

## 肝癌三维彩色血管能量成像与病理微血管密度研究

曾燕荣<sup>1</sup>, 赵玉珍<sup>2</sup>, 王顺祥<sup>2</sup>, 翟栋材<sup>2</sup>, 房勤茂<sup>2</sup>, 杨漪<sup>2</sup>, 孙心平<sup>2</sup>, 薛逊<sup>2</sup>, 李景胜<sup>2</sup>

(1. 北京市通州潞河医院超声科, 北京 101149; 2. 河北医科大学四院, 河北 石家庄 050011)

**[摘要]** **目的:** 探讨三维彩色血管能量成像 (three-dimensional color power angiography, 3D-CPA) 检测肝癌血管的临床价值。**方法:** 应用 3D-CPA 检测 37 例原发性肝癌 (Primary Hepatocarcinomas, HCC) 肿瘤血供及血管分布情况, 计测肿瘤血管指数 (Vascularity Index, VI), 术后肿瘤组织切片行 CD<sub>34</sub> 单克隆抗体免疫组化染色, 计数肿瘤微血管密度 (Microvessel Density, MVD), 对上述结果进行分析。**结果:** 37 个肝癌病灶 VI 为  $0.2647 \pm 0.1249$  条/cm<sup>3</sup>, 免疫组化计测 MVD 为  $(63.31 \pm 29.93)/400$  倍视野, 两者比较呈高度线性正相关 ( $r=0.874$ ,  $P<0.001$ )。**结论:** 3D-CPA 能客观评价肝癌血供, 较准确地定量其血管, 为临床定性诊断、估测预后及疗效判定提供依据。

**[关键词]** 肝肿瘤; 超声检查, 多普勒, 彩色

**[中图分类号]** R735.7; R445.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1008-1062(2003)02-0105-03

### Study on primary hepatocarcinomas with three-dimensional color power angiography and microvessel density of tumor immunohistochemistry

ZENG Yan-rong, ZHAO Yu-zhen, WANG Shun-xiang, ZHAI Dong-cai, FANG Qin-mao, YANG Yi, SUN Xin-ping, XUE Xun, LI Jing-sheng

Department of Ultrasound, Beijing Luhe Hospital, Beijing 101149, China

**Abstract: Objective:** To evaluate the clinical value of three-dimensional color power angiography (3D-CPA) in detecting vessels of primary hepatocarcinomas (HCC). **Methods:** Vessels of 37 HCCs were performed with 3D-CPA preoperatively. The vascular patterns were assessed and vascularity index (VI) were calculated for every tumor. After operation, immunohistochemistry was performed using CD<sub>34</sub> monoclonal antibody and microvessel density (MVD) was calculated by staining blood vessels per high-power field. The results were analyzed respectively. **Results:** The VI of 37 HCCs was  $(0.2647 \pm 0.1249)/\text{cm}^3$ , and the MVD of them was  $(63.31 \pm 29.93)/400 \times$ . They showed a significant positive linear correlation ( $r=0.874$ ,  $P<0.001$ ). **Conclusions:** 3D-CPA can evaluate blood supply of HCC objectively and quantitate the vessels more accurately. It can play an important role in clinical diagnosis, prognosis and assessment of the treatment effect.

**Key words:** liver neoplasms; ultrasonography, Doppler, color

肝癌的生长取决于其组织内血管的生成<sup>[1]</sup>。准确、无创地判断肿瘤区域血管及血供情况, 对肝癌的诊断、手术治疗及疗效、预后判断有重要的临床意义。本研究应用 3D-CPA 与病理免疫组织化学染色的方法, 研究肝癌组织的血管分布及血供特点, 旨在探讨 3D-CPA 检测肝癌血管的病理学基础, 评价其临床应用价值。

### 1 资料与方法

#### 1.1 研究对象

2000 年 9 月~2001 年 11 月因肝癌住院手术患者 37 例 (包括肝细胞癌 34 例, 胆管细胞癌 1 例,

混合癌 2 例)。男 32 例, 女 5 例, 年龄 31~70 岁, 平均  $50.8 \pm 9.5$  岁。全部病例于术前 1 周内行 3D-CPA 检查, 均未行介入治疗。术后病理组织石蜡切片免疫组化检查。

#### 1.2 仪器与方法

应用 ATL HDI-3000 彩超仪, C<sub>4-2</sub> 超宽频探头, 清晰显示整个肝脏及周围脏器回声, 特别注意肝内病灶的大小、回声特点 (包括液化坏死区域的大小), 以 CPA 显示肿瘤区域血管分布, 取样范围包括整个肿瘤区域; 将 Filter 调至低滤波状态; 降低 scale 量程; CPA 增益 70%~85%, 尽量提高 CPA 增益, 以不出现背景噪声为止; 启动 Loop 键, 完

作者简介: 曾燕荣 (1967-), 女, 广东五华人, 主治医师

基金项目: 本课题为河北省科委重点研究项目 [962161124D]

成整个肿瘤血管的三维重建, 从不同角度对肿瘤区域血管结构进行整体观察, 选择最佳图像, 磁光盘存贮。计数肿瘤区域血管条数(包括肿瘤周边及内部的血管), 如血管走行无分支, 则计为一支, 如有多个分支, 则以末梢血管分支数为计数标准, 然后计算血管肿瘤指数 VI, 即单位体积内血管的条数(条/cm<sup>3</sup>)作为反映肿瘤血管丰富程度的定量指标。肿瘤体积按其纵径、横径与前后径的乘积计算, 内有液化坏死者体积计算需减去该部分体积数值。

### 1.3 免疫组织化学染色

术后肿瘤组织切片采用常规 SP 法行 CD<sub>34</sub> 单克隆抗体免疫组织化学染色(美国 ZYMED 公司产品, 购自北京中山生物技术有限公司)。计数 MVD 采用 Weidner 报告方法<sup>[9]</sup>:40 倍光镜下寻找血管高密度区, 400 倍视野下计数三个视野内棕染的血管数, 取其平均值作为 MVD 值。每个棕染的可与周围血管、肿瘤细胞及其它结缔组织区分开的血管内皮细胞(vessel endothelial cell, VEC)或内皮细胞簇, 均作为一个可计数的微血管。

### 1.4 统计学处理

肝癌 VI 与 MVD 之间作相关及回归分析, 并

作出散点图及回归方程。

## 2 结果

### 2.1 肝癌 3D-CPA 表现及 VI

37 例肝癌病灶大小为 1.5cm×1.5cm×1.4cm~17.1cm×16.2cm×14.7cm。其中 34 例 (91.89%)3D-CPA 肿瘤区域可见多条较粗大血管并有不规则小分支, 血管迂曲变形, 粗细不均, 呈网篮状包绕或树枝状分支伸入肿瘤内(图 1)。3 例(8.11%)较小肝癌(1.5cm×1.5cm×1.4cm~5.1cm×4.2cm×3.7cm)肿瘤区域血管稀疏且分支少。

### 2.2 肝癌免疫组化染色结果及 MVD

37 例 HCCs CD<sub>34</sub> 染色, 癌巢中均可见散在或密集成簇的棕染血管内皮细胞, 计数 MVD 为 (63.37±39.93)/400 倍视野(图 2)。癌旁肝硬化组织内仅见少许淡染内皮细胞。

### 2.3 肝癌 VI 与 MVD 相关及回归分析

以 37 例 HCCs 的 MVD 值为 x 轴, VI 值为 y 轴作散点图显示二者具有相关关系, 相关分析表明二者呈直线正相关(r=0.874, P<0.001), 得出回归方程为 y=0.0036x+0.0339。

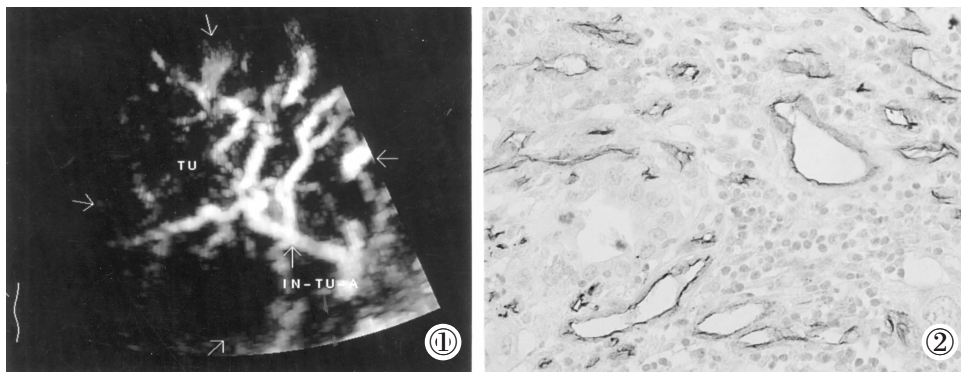


图 1 肝癌瘤内血管迂曲, 呈树枝状分布, 3D-CPA 表现为多血管型。

图 2 与图 1 同一病例, 肝癌肿瘤组织免疫组化染色示 MVD 增高, 癌巢内可见多个大小不等、内皮细胞膜呈棕染的微血管(200 倍视野)。

## 3 讨论

### 3.1 3D-CPA 对肝癌血管检测的价值

3D-CPA 是基于 CPA 基础上的肿瘤血管三维重建技术, 对肿瘤血管的探查除具有 CPA 敏感、准确的特性外, 还可立体展示血管的分布、走行情况, 弥补了彩色多普勒血流显像及 CPA 对血流显示不够全面的不足, 且较前两者具有更直观的血流显示<sup>[9]</sup>。本组中 3D-CPA 检测肝癌血供, 34 例 (91.89%)表现为血供丰富, 仅 3 例(8.11%)示血流不丰富, 这与 CPA 成像原理及肿瘤血管病理学

特性有关。CPA 以血流中红细胞频移的强度(幅度)为信息来源, 检测血流时, 只要血流频率(速度)高于某一滤波而其能量又高于仪器所定的能量阈值, 即可显示为血流信号。HCC 不仅瘤周有肝脏原有血管的包绕或分支伸入, 瘤内亦有大量的肿瘤新生血管以适应其快速生长的需要。HCC 内癌细胞生长迅速、无序, 瘤组织致密, 挤压血管使其变形、狭窄, 加之癌组织内肿瘤血管生长较快, 血管构型失常, 门静脉癌栓的存在及肿瘤新生血管平滑肌的收缩等诸多因素, 导致 HCC 内小血管流速较高, 易被 3D-CPA 显示而表现为血供丰富。早

期小 HCC 瘤内新生血管少, 血流速度低, 或滋养血管尚未形成, 可表现为血供不丰富。但应用更高档、敏感的超声仪, 小 HCC 亦可检测到血流信号, 且 3D-CPA 显示的小 HCC 血管表现为迂曲、不规则, 瘤周包绕血管有分支伸入, 与良性肝肿瘤周边受挤压或内部穿行的血管明显不同, 籍此可与良性肿瘤鉴别。3D-CPA 能较好地显示肿瘤血管的完整性与连续性, 使术前无创性从肿瘤 3D-CPA 图像上计测肿瘤血管指数从而定量分析肿瘤血供成为现实。本研究显示肝癌 3D-CPA 多表现为血管丰富, 分支复杂, 与我们以往的研究报告相同<sup>[4]</sup>, 可作为鉴别良恶性肝肿瘤的一个重要无创性手段。尤其是 3D-CPA 定量指标 VI 能客观反映肿瘤血管数量, 有利于动态观察肿瘤血管的变化, 指导临床诊断治疗。

### 3.2 CD<sub>34</sub> 免疫组化染色检测肝癌血管价值

研究表明<sup>[5]</sup>CD<sub>34</sub> 是标记肿瘤 VEC 的敏感物质, 其表达与 VEC 的增殖、移行有关。本组中 CD<sub>34</sub> 在 HCC 中的表达情况与以往报道相似<sup>[6]</sup>, 即仅在肝癌组织新生 VEC 上特异性表达, 癌旁肝硬化组织和正常肝组织内不表达或偶见表达。说明以 CD<sub>34</sub> 标记微血管染色计数的 MVD 反映的不是肝组织原有的内皮系统(窦内皮细胞, 门管区小动、静脉及门脉末梢衬附的内皮细胞)情况, 而是肿瘤新生血管内皮情况, 从而可准确反映肿瘤血管生成状况, 为病理学定量肝癌血管的可靠指标。

### 3.3 3D-CPA 检测肝癌血管的病理学基础及临床应用

肿瘤血管形成学说<sup>[7]</sup>认为: 肿瘤新生血管形成先于肿瘤细胞的增生, 并与其生长、转移密切相关。在无新生血管形成阶段亦无转移现象发生。新生血管化程度与肿瘤的侵袭及其预后有相关性。肝癌为临床常见的恶性肿瘤, 通过免疫组化技术进行肿瘤血管定量的方法, 即 MVD 法, 是能反映肝癌血管生成的一个指标, 且可作为预测肝癌转移、复发和预后的一项标准<sup>[8]</sup>, 但 MVD 法能用于术中或术后, 不能在术前或不宜在手术患者中广泛应用, 在此类患者中起不到指导治疗作用。术

前如何准确定量肿瘤血管, 以推测有无微小转移, 术后有无复发, 判定介入及化疗疗效等, 一直是临床医生研究的问题。

本研究分别用 3D-CPA 及免疫组化 MVD 检测 HCC 血管, 进行对比分析, 发现 3D-CPA 定量指标 VI 与免疫组化 MVD 呈高度线性正相关( $r=0.874$ ,  $P<0.001$ ), VI 随 MVD 的增大而增大, 提示肿瘤新生血管为 3D-CPA 检测肝肿瘤血供的病理学基础, 表明尽管 3D-CPA 显示的是较大的血管, 但其 VI 与肝癌 MVD 密切相关, 可间接反映肿瘤的微血管生成状况。从而肯定了 3D-CPA 能敏感反映与血管内皮细胞增殖移行有关的早期血管生成情况, 达到与微观病理检测肝癌血管一致的效果。

本研究表明, 3D-CPA 为一种客观地评价肿瘤血管及血供的非侵入性技术, 有助于肝癌的定性诊断。其定量指标 VI 可为肝癌诊断、判定预后及动态评价非手术治疗过程中疗效的一个指标。

#### [参考文献]

- [1] 贺声. 肝癌血管超声观察的临床病理学意义. 国外医学肿瘤学分册, 1999, 26 (4): 237-239.
- [2] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumor. *Breast Cancer Res Treat*, 1995, 36: 169-180.
- [3] Ohishi H, Hirai T, Yamada R, et al. Three dimensional Power Doppler Sonography of tumor vascularity. *J Ultrasound Med*, 1998, 17: 619.
- [4] 赵玉珍, 南瑞霞, 王月香, 等. 肝癌的能量多普勒和三维彩色血管能量成像研究. *中华超声影像学杂志*, 2001, 10: 35-37.
- [5] Kimura H, Nakajima T, Kagawa K, et al. Angiogenesis in hepatocellular carcinoma as evaluated by CD34 immunohistochemistry. *Liver*, 1998, 18: 14-19.
- [6] Ruck P, Xiao JC, Kaiserling E. Qbend 10 (CD34) in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Histopathology*, 1996, 29: 593-594.
- [7] Folkman J. What is the evidence that tumor are angiogenesis dependent? *J National Cancer Institute*, 1990, 82 (1): 4-6.
- [8] Tanigawa N, Caide LU, Takashi M. Quantitation of sinusoid-like hepatocellular carcinoma: Its clinical and prognostic significance. *Hepatology*, 1997, 26: 121-122.

(2002-07-29 收稿)