

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2020.01.08

◆ 论著 ◆

CEACAM 6 在涎腺原发性腺样囊性癌中的表达及对肿瘤增殖的影响

马赛¹, 安峰¹, 李立恒¹, 林媛媛², 汪佳¹

(河北北方学院附属第一医院, 1. 口腔科; 2. 病理科, 河北 张家口 075000)

【摘要】目的: 研究涎腺原发性腺样囊性癌 (adenoid cystic carcinoma, ACC) 组织中癌胚抗原相关细胞黏附分子-6 (CEACAM-6) 的表达情况, 并探讨其对肿瘤增殖的影响。**方法:** 应用免疫组织化学 SP 法检测 55 例涎腺 ACC 病理标本中 CEACAM 6 和 Ki-67 的表达情况, 并分析两者表达的相关性, 同时设 55 例癌旁正常涎腺组织为对照组。**结果:** CEACAM-6 和 Ki-67 在涎腺 ACC 组中阳性表达率 (61.82%、54.55%) 均高于癌旁对照组 (18.18%、14.55%), 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。在涎腺 ACC 组织中, CEACAM-6 和 Ki-67 的表达与肿瘤的病理类型、TNM 分期、有无转移、有无神经侵有相关性 ($P < 0.05$), 而与性别、年龄、部位不相关 ($P > 0.05$)。CEACAM-6 和 Ki-67 在涎腺 ACC 中的表达水平呈正相关 ($r_s = 0.711, P = 0.001$)。**结论:** CEACAM-6 高表达促进了涎腺 ACC 的增殖, 影响了肿瘤的发生、发展。

【关键词】 涎腺; 腺样囊性癌; 癌胚抗原相关细胞黏附分子-6; Ki-67

【中图分类号】 R739.87 **【文献标志码】** A

Expression of CEACAM 6 in primary salivary gland adenoid cystic carcinoma and its effect on proliferation

MA Sai¹, AN Feng¹, LI Li-heng¹, LIN Yuan-yuan², WANG Jia¹

(1. Department of Stomatology; 2. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Hebei North College, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

【Abstract】Objective: To investigate the the expression of CEACAM 6 in primary salivary gland adenoid cystic carcinoma (ACC), its effect on proliferation. **Methods:** The expression of CEACAM 6 and Ki-67 in 55 cases of salivary gland ACC and 55 cases of tumor adjacent normal tissues were detected by immunohistochemical method. The relationships between their expression and clinicopathologic features in salivary gland ACC were analyzed. **Results:** The positive expressions of CEACAM 6 and Ki-67 (61.82% vs. 54.55%) was higher in salivary gland ACC tissues than those in tumor adjacent normal tissues (18.18% vs. 14.55%), the difference was statistically significant ($P < 0.01$). In salivary gland ACC group, the expression of CEACAM 6 and Ki-67 were related to the different histological types, the clinical stage of TNM, metastasis and neural invasion ($P < 0.05$). But not related to sex, age and location ($P > 0.05$). There was a positive correlation between the positive expression of CEACAM 6 and Ki-67 in salivary gland ACC tissues ($r_s = 0.711, P = 0.001$). **Conclusion:** High expression of CEACAM 6 promotes the proliferation of salivary gland ACC, affected the occurrence and development of tumor.

【Key words】 Salivary gland; Adenoid cystic carcinoma; CEACAM 6; Ki-67

涎腺腺样囊性癌 (adenoid cystic carcinoma, ACC) 是最常见的一类涎腺恶性肿瘤。因其具有较强的侵袭性, 常早期侵犯周围神经及血管, 造成患者出现疼痛、面瘫、血运转移等一系列症状, 严重影响患者的生活质量, 甚至危及生命。癌胚抗原相关细胞黏附分子 (CEACAMs) 是一组同源性的哺乳动物免疫球蛋白的统称, 属于免疫球蛋白基因超家族, 其

家族成员在多种恶性肿瘤组织中均表达异常^[1-3]。前期研究^[4-5]显示, 在涎腺恶性肿瘤组织中, CEACAM-1 的表达水平显著变化, 且影响肿瘤的血管生成。故本研究进一步检测其同源蛋白 CEACAM-6 在不同病理特征的涎腺 ACC 组织中的表达情况, 并分析其表达水平与肿瘤增殖之间的关系, 以期对涎腺恶性肿瘤的早期诊断及治疗提供相

基金项目: 河北省张家口市科学技术研究与发展计划资助项目 (1811032D-7); 河北北方学院校级科研一般项目 (YB2018022)

作者简介: 马赛 (1984 -), 男, 硕士, 主治医师。E-mail: 275916152@qq.com。

通讯作者: 安峰。E-mail: kq126@126.com。

关依据。

1 资料与方法

1.1 材料与试剂

收集2010年6月至2018年6月河北北方学院附属第一医院收治的涎腺ACC患者55例,其中男性30例,女性25例,年龄19~77岁。以上病例均为涎腺原发癌,均有完整的临床病理资料。治疗方式均为手术扩大切除,术前均未接受放疗、化疗及免疫治疗等其他治疗。病理标本均由资深病理科医师按照WHO 2005年涎腺肿瘤组织分类法对标本的诊断进行准确性确认。另取55例癌旁正常涎腺组织作为实验对照组。兔抗人CEACAM-6单克隆浓缩抗体购于英国Abcam公司,Ki-67抗体购自Santa Crue公司,DAB显色试剂盒购于博士德公司。

1.2 标本处理及检测方法

所有标本均经石蜡包埋、切片,3%甲醇-H₂O₂常温下孵育10 min,灭活内源性过氧化物酶,PBS冲洗标本,滴加10%正常山羊血清封闭游离的结合位点,滴加特异性一抗、二抗,37℃孵育30 min,PBS冲洗,滴加辣根酶HRP标记链酶卵白素工作液,PBS冲洗,DAB显色,复染,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

1.3 结果判定

标本处理后,细胞质内出现颗粒状棕黄色染色为CEACAM-6表达阳性细胞,细胞核中出现棕黄色染色为Ki-67表达阳性细胞。以细胞染色程度及染色细胞百分率来对标本做出进一步评定。染色程度:基本无着色为0分,着色淡为1分,着色适中为2分,着色深为3分;染色细胞百分率:无为0分,<25%为1分,25%~50%为2分,>50%为3分。染色程度得分与染色细胞百分率得分各自相乘:0~1分为阴性(-),2~3分为弱阳性(+),4~6分为阳性(++),6分以上为强阳性(+++)。将阴性和弱阳性表达定义为阴性组,阳性和强阳性表达定义为阳性组。

1.4 统计学分析

运用SPSS 17.0统计软件对数据进行整理分析,用百分率表示计数资料,采用 χ^2 检验分析CEACAM-6和Ki-67的表达与临床病理参数的关系,两者表达的相关性采用Spearman检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CEACAM-6和Ki-67在涎腺ACC组织中的表达

涎腺ACC组织中,CEACAM-6蛋白主要表达于

细胞质中,而Ki-67蛋白则全部表达于细胞核中(图1-4)。55例涎腺ACC组织标本当中CEACAM-6阳性表达率为61.82%(34/55),以强阳性表达为主,明显高于癌旁正常涎腺组织中的18.18%(10/55),差异有统计学意义($P < 0.01$)。Ki-67表达阳性组所占比例为54.55%(30/55),明显高于癌旁正常涎腺组织中的14.55%(8/55),差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表1。

表1 CEACAM 6和Ki-67在两组中的表达

组别	CEACAM 6				Ki-67			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++
涎腺ACC组(n=55)	13	8	23	11	17	8	22	8
正常涎腺组(n=55)	38	7	9	1	40	7	4	4
χ^2 值	21.818				19.459			
P值	0.001				0.001			

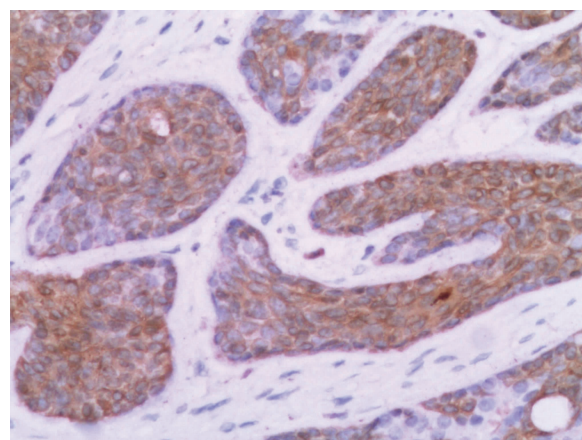


图1 CEACAM-6在ACC中的表达情况(SP×200)

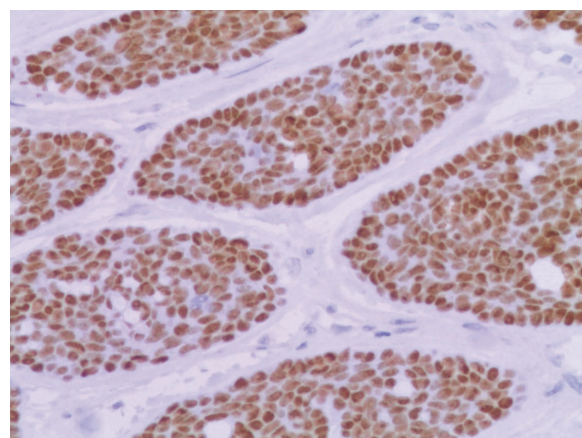


图2 Ki-67在ACC中的表达情况(SP×200)

2.2 CEACAM-6和Ki-67的表达与涎腺ACC临床病理特征的关系

在涎腺ACC组织中,腺样/管状型组的CEACAM-6和Ki-67表达阳性率均低于实性型组,TNM分期I+II期组的CEACAM-6和Ki-67表达阳性率均低于TNM分期III+IV组,无结转移组CEACAM-6和Ki-67表达阳性率均低于有转移组,无

神经侵犯组 CEACAM-6 和 Ki-67 表达阳性率均低于有神经侵犯组,差异有统计学意义($P < 0.05$);而在不同性别、年龄、部位组中 CEACAM-6 和 Ki-67 表达阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

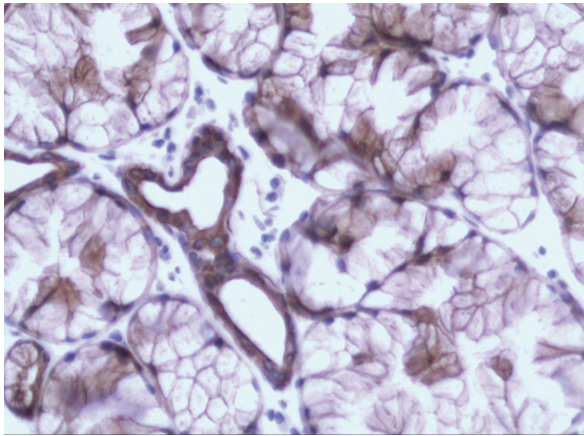


图 3 CEACAM-6 在正常涎腺中的表达情况(SP×200)

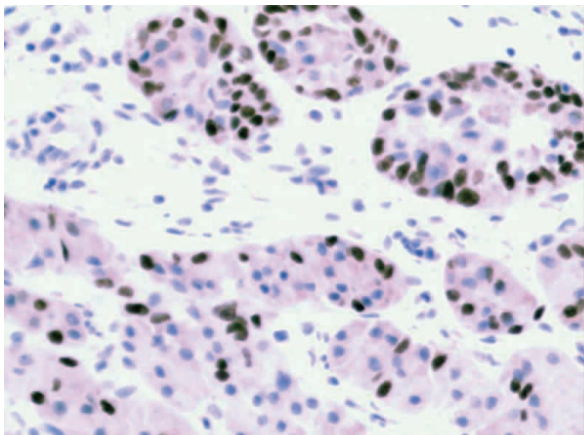


图 4 Ki-67 在正常涎腺中的表达情况(SP×200)

表 2 不同临床病理特征的涎腺 ACC 中 CEACAM-6 和 Ki-67 的表达

参数	例数	CEACAM-6		χ^2/P 值	Ki-67		χ^2/P 值
		阳性	阴性		阳性	阴性	
病理分型				10.857/0.001			13.677/0.001
腺样/管状型	29	12	17		9	20	
实性型	26	22	4		21	5	
TNM 分期				16.075/0.001			9.554/0.002
I+II	34	14	20		13	21	
III+IV	21	20	1		17	4	
转移				4.543/0.033			11.118/0.001
有	14	12	2		13	1	
无	41	22	19		17	24	
神经侵犯				7.326/0.007			7.728/0.005
有	31	24	7		22	9	
无	24	10	14		8	16	
性别				0.092/0.761			1.652/0.199
男性	30	18	12		14	16	
女性	25	16	9		16	9	
年龄				0.147/0.701			0.155/0.694
≥50	28	18	10		16	12	
<50	27	16	11		14	13	
部位				0.266/0.606			0.010/0.921
大涎腺	29	17	12		16	13	
小涎腺	26	17	9		14	12	

2.3 涎腺 ACC 组织中 CEACAM-6 和 Ki-67 表达的相关性

涎腺 ACC 组织中,CEACAM-6 和 Ki-67 共同阳性表达例数为 28 例,共同阴性表达例数为 19 例,CEACAM-6 和 Ki-67 的表达呈正相关($r_s = 0.711$, $P = 0.001$)。见表 3。

表 3 在涎腺 ACC 组织中 CEACAM-6 和 Ki-67 表达的相关性

CEACAM-6	Ki-67		r_s 值	P 值
	+	-		
+	28	6	0.711	0.001
-	2	19		

3 讨论

CEACAM-6 蛋白作为一种细胞黏附分子免疫球蛋白,广泛存在于人体各个组织器官的上皮细胞和血管内皮细胞上。在生理条件下,CEACAM-6 蛋白通过糖基磷脂酰肌醇在上皮细胞和血管内皮细胞上起识别和链接功能^[6]。而在病理条件下,特别是在恶性肿瘤组织中^[7-9],过表达的 CEACAM-6 蛋白促进了上皮细胞的增殖,增强了内皮细胞活力,促进了上皮-间质之间的转化,在肿瘤细胞的侵袭及肿瘤组织内微循环的形成过程中发挥了重要作用。已有研究^[10]证实,CEACAM-6 在头颈部鳞状细胞癌组织中表达异常,而 CEACAM-6 在涎腺恶性肿瘤中是否同样具有检测价值,目前国内外研究较少。为了解 CEACAM-6 蛋白是否在涎腺 ACC 组织的发生、发展中也发挥作用,本研究检测了 CEACAM-6 在涎腺 ACC 组织中的表达情况,结果证实 CEACAM-6 与涎腺 ACC 组织的病理分型、TNM 分期、转移、神经侵犯等生物学行为密切相关,说明在涎腺 ACC 组织中 CEACAM-6 同样发挥着促癌基因的作用,检测 CEACAM-6 的表达水平可以较准确地反映涎腺 ACC 组织的生物学活性。

恶性肿瘤的增殖活性与其恶性程度成正比,与恶性肿瘤的治疗和预后有着紧密的相关性,故临床上把细胞增殖活性作为评估恶性肿瘤组织学分级的一项重要依据。以往研究^[11]证明,通过特异性小干扰 RNA 下调肿瘤组织中 CEACAM-6 基因的表达,可以下调肿瘤细胞的增殖指数,促进肿瘤细胞的凋亡。由此可见,CEACAM-6 基因的表达水平能够调节肿瘤组织的增殖活性。Ki-67 是一种能够反映细胞增殖活性的核蛋白,它主要表达于有增殖活性的细胞中,而在无增殖活性的细胞内则缺乏此蛋白。在多种恶性肿瘤组织中 Ki-67 的表达水平均能较准确地反映细胞的增殖程度,尤其是在涎腺 ACC 组织中它

的作用同样得到了国内外的证实^[12-13]。因此,为了验证 CEACAM-6 在涎腺 ACC 组织内是否也是通过调控肿瘤细胞的增殖,影响肿瘤组织的生物学行为。本研究结果显示,Ki-67 的表达与涎腺 ACC 的病理分型、TNM 分期、转移、神经侵犯等生物学行为密切相关,研究结果与以往研究相一致;CEACAM-6 的表达与 Ki-67 的表达呈正相关,说明在涎腺 ACC 组织中 CEACAM-6 通过调控肿瘤组织的增殖影响了肿瘤组织的生物学活性。另外,本研究还发现 CEACAM-6 在涎腺 ACC 组织中的阳性表达率高于 Ki-67,由此可以推断 CEACAM-6 在涎腺 ACC 的诊断方面价值可能更高,下一步需要更大的样本量加以证实。

综上所述,在涎腺 ACC 组织中 CEACAM-6 高表达通常伴随着肿瘤增殖活性强,预示着肿瘤恶性程度高、侵袭性强、易转移、预后差。临床可以通过检测 CEACAM-6 来判断涎腺肿瘤组织的良恶性,预测 ACC 组织的增殖活性及预后情况,继而有针对性的制定治疗方案。进一步研究 CEACAM-6 影响涎腺 ACC 组织增殖活性的具体机制及方式,有望为涎腺 ACC 的治疗提供可靠的基因靶位,为肿瘤的精准化治疗提供科学依据。

参考文献

- [1] Madeeha A, Kim ME, Ashok A, *et al.* A549 cells adapted to high nitric oxide show reduced surface CEACAM expression and altered adhesion and migration properties[J]. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 2015, 36(3) : 1871 - 1879.
- [2] Michaelidou K, Tzouvaras A, Missitzis I, *et al.* The expression of the CEACAM 19 gene, a novel member of the CEA family, is associated with breast cancer progression [J]. *Inter J Oncol*, 2013, 42(5) : 1770 - 1777.
- [3] 申宝鸣,毕永珺,刘福山. 血清 CEACAM-1 和 CEA 联合检测对结直肠癌早期诊断的临床意义[J]. *中国现代普通外科进展*, 2013, 16(11) : 846 - 849.
- [4] 马赛,安峰,胥爱文,等. CEACAM-1 和 VEGF 在涎腺黏液表皮样癌中的表达及在血管生成中的作用[J]. *河北医科大学学报*, 2017, 38(1) : 43 - 47.
- [5] 马赛,安峰,胥爱文,等. CEACAM-1 和 VEGF 在涎腺腺样囊性癌中的表达及临床意义[J]. *山西医科大学学报*, 2016, 47(11) : 1022 - 1025.
- [6] Niu G, Murad YM, Gao H, *et al.* Molecular targeting of CEACAM6 using antibody probes of different sizes [J]. *J Control Release*, 2012, 161(1) : 18 - 24.
- [7] 俞鹏翼,王中林,张晓膺,等. 活化白细胞黏附分子、癌胚抗原相关细胞黏附分子在非小细胞肺癌组织中的表达及对预后影响[J]. *临床荟萃*, 2015, 30(8) : 870 - 874.
- [8] Wang ZY, Luo C, Wang HD, *et al.* CEACAM6 is associated with osteosarcoma metastasis and facilitates epithelial-mesenchymal transition in osteosarcoma cells [J]. *OncoTargets and therapy*, 2018, 11 : 3159 - 3166.
- [9] Madeeha A, Kim ME, Ashok A, *et al.* A549 cells adapted to high nitric oxide show reduced surface CEACAM expression and altered adhesion and migration properties[J]. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 2015, 36(3) : 1871 - 1879.
- [10] Cameron S, de Long LM, Hazar-Rethinam M, *et al.* Focal overexpression of CEACAM6 contributes to enhanced tumorigenesis in head and neck cancer via suppression of apoptosis [J]. *Mol Cancer*, 2012, 28(11) : 74.
- [11] Long H, Li Q, Wang Y, *et al.* Effective combination gene therapy using CEACAM6-shRNA and the fusion suicide gene γ CDglyTK for pancreatic carcinoma in vitro [J]. *Exp Ther Med*, 2013, 5(1) : 155 - 161.
- [12] Marcinow A, Ozer E, Teknos T, *et al.* Clinicopathologic predictors of recurrence and overall survival in adenoid cystic carcinoma of the head and neck; a single institutional experience at a tertiary care center [J]. *Head & neck*, 2014, 36(12) : 1705 - 1711.
- [13] 王佳娜,沈建军,张艳红,等. Ki-67 及 PTEN 在口腔腺样囊性癌中的表达及临床意义[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2017, 31(6) : 489 - 493.

(收稿日期:2019-09-17)

学术编辑:刘英)