



乳腺癌 MR 影像表现预测 Ki-67 表达水平

王艳萍, 朱红春, 毛俊, 刘玉涛, 罗云辉, 陈敏, 彭秀斌

(暨南大学附属珠海医院 珠海市人民医院放射科, 广东 珠海 519000)

摘要:目的 探讨乳腺癌 MR 影像及临床特征预测 Ki-67 表达水平的可行性。方法 回顾性选取经手术病理证实的浸润性乳腺癌患者 52 例(56 个病灶), 均行乳腺 MRI 常规扫描、动态对比增强(DCE)扫描及 DWI, 取 b 值 = 0 s/mm², 1 000 s/mm²。收集患者临床特征(年龄、ER、PR 及 HER2 表达水平)及 MR 影像表现, 包括肿块最大径、位置、数目、毛刺征、分叶、边界、测量 TIC 类型及 ADC 值。免疫组化染色记录 Ki-67 表达量, 并将 Ki-67 分为高表达($\geq 20\%$)与低表达($< 20\%$)。利用套索回归(Lasso)筛选与 Ki-67 表达量最相关的特征, 并以此构建诺模图预测 Ki-67 表达量, 计算 AUC 及 95% 置信区间(CI)。结果 Lasso 筛选出 ADC 值与 TIC 类型与 Ki-67 表达水平有关。诺模图预测 Ki-67 高低表达的 AUC 为 0.827(95% CI: 0.713~0.940)。Ki-67 表达水平与 ADC 值为负相关($r = -0.430, P = 0.003$)。Ki-67 不同表达量与 TIC 类型呈明显相关, TIC III 型更倾向于 Ki-67 高表达。结论 TIC 类型、ADC 值的大小与 Ki-67 的不同表达间具有一定相关性, 可以通过 ADC 值、TIC 类型一定程度上预测 Ki-67 表达水平。

关键词: 乳腺癌; 扩散加权成像; 时间-信号强度曲线; Ki-67

DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2019.04.013

中图分类号: R737.9; R445.2; R446.8 文献标志码: A 文章编号: 1002-1671(2019)04-0565-04

To predict the Ki-67 expression in breast cancer based on MR appearances

WANG Yanping, ZHU Hongchun, MAO Jun, LIU Yutao, LUO Yunhui, CHEN Min, PENG Xiubin

(Department of Radiology, the Affiliated Zhuhai Hospital of Ji'nan University,
Zhuhai People's Hospital, Zhuhai 519000, China)

Abstract: Objective To investigate the feasibility of predicting the Ki-67 expression using MR and clinical features of breast cancer. **Methods** 52 patients with 56 invasive breast carcinoma were retrospectively investigated. Each subject underwent presurgical breast MRI, which included dynamic contrast enhancement and DWI ($b = 0$ s/mm², 1 000 s/mm²). Clinical characteristics and MR findings were collected, including age, ER, PR, HER2, tumor size, location, number, spicule sign, lobulation sign, margin, TIC and ADC values. Ki-67 expression was recorded by immunohistochemical staining, which was divided into high expression ($\geq 20\%$) and low expression ($< 20\%$). Least absolute shrinkage and selection operator (Lasso) were performed to select the features most associated with Ki-67 expression. The nomogram was constructed to predict Ki-67 expression, as well as AUC and 95% confidence interval (CI) were calculated. **Results** TIC types and ADC values associated with Ki-67 expression were identified by Lasso regression. The nomogram predicted the high and low Ki-67 expression with an AUC of 0.827 (95% CI: 0.713–0.940). The Ki-67 expression was negatively correlated with the ADC values ($r = -0.430, P = 0.003$). Ki-67 expression was significantly correlated with TIC type, and TIC III was more likely to have higher expression of Ki-67. **Conclusion** There is individual and respective correlation between the expression level of Ki-67 and TIC type, ADC value. The expression level of Ki-67 can be predicted to some extent by ADC values and TIC types.

Key words: breast cancer; diffusion-weighted imaging; time-signal intensity curve; Ki-67

乳腺癌是女性最常见恶性肿瘤之一, 随着现代生活方式的改变, 我国女性乳腺癌的发病率呈上升趋势, 年龄趋于年轻化; 在沿海发达地区, 已位于女性恶性肿瘤发病率首位^[1]。其预后受诸多因素影响, 增殖细胞核抗原 Ki-67 是一种与细胞周期相关的蛋白质, 预测

Ki-67 表达水平可为临床评估乳腺癌预后及采用化学治疗或内分泌治疗提供更多辅助参考。本研究旨在通过研究乳腺癌 MR 影像表现及临床特征与 Ki-67 的内在相关性, 利用相关指标构建诺模图预测 Ki-67 表达的可行性。

作者简介: 王艳萍(1980—), 女, 吉林省吉林市人, 本科, 主治医师。主要从事乳腺影像诊断工作。

基金项目: 2012 年珠海市科技局立项、基金资助课题(2012D0401990011)。

1 资料与方法

1.1 资料收集 回顾性选取珠海市人民医院 2013 年

6 月至 2017 年 11 月术前乳腺 MRI 扫描检查、术后经病理证实为浸润性乳腺癌女性患者 52 例,共 56 个病灶。患者年龄 25~79 岁,平均(47.0±11.5)岁,其中 1 例为单侧多发病灶(3 个),2 例为双侧单发病灶,其余 49 例均为单侧单发病灶。MRI 扫描前均未行任何抗肿瘤治疗。

1.2 检查方法 采用美国 GE 公司 1.5T MRI 扫描仪,接收线圈为 4 通道乳腺表面专用线圈。患者俯卧位,双乳自然悬垂于线圈内,先行常规 T₁WI 及抑脂 T₂WI 扫描。扫描参数:T₁WI,TR 4.8 ms,TE 2.1 ms,反转角 12°;抑脂 T₂WI 采用精准频率反转恢复序列,平均次数 2,TR 3 400 ms,TE 90 ms,回波链长度 19,FOV 260 mm×320 mm,层厚 3 mm,层间距 0.3 mm,矩阵 348×300。DWI 检查:于动态增强检查前行 DWI 检查。采用单次激发 EPI 序列,层厚 5 mm,层间距 1 mm,平均次数 1,TR 4 175 ms,TE 67 ms,矩阵 200×196,FOV 300 mm×300 mm,b 值为 0.1 000 s/mm²。动态增强检查:对比剂选用 Gd-DTPA,注射剂量 0.1 mmol/kg 体质量,应用高压注射器以 2~3 mL/s 速度经肘静脉注入,注射完毕后以相同速度注入 15 mL 生理盐水,连续扫描 7 期。

1.3 图像后处理 利用 GE 后处理工作站,采用测定 ROI 方法进行动态增强分析,ROI 尽量避开坏死、囊变及出血区并应>5 个体素,由 2 位有经验的乳腺诊断医生测量并获得 TIC,根据 Kuhl 等^[2]研究,将 TIC 划分为 3 型:I 型(流入型),强化无高峰,渐进性持续强化;II 型(平台型),早期强化达到高峰,其后期强化上升或下降<10%;III 型(流出型),早期快速强化,达到高峰后强化下降>10%。由 DWI 图像生成 ADC 图,对照增强 T₁WI,在 ADC 图上以病灶最大层面,尽可能包含所有病灶并避开坏死、出血区画 ROI,ROI>5 个体素,各病灶均测量 3 次,取平均值为病变 ADC 值。对于有争议的病灶,则与第 3 位高年资医生协商决定。

1.4 MR 影像表现及临床特征收集 收集患者临床特征,包括年龄、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)及人类表皮生长因子受体(HER2)表达水平及 MR 影像表现,包括肿块最大径、位置、数目、毛刺征、分叶、边界、TIC 类型及 ADC 值。

1.5 免疫组化分析方法 Ki-67 判读:Ki-67 阳性定义为细胞核染色为淡黄色至棕黄色,随机选择 10 个 400 倍镜进行计数,计算 Ki-67 阳性细胞占总细胞数的百分比。2013 年 St. Gallen 乳腺癌会议多数专家认为 Ki-67 高表达的截断值应为 ≥ 20%^[3]。

1.6 统计学分析 统计分析均使用 R 软件。glmnet

包用于套索回归(Least absolute shrinkage and selection operator,Lasso)分析。rms 包用于诺模图及校准曲线。利用 Lasso 筛选与 Ki-67 表达相关的特征,然后用诺模图构建预测模型预测 Ki-67 高低表达。AUC 值的范围为 0.5~1.0,其中 0.5 表示模型完全无预测能力;AUC=0.5~0.7,表示模型具有较低准确度;AUC=0.71~0.9,表示模型具有较高准确度;AUC>0.9,表示模型具有高准确度。当 Ki-67 为数值型数据时,曲线类型与 Ki-67 表达相关性采用秩和检验中的 Mann-Whitney U 检验,Ki-67 表达与 ADC 值的相关性统计使用 Spearman 相关分析。

2 结果

2.1 Ki-67 不同表达组的 MR 影像表现与临床特征的比较 Ki-67 高表达组、低表达组的年龄、肿块位置、最大径、数目、毛刺征、分叶、边界、ER(%)、PR(%)、HER2 表达无显著统计学差异(P=0.083~0.987)(表 1)。Ki-67 高表达组 ADC 值明显低于低表达组(P=0.001),TIC 类型为流出型的肿块更倾向于 Ki-67 高表达(P=0.002)(表 1)。

2.2 组学特征变量的自动选择 使用 Lasso 进行变量选择。在 Lasso 模型中最佳惩罚系数 λ 的选择使用 5 折交叉验证和最小化标准(图 1A)。在曲线最低点选出了最佳 λ。12 个组学特征变量系数惩罚图(图 1B),随着惩罚系数 λ 的变化,越来越多变量的系数被压缩,最后大部分变量系数被压缩为 0。垂直的虚线绘制在图 1A 中 5 折交叉验证误差最小时选择的最佳 λ 处,其中最佳 λ 处选出 2 个非零系数的变量(TIC 类型与 ADC 值),去掉大部分没有信息的特征,从而实现变量的自动选择。

2.3 利用 TIC 类型及 ADC 值预测 Ki-67 表达水平 将 Lasso 挑选的 TIC 类型及 ADC 值这 2 个特征加入诺模图,根据 Lasso 模型中它们的贡献度情况,给出相应的评分,再计算某个体的总分,由此得到个体乳腺癌患者 Ki-67 的预测值(图 2A)。诺模图预测 Ki-67 高低表达的 AUC 为 0.827(95%CI:0.713~0.940)。校准曲线显示诺模图所预测 Ki-67 与实际 Ki-67 表达之间较好的校准度(图 2B)。

2.4 Ki-67 表达量与 ADC 值相关性分析 当 Ki-67 表达水平为连续变量时,Ki-67 阳性值与 ADC 值的相关性统计使用 Spearman 相关分析,结果显示为负相关(r=-0.430,P=0.003)(图 3)。

3 讨论

Ki-67 是一种核抗原,在肿瘤细胞周期 G1 中期到

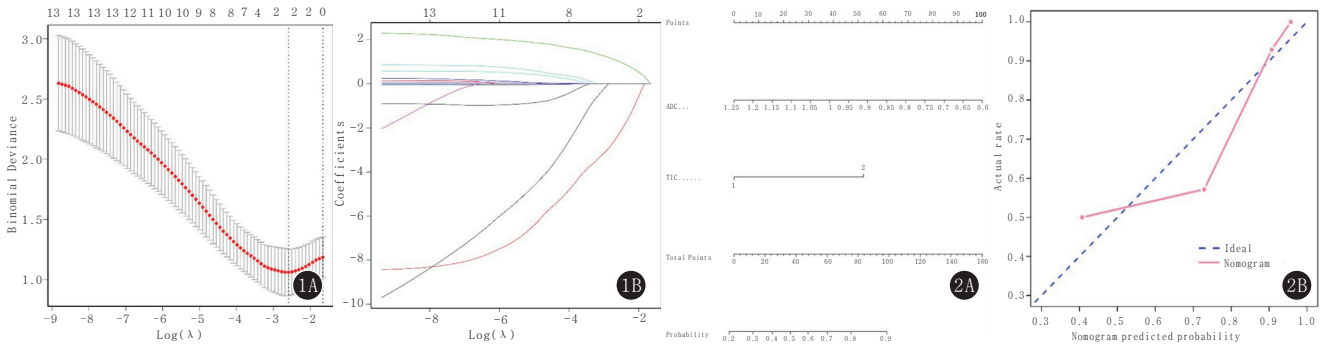


图 1A,B Lasso 对变量系数进行压缩以及实现变量选择 图 2A,B 预测乳腺癌 Ki-67 表达水平的诺谟图及校准曲线

表 1 Ki-67 高表达组及低表达组 MR 影像表现
与临床特征的比较

变量	Ki-67		P
	高表达组	低表达组	
年龄(岁)	47.0±11.5	47.0±10.0	0.987
肿块位置			
外上象限	20	11	
外下象限	6	2	0.083
内上象限	6	5	
内下象限	0	4	
乳头乳晕后方	1	1	
肿块最大径(mm)	30.8±15.6	26.3±9.0	0.214
肿块数目(个)			
1	29	21	
2	3	2	0.536
≥3	1	0	
毛刺征			
有	32	23	
无	2	0	0.507
分叶			
有	30	23	
无	3	0	0.261
边界			
清楚	7	1	
不清楚	26	22	0.123
ER(%)	47.1±0.43	44.6±0.40	0.824
PR(%)	86.8±3.51	30.9±0.40	0.451
HER2	1.22±1.1	1.35±1.07	0.666
ADC 值 (×10 ⁻³ mm ² /s)	0.88±0.13	1.01±0.14	0.001
TIC 类型			
平台型	8	15	
流出型	25	8	0.002

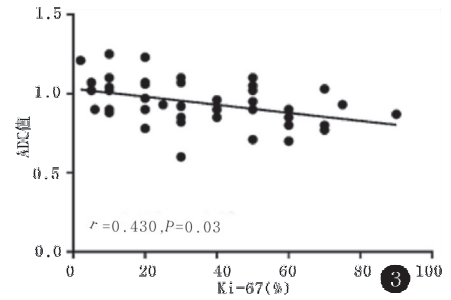


图 3 Ki-67 表达量与 ADC 值相关性分析

在 ER 阴性细胞中不表达。Ki-67 表达从良性乳腺肿瘤到导管原位癌再到浸润性乳腺癌依次增加。Ki-67 高表达往往与乳腺癌预后不良相关,并且与肿瘤分级不存在交互作用,高表达患者更易出现复发转移,也有研究表明 Ki-67 高表达也可作为乳腺癌新辅助化疗后高病理完全缓解率的预测因子,特别针对三阴或者 HER2 阳性的乳腺癌亚型^[6-7]。Ki-67 与组织学分级也具有相关性^[8]。Ki-67 在区分“Luminal A”与“Luminal B (HER2 阴性)”2 种亚型非常重要,证据显示 Ki-67 低表达(<20%)与 Luminal A 型明显相关,复发风险低,而 Luminal B 乳腺癌缺乏 Luminal A 型乳腺癌部分特点,因此 Ki-67 表达水平较高,复发风险较高。尽管众多研究探讨 Ki-67 作为乳腺癌预后、预测的标记物,但在被临床广泛接纳之前还有不少问题需要解决,例如 Ki-67 病理评估的标准化未建立,将影响其客观性,不同观察者之间的变异性较大等^[9]。本研究利用乳腺癌 MR 表现预测 Ki-67 高低表达,建立相对客观的预测模型,有助于临床治疗方案的选择及防止患者过度治疗。

乳腺 MR DCE 扫描已成为诊断和鉴别诊断乳腺癌的重要手段,TIC 类型能直观地反映肿块的血流动力学特点,对于鉴别乳腺的良恶性病变具有重要价值。流入型多见于良性病变;平台型既可为良性病变,也可为恶性病变;流出型大多数为恶性病变,也存在少数例外。本研究中均为 TIC II、III 型,结果显示 TIC III 型

晚期出现,S 期和 G2 期逐渐增加,M 期达到最高值,M 期后逐渐降解或丢失,而 G0 期则无 Ki-67 表达,是目前检测肿瘤细胞增殖活性最可靠的指标之一^[4-5]。Ki-67 表达与多种肿瘤的发生、发展、浸润、分期、复发及转移有关。Ki-67 在正常乳腺组织中极低表达(<3%),

更倾向出现 Ki-67 高表达,表明肿瘤恶性程度越高,细胞增殖周期越短,增殖速度越快。由于 DWI 及 ADC 值的影响因素较多,其影响因素主要包括细胞数量,液体的黏滞度,细胞内、外水运动或流动的方向性,因此 ADC 值不仅与水分子的扩散有关,而且与微循环灌注相关^[10]。已经有不少文献报道 ADC 值的高低与乳腺癌预后相关,笔者在本研究中发现 Ki-67 高表达组 ADC 值明显低于低表达组,提示 Ki-67 高表达可能会引起细胞更加增多,限制了水分子在细胞外及细胞间隙的扩散,导致 ADC 值进一步下降,与一些文献报道一致^[11]。目前 Ki-67 高低表达的标准截断值尚未确立,但多数专家以 20% 作为细胞增殖高低的阈值,提示 ADC 值可作为 Ki-67 表达高低的 1 个预测因子^[12]。既往研究发现 ADC 值与 Ki-67 表达无显著相关。本研究发现 Ki-67 表达与 ADC 值存在较弱的负相关性,有文献推测可能与血管灌注效应引起 ADC 值增加有关^[13]。此外,也有不少研究发现 Ki-67 与淋巴结状态、类固醇激素状态、p53、Bcl-2、周期蛋白等具有正或负相关^[14-15]。然而 Ki-67 表达与年龄、肿块位置、最大径、数目、毛刺征、分叶、边界、ER、PR、HER2 表达无明显关系。利用强大的 Lasso 筛选与 Ki-67 高表达最相关的特征 TIC 类型及 ADC 值,并以此构建诺模图可以较准确个体化预测 Ki-67 表达,AUC 高达 0.827(95%CI:0.713~0.940),对于指导乳腺癌临床治疗有较大参考价值,有望改善乳腺癌患者的预后。

本研究的不足:(1)乳腺癌是具有高度特异性生物学行为的恶性肿瘤,不同区域的肿瘤细胞密集度、分化程度差异较大,DWI ROI 与病理组织取材之间存在差异;(2)本研究中病例均为浸润性导管癌,病理类型较单一,以后研究中需进一步扩大病例数。

参考文献:

[1] 罗娅红.乳腺癌的影像学诊断进展和研究方向[J].中国医学影像技术,2017,33(5):645-646.DOI:10.13929/j.1003-3289.201704090.

[2] KUHL C K, MIELCARECK P, KLASCHIK S, et al. Dynamic breast MR imaging: are signal intensity time course data useful differential diagnosis of enhancing lesions? [J]. Radiology, 1999, 211(1):101-110. DOI:10.1148/radiology.211.1.r99ap38101.

[3] 王新昭,左文述,刘琪,等.2013 年 St Gallen 乳腺癌会议国际专家共识荟萃[J].中华肿瘤防治杂志,2013,20(23):1859-1864. DOI:10.3969/j.issn.1673-5269.2013.23.019.

[4] URRUTICOECHEA A, SMITH I E, DOWSETT M. Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer[J]. Clin Oncol, 2005, 23(28): 7212-7220. DOI:10.1200/JCO.2005.07.501.

[5] ONISHI N, KANAOKA S, KATAOKA M, et al. Apparent diffusion coefficient as a potential surrogate marker for Ki-67 index in mucinous breast carcinoma[J]. J Magn Reson Imaging, 2015, 41(3): 610-615. DOI:10.1002/jmri.24615.

[6] ALBA E, LLUCH A, RIBELLES N, et al. High proliferation predicts pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in early breast cancer [J]. Oncologist, 2016, 21(6): 778. DOI: 10.1634/theoncologist.2015-0312erratum.

[7] FASCHING P A, HEUSINGER K, HAEBERLE L, et al. Ki-67, chemotherapy response, and prognosis in breast cancer patients receiving neoadjuvant treatment [J]. BMC Cancer, 2011, 11: 486. DOI:10.1186/1471-2407-11-486.

[8] PIETILAINEN T, LIPPONEN P, AALTOOMAA S, et al. The important prognostic value of Ki-67 expression as determined by image analysis in breast cancer [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 1996, 122(11): 687-692. DOI:10.1007/BF01209033.

[9] COLOZZA M, SIDONI A, PICCART-GEBHART M. Value of Ki-67 in breast cancer: the debate is still open [J]. Lancet Oncol, 2010, 11(5): 414-415. DOI:10.1016/S1470-2045(10)70089-9.

[10] PARTRIDGE S C, MULLINS C D, KURLAND B F, et al. Apparent diffusion coefficient values for discriminating benign and malignant breast MRI lesions: effects of lesion type and size [J]. AJR, 2010, 194(6): 1664-1673. DOI:10.2214/AJR.09.3534.

[11] CHOI S Y, CHANG Y W, PARK H J, et al. Correlation of the apparent diffusion coefficient values on diffusion-weighted imaging with prognostic factors for breast cancer [J]. Br J Radiol, 2012, 85(1016): e474-e479. DOI:10.1259/bjr/79381464.

[12] MOLINO A, MICCIOLO R, TURAZZA M, et al. Ki-67 immunostaining in 322 primary breast cancers: associations with clinical and pathological variables and prognosis [J]. Int J Cancer, 1997, 74(4): 433-437. DOI:10.1002/(sici)1097-0215(19970822)74:4<433::aid-ijc12>3.0.co;2-a.

[13] 刘春玲,何晖,刘再毅,等. ADC 值与乳腺浸润性导管癌预后标记物间相关性的探讨 [J]. 临床放射学杂志, 2014, 33(2): 194-198. DOI:10.13437/j.cnki.jcr.2014.02.011.

[14] LIU S, EDGERTON S M, MOORE D H, et al. Measures of cell turnover (proliferation and apoptosis) and their association with survival in breast cancer [J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(6): 1716-1723.

[15] MILLAR E K, DEAN J L, MCNEIL C M, et al. Cyclin D1b protein expression in breast cancer is independent of cyclin D1a and associated with poor disease outcome [J]. Oncogene, 2009, 28(15): 1812-1820. DOI:10.1038/onc.2009.13.

(收稿日期:2018-04-16;修回日期:2018-10-29)