

· 论 著 ·

P53蛋白和Ki-67在上皮性卵巢癌组织中的表达和预后分析

陈赞 蔡泓 王婷婷

[摘要] 目的 探讨P53、Ki-67在上皮性卵巢癌(EOC)组织中的表达及与患者预后的关系。方法 采用免疫组化检测63例上皮性卵巢组织中P53、Ki-67的表达情况,分析P53、Ki-67表达与EOC患者临床病理特征及预后之间的关系。结果 低分化EOC患者P53阳性表达率明显高于高分化患者,晚期(Ⅲ~Ⅳ期)患者P53阳性表达率高于早期(Ⅰ~Ⅱ期)患者,差异均有统计学意义(χ^2 分别=35.23、42.56, P 均 <0.05);不同年龄及病理类型的EOC患者P53阳性表达率比较,差异无统计学意义(χ^2 分别=0.41、0.80, P 均 >0.05)。年龄 ≤ 50 岁的EOC患者Ki-67阳性表达率明显高于 >50 岁患者,晚期(Ⅲ~Ⅳ期)患者Ki-67阳性表达高于早期(Ⅰ~Ⅱ期)患者,低、中分化EOC患者Ki-67阳性表达率明显低于高分化患者,差异均有统计学意义(χ^2 分别=16.75、26.72、47.19, P 均 <0.05)。COX多因素风险回归分析结果显示:组织分化、临床分期、P53、Ki-67是EOC患者的无进展生存时间(PFS)的影响因素(HR 分别=16.28、34.11、12.59、36.52, P 均 <0.05),且组织分化、临床分期、P53、Ki-67同样是EOC患者的总生存时间(OS)的影响因素(HR 分别=10.13、11.05、12.37、25.93, P 均 <0.05)。结论 P53、Ki-67的表达与EOC的发生、发展有密切关系,可作为EOC患者的预后预测指标。

[关键词] 上皮性卵巢癌; P53; Ki-67; 免疫组化; 预后

Expressions of P53 and Ki-67 in epithelial ovarian cancer and prognosis analysis CHEN Yun, CAI Hong, WANG Tingting. Affiliated Hangzhou First People's Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of P53 and Ki-67 in epithelial ovarian cancer (EOC) and their relationship with prognosis. **Methods** The expression of P53 and Ki-67 in 63 cases of epithelial ovarian tissue was detected by immunohistochemistry. The relationships between the expressions of P53 and Ki-67 and the clinicopathological characteristics and prognosis of EOC patients were analyzed. **Results** The positive expression rate of P53 in poorly differentiated EOC patients was significantly higher than that in highly differentiated EOC patients. The positive expression rate of P53 in advanced EOC patients (Ⅲ~Ⅳ stage) was higher than that in early EOC patients (Ⅰ~Ⅱ stage). The differences were statistically significant ($\chi^2=35.23, 42.56, P<0.05$). There was no significant difference in the positive expression rate of P53 in EOC patients among different ages and pathological types ($\chi^2=0.41, 0.80, P>0.05$). The positive expression rate of Ki-67 in EOC patients under 50 years of age was significantly higher than that in patients over 50 years of age. The positive expression rate of Ki-67 in patients with advanced stage (Ⅲ~Ⅳ stage) was higher than that in patients with early stage (Ⅰ~Ⅱ stage). The positive expression rate of Ki-67 in patients with poorly differentiated EOC was significantly lower than that in patients with highly differentiated EOC ($\chi^2=16.75, 26.72, 47.19, P<0.05$). COX multivariate risk regression analysis showed that tissue differentiation, clinical stage, P53, Ki-67 were the influencing factors of PFS ($HR=16.28, 34.11, 12.59, 36.52, P<0.05$), as well as the OS ($HR=10.13, 11.05, 12.37, 25.93, P<0.05$). **Conclusion** The expressions of P53 and Ki-67 are closely related to the occurrence and development of epithelial ovarian cancer and can be used as predictive indicators for prognosis of patients with epithelial ovarian cancer.

[Key words] epithelial ovarian cancer; P53; Ki-67; immunohistochemistry; prognosis

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2019.08.008

作者单位: 310006 浙江杭州, 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院妇产科

卵巢癌是最常见的女性生殖系统恶性肿瘤之一,死亡率居妇科肿瘤首位^[1]。上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC)是卵巢癌最常见的病理类型,约占60%以上。临床上关于宫颈癌及子宫内膜癌的研究颇多并已得出相对可靠的病因,而卵巢癌的发生目前尚无可靠理论及现实依据,因此,探究与分析卵巢癌发生发展机制对防治该病具有重要的临床意义^[2]。P53、Ki-67在细胞周期的不同阶段对肿瘤的发生、发展起不同程度的作用,因此,联合P53、Ki-67评判卵巢癌预后具有更实际的临床意义。本次研究旨在探讨分析P53、Ki-67的表达与EOC患者预后的关系。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2006年1月至2018年1月浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院妇产科收治的术后病理诊断为EOC患者的63例病例,年龄29~72岁,平均(55.79±5.66)岁;临床病理类型:浆液性囊腺癌37例、黏液性囊腺癌23例、颗粒细胞癌3例。低、中分化47例、高分化16例;肿瘤分期:I期15例、II期9例、III期31例、IV期8例。

1.2 方法 将63例EOC患者的病理蜡块在切片机上置成厚约4 μm的病理标本,65℃烘干后进行脱蜡和水化,而后用磷酸盐缓冲溶液冲洗3遍,每次3 min,置于枸橼酸缓冲液中抗原修复,加入过氧化氢酶阻断剂,后依次加入一抗、二抗,最后采用二氨基联苯胺显色,显微镜下观察染色进展,以阳性切片做为阳性对照组,磷酸盐缓冲溶液代替一抗做为阴性对照组。

1.3 结果判定 由2名病理科医师对切片染色结果行独立阅片,Ki-67阳性定位于细胞核,以细胞核出现棕黄色或棕色颗粒判定为阳性,P53以细胞核中出现棕褐色颗粒为阳性表达。

1.4 随访 术后通过门诊、电话随访卵巢癌肿瘤进展(复发、死亡为终点),总生存时间(overall survival, OS)及无进展生存时间(progression-free survival, PFS)。OS为由手术当天起至发生死亡或者复发或者至最后一次随访日期。PFS为从初次治疗到疾病进展的时间间隔。截止随访日期为2019年1月31日。

1.5 统计学方法 采用SPSS 21.0软件进行统计学分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。计量资料比较采用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验,采用Kaplan-Meier法进行生存分析,多因素采用COX风险回归模型。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 63例EOC病理样本中,P53阳性表达38例,占60.32%,Ki-67阳性表达41例,占65.08%。P53、Ki-67在EOC组织中的阳性表达与临床病理特征的关系见表1。

表1 P53、Ki-67阳性表达与临床病理特征的关系/例(%)

临床病理特征	<i>n</i>	P53阳性表达	Ki-67阳性表达
年龄			
≤50岁	28	16(57.14)	22(78.57)
>50岁	35	22(62.85)	19(54.28)
病理类型			
浆液性卵巢癌	37	24(64.86)	25(67.57)
黏液性囊腺癌	23	13(56.21)	14(60.87)
颗粒细胞癌	3	1(33.33)	2(66.67)
组织分化			
高分化	16	6(37.50)	12(75.00)
低、中分化	47	32(68.09)	29(61.70)
临床分期			
I~II期	24	9(37.50)	10(41.67)
III~IV期	39	28(71.79)	31(79.49)

由表1可见,低、中分化EOC患者P53阳性表达率明显高于高分化患者,晚期(III~IV期)患者P53阳性表达率高于早期(I~II期)患者,差异均有统计学意义(χ^2 分别=35.23、42.56, P 均 < 0.05);不同年龄及病理类型的EOC患者P53阳性表达率比较,差异无统计学意义(χ^2 分别=0.41、0.80, P 均 > 0.05)。年龄≤50岁的EOC患者Ki-67阳性表达率明显高于>50岁患者,晚期(III~IV期)患者Ki-67阳性表达高于早期(I~II期)患者,低、中分化EOC患者Ki-67阳性表达率明显低于高分化患者,差异均有统计学意义(χ^2 分别=16.75、26.72、47.19, P 均 < 0.05),而不同病理类型的EOC患者Ki-67阳性表达率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.89$, $P > 0.05$)。

2.2 卵巢癌P53、Ki-67的表达见封二图1

由封二图1可见,免疫组化显示,P53表达主要位于细胞核中,染色呈棕黄色为突变型P53;Ki-67表达主要位于细胞核中,染色呈棕黄色为阳性。

2.3 P53、Ki-67的表达与EOC患者预后的关系 组织分化、临床分期、P53、Ki-67是EOC患者的PFS的影响因素(HR 分别=16.28、34.11、12.59、36.52, P 均 < 0.05),且组织分化、临床分期、P53、Ki-67同样

是 EOC 患者的 OS 的影响因素 (HR 分别=10.13、11.05、12.37、25.93, P 均 <0.05)。

2.4 Ki-67 高表达及低表达 EOC 患者 PFS 和 OS 曲线见封二图 2、图 3。

由封二图 2 可见, P53 阳性表达患者 OS 及 PFS 均短于阴性表达患者。由封二图 3 可见, Ki-67 阳性表达患者 OS 及 PFS 均短于阴性表达患者。

3 讨论

由于卵巢癌早期具有较高隐匿性, 多数患者发现时已处于癌症晚期, 研究显示, 早期卵巢癌(I~II期)5年内生存率明显高于晚期卵巢癌患者生存率^[3]。鉴于此, 对于早期卵巢癌的热点多集中在寻找灵敏、便捷、创伤性小生物学指标, 以期提高早期卵巢癌的诊断效能, 实现对患者预后的更为准确有效预测。P53 基因是目前癌症遗传流行病学中最常研究的突变之一^[4], 也是人类恶性肿瘤中突变率最高的基因, 突变率约为 50%。野生型 P53 基因可通过促进正常细胞生长、抑制肿瘤细胞恶性增殖以及促进肿瘤细胞凋亡来发挥抑癌作用; 但是突变型 P53 基因的作用与之完全相反, 促进细胞的恶性转变^[5]。由于超过一半的癌症患者肿瘤中的抑癌基因 P53 存在突变, 使得它成为癌症靶向治疗最有吸引力的目标。本次研究采用免疫组化的方法检测 EOC 患者中 P53 的表达, 并分析 P53 的表达与临床病理特征的关系, 结果显示: 低、中分化 EOC 患者 P53 阳性表达率明显高于高分化患者, 晚期(III~IV期)患者 P53 阳性表达率高于早期(I~II期)患者, 提示 EOC 的分期越晚, 组织分化越差, 恶性程度也越高, P53 阳性表达也越高, 与众多研究结果相符^[6,7]。表明 P53 参与 EOC 的发生发展, 并能成为预测患者预后的独立因素, 且 P53 阳性表达与 EOC 患者 PFS 及 OS 呈反比, 预示患者预后不良。

Ki-67 是一种细胞增殖相关蛋白, 当细胞处于增殖活动期时高度表达, 与肿瘤的增殖、浸润、转移潜能和预后相关, Ki-67 的过度表达, 对细胞周期具有正调控的作用, 加快肿瘤的发生发展^[8]。Ki-67 主要在 G₂/M 期表达, 在 G₀、G₁ 早期不表达, 在 G₁ 中晚期才开始表达, S 期后半期明显增加, G₂/M 期达高峰。增殖细胞核抗原表达调控着细胞的周期, 故可利用 Ki-67 反应细胞增殖的活性。有学者通过免疫组化的方法检测 Ki-67 与脑胶质瘤中高表达, 且与预后有关^[9]。本次研究表明, 年龄越大、组织分化程度越

差、临床分期越晚, Ki-67 表达越高, 且与 EOC 患者的总生存期密切相关。与段爱红等^[10]学者研究结果相一致, 指出 Ki-67 在 EOC 患者表达明显高于良性肿瘤患者, 且临床分期越晚 Ki-67 表达越高。由此表明 Ki-67 参与卵巢癌的发生、发展, 可做为 EOC 患者预后的预测因素。

综上所述, P53、Ki-67 在 EOC 患者中高表达, 与 EOC 的发生、发展有密切关系, 可作为 EOC 患者的预后预测指标。

参考文献

- 1 柳晓肃, 连婧, 魏丽军. 缺氧诱导因子-1 α 在卵巢上皮癌中的表达及意义[J]. 中国药物与临床, 2018, 18(5): 816-817.
- 2 Emmanuel C, Chiew YE, George J, et al. Genomic classification of serous ovarian cancer with adjacent borderline differentiates RAS pathway and TP53-mutant tumors and identifies NRAS as an oncogenic driver [J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(24): 6618-6630.
- 3 Nasioudis D, Wilson E, Mastroyannis SA, et al. Prognostic significance of elevated pre-treatment serum CA-125 levels in patients with stage I ovarian sex cord-stromal tumors[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2019, 23(8): 86-89.
- 4 李婷, 高怡瑾. P53 基因突变与人类肿瘤关系的研究进展[J]. 国际输血及血液学杂志, 2018, 41(6): 543.
- 5 Goel A, Rao N, Santhi V, et al. Immunohistochemical characterization of normal ovary and common epithelial ovarian neoplasm with a monoclonal antibody to cytokeratin and vimentin[J]. Iran J Pathol, 2018, 13(1): 23-29.
- 6 王立群, 赵卫东, 席玉玲, 等. p53 和 survivin 在交界性上皮性卵巢肿瘤中的表达及其临床意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2011, 36(10): 1078-1080.
- 7 邱建, 傅云峰, 周彩云, 等. 上皮性卵巢癌组织 CK2 β 和 p53 蛋白表达临床意义分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(6): 451-456.
- 8 周红. 上皮性卵巢癌预后相关因素分析及 Ki-67、WT1 表达的临床意义[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- 9 李卫峰. Ki-67、Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 在脑胶质瘤组织中的表达及临床意义[J]. 陕西医学杂志, 2018, 47(11): 1377-1379.
- 10 段爱红, 孙志强, 吴小华, 等. CD117、Nestin、CD133 和 Ki67 在卵巢上皮性癌组织中的表达及意义[J]. 河北医药, 2014, 36(20): 3045-3048.

(收稿日期 2019-04-28)

(本文编辑 蔡华波)