

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.16.007
文章编号: 1005-8982(2020)16-0039-06

PD-L1、Ki67 与非小细胞肺癌患者 临床病理特征及预后的关系

何海栋, 柴秀娟, 徐卫华, 周颖, 许先荣

(浙江省立同德医院 呼吸内科, 浙江 杭州 310012)

摘要: 目的 探讨 PD-L1 和细胞核相关抗原 Ki67 与非小细胞肺癌 (NSCLC) 患者临床病理特征及预后的关系。**方法** 选取 2017 年 11 月—2018 年 11 月浙江省立同德医院收治的 90 例 NSCLC 患者。HE 染色观察肺组织病变, 免疫组织化学法检测肺癌组织中 PD-L1、Ki67 的表达。采用单因素分析和多因素 Logistic 回归分析 NSCLC 患者 PD-L1、Ki67 表达与临床病理特征的关系, 生存曲线分析 NSCLC 患者 PD-L1、Ki67 表达与预后的关系。**结果** PD-L1 阳性患者 62 例 (68.89%), 阴性患者 28 例 (31.11%)。Ki67 阳性患者 58 例 (64.44%), 阴性患者 32 例 (35.56%)。鳞癌、低分化、淋巴结转移患者 PD-L1 阳性率较高 ($P < 0.05$)。女性、鳞癌、低分化患者 Ki67 阳性率较高 ($P < 0.05$)。Logistic 回归分析显示, 病理分型、肿瘤分化程度、淋巴结转移是 PD-L1 高表达的影响因素 ($P < 0.05$); 性别、病理分型、肿瘤分化程度是 Ki67 高表达的影响因素 ($P < 0.05$)。PD-L1 阳性患者 2 年生存率 (48.39%) 低于 PD-L1 阴性患者 (78.57%) ($P < 0.05$), PD-L1 阳性患者的中位生存时间为 42 周, 低于 PD-L1 阴性患者的 65 周 ($P < 0.05$)。Ki67 阳性患者 2 年生存率 (48.27%) 低于 Ki67 阴性患者 (75.00%) ($P < 0.05$), Ki67 阳性患者的中位生存时间为 41 周, 低于 Ki67 阴性患者的 66 周 ($P < 0.05$)。**结论** NSCLC 患者肺癌组织中存在 PD-L1 和 Ki67 高表达。NSCLC 患者的病理分型、肿瘤分化程度、淋巴结转移与 PD-L1 高表达有关; NSCLC 患者的性别、病理分型、肿瘤分化程度与 Ki67 高表达有关。PD-L1、Ki67 阳性患者预后较差。

关键词: 癌, 非小细胞肺; PD-L1/ 配体; Ki67/ 抗原; 病理学; 预后

中图分类号: R734.2

文献标识码: A

Relationship between PD-L1 and Ki67 and Clinicopathological Features and Prognosis in patients with Non-small Cell Lung Cancer

Hai-dong He, Xiu-juan Chai, Wei-hua Xu, Ying Zhou, Xian-rong Xu

(Department of Respiratory medicine, Tongde Hospital, Hangzhou, Zhejiang 310012, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between programmed cell death ligand 1 (PD-L1) and nuclear antigen Ki67 (Ki67) and clinicopathological features and prognosis of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** The clinical data of 90 NSCLC patients admitted to Tongde Hospital of Zhejiang Province from November 2017 to November 2018 were analyzed. HE staining was carried out to observe the pulmonary pathological changes, and the expression of PD-L1 and Ki67 in the pathological tissues of patients was detected by immunohistochemistry. Univariate analysis and multivariate logistic regression model were used to analyze the relationship between PD-L1, Ki67 expression and clinicopathological characteristics in NSCLC patients, while survival curve was applied to evaluate the association between PD-L1 and Ki67 expression and prognosis in

收稿日期: 2020-03-16

[通信作者] 许先荣, E-mail: 1552732543@qq.com; Tel: 13575712252

patients with NSCLC. **Results** Among 90 NSCLC patients, there were 62 (68.89%) patients with PD-L1 positive expression and 28 (31.11%) with negative expression, whereas 58 (64.44%) patients were with positive expression and 32 (35.56%) with negative expression of Ki67. PD-L1 expression was higher in patients with squamous cell carcinoma, poorly differentiated tumor, and lymph node metastasis ($P < 0.05$). The expression of Ki67 was higher in females, patients with squamous cell carcinoma, and those with poorly differentiated tumors ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that the patient's pathological classification, degree of tumor differentiation, and lymph node metastasis were the influencing factors of high PD-L1 expression ($P < 0.05$). However, the patient's gender, pathological classification, degree of tumor differentiation were contributory factors of high expression of Ki67 ($P < 0.05$). The 2-year survival rate of patients in the PD-L1 positive expression group (48.39%) was lower than that of the PD-L1 negative expression group (78.57%) ($P < 0.05$). To be specific, the corresponding median survival time of patients with positive and negative expression of PD-L1 was 42 and 65 weeks ($P < 0.05$). The survival rate of patients in the Ki67 positive expression group (48.27%) was as well lower than that in the Ki67 negative expression group (75.00%) ($P < 0.05$), and the median survival time for the two groups was 41 and 66 weeks respectively ($P < 0.05$). **Conclusions** In NSCLC patients, there was high expression of PD-L1 and Ki67 in pathological tissues. The pathological classification, tumor differentiation, and lymph node metastasis were related to PD-L1 high expression, while the gender, pathological classification, and tumor differentiation were related to Ki67 high expression. Furthermore, the prognosis of patients with negative PD-L1 and Ki67 expression was better than that of patients with positive expression.

Keywords: non-small cell lung cancer; programmed cell death ligand 1; Ki67; pathological features; prognosis

2019 年浙江省癌症中心发布《2015 年浙江省肿瘤登记地区恶性肿瘤发病与死亡分析》^[1], 结果显示肺癌的发病率和致死率均居榜首, 是浙江省肿瘤防治的重中之重。非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 占有原发性肺癌的 80% ~ 85%, 发病患者多为老年人, 确诊时大多已处于中晚期, 且肿瘤的转移率、复发率高^[2-3]。免疫检查点靶向治疗 NSCLC 是当前的研究热点, 疗效显著, 能延长患者生存期^[4-6]。PD-L1 是 PD-1 最主要的配体之一, 主要表达于免疫淋巴细胞、恶性肿瘤细胞、巨噬细胞等^[7-8]。细胞核相关抗原 Ki67 是一种与细胞增殖相关的蛋白, 除 G₀ 期外, 在整个细胞周期中均有表达, 可用于反映肿瘤细胞所处周期和增殖状态, 与肿瘤的增殖、转移及预后关系密切^[9]。当前, NSCLC 的靶向治疗通常以 PD-L1、Ki67、CTLA-4 等靶点为主^[10-12]。本研究通过检测浙江省立同德医院收治的 90 例 NSCLC 患者病理组织标本中 PD-L1 和 Ki67 的表达, 探讨 PD-L1、Ki67 与 NSCLC 患者临床病理特征及预后的关系, 为临床治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 11 月—2018 年 11 月浙江省立同德医院收治的 90 例 NSCLC 患者。收集其临床资料, 包

括年龄、性别、病理分型、肿瘤直径、肿瘤分化程度、淋巴结转移、临床分期等。其中, 男性 54 例, 女性 36 例; 年龄 26 ~ 83 岁, 平均 (60.67 ± 10.87) 岁; 临床分期: I 期 15 例, II 期 19 例, III 期 32 例, IV 期 24 例。纳入标准: 符合《中国原发性肺癌诊疗规范 (2015 年版)》^[13] NSCLC 的诊断标准。排除标准: 术前接受过放疗; 有免疫系统疾病; 正在接受免疫相关治疗的患者; 临床资料、个人信息不全者。本研究经医院伦理委员会批准, 患者或家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 HE 染色 HE 染色观察肺组织病变。所有手术切除标本经 10% 甲醛固定、石蜡包埋、连续切片 (厚约 4 μm)、脱蜡水化。苏木精染色 8 min, 自来水冲洗至返蓝后盐酸酒精分化, 伊红染色 1 min、放入 TO 型生物制片透明剂中 10 min, 中性树脂封片, 光镜下观察。

1.2.2 免疫组织化学法 免疫组织化学 SP 法检测肺癌组织中 PD-L1 和 Ki67 的表达。相关操作均严格按照试剂盒说明书进行, 切片 3% H₂O₂ 修复后加入一抗兔抗人 PD-L1 和鼠抗人 Ki67, 37℃ 孵育 30 min。PBS 冲洗 3 次, 加入二抗, 37℃ 孵育 30 min, DAB 显色。设已知阳性片和阴性对照, HE 染色作组织学对照。单克隆抗体购自德国默克公司。免疫组织化学染色试剂盒、

DAB 显色剂购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司。

1.2.3 结果判定 由 ≥ 2 位病理医师进行结果判定。阳性细胞数 $\geq 5\%$ 为 PD-L1 或 Ki67 阳性, 无染色或阳性细胞数 $<5\%$ 为 PD-L1 或 Ki67 阴性。阳性细胞 $\leq 25\%$ 为低表达, 阳性细胞数 $>25\%$ 为高表达。

1.2.4 随访 随访时间截至 2019 年 11 月 30 日。通过电话、信函和查阅医院病案记录等方式随访。所有患者具有完整随访资料。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件, 计数资料以率 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验; 影响因素的分析采用多因素 Logistic 回归模型; Kaplan-Meier 法绘制

生存曲线, 比较采用 Log-rank χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 患者肺组织中 PD-L1、Ki67 的表达

HE 染色结果显示, NSCLC 患者肺组织中细胞较小, 细胞核深染, 细胞核质比增加, 细胞呈弥散状排列 (图 1A)。免疫组织化学染色结果显示, PD-L1 主要表达于细胞膜 (图 1B), Ki67 主要表达于细胞核 (图 1C)。90 例 NSCLC 患者中, PD-L1 阳性 62 例 (68.89%), 阴性 28 例 (31.11%); Ki67 阳性 58 例 (64.44%), 阴性 32 例 (35.56%)。

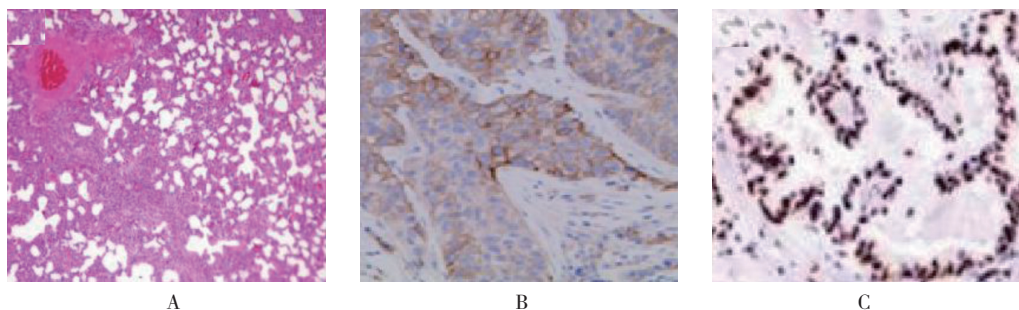


图 1 NSCLC 患者肺组织 HE 和免疫组织化学染色

2.2 PD-L1、Ki67 与 NSCLC 患者临床病理特征的关系

不同病理分型、肿瘤分化程度、淋巴结转移患者的 PD-L1 阳性率比较, 经 χ^2 检验, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。鳞癌、低分化、淋巴结转移患者 PD-L1 阳性率较高。不同性别、病理分型、肿瘤分化程度患者的 Ki67 阳性率比较, 经 χ^2 检验, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。女性、鳞癌、低分化患者 Ki67 阳性率较高。见表 1。

2.3 NSCLC 患者 PD-L1、Ki67 高表达的影响因素

分析 PD-L1 高表达的影响因素时, 以 PD-L1 为因变量, 病理分型、肿瘤分化程度、淋巴结转移为自变量, 进行多因素 Logistic 回归分析; 分析 Ki67 高表达的影响因素时, 以 Ki67 为因变量, 性别、病理分型、肿瘤分化程度为自变量, 进行多因素 Logistic 回归分析。鳞癌、腺癌及其他病理分型分别赋值为 0、1、2; 低、中、高分化分别赋值为 0、1、2; 有无淋巴结转移分别赋值为 0 和 1; 男性和女性分别赋值为 0 和 1。结

果显示, 病理分型 [$\hat{OR}=2.716$ (95% CI: 1.695, 3.375)], 肿瘤分化程度 [$\hat{OR}=3.655$ (95% CI: 1.737, 8.096)], 淋巴结转移 [$\hat{OR}=3.054$ (95% CI: 1.542, 4.116)] 是 PD-L1 高表达的影响因素; 性别 [$\hat{OR}=2.857$ (95% CI: 1.609, 4.641)], 病理分型 [$\hat{OR}=6.171$ (95% CI: 1.613, 9.675)], 肿瘤分化程度 [$\hat{OR}=2.282$ (95% CI: 1.704, 2.957)] 是 Ki67 高表达的影响因素。见表 2。

2.4 PD-L1、Ki67 与 NSCLC 患者预后的关系

90 例 NSCLC 患者中, 失访 6 例, 死亡 38 例。PD-L1 阳性患者 2 年生存率 (48.39%) 低于 PD-L1 阴性患者 (78.57%) ($\chi^2=7.204$, $P=0.007$)。其中 PD-L1 阳性患者的中位生存时间为 42 周, PD-L1 阴性患者为 65 周, 经 Log-rank χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=5.672$, $P=0.011$)。Ki67 阳性患者 2 年生存率 (48.27%) 低于 Ki67 阴性患者 (75.00%) ($\chi^2=6.037$, $P=0.014$)。其中 Ki67 阳性患者的中位生存时间为 41 周, Ki67 阴性患者为 66 周, 经 Log-rank χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=8.504$, $P=0.008$)。见图 2、3。

表 1 不同临床病理特征患者的 PD-L1、Ki67 阳性率比较 例 (%)

临床病理特征	<i>n</i>	PD-L1 阳性	χ^2 值	<i>P</i> 值	Ki67 阳性	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄							
<60 岁	42	30 (71.43)	0.237	0.626	28 (66.67)	0.170	0.680
≥ 60 岁	48	32 (66.67)			30 (62.50)		
性别							
男	54	37 (68.52)	0.009	0.926	28 (51.85)	4.870	0.027
女	36	25 (69.44)			30 (83.33)		
病理分型							
鳞癌	52	40 (76.92)	5.125	0.021	43 (82.69)	9.542	0.008
腺癌	25	14 (56.00)			8 (32.00)		
其他	13	8 (61.54)			7 (53.85)		
肿瘤直径							
<3 cm	42	32 (76.19)	1.960	0.162	24 (57.14)	1.832	0.176
≥ 3 cm	48	30 (62.50)			34 (70.83)		
肿瘤分化程度							
低分化	25	19 (76.00)	8.367	0.012	20 (80.00)	7.721	0.019
中分化	42	27 (64.29)			30 (71.43)		
高分化	23	16 (69.57)			8 (34.78)		
淋巴结转移							
是	58	45 (77.59)	5.757	0.016	39 (67.24)	0.557	0.456
否	32	17 (54.12)			19 (59.38)		
临床分期							
I 期	15	10 (66.67)	1.668	0.644	7 (46.67)	3.419	0.331
II 期	19	12 (63.16)			13 (68.42)		
III 期	32	21 (65.62)			20 (62.50)		
IV 期	24	19 (79.17)			18 (75.00)		

表 2 NSCLC 患者 PD-L1、Ki67 高表达的多因素 Logistic 回归分析参数

变量	<i>b</i>	<i>S_b</i>	Wald χ^2	<i>P</i> 值	\hat{OR}	95% CI	
						下限	上限
PD-L1							
病理分型	0.999	0.481	4.310	0.038	2.716	1.695	3.375
肿瘤分化程度	1.296	0.453	8.204	0.004	3.655	1.737	8.096
淋巴结转移	1.117	0.474	5.550	0.018	3.054	1.542	4.116
Ki67							
性别	1.050	0.456	5.310	0.021	2.857	1.609	4.641
病理分型	1.820	0.498	13.365	0.000	6.171	1.613	9.675
肿瘤分化程度	0.825	0.416	3.940	0.047	2.282	1.704	2.957

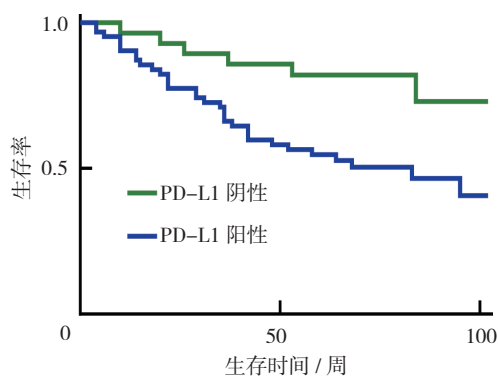


图 2 PD-L1 阳性与阴性患者的生存曲线

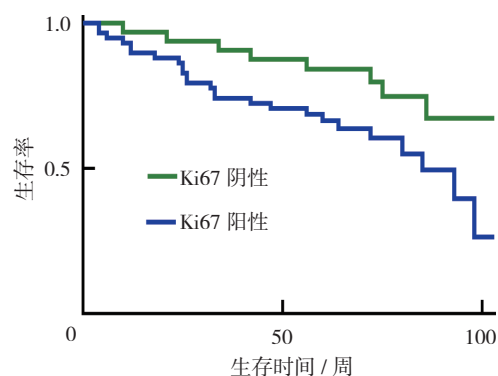


图 3 Ki67 阳性与阴性患者的生存曲线

3 讨论

NSCLC 是原发性肺癌的主要类型, 约 75% 患者在发病时已处于中晚期, 大多已错过最佳手术时机^[14]。不同人种、地区、民族之间存在基因的差异性表达。如东亚人和西方人在某些基因的表达上存在差异^[15]。PD-L1 是一种跨膜糖蛋白, 在病理状态下通过与其受体 PD-1 结合, 抑制免疫 T 淋巴细胞的活化和增殖, 参与肿瘤免疫逃逸, 促进恶性肿瘤的发生、发展^[16]。Ki67 是一种细胞增殖标志物, 属于非组蛋白, 对蛋白酶敏感性极高, 其水平变化会引起信号转导异常, 从而参与肿瘤发生、发展过程^[17]。

本研究纳入的 NSCLC 患者肺癌组织中细胞较小, 细胞核深染, 细胞核质比增加, 细胞呈弥散状排列。PD-L1 主要表达于细胞膜, 阳性表达率为 68.89%。Ki67 主要表达于细胞核, 阳性表达率为 64.44%。与其他研究结果大致相似^[18-19]。以上结果表明, NSCLC 患者肺癌组织中存在 PD-L1 和 Ki67 高表达。

本研究结果显示, NSCLC 患者的病理分型、肿瘤分化程度、淋巴结转移是 PD-L1 高表达的影响因素。鳞癌患者 PD-L1 阳性率高于腺癌和其他分型患者, 与吴鸿念等^[20]的研究结果一致。低分化患者 PD-L1 阳

性率高于高、中分化患者; 淋巴结转移患者 PD-L1 阳性率高于无淋巴结转移患者, 这可能与 PD-L1 抑制 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞的活化和增殖有关^[21]。此外, NSCLC 患者的性别、病理分型、肿瘤分化程度是 Ki67 高表达的影响因素。男性患者 Ki67 阳性率高于女性; 低分化患者 Ki67 阳性率高于高、中分化患者, 说明 Ki67 可能与雌激素的分泌、细胞增殖活跃程度有关^[22]。鳞癌患者 Ki67 阳性率高于腺癌和其他分型患者, 与单彬彬等^[23]的研究结果一致。

本研究结果显示, PD-L1 阳性患者 2 年生存率 (48.39%) 低于 PD-L1 阴性患者, PD-L1 阳性患者的中位生存时间为 42 周, 低于 PD-L1 阴性患者的 65 周, 说明 PD-L1 的表达与患者预后有关。Ki67 阳性患者 2 年生存率 (48.27%) 低于 Ki67 阴性患者, Ki67 阳性患者的中位生存时间为 41 周, 低于 Ki67 阴性患者的 66 周, 说明 Ki67 的表达与患者预后有关。PD-L1、Ki67 对 NSCLC 患者生存率和生存期的估计具有一定指导意义。

综上所述, NSCLC 患者肺癌组织中存在 PD-L1 和 Ki67 高表达。NSCLC 患者的病理分型、肿瘤分化程度、淋巴结转移与 PD-L1 高表达有关; NSCLC 患者的性别、病理分型、肿瘤分化程度与 Ki67 高表达有关。PD-L1、Ki67 阳性患者预后较差。

参 考 文 献:

- [1] 王悠清, 李辉章, 龚巍巍, 等. 2015 年浙江省肿瘤登记地区恶性肿瘤发病与死亡分析 [J]. 中国肿瘤, 2019, 28(1): 12-22.
- [2] 王川丽, 王俊峰. UCH37 与非小细胞肺癌患者预后的相关性研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(5): 35-39.
- [3] SONG H P, LIU S J, ZHAO Z Y, et al. Increased cycles of DC/CIK immunotherapy decreases frequency of Tregs in patients with resected NSCLC [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 52(5): 197-202.
- [4] 魏丹凤, 郭元彪, 王战豪, 等. 四川地区非小细胞肺癌患者 EGFR 基因突变分型与临床病理特征的相关性分析 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2018, 23(10): 915-919.
- [5] WEI M M, ZHOU G B. Long non-coding rnas and their roles in non-small-cell lung cancer [J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2016, 14(5): 280-288.
- [6] 赵磊, 林涛. K-ras 基因突变与吉非替尼治疗晚期非小细胞肺癌疗效的关系 [J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(3): 445.
- [7] OHAEGBULAM K C, ASSAL A, LAZAR-MOLNAR E, et al. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway [J]. Trends Mol Med, 2015, 21(1): 24-33.
- [8] 杨德松, 苏敏, 王文祥. PD-1/PD-L1 在非小细胞肺癌中的临床研究进展 [J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(14): 726-730.
- [9] GRANT L, BANERJI S, MURPHY L, et al. Androgen receptor

- and ki67 expression and survival outcomes in non-small cell lung cancer[J]. *Horm Cancer*, 2018, 9(4): 288-294.
- [10] 彭占仙, 杨宁. PD-1/PD-L1 抑制剂在非小细胞肺癌中的研究进展 [J]. *临床肺科杂志*, 2019, 24(6): 1147-1149.
- [11] 江美林, 彭文颖, 李佳, 等. 非小细胞肺癌免疫治疗生物标志物研究进展 [J]. *肿瘤防治研究*, 2018, 45(10): 805-810.
- [12] 张连美, 仲纪祥, 孙苏安. EGFR、ALK 和 Ki-67 在非小细胞肺癌中的表达及相关性分析 [J]. *临床肺科杂志*, 2017, 22(1): 4-7.
- [13] 支修益, 石远凯, 于金明. 中国原发性肺癌诊疗规范 (2015 年版)[J]. *中华肿瘤杂志*, 2015, 37(1): 67-78.
- [14] 李汉杰, 葛鹏, 景瑞军, 等. TGF- β 通过激活 smad2 信号通路上调 CXCR4 表达促进非小细胞肺癌 A549 细胞迁移和侵袭 [J]. *现代医学*, 2019, 47(5): 555-560.
- [15] 张淑娟, 常建华, 王磊, 等. 中国新疆维吾尔族人群中肺癌驱动基因的表达 [J]. *中国癌症杂志*, 2017, 27(1): 14-19.
- [16] 林喜娜, 李广秋, 何萍, 等. 非小细胞肺癌中 PD-L1 表达及其与肺癌相关驱动基因的关系 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2019, 35(7): 767-771.
- [17] MITCHELL K G, PARRA E R, NELSON D B, et al. Tumor cellular proliferation is associated with enhanced immune checkpoint expression in stage I non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2019, 158(3): 911-919.
- [18] 马宝镇, 高全立. 抗 PD-1 及 PD-L1 在非小细胞肺癌治疗中的进展 [J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33(6): 943-946.
- [19] 李科, 曹永清, 肖劲军, 等. TTF-1、NapsinA 和 Ki-67 在非小细胞肺癌中的表达及意义 [J]. *河北医药*, 2018, 40(5): 735-738.
- [20] 吴鸿念, 张琼, 刘加夫, 等. 非小细胞肺癌 58 例 PD-L1 和 CD8 的表达及临床意义 [J]. *福建医药杂志*, 2018, 40(1): 92-96.
- [21] 张浩, 任秀红, 刘莉. PD-L1 和 EGFR 在非小细胞肺癌组织中的表达及相关性分析 [J]. *疑难病杂志*, 2015, 14(8): 786-788.
- [22] 刘明东, 余宗阳, 赵忠全, 等. PD-L1、Ki67 预测非小细胞肺癌术后进展的研究 [J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(6): 885-889.
- [23] 单彬彬, 乔楠, 李媛, 等. 血小板与淋巴细胞比值、Ki67 对肺癌化疗患者相关指标的影响 [J]. *中国医师杂志*, 2018, 20(9): 1401-1403.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 何海栋, 柴秀娟, 徐卫华, 等. PD-L1、Ki67 与非小细胞肺癌患者临床病理特征及预后的关系 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(16): 39-44.