

Ki67, PR 和 P53 在 Luminal 型乳腺癌分子亚型分型中的有效性和一致性分析

顾然¹ 胡越^{1#} 杨雅平¹ 刘凤桃¹ 贾海霞² 苏逢锡^{1*}

【摘要】 目的 分别单独应用 Ki67、PR、P53 对 Luminal 型乳癌进行亚组分型,以无病生存为观察终点,分析是否可以区分出高低危组病人,并对比结果的一致性。**方法** 回顾中山大学孙逸仙纪念医院 2006 年 3 月~2013 年 12 月入院治疗的浸润性乳癌病人,收集病人一般临床资料和病理资料和随访结果。采用 Kaplan-Meier 生存分析和 Cox 回归分析方法检验有效性。一致性检验采用 Kappa 系数计算的方法。**结果** 共 1107 例浸润性乳癌入组。K-M 单因素分析结果表明,单独应用 Ki67、PR、P53 三者都可以区分出高危和低危两组病人,并且有统计学意义($P<0.001$)。Cox 回归多因素分析结果表明,Ki67、PR、P53 三者都是无病生存的独立预测因子(P 值均 <0.05)。三种指标两两之间的 Kappa 系数均 <0.4 。**结论** 单独应用三种指标均可以区分出高低危组病人,但三种指标各自区分出的两种亚型是不一致的,这说明还可以继续寻找更好的指标组合进行亚型分型。

【关键词】 Ki67; PR; P53; 乳腺癌; Luminal A; Luminal B; 无病生存

中图分类号:R737.9

文献标识码:A

文章编号:1009-976X(2015)05-0571-04

doi:10.3969/j.issn.1009-976X.2015.05.012

Effectiveness and consistency of Ki67, PR and P53 in subtype classification of luminal breast cancer Gu Ran¹, Hu Yue¹, Yang Yaping¹, Liu Fengtao¹, Jia Haixia², Su Fengxi¹. ¹Departments of Breast Surgery, Breast Tumor Center, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China; ²Department of Breast Surgery, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China. Corresponding author: Su Fengxi, fengxisu@vip.163.com

【Abstract】 Objective The objective of this study were to determine the DFS (disease free survival) prognostic significance of subgrouping Luminal breast tumors into low- and high-risk luminal categories by using Ki67, PR, or P53 status and analyze whether the various methods can identify the same patients as being in the poor prognostic group. **Methods** Patients with early invasive breast cancer who were treated between March 2006 and December 2013, were selected by searching breast tumor registries at Sun Yat-sen Memorial Hospital. Patient characteristics were collected. The primary outcome measured was DFS which was estimated using Kaplan-Meier test and a log-rank test was used to compare survival curves. Cox regression analysis was used to balance the risk factors for prognosis between groups. Kappa statistics were calculated among the three biomarkers. **Results** A total of 1107 patients with invasive breast cancer were eligible for inclusion in the study. Ki67, PR and P53 in the subclassification of Luminal tumors was all found to be of prognostic significance or independent prognostic significance on univariate analysis and multivariate analysis. They identified the different patients as being in the poor prognostic group. **Conclusion** In order to optimize patient management, better combination of these biomarkers need further explored.

【Key words】 Ki67; PR; P53; Breast cancer; Luminal A; Luminal B; Recurrence freesurvival

基金项目:国家自然科学基金(81372817)

作者单位:¹510120 广州 中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤医学部;²510260 广州 广州医学院第二附属医院乳腺外科

共同第一作者

* 通讯作者:苏逢锡,Email:fengxisu@vip.163.com

对于 ER 阳性这一类的乳腺癌,根据基因表达谱,目前至少又可以分成两种亚型,即 Luminal A 和 Luminal B。Luminal B 乳癌 ER 表达水平通常较低,肿瘤细胞分化差,Ki67 较高,预后较之 A 型要差。Luminal B 型乳癌又有两种情况,一种是

Her2 阳性的 Luminal B 型,一种是 Her2 阴性的 Luminal B 型,前者的常规治疗原则是化疗+内分泌治疗+抗 Her2 治疗,而对于后者,除了予以内分泌治疗外,是否需要加用化疗及选择何种化疗方案目前尚存在争议,涉及到内分泌受体表达水平、危险度、患者的意愿等等。区分 Luminal A 和 Luminal B 这两种类型乳癌有利于优化乳癌治疗方案,避免不足和过度治疗。虽然区分的标准有很多,但目前临床上通常还是采用免疫组化检测生物学指标表达情况进行区分。

Cheang 等人发现 Ki67 是肿瘤主要的增殖指数,可以用来区分两种亚型^[1]。但还有其他一些指标也可以应用。P53 阳性和肿瘤组织的高分级、高的增殖指数呈正相关^[2,3],也许可以替代 Ki67。PR 阴性对应着高的 Oncotype DX® 复发指数,归为 Luminal B 型^[4-6],所以,也可能是 Ki67 的另一个替代指标。

本文针对 Luminal A 和 Her-2 阴性 Luminal B 型乳癌,将三种 Ki67、PR、P53 分别单独应用,将无病生存作为研究终点进行分析,探讨它们区分 Luminal 乳癌两种亚型的有效性和一致性。

1 资料和方法

1.1 研究对象

搜索中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤医学科部病历系统,回顾 2006 年 3 月~2013 年 12 月入院治疗的乳癌病人。病人入组标准:①均为临床 I~III 期原发浸润性癌,包括浸润性导管癌、浸润性小叶癌、粘液癌、其他类型浸润性癌。②ER 阳性,HER2 阴性。按照免疫组化的方法确定 ER 状态,肿瘤细胞核内表达雌激素受体标记的细胞 $\geq 10\%$ 即定义为 ER 阳性;HER2 免疫组化及 FISH 判读标准同《乳腺癌 HER2 检测指南》,当免疫组化结果为 3+时认定为阳性,0~1+为阴性,2+时 FISH 检测存在基因拷贝数扩增亦认定为阳性^[7]。③接受标准的手术、放疗、内分泌治疗;改良根治术或保乳术+放疗,内分泌治疗,内分泌治疗的药物包括雌激素受体调节剂或芳香化酶抑制剂。④加或不加新辅助化疗、辅助化疗。

收集病人一般临床资料和病理资料,包括年龄、月经状况、BMI、病理类型、肿瘤大小、淋巴结状态、组织学分级、免疫组化生物学指标表达情况、是否辅助化疗、是否新辅助化疗、化疗方案等。

1.2 免疫组化方法检测 Ki67、PR、P53 表达和进行高低危险度分型

所有组织标本均按照免疫组化的方法确定 Ki67、PR、P53 表达状态。根据 2013 年 St Gallen 专家共识,Ki67 $<20\%$ 和 $\geq 20\%$ 分别定义为低危组(Luminal A)和高危组(Luminal B);PR $>20\%$ 和 $\leq 20\%$ 分别定义为低危组(Luminal A)和高危组(Luminal B);P53 阴性和阳性分别定义为低危组(Luminal A)和高危组(Luminal B)。

1.3 研究终点

将无病生存时间作为观察指标。无病生存时间定义为从确诊乳癌至第一次出现复发事件的时间或至末次随访日的时间。复发事件包括以下几种:同侧浸润性乳癌复发,局部/区域性复发和远处转移,乳癌相关死亡。对侧新发乳癌属于第二原发乳腺癌,不在本文探讨范畴之内。

1.4 随访

患者生存信息均通过门诊或电话随访进行,随访截止至 2015 年 7 月。

1.5 统计分析

采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。无病生存采用 Kaplan-Meier 生存分析和 Cox 回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。计算 Kappa 系数来验证三种指标之间的一致性。

2 结果

2.1 临床特征

共 1107 例浸润性乳癌入组。年龄分布范围为 22~91 岁,中位年龄为 50 岁。955 例患者为浸润性导管癌,31 例为浸润性小叶癌,48 例粘液癌,73 例为其他类型浸润性乳癌。随访的中位时间约为 57 个月。45 例出现无病生存时间相关事件。共 22 例死亡(包括乳癌相关死亡和非乳癌相关死亡)。单独分别按照 Ki67、PR、P53 三个指标分组,各组病人临床病理特征见表 1。

2.2 分别单独应用 Ki67、PR、P53 分型,K-M 生存分析结果

单独应用 Ki67、PR、P53 这三个指标分别对 Luminal 型乳癌进行分型,采用 K-M 单因素生存分析方法,结果发现三者都可以预测无病生存,均有统计学意义(图 1)

2.3 Cox 回归分析结果

多因素分析中,Ki67、PR、P53 对乳癌分型也可以预测无病生存情况,均有统计学意义,见表 2。三

表 1 病人临床病理特征

	Ki67		PR		P53	
	Luminal A	Luminal B	Luminal A	Luminal B	Luminal A	Luminal B
总人数	538	569	870	300	591	516
复发	5	40	21	24	12	33
死亡	2	20	11	11	7	15
年龄						
<35 岁	28	49	54	23	41	36
35-50 岁	265	287	439	113	287	265
50-65 岁	180	189	234	135	202	167
>65 岁	65	44	80	29	61	48
月经状态						
绝经前	259	292	441	110	293	258
绝经后/围绝经期	279	277	366	190	298	258
BMI						
<18.5	35	35	52	18	37	33
18.5-24.9	273	300	416	157	300	273
≥ 25	122	133	187	68	127	128
分级						
1/2 级	411	271	558	124	404	278
3 级	47	232	152	127	100	179
病理类型						
浸润性导管癌	439	516	691	264	489	466
其他浸润性癌	99	53	116	36	102	50
pT						
pT1	372	307	523	156	383	296
pT2	139	230	243	126	181	188
pT3	9	20	22	7	14	15
未知	15	11	16	10	13	13
淋巴结状态						
阴性	398	356	560	194	407	347
阳性	140	213	247	106	184	169
脉管癌栓						
无	447	441	659	229	513	375
有	91	128	148	71	78	141
是否化疗/新辅助化疗						
是	395	506	643	258	476	425
否	143	63	164	42	115	91

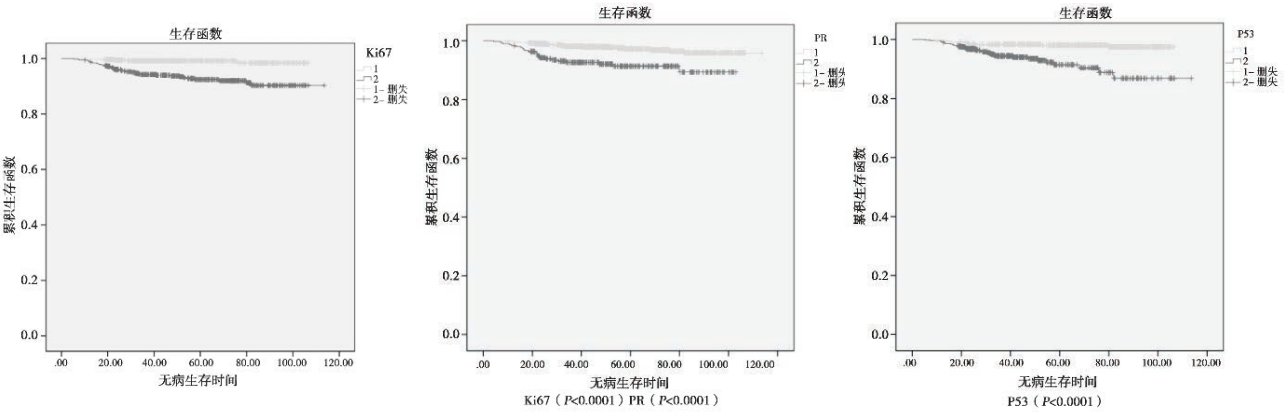


图 1 K-M 生存分析结果

者之中,Ki67 的 OR 值最高,说明单独应用Ki67 比单独应用 PR 或 P53 能更好地预测无病生存。

表 2 Ki67、PR、P53 多因素分析预测无病生存

	P 值	OR 值	95%CI 用于 OR	
			下部	上部
年龄	0.166	0.674	0.385	1.178
月经状态	0.312	1.563	0.658	3.713
BMI	0.373	0.764	0.423	1.382
病理类型	1.000			
组织学分级	0.412	1.387	0.636	3.025
脉管癌栓	0.739	1.140	0.528	2.460
pT	0.881	0.961	0.575	1.607
淋巴结状态	0.003	3.112	1.483	6.529
是否化疗	0.238	0.799	0.550	1.160
Ki67	0.016	3.839	1.287	11.449
PR	0.015	2.604	1.206	5.620
P53	0.003	3.413	1.539	7.568

2.4 Ki67、PR、P53 两两之间一致性检验

一般 Kappa 值的范围值应在-1~1 之间。Kappa ≥0.75 两者一致性较好;0.75>Kappa ≥0.4 两者一致性一般;Kappa<0.4 两者一致性较差^[8]。根据这个标准,表 3 中列出的结果表明三种指标两两之间的一致性都较差,说明三种指标各自区分出不同的高低危两组病人。根据 OR 值的结果(表 2),可以看出 Ki67 在预测无病生存时比其他两种指标权重稍大,即单独应用 Ki67 比单独应用 PR 或 P53 更好地预测无病生存。

表 3 三种指标之间 Kappa 值

			PR		
			低危/高危	Kappa系数	
Ki67	低危	444	94	0.185	
	高危	363	206		
			PR		
			1	2	Kappa系数
Ki67	低危	322	216	0.125	
	高危	269	300		
			PR		
			1	2	Kappa系数
K53	1	438	153	0.027	
	2	369	147		

3 讨 论

基因检测和免疫组化生物学指标的检测已经成功将浸润性乳癌区分出有显著生存差异的乳癌

亚型。Luminal B 型乳癌的 5~8 年死亡率最高^[9-11],这种亚型可以从化疗中大大获益,所以区分出这种亚型可以指导临床治疗。

Ki67 做为肿瘤增殖的一个重要指标,区分高低危的界值划分一直是争论点。Ki67 指数是一个连续的数值,一般是以 10~20%这个范围为界来划分高低危组病人。预测对化疗和内分泌治疗的反应所划分的界值也有所不同。通常应用的 14%这个标准是 Cheang 等人根据 PAM50 基因谱的表达计算出来的。2013 年 St Gallen 会议中,少部分专家因为考虑到不同实验室之间对 Ki67 检测的差异性,为了避免出现可能会从化疗中获益的病人没有得到充分治疗的情况,认为应该采用低一些的界值来界定 Ki67 高低危的分界,但是大部分专家认为 ≥20%是 Ki67 高危的分界值。

当我们将 Luminal 乳癌采用 PR 进行分型时,也得到了和 Ki67 相似的生存结果。ER 阳性的乳癌,PR 阴性,较之两者都阳性时预后要差。而且部分学者还认为 PR 阴性的病人对内分泌治疗的反应降低,这可能是这类病人疗效不佳的重要原因。

单独应用 P53 分型也能区分出有统计学意义的不同危险度的两组病人。P53 是一种肿瘤抑制基因,是细胞生长周期中的负调节因子,与细胞周期的调控、DNA 修复、细胞分化、细胞凋亡等重要的生物学功能有关。一些学者证明,无论是在分子学水平还是用免疫组织化学法检测出的 P53 的变化都可以作为一种预后差的标志,并可以预测治疗的疗效^[3,12]。

本研究的结果表明,当我们用 PR 或 P53 代替 Ki67 进行亚型分型时,区分出了不同的高低危组病人,由此限制了 Ki67 在临床中的单独应用。有必要进行进一步的探索,联合应用各种指标,看哪种组合方式可以优化 Luminal 型乳癌亚型分型,更好地区别出高危和低危的病人,指导临床用药。

参 考 文 献

[1] Cheang MC, Chia SK, Voduc D, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breastcancer [J]. J Natl Cancer Inst, 2009, 101(10):736-750.

[2] Jung S, Jeong J, Shin SH, et al. Accumulation of p53determined by immunohistochemistry as a prognostic marker in node negative breast cancer; analysis according to St Gallen consensus and intrinsic subtypes [J]. J Surg Oncol, 2011, 103(3): 207-211.

[3] 王永南,王 颀,张安秦,等. ER、PR、HER2 和 Ki-67 在乳腺癌新辅助化疗前后表达变化的临床意义[J].岭南现代临

- 床外科, 2013, 13(4): 308-312.
- [4] Tang P, Wang J, Hicks DG, et al. A lower Allred score for progesterone receptor is strongly associated with a higher recurrence score of 21-gene assay in breast cancer [J]. Cancer Invest, 2010, 28(9): 978-982.
- [5] Flanagan MB, Dabbs DJ, Brufsky AM, et al. Histopathologic variables predict Oncotype DX recurrence score [J]. Mod Pathol, 2008, 21(10): 1255-1261.
- [6] Wolf I, Ben-Baruch N, Shapira-Frommer R, et al. Association between standard clinical and pathologic characteristics and the 21-gene recurrence score in breast cancer patients: a population-based study [J]. Cancer, 2008, 112(4): 731-736.
- [7] 黄恒, 崔彬, 米明, 等. 单用蒽环类与紫杉醇+蒽环类在 Luminal A 型乳腺癌疗效的对照研究 [J]. 岭南现代临床外科, 2011, 11(6): 417-419.
- [8] Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer [J]. N Engl J Med, 2009, 360(8): 790-800.
- [9] Langerod A, Zhao H, Borgan O, et al. TP53 mutation status and gene expression profiles are powerful prognostic markers of breast cancer [J]. Breast Cancer Res, 2007, 9(3): R30.
- [10] Cuzick J, Dowsett M, Pineda S, et al. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(32): 4273-4278.
- [11] Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the international Ki67 in breast cancer working group [J]. J Natl Cancer Inst, 2011, 103(22): 1656-1664.
- [12] Parker JS, Mullins M, Cheang MC, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(8): 1160-1167.
- (收稿日期: 2015-06-15)

早期肠内营养在重型颅脑损伤合并应激性高血糖中的应用价值

曾凡 程燕子 赵灵*

【摘要】 目的 探讨早期肠内营养在重型颅脑损伤合并应激性高血糖中的应用价值。**方法** 回顾性分析 60 例重型颅脑损伤合并应激性高血糖患者的临床资料, 根据给予肠内营养的时间不同分为早期肠内营养组(入院后 8 小时)与延迟肠内营养组(入院后 48 小时), 观察两组患者应激性高血糖的控制情况、低血糖发生率、感染并发症发生率、死亡率等。**结果** 与延迟肠内营养组相比, 早期肠内营养组肠内营养第 7 天的平均血糖、胰岛素使用总时间与低血糖发生率均明显降低, 且差异有统计学意义($P < 0.05$); 肺部感染发生率明显低于延迟肠内营养组, 且差异有统计学意义($P < 0.05$); 消化道出血、呼吸机使用时间以及 28 天死亡例数均低于延迟肠内营养组, 但差异无显著统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 早期肠内营养有利于重型颅脑损伤应激性高血糖的控制, 对于降低住院期间的感染发生率有着积极意义, 但是暂未发现其可以改善患者的预后。

【关键词】 应激性高血糖; 肠内营养; 重型颅脑损伤

中图分类号: R651.1

文献标识码: A

文章编号: 1009-976X(2015)05-0575-04

doi: 10.3969/j.issn.1009-976X.2015.05.013

作者单位: 519000 广东珠海 珠海市人民医院重症监护科

* 通讯作者: 赵灵, Email: Dr.zhaoling@126.com