

细针穿刺检测 Galectin-3 和 CK19 在甲状腺滤泡状肿瘤中的表达差异

范晓峰 胡蓉菲 朱 婷 车 欣 伍 琰

摘 要 **目的** 探讨超声引导下穿刺细胞检查 Galectin-3 和 CK19 在良、恶性甲状腺滤泡状肿瘤中的表达差异。**方法** 选取 2013 年 1 月~2017 年 12 月来笔者医院就诊并经手术治疗、术后病理证实为甲状腺滤泡状癌的患者 36 例(FTC 组),甲状腺滤泡性腺瘤患者 47 例(FA 组),检测细针穿刺抽吸活检(FNAB)中 Galectin-3 和 CK19 的表达情况,并将其与术后病理组织的表达比较,检测 FNAB 中 Galectin-3 和 CK19 的表达对良、恶性甲状腺滤泡状肿瘤的诊断能力。**结果** Galectin-3 和 CK19 在 FTC 组和 FA 组的表达比较差异均有统计学意义(P 均 < 0.05),FNAB 检测 Galectin-3 的敏感度、特异性、准确性分别为 82.5%、88.7%、86.0%,CK19 的敏感度、特异性、准确性分别为 87.5%、79.2%、82.8%。在良、恶性甲状腺滤泡状肿瘤的鉴别诊断中,CK19 的敏感度高而 Galectin-3 的特异性高。**结论** FTC 患者 Galectin-3 和 CK19 的表达明显高于 FA 患者,在细针穿刺抽吸活检时结合免疫组化检测 Galectin-3 和 CK19 可提高甲状腺滤泡状癌的诊断率。

关键词 细针穿刺抽吸活检 Galectin-3 CK19 甲状腺肿瘤 鉴别

中图分类号 R446.8

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.11.023

Different Expression of Galectin-3 and CK19 in Follicular Thyroid Tumors by Fine Needle Aspiration. Fan Xiaofeng, Hu Rongfei, Zhu Ting, et al. General Surgery, Baoshan Branch of North Hospital of Huashan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200431, China

Abstract Objective To investigate the differential expression of Galectin-3 and CK19 in benign and malignant thyroid follicular tumors under ultrasound-guided puncture. **Methods** Thirty-six patients with follicular thyroid carcinoma(FTC)and forty patients with thyroid follicular adenoma(FA) who came to our hospital from January 2013 to December 2017 for surgical treatment and had postoperative pathology confirmed were selected. The expression of Galectin-3 and CK19 in fine-needle aspiration biopsy(FNAB) and in the postoperative pathological tissue was detected, analyzed and compared to detect the diagnostic ability of benign and malignant thyroid follicular tumors by FNAB. **Results** The expression of Galectin-3 and CK19 between FTC group and FA group were significantly different(all $P < 0.05$). The sensitivity, specificity and accuracy of Galectin-3 in FNAB specimens were 82.5%, 88.7% and 86.0%, respectively. The sensitivity, specificity and accuracy of CK19 in FNAB specimens were 87.5%, 79.2% and 82.8%, respectively. CK19 was highly sensitive and Galectin-3 is highly specific in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid follicular tumors. **Conclusion** The expression of Galectin-3 and CK19 in FTC patients was significantly higher than that in FA patients, and the fine-needle aspiration biopsy combined with detection of Galectin-3 and CK19 in immunohistochemistry can improve the diagnostic rate of thyroid follicular carcinoma.

Key words Fine needle aspiration biopsy; Galectin-3; CK19; Thyroid tumor; Differential diagnosis

甲状腺结节临床常见,1%~5%的人群体检可触及结节,高分辨超声检查获得的甲状腺结节的发生率为19%~68%,而甲状腺结节中甲状腺癌的发生率为7%~15%^[1]。目前细针穿刺抽吸活检(fine needle aspiration biopsy, FNAB)是评估甲状腺结节良、恶性敏感度和特异性最高的方法,与触诊下 FNAB 比

较,超声引导下 FNAB 的取材成功率和诊断正确率更高^[2-4]。然而 FNAB 鉴别甲状腺滤泡状癌(follicular thyroid carcinoma, FTC)的诊断价值不大,尤其是微小浸润型滤泡状癌和滤泡性腺瘤(thyroid follicular adenoma, FA)之间难以鉴别,因为滤泡状肿瘤良、恶性的区别在于肿瘤是否侵犯包膜和血管,而 FNAB 即使是多点取材也不除外遗漏上述病变,造成恶性肿瘤的误诊、漏诊,故为提高甲状腺滤泡状癌的早期筛查的准确性,临床可考虑其他方法加以辅助。肿瘤标志物是目前甲状腺癌诊疗的热门方法之一,其中 Galectin-3

基金项目:上海市宝山区科学技术委员会基金资助项目(13-E-24)

作者单位:200431 上海,复旦大学附属华山医院北院宝山分院普外科(范晓峰),超声科(胡蓉菲、朱婷、车欣、伍琰)

通讯作者:胡蓉菲,电子信箱:hurongfeidr@163.com

和 CK19 是两种在甲状腺良、恶性肿瘤中具有明显差异表达的肿瘤标志物^[5-7],可作为判断肿瘤良、恶性的指标之一,但目前 FNAB 联合肿瘤标志物是否可以提高甲状腺恶性肿瘤的术前诊断率的研究鲜有报道。故本研究通过分析 FNAB 的细胞学特点及 Galectin-3 和 CK19 的表达情况,探讨其联合诊断对甲状腺滤泡状良、恶性肿瘤的鉴别诊断价值,以期提高术前诊断率,减少不必要的手术及避免遗漏恶性病变。

资料与方法

1. 一般资料:选取 2013 年 1 月~2017 年 12 月来笔者医院就诊并经手术治疗的甲状腺肿瘤患者 392 例,并从中筛选出术后病理证实为甲状腺滤泡状癌的患者 36 例(共 40 个结节),分为 FTC 组,甲状腺滤泡性腺瘤患者 47 例(共 53 个结节),分为 FA 组。FTC 组男性 7 例,女性 29 例,患者年龄 26~73 岁,平均年龄 49.31 ± 10.26 岁。FA 组男性 17 例,女性 30 例,患者年龄 24~74 岁,平均年龄 46.35 ± 8.65 岁。两组病例均符合以下要求:①术前均已行细针穿刺抽吸活检,穿刺指征符合 2012 年《甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南》^[8];穿刺标本完整,可行 Galectin-3 和 CK19 表达的检测;②术后病理诊断符合 WHO 关于甲状腺结节的组织病理学分型,并进行了 Galectin-3 和 CK19 表达的检测;③所有患者均为首次确诊并首次行切除手术;④未合并其他肿瘤;术前未行放、化疗及内分泌治疗;⑤病历资料完整。所有患者均签署知情同意书,手术通过笔者医院伦理学委员会批准。

2. 细针穿刺抽吸活检:患者仰卧,颈部垫高过伸以充分暴露甲状腺,经通用电气公司 LOGIQ7 或飞利浦 EPIQ5 确定甲状腺结节穿刺部位后,嘱患者头偏向非穿刺侧,局部消毒(必要时局部麻醉),超声引导下 25 号穿刺针接 10ml 注射器以约 45°进针,在结节内重复提插注射器针栓数次完成取材,将穿刺物进行涂片、甲醛溶液固定,即刻送病理科行 Galectin-3 和 CK19 检测。

3. 免疫组化染色及结果判读:组织经石蜡包埋、切片、水化后使用免疫组化 SP 法行 Galectin-3 和 CK19 染色标记,鼠抗人 CK19 抗体和 Galectin-3 单克隆抗体均购自上海我武生物科技有限公司,以细胞质、细胞膜、细胞核出现棕黄色颗粒并明显高于背景着色为阳性结果,各指标的免疫组化染色结果均采用半定量计数法进行分析,即阳性细胞的百分率与阳性细胞染色强度的乘积^[9]:(1)阳性细胞所占的百分比:没有阳性细胞为 0 分;阳性细胞 >0 且 $\leq 10\%$ 为 1 分; $>10\%$ 且 $\leq 50\%$ 为 2 分; $>50\%$ 且 $\leq 80\%$ 为 3 分; $>80\%$ 为 4 分。(2)细胞染色强度按阴性、弱、中、强分别给予 0~3 分,最终得分 0 分为阴性,1~2 分为(+),3~6 分为(++),7~12 分为(+++)。所有检查均经两位副高级职称病理科医生独立确认。

4. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 统计学软件对数据进行统计分析,由于两组样本分别来自除总体均值以外完全相同的两个总体,故采用 Mann-Whitney 秩和检验对 FTC 组和 FA 组的 FNAC 标本所检测的 Galectin-3 和 CK19 表达情况进行比较,分别计算两样本的准确性、敏感度等指标,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 镜检及免疫组化结果:36 例甲状腺滤泡状癌的标本经术后常规病理检查可见滤泡由形态一致的细胞构成,其内含有胶质,部分癌细胞分化不明显,而且存在无胶体的有巢细胞,无乳头状结构,可见包膜和(或)血管侵犯。47 例滤泡性腺瘤常规病理检查可见含胶质的形态均匀的滤泡,核分裂像少见,无明显异型性,包膜及滤泡结构完整,无血管浸润。免疫组化显示 Galectin-3 主要在细胞质表达,大部分为中等或较强阳性,部分细胞核、细胞膜也可见阳性表达。CK19 主要在细胞质中着色,呈中等强度阳性(图 1)。在 FNAB 中也可见滤泡样肿瘤改变及上述两种肿瘤标志物表达,但不能确定是否存在血管或包膜浸润(图 2)。

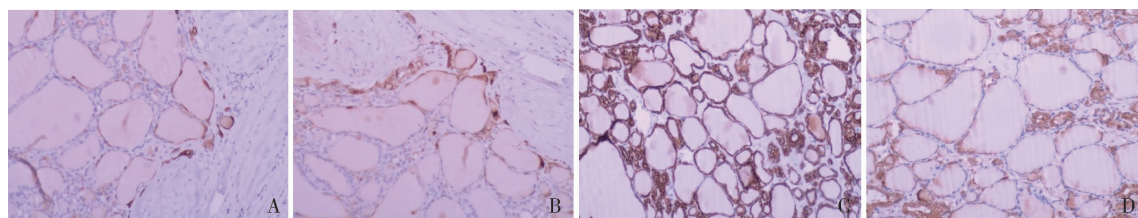


图 1 术后病理组织 Galectin-3 和 CK19 的表达(IHC, $\times 200$)

A. 滤泡性癌 CK19; B. 滤泡性癌 Galectin-3; C. 滤泡性腺瘤 CK19; D. 滤泡性腺瘤 Galectin-3

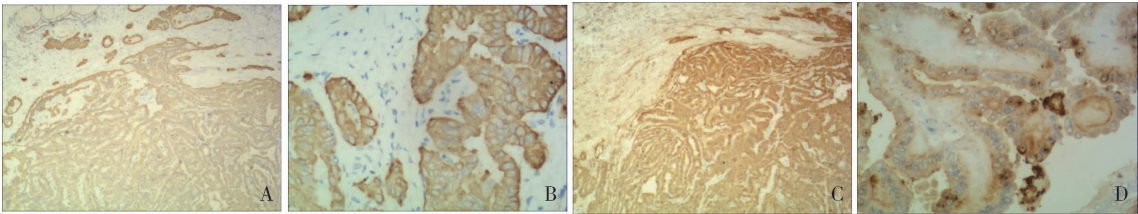


图 2 FNAB 所见 Galectin - 3 和 CK19 的表达 (IHC, ×200)
A. CK19; B. CK19; C. Galectin - 3; D. Galectin - 3

2. Galectin - 3 和 CK19 在甲状腺滤泡型肿瘤中的表达:通过 *Mann - Whitney* 检验对比 FTC 组和 FA 组中 Galectin - 3 和 CK19 的表达情况 (表 1),可知 Galectin - 3 在 FTC 组和 FA 组中的表达分别为 80.6% (29/36) 和 27.7% (13/47), Galectin - 3 在 FA

组没有强阳性的表达,两组间比较差异有统计学意义 ($Z = 25.786, P < 0.05$)。CK19 在 FTC 组和 FA 组中的表达分别为 86.1% (31/36) 和 34.0% (16/47),在 FA 组未见强阳性的表达,两组间比较差异有统计学意义 ($Z = 24.882, P < 0.05$)。

表 1 Galectin - 3 和 CK19 在 FTC 组和 FA 组的表达情况

组别	Galectin - 3				CK19			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++
FTC 组 ($n = 36$)	7	14	9	6	5	19	9	3
FA 组 ($n = 47$)	34	9	4	0	31	13	3	0
<i>Z</i>	25.786				24.882			
<i>P</i>	0.000				0.000			

3. Galectin - 3 和 CK19 诊断滤泡性癌的敏感度、特异性与准确性:Galectin - 3 在鉴别甲状腺滤泡状癌和滤泡性腺瘤时的敏感度为 82.5%, 特异性为 88.7%, 准确性为 86.0%, 阳性预测值为 84.6%, 阳性预测值为 87.0% (表 2)。CK19 在鉴别甲状腺滤泡状癌和滤泡性腺瘤时的敏感度为 87.5%, 特异性为 79.2%, 准确性为 82.8%, 阳性预测值为 76.1%, 阴性预测值为 89.4% (表 3)。CK19 的敏感度高而 Galectin - 3 的特异性高。

表 2 FNAB 与病理组织检测 Galectin - 3 的表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

FNAB 检测的 Galectin - 3 (结节)	病理组织中 Galectin - 3 (结节)	
	阳性	阴性
阳性	33	6
阴性	7	47

表 3 FNAB 与病理组织检测 CK19 的表达情况

FNAB 检测的 CK19 (结节)	病理组织中 CK19 (结节)	
	阳性	阴性
阳性	35	11
阴性	5	42

讨 论

甲状腺癌已成为影响人们生活与健康的一大类

疾病,目前各个国家甲状腺癌的发生率正逐年增长,在韩国其发生率已攀升至女性恶性肿瘤的首位,在国内甲状腺癌发生率已在女性恶性肿瘤发生率中位居前列^[10,11]。若能在 40 岁以前确诊,患者 5 年和 10 年疾病相关生存率可分别达到 95% 和 75%,而 40 岁以后确诊的生存率仅为 65% 和 60%^[12]。故尽早将少数原发性甲状腺癌从众多的良性结节中鉴别出来,并对其进行分期、预测侵袭性和随访,对制定治疗方案和改善预后均具有重大意义。

甲状腺滤泡状癌发生率位居甲状腺恶性肿瘤的第 2 位,且常见血管侵犯,通过血行转移至骨、肺等其他部位,侵袭程度越重,播散距离越远,则预后越差。近年来,部分研究发现甲状腺滤泡腺瘤和滤泡癌中高频率的突变表明两者之间存在某种关联,镜检下鉴别两者要求肿瘤包膜全部取材才能明确是否存在包膜或血管侵犯,但取材、切片等因素仍可影响误诊、漏诊,即使全部取材也不能代表看到标本的全部切面。故近期的多项研究开始以肿瘤标志物为对象,试图通过增加肿瘤标志物的检测以期提高诊断率。CK19 作为一种细胞角蛋白,对上皮细胞起到一定维护作用,以保证上皮细胞整齐连续,与上皮细胞增长分裂密不可分。本研究 36 例 FTC 患者中共送检甲状腺结节

标本 40 个,其中两例患者分别检出 1 个 CK19 阳性结节和 1 个 CK19 阴性结节,在 FTC 组呈中等强度阳性,在 FA 组有弱阳性表达,但 66.0% (31/47) 呈阴性表达,整体诊断敏感度为 87.5%,特异性为 79.2%,与贾丽琼等^[13] 结果相近,提示 CK19 作为甲状腺滤泡性肿瘤的标志物对于区分其良、恶性病变有一定的帮助,但其特异性和阳性预测值均较低,单独 CK19 可能难以判断标本为甲状腺滤泡状癌。

Galectin-3 是一种半乳糖蛋白,生理作用下在机体内参与调节细胞增殖、黏附和凋亡^[14]。此外,有研究证实 Galectin-3 在多种类型恶性肿瘤中出现高水平表达,认为其可能作为主要蛋白直接参与了肿瘤进展^[15]。近年来研究显示 Galectin-3 在甲状腺恶性肿瘤中的表达率明显高于良性肿瘤^[16]。本研究也表明,Galectin-3 在 FTC 组和 FA 组中的表达存在明显差异 ($P < 0.05$),阳性预测值 (84.6%) 及准确性 (86.0%) 均较高,且其在 FTC 组的表达率与近期其他小样本的研究结果相近,进一步增强了说服力,增加了甲状腺滤泡性肿瘤标志物研究的统计样本量,利于今后的 Meta 分析,不过仍有 14 例表达为弱阳性,呈强阳性表达的例数较少,单独对比一个细针穿刺抽取活检的 FTC 标本有时难以与 FA 区分,在检测 Galectin-3 时仍需进一步比较 FTC 和 FA 染色的情况。

目前虽有研究提示肿瘤标志物一定程度上可提高甲状腺良、恶性滤泡性肿瘤的鉴别能力,但尚无充足的循证医学证据证明其在大范围人群中诊断的可靠性,且也没有统一和固定的肿瘤标志物用于甲状腺疾病的诊断。本研究纳入病例数量较少,对于 Galectin-3 和 CK19 在 FTC 诊断中的比较尚不全面,未深入探讨其在甲状腺良、恶性肿瘤中的表达机制,尚需要更多的临床数据及分子水平的研究。

综上所述,超声引导下穿刺细胞检查的同时完善 Galectin-3 和 CK19 等免疫组化的检查,可一定程度上协助临床医生诊断良、恶性甲状腺滤泡状肿瘤。

参考文献

- 1 李小毅,张波,林岩松.成人甲状腺结节与分化型甲状腺癌诊治指南(2015年美国甲状腺协会)解读[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2017,52(4):309-315
- 2 Haugen B, Alexander E, Bible K, *et al.* 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer; the American Thyroid Association

- Guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer [J]. *Thyroid*, 2016, 26(1): 15-18
- 3 Gharib H, Papini E, Garber JR, *et al.* American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology, and Associazione Medici Endocrinologi Medical Guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules - 2016 update [J]. *Endocrine Practice Official Journal of the American College of Endocrinology & the American Association of Clinical Endocrinologists*, 2016, 22(5):622
- 4 Cantara S, Marzocchi C, Pilli T, *et al.* Molecular signature of indeterminate thyroid lesions: current methods to improve fine needle aspiration cytology (FNAC) diagnosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(4): 775
- 5 Matesaanic D, Moslavac S, Matesa N, *et al.* Intensity and distribution of immunohistochemical expression of Galectin-3 in thyroid neoplasms [J]. *Acta Clin Croat*, 2012, 51(2):237
- 6 Trimboli P, Guidobaldi L, Amendola S, *et al.* Galectin-3 and HBME-1 improve the accuracy of core biopsy in indeterminate thyroid nodules [J]. *Endocrine*, 2016, 52(1):1-7
- 7 Nechiforboila A, Borda A, Sassolas G, *et al.* Thyroid tumors of uncertain malignant potential: morphologic and immunohistochemical analysis of 29 cases [J]. *Pathol Res Pract*, 2015, 211(4):320-325
- 8 中华医学会内分泌学分会. 甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南 [J]. *中国肿瘤临床*, 2012, 28(10):779-797
- 9 杨军,康安静,苏宝山,等. 免疫组织化学检测结果判读进展 [J]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2014, 8(20):3699-3703
- 10 Brito JP, Kim HJ, Han SJ, *et al.* Geographic distribution and evolution of thyroid cancer epidemic in South Korea [J]. *Thyroid*, 2016, 26(6):57
- 11 高明. 不断提高甲状腺癌外科规范化诊治水平 [J]. *中华普外科手术学杂志:电子版*, 2013, 7(4):242-245
- 12 Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002 [J]. *JAMA*, 2006, 295(18):2164-2167
- 13 贾丽琼,潘炯,李小强. 超声引导下穿刺细胞检测 Galectin-3 和 CK19 在良、恶性甲状腺滤泡性肿瘤的表达差异 [J]. *中国临床医学影像杂志*, 2017, 28(1):19-22
- 14 Saggiorato E, Cappia S, Giuli PD, *et al.* Galectin-3 as a presurgical immunocytochemical marker of minimally invasive follicular thyroid carcinoma [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(11):5152-5158
- 15 Giordano M, Croci DO, Rabinovich GA. Galectins in hematological malignancies [J]. *Curr Opin Hematol*, 2013, 20(4):327-335
- 16 许文琼,梅金红,汤佳珍,等. Galectin-3、HBME-1 和 VEGF 在甲状腺乳头状癌的表达及诊断意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(18):26-30

(收稿日期:2018-12-08)

(修回日期:2019-01-15)