

## بررسی بروز مارکر سلولی nm23 در نئوپلاسم‌های خوش خیم و بدخیم تیروئید به روش ایمونوهیستوشیمی

دکتر سید محمد توانگر<sup>۱</sup>، دکتر هدیه مرادی تبریز<sup>۱</sup>، دکتر افسانه رجیبانی<sup>۱</sup>، دکتر باقر لاریجانی<sup>۲</sup>، دکتر رامین حشمت<sup>۳</sup>، دکتر آناهیتا لشکری<sup>۴</sup>، دکتر خدیجه ادبی<sup>۵</sup>، سیده پری سیما عظیمی<sup>۱</sup>

۱) بخش پاتولوژی بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۲) مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ نشانی مکاتبه‌ی نویسندگی مسئول: تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، بخش پاتولوژی بیمارستان دکتر شریعتی، دکتر سید محمد توانگر  
e-mail: tavangar@ams.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** عوامل پیش‌آگهی دهنده‌ی متعددی در سرطان‌های تیروئید نقش دارند که از جمله مهم‌ترین آن‌ها مرحله‌ی بالینی تومور و وجود یا عدم وجود متاستاز دوردست است. nm23 یک ژن سرکوبگر متاستاز است و نقش آن در بسیاری از سرطان‌ها شناخته شده است. هدف این مطالعه بررسی بروز مارکر سلولی nm23 به روش ایمونوهیستوشیمی در تومورهای خوش خیم و بدخیم تیروئید و ارتباط آن با اندازه‌ی تومور، تهاجم عروقی و کپسولی و درگیری گره لنفاوی است. **مواد و روش‌ها:** در یک مطالعه‌ی توصیفی، ۲۰۰ نمونه از بلوک‌های پارافینی نئوپلاسم‌های تیروئید مشتمل بر ۳۸ تومور خوش خیم و ۱۶۲ مورد تومور بدخیم (۱۳۱ مورد کارسینوم پاپیلری، ۱۲ مورد کارسینوم فولیکولر، ۱۷ مورد کارسینوم مدولری و ۲ مورد کارسینوم آناپلاستیک) از نظر بروز مارکر nm23 با ایمونوهیستوشیمی به روش آویدین - بیوتین پراکسیداز بررسی شدند. بیش از ۱۰٪ رنگ‌آمیزی سیتوپلاسمی در سلول‌های توموری به عنوان مورد مثبت تلقی شد. ارتباط بین بروز nm23 و اندازه‌ی تومور، تهاجم عروقی یا کپسولی و درگیری غدد لنفاوی با استفاده از آزمون آماری مجذور خی مورد بررسی قرار گرفت و سطح معنی‌دار آزمون‌ها  $p=0/05$  در نظر گرفته شد. یافته‌ها: در آدنوم فولیکولر ۴۰٪ موارد و در هرتل سل آدنوم ۸۷/۵٪ موارد nm23 مثبت بودند که تنها در آدنوم فولیکولر با افزایش اندازه‌ی تومور تعداد موارد مثبت nm23 افزایش یافت ( $P=0/04$ ). فراوانی موارد مثبت nm23 در کارسینوم پاپیلری ۶۷/۲٪، در کارسینوم فولیکولر ۶۶/۷٪ و در کارسینوم مدولری ۶۴/۷٪ بود که ارتباط معنی‌داری بین مثبت بودن nm23 و اندازه‌ی تومور، تهاجم عروقی، درگیری غده‌ی لنفاوی و تهاجم کپسول در هیچ‌کدام از تومورهای بدخیم به دست نیامد. در کارسینوم پاپیلری و مدولری ارزش اخباری منفی nm23 برای درگیری غدد لنفاوی بیش از ۸۰٪ و در کارسینوم فولیکولر حساسیت و ارزش اخباری منفی nm23 برای تهاجم عروقی حدود ۹۰٪ بود. نتیجه‌گیری: عدم ارتباط معنی‌دار بین nm23 با عواملی که دال بر تهاجم (و احتمالاً متاستاز) تومور است، نشان می‌دهد nm23 علی‌رغم نقش شناخته شده‌ی سرکوب متاستاز در بسیاری از تومورها، احتمالاً نقش متفاوتی در سرطان‌های تیروئید دارد که برای یافتن این نقش به مطالعه‌های بیشتری نیاز است.

**واژگان کلیدی:** nm23، تیروئید، نئوپلاسم، ایمونوهیستوشیمی

دریافت مقاله: ۸۵/۹/۲۹ - دریافت اصلاحیه: ۸۶/۲/۱۷ - پذیرش مقاله: ۸۶/۴/۷

nm23 و محصول پروتئینی آن که فعالیت نوکلئوتید دی‌فسفات کینازی دارد از این دسته ژن‌ها است<sup>۱</sup> که انواع مختلفی از H1 تا H8 برای آن شناسایی شده‌اند اما تنها

### مقدمه

در سال‌های اخیر ژن‌های سرکوبگر متعددی شناسایی شده‌اند که در کنترل متاستاز سرطان‌ها نقش دارند. ژن

H1 - nm23 و H2 در انسان دارای عملکرد شناخته شده هستند.<sup>۲</sup>

در بسیاری از کارسینوم‌های انسانی از جمله کارسینوم پستان،<sup>۳</sup> ملانوم،<sup>۴</sup> هیپاتوسلولر کارسینوم<sup>۵</sup> و کانسر تخمدان،<sup>۶</sup> ارتباط بین کاهش بروز nm23 با افزایش پتانسیل متاستاز نشان داده شده است. در برخی از بدخیمی‌ها از جمله نئوپلاسم‌های هماتولوژیک<sup>۷</sup> و کارسینوم پروستات<sup>۸</sup> بروز بالای nm23 با پیش‌آگهی بدی همراه است.

مطالعه‌هایی برای بررسی نقش این ژن در بیماران مبتلا به سرطان‌های تیروئید انجام شده که برخی یافته‌های مبهم و متناقضی به همراه دارد. به عنوان مثال زافون و همکاران ۶۴ مورد کارسینوم پاپیلری و ۳۰ مورد کارسینوم فولیکولر را برای ۵ سال پیگیری کردند و بین nm23 و متاستاز غدد لنفاوی در کارسینوم پاپیلری ارتباط معنی‌داری پیدا نکردند ولی در کارسینوم فولیکولر ارتباط معکوسی بین ایجاد متاستاز دوردست و بروز nm23 به دست آوردند.<sup>۹</sup> در مطالعه‌ای دیگر نیز Farelly DR و همکارانش بین بروز nm23 و درگیری غدد لنفاوی در کارسینوم پاپیلری ارتباط معنی‌داری نیافتند.<sup>۱۰</sup>

هدف از این مطالعه بررسی مارکر سلولی nm23 در تومورهای خوش‌خیم و بدخیم تیروئید و ارتباط احتمالی آن با اندازه‌ی تومور و عوامل میکروسکوپی مرتبط با تهاجم تومور (تهاجم عروقی، تهاجم کپسولی و درگیری غدد لنفاوی) بود.

از آن‌جا که وجود یا عدم متاستاز در تعیین پیش‌آگهی کانسره‌های تیروئید بسیار حائز اهمیت است، می‌توان ادعا کرد که در صورت یافتن نقش nm23 در تهاجم این تومورها و پیشگویی احتمال متاستاز، با درمان‌های تهاجمی‌تر و پیگیری دقیق‌تر بیماران می‌توان به بقای بیشتر عمر در آنان دست یافت.

## مواد و روش‌ها

در یک مطالعه‌ی توصیفی، گزارش‌های پاتولوژی بیماران که به علت تومورهای تیروئید از سال ۱۳۷۴ تا ۱۳۸۴ تیروئیدکتومی شده بودند جمع‌آوری و یافته‌های مرتبط با سن و جنس بیمار، اندازه تومور، نوع هیستولوژی تومور، وجود یا عدم وجود تهاجم عروقی و کپسولی، و درگیری غدد لنفاوی استخراج شد. بر این اساس ۲۰۰ عدد

بلوک پارافینی از آدنوم فولیکولر، هرئلسل آدنوم، کارسینوم پاپیلری، کارسینوم فولیکولر، کارسینوم مدولری و کارسینوم آناپلاستیک از بایگانی گردآوری شد. پس از بازبینی مجدد لام‌ها، بلوک پارافینی مناسب (با حداقل نکروز، خونریزی و با فیکساسیون مناسب) برای رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی انتخاب و با مارکر nm23 (Rabbit anti human nm23 protein، از شرکت DAKO کشور دانمارک) با روش آویدین - بیوتین پراکسیداز رنگ‌آمیزی شد. در این روش ابتدا برش‌هایی با ضخامت ۳ میکرومتر از بلوک‌ها تهیه و با استفاده از گزیلول و الکل پارافین‌زدایی و سپس آب‌دهی شدند. نمونه‌ها مدت ۱۵ دقیقه در آب اکسیژنه ۳٪ و برای بهتر کردن کیفیت رنگ‌آمیزی لام‌ها در معرض یک محلول Antigen retrieval قرار می‌گیرند. سپس برش‌ها با آنتی‌بادی اولیه، با تیتراژ ۱/۵۰ - ۱/۲۵ به مدت یک شب انکوبه شدند. و بعد، به روش LSAB (انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه با بیوتین و مدت ۳۰ دقیقه با آویدین) کنژوگاسیون آنتی‌بادی انجام شد و در نهایت آنتی‌ژن با کروموژن دی‌آمین بنزیدین (DAB) به رنگ قهوه‌ای شناسایی شدند.

اسلایدها با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. تعداد سلول‌هایی که سیتوپلاسم<sup>۱۱</sup> آن‌ها رنگ گرفته بودند به صورت درصد بیان شدند (با شمارش ۵۰۰ سلول در ۱۰ hpf) و میزان بالای ۱۰٪ به عنوان مثبت تلقی شد.<sup>۱۲</sup> سرطان پستان به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. پس از جمع‌آوری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS 11.5 آنالیز داده‌های کمی و کیفی انجام و برای تعیین ارتباط بروز nm23 با اندازه‌ی تومور، تهاجم عروقی، تهاجم کپسولی و درگیری غدد لنفاوی از آزمون مجذور خی و در صورت لزوم از آزمون دقیق فیشر استفاده و سطح معنی‌دار آزمون‌ها  $p=0/05$  در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

میانگین سن بیماران ۴۰/۵ سال (با انحراف معیار ۱۵/۵ سال) بود. حداقل سن در گروه‌های مختلف تومورها ۱۲ سال و حداکثر ۷۹ سال بود. ۶۴٪ بیماران را زنان و ۳۶٪ را مردان تشکیل دادند. بین گروه‌های سنی مختلف و همچنین بین زنان و مردان تفاوت معنی‌داری از نظر بروز یا عدم بروز مارکر nm23 وجود نداشت. در جدول ۱ فراوانی nm23 در هر یک از تومورهای تیروئید مورد مطالعه، آورده شده است.

جدول ۱ - توزیع فراوانی بروز مارکر سلولی nm23 به تفکیک نوع نئوپلاسم تیروئید

| نوع تومور         | اندازه |                    | زیر ۲ سانتی‌متر |                    | ۲-۴ سانتی‌متر |                    | بالای ۴ سانتی‌متر |                    |
|-------------------|--------|--------------------|-----------------|--------------------|---------------|--------------------|-------------------|--------------------|
|                   | تعداد  | نسبت مثبت nm23 (%) | تعداد           | نسبت مثبت nm23 (%) | تعداد         | نسبت مثبت nm23 (%) | تعداد             | نسبت مثبت nm23 (%) |
| آدنوم فولیکولر    | ۰      | ۰                  | ۷               | ۲۰ (۶۶/۷)          | ۵             | ۷ (۲۳/۳)           | ۷                 | ۲۰ (۶۶/۷)          |
| آدنوم هرثلسل      | ۲      | ۲ (۴۲/۹)           | ۳               | ۳ (۴۲/۹)           | ۱             | ۱ (۱۴/۳)           | ۱                 | ۳ (۴۲/۹)           |
| کارسینوم پاپیلری  | ۱۸     | ۳۳ (۳۱/۱)          | ۴۰              | ۵۷ (۵۳/۸)          | ۱۱            | ۱۶ (۱۵/۱)          | ۱۱                | ۵۷ (۵۳/۸)          |
| کارسینوم فولیکولر | ۰      | ۰                  | ۱               | ۳ (۵۰)             | ۲             | ۲ (۵۰)             | ۲                 | ۳ (۵۰)             |
| کارسینوم مدولری   | ۱      | ۴ (۲۶/۷)           | ۵               | ۶ (۴۰)             | ۳             | ۵ (۳۳/۳)           | ۳                 | ۶ (۴۰)             |

۲۶/۵٪ ضایعه‌های توموری زیر ۲ سانتی‌متر و مابقی بالای ۲ سانتی‌متر بودند. در آدنوم فولیکولر با افزایش اندازه‌ی تومور فراوانی موارد nm23 منفی کمتر و موارد مثبت بیشتر می‌شدند (p=۰/۰۴). در جدول ۲ فراوانی تومورهای تیروئید و تعداد موارد مثبت nm23 بر حسب اندازه‌ی تومور آمده است.

از ۱۳۱ مورد کارسینوم پاپیلری ۳۲ مورد (۲۴/۴٪) درگیری غدد لنفاوی داشتند. در ۹۹ مورد (۷۵/۶٪) این درگیری وجود نداشت و تنها در ۲ مورد (۱/۵٪) تهاجم عروقی دیده شد. از ۱۲ مورد کارسینوم فولیکولر، ۵ مورد (۴۱/۶٪) تهاجم عروقی و ۱۱ مورد (۹۱/۶٪) تهاجم کیسولی داشتند. در این کارسینوم موردی از درگیری غده لنفاوی وجود نداشت. در ۱۷ مورد کارسینوم مدولری ۵ مورد (۲۹/۴٪) درگیری غده لنفاوی، ۳ مورد (۱۷/۶٪) تهاجم عروقی و ۵ مورد (۲۹/۴٪) تهاجم به کیسول مشاهده شد.

جدول ۳ به بررسی فراوانی nm23 در هر یک از عوامل میکروسکوپی مرتبط با تهاجم تومورهای بدخیم تیروئید می‌پردازد. در کارسینوم پاپیلری ارتباط آماری معنی‌داری بین مثبت یا منفی بودن nm23 با اندازه‌ی تومور (p=۰/۳۳) و

درگیری غدد لنفاوی به عنوان اصلی‌ترین راه متاستاز تومور (p=۰/۲۹۲) به دست نیامد. تنها ۲ مورد تهاجم عروقی در کارسینوم‌های پاپیلری مورد مطالعه وجود داشت که با بروز ارتباطی به دست نیامد (p=۰/۶۱۳).

در کارسینوم فولیکولر همی مواردی که تهاجم عروقی داشتند برای مارکر nm23 مثبت بودند (p=۰-۰۷) که نشان‌دهنده‌ی ارتباط احتمالی منطقی بود ولی به دلیل حجم کم نمونه این ارتباط به طور قطعی قابل ارزیابی نبود. در کارسینوم فولیکولر بین اندازه‌ی تومور (p=۱) و همچنین تهاجم کیسول (p=۰/۳۳۳) با مثبت یا منفی بودن nm23 ارتباط آماری معنی‌داری یافت نشد.

در کارسینوم مدولری نیز ارتباط آماری معنی‌داری بین nm23 با اندازه‌ی تومور (p=۰/۲۲۹)، تهاجم کیسولی (p=۱) و عروقی (p=۱) و درگیری غدد لنفاوی (p=۰/۶) به دست نیامد. حساسیت، ویژگی و ارزش پیش‌گویی‌کننده‌ی مثبت و منفی nm23 در مورد درگیری غدد لنفاوی توسط کارسینوم پاپیلری و مدولری و همچنین تهاجم کیسولی و عروقی توسط کارسینوم فولیکولر و مدولری در جدول ۴ آمده است.

جدول ۲- جدول فراوانی هریک از تومورهای تیروئید و تعداد موارد مثبت nm23 بر حسب اندازه‌ی تومور

| نوع تومور           | مثبت nm23* (%) | منفی nm23* (%) | جمع کل † (%) |
|---------------------|----------------|----------------|--------------|
| آدنوم فولیکولر      | ۱۲ (۴۰)        | ۱۸ (۶۰)        | ۳۰ (۱۵)      |
| هرثلسل آدنوم        | ۷ (۸۷/۵)       | ۱ (۱۲/۵)       | ۸ (۴)        |
| کارسینوم پاپیلری    | ۸۸ (۶۷/۲)      | ۴۳ (۳۲/۸)      | ۱۳۱ (۶۵/۵)   |
| کارسینوم فولیکولر   | ۸ (۶۶/۷)       | ۴ (۳۳/۳)       | ۱۲ (۶)       |
| کارسینوم مدولری     | ۱۱ (۶۴/۷)      | ۶ (۳۵/۳)       | ۱۷ (۸/۵)     |
| کارسینوم آناپلاستیک | ۱ (۵۰)         | ۱ (۵۰)         | ۲ (۱)        |
| جمع کل              | ۱۲۷ (۶۳/۵)     | ۷۳ (۳۶/۵)      | ۲۰۰ (۱۰۰)    |

\* در صد در نوع تومور محاسبه شده است؛ † درصد از کل نمونه‌ها محاسبه شده است.

جدول ۳- جدول فراوانی nm23 در عوامل میکروسکوپی مرتبط با تهاجم تومورهای بدخیم تیروئید

| تومورها                 |       | در کارسینوم پاپیلری nm23 |        | در کارسینوم فولیکولر nm23 |        | در کارسینوم مدولری nm23 |        |
|-------------------------|-------|--------------------------|--------|---------------------------|--------|-------------------------|--------|
| در هر یک از عوامل تهاجم |       | مثبت %                   | منفی % | مثبت %                    | منفی % | مثبت %                  | منفی % |
| درگیری غدد لنفاوی       | دارد  | ۷۵                       | ۲۵     | ۰                         | ۰      | ۸۰                      | ۲۰     |
|                         | ندارد | ۶۴/۶                     | ۳۵/۴   | ۶۶/۷                      | ۳۳/۳   | ۵۸/۳                    | ۴۱/۷   |
| تهاجم عروقی             | دارد  | ۵۰                       | ۵۰     | ۱۰۰                       | ۰      | ۶۶/۷                    | ۳۳/۳   |
|                         | ندارد | ۶۷/۴                     | ۳۲/۶   | ۴۲/۹                      | ۵۷/۱   | ۶۴/۳                    | ۳۵/۷   |
| تهاجم کپسولی            | دارد  | ۶۳/۶                     | ۳۶/۴   | ۷۲/۷                      | ۲۷/۳   | ۶۰                      | ۴۰     |
|                         | ندارد | ۶۹                       | ۳۱     | ۰                         | ۱۰۰    | ۶۶/۷                    | ۳۳/۳   |

جدول ۴- حساسیت، ویژگی و ارزش پیش‌گویی کننده‌ی مثبت (PPV) و منفی (NPV) nm23 در مورد درگیری غدد لنفاوی و تهاجم کپسولی و عروقی در تومورهای بدخیم تیروئید

| حساسیت | درگیری غدد لنفاوی    |                     | تهاجم عروقی           |                     | تهاجم کپسولی          |                     |
|--------|----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
|        | کارسینوم پاپیلری (%) | کارسینوم مدولری (%) | کارسینوم فولیکولر (%) | کارسینوم مدولری (%) | کارسینوم فولیکولر (%) | کارسینوم مدولری (%) |
| حساسیت | ۷۰                   | ۸۰                  | ۹۱                    | ۶۶                  | ۷۰                    | ۶۰                  |
| ویژگی  | ۳۵                   | ۴۱                  | ۶۴                    | ۳۵                  | ۷۵                    | ۳۳                  |
| PPV    | ۲۷                   | ۳۶                  | ۶۱                    | ۱۸                  | ۸۸                    | ۲۷                  |
| NPV    | ۸۱                   | ۸۳                  | ۹۰                    | ۸۳                  | ۳۰                    | ۶۶                  |

## بحث

مطالعه‌های متعددی در این زمینه انجام شده که بعضی یافته‌های متناقضی در دارند. در مطالعه‌ی لیو و همکاران بین درجه‌ی تمایز سلولی در کارسینوم فولیکولر و هم‌چنین بین ایجاد متاستاز در کارسینوم پاپیلری با میزان بروز nm23 ارتباط معنی‌دار یافت شد به نحوی که بروز nm23 در کارسینوم‌های بهتر تمایز یافته‌ی فولیکولر بالاتر از انواع بد تمایز یافته‌ی آن بود و در متاستاز کارسینوم پاپیلری بروز nm23 کمتر از تومور اولیه بود.<sup>۱۱</sup> برعکس در مطالعه‌ی رویترز و همکاران ارتباطی بین بروز nm23 و اثر بر تهاجم عروقی و لنفاتیک در تومورهای تیروئید یافت نشد.<sup>۲</sup>

به گونه‌ای مشابه لو و همکاران ۴۹ مورد تومور بدخیم تیروئید و غدد لنفاوی متاستاتیک را بررسی کردند و تفاوتی از نظر بروز nm23 در تومور اولیه و ضایعه‌ی متاستاتیک مشاهده نکردند. این مطالعه نشان داد که احتمالاً nm23 در

درمان و نحوه‌ی برخورد با سرطان‌های تمایز یافته‌ی تیروئید بسیار مهم و مورد بحث است. برخی معتقد به درمان‌های تهاجمی مثل توتال تیروئیدکتومی و درمان با دوز بالای ید رادیواکتیو و برخی نیز درمان‌های کمتر تهاجمی را پیشنهاد می‌کنند<sup>۱</sup> برای شناسایی بیمارانی که بیشتر در معرض متاستاز هستند و برای جلوگیری از روش‌های درمانی غیرضروری متغیرهای متعددی برای ارزیابی پیش‌آگهی سرطان‌های تیروئید در نظر گرفته می‌شوند از جمله، سن، جنس، اندازه تومور، درجه‌ی هیستولوژی، تهاجم کپسولی، تهاجم عروقی، متاستاز گره لنفاوی و متاستاز دور دست.<sup>۱۰</sup>

ژن nm23 با فعالیت نوکلئوزید دی‌فسفات کینازی، به عنوان یک ژن سرکوبگر متاستاز مطرح شده است. تاکنون

راه گسترش این تومور به دست نیامد، همان‌طور که در مطالعه‌ی روی‌دز<sup>۲</sup> و زافون<sup>۱</sup> این ارتباط یافت نشد در حالی که لیو<sup>۱۱</sup> و آرای<sup>۱۲</sup> به بروز ضعیف‌تر nm23 در محل‌های متاستاز کارسینوم پاپیلری پی بردند. می‌توان این طور نتیجه گرفت که احتمالاً بروز nm23 در تومور اولیه و محل متاستاز متفاوت است و شاید محصول ژن nm23 مارکر پیشگویی‌کننده‌ی خوبی برای متاستاز لنفاوی در تومور پاپیلری تیروئید نباشد.

در مورد کارسینوم مدولری مطالعه‌ی ما و سایر مطالعه‌ها از جمله آرای<sup>۱۲</sup> و هولم<sup>۱۴</sup> هیچ‌یک نتوانستند ارتباط معنی‌داری بین بروز nm23 و تهاجم این تومور نشان دهند.

در کارسینوم پاپیلری با احتمال ۸۱٪ و در کارسینوم مدولری با احتمال ۸۳٪ می‌توان پیشگویی کرد که در صورت منفی بودن nm23 درگیری غدد لنفاوی وجود ندارد. در کارسینوم فولیکولر با احتمال ۹۰٪ می‌توان پیشگویی کرد که در صورت منفی بودن nm23 تهاجم عروقی وجود ندارد. در مطالعه‌های انجام شده حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری nm23 در مورد تهاجم تومورهای تیروئید ذکر نشده بود.

با اینکه نقش nm23 به عنوان یک ژن سرکوبگر متاستاز در برخی تومورها شناخته شده است اما عملکرد آن در بافت‌های مختلف و حتی در انواع هیستولوژی تومورهای یک بافت نیز متفاوت است. در بافت تیروئید نیز به نظر نمی‌رسد این مارکر با متاستاز و پیش‌آگهی تومورهای بدخیم مرتبط باشد ولی از آن‌جا که شناسایی تومورهایی که قابلیت متاستاز و تهاجم بیشتری دارند، می‌تواند نقش بسزایی در درمان و پیگیری این بیماران داشته باشند لذا بهتر است در صورت امکان با مطالعه‌های تکمیلی، پیگیری طولانی‌مدت بیماران، بررسی پیشرفت بیماری و نحوه بروز nm23 به ویژه در نواحی متاستاز، به نقش دقیق‌تر این ژن در سرطان‌های تیروئید دست یافت.

در این مطالعه به دلیل عدم دسترسی به بیماران و امکان پیگیری طولانی مدت آنان، بررسی ارتباط nm23 با بقای دراز مدت مقدور نبود.

سپاسگزاری: از همکاری ارزنده و صمیمانه‌ی کارکنان بخش پاتولوژی بیمارستان دکتر شریعتی تهران - بخش ایمنو‌هیستوشیمی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند قدردانی می‌شود. مقاله‌ی حاضر حاصل طرح پژوهشی مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران است.

کانسر تیروئید نقشی به غیر از تضعیف متاستاز ایفا می‌کند.<sup>۱۲</sup>

آرای<sup>۱۱</sup> و همکاران ۳۷ مورد کارسینوم پاپیلری، ۴۲ مورد کارسینوم فولیکولر، ۱۷ مورد کارسینوم آناپلاستیک و ۳ مورد کارسینوم مدولری تیروئید را بررسی کردند و به این نتیجه دست یافتند که nm23 در کارسینوم فولیکولر و پاپیلری اولیه بروز می‌کند ولی در متاستازهای لنفاوی و متاستاز مغز استخوان بسیار ضعیف و به ندرت بیان می‌شود. همچنین در کارسینوم‌های آناپلاستیک و مدولری بروز بسیار پایین یا کاملاً منفی دارد.<sup>۱۳</sup>

زافون و همکاران ۹۴ مورد کانسر تیروئید را برای ۵ سال پیگیری کردند. آن‌ها بین بروز nm23، عود موضعی و متاستاز کارسینوم پاپیلری ارتباطی پیدا نکردند ولی در کارسینوم فولیکولر ارتباط معکوسی بین ایجاد متاستاز و بروز nm23 وجود داشت. آن‌ها nm23 را به عنوان عامل پیش‌گویی‌کننده‌ی متاستاز در کارسینوم فولیکولر تیروئید (و نه پاپیلری) قابل قبول دانستند.<sup>۹</sup>

در مطالعه‌ای دیگر هولم و همکاران با بررسی ۴۴ مورد کارسینوم مدولری به این نتیجه رسیدند که بروز nm23 هیچ اهمیت پیش‌آگهی دهنده‌ای در کارسینوم مدولری ندارد.<sup>۱۴</sup> در آخرین مطالعه‌ای که فرنک و همکاران روی ۱۲ مورد کارسینوم فولیکولر و ۵۷ مورد آدنوم فولیکولر انجام دادند، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین موارد مثبت nm23 در این دو نئوپلاسم یافت نشد.<sup>۱۵</sup>

هدف از این مطالعه بررسی ارتباط nm23 با اندازه‌ی تومور، تهاجم عروقی، تهاجم به کپسول و درگیری غده‌ی لنفاوی (به عنوان عوامل غیرمستقیم تهاجم) در تومورهای بدخیم تیروئید بود.

همان‌طور که از یافته‌ها برمی‌آید در هیچ‌کدام از کارسینوم‌های تیروئید ارتباط معنی‌داری بین مثبت یا منفی بودن nm23 و ایجاد تهاجم وجود ندارد. در کارسینوم فولیکولر با مقدار  $p = 0/05$  نزدیک به  $p = 0/07$  احتمال دارد ارتباط منطقی بین مثبت بودن nm23 و تهاجم عروقی وجود داشته باشد که به دلیل حجم کم نمونه این ارتباط قابل ارزیابی نیست. به طور مشابهی روی‌دز<sup>۲</sup> نتوانست ارتباط معنی‌داری را در این زمینه نشان دهد اما اکثر مطالعه‌ها از جمله بررسی‌های زافون<sup>۱</sup> و آرای<sup>۱۲</sup> به ارتباط بین کاهش nm23 و بروز متاستاز در کارسینوم فولیکولر پی بردند.

در مطالعه‌ی ما، در کارسینوم پاپیلری ارتباط معنی‌داری بین بروز nm23 و درگیری غدد لنفاوی به عنوان اصلی‌ترین

## References

1. Fournier HN, Albiges-Rizo C, Block MR. New insights into Nm23 control of cell adhesion and migration. *J Bioenerg Biomembr*. 2003; 35:81-7.
2. Royds JA, Silcocks PB, Rees RC, Stephenson TJ. Nm23 protein expression in thyroid neoplasms. *Pathologica*. 1994; 86: 240-3.
3. Bevilacqua G, Sobel ME, Liotta LA, Steeg PS. Association of low nm23 RNA levels in human primary infiltrating ductal breast carcinomas with lymph node involvement and other histopathological indicators of high metastatic potential. *Cancer Res* 1989; 49: 5185-90.
4. Caligo MA, Grammatico P, Cipollini G, Varesco L, Del Porto G, Bevilacqua G. A low NM23-H1 gene expression identifying high malignancy human melanomas. *Melanoma Res*. 1994; 4: 179-84.
5. Boix L, Bruix J, Campo E, Sole M, Castells A, Fuster J, et al. nm23-H1 ex recurrence after surgical resection and disease ction of small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1994; 107: 486-91.
6. Kapitanovic S, Spaventi R, Vujsic S, Petrovic Z, Kurjak A, Pavelic ZP, et al. nm23-H1 gene expression in ovarian tumors,a potential tumor marker. *Anticancer Res* 1995; 15: 587-90.
7. Wakimoto N, Yokoyama A, Okabe-Kado J, Nagata N, Motoyoshi K, Honma Y. Combined analysis of differentiation inhibitory factor nm23-H1 and nm23-H2 as prognostic factors in acute myeloid leukaemia. *Br J Cancer* 1998; 77: 2298-303.
8. Igawa M, Urakami S, Shiina H, Ishibe T, Usui T, Chodak GW. Association of nm23 protein levels in human prostates with proliferating cell nuclear antigen expression at autopsy. *Eur Urol* 1996; 30: 383-7.
9. Zafon C, Obiols G, Castellvi J, Tallada N, Galofre P, Gemar E, et al. nm23-H1 immunoreactivity as a prognostic factor in differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3975-80.
10. Farley DR, Eberhardt NL, Grant CS, Schaid DJ, van Heerden JA, Hay ID, et al. Expression of a potential metastasis suppressor gene (nm23) in thyroid neoplasms. *World J Surg* 1993; 17: 615-20.
11. Liu Y, Jiang C, Tan Y. Pathological study on the expression of cell adhesion molecules and metastasis suppressor gene in thyroid follicular carcinoma and papillary carcinoma. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2002; 31: 322-6.
12. Luo W, Matsuo K, Nagayama Y, Urano T, Furukawa K, Takeshita A, et al. Immunohistochemical analysis of expression of nm23-H1/nucleoside diphosphate kinase in human thyroid carcinomas: lack of correlation between its expression and lymph node metastasis. *Thyroid* 1993; 3: 105-9.
13. Arai T, Yamashita T, Urano T, Masunaga A, Itoyama S, Itoh K, et al. preferential reduction of nm23 – H1 gene products in metastatic tissue from papillary and follicular carcinoma of thyroid. *Mod pathol* 1995; 8: 252-6.
14. Holm R, Hoie J, Kaalhus O, Nesland JM. Immunohistochemical detection of nm23/NDP kinase and cathepsin D in medullary carcinomas of the thyroid gland. *Virchows Arch* 1995; 427: 289-94.
15. Ferenc T, Lewinski A, Lange D, Niewiadomska H, Sygut J, Sporny S, et al. Analysis of nm23 - H1 protein immunoreactivity in follicular thyroid tumors. *Pol J Pathol* 2004; 55: 149-53.

Original Article

## Expression of Nm23 Marker in Benign and Malignant Thyroid Neoplasms Immunohistochemical

Tavangar SM<sup>1</sup>, Moradi Tabriz H<sup>1</sup>, Larijani B<sup>2</sup>, Heshmat R<sup>2</sup>, Haghpanah V<sup>2</sup>,  
Lashkari A<sup>2</sup>, Adabi Kh<sup>2</sup>, Azimi SP<sup>1</sup>

1. Department of Pathology, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran

2. Endocrinology and Metabolism Research Center (EMRC), Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran

e-mail: tavangar@ams.ac.ir

### Abstract:

**Introduction:** Several prognostic factors affect the outcome of thyroid carcinomas including tumor stage and distant metastases. Nm23 is a metastasis suppressor gene and has a crucial role in the control of metastatic potential of several carcinomas. The aim of our study is to evaluate expression of nm23 marker in benign and malignant thyroid neoplasms using the immunohistochemistry method and to elucidate its relationship with tumor size, vascular or capsular invasion and lymph node involvement. **Materials and methods:** In a descriptive study, 200 paraffin blocks comprising of 38 benign and 162 malignant thyroid neoplasms stained with nm23 marker were studied. Cytoplasmic staining in more than 10% of cells was considered as positive. The relationship between nm23 and tumor size, vascular or capsular invasion, lymph node involvement was analysed using SPSS 11.5 software ( $p=0.05$ ). **Results:** There was 40% positive incidence of nm23 in follicular adenoma, 87.5% in hurthle cell adenoma, 67.2% in papillary carcinoma, 66.7% in follicular carcinoma, and 64.7% in medullary carcinoma. In follicular adenoma, frequency of nm23 positive tumors was directly correlated to tumor size ( $p=0.04$ ). There are no statistically significant correlation between nm23 and tumor size, vascular or capsular invasion or lymph node involvement in malignant thyroid neoplasms. In papillary and medullary carcinoma, negative predictive value of nm23 for lymphnode involvement was over 80%. Also in follicular carcinoma, sensitivity and negative predictive value of nm23 for vascular invasion were approximately 90%. **Discussion:** Lack of significant correlation between nm23 and tumor invasiveness (and probably metastasis) factors, demonstrate that although nm23 is a potentially metastasis suppressor gene, whereas in many other tumors it may play a different role in thyroid neoplasms, a role which necessitates further studies to be conducted.

**Key words:** Nm23, Thyroid, Neoplasm, Immunohistochemistry