

# CK5/6、DSG3、P40、TTF-1、CK7、NapsinA 在非小细胞肺癌组织中的表达及意义

张新东 马静 王祥阁 赵甜甜

山东省,滕州市中心人民医院病理科 277500

**【摘要】 目的** 探讨 CK5/6、DSG3、P40、TTF-1、CK7、NapsinA 在非小细胞肺癌 (NSCLC) 活检小标本中鳞状细胞癌 (SCC) 与腺癌 (AC) 的表达及其鉴别意义。**方法** 采用免疫组化 SP 法检测 2016 年 1 月至 2017 年 12 月在滕州市中心人民医院住院治疗的非小细胞肺癌 (NSCLC) 120 例活检小标本中 CK5/6、DSG3、P40、TTF-1、CK7、NapsinA 表达,并结合 NSCLC 的临床特征进行分析。**结果** CK5/6、DSG3 和 P40 在肺鳞状细胞癌 (SCC) 组织中的表达率分别为 100.0% (56/56)、89.3% (50/56) 和 96.4% (54/56), 特异度分别为 90.6%、100.0% 和 100.0%; NapsinA、TTF-1、CK7 在肺腺癌 (AC) 组织中的表达率分别为 81.3% (52/64)、90.6% (58/64) 和 93.8% (60/64), 特异度分别为 100.0%、92.9% 和 96.4%。CK5/6、DSG3 和 P40 在 SCC 组织中的表达与在 AC 组织中的表达差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), NapsinA、TTF-1、CK7 在 AC 组织中的表达较 SCC 组织中的表达差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。**结论** CK5/6、DSG3、P40、TTF-1、CK7、NapsinA 在非小细胞肺癌活检小标本 SCC 与 AC 的鉴别诊断中具有重要意义。

**【关键词】** 癌,非小细胞肺; CK5/6; DSG3; P40; TTF-1; CK7; NapsinA; 活组织检查; 免疫组织化学

DOI:10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2020.02.021

## Expression and clinical significance of CK5/6, DSG3, P40, TTF-1, CK7, NapsinA in small biopsy specimens of non-small cell lung cancer

Zhang Xindong, Ma Jing, Wang Xiangge, Zhao Tiantian

Department of Pathology, the Central People's Hospital of Tengzhou, Tengzhou, Shandong 277500, China

**【Abstract】 Objective** To detect the expression and the differential significance of CK5/6, DSG3, P40, TTF-1, CK7, NapsinA in small biopsy specimens of non-small cell lung cancer (NSCLC), squamous cell carcinoma (SCC) and adenocarcinoma (AC). **Methods** Immunohistochemical SP method was used to detect the expressions of CK5/6, DSG3, P40, TTF-1, CK7 and NapsinA in 120 small biopsy specimens of NSCLC hospitalized in the Central People's Hospital of Tengzhou from January 2016 to December 2017, and the results were analyzed combined with the clinical characteristics of NSCLC. **Results** The positive expression rates of CK5/6, DSG3 and P40 in lung SCC were 100.0% (56/56), 89.3% (50/56) and 96.4% (54/56), respectively, with specificity of 90.6%, 100.0% and 100.0%, respectively. The positive expression rates of NapsinA, TTF-1 and CK7 in lung AC were 81.3% (52/64), 90.6% (58/64) and 93.8% (60/64), respectively, with specificity of 100.0%, 92.9% and 96.4%, respectively. The positive expression rates of CK5/6, DSG3, P40 in SCC had statistically significant differences compared with those in AC (all  $P < 0.05$ ), and the expression of TTF-1, CK7 and NapsinA in AC had statistically significant differences compared with those in SCC (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** CK5/6, DSG3, P40, TTF-1, CK7 and NapsinA are of great significance in the differential diagnosis of SCC and AC in small biopsy specimens of NSCLC.

**【Key words】** Carcinoma, non-small-cell lung; CK5/6; DSG3; P40; TTF-1; CK7; NapsinA; Biopsy; Immunohistochemistry

DOI:10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2020.02.021

肺癌是呼吸系统最常见的恶性肿瘤,从病理和治疗角度,肺癌大致可分为非小细胞肺癌 (NSCLC) 和小细胞肺癌 (SCLC),其中 NSCLC 约占 80% ~

85%,其中鳞状细胞癌和腺癌是 NSCLC 中最常见的类型,因为腺癌常有表皮生长因子受体 (EGFR) 的基因突变<sup>[1]</sup>,对 EGFR 抑制剂治疗更有效,此外,肺

腺癌对培美曲塞和贝伐单抗治疗有效,而鳞状细胞癌若使用培美曲塞和贝伐单抗可能导致致命性肺出血<sup>[2]</sup>。大多数 NSCLC 活检标本中鳞状细胞癌与腺癌仅靠苏木精-伊红(HE)染色就可以区分,但还有约 25% 的标本中 HE 染色难以区分鳞状细胞癌与腺癌,需靠免疫组化进行分类<sup>[3]</sup>。本研究运用免疫组化法检测 CK5/6、DSG3、NapsinA、TTF-1、CK7、P40 在缺乏形态学分化的非小细胞肺癌(NSCLC)活检小标本中的表达,从而明确诊断鳞状细胞癌和腺癌,以便指导 NSCLC 的治疗和预后判定。

## 1 材料与方法

1.1 材料 收集滕州市中心人民医院病理科 2016 年 1 月至 2017 年 12 月经支气管镜活检和经皮肺穿刺活检检出确诊的肺原发中、低分化 NSCLC 活检标本 120 例,所有患者未进行任何的化疗及放疗。鳞状细胞癌(SCC)56 例,腺癌(AC)64 例。其中男性 73 例(鳞状细胞癌 45 例,28 腺癌),女性 47 例(鳞状细胞癌 11 例,腺癌 36 例)。年龄范围 34~89 岁,平均 66.5 岁。本研究所涉及的相关病理检测符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》的相关要求。

1.2 方法 120 例 NSCLC 标本均经 10% 中性甲醛固定,石蜡包埋,4 μm 厚度连续切片,常规 HE 染色,光镜观察。采用免疫组化 SP 法检测活检小标本中 CK5/6、DSG3、NapsinA、TTF-1、CK7、P40 的表达,用 PBS 代替一抗作阴性对照,以已知阳性肺腺癌或肺腺癌做阳性对照,并结合 NSCLC 的临床病理特征进行分析。

1.3 试剂 兔抗人 CK5/6 单克隆抗体(克隆号: D5/16B4)、鼠抗人 DSG3 单克隆抗体(克隆号: 5G11)、鼠抗人 TTF-1 单克隆抗体(克隆号: SPT24)、鼠抗人 NapsinA 单克隆抗体(克隆号: IP64)、鼠抗人 CK7 单克隆抗体(克隆号: OV-TL 12/30)和鼠抗人 P40 多克隆抗体(克隆号: 多克隆)均购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.4 免疫组化结果判定 抗原修复采用柠檬酸高压抗原修复法,以 PBS 液代替一抗做阴性对照,以已知阳性肺腺癌或肺鳞癌做阳性对照。阳性结果判定标准: TTF-1、P40 为细胞核着色, NapsinA、DSG3、CK5/6、CK7 为细胞质着色。根据阳性细胞所占的百分比分为(+)~(+++),无阳性细胞为(-);阳性细胞率 < 25% 为(+);25%~75% 为(++);>75% 为(+++)。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 11.5 软件作统计学分析,用 Spearman 等级相关分析计算相关系数,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 镜检 腺癌的生长方式包括贴壁为主型、腺泡状、乳头状、微乳头状和实性型,分化差的呈实性巢状生长。见图 1A。

2.2 免疫组化 NapsinA、TTF-1、DSG3、CK5/6、P40、CK7 在 64 例肺腺癌组织中的表达情况 肺腺癌组织中 NapsinA(见图 1B)有 52 例阳性,12 例未表达,阳性率为 81.3% (52/64); CK7(见图 1C)有 60 例阳性,4 例未表达,阳性率为 93.8% (60/64); TTF-1(见图 1D)有 58 例阳性,6 例未表达,阳性率为 90.6% (58/64)。见表 1。

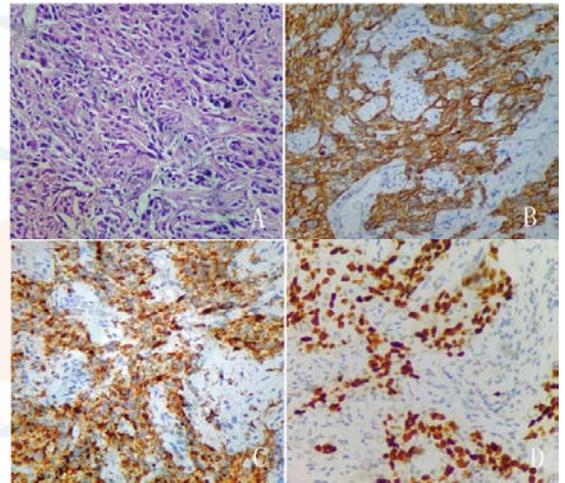


图 1 肺腺癌免疫组化。A: 肺腺癌(HE ×400); B: NapsinA 在肺腺癌组织中呈胞浆阳性表达(SP ×400); C: CK7 在肺腺癌组织中呈胞浆阳性表达(SP ×400); D: TTF-1 在肺腺癌组织中呈核阳性表达(SP ×400)

表 1 NapsinA、TTF-1、DSG3、CK5/6、P63、CK7 在肺腺癌组织中的表达( $n=64$ )

试剂	阳性	阳性率(%)
NapsinA	52	81.3
TTF-1	58	90.6
CK7	60	93.8
CK5/6	6	9.4
DSG3	0	0.0
P40	0	0.0

2.3 免疫组化 NapsinA、TTF-1、CK5/6、DSG3、P40、CK7 在 56 例肺鳞癌组织中的表达 鳞状细胞癌的特点可见细胞角化、角化珠及细胞间桥,分化差的鳞状分化特征不明显,有的呈巢状生长、片状生长。见图 2A。肺鳞癌组织中 CK5/6(见图 2B)全部表达为阳性,阳性率 100.0% (56/56); DSG3(见图 2C)有 50 例为阳性,6 例未表达,阳性率 89.3% (50/56); P40(见图 2D)有 54 例阳性,2 例未表达,阳性率为

表 3 NapsinA、TTF-1、DSG3、CK5/6、P40、CK7 在肺鳞癌与肺腺癌组织中的表达比较[例(%)]

组别	例数	NapsinA	TTF-1	DSG3	CK5/6	P40	CK7
鳞癌组	56	0(0.0)	4(7.1)	50(89.3)	56(100.0)	54(96.4)	2(3.6)
腺癌组	64	52(81.3)	58(90.6)	0(0.0)	6(9.4)	0(0.0)	60(93.8)
$\chi^2$ 值		80.294	83.352	97.959	98.226	1.122	1.025
P 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05

96.4%(54/56)。见表 2,3。

表 2 NapsinA、TTF-1、CK5/6、DSG3、P40、CK7 在肺鳞癌组织中的表达(n=56)

试剂	阳性	阳性率(%)
CK5/6	56	100.0
DSG3	50	89.3
P40	54	96.4
NapsinA	0	0.0
TTF-1	4	7.1
CK7	2	3.6

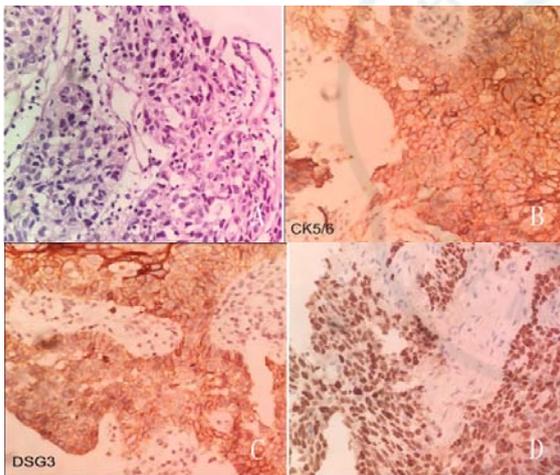


图 2 肺鳞状细胞癌免疫组化。A:肺鳞状细胞癌(HE ×400);B:CK5/6 在肺鳞状细胞癌组织中呈胞浆阳性表达(SP ×400);C:DSG3 在肺鳞状细胞癌组织中呈胞浆阳性表达(SP ×400);D:P40 在肺鳞状细胞癌组织中呈细胞核阳性表达(SP ×400)

### 3 讨论

由于肺癌的临床表现具有多样性,但缺乏特异性,因此肺癌患者确诊时已为中晚期。本研究主要是针对肺小活检标本中,原发性鳞状细胞癌和腺癌在缺乏形态学分化的进行免疫组化检测 CK5/6、DSG3、P40、TTF-1、CK7、NapsinA,研究这 6 种标志物在肺鳞状细胞癌和腺癌鉴别诊断中的意义。

甲状腺转录因子(TTF-1)在胎儿肺组织和成年人 II 型肺泡上皮中存在,而在 I 型肺泡上皮中始终不表达。在正常肺组织,TTF-1 控制表面活性蛋白的表达,这些活性蛋白对于维持肺的稳定性和宿主防御是必不可少的。TTF-1 选择性的表达于肺泡 II

型上皮细胞和支气管细胞的一个亚型中<sup>[4]</sup>,是目前最常用于诊断原发性肺腺癌的标志物。据文献报道,TTF-1 在肺腺癌中的敏感性为 73%~94.6%,几乎在肺鳞癌组织中没有表达<sup>[5-7]</sup>。本研究显示在肺腺癌标本中 TTF-1 的阳性表达高达 89.7%,而在肺鳞状细胞癌组织中的阳性表达仅为 7.6%。

NapsinA 是胃酶样天冬氨酸蛋白酶的一种,该蛋白在人类的肺和肾中高表达,主要在 II 型肺上皮和肺腺癌。NapsinA 在肺癌中的表达有着较强的敏感性,文献报道,敏感性为 73.8%~93.6%<sup>[8-10]</sup>。在一些 TTF-1 为阴性的肺癌穿刺标本中,它通常呈阳性表达<sup>[11]</sup>。NapsinA 的表达与肺腺癌的分化程度密切相关,分化程度越低表达越少<sup>[12]</sup>。本研究 62 例肺腺癌标本中,NapsinA 的阳性表达高达 90.2%,而在鳞状细胞癌组织中均呈阴性。Warth 等<sup>[9]</sup>的研究中,CK7 阳性更多见于腺癌(96%),在鳞状细胞癌中阳性率为 20.8%。本研究结果显示,CK7 在腺癌和鳞状细胞癌组织中的阳性率分别是 95.1%和 2.56%,这与文献报道一致。

CK5/6 广泛表达于乳腺导管肌上皮、肺支气管上皮下基底细胞、正常组织鳞状上皮,而绝大部分的腺上皮细胞几乎不表达,因此可用于鳞癌和腺癌的鉴别诊断。据文献报道,CK5/6 对肺鳞状细胞癌敏感性为 53%~100%,特异度为 79%~96.7%。本研究肺鳞状细胞癌的标本中,CK5/6 的阳性表达为 100.0%,特异度为 90.6%,而在肺腺癌标本中的阳性率仅为 9.4%。DSG3 是桥粒芯蛋白 3,是一种参与组成细胞间桥连接的钙结合膜糖蛋白。在人类的角质细胞中,DSG3 蛋白组成筏排样连接结构,该结构如果破坏会影响桥粒连接的形成。据文献报道,DSG3 在鳞状细胞癌组织的表达一般为 85%~90%,几乎不表达于腺癌(<2%)。本研究 56 例肺鳞状细胞癌标本中,DSG3 的阳性表达为 89.3%,特异度为 100%,而在 64 例肺腺癌标本中的阳性率为 0。P40 为 P63 亚型,p40 抗体( $\Delta$ Np63)只识别  $\Delta$ Np63<sup>[13-14]</sup>,在正常的肺组织中 p40 可表达于支气管黏膜基底细胞及支气管腺的肌上皮细胞,而不表达于纤毛细胞、肺泡上皮细胞,但 p40 还可散在表达于 II 型细支气管肺泡上皮细胞及胸膜外纤维组

织<sup>[15]</sup>。以往研究均将 p40 检查大多数用于头颈和食管鳞癌、胸腺肿瘤等,较少用于肺癌。近年来,一些实验室将 p40 用于肺腺癌及鳞状细胞癌的鉴别诊断,研究结果表明 p40 对肺鳞状细胞癌具有较高的敏感性及特异性<sup>[16-18]</sup>。因此,CK5/6、DSG3 和 P40 可用来区别肺鳞状细胞癌与其它类型的肺癌。

综上所述,运用免疫组化标记物可以在肺部小活检中有效的区分特别是缺乏形态学分化鳞状细胞癌和腺癌,但是由于没有任何标志物是完全敏感和特异的,通过本研究建议使用 Napsin A、TTF-1、CK5/6、DSG3、CK7 和 P40 等六种抗体的联合应用可以提高非小细胞肺癌(NSCLC)鳞状细胞癌和腺癌诊断正确率,以便指导临床对非小细胞肺癌(NSCLC)治疗和判断预后。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

### 参考文献

[1] Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(25): 2380-2388. DOI: 10.1056/NEJMoa0909530.

[2] Hirsch FR, Spreafico A, Novello S, et al. The prognostic and predictive role of histology in advanced non-small cell lung cancer: a literature review[J]. *J Thorac Oncol*, 2008, 3(12): 1468-1481. DOI: 10.1097/JTO.0b013e318189f551.

[3] Terry J, Leung S, Laskin J, et al. Optimal immunohistochemical markers for distinguishing lung adenocarcinomas from squamous cell carcinomas in small tumor samples[J]. *Am J Surg Pathol*, 2010, 34(12): 1805-1811. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181f7dae3.

[4] Puglisi F, Barbone F, Damante G, et al. Prognostic value of thyroid transcription factor-1 in primary, resected, non-small cell lung carcinoma[J]. *Mod Pathol*, 1999, 12(3): 318-324.

[5] Terry J, Leung S, Laskin J, et al. Optimal immunohistochemical markers for distinguishing lung adenocarcinomas from squamous cell carcinomas in small tumor samples[J]. *Am J Surg Pathol*, 2010, 34(12): 1805-1811. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181f7dae3.

[6] Loo PS, Thomas SC, Nicolson MC, et al. Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchial biopsy specimens[J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5(4): 442-447. DOI: 10.1097/JTO.0b013e3181d40fac.

[7] Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimens; Utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6[J]. *Am J Surg Pathol*, 2011,

35(1): 15-25. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3182036d05.

[8] Bishop JA, Sharma R, Illei PB. Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid, and malignant mesothelioma[J]. *Hum Pathol*, 2010, 41(1): 20-25. DOI: 10.1016/j.humpath.2009.06.014.

[9] Warth A, Muley T, Herpel E, et al. Large-scale comparative analyses of immunomarkers for diagnostic subtyping of non-small-cell lung cancer biopsies[J]. *Histopathology*, 2012, 61(6): 1017-1025. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2012.04308.x.

[10] Ao MH, Zhang H, Sakowski L, et al. The utility of a novel triple marker (combination of TTF1, napsin A, and p40) in the subclassification of non-small cell lung cancer[J]. *Hum Pathol*, 2014, 45(5): 926-934. DOI: 10.1016/j.humpath.2014.01.005.

[11] Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimens; Utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6[J]. *Am J Surg Pathol*, 2011, 35(1): 15-25. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3182036d05.

[12] Ueno T, Linder S, Elmerberger G. Aspartic proteinase napsin is a useful marker for diagnosis of primary lung adenocarcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2003, 88(8): 1229-1233.

[13] Bishop JA, Teruya-Feldstein J, Westra WH, et al. p40 ( $\Delta$ Np63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma[J]. *Mod Pathol*, 2012, 25(3): 405-415. DOI: 10.1038/modpathol.2011.173.

[14] Yang A, Kaghad M, Wang Y, et al. p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities[J]. *Mol Cell*, 1998, 2(3): 305-316. DOI: 10.1016/s1097-2765(00)80275-0.

[15] Pelosi G, Fabbri A, Bianchi F, et al.  $\Delta$ Np63 (p40) and thyroid transcription factor-1 immunoreactivity on small biopsies or cell-blocks for typing non-small cell lung cancer: a novel two-hit, sparing-material approach[J]. *J Thorac Oncol*, 2012, 7(2): 281-290. DOI: 10.1097/JTO.0b013e31823815d3.

[16] Hibi K, Trink B, Patturajan M, et al. AIS is an oncogene amplified in squamous cell carcinoma[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(10): 5462-5467. DOI: 10.1073/pnas.97.10.5462.

[17] Uramoto H, Yamada S, Hanagiri T. Immunohistochemical staining with  $\Delta$ Np63 is useful for distinguishing the squamous cell component of adenosquamous cell carcinoma of the lung[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(11): 4717-4720.

[18] Nobre AR, Albergaria A, Schmitt F. p40; a p63 isoform useful for lung cancer diagnosis—a review of the physiological and pathological role of p63[J]. *Acta Cytol*, 2013, 57(1): 1-8. DOI: 10.1159/000345245.

(收稿日期: 2019-03-01)

(本文编辑: 冉家新)