

鼻咽癌上皮性标志表达的 异质性及其组型研究

熊永炎¹ 宗永生¹ 张昌卿²

(1. 病理学教研室 2. 肿瘤医院中心实验室)

提 要 采用免疫组化方法,应用一组抗癌胚抗原(CEA)、上皮膜抗原(EMA)和不同分子量细胞角蛋白抗体,对123例不同组织学类型鼻咽癌上皮性标志的表达进行了研究。结果表明,鼻咽癌上皮性标志的表达既存在明显异质性,也存在一定规律性。鼻咽癌上皮性标志和细胞角蛋白的表达均可分别归纳为4种表达组型。这些表达组型与鼻咽癌组织学类型密切相关。一定的组织学类型总是显示一定相应的上皮性标志和细胞角蛋白的表达组型。在鼻咽癌的角化性鳞癌与腺癌、角化性鳞癌与非角化性癌、非角化性癌与鼻咽型未分化癌的鉴别中,抗细胞角蛋白单抗的应用是有实用价值的。

关键词 鼻咽肿瘤;免疫组化;上皮性标志;异质性

中图分类号 R739.63

鼻咽癌是鼻咽粘膜上皮发生的恶性肿瘤^[1],是我国(尤其是南方)常见的恶性肿瘤之一。作者采用免疫组化方法,应用一组抗癌胚抗原(CEA)、上皮膜抗原(EMA)和细胞角蛋白(CK)的抗体,从肿瘤上皮性标志方面,探讨鼻咽癌上皮性标志表达的异质性、规律性及其在不同类型鼻咽癌的鉴别中的应用价值,目的是为鼻咽癌的准确诊断和分类进一步提供理论依据。

材 料 和 方 法

从中山医科大学病理学教研室及肿瘤医院、孙逸仙纪念医院病理科1980~1992年档案中选出各型鼻咽癌共123例。蜡块连续切片,作HE和ABC免疫组化染色,所用抗体见表1。腺癌及疑有腺性分化者加做粘液组化染色。按WHO(1978)^[2]鼻咽癌组织学分类标准,123例中角化性鳞癌(KSCC)26例,非角化性癌(NKC)39例,鼻咽型未分化癌(UCNP)35例,腺癌(AC)16例和其他类型7例。阳性

细胞胞浆呈棕色。显微镜下观察10个高倍视野(10×40),计算阳性癌细胞占所见癌细胞的百分比,称为阳性细胞百分率。

结 果

3类上皮性标志表达阳性细胞

表2显示,123例鼻咽癌的CK(以DAKO-Ke和BJ-WSKe为代表)、EMA、CEA3类上皮性标志的表达,虽有4例BJ-WSKe呈阴性,但其中3例DAKO-Ke为阳性;尽管1例DAKO-Ke和BJ-WSKe均为阴性,但DAKO-CK₁却呈阳性。因此,本文123例鼻咽癌CK的阳性率为100%。DAKO-Ke和BJ-WSKe阳性细胞百分率为67%~100%者分别占87.6%(106/121)、70.6%(84/119)。EMA和CEA的阳性率分别是83.6%和82.9%,CEA阳性细胞百分率在67%~100%者分别仅为12.7%(13/102)、18.6%(19/102)。

各种表达组型

表3、4说明,鼻咽癌3类上皮性标志可出现8种表达组合形式,但可将其归纳为4种表达组型。I型:CK、EMA和CEA均表达,共92例。II型:不表达CEA,共13例。III

* 第一作者为国内访问学者,现在湖北医科大学病理学教研室工作

表1 本研究所用抗体

抗体名称	来源	特异性	工作浓度
DAKO—CEA	DAKOPATTS (A115)	CEA, NCA ₂ [▽] 和胆糖蛋白	1:200
DAKO—EMA	DAKOPATTS (M613)	262 907~3968 40u(265~400kd)EMA抗原	1:50
DAKO—Ke*	DAKOPATTS (A575)	角蛋白, 特别是55 558u(56kd)和63 494u(64kd)角蛋白	1:400
BJ—WSKe**	北京生物制品 研究所	39 684, 41 668, 44 645, 45 637, 47 621, 49 605, 5 573, 55 558, 57 542, 58 534和64 487u(40, 42, 45, 46, 48, 50, 54, 56, 58, 59和65kd)角蛋白	1:25
DAKO—CK ₁	DAKOPATTS (M717)	人体角蛋白中间丝, 包括44 645u(45kd, ck18)和55 558u(56kd, ck6)角蛋白	1:75
UCD/PR10.11 [△]	胡瑞德教授赠送	44 645u(45kd, ck18)和51 589u(52kd, ck8)角蛋白	1:400
BJ—HMKe [△]	北京生物制品 研究所	47 621, 49 605, 55 558, 57 542, 64 487和69 447u(48, 50, 56, 58, 65和70kd)角蛋白	1:25

*兔抗人角蛋白; **广谱抗角蛋白单克隆抗体; [△]美国加利福尼亚大学(Davis)医学院病理科生产;

[△]抗大分子角蛋白单克隆抗体; [▽]非特异性交叉抗原-2

表2 鼻咽癌中3类上皮性标志表达的阳性细胞百分率分析(例数)

	0%	1%~100%	1%~33%	34%~66%	67%~99%	100%	ND*	合计
1. DAKO—ke	1**	121(99.2%)	3	12	25	81	1	123
BJ—WSKe	4 [△]	119(96.7%)	7	28	25	59	0	123
2. DAKO—EMA	20	102(83.6%)	32	37	7	6	1	123
3. DAKO—CEA	21	102(82.9%)	39	44	13	6	0	123

*未做染色, **该例DAKO—CK₁和DAKO—EMA染色阳性; [△]1例DAKO—ke阳性, DAKO—EMA和UCD/PR10.11阳性; 1例DAKO—ke, DAKO—CEA和EMA阳性; 1例DAKO—CK₁和DAKO—EMA阳性; 1例仅DAKO—ke阳性

型: 不表达EMA, 共10例。Ⅳ型: CEA和EMA均不表达, 共8例。CK可出现10种表达组合形式, 但亦可将其归纳为4种表达组型。I型: 高、低分子量CK均表达, 61例。Ⅱ型: 不表达低分子量CK(至少是61 589u(52kd), 18例。Ⅲ型: 不表达高分子量CK(至少是)69 447u(70kd), 32例。Ⅳ型: 高、低分子量CK均不表达, 12例。

鼻咽癌上皮性标志表达组型和组织学分类的关系 结果见表5。123例鼻咽癌, I型92

例, 占74.8%, Ⅱ~Ⅳ型共31例, 仅占25.2%。不同类型鼻咽癌也均以I型多见。Ⅱ~Ⅳ型的31例中, 26例(83.9%)集中在NKC和UCNP两个亚型中, 尤其是UCNP, 51.4%病例(18/35)不表达CEA或/和EMA。表6显示123例鼻咽癌CK表达组型和组织学分类关系。I型61例, 占49.6%; 其它组型共62例, 占50.4%。KSCC大多数(19/26)表达I型, 少数(7/26)为Ⅱ型。所有病例全部表达高分子量CK。NKC多数(23/39)为I型, Ⅱ~Ⅳ型(不

表3 123例鼻咽癌上皮性标志的表达组型

	上皮性标志表达组型							
	I		II		III		IV	
DAKO—ke	+	+	+	+	-	+	+	+
BJ—WSke	+	-	+	-	-	+	+	-
DAKO—EMA	+	+	+	+	+	-	-	-
DAKO—CEA	+	+	-	-	-	+	-	-
病例数	91	1	11	1	1*	10	7	1

* 该例显示DAKO—CK₁ 阳性

表4 123例鼻咽癌细胞角蛋白的表达组型

	细胞角蛋白表达组型							
	I		II		III		IV	
DAKO—ke	+	+	+	+	+	+	+	-
BJ—WSke	+	+	+	+	+	-	+	-
DAKO—Ck ₁	+	-	+	+	-	-	+	-
UCD/PR10.11	+	+	-	+	+	+	-	-
BJ—HMke	+	+	+	-	-	-	-	-
病例数	60	1	18	23	8	1	7	2

表5 123例鼻咽癌上皮性标志表达组型和组织学分类的关系

组织学类型	上皮性标志表达组型				病例数
	I	II	III	IV	
KSCC	24	1	1	0	26
NKC	31	5	1	2	39
UCNP	17	6	6	6	35
WDAC ¹	4	0	0	0	4
PDAC ²	6	0	2	0	8
ACC ³	3	1	0	0	4
其它	7	0	0	0	7
病例数	92	13	10	8	123

1. 高分化腺癌; 2. 低分化腺癌; 3. 腺样囊性癌

表达高或/和低分子量CK) 16例, 尤其是III、IV两型(不表达高分子量CK)占11例。UCNP

表6 123例鼻咽癌细胞角蛋白表达组型和组织学分类的关系

组织学类型	细胞角蛋白表达组型				病例数
	I	II	III	IV	
KSCC	19	7	0	0	26
NKC	23	5	9	2	39
UCNP	8	6	11	10	35
WDAC	0	0	4	0	4
PDAC	2	0	6	0	8
ACC	3	0	1	0	4
其它	6	0	1	0	7
病例数	61	18	32	12	123

仅8例为I型, 大多数(27/35)不表达低或/和高分子量CK, 尤其是不表达高分子量CK(III、IV型)者达21例。16例腺癌(WDAC、PDAC、ACC)全部表达低分子量CK, 且多数(11/16)不表达高分子量CK, 与KSCC形成鲜明对照。

3种抗CK单克隆抗体在不同类型鼻咽癌的表达

3种抗CK单克隆抗体(DAKO—CK₁、BJ—HMKe和UCD/PR 10.11)在不同类型鼻咽癌的表达情况如下:

1. KSCC和AC KSCC的DAKO—CK₁阳性细胞百分率在34%以上者(22/26)明显多于AC(6/16) ($\chi^2 = 9.89, P < 0.005$), 就BJ—HMKe而言, 前者阳性细胞百分率在34%以上者(24/26), 明显多于后者(0/16; 1/16), KSCC的UCD/PR 10.11阳性细胞百分率在34%以上者(14/26)明显低于AC(14/15), $\chi^2 = 0.850, P < 0.01$ 。

2. KSCC和NKC KSCC的BJ—HMKe阳性细胞百分率在34%以上者(24/26)高于NKC(11/39), 二者差异均具有高度显著性 ($\chi^2 = 25.79, P < 0.005$)。但二者在UCD/PR 10.11的阳性细胞百分率无显著差异。

3. NK和UCNP NK的BJ—HMKe阳性细胞百分率在34%以上者占28.2%(11/39), 而UCNP占11.4%(4/35)。二者差异

具显著性 ($\chi^2 = 3.21, P < 0.1$), 就 UCD/PR 10.11 而言, NKC 阳性细胞百分率在 34% 以上者 (23/39) 则明显多于 UCNP (10/35; $\chi^2 = 6.9, P < 0.01$).

讨 论

鼻咽癌上皮性标志表达的异质性

123 例鼻咽癌上皮性标志的表达存在明显异质性。表现为不同类型或相同类型肿瘤、不同病例或同一病例不同肿瘤区域, 癌细胞阳性细胞百分率均存在差异。3 类上皮性标志可出现 8 种不同表达组合形式, 5 种 CK 可显示 10 种不同表达组合形式。

组织来源不同的鼻咽癌, 其上皮性标志的表达自然存在差异。多数鼻咽癌起源于柱状上皮^[3]。从细胞角蛋白表达来说, 鼻咽假复层柱状上皮属于“复合型上皮”, 理应表达更为复杂的细胞角蛋白组型^[4,5]。再者, 上皮性标志本身就是一种有关分化的基因调控产物。不同类型或同一类型不同病例, 由于“失分化”程度不同, 其基因调控产物的表达当然存在差异。多数肿瘤在演进中因细胞遗传不稳定性而失去单克隆性, 并逐渐产生不同恶性行为的瘤细胞亚群, 演变为异质性肿瘤^[6-8]。近有文献报告, 癌细胞分泌产生的细胞因子 (如生长因子) 直接或间接作用于其旁癌细胞, 改变靶细胞的基因调控, 从而产生新的不同基因产物, 使同一癌巢内癌细胞表达不同的上皮性标志^[9]。

鼻咽癌上皮性标志表达的规律性

鼻咽癌上皮性标志的表达是有规律可循的。根据 CEA 或/和 EMA 表达与否, 可将 3 类上皮性标志的 8 种不同组合形式归纳为 4 种表达组型。同样, 根据低或/和高分子量 CK 表达与否, 可将 5 种 CK 的 10 种不同组合形式归纳为 4 种表达组型。不同组织学类型鼻咽癌常具有一定相应上皮性标志和 CK 的表达组型。众所周知, 正常上皮细胞中的 CK 可分为 3 类。低分子量 CK 主要见于单层上皮, 中等分子量 CK 一般见于复层上皮, 高分子量 CK

主要见于角化鳞状上皮^[5]。鼻咽癌癌细胞虽然已“失分化”, 但仍不同程度保持向正常上皮细胞分化的趋向。这种分化趋向就是规律性的基础, 使得鼻咽癌上皮性标志和 CK 的表达呈现一定规律。再者, 虽然肿瘤上皮性标志和 CK 的表达多种多样, 但表达的差异总可以集中到某些重要分化环节, 也使其表达显现一定规律性。例如本文 3 类上皮性标志 (CK、CEA 和 EMA) 中的 CEA 或/和 EMA 表达与否、5 种 CK 中的低或/和高分子量 CK 表达与否, 均为重要的分化环节。当然, 这些分化环节是由相应基因调控。文献报告, ras 基因可抑制 CK₁ 和 CK₁₀ 表达而促进 CK₆ 和 CK₁₈ 的表达^[10,11]。因此, 进一步研究 CK 分化环节上各种基因调控作用是探讨异质性中的规律性的关键所在。

抗 CK 单抗在鉴别鼻咽癌组织学类型中的作用

本文使用的 3 种抗 CK 单抗 (DAKO-CK₁、BJ-HMKe 和 UCD/PR 10.11) 在鼻咽癌的几种主要类型鉴别上具有重要作用。在 KSCC 与 AC 的鉴别中, 前者 DAKO-CK₁ 和 BJ-HMKe 阳性细胞百分率明显高于后者, 而 UCD/PR 10.11 阳性细胞百分率则明显不及后者。KSCC 和 NKC 比较, 前者 BJ-HMKe 阳性细胞百分率显著高于后者; 但二者在 UCD/PR 10.11 的表达上则无显著差异。显然, 高分子量 CK 在 KSCC 中广泛表达, 在 NKC 中也一定程度显现。此观察结果与文献报告是有一定差异的^[12,13]。NKC 和 UCNP 比较, 前者在 BJ-HMKe 阳性细胞百分率、UCD/PR 10.11 阳性细胞百分率等均与后者存在很大差异。因此, 抗 CK 单抗在鼻咽癌组织学类型的鉴别中是有实用价值的。

(感谢肿瘤医院、孙逸仙纪念医院病理科及胡瑞德副教授、冯凯涛技师给予本课题的支持)

参 考 文 献

1. Report. Symposium on nasopharyngeal car-

- cinoma (Guangzhou, China 7-10 December 1981) WHO Regional Office for the Western Pacific, Manila, Philippines. March 1982;9~10
2. Shamugaratnam KS. Histological typing of upper respiratory tumors. International histological typing of tumors. Vol. 19. Geneva: WHO, 1978;32~33
 3. Zong YS. Histopathology of nasopharyngeal carcinoma. In: Zeng Y, Ou BX. Etiology and pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma. Beijing: The People's Medical Publishing House, 1985;139~150
 4. Moll R, Franks WW, Schiller DL, et al. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cell. Cell 1982;31:11
 5. Cooper D, Schermer A, Sun TT. Classification of human epithelia and their neoplasms using monoclonal antibodies to keratins: Strategies, applications, and limitations. Lab Invest 1985;52:243
 6. Henson DE. Heterogeneity in tumors. Arch Pathol Lab Med 1982;106:597
 7. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. Science 1976;194:23
 8. Pathak S. Cytogenetic abnormalities in cancer: With special emphasis on tumor heterogeneity. Cancer Metastasis [Rev 1990;8:299
 9. Brunda M, Viveca S, Rosemary B, et al. Tumoricidal activity and cytokine secretion by tumor-infiltrating macrophages. Int J Cancer 1991;48:704
 10. Cheng C, Kilkenny AE, Roop D; et al. The N-ras oncogene inhibits the expression of differentiation markers and facilitates expression of cytokeratins 8 and 18 in mouse keratinocytes. Mol Carci 1990;3:363
 11. Diaz-Guerra M, Haddow S, Eauluz C, et al. Expression of simple epithelial cytokeratins in mouse epidermal keratinocytes harboring Harvey ras gene alterations. Cancer Res 1992;52:680
 12. Shi SR, Goodman ML, Bhan AK, et al. Immunochemical study of nasopharyngeal carcinoma using monoclonal keratin antibodies. Am J Pathol 1984;117:53
 13. Kamino H, Huang SJ, Fu YS. Keratin and involucrin immunohistochemistry of nasopharyngeal carcinoma. Cancer 1988; 61:1142
- (1992-08-08收稿 1993-04-02修回)

· 简 讯 ·

1992年我校《学报》有6篇论著作品荣获省级优秀奖

由省委宣传部、省新闻出版局、省科学技术委员会、省出版工作者协会、省期刊出版协会联合举办，省新闻出版局负责组织实施的广东省期刊1992年优秀作品评选揭晓，于1993年7月23日在广州召开隆重的颁奖大会。我校《学报》1992年论著有6篇作品荣获优秀奖，其中二等奖3篇，三等奖3篇。

二 等 奖

1. 鼻咽癌(NPC)早期发现中的 Epstein-Barr 病毒脱氧核糖核酸酶抗体血清学研究(论著)。1992;13(2):25. 作者: 黄迪、陈海峰、方思明、马建山、成吕玲、陈丽珍、李经略、范顺发。责任编辑: 张敏瑞。
2. 遗传性红细胞G6PD缺乏症(成果综述)。1992; 13(2):1. 作者: 杜传书。责任编辑: 张敏瑞。
3. 角膜移植及屈光手术的研究(成果综述)。1992; 13(3):1. 作者: 陈家祺、刘祖国。责任编辑: 关淡庄。

三 等 奖

1. I型登革病毒对人骨髓造血细胞抑制机制的初步探讨(论著)。1992; 13(4):60. 作者: 林东军、梁锦华、刘元生、林桂生。责任编辑: 张敏瑞。
 2. 电泳印迹和分子杂交技术在肝内 HBV DNA 研究中的应用(论著)。1993; 13(1):62. 作者: 吕凌、姚集鲁、彭文伟。责任编辑: 关淡庄。
 3. 肾上腺髓质瘤无性繁殖细胞膜上的异常整流钾通道(论著)。1993; 13(1):13. 作者: 叶江鸿、陈助华、陈培燕。责任编辑: 关淡庄。
- (学 讯)

STUDY ON THE HETEROGENEITY AND PATTERNS OF EPITHELIAL MARKER EXPRESSION IN NASOPHARYNGEAL CARCINOMA (NPC)

Xiong Yongyan Zong Yongsheng Zhang Changqing

(Department of Pathology)

The epithelial marker expression of 123 NPC cases was studied immunohistochemically using a panel of antibodies against CEA, EMA and a variety of different molecular weight cytokeratins. The results indicated that there were obvious heterogeneity and regularity in epithelial marker expression of NPC. Numerous expression combinations could be detected in these 123 cases, but, however, they could be attributed to 4 patterns of epithelial marker expression and of cytokeratin expression, respectively. The expression patterns were closely correlated with the histological types of NPC. A given histological type always showed certain equivalent cytokeratin expression pattern(s). The application of monoclonal anticytokeratin antibodies has practical significance in assistance to differentiating the histological types of NPC, namely, keratinizing squamous cell carcinoma (KSCC) vs. adenocarcinoma (AC), KSCC vs. nonkeratinizing carcinoma (NKC), and NKC vs. undifferentiated carcinoma of nasopharyngeal type (UCNP).

Key words nasopharyngeal neoplasm; immunohistochemistry; epithelial marker; heterogeneity

· 书 讯 ·

《新英汉医学缩略语词典》

征 订 启 事

本书编者根据多年来的实践经验,参考最新出版的医药专著、文献和期刊,反复筛选,编写成本词典。本词典共收集医学缩略语30 000余条,包括缩略语、后附英文全文及汉语释文,可供广大医药科技工作者、医务人员及高校师生查阅文献,翻译书刊,收集资料及撰写论文时参考。全书78万字,32开精装本,976页,由张季平、沈文宝、关勋添主编,广东高等教育出版社出版、发行,现已出版,定价17.60元,另加包装、邮寄费共20.25元。购书请汇款至广州市中山二路74号中山医科大学《家庭医生》服务公司,邮编510089。