

· 论著 ·

扩散加权成像与乳腺浸润性导管癌分子生物标记的相关性研究

刘莉¹, 尹波², 岳磊¹, 毛健¹, 彭卫军¹

1. 复旦大学附属肿瘤医院放射诊断科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032;

2. 复旦大学附属华山医院放射科, 上海 200040

【摘要】 目的: 研究表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)与乳腺浸润性导管癌分子生物学标记之间的关系, 以指导临床判断预后及选择治疗方案。方法: 对67例乳腺浸润性导管癌患者进行磁共振扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)检查, 并测量病灶ADC值。术后免疫组化分析人表皮生长因子受体2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)、雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、Ki-67, 统计学分析ADC值与ER、PR、HER-2、Ki-67的相关性, 并研究不同分子分型病灶之间ADC值的差别。结果: Spearman相关性分析表明, ADC值与Ki-67之间无相关性($P>0.05$); ER、PR、HER-2阴性表达者ADC值高于阳性者($P<0.05$); 三阴性病灶ADC值明显高于Luminal A型、Luminal B型、HER-2过表达型($P<0.05$); HER-2过表达型病灶ADC值高于Luminal B型。结论: ADC值与乳腺浸润性导管癌分子生物标记及分子分型具有相关性, 可辅助指导临床选择治疗方案及判断预后。

【关键词】 扩散加权成像; 乳腺肿瘤; 分子生物标记

中图分类号: R445.2 文献标志码: A 文章编号: 1008-617X(2017)03-0199-06

Correlation between diffusion weighted imaging and molecular biomarkers in breast invasive ductal carcinomas

LIU Li¹, YIN Bo², YUE Lei¹, MAO Jian¹, PENG Weijun¹ (1. Department of Diagnostic Radiology, Fudan University Shanghai Cancer Center; Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Department of Radiology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

Correspondence to: PENG Weijun E-mail: cjr.pengweijun@vip.163.com

【Abstract】 **Objective:** To investigate the relationship between apparent diffusion coefficient (ADC) value and molecular biomarkers in breast invasive ductal carcinomas (IDCs), which may facilitate the optimal treatment and prognosis prediction. **Methods:** A total of 67 patients with IDC were enrolled in this study. All the patients underwent breast diffusion weighted magnetic resonance imaging (DW-MRI) before treatment. The ADC values of IDCs were calculated. The expressions of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), Ki-67, human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) were analyzed by immunohistochemistry. The relationships between ADC values and ER, PR, HER-2 and ki-67 expressions were statistically evaluated while the ADC values in different subtypes were also studied. **Results:** The ADC values of IDCs did not correlate significantly with Ki-67 by Spearman's correlation analysis ($P>0.05$); The mean ADC value was higher in IDCs with negative ER, PR and HER-2 expressions than that with positive expressions ($P<0.05$); The triple-negative IDC had higher mean ADC value than Luminal A, Luminal B and HER-2 overexpressing IDCs ($P<0.05$); The mean ADC value in HER-2 overexpressing IDC was significantly higher than that in Luminal B type IDC ($P<0.05$). **Conclusion:** The ADC value could be used to evaluate the expressions of molecular biomarkers and IDC subtype, which could help determine individual treatment and predict prognosis.

【Key words】 Diffusion weighted imaging; Breast neoplasm; Molecular biomarker

乳腺癌作为女性最好发的恶性肿瘤之一, 占全身肿瘤的7%~10%^[1]。乳腺癌表达不同的Ki-67、人表皮生长因子受体2 (human epidermal

growth factor receptor 2, HER-2)、雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)可导致预后不同, 分子分型的

不同可导致治疗方案不同。因此，术前无创评估乳腺癌的分子生物学特点对指导治疗及判断预后具有重要意义。本研究旨在探讨扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)与乳腺分子生物学特征之间的相关性，从而指导临床选择治疗方式及判断预后。

1 资料和方法

1.1 研究对象

前瞻性地对复旦大学附属肿瘤医院2014年1月—2016年5月收治的109例可疑乳腺癌患者进行MRI检查。选择入组标准：①经活检并病理证实的乳腺浸润性导管癌患者；②MRI检查前未进行过治疗或活检。排除标准：①妊娠期或哺乳期妇女；②DWI图像磁敏感伪影大，无法判断病灶情况者。最终排除42例，入组67例患者。

1.2 MRI扫描

患者均进行统一方案MRI扫描。采用GE公司Signa Excite HDx 3.0 T磁共振扫描仪(Milwaukee, USA)，乳腺专用表面线圈(8通道相控阵)。患者俯卧于检查床，双侧乳腺垂放于乳腺线圈内。为防止患者移动，使用机器自带绑带将其固定。

1.2.1 常规扫描

常规三平面定位(冠状位、矢状位、横断位)，轴位快速自旋回波 T1WI扫描：重复时间(repetitive time, TR)/回波时间(echo time, TE)=960/8.9 ms，视野(field of view, FOV)=30 cm，激励次数=1，层厚4 mm，间隔0 mm，矩阵352×192；然后矢状位T2WI压脂扫描：TR/TE=3 800/85 ms，视野=20 cm，激励次数=2，层厚4 mm，间隔0 mm；横断位T2WI压脂扫描：TR/TE=5 220/48.2 ms，视野=30 cm，激励次数=2，

层厚4 mm，间隔0 mm，矩阵352×192。

1.2.2 DWI扫描

DWI扫描包括双侧乳房，采用轴位扫描及单次激发平面回波序列，将弥散梯度磁场分别施加于X、Y、Z轴，然后综合各向同性的影像。扫描参数如下。轴位：TR/TE=10 000/60.9 ms，视野=30 cm，激励次数=2，层厚4 mm，间隔0 mm，矩阵190×190，b值为0、1 000 s/mm²。DWI扫描的位置、层厚、间隔、矩阵、视野与横断位T2WI压脂一致，便于叠加图像观察病灶情况。

1.2.3 增强扫描

DWI扫描结束后，进行增强扫描，使用VIBRANT横断面扫描序列。用高压注射器将钆喷酸葡胺(马根维显, Magnevist)以3 mL/s的速率团注入肘前静脉，剂量为0.2 mmol/kg，然后即刻团注生理盐水20 mL，注射完成即刻开始增强扫描。

1.3 影像学分析与处理

影像学图像由两名经验丰富的(执业时间10年以上)乳腺放射学诊断医师分析，评估医师事先并不知道患者病理学结果。将DWI DICOM格式数据输入GE AW43工作站，使用Functool软件计算表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)。参考T2WI压脂扫描图像和增强后T1WI图像，避开出血、坏死区域，选择病灶最大层面，感兴趣区(region of interest, ROI)尽可能包括该层面肿瘤的实质部分。

1.4 病理与免疫组化分析

所有患者均进行外科手术，术后立即行病理学检查，包括病理学类型、病灶大小；免疫组化：ER、PR、HER-2、Ki-67。

按2011年St. Gallen国际乳腺癌大会制定的标准^[2]，对乳腺癌各分子亚型在免疫组化水平进行定义(表1)

表 1 乳腺癌分子亚型

分型	ER	PR	HER-2	Ki-67
三阴性	阴性	阴性	阴性	N/A
HER-2过表达型	阴性	阴性	阳性	N/A
Luminal A型	ER和(或)PR阳性		阴性	Ki-67低表达(<14%)
Luminal B型	ER和(或)PR阳性		阴性	Ki-67高表达(≥14%)
Luminal B型	ER和(或)PR阳性		阳性	N/A

N/A: Ki-67任何水平

1.5 统计学处理

采用Spearman相关性分析研究ADC值与Ki-67之间的相关性; SPSS 13.0统计学软件分析数据, 不同分子亚型ADC均值比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), 组间比较采用LSD, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 患者特征

共67例患者, 67枚病灶。其中女性66例、男性1例; 年龄34~70岁, 平均55.2岁。病理均为浸润性导管癌。

2.2 ADC值与Ki-67之间的相关性

Spearman相关性分析显示, ADC值与Ki-67

之间的相关性指数为0.155 ($P=0.209$)。

2.3 ADC值与ER、PR、HER-2的相关性

ER、PR、HER-2阴阳性表达者之间ADC值有统计学差异($P < 0.05$), 阴性病灶的ADC值高于阳性者(图1~3, 表2)。

2.4 ADC值与乳腺癌分子分型之间的相关性

按2011年St. Gallen标准, 本研究67例患者中, 三阴性4例, HER-2过表达型17例, Luminal A型7例, Luminal B型39例。不同分子分型的病灶ADC值总体有统计学差异($P=0.001$); 三阴性病灶的ADC值与Luminal A型、Luminal B型、HER-2过表达型有统计学差异; HER-2过表达型病灶的ADC值与Luminal B型有统计学差异; 其余各分子分型之间病灶ADC值没有统计学差异(表3)。

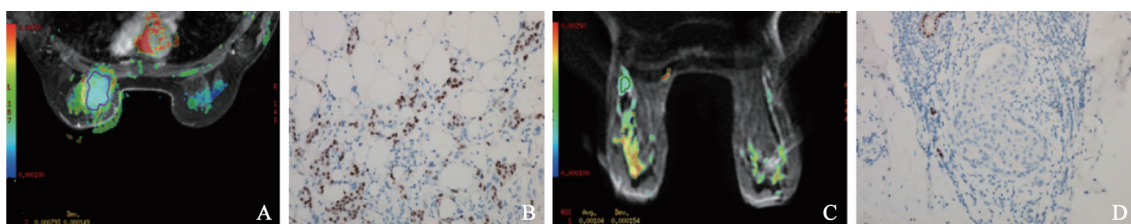


图1 ADC与ER表达的相关性

患者1, 女性, 63岁, 左乳浸润性导管癌。A: 病灶ADC值为 $0.79 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; B: 免疫组化显示ER阳性。患者2, 女性, 48岁, 左乳浸润性导管癌。C: 病灶ADC值为 $1.04 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; D: 免疫组化显示ER阴性

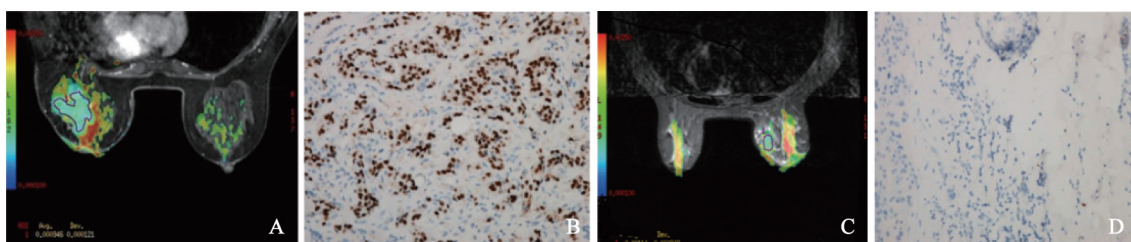


图2 ADC与PR表达的相关性

患者1, 女性, 60岁, 左乳浸润性导管癌。A: 病灶ADC值为 $0.95 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; B: 免疫组化显示PR阳性。患者2, 女性, 66岁, 右乳浸润性导管癌。C: 病灶ADC值为 $1.14 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; D: 免疫组化显示PR阴性

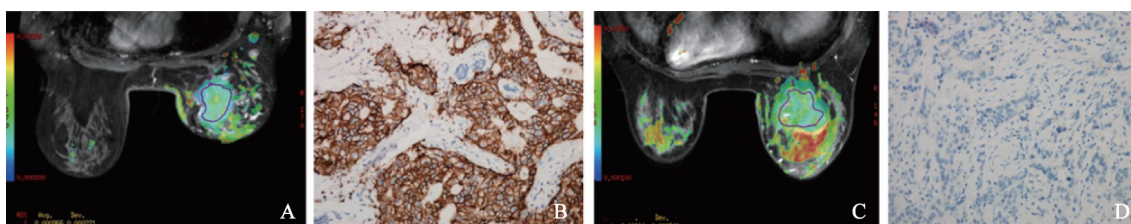


图3 ADC与HER-2表达的相关性

患者1, 女性, 53岁, 右乳浸润性导管癌。A: 病灶ADC值为 $0.96 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; B: 免疫组化显示HER-2阳性。患者2, 女性, 47岁, 右乳浸润性导管癌。C: 病灶ADC值为 $1.14 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; D: 免疫组化显示HER-2阴性

表2 ADC值与ER、PR、HER-2的相关性

分子学指标	数量(n)		ADC ($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)		P值
	阳性	阴性	阳性	阴性	
ER	43	24	0.97±0.14	1.07±0.21	0.023
PR	35	32	0.96±0.15	1.05±0.19	0.029
HER-2	52	15	0.98±0.15	1.08±0.22	0.039

表3 不同分子分型病灶的ADC值

分子分型	ADC值($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)	统计学分析
TNBC	1.35±0.18	TNBC vs. HER, $P=0.00$; TNBC vs. LA, $P=0.00$;
HER-2过表达型	1.04±0.14	TNBC vs. LB, $P=0.00$; HER vs. LA, $P=0.42$;
Luminal A型	0.99±0.17	HER vs. LB, $P=0.049$; LA vs. LB, $P=0.59$
Luminal B型	0.95±0.14	

注: TNBC: 三阴性; HER: HER-2过表达型; LA: Luminal A型; LB: Luminal B型

3 讨 论

DWI主要依赖水分子自由运动(布朗运动)的原理成像, 在乳腺癌诊断及新辅助化疗疗效评估中发挥着重要作用^[3]。不同病理类型的乳腺癌DWI表现各异。乳腺浸润性导管癌因细胞密度增大, 在DWI上较良性病灶及正常腺体信号增高。低级别导管原位癌ADC值降低不明显, 可能导致假阴性诊断^[4]。非肿块型浸润性小叶癌肿瘤细胞散在分布于周围正常的腺体内, ADC值高于肿块型, 其与良性病灶的鉴别较困难。黏液癌具有“黏液湖”, 会出现DWI高信号(低*b*值)/等低信号(高*b*值)及ADC值升高, 加上黏液癌的信号不均质, 从而构成了其特有征象。本研究入组患者为单一浸润性导管癌, 避免了混杂多种病理类型的影响。

基于ADC值对良恶性病变的鉴别能力, 本研究探讨其与乳腺癌分子标记Ki-67之间的关系。结果表明, ADC值与Ki-67之间的相关性指数为0.155 ($P=0.209$), 没有明显相关性, 与部分文献报道不一致。如Mori等^[5]采用ADC直方图研究表明, ADC值与Ki-67之间呈负相关性。Sun等^[6]采用扩散峰度成像研究浸润型乳腺癌, MK值与肿瘤级别及Ki-67之间呈正相关, 而平均扩散系数与Ki-67呈负相关。也有学者报道结论与本研究一致, 如Martincich等^[7]的研究表明Ki-67与ADC值之间没有明显相关性。推测乳腺癌作为一种具有明显异质性的肿瘤, 微囊变、坏死及血供差别很大, 特别是在ROI选择时单纯依靠肉眼很难避开某些微囊变与微坏死; 另一方面, 文献中病例

的病理类型多样性也是导致结果差异性的原因, 也是本研究为避免产生以上差异而采用单一病理类型的原因。

乳腺上皮细胞的细胞核内存在ER、PR等可对乳腺细胞起调控作用的性激素受体, 以调控乳腺细胞的生长、分化、增殖。ER为两个相对分子质量为65 000、沉降系数为4 S的激素结合蛋白所构成的分子二聚体。PR是雌激素作用产物, 在雌激素启动下由雌激素与雄激素受体结合诱导而产生。PR可引起和增强雌激素对ER的反应, 起促进和协同作用, PR的存在间接表明ER的活性。乳腺癌表达ER与PR表明其具有激素依赖性的特点, 对激素治疗的选择具有重要指导意义。

ER阳性乳腺癌细胞分化程度高, 异型性较低, 恶性程度相对低, 对内分泌治疗更敏感, 预后较好; 同样, PR阳性乳腺癌恶性程度较低, 且转移及复发低于阴性者^[8]。ER、PR阳性乳腺癌的激素治疗效果好于阴性者, 生存期也长于后者。本研究发现, ER、PR阴性病灶的ADC值高于阳性者。这可能是因为ER、PR阳性病灶中血管生成通路被抑制, 血流灌注下降, 致使肿瘤组织中微灌注对ADC值的影响较小, ADC值相对降低。Martincich等^[7]研究发现, ER阴性者的ADC值高于阳性者($1.110 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ vs. $1.050 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, $P=0.015$), 与本研究一致。Kamitani等^[9]研究也发现, ER、PR阴性病灶的ADC值高于阳性者, 并证实ER、PR阴性乳腺癌细胞密度较阳性者低, 为本研究提供了更多支持。

HER-2是一种酪氨酸蛋白, 可促进细胞有丝

分裂、增殖、分化、迁移。但其在促进细胞增殖的同时，也抑制细胞凋亡，使肿瘤细胞的侵袭性增加^[10]。HER-2活性越强则乳腺癌预后越差，HER-2过表达与淋巴结转移、肿瘤级别增高、激素受体阴性及高增殖活性相关^[11]。本研究发现，HER-2阴性病灶的ADC值高于阳性者($P<0.05$)。这是因为HER-2可促进有丝分裂，促进细胞增殖，同时抑制细胞凋亡，使细胞密度增大，从而导致阳性者的ADC值高于阴性者。但有文献报道，ADC值与HER-2表达之间没有任何相关性^[9,12]。甚至Martincich等^[7]研究发现，HER-2阳性者的ADC值高于阴性者。推测这可能与不同研究入组的患者病理类型不一致有关，如前所述，不同病理类型的乳腺癌ADC值不同，从而导致结果的差异。

乳腺癌是一种高度异质性恶性肿瘤，即使病理与临床分期相同，其生物学特点及对治疗的反应、预后也各不相同。因此，仅靠传统的病理组织学分类已不适用于目前肿瘤研究及诊治的要求。2011年，St. Gallen召开的乳腺癌会议对乳腺癌分子分型进行了重新分型，分为Luminal A型、Luminal B型、HER-2过表达型、三阴性4个亚型^[2]。本研究67例患者中，三阴性病灶的ADC值高于Luminal A型、Luminal B型、HER-2过表达型($P<0.05$)。三阴性乳腺癌多发生于年轻患者，侵袭性强，化疗效果不佳且预后较差。虽然三阴性乳腺癌的肿瘤细胞在镜下以推挤的方式生长，但病灶的坏死率较高，以大片地图样坏死和中央性坏死为主，这种坏死可能是导致ADC值升高的原因。Martincich等^[7]研究发现，三阴性乳腺癌ADC值高于Luminal A型、Luminal B型($1.1\times 10^{-3}\text{ mm}^2/\text{s}$ vs. $1.02\times 10^{-3}\text{ mm}^2/\text{s}$ vs. $1.06\times 10^{-3}\text{ mm}^2/\text{s}$)，但无统计学差异。

Martincich等^[7]研究还表明，HER-2过表达型病灶的ADC值高于其他类型，与本研究中HER-2过表达型病灶的ADC值高于Luminal B型($P<0.05$)基本一致。Luminal B型的一种亚型为Ki-67高表达($\geq 14\%$)，Ki-67高表达导致细胞增殖明显，细胞密度增加；另一种亚型为ER和(或)PR阳性、HER-2阳性。而HER-2过表达型的ER、PR均阴

性，结合ER、PR阴性者的ADC值高于阳性者，最终导致HER-2过表达型病灶的ADC值升高。

本研究采用ADC平均值，未使用直方图与DWI新技术(如基于体素内不相干运动扩散加权成像、扩散峰度成像)，将在以后研究中探讨。综上，本研究表明ADC值与乳腺癌激素受体表达及分子分型之间具有相关性，但ADC值与乳腺癌Ki-67之间无相关性，这些结论可辅助临床无创性评估患者预后及选择治疗方案。

参考文献

- [1] LU W L, LI H X, QIAN B Y, et al. The clinical characteristics and prognosis of Chinese early stage breast cancer patients: a retrospective study [J]. *Breast J*, 2010, 16(3): 331–333.
- [2] GOLDHIRSCH A, WOOD W C, COATES A S, et al. Strategies for subtypes dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer [J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(8): 1736–1747.
- [3] SANTAMARÍA G, BARGALLÓ X, FERNÁNDEZ P L, et al. Neoadjuvant systemic therapy in breast cancer: association of contrast-enhanced MR imaging findings, diffusion-weighted imaging findings, and tumor subtype with tumor response [J]. *Radiology*, 2017, 283(3):663–672.
- [4] TOZAKI M, FUKUMA E. ¹H-MR spectroscopy and diffusion-weighted imaging of the breast: are they useful tools for characterizing breast lesions before biopsy? [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2009, 193(3): 840–849.
- [5] MORI N, OTA H, MUGIKURA S, et al. Luminal-type breast cancer: correlation of apparent diffusion coefficients with the Ki-67 labeling index [J]. *Radiology*, 2015, 274(1): 66–73.
- [6] SUN K, CHEN X S, CHAI W M, et al. Breast cancer: Diffusion kurtosis MR imaging diagnostic accuracy and correlation with clinical-pathologic factors [J]. *Radiology*, 2015, 277(1): 46–55.
- [7] MARTINCICH L, DEANTONI V, BERTOTTO I, et al. Correlations between diffusion-weighted imaging and breast cancer biomarkers [J]. *Eur Radiol*, 2012, 22(7): 1519–1528.
- [8] KAKUGAWA Y, MINAMI Y, TATENNO H, et al. Relation of serum levels of estrogen and dehydroepiandrosterone sulfate to hormone receptor status

- among postmenopausal women with breast cancer [J]. Breast Cancer, 2007, 14(3): 269-276.
- [9] KAMITANI T, MATSUO Y, YABUUCHI H, et al. Correlations between apparent diffusion coefficient values and prognostic factors of breast cancer [J]. Magn Reson Med Sci, 2013, 12(3): 193-199.
- [10] TURKEN O, KUNTER E, CERMIK H, et al. Prevalence and prognostic value of C-erbB-2 expression in non-small cell lung cancer [J]. Neoplasma, 2003, 50(4): 257-261.
- [11] DE RONDE J J, HANNEMANN J, HALFWERK H, et al. Concordance of clinical and molecular breast cancer subtyping in the context of preoperative chemotherapy response [J]. Breast Cancer Res Treat, 2010, 119(1): 119-126.
- [12] KIM S H, CHA E S, KIM H S, et al. Diffusion-weighted imaging of breast cancer correlation of the apparent diffusion coefficient value with prognostic factors [J]. J Magn Reson Imaging, 2009, 30(3): 615-620.
- (收稿日期: 2017-06-03 修回日期: 2017-06-20)

《抗癌》杂志征稿启事

《抗癌》杂志于1988年创刊, 主管单位为上海市科学技术协会, 主办单位为上海市抗癌协会, 杂志刊号: CN31-1664/R ISSN 1008-3065。征稿栏目及内容如下。

一、《抗癌博客》栏目

记录癌症患者自强不息、热爱生活、勇敢面对病痛和生活压力的故事, 能够启发其他患者自信和勇敢的精神, 帮助他们建立积极、知足、感恩和达观的生活态度。可以是你的亲身经历, 也可以是医生治疗患者时的所见所闻, 或是你身边发生的故事。

二、《正道明道、大医精诚》栏目

真实记录医生对患者的关怀; 或是爱岗敬业、精益求精富有专业精神的事迹, 能让更多医道同仁敬重和学习。可以讲述患者眼里的医生, 也可以记录你的同事。

以上稿件《抗癌》杂志编辑部在发表时有修改的权力, 如果不同意修改请注明, 谢谢! 欢迎各位作者踊跃投稿。

通信地址: 上海市东安路270号6号楼3楼《抗癌》杂志社

邮 编: 200032 电 话: 021-64043766

传 真: 021-64043766 E-mail: anti-cancer@163.com

上海《抗癌》杂志社