

双重超声造影评估胃癌细胞侵袭及血管生成的价值

庞娟娟 张永凤 王 雪

摘 要 **目的** 探讨双重超声造影评估胃癌患者癌细胞增殖、侵袭功能及血管新生的临床应用价值。**方法** 选取我院收治的40例胃癌患者为观察组,另选同期行胃镜检查的健康成人50例为健康对照组。使用双重超声造影检测两组增强时间(ET)、峰值时间(TTP)及曲线上支斜率(WIR),比较胃癌细胞侵袭基因表达量和血管新生指标水平,分析超声造影参数与胃癌细胞侵袭及血管新生指标的相关性。**结果** 观察组患者ET、TTP、E-钙黏蛋白(E-cadherin)水平均低于健康对照组,WIR、真核起始因子4E(EIF4E)、CD44基因、环指域蛋白1(UHRF1)、内皮生长因子(VEGF)、促生长因子(IGF-1)、 α -1-微球蛋白-胰蛋白酶抑制剂前体(AMBP)、可溶性E-钙黏蛋白(SE-CAD)水平均高于健康对照组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。相关性分析显示,ET、TTP与E-cadherin均呈正相关,与EIF4E、CD44、UHRF1、VEGF、IGF-1、AMBP、SE-CAD均呈负相关(均 $P<0.001$);WIR与E-cadherin呈负相关,与EIF4E、CD44、UHRF1、VEGF、IGF-1、AMBP、SE-CAD均呈正相关(均 $P<0.001$)。**结论** 双重超声造影能准确评估胃癌患者癌细胞侵袭和血管生成,具有较好的临床应用价值。

关键词 超声检查;造影剂;胃癌;细胞侵袭;血管生成

[中图分类号]R445.1;R322.4

[文献标识码]A

Value of double contrast-enhanced ultrasonography in evaluating invasion and angiogenesis of gastric cancer cells

PANG Juanjuan, ZHANG Yongfeng, WANG Xue

Department of Ultrasound, Rizhao Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shandong 276800, China

ABSTRACT **Objective** To investigate the clinical application value of double contrast-enhanced ultrasound in evaluating the proliferation, invasion and angiogenesis of cancer cells in gastric cancer patients. **Methods** Forty patients with gastric cancer admitted in our hospital were selected as the observation group, and 50 healthy patients with simultaneous gastroscopy were taken as the control group. The enhancement time (ET), time-to-peak (TTP) and wash-in-rate (WIR) were measured by double contrast-enhanced ultrasound, the expression of invasion gene and angiogenesis index of gastric cancer cells were compared, and the correlation between contrast-enhanced ultrasound parameters and invasion and angiogenesis index was analyzed. **Results** The levels of ET, TTP and E-cadherin in the observation group were significantly lower than those in the healthy control group, while WIR and the levels of eukaryotic initiation factor 4e (EIF4E), CD44, ring finger domain protein 1 (UHRF1), endothelial growth factor (VEGF), growth-promoting factor (IGF-1), α -1-microglobulin-trypsin inhibitor precursor (AMBP) and soluble E-cadherin (SE-CAD) in the observation group were significantly higher than those in the healthy control group (all $P<0.05$). Correlation analysis showed that ET and TTP were positively correlated with E-cadherin, and negatively correlated with EIF4E, CD44, UHRF1, VEGF, IGF-1, AMBP, SE-CAD (all $P<0.001$), WIR was negatively correlated with E-cadherin, and positively correlated with EIF4E, CD44, UHRF1, VEGF, IGF-1, AMBP, SE-CAD (all $P<0.001$). **Conclusion** Double contrast-enhanced ultrasound can accurately evaluate the invasion and angiogenesis of cancer cells in gastric cancer patients, which has good clinical application value.

KEY WORDS Ultrasonography; Contrast agent; Gastric cancer; Cell invasion; Angiogenesis

目前,我国胃癌的发病率逐渐升高,大部分胃癌患者早期不会出现明显症状,因此早期胃癌的诊断准确率较低^[1]。临床上以灶细胞活检和病理结果作为诊断胃癌的金标准,但胃镜检查具有创伤性,无法作为常规筛查手段。杨琴^[2]发现双重超声造影可通过造影剂和超声影像反映肿瘤部位血流灌注情况,已应用于肝、肺、直肠癌等肿瘤疾病的诊断,但对于胃癌早期细胞侵袭和新生血管形成研究较少。基于此,本研究对 40 例胃癌患者行双重超声造影检查,旨在探讨超声造影评估胃癌患者癌细胞增殖、侵袭功能及血管新生的临床应用价值。

资料与方法

一、研究对象

选取 2018 年 8 月至 2019 年 12 月我院收治的 40 例胃癌患者(观察组),男 22 例,女 18 例,年龄 46~77 岁,平均(62.25±5.74)岁,体质量 49~81 kg,平均(60.65±6.65)kg;病理分化中低分化 24 例,中高分化 16 例。纳入标准:①均经病理确诊为胃癌;②3 个月内未行胃镜检查,无放化疗干预史;③不伴其他恶性肿瘤疾病。排除标准:①妊娠期或哺乳期患者;②存在认知功能障碍或无法正常沟通交流者;③合并凝血功能障碍疾病者;④对本研究方法或药物不耐受者。另选同期行胃镜检查的健康成人 50 例(健康对照组),男 27 例,女 23 例,年龄 44~79 岁,平均(61.87±6.03)岁,体质量 50~82 kg,平均(61.16±6.85)kg。两组一般资料比较差异均无统计学意义。本研究经我院医学伦理委员会批准,所有患者及家属均签署知情同意书。

二、仪器与方法

1. 双重超声造影:使用麦迪逊 Accuvix XQ 彩色多普勒超声诊断仪,探头频率 3.5~5.0 MHz。检查前受检者禁食 8 h,取仰卧位,常规超声观察其空腹状态下肝脾肾胃胆及盆腔等部位是否存在异常回声^[3];然后服用造影剂 600 ml(1.5% 泛影葡胺,南京正大天晴制药有限公司),观察食管、胃部灌注情况,于不同体位下扫查胃底部、胃中部、胃窦,明确病变部位,记录胃部形态和病灶信息(位置、体积、回声、形态、浸润程度等),调整图像直至出现肿瘤病灶最清晰、最大横截面。经肘正中静脉注入造影剂(碘帕醇注射液,南京正大天晴制药有限公司)2.4 ml 与生理盐水 5.0 ml 混合液,随即注射生理盐水 5.0 ml 冲管,启动计时器,观察病灶区域动态造影图像并储存。造影过程为 5 min,

观察肿瘤病灶与正常组织的超声造影感兴趣区,分析仪器内置时间-强度曲线(TIC),获得超声造影参数增强时间(ET)、峰值时间(TTP)、曲线上分支斜率(WIR)。

2. 实验室检查:①胃癌细胞侵袭基因 mRNA 表达检测使用荧光定量法,操作流程严格按照 KAPA Express Extract 试剂盒(广州燕嘉生物科技有限公司)说明书,检测指标包括真核起始因子 4E(EIF4E)、CD44 基因、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、泛素样含 PHD 和环指域蛋白 1(UHRF1)的 mRNA 侵袭表达量;②血管新生指标检测使用酶联免疫吸附法,操作流程严格按照试剂盒(上海沪震实业有限公司)说明书,检测指标包括内皮生长因子(VEGF)、促生长因子(IGF-1)、 α -1-微球蛋白-胰蛋白酶抑制剂前体(AMBP)、可溶性 E-钙黏蛋白(SE-CAD)等。

三、统计学处理

应用 SPSS 22.0 统计软件,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较行 *t* 检验。超声造影参数与实验室检查指标间的相关性分析采用 Pearson 线性相关分析法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、两组双重超声造影检查情况

超声造影显示观察组胃壁广泛不规则增厚,胃腔严重狭窄,呈“面包圈”征,强化部分与邻近正常组织界限不明显;病灶区域局部血流速度加快,造影剂强化时间缩短。观察组 ET、TTP 水平均低于健康对照组,WIR 高于健康对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 1 和图 1。

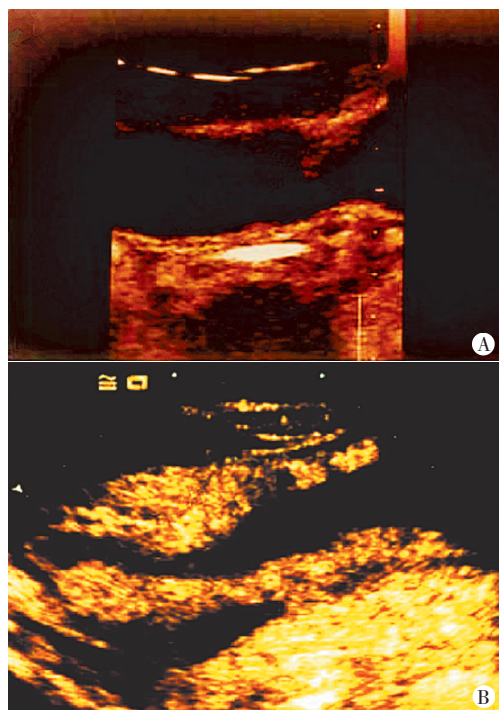
表 1 两组超声造影参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	ET(s)	TTP(s)	WIR
健康对照组	15.44±1.89	29.62±3.35	5.28±0.73
观察组	9.29±1.01	23.17±2.54	7.86±0.93
<i>t</i> 值	18.556	10.075	14.356
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

ET:增强时间;TTP:峰值时间;WIR:曲线上分支斜率

二、两组实验室检查指标比较

观察组 EIF4E、CD44、UHRF1 水平均高于健康对照组,E-cadherin 水平低于健康对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。观察组 VEGF、IGF-1、AMBP、SE-CAD 水平均高于健康对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 2。



A:健康对照组,ET为15.62 s,TTP为29.81 s,WIR为5.32;B:观察组,ET为9.35 s,TTP为23.51 s,WIR为7.91

图1 两组双重超声造影图

表2 两组实验室检查指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	EIF4E	CD44	E-cadherin	UHRF1
健康对照组(50)	97.32±9.55	98.32±10.20	99.86±10.15	103.31±11.64
观察组(40)	215.48±25.55	223.71±25.49	23.29±2.89	243.18±29.01
t值	30.204	31.783	46.190	31.137
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	VEGF($\mu\text{g/L}$)	IGF-1($\mu\text{g/L}$)	AMBP($\mu\text{g/ml}$)	SE-CAD($\mu\text{g/L}$)
健康对照组(50)	74.92±9.04	103.40±13.78	5.26±0.78	10.61±1.76
观察组(40)	253.87±59.07	332.88±46.43	10.33±1.63	25.68±4.27
t值	68.404	33.209	19.410	22.687
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

EIF4E:真核起始因子4E;E-cadherin:E-钙黏蛋白;UHRF1:泛素样含PHD和环指域蛋白1;VEGF:内皮生长因子;IGF-1:促生长因子;AMBP: α -1-微球蛋白-胰蛋白酶抑制剂前体;SE-CAD:可溶性E-钙黏蛋白

三、相关性分析

Pearson 相关分析显示,ET、TTP 与 E-cadherin 均呈正相关,与 EIF4E、CD44、UHRF1、VEGF、IGF-1、AMBP、SE-CAD 均呈负相关(均 $P<0.001$);WIR 与 E-cadherin 呈负相关,与 EIF4E、CD44、UHRF1、VEGF、IGF-1、AMBP、SE-CAD 均呈正相关(均 $P<0.001$)。见表3。

表3 超声造影参数与胃癌细胞侵袭、血管生成指标的相关性分析

参数	EIF4E		CD44		E-cadherin		UHRF1		VEGF		IGF-1		AMBP		SE-CAD	
	r值	P	r值	P	r值	P	r值	P	r值	P	r值	P	r值	P	r值	P
ET	-0.805	<0.001	-0.804	<0.001	0.931	<0.001	-0.798	<0.001	-0.773	<0.001	-0.839	<0.001	-0.724	<0.001	-0.756	<0.001
TTP	-0.592	<0.001	-0.605	<0.001	0.807	<0.001	-0.580	<0.001	-0.571	<0.001	-0.616	<0.001	-0.470	<0.001	-0.522	<0.001
WIR	0.906	<0.001	0.879	<0.001	-0.768	<0.001	0.900	<0.001	0.878	<0.001	0.885	<0.001	0.903	<0.001	0.918	<0.001

EIF4E:真核起始因子4E;E-cadherin:E-钙黏蛋白;UHRF1:泛素样含PHD和环指域蛋白1;VEGF:内皮生长因子;IGF-1:促生长因子;AMBP: α -1-微球蛋白-胰蛋白酶抑制剂前体;SE-CAD:可溶性E-钙黏蛋白

讨 论

胃癌是消化道常见恶性肿瘤之一,近年来我国发病率逐渐增高。血管新生是胃癌局部肿瘤恶性发展的重要特征,测定局部病灶组织内的微血管密度可获取其血管新生程度,进而确定病灶恶性发展程度。病灶血管新生检测方法多采用细胞组织活检法观察其微血管数量,过程复杂易出错,且会对患者造成二次伤害^[4]。近年来,双重超声造影逐渐运用于胃癌的诊断和血管新生评估,其可清晰显示局部病灶内的血流灌注情况。本研究通过分析超声造影参数与胃癌细胞侵袭基因 mRNA 和胃部新生血管组织间的关系,旨在探讨双重超声造影评估胃癌患者癌细胞侵袭和血管新生的临床应用价值。

正常生理状态下的胃腔含大量气体和黏液,胃壁无法形成清晰的反射面,导致超声无法成为胃部患者的常规检查手段。双重超声造影通过向胃腔内

静脉注射造影剂,消除胃腔内胃气和黏液,可较清晰地显示胃壁内各层次组织。超声造影参数 ET、TTP、WIR 表示病变组织内浸润侵袭程度,当局部病灶组织血管内的血流速度越快、流量越大,造影剂强化时间就越短,通过比较造影剂灌注情况可分析局部肿瘤细胞侵袭程度和血管新生情况^[5-6]。本研究选取 40 例胃癌患者作为观察对象,与健康对照组比较,胃癌患者的超声造影参数 ET、TTP 均降低,WIR 升高,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),表明双重超声造影能够反映胃癌病灶与正常组织间的差异。马林伟等^[7]发现,在疾病恶化进展过程中,胃癌病灶内出现大量新生血管,为病灶组织的恶性生物学行为提供营养支持,同时为病灶局部浸润和细胞远处转移提供物质支持。张海峰等^[8]发现,VEGF、IGF-1 作为肿瘤病灶内表达特异性最高的血管新生因子之一,是诱导增加促血管生长因子释放的关键因素。VEGF 可通过直接刺激血管内皮细胞诱导其大量生成血管结构;IGF-1 具有促

有丝分裂作用,可刺激细胞快速增殖。此外,AMBP、SE-CAD 等具有细胞侵袭功能的多种因子均具有促血管新生作用。本研究观察组 VEGF、IGF-1、AMBP、SE-CAD 均高于健康对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),表明胃癌患者局部肿瘤病灶内的血管新生程度显著增多,细胞侵袭程度显著升高。

基因特殊表达也是病灶内组织细胞病变的重要表现,如胃癌病灶内的 mRNA 基因 EIF4E、CD44、UHRF1 高表达及 E-cadherin 低表达,均是通过调控基因异常表达加快肿瘤细胞病变转移^[9]。本研究结果显示,观察组 EIF4E、CD44、UHRF1 水平均高于健康对照组,E-cadherin 水平低于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),表明胃癌恶化发展与细胞侵袭基因特殊表达有关,可作为胃癌病灶恶性发展的判断指标。本研究相关性分析发现,ET、TTP 与 E-cadherin 均呈正相关,与 EIF4E、CD44、UHRF1、VEGF、IGF-1、AMBP、SE-CAD 均呈负相关(均 $P < 0.05$);WIR 与 E-cadherin 呈负相关,与 EIF4E、CD44、UHRF1、VEGF、IGF-1、AMBP、SE-CAD 均呈正相关(均 $P < 0.05$)。提示双重超声造影参数 ET、TTP、WIR 与胃癌细胞侵袭、血管新生存在一定相关,与刘婕和贺海玲^[10]的研究结论一致。

综上所述,超声造影参数 ET、TTP、WIR 能准确评估胃癌患者癌细胞侵袭和血管新生,具有较好的临床应用价值。今后需进一步纳入不同分期胃癌患者进

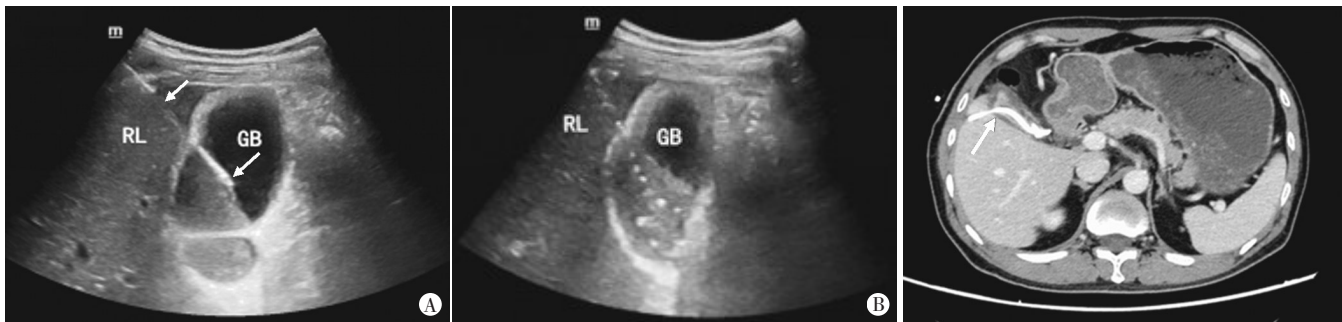
行超声造影对比分析,为临床治疗提供更加准确的参考依据。

参考文献

- [1] 谭蜀川,罗晓茂,李支尧.双重超声造影在胃癌术前评估中的价值[J].现代肿瘤医学,2018,26(4):600-603.
- [2] 杨琴.超声造影对胃癌患者病灶中癌细胞增殖、侵袭功能及血管新生程度的评估价值[J].海南医学院学报,2017,23(6):858-861,864.
- [3] 王金宏,许映斌,林腾,等.双重超声造影在评价胃癌血管生成中的应用价值[J].中国医师杂志,2018,20(6):812-815.
- [4] Sperandeo M, Rea G, Grimaldi MA, et al. Contrast-enhanced ultrasound does not discriminate between community acquired pneumonia and lung cancer[J].Thorax, 2017, 72(2): 178-180.
- [5] 刘巧遇.肿瘤血管生成拟态的分子病理和影像学研究进展[J].放射学实践,2019,34(5):565-568.
- [6] 李学勤,徐克.肿瘤相关成纤维细胞促进肿瘤侵袭转移的作用机制[J].中国生物化学与分子生物学报,2019,35(4):386-392.
- [7] 马林伟,徐红涛,戴小丽,等. α -倒捻子素对 MKN45 胃癌细胞增殖、迁移、侵袭和血管生成的影响及其作用机制[J].重庆医科大学学报,2017,42(11):1426-1432.
- [8] 张海峰,赵杨,刘莎莎,等.IGF-1、IGF-1R 及 VEGF 在胃癌中的表达及其与浸润转移的关系[J].标记免疫分析与临床,2018,25(3):360-364.
- [9] 饶慕圣,曹胜华,徐兴东,等.肿瘤细胞主导的血管生成拟态与肿瘤侵袭转移[J].国际外科学杂志,2019,46(1):60-63.
- [10] 刘婕,贺海玲.胃癌超声造影参数 ET、TTP 水平与血管新生指标的相关性研究[J].实用癌症杂志,2018,33(11):1767-1769.

(收稿日期:2020-07-27)

(上接第 174 页)



A:超声引导下将 17 G 穿刺针(箭头示)刺入胆囊腔内,抽吸出脓性胆汁后置入导丝,沿导丝置入 8.5 F 猪尾引流管;B:置管后可见引流管回声,抽出脓液后胆囊体积较抽吸前变小。GB:胆囊,RL:右肝

图 3 超声引导下经皮经肝胆囊穿刺置管引流术示意图

图 4 增强 CT 示胆囊造瘘术后胆囊体积变小,可见引流管(箭头示)

均较高^[1]。超声是临床首选的诊断胆囊穿孔的影像学检查方法。然而,胆囊穿孔的临床症状缺乏特异性,且由于穿孔部位、缺损大小和病程不同,声像图表现复杂,因此,常规超声术前诊断准确率较低。超声造影近年已用于评估胆囊疾病,包括鉴别胆囊肿瘤及评价胆囊壁的完整性等^[2],超声造影动脉相早期显示,胆囊壁快速增强为带状高回声,与周围组织回声有明显差异,提高了胆囊壁的显示率。本例超声造影清晰显示胆囊壁的血供及其完整性,及时、准确地判断了胆囊穿孔,并于超声引导下经皮经肝胆囊穿刺置管引流,迅速缓解了患者症状,防止病情恶化。综上所述,超声造影可为急性胆囊炎是否合并胆囊

穿孔提供重要信息,动脉相高增强的囊壁连续性中断是胆囊穿孔的直接征象。超声引导下穿刺置管引流具有操作便捷、创伤小、安全、有效的优势,具有较好的临床应用价值。

参考文献

- [1] 吴在德,吴肇汉.外科学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2005:583-584.
- [2] Gerstenmaier JF, Hoang KN, Gibson RN. Contrast-enhanced ultrasound in gallbladder disease: a pictorial review [J]. Abdom Radiol(NY), 2016, 41(8): 1640-1652.

(收稿日期:2020-10-31)