

## · 临床经验 ·

## 甲状腺微小癌 Galectin-3、CK19、CD56 及 TPO 蛋白表达分析

纪军生, 陆云峰, 赵亚萍

**[摘要]** 目的 探讨半乳糖凝集素 3(Galectin-3)、细胞角蛋白 19(Cytokeratin 19, CK19)、分化抗原簇 56(cluster of differentiation 56, CD56)及甲状腺过氧化物酶(thyroid peroxidase, TPO)蛋白在甲状腺微小癌(thyroid microcarcinoma, TMC)中的表达特征。方法 对手术切除的 32 例 TMC 病理形态学特征及 Galectin-3、CK19、CD56 及 TPO 蛋白免疫组化检测结果进行回顾性分析。结果 32 例 TMC 中,甲状腺乳头状微小癌 26 例,滤泡型微小癌 6 例;Galectin-3、CK19、CD56 及 TPO 蛋白表达阳性率分别为 100%、100%、9.38% 和 6.25%。结论 采用免疫组化技术同时检测 Galectin-3、CK19、CD56 及 TPO 蛋白表达,可提高 TMC 检出率,有效避免漏诊。

**[关键词]** 甲状腺微小癌;半乳糖凝集素 3;细胞角蛋白 19;分化抗原簇 56;甲状腺过氧化物酶;免疫组织化学

**[中图分类号]** R736.1 **[文献标志码]** B doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2016.03.024

甲状腺微小癌(thyroid microcarcinoma, TMC)是肿瘤直径 $\leq 1$  cm 的甲状腺癌<sup>[1]</sup>。因病灶微小,无明显临床症状,TMC 极易被临床医师及病理医师忽视,导致漏诊。本文对 TMC 中半乳糖凝集素 3(Galectin-3)、细胞角蛋白 19(Cytokeratin 19, CK19)、分化抗原簇 56(cluster of differentiation 56, CD56)及甲状腺过氧化物酶(thyroid peroxidase, TPO)的表达特征及其在 TMC 病理诊断中的价值进行了研究。

## 1 对象与方法

**1.1 对象** 2003 年 1 月-2014 年 12 月手术切除的 TMC 32 例,男 5 例,女 27 例,男女之比为 1:5.4;年龄 18~68 岁,平均 44.2 岁;左侧 13 例,右侧 19 例;术前临床诊断:甲状腺腺瘤 9 例,结节性甲状腺肿 17 例,待查 6 例。

**1.2 方法** 手术切除标本均经 10% 甲醛固定。查见病灶或可疑病灶取材时,每隔 2~3 mm 书页状切开,仔细观察及触摸,常规脱水,石蜡包埋,4  $\mu$ m 厚切片,HE 染色,光镜观察。同时采用免疫组化 Envision 两步法检测 Galectin-3、CK19、TPO 及 CD56 蛋白表达,试剂购自福州迈新公司,所有操作严格按照说明书进行,简述如下:石蜡切片脱蜡、水化、置于柠檬酸抗原修复液中,采用高压锅进行抗原修复,自然冷却 10 min 后,流水冲洗,去除水份,PBS 冲洗 3 min $\times$ 2 次,分别滴加 Galectin-3、CK19、TPO 及

CD56 单克隆抗体,4  $^{\circ}$ C 过夜,PBS 冲洗 $\times$ 2 次,滴加辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗,室温孵育 15 min,PBS 冲洗 $\times$ 2 次,去除 PBS,滴加新鲜配制的 DAB 显色液,室温避光直到显色至预期深浅,自来水冲洗终止显色,苏木素再染,PBS 返蓝,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封固。

**1.3 免疫组化结果判定** 光镜下观察着色程度并计数阳性细胞百分数,每张切片 5 个高倍视野,阳性细胞百分数的平均数为该切片百分数结果,按阳性细胞数所占百分比并结合着色强度进行分级:着色细胞 $\leq 10\%$ 为(-),11%~25%为(+),26%~50%为(++), $> 50\%$ 为(+++)。

## 2 结果

**2.1 肉眼观察** 32 例 TMC 中 28 例为单发癌结节,4 例为多发癌结节(3 例 2 个、1 例 3 个),结节直径 0.1~0.8 cm,有或无包膜,切面灰白、灰黄色,实性,质地中等,有的呈放射状瘢痕样、细颗粒状粗糙及绒毛状外观,部分有砂砾感,边界不清。

**2.2 镜检** 本组 26 例呈典型的乳头状癌组织结构及细胞形态特征(图 1a),瘤组织为具有纤维血管轴心的真性乳头,乳头细长或短钝,长者有复杂的分支,多为 2-3 级或多级分支乳头,乳头表面被覆单层或多层柱状上皮,圆形或椭圆形、异形,可见毛玻璃核、核沟、核重叠,少数见嗜酸性核内包涵体,乳头中心为纤维脉管束,浸润性生长,其中 15 例侵犯包膜向周围结节性甲状腺肿或甲状腺腺瘤组织中微浸润,所有病例均见促纤维间质反应。6 例为滤泡型微小癌,癌细胞呈滤泡样、腺样、线条状及流水状

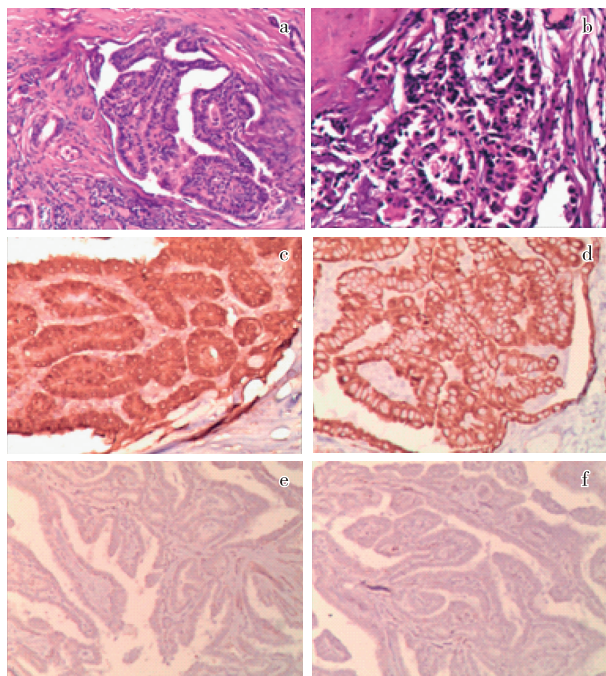
作者单位: 223001 江苏淮安,解放军 82 医院

通讯作者: 赵亚萍, E-mail: XKH@njmu.edu.cn

引用格式: 纪军生, 陆云峰, 赵亚萍, 等. 甲状腺微小癌 Galectin-3、CK19、CD56 及 TPO 蛋白表达分析[J]. 东南国防医药, 2016, 18(3): 303-305.

排列,个别滤泡腔内有淡红染类胶质,无乳头状结构,但具有上述乳头状癌细胞核的特征,呈浸润性生长,均见突破包膜向周围结节性甲状腺肿组织中微浸润,间质纤维组织增生,呈玻璃样变性(图 1b);32 例 TMC 中合并有结节性甲状腺肿 25 例,甲状腺腺瘤 6 例,乔本病 1 例。

**2.3 Galectin-3、CK19、CD56 及 TPO 蛋白表达** Galectin-3 主要表达于细胞质,细胞质内出现棕黄色颗粒(图 1c),CK19 表达于细胞膜及细胞质,其内出现棕黄色颗粒(图 1d),32 例 TMC 中,Galectin-3、CK19 均有表达,表达强度为:~+++。CD56 主要表达于细胞膜(图 1e),伴或不伴有细胞质表达,本组 3 例阳性,其中表达强度“+”2 例,“++”1 例;TPO 位于细胞质(图 1f),2 例表达弱阳性,均为“+”。



a: 乳头状癌(HE ×100),短钝乳头,核重叠,浸润性生长;b: 乳头状癌滤泡亚型(HE ×100)癌细胞呈滤泡状排列,细胞核深染,异型;c: Galectin-3 蛋白(Envision 法 ×100),主要表达于细胞质;d: CK19 蛋白(Envision 法 ×100),主要表达于细胞膜;e: CD56 蛋白表达阴性(Envision 法 ×100);f: TPO 蛋白表达阴性(Envision 法 ×100)

图 1 Galectin-3、CK19、CD56 及 TPO 蛋白在 TMC 中的表达

### 3 讨论

**3.1 TMC 临床特征** 甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤,每年新发病例占所有肿瘤的 1%~5%<sup>[2-3]</sup>,我国 2012 年肿瘤登记年报显示,甲状腺癌

发病率 6.6/10 万<sup>[4]</sup>。近年来,全球甲状腺癌发病率呈上升趋势,北京市 2010 年发病率比 1995 年上升了 518.8%<sup>[5]</sup>,世界卫生组织公布的全球癌症报告指出甲状腺癌新发病例中>50% 为 TMC<sup>[6]</sup>。TMC 手术治疗效果确切,远期复发率低于 8%<sup>[7]</sup>。TMC 好发于青中年,女性明显多于男性<sup>[8-9]</sup>,本组女性患者占 84.4%,与文献一致。女性患者 TMC 患病率的确切原因目前尚不清楚,可能与性激素水平有关。TMC 肿瘤体积较小,触诊困难,患者通常无明显症状,虽然现在影像仪器分辨率有了很大的进步,但临床的漏诊率仍然较高,部分病例在出现淋巴结转移或远处转移方才就诊,更多的病例是在其他甲状腺疾病的手术中,进行病理组织学检查时得以发现,本组 32 例术前诊断均不明确,术中快速冰冻及常规病理切片检查时才发现其微小癌组织学特征并得以明确诊断。

**3.2 TMC 组织学特征** TMC 主要包括乳头状微小癌,滤泡型微小癌,髓样型微小癌极为少见,乳头状微小癌最为常见<sup>[10]</sup>。镜下乳头状癌乳头分支多且细,乳头上皮的核呈毛玻璃样外观,体积大,染色淡,外形不规则,核重叠,深的核沟,细胞质陷入形成假包涵体等核的特征性改变,乳头的中央为纤维血管轴心,间质纤维化,浸润性生长。在乳头状 TMC 的病理诊断中,必须做好与良性乳头状增生的鉴别:良性乳头状增生通常没有明显的纤维血管轴心,乳头间质可见水肿及滤泡结构,乳头被覆单层扁平或立方上皮,核较小,外形规则。滤泡型 TMC 由大小不等的滤泡构成,此型虽缺乏乳头,但却有乳头状癌核特征改变,肿瘤呈浸润性生长,本组 6 例滤泡型 TMC 中有 1 例肿瘤细胞呈蘑菇状微侵出于包膜外。

**3.3 Galectin-3、CK19、CD56 及 TPO 蛋白表达与 TMC** Galectin-3 是凝集素家族中的一员,不仅具有调节细胞生长,抑制细胞凋亡的作用,而且参与细胞间黏附和新生血管的形成,与肿瘤的浸润、转移密切相关。近年来,Galectin-3 在甲状腺疾病发病机制中作用受到广泛重视,并且越来越多被应用到疾病的诊断和鉴别诊断中<sup>[11]</sup>。吕云福等<sup>[12]</sup>研究发现甲状腺乳头癌 Galectin-3 阳性率 83.03%,结节性甲状腺肿为 19.35%,而正常甲状腺组织均为阴性。邓敏等<sup>[13]</sup>报道甲状腺乳头癌 Galectin-3 阳性率 98.5%,其中 TMC 阳性率 100%。本组 32 例 TMC 中,Galectin-3 表达均为阳性。Galectin-3 在甲状腺良性病变中不表达或呈极低水平表达,而在甲状腺恶性肿瘤中常表达阳性的特征,提示其在甲状腺

恶性病变诊断中的重要价值。CK19 是一种低分子量角蛋白,为恶性肿瘤细胞中间丝的组成成分,已证实其在头颈部鳞癌、食管癌等肿瘤性疾病诊断中具有重要价值。研究发现,甲状腺恶性肿瘤中 CK19 常表达阳性,而桥本甲状腺炎、甲状腺腺瘤多不表达或极低表达<sup>[13-15]</sup>,我们的结果显示 32 例 TMC 中,CK19 均为阳性。目前,CK19 常与 Galectin-3 联合检测应用于甲状腺恶性疾病的鉴别诊断,可有效提高诊断的灵敏性与特异性<sup>[13-14]</sup>。CD56 属于免疫球蛋白超家族成员,主要参与神经外胚层来源的肿瘤(如视网膜母细胞瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤等)、内分泌肿瘤和 NK/T 细胞淋巴瘤的发生机制,CD56 在甲状腺乳头状癌中常常表达缺失,阳性表达多位于肿瘤浸润边缘。黄悦等<sup>[16]</sup>报道,49 例甲状腺乳头状癌中仅 1 例 CD56 弥漫性表达,且位于肿瘤与正常组织交界处,表达程度极弱。本组 TMC 中,CD56 阳性率为 9.4%,表达特征与文献一致<sup>[17]</sup>。CD56 在甲状腺恶性病变中虽然也有表达,但多为散在局灶性,且为细胞内弥漫表达,而其在非肿瘤性甲状腺病变主要表达于细胞膜。TPO 是一种与甲状腺素合成相关的酶,由甲状腺滤泡细胞合成,在正常甲状腺组织及甲状腺良性肿瘤中高表达,甲状腺恶性肿瘤通常表达缺失或极低表达<sup>[13-14]</sup>。本组 32 例中,只有 2 例弱阳性表达。在甲状腺良、恶性疾病的诊断和鉴别诊断中,同时检测甲状腺组织中 CD56 及 TPO 蛋白可有效提高病理诊断的准确性。

综上所述,TMC 组织中 Galectin-3、CK19 蛋白呈阳性表达,而 CD56 及 TPO 蛋白表达多为阴性,在进行甲状腺病灶病理形态学检查时,如果采用免疫组化技术同时检测 Galectin-3、CK19、CD56 及 TPO 蛋白表达,可提高 TMC 检出率,有效避免漏检。

# 【参考文献】

[1] Baudin E, Travagli JP, Ropers J, et al. Microcarcinoma of the thyroid gland[J]. Cancer, 1998, 83(3): 553-559.

- [2] 杨 雷,王 宁. 甲状腺癌流行病学研究进展[J]. 中华预防医学杂志, 2014, 48(8): 744-748.
- [3] Sipos JA, Mazzaferri EL. Thyroid cancer epidemiology and prognostic variables[J]. Clin Oncol, 2010, 22(6): 395-404.
- [4] 赫 杰,陈万青. 中国肿瘤登记年报[M]. 北京:军事医学科学院出版社, 2012: 1-22.
- [5] 杨 雷,孙婷婷,袁延楠,等. 1995-2010 年北京城区甲状腺癌发病趋势及病理特征分析[J]. 中华预防医学杂志, 2013, 47(2): 109-112.
- [6] 世界卫生组织. 世界卫生统计 2010. <http://www.who.int/whosis/whostat/2010/en/>
- [7] Hay ID, Hutchinson ME, Gonzalez-Losada T, et al. Papillary thyroid microcarcinoma: a study of 900 cases observed in a 60-year period[J]. Surgery, 2008, 144(6): 980-988.
- [8] 傅晓丹,楼善贤,施红旗,等. 甲状腺微小乳头状癌 254 例临床病理分析[J]. 中华病理学杂志, 2015, 44(4): 258-261.
- [9] 赵 丽,刘 青,沈思云,等. 杭州、临潼两体检中心甲状腺结节 B 超检查结果分析[J]. 东南国防医药, 2014(5): 496-498.
- [10] Didaban S, Abdollahi A, Meysamie A, et al. Thyroid papillary microcarcinoma: etiology, clinical manifestations, diagnosis, follow-up, histopathology and prognosis[J]. Iran J Pathol, 2016, 11(1): 1-19.
- [11] Tang W, Huang C, Tang C, et al. Galectin-3 may serve as a potential marker for diagnosis and prognosis in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis[J]. Onco Targets Ther, 2016, 9(1): 455-460.
- [12] 吕云福,谢贤和,何 超,等. Galectin-3 及 CyclinD1 在良恶性甲状腺肿块中的鉴别价值[J]. 中华内分泌外科杂志, 2013, 7(1): 34-37.
- [13] 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[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 27(8): 843-846.
- [14] 郭朝焱,王晋芬. CD56、TPO、CK19、Galectin-3 和 HBME-1 在甲状腺乳头样病变中的表达及其意义[J]. 肿瘤研究与临床, 2014, 26(7): 481-483.
- [15] Liu Z, Yu P, Xiong Y, et al. Significance of CK19, TPO, and HBME-1 expression for diagnosis of papillary thyroid carcinoma[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(3): 4369.
- [16] 黄 悦,黄文斌,赵建华,等. CD56 在甲状腺乳头状癌诊断中的价值[J]. 诊断病理学杂志, 2010, 17(1): 14-16.
- [17] 杨 猛,鲁 瑶,李 忻,等. 术后意外甲状腺微小乳头状癌的临床病理特点与治疗[J]. 中华内分泌外科杂志, 2015, 9(1): 23-25.

(收稿日期:2016-03-20;修回日期:2016-05-07)

(本文编辑:黄攸生)