 and association with p53, microvessel density and vascular endothelial growth factor in the tissue of human bladder transitional cell carcinoma. Mol Med Rep, 2015,12(3):4522-4529.

[15] 王岩,王学梅.膀胱癌能量多普勒血流分级与病理微血管密度的相关性研究.中国超声医学杂志,2007,23(4):293-295.