

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2024.03.0277

综述

钙化分型在甲状腺癌中的临床病理意义及相关分子机制探讨

刘晓楠 综述, 邸旭 审校

(天津市第四中心医院乳腺甲状腺外科, 天津 300140)

摘要 钙化是甲状腺癌的重要超声征象之一。近年来对于甲状腺癌钙化的研究逐步深入,对超声中钙化的形态、病理钙盐沉积形式进行了细致分类,钙化的有无、大小、形态和分布与甲状腺癌的临床病理情况密切相关,但钙化形成的分子机制仍然存在争议。本文从钙化分型、显微镜下钙盐沉积形式在甲状腺癌中的临床意义和钙化形成的分子机制3个角度,对钙化在甲状腺癌中的研究进展进行概述。

关键词 甲状腺癌;钙化分型;超声;病理;分子机制

中图分类号 R736.1

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2024)03-0277-04

据全球癌症数据统计,2020年甲状腺癌新发患者为586 202例、死亡患者为43 646例,分别占所有癌症病例的3.0%、0.4%^[1]。钙化是甲状腺结节的重要超声征象之一,微钙化是甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)的特征性表现^[2]。颈部淋巴结内出现囊变坏死、钙化是甲状腺癌转移的高度特异性改变^[3]。因此,钙化在甲状腺癌的术前评估、危险分层和临床治疗决策中具有重要价值。本文将钙化在甲状腺癌超声、病理及相关分子机制等方面的研究逐一概述。

1 超声钙化分型在甲状腺癌中的临床意义

钙化的形态与甲状腺结节性质密切相关。根据2017年美国放射学会的ACR-TIRADS分级,钙化在超声声像图上主要分为微钙化(microcalcification)、粗钙化(macrocalfication)和边缘钙化。微钙化是指 ≤ 1 mm的强回声点且后方无声影;粗钙化是指 > 1 mm的强回声结构,通常伴有声影;边缘钙化是指结节边缘部分或全部为钙化^[2]。研究发现,微钙化与甲状腺癌相关,且粗钙化、边缘钙化都可能与甲状腺结节的恶性和侵袭性相关^[4-5]。

2018年日本库马医院报道PTC、滤泡癌、髓样癌和未分化癌的钙化比例分别为77%、23%、72%和80%,而甲状腺淋巴瘤无钙化,并且依据钙化的大小、形状和分布区域将超声钙化细分为:(1)点状微钙化(< 1 mm),数量1~5个为少发, > 6 个为多发。(2)斑点状钙化(1~3 mm),分为单发和多发。(3)碎

块型钙化(≥ 3 mm)。(4)块状钙化(粗大钙化)。(5)蛋壳型钙化(边缘钙化)。(6)实质内点状微钙化,其中PTC弥漫硬化型均表现为实质内点状微钙化,161例转移性淋巴结表现为多发斑点状钙化和碎块状钙化^[6]。张毅等^[7]进一步将微钙化按形态分为I a砂砾型、I b簇状型、I c点状型,II型粗大钙化,III型斑片状钙化,IV型边缘弧形钙化,V型蛋壳样钙化;并发现I a型、I c型、II型及III型均可发生滤泡型、高细胞型、透明细胞型和嗜酸细胞型的变异。而Ning等^[8]将微钙化按分布位置分为结节内微钙化:单发(I a)、多发(I b);结节内及周围微钙化:单发(II a)和多发(II b);实质内微钙化:局灶性(III a)、弥漫性(III b)。其中I a型在甲状腺癌中最常见,而II型和III b型诊断恶性的特异性均为100%,III b型伴发桥本甲状腺炎的比例最高(51.6%)。

通常认为大钙化提示良性的可能,近年学者们也对大钙化进行更为细致的分型研究,发现大钙化在良恶性结节中均可以出现。Shin等^[9]对3 603例伴有大钙化或者边缘钙化的结节进行分析发现:13.3%为恶性,大钙化增加实性低回声结节的恶性风险,而边缘钙化增加部分囊性或中-高回声结节的恶性风险。Park等^[10]根据大钙化的厚度、有无间断、有无钙化周围的软组织边缘等规律对大钙化亚型进行分类,发现钙化间断、不规则厚度、软组织边缘与恶性明确相关,钙化不规则厚度和软组织边缘的敏感性分别为92.2%和85.5%。Yin等^[11]将大钙化分为连续蛋壳样钙化(II型)、不连续蛋壳样钙化(III型)、结节内不规则钙化(IV型)和多层样钙化(V型),发现II型多见于良性结节,III、V型多见于

基金项目 天津市卫生健康科技项目(TJWJ2023QN048)

作者简介 刘晓楠(1988-),女,主治医师,博士,研究方向:乳腺甲状腺肿瘤;通信作者:邸旭,E-mail:762693929@qq.com。

恶性结节,Ⅳ型恶性术后病理均为乳头状癌。

还有学者将一些罕见类型的超声钙化形态与临床病理因素进行相关性分析。张帅等^[10]对21例弥漫钙化型甲状腺癌的生物行为进行分析发现其双侧腺叶受累,多发病灶比率高,具有更高的淋巴结转移率及 BRAFV600E 突变率,提示其侵袭性更强。Peng 等^[11]描述了一种“花瓣样”钙化,表现为甲状腺实性结节周围直径<2 mm 的散在高回声点,呈花瓣状,在每个高回声点前面都有1个囊性暗区,囊性暗区和高回声点构成黑白病灶;其术后病理类型均为 PTC,中央区淋巴结转移率为72.2%,侧颈淋巴结转移率为27.8%,提示这种钙化类型的甲状腺癌具有侵袭性的生物学行为。Gwon 等^[12]对孤立大钙化灶进行研究发现,其在超声钙化中出现的比例约为1.2%、恶性率为18.4%,恶性的病理类型均为 PTC,腺体外侵犯的比例为83.3%,可侵犯带状肌、气管、喉返神经,淋巴结转移率为33.3%,且63.3%的患者具有高复发风险。

2 病理钙盐沉积形式在甲状腺癌中的临床意义

甲状腺癌钙化属于病理性钙化中的营养不良性钙化,是细胞损伤和坏死部位的钙盐沉积。显微镜下钙盐沉积形式主要有:砂砾体、基质钙化、骨化和胶原沉积。在组织学上,砂砾体是 PTC 最重要的诊断标准之一,40%~50% PTC 的石蜡切片中含有砂砾体,11%~35% PTC 的细针穿刺活检(fine needle aspiration, FNA)细胞涂片中含有砂砾体^[13]。砂砾体存在于乳头核心或者肿瘤间质内,但通常不在肿瘤滤泡中。

Bai 等^[14]研究发现 PTC 中砂砾体、基质钙化、骨化出现的比例分别为25%、47%、13%;砂砾体与淋巴结转移率高、肿瘤分期高有关,且预示着较差的无病生存期;基质钙化和骨化更多见于年龄偏大者,基质钙化与T分期和淋巴结转移相关,但两者与预后均无关。Pyo 等^[15]发现砂砾体的出现与肿瘤多灶性、腺外侵犯和淋巴结转移密切相关,但与 BRAFV600E 突变无关,并且肿瘤直径>1 cm 者更易出现癌灶外砂砾体。Cai 等^[16]研究发现砂砾体出现在癌灶内、癌灶外、淋巴结内的比例分别为96.9%、38.9%、28.7%,并且淋巴结转移、伴桥本甲状腺炎是出现砂砾体的独立预测因子。砂砾体伴有桥本甲状腺炎的甲状腺癌具有更高的侵袭性,病灶较小,但中央区 and 侧颈淋巴结转移率高;与没有桥本甲状腺炎背景的患者相比,其腺外侵犯的比例较低。

也有部分研究对超声钙化和病理钙化进行相关性分析。砂砾体在超声上更可能表现为微钙化。但超声的微钙化并不等同于病理的砂砾体,微钙化还存在其他钙盐沉积形式。Kim 等^[17]发现砂砾体、基质钙化和骨化在超声上出现钙化的比例分别为46.1%、53.7%和73.3%;砂砾体均表现为微钙化,而骨化92.3%表现为非微钙化,基质钙化36.8%表现为微钙化;Logistic 回归分析显示微钙化预测砂砾体的优势比显著高于非微钙化。

3 甲状腺癌钙化形成的分子机制

1980年,由Johannessen 等^[18]首先提出关于砂砾体形成的两个假说:(1)乳头状肿瘤血管发生痉挛、形成血栓,导致缺血、坏死引起血管基底层增厚,导致磷酸钙沉积于乳头尖端间质内或细胞间。(2)肿瘤周围淋巴管内瘤栓发生缺血、坏死,淋巴管破坏导致纤维蛋白渗出,在淋巴管周围发生纤维化及钙化;砂砾体的形成是在坏死的基础上形成的钙盐沉积。2009年,Das 等^[19]提出了新的假说:砂砾体的形成是积极的生物学过程,肿瘤细胞分泌的胶原纤维和肿瘤细胞膜结合囊泡沉积在乳头,呈交替地同心层排列,随后发生钙化,而导致砂砾体的形成;如果没有乳头状结构,这些物质沉积在基质内则形成不规则钙盐沉积,导致肿瘤细胞变性、坏死以及肿瘤缓慢生长,抑制肿瘤细胞发生转移。并且在对 PTC 的穿刺细胞学的研究中发现砂砾体的前体是大玻璃球体、小玻璃球体、分支状玻璃圆柱体,而不规则钙盐的前体是不规则玻璃体^[13]。多个研究表明,几种骨基质蛋白不仅在骨骼发育中发挥重要作用,而且与甲状腺癌的钙化形成密切相关^[14,20,23,28]。

Runx2 是成骨细胞分化驱动基因,在成骨细胞的分化和骨骼形成中具有重要作用。Runx2 能够促进骨钙蛋白(osteocalcin, OCN)、I 型胶原纤维和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)等成骨细胞特异基因的表达。Endo 等^[20]检测到 Cbfa-1/Runx2 在甲状腺上皮细胞和乳头状癌细胞中的表达上调,促进甲状腺癌细胞分泌与骨骼形成相关的蛋白 ALP、I 型胶原纤维和 OCN 的表达,抑制促甲状腺激素受体的表达。Runx2 通过调节上皮间质转化相关分子(SNAI2、SNAI3、TWIST1)、基质金属蛋白酶(MMP)和血管内皮生长因子(VEGF)A 和 VEGFC 的表达,调控甲状腺癌的侵袭和转移^[21]。同源盒基因家族 HOXA9 增强 Runx2 启动子的活性,增强 ALP 的活

性,促进癌细胞的钙化和体外癌细胞的迁移和侵袭^[22]。

骨唾液酸蛋白(bone sialoprotein, BSP)是由骨相关细胞合成和分泌的细胞外基质酸性糖蛋白,与肿瘤的骨转移密切相关。Wu 等^[23]研究发现 BSP、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)的表达在 PTC 伴钙化组高表达;而且 PTC 标本中 BSP 表达水平与 OPN 表达水平存在显著相关性,表明 BSP 和 OPN 在 PTC 的钙化中起重要作用。王军凯等^[24]研究发现,血清 BSP 诊断甲状腺癌骨转移具有较高的灵敏度和特异性,可用作诊断甲状腺癌骨转移的参考指标。

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMP)又称为骨形成蛋白,是体内诱导骨和软骨形成的因子,随着研究的深入发现其与肿瘤的发生、发展密切相关。BMPs 中除 BMP-1 属于金属蛋白酶家族外,其余 BMP 均属转化生长因子(TGF)- β 超家族成员。BMP-1 是一种结构域保守的金属蛋白酶,可将多种前体蛋白转化为成熟或活性形式,参与细胞外基质的形成。Bai 等^[14]检测到 BMP-1 在砂砾体和基质钙化中表达显著增加,提示 BMP-1 可能在甲状腺癌的钙化中发挥作用。BMP 主要通过 Smad 依赖性 & 非 Smad 依赖性两条信号通路发挥生物学功能,前者是经典骨形成蛋白信号通路,而后者目前报道包括磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号通路、Ras/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路以及 Rho 激酶信号通路。孟晓梅等^[25]研究发现 BMP-4 在 PTC 细胞中表达且具有促进细胞增殖和抑制细胞凋亡的作用,干扰 BMP-4 表达可抑制细胞发生上皮间质转化及转移,但 Smad1 表达无明显变化,提示在 PTC 中 BMP-4 可能不是通过 Smad1 通路发挥作用。而金冬春等^[26]在体外实验中证实沉默 BMP-4 的表达可抑制磷酸化细胞外信号调节激酶(p-ERK)1/2、p-p38MAPK 的表达,推测 BMP-4 可能通过 ERK1/2/p38MAPK 信号通路参与甲状腺癌细胞的增殖及转移。

OPN 也称为分泌性磷酸化糖蛋白 1(SPP1),属于细胞外基质蛋白,其富含精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)序列,其通过与整合素受体以及跨膜糖蛋白 CD44v6 结合,介导细胞基质间的相关作用和细胞信号转导,促进细胞的黏附、迁移、浸润,与肿瘤的转移密切相关^[27]。OPN 转录因子选择性剪接可产生 3 种异构形式,分别为 OPN-a、OPN-b 和 OPN-c。Ferreira 等^[28-29]研究发现,OPN-a 高表达与肿瘤直径

大、血管侵犯、腺体外侵犯和 BRAFV600E 突变有关,OPN-a 过表达可诱导基质金属蛋白酶 MMP2、MMP9 的活性;OPN-a 的过表达与甲状腺癌的砂砾体形成有关,在甲状腺癌细胞系中,过表达 OPN-a 促进了基质钙化和胶原合成。OPN 下调后,细胞外基质钙沉积减少,OCN、I 型胶原蛋白的表达水平下调。但在甲状腺髓样癌中,OPN 的表达预示着良好的预后和较低的侵袭性,OPN 在肿瘤<2 cm、RAS 野生型、PTEN 核表达和没有血管和淋巴浸润等侵袭特征的组织中高表达^[30]。

4 结论和展望

钙化是甲状腺癌超声的重要征象,钙化分型在甲状腺癌的诊断和治疗中具有重要的临床意义,对钙化的形态和分布的深入研究有助于提高甲状腺癌的诊断效能,但是目前关于钙化分型的研究仍处于探索阶段,缺乏统一的标准和前瞻性临床研究的验证。砂砾体是甲状腺癌最重要的钙盐沉积形式,但其形成机制仍是未解之谜。尽管有大量的研究表明骨基质蛋白 Runt2、BSP、BMP 和 OPN 参与甲状腺癌的钙化,但这些分子激活的具体机制、相关信号通路及在肿瘤细胞与细胞外基质中免疫微环境的变化都需要进一步研究。

参考文献:

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] TESSLER F N, MIDDLETON W D, GRANT E G, et al. ACR thyroid imaging, reporting and data system (TI-RADS): white paper of the ACR TI-RADS committee [J]. J Am Coll Radiol, 2017, 14(5): 587-595.
- [3] CHUNG S R, BAEK J H, CHOI Y J, et al. Diagnostic algorithm for metastatic lymph nodes of differentiated thyroid carcinoma[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(6): 1338.
- [4] SHIN H S, NA D G, PAIK W, et al. Malignancy risk stratification of thyroid nodules with macrocalcification and rim calcification based on ultrasound patterns[J]. Korean J Radiol, 2021, 22(4): 663-671.
- [5] PARK Y J, KIM J A, SON E J, et al. Thyroid nodules with macrocalcification: sonographic findings predictive of malignancy [J]. Yonsei Med J, 2014, 55(2): 339-344.
- [6] KOBAYASHI K, FUJIMOTO T, OTA H, et al. Calcifications in thyroid tumors on ultrasonography: calcification types and relationship with histopathological type[J]. Ultrasound Int Open, 2018, 4(2): E45-E51.
- [7] 张毅, 袁梅, 周亚丽, 等. 分化型甲状腺癌超声钙化形态学类型与肿瘤生物学特性及其变异的相关性研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2019, 28(9): 776-781.

- [8] NING C P,JI Q L,FANG S B,et al. Distribution patterns of micro-calcifications in suspected thyroid carcinoma: a classification method helpful for diagnosis[J]. *Eur Radiol*, 2018, 28(6): 2612-2619.
- [9] YIN L,ZHANG W,BAI W,HE W. Relationship between morphologic characteristics of ultrasonic calcification in thyroid nodules and thyroid carcinoma[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2020, 46(1): 20-25.
- [10] 张帅,谷文青,胡传祥,等. 弥漫钙化型甲状腺癌的临床生物学特性研究[J]. *中华普通外科杂志*, 2020, 35(11): 862-865.
- [11] PENG Q,ZHANG Q,CHEN S,NIU C. Petal-like calcifications in thyroid nodules on ultrasonography: a rare morphologic characteristic of calcification associated with aggressive biological behavior [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 271.
- [12] GWON H Y,NA D G,NOH B J,et al. Thyroid nodules with isolated macrocalcifications: malignancy risk of isolated macrocalcifications and postoperative risk stratification of malignant tumors manifesting as isolated macrocalcifications[J]. *Korean J Radiol*, 2020, 21(5): 605-613.
- [13] DAS D K,MALLIK M K,HAJI B E,et al. Psammoma body and its precursors in papillary thyroid carcinoma: a study by fine-needle aspiration cytology[J]. *Diagn Cytopathol*, 2004, 31(6): 380-386.
- [14] BAI Y,ZHOU G,NAKAMURA M,et al. Survival impact of psammoma body, stromal calcification, and bone formation in papillary thyroid carcinoma[J]. *Mod Pathol*, 2009, 22(7): 887-894.
- [15] PYO J S,KANG G,KIM D H,et al. The prognostic relevance of psammoma bodies and ultrasonographic intratumoral calcifications in papillary thyroid carcinoma[J]. *World J Surg*, 2013, 37(10): 2330-2335.
- [16] CAI Y F,WANG Q X,NI C J,et al. The clinical relevance of psammoma body and hashimoto thyroiditis in papillary thyroid carcinoma: a large case-control study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(44): e1881.
- [17] KIM B K,LEE E M,KIM J H,et al. Relationship between ultrasonographic and pathologic calcification patterns in papillary thyroid cancer[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(41): e12675.
- [18] JOHANNESSEN J V,SOBRINHO-SIMÕES M. The origin and significance of thyroid psammoma bodies[J]. *Lab Invest*, 1980, 43(3): 287-296.
- [19] DAS D K. Psammoma body: a product of dystrophic calcification or of a biologically active process that aims at limiting the growth and spread of tumor[J]. *Diagn Cytopathol*, 2009, 37(7): 534-541.
- [20] ENDO T,OHATA K,KOBAYASHI T. Expression and function of Cbfa-1/Runx2 in thyroid papillary carcinoma cells[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(6): 2409-2412.
- [21] NIU D F,KONDO T,NAKAZAWA T,et al. Transcription factor Runx2 is a regulator of epithelial-mesenchymal transition and invasion in thyroid carcinomas[J]. *Lab Invest*, 2012, 92(8): 1181-1190.
- [22] JIN Y,KIM HK,LEE J,et al. Transcription factor HOXA9 is linked to the calcification and invasion of papillary thyroid carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 6773.
- [23] WU G,GUO J J,MA Z Y,et al. Correlation between calcification and bone sialoprotein and osteopontin in papillary thyroid carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(2): 2010-2017.
- [24] 王军凯,李丽.血清 I 型胶原交联羧基末端肽和骨唾液酸蛋白在甲状腺癌骨转移早期诊断中的临床价值[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(7): 1429-1433.
- [25] 孟晓梅,巴茂文,王绍光,等. BMP-4 对甲状腺乳头状癌细胞生物学行为的影响及其分子机制[J]. *山东医药*, 2021, 61(2): 1-5.
- [26] 金冬春,裴俊峰,竺科英,等. 骨形态发生蛋白-4 对甲状腺癌细胞增殖、凋亡和迁移的影响及机制[J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36(8): 1394-1397.
- [27] LAMORT A S,GIOPANOU I,PSALLIDAS I,STATHOPOULOS GT. Osteopontin as a link between inflammation and cancer: the thorax in the spotlight[J]. *Cells*, 2019, 8(8): 815.
- [28] FERREIRA L B,TAVARES C,PESTANA A,et al. Osteopontin-a splice variant is overexpressed in papillary thyroid carcinoma and modulates invasive behavior[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(32): 52003-52016.
- [29] FERREIRA L B,LIMA R T,BASTOS ACSDF,et al. OPNa overexpression is associated with matrix calcification in thyroid cancer cell lines[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 2990.
- [30] FERREIRA L B,ELOY C,PESTANA A,et al. Osteopontin expression is correlated with differentiation and good prognosis in medullary thyroid carcinoma[J]. *Eur J Endocrinol*, 2016, 174(4): 551-561.

(2023-12-05 收稿)