

甲状腺乳头状癌伴神经内分泌分化的免疫组化、超微结构及免疫金标记研究

张婷¹, 何松^{2*}, 陈旭东², 陆晓云², 杨书云², 周建云², 张建兵³, 潘红佳⁴, 严桥⁵

(¹湖州师范学院医学院病理教研室, 浙江 湖州 313000; ²南通大学附属肿瘤医院病理科, 江苏 南通 226361; ³浙江大学医学院附属邵逸夫医院病理科, 浙江 杭州 310016; ⁴嘉兴市第二医院病理科, 浙江 嘉兴 314000; ⁵南通大学医学院病理教研室, 江苏 南通 226001)

[摘要] 目的: 探讨甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)的神经内分泌(NE)分化与临床病理形态学特征及预后因素的关系。方法: 手术切除 PTC 103 例, 行 HE 染色后光镜下观察、免疫组织化学染色后光镜及透射电镜检查、免疫金标记后电镜观察 PTC 临床病理形态学、光镜及电镜下 NE 标记(NSE、CgA、Syn)表达及电镜 CgA 标记的致密核心颗粒表达; 分析上述 NE 标记表达与临床病理参数及预后因素的关系。结果: PTC 表达 NSE 64 例(62.14%), 与肿瘤直径呈正相关($P < 0.05$); 表达 CgA 25 例(24.27%), 与肿瘤分化程度呈负相关, 与核内包涵体呈正相关($P < 0.05$); Syn 均呈阴性; NSE 及 CgA 共同表达 23 例(22.33%)。透射电镜 PTC 致密颗粒检出率为 18.2%(12/66); PTC 细胞分化程度、肿瘤直径与 NE 分化有关($P < 0.05$); 免疫金标记电镜观察 CgA 免疫金颗粒 3 例(2.91%)。CgA 定位于 PTC 癌细胞胞浆内的 NE 颗粒边缘呈散在分布。结论: PTC 中 NE 分化细胞可能来源于滤泡上皮细胞; NE 分化与 PTC 瘤体直径、细胞核形态改变及癌细胞分化程度有关, 与预后无关。

[关键词] 甲状腺乳头状癌; 神经内分泌分化; 免疫组织化学; 透射电镜; 免疫金标

[中图分类号] R736.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)11-1529-08

doi: 10.7655/NYDXBNS20131109

Immunohistochemical, ultrastructural analysis and immunogold labelling of papillary thyroid carcinoma with neuroendocrine differentiation

Zhang Ting¹, He Song^{2*}, Chen Xudong², Lu Xiaoyun², Yang Shuyun², Zhou Jianyun², Zhang Jianbing³, Pan Hongjia⁴, Yan Qiao⁵

(¹Department of Pathology, Medical college, Huzhou Teachers College, Huzhou 313000; ²Department of Pathology, Nantong University Affiliated Tumor Hospital, Nantong 226361; ³Department of Pathology, Sir Run Run Shaw Hospital of College of Medicine of Zhejiang, Hangzhou 310016; ⁴Department of Pathology, the Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314000; ⁵Department of Pathology, Medical College, Nantong University, Nantong 226001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the correlation between neuroendocrine (NE) differentiation and clinico-pathological features, prognostic factors of papillary thyroid carcinoma (PTC). **Methods:** The tissues of 103 PTC cases were analyzed by HE staining, immunohisto-chemistry, immunogold labelling, biomarkers expression of neuroendocrine differentiation. **Results:** Thyroglobulin was positively expressed in PTC, while Calcitonin was negative. The larger tumor size of the cases with PTC accompanied with a higher NSE expression ($P < 0.05$). The higher degree of differentiation accompanied with a lower rate of CgA expression. The cases with nuclear inclusions showed obviously increased expression of CgA ($P < 0.05$). The degree of PTC cell differentiation and tumor size were associated with NE differentiation under TEM ($P < 0.05$). The CgA immunogold particles were scattered at the internal edge of NE particles within the cytoplasm of PTC cells. **Conclusion:** NE differentiation could occur in PTC, and NE differentiated cells could be derived from follicular epithelial cells instead of C cells. NE differentiation is correlated with tumor size, morphological change of

[基金项目] 南通市社会发展科技计划(S5010)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hesong515@sina.com

nuclei and degree of differentiation in PTC. NE differentiation has no significant correlation with the prognosis of PTC.

[Key words] papillary thyroid carcinoma; neuroendocrine differentiation; immunohistochemistry; transmission electron microscope; immunogold labelling

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(11): 1529-1536]

上皮性癌伴神经内分泌 (neuroendocrine, NE) 分化是近年来临床及病理研究的热点之一。已有大量研究证实, 人体多数器官发生的上皮性癌如肺癌^[1-3]、胃癌^[4-6]、食管癌^[7-8]、肠癌^[9-11]、胰腺癌^[12]、前列腺癌^[13]、乳腺癌^[14-18]、肾癌^[19-20]、唾液腺^[21]等均可产生 NE 分化现象。这种伴有 NE 分化的癌可分泌多种肽类激素而产生相应的临床症状, 因而也被称为“副肿瘤综合征”。它与不伴有 NE 分化的癌在预后方面也存在明显不同, 通常前者比后者差。伴有 NE 分化的癌常表现为 chromogranin-A (CgA)、synaptophysin (Syn)、neuron-specific enolase (NSE)、S-100、CD57 等 NE 标记物免疫组化染色阳性表达, 超微结构下大多数病例的癌细胞胞质可见 NE 颗粒。因此认识和研究上皮性癌 NE 分化现象具有重要的临床和病理学意义。

甲状腺癌是一种较常见的恶性肿瘤, 约占所有肿瘤的 1.3%, 占癌症死亡病例的 0.4%。根据 2004 年 WHO 分类^[22], 将甲状腺癌分为乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC)、滤泡癌 (follicular carcinoma)、髓样癌 (或称滤泡旁细胞癌、C 细胞癌, medullary thyroid carcinoma, MTC)、未分化癌 (undifferentiated carcinoma) 4 种类型。其中 PTC 是甲状腺癌中最常见的类型 (约占 60%), 青少年、女性多见, 此型肿瘤恶性程度较低, 预后较好。尽管近年来免疫组化、分子生物学及遗传学技术有了很大进展, 但目前仍然主要依靠 HE 染色的组织形态学特点进行 PTC 的诊断和鉴别诊断, 其光镜下的形态学主要表现为毛玻璃样核、核沟、砂粒体、核重叠拥挤、核内包涵体等。一般认为, 在甲状腺癌各类型中唯有 MTC 属 NE 肿瘤, 它起源于胚胎期外胚层神经嵴, 其细胞

可产生降钙素和其他多肽类激素; 而 PTC 的滤泡上皮被认为是起源于胚胎期的内胚层, 与 NE 系统无关。但近年来有学者通过免疫组化检查发现少数 PTC 可出现 NE 标记的表达^[23-25]。在日常病理诊断工作中也发现确有部分 PTC 病例表达 NE 标记。那么, PTC 是否确实存在 NE 分化现象, 其免疫组化的表达有何规律, 电子显微镜下是否也有像其他 NE 癌那样的超微结构特征, PTC 与临床治疗和预后的关系如何, 这些问题目前尚缺乏完整资料, 值得进行深入研究。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究选取 1990 年 1 月~2000 年 12 月行甲状腺切除术的 PTC 患者 103 例, 其中男 29 例, 女 74 例, 年龄 9~74 岁。同时选取同期结节性甲状腺肿 20 例及淋巴细胞性甲状腺炎 20 例作为对照。所有病例重新切片, HE 染色后光镜下形态学观察。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色

免疫组化采用二步法。抗原修复用 pH6.0 枸橼酸缓冲液, 高压锅修复 3 min, 冷却后分别滴加一抗 NSE (1:200)、Syn (1:100)、CgA (1:80)、thyroglobulin (TG) (1:200)、calcitonin (1:100), 置于 4℃冰箱内过夜, 二抗 Power Vision 孵育 30 min, DAB 显色, 常规复染、封片。阴性对照用 PBS 液代替一抗, NSE、Syn、CgA、calcitonin 阳性染色对照用甲状腺髓样癌组织, TG 阳性染色对照用甲状腺滤泡性腺瘤组织 (表 1)。

1.2.2 透射电镜检查

表 1 检测抗体及工作浓度

Table 1 Antibodies and the concentration

抗体名称	公司	编号	工作浓度	阳性定位	阳性组织对照
NSE 抗体	Invitrogen	E27	1:200	胞浆	甲状腺髓样癌
CgA 抗体	Invitrogen	SP12	1:80	胞浆	甲状腺髓样癌
Syn 抗体	Invitrogen	SP11	1:100	胞浆	甲状腺髓样癌
Calcitonin 抗体	Invitrogen	SP17	1:100	胞浆	甲状腺髓样癌
TG 抗体	Invitrogen	TGB04-05	1:200	胞浆	甲状腺滤泡性腺瘤

结果判断: 阳性信号呈棕黄色或棕褐色, 5 种标记物均定位于细胞浆。显色癌细胞比例 $\geq 5\%$ 即判断为“阳性”, $< 5\%$ 或不显色为“阴性”。

取免疫组化 CgA 或 Syn 或 NSE 标记阳性 PTC 病例的蜡块依次进行电镜检查。显微镜下阳性定位, 16 号针穿刺取样, 三道二甲苯脱蜡(各 1.5 h), 梯度酒精水化, 然后经 2.5%戊二醛固定, 磷酸盐缓冲液冲洗, 再用 1%锇酸固定。脱水后树脂 Epon812 包埋制成半薄切片, 甲苯胺蓝染色, 光镜下选取病变部位, 制成超薄切片, 铅-铀双重染色, 在 H-600EX 型透射电子显微镜下观察。多张超薄切片电镜下发现致密 NE 颗粒即判断为 NE 分化。

1.2.3 免疫金标记(immunogold labelling)

将常规树脂 Epon812 包埋、电镜下找到致密颗粒的标本切成厚约 80 nm 的超薄切片, 捞于覆有 Formvar 膜的镍网上, 10% H_2O_2 蚀刻 10 min, PBS 液 (pH7.4) 洗涤 5 min \times 3 次, 用含 1%卵白蛋白的 PBS 液室温下封闭 10 min, 一抗 CgA(1:50 稀释, Invitrogen 公司, 美国)4 $^{\circ}C$ 孵育过夜。PBS 液洗涤 5 min \times 2 次, 用含 1%卵白蛋白的 PBS 液封闭 10 min, 二抗胶体金(颗粒直径 10 nm)偶联的羊抗兔 IgG(1:20 稀释, Electron Microscopy Sciences 公司, 美国)室温孵育 24 h。PBS 液洗涤 5 min \times 2 次, 双蒸水洗涤 10 min \times 3 次。醋酸双氧铀染色 5 min, 柠檬酸铅染色 1 min, 在 H-600EX 型电子显微镜下观察。

1.3 统计学方法

使用 SPSS19.0 统计软件, 各变量间相关性分析采用交叉列联表 χ^2 检验, 以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 临床病理特征

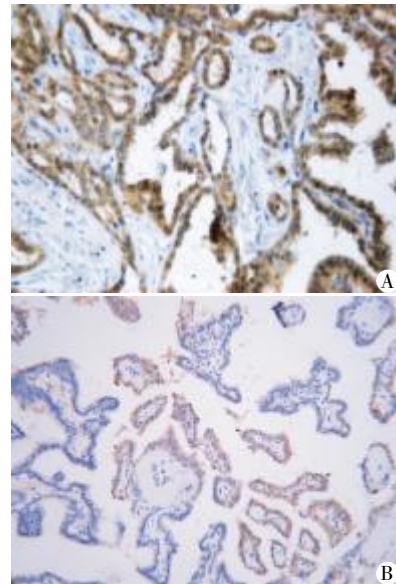
PTC 亚型: 普通型 80 例(77.67%)、滤泡型 11 例(10.68%)、高细胞型 12 例(11.65%); 分化程度: 分化良好 27 例(26.21%)、中分化 72 例(69.90%)、分化较差 4 例(3.88%)。有包涵体者 35 例(33.98%), 有核沟者 90 例(87.38%), 有毛玻璃改变 93 例(90.29%), 出现砂粒体 20 例(19.42%); 有淋巴结转移/软组织侵犯 32 例(31.07%); 甲状腺内多病灶 14 例(13.59%); 包膜完整者 7 例(6.80%)。本组病例均进行了信函随访, 至 2005 年 11 月止共获访 74 例, 其中除 1 例死于淋巴结转移和喉侵犯外, 其余病例均存活。

2.2 NE 标记免疫组化表达

2.2.1 PTC 的 NE 标记免疫组化表达及其与临床病理学特征的关系

在 103 例 PTC 病例中, 表达 NSE 64 例(62.14%)

(图 1A); 表达 CgA 25 例(24.27%)(图 1B); NSE 及 CgA 共同表达 23 例(22.33%); Syn、calcitonin 均呈阴性。



A: NSE; B: CgA。

图 1 NSE、CgA 在 PTC 癌组织的表达(免疫组化, $\times 200$)
Figure 1 Expression of NSE and CgA in PTC cancer tissue (immunohistochemical staining, $\times 200$)

研究发现, 肿瘤直径大者 NSE 表达率较高($P < 0.05$); 癌细胞分化程度高者与 CgA 表达呈负相关($P < 0.05$), 即分化程度高 CgA 表达率低; 分化程度低, 则 CgA 表达率高; 经 Scheffe 法多重比较, 分化高组与分化低组之间差异有统计学意义($P < 0.05$), 而分化高组与分化中等组、分化中等组与分化低组之间差异均无统计学意义($P < 0.05$); 癌细胞出现核内包涵体的 CgA 表达率显著高于无包涵体组($P < 0.05$); 癌细胞毛玻璃改变、砂粒体、核沟、淋巴结转移/软组织侵犯、多病灶、有无包膜、性别、年龄等参数均与 NE 标记表达无关($P > 0.05$, 表 2)。

2.2.2 结节性甲状腺肿病例 NE 标记免疫组化表达

20 例结节性甲状腺肿中表达 NSE 15 例(75%); 表达 CgA 2 例(10%); 表达 Syn 2 例(10%)(图 2)。

2.2.3 淋巴细胞性甲状腺炎病例中 NE 标记的免疫组化表达

20 例淋巴细胞性甲状腺炎病例中表达 NSE 16 例(80%); 表达 CgA 1 例(5%); 表达 Syn 1 例(5%)(图 3)。

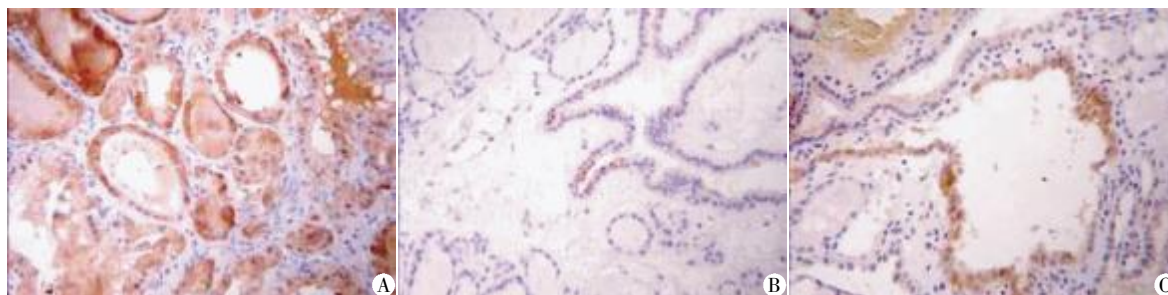
2.3 透射电镜观察

在 66 例 PTC NE 标记阳性病例中, 透射电镜下找到致密 NE 颗粒共 12 例, 检出率为 18.2%(12/

表2 NSE、CgA在PTC癌组织的免疫组化表达与临床病理参数的相关性分析
Table 2 Correlation analysis of NSE, CgA expression and clinical-pathological parameters

参数	n	NSE				CgA			
		+	%	χ^2 值	P值	+	%	χ^2 值	P值
性别									
男	29	3	10.34	14.034	<0.001	8	27.59	0.241	0.623*
女	74	61	82.43			17	22.97		
直径									
≥ 3 cm	38	34	89.47	4.240	0.039	12	31.58	1.043	0.307*
< 3 cm	65	30	46.15			13	20.00		
包膜									
有	7	3	42.86	0.470	0.243*	2	28.57	0.033	0.856#
无	96	61	63.54			23	23.96		
分化程度									
高	27	13	48.15	4.985	0.083*	3	11.11	8.320	0.016
中	72	47	65.28			19	26.39		
低	4	4	100.00			3	75.00		
毛玻璃									
有	93	58	62.37	0.039	0.844#	23	24.73	0.003	0.955#
无	10	6	60.00			2	20.00		
核沟									
有	90	58	64.44	0.931	0.334#	22	24.44	0.057	0.812#
无	13	6	46.15			3	23.08		
包涵体									
有	35	25	71.43	1.946	0.163*	14	40.00	7.135	0.008
无	68	39	57.35			11	16.18		
砂粒体									
有	20	10	50.00	1.554	0.213#	3	15.00	0.619	0.431#
无	83	54	65.06			22	26.51		
PC亚型									
普通型	80	50	62.50	0.020	0.887#	18	22.50	0.612	0.434#
高细胞型	23	14	60.87			7	30.43		
滤泡型									
软组织侵犯/淋巴结转移									
有	32	21	65.63	0.240	0.624#	11	34.38	2.578	0.108#
无	71	43	60.56			14	19.72		
甲状腺内病灶									
多病灶	14	11	78.57	1.860	0.173#	6	42.86	1.987	0.159#
单病灶	89	53	59.55			19	21.35		

*:确切概率法;#:校正卡方。



A: NSE; B: CgA; C: Syn。

图2 NSE、CgA、Syn在结节性甲状腺肿的表达(免疫组化, $\times 200$)

Figure 2 Expression of NSE, CgA and Syn in nodular goiter tissue (immunohistochemical staining, $\times 200$)

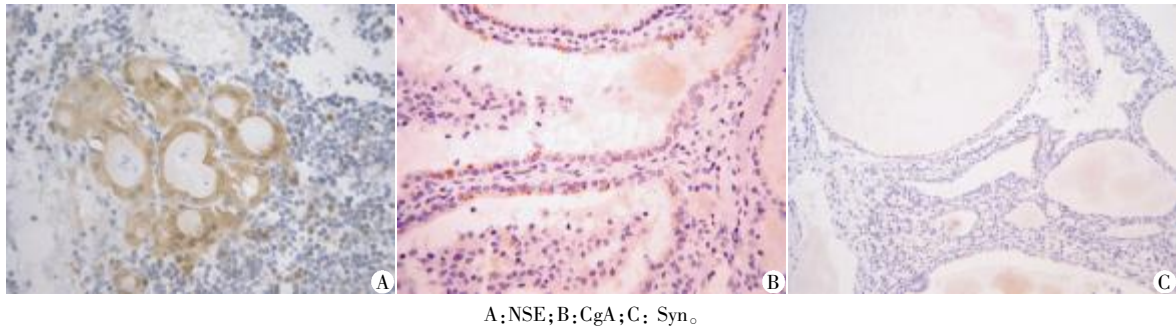
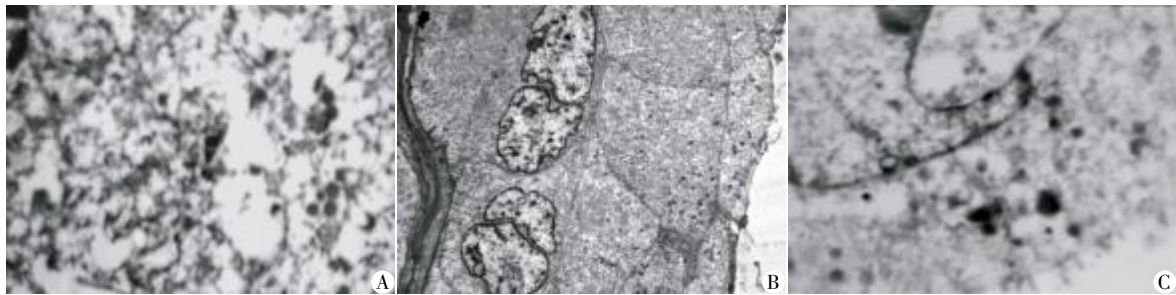


图 3 NSE、CgA、Syn 在淋巴细胞性甲状腺炎的表达(免疫组化,×200)

Figure 3 Expression of NSE, CgA and Syn in lymphocytic thyroiditis tissue (immunohistochemical staining,×200)

66), 占整组病例的 11.7%(12/103)。此 12 例 PTC 超微结构形态相似, 瘤细胞呈乳头状或腺泡状; 顶部胞质内可见少量的胶质小滴, 高尔基复合体, 线粒体、核糖体比较丰富, 但粗面内质网池常显萎缩, 溶酶体不多。在核周或顶部胞质中可见 80~300 nm 的致密核心颗粒, 圆形或卵圆, 少部分呈多形性; 颗粒周围空晕不太明显(图 4A), 细胞核大、圆或卵圆形。染色质淡细、核膜下聚集, 胞浆内可见致密 NE 颗粒

(光镜下核呈毛玻璃样, 图 4B)。部分细胞核可见高度折叠的核膜(光镜下称为核沟); 少部分细胞核形状不规则、核膜凹陷很深, 一部分细胞器及细胞质一起陷入核内与胞质切断联系后很似核内包涵体(光镜下称核内假包涵体), 质膜迂曲, 可见连接复合体, 胞浆内可见致密 NE 颗粒, 顶部微绒毛分布不均, 多数很小, 间质可见大量胶原和纤细的原纤维(图 4C)。



A: NSE(×15 000); B: CgA(×5 000); C: Syn(×15 000)。

图 4 致密 NE 颗粒在 PTC 细胞透射电镜超微结构中的定位

Figure 4 The location of dense NE particles in cells of PTC by transmission electron microscope

本研究发现 PTC NE 分化(电镜下找到致密核心颗粒)与肿瘤分化程度及淋巴转移有关($P < 0.05$), 而与直径、砂粒体、包膜/周围组织侵犯及年龄因素无相关性($P > 0.05$, 表 3); PTC 核特征(毛玻璃样核、核沟及核内假包涵体)均与 NE 分化无关($P > 0.05$, 表 4)。

2.4 免疫金标记观察

对 12 例透射电镜下找到致密 NE 颗粒的 PTC

组织进行 CgA 免疫金标检测, 结果在 3 例中发现有 CgA 免疫金颗粒(图 5)。CgA 散在定位于 PTC 癌细胞胞浆内的致密 NE 颗粒上, 其金颗粒主要位于 NE 颗粒的边缘。

3 讨论

有关上皮性癌伴 NE 分化的研究, 是近年来临床及病理研究的热点之一, 人体多数器官发生的上

表 3 PTC 相关参数与电镜检查结果的关系

Table 3 Correlation of the parameters of PTC and TEM examination results

分化			淋巴结转移			肿瘤直径(cm)			包膜/周围组织侵犯			年龄(岁)			砂粒体			
良好	较差	P 值	有	无	P 值	< 3	≥ 3	P 值	有	无	P 值	< 40	≥ 40	P 值	有	无	P 值	
+	0	12	0.028	3	9	0.023	4	8	0.406	11	1	0.824	4	8	0.406	1	11	0.306
-	27	64		24	67		61	30		85	6		42	49		19	72	

+: 电镜下找到致密核心颗粒病例; -: 指电镜下未见致密颗粒病例及无 1 项 NE 标记阳性病例。

表4 PTC核特征与电镜检查结果的关系

Table 4 Correlation of nuclear features of PTC and TEM examination results (n)

	核沟		毛玻璃核			包涵体			
	有	无	有	无	P值	有	无	P值	
+	9	3	0.096	10	2	0.391	7	5	0.059
-	81	8		83	8		28	63	

+:电镜下找到致密核心颗粒病例;-:电镜下未见致密颗粒病例及无一项NE标记阳性病例。

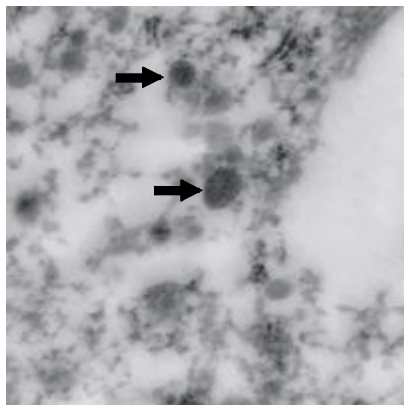


图5 CgA免疫金颗粒在致密NE颗粒透射电镜中的定位 (x50 000)

Figure 5 CgA immunogold particles in dense NE particles (by transmission electron microscope, x 50 000)

皮性癌均可产生NE分化现象,这种伴有NE分化的癌,在临床病理、治疗和预后方面,它与不伴有NE分化的癌有明显不同,其预后常较差^[1,4,10,18]。因此,认识和研究上皮性癌NE分化现象具有重要的临床意义。

MTC起源于胚胎期外胚层的神经嵴,免疫组化常为 calcitonin、CgA、Syn、NSE 等阳性,因此通常被认为是甲状腺肿瘤中唯一的NE肿瘤。PTC的滤泡上皮被认为是起源于胚胎期的内胚层,常表达TG及 cytokeratin,但一般不表达 calcitonin 及NE标记 CgA、Syn 等,传统上认为 PTC 与NE无关。然而随着免疫组化技术的广泛应用,近年来发现不仅在部分类型的甲状腺肿瘤中可表达NE标记,如:MPC^[26]、甲状腺混合性 MPC-PTC^[27]、甲状腺混合性 MPC-滤泡癌^[28]、甲状腺玻璃样变小梁状腺瘤^[29]、甲状腺岛状癌^[30]等,而且在 PTC 中亦可有NE标记的表达。Kargi 等^[23]选取了35例PTC,对其进行NE标记(Syn、NSE、CgA及 calcitonin)的检测,结果发现25%(10例)的病例有1种标记阳性,30%的病例(12例)有2种、15%(6例)的病例有3种标记(Syn、NSE、calcitonin)阳性。Sato^[24]等对14例PTC进行NE标

记的检测,结果显示:NSE(+)85.7%,Syn(+)78.6%,CgA(+)0%。我们发现64.08%的病例(66例)有NE标记的表达,其中NSE、CgA、Syn阳性表达率分别为62.14%、24.27%和0%;18.2%的PTC病例电镜下找到NE颗粒。为进一步证明这种致密颗粒是NE颗粒而不是甲状腺滤泡上皮细胞分泌的甲状腺球蛋白胶质颗粒,本研究进行了CgA免疫金标记,结果发现在3例PTC中的NE颗粒内有CgA表达。这些结果进一步证实了PTC可发生NE分化,并排除了起源于C细胞的MTC及混合性MTC-PTC、混合性MTC-滤泡癌,说明PTC与消化道、呼吸道等上皮性癌相似,都可出现不同程度的NE分化现象。

有关PTC伴NE分化与病理形态学及预后因素关系的研究,Tseleni-Balafouta S等^[25]对90例PTC进行了免疫组化研究,结果提示NE标记阳性者平均年龄比阴性者大,强阳性者年龄更大,阳性者肿瘤体积也较阴性者大。此外,还发现有包膜侵袭、淋巴结转移者更易出现NE分化。据此,他们认为NE标记阳性与PTC的预后因素(包括年老体弱、肿瘤体积偏大、包膜侵犯及淋巴结转移等)存在着极大的正相关性,预示着患者的预后不良。本组103例PTC进行了NE标记,并分析其与临床病理相关参数之间的关系,结果发现:NSE表达与PTC肿瘤直径有关($P < 0.05$);CgA与核内包涵体的出现及癌细胞分化高低有关(P 均 < 0.05),而其余参数与NE表达无关,提示NE分化与PTC细胞核的形态改变存在某些关联,与预后相关因素的分析显示伴NE标记表达的肿瘤直径较大,且癌细胞分化程度低。在本组获访的73例中,未见PTC伴NE分化显著影响预后,因此NE分化对生存是否有影响还待更长期的随访观察。

PTC伴NE分化的超微结构特征及其与病理形态学关系的研究还未见报道。本文对PTC进行了超微结构研究,并分析其与临床病理相关参数之间的关系,结果发现:伴NE分化者(超微结构下找到致密核心颗粒),其癌细胞分化程度明显较阴性者低,肿瘤体积大的病例更容易出现NE分化,而其余临床病理参数与NE分化无显著相关性。这一现象符合多数其他部位器官上皮性癌中分化愈差则NE分化的发生率愈高的一般规律。

关于PTC中NE标记阳性的细胞是起源于内胚层的滤泡上皮细胞,还是外胚层神经嵴来源的C细胞或其他细胞,在文献报道中存有争议。Shiroko等^[27]研究发现,某些病例组织学特征上具有MTC和PTC

两种改变,且两者有移行区域,免疫组化 Calcitonin、CgA、CEA 和 TG 阳性,他们将这种改变称之为混合性 MTC-PTC,因此他们推测认为 PTC 伴有 NE 分化可能是混合性 MTC-PTC 的一种特殊亚型。本文的观察不支持这种观点。首先,PTC 伴有 NE 分化细胞的组织学形态可见 PTC 的特征性细胞核的改变(毛玻璃样或淡染的核、纵行的核沟及核内假包涵体),而无 MTC 的组织学形态特点(器官样结构,核规则,染色质稍粗呈粉尘样,浆丰富粉染,细颗粒状;间质可见淀粉样物沉积)。其次,免疫组化 TG、TTF-1、CK 阳性表达而 calcitonin 阴性表达;虽然 MTC 也有 calcitonin 阴性的病例,但 MTC TG 的表达一定不会阳性。再次,电镜下肿瘤细胞呈乳头状或腺泡状;顶部胞质内可见少量的胶质小滴;部分细胞胞质内核周或顶部胞质中可见 80~300 nm 的致密核心颗粒,圆形或卵圆形,少部分呈多形性,颗粒周围空晕不太明显;染色质淡细、核膜下聚集(光镜下核呈毛玻璃样)。部分细胞核可见高度折叠的核膜(光镜下称为核沟);少部分细胞核形状不规则、核膜凹陷很深,一部分细胞器及细胞质一起陷入核内与胞质切断联系后很似核内包涵体(光镜下称核内假包涵体)。质膜迂曲,可见连接复合体。顶部微绒毛分布不均,多数很小。间质常可见大量胶原和纤细的原纤维。虽然 MTC 胞质内也可见致密核心颗粒,但应没有胶质小滴,其核染色质较粗,无高度折叠的核膜及核内假包涵体。本文认为,混合性 MTC-PTC 这种特殊亚型的确是存在的,它的组织形态、免疫表型都与 PTC 癌或 MTC 有不同之处,借此可作出明确判断。本组 PTC 病例均为 TG 阳性,calcitonin 阴性,同时有 NE 标记的表达及电镜下找到 NE 分泌颗粒,形态学上具备 PTC 的诊断条件,故可排除 MTC、滤泡性癌及混合性 MTC-PTC。在本实验中还发现,淋巴细胞性甲状腺炎及结节性甲状腺肿组织中也可见滤泡上皮细胞的 NE 标记表达,而这些细胞不是 C 细胞,因为这种细胞除表达 CgA、Syn、NSE 外还表达 TG,但不表达 calcitonin,在 HE 染色切片上无法与 NE 标记阴性的滤泡上皮细胞区分。因此本研究认为,PTC 中 NE 分化的细胞来源于滤泡上皮细胞,而不是 C 细胞。

另外需要注意的是,在病理学上诊断 PTC 伴 NE 分化,必须与 MTC、混合性 MTC-PTC 或混合性 MTC-滤泡癌等严格区别,滤泡亚型的 PTC 还应与滤泡性癌鉴别,鉴别诊断依据主要依靠组织形态和免疫组化标记结果。PTC 在光镜下主要表现为乳头

结构明显,并具有特征性的变化(毛玻璃核、核沟、核内包涵体、砂粒体),免疫组化癌细胞 TG 阳性、calcitonin 阴性;而 MTC、混合性 MTC-PTC 或混合性 MTC-滤泡癌均可见 MTC 的基本形态表现:由片状或束状的多角形或胖梭形细胞组成,具有特征性的纤细的纤维血管间隔,细胞核圆形或卵圆形,典型的具有点彩状染色质,核仁不清,胞浆呈细颗粒状,癌巢间为富于血管的间质,透明变性的胶原纤维和淀粉样物质,一般不具有 PTC 的毛玻璃核、核沟、核内包涵体、砂粒体等特征,且免疫组化癌细胞 TG 阴性、calcitonin 阳性(混合性 MTC-PTC 中部分癌细胞虽有 PTC 的某些特征,但这些癌细胞免疫标记应为 TG 阳性、calcitonin 阴性;混合性 MTC-滤泡癌中部分癌细胞虽有 MTC 的特征,但部分细胞滤泡结构明显,且 TG 阳性、calcitonin 阴性);滤泡亚型的 PTC 尽管滤泡结构明显,但癌细胞具有乳头状癌的毛玻璃核、核沟、核内包涵体、砂粒体等特征,可与滤泡性癌作出鉴别。本组病例形态学及免疫组化结果均符合 PTC 的诊断标准,并排除了上述可能混淆的肿瘤。

[参考文献]

- [1] Petrovi M, Baski D, Bankovi D, et al. Neuroendocrine differentiation as an indicator of chemosensitivity and prognosis in nonsmall cell lung cancer [J]. *Biomarkers*, 2011, 16(4): 311-320
- [2] Ionescu DN, Treaba D, Gilks CB, et al. Nonsmall cell lung carcinoma with neuroendocrine differentiation-an entity of no clinical or prognostic significance [J]. *Am J Surg Pathol*, 2007, 31(01): 26-32
- [3] Segawa Y, Takata S, Fujii M, et al. Immunohistochemical detection of neuroendocrine differentiation in non-small-cell lung cancer and its clinical implications [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2009, 135(8): 1055-1059
- [4] Song HE, Qiao Y, Chen XD, et al. Study on the relationship between neuroendocrine cellular differentiation in gastric cancers and post-operative survival time [J]. *Chin J Clin Oncol*, 2007, 4(6): 416-419
- [5] Yao GY, Zhou JL, Lai MD, et al. Neuroendocrine markers in adenocarcinomas: an investigation of 356 cases [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(4): 860-861
- [6] Fujii A, Kamiakito T, Takayashiki N, et al. Neuroendocrine tissue-specific transcription factor, BETA2/NeuroD, in gastric carcinomas: a comparison with chromogranin A and synaptophysin expressions [J]. *Pathol Res Pract*, 2003, 199(8): 513-519
- [7] Hamilton K, Chiappori A, Olson S, et al. Prevalence and prognostic significance of neuroendocrine cells in

- esophageal adenocarcinoma [J]. *Mod Pathol*, 2000, 13(5):475-481
- [8] Yuan A, Liu J, Liu Y, et al. Chromogranin A-positive tumor cells in human esophageal squamous cell carcinomas [J]. *Pathol Oncol Res*, 2007, 13(4):321-325
- [9] Cho YB, Yang SS, Lee WY, et al. The clinical significance of neuroendocrine differentiation in T3-T4 node-negative colorectal cancer [J]. *Int J Surg Pathol*, 2010, 18(3):201-206
- [10] Atasoy P, Ensari A, Demirci S, et al. Neuroendocrine differentiation in colorectal carcinomas: assessing its prognostic significance [J]. *Tumori*, 2003, 89(1):49-53
- [11] Atasoy P, Bozdogan O, Ozturk S, et al. Bcl2 expression and its correlation with neuroendocrine differentiation in colon carcinomas [J]. *Tumori*, 2004, 90(2):233-238
- [12] Tobita K, Kijima H, Chino O, et al. Pancreatic acinar cell carcinoma with endocrine differentiation: immunohistochemical and ultrastructural analyses [J]. *Anticancer Res*, 2001, 21(3C):2131-2134
- [13] Komiya A, Suzuki H, Imamoto T, et al. Neuroendocrine differentiation in the progression of prostate cancer [J]. *Int J Urol*, 2009, 16(1):37-44
- [14] Miremedi A, Pinder SE, Lee AH, et al. Neuroendocrine differentiation and prognosis in breast adenocarcinoma [J]. *Histopathol*, 2002, 40(3):215-222
- [15] Tian Z, Wei B, Tang F, et al. Prognostic significance of tumor grading and staging in mammary carcinomas with neuroendocrine differentiation [J]. *Hum Pathol*, 2011, 42(8):1169-1177
- [16] Tang F, Wei B, Tian Z, et al. Invasive mammary carcinoma with neuroendocrine differentiation: histological features and diagnostic challenges [J]. *Histopathol*, 2011, 59(1):106-115
- [17] Righi L, Sapino A, Marchiò C, et al. Neuroendocrine differentiation in breast cancer: established facts and unresolved problems [J]. *Semin in Diag Pathol*, 2010, 27(1):69-76
- [18] Makretsov N, Gilks CB, Coldman AJ, et al. Tissue microarray analysis of neuroendocrine differentiation and its prognostic significance in breast cancer [J]. *Hum Pathol*, 2003, 34(10):1001-1008
- [19] Kuroda N, Tamura M, Hes O, et al. Chromophobe renal cell carcinoma with neuroendocrine differentiation and sarcomatoid change [J]. *Pathol Int*, 2011, 61(9):552-554
- [20] Kuroda N, Hes O, Miyazaki E, et al. Frequent expression of neuroendocrine markers in mucinous tubular and spindle cell carcinoma of the kidney [J]. *Histol Histopathol*, 2006, 21(1):7-10
- [21] Roy S, Dhingra KK, Gupta P, et al. Acinic cell carcinoma with extensive neuroendocrine differentiation: a diagnostic challenge [J]. *Head Neck Pathol*, 2009, 3(2):163-168
- [22] LiVolsi V, Mazzaferri EL, Schneider AB, et al. Papillary carcinoma [M] // DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, et al. World Health Organization classification of tumours, pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press, 2004:57-66
- [23] Kargi A, Yörükoglu K, Aktas S, et al. Neuroendocrine differentiation in non-neuroendocrine thyroid carcinoma [J]. *Thyroid*, 1996, 6(3):207-210
- [24] Satoh F, Umemura S, Yasuda M, et al. Neuroendocrine marker expression in thyroid epithelial tumors [J]. *Endocr Pathol*, 2001, 12(3):291-299
- [25] Tseleni-Balafouta S, Kavantzias N, Alevizaki M, et al. Neuroendocrine differentiation in follicle-cell thyroid carcinoma: correlation to prognostic factors in papillary carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 1998, 17(4):533-537
- [26] Helbling B, Whartou K, McLeod MK, et al. Medullary thyroid cancer: the controversy continues [J]. *Current Surg*, 2004, 61(6):537-545
- [27] Shiroko T, Yokoo N, Okamoto K, et al. Mixed medullary-papillary carcinoma of the thyroid with lymph node metastases: report of a case [J]. *Surg Today*, 2001, 31(4):317-321
- [28] Papotti M, Negro F, Carney JA, et al. Mixed medullary-follicular carcinoma of the thyroid. A morphological, immunohistochemical and in situ hybridization analysis of 11 cases [J]. *Virchows Archiv*, 1997, 430(3):397-405
- [29] Shikama Y, Osawa T, Yagihashi N, et al. Neuroendocrine differentiation in hyalinizing trabecular tumor of the thyroid [J]. *Virchows Archiv*, 2003, 443(6):792-796
- [30] Hye SM, Jin HP, Kyoung BL, et al. Immunohistochemical analysis of insular carcinoma of the thyroid gland [J]. *Korean J Pathol*, 2005, 39(4):326-331