

文章编号:1005-6947(2005)09-0660-04

· 甲状(旁)腺外科专题研究 ·

C-MET 蛋白在有颈部淋巴结转移的甲状腺癌中的表达和意义

张春旭, 王强, 张友磊

(第二军医大学长征医院 普通外科, 上海 200003)

摘要:目的 探讨 C-MET 蛋白在有或无颈部淋巴结转移的甲状腺乳头状癌、甲状腺滤泡状癌及良性甲状腺组织中的表达及其临床意义。方法 采用免疫组织化学方法检测有颈部淋巴结转移的甲状腺乳头状腺癌(PTC1组)62例,无颈部淋巴结转移的甲状腺乳头状腺癌(PTC2组)50例,甲状腺滤泡状腺癌(FTC组)10例及良性甲状腺组织(良性组)30例中的 C-MET 蛋白的表达。结果 PTC1 组的 C-MET 表达明显高于其它 3 组 ($P < 0.001$)。两两比较 C-MET 表达结果:PTC1 组与 PTC2 组比较, $P < 0.001$; PTC1 组与 FTC 组比较, $P < 0.001$; PTC1 组与良性组比较, $P < 0.001$; PTC2 组与 FTC 组比较, $P = 0.002$; PTC2 组与良性组比较, $P < 0.001$; 皆有显著性差异。结论 C-MET 的表达是甲状腺乳头状癌是否有淋巴结转移的预测因子,是肿瘤的囊外扩展和直接侵犯的标记。该指标对甲状腺乳头状癌淋巴结转移的术前评估,决定手术方式均有一定指导意义。

关键词: 甲状腺肿瘤/病理学; 淋巴转移; C-MET 蛋白

中图分类号: R736.1; R733.4 文献标识码: A

Expression of C-MET in thyroid carcinoma with cervical lymph node metastases and its clinical significance

ZHANG Chun-xu, WANG Qiang, ZHANG You-lei

(Department of General Surgery, Changzheng Hospital, The Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of C-MET in papillary thyroid carcinoma (PTC) with cervical lymph node metastases, PTC without cervical lymph node metastases, follicular thyroid carcinoma and benign thyroid disease and the clinical significance. **Methods** The expression level of C-MET was examined by immunohistochemical analysis with C-MET monoclonal antibody in 62 cases of PTC with cervical lymph node metastases, 50 cases of PTC without cervical lymph node metastases, 10 cases of follicular thyroid carcinoma and 30 cases of benign thyroid disease. **Results** PTC with cervical lymph node metastases expressed significantly greater level of C-MET than the other forms of thyroid carcinoma and benign thyroid disease ($P < 0.001$). C-MET expression was significantly different for the following pairs of thyroid specimens: PTC with cervical lymph node metastases versus PTC without cervical lymph node metastases, $P < 0.001$; PTC with cervical lymph node metastases versus follicular thyroid carcinoma, $P < 0.001$; PTC with cervical lymph node metastases versus benign thyroid disease, $P < 0.001$; PTC without cervical lymph node metastases versus follicular thyroid carcinoma, $P = 0.002$; PTC without cervical lymph node metastases versus benign thyroid disease, $P < 0.001$. The distributions of C-MET expression were not significantly different for follicular thyroid carcinoma versus benign thyroid disease, $P = 0.015$. **Conclusions** Intense C-MET expression is indicative of the presence of the cervical lymph node metastases and a marker of extracapsular spread and direct extension of PTC. It is significance for preoperative assessment of cervical lymph node metastases of PTC and in the choice of operative methods.

收稿日期:2005-05-30; 修订日期:2005-07-16。

作者简介:张春旭(1973-),男,河南郑州人,第二军医大学附属长征医院硕士研究生,主治医师,主要从事普通外科,甲状腺及胃肠方面的研究。

通讯作者:张春旭 电话:13938518301(手机); E-mail:chiseng22000@yahoo.com.cn。

Key words: Thyroid Neoplasms/pathol; Lymph Node Metasis; C-MET Protein

CLC number: R736.1; R733.4

Document code: A

原癌基因 C-MET 在甲状腺乳头状癌中的过度表达导致了感受器和放大的信号传递,增加了癌细胞的动力和侵袭力^[1~3]。因此 C-MET 可能是甲状腺癌转移和侵袭的重要因素。但是 C-MET 在甲状腺乳头状癌中的表达与肿瘤侵袭性的关系还不明确。为此,本实验采用免疫组织化学方法研究了 C-MET 在有颈部淋巴结转移和无颈部淋巴结转移的甲状腺乳头状腺癌、滤泡状腺癌、良性甲状腺疾病及正常甲状腺组织中的表达,并探讨其临床意义。

1 材料与方 法

1.1 标本及一般资料

标本来源于我校长征医院及长海医院 2000 ~ 2004 年甲状腺手术患者的组织石蜡切片 152 例。其中有颈部淋巴结转移的甲状腺乳头状腺癌 (PTC1 组) 62 例,无颈部淋巴结转移的甲状腺乳头状腺癌 (PTC2 组) 50 例,甲状腺滤泡状腺癌 (FTC 组) 10 例,良性甲状腺组织 30 例(良性组包括甲状腺腺瘤 20 例,正常甲状腺组织 10 例)。所有病理切片均由有经验的病理科医生确诊。临床指标数据包括年龄、性别、TNM 分期、肿瘤大小、包膜外扩散、血管侵犯及颈淋巴结转移,其数据均由患者的病历收集。分期根据美国癌症联合会采用的 TNM 系统。临床病理资料见表 1。

表 1 4 种甲状腺组织标本临床病理数据资料

变量	分组			
	PTC1 组 (n = 62)	PTC2 组 (n = 50)	FTC 组 (n = 10)	良性组 (n = 30)
性别				
男	20	11	2	11
女	24	39	8	19
年龄(岁)				
≤45	48	30	2	11
>45	48	20	8	19
肿瘤大小(cm)				
≤4	42	28	3	11
>4	18	20	7	19
肿瘤分期				
I~II 期	51	50	8	
II~IV 期	11	0	2	
囊外扩散	(n = 50)	n = 43	n = 8)	
	32	14	6	
肌肉侵犯	(n = 50)	n = 43	n = 8)	
	12	4	4	
血管侵犯	(n = 50)	n = 43	n = 8)	
	1	0	7	

1.2 主要试剂

C-MET 蛋白单克隆抗体(兔抗人)1:100,购自武汉博士德生物工程有限公司。生物素化二抗(抗兔 IgG),S-P 试剂盒及 DAB 由长海医院病理科提供。

1.3 免疫组化染色

切片被孵化 60℃,10 min,在二甲苯中脱腊(室温)20 min,在浓度渐低的乙醇溶液中脱腊去水(室温)10 min。0.3% H₂O₂ 抑制内源性过氧化物酶(室温)20 min。为了提高抗原的暴露,标本用微波法修复,用正常的 1.5% 山羊血清阻断标本的非特异性结合位点 30 min。为了消除内源性生物素活性,切片被孵化在生物素,亲和素溶液中分别 20 min。切片在单克隆 C-MET 兔抗体(1:100)中孵化 1h,生物素化二抗(抗兔,室温)30 min,Streptavidin-HRP 复合物(室温)30 min,DAB + H₂O₂ 显色(室温)10 min,苏木精衬染 5 min。阴性对照为正常兔血清代替一抗;阳性对照用表达 C-MET 蛋白的骨骼肌标本。

1.4 免疫组化染色结果评估

染色结果由 2 位病理科医生独立进行半定量评估。C-MET 染色强度从 0~4 分级:0 为阴性,(+)为最低阳性,(++)为弱阳性,(+++)为阳性,(++++)为强阳性。分级根据大多数肿瘤细胞的染色强度并考虑同样强度肿瘤细胞数量的百分比决定分级。最后得分由染色强度和同一染色强度的细胞百分比相乘得出。染色强度的得分采用单盲法。2 位病理科医生得分结果一致。

1.5 统计学处理

C-MET 在各组中的表达用 Kruskal-Wallis 检验(多组等级资料秩和检验)。组间的两两比较用 Mann-Whitney 检验(两等级资料秩和检验)。描述统计和确切检验(如 Kruskal-Wallis, and Mann-Whitney tests)由 SPSS10.0 软件完成。

2 结 果

C-MET 染色在 PTC1 组中最强(平均强度 3.6,图 1),PTC2 组次之(1.7,图 2),FCT 组较弱(0.5,图 3),阴性对照最弱(图 4)。C-MET 在 4 组间表达差异均有极显著性($P < 0.001$)(表 2)。

图1 有颈部淋巴结转移的甲状腺乳头状癌 C-MET 免疫组化染色 (SP × 200)

图2 无颈部淋巴结转移的甲状腺乳头状癌 C-MET 免疫组化染色 (SP × 200)

图3 甲状腺腺瘤 C-MET 免疫组化染色 (SP × 200)

图4 阴性对照 (SP × 200)

表2 4组甲状腺组织 C-MET 表达的 Kruskal Wallish 检验

组别	例数	C-MET 表达 (n, %)			
		阴性 (-)	总表达率	低表达 (+ ~ ++)	高表达 (+++ ~ +++)
PTC1	62	0(0)	100	1(1.6)	61(98.4)
PTC2	50	13(26.0)	70.4 ¹⁾	27(54.0)	10(20.0)
FTC	10	7(70.0)	30.0 ^{1),2)}	2(20.0)	1(10.0)
良性	30	29(96.7)	3.3 ^{1),3)}	1(3.3)	0(0)

注:1)与 PTC1 组比较, $P < 0.001$; 与 PTC2 组比较, 2) $P = 0.002$, 3) $P < 0.001$

3 讨论

甲状腺癌的侵袭和 C-MET 的过度表达密切相关。Ramirez^[4] 认为 HGF/SF (肝细胞生长/离散因子) 和 C-MET 皆高表达的甲状腺肿瘤有更高的侵袭性。它们显示直接的甲状腺外扩展, 远处转移, 缩短了复发时间。C-MET 蛋白的过度表达或激活与甲状腺乳头状癌侵袭表型明显相关。

另外已经证明 C-MET 受体的过度表达即使在配体缺乏的情况下也能引起 C-MET 受体的激活和产生信号^[1,2]。本研究结果显示 C-MET 蛋白在有淋巴结转移的甲状腺乳头状癌中表达强度明显高于无淋巴结转移的乳头状癌、滤泡状癌和良性病

变组, 提示 C-MET 蛋白的高表达可能导致甲状腺乳头状癌的囊外扩展和颈淋巴结转移。笔者发现, C-MET 高表达的甲状腺癌肿瘤囊外侵犯的区域也比甲状腺内区域染色更强。但 C-MET 通过何种机制调节肿瘤的运动和侵袭还不明了。

Chen 等^[5] 报道 C-MET 的过度表达和颈淋巴结早期转移有关。另一些研究则尚未发现 C-MET 蛋白是颈淋巴结转移的预测因子的证据^[6]。其他学者, 如 Belfiore 等^[7] 揭示了在 PTC 患者中 C-MET 的表达和转移的出现呈负相关。他们认为 C-MET 在肿瘤发展中早期赋予了可选择性的优点。其表达一旦丢失, 肿瘤细胞即可进入生长独立期。本研究表明 C-MET 的表达和囊外扩散之间的联系明

显。这和 Ramirez 等^[4]提供的数据近似。笔者复习文献认为,矛盾结果的产生可能与该学者有淋巴结转移的甲状腺乳头状癌患者例数过少而产生的误差有关。

胡作军^[8]报道了118例甲状腺微小癌中合并颈部淋巴结转移10例。因此对一些甲状腺微小癌不能忽略颈部淋巴结转移问题。而C-MET在有颈部淋巴结转移的甲状腺癌中强表达为它的诊断提供了新的思路。即术前通过影像学检查如不能明确是否有颈部淋巴结转移的患者若其C-MET表达呈强阳性,预示颈部淋巴结转移可能性大,可以考虑术中行颈淋巴结清扫术或术前详细检查有无淋巴结转移。当然这方面还有不同意见需进一步研究。

Ippolito 等^[9]检查了80例针吸细胞学怀疑并经过手术的患者切片,C-MET染色的结果是:乳头状癌14例中12例(85.7%)阳性;11例乳头状癌滤泡样变(FVPTC)中8例阳性(72.7%);25例滤泡状癌中1例阳性(28%);5例非典型腺瘤中5例阳性。相反25例细胞学诊断为可疑但组织学为良性的患者无1例为阳性。因此认为可疑细胞学涂片的C-MET染色对诊断恶性病变是有帮助的,特别是乳头状类型的组织。笔者认为对可疑恶性病变者行C-MET染色,若为阴性则可排除恶变可能,故其对手术治疗方式的选择有指导作用。而朱国献^[10]对32例甲状腺癌细针穿刺甲状腺癌中,端粒酶活性阳性率为75%,而18例甲状腺癌被针吸细胞学诊断为“可疑阳性”、“取材不够”、“阴性”、“甲状腺炎”者中,14例显示为阳性,阳性率为77%。也说明了这种方法的可行性。

Belfiore^[7]研究证明,在甲状腺乳头状癌中,MET/HGF的阴性表达,低表达是血行转移重要的预测因子。相反 Ramirez^[4]的研究推断:C-MET和HGF/SF强表达和儿童青年乳头状癌患者中的高

的转移复发几率密切相关。笔者推测C-MET蛋白的表达和甲状腺癌的预后有关。然而争论尚待进一步评估。

总之,本研究表明C-MET的表达可能是甲状腺乳头状癌淋巴结转移的预测因子,是肿瘤的囊外扩展和直接侵犯的标记。

参考文献:

- [1] Ponzetto C, Bardelli A, Zhen Z, *et al.* A multifunctional docking site mediates signaling and transformation by the hepatocyte growth factor/scatter factor receptor family [J]. *Cell*, 1994, 77(2):261-271.
- [2] De Luca A, Arena N, Sena LM, *et al.* MET overexpression confers HGF-dependent invasive phenotype to human thyroid carcinoma cells in vitro [J]. *J Cell Physiol*, 1999, 180(9):365-371.
- [3] Giordano S, DiRenzo MF, Narsimhan RP, *et al.* Biosynthesis of the protein encoded by the C-MET proto-oncogene [J]. *Oncogene*, 1989, 4(2):1383-1388.
- [4] Ramirez R, Hsu D, Patel A, *et al.* Over-expression of hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) and the HGF/SF receptor (C-MET) are associated with a high risk of metastasis and recurrence for children and young adults with papillary thyroid carcinoma [J]. *Clin Endocrinol*, 2000, 53(4):635-644.
- [5] Chen BK, Ohtsuki Y, Furihata M, *et al.* Overexpression of C-Met protein in human tumors correlated with lymph node metastases and clinicopathologic stage [J]. *Pathol Res Pract*. 1999, 195(3):427-433.
- [6] Ruco LP, Ranalli T, Marzullo A, *et al.* Expression of met protein in thyroid tumors [J]. *J Pathol*. 1996, 180(5):266-270.
- [7] Belfiore A, Gangemi P, Constantino A, *et al.* Negative/low expression of the met/hepatocyte growth factor receptor identifies papillary thyroid carcinomas with high risk of distant metastases [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82(6):2322-2328.
- [8] 胡作军,王深明,王燕华. 甲状腺微小癌合并转移的诊治 [J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12(5):357-359.
- [9] Ippolito A, Vella V, La Rosa GL, *et al.* Immunostaining for Met/HGF receptor may be useful to identify malignancies in thyroid lesions classified suspicious at fine-needle aspiration biopsy [J]. *Thyroid*, 2001, 11(8):783-787.
- [10] 朱国献,朱小兵,林勇杰,等. 细针穿刺标本中端粒酶活性检测对甲状腺癌的诊断 [J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(5):349-352.