



· 论 著 ·

超声微血管成像在引导儿童腹膜后神经母细胞瘤穿刺活检中的应用价值

唐宽丽¹, 沈志云¹, 钟芙蓉¹, 管雯斌², 陈亚青¹, 朱云开¹

1. 上海交通大学医学院附属新华医院超声科, 上海 200092;
2. 上海交通大学医学院附属新华医院病理科, 上海 200092

[摘要] 目的: 探讨超微血管成像 (superb microvascular imaging, SMI) 对提高儿童腹膜后神经母细胞瘤 (neuroblastoma, NB) 肿瘤微血管显示和超声引导下肿瘤穿刺活检准确度的价值。方法: 回顾并分析2015年3月—2021年7月上海交通大学医学院附属新华医院收治的24例难以手术完全切除的腹膜后NB患儿的临床资料、肿瘤超声影像和超声引导穿刺活检的资料。采用Image J软件测得取样区肿瘤内血流面积占比 (blood flow area ratio, BFAR), 以评估肿瘤微血管的丰富程度; 以穿刺病理学诊断为标准统计分析SMI引导穿刺活检的取样成功率; 应用儿童神经母细胞瘤诊疗专家共识2015版中的肿瘤疗效评估标准、肿瘤标志物测定以及化疗后肿瘤根治术后病理学检查评价穿刺活检病理学诊断的准确度。结果: SMI模式的肿瘤微血管BFAR显著高于彩色多普勒血流成像和彩色多普勒能量图模式 (分别为14.74%、3.17%及5.88%, $P < 0.001$); SMI引导24例肿瘤穿刺活检均获得NB病理学诊断, 83.3%的肿瘤获得NB亚型分类, MYCN基因扩增分析成功率100%。20例获得明确肿瘤亚型分型的患者中18例患儿的化疗效果为部分缓解, 2例为疾病稳定; 而未获得明确病理学分型的4例中2例化疗评估结果为疾病稳定, 2例为部分缓解。结论: SMI可明显提高肿瘤微血管的检出率, SMI引导穿刺活检对提高肿瘤病理学诊断尤其是肿瘤病理学亚型分型和分子分型准确度具有重要意义。

[关键词] 儿童; 腹膜后神经母细胞瘤; 超微血管成像; 穿刺活检

中图分类号: R735.4; R445.1 文献标志码: A DOI: 10.19732/j.cnki.2096-6210.2024.03.011

Value of superb microvascular imaging in the guidance of puncture biopsy of retroperitoneal neuroblastoma in children TANG Kuanli¹, SHEN Zhiyun¹, ZHONG Furong¹, GUAN Wenbin², CHEN Yaqing¹, ZHU Yunkai¹ (1. Department of Ultrasound in Medicine, Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China; 2. Department of Pathology, Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092)

Correspondence to: ZHU Yunkai E-mail: zhuyunkai@xinhumed.com.cn

[Abstract] **Objective:** To explore the value of superb microvascular imaging (SMI) in improving tumor microvasculature imaging and the accuracy of ultrasound guided puncture biopsy in children with retroperitoneal neuroblastoma (NB). **Methods:** This retrospective study involved the analysis of the clinical data, tumor ultrasound imaging, and ultrasound-guided puncture biopsy results of 24 children with unresectable retroperitoneal NB in Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine from March 2015 to July 2021. The tumor microvasculature was assessed by measuring the percentage of tumor flow area within the region of interest blood flow area ratio (BFAR) by Image J software. The biopsy adequacy rate of SMI targeted biopsy was evaluated using biopsy histopathology as reference standard. The Expert Consensus on Diagnosing and Treating Neuroblastoma in Children (CCCG-NB-2015 Regimen), tumor biomarker and surgical histopathology after chemotherapy were used to assess the accuracy of SMI targeted biopsy. **Results:** The BFAR value of SMI was significantly higher than that of the color Doppler flow imaging and color Doppler energy imaging (14.74%, 3.17%, 5.88%, respectively, $P < 0.001$). All 24 SMI targeted biopsy procedures successfully confirmed the diagnosis of NB, with 83.3% adequate for subtype classification and 100.0% adequate for MYCN gene amplification analysis. Among the 20 patients with tumor subtypes confirmed on biopsy, 18 of them were categorized to partial response and 2

通信作者: 朱云开 E-mail: zhuyunkai@xinhumed.com.cn

were categorized to stable disease. Among the 4 patients whose tumor subtype could not be confirmed on biopsy, 2 of them were categorized to partial response and the rest 2 were categorized to stable disease. **Conclusion:** With significant improvement in the depiction of tumor vasculature, SMI guided puncture biopsy is of great importance in improving the accuracy of histopathology results, especially for tumor subtype classification and genetic alternation.

[**Key words**] Children; Retroperitoneal neuroblastoma; Superb microvascular imaging; Puncture biopsy

神经母细胞瘤 (neuroblastoma, NB) 是小儿常见的恶性实体肿瘤之一, 占儿童肿瘤的7%~10%, 男童发病率稍高于女童^[1-2]。NB可发生于交感神经组织的任何部位, 但60%位于腹膜后, 其次为后纵隔、盆腔及颈交感神经节。由于该肿瘤发病隐匿, 早期无明显临床症状, 后期因肿瘤迅速增大, 患儿腹部不对称膨隆而就诊, 约57%患儿就诊时已为Ⅲ~Ⅳ期^[3], 失去手术根治机会, 不得不采用先化疗再手术的综合治疗方案以改善患儿的预后。

NB的病理学诊断和分型是制订合理有效的治疗方案的关键, 与开放式手术活检方式相比, 超声引导下穿刺活检具有微创安全的优势^[4-5], 然而因标本不足导致病理学诊断困难是穿刺活检方法尚未能在临床广泛应用的主要原因。NB肿瘤体积大且异质性高^[6], 如采用穿刺活检, 其成功率与穿刺部位的选择高度相关, 高分辨率超声成像能清晰地显示肿瘤内部结构, 彩色多普勒血流成像 (color Doppler flow imaging, CDFI) 能显示肿瘤组织血管, 更能反映肿瘤组织有无活性。常规CDFI因其灵敏度和信噪比低对肿瘤微血管显示能力有限^[7], 随着超微血管成像 (superb microvascular imaging, SMI) 技术的出现和不断改进, 如在超声引导下针对肿瘤微血管丰富部位穿刺活检理论上可提高肿瘤病理学诊断和分型的准确度, 为选择最佳化疗方案提供更准确的信息。本研究回顾并分析上海交通大学医学院附属新华医院收治的24例难以手术切除的腹膜后NB患儿的治疗前SMI引导穿刺活检影像学资料, 以病理学诊断和分型诊断、术前治疗效果和术后病理学检查结果为对照, 探讨SMI对提高儿童腹膜后NB肿瘤微血管显示和引导下肿瘤穿刺活检诊断准确度的价值。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选取2015年3月—2021年7月因腹膜后巨大肿块就诊且经超声引导下穿刺活检和病理学检查证实为NB的患儿。纳入标准: ① 年龄0~18岁; ② 治疗前完成超声引导下肿瘤穿刺活检; ③ 有完整的穿刺前常规超声和SMI影像学资料, 并有完整的超声引导穿刺影像学资料; ④ 完成肿瘤化学治疗, 并在结束化疗疗程后实施肿瘤切除术获得病理学检查结果; ⑤ 有完整的肿瘤治疗前后计算机体层成像 (computerized tomography, CT) 或磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 影像学资料和肿瘤标志物检查结果。排除标准: ① 影像学资料不完整6例; ② 穿刺标本未行基因扩增检查3例。最终24例患儿纳入研究, 年龄0.5~14岁, 其中男性15例, 女性9例。本回顾性研究经上海交通大学医学院附属新华医院伦理委员会批准。

1.2 常规超声及SMI检查

所有患儿在超声引导穿刺活检前对肿瘤部位行常规超声检查, 采用日本Toshiba公司的Aplio 500超声诊断仪, 配10C3凸阵探头, 探头频率3~10 MHz。在二维灰阶超声模式下观察肿瘤的形态、边界、内部回声、是否有钙化或坏死, 以及肿瘤与周围组织关系等。在彩色多普勒超声模式下分别行CDFI、彩色多普勒能量图 (color Doppler energy, CDE)、SMI检查, 观察肿瘤内部的血管情况, 采用Image J软件分别测量CDFI、CDE和SMI模式下肿瘤区域内的血流面积占比 (blood flow area ratio, BFAR) (图1)。

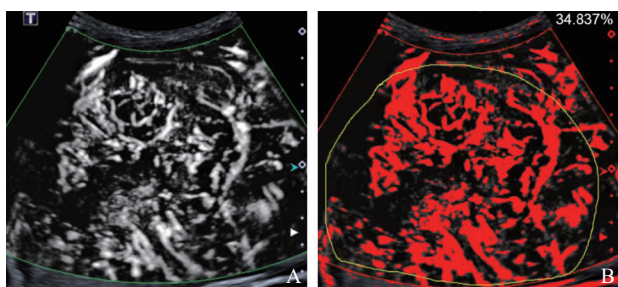


图1 BFAR测量方法示意图

A: NB的SMI图像; B: SMI图像的BFAR测量值为34.837%。

1.3 SMI引导下穿刺活检

在完成常规超声检查后采用相同的超声诊断仪及探头行超声引导下穿刺活检, 患儿取仰卧位, 全身麻醉, 腹部常规消毒铺巾, 针对SMI显示肿瘤微血管最丰富、同时穿刺路径上无大血管和重要脏器的部位实施穿刺活检。采用美国BARD MaxCore 18 G一次性自动活检系统, 在超声监视下当穿刺针尖到达预穿部位时, 扣动穿刺枪上发射键, 随即拔出活检枪, 完成一次活检, 获得肿瘤组织一条, 最长长度16 mm。为保证病理学诊断所需标本, 每个肿瘤穿刺3~6针, 获得3~6条组织, 分别置于病理标本盒内, 并浸泡于40%甲醛溶液中, 送至病理科进行病理学相关检查。穿刺完成后对穿刺部位局部压迫15 min, 后再次进行超声检查, 确定穿刺部位无出血后加压包扎, 患儿送至麻醉苏醒室观察。麻醉苏醒后患儿转回病房平卧6 h, 期间予以心电监护, 术后6、24 h复查血常规, 记录是否存在血红蛋白下降、心率血压改变等出血征象, 观察穿刺部位有无红肿等局部感染征象。

1.4 病理学检查

穿刺病理学诊断及分型根据国际NB危险度分级协作组标准分为NB、节细胞神经母细胞瘤混合型及节细胞神经母细胞瘤结节型。依据母细胞成分的分化程度分为未分化型、分化差型和分化型。*MYCN*基因判读标准为*MYCN*/第2号染色体比值 >4.0 诊断为*MYCN*基因扩增, 比值 ≤ 4 诊断为*MYCN*基因不扩增。对于化疗后手术切除标本, 针对肿瘤不同质地区域分别取材, 根据肿瘤残留成分进行病理学诊断及分型; 结合肿瘤内是否存在坏死、钙化、泡沫细胞浸润、含铁血黄素

沉积及纤维化判断有无治疗后改变。

1.5 疗效评估

在穿刺确诊NB后, 依据组织病理学分型、分化程度评估及基因扩增结果, 并结合患儿年龄、临床分期及DNA指数进行临床危险度分组^[8], 采用儿童神经母细胞瘤诊疗专家共识2015版(the Expert Consensus on Diagnosing and Treating Neuroblastoma in Children, CCCG-NB-2015)^[9]对不同危险度分层的NB患儿选择合适的化疗方案, 化疗后效果评估: ①完全缓解(complete response, CR), 原发灶残留最长径 <10 mm且原发灶不摄取 ^{131}I -MIBG或 ^{18}F -FDG; ②部分缓解(partial response, PR), 原发灶最长径(总和)减少 $\geq 30\%$, 原发灶摄取 ^{131}I -MIBG或 ^{18}F -FDG可稳定、增强或减弱; ③疾病进展(progressive disease, PD), 原发灶最长径(总和)减少 $\geq 20\%$ 且绝对值增加 ≥ 5 mm; ④疾病稳定(stable disease, SD), 原发灶缩小不能达到PR标准, 增大也不能达到PD的情况。肿瘤最长径在CT或MRI影像中测得。实验室检查测定NB相关肿瘤标志物包括24 h尿香草基扁桃酸(vanillylmandelic acid, VMA)、高香草酸(homovanillic acid, HVA)及血清神经元特异性烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)。

1.6 统计学处理

采用SPSS 23.0软件进行统计学分析。计量资料符合正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 不符合正态分布以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 不同血流成像方法的BFAR差异、化疗前后肿瘤标志物水平及肿瘤大小的差异采用Mann-Whitney *U*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般结果

24例腹膜后NB患儿临床分期Ⅲ期13例(54.2%), Ⅳ期11例(45.8%), CT或MRI显示肿瘤最长径为11.05(9.40, 12.45) cm。经影像学评估所有患儿均无法行根治手术进而行穿刺活检。所有患儿在穿刺过程中及穿刺术后未出现

出血、感染等并发症。

2.2 肿瘤SMI结果

24例腹膜后NB的CDFI、CDE和SMI的BFAR中位数分别为3.17%（1.38%，6.01%）、5.88%（3.62%，7.95%）及14.74%（10.66%，26.04%）（表1，图2），经Mann-Whitney *U* 检验，SMI的BFAR显著高于CDFI及CDE（ $Z=-4.286$ ， $P<0.001$ ； $Z=-4.286$ ， $P<0.001$ ）。

表1 24例腹膜后NB患儿3种血流成像模式的肿瘤BFAR

患儿编号	肿瘤内血流面积占比/%		
	CDFI	CDE	SMI
1	19.965	27.269	29.373
2	1.800	7.007	13.463
3	0.703	5.789	12.450
4	5.233	6.561	11.587
5	10.954	19.548	38.595
6	1.426	2.649	16.543
7	0.618	1.008	10.529
8	0.885	3.106	7.331
9	1.371	1.582	27.433
10	1.410	5.635	21.848
11	18.384	18.925	36.162
12	0.675	0.887	13.474
13	6.578	7.984	19.474
14	4.037	5.187	34.837
15	2.213	7.840	27.809
16	2.262	5.682	6.516
17	3.536	4.045	13.028
18	5.667	6.802	8.312
19	5.709	5.980	11.052
20	2.798	3.840	16.001
21	1.356	3.549	6.120
22	4.637	6.460	7.538
23	6.111	10.378	21.868
24	19.281	21.743	21.854

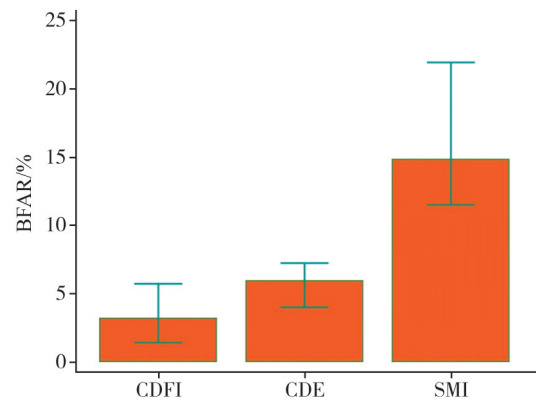


图2 CDFI、CDE及SMI对NB血流显示的比较

2.3 穿刺病理学检查结果

24例患儿经SMI引导下穿刺活检均成功获取病变组织（图3），病理学诊断均为NB，其中未分化型2例（8.3%），分化差型18例（75.0%），分化型0例，另有4例穿刺活检未能分型（16.7%）。所有患儿穿刺标本均能进行MYCN基因检测，其中MYCN扩增9例（37.5%），MYCN无扩增15例（62.5%）。

2.4 疗效评估

24例患儿化疗后根据CCCG-NB-2015标准评估为PR 20例（83.3%），评估为SD 4例（16.7%），未见PD的患儿。化疗期间，NB的肿瘤标志物24 h尿VMA、HVA及NSE均明显下降（表2），经Mann-Whitney *U* 检验，化疗后各项肿瘤标志物24 h尿VMA、HVA和NSE显著低于化疗前（ $Z=-4.310$ ， $P<0.001$ ； $Z=-4.268$ ， $P<0.001$ ； $Z=-5.774$ ， $P<0.001$ ），化疗后肿瘤最长径显著小于化疗前（ $Z=-4.840$ ， $P<0.001$ ），且所有患儿均未观察到影像学可见的针道种植转移征象。经化疗后所有患儿均可接受根治性手术，术后病理学检查显示肿瘤内部均存在不同程度的坏死、钙化、泡沫细胞浸润、含铁血黄素沉积及纤维化等治疗后改变。

3 讨论

对于无法完全手术切除的Ⅲ期和Ⅳ期NB患儿，临床常规先采用化疗使肿瘤体积缩小，然后实施手术切除^[9]。由于肿瘤的病理学诊断、病

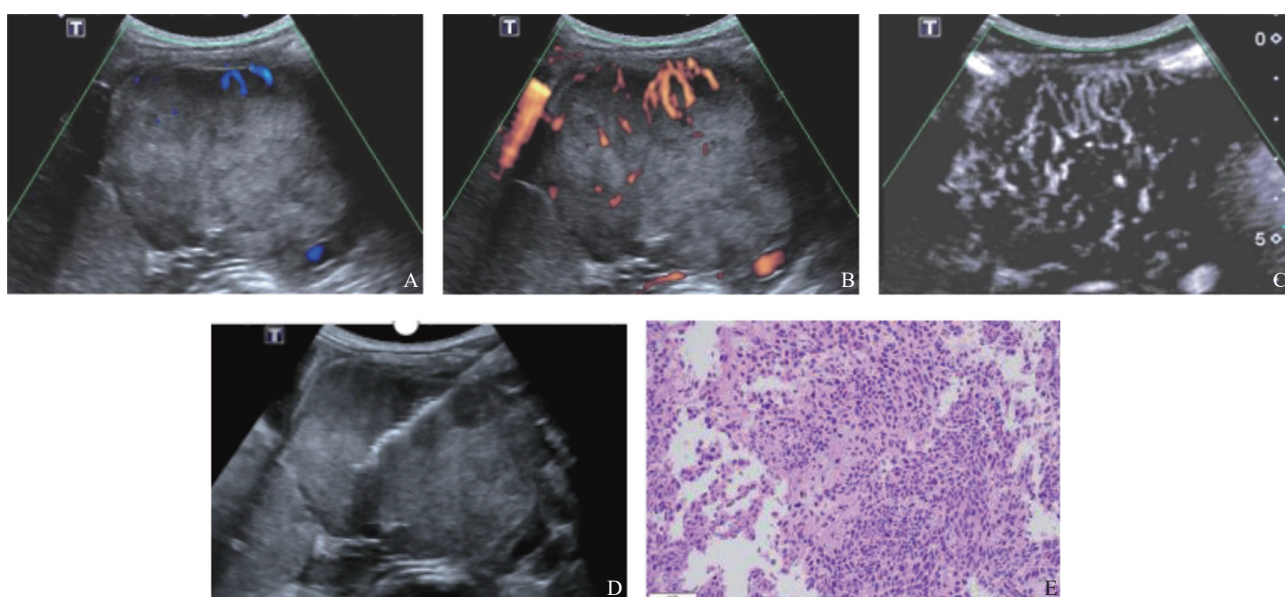


图3 腹膜后NB不同血流模式及SMI引导下穿刺活检

A: NB的CDFI图像; B: NB的CDE图像; C: NB的SMI图像; D: NB的超声引导下穿刺图像; E: 病理组织学检查结果为NB, 分化差型(HE染色, $\times 400$)。

表2 化疗前后各项肿瘤标志物及肿瘤大小比较

项目	化疗前	化疗后	Z值	$M(P_{25}, P_{75})$
				P值
24 h尿VMA/mg	7.76 (3.87, 21.59)	2.30 (1.30, 3.17)	-4.310	<0.001
24 h HVA/mg	9.80 (5.35, 27.93)	2.01 (1.20, 3.75)	-4.268	<0.001
NSE/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	322.35 (156.03, 724.30)	28.57 (16.51, 37.12)	-5.774	<0.001
肿瘤最长径/cm	11.05 (9.40, 12.45)	4.95 (4.00, 8.00)	-4.840	<0.001

理学分型和分子分型均为化疗方案选择的重要信息, 所以获取具有活性且足量的肿瘤标本是保证病理学诊断准确度的重要前提。晚期肿瘤病理学诊断主要有手术活检和穿刺活检, 前者多用于儿童, 而后者多用于成人, 相比于手术活检, 超声引导下穿刺活检更加安全、微创、简便, 故目前超声引导下穿刺在儿童肿瘤活检中的应用也趋于增多^[10-11]。廖献杉等^[12]采用常规超声引导对109例小儿腹部肿块穿刺活检, 其活检的取材成功率为95.83%, 病理学检查准确度90.48%; 在穿刺后并发症方面, 109例中有2例出现穿刺后并发症, 其中1例在肿瘤穿刺周围少量出血, 另1例出现轻度腹膜刺激症状, 这2例患儿分别经局部加压包扎和抗生素治疗后, 患儿症状体征在3 d内消失, 无严重并发症发生。吕凡等^[13]在38例小儿

肝脏肿瘤中行超声引导穿刺活检, 结果显示超声引导穿刺活检的准确度为100%, 肿瘤亚型分型诊断的准确度为75.7%; 无出血、感染和针道转移等并发症发生。以上研究表明超声引导穿刺活检是一种微创、安全、有效的小儿肿瘤活检的方法。

通过穿刺取材进行肿瘤病理学诊断的成败主要与所取标本的质量相关, 相比于肝脏肿瘤, 小儿NB的内部结构更为混杂^[6], 肿瘤内部组织成分复杂多变, 常规超声所提供的肿瘤结构成分和血流信息常满足不了穿刺部位选择所需信息, 需要能反映肿瘤细微结构的影像学方法检出肿瘤活性部分, 作为穿刺活检靶目标以提高肿瘤病理学诊断及其分型的准确度。肿瘤的生长依赖肿瘤新生血管, 如能选择肿瘤新生血管丰富处实施活检

则可提高标本的质量。然而,与正常组织血管不同,肿瘤新生血管内径纤细,通常在100 μm 以内^[14];另外在结构上仅为一层内皮细胞,缺乏基底层,血管走行迂曲,分支不规则和动静脉分流形成,致其血流速度缓慢,故常规CDFI和CDE对此类血管的检出率较低。SMI模式采用各种算法和技术降低组织运动所致的多普勒噪声信号,提高多普勒血流信噪比,从而可提高肿瘤微血管的检出率^[7, 14]。本研究结果显示,SMI对肿瘤血管检出率显著高于CDFI和CDE,采用SMI引导的针对肿瘤微血管丰富的肿瘤组织实施穿刺活检,所得标本均符合病理学诊断要求。此外,24例NB中有20例获得病理学亚型分型诊断,未得到亚型分型诊断的4例NB中2例为乏血供肿瘤,另2例因穿刺标本过少无法分型;在MYCN基因检测方面,本组24例肿瘤穿刺标本都能完成MYCN基因检测,其中MYCN扩增9例,无扩增15例。本研究20例有病理学亚型的NB患儿在化疗后评估为PR的18例,SD的2例;4例亚型分型失败的NB中PR 2例,SD 2例。24例NB患儿化疗后均可行肿瘤根治,根治术后病理学检查肿瘤内均可见不同程度的坏死、钙化、泡沫细胞浸润、含铁血黄素沉积及纤维化等NB治疗后表现,这些良好的治疗效果得益于正确的肿瘤病理学诊断和分型,而病理学诊断准确度归因于SMI引导穿刺活检取材精准。

本研究存在以下不足。首先,研究选择微血管丰富部位作为穿刺靶目标,缺乏对照研究资料。但由于患儿肿瘤体积大,临床分期晚,全身状况不佳,如增加穿刺针数可能会增加穿刺后出血可能,给患儿带来危险。在今后研究中拟增加I期手术患儿,通过与术前未经化疗的根治术病理学检查结果进行对照有望弥补这一缺陷。本研究治疗后评估结果和治疗后根治术病理学检查结果均提示治疗有效,这也能反映出穿刺活检诊断及分型的正确性。其次,本研究为单中心研究,入组患儿相对较少,需进一步的多中心及大样本研究来完善其研究结果。

综上所述,SMI模式通过提高血流显示的信

噪比提高肿瘤微血管显示,可作为肿瘤穿刺活检靶目标选择的简便、有效的方法,对提高儿童腹膜后NB穿刺活检尤其是肿瘤病理学亚型分型和分子分型准确度具有重要意义。

[参 考 文 献]

- [1] WHITTLE S B, SMITH V, DOHERTY E, et al. Overview and recent advances in the treatment of neuroblastoma [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2017, 17(4): 369–386.
- [2] QIU B, MATTHAY K K. Advancing therapy for neuroblastoma [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(8): 515–533.
- [3] 郭海霞,黎阳,薛红漫,等. 儿童神经母细胞瘤的临床分析 [J]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2010, 6(5): 315–318.
- [4] GEORGANTZI K, SKÖLDENBERG E, JANSON E T, et al. Diagnostic ultrasound-guided cutting needle biopsies in neuroblastoma: a safe and efficient procedure [J]. *J Pediatr Surg*, 2019, 54(6): 1253–1256.
- [5] CAMPAGNA G, ROSENFELD E, FOSTER J, et al. Evolving biopsy techniques for the diagnosis of neuroblastoma in children [J]. *J Pediatr Surg*, 2018, 53(11): 2235–2239.
- [6] MULLASSERY D, SHARMA V, SALIM A, et al. Open versus needle biopsy in diagnosing neuroblastoma [J]. *J Pediatr Surg*, 2014, 49(10): 1505–1507.
- [7] 张燕群,陈雪君,俞清,等. 超微血管成像技术在胆囊占位性病变中的应用价值 [J]. *肿瘤影像学*, 2022, 31(1): 16–20.
- [8] IRWIN M S, NARANJO A, ZHANG F F, et al. Revised neuroblastoma risk classification system: a report from the children's oncology group [J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(29): 3229–3241.
- [9] 中国抗癌协会小儿肿瘤专业委员会,中华医学会小儿外科学分会肿瘤外科学组. 儿童神经母细胞瘤诊疗专家共识 [J]. *中华小儿外科杂志*, 2015, 36(1): 3–7.
- [10] OVERMAN R E, KARTAL T T, CUNNINGHAM A J, et al. Optimization of percutaneous biopsy for diagnosis and pretreatment risk assessment of neuroblastoma [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2020, 67(5): e28153.
- [11] GARRETT K M, FULLER C E, SANTANA V M, et al. Percutaneous biopsy of pediatric solid tumors [J]. *Cancer*, 2005, 104(3): 644–652.
- [12] 廖献杉,李智贤,廖新红,等. 常规超声及超声引导下穿刺活检在小儿腹部肿瘤诊断中的应用 [J]. *广西医科大学学报*, 2018, 35(12): 1624–1627.
- [13] 吕凡,陈亚青,王立峰,等. 超声引导穿刺活检诊断儿童肝脏肿瘤的准确度及安全性研究 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2019, 18(1): 69–72.
- [14] 陶迅,李翀,张超学. 超微血管成像在TI-RADS 4类甲状腺微小结节中的诊断价值 [J]. *肿瘤影像学*, 2021, 30(5): 382–386.

(收稿日期: 2024-01-29 修回日期: 2024-02-14)