

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.17.013

HMGB1 和 GPX3 在甲状腺癌中的变化及其与病理特征的关系*

张振华¹, 阚云珍², 刘秋雨²

(河南省人民医院:1. 甲状腺外科;2. 病理科, 郑州 450003)

[摘要] **目的** 探讨血浆高迁移率蛋白 1(HMGB1)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX3)在甲状腺癌中的变化及其与病理特征的关系。**方法** 应用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定甲状腺癌组(153 例)、甲状腺良性结节组(120 例)及健康对照组(120 例)血浆 HMGB1、GPX3 水平,分析血浆 HMGB1、GPX3 在甲状腺癌患者中的变化;应用受试者特异性曲线(ROC)分析血浆 HMGB1、GPX3 在甲状腺癌中的应用价值。**结果** 甲状腺癌组血浆 HMGB1、HMGB1 水平及其阳性表达率均高于甲状腺良性结节组及健康对照组($P<0.05$),血浆 GPX3 水平及 GPX3 阳性表达率低于甲状腺良性结节组及健康对照组($P<0.05$)。甲状腺良性结节组及健康对照组血浆 HMGB1、GPX3 水平及 HMGB1、GPX3 阳性表达率比较均差异无统计学意义($P>0.05$)。甲状腺癌血浆 HMGB1 表达与浸润程度、TNM 分期、淋巴转移有密切关系($P<0.05$),GPX3 表达与 TNM 分期及淋巴结转移有关($P<0.05$)。经 ROC 分析可知, HMGB1、GPX3 在甲状腺癌中诊断灵敏度及特异度分别为 76.3%、85.5%、70.8% 和 82.2%。**结论** 血浆 HMGB1、GPX3 表达水平与甲状腺癌发生及病情进展有密切关系。

[关键词] 高迁移率蛋白 1;谷胱甘肽过氧化物酶;甲状腺肿瘤;病理特征

[中图分类号] R581 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)17-2347-03

Changes of HMGB1 and GPX3 in thyroid cancer and their relation with pathologic characteristics*

Zhang Zhenhua¹, Kan Yunzhen², Liu Qiuyu²

(1. Department of Thyroid Surgery; 2. Department of Pathology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450003, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the changes of high mobility group box 1(HMGB1), glutathione peroxidase(GPX3) in thyroid carcinoma and thier relationship with pathological characteristics. **Methods** The levels of HMGB1 and GPX3 were detected by using ELISA in 153 cases of thyroid cancer, 120 cases of benign thyroid nodules and 120 healthy controls. The changes of HMGB1 and GPX3 in the patients with thyroid cancer were analyzed. Their application value in thyroid cancer was analyzed by using the receiver operating characteristic(ROC) curve. **Results** The plasma HMGB1 level and the HMGB1 positive expression rate in the thyroid cancer group were higher than those in the benign thyroid nodules group and control group($P<0.05$), while the plasma GPX3 level and GPX3 positive expression rate in the thyroid cancer group were lower than those in the benign thyroid nodules group and control group($P<0.05$). There were no significant differences in the levels of plasma HMGB1, GPX3 and the positive rates of HMGB1 and GPX3 between the thyroid benign nodule group and the healthy control group($P>0.05$). The plasma HMGB1 expression in thyroid cancer was closely related with the infiltration degree, clinical stage and lymph node metastasis($P<0.05$), and the GPX3 expression was related with the tumor stage and lymph node metastasis($P<0.05$). The ROC curve showed that the sensitivity and specificity of HMGB1 and GPX3 for diagnosing thyroid cancer were 76.3% and 85.5%, 70.8% and 82.2% respectively. **Conclusion** Plasma HMGB1 and GPX3 expression levels are closely associated with the occurrence and progression of thyroid cancer.

[Key words] high mobility group box 1; glutathione peroxidase; thyroid neoplasms; pathologic features

甲状腺癌是临床常见的恶性肿瘤,临床发病率约占全身恶性肿瘤的 1%,近年发病率呈上升趋势^[1]。甲状腺癌早期无明显症状,当患者被确诊时已接近中、晚期,从而延误了治疗的最佳时机。目前超声是诊断甲状腺癌常用的方法,尽管超声分辨率不断提高,但对于早期甲状腺癌超声下仍容易与甲状腺良性结节混淆^[2]。随着分子生物学技术的快速发展,分子标志物在鉴别良恶性肿瘤中的应用价值越来越受到关注。血浆高迁移率蛋白 1(HMGB1)作为核蛋白,广泛存在于哺乳动物组织细胞中,并参与基因调控、转录、修饰及细胞增殖、分化等多种生命活动。越来越多的证据表明, HMGB1 在肿瘤发生、进展过程中起到重要的作用^[3]。谷胱甘肽过氧化物酶(GPX3)是人体抗过氧化物酶体系中重要组成物质,在机体清除脂质过氧化物

及过氧化氢中起到重要作用^[4]。相关研究显示,GPX3 表达水平缺失与多种恶性肿瘤发生、进展有密切的关系^[5]。本研究将探讨血浆 HMGB1、GPX3 在甲状腺癌中的变化及其与病理特征的关系,旨在为甲状腺早期诊断提供指导,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 6 月至 2016 年 6 月本院收治的 153 例经病理组织学及超声确诊的甲状腺癌患者(甲状腺癌组),其中男 62 例,女 91 例;年龄 32~76 岁,平均(55.4±3.2)岁;类型:乳头腺癌 58 例,滤泡性腺癌 52 例,髓样癌 23 例,未分化癌 20 例;肿瘤直径:1~7 cm,平均(4.2±0.8)cm;浸润深度:T1 45 例,T2 40 例,T3 35 例,T4 33 例;分化程度:高分化 62 例,中分化 58 例,低分化 33 例;TNM 分期:I 期 40 例,II

* 基金项目:河南省重点科技攻关计划项目(132102310095)。 作者简介:张振华(1974—),硕士,主治医师,主要从事甲状腺疾病方面研究。

期 48 例,Ⅲ期 42 例,Ⅳ期 23 例;淋巴转移 53 例。患者均行甲状腺癌根治手术,术前未接受过任何放化疗治疗,患者均签署知情同意书。排除标准:(1)入组前应用抗肿瘤药物治疗的;(2)有明显的心、肝和肾疾病者;(3)其他恶性肿瘤并发甲状腺转移者;(4)妊娠期患者。同时选取 120 例甲状腺良性结节患者为阳性对照(甲状腺良性结节组),男 45 例,女 75 例;年龄 23~73 岁,平均(56.2±2.9)岁;其中,结节性甲状腺肿 54 例,甲状腺腺瘤 66 例,患者均经病理组织学及超声确诊。选取同期在本院行身体检查的 120 例健康体检者为健康对照组,男 55 例,女 65 例;年龄 23~75 岁,平均(55.8±2.5)岁。3 组性别构成比、平均年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。上述所有研究者均签署知情同意书,愿意配合研究。

1.2 方法 所有研究对象均在治疗前或是体检时空腹采集外周静脉血 5 mL,静止放置 30 min 后进行离心,3 000 r/min,离心半径为 5 cm。离心结束后留取血浆,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血浆 HMGB1、GPX3 水平,检测结果放入全自动免疫分析仪中分析(罗氏 Cobas e6011 美国贝克曼),严格按照说明书进行操作,试剂选择罗氏原装进口配套试剂,并根据

试剂说明书的阳性临界值进行阴性和阳性的判断。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,比较采用 t 检验;计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验;血浆 HMGB1、GPX3 在甲状腺癌中的应用价值采用受试者特异曲线(ROC)分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组血浆 HMGB1、GPX3 水平及阳性表达率比较 甲状腺癌组血浆 HMGB1 水平及 HMGB1、阳性表达率均高于甲状腺良性结节组及健康对照组($P<0.05$),而血浆 GPX3 水平及 GPX3 阳性表达率低于甲状腺良性结节组及对照组($P<0.05$)。甲状腺良性结节组与健康对照组血浆 HMGB1、GPX3 水平及 HMGB1、GPX3 阳性表达率比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.2 甲状腺癌 HMGB1、GPX3 阳性表达与病理特征的关系 甲状腺癌血浆 HMGB1 表达与浸润程度、TNM 分期、淋巴转移有密切的关系($P<0.05$),GPX3 表达与 TNM 分期及淋巴结转移有关($P<0.05$),见表 2。

表 1 3 组血浆 HMGB1、GPX3 水平及阳性表达率比较

组别	n	HMGB1		GPX3	
		浓度($\bar{x}\pm s,\mu\text{g/L}$)	阳性率(%)	浓度($\bar{x}\pm s,\mu\text{g/L}$)	阳性率(%)
甲状腺癌组	153	13.85±2.15	140(91.50)	75.23±3.89	85(55.56)
甲状腺良性结节组	120	3.88±1.82*	10(8.33)*	157.85±5.89*	112(93.33)*
健康对照组	120	3.52±1.28*	5(4.17)*	156.98±6.12*	115(95.83)*
F/χ^2		145.42	284.76	113.06	87.206
P		0.000	0.000	0.000	0.000

* : $P<0.05$,与甲状腺癌组比较。

表 2 甲状腺癌 HMGB1、GPX3 阳性表达与临床病理特征的关系[n(%)]

临床特征	n	HMGB1(n=140)			GPX3(n=85)		
		阳性率	χ^2	P	阳性率	χ^2	P
性别							
男	62	58(93.55)	0.561	0.454	35(56.45)	0.034	0.854
女	91	82(90.11)			50(54.95)		
年龄(岁)							
≥60	70	65(92.86)	0.304	0.581	38(54.29)	0.084	0.772
<60	83	75(90.36)			47(56.63)		
肿瘤直径(cm)							
<5	95	88(92.63)	0.410	0.522	55(57.89)	0.555	0.456
≥5	58	52(89.66)			30(51.72)		
肿瘤类型							
乳头腺癌	58	55(94.83)	2.567	0.463	32(55.17)	0.877	0.831
滤泡性腺癌	52	48(92.31)			28(53.85)		
髓样癌	23	20(86.96)			13(56.52)		
未分化癌	20	17(85.00)			12(60.00)		
分化程度							
高分化	62	55(88.71)	1.462	0.481	35(56.45)	1.261	0.532
中分化	58	55(94.83)			32(55.17)		
低分化	33	30(90.91)			18(54.55)		
浸润深度							

续表 2 甲状腺癌 HMGB1、GPX3 阳性表达与临床病理特征的关系[n(%)]

临床特征	n	HMGB1(n=140)			GPX3(n=85)		
		阳性率	χ^2	P	阳性率	χ^2	P
T1+T2	85	72(84.71)	11.366	0.001	50(58.82)	0.827	0.363
T3+T4	68	68(100.00)			35(51.47)		
TNM 分期							
I+II	88	75(85.23)	10.494	0.001	65(73.86)	28.119	0.000
III+IV	65	65(100.00)			20(30.77)		
淋巴结转移							
有	53	53(100.00)	7.530	0.006	5(9.43)	69.860	0.000
无	100	87(87.00)			80(80.00)		

2.3 血浆 HMGB1、GPX3 在甲状腺癌诊断中的应用 经 ROC 分析可知, HMGB1 诊断甲状腺癌的 ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.602, 最佳诊断临界值为 8.12 $\mu\text{g/L}$, 灵敏度为 76.3%, 特异度为 85.5%; GPX3 诊断甲状腺癌的 AUC 为 0.728, 最佳诊断临界值为 112.52 $\mu\text{g/L}$, 灵敏度为 70.8%, 特异度为 82.2%, 见图 1。

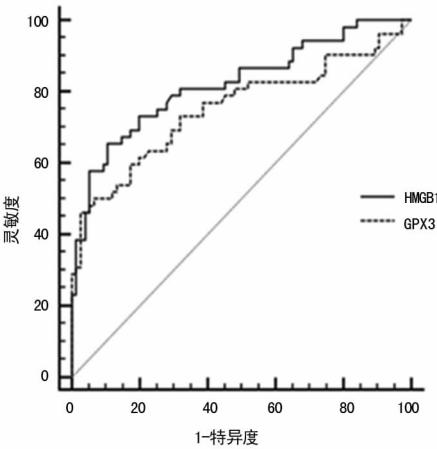


图 1 HMGB1、GPX3 在甲状腺癌中的应用价值

3 讨 论

HMGB1 是高迁移率族蛋白家族成员之一, 其作为 DNA 结合蛋白, 可参与 DNA 修饰、转录、调节及稳定结构^[6]。近年研究指出, 细胞外 HMGB1 可与特异性细胞膜受体结合, 参与癌细胞生长、增殖、浸润及转移, 而由免疫细胞或坏死细胞分泌的 HMGB1 可参与机体炎性反应^[7]。目前大量研究显示, 结肠癌、宫颈癌及前列腺癌组织中存在 HMGB1 过表达的现象^[8-9]。肿瘤在生长过程中会导致大量细胞坏死, 并向外周血释放 HMGB1, 引起局部慢性炎症浸润, 导致机体免疫失衡, 促使癌细胞进一步生长及扩散。血浆中 HMGB1 可与细胞表面糖基化终产物受体 (RAGE) 结合生成 HMGB1-RAGE 复合物, 激活 PI3K/Akt 信号通路及相关酶类, 并在肿瘤新生血管形成、肿瘤转移、浸润过程中起到重要的作用^[10]。本研究中, 甲状腺癌患者血浆 HMGB1 水平及 HMGB1 阳性率显著高于甲状腺良性结节及健康对照组, 且 HMGB1 表达与浸润程度、TNM 分期、淋巴结转移有密切的关系 ($P<0.05$), 表明血浆 HMGB1 表达与甲状腺癌发生、病情进展有密切的关系。导致甲状腺癌血浆 HMGB1 表达升高可能与多种因素有关: (1) 癌细胞生长繁殖过程中会与正常细胞竞争营养, 正常细胞由于缺乏生长所需营养而死亡, 死亡细胞会大量释放 HMGB1, 导致血浆中

HMGB1 水平显著升高^[11]; (2) 癌细胞在生长及转移过程中伴随血管快速生长, 导致实体瘤中心区由于缺乏糖氧供应而坏死, 坏死的细胞被动分泌 HMGB1, 导致血浆中 HMGB1 水平显著升高^[12]。经 ROC 分析可知, HMGB1 诊断甲状腺癌灵敏度为 76.3%, 特异度为 85.5%, 因此通过对罹患甲状腺癌高风险人群检测 HMGB1 将有助于及时发现甲状腺癌, 从而达到尽早诊断及治疗的目的。

GPX3 是过氧化物分解酶中的重要成员, 它具有清除机体过氧化物及氧自由基的作用。GPX3 基因位于 5q23 位点, 是肿瘤中常见的染色体杂合性缺失位点^[13]。目前在食管癌、乳腺癌、直肠癌等多种恶性肿瘤中均发现 GPX3 基因位点缺失^[14-16]。肿瘤细胞在生长过程中会大量产生活性氧簇并起到抑制凋亡的作用, 活性氧簇具有促进肿瘤细胞增殖、浸润、转移及促血管生成的作用^[13]。机体中活性氧簇可损伤 DNA 碱基并引起 DNA 突变, 从而引起机体出现各种病理性反应。因此及时清除机体中活性氧簇对减轻过氧化物对机体细胞损伤具有重要的意义。本研究中, 甲状腺癌患者血浆 GPX3 水平及 GPX3 阳性率显著低于甲状腺良性结节及健康对照组, 且 GPX3 表达与临床分期、淋巴结转移有密切的关系 ($P<0.05$), 表明血浆 GPX3 表达缺失与甲状腺癌发生、病情进展有密切的关系。经 ROC 曲线分析, GPX3 诊断甲状腺癌灵敏度为 70.8%, 特异性为 82.2%, 提示 GPX3 在甲状腺癌早期诊断中具有较高的应用价值, 可作为甲状腺癌早期诊断、病情进展及预后的评价指标。

综上所述, 血浆 HMGB1、GPX3 表达水平升高与甲状腺癌发生及病情进展有密切的关系。通过测定血浆 HMGB1、GPX3 水平可有效鉴别甲状腺良恶性病变及评价患者病情进展及预后。

参考文献

[1] 山世岩, 屈翔, 张慧明, 等. 甲状腺癌的诊断和外科治疗效果分析[J]. 中国全科医学, 2013, 16(23): 2756-2759.

[2] 党丽峰, Jin CL. 超声弹性成像在甲状腺癌诊断中的应用[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(12): 2976-2977.

[3] 王力, 丁相龙, 于庆波, 等. 甲状腺乳头状癌组织 HMGB1 表达与临床病理特征相关性分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(24): 1900-1903.

[4] 崔传友, 吴全生, 亓玉忠, 等. HMGB-1 和 TSGF 联合检测诊断甲状腺癌的价值[J]. 中国普通外科杂志, 2012, 21(5): 536-539.

[5] 韩超, 李静怡, 王志芳, 等. 乳头状甲状(下转第 2352 页)

HMGB1 值差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结果显示随着病情严重程度的增加, HMGB1 水平越高。同时, 死亡组 AP 患者的血清 HMGB1 水平显著高于存活组。本研究中结果显示, 与于清霞等^[11]研究报道血清 HMGB1 水平在 SAP 患者显著增加并与其严重性相关相符合。APACHE-II 评分是目前 ICU 中, 应用最广泛的疾病严重程度的静态评分系统, 主要由急性生理学评分、年龄评分及慢性健康状况评分共三部分组成, 其分值总和越高, 反映病情越危重, 患者病死率也越高。朱川等^[12]研究发现, 随着 APACHE-II 评分的逐渐增加, SAP 患者器官衰竭的数量明显增加。本研究采用直线回归分析比较, 血清 HMGB1 水平与 APACHE-II 评分的相关性, SAP 组随着 HMGB1 值的增加, APACHE-II 评分亦增加, 两者呈明显正相关($r = 0.725$, $P < 0.05$), 即血清 HMGB1 水平越高, APACHE-II 评分也越高。同时, 死亡组 AP 患者的血清 HMGB1 水平与 APACHE-II 评分显著高于存活组。但在 MAP 组与 MSAP 组发现, 随着 HMGB1 值的增加, APACHE-II 评分无明显变化, 两者无明显相关($P > 0.05$)。

综上所述, HMGB1 值联合 APACHE-II 评分, 能有效地评估 AP 患者病情严重程度, 从而为 AP 患者的临床个体化治疗提供依据。但由于本研究 AP 患者样本量偏少, 尚需要大样本的研究进一步证明以更好地指导临床诊断及治疗。

参考文献

- [1] 王兴鹏, 李兆申. 2013 年中国急性胰腺炎诊治指南[J]. 中国实用内科杂志, 2013, 33(7): 530-535.
- [2] 陈平, 袁耀宗. 急性胰腺炎的病因与分类[J]. 中华消化杂志, 2013, 33(11): 727-729.
- [3] Sendur R, Pawlik WW. Vascular factors in the mechanism of acute pancreatitis[J]. *Przeg Lek*, 1996, 53(1): 41-45.
- [4] Yang H, Ochani M, Li J, et al. Reversing established sepsis with antagonists of endogenous high-mobility group

box 1[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(1): 296-301.

- [5] Yasuda T, Ueda T, Takeyama Y, et al. Significant increase of serum high-mobility group box chromosomal protein 1 levels in patients with severe acute pancreatitis[J]. *Pancreas*, 2006, 33(4): 359-363.
- [6] Wild CA, Bergmann C, Fritz G, et al. HMGB1 conveys immunosuppressive characteristics on regulatory and conventional T cells[J]. *Int Immunol*, 2012, 24(8): 485-494.
- [7] Robert SM, Sjodin H, Fink MP, et al. Preconditioning with high mobility group box 1 (HMGB1) induces lipoteichoic acid (LTA) tolerance[J]. *J Immunother*, 2010, 33(7): 663-671.
- [8] Patel VS, Sitapara RA, Gore A, et al. High Mobility Group Box-1 mediates hyperoxia-induced impairment of *Pseudomonas aeruginosa* clearance and inflammatory lung injury in mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 48(3): 280-287.
- [9] 宋小芹, 毛恩强. HMGB-1 与重症急性胰腺炎关系的研究进展[J]. 外科理论与实践, 2013, 18(5): 483-485.
- [10] 余泉, 余灿, 李霞, 等. 高迁移率族蛋白-1 在急性胰腺炎大鼠胰腺中的表达[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(1): 44-46.
- [11] 于清霞, 夏永宏, 王静. 急性胰腺炎严重程度与预后与降钙素原、C 反应蛋白、高迁移率族 B1 关系[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(9): 2036-2038.
- [12] 朱川, 尹昌林, 周人杰. APACHE-II 评分对重症急性胰腺炎患者行高容量血液滤过治疗时机选择的价值[J]. 重庆医学, 2012, 23(41): 2371-2376.

(收稿日期: 2017-03-04 修回日期: 2017-05-08)

(上接第 2349 页)

- 腺癌中谷胱甘肽过氧化物酶 3 启动子区高甲基化与表达缺失[J]. 中华实验外科杂志, 2012, 29(1): 77-79.
- [6] Exner R, Sachet M, Arnold T, et al. Prognostic value of HMGB1 in early breast cancer patients under neoadjuvant chemotherapy[J]. *Cancer Med*, 2016, 25(4): 78-82.
- [7] Huber R, Meier B, Otsuka A, et al. Tumour hypoxia promotes melanoma growth and metastasis via high mobility group Box-1 and M2-like macrophages[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(4): 29914.
- [8] Sohun M, Shen H. The implication and potential applications of high-mobility group box 1 protein in breast cancer[J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(11): 217.
- [9] Kargl A, Demirpençe Ö, Gündüz Ş, et al. Serum levels of HMGB1 have a diagnostic role in metastatic renal cell cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2016, 17(1): 17-20.
- [10] 纪相芬, 王凯. 谷胱甘肽过氧化物酶和硫氧还蛋白还原酶与肝癌发病关系的研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2014, 22(8): 639-640.
- [11] An BC, Jung NK, Park CY, et al. Epigenetic and glucocorticoid receptor-mediated regulation of glutathione peroxi-

dase 3 in lung cancer cells[J]. *Mol Cells*, 2016, 39(8): 631-638.

- [12] Mcneil NM, Press DJ, Mayder DM, et al. Enhanced glutathione peroxidase activity of Water-Soluble and polyethylene Glycol-Supported selenides, related spirodioxyselenuranes, and pincer selenuranes[J]. *J Org Chem*, 2016, 24(4): 78-82.
- [13] 沈磊, 贺远龙, 张巍巍, 等. GPX3 表达与消化系统肿瘤关系的研究进展[J]. 临床与实验病理学杂志, 2014, 30(6): 670-672.
- [14] 秦跃辉. 甲状腺癌组织中谷胱甘肽过氧化物酶的表达及意义[J]. 中国保健营养, 2015, 25(10): 127-128.
- [15] 师国强, 曾国欣, 王宏伟, 等. 非小细胞肺癌组织中 GPX3 基因的表达及其临床意义[J]. 实用医学杂志, 2014(18): 2964-2966.
- [16] 郑燕芳, 李许锋, 蒋春雨, 等. 食管鳞癌中 GPX3 基因的甲基化特征及其临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(10): 1367-1370.

(收稿日期: 2017-03-03 修回日期: 2017-05-07)