

Ki-67在肝细胞癌并微血管癌栓中表达的意义

徐翔宇, 刘奎, 李坤, 刘鹏, 解宇威, 高瑞谦, 王晶, 仲灏辰, 艾宪程, 曹景玉*

青岛大学附属医院, 山东 青岛
Email: xxyymx@126.com, *cyj7027@163.com

收稿日期: 2021年5月1日; 录用日期: 2021年5月13日; 发布日期: 2021年6月7日

摘要

目的: 探讨Ki-67在肝细胞癌微血管侵犯(微血管侵犯: MVI)中表达的意义。方法: 对青岛大学附属医院从2013年1月到2020年6月进行的约680例行根治性肝切除手术并确诊为肝细胞癌患者的临床及病理资料进行回顾性分析。结果: 这680例患者中, MVI阳性的患者占53.2% (362/680)。通过单因素分析, 发现MVI的发生与Ki-67阳性有关, 此外还有患者的年龄、性别、饮酒史、术前白蛋白、甲胎蛋白(AFP)、癌抗原125 (CA125)、谷草转氨酶(AST)、 γ -谷氨酰转肽酶、肿瘤最大直径、肿瘤数目、是否存在卫星结节与MVI的发生有关(均 $P < 0.05$)。多因素Logistic回归分析结果显示: Ki-67是MVI的独立危险因素。MVI的其他独立危险因素还包括AST、性别, 肿瘤直径 > 3 cm, 存在卫星结节(均 $P < 0.05$)。结论: Ki-67的高表达($\geq 20\%$)与MVI的发生有关。

关键词

肝细胞癌, Ki-67, MVI

Significance of Ki-67 Expression in Hepatocellular Carcinoma with Microvascular Tumor Thrombus

Xiangyu Xu, Kui Liu, Kun Li, Peng Liu, Yuwei Xie, Ruiqian Gao, Jing Wang, Haochen Zhong, Xiancheng Ai, Jingyu Cao*

The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong
Email: xxyymx@126.com, *cyj7027@163.com

Received: May 1st, 2021; accepted: May 13th, 2021; published: Jun. 7th, 2021

*通讯作者。

文章引用: 徐翔宇, 刘奎, 李坤, 刘鹏, 解宇威, 高瑞谦, 王晶, 仲灏辰, 艾宪程, 曹景玉. Ki-67在肝细胞癌并微血管癌栓中表达的意义[J]. 临床医学进展, 2021, 11(6): 2507-2513. DOI: 10.12677/acm.2021.116360

Abstract

Objective: To investigate the significance of Ki-67 expression in microvascular invasion (MVI) of HCC. **Methods:** The clinical and pathological data of 680 patients with liver cancer diagnosed as HCC were analyzed retrospectively from January 2013 to June 2020 in the Affiliated Hospital of Qingdao University. **Results:** Among the 680 patients, 53.2% (362/680) of the patients were with MVI positive. The results showed that MVI was related to Ki-67 positive by single factor analysis. In addition, the age, sex, drinking history, preoperative albumin, AFP, CA125, AST, and the age of the patients, γ -glutamyl transpeptidase, the largest diameter of tumor, the number of tumors and the presence of satellite nodules were also observed related to the occurrence of MVI ($P < 0.05$). The results of multivariate logistic regression analysis showed that Ki-67 was an independent risk factor for MVI. Other independent risk factors of MVI included AST, sex, tumor diameter > 3 cm, satellite nodule ($P < 0.05$). **Conclusion:** The high expression of Ki-67 ($\geq 20\%$) is associated with MVI.

Keywords

Hepatocellular Carcinoma, Ki-67, MVI

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界上危害性最强的癌症之一,其死亡率以及发病率逐年升高[1]。在我国,它已经成为最常见的、危害最强的肿瘤之一。肝细胞癌的主要治疗方法包括根治性手术(肝切除、肝移植、以及射频消融)、姑息性治疗(经动脉化疗栓塞、免疫治疗、分子靶向治疗)[2]。但极高的复发率仍然限制着患者的生存时间和生活质量[3]。而微血管侵犯(MVI)被证明是肝细胞癌复发的重要因素;MVI的发生提示,肝癌细胞正在侵犯周围组织、血管,并进行远处转移;而这被认为是术后复发的重要机制,同时也是低存活率的独立危险因素[4][5][6]。与细胞增殖相关的重要指标中Ki-67抗原是其中之一,它是一种与细胞周期密切相关的增殖细胞核抗原,它与细胞DNA半保留复制相偶联,这提示了Ki-67可能是保持细胞增殖所必须的[7]。Ki-67抗原的表达可以反映肿瘤细胞的增殖活性,与恶性肿瘤的发生、发展、转移以及预后密切相关[8]。本研究旨在探讨Ki-67的表达水平与MVI的發生的相关性,以期为分析和评估肝细胞癌患者的预后提供依据。

2. 资料与方法

2.1. 研究对象

本研究从2013年1月到2020年6月在青岛大学附属医院共1000余例行手术切除的肝癌患者中,最终纳入680例患者。其中男性患者553例,女性患者127例。男性患者占81.3%;其平均年龄为60岁。纳入标准:1)术前诊断为肝细胞癌并行根治性切除手术;2)术后病理学证实为肝细胞癌;3)未出现肝外转移;4)临床病理信息完整且无其他肿瘤病史。排除标准:1)术前曾行肝动脉化疗栓塞术(TACE)或放射性治疗;2)根治性手术前行射频消融手术;3)无法行根治性手术;4)临床资料或病理信息不完整。

本研究经青岛大学附属医院伦理委员会审核批准。本研究参与者或其法定监护人均已在研究登记前签署了书面知情同意书。

2.2. 研究方法

本研究收集患者一般临床资料及病理资料。分别比较 MVI 阳性患者与 MVI 阴性患者临床及病理参数差异。参数包括: Ki-67、年龄、性别、饮酒史、乙肝病史、ALT、AST、GGT、AFP、CEA、CA125、CA199、ALB、TB、肿瘤直径、肿瘤数量、肝硬化、卫星结节。肝癌根治性切除标准符合《原发性肝癌诊疗规范(2019 年版)》[9]。MVI 的诊断根据《原发性肝癌规范化病理诊断指南(2015 年版)》[10]。

2.3. Ki-67 的确定

将患者的术后标本常规甲醛固定, 24 小时内取材, 石蜡包埋, 连续 5 μm 厚度切片, 苏木精-伊红(HE)染色。采用鼠抗人 Ki67 单克隆抗体、SP 免疫组化试剂盒, 并按照说明书操作进行免疫组化染色, 在显微镜下 Ki-67 染色呈棕色或黄色。结果判读: 由两名高年资的病理医师分别读片, 高倍镜下随机选取 5 个不同的视野, 每个视野计数 200 个细胞, 计算阳性细胞所占百分比。通过 ROC 曲线(receiver operator characteristic curve)确定 20% 为 Ki-67 表达的最佳临界值, 并以此进行分组: 将 Ki-67 阳性细胞占比 < 20% 为低表达组; Ki67 阳性细胞占比 \geq 20% 为 Ki-67 高表达组。

2.4. 统计学处理

本研究均使用 spss25.0 软件进行计算。首先对分类资料进行 Pearson χ^2 检验。用多因素二元 Logistics 回归分析进行多因素分析。P < 0.05 均被认为具有统计学意义, 以此来确定影响 MVI 发生的保护因素及独立危险因素。

3. 结果

3.1. 一般资料

680 例患者中, MVI 阳性的患者占 53.2%。MVI 阴性组男性患者 245 例, 女性患者 73 例, 男性患者占 77.04%; 年龄 37~87 岁, 平均年龄 60 岁。MVI 阳性组男性患者 308 例, 女性患者 54 例, 男性患者占 85.08%; 年龄 32~84 岁, 平均年龄 58 岁。61.9% (421/680) 的患者有 Ki-67 阳性, 其余 259 例(38.1%)患者 Ki-67 阴性。

3.2. 单因素方差分析 Ki-67 阳性及肿瘤相关因素对 MVI 形成的影响:

通过对分类资料进行 χ^2 检验, 结果示 Ki-67 的阳性率在 MVI 阳性组明显高于 MVI 阴性组(P < 0.05), MVI 阳性组和 MVI 阴性组 Ki-67 阳性率分别为 62.2% (262/421)和 38.6% (100/259)。同时患者的年龄、性别、血清白蛋白、肿瘤最大直径、肿瘤数目、是否存在卫星结节等因素也在两组中具有统计学意义(表 1)。

Table 1. Univariate analysis of the relationship between Ki-67, tumor related factors and MVI

表 1. KI-67 及肿瘤相关因素与 MVI 形成关系的单因素分析[n(%)]

		MVI 阳性组(n = 362)	MVI 阴性组(n = 318)	P
一般资料				
年龄(岁)	>50	271	274	0.000
	\leq 50	91	44	

Continued

性别	男	308	245	0.007
	女	54	73	
KI-67	>20	262	159	0.000
	≤20	100	159	
乙肝病史	是	277	240	0.750
	否	85	78	
饮酒史	是	137	129	0.468
	否	225	189	
术前实验室检查				
AFP	>400	135	65	0.000
	≤400	227	253	
CEA	>3.4	81	78	0.508
	≤3.4	281	240	
CA199	>39	78	59	0.332
	≤39	284	259	
CA125	>35	32	15	0.034
	≤35	330	303	
白蛋白	>35	328	303	0.019
	≤35	34	15	
总胆红素	>20	146	111	0.145
	≤20	216	207	
ALT	>40	128	102	0.367
	≤40	234	216	
AST	>40	103	56	0.001
	≤40	259	262	
GGT	>60	136	81	0.001
	≤60	226	237	
病理学检查				
肿瘤最大直径	>3	260	172	0.000
	≤3	102	146	
肿瘤数目	>1	49	22	0.005
	1	313	296	
肝硬化	是	223	209	0.265
	否	139	109	
卫星结节	有	76	16	0.000
	无	286	302	

3.3. 对 MVI 的独立影响因素进行多因素二元 Logistic 回归分析

为进一步分析 Ki-67 与 MVI 的相关性, 对单因素方差检验有意义的因素进行多因素 Logistic 回归分析, 发现 Ki-67 阳性是肝癌 MVI 的独立危险因素(OR = 1.024, $P = 0.000$), 此外, AST、男性患者、肿瘤直径、存在卫星结节是 MVI 发生的重要影响因素(P 均 < 0.05) (表 2)。

Table 2. Logistic regression analysis of independent influencing factors of MVI

表 2. MVI 独立影响因素的 Logistic 回归分析

因素	B	标准误差	瓦尔德	自由度	显著性	Exp(B)	EXP(B)的 95%置信区间	
							下限	上限
ki67	0.024	0.004	33.964	1	0.000	1.024	1.016	1.032
年龄	-0.026	0.009	8.152	1	0.004	0.974	0.957	0.992
性别(1: 男; 0: 女)	0.646	0.243	7.079	1	0.008	1.908	1.186	3.072
病灶数(0: =1; 1: ≥ 1)	0.469	0.303	2.392	1	0.122	1.598	0.882	2.894
卫星结节(0: 无; 1: 有)	1.416	0.307	21.217	1	0.000	4.122	2.256	7.53
肿瘤最大直径	0.141	0.033	17.711	1	0.000	1.151	1.078	1.229
GGT	0.001	0.001	0.61	1	0.435	1.001	0.999	1.003
AST	0.011	0.005	4.699	1	0.030	1.011	1.001	1.021
ALB	0.004	0.013	0.122	1	0.727	1.004	0.98	1.03
AFP	0	0	3.741	1	0.053	1	1	1
CA125	0.002	0.003	0.453	1	0.501	1.002	0.997	1.007

4. 讨论

肝癌根治性切除后患者的复发情况直接影响患者的生存时间和生存治疗, 而 MVI 阳性同样对肝细胞癌患者术后复发具有极大的影响, 很多 MVI 阳性的患者病情短时间即可快速进展。何旭昶等[11]报道, 通过两年的随访, 100 例接受根治性切除的肝细胞癌患者中, 53 例 MVI 阳性患者中有 31 例(58.4%) 2 年内复发, 而 47 例 MVI 阴性的患者中仅有 18 例(38.2%) 2 年内复发。李彦龙[12]报道, 78 例孤立性肝细胞癌根治性切除术后患者, 其中 MVI 阳性患者术后 2 年无瘤生存率为 45.8%, MVI 阴性患者术后 2 年无瘤生存率为 90.7%。肝细胞癌肝切除术后复发专家共识[13]表示 MVI 是 HCC 肝切除术后早期复发的高危因素, 并将伴有 MVI 的肿瘤列为复发高风险。各项研究普遍认为, MVI 阳性患者, 肝癌术后复发时间较阴性组短, 血管侵犯、肝内外转移几率明显升高。故 MVI 阳性可能预示 HCC 患者术后更短的无瘤生存期以及更高的肿瘤术后复发率, 并将是否存在 MVI 列为预测 HCC 术后无瘤生存期和复发的重要指标。

肿瘤的增殖对 HCC 术后患者的复发和转移有很大的影响。Ki-67 与细胞的增殖密切相关, 周期性表达于细胞增殖过程, 与 DNA 的合成与复制密切相关, 而其半衰期短的特点可准确反映肿瘤细胞的增殖速率, 故已成为重要的检测肿瘤细胞增殖活性的组织学指标。研究认为, Ki-67 指数越高, 肿瘤增殖速度越快, 肿瘤的恶性程度越高, 肿瘤分期较晚, 无瘤生存及生存率越低[14]。Ki-67 已广泛应用于对乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、胃癌、食管癌的恶性程度与预后的分析[15] [16] [17] [18] [19]。贾磊等研究显示肝癌患者复发组 Ki-67 明显高于治愈组[20]。王凝芳[21]的研究发现, Ki-67 阳性患者无瘤生存期远低于阴性患者。孙树刚[22]研究发现, Ki-67 阴性患者术后 1 年复发率为 27.0% (47/174), 阳性患者术后 1 年复发率为 46.9% (38/81)。肝癌患者术后的复发、转移严重限制了患者的长期生存以及生活质量。众多研究表明

在肝细胞癌中 Ki-67 高表达为术后复发的高危因素, Ki-67 高表达的肝癌肿瘤常常增长迅速, 恶性程度高, 侵犯血管能力及肝内、外转移能力强, 并会明显缩短患者的无瘤生存时间与总生存期。故此对于 Ki-67 的检测已被广泛应用于多种恶性肿瘤进展的预测[23]。对肝细胞癌患者的肿瘤标本进行 Ki-67 的检测可提高临床对肝癌患者根治性切除术后无瘤生存和复发的预测准确率, 并对高复发风险的患者进行跟踪随访、及早干涉, 进一步提高患者生存质量及生存时间。

本研究通过对 680 例患者进行根治性切除并病理确诊为肝细胞癌的患者进行回顾性分析, 发现, Ki-67 的发生与 MVI 的发生密切相关。Ki-67 的高表达是 MVI 发生的独立危险因素。肝癌细胞的快速增殖, 可引起 Ki-67 高表达, Ki-67 的高表达提示肝细胞癌的侵袭能力增强, 而 MVI (微血管侵犯)正是被认为是肝细胞癌的增长和肝内转移的重要因素[24]。Ki-67 的高表达可能直接或间接作用于 MVI 阳性的肝癌肿瘤, 促进肝癌细胞增殖, 而引起肝癌患者术后的复发与转移。MVI 阳性合并 Ki-67 高表达的患者, 可能存在肝细胞癌恶性程度高、侵袭能力强, 术后复发、转移等风险。Ki-67 的高表达与 MVI 的發生的相关性是显著的。联合检测 MVI 与 Ki-67 抗原, 可能有利于综合评估肝癌的复发与转移的风险, 并有助于对 HCC 术后患者进行更为精准的分期与预后评估, 加强对高危患者的早期复发转移的发现与干预, 以提高患者的生存时间与生存质量。本研究的局限性: 未对 680 例患者进行无瘤生存及复发的统计, 未进行生存分析, 无法验证联合检测 Ki-67 与 MVI 对肝细胞癌患者无瘤生存及复发情况预测的合理性, 但本研究证实了 Ki-67 高表达与 MVI 的发生密切相关。未进行生存分析对本研究影响较小。

综上所述, Ki-67 的高表达($\geq 20\%$)与 MVI 的发生有关。

参考文献

- [1] Shi, Q., et al. (2020) SSH3 Promotes Malignant Progression of HCC by Activating FGF1-Mediated FGF/FGFR Pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **24**, 11561-11568.
- [2] Ziogas, I. and Tsoulfas, G. (2017) Advances and Challenges in Laparoscopic Surgery in the Management of Hepatocellular Carcinoma. *World Journal of Gastrointestinal Surgery*, **9**, 233-245. <https://doi.org/10.4240/wjgs.v9.i12.233>
- [3] Zeng, H., et al. (2018) Changing Cancer Survival in China during 2003-15: A Pooled Analysis of 17 Population-Based Cancer Registries. *The Lancet Global Health*, **6**, e555-e567. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30127-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30127-X)
- [4] Huang, Z., et al. (2012) Long-Term Outcomes of Repeat Hepatic Resection in Patients with Recurrent Hepatocellular Carcinoma and Analysis of Recurrent Types and Their Prognosis: A Single-Center Experience in China. *Annals of Surgical Oncology*, **19**, 2515-2525. <https://doi.org/10.1245/s10434-012-2269-7>
- [5] Neumann, U. (2011) Outcome after Partial Hepatectomy for Hepatocellular Cancer within the Milan Criteria. *The British Journal of Surgery*, **98**, 1300-1301. <https://doi.org/10.1002/bjs.7625>
- [6] Yang, J., et al. (2019) A Global View of Hepatocellular Carcinoma: Trends, Risk, Prevention and Management. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, **16**, 589-604. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0186-y>
- [7] Gerdes, J., et al. (1983) Production of a Mouse Monoclonal Antibody Reactive with a Human Nuclear Antigen Associated with Cell Proliferation. *International Journal of Cancer*, **31**, 13-20. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910310104>
- [8] 廖谦和, 等. 子宫颈癌及癌前病变 HPV16、Ki-67 的表达及其相关性[J]. 临床与实验病理学杂志, 2007(3): 297-299.
- [9] 原发性肝癌诊疗规范(2019 年版) [J]. 中国临床医学, 2020, 27(1): 140-160.
- [10] 吴孟超, 等. 原发性肝癌规范化病理诊断指南(2015 年版) [J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(6): 833-839.
- [11] 何旭昶, 等. 微血管侵犯分级对肝细胞癌行根治性肝切除术后早期复发的预测价值[J]. 临床肝胆病杂志, 2020, 36(8): 1757-1762.
- [12] 李彦龙, 张媛, 王逢茂. 术前 CT 征象对孤立性肝癌微血管侵犯及术后早期复发的预测分析[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2021, 19(1): 113-116.
- [13] 夏勇, 杨田, 王葵. 肝细胞癌肝切除术后复发预防和治疗中国专家共识(2020 版) [J]. 中国实用外科杂志, 2021, 41(1): 20-30.
- [14] Lim, M., et al. (2011) Predictable Factors for Lymph Node Metastasis in Early Gastric Cancer-Analysis of Single Institutional Experience. *Journal of Gastrointestinal Surgery: Official Journal of the Society for Surgery of the Alimen-*

-
- tary Tract, **15**, 1783-1788. <https://doi.org/10.1007/s11605-011-1624-5>
- [15] 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.
- [16] 贺红梅, 等. IMP3、P16、HE4、Ki67、P53 在卵巢浆液性肿瘤中表达的生物学意义、鉴别诊断及预后的研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(23): 2537-2540.
- [17] 李文华, 张莹. 乳腺癌复发转移灶与原发性灶中 ER、PR、HER-2、p53、Ki-67 的表达差异[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(7): 727-730.
- [18] 齐兴峰, 等. 食管癌组织中 Ki-67 和 VEGF 的表达及其与放疗预后的关系[J]. 临床合理用药杂志, 2019, 12(34): 44-46+48.
- [19] 王娜, 等. NEDD9、Ki67、P53 联合检测对胃癌的早期诊断和恶性程度评估的价值[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(12): 1961-1965.
- [20] 贾磊, 等. CD34 和 Ki67 的表达预测肝癌术后复发的风险[J]. 肝脏, 2020, 25(2): 197-199.
- [21] 王凝芳, 等. Ki-67 在肝细胞肝癌中的表达及其临床意义[J]. 大连大学学报, 2003(2): 71-73+79.
- [22] 孙树刚, 等. 肝细胞癌 E-cadherin 和 ki-67 蛋白表达与肝切除术预后关系的研究[J]. 中国现代普通外科进展, 2010, 13(2): 125-128.
- [23] 张景丽, 等. 乳腺癌 Ki-67 及 PCNA 表达的比较研究[J]. 临床与实验病理学杂志, 2003(1): 70-72.
- [24] Imamura, H., *et al.* (2003) Risk Factors Contributing to Early and Late Phase Intrahepatic Recurrence of Hepatocellular Carcinoma after Hepatectomy. *Journal of Hepatology*, **38**, 200-207. [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(02\)00360-4](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(02)00360-4)