

Ki67 在乳腺癌中的研究进展

刘 虔 孙圣荣

摘 要 Ki67 抗原是与细胞增殖相关的核抗原,不存在于静止的细胞,对判断肿瘤细胞的增殖分化起着重要的作用。在临床应用中,其作为乳腺癌分子分型的检测指标之一,这具有重要的意义。本文主要对乳腺癌组织中 Ki67 抗原的测定、指导治疗和判断预后方面的研究进行综述。

关键词 Ki67 乳腺癌 临床应用 临床检测

中图分类号 R6

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.12.006

乳腺癌是一种高度异质性的疾病,即相同期别的乳腺癌具有不同的生物学特性^[1~3]。随着分子生物学的发展,许多与乳腺癌相关的分子被发现,其中最常见包括人表皮生长因子受体 2 (HER-2)、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和 Ki67^[4,5]。近来多项研究表明,Ki67 可作为预测乳腺癌预后及判断治疗效果的指标,但亦有研究者持保留意见。Ki67 在检测及临床指导方面仍存在争议^[5,6]。

一、Ki67 的发现、结构和生物学功能

1983 年,Gerdes 等^[7]通过用染色未固定组织的增殖细胞第一次发现了 Ki67 单克隆抗体,Ki67 抗体可特异性识别一种 Ki67 抗原,该抗原是一种只存在于增殖细胞核内的核抗原,不存在于静止的细胞内,故认为 Ki67 可能是评价肿瘤细胞增殖分数简单、实用的指标。细胞在 G₁、S、G₂ 和有丝分裂期表达 Ki67 抗原,但是在 G₀ 期不表达,并且 Ki67 在 G₁ 和 S 表达的水平很低,但是到有丝分裂期 Ki67 的表达水平达到峰值^[8]。现已证明 Ki67 是一种非组蛋白。MacCallum 等^[9]研究发现 Ki67 通过极其复杂的方式与 DNA、RNA 及其他蛋白形结合,故认为 Ki67 是分裂细胞中核糖体合成的重要因子,与细胞的分裂密不可分。因此,Ki67 已经成为评价恶性肿瘤细胞增殖程度的最可靠的指标之一。除此之外,Ki67 在正常组织中的表达水平很低,且特异的表达于 ER(-) 的细胞;ER(+) 的细胞中 Ki67 表达水平较低,增殖活性亦较低。但 Ki67 这种表达与激素受体表达分离的现象并不存在于恶性肿瘤组织,Ki67 的表达阳性率在良性乳腺疾病、导管原位癌、浸润性乳腺癌中呈递增趋势^[10]。

二、Ki67 的临床检测方法及阳性率的界定

临床上运用最广泛的 Ki67 的检测方法是免疫组织化学法^[11]。Ki67 抗原的半衰期很短,只有约 1 ~ 1.5h,故起初的 Ki67 抗体只能在新鲜的组织 and 冷冻组织中检测 Ki67 抗原。后来,鼠抗人 Ki-67 单克隆抗体的开发使得 Ki67 抗原检测的特异性和敏感度大幅提升,是目前检测 Ki67 抗原最常用的抗体^[11]。流式细胞术也能用于检测肿瘤细胞 Ki67 的表达,其主要基于 Ki67 与硫氰酸荧光素结合进行标记和分类判断,但由于价格贵、操作复杂、可重复性欠佳等缺点,使其不能广泛应用临床^[12]。肿瘤细胞着色的百分比是免疫组织化学检测 Ki67 的评价系统,临床上常在 40 倍显微镜下观察核着色来计算 Ki67 指数。陈创等的研究显示,免疫组织化学法只能清楚标记 Ki67,对于癌巢的显示不清晰,使它在技术上很难精确的计数癌巢中 Ki67 的指数^[8]。他们研究的基于量子点多重成像的方法可以同时标记 Ki67 和癌巢,能更好的评价肿瘤的生物特性。目前,我国大多数医院的病理科仍以人工计数作为主要方法评价 Ki67 指数,人为主观性大,病理医生的水平也参差不齐。临床上应该寻找更经济、准确、高效的方法,因此陈创等人研究的量子点法评价 Ki67 不失为一种新的探索。

临床上对 Ki67 高、低表达的临界值没有达成广泛的共识,从 3.5% ~ 34.0% 都有报道^[10]。2009 年,Cheang 等^[13]以 13.25% 为 Ki67 表达临界值结合基因表达将 Luminal 型乳腺癌分为 A 型和 B 型。2011 年 St. Gallen 共识最终将 Ki67 表达阳性率临界值确定为 14% 以区分这两类亚型的乳腺癌,从而确定早期乳腺癌的主要治疗方案。有研究者^[10]提出以 10%、15% 或 20% 作为 Ki67 表达阳性率的临界值。2013 年 St. Gallen 共识大部分的专家建议将 $\geq 20\%$ 作为 Ki67 表

达阳性率的临界值。Gøril 等^[14] 回顾性分析了 534 例乳腺癌患者的样本,计数了 3 种样本 whole sections (WS), core needle biopsies (CNB) and tissue microarrays (TMA) 中 Ki67 的表达,发现这 3 种样本 Ki67 表达阳性率的临界值分别为 18% on WS (hot-spot areas), 13% on CNB, 和 7% on TMA,差异具有统计学意义,建议 Ki67 的阳性表达率不应该规定一个具体的值。有专家提出考虑到实验室 Ki67 阳性率检测方法不同可能造成结果很大程度上的差异,存在对化疗可能受益的 Luminal 型乳腺癌治疗不足的可能,应采取较低的临界值来定义 Ki67 高表达或采用多基因表达检测结果^[10]。但是,临床上仍以 14% 作为 Ki67 阳性表达率的临界值最为常用。

三、Ki67 对乳腺癌预后的判断

研究表明 Ki67 可作为判断乳腺癌预后的指标。2007 年,de Azambuja 等^[15] 对 46 项研究共 12155 例患者 Ki67 表达和乳腺癌预后的相关性进行了 Meta 分析,结果显示高表达 Ki67 的早期乳腺癌患者复发率高、预后较差。后来的学者对 Ki67 与乳腺癌预后的关系做了大量的研究。2015 年,王增燕等^[16] 通过分析 235 例早期乳腺癌患者临床病例资料,发现 Ki67 水平与临床病理特征中的肿瘤 T 分期、腋窝淋巴结转移、病理分级及 HER-2 呈正相关,与年龄、ER、PR 状态呈负相关。王增燕等^[16] 研究中也提出多个淋巴结转移阳性的早期乳腺癌患者, Ki67 低表达并不意味着复发率就低,提示 Ki67 可能不是多个淋巴结阳性的早期乳腺癌的良好的预后指标。2015 年,Taghipour 等^[17] 回顾性研究了 566 例乳腺癌患者,年龄为 17~98 岁,结果显示 Ki67 高表达的患者更多地过表达 HER-2,肿瘤更大、淋巴结转移更多见,肿瘤具有侵袭性;此外,过表达 HER-2 和 P53 的年轻乳腺癌患者, Ki67 的增殖率越高肿瘤也更具侵袭性。2015 年, Bulent 等^[18] 回顾性分析了 165 例非转移性 HER-2 阳性的乳腺癌患者,发现高表达和低表达 Ki67 的患者,除了淋巴管侵袭和雌激素受体状态不同外,具有相似的人口统计学和临床病理特征,临床进程是由雌激素受体状态决定而不是 Ki67 的表达水平。2016 年, Shuang 等^[19] 回顾性分析 571 例女性三阴性乳腺癌患者,指出相较其他亚型乳腺癌 Ki67 在三阴性乳腺癌中的预测价值正变得更重要,在三阴性乳腺癌中 Ki67 的表达水平与肿瘤直径分期有直接的相关性,高表达 Ki67 的死亡风险增加;高表达 Ki67 的患者有较高的 PCR 率,但是无病生存率和总生存

率低。研究也表明 Ki67 的预测性在不同年龄的三阴性乳腺癌患者中亦不同。年轻的三阴性乳腺癌患者, Ki67 高表达是很好的独立的预测指标,她们可能从化疗中获益;在老年三阴性患者中 Ki67 低表达可能预示较好的预后;但是在 <50 岁的三阴性乳腺癌患者中 Ki67 低表达与预测预后无明显关联性。Yip 等^[20] 分析了 450 例乳腺癌患者,单因素分析显示 Ki67 指数与年轻、高组织分级、ER 和 PR 阴性、HER-2 阳性、高有丝分裂指数及淋巴结阳性有关;但是多因素分析显示只有肿瘤直径组织分级、PR 和 HER-2 与 Ki67 有重要相关性。Yip 等的研究中 102 位 I 期乳腺癌患者中只有 5 例 (4.9%) Ki67 阳性,并且这部分患者没有接受化疗,故 Yip 等认为 Ki67 对改变 I 期乳腺癌患者管理决策的重要性非常微弱。Shandiz 等^[21] 研究显示 Ki67 对无淋巴结转移的乳腺癌患者的 3 年无病生存率可能是一个独立的预测因素。这些研究从不同角度说明了 Ki67 对乳腺癌预后评估的重要作用。

四、Ki67 对乳腺癌临床治疗的指导作用

Knoop 等^[10] 研究了绝经后乳腺癌患者 ER、PR、HER-2 及 Ki67 表达指数对他莫昔芬治疗的影响,结果显示 1 年的他莫昔芬治疗可降低 ER(+) 乳腺癌患者的复发率,但是对 Ki67 表达指数不同的 Luminal 型乳腺癌获益差异无统计学意义。桑蝶等^[9] 在一篇综述中提到在早期或局部晚期乳腺癌中, Ki67 可以预测新辅助化疗的疗效(临床疗效或 pCR),较高的 Ki67 与更好的化疗疗效相关,并且在 Ki67 高表达的乳腺癌中各种分子亚型均可从新辅助化疗中获益;而在 Ki67 表达低的乳腺癌中,三阴性乳腺癌较其他 3 种分子亚型更易从新辅助化疗中获益。Sueta 等^[22] 研究发现,根据 Ki67 表达指数的高低分类可提高对乳腺癌内分泌治疗疗效的预测价值。2011 年 St. Gallen 共识建议将把 Ki67 分界点定为 14% 来区分 Luminal A 和 Luminal B 型乳腺癌来指导治疗,同时指出低表达 Ki67 的 Luminal A 型乳腺癌对化疗不敏感。

综上所述, Ki67 作为预测部分乳腺癌预后的指标得到大多数专家的支持,其与 ER、PR、HER-2 状态作为乳腺癌分型的依据及指导临床治疗已得到广泛的运用,但是建立常规、准确、经济及标准化的检测 Ki67 的方法,科学界定 Ki67 表达阳性率临界值仍是相当必要的。

参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA

- Cancer Clin, 2011, 61(2): 69 – 90
- 2 DeSantis C, Ma J, Bryan L, *et al.* Breast cancer statistics, 2013[J]. CA Cancer Clin, 2014, 64(1): 52 – 62
- 3 Cummings MC, Chambers R, Simpson PT, *et al.* Molecular classification of breast cancer: is it time to pack up our microscopes? [J] Pathology, 2011, 43(1): 1 – 8
- 4 Ginsburg GS, Willard HF. Genomic and personalized medicine: foundations and applications [J]. Transl Res, 2009, 154(6): 277 – 287
- 5 Guiu S, Michiels S, Andre F, *et al.* Molecular subclasses of breast cancer: how do we define them? The IMPAKT 2012 Working Group Statement [J]. Ann Oncol, 2012, 23(12): 2997 – 3006
- 6 Kontzoglou K, Palla V, Karaolanis G, *et al.* Correlation between Ki67 and breast cancer prognosis [J]. Oncology, 2013, 84 (a4): 219 – 225
- 7 Gerdes J, Schwab U, Lemke H, *et al.* Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation [J]. Int J Cancer, 1983, 31(1): 13 – 20
- 8 Yuan JP, Wang LW, Qu AP, *et al.* Quantum dots – based quantitative and in situ multiple imaging on Ki67 and cytokeratin to improve Ki67 assessment in breast cancer [J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0122734
- 9 桑蝶, 王佳玉, 徐兵河. 增殖细胞核抗原 Ki 67 与乳腺癌新辅助化疗疗效的关 [J]. 中华乳腺病杂志, 2015, 9(1): 50 – 53
- 10 陈青, 吴克瑾. Ki – 67 乳腺癌临床应用价值及其临界值界定的研究进展 [J]. 中华外科杂志, 2015, 53(8): 634 – 637
- 11 孙金中, 陈 创, 孙圣荣. 乳腺癌组织中 Ki – 67 的临床研究进展 [J]. 临床外科杂志, 2013, 21(7): 563 – 565
- 12 Martinez – Arribas F, Martin – Garabato E, Lafuente P. *et al.* Pmlif-eration measurement in breast cancer by two different methods [J]. Anticancer Res, 2006, 26 (1A): 199 – 202
- 13 Cheang MC, Chia SK, Voduc D, *et al.* Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 2009, 101(10): 736 – 750
- 14 Gøril K, Ingunn MS, Sura A, *et al.* Evaluation of Ki67 expression across distinct categories of breast cancer specimens: a population – based study of matched surgical specimens, core needle biopsies and tissue microarrays [J]. Akslen PLoS One, 2014, 9(11): e112121
- 15 de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G Jr, *et al.* Ki67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta – analysis of published studies involvin912, 155 patients [J]. Br J Cancer, 2007, 96(10): 1504 – 1513
- 16 王增燕, 吴雄, 杨乐艺. Ki67 在早期乳腺癌中的表达及临床意义 [J]. 中国继续医学教育, 2015, 7(24): 56 – 57
- 17 Taghipour ZS, MD, Aalipour Ezatollah, *et al.* Interrelationships between Ki67, HER2/neu, p53, ER, and PR status and their associations with tumor grade and lymph node involvement in breast carcinoma subtypes [J]. Medicine Baltimore, 2015, 94(32): e1359
- 18 Bulent E, Esma T, Tülin DY, *et al.* Importance of Ki – 67 in human epidermal growth factor receptor 2 positive breast cancer [J]. BUON, 2015, 20(3): 730 – 736
- 19 Hao S, He ZX, Yu KD, *et al.* New insights into the prognostic value of Ki – 67 labeling index in patients with triple – negative breast cancer [J]. Oncotarget, 2016, Apr 1. Epub ahead of print
- 20 Yip Ch, Bhoo – Pathy N, Daniel J, *et al.* Roles of Ki67 in Breast Cancer – Important for Management? [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2016, 17(3): 1077 – 1082
- 21 Shandiz FH, Shabahang H, Afzaljavan F, *et al.* Ki67 frequency in breast cancers without axillary lymph node involvement and its relation with disease – free survival [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2016, 17 (3): 1347 – 1350
- 22 Sueta A, Yamamoto Y, Hayashi M, *et al.* Clinical significance of pretherapeutie Ki67 as a predictive parameter for response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer; is it equally useful across tumor subtypes. 9 [J]. Surgery, 2014, 155(5): 927 – 935

(收稿日期:2016 – 04 – 14)

(修回日期:2016 – 04 – 29)

(上接第 20 页)

- 11 Filhoulaud G, Guilmeau S, Dentin R, *et al.* Novel insights into ChREBP regulation and function [J]. Trends Endocrinol Metab, 2013, 24(5): 257 – 268
- 12 周露婷, 章卫平. 转录因子碳水化合物反应元件结合蛋白对肝脏糖脂代谢的调节作用 [J]. 第二军医大学学报, 2011, 32(3): 318 – 322
- 13 Benhamed F, Denechaud PD, Lemoine M, *et al.* The lipogenic transcription factor ChREBP dissociates hepatic steatosis from insulin resistance in mice and humans [J]. J Clin Invest, 2012, 122(6): 2176 – 2194
- 14 Arden C, Tudhope SJ, Petrie JL, *et al.* Fructose 2,6 – bisphosphate is essential for glucose – regulated gene transcription of glucose – 6 – phosphatase and other ChREBP target genes in hepatocytes [J]. Biochem J, 2012, 443(1): 111 – 123
- 15 Dentin R, Tomas CL, Foulle F, *et al.* Glucose 6 – phosphate, rather than xylulose 5 – phosphate, is required for the activation of ChREBP in response to glucose in the liver [J]. J Hepatol, 2012, 56 (1): 199 – 209
- 16 Guinez C, Filhoulaud G, Rayah BF, *et al.* O – GlcNAcylation increases ChREBP protein content and transcriptional activity in the liver [J]. Diabetes, 2011, 60(5): 1399 – 1413
- 17 Herman MA, Peroni OD, Villoria J, *et al.* A novel ChREBP isoform in adipose tissue regulates systemic glucose metabolism [J]. Nature, 2012, 484(7394): 333 – 338
- 18 Eissing L, Scherer T, Todter K, *et al.* De novo lipogenesis in human fat and liver is linked to ChREBP – beta and metabolic health [J]. Nat Commun, 2013, 4: 1528
- 19 Mitro N, Mak PA, Vargas L, *et al.* The nuclear receptor LXR is a glucose sensor [J]. Nature, 2007, 445(7124): 219 – 223
- 20 Beaven SW, Matveyenko A, Wroblewski K, *et al.* Reciprocal regulation of hepatic and adipose lipogenesis by liver X receptors in obesity and insulin resistance [J]. Cell Metab, 2013, 18(1): 106 – 117

(收稿日期:2016 – 02 – 24)

(修回日期:2016 – 03 – 17)