

本文引用:邹柯涵,徐敏,罗书笛,邹国英,任碧琼.CK、Ki67、Gly-3及P53在肝细胞癌组织中的表达[J].湖南中医药大学学报,2017,37(3):326-328.

## CK、Ki67、Gly-3及P53在肝细胞癌组织中的表达

邹柯涵<sup>1</sup>,徐敏<sup>2</sup>,罗书笛<sup>2</sup>,邹国英<sup>2</sup>,任碧琼<sup>2</sup>

(1.湖南省妇幼保健院病理科,湖南长沙410008;2.湖南省第二人民医院病理科、检验科,湖南长沙410007)

**〔摘要〕**目的 探讨细胞角蛋白(CK)、核抗原(Ki67)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(Gly-3)及抑癌基因P53在肝细胞癌(HCC)组织中的表达。方法 收集16例肝细胞肝癌患者癌组织及癌旁组织,采用免疫组化染色技术,分别检测CK、Ki67、Gly-3及P53,分析其表达情况。结果 免疫组化检测16例HCC癌组织中CK7、CK8/18、CK19的阳性率分别为50%(8/16)、93.8%(15/16)以及62.5%(10/16),Ki67的阳性率为75%(12/16),Gly-3阳性率为87.5%(14/16),P53的阳性率为50%(8/16)。结论 HCC患者癌组织中CK、Ki67、Gly-3及P53的表达有不同程度的上调,其中以CK8/18阳性率最高,Gly-3及Ki67次之,P53及CK7相对较低。

**〔关键词〕**肝细胞癌;免疫组化;细胞角蛋白;Ki67;Gly-3;P53

**〔中图分类号〕**R735.7

**〔文献标识码〕**A

**〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.03.025

### Expression of CK, Ki67, Gly-3 and P53 in Hepatocellular Carcinoma Tissues

ZOU Kehan<sup>1</sup>, XU Min<sup>2</sup>, LUO Shudi<sup>2</sup>, ZOU Guoying<sup>2</sup>, REN Biqiong<sup>2</sup>

(1. Department of Pathology, Maternal and Child Health Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan 410008, China; 2. Department of Pathology and Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan 410007, China)

**〔Abstract〕 Objective** To investigate the expression of cytokeratin (CK), nuclear antigen (Ki67), Gly-3 and P53 in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** CK, Ki67, Gly-3 and P53 were detected by immunohistochemical staining technique in 16 patients with hepatocellular carcinoma (HCC) respectively. **Results** The positive rates of cytokeratin 7, cytokeratin 8/18 and cytokeratin 19 in HCC tissues were 50% (8/16), 93.8% (15/16) and 62.5% (10/16), respectively. The positive rate of Ki67, Gly-3 and P53 were 75% (12/16), 87.5% (14/16), and 50% (8/16), respectively. **Conclusion** The expression of CK, Ki67, Gly-3 and P53 were up-regulated in HCC patients, with the highest positive rate of CK8 / 18, followed by Gly-3 and Ki67. The expression of P53 and CK7 were relatively low in HCC patients.

**〔Keywords〕** hepatocellular carcinoma; immunohistochemistry; CK; Ki67; Gly-3; P53

我国原发性肝癌患者数量占全球54%,好发于男性,高发年龄为30~50岁<sup>[1-2]</sup>,每年死于肝癌的人数达37万。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌中最常见的一种,占原发性肝癌的90%以上。与肝内胆管细胞癌(HICC)和肝细胞癌-肝内胆管细胞癌混合型等其它病理类型的原发性肝癌相比,HCC的发病机制、生物学行为、组织形态、临床表现、治疗方法以及预后等方面均有其明显的特点,因此,了解HCC组织中表达的肿瘤相关蛋白及分子的表达有利于HCC的诊断及治疗。

随着免疫组织化学染色技术的应用和不断发展,越来越多的肿瘤相关分子的检测可以在临床开展<sup>[3-4]</sup>,近期推出的一系列肿瘤相关蛋白特异性免疫组织染色为肝癌等恶性疾病的诊断提供新的方向。本文初步报道肝癌患者癌组织中的细胞角蛋白7、

8/18、19、Ki67、Gly-3以及P53突变基因的表达,为各种指标的进一步应用提供实验依据。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

收集湖南省第二人民医院病理科2015年1月至2016年12月的外科手术切除的HCC患者癌组织标本16例及癌旁组织16例。病人资料见表1。

#### 1.2 方法

组织首先用10%的甲醛固定,然后切取肿瘤组织按脱水、透明、浸蜡、包埋程序处理,4 μm连续切片,首先进行苏木素-伊红(HE)染色,肝癌诊断由病理专业两位副主任医师复诊,按Edmondson-Steiner法确定肝癌分化程度。

#### 1.3 免疫组化检测

**〔收稿日期〕**2016-12-09

**〔作者简介〕**邹柯涵,女,病理医师,E-mail:727266645@qq.com。

表 1 HCC 患者基本信息及病理资料

样本	年龄(岁)	性别	病理诊断及分期分级
1	62	女	HCC 2~3 级
2	50	女	HCC 2 级
3	73	男	中分化 HCC
4	40	女	HCC 2~3 级
5	51	男	中分化 HCC
6	49	女	中分化 HCC
7	32	男	HCC 2 级
8	62	女	HCC 1~2 级
9	47	男	HCC 2~3 级
10	57	男	HCC 2 级
11	43	男	中分化 HCC
12	45	男	HCC 2~3 级
13	39	女	低分化 HCC
14	60	女	HCC 2~3 级
15	51	男	HCC 2 级
16	56	男	HCC 1~2 级

采用 EnVision 2 步法,切片经过烤片、脱蜡,乙醇由高至低浓度至入水,pH 6.0 柠檬酸缓冲液中高温高压修复上气后加热 2 min,蒸馏水冲洗,3%过氧化氢液 10 min,PBS 缓冲液洗涤 3 遍,每遍 3 min,加羊血清 37 ℃ 封闭 10 min,PBS 缓冲液洗 3 遍,每遍 3 min,加一抗(鼠抗人单克隆抗体,试剂盒提供的工作液),37 ℃ 2 h,PBS 清洗 3 遍,每遍 3 min,加入二抗 37 ℃ 30 min,PBS 缓冲液浸 3 遍,DAB 显色,蒸馏水冲洗,复染,封片。CK19 需在高温高压修复后,37 ℃ 进行 1 min 胃酶消化,PBS 缓冲液洗 3 遍,加入一抗(试剂盒提供的工作液)。

#### 1.4 仪器与试剂

免疫组化采用 Leica BOND 全自动免疫组化及原位杂交染色系统。CK、Ki67 及 P53 试剂为仪器配套试剂;Gly-3 试剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

#### 1.5 染色结果判断

CK、Gly-3 在细胞质中表达,Ki67、P53 在细胞核中表达。阳性染黄色或棕黄色。评价标准为:细胞阳性率<10%判定为阴性(-);细胞阳性率 10%~30%为弱阳性(+);细胞阳性率 31%~60%为阳性(++);细胞阳性率>60%为强阳性(+++)。

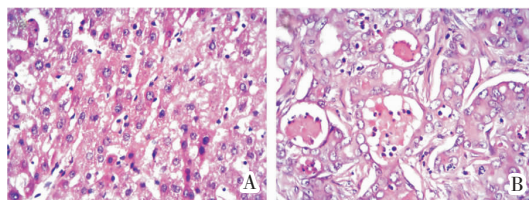
## 2 结果

### 2.1 HCC 组织及癌旁组织 HE 染色

结果见图 1。

### 2.2 CK7、CK8/18、CK19 的表达

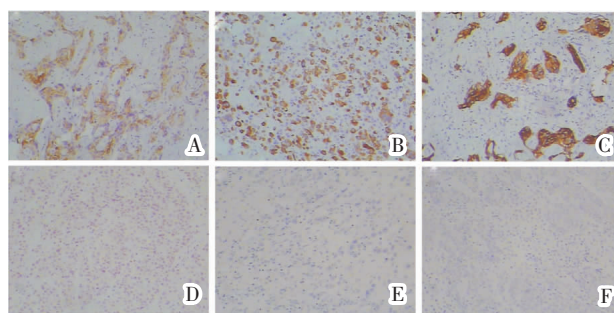
16 例 HCC 患者癌组织中 CK7 阳性表达 8 例,阳性表达率为 50.0%,癌旁组织仅 1 例弱阳性表达,阳性率为 6.25%,二者差异有显著统计学意义( $P<0.01$ );16 例



A.癌旁组织;B.癌组织

图 1 癌组织及癌旁组织光镜图(HE×400)

HCC 患者癌组织中 CK8/18 阳性表达 15 例,阳性表达率为 93.8%,癌旁组织仅 2 例阳性表达,阳性率 12.5%,二者差异有显著统计学意义( $P<0.01$ );16 例 HCC 患者癌组织中 CK19 阳性表达 10 例,阳性表达率为 62.5%,癌旁组织全部无表达,二者差异有显著统计学意义( $P<0.01$ ),染色阳性及阴性结果见图 2。

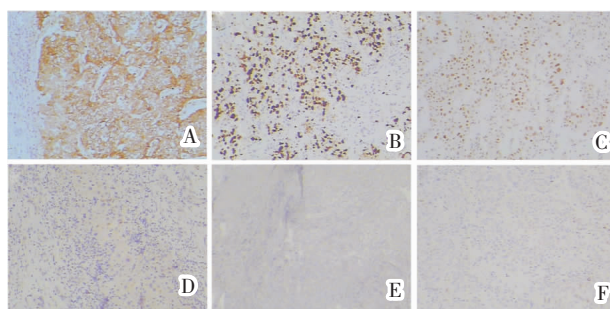


A.CK7 阳性表达;B.CK8/18 阳性表达;C.CK19 阳性表达;D.CK7 阴性表达;E.CK8/18 阴性表达;F.CK19 阴性表达

图 2 CK7、CK8/18 及 CK19 在 HCC 组织中的表达  
(免疫组化法×100)

### 2.3 Ki67、Gly-3 及 P53 的表达

16 例 HCC 患者癌组织中 Ki67 阳性表达 12 例,阳性表达率为 75%,癌旁组织 2 例阳性表达,阳性率 12.5%,二者差异有显著统计学意义( $P<0.01$ );16 例 HCC 患者癌组织中 Gly-3 阳性表达 14 例,阳性表达率为 87.5%,癌旁组织全部无表达,二者差异有显著统计学意义( $P<0.01$ );16 例 HCC 患者癌组织中 P53 阳性表达 8 例,阳性表达率为 50%,癌旁组织全部无表达,二者差异有显著统计学意义( $P<0.01$ ),染色阳性及阴性结果见图 3。



A.Gly-3 阳性表达;B.Ki67 阳性表达;C.P53 阳性表达;D.Gly-3 阴性表达;E.Ki67 阴性表达;F.P53 阴性表达

图 3 Gly-3、Ki67 及 P53 在 HCC 组织中的表达  
(免疫组化法×100)

### 3 讨论

细胞角蛋白(cytokeratin,CK)是角质细胞中的主要骨架蛋白,它作为一种中间丝存在于所有上皮细胞及部分非上皮细胞,以维持上皮组织的完整性及连续性,根据分子量大小将其分为30种基因型。角蛋白在上皮源性肿瘤疾病的发生发展过程中出现异常表达,因此可作为肿瘤的辅助诊断指标<sup>[5]</sup>,本研究发现不同的CK在HCC中有不同的表达率,CK8/18作为应激蛋白几乎在所有HCC组织中表达,癌旁组织也有不同程度的表达。不少研究表明CK7可以作为结直肠癌、原发性卵巢肿瘤以及肝癌等肿瘤细胞转移的标志物<sup>[6-7]</sup>,但本研究的结果显示CK7表达相对较低。CK19表达与细胞分化程度呈负相关<sup>[8]</sup>,表达CK19的肝癌侵袭性及恶性程度更严重<sup>[9]</sup>,本研究中有60%以上的HCC表达CK19,但未做进一步临床分析。

细胞增殖核抗原Ki67定位于细胞核,在细胞增殖周期中表达,G0期缺如,G1期时即可检测出,可提示机体细胞增殖情况。Ki67的表达上调促进肿瘤细胞增殖,对其深入研究对于了解肿瘤的生物行为学和预后具有重要价值<sup>[10-13]</sup>。Ki67标记的是处于增殖周期中的细胞。该标记阳性率越高,肿瘤生长越快,组织分化越差,对化疗也越敏感。一般来说,预后较差。本研究中Ki67在HCC患者癌组织中的表达阳性率为75%。

Gly-3是通过糖基磷脂酰肌醇锚连接到细胞表面的肝磷脂蛋白聚糖的磷脂酰肌醇蛋白聚糖家族的成员<sup>[14]</sup>,Gly-3在细胞增殖和在特定组织中的细胞凋亡诱导作用中具有负面作用<sup>[15]</sup>。然而,它在HCC中过表达最近也有报道<sup>[16-17]</sup>,与本研究结果相符。

p53是位于染色体17的短臂上的肿瘤抑制基因,通常调节细胞周期机制的活性。已观察到p53基因的突变在多种类型的人类癌症中具有高流行性,并且经常伴随点突变发生。研究报道HCC中p53突变的频率在18%至67%之间<sup>[18]</sup>,p53突变蛋白阴性患者为肝癌发生的早期,在肝癌发生的中期检测到突变型p53蛋白,这表明p53突变是启动细胞恶性转化的关键因素<sup>[9]</sup>。本研究中的p53表达阳性率为50%,准备扩大样本与结合临床资料进行分析。

#### 参考文献:

[1] Ahmedi D, Freddie Bray P, Melissa M, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.  
 [2] Lencioni R. Evolving strategies in the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Hepatology, 2011, 54(1): 184-186.  
 [3] Silvia Tremosini, Alejandro Forner, Loreto Boix, et al. Prospective validation of an immunohistochemical panel (glypican 3, heat shock protein 70 and glutamine synthetase) in liver

biopsies for diagnosis of very early hepatocellular carcinoma[J]. Gut. 2012, 61(10): 1481-1487.  
 [4] Sciarra A, Di Tommaso L, Nakano M, et al. Morphophenotypic changes in human multistep hepatocarcinogenesis with translational implications[J]. J Hepatol, 2016, 64(1): 87-93.  
 [5] Jung YS, Lee KJ, Kim HJ, et al. Clinical Significance of Bone Marrow Micrometastasis Detects by Nested RT-PCR for keratin 19 in Breast Cancer Patients [J]. Jpn J ClinOncol, 2003, 33(4): 167-172.  
 [6] Tot T. Cytokeratins 20and7 as biomarkers: usefulness in discriminating primary from metastaticadenocarcinoma [J]. Eur J Cancer. 2002, 38 (6): 758-763.  
 [7] Arville B, O'Rourke E, Chung F, et al. Evaluation of a triple combination of cytokeratin 20, p53 and CD44 for improving detection of urothelial carcinoma in urine cytology specimens [J]. Cytojournal, 2013, 10: 25.  
 [8] Wu F, Nishioka M, Fujita J, et al. Expression of cytokeratin 19 in human hepatocellular carcinoma cell lines [J]. Int J Oncology. 2002, 20(1): 31-37.  
 [9] Takahiro U, Shoji K, Takatsugu Y, et al. Cytokeratin19 expression inhepatocellularcarcinomapredictsearlypostoperativereturnrecurrence [J]. CancerSci. 2003, 94(10): 851-857.  
 [10] Du B, Wang SY, Shi XF. The effect of 2-methoxyestradiol liposome on growth inhibition, angiogenesis and expression of VEGF and Ki67 in mice bearing H22 hepatocellular carcinoma [J]. Tumori. 2011, 97(5): 660-665.  
 [11] Jia YF, Xiao DJ, Ma XL. Differentiated embryonic chondrocyte-expressed gene 1 is associated with hypoxia-inducible factor 1alpha and Ki67 in human gastric cancer[J]. Diagnostic pathology. 2013, 8:37.  
 [12] Ma YL, Peng JY, Zhang P. Immunohistochemical analysis revealed CD34 and Ki67 protein expression as significant prognostic factors in colorectal cancer [J]. Medical oncology. 2010, 27(2): 304-309.  
 [13] Morimoto M, Bando Y, Nakagawa M, et al. Immunocytochemical results for HER2 and Ki67 in breast cancer touch-smear cell-specimens are reliable [J]. Breast cancer, 2016, 23(4): 577-582.  
 [14] Filmus J. Glypicans in growth control and cancer[J]. Glycobiology. 2001, 11: 19R-23R.  
 [15] Cano-Gauci DF, Song HH, Yang H, et al. Glypican-3-deficient mice exhibit developmental overgrowth and some of the abnormalities typical of Simpson-Golabi-Behmel syndrome[J]. J Cell Biol. 1999, 146: 255-264.  
 [16] Sung YK, Hwang SY, Park MK, et al. Glypican-3 is overexpressed in human hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Sci. 2003, 94: 259-262.  
 [17] Capurro M, Wanless IR, Sherman M, et al. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2003, 125: 89-97.  
 [18] Jackson PE, Qian GS, Friesen MD, et al. Specific p53 mutations detected in plasma and tumors of hepatocellular carcinoma patients by electrospray ionization mass spectrometry[J]. Cancer Res. 2001, 61: 33-35.  
 [19] Jian-Jia Su, Ke-Chen Ban, Yuan Li, et al. Alteration of p53 and p21 during hepatocarcinogenesis in tree shrews[J]. World J Gastroenterol. 2004, 10 (24): 3559-3563.