

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.05.016

◇临床医学◇

细胞角蛋白 5/6、P63 蛋白、甲状腺转录因子-1、 细胞角蛋白 7 在肺癌组织中的表达及意义

何萌萌¹, 孙伟¹, 陈静¹, 郑世良²作者单位:¹青岛市胶州中心医院呼吸内科, 山东 胶州 266300;²潍坊医学院附属医院全科医学科, 山东 潍坊 261053

摘要:目的 探讨细胞角蛋白 5/6(cytokeratin5/6, CK5/6)、P63 蛋白、甲状腺转录因子-1(thyroid transcription factor, TTF-1)、细胞角蛋白 7(cytokeratin7, CK7)在肺癌中的表达情况及临床意义。**方法** 收集潍坊医学院附属医院 2016 年 1 月至 2017 年 4 月经皮肺穿刺活检及经纤维支气管镜活检、刷检确诊肺癌病人标本 110 例, 其中鳞癌 48 例, 腺癌 60 例, 腺鳞癌 2 例, 通过免疫组化方法检测 CK5/6、P63、TTF-1、CK7 在不同病理类型中的表达情况。**结果** CK5/6 和 P63 在鳞癌中的阳性率分别是 93.75% 和 93.75%, 而在腺癌中的阳性率分别是 5.00% 和 18.33%; TTF-1 和 CK7 在腺癌中的阳性率分别是 90.00% 和 93.33%, 而在鳞癌中的阳性率是 8.33% 和 25.00% ($P < 0.05$)。CK5/6、P63 蛋白对肺癌中鳞癌诊断的灵敏度和特异度分别为 93.75%、93.75% 和 95.00%、81.67%; 而 TTF-1、CK7 检测对肺癌中腺癌诊断的灵敏度和特异度分别为 90.00%、93.30% 和 91.67%、75.00%。**结论** CK5/6、P63、TTF-1 和 CK7 对肺癌活检标本中腺癌和鳞状细胞癌的鉴别具有诊断意义, 可指导临床治疗。

关键词: 肺肿瘤; 角蛋白 5; 角蛋白 6; 角蛋白 7; 基因, 肿瘤抑制; 免疫组织化学; 甲状腺转录因子-1

Expression and significance of CK5/6, P63, TTF-1 and CK7 in lung cancer

HE Mengmeng¹, SUN Wei¹, CHEN Jing¹, ZHENG Shiliang²

*Author Affiliations:*¹Department of Respiratory Medicine, Jiaozhou Central Hospital of Qingdao, Jiaozhou, Shandong 266300, China;²Department of General Practice, Weifang Medical College Affiliated Hospital, Weifang, Shandong 261053, China

Abstract: Objective To investigate the expression of cytokeratin 5/6 (cytokeratin 5/6, CK5/6), P63 protein, thyroid transcription factor-1 (TTF-1) and cytokeratin 7 (CK7) in lung cancer and clinical significance. **Methods** 110 cases from Weifang Medical College Affiliated Hospital during January 2016 to April 2017 were collected. All specimens were diagnosed with lung cancer by percutaneous lung biopsy, transbronchoscopic lung biopsy and brush biopsy by fiberoptic bronchoscope. Specimens included 48 cases of squamous cell carcinoma, 60 cases of adenocarcinoma, 2 cases of adenosquamous carcinoma. The expression of CK5/6, P63, TTF-1 and CK7 in different pathological types was detected by immunohistochemical technique. **Results** The positive rates of CK5/6 and P63 in squamous cell carcinoma were 93.75% and 93.75%, while the positive rates in adenocarcinoma were 5.00% and 18.33%. The positive rates of TTF-1 and CK7 in adenocarcinoma were 90.00% and 93.33%, and the positive rate in squamous cell carcinoma was 8.33% and 25.00% ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of CK5/6 and P63 protein in the diagnosis of squamous cell carcinoma were 93.75%, 93.75% and 95.00%, 81.67%. And the sensitivity and specificity of TTF-1 and CK7 in the diagnosis of adenocarcinoma in lung cancer were 90.00%, 93.30% and 91.67% and 75.00% respectively. **Conclusion** CK5/6, P63, TTF-1 and CK7 have definite significance in the identification of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in lung cancer biopsy specimens, which can guide clinical treatment.

Key words: Lung neoplasms; Keratin-5; Keratin-6; Keratin-7; Genes, tumor suppressor; Immunohistochemistry; Thyroid transcription factor-1

肺癌是临床上常见的恶性肿瘤, 其发病率与死亡率在我国居于首位。不同病理类型的肺癌, 其治疗方法及对药物的灵敏度不同, 准确的肺癌病理分型为肺癌治疗方法及药物选择提供可靠依据。临床上由于经皮肺穿刺活检及经纤维支气管

镜活检、刷检等检查, 出现标本取材少、组织挤压坏死等情况, 导致病理分型困难, 不利于诊断, 因此通过分子标志物区分肺鳞癌和肺腺癌为临床诊断提供依据。本研究通过免疫组化的方法, 观察细胞角蛋白 5/6(cytokeratin5/6, CK5/6)、P63 蛋白、甲状腺

转录因子-1(thyroid transcription factor, TTF-1)、细胞角蛋白7(cytokeratin7, CK7)在110例病人组织中的表达情况,发现其阳性表达在肺鳞癌、肺腺癌的鉴别诊断具有较高价值,可指导临床用药。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集潍坊医学院附属医院2016年1月至2017年4月经皮肺穿刺活检及经支气管镜活检、刷检确诊肺癌病人110例(分析前已排除小细胞肺癌),其中肺鳞癌48例,肺腺癌60例,腺鳞癌2例;高分化鳞癌2例,高分化腺癌0例,高分化腺鳞癌0例,中分化鳞癌27例,中分化腺癌8例,中分化腺鳞癌0例,低分化鳞癌19例,低分化腺癌52例,低分化腺鳞癌2例。男性88例,女性22例,年龄范围为29~83岁,中位年龄63.75岁。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。病人或其近亲属签署知情同意书。

1.2 方法 主要试剂为鼠抗人CK5/6、P63、TTF-1、CK7单克隆抗体,采用免疫组化SP法染色,所有组织标本经10%中性甲醛液固定,常规脱水以后经石蜡包埋,连续切片5~6张,每张切片厚约4 μm,取其中1张行HE染色,用于核实病理学诊断,剩余切片用于免疫组化染色。所有试剂均购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 结果判定 CK5/6、CK7表达于胞质,TTF-1、P63表达于胞核。当肿瘤细胞阳性表达小于10%且没有局灶区域呈阳性,表达时记为阴性;当肿瘤细胞阳性表达大于10%时记为阳性;当标本细胞几乎全部表达阴性但局灶区域呈强阳性表达时记为阳性。

1.4 统计学方法 采用SPSS 19.0统计软件进行分析,计数资料组间比较采用 χ^2 检验;数据间相关分析采用Pearson Chi-Square相关分析法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CK5/6、P63、TTF-1、CK7在肺鳞癌和肺腺癌中的阳性表达 CK5/6阳性颗粒表达于细胞质(见图1),P63蛋白阳性颗粒表达于细胞核(见图2),在肺鳞癌中的阳性表达率均是93.75%,而在腺癌中的阳性率分别是5.00%和18.33%,CK5/6、P63在肺鳞癌中的表达明显高于在肺腺癌中的表达,差异有统计学意义;TTF-1阳性颗粒表达于细胞核(见图3),CK7阳性颗粒表达于细胞质(见图4),TTF-1和CK7在腺癌中的阳性率分别是90.00%和93.33%,而在鳞癌中的阳性率是8.33%和25.00%,TTF-1、CK7在肺腺癌中的表达明显高于在肺鳞癌中的表达(见表1)。CK5/6、P63检测对肺鳞癌诊断的灵敏度和特异度

分别为93.75%、93.75%和95.00%、81.67%;而TTF-1、CK7检测对腺癌诊断的灵敏度和特异度分别为90.00%、93.30%和91.67%、75.00%(见表2)。

表1 CK5/6、P63、TTF-1、CK7在肺鳞癌和肺腺癌中的阳性表达/例(%)

组织学分型	例数	TTF-1(+)	P63(+)	CK5/6(+)	CK7(+)
鳞癌	48	4(8.33)	45(93.75)	45(93.75)	12(25.00)
腺癌	60	54(90.00)	11(18.33)	3(5.00)	56(93.33)

表2 CK5/6、P63、TTF-1、CK7在肺鳞癌和肺腺癌中的灵敏度、特异度、准确度

标志物	鳞癌/例	腺癌/例	灵敏度/%	特异度/%	准确度/%
TTF-1(+)	4	54	90.00	91.67	90.70
P63(+)	45	11	93.75	81.67	87.00
CK5/6(+)	45	3	93.75	95.00	94.40
CK7(+)	12	56	93.30	75.00	85.00

2.2 CK5/6、P63、TTF-1、CK7在肺鳞癌和肺腺癌中的阳性表达与临床病理联系 年龄 < 60 岁病人与年龄 ≥ 60 岁病人的CK5/6、P63阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$);年龄 < 60 岁病人与年龄 ≥ 60 岁病人的TTF-1、CK7阳性率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。TTF-1、P63、CK5/6、CK7在不同病理类型中的表达有显著差异,TTF-1、CK7在肺腺癌中的表达阳性率明显高于肺鳞癌($P < 0.05$),P63、CK5/6在肺鳞癌中的表达阳性率明显高于肺腺癌($P < 0.05$)。TTF-1、P63、CK5/6、CK7在不同分化程度中的表达阳性率比较有统计学意义($P < 0.05$)(见表3)。

3 讨论

肺癌的组织病理学分类分为非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC),NSCLC分为鳞状上皮细胞癌、腺癌和大细胞癌。鳞癌包括乳头状型、透明细胞型、小细胞型和基底细胞样型。典型的鳞癌显示细胞角化、角化珠形成和(或)细胞间桥,这些特征因分化程度而不同,在分化好的肿瘤中明显而在分化差的肿瘤中成局灶性。电镜显示胞质内有角蛋白中间丝,癌细胞间有大量桥粒和张力纤维束相连接。以中央型肺癌多见,并有向管腔内生长的倾向,早期常引起支气管狭窄导致肺不张或阻塞性肺炎。腺癌包括腺泡状腺癌、乳头状腺癌、支气管肺泡癌(或称肺泡细胞癌)、伴黏液产生的实性腺癌及腺癌混合亚型。典型的腺癌呈腺管或乳头状结构,细胞大小比较一致,圆形或椭圆形,胞质丰富,常含有黏液,核大,染色深,常有核仁,核膜比较清楚。腺癌倾向于管外生长,但也可循泡壁蔓延,常在肺边缘部形成直径2~4 cm的肿块。腺癌早期即可侵犯血管、淋巴管,常在原发瘤引起症状前即已转移。

表3 CK5/6、P63、TTF-1、CK7在肺鳞癌和肺腺癌中的阳性表达与临床病理联系/例

临床参数	TTF-1		χ^2 值	P值	P63		χ^2 值	P值	CK5/6		χ^2 值	P值	CK7		χ^2 值	P值
	+	-			+	-			+	-			+	-		
年龄			1.202	0.273			5.928	0.015			4.791	0.029			1.705	0.192
< 60岁	22	14			13	23			11	25			26	10		
≥60岁	37	37			45	29			39	35			44	30		
性别			7.538	0.006			2.954	0.086			2.063	0.151			0.982	0.322
男	42	46			50	38			43	45			54	34		
女	17	4			8	14			7	15			16	6		
病理类型			71.53	0.000			62.676	0.000			87.161	0.000			54.924	0.000
肺鳞癌	4	44			45	3			45	3			12	36		
肺腺癌	54	6			11	49			3	57			56	4		
腺鳞癌	1	1			2	0			2	0			2	0		
分化程度			16.496	0.000			29.420	0.000			21.043	0.000			21.043	0.000
高分化	0	2			2	0			2	0			0	2		
中分化	10	25			28	7			26	9			16	19		
低分化	49	24			20	54			22	51			54	19		

TTF-1是一种甲状腺转录因子,主要表达于甲状腺和肺的上皮细胞中,大多数SCLC、肺腺癌、大多数非典型肺神经内分泌癌及少数肺大细胞未分化癌中TTF-1的免疫组化呈阳性,而在肺鳞癌及大多数典型肺类癌中表达阴性。本研究显示,TTF-1在肺腺癌中的阳性表达率为90.00%,在肺鳞癌中的阳性表达率为8.33%,特异度为91.67%。Farzin等^[1]研究中,在151例腺癌中有129例TTF-1表达阳性,阳性率为85.40%,在70例鳞癌中有12例TTF-1表达阳性,阳性率为17.10%。Mukhopadhyay、Katzenstein^[2]的研究显示,20例腺癌中16例病人TTF-1表达阳性,而在15例鳞癌病人中无表达,其阳性率为80.00%,特异度为89.00%。在国内潘黎明、周涛^[3]的研究中,TTF-1在腺癌和鳞癌中的阳性率分别是96.70%和2.90%,其诊断肺腺癌灵敏度为96.70%,特异度为97.10%。本研究显示,在女性病人中TTF-1的表达明显($P < 0.05$),而腺癌病人中女性多见,不同分化程度中,TTF-1的阳性表达差异有统计学意义,本研究结果与国内外文献报道相符。

在正常组织中,细胞角蛋白5/6(cytokeratin5/6, CK5/6)主要表达于鳞状上皮、导管上皮基底细胞、肌上皮细胞和间皮细胞,腺上皮表达阴性。本研究中,CK5/6检测对肺鳞癌诊断的灵敏度为93.75%,特异度为95.00%。国内外研究显示,CK5/6在肺鳞癌中的灵敏度为70%~100%^[1-5],本研究与报道相符。细胞角蛋白7(cytokeratin7, CK7)是一种分子量为54kDa的碱性细胞角蛋白,存在于大多数正常组织的腺上皮和移行上皮中。卵巢癌、乳腺癌、肺腺癌中CK7表达阳性,而胃肠道的腺癌、卵巢黏液性腺癌

中表达阴性。国内金夏祥等^[6]的研究表明,CK7在27例肺腺癌中阳性表达率为93.00%。朱栋霖等^[7]的研究显示,CK7在肺腺癌中的阳性表达率为91.07%。本研究显示,CK7检测对肺腺癌诊断的灵敏度和特异度分别为93.30%和75.00%,准确度为85.00%。有关文献报道^[5],CK7在肺腺癌中的灵敏度为96.00%,准确度只有71.70%。郑姮等^[8]的研究显示,CK7诊断肺腺癌的灵敏度、特异度和准确度分别为97.30%、69.40%和85.80%。本研究结果表明,与国内外文献报道相符。

P63蛋白主要存在于移行上皮与鳞状上皮的基底细胞中,是前列腺基底细胞和乳腺肌上皮细胞的标志物,常用于乳腺和前列腺肿瘤的良好鉴别诊断。本研究中,P63检测对肺鳞癌诊断的灵敏度和特异度分别为93.75%和81.67%,准确度为87.00%。有关文献显示^[9],P63对诊断肺鳞癌的灵敏度为87.20%,特异度为82.10%,本研究与其基本一致。

综上所述,TTF-1、CK5/6、CK7及P63蛋白的表达对鉴别肺鳞癌和肺腺癌具有重要意义。鳞癌和腺癌的非手术治疗方案差异有统计学意义,因此肺癌的病理类型对于指导临床治疗十分重要。随着现代医学的不断进步,临床治疗方法也在不断改进,精准的肺癌病理分型对病人治疗方案的选择及预后的判断至关重要。多项研究表明^[7,10-12]联合抗体检测对于确定肺癌的组织学分型具有更高的灵敏度和特异度,选择多抗体联合诊断可以更好的区分鳞癌和腺癌。

(本文图1~4见插图5-3)

参考文献

- [1] FARZIN M, SIOSON L, CLARKSON A, et al. Utility of an immunohistochemical panel including TTF-1, napsin a, P63, and CK5/6 for subclassification of poorly differentiated non-small cell lung carcinomas[J]. Pathology, 2012, 44(1): 60-61.
- [2] MUKHOPADHYAY S, KATZENSTEIN AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimen: utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6[J]. Am J Surg Pathol, 2011, 35(1): 15-25.
- [3] 潘黎明, 周涛. CK5/6、p63、TTF-1和napsin-A在低分化非小细胞肺癌中区分鳞癌和腺癌的意义[J]. 浙江创伤外科, 2013, 18(3): 305-307.
- [4] 段楚晓, 付圣灵, 付向宁. CK5/6、P63、TTF-1和CK8/18在NSCLC组织中的表达及意义[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2015, 44(2): 147-151, 175.
- [5] WARTH A, MULEY T, HERPEL E, et al. Large-scale comparative analyses of immunomarkers for diagnostic subtyping of non-small-cell lung cancer biopsies[J]. Histopathology, 2012, 61(6): 1017-1025.
- [6] 金夏祥, 俞国冰, 王爱忠, 等. Napsin A、TTF-1、CK5/6、CK7、P63在非小细胞肺癌支气管镜活检标本中的表达及意义[J]. 肿瘤防治研究, 2013, 40(1): 76-78.
- [7] 朱栋霖, 沈荣明, 刘晓强, 等. CK7、CK18、CK5/6及P63在不同类型肺癌组织中的表达分析[J]. 中国实用医药, 2014, 9(5): 1-3.
- [8] 郑姮, 段楚晓, 付圣灵, 等. CK7和P63对非小细胞肺癌的诊断和联合诊断价值[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(21): 3524-3527.
- [9] 王建国, 史春云, 王建飞, 等. 癌组织TTF-1、CK7及p63蛋白检测对不同病理类型NSCLC的鉴别诊断价值[J]. 山东医药, 2016, 56(45): 60-62.
- [10] REKHTMAN N, ANG DC, SIMA CS, et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens[J]. Modern Pathology, 2011, 24(10): 1348-1359.
- [11] 徐晓艳, 杜华, 宝鲁日, 等. 非小细胞肺癌活检标本中CK7、TTF-1、NapsinA、CK5/6及P63的表达及其意义[J]. 诊断病理学杂志, 2015, 22(11): 688-691.
- [12] KHAYYATA S, YUN S, PASHA T, et al. Value of P63 and CK5/6 in distinguishing squamous cell carcinoma from adenocarcinoma in lung fine-needle aspiration specimens[J]. Diagnostic Cytopathology, 2009, 37(3): 178-183.

(收稿日期: 2017-05-29, 修回日期: 2019-01-15)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.05.017

◇临床医学◇

孤立性心房颤动导管消融术后复发相关因素的研究

刘伟¹, 周建华¹, 谢东君², 袁晓燕²作者单位:¹潍坊医学院附属威海市中心医院心内科, 山东 威海 264400;²潍坊医学院临床医学系, 山东 潍坊 261053

通信作者: 周建华, 男, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为心脏介入治疗, E-mail: zhjh6567@126.com

摘要:目的 探讨临床基线资料对孤立性房颤射频消融术后复发的影响。方法 连续入选2011年1月1日至2016年1月31日潍坊医学院附属威海市中心医院就诊的孤立性心房颤动128例,且均为首次行房颤射频消融术者。术前收集病人年龄、性别、房颤病程、房颤类型、超敏C反应蛋白、血清球蛋白、左心房前后径、左心室射血分数、术后是否行电复律等临床基线资料。经门诊或住院随访病人心电图、24 h动态心电图、心脏超声等以明确病人术后复发情况。结果 经过(14.33±5.49)个月随访,单因素分析示房颤病程($OR=1.008, 95\%CI:1.003 \sim 1.013, P=0.001$)、房颤类型($OR=0.432, 95\%CI:0.191 \sim 0.973, P=0.043$)、左房前后径($OR=1.114, 95\%CI:1.027 \sim 1.207, P=0.009$)与房颤射频消融术后复发显著相关。COX多因素回归分析,房颤病程($OR=1.012, 95\%CI:1.002 \sim 1.016, P=0.009$)为术后复发的独立危险因素。结论 房颤病程为孤立性房颤消融术后复发的独立危险因素,房颤病程越长复发率越高。

关键词:心房颤动; 导管消融术; C反应蛋白质; 每搏输出量; 心电图记录术; 电抗休克

Study on the related factors of recurrence after catheter ablation of lone atrial fibrillation

LIU Wei¹, ZHOU Jianhua¹, XIE Dongjun², YUAN Xiaoyan²

Author Affiliations:¹Department of Cardiology, Weihai Center Hospital Affiliated to Weifang Medical College, Weihai, Shandong 264400, China; ²Department of Clinical Medicine, Weifang Medical College, Weifang, Shandong 261053, China