

多灶性乳头状甲状腺癌中 Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 的表达与转移复发的关系

王刚平 周瑞玲 张作峰 张红 袁宗怀 梁粉花

【摘要】 目的 分析多灶性乳头状甲状腺癌(PTC)中 Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 的表达与转移复发的关系。**方法** 收集 92 例多灶性 PTC, 淋巴结转移和复发 59 例, 检测 Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 在多灶性 PTC 及不同分区淋巴结、原发与复发的癌组织中的表达差异, 结合临床病理因素, 分析其与多灶 PTC 转移复发的关系。**结果** 92 例多灶性 PTC 中 54 例淋巴结转移, 复发 33 例, VI 区与 II ~ V 区淋巴结转移、淋巴结转移与复发正相关($P < 0.01$)。Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 在多灶性 PTC 中高表达与转移、复发有关($P < 0.05$), 在 VI 区和 II ~ V 区转移淋巴结中表达呈正相关($P < 0.05$); 三者在原发癌与转移灶、复发前后癌灶中的表达差异无统计学意义($P > 0.05$); Bcl-2 和 Ki-67、Cyclin D1 三者表达正相关($P < 0.05$)。**结论** 多灶性 PTC 转移复发病例中 Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 高表达, VI 区与 II ~ V 区淋巴结转移正相关, 手术方式宜选择甲状腺全切除术加中央区淋巴结清扫术, 术中快速病理检查, 以决定是否行选择性颈外侧区淋巴结清扫, 以降低肿瘤复发的危险。

【关键词】 甲状腺肿瘤; Ki-67 抗原; 基因, bcl-2; 颈淋巴结清扫术; 细胞周期素 D1

The relationship between the expression of Ki-67, Cyclin D1 and Bcl-2 in multifocal papillary thyroid carcinoma and the significance of lymph node metastasis and tumor recurrence WANG Gang-ping, ZHOU Rui-ling, ZHANG Zuo-feng, ZHANG Hong, YUAN Zong-huai, LIANG Fen-hua. Department of Pathology, Rizhao People's Hospital, Rizhao 276826, China
Corresponding author: WANG Gang-ping, Email: wgprzph93@sina.com

【Abstract】 Objective To study the relationship between the expression of Ki-67, Cyclin D1 and Bcl-2 in multifocal papillary thyroid carcinoma (PTC) and the lymph node metastasis and tumor recurrence. **Methods** Immunohistochemical SP method was used to investigate the expression of Ki-67, Cyclin D1 and Bcl-2 between the group 59 cases of multifocal PTC with metastases and (or) recurrence and the group without metastases or recurrence, and the risk factors were analyzed by region VI lymph nodes distinguished from region II-V in the groups. **Results** In the 92 cases of multifocal PTC, 54 patients with lymph nodes metastasis, 48 patients with region VI and 33 patients with region II-V, 5 patients lung metastasis. The lymph node metastasis in region VI and II-V is significant correlation ($P < 0.01$). The over expressions of Ki-67, Cyclin D1 and Bcl-2 in multifocal PTCs were related to the lymph node metastasis and tumor recurrence ($P < 0.05$), and the expressions in region VI and II-V were positively correlated ($P < 0.05$). The expressions of the 3 markers were correlated positively ($P < 0.05$) and had no significant difference between primary tumors and tumors in lymph node metastasis and tumors recurrence groups ($P > 0.05$). **Conclusions** The high expressions of Ki-67, Cyclin D1 and Bcl-2 in multifocal PTCs relate to the metastasis and recurrence. The lymph node metastasis in region VI is significant correlation with region II-V. The radical neck dissection is depended on the pathological examination of the central region lymph nodes.

【Key words】 Thyroid neoplasms; Ki-67 antigen; Genes, bcl-2; Neck dissection; Cyclin D1

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2011.12.026

作者单位: 276826 山东省,日照市人民医院病理科(王刚平、梁粉花),检验科(周瑞玲),普外二科(张作峰、袁宗怀),科教科(张红)

通讯作者: 王刚平, Email: wgprzph93@sina.com

乳头状甲状腺癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)分化较好,但复发转移率较高,多灶性癌常见,近几年发病人数在增加^[1]。肿瘤的发生、发展与细胞增殖、凋亡调节失控密切相关,Ki-67被认为是目前临床最好的细胞增殖标记物之一^[2],Cyclin D1处在细胞周期正向调节的关键点,Bcl-2是凋亡抑制基因。本组应用免疫组织化学检测Ki-67、Cyclin D1和Bcl-2在多灶性PTC及不同分区淋巴结、原发与复发癌组织中的表达差异,结合临床病理因素,分析其与多灶性PTC转移复发的关系,为临床行选择性颈淋巴结清扫术、降低肿瘤复发转移提供依据。

资料与方法

1. 一般资料:日照市人民医院2000~2009年十年PTC 316例,其中多灶性92例。多灶性PTC转移和复发59例,其中54例颈部淋巴结转移,33例复发(28例首次手术时颈部淋巴结转移);男21例,女38例,男女比1:1.81;年龄7~67岁,中位42岁,最小一例7岁发病,12岁复发。

2. 方法:对观察组59例多灶性PTC转移复发病例和随机选取同期21例无转移无复发对照病例均进行免疫组织化学SP法检测Ki-67、Cyclin D1和Bcl-2,三种抗体和试剂盒均购自福州迈新公司,石蜡切片常规脱蜡、水化、抗原修复,结合临床病理因素,比较三者Ⅵ区与Ⅱ~Ⅴ区淋巴结、原发与复发癌灶中表达差异及与转移复发的关系。

3. 免疫组织化学结果判定:设阳性对照,用PBS代替一抗作阴性对照。结果判定用半定量法,选染色阳性集中区域5个不重叠高倍视野,计数200个瘤细胞。Ki-67增殖指数按照<10%、10%~20%和>20%分3级。Cyclin D1、Bcl-2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;阳性强度浅黄色为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. 统计学方法:采用SPSS 13.0统计软件,阳性表达采用Spearman等级相关分析,计数资料采用 χ^2 检验及Fisher精确概率法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、多灶性PTC复发与淋巴结转移的关系

1. 复发与转移的关系:92例多灶性PTC中2灶70例,3灶及以上22例,多灶性PTC占同期PTC的29.1%,颈部淋巴结转移54例,其中5例合并右肺多发转移,术后¹³¹I治疗无复发。复发33例,单纯甲状腺叶复发5例,单纯颈部淋巴结23例,二者同时复发5例;首次手术时28例颈部淋巴结转移,多灶性PTC复发与淋巴结转移相关($r = 0.397$, $\chi^2 = 14.517$, $P < 0.01$)。

2. 不同分区淋巴结转移的关系:54例颈部淋巴结转移中Ⅵ区48例,Ⅱ~Ⅴ区32例,多区转移29例,淋巴结Ⅵ区与Ⅱ~Ⅴ区转移显著相关($r = 0.425$, $\chi^2 = 16.624$, $P < 0.01$);5例肺脏转移者同时合并Ⅵ区、Ⅱ~Ⅴ区淋巴结转移。

3. 复发转移与原发癌灶大小、部位的关系:观察组中原发癌灶<1 cm、1~4 cm、>4 cm分别为28、17、14例;左叶18例,右叶14例,双侧叶14例,左叶及峡部9例,右叶及峡部4例,多灶性PTC复发转移与原发癌灶大小、部位无关($P > 0.05$)。

二、Ki-67、Cyclin D1和Bcl-2的表达与多灶性PTC转移复发的关系

1. Ki-67、Cyclin D1和Bcl-2在多灶性PTC中的表达(表1):Ki-67定位于细胞核(图1),Cyclin D1为胞核或胞核及胞质(图2),Bcl-2定位于细胞膜或胞质(图3),三者表达在观察组与对照组差异($\chi^2 = 8.141$, $P = 0.004$; $\chi^2 = 5.569$, $P = 0.018$; $\chi^2 = 4.413$, $P = 0.036$)、淋巴结转移组中有无复发差异($\chi^2 = 6.235$, $P = 0.013$; $\chi^2 = 6.273$, $P = 0.012$; $\chi^2 = 4.826$, $P = 0.028$)均有统计学意义,三者高表达与转移复发有关,5例肺脏转移病例三者均高表达。Ki-67、Cyclin D1和Bcl-2在原发癌与转移灶($\chi^2 = 0.926$, $P = 0.336$; $\chi^2 = 0.926$, $P = 0.336$; $\chi^2 = 0.926$, $P = 0.336$)、原发灶与复发癌($\chi^2 = 0.548$, $P = 0.459$; $\chi^2 = 0.548$, $P = 0.459$; $\chi^2 = 0.548$, $P = 0.459$)中的表达差异无统计学意义。术后48例随访1~10年,1例死亡(双侧颈部多发淋巴结转移,16

个月复发,二次手术后39个月死亡)。

表1 多灶性PTC中Ki-67、Cyclin D1和Bcl-2的表达与转移复发的关系(例)

组织类型	例数	Ki-67			CyclinD1		Bcl-2	
		<10%	10% ~ 20%	>20%	-	+	-	+
观察组(有复发有转移组)	59	15	18	26	12	47	21	38
淋巴结转移组原发癌组织	54	13	17	24	11	43	19	35
术后复发组	28	6	5	17	2	26	6	22
无复发组	26	7	12	7	9	17	13	13
淋巴结转移组淋巴结内癌组织	54	9	16	29	13	41	21	33
VI区	48	8	15	25	12	36	19	29
VI区+, II~V区-	22	5	7	10	5	17	10	12
VI区+, II~V区+	26	3	8	15	7	19	9	17
II~V区	32	4	9	19	8	24	11	21
VI区-, II~V区+	6	1	1	4	1	5	2	4
复发组原发癌组织	33	8	8	17	3	30	8	25
有淋巴结转移	28	6	7	15	2	26	6	22
无淋巴结转移	5	2	1	2	1	4	2	3
复发组复发后的癌组织	33	5	9	19	7	26	12	21
对照组(无复发无转移组)	21	14	5	2	10	11	13	8

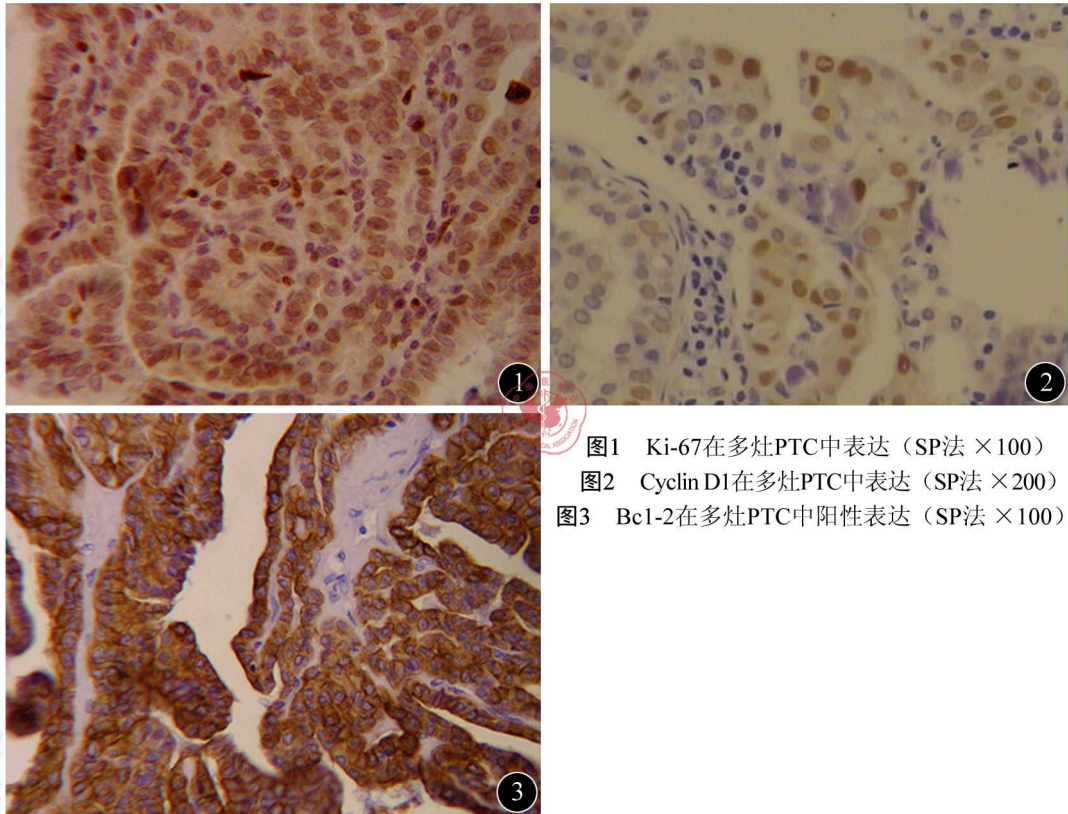


图1 Ki-67在多灶PTC中表达(SP法×100)

图2 Cyclin D1在多灶PTC中表达(SP法×200)

图3 Bcl-2在多灶PTC中阳性表达(SP法×100)

2. Ki-67、Cyclin D1和Bcl-2在不同分区淋巴结中表达(表2): VI区和II~V区淋巴结转移灶中Ki-67($r=0.435, \chi^2=9.094, P=0.003$)、Cyclin D1($r=0.296, \chi^2=5.084, P=0.024$)和Bcl-2($r=0.370, \chi^2=6.583, P=0.010$)的表达正相关。

表2 Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 在不同分区淋巴结中表达的相关性(例)

VI区	Ki-67				Cyclin D1				Bcl-2			
	例数	II ~ V区+	II ~ V区-	P值	例数	II ~ V区+	II ~ V区-	P值	例数	II ~ V区+	II ~ V区-	P值
+	25	15	10	<0.01	36	19	17	<0.05	29	17	12	<0.05
-	23	4	19		12	5	7		19	4	15	

三、转移复发病例中 Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 表达的相关性(表3,4)。

转移复发病例中 Bcl-2 与 Ki-67($r=0.303, \chi^2=5.429, P=0.020$)、Cyclin D1($r=0.328, \chi^2=6.345, P=0.012$)表达正相关;Ki-67 与 Cyclin D1 的表达也呈正相关($r=0.279, \chi^2=4.589, P=0.032$)。

表3 Bcl-2 与 Ki-67、Cyclin D1 表达的相关性(例)

Bcl-2	例数	Ki-67			Cyclin D1		
		+	-	P值	+	-	P值
+	38	21	17	<0.05	34	4	<0.05
-	21	5	16		13	8	

表4 Ki-67 和 Cyclin D1 表达的相关性(例)

Cyclin D1	例数	Ki-67		P值
		+	-	
+	47	24	23	<0.05
-	12	2	10	

讨 论

1. 多灶性 PTC 复发转移的一般特点:本组多灶性 PTC 占同期 PTC 的 29.1%, 颈部淋巴结转移高达 58.7%, 88.9% VI区、59.3% II ~ V区转移, 53.7% 多区转移。VI区与 II ~ V区淋巴结转移相关。9.3% 右肺多发转移合并 VI区、II ~ V区淋巴结转移, 术后¹³¹I 治疗无复发, 预后无差别, 本组远处转移病例少, 还有待进一步观察。本组 35.9% 多灶性 PTC 复发, 术后半年至 8 年, 最小一例为 7 岁男性, 发病 5 年后复发; 复发 84.8% 为颈部且多为中央区淋巴结转移, 单纯甲状腺叶复发仅占 15.2%, 复发与淋巴结转移相关, 应加强颈部淋巴结随访。本组男女比 1:1.8, 原发灶 47.5% 小于 1 cm, 52.5% 大于 1 cm, 有小于 2 mm 的淋巴结转移, 复发转移与性别、原发灶大小无关。

2. Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 表达与多灶性 PTC 复发转移的关系:Ki-67 是与细胞分裂和增殖相关的核蛋白, 其表达量随细胞周期不同而变化, 静止期无表达, 活跃期表达, Ki-67 可反映细胞增殖活性, 是目前应用最广的细胞增殖标记之一^[2], 高表达与侵袭转移行为有关。Ki-67 检测简单, 重复性好, 可判断生长细胞比例、细胞增殖状态和肿瘤恶性程度^[3-6]。在甲状腺癌中 Ki-67 阳性率差别很大^[3-6], 可能与统计方法有关, 本组经统计学分析认为, Ki-67 以 20% 为界分级, 结果 Ki-67 的高表达与多灶性 PTC 侵袭转移复发有关($P < 0.05$), Ki-67 增殖指数 > 20% 转移复发风险增高。

细胞周期调控异常是恶性肿瘤的重要特征, G1/S 转换在细胞周期中最重要, Cyclin D1 是 G1 期调控因子, 处于正向调节的关键点^[7], 肿瘤基因扩增、染色体重排和转录后可使其蛋白产物增多、细胞增殖失控而向肿瘤转化; Cyclin D1 被激活后又与多种癌基因协同促进细胞转化, 从 G1 期进入 S 期, 完成 DNA 复制。本组 Cyclin D1 阳性率在淋巴结阳性组为 79.6%, 无转移有复发组 52.4%, 转移且复发组为 92.9%, Cyclin D1 高表达与转移复发相关($P < 0.05$)。

抑癌基因低表达或缺失同样参与了 PTC 发生发展^[8-9]。Bcl-2 是凋亡抑制基因, 通过抑制肿瘤细胞凋亡间接推动肿瘤发生发展, 过表达或失调均可阻断凋亡而使细胞不断增殖^[10]。本组 Bcl-2 在 VI区和 II ~ V区

淋巴结转移灶中高表达且正相关,与淋巴结转移和肿瘤复发有关。

本组 Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 在 VI 区和 II ~ V 区淋巴结中的表达正相关,提示 VI 区淋巴结与 II ~ V 区淋巴结转移具有相关性,三者高表达可增强其侵袭及淋巴结转移能力;三者在原发癌与转移灶、原发癌与复发灶中的表达差异无统计学意义,提示转移和复发后恶性程度并未增加。三者联合检测有利于评估侵袭转移的能力,对于高表达者应加强随访。

3. 多灶性 PTC 的治疗:PTC 颈部淋巴结转移率较高,目前观点认为 PTC 颈部淋巴结阳性的病例应行根治手术,阴性病例是否行选择性颈淋巴结清扫还存在争议。本组多灶性 PTC 复发率达 35.9%,颈部淋巴结转移率达 58.7%,多灶性 PTC 复发与淋巴结转移有关;VI 区和 II ~ V 区淋巴结转移正相关;Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 在多灶性 PTC 中高表达与转移、复发有关,在多灶性 PTC 淋巴结转移中的结果也显示正相关,故主张对多灶性 PTC 术中原发灶根治加颈中央区淋巴结清扫一并完成,术中行中央区淋巴结快速病理检查,阳性病例行颈淋巴结清扫术。

参 考 文 献

- [1] Delellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, et al. Tumours of endocrine organs//WHO. Pathology & Genetics. Lyon: IARC Press, 2004; 57-66.
- [2] 金东岭, 李兰梅, 刘现军, 等. 甲状腺肿瘤中 survivin 和 Ki-67 的表达. 临床与实验病理学杂志, 2009, 25: 154-157.
- [3] 伍石华. NF- κ B 和 Ki-67 在甲状腺肿瘤中的表达及其意义. 临床肿瘤学杂志, 2007, 12: 825-829.
- [4] 王凤华, 宋晶莹. 92 例甲状腺癌中细胞增殖蛋白表达及其意义. 现代肿瘤医学, 2010, 18: 1102-1103.
- [5] 成继民, 贺占国, 刘艳丽. C-erbB-2 和 Ki-67 在甲状腺肿瘤中的表达及临床意义. 解放军医学杂志, 2004, 29: 142-143.
- [6] 冯雯, 曹亦军, 张计训. 甲状腺癌中 Ki67 和 survivin 的表达及意义. 实用医学杂志, 2009, 25: 3215-3218.
- [7] Wang S, Lloyd RV, Hutzler MJ, et al. The role of cell cycle regulatory protein, cyclin D1 in the progression of thyroid cancer. Mod Pathol, 2000, 13: 882-887.
- [8] 刘钢, 史火喜, 袁又能, 等. 凋亡抑制基因 Survivin 在甲状腺癌组织中的表达及意义[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5: 840-843.
- [9] 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: 991-994.
- [10] 骆利康, 朱晓萍. 隐性甲状腺乳头状癌 Bcl-2 和 nm23 表达的意义. 中华病理学杂志, 2003, 32: 147-148.

(收稿日期: 2011-02-21)

(本文编辑: 戚红丹)

王刚平, 周瑞玲, 张作峰, 等. 多灶性乳头状甲状腺癌中 Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 的表达与转移复发的关系[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5(12): 3518-3522.