NCOA5 在 40 例甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义

Expression of NCOA5 Protein in 40 Cases with Papillary Thyroid Carcinoma and Its Clinical Significance // *CHU Qing-gang, ZHANG Wen-wei, JIANG Li-wei, QIN Zuo-rong, QIU Jie*

楚庆刚[1],张文伟[2],姜立伟[2],秦作荣[2],邱　杰[2]

(1. 潍坊医学院研究生院,山东 潍坊 261053;
2. 青岛大学附属医院,山东 青岛 266003)

摘　要:[目的] 探讨 NCOA5 蛋白在甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义。[方法] 应用免疫组化方法(SP 法)检测 NCOA5 蛋白在 40 例甲状腺乳头状癌组织及配对癌旁甲状腺组织中的表达,并探讨其与临床病理特征及预后的关系。[结果] NCOA5 蛋白在甲状腺癌组织中的阳性表达率(75%)高于癌旁组织(20%)(χ^2=24.261, P<0.01)。NCOA5 表达与肿瘤分期(TNM 分期)和淋巴结转移有关(χ^2=4.126, P<0.05; χ^2=4.043, P<0.05); 与甲状腺乳头状癌的预后指数呈正相关 (r=5.647, P<0.05)。[结论] NCOA5 在甲状腺乳头状癌中高表达,对甲状腺癌的诊疗和预后评估具有指导意义。

主题词:NCOA5;甲状腺乳头状癌;免疫组化
中图分类号:R736.1　　**文献标识码**:B　　**文章编号**:1671-170X(2019)05-0472-03
doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2019.05.B020

甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC) 是最常见的甲状腺癌, 占甲状腺癌的 85%~90%。临床上对甲状腺乳头状癌诊断方法有颈部超声、CT 及细针穿刺细胞学检查, 细针穿刺目前认为是最准确、有效的方法,但仍约有 30%病例诊断不明确[1]。甲状腺乳头状癌特异性肿瘤标志物对临床提高确诊率和改善甲状腺乳头状癌的治疗具有重要意义[2]。

NCOA5 是一种由 579 个氨基酸组成的广泛表达的核受体共激活因子, 其在多种肿瘤组织中扮演重要角色。本研究采用免疫组织化学方法检测 NCOA5 蛋白在甲状腺乳头状癌组织中的表达,分析其与临床病理参数的关系, 探索其在甲状腺乳头状癌中的作用及其临床意义。

1　资料与方法

1.1　研究对象

收集青岛大学附属医院 2016 年 1 月至 2018 年 3 月行甲状腺癌切除患者的手术标本。纳入标准:(1)术前无放疗、化疗或甲状腺手术史;(2)无桥本甲状腺炎(hashimoto thyroiditis, HT)病史;(3)无内分泌相关疾病病史;(4)无其他恶性肿瘤病史;(5)无严重的心脑血管疾病;(6)各项临床资料完整。

40 例甲状腺乳头状癌(甲癌组)及其配对癌旁正常组织 (癌旁组)(取自距癌灶边缘>0.8cm 的距离, 且术后病理证实为正常甲状腺组织)。男性 11 例, 女性 29 例; 年龄 26~67 岁,≥55 岁 22 例,<55 岁 18 例;平均年龄(47.7±12.5)岁。甲癌组 TNM 分期采用美国癌症联合委员会 (American Joint Committee on Cancer, AJCC) 颁布的第 8 版甲状腺癌 TNM 分期, Ⅰ~Ⅱ期 23 例, Ⅲ~Ⅳ期 17 例;有淋巴结转移 21 例,无淋巴结转移 19 例;肿瘤直径>1cm 12 例,直径≤1cm 28 例。所有患者均签署知情同意书。

1.2　研究方法

1.2.1　免疫组化试剂

Rabbit Anti-NCOA5 抗体(bs-19052R)、免疫组化染色试剂盒(SP-0023)和 DAB 显色试剂盒(20X)均购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.2.2　免疫组化方法

采用 SP 法, 将蜡块连续切成 4μm 厚度, 置于

通信作者:邱杰,副主任医师,博士;青岛大学附属医院耳鼻咽喉头颈外科,山东省青岛市崂山区海尔路 59 号(266003);E-mail:wfqpeter2000@163.com
收稿日期:2018-11-05;**修回日期**:2018-12-24

68℃烤片机烤片 20min；常规二甲苯脱蜡、梯度酒精脱水；阻断灭活内源性过氧化物酶（3%H_2O_2 孵育后 PBS 冲洗）；抗原修复（标本置于 pH 6.0 枸橼酸缓冲液中）；血清工作液封闭 30min；滴加 NCOA5(1∶400)，4℃孵育过夜；滴加通用型 IgG，置于 37℃温箱孵育 30min；滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液，置于 37℃温箱 15min；DAB/H_2O_2 反应染色；苏木素复染；脱水、干燥、封片。

1.2.3 结果判定

切片染色结果由两名高年资病理科医师进行双盲阅片。NCOA5 主要在细胞核中表达。每个免疫组化切片随机选取 5 个高倍视野（×400）并取平均值，通过计算阳性细胞表达百分比和阳性细胞显色程度进行 NCOA5 表达结果评分。阳性细胞百分比评分标准：<5%计 0 分，5%~25%计 1 分，25%~50%计 2 分，50%~75%计 3 分，>75%计 4 分；阳性细胞显色程度评分标准：不显色或显色不清计 0 分，浅黄色计 1 分，棕黄色计 2 分，深褐色计 3 分。采用 Remmele 半定量方法，阳性细胞百分比和显色程度的乘积，0~1 分计（−），2~4 分计（+），5~8 分计（++），>9 分计（+++），（+）~（+++）为阳性表达[3]。

1.3 甲状腺乳头状癌预后指数计算方法

沿用 RORTC（欧洲癌症治疗研究组织）分化型甲状腺癌预后指数计算方法[4]：①年龄（X 岁）；②性别（男 12，女 0）；③组织学类型（PTC 0）；局部浸润 10；⑤远处转移，一处 15，多处累加。以上 5 个指标分值累加之和为预后指数。预后指数≥65 为预后不良组，预后指数<65 为预后良好组。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 24.0 对实验数据进行统计学处理，计数资料采用 χ^2 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 NCOA5 表达情况

NCOA5 蛋白的阳性表达定位于细胞核。免疫组化结果显示，其在癌组织和对照癌旁正常组织中均有表达（Figure 1）。癌组织中 NCOA5 阳性表达率为 75%（30/40），癌旁组织中为 20%（8/40），差异有统计学意义（χ^2=24.261，P<0.001）。

2.2 NCOA5 表达与甲状腺乳头状癌临床病理特征的关系

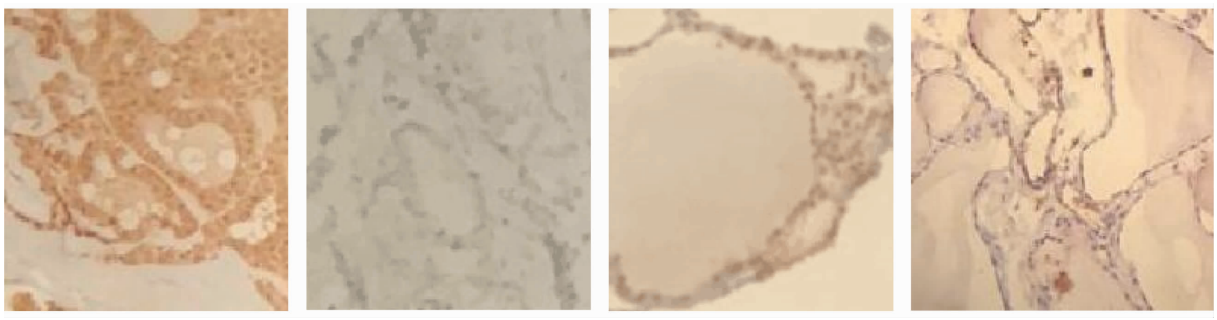
NCOA5 蛋白表达与肿瘤分期、淋巴结转移有关（χ^2=4.126，P<0.05；χ^2=4.043，P<0.05），肿瘤分期越高、淋巴结转移者 NCOA5 蛋白表达增高；NCOA5 表达与患者性别、年龄、肿瘤直径无关（P>0.05）（Table 1）。

2.3 NCOA5 表达与预后指数的相关性

40 例患者中，预后指数≥65 组 21 例，<65 组 19

Table 1 The relationship between NCOA5 expression and clinicopathological features of papillary thyroid carcinoma

Index	N	Positive(%)	χ^2	P
Gender				
Male	11	8(72.7)	0.420	0.838
Female	29	22(75.9)		
Age(years old)				
<55	18	13(72.2)	0.135	0.714
≥55	22	17(77.3)		
Clinical stages				
Ⅰ~Ⅱ	23	14(60.9)	4.126	0.042
Ⅲ~Ⅳ	17	16(94.1)		
Lymphatic metastasis				
Yes	21	19(90.5)	4.043	0.044
No	19	11(57.9)		
Diameter of tumor(cm)				
≤1cm	28	20(71.4)	0.159	0.690
>1cm	12	10(83.3)		



Positive NCOA5 in PTC　Negative NCOA5 in PTC　Positive NCOA5 in normal thyroid tissues　Negative NCOA5 in normal thyroid tissues

Figure 1 The expression of NCOA5 in different thyroid tissues(×400)

例，两组 NCOA5 阳性率分别为 57.1%(12/21)和 94.7%(18/19)。NCOA5 蛋白表达与预后指数呈正相关(χ=5.647,P=0.017)。

3 讨 论

共激活因子是包括核受体在内的转录因子调节基因转录过程所需要的，它们通常以复合物的形式存在,在介导核受体和基础转录机器成分之间,相互作用,并能修饰组蛋白,导致染色质重构,从而促进基因表达[5]。NCOA5 是核受体共激活因子的一种,又称不依赖 AF-2 的核受体共激活因子(CIA),位于染色体 20q13.12 区域,编码包含 579 个氨基酸组成的核蛋白。NCOA5 在肿瘤组织中的异常表达引起人们的关注,包括肝癌、食管癌、肾癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌等[6,7]。研究表明 NCOA5 表达异常与肿瘤、代谢性疾病及自身免疫疾病有关。NCOA5 在不同肿瘤组织中的表达不同,肝癌、食管癌等癌组织中呈低表达 [8,9]，乳腺癌、结直肠癌组织中呈高表达[10,11]。NCOA5 在不同癌组织中的表达状态不同可能是由于胚胎发育和肿瘤发生不同导致的[6]。

共激活因子对甲状腺乳头状癌的影响 2016 年已有涉及，共激活因子在甲状腺肿瘤组织中呈现出高表达状态,认为其参与了甲状腺肿瘤疾病的发生、发展过程中[12]。本组免疫组化结果显示 NCOA5 主要在细胞核中表达，并且在癌组织和癌旁正常甲状腺组织中皆有表达，在甲状腺乳头状癌组织中呈高表达 (75%)，在癌旁正常甲状腺组织中低表达(20%)(P<0.01),并且在有淋巴结转移、分期较高患者表达更高,淋巴结转移是 PTC 复发和预后差的重要危险因素[13]。NCOA5 可能是甲状腺乳头状癌诊断和治疗一个新的靶点,其机制仍待进一步探索。

参考文献:

[1] Moses W,Weng J,Sansano I,et al. Molecular testing for somatic mutations improves the accuracy of thyroid fine-needle aspiration biopsy[J]. World J Surg,2010,34(11):2589-2594.

[2] Zhang YH,Bao JC,Qiu FP,et al. The expression and clinical significance of c-Met,HIF-1α in thyroid papillary carcinoma[J]. Journal of Chinese Oncology,2013,15(1):26-29.[张彦惠,鲍建昌,邱法鹏,等. c-Met、HIF-1α 在甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义[J]. 肿瘤学杂志,2013,15(1):26-29.]

[3] Sun SS,Qiu J,Zhao H,et al. ZNF703 and CD44v6 expression and significance in thyroid papillary carcinoma [J]. Journal of Chinese Oncology,2018,24(4):303-307.[孙莎莎,邱杰,赵涵,等.ZNF703 和 CD44v6 在甲状腺乳头状癌中的表达和意义[J]. 肿瘤学杂志,2018,24(4):303-307.]

[4] Byar DP,Green SB, Dor P,et al. A prognostic index for thyroid carcinoma. a study of the E.O.R.T.C. Thyroid Cancer Cooperative Group[J]. Eur J Cancer,1979,15(8):1033-1041.

[5] Lu Y,Li YD,Chen GC,et al. Nuclear receptor coactivator and its transcriptional regulation [J]. Journal of Clinical and Pathological Research,2005,25(1):24-27.[卢莹,李忆东,陈光椿,等. 核受体共激活因子及其转录调节[J]. 临床与病理杂志,2005,25(1):24-27.]

[6] Liu CY,Feng GS. NCOA5,a molecular link between type 2 diabetes and liver cancer [J]. Hepatobiliary Surg Nutr,2014,3(3):106-108.

[7] Gillespie MA,Gold ES,Ramsey SA,et al. An LXR-NCOA5 gene regulatory complex directs inflammatory crosstalk-dependent repression of macrophage cholesterol efflux[J]. EMBO J,2015,34(9):1244-1258.

[8] Zhang HP,Cao SL,Li GQ,et al. Expression and clinical significance of nuclear receptor co-activator 5 in hepatocelluar carcinoma [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment,2015,22(1):45-48.[张华鹏,曹胜利,李功权,等. 肝细胞癌组织核受体辅激活蛋白 5 表达临床意义探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志,2015,22(1):45-48.]

[9] Chen GQ,Tian H,Yue WM,et al. NCOA5 low expression correlates with survival in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Med Oncol,2014,31(12):376.

[10] Ye XH,Huang DP,Luo RC. NCOA5 is correlated with progression and prognosis in luminal breast cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun,2016,477(4):923-926.

[11] Sun KL,Qin L.Expression,function and mechanism of NCOA5 in colorectal cancer[D]. Suzhou:Soochow University,2015. [孙凯律,秦磊.NCOA5 在结直肠癌中的表达、功能及机制研究[D]. 苏州:苏州大学,2015.]

[12] Zhou JD. Expression of coactivators in papillary thyroid carcinoma and its clinical significance[J]. Journal of North Pharmacy,2016,(1):119.[周锦都. 共激活因子在甲状腺乳头状癌中的表达及其临床意义 [J]. 北方药学,2016,(1):119.]

[13] Lv CY,Liao MG,Zhang LL,et al. Clinical assessment of cervical lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma [J]. Journal of Chinese Oncology,2018,24(4):297-302.[吕春艳,廖曼各,张丽林,等.甲状腺乳头状癌颈部淋巴结转移的临床评估进展[J]. 肿瘤学杂志,2018,24(4):297-302.]