



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.05.013
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3887.shtml

· 基础研究 ·

TK1、Ki-67、p53 在乳腺癌组织中的表达与及其预后的关系

白建平, 张霆, 秦大伟

(中国人民解放军第二五四医院 普通外科, 天津 300142)

摘要

目的: 探讨 TK1、Ki-67、p53 在乳腺癌组织中的表达及其与预后的关系。

方法: 2009年3月—2013年5月收治的60例乳腺癌患者, 均接受乳腺癌根治术并留取组织标本, 用免疫组化法检测乳腺癌组织及其癌旁组织中 TK1、Ki-67 和 p53 的表达; 根据随访资料分析 TK1、Ki-67 和 p53 的表达与患者预后的关系。

结果: 乳腺癌组织中 TK1、Ki-67、p53 阳性率均明显高于癌旁组织 (均 $P < 0.05$); TK1、Ki-67、p53 的表达强度明显影响患者的5年生存率, 均表现为表达强度越高患者的生存率越低 (均 $P < 0.05$); TK1、Ki-67 和 p53 表达的阳性率在术后5年内出现复发或转移的患者中均明显高于无复发或转移的患者 (均 $P < 0.05$)。

结论: 在乳腺癌组织中 TK1、Ki-67 和 p53 表达增强, 且其表达强度与乳腺癌的不良预后密切相关。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(5):629-633]

关键词

乳腺肿瘤; 胸苷激酶 1; Ki-67 抗原; 肿瘤抑制蛋白质 p53; 预后

中图分类号: R737.9

Expressions of TK1, Ki-67 and p53 in breast cancer and their relations with prognosis

BAI Jianping, ZHANG Ting, QIN Dawei

(Department of General Surgery, NO.254 Hospital of People's Liberation Army, Tianjin 300142, China)

Corresponding author: BAI Jianping, Email: med13@sina.com

ABSTRACT

Objective: To observe the expression of TK1, Ki-67 and p53 in breast cancer (BC) and their prognosis.

Methods: Sixty patients with breast cancer admitted from March 2009 to May 2013 underwent radical mastectomy and their histological specimens were obtained. The expressions of TK1, Ki-67 and p53 in these breast cancer tissues and their adjacent tissues were examined by immunohistochemical staining, and in combination with the follow-up data, the relations of TK1, Ki-67 and p53 expression with the prognosis of the patients were analyzed.

Results: The positive expression rates of TK1, Ki-67 and p53 in breast cancer tissues were all significantly higher than those in their adjacent tissues (all $P < 0.05$). The expression intensities of TK1, Ki-67 and p53 markedly affected the 5-year survival rate of the patients, which all indicated that the higher the expression intensity, the lower the survival

收稿日期: 2014-02-13; 修订日期: 2014-03-26。

作者简介: 白建平, 中国人民解放军第二五四医院主治医师, 主要从事乳腺方面的研究。

通信作者: 白建平, Email: med13@sina.com

rate (all $P < 0.05$). The positive expression rates of TK1, Ki-67 and p53 in patients with recurrence or metastasis within 5 years were significantly higher than those in patients without recurrence or metastasis.

Conclusion: The expressions of TK1, Ki-67 and p53 are enhanced in breast cancer tissue, and their expression intensities are closely associated with unfavorable prognosis of the patients.

[Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(5):629-633]

KEYWORDS Breast Neoplasms; Thymidine Kinase 1; Ki-67; Tumor Suppressor Protein p53; Prognosis

CLC number: R737.9

近年来, 乳腺癌是女性发病率最高的恶性肿瘤, 早发现早治疗是重要的方式^[1-2]。研究^[3]表明, 分子生物学是早期诊断和治疗的重要依据, 乳腺癌的发生、发展是由多基因多阶段与环境因素共同作用的结果。研究^[4-5]证实 TK1 是一种灵敏有效的评估乳腺癌细胞增殖的标记物。Ki-67 是一种仅在增殖细胞中表达的蛋白, 重要的细胞增殖活性检测指标^[6-7]。p53 野生型是抑癌基因, 研究^[8]显示人类乳腺癌的发生、发展都与其突变有关。本文检测乳腺癌细胞中 TK1、Ki-67 和 p53 的表达, 并分析其与患者预后的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

选取 2009 年 3 月—2013 年 5 月本医院收治的 60 例乳腺癌患者, 术前均未接受过放疗、化疗等抗癌治疗, 采用乳腺癌根治术后组织标本。患者均为女性; 年龄 40~66 岁, 平均 (53.40 ± 12.60) 岁。在 5 年内出现复发或转移的乳腺癌患者 34 例, 无复发或转移的乳腺癌患者 26 例。选用肿瘤组织及远离肿瘤边缘 > 2 cm 的癌旁组织, 样本分别在 4% 福尔马林溶液中固定, 用酒精梯度脱水, 然后用组织石蜡处理, 常规石蜡切片, 进行免疫组织化学方法检测。

1.2 主要试剂

TK1 即用型鼠抗人 TK1-IgG、封闭驴血清、生物素化抗 TK1 多克隆抗体二抗, 购买于凯基生物制品技术有限公司; 即用型 SABC 试剂盒, 购买由武汉博士德生物工程有限公司; 鼠抗人 Ki-67 单克隆抗体购买于凯基生物制品技术有限公司; 鼠抗人 p53 单克隆抗体购买于凯基生物制品技术有限公司; 兔抗人 VEGF 单克隆抗体购买于凯基生物制品技术有限公司; 即用型免疫组织化学 SABC 试

剂盒购买于凯基生物制品技术有限公司。

1.3 方法

采用 SP 免疫组化法染色, 所有试剂及 SP 试剂见 1.2, 柠檬酸缓冲液高温高压修复, DAB 显色, 苏木精复染, 以已知 TK1、Ki-67 和 p53 阳性切片作阳性对照, 以 PBS 液代替 - 抗作阴性对照。

1.4 结果判断

运用双盲法观测结果, 判断结果均采用半定量的方法, 若结果不一致出现矛盾时, 则由另一位研究者最后结果认定。TK1 阳性表达呈棕黄色至棕褐色, 主要位于细胞质中, 部分细胞核有表达, 细胞膜无表达; Ki-67 和 P53 阳性呈棕黄色、棕褐色颗粒, 染色均位于癌细胞核中。每张切片先低倍镜观察全片, 然后在高倍镜下观察同一标本切片的癌组织阳性染色区, 以 100 个细胞中阳性反应细胞所占的比例计算染色强度指数: $< 10\%$ 为阴性 (-); $10\% \sim 25\%$ 为弱阳性 (+); $26\% \sim 50\%$ 为阳性 (++) ; $> 50\%$ 为强阳性 (+++) 。

1.5 随访

从手术后第 1 天开始随访, 当患者确诊复发、转移截止, 如果患者在 5 年内未存现复发、转移或死亡时, 患者以最后 1 次随访日截止。

1.6 统计学处理

采用统计软件 SPSS 17.0 进行统计学处理。观测资料中的率和构成比数据, 组间比较为 χ^2 检验; 生存分析资料则进行 Log-rank 检验; 显著性水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 TK1、Ki-67 和 p53 在乳腺癌和癌旁组织中的表达

结果显示: 在乳腺癌组织中, TK1 阳性 47 例 (78.33%), Ki-67 阳性 39 例 (65.00%), p53 阳

性 41 例 (68.33%) ; 在癌旁组织中, TK1 阳性 2 例 (3.33%) , Ki-67 阳性 5 例 (8.83%) , p53 阳性 6 例 (10.00%) 。乳腺癌组织中 TK1、Ki-67、p53 阳性率均明显高于癌旁组织, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (表 1)。

表 1 TK1、Ki-67 和 p53 在乳腺癌与癌旁组织中的表达 [n (%)]

Table 1 Expressions of TK1, Ki-67 and p53 in breast cancer and adjacent tissues [n (%)]

组织	TK1 阳性	Ki-67 阳性	p53 阳性
乳腺癌组织	47 (78.33)	39 (65.00)	41 (68.33)
癌旁组织	2 (3.33)	5 (8.83)	6 (10.00)
χ^2	5.93	5.59	5.79
P	0.000	0.000	0.000

2.2 TK1、Ki-67 和 p53 表达对乳腺癌患者无病生存率的影响

本研究过程达 5 年以上, 对其中 57 例乳腺癌患者进行了成功跟踪随访。其生存资料分别按 TK1、Ki-67 和 p53 表达强度分为: (-) 组、(+ /++) 组、

(+++) 组, 分析 TK1、Ki-67 和 p53 表达对乳腺癌患者无病生存率。

TK1(-) 组、(+ /++) 组、(+++) 组 分别含 22、24、11 例患者, 其 5 年生存率分别为 (0.78 ± 0.17)% (95% CI=0.71~0.85), (0.43 ± 0.20)% (95% CI=0.35~0.41), (0.31 ± 0.13)% (95% CI=0.23~0.39); Ki-67(-) 组、(+ /++) 组、(+++) 组 分别含 15、16、26 例患者, 其 5 年生存率分别为 (0.58 ± 0.18) % (95% CI=0.49~0.67), (0.23 ± 0.13)%(95% CI=0.17~0.29), (0.39 ± 0.16)% (95% CI=0.33~0.45); p53 (-) 组、(+ /++) 组、(+++) 组分别含 19、21、17 例患者, 其 5 年生存率分别为 (0.59 ± 0.22)% (95% CI=0.49~0.60), (0.51 ± 0.19)% (95% CI=0.43~0.59), (0.40 ± 0.14)% (95% CI=0.33~0.47)。Log-rank 检验结果显示, 各 (-) 组患者的无病生存率均明显高于其 (+ /++) 组或 (+++) 组, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (图 1)。

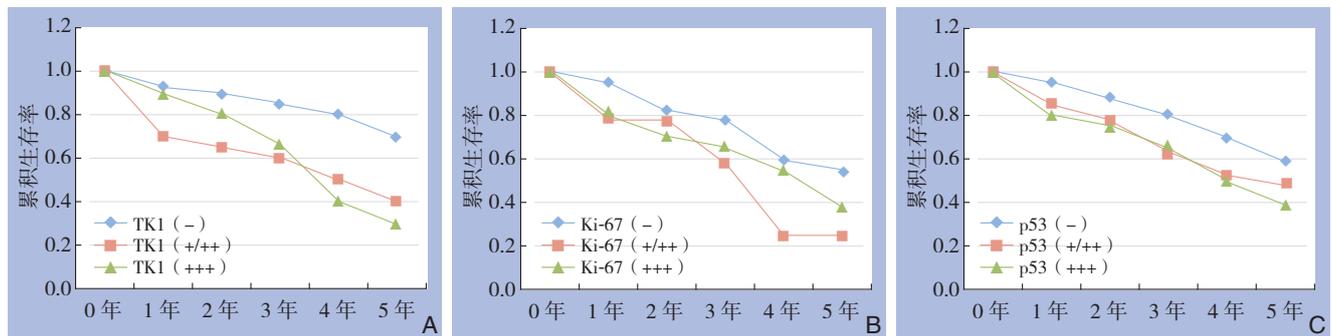


图 1 不同 TK1、Ki-67 和 p53 表达状态乳腺癌患者 5 年无病生存率比较 A: 不同 TK1 表达强度患者生存曲线; B: 不同 Ki-67 表达强度患者生存曲线; C: 不同 p53 表达强度患者生存曲线

Figure 1 Comparison of 5-year disease-free survival rate among patients with different TK1, Ki-67 and p53 expression statuses

A: Survival curves of patients with different TK1 expression intensities; B: Survival curves of patients with different Ki-67 expression intensities; C: Survival curves of patients with different p53 expression intensities

2.3 TK1、Ki-67 和 p53 表达与乳腺癌复发转移的关系

将 5 年内出现复发或转移的乳腺癌患者 34 例与无复发或转移的乳腺癌患者 26 例患者分组比较,

结果显示: 复发或转移组 TK1、Ki-67 和 p53 表达的阳性率均明显高于无复发或转移组, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (表 2)。

表 2 TK1、Ki-67 和 p53 表达与乳腺癌复发转移的关系 [n (%)]

Table 2 Relations of expression of TK1, Ki-67 and p53 with recurrence and metastasis of breast cancer [n (%)]

组别	n	TK1		Ki-67		p53	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
复发或转移组	34	31 (91.18)	3 (8.82)	27 (79.41)	7 (20.59)	28 (82.35)	6 (17.65)
无复发或转移组	26	16 (61.54)	10 (38.46)	12 (46.15)	14 (53.85)	13 (50.00)	13 (50.00)
χ^2		2.57		2.60		2.58	
P		0.011		0.009		0.012	

3 讨 论

在国内外,乳腺癌发病率始终处于不断上升的状态,在中国一线城市中,乳腺癌是发病率最高的女性恶性肿瘤。随着研究的进展,人类认识到乳腺癌的发生、发展是由多基因多阶段与环境因素共同作用的结果。胸苷激酶(thymidine kinase, TK)在使用 ATP 的前提下,催化脱氧胸腺嘧啶形成单磷酸胸腺嘧啶,是一种限速 DNA 补救合成途径的功能酶^[9]。TK1 是 TK 一种亚型,重要表达在细胞浆内,其底物只有脱氧尿嘧啶和脱氧胸腺嘧啶。乳腺癌患者血清中 TK1 的表达浓度明显高于正常人,可以预测早期发现肿瘤的复发转移^[10-11]。乳腺癌组织中 TK1 的表达及其对疾病预后影响的研究较少,本研究结果显示,在乳腺癌组织中 TK1 的表达阳性率为 78.33%,而癌旁组织中表达水平仅为 3.33%,可见 TK1 在乳腺癌组织中也呈现高表达水平;本研究对 57 例乳腺癌研究对象的生存资料按 TK1 表达强度分为:(-)组、(+/++)组、(+++)组共 3 组,通过 5 年以上随访,发现 3 组的 5 年生存率分别为(0.78±0.17)%,(0.43±0.20)%,(0.31±0.13)%,Log-rank 检验结果显示,(-)组患者的无病生存率均明显高于其(+/++)组或(+++)组。将 5 年内出现复发或转移的乳腺癌患者 34 例与无复发或转移的乳腺癌患者 26 例患者分组比较,结果显示:复发或转移组 TK1 表达的阳性率均明显高于无复发或转移组。以上结果提示 TK1 与乳腺癌复发转移存在密切有关,可以用于预测并早期发现乳腺癌是否复发转移。

目前, Ki-67 抗原是乳腺癌热门检测指标,其功能被认为与染色质和细胞的有丝分裂相关,仅在增殖细胞核中表达,在 G₀ 期无表达,其开始于 G₁ 后期,在 S、G₂ 期升高, M 期达顶峰,半衰期大约为 1 h^[12-13]。研究^[14]发现, Ki-67 的表达与乳腺癌的生长和乳腺癌淋巴结转移存在相关性,近期研究^[15-16]显示, Ki-67 和 p53 在乳腺癌组织中表达量显著高于癌旁组织。通过检测 Ki-67 抗原是乳腺癌重要的增殖指标^[17]。

p53 基因是突变率最高的抑癌基因,在正常细胞中表达量极低,可调节大量靶基因的表达,但是当细胞受到癌变因素影响的时候,其表达量快速增

加,从而影响细胞周期阻滞、凋亡、分化、静息、DNA 损伤、血管生成和转移的抑制^[18]。p53 的突变型,丧失对细胞生长、凋亡、DNA 修复等的调控作用,由抑癌基因转变为癌基因^[19]。p53 阳性表达提示乳腺癌患者存在有复发和预后不良的可能,检测 p53 基因的突变有利于判断乳腺癌复发和预后的效果。

本研究结果显示,在乳腺癌组织中 Ki-67 和 p53 的表达阳性率分别为 65.00% 和 68.33%,均显著高于癌旁组织中表达水平;对 57 例乳腺癌研究对象的生存资料分别按 Ki-67 和 p53 表达强度分为:(-)、(+/++)、(+++)3 组,通过 5 年以上随访,发现 Ki-67 的 3 组间 5 年生存率分别为(0.58±0.18)%,(0.23±0.13)%,(0.39±0.16)%; p53 的 3 组分别为(0.59±0.22)%,(0.51±0.19)%,(0.40±0.14)%。Log-rank 检验结果显示,各(-)组患者的无病生存率均明显高于其(+/++)组或(+++)组。另一方面,将 5 年内出现复发或转移的乳腺癌患者与无复发或转移的乳腺癌患者分组比较,发现复发或转移组 Ki-67 和 p53 表达的阳性率均明显高于无复发或转移组。以上结果同样提示 Ki-67 和 p53 表达均与乳腺癌复发转移存在密切有关,通过检测 Ki-67 和 p53 是否表达阳性对乳腺癌复发和预后具有一定的指导作用。

综上所述,乳腺癌患者的乳腺癌组织中 TK1、Ki-67 和 p53 均呈高表达水平,通过对不同表达水平的 TK1、Ki-67 和 p53 进行分组并随访发现,表达强度越高,其 5 年生存率越低,表达强度低的患者 5 年内出现乳腺癌复发或转移的几率明显低于高表达患者。可见 TK1、Ki-67 和 p53 在乳腺癌组织中表达水平与乳腺癌复发转移及不良预后均存在密切关系,在一定程度上可以作为对乳腺癌复发转移甚至预后的判断指标。

参考文献

- [1] Santa-Maria CA, Stearns V. Statins and breast cancer: future directions in chemoprevention[J]. *Curr Breast Cancer Rep*, 2013, 5(3):161-169.
- [2] 濮之晨,汪五三,徐喆,等. 基因多态性对他莫昔芬治疗乳腺癌的影响与个体化用药进展[J]. *安徽医药*, 2013, 17(7):1083-1086.
- [3] 易石坚,钟德珩. 乳腺癌保乳手术治疗研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 14(4):291-293.
- [4] Carlsson L, Larsson A, Lindman H. Elevated levels of thymidine

- kinase 1 peptide in serum from patients with breast cancer[J]. Ups J Med Sci, 2009, 114(2):116-120.
- [5] 陈秀娇,陈建阳,陈智伟,等. TK1在乳腺癌中的表达及与Ki67表达的关系[J]. 中国医师进修杂志, 2010, 33(8):5-7.
- [6] 刘广舒,高云,郭鹏,等. C-erbB-2、Ki67、nm23基因表达与乳腺癌腋窝淋巴结转移的相关性分析[J]. 实用预防医学, 2013, 20(3):340-342.
- [7] 王红梅,魏尚典,陈新文,等. Ki-67在乳腺癌中的表达及临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2012, 21(5):616-618.
- [8] 高树建,路丹,徐玉清,等. P-gp与CIAPIN1、突变型p53在乳腺癌中的表达及意义[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2012, 46(2):140-143.
- [9] 杨雅洁,温文,关弘,等. 乳腺癌中胸苷激酶1的表达及其临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28(5):562-564.
- [10] He Q, Fornander T, Johansson H, et al. Thymidine kinase 1 in serum predicts increased risk of distant or loco-regional recurrence following surgery in patients with early breast cancer[J]. Anticancer Res, 2006, 26(6C):4753-4759.
- [11] 李斌,曹剑霞,成红霞,等. 血清TK1含量在乳腺癌患者中的变化及临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2012, 25(5):587-588.
- [12] 李延辉. 乳腺增生性病变组织中ER、PR、c-erbB-2、p16和Ki-67的表达及意义[J]. 实用预防医学, 2009, 16(5):1509-1511.
- [13] 阮永威,田兴松,侯连泽. 乳腺癌p16,p53基因蛋白和mRNA的表达及其意义[J]. 中国普通外科杂志, 2008, 17(5):497-501.
- [14] 钦传辉,黄平,莫军扬,等. Ki-67在乳腺癌新辅助化疗中的表达及与病理学相关性研究[J]. 重庆医学, 2010, 39(5):545-546.
- [15] 阮永威,金星,马宏岩. 乳腺癌P53, ki-67和bcl-2的表达与新辅助化疗的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2006, 15(4):247-249.
- [16] 贾实,张文海,李建一,等. 乳腺癌Ki-67和p53表达分析及其意义[J]. 中国医科大学学报, 2010, 39(12):1061-1063.
- [17] 陈湘,许淑媛,梁青春,等. p27KIP1和Ki-67在乳腺癌中的表达及意义[J]. 实用预防医学, 2009, 16(2):478-479.
- [18] 张勤,刘红. P53在三阴性乳腺癌中的表达及临床意义[J]. 中国肿瘤临床, 2011, 38(4):214-217.
- [19] 王永霞,卢义生,张爱玲,等. 乳腺癌中MDR1/P-gp与CerbB-2、p53表达的关系及临床意义[J]. 实用预防医学, 2007, 14(6):1702-1704.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式:白建平,张霆,秦大伟.TK1、Ki67、p53在乳腺癌组织中的表达与及其预后的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(5):629-633. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.05.013
 Cite this article as: BAI JP, ZHANG T, QIN DW. Expressions of TK1, Ki-67 and p53 in breast cancer and their relations with prognosis[J]. Chin J Gen Surg, 2014, 23(5):629-633. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.05.013

本刊 2014 年各期重点内容安排

本刊 2014 年各期重点内容安排如下, 欢迎赐稿。

- | | |
|-----------------------|-------------------------|
| 第 1 期 肝肿瘤切除及肝脏移植技术 | 第 7 期 肝脏外科基础与临床 |
| 第 2 期 胆道疾病及胆道外科 | 第 8 期 胆道肿瘤及内镜技术 |
| 第 3 期 急性胰腺炎基础与临床及胰腺外科 | 第 9 期 胰腺肿瘤及胰腺外科 |
| 第 4 期 消化道肿瘤及胃肠外科 | 第 10 期 胃肠道肿瘤及其转移癌的外科治疗 |
| 第 5 期 乳腺、甲状腺疾病及内分泌外科 | 第 11 期 乳腺肿瘤整复外科技术及内分泌外科 |
| 第 6 期 血管外科腔内与杂交治疗 | 第 12 期 血管外科动静脉疾病及其他 |

中国普通外科杂志编辑部