

非小细胞肺癌组织中 Ki-67、TOP II α 、RRM1 的表达与脉管侵犯的关系

杨俊荣¹ (通讯作者) 徐文鑫² 高福平³

1.南京医科大学第四附属医院病理科, 江苏 南京 210031

2.哈尔滨医科大学附属第四医院重症医学科, 黑龙江 哈尔滨 150001

3.南京市高淳人民医院病理科, 江苏 南京 211300

摘要: 目的: 探讨非小细胞肺癌组织中Ki-67、TOP II α 、RRM1的表达及其与脉管侵犯的关系。方法: 回顾性分析122例非小细胞肺癌患者的临床资料, 采用免疫组织化学法检测肿瘤组织中Ki-67、TOP II α 、RRM1的表达, 比较有脉管侵犯者和无脉管侵犯者上述分子标志物表达的差异。结果: 有脉管侵犯非小细胞肺癌患者的Ki-67、TOP II α 、RRM1的高表达率显著高于无脉管侵犯者。结论: 三者在非小细胞肺癌脉管侵犯中起着重要作用。

关键词: Ki-67; TOP II α ; RRM1; 脉管侵犯; 非小细胞肺癌

肺癌是全球最常见的恶性肿瘤之一, 对人类的生命健康造成严重威胁。目前综合治疗是非小细胞性肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 的首选治疗方式, 但患者仍然普遍面临着复发转移的风险。脉管侵犯与肺癌的临床病理特征及预后密切相关, 但其作用的分子机制尚不明确。本文采用免疫组织化学法检测 122 例 NSCLC 组织中 Ki-67、TOP II α 、RRM1 的表达情况, 回顾性比较有/无脉管侵犯的 NSCLC 患者之间该 3 种分子标志物表达的差异及与临床病理特征的相关性, 以期为 NSCLC 的早期诊断、预后判断及治疗方案的制定提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 3 月至 2024 年 3 月南京医科大学第四附属医院收治的接受非小细胞肺癌根治手术治疗的术后病理、免疫组化结果和临床资料完整的患者 122 例, 其中男性 66 例, 女性 56 例, 年龄范围 32-80 岁, 平均年龄 (63.08 $\pm$ 9.34) 岁。所选取术后组织标本均经我院病理科 2 位专家检查确诊为非小细胞肺癌。

1.2 实验方法及试剂

采用免疫组化 EnVision 两步法检测 3 种标记物的表达情况。用已知阳性切片作为阳性对照, 采用 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照, 所有试剂均购自北京中杉金桥生物技术公司。

1.3 染色结果判定

所有标本切片染色后由病理科医生通过双盲法进行

读片。结果判读采用半定量法, 即染色阳性细胞百分数与染色强度等级之积^[1]。

1.4 统计学分析

采用SPSS 17.0对结果进行统计学分析, 计量资料采用单因素方差分析, 计数资料采用卡方检验, 样本理论频数小于1时, 采用Fisher精确概率法进行统计分析, $P<0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

表 1 有/无脉管侵犯非小细胞肺癌患者临床病理特征的比较

Clinicopathological features		Lymphovascular invasion[n(%)]		χ^2	P
		Negative	Positive		
Gender	Male	44 (55.7)	22 (51.2)	0.23	0.63
	Female	35 (44.3)	21 (48.8)	0	1
Age	<65	48 (60.8)	13 (30.2)	10.3	0.00
	≥ 65	31 (39.2)	30 (69.8)	79	1 [*]
Tumor size(cm)	<3	56 (70.9)	18 (41.9)	9.83	0.00
	≥ 3	23 (29.1)	25 (58.1)	0	2 [*]
Tumor location	Centre	32 (40.5)	22 (51.2)	1.28	0.25
	Periphery	47 (59.5)	21 (48.8)	2	8
Histological grade	I	35 (44.3)	2 (4.7)	20.7	0.00
	II-III	44 (55.7)	41 (95.3)	91	0 [*]
Histological type	Squamous cell carcinoma	24 (30.4)	9 (20.9)	1.26	0.26
	Adenocarcinoma	55 (69.6)	34 (79.1)	0	2
Lymph node metastasis	Negative	66 (83.5)	20 (46.5)	18.3	0.00
	Positive	13 (16.5)	23 (53.5)	58	0 [*]
Nerve invasion	Negative	61 (77.2)	21 (51.2)	10.1	0.00
	Positive	18 (22.8)	22 (44.2)	75	1 [*]
TNM stage	I-II	73 (92.4)	20 (46.5)	32.3	0.00
	III	6 (7.6)	23 (53.5)	65	0 [*]

Notice: The difference was statistically significant, ^{*} $P<0.05$.

2.1 有/无脉管侵犯肺癌患者临床病理特征的比较

122 例 NSCLC 患者中有脉管侵犯 43 例(35.2%)，其在年龄、肿瘤大小、组织学分级、淋巴结转移、神经侵犯及 TNM 分期方面与无脉管侵犯者具有显著差异，且在有脉管侵犯患者中 ≥ 65 岁、肿瘤最大径 $\geq 3\text{cm}$ 、组织学分级 II-III 级、淋巴结转移阳性、神经侵犯阳性及 TNM 分期 III 期的比例均显著高于无脉管侵犯的患者 ($P<0.01$) (见表 1)。

2.2 有/无脉管侵犯肺癌患者3种标志物的表达情况 (见图 1)。

有脉管侵犯者的 Ki-67、TOP II α 、RRM1 的高表达率具有显著差异 (见表 2)。

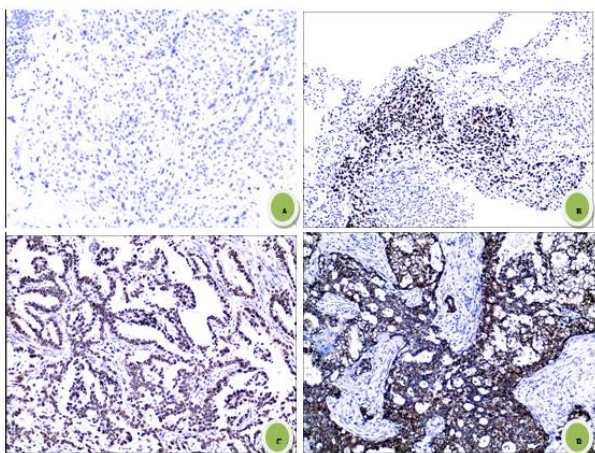


图 1 Ki-67、TOPO II α 、RRM1 及 ERCC-1 的表达(IHC 200 $\times$) A 阴性对照 B Ki-67 的表达 C TOPO II α 的表达 D RRM1 的表达

表 2 有/无脉管侵犯非小细胞肺癌患者 3 种标志物的表达

Molecular maker		Lymphovascular invasion[n(%)]		χ^2	P
		Negative	Positive		
Ki-67	Low	51(64.6)	16(37.2)	8.411	0.004 [*]
	High	28(35.4)	27(62.8)		
TOPO II α	Low	42(53.2)	12(27.9)	5.914	0.015 [*]
	High	37(46.8)	31(72.1)		
RRM1	Low	24(30.4)	5(11.6)	5.403	0.020 [*]
	High	55(69.6)	38(88.4)		

Notice:The difference was statistically significant, ^{*} $P<0.05$.

2.3 有/无脉管侵犯肺癌患者的亚组比较

有/无脉管侵犯 NSCLC 患者之间 Ki-67 高表达率的差异主要出现于女性、 <65 岁、肿瘤最大径 $<3\text{cm}$ 、周围型、组织学分级 I 级、腺癌、淋巴结转移阴性及 TNM 分期 I-II 期 (见表 3)。有/无脉管侵犯 NSCLC 患者之间 TOPO II α 高表达率的差异主要出现于女性、肿瘤最大径 $<3\text{cm}$ 、周

围型、淋巴结转移阴性及 TNM 分期 I-II 期 (见表 4)。有/无脉管侵犯 NSCLC 患者之间 RRM1 高表达率的差异主要出现于男性、肿瘤最大径 $<3\text{cm}$ 、腺癌及 TNM 分期 I-II 期 (见表 5)。

表 3 有/无脉管侵犯非小细胞肺癌患者 Ki-67 亚组比较

Clinicopathological features		Ki-67 expression	Lymphovascular invasion[n(%)]		χ^2	P
			Negative	Positive		
Gender	Male	Low	24(54.5)	8(36.4)	1.9	0.1
		High	20(45.5)	14(63.6)	41	64
	Female	Low	27(77.1)	8(38.1)	8.5	0.0
		High	8(22.9)	13(61.9)	38	03 [*]
Age	<65	Low	37(77.1)	4(30.8)	9.9	0.0
		High	11(22.9)	9(69.2)	57	02 [*]
	≥ 65	Low	14(45.2)	12(40.0)	0.1	0.6
		High	17(54.8)	18(60.0)	66	84
Tumor size(cm)	<3	Low	42(75.0)	8(44.4)	5.8	0.0
		High	14(25.0)	10(55.6)	04	16 [*]
	≥ 3	Low	9(39.1)	8(32.0)	0.2	0.6
		High	14(60.9)	17(68.0)	66	06
Tumor location	Centre	Low	17(53.1)	7(31.8)	2.3	0.1
		High	15(46.9)	15(68.2)	97	22
	Periphery	Low	34(72.3)	9(42.9)	5.4	0.0
		High	13(27.7)	12(57.1)	27	20 [*]
Histological grade	I	Low	33(94.3)	1(50.0)	4.9	0.0
		High	2(5.7)	1(50.0)	80	26 [*]
	II-III	Low	18(40.9)	15(36.6)	0.1	0.6
		High	26(59.1)	26(63.4)	67	83
Histological type	Squamous cell carcinoma	Low	12(50.0)	2(22.2)	2.0	0.1
		High	12(50.0)	7(77.8)	68	50
	Adenocarcinoma	Low	39(70.9)	14(41.2)	7.7	0.0
		High	16(29.1)	20(58.8)	11	05 [*]
Lymph node metastasis	Negative	Low	46(69.7)	8(40.0)	5.7	0.0
		High	20(30.3)	12(60.0)	94	16 [*]
	Positive	Low	5(38.5)	8(34.8)	0.0	0.8
		High	8(61.5)	15(65.2)	49	25
Nerve invasion	Negative	Low	48(78.7)	12(57.1)	3.6	0.0
		High	13(21.3)	9(42.9)	94	55
	Positive	Low	3(16.7)	4(18.2)	0.0	0.9
		High	15(83.3)	18(81.8)	16	00
TNM stage	I-II	Low	49(67.1)	7(35.0)	6.7	0.0
		High	24(32.9)	13(65.0)	62	09 [*]
	III	Low	2(33.3)	9(39.1)	0.0	0.7
		High	4(66.7)	14(60.9)	68	94

Notice:The difference was statistically significant, ^{*} $P<0.05$,[▲]represented using Fisher exact probability method.

表4 有/无脉管侵犯非小细胞肺癌患者 TOPOII α 亚组比较

Clinicopathological features			Lymphovascular invasion[n(%)]		X ²	P
			Ki-67 expres sion	Negative		
Gender	Male	Low	21(47.7)	7(31.8)	1.5	0.21
		High	23(52.3)	15(68.2)	20	8
	Female	Low	21(60.0)	5(23.8)	6.9	0.00
		High	14(40.0)	16(76.2)	11	9 [*]
Age	<65	Low	32(66.7)	6(46.2)	1.8	0.17
		High	16(33.3)	7(53.8)	33	6
	≥65	Low	10(32.3)	6(20.0)	1.1	0.27
		High	21(67.7)	24(80.0)	84	7
Tumor size(cm)	<3	Low	34(60.7)	5(27.8)	5.9	0.01
		High	22(39.3)	13(72.2)	28	5 [*]
	≥3	Low	8(34.8)	7(28.0)	0.2	0.61
		High	15(65.2)	18(72.0)	57	3
Tumor location	Centre	Low	14(43.8)	5(22.7)	2.5	0.11
		High	18(56.2)	17(77.3)	27	2
	Periphery	Low	28(59.6)	7(33.3)	4.0	0.45 [*]
		High	19(40.4)	14(66.7)	01	
Histological grade	I	Low	23(65.7)	2(100.0)	-	1.00
		High	12(34.3)	0		0 [▲]
	II-III	Low	19(43.2)	10(24.4)	3.3	0.06
		High	25(56.8)	31(75.6)	34	8
Histological type	Squamous cell carcinoma	Low	11(45.8)	0	-	0.01
		High	13(54.2)	9(100.0)		5 [▲]
	Adenocarcinoma	Low	31(56.4)	12(35.3)	3.7	0.05
		High	24(43.6)	22(64.7)	35	3
Lymph node metastasis	Negative	Low	37(56.1)	6(30.0)	4.1	0.04
		High	29(43.9)	14(70.0)	70	1 [*]
	Positive	Low	5(38.5)	6(26.1)	0.5	0.43
		High	8(61.5)	17(73.9)	99	9
Nerve invasion	Negative	Low	36(59.0)	9(42.9)	1.6	0.19
		High	25(41.0)	12(57.1)	47	9
	Positive	Low	6(33.3)	3(13.6)	2.2	0.13
		High	12(66.7)	19(86.4)	03	8
TNM stage	I-II	Low	41(56.2)	5(25.0)	6.1	0.01
		High	32(43.8)	15(75.0)	00	4 [*]
	III	Low	1(16.7)	7(30.4)	0.4	0.50
		High	5(83.3)	16(69.6)	52	2

Notice:The difference was statistically significant, * $P<0.05$,▲represented using Fisher exact probability method.

表5 有/无脉管侵犯非小细胞肺癌患者 RRM1 亚组比较

Clinicopathological features			Lymphovascular invasion[n(%)]		X ²	P
			Ki-67 expression	Negative		
Gender	Male	Low	11(25.0)	1(4.5)	4.1	0.0
		High	33(75.0)	21(95.5)	25	42 [*]
	Female	Low	13(37.1)	4(19.0)	2.0	0.1
		High	22(62.9)	17(81.0)	33	54
Age	<65	Low	18(37.5)	3(23.1)	0.9	0.3
		High	30(62.5)	10(76.9)	43	32
	≥65	Low	6(19.4)	2(6.7)	2.1	0.1
		High	25(80.6)	28(93.3)	54	42
Tumor size(cm)	<3	Low	21(37.5)	2(11.1)	4.4	0.0
		High	35(62.5)	16(88.9)	28	35 [*]
	≥3	Low	3(13.0)	3(12.0)	0.0	0.9
		High	20(87.0)	22(88.0)	12	13
Tumor location	Centre	Low	8(25.0)	2(9.1)	2.1	0.1
		High	24(75.0)	20(90.9)	87	39
	Periphery	Low	16(34.0)	3(14.3)	2.8	0.0
		High	31(66.0)	18(85.7)	14	93
Histological grade	I	Low	15(42.9)	1(50.0)	0.0	0.8
		High	20(57.1)	1(50.0)	39	43
	II-III	Low	9(20.5)	4(9.8)	1.8	0.1
		High	35(79.5)	37(90.2)	75	71
Histological type	Squamous cell carcinoma	Low	5(20.8)	1(11.1)	0.4	0.5
		High	19(79.2)	8(88.9)	16	19
	Adenocarcinoma	Low	19(34.5)	4(11.8)	5.6	0.0
		High	36(65.5)	30(88.2)	90	17 [*]
Lymph node metastasis	Negative	Low	23(34.8)	3(15.0)	2.8	0.0
		High	43(65.2)	17(85.0)	67	90
	Positive	Low	1(7.7)	2(8.7)	0.0	0.9
		High	12(92.3)	21(91.3)	11	17
Nerve invasion	Negative	Low	21(34.4)	3(14.3)	3.0	0.0
		High	40(65.6)	18(85.7)	61	80
	Positive	Low	3(16.7)	2(9.1)	0.5	0.4
		High	15(83.3)	20(90.9)	19	71
TNM stage	I-II	Low	23(31.5)	1(5.0)	5.7	0.0
		High	50(68.5)	19(95.0)	61	16 [*]
	III	Low	1(16.7)	4(17.4)	0.0	0.9
		High	5(83.3)	19(82.6)	02	67

Notice:The difference was statistically significant, * $P<0.05$,▲represented using Fisher exact probability method.

3 讨论

脉管侵犯与肺癌的转移及复发密切相关。在肿瘤转移的过程中,脉管侵犯是发生转移第一步的基础,进而发生微转移,最终导致肿瘤的淋巴结转移或者远处转移。本研究显示在年龄、肿瘤大小、组织学分级、淋巴结转移、神经侵犯及TNM分期方面有脉管侵犯者与无脉管侵犯者具有显著差异,且在有脉管侵犯患者中≥65岁、肿瘤最大径≥3cm、组织学分级II-III级、淋巴结转移阳性、神经侵犯阳性及TNM分期III期的比例均显著高于无脉管侵犯的患者,进一步证实了,年龄、肿瘤大小、组织学分级、淋

巴结转移、神经侵犯及TNM分期等与非小细胞肺癌脉管侵犯的关系。

Ki-67抗原能可靠的反映肿瘤细胞的增殖率,其表达情况可以反映肿瘤细胞的增殖活性,与肿瘤的发生发展、转移及预后密切相关^[2,3]。本研究显示有脉管侵犯的NSCLC患者的Ki-67高表达率为62.8%,显著高于无脉管侵犯者的35.4%。亚组分析显示,有和无脉管侵犯NSCLC患者之间Ki-67高表达率的差异主要出现于女性、<65岁、肿瘤最大径<3cm、周围型、组织学分级I级、腺癌、淋巴结转移阴性及TNM分期I-II期。因此推断,肿瘤最大径<3cm、组织学分级I级、无淋巴结转移以及TNM分期I-II期便出现脉管侵犯的肿瘤具有更高的侵袭性,并且在出现脉管侵犯的NSCLC患者中,女性、年龄<65岁、周围型、腺癌的患者更容易出现Ki-67的高表达。

Topo II α 主要位于细胞核基质中,既是DNA复制的关键酶,也是蒽环类药物作用的靶酶^[4,5]。本研究显示有脉管侵犯的NSCLC患者的TOP II α 高表达率为72.1%,显著高于无脉管侵犯者的46.8%,表明TOP II α 高表达更易出现脉管侵犯。亚组分析显示TOPO II α 高表达率的差异主要出现于女性、肿瘤最大径<3cm、周围型、淋巴结转移阴性及TNM分期I-II期,提示发生脉管侵犯的NSCLC患者具有上述特征的更易出现TOPO II α 高表达,具有更高的增殖活性及对化疗药物更高的敏感性,对NSCLC患者的预后及治疗具有一定的提示及指导作用。

肺癌的发生与吸烟、空气污染及电离辐射等因素引起的细胞DNA损伤密切相关。细胞内的核苷酸切除修复(Nucleotide Excision Repair,NER)系统负责修复由紫外线照射诱发的多环芳香碳氢化合物、嘧啶二聚体、氧化损伤以及由铂类药物所导致的DNA损伤^[6]。核苷酸还原酶M1(ribonucleotide reductase subunit M1,RRM1)是DNA合成通路中的限速酶,是NER系统的重要成员,在DNA的合成以及修复过程中必不可少,也是细胞存活的关键酶^[7]。本研究结果显示,有脉管侵犯的NSCLC患者的RRM1高表达率为88.4%,显著高于无脉管侵犯者的69.6%。有/无脉管侵犯NSCLC患者之间RRM1高表达率的差异主要出现于男性、肿瘤最大径<3cm、腺癌及TNM分期I-II期。本研究结果提示NSCLC患者伴有脉管侵犯的RRM1具有较高的高表达率,尤其在男性、肿瘤最大径<3cm、腺癌及TNM

分期I-II期的患者,可能对抗细胞代谢类药物核苷类似物,包括吉西他滨、氟达拉滨、氟达拉滨、克拉屈滨等具有一定的耐药性。

脉管侵犯是肿瘤扩散的重要途径,在NSCLC的发展过程中,脉管侵犯是肿瘤发生转移的关键步骤,也是影响预后的重要原因之一,因此针对脉管侵犯相关因素的研究,采取积极干预治疗措施,对NSCLC的预后及治疗具有重要的临床意义。

参考文献:

- [1]LIJC,YANG XR,SUN HX,et al.Up-regulation of Krppel-like factor 8 promotes tumor invasion and indicates poor prognosis for hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology,2010,139(6):2146-2157.
- [2]杨俊荣,徐文鑫,穆红,等.Ki-67、TOP II α 与食管鳞状细胞癌脉管侵犯的关系[J]. 现代肿瘤医学,2023,31(07):1247-1251.
- [3]SHOMORI K,NISHIHARA K,TAMURA T,et al.Geminin,Ki67 and minichromosomemaintenance2 in gastric hyperplastic polyps,adenomas and intestinal-type carcinomas:Pathobiological significance[J].Gastric Cancer,2010,13(3):177-185.
- [4]杨俊荣,徐文鑫,马平,等.Ki-67、TOP II α 在食管鳞状细胞癌中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学,2022,30(10):1786-1790.
- [5]杨俊荣,徐文鑫,穆红,等.Ki-67、TOP II α 在女性乳腺浸润性导管癌中的表达及临床意义[J]. 热带医学杂志,2023,23(3):392-395.
- [6]DHILLON VS,Yeoh E,FENECH M.DNA repair gene polymorphisms and prostate cancer risk in South Australia-results of a pilot study[J].Urologic oncology 2011,29 (6):641-646.
- [7]YANG Z, FU B, ZHOU L, et al.RRM1 predicts clinical outcome of high-and intermediate-risk non-muscle-invasive bladder cancer patients treated with intravesical gemcitabine monotherapy[J].BMC Urol. 2019;19(1):69.

作者简介:杨俊荣,女,汉族,江苏省南京市,硕士,南京医科大学第四附属医院,病理科副主任,肿瘤的病理诊断。