

# 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

张超贤<sup>1</sup>, 郭李柯<sup>2</sup>

(新乡医学院第一附属医院 1.消化内科,2.口腔科,河南 卫辉 453100)

**摘要:**【目的】探讨超声内镜(EUS)结合血清基质金属蛋白酶-7(MMP-7)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)表达对胃癌术前分期的临床价值。【方法】500例胃癌患者术前行胃镜和EUS检查并进行术前分期,同时运用ELISA法检测术前MMP-7和MMP-9血清水平,并与术后病理分期比较。【结果】EUS对胃癌侵犯深度各期判断的敏感性(特异性)分别为:T<sub>1</sub>93.7%(92.2%)、T<sub>2</sub>67.8%(65.6%)、T<sub>3</sub>78.4%(80.6%)、T<sub>4</sub>91.5%(90.5%),总准确率为80.2%,对淋巴结转移各期判断的敏感性(特异性)分别为:N<sub>0</sub>89.4%(80.8%)、N<sub>1</sub>63.8%(74.1%)、N<sub>2</sub>88.7%(92.6%)、N<sub>3</sub>82.8%(73.9%),总准确率为83.0%,血清MMP-7和MMP-9表达水平与胃癌组织浸润程度、淋巴结转移和病理分期关系密切( $P < 0.05$ ),联合EUS和MMP-7和MMP-9对胃癌侵犯深度各期判断的敏感性(特异性)分别为:T<sub>1</sub>93.7%(92.2%)、T<sub>2</sub>88.4%(93.9%)、T<sub>3</sub>94.6%(92.5%)、T<sub>4</sub>91.5%(90.5%),总准确率为92.4%,对淋巴结转移各期判断的敏感性(特异性)分别为:N<sub>0</sub>97.9%(97.9%)、N<sub>1</sub>88.3%(93.3%)、N<sub>2</sub>95.3%(94.4%)、N<sub>3</sub>92.9%(90.2%),总准确率为94.0%,联合EUS和MMP-7和MMP-9对胃癌侵犯深度和淋巴结转移判断的准确率明显高于EUS分期准确率。【结论】胃癌的病理分期与血清MMP-7和MMP-9表达密切相关,EUS联合术前检测MMP-7和MMP-9血清水平,有利于提高对胃癌浸润转移判断的准确性。

**关键词:** 超声内镜;胃癌;血清基质金属蛋白酶-7(MMP-7);基质金属蛋白酶-9(MMP-9)

中图分类号:R735.2

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2015)04-0590-09

## Expression of Matrix Metalloproteinases-7 and Matrix Metalloproteinases-9 in Serum in Preoperative Staging of Gastric Carcinoma

ZHANG Chao-xian<sup>1</sup>, GUO Li-ke<sup>2</sup>

(1.Department of Gastroenterology; 2.Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, China)

Corresponding to: GUO Li-ke, E-mail:ZHANG Chao-xian, E-mail:975zh@aliyun.com

**Abstract:** 【Objective】 To explore the clinical value of endoscopic ultrasonography combined with the expression of matrix metalloproteinases-7 (MMP-7) and matrix metalloproteinases-9 (MMP-9) in serum in preoperative staging of gastric carcinoma. 【Methods】 500 patients with gastric carcinoma were diagnosed by electric gastroscopy and EUS. The preoperative staging of gastric carcinoma was measured by EUS and compared by pathologic staging and the expression of MMP-7, MMP-9 in serum. The serum levels of MMP-7 and MMP-9 in 500 patients with gastric carcinoma were measured with the methods of ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). 【Results】 The sensitivity (or specificity) of EUS in estimating invasive depth of gastric carcinoma were T<sub>1</sub> 93.7% (92.2%), T<sub>2</sub> 67.8% (65.6%), T<sub>3</sub> 78.4% (80.6%) and T<sub>4</sub> 91.5% (90.5%), while the total accuracy rates of T stage by EUS were 80.2%. The sensitivity (or specificity) of EUS in estimating lymphatic metastasis of gastric carcinoma were N<sub>0</sub> 89.4% (80.8%), N<sub>1</sub> 63.8% (74.1%), N<sub>2</sub> 88.7% (92.6%) and N<sub>3</sub> 82.8% (73.9%), while the total accuracy rate of N stage by EUS was 83.0%. The expression levels of MMP-7 and MMP-9 in serum were closely correlative with invasive degree, lymphatic metastasis, pathologic

收稿日期:2014-12-09

作者简介:张超贤,副主任医师,副教授,研究方向:消化系统肿瘤的临床诊治,E-mail:975zh@aliyun.com

staging in gastric carcinoma ( $P < 0.05$ ). The sensitivity (or specificity) of combining EUS and MMP-7, MMP-9 in estimating invasive depth of gastric carcinoma were T<sub>1</sub> 93.7% (92.2%), T<sub>2</sub> 88.4% (93.9%), T<sub>3</sub> 94.6% (92.5%) and T<sub>4</sub> 91.5% (90.5%), while the total accuracy rate of T stage by EUS combined with the expression of MMP-7 and MMP-9 was 92.4%. The sensitivity (or specificity) of combining EUS and MMP-7, MMP-9 in estimating lymphatic metastasis of gastric carcinoma were N<sub>0</sub> 97.9% (97.9%), N<sub>1</sub> 88.3% (93.3%), N<sub>2</sub> 95.3% (94.4%) and N<sub>3</sub> 92.9% (90.2%), while the total accuracy rate of N stage by EUS combined with the expression of MMP-7 and MMP-9 was 94.0%. The total accuracy rate of combining EUS and MMP-7, MMP-9 in estimating invasive depth (or lymphatic metastasis) of gastric carcinoma was significantly higher than that of EUS. 【Conclusions】 MMP-7 and MMP-9 serum levels are closely correlated to pathologic staging of gastric carcinoma, so combining EUS and MMP-7, MMP-9 can increase the accuracy rate to decide the invasion and metastasis in the patients with gastric carcinoma.

**Key words:** endoscopic ultrasonography; gastric carcinoma; matrix metalloproteinases-7 (MMP-7); matrix metalloproteinases-9 (MMP-9)

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2015, 36(4): 590-598]

胃癌是源自胃黏膜上皮细胞的恶性肿瘤,占胃恶性肿瘤的95%。胃癌在我国发病率很高,死亡率占恶性肿瘤的第一位,正确的胃癌术前分期对选择治疗方案和评价预后有重要的指导意义<sup>[1]</sup>。超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)是将超声探头在内镜直视下到达靶器官进行近距离探查,从而避免了体表超声探查时遇空气等干扰的缺陷,此时靶器官的图像与结构更为清晰。超声内镜不但可以显示消化道壁的层次结构,还可以扫查消化道壁外组织结构,能对消化道肿瘤浸润深度、扩散方向、邻近压迫、淋巴结转移等作出正确的术前判断<sup>[2]</sup>,但EUS对判断癌浸润深度和淋巴结转移存在着分期过度或分期不足。肿瘤发生浸润和转移是一个复杂的肿瘤细胞与宿主细胞间相互作用的连续过程,涉及细胞间黏附、蛋白质水解、细胞迁移以及血管形成等步骤。在肿瘤侵袭过程中,肿瘤细胞要多次穿越基底膜(basement membrane, BM)并侵入周围组织,因此对细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解成为肿瘤侵袭转移的一个关键步骤<sup>[3]</sup>。目前,研究者已发现了多种针对ECM的不同成分发挥作用的酶类,基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinases-7, MMP-7)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases-9, MMP-9)是两种重要的降解胶原纤维酶类,他们通过对ECM的降解而促进肿瘤细胞对周围组织的浸润。国内外大量研究表明胃癌组织MMP-7和MMP-9表达与胃癌生物学行为、EUS分期及病理分期密切相关<sup>[4-7]</sup>,但尚未见EUS联合血清MMP-7和MMP-9表达判断胃癌术前分期的报道,本研究旨在探讨EUS联合血清MMP-7和MMP-9的

检测在胃癌术前诊断及分期的意义。

## 1 材料与方 法

### 1.1 研究对象

选取2009年7月至2013年6月经胃镜活检证实为胃癌的患者500例,且均于术前2周内行EUS检查。其中男273例,女227例,年龄29~76(57.6 ± 13.2)岁,病灶位于胃窦254例,胃体132例,贲门114例,胃癌组织包括腺癌408例(其中高分化164例、中分化169例和低分化67例)、印戒细胞癌57例和35例未分化癌。

### 1.2 EUS 检查

采用OLYMPUS-UM2000超声内镜和UM-DPI2-25R、UM-DP20-25R超声探检查,超声频率分别为5.0、12和20MHz,患者空腹,取左侧卧位,必要时变换体位。首先观察病变部位、形态和大小。然后经内镜向胃内注入无气水约250~500mL至胃腔充盈,使胃黏膜皱襞充分展开。移动超声内镜和或超声探头检查病变处及邻近胃壁的层次结构并沿胃小弯侧、前后壁、大弯侧依次探查胃周淋巴结。EUS对正常胃壁检查分层<sup>[8,9]</sup>:EUS对正常胃壁可显示5层结构:经与组织学对比,可确定第1层高回声和第2层低回声为黏膜层,第3层为高回声即黏膜下层,第4层低回声为肌层,第5层高回声是浆膜层。侵犯深度(T分期)的诊断标准:T<sub>1</sub>期:病变局限于黏膜层和黏膜下层癌,第1、2层增厚,欠规则,第3层连续性好;T<sub>2</sub>期:第3层中断,第4层不规则增厚,但第五层光滑无断裂;T<sub>3</sub>期:第5层向外突出,高低不平;T<sub>4</sub>期:临近结构

受侵犯,包括食管、十二指肠及胰腺。EUS 判断胃周围淋巴结转移的标准是以淋巴结大小、形态及回声情况判断转移与否。把直径大于 1 cm、类圆形、边缘锐利、低回声,认为是转移淋巴结,而高回声、直径小于 1 cm、边缘模糊的淋巴结认为是正常淋巴结。胃周围淋巴结转移(N 分期)的诊断标准: $N_0$ :无区域淋巴结转移; $N_1$ :1-2 个区域性淋巴结转移; $N_2$ :3-6 个区域性淋巴结转移; $N_3$ :7 个以上区域性淋巴结转移。

### 1.3 血清 MMP-7 和 MMP-9 的检测

500 例胃癌患者均于手术前采血。清晨空腹抽取外周静脉血 4 mL,高速(2 000 r/min,  $r = 8$  cm)离心 10 min,用移液器小心吸取分离的血清至 EP 离心管中,编号密封放置于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存待测。双抗体夹心 ELISA 法检测血清 MMP-7 和 MMP-9,试剂盒由 Bio Mart 公司(中国上海)生产。实验操作严格按照试剂盒说明书进行。

### 1.4 EUS 联合血清 MMP-7、MMP-9 对胃癌的分期

1.4.1 对侵犯深度(T 分期)的诊断标准  $T_1$  期 EUS 诊断为  $T_1$  期; $T_2$  期:EUS 诊断为  $T_2$  期,且血清学检查至少满足:①MMP-7 $\leq 36.29$  和②MMP-9 $\leq 297.46$   $\mu\text{g/L}$  的其中一项。EUS 诊断为  $T_3$  期,血清学检查必须同时满足:①MMP-7 $\leq 36.29$   $\mu\text{g/L}$  和②MMP-9 $\leq 297.46$   $\mu\text{g/L}$  两项。 $T_3$  期:EUS 诊断为  $T_3$  期,且血清学检查至少满足:①MMP-7 $> 36.29$  和②MMP-9 $> 297.46$   $\mu\text{g/L}$  的其中一项。EUS 诊断为  $T_2$  期,血清学检查必须同时满足:①MMP-7 $> 36.29$   $\mu\text{g/L}$  和②MMP-9 $> 297.46$   $\mu\text{g/L}$  两项。 $T_4$  期:EUS 诊断为  $T_4$  期。

1.4.2 对淋巴结转移(N 分期)的诊断标准  $N_0$  期:EUS 诊断为  $N_0$  期,且血清学检查至少满足:①MMP-7 $\leq 29.14$  和②MMP-9 $\leq 268.95$   $\mu\text{g/L}$  的其中一项。EUS 诊断为  $N_1$  期,血清学检查必须同时满足:①MMP-7 $\leq 29.14$   $\mu\text{g/L}$  和②MMP-9 $\leq 268.95$   $\mu\text{g/L}$  两项。EUS 诊断为  $N_2$  期,血清学检查必须同时满足:①MMP-7 $\leq 29.14$   $\mu\text{g/L}$  和②MMP-9 $\leq 268.95$   $\mu\text{g/L}$  两项。 $N_1$  期:EUS 诊断为  $N_1$  期,且血清学检查至少满足:①29.14  $\mu\text{g/L}$  < MMP-7 $\leq 43.71$   $\mu\text{g/L}$  和②268.95  $\mu\text{g/L}$  < MMP-9 $\leq 357.60$   $\mu\text{g/L}$  的其中一项。EUS 诊断为  $N_0$  期,血清学检查必须同时满足:①29.14  $\mu\text{g/L}$  < MMP-7 $\leq 43.71$   $\mu\text{g/L}$  和②MMP-9 $> 268.95$   $\mu\text{g/L}$  两项;或①

MMP-7 $> 29.14$   $\mu\text{g/L}$  和②268.95  $\mu\text{g/L}$  < MMP-9 $\leq 357.60$   $\mu\text{g/L}$  两项。EUS 诊断为  $N_2$  期,血清学检查必须同时满足:①29.14  $\mu\text{g/L}$  < MMP-7 $\leq 43.71$   $\mu\text{g/L}$  和②MMP-9 $\leq 357.60$   $\mu\text{g/L}$  两项;或①MMP-7 $\leq 43.71$   $\mu\text{g/L}$  和②268.95  $\mu\text{g/L}$  < MMP-9 $\leq 357.60$   $\mu\text{g/L}$  两项。EUS 诊断为  $N_3$  期,血清学检查必须同时满足:①29.14  $\mu\text{g/L}$  < MMP-7 $\leq 43.71$   $\mu\text{g/L}$  和②MMP-9 $\leq 357.60$   $\mu\text{g/L}$  两项;或①MMP-7 $\leq 43.71$   $\mu\text{g/L}$  和②268.95  $\mu\text{g/L}$  < MMP-9 $\leq 357.60$   $\mu\text{g/L}$  两项。 $N_2$  期:EUS 诊断为  $N_2$  期,且血清学检查至少满足:①43.71  $\mu\text{g/L}$  < MMP-7 $\leq 57.26$   $\mu\text{g/L}$  和②357.60  $\mu\text{g/L}$  < MMP-9 $\leq 472.28$   $\mu\text{g/L}$  的其中一项。EUS 诊断为  $N_0$  期,血清学检查必须同时满足:①43.71  $\mu\text{g/L}$  < MMP-7 $\leq 57.26$   $\mu\text{g/L}$  和②MMP-9 $> 357.60$   $\mu\text{g/L}$  两项;或①MMP-7 $> 43.71$   $\mu\text{g/L}$  和②357.60  $\mu\text{g/L}$  < MMP-9 $\leq 472.28$   $\mu\text{g/L}$  两项。EUS 诊断为  $N_1$  期,血清学检查必须同时满足:①43.71  $\mu\text{g/L}$  < MMP-7 $\leq 57.26$   $\mu\text{g/L}$  和②MMP-9 $> 357.60$   $\mu\text{g/L}$  两项;或①MMP-7 $> 43.71$   $\mu\text{g/L}$  和②357.60  $\mu\text{g/L}$  < MMP-9 $\leq 472.28$   $\mu\text{g/L}$  两项。EUS 诊断为  $N_3$  期,血清学检查必须同时满足:①43.71  $\mu\text{g/L}$  < MMP-7 $\leq 57.26$   $\mu\text{g/L}$  和②MMP-9 $> 357.60$   $\mu\text{g/L}$  两项;或①MMP-7 $> 43.71$   $\mu\text{g/L}$  和②357.60  $\mu\text{g/L}$  < MMP-9 $\leq 472.28$   $\mu\text{g/L}$  两项。EUS 诊断为  $N_3$  期,且血清学检查至少满足:①MMP-7 $> 57.26$  和②MMP-9 $> 472.28$   $\mu\text{g/L}$  的其中一项。EUS 诊断为  $N_1$  期,血清学检查必须同时满足:①MMP-7 $> 57.26$  和②MMP-9 $> 472.28$   $\mu\text{g/L}$  两项。EUS 诊断为  $N_2$  期,血清学检查必须同时满足:①MMP-7 $> 57.26$  和②MMP-9 $> 472.28$   $\mu\text{g/L}$  两项。

### 1.5 组织的病理检查

手术切除标本经 100 mL/L 甲醛固定后,病灶部位每间隔 5 mm 取材数块,脱水包埋,切片厚度为 5  $\mu\text{m}$ , HE 染色后在光学显微镜下观察肿瘤浸润深度及淋巴结转移及转移部位。染色切片由两位病理医师确诊。胃癌术后病理分期方法 2009 年国际抗癌联盟(UICC)公布的第七版胃癌 TNM 分级与分期系统<sup>[10]</sup>: $T_1$ :肿瘤侵及黏膜固有层和黏膜下层; $T_2$ :肿瘤侵及固有肌层; $T_3$ :肿瘤侵及浆膜下层; $T_4$ :肿瘤穿透浆膜并直接侵犯相邻结构; $N_0$ :无区域淋巴结转移; $N_1$ :1-2 个区域性淋巴结转移; $N_2$ :3-6 个区域性淋巴结转移; $N_3$ :7 个以上区域性

淋巴结转移。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 Wilcoxon 秩和检验和 McNemar 检验,计数资料用卡方检验, $P < 0.05$  表示差异有显著统计学意义。

## 2 结果

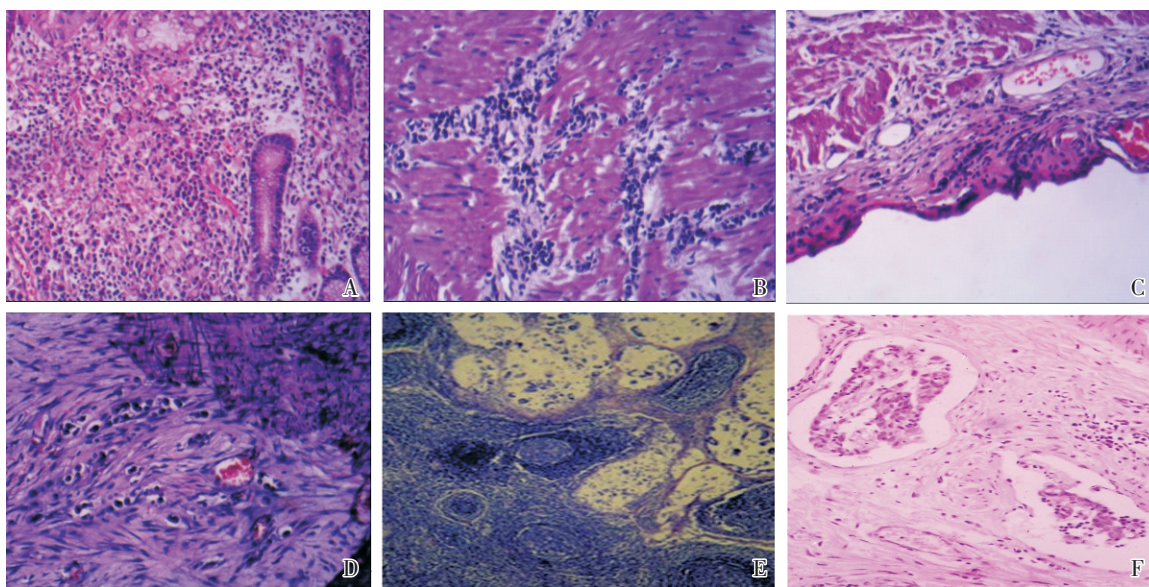
### 2.1 术后病理学分期

500 例胃癌中(图 1,表 1、2),仅侵犯黏膜固有层和黏膜下层( $T_1$ )为 12.6%(63 例),侵及固有肌层( $T_2$ )为 24.2%(121 例);肿瘤侵及浆膜下层( $T_3$ )为 44.4%(222 例);穿透浆膜并直接侵犯相邻结构

( $T_4$ ) 为 18.8%(94 例),无区域淋巴结转移( $N_0$ ) 18.8%(94 例),1~2 个区域性淋巴结转移( $N_1$ ) 18.8%(94 例),3~6 个区域性淋巴结转移( $N_2$ ) 42.6%(213 例),7 个以上区域性淋巴结转移( $N_3$ ) 19.8%(99 例)。

### 2.2 胃癌 EUS 分期与病理学分期的比较

EUS 对 T 分期(或 N 分期)诊断的准确率是 EUS 诊断与术后病理诊断相符的例数与总病例数之比;EUS 对  $T_n(N_n)$  各期诊断的敏感性是 EUS 诊断为  $T_n(N_n)$  期且与术后病理诊断相符的例数与术后病理诊断的  $T_n(N_n)$  例数之比;EUS 对  $T_n(N_n)$  各期诊断的特异性是 EUS 诊断为  $T_n(N_n)$  期且与术后病理诊断相符的例数/EUS 诊断的  $T_n(N_n)$  例数。



A: Tumor extension to submucosa (HE  $\times 100$ ); B: Tumor extension to the muscularis propria (HE  $\times 100$ ); C: Tumor extension to the subserosa (HE  $\times 100$ ); D: Tumor invasion of the adjacent colon (HE  $\times 200$ ); E: Metastases in lymph nodes (HE  $\times 100$ ); F: Metastases in lymph nodes (HE  $\times 100$ )

图 1 胃癌组织的 HE 染色

Fig.1 HE staining of gastric carcinoma tissues

表 1 EUS 胃癌患者 EUS T 分期与病理学分期的关系

Table 1 The relationship between the T stage by EUS and pathologic staging in patients with gastric carcinoma

The preoperative staging by EUS	n	Pathologic staging (cases)				Sensitivity/%	Specificity/%	Accuracy rate/%
		$T_1(63)$	$T_2(121)$	$T_3(222)$	$T_4(94)$			
T							80.2	
$T_1$	64	59	5	0	0	93.7	92.2	
$T_2$	125	4	82	39	0	67.8	65.6	
$T_3$	216	0	34	174	8	78.4	80.6	
$T_4$	95	0	0	9	86	91.5	90.5	

表 2 胃癌患者 EUS N 分期与病理学分期的关系

Table 2 The relationship between the N stage by EUS and pathologic staging in patients with gastric carcinoma

The preoperative staging by EUS	n	Pathologic staging (cases)				Sensitivity/%	Specificity/%	Accuracy rate/%
		N <sub>0</sub> (94)	N <sub>1</sub> (94)	N <sub>2</sub> (213)	N <sub>3</sub> (99)			
N								83.0
N <sub>0</sub>	104	84	4	16	0	89.4	80.8	
N <sub>1</sub>	81	6	60	3	12	63.8	74.1	
N <sub>2</sub>	204	4	6	189	5	88.7	92.6	
N <sub>3</sub>	111	0	24	5	82	82.8	73.9	

500例胃癌患者术前 EUS 检查结果(表 2):在侵犯深度方面(T),T<sub>1</sub>为 64 例,T<sub>2</sub>为 125 例,T<sub>3</sub>为 216 例,T<sub>4</sub>为 95 例。以病理学分期为金标准,EUS 各 T 分期敏感性或特异性分别为:T<sub>1</sub>敏感性 93.7% (59/63),特异性 92.2%(59/64),T<sub>2</sub>敏感性 67.8% (82/121),特异性 65.6%(82/125),T<sub>3</sub>敏感性 78.4% (174/222),特异性 80.6%(174/216),T<sub>4</sub>敏感性 91.5% (86/94),特异性 90.5%(86/95),EUS 分期过低 52 例,分期过度 47 例,401 例 EUS T 分期与病理学分期吻合,判断侵犯深度准确率为 80.2%(401/500)(表 1)。在淋巴结转移方面(N),N<sub>0</sub>病例为 104 例,N<sub>1</sub>为 81 例,N<sub>2</sub>为 204 例,N<sub>3</sub>为 111 例,以病理学分期为金标准,EUS 各 N 分期敏感性或特异性分别为:N<sub>0</sub>敏感性 89.4% (84/94),特异性 80.8%(84/104),N<sub>1</sub>敏感性 63.8% (60/94),特异性 74.1%(60/81),N<sub>2</sub>敏感性 88.7% (189/213),特异性 92.6%(189/204),N<sub>3</sub>敏感性 82.8% (82/99),特异性 73.9%(82/111),EUS 分期过低 40 例,分期过度 45 例,415 例 EUS N 分期与病理学分期吻合,判断淋巴结转移准确率为 83.0% (415/500)。

### 2.3 胃癌患者血清 MMP-7、MMP-9 水平与病理特性的相关性

MMP-7 和 MMP-9 水平与肿瘤大小有关( $P = 0.0047$ ;  $=0.0052$ );有淋巴结转移者,两指标血清水平明显高于无淋巴结转移者 ( $P = 0.0094$ ;  $P = 0.0083$ );有远处转移者,两指标血清水平明显高于无远处转移者 ( $P = 0.0046$ ;  $P = 0.0073$ );两指标血清水平随着胃癌临床病理分期的上升而升高,且差异有统计学意义 ( $P = 0.0036$ ;  $P = 0.0054$ );两指标血清水平与性别、年龄无明显相关性(表 3)。

表 3 胃癌患者血清 MMP-7、MMP-9 水平与病理特性的相关性

Table 3 Relationship between the serum levels of MMP-7, MMP-9 and pathological variables in patients with gastric carcinoma

pathological variables	n	( $\mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s$ )			
		MMP-7	P	MMP-9	P
Gender					0.0985
Male	273	38 ± 9		296 ± 12	
Female	227	33 ± 6	0.0894	291 ± 10	
Age/Year					0.0907
< 59	236	37 ± 8		291 ± 18	
≥ 59	264	35 ± 14	0.1813	294 ± 11	
Tumor size/cm					0.0052
< 5	208	26 ± 4		214 ± 8	
≥ 5	282	50 ± 11	0.0047	397 ± 15	
Invasive depth					0.0068
T <sub>1</sub> ~ T <sub>2</sub>	184	24 ± 18		202 ± 14	
T <sub>3</sub> ~ T <sub>4</sub>	316	51 ± 12	0.0035	399 ± 20	
Differentiation					0.0051
High and middle	164	24 ± 8		203 ± 14	
Low	336	50 ± 15	0.0072	405 ± 15	
Lymphitic metastasis					0.0083
-	94	25 ± 8		176 ± 14	
+	406	50 ± 10	0.0094	429 ± 17	
Distant metastasis					0.0073
-	306	25 ± 9		206 ± 15	
+	194	48 ± 9	0.0046	401 ± 14	
TNM staging					0.0054
I + II	195	24 ± 9		214 ± 11	
III + IV	305	51 ± 9	0.0036	409 ± 20	

### 2.4 EUS 联合 MMP-7 和 MMP-9 胃癌分期与病理学分期的比较

在 EUS 判断 T 分期过度的 47 例患者中,有

表4 胃癌患者EUS联合MMP-7、MMP-9 T分期与病理学分期的比较

Table 4 The relationship between the T stage by EUS combined with MMP-7, MMP-9 and pathologic staging in patients with gastric carcinoma

The preoperative staging by EMM	n	Pathologic staging (cases)				Sensitivity/%	Specificity/%	Accuracy rate/%
		T <sub>1</sub> (63)	T <sub>2</sub> (121)	T <sub>3</sub> (222)	T <sub>4</sub> (94)			
T								92.4
T <sub>1</sub>	64	59	5	0	0	93.7	92.2	
T <sub>2</sub>	114	4	107	3	0	88.4	93.9	
T <sub>3</sub>	227	0	9	240	8	94.6	92.5	
T <sub>4</sub>	95	0	0	9	86	91.5	90.5	

EMM: EUS combined with the expression of MMP-7 and MMP-9

表5 胃癌患者EUS联合MMP-7、MMP-9 N分期与病理学分期的比较

Table 5 The relationship between the N stage by EUS combined with MMP-7, MMP-9 and pathologic staging in patients with gastric carcinoma

The preoperative staging by EMM	n	Pathologic staging(cases)				Sensitivity/%	Specificity/%	Accuracy rate/%
		N <sub>0</sub> (94)	N <sub>1</sub> (94)	N <sub>2</sub> (213)	T <sub>3</sub> (99)			
N								94.0
N <sub>1</sub>	94	92	0	2	0	97.9	97.9	
N <sub>2</sub>	89	1	83	3	2	88.3	93.3	
N <sub>3</sub>	215	1	6	203	5	95.3	94.4	
N <sub>4</sub>	102	0	5	5	92	92.9	90.2	

25例EUS定为T<sub>3</sub>期,但其血清MMP-7和MMP-9水平明显低于EUS T<sub>3</sub>期平均水平,联合分期将其归到T<sub>2</sub>期,术后病理证实确为T<sub>2</sub>期,在分期过低的52例患者中,有36例EUS定为T<sub>2</sub>期,但其血清MMP-7和MMP-9水平明显高于T<sub>2</sub>期平均水平,联合分期将其归到T<sub>3</sub>期,术后病理证实确为T<sub>3</sub>期,联合应用EUS和MMP-7和MMP-9对胃癌侵犯深度判断的准确率提高到为92.4%(表4)。

在EUS判断N分期过度的45例患者中,有5例EUS定为N<sub>1</sub>期,3例EUS定为N<sub>2</sub>期,但其血清MMP-7和MMP-9水平明显低于N<sub>1</sub>期平均水平,联合分期将其归到N<sub>0</sub>期,术后病理证实确为N<sub>0</sub>期,19例EUS定为N<sub>3</sub>期,但其血清MMP-7和MMP-9水平明显低于N<sub>2</sub>期平均水平,联合分期将其归到N<sub>1</sub>期。在EUS判断N分期过低的40例患者中,有4例EUS定为N<sub>0</sub>期,但其血清MMP-7和MMP-9水平明显高于N<sub>0</sub>期平均水平,联合分期将其归到N<sub>1</sub>期,术后病理证实确为N<sub>1</sub>期,14例EUS定为N<sub>0</sub>期,但其血清MMP-7和MMP-9

水平明显高于N<sub>1</sub>期平均水平,联合分期将其归到N<sub>2</sub>期,术后病理证实确为N<sub>2</sub>期。10例EUS定为N<sub>1</sub>期,但其血清MMP-7和MMP-9水平明显高于N<sub>2</sub>期平均水平,联合分期将其归到N<sub>3</sub>期,术后病理证实确为N<sub>3</sub>期。联合应用EUS和MMP-7和MMP-9对胃癌淋巴结转移判断的准确率提高到为94.0%(表5)。

### 3.5 胃癌患者EUS和EUS联合MMP-7和MMP-9 T、N分期准确度的比较

EUS对500例胃癌患者T分期的判断与术后病理符合的为401例,不符合的为99例,符合率即准确率为80.2%;而EUS联合MMP-7、MMP-9的T分期的判断与术后病理符合的为462例,不符合的为38例,符合率即准确率为92.4%。经 $\chi^2$ 检验,EUS联合MMP-7、MMP-9 T分期诊断结果较单纯EUS的诊断结论具有显著的差异,即EUS联合MMP-7、MMP-9对胃癌T分期判断的准确率明显高于EUS( $\chi^2=31.4723, P < 0.01$ ;表6)。同样,经 $\chi^2$ 检验,EUS联合MMP-7、MMP-9对胃癌

表 6 胃癌患者 EUS 和 EUS 联合 MMP-7、MMP-9 T 分期准确率的比较

Table 6 Comparison of the accuracy rate of T stage between EUS and EUS combined with MMP-7, MMP-9 in patients with gastric carcinoma

The method for stage	Correct preoperative staging (n)	Incorrect preoperative staging(n)	Diagnostic accuracy rate / %	$\chi^2$	P
EUS	401	99	80.2	31.4723	< 0.01
EMM	462	38	92.4		

表 7 胃癌患者 EUS 和 EUS 联合 MMP-7、MMP-9 N 分期准确率的比较

Table 7 Comparison of the accuracy rate of N stage between EUS and EUS combined with MMP-7, MMP-9 in patients with gastric carcinoma

The method for stage	Correct preoperative staging (n)	Incorrect preoperative staging(n)	Diagnostic accuracy rate / %	$\chi^2$	P
EUS	415	85	80.3	29.7224	< 0.01
EMM	470	30	94.0		

N分期诊断准确率明显高于单纯 EUS 准确率 ( $\chi^2 = 29.7224, P < 0.01$ ; 表 7)。

### 3 讨 论

EUS 能够将胃壁分为 5 层结构, 通过清楚地显示肿瘤侵犯的深度对胃癌进行 T 分期, 以胃壁各层次结构的增厚或中断或破坏、不均匀的软组织回声影、肿瘤与周围组织界线的消失或融合来作为肿瘤侵犯的标准。EUS 对于胃癌 T 分期准确率较高, 为 70% ~ 95%<sup>[11-12]</sup>, 在胃癌的 EUS 影像中, 肿瘤浸润范围在 1 ~ 3 层结构者均属于 T<sub>1</sub> 期, 故 EUS 对早期肿瘤浸润的判断准确率极高; 对于 T<sub>2</sub>、T<sub>3</sub> 期病变, 由于癌旁组织纤维化和炎症细胞浸润, 易造成 T 分期过深。癌组织的微小浸润灶或局部破坏不易被低频超声探及或病灶较大而线阵 EUS 扫描范围较小造成 T 分期过浅<sup>[13]</sup>。在超声图像上, 局部转移淋巴结显示为大小为 1.0 ~ 2.5 cm 之间不等, 声像特点为边界清楚、圆形或不规则形, 内部回声不均质的低回声结节影; 良性淋巴结显示为强回声, 椭圆形, 边界模糊, 直径较小, 但 EUS 探测到的增大的淋巴结不一定是恶性的, 而小的淋巴结可能已经发生肿瘤转移。另外一般超声内镜多选择高频探头, 而 EUS 对淋巴结的探查由于存在频率的限制, 淋巴结距离胃病变位置越近, EUS 检查的敏感性和特异性较高, 因此对于远场信号差其较远淋巴结转移的检出率较低, 易造成 N 分期过深或过浅<sup>[14]</sup>。本研究发现, EUS 对胃癌侵犯深度 (T 分期) 判断的准确率为 80.2%, 淋巴

结转移 (N 分期) 的准确率为 83.0%, 在 EUS 对 T 分期过度或过低 99 例患者中, 误将 4 例 T<sub>1</sub> 期患者定为 T<sub>2</sub> 期, 34 例 T<sub>2</sub> 期定为 T<sub>3</sub> 期, 将 9 例 T<sub>3</sub> 期定为 T<sub>4</sub> 期, 将 5 例 T<sub>2</sub> 期定为 T<sub>1</sub> 期, 将 39 例 T<sub>3</sub> 期定为 T<sub>2</sub> 期, 将 8 例 T<sub>4</sub> 期定为 T<sub>3</sub> 期, 在 EUS 对 N 分期过度或过低 85 例患者中, 误将 6 例 N<sub>0</sub> 期定为 N<sub>1</sub> 期, 4 例 N<sub>0</sub> 期定为 N<sub>2</sub> 期, 6 例 N<sub>1</sub> 期为 N<sub>2</sub> 期, 24 例 N<sub>1</sub> 期定为 N<sub>3</sub> 期, 5 例 N<sub>2</sub> 期定为 N<sub>3</sub> 期, 4 例 N<sub>1</sub> 期定为 N<sub>0</sub> 期, 16 例 N<sub>2</sub> 期定为 N<sub>0</sub> 期, 3 例 N<sub>2</sub> 期定为 N<sub>1</sub> 期, 12 例 N<sub>3</sub> 期定为 N<sub>1</sub> 期, 5 例 N<sub>3</sub> 期定为 N<sub>2</sub> 期, 存在较明显的分期过度或分期不足现象, 如何避免 EUS 对胃癌分期中存在分期过度或分期不足, 通过术前分期更好反映胃癌的组织生物学行为, 是目前尚需解决的问题。

基质金属蛋白酶 (MMP) 是一组由纤维母细胞、中性粒细胞、巨噬细胞及肿瘤细胞分泌的, 依赖 Zn<sup>2+</sup> 的蛋白酶家族, 其结构具有同源性, 目前在人类已发现有 19 种。MMP 在人体组织内分布很广, 具有广泛及多样的功能, 除了降解、重塑细胞外基质, 还可调节细胞-细胞及细胞-基质间的信号, 在细胞迁移、生长、凋亡、分化及侵入等方面发挥重要作用, 在肿瘤的发生发展过程中 MMP 降解细胞外基质成分, 调控肿瘤新生血管形成, 影响细胞黏附分子的功能以及肿瘤细胞的生长<sup>[15]</sup>。MMP-7 和 MMP-9 均为基质金属蛋白酶家族成员, 主要作用为降解 ECM, 与肿瘤的侵袭与转移密切相关。MMP-7 又称基质裂解蛋白, 主要作用为降解细胞外基质中的弹力纤维、蛋白多糖、纤维连接素及 IV 型胶原纤维和多种抑制肿瘤转移的跨膜

蛋白,还可以通过削弱肿瘤细胞与间质的粘和力,促进肿瘤细胞在微环境中的移行<sup>[16]</sup>。MMP-9为又称为IV型胶原酶(type IV collagenase)或明胶酶B(gelatinase B),以酶原形式分泌,激活后能降解IV、V型胶原等,从而破坏基底膜的完整性,为肿瘤浸润周围组织以及侵入血管和淋巴管转移创造条件<sup>[17]</sup>。研究发现,MMP-7、MMP-9在乳腺癌、食道鳞状细胞癌等多种肿瘤组织中高表达,并与肿瘤的浸润和转移潜能密切相关。MMP-7和MMP-9的表达程度与胃癌、大肠癌、食管癌等肿瘤的病理分期和预后关系密切<sup>[18-19]</sup>,本研究结果显示,随着胃癌浸润的加深,血清MMP-7和MMP-9表达水平逐渐升高,浸润区域达到或超过浆膜的胃癌患者(T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>)血清MMP-7和MMP-9水平显著高于未浸润浆膜层者(T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub>);伴有淋巴结转移的胃癌患者,其血清MMP-7和MMP-9水平也明显高于无淋巴结转移者,这与上述相关免疫组化实验所得出的结论一致,说明血清MMP-7和MMP-9的检查可能替代组织中MMP-7和MMP-9的检查,为胃癌术前诊断分期、术后随访、复发转移监测、评价抗血管生成药物疗效和化疗效果判定提供新的肿瘤标志物,并且以血清为标本,取材方便、费用低、时间短、患者依从性好。所以在理论上术前检测MMP-7和MMP-9血清水平应能减少或弥补EUS对恶性肿瘤浸润转移判断的不足,本研究旨在探讨EUS结合MMP-7 MMP-9表达对胃癌术前分期的临床价值,为临床上恶性肿瘤术前分期提供更切实可行、方便有效的方法。

本研究发现,在EUS判断T分期过度的47例患者中,有25例EUS定为T<sub>3</sub>期,但其血清MMP-7和MMP-9水平明显低于EUS T<sub>3</sub>期平均水平,联合分期将其归到T<sub>2</sub>期,术后病理证实确为T<sub>2</sub>期,在分期过低的52例患者中,有36例EUS定为T<sub>2</sub>期,但其血清MMP-7和MMP-9水平明显高于T<sub>2</sub>期平均水平,联合分期将其归到T<sub>3</sub>期,术后病理证实确为T<sub>3</sub>期,联合应用EUS和MMP-7和MMP-9对胃癌侵犯深度判断的准确率提高到为92.4%。同样EUS对胃癌N分期也存在明显的分期过度或过低问题,联合应用EUS和MMP-7和MMP-9对胃癌淋巴结转移判断的准确率提高到94.0%。在理论上本研究所采取的胃癌分期的诊断标准存在这样一种缺陷:EUS本身对某些病例诊断胃癌分期正确,因MMP-7和(或)MMP-9水平

偏离此分期平均水平较大,致使EUS联合MMP-7和MMP-9对胃癌的分期判断错误,但在实际诊断中未出现这种情况,其原因如下:①病理学分期与血清MMP-7和MMP-9关系研究显示,各期病例血清MMP-7和MMP-9水平相对集中,较少出现MMP-7和MMP-9明显偏离病理学分期的现象;②本研究制定胃癌分期标准的原则是以EUS分期为主,不轻易改变EUS分期诊断,只有在MMP-7和MMP-9同时与EUS分期明显不一致时才调整EUS分期。因MMP-7和MMP-9水平和病理学分期关系相对稳定,MMP-7和MMP-9与EUS分期不一致极大原因是EUS分期错误,而经调整后的胃癌分期将很可能是正确的。所以不大可能出现胃癌单纯EUS分期正确而将联合分期后又错误的情况。EUS联合术前检测MMP-7和MMP-9血清水平,有利于提高对胃癌浸润转移判断的准确性,对术式选择及预后判断均有重要意义。

#### 参考文献

- [1] He CZ, Zhang KH. Serum protein and genetic tumor markers of gastric carcinoma [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(6): 3437-3442.
- [2] Park JM, Ahn CW, Yi X, et al. Efficacy of endoscopic ultrasonography for prediction of tumor depth in gastric cancer[J]. J Gastric Cancer, 2011, 1(2): 109-115.
- [3] Deakin NO, Turne CE. Distinct roles for paxillin and Hic-5 in regulating breast cancer cell morphology, invasion, and metastasis[J]. Mol Biol Cell, 2011, 22(3): 327-341.
- [4] Shi M, Liu D, Duan H, et al. Catecholamine up-regulates MMP-7 expression by activating AP-1 and STAT3 in gastric cancer[J]. Mol Cancer, 2010, 9: 269.
- [5] Ren G, Tian Q, An Y, et al. Coronin 3 promotes gastric cancer metastasis via the up-regulation of MMP-9 and cathepsin K[J]. Mol Cancer, 2012, 11: 67.
- [6] 赖少彤, 薛鸿鹏, 邓兆斌. 胃癌的超声内镜分期和基质金属蛋白酶-7表达的相关性[J]. 中国内镜杂志, 2006, 12(9): 901-904.  
Lai ST, Xue HP, Deng ZB. Correlation of clinical study of the stage of gastric cancer of endoscopic ultrasonography with MMP-7 expression [J]. Chin J Endoscopy, 2006, 12(9): 901-904[12].
- [7] 谭诗云, 沈磊, 罗和生, 等. 胃癌内镜超声分期与MMP-9基因表达的关系[J]. 中华超声影像学杂志, 2005, 14(10): 754-757.

- Tan SY, Shen L, Luo HS, et al. Relationship between preoperative staging of endoscopic ultrasonography and genic expression of MMP-9 in gastric carcinoma [J]. *Chin J Ultrasonogr*, 2005, 14(10): 754-757.
- [8] Sakamoto H, Kitano M, Kudo M. Diagnosis of subepithelial tumors in the upper gastrointestinal tract by endoscopic ultrasonography [J]. *World J Radiol*, 2010, 2(8): 289-297.
- [9] Cho JW. The role of endoscopic ultrasonography in T staging: early gastric cancer and esophageal cancer [J]. *Clin Endosc*, 2013, 46(3): 239-242.
- [10] Kwon SJ. Evaluation of the 7th UICC TNM staging system of gastric cancer [J]. *J Gastric Cancer*, 2011, 11(2): 78-85.
- [11] Ahn HS, Lee HJ, Yoo MW, et al. Diagnostic accuracy of T and N stages with endoscopy, stomach protocol CT, and endoscopic ultrasonog [J]. *J Surg Oncol*, 2009, 99(1): 20-27.
- [12] Cardoso R, Coburn N, Seevaratnam R, et al. A systematic review and meta-analysis of the utility of EUS for preoperative staging for gastric cancer [J]. *Gastric Cancer*, 2012, 15(Suppl 1): S19-26.
- [13] Kutup A, Vashist YK, Groth S, et al. Endoscopic ultrasound staging in gastric cancer: Does it help management decisions in the era of neoadjuvant treatment [J]. *Endoscopy*, 2012, 44(6): 572-576.
- [14] Puli SR, Batapati Krishna Reddy J, Bechtold ML, et al. How good is endoscopic ultrasound for TNM staging of gastric cancers? A meta-analysis and systematic review [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(25): 4011-4019.
- [15] Boushell LW, Kaku M, Mochida Y, et al. Immunohistochemical localization of matrix metalloproteinase -2 in human coronal dentin [J]. *Arch Oral Biol*, 2008, 53(2): 109-116.
- [16] Koskensalo S, Louhimo J, Nordling S, et al. MMP-7 as a prognostic marker in colorectal cancer [J]. *Tumour Biol*, 2011, 32(2): 259-264.
- [17] Chen CC, Hsieh TF, Chang CH, et al. Androgen receptor promotes the migration and invasion of upper urinary tract urothelial carcinoma cells through the upregulation of MMP-9 and COX-2 [J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(2): 979-985.
- [18] Fanelli MF, Chinen LT, Begnami MD, et al. The influence of transforming growth factor  $\alpha$ , cyclooxygenase-2, matrix metalloproteinase (MMP)-7, MMP-9 and CXCR4 proteins involved in epithelial-mesenchymal transition on overall survival of patients with gastric cancer [J]. *Histopathology*, 2012, 61(2): 153-161.
- [19] Katunina AI, Gershtein ES, Ermilova VD, et al. Matrix metalloproteinases 2, 7, and 9 in tumors and sera of patients with breast cancer [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2011, 151(3): 359-362.

(编辑 徐杰)

.....

(上接第 544 页 from page 544)

- [27] Yoshino S, Tabata T, Hazama S, et al. Immunoregulatory effects of the antitumor polysaccharide lentinan on Th1/Th2 balance in patients with digestive cancers [J]. *Anticancer Res*, 2000, 20(6C): 4707-4711.
- [28] Neurath MF, Finotto S, Glimcher LH. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity [J]. *Nat Med*, 2002, 8(6): 567-573.
- [29] Butt AQ, Mills KH. Immunosuppressive networks and checkpoints controlling antitumor immunity and their blockade in the development of cancer immunotherapeutics and vaccines [J]. *Oncogene*, 2014, 33(38): 4623-4631.
- [30] Hong EK, Lee JS. *Agaricus blazei murill* enhances doxorubicin-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells by NF  $\kappa$  B-mediated increase of intracellular doxorubicin accumulation [J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(2): 401-408.
- [31] Shi L, Fu Y. Isolation, purification, and immunomodulatory activity in vitro of three polysaccharides from roots of *Cudrania tricuspidata* [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2011, 43(5): 418-424.
- [32] 黄晓荣, 曹开源, 毛晓鹏, 等. 大蒜素诱导人膀胱癌细胞株 BIU87 细胞凋亡的研究 [J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2005, 4(26): 432-438.
- Huang XR, Cao KY, Mao XP, et al. Apoptosis of BIU87 cells induce by allitridi [J]. *J Sun Yat-sen Univ: Med Sci*, 2005, 4(26): 432-438.

(编辑 刘清海)