

论著 • 基础研究

p53 和 CD56 在甲状腺微小癌合并转移的表达及其相关性研究

马 越¹, 杜菲菲^{2△}

(延安大学附属医院:1. 内分泌科;2. 老年病科, 陕西延安 716000)

摘要:目的 探究 p53 和 CD56 在甲状腺微小癌(TMC)合并转移患者体内表达情况,并分析其相关性。**方法** 选择 2017 年 1 月至 2018 年 12 月于该院接受治疗的 TMC 患者 154 例设为观察组,按淋巴结是否转移细分为合并转移和非转移,另选取同时间段同年龄段非甲状腺癌手术患者作为对照组,比较各组间 p53 和 CD56 表达差异,分析上述两个指标与 TMC 病理参数间的关系。**结果** 两组 p53、CD56 和 CK19 指标表达水平比较差异有统计学意义($P<0.05$);p53 表达与淋巴结转移、TNM 分期、组织分化程度密切相关($P<0.05$),CD56 表达仅与淋巴结转移呈明显相关性($P<0.05$);p53+CD56 的诊断 TMC 发生具较高准确率(96.57%),p53、CD56 单独应用时准确率明显低于联合检测($P<0.05$),上述 3 种方法检测 TMC 转移准确率均不超过 70%。**结论** 在 TMC 合并转移病例中 p53 多阳性表达,CD56 阴性表达;在非转移 TMC 中 p53 更趋于阴性表达,CD56 阴性表达比例更低,两者均与淋巴结转移明显相关,可辅助诊断 TMC 的发生和转移。

关键词:p53; CD56; 甲状腺微小癌; 转移

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.24.009

中图法分类号:R736.1

文章编号:1673-4130(2019)24-2978-04

文献标识码:A

Expression of p53 and CD56 in thyroid microcarcinoma combined with metastasis and its correlation

MA Yue¹, DU Feifei^{2△}

(1. Department of Endocrinology; 2. Department of Geriatrics, Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of p53 and CD56 in patients with thyroid microcarcinoma and metastasis, and to analyze their correlation. **Methods** A total of 154 patients with thyroid microcarcinoma (TMC) who were treated in our department from January 2017 to December 2018 were enrolled in the observation group. The lymph node was subdivided into a combined metastasis group and a non-metastasis group. The patients with non-thyroid cancer who were in the same age group were served as the control group. The differences of p53 and CD56 expression between the groups were compared. The relationship between the above two indexes and the pathological parameters of TMC was analyzed. **Results** The expression levels of p53, CD56 and CK19 were significantly different between two groups, the difference was statistically significant ($P<0.05$). p53 expression was closely related to lymph node metastasis, TNM stage and tissue differentiation ($P<0.05$). CD56 expression was only correlated with lymph node metastasis ($P<0.05$). The diagnosis of p53+CD56 was more accurate (96.57%). The accuracy of p53 and CD56 alone was significantly lower than that of the combined detection ($P<0.05$). The accuracy of the above three methods for detecting TMC transfer did not exceed 70%. **Conclusion** In TMC with metastasis patients, p53 was more positively expressed and CD56 was negatively expressed. In TMC with non-metastasis patients, p53 is more negatively expressed and CD56 negative expression is lower. Both of which are significantly associated with lymph node metastasis, and can assist in the diagnosis of the occurrence and metastasis of thyroid microcarcinoma.

Key words:p53; CD56; thyroid microcarcinoma; metastasis

甲状腺微小癌(TMC)是病灶小于或等于 1 cm 的甲状腺癌,其来源于滤泡或滤泡旁的甲状腺细胞^[1]。TMC 最有效的治疗方法是选择甲状腺切除术,然后进行放射性碘消融和促甲状腺激素(TSH)抑制治疗,另外化学和放射疗法也被利用于晚期和远处转移阶

段,经过治疗后,患者 5 年生存率约为 98.1%^[2-3]。虽然上述方法治疗效果明显,但若能以指标水平表征 TMC 转移发生过程的变化,则能更好地帮助临床诊断和治疗这种疾病。肿瘤蛋白 p53 和 CD56 均被证实 DNA 损伤修复和自然杀伤细胞免疫调节中起作

作者简介:马越,男,主治医师,主要从事内分泌及代谢性疾病研究。△ **通信作者,**E-mail:827564765@qq.com。

本文引用格式:马越,杜菲菲. p53 和 CD56 在甲状腺微小癌合并转移的表达及其相关性研究[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(24):2978-2981.

用^[4-5]。故本文拟分析 TMC 转移患者体内 p53 和 CD56 等指标水平变化,并分析其关联性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 1 月至 2018 年 12 月于本院接受治疗的甲状腺癌患者,纳入标准:年满 18 周岁,经同一组操作人员超声或 X 线检查和细胞活检确诊为甲状腺癌^[6],病灶直径小于或等于 1 cm,有或无淋巴结转移,拟于本院进行手术治疗或有手术病理检查样本,自愿参与研究;排除标准:患其他恶性肿瘤,参与本研究前有相关疾病手术史,参与本研究前 3 个月服用相关治疗药物。将符合标准的 154 例患者纳入研究(观察组),其中男 41 例,女 113 例,年龄 18~76 岁,平均(48.53±12.12)岁,病灶直径 0.1~1.0 cm,平均(0.61±0.25)cm,病灶数量 1~8 个,单灶 105 例,多灶 49 例,单叶多灶 21 例,双叶多灶 28 例。选择同期同年龄段于本院行手术的甲状腺增生(TH)且非甲状腺癌患者 50 例作为对照组,纳入标准:行相关手术,留取甲状腺组织样本,年龄超过 18 周岁,无恶性肿瘤,自愿参与研究。其中男 11 例,女 39 例,年龄 19~74 岁,平均(46.41±10.58)岁。对照组和观察组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经伦理委员会批准且在其监督下完成。

1.2 样本收集 对于拟进行手术患者,在手术进行中获取病理样本后快速冰冻;对于已行手术并保有病理样本的患者,直接取样本进行组织学检查。另外,回顾全部患者临床和病理资料,分析其一般资料、病灶数量、大小,淋巴结转移情况和样本组织病理特征以用于多因素分析。

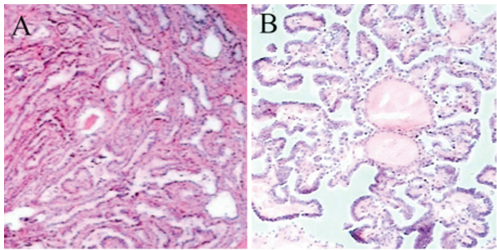
1.3 指标检测 p53、CD56、CK19 和 PTEN 均由同一组操作人员采用免疫组化实验检查,全部抗体均为鼠抗人单克隆抗体。其中空白对照使用 1×PBS 缓冲液替代一抗,其余操作不变。将手术中取得的病例组织和对照组样品全部进行石蜡包埋,连续切约为 4 μm 厚片后脱蜡进行免疫组织化学染色。大致操作为消除酶活后加入一抗过夜静置,滴加二抗后 37℃ 孵育 10 min,二氨基联苯氨(DAB)显色后,于镜下观察样本染色情况。其中阳性 p53 为细胞核棕黄色着色,阳性 CD56 为细胞膜棕黄色着色,阳性 CK19 为细胞浆棕黄色(颗粒)着色。根据着色情况将阳性强度分为四级,分别是无着色(无色,计 0 分)、淡着色(浅黄

色,计 1 分)、中度着色(黄色,计 2 分)和重着色(棕黄色,计 3 分);再在同等倍镜下单个视野内记阳性着色细胞数目,阳性细胞数超过一半计 3 分,不足一半但超过四分之一计 2 分,不足四分之一但超过 5%计 1 分,其余计为 0 分;将上述两计分相乘得到最终阳性评估分,其中不足 1 分为阴性,大于 1 分但不足 3 分弱阳性,大于 3 分但不足 6 分为阳性,大于 6 分为强阳性,分别以一、+、++和+++表示^[7]。

1.4 统计学处理 将全部病例和指标检测资料输入 Excel 中,手动剔除偏差高于 20%的不可信数据,完成后导入 SPSS22.0 中。计量数据先进行正态分布性检验,若各相关参数均服从或近似服从正态分布则以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采取独立样本 t 检验验证;若不服从正态分布则以中位数表示,采取非参数 Mann-Whitney U 检验。计数数据以 n 和百分比表示,采取 χ^2 或连续校正卡方检验。所有数据进行双侧检验,显著性水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 p53 和 CD56 表达水平比较 观察组 p53 阳性表达合并转移病例 64 例(69.57%),非转移病 30 例(48.39%);CD56 弱阳性表达合并转移病例 4 例(4.35%),非转移病例阳性表达 19 例(30.65%),其余均为阴性表达;CK19 合并转移病例全部阳性表达,其中强阳性 73 例(79.34%),而非转移病例阳性表达 56 例(90.32%)。对照组 p53 弱阳性表达 4 例(8.00%),其余为阴性表达;CD56 阳性表达 32 例(64.00%);CK19 阳性表达 16 例(32.00%),其余为阴性表达。对比两组 p53、CD56 和 CK19 表达情况发现,两组上述 3 个指标表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1 及图 1、2。



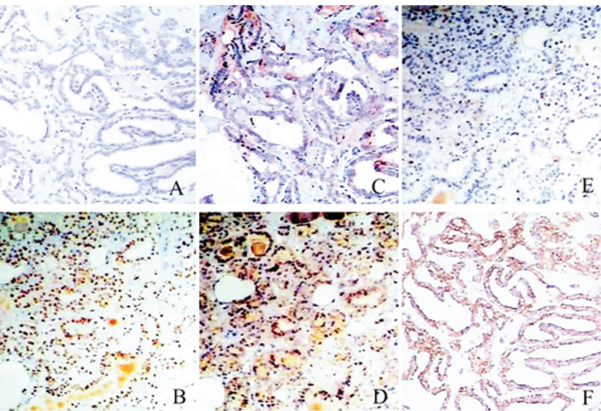
注:A 为对照组、B 为观察组

图 1 病理样本切片 HE 染色(×100)

表 1 两组 p53 和 CD56 表达水平比较

组别	n	p53				CD56				CK19				
		—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++	
对照组	50	46	4	0	0	18	5	15	12	34	6	8	2	
观察组														
合并转移	92	28 [*]	18 [*]	27 [*]	19 [*]	88 [*]	4 [*]	0 [*]	0 [*]	0 [*]	0 [*]	19 [*]	73 [*]	
非转移	62	32 ^{*#}	13 ^{*#}	11 ^{*#}	6 ^{*#}	43 ^{*#}	6 ^{*#}	10 ^{*#}	3 ^{*#}	6 ^{*#}	27 ^{*#}	26 ^{*#}	3 ^{*#}	
χ ²			53.685				69.033				208.089 9			
P			<0.05				<0.05				<0.05			

注:与对照组相比,^{*} $P<0.05$;与观察组合并转移相比,[#] $P<0.05$



注:A 为 p53 阴性表达、B 为 p53 阳性表达、C 为 CD56 弱阳性表达、D 为 CD56 阳性表达、E 为 CK19 阴性表达、F 为 CK19 阳性表达

图 2 p53、CD56 和 CK19 在组织中表达情况(×100)

2.2 观察组 p53、CD56 表达与 TMC 病理参数间的关系 将观察组患者临床资料根据年龄、性别等因素进行细分,其后分析 p53、CD56 表达与各因素之间的关系,结果显示,p53 表达与淋巴结转移、TNM 分期、组织分化程度密切相关($P<0.05$),与其他单因素无明显关联($P>0.05$),而 CD56 表达仅与淋巴结转移呈明显相关性($P<0.05$)。见表 2。

2.3 p53 和 CD56 诊断 TMC 发生和转移的效能比较 将术前多普勒超声和/或 MRI 和术后组织活检结果作为本研究的诊断金标准,分别以 p53、CD56、p53+CD56 作为 TMC 发生和转移的诊断指标进行效能分析。结果显示,p53+CD56 的诊断 TMC 发生具较高准确率(96.57%),p53、CD56 单独应用时准确率明显低于联合检测($P<0.05$)。见表 3、4。

表 2 观察组 p53、CD56 表达与 TMC 病理参数间的关系(n)

单因素	分层	p53		χ^2	P	CD56		χ^2	P
		阳性表达(n=104)	阴性表达(n=50)			阳性表达(n=11)	阴性表达(n=143)		
年龄	<45 岁	53	23	0.333	>0.05	4	72	0.799	>0.05
	≥45 岁	51	27			7	71		
性别	男	29	12	0.261	>0.05	3	38	0.003	>0.05
	女	75	38			8	105		
病灶最大直径	<0.5 cm	41	22	0.293	>0.05	3	60	0.911	>0.05
	≥0.5 cm	63	28			8	83		
病灶数目	单发	72	33	0.163	>0.05	7	98	0.113	>0.05
	多发	32	17			4	45		
包膜	有	49	20	0.691	>0.05	5	80	0.455	>0.05
	无	55	30			6	63		
淋巴结转移	是	72	20	11.996	<0.05	2	90	8.507	<0.05
	否	32	30			9	53		
TNM 分期	I~II 期	44	31	5.241	<0.05	3	72	2.177	>0.05
	III~IV 期	60	19			8	71		
组织分化情况	低分化	24	23	9.783	<0.05	4	43	0.194	>0.05
	中分化	42	18			4	56		
	高分化	38	9			3	44		

表 3 p53 和 CD56 诊断 TMC 发生的效能比较(%)

项目	灵敏度	特异度	准确率
CD56	65.58	86.00	70.59
p53	92.86	64.00	85.78
p53+CD56	98.70	90.00	96.57
χ^2	78.591	12.250	52.557
P	<0.05	<0.05	<0.05

表 4 p53 和 CD56 诊断 TMC 转移的效能比较(%)

项目	灵敏度	特异度	准确率
CD56	54.35	62.90	57.79
p53	63.04	59.68	61.69
p53+CD56	69.57	69.35	69.48
χ^2	4.567	1.306	4.679
P	>0.05	>0.05	>0.05

3 讨 论

甲状腺癌可分为乳头状癌、滤泡癌、髓样癌、分化差的甲状腺和未分化癌,其中乳头状癌最为常见,经过治疗后虽然其预后较好,但是极易发生中央区淋巴结转移^[8]。比较 TMC 和 TH 病例 p53 和 CD56 表达情况后发现,上述两个指标在上述两组病例中表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。然后又将 TMC 组病例分为合并淋巴结转移和非转移,再次对比他们之间的 p53、CD56 表达差异发现,p53 在 TMC 合并转移病例中 69.57%阳性表达,明显高于未转移的 48.39%;CD56 在合并转移病例中弱阳性表达 4.35%,其余为阴性表达,而非转移病例中阳性表达 30.65%,差异有统计学意义($P<0.05$);CK19 在合并转移病例中全阳性表达,而在非转移病例中 90.32%阳性表达,其表达情况分布差异有统计意

义($P<0.05$)。上述结果说明, p53 和 CD56 在 TMC 合并转移和非合并转移病例中表达差异明显, 其可作为 TMC 合并转移的特异性指标被利用与临床。

现阶段研究表明, 在 DNA 持续受损时, 肿瘤蛋白 p53 激活 DNA 修复蛋白以保护其稳定; 当 DNA 损伤被认为不可修复时, p53 可启动细胞程序性死亡; p53 还可以通过将细胞周期保持在 DNA 损伤识别的 G1/S 调节点以阻止细胞生长, 这被认为是抗癌作用的一部分^[9-10]。在肿瘤组织水平, 其生长需要招募新的血管以供给, 而 p53 通过干扰抑制血管生成促进因子的产生从而发挥作用^[11]。因此, 在 TMC 中 p53 阳性表达比例更高, 与本研究结果一致。此外, p53 的靶基因 sival 是肿瘤转移和上皮细胞-间质细胞转化的重要调控因子, 故其与肿瘤转移发生密切相关, 也与研究者发现的在合并转移和非转移 TMC 病例中 p53 表达存在差异的结果一致^[12]。在先天免疫反应中自然杀伤细胞通过表达 CD56 以产生更多的细胞因子, 诸如白细胞介素-10、干扰素 γ 和肿瘤坏死因子 b 等^[13]。另外在巨噬细胞促进自然杀伤细胞的细胞因子分泌过程中, CD56 阳性比 CD56 阴性表达自然杀伤细胞其产生量更多, 因而 CD56 表达与肿瘤发生和迁移密切相关, 与研究者分析结果一致^[14]。

目前在临床上, 常以超声诊断 TMC 和 TH, 但因病灶较小故血液信号较弱, 加之超声下回声稍高或等回声, 常被误诊^[15]。上述研究发现, p53 和 CD56 在 TMC 和 TH 病例中出现明显的表达差异, 因而推测这两个参数可辅助 TMC 和 TH 的鉴别。结果显示, p53、CD56 单独应用时准确率分别为 85.78% 和 70.59%, 两参数联合使用时其诊断准确率为 96.57%。因此, p53 和 CD56 单独或联合辅助超声或 MRI 等常规检测能够帮助准确诊断与区分 TMC 和 TH。另外, 因为 p53 和 CD56 表达与 TMC 淋巴结转移密切相关, 又推测其可以帮助诊断 TMC 的淋巴结转移。效能比较结果显示, p53 和 CD56 单独或联合使用诊断 TMC 合并转移的准确率均不超过 70.00%, 故不建议单独使用 p53、CD56 及 p53 + CD56 检测应用于临床诊断 TMC 转移, 而可辅助现有常规检测手段, 以达到更精准和快速的目的。

4 结 论

综上所述, 在 TMC 合并转移病例中 p53 多阳性表达, CD56 阴性表达; 在非转移 TMC 中 p53 更趋于阴性表达, CD56 阴性表达比例更低, 两者均与淋巴结转移明显相关, 可辅助诊断 TMC 的发生和转移。

参考文献

[1] ZHI J, ZHAO J, GAO M, et al. Impact of major different variants of papillary thyroid microcarcinoma on the clini-

copathological characteristics; the study of 1041 cases[J]. Inter J Clin Oncol, 2018, 23(1): 59-65.

[2] 王虎, 杨洁, 王伟霖, 等. 甲状腺微小癌的外科手术治疗研究[J]. 癌症进展, 2017, 15(15): 1164.

[3] 邵礼成, 营洪健, 陈广辉, 等. 中青年分化型甲状腺癌患者术后复发与生存分析[J]. 南方医科大学学报, 2017, 37(2): 274-277.

[4] BYKOV V J N, ERIKSSON S E, BIANCHI J, et al. Targeting mutant p53 for efficient cancer therapy[J]. Nature Reviews Cancer, 2018, 18(2): 89-102.

[5] ZIEGLER S, WEISS E, SCHMITT A L, et al. CD56 Is a Pathogen Recognition Receptor on Human Natural Killer Cells[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6138-6150.

[6] LIU Z, ZENG W, LIU C, et al. Diagnostic accuracy of ultrasonographic features for lymph node metastasis in papillary thyroid microcarcinoma: a single-center retrospective study[J]. World J Surg Oncol, 2017, 15(1): 32-36.

[7] 王立娟, 宝荣, 邹凌凤, 等. 甲状腺癌中 CD105 及内皮抑素蛋白的表达意义[J]. 中国生物制品学杂志, 2017, 30(1): 63-67.

[8] BALL S, DESANTIS C, DVM A J, et al. Changes in thyroid cancer incidence, post-2009 American Thyroid Association guidelines[J]. Laryngoscope, 2017, 127(10): 2437-2441.

[9] BRÁZDA V, COUFAL J. Recognition of Local DNA Structures by p53 Protein[J]. Inter J Mole Sci, 2017, 18(2): 375-392.

[10] PERIYASAMY M, SINGH A K, GEMMA C, et al. p53 controls expression of the DNA deaminase APOBEC3B to limit its potential mutagenic activity in cancer cells[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(19): 11056-11069.

[11] MANTOVANI F, WALERYCH D, SAL G D. Targeting mutant p53 in cancer: a long road to precision therapy[J]. Febs J, 2017, 284(6): 837-850.

[12] PARK I K, BLUM W, BAKER S D, et al. E3 ubiquitin ligase Cbl-b activates the p53 pathway by targeting Sival, a negative regulator of ARF, in FLT3 inhibitor-resistant acute myeloid leukemia[J]. Leukemia, 2016, 31(2): 502-505.

[13] GIANCIECCHI E, DELFINO D V, FIERABRACCI A. NK cells in autoimmune diseases: Linking innate and adaptive immune responses[J]. Auto Rev, 2018, 17(2): 142-154.

[14] 申重阳, 幸倚帆, 谭小虎, 等. 细胞因子预处理对体外扩增 NK 细胞活性的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(28): 39-44.

[15] 徐卫华, 金建文, 朱雪峰. 超声误诊甲状腺微小乳头状癌与病灶性状相关性分析[J]. 重庆医学, 2018, 47(12): 1688-1690.

(收稿日期: 2019-04-18 修回日期: 2019-07-12)