

CK8 在喉鳞癌中的表达及其意义

龚永谦¹, 郑家法², 简唯求²

(1. 南华大学附属第一医院耳鼻咽喉科, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学附属南华医院耳鼻咽喉科)

摘要: **目的** 探讨细胞角蛋白-8(CK8)在不同分化程度喉鳞癌中的表达及其临床意义。 **方法** 应用免疫组织化学 S-P 法检测 12 例喉息肉组织、56 例无淋巴组织转移喉鳞癌组织和 22 例伴有淋巴组织转移喉鳞癌组织中 CK8 的表达情况。 **结果** CK8 在喉息肉组织中无表达, 在无淋巴组织转移喉癌组织中的阳性表达率为 46.4%, 在伴有淋巴组织转移喉癌组织中的阳性表达率为 77.3%, 三组组间相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。在无淋巴组织转移喉鳞癌组织间, 高分化组分别与中分化组($P < 0.05$)或低分化组相比($P < 0.05$)差异具有显著性, 但中分化组与低分化组之间 CK8 表达无统计学意义($P > 0.05$); 在伴有淋巴组织转移喉鳞癌组织中, 喉鳞癌组与淋巴组织组 CK8 表达无统计学意义($P > 0.05$)。 **结论** CK8 可能在喉鳞癌的发生发展及其转移过程中发挥着重要的促进作用。

关键词: 喉鳞癌; 细胞角蛋白; 分化程度; 淋巴组织转移

中图分类号: 739.65 **文献标识码:** A

复发和转移是恶性肿瘤的主要病理特征, 是导致患者死亡的主要原因。细胞角蛋白(CK)主要分布在上皮细胞和上皮细胞起源的肿瘤, 而在间叶组织中缺乏表达, 是一个很大的中间丝家族^[1]。虽然 CK 是在肿瘤研究中得到广泛应用的标志物^[2]。但是目前 CK8 的功能及其结构的改变对疾病的影响还没很明确。本实验采用免疫组化方法检测 CK8 在不同分化程度及有无伴淋巴组织转移的喉鳞癌中的表达, 探讨 CK8 在喉鳞癌的发生发展过程中的意义。

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集 2008 年 1 月 ~ 2012 年 1 月在南华大学附属第一医院及湖南省肿瘤医院行喉鳞癌手术切除标本 78 例, 其中 56 例无淋巴组织转移, 22 例伴有淋巴组织转移。在无淋巴组织转移喉鳞癌标本中高分化 16 例、中分化 18 例、低分化 22 例, 所有标本均经病理检查确诊, 病理诊断由至少 2 名以上副主任医

生确定, 并选取经病理检查证实为喉息肉组织的 12 例标本作为对照组。所有患者年龄在 49 ~ 71 岁, 中位年龄 60 岁, 男 60 例, 女 18 例。所有患者术前均未做放疗、化疗等治疗, 也无内分泌、免疫性等疾病。

1.2 实验方法

采用 SP 免疫组化方法: 准备厚约 4 μm 切片, 烤干后用石蜡包埋备用。CK8 单克隆抗体购自 sigma 公司, SP 试剂盒购自北京中杉金桥公司。以 PBS 代替一抗做阴性对照, 按 SP 试剂盒说明书操作。

1.3 结果判断标准

CK8 的阳性表达部位为细胞质, 呈棕黄色颗粒, 随机选取 12 个视野, 每个视野至少观察 100 个细胞, 计数阳性细胞, 取其平均值。采用染色强度及阳性细胞含量两者综合计分^[3]。其中染色强度计分: 组织中无色计为 0 分, 浅黄色计为 1 分, 黄色计为 2 分, 棕褐色计为 3 分; 阳性细胞含量计分: $\leq 20\%$ 计为 1 分; $20\% \sim 60\%$ 之间计为 2 分; $\geq 60\%$ 计为 3 分。将染色数量及阳性细胞含量相加后, 其中 1 分计为“-”; 2 ~ 3 分计为“+”, 3 ~ 5 分计为“++” ≥ 5 分计为“+++”。

1.4 统计学方法

用 Spss13.0 软件对所得数据进行统计学分析。数据采用 χ^2 检验, Fisher 确切概率法及相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

收稿日期: 2013-11-03

基金项目: 湖南省教育厅科研项目资助(10C1136)

作者简介: 龚永谦, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 耳鼻咽喉头颈肿瘤, E-mail: gyq7103@163.com; 通讯作者: 郑家法, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 耳鼻咽喉肿瘤, E-mail: 13975466338@139.com.

2 结 果

2.1 CK8 在喉息肉和喉鳞癌组织中的表达

如图 1 所示,CK8 在喉息肉组织中无表达;CK8 主

要在喉鳞癌组织中表达,阳性细胞分布于粘膜各层,浸润到粘膜下组织的鳞癌细胞也呈阳性染色。通过相对密度计算结果显示,CK8 在喉鳞癌组织组和喉息肉组之间表达差异有统计学意义($\chi^2 = 10.554, P < 0.05$)。

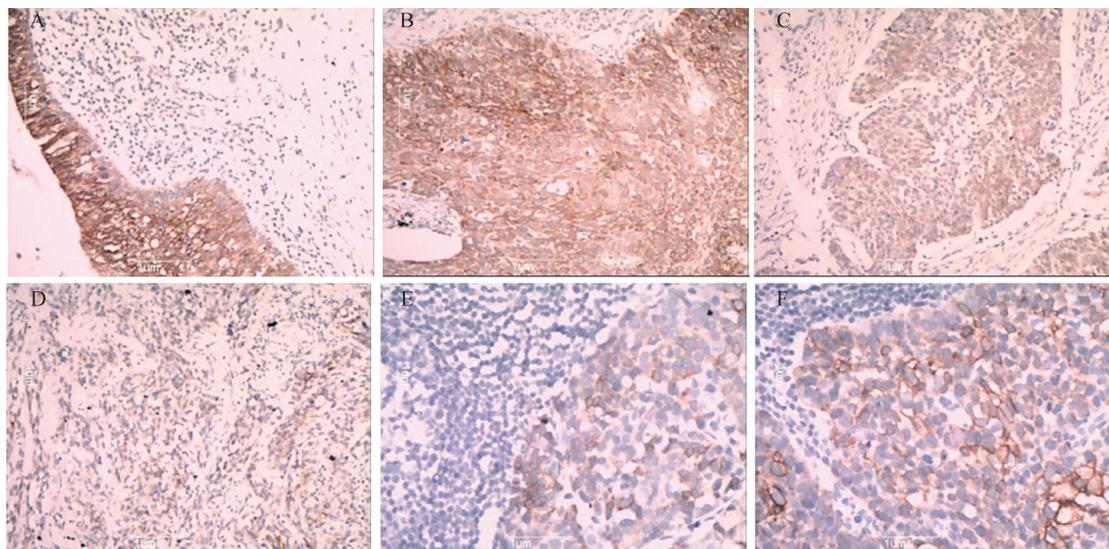


图 1 SP 免疫组化法 CK8 在癌组织中的表达情况 A:CK8 在喉息肉中无表达,B:CK8 在高分化喉鳞癌中的表达,C:CK8 在中分化喉鳞癌中的表达,D:CK8 在低分化喉鳞癌中的表达,E:CK8 在伴有淋巴组织转移喉鳞癌中的表达;F:CK8 在喉鳞癌转移淋巴组织中的表达

2.2 CK8 在喉鳞癌及其转移淋巴组织中的表达情况

方差和 Fisher 确切概率法分析结果显示,在喉息肉、无淋巴组织转移和有淋巴组织转移喉鳞癌之间相比($\chi^2 = 18.693, P < 0.005$),差异的表达有统计学意义(见表 1)。CK8 在无淋巴组织转移和伴有淋巴组织转移喉鳞癌组织中的阳性表达率分别为 47.2% 和 77.3%。喉息肉组织与无淋巴转移喉鳞癌组($\chi^2 = 7.161, P < 0.01$)或伴有淋巴转移喉鳞癌组($\chi^2 = 15.584, P < 0.005$)之间,CK8 表达率差异有统计学意义;说明 CK8 与喉鳞癌发病明显相关;进一步分析显示,CK8 表达在伴有淋巴组织转移喉鳞癌与无淋巴组织转移喉鳞癌组之间($\chi^2 = 4.892, P < 0.05$)差异有统计学意义,说明 CK8 表达增高也与喉鳞癌淋巴组织转移有关。

在无淋巴转移喉鳞癌组内,CK8 在高、中、低三种不同分化程度喉鳞癌组织中表达率分别 12.6% (2/16)、55.5% (10/18) 和 63.6% (14/22),说明分化程度的降低,其表达率明显增高。经 χ^2 检测和 Fisher 确切概率法比较,高分化组与中分化组之间($\chi^2 = 5.119, P < 0.05$),高分化组与低分化组之间($\chi^2 = 7.949, P < 0.05$),CK8 差异表达具有统计学

意义。但在中分化组与低分化组之间($\chi^2 = 0.038, P > 0.05$),CK8 差异表达无统计学意义。

在伴有淋巴组织转移喉鳞癌中,分别检测喉鳞癌组织和淋巴组织,其表达率分别为 77.3% (5/17) 和 90.9% (2/20)。CK8 差异表达无统计学意义($\chi^2 = 0.679, P > 0.05$)。

表 1 CK8 在喉息肉、无淋巴组织转移喉鳞癌及伴有淋巴组织转移喉鳞癌中的表达情况

组别	n	CK8		CK8 的喉癌鳞的表达率
		-	+	
喉息肉组织	12	12	0	-
无淋巴转移喉鳞癌	56	30	26	46.4%
伴有淋巴转移喉鳞癌	22	5	17	77.3%

三组间相比: $\chi^2 = 18.693, P < 0.05$

3 讨 论

喉癌是耳鼻咽喉头颈外科常见的恶性肿瘤,其中鳞状细胞癌是喉癌的主要病理类型^[4]。喉部解剖结构复杂,病情隐蔽,其血供、淋巴丰富,因此在临床上患者确诊为喉癌时约半数已是临床中晚期,且

多伴有淋巴结转移。颈淋巴结清扫术是目前喉鳞癌晚期可靠的手术方式,因此了解颈部淋巴结是否有转移有助于了解肿瘤的预后和预测复发。喉癌的病因而目前尚不清楚,研究表明是多种致癌因素协同作用的结果,随着临床研究的发展,储备细胞的作用已经受到科学家们的重视。研究显示,储备细胞是人乳头瘤病毒(HPV)感染的靶细胞^[5]。HPV感染引发的喉乳头状瘤是喉癌的癌前研究,当受到过度刺激或环境因素的影响时,这些细胞就会发生化生,向癌细胞发展。而CK8为储备细胞的分子标志物^[6]。CK8具有泛素化特征,与癌症的复发和转移密切相关,促进上皮源性肿瘤发生。有研究显示,在大多数无淋巴组织转移的喉癌和伴有淋巴组织转移喉癌组织中均存在CK-8蛋白的高表达^[7]。因此研究CK8可能对喉鳞癌的早期诊断、预测是否有淋巴组织转移及其预后具有重要的意义。

CK蛋白是酶类的一种,是通过蛋白磷酸化来调控细胞的生长,也是上皮细胞分化的标志,分为酸性(I型)和碱性(II型)细胞角蛋白两个亚家庭^[8]。CK8属于II型CK,Mr约为54000。编码483个氨基酸。在多种疾病状态下,CK蛋白表达模式可随细胞分化或增殖而改变^[9]。

为了进一步证实CK8在喉鳞癌中的表达与意义,本实验分别采用喉息肉,无淋巴组织转移喉鳞癌组织和伴有淋巴组织转移喉鳞癌组织,经过检测CK8的表达情况。结果发现,CK8在喉息肉组织不表达,在喉癌组织中,随着喉鳞癌组织恶性程度增高,CK8的阳性表达率也增高,在伴有淋巴转移的喉鳞癌组织表达更加显著,三者之间差异的表达均有统计学意义。这表明CK8的阳性率与喉鳞癌的分化程度相关,但调控细胞角蛋白表达机制尚不清楚,仍需进一步研究。本研究还发现CK8在伴有淋巴转移喉鳞癌中的表达率明显高于无淋巴转移喉鳞癌。这说明CK8的阳性表达率与淋巴组织转移密切相关,淋巴的转移意味着喉鳞癌的进一步发展。头颈部解剖复杂,有丰富的血供和淋巴,更容易使喉鳞癌转移到其他组织或器官。由此可以认为,通过检测喉癌组织中CK8的表达情况,可能预测喉鳞癌

发生发展趋势及预后情况。因此在喉鳞癌中CK8的表达越明显,提示喉鳞癌发生淋巴组织转移的概率可能性越大,且预后差。同时随着研究的不断深入,CK8可能成为喉鳞癌临床治疗的靶点,也可作为喉鳞癌诊断及预测病变进展趋势的标志物,也可通过淋巴组织检测来作为患者预后评价的参考指标。

参考文献:

- [1] Aslam MB, Sahasrabudhe N. Cytokeratin (CK7 and CK20) switching in the natural history of pulmonary small cell carcinoma: an interesting but unpublished phenomenon [J]. *J Clin Pathol*, 2011, 64(4): 367-368.
- [2] 初培国. 细胞角蛋白染色在肿瘤诊断中的应用 [J]. *中华病理学杂志*, 2004, 33(3): 273-276.
- [3] 张志伟, 汤国辉, 赵强, 等. AKT-p27Kip1-Cyclin E在胃癌组织中的表达及意义 [J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(21): 2233-2240.
- [4] Sanderson RJ, Ironside JAD. Squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *BMJ*, 2002, 325(7368): 822-827.
- [5] Martens JE, Arends J, Van der Linden PJ, et al. Cytokeratin 17 and p63 are markers of the HPV target cell, the cervical stem cell [J]. *Anticancer Res*, 2004, 24(2): 771.
- [6] Ikeda K, Tate G, Suzuki T, et al. Coordinate expression of cy-tokeratin 8 and cytokeratin 17 immunohistochemical staining in cervical intraepithelial neoplasia and cervical squamous cell carcinoma: An immunohistochemical analysis and review of the literature [J]. *Gynecologic Oncology*, 2008, 108(3): 598.
- [7] Wang Y, He QY, Tsao SW, et al. Cytokeratin 8 silencing in human nasopharyngeal carcinoma cells leads to cisplatin sensitization [J]. *Cancer Lett*, 2008, 265(2): 188-196.
- [8] Yang XR, Xu Y, Shi GM, et al. Cytokeratin 10 and cytokeratin 19: predictive markers for poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients after curative resection [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(12): 3850-3859.
- [9] He T, Stepulak A, Holmstrom TH, et al. The intermediate filament protein keratin 8 is a novel cytoplasmic substrate for c-Jun N-terminal kinase [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(13): 10767-10774.

(此文编辑:秦旭平)