

## · 实验研究 ·

# 角蛋白 19 在皮肤癌组织中表达特征的实验研究

周鹏翔, 罗成群, 谷永红, 彭长缨, 杨军, 杨元华, 贺全勇, 姜冰

**【摘要】** 目的: 了解角蛋白 19 在皮肤鳞癌和皮肤基底细胞癌组织中的表达特征。方法: 选择皮肤鳞癌标本 6 个和皮肤基底细胞癌标本 4 个, 分别切取癌组织各一块, 同时切取正常皮肤组织 2 块作对照, 应用过氧化酶标记的链霉卵白素 (SP) 免疫组化法, 以小鼠抗人角蛋白 19 型的单克隆抗体来检测角蛋白 19 表达阳性细胞。结果: 正常皮肤组织只有表皮基底细胞层和附属器的部分细胞表达角蛋白 19; I 级鳞癌组织中无角蛋白 19 表达阳性细胞, 但有部分细胞核大小不等, 形态各异, 而且细胞分布较紊乱, 并有许多角化珠; II 级皮肤鳞癌有局灶性的角蛋白 19 表达阳性细胞, 这些细胞分布紊乱, 细胞核大小不等, 形态各异; III 级皮肤鳞癌和基底细胞癌组织内有大量的角蛋白 19 表达阳性细胞, 且分布紊乱, 其核大小不等, 形态各异。结论: 角蛋白 19 在皮肤鳞癌组织中的表达特征与皮肤鳞癌的分化程度有关, 分化程度越低, 角蛋白 19 表达越强, 分化程度越高, 角蛋白 19 表达越弱, 甚至不表达。

**【关键词】** 角蛋白 19; 皮肤鳞癌; 基底细胞癌

**【中图分类号】** R739.5; R512.6 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1001-0726(2003)03-0176-03

**Cytokeratin 19 expression in usual cutaneous carcinomas** ZHOU Peng-xiang, LUO Chen-qun, GU Yong-hong, et al.

The 3<sup>rd</sup> Xiangya Hospital, Central South University, Chnagsha 410013, China

**【Abstract】Objective:** To study the expression characteristics of cytokeratin 19 (CK 19) in usual cutaneous carcinomas.

**Method:** Immunohistochemical (streptavidin-biotin-peroxidase) technique was applied. CK 19 expression was evaluated in specimens including 2 normal skin tissues, 6 squamous cell carcinomas (SCCs) and 4 basal cell carcinomas (BCCs). Only cytoplasm expression was considered as specific. **Result:** CK 19 was expressed in the cytoplasm of epidermal basal, in the cells of the germinative hair matrix and the external root sheath of hair follicles, in the basal cells of the sebaceous gland and in the myoepithelial/basal cells of the sweat glands. All terminally differentiated cells were negative for CK 19. As for the immunostainings of tissue sections, the positive expression cells of CK 19 in BCCs and grade III SCCs were more than those in grade II SCCs, whereas grade I SCCs were negative for CK 19. **Conclusion:** These results indicated that the expression characteristics of cytokeratin (CK 19) in usual cutaneous carcinomas were associated with the grade of SCCs.

**【Key words】** cytokeratin 19; basal cell carcinoma; squamous cell carcinoma

应用过氧化酶标记的链霉卵白素 (SP) 免疫组化法, 以小鼠抗人角蛋白 19 型单克隆抗体来检测表皮干细胞, 是目前检测表皮干细胞比较公认和常用的手段<sup>[1,2,3,4]</sup>, 但表达角蛋白 19 的细胞不仅仅是表皮干细胞, 许多种类的癌细胞也表达角蛋白 19。因此, 如何判断角蛋白 19 表达阳性细胞是表皮干细胞还是癌细胞显得非常重要, 对于皮肤癌是否表达角蛋白 19, 目前文献报道不详细。随着表皮干细胞研究热兴起, 详细掌握皮肤癌角蛋白 19 表达的特

征已显得越来越重要。我们在这方面作了些初步探讨, 现报告如下:

## 一、材料与方法

1. 病例选择与取材: 选择皮肤鳞癌标本 6 个和皮肤基底细胞癌标本 4 个, 分别切取癌组织各一块, 同时切取正常皮肤组织 2 块作对照, 行常规病理检查以及免疫组织化学染色检查。

2. 标本制备: 所有标本经石蜡包埋, 系列

切片,厚度为 5 $\mu$ m。将切片分成两组,分别用于常规病理检查(HE 染色)和免疫组织化学染色检查。

3. 病理学检查:石蜡切片常规脱蜡至水后,用苏木精——伊红染色法(HE 染色法)染色,光镜下观察。

4. 免疫组织化学染色:应用过氧化酶标记的链霉卵白素(SP)免疫组化法,以小鼠抗人角蛋白 19 型的单克隆抗体检测角蛋白 19 表达阳性细胞。角蛋白 19 单抗和 SP 试剂盒购于北京中山生物技术有限公司,实验操作按试剂盒说明书进行。

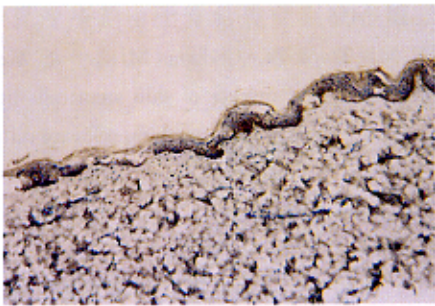
石蜡切片常规脱蜡至水,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟,以消除内源性过氧化物酶活性。PBS 漂洗后置于 0.01mol/l, pH 6.0 的枸橼酸盐缓冲液中行抗原热修复,5% 正常山羊血清封闭后加入一抗,4 $^{\circ}$ C 过夜。PBS 冲洗,滴加生物素标记的二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 分钟, PBS 漂洗,滴加辣根酸标记的链霉卵白素,37 $^{\circ}$ C 孵育 15 分钟后 DAB(二氨基联苯胺)显色,苏木

精复染,常规脱水、透明、封片,显微镜下观察。角蛋白胞浆染成棕黄色为阳性细胞,同时设不加一抗的阴性对照。

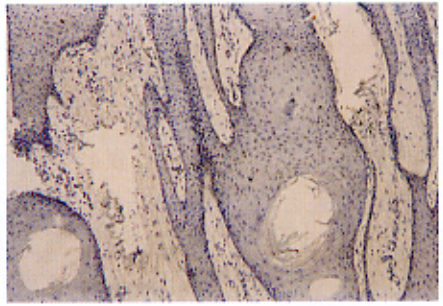
## 二、结果

1. 常规病理学观察:皮肤癌组织常规病理学检查:2 例为 I 级皮肤鳞癌,2 例为 II 级皮肤鳞癌,2 例为 III 级皮肤鳞癌,4 例为基底细胞癌。

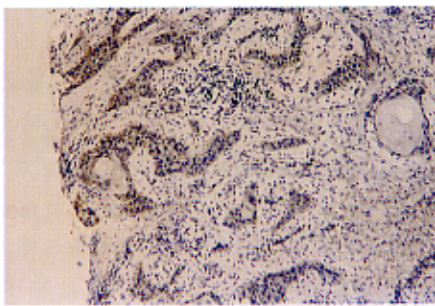
2. 免疫组织化学染色观察:①正常皮肤组织只有表皮基底细胞层和附属器的部分细胞表达角蛋白 19;(照片 1)②I 级鳞癌组织中无角蛋白 19 表达阳性细胞,但有部分细胞核大小不等,形态各异,而且细胞分布较紊乱,并有许多角化珠(照片 2);③II 级皮肤鳞癌有局灶性的角蛋白 19 表达阳性细胞,这些细胞分布紊乱,细胞核大小不等,形态各异(照片 3);④而 III 级皮肤鳞癌和基底细胞癌组织内有大量的角蛋白 19 表达阳性细胞,分布紊乱,细胞核大小不等,形态各异(照片 4)。



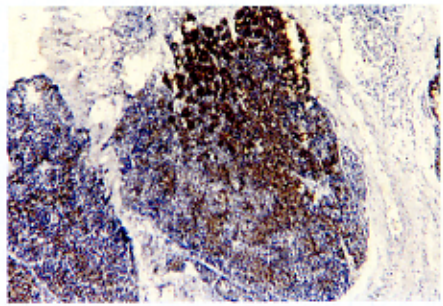
照片 1: 正常皮肤放大 100 倍  
胞浆染成棕黄色者为阳性细胞



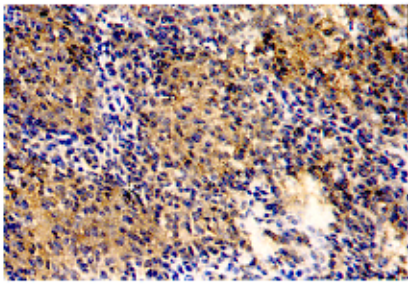
照片 2: I 级鳞癌,放大 100 倍



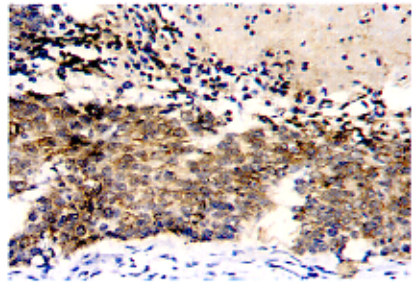
照片 3: II 级鳞癌,放大 100 倍  
胞浆染成棕黄色者为阳性细胞



照片 4a: 基底细胞癌,放大 100 倍  
胞浆染成棕黄色者为阳性细胞



照片 4b: 基底细胞 Ca, 放大 400 倍  
胞浆染成棕黄色者为阳性细胞



照片 4c: III级鳞 Ca, 放大 400 倍  
胞浆染成棕黄色者为阳性细胞

### 三、讨论

表皮干细胞 (epidermal stem cell, Esc) 为皮肤组织特异性干细胞, 通常处于静息状态, 在形态学上表现为细胞体积小、胞内细胞器稀少, 细胞内的 RNA 含量低等非成熟细胞特征。此外它还有三个典型特点: ①慢周期性 (slow cell cycling); ②自我更新能力; ③对皮肤基膜的粘附。由于 Esc 是皮肤及其附属器发生、修复和改建的关键性源泉<sup>[5]</sup>, 所以 Esc 已成为相关专家学者研究的热点。其中应用过氧化物标记的链霉卵白素 (SP) 免疫组化法, 以小鼠抗人角蛋白 19 型的单克隆抗体来检测表皮干细胞, 是目前检测表皮干细胞比较公认和常用的手段。但表达角蛋白 19 的细胞不仅仅是表皮干细胞, 食管、宫颈鳞状细胞癌及各类腺癌 (肝细胞性腺癌例外) 也表达角蛋白 19<sup>[16]</sup>, 因此很有必要了解表皮干细胞与癌组织特别是皮肤癌组织在表达角蛋白 19 方面的不同。我们选择了 10 例皮肤癌组织进行了实验研究, 结果发现与文献报道不完全一致。据文献报道, 皮肤鳞癌不表达角蛋白 19, 而我们的实验结果证明, 只有 I 级皮肤鳞癌不表达角蛋白 19, II 和 III 级皮肤鳞癌均有不同程度的表达角蛋白 19。由于以前的文献报道皮肤鳞癌不表达角蛋白 19, 导致许多学者将皮肤中的角蛋白 19 表达阳性细胞与表皮干细胞等同起来, 而实际上角蛋白 19 表达阳性细胞不等于表皮干细胞, 因为我们的实验发现: ① III 级皮肤鳞癌和基底细胞癌组织内有大量的角蛋白 19 表达阳性细胞 (反复实验后排除了假阳性的可能); ② II 级皮肤鳞癌有局灶性的角蛋白 19 表达阳性细胞。故在发现皮肤组织内有角蛋白 19 表达阳性细胞时, 不能盲目地断定是表皮干细胞。如果光学显微镜下发现角蛋白 19 表达阳性细胞分布杂乱无章, 细胞核大

小不等, 形态各异, 则很可能是癌细胞, 需进一步结合病史和临床表现, 同时结合常规病理学观察结果一起考虑, 这样才能避免错判误诊。

总之, 角蛋白 19 在皮肤鳞癌组织中的表达特征与皮肤鳞癌的分化程度有关, 分化程度越低, 角蛋白 19 表达越强, 分化程度越高, 角蛋白 19 表达越弱, 甚至不表达。

### 参考文献

- [1] 徐荣祥, 许增禄. 烧伤湿性医疗技术对表皮再生干细胞作用的研究 [J]. 中国烧伤创疡杂志, 2000, (3): 41-43.
- [2] 王正国. 干细胞研究进展 [J], 中华创伤杂志, 2002, 18: 455.
- [3] Michel M, Torok N, Godbout MJ, et al. Keratin 19 as a biochemical marker of skin stem cells in vivo and in vitro: Keratin 19-expressing cells are differentially localized in function of anatomic sites, and their number varies with donor age and culture stage [J]. J Cell Science, 1996; 109 (5): 1017.
- [4] 罗成群, 周鹏翔, 谷永红等. 正常皮肤和新生疤痕组织表达角蛋白 19 的比较性研究 [J]. 中国医学工程杂志, 2002, 1.
- [5] 付小兵, 王正国. 现代高新技术与创伤修复 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 97-101, 316.
- [6] 陈志南, 刘民培. 抗体分子与肿瘤 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 321-2.

### 【作者简介】

周鹏翔 (1970—), 男 (汉族), 湖南邵阳人, 中南大学湘雅三医院烧伤整形科在读硕士研究生, 主治医师。

罗成群 (1949—), 男 (汉族), 湖南衡南人, 衡阳医学院毕业, 从事烧伤医学、教学、科研工作, 主任医师, 博士生导师。

谷永红 (1966—), 女 (白族), 湖南桑植县人, 1989 年毕业于湖南医科大学医疗系, 主治医师。

(收稿日期: 2003-02-27; 修回日期: 2003-05-09)