

子宫球蛋白相关蛋白 1 在甲状腺疾病中的表达及其临床意义

张荣新¹, 朱金海¹, 宋怀东²

[摘要]目的:探讨子宫球蛋白相关蛋白 1(uteroglobin related protein 1 UGRP1)在甲状腺疾病中的表达及其临床意义。方法:采用免疫组织化学方法(Envision 二步法),检测 18 例正常甲状腺、23 例结节性甲状腺肿、35 例甲状腺腺瘤、64 例桥本甲状腺炎、43 例 Graves 病和 32 例甲状腺癌组织中的 UGRP1 表达。结果:结节性甲状腺肿和甲状腺癌组织的 UGRP1 均不表达。正常甲状腺、甲状腺腺瘤和 Graves 病组织中的 UGRP1 表达阳性率分别为 5.56%、2.86% 和 9.30%, 它们之间表达阳性率均无统计学意义($P > 0.05$)。桥本甲状腺炎组织中 UGRP1 表达阳性率为 71.88%, 显著高于其它各种甲状腺疾病的表达阳性率($P < 0.01$)。结论:UGRP1 在正常甲状腺、甲状腺腺瘤、结节性甲状腺肿、Graves 病和甲状腺癌组织中不表达或低表达,而在桥本甲状腺炎组织中高表达。UGRP1 可能是通过免疫炎症反应参与桥本甲状腺炎的发生过程,在桥本甲状腺炎疾病的诊断和鉴别诊断中起重要作用。

[关键词] 甲状腺疾病; 子宫球蛋白相关蛋白 1 免疫组化; 桥本甲状腺炎

[中国图书资料分类法分类号] R 581 [文献标识码] A

Uteroglobin related protein 1 expression in thyroid diseases and its clinical significance

ZHANG Rong Xin¹, ZHU Jin Hai¹, SONG Huai Dong²

(1. Department of Tumour Surgery, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004

2. The Center of Molecular Medicine Ruijin Hospital Affiliated of Shanghai Jiaotong University Medical School, Shanghai 200025, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression of uteroglobin related protein 1 (UGRP1) in thyroid diseases and its clinical significance. **Methods** Eighteen cases of normal thyroid tissue, 23 cases of nodular goiter, 35 cases of thyroid adenoma, 64 cases of Hashimoto's thyroiditis, 43 cases of Graves disease and 32 cases of thyroid carcinoma were involved in the study. Immunohistochemical method (Envision method) was used to detect the expression of UGRP1. **Results** UGRP1 was not expressed in nodular goiter or thyroid carcinoma. The positive expression of UGRP1 in normal thyroid tissue, thyroid adenoma and Graves was 5.56%, 2.86% and 9.30% respectively. There was no significant difference among them ($P > 0.05$). UGRP1 was strongly expressed in Hashimoto's thyroiditis and the rate of positive expression of UGRP1 was 71.88%. The difference was significant between Hashimoto's thyroiditis and other thyroid diseases ($P < 0.01$). **Conclusions** UGRP1 is not expressed in nodular goiter or thyroid carcinoma, and weakly expressed in normal thyroid tissue, thyroid adenoma and Graves disease, but strongly expressed in Hashimoto's thyroiditis. UGRP1 is probably involved in the pathogenesis of autoimmune thyroid disease via immunity and inflammation and may play an important role in the diagnosis and differential diagnosis of Hashimoto's thyroiditis.

[Key words] thyroid diseases; uteroglobin related protein 1; immunohistochemistry; Hashimoto's thyroiditis

子宫球蛋白相关蛋白 1 (uteroglobin related protein 1 UGRP1)又称为 SCGB3A2 与 HN-1 基因同属分泌球蛋白家族 3A 的成员。UGRP1 基因位于 5q31~34 许多与炎症有关的细胞因子,如 IL-3、IL-4、IL-5、IL-9、IL-13、CSF-2 和 CSF-1 的受体等也位于这个区段。UGRP1 蛋白在氨基酸序列和组织特异性表达上与 SSCP UG 蛋白家族相似,它们在功能上有一定的相似性。近来研究认为,UGRP1 可能通过参与免疫炎症反应在哮喘和自身免疫性甲状腺疾

病的发病机制中发挥重要作用。

1 材料与方法

1.1 标本 本实验标本取自蚌埠医学院病理学教研室 2001~2005 年存档的手术后石蜡包埋的甲状腺组织,其中正常甲状腺 18 例,甲状腺腺瘤 35 例,结节性甲状腺肿 23 例,桥本甲状腺炎 64 例,Graves 病 43 例,甲状腺癌 32 例。每例切片 5 张,1 张行苏木精-伊红(HE)染色,1 张备用,3 张行免疫组化检查。

1.2 主要试剂 一抗:兔抗人 UGRP1 多克隆抗体,上海交通大学医学院附属瑞金医院分子医学中心惠赠;二抗:Anti-Rabbit EnVision + system-HRP Labelled Polymer 购于美国 Dako Cytomation 公司;DAB 试剂,购于美国 Zymed Laboratories 公司。

[收稿日期] 2007-03-20

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第一附属医院 肿瘤外科,安徽 蚌埠 233004 2. 上海交通大学医学院附属瑞金医院分子医学中心,上海 200025

[作者简介] 张荣新(1966-),男,硕士,研究生导师,副主任医师,副教授。

1.3 实验步骤 (EnVision 二步法) 10% 甲醛固定标本, 石蜡切片 (4 μm), 56 $^{\circ}\text{C}$ 烤箱烤片 2 h。二甲苯脱蜡 20 min \times 3 次, 乙醇梯度入水; PBS 5 min \times 3 次, 室温轻摇; 切片置于抗原修复液, 待电饭煲水沸腾后, 隔水蒸 5 min 保温 5 min 自然冷却; 0.3% 过氧化氢室温孵育 20 min; PBS 5 min \times 3 次, 加入一抗 (1:400), 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜; PBS 5 min \times 3 次, 加入二抗 (1:500), 室温 30 min; PBS 5 min \times 3 次, DAB 显色 2 min; PBS 5 min \times 3 次, 苏木精复染 30 s。盐酸酒精分化 5 min; 乙醇梯度脱水; 二甲苯透明 5 min \times 2 次; 中性树脂封片。

1.4 实验结果判定标准 在光镜下分析, 排除非特异染色前提下, 细胞膜上或细胞质内有黄色、棕黄色或棕褐色颗粒的细胞为阳性细胞。每张切片随机观察 5 个高倍视野, 每视野计数 100 个细胞, 按阳性细胞数占总实质细胞数的平均百分比为: 阴性细胞为无显色或显色细胞数少于 10%; 阳性为 10% 以上的细胞显色。

1.5 统计学方法 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 甲状腺疾病中 UGRP1 的表达 结节性甲状腺肿和甲状腺癌组织中 UGRP1 均不表达。正常甲状腺和甲状腺腺瘤组织中 UGRP1 表达阳性率分别为 5.56% 和 2.86% (见图 1、2)。Graves 病组织中有 UGRP1 表达阳性率为 9.30% (见图 3)。桥本甲状腺炎组织中 UGRP1 表达阳性率为 71.88% (见图 4)。桥本甲状腺炎组织中的 UGRP1 表达阳性率显著高于正常甲状腺、甲状腺腺瘤、结节性甲状腺肿、甲状腺癌和 Graves 病组织 ($P < 0.01$), 而正常甲状腺、甲状腺腺瘤、结节性甲状腺肿、甲状腺癌和 Graves 病组织中的 UGRP1 表达阳性率间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) (见表 1)。

表 1 甲状腺疾病不同组织类型中 UGRP1 的表达比较 (n)

病理类型	n	阳性	阴性	χ^2	P
正常甲状腺	18	1	17		
甲状腺腺瘤	35	1	34		
结节性甲状腺肿	23	0	23		
甲状腺癌	32	0	32	114.21	< 0.005
Graves 病	43	4	39		
桥本甲状腺炎	64	46	18		
合计	215	52	163		

2.2 自身免疫性甲状腺疾病 (AITD) 和非自身免疫性甲状腺疾病 (NAITD) 组织中 UGRP1 的表达 自身免疫性甲状腺疾病 (包括桥本甲状腺炎和 Graves 病) 组织 UGRP1 表达阳性率 46.73%, 高于正常甲状腺组织的 5.56% ($P < 0.01$); 非自身免疫性甲状腺疾病 (包括甲状腺腺瘤、结节性甲状腺肿和甲状腺癌) 组织 UGRP1 表达阳性率 1.11%, 与正常甲状腺组织 UGRP1 阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 自身免疫性甲状腺疾病组织 UGRP1 阳性率高于非自身免疫性甲状腺疾病组织 UGRP1 阳性率 ($P < 0.01$) (见表 2)。

表 2 自身免疫性和非自身免疫性甲状腺疾病组织中 UGRP1 的表达比较 (n)

病理类型	n	阳性	阴性	χ^2	P
正常甲状腺	18	1	17		
NAITD	90	1	89		
AITD	107	50	57	59.20	< 0.005
合计	215	52	163		

2.3 Graves 病和桥本甲状腺炎组织中的 UGRP1 表达 Graves 病组织中 UGRP1 表达阳性率 9.30%, 桥本甲状腺炎组织中 UGRP1 表达阳性率 71.88%, 桥本甲状腺炎组织中的 UGRP1 表达阳性率显著高于 Graves 病组织中的 UGRP1 表达阳性率 ($P < 0.01$) (见表 3)。

表 3 Graves 病和桥本甲状腺炎组织中 UGRP1 的表达比较 (n)

病理类型	n	阳性	阴性	χ^2	P
Graves 病	43	4	39		
桥本甲状腺炎	64	46	18	40.45	< 0.005
合计	107	50	57		

3 讨论

UGRP1 与 HN-1 基因同属于分泌球蛋白家族 3A 的成员^[1]。荧光原位杂交显示 UGRP1 基因位于染色体 5q31 ~ 34 此区域是多种疾病如皮质醇抵抗、难治性巨细胞贫血、5q 综合征、哮喘和桥本甲状腺炎的易感基因位点^[2,3]。抑制消减杂交技术发现 UGRP1 基因是甲状腺转录因子 1 (TTF1) 的下游靶基因, TTF1 通过反式作用激活 UGRP1 启动子^[4]。TTF1 可以调控甲状腺特异基因如甲状腺球蛋白 (TG)、甲状腺过氧化物酶 (TPO) 和甲状腺刺激性激素受体 (TSHR)^[5] 等的活性。UGRP1 主要是在肺组

织中表达,人的正常甲状腺组织未发现有表达^[4]。UGRP1的功能到目前为止仍不清楚。氨基酸序列分析发现 UGRP1 蛋白的氨基酸序列与 CCSP/UG 家族相似,显著相似性的序列位于氨基末端的信号肽和被称为 Antiflam in 的 63~72 氨基酸区域,该区域为 CCSP/UG 抑制磷酸酶 A₂ (PLA₂) 活性的效应位置。体内外实验证实,CCSP/UG 基因所在位置与其他炎症调节因子位置相近,是肺部感染以及受伤后炎症反应过程中的重要调节因子,可以抑制单核细胞和中性粒细胞趋化和吞噬作用,并具有调节炎症反应因子的作用,如结合 PLA₂ 的底物,抑制 PLA₂ 活性,从而发挥抗炎作用。这些均与 CCSP/UG 结构上的 Antiflam in 区域的抗炎和免疫活性有关^[6]。哮喘病患者以及发生气道感染的患者,CCSP/UG 表达水平降低^[7]。抗原诱导小鼠,肺部形成炎症,肺组织的 UGRP1 mRNA 表达水平也下降,地塞米松治疗后 UGRP1 mRNA 表达水平恢复至正常^[4]。因此,UGRP1 可能和 CCSP/UG 一样,参与炎症反应,具有抗炎的作用。

甲状腺疾病是常见病、多发病。从病因上大体可分为两大类:自身免疫性甲状腺疾病(AITD)和非自身免疫性甲状腺疾病(NAITD)。前者包括 Graves 病(GD)、桥本甲状腺炎(HT)和特发性甲状腺功能减退症,而后者包括结节性甲状腺肿、甲状腺腺瘤和甲状腺癌。我们通过免疫组化方法检测 UGRP1 在结节性甲状腺肿和甲状腺癌组织中 UGRP1 均不表达阳性,在正常甲状腺组织、甲状腺腺瘤组织、Graves 病组织和桥本甲状腺炎组织中 UGRP1 表达阳性率分别为 5.56%、2.86%、9.30% 和 71.88%,桥本甲状腺炎组织中的 UGRP1 表达率显著高于正常甲状腺、甲状腺腺瘤、结节性甲状腺肿、甲状腺癌和 Graves 病组织中的 UGRP1 阳性率($P < 0.01$),正常甲状腺、甲状腺腺瘤、结节性甲状腺肿、甲状腺癌和 Graves 病组织中的 UGRP1 阳性率之间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。自身免疫性甲状腺疾病组织 UGRP1 阳性率高于非自身免疫性甲状腺疾病组织 UGRP1 阳性率($P < 0.01$)。UGRP1 在桥本甲状腺炎疾病的诊断和鉴别诊断中可能起重要作用。

UGRP1 基因位于 5q31~34 此区域包含一个自身免疫甲状腺疾病易感基因的位点^[5]。UGRP1 可能是通过免疫反应在桥本甲状腺炎的致病过程中发挥作用。UGRP1 是 TTF1 的下游靶基因。TTF1 可

调节 TSHR、TPO、TG 等甲状腺特异基因的表达。桥本甲状腺炎患者体内存在着多种针对这些甲状腺抗原的自身抗体,如 TRAb、TPOAb 和 TGAb。这些自身抗体在桥本甲状腺炎的致病过程中起着重要的作用。另外,UGRP1 也可能是通过炎症反应在桥本甲状腺炎的致病过程中发挥作用。UGRP1 蛋白的氨基酸序列同 SSCP/UG 家族相似。氨基酸序列分析表明,小鼠的 UGRP1 蛋白在 N 端的信号肽序列和 N 端的 63~72 的氨基酸残基序列[称为 Antiflam in 与磷酸脂酶 A₂(PLA₂)抑制活性有关]同 SSCP/UG 家族高度同源。SSCP/CC16 是一个抗炎症因子,抑制单核细胞和中性细胞的趋化作用和吞噬作用,调节 PLA₂、IL-1 γ 、TNF- α 的产量和活性。UGRP-1 基因位于 5q31~34 许多与炎症有关的细胞因子,如 IL-3、IL-4、IL-5、IL-9、IL-13、CSF-2 和 CSF-1 的受体等也位于这个区段^[8],这些细胞因子在桥本甲状腺炎致病过程中起重要作用。

(本文图 1~4 见封四)

[参 考 文 献]

- [1] Klug J, Beier HM, Bernard A, et al. Uteroglobin: a Clara cell 10 kDa family of proteins. Nomenclature committee report [J]. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 923(3): 348-354.
- [2] Holloway JW, Lonjou G, Beglé B, et al. Linkage analysis of the 5q31-33 candidate region for asthma in 240 UK families [J]. *Genes Immun*, 2001; 2(1): 20-24.
- [3] Ayadi H, HadjKacem H, Rebai A, et al. The genetics of autoimmune thyroid disease [J]. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15(5): 234-239.
- [4] Niimi T, Keck-Waggoner CL, Popescu NG, et al. UGRP1, a uteroglobin/Clara cell secretory protein related protein, is a novel lung-enriched downstream target gene for the TEBP/NKX2-1 homeodomain transcription factor [J]. *Mol Endocrinol* 2001; 15(11): 2021-2036.
- [5] Miccadei S, De Leo R, Zanmarchi E, et al. The synergistic activity of thyroid transcription factor 1 and Pax 8 relies on the promoter/enhancer interplay [J]. *Mol Endocrinol* 2002; 16(4): 837-846.
- [6] Striip BR, Reynolds SD, Plopper CG, et al. Pulmonary phenotype of CCSP/UG deficient mice: A consequence of CCSP deficiency or altered Clara cell function [J]? *Ann N Y Acad Sci* 2000; 923(2): 202-209.
- [7] Perl AK, Wert SE, Loudy DE, et al. Conditional recombination reveals distinct subsets of epithelial cells in trachea, bronchi, and alveoli [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 33(5): 455-462.
- [8] Donfack J, Schneider DH, Tan Z, et al. Variation in conserved non-coding sequences on chromosome 5q and susceptibility to asthma and atopy [J]. *Respir Res* 2005; 10(6): 145.

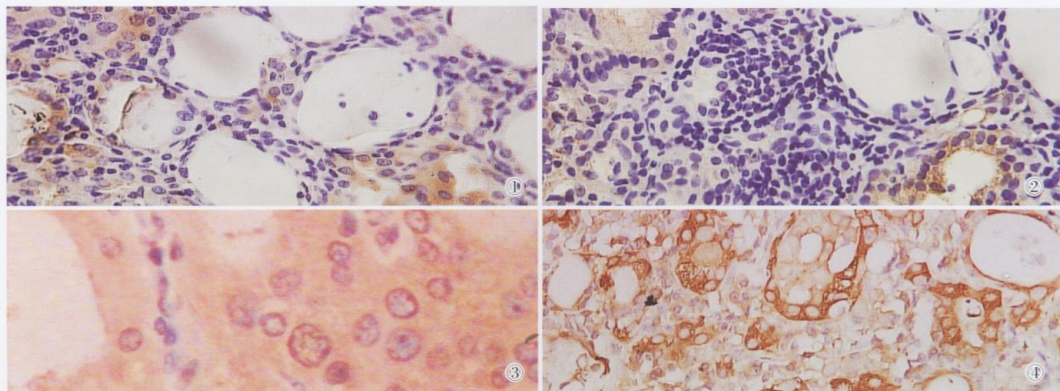


图 1 UGRP1 在正常甲状腺组织中阳性表达(EnVision 二步法 ×400) 图 2 UGRP1 在甲状腺腺瘤中阳性表达(EnVision 二步法 ×400)
图 3 UGRP1 在 Graves 病中阳性表达(EnVision 二步法 ×400) 图 4 UGRP1 在桥本甲状腺炎中阳性表达(EnVision 二步法 ×400)

乳腺恶性肌上皮瘤的病理诊断(正文见 595 页)

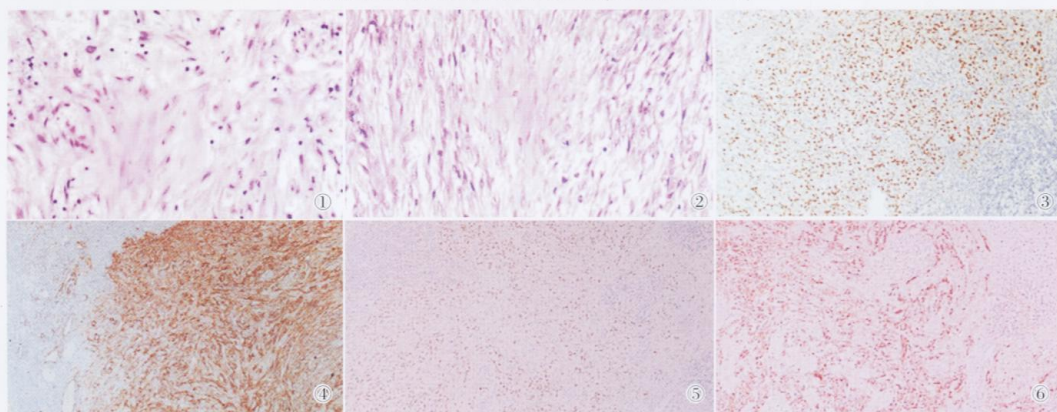


图 1 肿瘤细胞呈长梭形,胞质丰富,嗜酸性,似上皮样或棘上皮细胞 图 2 可见少数核分裂象 图 3 免疫组织化学染色,p63 呈阳性(S-P 法)
图 4 免疫组织化学染色,SMA 呈阳性(S-P 法) 图 5 淋巴结转移,免疫组织化学染色,p63 呈阳性 S-P 法 图 6 淋巴结转移,免疫组织化学染色,CK 呈阳性(S-P 法)

蚌埠医学院学报

双月刊(1976年3月创刊)
2007年第32卷第5期(总第149期)
2007年9月15日出版

Journal of Bengbu Medical College

Bimonthly(Founded in March 1976)
2007,Vol.32,No.5(Sum 149)
September 15,2007

主管单位:安徽省教育厅
主办单位:蚌埠医学院
主 编:祝 延
编辑出版:蚌埠医学院学报编辑部
(安徽省蚌埠市东海大道 2600 号 233030)
电话:(0552)3175456
电子信箱:bang@chinajournal.net.cn
印 刷:蚌埠市光大彩色印刷有限公司
国内订阅:全国各地邮政局
国内总发行:蚌埠市邮政局
国外总发行:中国国际图书贸易总公司
(北京 399 信箱)

Responsible Institution The Education Department of Anhui Province
Sponsored by Bengbu Medical College
Editor in Chief ZHU Yan
Edited and Published by The Editorial Board of Journal of
Bengbu Medical College , Bengbu Anhui 233030,China
Tel:(0552)3175456
E-mail bang@chinajournal.net.cn
Printed by Bengbu Guangda Color Printing Co.Ltd
Domestic Subscription Local Post Offices
Domestic Distribution Bengbu Post Office
Foreign Distribution China International Book Trading Corporation
(P.O.Box 399,Beijing,China)