

临床研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2013.02.017

彩色多普勒超声血流阻力指数与宫颈癌血管生成关系的研究

曾 云¹, 苏建芬¹, 王菊芳², 唐远梅¹

(贵阳市妇幼保健院 1.功能科;2. 病理科, 贵阳 550004)

【摘要】目的:初步观察经阴道彩色多普勒超声(transvaginal color Doppler flow imaging, TV-CDFI)的血流阻力指数(resistance index, RI)与肿瘤血管生成评价的金标准微血管密度(microvessel density, MVD)与宫颈癌临床分期之间的关系,从不同角度评价宫颈癌的血管生成状态,探讨 TV-CDFI 在宫颈癌诊断及预后中的应用价值。**方法:**收集贵阳市妇幼保健院住院病例,分为宫颈鳞癌组和对照组两组,每组各 30 例,其中宫颈鳞癌组均由病理学确诊,按肿瘤临床分期在 I、II 期各选 15 例。患者术前行 TV-CDFI 检查,检测宫颈鳞癌患者肿瘤内的血流情况,测其 RI 值,对照组检测子宫动脉 RI 值。取患者切除的宫颈标本制作组织切片,采用免疫组织化学 Envision 二步法检测宫颈鳞癌组和对照组宫颈组织中 MVD 表达情况。**结果:**对照组与宫颈鳞癌组比较,宫颈鳞癌组 TV-CDFI 检测的 RI 值明显降低,而 CD34 标记的平均 MVD 水平显著升高,2 组差异有统计学意义($P<0.05$);宫颈鳞癌组 MVD 与 RI 成负相关($r_s=-0.56, P<0.05$);RI 值改变与宫颈鳞癌临床分期 I、II 期有关($P<0.05$),MVD 值变化与临床分期 I、II 期无关。**结论:**RI、MVD 可从不同角度很好地反映宫颈鳞癌的血管生成情况,二者呈负相关,用 RI 检测宫颈鳞癌的血管生成较 MVD 检测的敏感度更高且具有无创、可重复、术前获得的优点,在临床上可有更大的应用价值。

【关键词】宫颈癌;血管生成;阴道彩色多普勒超声;阻力指数;微血管密度

【中国图书分类法分类号】R737.33

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-05-08

Relationship between color Doppler sonography resistance index and cervical carcinoma angiogenesis

ZENG Yun¹, SU Jianfen¹, WANG Jufang², TANG Yuanmei¹

(1. Department of Function; 2. Department of Pathology, Guiyang Maternal and Child Health Hospital)

【Abstract】Objective: To observe the relationship among resistance index (RI) of transvaginal color Doppler flow imaging (TV-CDFI), tumor angiogenesis evaluation criterion—microvessel density (MVD) and clinical stage, to evaluate carcinoma angiogenesis from different perspectives and to discuss the value of TV-CDFI in cervical cancer diagnosis and prognosis. **Methods:** Hospitalized patients from the Maternal and Child Health Hospital of Guiyang were divided into the 2 groups: cervical cancer group ($n=30$) and control group ($n=30$). Patients in cervical cancer group were confirmed by pathology and were subdivided into two groups ($n=15$) according to clinical stage I and II. Patients were examined by TV-CDFI before operation. Morphological features of tumors, arterial blood flow signals within tumors and RI were recorded for later analysis. RI of uterine arteries was measured in control group. Cervical tissue slice were made by using excised cervical specimen of patients. Immunohistochemistry Envision method was adopted to detect MVD levels in cervical tissues in cervical cancer group and control group. **Results:** RI values detected by TV-CDFI were decreased significantly and CD34 marked MVD levels were increased markedly in cervical cancer group compared with those in control group, with statistical differences ($P<0.05$). MVD and RI in cervical cancer group showed negative linear correlation ($r_s=-0.56, P<0.05$). Clinical stage I and stage II in cervical cancer were positively correlated with RI values, $P<0.05$, but not with MVD levels. **Conclusions:** Angiogenesis characteristics of cervical cancer can be reflected by RI and MVD, which are negative correlated. With the advantages of higher sensitivity, non-invasive, repeatable and preoperation acquisition, RI is more effective in detecting angiogenesis of cervical cancer than TV-CDFI and has greater values in clinical application.

【Key words】 cervical carcinoma; angiogenesis; transvaginal color Doppler flow imaging; resistance index; microvessel density

作者介绍: 曾 云, Email: zengyun0302@163.com,

研究方向: 妇产科超声。

通信作者: 苏建芬, Email: 1065559484@qq.com。

子宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一,在全球女性全部恶性肿瘤中位居第 2^[1],严重威胁着妇女的生命与健康。肿瘤微血管密度(microvessel density, MVD)在宫颈癌表达中有重要意义,是目前肿瘤血管生成研究的热点。经阴道彩色多普勒超声(transvaginal color Doppler flow imaging, TV-CDFI)血流阻力指数(resistance index, RI)可反映肿瘤血管生成状况。子宫颈癌 80%~90%为鳞状上皮细胞癌,本文通过 MVD 结合 TV-CDFI 检测来评估宫颈鳞癌血管生成状态,初步探讨 TV-CDFI 在宫颈癌诊断及预后中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料

宫颈鳞癌组收集我院 2009 年 7 月~2011 年 6 月病理学证实宫颈鳞癌住院患者 30 例,年龄 32~57 岁,平均年龄 44.81 岁,所有患者术前均未经过放疗、化疗。对照组收集同期子宫肌瘤等手术切除患者 30 例,这些病例均排除宫颈瘤变、肿瘤、中度或重度炎症,年龄 43~53 岁,平均年龄 46.06 岁。

1.2 仪器与方法

对入选患者均于术前 1 周内行 TV-CDFI 检查,所用仪器是大型彩色多普勒超声诊断仪西门子 S2000 和西门子 Acuson Antares,阴道探头频率 7.5 MHz,二维切面观察宫颈大小、形态、内部回声及边缘情况,之后用彩色多普勒血流显像(color Doppler flow imaging, CDFI)多切面观察宫颈、肿瘤内部及周边血流,于血流显示最明亮区行脉冲多普勒取样,分别测 3 支不同血管,测量血流 RI,对照组检测宫颈子宫动脉血流 RI。显示连续、稳定的血流频谱后冻结图像,测 RI。所有患者以同样的取样容积获得稳定的(至少获得 3 个心动周期以上)血流频谱波形,每例患者获得多个部位的血流频谱波形取最低的 RI 值。术后收集所有患者的宫颈组织标本,所有标本手术切除后立即用 10%中性福尔马林固定,石蜡包埋切片,切片厚度 4 μ m,病理学 HE 染色明确诊断。每份标本另行切片,使用北京中衫金桥试剂盒,用免疫组织化学 Envision 二步法染色:CD34 试剂检测 MVD,结果用($\bar{x} \pm s$)表示。计数方法:先在低倍镜(40 $\times$)下选取染色密集区,然后高倍镜(400 $\times$)下计数 5 个视野,取其平均值,管腔直径>8 个红细胞直径的血管,有平滑肌的血管不计数^[2]。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行处理。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。对照组和宫颈鳞癌组 MVD 和 RI 值比较,不同临床分期中宫颈鳞癌 MVD 和 RI 值比较采用两样本均数 t 检验;相关性检验采用 Spearman 法进行分

析,计算相关系数 r_s 。检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧),以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

手术切除宫颈鳞状细胞癌组,按临床分期 I、II 期各 15 例,其中高分化 5 例,中分化 18 例,低分化 7 例;浸润深度<中肌层 12 例, $\geq$ 中肌层 18 例;肿瘤直径<4 cm 19 例, $\geq$ 4 cm 11 例。

宫颈鳞癌组与对照组病理特点:CD34 染色阳性为棕黄色,主要定位于血管内皮细胞的胞膜和细胞质,MVD 计数较对照组明显为多(图 1、图 2)。

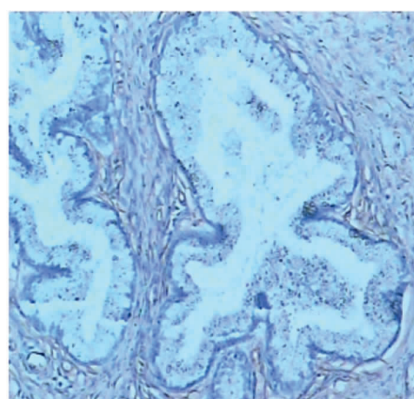


图 1 CD34 在正常宫颈的表达
(免疫组化 Envision 二步法, 200 $\times$)

Fig.1 Expressions of CD34 in normal cervix
(Immunohistochemistry Envision, 200 $\times$)

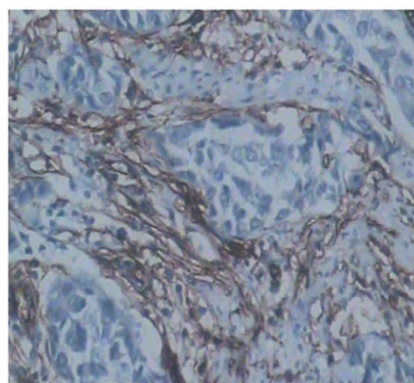
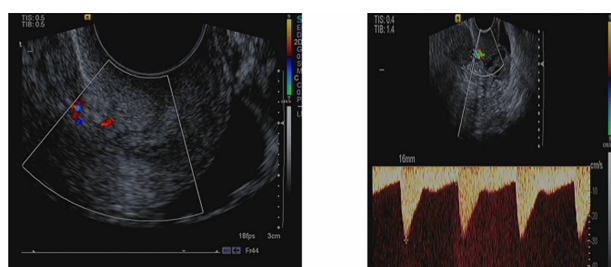


图 2 CD34 在宫颈鳞癌中的表达
(免疫组化 Envision 二步法, 200 $\times$)

Fig.2 Expressions of CD34 in cervical cancer
(Immunohistochemistry Envision, 200 $\times$)

宫颈鳞癌组与对照组超声影像表现:对照组宫颈轮廓清晰,周边光滑,内回声均匀,宫颈未见肿块回声,CDFI 检测:宫颈呈星点状血流,为高阻血流信号。宫颈鳞癌组则表现宫颈回声不均匀,宫颈内见不规则低回声肿块,其内夹杂高回声斑块,宫颈肿大形态可失常,CDFI 检测:宫颈呈条状血流,部分呈球样改变,为中或低阻血流信号(图 3、图 4)。

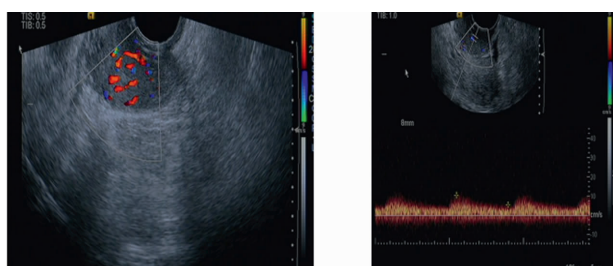


A. 对照组见宫颈子宫动脉
血流信号呈“星点状”

B. 对照组见宫颈子宫动脉
血流 RI 为高阻血流信号

图 3 对照组彩超及频谱图

Fig.3 TV-CDFI and frequency spectrogram of control group



A. 宫颈鳞癌组见宫颈血流信
号呈“条状”

B. 宫颈鳞癌组见宫颈血流
RI 为中阻血流信号

图 4 宫颈鳞癌组彩超及频谱图

Fig.4 TV-CDFI and frequency spectrogram of cervical
cancer group

对照组与宫颈鳞癌组 MVD 和 RI 值比较:宫颈鳞癌组 MVD 表达较对照组明显增高,二者差异有统计学意义($P < 0.05$)。宫颈鳞癌组与对照组相比 RI 值明显降低,二者差异有统计学意义($P < 0.05$)(表 1)。结果均提示宫颈鳞癌血管生成能力明显增强。

表 1 对照组与宫颈鳞癌组 MVD 和 RI 值比较

Tab.1 Comparison on MVD value and RI value between control
group and cervical cancer group

分组	例数(n)	MVD 值	RI 值
对照组	30	21.72 ± 3.52	0.80 ± 0.08
宫颈鳞癌组	30	51.25 ± 10.00^a	0.53 ± 0.07^a

注: a, 与对照组比较, $P < 0.05$

RI 值和 MVD 值与宫颈鳞癌临床分期的关系: MVD 值宫颈鳞癌临床 II 期较 I 期增高,二者差异无统计学意义。RI 值宫颈鳞癌 II 期较 I 期降低,二者差异有统计学意义($P < 0.05$)(表 2)。结果均提示 II 期较 I 期血管生成能力增强,但用 RI 值检测宫颈鳞癌 I 期和 II 期血管生成更敏感。

宫颈癌 MVD 与 RI 相关性分析:采用 Spearman 法对 MVD 值与 RI 值相关性分析,结果显示 30 例宫颈鳞癌术前所测肿瘤内 RI 值与术后肿瘤标本内 MVD 表达成负相关关系($r_s = -0.56$)($P < 0.05$)。提示随 MVD 值增高 RI 值呈下降趋势,二者为负相关且有统计学意义,即 MVD 值愈高,RI 值愈低。

表 2 RI 值和 MVD 值与宫颈鳞癌临床分期的关系

Tab.2 Relationship between RI, MVD values and clinical stage
of cervical cancer

分期	例数(n)	MVD 值	RI 值
宫颈鳞癌 I 期	15	48.65 ± 10.67	0.57 ± 0.05
宫颈鳞癌 II 期	15	53.85 ± 9.44	0.48 ± 0.06^a

注: a, 与对照组比较, $P < 0.05$

3 讨论

各国流行病学资料显示目前宫颈癌发病率和死亡率有所增长,且近年来发病呈明显年轻趋势^[2]。据世界卫生组织统计每年约有 50 万新发病例,其中 80% 的病例发生在发展中国家,我国宫颈癌的发病率和病死率均约占世界的 1/3,近年来,我国宫颈癌的发病率以每年 2%~3% 的速度增长^[3]。

病毒感染在宫颈癌发生发展过程中起了重要作用,生殖道 HPV 感染是宫颈癌的最重要致病因素。高危型 HPV 感染已被证实是宫颈癌发生的必要因素^[4-5]。宫颈癌发病率虽然高,但早期治疗效果也很好,通过早期筛查、早期干预,宫颈癌是可以预防、治疗,甚至是可以治愈的^[6]。

Folkman 和 Kalluri^[7]在 37 年前就提出肿瘤生长依赖血管生成的假说。血管生成是指在原有血管网络的基础上有新血管生成。对多系统肿瘤的研究表明,血管生成对其生长、转移是一个极其重要的环节,并有辅助诊断和预后价值。对肿瘤血管生成的研究,不仅从一个侧面说明了肿瘤发生发展的内在条件,而且可以为以新生血管为靶点的抗肿瘤治疗提供理论依据。

MVD 是评价肿瘤血管生成的重要指标,也是判断肿瘤进展和转移能力的指标,与肿瘤的分化程度密切相关,也是影响患者生存的独立预后因素, MVD 计数越高,预后越差^[8]。通过免疫组化方法染色,可以清楚显示肿瘤血管,具有较强的敏感性、稳定性、可重复性和较高的特异性^[9]。采用 CD34 研究临床 I、II 期子宫颈癌的结果表明,宫颈鳞癌组 MVD 值明显高于正常组且临床 II 期高于 I 期,但临床 I、II 期间差异无显著性。

近年来临床上开始使用彩色多普勒超声来评价肿瘤血管生成情况。通过检测肿瘤内血管及其血流动力学改变,发现这些新生血管与正常血管不同的血流特征,反映肿瘤血管生存状况。彩色多普勒超声检测常用 RI 来表示,RI 反映肿瘤内血管阻力,

$RI=(A-B)/B$ (A:收缩期峰血流速度,B:舒张期末血流速度)。Testa 等^[10]研究了 74 例宫颈浸润癌患者的彩色多普勒参数发现,肿瘤直径 ≥ 4 cm 有显著低的 RI。Alcazar 等^[11]研究了 49 例宫颈肿瘤患者,得出经 CDFI 评估宫颈肿块内血流与宫颈癌的一些肿瘤特征有关:在中分化或低分化的宫颈鳞癌中 CDFI 常能检测到宫颈肿块内有丰富的血流信号,中分化和低分化的肿瘤与分化较好的肿瘤相比,最低 RI 有显著的差异。本研究对 30 例宫颈癌患者采用 TV-CDFI 检测可探及血流信号,发现宫颈癌组较对照组子宫动脉 RI 值有显著降低,提示 RI 值可反映宫颈癌的血管生成特征,并且与宫颈癌的临床分期之间有一定的内在联系。

经阴道超声检查探头频率高,对患者无创伤,无放射损伤,可反复检查,与经腹超声相比,离宫颈近,显示盆腔器官更加清晰且不需充盈膀胱,也不受肥胖、多重反射、肠气等因素的影响,是评价宫颈组织血流的良好工具。在术前检测肿瘤的动脉血流信号及测量 RI 值以确定肿瘤的血运情况,可预测宫颈癌的分期,有助于确定手术范围,对临床治疗方案的选择具有指导意义,为宫颈癌的预后评估标准提供依据。本研究比较了利用 TV-CDFI 的 RI 值和用免疫组化 MVD 测定来评价同一宫颈癌患者血管生成状态,发现 RI 值与 MVD 呈负相关($r_s=-0.56$),提示这 2 项指标可从不同的角度反映宫颈癌血管生成的情况。RI 值在子宫颈癌组临床 I、II 期明显不同,而 MVD 值在同组临床 I、II 期无明显变化,因此,本研究认为用 TV-CDFI 的 RI 值检测宫颈癌临床 I、II 期较免疫组化方法检测 MVD 值敏感度更高。当然,由于本研究的病例数较少,尚需要大样本资料深入研究。

TV-CDFI 的 RI 值和免疫组化的 MVD 值可从不同角度很好地反映宫颈癌的血管生成情况。高 MVD 反映的是肿瘤进展、转移潜能高或肿瘤晚期的情况,但是免疫组化检测 MVD 有一定缺点:如取材局限,有创且只能在术后离体标本上检测才能反映肿瘤血管生成情况。而 TV-CDFI 检测具有无创、可重复实施,无放射损伤,术前便可实时显示活体肿瘤血管生成情况和血流状态,还可对未进行手术患者的宫颈肿瘤血管进行治疗监测,在宫颈癌诊

断、术前评估、预后判断及检测肿瘤复发方面有较大的临床应用价值。因此,本研究认为 TV-CDFI 检查联合术后 MVD 的测定可能对宫颈癌的诊断治疗、预后判断提供更有价值的信息。

参 考 文 献

- [1] Hohenester E, Sasaki T, Olsen B R, et al. Crystal structure of the angiogenesis inhibitor endostatin at 1.5 Å resolution [J]. EMBO, 1998, 17 (6): 1656-1664.
- [2] 侯 熠, 杨天敬. 宫颈癌筛查方法研究进展 [J]. 哈尔滨医药, 2007, 27 (5): 49-50.
- [3] 郎景和. 子宫癌预防的现代策略 [J]. 中国医学科学院学报, 2007, 29 (5): 575-576.
- [4] Lang J H. Modern prevention strategies of cervical cancer [J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae, 2007, 29 (5): 575-576.
- [5] Zur Hausen H. Papillomavirus causation of human cancers—a brief historical account [J]. Virology, 2009, 384 (2): 260-265.
- [6] Schiffman M, Castle P E, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer [J]. Lancet, 2007, 370 (9590): 890-907.
- [7] 沈 铿, 郎景和. 妇科肿瘤面临的问题和挑战 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 37-41.
- [8] Sheng K, Lang J H. Issues and challenges faced by the gynecologic oncology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 37-41.
- [9] Folkman J, Kalluri R. Cancer without disease [J]. Nature, 2004, 427 (6977): 787.
- [10] 张国玲, 赵新建, 高永昌. 经子宫动脉化疗栓塞术对宫颈癌 VEGF、MVD 的影响 [J]. 中国临床医学影像杂志, 2008, 19 (9): 646-651.
- [11] Zhang G L, Zhao X J, Gao Y C. Effect of transcatheter uterine arterial chemoembolization on VEGF, MVD of cervical carcinoma [J]. Journal of China Clinic Medical Imaging, 2008, 19 (9): 646-651.
- [12] Matsuyama K, Chiba Y, Sasaki M, et al. Tumor angiogenesis as a prognostic marker in operable non-small cell cancer [J]. Ann Thorac Surg, 1998, 65 (5): 1405-1409.
- [13] Testa A C, Ferrandina G, Distefano M, et al. Color Doppler velocimetry and three-dimensional color power angiography of cervical carcinoma [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2004, 24 (4): 445-452.
- [14] Alcazar J L, Castillo G, Jurado M, et al. Intratumoral blood flow in cervical cancer as assessed by transvaginal color Doppler ultrasonography correlation with tumor characteristics [J]. Int J Gynecol Cancer, 2003, 13 (4): 510-514.

(责任编辑: 关蕴良)