

恶性肺结节诊疗中免疫组化的应用

黄春暖¹ 张九进²

1. 右江民族医学院, 中国·广西 百色 533600

2. 右江民族医学院附属玉林医院, 中国·广西 玉林 537000

摘要: 随着医疗水平的提高和 CT 技术的普遍, 偶发性肺结节被发现的概率不断提高, 恶性结节占比不容小觑。免疫组化的出现, 通过获取有关肿瘤的生物学特征、免疫环境和治疗靶点的信息, 其与影像特点、肺癌 TNM 分型及临床病理分型等结合, 进而更好指导临床上的治疗以及预测肺癌患者的预后。

关键词: 肺结节; 肺癌; 免疫组化; TTF-1; Napsin A; CK7; p63; p40; CK5/6; Syn; CgA; CD56; Ki-67

Application of Immunohistochemistry in the Diagnosis and Treatment of Malignant Pulmonary Nodules

Chunnuan Huang¹ Jiujin Zhang²

1. Youjiang Medical University For Nationalities, Baise, Guangxi, 533600, China

2. Yulin Hospital Affiliated to Youjiang University of Ethnic Medicine, Yulin, Guangxi, 537000, China

Abstract: With the improvement of medical technology and the widespread use of CT technology, the probability of occasional pulmonary nodules being discovered continues to increase, and the proportion of malignant nodules should not be underestimated. The emergence of immunohistochemistry, by obtaining information about the biological characteristics, immune environment, and therapeutic targets of tumors, combined with imaging features, lung cancer TNM classification, and clinical pathological classification, can better guide clinical treatment and predict the prognosis of lung cancer patients.

Keywords: pulmonary nodules; lung cancer; immunohistochemistry; TTF-1; Napsin A; CK7; p63; p40; CK5/6; Syn; CgA; CD56; Ki-67

0 前言

2020 年研究表明, 全世界癌症的发病率仍在不断提高, 在新发病例中肺癌占所有种类癌症的第二位, 且肺癌是男性常发的病例^[1], 恶性结节占比仍不容小觑。为此也有人提出了肺结节及肺癌诊断和治疗的一站式平台。肺结节的诊断在肺癌的治疗方式及预后扮演着十分重要的角色。大多数恶性肺结节早期可进行治疗, 且效果都相当可观。例如, 有研究指出在非小细胞肺癌 (NSCLC) 中, 临床诊断 IA 期的 5 年生存率高达 82%, 而临床诊断 IVB 期的生存率仅为 7%^[2]。肺癌的治疗方案通常是基于癌症的亚型和预后而制定的, 因此肺结节的早期筛查和诊断及治疗是必不可少的。而在这过程中, 免疫组化 (Immunohistochemistry, IHC) 起到了重要作用。论文综述将对免疫组化对恶性肺结节的诊断、预后及治疗进行论述。

1 课题研究发展历程及现状

尽管在过去十年中, 通过不懈努力, 我们人类在肺癌的防治上取得了许多突破和进展, 但其仍为全球癌症死亡的主要原因^[3,4]。在恶性肺结节诊疗的过程中, IHC 作为肺结节病理诊断的标准技术之一。免疫组化指标包括 TTF-1、

Napsin A、CK7、Ki-67、p63 和 p40、CK5/6 等。通过特定标志物如 TTF-1、Napsin A、p40 等的检测, 可以有效区分不同类型的肺癌, 如腺癌和鳞状细胞癌^[5]。IHC 还常被用于鉴别原发性肺癌和转移性肺癌。特定标志物的表达模式可以提示肿瘤的原发部位, 从而指导临床治疗。一些 IHC 标志物如 Ki-67 等, 不仅用于诊断, 还用于预测肿瘤的增殖活性和免疫治疗反应, 帮助制定个性化治疗方案。

2 肺结节的概述

2.1 肺结节的影像学特点

在影像表现上, 肺结节显示为直径 $\leq 3\text{cm}$ 的局灶性、类圆形、密度增高的实性或亚实性的阴影^[6]。对于实性肺结节直径 $\leq 1\text{cm}$ 情况也应给予相应的关注^[7]。肺结节根据发病原因可分为良性和恶性。

针对恶性肺结节, Ye 等人用单因素分析得出患者恶性肺结节病灶组和良性肺结节病灶组与患者肺结节直径有统计学意义^[8]。虽然小实性肺结节 ($< 8\text{mm}$) 在无已知恶性肿瘤史的个体中偶然发现, 或在 LDCT 筛查中发现, 恶性肿瘤的概率非常低^[9]。由此可知, 肺结节的直径越大, 其恶性程度越大。

肺结节多出现在肺上叶, Wang 等人研究发现位于肺

上叶的肺结节占统计的肺结节的 62.24%，且右肺上叶是最为常见的^[10]。更有研究指出大多数小的孤立性恶性肺结节（ $\leq 2\text{cm}$ ）多为是腺癌^[11]。

此外，恶性肺结节多表现为钙化、胸膜凹陷征、血管穿行、毛刺征等。孤立性肺结节的良恶性与结节边缘平滑与否、血管收敛征、钙化等方面差异明显^[12]。不同病理类型恶性肺结节患者与结节大小、毛刺征、肺叶、胸膜压低征、坚实度呈显著正相关^[13]。

2.2 肺结节的 TNM 分期

国际抗癌联盟（简称 IASLC）于 1968 年首次颁布了癌症 TNM 分期指南，为肺癌分期提供了重要依据，发展至今已经历 3 个阶段。近期 IASLC 已经颁布最新版本（第九版）肺癌 TNM 分期标准^[14]。

T 分期即肿瘤最大径，在分期和预后评估中占有核心地位。T 类描述了原发肿瘤的范围。2020 年 Kim 等人研究了 744 例 IA 期腺癌（即恶性肺结节）患者，在第八版 TNM 分型条件下，T 类别与总生存率显著相关。部分实性结节和实性结节可以用 T 分类系统进行分期。多变量混合治愈模型表明，实性结节与尚存活的病人数所占的比例降低相关^[15]。

N 分期即淋巴受累，其能准确评估对于非转移性 NSCLC 的管理和预后至关重要，肺癌中的 N 成分历来是根据解剖位置进行分类的，不包括受累淋巴结的定量。通过 45032 例和 35009 例患者进行分析发现，在临床和病理分级中，单站 N2 受累（N2a）的预后均优于多站 N2 受累（N2b），并且对于所有相邻的淋巴结亚群之间也发现了很大的不同。N2a、N2b 的预后差异在切除状态、组织学类型、T 类别和地理区域上都是趋于稳定和一致的^[16]。

M 深入探讨胸腔外转移情况，在涉及多发性转移的肿瘤中，随着器官系统的增多，预后变差，并建议 M1c 类别再细分为 M1c1（累及单个胸外器官系统）和 M1c2（累及多个胸外器官系统）^[17]。

针对患有恶性肺结节的患者，TNM 分期通过评估肿瘤的大小、位置、淋巴结受累情况和远处转移情况，有助于临床医生更好地管理肺癌患者，制定个性化治疗方案，从而提高治疗效果，更好地预测预后，防患于未然。

2.3 肺结节的临床病理特点

肺结节的病理分型大致上可以分为小细胞肺癌（Small Cell Lung Cancer, SCLC）和非小细胞肺癌（Non-small cell lung cancer, NSCLC）。除了以上主要两大类肺癌，还有一些如类癌（Carcinoid Tumors）、腺鳞癌（Adenosquamous Carcinoma）等罕见类型。而 NSCLC 主要组织学类型是腺癌（adenocarcinoma, AC），鳞状细胞癌（squamous cell carcinoma, SCC）和大细胞癌。NSCLC 和 SCLC 的治疗策略略有显著差异。NSCLC 通常通过手术、放疗和靶向治疗，此外在 2022 年美国临床肿瘤学会（简称 ASCO）上也强调了免疫治疗在早期和转移性 NSCLC 管理中的重要性^[18]。而对

于 SCLC 则更倾向于化疗和放疗。肺癌的病理分型是根据肿瘤的细胞形态和组织学特征进行分类的，这对于诊断、治疗选择和预后评估具有重要意义。

3 恶性肺结节的免疫组化应用进展

3.1 TTF-1

TTF-1（Thyroid Transcription Factor-1）一种主要在肺、甲状腺及神经内分泌肿瘤中表达的核转录因子，通常在 AC 中呈阳性表达，而在 SCC 和 SCLC 中表达为常阴性，且分化程度越差则越是表达缺失，因此在 TTF-1 的表达结果中，阴性表达有助于排除其他类型的肺癌，即有助于更精准地诊断 AC。TTF-1 被用作区分原发性肺腺癌和转移肺腺癌的标志物，因为它作为调节肺形态发生和分化以及表面活性剂蛋白表达的关键成分。有研究发现 TTF-1 的表达总是在 SCC 的细胞质中积累，而在 AC 细胞中，TTF-1 则在其细胞核中表达，因此 TTF-1 成为 AC 的主要免疫组化指标^[19]，虽然 TTF-1 在 SC 中的表达机制尚未清楚，但有研究发现 TTF-1 其阳性组患者中位生存期高于其阴性组患者中位生存期^[20]。这些研究表明，TTF-1 是肺癌的一个较新的预后因素。有研究表明，缺乏 TTF-1 表达具有预测价值，TTF-1 阴性患者在使用无培美曲塞方案后，患者的疗效终点有总生存期和无进展生存期有很明显的提升^[21]。因此也表明在选择适当的治疗方案时，结合 TTF-1 表达也可能会有所帮助。

3.2 Napsin A

Napsin A（Napsin A aspartic peptidase）是参与表面活性剂蛋白 B 成熟的胃蛋白酶家族之一，主要存在于肺和肾中，在肿瘤细胞中缺乏表达，是 AC 的不良预后标志物，较于 TTF-1 更敏感和更具有特异性^[22]。因此，这对于与其他类型的 NSCLC 进行区分非常重要。有研究发现，Napsin A 的表达与肿瘤大小有关，Napsin A 的表达率随着肿瘤的增大而显著降低^[23]。肺癌的预后与 Napsin A 表达密切相关，肺癌的侵袭行为的增加可能和其表达缺失有关，影响疾病预后后，TTF-1 和 Napsin A 在 PS 为 0 的患者中表现出更高的表达^[24]。高水平的 Napsin A 表达可能与较好的生存率相关联，这可能有助于指导患者的治疗方案选择和预后评估。Napsin A 的表达情况可能会影响患者对特定治疗方法的响应。有研究表明，NapsinA、TTF-1 阳性的肺癌患者中，其 EGFR 基因突变率明显高于 NapsinA、TTF-1 阴性患者其 EGFR 基因突变率^[25]。Napsin A 阳性的肺腺癌可能对靶向 EGFR 治疗或免疫治疗有更好的反应。

3.3 CK7

细胞角蛋白 7（cytokeratin 7, CK7），细胞角蛋白家族由 20 多种不同的多肽组成，是中间丝的复杂蛋白质，为上皮细胞提供机械凝聚力和对创伤的抵抗力。CK7 特异度较低，但通过将 CK7 与其他标志物（如 TTF1 和 Napsin A）偶联，可以正确识别和分类原发性或转移性 AC^[26]。AC 和

SCC 的鉴别诊断中起到了关键作用, Tong 等人在 NSCLC 合并上腔静脉综合征患者的血清中检测到高水平的 CK7, 提示其有可能作为该人群的预后指标^[27]。Ma 等人检测了早期 AC 中 CK7 的表达水平及其与患者生存的相关性中, 发现 CK7 检测区分 AC 并与 SCC 的敏感性和特异性分别为 94.6% 和 76.0%, 但 CK7 的表达水平并不影响肺癌患者的生存率^[28]。CK7 的表达在 SCLC 和大细胞神经内分泌癌 (large cell neuroendocrine carcinoma, LCNEC) 之间具有很高的差异, 这很有可能指导临床上的肺癌患者的个性化治疗^[29]。

3.4 p63/p40

p63 和 p40 为 SCC 常用免疫组化标志物。p63 作为 p53 家族蛋白的一员, 在细胞分裂、分化和凋亡中充当着重要的角色, 它在多种上皮组织中表达, 尤其是在鳞状上皮细胞中。p40 是 p63 的一个同源异构体, 特指 Δ Np63 亚型, 它主要表达在鳞状细胞癌中, 但在腺癌中的表达却十分有限。一些研究强调了 p63 和 p40 作为免疫组化标记物在这一区别中的意义, P63 具有更好的灵敏度, 而 P40 在肺鳞状细胞癌中具有更好的特异性^[30]。这种区别在非小细胞肺癌中尤为重要。Rao 等人对印度北阿坎德邦的 NSCLC 患者进行了一项研究, 评估了多种免疫标志物的表达, 包括使用了 p63 和 p40 识别出 SCC。研究结果强调了免疫标记物在解决 NSCLC 作为 SCC/AC/NSCLC-NOS 的组织学亚型本质的困境中的重要性。

3.5 Syn/CgA/CD56

CgA、Syn 和 CD56 为最常用的神经内分泌标志物组合, 其中 CgA 特异性最强, CD56 最为敏感, 但特异性也较差。有研究指出 Syn、CgA 和 CD56 在 NSCLC 的敏感性和特异性分别为 93.44%、89.21% 和 98.36%、74.10% 和 100%、96.40% 和 96.72%^[31]。CD56、CgA、Syn 和突变 p53 在非小细胞肺癌样本中的表达也有人进行了研究, 关于这些标记物是否作为预后因素存在争议^[32]。

3.6 Ki-67

Ki-67 是一种细胞增殖标志物, 在多种肺结节的免疫组化检测中广泛应用。Tian 等人讨论了双能计算机断层扫描在术前评估固体 NSCLC 中 Ki-67 表达水平方面的应用, 展示了先进的成像方式在评估这种增殖标志物方面的潜力^[33]。乔鸿飞等人通过研究发现 Ki-67 阳性表达是恶性孤立性肺结节患者电视胸腔镜手术治疗预后不良的危险因素^[34]。Li 等人探讨了肺癌患者中原生 t1 定位、弥散加权成像和 Ki-67 表达之间的相关性, 根据这些成像技术和 Ki-67 蛋白的表达来区分病理类型和肿瘤分化程度^[35]。

4 结语

尽管 IHC 在诊断肺结节方面取得了显著进展, 但也仍然存在着抗体特异性问题以及假阳性 / 假阴性结果等问题。随着抗体研发的进步, IHC 逐渐被广泛应用, 其在肺结节诊断中的应用将变得更加准确和高效。将 IHC、TNM 分期、

临床病理分类和影像学特征, 制定更加个性化的治疗方案, 为肺癌患者创造更好的治疗条件。如根据 IHC 结果选择靶向或免疫治疗药物; 根据 TNM 分期选择手术或放疗; 通过影像学定期监测肺结节的变化, 结合 IHC 标志物的变化, 以便动态评价疗效, 及时适当调整治疗方案, 提高治疗的准确性和有效性。将 IHC 与 TNM 分期、临床病理分类和影像学特征相结合, 为肺癌提供更全面、更准确的诊断和治疗策略。在多维度综合评估方法的支持下, 不仅有助于制定个性化治疗方案, 而且提高了预后预测的准确性, 最终实现提高患者生存率和生活质量的目标。而这些方法的结合应用有望推动肺癌精准医学的发展更进一步。

参考文献:

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] 赵珂嘉, 刘成武, 刘伦旭. 《IASLC 第九版肺癌 TNM 分期》解读 [J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2024, 31(4): 489-497.
- [3] BADE B C, DELA CRUZ C S. Lung Cancer 2020[J]. Clinics in Chest Medicine, 2020, 41(1): 1-24.
- [4] A G S J, AND DAVID R BALDWIN B C. Recent advances in the management of lung cancer[J]. Clinical Medicine, 2018, 18(2): 41-46.
- [5] NICHOLSON A G, TSAO M S, BEASLEY M B, et al. The 2021 WHO Classification of Lung Tumors: Impact of Advances Since 2015[J]. Journal of Thoracic Oncology, 2022, 17(3): 362-387.
- [6] 雷光焰, 张艰, 闫小龙. 肺结节诊治西北地区专家共识 (2021 年版) [J]. 中国医药科学, 2021, 11(23): 16-22.
- [7] 曹文军, 薛洪省, 汤敏, 等. 良性肺结节的临床特点及其诊断和治疗 [J]. 中华胸部外科电子杂志, 2020, 7(1): 22-29.
- [8] YU L, ZHANG B, ZOU H, et al. Multivariate Analysis on Development of Lung Adenocarcinoma Lesion from Solitary Pulmonary Nodule[J]. Contrast Media & Molecular Imaging, 2022: 1-5.
- [9] PETER J. MAZZONE M M, LOUIS LAM M. Evaluating the Patient With a Pulmonary Nodule A Review[J]. JAMA, 2021, 327(3): 264-273.
- [10] WANG Y, HUANG Q, LI J. Analysis of Clinical and Pathological Features of Malignant Pulmonary Nodules[J]. Alternative therapies in health and medicine, 2023, 29(4): 188-193.
- [11] LIU C, ZHAO L, WU F, et al. The multidisciplinary team plays an important role in the prediction of small solitary pulmonary nodules: a propensity-score-matching study[J]. Annals of Translational Medicine, 2019, 7(23): 740.
- [12] HOU H, YU S, XU Z, et al. Prediction of malignancy for solitary pulmonary nodules based on imaging, clinical characteristics and tumor marker levels[J]. European Journal of Cancer Prevention, 2021, 30(5): 382-388.

- [13] ZHANG L, WAN R, CHEN J, et al. Analysis of the correlation between clinical and imaging features of malignant lung nodules and pathological types[J]. *Frontiers in Surgery*,2023,(10).
- [14] RAMI-PORTA R, NISHIMURA K K, GIROUX D J, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groups in the Forthcoming (Ninth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer[J]. *Journal of Thoracic Oncology*,2024,19(7):1007-1027.
- [15] KIM H, GOO J M, KIM Y T, et al. Validation of the Eighth Edition Clinical T Categorization System for Clinical Stage IA, Resected Lung Adenocarcinomas: Prognostic Implications of the Ground-Glass Opacity Component[J]. *Journal of thoracic oncology*,2020,15(4):580-588.
- [16] HUANG J O R G D, MEMBERS OF THE STAGING AND PROGNOSTIC FACTORS COMMITTEE M O T A. The International Association for the Study of Lung Cancer Staging Project for Lung Cancer: Proposals for the Revision of the N Descriptors in the Forthcoming Ninth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer[J]. *Journal of thoracic oncology*,2024,19(5):766-785.
- [17] FONG KM R A G D, MEMBERS OF THE INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LUNG CANCER STAGING AND PROGNOSTIC FACTORS COMMITTEE M O T A. The International Association for the Study of Lung Cancer Staging Project for Lung Cancer: Proposals for the Revision of the M Descriptors in the Forthcoming Ninth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer[J]. *Journal of thoracic oncology*,2024,19(5):786-802.
- [18] DOVE A P H, RYCKMAN J, CHHABRA A, et al. American Society of Clinical Oncology 2022 Annual Meeting Highlights for Radiation Oncologists[J]. *Advances in Radiation Oncology*,2023,8(1):101107.
- [19] LIAO Y, YANG F, LI X, et al. The Prognostic Value of TTF-1/NKX2-1 in Lung Squamous Cell Carcinoma[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*,2023,31(6):414-420.
- [20] 李小利.TTF-1和Ki-67在小细胞肺癌中的表达及对EP化疗方案疗效及预后的预测价值[D].蚌埠:蚌埠医学院,2023.
- [21] NIKOLAJ FROST T Z M V, CHRISTOPH RUWWE-GLÖSENKAMP M R M B, OCHSENREITHER B T N S, et al. Pemetrexed-based chemotherapy is inferior to pemetrexed-free[J].2020,21(6):607-621.
- [22] WU J, ZHANG Y, DING T, et al. Napsin A Expression in Subtypes of Thyroid Tumors: Comparison with Lung Adenocarcinomas[J]. *Endocrine Pathology*,2020,31(1):39-45.
- [23] BULUTAY P, AKYUREK N, MEMIS L. Clinicopathological and Prognostic Significance of the EML4-ALK Translocation and IGFRI, TTF1, Napsin A Expression in Patients with Lung Adenocarcinoma[J]. *Turkish Journal of Pathology*,2020,37(1):7-17.
- [24] ZHANG P, HAN Y P, HUANG L, et al. Value of napsin A and thyroid transcription factor-1 in the identification of primary lung adenocarcinoma[J]. *Oncol Lett*,2010,1(5):899-903.
- [25] 梁进萍.Napsin A、TTF-1、CK7与肺腺癌EGFR基因突变状态相关性研究[D].乌鲁木齐:新疆医科大学第一临床医学院,2021.
- [26] ALABDULLAH B, HADJI-ASHRAFY A. Identification of the most specific markers to differentiate primary pulmonary carcinoma from metastatic gastrointestinal carcinoma to the lung[J]. *Diagnostic Pathology*,2022,17(1).
- [27] TONG L, XU H. Cytokeratin 7 and thyroid transcription factor - 1 levels in patients with lung cancer complicated with superior vena cava syndrome and their correlation with clinicopathological characteristics[J]. *J BUON*,2019,24(6):2294-2302.
- [28] MA Y, FAN M, DAI L, et al. The expression of TTF-1 and Napsin A in early-stage lung adenocarcinoma correlates with the results of surgical treatment[J]. *Tumor Biology*,2015,36(10):8085-8092.
- [29] FAN J, LI H, ZHOU C, et al. Classifying Pulmonary and Urinary High-grade Neuroendocrine Carcinoma by CK7 Immunohistochemistry[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*,2022,30(6):459-468.
- [30] LILO M T, ALLISON D, WANG Y, et al. Expression of P40 and P63 in lung cancers using fine needle aspiration cases. Understanding clinical pitfalls and limitations[J]. *Journal of the American Society of Cytopathology*,2016,5(3):123-132.
- [31] WANG J, WANG X, XU X, et al. Expression and Significance of CK5/6, P63, P40, CK7, TTF-1, NapsinA, CD56, Syn and CgA in Biopsy Specimen of Squamous Cell Carcinoma, Adenocarcinoma and Small Cell Lung Carcinoma[J]. *International journal of morphology*,2020,38(2):247-251.
- [32] IWANO S, KAMIYA S, ITO R, et al. Iodine-related attenuation in contrast-enhanced dual-energy computed tomography in small-sized solid-type lung cancers is associated with the postoperative prognosis[J]. *Cancer Imaging*,2021,21(1).
- [33] TIAN S, JIANGUO X, TIAN W, et al. Application of dual-energy computed tomography in preoperative evaluation of Ki-67 expression levels in solid non-small cell lung cancer[J]. *Medicine*,2022,101(31):29444.
- [34] 乔鸿飞,马文杰,贾明选,等.恶性孤立性肺结节患者电视胸腔镜手术治疗的预后情况及其影响因素分析[J].*临床医学工程*,2023,30(10):1471-1472.
- [35] LI G, HUANG R, ZHU M, et al. Native T1-mapping and diffusion-weighted imaging (DWI) can be used to identify lung cancer pathological types and their correlation with Ki-67 expression[J]. *Journal of Thoracic Disease*,2022,14(2):443-454.