

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.16.028

甲状腺乳头状癌中 Survivin, VEGF, EGFR 的表达及临床意义分析*

朱卫波¹ 庄丽娟¹ 朱红芬² 段慧英¹ 宋秋玲¹ 代 娇¹

(1 曲靖医学高等专科学校 云南 曲靖 655000; 2 曲靖市第一人民医院 云南 曲靖 655000)

摘要 目的:探讨甲状腺乳头状癌(PTC)中存活素(Survivin)、血管内皮生长因子(VEGF)、表皮生长因子受体(EGFR)的表达及临床意义。**方法:**选择 2013 年 4 月~2016 年 4 月在我院收治的 100 例 PTC 患者的手术标本以及同期 100 例癌旁正常甲状腺组织为研究对象,采用免疫组化方法检测比较 Survivin、VEGF、EGFR 的表达在 PTC 及癌旁正常甲状腺组织中的表达及二者的相关性,并分析其 Survivin、VEGF、EGFR 的表达与 PTC 患者临床病理特征的相关性。**结果:**PTC 组织中 Survivin、VEGF、EGFR 阳性表达率均显著高于癌旁正常甲状腺组织,差异具有统计学意义($P<0.05$);Survivin、VEGF 在淋巴结转移患者中的阳性表达率显著高于无淋巴结转移者($P<0.05$);EGFR 在女性 PTC 患者中的阳性表达率显著高于男性($P<0.05$)。PTC 组织中 VEGF 和 Survivin、EGFR 的表达无显著相关性($P>0.05$),但 Survivin 和 EGFR 的表达显著相关($r=0.235, P<0.05$)。**结论:**Survivin、VEGF、EGFR 在 PTC 组织中表达上调,Survivin、VEGF 与 PTC 的淋巴结转移有关,Survivin 和 EGFR 在 PTC 的发生、发展过程中可能存在着协同作用。

关键词:甲状腺乳头状癌;存活素;血管内皮生长因子;表皮生长因子受体

中图分类号:R736.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)16-3111-03

Expressions and Clinical Significances of Survivin, VEGF and EGFR in the Papillary Thyroid Carcinoma*

ZHU Wei-bo¹, ZHUANG Li-juan¹, ZHU Hong-fen², DUAN Hui-ying¹, SONG Qiu-ling¹, DAI Jiao¹

(1 Qujing Medical College, Qujing, Yunnan, 655000, China; 2 Qujing First People's Hospital, Yunnan, Qujing, 655000, China)

ABSTRACT Objective: To study the expressions and clinical significances of survivin, vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor(EGFR) in papillary carcinoma of thyroid (PTC). **Methods:** 100 patients with PTC who were treated in our hospital from April 2013 to April 2016 were selected as the research objects and another 100 cases with normal thyroid tissues adjacent to cancer were selected as the control group. Then the expressions of EGFR, VEGF and survivin and their correlation with the pathological characteristics were analyzed. **Results:** The positive expressions of survivin, VEGF and EGFR in PTC tissues were higher than those of the normal thyroid tissues ($P<0.05$). The positive rates of VEGF and survivin in lymph node metastasis were higher than those of patients without lymph node metastasis ($P<0.05$). The positive expression of EGFR in female patients was higher than that of male's ($P<0.05$). There was no significant correlation between VEGF, Survivin and EGFR ($P>0.05$), and there was correlation between survivin and EGFR ($P<0.05$). **Conclusion:** In the occurrence and development of PTC, the expressions of survivin might be related to lymph node metastasis, and there might be a synergistic effect between survivin and EGFR, providing preliminary experimental evidence for targeted drug action in the treatment of PTC.

Key words: Papillary thyroid carcinoma; Survivin; Vascular endothelial growth factor; Epidermal growth factor receptor

Chinese Library Classification(CLC): R736.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)16-3111-03

前言

甲状腺癌是内分泌系统较为常见的恶性肿瘤,且在近 20 年内已成为发病率增长速度最快的实体恶性肿瘤^[1,2]。甲状腺癌中最常见的组织学类型属甲状腺乳头状癌(PTC),在临床上主要采取手术、放疗、化疗,但效果并不显著,尤其对于晚期难治的 PTC 患者而言^[3]。近年来,分子靶向药物已成为肿瘤治疗的一大热点,具有疗效可靠、特异性强、损伤小等特点,在甲状腺癌疾病的治疗中具有广阔的前景。血管内皮生长因子(VEGF)是肿瘤新生血管相关靶点,表皮生长因子受体(EGFR)是蛋白酪

氨酸激酶抑制剂作用的重要靶点,存活素(Survivin)的表达的组织差异性特点在近年来也成为恶性肿瘤的治疗和诊断中的一个新靶点^[4,5]。因此,本研究就甲状腺乳头状癌中 Survivin、VEGF、EGFR 的表达及临床意义进行了分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2013 年 4 月~2016 年 4 月在我院行手术治疗的 100 例 PTC 标本组织,并选择同期癌旁正常甲状腺组织 100 例。PTC 组患者男 19 例,女 81 例,年龄 32~73 岁,平均(53.54±

* 基金项目:云南省自然科学基金项目(2004FZ123)

作者简介:朱卫波(1983-),男,本科,讲师,研究方向:医学检验教学,电话:13408703260

(收稿日期:2016-11-16 接受日期:2016-11-30)

3.12)岁;癌旁正常组男 20 例,女 80 例,34~74 岁,平均(53.21±3.16)岁。

1.2 试剂

即用型 Survivin 鼠抗人单克隆抗体,克隆号为 EP119;即用型 EGFR 兔抗人单克隆抗体,克隆号为 EP22;即用型 VEGF 鼠抗人单克隆抗体:克隆号为 SPM225;均购自上海新磊科技有限公司。浓缩型 DAB 试剂盒、PV-6000 二步法免疫组化试剂盒购于北京中杉金桥生物科技有限公司。

1.3 方法

所有标本均通过 10%中性福尔马林溶液进行固定,常规组织处理,并石蜡包埋,进行 4μm 切片,常规使用苏木精-伊红(HE)染色。Survivin、VEGF、EGFR 蛋白的表达使用免疫组化 Envision 两步法,操作方式按照试剂盒说明书,阳性对照使用已知阳性切片 Survivin、VEGF、EGFR、PBS 代替一抗为阴性对象。

1.4 判定标准

Survivin 判定标准:细胞核出现棕黄色着色则判定为阳性细胞,阳性细胞数量≥10%则为阳性,反之则人阴性。VEGF、EGFR 判定标准:VEGF 阳性在细胞质处定位,部分有细胞核着

色伴随;EGFR 阳性在细胞膜处定位,均显示为棕黄色颗粒。通过染色阳性细胞进行计分,共 5 级:0 分为≤5%,1 分为 6%~25%,2 分为 26%~50%,3 分为 51%~75%,4 分为>75%;染色强度计分共 4 级:无色记 0 分,淡黄色记 1 分,棕黄色记 2 分,棕褐色记 3 分;两计分数相乘,(-)表示 0 分,(+)为 1~4 分,(2+)为 5~8 分,(3+)为 9~12 分。

1.5 统计学分析

数据用 spss18.0 软件包进行处理,使用 χ^2 检验和 Fisher 精确概率法以及 Spearman 等级相关分析, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PTC 以及癌旁正常甲状腺组织中 Survivin、VEGF、EGFR 的表达

在 100 例 PTC 患者中,Survivin、VEGF、EGFR 阳性表达率分别为 59.00%、76.00%、85.00%,而在癌旁正常甲状腺组织中均无表达,PTC 组织中 Survivin、VEGF、EGFR 的表达显著高于癌旁正常甲状腺组织,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 PTC 以及癌旁正常甲状腺组织中 Survivin、VEGF、EGFR 的表达

Table 1 Expressions of survivin, VEGF and EGFR in PTC and normal thyroid tissue adjacent to carcinoma

Items	n	Survivin		Positive	VEGF				positive	EGFR				Positive rate(%)
		-	+	rate(%)	-	+	2+	3+	rate(%)	-	+	2+	3+	
PTC	100	41	59	59.00	24	67	7	2	76.00	15	44	22	19	85.00
Normal adjacent	100	100	0	0.000	100	0	0	0	0.00	100	0	0	0	0.00
P value				0.000					0.000					0.000

2.2 Survivin、VEGF、EGFR 的表达与 PTC 患者临床病理特征的相关性

在淋巴结转移 PTC 患者中,survivin、VEGF 的阳性表达率高于无淋巴结转移的 PTC 患者($P<0.05$),survivin、VEGF 的表达与 PTC 患者的性别、年龄、肿瘤直径均无显著相关性($P>$

0.05);VEGF 的表达与 PTC 患者的性别、年龄、淋巴结转移、肿瘤直径均无显著相关性($P>0.05$);女性 PTC 患者 EGFR 的阳性表达率显著高于男性($P<0.05$),EGFR 的表达与 PTC 患者的年龄、淋巴结转移、肿瘤直径均无显著相关性($P>0.05$),见表 2。

表 2 Survivin、VEGF、EGFR 的表达与 PTC 患者临床病理特征的相关性【例(%)】

Table 2 Correlation of survivin, VEGF and EGFR expressions with the clinico pathological characteristics of PCT patients[n(%)]

Pathological parameters		n	VEGF					
			Positive rate	P value	Positive rate	P value	Positive rate	P value
Sex	Man	19	8(42.10)	0.096	13(68.42)	0.390	11(57.89)	0.000
	female	81	51(62.96)		63(77.78)		74(91.36)	
Age(years)	<45	62	36(58.06)	0.808	46(74.19)	0.589	52(83.87)	0.686
	≥ 45	38	23(60.52)		30(78.95)		33(86.84)	
Lymphatic metastasis	Yes	31	23(74.19)	0.038	29(93.55)	0.014	27(87.09)	0.435
	No	69	36(52.17)		47(68.11)		58(84.06)	
Tumor diameter(cm)	≤ 1	12	5(41.67)	0.407	8(66.67)	0.317	11(91.67)	0.321
	1~4	63	38(60.32)		51(80.95)		55(87.30)	
	≥ 4	25	16(64.00)		17(68.00)		19(76.00)	

2.3 PTC 组织中 Survivin、VEGF、EGFR 表达的相关性

PTC 组织中, VEGF 和 Survivin、EGFR 的表达均无显著相

关性 ($P>0.05$), Survivin 和 EGFR 的表达存在显著相关性($r=0.235, P<0.05$), 见表 3。

表 3 PTC 组织中 Survivin、VEGF、EGFR 表达的相关性

Table 3 Correlations of survivin, VEGF and EGFR expressions in the PTC tissue

Indexes	VEGF		EGFR	
	r value	P value	r value	P value
Survivin	0.118	0.241	0.235	0.013
VEGF	-	-	0.143	0.713

3 讨论

Survivin 是一种新发现的 IAP 家族成员, 在肿瘤基因的诊治、耐药机制上具有较高的研究价值, 已成为目前肿瘤研究中的一个热点。有研究显示其主要是通过以下两种途径抑制细胞凋亡: ①与细胞周期蛋白激酶 p34cdc2、p34cdk4 相互作用; ②直接抑制 Capase3、Capase7 的活性产生作用^[6,7]。Survivin 在多种恶性肿瘤中均有表达, 例如喉鳞状细胞癌、乳腺癌等, 并且和肿瘤的恶性程度、预后之间具有密切的关系^[8,9]。本次研究结果显示 PTC 患者的 Survivin 阳性率表达为 59.00%, 比癌旁正常甲状腺组织高, 提示 Survivin 可能参与 PTC 的发生发展, 并且在淋巴结转移 PTC 患者中, survivin 的阳性表达率高于无淋巴结转移的 PTC 患者, 提示高表达的 Survivin 可能还与 PTC 患者的预后密切相关。

VEGF 在是一种重要的促血管生长因子, 也是十分强力的血管生成诱发剂, 可通过旁分泌功能对血管内皮细胞的增殖和迁移产生刺激作用, 促进肿瘤新生血管的生成^[10,11]。有研究显示 VEGF 在多种人类肿瘤组织中均呈现着高表达, 包括甲状腺癌, VEGF 和甲状腺肿瘤的生长、转移、浸润等生物学行为密切相关, VEGF 的表达水平越高, 肿瘤的恶性程度也越高^[12,13]。本次研究结果显示: PTC 组织 VEGF 的阳性表达率为 76.00%, 明显高于癌旁正常甲状腺组织, 且在淋巴结转移 PTC 组织中, VEGF 的阳性表达率高达 93.55%, 比无淋巴结转移者显著升高, 提示 VEGF 和 PTC 的发生、发展、淋巴结转移存在着相关性。

EGFR 为原癌基因 C-crB-1 的表达产物^[14,15]。在正常情况, 其作为具有酪氨酸激酶活性的膜受体和其配体相互结合后, 对细胞的增殖、转移、分化、粘附起着调控作用^[16,17]。临床研究显示甲状腺癌未分化癌、髓样癌、滤泡癌中 EGFR 均呈现着高表达^[18,19]。本研究结果显示在 PTC 组织中 EGFR 的阳性表达率为 85.00%, 显著高于癌旁正常甲状腺组织, 提示 EGFR 在 PTC 的发生发展中发挥着重要作用, 并且女性 PTC 组织中 EGFR 阳性表达率比男性患者高, 可能是由于女性 PTC 患者的雌激素水平较高, EGFR 和雌激素之间发生相互作用所致^[20]。

此外, PTC 组织中 Survivin 和 EGFR 的表达存在着显著正相关性, 提示二者在 PTC 患者的增殖、浸润、转移过程中可能有协同作用, 但其相互作用的机制还需要进一步探讨。本研究未发现 PTC 组织中 Survivin、VEGF、EGFR 三者表达的相关性, 可能是与样本量小、实验方法及蛋白的表达和其本身的构象高度具有不稳定性有关。今后可进一步从 DNA 水平对 PTC

组织中 Survivin、VEGF、EGFR 之间的表达进行探讨。

综上所述, Survivin、VEGF、EGFR 在 PTC 组织中表达上调, Survivin、VEGF 与 PTC 的淋巴结转移有关, Survivin 和 EGFR 在 PTC 的发生、发展过程中可能存在着协同作用。

参考文献(References)

- [1] Xue N, Xu Y, Huang P, et al. Shear wave elastography diagnosis of the diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma: A case report[J]. Mol Clin Oncol, 2016, 5(2): 333-336
- [2] Shang PZ, Liu Y, Nan RL. Diagnosis and treatment of papillary thyroid carcinoma [J]. Chinese Journal of Current Advances in General Surgery, 2015, 18(10): 833-836
- [3] Lee HS, Chai YJ, Kim SJ, et al. Influence of body habitus on the surgical outcomes of bilateral axillo-breast approach robotic thyroidectomy in papillary thyroid carcinoma patients [J]. Ann Surg Treat Res, 2016, 91(1): 1-7
- [4] Zhang HW, Han XC, Hu YJ, et al. Advances in molecular marker of prognosis of thyroid carcinoma[J]. The Journal of Practical Medicine, 2015, 31(12): 2061-2062
- [5] Gong L, Chen P, Liu X, et al. Expressions of D2-40, CK19, galectin-3, VEGF and EGFR in papillary thyroid carcinoma [J]. Gland Surg, 2012, 1(1): 25-32
- [6] Han P, Liu NQ. Research status of the relationship between EGFR and Survivin in thyroid tumor [J]. Hebei Medical Journal, 2015, 37(5): 721-724
- [7] Li JY, Shi J, Sang JF, et al. Role of survivin in the pathogenesis of papillary thyroid carcinoma[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(4): 15102-15111
- [8] Zhang D, Ma R, Lin CY. Expression and Significance of Survivin in Patients with Thyroid Carcinoma: a Meta-analysis [J]. Medical Recapitulate, 2016, 22(10): 1973-1977+1980
- [9] Selemetjev S, Dencic TI, Marecko I, et al. Evaluation of survivin expression and its prognostic value in papillary thyroid carcinoma[J]. Pathol Res Pract, 2014, 210(1): 30-34
- [10] Zhang M, Zhu JQ, Wei T. Research on BRAF Gene, Expression of VEGF-C, and clinicopathologic factors for central lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma[J]. Chinese Journal of Bases and Clinics in General Surgery, 2015, 22(07): 788-794
- [11] Peng XG, Chen ZF, Zhang KJ, et al. VEGF Trapson inhibits tumor growth in papillary thyroid carcinoma [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2015, 19(2): 235-240

- [9] 胡荣芳,刘力戈,李芙蓉,等.卡托普利与坎地沙坦对老年糖尿病肾病患者肾功能的影响[J].现代生物医学进展, 2016, 16(12): 2278-2280
Hu Rong-fang, Liu Li-ge, Li Fu-rong, et al. Effects of Captopril and Candesartan on the Renal Function of Elderly Patients with Diabetic Nephropathy [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16(12): 2278-2280
- [10] Hadjadj S, Cariou B, Fumeron F, et al. Death, end-stage renal disease and renal function decline in patients with diabetic nephropathy in French cohorts of type 1 and type 2 diabetes [J]. Diabetologia, 2016, 59(1): 208-216
- [11] John S. Complication in diabetic nephropathy [J].Diabetes Metab Syndr, 2016, 10(4): 247-249
- [12] Kishore L, Kaur N, Singh R. Renoprotective effect of Bacopa monnieri via inhibition of advanced glycation end products and oxidative stress in STZ-nicotinamide-induced diabetic nephropathy [J]. Ren Fail, 2016, 38(9): 1528-1544
- [13] Sadighi A, Safa J, Vatankhah AM, et al .Short-term effects of lovastatin therapy on proteinuria of type 2-diabetic nephropathy: A clinical trial study[J]. Niger Med J, 2016, 57(5): 253-259
- [14] Kara H, Ozer A, Arpacı H, et al. Effect of alprostadil on erythrocyte deformability in ischemia reperfusion injury [J]. Bratisl Lek Listy, 2015, 116(8): 509-511
- [15] Xie J, Liu JH, Liu H, et al. Tanshinone IIA combined with adriamycin inhibited malignant biological behaviors of NSCLC A549 cell line in a synergistic way[J]. BMC Cancer, 2016, 16(1): 899
- [16] Luo C, Li T, Zhang C, et al. Therapeutic effect of alprostadil in diabetic nephropathy: possible roles of angiotensin-2 and IL-18[J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 34(3): 916-928
- [17] Ye Z, Lu H, Guo W, et al. The effect of alprostadil on preventing contrast-induced nephropathy for percutaneous coronary intervention in diabetic patients: A systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(46): e5306
- [18] Xu YM, Ding GH, Huang J, et al. Tanshinone IIA pretreatment attenuates ischemia/reperfusion-induced renal injury [J]. Exp Ther Med, 2016, 12(4): 2741-2746
- [19] Hao W, Chen L, Wu LF, et al. Tanshinone IIA exerts an antinociceptive effect in rats with cancer-induced bone pain [J]. Pain Physician, 2016, 19(7): 465-476
- [20] Chen D, Lin XX, Huang WH, et al. Sodium tanshinone IIA sulfonate and its interactions with human CYP450s [J]. Xenobiotica, 2016, 46(12): 1085-1092

(上接第 3113 页)

- [12] Tomas DA. Retraction Note to: Relationship between VEGF protein expression and lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma among Asians: a meta-analysis[J]. Tumour Biol, 2015, 36(9): 7305
- [13] Song RB, Dong Y, Zhang J, et al. Expression and role of VEGF - C and PTEN Protein in human papillary thyroid carcinoma [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2014, 23(18): 1962-1963+1966
- [14] Chen D, Qi W, Zhang P, et al. Expression of the estrogen receptor α , progesterone receptor and epidermal growth factor receptor in papillary thyroid carcinoma tissues [J]. Oncol Lett, 2015, 10(1): 317-320
- [15] Ko R, Kenmotsu H, Serizawa M, Koh Y, et al. Frequency of EGFR T790M mutation and multimutational profiles of rebiopsy samples from non-small cell lung cancer developing acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in Japanese patients [J]. BMC Cancer, 2016, 16(1): 864
- [16] Tang C, Yang L, Wang N, et al. Expression and significance of GPER1, EGFR and CXCR1 in papillary thyroid carcinoma[J]. Journal of third military medical university, 2014, 36(12): 1317-1321
- [17] Solomon MC, Vidyasagar MS, Fernandes D, et al.The prognostic implication of the expression of EGFR, p53, cyclin D1, Bcl-2 and p16 in primary locally advanced oral squamous cell carcinoma cases: a tissue microarray study[J]. Med Oncol, 2016, 33(12): 138
- [18] Winther-Larsen A, Fledelius J, Demuth C, et al. Early Change in FDG-PET Signal and Plasma Cell-Free DNA Level Predicts Erlotinib Response in EGFR Wild-Type NSCLC Patients [J]. Transl Oncol, 2016, 9(6): 505-511
- [19] Xu X, Mao L, Xu W, et al. AC0010, an Irreversible EGFR Inhibitor Selectively Targeting Mutated EGFR and Overcoming T790M-Induced Resistance in Animal Models and Lung Cancer Patients[J]. Mol Cancer Ther, 2016, 15(11): 2586-2597
- [20] Ruano-Ravina A, Torres-Durán M, Kelsey KT, et al. Residential radon, EGFR mutations and ALK alterations in never-smoking lung cancer cases[J]. Eur Respir J, 2016, 48(5): 1462-1470