

生物阻抗谱技术在乳腺癌保乳手术中对切缘组织快速定性的有效性

陈玉娟¹, 王晓东^{1△}, 吴剑², 付峰³, 朱彩蓉⁴, 蒲洋⁵, 向飞⁵, 戴涛⁵

1. 四川大学华西医院 甲状腺乳腺外科(成都 610041); 2. 成都市第三人民医院 乳腺甲状腺科(成都 610031);
3. 第四军医大学 生物医学工程系(西安 710032); 4. 四川大学华西公共卫生学院(成都 610041);
5. 思澜科技(成都)有限公司(成都 610041)

【摘要】 目的 评价生物阻抗谱(bio-impedance spectroscopy, BIS)技术在乳腺癌保乳手术(breast-conserving surgery, BCS)过程中对切缘肿瘤细胞是否残留进行快速定性的有效性。**方法** 采用多中心、平行试验设计,收集150份标本,对同一份被测切缘样本按顺序先后使用BIS、冰冻切片活检和石蜡切片活检进行检测,在该标本的3项检测结果全部得到以后,将BIS的检测方法与冰冻切片活检的检查结果作一致性比较;将石蜡切片活检的检测方法作为金标准,评估BIS检测的灵敏度和特异度。比较三种方法的检测用时。**结果** BIS检测的灵敏度为92.98%,特异度为94.62%,与冰冻切片活检的一致性较高,Kappa值大于0.75。BIS检测时间均值为2.63 min,短于冰冻切片活检(18.97 min)和石蜡切片用时(1.12 d)。**结论** 利用BIS技术对乳腺癌保乳手术中的切缘样本是否含有癌变组织的定性检测具有较高准确性,适用于术中的快速判断。

【关键词】 生物阻抗谱 乳腺癌保乳手术 组织鉴定 术中检测

Clinical Trial of Intraoperative Tissue Identification for Breast-Conserving Surgery Using Bio-impedance Spectroscopy

CHEN Yu-juan¹, WANG Xiao-dong^{1△}, WU Jian², FU Feng³, ZHU Cai-rong⁴, PU Yang⁵, XIANG Fei⁵, DAI Tao⁵. 1. Department of Thyroid and Breast Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Breast and Thyroid, the No. 3 People's Hospital, Chengdu 610031, China; 3. Department of Biomedical Engineering, the Forth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 4. West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 5. Sealand Technology (Chengdu) Limited, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: wxd65112@163.com

【Abstract】 **Objective** To evaluate the effectiveness of bio-impedance spectroscopy (BIS) analysis for marginal tissue malignancy/benignancy identification during Breast-Conserving Surgery (BCS). **Methods** A multicenter parallel-group clinical trial was conducted with the patients who received breast conserving surgery in 2 hospitals. One hundred and fifty breast tissue specimens were collected and analyzed by BIS, frozen section biopsy and paraffin section biopsy respectively. Results were compared and statistical analysis was implemented. **Results** For BIS technique to identify malignant/benign marginal tissues, the sensitivity was 92.98%, and the specificity was 94.62%. The coherence of BIS results and frozen section biopsy results was significant, and the Kappa value was higher than 0.75. The mean measuring time of BIS was 2.63 min, which was shorter than frozen section biopsy (18.97 min) and paraffin section biopsy (1.12 d). **Conclusion** BIS technique likely has high accuracy in tissue identification so has potential to be adopted as a real-time indicator for marginal tissue malignancy/benignancy identification during breast-conserving surgery.

【Key words】 Bio-impedance spectroscopy Breast-conservingsurgery Tissue identification Intraoperative detection

乳腺癌目前是女性恶性肿瘤中发病率最高的一种疾病,且其发病率一直处于持续上升趋势^[1]。冰冻活检是医生在手术中区分恶性肿瘤组织和正常组织的重要参考依据,但对于脂肪含量高的乳房组织,

冰冻活检切片效果不佳,而且由于检测结果容易受到病理医生的执业经验和读片能力的影响,导致冰冻活检漏检率有时较高^[2]。术中等待冰冻切片病理检测时间也较长。与冰冻活检相比,生物阻抗谱检测技术具有客观评价、实时性强和检测成本低等优点,若在手术中使用该技术则可为医生提供更多的

参考信息,降低误判率,缩短手术时间并降低病患的手术费用。

采用生物阻抗谱技术来区分不同的组织样本,到目前为止已积累了大量的研究。Surowiec 和 Jossinet 等^[3-5]对不同的乳房组织进行了生物阻抗谱测量,发现正常的乳腺组织和病变的乳腺组织在特征频率上存在明显差异。Fear 和 Lazebnik 等^[6-8]对包含不同比例脂肪的正常乳房组织在频率为 0.5~20 GHz 的微波频段进行了生物阻抗谱测量,结果发现这些乳房组织之间的介电属性存在很大差异。Gregory 等^[9]对来自于 187 位乳腺手术患者的 232 例乳腺恶性肿瘤组织和 141 例乳腺正常组织在频率为 1 Hz~32 MHz 的范围内测量,验证了其通过特征频率来区分乳腺恶性肿瘤组织和正常组织的理论。

生物阻抗谱丰富的研究成果表明:利用生物阻抗谱检测病理组织是否病变具有理论基础,我们对此也进行了前期研究^[10],对乳腺癌切除手术中获取的组织样本进行了生物阻抗谱的离体测量,分析发现:对于特征频率 f_c 和电阻比 R_0/R_∞ ,癌组织、纤维腺瘤和腺体这 3 种样本组织在统计学分布上都存在差异。

本研究从医学统计角度评价生物阻抗谱分析技术在乳腺癌保乳手术(BCS)过程中对切缘肿瘤细胞是否残留进行快速定性的有效性。我们对从乳腺癌手术中获取的切缘样本进行了离体测量,将生物阻抗谱分析结果与冰冻切片活检和石蜡切片活检的结果作比对,通过统计得出生物阻抗谱检测切缘样本是否含有癌变组织的灵敏度和特异度等指标,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 试验仪器

本次的试验仪器采用思澜科技(成都)有限公司自主研发的乳腺组织电阻抗谱分析仪 MScan1.0B 对样本进行测量。MScan1.0B 的测量探头采用经典的四电极设计,电流通过注入电极流入测量样本,采集电极记录电压响应。该仪器可以在 3 kHz~1 MHz 频率范围进行扫频测量,快速获取组织样本的电阻抗谱数据进行比对,对该样本是否包含癌变组织做出判断。

1.2 试验设计

本临床试验采用多中心、平行试验设计。对同一份被测切缘标本按顺序先后使用生物阻抗谱、冰

冻切片活检技术和石蜡切片活检技术进行检测。为保证试验的合理性和公正性,本临床试验要求试验操作者必须在使用 MScan1.0B 完成标本的检测,并将检测结果填入病例报告表后才能将相应的标本送往病理实验室进行冰冻切片活检和石蜡切片活检,而且对 MScan1.0B 检测的结果严格保密,以满足试验应做到“盲法”的要求。在该标本的 3 项检测结果全部得到以后,将生物阻抗谱的检测结果与冰冻切片活检的检查结果作一致性比较;以石蜡切片活检的检测结果作为金标准,评估生物阻抗谱检测乳腺肿瘤肿瘤的灵敏度和特异度等指标。

1.3 研究对象

本研究在各中心筛选疑似乳腺病并且已经安排手术计划的患者,纳入标准:①签署知情同意书;②采用肿瘤扩大切除术取出乳腺肿瘤组织,并且切缘距瘤缘小于 3 mm;③若有选取两块乳腺组织,1 号乳腺组织和 2 号乳腺组织选取位置间距大于 1 cm;④所有待测乳腺组织有效测量表面积的直径均大于 0.5 cm。

以上任意标准若不符合则排除。最终,四川大学华西医院筛选患者 51 人,宜宾市第二人民医院筛选患者 25 人,2 个临床试验中心筛选患者共计 76 人。一个患者可以选择多个取样点,在乳腺病变切除术中选取满足试验要求的切缘组织标本共计 150 例为此次试验的检测对象。

1.4 评价方法

1.4.1 真实性评价 以被测乳腺组织的石蜡切片活检结果作为金标准,评价生物阻抗谱检测的真实性。主要指标包括:灵敏度和特异度,假阳性率和假阴性率,阳性似然比和阴性似然比,准确度,诊断指数,约登(Youden)指数,阳性预测值和阴性预测值,及其双侧 95% 置信区间。

1.4.2 一致性评价 比较生物阻抗谱检测结果和冰冻切片活检检查结果的一致性。评价指标主要为 Kappa 系数并进行假设检验和计算 95% 置信区间。Kappa 值的范围值在 $[-1, 1]$ 之间。 $|\text{Kappa}| \geq 0.75$ 两者一致性较好; $0.75 > |\text{Kappa}| \geq 0.4$ 两者一致性一般; $0.4 > |\text{Kappa}|$ 两者一致性较差。

1.5 统计学方法

定量指标采用例数、均数、中位数等进行描述;定性指标用率、比或构成比描述。采用的统计学方法包括描述性统计方法、正态性检验、 t 检验、Wilcoxon 秩和检验、McNemar 卡方检验等。 $\alpha_{\text{双侧}} = 0.05$ 。

2 结果

2.1 标本收集情况及数据集

收集患者乳腺组织标本共计150例。试验仪器与石蜡切片活检均能明确判定所有标本结果,真实性评价分析数据集中纳入150例乳腺组织标本信息

表1 被剔除乳腺组织标本情况

Table 1 Descriptions of removed breast tissue specimen

| Patient | Screening No. | Experiment No. | Clinical trial center | Removed specimen | Reason |
|---------|---------------|----------------|--------------------------------------|------------------|---------------------------------------|
| YTLI | 21 | MS02018 | The No. 2 People's Hospital of Yibin | 1# | Undetermined by frozen section biopsy |

表2 各中心最终完成病例数

Table 2 Descriptions of cases completed by each clinical trial center

| Analysis | Clinical trial center | Patient (case) | Breast tissue (case) | Removed tissue (case) | Percentage of removed breast tissue |
|------------------------|---|----------------|----------------------|-----------------------|-------------------------------------|
| Authentic evaluation | West China Hospital of Sichuan University | 51 | 100 | 0 | 0% |
| | The No. 2 People's Hospital of Yibin | 25 | 50 | 0 | 0% |
| | Total | 76 | 150 | 0 | 0% |
| Consistency evaluation | West China Hospital of Sichuan University | 51 | 100 | 0 | 0% |
| | The No. 2 People's Hospital of Yibin | 25 | 50 | 1 | 2% |
| | Total | 76 | 150 | 1 | 0.67% |

本研究在各临床试验中心收集的患者均为女性,所有患者(76人)和乳腺组织标本(150例)均符合入选标准。正态性检验显示年龄不服从正态分布,宜采用中位数描述其平均水平。76名乳腺病患者年龄范围为33~81岁,中位年龄为48岁;秩和检验结果显示两中心患者年龄差异无统计学意义。

正态性检验显示150例乳腺组织标本表面直径的总体分布均服从正态分布,宜采用均数描述其平均水平。150例乳腺切缘组织标本的表面直径均数为1.65 cm。虽四川大学华西医院临床试验中心的乳腺组织标本表面直径不服从正态分布,但样本含量为100例,为大样本资料,故两中心表面直径的比较可采用成组设计资料的 t 检验。结果显示,两中心收集的乳腺病患者乳腺组织标本的表面直径差异均无统计学意义。

2.3 生物阻抗谱检测的有效性评价

2.3.1 真实性评价 在150例乳腺组织标本中,石蜡切片活检金标准测出病变组织57例,生物阻抗谱测出病变组织58例,生物阻抗谱与石蜡切片活检金标准比较结果见表3。

两个中心总的生物阻抗谱的灵敏度为92.98%,特异度为94.62%,假阳性率为5.38%,假阴性率为7.02%,提示病变组织被生物阻抗谱判定为病变的可能性为92.98%,而被判定为正常的可

进行分析。由于有1例乳腺组织标本冰冻切片结果无法判定,一致性评价分析数据集中只纳入结果判断确定的149例乳腺组织标本信息进行分析,被剔除的乳腺组织标本具体情况见表1,各中心最终完成病例数的情况见表2。

2.2 纳入病例、切缘标本基本信息

表3 生物阻抗谱与石蜡切片活检结果比较

Table 3 Comparison between results of bio-impedance spectroscopy (BIS) and paraffin section biopsy (PSB)

| Clinical trial center | BIS | PSB (case) | | |
|---|----------|------------|--------|-------|
| | | Lesion | Normal | Total |
| West China Hospital of Sichuan University | Lesion | 36 | 4 | 40 |
| | Normal | 2 | 58 | 60 |
| | Subtotal | 38 | 62 | 100 |
| The No. 2 People's Hospital of Yibin | Lesion | 17 | 1 | 18 |
| | Normal | 2 | 30 | 32 |
| | Subtotal | 19 | 31 | 50 |
| Total | Lesion | 53 | 5 | 58 |
| | Normal | 4 | 88 | 92 |
| | Total | 57 | 93 | 150 |

能性为7.02%(即漏诊率为7.02%);正常组织被生物阻抗谱判定为正常的概率为94.62%,而被判定为病变的概率为5.38%(即误诊率为5.38%)。生物阻抗谱的阳性似然比为17.29,阴性似然比为0.07,提示正确判断病变的可能性是错误判断病变可能性的17.29倍,错误判断正常的可能性是正确判断正常的可能性的0.07倍。生物阻抗谱的准确度为94.00%,诊断指数为187.61%,Youden指数为87.61%,提示无论试验结果病变还是正常,正确判定的可能性为94.00%,即具有较高的诊断准确度。生物阻抗谱的阳性预测值为91.38%,阴性预测值为95.65%,提示检测结果为病变的组织有91.38%的可能性是病变组织,检测结果为正常的组

织有 95.65% 的可能性是正常组织。综合判断,生物阻抗谱检测具有较高的真实性。见表 4。

2.3.2 一致性评价 由表 5 可见,在不分临床试验中心的情况下,Kappa 值为 0.870 0,渐近标准误为 0.041 9,此值较大,假设检验结果显示 $P < 0.000 1$,具有统计学意义。Kappa 值的 95% 置信区间为

(0.787 9,0.952 1),Kappa 值 > 0.75 ,可以认为生物阻抗谱与冰冻切片活检的一致性较高。从 2 个临床试验中心的结果中,四川大学华西医院的 Kappa 值为 0.893 6(95% 置信区间:0.803 2,0.984 0),宜宾市第二人民医院的 Kappa 值为 0.819 9(95% 置信区间:0.651 0,0.988 8),两个中心均高于 0.75。

表 4 生物阻抗谱的诊断试验评价指标

Table 4 Evaluation indices of bio-impedance spectroscopy diagnostic experiment

| | West China Hospital of Sichuan University | 95%CI | The No. 2 People's Hospital of Yibin | 95%CI | Total | 95%CI |
|---------------------------|---|---------------|--------------------------------------|---------------|---------|---------------|
| Sensitivity | 94.74% | 82.25%-99.36% | 89.47% | 66.86%-98.70% | 92.98% | 83.00%-98.05% |
| Specificity | 93.55% | 84.30%-98.21% | 96.77% | 83.30%-99.92% | 94.62% | 87.90%-98.23% |
| Accuracy | 94.00% | 88.00%-98.00% | 94.00% | 82.00%-98.00% | 94.00% | 89.00%-97.00% |
| Positive likelihood ratio | 14.68 | 5.67-38.00 | 27.74 | 4.01-191.91 | 17.29 | 7.35-40.69 |
| Negative likelihood ratio | 0.06 | 0.01-0.22 | 0.11 | 0.03-0.40 | 0.07 | 0.03-0.19 |
| Positive predictive value | 90.00% | 76.34%-97.21% | 94.44% | 72.71%-99.86% | 91.38% | 81.02%-97.14% |
| Negative predictive value | 96.67% | 88.47%-99.59% | 93.75% | 79.19%-99.23% | 95.65% | 89.24%-98.80% |
| Diagnostic index | 188.29% | | 186.23% | | 187.61% | |
| Youden index | 88.29% | | 86.23% | | 87.61% | |
| False positive ratio | 6.45% | | 3.23% | | 5.38% | |
| False negative ratio | 5.26% | | 10.53% | | 7.02% | |

CI: Confidence interval

表 5 生物阻抗谱与冰冻切片活检的一致性评价

Table 5 Consistency evaluation between bio-impedance spectroscopy (BIS) and frozen section biopsy (FSB)

| Clinical trial center | BIS | FSB (case) | | Kappa index | Asymptotic standard error | 95%CI | Z | P |
|---|--------|------------|--------|-------------|---------------------------|-----------------|--------|-------------|
| | | Lesion | Normal | | | | | |
| West China Hospital of Sichuan University | Lesion | 35 | 5 | 0.893 6 | 0.046 1 | 0.803 2-0.984 0 | 8.987 | $< 0.000 1$ |
| | Normal | 0 | 60 | | | | | |
| The No. 2 People's Hospital of Yibin | Lesion | 15 | 2 | 0.819 9 | 0.086 2 | 0.651 0-0.988 8 | 5.739 | $< 0.000 1$ |
| | Normal | 2 | 30 | | | | | |
| Total | Lesion | 50 | 7 | 0.870 0 | 0.041 9 | 0.787 9-0.952 1 | 10.647 | $< 0.000 1$ |
| | Normal | 2 | 90 | | | | | |

CI: Confidence interval

2.4 三种检测方法检测时间比较

由于有 1 例乳腺组织标本冰冻切片结果无法判定,故收集 149 例乳腺组织标本的数据。生物阻抗谱所用检测时间最少,均值为 2.63 min;冰冻切片活检所用时间其次,均值为 18.97 min;石蜡切片所用时间最多,至少需要 1 d 时间,平均所需时间为 1.12 d。由此可见,生物阻抗谱检测效率最高。

3 讨论

生物阻抗谱分析技术通过对生物组织的电阻抗谱进行测量,获取组织的特征参数,一般利用 Levenberg-Marquardt 非线性迭代法对测得的生物阻抗谱数据进行 Cole-Cole 模型拟合,获取诸如特征频率 f_c 、色散系数 α 和电阻比 R_0/R_∞ 等特征参

数,研究表明^[10]:乳腺病变组织的测试曲线与良性或正常组织(如纤维腺瘤、腺体)存在较大差异,进一步通过统计分析可以看出,对于特征频率和电阻比,病变组织、纤维腺瘤和腺体组织在统计学分布上均存在差异,因此在基于生物电阻抗频谱技术检测病变组织过程中,可以联合特征频率和电阻比这两个参数进行判定。

为了论证生物阻抗谱分析技术在手术中能对乳腺切缘肿瘤细胞是否残留进行快速有效的判定,本研究对 150 例切缘组织样本进行了生物阻抗谱的离体测量。通过与冰冻切片活检和石蜡切片活检的检测结果对比,得到生物阻抗谱检测切缘样本是否含有癌变组织的灵敏度和特异度等指标。本研究统计结果表明:以石蜡切片结果为金标准,生物阻抗谱检

测技术具有较高的灵敏度和特异度;与冰冻切片的结果一致性较高。通过比较生物阻抗谱、冰冻切片与石蜡切片的检测时间,论证了生物阻抗谱具有实时、快速检测的优势。

本研究创新之处在于将生物阻抗谱分析技术引入到乳腺癌切除手术中对切缘肿瘤细胞残留进行快速检测,利用临床试验论证其有效性指标。生物阻抗谱分析技术具有诸多优点:首先,该技术检测速度快,在乳腺癌切除手术中可以实现实时检测,尽快做出切缘组织是否含有癌变细胞的提示,指导医生制定更为合理的手术方案。其次,该技术具有较高的安全性,通过对样本组织表面注入毫安级的安全激励电流进行检测,不直接作用于人体且不影响生物组织特性,不损害乳腺组织标本。最后,在乳腺癌保乳手术中,对切缘组织的定性至关重要,由于目前检测手段的局限,对于浸润性癌及导管原位癌,保乳手术的二次手术率为11%~46%^[11],难以满足医生和患者的要求,二次手术具有诸多负面影响,例如术后感染率升高、增加患者焦虑情绪、手术费用上升等,冰冻活检技术虽然对切缘样本是否含有癌变细胞可以做出较为准确的判断,指导医生手术,但是耗时较长,而生物阻抗谱分析技术可以实现对切缘样本的多点、多次、实时检测,对缩短手术时间及降低二次手术率具有重要意义。

综上,生物阻抗谱技术对乳腺癌保乳手术中的切缘样本是否含有癌变组织的定性检测具有较高准确性,适用于术中的快速判断;它虽不能替代传统的冰冻切片活检和石蜡切片活检,但可作为辅助检测技术,通过与病理学检测手段结合降低手术误诊率。

参 考 文 献

1 Siegel R, Ma J, Zou Z, *et al.* Cancer Statistics, 2014. CA

- Cancer J Clin,2014;64(1):9-29.
- 2 Olson TP, Harter J, Munoz A, *et al.* Frozen section analysis for intraoperative margin assessment during breast-conserving surgery results in low rates of re-excision and local recurrence. *Ann Surg Oncol*,2007;14(10):2953-2960.
- 3 Surowiec AJ, Stuchly SS, Barr JB, *et al.* Dielectric properties of breast carcinoma and the surrounding tissues. *IEEE Trans Biomed Eng*,1988;35(4):257-263.
- 4 Jossinet J. Variability of impedivity in normal and pathological breast tissue. *Med Biol Eng Comput*,1996;34(5):346-350.
- 5 Jossinet J. The impedivity of freshly excised human breast tissue. *Physiol Meas*,1998;19(1):61-75.
- 6 Fear EC, Xu L, Hagness SC, *et al.* Confocal microwave imaging for breast cancer detection: localization of tumors in three dimensions. *IEEE Trans Biomed Eng*,2002;49(8):812-822.
- 7 Fear EC, Sill J, Stuchly MA. Experimental feasibility study of confocal microwave imaging for breast tumor detection. *IEEE Trans Microw Theory Tech*,2003;51(3):887-892.
- 8 Lazebnik M, Popovic D, McCartney L, *et al.* A large-scale study of the ultrawideband microwavedielectric properties of normal, benign and malignant breast tissues obtained from cancer surgeries. *Phys Med Biol*,2007;52(20):6093-6115.
- 9 Gregory WD, Marx JJ, Gregory CW, *et al.* The Cole relaxation frequency as a parameter to identify cancer in breast tissue. *Med Phys*,2012;39(7):4167-4174.
- 10 Wang QF, Pu Y, Xiang F, *et al.* Cancer identification during breast surgery using electrical impedance spectroscopy analysis. 15th Intl. Conf. on Biomedical Applications of Electrical Impedance Tomography, Gananoque, Canada; April, 2014.
- 11 Thill M. MarginProbe: intraoperative margin assessment during breast conserving surgery by using radiofrequency spectroscopy. *Expert Rev Med Devices*,2013;10(3):301-315.

(2015-09-06 收稿,2016-01-05 修回)

编辑 余琳