

· 论 著 ·

CD83、Ki-67 在大肠癌中的表达及预后意义*

黄良勤¹, 杨伟明^{2△}, 刘 宙², 赵洪远², 王超宇², 鄢江华², 梁 爽³

(遵义医学院:1. 生理教研室;2. 附属医院甲状腺乳腺外科 563003;

3. 华北油田华苑医院妇产科, 河北河间 062450)

摘要:目的 探讨 CD83、Ki-67 在大肠癌组织中的表达及对预后的意义。方法 收集大于或等于 5 年生存组和小于 3 年死亡组大肠癌病例各 30 例, 用免疫组化和流式细胞术检测大肠癌组织中 CD83、Ki-67 的表达, 分析其与大肠癌临床病理特点和预后的关系。结果 免疫组化检测显示, CD83 的表达随着 Dukes 分期的升高而降低, ≥ 5 年生存组表达明显高于小于 3 年死亡组 ($P < 0.05$); Ki-67 的表达随着 Dukes 分期的升高而增高, ≥ 5 年生存组表达明显低于小于 3 年死亡组 ($P < 0.05$)。流式细胞术检测显示, CD83 在 A 期和 B 期中的表达明显高于 C 期和 D 期 ($P < 0.05$); Ki-67 在 A 期和 B 期中的表达明显低于 C 期和 D 期 ($P < 0.05$)。结论 大肠癌中 CD83、Ki-67 表达与预后相关, 可以作为检测大肠癌预后的参考指标。

关键词:结直肠肿瘤; 预后; Ki-67 抗原; CD83

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.03.005

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)03-0221-03

Expressions of CD83, Ki-67 in colorectal carcinoma and its prognostic significance*

Huang Liangqin¹, Yang Weiming^{2△}, Liu Zhou², Zhao Hongyuan², Wang Chaoyu², Wu Jianghua², Liang Shuang³

(1. Department of Physiology; 2. Department of Thyroid Breast Surgery, the Affiliated Hospital of

Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, Huayuan Hospital of

Oilfield of Northern China, Hejian, Hebei 062450, China)

Abstract: Objective To investigate the CD83, Ki-67 in colorectal carcinoma and its prognostic significance. **Methods** ≥ 5 -year survival group and death group < 3 years, 30 cases of colorectal cancer patients, used immunohistochemical staining and flow cytometry to detect colorectal cancer CD83, Ki-67 expression analysis with clinical pathology of colorectal cancer characteristics and prognosis. **Results** Immunohistochemistry showed that CD83 expression increased with Dukes staging decreased, ≥ 5 -year survival group expressed higher than the < 3 -year death group ($P < 0.05$); Ki-67 expression increased with Dukes staging increased, ≥ 5 -year survival group expressed less than the < 3 -year death group ($P < 0.05$). Flow cytometry showed that in different points during the Dukes colorectal, CD83 expression in colorectal cancer tissues in A phase and B phase was significantly higher than C phase and D phase colorectal cancer organizations ($P < 0.05$); Ki-67 A phase and B phase colorectal cancer tissues was significantly lower than Phase C phase and D phase in colorectal cancer ($P < 0.05$). Groups of ≥ 5 year survival than Ki-67 expression in < 3 -years of death group ($P < 0.05$). **Conclusion** Colorectal CD83, Ki-67 expression and prognosis related to detection of colorectal cancer prognosis can be used as a reference indicator.

Key words: colorectal neoplasms; prognosis; Ki-67 antigen; CD83

树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前已知的机体内功能最强的抗原提呈细胞,对激发抗肿瘤免疫有重要作用^[1]。肿瘤组织内浸润性树突状细胞(tumor infiltrating dendritic cell, TIDC)的数量与功能对机体免疫有重要意义,与肿瘤的临床分期和预后相关^[2]。CD83 是人成熟 DC 的一种相对特异性表面分子^[3],是鉴定人外周血与骨髓中 DC 的最好标志。本研究采用免疫组化和流式细胞术检测大肠癌组织中 CD83 的表达,同时检测与肿瘤细胞增殖密切相关的抗原 Ki-67 在肿瘤细胞中的表达,分析其与大肠癌临床病理特点和预后的关系,进而了解肿瘤组织局部免疫状况对预后的影响。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集遵义医学院附属医院普外科 1990 年 6

月至 2006 年 6 月经病理确诊的 60 例大肠癌石蜡标本,均为原发病灶(临床资料完整),其中男 31 例,女 29 例,年龄 26~78 岁,中位 52 岁;高分化 30 例,中分化 9 例,低分化 21 例;Dukes 分期:A 期 6 例,B 期 25 例,C 期 21 例,D 期 8 例;伴淋巴结转移 14 例,无淋巴结转移 46 例; ≥ 5 年生存者 30 例, < 3 年死亡者 30 例。所有患者均为第 1 次手术,术前未进行任何放、化疗,随访至术后 5 年以上(随访资料完整)。

1.2 主要试剂 CD83 单克隆抗体(HB15a:sc-19677)、Ki-67 单克隆抗体(GM724001/02/04)、Envision 试剂盒(二抗、三抗试剂)均购于基因科技(上海)有限公司。流式细胞仪为 FACS Calibur, Becton Dickinson(USA)。PE 标记的抗 CD83 抗体、FITC 标记的抗 Ki-67 抗体均为美国 BD 公司产品。

* 基金项目:贵州省优秀科技教育人才省长专项资金资助项目[(2007)79];贵州省卫生厅科学技术基金资助项目[D-280];遵义医学院附属医院硕士启动基金资助项目[(2008)33]。△ 通讯作者,电话:13985237181;E-mail:yangweiming2004@126.com。

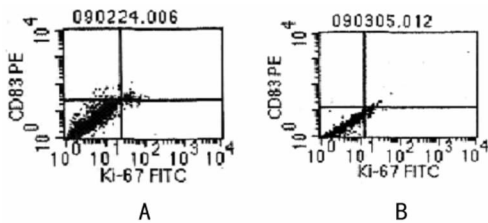
1.3 免疫组化检测 采用 SABC 法检测操作流程,具体操作步骤按照说明书进行,以试剂公司提供的阳性切片为阳性对照,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。判定结果:CD83 定位于细胞膜或细胞质,Ki-67 定位于细胞核、有丝分裂细胞胞质。以细胞膜、细胞质或细胞核呈棕黄色颗粒为阳性。光镜下切片,选肿瘤区阳性表达最强的 5 个高倍视野,数码拍照,输入图像分析软件 Image-Pro Plus6.0,准确分割出阳性区域后,测量单位光学密度值(mean density)。相同条件下,每个图片测量 3 次,以所得 3 个光密度值的均数作为该图片视野中 CD83 或 Ki-67 的表达强度。最后再以同一切片的 5 个视野各自测得的平均光密度值的均数作为该切片所代表样本的 CD83 或 Ki-67 的表达强度。

1.4 流式细胞术(flow cytometry,FCM) 取 10 g 标本,经脱蜡、水化、胰蛋白酶 37 °C 恒温水浴震动消化 30 min,300 目尼龙网过滤,生理盐水 10 min 离心 2 次(500~800 r/min),去除细胞碎片。沉淀细胞 PBS 重悬并计数。取 10^6 个细胞,加入流式细胞检测管,离心弃上清液,分别加入抗 CD83-PE 抗体、抗 Ki-67-FITC 抗体,混匀后室温避光孵育 30 min,用 1 mL PBS 稀释,离心弃上清液,加固定液 150 μ L 上机检测。

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件,采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大肠癌组织 CD83 和 Ki-67 表达 60 例大肠癌组织中 CD83 阳性表达 19 例,肿瘤细胞间有散在分布,胞体较大,圆形(封 2 图 1)。Ki-67 阳性表达 37 例,大肠癌肿瘤细胞及少部分处于增殖周期的正常腺体细胞有表达,阳性表达定位于细胞核或细胞质,呈棕黄色或棕褐色(封 2 图 2)。60 例大肠癌组织经 FCM 均检测到 CD83 和 Ki-67 表达。CD83 表达范围为 0.06%~3.98%,Ki-67 表达范围为 0.07%~6.39%。



A: ≥ 5 年生存组大肠癌组织; B: < 3 年死亡组大肠癌组织。

图 3 CD83、Ki-67 表达

2.2 大肠癌组织 CD83 和 Ki-67 表达与临床的关系 免疫组化检测显示,不同分化程度、淋巴结转移的患者,其大肠癌组织中 CD83 和 Ki-67 表达无差异。CD83 在 A 期和 B 期大肠癌组织中表达显著高于 C 期和 D 期大肠癌组织($P < 0.05$)。 ≥ 5 年生存组 CD83 表达显著高于小于 3 年死亡组($P < 0.05$)。Ki-67 在 A 期和 B 期大肠癌组织中表达显著低于 C 期和 D 期大肠癌组织($P < 0.05$)。 ≥ 5 年生存组 Ki-67 表达显著低于小于 3 年死亡组($P < 0.05$),见表 1。FCM 检测显示,不同分化程度、淋巴结转移的患者,其大肠癌组织内 CD83 和 Ki-67 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。A 期和 B 期大肠癌组织中 CD83 表达显著高于 C 期和 D 期大肠癌组织($P < 0.05$)。 ≥ 5 年生存组和小于 3 年死亡组间 CD83 表达差异无统计学意义

($P > 0.05$)。Ki-67 在 A 期和 B 期大肠癌组织中表达显著低于 C 期和 D 期大肠癌组织($P < 0.05$)。 ≥ 5 年生存组 Ki-67 表达显著低于小于 3 年死亡组($P < 0.05$)。

表 1 免疫组化检测 CD83 和 Ki-67 表达与大肠癌临床病理的关系[n(%)]

项目	n	CD83 阳性	Ki-67 阳性
分化程度			
高	30	10(33.3)	16(53.3)
中	9	4(44.4)	6(66.7)
低	21	5(23.8)	15(71.4)
生存时间(年)			
≥ 5	30	15(50.0)	12(40.0)
< 3	30	4(13.3)*	25(83.3)**
Dukes 分期			
A+B	31	14(45.2)	12(38.7)
C+D	29	5(17.2)**	25(86.2)**
淋巴结转移			
有	14	4(28.6)	9(64.3)
无	46	15(32.6)	28(60.9)

*: $P < 0.05$,与大于或等于 5 年生存组比较; **: $P < 0.05$,与 A+B 比较。

3 讨 论

DC 是机体免疫应答的始动者。有研究表明同源结肠癌患者外周血 DC 和 T 淋巴细胞共孵育后能抑制裸鼠体内移植瘤的生长^[4]。CD83 是人成熟 DC 的主要特征性标志,其激活淋巴细胞功能最强^[5],由于成熟 DC 的低水平表达,不能使肿瘤抗原引起有效免疫应答,从而诱导了 T 细胞的无能状态,使机体的免疫系统不能将肿瘤细胞清除,是肿瘤无限制性生长的原因之一^[6]。

有研究显示大肠癌和胃癌中 CD83 表达与患者临床分期和预后显著相关^[7-11]。本研究发现,Dukes 分期晚和小于 3 年死亡组的大肠癌组织中 CD83 表达低,提示大肠癌分期越晚,CD83 表达越低,预后越差。FCM 是近年来发展起来的一种快速定量分析细胞的新技术,目前已广泛用于肿瘤的研究,可对悬液中的单一细胞或细胞器进行快速检测,并根据测量的参数对细胞进行分选,具有较高的检测率,与免疫组化相比具有更高的灵敏度;而且免疫组化方法易受主观因素的干扰,非特异性染色发生率高,难以进行质量控制,结果判断的误差率较 FCM 高。因而,本研究中 60 例大肠癌组织经 FCM 检测 CD83 和 Ki-67 均有表达,较免疫组化阳性率高。

Ki-67 是全面可靠评估增殖活性的客观指标,已经成为临床上检测人类恶性肿瘤转归的一个重要指标。有研究显示 Ki-67 表达与大肠癌、乳腺癌和子宫颈癌的临床分期和预后相关^[12-15]。

参考文献:

- [1] 刘婷. 树突状细胞抗肿瘤免疫的研究进展[J]. 重庆医学, 2009, 38(8): 2090-2092.

- [2] Atreya I, Neurath MF. Immune cells in colorectal cancer: prognostic relevance and therapeutic strategies[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2008, 8(4):561-572.
- [3] Prechtel AT, Steinkasserer A. CD83: an update on functions and prospects of the maturation marker of dendritic cells[J]. *Arch Dermatol Res*, 2007, 299(2):59-69.
- [4] 贺子彪, 杨伟明, 焦保庭, 等. 树突状细胞对裸鼠结肠癌移植瘤的抗癌效应[J]. *西安交通大学学报: 医学版*, 2009, 30(1):60-62.
- [5] Yilmaz T, Gedikoglu G, Celik A, et al. Prognostic significance of langerhans cell infiltration in cancer of the larynx[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2005, 132(2):309.
- [6] Rouard H, Leon A, Klonjkowski B, et al. Adenoviral transduction of human 'clinic grade' immature dendritic cells enhances costimulatory molecule expression and T-cell stimulatory capacity[J]. *J Immunol Method B*, 2000, 241(1/2):69.
- [7] Inoue Y, Nakavama Y, Minaqawa N, et al. Relationship between interleukin-12-expressing cells and antigen-presenting cells in patients with colorectal cancer[J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(5):3541-3546.
- [8] 詹俊, 孙小娟, 李楚强, 等. S100 和 CD83 阳性树突状细胞与大肠肿瘤微环境的关系[J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(29):3061-3065.
- [9] Saito H, Osaki T, Murakami D, et al. Prediction of sites of recurrence in gastric carcinoma using immunohistochemical parameters[J]. *J Surg Oncol*, 2007, 95(2):123-128.
- [10] Coventry BJ, Morton J. CD1a appositve infiltrating-dendritic cell density and 5-year survival from human breast cancer[J]. *BRJ Cancer*, 2003, 89(3):533-538.
- [11] Iwamoto M, Shinohara H, Migamoto A, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating dendritic cells expressing CD83 in human breast carcinomas[J]. *Int J Cancer*, 2002, 104(1):92-97.
- [12] MaYL, Penq JY, Zhang P, et al. Immunohistochemical analysis revealed CD34 and Ki67 protein expression as significant prognostic factors in colorectal cancer[J]. *Med Oncol*, 2009, 27(2):304-309.
- [13] 王建法, 顾超, 叶宣光. 乳腺癌淋巴结转移与 Ki67、VEGF 表达的相关性及临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2009, 24(5):450-451.
- [14] 林妙霞, 文卓夫, 冯智英, 等. Bmj-1、Ki67 在大肠癌中的表达及其意义[J]. *癌症*, 2008, 27(12):1321-1326.
- [15] 朱晓玲, 李蓉, 黄裕, 等. P16 及 Ki67 在子宫颈癌及癌前病变中的表达[J]. *重庆医学*, 2009, 38(8):2041-2043.

(收稿日期:2010-06-18 修回日期:2010-09-09)

(上接第 220 页)

- ression of the outer membrane protein BabA[J]. *Infect Immun*, 2004, 72(6):3429-3435.
- [8] Rubinsztein-Dunlop S, Guy B, Lissolo L, et al. Identification of two new *Helicobacter pylori* surface proteins involved in attachment to epithelial cell lines[J]. *J Med Microbiol*, 2005, 54(Pt 5):427-434.
- [9] Ausubel FM. 精编分子生物学实验指南[M]. 颜子颖, 王海林, 译. 3 版. 北京:科学出版社, 1998:22.
- [10] 李晶, 张建中. 幽门螺杆菌黏附素及受体研究与疫苗发展[J]. *中国人兽共患病学报*, 2006, 22(6):580-582.
- [11] 吕琳, 王丕龙. 重组幽门螺杆菌疫苗的研究现状[J]. *重庆医学*, 2009, 38(8):984-987.
- [12] Aebischer T, Schmitt A, Walduck AK, et al. *Helicobacter Pylori* vaccine development: facing the challenge[J]. *Int J Med Microbiol*, 2005, 295(5):343-353.
- [13] Odenbreit S. Adherence properties of *Helicobacter pylori*: impact on pathogenesis and adaptation to the host[J]. *Int J Med Microbiol*, 2005, 295(5):317-324.
- [14] Sugiyama T, Asaka M. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer[J]. *Med Electron Microsc*, 2004, 37(3):149-157.

(收稿日期:2010-03-18 修回日期:2010-05-09)

启 事

《重庆医学》开设博士论坛专栏,此专栏专为各院(校)博士服务,本刊将开设绿色通道。欢迎全国医学院校博士投稿。本刊收稿网址: <http://cqyx.journalserv.com>, 投稿后注明:博士论坛文章。

《重庆医学》编辑部