

· 论著 ·

转化生长因子 $\beta 1$ 和基质金属蛋白酶 2 在多发病灶乳头状甲状腺癌中的表达及意义

袁宗怀 陈希平 张爱莉 王刚平

【摘要】 目的 探讨转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 和基质金属蛋白酶 2 (MMP-2) 在多发病灶乳头状甲状腺癌 (PTC) 中的表达及意义。方法 应用免疫组化 S-P 法检测 47 例多灶性 PTC 中 TGF- $\beta 1$ 和 MMP-2 的表达, 以癌旁组织及单灶 PTC 作对照, 比较 TGF- $\beta 1$ 和 MMP-2 的阳性表达与多灶性 PTC 侵袭转移、复发等因素的关系及两者表达的相关性。结果 TGF- $\beta 1$ 和 MMP-2 在多灶性 PTC 中的表达均高于单灶 PTC 和癌旁组织, 与多灶性 PTC 腺外浸润、淋巴结转移、肿瘤复发有关 ($P < 0.05$), 与性别、年龄、家族史、是否是微小癌、多灶性 PTC 中病灶数目无关 ($P > 0.05$); TGF- $\beta 1$ 和 MMP-2 二者表达呈正相关 ($r = 0.920, P = 0.000$)。结论 TGF- $\beta 1$ 和 MMP-2 在多灶性 PTC 中阳性表达率高, 与发生侵袭、转移和复发密切相关, 两者可作为判断 PTC 生物学行为的指标。

【关键词】 甲状腺肿瘤; 癌, 乳头状; 转化生长因子 $\beta 1$; 基质金属蛋白酶 2;

Expression and clinical significances of TGF- $\beta 1$ and MMP-2 in papillary thyroid carcinoma with multiple foci YUAN Zong-huai, CHEN Xi-ping*, ZHANG Ai-li, WANG Gang-ping.* Department of Internal Medicine, Rizhao People's Hospital, Rizhao 276826, China

Corresponding author: CHEN Xi-ping, Email: wgprzph93@sina.com

【Abstract】 **Objective** To study the expression and clinical significance of TGF- $\beta 1$ and MMP-2 in multifocal papillary thyroid carcinoma (PTC). **Methods** Immunohistochemical S-P method was used to investigate the expression of TGF- $\beta 1$ and MMP-2 in 47 cases of multifocal PTC and adjacent tissues. The expression of TGF- $\beta 1$ and MMP-2 and the risk factors were analyzed between solitary PTC and multifocal PTC group. **Results** There were significant difference between multifocal thyroid cancer tissues, single focal PTCs and the adjacent tissue ($P < 0.05$). Overexpressions of TGF- $\beta 1$ and MMP-2 in multifocal PTCs were related to the degree of the infiltration, lymph node metastasis and tumor recurrence ($P < 0.05$). The expression of TGF- $\beta 1$ was correlated positively with MMP-2 ($r = 0.920, P = 0.000$). There was significant difference in expressions of TGF- $\beta 1$ and MMP-2 between multifocal and single focal PTCs in lymph node metastasis and tumor recurrence groups ($P < 0.05$). **Conclusions** The high expressions of TGF- $\beta 1$ and MMP-2 in multifocal PTCs relate to the development, invasion, metastasis and recurrence. TGF- $\beta 1$ and MMP-2 might be considered as biologic behavior indicators of multifocal PTC.

【Key words】 Thyroid neoplasms; Carcinoma, papillary; Transforming growth factor beta 1; Matrix metalloproteinase 2

转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 是一个多功能多肽链, 能促进肿瘤转化和血管生成^[1]。基质金属蛋白酶 2 (MMP-2) 是细胞外基质 IV 型胶原降解的关键酶, 促进肿瘤细胞的浸润生长和转移^[2]。乳头状甲状腺癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC) 往往病灶多发, 易侵袭、转移和复发^[3-7]。为探讨 TGF- $\beta 1$ 和 MMP-2 与多灶性 PTC 生物学行为的关系, 本组对 47 例多灶性 PTC 进行了分析, 报道如下。

资料与方法

1. 一般资料: 收集日照市人民医院 2001 年 1 月至 2005 年 9 月 47 例多灶性 PTC 住院病例, 均经手术和病理证实。其中男 14 例, 女 33 例, 年龄 7 ~ 67 岁, 中位年龄 39 岁。所有病例均行甲状腺全切术或近全切术

加中央区淋巴结清扫,根据中央区淋巴结术中快速病理是否有癌转移选择是否行侧方淋巴结清扫。其中2灶38例,3灶及以上9例。单叶30例,其中左叶18例,右叶12例;双侧叶10例;左叶及峡部4例;右叶及峡部3例。微小癌24例,非微小癌23例;9例有包膜、血管或周围组织浸润;22例术后4个月至5年复发,再次手术切除。随访5年至9年9个月。

2. 免疫组织化学:采用S-P法,设阳性对照,用PBS代替一抗作阴性对照,检测TGF-β1和MMP-2在多灶性PTC、相连癌旁组织(12例结节性甲状腺肿、16例桥本甲状腺炎、19例正常甲状腺组织)中的表达。以同期122例单灶PTC作对照,其中5例腺外侵袭,42例淋巴结转移,比较TGF-β1和MMP-2在单灶、多灶PTC中的阳性表达与侵袭转移及复发的关系,两者在不同病灶间表达的差异及两者相关性。

3. 结果判定:MMP-2、TGF-β1定位于细胞质,每例随机观察5个高倍视野(×400),用半定量法,阳性细胞数<5%为0分,6%~25%为1分,26%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分;阳性强度无色为0分,浅黄色1分,棕黄色2分,棕褐色3分。两者相加,0分为-,1~4分为+,5~8分为++,9~12分为+++。

4. 统计学分析:采用SPSS 13.0统计软件,计数资料进行χ²检验及Fisher确切概率法,阳性表达采用Spearman等级相关分析,检验水准为0.05。

结 果

一、PTC多灶、单灶与临床病理因素的关系(表1)

表1 多灶性与单灶性PTC与临床病理因素的关系(例)

组别	性别		年龄		肿瘤大小		淋巴结转移		腺外浸润		肿瘤复发		肿瘤家族史	
	男	女	≥45岁	<45岁	≥1cm	<1cm	有	无	有	无	有	无	有	无
多灶PTC组	19	28	29	18	23	24	26	21	19	28	22	25	6	41
单灶PTC组	33	89	78	44	74	48	42	80	10	112	27	95	5	117
χ ² 值	2.850		0.073		1.906		6.159		24.792		10.036		4.189	
P值	0.091		0.787		0.167		0.013		0.000		0.002		0.041	

多灶PTC占同期PTC的27.8%(47/169)。病灶数目(单灶、多灶)与淋巴结转移、腺外浸润、肿瘤复发、家族史因素有关(P<0.05),而与患者性别、年龄、是否是微小癌无关(P>0.05)。术后随访5年至9年9个月,两组患者均健在,生存率差异无统计学意义(P>0.05)。

二、TGF-β1和MMP-2的表达

1. 多灶组与单灶组、癌旁组织比较(表2):TGF-β1和MMP-2阳性的表达多灶组与单灶组、癌旁组织比较差异有统计学意义(P<0.05)。

表2 TGF-β1和MMP-2在单灶、多灶PTC癌组织及癌旁组织中的阳性表达[例,(%)]

组织类型	例数	TGF-β1					MMP-2				
		-	+	++	+++	阳性合计	-	+	++	+++	阳性合计
单灶PTC	122	52(42.6)	7(5.7)	43(35.2)	20(16.4)	70(57.4)	42(34.4)	12(9.8)	47(38.5)	21(17.2)	80(65.6)
多灶PTC	47	9(19.1)	3(6.4)	15(31.9)	20(42.6)	38(80.9) ^a	8(17.0)	2(4.3)	18(38.3)	19(40.4)	39(83.0) ^b
多灶PTC癌旁组织											
结节性甲状腺肿	12	11(91.7)	1(8.3)	0	0	1(8.3)	11(91.7)	1(8.3)	0	0	1(8.3)
桥本甲状腺炎	16	15(93.8)	1(6.2)	0	0	1(6.2)	15(93.8)	1(6.2)	0	0	1(6.2)
正常甲状腺组织	19	19(100.0)	0	0	0	0	19(100.0)	0	0	0	0

注:^aTGF-β1的表达,与单灶PTC比较,χ²=8.105,P=0.004;与癌旁组织比较,χ²=56.400,P=0.000,差异有统计学意义。^bMMP-2的表达,与单灶PTC比较,χ²=4.934,P=0.026;与癌旁组织比较,χ²=56.400,P=0.000,差异有统计学意义

2. TGF-β1 和 MMP-2 的阳性表达与侵袭转移复发等因素的关系:TGF-β1 与 MMP-2 的阳性表达与淋巴结转移、腺外浸润、肿瘤复发有关 ($P < 0.05$), 而与家族史无关 ($P > 0.05$) (表 3)。与单灶 PTC 比较, TGF-β1、MMP-2 在多灶 PTC 淋巴结转移组、肿瘤复发组中的阳性表达率表达明显增高 ($P < 0.05$); 在无转移组、无复发组二者表达阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 腺外浸润、有家族史病例多灶与单灶 PTC 二者表达阳性率均较无腺外浸润, 无家族史者高(表 4, 5)。

三、TGF-β1 和 MMP-2 在多灶性 PTC 中表达的相关性(表 6)

多灶性 PTC 中 TGF-β1 和 MMP-2 二者表达呈正相关($r = 0.920, P = 0.000$)。

表 3 TGF-β1 和 MMP-2 的阳性表达与侵袭转移、复发等因素的关系[例, (%)]

项目	多灶 PTC						单灶 PTC							
	例数	TGF-β1			MMP-2			例数	TGF-β1			MMP-2		
		阳性	χ ² 值	P 值	阳性	χ ² 值	P 值		阳性	χ ² 值	P 值	阳性	χ ² 值	P 值
淋巴结转移														
有	26	25(96.2)			26(100.0)		42	30(71.4)			33(78.6)			
无	21	13(61.9)	4.837	0.028	13(61.9)	9.392	0.002	80	40(50.0)	4.332	0.037	47(58.8)	4.793	0.029
腺外浸润														
有	19	19(100.0)			19(100.0)		10	9(90.0)			8(80.0)			
无	28	19(67.9)	5.620	0.018	20(71.4)	4.676	0.031	112	61(54.5)	4.740	0.030	72(64.3)	4.178	0.041
肿瘤复发														
有	22	22(100.0)			22(100.0)		27	20(74.1)			22(81.5)			
无	25	16(64.0)	7.609	0.006	17(68.0)	6.370	0.012	95	50(52.6)	3.953	0.047	58(61.1)	3.887	0.049
肿瘤家族史														
有	6	6(100.0)			6(100.0)		5	4(80.0)			5(100.0)			
无	41	32(78.0)	0.152	0.697	32(78.0)	0.152	0.697	117	66(56.4)	2.269	0.132	75(64.1)	1.378	0.240

表 4 TGF-β1 在多灶组与单灶组的表达阳性率差异比较[阳性例数/总例数, (%)]

组别	例数	淋巴结转移		腺外浸润		肿瘤复发		肿瘤家族史	
		有	无	有	无	有	无	有	无
多灶组	47	25/26(96.2)	13/21(61.9)	19/19(100.0)	19/28(67.9)	22/22(100.0)	16/25(64.0)	6/6(100.0)	32/41(78.0)
单灶组	122	30/42(71.4)	40/80(50.0)	9/10(90.0)	61/112(54.5)	20/27(74.1)	50/95(52.6)	4/5(80.0)	66/117(56.4)
χ ² 值		6.349	0.945	0.110	1.641	6.654	1.034	1.320	0.350
P 值		0.012	0.331	0.740	0.200	0.010	0.309	0.251	0.554

表 5 MMP-2 在多灶组与单灶组的表达阳性率比较[阳性例数/总例数, (%)]

组别	例数	淋巴结转移		腺外浸润		肿瘤复发		肿瘤家族史	
		有	无	有	无	有	无	有	无
多灶组	47	26/26(100.0)	13/21(61.9)	19/19(100.0)	20/28(82.1)	22/22(100.0)	17/25(68.0)	6/6(100.0)	32/41(78.0)
单灶组	122	33/42(78.6)	47/80(58.8)	10/10(100.0)	70/112(62.5)	22/27(81.8)	58/95(61.1)	5/5(100.0)	75/117(64.1)
χ ² 值		24.925	0.001	-	0.778	4.537	0.408	-	2.701
P 值		0.000	0.977	-	0.378	0.033	0.523	-	0.100

表6 多灶性 PTC 中 TGF-β1 和 MMP-2 表达的相关性(例)

TGF-β1	例数	MMP-2			
		-	+	++	+++
-	9	8	0	1	0
+	3	0	1	2	0
++	15	0	0	15	0
+++	20	0	1	0	19

讨 论

1. 多发病灶 PTC 一般临床病理特点:本组多发病灶 PTC 中女性患者是男性的 2.4 倍,与一般甲状腺癌的性别规律一致;中位年龄 39 岁,而一般 PTC 发病年龄为 40 岁中期和 50 岁早期^[3],本组发病年龄略提前。多发病灶在 PTC 中的发生率为 18%~87%^[3-7],本组 21.3%,以 2 灶居多(80.9%),63.8% 位于一个腺叶内并以左叶多见,双侧叶占 23.4%,侧叶及峡部占 14.9%。PTC 多发癌灶来源于腺内转移还是多克隆独立起源目前存在争议^[3,7-8],本组 48.9%(23/47)肿瘤微小癌灶与大的瘤体是分开的,51.1%(24/47)多个癌灶大小差别不大,并以 <1 cm 癌灶为主,多数癌灶紧贴甲状腺被膜,多灶性 PTC 既可以腺内淋巴道扩散,也可多中心起源和静脉侵犯。近年研究证实有相当一部分多灶性 PTC 是多克隆起源^[8]。本组结果显示,多灶性 PTC 的发生与淋巴结转移、腺外浸润、肿瘤复发有关,而与性别、年龄、是否是微小癌无关。PTC 腺内转移和多中心起源在多发病灶中可以共同存在。多发癌灶还与 PTC 的亚型如弥漫硬化型、柱状细胞型、筛状瘤型及初次治疗后局部复发有关^[1]。

2. 多灶性 PTC 中 TGF-β1 和 MMP-2 表达与生物学行为的关系:PTC 的发生和发展是一个多因素多基因参与、多阶段逐渐形成的过程。本组显示在多发病灶 PTC 中 TGF-β1 和 MMP-2 共同起作用。TGF-β1 是具有多种生物学活性的多肽生长因子,广泛存在于癌组织中,参与细胞增殖、分化、凋亡,使侵袭能力增强,并促进肿瘤血管生成^[1]。血管生成对 PTC 的发生、淋巴结转移有重要作用。本组结果显示 TGF-β1 在癌旁正常甲状腺组织中不表达,在桥本甲状腺炎和结节性甲状腺肿中低表达且强度较弱;在单灶及多灶 PTC 中高表达;在多灶组比单灶组阳性率更高,表达更强,肿瘤细胞更易于进入血液、淋巴道,参与淋巴结转移、腺外浸润和复发。肿瘤细胞侵袭转移必须破坏细胞外基质和基底膜组织屏障,MMPs 是破坏细胞外基质的直接作用者^[9],MMP-2 是基质降解的关键酶,不但可酶解细胞间基质,还可降解基底膜的主要成分 IV 型、VII 型胶原等,在侵袭、转移过程中发挥重要作用,是肿瘤恶性进展的标志^[9]。在淋巴结转移、肿瘤复发病例中,与单灶组比较,多灶 PTC 组 MMP-2 阳性表达率更高,在有腺外浸润、肿瘤家族史病例多灶与单灶组 MMP-2 均 100% 强表达;而在无淋巴结转移、无肿瘤复发病例 MMP-2 的阳性表达率在单灶组、多灶组间差异无统计学意义($P > 0.05$),表明 MMP-2 与腺外浸润和家族史密切相关,多灶 PTC 表现为更强的淋巴结转移和肿瘤复发能力。恶性肿瘤发生、发展和转移,是一系列具有内在联系的多步骤相互作用的结果,至少有 2 个或 2 个以上不同功能异常激活的基因发生作用,促进癌变,一个因子的表达异常会伴有另外因子的表达异常,共同表达预示着肿瘤更高的侵袭和转移能力。本研究表明 TGF-β1 和 MMP-2 二者正相关,MMP-2 的高表达更易使细胞外基质降解、肿瘤血管生成,使肿瘤浸润转移能力增强。而具有抑癌作用、控制细胞凋亡的基因低表达或缺失同样参与了 PTC 的发生发展过程^[10]。TGF-β1 和 MMP-2 可促进肿瘤的发生和生长,增强其侵袭及淋巴结转移能力,具有更高的复发危险,二者高表达是预后不良的标志。我们认为联合检测多灶 PTC 中 TGF-β1 和 MMP-2 可作为判断肿瘤侵袭和转移能力的重要指标。

参 考 文 献

[1] 孟庆勇,卓文莹,俞吉霞,等. Ron 与转化生长因子-β1 在大肠癌中的表达及意义. 中华消化杂志,2007,27(8):552-553.
 [2] 王喜梅,湛丽,吴勇军,等. 子宫颈腺癌中 COX-2 与 p27kip1、MMP-2 蛋白表达的关系. 临床与实验病理学杂志,2005,21(3):303-307.
 [3] Delellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, et al. Tumours of endocrine organs// WHO. Pathology & Genetics. Lyon: IARC Press, 2004: 57-66.

- [4] Park SY, Park YJ, Lee YJ, et al. Analysis of differential BRAF (V600E) mutational status in multifocal papillary thyroid carcinoma: evidence of independent clonal origin in distinct tumor foci. *Cancer*, 2006, 107(8):1831-1838.
- [5] Santoro M, Melillo RM, Fusco A. RET/PTC activation in papillary thyroid carcinoma: European Journal of Endocrinology Prize Lecture. *Eur J Endocrinol*, 2006, 155(5):645-653.
- [6] Shattuck TM, Westra WH, Ladenson PW, et al. Independent clonal origins of distinct tumor foci in multifocal papillary thyroid carcinoma. *N Engl J Med*, 2005, 352(23):2406-2412.
- [7] 周庚寅, 觉道健一. 甲状腺病理与临床. 北京:人民卫生出版社, 2005:137-157.
- [8] 林益凯, 赵文和. 甲状腺乳头状癌多发病灶的克隆起源研究进展. *国际肿瘤学杂志*, 2007, 34(9):668-670.
- [9] Kraiem Z, Korem S. Matrix metalloproteinases and the thyroid. *Thyroid*, 2000, 10(12):1061-1069.
- [10] 纪方方, 赵鹏, 高鹏, 等. 甲状腺滤泡癌 PTEN 和缺氧诱导因子 1 α 的表达及其相关性[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2010, 4(7):991-994.

(收稿日期:2010-10-11)

(本文编辑:巨娟梅)

袁宗怀, 陈希平, 张爱莉, 等. 转化生长因子 β 1 和基质金属蛋白酶 2 在多发病灶乳头状甲状腺癌中的表达及意义[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2011, 5(3):691-695.