

胃充盈超声检查联合血清学指标在胃癌术前 TNM 分期中的应用价值

谢允虎 陈建峰 吴海明 程秋莹 朱彩霞

摘要 **目的** 探讨胃充盈超声检查(FUS)联合血清学指标基质金属蛋白酶-7(MMP-7)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)在术前筛查不同分期胃癌中的应用价值。**方法** 82例胃癌患者均行血清MMP-7、MMP-9及FUS检查,分析不同分化程度、不同浸润深度及不同肿瘤淋巴结转移情况胃癌患者的MMP-7、MMP-9表达。以病理活检和《国际抗癌联盟及美国肿瘤联合会胃癌TNM分期系统(第8版)》为标准,绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析FUS、MMP-7、MMP-9及其联合应用对TNM分期的诊断效能。**结果** 不同TNM分期患者MMP-7、MMP-9比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),且各分期间两两比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。低分化胃癌患者MMP-7、MMP-9阳性率高于中、高分化患者,淋巴结转移患者MMP-7、MMP-9阳性率高于无转移患者,浸润深度处于肌层/浆膜层患者MMP-7、MMP-9阳性率高于处于黏膜/黏膜下层患者,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。ROC曲线分析显示,FUS、MMP-7、MMP-9联合应用诊断TNM分期的曲线下面积分别为0.993、0.993、0.948,均高于三者单独应用,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);联合应用的诊断敏感性、特异性、准确率亦高于三者单独应用(均 $P<0.05$)。**结论** FUS联合MMP-7、MMP-9可提高对术前胃癌分期的准确性,具有较好的临床应用价值。

关键词 胃充盈超声检查;基质金属蛋白酶-7;基质金属蛋白酶-9;胃癌;分期

[中图法分类号]R445.1;R735

[文献标识码]A

Application value of gastric filling ultrasound combined with serological indicators in preoperative TNM staging of gastric cancer

XIE Yunhu, CHEN Jianfeng, WU Haiming, CHENG Qiuying, ZHU Caixia

Department of Gastrointestinal Hernia Surgery, Yiwu Central Hospital, Zhejiang 322000, China

ABSTRACT **Objective** To investigate the application value of gastric filling ultrasound (FUS) combined with serological indicators matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in preoperative screening of different stages of gastric cancer. **Methods** Serum MMP-7, MMP-9 and FUS tests were performed in 82 patients with gastric cancer, the expressions of MMP-7 and MMP-9 in different degrees of the differentiation, the different depth of tumor invasion, and the expression in lymph node metastasis in patients with gastric cancers were analyzed. ROC curve was drawn to analyze the diagnostic efficacy of FUS, MMP-7, MMP-9 and their combined application on TNM staging according to pathology and "International Anti-Cancer Alliance and American Cancer Federation TNM Staging System (8th Edition)". **Results** There were statistically significant differences in the expressions of MMP-7 and MMP-9 in patients with different TNM stages, and there were statistically significant differences in two at each stage (all $P<0.05$). The positive rates of MMP-7 and MMP-9 in poorly differentiated gastric cancer patients were higher than those in moderately and highly differentiated gastric cancer patients (all $P<0.05$), the positive rates of MMP-7 and MMP-9 in patients with lymph node metastasis were higher than those in patients without lymph node metastasis (all $P<0.05$), the positive rates of MMP-7 and MMP-9 in patients with muscle/serous infiltration depth were higher than those in patients with mucosal/submucosal infiltration depth (all $P<0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve of FUS, MMP-7, MMP-9 combined application in the diagnosis of TNM staging were 0.993, 0.993, 0.948, respectively, which were higher than those of the three applications alone, and the differences were statistically significant

(all $P < 0.05$). The sensitivity, specificity and accuracy of the combined application were higher than those of the three alone (all $P < 0.05$). **Conclusion** FUS combined with MMP-7 and MMP-9 can improve the accuracy of preoperative gastric cancer staging, and has good clinical application value.

KEY WORDS Gastric filling ultrasound; Matrix metalloproteinase-7; Matrix metalloproteinase-9; Gastric cancer; Staging

胃癌主要源于胃黏膜上皮细胞,以往临床多选择超声内镜作为其主要检查方式,通过超声引导确保内镜直达靶器官,以了解病灶浸润深度和淋巴结转移情况,但其在判断时存在误差,且适用人群较为局限^[1]。胃充盈超声检查(FUS)可探查病灶,清晰显示胃壁结构层次和厚度,了解淋巴结转移情况,在胃癌术前分期诊断中具有较高价值^[2]。但肿瘤浸润和转移是一个复杂连续的过程,关联到宿主细胞和肿瘤细胞相互作用,涉及血管形成、细胞迁移、蛋白质水解、细胞间黏附等,其中细胞外基质在肿瘤侵袭、转移评估中有关键作用^[3]。基质金属蛋白酶-7(MMP-7)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)是较为重要的两种降解胶原纤维酶类,可促进肿瘤细胞对周围组织浸润,但其在胃癌分期中的价值尚未明确。本研究旨在探讨FUS联合MMP-7、MMP-9在术前筛查不同分期胃癌中的应用价值。

资料与方法

一、研究对象

选取2018年2月至2020年2月我院经病理证实的胃癌患者82例,其中男42例,女40例,年龄42~78岁,平均 (59.65 ± 11.86) 岁;均为单发,病灶直径0.7~4.2 cm,位于贲门13例,胃体20例,胃窦49例。临床表现为大便性状改变、反酸、嗝气、腹痛、腹胀及消化不良等。排除标准:①伴血液系统、免疫系统疾病者;②伴严重基础病,无法进行手术者;③正在进行抗凝治疗或存在活动性出血倾向者;④有胃肠道梗阻或穿孔者;⑤相关禁忌症。本研究经我院医学伦理委员会批准,所有患者均知情同意。

二、仪器与方法

1. FUS检查:使用迈瑞DC-8彩色多普勒超声诊断仪,凸阵探头,频率2.5~5.0 MHz。患者检查前禁食禁饮8 h,将50 g速溶胃肠超声助显剂(生产厂家:湖州东亚医药用品有限公司)与500 ml温开水混合均匀,冷却后均匀饮服400 ml,剩余100 ml一口饮服,立即探查贲门。1~5 min后患者取右侧卧位和仰卧位,必要时取胸膝位、左侧位、坐卧位,插入超声胃镜至十二指肠降部,发现病灶后放大图像,仔细观察胃周、胃壁层次

结构和腹腔情况,以及病变部位、数目、大小形态、回声特征、浸润深度及有无淋巴结转移。胃癌判定标准^[4]:病灶处胃壁结构紊乱,可见增厚与隆起,呈低回声,常有斑点状强回声附着。

2. 实验室检查:在胃镜引导下确定病变位置,切除标本后制成切片,使用链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶免疫组化染色法检测MMP-7、MMP-9表达量。患者于空腹状态下抽取静脉血,使用双抗夹心ELISA法检测血清MMP-7、MMP-9,试剂盒由上海康朗生物科技有限公司提供,所有操作均按说明书进行。

3. 胃癌分期标准参考《国际抗癌联盟及美国肿瘤联合会胃癌TNM分期系统(第8版)》^[5],T分期分为T1~T4期;N分期分为N0~N3期;M分期分为M0和M1期。

4. 观察指标:①分析不同分化程度、不同浸润程度及不同淋巴结转移情况胃癌患者的MMP-7、MMP-9表达,细胞浆内或细胞膜上出现棕黄色或黄色颗粒判为阳性^[6];②以病理检查结果为标准,分析FUS、MMP-7、MMP-9及其联合对TNM分期的诊断准确率;③分析不同胃癌分期患者MMP-7、MMP-9的差异。

三、统计学处理

应用SPSS 20.0统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较行 t 检验;计数资料以例或率表示,行 χ^2 检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析FUS、MMP-7、MMP-9及其联合对TNM分期的诊断效能,计算曲线下面积(AUC),行 Z 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、胃癌患者TNM分期情况

82例患者中,T分期:T0期11例,T1期16例,T2期20例,T3期25例,T4期10例;N分期:N0期11例,N1期25例,N2期30例,N3期16例;M分期:M0期11例,M1期71例。

二、超声对不同分期胃癌的检查情况

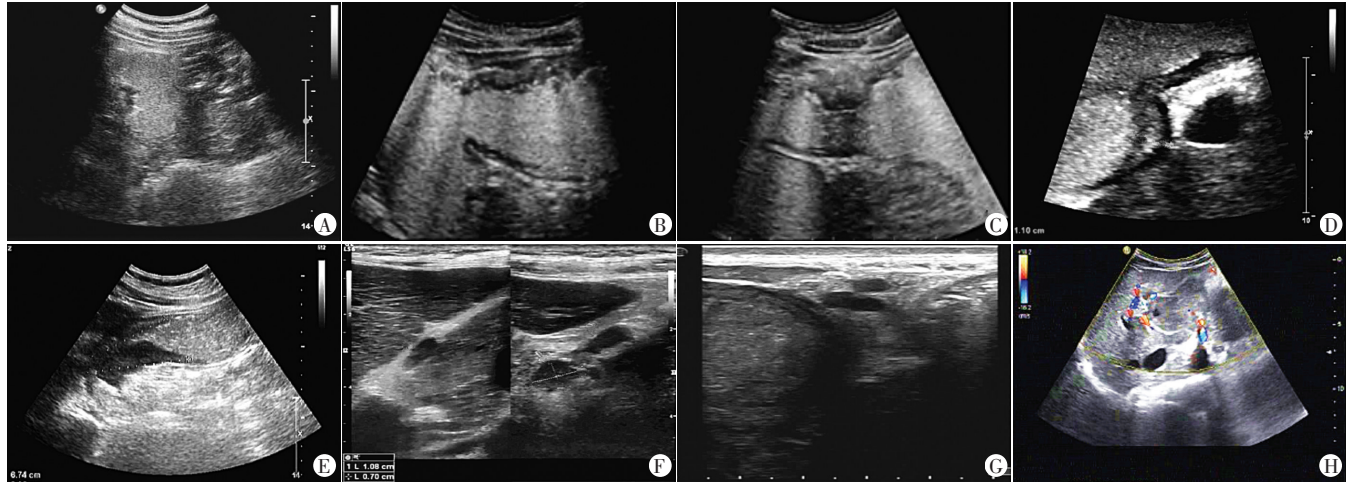
胃癌TNM不同分期超声检查图像见图1。早期胃癌声像图表现为不规则隆起或凹陷,胃壁黏膜局限性增厚,黏膜上皮连续性可有中断,动态观察胃蠕动时,局部无明显变化,胃腔无狭窄。浸润深度:肌层/浆膜层

55 例,黏膜/黏膜下层 27 例;淋巴结转移情况:63 例存在淋巴结转移(其中 33 例转移至幽门下,27 例转移至腹腔动脉,3 例转移至主动脉周围),19 例无淋巴结转移。

三、MMP-7、MMP-9 在不同表现胃癌患者中的表达情况

低分化胃癌患者 MMP-7、MMP-9 阳性率高于中

分化和高分化患者($\chi^2=12.793$ 、 5.864 , 均 $P<0.05$);淋巴结转移患者 MMP-7、MMP-9 阳性率高于无淋巴结转移患者($\chi^2=38.110$ 、 29.450 , 均 $P<0.05$);浸润深度处于肌层/浆膜层患者 MMP-7、MMP-9 阳性率高于处于黏膜/黏膜下层患者($\chi^2=5.727$ 、 5.425 , 均 $P<0.05$)。见表 1。



A: T0 期,胃原位癌;B: T1 期,浸润局限于黏膜下层;C: T2 期,浸润及固有层;D: T3 期,直接侵及浆膜下层;E: T4 期,穿透浆膜,累及范围超过 1 个分区;F: N0 期,未见淋巴结转移;G: N2 期,可见 4 个转移性淋巴结;H: M1 期,肿瘤远处转移,侵及肝左叶

图 1 胃癌 TNM 不同分期超声图像

表 1 MMP-7、MMP-9 在不同表现胃癌患者中的表达情况

不同表现	例数	MMP-7		MMP-9	
		阳性	阴性	阳性	阴性
分化程度					
高分化	17	7	10	8	9
中分化	30	20	10	21	9
低分化	35	31	4	28	7
淋巴结转移					
有	63	54	9	52	11
无	19	2	17	3	16
浸润深度					
肌层/浆膜层	55	50	5	51	4
黏膜/黏膜下层	27	19	8	20	7

四、不同胃癌分期患者 MMP-7、MMP-9 指标比较

T0~T4 期患者 MMP-7、MMP-9 比较差异均有统计学意义($F=36.410$ 、 146.029 , 均 $P<0.05$),各分期间两两比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);N0~N3 期患者 MMP-7、MMP-9 比较差异均有统计学意义($F=107.769$ 、 253.250 , 均 $P<0.001$),各分期间两两比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);M0、M1 期患者 MMP-7、MMP-9 比较差异均有统计学意义($t=5.843$ 、 18.250 , 均 $P<0.001$)。见表 2~4。

三、诊断效能分析

表 2 不同 T 分期胃癌患者 MMP-7、MMP-9 比较($\bar{x}\pm s$)

分期	MMP-7	MMP-9
T0 期	25.45±3.33 ^{▼▽}	168.49±12.27 ^{▼▽}
T1 期	32.56±4.16 ^{▼▽}	210.96±16.75 ^{▼▽}
T2 期	33.98±5.82 [▼]	238.95±18.16 [▼]
T3 期	46.73±6.32 [▼]	316.65±22.16 [▼]
T4 期	58.79±8.77 ^{▼▽}	396.53±28.44 ^{▼▽}

与 T0 期比较, $^*P<0.05$; 与 T1 期比较, $^{\#}P<0.05$; 与 T2 期比较, $^{\nabla}P<0.05$; 与 T3 期比较, $^{\nabla}P<0.05$ 。MMP-7: 基质金属蛋白酶-7; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9

表 3 不同 N 分期胃癌患者 MMP-7、MMP-9 比较($\bar{x}\pm s$)

分期	MMP-7	MMP-9
N0 期	24.13±3.59 [▼]	175.96±15.65 [▼]
N1 期	30.79±4.11 [▼]	279.68±20.16 [▼]
N2 期	43.86±5.69 [▼]	352.66±22.49 [▼]
N3 期	56.98±7.86 [▼]	386.46±26.95 [▼]

与 N0 期比较, $^*P<0.05$; 与 N1 期比较, $^{\#}P<0.05$; 与 N2 期比较, $^{\nabla}P<0.05$ 。MMP-7: 基质金属蛋白酶-7; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9

FUS、MMP-7、MMP-9 及其联合对 TNM 分期的诊断效能见表 5 和图 2~4。FUS、MMP-7、MMP-9 联合应用诊断 T 分期的 AUC 为 0.993, 均高于三者单独应用($Z=2.789$ 、 3.273 、 3.021 , $P=0.006$ 、 0.001 、 0.002); FUS、

MMP-7、MMP-9 联合应用诊断 N 分期的 AUC 为 0.993, 均高于三者单独应用 ($Z=2.712, 3.456, 3.381, P=0.006, 0.004, 0.006$); FUS、MMP-7、MMP-9 联合应用诊断 M 分期的 AUC 为 0.948, 均高于三者单独应用 ($Z=2.346, 2.761, 2.847, P=0.018, 0.004, 0.004$)。FUS、MMP-7、MMP-9 联合应用诊断 TNM 分期的敏感性、特异性、准确率均高于三者单独应用, 差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$)。

表 4 不同 M 分期胃癌患者 MMP-7、MMP-9 比较 ($\bar{x} \pm s$)

分期	MMP-7	MMP-9
M0 期	25.13 $\pm$ 2.11	170.33 $\pm$ 16.68
M1 期	42.65 $\pm$ 9.86*	315.26 $\pm$ 25.43*

与 M0 期比较, * $P<0.05$ 。MMP-7: 基质金属蛋白酶-7; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9

表 5 FUS、MMP-7、MMP-9 及其联合对胃癌患者 TNM 分期的诊断效能

变量	AUC	标准误	P 值	95% 可信区间		约登指数	敏感性(%)	特异性(%)	准确率(%)
				下限	上限				
T分期									
FUS	0.741	0.090	0.011	0.564	0.917	0.481	84.51	63.64	84.51
MMP-7	0.681	0.095	0.054	0.496	0.867	0.362	81.69	54.55	81.69
MMP-9	0.720	0.090	0.020	0.543	0.896	0.439	80.28	63.64	80.28
联合应用	0.993	0.008	0.000	0.977	1.000	0.986	98.59	100	98.59
N分期									
FUS	0.748	0.090	0.008	0.571	0.924	0.495	85.92	63.64	85.92
MMP-7	0.667	0.094	0.076	0.482	0.852	0.334	78.87	54.55	78.87
MMP-9	0.674	0.094	0.064	0.489	0.859	0.348	77.46	54.55	77.46
联合应用	0.993	0.008	0.000	0.977	1.000	0.986	98.59	100	98.59
M分期									
FUS	0.695	0.095	0.038	0.509	0.881	0.390	84.51	54.55	84.51
MMP-7	0.643	0.098	0.129	0.452	0.834	0.286	83.10	45.45	83.10
MMP-9	0.636	0.097	0.149	0.445	0.826	0.272	81.69	45.45	81.69
联合应用	0.948	0.051	0.000	0.847	1.000	0.895	98.59	90.91	98.59

AUC: 曲线下面积

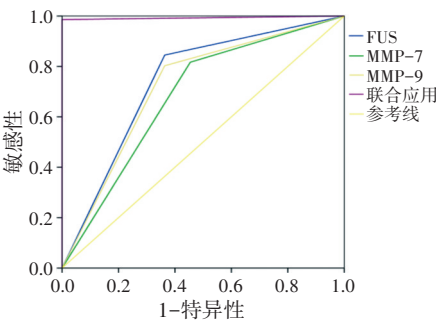


图 2 FUS、MMP-7、MMP-9 及其联合诊断胃癌患者 T 分期的 ROC 曲线图

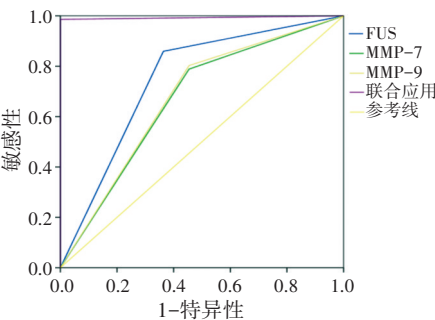


图 3 FUS、MMP-7、MMP-9 及其联合诊断胃癌患者 N 分期的 ROC 曲线图

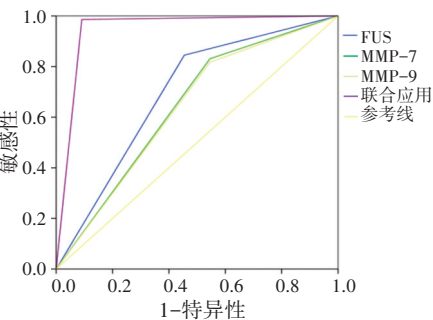


图 4 FUS、MMP-7、MMP-9 及其联合诊断胃癌患者 M 分期的 ROC 曲线图

讨论

目前, 临床多使用超声内镜检查胃癌, 虽可获取淋巴结、邻近组织、胃壁层次等信息, 但无法全面观察胃壁, 不利于观察黏膜下层, 且费用较高, 操作复杂。FUS 具有方便、无痛、性价比高等优势, 可利用助显剂充盈胃肠腔, 清晰显示病变部位、大小及侵犯胃壁层次, 准确评估胃壁脏器转移及相邻淋巴结、组织等情况^[7]。有学者^[8]发现恶性肿瘤最重要的特征为转移和

侵袭, 在发病过程中可影响细胞外基质、宿主细胞、肿瘤细胞。MMP 属于细胞外基质降解酶, 可降解细胞外基质所有成分, 其是否影响肿瘤转移、侵袭已成为当前研究热点。

MMP 主要依赖 Zn^{2+} 蛋白酶家族, 由肿瘤细胞、巨噬细胞、中心粒细胞、纤维母细胞分泌而成, 在人体组织内分布较广, 可调节细胞与细胞、细胞与基质间的信号, 调控肿瘤新生血管形成, 影响肿瘤细胞生长^[9]。MMP-9 以酶原形式分泌, 激活后可降解 V 型胶原和

IV型胶原,破坏基底膜完整性,为侵入淋巴管、血管及浸润走位组织创造有利条件^[10];MMP-7能够降解细胞外基质中的IV型胶原纤维、纤维连接素、蛋白多糖、弹力纤维及多种抑制肿瘤转移的跨膜蛋白,促进肿瘤细胞在微环境中移行,削弱肿瘤细胞与间质之间的粘合力^[11]。本研究中,低分化胃癌患者MMP-7、MMP-9阳性率均高于中、高分化患者(均 $P<0.05$),提示MMP在胃癌发生发展中可能具有重要作用,阳性检出率可作为胃癌的敏感性指标之一。本研究结果还显示,淋巴结转移和肿瘤浸润深度处于肌层/浆膜层患者的MMP-7、MMP-9阳性率均高于无淋巴结转移和浸润深度处于黏膜/黏膜下层患者,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),说明MMP-7、MMP-9阳性率随着疾病严重程度上升,原因是肿瘤细胞可通过膜粘分子或可溶介质与间质细胞进行信息交换,调节基质金属蛋白酶,使其在肿瘤细胞侵袭中发挥重要作用。此外,本研究结果发现不同TNM分期患者MMP-7、MMP-9比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),且各分期间两两比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),说明MMP-7、MMP-9参与了胃癌发生、侵袭转移过程,其表达量随胃癌分期、病情程度而出现不同程度改变。

FUS利用助显剂充盈胃肠腔,可清晰显示胃壁结构、病变部位、大小、胃壁侵犯程度等,并能评估相邻淋巴结、组织及脏器转移情况^[12]。本研究结果显示,FUS对TNM分期的诊断准确率稍高于实验室检查结果,但差异无统计学意义,原因可能为FUS可利用局部放大技术全面观察病灶,动态、实时评估血流灌注情况,有助于对疾病的准确诊断。但FUS仍存在漏误诊率,故需选择联合技术。本研究结果显示,FUS、MMP-7、MMP-9联合应用对TNM分期的诊断准确率均高于单一方法的应用,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),分析因为FUS能够利用造影剂观察病灶内部和周围的灌注、微循环情况,更清晰地显示病灶轮廓与浸润程度^[13]。ROC曲线分析显示,FUS、MMP-7、MMP-9联合应用诊断TNM分期的AUC分别为0.993、0.993、0.948,均高于三者单独应用(均 $P<0.05$),说明FUS、MMP-7、MMP-9联合应用不仅能够定位病变位置,还可预测肿瘤转移、浸润等情况,为临床分期提供科学依据。血清学检测虽具有依从性好、检测时间短、费用低、取材方便等优势,但应用单一指标无法准确定位病变位置,而FUS单独应用会因脂肪层较多、胃壁浆膜层高回声与邻近组织难区别等因素出现误诊,故

将两者联合应用能起到互补作用,为临床提供新的诊断和评估方向。与文献^[14]报道结论一致。

综上所述,FUS联合MMP-7、MMP-9能够提高对胃癌浸润、转移等情况的诊断准确率,在胃癌分期评估中具有较好价值。但本研究样本量较少,今后需扩大样本量进一步分析。

参考文献

- [1] 刘哲峰,李唯,滕伟,等.多层螺旋CT联合血清MMP-9、CD147检测在结肠癌术前分期的应用观察[J].实用放射学杂志,2020,36(3):414-417.
- [2] Han C, Lin R, Shi H, et al. The role of endoscopic ultrasound on the preoperative T staging of gastric cancer: a retrospective study [J]. Medicine, 2016, 95(36):4580.
- [3] 张健锋,耿静,倪润洲,等.超声内镜弹性成像对胃癌术前淋巴结分期的诊断价值[J].江苏医药,2019,45(7):656-659.
- [4] 曹辉,彭月享,高卫元,等.胃充盈超声与超声内镜用于老年胃癌术前分期的对照研究[J].现代消化及介入诊疗,2019,24(3):102-105.
- [5] 陕飞,李子禹,张连海,等.国际抗癌联盟及美国肿瘤联合会胃癌TNM分期系统(第8版)简介及解读[J].中国实用外科杂志,2017,37(1):15-17.
- [6] 王一波,汤黎明.MMP-2、MMP-7和MMP-14在胃癌患者组织中表达的临床意义[J].实用临床医药杂志,2015,19(15):44-48.
- [7] Burlaka AP, Ganusevich II, Gafurov MR, et al. Stomach cancer: interconnection between the redox state, activity of MMP-2, MMP-9 and stage of tumor growth [J]. Cancer Microenviron, 2016, 9(1):27-32.
- [8] 姚秀蕾,张天艳,陈朝云,等.320排容积CT扫描与超声双重造影在胃癌患者术前分期中的应用比较[J].中国CT和MRI杂志,2020,18(1):125-127.
- [9] 杨江民,付长海,马新福.联合检测血清CRP、PCT及MMP-9在胃癌术后吻合口瘘早期诊断中的应用价值[J].河北医药,2020,42(3):370-373.
- [10] 杜昕,曲泽,赵选忠,等.miRNA-126和PIK3CG及MMP-7在胃癌组织中的表达及其相关性[J].中国现代普通外科进展,2020,23(3):56-59.
- [11] 郭小刚,李东,黄自铎.GDF15和MMP7的表达与胃癌临床病理特征及其预后的相关性[J].山西医科大学学报,2019,50(2):74-78.
- [12] 崔岩,申文凤,张丽娟.超声胃肠充盈造影用于评估胃癌术前分期的预测价值[J].内蒙古医科大学学报,2020,42(1):38-40.
- [13] 郭燕鑫,徐张英.胃超声造影与超声内镜对胃癌术前分期诊断对比研究[J].医学影像学杂志,2017,27(9):1832-1835.
- [14] 张超贤,郭李柯.超声内镜结合血清基质金属蛋白酶7和9表达对胃癌术前分期的临床意义[J].中山大学学报(医学科学版),2015,36(4):590-598.

(收稿日期:2020-12-14)