

表观弥散系数值与 Ki-67 在胶质瘤诊断中的相关性

殷悦, 佟丹, 刘晓云, 袁婷婷, 闫昱竹, 马越, 赵瑞

吉林大学 第一附属医院放射科, 长春 130021

通信作者: 佟丹 电话: 0431-88782519, 电子邮件: tongdan1968@126.com

摘要: 目的 探讨表观弥散系数 (ADC) 值与 Ki-67 在胶质瘤诊断中的相关性。方法 对 76 例胶质瘤患者术前进行常规磁共振检查、增强扫描检查及弥散加权成像扫描, 测量肿瘤实质部分及相应对侧正常脑白质的 ADC 值, 并计算其相对 ADC (rADC) 值, 分析 ADC 值及 rADC 值与胶质瘤病理分级的关系。采用免疫组织化学染色方法对 76 例胶质瘤的 Ki-67 表达进行观察, 测定 Ki-67 标记指数, 分析 ADC 值与 Ki-67 表达程度诊断胶质瘤的相关性。结果 高级别胶质瘤肿瘤实质部分 ADC 值和 rADC 值明显低于低级别胶质瘤, 即胶质瘤肿瘤实质部分 ADC 值及 rADC 值与肿瘤的恶性度呈负相关 ($r = -0.898$, $r = -0.868$; $P < 0.01$); 高级别胶质瘤中 Ki-67 的表达程度高于低级别胶质瘤, III、IV 级胶质瘤 Ki-67 标记指数分别为 $(29.48 \pm 19.78)\%$ 和 $(31.21 \pm 17.50)\%$, 均高于低级别 (I、II 级) 胶质瘤 $(2.33 \pm 2.20)\%$, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 但 III、IV 级胶质瘤间 Ki-67 标记指数差异无统计学意义 ($P > 0.05$); Ki-67 表达程度与肿瘤实质部分 ADC 值及 rADC 值呈负相关 ($r = -0.627$, $r = -0.607$; $P < 0.01$)。结论 胶质瘤瘤体实质区 ADC 值和 rADC 值对胶质瘤病理分级诊断具有重要意义, 根据胶质瘤实质部分 ADC 值及 rADC 值的测量, 可间接评估肿瘤的增殖程度及恶性程度。

关键词: 胶质瘤; 弥散加权成像; 表观弥散系数; Ki-67

中图分类号: R739.41; R445.2 文献标志码: A 文章编号: 1000-503X(2012)05-0503-06

DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2012.05.012

Correlation of Apparent Diffusion Coefficient with Ki-67 in the Diagnosis of Gliomas

YIN Yue, TONG Dan, LIU Xiao-yun, YUAN Ting-ting, YAN Yu-zhu, MA Yue, ZHAO Rui

Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China

Corresponding author: TONG Dan Tel: 0431-88782519, E-mail: tongdan1968@126.com

ABSTRACT: Objective To study the correlation between apparent diffusion coefficient (ADC) and Ki-67, a marker of tumor activity, in the diagnosis of gliomas. **Methods** Conventional magnetic resonance imaging (MRI), enhanced scanning, and diffusion-weighted imaging were performed in 76 patients with pathologically confirmed gliomas. The ADC values were measured at tumor parenchyma and the corresponding contralateral normal brain. The relatively ADC (rADC) values of the tumor parenchyma were calculated. The correlation of the ADC values with tumor grades was analyzed. The expression of Ki-67 was detected by immunohistochemical staining. The correlation between ADC value and Ki-67 in the diagnosis of gliomas was analyzed. **Results** The ADC values and rADC values of high-grade gliomas were significantly lower than those of low-grade gliomas. The ADC values of tumor parenchyma were inversely associated with the degree of malignancy of the gliomas ($r = -0.898$, $r = -0.868$; $P < 0.01$). The expression of Ki-67 was significantly higher in high-grade gliomas than that in low-grade gliomas. The Ki-67 labeling index in grade III and IV gliomas were

(29.48 ± 19.78)% and (31.21 ± 17.50)%, respectively. Both of them were significantly higher than Ki-67 labeling index in low-grade (grade I and II) gliomas [(2.33 ± 2.20) %] ($P < 0.01$). Nevertheless, the Ki-67 labeling index showed no significant difference between grade III and IV gliomas ($P > 0.05$). The expression of Ki-67 was negatively correlated with the ADC values and rADC values in tumor parenchyma ($r = -0.627$, $r = -0.607$; $P < 0.01$). **Conclusion** The ADC and rADC values of tumor parenchyma can indirectly reflect the proliferation and malignancy of gliomas and therefore can be useful for the grading of glioma.

Key words: gliomas; diffusion weighted imaging; apparent diffusion coefficient; Ki-67

Acta Acad Med Sin, 2012, 34(5):503-508

脑胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性肿瘤, 肿瘤的预后与肿瘤的级别有明显关联性, 正确评估肿瘤恶性程度对临床制定治疗方案、判断预后具有重要意义。磁共振弥散加权成像 (diffusion weighted imaging, DWI) 通过测量肿瘤组织的表观弥散系数 (apparent diffusion coefficient, ADC) 值, 可以间接地获得细胞构成信息^[1-2]。Ki-67 是从分子生物学水平评估脑胶质瘤细胞增殖活性理想的标记物, 可以反映肿瘤的恶性程度和患者的预后^[3-4]。目前国内外已有大量文献报道 ADC 值对胶质瘤病理分级诊断的价值^[5], 但对于 ADC 值与增殖细胞核抗原 Ki-67 表达情况关系的研究较少。本研究通过回顾性分析 76 例脑胶质瘤 ADC 值与 Ki-67 表现的差异, 探讨 ADC 值与 Ki-67 在胶质瘤诊断中的相关性。

对象和方法

对象 选取吉林大学白求恩第一临床医院 2009 年 6 月至 2011 年 6 月 76 例经手术病理证实的脑胶质瘤患者, 病理结果按照 2000 年 WHO 脑肿瘤病理分级标准, 依病理结果分为 3 组, 低级别胶质瘤 (I、II 级) 共 24 例, 男性 9 例、女性 15 例, 年龄 3~48 岁, 平均 (27.75 ± 1.25) 岁; III 级胶质瘤共 19 例, 男性 10 例、女性 9 例, 年龄 21~73 岁, 平均年龄 (49.37 ± 2.03) 岁; IV 级胶质瘤共 33 例, 男性 18 例、女性 15 例, 年龄 9~73 岁, 平均年龄 (50.36 ± 1.71) 岁。

检查方法 采用西门子 Trio Tim 3.0T 超导型磁共振成像系统, 所有病例均行常规磁共振成像、DWI 及增强扫描。磁共振扫描包括轴位 T1 加权像 (重复时间 440 ms、回波时间 2.46 ms)、T2 加权像 (重复时间 5000 ms、回波时间 93.0 ms)、增强扫描 T1 加权像 (重复时间 440 ms、回波时间 2.46 ms), T1 加权像采用自旋回波序列, 层厚 5 mm, 层间距 0.5 mm, 矩阵 128×128 。DWI 扫描: 采用单次激发平面回波序

列, 重复时间 3800 ms、回波时间 93 ms, 矩阵 128×128 , 层厚 5 mm, 层间距 1.5 mm; 弥散方向选择所有方向, 横轴位, 扫描层面与常规扫描层面一致, 弥散敏感系数 b 值为 0 和 1000 s/mm^2 , 扫描时间为 74 s。

ADC 值测量 由 2 名有经验的放射科医师进行测量, 取 2 人测量结果的平均值。由于感兴趣区 (regions of interest, ROI) 面积增加时, 许多神经纤维互相交叉, 导致 ADC 值测量差异。为减少测量 ROI 范围过大引起的误差及避免由于 ROI 大小不统一造成的误差, 采用 7 mm^2 大小 ROI。在 ADC 图上, 将 ROI 分别置于肿瘤实质部分以及相应对侧正常脑白质, 各区分别放置 3 个 ROI, 取其平均值, 然后测量记录 ADC 值, 再计算出各区相对表观弥散系数 (relative apparent diffusion coefficient, rADC) 值。rADC = (病灶区域 ADC 值/对侧正常脑白质 ADC 值) $\times 100\%$ 。

肿瘤实质部分 ROI 的选择: 有强化的肿瘤中, ROI 放在肿瘤强化最显著区域; 无强化的肿瘤, ROI 放在 T2 加权像为高信号且占位效应最明显的区域。测量时尽量避开肿瘤内的囊变坏死区、出血区及邻近脑沟, 以减少测量误差。

Ki-67 免疫组织化学染色及结果分析 由 2 名病理科医师通过显微镜观察测量 Ki-67 标记指数 (labeling index, LI), 计算高倍视野下 ($\times 400$) 每 100 个肿瘤细胞中 Ki-67 标记阳性细胞所占的百分比, 取两者计数的平均值。采用链菌素生物素-过氧化物酶法免疫组织化学染色。显微镜下观察染色切片, Ki-67 染色阳性为肿瘤细胞核出现棕黄色染色颗粒。任选 10 个高倍视野 ($\times 400$), 每个视野计数 100 个细胞, 按标的阳性的肿瘤细胞数所占百分比 (即 LI) 进行半定量分析。考虑到 Ki-67 阳性细胞数与全部计数细胞总数的比例问题, 根据 Ki-67 LI 平均值将 Ki-67 的分级定为: 小于 5% 为 1 级; 5%~10% 为 2 级; 10%~20% 为 3 级; 20% 以上为 4 级。

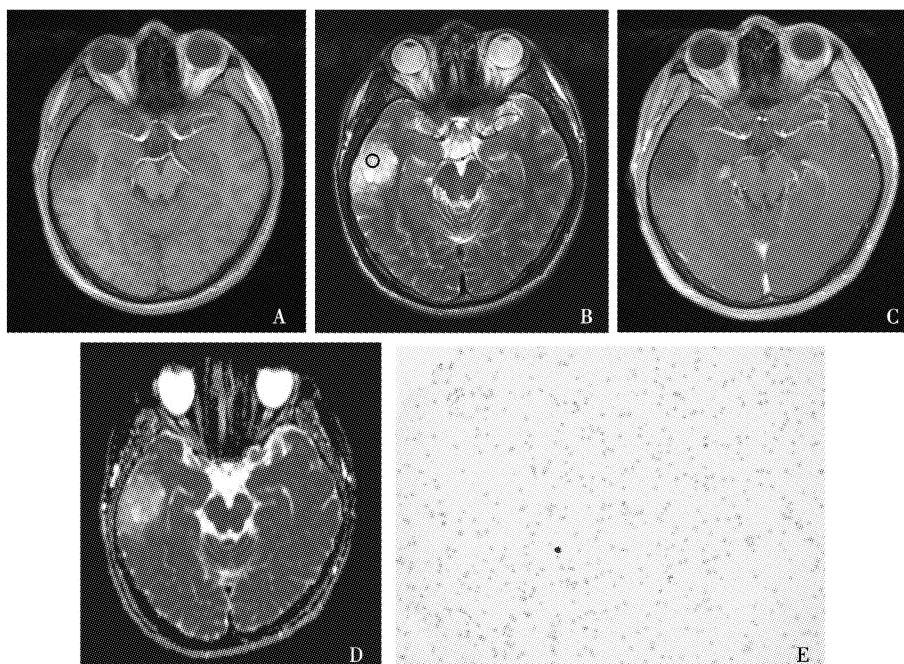
统计学处理 使用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析: 不同病理级别胶质瘤肿瘤实质部分 ADC 值及 rADC 值、Ki-67 表达程度差异, 多组间样本两两比较采用 q 检验, 两组间比较采用独立样本 t 检验。各指标间相关性分析采用 Spearman 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

ADC 值测量结果 将肿瘤按 WHO 分级为低级别胶质瘤 (包括 I、II 级)、III 级胶质瘤、IV 级胶质瘤 3 组, 分别测量实质部分 ADC 值为 $(1.36 \pm 0.08) \times 10^{-3}$ 、 $(0.95 \pm 0.10) \times 10^{-3}$ 、 $(0.93 \pm 0.10) \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$, rADC 值分别为 $(1.79 \pm 0.16)\%$ 、 $(1.23 \pm 0.18)\%$ 、 $(1.20 \pm 0.14)\%$, 后两组与低级别胶质瘤比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。高级别胶质瘤肿瘤实质部分 ADC 值和 rADC 值分别为 $(0.93 \pm 0.10) \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$

和 $(1.21 \pm 0.16)\%$, 明显低于低级别胶质瘤 ($P < 0.01$)。胶质瘤肿瘤实质部分 ADC 值及 rADC 值与肿瘤的 WHO 级别呈负相关 ($r = -0.898$, $r = -0.868$; P 均 < 0.01)。

Ki-67 与胶质瘤病理分级的关系 在较低级别的胶质瘤中, Ki-67 只在极少数细胞中表达 (图 1), 而在较高级别的胶质瘤中, Ki-67 在大多数细胞中表达 (图 2)。III、IV 级胶质瘤 Ki-67 LI 分别为 $(29.48 \pm 19.78)\%$ 、 $(31.21 \pm 17.50)\%$, 均高于低级别胶质瘤 $(2.33 \pm 2.20)\%$, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 但 III、IV 级胶质瘤间 Ki-67 LI 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。III、IV 级胶质瘤 Ki-67 表达程度有较多重叠, 因而合并 III、IV 级胶质瘤与低级别胶质瘤组比较, 高级别胶质瘤中 Ki-67 的表达程度明显高于低级别胶质瘤组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。Ki-67 表达程度与胶质瘤恶性程度呈正相关 ($r = 0.660$, $P < 0.01$)。



ADC: 表观弥散系数; B 图圆圈为感兴趣区

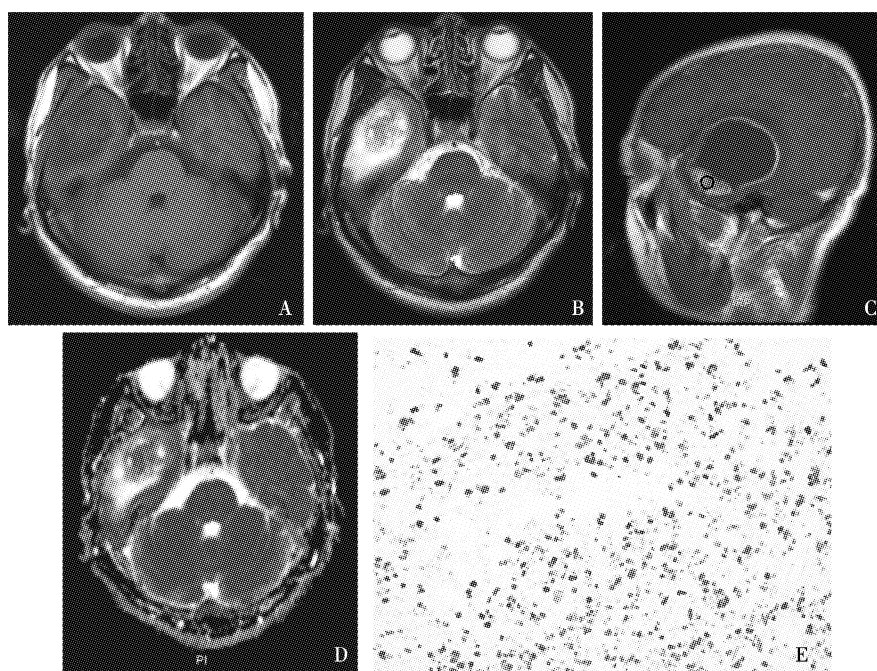
ADC: apparent diffusion coefficient; the circle in the figure B represents the region of interest

A. 病灶在 T1 加权像呈低信号; B. T2 加权像呈高信号; C. 增强扫描病灶未见明显强化; D. ADC 图病灶呈稍高信号, 实质部分 ADC 值为 $(1.23 \pm 0.04) \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$, 相对 ADC 值为 $(1.65 \pm 0.15)\%$; E. Ki-67 在极少数细胞中表达 (1%) (免疫组织化学染色, $\times 400$)

A. the lesion has low signal on T1 weighted imaging; B. high signal on T2 weighted imaging; C. the lesion was not enhanced after contrast administration; D. on ADC image, the lesion displays slightly high signal, with the ADC value in tumor parenchyma being $(1.23 \pm 0.04) \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ and the relatively ADC value being $(1.65 \pm 0.15)\%$; E. few cells (1%) expressed Ki-67 (Immunohistochemistry, $\times 400$)

图 1 右侧颞叶星形细胞瘤, WHO II 级

Fig 1 Grade II astrocytic glioma in the right temporal lobe



C 图圆圈为感兴趣区

The circle in the figure C represents the region of interest

A. 病灶在 T1 加权像呈稍低信号; B. T2 加权像呈稍高信号; C. 增强扫描病灶呈明显环形及片状强化; D. 肿瘤实质部分 ADC 值为 $(0.92 \pm 0.05) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, 相对 ADC 值为 $(1.18 \pm 0.07)\%$; E. Ki-67 在绝大多数细胞中表达, 呈均一棕黄色 (80%) (免疫组织化学染色, $\times 400$)

A. the lesion has slightly low signal on T1 weighted imaging; B. slightly high signal on T2 weighted imaging; C. the lesion was remarkably enhanced after contrast administration; D. the ADC value in tumor parenchyma was $(0.92 \pm 0.05) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ and the relatively ADC value was $(1.18 \pm 0.07)\%$; E. the majority of cells expressed Ki-67 in yellow (80%) (Immunohistochemistry, $\times 400$)

图 2 右侧颞叶胶质母细胞瘤, WHO IV 级

Fig 2 Grade IV glioblastoma in the right temporal lobe

Ki-67 LI 与胶质瘤肿瘤实体部分 ADC 值及 rADC 值的关系 Ki-67 的表达程度越高, 肿瘤实质部分的 ADC 值和 rADC 值越低, 即 Ki-67 表达程度与肿瘤实质部分 ADC 值及 rADC 值呈负相关 ($r = -0.627$,

$r = -0.607$; $P < 0.01$); 在不同 Ki-67 的表达程度的肿瘤实质部分 ADC 值和 rADC 值进行两两比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$) (表 1)。

表 1 胶质瘤 Ki-67 表达程度与肿瘤实质部分 ADC 值及相对 ADC 值的关系
Table 1 Correlation between the expression of Ki-67 and ADC value or relatively ADC value in gliomas parenchyma

Ki-67 表达程度 Expression of Ki-67	n	肿瘤实质部分 ADC 值 ADC value in tumor parenchyma ($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)	肿瘤实质部分相对 ADC 值 Relatively ADC value in tumor parenchyma (%)
1 级 Grade I	19	1.40 \pm 0.03	1.82 \pm 0.16
2 级 Grade II	6	1.23 \pm 0.01 ^a	1.74 \pm 0.04 ^b
3 级 Grade III	7	1.15 \pm 0.01 ^{ac}	1.44 \pm 0.03 ^{ac}
4 级 Grade IV	44	0.89 \pm 0.03 ^{acd}	1.15 \pm 0.07 ^{acd}

与 Ki-67 表达程度 1 级的胶质瘤比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$; 与 Ki-67 表达程度 2 级的胶质瘤比较, ^c $P < 0.01$; 与 Ki-67 表达程度 3 级的胶质瘤比较, ^d $P < 0.01$

Compared with the expression of Ki-67 in grade I gliomas, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$; compared with the expression of Ki-67 in grade II gliomas, ^c $P < 0.01$; compared with the expression of Ki-67 in grade III gliomas, ^d $P < 0.01$

讨 论

活体组织的 ADC 值受细胞内、外水黏滞度与比例、膜通透性、温度及涡电流的影响,肿瘤组织病理成分中的瘤细胞构成、肿瘤基质、纤维或胶质组织都可影响 ADC 值,其中肿瘤的细胞构成是决定肿瘤级别的重要因素之一。许多学者报道低级别胶质瘤实质部分 ADC 值明显高于高级别胶质瘤实质部分 ADC 值,有助于判断低、高级别胶质瘤^[6-8]。本研究肿瘤实质部分 ADC 值及 rADC 值由高到低依次是低级别胶质瘤、Ⅲ级胶质瘤、Ⅳ级胶质瘤,与相关文献报道相符,即胶质瘤肿瘤实质部分 ADC 值及 rADC 值与肿瘤的恶性度呈负相关。

Ki-67 是一种增殖期细胞特异性表达的核抗原。Ki-67 半衰期短,细胞脱离增殖周期后迅速降解,与其他反映胶质瘤增殖潜能的指标如细胞增殖核抗原 DNA 聚合酶 α 、溴脱氧尿嘧啶等相比, Ki-67 更能反映肿瘤的恶性程度及预后。Ricco 等^[9] 研究显示, Ki-67 表达水平与胶质瘤恶性程度明显相关,其定量值从低级别胶质瘤至高级别胶质瘤有上升趋势。本研究Ⅲ、Ⅳ级胶质瘤间 Ki-67 LI 差异无统计学意义,这可能是因为所选样本中Ⅲ、Ⅳ级胶质瘤 Ki-67 LI 存在较多重叠,但是低级别胶质瘤 Ki-67 LI 明显低于高级别胶质瘤,提示 Ki-67 表达能反映胶质瘤增殖活性和病理级别。

肿瘤的 Ki-67 LI 增高意味着其细胞数量增多,细胞增殖活跃,密度增大。另外,当肿瘤细胞处于增殖期时,肿瘤细胞的蛋白质、核糖核酸、脱氧核糖核酸及其他生物大分子合成增多^[10],细胞核增大,染色质增多,导致核浆比增高,这些因素都增加了肿瘤细胞内、外水分子运动的障碍,使其活动空间受限,ADC 值减低,故肿瘤的 Ki-67 LI 与其 ADC 值呈负相关。Calvar 等^[11] 报道绝对 ADC 值与 rADC 值均与 Ki-67 LI 呈负相关关系,有利于鉴别低及高级别胶质瘤。本研究 Ki-67 LI 与肿瘤实质部分的 ADC 值及 rADC 值呈负相关。Ki-67 高表达的胶质瘤实质部分 ADC 值及 rADC 值比 Ki-67 低表达的胶质瘤 ADC 值及 rADC 值低,可能因为 Ki-67 表达程度高的脑胶质瘤恶性度高,细胞增殖活性强,细胞密度高,细胞排列紧密,细胞外间隙小,细胞外水分子相对较少,细胞内复合蛋白质分子相对较多,水分子弥散受限,而且核异型性多,核浆比增大,导致水分

子弥散受限程度加重,故肿瘤实质部分 ADC 值及 rADC 值变小,提示肿瘤实质部分的 ADC 值及 rADC 值可作为间接判断 Ki-67 表达强弱、肿瘤增殖程度的一个重要指标。本研究肿瘤实质部分 ADC 值和 rADC 值差异无统计学意义 ($P > 0.05$),因此,测量肿瘤实质的弥散系数时,测量两者之一即可反映肿瘤实质的弥散情况。

综上, Ki-67 表达情况与胶质瘤 ADC 值呈负相关关系, DWI 可以通过测量胶质瘤 ADC 值无创、动态、迅速而简便地观察其构成情况,间接评估胶质瘤的恶性程度及增殖程度,帮助临床提高术前诊断水平,选择最佳手术方案,为患者预后评估提供帮助。

参 考 文 献

- [1] Guo AC, Cummings TJ, Dash RC, et al. Lymphomas and high-grade astrocytomas: comparison of water diffusibility and histologic characteristics [J]. *Radiology*, 2002, 224(1): 177-183.
- [2] Bulakbasi N, Cuvenc I, Onguru O, et al. The added value of the apparent diffusion coefficient calculation to magnetic resonance imaging in the differentiation and grading of malignant brain tumors [J]. *J Comput Assist Tomogr*, 2004, 28(6):735-746.
- [3] Enestrom S, Vavruch L, Franlund B, et al. Ki-67 antigen expression as a prognostic factor in primary and recurrent astrocytomas [J]. *Neurochirurgie*, 1998, 44(1):25-30.
- [4] 邱吉庆, 闫世军, 赵刚, 等. Ki-67 表达强度对人脑胶质瘤恶性度的评价 [J]. *中风及神经疾病杂志*, 2001, 18(2):81-83.
- [5] 彭娟, 罗天友, 方维东, 等. ADC 值和 rADC 在脑星形细胞瘤分级诊断中的应用价值 [J]. *实用放射学杂志*, 2006, 22(4):398-401.
- [6] 李茂, 邓德茂, 李荣富, 等. 扩散系数值在脑星形细胞肿瘤病理分级中的应用 [J]. *中华放射学杂志*, 2007, 41(10):1057-1061.
- [7] 李伟, 龙晚生, 罗学毛, 等. 磁共振弥散加权成像在胶质瘤分级中的价值 [J]. *国际肿瘤学杂志*, 2011, 38(1):74-77.
- [8] Heegard S, Sommer HM, Broholm H, et al. Proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 immunohistochemistry of oligodendrogliomas with special reference to prognosis [J]. *Cancer*, 1995, 76(10):1809-1813.
- [9] Ricco R, Cimmino A, Renzulli G, et al. Real-time quantification of the proliferative state in astrocytomas [J]. *Anal Quant Cytol Histol*, 2000, 22(3):213-217.

- [10] Gao J, Yang T, Han J, et al. MicroRNA expression during osteogenic differentiation of human multipotent mesenchymal stromal cells from bone marrow [J]. J Cell Biochemistry, 2011, 112(7):1844-1856.
- [11] Calvar JA, Meli FJ, Romero C, et al. Characterization of

brain tumors by MRS, DWI and Ki-67 labeling index [J]. J Neurooncol, 2005, 72(3):273-280.

(收稿日期: 2012-08-15)