维普资讯 http://www.cqvip.com

215-218 甲状腺肿瘤、生物学特点. (39)
第24卷 第2期 重庆医科大学学报 TSH. TSHR. EGF Vol 24 No.2
1999 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING TGFα 1999

甲状腺癌生物学标志研究的进展

临床学院普外科 张 静* 综述 姚榛祥 审校

R736.102
中图分类号 R730.43

甲状腺癌是最常见的内分泌系统恶性肿瘤，目前对其诊断仍感困惑，寻找高敏感性、高特异性的甲癌标志物一直是该肿瘤研究中的焦点之一。为此，本文从生长因子及受体、酶与蛋白，肿瘤相关抗原，癌基因及抑癌基因四个方面综述甲状腺癌分子生物学标志的研究进展。

1 生长因子及受体

多数生长因子在甲状腺癌中常经自分泌、旁分泌两种方式作用于癌细胞，起着促进和维持癌细胞恶性增生及恶性表型的作用。

1.1 TSH及TSH受体(TSHR)

临床上早就发现抑制TSH的药物能降低甲癌复发率，提高生存率，而甲低病人处于高TSH水平下，发生甲癌的可能性大，生长速度快。体外培养的分化型甲癌细胞系在TSH作用下，形态上更趋于分化，并能产生更多的甲状腺球蛋白(Tg)，但对于甲状腺髓样癌(MTC)和低分化癌，TSH作用不显。Denereaz[1]发现TSH对TSHR存在正向和负向两种调控，机制的转换依赖于甲状腺功能状态。TSH刺激生长的作用在甲癌中表现为刺激cAMP合成，激活cAMP依赖性蛋白激酶信号传导系统[2]。

TSHR功能丧失和肿瘤去分化相关，TSHR数目下降表示肿瘤进展。TSHRmRNA 可以作为癌细胞分化的指数。Shi[3]用Northern 杂交及激光定量等方法测定甲状腺疾病中TSHRmRNA 的表达及含量，发现随着肿瘤去分化，TSHmRNA进行性下降、良性甲状腺结节和Ⅳ期分化癌之间mRNA水平差异显著；高水平TSH代表肿瘤早期、愈后好，即使是Ⅳ期甲癌，TSHR水平高，预后也不一定差。

1.2 表皮生长因子及受体(EGF、EGFR)、转化生长因子(TGFα)

EGF具有与TSH相似的促甲状腺生长的作用，但TSH既促进生长也促进分化，EGF促生长却抑分化，它与EGF的氨基酸序列有30%的同源性。

Holting[4]首先证明TGFα有刺激甲状腺滤泡癌细胞系FTC133在体外生长和侵润的能力，并证实TGF、EGFR自分泌环的存在，此环介导的增值作用可被EGFR的单抗和酪氨酸蛋白酶抑制剂所拮抗。Haugen[5]检测19例甲状腺乳头状癌(PTC)、7例其它甲状腺癌的IGFR、TGFα免疫组化(IHC)表达，对TGFα的THC表达阳性者测TGFαmRNA，发现三者在PTC中呈高表达，表明PTC中也存在TGFα－EGFR自分泌环；原位杂交信号也出现在基质细胞，提示存在旁分泌环。有指出MTC也表达过量的TGFα和EGFR。

Holting[6]利用同一病人的原发灶、淋巴结及肺转移灶三种滤泡细胞癌(FTC)细胞系和另一PTC细胞系，最先在体外证实EGF有促甲癌细胞迁移和侵润的能力以及能促PTC移植瘤在裸鼠上的生长；有趣的是EGF对转移灶克隆增殖能力弱于原发灶，而无EGF时，前者增值能力强于后者，提示越是进展期肿瘤，其生长和侵润过程中所需外源性信号越少，逃逸生长因子调控是肿瘤转移中重要的一步。Ness[7]用EGFR单抗检测甲状腺正常和良性病变组织及PTC，未发现EGFR基因有重排，但在PTC中发现了正常成熟的170KD的EGFR和另一150KD的EGFR，认为150KD者最可能是170KD者胞内降解的异常积聚，这种未糖基化的EGFR能激活蛋白激酶引起增殖信号的传

* 女，1971－08出生，助教

维普资讯 http://www.cqvip.com

递，促进恶性转化。Ness同时作多因素分析，证实EGFR胞内染色强阳性是复发的独立且强有力的预后因子。

1.3 成纤维细胞生长因子(FGF)

FGF1和bFGF在分化型甲癌中明显增高，FGF作为一恶性标志物应用于细针穿刺甲状腺包块活检有助于诊断甲癌[8]。bFGF具有刺激滤泡细胞生长阻止吸碘的作用，这与EGF相似，但bFGF还有促血管形成的独特作用，用于病理性甲状腺包块活检有助于诊断甲癌[8]。bFGF具有刺激滤泡细胞生长和阻止吸碘的作用，这与EGF相似，但bFGF还有促血管形成的独特作用，与病理性甲状腺病变及体积增大有关。正常分泌的bFGF在甲状腺组织中处于非激活状态，其激活机制不清。Shingu[9]指出，低分化甲癌中bFGF阳性染色率为100%，而分化型中仅70%～80%，且染色程度低于低分化癌，推测bFGF的表达与甲癌进展有关；Western杂交发现甲癌中存在33KD和18KD两种bFGF，所有分化癌只表达18KD，未分化癌两者均表达，33KD的FGF与甲癌的去分化和转移关系更密切。

1.4 转化生长因子β_1(TGFβ_1)及其它

实验证明TGFβ_1能抑制体外培养的甲状腺组织和甲瘤细胞合成DNA，对抗人和大鼠甲状腺细胞对碘的运输以及甲状腺过氧化物酶(TPO)的合成。Holling[10]发现所有FTC和PTC细胞系在TGFβ_1作用下都增强了对细胞外基质的粘附能力，分化好的肿瘤生长被TGFβ_1所抑制，而同型未分化癌细胞却在它作用下促生长。普遍认为TGFβ_1也是甲癌自分泌的抑制生长、侵润和转移的生长因子，失去对它的反应，与甲癌高侵润去分化相关。

甲癌细胞还分泌血小板衍生生长因子(PDGF)、PDGF样生长因子及胰岛素样生长因子(IGF)等。Matsuo[11]发现PTC细胞系在体外培养能产生PDGF，FTC细胞系产生PDGF样生长因子，它们能促进成纤维细胞、管壁平滑肌细胞DNA的合成，促进新生血管形成而利于生长和转移。Takahashi[12]检测到FTC的IGFmRNA不规则高水平表达，PTC中弱至中度表达，两者IGFR表达都弱；正常甲状腺细胞IGFmRNA分布不均质，表达很弱；另发现一组PTC细胞IGFR强阳性，基质中大量IGFmRNA强阳性表达的淋巴样细胞侵润，说明分化型甲癌与基质细胞间能通过IGF－IGFR的自分泌和旁分泌环形成一共生关系，刺激甲癌成长。

2 酶与蛋白

2.1 甲状腺过氧化物酶和甲状腺球蛋白

TPO、Tg与TSHR都被认为是甲状腺癌的标志。但Elissei等[13]发现极少数MTC表达降钙素的同时也表达上述三者，这符合MTC和分化癌可能起源于同一干细胞或存在滤泡细胞—C细胞交界性癌的假说。TPO和Tg免疫组化和血清学检查已广泛用于分化癌的诊断。Henry[14]对300例甲状腺组织作TPOMoAb47的IHC检测，发现所有恶性肿瘤TPO染色阳性率＜80%，而良性或正常甲状腺组织(215/218例)＞80%，诊断甲癌敏感性100%，特异性86.7%，正确率89%。Lee[15]随访的甲癌病人颈淋巴结中Tg或降钙素表达的特异性和敏感性均达到100%。

Tanada[16]对TPOmRNA水平在分化型甲癌和甲瘤中表达无差异表示疑问，将TPOmRNA检测和单克隆抗TPO组化染色结合分析，发现PTC中TPO水平下降是其mRNA水平下降甚至失表达，两者间有统计学相关，TPO在FTC中表达阴性代表预后差。

TTF_1和PAX－8是甲状腺滤泡细胞组织特异性转录因子，能激活Tg和TPO基因表达。P53失活引起的TPO选择性下调也是由于p53先废除了PAX－8表达的结果[17]。体内试验证明TTF_1是Tg启动强有力的转录因子，PAX－8为TPO启动子的激活因子，且与TPO之间有剂量依赖性，TTF_1在甲瘤、分化癌中表达良好，而在未分化癌中几乎不表达，故TTF_1是分化良好的标志。

2.2 组织蛋白酶(Cathepsin)

组织蛋白酶是一类溶酶体酸性水解酶，在甲癌中活性和表达水平均高于正常组织和甲瘤。CathepsinD(CD) 与甲癌细胞恶性转化和肿瘤大小正相关，在Ⅳ期甲癌中表达最高，提示预后

维普资讯 http://www.cqvip.com

差[15,19]。CD高使基底膜和结缔组织降解，利于甲癌的侵润转移，它还降解Tg，使Tg在甲癌中下降。CathepsinB(CB)和CathepsinL(CL)是涉及Tg加工过程中的肽链内切酶，在甲状腺中含量高，对甲状腺组织具特异性，与肿瘤的侵润转移直接相关。

Shuja[20]检测8例PTC发现CB活性比正常升高10倍，CL升高9倍，染色质颗粒较正常组织多且细小，PTC中CBmRNA与CB免疫表达一致性升高，而2例MTC的CB活性正常或轻微下降，mRNA表达明显下降；甲癌与甲状腺良性疾病间CB和CL含量也有显著差异，认为CB、CL是一潜在的PTC新标志。

2.3 蛋白激酶C(PKC)

PKC是信号传递系统中的关键酶，其总量在细胞中恒定。颗粒型PKC为其激活形式，在甲瘤和甲癌中其活性升高，胞浆型PKC下调，可能是胞浆型向颗粒型转化的结果。PKC活性升高有利于C－myc和C－fos癌基因的表达和癌性转化。Hakada[21]发现直径大于3cm甲癌胞浆型和颗粒型PKC都比小于3cm者明显降低，随着肿瘤进展，PKC活性下降，以此可了解甲癌的进展。

2.4 Ⅳ型胶原蛋白酶和金属蛋白酶

两者都能降解基底膜而利于肿瘤侵润和转移。恶性程度高，侵润力强的FTC－338细胞系其Ⅳ型胶原酶活性明显高于侵润力低的FTC－133细胞系[22]。Zedenius[23]用原位杂交检测29例各型甲癌的Ⅳ型胶原酶和ST3(金属蛋白酶类)mRNA的表达，发现10/10FTC，4/4未分化癌，4/5PTC Ⅳ型胶原酶强表达，无一例ST3mRNA阳性；随访发现Ⅳ型胶原酶阳性者死亡率是阴性者的2～3倍。

3 肿瘤相关抗原

CEA仅在MTC组织中表达，其血清水平高于正常。Kakudo[24]用两种单检查MTC中CEA表达，阳性率达86.3%，且只出现在C细胞起源甲癌中。唾液酸与CEA相似，仅在MTC中表达，两者是鉴别MTC与其它甲癌的可靠标记物；此外发现与MTC相关的C细胞增生，唾液酸呈强阳性，强于MTC无关C细胞增生。应用唾液酸有助于MENⅡ家族高危人群的筛选[25]。

Leu－7抗原是NK细胞膜抗原。Ghali[26]发现所检FTC，PTC和一例骨转移FTC都显示Leu－7弥漫强阳性表达；FTC以胞浆强染色为主，PTC以胞膜染色为主，而MTC无一例阳性；正常和良性病变甲状腺组织染色阳性率低，染色浅淡，呈局限性。Cheifetz[27]也认为Leu－7表达在良恶性甲状腺肿瘤中有统计学差异，还有利于区分PTC和假性乳头状甲状腺结节，但与预后无关。

Langte[28]检测了75例散发型MTC，7例遗传性MTC和3个MENⅡa家族的LeuM1(CD_{15})免疫反应性，阳性细胞＜15%评分为0，＞15%为1，结果0分者5年和10年生存率分别为88±4%和82±5%，而1分者分别为19±6%和0%(P＜0.001)。可以认为CD_{15}免疫染色是MTC预后差的标志，强阳性意味着MTC复发和转移。

CD_{26}抗原为T细胞膜抗原，属Ⅳ型三肽酶。Tanaka[29]研究216例甲状腺疾病组织CD_{26}酶活性染色(AS)、IHC染色，CD_{26}mRNA表达，发现58例PTC和56例FTC AS染色全部阳性，58例Grave's病全部阴性，54/55腺样结节，23/29滤胞性瘤为阴性；且CD_{26} AS强度与IHC表达，mRNA表达程度相一致。即CD_{26}是分化型甲癌标志。

Larena[30]应用9种单抗检查104例PTC的血型或血型类抗原、Lewis抗原IHC表达，发现PTC与正常甲状腺组织相比，表现为进展性的血型或血型类抗原表达增多，Ⅳ期甲癌CA 50-、CA19.9、Le(a)、Le(x)水平明显升高，Le(y)抗原表达与高转移相关。Yokota[31]发现所检PTC都表达ABO血型抗原和Le(a)、Le(b)，但FTC几乎都不表达或表达极弱。这类抗原在甲癌中表达增多可能是相关的糖基转移酶重新激活的结果。Matsura[32]观察了94例PTC和50例良性甲状腺病变CA50和CA19.9表达，发现表达率在PTC中仅为1.1～4.1%和2.1%，与良性无差异；但对于CA50和CA19.9确实增高的PTC病人具有监测生长、复发的意义。

4 癌基因和抑癌基因

甲癌癌基因和抑癌基因表现多样，ras基因与

维普资讯 http://www.cqvip.com

FTC的发生发展关系密切。Oyama[33]发现滤泡状甲癌及甲瘤的ras突变率为25.5.%，几乎都为61密码突变.而无一例PTC有此突变。普遍认为ras突变是FTC多步起源的早期事件，一旦出现在PTC中，是晚期事件，代表高浸润高转移。

ret/PTC是ret基因重排而激活的状态，在PTC中发生率为11.28%，代表乳头状癌发生发展过程中重要而特异的克隆化。Jhiang[34] 发现ret/PTC1转基因小鼠中发生的肿瘤与人类PTC极相似，表明ret/PTC1 是导致PTC发生的基因改变。转移病例ret重排率高于非转移病例。Klugbauer[35]报道Chernobyl核污染事件中2/3儿童PTC都存在ret重排，所有重排阳性者都伴淋巴结转移，证明ret/PTC可作为PTC诊断和判断预后的一个重要分子标志物。

ret突变在不同类型MTC中表现出相对位点特异性. MEN_{2a}ret突变93%发生在密码918处，且全为ATG→ACG.MENⅡa ret突变集中在胞外5个半胱氨酸富集区，其中634突变为53.5%，FMTC以密码634为主，突变方式与MENⅡa不同，占66.7%[36]。散发型ret突变60%也在918处。ret突变是散发型MTC的复发高危因素和差的预后因子。常规对MTC病人及家族成员进行ret基因检查是早期发现，早期治疗MENⅡ的最有效、最可靠的方法。

抑癌基因P53突变在甲状腺中仅限于恶性，在未分化甲癌中突变率高达75%，分化癌中仅为0.12%，是甲癌进展中的晚期表现、可促进分化癌向未分化癌演进。Gerasimov等[37]用IHC法检测55例高分化甲癌、也证实P53染色阳性代表预后差。

参 考 文 献

1.Denereaz N et al. Endocrinology 1995;136:1694
2.Hishinuma A et al. Endodrine J 1994;41:399
3.Shi Y et al. Clin Endocrinol 1993;39:269
4.Holting T et al. Eur J Endodrinol 1995;132:229
5.Haugen DRF et al. In J Cancer 1993;55:37
6.Hoelting T et al. JCE&M. 1994;79:401
7.Ness Go et al. In J Cancer 1996;65:161
8.Eggo MC et al JCE&M 1995,80.1006
9.Shingu K et al. World J Surg 1994,18:500
10.Holting T et al. JCE&M 1994;79:806
11.Matsuo K et al. JCE&M 1993;77:996
12.Takahashi MH et al. Br J Cancer 1995;72;813
13.Elisei R et al. JCE&M 1994;78:867
14.Henry J.F et al. World J Surg 1994;18:529
15.Lee MJ et al. Radiology 1993;187:851
16. Tanaka t et al. J Pathol 1996;179:89
17.Fagin JA et al. Cancer Res 1996;56:765
18.Kraimps J.L et al. Surgery 1995;118:1036
19.Metaye T et al. Cancer 1993;72:1991
20.Shuja S et al. Int J Caner 1996;66:420
21.Hakuda T et al. Cancer 1992,70:2918
22.Packman KS et al. Surgery 1995;118:1011
23.Zednius J et al. World J Surg 1996;20:101
24.Kakudo K et al. Acta Pathol Jpn 1990;40:261
25.Komminoth P et al. Am J Surg Pathol 1994;18:399
26.Ghali US et al. Hum Pathol 1992;23:21
27.Cheifetz RE et al. Am J Surg 1994;167:531
28.Langle F et al. World J Surg 1994;18:583
29.Tanaka T et al. Int J Cancer 1995;64:326
30.Larena A et al. Langenbecks Arch Chir 1996:381:102
31.Yokota M et al. Nippon Jibunkoka Gakkai Kaiho 1995;98:1381
32.Matsuura B et al. Endocrinol Jpn 1991;38:565
33.Oyama T et al. Pathol Int 1995;45:45
34.Jhiang SM et al. J Lab Clin Med 1994;123:331
35.Klugbauer s et al. Oncogene 1995;11:2459
36.Mulligan LM et al. J Inter Med 1995;238:342
37.Gerasimov G et al. Exp Mol Pathol 1995;62:52

(收稿日期 1998－01－23)