

Ki-67、ToPo II α 在宫颈病变中表达的比较及检出 HSIL 的价值分析

蒋朋朋 赵向荣 柯小宁

摘要 **目的** 探讨 Ki-67、ToPo II α 在各级宫颈病变中表达情况的比较以及检出 HSIL 的价值。**方法** 收集 2018 年 1 月~2019 年 1 月就诊于邯郸市中心医院的 158 例宫颈病变组织,按病变级别分为 CIN I 组 46 例、CIN II 组 33 例、CIN III 组 34 例,同时选取正常宫颈组织 45 例作为对照组,采用免疫组化 SP 法检测各组 Ki-67、ToPo II α 的表达情况。**结果** Ki-67、ToPo II α 在对照组、CIN I 组、CIN II 组、CIN III 组中的阳性表达率逐渐升高,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。Ki-67、ToPo II α 的阳性表达水平与宫颈病变严重程度具有一致性,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Ki-67、ToPo II α 检出 HSIL 的敏感度分别为 82.10% 和 71.64%,特异性分别为 69.23% 和 83.52%,准确率分别为 74.68% 和 78.48%,阳性预测值分别为 66.27% 和 76.19%,阴性预测值分别为 84.00% 和 80.00%。其中,在敏感度、准确率、阳性预测值、阴性预测值方面,Ki-67 与 ToPo II α 相当,差异无统计学意义($P > 0.05$)。在特异性方面,ToPo II α 比 Ki-67 较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** Ki-67、ToPo II α 的阳性表达程度与宫颈病变的级别呈正相关;在检出 HSIL 方面,Ki-67 的敏感度、准确率、阳性预测值、阴性预测值与 ToPo II α 相当,但 ToPo II α 的特异性明显高于 Ki-67,检测价值略高于 Ki-67。

关键词 Ki-67 ToPo II α 宫颈病变 免疫组化

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.12.019

Comparison of Ki-67, ToPo II α Expressed in Cervical Lesions and the Value Analysis of HSIL Detection. Jiang Pengpeng, Zhao Xianrong, Ke Xiaoning. Handan Central Hospital, Hebei 056001, China

Abstract **Objective** To discuss the different expression in comparison of Ki-67, ToPo II α in cervical intraepithelial neoplasia organizations at all levels and the value of check out the high level cervical squamous intraepithelial lesion. **Methods** Cervical tissues of 158 patients with cervical lesions admitted to Handan central hospital from January 2018 to January 2019 were collected. They were divided into CIN I group of 46 cases, CIN II group of 33 cases, CIN III group of 34 cases according to the severity of cervical lesions. At the same time, 45 cases of normal cervical tissue were selected as the control group. The positive expression of Ki-67 and ToPo II α in different degrees of cervical lesion tissue were detected by adopting the immunoHistochemistry method. **Results** The positive expression rates of Ki-67, ToPo II α in the control group, CIN I group, CIN II group, CIN III group were gradually increased, and the differences between the groups were statistically significant($P < 0.05$). The positive expression level of Ki-67, ToPo II α has consistency with the cervical lesion severity, and the difference was statistically significant($P < 0.05$). Ki-67, ToPo II α respectively detected HSIL with sensitivity of 82.10% of 71.64%, specificity of 69.23%, 83.52%, accuracy of 74.68%, 78.48%, positive predictive value of 66.27%, 76.19% and negative predictive value of 84.00%, 80.00%. Among them, there was no statistically significant difference of Ki-67 and ToPo II α in the sensitivity, accuracy, positive predictive value, negative predictive value($P > 0.05$). But ToPo II α was higher than Ki-67 in terms of specific degrees, and the difference was statistically significant($P < 0.05$). **Conclusion** The positive expression level of Ki-67 and ToPo II α had positively correlated relationship with cervical lesions. Ki-67 has similar sensitivity, accuracy, positive predictive value, negative predictive value with ToPo II α in the detection of HSIL. But the ToPo II α was obviously higher than Ki-67 in terms of specificity, and the detection value was slightly higher than Ki-67.

Key words Ki-67; ToPo II α ; Cervical lesions; Immunohistochemical

宫颈癌是女性最为常见的恶性肿瘤之一。据研

究统计,2018 年全球估计有 311365 人因宫颈癌而致死,其中大概 90% 发生于发展中国家^[1]。而宫颈病变是正常宫颈上皮发展至宫颈癌的重要中间阶段,其分级诊断在临床上较为困难。因此常需要借助分子生物学标志物辅助诊断,提高宫颈病变诊断的准确

基金项目:河北省重点科技研究计划项目(20200467)

作者单位:056001 邯郸市中心医院

通讯作者:赵向荣,电子信箱:zxr1965@sina.com

性^[2]。Ki-67 主要表达于增殖细胞的细胞核中,是评估细胞增殖的较好指标,常用于宫颈病变的分级诊断^[3]。Topo II α 是 DNA 拓扑异构酶的一种,能调节核酸结构,是 DNA 进行复制及转录的重要核酶^[4]。目前 Topo II α 研究热点主要在于其可作为蒺环类药物的靶酶,常用于肿瘤耐药时预测蒺环药物化疗的敏感度^[5]。但 Topo II α 的表达在细胞增殖和分裂中起着重要的作用,其蛋白水平的过表达反映细胞的增殖状态,也是一个特殊的细胞增殖标志物^[6]。本研究通过免疫组化法研究 Ki-67、Topo II α 这两种细胞增殖标志物在宫颈病变组织中的不同表达情况并作比较,同时探讨其在检出宫颈高级别病变方面的价值。

材料与方法

1. 一般资料:选取 2018 年 1 月~2019 年 1 月因宫颈病变就诊于邯郸市中心医院门诊或住院部,进行宫颈活检或锥切的患者 113 例,作为观察组。其中 CIN I 46 例、CIN II 33 例、CIN III 34 例。同时随机选取同一时段因子宫良性病变行手术治疗,病理诊断为宫颈正常组织者 45 例,作为对照组。入选患者年龄为 35~65 岁,平均年龄 46.0 ± 8.3 岁,各组年龄比较差异无统计学意义。纳入标准:①35 岁 $\leq$ 年龄 $\leq$ 65 岁;②此前未接受过放化疗或分子靶向治疗;③临床、病理资料完整;④既往无宫颈癌及其他恶性肿瘤病史;⑤两名高年资病理医生复核诊断的病理分级结果一致。排除标准:①年龄 <35 岁或 >65 岁;②经期、孕期、哺乳期的女性;③临床、病理资料不完整;④有肿瘤相关的放化疗或其他基因靶向治疗史;⑤合并有重要脏器功能损伤;⑥两名病理医生的复核诊断结果不一致。本研究开始前均获得患者或家属的知情同意。本研究经邯郸市中心医院医学伦理学委员会批准通过。

2. 研究方法:(1)试剂选择:所有符合条件的标本均已使用 10% 中性甲醛溶液固定,石蜡包埋。选取符合标准的组织,对其蜡块进行 4 μ m 厚连续切片,应用免疫组织化学 SP 法染色,DAB 显色,最后结果使用光镜进行观察。Ki-67 兔抗人型单克隆抗体、鼠抗人型单克隆 Topo II α 抗体购自上海信裕生物科技有限公司,免疫组化相关试剂购自上海如吉生物科技发展有限公司。实验操作步骤严格按试剂盒说明书进行。(2)免疫组化步骤:常规石蜡切片,做好标记,68 $^{\circ}$ C 烤箱烤片 2h,二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水,采用高压锅高温修复抗原,3% 双氧水灭活内源性过氧化物酶,每张切片上滴加适量一抗,4 $^{\circ}$ C 恒温过夜,再加入生物素标记的二抗,37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱放置 1h,

DAB 显色,苏木精溶液复染,标本脱水、透明,干燥后中性树胶封片^[7]。每步均经准确的时间及恰当的温度孵育,均使用 PBS 缓冲液进行冲洗。阴性对照选择 PBS 染色替代一抗,阳性对照以宫颈癌染色结果作为标准。

3. 结果判读:Ki-67、ToPo II α 的阳性表达均为细胞核内出现棕黄色或褐色颗粒。在低倍光镜下观察,选择 5 个阳性病变典型的区域,再在高倍镜下计数 200 个细胞中的阳性细胞数,取 5 个阳性细胞比例的均值确定最终阳性细胞比例。结果分为阴性(-):阳性细胞比例 $\leq 5\%$;弱阳性(+): $6\% <$ 阳性细胞比例 $\leq 25\%$;中度阳性(++): $25\% <$ 阳性细胞比例 $\leq 50\%$;强阳性(+++):阳性细胞比例 $> 50\%$ 。

4. 统计学方法:采用 SPSS 21.0 统计学软件对数据进行统计分析。计数资料采用百分比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,期望计数 <5 时使用连续校正法或 Fisher 精确概率法计算。Ki-67、ToPo II α 的阳性表达与宫颈病变程度的一致性采用 Spearman 等级相关性分析。Ki-67、ToPo II α 检出 HSIL 的敏感度、特异性、准确率、阳性预测值、阴性预测值的比较采用配对 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Ki-67、ToPo II α 在各组中阳性表达率的比较:Ki-67 在对照组、CIN I、CIN II、CIN III 组中的阳性表达率逐渐升高,分别为 15.56%、45.65%、69.70% 和 94.12%,组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 53.03, P < 0.05$)。ToPo II α 在各组中的阳性表达率依次为 11.11%、34.78%、54.55%、88.24% 和 96.67%,组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 57.97, P < 0.05$),详见表 1、图 1。

表 1 各组中 Ki-67、ToPo II α 的阳性表达情况[n(%)]

组别	n	Ki-67 阳性率	ToPo II α 阳性率
对照组	45	7(15.56)	5(11.11)
CIN I 组	46	21(45.65)	10(21.74)
CIN II 组	33	23(69.70)	18(54.55)
CIN III 组	34	32(94.12)	30(88.24)

2. Ki-67、ToPo II α 的阳性表达率与宫颈病变级别相关性比较:Ki-67、ToPo II α 的阳性表达水平均与宫颈病变严重程度具有一致性,Spearman 相关系数分别为 0.670 和 0.647。即宫颈病变的级别越严重,Ki-67、ToPo II α 的阳性表达率越高。两者均能反映宫颈病变的严重程度,一致性相当($P = 0.000$)。

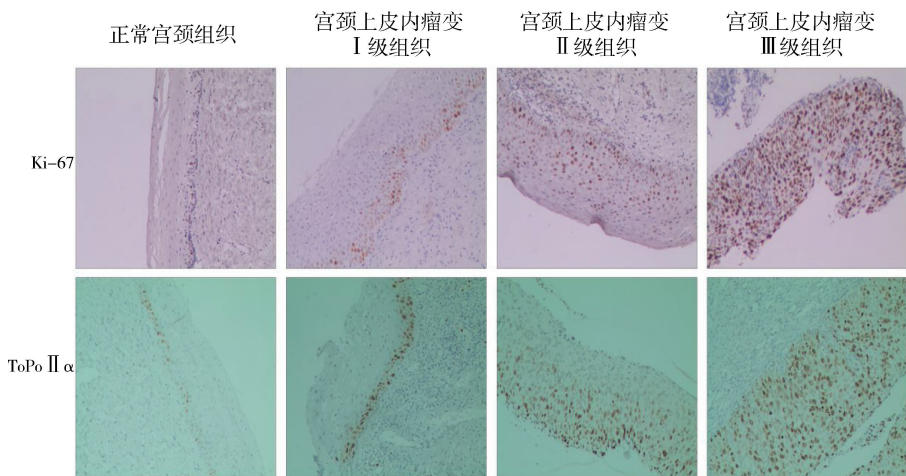


图 1 各组中 Ki - 67、ToPo II α 的阳性表达情况 (免疫组化, ×200)

3. Ki - 67、ToPo II α 检出 HSIL 的诊断价值比较: HSIL 包括 CIN II、CIN III 级病变, Ki - 67、ToPo II α 以检出 CIN II 及 CIN III 级病变为阳性。阳性检出情况详见表 2。其中在 67 例高级别病变组织中, Ki - 67 阳性例数 55 例, ToPo II α 阳性例数 48 例。依据上述表格分别计算出 Ki - 67、ToPo II α 检出 HSIL 敏感度、特异性、准确率、阳性预测值和阴性预测值, 详见表 3。Ki - 67 的敏感度、阴性预测值略高于 ToPo II α,

差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。ToPo II α 的准确率及阳性预测值略高于 Ki - 67, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。而 ToPo II α 的诊断特异性高于 Ki - 67, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。即在敏感度、准确率、阳性预测值、阴性预测值等方面, Ki - 67 与 ToPo II α 的诊断价值比较, 差异无统计学意义。但是在特异性方面, ToPo II α 的诊断价值略高于 Ki - 67, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 Ki - 67、ToPo II α 检出 HSIL 的阳性例数 (n)

检测方法		HSIL(+)	≤ HSIL(-)	检测方法		HSIL(+)	≤ HSIL(-)
Ki - 67	阳性	55	28	ToPo II α	阳性	48	15
	阴性	12	63		阴性	19	76
合计		67	91	合计		67	91

表 3 Ki - 67、ToPo II α 的检出 HSIL 的诊断效能比较 [n/n(%)]

检测方法	敏感度	特异性	准确率	阳性预测值	阴性预测值
Ki - 67	55/67(82.09)	63/91(69.23)	118/158(74.68)	55/83(66.27)	63/75(84.00)
ToPo II α	48/67(71.64)	76/91(83.52)	124/158(78.48)	48/63(76.19)	76/95(80.00)
χ^2	0.00	8.94	0.64	1.70	0.45
P	0.95	0.00	0.43	0.19	0.50

讨 论

近年来,通过各种分子标志物协助肿瘤的诊断或分级成为各种肿瘤的研究热点。宫颈癌是一种女性常见的恶性肿瘤,而恶性肿瘤的特征是在细胞遗传过程中细胞分裂增强和无限制的分裂。在反映细胞增殖相关的核抗原中,应用最为广泛的是 Ki - 67。长期以来,关于 ToPo II α 的研究主要在肿瘤化疗的耐药性或者疗效的评估方面^[8]。但有研究发现,ToPo II α 的表达与 Ki - 67 具有相关性,也可以反映肿瘤细胞的增殖状态^[9]。研究显示,在临床治疗及判断预

后等方面 ToPo II α 比 Ki - 67 更具有特异性^[10]。本研究旨在比较 Ki - 67、ToPo II α 在各宫颈组织中的不同表达水平,探讨其对宫颈高级别病变的检出效能。Ki - 67 主要表达于增殖细胞的细胞核中,而在静止期细胞不表达,是评估细胞增殖的较好指标^[11]。Ki - 67 位于人类第 10 号染色体长臂,由两条多肽链组成,其中一条为 345kDa,另一条为 395kDa^[12]。它能够识别细胞周期中核抗原上的一个抗原决定簇,在增殖细胞的 G₁、S、G₂ 期表达, G₀ 期不表达,与细胞的合成代谢有关^[3]。Ki - 67 在细胞周期不断的增殖过

程中受协调机制控制,若调控机制发生异常,则机体表达呈现出增殖紊乱的状态。因此 Ki-67 的高表达常表示细胞增殖活跃,可反映宫颈癌或者癌前病变^[13]。尽管 Ki-67 已被用作细胞增殖的标志物和 CIN 分级的辅助物,但其参与的具体过程仍不明确^[14]。

ToPo II α 表达于细胞核,能调节核酸结构,是控制核酸生物功能的关键酶^[15]。其可催化 DNA 双链结构的复制,属于 DNA 拓扑异构酶的一种。众所周知,肿瘤的发生、发展是肿瘤细胞过度增殖造成的,而肿瘤细胞过度增生,必然涉及到 DNA 复制增加和 DNA 损伤修复功能增加。DNA 拓扑异构酶是真核生物细胞调控过程中一种必不可少的核酶,可催化 DNA 链的断裂和再结合,从而控制 DNA 的拓扑空间状态,在调节 DNA 超螺旋结构过程中发挥着重要作用^[16]。当拓扑异构酶发生突变或缺失时,则会导致基因的复制、染色体分离等缺陷,可导致严重疾病的发生^[17]。因此,ToPo II α 在恶性肿瘤细胞中的高表达不仅反映了增殖活性的增强,还反映了质的改变,常提示病变比较严重^[18]。

本研究结果发现,Ki-67 在对照组中的阳性表达主要在基底层及副基底层,随着病变级别加重,Ki-67 的表达层次逐渐由上皮下 1/3 层发展至上皮下 2/3 层及全层,阳性部位也由局灶阳性向弥漫阳性转变,这与施绒贤等^[19]研究结果一致。同样,ToPo II α 的阳性表达水平也随着宫颈病变的升级,表达越来越强。并且,在检出宫颈高级别病变方面,ToPo II α 与 Ki-67 的敏感度比较,差异无统计学意义,但特异性较 Ki-67 高,差异有统计学意义,即在肿瘤细胞增殖方面 ToPo II α 的特异性优于 Ki-67。但是由于本研究属于小样本研究,有待于扩大样本量来进一步分析探讨 ToPo II α 与 Ki-67 在检出宫颈高级别病变的效能比较。

综上所述,ToPo II α 与 Ki-67 均可反映宫颈病变的级别,且呈正相关。但在检出宫颈 HSIL 方面,ToPo II α 的特异性高于 Ki-67,在临床诊断上具有一定的指导意义。

参考文献

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424
- Su M, Lee J, Lee D, *et al.* The prognostic significance of P16, Ki-67, p63, and CK17 expression determined by immunohistochemical staining in cervical intraepithelial neoplasia[J]. Korean J

- Obstet Gynecol, 2011, 54(4): 184-191
- Andrea C, Francesco S, Jacopo D, *et al.* Cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy: interference of pregnancy status with p16 and Ki-67 protein expression[J]. Oncol Lett, 2017, 13(1): 301-306
- 韩天植, 张琴, 何思哲, 等. 金属配合物作为拓扑异构酶 II 抑制剂的进展[J]. 江西科技师范大学学报, 2019, 10(6): 84-90
- 徐泰, 张思明, 李璐, 等. DNA 拓扑异构酶 II α 在乳腺癌组织中的表达及其与病理特征的关系[J]. 中国当代医药, 2019, 26(18): 28-30
- Zhou Z, Liu S, Zhang M, *et al.* Overexpression of topoisomerase 2 - alpha confers a poor prognosis in pancreatic adenocarcinoma identified by co-expression analysis[J]. Digestive Dis Sci, 2017, 62(10): 2790-2800
- 石克, 吕新全. p16、Ki-67 双染在子宫颈上皮内病变病理诊断和分级中的应用[J]. 诊断学理论与实践, 2016, 15(6): 602-607
- Ling R, Jingwei L, Kaihua G, *et al.* Copy number variation and high expression of DNA topoisomerase II alpha predict worse prognosis of cancer: a Meta-analysis[J]. J Cancer, 2018, 9(12): 2082-2092
- 刘源. TOPO II、Ki67 及 E-Cadherin 在乳腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2016, 50(6): 548-550
- 黄炳臣, 覃忠卫, 罗春英, 等. 大肠腺癌中拓扑异构酶 II α 和 ki67 的表达及意义[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(10): 1637-1639
- 李晶, 汪竹, 袁昕, 等. Ki67 和 TOPO II α 在胃癌中的表达及临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(5): 666-668
- 尹璐, 郑磊贞, 马成斌, 等. 宫颈上皮内瘤样病变发生发展与 p16/Ki-67 共表达的相关性研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(6): 1032-1035
- 崔凯, 张利平. p16 蛋白、Ki67 抗原检测在宫颈上皮内瘤变中的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(24): 3704-3706
- Daliana C, Ana K, Ricardo N, *et al.* Immunohistochemical expression of p16, Ki-67 and p53 in cervical lesions - a systematic review[J]. Pathol Res Pract, 2017, 213(7): 723-729
- 李春燕, 李春旭, 杨帆. 基底细胞样乳腺癌老年患者 Ki-67 表达与 ToPo II α 、C-MYC 基因的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(16): 3988-3990
- Bibi K, Tahir SS, Nasir AA. Gene expression of hENT1, dCK, CDA, dCMPD and topoisomerase II α as an indicator of chemotherapy response in AML treated with cytarabine and daunorubicin[J]. Cancer Management Res, 2018, 9(10): 5573-5589
- Vasileios P, Aristeidis C, Nicholas M, *et al.* Topoisomerase II α protein expression patterns in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Anticancer Res, 2020, 40(2): 807-811
- Yoshimune H, Masamoto M, Katsuhiko K. Expression of topoisomerase II alpha, Ki-67 and p53 in early stage laryngeal carcinomas not featuring vocal cord fixation[J]. APMIS, 2000, 108(10): 689-696
- 施绒贤, 陈峰. P63、P16 和 ki67 在宫颈癌及上皮内病变中的表达及意义[J]. 大医生, 2018, 3(9): 105-106

(收稿日期: 2020-06-22)

(修回日期: 2020-06-30)