

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.009

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.009>

乳腺浸润性导管癌剪切波弹性成像：定量弹性值与蛋白分子水平表达的相关性

杨艳艳, 李晶

(中国医科大学附属盛京医院超声科, 沈阳 110004)

[摘要] 目的：探讨乳腺浸润性导管癌(invasive ductal carcinoma, IDC)剪切波弹性成像(shear-wave elastography, SWE)参数与蛋白分子表达及分子分型的相关性。方法：前瞻性纳入因乳腺实性肿块接受手术或者穿刺活检的女性患者182例(共184个肿块)进行SWE, 横、纵切面各进行2次, 采用感兴趣区(region of interest, ROI)=2 mm测量SWE弹性定量参数, 取4个切面的均值, 检测弹性最大值(E_{max})、弹性平均值(E_{mean})、弹性比(E_{ratio})。分析病理结果, 蛋白分子(ER, PR, HER2, Ki-67, p53)表达情况, 基于蛋白分子表达将肿块分为4个分子分型: Luminal A型、Luminal B型、HER2过表达型、Basal-like型。利用t检验、单因素方差分析和多元线性回归分析评估各弹性定量参数与蛋白分子表达及分子分型之间的关系。结果：在单变量分析中, 肿块大小、组织分级和Ki-67表达与 E_{max} 平方根和 E_{mean} 平方根具有显著相关性(均 $P < 0.05$)。不同大小肿块间 E_{ratio} 对数($P < 0.001$)差异具有统计学意义。分子分型与弹性值无明显联系。在多因素分析中, 肿瘤大小与各弹性值独立相关。结论：肿块越大, 弹性值越高, 肿块越硬。目前尚不能证明蛋白分子表达和分子分型与肿块硬度之间具有相关性。

[关键词] 浸润性导管癌; 剪切波弹性成像; 蛋白分子表达

Shear-wave elastography of breast invasive ductal carcinoma: correlation between quantitative elasticity value and protein expression

YANG Yanyan, LI Jing

(Department of Ultrasound, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China)

Abstract **Objective:** To investigate the correlation of shear-wave elastography (SWE) parameters with protein expression and molecular subtype in breast invasive ductal carcinoma (IDC). **Methods:** A total of 184 invasive ductal cancers in 182 women underwent SWE before surgery or biopsy. Two elastographic images from two orthogonal planes were obtained for each lesion. SWE elastic quantitative parameters, including the maximum stiffness (E_{max}), mean stiffness (E_{mean}), ratio of stiffness of the mass to stiffness of the surrounding fatty tissue

收稿日期 (Date of reception): 2018-07-03

通信作者 (Corresponding author): 李晶, Email: lijing@sj-hospital.org

(E_{ratio}) were measured with region of interest (ROI) =2 mm. The pathologic results and protein molecules (ER, PR, HER2, Ki-67, p53) expression were analyzed and detected, respectively. Based on the protein molecules expression, the tumors were divided into four subtypes: Luminal A, Luminal B, HER2-enriched and Basal-like. We used Student's *t*-test or one-way ANOVA and multiple linear regression to evaluate the correlation of between elastic quantitative parameters with protein molecular expression and molecular subtypes. **Results:** At univariate analysis, lesion size, histologic grade and Ki-67 expression were significantly associated with the maximum stiffness square root and mean stiffness square root (all $P < 0.01$). Only the difference in logarithm of E_{ratio} between tumors of different sizes was statistically significant ($P < 0.001$). There was no significant relationship between molecular subtypes and quantitative elasticity values. By multivariate analysis, only lesion size was independent statistically associated with quantitative elasticity values. **Conclusion:** The bigger the lesion, the higher the elasticity values, the harder the lesion. We were unable to demonstrate a correlation between protein molecule expression and molecular subtypes and tumor hardness.

Keywords invasive ductal carcinoma; shear-wave elastography; protein molecular expression

乳腺癌是一种异质性疾病, 剪切波弹性成像 (shear-wave elastography, SWE) 在操作者间和自身之间均具有很高的可重复性^[1], 可实时获得病灶硬度的定量数据。乳腺恶性病灶硬度显著高于良性病灶^[2-4], SWE提高了超声对乳腺良恶性病变的鉴别诊断能力。另外乳腺癌患者生存率不仅取决于肿瘤分期, 还与肿瘤分子分型息息相关。预测乳腺癌与蛋白分子表达之间的关系不仅可预测病程, 还有助于选择更适合的治疗方式, 有学者^[5-11]对弹性定量参数和各免疫组织化学指标及分子分型的关系作了相关研究, 但未能得到统一结论。本研究拟探讨乳腺浸润性导管癌 (invasive ductal carcinoma, IDC) 弹性硬度与蛋白分子水平表达 [(雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR)、人表皮生长因子受体-2 (human epidermal factor receptor-2, HER2)、Ki-67、抑癌基因 p53)] 及不同分子分型之间的相关性, 以期为 IDC 的治疗及预后评估提供参考信息。

1 对象与方法

1.1 对象

收集2017年3月至2018年4月因乳腺实性肿块在中国医科大学附属盛京医院做超声检查、级别在乳房成像、报告和数据库系统 (Breast Imaging, Reporting and Data System, BI-RADS) 4b及以上, 并拟接受手术切除或穿刺活检的294例患者, 排除非IDC肿块、病理结果不完整、接受放射治疗(以

下简称放疗)或化学治疗(以下简称化疗)、肿块最大径大于3.5 cm, 以及妊娠、哺乳和乳腺假体和失访者, 最终纳入182例女性患者(184个肿块), 年龄25~81(52.4±10.4)岁。

1.2 方法

1.2.1 常规超声检查与 SWE

采用法国声科公司 Supersonic Imaging Aixplorer SWE 超声诊断仪, 线阵探头频率 4~15 MHz。首先进行乳腺常规超声检查, 记录病灶3个径线, 取最大值为病灶大小。然后转换弹性成像模式, 在探头不施压的情况下, 嘱患者屏气, 分别获取横、纵切面弹性图像, 同一切面反复获取2次。获取图像时应注意持续时间为5 s以上, 并存储稳定的静态弹性图像; 若病灶未侵犯皮肤和肌层, SWE 方形取样框应尽量避免皮肤和肌层。采用仪器自带定量测量工具 (Q-BOX™ Ratio) 感兴趣区 (region of interest, ROI) =2 mm 进行测量, 取4个切面均值, 得到 E_{max} , E_{mean} , E_{ratio} (图1)。图像均由一位乳腺SWE经验丰富的医师独立完成。

1.2.2 临床病理学检查

患者均接受了乳腺肿块切除或者穿刺活检, 病理学结果由中国医科大学附属盛京医院病理科协助提供且均由同一医师阅片得出。ER, PR, Ki-67和p53均采用SP染色法。ER, PR和p53核染色 ≥ 1% 定义为阳性, Ki-67 ≥ 20% 定义为高表达。HER2表达首先由免疫组织化学 (IHC) 染色检测, 0和1+为阴性, 3+为阳性, 2+则需要进行原位荧光杂交 (fluorescence in situ hybridization,

FISH)检测来确定阳性(基因复制数>6或HER2/csp17>2.0)。基于蛋白分子表达结果，根据中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017版)^[12]将肿块分为4个亚型：1) Luminal A型，ER/PR+且PR高表达(>20%)，HER2-，Ki-67低表达(<20%)；2) Luminal B型，ER/PR+，HER2-，且Ki-67高表达或PR低表达；ER/PR+，HER2+，任意水平的Ki-67；3) HER2过表达型，ER-，PR-，HER2+；4) Basal-like型，ER-，PR-，HER2-。

1.3 统计学处理

应用SPSS 22.0统计软件进行数据分析，经转换后符合正态分布的定量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。采用t检验进行年龄、淋巴结状态和蛋白分子表达间各弹性参数的比较，采用单因素方差分析进行肿块大小、组织分级和分子分型间各弹性参数的比较，采用LSD-t检验进行亚组间两两比较。多因素分析采用多元线性回归分析。P<0.05为差异有统计学意义。

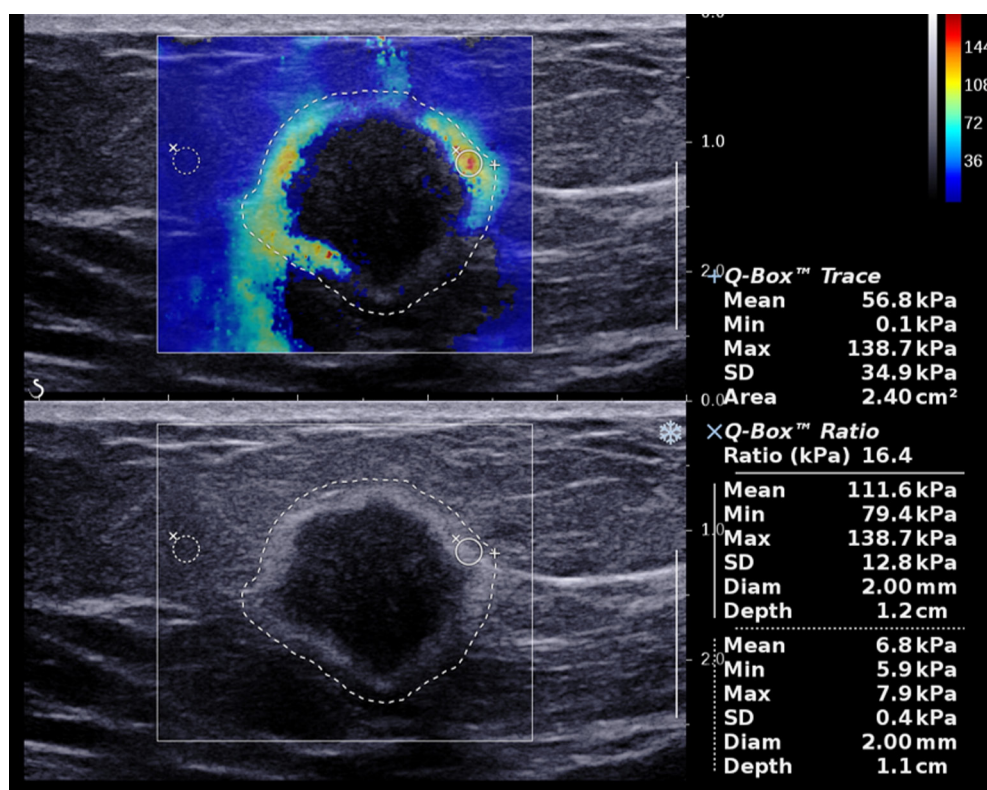


图1 Q-BOX™ Ratio获得的肿物硬度定量值

Figure1 Quantitative elasticity values by Q-BOX™ Ratio

2 结果

单因素分析结果显示：仅有肿块大小、组织分级和Ki-67表达与弹性最大值平方根[Sqrt(E_{max})]，弹性平均值平方根[Sqrt(E_{mean})]具有显著相关性(P<0.001，P<0.001，P=0.028和P=0.048，P=0.016，P=0.028)。而年龄，淋巴结状态，ER，PR，HER2，p53及分子分型间Sqrt(E_{max})，Sqrt(E_{mean})，弹性比对数[Log(E_{ratio})]无统计学意义，仅肿块大小与Log(E_{ratio})显著正相关

(P<0.001，表1)。组间两两比较结果显示：肿块大小与Sqrt(E_{max})，Sqrt(E_{mean})，Log(E_{ratio})显著正相关，肿块越大，硬度越大；组织分级中I-II级与I-III级间Sqrt(E_{max})，Sqrt(E_{mean})差异具有统计学意义(P<0.05)，而III级肿块的硬度并未显著高于II级肿块(P>0.05，表2)。多因素分析结果显示：仅肿块大小与Sqrt(E_{max})，Sqrt(E_{mean})显著相关，组织分级和Ki-67表达与Sqrt(E_{max})，Sqrt(E_{mean})均无相关性(表3)。

表1 IDC的单变量分析

Table 1 Univariate analysis of IDC

变量	n	Sqrt(E_{\max})		Sqrt(E_{mean})		Log(E_{ratio})	
		$\bar{x} \pm s$	P	$\bar{x} \pm s$	P	$\bar{x} \pm s$	P
年龄/岁			0.800		0.645		0.863
<50	77	11.93 ± 3.05		10.51 ± 2.76		1.13 ± 0.26	
≥50	107	12.04 ± 2.81		10.69 ± 2.58		1.12 ± 0.26	
肿块大小/cm			<0.001		<0.001		<0.001
≤1.0	13	8.22 ± 1.27		7.47 ± 1.36		0.84 ± 0.17	
>1.0~2.0	99	11.29 ± 2.73		10.02 ± 2.51		1.09 ± 2.23	
>2.0	72	13.64 ± 2.28		11.99 ± 2.20		1.23 ± 2.68	
组织分级			0.028		0.048		0.152
I	6	9.46 ± 2.83		8.46 ± 2.82		0.98 ± 0.14	
II	141	11.90 ± 2.92		10.54 ± 2.67		1.12 ± 0.26	
III	37	12.74 ± 2.62		11.22 ± 2.40		1.18 ± 0.28	
淋巴结状态			0.222		0.253		0.484
阴性	120	11.80 ± 2.98		10.45 ± 2.68		1.12 ± 0.25	
阳性	64	12.35 ± 2.74		10.92 ± 2.59		1.15 ± 0.29	
ER状态			0.637		0.594		0.927
阴性	64	12.13 ± 2.82		10.76 ± 2.62		1.13 ± 0.26	
阳性	120	11.92 ± 2.96		10.54 ± 2.67		1.13 ± 0.26	
PR状态			0.097		0.051		0.155
阴性	63	12.94 ± 2.88		11.14 ± 2.74		1.17 ± 0.27	
阳性	121	11.74 ± 2.90		10.34 ± 2.57		1.11 ± 0.26	
HER2状态			0.849		0.767		0.981
阴性	134	11.97 ± 3.01		10.58 ± 2.72		1.13 ± 0.26	
阳性	50	12.06 ± 2.62		10.71 ± 2.48		1.13 ± 0.27	
Ki-67状态			0.016		0.028		0.057
低表达	58	11.24 ± 3.12		9.98 ± 2.81		1.07 ± 0.24	
高表达	126	12.34 ± 2.74		10.90 ± 2.53		1.15 ± 0.27	
P53状态			0.549		0.781		0.209
阴性	95	11.87 ± 3.04		10.56 ± 2.77		1.10 ± 0.25	
阳性	89	12.13 ± 2.77		10.67 ± 2.53		1.15 ± 0.27	
分子分型			0.227		0.416		0.440
Luminal A	48	11.2 ± 3.13		9.99 ± 2.86		3.59 ± 1.01	
Luminal B (HER2-)	57	12.43 ± 2.77		10.88 ± 2.50		4.04 ± 1.29	
Luminal B (HER2+)	28	11.88 ± 2.69		10.56 ± 2.52		3.89 ± 1.35	
HER2	19	12.54 ± 2.52		11.08 ± 2.41		3.78 ± 1.12	
Basal-like	32	12.81 ± 3.09		10.83 ± 2.82		3.83 ± 1.19	

表2 IDC的LSD-*t*检验

Table 2 LSD *t*-test for IDC

参数	P		
	Sqrt(E_{max})	Sqrt(E_{mean})	Log(E_{ratio})
肿块大小/cm			
≤1.0 vs >1.0~2.0	<0.001	<0.001	0.001
≤1.0 vs >2.0	<0.001	<0.001	<0.001
>1.0~2.0 vs >2.0	<0.001	<0.001	<0.001
组织分级			
I~II	0.041	0.058	0.184
I~III	0.010	0.018	0.072
II~III	0.120	0.160	0.196

表3 IDC的多元线性回归分析

Table 3 Multiple linear regression analysis for IDC

变量	Sqrt(E_{max})			Sqrt(E_{mean})		
	回归系数 <i>b</i>	95% CI	P	回归系数 <i>b</i>	95% CI	P
肿块大小/cm						
≤1.0	0.00	—	—	0.00	—	—
>1.0~2.0	2.98	1.49~4.47	<0.001	2.49	1.81~3.89	0.001
>2.0	5.32	3.76~6.88	<0.001	4.47	3.01~5.94	<0.001
组织分级						
I	0.00	—	—	0.00	—	—
II	1.35	0.75~3.45	0.205	1.19	-0.78~3.16	0.235
III	1.61	-0.70~3.92	0.171	1.43	-0.74~3.60	0.196
Ki-67状态						
低表达	0.00	—	—	0.00	—	—
高表达	-0.27	-1.10~0.57	0.530	-0.30	-1.09~0.48	0.445

3 讨论

本研究发现肿块大小和硬度之间具有显著的相关性：肿块越大，其 E_{max} ， E_{mean} ， E_{ratio} 越大，该结果与以往研究^[5-10,13]结果相符。且本研究发现不同病灶大小的两两比较均具有统计学意义，这一结果对之前的研究作了相应补充。

然而与Youk等^[5,7]的研究结果不同，本研究发现肿块组织分级与 E_{max} ， E_{mean} 并无显著相关性，这一结果验证了Chang等^[6,8-9]研究中的组织分级与肿

块弹性间的相关性无统计学意义。尽管在单因素分析中，组织分级I~II级、I~III级肿块间硬度值差异明显大于II~III级，这与Evans等^[13]结果不谋而合。而组织分级将反映细胞结构的有丝分裂的数量纳入考量，这就很可能使癌组织分级越高其硬度越大^[14]。在多因素分析中，组织分级和硬度缺乏关联性并不意外，因为本研究只涉及IDC，正如在Ganau等^[8]研究中只包括浸润癌。本研究发现组织分级与 E_{ratio} 无显著相关性，这一结果与Choi等^[7]得出二者间正相关的结果相悖。这或与本研究只

包括单一IDC, 而Choi等^[7]研究包括了所有原发性乳腺癌有关。

本研究结果表明: 没有任何一项蛋白分子的表达与肿块硬度相关, 这与Ganau等^[8]的研究结果相似。Ki-67是细胞增殖期的一个核抗原, 能有效评估细胞增殖活性。本研究单因素分析中, Ki-67高表达与肿块硬度间呈显著正相关。而这种正相关可能是因为肿块硬度与其他预后不良因素如肿块大小、组织分级之间存在相关性^[5], 这就解释了多因素分析中Ki-67表达与肿块硬度并不独立相关的合理性。

除本研究外, 国内外已有研究将分子分型考虑在内, 但结果并不统一。本研究结果与Youk等^[5,8,9]相符, 他们也没有发现基于蛋白分子表达的分子分型和 E_{max} , E_{mean} 之间有明显的联系。Chang等^[6,7,10-11]与本研究结果明显不同, 他们认为分子分型与 E_{ratio} , E_{mean} , E_{max} 显著相关。产生这种不一致结果的重要因素在于以上研究采用的分子分型及蛋白分子高表达分界值不同。Chang等^[6,9]将乳腺癌分为TN(三阴性)、HER2阳性、ER阳性三类; Choi等^[7]研究分子分型出现了Luminal分型, 但均未考虑Ki-67的表达。而另外几项研究^[5,8,10-11]分子分型和本研究相似, 但前者Ki-67高表达的分界值为14%。本研究按照最新指南^[12]采用20%作为Ki-67表达高低的分界值; 且本研究中Luminal分型仅PR表达阳性的情况下必须满足PR大于20%, 较之以往研究标准更加严格。以上因素会导致乳腺肿块纳入各分子分型的个数具有较大差别, 进而可能会影响肿块硬度与分子分型之间的关系。本研究采用最新中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范中的分子分型, 更符合我国患者真实情况。另外, Chamming's等^[15]认为: HER2阳性和TN肿瘤比Luminal肿瘤硬度小, 正是由于前两者有较多坏死和更不明显结缔组织增生反应。而在本研究中, E_{max} 和 E_{mean} 最低的为Luminal A型, 其原因可能为纳入研究的Luminal A型肿块的大小平均值远远小于其他分子分型肿块[各分子分型大小平均值分别为luminal A=1.669 cm, luminal B(-)=2.084 cm, luminal B(+)=2.336 cm, HER2=2.1 cm, basal-like=2.069 cm], 而鉴于肿块大小为弹性值的独立影响因素, 或可解释该结果的合理性。

本研究优势在于: 多数研究^[5-7,9,11]均为回顾性研究, 乳腺肿块弹性图像由多位超声医师获得, 而且仅采用一个切面测量值作为最终硬度值, 尽管SWE具有很好的可重复性, 但多位医师对肿块

硬度的测量所产生的误差不可避免。本研究属于前瞻性研究, 具有严格的排除标准, 所有弹性图像均由一位乳腺超声工作超过20年且具有5年以上乳腺SWE经验的专家获得, 每个肿块横、纵2个切面均测量2次, 4个值取均值作为最终定量弹性值, 最大可能的规避操作者对获得肿块SWE弹性值的影响。并且本研究专注于IDC一个病理类型, 且肿块最多, 肿块分子分型采用最新指南, 更符合临床诊治乳腺癌的要求。

本研究也有一定局限性。首先, 受SWE取样框最大径的限制, 直径>3.5 cm的肿块未纳入研究。其次, 研究仅包括IDC, 没有比较不同病理类型肿块弹性参数的差异。再次, ROI的选择具有主观性, SWE因肿块周围不含正常脂肪组织或剪切波的衰减, E_{ratio} 第二ROI需放肿块周围正常腺体上。最后, 虽然单一IDC样本数迄今最多, 但远远不够, 需要进行更大样本研究。

综上所述, 本研究表明肿块越大、组织分级越高、Ki-67高表达与较高的弹性参数之间存在相关性。然而, 仅肿块大小与SWE中硬度显著相关。本研究尚不能证明IDC蛋白分子的表达和不同分子分型SWE中硬度的差异具有统计学意义。

参考文献

1. Cosgrove DO, Berg WA, Doré CJ, et al. Shear wave elastography for breast masses is highly reproducible[J]. *Eur Radiol*, 2012, 22(5): 1023-1032.
2. Chang JM, Moon WK, Cho N, et al. Clinical application of shear wave elastography (SWE) in the diagnosis of benign and malignant breast diseases[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 129(1): 89-97.
3. Evans A, Whelehan P, Thomson K, et al. Quantitative shear wave ultrasound elastography: initial experience in solid breast masses[J]. *Breast Cancer Res*, 2010, 12(6): R104.
4. Berg WA, Cosgrove DO, Doré CJ, et al. Shear-wave elastography improves the specificity of breast US: the BE1 multinational study of 939 masses[J]. *Radiology*, 2012, 262(2): 435-449.
5. Youk JH, Gweon HM, Son EJ, et al. Shear-wave elastography of invasive breast cancer: correlation between quantitative mean elasticity value and immunohistochemical profile[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 138(1): 119-126.
6. Chang JM, Park IA, Lee SH, et al. Stiffness of tumours measured by shear-wave elastography correlated with subtypes of breast cancer[J]. *Eur Radiol*, 2013, 23(9): 2450-2458.

7. Choi WJ, Kim HH, Cha JH, et al. Predicting prognostic factors of breast cancer using shear wave elastography[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2014, 40(2): 269-274.
8. Ganau S, Andreu FJ, Escribano F, et al. Shear-wave elastography and immunohistochemical profiles in invasive breast cancer: Evaluation of maximum and mean elasticity values[J]. *Eur J Radiol*, 2015, 84(4): 617-622.
9. Cho EY, Ko ES, Han BK, et al. Shear-wave elastography in invasive ductal carcinoma: correlation between quantitative maximum elasticity value and detailed pathological findings[J]. *Acta Radiol*, 2016, 57(5): 521-528.
10. 樊智颖. 乳腺浸润性导管癌弹性值与分子分型的关系[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2014.
FAN Zhiying. The relationship between the elastic value of invasive ductal carcinoma and molecular subtypes[D]. Shenyang: China Medical University, 2014.
11. 李海康. 乳腺癌剪切波弹性模量最大值 E_{max} 与其免疫组化相关性研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2017.
LI Haikang. Correlation between shear-wave maximum elasticity value E_{max} and immunohistochemical profile[D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2017.
12. 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017年版)[J]. *中国癌症杂志*, 2017, 27(9): 695-759.
Chinese Anti-Cancer Association, Committee of Breast Cancer Society (CACA-CBCS). Guidelines and guidelines for diagnosis and treatment of breast cancer (2017)[J]. *China Oncology*, 2017, 27(9): 695-759.
13. Evans A, Whelehan P, Thomson K, et al. Invasive breast cancer: relationship between shear-wave elastographic findings and histologic prognostic factors[J]. *Radiology*, 2012, 263(3): 673-677.
14. Martincich L, Deantoni V, Bertotto I, et al. Correlations between diffusion-weighted imaging and breast cancer biomarkers[J]. *Eur Radiol*, 2012, 22(7): 1519-1528.
15. Chamming's F, Latorre-Ossa H, Le Frère-Belda MA, et al. Shear wave elastography of tumour growth in a human breast cancer model with pathological correlation[J]. *Eur Radiol*, 2013, 23(8): 2079-2086.

本文引用：杨艳艳, 李晶. 乳腺浸润性导管癌剪切波弹性成像：定量弹性值与蛋白分子水平表达的相关性[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(10): 2109-2115. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.009

Cite this article as: YANG Yanyan, LI Jing. Shear-wave elastography of breast invasive ductal carcinoma: correlation between quantitative elasticity value and protein expression[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(10): 2109-2115. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.009