

· 综述 ·

增殖细胞核抗原 Ki67 与乳腺癌新辅助化疗疗效的关系

桑蝶 王佳玉 徐兵河

乳腺癌占女性所患恶性肿瘤的 23%, 为最常见的恶性肿瘤^[1]。根据上海市疾病预防控制中心统计, 2004—2005 年中国女性乳腺癌的死亡率为 5.9/10 万, 居恶性肿瘤致死原因第 6 位^[2]。乳腺癌发生的生物学基础是抑癌基因的失活和原癌基因的激活, 导致细胞的增殖、分化、凋亡发生障碍。基础研究证实, 增殖细胞核抗原 Ki67 是一种与细胞周期相关的蛋白质, 与乳腺癌的复发和转移密切相关^[3]。本文综合国内外最新文献, 从 Ki67 与乳腺癌新辅助化疗疗效的关系进行综述。

1 Ki67 的结构和功能

1983 年, Gerdes 等^[4]用鼠源性单克隆抗体检测一种来自霍奇金淋巴瘤系 L428 细胞核成分时, 首次发现了 Ki67 (Ki 表示研究者当时所在的德国 Kiel 大学, 67 是研究时 96 孔板中该抗原相对应的单克隆抗体的编号)。之后, 又通过实验研究确定 Ki67 为一种非组蛋白。Ki67 主要位于细胞核内, 与细胞增殖有关, 半衰期短, 只有 1~1.5 h^[5], 在静止 G₀ 期细胞不表达, G₁ 后期出现, S、G₂ 期表达上升, M 期达高峰, 有丝分裂结束后快速降解消失。MacCallum 等^[6]的研究发现, Ki67 通过复杂的方式与 DNA 和 RNA 及其他蛋白相结合, 因此认为细胞分裂中 Ki67 是核糖体合成的重要因子, 对细胞增殖必不可少。在正常的乳腺组织中, Ki67 表达一般小于 3%, 而在癌变组织中表达升高, 且在恶变的早期就有微弱的表达, 表达水平随着病情的发展逐渐上升, 提示其参与了肿瘤的发生、发展, 目前已被作为鉴别乳腺良恶性肿瘤的一个辅助指标或判断肿瘤侵袭能力、恶性程度的一种标志物^[3]。2011 年 St. Gallen 国际乳腺癌共识会议将 Ki67 引入乳腺癌分子分型的判读标准, 将阳性细胞数 ≤ 14% 定义为低表达, 阳性细胞数 > 14% 定义为高表达^[7]。之后, 这一定义被用于乳

腺癌分子分型系统, 作为 Luminal A 型和 Luminal B 型乳腺癌的诊断标准, 并被作为重要的预后指标指导辅助化疗的选择。

2 新辅助化疗的依据及临床意义

新辅助化疗 (neoadjuvant chemotherapy, NCT) 已成为乳腺癌综合治疗的重要组成部分, 主要用于局部晚期乳腺癌 (local advanced breast cancer, LABC)。因此, 准确分析新辅助化疗疗效的相关因素, 对合理有效、规范化开展乳腺癌新辅助治疗具有重要意义。NCT 在降低临床分期、抑制全身微转移灶、化疗方案敏感性评价、提高保留乳房率及手术切除率等方面具有明显的优势。目前, NCT 方案并无统一标准, 国内外的乳腺癌 NCT 大多参考术后辅助化疗方案, 常用蒽环联合紫杉类方案。研究显示, 蒽环类基础上加紫杉类可将 pCR 提高至 10%~15%, 并显著改善患者的 DFS^[8]。NSABP 研究显示, 乳腺癌新辅助化疗对原发病灶的客观有效率为 49%~79%, pCR 为 4%~30%^[9]。pCR 定义为术后乳腺组织中找不到恶性肿瘤的组织学证据, 或仅存原位癌成分, 并且淋巴结转移性病变完全消失^[8]。pCR 为独立预后因子, 获得 pCR 的患者 DFS 明显延长。

3 Ki67 与新辅助化疗疗效的关系

目前, Ki67 检测最常用的是免疫组织化学方法。其判断标准为: 通过光学显微镜观察, 以细胞核内出现棕黄色颗粒为阳性细胞, 用 400 倍高倍镜下 10 个视野阳性细胞所占的百分比来表示 Ki67 的值^[10]。不同研究及文献报道对 Ki67 阳性的定义不同: 多数文献以 Ki67 > 20% 或 30% 作为阳性标准^[11-12], 也有以 10%^[13] 或者 14%^[14] 为界值的。关于 Ki67 与乳腺癌新辅助化疗疗效的关系, 学者们进行了大量研究。多数学者认为, Ki67 可作为在乳腺癌新辅助化疗药物敏感性的判断指标, Ki67 的表达程度与肿瘤的恶性程度及预后相关, 然而, Ki67 高表达常常提示化疗更敏感, 患者更能从化疗中获益^[3, 13]。de Azambuja 等^[15] 将

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2015.01.011

作者单位: 100021 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院内科

通信作者: 徐兵河, Email: xubinghe@medmail.com.cn

10 954 例乳腺癌患者中 Ki67 高表达 (>20%) 与正常表达 ($\leq 20\%$) 者进行了比较, 结果表明两组患者间 DFS 与 OS 差异有统计学意义, 提示 Ki67 表达程度是影响乳腺癌患者 DFS 的独立因素。其结果与 Von minckwitz 等^[16]报道的一致。Ohno 等^[17]报道了 477 例局部晚期乳腺癌患者, 经过 4 个周期 FEC 方案(氟尿嘧啶+表柔比星+环磷酰胺)新辅助化疗后, 被随机入组多西他赛联合卡培他滨(TX)组和多西他赛(T)单药组。虽然两组 pCR 率差异无统计学意义, 但 Ki67 高表达者 (Ki67>10%) 较 Ki67 低表达者 (Ki67 $\leq 10\%$) 的 pCR 率显著提高 (12.3% 比 6.5%, $P=0.0004$)。Yoshioka 等^[18]对 64 例乳腺癌患者行新辅助化疗后, 也得到了相同的结果, 并且指出化疗后 Ki67 未下降者预后较差。程岩等^[19]对 105 例乳腺癌患者的研究结果也提示, Ki67 表达与化疗效果呈线性相关, 高表达患者新辅助化疗有效率更高。Ki67 高表达与新辅助化疗后 pCR 具有显著相关性^[20-21]。

马祥君等^[22]的研究显示, 乳腺癌 Ki67 在 NCT 中随时间变化呈一定规律: Ki67 的表达在新辅助化疗后明显下降, 化疗药物主要对增殖期的肿瘤细胞发挥作用, 经过一次化疗后, 大量增殖期肿瘤细胞被杀灭, 静止期的肿瘤细胞会进入增殖期。患者再次化疗的最佳时间是在上次化疗后 14~21 d, 化疗后 14 d 时乳腺癌细胞 Ki67 阳性率最低, 此后逐渐升高, 表明化疗后 14 d 时上次化疗的作用才逐渐消失^[22]。这与 CALGB9741 研究结果(乳腺癌密集化疗较常规化疗更有效)^[23]相一致。

4 各分子亚型乳腺癌 Ki67 的区别及预后

三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 占乳腺癌的 10%~17%, 以侵袭性的临床表现为特征, 与其他类型乳腺癌比较, 其 OS 率低, DFS 时间短, 较易发生内脏转移, 复发转移出现的高峰时间是 3 年左右, 内脏转移发生率高于骨及区域淋巴结转移^[24]。Liedtke 等^[25]对 1 118 例 I~III 期乳腺癌患者实施新辅助化疗, 结果显示 TNBC 缓解率较高, 其 pCR 率显著高于非 TNBC 患者。Colleoni 等^[26]也得到类似的结果: 在 399 例接受新辅助化疗的局部晚期乳腺癌患者中, 激素受体阴性者 pCR 率显著高于其受体阳性者 (33.3% 比 16%)。Silver 等^[27]发现, TNBC 患者新辅助化疗选择含顺铂方案, pCR 率可高达 22%, 同样证明激素受体阴性患者从新辅助化疗中得到更大的

获益。进一步分析显示, 在乳腺癌不同的分子亚型中, Ki67 高表达的患者均可从新辅助化疗中获益, 而在 Ki67 低表达的乳腺癌患者中, TNBC 临床获益高于其他三种分子亚型。叶国麟等^[28]对 74 例 TNBC 患者行新辅助化疗后, 发现 Ki67 均值较化疗前明显降低, 说明化疗可以降低 Ki67 表达率, 新辅助化疗显著抑制了肿瘤细胞的增殖活性。该研究还显示: TNBC 新辅助化疗中, 含紫杉类方案 (CET, 环磷酰胺+表柔比星+紫杉醇) 较不含紫杉类方案 (FEC, 5-氟尿嘧啶+表柔比星+环磷酰胺) 有更高的 pCR 率; Ki67 高表达患者接受 CET 方案新辅助化疗后 pCR 率更高。戴文斌等^[29]报道 Ki67 高表达反映肿瘤细胞增殖活跃, 提示预后不良, 并且, 在不同分子亚型的乳腺浸润性导管癌中, luminal 型占 66.7% (68/102)。其中, luminal A 型 Ki67 表达率最低, TNBC 表达率最高, HER-2 过表达型仅次于 TNBC。朱伟良等^[30]对 252 例乳腺癌患者实施新辅助化疗时发现, ER(-) 者 Ki67 指数显著高于 ER(+) 者, PR(-) 者 Ki67 指数也显著高于 PR(+) 者, 但 HER-2(+) 者 Ki67 指数显著高于 HER-2(-) 者, luminal B 型、HER-2 过表达型和三阴型的 Ki67 指数均显著高于 luminal A 型, 并且 luminal B 型、HER-2 过表达型和三阴性三者间的 Ki67 指数差异无统计学意义。王永南等^[31]报道了 55 例乳腺癌患者的新辅助治疗, 其中 Ki67 高表达组新辅助化疗临床有效率高于 Ki67 低表达组, luminal A 型乳腺癌新辅助化疗的临床疗效低于三阴性、luminal B 型和 HER-2 过表达型。

以上研究表明, 在早期或局部晚期乳腺癌中, Ki67 可以预测新辅助化疗的疗效 (临床疗效或 pCR), 较高的 Ki67 与更好的化疗疗效相关, 新辅助化疗前、后 Ki67 的下降程度反映了新辅助化疗的疗效 (表 1)。

5 Ki67 与乳腺癌其他分子标志物的相关性

多数研究者认为 Ki67 与 ER、PR 呈负相关, 提示激素受体阴性的乳腺癌大多增殖能力较强, 在增殖最低的肿瘤中, 显示有高比例的 ER 阳性肿瘤细胞^[8,30]。曹丹霞等^[8]报道, ER(-)/PR(-) 组 Ki67 表达的中位值 (50%), 显著高于 ER(+)/PR(+) 组 (20%), 而 Ki67 表达与化疗疗效相关。Ki67 与 HER-2 表达、P53 呈正相关, P53 阴性和 Ki67 阳性的患者可能对 NCT 更为敏感^[32]。这两

表 1 有关增殖细胞核抗原 Ki67 的主要研究

作者	出版年	病例数	结论
de Azambuja ^[15]	2007	10954 例乳腺癌	Ki67 高表达的乳腺癌患者,其 DFS 与 OS 均较 Ki67 正常表达者差
Ohno ^[17]	2013	477 例乳腺癌	Ki67 为 10%~20% 的乳腺癌患者,其新辅助化疗 pCR 率较 Ki67<10% 者高
程岩 ^[19]	2012	105 例乳腺癌	Ki67 表达程度与化疗效果呈线性相关,高表达者新辅助化疗有效率更高
Liedtke ^[25]	2008	1118 例乳腺癌	三阴性乳腺癌组新辅助化疗的 pCR 率显著高于非三阴性乳腺癌组
Silver ^[27]	2010	84 例三阴性乳腺癌	含铂类方案新辅助化疗可获得较高的 pCR 率
叶国麟 ^[28]	2013	74 例三阴性乳腺癌	化疗后 Ki67 均值较化疗前明显降低,化疗抑制了肿瘤细胞的增殖
朱伟良 ^[30]	2012	252 例乳腺癌	luminal B 型、HER-2 过表达型和三阴性乳腺癌的 Ki67 表达均显著高于 luminal A 型
王永南 ^[31]	2012	55 例乳腺癌	Ki67 高表达组新辅助化疗临床有效率高于 Ki67 低表达组

项指标的测定对于临床医师选择合适的患者进行 NCT 具有一定的参考意义。乳腺癌 TOP2A 基因编码的蛋白质(拓扑异构酶)是参与细胞复制、转录、基因重组及有丝分裂等重要功能的酶,同时也是蒽环类药物的主要作用靶点。TOP2A 基因扩增可作为蒽环类药物敏感的预测指标^[33]。TOP2A 蛋白高表达提示乳腺癌预后不良。并且,在同一组乳腺癌人群中 TOP2A 蛋白与 Ki67 的表达有较好的一致性,两者是临床上既相互独立又互相补充的预后因素^[34-35]。

6 结语

Ki67 与包括乳腺癌在内的多种肿瘤的发生、发展、分级、分期、浸润和转移、复发及预后等方面均有相关性^[36-38]。新辅助化疗后, Ki67 表达水平下降与化疗中瘤体缩小及癌细胞数量减少有关,其在残留癌细胞中的表达下降对 DFS 是一个较好的预测指标。癌细胞 Ki67 增殖指数的降低比肿瘤的缩小更能反映肿瘤对化疗的敏感程度^[7]。在 Ki67 高表达的乳腺癌中,不同的分子亚型均可从新辅助化疗中获益,而在 Ki67 表达低的乳腺癌中,三阴性乳腺癌较其他三种分子亚型更易从新辅助化疗中获益。

目前,关于 Ki67 预测乳腺癌化疗疗效的研究较多,但仍存在一些有待解决的问题。一方面,各研究单位所取 Ki67 的临界值并不一致。上述研究文献中所取临界值介于 10%~30% 之间,临床上难以准确判定某一个临界值优于另一个临界值。另一方面,在检测 Ki67 时,没有一个科学、统一、方便、准确的计数方法,病理科医师很容易在判读时出现误差。这些因素可能会导致研究结果不一致,甚至出现互相矛盾。预测和评价肿瘤新辅助化疗疗效是一个复杂过程,受多种因素的影响, Ki67 在 NCT 疗效评价中的作用尚需要大规模、前瞻性临床研究或荟萃分析的证实,以便更好

地在乳腺癌治疗上做到真正的“量体裁衣”和“有的放矢”。

【关键词】 乳腺肿瘤; Ki-67 抗原; 辅助化疗; 治疗结果; 分子分型

【中图法分类号】 R737.9 【文献标志码】 A

参 考 文 献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cance J Clin, 2011, 61(2):69-90.
- [2] 郑莹, 吴春晓, 吴凡. 中国女性乳腺癌死亡现状和发展趋势[J]. 中华预防医学杂志, 2011, 45(2):150-154.
- [3] Yerushalmi R, Woods R, Ravdin PM, et al. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential[J]. Lancet Oncol, 2010, 11(2):174-183.
- [4] Gerdes J, Schwab U, Lemke H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation[J]. Int J Cancer, 1983, 31(1):13-20.
- [5] Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki67[J]. J Immunol, 1984, 133(4):1710-1715.
- [6] MacCallum DE, Hall PA. The location of pKi67 in the outer dense fibrillary compartment of the nucleolus points to a role in ribosome biogenesis during the cell division cycle[J]. J Pathol, 2000, 190(5):537-544.
- [7] Cheang MC, Chia SK, Voduc D, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2009, 101(10):736-750.
- [8] 曹丹霞, 何建蓉, 沈坤炜, 等. 激素受体和 HER-2 及 Ki-67 预测乳腺癌新辅助化疗疗效价值的分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19(13):1000-1003.
- [9] Bear HD, Anderson S, Brown A, et al. The effect on tumor response of adding sequential preoperative docetaxel to preoperative doxorubicin and cyclophosphamide: preliminary results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(22):4165-4174.
- [10] 黄朝光, 辛付莹. 乳腺癌 P53、Ki-67 表达与新辅助化疗疗效的相关性研究[J]. 中国社区医师(医学专业), 2011, 13(271):260.
- [11] 黄宇, 胡晓桦, 刘志辉. Ki-67 表达与鼻咽癌、乳腺癌化疗疗

- 效及预后的临床分析[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2013,7(2):641-645.
- [12] 张云好,陈天文,王开昕,等. Ki67 表达在乳腺癌新辅助化疗中的临床意义[J]. 实用医院临床杂志 2012,9(4):60-62.
- [13] Nishimura R,Osako, Okumura Y, et al. Clinical significance of Ki67 in neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer as a predictor for chemosensitivity and for prognosis [J]. Breast Cancer,2010,17 (4) :269-275.
- [14] Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, et al. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011 [J]. Ann Oncol,2011, 22(8) :1736-1747.
- [15] de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G Jr, et al. Ki67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12 155 patients [J]. Br J Cancer, 2007,96(10) :1504-1513.
- [16] Von minckwitz G, Schmitt WD, Loibl S, et al. Ki67 measured after neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer [J]. Clin Cancer Res,2013,19(16) :4521-4531.
- [17] Ohno S, Chow LW, Sato N, et al. Randomized trial of preoperative docetaxel with or without capecitabine after 4 cycles of 5-fluorouracil-epirubicin-cyclophosphamide (FEC) in early-stage breast cancer:exploratory analyses identify Ki67 as a predictive biomarker for response to neoadjuvant chemotherapy [J]. Breast Cancer Res Treat,2013,142(1) :69-80.
- [18] Yoshioka T, Hosoda M, Yamamoto M, et al. Prognostic significance of pathologic complete response and Ki67 expression after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer[J]. Breast Cancer,2015,22(2) :185-191.
- [19] 程岩,徐玲,刘倩,等. 乳腺癌新辅助治疗疗效相关因素分析[J]. 中国实用外科杂志,2012,32(11) :950-952.
- [20] Denkert C,Loibl S, Müller BM, et al. Ki67 levels as predictive and prognostic parameters in pretherapeutic breast cancer core biopsies: a translational investigation in the neoadjuvant GeparTrio trial[J]. Ann Oncol,2013,24(11) :2786-2793.
- [21] Sueta A,Yamamoto Y,Hayashi M, et al. Clinical significance of pretherapeutic Ki67 as a predictive parameter for response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: is it equally useful across tumor subtypes? [J]. Surgery,2014,155(5) :927-935.
- [22] 马祥君,何湘萍,汪洁,等. 乳腺癌新辅助化疗后不同时间 Ki-67 变化规律研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2010, 17(13) :976-978.
- [23] Citron ML,Berry DA, Cirincione C, et al. Randomized trial of dose-dense versus Conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer; first report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trail 9741 [J]. J Clin Oncol,2003,21(8) :1431-1439.
- [24] Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence [J]. Clin Cancer Res,2007,13(15 pt 1) :4429-4434.
- [25] Liedtke C,Mazouni C,Hess KR, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer [J]. J Clin Oncol,2008,26(8) :1275-1281.
- [26] Colleoni M, Viale G, Zahrieh D, et al. Chemotherapy is more effective in patients with breast cancer not expressing steroid hormone receptors; a study of preoperative treatment [J]. Clin Cancer Res,2004,10(19) :6622-6628.
- [27] Silver DP, Richardson AL, Eklund AC, et al. Efficacy of neoadjuvant cisplatin in triple-negative breast cancer [J]. J Clin Oncol,2010,28(7) :1145-1153.
- [28] 叶国麟,杨劼,古卫权,等. Ki-67 表达对“三阴性”乳腺癌新辅助化疗疗效影响[J]. 河北医学,2013,19(6) :832-834.
- [29] 戴文斌,黄平,任占平,等. MCM7 和 Ki-67 在乳腺癌中的表达及其与新辅助化疗关系的研究[J]. 实用肿瘤杂志,2010, 25(1) :20-23.
- [30] 朱伟良,谈炎,王旭芬,等. Ki-67 在乳腺癌各亚型中的表达及意义[J]. 中国癌症杂志,2012,22(5) :347-351.
- [31] 王永南,王颀,张安泰,等. Ki-67 与分子亚型预测乳腺癌新辅助化疗敏感性的研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19(23) :1805-1809.
- [32] von Minckwitz G,Sinn HP,Raab G, et al. Clinical response after two cycles compared to HER2, Ki-67, p53, and bcl-2 in independently predicting a pathological complete response after preoperative chemotherapy in patients with operable carcinoma of the breast [J]. Breast Cancer Res,2008,10(2) :R30.
- [33] Wang J, Xu B, Yuan P, et al. TOP2A amplification in breast cancer is a predictive marker of anthracycline-based neoadjuvant chemotherapy efficacy [J]. Breast Cancer Res Treat,2012,135(2) :531-537.
- [34] Jones RL, Salter J, A'Hern R, et al. The prognostic significance of Ki67 before and after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer [J]. Breast Cancer Res Treat,2009,116(1) :53-68.
- [35] Jacquemier J, Charafe-Jauffret E, Monville F, et al. Association of GATA3, P53, Ki67 status and vascular peritumoral invasion are strongly prognostic in luminal breast cancer [J]. Breast Cancer Res,2009,11(2) :R23.
- [36] Ahlin C, Fernö M, Amini RM, et al. Ki67 and cyclin A-prognostic factors in breast cancer. Time to introduce proliferation markers in clinical routine [J]. Lakartidningen, 2010,107(10) :672-675.
- [37] Werynska B,Pula B,Muszczyńska-Bernhard B, et al. Correlation between expression of metallothionein and expression of Ki67 and MCM-2 proliferation markers in non-small cell lung cancer [J]. Anticancer Res,2011,31(9) :2833-2839.
- [38] Sole CV, Calvo FA. Research opportunities for vascular endothelial growth factor receptor and Ki67 relative percentage co-reduction in patients with locally advanced rectal cancer treated with neoadjuvant therapy [J]. Clin Oncol, 2014, 26(2) :122-123.

(收稿日期:2014-04-22)

(本文编辑:罗承丽)

桑蝶,王佳玉,徐兵河. 增殖细胞核抗原 Ki67 与乳腺癌新辅助化疗疗效的关系[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2015,9(1) :50-53.