

引用本文: 马赛, 安峰, 李立恒, 等. 癌胚抗原相关细胞黏附分子 6 和增殖细胞核抗原在涎腺黏液表皮样癌中的表达及临床意义[J]. 安徽医药, 2021, 25(7): 1369-1372. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.07.024.

◇ 临床医学 ◇



癌胚抗原相关细胞黏附分子 6 和增殖细胞核抗原在涎腺黏液表皮样癌中的表达及临床意义

马赛^a, 安峰^a, 李立恒^a, 林媛媛^b, 汪佳^a

作者单位: 河北北方学院附属第一医院, ^a口腔科, ^b病理科, 河北 张家口 075000

通信作者: 安峰, 男, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为口腔颌面外科临床与基础研究, Email: kq126@126.com

基金项目: 河北省重点研发计划自筹项目(172777144); 张家口市 2018 年度科学技术研究与发展计划资助项目(1811032D-7);

河北北方学院 2018 年度校级科研一般项目(YB2018022)

摘要: **目的** 研究癌胚抗原相关细胞黏附分子 6(CEACAM 6)与增殖细胞核抗原(Ki-67)在不同病理特征的涎腺黏液表皮样癌(MEC)中的表达情况及临床意义。**方法** 应用免疫组织化学 SP 法检测 2005 年 6 月至 2014 年 10 月河北北方学院附属第一医院病理科留存的 50 例不同临床病理特征的涎腺 MEC 组织、30 例正常涎腺组织与 30 例多形性腺瘤(SPA)中 CEACAM 6 与 Ki-67 的表达情况。**结果** CEACAM 6、Ki-67 在涎腺 MEC 组中阳性表达率分别为 62.00%(31/50)、56.00%(28/50), 在涎腺 SPA 组中分别为 33.33%(10/30)、30.00%(9/30), 在正常涎腺组中分别为 20.00%(6/30)、13.33%(4/30), 涎腺 MEC 组显著高于对照组($P<0.0167$); 在不同病理特征的涎腺 MEC 组间比较中, CEACAM 6、Ki-67 在病理分级组、TNM 分期组、有无淋巴结转移组中的表达阳性率差异有统计学意义($P<0.05$), 病理分级Ⅲ组、TNM 分期Ⅲ+Ⅳ组、有淋巴结转移组的阳性表达均分别高于病理分级Ⅰ+Ⅱ级组、TNM 分期Ⅰ+Ⅱ组、无淋巴结转移组, 而在不同性别、年龄、部位组中 CEACAM 6、Ki-67 表达阳性率差异无统计学意义($P>0.05$); 在涎腺 MEC 中 CEACAM 6 与 Ki-67 的表达呈正相关($r_s=0.551, P<0.001$)。**结论** 在涎腺 MEC 组织中 CEACAM 6 可能是通过调控 Ki-67 的表达来促进肿瘤组织的增殖。检测 CEACAM 6 和 Ki-67 可以为涎腺 MEC 的诊断、治疗提供参考。

关键词: 涎腺肿瘤; 癌胚抗原类; Ki-67 抗原; 增殖

Expression and clinical significance of CEACAM 6 and Ki-67 in mucoepidermoid carcinoma of salivary glands

MA Sai^a, AN Feng^a, LI Liheng^a, LIN Yuanyuan^b, WANG Jia^a

Author Affiliation: ^aDepartment of Stomatology, ^bDepartment of Pathology, The First Affiliated Hospital of Hebei North College, Zhangjiakou, Hebei 075000, China

Abstract: **Objective** To study the expression and clinical significance of carcinoembryonic antigen related adhesive molecular 6 (CEACAM 6) and proliferating cell nuclear antigen Ki-67 in mucoepidermoid carcinoma of salivary glands. **Methods** The expression of CEACAM 6 and Ki-67 in 50 cases of MEC, 30 cases of SPA and 30 cases of normal tissues in the Department of Pathology of The First Affiliated Hospital of Hebei North College from June 2005 to October 2014 were detected by immunohistochemical method. The relationship between their expression and different clinical pathological features in MEC of salivary glands were analyzed. **Results** The positive expression rates of CEACAM 6 and Ki-67 were 62.00% (31/50) and 56.00% (28/50) in MEC tissues, 33.33% (10/30) and 30.00% (9/30) in SPA tissues, 20.00% (6/30) and 13.33% (4/30) in normal tissues. The positive rates of CEACAM 6, Ki-67 were higher in MEC tissues than those in SPA tissues and normal tissues ($P<0.0167$). In the comparison of different pathological features of salivary gland MEC groups, the positive expressions of CEACAM 6 and Ki-67 were significant difference in the groups of different pathological grade level, different TNM stage and patients with or without lymph node metastasis, the difference was statistically significant ($P<0.05$), pathological grade level Ⅲ patients, TNM stage Ⅲ+Ⅳ, and patients with lymph node metastasis were higher than those in pathological grade level Ⅰ+Ⅱ patients, TNM stage Ⅰ+Ⅱ patients and patients without lymph node metastasis. There was no significant difference between the positive expressions of CEACAM 6 and Ki-67 in the groups of different genders, ages and tumor sites ($P>0.05$). There was a positive correlation between the positive expressions of CEACAM 6 and Ki-67 in MEC tissues ($r_s=0.551, P<0.001$). **Conclusion** CEACAM 6 may promote the proliferation of MEC tissues by regulating the expression of Ki-67. Detecting the expressions of CEACAM 6 and Ki-67 could provide reference for the diagnosis and treatment of MEC of salivary glands.

Key words: Salivary gland neoplasms; Carcinoembryonic antigens; Ki-67 antigen; Proliferation

黏液表皮样癌(mucoepidermoid carcinoma, MEC)是口腔颌面部常见的一类涎腺上皮源性恶性肿瘤。最新研究显示,在我国北方地区涎腺MEC在口腔颌面部恶性肿瘤当中的占比高居第二位^[1]。目前普遍认为肿瘤细胞的增殖活性能够准确的反映恶性肿瘤的恶性程度,与肿瘤的治疗、复发、转移有着密切的相关性。癌胚抗原相关细胞黏附分子6(CEACAM 6)是癌胚抗原(CEA)家族当中的成员之一,它主要存在于哺乳动物细胞表面和细胞膜上,起到调节细胞间黏附的作用。有研究证实,CEACAM 6高表达可以引起肿瘤组织增生和肿瘤细胞增殖活性的增强^[2]。增殖细胞核抗原(Ki-67)作为一种非常可靠的判断肿瘤细胞增殖活性的标志物,目前普遍应用于临床^[3-4]。故本研究采用免疫组织化学法检测CEACAM 6与Ki-67在不同临床病理特征的涎腺MEC组织中的表达情况,以期进一步提高临床对涎腺MEC增殖活性的认识。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2005年6月至2014年10月河北北方学院附属第一医院病理科留存的涎腺MEC病人石蜡标本50例,其中男22例,女28例。以上病例均为涎腺原发肿瘤,均有完整的临床病理资料,治疗方式均为手术扩大切除原发灶,有颈淋巴结转移者行颈淋巴结清扫术;所有病例术前均未接受放疗、化疗及免疫治疗等其他治疗。另取与手术同期切取的正常涎腺组织30例及30例涎腺多形性腺瘤(SPA)作为实验对照组。以上所有病理标本均由两名资深病理科医师分别按照WHO 2005年涎腺肿瘤组织分类法确认诊断的准确性。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 标本处理及检测方法 所有石蜡标本均严格按照免疫组织化学SP法处理。3%甲醇-双氧水在常温下孵育10 min,以灭活内源性的过氧化物酶,PBS冲洗标本,滴加10%山羊血清封闭标本内游离的结合位点,滴加特异性一抗、二抗,37℃孵育30 min,PBS冲洗,滴加辣根酶HRP标记链酶卵白素工作液,PBS冲洗,DAB显色,复染,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。兔抗人CEACAM 6单克隆浓缩抗体购于英国Abcam公司,Ki-67抗体购自Santa Crue公司,DAB显色试剂盒购于博士德公司。

1.3 结果判定 细胞质内出现颗粒状棕黄色染色的标本被认定为CEACAM 6表达阳性细胞。细胞核中出现棕黄色染色颗粒的标本被认定为Ki-67表达阳性细胞。继而以细胞染色程度及染色细胞百分率来对标本做进一步评定。染色程度:基本无着色为0分,淡黄色为1分,黄色为2分,棕黄色为3分;

染色细胞百分率:无为0分,<25%为1分,25%~50%为2分,>50%为3分。染色程度得分与染色细胞百分率得分各自相乘:0~1分为阴性(-),2~3分为弱阳性(+),4~6分为阳性(++),6分以上为强阳性(+++),将阴性和弱阳性表达定义为阴性组,阳性和强阳性表达定义为阳性组。

1.4 统计学方法 运用SPSS 17.0统计软件对数据进行整理分析,用百分率表示计数资料,采用 χ^2 检验分析CEACAM 6和Ki-67的表达与临床病理参数的关系,两组间比较设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义,三组之间两两比较采用 P 值修正的方法,即 $P<0.0167$ 为差异有统计学意义。两者表达的相关性采用Spearman检验,设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CEACAM 6、Ki-67在MEC、SPA、正常涎腺组织中的表达比较 在涎腺MEC、SPA及正常涎腺组织中,CEACAM 6均呈棕黄色颗粒状表达于细胞的胞质中,而Ki-67则呈棕黄色颗粒表达于细胞核中。涎腺MEC组的CEACAM 6、Ki-67阳性率均明显高于其余两组,差异有统计学意义($P<0.0167$)。见表1。

表1 CEACAM 6、Ki-67在三组中的表达比较/例(%)

组别	例数	CEACAM 6阳性	Ki-67阳性
对照组	30	6(20.00)	4(13.33)
MEC组	50	31(62.00)	28(56.00)
SPA组	30	10(33.33)	9(30.00)
χ^2 值		15.003	15.532
P 值		0.001	0.000

2.2 CEACAM 6、Ki-67在不同临床病理特征的涎腺MEC中的表达 在涎腺MEC组织中病理分级Ⅲ级者CEACAM 6、Ki-67表达阳性率均明显高于病理分级Ⅰ+Ⅱ级者($P<0.05$),TNM分期Ⅲ+Ⅳ期者CEACAM 6、Ki-67表达阳性率均明显高于TNM分期Ⅰ+Ⅱ者($P<0.05$),有淋巴结转移者CEACAM 6、Ki-67表达阳性率均明显高于无淋巴结转移者($P<0.05$),而在不同性别、年龄、部位组中CEACAM 6、Ki-67表达阳性率差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

2.3 涎腺MEC组织中CEACAM 6和Ki-67表达的相关性分析 涎腺MEC组织中CEACAM 6和Ki-67二者共同阳性表达例数为24例,共同阴性表达例数为15例,Spearman相关性分析显示CEACAM 6和Ki-67的表达呈正相关($r_s=0.551, P<0.001$)。

3 讨论

现代肿瘤学研究认为,增殖与分化是细胞生命进程中相辅相成的必然过程,细胞一旦出现增殖失控则必然会伴有分化异常;反之,细胞异常分化的程度也

表2 不同病理特征的涎腺 MEC 中 CEACAM 6、Ki-67 的表达/例(%)

参数	例数	CEACAM 6 阳性	χ^2 ,P 值	Ki-67 阳性	χ^2 ,P 值
病理分级			11.260,0.001		5.547,0.019
I + II	27	11(40.74)		11(40.74)	
III	23	20(86.96)		17(73.91)	
TNM 分期			9.818,0.002		3.889,0.049
I + II	31	14(45.16)		14(45.16)	
III+IV	19	17(89.47)		14(73.68)	
淋巴结转移			5.003,0.025		6.975,0.008
无	39	21(53.85)		18(46.15)	
有	11	10(90.91)		10(90.91)	
性别			0.187,0.665		0.005,0.945
男	27	16(59.26)		15(55.56)	
女	23	15(65.22)		13(56.52)	
年龄			1.529,0.216		0.791,0.374
≥50	24	17(70.83)		15(62.50)	
<50	26	14(53.85)		13(50.00)	
部位			0.543,0.461		1.155,0.283
大涎腺	27	18(66.67)		17(62.96)	
小涎腺	23	13(56.52)		11(47.83)	

注:CEACAM 6 为癌胚抗原相关细胞黏附分子 6,Ki-67 为增殖细胞核抗原。

与细胞增殖失控呈正相关^[5]。目前,通过检测肿瘤细胞增殖活性来评价肿瘤的恶性程度、判断预后已获得肿瘤学研究的共识。CEACAM 6 基因(又称为 CD66c)定位于 19 号染色体 q13.2,其编码的蛋白包含 266 个氨基酸残基,分子量为 90-95 kD。CEACAM 6 蛋白主要通过脂筏结构发挥细胞内信号转导、识别和链接功能^[6-7]。Cameron 等^[8]在研究 CEACAM 6 在头颈部鳞癌中的表达情况时发现,肿瘤组织中过表达的 CEACAM 6 可以促进肿瘤生长增殖并抑制细胞凋亡。进一步研究发现^[9],CEACAM6 通过与表皮生长因子(EGF)受体(EGFR)相互作用并增强 EGFR 的活性的方式来促进口腔鳞状细胞癌的侵袭和转移。国内研究显示,高表达的 CEACAM 6 通过抑制肿瘤浸润淋巴细胞的浸润对肿瘤的生长与转移产生明显的促进作用^[10]。以上研究均证实 CEACAM 6 在病理条件下通过调节细胞黏附、阻断细胞分化、抑制失巢凋亡,使细胞极性消失、增殖失控,并形成有利于肿瘤组织侵袭、转移的微循环,从而影响肿瘤组织的生物学行为。另有多项研究显示^[11-13],CEACAM 6 在同一系统的正常组织、良性肿瘤组织与恶性肿瘤组织中的表达逐级升高,这一现象很可能与 CEACAM 6 参与细胞从 G0/G1 期向 S 期转化过程的调控有关,从而也证实了 CEACAM 6 可以促进正常细胞向肿瘤细胞发展这一理论。以上这些研究均证实 CEACAM 6 有作为理想

的肿瘤标志物的潜质,目前国内外均已有关临床试验把 CEACAM 6 作为恶性肿瘤早期诊断的备选指标之一^[14-15]。本研究检测了 CEACAM 6 在涎腺 MEC 组织中的表达情况,结果证实 CEACAM 6 与涎腺 MEC 组织的病理分级、TNM 分期、有无淋巴结转移密切相关,说明在涎腺 MEC 组织中 CEACAM 6 同样发挥着促癌基因的作用。另外,CEACAM 6 在涎腺 MEC 与多形性腺瘤中的表达有显著差异,说明检测 CEACAM 6 的表达水平有助于临床良恶性肿瘤的鉴别诊断。

Ki-67 是一种能够准确反映细胞增殖活性的核蛋白,它主要表达于有增殖活性的细胞中,而在无增殖活性的细胞内则缺乏此蛋白。在多种恶性肿瘤组织中 Ki-67 的表达水平均能较准确地反映细胞的增殖程度,因此,人们普遍认为 Ki-67 的表达水平对肿瘤的发生、发展有显著影响。这一结论在涎腺 MEC 组织中一样适用^[16-17]。通过检测 Ki-67 的表达水平来评估肿瘤的恶性程度、判断预后这一理论是现代肿瘤学研究的广泛共识^[3-4]。为了进一步验证 CEACAM 6 对涎腺 MEC 组织增殖的影响,本研究选取了 Ki-67 作为联合研究对象。研究结果显示,Ki-67 的表达情况与以往研究相一致;CEACAM 6 的表达与 Ki-67 的表达呈正相关,说明在涎腺 MEC 组织中 CEACAM 6 的过表达造成肿瘤组织增殖失控,从而影响了肿瘤组织的生物学行为。进一步分析其机制可能为 CEACAM 6 的过表达激活了磷脂肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/AKT/mTOR)通路。作为一种细胞膜表面受体,当 CEACAM 6 蛋白与细胞外界信号结合后可激活细胞膜上的 PI3K,继而活化的 PI3K 激活其下游的 AKT,AKT 活化后随即激活了 mTOR,活化的 mTOR 使其下游底物真核细胞翻译起始因子 4E 结合蛋白 1(4EBP1)磷酸化,磷酸化后的 4EBP1 失去了与真核细胞翻译启动因子(eIF4E)结合的能力,从而使 eIF4E 解离出来与其他翻译起始因子结合,启动了蛋白质的翻译,Ki-67 蛋白正是受 eIF4E 调控的蛋白之一^[8,18-20]。

综上所述,在涎腺肿瘤组织中 CEACAM 6 与 Ki-67 异常高表达提示肿瘤恶性的可能性较大,而在涎腺 MEC 组织中 CEACAM 6 与 Ki-67 高表达则预示着肿瘤恶性程度高、侵袭性强、淋巴结转移率高。临床通过检测 CEACAM 6 与 Ki-67 有助于涎腺肿瘤的良恶性预判及涎腺 MEC 恶性程度的评估。进一步验证 CEACAM 6 与 Ki-67 在涎腺 MEC 组织中发挥作用的具体机制,有望为涎腺 MEC 的精确诊断及靶向治疗提供科学依据。

参考文献

[1] 周童,贾颜鸿,毕也,等. 3382 例口腔颌面部恶性肿瘤的临床病理分析[J]. 中华口腔医学杂志,2018,53(7):480-483.
[2] RU GQ,HAN Y,WANG W,et al.CEACAM6 is a prognostic bio-

- marker and potential therapeutic target for gastric carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(48):83673-83683.
- [3] MENON SS, GURUVAYOORAPPAN C, SAKTHIVEL KM, et al. Ki-67 protein as a tumour proliferation marker[J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 491:39-45.
- [4] WONG E, NAHAR N, HAU E, et al. Cut-point for Ki-67 proliferation index as a prognostic marker for glioblastoma[J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2019, 15(1):5-9.
- [5] XIE T, LI X, YE F, et al. High KIF2A expression promotes proliferation, migration and predicts poor prognosis in lung adenocarcinoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 497(1):65-72.
- [6] RIZEQ B, ZAKARIA Z, OUHTIT A. Towards understanding the mechanisms of actions of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 in cancer progression[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(1):33-42.
- [7] WANG Z, LUO C, WANG H, et al. CEACAM6 is associated with osteosarcoma metastasis and facilitates epithelial-mesenchymal transition in osteosarcoma cells [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:3159-3166.
- [8] CAMERON S, DE LONG LM, HAZAR-RETHINAM M, et al. Focal overexpression of CEACAM6 contributes to enhanced tumorigenesis in head and neck cancer via suppression of apoptosis [J]. *Mol Cancer*, 2012, 11:74.
- [9] CHIANG WF, CHENG TM, CHANG CC, et al. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 (CEACAM6) promotes EGF receptor signaling of oral squamous cell carcinoma metastasis via the complex N-glycosylation [J]. *Oncogene*, 2018, 37(1):116-127.
- [10] 黄霞, 崔晶娴, 陈烨, 等. 胃癌组织中CEACAM6的检测及其与T细胞的相互作用[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(11):2395-2401.
- [11] 陶飞. 胃癌癌中癌胚抗原相关黏附分子6和上皮型黏附素表达的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(18):4504-4506.
- [12] LIU Y, XIA T, JIN C, et al. FOXP3 and CEACAM6 expression and T cell infiltration in the occurrence and development of colon cancer[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(6):3693-3701.
- [13] DUXBURY MS, ITO H, BENOIT E, et al. CEACAM6 is a determinant of pancreatic adenocarcinoma cellular invasiveness [J]. *Br J Cancer*, 2004, 91(7):1384-1390.
- [14] 王文斌, 刘兵, 武海波, 等. 癌胚抗原相关细胞黏附分子6检测诊断胆管癌[J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34(12):2217-2219.
- [15] RODIA MT, SOLMI R, PASINI F, et al. LGALS4, CEACAM6, TSPAN8, and COL1A2; blood markers for colorectal cancer-validation in a cohort of subjects with positive fecal immunochemical test result [J/OL]. *Clin Colorectal Cancer*, 2018, 17(2):e217-e228. DOI: 10.1016/j.clcc.2017.12.002.
- [16] 马赛, 安峰, 胥爱文, 等. Klotho和Ki-67在涎腺黏液表皮样癌中的表达及临床意义[J]. *山西医科大学学报*, 2017, 48(2):172-175.
- [17] FAUR AC, SAS I, MOTOC AG, et al. Ki-67 and p53 immunostaining assessment of proliferative activity in salivary tumors [J]. *Rev J Morphol Embryol*, 2015, 56(4):1429-1439.
- [18] WULLSCHLEGER S, LOEWITH R, HALL MN. TOR signaling in growth and metabolism [J]. *Cell*, 2006, 124(3):471-484.
- [19] WU CC, HOU S, BAORR, et al. mTORC1-Mediated Inhibition of 4EBP1 Is Essential for Hedgehog Signaling-Driven Translation and Medulloblastoma [J]. *Dev Cell*, 2017, 43(6):673-688.
- [20] ROSENWALD IB. The role of translation in neoplastic transformation from a pathologist's point of view [J]. *Oncogene*, 2004, 23(18):3230-3247.

(收稿日期:2019-09-17,修回日期:2019-11-09)

引用本文:张帆,郑世信,彭一纯.喉癌射频消融术后气管切开病人下呼吸道感染的影响因素分析[J].安徽医药, 2021, 25(7):1372-1375. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.07.025.

◇临床医学◇



喉癌射频消融术后气管切开病人下呼吸道感染的影响因素分析

张帆,郑世信,彭一纯

作者单位:北京大学深圳医院耳鼻喉科,广东 深圳 518036

基金项目:深圳市卫生计生系统科研项目立项(201607022)

摘要: **目的** 探讨喉癌病人在射频消融术后气管切开后呼吸道感染的主要影响因素。**方法** 选取北京大学深圳医院2012年6月至2016年6月喉癌病人行射频消融术后气管切开病人80例。留取感染病人下呼吸道分泌物分离培养细菌,对细菌采用生物鉴定系统进行鉴定。综合分析下呼吸道感染病人的主要因素并采取有效的预防措施。**结果** 80例病人中发生下呼吸道感染的为11例,无下呼吸道感染为69例,感染率为13.75%。11例病人下呼吸道感染的分泌物细菌分离出23株,其中革兰阴性菌15株占65.21%,革兰阳性菌6株26.09%,真菌2株占8.7%;单因素分析及多因素logistic回归分析显示,手术时间[≥3 h感染者12.73%(7/55),无感染者82.27%(48/55)]、术中出血量[≥400 mL感染者16.28%(7/43),无感染者83.72%(36/43)]、术后少量出血[<50 mL感染者26.67%(4/15),无感染者73.33%(11/15)]、高血糖[空腹血糖≥8.0 mmol/L感染者27.27%(9/33),无感染者72.73%(24/33)]、伴有肺部疾病[感染者20.59%(7/34),无感染者79.41%(27/34)]、抗菌药物的使用[感染者27.59%(8/