

乳腺增生症超声血流与 T 细胞亚群的相关性

党相国 苗鑫殷 雷 苏合朋 赵峰 冉张申 孙喜波 李湘奇

摘要 目的 探讨乳腺增生症彩色多普勒超声血流表现与外周血 T 细胞亚群的相关性。**方法** 检测 83 例乳腺增生症患者的超声图像,观察病变区的彩色多普勒血流显像(color doppler flow imaging, CDFI),测量其最高血流速度 $V_{\max}$ 和阻力指数(RI),应用流式细胞技术检测外周血中 T 细胞亚群,分别分析超声血流表现与 T 细胞亚群变化的相关性。**结果** 乳腺增生症患者有 T 细胞亚群失调,CD3⁺CD8⁺下降,CD4⁺/CD8⁺上升,CD3⁺CD8⁺与 $V_{\max}$ 呈负相关($r = -0.25, P < 0.05$);CD3⁺CD8⁺与 RI 呈负相关($r = -0.547, P < 0.01$);CD4⁺/CD8⁺与 $V_{\max}$ 呈正相关($r = 0.373, P < 0.01$);CD4⁺/CD8⁺与 RI 呈正相关($r = 0.464, P < 0.01$)。**结论** 对于乳腺增生症患者,超声检测血流,同时检测外周血 T 细胞亚群的变化,有助于病情的判断。

关键词 乳腺增生症 彩色多普勒超声 血流表现 T 细胞亚群

中图分类号 R655.8

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.04.012

Correlation between Color Doppler Ultrasound Blood Flow Performance and T - cell Subsets in Patients with Breast Hyperplasia. Dang Xiangguo, Miao Xin, Yin Lei, et al. Department of Breast Surgery, Affiliated Hospital of Taishan Medical University, Shandong 271000, China

Abstract Objective To investigate the correlation between color Doppler ultrasound blood flow performance and the peripheral blood T cell subsets in patients with breast hyperplasia. **Methods** Eighty three cases of breast hyperplasia were detected by color Doppler ultrasound and the color Doppler flow imaging (CDFI) of the lesion was observed. The $V_{\max}$ and resistance index (RI) was measured, and peripheral blood T - cell subsets were detected with fluorescence activated cell sorter technique. The correlation between ultrasonic blood flow and the change of T - cell subsets was analyzed respectively. **Results** Patients of breast hyperplasia had T - cell subsets disorder with CD3⁺CD8⁺ declined and CD4⁺/CD8⁺ increased. CD3⁺CD8⁺ and $V_{\max}$ were negatively correlated($r = -0.25, P < 0.05$) as well as CD3⁺CD8⁺ and RI ($r = -0.547, P < 0.01$). CD4⁺/CD8⁺ and $V_{\max}$ were positively correlated ($r = 0.373, P < 0.01$) as well as CD4⁺/CD8⁺ and RI ($r = 0.464, P < 0.01$). **Conclusion** It's helpful to identify the condition of patients with breast hyperplasia through detected the Doppler blood flow and monitored the variations of peripheral blood T cell subsets at the same time.

Key words Breast hyperplasia; Color Doppler ultrasound; Blood flow performance; T - cell subsets

乳腺增生症常见于中年妇女,多表现为月经前双乳胀痛有肿块,经后疼痛可自行缓解,肿块缩小或消失,症状重者影响患者的工作和生活,诊断多借助临床体检结合超声检查,由于其病理特征为乳管、腺泡上皮增生、腺管内乳头状增生或腺管周围囊性改变等,可导致乳腺内部供血变化,并可以通过彩色多普勒超声检测出^[1,2]。本研究检测乳腺增生症患者的超声图像,观察病变区的彩色多普勒血流显像(color Doppler flow imaging, CDFI),测量最高血流速度 $V_{\max}$ 和阻力指数 RI,同时流式细胞术检测 T 细胞亚群的变化,探讨超声血流表现与 T 细胞亚群的相关性。

资料与方法

1. 一般资料:选择 2016 年 11 ~ 12 月在泰山医学院附属医院就诊的资料详细的乳腺增生症患者 83 例,均为女性,患者年龄 20 ~ 55 岁,平均年龄 40.15 ± 11.64 岁,病程 1 ~ 6 个月,平均病程 3.18 ± 0.51 个月,诊断标准符合中华预防医学会妇女保健分会乳腺保健与乳腺疾病防治学组制定的乳腺增生症诊治专家共识^[3];临床表现均有不同程度的单侧或双侧乳房肿胀,周期性或非周期性的乳房疼痛,肿块或无症状,部分患者伴有月经不调,小腹疼痛,腰痛等症状,结合超声诊断为乳腺增生症,研究获得泰山医学院附属医院医学伦理委员会审查批准。

2. 方法与仪器:检测仪器为彩色多普勒超声诊断仪(GE LOGIQ3 型),线阵探头,探头频率为(7.5 ~ 10.0)MHz。超声检测时取仰卧体位,上举双臂,充分显露双侧乳房,检查整个乳房,以乳头为中心放射状,连续移动探头,探头应避免加压,发现异常回声

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81473687);山东省自然科学基金资助项目(ZR2009CM039, ZR2013HM038);山东省医药卫生科技发展计划项目(2011HW084, 2016WS0623);泰安市科技发展计划项目(201440774, 2015NS2082)

作者单位:271000 泰山医学院附属医院

通讯作者:李湘奇,电子邮箱:drlixqi@126.com

区,记录其部位、大小、形态、边界、有无包膜、内部回声情况,测量 $V_{\max}$ 和 RI, 所记录的数据应取三次测量值的平均值。

根据彩超检测结果分 4 型^[4]。小叶增生型:触之有颗粒感,此型主要表现为乳腺组织不同程度增厚,结构紊乱,腺体内可见散在低回声区,呈条状、片状,计 31 例;囊性增生型:腺体内可见散在、条状暗区、形态各异的无回声区,有的呈类圆形,结节内透声好,边界清晰,壁薄光滑,部分为导管扩张,计 12 例;腺瘤样增生型:乳腺组织内可见多个大小不一的低回声结节,边界欠清,模糊,内部回声分布欠均匀,周边可见不完整包膜回声,不伴侧声影,计 23 例;混合型:超声图像腺体内以上 2 种或 2 种以上病变同时存在,回声强弱不均、液实混杂,计 17 例。

3. T 细胞亚群检测:所有诊断乳腺增生症的患者,病情告知后,均应用流式细胞技术(fluorescence activated cell sorter, FACS)检测外周血中淋巴细胞总数以及细胞免疫相关淋巴细胞亚群的比例。具体测量方法如下:抽取静脉血,肝素抗凝,立即送检,应用全自动血细胞分析仪计算样本中淋巴细胞总数。检测淋巴细胞亚群包括:CD3⁺T 淋巴细胞(以下简称 CD3⁺), CD3⁺CD4⁺辅助性 T 淋巴细胞(以下简称 CD3⁺CD4⁺), CD3⁺CD8⁺杀伤性 T 淋巴细胞(以下简称 CD3⁺CD8⁺), CD4⁺/CD8⁺T 细胞比例(以下简称 CD4⁺/CD8⁺)。

4. 统计学方法:采用 SPSS 19.0 统计学软件进行统计分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验。分析 $V_{\max}$ 和 RI 与 T 细胞亚群变化的相关性采用 Spearman 相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 乳腺增生症超声血流动力表现:83 例乳腺增生症超声血流表现,腺瘤样增生型和混合型患者 $V_{\max}$ 和 RI 升高,明显高于囊性增生型和小叶增生型患者 P 均 < 0.05 ,而小叶增生型患者相比囊性增生型差异不明显,囊性增生型相比小叶增生型略有下降,但无明显差异。结果见表 1,图 1 ~ 图 4。

表 1 乳腺增生症各型超声血流动力表现比较

类型	n	$V_{\max}$	RI
小叶增生型	31	9.21 ± 2.89	0.31 ± 0.07
囊性增生型	12	8.60 ± 2.47	0.29 ± 0.05
腺瘤样增生型	23	$10.82 \pm 1.87^*$	$0.63 \pm 0.13^{\#}$
混合型	17	$11.20 \pm 1.99^*$	$0.60 \pm 0.08^{\#}$

与囊性增生型比较, * $P < 0.05$; 与小叶增生型比较, $^{\#}P < 0.05$

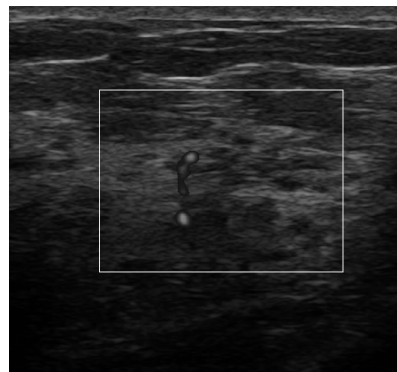


图 1 小叶增生型

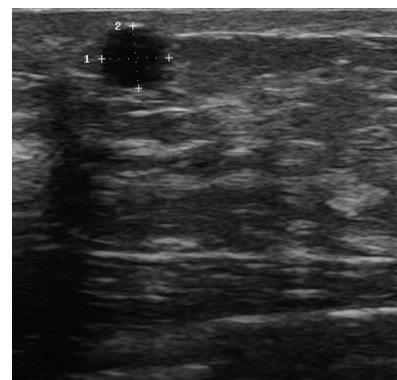


图 2 囊性增生型

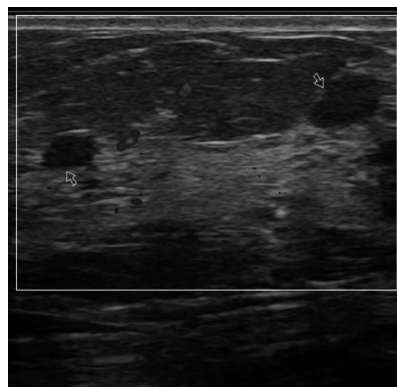


图 3 腺瘤样增生型

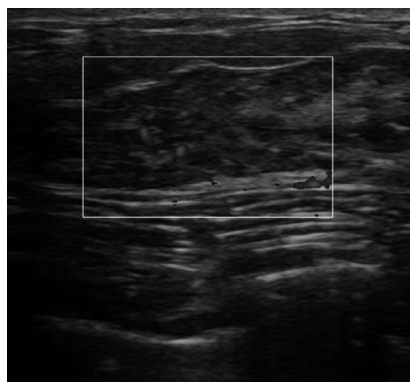


图 4 混合型

2. 乳腺增生症 T 细胞亚群:CD3⁺CD8⁺在腺瘤样增生型和混合型组患者相比小叶增生型和囊性增生型组患者明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 CD4⁺/CD8⁺则与之相反,在腺瘤样增生型和混合型组患者相比小叶增生型和囊性增生型组患者明显上升,差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着增生程度的加重,上述趋势逐渐明显,CD3⁺腺瘤样增

生型组患者相比其他各组略有下降,但差异无统计学意义, $P > 0.05$,CD3⁺CD4⁺在各组间比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05),说明乳腺增生症患者外周血 T 细胞亚群失调,CD3⁺CD8⁺一定程度内下降,同时 CD4⁺/CD8⁺上升,在各组间变化程度不一。结果见表 2。

表 2 乳腺增生症各型 T 细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm s$)

类型	<i>n</i>	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
小叶增生型	31	69.79 ± 10.20	38.91 ± 8.76	27.60 ± 9.20	1.60 ± 0.62
囊性增生型	12	72.37 ± 12.70	37.82 ± 10.28	30.67 ± 10.59	1.40 ± 0.67
腺瘤样增生型	23	64.31 ± 13.10	37.00 ± 10.15	18.35 ± 6.90 [*]	2.76 ± 1.06 [#]
混合型	17	67.13 ± 9.47	43.97 ± 8.36	18.70 ± 2.59 [*]	2.42 ± 0.53 [#]

与囊性增生型比较,^{*} $P < 0.05$;与小叶增生型比较,[#] $P < 0.05$

3. 乳腺增生症超声 Vmax 和 RI 与 T 细胞亚群相关性:83 例乳腺增生患者中,CD3⁺CD8⁺与 Vmax 呈负相关($r = -0.25, P < 0.05$);CD3⁺CD8⁺与 RI 呈负相关($r = -0.547, P < 0.01$);CD4⁺/CD8⁺与 Vmax 呈正相关($r = 0.373, P < 0.01$);CD4⁺/CD8⁺与 RI 呈正相关($r = 0.464, P < 0.01$);结果见图 5 ~ 图 8。

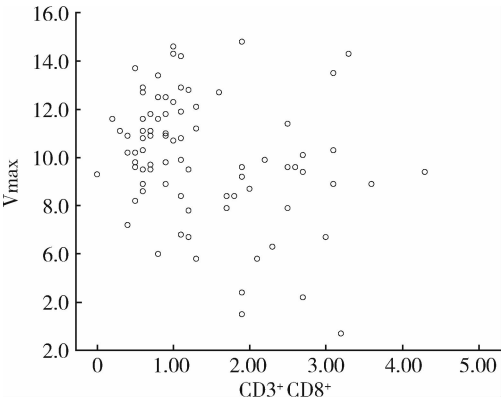


图 5 CD3⁺CD8⁺与 Vmax 的相关性

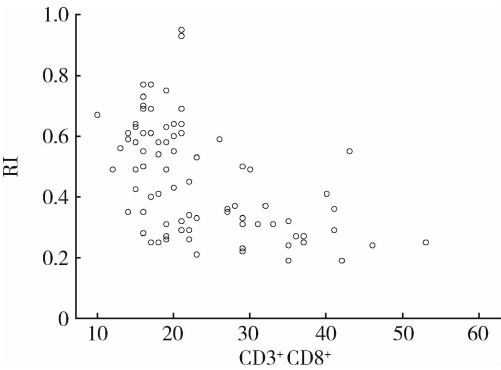


图 6 CD3⁺CD8⁺与 RI 的相关性

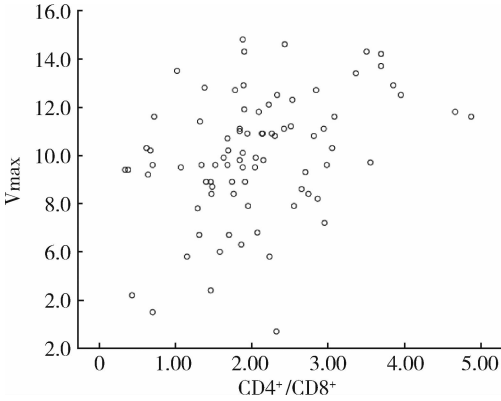


图 7 CD4⁺/CD8⁺与 Vmax 的相关性

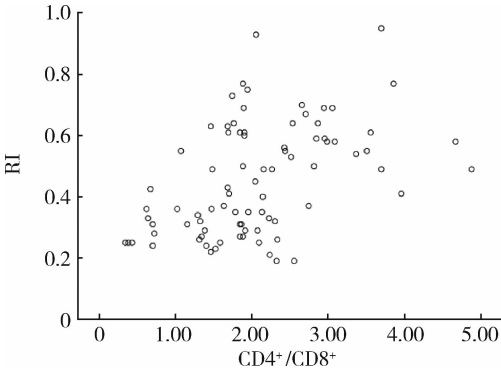


图 8 CD4⁺/CD8⁺与 RI 的相关性

讨 论

乳腺增生症是妇女的常见病、多发病,临床特点是随月经周期出现疼痛或肿块,严重者影响工作和生活,超声影像对乳腺增生症的诊断具有很大的优势,图像常表现为乳腺内部结构紊乱,回声增粗、增强,分

布欠均匀,囊性扩张时见大小不等无回声区等。乳腺增生症血供常不丰富,一般情况下正常乳腺腺体在超声上测不到血流信号,但乳腺增生时小叶导管和腺泡增多,间质结缔组织增生等一系列病理改变,可导致乳腺内部供血变化,从而在超声上可以检测到血流。国内外关于乳腺肿块良恶性超声下血流鉴别较多,对于乳腺增生超声下的血流变化报道较少,乳腺增生症患者尤其非典型性增生要高度警惕乳腺癌可能,文献上对于乳腺恶性肿瘤血流为高速高阻血流频谱,通常 $V_{\max} \geq 20 \text{ cm/s}$, $RI \geq 0.7$ 作为乳腺癌的诊断指标^[5]。

T 淋巴细胞亚群在机体免疫反应中,尤其在抗肿瘤免疫过程中发挥重要作用。T 淋巴细胞主要介导细胞免疫,可分为 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 及 $CD8^+$ T 细胞。 $CD3^+$ T 淋巴细胞为 T 淋巴细胞总数, $CD8^+$ 细胞毒性 T 细胞是抗肿瘤免疫的主要细胞类型,可识别肿瘤抗原并直接杀伤肿瘤细胞, $CD4^+$ 为调节性及辅助性 T 细胞,可抑制肿瘤免疫的发生^[6]。正常情况下, $CD4^+$ T 细胞与 $CD8^+$ T 细胞所代表的两大类 T 细胞亚群处于动态平衡状态,在细胞免疫中,各亚群相互协调作用,可维持正常的免疫应答能力。假如 T 细胞总数和比例发生变化,或亚群的绝对数和比例发生改变,一般认为有免疫功能异常,可与疾病的发生和发展相关。Engin 等^[7]认为没有转移的乳腺癌患者体内存在着 T 细胞亚群的异常改变和比例失调。

对于乳腺增生患者,免疫功能失调的研究不多,公认的是乳腺增生与女性体内雌激素水平紊乱有明显的关系,笔者的研究结果提示,乳腺增生症患者存在 T 细胞亚群失调, $CD3^+$ $CD8^+$ 一定程度内下降,而 $CD4^+$ / $CD8^+$ 升高。虽然 $CD3^+$ $CD4^+$ 没有明显的变化,但 $CD3^+$ $CD8^+$ 比例下降,提示患者体内 $CD4^+$ T 细胞相对升高,机体存在免疫功能异常,细胞免疫受到一定的抑制,出现了细胞的增殖异常,从而可能是促进乳腺增生的形成和进展的原因。目前已陆续发现多个 $CD4^+$ T 细胞功能亚群,包括 Th1 细胞、Th2 细胞、Th9 细胞、Tfh 细胞、Th22 等,相互之间作用机制复杂,具体是哪个 Th 亚群发生了绝对值或比例的变化,有待于进一步研究^[8-10]。

本研究发现,外周血中 $CD3^+$ $CD8^+$ 、 $CD4^+$ / $CD8^+$ 比例的改变与 $V_{\max}$ 、 RI 的变化有相关关系,对于乳腺增生症患者,当病情进展时,从小叶增生发展到腺瘤样增生过程中,可以认为乳腺腺体增生程度逐渐加

重,T 淋巴细胞的比例发生变化,杀伤性 $CD8^+$ 细胞毒 T 细胞下降,患者的细胞免疫功能受抑制,导致了乳腺细胞增殖失调,增生达到一定程度时,在彩色多普勒超声影像上出现变化,反应病变局部血流的指标 $V_{\max}$ 、 RI 的变化,杀伤性 $CD8^+$ 细胞毒 T 细胞下降明显时,检测到血流的可能性增加,且 $V_{\max}$ 、 RI 数值增大,表现为为高速高阻血流频谱,但这与乳腺癌的局部血流变化还是有区别的。

综上所述,乳腺增生症患者外周血存在一定程度的细胞免疫功能的紊乱或失调,随着乳腺增生程度的加重,病变局部的血流速度和阻力指数也随之增加,外周血中 $CD3^+$ $CD8^+$ T 细胞、 $CD4^+$ / $CD8^+$ T 细胞比例的改变与 $V_{\max}$ 、 RI 的变化有相关关系。提示对于乳腺增生症患者,在超声下检测血流变化,同时监测外周血 T 细胞亚群的变化,有助于对病情的判断,而 T 细胞亚群也可能成为乳腺增生症的治疗靶点。

参考文献

- 1 陈金华,于淑敏,鄂占森. 乳腺增生症的彩色多普勒超声诊断[J]. 中国超声诊断杂志,2002,3(12):960-961
- 2 王小燕,凌冰,韦海明,等. 乳腺增生超声造影特征表现及诊断[J]. 中国超声医学杂志,2013,29(7):615-618
- 3 中华预防医学会妇女保健分会乳腺保健与乳腺疾病防治学组. 乳腺增生症诊治专家共识[J]. 中国实用外科杂志,2016,36(7):759-762
- 4 邹荣莉,沈亚梅,高燕华. 重症乳腺增生症彩色多普勒超声的分型探讨[J]. 临床超声诊断杂志,2007,9(7):415-417
- 5 岳林先,陈琴,邓立强等. 实用浅表器官和软组织超声诊断学[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:242-287
- 6 Pandolfi F, Cianci R, Pagliari D, *et al.* The immune response to tumors as a tool toward immunotherapy[J]. Clin Dev Immunol,2011:894704
- 7 Engin H, Bilir C, Tekin IO. Prognostic significance of peripheral blood flow cytometry parameters in patients with non - metastatic breast cancer [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(12):7645-7649
- 8 Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, *et al.* T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases[J]. Cytokine, 2015, 74(1):5-17
- 9 Végran F, Apetoh L, Ghiringhelli F. Th9 cells: a novel $CD4^+$ T - cell subset in the immune war against cancer[J]. Cancer Res, 2015,75(3):475-479
- 10 Huang YH, Cao YF, Jiang ZY, *et al.* Th22 cell accumulation is associated with colorectal cancer development[J]. World J Gastroenterol, 2015,21(14):4216-4224

(收稿日期:2017-08-04)

(修回日期:2017-09-06)