

• 论 著 •

甲状腺乳头状癌组织中 GCDFP15、Calponin 的表达及临床意义

毛 玉, 韩爱军[△], 刘 勋, 杨建均, 胡恒辉, 罗 阳
乐山市人民医院病理科, 四川乐山 614000

摘 要:目的 分析甲状腺乳头状癌组织中巨囊性病液体蛋白 15(GCDFP15)、类肌钙蛋白(Calponin)的表达水平及临床意义。方法 选取 2014 年 1 月至 2017 年 5 月于该院确诊并行手术切除的 102 例甲状腺乳头状癌患者作为研究对象, 收集其癌组织(研究组)及相对应的癌旁正常组织(正常组)标本, 采用免疫组织化学法检测两组 GCDFP15、Calponin 的表达情况, 分析 GCDFP15、Calponin 表达与甲状腺乳头状癌患者临床病理特征的关系, 采用单因素、多因素 COX 回归分析 GCDFP15、Calponin 表达与甲状腺乳头状癌预后的关系。结果 研究组 GCDFP15 阳性表达率(64. 71%)明显高于对照组(29. 41%), 研究组 Calponin 阳性表达率(39. 22%)明显低于对照组(66. 68%), 差异均有统计学意义($P<0. 05$)。GCDFP15、Calponin 表达在不同 TNM 分期、侵犯被膜、淋巴结转移的甲状腺乳头状癌患者之间差异有统计学意义($P<0. 05$)。GCDFP15、Calponin 阳性与阴性患者对应 5 年生存率比较差异均有统计学意义($P<0. 05$)。单因素分析结果显示, 甲状腺乳头状癌 5 年生存率与 TNM 分期、侵犯被膜、淋巴结转移、GCDFP15 阳性及 Calponin 阴性表达有关($P<0. 05$)。多因素 COX 分析结果显示, TNM T₃₋₄ 期、淋巴结转移、侵犯被膜及 GCDFP15 阳性、Calponin 阴性均为影响甲状腺乳头状癌病预后的独立危险因素($P<0. 05$)。结论 甲状腺乳头状癌患者癌组织中 GCDFP15、Calponin 表达情况与甲状腺乳头状癌患者 TNM 分期、侵犯被膜、淋巴结转移有关, 二者有望成为评估甲状腺乳头状癌患者预后的有效指标。

关键词: 甲状腺乳头状癌; 巨囊性病液体蛋白 15; 类肌钙蛋白; 预后

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2023. 09. 014

中图法分类号:R446. 1; R736. 1

文章编号:1673-4130(2023)09-1090-05

文献标志码:A

Expression levels of GCDFP15 and Calponin in papillary thyroid carcinoma and their clinical significance

MAO Yu, HAN Aijun[△], LIU Xun, YANG Jianjun, HU Henghui, LUO Yang

Department of Pathology, Leshan People's Hospital, Leshan, Sichuan 614000, China

Abstract: **Objective** To analyze the expression levels of gross cystic disease fluid protein-15(GCDFP-15) and Calponin in papillary thyroid carcinoma and their clinical significance. **Methods** From January 2014 to May 2017, 102 patients with papillary thyroid carcinoma who were diagnosed and underwent surgical resection in this hospital were selected as research objects. Samples of their cancer tissues (study group) and corresponding adjacent normal tissues (normal group) were collected. Immunohistochemistry was used to detect the expressions of GCDFP15 and Calponin in the two groups. The relationship between the expressions of GCDFP15, Calponin and the clinicopathologic features of thyroid papillary carcinoma patients were analyzed. Univariate and multivariate COX regression analysis were used to explore the relationship between the expression of GCDFP15, Calponin and prognosis of the papillary thyroid carcinoma. **Results** The positive expression rate of GCDFP15 in the study group (64. 71%) was significantly higher than that in the control group (29. 41%), and the positive expression rate of Calponin in the study group (39. 22%) was significantly lower than that in the control group (66. 68%), with statistical significance ($P<0. 05$). The expressions of GCDFP15 and Calponin in papillary thyroid carcinoma patients with different TNM stages, capsule invasion and lymph node metastasis were statistically significant ($P<0. 05$). The 5-year survival rates of GCDFP15 and Calponin positive and negative patients were statistically significant ($P<0. 05$). Univariate analysis showed that the 5-year survival rate of papillary thyroid carcinoma was associated with TNM stage, capsule invasion, lymph node metastasis, GCDFP15 positive and Calponin negative expression ($P<0. 05$). Multivariate COX analysis showed that TNM stage T₃₋₄, lymph node metastasis, capsule invasion, positive GCDFP15 and negative Calponin were independent risk factors for the prognosis of papillary thyroid carcinoma ($P<0. 05$). **Conclusion** The expres-

sions of GCDFP15 and Calponin in papillary thyroid carcinoma tissues are related to TNM stage, capsule invasion and lymph node metastasis, which are expected to be effective indicators for evaluating the prognosis of patients with papillary thyroid cancer.

Key words: papillary thyroid carcinoma; macrocystic disease fluid protein 15; Calponin; prognosis

甲状腺乳头状癌发病率占甲状腺癌的 70%~90%^[1],临床多发生于女性,虽预后较好、生存率高,但仍有部分患者的癌细胞因发生转移和扩散导致预后生存期不理想^[2]。既往研究发现,甲状腺乳头状癌发生、发展及预后与多种分子蛋白相关^[3]。巨囊性液体蛋白 15(GCDFP15)是人体大汗腺的标志物,目前研究多将其用于乳腺癌的诊断^[4]。类肌钙蛋白(Calponin)是与肌钙蛋白相结合的蛋白质家族成员之一,与细胞骨架形成、肌肉收缩和细胞黏附等密切相关^[5]。有研究显示,呈侵袭性生长的乳房外佩吉特病患者 GCDFP15 表达为强阳性或阳性,且其表达对于判断患者是否呈侵袭性生长有一定意义^[6]。但目前关于上述指标在甲状腺乳头状癌中的作用鲜见报道。因此,本研究拟分析甲状腺乳头状癌组织中 GCDFP15、Calponin 的表达水平及临床意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1 月至 2017 年 5 月经本院确诊并行手术切除的 102 例甲状腺乳头状癌患者作为研究对象,年龄 20~65 岁、平均(35.36±6.66)岁;男 28 例,女 74 例。将经手术切除的甲状腺乳头状癌组织作为研究组,相对应的癌旁正常甲状腺组织作为正常组。本研究获得本院医学伦理委员会批准,患者及其家属签署知情同意书。纳入标准:符合甲状腺乳头状癌的相关诊断标准^[7],并经病理检查已确诊。排除标准:(1)伴有免疫功能疾病、严重感染性疾病及其他恶性肿瘤者;(2)严重心、肝、肾等重要脏器功能障碍者;(3)术前经放疗、化疗及生物等其他抗肿瘤手段者;(4)既往精神病史或存在语言、认知功能障碍者;(5)临床资料不全或无法完全配合本研究者。

1.2 方法

1.2.1 GCDFP15、Calponin 的表达水平检测 标本经 10%中性福尔马林固定,脱水石蜡包埋、4 μm 连续切片、脱蜡、水化,应用柠檬酸盐缓冲液修复抗原,磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗 3 次(每次 3 min),加入一抗(鼠抗人 GCDFP15 单克隆抗体、兔抗 Calponin 单克隆抗体,福州迈新生物技术开发有限公司)4℃孵育过夜,PBS 漂洗再加入辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗。37℃孵育 30 min,PBS 漂洗后使用 DAB 显色、苏木素复染、梯度乙醇脱水以及树脂胶封片,最后镜下观察,阴性对照组以 PBS 为一抗。严格按照 SP 法检测试剂盒说明书进行操作。

1.2.2 结果判定^[8] 免疫结果由两位高年资的病理医师共同采用双盲法完成,GCDFP15、Calponin 阳性

表达分别定位于细胞质、细胞膜或细胞核中,并呈黄素或棕黄色颗粒状分布。每个切片随机选择 10 个视野,按照细胞染色强度与阳性细胞百分比得出免疫组织化学染色评分。阳性细胞染色强度评分:无色为 0 分、浅黄色为 1 分、棕色为 2 分、深褐色为 3 分。阳性细胞占总细胞百分比:<5%为 0 分、5%~25%为 1 分、>25%~50%为 2 分、>50%~75%为 3 分、>75%为 4 分。最终得分为阳性细胞百分比分数和染色强度平均分数的乘积,得分≥3 分为阳性,<3 分为阴性。

1.3 随访 所有患者以术后出院为观察点,并采用电话、门诊复诊或上门等方式结合患者复诊病历随访 5 年,随访截止时间为 2022 年 4 月 30 日或患者发生肿瘤转移或死亡。

1.4 统计学处理 采用 SPSS26.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验;计数资料以率或构成比表示,采用 χ^2 检验。采用 Kaplan-Meier 法评估不同临床病理特征甲状腺乳头状癌患者生存情况,采用多因素 COX 回归分析探讨 GCDFP15、Calponin 的表达与甲状腺乳头状癌预后的关系。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

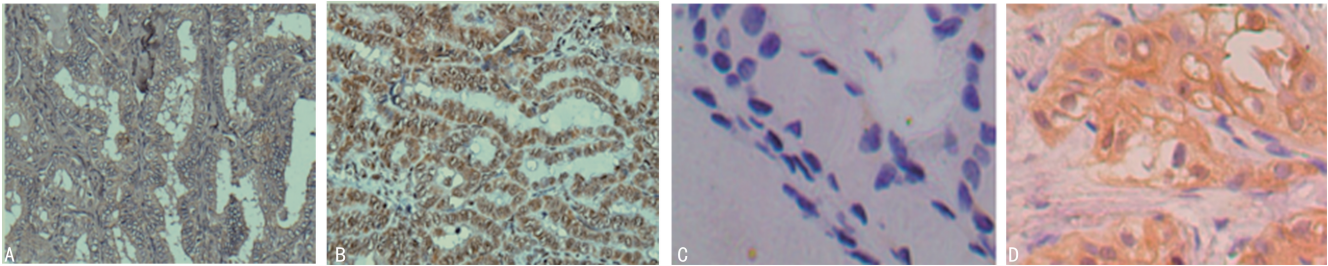
2.1 两组 GCDFP15、Calponin 的表达情况比较 研究组 GCDFP15 阳性表达率(64.71%)明显高于对照组(29.41%),Calponin 阳性表达率(39.22%)明显低于对照组(66.68%),差异均有统计学意义(*P*<0.05),见表 1、图 1。

表 1 两组 GCDFP15、Calponin 的表达情况比较[n(%)]					
组别	<i>n</i>	GCDFP15		Calponin	
		阳性	阴性	阳性	阴性
研究组	102	66(64.71)	36(35.29)	40(39.22)	62(58.82)
正常组	102	30(29.41)	72(70.59)	68(66.68)	35(34.31)
χ^2		25.500		13.656	
<i>P</i>		<0.001		<0.001	

2.2 GCDFP15、Calponin 表达与甲状腺乳头状癌患者病理特征的关系 不同 GCDFP15、Calponin 表达甲状腺乳头状癌患者年龄、性别、肿瘤最大径差异无统计学意义(*P*>0.05),但 TNM 分期、侵犯被膜、淋巴结转移差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

2.3 生存情况 本研究 102 例患者 5 年生存率为 49.02%(50/102)。其中 GCDFP15 阳性、阴性随访患者 5 年生存率分别为 39.39%(26/66)、66.67%

(24/36),Calponin 阳性、阴性随访患者 5 年生存率分别为 61.29%(38/62)、30.00%(12/40)。GCDFP15、Calponin 阳性、阴性 5 年生存率比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。



注:A 为 GCDFP15 阴性;B 为 GCDFP15 阳性;C 为 Calponin 阴性;D 为 Calponin 阳性。

图 1 GCDFP15、Calponin 在甲状腺乳头状癌组织及癌旁正常组织中的表达情况(×200)

表 2 GCDFP15、Calponin 表达与甲状腺乳头状癌病理特征的关系

项目	n	GCDFP15		χ^2	P	Calponin		χ^2	P
		阳性(n=66)	阴性(n=36)			阳性(n=40)	阴性(n=62)		
年龄(岁)				0.029	0.864			0.031	0.861
≥52	55	36	19			22	33		
<52	47	30	17			18	29		
性别				0.018	0.891			0.179	0.806
男	28	18	10			11	17		
女	74	48	26			29	45		
TNM 分期				10.848	0.001			9.477	0.002
T ₂ 期	60	31	29			31	29		
T _{3~4} 期	42	35	7			9	33		
侵犯被膜				10.298	0.001			10.891	0.001
无	67	36	31			34	33		
有	35	30	5			6	29		
淋巴结转移				7.550	0.006			8.382	0.004
无	64	35	29			32	32		
有	38	31	7			8	30		
肿瘤最大径(cm)				0.908	0.341			0.015	0.902
≥1	63	43	20			25	38		
<1	39	23	16			15	24		

2.4 甲状腺乳头状癌预后的单因素分析 单因素分析结果显示,甲状腺乳头状癌 5 年生存率与 TNM 分期、侵犯被膜、淋巴结转移、GCDFP15 阳性及 Calponin 阴性表达有关($P<0.05$)。见表 3。

表 3 甲状腺乳头状癌预后的单因素分析[n(%)]

项目	n	5 年生存率	χ^2	P
年龄(岁)			0.004	0.988
≥52	55	27(49.09)		
<52	47	23(48.94)		
性别			0.028	0.862
男	28	14(50.00)		
女	74	36(48.64)		
TNM 分期			5.058	0.025
T ₂ 期	60	35(58.33)		
T _{3~4} 期	42	15(35.71)		
侵犯被膜			7.481	0.003
无	67	38(56.72)		

续表 3 甲状腺乳头状癌预后的单因素分析[n(%)]

项目	n	5 年生存率	χ^2	P
有	35	12(34.29)		
淋巴结转移			5.315	0.021
无	64	37(57.51)		
有	38	13(34.21)		
肿瘤最大径(cm)			0.589	0.443
≥1	63	29(46.03)		
<1	39	21(53.85)		
GCDFP15			6.933	0.008
阳性	66	26(39.39)		
阴性	36	24(66.67)		
Calponin			9.526	0.002
阳性	40	12(30.00)		
阴性	62	38(61.29)		

2.5 甲状腺乳头状癌病预后的多因素 COX 分析
多因素 COX 比例风险回归模型分析得出,TNM T_{3~4}期、淋巴结转移、侵犯被膜及 GCDFP15 阳性、Calpo-

nin 阴性表达均为影响甲状腺乳头状癌病预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表 4。

表 4 甲状腺乳头状癌病预后的多因素 COX 回归分析

自变量	β	SE	Wald χ^2	P	HR(95%CI)
淋巴结转移(有 vs. 无)	1.225	0.320	18.652	<0.001	3.40(1.82~6.37)
侵犯被膜(有 vs. 无)	1.205	0.305	17.642	<0.001	3.34(1.84~6.07)
TNM 分期(T _{3~4} 期 vs. T ₂ 期)	0.996	0.210	16.412	<0.001	2.71(1.79~4.09)
GCDFP15(阳性 vs. 阴性)	1.336	0.452	20.140	<0.001	3.80(1.57~9.23)
Calponin(阴性 vs. 阳性)	1.410	0.480	22.214	<0.001	4.10(1.60~10.49)

3 讨 论

甲状腺乳头状癌是甲状腺癌最常见的病理类型,其恶性程度低,虽近年来临床疗效已得到较好改善,但仍存在复发、转移等预后问题^[9-10]。为了提高治疗效果、降低复发率和病死率,探寻早期诊断甲状腺乳头状癌和影响预后的因子,本研究拟分析甲状腺乳头状癌组织中 GCDFP15、Calponin 表达水平及临床意义。

GCDFP15 是一种在大汗腺、泌乳腺、涎腺中有均有表达的标志物。有研究显示,GCDFP15 在鉴别及诊断乳腺癌方面具有较好的优势^[11]。乳腺癌患者癌组织 GCDFP15 阳性表达率高于癌旁正常组织^[12]。本研究结果显示,研究组 GCDFP15 阳性表达率明显高于对照组($P<0.05$),提示甲状腺乳头状癌发生可能与 GCDFP15 有关。本研究还发现,GCDFP15 表达在 TNM 分期、侵犯被膜、淋巴结转移之间差异有统计学意义($P<0.05$),说明 GCDFP15 阳性表达在甲状腺乳头状癌发展中起促癌作用。GCDFP15 阳性患者 5 年生存率低于阴性($P<0.05$),说明 GCDFP15 阳性与预后密切相关。有研究显示,GCDFP15 参与乳腺癌细胞恶性进展^[13]。单因素及多因素 COX 回归分析结果显示,GCDFP15 阳性表达为影响甲状腺乳头状癌病预后的独立危险因素($P<0.05$),提示 GCDFP15 阳性表达能够影响甲状腺乳头状癌的发展及预后,可作为临床评估患者发生、发展及预后有效指标。由此推测,GCDFP15 阳性可能与肿瘤细胞增殖有关,因此认为 GCDFP15 能够参与甲状腺乳头状癌恶性进展及复发。

Calponin 属于细胞骨架类蛋白,不仅在平滑肌收缩、非肌细胞肌动蛋白骨架方面发挥重要作用,同时在细胞增殖、黏附、迁移、分化、吞噬和细胞融合中也有重要作用^[14]。有研究显示,Calponin 表达随着慢性乙型肝炎病变加重而增强^[15]。同时有研究发现,Calponin 在肿瘤发展过程中具备重要作用^[16]。本研究结果显示,Calponin 在研究组中阳性表达率明显低于

对照组($P<0.05$),提示 Calponin 在甲状腺乳头状癌组织中呈阴性表达,可能参与疾病发生。为了明确 Calponin 阳性表达与甲状腺乳头状癌与临床病理参数的关系,经过分析结果显示 Calponin 阳性表达与 TNM 分期、侵犯被膜、淋巴结转移有关($P<0.05$),说明甲状腺乳头状癌发展进程可能与 Calponin 阳性表达有关。生存分析结果显示,Calponin 表达与甲状腺乳头状癌 5 年生存率相关。经单因素、多因素 COX 回归分析结果显示,Calponin 阴性表达为影响甲状腺乳头状癌病预后的独立危险因素($P<0.05$),提示 Calponin 阴性表达与甲状腺乳头状癌发生、进展及预后有关。Calponin 根据等电点不同可分为 H1-Calponin、H2-Calponin、H3-Calponin 3 种亚型。有研究显示,H2-Calponin 表达下调能够导致多种肿瘤细胞增殖、转移^[17]。Calponin 阴性表达与老年乳腺癌患者术后复发转移有关,可为老年乳腺癌患者术后复发转移的风险预测指标^[18]。由此说明,Calponin 阴性可能会增加甲状腺乳头状癌复发、转移等不良预后风险。

综上所述,甲状腺乳头状癌组织中 GCDFP15 呈阳性表达,Calponin 呈阴性表达,二者表达水平与甲状腺乳头状癌患者 TNM 分期、侵犯被膜、淋巴结转移有关,GCDFP15、Calponin 有望作为评估甲状腺乳头状癌患者预后的指标。

参考文献

[1] 张佳琪,杨敬春. 甲状腺乳头状癌侵袭性亚型声像图特征研究进展[J/CD]. 中华医学超声杂志(电子版),2020,17(12):1257-1260.

[2] 万良斌,李明松,冯俊明,等. Warthiin 瘤样甲状腺乳头状癌 1 例并文献复习[J]. 癌症进展,2021,19(3):321-323.

[3] 张中超,李林鹏,郭德洋. FOXQ1、HBME-1 在甲状腺乳头状癌组织中的表达水平与临床病理参数及预后的关系[J]. 实用癌症杂志,2021,36(9):1445-1448.

[4] 袁静萍,吴娟,余鑫鑫,等. GATA3、MGB 和 GCDFP15 在乳腺癌中的病理诊断价值[J]. 中华内分泌外科杂志,

2020,14(2):94-99.

[5] SCHATTNER S, SCHATTNER J, MUNDER F, et al. A tug-of-war model explains the saltatory sperm cell movement in *Arabidopsis thaliana* pollen tubes by kinesins with calponin homology domain[J]. *Front Plant Sci*, 2021,11:601282.

[6] NAKAMURA H, KUKITA Y, KUNIMASA K, et al. α -Methylacyl-CoA racemase; a useful immunohistochemical marker of breast carcinoma with apocrine differentiation[J]. *Hum Pathol*, 2021,116:39-48.

[7] 中华医学会内分泌学分会, 中华医学会外科学分会内分泌学组, 中国抗癌协会头颈肿瘤专业委员会等. 甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2012,28(10):779-797.

[8] SAIDY B, KOTECHEA S, BUTLER A, et al. PP1, PKA and DARPP-32 in breast cancer: a retrospective assessment of protein and mRNA expression[J]. *J Cell Mol Med*, 2021,25(11):5015-5024.

[9] MELTZER D E, PARNES B, CHAI R. Papillary thyroid carcinoma metastasis to the pituitary: a case report[J]. *Clin Imaging*, 2021,74:41-44.

[10] 金海龙, 张毅, 潘炯. 淋巴结转移率与甲状腺乳头状癌患者术后复发及预后的相关性[J]. *中国综合临床*, 2019,35(1):14-17.

[11] NI Y B, TSANG J Y S, SHAO M M, et al. GATA-3 is superior to GCDFP15 and mammaglobin to identify primary and metastatic breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018,169(1):25-32.

[12] 李文燕, 蒋小英, 熊令根. 增殖细胞核抗原、巨大囊肿病液体蛋白-15、雄激素受体在乳腺癌中的表达及其与临床病理参数的关系[J]. *中国民间疗法*, 2022,30(2):94-97.

[13] LAURENT E, BEGUERET H, BONHOMME B, et al. SOX10, GATA 3, GCDFP15, androgen receptor, and mammaglobin for the differential diagnosis between triple-negative breast cancer and TTF1-negative lung adenocarcinoma[J]. *Am J Surg Pathol*, 2019,43(3):293-302.

[14] PALANI S, GHOSH S, IVORRA-MOLLA E, et al. Calponin-homology domain mediated bending of membrane-associated actin filaments[J]. *Elife*, 2021,10:e61078.

[15] ONO S. Diversification of the calponin family proteins by gene amplification and repeat expansion of calponin-like motifs[J]. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2021,78(5):199-205.

[16] 李世玉, 张群霞, 王志刚, 等. 浸润性乳腺癌超声及造影表现与 P63 及 Calponin 的相关性[J]. *中国医学影像学杂志*, 2018,26(9):641-645.

[17] HARRIS A R, BELARDI B, JREIJ P, et al. Steric regulation of tandem calponin homology domain actin-binding affinity[J]. *Mol Biol Cell*, 2019,30(26):3112-3122.

[18] 简华勇, 李廷超. 老年乳腺癌组织中 HER-2、GCDFP15 及 Calponin 表达与术后复发转移的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2021,41(11):2301-2304.

(收稿日期:2022-06-22 修回日期:2022-12-09)

(上接第 1089 页)

[12] BURMESTER G R, FEIST E, DTIRNER T. Emerging cell and cytokine targets in rheumatoid arthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014,10(2):77-88.

[13] WAISMAN A, LUKAS D, CLAUSEN B E, et al. Dendritic cells as gatekeepers of tolerance[J]. *Semin Immunopathol*, 2017,39(2):153-163.

[14] GUO C, HU F, YI H, et al. Myeloid-derived suppressor cells have a proinflammatory role in the pathogenesis of autoimmune arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2016,75(1):278-285.

[15] ZHANG H, WANG S, HUANG Y, et al. Myeloid-derived suppressor cells are proinflammatory and regulate collagen-induced arthritis through manipulating Th17 cell differentiation[J]. *Clin Immunol*, 2015,157(2):175-186.

[16] SCHINNERLING K, SOTO L, GARCÍA-GONZÁLEZ P, et al. Skewing dendritic cell differentiation towards a tolerogenic state for recovery of tolerance in rheumatoid arthritis[J]. *Autoimmun Rev*, 2015,14(6):517-527.

[17] TORRES-AGUILAR H, AGUILAR-RUIZ S R, GONZÁLEZ-PÉREZ G, et al. Tolerogenic dendritic cells generated with different immunosuppressive cytokines induce antigen-specific anergy and regulatory properties in memory CD4⁺ T cells[J]. *J Immunol*, 2010,184(4):1765-1775.

[18] CHEN L, ZHENG L, HE W, et al. Cotransfection with IL-10 and TGF- β 1 into immature dendritic cells enhances immune tolerance in a rat liver transplantation model[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014,306(7):575-581.

[19] LEAVY O. Regulatory T cells: young AIREs go on to rule[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015,15(5):269.

[20] PARK M J, LEE S H, KIM E K, et al. Interleukin-10 produced by myeloid-derived suppressor cells is critical for the induction of Tregs and attenuation of rheumatoid inflammation in mice[J]. *Sci Rep*, 2018,8(1):3753.

(收稿日期:2022-07-28 修回日期:2022-12-21)