

肿瘤相关成纤维细胞在垂体腺瘤侵袭性行为中的作用研究*

钟传洪^{1,2}, 陶蓓¹, 吴瑶², 彭里磊¹, 周培志², 陈礼刚¹, 姜曙^{2△}

1. 泸州医学院附属医院 神经外科 (泸州 646000); 2. 四川大学华西医院 神经外科 (成都 610041)

【摘要】 目的 初步研究肿瘤相关成纤维细胞在垂体腺瘤侵袭性行为中的作用。方法 依据术前磁共振(MRI)检查和术中观察,收集典型侵袭性(IPA组, $n=7$)和非侵袭性(nIPA组, $n=8$)垂体腺瘤新鲜组织,进行原代培养肿瘤相关成纤维细胞,并用肌动蛋白 α (α -SMA)染色鉴定;利用Transwell迁移和侵袭性试验比较两组细胞的迁移和侵袭能力,并用免疫细胞化学、Western blot比较两组肿瘤相关成纤维细胞 α -SMA、基质金属蛋白酶(MMP)-9的表达差异。结果 新鲜垂体腺瘤组织中培养出 α -SMA阳性的肿瘤相关成纤维细胞,两组细胞的迁移能力无明显差异,侵袭能力IPA组强于nIPA组($P=0.010$);IPA组细胞MMP-9表达高于nIPA组($P=0.025$), α -SMA的表达在两组之间差异无统计学意义。结论 肿瘤相关成纤维细胞可能通过分泌更多的MMP-9增强自身侵袭能力,为肿瘤细胞侵袭周围组织提供条件。

【关键词】 肿瘤相关成纤维细胞 垂体腺瘤 侵袭性 MMP-9

The Role of Cancer-associated Fibroblasts in Invasive Behavior of Pituitary Adenoma ZHONG Chuan-hong^{1,2}, TAO Bei¹, WU Yao², PENG Li-lei¹, ZHOU Pei-zhi², CHEN Li-gang¹, JIANG Shu^{2△}. 1. Department of Neurosurgery, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China; 2. Department of Neurosurgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: jiangshu2000@126.com

【Abstract】 **Objective** To determine the role of cancer associated fibroblasts (CAFs) in the invasive behavior of pituitary adenoma. **Methods** Pituitary adenoma tissues were divided into invasive group (IPA) and non-invasive group (nIPA) according to pre-operative MRI and observations during surgery. Those tissues were cultured and CAFs were identified through α smooth muscle actin (α -SMA). The migratory and invasive ability of CAFs was tested with transwell migration and invasion assay. The expressions of α -SMA and matrix metalloproteinase (MMP)-9 from CAFs were determined by immunocytochemistry and Western blot. **Results** All cultured CAFs expressed α -SMA. No significant difference in migratory ability of CAFs was found between the IPA and nIPA tissues; however, CAFs from the IPA tissues had stronger invasive ability than those from the nIPA tissues ($P=0.010$). Higher levels of MMP-9 expression were found in group IPA as compared with nIPA ($P=0.025$). No significant difference in the expression of α -SMA was found between the two groups. **Conclusion** CAFs may promote invasive behavior by secreting more MMP-9, which may play a part in the invasive behavior of pituitary adenomas.

【Key words】 Cancer-associated fibroblasts Pituitary adenomas Invasion MMP-9

垂体腺瘤是颅内最常见肿瘤之一,影响到全世界约0.1%的人口。垂体腺瘤虽然绝大多数为良性,但约有30%~45%表现出侵袭性生长行为,导致手术困难和术后复发,因此,侵袭性垂体腺瘤一直是神经外科治疗的难点^[1]。对侵袭性垂体腺瘤的基础研究目前主要集中在肿瘤细胞本身,如肿瘤细胞基因的突变(如PTTG、P53、P27等)^[2]、表观遗传学的改变(如DNA的甲基化、组蛋白修饰等)^[3]、染色体改变、部分蛋白表达异常[如Ki-67、基质金属

蛋白酶(MMPs)家族等]^[4,5],但对肿瘤微环境,特别是微环境中的细胞成分与垂体腺瘤侵袭性的关系还鲜有报道。在肿瘤微环境中,肿瘤相关成纤维细胞(CAF)是数量最多、功能最重要的细胞之一,在肿瘤生长与侵袭中发挥重要作用^[6]。本研究以CAF为研究对象,从肿瘤微环境的角度研究影响垂体腺瘤侵袭性行为的相关因素。

1 材料与方法

1.1 垂体腺瘤组织及分组

纳入经蝶手术治疗的无功能垂体腺瘤组织标本共15例,分为两组。侵袭性腺瘤(IPA)组:术前增强磁共振(MRI)检查示肿瘤直径 >1 cm,Knosp分

* 四川省科技厅科技支撑计划项目(No. 2014SZ0019-9, No. 2015SZ0120)资助

△ 通讯作者, E-mail: jiangshu2000@126.com

级3~4级^[7]或Hardy-Wilson分级E级^[8]以及侵犯蝶窦,且术中见肿瘤侵犯海绵窦、蝶窦及蝶骨等;非侵袭性垂体腺瘤(nIPA)组:术前增强MRI示肿瘤直径>1 cm,Knosp分级0~1级,且术中未见肿

瘤侵犯海绵窦、蝶窦及蝶骨等。单纯因肿瘤体积增大向鞍上生长,且符合nIPA组纳入标准的,纳入nIPA组。见图1。

1.2 主要试剂及仪器

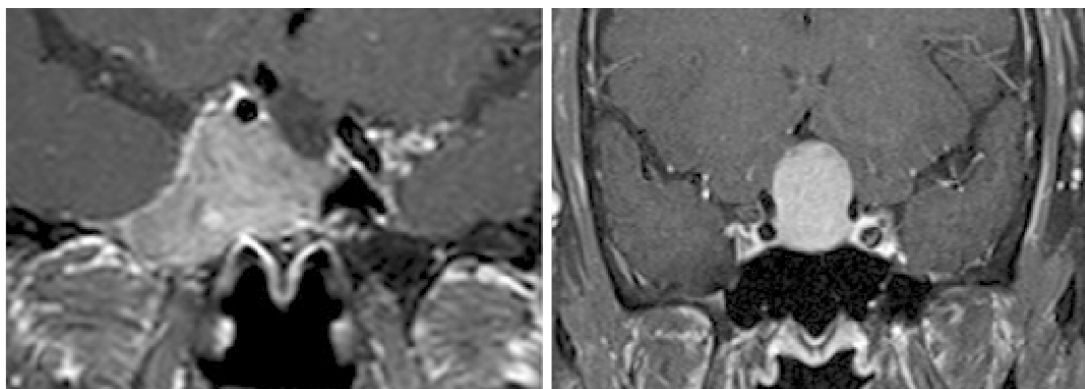


图1 IPA组(左)与nIPA组(右)术前MRI。均为大腺瘤,IPA组侵犯右侧海绵窦与蝶窦,nIPA组虽突向第三脑室,但边界清楚,未侵犯海绵窦、蝶窦等

Fig 1 Pre-surgery MRI images of IPA group (left) and nIPA tissues (right). Both are macroadenomas, with IPA tumors invading cavernous sinus

DMEM/F12培养基(Hyclone公司,Cat.No. SH30023.01B)、胎牛血清(BSA,Hyclone公司,Cat.No. SV30087.01)、抗肌动蛋白 α (α -SMA)(Gene Tex公司,Cat.No. GTX100095)、抗MMP-9(ABZOOM公司,Cat.No. # AM3360)、Matrigel(美国BD公司,Cat.No. 356234)、RIPA组织细胞快速裂解液(上海基尔顿生物,Cat.No. BYL40825)、NC膜(millipore,Cat.No. HATF00010)、Transwell小室(8.0 μ m,millicell)、Ti-u型荧光倒置显微镜(日本Nikon)、Ti-u型荧光正置显微镜(日本Nikon)、生物安全柜、超净工作台(美国Thermo)、电泳仪(BIO-RAD,mini protean 3 cell)。

1.3 CAF的原代培养及纯化传代

取两组新鲜垂体腺瘤组织切下后,立即放入装有解剖缓冲液的冻存管中,半小时内转送到实验室,剪碎,胰酶消化,离心进行培养。在培养的第7~14 d内,每2~3 d将培养基倒掉,贴壁细胞保留,当细胞贴壁生长至较高密度时,对细胞进行传代。因培养条件及细胞生长方式的不同,肿瘤细胞逐渐减少,CAF贴壁生长,经几次传代后,CAF富集,免疫组化染色鉴定CAF。取第2~3代细胞进行后续试验。

1.4 免疫细胞化学染色鉴定CAF

α -SMA被认为是CAF的标志性蛋白^[6]。采用SABC法检测 α -SMA的表达,以鉴定CAF。取盖玻片浸泡于酒精中过夜,取出晾干后置于6孔板内,

接种CAF,待CAF贴附在盖玻片上,取出盖玻片,迅速置入冷丙酮固定20~30 min,洗去丙酮,0.1% triton X-100打孔,正常血清封闭后,滴加抗 α -SMA(1:300)37 $^{\circ}$ C孵育2 h,PBS洗净并滴加生物素化的二抗(生物素化与抗 α -SMA结合的IgG,不稀释),37 $^{\circ}$ C孵育40 min后滴加三抗(SAB复合物),37 $^{\circ}$ C孵育40 min,DAB显色,苏木素复染,梯度酒精脱水并封片,显微镜下观察。对两组细胞胞质分别进行免疫组化强度评分及比较:无色为0分(阴性),淡黄色为1分(弱阳性),棕黄色为2分(中等阳性),棕褐色为3分(强阳性)。

1.5 Transwell迁移及侵袭性试验

把Transwell小室放入24孔板小孔中,吸取Matrigel基质胶至Transwell小室内,涂匀,放入细胞培养箱中静置30 min;向24孔板小孔内加入600 μ L含20%胎牛血清的DMEM/F12培养基;用无血清DMEM/F12培养基重悬细胞,密度约 1×10^4 /mL;每个小室内加入100 μ L细胞悬液,培养24 h;取出Transwell小室,擦掉上室面未迁移的细胞后用吉姆萨染液固定、染色。观察拍照下室面的细胞,每个标本取随机视野3个($\times 400$),计细胞数后取平均值;将Transwell小室膜切下,中性树胶封片保存。铺Matrigel基质胶为侵袭性试验,未铺胶为迁移试验。除铺胶步骤不同外,两种实验的步骤和测量目标均相同。

1.6 Western blot

用 RIPA 缓冲液裂解 CAF 提取细胞总蛋白并测定浓度,使用 15% 分离胶,110 V,电泳 2.5 h,半干法转膜(恒电流 100 mA,1 h),5% BSA 室温摇床封闭 2 h,抗 α -SMA 和抗 MMP-9 按 1:1 000 稀释后与膜一起 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。洗去未结合一抗,使用稀释比例 1:10 000 的辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2~3 h。洗去二抗,显色,测量灰度值。GAPDH 为内参照。以目的蛋白与内参灰度值的比值为相对表达量。

1.7 统计学方法

方差齐的连续变量使用两独立样本的 *t* 检验,方差不齐用两独立样本的秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 垂体 CAF 的培养及鉴定结果

共收集标本 15 例,其中 IPA 组 7 例,nIPA 组 8 例,患者性别、年龄及肿瘤大小差异无统计学意义。原代培养的 CAF 形态多样,呈纺锤形、梭形或星形,部分可见细胞突起,胞体纤细,胞质内可见大量颗粒物,细胞核大, α -SMA 染色阳性(图 2),说明该细胞为 CAF。

2.2 Transwell 迁移及侵袭性试验结果

见图 3。Transwell 迁移试验 IPA 组与 nIPA 组细胞均能大量穿过小孔,两组穿过小孔的细胞数无明显差异,IPA 组 $(145.2 \pm 5.8)/HP$,nIPA 组 $(145.0 \pm 5.8)/HP$ (*t* 检验, $P = 0.973$)。Transwell 侵袭性试验两组穿过小孔的细胞数目明显少于迁移试验($P < 0.001$),IPA 组穿过小孔的细胞数 $[(15.43 \pm 3.90)/HP]$ 多于 nIPA 组 $[(1.29 \pm 0.90)/HP]$ (秩和检验, $P = 0.010$)(图 4)。两组细胞移动迁移能力相当,但 IPA 组侵袭能力更强。

2.3 两组细胞 α -SMA 及 MMP-9 表达水平比较

见图 5~图 8。免疫细胞化学显示 IPA 组与 nIPA 组均中等阳性或强阳性表达 α -SMA,两组间差异无统计学意义($P = 0.327$)。Western blot 同样示两组间 α -SMA 表达差异无统计学意义($P = 0.639$),IPA 组 (1.08 ± 0.08) ,nIPA 组 (1.16 ± 0.12) 。免疫细胞化学示 IPA 组绝大多数细胞表达 MMP-9 呈中等阳性或强阳性,nIPA 组绝大多数细胞呈弱阳性或中等阳性,IPA 组表达 MMP-9 强于 nIPA 组($P = 0.019$)。Western blot 同样示 IPA 组 (1.52 ± 0.26) 表达 MMP-9 强于 nIPA 组 (0.88 ± 0.07) ,差异有统计学意义($P = 0.025$)。

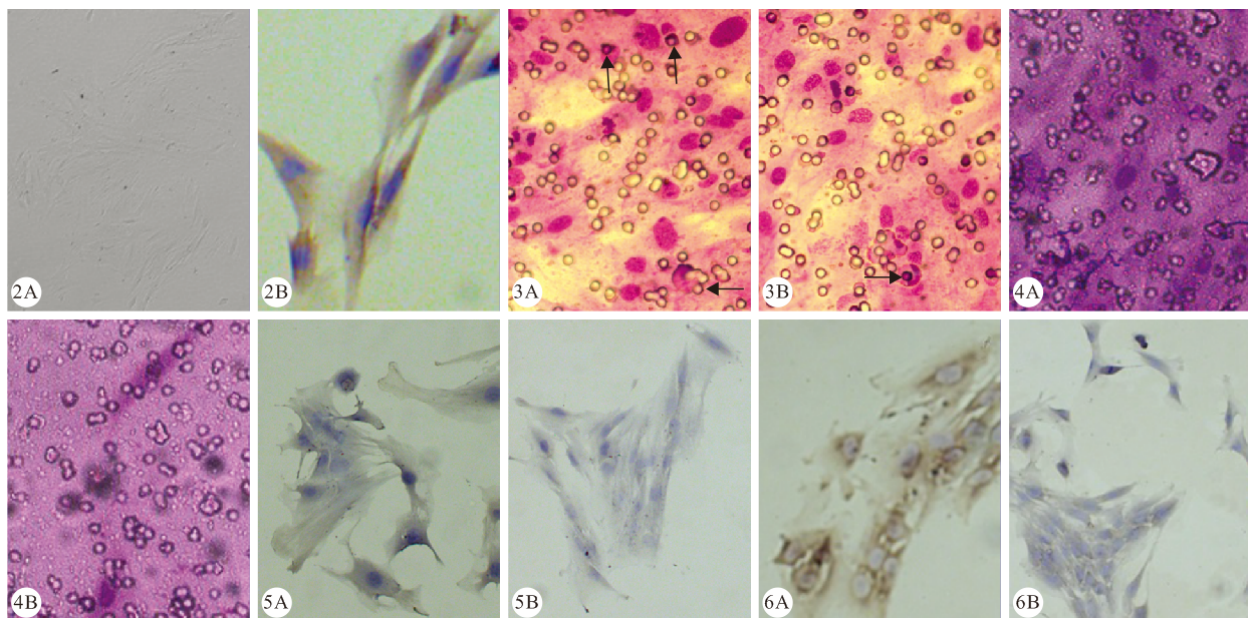


图 2 原代培养 CAF 光镜下(A, $\times 100$)及 α -SMA 免疫组化染色(B, $\times 400$) 图 3 Transwell 迁移试验。可见两组均有大量细胞穿过小孔,箭头所示为正在穿过小孔的细胞。吉姆萨染色 $\times 400$ 图 4 Transwell 侵袭性试验。吉姆萨染色 $\times 400$ 图 5 免疫细胞化学染色检测 α -SMA 的表达水平。SABC $\times 400$ 图 6 免疫细胞化学染色检测 MMP-9 的表达水平。SABC $\times 400$

Fig 2 CAF under microscope (A, $\times 100$) and immunocytochemistry for α -SMA (B, $\times 400$) Fig 3 Transwell migration tests. Arrows show the cells which are migrating through holes. Giemsa $\times 400$ Fig 4 Transwell invasive tests. Giemsa $\times 400$ Fig 5 Immunocytochemistry for α -SMA expression. SABC $\times 400$ Fig 6 Immunocytochemistry for MMP-9 expression. SABC $\times 400$

3A, 4A, 5A, 6A: IPA group; 3B, 4B, 5B, 6B: nIPA group

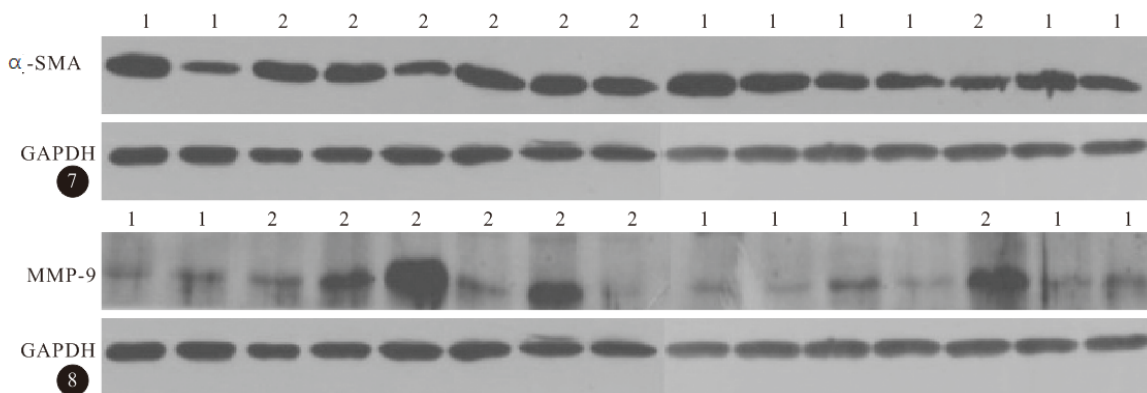


图 7 Western blot 检测 α -SMA 的表达水平

Fig 7 Western blot for α -SMA expression

1: nIPA group; 2: IPA group

图 8 Western blot 检测 MMP-9 的表达水平

Fig 8 Western blot for MMP-9 expression

3 讨论

肿瘤细胞生长的环境即肿瘤微环境,包括细胞外基质(ECM)、除肿瘤细胞以外的其他各种细胞成分以及他们分泌的各种因子,与肿瘤细胞相互作用,为肿瘤细胞的进展提供适宜的条件。肿瘤微环境对肿瘤的发生、生长、侵袭以及远处转移是最近研究的热点,但绝大多数研究都集中在恶性肿瘤^[9, 10]。垂体腺瘤虽然几乎全是良性,但部分肿瘤表现出局部侵袭的行为,即使没有远处转移,也给治疗带来相当的困难。目前认为在肿瘤微环境中有多种因子参与了垂体腺瘤的侵袭性行为。如 VEGF 及其受体 VEGFR-1、VEGFR-2, 半乳凝素-3 (LGALS3), CXCL12, CXCR4, 成纤维细胞生长因子(FGF)及其受体(FGFR)、MMPs 等^[11-14]。虽然对肿瘤相关巨噬细胞(TAM)、CAF 在各种恶性肿瘤中的研究很多,也有不少新的发现,但对于垂体腺瘤,其微环境中的细胞成分的相关研究还鲜见报道^[15-17]。

在正常组织中有大量静息的成纤维细胞,他们在组织受到创伤时被激活,表达 α -SMA,称为肌成纤维细胞。肌成纤维细胞分泌大量物质构成 ECM,参与创伤的愈合;当创伤愈合后,绝大多数肌成纤维细胞凋亡,少量重归为静息状态^[18]。但在肿瘤组织中,成纤维细胞、脂肪细胞、肿瘤细胞、间充质干细胞等在转化生长因子- β (TGF- β)等因子的作用下,可以表达 α -SMA,转变为 CAF,并在肿瘤组织中长期存在,而 α -SMA 则被认为是 CAF 的标志性蛋白^[6]。研究认为 CAF 能分泌各种因子如成纤维细胞特异性蛋白 1(FSP1)、TGF- β 、胰岛素样生长因子(IGF-1)、表皮生长因子(EGF)等增强肿瘤细胞的侵袭能力^[19],分泌 MMPs 及其抑制物,参与 ECM 的重

塑^[20],并能募集肿瘤微环境中的其他细胞,如 TAM 和各种免疫细胞,增强肿瘤相关炎症反应,促进肿瘤血管的生成^[6, 21, 22]。本次研究对象是垂体腺瘤微环境中的 CAF,首先证明了在良性肿瘤垂体腺瘤中一样存在表达 α -SMA 的 CAF,并发现侵袭性垂体腺瘤中的 CAF 更具侵袭性,可能与其高表达 MMP-9 蛋白有关。

MMPs 家族是一组单链含锌的蛋白酶,在肿瘤组织中参与调节 ECM,可由多种细胞分泌产生,如肿瘤细胞、CAF 等。在肿瘤或正常组织中,MMPs 可以分解 ECM 中的胶原、层粘连蛋白、玻璃粘连蛋白、纤维结合蛋白以及蛋白聚糖^[4, 23]。而在多种肿瘤中,MMPs 的表达常常升高,重塑 ECM,促进肿瘤的转移^[24, 25]。在垂体腺瘤组织中,侵袭性垂体腺瘤中 MMP-9 的表达高于非侵袭性垂体腺瘤,MMP-9 在垂体腺瘤侵袭周围组织中发挥重要作用^[26, 27]。肿瘤组织中的 MMPs 主要由肿瘤细胞和基质细胞,特别是 CAF 分泌^[4, 28]。本次研究利用侵袭性和非侵袭性垂体腺瘤组织原代培养出的 CAF 检测其 MMP-9 的分泌,发现来自侵袭性组的 CAF 表达 MMP-9 明显较非侵袭性组高,说明垂体腺瘤组织中 MMP-9 量的差异可能来自 CAF 分泌的 MMP-9 量的差异。本研究还发现侵袭性垂体腺瘤组织来源的 CAF 的侵袭性较非侵袭性垂体腺瘤组织来源的 CAF 强,也可能与其分泌更多的 MMP-9 有关。肿瘤微环境中的 CAF 对肿瘤的影响是多方面的,从肿瘤发生、生长、侵袭到远处转移并种植生长都发挥重要作用^[29]。CAF 通过自身的移动和分泌的 MMPs 参与肿瘤转移最初的阶段,如肿瘤转移前微生态的形成,转移微通道的构建就涉及 CAF 首先浸润到 ECM 中分泌 MMPs 重塑 ECM,并随肿

瘤细胞的移动而移动^[15, 30], 说明 CAF 自身对周围组织浸润能力的强弱也会影响肿瘤的侵袭。因此, 侵袭性垂体腺瘤中 CAF 分泌的 MMP-9, 通过重塑 ECM 促进肿瘤细胞的侵袭, 也增强 CAF 本身的侵袭性促进肿瘤对周围组织的侵袭。

由于本研究纳入标准较为严格, 导致标本数量较少。部分标本培养所得 CAF 细胞数量较少, 生长较慢, 传代较困难, 能用于 Transwell 试验的细胞数量偏少, 部分标本特别是 nIPA 组内部分标本侵袭性试验未见穿过小孔的细胞, 出现此现象可能有两个原因: 一是细胞本身没有能力溶解基质胶穿过小孔, 二是接种的细胞还不够多。为进一步验证本研究结果, 可扩大样本量, 改进培养条件。

参 考 文 献

- Raverot G, Jouanneau E, Trouillas J. Management of endocrine disease: clinicopathological classification and molecular markers of pituitary tumours for personalized therapeutic strategies. *Eur J Endocrinol*, 2014; 170(4): R121-R132.
- Sanchez-Tejada L, Sanchez-Ortiga R, Moreno-Perez O, *et al.* Pituitary tumor transforming gene and insulin-like growth factor 1 receptor expression and immunohistochemical measurement of Ki-67 as potential prognostic markers of pituitary tumors aggressiveness. *Endocrinol Nutr*, 2013; 60(7): 358-367.
- Ezzat S. Epigenetic control in pituitary tumors. *Endocr J*, 2008; 55(6): 951-957.
- Mete O, Ezzat S, Asa SL. Biomarkers of aggressive pituitary adenomas. *J Mol Endocrinol*, 2012; 49(2): R69-R78.
- Jia W, Sander AJ, Jia G, *et al.* Vascular endothelial growth inhibitor (VEGI) is an independent indicator for invasion in human pituitary adenomas. *Anticancer Res*, 2013; 33(9): 3815-3822.
- Ostman A, Augsten M. Cancer-associated fibroblasts and tumor growth—bystanders turning into key players. *Curr Opin Genet Dev*, 2009; 19(1): 67-73.
- Knosp E, Steiner E, Kitz K, *et al.* Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings. *Neurosurgery*, 1993; 33(4): 610-617.
- Wilson CB. A decade of pituitary microsurgery. The Herbert Olivecrona lecture. *J Neurosurg*, 1984; 61(5): 814-833.
- Catalano V, Turdo A, Di Franco S, *et al.* Tumor and its microenvironment: a synergistic interplay. *Semin Cancer Biol*, 2013; 23(6 Pt B): 522-532.
- Guzman-Medrano R, Arreola-Rosales RL, Shibayama M, *et al.* Tumor-associated macrophages and angiogenesis: a statistical correlation that could reflect a critical relationship in ameloblastoma. *Pathol Res Pract*, 2012; 208(11): 672-676.
- Onofri C, Theodoropoulou M, Losa M, *et al.* Localization of vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors in normal and adenomatous pituitaries: detection of a non-endothelial function of VEGF in pituitary tumours. *J Endocrinol*, 2006; 191(1): 249-261.
- Roldan ML, Marini PE. First evidence of the interaction between deleted in malignant brain tumor 1 and galectin-3 in the mammalian oviduct. *Histochem Cell Biol*, 2014; 141(2): 181-190.
- Radosavljevic G, Jovanovic I, Majstorovic I, *et al.* Deletion of galectin-3 in the host attenuates metastasis of murine melanoma by modulating tumor adhesion and NK cell activity. *Clin Exp Metastasis*, 2011; 28(5): 451-462.
- Kelleher FC, O' Sullivan H, Smyth E, *et al.* Fibroblast growth factor receptors, developmental corruption and malignant disease. *Carcinogenesis*, 2013; 34(10): 2198-2205.
- De Wever O, Van Bockstal M, Mareel M, *et al.* Carcinoma-associated fibroblasts provide operational flexibility in metastasis. *Semin Cancer Biol*, 2014; 25: 33-46. doi: 10.1016/j.semcancer.2013.12.009. Epub 2014 Jan 7.
- Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature*, 2004; 432(7015): 332-337.
- Bello IO, Vered M, Dayan D, *et al.* Cancer-associated fibroblasts, a parameter of the tumor microenvironment, overcomes carcinoma-associated parameters in the prognosis of patients with mobile tongue cancer. *Oral Oncol*, 2011; 47(1): 33-38.
- Bainbridge P. Wound healing and the role of fibroblasts. *J Wound Care*, 2013; 22(8): 407-408.
- Aboussekhra A. Role of cancer-associated fibroblasts in breast cancer development and prognosis. *Int J Dev Biol*, 2011; 55(7-9): 841-849.
- Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2001; 17: 463-516.
- Mueller L, Goumas FA, Affeldt M, *et al.* Stromal fibroblasts in colorectal liver metastases originate from resident fibroblasts and generate an inflammatory microenvironment. *Am J Pathol*, 2007; 171(5): 1608-1618.
- Erez N, Glanz S, Raz Y, *et al.* Cancer associated fibroblasts express pro-inflammatory factors in human breast and ovarian tumors. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013; 437(3): 397-402.
- Mirshafiey A, Asghari B, Ghalamfarsa G, *et al.* The significance of matrix metalloproteinases in the immunopathogenesis and treatment of multiple sclerosis. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 2014; 14(1): e13-e25.
- Gonzalez-Arriaga P, Pascual T, Garcia-Alvarez A, *et al.* Genetic polymorphisms in MMP 2, 9 and 3 genes modify lung cancer risk and survival. *BMC Cancer*, 2012; 12: 121. doi: 10.

- 1186/1471-2407-12-121.
- 25 Repeke CE, Trombone AP, Ferreira SB Jr, *et al.* Strong and persistent microbial and inflammatory stimuli overcome the genetic predisposition to higher matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) expression; a mechanistic explanation for the lack of association of MMP1-1607 single-nucleotide polymorphism genotypes with MMP-1 expression in chronic periodontitis lesions. *J Clin Periodontol*, 2009;36(9):726-738.
- 26 Qiu L, He D, Fan X, *et al.* The expression of interleukin (IL)-17 and IL-17 receptor and MMP-9 in human pituitary adenomas. *Pituitary*, 2011;14(3):266-275.
- 27 Gong J, Zhao Y, Abdel-Fattah R, *et al.* Matrix metalloproteinase-9, a potential biological marker in invasive pituitary adenomas. *Pituitary*, 2008;11(1):37-48.

- 28 Yadav L, Puri N, Rastogi V, *et al.* Matrix metalloproteinases and cancer—roles in threat and therapy. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014;15(3):1085-1091.
- 29 Martinez-Outschoorn UE, Lisanti MP, Sotgia F. Catabolic cancer-associated fibroblasts (CAFs) transfer energy and biomass to anabolic cancer cells, fueling tumor growth. *Semin Cancer Biol*, 2014;25:47-60. doi: 10.1016/j.semcancer.2014.01.005. Epub 2014 Jan 28.
- 30 Friedl P, Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell*, 2011;147(5):992-1009.

(2015-01-10 收稿, 2015-05-20 修回)

编辑 吕 熙

· 个案报告 ·

甲状腺自主高功能性乳头状癌 1 例报告

董 萍, 周惠君, 黄 蕤, 欧晓红, 李 林[△]

四川大学华西医院 核医学科 (成都 610041)

【关键词】 甲状腺 自主高功能 乳头状癌

患者,男,45岁,因“消瘦1⁺年”就诊,1⁺年前患者无明显诱因出现消瘦,无多食易饥、怕热多汗、心悸、呼吸困难等不适。当时行甲状腺功能检查发现:促甲状腺激素(TSH) < 0.005 mU/L(正常参考值 0.27~4.2 mU/L),三碘甲状腺原氨酸(FT3) 22.85 pmol/L(正常参考值 3.6~7.5 pmol/L),四碘甲状腺原氨酸(FT4) 50.0 pmol/L(正常参考值 12.0~22.0 pmol/L),提示甲状腺功能亢进;行甲状腺彩超示“甲状腺左叶中下份查见大小约 24 mm×14 mm×10 mm 减弱回声区,边界不清,形态不规则,内可见数个点状强回声”,考虑为左叶甲状腺癌;行^{99m}TcO₄ 甲状腺显像示“甲状腺左叶中下份见一结节状放射性摄取增高灶,左叶上份及右叶放射性分布均匀性减低”,考虑为甲状腺左叶占位(“热结节”);患者门诊口服抗甲状腺药物(赛治 10 mg qd)治疗 8 月后,复查甲功基本正常遂停药观察。停药半年后,再次复查甲功发现 TSH 0.017 mU/L, FT3 6.29 pmol/L, FT4 20.42 pmol/L;并再次复查甲状腺彩超,示“甲状腺左叶中下份病变较前长大,大小约 30 mm×27 mm×14 mm”;患者甲功基本正常,且甲状腺左叶病变有长大趋势,遂行甲状腺左叶结节超声引导下穿刺活检,病理结果示“甲状腺乳头状癌”。患者手术指征明确,遂于我院行“甲状腺全切+双侧中央区淋巴结清扫术”,术中见:甲状腺左叶中下份见一大小约 20 mm×18 mm×15 mm 的结节,剖视见乳头状增生组织及沙砾样钙化灶。术后病理:甲状腺左叶乳头状癌(大小约 1.5 cm×1.4 cm×1.0 cm),侵及被膜;双侧中央区数枚淋巴结转移。术后服用优甲乐 125 μg qd;根据术后病理结果患者于术后 5 月行¹³¹I 清甲治疗;¹³¹I 治

疗后半年复查甲功、颈部彩超及¹³¹I 诊断剂量全身显像均提示患者清甲成功,目前患者一般情况良好。

讨论 分化型甲状腺癌(DTC)患者很少(0.9%~9%)出现甲亢;大多数功能亢进的 DTC 为甲状腺滤泡状癌(36.4%)和嗜酸性细胞癌(7.8%),而乳头状癌十分罕见(仅报道 8 例);乳头状癌中又以滤泡变异性乳头状腺癌多见。已报道的病例可分为 3 类:癌灶和功能亢进组织(腺瘤或 Graves 病)共存一腺,但在不同位置;癌灶隐匿在高功能腺瘤中;真正功能亢进的癌灶隐匿在高功能腺瘤中的结节要引起重视,尤其青年患者,因为这类结节可能转变成恶性。少数分化较好的 DTC 结节行^{99m}TcO₄ 甲状腺显像呈“热结节”而¹³¹I 显像呈“冷结节”,若甲状腺结节在这两种显像中都表现为“热结节”,那么该结节是恶性的可能性很小。甲状腺“热结节”有 3.1%的可能性是恶性,但是仅根据患者临床表现及相关影像学检查很难判断“热结节”的性质,对于高危、甲状腺彩超声像图怀疑恶性可能的及结节随时间长大的患者,可以选择细针穿刺活检来明确结节性质。据报道功能亢进甲状腺癌比无功能甲状腺癌预后差,所以诊断明确的患者应采取积极的治疗措施(甲亢控制后尽快手术)。

本例患者在就诊前 1⁺ 年出现消瘦,就是因为甲状腺左叶中下份高功能癌灶分泌过量甲状腺激素所致,同时 SPECT 甲状腺显像提示左叶中下份“热结节”,左叶上份及右叶放射性分布均匀性减低(左叶自主高功能结节分泌大量甲状腺激素, TSH 被抑制,正常甲状腺组织摄得功能受到抑制);甲状腺彩超提示低回声结节伴点状钙化,符合甲状腺癌特点;而后经过抗甲状腺药物治疗,停药观察期间甲功基本正常,穿刺活检明确结节性质之后,行甲状腺全切手术,根据术后病理结果行¹³¹I 清除残留甲状腺组织治疗,并行甲状腺激素替代治疗,患者清甲成功,一般情况良好。本例就属于上述分类中的第 3 类——真正功能亢进的癌灶。

(2015-03-11 收稿, 2015-05-28 修回)

编辑 汤 洁

[△] 通讯作者, E-mail: lilinhuaxi@sina.com