

子宫内膜癌诊治

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002661

子宫内膜样腺癌表观扩散系数与免疫组化表达的相关性研究

刘晓曦, 肖智博, 熊域霖, 郑伊能, 吕发金

(重庆医科大学附属第一医院放射科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探究基于直方图分析的子宫内膜样腺癌表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)与雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、抑癌基因 *P53* 及增殖抗原 Ki67 表达的相关性。**方法:**分析 68 例术前行磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查且术后病理证实为子宫内膜样腺癌患者的 MRI 及病理资料。对其免疫组化行半定量评分。利用相关软件在每个层面 ADC 图上勾画全肿瘤的感兴趣区(region of interest, ROI), 不包括囊变、坏死、出血区域, 并进行直方图分析得到 ADC 直方图参数, 包括平均值、众数、峰度、偏度、最小值、最大值, 以及第 5、25、50、75、95 百分位数。用 Spearman 相关分析对 ADC 直方图参数和免疫组化表达之间的相关性进行统计学分析。**结果:**ADC 直方图参数中平均值、众数及第 5、25、50、75、95 百分位数与 Ki67 表达成负相关(相关系数及 *P* 值分别为 $r=-0.394, P=0.001$; $r=-0.373, P=0.002$; $r=-0.294, P=0.015$; $r=-0.359, P=0.003$; $r=-0.409, P=0.001$; $r=-0.371, P=0.002$; $r=-0.396, P=0.001$); 众数及第 5、25、50 百分位数与 *P53* 表达成负相关(相关系数及 *P* 值分别为 $r=-0.307, P=0.011$; $r=-0.242, P=0.047$; $r=-0.252, P=0.038$; $r=-0.254, P=0.036$), 偏度与 *P53* 表达成正相关($r=0.345, P=0.004$); 各直方图参数与 ER、PR 表达无明显相关性($P>0.05$)。**结论:**ADC 直方图参数与子宫内膜样腺癌 *P53*、Ki67 的表达有一定相关性, 与子宫内膜样腺癌 ER、PR 的表达无明显相关性。术前的 ADC 值可以一定程度上间接反映临床病理特征, 为临床个性化治疗提供更多信息。

【关键词】子宫内膜样腺癌; 表观扩散系数; 免疫组化**【中图分类号】**R445.2**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2020-05-07

Correlation between apparent diffusion coefficient and immunohistochemical expression in endometrioid adenocarcinoma

Liu Xiaoxi, Xiao Zhibo, Xiong Yulin, Zheng Yineng, Lü Fajin

(Department of Radiology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the correlation between the apparent diffusion coefficient (ADC) of endometrioid adenocarcinoma based on histogram analysis and the expression of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), tumor suppressor gene *P53* and proliferating antigen Ki67. **Methods:** A total of 68 patients who underwent magnetic resonance imaging before surgery and whose pathology was confirmed to be endometrioid adenocarcinoma were analyzed. Semi-quantitative immunohistochemical scoring was performed. Relevant software was used to delineate the region of interest (ROI) of the whole tumor on the ADC map at each level, excluding cystic degeneration, necrosis, and bleeding areas. Histogram analysis was performed to obtain ADC histogram parameters, including mean, mode, kurtosis, skewness, minimum, maximum, 5th, 25th, 50th, 75th, and 95th percentiles. Spearman correlation analysis was used to statistically analyze the correlation between ADC histogram parameters and immunohistochemical expression. **Results:** The mean, mode, 5th, 25th, 50th, 75th and 95th percentiles of the ADC histogram parameters were negatively correlated with Ki67 expression (correlation coefficient and *P* value were $r=-0.394, P=0.001$; $r=-0.373, P=0.002$; $r=-0.294, P=0.015$; $r=-0.359, P=0.003$; $r=-0.409, P=0.001$; $r=-0.371, P=0.002$; $r=-0.396, P=0.001$, respectively); the mode, 5th, 25th and 50th percentiles were negatively correlated with *P53* expression (correlation coefficient and *P* value were $r=-0.307, P=0.011$; $r=-0.242, P=0.047$; $r=-0.252, P=0.038$; $r=-0.254, P=0.036$, respectively), the skewness value was positively correlated with *P53* expression ($r=0.345, P=0.004$). There was no

作者介绍: 刘晓曦, Email: 784561146@qq.com,

研究方向: 妇产科影像学。

通信作者: 吕发金, Email: fajinlv@163.com。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20201014.1225.006.html>

(2020-10-14)

significant correlation between the histogram parameters and the expression of ER and PR ($P>0.05$). **Conclusion:** ADC histogram parameters had a certain correlation with the expression of *P53* and Ki67 in endometrioid adenocarcinoma, but had no obvious

correlation with the expression of ER and PR in endometrioid adenocarcinoma. ADC values can indirectly reflect clinicopathological characteristics to a certain extent and provide more information for clinical personalized treatment.

[Key words] endometrioid adenocarcinoma; apparent diffusion coefficient; immunohistochemistry

子宫内膜癌是女性第五常见的恶性肿瘤,其发病率呈上升趋势。它最常见的组织学亚型是子宫内膜样腺癌,其治疗以手术为主,辅助放化疗及激素治疗等^[1]。研究表明,雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)阳性表达及抑癌基因 P53 突变与子宫内膜癌组织学分级、手术病理分期等相关^[2-4]。Ki67 增殖指数反映了肿瘤增殖活跃的程度,越来越多的证据表明扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)中 ADC 值能反映多种肿瘤的 Ki67 指数^[5-6]。ADC 值有望成为一种无创的影像生物标志物,为临床个性化治疗提供更多信息。

直方图分析是纹理分析的一种。它通过峰度、偏度、各百分位数值等多个参数反映图像灰度的变化及分布情况,从而反映病变的异质性。ADC 直方图分析可以得到感兴趣区(region of interest, ROI)中不同 ADC 值的分布情况,能较全面地了解病变的扩散特征。

目前,子宫内膜癌 ADC 值与 ER、PR、P53 表达的相关性尚不明确,且尚未对基于直方图分析的子宫内膜癌 ADC 值与 Ki67 的相关性进行研究。本研究旨在探究基于直方图分析的子宫内膜样腺癌 ADC 值与 ER、PR、P53 及 Ki67 表达可能存在的联系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

回顾性分析 2014 年 1 月至 2017 年 12 月重庆医科大学附属第一医院收治的 68 例经手术病理证实为子宫内膜样腺癌患者的磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)及病理资料。患者平均年龄(54.0 ± 10.4)岁(范围 27~74 岁),其中包括 13 例低分化、42 例中分化及 13 例高分化子宫内膜样腺癌。所有病例的术前 MRI 均有 DWI 序列且图像质量良好,并进行了 ER、PR、P53、Ki67 免疫组化染色,术前均未行内分泌治疗或放化疗,病灶直径 ≥ 1 cm^[7]。

1.2 磁共振成像参数

所有图像均在 GE HDxt 1.5T 磁共振扫描仪得到,采用八通道体部线圈,包括以下序列:T1WI、T2WI、DWI 及 T1WI 增强。DWI 主要包括以下扫描参数:b=0, 600 s/mm², TR: 7 500 ms, TE: 68 ms, 视野 40 cm × 40 cm, 矩阵 256 × 256, 层厚 6 mm, 间隔 1.5 mm, 激励次数 4。

1.3 ADC 直方图分析

在 AW4.6 工作站上用 DWI 序列重建 ADC 图,并导入 DICOM 格式至个人电脑进行分析。使用 FireVoxel 软件处理数据,参照 T1WI、T2WI、DWI 及 T1WI 增强图像在 ADC 图上每个层面手动绘制全肿瘤的 ROI,不包括囊变、坏死、出血区域,软件自动生成直方图数据。将直方图数据用 SPSS 22.0 软件重建出直方图,得到 ADC 直方图参数,包括平均值、众数、峰度、偏度、最小值、最大值、第 5 百分位数(P₅)、第 25 百分位数(P₂₅)、第 50 百分位数(P₅₀)、第 75 百分位数(P₇₅)、第 95 百分位数(P₉₅),分别勾画 3 次 ROI 并取平均值。

1.4 免疫组化结果判定

由专业的病理医师进行免疫组化半定量评分。ER、PR、P53、Ki67 阳性表达均位于细胞核。随机选择 5 个高倍镜视野,根据着色程度及阳性细胞百分比对 ER、PR 及 P53 进行半定量评分,着色程度:无色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;阳性细胞百分比: $\leq 10\%$ 为 1 分, $> 10\% \sim 50\%$ 为 2 分, $> 50\% \sim 75\%$ 为 3 分, $> 75\%$ 为 4 分。着色程度和阳性细胞百分比 2 项得分相乘得到 ER、PR 及 P53 最终评分。Ki67 的表达指数根据各视野的阳性细胞百分比的平均值计算得到。

1.5 统计学处理

应用 SPSS 22.0 统计软件分析,ADC 直方图参数与各免疫组化表达的相关性用 Spearman 相关分析。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

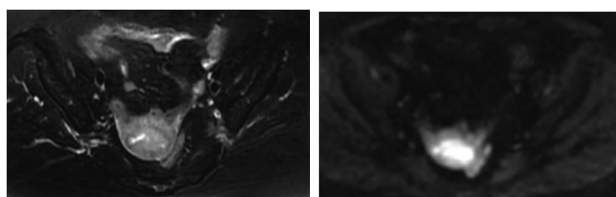
2 结果

所有患者 ADC 直方图参数的均值 $\pm$ 标准差见表 1。其中平均值、众数及第 5、25、50、75、95 百分位数与 Ki67 表达成负相关;众数及第 5、25、50 百分位数与 P53 表达成负相关,偏度与 P53 表达成正相关($r=0.345$, $P=0.004$);各直方图参数与 ER、PR 表达无明显相关性($P>0.05$)。

表 1 ADC 直方图参数与免疫组化表达的相关性

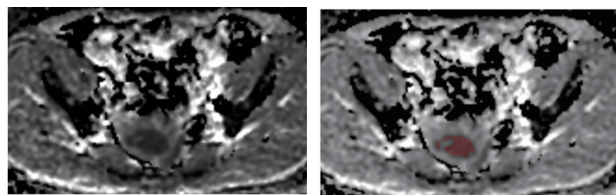
直方图参数	数值	ER	PR	P53	Ki67
平均值	1.060 ± 0.202	$r=-0.163$ $P=0.184$	$r=0.073$ $P=0.553$	$r=-0.210$ $P=0.086$	$r=-0.394$ $P=0.001$
众数	1.010 ± 0.236	$r=-0.066$ $P=0.595$	$r=0.141$ $P=0.251$	$r=-0.307$ $P=0.011$	$r=-0.373$ $P=0.002$
偏度	0.373 ± 0.569	$r=0.011$ $P=0.929$	$r=-0.230$ $P=0.059$	$r=0.345$ $P=0.004$	$r=0.095$ $P=0.439$
峰度	0.662 ± 1.790	$r=0.099$ $P=0.421$	$r=-0.144$ $P=0.240$	$r=0.194$ $P=0.112$	$r=0.019$ $P=0.875$
最小值	0.626 ± 0.249	$r=-0.137$ $P=0.265$	$r=-0.028$ $P=0.821$	$r=-0.183$ $P=0.135$	$r=-0.228$ $P=0.062$
最大值	1.650 ± 0.358	$r=-0.142$ $P=0.249$	$r=-0.079$ $P=0.523$	$r=0.047$ $P=0.701$	$r=-0.206$ $P=0.092$
P_5	0.786 ± 0.196	$r=-0.125$ $P=0.309$	$r=0.027$ $P=0.830$	$r=-0.242$ $P=0.047$	$r=-0.294$ $P=0.015$
P_{25}	0.937 ± 0.204	$r=-0.115$ $P=0.350$	$r=0.079$ $P=0.522$	$r=-0.252$ $P=0.038$	$r=-0.359$ $P=0.003$
P_{50}	1.050 ± 0.209	$r=-0.141$ $P=0.251$	$r=0.116$ $P=0.347$	$r=-0.254$ $P=0.036$	$r=-0.409$ $P=0.001$
P_{75}	1.170 ± 0.216	$r=-0.200$ $P=0.101$	$r=0.055$ $P=0.657$	$r=-0.178$ $P=0.147$	$r=-0.371$ $P=0.002$
P_{95}	1.380 ± 0.242	$r=-0.199$ $P=0.104$	$r=0.024$ $P=0.843$	$r=-0.113$ $P=0.360$	$r=-0.396$ $P=0.001$

注:平均值、众数、最小值、最大值、 P_5 、 P_{25} 、 P_{50} 、 P_{75} 、 P_{95} 的单位均为 ($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)



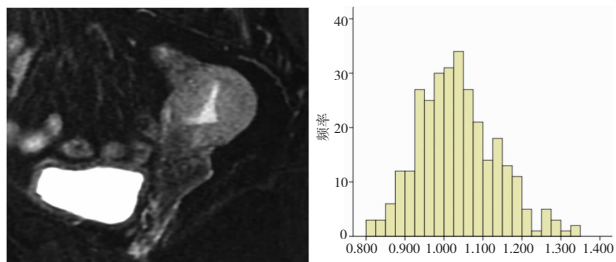
A. 轴位的 T2WI 图, 病灶呈稍高信号

B. DWI 图, 病灶呈高信号



C. ADC 图, 病灶呈低信号

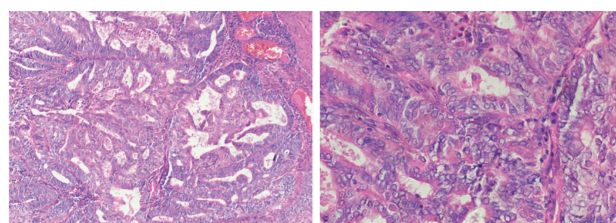
D. ADC 图, 红色区域为勾画的 ROI



E. 矢状位的 T2WI 图

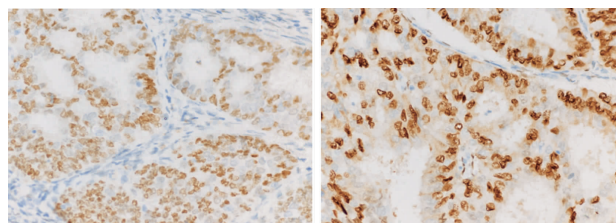
F. ADC 直方图

图 1 一名 65 岁中分化子宫内膜样腺癌患者的 MRI 及 ADC 直方图



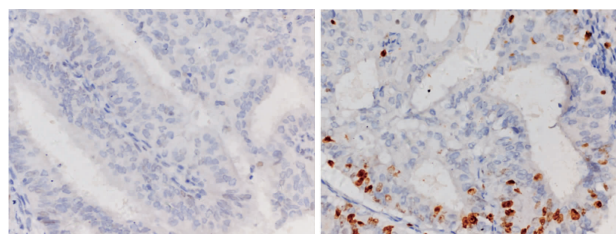
A. HE 染色(100×)

B. HE 染色(400×)



C. ER 染色(400×);着色程度和阳性细胞百分比分别评为 2、4 分,总分为 8 分

D. PR 染色(400×);着色程度和阳性细胞百分比分别评为 2、4 分,总分为 8 分



E. P53 染色(400×);着色程度和阳性细胞百分比均评为 0 分,总分为 0 分

F. Ki67 染色(400×);阳性细胞百分比为 25%

图 2 同一名中分化子宫内膜样腺癌患者的组织病理图

3 讨论

DWI是一种反映生物组织中水扩散特征的特殊技术。ADC 值与不同病变的细胞密度有关,细胞密度增加时,水分子扩散运动受限,ADC 值降低;细胞外基质、肿瘤大小和细胞膜也能影响水分子的自由扩散和 ADC 值^[8-9]。ADC 直方图显示了 ROI 中所有的 ADC 值和对应频数,展示了 ADC 值的分布情况,可以反映肿瘤扩散的异质性。

Horvat JV 等^[10]发现乳腺癌中 ER、PR 阴性和阳性表达组中最大 ADC 值差异有统计学意义,最大 ADC 值可以一定程度上区分 ER、PR 的阴阳性表达。子宫内膜样腺癌的特征是各种 ER 和 PR 亚型的表达改变,从而改变了子宫内膜组织的增殖和分化^[11]。未经孕激素对抗的雌激素可促进癌基因的激活和抑癌基因的失活,破坏细胞周期调节,导致参与子宫内膜癌侵袭和进展的蛋白功能紊乱^[12]。本研究中,子宫内膜样腺癌 ADC 直方图参数与 ER、PR 表达无明显相关性,说明 ADC 值不能直接反映 ER、PR

在子宫内膜样腺癌中的表达。McGurgan P 等^[13]研究显示,绝经后子宫内膜息肉的 ER、PR 表达高于绝经前,绝经后内源性激素水平低的正反馈机制可能解释了其受体数量的增加。笔者推测子宫内膜样腺癌 ER、PR 的表达也可能因包括激素水平在内的多种因素而波动,其波动情况复杂且不明确,因此 ADC 值难以直接反映子宫内膜样腺癌中 ER、PR 的表达。

本研究中众数、第 5 百分位数、第 25 百分位数、第 50 百分位数与 P53 表达成负相关。P53 的突变导致一种非功能蛋白在细胞中积累,并作为野生型 P53 的双重阴性抑制剂,导致异常细胞的增殖^[3]。细胞的异常增殖降低了组织特定区域的细胞外空间,水分子扩散受限,因此 ADC 值降低。偏度反映了直方图分布的对称性,其绝对值越大表明直方图分布的偏斜程度越大。正偏度不仅表示异质性,而且表示体素值向直方图的较小值方向聚集^[14]。本研究显示,偏度与 P53 表达成正相关,提示 P53 阳性表达的肿瘤更具异质性且 ADC 值更低。

在卵巢癌、脑淋巴瘤、神经内分泌肿瘤、神经胶质瘤、肺癌、前列腺癌、直肠癌、垂体腺瘤、脑膜瘤、肝细胞癌、宫颈癌及乳腺癌等不同肿瘤中,ADC 值与 Ki67 表达均呈不同程度负相关^[15-6]。Ki67 反映了肿瘤的增殖指数,其高表达代表肿瘤增殖活跃,肿瘤细胞密集导致水分子扩散受限,同样 ADC 值降低。本研究中 ADC 直方图参数与 Ki67 表达呈负相关,与 Jiang JX 等^[15]研究一致,但相关程度不同,这可能与患者个体差异、扫描仪器和参数不同及 ROI 与免疫组化不一一对应有关。

本研究仍有不足之处:①只研究了子宫内膜样腺癌,不包括其他组织学类型;②ROI 与免疫组化不一一对应,虽然直方图分析是基于整个肿瘤进行分析,它能减少样本偏差,但免疫组化的结果评估是随机选择 5 个高倍镜视野,不能代表整个肿瘤;③样本量较少。进一步的研究需要增加样本量和其他组织学亚型及让 ROI 和免疫组化进行对应。

综上所述,ADC 直方图参数与子宫内膜样腺癌 P53、Ki67 的表达有一定相关性,与子宫内膜样腺癌 ER、PR 的表达无明显相关性。术前的 ADC 值可以一定程度上间接反映临床病理特征,为临床个性化治疗提供更多信息。

参 考 文 献

[1] Morice P, Leary A, Creutzberg C, et al. Endometrial cancer[J]. Lancet, 2016, 387(10023):1094-1108.

[2] 代艳芬, 满霞霞, 李佳佳, 等. ER、PR、P53、Ki67 在子宫内膜癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(8):1606-1608.

[3] Dobrzycka B, Terlikowski SJ, Mazurek A, et al. Circulating free DNA, p53 antibody and mutations of KRAS gene in endometrial cancer[J]. Int J Cancer, 2010, 127(3):612-621.

[4] 周惠玲, 何莹莹, 范良生, 等. 子宫内膜癌组织中基因及分子标志物表达及其与预后的相关性研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2015, 31(10):947-950.

[5] Surov A, Meyer HJ, Wienke A. Associations between apparent diffusion coefficient(ADC) and Ki67 in different tumors; a Meta-analysis. Part 1: ADCmean[J]. Oncotarget, 2017, 8(43):75434-75444.

[6] Surov A, Meyer HJ, Wienke A. Associations between apparent diffusion coefficient(ADC) and Ki67 in different tumors; a Meta-analysis. part 2: ADC min[J]. Oncotarget, 2018, 9(9):8675-8680.

[7] Ueno Y, Forghani B, Forghani R, et al. Endometrial carcinoma; MR imaging-based texture model for preoperative risk stratification; a preliminary analysis[J]. Radiology, 2017, 284(3):748-757.

[8] Galons JP, Lope-Piedrafita S, Divijak JL, et al. Uncovering of intracellular water in cultured cells[J]. Magn Reson Med, 2005, 54(1):79-86.

[9] Harkins KD, Galons JP, Secomb TW, et al. Assessment of the effects of cellular tissue properties on ADC measurements by numerical simulation of water diffusion[J]. Magn Reson Med, 2009, 62(6):1414-1422.

[10] Horvat JV, Bernard-Davila B, Helbich TH, et al. Diffusion-weighted imaging(DWI)with apparent diffusion coefficient(ADC) mapping as a quantitative imaging biomarker for prediction of immunohistochemical receptor status, proliferation rate, and molecular subtypes of breast cancer[J]. J Magn Reson Imaging, 2019, 50(3):836-846.

[11] Bartosch C, Monteiro-Reis S, Vieira R, et al. Endometrial endometrioid carcinoma metastases show decreased ER-alpha and PR-A expression compared to matched primary tumors[J]. PLoS One, 2015, 10(8):e0134969.

[12] Gustavo FP, Daniel SD, Flávia NBD, et al. Immunohistochemical expression of hormone receptors, Ki67, endoglin(CD105), claudins 3 and 4, MMP -2 and -9 in endometrial polyps and endometrial cancer type I[J]. Onco Targets Ther, 2018(11):3949-3958.

[13] McGurgan P, Taylor LJ, Duffy SR, et al. Are endometrial polyps from pre-menopausal women similar to post-menopausal women? An immunohistochemical comparison of endometrial polyps from pre- and post-menopausal women[J]. Maturitas, 2006, 54(3):277-284.

[14] Kierans AS, Doshi AM, Dunst D, et al. Retrospective assessment of histogram-based diffusion metrics for differentiating benign and malignant endometrial lesions[J]. J Comput Assist Tomogr, 2016, 40(5):723-729.

[15] Jiang JX, Zhao JL, Zhang Q, et al. Endometrial carcinoma; diffusion-weighted imaging diagnostic accuracy and correlation with Ki67 expression[J]. Clin Radiol, 2018, 73(4):413.e1-413.e6.

(责任编辑:唐秋姗)