

# CK7 与 Vimentin 表达在透明细胞性与嫌色性肾细胞癌鉴别中的应用

郝习<sup>1</sup>, 谢冰柯<sup>2</sup>, 王冉<sup>3</sup>, 曹静<sup>4</sup>

1. 河南医学高等专科学校内科教研室, 河南 郑州 451191; 2. 河南医学高等专科学校护理教研室, 河南 郑州 451191; 3. 新乡医学院, 河南 新乡 453003; 4. 郑州大学第三附属医院病理科, 河南 郑州 450052

**摘要:** **目的** 观察透明细胞性肾细胞癌(CCRCC)、嫌色性肾细胞癌(CRCC)临床病理特点,探讨细胞角蛋白7(CK7)、波形蛋白(Vimentin)在CCRCC与CRCC鉴别诊断中的价值。**方法** 收集2010至2015年34例CCRCC与15例CRCC患者的临床资料,回顾性分析其手术切除肿瘤样本的病理学形态特点,应用免疫组化法测定肿瘤组织中CK7及Vimentin表达水平,并与20例正常肾组织标本对比,分析其在鉴别诊断中的价值。**结果** CCRCC组CK7阳性率(2.94%)显著低于CRCC组(100%),Vimentin阳性率(100%)显著高于CRCC组(0),差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。正常肾组织中Vimentin表达均为弱阳性,CCRCC组则多为阳性与强阳性,二者比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ );CCRCC分期及分级越高,强阳性所占比例越高( $P < 0.05$ )。正常肾组织中CK7表达均为弱阳性,CRCC则多为阳性、强阳性,二者比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ );不同分级的CRCC患者CK7阳性表达程度有统计学差异( $P < 0.05$ )。CRCC患者Hale胶体铁染色阳性率为80.00%,CCRCC患者无1例阳性,二者比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论** CK7、Vimentin在CCRCC、CRCC鉴别诊断中有重要意义,是预测肾细胞癌发生、进展及预后的关键指标。

**关键词:** 肾细胞癌; 病理; 鉴别; 透明细胞性; 嫌色性; 细胞角蛋白7; 波形蛋白

**中图分类号:** R 737.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)08-1046-04

## Application of CK7 and Vimentin expressions in identification of clear cell renal cell carcinoma and chromophobe renal cell carcinoma

HAO Xi\*, XIE Bing-ke, WANG Ran, CAO Jing

\* Internal Medicine Teaching and Research Section, Henan Medical College, Zhengzhou, Henan 451191, China

Corresponding author: CAO Jing, E-mail: caojingblk@126.com

**Abstract: Objective** To observe the clinicopathological characteristics of clear cell renal cell carcinoma (CCRCC), and chromophobe renal cell carcinoma (CRCC). In addition, to investigate the value of cell keratin 7 (CK7) and Vimentin in differential diagnosis of CCRCC and CRCC. **Methods** The clinical data of 34 CCRCC patients and 15 CRCC patients between 2010 and 2015 were collected, and the pathological morphological characteristics of tumor samples of surgical resection were retrospectively analyzed. The expression levels of CK7 and Vimentin in tumor tissues were determined by immunohistochemical method, and their values in the differential diagnosis of CCRCC and CRCC was analyzed by comparing with 20 normal renal tissues samples. **Results** The positive rate of CK7 in CCRCC patients was significantly lower than that in CRCC patients (2.94% vs 100%,  $P < 0.01$ ), and the positive rate of Vimentin in CCRCC patients was significantly higher than that in CRCC patients (100% vs 0,  $P > 0.01$ ). There was significant difference in Vimentin expression level in normal renal tissues and CCRCC tissues ( $P < 0.05$ ). The Vimentin expression was all weakly positive in normal renal tissues, while it was positive and strong positive mostly in CCRCC patients. The higher the CCRCC staging and grading, the higher the proportion of Vimentin strong positive (all  $P < 0.05$ ). There was significant difference in CK7 expression levels between normal renal tissues and CRCC tissues ( $P < 0.05$ ). The CK7 expression was all weakly positive in normal renal tissues, while it was positive and strong positive mostly in CRCC tissues. There was significant difference in CK7 positive expression

levels among CCRC tissues of different grading ( $P < 0.05$ ). A significant difference was observed in positive rate of Hale colloidal iron staining between CRCC tissues and CCRCC tissues (80.00% vs 0,  $P < 0.01$ ). **Conclusion** CK7 and Vimentin have an important significance in the differential diagnosis of CCRCC and CRCC, and can be served as the key indicators for predicting the occurrence, progression and prognosis of renal cell carcinoma.

**Key words:** Renal cell carcinoma; Pathology; Identification; Clear cell renal cell carcinoma; Chromophobe renal cell carcinoma; Cell keratin 7; Vimentin

在较长时间内,肾细胞癌(RCC)亚型的诊断多依赖于病理形态学与免疫表型,但部分 RCC 形态学可能重叠,较难鉴别<sup>[1]</sup>。其中透明细胞性肾细胞癌(CCRCC)为 RCC 常见病理类型,可累及肾窦脂肪与肾周,可扩散至肾静脉,恶性程度高,患者 5 年生存率低<sup>[2]</sup>。嫌色性肾细胞癌(CRCC)则为少见 RCC 类型,目前多认为其为低恶性肿瘤,患者预后较好,5 年生存率高<sup>[3]</sup>。二者生物学行为相差较大,正确鉴别诊断对指导其临床治疗有重要作用。近期有文献报道,细胞角蛋白 7(CK7)、波形蛋白(Vimentin)在不同类型 RCC 中表达结果差别较大<sup>[4]</sup>。因此,为分析 CK7 与 Vimentin 鉴别 CCRCC、CRCC 的价值,本研究对两种疾病患者分别展开了研究,总结报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 样本选择 收集我院病理科自 2010 至 2015 年作肾癌根治术及部分肾切除术患者的病理标本,34 例为 CCRCC,其中 1 例初始诊断为 CRCC;15 例为 CRCC 标本。另取正常肾组织 20 例标本作对照。

1.2 仪器与试剂 光学显微镜,图像采集系统,石蜡切片机,生物组织包埋机,微波炉,高压锅,电磁炉,湿盒,电热干燥箱,冰箱;Hale 胶体铁试剂、盐酸、氯化铁、亚铁氰化钾、硫酸铝、冰醋酸(均购于天津化学试剂批发公司);免疫组化试剂鼠抗人 CK7、鼠抗人 Vimentin 单克隆抗体,内源性过氧化物酶阻断剂,聚合物辅助剂,辣根酶标记羊抗鼠 IgG 多聚体,DAB 试剂盒,PBS 缓冲液,柠檬酸盐缓冲液(均购于北京中杉金桥生物有限公司)。

### 1.3 方法

1.3.1 资料收集 收集患者性别、年龄、初诊症状等临床资料。

1.3.2 病理学观察 (1)形态观察:观察 RCC 部位、直径,肉眼观察 RCC 形态,有无坏死、出血、囊性病变等改变。(2)组织学观察:参照世界卫生组织肾肿瘤分类标准,对 CCRCC 及 CRCC 患者切片作 HE 染色,观察组织学形态。参照 Fuhrman 标准<sup>[5]</sup>将 RCC 分为 I ~ IV 级四级;依据 AJCC 肾癌分期标准<sup>[6]</sup>将其分为 T1、T2、T3、T4 四期。(3)Hale 胶体铁染色:切片脱

蜡,蒸馏水洗涤,3% 醋酸水溶液冲洗,重复 3 次,胶体铁染色 50 min,3% 醋酸水溶液清洗 4 次,亚铁氰化钾盐酸混合液冲洗 10 min,蒸馏水清洗 4 次,1% 中性红溶液染色 5 min,水洗,乙醇脱水,透明后树胶封固。(4)免疫组化:制备标本,将石蜡标本连续切片,放于载玻片,90 °C 烘烤,1 ~ 2 h 脱蜡,微波炉中低火微波 15 min,抗原热修复,3%  $H_2O_2$  去除过氧化物酶,加一抗,4 °C 孵育一晚,加聚合物辅助剂,37 °C 室温下孵育 20 min,加二抗,孵育 30 min,DAB 显色,复染,脱水、透明后封片,自然晾干,显微镜观察。

1.4 Hale 胶体铁染色阳性标准 肿瘤组织呈弥漫深蓝色反应则视为阳性。

1.5 CK7、Vimentin 染色程度标准 每切片均取 10 个高倍视野,100 个癌细胞计数,观察阳性细胞所占比例,作百分数评估。1 分:阳性细胞比例  $\leq 10\%$ ;2 分:阳性细胞比例为 11% ~ 40%;3 分:阳性细胞比例为 41% ~ 70%;4 分:阳性细胞比例超过 70%。观察阳性细胞染色程度,计分。0 分:无染色;1 分:淡黄色;2 分:棕黄色;3 分:棕褐色。整体评估,取两者分数乘积。0 分:阴性(-);1 ~ 2 分:弱阳性(+);3 ~ 4 分:阳性(++);超过 4 分:强阳性(+++)。

1.6 质控 PBS 缓冲液替代一抗染色组作为空白对照,已知阳性切片作阳性对照。染色结果由资深病理科医师与实验者共同评定,双向一致为最终结果。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 19.0 进行统计学分析。计数资料组间对比采用  $\chi^2$  检验;等级资料组间比较作 Z 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 CCRCC、CRCC 患者临床资料对比 CCRCC、CRCC 患者性别、肿瘤部位、初诊情况、手术方法对比均无统计学差异( $P$  均  $> 0.05$ )。见表 1。

2.2 CCRCC、CRCC 病理分级及分期对比 CCRCC、CRCC 病理分级、分期对比差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ )。见表 2。

2.3 CK7、Vimentin 在 CCRCC、CRCC 中表达情况对比 CCRCC 组 CK7 阳性率(2.94%)显著低于 CRCC 组(100%),其 Vimentin 阳性率(100%)显著高于

CRCC 组(0), 差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.01$ )。见表 3。

2.4 Vimentin 在不同分期分级的 CCRCC 组织和正常肾组织中的表达 正常肾组织中 Vimentin 表达均为弱阳性, CCRCC 则多为阳性与强阳性, 二者比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。在 CCRCC 中, CCRCC 分期及分级越高, Vimentin 强阳性所占比例越高( $P$  均  $< 0.05$ )。见表 4。

2.5 CK7 在不同分期分级的 CCRCC 组织和正常肾组织中的表达 正常肾组织中 CK7 表达均为弱阳

表 5 CK7 在不同分期分级的 CCRCC 组织和正常肾组织中的表达 例(%)

组别	例数	-	+	++	+++
正常肾组织	20	0	20(100.00)	0	0
CCRCC	15	0	3( 20.00)	8(53.33)	4(26.67)
分期 T1 + T2	13	0	1( 7.69)	8(61.54)	4(30.77)
T3 + T4	2	0	1( 50.00)	1(50.00)	0
分级 I + II 级	10	0	1( 10.00)	7(70.00)	2(20.00)
III + IV 级	5	0	3( 60.00)	1(20.00)	1(20.00)
$P_1$ 值				$< 0.05$	
$P_2$ 值				$< 0.05$	

注: $P_1$  表示不同分期间对比; $P_2$  表示 CCRCC 与正常肾组织对比。

性, CRCC 则多为阳性、强阳性, 二者比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。不同分级的 CRCC 患者 CK7 阳性表达程度有统计学差异( $P < 0.05$ )。见表 5。

2.6 Hale 胶体铁染色结果 CRCC 中 12 例阳性, 阳性率为 80.00%; CCRCC 无 1 例阳性, 均为弥漫浅蓝色。两组 Hale 胶体铁染色阳性率对比差异有统计学意义( $\chi^2 = 36.021, P < 0.01$ )。

2.7 镜下观察 CCRCC 被纤维血管分隔, 呈腺泡、实体、腺管及片状结构, 充满红细胞、淡染浆液, 部分可见囊变, 形成非均匀囊腔, 3 例可见假乳头结构。分级 I ~ II 级者肿瘤细胞多呈立方、圆形或多边形, 细胞胞核较清晰, 胞质呈嗜酸性或与透明胞浆混合, 染色深, 核仁小或无; III ~ IV 级胞质淡染, 核深染, 可见或不可见大核仁, 胞膜模糊, 可见核分裂, 坏死。CRCC 镜下常呈实性片状排列, 瘤体组织可见较宽厚血管纤维, 其中 1 例可见小乳头样, 1 例可见坏死。CRCC 可见两种形态, 一类体积大, 排列于血管纤维分隔附近, 胞质半透明; 一类体积小, 胞质呈嗜酸颗粒状。两者均少见核分裂, 少部分可见核仁。CRCC 中, 6 例半透明细胞, 9 例嗜酸细胞, 为嫌色细胞癌的透明及嗜酸变型。

### 3 讨论

RCC 起源肾小管上皮细胞, 可发于肾实质任意部位, 以上下端常见, 少部分侵犯全肾, 占人体全身恶性肿瘤的 2%, 是常见成人肾恶性肿瘤, 可发于任何年龄阶段, 以中老年群体多见, 男性多于女性<sup>[7]</sup>。因肾脏位于腹膜后部, 被腰背肌肉与腹腔内脏器官包裹, 肾脏肿瘤通常无特异性症状, 进展至较晚期可出现疼痛、血尿、腹部包块等“三联征”, 诊断困难<sup>[8]</sup>。目前对肾癌的研究已有数百年, 组织学诊断不断细化, 肾癌的分型亦从最初的组织形态学, 演变为细胞遗传学、分子生物学、病理学及免疫表型相结合<sup>[9]</sup>。

在 RCC 患者中, CCRCC、乳头状肾细胞癌、CRCC 所占比例较大, 其中 CCRCC 占 RCC 病例的 75% 左

表 1 CCRCC、CRCC 患者临床资料对比 例(%)

项目	CCRCC(n=34)	CRCC(n=15)	$\chi^2$ 值	P 值
性别				
男	23(67.65)	11(73.33)	0.158	0.690
女	11(32.35)	4(26.67)		
肿瘤部位				
左	16(47.59)	10(66.67)	1.606	0.204
右	18(52.94)	5(33.33)		
初诊情况				
临床症状	23(67.65)	10(66.67)	0.004	0.946
体检检出	11(32.35)	5(33.33)		
手术方法				
根治术	30(88.24)	14(93.33)	0.295	0.586
部分切除	4(11.76)	1(6.67)		

表 2 CCRCC、CRCC 病理分级及分期对比 例(%)

分级与分期	CCRCC(n=34)	CRCC(n=15)	$\chi^2$ 值	P 值
分级				
I 级 + II 级	25(73.53)	10(66.67)	0.240	0.624
III 级 + IV 级	9(26.47)	5(33.33)		
分期				
T1 + T2	26(76.47)	13(86.68)	0.666	0.414
T3 + T4	8(23.53)	2(13.33)		

表 3 CK7、Vimentin 在 CCRCC、CRCC 中表达情况对比 例(%)

表达	CCRCC(n=34)	CRCC(n=15)	$\chi^2$ 值	P 值
CK7				
阴性	33(97.06)	0	44.586	0.000
阳性	1(2.94)	15(100.00)		
Vimentin				
阴性	0	15(100.00)	49.000	0.000
阳性	34(100.00)	0		

表 4 Vimentin 在不同分期分级的 CCRCC 组织和正常肾组织中的表达 例(%)

组别	例数	-	+	++	+++
正常肾组织	20	0	20(100.00)	0	0
CCRCC	34	0	3( 8.82)	18(52.94)	13(38.24)
分期 T1 + T2	26	0	3( 11.54)	16(61.54)	7(26.92)
T3 + T4	8	0	0	2(25.00)	6(75.00)
分级 I + II 级	25	0	3( 12.00)	17(68.00)	5(20.00)
III + IV 级	9	0	0	1(11.11)	8(88.89)
$P_1$ 值				$< 0.05$	
$P_2$ 值				$< 0.05$	
$P_3$ 值				$< 0.05$	

注: $P_1$  表示不同分期间对比; $P_2$  表示不同分期间对比; $P_3$  表示 CCRCC 与正常肾组织对比。

右,且恶性程度高<sup>[10]</sup>。有研究对 RCC 患者预后进行分析,结果显示 CCRCC 患者预后显著差于 CRCC 患者。而 CRCC 则为 RCC 中相对少见类型,为低度恶性 RCC,患者预后较好<sup>[11]</sup>。二者虽生物学行为差异较大,但临床表现与病理特点重叠性较高,鉴别诊断困难,而正确区分二者对临床治疗有积极的指导作用<sup>[12]</sup>。

本组中,CCRCC、CRCC 基础资料对比显示,两组发病年龄类似,好发部位相近,男性发病率稍高,且临床表现无明显差异,与早期研究相符<sup>[13]</sup>。而 CCRCC 患者肿瘤以单灶性结节为主,呈肾皮质表层突起,以圆形或类圆形肿块多见,直径 6 cm 左右,周围可见假包膜形成,与正常组织分界清晰。分化程度低的 CCRCC,其细胞胞质可见丰富脂质,切面呈金黄色<sup>[14]</sup>。分化程度较高者胞质含脂质少,多可见钙化、坏死、囊性病变或出血。肿瘤瘤体常呈腺管、实体或腺泡状生长,血管网壁薄且纤细。CRCC 大部分亦同为单灶型结节,肿块多位于皮髓质、肾皮质交界处,边界模糊,呈分叶状,直径 7 cm 左右,剖面以淡黄色、灰白色多见,且质地均匀,可见假包膜,大肿瘤中央可见非规则出血性坏死,未见纤维化或囊性病变。Hale 胶体铁染色结果显示,CRCC 阳性率显著高于 CCRCC。早期较多研究均认为 Hale 胶体铁染色阳性是诊断 CRCC 的特异性标志<sup>[15]</sup>,但胶体铁染色液配置复杂,pH 值控制要求高,操作技术要求较高,因此应用有局限性。

CK7 为低分子量细胞角蛋白。以往有较大一部分研究者认为 CK7 在鉴别 CCRCC 与 CRCC 中有较高的价值。本组中,CRCC 中 15 例患者 CK7 表达均呈阳性,而 CCRCC 中 33 例为阴性,仅 1 例可见局灶性阳性,对照临床病理资料,其初诊为透明细胞、嫌色细胞混合型肾腺癌,且以透明细胞为主,镜下与 CRCC 鉴别困难。Vimentin 则为中间丝蛋白,参与细胞骨架形成过程,分布于细胞与间叶组织内,为间叶组织肿瘤起源的重要标志。近年来也有较多文献证实,较多上皮性肿瘤细胞均可表达 Vimentin<sup>[16]</sup>。而 CCRCC 为来源于上皮细胞的肿瘤类型,其肿瘤细胞附近间质及细胞内间质均可见 Vimentin 表达,但未见癌变的正常肾小管上皮细胞则基本无 Vimentin 表达,提示 Vimentin 的表达与肾癌发生及进展存在密切关联。本组 34 例 CCRCC 患者 Vimentin 表达均为阳性,CRCC 则均为阴性,证实 Vimentin 在鉴别 CCRCC 与 CRCC 中有重要作用,可作为 CCRCC 的关键特征表现。

综上所述,CK7、Vimentin 在 CCRCC、CRCC 鉴别

诊断中有重要意义,是预测肾细胞瘤发生、进展及预后的关键指标,CCRCC 患者 Vimentin 表达阳性率高,CRCC 患者 CK7 表达阳性率高。

#### 参考文献

- [1] 刘军,韩桂萍,姜阁,等. 肾常见上皮性肿瘤 53 例免疫表型及胶体铁染色的研究[J]. 诊断病理学杂志,2011,18(5):324-328.
- [2] 孙荣超,周志毅,蔡颖,等. 乳头状肾细胞癌 32 例临床病理分析[J]. 临床与实验病理学杂志,2014,30(9):1011-1015.
- [3] 杨晓群,苗娜,甘华磊,等. 透明细胞乳头状肾细胞癌的临床病理特征[J]. 中华病理学杂志,2015,44(6):372-376.
- [4] 岳君秋,张扬鹤龄,郭芳,等. 转移性肾细胞癌 14 例临床病理学特征及鉴别诊断[J]. 临床与实验病理学杂志,2013,29(2):150-154.
- [5] 王晨曦,柴大敏,马莉,等. 嫌色性肾细胞癌与嗜酸细胞瘤的临床病理分析与比较[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2014,23(4):377-381.
- [6] 宋腾腾,蒋艳霞,丁立明,等. 嗜酸细胞性乳头状肾细胞癌的临床病理观察(附 2 例报告)[J]. 齐鲁医学杂志,2012,27(1):22-24.
- [7] 王艳芬,张新华,饶秋,等. 实性乳头状肾细胞癌 1 例的免疫表型和细胞遗传学特征[J]. 临床与实验病理学杂志,2012,28(8):912-913,917.
- [8] 史雪琴,沈慧. 多房囊性肾细胞癌与透明细胞性肾细胞癌的免疫组化特征比较分析[J]. 肿瘤学杂志,2014,20(2):168-170.
- [9] Xu G, Hou CR, Jiang HW, et al. Serum protein profiling to identify biomarkers for small renal cell carcinoma[J]. Indian J Biochem Biophys,2010,47(4):211-218.
- [10] Ding Y, Huang D, Zhang Z, et al. Combined gene expression profiling and RNAi screening in clear cell renal cell carcinoma identify PLK1 and other therapeutic kinase targets[J]. Cancer Res,2011,71(15):5225-5234.
- [11] 曹薇,徐灿,高霁峰. 嫌色性肾细胞癌 17 例临床病理学分析[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2013,22(5):432-435.
- [12] 王功伟,王颖,陈云新,等. 透明细胞乳头状肾细胞癌临床病理观察[J]. 诊断病理学杂志,2015,22(4):208-211.
- [13] Whitson JM, Reese AC, Meng MV, et al. Population based analysis of survival in patients with renal cell carcinoma and venous tumor thrombus[J]. Urol oncol,2013,31(2):259-263.
- [14] 王晟宏,段光杰,章容,等. 具有乳头状结构的透明细胞肾细胞癌临床病理分析[J]. 临床与实验病理学杂志,2010,26(2):203-207.
- [15] La Rochelle J, Klatt T, Dastane A, et al. Chromosome 9p deletions identify an aggressive phenotype of clear cell renal cell carcinoma[J]. Cancer,2010,116(20):4696-4702.
- [16] Liang J, Zhang Y, Jiang G, et al. MiR-138 induces renal carcinoma cell senescence by targeting EZH2 and is downregulated in human clear cell renal cell carcinoma[J]. Oncol Res,2013,21(2):83-91.

收稿日期:2016-02-18 修回日期:2016-03-10 编辑:王国品