

鼻咽癌3D pCASL与Ki-67指数相关性及其临床分期价值

吴文秀^{1,2,3}, 江桂华^{1,2}, 徐志锋³, 潘爱珍³, 高明勇³, 周新韩³

1. 南方医科大学第二临床医学院, 广东 广州 510282; 2. 广东省第二人民医院影像科, 广东 广州 510317; 3. 佛山市第一人民医院 (中山大学附属佛山医院) 影像科, 广东 佛山 528000

【摘要】目的:探讨鼻咽癌三维动脉自旋标记(3D pCASL)与Ki-67指数的相关性及其对临床分期的价值。**方法:**收集病理证实的鼻咽癌首诊患者48例, 其中36例经免疫组化检测Ki-67指数, 并对患者以T、N及临床分期分为低、高级别组。所有患者均行鼻咽部MR平扫及增强和3D-ASL序列扫描, 并测量肿瘤实质内的血流图平均值(BF_{mean})、最小值(BF_{min})及最大值(BF_{max}), 利用秩和检验比较高、低级别组间ASL的3个定量参数的差异。分析3个定量参数与Ki-67之间相关性。**结果:**T、N及临床分期的高级别组 BF_{mean} 、 BF_{max} 及 BF_{min} 值均高于低级别组; Ki-67指数与 BF_{max} 显著相关($r=0.408$, $P=0.014$), 具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**3D pCASL作为一种无创的功能磁共振灌注成像, 可以评估鼻咽癌的血流灌注信息; BF_{max} 可以评价鼻咽癌的增殖程度, 有利于评估鼻咽癌患者预后。

【关键词】鼻咽癌; 磁共振成像; 三维动脉自旋标记; Ki-67

【中图分类号】R739.62; R445.2

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2020)02-0190-05

Correlation between 3D pCASL of nasopharyngeal carcinoma with Ki-67 index and its value in clinical staging

WU Wenxiu^{1,2,3}, JIANG Guihua^{1,2}, XU Zhifeng³, PAN Aizhen³, GAO Mingyong³, ZHOU Xinhan³

1. the Second Clinical Medical College of Southern Medical University, Guangzhou 510282, China; 2. Department of Imaging, Guangdong Second Provincial General Hospital, Guangzhou 510317, China; 3. Department of Imaging, Foshan First People's Hospital (Foshan Hospital Affiliated to Sun Yat-sen University), Foshan 528000, China

Abstract: Objective To explore the correlation between the parameters derived from three-dimensional pseudo-continuous arterial spin labeling (3D pCASL) of nasopharyngeal carcinoma (NPC) with Ki-67 index and discuss its value in clinical staging. **Methods** Forty-eight cases with an initial diagnosis of NPC confirmed by pathology were collected, among which 36 cases were assessed by immunohistochemistry with Ki-67 index. The patients were grouped into T, N and clinical stages and then divided into low- and high-grade groups. All patients were given magnetic resonance plain and enhanced nasopharyngeal scans and 3D-ASL sequence scan. The mean value (BF_{mean}), minimum value (BF_{min}) and maximum value (BF_{max}) of blood flow in tumor parenchyma were measured, and the differences in the 3 quantitative parameters of ASL between high- and low-grade groups were compared with rank sum test. Finally, the correlations between 3 quantitative parameters and Ki-67 index were analyzed. **Results** BF_{mean} , BF_{max} and BF_{min} in the high-grade groups of T, N and clinical stages were higher than those in the low-grade groups. Ki-67 index was significantly correlated with BF_{max} ($r=0.408$, $P=0.014$), with statistical significance ($P<0.05$). **Conclusion** As a non-invasive functional magnetic resonance perfusion imaging, 3D pCASL can be used to evaluate the blood perfusion of NPC. Moreover, BF_{max} can be used to assess the degree of NPC proliferation, which is helpful to evaluate the prognosis of NPC patients.

Keywords: nasopharyngeal carcinoma; magnetic resonance imaging; three-dimensional pseudo-continuous arterial spin labeling; Ki-67

【收稿日期】2019-09-04

【基金项目】广东省自然科学基金(2014A030310276); 佛山市科技局医学科研项目(2016AB002371)

【作者简介】吴文秀, 在读硕士, 主治医师, 研究方向: 头颈部影像诊断, E-mail: 945349163@qq.com

【通信作者】江桂华, 博士, 主任医师, E-mail: jiangguihua1970@163.com

前言

鼻咽癌具有区域聚集性, 是我国最常见头颈部恶性肿瘤, 好发于中国南方、东南亚和中国移民^[1]。鼻咽癌的准确临床分期及预后评估对治疗方案的制定非常重要。常规的鼻咽部磁共振平扫及增强扫描

仅能提供肿瘤形态学信息,不能反映肿瘤内部肿瘤血管的情况及血流灌注状态,无法预判肿瘤的增殖、复发及转移情况,给临床准确分期及预后评估带来一定困扰。三维连续动脉自旋标记(Three-dimensional Pseudo-continuous Arterial Spin Labeling, 3D pCASL)技术能无创地评估肿瘤组织的灌注情况,该技术多应用于颅脑灌注成像^[2],在肾、子宫、甲状腺^[3-5]等多系统均有研究,在鼻咽癌诊断及分期上亦有相关研究^[6-8]。张波等^[8]发现在各分期中高级别组肿瘤的血流量(BF)值显著高于低级别组。目前对于鼻咽癌分期的研究均是基于AJCC(the American Joint Committee on Cancer)2008版分期指南,但是中国鼻咽癌分期指南已更新到2017版^[9]。ASL技术用于鼻咽癌临床2017版分期目前未有研究报道。Ki-67是肿瘤增殖标志基因,其表达变化可反映肿瘤的增殖活性。对鼻咽癌的研究发现,高Ki-67表达与放疗抵抗有关,是导致局部复发和转移的原因,提示预后较差^[10-11]。目前尚无文献探讨Ki-67指数与3D pCASL的相关性。本研究旨在探讨3D pCASL参数对鼻咽癌2017版分期的价值以及和Ki-67指数的相关性,以便临床上可用无创的MR灌注成像方式预测鼻咽癌分期、增殖程度及预后,有利于临床治疗方案的制定,减少其复发及转移的风险。

1 资料与方法

1.1 资料

收集2019年1~7月在佛山市第一人民医院经鼻咽镜及病理确诊的鼻咽癌48例。入选标准:(1)所有患者均为首次确诊,确诊前未曾接受任何治疗(化疗或放化疗);(2)无磁共振检查禁忌证。排除标准:(1)合并有其他头颈部肿瘤;(2)纳入后发现图像质量差;(3)无法耐受MR增强扫描。48例初治鼻咽癌患者收集入组,男37例、女11例,年龄27~73岁,平均(48±11)岁。48例鼻咽癌患者的病理均为未分化非角化癌,所有患者分期均按照第AJCC指南2017版分期标准,临床资料见表1。大多数患者以颈部无痛性包块(18例)及鼻塞/涕中带血(18例)就诊,另外还伴右耳鸣、头痛、听力下降等症状,病史1周~9个月。有11例患者有癌症家族史,其中8例有鼻咽癌家族史。这项前瞻性研究得到佛山市第一人民医院伦理委员会批准,所有患者均已告知并获得知情权。

1.2 MR扫描

采用3.0T磁共振扫描仪(Discovery MR 750 3.0T system, GE Healthcare)及8通道头颈联合线圈(GE Healthcare, Milwaukee, WI)。磁共振检查对比剂为钆喷

表1 患者分期资料
Tab.1 Clinical staging of patients

不同分期	例数(比例)
AJCC分期	
I	1(2.08%)
II	15(31.25%)
III	11(22.92%)
IV	21(43.75%)
T分期	
T ₁	2(4.17%)
T ₂	21(43.75%)
T ₃	11(22.92%)
T ₄	14(29.17%)
N分期	
N ₀	5(10.42%)
N ₁	15(31.25%)
N ₂	19(39.58%)
N ₃	9(18.75%)
M分期	
M ₀	47(97.92%)
M ₁	1(2.08%)

酸葡胺注射液(马根维显,德国Bayer ScheringPharma公司)。常规MR平扫包括横断位液体衰减反转回复(FLAIR)序列T₁WI:TR=657 ms,TE=24 ms,NEX=2,FOV 240 mm×240 mm;基于快速自旋回波(FSE)序列压脂横状位T₂WI:TR=5 114 ms,TE=110 ms,NEX=2,FOV 240 mm×240 mm,矩阵288×224,层厚5 mm,层间距1 mm,扫描层数36。冠状面T₂WI-FS(TR=2 250 ms,TE=64 ms)平扫。3D-pASL:基于FSE的3D Spiral采集,脉冲式和连续式有机结合,TR=3 685 ms,TE=11.5 ms,PLD=1 025 ms[1.0 s],NEX=3,带宽41.67,层厚5 mm,层距0 mm,回波链=21,层数24,FOV 240 mm×240 mm,矩阵288×192。横断位T₂WI-FS(TR=3 000 ms,TE=68.0 ms),扫描范围及定位线与ASL横断位一致。常规MR增强扫描:以0.2 mL/kg、2.0 ms速率注入对比剂后横断面、冠状位及矢状位T₁WI-FS(TR=655 ms,TE=9.5 ms)。

1.3 MRI图像后处理

将扫描所获得的ASL原始数据传入GE-AW 4.6工作站软件进行后处理。对ASL数据进行后处理,得到肿瘤BF图。结合MR增强图像,由2名放射科医师共同协商,手动绘制感兴趣区(ROI),选择肿瘤最大面积层面,包括整个肿瘤画ROI,测得肿瘤血流

图平均值(BF_{mean});在最大层面上,选取最大、最小BF值处放置ROI,得出 BF_{max} 、 BF_{min} 。上述3个BF值均进行3次测量,取其平均值。

1.4 Ki-67指数表达的免疫组化检测与结果判定

36例鼻咽癌组织标本石蜡常规切片,4 mm,在用多聚赖氨酸涂好的玻片上,70℃烤24 h备用。组织切片经脱蜡、水化,EDTA法修复抗原,Ki-67单抗的组织化学染色按三步法操作,3,3'-二氨基联苯胺酶底物显色。主要试剂小鼠抗人CD31单克隆抗体、浓缩型小鼠抗人Ki-67单克隆抗体、S-P超敏试剂盒及DAB试剂盒均购自迈新生物技术公司。采用双盲法,由2名高年资病理医师分别阅片。在高倍显微镜下随机选取5个不同视野,每个视野计数200个肿瘤细胞。

1.5 鼻咽癌临床分组

将鼻咽癌分为高、低级别两个组。临床I、II期($n=17$)及 T_1 、 T_2 期($n=23$)和 N_0 、 N_1 期($n=21$)归入低级别组,临床III、IV期($n=31$)及 T_3 、 T_4 期($n=25$)和 N_2 、 N_3

期($n=27$)归入高级别组。由于 M_1 分数较少($n=1$),M分期并未进行统计学分析。

1.6 统计学分析

使用SPSS 20.0统计学软件分析数据,3D pCASL各参数值及Ki-67值以均数±标准差表示。采用两样本秩和检验(Mann-Whitney U 检验)比较高、低级别间肿瘤区各定量参数及Ki-67值的差别。BF各参数与Ki-67的相关性采用Pearson相关分析(r 值为0.71~1.00为高度相关,0.40~0.70为中度相关,小于0.40为低度相关)。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BF各参数与肿瘤大小、分期的关系

BF_{mean} 、 BF_{max} 、 BF_{min} 各值与患者年龄、肿瘤大小、分期未见显著统计学差异($P>0.05$)。但高级别组表现为高灌注,而低级别组表现为低灌注(图1)。高级别组 BF_{mean} 、 BF_{max} 、 BF_{min} 均值明显高于低级别组(表2)。

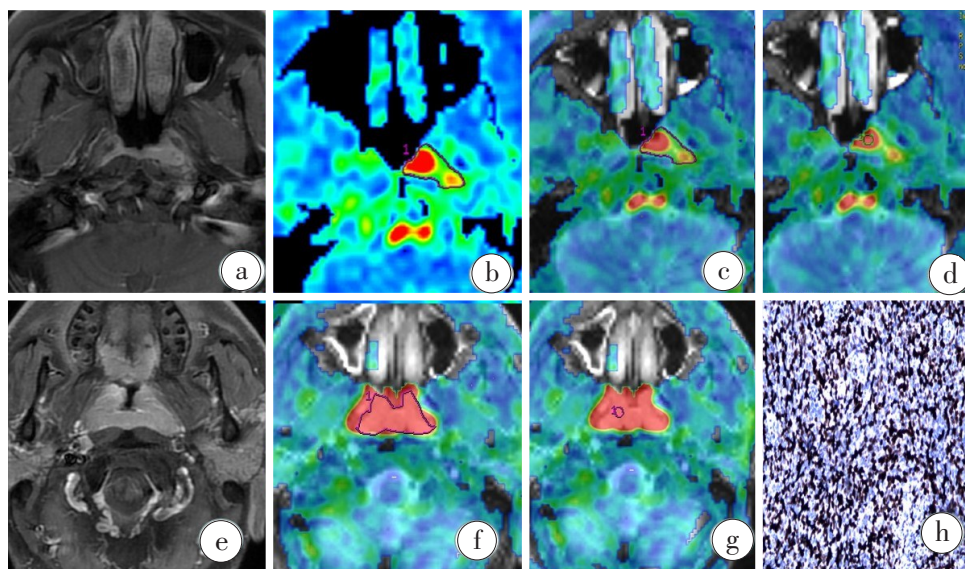


图1 鼻咽癌患者ASL与Ki-67图像

Fig.1 Arterial spin labeling and Ki-67 images of patients with nasopharyngeal carcinoma

a~d为男性患者,35岁, $T_2N_0M_0$,II期。a:增强 T_1 WI鼻咽左侧壁软组织增厚;b: BF_{ASL} 病变灌注不均匀, BF_{mean} 值为81.033 mL/(100 g·min);c:FS T_2 WI/ASL融合,提高病变解剖结构显示;d:病变 BF_{max} 值156.80 mL/(100 g·min)。e~h为男性患者,38岁, $T_3N_2M_0$,III期,e:增强 T_1 WI鼻咽软组织对称性增厚;f:FS T_2 WI/ASL融合, BF_{mean} 值为256.39 mL/(100 g·min);g:病变 BF_{max} 值358.53 mL/(100 g·min);h:Ki-67高表达,×200。

2.2 Ki-67值与肿瘤大小、分期的关系

Ki-67值与患者年龄、肿瘤大小、分期未见统计学差异。

2.3 鼻咽癌3D-ASL定量参数与Ki-67间的相关性

BF_{max} 与Ki-67呈中度正相关,相关系数(r)为0.408, $P<0.05$,如图2。 BF_{mean} 、 BF_{min} 与Ki-67间未见统计学相关性。

3 讨论

3D pCASL可以无创且定量测定灌注参数,既往文献报道该技术有助于肿瘤复发与炎性反应的鉴别诊断,以及肿瘤病理分级^[2,12-13]。Jarnum等^[14]研究认为ASL技术可作为替代DCE-MRI技术评价颅脑血流灌注。在头颈部肿瘤的研究上亦有相关研究。

表 2 不同分期高、低级别组间BF 值与 Ki-67 值
Tab.2 BF values and Ki-67 index in high- and low-grade groups of different stages

参数	AJCC 分期			T 分期			N 分期		
	低级别	高级别	P 值	低级别	高级别	P 值	低级别	高级别	P 值
BF _{mean}	63.52±23.19	76.20±40.52	0.152	68.35±24.39	74.81±43.81	0.59	64.49±24.95	77.34±41.72	0.18
BF _{max}	98.83±41.19	134.24±74.61	0.083	105.62±40.92	136.49±81.57	0.32	109.39±67.30	131.00±65.54	0.08
BF _{min}	49.92±23.85	59.96±40.33	0.755	55.79±29.37	56.98±40.84	0.69	48.51±22.80	62.55±42.19	0.51
Ki-67	48.63±24.30	46.40±22.30	0.710	50.00±21.29	44.47±23.97	0.45	45.77±23.26	47.83±22.70	0.79

BF 值单位为 mL/(100 g·min), Ki-67 值单位为%

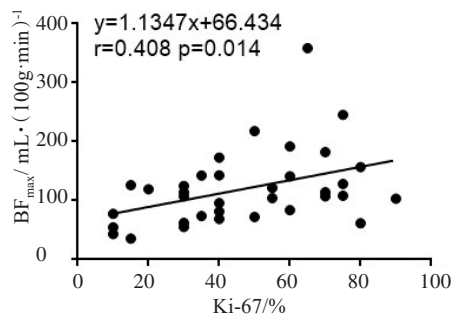


图 2 BF_{max} 与 Ki-67 呈中度正相关
Fig.2 Moderate positive correlation between BF_{max} and Ki-67

Fujima 等^[15]在头颈部鳞癌的研究中发现,在评价肿瘤的灌注血流量上,3D pCASL 的 TBF 值与 DCE 的 BF 值一致性较高。ASL 技术在鼻咽癌上的应用研究较少。Lin 等^[7]在鼻咽癌研究中,采用 PLD(标志后延迟时间)分别为 1.0、1.5、2.0 s 成像,发现 PLD 为 1.0 s 时,更有利于鼻咽癌肿瘤组织的显示,并与 DCE 灌注肿瘤血流量对比研究得出 ASL 灌注成像可作为 DCE 的替代方案。所以 3D-ASL 技术在鼻咽癌中的应用是可行的。本研究采用 PLD 为 1.0 s,获得较满意的图像效果。另外,由于 ASL 序列显示鼻咽部结果欠佳,所以本研究采用 ASL/T₂WI 融合成像,更有利于对解剖结构及鼻咽癌病变的显示。

本研究发现 BF_{mean}、BF_{max}、BF_{min} 值与患者年龄、病变大小和分期无统计学差异,与 Lin 等^[7]研究一致。但是在 T、N 及临床分期的高、低级别组间,高级别组 BF_{mean}、BF_{max}、BF_{min} 值均高于低级别组。Shen 等^[16]研究 52 例颅脑胶质瘤亦发现,高级别组 CBF 值显著高于低级别组,与本研究一致。本研究中高级别组 BF 各均值较高,说明 3D pCASL 灌注成像可以无创反映肿瘤的血供特点。肿瘤的分期越晚,细胞增殖越快,需要的血供越多,血管生长越明显,肿瘤的灌注也越高。在统计学上未见显著差异,可能与样本量小有关。

Ki-67 是肿瘤增殖标志基因,其表达变化可反映

肿瘤的增殖活性,在多种肿瘤中表达较为丰富,特别是肺癌^[17]、乳腺癌^[18],与肿瘤分级、预后有一定关系。在鼻咽癌的研究中发现,高 Ki-67 表达与放疗抵抗有关,是复发和转移的原因,提示预后较差^[10-11,19]。Ki-67 的表达是预测鼻咽癌患者预后的可靠指标。吴静等^[20]发现胶质瘤 rCBF 值与 Ki-67 指数呈正相关,可能表明肿瘤细胞的增殖与微血管的生长有关,与肿瘤组织的侵袭性及患者的预后相关性密切。本研究发现鼻咽癌 BF_{max} 与 Ki-67 呈中度正相关($r=0.408$, $P<0.05$)。BF_{max} 值表示肿瘤组织中最高血流量区域, Ki-67 表达越高,其增殖越快,最高血流量也越大。所以 ASL 参数中的 BF_{max} 值可提示一定的生物学特性,可以无创评估鼻咽癌组织增殖潜能,能间接提示患者预后水平。

本研究仍存在一些不足:(1)总病例及具有 Ki-67 免疫组化的病例太少,接下来的研究要扩大样本量。(2)本研究只设定一个 PLD,还需要设置更多的 PLD 时间点进一步对照研究。(3)未对 BF_{max} 对应位置取活检检测得 Ki-67 值,两者之间的对应关系仍需进一步研究。(4)未对鼻咽癌患者治疗后随访,进一步阐明 ASL 及 Ki-67 对预后的影响。

综上所述,3D pCASL 是一种可以评估鼻咽癌的血流灌注信息的无创检查,高级别组的血流灌注高于低级别组,BF_{max} 值可以评价鼻咽癌的增殖程度,有利于评估鼻咽癌患者预后,有利于临床治疗方案的制定,减少其复发及转移的风险。

【参考文献】

[1] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.

[2] TAKAHASHI H, ISHII K, HOSOKAWA C, et al. Clinical application of 3D arterial spin-labeled brain perfusion imaging for Alzheimer disease: comparison with brain perfusion SPECT[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2014, 35(5): 906-911.

[3] REN T, WEN C L, CHEN L H, et al. Evaluation of renal allografts function early after transplantation using intravoxel incoherent motion

- and arterial spin labeling MRI[J]. *Magn Reson Imaging*, 2016, 34(7): 908-914.
- [4] TAKAHASHI N, YOSHINO O, HIRAIKE O, et al. The assessment of myometrium perfusion in patients with uterine fibroid by arterial spin labeling MRI[J]. *Springerplus*, 2016, 5(1): 1907.
- [5] SCHRAML C, MUSSIG K, MARTIROSIAN P, et al. Autoimmune thyroid disease: arterial spin-labeling perfusion MR imaging [J]. *Radiology*, 2009, 253(2): 435-442.
- [6] 刘学, 余小多, 李琳, 等. 3.0T MR 动脉自旋标记技术对T₁期鼻咽癌诊断价值的初步研究[J]. *放射学实践*, 2018, 33(1): 24-29.
- LIU X, YU X D, LI L, et al. Preliminary study of 3.0T MR arterial spin labeling in the diagnosis of stage T₁ nasopharyngeal carcinoma[J]. *Radiological Practice*, 2018, 33(1): 24-29.
- [7] LIN M, YU X, LUO D, et al. Investigating the correlation of arterial spin labeling and dynamic contrast enhanced perfusion in primary tumor of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Eur J Radiol*, 2018, 108: 222-229.
- [8] 张波, 查云飞, 陈忠强, 等. IVIM 与 3D pCASL 在鼻咽癌临床分期中的对照研究[J]. *磁共振成像*, 2017, 8(9): 647-653.
- ZHANG B, ZHA Y F, CHEN Z Q, et al. Comparative study of IVIM and 3D pCASL in the clinical staging of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Chinese Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2017, 8(9): 647-653.
- [9] 中国鼻咽癌临床分期工作委员会. 中国鼻咽癌分期2017版(2008鼻咽癌分期修订专家共识)[J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2017, 26(10): 1119-1125.
- Chinese Committee for Staging of NPC. The 2017 edition for staging of nasopharyngeal carcinoma in China (the Chinese 2008 expert consensus on staging revision of nasopharyngeal carcinoma) [J]. *Chinese Journal of Radiation Oncology*, 2017, 26(10): 1119-1125.
- [10] ZHAO Y, SHEN L, HUANG X, et al. High expression of Ki-67 acts a poor prognosis indicator in locally advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 494(1-2): 390-396.
- [11] ZHAO L, CHEN H, HU B, et al. Prognostic significance of Ki67 expression and the derived neutrophil-lymphocyte ratio in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 1919-1926.
- [12] ROY B, AWASTHI R, BINDAL A, et al. Comparative evaluation of 3-dimensional pseudocontinuous arterial spin labeling with dynamic contrast-enhanced perfusion magnetic resonance imaging in grading of human glioma[J]. *J Comput Assist Tomogr*, 2013, 37(3): 321-326.
- [13] MIYOSHI F, SHINOHARA Y, KAMBE A, et al. Utility of intravoxel incoherent motion magnetic resonance imaging and arterial spin labeling for recurrent glioma after bevacizumab treatment[J]. *Acta Radiol*, 2018, 59(11): 1372-1379.
- [14] JARNUM H, STEFFENSEN E G, KNUTSSON L, et al. Perfusion MRI of brain tumours: a comparative study of pseudo-continuous arterial spin labelling and dynamic susceptibility contrast imaging[J]. *Neuroradiology*, 2010, 52(4): 307-317.
- [15] FUJIMA N, KUDO K, TSUKAHARA A, et al. Measurement of tumor blood flow in head and neck squamous cell carcinoma by pseudo-continuous arterial spin labeling: comparison with dynamic contrast-enhanced MRI[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2015, 41(4): 983-991.
- [16] SHEN N, ZHAO L, JIANG J, et al. Intravoxel incoherent motion diffusion-weighted imaging analysis of diffusion and microperfusion in grading gliomas and comparison with arterial spin labeling for evaluation of tumor perfusion[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2016, 44(3): 620-632.
- [17] AHN H K, JUNG M, HA S Y, et al. Clinical significance of Ki-67 and p53 expression in curatively resected non-small cell lung cancer[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(6): 5735-5740.
- [18] RASMY A, ABOZEED W, ELSAMANY S, et al. Correlation of preoperative Ki67 and serum CA15.3 levels with outcome in early breast cancers: a multi institutional study[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(7): 3595-3600.
- [19] YANG Y, XUAN J, YANG Z, et al. The expression of epidermal growth factor receptor and Ki67 in primary and relapse nasopharyngeal cancer: a micro-evidence for anti-EGFR targeted maintenance therapy[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(3): 1448-1455.
- [20] 吴静, 汪文胜, 李松涛, 等. 3D-ASL 参数对胶质瘤术前分级的价值及与Ki-67、MVD表达间关系的对照研究[J]. *实用放射学杂志*, 2018, 34(5): 654-657.
- WU J, WANG W S, LI S T, et al. The value of 3D-ASL parameters for predicting glioma grade before operation and the relationship between expression of Ki-67 and MVD[J]. *Journal of Practical Radiology*, 2018, 34(5): 654-657.

(编辑:黄开颜)