

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20130327.1043.007.html>

角蛋白 19 与鼻咽癌患者不同病理分期的相关性研究

金剑明

(湖南省怀化市第二人民医院靖州医院, 湖南 怀化 418400)

[摘要] 目的:探讨分析角蛋白 19 与鼻咽癌分化转移的关系,以期为转移患者的早起诊断提供有效的参考依据。方法:选取我院于 2008 年 4 月~2011 年 3 月收治的 52 例鼻咽癌患者,并随机选取同时期的 35 例淋巴结转移鼻咽癌患者、35 例无鼻咽癌的患者作为对照组,使用免疫组化检测角蛋白 19 在所有鼻咽患者原发肿瘤以及对照组患者正常鼻咽上皮中的表达水平,并使用免疫印迹法测定角蛋白 19 在不同分化程度与不同转移潜能鼻咽癌细胞系中的表达。结果:角蛋白 19 在鼻咽癌组与淋巴结转移鼻咽癌组的阳性率明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);其在分化低、伴周围组织侵犯、淋巴结转移及远处转移的病灶中的表达强度及表达率明显较高($P < 0.05$)。结论:角蛋白 19 与鼻咽癌的分化及转移关系密切,对于鼻咽癌的早期诊断有着重要意义。

[关键词] 角蛋白 19;鼻咽癌;分化转移

[中图分类号] R739.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1007-1237(2013)06-0797-04

Relationship between Keratin 19 and different pathological stages of nasopharyngeal carcinoma

Jin Jian-ming

(Jingzhou Hospital, Second People's Hospital, Huaihua 418400, China)

[Foundation Project]: This Work is Financially Supported by Special Foundation for Clinical Studies from Committee of Medical Journal of Chinese Universities (112210671)

[Author]: JIN Jian-ming (1979-), Male, Huaihua Hunan, Attending Physician, M. B., Tel: 13349617736, Email: daiyqiang@163.com.

Received: 2013-03-11 Revised: 2013-03-15

JHMC, 2013; 19(6): 797-800

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] Objective: To study the relationship between keratin 19 and different pathological stages of nasopharyngeal carcinoma. Methods: A total of 52 patients with nasopharyngeal carcinoma, 35 patients with lymphnode metastatic nasopharyngeal carcinoma admitted from April 2008 to March 2011 were selected while 35 patients without nasopharyngeal carcinoma during the same period were selected as the control group. The expression of keratin 19 in specimens of these patients was detected by immunohistochemical assay and the expression of keratin 19 in NPC cell lines with different differentiation degree and metastasis potency were detected by western blot. Results: The positive rate of keratin 19 in patients with

[基金项目] 中国高校医学期刊临床专项基金项目(112210671)

[作者简介] 金剑明(1979-),男,湖南省怀化市人,学士学位,主治医师,电话,13349617736,电子信箱:daiyqiang@163.com.

[收稿日期] 2013-03-11 **[修回日期]** 2013-03-15 **网络出版时间:** 2013-03-27 10:43

nasopharyngeal carcinoma and patients with lymphnode metastatic nasopharyngeal carcinoma were significantly higher than that of control group ($P < 0.05$); The keratin 19 was expressed more highly in tissues with lower differentiation, distant and lymphnode metastasis ($P < 0.05$). **Conclusions:** Keratin 19 has a close relationship with the differentiation and metastasis of nasopharyngeal carcinoma and it is valuable in the early diagnosis and prognosis of nasopharyngeal carcinoma.

[KEY WORDS] Keratin 19; Nasopharyngeal carcinoma; Differentiation and metastasis

鼻咽癌是发生于鼻咽腔顶部和侧壁的恶性肿瘤,由正常的上皮组织分化而来,在我国的南方省份有较高的发病率,其发病与遗传易感性、环境因素、EB病毒感染、饮食习惯等多个因素相关,其中与EB病毒的相关性较大^[1-3]。由于大部分鼻咽癌位置隐匿且早期症状不明显,故早期易被忽视,待患者到医院就诊时,多为中晚期^[4,5]。所以鼻咽癌的早期诊断与转移判断对患者来说意义重大。科学研究者也一直致力于此,其中角蛋白 19 的表达与细胞周期、增殖、分化、转移有较为密切的关系,并受到细胞分化的调节,故在恶性肿瘤的诊断中能起一定作用^[6]。我院于 2008 年 4 月~2011 年 3 月共收治 52 例鼻咽癌患者,35 例淋巴结转移鼻咽癌患者与 35 例不患有鼻咽癌的人院患者,对角蛋白 19 与鼻咽癌分化转移的关系进行探讨分析,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取我院于 2008 年 4 月~2011 年 3 月收治的 52 例鼻咽癌患者,其中男性 31 例,女性 21 例,平均年龄(51.3±4.6)岁。其中 I 期 12 例,II 期 9 例,III 期 18 例,IV 期 13 例;36 例为低分化鳞癌,16 例为中分化鳞癌,所有患者均未进行化疗;并随机选取同时期的 35 例淋巴结转移鼻咽癌患者与 35 例无鼻咽癌的人院患者。所有研究对象均排除合并肺癌、宫颈癌、膀胱癌、乳腺癌者。

1.2 免疫组织化学方法

标本取出后经福尔马林固定与石蜡包埋,细胞传代培养使用含 10%小牛血清的 RPMI1640 培养基进行。所有操作均按照说明书进行,使用 SP 法进行免疫组化染色并将角蛋白的工作浓度设置为 1:300,Western blot 方法检测鼻咽癌不同分化程度、不同转移潜能鼻咽癌细胞系中角蛋白 19 蛋白的表达^[7]。鼠抗人角蛋白单克隆抗体购自杭州华安生

物技术有限公司,细胞角蛋白 19 免疫组化试剂盒购自上海江莱生物科技有限公司。

1.3 评价标准

由病理医师对结果做出判断,于高倍镜下随机选取 10 个视野($\times 200$),以积分法计数阳性细胞,根据每张切片的染色强度与阳性细胞比例进行积分计算^[8],阳性率=(强阳性+阳性+弱阳性)/总患者数;肿瘤标本的分期参照美国癌症联合委员会 TNM 分期系统。

1.5 统计学处理

采用 SPSS16.0 软件进行统计分析,组间计数资料采用卡方检验,检验标准为 0.05,当 $P < 0.05$ 时,差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组样本中角蛋白 19 的表达情况

角蛋白 19 在三组的表达情况比较差异有统计学意义($\chi^2 = 64.828, P < 0.05$),其中在淋巴结转移鼻咽癌组和鼻咽癌组中的表达明显高于对照组,详见表 1。

表 1 三组样本中角蛋白 19 的表达情况 n

组别	n	阴性	弱阳性	阳性	强阳性	阳性率 (%)
鼻咽癌组	52	12	2	24	14	76.9
淋巴结转移鼻咽癌组	35	21	13	9	94.3	
对照组	35	29	3	3	0	17.1

2.2 角蛋白 19 鼻咽癌不同分化程度患者中的表达情况

在低分化的鼻咽癌标本中,角蛋白 19 的阳性率为 86.1%(31/36);在中分化的鼻咽癌标本中,角蛋白 19 的阳性率为 56.3%(9/16),角蛋白 19 在低分化与中分化鼻咽癌组织中的表达情况差异比较有统计学意义($\chi^2 = 5.564, P < 0.05$)。

2.3 角蛋白 19 在不同鼻咽癌病灶情况的表达情况

在 T1 期(无组织侵犯)的鼻咽癌标本中,角蛋

白 19 的阳性率为 16.7% (2/12); 在 T2, T3, T4 期 (突破鼻咽腔并伴有周围组织侵犯) 的鼻咽癌标本中, 角蛋白的阳性率为 95.0% (38/40), 角蛋白 19 在 T1 期与 T2, T3, T4 期的鼻咽癌标本中的表达情况差异比较有统计学意义 ($\chi^2 = 31.908, P < 0.05$)。见表 2。

表 2 鼻咽癌大小与角蛋白 19 的表达情况关系 n

肿瘤大小	n	阴性	弱阳性	阳性	强阳性	阳性率 (%)
T1	12	10	1	1	0	16.7
T2	13	1	0	9	3	92.3
T3	12	1	1	6	4	91.7
T4	14	0	0	8	6	100.0

2.4 角蛋白 19 在鼻咽癌淋巴结转移不同患者中的表达情况

在 N0 期 (无淋巴结转移) 的鼻咽癌标本中角蛋白 19 的阳性率为 38.5% (5/13); 在 N1, N2, N3 期 (伴有淋巴结转移) 的鼻咽癌标本中角蛋白 19 的阳性率为 89.7% (35/39), 角蛋白 19 在 N0 期与 N1, N2, N3 期的鼻咽癌标本中的表达情况差异比较有统计学意义 ($\chi^2 = 14.444, P < 0.05$)。见表 3。

表 3 鼻咽癌淋巴结转移情况与角蛋白 19 的表达情况关系 n

淋巴结转移情况	n	阴性	弱阳性	阳性	强阳性	阳性率 (%)
N0	13	8	1	3	1	38.5
N1	10	1	1	6	2	90.0
N2	14	1	0	8	5	92.8
N3	15	2	0	7	6	86.7

2.5 角蛋白 19 在鼻咽癌远处转移不同患者中的表达情况

在 M0 期 (无远处转移) 的鼻咽癌标本中, 角蛋白 19 的阳性率为 64.0% (16/25); 在 M1 期 (有远处转移) 的鼻咽癌标本中, 角蛋白 19 的阳性率为 88.9% (24/27), 角蛋白 19 在 M0 期与 M1 期的鼻咽癌标本中的表达情况差异比较有统计学意义 ($\chi^2 = 4.530, P < 0.05$)。

3 讨论

鼻咽癌大多起源于鼻咽部的被覆鳞状上皮, 其分化较差, 多数呈浸润生长, 故恶性程度较高, 且容易转移到颈部淋巴结^[9]。目前尚无研究能将鼻咽癌发病及转移的分子机制解释清楚, 但鼻咽癌发病及转移的早期诊断仍在其治疗中扮演了重要的角色。

角蛋白 19 是一种分子质量较小、呈酸性的 I 型

细胞角蛋白, 主要分布于机体正常组织的鳞状上皮, 其基因表达有较高的规律性。当原本良性的上皮组织发生癌变时, 恶性肿瘤使得蛋白酶得以激活, 细胞骨架发生重建, 角蛋白 19 的基因组因此发生改变, 其降解速度被加快, 许多可溶性片段被释放入血。已有研究表明角蛋白 19 在乳腺癌、肝细胞癌、甲状腺乳头状癌、口腔鳞状细胞癌中表达增多, 且分化程度越低, 其表达水平越高^[10-13]。有学者使用二维电泳结合质谱技术在鼻咽癌组织的蛋白表达谱中检测出呈高表达的角蛋白^[12, 14]。而在本次研究中, 我们发现鼻咽癌组织标本中角蛋白阳性率要显著高于对照组标本, 在分化低的标本中有着更高的阳性率; 有研究表明角蛋白 19 与乳腺癌的转移密切相关^[15], 这可能与 p38MAPK/XBP-1 信号通路有关, 而在我们的研究中, 淋巴结转移鼻咽癌组织标本中的阳性率要高于鼻咽癌标本。角蛋白 19 作为一种细胞骨架中间丝蛋白, 不仅维持着肿瘤的细胞骨架, 且与细胞迁移运动能力的改变密切相关, 已经有文献报道角蛋白 19 在肝细胞癌的转移灶中有较高的表达, 我们的研究结果显示角蛋白 19 在发生淋巴结转移灶和远处转移灶标本中的阳性率要高于那些没有发生转移的病灶。

当前关于角蛋白 19 与鼻咽癌分化转移关系的实验与研究还不多, 但本次研究中, 我们发现角蛋白 19 不仅在鼻咽癌患者的标本中呈高表达, 且分化情况越差, 表达越高, 并对肿瘤细胞的转移情况有一定的诊断作用。综上所述, 角蛋白 19 与鼻咽癌的分化及转移关系密切, 对于鼻咽癌的早期诊断有着重要意义。

参考文献

- 1 劳明, 吴芸, 梁世雄, 等. 鼻咽癌患者梯度滴度 EBV/VCA-IgA 血清 CYFRA21-1 水平的变化[J]. 临床耳鼻喉头颈外科杂志, 2009, 23(1): 32-33.
- 2 Nguyen CV, Deavers MT, Quinones J, et al. Estrogen receptor immunohistochemistry for confirmation of sentinel lymph node metastasis in cases with equivocal cytokeratin positivity[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2009, 17(2): 139-145.
- 3 陈瑜萍, 阮辉, 肖志勇. 鼻咽癌患者 EB 病毒检测的临床意义[J]. 成都医学院学报, 2012, 7(2): 266-268.
- 4 孙剑光, 王化修, 肖方庚, 等. 血浆 EBV DNA、血清 CYFRA21-1 和 VCA-IgA 的检测在监测鼻咽癌患者复发和转移中的临床价值[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科,

- 2010,17(3):125-127.
- 5 张文玲,周艳宏,肖岚,等.鼻咽癌分子标志物研究[J].生物化学与生物物理进展,2008,35(1):7-13.
 - 6 Zhuang PY, Zhang JB, Zhu XD, et al. TWO Pathologic types of hepatocellular carcinoma with lymph node metastasis with distinct prognosis on the basis of CK19 expression in tumor[J]. Cancer, 2008, 122(12): 2740-2748.
 - 7 邓玲,周建国,朱建思,等.角蛋白 19 表达与鼻咽癌分化转移的关系[J].南华大学学报(医学版),2010,38(6):765-768.
 - 8 Huang WG, Cheng AL, Chen ZC, et al. Targeted proteomic analysis of 14-3-3 α in nasopharyngeal carcinoma [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010, 42(1): 137-147.
 - 9 Ho HC, Lee MS, Hsiao SH, et al. Prognostic influence of parapharyngeal extension in nasopharyngeal carcinoma[J]. Acta Otolaryngol, 2008, 128: 790-798.
 - 10 周坚,倪泉兴,邹强,等.乳腺癌外周血角蛋白-19 的检测及其临床意义[J].中国临床医学,2008,15(5):721-724.
 - 11 王为东,李玉军. CD147 和 CK19 在肝细胞癌中的表达及临床意义[J].临床肿瘤学杂志,2012,17(4):334-338.
 - 12 尹海波,江昌新,王婷,等.细胞角蛋白-19 波形蛋白血管内皮生长因子-C 和环氧化物酶-2 在甲状腺乳头状癌和滤泡癌中的表达及意义[J].中国肿瘤临床,2010,37(20):1161-1165.
 - 13 方唯意,江庆萍,刘真. 蛋白组学筛选抑癌基因 CCDC19 在鼻咽癌中的调控蛋白[J].南方医科大学学报,2012,32(8):1127-1130.
 - 14 谈治雄. 细胞角蛋白 19 与肝细胞癌转移的相关性研究-从蛋白质组到细胞生物学[D]. 第二军医大学,2002.
 - 15 黄英. CK-19mRNA 表达与乳腺癌关系的研究[D]. 大连医科大学,2008.

(上接第 796 页)

- 2 王蕾,刘华,章励,等.乙型肝炎血清标志物 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性模式的相关研究[J] 检验医学,2008,23(5) 530-534.
- 3 张玲,潘虹.慢性乙型肝炎患者血清乙型肝炎病毒 e 抗原及乙肝病毒载量和丙氨酸氨基转移酶的关系[J].临床医学,2012,32(2):1039-040.
- 4 刘林,王雅军.乙型肝炎病毒基因型的研究进展. [J] 中国煤炭工业医学杂志,2011,14(8)1256-1257.
- 5 李晓光,胥婕,刘宝明,等. 未经治疗的慢性乙型肝炎患者乙型肝炎病毒耐药变异、基因型和血清型研究[J].中华肝脏病杂志,2010,18(2):1934-1936.
- 6 刘成永,杨友国.徐州地区乙型肝炎病毒基因型分布及其意义. [J]中华微生物和免疫学杂志,2004,24(6):432-434.
- 7 许军,王齐欣,蒋栋.乙型肝炎病毒基因型与病情轻重的关系. [J]中华肝脏病杂志,2003,11(1)11-13.
- 8 张启华,杨红,徐正锯.乙型肝炎病毒基因型与血清 HBV-DNA 水平的关系. [J]胃肠病学和肝病学杂志,2004,13(5)525-527.
- 9 Yu MW, Yeh SH, Chen PJ. Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men[J]. National Medical Journal of china, 2009, 11(4): 1045-1046.
- 10 边广珠,焦贤春,刘晓云,等.乙肝标志物模式与病毒载量的相关性研究[J].中华全科医学,2011,8(5):61-62.
- 11 曹军皓,赵冰红,叶彬,等. HBV 基因分型与病毒载量及血清标志物关系的探讨[J]. 临床医学,2010,7(10):14-15.
- 12 梁一波,欧伟.慢性乙肝患者血清胆碱酯酶与肝纤维化血清标志物水平变化及临床意义[J].临床医学,2011,9(2):27-28.
- 13 王效军,徐秀娟,梁海荣,等.慢性乙肝患者乙肝血清学标志物及生化学指标的检测及意义[J].中国预防医学杂志,2011,12(3):277-278.
- 14 汪贵方.慢性乙肝患者血清胆碱酯酶与肝纤维化血清标志物水平变化及临床意义[J].中外健康文摘,2011,9(30):74-75.
- 15 李谋多,乔翠霞,张军勇,等.乙肝病毒携带者中医证型与 HBV 基因型及 HBV DNA 载量的关系[J].江苏中医药,2012,12(5):82-83.