

• 临床研究 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.04.014
网络首发 https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250304.2322.005(2025-03-05)

整联蛋白 $\alpha 2$ 表达与甲状腺微小乳头状癌 复发风险的相关性研究^{*}

程 枫¹,周 斌¹,毛卫波²,朱忆凌²

[温州医科大学附属第五医院/丽水市中心医院:1.头颈(甲状腺)外科;2.病理科,浙江丽水 323000]

[摘要] **目的** 探讨甲状腺微小乳头状癌(PTMC)组织中整联蛋白 $\alpha 2$ (ITGA2)表达与复发风险的相关性。**方法** 收集 2022 年 12 月至 2023 年 6 月于该院经手术病理确诊的 98 例 PTMC 患者的肿瘤组织和癌旁组织标本,采取免疫组织化学方法观察 ITGA2 在 PTMC 患者的肿瘤组织和癌旁组织中的表达情况。收集所有患者的临床病理特征,比较 ITGA2 阳性组和阴性组患者间的临床特征差异性。根据肿瘤复发风险分层标准,比较 ITGA2 表达在组间的差异性。**结果** PTMC 肿瘤组织中 ITGA2 的表达水平高于癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.001$)。多因素 logistic 回归分析结果显示,BRAF 基因突变($OR=2.668$)、较大的肿瘤合并直径(TTD, $OR=1.111$)是 ITGA2 高表达的危险因素($P<0.05$)。ITGA2 阳性表达与肿瘤复发风险相关($P=0.009$)。**结论** ITGA2 可以作为一个新的分子标志物应用于临床。

[关键词] 甲状腺微小乳头状癌;临床病理特征;整联蛋白 $\alpha 2$;免疫组织化学;复发危险分层

[中图法分类号] R736.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2025)04-0874-05

The expression of integrin $\alpha 2$ is associated with the risk of recurrence in papillary thyroid microcarcinoma^{*}

CHENG Feng¹,ZHOU Bin¹,MAO Weibo²,ZHU Yiling²

(1. Department of Head and Neck Surgery;2. Department of Pathology, the Fifth
Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University/Lishui Municipal Central Hospital, Lishui,
Zhejiang 323000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation between the expression of integrin $\alpha 2$ (ITGA2) and recurrence risk of papillary thyroid microcarcinoma (PTMC). **Methods** PTMC and para-carcinoma tissue were collected from patients who underwent surgery and pathologically confirmed at the hospital from December 2022 to June 2023, and the expression of ITGA2 in PTMC and paracarcinoma tissue were observed using immunohistochemistry method. Clinical characteristics of all patients were collected and the differences in clinicopathological characteristics between patients in ITGA2-positive and -negative groups were compared. According to the risk stratification criteria for tumor recurrence, the differences in ITGA2 expression between groups were compared. **Results** The expression level of ITGA2 in PTMC was higher than that in para-carcinoma tissues, and the difference was statistically significant ($P<0.001$). Multivariate logistic regression analysis showed that BRAF mutation ($OR=2.668$) and larger total tumor diameter (TTD, $OR=1.111$) were risk factors for ITGA2 overexpression ($P<0.05$). ITGA2 positive expression was associated with the risk of tumor recurrence ($P=0.009$). **Conclusion** ITGA2 can be used as a novel molecular biomarker for clinical application.

[Key words] papillary thyroid microcarcinoma; clinical pathological features; integrin $\alpha 2$; immunohistochemistry; recurrence risk stratification

近年甲状腺癌发病率呈持续上升趋势,2022 年已上升至中国所有癌症的第 3 位,其中大多数为甲状腺微小乳头状癌(papillary thyroid microcarcinoma, PTMC)^[1]。PTMC 整体预后良好,美国甲状腺协会

^{*} 基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2022KY1425)。

(American Thyroid Association, ATA) 建议对低危 PTMC 采取积极监测方案^[2]。与此同时,热消融也被认为是低危 PTMC 的有效治疗方法^[3]。PTMC 如果存在不良病理类型、局部外侵、淋巴结转移、鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B1(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF) 基因突变等情况,其复发风险将明显上升,需要积极手术处理,以达到根治肿瘤的目的^[4]。由于 PTMC 存在多种临床处理策略,对于其病理特征的精准评估尤为重要,近年来已成为探索的热点。

整联蛋白 $\alpha 2$ (integrin $\alpha 2$, ITGA2) 是胶原蛋白和相关蛋白跨膜受体的 α 亚基^[5],它在多种类型的肿瘤例如胰腺癌、胃癌、肝癌、前列腺癌和乳腺癌^[6-10] 中均呈过表达且与不良预后相关。近年来,越来越多的证据也表明,ITGA2 可能在调节肿瘤细胞迁移、侵袭和转移中发挥重要作用^[11-12]。QIU 等^[13]、SHEN 等^[14] 通过对 GEO 数据库的挖掘发现,与正常组织比较,甲状腺肿瘤组织中的 ITGA2 表达水平被上调,提示它与甲状腺肿瘤的发生、发展相关。本研究旨在探讨 ITGA2 在甲状腺肿瘤及癌旁组织中的表达差异,以及其与患者不同临床病理学特征间的关系,同时探讨其与 PTMC 复发风险的相关性,以期能够进一步优化临床诊疗策略。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2022 年 12 月至 2023 年 6 月于本院经手术病理证实的 PTMC 患者的肿瘤组织和癌旁组织标本。纳入标准:(1)经术后病理证实为甲状腺乳头状癌;(2)术前未接受穿刺检查;(3)肿瘤最大径 ≤ 10 mm;(4)组织标本能够满足分析需要。排除标准:(1)多发肿瘤;(2)合并其他类型甲状腺癌;(3)临床资料不完整。最终纳入了 98 例患者。本研究经本院医学伦理委员会批准[审批号:科研伦审(2021)第(233)号],免除受试者知情同意。

1.2 方法

将手术切除获得的 PTMC 肿瘤组织和癌旁组织标本切片,厚度 4 μ m,采用免疫组织化学 Envision 二步法(试剂盒为美国 Roche 公司产品)检测组织中 ITGA2 表达情况。具体步骤如下:二甲苯脱蜡,无水乙醇、梯度浓度乙醇脱水,蒸馏水水化清除二甲苯;3% 过氧化氢处理切片 10 min,磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)洗涤切片 3 次,5 min/次,然后使用 pH 值为 8.0 的乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)抗原修复液于高压锅修复 2 min;将切片从高压锅中取出,自然冷却 15 min 至室温, PBS 洗涤 3 次,5 min/次;滴加 ITGA2 抗体 50~100 μ L(美国 Abcam 公司,稀释比例为 1:500)覆盖

组织,37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h;取出切片, PBS 洗涤 3 次,5 min/次;滴加二抗(美国 Roche 公司)覆盖组织,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min; PBS 洗涤 3 次,5 min/次;滴加 DAB 显色溶液(美国 Roche 公司),室温下孵育 5 min,进行 DAB 显色;置苏木素溶液中复染约 3 min,用自来水冲洗;梯度浓度乙醇脱水,盖玻片及中性树脂封片,在显微镜下观察并拍照。ITGA2 的染色评估使用 Remmele 免疫反应评分法^[15],以着色强度(无色 0 分,淡黄色 1 分,黄色 2 分,棕黄色 3 分)和阳性细胞百分比(无阳性细胞 0 分,阳性细胞 $\leq 10\%$ 1 分, $>10\% \sim 50\%$ 2 分, $>50\% \sim 75\%$ 3 分, $>75\%$ 4 分)的乘积对免疫组织化学结果进行半定量分析。两者乘积 ≤ 3 分为阴性, >3 分为阳性。

1.3 收集指标

收集整理所有患者的临床及病理特征,包括性别、年龄、桥本甲状腺炎史、BRAF 基因突变、单灶/多灶、肿瘤数目、肿瘤最大径、肿瘤合并直径(total tumor diameter, TTD)、肿瘤外侵、淋巴结转移、转移淋巴结数目、转移淋巴结最大径、转移区域、肿瘤分期。根据 ITGA2 的表达情况,将患者分为 ITGA2 阳性组和 ITGA2 阴性组,比较两组患者上述临床病理特征的差异性。参考《中国抗癌协会甲状腺癌整合诊治指南(2022 精简版)》(简称 2022 版 CACA 指南)的甲状腺癌肿瘤复发风险分层标准^[16],将患者分为复发风险低危组、中危组和高危组,比较各复发风险分层患者 ITGA2 表达的差异。

1.4 统计学处理

采用 SPSS26.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用多因素 logistic 回归分析法分析 ITGA2 高表达的影响因素,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ITGA2 在 PTMC 肿瘤组织及癌旁组织中的表达情况

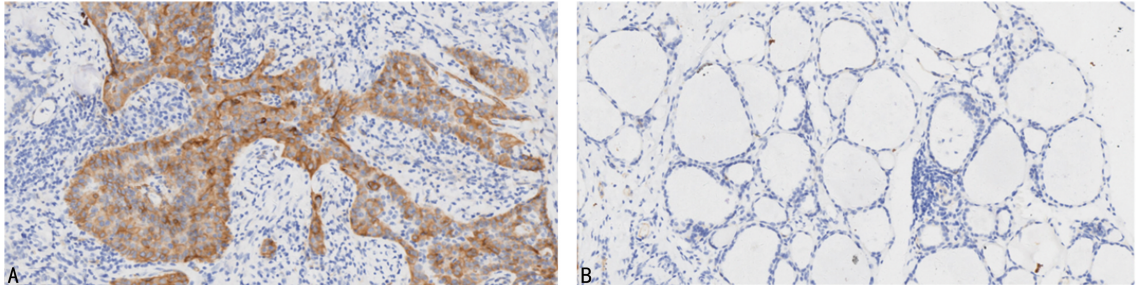
免疫组织化学结果显示,在 PTMC 肿瘤组织中 ITGA2 的表达水平较癌旁组织高(图 1),肿瘤组织中 PTMC 阳性表达率 45.92% (45/98),在癌旁组织中仅为 3.06% (3/98),两者比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。

2.2 ITGA2 的表达与 PTMC 患者临床病理特征

比较 ITGA2 阳性组和阴性组间的临床及病理特征,结果显示两组患者年龄、性别、有无桥本甲状腺炎史、单灶/多灶、肿瘤最大径、有无肿瘤外侵、有无淋巴结转移、转移淋巴结数目是否 ≤ 5 枚、转移淋巴结最大径及是否 < 2 mm、转移区域、肿瘤分期比较,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$),两组患者有无 BRAF 基因

突变、TTD、转移淋巴结数目比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。将两组 $P<0.1$ 的临床病理特征纳入多因素 logistic 回归分析,结果显示,BRAF 基因

突变和较大的 TTD 是 ITGA2 高表达的危险因素($P<0.05$),见表 2。



A:肿瘤组织;B:癌旁组织。

图 1 ITGA2 在 PTMC 肿瘤组织及癌旁组织中的表达(200×)

表 1 不同 ITGA2 表达患者临床病理特征比较			
项目	ITGA2 阳性组 (n=46)	ITGA2 阴性组 (n=52)	P
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	46.33±10.19	48.06±10.25	0.405
性别[n(%)]			0.107
男	7(15.2)	15(28.8)	
女	39(84.8)	37(71.2)	
桥本甲状腺炎[n(%)]			0.729
有	12(26.1)	12(23.1)	
无	34(73.9)	40(76.9)	
BRAF 基因突变[n(%)]			0.013
有	38(82.6)	31(59.6)	
无	8(17.4)	21(40.4)	
单灶/多灶[n(%)]			0.400
单灶	30(65.2)	38(73.1)	
多灶	16(34.8)	14(26.9)	
肿瘤数目($\bar{x}\pm s$,个)	1.80±1.47	1.38±0.69	0.266
肿瘤最大径($\bar{x}\pm s$,mm)	6.13±2.08	5.38±2.37	0.103
TTD($\bar{x}\pm s$,mm)	8.80±5.93	6.31±3.16	0.010
肿瘤外侵[n(%)]			0.377
有	19(41.3)	17(32.7)	
无	27(58.7)	35(67.3)	
淋巴结转移[n(%)]			0.063
有	29(63.0)	23(44.2)	
无	17(37.0)	29(55.8)	
转移淋巴结数目($\bar{x}\pm s$,个) ^a	2.76±3.73	1.50±2.78	0.012
≤5 枚[n(%)]	22(75.9)	17(73.9)	0.811
>5 枚[n(%)]	7(24.1)	6(26.1)	
转移淋巴结最大径($\bar{x}\pm s$,mm) ^a	3.66±3.85	2.07±3.63	0.091
<2 mm[n(%)]	3(10.3)	5(21.7)	0.258
≥2 mm[n(%)]	26(89.7)	18(78.3)	

续表 1 不同 ITGA2 表达患者临床病理特征比较			
项目	ITGA2 阳性组 (n=46)	ITGA2 阴性组 (n=52)	P
转移区域[n(%)]			0.173
无	17(37.0)	29(55.8)	
中央区	26(56.5)	21(40.4)	
侧颈区	3(6.5)	2(3.8)	
肿瘤分期[n(%)]			0.165
I期	43(93.5)	44(84.6)	
II期	3(6.5)	8(15.4)	

^a:转移淋巴结计算各组占比时,ITGA2 阳性组以 29 为分母,ITGA2 阴性组以 23 为分母。

表 2 多因素 logistic 回归分析 ITGA2 高表达的影响因素			
项目	OR	95%CI	P
BRAF 基因突变	2.668	1.015~7.013	0.047
TTD	1.111	1.004~1.231	0.043
淋巴结转移	1.547	0.643~3.718	0.330
转移淋巴结数目	1.018	0.834~1.241	0.864
转移淋巴结最大径	0.968	0.823~1.139	0.697

2.3 ITGA2 的表达与 PTMC 患者复发风险的相关性

本研究患者中复发风险低危组 50 例(51.02%),中危组 48 例(48.98%),高危组 0 例。ITGA2 阳性表达与肿瘤复发风险相关($\chi^2=6.862,P=0.009$),见表 3。

表 3 ITGA2 与肿瘤复发风险的相关性[n(%)]			
复发风险	n	ITGA2 阳性组(n=46)	ITGA2 阴性组(n=52)
低危组	50	17(37.0)	33(63.5)
中危组	48	29(63.0)	19(36.5)
高危组	0	0	0

3 讨 论

PTMC 的整体预后良好,传统的手术治疗方案创伤较大,近年来主动监测和热消融被应用于早期低危 PTMC 的治疗,成为患者的治疗新选择。然而至今尚未发现对低危 PTMC 进行精准评估的有效手段,大部分外科医生还是坚持手术这一更能保证肿瘤治疗彻底性的治疗方案。本研究立足于 ITGA2,分析其在 PTMC 患者中的表达及其与临床病理特征间的关系,希望能够为 PTMC 的精准评估提供帮助。

研究发现,整合素在细胞行为(细胞凋亡或存活、运动、基因表达、分化)中起关键作用,影响血管生成、淋巴管生成、血栓形成、免疫反应,并促进肿瘤生长^[17]。它可以介导细胞黏附并促进肿瘤细胞的迁移、增殖和存活,被视为甲状腺肿瘤发生、发展的潜在标志物^[18-19]。本研究多因素分析发现 BRAF 基因突变和较大的 TTD 是 ITGA2 高表达的危险因素,OR 分别为 2.668 和 1.111。BRAF 基因突变被证实与甲状腺乳头状癌临床进展、复发、治疗失败直接相关^[20]。甚至对于甲状腺乳头状癌常规分级为低风险级别的患者,例如本研究探讨的 PTMC,若存在 BRAF 基因突变,其复发的概率会上升^[21]。CHERNAYA 等^[22]研究发现,BRAF 基因突变的甲状腺肿瘤 ITGA2 表达水平较 BRAF 基因未突变的增加,与本研究的结论一致。PTMC 中多灶肿瘤较为常见,单纯评估最大肿瘤可能低估了其他病灶的影响。FENG 等^[23]研究认为,对于多灶性 PTMC,TTD 可以更好地评估肿瘤的侵袭性。WU 等^[24]通过倾向性评分匹配后的研究发现,TTD 是比肿瘤最大径更准确的肿瘤生物学特征指标。然而,KWON 等^[25]的研究则认为相较于多病灶模型,TTD 模型并未展现出更好的复发预测性能,他推荐临床使用更简单的多病灶模型。

PTMC 预后较好,患者生存率高,临床上开始更多地关注无疾病生存(disease-free survival,DFS)时间,自 2015 年 ATA 提出肿瘤复发风险分层理念后,迅速在临床上广泛应用。2022 版 CACA 指南也沿用了这一理念指导临床工作。指南中指出如果是低危组复发风险 $\leq 5\%$,而中危组复发风险则上升至 $> 5\% \sim 20\%$,高危组复发风险 $> 20\%$ 。对于 PTMC 患者,如果肿瘤切除彻底、未侵犯周围组织、肿瘤为非侵袭性组织学亚型(如高细胞型、靴钉型、柱状细胞型)、无淋巴结宏转移等情况,复发风险则很低,纳入低危组管理。后续的促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone,TSH)抑制治疗也比较宽松,目标 TSH 只需要控制在 $0.5 \sim 2.0$ mIU/L 即可,且 5 年后单纯替代治疗,TSH 仅需在正常范围。淋巴结转移是导致 PTMC 患者局部复发及远处转移的独立危险因素,而

且其预测价值和转移淋巴结的大小及数目都存在相关性^[26-28]。2022 版 CACA 指南中特别指出,对于病理证实的淋巴结转移(pN1): ≤ 5 个淋巴结微小转移(最大径均 < 0.2 cm)的患者,基于其低复发风险,也被纳入低危组管理。复发中危组的入组条件则包括肿瘤局部外侵和淋巴结转移[临床淋巴结转移(cN1)或 pN1: > 5 个淋巴结转移(最大径均 < 3 cm)],以及多灶性 PTMC 伴腺外明确或病理学证实的侵犯和 BRAF 基因突变。其中 BRAF 基因突变特别突出了分子病理学的价值,既往的文献认为,BRAF 基因突变虽然与甲状腺乳头状癌的不良预后相关,但是在 PTMC 中价值有限,2022 版 CACA 指南中把多灶性 PTMC 伴腺外侵犯和 BRAF 突变合并作为危险因素显示了较好的复发风险预测性能。2022 版 CACA 指南对于复发风险分层的条件设置非常细致,同时对临床的病理特征提出了更高的要求。浙江省病理质控中心目前尚未要求对甲状腺癌患者手术病理的淋巴结大小进行描述,仅要求描述数目,BRAF 等分子病理学也不是必须,但是各省级三甲医院的病理报告已经常规包括上述内容。这对临床更好地对患者进行复发风险分层、指导预后非常重要。

通过对本组 PTMC 患者临床病理数据的整理,本研究对其复发风险进行了精确的评估,发现 ITGA2 的阳性表达与 PTMC 患者的复发风险相关($\chi^2 = 6.862, P = 0.009$)。《2022 年第五版 WHO 甲状腺肿瘤分类》^[29]中突显了分子特征在甲状腺肿瘤分类中的作用,期望未来甲状腺肿瘤也能像乳腺肿瘤一样基于分子分型进行诊疗。如前所述,BRAF 已经被应用于甲状腺癌的复发风险分层并指导临床工作。希望 ITGA2 也可以作为一个新的分子标志物应用于临床,对 PTMC 的术前精准诊断和预后评估提供参考。

参考文献

- [1] XIA C,DONG X,LI H,et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590.
- [2] HAUGEN B R,ALEXANDER E K,BIBLE K C, et al. 2015 American thyroid association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American thyroid association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer [J]. Thyroid, 2016, 26(1): 1-133.
- [3] ORLOFF L A,NOEL J E,STACK B C,et al. Ra-

- diofrequency ablation and related ultrasound-guided ablation technologies for treatment of benign and malignant thyroid disease; an international multidisciplinary consensus statement of the American Head and Neck Society Endocrine Surgery Section with the Asia Pacific Society of Thyroid Surgery, Associazione Medici Endocrinologi, British Association of Endocrine and Thyroid Surgeons, European Thyroid Association, Italian Society of Endocrine Surgery Units, Korean Society of Thyroid Radiology, Latin American Thyroid Society, and Thyroid Nodules Therapies Association[J]. *Head Neck*, 2022, 44(3): 633-660.
- [4] SUGITANI I, ITO Y, TAKEUCHI D, et al. Indications and strategy for active surveillance of adult low-risk papillary thyroid microcarcinoma; consensus statements from the Japan association of endocrine surgery task force on management for papillary thyroid microcarcinoma[J]. *Thyroid*, 2021, 31(2): 183-192.
 - [5] ADORNO-CRUZ V, LIU H. Regulation and functions of integrin alpha2 in cell adhesion and disease[J]. *Genes Dis*, 2019, 6(1): 16-24.
 - [6] FERRARO A, BONI T, PINTZAS A. EZH2 regulates cofilin activity and colon cancer cell migration by targeting ITGA2 gene[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e115276.
 - [7] PAN H, WANAMI L S, DISSANAYAKE T R, et al. Autocrine semaphorin3A stimulates alpha2 beta1 integrin expression/function in breast tumor cells[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 118(1): 197-205.
 - [8] CHIN S P, MARTHICK J R, WEST A C, et al. Regulation of the ITGA2 gene by epigenetic mechanisms in prostate cancer[J]. *Prostate*, 2015, 75(7): 723-734.
 - [9] CHUANG Y C, WU H Y, LIN Y L, et al. Blockade of ITGA2 induces apoptosis and inhibits cell migration in gastric cancer[J]. *Biol Proced Online*, 2018, 20: 10.
 - [10] DING W, FAN X L, XU X, et al. Epigenetic silencing of ITGA2 by MiR-373 promotes cell migration in breast cancer[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135128.
 - [11] GONG J, LU X, XU J, et al. Coexpression of UCA1 and ITGA2 in pancreatic cancer cells target the expression of miR-107 through focal adhesion pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 12884-12896.
 - [12] ZHAO X, WU Y, LV Z. miR-128 modulates hepatocellular carcinoma by inhibition of ITGA2 and ITGA5 expression[J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7(9): 1564-1573.
 - [13] QIU J, ZHANG W, ZANG C, et al. Identification of key genes and miRNAs markers of papillary thyroid cancer[J]. *Biol Res*, 2018, 51(1): 45.
 - [14] SHEN Y, DONG S, LIU J, et al. Identification of potential biomarkers for thyroid cancer using bioinformatics strategy: a study based on GEO datasets[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 9710421.
 - [15] REMMELE W, STEGNER H E. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue[J]. *Pathologe*, 1987, 8(3): 138-140.
 - [16] 中国抗癌协会甲状腺癌专业委员会. 中国抗癌协会甲状腺癌整合诊治指南(2022 精简版)[J]. *中国肿瘤临床*, 2023, 50(7): 325-330.
 - [17] TAKADA Y, YE X, SIMON S. The integrins[J]. *Genome Biol*, 2007, 8(5): 215.
 - [18] LIU X, WANG C, SU Z, et al. Circ_0001658 regulates PI3K/AKT signaling via the miR-671-5p/ITGA2 axis and affects the progress of papillary thyroid carcinoma[J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(18): 1001.
 - [19] QIN A, LIU Q, WANG J. Ropivacaine inhibits proliferation, invasion, migration and promotes apoptosis of papillary thyroid cancer cells via regulating ITGA2 expression[J]. *Drug Dev Res*, 2020, 81(6): 700-707.
 - [20] LIU Z, ZENG W, CHEN T, et al. A comparison of the clinicopathological features and prognoses of the classical and the tall cell variant of papillary thyroid cancer: a meta-analysis[J]. 2017, 8(4): 6222-6232.
 - [21] JINIH M, FOLEY N, OSHO O, et al. BRAF mutation as a predictor of thyroid malignancy in indeterminate nodules: a systematic review and meta-analysis[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2017, 43(7): 1219-1227.