

瘦素及其受体在甲状腺乳头状癌中的表达与病理特征相关性研究

张子杰

摘要 目的 探讨瘦素(Leptin)及瘦素受体即肥胖基因(obesity receptor, OB-R)在甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)中的表达与病理特征相关性,为临床 PTC 预后评估及治疗提供依据。方法 收集甲状腺腺瘤组织标本 20 例和 PTC 组织标本 60 例,采用 SP 免疫组织化学染色法检测 Leptin、OB-R 在 PTC 及甲状腺腺瘤组织中的表达,观察 Leptin、OB-R 在 PTC 及甲状腺腺瘤组织中的阳性表达情况,分析 PTC 中不同临床特征 Leptin、OB-R 的表达水平。结果 OB-R 在 PTC 中的阳性率明显高于甲状腺腺瘤($P=0.04$)。PTC 中的双重表达率(46.7%)明显高于甲状腺腺瘤(20.0%, $P=0.04$)。Leptin、OB-R 表达水平均在多发病灶、肿瘤直径 $\geq 1\text{cm}$ 、TNM 分期为Ⅲ期、Ⅳ期的患者中明显升高($P<0.05$),Leptin 在有淋巴转移的患者中明显增高($P<0.05$),而 OB-R 表达则与是否淋巴转移无明显关系($P>0.05$)。结论 Leptin、OB-R 在 PTC 中存在高表达,双重表达也较普遍,在甲状腺癌发生、浸润、转移过程中起了一定作用。Leptin 在 PTC 中具体作用机制若获得证实,则可能成为 PTC 预防及治疗的新靶点。

关键词 瘦素 甲状腺乳头状癌 浸润 转移

[中图分类号] R736 [文献标识码] A

Relationship between Expression and Pathological Characteristics of Leptin and Its Receptor in Thyroid Papillary Carcinoma. Zhang Zijie. Central Hospital of Nanyang City, Henan 473000, China

Abstract Objective To investigate the relation ship of expression and pathological characteristics of leptin and its receptor in thyroid papillary carcinoma, in order to provide basis for clinical prognosis and treating PTC. **Methods** Sixty cases of PTC tissue samples and 20 cases of thyroid adenoma tissue samples were collected. The expression of leptin and OB-R in PTC and thyroid adenomat issues were detected by SP immunohistochemical staining. The positive expression of Leptin, OB-R were observed in PTC and thyroid adenoma tissues. The expression level of Leptin and OB-R in different clinical characteristics in PTC was analysed. **Results** The positive rate of OB-R in PTC was significantly higher than that of thyroid adenoma ($P=0.04$). The dual expression rate in PTC(46.7%) was significantly higher than that of thyroid adenoma (20%) ($P=0.04$). The expression level of leptin, OB-R of patients with multiple lesions, tumor diameter $\geq 1\text{cm}$, in stage Ⅲ, Ⅳ stage by TNM staged were increased significantly ($P<0.05$). The leptin level of patients with lymph node metastasis was increased significantly ($P<0.05$), but there was no obvious relationship between OB-R expression and lymph node metastasis ($P>0.05$). **Conclusion** The high leptin and OB-R expression exists in PTC. Dual expression is common. They played a certain role in thyroid carcinogenesis, invasion, transferring process. If the leptin's specific mechanism in PTC could be confirmed, it may be a new target for prevention and treating PTC in future.

Key words Leptin; Papillary thyroid carcinoma; Invasion; Metastasis

甲状腺癌是内分泌系统常见的恶性肿瘤,好发于青壮年,发病率约为全身恶性肿瘤的 1.5%。其病理类型有乳头状癌(PTC)、滤泡状腺癌(FTC)、未分化癌(ATC)和髓样癌(MTC),其中以 PTC 最常见,约占 70%左右。据研究报道,瘦素(Leptin)及其受体(OB-R)与多种恶性肿瘤如胃癌、肺癌、乳腺癌、肝癌等关系密切。但其是否与甲状腺癌有关,目前相关报道

较少。本研究欲通过观察 Leptin 和 OB-R 在 PTC 组织中的表达,探讨两者与 PTC 临床特征的相关性,为临床 PTC 的诊断及治疗提供科学依据。

资料与方法

1. 资料收集:收集 2011 年 1 月~2012 年 12 月笔者医院病理科归档的甲状腺腺瘤组织标本 20 例和 PTC 组织标本 60 例,其中男性 16 例,女性 44 例。患者年龄 15~76 岁,平均年龄 45.3 ± 16.2 岁。标本纳入标准:除外其他部位肿瘤转移者;术前无甲状腺手术、放疗、化疗史;经临床和组织病理诊断证实。

2. 免疫组织化学染色:(1)试剂:羊抗人 Leptin、OB-R 多克隆抗体均购自上海领成生物科技有限公司(稀释比例均为 1:70)。生物素标记兔抗羊 IgG 购自上海丽臣生物科技有限公司,二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒购自西安百灵生物科技有限公司。(2)方法:免疫组织化学染色按照 SP 法进行。石蜡组织包埋标本 4 μ m 连续切片,脱蜡至水,3.0% 过氧化氢溶液封闭 5~8min 灭活内源性过氧化酶,正常山羊血清封闭 37 $^{\circ}$ C,10 min,抗原修复,一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜,PBS 清洗。室温下兔抗羊 IgG 孵育 1h,PBS 冲洗,以 SP 法染色,DAB 显色 2~5 min,水洗,苏木素复染,封片。阴性对照用 PBS 液代替一抗。以正常甲状腺组织染色结果为阳性对照。

3. 结果评定:采用积分法对 Leptin、OB-R 表达水平进行评定^[1]。40 $\times$ 0.65 显微镜下观察 $\geq$ 5 个视野,计算出平均染色阳性细胞的百分比,根据以下标准算出阳性细胞表达率积分:细胞未染色为 0 分,细胞染色 < 24% 为 1 分,细胞染色 25%~50% 为 2 分,细胞染色 51%~75% 为 3 分,细胞染色 > 75% 为 4 分。以癌旁正常甲状腺组织 Leptin、OB-R 染色强度为阳性对照,根据下列标准算出染色强度积分:细胞未染色为 0 分,细胞染色强度弱于对照为 1 分,细胞染色强度接近于对照为 2 分,细胞染色强度强于对照为 3 分。以阳性细胞表达率积分乘以染色强度积分所得结果为 Leptin、OB-R 表达水平。

4. 统计学方法:计数资料以百分比表示,不同肿瘤类型间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,应用 SPSS 19.0 进行统计分析。

结 果

1. Leptin、OB-R 在甲状腺腺瘤组织及 PTC 中阳性率情况比较:Leptin 在 PTC 的阳性率高于甲状腺腺瘤,但差异无统计学意义($\chi^2 = 2.347, P = 0.13$)。OB-R 在 PTC 中的阳性率明显高于甲状腺腺瘤,差异有统计学意义($\chi^2 = 4.364, P = 0.04$),详见表 1、图 1。PTC 中 Leptin、OB-R 均阳性表达 28 例(46.7%),甲状腺腺瘤中 Leptin、OB-R 均阳性表达 4 例(20.0%),PTC 中的双重表达率明显高于甲状腺腺瘤($\chi^2 = 4.444, P = 0.04$)。

表 1 Leptin、OB-R 在甲状腺腺瘤组织及 PTC 中阳性率情况 [n(%)]

类型	n	Leptin		OB-R	
		阳性	阴性	阳性	阴性
PTC	60	44(73.3)	16(26.7)	45(75.0)	15(25.0)
甲状腺腺瘤	20	11(55.0)	9(45.0)	10(50.0)	10(50.0)

2. Leptin、OB-R 在不同临床特征 PTC 中表达情况:Leptin、OB-R 阳性表达率与甲状腺癌患者性别、年龄、体重、女性是否绝经无明显相关性($P > 0.05$)。Leptin、OB-R 阳性表达率均在多发病灶、肿瘤直径

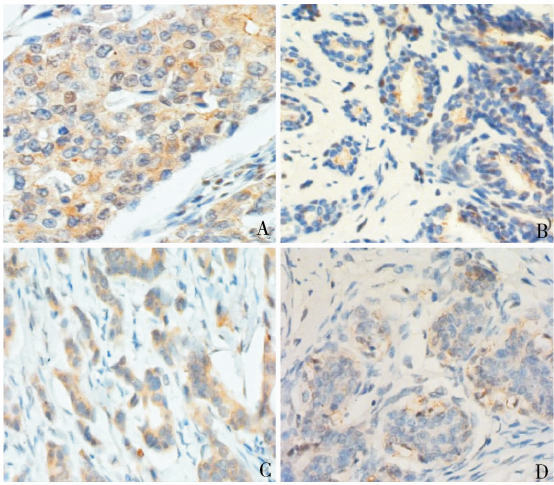


图 1 Leptin 及 OB-R 在甲状腺癌及甲状腺腺瘤中的表达情况(SP, $\times 400$)

A. Leptin 在甲状腺腺瘤组织中的强阳性表达,胞质内染色呈棕黄色或黄色;B. Leptin 在甲状腺腺瘤中的弱表达,胞质内棕黄色或黄色程度较轻;C. OB-R 在甲状腺腺瘤组织中的强阳性表达,胞膜、胞质棕黄色或黄色程度较明显;D. OB-R 在甲状腺腺瘤中的弱表达,胞膜、胞质棕黄色或黄色程度较轻

≥ 1 cm、TNM 分期为Ⅲ期、Ⅳ期的患者中明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Leptin 在有淋巴转移的患者中阳性表达率明显增高($P < 0.05$),而 OB-R 阳性表达率则与是否淋巴转移无明显关系($P > 0.05$),详见表 2。

讨 论

研究证明,Leptin 参与了肿瘤的发生、发展的整个过程,给予外源性 Leptin 可促进人乳腺癌细胞株、结肠癌细胞株、食管癌细胞株、前列腺癌细胞株、卵巢癌细胞株的生长和增殖^[2]。另有研究者进行体外研究发现,外源性 Leptin 可加速结肠癌细胞株、前列腺癌细胞株的侵袭和转移,给予 OB-R 可明显抑制白血病小鼠模型的血管密度^[3]。这些研究表明 Leptin 可能是肿瘤细胞增殖、浸润、血管形成的非特异性促生长因子。近年来许多研究证实,Leptin 在多种恶性肿瘤如肺癌、肝癌、乳腺癌、直肠癌等存在高表达^[4]。

本研究中 60 例 PTC 患者中,Leptin 和 OB-R 的阳性率分别为 73.3%、75.0%,高于甲状腺腺瘤,尤其是 OB-R 的阳性率更明显,且 PTC 中 Leptin、OB-R 双重表达率明显高于高于甲状腺腺瘤,表明甲状腺腺瘤组织中存在 Leptin、OB-R 高表达现象,而双重表达也较普遍,这个结果与其他恶性肿瘤的研究结果基本一致,如结肠癌、乳腺癌和胃癌^[5~7]。提示 Leptin 及 OB-R 可能通过某种类似的机制被诱导表达,

表 2 Leptin、OB - R 在不同临床特征 PTC 中表达情况

特征	<i>n</i>	Leptin 阳性[<i>n</i> (%)]	χ^2	<i>P</i>	OB - R 阳性[<i>n</i> (%)]	χ^2	<i>P</i>
性别							
男性	16	11 (68.8)			11 (68.8)		
女性	44	33 (75.0)	0.234	0.628	34 (77.3)	0.455	0.50
年龄(岁)							
<50	39	29 (74.4)			28 (71.8)		
≥50	21	15 (76.2)	0.06	0.807	17 (81.0)	0.611	0.44
体重							
肥胖或超重	38	31 (81.6)			30 (78.9)		
正常	22	13 (59.1)	3.603	0.060	15 (48.2)	0.861	0.35
病灶类型							
单发	48	32 (66.7)			33 (68.8)		
多发	12	12 (100.0)	5.455	0.020	12 (100.0)	5.000	0.03
绝经情况							
绝经前	35	25 (71.4)			25 (68.6)		
绝经后	25	19 (76.0)	0.156	0.693	20 (80.0)	0.571	0.45
肿瘤直径(cm)							
<1	47	31 (66.0)			32 (68.10)		
≥1	13	13 (100.0)	3.055	0.010	13 (100.0)	5.532	0.02
淋巴转移							
有	23	22 (95.7)			20 (87.0)		
无	37	22 (59.5)	9.501	0.000	25 (67.6)	2.844	0.09
TNM 分期							
I 期	17	9 (52.9)			9 (52.9)		
II 期	16	10 (62.5)			11 (68.8)		
III 期	18	16 (88.7)			16 (88.7)		
IV 期	9	9 (100.0)	10.075	0.020	9 (100.0)	8.362	0.04

促进肿瘤细胞的生长。在胰腺癌细胞中,胰岛素、胰岛素样生长因子 - 1 (IGF - 1) 和雌二醇均可上调 Leptin 及 OB - R 的表达。胃癌组织细胞中,肠道局部慢性炎症、胃泌素增加等可诱导胃癌细胞分泌 Leptin 及 OB - R。PTC 中是否也存在类似机制目前尚无确切结论。据报道,瘦素可调控下丘脑 - 垂体 - 甲状腺轴对甲状腺素进行调节,而丘脑 - 垂体 - 甲状腺轴反过来也可调控瘦素的表达,与甲状腺疾病密切相关。

本研究对 PTC 患者不同特征的 Leptin、OB - R 阳性表达率进行比较分析,结果显示,Leptin、OB - R 在不同性别、年龄、体重以及女性是否绝经的 PTC 患者中表达差异不明显,表明 PTC 细胞中 Leptin、OB - R 的分泌与患者性别、年龄、体重及女性是否绝经无明显相关性。但多发病灶、肿瘤直径 ≥ 1cm、有淋巴转移、TNM 分期Ⅲ及Ⅳ期的 PTC 患者 Leptin 阳性表达率明显增高,提示 Leptin 可能参与了甲状腺癌发生、浸润、转移整个过程。虽然结果显示 OB - R 与有无淋巴转移相关性不明显,但 Leptin 的生物学作用主要通过与 OB - R 结合才能充分发挥,故认为 Leptin 及 OB - R 可作为监测甲状腺癌、评估预后的两个重要指标。综上所述,Leptin、OB - R 在 PTC 中存在高

表达,双重表达也较普遍,在甲状腺癌发生、浸润、转移过程中起了一定作用,但其具体作用机制尚需大量的体内、体外研究进一步证实。Leptin 在 PTC 中具体作用机制一旦获得证实,就有可能是将来 PTC 预防及治疗的新靶点。

参考文献

1 于霄,赵俊军,王波,等. 甲状腺乳头状癌组织中瘦素的表达与血管生成及转移的关系[J]. 中国癌症杂志, 2011,21(4) :283 - 284

2 Ratke J,Entschladen F,Niggemann B,*et al.* Leptin stimulates the migration of colon carcinoma cells by multiple signaling pathways[J]. *Endocr Relat Cancer*,2010,17(1) :179 - 189

3 Cheng SP,Chi CW,Tzen CY,*et al.* Clinicopathologic significance of leptin and leptin receptor expressions in papillary thyroid carcinoma [J]. *Surgery*,2010,147(8) :847 - 853

4 效小莉,濮德敏. 瘦素与恶性肿瘤形成的关系[J]. *肿瘤研究与临床*,2010,22(3) :208 - 210

5 康欢荣,蒋建,肖文华. 瘦素在结肠癌的表达及意义[J]. *实用肿瘤杂志*,2010,25(2) :16 - 18

6 Koda M,Kanczuga - Koda L,Sulkowska M,*et al.* Relationships between hypoxia markers and the Leptin system,estrogen receptors in human primary and metastatic breast cancer;effects of preoperative chemotherapy [J]. *BMC Cancer*,2010,10(2) :320 - 325

7 耿一婷,仇金荣,王蓉,等. 胃癌组织中人表皮生长因子受体 2 和瘦素的表达及意义[J]. *中华肿瘤杂志*,2011,33(10) :764 - 765

(收稿日期:2013 - 11 - 04)

(修回日期:2013 - 12 - 03)