

· 论著 ·

超声弹性应变率联合血清 VEGF、CerbB-2 检测 对乳腺结节良恶性的鉴别价值

段更勇， 韩路， 方开峰

皖北煤电集团总医院超声科，安徽 宿州 234000

摘要：目的 探讨超声弹性应变率比值法联合血清血管内皮生长因子(VEGF)、原癌基因CerbB-2检测对乳腺结节良恶性的鉴别价值。方法 选取2017年12月至2019年12月130例存在乳腺可疑结节患者为研究对象,经病理证实,其中良性病变60例,恶性病变70例。对比不同病变患者血清VEGF、CerbB-2水平、超声弹性应变率;ROC曲线分析超声弹性应变率联合血清VEGF、CerbB-2检测对乳腺结节良恶性的鉴别效能,比较恶性病变不同病理特征患者血清VEGF、CerbB-2水平的差异;Pearson相关分析超声弹性应变率与恶性结节患者血清VEGF、CerbB-2水平的相关性。结果 恶性病变患者血清VEGF、CerbB-2水平及超声弹性应变率比值高于良性病变患者($P < 0.01$);联合检测鉴别诊断乳腺病变良恶性的ROC曲线下面积为0.855,大于血清VEGF(0.799)、CerbB-2(0.777)、超声弹性应变率(0.778)单独诊断;联合检测鉴别诊断的敏感度为78.57%,特异度为78.33%。不同分化程度、有无淋巴结转移恶性病变患者血清VEGF、CerbB-2水平相比差异有统计学意义($P < 0.01$);恶性结节患者超声弹性应变率与血清VEGF、CerbB-2水平呈正相关($r = 0.527, 0.556, P < 0.05$)。结论 乳腺结节良恶性患者超声弹性应变率比值和血清VEGF、CerbB-2水平不同,联合检测鉴别病变类型具有较高应用价值,可为临床完善相关机制提供参考依据。

关键词：乳腺结节；超声弹性应变率；血管内皮生长因子；CerbB-2；ROC曲线；鉴别诊断

中图分类号：R 737.9 R 445.1 **文献标识码：**A **文章编号：**1674-8182(2020)11-1481-05

The value of ultrasonic elastic strain rate combined with serum VEGF and CerbB-2 in the differential diagnosis of benign and malignant breast nodules

DUAN Geng-yong, HAN Lu, FANG Kai-feng

Department of Ultrasound, General Hospital of Wanbei Coal Electricity Group, Suzhou, Anhui 234000, China

Corresponding author: FANG Kai-feng, E-mail: 1070520503@qq.com

Abstract: Objective To explore the value of ultrasound elastic strain rate combined with serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and proto-oncogene CerbB-2 detection in the differentiation of breast nodules. **Methods** From December 2017 to December 2019, 130 patients with suspicious breast nodules were selected, including 60 benign lesions and 70 malignant lesions. The serum VEGF, CerbB-2 levels and ultrasonic elastic strain rate in patients with different lesions were compared. The ratio of ultrasonic elastic strain rate combined with serum VEGF and CerbB-2 detection in the diagnosis of benign and malignant breast nodules by ROC curve. The differences of serum VEGF and CerbB-2 levels in patients with different pathological features of malignant lesions were compared. The correlation between ultrasonic elastic strain rate and serum VEGF and CerbB-2 levels of patients with malignant nodules was analyzed by Pearson correlation. **Results** Serum VEGF and CerbB-2 levels and ultrasound elastic strain rate of patients with malignant lesions were higher than those with benign lesions ($P < 0.01$); the area under the ROC curve for differential diagnosis of benign and malignant breast lesions with combined detection was 0.855, which was greater than that diagnosed separately by serum VEGF (0.799) and CerbB-2 (0.777), ultrasonic elastic strain rate (0.778); the sensitivity and the specificity of differential diagnosis was 78.57%, 78.33%. There were significant differences in serum VEGF and CerbB-2 levels in malignant lesions patients with different levels of differentiation, with or without lymph node metastasis ($P < 0.01$); ultrasound elastic strain rate was positively correlated with serum VEGF and CerbB-2 levels in patients with malignant

nodules ($r = 0.527, 0.556, P < 0.05$). **Conclusions** The ultrasound elastic strain rate, serum VEGF and CerbB-2 levels are different in patients with benign and malignant breast nodules. Combined detection to identify lesion types has high application value, which can provide a reference for clinical improvement of related mechanisms.

Key words: Breast nodules; Ultrasonic elastic strain rate; Vascular endothelial growth factor; CerbB-2; ROC curve; Differential diagnosis

Fund program: Public Welfare Research Joint Project of Anhui Provincial Department of Science and Technology (1704f0804050)

乳腺结节常见于乳腺增生、乳腺肿瘤性疾病,早期鉴别诊断能为恶性肿瘤患者争取根治时机。临床影像学是诊断乳腺疾病的常用手段,且随影像技术发展,其研究范围已由单纯解剖学成像转向功能影像学、分子生物学、病理学等方面^[1]。超声弹性成像是是一项新型影像学检查技术,鉴于不同组织对超声敏感性的差异,超声弹性成像应变率在乳腺良恶性的鉴别诊断中具有良好应用前景^[2]。同时近年分子生物学技术也得到迅速发展,临床已证实,肿瘤疾病发生、发展及预后与多种基因蛋白表达异常关系密切^[3]。血管内皮生长因子(VEGF)是介导新生血管形成的一种特异性细胞因子,恶性病灶新生血管形成源自癌细胞 VEGF 高表达^[4];原癌基因(CerbB-2)是一种与乳腺癌关系密切的癌基因,其负责介导乳腺组织生长、发育等调节过程^[5]。基于此,本研究联合超声弹性应变率、血清 VEGF、CerbB-2 检测用于乳腺结节病变的诊断,以期为提高其临床良恶性鉴别水平提供参考。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 12 月至 2019 年 12 月 130 例存在乳腺可疑结节患者为研究对象。纳入标准:经查体及影像学诊断确诊存在乳腺可疑结节;初诊;未接受放化疗;病灶为实性或囊实混合型结节,不伴或伴钙化;均经病理诊断证实。排除标准:既往存在肿瘤手术史;继发性乳腺癌患者;已确诊恶性结节;存在多个结节病变者。

1.2 方法

1.2.1 超声弹性应变率 (1) 主要仪器:配备高频线阵探头(5~12 MHz)的超声诊断仪(西门子 S2000 及西门子 S3000)。(2) 体位:仰卧位,双手抱头,肘部外展,充分暴露双侧乳腺、腋窝,涂抹耦合剂。(3) 检查手法:扫描时,保持探头垂直于乳腺结节表面皮肤,转移至结节中心位置感兴趣区(ROI),缓慢调节 ROI 大小至病灶体积 2 倍以上,做压放动作,压力大小结合显示屏压力 BAR 参数调整,控制 2~3 为宜;自乳腺正上方 12 点钟位置顺时针全面扫查乳腺。(4) 检

查顺序:调整超声诊断仪器为乳腺检查模式,首先常规二维超声检查,观察病灶基本特征,继续实施彩色血流显像检查,检测病灶内部、周边血流情况,切换弹性成像模式,显示灰阶二维图像、弹性图像。(5) 图像处理:获取乳腺弹性图像后,应用系统自带软件计算应变率比值,勾画病变范围 A 区、同层水平正常腺体组织 B 区,若正常腺体组织少可选取同层脂肪组织,得到 A、B 区应变率值,B/A 值即为应变率比值,以其评估病变软硬度,每个病灶测量 3 次,取平均值。

1.2.2 血清 VEGF、CerbB-2 水平检测 (1) VEGF 检测:非抗凝真空管取晨空腹静脉血 3 ml, 离心 10 min 取血清, -20 °C 保存待测。采用酶联免疫法测 VEGF 水平,试剂盒由深圳晶美生物制品有限公司提供。①自冰箱取出试剂盒、样品,平衡至室温;②配置标准品、酶结合工作液、洗涤液;③依序在空白孔内加入标准品 50 μl;④标记样品编号,在空白孔加样品 50 μl;⑤标准品孔、样品孔内加酶标记液 100 μl, 孵育 60 min(37 °C);⑥洗板,甩尽孔中液体,每孔加 350 μl 洗涤液,静置 30 s,甩干液体,在吸水纸上拍干,洗板 5 次;⑦每孔加 50 μl 底物 A、B 液, 孵育 15 min(37 °C, 避光);⑧每孔加 50 μl 终止液,混匀后使用酶标仪在 450 nm 处观察其 OD 值,计算浓度值。(2) CerbB-2 检测:采用蛋白免疫印迹法测 CerbB-2 水平,采集空腹外周静脉血 2 ml,Ficoll 淋巴细胞分离液分离外周淋巴细胞,提取单核细胞,加细胞裂解液,离心,取上清液提取总蛋白;取 30 μl 样品,浓缩胶 80 V、分离胶 120 V 完成 SDS-PAGE 电泳,以电转移法转移蛋白至 PCDF 膜上,5% 脱脂牛奶封闭液封闭 2 h(室温),加特异性一抗,孵育过夜(4 °C),取 TBST 洗涤液洗涤 10 min,共 3 次,孵育 1 h,洗膜,继 TBST 洗涤液洗涤 10 min,共 3 次,ECL 发光显影,计算 CerbB-2 水平。

1.3 观察指标 (1) 对比不同性质结节患者血清 VEGF、CerbB-2 水平和超声弹性应变率。(2) ROC 曲线分析超声弹性应变率联合血清 VEGF、CerbB-2 检测对乳腺结节良恶性的鉴别价值。(3) 分析血清 VEGF、CerbB-2 与恶性结节患者临床病理特征的相

关性。(4)分析超声弹性应变率与恶性结节患者血清 VEGF、CerbB-2 水平的相关性。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计数资料以例(%)表示,比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用独立样本 t 检验;ROC 曲线分析血清 VEGF、CerbB-2 水平及超声弹性应变率的诊断效能;Pearson 相关分析相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 乳腺良恶性结节患者一般情况比较 130 例乳腺可疑结节患者经病理检查(手术后或乳腺穿刺活检病理)证实良性病变 60 例,恶性病变 70 例。良恶性病变患者年龄、体质指数、病灶分布、病灶直径等一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 良恶性病变患者血清 VEGF、CerbB-2 水平及超声弹性应变率比值 恶性病变患者血清 VEGF、CerbB-2 水平及超声弹性应变率比值高于良性病变,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 2。

2.3 超声弹性应变率联合血清 VEGF、CerbB-2 检测的鉴别价值 ROC 曲线分析显示,联合诊断乳腺病变更良恶性的 AUC 为 0.855,大于血清 VEGF(0.799)、CerbB-2(0.777)、超声弹性应变率(0.778)单独诊断;联合诊断敏感度为 78.57%,特异度为 78.33%。见表 3、图 1。

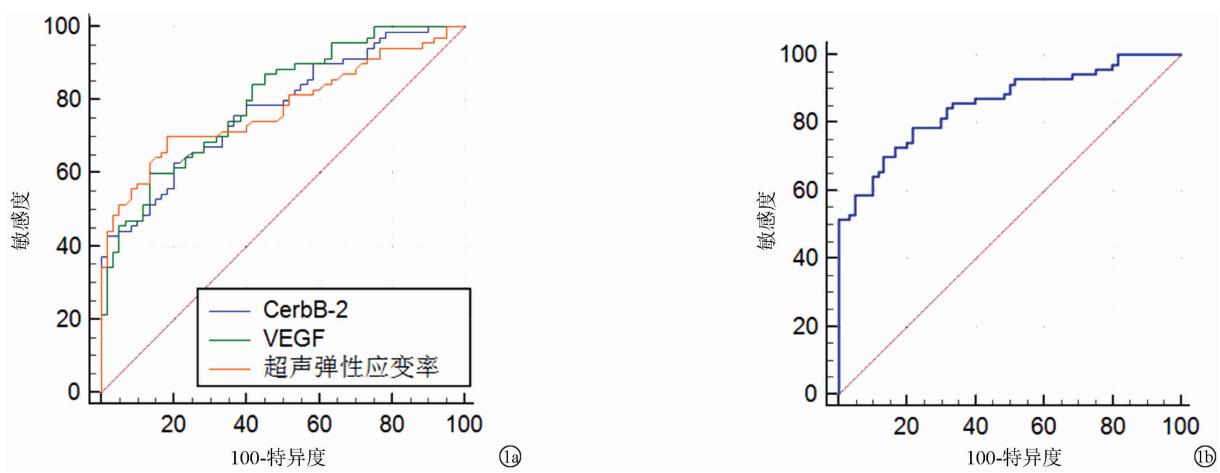
2.4 恶性病变不同临床病理特征患者血清 VEGF、CerbB-2 水平比较 不同年龄、肿瘤直径恶性病变患者血清 VEGF、CerbB-2 水平相比差异无统计学意义($P > 0.05$);不同分化程度、有无淋巴结转移恶性病变患者血清 VEGF、CerbB-2 水平相比差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 4。

表 3 单一指标诊断和联合诊断的 ROC 分析结果

指标	AUC	95% CI	Z 值	P 值	截断值	敏感度(%)	特异度(%)
VEGF	0.799	0.720 ~ 0.864	7.927	< 0.01	> 159.05 ng/L	60.00	86.67
CerbB-2	0.777	0.696 ~ 0.846	6.996	< 0.01	> 12.57 ng/ml	62.86	80.00
超声弹性应变率	0.778	0.696 ~ 0.846	6.797	< 0.01	> 4.07	70.05	81.67
联合诊断	0.855	0.782 ~ 0.910	10.950	< 0.01	-	78.57	78.33

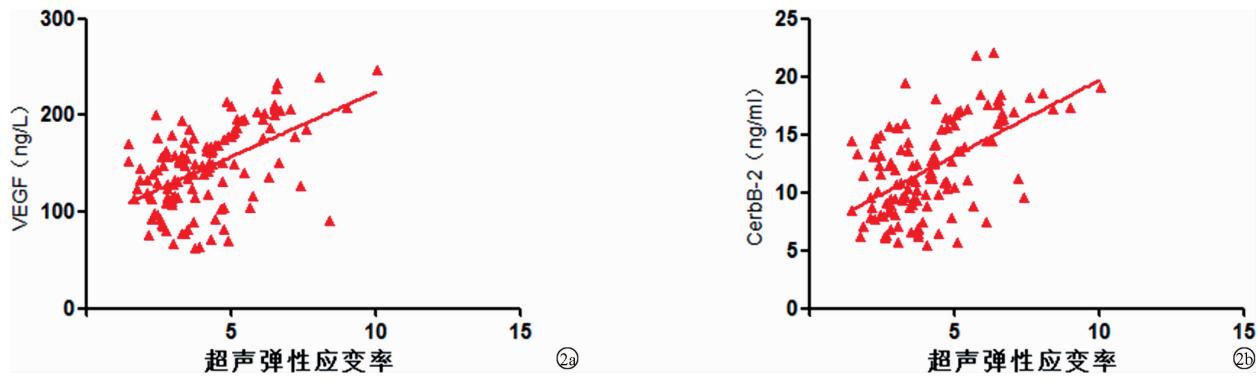
表 4 血清 VEGF、CerbB-2 与恶性病变患者临床病理特征的相关性 ($\bar{x} \pm s$)

病理特征	例数	VEGF(ng/L)	t 值	P 值	CerbB-2(ng/ml)	t 值	P 值	
年龄	≤50 岁	31	1.551	0.126	170.74 ± 65.12	18.62 ± 3.21	1.496	0.139
	>50 岁	39			196.25 ± 70.82			
肿瘤直径	≤2 cm	36	1.013	0.315	175.24 ± 79.31	19.01 ± 2.74	0.683	0.497
	>2 cm	34			194.64 ± 80.94			
分化程度	高分化	40	9.210	0.000	150.24 ± 31.25	12.31 ± 4.12	17.201	0.000
	中低分化	30			231.23 ± 42.37			
淋巴结转移	无	41	9.013	0.000	146.37 ± 40.25	28.48 ± 3.54	29.285	0.000
	有	29			239.49 ± 45.71			



注:1a 为单一诊断 ROC 曲线;1b 为联合诊断 ROC 曲线。

图 1 单一诊断和联合诊断对良恶性鉴别的 ROC 曲线



注:2a 为血清 VEGF 与超声弹性应变率的相关性;2b 为血清 CerbB-2 与超声弹性应变率的相关性。

图 2 恶性病变患者血清 VEGF、CerbB-2 与超声弹性应变率的相关性分析

病变弹性应变率比值差异有统计学意义,以 3.05 作为 ROC 曲线最佳临界点,诊断乳腺癌的敏感度、特异度均达 90% 以上。本研究发现,恶性病变患者超声弹性应变率高于良性病变,与上述研究结果一致。但本研究中超声弹性应变率单独诊断乳腺结节良恶性的 ROC 曲线下面积为 0.778,最佳临界点 >4.07 时,敏感度为 70.05%,特异度为 81.67%,与上述研究存在差异。分析原因可能因本研究所选病例为乳腺结节病变,病灶平均直径 3.31 cm,相对较小,超声诊断存在一定漏诊、误诊情况。

分子生物学技术在肿瘤良恶性鉴别诊断中亦具有重要意义。肿瘤的进展依赖于新生血管再生,而引起新生血管大量生成则源于恶性细胞 VEGF 高表达^[11-13]。有学者研究显示,病灶直径 ≥ 2 cm 患者 VEGF 阳性率为 79.0%,显著高于病灶直径 < 2 cm 患者^[14]。推测病灶大小与 VEGF 表达有关联性。失控性增长是恶性病灶的特征之一,本研究发现,恶性病变患者血清 VEGF 高于良性病变患者,且与分化程度、有无淋巴结转移关系密切,与上述研究结果近似,说明 VEGF 可能参与乳腺恶性结节发生发展过程。CerbB-2 是酪氨酸激酶基因家族新发现成员之一,可

结合人类上皮生长因子(EGF)受体家族及其他受体形成异源二聚体激活一系列信号通路,如 mTOR/VEGF、PI3K/AKT 等,继而介导细胞异常增殖、血管新生等过程^[15]。正常情况 CerbB-2 处于非激活状态,仅介导细胞分化调节,但机体受内外因素刺激促使此基因扩增或蛋白高表达时可诱发肿瘤生成^[16]。本研究也发现,恶性病变患者血清 CerbB-2 异常升高。另外,相关研究已证实,CerbB-2 与 VEGF 受体存在高度同源性,CerbB-2 病理条件下激活可表达 VEGF 活性,刺激微血管新生,促进肿瘤不断生长、转移,与恶性程度关系密切^[17-18]。本研究分析发现,恶性结节患者超声弹性应变率与血清 VEGF、CerbB-2 水平呈正相关;联合诊断乳腺结节良恶性的 ROC 曲线下面积为 0.855,敏感度为 78.57%,特异度为 78.33%,可为临床早期鉴别诊断提供理论依据。反映血清 VEGF、CerbB-2 高表达及超声弹性应变率升高可能与乳腺恶性结节复发转移、不良生存明显相关,建议临床联合超声弹性应变率、血清 VEGF、CerbB-2 检测以有效评估预后,积极完善治疗方案。

综上所述,乳腺结节良恶性患者超声弹性应变率比值和血清 VEGF、CerbB-2 水平不同,联合检测在鉴

别病变类型及疗效评估中具有较高应用价值,可为临床完善相关机制提供参考依据。

参考文献

- [1] 马杜丰,周家德. 多种影像学联合检查诊断早期乳腺癌的临床分析[J]. 中国现代普通外科进展,2016,19(7):564–566,569.
- [2] Shih CC, Qian XJ, Ma T, et al. Quantitative assessment of thin-layer tissue viscoelastic properties using ultrasonic micro-elastography with lamb wave model[J]. IEEE Trans Med Imaging, 2018, 37(8):1887–1898.
- [3] Gulubova M, Aleksandrova E, Vlaykova T. Promoter polymorphisms in TGFB1 and IL10 genes influence tumor dendritic cells infiltration, development and prognosis of colorectal cancer [J]. J Gene Med, 2018, 20(2/3):e3005.
- [4] Arjaans M, Schröder CP, Oosting SF, et al. VEGF pathway targeting agents, vessel normalization and tumor drug uptake: from bench to bedside[J]. Oncotarget, 2016, 7(16):21247–21258.
- [5] 姜丽娜,刘薇,李江涛. BRCA-1、BRCA-2 和 CerB-2 在不同时期乳腺癌组织中的差异性表达[J]. 中国现代普通外科进展, 2018, 21(6):471–473.
- [6] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1)[J]. Eur J Cancer, 2009, 45(2):228–247.
- [7] 刘丽琴,孙翔,谭杰. 常规超声与超声弹性成像对乳腺实性结节的诊断价值分析[J]. 河北医药, 2016, 38(20):3088–3091.
- [8] 侯阳阳,焦得闯,乔江华,等. 超声检查联合临床病理指标对乳腺癌前哨淋巴结状态预测价值分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(24):1723–1727.
- [9] Gu Y, Shi H, Su CX, et al. The role of endobronchial ultrasound elastography in the diagnosis of mediastinal and hilar lymph nodes [J]. Oncotarget, 2017, 8(51):89194–89202.
- [10] 吴文瑛,赵丽,王晓岩,等. 超声弹性成像在乳腺肿块诊断中的应用价值[J]. 中国普通外科杂志, 2018, 27(5):664–668.
- [11] 韩咏峰,施丽英,蔡少雨,等. 超声弹性应变率在乳腺癌新辅助化疗疗效评价中的应用价值[J]. 中国超声医学杂志, 2016, 32(4):298–300.
- [12] 游涛,欧阳秋芳,赵红佳,等. 转移性淋巴结超声弹性应变率预测乳腺癌新辅助化疗反应性[J]. 福建医药杂志, 2015, 37(5):99–102.
- [13] Ławicki S, Zajkowska M, Glażewska EK, et al. Plasma levels and diagnostic utility of VEGF, MMP-2 and TIMP-2 in the diagnostics of breast cancer patients[J]. Biomarkers, 2017, 22(2):157–164.
- [14] 吴勤华,黄惠茹,乔文龙. 乳腺分层钼靶诊断乳腺疾病的假阳性率及假阴性率[J]. 中国临床医学, 2017, 24(5):751–754.
- [15] Wang KK, Deng XJ, Shen ZH, et al. High glucose promotes vascular smooth muscle cell proliferation by upregulating proto-oncogene serine/threonine-protein kinase Pim-1 expression [J]. Oncotarget, 2017, 8(51):88320–88331.
- [16] Watkins RJ, Imruetaicharoenchoke W, Read ML, et al. Pro-invasive effect of proto-oncogene PBF is modulated by an interaction with cortactin[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(12):4551–4563.
- [17] 罗琼,刘雪玲,李鸣凤. 乳腺癌的彩色多普勒超声征象与 VEGF、CerbB-2 表达的关系及其临床意义[J]. 海南医学, 2016, 27(17):2815–2817.
- [18] Song P, Hai Y, Wang X, et al. Realgar transforming solution suppresses angiogenesis and tumor growth by inhibiting VEGF receptor 2 signaling in vein endothelial cells[J]. Arch Pharmacal Res, 2018, 41(4):467–480.

收稿日期:2020-04-05 修回日期:2020-04-25 编辑:王娜娜

(上接第 1480 页)

- [5] 张磊,姜博,孙晋,等. 关节镜下经胫骨隧道技术和经内侧入路技术重建前交叉韧带的比较研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2019, 33(9):1077–1082.
- [6] 杨晓,陈疾忤,高凯,等. 自体胭绳肌腱联合 Tightrope 钢板、Bio-Intrafix 螺钉重建前交叉韧带[J]. 临床骨科杂志, 2019, 22(3):304–306.
- [7] Mariscalco MW, Flanigan DC, Mitchell J, et al. The influence of hamstring autograft size on patient-reported outcomes and risk of revision after anterior cruciate ligament reconstruction: a multicenter orthopaedic outcomes network (MOON) cohort study[J]. Arthrosc: J Arthrosc Relat Surg, 2013, 29(12):1948–1953.
- [8] Park SY, Oh H, Park S, et al. Factors predicting hamstring tendon autograft diameters and resulting failure rates after anterior cruciate ligament reconstruction[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2013, 21(5):1111–1118.
- [9] 李雁,姜兆伟,赵兴海,等. 关节镜下前交叉韧带重建术股骨侧 2 种不同固定方式的疗效分析[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2017, 32(6):636–638.
- [10] 赵立连,卢明峰,邢基斯,等. Endobutton 补钢板与 Rigidfix 横穿钉股骨端固定自体胭绳肌腱重建前交叉韧带的转归[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(3):359–365.
- [11] 吕阳,高世华,刘军,等. 悬吊固定与交叉钉固定在重建前交叉韧带股骨侧固定方式优劣的 Meta 分析[J]. 中国全科医学, 2019, 22(32):3962–3968.
- [12] 朱涛. 关节镜下自体肌腱移植治疗膝关节前交叉韧带损伤的临床疗效分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(19):62.
- [13] 张晓光,张晋. 膝关节镜下重建前交叉韧带 Endobutton 带补钢板与 Rigidfix 横穿钉固定的比较[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2016, 31(10):1047–1049.
- [14] 黄永禄,熊建军,温鹏,等. 关节镜下 Intrafix 联合 Femoral-intrafix 系统固定自体胭绳肌腱重建前交叉韧带的临床研究[J]. 宁夏医学杂志, 2016, 38(4):314–316.
- [15] 王健,王海军,林霖,等. 前交叉韧带重建失败的影响因素分析[J]. 中国修复重建外科杂志, 2019, 33(12):1543–1546.

收稿日期:2020-03-17 修回日期:2020-04-12 编辑:石嘉莹