

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.05.009

· 临床研究 ·

非小细胞肺癌组织 Ki-67 与 PD-L1 表达的相关性及其对患者预后的影响

范银星^{1a,2}, 柴荣^{1a}, 赵家义^{1a}, 黄玲^{1b}, 郑建明^{1b}, 韩一平^{1a} (1. 海军军医大学附属长海医院 a. 呼吸与危重症科, b. 病理科, 上海 200433; 2. 东部战区总医院镇江医疗区, 江苏 镇江 212050)

[摘要] **目的:** 探讨 NSCLC 患者癌组织中 Ki-67 与 PD-L1 表达的相关性及两者对患者预后的影响。 **方法:** 选取符合纳入标准的 2012 年 1 月至 2018 年 8 月在海军军医大学附属长海医院, 手术确诊为 NSCLC 并进行免疫组化 PD-L1 和 Ki-67 检测的患者 401 例, 收集其临床病理资料, 定期生存随访, 应用统计学方法分析 Ki-67 与 PD-L1 表达的相关性及两者对患者术后 DFS 和化疗后 PFS 的影响。 **结果:** NSCLC 组织中 PD-L1 和 Ki-67 表达阳性率分别为 37.9% (152/401) 和 96.3% (386/401), 单因素分析显示 Ki-67 为 PD-L1 表达相关的影响因素 (OR=0.33, 95%CI=0.28~0.39, $P<0.0001$), 曲线拟合分析显示 Ki-67 与 PD-L1 表达显著正相关, 阈值效应分析、分段多因素 Logistic 和 ROC 曲线分析表明 14% 是 Ki-67 较适宜与 PD-L1 联用的阈值。 Kaplan-Meier 分析显示, 术后 DFS, Ki-67 高表达组显著短于 Ki-67 低表达组 [(21.88±11.25) vs (41.22±16.25) 个月, $P<0.0001$], PD-L1 阳性组显著短于 PD-L1 阴性组 [(24.75±14.59) vs (38.27±16.75) 个月, $P<0.0001$], Ki-67 高表达/PD-L1 阳性组与其余 3 组相比术后 DFS 最短 [(20.57±11.33) vs (24.11±10.79) vs (36.00±16.79) vs (42.91±15.77) 个月, $P<0.0001$]; 化疗 PFS, Ki-67 高表达组显著长于 Ki-67 低表达组 [(7.70±3.01) vs (5.80±2.99) 个月, $P=0.016$], PD-L1 阳性组与阴性组相比差异无统计学意义 [(7.04±3.21) vs (6.33±3.06) 个月, $P=0.22$], Ki-67 与 PD-L1 联合测评, Ki-67 高表达两组的 PFS 显著长于 Ki-67 低表达两组 [(7.74±3.25) vs (7.43±2.38) vs (4.91±1.97) vs (6.02±3.19) 个月, $P=0.041$]。 **结论:** NSCLC 组织中 Ki-67 与 PD-L1 表达呈正相关, Ki-67 14% 是适宜与 PD-L1 联用的阈值, Ki-67 和 PD-L1 均为患者预后不良的预测因子, 两者联合对预后不良的预测有“叠加效应”, 同时 Ki-67 高表达患者对化疗的敏感性较好。

[关键词] 非小细胞肺癌; Ki-67; 程序性死亡配体-1; 免疫检查点抑制剂; 化疗; 预后

[中图分类号] R734.2; R730.2; R730.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)05-0536-08

Correlation between Ki-67 and PD-L1 expression in non-small cell lung cancer tissues and its effect on patients' prognosis

FAN Yinxing^{1a,2}, CHAI Rong^{1a}, ZHAO Jiayi^{1a}, HUANG Ling^{1b}, ZHENG Jianming^{1b}, HAN Yiping^{1a} (1.a. Department of Respiratory and Critical Care Medicine; b. Department of Pathology, Changhai Hospital, Navy Military Medical University, Shanghai 200433; 2. Zhenjiang Medical District, General Hospital of Eastern Theater Command, Zhenjiang 212050, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relationship between Ki-67 and PD-L1 in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and their effects on prognosis. **Methods:** A total of 401 patients, who were pathologically diagnosed as NSCLC in Changhai Hospital from January 2012 to August 2018, were enrolled as study subjects; and the patients were immunohistochemically tested for PD-L1 and Ki-67. The clinical and pathological data were collected, and the follow-up was performed regularly. The correlation between Ki-67 and PD-L1 and their effects on postoperative DFS and post-chemotherapy PFS were statistically analyzed. **Results:** Positive rates of PD-L1 and Ki-67 in NSCLC tissues were 37.9% (152/401) and 96.3% (386/401), respectively. Univariate analysis showed that Ki-67 was an influencing factor for PD-L1 expression (OR=0.33, 95%CI=0.28-0.39, $P<0.0001$); Curve Fitting analysis showed a positive correlation between Ki-67 and PD-L1; threshold effect analysis, segmentation multivariate logistic and ROC curve analysis showed 14% is a relatively suitable threshold for Ki-67 to be combined with PD-L1. Kaplan-Meier analysis showed that patients in Ki-67 high expression group had a significantly shorter post-operative DFS than those in Ki-67 low expression group [(21.88±11.25) vs [41.22±16.25]m, $P<0.0001$], patients in PD-L1 positive group had a significantly shorter DFS than those in PD-L1 negative group [(24.75±14.59) vs [38.27±16.75]m, $P<0.0001$], and patients in Ki-67 high/PD-L1 positive group had the shortest DFS as compared to the other three groups [(20.57±11.33) vs [24.11±10.79], [36.00±16.79], [42.91±15.77]m, $P<0.0001$). As for post-chemotherapy PFS, patients in Ki-67 high ex-

[基金项目] 上海市科研计划项目资助(No.19411970600)。Project supported by Shanghai Scientific Research Program (No.19411970600)

[作者简介] 范银星(1986-)女, 硕士生, 主要从事肺部恶性肿瘤的诊治研究, E-mail: fanyinxing1986@163.com

[通信作者] 韩一平(HAN Yiping, corresponding author), 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事肺部恶性肿瘤的早期诊断与中晚期个体化综合治疗的基础和临床研究, E-mail: yphan2006@163.com

pression group was significantly longer than those in Ki-67 low expression group [(7.70±3.01) vs (5.80±2.99)m, $P=0.016$], but there was no significant difference between PD-L1 positive group and PD-L1 negative group [(7.04±3.21) vs (6.33±3.06)m, $P=0.22$]; for combined evaluation with Ki-67 and PD-L1, the PFS of two Ki-67 high expression groups was significantly longer than the other two Ki-67 low expression groups [(7.74±3.25) vs (7.43±2.38) vs (4.91±1.97) vs (6.02±3.19)m, $P=0.041$). **Conclusion:** Ki-67 is positively correlated with PD-L1 in NSCLC patients, and Ki-67 14% is a suitable threshold for combined use with PD-L1. Both Ki-67 and PD-L1 are predictors of poor prognosis. The combination of the two has an "additive effect" on the prediction of poor prognosis, and patients with high Ki-67 expression are more sensitive to chemotherapy.

[Key words] non-small cell lung carcinoma; Ki-67; programmed death ligand-1(PD-1); immune checkpoint inhibitors; chemotherapy; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(5): 536-543. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.05.009]

肺癌是全球发病率最高的恶性肿瘤。我国国家卫健委癌症登记中心2018年公布的数据^[1]显示,肺癌位于各种癌症发病率和病死率之首,年新发约78万例。非小细胞肺癌(non-small cell lung carcinoma, NSCLC)是肺癌最主要的病理类型,占肺癌总数的83.6%^[2],其中最常见的是肺腺癌(adenocarcinoma, ADC)和肺鳞癌(squamous cell carcinoma, SCC)。免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)的出现,尤其是程序性死亡受体1(programmed death-1, PD-1)和程序性死亡配体1(programmed death ligand-1, PD-L1)抑制剂为治愈NSCLC带来了新的希望。有研究^[3-4]发现,肿瘤细胞PD-L1的表达对PD-1/L1抑制剂的疗效和NSCLC患者的预后存在一定的预测作用。PD-L1表达还与NSCLC的临床病理特征相关,PD-L1高表达的NSCLC患者肿瘤组织细胞核相关抗原Ki-67水平也较高^[5-6]。Ki-67是评估肿瘤增殖活性的指标,其表达水平越高,肿瘤细胞的增殖速率越快^[7]。目前关于Ki-67与PD-L1表达的相关关系及两者联合对NSCLC预后影响的报道较少,本研究通过检测NSCLC患者术后肿瘤组织Ki-67及PD-L1表达水平分析其临床和病理特征,旨在探讨NSCLC患者Ki-67与PD-L1之间的相关性及两者表达对NSCLC患者术后复发风险及化疗疗效的影响。

1 材料与方法

1.1 研究对象的纳入与排除标准

纳入标准:(1)年龄大于18岁的成年患者;(2)病理诊断为ADC或SCC;(3)术前未进行放疗化疗;(4)术后分期为IA~IIIA期。排除标准:(1)合并其他原发性肿瘤;(2)病理诊断为腺鳞癌或大细胞癌或小细胞肺癌。

1.2 组织标本及临床资料

选取2012年1月至2018年8月在上海长海医院手术确诊的,并进行免疫组化PD-L1和Ki-67检测的符合入组标准的NSCLC患者401例,均有完整的临床和病理资料,其中男性患者228例(56.86%),女性患者173例(43.14%),平均年龄(61.27±10.28)岁;

ADC 288例(71.82%),SCC 113例(28.18%)。术后分期I期278例(69.33%),II期79例(19.7%),IIIA期44例(10.97%);有吸烟史患者156例(38.9%),无吸烟史患者245例(61.1%);低分化90例(22.56%),中分化238例(59.65%),高分化71例(17.79%)。组织EGFR基因检测患者370例,EGFR野生型230例(62.16%),EGFR敏感突变型140例(37.84%)。术后复发治疗SCC及驱动基因野生型ADC患者应用含铂双药化疗,SCC选用紫杉醇+卡铂方案,ADC选用培美曲塞+卡铂方案,每21d为1个周期,每2个周期评估一次病情。

1.3 免疫组化检测NSCLC组织中Ki-67与PD-L1的表达

采用EnVision二步染色法,NSCLC石蜡组织标本做3 μ m连续切片,经脱蜡、热抗原修复及血清封闭,分别孵育Ki-67单克隆抗体(北京中杉金桥公司,即用型)和PD-L1兔抗人sp142单克隆抗体(Spring Bioscience, Ventana, Tucson, AZ, USA)过夜,滴加二抗(Evension聚合物)后DAB显色,苏木精复染细胞核,中性树胶封片。

Ki-67结果判读:选择肿瘤细胞均匀染色区域,显示Ki-67核染色(点状或弥散)均认定为阳性反应,计数至少500个肿瘤细胞中Ki-67阳性染色肿瘤细胞所占的比例计为Ki-67表达阳性率。

PD-L1结果判读:显示PD-L1胞膜染色的肿瘤细胞被评估为PD-L1阳性细胞,PD-L1阳性细胞占整个切片总肿瘤细胞的百分比计为PD-L1表达阳性率。结果由两名病理科医生采用双盲法判读,本研究以 $\geq 1\%$ 定义为阳性表达。

1.4 随访方法

采用门诊或住院随访,术后前2年每4个月1次,2年后每半年1次,随访满5年后每年1次。术后随访患者121例,随访时间为8至83个月,中位随访时间为43个月,随访时间截止至2018年11月。无疾病生存时间(disease-free survival, DFS)定义为从手术到肿瘤复发时间或因为任何原因的死亡或最后一次随

访日期的时间;无进展生存期(progression-free survival,PFS)定义为从接受治疗开始,到观察到疾病进展或者发生因为任何原因的死亡或最后一次随访日期的时间

1.5 统计学处理

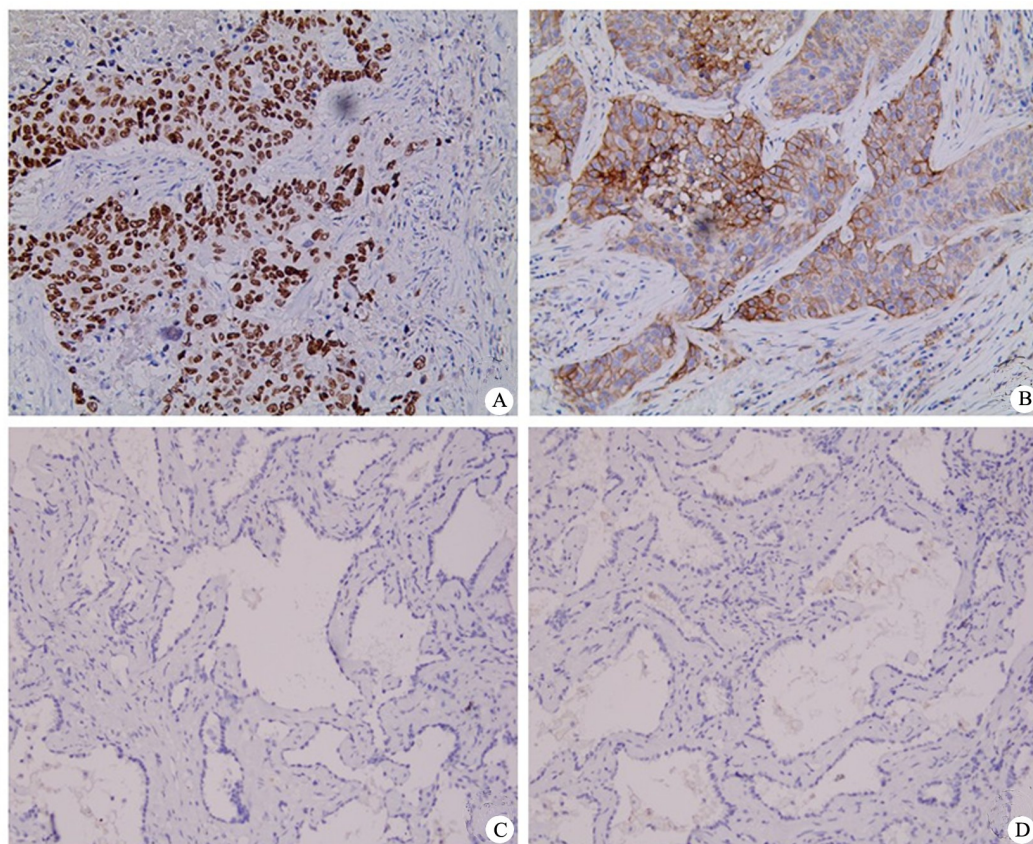
以 Excel 2016 创建初始数据库,使用易侬软件(www.empowerstats.com, X&Y solutions, inc. Boston MA)与 R 软件进行数据分析。符合正态分布的连续性变量以 $\bar{x}\pm s$ 表示,不符合正态分布变量以中位数和四分位数表示,2 组间比较使用 *t* 检验或 Wilcoxon 秩和检验。分类变量以百分数表示,2 组间比较使用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。单因素分析影响 PD-L1 的因素;曲线拟合及阈值效应分析 Ki-67 与 PD-L1 的相关性。分段多因素 Logistic 回归和 ROC 曲线分析 Ki-67 对 PD-L1 表达的预测能力。术后 DFS、化疗

PFS 使用 Kaplan-Meier 方法。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 组织 Ki-67 和 PD-L1 的表达水平

免疫组织化学方法检测 401 例 NSCLC 患者手术石蜡组织标本中 Ki-67 和 PD-L1 表达,Ki-67 在 NSCLC 组织中表达于细胞核(图 1A、C),PD-L1 在 NSCLC 组织中表达于细胞膜(图 1B、D)。PD-L1 表达阳性 152 例(37.9%)、表达阴性 249 例(62.1%),Ki-67 表达阳性 386 例(96.3%)、表达阴性 15 例(3.7%);PD-L1 阳性组 Ki-67 表达值为(36.64±23.59)%,PD-L1 阴性组 Ki-67 表达值为(11.49±13.14)%,两组 Ki-67 表达差异存在统计学意义($P<0.001$),Ki-67 表达在 PD-L1 阳性组显著高于 PD-L1 阴性组。



A: Positive expression of Ki-67; B: Positive expression of PD-L1; C: Negative expression of Ki-67; D: Negative expression of PD-L1

图1 NSCLC 组织免疫组化 Ki-67 与 PD-L1 表达(×200)

Fig.1 Immunohistochemical expression of Ki-67 and PD-L1 in NSCLC tissues(×200)

2.2 NSCLC 组织 Ki-67 与 PD-L1 表达的相关关系

2.2.1 单因素分析显示 Ki-67 是 PD-L1 表达的影响因素 对可能影响 PD-L1 表达的因素(性别、年龄、是否吸烟、Ki-67、组织 EGFR 是否突变、肺癌类型、分化程度、术前肿瘤最大径、术后分期)进行单因素分析,

结果(表 1)显示, Ki-67 (OR=0.33, 95%CI=0.28~0.39, $P<0.0001$)、分化程度 (OR=-5.96, 95%CI=-9.40~-2.52, $P=0.0008$) 是与 PD-L1 表达显著相关的影响因素。

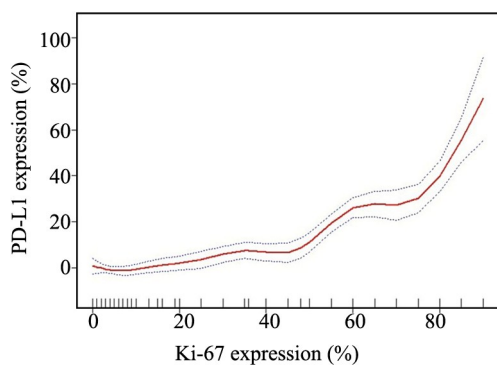
2.2.2 平滑曲线拟合显示 Ki-67 与 PD-L1 表达呈正相

关 对 Ki-67 与 PD-L1 表达进行平滑曲线拟合, 结果(图 2)表明 Ki-67 与 PD-L1 表达呈显著正相关关系。

表 1 NSCLC 组织 PD-L1 表达相关影响因素的单因素分析

Tab.1 Univariate analysis of affecting factors associated with PD-L1 expression in NSCLC tissues

Variable	OR	95%CI	P
Ki-67	0.33	0.28,0.39	<0.0001
Age	0.06	-0.07,0.20	0.3576
Sex			
Male	0		
Female	-0.13	-2.96,2.71	0.9311
Smoked			
No	0		
Yes	-0.63	-3.51,2.25	0.6683
Tumor size	-0.02	-0.79,0.76	0.9688
Tumor stage			
I(IABC)	0		
II(IIAB)	0.28	-3.31,3.86	0.8798
III(IIIA)	-1.79	-6.35,2.77	0.4427
Type of lung cancer			
ADC	0		
SCC	0.88	-2.24,4.00	0.5800
Differentiation			
Low	0		
Middle	-5.96	-9.40,-2.52	0.0008
High	-3.13	-7.55,1.28	0.1650
EGFR mutation			
No	0		
Yes	-2.64	-5.64,0.37	0.0862



Adjust variable: age, gender, smoked, EGFR mutation, lung cancer type,differentiation, tumor stage, tumor size

图 2 NSCLC 组织中 Ki-67 与 PD-L1 表达相关关系的平滑曲线拟合

Fig.2 Smooth curve fitting of Ki-67 and PD-L1 expression in NSCLC tissues

2.2.3 Ki-67 与 PD-L1 表达相关的阈值节点为 14% 和 45% 平滑曲线拟合图(图 2)可见, Ki-67 与 PD-L1 表达相关关系存在阈值效应, 分析显示, 两者相关关

系存在 14% 和 45% 2 个节点。以 14% 为节点, Ki-67<14% 与 PD-L1 表达无显著相关性(OR=-0.19, 95%CI=-0.49~0.12, P=0.2243), Ki-67≥14% 与 PD-L1 表达显著正相关(OR=0.56, 95%CI=0.48~0.65, P<0.0001)。以 45% 为节点, 两段曲线 Ki-67 与 PD-L1 表达均显著正相关, 但曲线斜率存在明显差异(P<0.0001)(表 2)。故 Ki-67 的 14% 是区分 Ki-67 与 PD-L1 表达是否正相关的节点, Ki-67 的 45% 是区分 Ki-67 与 PD-L1 表达正相关显著升高的节点。

2.2.4 分段多因素分析显示 Ki-67≥14% 对 PD-L1 表达有预测作用 以 Ki-67 14% 和 45% 两个节点对 PD-L1 表达进行分段多因素 Logistic 分析结果(表 3)显示, Ki-67<14% 时, Ki-67 对 PD-L1 表达无独立预测作用(P=0.0871); Ki-67≥14% 时, Ki-67 对 PD-L1 表达有独立预测作用(P<0.0001)。Ki-67<45% 时, Ki-67 是 PD-L1 表达的独立影响因素(P<0.0001), Ki-67≥45% 时, Ki-67 也是 PD-L1 表达的独立影响因素(P=0.0223)。所以 Ki-67 的 14% 是区分 Ki-67 对 PD-L1 表达是否有独

立预测作用的节点,Ki-67的45%在判断Ki-67对PD-L1表达预测作用中无临床意义。

表2 NSCLC组织Ki-67与PD-L1表达相关性的阈值效应
Tab.2 Threshold effect of the correlation between Ki-67 and PD-L1 expression in NSCLC tissues

Model	PD-L1		
	OR	95%CI	P
Model I			
K	14		
< K regression coefficient 1	-0.19	-0.49,0.12	0.2243
> K regression coefficient 2	0.56	0.48,0.65	<0.0001
Difference between regression coefficients 2 and 1	0.75	0.40,1.11	<0.0001
Model II			
K	45		
< K regression coefficient 1	0.22	0.12,0.31	<0.0001
> K regression coefficient 2	0.98	0.79,1.16	<0.0001
Difference between regression coefficients 2 and 1	0.76	0.51,1.01	<0.0001

表3 NSCLC组织PD-L1表达相关影响因素分段多因素

Logistic回归分析

Tab.3 Segmented multivariate Logistic analysis of affecting factors associated with PD-L1 in NSCLC tissues

Variable	OR	95%CI	P
Ki-67<14%	1.13	0.98,1.32	0.0871
Ki-67≥14%	1.07	1.04,1.09	<0.0001
Ki-67<45%	1.09	1.07,1.13	<0.0001
Ki-67≥45%	1.14	1.02,1.28	0.0223

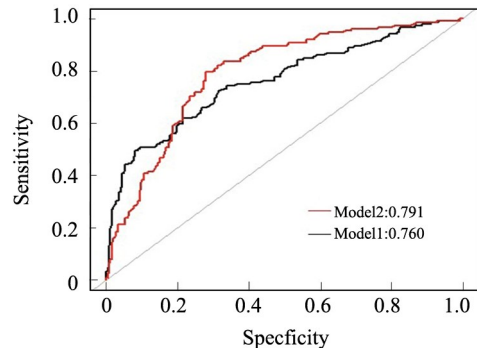
Adjust variable: age, gender, smoked, EGFR mutation, lung cancer type,differentiation, tumor stage, tumor size

2.2.5 ROC分析显示Ki-67 14%对PD-L1预测有良好的敏感度与特异度 ROC分析Ki-67 14%和45%两个节点对PD-L1表达的预测能力。结果(图3)显示,Ki-67 45%模型的AUC为0.7603,特异度与敏感度分别为0.9065和0.5066;Ki-67 14%模型的AUC为0.7912,特异度与敏感度分别为0.7195和0.7961;两个模型的AUC无明显差异($P=0.1817$)。从灵敏度和特异度角度分析,Ki-67 45%模型特异度虽好,但敏感度过差;而Ki-67 14%模型的敏感度与特异度均较为理想。故本研究选用Ki-67 14%作为预测PD-L1表达且进行后续研究的节点。

2.3 NSCLC组织Ki-67和PD-L1表达对患者预后的影响

2.3.1 Ki-67高表达NSCLC患者术后DFS较短 术

后随访121例患者,以Ki-67 14%为节点,Ki-67高表达组52例、低表达组69例,Ki-67高表达组术后DFS显著短于Ki-67低表达组[(21.88±11.25) vs (41.22±16.25)个月, $P<0.0001$](图4A)。结果表明,Ki-67高表达是NSCLC预后不良的预测因子。



Model1: Ki-67 45%, sex, lung cancer type, differentiation;
Model2: Ki-67 14% sex, lung cancer type, differentiation

图3 NSCLC组织中Ki-67不同节点对PD-L1表达预测的ROC曲线

Fig.3 ROC curve of PD-L1 expression prediction in different nodes of Ki-67 in NSCLC tissues

2.3.2 Ki-67高表达患者化疗PFS较长 术后复发首次化疗,Ki-67高表达组31例、低表达组33例,Ki-67高表达组化疗PFS显著长于Ki-67低表达组[(7.70±3.01) vs (5.80±2.99)个月, $P=0.016$](图4B)。结果表明,Ki-67高表达是NSCLC化疗敏感性好的预测因子。

2.3.3 PD-L1阳性患者术后DFS较短 以PD-L1≥1%为阳性阈值,PD-L1阳性组48例、阴性组73例,PD-L1阳性组术后DFS显著短于PD-L1阴性组[(24.75±14.59) vs (38.27±16.75)个月, $P<0.0001$](图5A)。结果表明,PD-L1表达阳性是NSCLC预后不良的预测因子。

2.3.4 PD-L1表达与患者化疗PFS无相关性 术后复发首次化疗,PD-L1阳性组28例、阴性组36例,PD-L1阳性组与阴性组化疗PFS无显著差异[(7.04±3.21) vs (6.33±3.06)个月, $P=0.22$](图5B)。结果提示,PD-L1表达对NSCLC患者化疗无显著影响。

2.3.5 Ki-67和PD-L1联合预测患者术后DFS的价值 联合Ki-67 14%和PD-L1 1%两个节点,将患者分为4组:术后随访Ki-67高表达/PD-L1阳性组35例,Ki-67高表达/PD-L1阴性组18例,Ki-67低表达/PD-L1阳性组13例,Ki-67低表达/PD-L1阴性组55例。4组患者术后DFS存在显著差异[(20.57±11.33) vs (24.11±10.79) vs (36.00±16.79) vs (42.91±15.77)个月, $P<0.0001$](图6A)。结果表明,Ki-67高表达和

PD-L1 阳性患者术后的 DFS 最短, 两指标联合预测患者术后 DFS 的价值明显。

2.3.6 Ki-67 和 PD-L1 联合预测患者化疗 PFS 的价值 术后复发化疗 Ki-67 高表达/PD-L1 阳性组 21 例、Ki-67 高表达/PD-L1 阴性组 11 例、Ki-67 低表达/PD-L1 阳性组 7 例、Ki-67 低表达/PD-L1 阴性组 25 例, 4 组

化疗 PFS 存在显著差异[(7.74±3.25) vs (7.43±2.38) vs (4.91±1.97) vs (6.02±3.19)个月, $P=0.041$](图 6B)。结果表明, 无论 PD-L1 表达阳性还是阴性, Ki-67 高表达患者化疗 PFS 较长, 提示两指标联合预测 NSCLC 患者化疗的获益主要与 Ki-67 高表达相关。

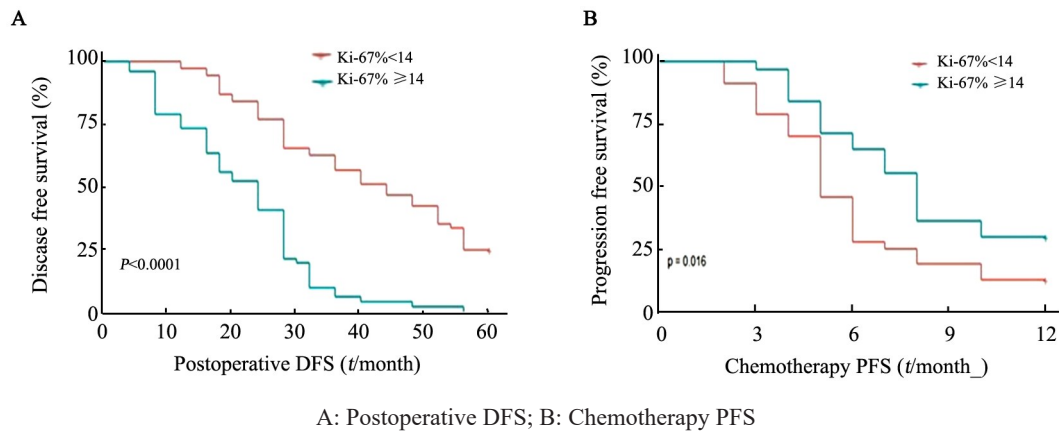


图4 NSCLC 术后复发患者 Ki-67≥14% 组与 Ki-67<14% 组生存曲线

Fig.4 Survival curve of Ki-67 ≥14% group and Ki-67<14% group in NSCLC patients with postoperative recurrence

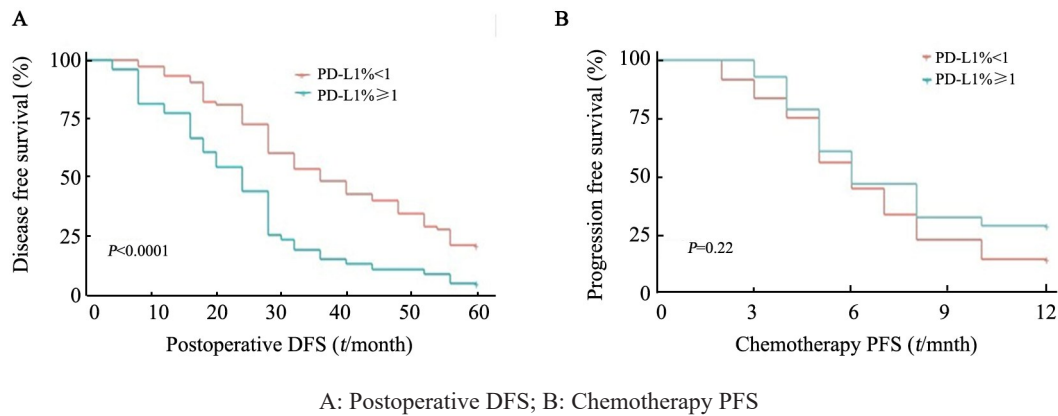


图5 NSCLC 术后复发患者 PD-L1≥1% 组与 PD-L1<1% 组生存曲线

Fig.5 Survival curve of PD-L1 ≥1% group and PD-L1<1% group in patients with NSCLC postoperative recurrence

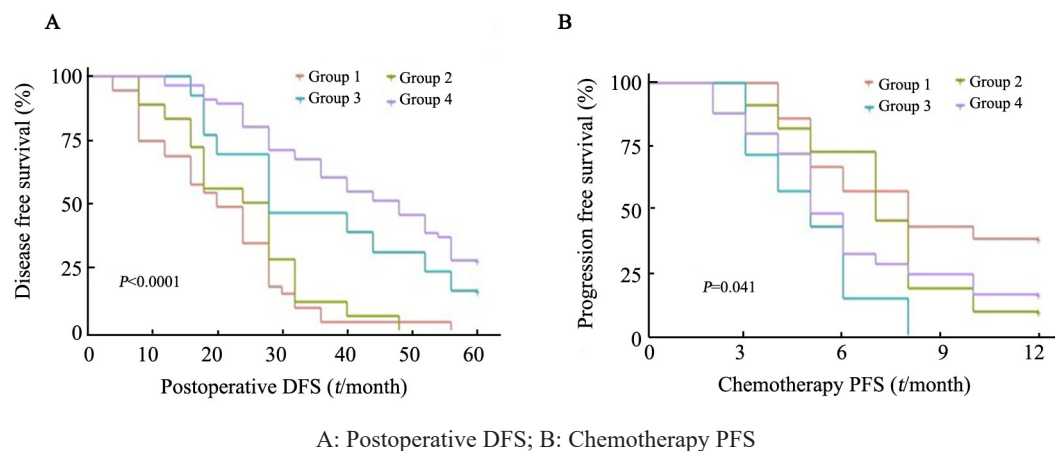


图6 NSCLC 术后复发患者 Ki-67 联合 PD-L1 表达分组生存曲线

Fig.6 Survival curve of Ki-67/PD-L1 combination group in NSCLC patients with postoperative recurrence

3 讨论

PD-L1 表达在 NSCLC 组织中的阳性率差别较大, 范围在 20%~70%^[6]。不同的组织病理学亚型, 检测 PD-L1 应用的抗体不同及设定的阳性阈值不同均是造成这种异质性的原因, 本研究应用 Ventana 的 sp142 抗体检测 PD-L1 表达, 设定 1% 为阳性阈值, NSCLC 组织中 PD-L1 表达阳性率为 37.9%, 与多数文献^[5-6]报道一致。Ki-67 是目前临床应用最广泛的细胞增殖评估标志^[8], 据文献^[9]报道, Ki-67 在肺癌不同组织分型中表达水平不一样, 其中小细胞肺癌表达最高, SCC 中的表达高于 ADC。本研究中 SCC 患者 Ki-67 表达高于 ADC ($P < 0.001$), 与既往研究一致。

本研究发现, 在 NSCLC 患者中, Ki-67 表达在 PD-L1 阳性组显著高于 PD-L1 阴性组, 且单因素分析提示, Ki-67 是 PD-L1 表达的独立影响因素 ($P < 0.001$), 这与新近国外的研究结果相符合。PAWEL-CZYK 等^[10]报道, 在 NSCLC 中 PD-L1 高表达与细胞增殖及细胞恶性程度显著相关, 且这种相关性在 ADC 更为显著。KAZUKI 等^[9]发现, SCC 中 Ki-67 表达在 PD-L1 阳性组显著高于 PD-L1 阴性组, 且 PET-CT 扫描的 SUV-max 值与 PD-L1 阳性率显著正相关, 提示 SCC 细胞增殖与 PD-L1 表达也呈正相关。值得指出的是, 本研究经 Ki-67 与 PD-L1 阈值效应分析, 发现两者表达呈明显正相关, 且存在 14% 和 45% 两个节点; 进一步分段多因素 Logistic 和 ROC 诊断分析, 表明 Ki-67 14% 是区分 Ki-67 与 PD-L1 表达是否正相关及是否存在独立预测作用的节点, 且以 Ki-67 14% 为节点, 在误诊率合理的情况下, 可以尽可能多的发现 PD-L1 表达阳性的患者。故本研究选择 Ki-67 14% 作为后续 Ki-67 和 PD-L1 联合的阈值。

研究表明, 以 14% 为节点的 Ki-67 高表达组术后 DFS 显著短于 Ki-67 低表达组 ($P < 0.0001$), 提示 NSCLC 患者 Ki-67 高表达术后复发风险较高, 是预后的不良因素。这与 YAMASHITA 和 POLERI 等^[11-12]在早期可切除的 NSCLC 预后影响相关研究的结果相一致。但鉴于 Ki-67 本身与病理类型、分期、分化程度等多种对预后有影响的因素也有一定相关性, 目前 Ki-67 尚不是公认的 NSCLC 预后的独立预测因素^[13]。

WARTH 等^[8]以 Ki-67 25% 为分组阈值, 观察到 NSCLC 患者 Ki-67 高表达组与低表达组总生存期的差异在接受辅助化疗后缩小, 这意味着 Ki-67 高表达患者更可能在化疗中获益, 与本研究结果趋于一致。Ki-67 高表达的 NSCLC 患者组化疗 PFS 优于低表达组, 其因认为肿瘤细胞快速分裂是大多数细胞毒抗癌治疗起效的先决条件, 包括肺癌化疗铂类和新三

代药物等^[14], 肿瘤增殖指数与化疗指数呈正相关性。但现有的关于 Ki-67 对 NSCLC 化疗有效性的研究多为回顾性小样本研究, 且对 Ki-67 的检测方法和阳性阈值设定异质性较大, 因此 Ki-67 对 NSCLC 化疗疗效的预测效应尚不能确定, 未来还需要大样本随机对照研究以明确 Ki-67 对 NSCLC 化疗的预测作用。

PD-L1 表达与肿瘤的预后不良相关已有报道^[15]。TAKADA 等^[5,16]应用 Ventana sp142 检测 PD-L1 表达, 分别设定 1%, 5%, 10% 和 50% 为 PD-L1 表达阳性阈值, 比较两组术后 OS, 发现无论 ADC 或 SCC, PD-L1 阳性组仅在阈值为 1% 时显著短于 PD-L1 阴性患者, 提示 PD-L1 (sp142) 表达 1% 是预测 NSCLC 预后较灵敏的阈值, 本研究结果与此相符。Ki-67 与 PD-L1 联合检测的 4 组患者中, 双高表达组术后 DFS 最差, 但化疗 PFS 最长, 表明 Ki-67 与 PD-L1 对预后的不良影响有“叠加作用”, 而对化疗的获益主要来自 Ki-67 的高表达, 与 PD-L1 无关。因此, PD-L1/L1 抑制剂联合化疗时如应用 PD-L1 和 Ki-67 分别预测 PD-L1 抑制剂和化疗的有效率可能优于 PD-L1 单一指标。当然, 这是基于目前研究结果的推测, 有待于免疫联合化疗更大样本随机对照研究来证实这一推论。

综上所述, NSCLC 患者中 Ki-67 表达在 PD-L1 阳性组显著高于 PD-L1 阴性组, 两者呈显著正相关关系, Ki-67 14% 是与 PD-L1 联合应用较适宜的阈值; Ki-67 ≥ 14% 是 NSCLC 术后复发的不良预测因子, 也是术后复发化疗敏感性好的预测因子; PD-L1 ≥ 1% 是 NSCLC 术后复发的不良预测因子, 但对化疗有效性无显著影响; Ki-67 与 PD-L1 表达皆高的 NSCLC 患者术后复发风险较高, 术后辅助治疗可更积极; Ki-67 联合 PD-L1 对 NSCLC 化疗的敏感性主要归因于 Ki-67 高表达。

[参考文献]

- [1] 赫捷, 孙可欣, 魏文强, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2019.01.005.
- [2] PEREZ-MORENO P, BRAMBILLA E, THOMAS R, et al. Squamous cell carcinoma of the lung: molecular subtypes and therapeutic opportunities[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(9):2443-2451. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2370.
- [3] HERBST R S, BAAS P, KIM D W, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial [J]. Lancet, 2015, 387(10027): 1540-1550. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01281-7.
- [4] RECK M, RODRIGUEZ-ABREU D, ROBINSON A G, et al. Updated Analysis of KEYNOTE-024: Pembrolizumab versus platinum-based chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer with

- PD-L1 tumor proportion score of 50% or greater [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(7): 537-546. DOI: 10.1200/JCO.18.00149.
- [5] TAKADA K, OKAMOTO T, TOYOKAWA G, et al. The expression of PD-L1 protein as a prognostic factor in lung squamous cell carcinoma[J/OL]. *Lung Cancer*, 2017, 104: 7-15[2019-04-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28213003>. DOI: 10.1016/j.lungcan.2016.12.006.
- [6] SHIMOJI M, SHIMIZU S, SATO K, et al. Clinical and pathologic features of lung cancer expressing programmed cell death ligand 1 (PD-L1)[J/OL]. *Lung Cancer*, 2016, 98: 69-75[2019-04-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27393509>. DOI: 10.1016/j.lungcan.2016.04.021.
- [7] ENDL E, KAUSCH I, BAACK M, et al. The expression of Ki-67, MCM3, and p27 defines distinct subsets of proliferating, resting, and differentiated cells[J]. *J Pathol*, 2001, 195(4): 457-462. DOI: 10.1002/path.978.
- [8] WARTH A, CORTIS J, SOLTERMANN A, et al. Tumour cell proliferation (Ki-67) in non-small cell lung cancer: a critical reappraisal of its prognostic role[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(6):1222-1229. DOI: 10.1038/bjc.2014.402.
- [9] WEI D M, CHEN W J, MENG R M, et al. Augmented expression of Ki-67 is correlated with clinicopathological characteristics and prognosis for lung cancer patients: an up-dated systematic review and meta-analysis with 108 studies and 14,732 patients[J]. *Respir Res*, 2018, 19(1): 150-169. DOI: 10.1186/s12931-018-0843-7.
- [10] PAWELCZYK K, PIOTROWSKA A, CIESIELSKA U, et al. Role of PD-L1 expression in non-small cell lung cancer and their prognostic significance according to clinicopathological factors and diagnostic markers[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(4): E824[2019-4-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6413136/>. DOI: 10.3390/ijms20040824.
- [11] YAMASHITA S, MOROGA T, TOKUISHI K, et al. Ki-67 labeling index is associated with recurrence after segmentectomy under video-assisted thoracoscopic surgery in stage I non-small cell lung cancer[J]. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 2011, 17(4): 341-346. DOI: 10.5761/atcs.oa.10.01573.
- [12] POLERI C, MORERO J L, NIEVA B, et al. Risk of recurrence in patients with surgically resected stage I non-small cell lung carcinoma: histopathologic and immunohistochemical analysis[J]. *Chest*, 2003, 123(6):1858-1867. DOI: 10.1378/chest.123.6.1858.
- [13] CARBOGNANI P, TINCANI G, CRAFA P, et al. Biological markers in non-small cell lung cancer. Retrospective study of 10 year follow-up after surgery[J]. *J Cardiovasc Surg (Torino)*, 2002, 43(4): 545-548. DOI: 10.1302/0301-620X.84B6.12457.
- [14] ALEXANDRAKIS M G, PASSAM F H, KYRIAKOU D S, et al. Ki-67 proliferation index: correlation with prognostic parameters and outcome in multiple myeloma[J]. *Am J Clin Oncol*, 2004, 27(1): 8-13. DOI: 10.1097/01.coc.0000045810.91816.41.
- [15] BRODY R, ZHANG Y, BALLAS M, et al. PD-L1 expression in advanced NSCLC: Insights into risk stratification and treatment selection from a systematic literature review[J/OL]. *Lung Cancer*, 2017, 112: 200-215[2019-4-15]. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169500217304440>. DOI: 10.1016/j.lungcan.2016.04.021.
- [16] TAKADA K, TOYOKAWA G, OKAMOTO T, et al. A comprehensive analysis of programmed cell death ligand-1 expression with the clone SP142 antibody in non-small-cell lung cancer patients[J]. *Clin Lung Cancer*, 2017, 18(5): 572-582. DOI: 10.1016/j.clc.2017.02.004.

[收稿日期] 2019-01-05

[修回日期] 2019-03-20

[本文编辑] 黄静怡