

II、III期直肠癌 Ki-67 及微卫星不稳定的表达对预后的影响

周涛

(泰州市第二人民医院普外科,江苏 泰州 225500)

摘要:目的 分析 II、III 期直肠癌 Ki-67 及微卫星不稳定的表达对预后的影响。方法 将我院 2019 年 3 月-2021 年 3 月共 65 例结肠癌患者作为研究对象,分析错配修复蛋白表达情况、微卫星不稳定性与直肠癌临床特征、生存期之间的关系以及 Ki-67 与直肠癌临床特征、生存期之间的关系。结果 MLH1 表达缺失 11 例,MSH2 表达缺失 14 例,MSH6 表达缺失 8 例,PMS2 表达缺失 7 例。Ki-67 表达阳性 48 例,阴性 17 例。微卫星不稳定性与肿瘤直径、淋巴结转移以及 TNM 分期有关($P<0.05$);微卫星不稳定性患者总生存期高于微卫星稳定性患者($P<0.05$);Ki-67 与肿瘤直径、淋巴结转移以及 TNM 分期有关($P<0.05$);Ki-67 阳性患者总生存期高于 Ki-67 阴性患者($P<0.05$)。结论 Ki-67 阴性及微卫星不稳定表达有利于延长 II、III 期直肠癌患者的总生存期,主要与肿瘤直径、淋巴结转移、TNM 分期有关。

关键词:直肠癌;微卫星不稳定性;Ki-67;预后

中图分类号:R735.3

文献标识码:A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2021.23.018

文章编号:1006-1959(2021)23-0066-03

Effect of Ki-67 and Microsatellite Instability on Prognosis in Stage II and III Rectal Cancer

ZHOU Tao

(Department of General Surgery, Taizhou Second People's Hospital, Taizhou 225500, Jiangsu, China)

Abstract: Objective To analyze the effects of Ki-67 and microsatellite instability on the prognosis of stage II and III rectal cancer. Methods A total of 65 colon cancer patients in our hospital from March 2019 to March 2021 were used as the research objects to analyze the expression of mismatch repair proteins, the relationship between microsatellite instability and the clinical characteristics of rectal cancer, survival, and the relationship between Ki-67 and rectal cancer clinical features and survival period. Results There were 11 cases of MLH1 expression loss, 14 cases of MSH2 expression loss, 8 cases of MSH6 expression loss, and 7 cases of PMS2 expression loss. Ki-67 expression was positive in 48 cases and negative in 17 cases. Microsatellite instability was related to tumor diameter, lymph node metastasis and TNM stage ($P<0.05$). The total survival time of patients with microsatellite instability was higher than patients with microsatellite stability ($P<0.05$). Ki-67 was related to tumor diameter, lymph node metastasis and TNM stage ($P<0.05$). The total survival time of Ki-67 positive patients was higher than that of Ki-67 negative patients ($P<0.05$). Conclusion Ki-67 negative and microsatellite instability expression are conducive to prolonging the overall survival of patients with stage II and III rectal cancer, which are mainly related to tumor diameter, lymph node metastasis and TNM staging.

Key words: Rectal cancer; Microsatellite instability; Ki-67; Prognosis

直肠癌(rectal cancer)是消化道系统发生率较高的恶性肿瘤类型,且近年来呈现出逐年上升趋势,致残率、致死率较高^[1]。目前直肠癌的发病机制尚未形成统一观点,认为可能影响疾病发生与发展的高危因素包括年龄、吸烟、肥胖、饮酒、运动不足、高蛋白饮食等^[2,3]。治疗结肠癌的方式有手术、放疗、化疗、中药治疗等^[4]。Ki-67 蛋白是与细胞分裂增殖密切相关的蛋白,在静止期细胞中不表达,在增殖细胞中则有着广泛的表达,对结肠癌患者的预后有一定的预测意义^[5]。有研究显示^[6],微卫星不稳定性与结肠癌患者的预后密切相关。基于此,本研究以 2019 年 3 月-2021 年 3 月我院收治的 II、III 期结肠癌患者共 65 例为研究对象,分析 Ki-67 及微卫星不稳定的表达对预后的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2019 年 3 月-2021 年 3 月在泰州市第二人民医院治疗的 65 例结肠癌患者作为研究对象,其中男性 53 例,女性 32 例;年龄 30-82 岁,平均年龄(60.32 ± 6.13)岁;II 期 27 例,III 期 38 例;肿瘤直径 ≤ 4 cm 12 例,肿瘤直径 >4 cm 53 例;

淋巴结转移 35 例;肿瘤位置:左 18 例,右 47 例。本研究经医院伦理委员会批准,患者自愿参与研究,并签署知情同意书。

1.2 纳入及排除标准 纳入标准:①经影像学、肠镜、病理学等确诊为 II、III 期直肠癌;②无肝、肾或其他可能影响治疗及随访结果的疾病。排除标准:①术前接受过新辅助放疗或化疗;②结肠癌;③其他恶性肿瘤史;④影像学检查发现其他部位远处转移;⑤精神病史或认知障碍。

1.3 方法 免疫组化法检测错配修复蛋白 MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 表达以及 Ki-67 蛋白,鼠抗人 MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 单克隆抗体均购自北京中杉金桥生物技术有限公司,鼠抗人 Ki-67 单克隆抗体购自德泰生物科技有限公司,EnVision 免疫组化检测试剂盒、DAB 显色液、抗原修复液、PBS 缓冲液均由华北理工大学附属医院病理科提供。将组织石蜡切片置于 65℃烤箱中,持续 2 h,随后常规脱蜡至水,通过蒸馏水清洗 2 次,在室温下孵育。30% H_2O_2 室温下孵育 15 min,充分消除内源性过氧化物酶的活性,经蒸馏水冲洗后,利用 PBS 浸泡 5 min。之后将切片浸泡于枸橼酸盐缓冲液中,使用不锈钢压力锅进行抗原修复,当压力锅出现喷气时,等待

作者简介:周涛(1981.10-),男,江苏泰州人,本科,副主任医师,主要从事普外科胃肠疾病的诊治工作

2~3 min,利用 PBS 冲洗 3 次,5 min/次。添加兔抗人 Ki-67 单克隆抗体,使用 PBS 液按照 1:150 进行稀释,在 4℃环境下孵育过夜,PBS 冲洗 3 次,5 min/次。加入 HRP 标记二抗工作液 50 μ l,室温下孵育 60 min,PBS 冲洗 3 次,5 min/次。DAB 显色试剂盒进行显色,在显微镜下观察结果,蒸馏水洗涤终止显色反应,苏木素复染,1%酒精盐酸分化,自来水返蓝,蒸馏水洗涤,脱水、透明、封片。Ki-67 阳性标准:以肿瘤细胞核染色为阳性,在高倍镜(400)下选择 10 个视野进行计算,增值指数(PI)=(阳性肿瘤细胞数/总瘤细胞数) \times 100%,PI<10%为阴性,PI \geq 10%为阳性。微卫星不稳定评价标准:任意一项错配修复蛋白表达缺失即为微卫星不稳定,否则为微卫星稳定。

1.4 观察指标 分析微卫星不稳定性、Ki-67 与直肠癌临床特征的关系及其对直肠癌生存期的影响。

1.5 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行分析,计量资料使用($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料使用[n(%)]表示,采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 错配修复蛋白以及 Ki-67 表达情况 MLH1 表达缺失 11 例,MSH2 表达缺失 14 例,MSH6 表达缺失 8 例,PMS2 表达缺失 7 例。Ki-67 表达阳性 48 例,阴性 17 例。

2.2 微卫星不稳定性与直肠癌临床特征的关系 微卫星不稳定性与肿瘤直径、淋巴结转移以及 TNM 分期有关($P<0.05$),见表 1。

2.3 微卫星不稳定性对直肠癌生存期的影响 微卫星不稳定性患者总生存期为(32.05 \pm 8.55)个月,高于微卫星稳定性患者的(22.43 \pm 9.53)个月,差异有统计学意义($t=4.684$, $P=0.000$)。

2.4 Ki-67 与直肠癌临床特征的关系 Ki-67 与肿瘤直径、淋巴结转移以及 TNM 分期有关($P<0.05$),见表 2。

2.5 Ki-67 对直肠癌生存期的影响 Ki-67 阳性患者总生存期为(31.47 \pm 7.16)个月,高于 Ki-67 阴性患者的(23.21 \pm 9.54)个月,差异有统计学意义($t=3.712$, $P=0.000$)。

表 1 微卫星不稳定性与直肠癌临床特征的关系[n(%)]

临床特征		<i>n</i>	微卫星不稳定(<i>n</i> =40)	微卫星稳定(<i>n</i> =25)	χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)	≤ 50	21	13(61.90)	8(38.10)	0.006	0.937
	> 50	44	27(61.36)	17(38.64)		
性别	男性	41	23(56.10)	18(43.90)	1.982	0.159
	女性	24	17(70.83)	7(29.17)		
肿瘤直径(cm)	≤ 4	20	9(45.00)	11(55.00)	6.412	0.011
	> 4	45	32(71.11)	13(28.89)		
淋巴结转移	是	46	33(71.74)	13(28.26)	7.539	0.006
	否	19	8(42.11)	11(57.89)		
TNM 分期	II 期	23	10(43.48)	13(56.52)	7.145	0.008
	III 期	42	30(71.43)	12(28.57)		
肿瘤位置	左	16	7(43.75)	9(56.25)	2.579	0.108
	右	49	33(67.35)	16(32.65)		

表 2 Ki-67 与直肠癌临床特征的关系[n(%)]

临床特征		<i>n</i>	阳性(<i>n</i> =48)	阴性(<i>n</i> =17)	χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)	≤ 50	21	18(85.71)	3(14.29)	2.527	0.112
	> 50	44	30(68.18)	14(31.82)		
性别	男性	41	29(71.73)	12(28.27)	0.430	0.512
	女性	24	19(79.17)	5(20.83)		
肿瘤直径(cm)	≤ 4	20	10(50.00)	10(50.00)	11.358	0.001
	> 4	45	38(84.44)	7(15.56)		
淋巴结转移	是	46	40(86.96)	6(13.04)	16.747	0.000
	否	19	8(42.11)	11(57.89)		
TNM 分期	II 期	23	13(56.52)	10(43.48)	7.360	0.007
	III 期	42	35(83.33)	7(16.67)		
肿瘤位置	左	16	10(62.50)	6(37.50)	2.169	0.141
	右	49	38(77.55)	11(22.45)		

3 讨论

直肠癌是临床中常见的消化道恶性肿瘤。直肠癌的位置深入盆腔,解剖关系较为复杂,手术治疗虽然能取得一定的疗效,但难以达到彻底消除的效果,术后复发率较高^[7]。中下段直肠癌与肛管括约肌较为接近,手术操作可能会对肛门功能造成一定的影响。近年来,随着生活结构、饮食结构以及老龄化趋势等多方面因素的影响,直肠癌的发病率呈现出逐年上升趋势^[8]。直肠癌预后是临床中备受关注的问题,其影响因素较多,例如临床分期、病理组织学情况、手术是否根治等,早期直肠癌术后5年生存率较高,可达到90%,复发率仅为1.2%~4.9%,但对于Ⅱ~Ⅲ期局部进展期直肠癌,经手术、放化疗等治疗后,5年生存率会下降至50%~78%^[9,10]。目前普遍认为直肠癌的发病与微卫星不稳定性、Ki-67等因素有关^[11,12]。

本研究结果显示,微卫星不稳定性与肿瘤直径、淋巴结转移以及TNM分期有关($P<0.05$)。微卫星是基因组中具有高度特异性的短串联重复序列,当错配修复及因出现突变或发生子区甲基化时,会导致其功能下降或丧失,当重复序列插入或缺失时无法修复,从而影响微卫星的长度,导致遗传物质不稳定性,造成细胞增殖失控,从而引发肿瘤^[13,14]。有研究显示^[15],微卫星稳定、低表达稳定相比高表达稳定患者淋巴结转移率更高、浸润深度更深,本次研究结果与上述研究相符。本研究还发现微卫星不稳定性患者总生存期长于微卫星稳定性患者($P<0.05$),可见微卫星不稳定性有利于延长患者生存期。也有研究提出微卫星不稳定性是独立于其他病理指标之外,与患者预后生存密切相关的因素^[16],本次研究结果与之相似。Ki-67是一种核蛋白,是临床判断细胞增殖的主要标志物,在细胞增殖的各个阶段均有明显表达,但在细胞静止期不表达^[17,18]。研究显示^[19],Ki-67的表达与肿瘤分级、淋巴结转移密切相关,对判断肿瘤预后也具有一定的价值。本研究中Ki-67阳性患者总生存期长于Ki-67阴性患者($P<0.05$)。Ki-67与肿瘤直径、淋巴结转移以及TNM分期有关($P<0.05$),表明Ki-67的表达对直肠癌患者预后具有一定的评估价值,当Ki-67处于高表达时,肿瘤的增殖速度较快,恶性程度也越高。

综上所述,Ki-67阴性及微卫星不稳定表达有利于延长Ⅱ、Ⅲ期直肠癌患者的总生存期,主要与肿瘤直径、淋巴结转移、TNM分期有关。

参考文献:

- [1] 吴国访,段红霞,张丽. 丹参川芎嗪注射液联合长春西汀治疗颅内动脉瘤的临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020,18(16):2730-2733.
- [2] Yoshikawa K, Shimada M, Higashijima J, et al. Ki-67 and Survival as Predictive Factors for Rectal Cancer Treated with Pre-operative Chemoradiotherapy[J]. Anticancer Res, 2018,38(3):

1735-1739.

- [3] 张胡磊. 中医辨证后实施丹参注射液和川芎嗪注射液治疗偏头痛的疗效[J]. 北方药学, 2018,15(9):92-93.
- [4] 张翔, 杨宽, 胡静, 等. 结直肠癌中C-MET、COX-2、MSS、Ki-67的表达及其与预后的相关性分析[J]. 解放军预防医学杂志, 2018,36(5):598-601.
- [5] Hasan S, Renz P, Wegner RE, et al. Microsatellite Instability (MSI) as an Independent Predictor of Pathologic Complete Response (PCR) in Locally Advanced Rectal Cancer: A National Cancer Database (NCDB) Analysis[J]. Ann Surg, 2020,271(4):716-723.
- [6] 马春涛, 许春芳, 张海玲. 错配修复蛋白和Ki-67在结直肠癌中的表达及其临床意义[J]. 胃肠病学, 2019,24(1):39-42.
- [7] 罗长顺, 刘坤, 汪黎明. 肿瘤微环境相关因子与直肠癌新辅助化疗效果及微卫星稳定状况的关系[J]. 癌症进展, 2020,18(10):1031-1034.
- [8] Fan S, Li X, Zheng L, et al. Correlations between the iodine concentrations from dual energy computed tomography and molecular markers Ki-67 and HIF-1 α in rectal cancer: A preliminary study[J]. Eur J Radiol, 2017(96):109-114.
- [9] 冯强, 孙琦, 孙霞, 等. 微卫星不稳定性及错配修复蛋白表达与结直肠癌化疗疗效相关性的研究[J]. 东南大学学报(医学版), 2020,39(6):793-799.
- [10] 黎相照, 刘焕娇, 梁敏仪, 等. 微卫星不稳定性类型及临床病理特征: 基于1394例结直肠癌患者的标本检测[J]. 南方医科大学学报, 2020,40(11):1645-1650.
- [11] Bi L, Li Y, Guo Q, et al. Effect of Neoadjuvant Chemotherapy With FOLFOX4 on Expressions of Ki-67, MMP-2 and Fas in Rectal Cancer[J]. Chinese Journal of Gastroenterology, 2017,22(11):658-661.
- [12] 王玉. 结直肠癌组织中EGFR、Ki-67蛋白的表达及其与临床病理特征的关系研究[J]. 辽宁医学杂志, 2021,35(1):42-45.
- [13] Du C, Zhao J, Xue W, et al. Prognostic value of microsatellite instability in sporadic locally advanced rectal cancer following neoadjuvant radiotherapy[J]. Histopathology, 2013,62(5):723-730.
- [14] 郭源, 张龙, 张舜, 等. 结直肠癌错配修复蛋白表达及微卫星不稳定与TNM分期的相关性[J]. 肿瘤研究与临床, 2019,31(6):376-380.
- [15] 夏丹丹, 王惠宇, 许隽颖, 等. 不同部位大肠癌患者K-ras基因突变与临床病理特征及预后的关系[J]. 肿瘤研究与临床, 2018,30(9):586-591.
- [16] 黎琪, 张标, 牛丰南, 等. 合并结直肠癌双原发癌患者的临床病理特征、MSI及K-ras基因突变分析[J]. 中华医学杂志, 2020,100(4):301-306.
- [17] 常静, 刘继红, 强玲, 等. 结直肠癌新辅助化疗与微卫星不稳定相关性研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2018,25(14):31-36.
- [18] 陈浩林, 彭昌兵, 杜镇鸿, 等. 散发性结直肠癌患者错配修复蛋白表达情况以及微卫星不稳定性与Rb蛋白表达的相关性研究[J]. 解放军医药杂志, 2018,213(3):54-57.
- [19] 谭林, 陈维顺, 周红兵, 等. 结直肠癌中GRHL3、E-cadherin和Ki-67的表达及临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2021,37(1):71-74.

收稿日期: 2021-08-11; 修回日期: 2021-08-20

编辑/宋伟