

探讨CK7 CK20和TTF-1在判断转移性腺癌原发病灶中的应用价值

李波 何欣 罗宏涛 杨荣

摘要 目的:了解CK7、CK20及TTF-1在腺癌中的表达情况,探讨联合应用这三种标志物对判断转移性腺癌原发部位的价值。**方法:**采用组织芯片和免疫组织化学的方法,检测CK7、CK20与TTF-1在229例腺癌及10例食管鳞癌组织中的表达。**结果:**3种抗体在不同组织来源肿瘤中的表达可以组合成8种模式:CK7+/CK20-/TTF-1+:甲状腺乳头状癌阳性率较高(50%);CK7+/CK20-/TTF-1-:涎腺腺癌(94.44%)、乳腺小叶癌(85.71%)、卵巢浆液性癌(71.43%)、胆囊腺癌(63.64%)、宫颈腺癌(61.54%),阳性率较高;CK7+/CK20+/TTF-1+:阳性率均不高;CK7+/CK20+/TTF-1-:阳性率均不高;CK7-/CK20-/TTF-1+:阳性率均不高;CK7-/CK20-/TTF-1-:前列腺癌(100%)、食管鳞癌(100%)、肾透明细胞癌(90.90%),阳性率较高;CK7-/CK20+/TTF-1+:阳性率均不高;CK7-/CK20+/TTF-1-:肠腺癌(66.67%)阳性率较高;**结论:**联合检测CK7、CK20及TTF-1抗体有助于判断部分转移性腺癌的器官来源,缩小原发肿瘤的搜寻范围。

关键词 CK7 CK20 TTF-1 转移性腺癌 原发部位 组织芯片

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.10.015

Value of Combined Detection of CK7, CK20, and TTF-1 Expression in Evaluating the Origin of Metastatic Carcinoma

Bo LI, Xin HE, Hongtao LUO, Rong YANG

Correspondence to: Bo LI; E-mail: libo721220@126.com

¹Department of Pathology, Medical Science Institute of Gansu Province, Lanzhou 730050, China

Abstract Objectives: To investigate the expression of CK7, CK20, and TTF-1 in adenocarcinoma, and summarize a valuable regular pattern to determine their organic source. **Methods:** A total of 229 cases of adenocarcinoma tumor tissues and 10 cases of esophageal squamous cell carcinoma were studied by the tissue array technology and immunohistochemistry for CK7, CK20, and TTF-1. **Results:** Eight types of combined patterns of CK7, CK20, and TTF-1 in different cancers were observed: CK7+ / CK20- / TTF-1+: papillary thyroid carcinoma (50 %); CK7+ / CK20- / TTF-1-: salivary gland adenocarcinoma (94.44 %), lobular carcinoma (85.71 %), ovarian serous carcinoma (71.43 %), gallbladder adenocarcinoma (63.64 %), and cervical adenocarcinoma (61.54 %), high positive rates; CK7+ / CK20+ / TTF-1+: none had a high positive rate; CK7+ / CK20+ / TTF-1-: none had a high positive rate; CK7- / CK20- / TTF-1+: none had a positive rate; CK7- / CK20- / TTF-1-: prostate cancer (100 %), esophageal squamous cell carcinoma (100 %), and renal cell carcinoma (90.90 %), high positive rates; CK7+ / CK20+ / TTF-1+ : none had a positive rate; and CK7- / CK20+ / TTF-1-: intestinal adenocarcinoma (66.67 %), high positive rate. **Conclusion:** The combined detection of CK7, CK20, and TTF-1 expression helps determine the origins of some metastatic adenocarcinomas, minimize the range of such origins, and establish the groundwork for the origin evaluation of adenocarcinomas.

Keywords CK7; CK20; TTF-1; Metastatic carcinoma; Primary site; Tissue array

原发部位的确定,对肿瘤的治疗及判断预后有重要意义。有的抗原具有一定程度的器官特异性,如绒毛蛋白(villin)的表达主要在结肠腺癌。但是,单一抗体检测很难确定众多转移肿瘤的原发灶,联合应用抗体能缩小原发肿瘤的搜寻范围^[1-7]。本研究采用免疫组织化学的方法检测了1组肿瘤病例,以观察细胞角蛋白7(cytokeratin 7, CK7)、细胞角蛋白20(cytokeratin 20, CK20)和甲状腺转录因子-1(thyroid tyanscription factor-1, TTF-1)联合应用在肿瘤中的表达情况,探讨判断原发肿瘤的意义。

1 材料与方法

1.1 标本来源

标本均来自本院2006年1月至2010年12月病理确诊的肿瘤组织蜡块,共239例,其中肺腺癌36例、甲状腺腺癌34例、乳腺腺癌28例、胃腺癌15例、卵巢浆液性腺癌14例、宫颈腺癌13例、胆囊腺癌11例、子宫内膜腺癌12例、前列腺腺癌10例、肠腺癌15例、涎腺腺癌18例、肾腺癌23例与食管鳞状细胞癌10例。符合伦理委员会认可。

作者单位:甘肃省肿瘤医院病理科(兰州市730050)

通信作者:李波 libo721220@126.com

1.2 方法

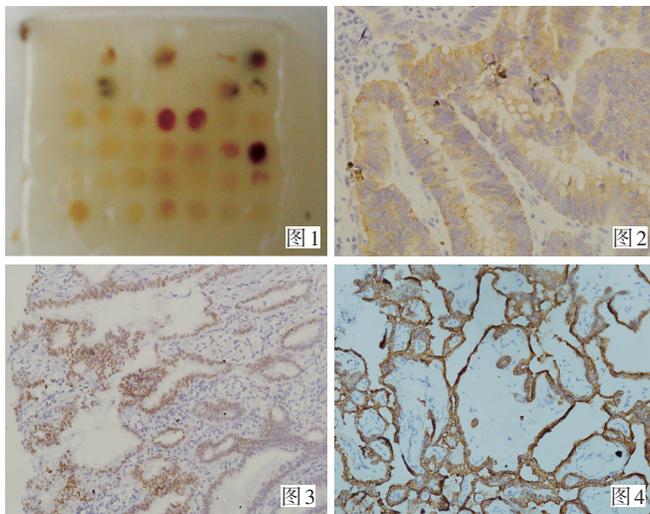
1.2.1 组织固定 所有标本经4%甲醛固定,石蜡包埋切片,HE染色,用于组织芯片制作定位。

1.2.2 芯片制作 将收集到的239例癌组织,每例取1个组织芯,制作7个组织芯片,每个组织芯片含有39例癌组织及CK20、CK7、TTF-1免疫组织化学染色阳性的组织蜡芯。

1.2.3 免疫组织化学染色 采用免疫组织化学染色Elivision™ plus法,将备好的组织芯片(图1)石蜡切片进行CK20、CK7、TTF-1免疫组织化学染色,以甲状腺乳头状癌及结肠腺癌阳性组织芯作阳性对照,食管鳞状细胞癌作阴性对照,pH6.0的柠檬酸缓冲液高压修复。试剂均购自北京中杉金桥公司。

1.3 结果判定

染色结果判定采用半定量法,通过判定染色强度及细胞的阳性率来评分。染色强度评分:无染色0分,浅黄色1分,棕黄色2分,棕褐色3分。细胞阳性率计算用高倍($\times 400$)视野,将阳性细胞数除以癌细胞数,换算成百分数。细胞阳性率分为0、25%、25%~50%、 $>50\%$,分别评为0、1、2、3分。最后取其总和,染色结果分成0~2分阴性(-)、3~4分阳性(+)和5~6分强阳性(++)3个等级。在计算蛋白表达阳性率时将阳性和强阳性都作为阳性组。其中CK20及CK7染色定位在胞浆(图2、4)、TTF-1染色定位在细胞核(图3)。



►图1 组织芯片

Figure 1 Tissue chip

图2 肠腺癌CK20胞浆阳性(IHC $\times 400$)

Figure 2 CK20 expression in the cytoplasm and membrane of intestinal adenocarcinoma cells (IHC $\times 400$)

图3 肺腺癌TTF-1核阳性(IHC $\times 200$)

Figure 3 Expression of TTF-1 in the nuclear of lung adenocarcinoma cells (IHC $\times 200$)

图4 甲状腺腺癌CK7胞浆阳性(IHC $\times 200$)

Figure 4 CK7 expression in the cytoplasm and membrane of thyroid adenocarcinoma cells (IHC $\times 200$)

2 结果

2.1 组合模式

3种抗体在不同器官来源的腺癌中的联合表达特点共存在8种组合模式:CK7+/CK20-/TTF-1+;CK7+/CK20-/TTF-1-;CK7+/CK20+/TTF-1+;CK7+/CK20+/

TTF-1-;CK7-/CK20-/TTF-1+;CK7-/CK20-/TTF-1-;CK7-/CK20+/TTF-1+;CK7-/CK20+/TTF-1-(表1)。

2.2 各组合模式中常见及不常见肿瘤见表2。

表1 CK7、CK20与TTF-1在不同器官来源的腺癌中的联合表达模式 例(%)

Table 1 Combined patterns of CK7, CK20 and TTF-1 in different metastatic adenocarcinomas

| 腺癌类型 | 例数 | CK7+CK20- | | CK7+CK20+ | | CK7-CK20- | | CK7-CK20+ | |
|---------|----|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|--------|
| | | TTF-1+ | TTF-1- | TTF-1+ | TTF-1- | TTF-1+ | TTF-1- | TTF-1+ | TTF-1- |
| 肺腺癌 | 36 | 10(27.78) | 5(13.89) | 12(33.33) | 6(16.67) | 2(5.56) | 0 | 1(2.78) | 0 |
| 胃腺癌 | 15 | 0 | 6(40.00) | 0 | 2(13.33) | 0 | 7(46.67) | 0 | 0 |
| 甲状腺乳头状癌 | 24 | 12(50.00) | 6(25.00) | 4(16.67) | 2(8.33) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 甲状腺滤泡癌 | 10 | 4(40.00) | 2(20.00) | 2(20.00) | 2(20.00) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 乳腺导管癌 | 14 | 0 | 6(42.86) | 0 | 4(28.57) | 0 | 4(28.57) | 0 | 0 |
| 乳腺小叶癌 | 14 | 0 | 12(85.71) | 0 | 0 | 0 | 2(14.29) | 0 | 0 |
| 卵巢浆液性腺癌 | 14 | 0 | 10(71.43) | 0 | 2(14.29) | 0 | 2(14.29) | 0 | 0 |

(续表1)

| 腺癌类型 | 例数 | CK7+CK20- | | CK7+CK20+ | | CK7-CK20- | | CK7-CK20+ | |
|---------|----|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|------------|-----------|-----------|
| | | TTF-1+ | TTF-1- | TTF-1+ | TTF-1- | TTF-1+ | TTF-1- | TTF-1+ | TTF-1- |
| 宫颈腺癌 | 13 | 0 | 8(61.54) | 0 | 2(15.38) | 0 | 3(23.08) | 0 | 0 |
| 胆囊腺癌 | 11 | 0 | 7(63.64) | 0 | 4(36.36) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 子宫内膜腺癌 | 12 | 0 | 3(25.00) | 0 | 0 | 0 | 6(50.00) | 0 | 3(25.00) |
| 前列腺癌 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10(100.00) | 0 | 0 |
| 肠腺癌 | 15 | 0 | 1(6.67) | 0 | 1(6.67) | 0 | 3(20.00) | 0 | 10(66.67) |
| 食管鳞状细胞癌 | 10 | 0 | 1(10.00) | 0 | 0 | 0 | 9(90.00) | 0 | 0 |
| 肾透明细胞癌 | 11 | 0 | 1(9.09) | 0 | 0 | 0 | 10(90.91) | 0 | 0 |
| 乳头状肾细胞癌 | 12 | 3(25.00) | 0 | 2(16.67) | 0 | 0 | 4(33.33) | 0 | 3(25.00) |
| 涎腺腺癌 | 18 | 0 | 17(94.44) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1(5.56) |

表2 各种组合模式中常见及不常见肿瘤

Table 2 Common and uncommon tumors in differently combined patterns

| 组合模式 | 常见肿瘤 | 少见肿瘤 |
|------------------|---|---|
| CK7+ CK20-TTF-1+ | 甲状腺乳头状癌,甲状腺滤泡癌,肺腺癌,乳头状肾细胞癌。 | 胃腺癌,乳腺导管癌,乳腺小叶癌,卵巢浆液性囊腺癌,宫颈腺癌,胆囊腺癌,子宫内膜腺癌,前列腺腺癌,肠腺癌,食管鳞状细胞癌,肾透明细胞癌,涎腺腺癌。 |
| CK7+ CK20-TTF-1- | 涎腺腺癌,乳腺小叶癌,卵巢浆液性囊腺癌,胆囊腺癌,宫颈腺癌,乳腺导管癌,胃腺癌,甲状腺乳头状癌,子宫内膜腺癌,甲状腺滤泡癌,肠腺癌,食管鳞状细胞癌,肾透明细胞癌,肠腺癌。 | 前列腺癌,乳头状肾细胞癌。 |
| CK7+CK20+TTF-1+ | 肺腺癌,甲状腺滤泡癌,甲状腺乳头状癌,乳头状肾细胞癌。 | 食管鳞状细胞癌,肾透明细胞癌,涎腺腺癌,胃腺癌,乳腺导管癌,乳腺小叶癌,卵巢浆液性囊腺癌,卵巢浆液性囊腺癌,胆囊腺癌,子宫内膜癌,前列腺癌,肠腺癌。 |
| CK7+CK20+TTF-1- | 胆囊腺癌,乳腺导管癌,甲状腺滤泡癌,胃腺癌,宫颈腺癌,卵巢浆液性囊腺癌,胃腺癌,甲状腺乳头状癌,肠腺癌。 | 乳腺小叶癌,子宫内膜腺癌,前列腺腺癌,食管鳞状细胞癌,肾透明细胞癌,乳头状肾细胞癌,涎腺腺癌。 |
| CK7- CK20-TTF-1+ | 肺腺癌 | 胃腺癌,甲状腺乳头状癌,甲状腺滤泡癌,乳腺导管癌,乳腺小叶癌,卵巢浆液性囊腺癌,宫颈腺癌,胆囊腺癌,子宫内膜癌,前列腺癌,肠腺癌,食管鳞状细胞癌,肾透明细胞癌,乳头状肾细胞癌,涎腺腺癌。 |
| CK7- CK20-TTF-1- | 食管鳞状细胞癌,前列腺腺癌,肾透明细胞癌,子宫内膜腺癌,胃腺癌,乳腺导管癌,宫颈腺癌,肠腺癌,乳腺小叶癌,卵巢浆液性囊腺癌,乳头状肾细胞癌。 | 肺腺癌,甲状腺乳头状癌,甲状腺滤泡癌,胆囊腺癌,涎腺腺癌。 |
| CK7-CK20+TTF-1+ | 肺腺癌 | 胃腺癌,甲状腺乳头状癌,甲状腺滤泡癌,乳腺导管癌,乳腺小叶癌,卵巢浆液性囊腺癌,宫颈腺癌,胆囊腺癌,子宫内膜癌,前列腺癌,肠腺癌,食管鳞状细胞癌,肾透明细胞癌,乳头状肾细胞癌,涎腺腺癌。 |
| CK7- CK20+TTF-1- | 子宫内膜腺癌,乳头状肾细胞癌,肠腺癌,涎腺腺癌。 | 肺腺癌,胃腺癌,甲状腺乳头状癌,甲状腺滤泡癌,乳腺导管癌,乳腺小叶癌,卵巢浆液性囊腺癌,宫颈腺癌,胆囊腺癌,前列腺腺癌,肾透明细胞癌,食管鳞状细胞癌。 |

3 讨论

原发病灶不明的转移癌占转移癌的2.6%~9%^[8]。据报道在转移性癌中,腺癌占45.2%~50.8%^[9],原发病灶的检出对提高患者的生存率和生存质量有帮助,有助于临床医生制定最为合理的治疗策略,既能将原发部位作为治疗靶区,又能避免对非原发部位进行不必要的治疗,减少治疗的并发症,提高生存率。

因此转移性肿瘤原发部位的确定,对肿瘤的临床分期、进一步治疗及预后判断有重要意义。由于转移性腺癌来源较广泛,在实际临床病理诊断工作中,部分转移性腺癌通过观察HE染色切片能确定其组织来源,但有些转移性腺癌其组织形态和原发病灶有较大差异,尤其是分化差、原发病灶不明显时,仅凭HE切片观察很难对全部转移性腺癌的来源做出明确

诊断。据报道应用免疫组织化学方法能明确5%~70%的原发病灶不明的患者的肿瘤起源^[10]。

目前国内外学者在肿瘤研究中常常联合检测多种标记物。国内学者柳玮华等^[11]联合检测了CK7、CK20和villin在肿瘤细胞中的表达情况,认为CK7、CK20和villin联合表达模式有助于判断部分腺癌的器官来源,缩小转移癌原发病灶的搜寻范围。美国学者Miller在联合应用抗体寻找原发肿瘤方面做了更多工作。研究显示CK7和CK20在原发癌与转移癌中具有高保真性^[12]。CK20在细胞发生化生、恶变、肿瘤转移、体外培养等改变时,这种表达持续存在^[13];TTF-1在原发及转移性肿瘤中的表达具有高度一致性。故本文采用CK7、CK20和TTF-1三种抗体联合应用,对大量病例进行了观察,证实了这种方法确实能够进一步缩小原发腺癌的搜寻范围,提高搜寻效率,具有很强的实用性。通过观察这三种抗体联合在不同器官来源的腺癌组织中的8种表达模式,可以将这些腺癌划分到相应的模式中。

通过这些模式的划分,可以确定哪些肿瘤可能存在于哪些范围中,哪些肿瘤可以排除,如CK7⁺CK20⁺TTF⁺,常见于甲状腺乳头状癌、甲状腺滤泡癌、肺腺癌和乳头状肾细胞癌,并且可以根据其阳性率来考虑发生的可能性,而不必考虑胃腺癌、乳腺导管癌、乳腺小叶癌、卵巢浆液性囊腺癌、宫颈腺癌、胆囊腺癌、子宫内膜腺癌、前列腺癌、肠腺癌、食管鳞状细胞癌、肾透明细胞癌、涎腺腺癌。这样明显缩小了原发肿瘤的搜寻范围,然后再根据具体情况,采用其他相对应的抗体进一步排除,如甲状腺用甲状腺球蛋白(Tg);胃肠道用绒毛蛋白(villin);乳腺癌用大囊肿性液体蛋白-15(GCDFP-15),前列腺癌用前列腺特异蛋白(PSA)等,为最终确定肿瘤的器官来源提供有价值的信息。

CK7、CK20及TTF-1联合应用寻找转移性癌原发病灶,若遇到低分化癌,形态学上难以确定是鳞癌还是腺癌时,应先采用免疫组织化学将鳞癌排除,再行CK7、CK20及TTF-1标记。本研究选用10例食管鳞状细胞癌,目的是进行对照。实验中有1例食管鳞癌出现CK7阳性,但不具有参考价值。

CK7、CK20、TTF-1联合应用寻找原发癌在国内尚未见报道,本研究采用了239例肿瘤标本进行研究和分析,具备了一定的规模,但是还需要大量来自不同系统的标本和相应的免疫组织化学数据来充实。

参考文献

1 Su YC, Hsu YC, Chai CY. Role of TTF-1, CK20, and CK7 immunohistochemistry for diagnosis of primary and secondary lung adenocarcinoma[J]. Kaohsiung JM Sci, 2006, 22(1): 14-19.

- 2 Vang R, Gown AM, Wu IS, et al. Immunohistochemical expression of CDX2 in primary ovarian Mucinous tumors and metastatic mucinous carcinomas involving the ovary: comparison with CK20 and correlation With coordinate expnsmion of CK7[J]. Mod Pathol, 2006, 19(11): 1421-1428.
- 3 Park SY, Kim HS, Hong EK, et al. Expression of cytokeratins 7 and 20 in primary eareitmmas of the stomach and col recmm and their value in the differential diagnosis of metastatic carcinomas to the ovary [J]. Hum Pathol, 2002, 33(11): 1078-1085.
- 4 Rubin BP, Skarin AT, Pisick E, et al. Use of eytokeratins7 and 20 in determini g the origin of metastatic carcinoma of unknown primary, with special emphasis onlung cancer[J]. Eur J Cancer Prey, 2001, 10(1): 77-82.
- 5 Tot. T Patterns of distribution of cytokeratins20 and 7 in special types of invasive breast carcinoma:a study of 123 cases[J]. Ann Diagn Pathol, 1999, 3(6): 350-356.
- 6 Cathro HP, Stoler MH. Expression of eytokeratins 7 and 20 in ovarian neoplasia[J]. Am J Clin Pathol, 2002, 117(6): 944-951.
- 7 Mhaweck P, Uchida T, Pelte MF. Immunohistochemical profile of high-grade umthelial bladder carcinoma and prostate adenocarcinoma [J]. Hum Pathol, 2002, 33(11): 1136-1140.
- 8 Kaji AV, Mohuchy T, Swartz JD. Imaging of cervical lymphadenopathy [J]. Semin Ultrasound CT MR, 1997, 18(3):220-249.
- 9 赵源庆,赵书佑.颈部淋巴结转移癌的诊断和治疗研究进展[J].山东大学耳鼻喉眼学报,2006,20(5):456-461.
- 10 Matthews P, Ellis IO. Use of immunocytochemistry in the diagnosis of metastatic carcinoma[J]. Ann Med 1996, 28(4): 297-300.
- 11 柳玮华,周小鸽,张彦宁.探讨 CK7、CK20 和 villin 在判断转移癌原发部位中的应用价值[J].诊断病理学杂志,2008,15(4):275.
- 12 Tot T. Cytokeratins 20 and 7 as biomarkers: usefulness in discriminating primary from metastatic adenocarcinoma[J]. Eur J Cancer, 2002, 38: 758-763.
- 13 Moll R, Schiler DL, Franke WW, et al. Identification of Protein IT of the Intestinal Cytoskeleton as a Novel Type I Cytokeratin with Unusual Properties and Expression Patterns[J]. J Cell, 1990, 111(2): 567-580.

(2011-11-03 收稿)

(2012-02-08 修回)

(本文编辑:杨红欣)