

# D2-40、Ki67、CA199 在结直肠癌淋巴转移中的研究进展

崔铭堃 丁佩剑<sup>通讯作者</sup>

(承德医学院附属医院 河北 承德 067000)

**【摘要】**结直肠癌 (Colorectal Cancer, CRC) 是全世界常见消化系统恶性肿瘤之一, 世界卫生组织国际癌症研究机构 (IARC) 最新发布的数据显示: 全球结直肠癌患病率与死亡率居第 3 位、第 2 位<sup>[1]</sup>。而在我国, 结直肠癌的发病率与死亡率均逐年上升。当前, 结直肠癌发病率仅次于女性乳腺癌位于第 2 位, 而死亡率升至第 5 位<sup>[2]</sup>。淋巴结转移是结直肠癌转移的主要途径之一, 同时其引起的远处转移也是导致结直肠癌患者死亡以及术后复发的重要原因<sup>[3]</sup>。因此, 针对结直肠癌患者淋巴结转移, 及早发现并予以干预对患者改善预后意义重大。本文就 D2-40、Ki67、CA199 在结直肠癌淋巴转移中的研究现状进行综述, 旨在为结直肠癌的早期诊断及临床治疗提供参考。

**【关键词】**结直肠癌; D2-40; Ki67; Ca199

## 1 结直肠癌淋巴转移

日本结肠直肠癌学会 (JSCCR) 在 2019 年发布的大肠癌处理规约中, 将结直肠淋巴结明确划分为 4 组。即壁上淋巴结、肠旁淋巴结、中间淋巴结以及主淋巴结 (又称首要淋巴结、中央淋巴结)<sup>[4]</sup>。壁上淋巴结位于腹膜包裹的肠壁和肠脂垂中, 广泛分布于全结肠 (尤其是乙状结肠), 其直肠部分大多分布于邻近纵行肌的结缔组织中, 又被称为 Gerota 淋巴结 (或者 Gerota 结节)。肠旁淋巴结主要沿着边缘动脉 (边缘血管弓) 和直动脉分布。中间淋巴结主要沿着相对应结肠的主要动脉进行分布。主淋巴结是位于肠系膜上动脉和肠系膜下动脉根部的淋巴结, 主要接收肠旁和中间淋巴结的引流, 也可直接接收肠上淋巴结的引流。

根据结直肠癌淋巴结转移途径, 可将其分为三站, 第一站: 壁上和肠旁淋巴结, 第二站: 中间淋巴结, 第三站: 主淋巴结。最常见的转移方式是先转移至临近淋巴结 (第一站), 而后向远处淋巴结 (第二、三站) 转移, 最终三站淋巴结均出现转移。部分患者出现循短路绕过途径中的淋巴结直接向较远一组淋巴结 (第二站或第三站) 转移, 这种转移方式成为跳跃性转移。此外当肿瘤恶性程度较高时有可能出现逆行性转移, 即因肿瘤细胞阻塞了前方的淋巴引流主干, 导致淋巴回流出现逆流现象。

## 2 D2-40 目前研究进展

D2-40 是一种由 166 个氨基酸构成的唾液酸糖蛋白, 能与位于正常组织和癌组织的淋巴管内皮细胞上的特异性癌胚抗原 M2A 结合。D2-40 首先被发现于睾丸生殖细胞肿瘤的诊断中具有重要参考价值<sup>[5]</sup>。进一

步有研究发现 D2-40 可识别 O- 连接唾液酸糖蛋白上分化出的仅在淋巴管内皮细胞表达的抗原决定表位。综上所述可知, D2-40 是一种只识别淋巴管内皮细胞而不识别血管内皮细胞得特异性淋巴管内皮标志物。近期研究显示, D2-40 能够特异性识别人类肾小球足突细胞膜蛋白 (podoplanin)。人 podoplanin 最早于 1999 年首次被发现, 是一种仅表达于淋巴管内皮细胞的肾小球足突状粘蛋白型跨膜蛋白。有进一步研究成功用其标记微淋巴管, 因此 podoplarnin 也是一种特异性淋巴管内皮标记物。但目前研究表明 podoplarnin 并不只表达于淋巴管内皮细胞, podoplanin 还由一系列正常细胞表达, 包括: 腹膜间皮细胞、基质网状细胞和淋巴组织的滤泡树突状细胞、骨细胞、中枢神经系统 (CNS) 的室管膜细胞, 以及生殖细胞和性索基质来源的卵巢和睾丸细胞<sup>[6]</sup>。因此 D2-40 较 podoplarnin 具有更高的敏感性和特异性, 其被广泛应用于多种恶性肿瘤与淋巴道侵袭、转移关系的研究。

D2-40 作为特异性淋巴管标记物, 常与血管标志物联合使用。凌志锋等人<sup>[7]</sup>采用常规 HE 染色与鸡尾酒抗体 D2-40 / CD34 双重免疫组化染色法研究 116 例淋巴结检出数量不足 12 枚的结直肠癌患者标本。结果显示 HE 染色法检测到脉管侵犯阳性的病例共有 24 例, 检出率为 20.69%。而双重免疫组化染色法检测到脉管侵犯阳性的病例共有 48 例, 检出率为 41.38%。对比两种方法的检出率, 差异显著。这表明双重免疫组化染色法在检测脉管侵犯方面具有更高的检出率。同时双重免疫组化染色还可以对淋巴管侵犯情况进行进一步的分析。提示淋巴管侵犯主要集中在壁内区域, 占

比达到 47.92%。在侵袭程度上,局部侵犯是最常见的类型,占比达到 41.67%。因此,通过双重免疫组化染色法,可以在结直肠癌患者术后病理淋巴结检出数不足时进行补充检测,从而帮助临床医师做出更为准确的判断。

Goodarzi 等人<sup>[8]</sup>回顾性分析 100 例经肠镜切除的 pT1 期结直肠息肉癌的样本病理。McNemar 检验显示, H&E 染色和 D2-40 染色检测出淋巴浸润的比例存在一定的差异。具体而言, H&E 染色检测出的淋巴浸润比例比 D2-40 染色检测出的淋巴浸润比例多出 15.0% (95%CI 14.1-15.9%)。同时, D2-40 检测到的淋巴浸润与结直肠癌死亡风险的增加显著相关 (HR 14.07, 95%CI 1.57-125.97,  $p=0.018$ )。D2-40 免疫染色检测淋巴转移与筛查检测到的结直肠息肉癌生存率降低显著相关。首次证明了在晚期结直肠癌研究中显示的 D2-40 检测到的淋巴浸润的检测和预后意义的改善仍然适用于息肉癌。D2-40 免疫染色在结直肠息肉癌的临床应用中,能够提高淋巴浸润的检测准确率,从而更准确地评估患者的风险等级,为临床决策提供有力依据。

### 3 Ki67 目前研究进展

核蛋白 Ki67 是存在于细胞核内的大分子蛋白质,有 345 和 395 kDa 的两种蛋白质亚型。最初于在上世纪 80 年代由 Scholzer 和 Gerdes<sup>[9]</sup> 等人发现,其基因编码位在第 10 号染色体上,其构成为 14 个内含子和 15 个外显子。Ki67 半衰期较短,为 1~1.5 个小时。Ki67 的表达水平在合成与分解过程中始终维持动态平衡,这与其与细胞有丝分裂过程的一致性密切相关。在体内有丝分裂期间, Ki67 经历磷酸化和去磷酸化,这使其容易被蛋白酶的水解。其结构表明其表达受蛋白水解途径调节,如由关键调节复合物细胞周期蛋白 B/ 细胞周期蛋白依赖性激酶 2 控制的途径<sup>[10]</sup>,因而可参与到细胞周期的调控中<sup>[11]</sup>,其表达与细胞增殖过程紧密相连。因此, Ki67 作为评估人类肿瘤细胞生长分数的增殖标志物得到了广泛应用。

何耀海<sup>[12]</sup>通过对 132 例结直肠癌组织和癌旁正常组织进行免疫组化检测发现 Ki-67 蛋白在癌组织中的阳性表达率显著高于癌旁正常组织。此外, Ki-67 蛋白的表达情况与肿瘤的浸润程度、TNM 分期、淋巴结转移以及远处转移均存在关联。丁剑锋<sup>[13]</sup> 等人研究发现结直肠癌组织中 Ki-67 的表达情况在不同肿瘤浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期及肿瘤分化程度的患者之间存在显著差异。Melling 等<sup>[14]</sup> 通过免疫组化技术对 1653 例结直肠癌样本的 Ki67 标记指数

(Ki67LI) 进行深入研究,发现 Ki67 高表达与肿瘤分期和淋巴结状态相关,但与肿瘤分级、组织学肿瘤类型或肿瘤定位无关,并且是有益生存率的独立预测因子。Salminen<sup>[15]</sup> 等人的一项早期研究分析了 146 名患有直肠癌和直肠乙状结肠癌的结直肠癌患者,也报告了与低 Ki67LI 患者相比, Ki67 蛋白的高增殖活性会使生存率提高。Palmqvist 等人研究表明,侵袭性肿瘤边缘的低 Ki67LI 与 Duke's stage B 期结直肠癌的不良预后相关。

因此, Ki67 免疫染色可作为结直肠癌独立预后生物标志物的临床效用,有助于结直肠癌患者的预后评估。随着对 Ki67 在与肿瘤发生、发展和转移过程中作用机制的深入研究,我们将能够为肿瘤恶性行为的判断及治疗提供新的理论依据和实践指导。

### 4 CA199 目前研究进展

CA199 (糖类抗原 19-9) 由 Koprowski 等人首次发现于使用小鼠单克隆抗体 1116-NS-19-9 的结直肠癌细胞系 SW1116 中,是一种具有跨膜蛋白骨架和广泛糖基化的寡糖链组成的糖蛋白,生化结构为一种称为唾液酸 Lewis a (血型抗原 Lewis 家族的一部分) 的四糖碳水化合物,由糖基转移酶合成,糖基转移酶将单糖前体依次结合到 N- 连接和 O- 连接的聚糖上。随着进一步研究,于 1981 年在结肠癌和胰腺癌患者的血清中也有发现,而后开始作为胰腺癌肿瘤标志物应用于临床,直到目前仍然被认为是胰腺癌最敏感的标志物。CA199 在正常人胰腺和胆管细胞以及胃、结肠、子宫内膜和唾液上皮细胞合成。通常以粘蛋白糖蛋白复合物的形式少量存在,在肿瘤患者的血浆中其含量明显升高,但在某些炎症状况亦会出现血浆水平提升。此外,相较于正常组织中, Ca199 在胰腺癌、肝胆癌、胃癌、肝细胞癌、结肠直肠癌和乳腺癌患者血浆中含量较高。

近期研究显示, Ca199 与结直肠癌淋巴转移之间存在一定的关联。李建英等人研究表明结直肠癌组织中 Ca199 浓度显著高于癌旁组织,差异均有统计学意义 ( $p<0.01$ )。MannWhitney U 检验分析显示,结直肠癌组织提取液中 Ca199 浓度显著高于血清,说明相较于血清 Ca199 水平,组织提取液肿瘤标志物水平对结直肠癌辅助诊断的更有意义。癌组织 Ca199 水平与结直肠癌浸润程度相关,随着浸润程度的增加 (T1-T4),其平均水平明显升高。有研究表明 Ca199 敏感性适中 14.39% (41/279),但特异性较高 89% (66/74)。血清 CA19-9 水平不仅可以作为诊断结直肠癌的生物标志物,还可以预测结直肠癌的淋巴结转移、血管浸润、

神经浸润、肿瘤分化和分期，从而在一定程度上指导结直肠癌的治疗和预后。

### 5 小结

结直肠癌的发生并非是结肠直肠粘膜突然病变，而是经过了一系列的发展过程。由于结直肠癌的发展进程相对缓慢，通过早期检测和切除癌前息肉或早期肿瘤，患者有可能得到治愈。因此，早期检测结直肠癌对于降低该疾病的发病率和死亡率具有重要意义。根据最新研究，D2-40、Ki67 和 CA199 与结直肠癌的发生、发展和淋巴转移具有密切关联。随着相关研究的深入开展，我们相信将会有更多有效的手段用于结直肠癌的早期发现，从而改善患者的生存预后。

### 参考文献：

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, 等 . Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J/OL]. CA: a cancer journal for clinicians, 2021, 71(3): 209-249. DOI:10.3322/caac.21660.

[2] 王露尧, 张鹭鹭 . 中国结直肠癌发病和死亡情况及防控策略 [J/OL]. 解放军医院管理杂志, 2021, 28(12): 1195-1197. DOI:10/gpvr6v.

[3] CAO Y. Opinion: emerging mechanisms of tumour lymphangiogenesis and lymphatic metastasis[J/OL]. Nature Reviews. Cancer, 2005, 5(9): 735-743. DOI:10/d5rbv5.

[4] HASHIGUCHI Y, MURO K, SAITO Y, 等 . Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2019 for the treatment of colorectal cancer[J/OL]. International Journal of Clinical Oncology, 2020, 25(1): 1-42. DOI:10.1007/s10147-019-01485-z.

[5] MARKS A, SUTHERLAND D R, BAILEY D, 等 . Characterization and distribution of an oncofetal antigen (M2A antigen) expressed on testicular germ cell tumours[J/OL]. British Journal of Cancer, 1999, 80(3-4): 569-578. DOI:10/c4jr7s.

[6] ORDÓÑEZ N G. Podoplanin: a novel diagnostic immunohistochemical marker[J/OL]. Advances in Anatomic Pathology, 2006, 13(2): 83-88. DOI:10.1097/01.pap.0000213007.48479.94.

[7] 凌志锋 . 鸡尾酒抗体 D2-40/CD34-CK 双重免疫组化染色在淋巴结检出数量不足 CRC 标本脉管侵犯评估中的应用价值 [J/OL]. 医学理论与实践, 2022, 35(6)[2024-01-04]. DOI:10.19381/j.issn.1001-7585.20

22.06.061.

[8] GOODARZI M R, MANSOURI D, KIDD A C, 等 . The Detection of Lymphatic Invasion in Colorectal Polyp Cancer Using D2-40 Immunohistochemistry and Its Association With Prognosis[J/OL]. Cureus, 2020, 12(11): e11394. DOI:10/gq7z5q.

[9] SCHOLZEN T, GERDES J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown[J/OL]. Journal of Cellular Physiology, 2000, 182(3): 311-322. DOI:10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9.

[10] SUN X, KAUFMAN P D. Ki-67: more than a proliferation marker[J/OL]. Chromosoma, 2018, 127(2): 175-186. DOI:10.1007/s00412-018-0659-8.

[11] TAHA A, TAHA-MEHLITZ S, PETZOLD S, 等 . Prognostic Value of Immunohistochemical Markers for Locally Advanced Rectal Cancer[J/OL]. Molecules (Basel, Switzerland), 2022, 27(3): 596. DOI:10.3390/molecules27030596.

[12] 何耀海 . 结直肠癌组织 LGR5 Her-2 Ki-67 与临床病理参数及预后的关系 [J/OL]. 河北医学, 2023, 29(10)

[13] 丁剑锋, 刘颖, 靳钦, 等 . 结直肠癌中 DRP1、p53 及 Ki67 的表达及临床意义 [J/OL]. 重庆医学, 2023, 52(9)

[14] MELLING N, KOWITZ C M, SIMON R, 等 . High Ki67 expression is an independent good prognostic marker in colorectal cancer[J/OL]. Journal of Clinical Pathology, 2016, 69(3): 209-214. DOI:10.1136/jclinpath-2015-202985.

[15] SALMINEN E, PALMU S, VAHLBERG T, 等 . Increased proliferation activity measured by immunoreactive Ki67 is associated with survival improvement in rectal/recto sigmoid cancer[J/OL]. World Journal of Gastroenterology, 2005, 11(21): 3245-3249. DOI:10.3748/wjg.v11.i21.3245.

### 作者简介：

崔铭堃 (1997.6- )，男，河北沧州，硕士研究生，胃肠道肿瘤方向。

通讯作者：丁佩剑 (1976- )，女，河北承德，博士研究生，主任医师，硕士生导师，乳腺及胃肠道肿瘤方向。