

# C/EBP $\alpha$ 和 CK10 在鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤中的表达及临床意义\*

袁益兵<sup>1</sup> 孟宪影<sup>1</sup> 邬旭<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:检测鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤(NIP)组织中 CCAAT 增强子结合蛋白  $\alpha$ (C/EBP $\alpha$ )、CK10 的表达,进一步探讨其在 NIP 发生、发展及复发中的作用。方法:应用免疫组织化学 PV-6000 二步法检测 30 例 NIP 组织、20 例鼻息肉(NP)组织和 10 例正常鼻黏膜(NM)组织中 C/EBP $\alpha$ 、CK10 的表达。结果:①NM、NP 与 NIP 组织中 C/EBP $\alpha$ 、CK10 的阳性表达均差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ );②单纯 NIP 组与不典型增生 NIP 组中 C/EBP $\alpha$ 、CK10 的阳性表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ );③复发 NIP 组与未复发 NIP 组中 C/EBP $\alpha$ 、CK10 的阳性表达率差异有统计学意义( $P < 0.05$ );④NIP 组中 C/EBP $\alpha$  和 CK10 的表达呈正相关( $r = 0.578, P < 0.01$ )。结论:C/EBP $\alpha$ 、CK10 在 NIP 上皮增殖与分化的调控中可能起了重要作用,C/EBP $\alpha$  和 CK10 的高度表达可作为 NIP 复发的指标。

**[关键词]** 鼻内翻性乳头状瘤;CCAAT 增强子结合蛋白  $\alpha$ ;CK10;复发

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2015.05.015

**[中图分类号]** R739.6 **[文献标志码]** A

## Expression and significance of C/EBP $\alpha$ and CK10 in nasal inverted papilloma

YUAN Yibing MENG Xianying WU Xu

(Department of Otolaryngology, the Second Hospital of Dalian Medical University, Dalian, 116027, China)

Corresponding author: WU Xu, E-mail: wu-xu2008@sohu.com

**Abstract Objective:** The expression of C/EBP $\alpha$ , CK10 in nasal inverted papilloma (NIP) were detected in the study. Further discussed their significance in genesis, development and recurrence of NIP. **Method:** Three groups including nasal cavity mucosae (NM 10 cases), nasal polyp (NP 20 cases) and NIP (30 cases) were selected in the study. Expression of C/EBP $\alpha$ , CK10 were detected by immunohistochemistry PV-6000 method. **Result:** ① The different expression of C/EBP $\alpha$  and CK10 in the group of NM, NP and NIP was statistically significant ( $P < 0.05$ ). ② The different expression of C/EBP $\alpha$ , CK10 in the group of benign NIP and NIP with atypical hyperplasia was statistically significant ( $P < 0.05$ ). ③ The different expression of C/EBP $\alpha$  and CK10 in the group of NIP with recurrence and NIP with no recurrence was statistically significant,  $P < 0.05$ , respectively. ④ Our result indicate that the relationship of C/EBP $\alpha$  and CK10 ( $r = 0.578, P < 0.01$ ) was direct correlation. The difference was statistically significant. **Conclusion:** In conclusion, the present results describe C/EBP $\alpha$ , CK10 expression in NIP and their possible implication in the regulation of tumor growth and differentiation. C/EBP $\alpha$  and CK10 production may prove useful in terms of a prognostic marker for the recurrence in nasal inverted papilloma.

**Key words** nasal inverted papilloma; C/EBP $\alpha$ ; CK10; recurrence

鼻内翻性乳头状瘤(nasal inverted papilloma, NIP)是临床上较常见的鼻腔良性肿瘤,其发病率占鼻和鼻窦肿瘤的 0.4%~4.7%,复发率为 25%~74%,恶变率介于 5%~15%<sup>[1]</sup>。关于其病因、发病机制及复发因素至今仍不清楚。现代肿瘤学认为肿瘤的发生、发展及复发过程与细胞的增殖、分化有关。近年来,一些研究发现 CCAAT 增强子结合蛋白  $\alpha$ (C/EBP $\alpha$ )、CK10 在细胞增殖、分化过程中

起着重要的调控及效应作用,而在鼻部肿瘤方面的研究较少。本研究采用免疫组织化学 PV-6000 二步法检测 C/EBP $\alpha$ 、CK10 在正常鼻黏膜(NM)、鼻息肉(NP)组织及 NIP 组织中的表达情况,进一步探讨 NIP 的发病机制。

### 1 资料与方法

#### 1.1 临床资料

以 2007-01—2012-12 期间经我院明确诊断的 30 例 NIP、20 例 NP、10 例 NM 石蜡包埋组织标本为研究对象。30 例 NIP 组织中,男 22 例,女 8 例;年龄 10~85 岁,平均 53.17 岁;病史 1 个月~30 年,平均 66.60 个月。其中患者主诉鼻塞,伴流脓

\* 基金项目:辽宁省自然科学基金(鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤的相关研究)

<sup>1</sup> 大连医科大学第二附属医院耳鼻咽喉科(辽宁大连, 116027)

通信作者:邬旭, E-mail: wu-xu2008@sohu.com

涕 19 例,伴鼻出血 18 例,同时伴流脓涕和鼻出血 13 例,头痛 11 例,嗅觉下降 3 例;根据 Krouse 分期, T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub>、T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 期分别为 2 例、18 例、9 例、1 例; 14 例患者有 1 次或多次手术史,12 例患者伴不典型增生(不典型增生 NIP 组),均为轻度,其中 9 例为 NIP 复发且均伴不典型增生(复发 NIP 组)。以 20 例 NP 组织(均为单侧)和 10 例 NM 组织(鼻中隔偏曲手术时取钩突处黏膜,并排除变应性鼻炎、鼻窦炎等)为对照组。所有组织标本均经 10% 甲醛溶液固定,常规石蜡包埋,3 μm 厚的连续防脱切片分别做 C/EBP<sub>α</sub>、CK10 免疫组织化学染色。

1.2 实验试剂

鼠抗人 CK10 单克隆抗体(工作液 3 ml),兔抗人 C/EBP<sub>α</sub> 单克隆抗体(1 : 200,二磷酸盐缓冲液 PBS 稀释),PV-6000 二步法免疫组织化学检测试剂,浓缩型 DAB 试剂盒(1 : 20,现用现配),修复液 EDTA(枸橼酸盐缓冲液),冲洗液 PBS。C/EBP<sub>α</sub> 来自美国 sata 公司,余试剂均来至北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 方法

染色方法:防脱切片烤片、脱蜡、水化;煤气火高压锅抗原修复;按照二步法滴加一抗、二抗;显微镜下控制显色;复染、分化、反蓝、封片。

结果判定方法:每张切片在×400 倍视野下随机选择和评价 10 个代表区域中共 1 000 个细胞中阳性细胞的数量,且均由 2 个观察员独立进行观察,计算平均每个视野中阳性细胞的百分率。平均每个区域的阳性细胞 > 50%,记录为(+++);阳性细胞 > 25%~50%,记录为(++);阳性细胞 10%~25%,记录为(+);阳性细胞 < 10%,记录为(-),阴性。

1.4 统计学处理

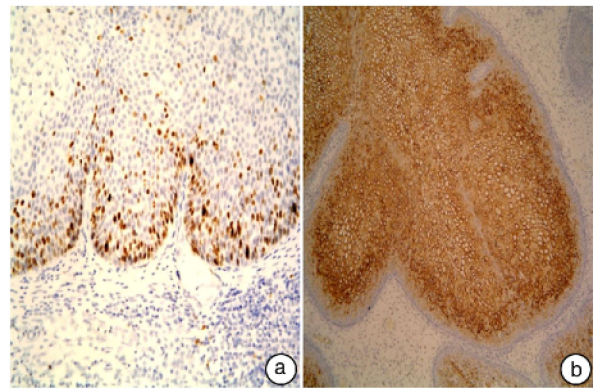
数据输入 SPSS 17.0 软件,采用  $\chi^2$  检验、Kruskal-Wallis H 检验、Mann-Whitney U 检验、

Spearman 秩相关检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NIP 组 C/EBP<sub>α</sub>、CK10 的免疫组织化学染色

C/EBP<sub>α</sub>、CK10 的表达与 NIP 患者的年龄、性别、Krouse 分期、临床症状等无明显相关性。C/EBP<sub>α</sub> 主要表达在复层柱状上皮和鳞状上皮的细胞核中,偶在细胞质中染色;CK10 表达在肿瘤上皮细胞的细胞质中,细胞核无着色;两者的阳性颜色均为棕黄色。NIP 组 C/EBP<sub>α</sub>、CK10 的免疫组织化学染色结果见图 1。



a: C/EBP<sub>α</sub> 的表达 ×200; b: CK10 的表达 ×100。

图 1 NIP 组 C/EBP<sub>α</sub>、CK10 的免疫组织化学染色

2.2 C/EBP<sub>α</sub>、CK10 在 NM 组、NP 组及 NIP 组的表达情况

C/EBP<sub>α</sub>、CK10 在 NM 组、NP 组及 NIP 组的表达情况见表 1。

2.3 C/EBP<sub>α</sub>、CK10 在单纯 NIP 组与不典型增生 NIP 组、复发 NIP 组与未复发 NIP 组的表达情况

C/EBP<sub>α</sub>、CK10 在单纯 NIP 组与不典型增生 NIP 组、复发 NIP 组与未复发 NIP 组的表达情况见表 2、3。

表 1 C/EBP<sub>α</sub>、CK10 在 NM 组、NP 组及 NIP 组的表达情况

组别	例数	CK10				阳性率/%	C/EBP <sub>α</sub>				阳性率/%
		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
NIP 组	30	8	7	6	9	73.33	14	12	4	0	53.33
NP 组	20	13	5	2	0	35.00 <sup>1)</sup>	16	4	0	0	20.00 <sup>1)</sup>
NM 组	10	10	0	0	0	0 <sup>1)2)</sup>	10	0	0	0	0 <sup>1)</sup>

与 NIP 组比较,<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与 NP 组比较,<sup>2)</sup> $P < 0.05$ 。

表 2 C/EBP<sub>α</sub>、CK10 在单纯 NIP 组与不典型增生 NIP 组的表达情况

组别	例数	CK10				阳性率/%	C/EBP <sub>α</sub>				阳性率/%
		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
单纯 NIP 组	18	8	6	3	1	55.56	14	4	0	0	22.22
不典型增生 NIP 组	12	0	1	3	8	100.00 <sup>1)</sup>	0	8	4	0	100.00 <sup>1)</sup>

与单纯 NIP 组比较,<sup>1)</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 C/EBP $\alpha$ 、CK10 在复发 NIP 组与未复发 NIP 组的表达情况

组别	例数	CK10		阳性率/%	C/EBP $\alpha$		阳性率/%
		+~++++	-		+~++++	-	
复发 NIP 组	9	9	0	100.00	8	1	88.89
未复发 NIP 组	21	13	8	61.90 <sup>1)</sup>	8	13	38.10 <sup>1)</sup>

与复发 NIP 组比较,<sup>1)</sup> $P < 0.05$ 。

2.4 C/EBP $\alpha$  和 CK10 在 NIP 组织中表达的相关性

C/EBP $\alpha$  和 CK10 在 NIP 组织中的表达呈正相关,可定位在同一细胞或区域中,差异有统计学意义( $r=0.578, P < 0.01$ )。见表 4。

表 4 C/EBP $\alpha$  和 CK10 在 NIP 组织中表达的相关性

	C/EBP $\alpha$			
	-	+	++	+++
CK10				
-	7	1	0	0
+	4	3	0	0
++	1	4	1	0
+++	2	4	3	0

3 讨论

3.1 C/EBP $\alpha$  与 NIP 的关系

C/EBP 是具有特殊的基本区域亮氨酸拉链并可结合到靶 DNA 中的转录因子。Hankey 等<sup>[2]</sup>和 Muller<sup>[3]</sup>认为 C/EBP $\alpha$  的 mRNA 可编码蛋白,调控多种细胞包括上皮细胞在内的增殖与分化。Gery 等<sup>[4]</sup>的研究指出,在去除 C/EBP $\alpha$  基因的小鼠肝和肺组织中细胞增殖表达缺陷。Loomis 等<sup>[5]</sup>研究 C/EBP $\alpha$  基因在多种肿瘤细胞中的作用,认为 C/EBP $\alpha$  有抑制肿瘤生长的功能。Shabana 等<sup>[6]</sup>在研究 26 例 NIP 和 8 例可疑 NIP 的 NP 中 C/EBP $\alpha$  的表达及细胞增殖和分化的目标时,发现在正常上皮细胞中均无 C/EBP $\alpha$  表达,只在 NIP 和 NP 组织中被检测到,并指出 C/EBP $\alpha$  增强子结合蛋白参与 NIP 的发病机制和高表达的 C/EBP $\alpha$  可作为肿瘤复发的一个参考指标。本研究结果表明,C/EBP $\alpha$  在 NIP 中的意义与 Shabana 等<sup>[6]</sup>的研究结果大致相同。此外,Wooldridge 等<sup>[7]</sup>认为 C/EBP $\alpha$  和 C/EBP $\beta$  的增殖周期与各种类型的 HPV 密切相关;最近 Lawson 等<sup>[8]</sup>证明了 NIP 的复发与高危病毒之间密切相关。Dooher 等<sup>[9]</sup>的研究表明,C/EBP $\alpha$  和 C/EBP $\beta$  与核因子 NF-10-B p50 结合可激活抗凋亡靶标,如 Bcl2,其形成同源或异二聚体以激活靶基因产生不同影响。Bennett<sup>[10]</sup>认为 C/EBP $\alpha$  在鳞状细胞癌中表达下调;Grandinetti 等<sup>[11]</sup>认为 C/EBP $\alpha$  表达上调可抑制癌症的发生或发展。就 C/EBP $\alpha$  与 HPV 的关系及在 NIP 伴恶变中的表达

还需进一步研究,我们相信 C/EBP $\alpha$  在肿瘤病因、诊断、治疗和预后的研究中将会产生深远影响。

3.2 CK10 与 NIP 的关系

NIP 以鳞状上皮化生和柱状上皮增生为特点,上皮在其增殖、生长和成熟过程中,CK10 作为角化和终末分化的标记,其在组织中阳性表达越高,分化越高。肖艳景等<sup>[12]</sup>报道 CK10 在宫颈上皮内瘤变中的表达明显低于宫颈不成熟鳞状化生组,多为不表达或低表达。Carla 等<sup>[13]</sup>研究发现子宫颈鳞状细胞癌中也有一些细胞表达 CK10 的表达,这些细胞可以分化到终末阶段,说明一些肿瘤细胞也可能分化成接近正常的细胞。王元元等<sup>[14]</sup>认为 CK10 是分化程度高的表皮细胞的特征蛋白。Shabana 等<sup>[6]</sup>在 26 例 NIP 和 8 例 NP 组织基底层细胞的细胞质中检测出 CK10,说明 CK10 在 NIP 中高度表达与其发病、复发有关,且 C/EBP $\alpha$  与 CK10 免疫表达密切相关,这 2 种蛋白可定位在同一细胞中。本研究也得出相同的结果,且 NIP 中细胞可以分化到终末阶段,30 例 NIP 中只有 1 例恶变,其 CK10 表达为阴性,这也说明 NIP 中 CK10 的高度表达可能与其恶变程度低有关,但这种关系还需进一步研究。

总之,NIP 的发病、复发是多因素、多步骤参与的复杂过程,本研究结果说明 C/EBP $\alpha$ 、CK10 在 NIP 上皮增殖与分化的调控中可能起重要作用,C/EBP $\alpha$  和 CK10 的高度表达可作为 NIP 复发的指标。

参考文献

[1] LESPERANCE M M, ESCALMADO R M. Squamous cell carcinoma arising in inverted papilloma[J]. Laryngoscope, 1995, 105: 178-183.

[2] HANKEY W, SILVER M, SUN B S, et al. Differential effects of sumoylation on the activities of CCAAT enhancer binding protein alpha(C/EBP $\alpha$ )p42 versus p30 may contribute in part, to aberrant C/EBP $\alpha$  activity in acute leukemias[J]. Hematol Rep, 2011, 3: e5-e5.

[3] MULLER C. Nucleolar retention of a translational C/EBP $\alpha$  isoform stimulates rDNA transcription and cell size[J]. EMBO J, 2010, 29: 897-909.

[4] GERY S, TANOSAKI S, BOSE S, et al. Down-regulation and growth inhibitory role of C/EBP $\alpha$  in breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11: 3184-3490.

[5] LOOMIS K D, ZHU S, YOON K, et al. Genetic abla-

- tion of CCAAT/enhancer binding protein alpha in epidermis reveals its role in suppression of epithelial tumorigenesis[J]. *Cancer Res*, 2007, 67: 6768—6776.
- [6] SHABANA E H, DEPOND T 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: 53—60.
- [7] WOOLDRIDGE T R, LAIMINS L A. Regulation of human papillomavirus type 31 gene expression during the differentiation-dependent life cycle through histone modifications and transcription factor binding[J]. *Virology*, 2008, 374: 371—380.
- [8] LAWSON W, SCHLECHT N F, BRANDWEINGENSLER M. The role of the human papillomavirus in the pathogenesis of Schneiderian inverted papillomas: an analytic overview of the evidence[J]. *Head Neck Pathol*, 2008, 2: 49—59.
- [9] DOOHER J E, PAZ-PRIEL I, HOUNG S, et al. C/EBP alpha, C/EBP alpha oncoproteins, or C/EBP beta preferentially bind NF-kappa B p50 compared with p65, focusing therapeutic targeting on the C/EBP: p50 interaction[J]. *Molecular Cancer Res*, 2011, 9: 1395—1405.
- [10] BENNETT K L. Activator protein 2 alpha (AP2alpha) suppresses 42kDa C/CAAT enhancer binding protein alpha (p42C/EBPalpha) in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124: 1285—1292.
- [11] GRANDINETTI K B, STEVENS T A, HA S, et al. Overexpression of TRIB2 in human lung cancers contributes to tumorigenesis through downregulation of C/EBPalpha[J]. *Oncogene*, 2011, 30: 3328—3335.
- [12] 肖艳景, 张全武, 姜欣, 等. CK10、CK14、CK17、P16 在宫颈不成熟鳞状化生及宫颈上皮内瘤变中的表达[J]. *医药论坛杂志*, 2010, 31(2): 132—134.
- [13] CARLA C, MATOS A, LANDIM B. Keratin 8, 10, 13 and 17 are useful markers in the diagnosis of human cervix carcinomas[J]. *Hum Pathol*, 2004, 35: 546—551.
- [14] 王元元, 伍津津. 人原代表皮干细胞及其传代细胞生物学特性的比较[J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(1): 24—27.

(收稿日期: 2014-11-09)

(上接第 436 页)

- [8] 徐先荣, 张扬, 金占国, 等. 航空性中耳炎的实验研究[J]. *临床耳鼻咽喉科杂志*, 2006, 20(22): 230—231.
- [9] ROSENKVIST L, KLOKKER M, KATHOLM M. Upper respiratory infections and barotrauma in commercial pilots: a retrospective survey[J]. *Aviat Space Environ Med*, 2008, 79: 960—963.
- [10] Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders, 2nd ed[J]. *Cephalalgia*, 2004, 24 (Suppl 1): 1—160.
- [11] Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version)[J]. *Cephalalgia*, 2013, 33: 629—808.
- [12] LEVINE H L, SETZEN M, CADY R K, et al. An otolaryngology, neurology, allergy, and primary care consensus on diagnosis and treatment of sinus headache[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2006, 134: 516—523.
- [13] TOSUN F, DURMAZ A, KIVRAKDAL C, et al. Severe maxillary sinus barotrauma associated with car travel[J]. *Int J Pediatric Otorhinolaryngol Extra*, 2007, 2: 151—153.
- [14] DE ROTALIER P, CONESSA S C, TALFER S, et al. Barotraumatismes sinusiens[J]. *EMC Otorhinolaryngologie*, 2004, 1: 232—240.
- [15] MARZETTI A, TEDALDI M, PASSALI F M. The role of balloon sinuplasty in the treatment of sinus headache[J]. *Otolaryngologia Polska*, 2014, 68: 15—19.
- [16] O'REILLY B J, LUPA H, MCRAE A. The application of endoscopic sinus surgery to the treatment of recurrent sinus barotrauma [J]. *Clin Otolaryngol*, 1996, 21: 528—532.

(收稿日期: 2014-11-18)