

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.02.009

· 临床研究 ·

黑色素瘤患者种系抗原及核抗原 Ki-67 的表达水平及其与预后的关系

白雪, 李彩莉, 毛丽丽, 魏晓婷, 齐忠慧, 盛锡楠, 崔传亮, 迟志宏, 连斌, 王轩, 鄢谢桥, 唐碧霞, 周莉, 李思明, 段荣, 许华艳, 郭军, 斯璐 (北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所黑色素瘤内科, 北京 100142)

[摘要] **目的:**明确黑色素瘤组织中种系抗原及核抗原 Ki-67 的表达情况并分析其与患者生存预后的关系。**方法:**回顾性分析 2008 年 2 月至 2020 年 8 月期间就诊于北京大学肿瘤医院黑色素瘤内科的黑色素瘤患者的病理资料 [主要关注黑色素瘤种系抗原(包括 S-100、HMB-45、Melan-A)和 Ki-67 的表达情况] 以及人口统计学、临床特点及生存数据。对黑色素瘤种系抗原及 Ki-67 表达情况与黑色素瘤特异性生存时间(melanoma-specific survival, MSS)进行相关性分析。**结果:**共纳入 603 例患者, 中位随访时间 47.4 个月。其中 S-100 的阳性率为 92.8%、HMB-45 为 92.1%、Melan-A 为 90.0%。患者黑色素瘤种系抗原评分(S-100, HMB-45 和 Melan-A 三者纳入计分, 阳性者各计 1 分, 阴性计 0 分)为 0、1、2 和 3 分的患者分别占 0.5%、5.0%、15.6% 和 78.8%, Ki-67 评分为 0、1、2 和 3 的患者分别占 43.0%、36.3%、16.3% 和 4.5%。Ki-67 在黏膜及进展期黑色素瘤中呈高表达。在多因素分析中, Ki-67 的表达水平是较差 MSS 的独立预后因素, Ki-67 每升高 25%, 出现 MSS 终点事件的几率增加约 50% ($HR=1.506$, $95\%CI: 1.248-1.818$, $P<0.001$); 而黑色素瘤种系抗原表达评分与 MSS 无统计学意义上的相关性($HR=0.991$, $95\%CI: 0.759-1.293$, $P=0.94$)。**结论:**黑色素瘤组织中存在黑色素瘤种系抗原的高表达, Ki-67 为黑色素瘤特异性生存的独立预后因素。

[关键词] 黑色素瘤; 种系抗原; Ki-67; 预后; 生存

[中图分类号] R739.5; R730.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)02-0157-08

Expressions of melanoma lineage antigens and nuclear antigen Ki-67 and their correlations with prognosis in melanoma patients

BAI Xue, LI Caili, MAO Lili, WEI Xiaoting, QI Zhonghui, SHENG Xinan, CUI Chuanliang, CHI Zhihong, LIAN Bin, WANG Xuan, YAN Xieqiao, TANG Bixia, ZHOU Li, LI Siming, DUAN Rong, XU Huayan, GUO Jun, SI Lu (Department of Melanoma, Peking University Cancer Hospital & Beijing Institute for Cancer Research, Beijing 100142, China)

[Abstract] **Abstract:** To explore the expression patterns of melanoma lineage antigens and nuclear antigen Ki-67 and their correlations with survival in melanoma patients. **Methods:** A retrospective analysis was conducted to analyze the pathological data of melanoma patients treated at the Department of Melanoma, Peking University Cancer Hospital from February 2008 to August 2020, mainly including the expression patterns of melanoma lineage antigens (S-100, HMB-45, Melan-A) and Ki-67, demographics, clinical features and survival. The correlation between expression patterns of melanoma lineage antigens, Ki-67 and melanoma-specific survival (MSS) was analyzed. **Results:** In total, 603 patients were included in this study. The median follow-up time was 47.4 months. The positive rates of S-100, HMB, and Melan-A were 92.8%, 92.1% and 90.0%, respectively. The percentages of patients with melanoma lineage antigen scores (S-100, HMB-45 and Melan-A was scored each, as 1 when positive and 0 when negative) of 0, 1, 2, and 3 were 0.5%, 5.0%, 15.6%, and 78.8%, respectively. The percentages of patients with Ki-67 scores of 0, 1, 2, and 3 were 43.0%, 36.3%, 16.3%, and 4.5%, respectively. Ki-67 was highly expressed in mucosal and progressive melanomas. In a multivariate analysis, Ki-67 expression was an independent prognostic factor for poorer MSS ($HR=1.506$, $95\%CI: 1.248-1.818$, $P<0.001$) as the incidence of MSS event increased by 50% per 25% increase in Ki-67 expression, whereas there was no statistical correlation between melanoma lineage antigen expression and MSS ($HR=0.991$, $95\%CI: 0.759-1.293$, $P=0.94$). **Conclusion:** High expressions melanoma lineage antigens are ubiquitous in melanoma tissues, and Ki-67 is an independent prognostic factor for MSS.

[Key words] melanoma; lineage antigen; Ki-67; prognosis; survival

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(2): 157-164. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.02.009]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81972566, No. 81972562), 北京大学医学部青年培育基金资助项目(No. BMU2020PYB003)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81972566, No. 81972562) and the Fostering Young Scholars Foundation of Peking University Health Science Center (No. BMU2020PYB003)

[作者简介] 白雪(1986-), 女, 博士, 主治医师, 主要从事黑色素瘤及软组织肉瘤的相关研究, E-mail: baixue5673@126.com

[通信作者] 斯璐(SI Lu, corresponding author), 博士, 主任医师, 博士生导师, 主要从事黑色素瘤及软组织肉瘤的相关研究, E-mail: silu15_silu@126.com

黑色素瘤是生物学表现恶性程度最高、预后最差的皮肤肿瘤^[1]。皮肤黑色素瘤细胞呈现两种截然不同的表型状态,分别为增殖型和侵袭型。其中增殖型黑色素瘤细胞的典型表型特征为种系分化抗原高表达,并伴有 Ki-67 的高表达,与肿瘤细胞的快速生长相关;而侵袭型的典型表型特征为细胞的去分化状态、缓慢的细胞增殖(低 Ki-67 表达)和较高的细胞活动性^[2-3],并与黑色素瘤的转移,和包括放疗、靶向和免疫治疗在内的多药耐药有关^[4-10]。提示黑色素瘤表型特征可能与黑色素瘤患者的预后存在相关性。中国皮肤黑色素瘤患者与欧美患者在亚型特征、基因组学特征的分布上均具有较大的差异^[11],且对于免疫治疗不敏感^[12-13]。中国黑色素瘤的表型分布情况(增殖型 vs 侵袭型)及其与预后的关系仍不清楚。

黑色素瘤的去分化状态主要表现为黑色素瘤细胞种系分化抗原的低表达。黑色素瘤来源于黑色素细胞的恶变,其种系抗原为参与黑色素形成的相关蛋白,主要包括 TRP1, TYR, DCT, S-100, HMB-45 和 Melan-A^[14-16]。本研究选取黑色素瘤临床病理中的常见免疫组化染色指标 Ki-67 以衡量黑色素瘤细胞增殖程度,种系抗原 S-100、HMB-45 和 Melan-A 以衡量黑色素瘤的分化程度,回顾性总结上述指标在不同黑色素瘤亚型中的分布情况,并分析上其与患者预后生存情况的关系。

1 材料与方法

1.1 患者资料

调阅 2008 年 2 月至 2020 年 8 月在北京大学肿瘤医院肾癌黑色素瘤内科就诊的黑色素瘤患者病历资料,其中 603 例具有完整随访信息患者纳入本研究。回顾性收集患者瘤组织的病理 H-E 染色和免疫组织化学(IHC)染色信息,着重关注 Ki-67、S-100、HMB-45 和 Melan-A 的表达情况,同时收集患者性别、年龄等人口统计学特征,以及 v-raf 鼠肉瘤病毒癌基因同源体 B1 (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF)、神经母细胞瘤 RAS 病毒致癌基因同源物(NRAS)等肿瘤体细胞突变状况、黑色素瘤亚型、诊断时分期情况(参照 AJCC 第 8 版分期标准)等临床特征以及患者生存数据。

1.2 H-E 和 IHC 染色法检测黑色素瘤组织中种系抗原与 Ki-67 的表达

所有患者病理 H-E 和 IHC 染色切片均经我院病理科会诊、复核,且由两位病理科医生独立评估。回顾性收集经我院病理科复核的患者病理 IHC 染色信息,S-100、HMB-45 和 Melan-A 表达水平+、++、

+++均归为阳性,否则为阴性。Ki-67 表达水平分为 0~<25%、25%~<50%、50%~<75% 和 75%~100% 4 组,分别予评分 0、1、2 和 3 分。

1.3 统计学处理

本研究为回顾性研究设计。连续和分类变量分别以中位数、范围和绝对值、百分比表示。黑色素瘤特异性生存时间(melanoma-specific survival, MSS)定义为从诊断开始到因黑色素瘤死亡或末次随访的时间(月),以中位生存时间及 95% 置信区间(CI)表示。分类变量的组间差异依情况采用方差分析或 Fisher 精确检验,连续变量的组间差异依情况采用 Kruskal-Wallis 或 Wilcoxon 检验。单因素生存分析采用 Kaplan-Meier 曲线依据 log-rank 法及 Cox 比例风险回归模型进行。采用双侧检验,以 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。上述统计分析经由 R 语言完成(版本 3.6.0, R packages survival, survminer, ggplot2)。

2 结果

2.1 患者人口统计学、临床及病理特征

本研究总共纳入 603 例患者,中位年龄为 52 岁(范围 3~89 岁),其中男性 284 例(47.1%),中位随访时间为 47.4 个月(范围 0.6~274.9 个月),中位 MSS 为 45.1 个月(95% CI: 38.6~54.5 个月)。患者的黑色素瘤亚型、初诊分期、基因突变情况、基线乳酸脱氢酶(LDH)水平和体力情况按美国东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)标准的评分情况详见表 1。

在整组患者中,S-100 的阳性率为 92.8% (501/540),HMB-45 为 92.1% (524/569),Melan-A 为 90.0% (406/451)。患者黑色素瘤种系抗原评分(S-100, HMB-45 和 Melan-A 三者纳入计分,阳性者各计 1 分,阴性则计 0 分)为 0、1、2 和 3 分的患者分别占 0.5% (2/416)、5.0% (21/416)、15.6% (65/416) 和 78.8% (328/416)。Ki-67 评分为 0、1、2 和 3 的患者分别占 43.0% (259/603)、36.3% (219/603)、16.3% (98/603) 和 4.5% (27/603)。

2.2 患者病理特征与人口统计学以及临床特点的关系

患者黑色素瘤种系抗原表达情况与年龄性别、黑色素瘤亚型、初诊分期、基因突变情况、基线 LDH 和 ECOG 评分之间均无明确相关性(表 1)。Ki-67 的表达水平在黏膜黑色素瘤中显著高于其他亚型,且在 III/IV 期患者中显著高于 I/II 期,在年轻患者中有表达升高的趋势(表 2)。

表 1 603 例患者人口统计学、临床病理特点及其与黑色素瘤分化相关指标的关系 [n (%)]
 Tab.1 Demographics and clinicopathological characteristics of 603 patients and their correlations with melanoma differentiation related indices [n (%)]

Characteristics	Entire cohort (N=603)		S-100 (+) (N=540)		HMB-45 (+) (N=569)		Melan-A (+) (N=451)		Lineage antigen score (N=416)				P	
	n (%)	P	n (%)	P	n (%)	P	n (%)	P	0	1	2	3		
Age (t/a)														
≥ 65	90 (14.9)		424 (92.8)		444 (91.9)		345 (90.3)		0	3 (4.8)	14 (22.2)	46 (73.0)		0.27
<65	513 (85.1)		77 (92.8)		80 (93.0)		61 (88.4)		2 (0.6)	18 (5.1)	51 (14.4)	282 (79.9)		
Sex														
Male	284 (47.1)		235 (91.8)		278 (92.1)		184 (88.0)		1 (0.5)	10 (5.2)	35 (18.1)	147 (76.2)		0.24
Female	319 (52.9)		266 (93.7)		246 (92.1)		222 (91.7)		1 (0.4)	11 (4.9)	30 (13.5)	181 (81.2)		
Melanoma subtype														
Cutaneous	164 (27.2)		123 (89.8)		139 (91.4)		98 (90.7)		1 (1.0)	3 (3.0)	22 (22.2)	73 (73.7)		0.50
Acral	144 (23.9)		126 (94.7)		127 (91.4)		104 (89.7)		0	6 (5.5)	15 (13.8)	88 (80.7)		
Mucosal	174 (28.9)		147 (92.5)		153 (95.0)		126 (93.3)		0	6 (4.9)	15 (12.3)	101 (82.8)		
Ocular	24 (4.0)		20 (90.9)		21 (95.5)		15 (78.9)		0	0	5 (29.4)	12 (70.6)		
Unknown primary	93 (15.4)		81 (95.3)		80 (87.9)		59 (85.5)		1 (1.5)	6 (9.2)	8 (12.3)	50 (76.9)		
Meningeal	5 (0.8)		4 (100)		4 (100)		4 (100)		0	0	0	4 (100)		0.49
Stage														
I	31 (5.1)		27 (96.4)		28 (96.6)		21 (91.3)		0	1 (4.5)	2 (9.1)	19 (86.4)		
II	224 (37.1)		188 (93.1)		202 (94.8)		158 (90.8)		0	4 (2.5)	25 (15.7)	130 (81.8)		
III	112 (18.6)		91 (90.1)		97 (88.2)		76 (90.5)		1 (1.3)	5 (6.3)	15 (18.8)	59 (73.8)		

续表 1

Characteristics	Entire cohort (N=603)	S-100 (+) (N=540)		HMB-45 (+) (N=569)		Melan-A (+) (N=451)		Lineage antigen score (N=416)				P
		n (%)	P	n (%)	P	n (%)	P	0	1	2	3	
IV	147 (24.4)	129 (94.2)		123 (89.8)		94 (87.9)		0	10 (10.1)	12 (12.1)	77 (77.8)	
NA	89 (14.8)	66 (91.7)		74 (92.5)		57 (90.5)		1 (1.8)	1 (1.8)	11 (19.6)	43 (76.8)	
Mutation			0.70		0.62		0.48					0.29
BRAF	81 (13.4)	67 (93.1)		71 (92.2)		49 (90.7)		1 (1.9)	2 (3.8)	7 (13.2)	43 (81.1)	
NRAS	34 (5.6)	29 (90.6)		31 (93.9)		25 (96.2)		0	0	6 (26.1)	17 (73.9)	
C-KIT	25 (4.1)	21 (91.3)		25 (100)		16 (94.1)		0	0	2 (12.5)	14 (87.5)	
BRAF/NRAS/C-KIT wild type	320 (53.1)	272 (94.1)		279 (91.8)		224 (90.7)		1 (0.4)	10 (4.5)	31 (13.8)	182 (81.3)	
NA	143 (23.7)	112 (90.3)		118 (90.8)		92 (86.0)		0	9 (9.0)	19 (19.0)	72 (72.0)	
Baseline LDH			0.10		0.52		0.61					0.57
Elevated	71 (11.8)	353 (92.4)		378 (92.9)		290 (90.1)		1 (0.3)	16 (5.4)	43 (14.4)	238 (79.9)	
Normal	427 (70.8)	68 (98.6)		60 (90.9)		46 (86.8)		0	3 (6.0)	7 (14.0)	40 (80.0)	
NA	105 (17.4)	80 (89.9)		86 (89.6)		70 (92.1)		1 (1.5)	2 (2.9)	15 (22.1)	50 (73.5)	
ECOG			0.12		0.56		0.90					0.61
0	309 (51.2)	247 (90.8)		265 (91.1)		210 (90.5)		1 (0.5)	14 (6.6)	32 (15.0)	166 (77.9)	
1	190 (31.5)	175 (96.7)		174 (94.6)		128 (88.9)		0	4 (2.9)	20 (14.6)	113 (82.5)	
2	7 (1.2)	6 (100)		5 (83.3)		4 (80.0)		0	1 (25.0)	0	3 (75.0)	
3	2 (0.3)	2 (100)		2 (100)		1 (100)		0	0	0	1 (100)	
NA	95 (15.8)	71 (89.9)		78 (90.7)		63 (91.3)		1 (1.6)	2 (3.3)	13 (21.3)	45 (73.8)	

2.3 患者病理特征与预后的关系

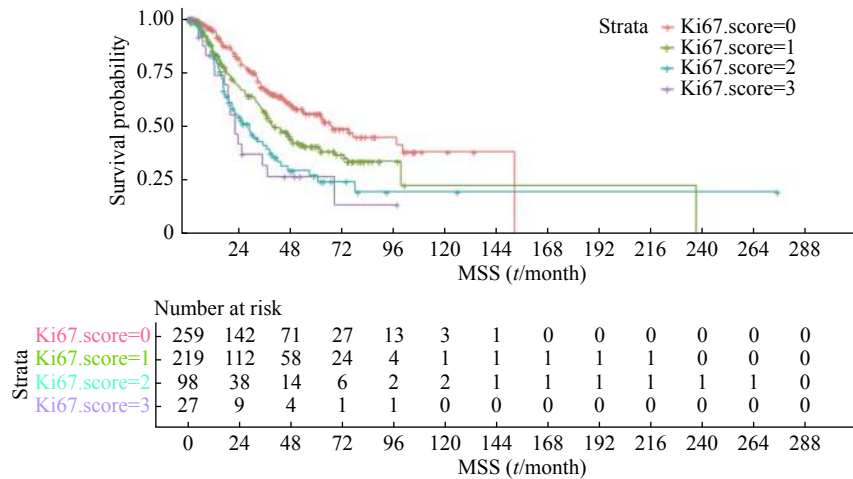
回顾性分析所有患者种系抗原表达评分与预后的关系, 并未得到阳性发现, 在应用 Cox 比例风险模型的单因素分析中, 未发现种系抗原评分与 MSS 存在相关性 ($HR=0.956$, $95\%CI: 0.739-1.238$, $P=0.74$)。在 Cox 比例风险模型的单因素分析中, Ki-67 与较差的 MSS 呈现显著的相关性 ($HR=1.452$, $95\%CI: 1.269-1.661$, $P<0.001$)。Ki-67 的表达水平每升高 25%, 出现 MSS 事件的风险上升 45.2% (图 1)。

在纳入了黑色素瘤亚型、初诊分期、基因突变状态、基线 ECOG 和 LDH 情况进行的 Cox 比例风险模型多因素分析中, Ki-67 的表达水平是较差 MSS 的独立预后因素, Ki-67 每升高 25%, 出现黑色素瘤特异性生存终点事件的几率增加 50% ($HR=1.506$, $95\%CI: 1.248-1.818$, $P<0.001$)。而黑色素瘤种系抗原表达评分与 MSS 并不存在统计学意义上的相关性 ($HR=0.991$, $95\%CI: 0.759-1.293$, $P=0.94$)。

表 2 603 例患者人口统计学、临床病理特征及其与 Ki-67 表达的关系 [n(%)]

Tab.2 Demographics and clinicopathological characteristics of 603 patients and their correlations with Ki-67 expression [n(%)]

Characteristics	Entire cohort (N=603)	Ki-67 expression level score				P
		0	1	2	3	
Age (t/a)						0.08
≥ 65	90 (14.9)	32 (35.6)	41 (45.6)	16 (17.8)	1 (1.1)	
<65	513 (85.1)	227 (44.2)	178 (34.7)	82 (16.0)	26 (5.1)	
Sex						0.87
Male	284 (47.1)	123 (43.3)	99 (34.9)	48 (16.9)	14 (4.9)	
Female	319 (52.9)	136 (42.6)	120 (37.6)	50 (15.7)	13 (4.1)	
Melanoma subtype						<0.001
Cutaneous	164 (27.2)	87 (53.0)	52 (31.7)	21 (12.8)	4 (2.4)	
Acral	144 (23.9)	78 (54.2)	42 (29.2)	20 (13.9)	4 (2.8)	
Mucosal	174 (28.9)	39 (22.4)	78 (44.8)	44 (25.3)	13 (7.5)	
Ocular	24 (4.0)	15 (62.5)	8 (33.3)	0	1 (4.2)	
Unknown primary	93 (15.4)	37 (39.8)	39 (41.9)	12 (12.9)	5 (5.4)	
Meningeal	5 (0.8)	3 (75.0)	0	1 (25.0)	0	
Stage						0.03
I	31 (5.1)	18 (58.1)	8 (25.8)	3 (9.7)	2 (6.5)	
II	224 (37.1)	110 (49.1)	74 (33.0)	35 (15.6)	5 (2.2)	
III	112 (18.6)	39 (34.8)	50 (44.6)	16 (14.3)	7 (6.3)	
IV	147 (24.4)	49 (33.3)	61 (41.5)	27 (18.4)	10 (6.8)	
NA	89 (14.8)	43 (48.3)	26 (29.2)	17 (19.1)	3 (3.4)	
Mutation						0.12
BRAF	81 (13.4)	39 (48.1)	33 (40.7)	9 (11.1)	0	
NRAS	34 (5.6)	14 (41.2)	13 (38.2)	7 (20.6)	0	
C-KIT	25 (4.1)	8 (32.0)	13 (52.0)	2 (8.0)	2 (8.0)	
BRAF/NRAS/C-KIT wild type	320 (53.1)	133 (41.6)	119 (37.2)	50 (15.6)	18 (5.6)	
NA	143 (23.7)	65 (45.5)	41 (28.7)	30 (21.0)	7 (4.9)	
Baseline LDH						0.13
Elevated	71 (11.8)	21 (29.6)	33 (46.5)	11 (15.5)	6 (8.5)	
Normal	427 (70.8)	193 (45.2)	150 (35.1)	66 (15.5)	18 (4.2)	
NA	105 (17.4)	45 (42.9)	36 (34.3)	21 (10.0)	3 (2.9)	
ECOG						0.36
0	309 (51.2)	146 (47.2)	108 (35.0)	43 (13.9)	12 (3.9)	
1	190 (31.5)	69 (36.3)	72 (37.9)	37 (19.5)	12 (6.3)	
2	7 (1.2)	2 (28.6)	5 (71.4)	0	0	
3	2 (0.3)	1 (50.0)	1 (50.0)	0	0	
NA	95 (15.8)	41 (43.2)	33 (34.7)	18 (18.9)	3 (3.2)	



Patients with Ki-67 scores of 0, 1, 2, and 3 (with corresponding positivity as 0-24%, 25-49%, 50-74%, and 75-100%) had the median MSS of 67.5 months (95% CI: 54.1-not reached), 39.8 months (95% CI: 36.0-52.4), 29.1 months (95% CI: 20.9-39.8), and 22.4 months (95% CI: 19.1-not reached) ($P<0.001$)

图 1 Ki-67 表达评分与 MSS 的关系

Fig.1 Association between Ki-67 score and MSS

3 讨论

本研究回顾性分析了具有完整病理和随访信息的就诊于北京大学肿瘤医院肾癌黑色素瘤内科的 603 例黑色素瘤患者的黑色素瘤种系抗原和 Ki-67 的表达情况及其与生存的关系,发现 Ki-67 与较晚的临床分期、黏膜黑色素瘤亚型具有相关性,且在校正相关预后因素之后仍是黑色素瘤特异性生存的独立预后因子,为基于 Ki-67 的预后分层标准的制定提供了依据。

前期在体外细胞系中进行的研究^[2-3]结果提示,黑色素瘤细胞存在增殖型和侵袭型两种不同亚型,前者以较短的细胞周期为主要特征,后者以较高的细胞活动度为核心表现。在西方高加索人种的皮肤黑色素瘤患者肿瘤样本中,上述两种细胞亚型同时存在,表现为连续的谱系变化,且在不同的患者中,优势细胞亚群存在明显差异^[17]。中国黑色素瘤与西方存在较大差异,主要表现为黑色素瘤亚型分布(中国以肢端和黏膜亚型为主,西方以皮肤亚型为主)^[11,18],以及基因组学方面的差异(中国黑色素瘤肿瘤突变负荷低、结构变异比例高)^[19-20],而黑色素瘤种系抗原表达差异方面尚少见报道。本研究首次明确,在中国黑色素瘤患者队列中,经免疫组化方法识别的黑色素瘤种系抗原表达水平较高,阳性率均在 90% 及以上。提示黑色素瘤种系抗原或可作为今后免疫治疗的作用靶点,可设计基于黑色素瘤种系抗原的疫苗以改善免疫治疗疗效^[21-23],为中国黑色素瘤患者后续免疫联合治疗的相关选择提供了线索。但值得注意的是,免疫组化作为定性检查手段,无法精确定量黑色素瘤种系抗原的表达水平以及在单个患

者中含有种系抗原表达和种系抗原表达缺失的细胞比例。同样,黑色素瘤种系抗原在免疫组化检测结果中普遍为阳性表达($\geq 90\%$),即阳性、阴性患者数目差异大,阴性患者 MSS 事件发生例数少,也可能是 IHC 黑色素瘤种系抗原评分与 MSS 之间缺乏相关性的原因之一。

对于 Ki-67 的表达,本研究结果提示, Ki-67 的表达水平与黏膜黑色素瘤亚型、较晚的临床分期以及较早的发病年龄之间存在正相关,且在校正黑色素瘤亚型、初诊分期、基因突变状态、基线 ECOG 和 LDH 情况后, Ki-67 仍然为较差 MSS 的独立预后因素。Ki-67 在早期和皮肤黑色素瘤亚型中的预后指导价值已有报道^[24-25],但鉴于以肢端和黏膜亚型为主的亚洲黑色素瘤和以皮肤亚型为主的欧美黑色素瘤在基因组学等方面存在巨大差异,目前,在亚洲黑色素瘤中 Ki-67 是否与预后相关、是否可以作为预后指标仍不明确。本研究提示 Ki-67 的应用范围并不局限于早期皮肤黑色素瘤中,在晚期患者和肢端、黏膜黑色素瘤中也同样适用。

本研究的局限性主要在于这是一项单中心的回顾性研究。尽管样本量较大,但选择性偏移仍无法避免。其次,本研究为探索性研究,尚未经外部队列系统性验证。再次,本研究纳入的患者中 IV 期患者较少,且由于纳入时间原因,大多未接受免疫检查点抑制剂治疗。随着免疫检查点抑制剂 PD-1 单抗近在中国获批上市,IV 期患者的生存情况得以得到一定程度上的改善,但目前黑色素瘤种系抗原和 Ki-67 的表达水平与 PD-1 单抗疗效的关系尚不明确。本课题组拟继续纳入接受 PD-1 单抗治疗的多中心数据,进一步扩大样本量,明确在免疫治疗时

代中黑色素瘤种系抗原和 Ki-67 表达情况可否用于指导临床实践用药。同时, 鉴于中国黑色素瘤与欧美人群存在较大差异, 还需在后续的研究中关注黑色素瘤的发病机制, 及时识别黑色素瘤的发生而进行早期干预。

综上所述, 截至发表时间, 本研究是国内样本量最大的针对黑色素瘤种系抗原和 Ki-67 表达水平及其与患者预后相关关系的研究, 明确了黑色素瘤种系抗原和 Ki-67 在不同黑色素瘤亚型中的表达情况, 并为 Ki-67 作为中国黑色素瘤预后预测因子奠定了研究基础。

[参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21590.
- [2] HOEK K S, SCHLEGEL N C, BRAFFORD P, et al. Metastatic potential of melanomas defined by specific gene expression profiles with no BRAF signature[J]. *Pigment Cell Res*, 2006, 19(4): 290-302. DOI: 10.1111/j.1600-0749.2006.00322.x.
- [3] HOEK K S, EICHHOFF O M, SCHLEGEL N C, et al. In vivo switching of human melanoma cells between proliferative and invasive states[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(3): 650-656. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2491.
- [4] ZHANG X R, YE C Y, SUN F, et al. Both complexity and location of DNA damage contribute to cellular senescence induced by ionizing radiation[J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0155725[2020-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4871470/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0155725.
- [5] SUN X R, SHI B Y, ZHENG H L, et al. Senescence-associated secretory factors induced by cisplatin in melanoma cells promote non-senescent melanoma cell growth through activation of the ERK1/2-RSK1 pathway[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 260[2020-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5833767/>. DOI: 10.1038/s41419-018-0303-9.
- [6] HUGO W, SHI H B, SUN L, et al. Non-genomic and immune evolution of melanoma acquiring MAPKi resistance[J/OL]. *Cell*, 2015, 162(6): 1271-1285[2020-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4821508/>. DOI: 10.1016/j.cell.2015.07.061.
- [7] LEE J H, SHKLOVSKAYA E, LIM S Y, et al. Transcriptional downregulation of MHC class I and melanoma de-differentiation in resistance to PD-1 inhibition[J/OL]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1897[2020-11-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7171183/>. DOI: 10.1038/s41467-020-15726-7.
- [8] RAMBOW F, ROGIERS A, MARIN-BEJAR O, et al. Toward minimal residual disease-directed therapy in melanoma[J]. *Cell*, 2018, 174(4): 843-855. DOI: 10.1016/j.cell.2018.06.025.
- [9] RODIG S J, GUSENLEITNER D, JACKSON D G, et al. MHC proteins confer differential sensitivity to CTLA-4 and PD-1 blockade in untreated metastatic melanoma[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(450): eaar3342. DOI: 10.1126/scitranslmed.aar3342.
- [10] MEHTA A, KIM Y J, ROBERT L, et al. Immunotherapy resistance by inflammation-induced dedifferentiation[J/OL]. *Cancer Discov*, 2018, 8(8): 935-943[2020-11-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6076867/>. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-1178.
- [11] CHI Z, LI S, SHENG X, et al. Clinical presentation, histology, and prognoses of malignant melanoma in ethnic Chinese: a study of 522 consecutive cases[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 85. DOI: 10.1186/1471-2407-11-85.
- [12] SI L, ZHANG X S, SHU Y Q, et al. A phase Ib study of pembrolizumab as second-line therapy for Chinese patients with advanced or metastatic melanoma (KEYNOTE-151)[J/OL]. *Transl Oncol*, 2019, 12(6): 828-835[2020-11-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6458446/>. DOI: 10.1016/j.tranon.2019.02.007.
- [13] TANG B X, CHI Z H, CHEN Y B, et al. Safety, efficacy, and biomarker analysis of toripalimab in previously treated advanced melanoma: results of the POLARIS-01 multicenter phase II trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(16): 4250-4259. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3922.
- [14] HARTMAN M L, CZYZ M. Pro-survival role of MITF in melanoma[J]. *J Invest Dermatol*, 2015, 135(2): 352-358. DOI: 10.1038/jid.2014.319.
- [15] BOYLE G M, WOODS S L, BONAZZI V F, et al. Melanoma cell invasiveness is regulated by miR-211 suppression of the BRN2 transcription factor[J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2011, 24(3): 525-537. DOI: 10.1111/j.1755-148X.2011.00849.x.
- [16] O'CONNELL M P, MARCHBANK K, WEBSTER M R, et al. Hypoxia induces phenotypic plasticity and therapy resistance in melanoma via the tyrosine kinase receptors ROR1 and ROR2[J/OL]. *Cancer Discov*, 2013, 3(12): 1378-1393[2020-11-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3918498/>. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0005.
- [17] TIROSH I, IZAR B, PRAKADAN S M, et al. Dissecting the multicellular ecosystem of metastatic melanoma by single-cell RNA-seq[J/OL]. *Science*, 2016, 352(6282): 189-196[2020-11-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4944528/>. DOI: 10.1126/science.aad0501.
- [18] SHAIKH W R, XIONG M, WEINSTOCK M A. The contribution of nodular subtype to melanoma mortality in the United States, 1978 to 2007[J]. *Arch Dermatol*, 2012, 148(1): 30-36. DOI: 10.1001/archdermatol.2011.264.
- [19] NEWELL F, KONG Y, WILMOTT J S, et al. Whole-genome landscape of mucosal melanoma reveals diverse drivers and therapeutic targets[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3163. DOI: 10.1038/s41467-019-11107-x.
- [20] HAYWARD N K, WILMOTT J S, WADDELL N, et al. Whole-genome landscapes of major melanoma subtypes[J]. *Nature*, 2017, 545(7653): 175-180. DOI: 10.1038/nature22071.
- [21] CARRETERO-IGLESIA L, COUTURAUD B, BAUMGAERTNER P, et al. High peptide dose vaccination promotes the early selection of tumor antigen-specific CD8 T-cells of enhanced functional competence[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 3016[2020-11-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6960191/>. DOI: 10.3389/fimm.2019.00301.

[10.3389/fimmu.2019.03016](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03016).

[22] PRZYBYLA A, ZHANG T, LI R L, et al. Natural T cell autoreactivity to melanoma antigens: clonally expanded melanoma-antigen specific CD8⁺ memory T cells can be detected in healthy humans[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68(5): 709-720. DOI: 10.1007/s00262-018-02292-7.

[23] BLOCK M S, NEVALA W K, PANG Y P, et al. A pilot clinical trial testing topical resiquimod and a xenopeptide as immune adjuvants for a melanoma vaccine targeting MART-1[J]. *Melanoma Res*, 2019, 29(4): 420-427. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000556.

[24] GIMOTTY P A, VAN BELLE P, ELDER D E, et al. Biologic and prognostic significance of dermal Ki67 expression, mitoses, and tumorigenicity in thin invasive cutaneous melanoma[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(31): 8048-8056. DOI: 10.1200/JCO.2005.02.0735.

[25] 李彩莉, 白雪, 毛丽丽, 等. Ki-67表达在早期皮肤黑色素瘤的预后分析[J]. *中华转移性肿瘤杂志*, 2020, 3(2): 87-91. DOI: 10.3760/cma.j.cn101548-20200701-00093.

[收稿日期] 2020-12-01

[修回日期] 2021-01-17

[本文编辑] 黄静怡