

## 细胞角蛋白

细胞角蛋白 (Cytokeratin, CK) 是病理科免疫组化实验中最常用的一类分子标记物, 主要用于上皮组织以及上皮来源肿瘤的诊断与鉴别鉴别。为此, 我们将 NordiQC 网站的相关资料翻译介绍给大家。

### 一、细胞角蛋白的特性

细胞角蛋白属于中间丝蛋白, 分子量分布在 40~68 kDa, 根据等电点不同可将其分为 20 种不同的酸性细胞角蛋白 (又称 I 型细胞角蛋白) 和碱性细胞角蛋白 (又称 II 型细胞角蛋白)。CK9~20 共有 12 个成员属于 I 型 CK, CK1~8 共有 8 个成员属于 II 型 CK。在组装中间丝过程中, 特定的 I 型 CK 通常与特定的 II 型 CK 配对出现, 形成异源二聚体。配对的 II 型 CK 的分子量通常比 I 型 CK 的分子量大 7~9kDa。一种细胞中通常可包括 2~10 种不同的 CK 分子。几乎所有的上皮都表达 CK。

细胞角蛋白是上皮分化的基本分子标记物, 其组成可反映不同的细胞类型和不同的分化状态。除 CK3 与 CK12 仅在角膜中表达外, 其它 CK 可表达在多种上皮细胞中。在少数非上皮细胞 (如: 肌成纤维细胞、蛛网膜细胞、平滑肌细胞、小血管内皮细胞) 中也有 CK 表达。多数 CK 阳性的细胞, 中间丝纤维蛋白疏松呈网状分布; 而复层鳞状上皮, 纤维排列成密集, 与桥粒相连。

表一.角蛋白-正常组织中的表达模式

细胞类型	碱性(B, II): 酸性 (A, I):	1	4	5	7	8	10	13	14	17	19	20	18
复层鳞状 上皮	角化上皮, 基底细胞层以上部分	+++	-	+	++	-1	-	-	-	-	-	-	-
	非角化上皮 中间和表层细胞	+	+++	+++	+	++	-	-	-	-	-	-	-
	基底细胞	-	-	-	+++	+++	-	(++)2	-	-	-	-	-
移行上 皮	表层细胞	-	-	-	-	-	+++	+++	++	+++	+++	++	+++
	基底和中间细胞	-	(+)3	+++	(+++)+3	-	(++)3	+++	+++	+++	(+)4	+++	+++
间皮	间皮细胞	-	-	-	++	++							+++
复合上皮	支气管、乳腺、涎腺和汗腺、前列 腺、子宫宫颈内膜: 基底和肌上皮细胞	-	-	-	+++	++	+++	++	+++	++	-	-	-
	腔细胞	-	-	-	+	+	+	+++	+++	+++	+++	-	+++
单层上 皮	胆管和胰管, 肺泡, 子宫内膜, 肾 集合管	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	+++
	胃 (小凹上皮), 小肠和大肠	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	(+)5	+++	+++
	肝细胞, 胰腺泡, 近端肾小管	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
	内分泌腺, 神经内分泌细胞	-	-	-	-	-	-	-	-	(+++)+6	(++)7	(+++)+6	+++
非上皮细 胞	一些平滑肌细胞,肌成纤维细胞, 蛛网膜, 一些内皮细胞	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	(++)8	++

+++ :强阳性表达; ++ : 中等强度阳性表达; + : 弱阳性表达;- : 阴性; () : 分布限于特定的细胞类型。

注解:

- 1、CK17 可能在掌拓、增生触觉圆顶上皮和毛囊外根鞘中表达
- 2、CK19 在粘膜基底细胞表达
- 3、CK4、5、17 主要在鳞状上皮的基底细胞层表达



- 4、CK20 可能在移行性上皮表达，取决于检测系统的灵敏度。
- 5、CK7 在胃粘膜可能阳性。
- 6、CK19、20 可以在一些内分泌细胞，尤其是皮肤和口腔的 Merkel 细胞和味蕾上皮表达。
- 7、CK7 在甲状腺滤泡阳性表达。
- 8、CK7 可能会在血管内皮细胞，尤其是小血管表达。

表中的 CK 家族未包括 CK2、CK11 和 CK9(只存在于手掌和脚掌的角化鳞状上皮)、CK3 和 CK12(角膜)、CK15(复合上皮、复层鳞状上皮的基底层)、CK6 和 CK16(主要是非角化复层鳞状上皮，毛囊的外根鞘，病变表皮)

## 1、正常组织

1) 单层上皮：所有单层上皮细胞都表达 CK8 (52.kDa) 和 CK18 (45kDa)。低分子量 CK 仅在肝细胞、胰腺细胞、大多数内分泌细胞和肾近曲小管细胞表达，CK19 (40kDa) 在胃肠道上皮表达，CK7 (54kDa) 表达在胰胆管、肺泡、子宫内膜和肾集合管细胞。甲状腺滤泡细胞 CK7 阳性，但 CK19 阴性。CK20 (46 kDa) 表达组织谱较窄，只在肠道和胃小凹上皮表达，以及皮肤分泌 Merkel 细胞中也有表达。

### 2) 复层上皮

CK 表达主要在有基底细胞或肌上皮细胞的上皮，如：肺泡、乳腺、唾液腺、汗腺与前列腺。基底细胞与肌上皮细胞通常表达 CK5 (58kDa)、CK14 (50kDa) 和 CK17 (46kDa)，而内分泌性上皮细胞主要表达 CK8、CK18、CK19 和 CK7。胎盘滋养层细胞表达 CK8 和 CK18，局部也表达复层上皮的 CK。

### 3) 间皮细胞

与复层上皮类似，间皮细胞即可表达 CK8、CK18、CK19 和 CK7，也可表达 CK5、CK14 和 CK17 (偶见)。

### 4) 移行上皮

尿路上皮表达独特的 CK 类型，所有细胞层表达 CK8、CK18、CK19 和 CK7，在表层伞状细胞 (和部分中间细胞) 还会特异性的表达 CK20。CK5 和 CK13 (54kDa) 可表达在基底层和中间层细胞。

### 5) 鳞状上皮

鳞状上皮的基底层细胞主要表达 CK5 和 CK14(组成 HMWCK 分子)此外,除皮肤外的基底层细胞可以表达 CK19。非角化粘膜炎的中间层和表层细胞表达 CK4 (59kDa) 和 CK13，而角化鳞状上皮细胞则表达 CK1 (68kDa) 和 CK10 (56.5kDa)。在皮肤的某些区域 (如：掌趾部皮肤) 会表达 CK2e (e :表皮 65.5 kDa) 和 CK9 (64kDa)，上颌部表达 CK2p。CK6 (56kDa) 和 CK16 (48kDa) 可在正常非角化鳞状上皮和增生性上皮中表达。胸腺中的网状上皮既表达几种鳞状上皮 CK，也表达单层上皮 CK。

### 6) 非上皮细胞

CK8 和 18 在少部分间叶细胞如某些平滑肌细胞 (尤其是血管壁和子宫肌层)、肌成纤维细胞、蛛网膜细胞、淋巴结纤维网状细胞、极少部分内皮细胞以及脐带和胎儿心肌表达。某些内皮细胞也可表达 CK7。

### 7) CK 与其它中间丝蛋白共表达

一些正常细胞会有 CK 与其它中间丝蛋白共表达的现象，如 CK 与 vimentin 可共表达在多种中胚层来源的上皮 (肾、女性生殖道、间皮) 和甲状腺上皮；CK 与 GFAP 可在一些肌上皮细胞共表达 (唾液腺、汗腺、乳腺)；CK 与神经源性中间丝蛋白可在某些神经内分泌性肿瘤中共表达，但正常的神经内分泌细胞阴性；CK 和 Desmin 在某些平滑肌细胞中共表达。

### 8) 非肿瘤性损伤上皮细胞

各种类型损伤的上皮细胞有些可出现类似于肿瘤细胞的表达 (见下)。这种改变可能暗示细胞不成熟的 CK 表达模式，(例如肝病中肝细胞过度表达 CK7)，有时甚至观察不到形态学的改变。

## 2、肿瘤组织

一般而言，癌组织会表达或者至少部分表达其来源细胞的 CK，因此 CK 的表达谱特征可反映出上皮来源及其分化状态，辅助肿瘤的诊断。腺癌通常表达 CK8、CK18、CK19 和 CK7(经常也会出现)，在结直肠部位的腺癌表达 CK20，CK7 阴性。尿路上皮癌和 Merkel 细胞癌保留了各自正常细胞的 CK 表达特征。鳞癌以 CK5、CK6、CK14、CK16 和 CK17 的表达为主。

通常癌细胞会丢失其来源组织的一种或多种 CK 的表达，如：鳞癌有时 CK13 阴性。某些类型的癌转而表达特定的 CK，如：甲状腺癌表达 CK19；某些会重新表达胚胎期的表型，如：肝细胞癌表达 CK19，以及鳞癌表达 CK5 还增加表达 CK8、CK18、CK17 和 CK19。所以说 CK 表达复杂性增加是癌组织的特征，类似变化也发生在增生不良性组织中。值得注意的是



起源于复层上皮的腺癌（如：乳腺癌），可以不表达基底细胞和肌上皮细胞特有的 CK，而表达肌上皮去分化的表型。肿瘤放化疗后，CK 表达模式的变化更为显著。

非上皮性肿瘤通常 CK 阴性。不过一部分间叶源性肿瘤会有 CK 弱或局限阳性表达，主要是 CK8、CK18 和 CK19，例如：平滑肌瘤、横纹肌肉瘤、恶黑、神经鞘瘤、尤文氏肉瘤、小细胞癌、部分恶性淋巴瘤（大细胞淋巴瘤）。上皮样肉瘤、脊索瘤和釉质瘤强表达 CK8、CK18、CK19。滑膜肉瘤与恶性间皮瘤常表达 CK8 和 18，在上皮分化区还可能表达高分子量 CK。

## 二、细胞角蛋白的应用

CK 是低分化或表型不典型肿瘤分型的不可或缺的标记物。

CK 广谱抗体如 AE1/AE3 或 KL1 是鉴别癌与非上皮细胞来源肿瘤的基本指标。CK 广谱抗体在显示微小转移灶或散在的浸润癌细胞尤其有用，例如：在淋巴结和骨髓中判断转移灶；在小细胞癌的诊断，淋巴上皮和鼻咽癌以及播散性上皮肿瘤（弥漫型胃癌、浸润性小叶癌）的鉴别。

在生殖细胞肿瘤中，精原细胞瘤和未分化胚胎瘤通常不表达 CK，其它类型 CK 阳性。原发性颅内肿瘤中，CK 在脉络丛乳头状瘤/癌和一些脑膜瘤（分泌型）中有表达，神经胶质瘤和原始神经外胚叶肿瘤阴性。高分子量 CK5 和 CK13 的表达提示鳞状上皮分化，可用于低分化非角化鳞状细胞癌的鉴别诊断。CK8、CK18 和 CK19 可在腺癌和鳞癌（鳞癌表达程度不等）表达，若 CK5 表达而 CK7 不表达或弱表达提示为鳞癌。

CK5（和 CK14）可在胰胆管腺癌、卵巢浆液性癌、子宫内膜癌、腺鳞癌，基底样型乳腺癌或者腺肌上皮肿瘤、恶性间皮瘤表达。肺与乳腺极少表达 CK5，胃肠腺癌 CK5 阴性。CK5 在基底细胞/肌上皮细胞表达，因此可与 p63 联合使用，判断乳腺和前列腺病变中的良恶性。

在尿路上皮癌中，CK13 和 CK20、CK7 共表达是非常有用的特点，可在原发部位不明时用于尿路上皮癌与前列腺癌、非角化性鳞癌的鉴别。CK14 在尿路上皮癌的表达提示鳞状细胞分化、预后不良。在乳头状尿路上皮肿瘤中，CK20 腔面表达提示肿瘤不易复发，可用来区分浸润性和非浸润性尿路肿瘤。

CK7 阳性 CK20 阴性：见于肺腺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、甲状腺癌、非粘液性卵巢癌、恶性间皮瘤。

CK7 阴性 CK20 阳性：见于结直肠癌（80%）、Merkel 细胞癌。

CK7 阳性 CK20 阳性：见于尿路上皮癌、卵巢粘液性癌、胃癌、胆管和胰腺癌，高级别结直肠癌偶见。

CK7 阴性 CK20 阴性：见于肝细胞癌、前列腺癌、肾上腺皮质癌、肾细胞癌、肺小细胞癌和鳞癌。但会有表达例外，如肝癌中出现 CK7 和局部 CK20 的表达；肾上腺皮质癌、肺小细胞癌、肾细胞癌偶见表达 CK8 和 CK18；位于核旁点状 CK 染色可在神经内分泌性肿瘤如 Merkel 细胞癌、类癌、垂体腺瘤、卵巢颗粒细胞瘤中出现。在 Merkel 细胞癌中，CK20 出现核旁点状表达，可与肺小细胞癌转移灶（CK20 阴性）鉴别诊断。

## 三、常用 CK 抗体

由于 CK 是病理诊断用基本指标，实验室应常规备有广谱 CK 和低分子量 CK。常规推荐碱性缓冲液热修复。

### 1、CK 广谱抗体

常用的广谱 CK，主要克隆是：AE1/AE3（AE1：CK9、10、13、14、15、16 和 19，AE3：CK1-8 结合，MNF116（CK5、6、8、17、19）和 KL1（CK2、5、6、8、10、18、19）。按照最佳指南（采用抗原热修复，不用酶消化）几个抗体的染色情况几乎一样，但存在微小差异：

1）KL1 克隆因对高分子 CK 亲和力相对较低，对尿路上皮与鳞状上皮来源的肿瘤染色稍浅；AE1/AE3 可能因对低分子 CK 亲和力较低，腺癌染色较弱。

2）若切片采用酶消化，AE1/AE3 对高分子量 CK 染色会较弱，CK8 表达会丢失。在固定时间较长的脑组织采用酶消化会与 GFAP 交叉反应。

3）MNF116 只有酶消化阳性表达好，酶消化视组织与固定时间不同而不同，与 KL1 和 AE1/AE3 相比无优势。

### 2、CK 多亚型抗体

克隆 34BE12(CK1、5、10、14 以及一个未知的 CK):通常被用来检测高分子量 CK。由于会与一个未知的 CK 结合，该抗体也会表达在一些单层上皮（乳腺、结肠、胆道、肾）。

克隆 D5/16 B4 (CK5、6):临床意义同 CK5。

克隆 CAM 5.2 (CK8、7):酶消化染色结果更佳，需针对组织及固定时间进行调整。热修复会引起敏感性降低同时易出现交叉反应。Cam 5.2 与 CK8/18 的抗体相比无优势。



### 3、CK 分型特异性抗体

#### 低分子量 CK:

CK8/18: 克隆 C51 针对 CK8, 克隆 DC10 针对 CK18, 常用于检测腺上皮。

CK7: 常用克隆 OV-TL 12/30

CK19: 克隆 A53-B/A2.26, b170 和 BA17 表现较好, 克隆 RCK108 灵敏度稍欠缺。

CK20: 克隆 Ks20.8, 酶修复后在胆道和间皮中会有假阳性染色。

#### 高分子量 (HMW CKs) CK:

CK4: 与克隆 6B10 相比, 克隆 215B8 会与鳞状上皮基底层的细胞、角化细胞反应, 可能因为与一种变性的 CK 交叉反应。

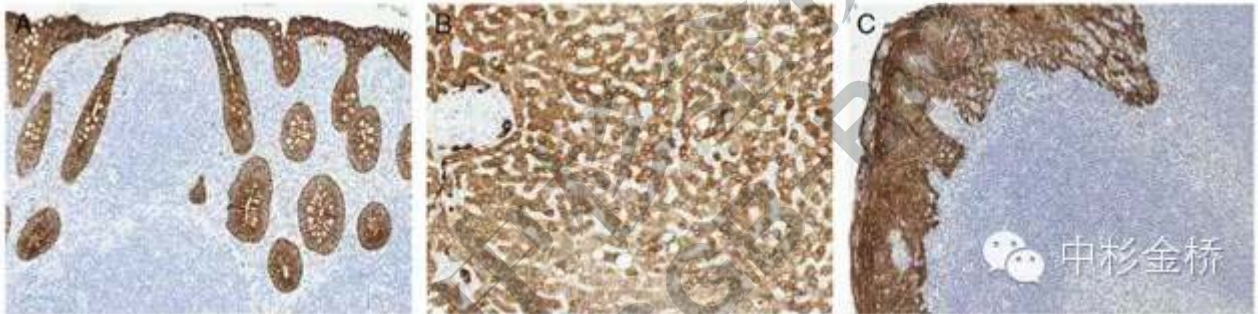
CK10: 克隆 DE-K10

CK13: 克隆 DE-K13 和 KS-1A3. 前者在冰冻切片中会与 CK10、液态细胞基质结合, 在 FFPE 组织切片中如果抗体过浓会与淋巴细胞反应。

CK14: 克隆 LL002, 通常比 CK5 和 CK5/6 的表达稍弱。

CK17: 克隆 E3

#### 国际特设专家委员会推荐常用 CK 的阳性对照:



#### Pan-CK

A、阑尾: 几乎所有的柱状上皮细胞必须呈现中到强度胞质阳性。(可见典型的胞膜堆积型)。

B、肝脏: 绝大多数肝细胞至少显示弱到中等强度胞质阳性且呈胞膜堆积型 (LLOD)。

C、扁桃体: 所有鳞状上皮细胞必须呈现中至强度胞质阳性, CK+的间质网状细胞呈弱到中度胞质阳性 (LLOD)。



#### CK8 and/or CK18

##### 低分子量细胞角蛋白

A、阑尾: 所有的柱状上皮细胞必须呈现中到强度胞质阳性 (可见典型的胞膜堆积型)。

B、肝脏: 绝大多数肝细胞至少显示弱到中度胞质阳性且呈胞膜堆积型 (LLOD)。

C、扁桃体: 散在的鳞状上皮细胞呈现中到强度胞质阳性 (不同扁桃体的阳性鳞状上皮细胞数量有所不同), CK+的间质网状细胞呈弱到中度胞质阳性 (LLOD)。





### CK5 and/or CK14

#### 高分子量细胞角蛋白

- A、扁桃体: 几乎全层的所有鳞状上皮细胞必须呈现中至强度胞质阳性。
- B、胰腺: 闰管内分散的柱状上皮细胞必须呈现弱到中度胞膜优势型染色 (LLOD)。
- C、肝脏: 必须阴性。



### CK20

- A、阑尾: 几乎所有表面上皮细胞必须呈中到强度胞质阳性, 大多数底层陷窝上皮细胞至少呈现弱的胞质阳性 (LLOD)。
- B、肝脏: 必须阴性。
- C、扁桃体: 必须阴性。



### CK7

- A、肝脏: 几乎所有胆管上皮细胞必须呈现中到强度胞质阳性。
- B、胰腺: 几乎所有闰管上皮细胞必须呈现弱到中度胞质阳性 (LLOD)。
- C、阑尾: 一般均为阴性, 散在的柱状上皮细胞和内皮细胞可呈现弱到中度胞质阳性。

广谱 CK : 鳞状上皮(CK5 和/或 CK14)和腺上皮(CK8 和/或 CK18)必须检测。食道和肝脏的组合是最佳组合, 非角化鳞状上皮全层都必须强阳性表达, 而大部分的肝细胞至少中等强度膜堆积型染色。

LMW CKs ( CK8 和/或 CK18 ) : 首选组织肝脏, 大多数肝细胞应至少中等强度膜染色。

HMW CK ( CK5 和/或 CK14 ) : 首选组织食道, 鳞状上皮全层强阳性表达。



CK7：首选组织肝脏和胰腺，肝脏的胆管细胞必须强阳性表达，同时肝细胞阴性；胰腺的闰管强阳性表达，腺泡细胞阴性。

CK20：首选组织阑尾/结肠/直肠，大多数超过 50%的的陷窝肠上皮细胞必须强阳性。

CK19：首选组织阑尾/结肠/直肠，几乎所有腔面的腺上皮细胞胞质强阳性表达，陷窝底层细胞弱至中等强度阳性表达。

