·论　　著·

ACR TI-RADS超声评分联合CK19、galectin-3和HBME-1对甲状腺微小乳头状癌的诊断价值

秦超　郑克　邓凯琳　俞波　周洪伟　胡铭荣　许媚　孟柠

[摘要]　目的　探讨美国放射学会甲状腺影像报告和数据系统(ACR TI-RADS)超声评分联合免疫组化染色标记物细胞角蛋白19(CK19)、半乳糖凝集素3(galectin-3)及人骨髓内皮细胞标记物(HBME-1)对甲状腺微小乳头状癌(PTMC)的诊断价值。**方法**　选择PTMC患者130例为实验组,选择结节性甲状腺肿、甲状腺腺瘤患者130例为对照组。术前根据甲状腺超声影像的ACR TI-RADS评分标准进行分级。术后蜡块应用Evision二步法行CK19、galectin-3及HBME-1指标的免疫组化检测。以病理结果作为最终确定PTMC的金标准,采用受试者工作特征曲线(ROC)分析四项指标对PTMC的诊断价值。**结果**　实验组ACR TI-RADS分级为4级64例、5级66例。对照组工ACR T1-RADS分级1级6例、2级15例、3级66例、4级43例。两组比较差异有统计学意义(U=1376.00, P<0.05)。实验组癌细胞中CK19、galectin-3、HBME-1的阳性表达率明显高于对照组上皮细胞(χ^2分别=142.55、170.57、82.22, P均<0.05)。ACR TI-RADS超声评分联合CK19、galectin-3及HBME-1免疫组化染色的曲线下面积(0.99)高于ACR TI-RADS超声评分(0.92)、CK19(0.86)、galectin-3(0.90)及HBME-1(0.78),差异均有统计学意义(χ^2分别=80.30、147.42、102.20、243.98, P均<0.05)。**结论**　ACR TI-RADS超声评分联合免疫标记物CK19、galectin-3及HBME-1可以提高PTMC的诊断效能。

[关键词]　甲状腺影像报告和数据系统;　半乳糖凝集素3;　细胞角蛋白19;　人骨髓内皮细胞标记物;　甲状腺微小乳头状癌

Diagnostic value of ACR TI-RADS ultrasound-score combined with CK19, galectin-3, and HBME-1 in papillary thyroid micro-carcinoma QIN Chao, ZHENG Ke, DENG Kailin, et al. Department of Thyroid and Breast Surgery, The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, China.

[Abstract]　Objective　To investigate the diagnostic value of American college of radiology throid imaging reporting and data system (ACR TI-RADS) ultrasound-score combined with the immunohistochemical markerscytokeratin19 (CK19), galectin-3 and hector battifora mesothelial epitope-1 (HBME-1) in the papillary thyroid micro-carcinoma (PTMC). **Methods**　Totally 130 cases of PTMC were selected as experimental group, and 130 cases of nodular goiter and thyroid adenoma were selected as control group. All patients were scored according to ACR TI-RADS score of thyroid ultrasound images before operation. The CK19, galectin-3, and HBME-1 were detected by immunohistochemistry. Pathological results were used as the gold standard for the final diagnosis of papillary thyroid carcinoma. The diagnostic values of these parameters in PTMC were analyzed by ROC. **Results**　In the experimental group, 64 cases were grade 4 and 66 cases were grade 5. In the control group, there were 6 cases of grade 1, 15 cases of grade 2, 66 cases of grade 3, 43 cases of grade 4, respectively. There was statistically significant difference (U=1376.00, P<0.05). The positive expressions of CK19, galectin-3, and HBME-1 in cancer cells of the experimental group were significantly higher than those of epithelial cells of the control group (χ^2=142.55, 170.57, 82.22, P<0.05). The area under the receiver operating characteristic (ROC) curve of the ACR TI-RADS combined with CK19, galectin-3, and HBME-1 immunohistochemical staining was 0.99, which was higher than the that of ACR TI-

DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2020.008.005

基金项目:2016浙江省卫生厅医药卫生项目(2016KYB-229)

作者单位:310015　浙江杭州,杭州师范大学附属医院甲乳外科(秦超、郑克、周洪伟、胡铭荣、孟柠),病理科(邓凯琳),超声科(俞波);杭州市急救中心(许媚)

通讯作者:孟柠,Email:1282863800@qq.com

RADS ultrasound score, CK19, galectin-3, and HBME-1, respectively (χ^2=80.30, 147.42, 102.20, 243.98, P<0.05). **Conclusion** ACR TI-RADS ultrasound score combined with immune markers CK19, galectin-3 and HBME-1 can improve the diagnostic efficiency of PTMC.

[Key words] TI-RADS; galectin-3; cytokeratin 19; hector battifora mesothelial epitope-1; papillary thyroid micro-carcinoma

甲状腺微小乳头状癌(papillary thyroid micro-carcinoma,PTMC)的发病率在世界范围内逐年上升[1~3]。尽管诊断技术的不断发展,术前诊断能力得到大大提升,但是像PTMC这种指标不明确的小肿瘤,其诊断能力仍有待提高。目前,不管是影像诊断还是空心针穿刺活检病理诊断都无法精确诊断。本次研究探讨美国放射学会甲状腺影像报告和数据系统(American college of radiology throid imaging reporting and data system,ACR TI-RADS)、细胞角蛋白19(cytokeratin19,CK19)、骨髓内皮细胞标记物(hector battifora mesothelial epitope-1,HBME-1)和半乳糖凝集素3(galectin-3)在甲状腺良恶性病变中的诊断价值,并通过受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC)分析以确定各标记物或多种标记物联合诊断的价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2018年3月至2020年3月杭州师范大学附属医院甲乳外科收治的130例PTMC患者为实验组,其中男性29例、女性101例;年龄22~79岁,平均年龄(47.62±12.49)岁。纳入标准为:术前本院超声提示甲状腺可疑病变,并在本院行甲状腺癌根治术,术后病理证实为PTMC,并行免疫组化检测。排除标准为:术前未接受本院超声检查,检查后仅行穿刺活检未行手术治疗,既往行核素治疗。选择本院同期130例甲状腺良性病变(其中结节性甲状腺肿86例、甲状腺腺瘤44例)为对照组,其中男性39例、女性91例;年龄22~79岁,平均年龄(54.84±10.97)岁。所有手术切除病变均经术中冰冻检查及术后常规病理及免疫组化检查。所有患者术前签署病理检查知情同意书,所有实验均符合临床诊疗规范并经医院医学伦理委员会批准。两组一般资料比较,差异均无统计学意义(P均>0.05)。

1.2 ACR TI-RADS评分 按照美国放射学会发布的甲状腺TI-RADS分级标准进行评分,术前均进行彩色超声多普勒检查,分别根据结节的成分、回声、形态、边缘及强回声五个要素打分:0分为TR1级,2分为TR2级,3分为TR3级,4~6分为TR4级,≥7分为TR5级[4]。TI-RADS分级区分良恶性的临界值为3.5分,设≤TR3级的为良性,TR4级及以上的恶性度高,需要鉴别良恶性。

1.3 免疫组化 术后对组织蜡块切片后分别行CK19、HBME-1和galectin-3免疫组化检测。染色采用EVISION二步法:滴加一抗,一抗包括CK19(鼠抗人单克隆抗体ZM-0074)、HBME-1(鼠抗人单克隆抗体ZM-0386)和galectin-3(鼠抗人单克隆抗体ZM-0143),放入专用孵育盒内室温孵育1~2 h,甩掉一抗,用磷酸缓冲盐溶液充分洗涤,滴加聚合物增强剂,室温孵育20 min,再用磷酸缓冲盐溶液充分洗涤,滴加PV-8000染色试剂盒进行处理,再浸泡四盐酸二氨基联苯胺后显色明显,显微镜下读片。所有操作均由病理医师实施,并严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 评判标准 当在细胞膜和/或细胞质中清楚地观察到免疫反应活性细胞时,即认为是这些标记物的阳性细胞。对每个检测指标进行显微镜下读片,对于无染色或弱染色(<10%)的细胞免疫反应性认定为阴性,其他免疫反应性认定为阳性。

1.5 统计学方法 采用IBM SPSS 23软件进行统计分析。计量资料数据采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。等级资料比较采用非参数Mann-Whitney U检验;计数资料采用χ^2检验或*Fisher*确切概率法。利用ROC曲线和曲线下面积(area under curve,AUC)评估单个或联合免疫标记物的诊断性能,单独或联合标记物的特异度、灵敏度、阳性预测值和阴性预测值。设P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术前超声ACR TI-RADS分级情况 实验组起始分级为4级,其中4级64例、5级66例。对照组1级6例、2级15例、3级66例、4级43例。组间比较,差异有统计学意义(U=1376.00,P<0.05)。

2.2 两组术后CK19、galectin-3及HBME-1免疫染色结果比较见封三图4

由封三图4可见,实验组癌细胞中CK19、galec-

tin-3及HBME-1免疫染色均表现为强阳性。对照组细胞中CK19、galectin-3及HBME-1免疫染色均表现为阴性。

2.3　两组术后CK19、galectin-3及HBME-1免疫染色结果比较见表1

表1　两组术后CK19、galectin-3及HBME-1免疫染色结果比较/例

组别	CK19		galectin-3		HBME-1	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
实验组	126	4	130	0	98	32
对照组	32	98	27	103	25	105

由表1可见，实验组癌细胞中CK19、galectin-3、HBME-1的阳性表达率明显高于对照组上皮细胞，差异均有统计学意义（χ^2分别=142.55、170.57、82.22，P均<0.05）。

2.4　超声和各免疫组化标记的诊断价值见表2

表2　免疫指标与超声联合免疫组化的诊断效能比较

指标	AUC	特异度/%	灵敏度/%	阳性预测值/%	阴性预测值/%
TI-RADS分级>3级	0.92	66.90	100	75.30	100
CK19	0.86	74.40	94.90	96.90	75.40
HBME-1	0.78	80.80	84.00	75.40	80.80
galectin-3	0.90	79.20	100	100	79.20
四者联合	0.99	99.20	99.20	98.40	99.60

由表2可见，ACR TI-RADS超声评分联合CK19、galectin-3及HBME-1免疫组化染色的AUC为0.99，高于ACR TI-RADS超声评分（0.92）、CK19（0.86）、galectin-3（0.90）及HBME-1（0.78），差异均有统计学意义（χ^2分别=80.30、147.42、102.20、243.98，P均<0.05）。

3　讨论

据统计，甲状腺癌逐渐成为发病率最高的内分泌恶性肿瘤，严重影响了人们的生活质量[1,5]。基于大数据时代的图像分析技术，美国放射学会根据甲状腺癌的超声表现，依据结节的成分、回声、形状、边界、钙化，制定出ACR TI-RADS评分标准，极大地提高了可疑恶性结节的检出率，然而对于较小的结节也存在一定的局限性。尽管目前甲状腺空心针穿刺活检被认为是术前诊断的金标准，但由于肿瘤的异质性，将微小乳头状癌与甲状腺乳头状增生和伴有乳头状改变的孤立性结节区分开仍是一个挑战。因此，为了提高疾病的诊断及鉴别诊断能力，免疫组化在诊断中也是必不可少的[6]。目前存在多种免疫组织化学标志物，如galectin-3、CD56、CK19、HBME-1、Ki-67和TPO[7,8]。本次研究选取三种诊断甲状腺乳头状癌常用的免疫标志物，并对它们的诊断有效性进行了评估。

CK19作为一种新的肿瘤标志物，是上皮细胞中间丝的特征性蛋白组分，存在于多种正常上皮组织中，当上皮细胞转变为恶性肿瘤时，其结构不变但含量增加。因此，免疫组化检测可见CK19在PTMC中表现为弥漫性的高表达[9,10]。HBME-1是一种能与间皮细胞微绒毛中抗原发生反应的单克隆抗体。HBME-1在良性病变中呈局灶性表达，而非弥漫性表达。相比于滤泡癌和滤泡性腺瘤，HBME-1在乳头状癌中表达更为广泛，因此可以帮助鉴别甲状腺良性和恶性病变[8,11]。galectin-3是半乳糖凝集素家族中结构独特的成员（31-kDa）。galectin-3能够与细胞膜糖蛋白发生交联，进而形成参与细胞信号传导和受体内吞作用的网络。galectin-3在细胞核、细胞质和细胞外空间均有表达。galectin-3在细胞凋亡调控、细胞活力等方面发挥着重要作用，并参与其中甲状腺癌进展[12,13]。

本次研究就目前的诊断技术可以获取的临床资料进行整合，使用超声ACR TI-RADS分级，并结合免疫标记物，包括CK19、HBME-1、galectin-3，进行统计分析。结果显示ACR TI-RADS分级可以很好地区分甲状腺恶性肿瘤和良性结节，当以TR3级为截断点时，灵敏度和阴性预测值均达到100%，这与既往的研究结果一致[4]。此外，Bartolazzi等[12]提出galectin-3在甲状腺恶性肿瘤组织中过表达，提示可能与甲状腺恶性肿瘤相关。Han等[14]表明超声风险评估结合galecatin-3、c-MET、HBME-1、CK19等分子标志物有助于诊断甲状腺恶性、良性结节。本次研究表明进一步证实，相较于HBME-1和CK19，galectin-3的诊断能力更佳。本次研究还显示，超声评分联合免疫标志物检测的诊断效能较单一指标明显提高（P均<0.05），这与类似的研究结果一致[14]。

甲状腺癌术前诊断是每个外科医生需要面对并解决的问题，尤其对于超声ACR TI-RADS分级为3级和4级患者，如临床高度怀疑为恶性结节，超声结合空心针穿刺细胞免疫组化分析，对于提高诊断准确率意义更大。由于本次研究分析免疫标志

物均为术后常规病理证实的免疫组化指标，还需术前空心针穿刺获取的细胞进行免疫染色进行验证。且本次研究是单中心、小样量的回顾性研究，无法进行亚组分析，如果这种超声结合免疫标记物的方法能在更多的甲状腺癌诊治中心得到验证，应该能提高术前诊断的准确率，包括各种亚型的甲状腺病变，为患者制定个体化的诊疗方案提供科学严谨的证据。

综上所述，ACR TI-RADS超声评分联合免疫指标CK19、galectin-3及HBME-1可以有效提高PTMC的诊断效能。

参考文献

1 Kaliszewski K, Diakowska D, Wojtczak B, et al.The occurrence of and predictive factors for multifocality and bilaterality in patients with papillary thyroid microcarcinoma[J].Medicine (Baltimore), 2019, 98(19): e15609.

2 Olson E, Wintheiser G, Wolfe KM, et al.Epidemiology of thyroid cancer: A review of the national cancer catabase, 2000-2013[J].Cureus, 2019, 11(2): e4127.

3 Qian ZJ, Jin MC, Meister KD, et al.Pediatric thyroid cancer incidence and mortality trends in the United States, 1973-2013[J].JAMA Otolaryngol Head Neck Surg, 2019, 145(7): 617-623.

4 Phuttharak W, Boonrod A, Klungboonkrong V, et al.Interrater reliability of various thyroid imaging reportingand data system (TIRADS) classifications for differentiating-benign from malignant thyroid nodules[J]. Asian Pac JCancer Prev, 2019, 20(4): 1283-1288.

5 Atamari-Anahui N,Morales-Concha L,Moncada-Arias AG, et al. National trends in prevalence and mortality rates of thyroid cancer using data from the ministry of health of peru[J].Medwave, 2019, 19(4): e7631.

6 Huang L, Wang X, Huang X, et al.Diagnostic significance of CK19, galectin-3, CD56, TPO and Ki67 expression and BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma[J].Oncol Lett, 2018, 15(4): 4269-4277.

7 Sanuvada R, Nandyala R, Chowhan AK, et al.Value of cytokeratin-19, Hector Battifora mesothelial-1 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid neoplasms [J].J Lab Physicians, 2018, 10(2): 200-207.

8 Zargari N, Mokhtari M.Evaluation of diagnostic utility of immunohistochemistry markers of TROP-2 and HBME-1 in the diagnosis of thyroid carcinoma[J].Eur Thyroid J, 2019, 8(1): 1-6.

9 Arcolia V, Journe F, Renaud F, et al.Combination of galectin-3, CK19 and HBME-1 immunostaining improves the diagnosis of thyroid cancer[J]. Oncol Lett, 2017, 14(4): 4183-4189.

10 Cho H, Kim JY, Oh YL. Diagnostic value of HBME-1, CK19, galectin 3, and CD56 in the subtypes of follicular variant of papillary thyroid carcinoma[J].Pathol Int, 2018, 68(11): 605-613.

11 Qiao J, Li C, Zhang Y, et al.HBME-1 expression in differentiated thyroid carcinoma and its correlation with the ultrasonic manifestation of thyroid[J]. Oncol Lett, 2017, 14(6): 6505-6510.

12 Bartolazzi A, Sciacchitano S, D´Alessandria C.Galectin-3: The impact on the clinical management of patients with thyroid nodules and future perspectives[J].Int J Mol Sci, 2018, 19(2):445.

13 Bergdorf K, Ferguson DC, Mehrad M, et al.Papillary thyroid carcinoma behavior: clues in the tumor microenvironment[J].Endocr Relat Cancer, 2019, 26(6): 601-614.

14 Han RL, Wang J, Zhang FJ, et al.Ultrasound risk assessment combined with molecular markers of galectin-3, c-MET, HBME-1 and CK19 for diagnosis of malignant and benign thyroid nodules[J].Pathol Oncol Res, 2019, 25(3): 1075-1081.

（收稿日期 2020-04-25）

（本文编辑 蔡华波）