



· 论 著 ·

30例胸腺样分化甲状腺癌的回顾性分析及其机制研究

张婷婷, 王蕴珺, 渠宁, 孙团起

复旦大学附属肿瘤医院头颈外科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032

[摘要] **背景与目的:** 胸腺样分化甲状腺癌 (carcinoma showing thymus-like differentiation, CASTLE) 是非常罕见的甲状腺癌病理学类型, 目前报道较少, 相关诊疗经验及对该疾病的认知仍不足。**方法:** 回顾并分析2007年9月1日—2021年9月1日复旦大学附属肿瘤医院收治的30例CASTLE患者的临床、病理学及预后资料。全基因组测序分析3例甲状腺癌及癌旁组织, 转染构建*MSH2*过表达细胞株, 并进行蛋白质印迹法 (Western blot)、细胞活性及迁移实验等检测突变基因对细胞生物学行为的影响。**结果:** 30例患者中, 66.7% (20/30) 的患者出现不同程度的外侵。平均随访60.6个月后, 2例发生远处转移, 无局部复发、进展或死亡病例。CD5、CD117呈阳性能对其进行有效的鉴别诊断。同时通过全基因检测和全基因组测序识别到*MSH2*、*FBXW7*及*NOTCH1*存在外显子突变, 其中*MSH2*突变率最高, 且可能参与提升甲状腺癌细胞的增殖及转移能力。**结论:** CASTLE恶性程度较低, 进展缓慢, 预后较好。根治性手术是CASTLE的首选治疗方式, 术后放疗可能对减少局部复发有一定作用。*MSH2*基因可能参与CASTLE的发生、发展过程。

[关键词] 甲状腺; 胸腺样分化甲状腺癌; *MSH2*

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2021.11.003

中图分类号: R736.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2021)11-1058-05

Review and mechanism research of 30 cases of carcinoma showing thymus-like differentiation

ZHANG Tingting, WANG Yunjun, QU Ning, SUN Tuanqi (Department of Head and Neck Surgery, Fudan University Shanghai Cancer Center; Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Correspondence to: SUN Tuanqi E-mail: tuanqisun@163.com

[Abstract] **Background and purpose:** Carcinoma showing thymus-like differentiation (CASTLE) is a rare disease. There were few reports so far. The diagnosis and treatment experience and disease cognition are still insufficient. **Methods:** The clinical, pathological and prognostic data of 30 patients with CASTLE who received operation at Fudan University Shanghai Cancer Center from September 1, 2007 to September 1, 2021 were analyzed retrospectively. Three cases of thyroid carcinoma and adjacent tissues were analyzed by whole genome sequencing, and *MSH2* gene overexpressed cells were transfected and constructed. The effects of mutant genes on cell biological behavior were detected by Western blot, cell activity and migration experiments. **Results:** 66.7% (20/30) of the 30 patients had different degrees of invasion. After an average follow-up of 60.6 months, distant metastasis occurred in 2 cases, and there was no local recurrence, progression or death. CD5 and CD117 could play important role in the diagnosis of CASTLE. Exon mutations in *MSH2*, *FBXW7* and *NOTCH1* were identified by whole gene detection and sequencing. The mutation rate of *MSH2* was the highest, and may be involved in promoting the proliferation and metastasis of thyroid cells. **Conclusion:** CASTLE usually shows low malignancy, slow progression and good prognosis. Radical surgery is the preferred treatment for CASTLE. Postoperative radiotherapy may play a role in reducing local recurrence. *MSH2* gene may be involved in the occurrence and development of CASTLE.

[Key words] Thyroid; Carcinoma showing thymus-like differentiation; *MSH2*

胸腺样分化甲状腺癌 (carcinoma showing thymus-like differentiation, CASTLE) 是非常罕见的甲状腺癌病理学类型, 于1985年首次报道,

2004年被WHO正式归类为一种独立的甲状腺肿瘤类型^[1]。CASTLE通常起病隐匿, 多以颈部肿块的形式被发现, 大部分患者就诊时均处于较晚

期。该病的术前细胞学诊断存在一定困难，易与甲状腺鳞癌、分化较差或低分化的甲状腺癌甚至胸腺鳞癌混淆。由于CASTLE发病率较低，目前多为个案报道，罕见队列研究报道，相关诊疗经验及对该疾病的认知仍不足。本研究回顾并分析复旦大学附属肿瘤医院收治的30例CASTLE患者的资料并进行机制探索。

1 材料和方法

1.1 临床资料

回顾并分析2007年9月1日—2021年9月1日复旦大学附属肿瘤医院头颈外科收治的30例CASTLE患者，其中男性13例，女性17例。所有患者均接受手术治疗，手术标本均经石蜡包埋切片及免疫组织化学检测后由临床经验丰富的病理科医师诊断。患者的临床特征、术前检查结果、治疗方法、病理学检查结果及预后情况等资料均纳入分析。通过门诊就诊、电话随访等方式，随访患者预后情况至2021年9月1日，共失访4人，随访时间3~132个月，平均60.6个月。

1.2 机制探索

对3对CASTLE患者的肿瘤及瘤旁石蜡包埋组织样本抽提DNA进行全基因组测序分析。基因组DNA抽提使用德国Qiagen公司基因组DNA抽提试剂盒并按操作说明进行基因组DNA抽提。由上海伯豪生物技术有限公司进行全基因组测序，并进行相关突变基因分析。

采用pLKO.1 TRC克隆载体（Addgene质粒10878）构建MSH2过表达质粒（引物：5'端引物5'-ACTGGATCCCAGTGCACAGTT-3'；3'端引物5'-TTGGTACCTGATTGGCCA-AGGCAGT-3'）。在甲状腺癌细胞株TPC-1中转染MSH2过表达质粒及空载体质粒作为对照，并进行GFP流式细胞术荧光分选，提取基因组DNA进行测序。确定MSH2是否插入相关序列，鉴定成功后将其命名为TPC1-MSH2mut（相应对照细胞命名TPC1-Ctrl）。采用细胞计数试剂盒-8（cell counting kit-8，CCK-8）检测细胞增殖能力，采用transwell实验检测细胞侵袭能力，分析MSH2基因对甲状腺癌生物学行为的影响。

1.3 统计学处理

使用SPSS 22.0软件进行数据分析。对患者基本特征中分类变量使用 χ^2 检验，连续变量使用t检验进行比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床基本情况

30例CASTLE患者的年龄为33~63岁，平均年龄为48.2岁。1例患者为脏器反位，1例为先天性子宫畸形。全部患者均接受手术治疗，其中26例为初次治疗，4例为外院术后复发或残留再次手术治疗（表1）。

表1 30例CASTLE患者的临床及病理学资料

Tab. 1 Clinical and pathological data of 30 CASTLE patients	
Data	Case n (%)
Gender	
Male	13 (43.3)
Female	17 (56.7)
Age/year	
30-40	4 (13.3)
40-50	11 (36.7)
50-60	12 (40.0)
60-70	3 (10.0)
Initial treatment	
Yes	26 (86.7)
No	4 (13.3)
Tumor size D/cm	
≤2	4 (13.3)
2-4	14 (46.7)
≥4	12 (40.0)
Tumor location	
Below thyroid	18 (60.0)
In thyroid	12 (40.0)
Tumor invasion	
Yes	20 (66.7)
No	10 (33.3)
Surgical residue	
Yes	7 (23.3)
No	23 (76.7)
Radiotherapy	
Yes	26 (86.7)
No	4 (13.3)
Prognosis	
Fine	28 (93.3)
Local recurrence	0 (0.0)
Distant metastasis	2 (6.7)
Death	0 (0.0)

患者术前检查主要包括影像学检查 [超声及颈部增强计算机体层成像 (computed tomography, CT)] 和细针抽吸细胞学检查, 对于部分患者行正电子发射计算机体层显像 (positron emission tomography and computed tomography, PET/CT) 检查。30例患者中, 6例通过细针抽吸细胞学检查明确提示CASTLE可能; 10例细胞学诊断为低分化癌; 另4例仅诊断为恶性, 但具体类型无法明确; 6例术前未行穿刺检查; 3例穿刺诊断为甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC), 其中2例病理学切片证实同时伴随有PTC。影像学检查可评估肿瘤位置, 其中9例位于甲状腺内, 21例位于甲状腺下方。66.7% (20/30) 的患者出现不同程度的外侵, 包括周围肌肉、喉返神经、颈总动脉及颈内静脉等。仅23例接受根治性切除, 7例患者因肿瘤侵犯颈总动脉等无法完整切除肿瘤, 故行姑息性切除。

病理学检查结果显示, 肿瘤直径平均为3.7 cm, 范围1.2~10.0 cm。18例无淋巴结转移, 8例中央区淋巴结转移, 2例侧颈转移, 2例伴有PTC的患者中央区仅发现PTC转移。免疫组织化学分析中, 全部病例CD5呈阳性, 29例CD117呈阳性, P63阳性率为94.4% (17/18), CK5/6阳性率为93.8% (15/16), AE1/AE3阳性率为100.0% (16/16), 甲状腺球蛋白及降钙素均为阴性, 仅1例患者TTF-1呈阳性 (该患者在手术3年后发生肺转移)。

4例患者因个人原因未进行术后辅助放

疗, 2例接受术后辅助放疗联合顺铂化疗, 剩余24例接受单纯术后放疗。术后放疗方案为术后第3~4周起接受外照射治疗, 照射范围为甲状腺区及双侧颈部淋巴结引流区域, 剂量为60 Gy/30 Fx~66 Gy/33 Fx。所有患者术后口服左甲状腺素片行内分泌替代治疗。

30例患者中, 4例完成治疗后便失访。经过平均60.6个月的随访后, 2例发生远处转移。其中, 1例在接受手术治疗时, 因肿瘤广泛外侵至颈总动脉等重要血管, 故行姑息性切除, 术后行66 Gy/33 Fx的放疗。然后患者在治疗后3年发现肺转移, 故行TP方案 [紫杉醇200 mg (第1天) + 顺铂37 mg (第1~3天)] 化疗, 6个周期后疗效评价稳定, 经44个月随访至本研究结束, 患者目前疾病稳定。另1例患者为治疗后41个月时发现肺转移, 随后予以DCF方案 [多西他赛120 mg (第1天) + 顺铂30 mg (第1~3天) + 5-FU 0.5 g (第1~3天)] 化疗, 8个周期后疗效评价稳定, 至末次随访时间已48个月。其余患者随访期间无复发、转移或疾病相关性死亡。

2.2 分子机制探索

本研究对3对CASTLE患者肿瘤及瘤旁石蜡组织样本抽提DNA进行全基因组测序分析, 结果识别到MSH2、FBXW7及NOTCH1存在外显子突变 (表2), 其中MSH2突变率最高, 突变位点均可以在My Cancer Genome和COSMIC数据库中得到确认。用Sanger测序法验证, 两种方法检测的吻合度均为100%。MSH2、FBXW7及NOTCH1基因突变在COSMIC数据库中确认在甲状腺癌及胸

表2 CASTLE肿瘤组织测序结果

Tab. 2 Sequencing results of CASTLE tumor tissue

Gene	Chromosome	Initiation site	End site	Reference	Mutation	Functional change	Amino acid change
MSH2	2	47641560	47641564	AAAAA	TAAAAA/T	-	-
MSH2	2	47641560	47641561	AA	TAA/T	-	-
MSH2	2	47641560	47641561	AA	TAA/T	-	-
FBXW7	4	153332605	153332607	CTC	-	Non-frameshift deletion	FBXW7: NM_033632: exon2: c.349_351del: p.117_117del, FBXW7: NM_001257069: exon4: c.349_351del: p.117_117del, FBXW7: NM_001349798: exon4: c.349_351del: p.117_117del
NOTCH1	9	139390733	139390733	-	GA	Frameshift insertion	NOTCH1: NM_017617: exon34: c.7457_7458insTC: p.S2486fs
NOTCH1	9	139391997	139391997	A	T	Nonsynonymous SNV	NOTCH1: NM_017617: exon34: c.T6194A: p.L2065Q

腺肿瘤中均有发生,其中 $MSH2$ 在甲状腺肿瘤中的突变率为1.71%,在胸腺肿瘤中为0.36%。

为探究突变型 $MSH2$ 对于甲状腺癌细胞生物学行为的影响,通过在TPC1细胞中分别导入过表达空载体Vector(对照组)、过表达野生型 $MSH2$ 及突变型 $MSH2$ 基因并对其蛋白水平进行检测(图1A)。随后,对3株稳定转染株的增殖情

况使用CCK-8进行检测(图1B)。结果显示,过表达野生型 $MSH2$ 能在一定程度上加快细胞增殖速度($P<0.05$),而过表达突变型 $MSH2$ 之后,细胞增殖速度显著增加($P<0.0001$)。对3株细胞进行transwell迁移实验,结果发现,过表达突变型 $MSH2$ 后,TPC1细胞的迁移能力显著增强,与CASTLE后期易发生转移的情况一致。

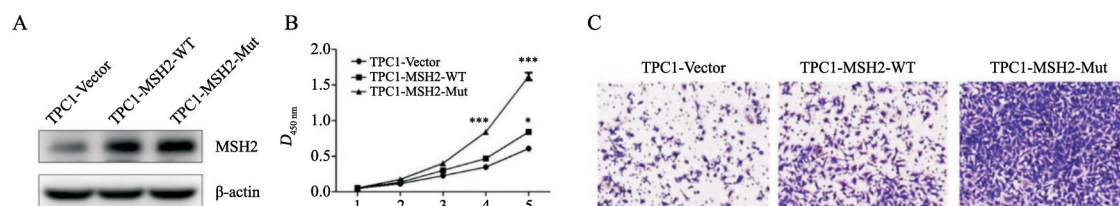


图1 MSH2突变对甲状腺癌生物学行为的影响

Fig. 1 Effect of $MSH2$ mutation on biological behavior of thyroid carcinoma

A. Detection of $MSH2$ overexpression in different stable strains of TPC1; B. Compared with wild-type $MSH2$, the overexpressed mutant $MSH2$ significantly promoted the proliferation of TPC1 cells; C. Compared with wild-type $MSH2$, the overexpressed mutant $MSH2$ significantly promoted TPC1 cell metastasis *in vitro*. *: $P<0.05$; ***: $P<0.0001$

3 讨 论

CASTLE是一种罕见的甲状腺恶性肿瘤,目前全球报道尚不足百例。CASTLE通常起病于中年,发病年龄平均为48.2岁,范围33~63岁。据报道,女性发病率可能稍高于男性^[2]。本研究中男性13例,女性17例,女性稍多于男性,但样本量较小,未见明显差异。目前认为CASTLE可能来源于异位胸腺或鳃囊残留组织^[3],因此肿瘤多位于甲状腺下极,本研究的30例患者中21例(70%)肿瘤位于甲状腺下极。

据研究^[2, 4-5]报道,CASTLE的恶性程度相对较低且预后良好。但因为起病隐匿,因此发现并就诊时疾病多处于晚期。本研究的30例患者中,肿瘤直径 ≥ 4 cm者11例,仅2例患者肿瘤直径 < 2 cm,肿瘤平均直径为3.7 cm。另外,66.7%(20/30)的患者出现不同程度的外侵,包括周围肌肉、喉返神经、颈总动脉及颈内静脉等。其中有7例甚至因为广泛外侵颈总动脉等重要血管而无法根治性切除。10例患者病理学检查证实存在中央区或侧颈区淋巴结转移,2例患者在术后发生肺转移,提示CASTLE不仅具有局部外侵的特点,而且具有淋巴结转移及远处转移的特点。

CASTLE术前检查手段主要包括影像学检查(颈部超声、增强CT)和细针抽吸细胞学检查等。然而其与甲状腺鳞癌、低分化癌、胸腺癌及甲状旁腺肿瘤的鉴别诊断较为困难。这几种肿瘤均表现为甲状腺区或甲状腺下方占位性病变,影像学表现缺乏特异性,细胞形态也难以区分。但是对于CASTLE术前诊断,细针抽吸细胞学检查仍是十分重要的。CASTLE的细胞学特征包括:(1)细胞成分丰富;(2)细胞团中无乳头状或滤泡状细胞形态;(3)细胞呈圆形或纺锤形,边界不清,核仁消失;(4)少量角化灶和细胞质内腔(intracytoplasmic lumina, ICL)形成;(5)涂片背景内见淋巴细胞^[5]。本研究中,仅20%(6/30)的患者通过术前细胞学检查诊断为CASTLE,10例细胞学诊断为低分化癌,因此对于细针抽吸细胞学检查提示低分化癌的甲状腺肿物需考虑其为CASTLE的可能性。免疫组织化学标志物在CASTLE的病理学诊断中十分重要,CD5、CD117呈阳性能对其进行有效的鉴别诊断^[5-6]。本研究中CD5全部呈阳性,CD117仅1例呈阴性。另外,P63、CK5/6及AE1/AE3也表现出较强阳性,这与胸腺肿瘤免疫表型有重叠,可能与其发生来源有关。甲状腺相关来源指标甲状腺球蛋白及降钙素均为阴性,但有1例TTF-1

呈阳性。本组研究中不同患者间的Ki-67增殖指数差异较大(范围1%~70%),发生远处转移的2例患者Ki-67增殖指数分别为5%和12%,因此在CASTLE病例中,Ki-67增殖指数与肿瘤恶性生物学行为无明显相关性。

本研究的30例患者中,7例未能行根治性手术。但经过平均60.6个月的随访后,2例发生远处转移,该2例患者接受补充化疗后疾病稳定,其余患者随访期间无复发、转移或疾病相关性死亡。手术是CASTLE的首选治疗方式^[7]。笔者认为手术范围应至少包括患侧甲状腺腺叶+周围受累组织器官+选择性颈部淋巴结清扫。放疗对CASTLE的治疗价值虽未达成统一,但多数学者支持术后放疗可能对减少复发有一定作用。据文献^[8]报道,CASTLE对放疗较为敏感,同时接受手术及术后放疗的患者局部复发率极低。化疗在CASTLE中的地位尚不明确。2例发生肺转移的患者,1例接受TP方案后病灶明显退缩,另1例接受DCF方案化疗后病灶无明显退缩,但目前疾病稳定。

目前对CASTLE的发生、发展过程中的关键分子探究尚未见报道。本研究通过全基因检测识别到*MSH2*、*FBXW7*及*NOTCH1*存在外显子突变,其中*MSH2*突变率最高。*MSH2*突变常见于遗传性非息肉性结肠癌,在甲状腺癌中亦见报道^[9-10]。通过细胞实验证实,过表达突变型*MSH2*之后,TPC1细胞增殖及转移能力显著增强。因此,*MSH2*可能参与CASTLE的恶性生物学行为,是潜在的治疗靶点,其具体机制有待进一步研究。

总之,CASTLE恶性程度低,进展缓慢,预后良好。术前应完善影像学检查(颈部超声、CT)和细胞学检查,术后病理免疫组织化学标志物检测尤其是CD5、CD117呈阳性对CASTLE的诊断十分重要。目前,根治性手术是CASTLE的首选治疗方式,手术范围应至少包括患侧甲状

腺腺叶切除术及中央区淋巴结清扫,如有临床可疑的颈侧区淋巴结转移则应同时行同侧的颈侧区淋巴结清扫;术后放疗可能对减少局部复发有一定作用。随着对病例的总结及研究的深入,未来可以提高对CASTLE的认知,为确立治疗策略提供更好的帮助。

[参 考 文 献]

- [1] SCOAZEC J Y, COUVELARD A, RÉSEAU TENPATH. Classification of pancreatic neuroendocrine tumours: changes made in the 2017 WHO classification of tumours of endocrine organs and perspectives for the future [J]. *Ann Pathol*, 2017, 37(6): 444-456.
- [2] GE W, YAO Y Z, CHEN G, et al. Clinical analysis of 82 cases of carcinoma showing thymus-like differentiation of the thyroid [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(2): 1321-1326.
- [3] CHAN J K C, ROSAL J. Tumors of the neck showing thymic or related branchial pouch differentiation: a unifying concept [J]. *Hum Pathol*, 1991, 22(4): 349-367.
- [4] DANG N V, SON L X, HONG N T T, et al. Recurrence of carcinoma showing thymus-like differentiation (CASTLE) involving the thyroid gland [J]. *Thyroid Res*, 2021, 14(1): 1-6.
- [5] OKUBO Y, SAKAI M, YAMAZAKI H, et al. Histopathological study of carcinoma showing thymus-like differentiation (CASTLE) [J]. *Malays J Pathol*, 2020, 42(2): 259-265.
- [6] SUN T Q, WANG Z Y, WANG J, et al. Outcome of radical resection and postoperative radiotherapy for thyroid carcinoma showing thymus-like differentiation [J]. *World J Surg*, 2011, 35(8): 1840-1846.
- [7] 王蕴珺, 孙团起, 向俊, 等. 胸腺样分化甲状腺癌16例临床诊治分析 [J]. *中国实用外科杂志*, 2017, 37(1): 84-87.
WANG Y J, SUN T Q, XIANG J, et al. Clinical analysis of 16 cases of carcinoma showing thymus-like differentiation of the thyroid [J]. *Chin J Pract Surg*, 2017, 37(1): 84-87.
- [8] TAN C H, VIKRAM R, BOONSIRIKAMCHAI P, et al. Extramural venous invasion by gastrointestinal malignancies: CT appearances [J]. *Abdom Imaging*, 2011, 36(5): 491-502.
- [9] POZDEYEV N, ERICKSON T A, ZHANG L, et al. Comprehensive immune profiling of medullary thyroid cancer [J]. *Thyroid*, 2020, 30(9): 1263-1279.
- [10] PAULSSON J O, BACKMAN S, WANG N, et al. Whole-genome sequencing of synchronous thyroid carcinomas identifies aberrant DNA repair in thyroid cancer dedifferentiation [J]. *J Pathol*, 2020, 250(2): 183-194.

(收稿日期: 2021-09-11 修回日期: 2021-11-01)