

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.18.006

甲状腺癌患者 CXCR4 和 Ki-67 表达及其与预后的相关性*

陆宝华, 刘利敏, 陈翔[△], 徐宙[▲]

上海市宝山区中西医结合医院普外科, 上海 201900

摘要:目的 探讨甲状腺癌患者趋化因子受体 4(CXCR4)和增殖细胞核抗原 Ki-67 表达及其与预后的相关性。方法 收集该院甲状腺癌组织标本 82 例(甲状腺癌组)、甲状腺癌旁组织标本 82 例(癌旁组织组)及甲状腺良性病变标本 82 例(对照组),采用免疫组化染色法检测各组标本中 CXCR4、Ki-67 的阳性表达情况,并分析甲状腺癌组织 CXCR4、Ki-67 表达与临床病理特征及预后的关系。结果 甲状腺癌组 CXCR4、Ki-67 蛋白的阳性表达率显著高于癌旁组织组、对照组($P < 0.05$)。甲状腺癌组织中 CXCR4 阳性率与病理分期、淋巴结转移有关($P < 0.05$);Ki-67 阳性率与病理分期、淋巴结转移、包膜侵犯有关($P < 0.05$)。甲状腺癌患者的中位疾病进展时间(TTP)为 37.92 个月(95%CI:27.89~43.31),CXCR4、Ki-67 阳性者的 TTP 显著高于阴性表达者($P < 0.05$)。结论 甲状腺癌患者 CXCR4、Ki-67 呈高表达状态,且表达水平与其临床病理特征相关,共同影响患者术后复发转移。

关键词:甲状腺癌; 趋化因子受体 4; 增殖细胞核抗原 Ki-67; 临床病理特征; 预后

中图分类号:R602

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)18-2610-04

Expressions of CXCR4 and Ki-67 in patients with thyroid cancer and their correlation with prognosis*

LU Baohua, LIU Limin, CHEN Xiang[△], XU Zhou[▲]

Department of General Surgery, Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital of Baoshan District, Shanghai 201900, China

Abstract: Objective To explore the expressions of chemokine receptor 4 (CXCR4) and proliferating cell nuclear antigen Ki-67 in patients with thyroid cancer and their correlation with prognosis. **Methods** A total of 82 cases of thyroid cancer surgical specimens (thyroid carcinoma group), 82 cases of parathyroid tissue specimens of thyroid cancer (parathyroid tissue group) and 82 cases of thyroid benign lesions (control group) was collected, immunohistochemistry was used to detect the expression of CXCR4 and Ki-67. The correlation of CXCR4 and Ki-67 expression in thyroid carcinoma tissue with clinical pathologic features and prognosis were analyzed. **Results** The positive expression rates of CXCR4 and Ki-67 proteins in thyroid carcinoma group were significantly higher than those in parathyroid tissue group and control group ($P < 0.05$). The positive rate of CXCR4 in thyroid cancer was related to pathological stage and lymph node metastasis ($P < 0.05$). The positive rate of Ki-67 was associated with pathological stage, lymph node metastasis and capsule invasion ($P < 0.05$). Kaplan-Meier survival analysis showed that median time to progress (TTP) of all patients was 37.92 months (95%CI:27.89-43.31). The median TTPs in positive CXCR4 and Ki-67 expression group were significantly longer than those in negative expression group ($P < 0.05$). **Conclusion** CXCR4 and Ki-67 are highly expressed in thyroid cancer, and their expression levels are correlated with their pathological characteristics, which jointly affect postoperative recurrence and metastasis.

Key words: thyroid cancer; chemokine receptor 4; proliferating cell nuclear antigen Ki-67; clinical pathology; prognosis

甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤之一,且发病率年均增长高达 6.2%^[1]。多数患者预后较好,但亦可出现淋巴结或远处转移而造成肿瘤复发甚至死亡。肿瘤分子标志物对肿瘤预后的评估一直

是该领域研究的热点,越来越多的分子标志物被发现,研究证实,趋化因子受体(CXCR)参与肿瘤细胞生长、侵袭及转移等,增殖细胞核抗原 Ki-67 作为肿瘤细胞增殖活性的标志物,与多种肿瘤的预后关系密

* 基金项目:上海市宝山区青年医学人才项目(bswsyq-2015-A10)。

作者简介:陆宝华,男,主治医师,主要从事普外科方面的研究。△ 通信作者,E-mail:adams1357@tom.com; ▲ 共同通信作者,E-mail:xuzhou9260@163.com。

切^[2-3]。但 CXCR4、Ki-67 的表达与甲状腺癌患者预后的关系研究并不多见^[4]。本研究拟采用免疫组化染色法检测甲状腺癌组织 CXCR4、Ki67 的表达,探讨其对预后的评估价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 1 月至 2016 年 12 月本院甲乳外科收治住院的拟行手术治疗的 82 例甲状腺癌患者的癌组织标本作为甲状腺癌组,收集癌旁组织标本作为癌旁组织组。纳入标准:(1)均经影像、临床病理确诊,并成功实施甲状腺切除术,且临床资料完整;(2)术前未接受放化疗治疗,无远处转移病灶;(3)排除合并严重感染、心、肝、肾功能障碍者。其中男 36 例,女 46 例,年龄 25~72 岁,平均(48.22±5.54)岁;病理类型:未分化型癌 9 例,分化型癌 73 例(其中乳头状腺癌 34 例,滤泡状腺癌 25 例,髓样癌 14 例);淋巴结转移 29 例,无淋巴结转移 53 例。另选择本院同期甲状腺良性病变患者 82 作为对照组,其中男 40 例,女 42 例;年龄 25~70 岁,平均(47.19±5.28)岁。3 组患者性别构成比、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 病历资料收集 回顾性分析患者的临床病历资料,记录年龄、性别、病理类型、病理分期、癌灶特点、淋巴结转移、包膜侵犯等信息。

1.2.2 免疫组化染色法 所有组织标本均以 10% 甲醛固定,石蜡包埋,制作成 4 μm 厚切片。行苏木精-伊红(HE)染色,采用免疫组化 S-P 三步法染色(试剂盒购自上海长岛生物科技有限公司)。CXCR4、Ki-67 鼠抗人单克隆抗体分别购自福州迈新生物技术开发公司、北京中山生物技术有限公司。阳性对照采用已知阳性切片,阴性对照采用磷酸盐缓冲液代替一抗。

1.2.3 染色结果判定 甲状腺癌组织中, CXCR4 免疫组化染色结果为细胞质及细胞核阳性,而 Ki-67 为细胞核阳性。将染色强度分为 4 个等级,其中无色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;同时 400 倍光镜下观察着色的阳性细胞比例,≤5% 为 0 分, >5%~25% 为 1 分, >25%~50% 为 2 分, >50% 为 3 分。根据染色强度、阳性细胞比例二者得分乘积计算阳性强度:0~1 分为阴性(-), 2~3 分为弱阳性(+), 4~6 分为中阳性(++), >6 分为强阳性(+++)。

1.3 随访 术后采用电话、门诊复查或上门等形式开展随访,了解患者术后局部复发情况,死亡患者的具体死因。随访时间从手术之日起,截至 2018 年 12 月。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件包进行数据分析。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;采用 Kaplan-Meier 生存分析法分析 CXCR4、Ki-67 的表达与疾病进展时间(TTP)的相关性,绘制生存曲线,采用 Log-rank 检验法比较差异。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 CXCR4、Ki-67 的表达水平比较 甲状腺癌组 CXCR4、Ki-67 蛋白的阳性表达率显著高于癌旁组织组、对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。癌旁组织组、对照组 CXCR4、Ki-67 蛋白的阳性表达率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 甲状腺癌组织 CXCR4、Ki-67 阳性表达与临床病理特征的相关性 甲状腺癌组织中 CXCR4 阳性率与病理分期、淋巴结转移有关($P<0.05$);Ki-67 阳性率与病理分期、淋巴结转移、包膜侵犯有关($P<0.05$)。见表 2。

表 1 CXCR4、Ki-67 在不同组别中的表达水平比较

指标	组别	n	表达强度(n)				阳性率(%)	χ^2	P
			-	+	++	+++			
CXCR4	甲状腺癌组	82	24	18	24	16	70.73	61.92	<0.001
	癌旁组织组	82	65	13	4	0	20.73		
	对照组	82	67	14	1	0	18.29		
Ki-67	甲状腺癌组	82	26	17	20	19	68.29	90.95	<0.001
	癌旁组织组	82	72	6	4	0	12.20		
	对照组	82	76	3	3	0	7.32		

表 2 甲状腺癌组织 CXCR4、Ki-67 阳性表达与临床病理特征的相关性

临床病理特征	n	CXCR4 阳性表达			χ^2	P	Ki-67 阳性表达		
		n	阳性率(%)				n	阳性率(%)	χ^2
年龄(岁)									
>45	38	30	78.95	2.31	0.129	27	71.05	0.25	0.618
≤45	44	28	63.64			29	65.91		

续表 2 甲状腺癌组织 CXCR4、Ki-67 阳性表达与临床病理特征的相关性

临床病理特征	n	CXCR4 阳性表达		χ^2	P	Ki-67 阳性表达		χ^2	P
		n	阳性率(%)			n	阳性率(%)		
性别									
男	36	27	75.00	0.57	0.452	25	69.44	0.04	0.842
女	46	31	67.39			31	67.39		
病理类型									
分化型	73	52	71.23	0.08	0.776	51	69.86	1.28	0.259
未分化型	9	6	66.67			5	55.56		
病理分期									
I~II期	42	25	59.52	5.22	0.023	24	57.14	4.94	0.026
III~IV期	40	33	82.50			32	80.00		
癌灶特点									
单结节	38	28	73.68	0.30	0.585	29	76.32	2.11	0.147
多结节	44	30	68.18			27	61.36		
淋巴结转移									
有	29	25	86.21	5.19	0.023	26	89.66	9.46	0.002
无	53	33	62.26			30	56.60		
包膜侵犯									
有	39	30	76.92	1.38	0.241	31	79.49	4.30	0.038
无	43	28	65.12			25	58.14		

2.3 甲状腺癌组织 CXCR4、Ki-67 阳性表达与 TTP 的相关性 利用 Kaplan-Meier 法对甲状腺癌患者进行生存分析。甲状腺癌患者的中位 TTP 为 37.92 个月(95%CI:27.89~43.31),其中 CXCR4 阳性者中位 TTP 为 30.30 个月(95%CI:28.38~32.22),CXCR4 阴性表达者中位 TTP 为 43.15 个月(95%CI:37.21~51.24)。Ki-67 阳性者中位 TTP 为 31.05 个月(95%CI:21.92~38.12),Ki-67 阴性表达者中位 TTP 为 47.80 个月(95%CI:36.40~59.20)。经 Log-rank 检验,CXCR4、Ki-67 阳性者的 TTP 显著高于阴性表达者,差异有统计学意义($\chi^2=11.22,8.25, P<0.05$)。见图 1、2。

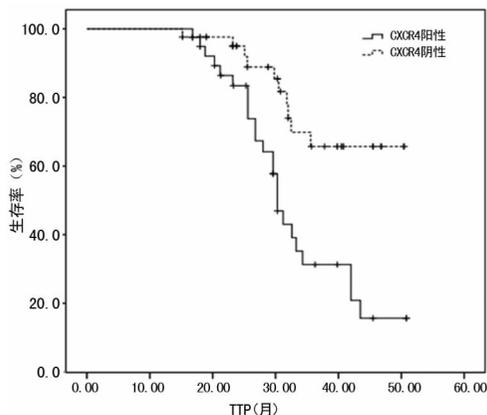


图 1 甲状腺癌患者 CXCR4 蛋白表达水平与 TTP 的关系

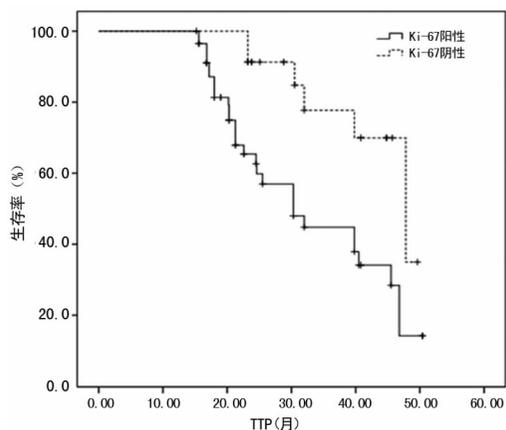


图 2 甲状腺癌患者 Ki-67 蛋白表达水平与 TTP 的关系

3 讨论

甲状腺癌术后复发转移率较高,肿瘤标志物的检测为甲状腺癌的靶向治疗和疗效评价,以及临床结局的预测提供重要信息。趋化因子是一类小分子蛋白,是由多种细胞产生的具有趋化细胞运动作用的促炎细胞因子,参与多种疾病的发生、发展。趋化因子受体分为 4 种亚家族,包括 CC 受体、CXC 受体、XC 受体、CX3C 受体,其中 CXCR4 属于 CXC 受体,与趋化因子基质细胞衍生因子 1(SDF-1),又称 CXCL12 是其特异性配体,CXCR4/SDF-1 生物轴可激活多种信号通路,通过聚合肿瘤细胞肌动蛋白丝,形成假伪足并促进局部血管的形成,提高细胞运动、迁移与侵袭能力,参与肿瘤的生长、转移及浸润^[5-7]。Ki-67 是一

种标记抗原,其抗原抗体反应与细胞周期密切相关,可作为反映肿瘤细胞增殖的活性物质及肿瘤预后情况的重要指标^[8]。

本研究结果显示,甲状腺癌组 CXCR4、Ki-67 蛋白的阳性表达率显著高于癌旁组织组、对照组($P < 0.05$),与王明华等^[9]研究报道一致,且高病理分期、淋巴结转移或包膜侵犯的患者,其 CXCR4、Ki-67 阳性表达率更高,由此推测 CXCR4、Ki-67 的表达与临床病理特征密切相关,此类患者的细胞增殖状态高,加上 CXCR4 与甲状腺癌分泌配体的结合,一定程度上促进肿瘤细胞的恶性增殖及淋巴结转移。另有研究认为,CXCR4、Ki-67 表达水平越高,肿瘤分化程度越低,恶性程度越高,术后化疗后,其表达强度有所下降^[10]。因此,对于 CXCR4、Ki-67 高表达的甲状腺癌患者应提高警惕,结合患者病情综合考虑是否有必要施行预防性淋巴结清除。

生存分析显示,甲状腺癌患者的中位 TTP 为 37.92 个月(95%CI:27.89~43.31),其中 CXCR4、Ki-67 阳性者中位 TTP 显著低于阴性表达者($P < 0.05$),与蒋圣早等^[11]研究结果相似,表明 CXCR4、Ki-67 表达水平均可作为甲状腺癌的独立预后因素,过表达者易复发,通常预示预后不良,其可能原因是 CXCR4、Ki-67 的多表达通过增强肿瘤细胞增殖活性、侵袭力等多种机制促进甲状腺癌的病情进展,从而缩短患者的无病生存时间。王刚平等^[12]研究发现,多发性甲状腺乳头状癌患者 Ki-67 的高表达与侵袭、转移、复发关系密切,Ki-67 增殖指数 $>20\%$ 者转移复发风险明显增高。目前,临床上发现并使用的肿瘤分子标志物较多,灵敏度、特异度存在一定差异,如何选择最佳、最高效的组合,对于提高甲状腺癌预后评估具有重要临床意义。有研究显示,CXCR4、Ki-67 之间呈显著正相关,二者在甲状腺癌的发生、发展中可能存在一定协同作用,但其作用机制尚不清楚^[13]。GONG 等^[14]研究显示,CXCL12、CXCR4 均可促进 Ki-67 高表达细胞的增殖过程,增强病变组织的增生能力,CXCL12、CXCR4 及 Ki-67 三者均高表达时病变呈明显活跃状态,极易复发。

综上所述,甲状腺癌患者 CXCR4、Ki-67 呈高表达状态,且表达水平与其临床病理特征相关,可能协同影响患者术后复发转移,有望成为甲状腺癌预后的预测指标及潜在的治疗靶点。

参考文献

[1] 阿勒哈,孟庆彬,于健春,等.甲状腺癌分子发病机制研究进展[J].中国医学科学院学报,2013,35(4):382-385.

- [2] WANG J, GU J, HAN Q, et al. Value of intraoperative parathyroid hormone monitoring in papillary thyroid cancer surgery; can it be used to guide the choice of operation methods[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(5): 7778-7785.
- [3] GRAINGER J, AHMED M, GAMA R, et al. Post-thyroidectomy hypocalcemia; impact on length of stay[J]. Ear Nose Throat J, 2015, 94(7): 276-281.
- [4] 牛坤汀,莫碧文,王志霞,等. CXCL12-CXCR4/CXCR7 信号轴相关疾病研究进展[J]. 山东医药, 2015, 55(17): 89-91.
- [5] TENG F, TIAN W Y, WANG Y M, et al. Cancer-associated fibroblasts promote the progression of endometrial cancer via the SDF-1/CXCR4 axis[J]. J Hematol Oncol, 2016, 9(1): 8-15.
- [6] WERNER T A, FORSTER C M, DIZDAR L, et al. CXCR4/CXCR7/CXCL12-Axis in Follicular Thyroid Carcinoma[J]. J Cancer, 2018, 9(6): 929-940.
- [7] BARCZYNSKI M. Author's reply: prophylactic central neck dissection for papillary thyroid cancer[J]. Brit J Surg, 2013, 100(5): 410-418.
- [8] TANG J, GUI C, QIU S, et al. The clinicopathological significance of Ki67 in papillary thyroid carcinoma; a suitable indicator? [J]. World J Surg Oncol, 2018, 16(1): 100-109.
- [9] 王明华,惠震,王耕,等.趋化因子受体 4 及 Ki-67 在甲状腺癌中的表达及意义[J]. 中国全科医学, 2011, 14(26): 2992-2994.
- [10] GUEMBAROVSKI A L, GUEMBAROVSKI R L, HIRATA B K B, et al. CXCL12 chemokine and CXCR4 receptor; association with susceptibility and prognostic markers in triple negative breast cancer[J]. Mol Biol Rep, 2018, 45(5): 741-750.
- [11] 蒋圣早,成启明. CXCR4 和 Ki-67 表达与甲状腺癌预后的相关性研究[J]. 中国现代普通外科进展, 2017, 20(1): 73-76.
- [12] 王刚平,周瑞玲,张作峰,等.多灶性乳头状甲状腺癌中 Ki-67、Cyclin D1 和 Bcl-2 的表达与转移复发的关系[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2011, 5(12): 3518-3522.
- [13] 张宏伟,韩晓晨,胡耀杰,等.甲状腺癌预后相关分子标志物的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2015, 31(12): 2061-2063.
- [14] GONG J, ZHANG H, XING S, et al. High expression levels of CXCL12 and CXCR4 predict recurrence of adamantinomatous craniopharyngiomas in children[J]. Cancer Biomark, 2014, 14(4): 241-251.

(收稿日期:2019-01-10 修回日期:2019-04-12)