

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.29.011

## Ki-67 和 CK10 在鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤中的表达及临床意义\*

宋云韬, 耿曼英<sup>△</sup>

(郑州大学第二附属医院耳鼻咽喉科, 郑州 450000)

**[摘要]** **目的** 探讨鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤(NIP)组织中 Ki-67、细胞角蛋白 10(CK10)的表达,分析其在 NIP 发生、发展及复发过程中的作用。**方法** 应用免疫组织化学法检测 50 例 NIP,20 例鼻息肉(NP)及 10 例正常鼻腔黏膜(NM)组织中 Ki-67 和 CK10 的表达情况,并进行比较分析。**结果** NM 组、NP 组和 NIP 组中 CK10 表达阳性率比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );Ki-67 表达阳性率在 NIP 组与 NP 组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),在 NIP 和 NM 组间比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );复发与未复发 NIP 患者 Ki-67 和 CK10 表达阳性率比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );Krouse 临床分级与组织中的 Ki-67 和 CK10 的表达无关( $P > 0.05$ );NIP 患者 Ki-67 和 CK10 表达呈正相关( $r = 0.686, P < 0.01$ )。**结论** CK10 在 NIP 的发生、发展中可能具有一定的作用,且可能与 Ki-67 具有协同作用。

**[关键词]** 鼻内翻性乳头状瘤;Ki-67;细胞角蛋白 10;复发**[中图分类号]** R765.6**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2018)29-3766-04

## Expression and clinical significance of Ki-67 and CK10 in nasal inverted papilloma\*

SONG Yuntao, GENG Manying<sup>△</sup>

(Department of Otorhinolaryngology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, He'nan 450000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression of Ki-67 and cytokeratin 10 (CK10) in nasal inverted papilloma (NIP) of nasal cavity and sinus, and analyze their role in the occurrence, development and recurrence of NIP. **Methods** The expression of Ki-67 and CK10 were detected by immunohistochemistry in 50 cases of NIP, 20 cases of nasal polyps (NP) and 10 cases of normal nasal cavity mucosa (NM), and comparative analysis was conducted. **Results** The significant difference of the positive rate of CK10 expression was found in the NM group, the NP group and the NIP group ( $P < 0.05$ ). There was statistically significant difference of the positive rate of Ki-67 expression between the NIP group and the NM group ( $P < 0.05$ ), while no significant difference was found between the NIP group and the NP group ( $P > 0.05$ ). Statistically significant differences were found in the positive rates of CK10 and Ki-67 expression between NIP patients with and without recurrence ( $P < 0.05$ ). There was no relationship between Krouse stage and the expression of Ki-67 and CK10 ( $P > 0.05$ ). The expression of Ki-67 was positively correlated with the expression of CK10 in patients with NIP ( $r = 0.686, P < 0.01$ ). **Conclusion** CK10 may play a certain role in the occurrence and development of NIP, and have synergistic effect with Ki-67.

**[Key words]** nasal inverted papilloma; Ki-67; cytokeratin 10; recurrence

鼻内翻性乳头状瘤(NIP)是鼻腔鼻窦中较为常见的良性肿瘤,因其恶变倾向及高复发率,故而常被认为是一种“交界性肿瘤”。现研究表明,NIP 的发生、发展是多因素、多阶段的,与遗传、炎症刺激、细菌及病毒感染、环境因素、变态反应等均有关<sup>[1-2]</sup>。探讨 NIP 的发病机制,有助于 NIP 的早期诊断、预防和治疗。多项研究发现,细胞角蛋白 10(CK10)在细胞增殖分化的过程中起重要的调控及效应作用;Ki67 是一

种存在于增殖细胞中的核抗原,与细胞周期密切相关,可反映细胞的增殖能力。本研究采用免疫组织化学法检测 Ki-67 和 CK10,探讨其在鼻息肉(NP)、正常鼻腔黏膜(NM)及 NIP 组织中的表达情况,从而分析 NIP 的发病机制,并探讨二者之间的相关性。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集本院耳鼻咽喉科 2009 年 1 月至 2014 年 1 月收治的经病理确诊的 NIP 患者 50 例

(均经鼻内镜下手术切除),男 34 例,女 16 例;平均年龄(57.6±7.1)岁;初发 37 例,复发 13 例;癌变 3 例;根据 Krouse 分级:T<sub>1</sub> 期 8 例,T<sub>2</sub> 期 11 例,T<sub>3</sub> 期 25 例,T<sub>4</sub> 期 6 例。另选取 NP 组 20 例,男 11,女 9 例;NM 组 10 例,男、女各 5 例。所有组织标本常规石蜡包埋。本研究通过本院伦理委员会审批,患者均签署知情同意书。

**1.2 主要试剂** 鼠抗人 CK10 单克隆抗体,购自上海杰浩生物技术有限公司。兔抗人 Ki67 单克隆抗体试剂盒购自北京中杉金桥生物技术公司。修复液枸橼酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液(PBS)、二氨基联苯胺(DAB)显色剂购自基因科技(上海)股份有限公司。

**1.3 方法**

**1.3.1 免疫组织化学二步法** (1)组织标本常规石蜡包埋,每例各做 3 张 3 μm 厚的连续切片,放置 60 °C 烤箱中,苯二醛及乙醇脱蜡水化;(2)高压锅抗原修复:加热修复液(枸橼酸盐缓冲液),沸腾后高压修复 3 min;(3)PBS 冲洗,3%过氧化氢室温 20 min 阻断内源性过氧化物酶活性;(4)PBS 冲洗,滴加一抗 4 °C 过夜;(5)PBS 冲洗,滴加二抗室温 50 min;(6)PBS 冲洗,DAB 显色,复染细胞核,水洗,梯度乙醇脱水,烤片,封片。

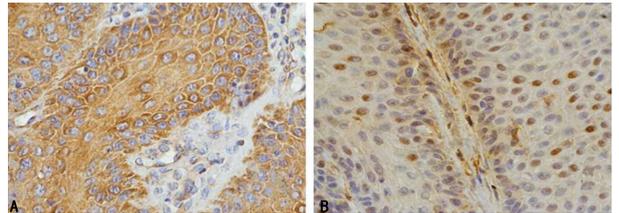
**1.3.2 结果判定** 以染色强度和阳性细胞数进行综合分析,按半定量积分法判定结果。每张切片随机选取 5 个高倍视野(×400)进行结果判定,按染色强度计分:无色计 0 分,淡黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分。按着色细胞数占同类细胞总数百分比计分:阳性细胞数小于或等于 10%计 0 分,>10%~25%计 1 分,>25%~50%计 2 分,>50%~75%计 3 分,>75%计 4 分,以两类计分结果的乘积最终作为试验结果:0~1 分判为阴性(-),2~3 分判为轻度阳性(+),4~6 分判为中度阳性(++),>7 分则判为强阳性(+++),阳性率=(轻度阳性例数+中度阳性例数+强阳性例数)/总例数×100%。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS21.0 统计软件进行统计分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较应用  $\chi^2$  检验;相关性分析采用 Spearman 秩相关分析;以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 CK10 与 Ki-67 在 NIP、NP、NM 组织中的表达** CK10 分布在细胞质中,呈现淡黄色、黄色、棕黄色颗粒状物质,见图 1A。50 例患者 NIP 组织中 38 例出现阳性染色,20 例患者 NP 组织中 8 例出现阳性染色,10 例对照 NM 组织中未出现阳性染色。NIP、NP、NM 组 CK10 阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );且 NIP 组与 NP 组、NM 组 CK10 阳性率比较,差异均有统计学意义( $\chi^2=6.697, P=0.01$ ;

$\chi^2=20.727, P=0.000$ )。Ki-67 分布在细胞核中,呈现淡黄色、黄色、棕黄色物质,见图 1B。50 例患者 NIP 组织中 30 例出现阳性染色,20 例患者 NP 组织中 11 例出现阳性染色,10 例对照 NM 组织中 2 例出现阳性染色。NIP、NP、NM 组 Ki-67 阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );NIP 组与 NM 组 Ki-67 阳性率比较,差异有统计学意义( $\chi^2=5.357, P=0.021$ ),NIP 组与 NP 组 Ki-67 阳性率比较,差异无统计学意义( $\chi^2=0.007, P=0.787$ ),见表 1。3 例癌变病例(鳞状细胞癌)Ki-67、CK10 的表达水平均为强阳性。



A:CK10 在 NIP 组织中的表达;B:Ki-67 在 NIP 组织中的表达

图 1 NIP 组织中 CK10 与 Ki-67 的免疫组织化学染色(×400)

表 1 CK10、Ki-67 在 NIP、NP、NM 组中的表达阳性率比较[n(%)]

组别	n	CK10	Ki-67
NIP 组	50	38(76.0)	30(60.0)
NP 组	20	8(40.0)	11(55.0)
NM 组	10	0	2(20.0)
$\chi^2$		23.038	5.380
P		0.000	0.068

**2.2 单纯 NIP 与复发 NIP 患者 CK10、Ki-67 阳性率比较** NIP 组共 13 例患者发生复发(复发率为 26.0%),37 例未复发。复发 NIP 组患者 CK10、Ki-67 阳性率均高于未复发 NIP 组,差异均有统计学意义( $\chi^2=3.912, P=0.048$ ;  $\chi^2=4.593, P=0.032$ ),见表 2。

表 2 单纯 NIP 组与复发 NIP 组 CK10、Ki-67 阳性率比较

组别	n	CK10		Ki-67	
		阴性(n)	阳性率[n(%)]	阴性(n)	阳性率[n(%)]
复发 NIP 组	13	0	13(100.0)	2	11(84.6)
未复发 NIP 组	37	12	25(67.6)	18	19(51.4)
$\chi^2$			3.912		4.593
P			0.048		0.032

**2.3 不同分期 NIP 患者 CK10、Ki-67 阳性率比较** NIP 组患者中 T<sub>1</sub>~T<sub>2</sub> 期 19 例,T<sub>3</sub>~T<sub>4</sub> 期 31 例。T<sub>1</sub>~T<sub>2</sub> 期与 T<sub>3</sub>~T<sub>4</sub> 期患者 CK10、Ki-67 阳性率比较,差异均无统计学意义( $\chi^2=2.771, P=0.096$ ;  $\chi^2=$

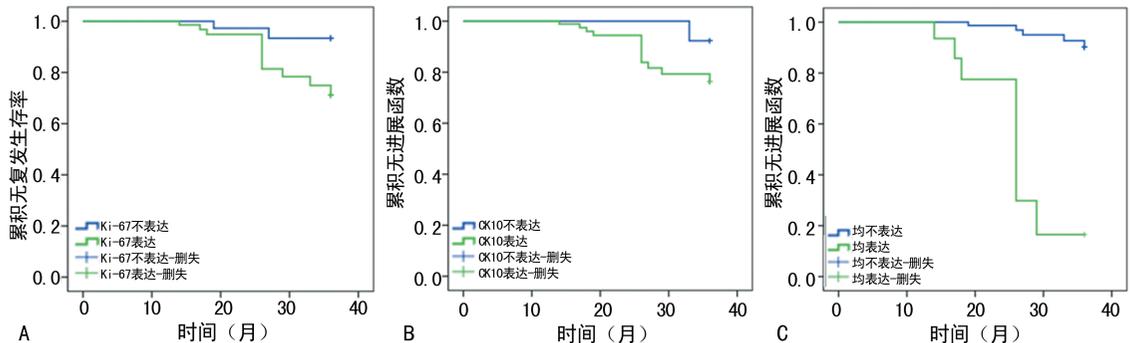
0.287,  $P=0.592$ ), 见表 3。

**2.4 CK10 和 Ki-67 在 NIP 组中表达的相关性** CK10 与 Ki-67 在组织中的表达呈正相关 ( $r=0.686, P<0.01$ ), 见表 4。

表 3 不同分期 NIP 患者 CK10、Ki-67 阳性率比较

NIP 分期	n	CK10		Ki-67	
		阴性(n)	阳性率[n(%)]	阴性(n)	阳性率[n(%)]
T <sub>1</sub> ~T <sub>2</sub> 期	19	7	12(63.2)	9	10(52.6)
T <sub>3</sub> ~T <sub>4</sub> 期	31	5	26(83.9)	11	20(64.5)
$\chi^2$			2.771		0.287
P			0.096		0.592

**2.5 NIP 患者的生存情况** Ki-67 阳性表达患者复发率(1-累计无进展函数)高于阴性表达患者, 差异



A: Ki-67; B: CK10; C: Ki-67 与 CK10

图 2 NIP 患者的生存曲线

### 3 讨 论

NIP 在鼻腔鼻窦的良性肿瘤中十分常见, 它起源于上皮组织, 占鼻腔鼻窦肿瘤的 0.5%~4.0%<sup>[3]</sup>。生长具有侵袭性、术后易复发(复发率 28%~74%)、癌变倾向(恶变率为 5%~15%)等特点。各年龄段均可见发病, 以 50~60 岁男性(男:女约为 3~5:1)高发。NIP 的发病机制至今尚未明确, 目前大多数研究表明, NIP 的发生可能与病毒感染、炎症刺激、抑癌基因、细胞过度增殖等密切相关<sup>[4-6]</sup>。

Ki-67 是一种与细胞增殖相关的核抗原, 功能与有丝分裂密切相关, 与细胞增殖中密不可分, 与多种肿瘤的分化程度、浸润、转移及预后相关。Ki-67 的过度表达与乳腺癌、肺癌、肠癌等恶性肿瘤的转移及预后密切相关<sup>[7]</sup>。在本研究中, Ki-67 在 NM、NP、NIP 组中均有表达。从 NM、NP 到 NIP 组中, Ki-67 的表达阳性率呈逐渐增高趋势, 在 NM 组与 NIP 组间比较, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 与孟宪影等<sup>[8]</sup>的研究结果一致。在 3 例癌变病例中, Ki-67 的表达量明显增高, 均说明 Ki-67 可反映 NIP 细胞的增殖能力, 并猜测 Ki-67 可能参与了交界性肿瘤的恶变过程。在 NP 组与 NIP 组间比较, 无明显差异, 表明 Ki-67 的表

达无统计学意义 ( $\chi^2=119.353, P=0.000$ ), 见图 2A; CK10 阳性表达患者复发率高于阴性表达患者, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=52.735, P=0.000$ ), 见图 2B; Ki-67、CK10 均表达患者随诊期终末复发率为 18% (9/50), 其中 3 例恶变, 病理类型为鳞状细胞癌, 高于 Ki-67、CK10 均不表达时复发率 [2% (1/50)], 见图 2C。

表 4 NIP 组中 CK10 与 Ki-67 表达的相关性 (n)

CK10	Ki-67			
	-	+	++	+++
-	10	1	1	0
+	5	2	0	0
+	5	7	3	2
+++	0	4	6	4

达无明显特异性, 不能表明其与 NIP 的发病相关。在复发与未复发 NIP 患者中 Ki-67 表达阳性率比较, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 说明 NIP 的复发与 Ki-67 的表达相关, 这与 BURA 等<sup>[9]</sup>的研究一致。T<sub>1</sub>~T<sub>2</sub> 期与 T<sub>3</sub>~T<sub>4</sub> 期 NIP 患者 Ki-67 表达阳性率比较, 差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 说明 Ki-67 的表达与肿瘤的临床分级无关。

CK 是细胞骨架蛋白的主要成分, 是在上皮细胞发生、分化、成熟过程中形成的, 不同组织中表达形式不同<sup>[10]</sup>。CK10 属于 I 型(酸性)CK, 通常表达于分化较成熟的上皮组织, 是鳞状上皮分化的标志, 在皮肤中研究较多, 而在鼻乳头状瘤方面的研究较少。姜莉等<sup>[11]</sup>研究发现, CK10 在日光性角化病中多数阳性表达, 而在基底细胞癌中仅少数表达, 在组织中阳性表达越高, 表明分化程度越高。本研究中, CK10 表达于上皮细胞的细胞质中, 在 NM、NP、NIP 组 3 组中表达阳性率逐渐增强, 染色强度逐渐加深; 3 组间比较, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 且 NIP 组与 NP 组、NM 组比较均有明显差异 ( $P<0.05$ ), 表明 CK10 可反映细胞的增殖活性, 通过上调 CK10 蛋白的表达, 使上皮向鳞状上皮分化, 从而参与 NIP 的发病过程。在复

发与未复发 NIP 患者中 CK10 表达阳性率有明显差异,提示 CK10 在 NIP 中的高表达与 NIP 的复发相关,这与 SHABANA 等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。CK10 表达阳性率在 T<sub>1</sub>~T<sub>2</sub> 期与 T<sub>3</sub>~T<sub>4</sub> 期 NIP 患者中无明显差异,说明 CK10 表达与肿瘤的临床分级无关。本研究 NIP 组的复发率为 26.0%,当 CK10 及 Ki-67 阳性表达时 NIP 的复发率高于不表达时的复发率,其表达与 NIP 的复发呈正相关,可作为预测术后复发的指标。Ki-67、CK10 均表达时的复发率(18%)高于 Ki-67、CK10 均不表达时的复发率(2%),可侧面反映二者在 NIP 发病过程中可能通过某种机制相关联。但肿瘤的复发可由多种因素影响,如手术方式、术后复查情况等。部分 Ki-67 和 CK10 高表达患者亦无复发,可能与随访时间较短相关,将进一步随访进行研究。

CK10 与 Ki-67 的表达也密切相关,表明这两种免疫指标可能通过某种机制相关联。在 3 例 NIP 伴癌变组织中,病理类型为鳞状细胞癌,CK10 及 Ki-67 的表达均为强阳性,免疫组织化学染色强度明显高于其他病理类型,猜测 CK10 与 Ki-67 可能参与了 NIP 的癌变过程,但由于样本量较小,不足以说明 CK10 及 Ki-67 在 NIP 的癌变过程中所起的作用,需进一步收集病例验证,若结果符合,可能实现新的、有效的靶向治疗。

综上所述,CK10 与 Ki-67 可分别从细胞核内及细胞质水平反映肿瘤细胞的增殖能力,亦可能参与 NIP 的恶变过程,CK10 在 NIP 发病过程中可能起到了重要作用。

## 参考文献

- [1] WANG M J, NOEL J E. Etiology of sinonasal inverted papilloma: a narrative review[J]. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2017, 3(1): 54-58.
- [2] ZHAO R W, GUO Z Q, ZHANG R X. Human papillomavirus infection and the malignant transformation of sinonasal inverted papilloma: a meta-analysis[J]. *J Clin Virol*, 2016, 79: 36-43.
- [3] FANG G, LOU H, YU W, et al. Prediction of the originating site of sinonasal inverted papilloma by preoperative magnetic resonance imaging and computed tomography[J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2016, 6(12): 1221-1228.
- [4] LISAN Q, LACOURREYE O, BONFILS P. Sinonasal inverted papilloma: from diagnosis to treatment[J]. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*, 2016, 133(5): 337-341.
- [5] NYGREN A, KISS K, von Buchwald C, et al. Rate of recurrence and malignant transformation in 88 cases with inverted papilloma between 1998-2008[J]. *Acta Otolaryngol*, 2016, 136(3): 333-336.
- [6] JIANG X D, DONG Q Z, LI S L, et al. Endoscopic surgery of a sinonasal inverted papilloma: Surgical strategy, follow-up, and recurrence rate[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2017, 31(1): 51-55.
- [7] LIU M, LAWSON G, DELOS M, et al. Predictive value of the fraction of cancer cells immunolabeled for proliferating cell nuclear antigen or Ki67 in biopsies of head and neck carcinomas to identify lymph node metastasis: comparison with clinical and radiologic examinations[J]. *Head Neck*, 2003, 25(4): 280-288.
- [8] 孟宪影, 郭旭, 袁益兵. 鼻内翻性乳头状瘤中 COX-2、p21、Ki-67 的表达及 HPV 感染的临床意义[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28(23): 1823-1827.
- [9] BURA M, SEIWERTH S, VLADIKA I, et al. Possible prognostic significance of p53 and Ki 67 in inverted sinonasal papilloma[J]. *Coll Antropol*, 2007, 31(2): 545-549.
- [10] 韩旭, 蒋靖. 慢性紫外线损伤小鼠模型皮肤角质形成细胞中 CK1 和 CK10 的表达研究[J]. *临床皮肤科杂志*, 2016, 45(11): 762-765.
- [11] 姜莉, 涂平. 日光性角化病与基底细胞癌 CK10, Ki-67 和 Bcl-2 的表达差异分析[J]. *中国皮肤性病杂志*, 2015, 29(7): 677-680.
- [12] SHABANA E H, DEPOND J, HOURSEAU M, et al. Production and significance of CCAAT enhancer binding proteins alpha and beta in sinonasal inverted papilloma[J]. *Histol Histopathol*, 2013, 28(1): 53-60.
- [13] (收稿日期: 2018-05-24 修回日期: 2018-06-27)
- [14] (上接第 3765 页)
- [15] FALLET V, CADRANEL J, DOUBRE H, et al. Prospective screening for ALK: Clinical features and outcome according to ALK status[J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(7): 1239-1246.
- [16] KOH Y, KIM D W, KIM T M, et al. Clinicopathologic characteristics and outcomes of patients with anaplastic lymphoma Kinase-Positive advanced pulmonary adenocarcinoma suggestion for an effective screening strategy for these tumors[J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(5): 905-912.
- [17] MA Y, FAN M, DAI L, et al. The expression of TTF-1 and Napsin A in early-stage lung adenocarcinoma correlates with the results of surgical treatment[J]. *Tumor Biol*, 2015, 36(10): 8085-8092.
- [18] SCHILSKY J B, NI A, AHN L, et al. Prognostic impact of TTF-1 expression in patients with stage IV lung adenocarcinomas[J]. *Lung Cancer*, 2017, 108: 205-211.
- [19] (收稿日期: 2018-05-02 修回日期: 2018-06-06)