

# 超声引导下细针穿刺联合 FAM172A 在甲状腺乳头状癌诊断中的应用价值

许培培 李梅芳 李连喜 郭明高

**摘要** **目的** 旨在通过免疫组化和超声引导下细针穿刺(US-FNA),明确 FAM172A 表达在甲状腺乳头状癌(PTC)中的诊断价值。**方法** 回顾性分析 2017 年 1 月~2018 年 1 月在上海交通大学附属第六人民医院术后诊断为甲状腺乳头状癌和腺瘤的患者,纳入 50 例 PTC 和 20 例甲状腺腺瘤(FTA)分别进行 FAM172A 免疫组化。通过 ROC 曲线确定 FAM172A 最佳切点值。前瞻性分析 2018 年 1~6 月超声怀疑甲状腺肿瘤患者,纳入 20 例甲状腺肿瘤患者在超声引导下进行穿刺,取得细胞样本进行 FAM172A 细胞免疫组化。**结果** 甲状腺乳头状癌与腺瘤患者比较,FAM172A 在甲状腺乳头状癌中表达更高( $P=0.000$ )。FAM172A 免疫组化评分切点在 3.5 以上敏感度为 92%,特异性为 60%。ROC 曲线分析结果显示,FAM172A 诊断乳头状癌的曲线下面积(AUC)为 0.846( $P=0.000$ )。在 20 个前瞻性病例中,US-FNA 结合 FAM172A 细胞学免疫组化鉴别恶性甲状腺乳头状癌的敏感度和特异性分别为 80% 和 100%。**结论** FAM172A 可能成为一个新型蛋白分子标志物,有助于甲状腺乳头状癌的诊断。

**关键词** FAM172A 甲状腺乳头状癌 US-FNA 分子标志物 诊断

**中图分类号** R73

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.12.012

**Value of Ultrasound-guided Fine Needle Aspiration Combined with FAM172A in the Diagnosis of Papillary Thyroid Carcinoma.** Xu Pei-pei, Li Meifang, Li Lianxi, et al. Department of Surgery, The Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

**Abstract** **Objective** To investigate the diagnostic value of FAM172A expression in papillary thyroid carcinoma (PTC) by immunohistochemistry and ultrasound-guided fine needle aspiration (US-FNA). **Methods** A retrospective analysis of patients with thyroid papillary carcinoma and adenoma diagnosed in the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University from January 2017 to January 2018 was conducted. 50 PTC and 20 FA were enrolled in the FAM172A immunohistochemistry. The best cut point value of the FAM172A was determined by the ROC curve. Prospective analysis of patients with suspected thyroid tumors from January 2018 to June 2018, 20 patients with thyroid tumors underwent ultrasound-guided puncture, and obtained cell samples for immunohistochemistry of FAM172A cells. **Results** Compared with adenoma patients, FAM172A was more highly expressed in thyroid papillary carcinoma ( $P=0.000$ ). Based on the FAM172A immunohistochemical score, the sensitivity was 92% and the specificity was 60%. The ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) for the diagnosis of papillary carcinoma by FAM172A was 0.846 ( $P=0.000$ ). In 20 prospective cases, the sensitivity and specificity of US-FNA combined with FAM172A cytology immunohistochemistry for identifying malignant thyroid papillary carcinoma were 80% and 100%, respectively. **Conclusion** FAM172A may be a novel protein molecular marker that contributes to the diagnosis of papillary thyroid carcinoma.

**Key words** FAM172A; Papillary thyroid carcinoma; US-FNA; Molecular marker; Diagnosis

近年来,甲状腺癌在全世界的发生率持续上升,其中最常见的类型为乳头状癌,约占所有类型的 80%~90%<sup>[1]</sup>。超声引导下细针穿刺(ultrasound-guided fine needle aspiration, US-FNA)是诊断甲状腺

结节的重要手段<sup>[2]</sup>。目前,超声检查已经成为甲状腺癌早期诊断的重要方法。研究表明,超声检查的甲状腺结节中,90%甲状腺结节为良性,但对于恶性甲状腺结节,超声诊断的准确性仍需提高<sup>[3]</sup>。分子诊断的不断发展,使发现早期恶性肿瘤成为可能<sup>[4]</sup>。

FAM172A 基因又名 C5orf21 基因,是一个结构和功能尚未明确的新基因<sup>[5]</sup>。本课题组从主动脉组织中克隆出了该基因,并初步研究了甲状腺乳头状癌

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81672373)

作者单位:200233 上海交通大学附属第六人民医院普外科

通讯作者:郭明高,主任医师,硕士生导师,电子信箱:guoming-gao203@163.com

的影响,发现 FAM172A 在甲状腺乳头状癌组织中高表达,并促进甲状腺乳头状癌细胞的增殖<sup>[6]</sup>。本研究旨在通过免疫组化和 US - FNA, 进一步探索 FAM172A 蛋白在甲状腺乳头状癌中的诊断价值。

### 资料与方法

1. 研究对象:(1)回顾性选取 2017 年 1 月~2018 年 1 月在上海交通大学附属第六人民医院外科进行手术治疗的甲状腺肿瘤患者的石蜡切片样本共 70 例,其中 50 例为甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC),20 例为甲状腺腺瘤(follicular thyroid adenoma, FTA)。(2)前瞻性纳入 2018 年 1~6 月在上海交通大学附属第六人民医院进行超声检查怀疑甲状腺肿瘤的 20 例患者,通过 FNA 获得细胞样本。纳入标准:①超声和临床表现可疑甲状腺滤泡性肿瘤;②原发性甲状腺肿瘤患者,之前未接受过甲状腺手术;③根据超声检查,甲状腺结节 > 1cm;④患者自愿进行 FNA 检查并签署知情同意书。排除标准如下:①原因不明的出血病史;②出血倾向(活化部分凝血活酶时间高于正常上限 10s,凝血酶原时间高于正常上限 3~5s,纤维蛋白原 < 1g/L,血小板计数 < 50000/mm<sup>3</sup>且聚集功能差,经临床会诊不能进行穿刺活检);③近期应用抗凝血药物;④严重高血压(收缩压 > 180mmHg, 1mmHg = 0.133kPa)者;⑤超声引导下不能确定活检的合适部位。

2. 方法:(1)常规免疫组化:将石蜡切片脱蜡至水。3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温孵育 5~10min,以消除内源性过氧化物酶的活性。蒸馏水冲洗,10% 正常山羊血清封闭,室温孵育 10min,倾去血清,勿洗。滴加一抗工作液,37℃ 孵育 1h。PBS 冲洗 5min,重复 3 次。滴加适量生物素标记二抗工作液,37℃ 孵育 30min。PBS 冲洗 5min,重复 3 次。滴加适量的辣根酶或碱性磷酸酶标记的链霉卵白素工作液,37℃ 孵育 30min。PBS 冲洗 5min,重复 3 次。DAB 显色剂显色 15min。自来水充分冲洗,复染,脱水,透明,封片。(2)US - FNA:患者仰卧位,充分暴露颈前区。对暴露区域进行消毒,铺巾。局部麻醉后,在超声引导下进行穿刺,重复穿刺 3~5 次,吸出细胞样本涂到玻璃片,涂 3~4 张,然后将涂片放到 95% 乙醇槽中固定。术后对穿刺点按压 10min 止血。(3)细胞免疫组化:通过 FNA 穿刺取得细胞涂片样本,经 95% 乙醇固定后,后续操作步骤同常规免疫组化。(4)FAM172A 评分:染色结果由 1 位病理学工作者进行评估。具体方法如下,首先计算染色评分,在每张图片上随机选取 3~5 个高倍视

野,若细胞质或细胞核出现棕黄色则为阳性细胞。根据阳性细胞面积所占的百分比来进行评分:阳性面积 ≤ 5% 为 0 分,6%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分, > 75% 为 4 分。同时根据染色强度进行评分:0 分为无染色,1 分为淡黄色,2 分为黄色,3 分为棕黄色。然后将上述染色评分和染色强度评分相乘所得的结果作为最终的评定标准。

3. 统计学方法:采用 GraphPad Prism 5.0 统计学软件对所有数据进行统计分析和处理,采用 *t* 检验比较组间数据,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 回顾性分析 FAM172A 免疫组化鉴别乳头状癌:对 50 例 PTC 和 20 例 FTA 石蜡组织进行免疫组化。结果发现 FAM172A 蛋白在 PTC 组织中的表达显著高于 FTA 中的表达(图 1)。同样,FAM172A 的染色得分在 PTC 中显著高于 FTA(图 2),差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

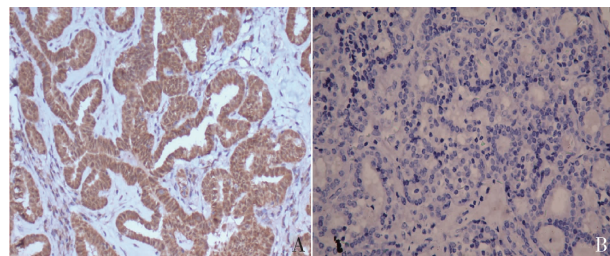


图 1 FAM172A 在甲状腺腺瘤和乳头状癌中的表达  
(免疫组化染色, ×200)

A. 甲状腺乳头状癌;B. 甲状腺腺瘤

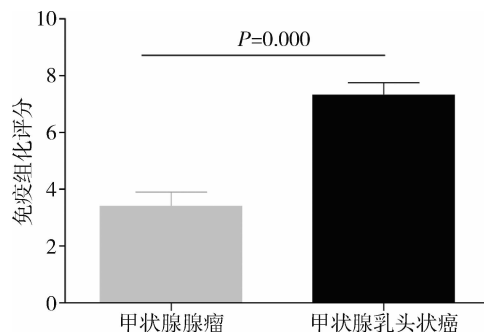


图 2 FAM172A 免疫组化评分

2. ROC 曲线分析 FAM172A 最佳截点:基于 FAM172A 的免疫组化染色评分,绘制 ROC 曲线,得出 FAM172A 评分为 3.5 是鉴别良、恶性甲状腺滤泡性肿瘤的最佳临界点,具有 92% 的敏感度和 60% 的特异性,曲线下面积为 0.849(图 3)。

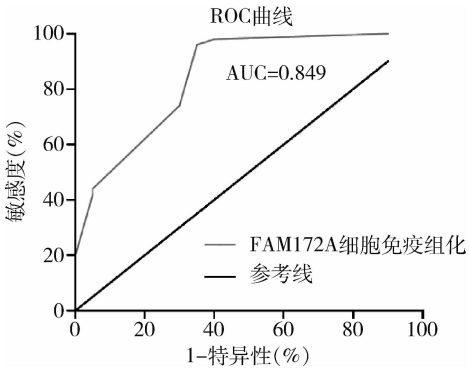


图 3 FAM172A 细胞免疫组化诊断甲状腺乳头状癌的 ROC 曲线

3. 前瞻性分析 FAM172A 细胞免疫组化鉴别甲状腺乳头状癌:对 20 例疑为甲状腺肿瘤患者进行超声引导下 FNA 获得细胞样品,进行 FAM172A 的细胞免疫组化。根据术后病理结果,20 例 FNA 样本中有 5 例 PTC 和 20 例 FTA。FAM172A 在 PTC 和 FA 中表达的代表性的免疫组化结果见图 4。免疫组化结果显示 FAM172A 的表达在 PTC 中显著高于 FTA。

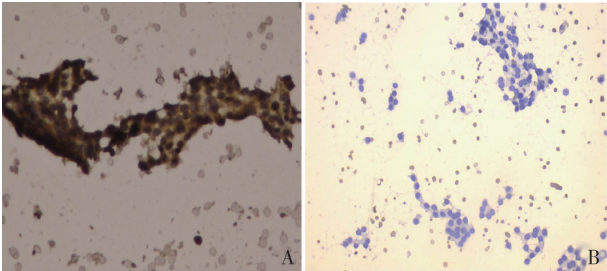


图 4 FAM172A 细胞免疫组化在甲状腺乳头状癌和腺瘤中的表达(免疫组化染色,×400)  
A. 甲状腺乳头状癌;B. 甲状腺腺瘤

4. FAM172A 在甲状腺肿瘤中免疫组化良恶性判定结果:FAM172A 的免疫组化良、恶性判定结果见表 1。FAM172A 的免疫组化评分  $\geq 3.5$  被认为是 PTC。根据免疫组化评分标准,5 例 PTC 患者全部判定为阳性,15 例 FTA 患者中有 12 例判定为阴性。最终 FAM172A 鉴别恶性和良性甲状腺肿瘤 的灵敏度为 100%,特异性为 80%。

表 1 FAM172A 细胞免疫组化与术后病理比较 (n)

| FAM172A 细胞<br>免疫组化 | 病理结果 |    |    |
|--------------------|------|----|----|
|                    | 良性   | 恶性 | 合计 |
| 良性                 | 12   | 0  | 12 |
| 恶性                 | 3    | 5  | 8  |
| 合计                 | 15   | 5  | 20 |

讨 论

由于诊断技术的进步和各种环境因素的影响,全球甲状腺癌的发生率明显上升。有研究表明,我国的甲状腺癌发生率显著增加,年均增长率高达 20.1%,主要类型为 PTC<sup>[7,8]</sup>。目前,超声引导下 FNAC 是诊断甲状腺乳头状癌的重要诊断方法,有着较高的敏感度和特异性,但由于细胞学的局限性,仍有 10% ~ 40% 很难明确其性质。随着分子标志物的不断发展,越来越多的分子标志物应用到临床诊断中<sup>[9-16]</sup>。

本研究发现,FAM172A 在甲状腺乳头状癌中高表达,并促进甲状腺癌细胞的增殖<sup>[6]</sup>。FAM172A 在不同的肿瘤中可能发挥着不同的作用。本研究发现,超声引导下 FNAC 联合 FAM172A 细胞免疫组化有助于甲状腺乳头状癌的诊断,其敏感度为 100%,特异性为 80%。有研究报道,US - FNA 诊断甲状腺乳头状癌的敏感度和准确性分别为 70.7% 和 74.4%。进一步联合 BRAF<sup>V600E</sup> 可提高甲状腺乳头状癌诊断的敏感度(86.2% vs 70.7%)和准确性(87.9% vs 74.4%)<sup>[17]</sup>。另有研究结果表明,US - FNA 诊断甲状腺乳头状癌的敏感度为 78.6% (33/42),特异性为 71.4% (20/28),ROC 曲线下面积为 0.750。US - FNA 联合 CK19 和 Ki - 67,ROC 曲线下面积可提高到 0.858,联合 CK19 和 Ki - 67 检测相比于单独 US - FNA 具有更好的诊断价值<sup>[10]</sup>。与之前研究比较,FAM172A 作为蛋白标志物有着更高的敏感度和特异性。

综上所述,FAM172A 作为一种新型蛋白分子标志物,能够为 PTC 患者的确诊提供参考,提高 PTC 诊断的准确性。但仍需开展更多的前瞻性、大样本研究去验证。

参考文献

1 Roman BR, Morris LG, Davies L. The thyroid cancer epidemic, 2017 perspective[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obesity, 2017, 24 (5):332 - 336

2 Layfield LJ, Cibas ES, Gharib H, et al. Thyroid aspiration cytology: current status[J]. CA: A Cancer J Clinicians, 2009, 59(2):99 - 110

3 Nguyen QT, Lee EJ, Huang MG, et al. Diagnosis and treatment of patients with thyroid cancer[J]. Am Health Drug Benefits, 2015, 8 (1):30 - 40

4 Ferrari SM, Fallahi P, Ruffilli I, et al. Molecular testing in the diagnosis of differentiated thyroid carcinomas[J]. Gland Surg, 2018, 7 (Suppl 1):s19 - s29

5 Li LX, Tao Z, Dong XH, et al. Molecular cloning of a novel gene, C5orf21 gene and its roles in diabetic macroangiopathy[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2009, 89(36):2574 - 2577

(下转第 49 页)

- 10 Zhang BY, Xu ZP, Zhang YX, *et al.* Fipronil induces apoptosis through caspase – dependent mitochondrial pathways in *Drosophila* S2 cells[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2015, 119:81 – 89
- 11 Herold N, Will CL, Wolf E, *et al.* Conservation of the protein composition and electron microscopy structure of *Drosophila melanogaster* and human spliceosomal complexes[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(1):281 – 301
- 12 Nik S, Bowman TV. Splicing and neurodegeneration: insights and mechanisms[J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2019, 10(1):e1532
- 13 Gruss OJ, Meduri R, Schilling M, *et al.* UsnRNP biogenesis: mechanisms and regulation[J]. *Chromosoma*, 2017, 126: 577 – 593
- 14 Wahl M, Lührmann R. SnapShot: spliceosome dynamics I[J]. *Cell*, 2015, 162(2):456 – 456
- 15 Chaytow H, Huang YT, Gillingwater TH, *et al.* The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75: 3877 – 3894
- 16 Prusty AB, Meduri R, Prusty BK, *et al.* Impaired spliceosomal Us-

- nRNP assembly leads to Sm mRNA down – regulation and Sm protein degradation[J]. *J Cell Biol*, 2017, 216: 2391 – 2407
- 17 Gonsalvez GB, Rajendra TK, Wen Y, *et al.* Sm proteins specify germ cell fate by facilitating oskar mRNA localization[J]. *Development*, 2010, 137(14):2341 – 2351
- 18 Anne J, Ollo R, Ephrussi A, *et al.* Arginine methyltransferase Capsuleen is essential for methylation of spliceosomal Sm proteins and germ cell formation in *Drosophila*[J]. *Development (Cambridge)*, 2007, 134(1):137 – 146
- 19 Klusza S, Novak A, Figueroa S, *et al.* Prp22 and spliceosome components regulate chromatin dynamics in germ – line polyploid cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e79048
- 20 Moraes AM, Jorge Soraia AC, Astray RM, *et al.* *Drosophila melanogaster* S2 cells for expression of heterologous genes: from gene cloning to bioprocess development[J]. *Biotechnol Adv*, 2012, 30: 613 – 628  
(收稿日期:2019 – 03 – 29)  
(修回日期:2019 – 04 – 04)

(上接第 43 页)

- 6 Li MF, Zhang R, Guo MG, *et al.* FAM172A protein promotes the proliferation of human papillary thyroid carcinoma cells via the p38 mitogen – activated protein kinase pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(1):353 – 358
- 7 Kitahara CM, Sosa JA. The changing incidence of thyroid cancer[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, 12(11):646 – 653
- 8 Chen W, Zheng R, Baade PD, *et al.* Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA: A Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115 – 132
- 9 Jang MH, Jung KC, Min HS, *et al.* The diagnostic usefulness of HMGA2, Survivin, CEACAM6, and SFN/14 – 3 – 3 delta in follicular thyroid carcinoma[J]. *J Patho Translat Med*, 2015, 49(2):112 – 117
- 10 Kato N, Tsuchiya T, Tamura G, *et al.* E – cadherin expression in follicular carcinoma of the thyroid[J]. *Pathol Int*, 2002, 52(1):13 – 18
- 11 Mase T, Funahashi H, Koshikawa T, *et al.* HBME – 1 immunostaining in thyroid tumors especially in follicular neoplasm[J]. *Endocrine J*, 2003, 50(2):173 – 177
- 12 Haynik DM, Prayson RA. Immunohistochemical expression of cyclooxygenase 2 in follicular carcinomas of the thyroid[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2005, 129(6):736 – 741

- 13 Liu J, Brown RE. Immunohistochemical expressions of fatty acid synthase and phosphorylated c – Met in thyroid carcinomas of follicular origin[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2011, 4(8):755 – 764
- 14 Heikkila A, Fermer C, Hagstrom J, *et al.* A novel stem cell associated marker identified by monoclonal antibody HESC5:3 differentiates between neoplastic lesions in follicular thyroid neoplasms[J]. *APMIS*, 2015, 123(7):604 – 612
- 15 Gustafson KS, LiVolsi VA, Furth EE, *et al.* Peroxisome proliferator – activated receptor gamma expression in follicular – patterned thyroid lesions. Caveats for the use of immunohistochemical studies[J]. *Am J Clin Pathol*, 2003, 120(2):175 – 181
- 16 Hagstrom J, Heikkila A, Siirinen P, *et al.* TLR – 4 expression and decrease in chronic inflammation: indicators of aggressive follicular thyroid carcinoma[J]. *J Clin Pathol*, 2012, 65(4):333 – 338
- 17 鲁柯兵. 超声引导下细针穿刺细胞学联合 BRAF ~ (V600E) 基因检测在甲状腺乳头状癌诊断中的应用价值[J]. *临床超声医学杂志*, 2019, 21(3):215 – 217
- 18 任利中. 超声引导下细针穿刺联合 CK19、Ki – 67 检测在甲状腺乳头状癌中的应用价值分析[J]. *现代实用医学*, 2018, 30(12):1632 – 1634, 1718

(收稿日期:2019 – 04 – 03)

(修回日期:2019 – 04 – 08)