·论　　著·　　DOI：10.3969/j.issn.1672-9455.2020.20.008

TTF-1、Ki67 及 P63 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及意义*

黄花英[1]，刘　洋[1]，周　莹[1]，魏　溪[2]，阳　韬[1]，张　金[1]
江苏大学附属人民医院：1.呼吸与危重症医学科；2.病理科，江苏镇江 212002

摘　要：目的　探讨甲状腺转录因子-1（TTF-1）、细胞核相关抗原 Ki-67（Ki67）和 P63 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及意义。**方法**　借助免疫组化技术测定 128 例非小细胞肺癌患者癌组织中 TTF-1、Ki67 和 P63 蛋白的阳性表达情况，并分析其与非小细胞肺癌患者临床特征的关系。**结果**　（1）非小细胞肺癌组织中的 TTF-1、Ki67、P63 蛋白均呈高表达。（2）TTF-1 表达与 TNM 分期、分化程度以及远处转移均有关（$P<0.05$），TNM 分期Ⅰ～Ⅱ期、中-高分化、无远处转移的非小细胞肺癌患者 TTF-1 阳性率比 TNM 分期Ⅲ～Ⅳ期、低分化、有远处转移的患者低（$P<0.05$），而 TTF-1 阳性表达与淋巴结转移无关（$P>0.05$）。Ki67 表达与 TNM 分期、远处转移、淋巴结转移以及分化程度均有关（$P<0.05$）。P63 蛋白表达与 TNM 分期、远处转移有关（$P<0.05$），与淋巴结转移以及分化程度无关（$P>0.05$）。**结论**　TTF-1、Ki67 及 P63 蛋白于非小细胞肺癌患者体内呈高表达，对患者的诊断和预后评价具有重要意义。

关键词：非小细胞肺癌；　临床病理；　甲状腺转录因子-1；　细胞核相关抗原 Ki-67；　P63 蛋白
中图法分类号：R734.2　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9455(2020)20-2941-04

Expression and significance of TTF-1，Ki67 and P63 protein in non-small cell lung cancer*

HUANG Huaying[1]，*LIU Yang*[1]，*ZHOU Ying*[1]，*WEI Xi*[2]，*YANG Tao*[1]，*ZHANG Jin*[1]
1. *Department of Respiration and Critical Medicine*；2. *Department of Pathology*，*Affiliated People's Hospital of Jiangsu University*，*Zhenjiang*，*Jiangsu* 212002，*China*

Abstract：Objective　To investigate the expression and significance of thyroid transcription factor-1 (TTF-1), nucleus-associated antigen Ki-67 (Ki67) and P63 protein in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods**　The positive expression levels of TTF-1，Ki67 and P63 protein in the cancer tissues of 128 patients with NSCLC were determined by using the immunohistochemical technology，and their relationship with the clinical characteristics in the patients with NSCLC was analyzed. **Results**　(1) TTF-1，Ki67 and P63 proteins were all highly expressed in NSCLC tissues. (2) The TTF-1 expression was related to the TNM stage，differentiation degree and distant metastasis ($P<0.05$). The positive rate of TTF-1 in the patients with TNM stage Ⅰ－Ⅱ，middle and high differentiation and non-distant metastasis was lower than that in the patients with TNM stage Ⅲ－Ⅳ，low differentiation and distant metastasis ($P<0.05$). The TTF-1 positive expression had no relationship with lymph node metastasis ($P>0.05$). The Ki67 expression was related to the TNM stage，distant metastasis，lymph node metastasis and differentiation degree ($P<0.05$). The P63 protein expression was related to the TNM stage and distant metastasis ($P<0.05$)，but had no relation with lymph node metastasis and differentiation degree ($P>0.05$). **Conclusion**　TTF-1，Ki67 and P63 protein show the in vivo high expression in the patients with NSCLC，and have the important significance in the diagnosis and prognosis evaluation.

Key words：non-small cell lung cancer；　clinicopathology；　thyroid transcription factor-1；　nuclear associated antigen Ki-67；　P63 protein

肺癌是源自支气管黏膜或腺体的恶性肿瘤。在我国，其发病率居于所有恶性肿瘤的首位，患者被发现时多已处于晚期，预后较差。临床上将肺癌按病理学表现分为非小细胞肺癌（NSCLC）与小细胞肺癌，其中 NSCLC 更常见，主要包括鳞状细胞癌、腺癌等。流行病学研究表明，NSCLC 的发病率为 23.3/10 000～55.4/10 000[1]。目前，临床上以外科手术、化疗及生物靶向药物等作为 NSCLC 的主要治疗手段，但部分患者预后较差，易发生远处转移。肺癌确诊与分型的金标准为病理检查。对于中-高分化的 NSCLC 一般不难诊断，但是对于分化差肿瘤的分型，有时十分困难，甚至不能在光镜下鉴别，特别在 CT 引导下经皮肺

*　**基金项目：**江苏省镇江市重点研发计划（SH2018077）。
作者简介：黄花英，女，主治医师，主要从事肺癌分子靶向治疗研究。

穿刺、经纤维支气管镜针吸活检术或超声支气管镜引导下经支气管针吸活检术检查中，由于标本取材少、组织挤压、细胞坏死或其他原因导致诊断困难。这就需要寻找适合 NSCLC 诊断的免疫组化检测指标。

甲状腺转录因子-1(TTF-1)是一种相对分子质量为 40×10^3 的核蛋白，属于 NKX2 转录基因家族的主要成员，在肺泡上皮细胞和甲状腺上皮细胞的分化中发挥着重要的作用。其还可调节肺泡表面蛋白 A、B 和支气管无纤毛分泌细胞抗原基因表达，在患者病情进展过程中起着至关重要的作用[2]。细胞核相关抗原 Ki-67(Ki67)是近年来广大医务人员公认的有效评估肿瘤细胞增殖活性的一种标志物，在肺癌中的作用已得到广泛认可，且随着肺癌患者病情的不断加重以及淋巴结转移，其表达明显上升[3]。P63 蛋白常表达于上皮组织基底层，在正常上皮组织的形成中发挥重要作用。P63 蛋白在鳞状细胞源性的各种良恶性肿瘤组织中表达，尤其在鳞状细胞癌组织中表达增强，且表达水平及分布与鳞状细胞癌细胞的癌变程度显著相关[4]。在正常肺组织中，P63 蛋白表达于支气管储备细胞中，不表达于肺泡上皮细胞、纤毛细胞或非上皮细胞。为了进一步揭示 TTF-1、Ki67 和 P63 蛋白在 NSCLC 患者中的表达情况以及这 3 种蛋白同患者临床病理表现的关系，本研究收集了相关病例进行研究，以期为 NSCLC 的临床诊断和预后评价提供参考，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选择 128 例经病理检查确诊为 NSCLC 且于 2013 年 9 月至 2019 年 5 月在江苏大学附属人民医院接受手术切除的患者，其中男 93 例，女 35 例；年龄 30～86 岁，平均(65.52±70.04)岁；组织学分级：中-高分化 56 例，低分化 72 例；远处转移 78 例，无远处转移 50 例；淋巴结转移 73 例，无淋巴结转移 55 例；TNM 分期：Ⅰ～Ⅱ期 61 例，Ⅲ～Ⅳ期 67 例。术前与术后，每例患者都未行化疗、放疗干预，且无肺以外的原发肿瘤。

1.2　方法　采集研究对象 NSCLC 组织进行病理检查，4%甲醛溶液固定，石蜡包埋，连续切片(厚度 4 μm)后进行免疫组化染色(SP 法)。鼠抗人 TTF-1 单克隆抗体、鼠抗人 Ki67 单克隆抗体以及鼠抗人 P63 单克隆抗体均购自南京凯基生物制剂有限公司。

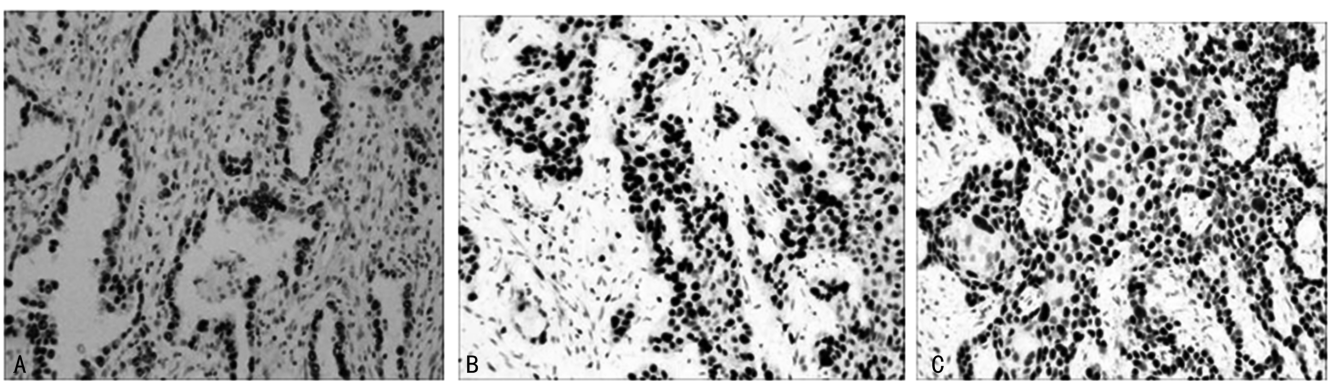
1.3　判断指标　TTF-1、Ki67 及 P63 蛋白均定位于细胞核，阳性表达为棕色或黄色颗粒。在高倍镜下进行观察，取 5 个视野共计数 100 个细胞，按照染色强度及阳性细胞所占比例进行评分，具体标准如下：染色后细胞无着色或肿瘤细胞阳性表达＜10%为阴性；肿瘤细胞阳性表达 10%～25%为“＋”；肿瘤细胞阳性表达＞25%～50%为“＋＋”；肿瘤细胞阳性表达在 50%以上为“＋＋＋”。

1.4　统计学处理　采用 SPSS23.0 统计软件进行数据处理和分析。计数资料以率表示，组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　TTF-1、P63 蛋白与 Ki67 在 NSCLC 组织内 SP 法染色结果　选取 3 张具有代表性的染色图片，从图 1 中可以观察到 TTF-1、Ki67 和 P63 蛋白均定位于细胞核，呈棕褐色或棕黄色，灶性、片状或弥漫分布。

2.2　不同临床特征 NSCLC 患者 TTF-1、Ki67 和 P63 蛋白阳性率的比较　这 3 种蛋白在 NSCLC 组织中都呈阳性表达。TTF-1 表达与 TNM 分期、分化程度以及远处转移均有关($P<0.05$)。Ⅰ～Ⅱ期患者 NSCLC 组织 TTF-1 阳性率明显低于Ⅲ～Ⅳ期患者($P<0.05$)，中-高分化患者 NSCLC 组织 TTF-1 阳性率明显低于低分化患者($P<0.05$)，有远处转移患者 NSCLC 组织 TTF-1 阳性率明显高于无远处转移的患者($P<0.05$)，而 TTF-1 阳性率与淋巴结转移无关患者($P>0.05$)。Ki67 表达与 TNM 分期、远处转移、淋巴结转移以及分化程度均有关($P<0.05$)。P63 蛋白表达与 TNM 分期、远处转移有关($P<0.05$)，与淋巴结转移及分化程度无关($P>0.05$)。见表 1。



注：A 为 TTF-1 阳性表达；B 为 Ki67 阳性表达；C 为 P63 蛋白阳性表达。

图 1　TTF-1、P63 蛋白与 Ki67 在 NSCLC 组织中的表达情况(×200)

表 1　不同临床特征 NSCLC 患者 TTF-1、Ki67 与 P63 蛋白阳性率比较[n(%)]

临床特征	n	TTF-1			Ki67			P63 蛋白		
		阳性率	χ^2	P	阳性率	χ^2	P	阳性率	χ^2	P
TNM 分期			8.794	0.003		20.959	0.001		18.407	0.001
Ⅰ～Ⅱ期	61	26(42.62)			23(37.70)			12(19.67)		
Ⅲ～Ⅳ期	67	46(68.66)			52(77.61)			38(56.72)		
淋巴结转移			0.486	0.486		11.186	0.001		2.693	0.101
有	73	43(58.90)			52(71.23)			33(45.21)		
无	55	29(52.73)			23(41.81)			17(30.91)		
远处转移			5.003	0.025		17.009	0.001		10.035	0.001
有	78	50(64.10)			62(79.49)			39(50.00)		
无	50	22(44.00)			22(44.00)			11(22.00)		
分化程度			16.842	0.001		12.430	0.001		3.170	0.075
低分化	72	53(73.61)			53(73.61)			33(45.83)		
中-高分化	56	21(37.50)			24(42.86)			17(30.36)		

3　讨　论

肺癌是常见的恶性肿瘤，其发病率和病死率在恶性肿瘤中较高。虽然肺癌的治疗手段不断更新，患者的生存率有所提高，但总体疗效仍不理想，5 年生存率并没有明显提高。近年来随着分子生物学技术的发展和对肺癌发生、发展机制认识的不断深入，分子靶向治疗逐渐成为肺癌治疗的主要手段，而且也取得了较为满意的治疗效果，但有些靶向治疗或联合治疗方案与肿瘤组织学类型密切相关。在实际工作中，有些肺癌的组织学类型仅靠光镜难以确诊，必须借助免疫组化法来确诊。随着免疫组化法在肺癌诊断中的应用，研究表明，多种抗体联合检测在肺癌组织学分类中的诊断意义远远优于单一抗体[5]。并且肺癌的组织学类型和免疫表型比较复杂，寻找一套简单而特异的抗体组合显得尤为重要。本文通过检测 TTF-1、Ki67、P63 蛋白在 128 例 NSCLC 患者中的表达，发现这 3 种蛋白对于 NSCLC 的鉴别诊断具有重要意义。

TTF-1 由常染色体 14q13 的单一位点基因所编码，能参与调控许多基因的表达，主要分布于甲状腺、间脑和呼吸道上皮[6]。近年来，TTF-1 被认为是肺腺癌中最敏感、特异的标志物，已被广泛用于原发性肺癌和转移性肺癌的鉴别诊断。汪潜云等[7]研究发现，在 58 例 NSCLC 患者中，TTF-1 阳性是一个不良的预后因素，并且与性别、年龄、肿瘤部位、组织分级、淋巴结转移及 TNM 分期均无关（$P>0.05$）。本研究发现，TTF-1 表达与 TNM 分期、分化程度以及远处转移均有关（$P<0.05$），但是与淋巴结转移无关（$P>0.05$）。

Ki67 基因定位于第 10 号染色体，其蛋白质产物定位于细胞核，由相对分子质量为 345×10^3 和 395×10^3 的两条多肽链组成，其在 G1 后期开始出现，在 S 期和 G2 期逐渐升高，M 期达到高峰，有丝分裂结束后迅速降解消失，G0 期无表达[8]。研究表明，多种实体恶性肿瘤中 Ki67 的阳性率要远远高于正常组织，并且与肿瘤的发生发展、浸润转移及预后有关，Ki67 表达的高低，对评价细胞增殖活性，研究肿瘤的生物学行为和预后具有重要意义[9]。纪勇等[10]研究发现，在 67 例肺癌手术患者中，淋巴结转移组 Ki67 的表达高于无淋巴结转移组；TNM 分期Ⅲ期组 Ki67 的表达高于Ⅰ、Ⅱ期组；低分化组的表达高于高分化组。这提示 Ki67 的表达可能与肿瘤的浸润转移、TNM 分期和分化程度有关。本研究发现，Ki67 表达与 TNM 分期、远处转移、淋巴结转移以及分化程度均有关（$P<0.05$）。这提示 Ki67 表达越高，肿瘤组织细胞增殖越活跃，分化程度越低，患者预后差。

P63 基因是 P53 基因家族成员之一，在人和鼠的上皮组织（包括表皮、宫颈、泌尿道及前列腺等具有鳞状上皮分化潜能的基底层细胞、副基底层细胞及肌上皮细胞）中广泛而有选择性地表达[11]。P63 基因可能对肺鳞状细胞癌的发生、发展起着特别的作用。在本组 128 例 NSCLC 组织内，P63 蛋白表达与 TNM 分期、远处转移有关（$P<0.05$），与淋巴结转移及分化程度无关（$P>0.05$）。GURGUS 等[12]研究发现，检测 P63 蛋白和 TTF-1 的表达可用于区分小细胞肺癌和低分化的 NSCLC。因此，TTF-1、Ki67 和 P63 蛋白可能是诊断 NSCLC 的有效生物标志物，对于判断 NSCLC 的恶性程度和预后具有一定的临床意义。

参考文献

[1] ZHANG X C，WANG J，SHAO G G，et al. Comprehensive genomic and immunological characterization of Chinese non-small cell lung cancer patients[J]. Nature Commun，2019，10(1)：1-12.

[2] PARK J Y，JANG S H，KIM H I，et al. Thyroid transcription factor-1 as a prognostic indicator（下转第 2947 页）

态性位点的 C 等位基因可能为预防冠心病的保护基因。本研究结果提示 miR-27a rs895819(T＞C)多态性与广东佛山地区人群的冠心病发生没有关联性。可能该结果需要更大的样本量来验证其与遗传易感性的关系，且 miR-27a 及其靶点调控心肌梗死发生和发展的机制尚不清楚，在对 miR-27a rs895819 多态性和冠心病之间的联系进行功能评估之前，可能还需要进行更多的研究。

参考文献

[1] FICHTLSCHERER S，ROSA S D，FOX H，et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease[J]. Cir Res，2010，107(5)：677-684.

[2] ZHANG Q W，KANDIC I，KUTRYK M J. Dysregulation of angiogenesis-related microRNAs in endothelial progenitor cells from patients with coronary artery disease[J]. Biochem Biophys Res Commun，2011，405(1)：42-46.

[3] WANG T T，CHEN Y J，SUN L L，et al. Affection of single-nucleotide polymorphisms in miR-27a，miR-124a，and miR-146a on susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Chinese Han people[J]. Chin Med J(Engl)，2015，128(4)：533-539.

[4] SHANKARAN Z S，WALTER C E J，PRAKASH N，et al. Investigating the role of microRNA-27a gene polymorphisms and its interactive effect with risk factors in gastrointestinal cancers[J]. Heliyon，2020，6(3)：e03565.

[5] YANG R，SCHLEHE B，HEMMINKI K，et al. A genetic variant in the pre-miR-27a oncogene is associated with a reduced familial breast cancer risk[J]. Breast Cancer Res Treat，2010，121(3)：693-702.

[6] SHIRASAKI T，HONDA M，SHIMAKAMI T，et al. MicroRNA-27a regulates lipid metabolism and inhibits hepatitis C virus replication in human hepatoma cells[J]. J Virol，2013，87(9)：5270-5286.

[7] KHAN A A，AGARWAL H，REDDY S S，et al. MicroRNA-27a is a key modulator of cholesterol biosynthesis[J]. Mol Cell Biol，2020，40(9)：e00470-e00519.

[8] CHISTIAKOV D A，OREKHOV A N，BOBRYSHEV Y V. The role of miR-126 in embryonic angiogenesis，adult vascular homeostasis，and vascular repair and its alterations in atherosclerotic disease[J]. J Mol Cell Cardiol，2016，97：47-55.

[9] URBICH C，KALUZA D，FRÖMEL T，et al. MicroRNA-27a/b controls endothelial cell repulsion and angiogenesis by targeting semaphorin 6A[J]. Blood，2012，119(6)：1607-1616.

[10] DAI J，CHEN Y T，GONG Y，et al. Association of microRNA-27a rs895819 polymorphism with the risk of cancer：an updated Meta-analysis[J]. Gene，2020，728：144185.

[11] CAI M Y，CHENG J，ZHOU M Y，et al. The association between pre-miR-27a rs895819 polymorphism and myocardial infarction risk in a Chinese Han population[J]. Lipids Health Dis，2018，17(1)：7.

(收稿日期：2019-11-10　修回日期：2020-05-02)

(上接第 2943 页)

for stage Ⅳ lung adenocarcinoma with and without EGFR-sensitizing mutations[J]. BMC Cancer，2019，19(1)：574-580.

[3] MILLER I，MIN M，YANG C，et al. Ki67 is a Graded rather than a binary marker of proliferation versus quiescence[J]. Cell Rep，2018，24(5)：1105-1112.

[4] MOSES M A，GEORGE A L，SAKAKIBARA N，et al. Molecular mechanisms of p63-mediated squamous cancer pathogenesis[J]. Int J Molec Sci，2019，20(14)：3590.

[5] ZHANG C，SCHMIDT L A，HATANAKA K，et al. Evaluation of napsin A，TTF-1，p63，p40，and CK5/6 immunohistochemical stains in pulmonary neuroendocrine tumors[J]. Am J Clini Pathol，2014，142(3)：320-324.

[6] CHEN C，SHEN D，LI J，et al. TTF-1 and EGFR expression are related to EGFR mutation in lung adenocarcinoma[J]. Int J Clini Exp Pathol，2018，11(9)：4650.

[7] 汪潜云，严煜. 甲状腺转录因子-1 在非小细胞肺癌中的表达及其意义[J]. 中华实验外科杂志，2004，21(4)：482.

[8] KUCUKMETIN N T，CICEK B，SARUC M，et al. Ki67 as a prognostic factor for long-term outcome following surgery in gastrointestinal stromal tumors[J]. Euro J Gastroenterol Hepatol，2015，27(11)：1276-1280.

[9] MA Y L，PENG J Y，ZHANG P，et al. Immunohistochemical analysis revealed CD34 and Ki67 protein expression as significant prognostic factors in colorectal cancer[J]. Med Oncol，2010，27(2)：304-309.

[10] 纪勇，张梓威，陈静瑜，等. 非小细胞肺癌组织中 PTEN 基因与 Ki67 蛋白的表达及其意义[J]. 东南大学学报(医学版)，2013，32(2)：141-145.

[11] KRIEGSMANN K，CREMER M，ZGORZELSKI C，et al. Agreement of CK5/6，p40，and p63 immunoreactivity in non-small cell lung cancer[J]. Pathology，2019，51(3)：240-245.

[12] GURGUS D，GRIGORAS M L，MOTOC A G M，et al. Clinical relevance and accuracy of p63 and TTF-1 for better approach of small cell lung carcinoma versus poorly differentiated nonkeratinizing squamous cell carcinoma[J]. Rom J Morphol Embryol，2019，60(1)：139-143.

(收稿日期：2019-12-14　修回日期：2020-05-02)