

E-钙黏蛋白及 Ki67 在三阴性乳腺癌中的表达及临床意义

杨海林 李涛 彭科 马小干

【摘要】 目的 探讨 E-钙黏蛋白、Ki67 在三阴性乳腺癌(TNBC)中的表达及临床意义。**方法** 回顾性分析陆军军医大学新桥医院 2010 年 1 月至 2013 年 12 月收治的 77 例女性 TNBC 患者临床资料。采用免疫组织化学方法检测 E-钙黏蛋白和 Ki67 的表达情况,通过 χ^2 检验分析其与患者临床病理资料的关系。由于 77 例患者中有 5 例失访,本研究仅对随访资料完整的 72 例患者采用 Kaplan-Meier 法、Log-rank 检验、Cox 逐步回归模型进行生存分析和危险因素分析。**结果** 在 77 例患者中,E-钙黏蛋白的表达与淋巴结状态有关($\chi^2 = 16.428, P < 0.001$),而 Ki67 表达与组织学分级有关($\chi^2 = 7.218, P = 0.007$)。中位随访 59 个月,72 例患者的 DFS 率和 OS 率分别为 58.3%、68.1%。其中,E-钙黏蛋白高表达者 DFS 率和 OS 率均高于低表达者(DFS 率:75.9% 比 46.5%, $\chi^2 = 7.553, P = 0.006$;OS 率:82.8% 比 58.1%, $\chi^2 = 5.132, P = 0.023$),而 Ki67 低表达者 DFS 率和 OS 率均高于高表达者(DFS 率:84.0% 比 44.7%, $\chi^2 = 9.486, P = 0.002$;OS 率:92.0% 比 55.3%, $\chi^2 = 9.006, P = 0.003$)。Cox 逐步回归模型分析显示,淋巴结转移、组织学分级高是患者 DFS 的独立危险因素($OR = 4.030, 95\% CI: 1.854 \sim 8.757, P < 0.001$; $OR = 2.879, 95\% CI: 1.359 \sim 6.100, P = 0.006$),Ki67 高表达、淋巴结转移是 OS 的独立危险因素($OR = 5.067, 95\% CI: 1.179 \sim 21.768, P = 0.029$; $OR = 6.253, 95\% CI: 2.296 \sim 17.034, P < 0.001$)。**结论** E-钙黏蛋白高表达和 Ki67 低表达的 TNBC 预后良好,这对于乳腺癌的个体化治疗具有一定的指导意义。

【关键词】 乳腺肿瘤; Ki-67 抗原; E-钙黏蛋白

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

Expression of E-cadherin and Ki67 in triple negative breast cancer and clinical significance Yang Hailin, Li Tao, Peng Ke, Ma Xiaogan. Department of General Surgery, Xinqiao Hospital, Army Medical University, Chongqing 400037, China

Corresponding author: Ma Xiaogan, Email: maxg2011@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression of E-cadherin and Ki67 in triple negative breast cancer (TNBC) and explore its clinical significance. **Methods** We retrospectively analyzed the clinical data from 77 female patients with TNBC in our hospital from January 2010 to December 2013. Immunohistochemistry was adopted to detect the expression of E-cadherin and Ki67. The relationship of protein expression with clinicopathological characteristics was analyzed using χ^2 test. Five cases were lost in the follow-up, so we analyzed the survival and risk factors in 72 patients using Kaplan-Meier method, Log-rank test and Cox stepwise regression model. **Results** In all 77 cases, the expression of E-cadherin was correlated with the status of lymph nodes ($\chi^2 = 16.428, P < 0.001$), and the expression of Ki67 was correlated with histological grade ($\chi^2 = 7.218, P = 0.007$). The median follow-up time was 59 months. In the 72 patients with complete follow-up data, the disease-free survival and overall survival were 58.3% and 68.1%, respectively. The disease-free survival and overall survival in high E-cadherin expression group was significantly higher than those in low E-cadherin expression group (DFS rate: 75.9% vs 46.5%, $\chi^2 = 7.553, P = 0.006$; OS rate: 82.8% vs 58.1%, $\chi^2 = 5.132, P = 0.023$). The disease-free survival and overall survival in low Ki67 expression group was significantly higher than those in high Ki67 expression group (DFS rate: 84.0% vs 44.7%, $\chi^2 = 9.486, P = 0.002$; OS rate: 92.0% vs 55.3%, $\chi^2 = 9.006, P = 0.003$). According to the Cox stepwise regression analysis,

lymphnode metastasis and advanced histological grade were independent risk factors of disease-free survival ($OR=4.030$, 95% $CI:1.854-8.757$, $P<0.001$; $OR=2.879$, 95% $CI:1.359-6.100$, $P=0.006$), and high expression of Ki67 and lymphnode metastasis were independent risk factors of overall survival ($OR=5.067$, 95% $CI:1.179-21.768$, $P=0.029$; $OR=6.253$, 95% $CI:2.296-17.034$, $P<0.001$). **Conclusion** The TNBC patients with the high E-cadherin expression and low Ki67 expression have good prognosis, which can provide guidance for the individualized treatment of breast cancer.

【Key words】 Breast neoplasms; Ki-67 antigen; E-cadherin

三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 是一种特殊类型乳腺癌, 约占全部乳腺癌的 15%~20%^[1-2]。它因缺乏 ER、PR 和 HER-2 表达而不适用于内分泌治疗和靶向治疗^[2], 同时相较于其他类型乳腺癌, TNBC 有着更高的复发率和病死率^[2]。鉴于其高侵袭性和预后差的情况, 研究它的不同亚型将有助于临床医师更好地认识和治疗 TNBC。

E-钙黏蛋白是一种受钙离子调控的嗜碱细胞黏附因子。有研究表明, E-钙黏蛋白低表达或缺失与肿瘤的高侵袭性和复发、转移有关^[3], 同时, 有研究者指出, E-钙黏蛋白在 TNBC 中的低表达明显高于非 TNBC, 这意味着 E-钙黏蛋白可能作为 TNBC 亚型分类和预测指标^[4]。Ki67 是临床中常用的增殖细胞核抗原。它与肿瘤的发生、浸润和转移有关, 并可作为早期乳腺癌的独立预后因子^[5]。目前常将 Ki67 表达 20% 作为非 TNBC 亚型的分界点, <20% 为腔面 A 型, $\geq 20\%$ 为腔面 B 型^[6], 但是, Ki67 在 TNBC 中的研究较少, 是否有着类似的分界点作为 TNBC 的亚型分类仍无定论。为此, 笔者通过回顾性研究来探讨 E-钙黏蛋白及 Ki67 在 TNBC 中的表达和临床意义。

资料与方法

一、一般资料

回顾性分析陆军军医大学新桥医院普通外科 2010 年 1 月至 2013 年 12 月收治的 77 例女性 TNBC 患者临床资料。患者入组标准: 病理诊断为 TNBC, 未行术前放、化疗, 均按 NCCN 指南^[7]进行规范化综合治疗; 排除标准: 炎性乳腺癌, 伴有其他肿瘤。其中浸润性导管癌为最常见类型, 共有 68 例, 浸润性小叶癌 3 例, 髓样癌 3 例, 其他类型癌 3 例; 年龄 ≤ 40 岁 18 例, >40 岁 59 例; 淋巴结转移阴性 42 例, 阳性 35 例; 组织学分级 2 级 46 例, 3 级 31 例; 肿瘤直径 ≤ 2 cm 者 16 例, >2 cm 者 61 例; 未绝经者 42 例, 绝经者 35 例。本研究经陆军军医大学新桥医院医学伦理委员会审批通过。所有患者均签署知情同意书。

二、检测方法

所有病理标本均由本院病理科通过免疫组织化

学方法检测 ER、PR、HER-2、E-钙黏蛋白和 Ki67 表达情况。

三、判定标准

ER、PR 阴性定义为细胞核染色 $<1\%$ ^[8]。HER-2 阴性定义为细胞核染色 0、1+ 或 2+ (经 FISH 判定为阴性)^[9]。E-钙黏蛋白根据阳性细胞数分级: 0, 阳性细胞数为 0~10%; 1+, 阳性细胞数 $>10\%$ ~30%; 2+, 阳性细胞数 $>30\%$ ~70%; 3+, 阳性细胞数 $>70\%$ 。E-钙黏蛋白 $<2+$ 为低表达, $\geq 2+$ 为高表达^[10]。Ki67 以 20% 为分界点, $\geq 20\%$ 为高表达, $<20\%$ 为低表达^[6]。

四、数据随访

以乳腺癌患者的手术日期为起始时间, 通过门诊及电话方式进行随访, 并通过 X 线、腹部彩色超声、骨扫描、CT、肿瘤标志物等判断是否转移。手术日期到首次发现复发、转移为 DFS 期, 手术日期到 2017 年 6 月为 OS 时间。

五、统计学分析

运用 SPSS19.0 统计学软件进行统计分析。采用 χ^2 检验分析 E-钙黏蛋白和 Ki67 表达情况与患者临床病理资料的关系; 通过 Kaplan-Meier 法进行生存分析, 并用 Log-rank 检验对比生存曲线; 通过 Cox 逐步回归模型进行危险因素分析, 变量赋值见表 1。以 $P<0.050$ 为差异有统计学意义。

表 1 多因素 Cox 逐步回归模型分析变量赋值表

因素	变量名	赋值
年龄(岁)	X1	$>40=0, \leq 40=1$
肿瘤大小(cm)	X2	$>2=0, \leq 2=1$
月经状态	X3	绝经=0, 未绝经=1
组织学分级	X4	2 级=0, 3 级=1
淋巴结状态	X5	无淋巴结转移=0, 淋巴结转移=1
E-钙黏蛋白	X6	高表达=0, 低表达=1
Ki67	X7	$<20\%=0, \geq 20\%=1$
复发转移情况	Y1	无复发、转移=0, 有复发、转移=1
生存情况	Y2	存活=0, 死亡=1

结 果

一、E-钙黏蛋白、Ki67 与临床病理资料的关系

在 77 例 TNBC 患者中, E-钙黏蛋白高表达率为 39.0% (30/77), 低表达率为 61.0% (47/77)。E-钙黏蛋白表达在不同年龄、组织学分级、肿瘤大小、月经状态的患者间, 差异均无统计学意义 ($\chi^2 = 1.235$ 、 2.151 、 0.195 、 0.410 , P 均 >0.050), 但在不同淋巴结状态的患者间, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 16.428$, $P < 0.001$)。E-钙黏蛋白高表达更多见于淋巴结无转移的患者。Ki67 高表达率为 66.2% (51/77), 低表达率为 33.8% (26/77)。Ki67 表达在不同年龄、肿瘤大小、月经状态及淋巴结状态的患者间, 差异也无统计学意义 ($\chi^2 = 0.377$ 、 0.057 、 0.008 、 3.414 , P 均 >0.050), 而在不同组织学分级的患者间, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.218$, $P = 0.007$), Ki67 低表达更多见于组织学为 II 级的患者 (表 2)。

二、E-钙黏蛋白、Ki67 表达情况与预后的关系

截至 2017 年 6 月, 中位随访时间为 59 个月 (6~85 个月), 77 例患者中有 5 例失访, 将剩余 72 例进行生存分析, DFS 为 2.0~85.0 个月, 中位 DFS 为 48.5 个月, OS 为 8~85 个月, 中位 OS 为 61 个月, DFS 率 58.3%, OS 率 68.1%。Kaplan-Meier 法显示, E-钙黏蛋白高表达者 DFS 率和 OS 率均高于低表达者 (DFS 率: 75.9% 比 46.5%, $\chi^2 = 7.553$, $P = 0.006$; OS 率: 82.8% 比 58.1%, $\chi^2 =$

5.132, $P = 0.023$) (图 1、2)。Ki67 低表达者 DFS 率和 OS 率均高于高表达者 (DFS 率: 84.0% 比 44.7%, $\chi^2 = 9.486$, $P = 0.002$; OS 率: 92.0% 比 55.3%, $\chi^2 = 9.006$, $P = 0.003$) (图 3、4)。Cox 逐步回归模型分析显示, 淋巴结转移、组织学分级高是 DFS 的独立危险因素 ($OR = 4.030$, 95% CI : 1.854 ~ 8.757, $P < 0.001$; $OR = 2.879$, 95% CI : 1.359 ~ 6.100, $P = 0.006$) (表 3), Ki67 高表达、淋巴结转移是 OS 的独立危险因素 ($OR = 5.067$, 95% CI : 1.179 ~ 21.768, $P = 0.029$; $OR = 6.253$, 95% CI : 2.296 ~ 17.034, $P < 0.001$) (表 4)。

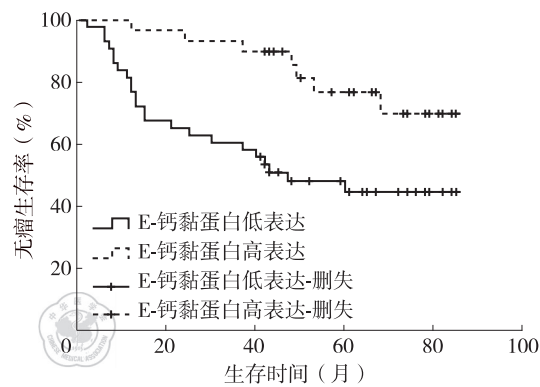
讨 论

TNBC 是一种特殊类型乳腺癌, 相较于其他类型乳腺癌, 它有着更高的组织学分级和侵袭性^[2,11], 且由于缺乏 ER、PR、HER-2 而不适用于内分泌及靶向治疗^[2,12], 这也导致了 TNBC 到目前为止并没有标准的治疗模式, 新的预测指标便成为了 TNBC 的研究热点, 这其中就包括了 E-钙黏蛋白和 Ki67。

E-钙黏蛋白作为一种受钙离子调控的嗜碱细胞黏附因子, 它的黏附特性即是各细胞黏附在一起从而维持上皮细胞的完整性, 这一特性也意味着它的功能缺失将会导致细胞的分离^[13]。目前, 有关 E-钙黏蛋白在肿瘤细胞中表达的研究表明, 它与肿瘤的复发、转移有着密切的关系^[3]。而在有关乳腺癌的研究中, 虽然有研究者指出 E-钙黏蛋白表达与

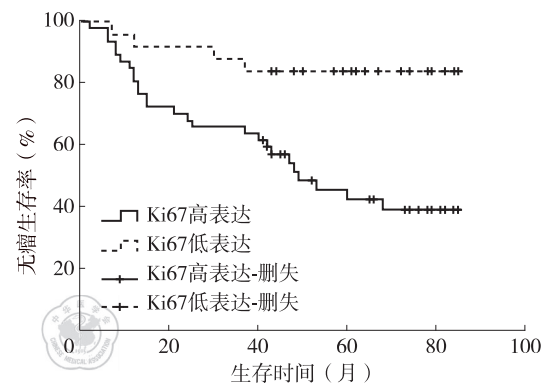
表 2 77 例三阴性乳腺癌患者临床病理资料与 E-钙黏蛋白和 Ki67 表达的关系 (例)

临床病理特征	例数	E-钙黏蛋白		χ^2	P 值	Ki67		χ^2	P 值
		低表达	高表达			低表达	高表达		
年龄									
≤40 岁	18	13	5	1.235	0.266	5	13	0.377	0.539
>40 岁	59	34	25			21	38		
淋巴结转移									
阴性	42	17	25	16.428	<0.001	18	24	3.414	0.065
阳性	35	30	5			8	27		
组织学分级									
2 级	46	25	21	2.151	0.142	21	25	7.218	0.007
3 级	31	22	9			5	26		
肿瘤大小									
≤2 cm	16	9	7	0.195	0.659	5	11	0.057	0.811
>2 cm	61	38	23			21	40		
月经状态									
未绝经	42	27	15	0.410	0.522	14	28	0.008	0.930
绝经	35	20	15			12	23		



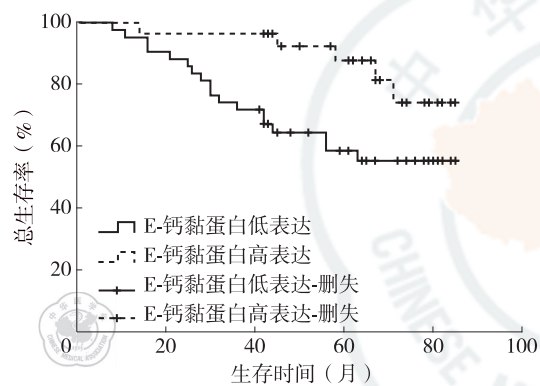
注:E-钙黏蛋白高表达者的无瘤生存率高于低表达者, $\chi^2=7.553, P=0.006$

图1 72例三阴性乳腺癌组织中 E-钙黏蛋白表达对患者无瘤生存率的影响



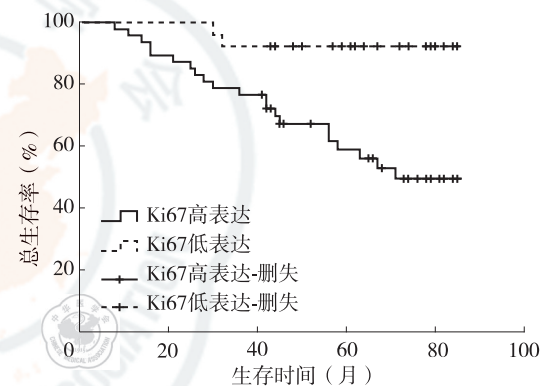
注:Ki67 低表达者无瘤生存率高于高表达者, $\chi^2=9.486, P=0.002$

图3 72例三阴性乳腺癌组织中 Ki67 表达对患者无瘤生存率的影响



注:E-钙黏蛋白高表达者总生存率高于低表达者, $\chi^2=5.132, P=0.023$

图2 72例三阴性乳腺癌组织中 E-钙黏蛋白表达对患者总生存率的影响



注:Ki67 低表达者总生存率高于高表达者, $\chi^2=9.006, P=0.003$

图4 72例三阴性乳腺癌组织中 Ki67 表达对患者总生存率的影响

表3 72例三阴性乳腺癌复发影响因素的 Cox 逐步回归分析

因素	回归系数	标准误	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
步骤 1						
淋巴结	1.474	0.391	14.218	<0.001	4.368	2.030 ~ 9.398
步骤 2						
淋巴结	1.394	0.396	12.386	<0.001	4.030	1.854 ~ 8.757
组织学分级	1.058	0.383	7.625	0.006	2.879	1.359 ~ 6.100

表4 72例三阴性乳腺癌患者总生存影响因素的 Cox 逐步回归分析

因素	回归系数	标准误	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
步骤 1						
淋巴结	2.011	0.509	15.631	<0.001	7.471	2.757 ~ 20.248
步骤 2						
Ki67	1.623	0.744	4.760	0.029	5.067	1.179 ~ 21.768
淋巴结	1.833	0.511	12.854	<0.001	6.253	2.296 ~ 17.034

患者的年龄、月经状态及淋巴结状态有关^[4],但是,在 TNBC 中的研究报道较少,且它的临床意义仍无明确定义。本研究结果显示:在 77 例 TNBC 患者中,E-钙黏蛋白高表达率为 39.0% (30/77),低表达率为 61.0% (47/77),存在较高的 E-钙黏蛋白表达缺失,且 E-钙黏蛋白表达与淋巴结状态有关,它的低表达更多见于有淋巴结转移的患者,与文献报道的结果相符^[4,14];在 72 例随访资料完整的 TNBC 患者中,E-钙黏蛋白高表达者有着更长的 DFS 和 OS。

Ki67 是一种核内非组蛋白,在细胞周期的 G₁、S、G₂、M 期中有着一定的表达,而在 G₀ 期不表达,它在细胞周期中的不同表达情况使它成为了评估肿瘤细胞增殖情况的标志物。乳腺癌组织中 Ki67 的表达与肿瘤大小、组织学分级及淋巴结状态有关,且与患者的 DFS 及 OS 有关^[15-16],并且,有研究报道,Ki67 的表达与新辅助化疗的疗效存在联系^[17],但是,这些关于 Ki67 的研究多是在所有类型的乳腺癌患者中进行,而在 TNBC 中的研究较少,且对于 Ki67 取何值作为分界点仍存在争议。根据 2013 年 St. Gallen 乳腺癌会议中大多数专家的意见^[6],本研究将 20% 作为 Ki67 的分界点进行分析,结果显示,在 77 例 TNBC 患者中,Ki67 的表达与组织学分级有关,Ki67 低表达更多见于组织学 2 级的患者,与文献报道相符^[18]。但是,在 72 例随访资料完整的 TNBC 患者中,Ki67 低表达者有着更长的 DFS 和 OS,Ki67 高表达可作为 OS 的独立危险因素($OR = 5.067, 95\% CI: 1.179 \sim 21.768, P = 0.029$)。这与相关文献报道存在差异^[18],考虑到可能与样本量大小及 Ki67 分界点差异有关,以后需要将不同 Ki67 分界点纳入更大的临床数据进一步研究。

综上所述,E-钙黏蛋白高表达和 Ki67 低表达的 TNBC 患者预后良好,且 Ki67 是其 OS 的独立影响因素,这对于乳腺癌的个体化治疗具有一定的指导意义。

参 考 文 献

[1] Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: therapeutic options [J]. *Lancet Oncol*, 2007, 8(3): 235-244.
[2] Yao H, He G, Yan S, et al. Triple-negative breast cancer: is there a treatment on the horizon? [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 1913-1924.

[3] Nakamoto K, Nagahara H, Maeda K, et al. Expression of E-cadherin and KRAS mutation may serve as biomarkers of cetuximab-based therapy in metastatic colorectal cancer [J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(4): 1295-1300.
[4] 邓森, 刘江波, 刘起鹏, 等. E-钙黏蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义 [J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2015, 9(3): 182-187.
[5] Pathmanathan N, Balleine RL. Ki67 and proliferation in breast cancer [J]. *J Clin Pathol*, 2013, 66(6): 512-516.
[6] 王新昭, 左文述, 刘琪, 等. 2013 年 St Gallen 乳腺癌会议国际专家共识荟萃 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2013, 20(23): 1859-1864.
[7] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2015 版) [J]. *中国癌症杂志*, 2015, 25(9): 692-754.
[8] 李世超, 齐晓伟. 美国临床肿瘤学会和美国病理学家学会乳腺癌雌激素/孕激素受体免疫组化检测指南 [J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2011, 5(3): 385-387.
[9] Lan C, Liu JM, Liu TW, et al. erb-b2 amplification by fluorescence in situ hybridization in breast cancer specimens read as 2+ in immunohistochemical analysis [J]. *Am J Clin Pathol*, 2005, 124(1): 97-102.
[10] Kashiwagi S, Yashiro M, Takashima T, et al. Significance of E-cadherin expression in triple-negative breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 2010, 103(2): 249-255.
[11] Bianchini G, Balko JM, Mayer IA, et al. Triple-negative breast cancer: challenges and opportunities of a heterogeneous disease [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(11): 674-690.
[12] Adamo V, Ricciardi GR, De Placido S, et al. Management and treatment of triple-negative breast cancer patients from the NEMESI study: an Italian experience [J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(5): 642-647.
[13] 刘彦博. 乳腺癌中 E-钙黏素分子调节机制的研究进展 [J]. *现代医药卫生*, 2014, 30(8): 1190-1192.
[14] 孔德娣. E-钙黏蛋白及三阴性表达与乳腺癌临床病理特征的关系 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2013, 27(9): 854-856.
[15] Tashima R, Nishimura R, Osako T, et al. Evaluation of an optimal cut-off point for the Ki-67 index as a prognostic factor in primary breast cancer: a retrospective study [J]. *PloS One*, 2015, 10(7): e0119565.
[16] Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, et al. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64 196 patients [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2015, 153(3): 477-491.
[17] Nishimae A, Nakano Y, Nishi T, et al. Evaluation of pre-therapeutic Ki67 as a predictive marker for histological response to neoadjuvant therapy in breast cancer [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2015, 42(12): 1491-1493.
[18] Pan Y, Yuan Y, Liu G, et al. P53 and Ki-67 as prognostic markers in triple-negative breast cancer patients [J]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0172324.

(收稿日期: 2017-06-07)

(本文编辑: 罗承丽)

杨海林, 李涛, 彭科, 等. E-钙黏蛋白及 Ki67 在三阴性乳腺癌中的表达及临床意义 [J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2018, 12(1): 32-36.