

个案与短篇

DOI: 10.11699/cyxb20130327

甲状腺滤泡状癌中 LYVE-1 的表达及癌组织微淋巴管密度与淋巴结转移分析

杨志勇

(河南科技大学第二附属医院外一科, 洛阳 471000)

【中国图书分类法分类号】R736.1

【文献标志码】B

【收稿日期】2012-04-24

血道转移是甲状腺滤泡状癌(follicular thyroid carcinoma, FTC)肿瘤细胞转移的主要途径,而淋巴结转移是影响其复发及生存的主要因素,且淋巴结转移的患者往往预后较差^[1]。透明质酸受体-1(lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor-1, LYVE-1)是淋巴管内皮细胞较特异和敏感的细胞标记物之一^[2-3]。本研究以 32 例 FTC 为研究对象,采用免疫组化方法观察检测其 LYVE-1 的表达,计数微血管密度(microvascular density, MVD)和微淋巴管密度(micro lymphatic vessel density, MLVD),探讨 MLVD、MVD 与 FTC 淋巴结转移的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集河南科技大学第二附属医院 2007 年月 8 至 2011 年 12 月手术切除并经病理证实 FTC 32 例,其中男 8 例,女 24 例;年龄 20~76 岁(平均 46.26 岁);淋巴转移者 4 例,无淋巴转移者 28 例;患者术前未经抗肿瘤治疗。另选择结节性甲状腺肿(nodular goiter, NG)标本 24 例作为对照,其中男 7 例,女 17 例;年龄 19~72 岁(平均 42.54 岁)。

1.2 方法

所有标本经甲醛固定后,常规石蜡包埋 5 μm 连续切片,行 HE 染色和免疫组化检测,LYVE-1 和 CD34 免疫组化操作步骤严格按试剂盒说明书进行(链霉素抗生物素蛋白-过氧化物,SP 法),常规二甲苯脱蜡,梯度究竟脱水,采用高压高温抗原热修复,分别滴加鼠抗人 LYVE-1 单克隆抗体(浓度为 1:200),冰箱孵育过夜,NG 标本采用 PBS 代替一抗,DAB 染色,苏木精复染,常规脱水透明,干燥封片。免疫组化试剂盒中由福州迈新生物技术开发有限公司提供。

1.3 MLVD 和 MVD 计数

微淋巴管判断:LYVE-1 染色阳性为棕黄色,单层,裂隙状、环形或条索状,孤立或簇状分布。微血管判断同淋巴管。采用 Wendner^[4]方法进行 MLVD 计数,首先在低倍镜(100 $\times$)下观察切片,确定染色清晰、背景对照良好,血管或淋巴管密度最高处,再在高倍镜(400 $\times$)下计数被染色的淋巴管数目。

作者介绍:杨志勇, Email: yangzhiyong123789@163.com,

研究方向:普外科和肿瘤。

计数 6 个视野内的淋巴管数,计算其平均值, MVD 计数同 MLVD 计数。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 12.0 软件进行数据分析,以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示数据,组间差异比较采用方差分析和 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FTC 和 NG 的 MLVD 和 MVD 比较

NG 组织中 MLVD 较少, FTC 组的 MLVD 计数显著高于 NG 的 MLVD 计数, 差异有统计学意义 $[(9.54 \pm 3.18) \text{ vs. } (3.06 \pm 1.65), P < 0.05]$; FTC 瘤内组织见 MVD, 而癌周围结缔组织及被膜中则相对少些, NG 组织中 MVD 较少, FTC 组中 MVD 计数显著高于 NG 组, 差异有统计学意义 $[(29.63 \pm 6.87) \text{ vs. } (4.59 \pm 7.44), P < 0.05]$ (表 1)。

表 1 FTC 和 NG 的 MLVD 和 MVD 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of MLVD and MVD between FTC group and NG group ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (n)	MLVD (LYVE-1)	MVD (CD34)
FTC 组	32	9.54 ± 3.18	29.63 ± 6.87
NG 组	24	3.06 ± 1.65	4.59 ± 7.44

2.2 FTC 有淋巴结转移组和无淋巴结转移组的 MLVD 和 MVD 比较

FTC 有淋巴结转移组的 MLVD、MVD 分别为 12.68 ± 2.51 和 35.67 ± 7.85 , 显著高于无淋巴结转移组 9.09 ± 3.26 和 28.77 ± 5.31 , 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 2 FTC 有淋巴结转移组和无淋巴结转移组的 MLVD 和 MVD 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of MLVD and MVD between lymph node metastasis subgroup and non lymph node metastasis subgroup in FTC group ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (n)	MLVD (LYVE-1)	MVD (CD34)
有淋巴结转移	4	12.68 ± 2.51	35.67 ± 7.85
无淋巴结转移	28	9.09 ± 3.26	28.77 ± 5.31

3 讨 论

FTC 早期转移主要通过血道,少数经淋巴结转移,但淋巴结转移是影响其复发及影响生存的主要因素,且淋巴结转移的患者往往预后较差,早期诊断发现 FTC 的淋巴转移是提高病人预后的关键,但目前检测方法尚不成熟。淋巴管的形态不规则,管壁薄,缺少特异性的标记物是导致对淋巴管的研究相对较少的重要原因。内皮细胞 LYVE-1 是新近发现的位于淋巴管内皮细胞上的膜蛋白,其作用是从血液中摄取透明质酸酶并转运至淋巴液,是淋巴管内的特异标记物,用 LYVE-1 标记能简单而准确地识别淋巴管。研究发现,LYVE-1 除在淋巴管内皮细胞表达外,在肝窦内皮细胞也有表达^[4-7],LYVE-1 在癌组织的毛细淋巴管内皮细胞有特异性表达而在血管内皮无表达^[7-9],因此被认为是癌组织进行淋巴转移的特异性标记物。

本实验采用 LYVE-1 标记 FTC 组织及 NG 组织中淋巴管的生成情况,结果发现 FTC 瘤内组织的 MLVD 较少,主要位于瘤周围结缔组织及被膜中,FTC 的 MLVD 计数显著高于 NG 的 MLVD 计数,说明癌周新生微淋巴管明显增加,认为癌中淋巴管的分布比正常组织的淋巴管要丰富。本研究结果还显示,FTC 有淋巴结转移组的 MLVD、MVD 分别为 12.68 ± 2.51 和 35.67 ± 7.85 ,显著高于无淋巴结转移组 9.09 ± 3.26 和 28.77 ± 5.31 ,这与邓海军等^[10]报道一致。LYVE-1 的作用机制为:因其配体透明质酸(hyaluronic acid,HA)在淋巴系统内的代谢促进了肿瘤细胞及白细胞的迁移,作为淋巴管内皮特异性透明质酸 HA 的受体,LYVE-1 可与 HA 在相互作用中发挥着重要作用。如帮助 HA 从周围的组织穿过淋巴内皮转运进入淋巴液;在淋巴管内促进肿瘤的黏附、迁移等作用中发挥作用,通过对 FTC 淋巴管中 LYVE-1 的检测,可以早期发现 FTC 有无淋巴结转移及转移程度。

MVD 是反映肿瘤诱导血管生成能力的主要指标之一,对肿瘤的发生、发展、转移和预后有重要意义。肿瘤组织中新生的血管系统分布是不均衡,检测 MVD 应该选择肿瘤新生血管最密集的区域。本研究采用 Wendner 方法对甲状腺滤泡状癌中的 MVD 进行测定,结果显示,FTC 中 MVD 计数显著高于 NG 中 MVD 计数,且 MVD 与淋巴结转移亦密切相关,进一步证实了新生血管在肿瘤淋巴转移过程中的作用以及滤泡癌的瘤内高微血管密度推测与其主要通过血管转移的生物学行为有关,这是因为滤泡癌几乎仅发生血道转移而罕见淋巴结转移。

传统认为淋巴管为肿瘤细胞的播散提供了通道,是肿瘤转移的关键因素,这是由于淋巴管与血管相比有更多的优势利于转移,如基底膜的不连续,内皮细胞之间缺乏紧密连接等均为肿瘤细胞进入淋巴管创造了有利的条件。本研究显示,癌周新生微淋巴管明显增加,管腔不规则,易于癌细胞的侵袭转移。FTC 微淋巴管及微血管的形成与淋巴结转移有密切关系。

参 考 文 献

- [1] Zaydfudim V,Feurer I D,Griffin M R,et al.The impact of lymph node involvement on survival in patients with papillary and follicular thyroid carcinoma[J].Surgery,2008,144(6):1070-1077.
- [2] Vainionpaa N,Biitzow R,Hukkanen M,et al.Basement membrane protein distribution in LYVE-1-immunoreactive lymphatic vessels of normal tissues and ovarian carcinomas[J].Cell Tissue Res,2007,328(2):317-328.
- [3] 张卫东,赵玲辉,张雅芳.胃癌组织淋巴管 LYVE-1、钙粘蛋白的表达及其与癌转移的关系[J].中国临床解剖学杂志,2006,24(2):170-172.
- [4] Zhang W D,Zhao L H,Zhang Y F.Gastric carcinoma lymphatic LYVE-1,expression of cadherin and its association with cancer metastasis[J].Chinese Journal of Clinical Anatomy,2006,24(2):170-172.
- [5] Nikiforov Y E.Thyroid carcinoma:Molecular pathways and therapeutic targets[J].Mod Pathol,2008,21(s2):37-43.
- [6] Schneider M,Buchler P,Giese N,et al.Role of lymphangiogenesis and lymphangiogenic factors during pancreatic cancer progression and lymphatic spread[J].Int J Oncol,2006,28(4):883-890.
- [7] 杨进强,李 勇,范立桥,等.VEGF-C 及其受体 VEGFR-3 在胃癌淋巴转移中的作用[J].第二军医大学学报,2005,26(11):1256-1259.
- [8] Yang J Q,Li Y,Fan L Q,et al.VEGF-C and its receptor VEGFR-3 in lymphatic metastasis of the gastric cancer in rats[J].Journal of Second Military Medical University,2005,26(11):1256-1259.
- [9] 李春华,马厅行,唐晓勇.食道鳞癌患者 podoplanin 表达及微淋巴管密度与淋巴转移的关系[J].山东医药,2008,48(16):33-34.
- [10] Li C H,Ma T X,Tang X Y.Esophagus squamous cell carcinoma podoplanin expression and relationship between lymphatic microvessel density and lymphatic metastasis[J].Shandong Medicine,2008,48(16):33-34.
- [11] 崔 健,杨勇明.LYVE-1 和 VEGF-C 在胃癌中的表达及与淋巴结转移的关系[J].浙江创伤外科,2009,14(2):104-106.
- [12] Cui J,Yang Y M.LYVE-1 and VEGF-C expression in gastric carcinoma and its correlation with lymph node metastasis[J].Zhejiang Journal of Traumatic Surgery,2009,14(2):104-106.
- [13] 黄家良,叶建新.甲状腺乳头状癌的淋巴管密度分析及临床意义[J].实用癌症杂志,2009,24(1):84-85.
- [14] Huang J L,Ye J X.Papillary thyroid cancer lymph vessel density analysis and clinical significance[J].The Practical Journal of Cancer,2009,24(1):84-85.
- [15] 邓海军,黄祥成,韩述岭.甲状腺滤泡状癌微淋巴管密度与淋巴结转移的关系[J].细胞与分子免疫学杂志,2009,25(6):519-521.
- [16] Deng H J,Huang X C,Han S L.Follicular carcinoma of thyroid micro lymphatic vessel density and lymph node metastasis and the relationship between[J].Journal of Cellular and Molecular Immunology,2009,25(6):519-521.

(责任编辑:唐秋姗)