

## ◁乳腺影像学▷

## 二维超声联合彩色多普勒超声预测乳腺癌 Ki-67 表达水平的研究

陈桂芳, 钱红燕, 张 晴, 冒玉香, 朱鹏飞, 何 英

(南通大学附属肿瘤医院, 江苏 南通 226361)

**[摘要]** 目的: 基于超声声像图特征预测乳腺癌患者 Ki-67 表达水平。方法: 回顾性分析南通大学附属肿瘤医院收治的 172 例乳腺癌患者资料, <50 岁 51 例、≥50 岁 121 例。根据手术病理免疫组化结果分为 Ki-67 高表达组(n=108)及低表达组(n=64), 所有患者术前均进行彩色多普勒超声检查。收集患者的年龄、家族史、基础疾病等临床资料, 分析肿块超声声像图特征与 Ki-67 表达水平的相关性, 对两个组别间差异具有统计学意义的超声参数纳入多因素逐步 Logistic 回归, 随即获取乳腺癌 Ki-67 高表达的独立预测因素, 创建临床预测模型, 并使用受试者工作特征(ROC)曲线、De Long 检验对其性能进行评价。结果: Ki-67 高表达组与低表达组之间的肿瘤最大直径、内部回声及 Adler 血流分级这 3 个超声声像图特征的差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 三者联合预测模型 ROC 曲线下面积达到 0.825。并且联合模型 AUC 值与单一特征模型相比差异具有统计学意义, 提示该预测模型有能力区分 Ki-67 表达情况。结论: 基于超声的临床预测模型对乳腺癌患者 Ki-67 表达水平预测效能较好, 临床应用价值较高。

**[关键词]** 乳腺肿瘤; Ki-67 抗原; 超声检查

**[中图分类号]** R737.9; R445.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1008-1062(2024)04-0234-04

DOI:10.12117/jccmi.2024.04.002

**Prediction of Ki-67 expression level in breast cancer by two-dimensional  
ultrasound combined with color Doppler ultrasound**

CHEN Gui-fang, QIAN Hong-yan, ZHANG Qing, MAO Yu-xiang, ZHU Peng-fei, HE Ying

(Affiliated Tumor Hospital of Nantong University, Nantong Jiangsu 226361, China)

**Abstract: Objective:** To predict the expression level of Ki-67 in breast cancer patients based on ultrasonic characteristics. **Methods:** The data of 172 patients with breast cancer admitted to the Affiliated Cancer Hospital of Nantong University were retrospectively analyzed, which 51 cases were younger than 50 years old and 121 cases older than 50 years old. Ki-67 high expression group(n=108) and low expression group(n=64) were divided into two groups according to pathological immunohistochemical results. All patients underwent color Doppler ultrasonography before surgery. Clinical data of patients including age, family history and underlying diseases were collected to analyze the correlation between the ultrasonic characteristics of mass and Ki-67 expression level. The ultrasonic parameters with statistical significance between the two groups were included in the multivariate Logistic regression. Independent predictors of Ki-67 high expression of breast cancer were then obtained to create a clinical prediction model. The receiver operating characteristic(ROC) curve and De Long test was used to evaluate its performance. **Results:** There were statistically significant differences in the maximum tumor diameter, internal echo and Adler blood grading between the high expression group and the low expression group( $P < 0.05$ ), and the area under ROC curve of the combined prediction model of the three features reached 0.825. The AUC value of the combined model is statistically significant compared with that of the single feature model, suggesting that the prediction model was capable of distinguishing Ki-67 expression. **Conclusion:** The clinical prediction model based on ultrasound is effective in predicting the expression level of Ki-67 in breast cancer patients and has high clinical application value.

**Key words:** Breast Neoplasms; Ki-67 Antigen; Ultrasonography

乳腺癌在女性中发病率居首位<sup>[1]</sup>, 蛋白质分子标志物在乳腺癌中的表达与其治疗和预后密切相关, 不同蛋白质分子标志物的表达水平对患者的治疗和预后有很大的影响。增殖核抗原(Ki-67)是一种可以被当作增殖标记物使用的抗原核蛋白, Ki-67

的高表达被视为肿瘤侵袭性的生物标记<sup>[2]</sup>。多个研究表明, Ki-67 的高表达与乳腺癌较差的预后结局有关<sup>[3-4]</sup>。所以, Ki-67 蛋白的表达对乳腺癌新辅助治疗方案的选择、预后及治疗效果的评估具有重要的指导作用。

**[收稿日期]** 2023-08-18

**[作者简介]** 陈桂芳(1990-), 女, 江苏如皋人, 在读硕士研究生。E-mail: cgf19901018@163.com

**[通信作者]** 何英, 南通大学附属肿瘤医院, 226361。E-mail: heying168@sina.com

**[基金项目]** 南通市卫生健康委科研课题 MS2022052。

本研究旨在基于患者病灶的超声特征,探讨乳腺癌病灶超声声像图特征与 Ki-67 表达水平之间的相关性,建立预测模型,为临床合理选择治疗方案和预防患者过度治疗提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

本项回顾性研究共纳入南通大学附属肿瘤医院 2017 年 1 月—2021 年 12 月确诊的 172 例乳腺癌患者。<50 岁 51 例、≥50 岁 121 例。根据手术病理免疫组化结果分为 Ki-67 高表达组(n=108)及低表达组(n=64)。

纳入标准:①参照《符合“中国临床肿瘤学会乳腺癌指南 2021 版:更新和解释”的诊断标准》<sup>[9]</sup>诊断为原发性乳腺癌患者,均为女性。②患者均已接受手术治疗,病理资料完整。排除标准:①缺乏完整的临床资料及诊断不明确的患者。②术前放射治疗及化疗等辅助治疗的患者。③严重心脑血管疾病患者;④彩色多普勒超声图像质量差,图片资料不全的患者。

本研究获得了南通大学肿瘤医院评审委员会的批准,并获得了伦理豁免。

### 1.2 仪器与方法

#### 1.2.1 超声仪器与方法

使用飞利浦 EPIQ5 彩色多普勒超声诊断仪,探头频率 5~14 MHz。患者仰卧位,使乳房和腋下充分暴露。对乳腺癌原发灶位置(左侧或右侧)、肿块最大径(<2 cm 或 ≥2 cm)、边缘(光整或不光整)、形态(规则或不规则)、生长方向(水平位或垂直位)、内部回声(均匀或不均匀)、有无微钙化、后方回声(未衰减或衰减)等灰阶图像特征进行分析。其次,利用彩色多普勒血流成像技术动态观察病灶及其周围的彩色血流,找到血液最富集的部位,按照 Adler 血流分级方法<sup>[9]</sup>对其进行分级。并取血管最丰富的断面进行血流信号分析。

#### 1.2.2 免疫组织化学检查

通过免疫组织化学分析方法对雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人表皮生长因子受体 2 (HER-2)、Ki-67 的表达情况进行了检测。ER、PR 表达水平 ≥1% 为阳性。根据免疫组化结果,HER-2 为(-)或(+)为阴性,(+++ )为阳性,若为(++)根据进一步荧光原位杂交检测后的基因扩增情况分为阳性和阴性。Ki-67 表达水平 ≥20% 为阳性<sup>[7]</sup>。

具体分型<sup>[8]</sup>:①ER、PR 阳性,HER-2 阴性定义为 Luminal A 型;②ER、PR、HER-2

均为阳性定义为 Luminal B 型;③ER、PR 阴性,HER-2 阳性定义为 HER-2 过表达型;④ER、PR、HER-2 均为阴性定义为三阴型。

### 1.3 统计方法

本研究所用 R4.2 统计分析软件进行统计分析, $P < 0.05$  认为差异具有统计学意义。计量资料符合正态分布且方差齐,使用  $\bar{x} \pm s$  表示,用  $t$  检验分析组间差异;计数资料用例数(%)表示,组间差异的比较用  $\chi^2$  检验或 Fisher 确切概率法。将组间具有统计学差异的超声变量进行多因素逐步 Logistic 回归分析,获取 Ki-67 高表达的独立预测因素;绘制 ROC 曲线,计算曲线下面积(AUC 值),评价模型的预测效果。采用 De Long 检验比较各个诊断模型在各个亚组的 AUC 值差异。

## 2 结果

### 2.1 临床及超声声像图特征在两组中的比较

Ki-67 低表达组与高表达组乳腺癌的分子表型、ER、PR、HER-2 具有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。并且两组之间肿块最大径、内部回声、肿块 Adler 血流分级具有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ ),见表 2。即与 Ki-67 低表达组相比,Ki-67 高表达组其病灶肿块最大径更大,内部回声倾向于不均匀,肿块血流更丰富(图 1,2)。

### 2.2 影响乳腺癌 Ki-67 表达水平的多因素分析

表 1 两组患者临床病理特征的比较

		Ki-67<20%	Ki-67≥20%	$\chi^2/t$	$P$
年龄	<50 岁	18(28.13%)	33(30.56%)	0.11	0.736
	≥50 岁	46(71.88%)	75(69.44%)		
家族史	无	58(90.63%)	96(88.89%)	0.13	0.719
	有	6(9.37%)	12(11.11%)		
基础疾病	无	38(59.38%)	75(69.44%)	1.81	0.179
	有	26(40.62%)	33(30.56%)		
手术方式	改良根治术	63(98.44%)	105(97.22%)	0.779	
	乳房切除术	0	2(1.85%)		
	保乳手术	1(1.56%)	1(0.93%)		
病理类型	导管癌	48(75.00%)	84(77.78%)	2.50	0.286
	小叶癌	3(4.69%)	1(0.93%)		
	其他	13(20.31%)	23(21.29%)		
ER	阴性	9(14.06%)	41(37.96%)	11.13	<0.001
	阳性	55(85.94%)	67(62.04%)		
PR	阴性	18(28.13%)	53(49.07%)	7.28	0.007
	阳性	46(71.88%)	55(50.93%)		
HER-2	阴性	47(73.44%)	57(52.78%)	7.18	0.007
	阳性	17(26.56%)	51(47.22%)		
分子分型	Luminal A 型	37(57.81%)	0	80.72	<0.001
	Luminal B 型	18(28.13%)	68(62.96%)		
	HER-2 过表达型	4(6.25%)	27(25.00%)		
	三阴型	5(7.81%)	13(12.04%)		

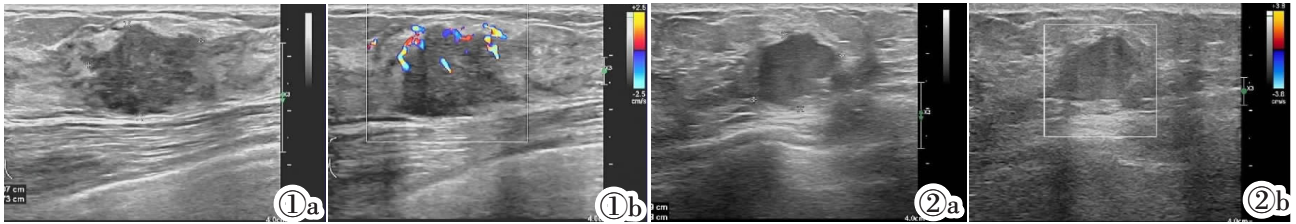


图 1a,1b 女,49 岁,乳腺癌。病灶肿块最大径 2.1 cm,内部回声不均匀(图 1a)。内部及周边血流信号较丰富,Adler 分级为 3 级(图 1b)。图 2a,2b 女,66 岁,乳腺癌。病灶肿块直径 1.8 cm,内部回声均匀(图 2a)。内部及周边未见明显血流信号。Adler 分级为 0 级(图 2b)。

Figure 1a, 1b. A 49-year-old breast cancer patient showed a focal mass with a maximum diameter of 2.1 cm and inhomogeneous internal echo(Figure 1a). The internal and peripheral blood flow signals were abundant and the Adler grade was grade 3(Figure 1b). Figure 2a, 2b. A 66-year-old breast cancer patient showed a focal mass with a maximum diameter of 1.8 cm and homogeneous internal echo(Figure 2a). There was no obvious blood flow signal in or around the area(Figure 2b).

表 2 两组患者超声特征的比较

	Ki-67<20%	Ki-67≥20%	$\chi^2/t$	P
位置 左乳	29(45.31%)	54(50.00%)	0.35	0.552
右乳	35(54.69%)	54(50.00%)		
肿块最大径 <2 cm	40(62.50%)	36(33.33%)	13.86	<0.001
≥2 cm	24(37.50%)	72(66.67%)		
边缘 光整	8(12.50%)	16(14.81%)	0.18	0.672
不光整	56(87.50%)	92(85.19%)		
形态 规则	3(4.69%)	14(12.96%)	3.09	0.079
不规则	61(95.31%)	94(87.04%)		
生长方向 水平位	56(87.50%)	95(87.96%)	0.01	0.929
垂直位	8(12.50%)	13(12.04%)		
内部回声 均匀	25(39.06%)	6(5.56%)	30.34	<0.001
不均匀	39(60.94%)	102(94.44%)		
微钙化 无	34(53.13%)	41(37.96%)	3.76	0.052
有	30(46.87%)	67(62.04%)		
后方回声 衰减或缺失	35(54.69%)	59(54.63%)	<0.01	0.994
未衰减	29(45.31%)	49(45.37%)		
Adler 血流分级 0~I 级	46(71.88%)	27(25.00%)	36.15	<0.001
II~III 级	18(28.13%)	81(75.00%)		

多因素结果显示,原发病灶最大径>2 cm、内部回声不均匀、Adler 血流分级增加是乳腺癌 Ki-67 表达的独立预测因素( $P<0.05$ ),见表 3。据此建立回归方程  $\text{Logit } P = \log(p/(1-p)) = 0.808 \times \text{肿块最大径} + 2.229 \times \text{内部回声} + 1.887 \times \text{Adler 血流分级} - 2.7017$ 。

### 2.3 ROC 曲线分析

根据 ROC 曲线分析结果,超声各特征包括原发病灶最大径、内部回声、Adler 血流分级单一预测及联合预测乳腺癌 Ki-67 表达水平的敏感度、特异度及准确性分别为 66.7%、62.5%、0.646;94.4%、

39.1%、0.668;75.0%、71.9%、0.734;86.1%、68.8%、0.825,由此可见,上述各单一因素联合预测乳腺癌 Ki-67 表达水平的模型性能大于所有单一特征模型。De Long 检验进一步评价诊断性能,可见联合诊断模型与任一单一特征模型相比,ROC 曲线 AUC 值差异均具有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 3。表明联合检查的诊断性能最高,预测性能良好。

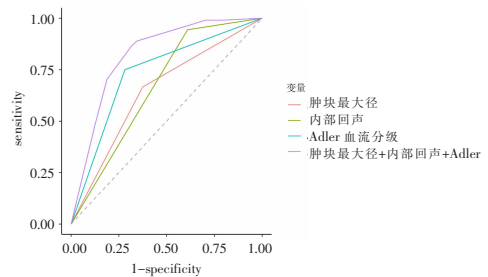


图 3 肿块最大径、内部回声、Adler 血流分级及联合应用诊断乳腺癌 Ki-67 表达水平的 ROC 曲线图。

Figure 3. ROC curve of mass maximum diameter, internal echo, Adler blood flow grading, and Ki-67 expression level in breast cancer diagnosed by combined application.

### 3 讨论

乳腺癌的发病率在逐年增加,并且有年轻化的趋势<sup>[7,9]</sup>。彩色多普勒超声是临床诊疗中最广泛应用于乳腺癌的影像学检查手段,具有价格低廉、便捷、无辐射等优点<sup>[10]</sup>。Ki-67 被认为是一种代表细胞增殖的相关基因的核蛋白<sup>[11]</sup>,可以用来预测长期预后及辅助治疗的反应性<sup>[12]</sup>。然而目前 Ki-67 最终结果以病理结果的免疫组化为金标准,但是具有有创性、滞后性,给临床带来巨大难题,因此如果术前能够通过一种无创的方式来预测 Ki-67 表达水平,对整体的治疗方式影响重大。本研究筛选出与 Ki-67 表达水平相关的 3 个超声特征,即乳腺肿块最大径、内部回声、Adler 血流分级以此来构建我们的预测模型,实现术前个体化预测 Ki-67 表达水平,指导临床择优术式。

表 3 多因素 Logistic 回归分析乳腺癌超声特征预测 Ki-67 表达水平

	$\beta$	OR	95%CI	P
肿块最大径 <2 cm	0.808 8	2.245 2	1.046 6~4.862 8	0.038
≥2 cm				
内部回声 均匀	2.229 2	9.292 1	3.364 0~29.396 8	<0.001
不均匀				
Adler 血流分级 0~I 级	1.887 2	6.600 6	3.104 1~14.712 2	<0.001
II~III 级				

乳腺肿块直径是评价肿瘤分期的指标之一,且与其淋巴血管浸润紧密相关<sup>[13]</sup>,因此术前评估及测量肿瘤大小意义重大。既往研究表明,肿瘤直径较大者 Ki-67 阳性率高,这与我们的研究是一致的<sup>[14]</sup>。而肿块直径较大者 Ki-67 表达水平较高,究其原因可能为越大的原发性病变,愈广泛地侵犯到乳房,代表了肿瘤细胞对乳房的侵袭性越高,提示增殖活跃<sup>[15]</sup>。基于乳腺肿块大小与 Ki-67 水平的相关联系,可以为手术方案的选择提供依据,减少无效治疗,减轻患者负担。

肿瘤的内部回声反映了癌细胞的生长速率。Zhang 等<sup>[16]</sup>的一项 527 例乳腺癌患者的研究表明,内部回声是 Ki-67 状态的独立预测因子,这与我们研究的结果是一致的。

肿瘤内部和周边丰富的新生血管是乳腺癌快速生长所必需的营养物质,这样我们就能通过对肿瘤的血供状况分析判断肿瘤的侵袭性和预后<sup>[17]</sup>。本研究发现 Adler 血流分级与 Ki-67 表达水平呈正相关,这可能是与血管内皮生长因子(VEGF)有关。VEGF 最大的作用就是提高血管的渗透性及提供“营养”来刺激新生血管的形成,而 Ki-67 与 VEGF 呈正相关,即 Ki-67 因子促进增殖的细胞伴随着新的血管,产生更丰富的血流<sup>[18]</sup>。既往研究表明在 Ki-67 高表达的状态下,增殖细胞伴有新血管,血管密度增加,导致血流量丰富,CDFI 分级高<sup>[18]</sup>,再次证实了我们的研究结果。

在本研究中,通过多因素逐步 Logistic 回归确定了与 Ki-67 表达水平相关的 3 个指标,即乳腺肿块最大径、内部回声、Adler 血流分级以此来构建我们的模型,在该模型中,三者联合诊断性能均优于任一单一特征预测模型,并且 AUC 值与其他模型相比,具有统计学差异,可为术前评估乳腺癌 Ki-67 表达水平、选择辅助治疗方式提供重要参考。

本研究局限性:首先这是一项单中心回顾性研究,且样本量较少,需要前瞻性更多的样本量来扩大研究。第二,缺少弹性成像、超声造影等定量资料,未来需要纳入多模态超声资料来丰富我们的模型。

本研究旨在分析乳腺癌肿块超声声像图特征,探讨其与 Ki-67 表达水平的关系分析其预测价值,建立临床模型,最终实现术前无创预测乳腺癌 Ki-67 表达水平,帮助临床实现精准治疗,减轻患者痛苦,减少无效治疗。

#### 【参考文献】

[1]贺新,彭书甲,师弘. 乳腺癌患者原发灶与复发转移灶中 ER、PR、HER-2 及 Ki-67 表达异质性的回顾性分析 [J]. 现代肿瘤医学, 2023,31(9):1660-1665.

[2]Wu L, Zhao Y, Lin P, et al. Preoperative ultrasound radiomics analysis for expression of multiple molecular biomarkers in mass type of breast ductal carcinoma in situ [J]. BMC Med Imaging, 2021, 21(1): 84.

[3]De Gregorio A, Friedl TWP, Hering E, et al. Ki67 as Proliferative Marker in Patients with Early Breast Cancer and Its Association with Clinicopathological Factors [J]. Oncology, 2021, 99(12): 780-789.

[4]霍斌亮,祝旭龙,田有伏,等. her2、ki67、EGFR 表达与乳腺癌生物学行为的关系及其预测复发转移的 ROC 分析 [J]. 现代医学, 2022,50(10):1248-1255.

[5]李健斌,江泽飞. 2021 年中国临床肿瘤学会乳腺癌诊疗指南更新要点解读[J]. 中华医学杂志,2021,101(24):1835-1838.

[6]Adler DD, Carson PL, Rubin JM, et al. Doppler ultrasound color flow imaging in the study of breast cancer: preliminary findings [J]. Ultrasound Med Biol, 1990, 16(6): 553-559.

[7]彭鸿彬,黄宇康,颜宁,等. AR、Ki-67、p53、EGFR 检测对乳腺癌的预后评估价值[J]. 临床和实验医学杂志,2022,21(21):2312-2315.

[8]李英. 不同分子亚型乳腺癌患者超声表现及病理学特征的对比研究[J]. 临床超声医学杂志,2023,25(2):131-136.

[9]Bocchi M, Sousa Pereira N, Furuya RK, et al. Expression of Ki67 and p53 Proteins: Breast Cancer Aggressivity Markers in Brazilian Young Patients[J]. J Adolesc Young Adult Oncol, 2021, 10(4): 379-388.

[10]Li M, Li Q, Yin Q, et al. Evaluation of color Doppler ultrasound combined with plasma miR-21 and miR-27a in the diagnosis of breast cancer[J]. Clin Transl Oncol, 2021, 23(4): 709-717.

[11]Zhao X, Yang X, Fu L, et al. Associations of Estrogen Receptor, Progesterone Receptor, Human Epidemic Growth Factor Receptor-2 and Ki-67 with Ultrasound Signs and Prognosis of Breast Cancer Patients [J]. Cancer Manag Res, 2021, 13: 4579-4586.

[12]Alataki A, Zabaglo L, Tovey H, et al. A simple digital image analysis system for automated Ki67 assessment in primary breast cancer[J]. Histopathology, 2021, 79(2): 200-209.

[13]Zhou P, Jin C, Lu J, et al. The Value of Nomograms in Pre-Operative Prediction of Lymphovascular Invasion in Primary Breast Cancer Undergoing Modified Radical Surgery: Based on Multiparametric Ultrasound and Clinicopathologic Indicators [J]. Ultrasound Med Biol, 2021, 47(3): 517-526.

[14]任锋,门永忠,姚旗. 乳腺癌超声特征与病理、分子生物学指标的相关性研究[J]. 实用癌症杂志,2020,35(8):1355-1358.

[15]桑田,张海俊,曹玉文,等. Logistic 回归分析乳腺癌常规超声征象与腋窝淋巴结转移的关系 [J]. 中国医学影像技术,2021,37(8):1158-1162.

[16]Zhang H, Sui X, Zhou S, et al. Correlation of Conventional Ultrasound Characteristics of Breast Tumors With Axillary Lymph Node Metastasis and Ki-67 Expression in Patients With Breast Cancer[J]. J Ultrasound Med, 2019, 38(7): 1833-1840.

[17]吴昊,张可新,冯佩明,等. 524 例乳腺浸润性导管癌的超声征象与多种免疫组化因子表达的相关性 [J]. 分子影像学杂志, 2022,45(5):709-717.

[18]Chen C, Zhao H, Tian W, et al. Predicting the expression level of Ki-67 in breast cancer using multi-modal ultrasound parameters[J]. BMC Med Imaging, 2021, 21(1): 150.