

Galectin3、CD56 和 Mc 在术中冰冻诊断困难的甲状腺乳头状癌中的表达和意义

田 琨¹, 张瑞明²

(1. 北京市海淀区妇幼保健院 乳腺病防治中心, 北京 100080; 2. 内蒙古医科大学附属医院 甲乳外科)

摘要:目的: Galectin3、CD56 和 Mc 在术中冰冻不易诊断的甲状腺乳头状癌(thyroid papillary carcinoma, PTC)中的表达及意义。方法: 选取 2014-10~2017-08 期间内蒙古医科大学附属医院术中冰冻诊断不易确诊、由术后病理确诊的 180 个病例, 其中甲状腺乳头状癌的病例 144 例, 结节性甲状腺肿 36 例, 对 Galectin3、CD56、Mc 这三种蛋白其免疫组化的表达结果进行统计学分析。结果: 在 180 例术中冰冻诊断难以确诊、经术后病理证实其结果的病例中, Galectin3 阳性表达量为甲状腺癌(THCA)有 124 例(达 86% 阳性率), 在结节性甲状腺肿(NG)的阳性表达方面, 16 人为阳性, 呈 44% 阳性率; CD56 阳性表达数目 PTC 为 60 人(达 41% 阳性率), 在 NG 中的表达, 28 人显示阳性, 达 77.8% 阳性率。PTC 表达中, Mc 表达阳性的为 128 人(达 88.9% 阳性率), 皆属于弱阳性水平; 在 36 例 NG 中, 12 人为阳性表达(达 33.3% 阳性率)。上述 3 项指标在 PTC 与 NG 的阳性表达上均有着一定区别, 对比良、恶性病变之间的表达发现存在显著不同表现($P < 0.05$)。结论: Galectin-3、Mc 抗体于 PTC 内表达上调, CD56 表达下降, 这 3 项指标用于 PTC、NG 的鉴别皆有着较好表现, 对于 PTC 病理诊断起到一定的借鉴作用。

关键词: 甲状腺肿瘤; Galectin-3; CD56; Mc; 免疫组化

中图分类号: R736.1

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2021)05-0508-05

1 引言

THCA 是头颈部发生率较高的一类内分泌系统恶性肿瘤, 全球此病发病率在全身恶性肿瘤中为 1%~2% 左右的占比, 近些年 THCA 发病率不断攀升^[1]。在甲状腺恶性肿瘤中, PTC 的发生率最高, 且发病人数最多, 但其可实现较好预后, 就病发生率而言, 男性低于女性, 在青少年与儿童所含的甲状腺恶性肿瘤中通常为 PTC^[2-3]。关于 PTC 的含义, 肿瘤国际组织学分类的解释为: 甲状腺存在确切滤泡细胞分化表现, 具典型的滤泡与乳头构造, 特征性胞核异常的一类上皮恶性肿瘤; 在临床诊治过程中经常会遇到病理无典型性、不易诊断的患者, 极大提高了病理诊断难度, 发现对 PTC 确诊有所帮助, 且在特异性、敏感性方面有着良好表现的分子标志物非常关键。

Galectin(半乳糖凝集素)是一类可与半乳糖相结合的可溶性凝集素, 当前发现的类型已有 15 种^[4]。研究证实, Galectin-3 低表达或不表达于甲状腺良性病变中, 但在 PTC 中几乎均为阳性表达。

CD56 是一种可以识别神经细胞黏附分子的糖蛋白^[5]。有研究表明 CD56 过表达的肿瘤与恶性肿

瘤转移的潜能和预后较少呈正相关^[6-7]。它在诊断 PTC 时可以作为协助的一个阴性指标。

Mc 是一种单克隆抗体, 研究表明 Mc 在甲状腺乳头状癌的阳性率为 100%。故近年来其大多用于甲状腺恶性肿瘤的鉴别诊断^[8]。

本实验对 144 例甲状腺乳头状癌、36 例结节性甲状腺肿进行 Galectin-3、CD56、Mc 蛋白的免疫组织化学检测, 探讨这些抗体标志物在临床中甲状腺乳头状癌诊断和鉴别诊断的作用。

2 材料与方法

2.1 实验材料

2.1.1 材料来源 选取内蒙古医科大学附属医院术中冰冻诊断难以确诊、经术后病理证实为 PTC 的病例 144 例, NG36 例, 对它们的免疫组化的表达结果进行统计学分析。其中, 16 例为男性患者, 164 例为女性患者, 年龄范围为 29~68 岁, 中位数年龄为 46 岁。取肿瘤周边合并结节性甲状腺肿的石蜡标本。所有材料均为 4% 甲醛固定、石包埋的组织。

收稿日期: 2021-07-13; 修回日期: 2021-09-24

作者简介: 田琨(1988-), 女, 北京市海淀区妇幼保健院乳腺病防治中心住院医师。

通讯作者: 张瑞明, 主任医师, E-mail: zrm005@163.com 内蒙古医科大学附属医院甲状腺乳腺外科 B 区, 010050

2.2 实验方法

2.2.1 检测指标为 CD56、Galectin-3、Mc 蛋白 根据检验科标准,免疫组化采用 Eli Vision™ Plus 二步法。

2.2.2 修整后的蜡块 在石蜡切片机(德国 Leica)上连续切片。

2.2.3 H-E 染色

2.2.4 免疫组化染色

(1)65℃烤箱内,行烤片处理。

(2)脱蜡与水化。

(3)PBS液漂洗。

(4)加入试剂1(相应生物素化的二抗),移至恒温箱内,在37℃条件下行20min孵育处理。

(5)加入试剂2(相应生物素化的二抗)。

2.2.5 结果判定 每一张病理切片均分别由两名病理科医师单盲法评估。Galectin-3 和 Mc 可见表达于细胞质,CD56 则在包膜与胞质上表达。结果判定:显示黄色颗粒分布,同时相较背景明显偏高的着色,属于阳性,有些细胞核着色 Galectin-3,各切片皆选出5个400×高倍镜视野,对各视野内阳性细胞量在总细胞量中的占比进行逐一统计。接着将这5个视野内阳性细胞占比的均数当做此例阳性细胞的占比终值。在划分等级方面,+代表阳性细胞10%~25%占比;2+代表阳性细胞25%~50%占比;3+代表阳性细胞50%~75%占比;4+为75%~100%阳性细胞;其中+和2+为弱阳性,3+和4+为强阳性;而阴性病例(-)为无或<10%阳性细胞。

2.3 统计结果

数据处理的工具为 SPSS 26.0 软件包。将“+”与以上病例归入免疫组化(IHC)阳性组,在对比多组数据阳性率方面,实施 χ^2 检验,对等级数值实施秩和检验,若条件不具备,实施精确概率法检验,差异具显著水平的检验水准为“ $P < 0.05$ ”,在关联性分析方面,采取 Spearman 秩相关分析法。差异缺乏统计价值的条件为“ $P > 0.05$ ”。

3 结果

3.1 镜下观察甲状腺乳头状癌细胞的病理形态

甲状腺乳头状癌的典型病理结构:

I. 结构:乳头状

II. 细胞核特点:

1. 核增大

2. 核拥挤或重叠

3. 染色质透亮

4. 核形不规则

5. 核内假包涵体

6. 核沟

III. 沙砾体 砂粒体形态:(i)同心圆排列的钙盐沉积;(ii)圆形或椭圆形;(iii)位置与肿瘤细胞相关,位于肿瘤间质或淋巴管,不能位于滤泡腔内

IV. 纤维化

但上述一些病变的情况有时不是同时具备,鉴定困难就需要做免疫组化(见图1~3)。部分镜下观察甲状腺乳头状癌细胞的病理形态。

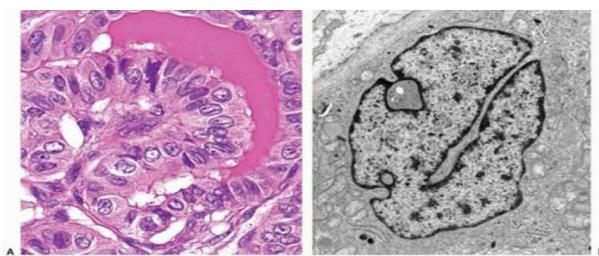


图1 甲状腺乳头状癌的细胞核沟

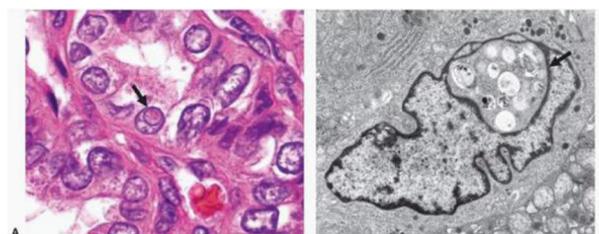


图2 甲状腺乳头状癌的细胞核内包涵体

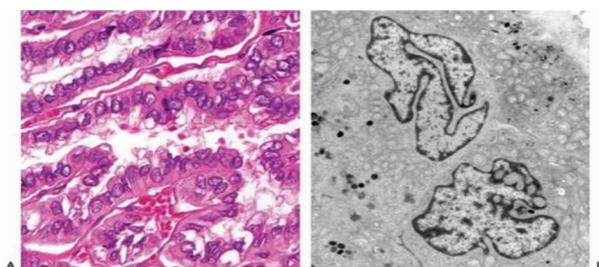


图3 甲状腺乳头状癌的细胞核形不规则

3.2 Galectin-3的免疫组化染色结果

Galectin-3 阳性染色颗粒的分布以细胞质为主,小部分在细胞核内出现。其显示棕褐色、黄色颗粒分布,同时相较背景着色明显偏高,属于阳性。在 PTC 144 人中,124 人为阳性表达,达 86% 阳性率,其中 8 人为强阳性表达,100 人为弱阳性表达,另 36 人为阴性表达。在 36 例 NG 中,16 人为阳性表达,达 44% 阳性率,0 人强阳性表达,16 人弱阳性表达,另 20 人为阴性表达。在表达方面,对比两组发现有显著不同($P < 0.05$)(见表1)。

表1 NG和PTC组织中 Galectin-3 的表达

病变类型	n	-	+	++	+++	++++	阳性率
乳头状癌	144	36	96	4	8	0	86.1%
结节性甲状腺肿	36	20	16	0	0	0	44.4%

PTC的Galectin-3表达与肿瘤大小、性别、淋巴结转移状况、年龄、病灶皆缺乏明显联系(见表2)。

表2 PTC的Galectin-3表达与性别、病灶、年龄、淋巴结转移情况、肿瘤大小相关性分析

指标	n	阳性例数	阳性率	P
性别				0.875
男	16	16	100%	
女	128	108	84.3%	
年龄				0.629
<55岁	56	52	92.8%	
≥55岁	88	72	81.8%	
单发还是多发病灶				0.789
单发	82	78	95.1%	
多发	62	46	74.1%	
淋巴结转移情况				0.976
有转移	20	18	90%	
无转移	124	106	85.4%	
肿瘤大小				0.630
<2.0cm	100	92	92.0%	
≥2.0cm	44	32	72.7%	

3.3 CD56的免疫组化染色结果

CD56的表达以细胞膜为主,胞质内低表达或未表达。其显示棕褐色、黄色颗粒分布,且相较背景着色明显偏高,属于阳性。在144例PTC病人中,阳性表达的有60人,达41%阳性率,但皆属于弱表达;在36例NG病人中,28人为阳性表达。存在显著区别($P < 0.05$)(见表3)。

表3 NG和PTC中 CD56的表达

病变类型	例数	-	+	++	+++	++++	阳性率
乳头状癌	144	84	60	0	0	0	41.7%
结节性甲状腺肿	36	8	28	0	0	0	77.8%

PTC的CD56阳性表达人数偏少,和肿瘤大小、性别、淋巴结转移状况、年龄、病灶不存在明显联系(见表4)。

3.4 Mc的免疫组化染色结果

Mc阳性表达场所以胞质为主。其显示棕褐

表4 PTC的CD56表达与性别、病灶、年龄、淋巴结转移情况、肿瘤大小相关性分析

指标	例数	阳性例数	阳性率	χ^2	P
性别					0.698
男	16	4	25%		
女	144	56	38.9%		
年龄					0.521
<55岁	56	32	57.1%		
≥55岁	124	28	22.6%		
单发还是多发病灶					0.891
单发	82	34	41.4%		
多发	78	26	33.3%		
淋巴结转移情况					0.911
有转移	20	10	50%		
无转移	124	50	40.3%		
肿瘤大小					0.987
<2.0cm	100	36	36%		
≥2.0cm	80	24	30%		

色、黄色颗粒分布,且相较背景着色明显偏高,属于阳性。在144例PTC病人中,阳性表达者为128人,达88.9%阳性率,皆属于弱表达;在36例NG病人中,12人显示阳性表达。存在显著区别($P < 0.05$)(见表5),具统计价值。

表5 NG和PTC中 Mc的表达

病变类型	例数	-	+	++	+++	++++	阳性率
乳头状癌	144	64	128	0	0	0	88.9%
结节性甲状腺肿	36	24	12	0	0	0	33.3%

PTC的Mc阳性表达人数偏少,和肿瘤大小、性别、淋巴结转移状况、年龄、病灶不存在明显联系(见表6)。

在分别分析了三项指标的阳性表达情况后,为了解Galectin-3、CD56、Mc三项指标间的相关性,又分别对144例甲状腺乳头状癌患者三者的表达情况进行了相关性分析,对三者的阳性表达率进行了多重比较。结果发现,Galectin-3、Mc两项指标间差异不显著;Galectin-3、Mc与CD56间差异显著($P < 0.05$)。Galectin-3与Mc呈正相关,Galectin-3、Mc分别与CD56呈负相关。

4 讨论

甲状腺肿瘤分为恶性和良性两部分肿瘤。临床上难以确定性质的甲状腺结节,寻找能帮助诊断

表6 PTC的Mc表达与性别、病灶、年龄、淋巴结转移情况、肿瘤大小相关性分析

指标	例数	阳性例数	阳性率	P
性别				0.975
男	16	16	100%	
女	128	112	87.5%	
年龄				0.538
<55岁	56	44	78.6%	
≥55岁	88	84	67.7%	
单发还是多发病灶				0.765
单发	82	70	85.4%	
多发	62	58	93.5%	
淋巴结转移情况				0.912
有转移	20	17	86%	
无转移	124	111	89.5%	
肿瘤大小				0.890
<2.0cm	100	76	76%	
≥2.0cm	44	52	65%	

表7 Galectin-3、CD56、Mc三项指标间的相关关系

指标	例数	阳性例数	阳性率
Galectin-3	144	124	86.1%
CD56	144	60	41.6%*
Mc	144	128	88.9%

注:*表示在0.05水平上差异显著

和鉴别诊断PTC的特异性标志物极其重要。我们检测了Galectin-3、CD56、Mc蛋白在PTC和结节性甲状腺肿疾病中的表达情况,为鉴别甲状腺结节和PTC早期发现提供理论基础。

4.1 Galectin-3的表达及其意义

GL-3仅表达于恶性病变内,尤其在PTC内基本皆是阳性表达,多数是强阳性,但在正常甲状腺组织与良性甲状腺结节无表达,或为小部分弱阳性表达,所以,在对甲状腺良恶性病变进行鉴别诊断方面,GL-3指标具备应用价值^[9]。

此项研究发现,GL-3于PTC中的表达量大幅上调,两组之间表达存在差异性($P < 0.05$),有统计学意义。表明GL-3对甲状腺乳头状癌诊断的准确性较高,故可以作为甲状腺良恶性疾病相鉴别的重要标志物。本课题还进一步研究了GL-3的表达与甲状腺乳头状癌的性别、年龄、肿瘤大小的关系,其结果提示以上几项因素与GL-3的表达均无明显的相关性($P > 0.05$)。

4.2 CD56的表达及其意义

研究发现,CD56在良性甲状腺病变及PTC的病

灶旁良性的甲状腺组织中均表现为细胞膜阳性表达。有研究发现,CD56在任一PTC内皆呈阴性表达,但在任一甲状腺良性病变的上皮内显示为持续性阳性表达^[10]。此项研究有2例阳性显示为散点状表达,表达场所皆为甲状腺周边正常组织相交肿瘤组织区域,此发现相符于全球研究人员的研究结果, $P < 0.05$,具显著差异性。CD56在PTC内呈现出较低的阳性率,同时此项研究发现,CD56和PTC的性别、肿瘤转移、肿瘤大小、年龄皆缺乏明显联系($P > 0.05$)。

4.3 Mc的表达及其意义

Mc此单抗是以间皮细胞为抗原进行制备的,研究表明,其于PTC内呈100%阳性率。Mc阳性于PTC内的表达具显著差异性($P < 0.05$),有统计学意义。与文献报道的结果相符。

5 结论

本研究选取内蒙古医科大学附属医院经术中冰冻诊断难以确诊、经术后病理证实为PTC的病例若干,对其免疫组化的表达结果进行统计学分析。探讨Galectin3、CD56和Mc在中冰冻不易诊断的PTC中的表达,为诊断的PTC提供有效的辅助诊断依据。结果表明:

- 1.在鉴别诊断PTC与诸如NG等甲状腺良性病变方面,对于PTC,Galectin-3具备较高灵敏度,然特异度表现不佳,若此蛋白于甲状腺病变内的表达水平为中度以上,那么存在极大PTC可能性。
- 2.在鉴别诊断PTC与良性甲状腺病变方面,也可将CD56阴性对照当做参考指标。
- 3.在鉴别诊断PTC与良性甲状腺病变方面,Mc具备非常高的敏感度,特别在诊断与鉴别诊断甲状腺微小乳头状癌(PTMC)方面发挥着十分关键的作用。
- 4.在鉴别诊断良、恶性甲状腺疾病方面,Galectin-3表达负向相关于CD56表达;Galectin-3表达正向相关于Mc表达;Mc表达负向相关于CD56表达。
- 5.PTC中Galectin-3、CD56及Mc蛋白的免疫表达情况,和病人肿瘤大小、年龄、淋巴结转移状况、病灶、性别等临床病理信息皆不存在联系。

参考文献

[1]Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010[J]. CA Cancer J Clin, 2018; 60(5): 277-300
 [2]CLARK OH. Thyroid cancer and lymph node metastases [J]. J Surg Oncol, 2017; 103(6): 615-618 (下转第514页)

4 讨论

传统医学认为,“痛则不通,通则不痛”。颈椎病是由于在血气不足,脉络空虚的基础上,加上身体感风寒湿邪,使营卫气血不和,筋脉闭塞不通所导致。由于肝肾不足,精血运营不畅,导致局部的血液缺失,所以“麻木不仁”。在西医理论中,神经根型颈椎病是由于锥体的退变、增生导致小关节发生错乱,进而导致压迫经行的神经血管,而导致相应的临床表现。

发病机制与退变、生物力学、体液调剂、基因等多个因素有关,具体机制尚不明确。临床上,大多数患者的临床症状可以得到不同程度的缓解。由于一些发病因素是可以去除的,所以相应的治疗是有效的,这也是小针刀、埋线等治疗的理论依据^[9]。

小针刀在治疗的过程中,可以起到两方面的作用。一方面,可以对相应阶段的棘间韧带进行松解,同时也可以对关节囊和椎间孔的部分组织进行松解,从而缓解压迫因素。另一方面,小针刀同时具备针刺的作用,可以对相应的穴位进行刺激。但是这种作用比较短暂,所以植入羊肠线可以弥补这个不足,延长对穴位的刺激。根据“深邪远痹,深而留之”的针刺原则。羊肠线的刺激可以深达骨面,并且持久,符合这一理论。此外,穴位埋线可以刺激局部的新陈代谢,改善局部血液循环,起到一种协同刺激的作用。这种协同作用可以加快炎症的修复,使椎间盘及周围软组织的血液供应得到改善^[10]。通过新陈代谢的增加,局部有害物质可以尽快被清除,促进了修复过程。

本研究中,我们可以看到,在治愈率和有效率方面,采用小针刀联合穴位埋线方法治疗的患者都具有优势。并且,在术后1周后,临床症状的改善也具有明显的优势。如之前所说,当局部经脉疏通,

气血运行正常时,就会“通则不痛”。在小针刀的操作过程中,针感强烈,“气致病所”,加上埋线的持续激发经气,有调整阴阳,扶正祛邪,通经活络,祛风除湿,消肿止痛的特殊性作用。针刀与穴位埋线结合后,不但能接触粘连,又能直接刺激穴位深部,针感更易“气致病所”。正所谓,“经脉所过,主治所及”。二者的结合,八脉交会穴之大椎祛风通阳,后溪通督脉,调理三焦,使气行则血行。

5 结论

小针刀联合穴位埋线方法治疗神经根型颈椎病是一种有效的治疗方法,效果要优于单独小针刀治疗,值得临床推广。

参考文献

[1]马梦果. 旋转正骨手法结合针刀治疗神经根型颈椎病的临床疗效观察[D]. 北京:北京中医药大学,2016

[2]陈新荣. 小针刀治疗神经根型颈椎病的临床疗效观察[J]. 现代诊断与治疗,2014;25(22):5207

[3]余火林,陈士云. 小针刀加手法整脊及颈前筋膜扩张术治疗80例神经根型颈椎病[J]. 中国卫生产业,2014;(26):25

[4]王利群,陈鸿. 小针刀配合定点手法复位治疗神经根型颈椎病.102例[J]. 针灸临床杂志,1999;15(5):29

[5]杨义靖,曾丽嘉. 针刀为主治疗神经根型颈椎病疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志,2011;20(28):3552

[6]朱乾威,宋丁燕. 手法配合小针刀治疗神经根型颈椎病疗效观察[J]. 健康周刊,2017;(10):71

[7]曾庆洲,陈礼彬,伍秀丽. 小针刀结合整脊手法治疗神经根型颈椎病的临床观察[J]. 实用中西医结合临床,2017;17(6):130

[8]邓光明,毕建平. 小针刀结合整脊手法治疗80例神经根型颈椎病的临床观察[J]. 中国民间疗法,2016;24(3):30

[9]周建伟,胡玲香,等. 针刺推拿综合方案治疗椎动脉型颈椎病的多中心随机对照研究.中国针灸,2006;26(8):542-543

[10]张涛,杭群. 针灸现代研究与临床.北京:中国医药科技出版社,1998:525-526

(上接第511页)

[3]LEE JH,LEE ES,KIM YS, et al. Clinicopathologic significance of BRAF V600E mutation in papillary carcinomas of the thyroid:a meta-analysis[J]. Cance, 2017;110(1):38-46

[4]Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, et al. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. J Cancer Epidemiol 2013; 2019:1-10

[5]Nikiforov YE. Molecular diagnostics of thyroid tumors. Arch Pathol Lab Med 2016; 135:569-77

[6]Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. Nature 2019; 13:184-9

[7]Legakis I, Syrigos K. Recent advances in molecular diagnosis

of thyroid cancer. J Thyroid Res 2011; 2016:1-8

[8]Capper D, Preusser M, Habel A. Assessment of BRAF V600E mutation status by immunohistochemistry with a mutation-specific monoclonal antibody[J]. Acta Neuropathol, 2016; 122(1):11-9

[9]Meinkoth JL. Biology of Ras in thyroid cells. Treat Res 2018; 122:131-48

[10]Demellawy M, Kovatich AJ, Kärkkäinen P. Keratin subsets in papillary and follicular thyroid lesions. A paraffin section analysis with diagnostic implications[J]. Virchows Arch, 2020; 431(6):407-13