

Ki-67 在木村病患者中的表达和复发相关因素分析

邓维叶, 高云飞, 陈艳峰, 李秋梨, 李 浩, 杨安奎, 张 诤, 郭朱明*

(中山大学肿瘤防治中心//华南肿瘤学国家重点实验室//肿瘤医学协同创新中心 头颈科, 广东 广州 510630)

摘 要:【目的】探讨增殖相关抗原 Ki-67 在木村病(KD)患者中的表达及其与复发相关因素的关系。【方法】用链酶素生物素-过氧化物酶(SP 法)对 40 例经手术治疗病理证实为木村病的石蜡组织检测 Ki-67 的表达,评估其在复发和无复发患者中的表达情况。【结果】在 40 例患者中,男性 37 例,女性 3 例,年龄 10~75 岁,34 例患者的主要肿块位于头颈部,其余 7 例主要肿块位于上腭或腹股沟区域,肿块最大直径为 6.5 cm。Ki-67 在木村病复发患者(11/40)淋巴结组织中(不包括生发中心)表达高于无复发的患者($P < 0.05$)。Ki-67 表达与性别、年龄、肿块最大直径、发病部位、嗜酸性粒细胞计数及肿块个数无相关性($P > 0.05$)。【结论】Ki-67 的表达与木村病的复发相关,可考虑作为预测木村病患者复发的一个有效观察指标。

关键词: 木村病(KD);复发;嗜酸性淋巴肉芽肿

中图分类号:R733.4

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2014)04-0584-05

Expression of Ki-67 and Recurrence-related Factors in Patients with Kimura's Disease

DENG Wei-ye, GAO Yun-fei, CHEN Yan-feng, LI Qiu-li, LI Hao, YANG An-kui, ZHANG Quan,

GUO Zhu-ming*

(Department of Head and Neck Surgery, Sun Yat-sen University Cancer Center//State Laboratory of Oncology in South China//Collaborative Innovation Center of Cancer Medicine, Guangzhou 510630, China)

Abstract:【Objective】To discuss the expression of proliferation related antigen Ki-67 and the correlation between Ki-67 expression and recurrence-related prognosis factors in Kimura's disease (KD). 【Methods】Using SP methods to evaluate the expression of Ki-67 in 40 KD cases confirmed by pathological results and comparing the difference between the recurrent and no recurrent patients of Kimura's disease. 【Results】Among the 40 cases, males took up 37 cases and other 3 cases were females with an age range from 10-75 years old. The major masses of 34 cases were located in head and neck regions, other cases located in hard palate or groin regions. The largest mass size was 6.5 cm. Ki-67 had higher expressions (11/40) in the lymph nodes pathological sections (exclude the germinal center) of recurrent KD patients than the KD patients without recurrence ($P < 0.05$). The expression of Ki-67 had no statistical significance with gender, age, the largest size of mass, mass location, eosinophil counts, and the numbers of mass ($P > 0.05$). 【Conclusion】Ki-67 has a correlation with recurrent KD and it suggested Ki-67 could be considered as an effective marker to predict the recurrence of KD.

Key words: Kimura's disease(KD); recurrence; eosinophilic granuloma

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2014, 35(4):584-588]

木村病(Kimura's disease, KD), 又称为嗜酸性淋巴肉芽肿, 是一种病因未明、病程较长、呈慢性进行性发展的罕见疾病, 临床主要表现为头颈部皮下肿块、浅表淋巴结肿大, 腮腺为好发部位。实

验室检查提示外周血嗜酸粒细胞计数增高, 血清 IgE 水平增高。该病可发生于任何年龄, 男性发病率远大于女性^[1]。1948 年日本 Kimura (木村)作了较为详细的描述^[2]。该病呈良性病程, 但治疗后

收稿日期:2014-02-14

基金项目:广东省科技计划项目(2012B031800292)

作者简介:邓维叶, 医师, 硕士, 研究方向:头颈肿瘤, E-mail: dengwy@sysucc.org.cn; 通信作者:郭朱明, 教授, E-mail: guozhm@sysucc.org.cn

容易复发,文献报道复发率为 17%~44%之间。少数患者发生肾病综合征、湿疹、支气管哮喘等并发症^[3]。目前对于木村病的治疗首选手术治疗,也有采用口服糖皮质激素治疗或者放射治疗^[4]。对于复发的患者,再次手术难度增加,大多数国内外学者认为此类患者放疗效果较其他治疗手段好。目前仍未有相关的抗体评估指标指导 KD 复发患者的治疗和预后。Ki-67 是与细胞增殖相关的抗原,它的高表达与疾病的预后不良相关^[7]。Ki-67 表达与KD 复发的关系至今无相关文献报道。笔者总结我院 2000 年 1 月至 2013 年 12 月手术病理证实的 40 例木村病,通过免疫组化检测 Ki-67 蛋白的表达情况,分析 Ki-67 能否作为木村病复发的指标,以指导复发的木村病患者的优化治疗,提高患者生存质量。

1 材料与方法

1.1 临床资料

收集自 2000 年 1 月至 2013 年 7 月于我院治疗,组织病理学检查确诊为 KD 并有完整随访记录的患者共 40 例,男 37 例,女 3 例;男女比例约为 12:1。发病年龄范围 10~75 岁,平均为(38±17)岁。随访时间截止至 2013 年 12 月。所有患者均无明确的家族史。

1.2 随访

患者术后 1 年内每 3 个月至半年,术后 1 年以后每半年至 1 年。同时辅以电话及信件联系随访。无病生存时间(disease-free survival, DFS)为手术之日至诊断复发之日或者是末次随访之日。

1.3 实验方法

回顾性分析 40 例患者的一般资料、临床表现、影像学特征、病理组织学检查及并发症等。取此 40 例 KD 组织标本病理切片用 Ki-67 行免疫组化,评估其在 KD 组织的表达情况。标本均以 100 mL/L 中性甲醛溶液固定,常规脱水,石蜡包埋切片,切片厚约 4 μm,苏木精伊红(HE)和免疫组化染色。由 2 名有经验的病理医生分别进行评分。第 1 抗体为 Ki-67,购自中杉金桥试剂公司。在高倍镜下(×400)随机选择 20 个视野计算 500~100 个细胞中的阳性细胞数,换算成百分率则为增殖指数(proliferation index, PI)=(阳性细胞数目/总的细胞数目),阳性细胞数<3%为低表达,

≥3%为高表达^[8-9]。PBS 液替代第一抗体作为空白对照。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 16.0 版统计软件包进行相关统计。Ki-67 表达与临床病理参数的相关性采用 χ^2 检验。单因素生存预后分析采用 Kaplan-Meier 法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床表现及实验室检查

本组患者均因肿块为主诉来我院检查。34 例患者肿块主要位于头颈部,其他部位见于腹股沟 6 例及硬腭 1 例。其中,有 29 例患者为多发病灶,其余 11 例为单发病灶。1 例曾因“先锋”过敏出现口腔溃疡,双腿皮肤脓肿诊断为 Steven Johnson's Syndrome。1 例既往有甲状腺乳头状癌病史。1 例患者腮腺肿物切除术后 2 d 出现伤口大出血。40 例患者外周血嗜酸性粒细胞计数均不同程度升高,为 6%~46% (正常参考值为 0.5%~5%)。嗜酸粒细胞分数为 0.110~0.420 (参考值为 0.005~0.050)。39 例患者尿常规均未见明显异常,1 例表现为一过性蛋白尿(+). 肿物最大直径为 6.5 cm,平均为(3.5±1.4)cm(表 1)。5 例患者伴乙型肝炎,1 例患者伴甲型肝炎,1 例患者伴 EBV 感染,余未见明显并发症。均无血清总免疫球蛋白(immunoglobulin E, IgE)检查数据。

2.2 Ki-67 免疫组化结果

镜下见增生的淋巴组织内大量淋巴滤泡形成伴嗜酸性粒细胞浸润,Ki-67 蛋白于淋巴结组织中(主要在生发中心)高度表达,PI 值为 70%~90%。PI 值的高低与 KD 复发与否无统计学差异($P>0.05$)。生发中心以外的 Ki-67 阳性信号呈散在分布,PI 值为 1%~40%。其中,PI<3%有 22 例,其余 18 例患者 PI≥3%,复发 KD 的 Ki-67 增殖指数表达高于未复发的 KD(均数:8.4% vs. 6.0%),两者有统计学差异($P<0.05$)。本次研究针对的是 Ki-67 蛋白在 KD 淋巴组织中(不包括生发中心)的表达(图 1)。

2.3 KD 与复发相关要素分析

χ^2 检验提示 Ki-67 表达程度与 KD 复发相关,复发的 11 例患者中,除了 1 例(9.1%)为低表达,其余 10 例(90.9%)为高表达($\chi^2=10.489$, $P=$

表 1 40 例 KD 患者的临床病理资料

Table 1 Clinicopathological parameters of 40 KD patients

Characteristics	Number	Frequency (%)
Gender		
Male	37	92.5
Female	3	7.5
Age/years		
<35	19	47.5
≥35	21	52.5
Mass distribution		
Head and neck region	34	85.0
Groin region	5	12.5
Hard palate region	1	2.5
Largest size of mass/cm		
< 3.5	25	62.5
≥3.5	15	37.5
Numbers of mass		
Single mass	11	27.5
Multiple masses	29	72.5
Peripheral eosinophilia		
< 20%	17	42.5
20%~< 35%	18	45.0
35%~50%	5	12.5
Recurrent status		
Recurrence	11	27.5
No recurrence	29	72.5

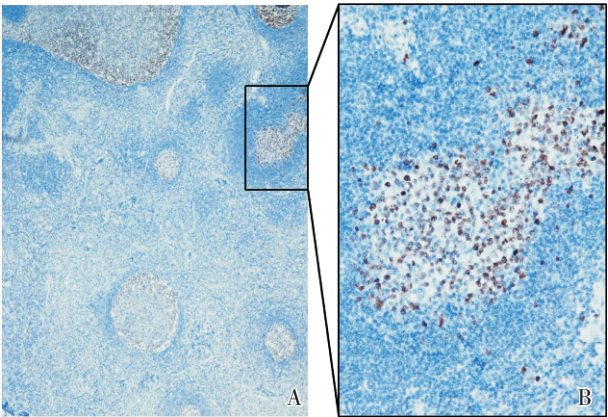


图 1 Ki-67 在木村病组织中的表达

Fig.1 Immunohistochemical staining of Ki-67 in Kimura's disease

A: Expression of Ki-67 in KD tissues (square frame showed germinal center),immunohistochemistry stain, × 100; B: High expression in germinal center and low expression outside the germinal center, immunohistochemistry stain, × 200

0.001)。患者的年龄、性别、肿物个数、外周血嗜酸性粒细胞计数及主要肿块的最大直径均与 Ki-67 表达无关联($P > 0.05$,表 2)。单因素分析结果提示 Ki-67 表达、外周血嗜酸性粒细胞计数及主要肿块的最大直径对 KD 患者的复发有影响 ($P < 0.05$),而年龄、性别、肿块分布、个数及位置均无统计学差异($P > 0.05$)。将单因素有统计学差异的指标纳入 Cox 模型行多因素分析,结果显示 Ki-67 表达及外周血嗜酸性粒细胞计数为影响复发的独立因素($P < 0.05$,表 3)。

表 2 Ki-67 表达与相关临床指标的关系

Table 2 Correlation of expression of Ki-67 and related clinical data

	Ki-67 PI expression		χ^2	P
	Low	High		
Gender				
Male	19	18	12.654	0.103
Female	3	0		
Age/years				
<35	10	12	0.082	0.775
≥35	9	9		
Numbers of mass				
Single mass	8	14	1.926	0.165
Multiple masses	3	15		
Largest size of mass/cm				
< 3.5	15	7	0.673	0.412
≥ 3.5	10	8		
Peripheral eosinophilia				
< 20%	10	7	0.333	0.847
20%~< 35%	9	9		
35%~50%	3	2		
Recurrent status				
Recurrence	1	10	10.489	0.001
No recurrence	21	8		

2.4 彩超检查

40 例患者行彩超检查,均提示肿块呈低回声或无回声区。其中,28 例彩超报告提示边界清晰,考虑良性可能(70%),8 例示边界不清,性质待定(20%);4 例边界不清,内部回声不均,形态不规则,考虑肿块恶性可能(10%)。

2.5 诊断与治疗

40 例患者中,单发肿块病例均行肿块完整切

表 3 KD 患者的复发相关参数的多因素分析

Table 3 Multivariate analysis of recurrence-related parameters in KD patients

Variables	B	SE	Wald	P value	Exp (B)	95.0% CI for Exp (B)	
						Lower	Upper
Ki-67 PI	3.379	1.231	7.533	0.001	29.340	2.628	327.617
Largest size of mass	1.072	0.743	2.082	0.149	2.922	0.681	12.537
Peripheral eosinophilia	2.221	0.705	9.919	0.002	9.219	2.314	36.729

除术；颈部多发肿块病例行较大肿块切除活检或完整切除术，较小肿块门诊随访观察评估。40 例患者病理检查于光学显微镜下均见淋巴组织增生及淋巴滤泡样结构形成，淋巴结生发中心内为嗜酸性物质沉着；淋巴滤泡之间可见大量的嗜酸粒细胞、淋巴细胞及肥大细胞浸润；间质内小血管增生及血管内皮细胞肿胀。病理结果符合 KD 诊断。

2.6 随访情况

门诊随访时间为 6 ~ 175 个月（均数:69.8 月）。其中 11 例患者为复发患者,其余 29 例患者截止至最后随访日期未见肿物复发。复发患者的随访时间 7 ~ 169 个月(中位数:55.8 月)。其中,9 例患者行再次手术治疗,2 例患者行活检明确诊断后继续密切随访。

3 讨 论

KD 作为一种良性的淋巴组织增生性疾病,由中国医师金显宅等于 1937 年首先报道,当时以嗜伊红细胞性增生性淋巴肉芽肿命名，至今国内外约有 400 例的相关报导,多为个例报道^[10]。目前考虑病因为感染、肿瘤及自身免疫等相关因素。目前病因考虑可能与自身免疫、过敏、感染、肿瘤、病毒等因素相关。在临床上需与慢性淋巴结炎、淋巴瘤、结核、颈部转移癌等疾病鉴别。该病多考虑为良性,可伴随肾病综合征、哮喘等疾病^[10-11]。目前认为其无转化为恶性肿瘤的倾向，但也有一些报道提示恶性转化的可能。Akhavan 等作者^[12]曾报道 1 例同侧的肾癌合并木村病的患者。结合我们治疗的 KD 患者分析，其中 1 例既往诊断为甲状腺乳头状癌伴颈部淋巴结乳头状癌转移。术后 4 月发现颈部淋巴结肿大于门诊就诊，肿物行病理活检证实为 KD。我们考虑是否 KD 会有一个恶性的转化过程。对于有易复发倾向的患者,如何去判断筛选是希望解决的一个问题。

Iwai 等^[13]研究认为,引起 KD 复发的预后因素包括：外周血嗜酸性粒细胞升高超过白细胞总数的 50%，血清 IgE 表达 > 1 000 U/mL 及唾液腺以外区域出现多个病灶。我们此次 40 例患者研究中，外周血嗜酸性粒细胞数及多发病灶均与 KD 复发无相关性,考虑可能为样本量数量太少。今后需继续收集更多相关病例数据进行分析明确影响 KD 的复发因素。

有学者推测 KD 可能与某些病毒感染改变了 T 淋巴细胞的免疫调节作用或诱导 IgE 介导的 I 型变态反应,导致淋巴因子释放,从而产生特征性的淋巴结改变^[10]。Ki-67 作为细胞增殖的一种抗原,在细胞周期中 S、G2、M 期均有表达。Ki-67 增殖指数高低与许多肿瘤的分化程度转移及预后密切相关,目前用于细胞增殖状态、肿瘤恶性程度及预后的评估^[14]。在本组资料中,Ki-67 在 KD 淋巴结的生发中心均高度表达。生发中心为分化成熟的 B 淋巴细胞进行体液免疫应答的场所,提示 KD 的发生发展可能与免疫有一定相关性。多因素分析提示 Ki-67 为复发 KD 患者的一个有效指标。Ki-67 蛋白在在复发与未复发 KD 的表达有明显统计学差异($P < 0.05$)。考虑可能为复发的 KD 组织更具侵袭性，增生更活跃。免疫组化结果提示 Ki-67 的表达与 KD 复发相关,高表达的患者预后较表达低的患者预后差，更倾向于出现 KD 复发的可能。

KD 的当前常规治疗除了手术、口服糖皮质激素及放射治疗以外,还有细胞毒素类药物化疗、抗过敏药物、全反式维甲酸等相关的个案治疗报道，具体疗效不一。对于 KD 患者,因部分肿块无明确包膜,边界欠清,局部浸润广泛,手术彻底切除困难,术后容易复发。一些皮下肿块,即使边界清楚,再次手术也增加风险。对于复发患者,目前针对多发病灶及复发的 KD 患者建议采取放射治疗。放疗的最佳剂量为 26 ~ 30 Gy,2 ~ 3 周,照射野范围

为病变及肿胀区域^[6]。同时需继续随访,观察是否出现肾脏及其他器官损害等并发症可能。基于此次研究数据,我们建议KD患者于复发的中位期55.8个月前密切门诊随访检查。同时,通过检测病理切片的Ki-67表达指标及综合其他临床实验室数据,初步判断患者的易复发倾向,为患者选择适当的个体优化治疗,从而提高KD患者的生活质量。

致谢:本实验过程中得到中山大学肿瘤防治中心病理科杨远忠、颜淑梅,实验研究部李泽蕾、叶树标的指导,修改文稿时,暨南大学附属第一医院王天给予了很好的建议,在此特表谢意。

参考文献

- [1] Chen H, Thompson LD, Aguilera NS, et al. Kimura disease: a clinicopathologic study of 21 cases[J]. *Am J Surg Pathol*, 2004, 28(4): 505-513.
- [2] Kung IT, Chan JK. Kimura's disease or Kimm's disease? [J]. *Am J Surg Pathol*, 1988, 12(10): 804-805.
- [3] Deshpande AH, Nayak S, Munshi MM, et al. Kimura's disease, diagnosis by aspiration cytology [J]. *Acta Cytol*, 2002, 46(2): 357-363.
- [4] Liu C, Hu W, Chen H, et al. Clinical and pathological study of Kimura's disease with renal involvement [J]. *J Nephrol*, 2008, 21(4): 517-525.
- [5] 黎功,于世平,王俊杰,等. 木村病的放射治疗[J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 1999, 8(3): 190.
Li G, Yu SP, Wang JJ, et al. Radiotherapy of Kimura disease[J]. *Chin J Radiat Oncol*, 1999, 8(3): 190-196.
- [6] Chang AR, Kim K, Kim HJ, et al. Outcomes of Kimura's disease after radiotherapy or nonradiotherapeutic treatment modalities[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006, 65(4): 1233-1239.
- [7] McLoughlin J, Foster CS, Price P, et al. Evaluation of Ki-67 monoclonal antibody as prognostic indicator for prostatic carcinoma[J]. *Br J Urol*, 1993, 72(1): 92-97.
- [8] Wang YF, Yang YL, Gao ZF, et al. Clinical and laboratory characteristics of systemic anaplastic large cell lymphoma in Chinese patients [J]. *J Hematol Oncol*, 2012, 5(38): 38-45.
- [9] Determann O, Hoster E, Ott G, et al. Ki-67 predicts outcome in advanced-stage mantle cell lymphoma patients treated with anti-CD20 immunochemotherapy: results from randomized trials of the European MCL Network and the German Low Grade Lymphoma Study Group[J]. *Blood*, 2008, 111(4): 2385-2387.
- [10] Wang DY, Mao JH, Zhang Y, et al. Kimura disease: a case report and review of the Chinese literature [J]. *Nephron Clin Pract*, 2009, 111(1): c55-c61.
- [11] Kapoor NS, O'Neill JP, Katabi N, et al. Kimura disease: diagnostic challenges and clinical management [J]. *Am J Otolaryngol*, 2012, 33(2): 259-262.
- [12] Akhavan A, Cannon GJ, Sasatomi E, et al. Synchronous unilateral renal cell carcinoma and Kimura disease of the kidney[J]. *Urology*, 2006, 68(3): 673.e21-e22.
- [13] Iwai H, Nakae K, Ikeda K, et al. Kimura disease: diagnosis and prognostic factors [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2007, 137(2): 306-311.
- [14] Tiemo K, Celine P, Sylvia H, et al. The Ki67 proliferation index is a quantitative indicator of clinical risk in mantle cell lymphoma[J]. *Blood*, 2006, 107(8): 3407.

(编辑 刘清海)