

• 临床论著 •

半乳糖凝集素 3、细胞角蛋白 19 及甲状腺过氧化物酶在甲状腺乳头状癌中的表达及意义

南润玲 尚培中 谷化平 曹怀宇 王铁山

【摘要】 目的 检测半乳糖凝集素 3 (Galectin-3)、细胞角蛋白 19 (CK19) 和甲状腺过氧化物酶 (TPO) 在甲状腺腺瘤 (TA)、结节性甲状腺肿伴乳头状增生 (NGWPH) 和甲状腺乳头状癌 (PTC) 中的表达状况, 探讨三种抗体联合检测在甲状腺乳头状癌的早期诊断及良恶性病变鉴别诊断中的临床价值。方法 采用 EliVision™ plus 两步免疫组化方法, 检测 Galectin-3、CK19 和 TPO 在 55 例 PTC、40 例 NGWPH 和 40 例 TA 中的表达状况。结果 在 55 例 PTC 中, Galectin-3、CK19 和 TPO 阳性率分别为 92.73%、96.36%、18.18%。Galectin-3、CK19 在 PTC 组中的阳性表达率显著高于 NGWPH 和 TA 组 ($P < 0.01$); 而 TPO 在 PTC 组中的阳性表达率显著低于 NGWPH 和 TA 组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); 在 PTC 组中 Galectin-3、CK19 及 TPO 联合检测的阳性率高于 NGWPH 和 TA 组, 三种抗体同时表达在 PTC 与甲状腺良性疾病之间的差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论 Galectin-3、CK19 和 TPO 联合检测更有助于 PTC 的准确诊断, 为临床治疗提供可靠的依据。

【关键词】 甲状腺肿瘤; 半乳糖凝集素 3; 角蛋白 19; 碘化物过氧化物酶; 免疫组织化学

Expression and significance of detecting Galectin-3, cytokeratin 19, thyroid peroxidase in papillary thyroid carcinoma

NAN Run-ling, SHANG Pei-zhong, GU Hua-ping, CAO Huai-yu, WANG Tie-shan. Department of General Surgery, The 251st Hospital of PLA, Zhangjiakou 075000, China

Corresponding author: SHANG Pei-zhong, Email: spz251@163.com

【Abstract】 Objective To detect the expression of Galectin-3, cytokeratin 19 and thyroid peroxidase in thyroid adenoma (TA), nodular goiter with papillary hyperplasia (NGWPH) and papillary thyroid carcinoma (PTC), to explore the clinical value of three antibodies combined detection in the early diagnosis of papillary thyroid carcinoma and differential diagnosis in benign and malignant lesions. **Methods** EliVision™ plus two-step method was performed to detect the expression of Galectin-3, cytokeratin 19 and thyroid peroxidase in 55 patients with PTC, 40 patients with NGWPH and 40 patients with TA. **Results** The positive expression rates of Galectin-3, cytokeratin 19 and thyroid peroxidase in PTC were 92.73%, 96.36%, 18.18%, the positive expression rate in PTC significantly higher than NGWPH and TA group ($P < 0.01$); The positive expression rates of thyroid peroxidase in PTC significantly lower than NGWPH and TA group ($P < 0.01$); The positive expression rates of combined detection of Galectin-3, cytokeratin 19 and thyroid peroxidase in PTC significantly higher than NGWPH and TA group, simultaneously expression of three antibodies between PTC and benign thyroid diseases had a significant difference ($P < 0.01$). **Conclusions** Combined detection of Galectin-3, cytokeratin 19 and thyroid peroxidase contribute to more accurate diagnosis of PTC and provide a reliable basis for clinical treatment.

【Key words】 Thyroid carcinoma; Galectin-3; Keratin-19; Iodide peroxidase; Immunohistochemistry

甲状腺癌是最常见的内分泌恶性肿瘤之一, 发病率约占全身恶性肿瘤发病率的 4%, 而甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC) 是最常见的类型, 约占原发性甲状腺恶性肿瘤的 80%^[1], 具有较高的局部

侵袭性和颈部淋巴结转移率^[2-3]。近年来, 结节性甲状腺肿、甲状腺腺瘤 (thyroid adenoma, TA) 等甲状腺良性疾病合并 PTC 的发病率逐年递增^[4], 早期诊断正确与否直接影响到治疗方案的选择和患者的预后。因此, 发现对于甲状腺癌诊断具有较高特异性的免疫组化标记物具有重要的意义。本研究通过免疫组化法联合检测半乳糖凝集素 3 (Galectin-3)、细胞角蛋白 19 (cytokeratin 19, CK19) 及甲状腺过氧化物酶 (thyroid Peroxidase, TPO) 抗体在各种甲状腺组织表达, 旨在探

讨三者 in PTC 诊断和鉴别诊断的价值。

资料与方法

1. 一般资料:收集解放军第 251 医院病理科 2010 年 10 月至 2012 年 5 月外科手术切除的甲状腺标本 135 例,其中 PTC 55 例,结节性甲状腺肿伴乳头状增生 (nodular goiter with papillary hyperplasia, NGWPH) 40 例和 TA 40 例。男 52 例,女 83 例,患者年龄 24 ~ 78 岁,平均(53.7 ± 11.5)岁。所有标本临床资料完整、病理诊断明确,且术前均未经任何处理。组织病理诊断参照 2004 年 WHO 甲状腺组织学分类标准^[5]。

2. 方法:所有标本均经 10% 甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μm 厚连续切片,分别进行 HE 染色和免疫组化染色。其中免疫组化染色采用 EliVision 两步法,按试剂盒说明进行实验操作。以诊断明确的 PTC 为阳性对照,以 PBS 代替一抗作阴性对照。所选抗体 Galectin-3、CK19 和 TPO 均为鼠抗人单克隆抗体,EliVision 试剂盒、DAB 显色剂均购自福州迈新生物技术开发有限公司。

3. 结果判断:Galectin-3、CK19、TPO 均以细胞质内出现棕黄色颗粒者为阳性,以阳性细胞所占百分比并参考着色强度分级如下:无阳性细胞或阳性细胞数 < 10% 为阴性(-),阳性细胞数 10% ~ 25% 为弱阳性(+),阳性细胞数 25% ~ 50% 为中度阳性(++),阳性细胞数 > 50% 为强阳性(+++)。

4. 统计学分析:实验数据应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,组间率的比较采用成组资料的 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Galectin-3 在甲状腺良恶性病变中的表达情况(表 1,图 1):Galectin-3 阳性物质主要定位于细胞质。55 例 PTC 中 Galectin-3 阳性率为 92.73% (51/55),其中呈中度和强阳性表达 49 例,弱阳性表达 2 例,阴性表达 4 例;40 例 NGWPH 中 Galectin-3 阳性率为 17.50% (7/40),其中呈中度和强阳性表达 3 例,弱阳

性表达 4 例,阴性表达 33 例;40 例 TA 中 Galectin-3 阳性率为 12.50% (5/40),其中中度阳性表达 2 例,弱阳性表达 3 例,阴性表达 35 例。Galectin-3 在 PTC、NGWPH 和 TA 之间表达差异具有统计学意义($P < 0.01$)。

2. CK19 在甲状腺良恶性病变中的表达情况(表 1,图 2):55 例 PTC 中 CK19 阳性表达率为 96.36% (53/55),其中呈中度和强阳性表达 50 例,弱阳性表达 3 例,阴性表达 2 例;40 例 NGWPH 中 CK19 阳性率为 20.00% (8/40),呈强阳性表达 3 例,弱阳性表达 5 例,阴性表达 32 例;40 例 TA 中阳性率为 15.00% (6/40),其中呈强阳性 2 例,弱阳性 4 例,阴性表达 34 例。CK19 在甲状腺良恶性疾病中的表达差异具有统计学意义($P < 0.01$)。

3. TPO 在甲状腺良恶性病变中的表达情况(表 1,图 3):在 55 例 PTC 中 TPO 阳性表达率为 18.18% (10/55),其中仅有局灶性弱阳性表达 10 例,阴性表达 45 例;在 40 例 NGWPH 中 TPO 阳性率为 92.50% (37/40),其中呈强阳性表达 37 例,阴性表达 3 例;40 例 TA 中 TPO 阳性表达率为 95.00% (38/40),其中呈强阳性 38 例,阴性 2 例。TPO 在甲状腺良恶性病变之间的表达差异具有统计学意义($P < 0.01$)。

4. Galectin-3、CK19 及 TPO 在甲状腺良恶性病变中的联合检测(表 2):以 Galectin-3 强阳性(++~+++)、CK19 强阳性(++~+++)及 TPO 阴性(-)作为鉴别甲状腺良恶性病变的判断标准。在 55 例 PTC 中符合上述标准约 78.18% (43/55)。而在 NGWPH 和 TA 中则分别为 7.50% (3/40) 及 5.00% (2/40)。Galectin-3、CK19 及 TPO 三种抗体同时表达在甲状腺良恶性疾病之间的差异具有统计学意义($P < 0.01$)。

讨 论

典型的 PTC 存在复杂的乳头状结构,表现为典型的复杂分支和增大的卵圆形清澈或毛玻璃样重叠核,诊断起来并不困难。当结节性甲状腺肿和甲状腺瘤伴有滤泡上皮乳头状增生或非典型性改变时,与甲状腺乳头状微小癌(papillary microcarcinoma of thyroid, PMCT)

表 1 Galectin-3、CK19、TPO 在不同甲状腺病变中的表达

组别	例数	Galectin-3					CK19					TPO				
		- (例)	+ (例)	++ (例)	+++ (例)	阳性率 (%)	- (例)	+ (例)	++ (例)	+++ (例)	阳性率 (%)	- (例)	+ (例)	++ (例)	+++ (例)	阳性率 (%)
PTC	55	4	2	10	39	92.73	2	3	18	32	96.36	45	10	0	0	18.18
NGWPH	40	33	4	2	1	17.50	32	5	0	3	20.00	3	0	5	32	92.50
TA	40	35	3	2	0	12.50	34	4	0	2	15.00	2	0	5	33	95.00

注:三种指标中,三组两两比较, P 均 < 0.01

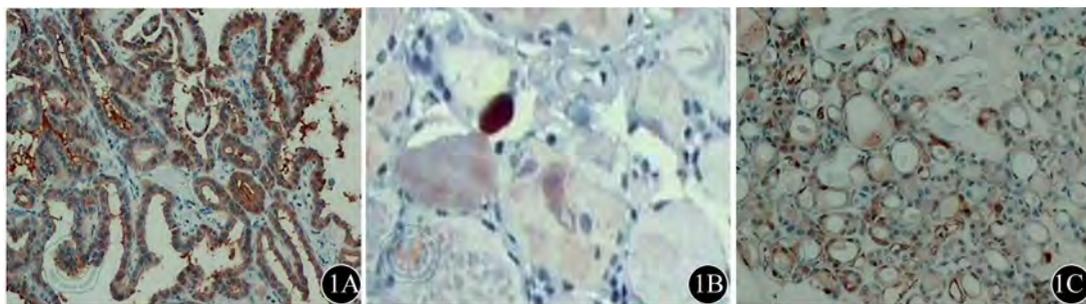


图1 Galectin-3在甲状腺组织中的表达(EliVision™plus×200)。1A: 甲状腺乳头状癌(+++); 1B: 结节性甲状腺肿伴乳头状增生(-); 1C: 甲状腺腺瘤(+)

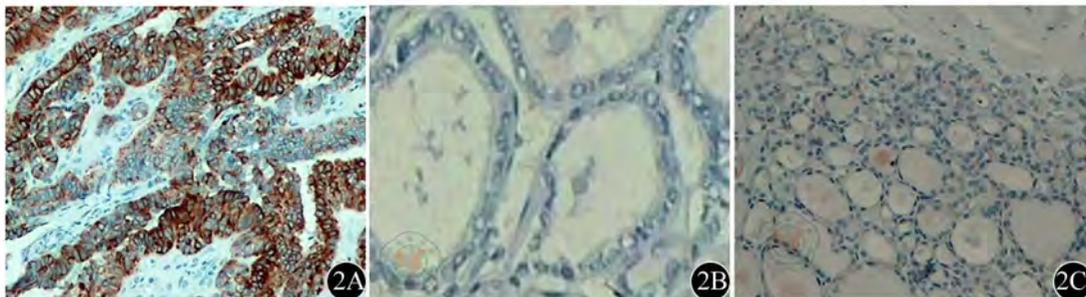


图2 CK19在甲状腺组织中的表达(EliVision™plus×200)。2A: 甲状腺乳头状癌(+++); 2B: 结节性甲状腺肿伴乳头状增生(-); 2C: 甲状腺腺瘤(+)

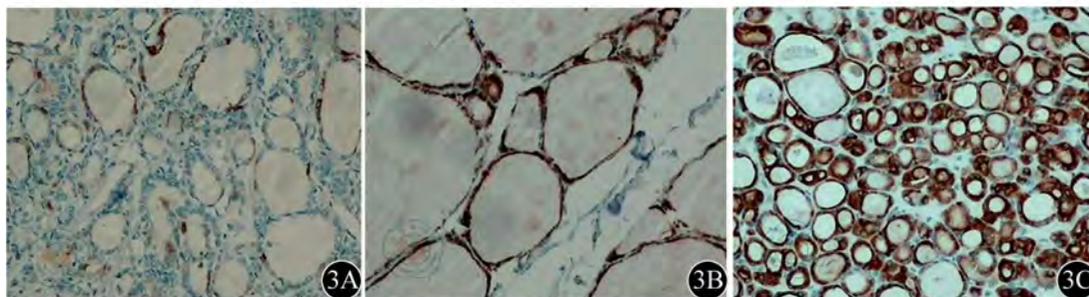


图3 TPO在甲状腺组织中的表达(EliVision™plus×200)。3A: 甲状腺乳头状癌(+); 3B: 结节性甲状腺肿伴乳头状增生(+++); 3C: 甲状腺腺瘤(+++)

表2 Galectin-3、CK19和TPO协同表达与不同甲状腺病变的关系

组别	例数	三种标记物同时表达(例)	阳性率(%)
PTC	55	43	78.18 ^{ab}
NGWPH	40	3	7.50
TA	40	2	5.00

注:与NGWPH比较, $\chi^2 = 46.32$,^a $P < 0.01$;与TA比较, $\chi^2 = 49.75$,^b $P < 0.01$

的鉴别成为病理诊断的难点^[6]。

Galectin-3属凝蛋白集素家族成员,是一种糖类结合蛋白,主要存在于细胞质中。可调节细胞生长分化,阻止肿瘤细胞凋亡,促进血管生成,参与肿瘤细胞的侵袭和转移^[7]。Galectin-3在甲状腺细胞增殖的不同阶段起着不同的作用,自1995年发现与PTC密切相关后,越来越多的研究证实了其在PTC中的诊断价值^[8-10]。已有研究^[11-12]发现Galectin-3表达阳性的甲状腺良性病变也有癌变的可能,尤其是和CK19同时表

达者恶变概率更高。此外,Galectin-3还通过参与PTC细胞的黏附作用影响其转移。因此,Galectin-3被认为是鉴别甲状腺良恶性病变较可靠的一线蛋白标记物。

CK19是一种低分子量细胞角化蛋白,由KRT19基因编码,存在于上皮细胞中。在正常的甲状腺组织及乳头状增生中不表达或局灶低表达,但在PTC中高表达^[13]。国内外研究^[14-16]证实,CK19对于PTC和甲状腺良性病变的鉴别诊断有很高的应用价值,可作为区分PTC和甲状腺良性病变的一个特异性较高的标志物。新近研究发现,CK19在PTC中表达明显增加,不但参与了PTC的发生发展过程,而且与肿瘤的转移有关^[17]。

TPO是一种糖基化血红蛋白,位于甲状腺细胞内质网、核周膜与顶膜,是甲状腺激素生物合成的关键酶。TPO的表达与滤泡细胞的组织分化 and 功能相关。研究发现TPO在甲状腺癌中呈低表达,仅少数病例局部弱阳性表达,而甲状腺良性病变中呈高表达^[18],其对于PTC的诊断灵敏度为89.90%~100.00%,特异度为

64.40%~90.00%^[19]。

目前用于鉴别甲状腺肿瘤良恶性的检查方法包括很多,如甲状腺球蛋白测定、甲状腺超声、CT扫描、核素扫描等,但是病理检查依然是诊断的金标准。在诊断困难时,免疫组化单项指标具有局限性。本研究结果显示,在PTC中Galectin-3、CK19主要呈弥漫性中度和强阳性表达,TPO在PTC中以阴性表达为主;在甲状腺良性疾病中Galectin-3、CK19主要呈阴性表达,仅在少数增生性细胞中呈散在的或局灶性弱阳性表达,而TPO则以弥漫性强阳性表达为主。我们将Galectin-3、CK19及TPO在甲状腺良恶性病变中的表达情况进行了对比性观察,结果提示三者的联合表达在甲状腺良恶性病变中具有显著差异。因此,我们认为Galectin-3、CK19和TPO联合检测可为PTC的诊断提供更可靠的依据^[20-21],使甲状腺乳头状微小癌得以及早发现,为临床治疗提供可靠的依据。

参 考 文 献

- [1] 邓敏,叶顾萍,马建中,等. 甲状腺乳头状癌中CK19、Galectin-3、HBME-1和TPO的表达及意义. 临床与实验病理学杂志,2011,27:843-846.
- [2] Rosenbaum MA, McHenry CR. Contemporary management of papillary carcinoma of gland. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2009, 9:317-329.
- [3] 谷化平,尚培中. Survivin和CD44V6蛋白表达与甲状腺乳头状癌侵袭转移的关系. 生命科学研究,2011,15:65-69.
- [4] 柴红,陈泽泉,余永利. 甲状腺癌合并甲状腺疾病的统计分析[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2012,6:1439-1442.
- [5] Delellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, et al. *Tumours of Endocrine Organs // Word Health Organization Classification of Tumours. Pathology&Genetics. Lyon: IARC Press, 2004:57-66.*
- [6] 韩冰,马凯,孙洪利. 甲状腺微小癌八例误诊分析. 临床误诊误治,2009,22:57-58.
- [7] Nangia-Makker P, Balan V, Raz A. Regulation of tumor progression by extracellular Galectin-3. *Cancer Microenviron*, 2008, 1:43-51.
- [8] Xu XC, el-Naggar AK, Lotan R. Differential expression of galectin-1 and Galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications. *Am J Pathol*, 1995, 147:815-822.
- [9] 杨婷婷,程若川. Galectin-3与几种甲状腺疾病的关系. 中国普外基础与临床杂志,2011,18:907-910.
- [10] Park YJ, Kwak SH, Kim DC, et al. Diagnostic value of Galectin-3, HBME-1, cytokeratin19, high molecular weight cytokeratin, cyclin D1 and p27 in the differential diagnosis of thyroid nodules. *J Korea Med Sci*, 2007, 22:621-628.
- [11] 徐其银. Galectin23和Cytokeratin219在桥本甲状腺炎并发微小乳头状癌中不同区域的表达. 昆明:昆明医学院,2010.
- [12] Htwe TT, Karim N, Wong J, et al. Differential expression of Galectin-3 in advancing thyroid cancer cells: a clue toward understanding tumour progression and metastasis. *Singapore Med J*, 2010, 51:856-859.
- [13] Saleh HA, Jin B, Barnwell J, et al. Utility of immunohistochemical markers in differentiating benign from malignant follicular derived thyroid nodules. *Dign Pathol*, 2010, 26:5-9.
- [14] Bose D, Das RN, Chatterjee U, et al. Cytokeratin 19 immunoreactivity in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Indian J Med Pae diatr Oncol*, 2012, 33:107-110.
- [15] 俞文英,王淑妍,王海萍,等. 34βE12、CK19与TPO在甲状腺乳头状癌与甲状腺乳头状增生鉴别诊断中的价值. 浙江实用医学, 2012, 17:88-89.
- [16] 顾春燕,肖锋,钱金锋,等. CK19、Galectin-3和HBME-1在甲状腺乳头状癌中的表达及意义. 江苏医药,2011,37:1571-1573.
- [17] 史琳,张安文,杨燕初,等. 甲状腺乳头状癌组织CK19的表达及临床病理意义. 长江大学学报:自然科学版,2009,6:22-24.
- [18] Savin S, Cvejic D, Isic T, et al. Thyroid peroxidase and Galectin-3 immunostaining in differentiated thyroid carcinoma with clinicopathologic correlation. *Hum Pathol*, 2008, 39:1656-1663.
- [19] Di Cristofaro J, Silvy M, Lanteaume A, et al. Expression of tpo mRNA in thyroid tumors: quantitative PCR analysis and correlation with alterations of ret, Braf, ras and pax8 genes. *Endocr Relat Cancer*, 2006, 13:485-495.
- [20] Paunovic I, Isic T, Havelka M, et al. Combined immunohistochemistry for thyroid peroxidase, Galectin-3, CK19 and HBME-1 in differential diagnosis of thyroid tumors. *APMIS*, 2012, 120:368-379.
- [21] Cui W, Sang W, Zheng S, et al. Usefulness of cytokeratin-19, Galectin-3, and Hector Battifora mesothelial-1 in the diagnosis of benign and malignant thyroid nodules. *Clin Lab*, 2012, 58:673-680.

(收稿日期:2012-11-15)

(本文编辑:梁雷)

南润玲,尚培中,谷化平,等. 半乳糖凝集素3、细胞角蛋白19及甲状腺过氧化物酶在甲状腺乳头状癌中的表达及意义[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2013,7(6):2381-2384.