

58例甲状腺髓样癌降钙素及其基因相关肽检测的临床意义*

高明 于洋 李树玲 徐本义 孙保存^① 刘经组
天津医科大学附属肿瘤医院头颈科 (天津市 300060)

摘要 目的:探讨甲状腺髓样癌患者降钙素及其基因相关肽的变化规律以指导临床治疗方案的选择和患者预后的判断。方法:对58例甲状腺髓样癌患者血清中降钙素进行分析及应用免疫组织化学方法观察相应标本中降钙素及其基因相关肽的表达情况;对新入组患者进行放射免疫学测定。结果:1)术前降钙素水平正常与升高的患者之间,颈淋巴结转移存在显著性差异($P<0.01$)。2)术后1个月降钙素水平正常与升高的患者之间,肿瘤复发存在显著性差异($P<0.01$)。3)约98%的患者肿瘤标本降钙素染色呈阳性,而降钙素基因相关肽的阳性率为87.8%。4)部分术前降钙素水平正常的患者降钙素基因相关肽水平升高。5)术后1周左右降钙素下降至一稳定水平。结论:降钙素可以作为指导甲状腺髓样癌诊断和治疗的重要指标,检测降钙素基因相关肽有助于部分降钙素阴性的甲状腺髓样癌患者术前诊断。

关键词 降钙素 降钙素基因相关肽 甲状腺髓样癌

中图分类号:R736.1 文献标识码:A 文章编号:1000-8179(2004)14-0784-04

The Study on Calcitonin and Calcitonin Gene-Related Peptide in Patients with Medullary Thyroid Carcinoma

Gao Ming Yu Yang Li Shuling et al

Cancer Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin

Abstract Objective: In order to offer the basis for the treatment and prognosis in patients with medullary thyroid carcinoma (MTC), the CT and calcitonin gene-related peptide (CGRP) were investigated. **Methods:** Fifty-eight cases of MTC were selected and the relationship between the CT levels and metastasis was investigated. Immunohistochemical method was used to detect the expression of CT and CGRP in 58 samples of MTC tissues. The CT and CGRP of new MTC inpatients were measured before operation and in the first few days after operation using radioimmunoassay. **Results:** 1) The metastatic rate of cervical lymph node had significant difference between the normal plasma CT group and elevated group ($P<0.01$). 2) The rate of tumoral residue had significant difference between the normal plasma CT group one month after operation and the elevated group in the same period ($P<0.01$). 3) In the immunohistochemical study we found that the positive rate of CT was about 98%, and the CGRP was 87.8%. 4) Part of the patients had the elevated CGRP levels, whose CT levels was normal. 5) The plasma CT levels dropped to with the stable range one week after operation. **Conclusions:** The CT levels are useful index to evaluate the cervical lymph node metastasis and the efficacy of surgical treatment. The plasma CGRP measurement is a way for the diagnosis of MTC especially for those patients whose preoperative CT levels are normal.

Key words Calcitonin Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP)
Medullary Thyroid Carcinoma (MTC)

* 本文课题受天津市科委科研基金资助(编号:013611411)

① 病理科

甲状腺髓样癌(MTC)属于甲状腺癌中恶性程度较高的一类,预后相对较差,降钙素(CT)为甲状腺髓样癌的肿瘤标志物。本文通过免疫组织化学方法观察降钙素及其基因相关肽(CGRP)在甲状腺髓样癌组织中的表达情况,并通过放射免疫方法观察血清中二者手术前后的变化,从而探讨甲状腺髓样癌中降钙素及其基因相关肽的变化规律和临床意义^[1,2],并进行初步总结。

1 材料与方法

1.1 临床资料

1992年5月至2002年5月收治的58例甲状腺髓样癌患者,其中男性19例,女性39例;年龄23~72岁,中位年龄50岁;对上述患者肿瘤标本进行免疫组织化学测定。对2002年5月后入院的甲状腺髓样癌患者15例,收集其术前和术后第1、2、3、7天的血样进行放射免疫学测定。

1.2 试剂和方法

降钙素及其基因相关肽免疫组化试剂盒购自北京中山公司。将5 μ m石蜡切片经脱蜡梯度乙醇入水后,按二步法进行染色,PBS代替一抗作为空白对照,阳性对照片由中山公司提供,二者染色均为细胞浆着色。放射免疫试剂盒购自天津九鼎公司。患者取血时均为清晨空腹状态。

1.3 结果判断

染色强度按阳性细胞占瘤细胞总数的平均百分数计算,其中<25%为弱阳性,25%~70%为中度阳性,>70%为强阳性^[4]。每张切片选取5个具有代表性的高倍视野,每个视野计100个瘤细胞中的阳性细胞数,取均值。降钙素参考值(95.9 \pm 26)Pg/ml,降钙素基因相关肽参考值(50 \pm 8)Pg/ml。

1.4 统计学方法

χ^2 检验和Ridit分析,统计软件为SPSS10.0。

1.5 随访

所有患者术后均进行随访,追踪观察1~10年,平均随访5.4年,随访期间20例患者复发。

2 结果

2.1 血清学研究

58例患者中41例有原发灶,其中术前降钙素正常者17例(A组),升高24例(B组);另17例行甲状腺叶切除术而无原发灶的患者中,术前降钙素水平正常者7例(C组),升高10例(D组)。C组中病理检查发现淋巴结阳性者1例,淋巴结转移率为14.3%,B组淋巴结转移率高达87.5%,术前降钙素水平正常的A组和C组24例患者中淋巴结总转移率为20.8%;而B组与D组降钙素水平升高的34

例患者淋巴结转移率为85.3%(与A组+C组相比, $P<0.01$),四组比较颈部淋巴结转移有显著性差异,见表1。

所有患者术后1个月均复查降钙素并随访至今。术后1个月时降钙素水平升高的23例中17例复发;术后1个月时降钙素正常的35例中3例复发。两组患者相比肿瘤复发率有统计学差异,见表2。58例患者术前检查降钙素水平高于1000Pg/ml 19例,随访至今14例发现远处转移,占73.7%。

表1 四组患者术前降钙素水平与颈淋巴结转移的关系 例

组别	例数	阳性	阴性	%
A组	17	4	13	23.5
B组	24	21	3	87.5
C组	7	1	6	14.3
D组	10	8	2	80.0
合计	58	34	24	58.6

四组相比, $P<0.01$;A、C组合计与B、D组合计比较, $P<0.01$

表2 术后1个月血清降钙素水平与肿瘤复发的关系 例

分组	例数	阳性	阴性	%	P
正常	35	3	32	8.6	
升高	23	17	6	73.9	<0.01
合计	58	20	38	74.5	

2.2 免疫组织化学研究

58例患者中41例有原发灶,其中术前血清降钙素水平正常者为17例,升高24例。降钙素水平正常的患者标本染色阳性率为94.1%,主要为弱阳性,其比例为64.7%;降钙素升高的患者组织标本染色阳性率为100%,主要为强阳性,其比例为70.8%。两组患者降钙素染色比较有显著性差异,见表3。染色结果见图1,2。

降钙素基因相关肽的染色结果与降钙素类似,只是总体强度有所下降,见表4。2例患者的降钙素染色为弱阳性,而降钙素基因相关肽的染色表现为强阳性。

表3 降钙素在甲状腺髓样癌组织标本中的表达 例

分组	例数	免疫组化染色				P
		阴性	弱阳性	中度阳性	强阳性	
正常	17	1	11	3	2	94.1
升高	24	0	3	4	17	100
合计	41	1	14	7	19	97.6

2.3 放射免疫学研究

2002年5月后收治的15例患者中,术前降钙素水平升高者10例,降钙素基因相关肽升高者8例。在降钙素阴性的病例中,1例基因相关肽升高,通过对降钙素的连续动态监测,我们发现降钙素在

术后的第1~2天开始下降,且术后前3天呈连续下降,术后第7天与第3天比较无明显变化,见图3,血清中降钙素基因相关肽的水平在术后也会下降,但未表现出明显的规律性。

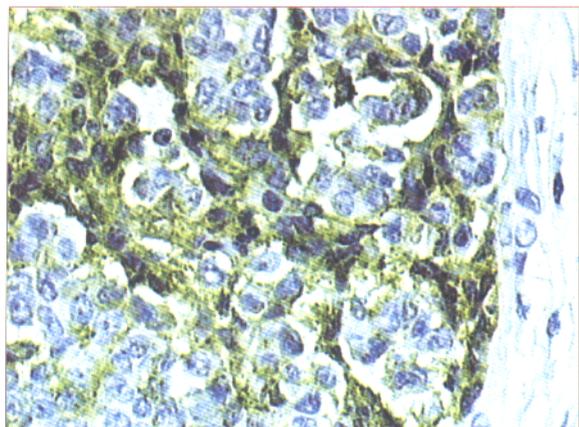


图1 降钙素在甲状腺髓样癌原发灶中染色阳性 ×400

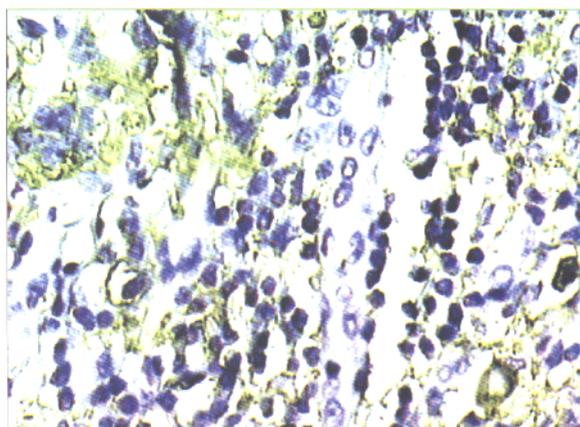


图2 降钙素在甲状腺髓样癌转移淋巴结组织中染色阳性 ×400

表4 降钙素基因相关肽在甲状腺髓样癌组织标本中的表达

分组	例数	免疫组化染色				P
		阴性	弱阳性	中度阳性	强阳性	
正常	17	2	8	3	4	82.4
升高	24	2	2	7	13	91.7
合计	41	4	10	10	17	87.8

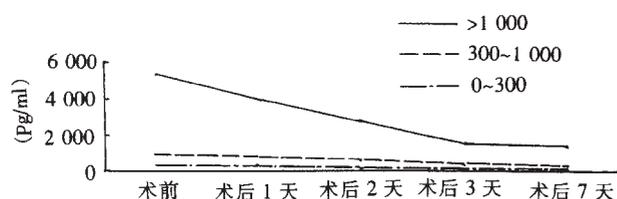


图3 降钙素变化规律示意图

3 讨论

3.1 血清学研究

由于甲状腺髓样癌恶性程度高,预后较差,因此早期发现、早期诊断、早期治疗有着十分重要的临床意义,而术前、术后对肿瘤标志物的监测尤显突出。

既往研究认为甲状腺髓样癌颈淋巴结转移较早,转移率高达60%~70%,因此主张切除原发灶同时行颈淋巴结清除术^[2,3]。通过本研究发现,甲状腺髓样癌患者如术前降钙素水平高于正常,肿瘤负荷较高,颈淋巴结转移率近90%,且颈淋巴结转移的区域和数量较多;术前降钙素水平正常的患者,尤其是对已经切除原发灶的患者,多数并无颈淋巴结转移,同时术前降钙素水平正常的患者肿瘤复发率低,因此对由于术前降钙素水平正常未能确诊而已行甲状腺腺叶加峡叶切除术的部分患者,是否可考虑采取临床密切观察,定期监测降钙素水平的方法,如发现降钙素水平升高再行颈淋巴结清除术,值得探讨。术后1个月时降钙素正常的患者肿瘤复发率为8.6%,而此时升高的患者复发的明显较多,所以检测术后降钙素的浓度可以对手术的治疗效果作出初步评判。

3.2 免疫组织化学研究

通过免疫组化检测我们认为降钙素水平能够直观反映出肿瘤组织中降钙素的合成情况,进而反映出肿瘤的生长情况。部分甲状腺髓样癌患者术前降钙素水平正常可能是由于此时肿瘤处于早期阶段,肿瘤负荷较小,病情相对较轻,降钙素的合成及分泌入血较少。这种情况下患者无颈淋巴结转移或转移范围较小,此时外科治疗效果较好,原发及转移灶易完整切除,术后复发率小。反之,术前降钙素水平升高较多,尤其是高于1000Pg/ml时,肿瘤负荷较大,此时手术治疗效果较差,术后需密切观察。对于该类患者除行甲状腺癌根治术外,还应辅以其它治疗以避免肿瘤复发,减少远处转移^[4-6]。

3.3 放射免疫学研究

降钙素与其基因相关肽都转录自CT/CGRP基因^[7-10],15例患者中5例术前检查降钙素水平正常,其中1例降钙素基因相关肽高于正常,同时在回顾性研究中有2例患者降钙素染色为弱阳性,而基因相关肽染色为强阳性,预示这2例患者术前降钙素基因相关肽可能高于正常。综合以上,我们认为术前检测降钙素基因相关肽可提高甲状腺髓样癌的诊出率。通过对降钙素的观察我们认为可将术后降钙素的监测点提前至1周左右,患者住院期间监测其降钙素水平,并据此对治疗方案作适当调整。

综上所述,降钙素可以作为一个预测甲状腺髓样癌颈淋巴结转移以及判断治疗效果的重要指标,术前降钙素水平与肿瘤负荷存在一定相关性。降钙素升高的患者淋巴结转移区域及数量高于降钙素正常的患者,术前降钙素高于1000Pg/ml的患者,肿瘤负荷较大,发生远处转移的几率较高。术后1个月时降钙素仍高于正常的患者,多有肿瘤残存较易复发。术后1周左右降钙素已降至稳定水平,故可将此时降钙素水平作为一个监测点。检测降钙素基因相关肽可使部分降钙素阴性的甲状腺髓样癌患者术前得以确诊,但对其规律性的认识仍有待积累更多的病例加以总结。

参考文献

- 1 Kebebew EL, Siperstein AE, Siperstein, et al. Medullary thyroid cancer[J]. Cancer, 2000, 88(5): 1139~1148
- 2 李树玲.髓样癌.见:李树玲,主编.新编头颈肿瘤学[M].北京:科学技术文献出版社,2002.865~870
- 3 陈福进.甲状腺肿瘤.见:曾宗渊,主编.实用头颈肿瘤学[M].广州:广州华南理工大学出版社,1996.317~328

- 4 Franc S, Niccolisire P. Complete surgical lymph node resection does not prevent authentic recurrences of medullary thyroid carcinoma[J]. Clin Endocrin, 2001, 55(3): 403~409
- 5 Yamazaki M, Straus FH, Messina M, et al. Adenovirus mediated tumor-specific combined gene therapy using Herpes simplex virus thymidine/ganciclovir system and murine interleukin-12 induces effective antitumor activity against medullary thyroid carcinoma[J]. Cancer Gene Ther, 2004, 11(1): 8~15
- 6 黄彩平,章英剑.甲状腺髓样癌的辅助治疗[J].肿瘤,2003,23(4): 336~338
- 7 鹿伟,孙青,等.甲状腺髓样癌神经内分泌激素免疫组化研究[J].肿瘤防治杂志,2001,8(3):237~238
- 8 杨绍华,陈俊杰.降钙素和降钙素基因相关肽的选择性表达[J].生物化学与生物物理进展,1996,23(1):34~38
- 9 Schifter S. Expression of the calcitonin genefamily in medullary thyroid carcinoma[J]. Peptides, 1997, 18(2): 307~317
- 10 王贤辉,张远强.甲状腺滤泡旁细胞的研究进展[J].解剖科学进展, 1998,4(4):325~328

(2004-01-07 收稿)
(2004-05-25 修回)
(韩豫生校对)

(上接第783页)

酶及hTERT mRNA阳性率明显高于局灶性结节性增生、炎性假瘤及腺瘤样增生等肝脏良性病变($P < 0.01$)。所以,经皮肝穿刺活检端粒酶活性及hTERT mRNA检测有助于肝脏良、恶性病变的鉴别诊断。统计学分析表明,端粒酶活性与hTERT mRNA表达之间具有显著相关性,进一步证明hTERT为端粒酶复合物的主要亚基,并与端粒酶活性相伴随。

参考文献

- 1 Harrington L. Biochemical aspects of telomerase function[J]. Cancer Lett, 2003, 194(2): 139~154
- 2 Szklaruk J, Silverman PM, Charnsangavej C. Imaging in the diagnosis, staging, treatment, and surveillance of hepatocellular carcinoma[J]. AJR Am J Roentgenol, 2003, 180(2): 441~454
- 3 Kamel IR, Bluemke DA. Imaging evaluation of hepatocellular carcinoma[J]. J Vasc Interv Radiol, 2002, 13(9 Pt 2): S173~S184
- 4 Fujiyama S, Tanaka M, Maeda S, et al. Tumor markers in early diagnosis, follow-up and management of patients with hepatocellular carcinoma[J]. Oncology, 2002, 62(Suppl 1): 57~63
- 5 Trevisani F, D'Intino PE, Morselli-Labate AM, et al. Serum al-

- pha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: influence of HBsAg and anti-HCV status[J]. J Hepatol, 2001, 34(4): 570~575
- 6 Jain D. Diagnosis of hepatocellular carcinoma: fine needle aspiration cytology or needle core biopsy[J]. J Clin Gastroenterol, 2002, 35(5 Suppl 2): S101~S108
- 7 Ohlsson B, Nilsson J, Stenram U, et al. Percutaneous fine-needle aspiration cytology in the diagnosis and management of liver tumours[J]. Br J Surg, 2002, 89(6): 757~762
- 8 Masutomi K, Hahn WC. Telomerase and tumorigenesis[J]. Cancer Lett, 2003, 194(2): 163~172
- 9 Hiyama E, Hiyama K. Clinical utility of telomerase in cancer[J]. Oncogene, 2002, 21(4): 643~649
- 10 Saldanha SN, Andrews LG, Tollefsbol TO. Analysis of telomerase activity and detection of its catalytic subunit, hTERT[J]. Anal Biochem, 2003, 315(1): 1~21

(2004-02-19 收稿)
(2004-05-20 修回)
(韩豫生校对)