

低级别、高级别卵巢浆液性癌临床病理分析及 CA125、p53 和 Ki-67 表达的意义

戴 敏,赵迎春

(芜湖市第二人民医院,安徽 芜湖 241000)

摘 要: [目的] 探讨低、高级别卵巢浆液性癌中 CA125、p53 和 Ki-67 的表达及其与预后的相关性。[方法] 依照两级分级系统对卵巢浆液性癌进行分级,分别选取低级别浆液性癌 31 例和高级别癌 31 例,观察其临床病理特点,并采用免疫组织化学 SP 法检测癌组织中 CA125、p53 和 Ki-67 的表达情况。[结果] 低级别组 p53 阳性率显著低于高级别组 (32.26% vs 74.19%, $P<0.001$), Ki-67 阳性指数显著低于高级别组 (29.03% vs 80.65%, $P<0.001$); 低级别组 5 年总生存率、无病生存率均优于高级别组 ($P<0.05$)。[结论] 两级分级系统对卵巢浆液性癌的预后判断具有提示意义, CA125、p53 和 Ki-67 在卵巢低、高级别浆液性癌中的表达差异有统计学意义。

关键词: 卵巢浆液性癌; p53; Ki-67; CA125; 免疫组织化学

中图分类号: R737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2012)08-0631-04

Clinicopathologic Analysis of Low- and High-grade Ovarian Serous Carcinomas and Significance of CA125, p53 and Ki-67 Expression

DAI Min, ZHAO Yin-chun

(The Second People's Hospital of Wuhu, Wuhu 241000, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of CA125, p53, Ki-67 protein and their prognostic values for low- and high-grade ovarian serous carcinomas. [Methods] A total of 31 cases of low-grade and 31 cases of high-grade ovarian serous carcinomas were selected based on the two-tier grading system. Immunohistochemistry was used to detect CA125, p53 and Ki-67 protein expression in all cases. Correlation of the two-tier system with immunohistochemical results and prognostic parameters were performed. [Results] Significant differences in protein expressions were found between the low- and high-grade serous carcinomas. The high-grade serous carcinomas had a significantly higher expression level of p53 (32.26% vs 74.19%, $P<0.001$) and Ki-67 (29.03% vs 80.65%, $P<0.001$). The overall survival, disease-free survival and 5-year survival rates were significantly higher in the low-grade serous carcinoma cases than those in the high-grade cases ($P<0.05$). [Conclusions] The two-tier system for grading ovarian serous carcinomas shows a good predicting value for prognosis. There are significantly differences in expressions of CA125, p53 and Ki-67 between low- and high-grade ovarian serous carcinomas.

Key words: ovarian serous carcinomas; p53; Ki-67; CA125; immunohistochemistry

浆液性癌是最常见的卵巢恶性上皮性肿瘤,容易对化疗产生耐药性,复发率和病死率较高。目前临床医师多采用 WHO 分级系统将其分为高、中和低分化 3 个组织学级别。随着卵巢浆液性癌分子生物学基础研究的发展,传统的 WHO 分级系统遇到了挑战。最近有学者认为,卵巢浆液性癌具有不同的发病通路^[1],对传统的以铂类为基础的联合化疗方案的反应也不同:一类通过良性→交界性→恶性过程逐步发展形成,发展缓慢, p53 基因多为野生型,对化疗不敏感,但治疗后缓解期长;另一类进展迅速,

由正常卵巢表面上皮、包涵囊肿甚至输卵管上皮直接发展形成,多有 p53 基因突变,对初次化疗的反应好,但多有继发耐药和复发^[2]。

因此,近年来人们一直在试图探索新的卵巢浆液性癌分级系统, Singer 等^[3]提出卵巢浆液性癌发生发展的二元模型,在此基础上 Malpica 等^[4]提出两级分级系统,即将其划分为低级别和高级别。Malpica 等提出的 M. D. Anderson 肿瘤中心(MDACC)方案与不同通路发病学说显示出较好的契合性。我们的研究旨在探讨卵巢癌相关蛋白 CA125、p53 和 Ki-67 在低、高级别浆液性癌中的表达情况及在预后判断方面的意义。

收稿日期:2012-03-20;修回日期:2012-06-10

通讯作者:戴敏, E-mail: daimin0123@163.com

1 资料与方法

1.1 病例资料

收集芜湖市第二人民医院病理科 2002~2009 年初次手术的卵巢浆液性癌 62 例,HE 切片由两名高年资病理医师复片,按照 Malpica 等提出的卵巢浆液性癌两级分级系统进行分级。31 例低级别和 31 例高级别浆液性癌病例入组,所有入组病例均行全子宫+双附件+大网膜+阑尾切除术,其中部分病例加行肿瘤细胞减灭术,术后予以铂类为基础的联合化疗。

1.2 分级标准

卵巢浆液性癌两级分级系统^[4]的主要标准是依据肿瘤细胞核的形态分为低级别和高级别浆液性癌,低级别浆液性癌细胞大小一致,细胞核轻至中度异形,核圆形或卵圆形,染色质细腻、均匀分布,核仁可见,核分裂相少($\leq 12/10$ HPF);高级别浆液性癌细胞具有多形性且显著异形,细胞核重度异形,大小、形状不一,染色质粗糙,核仁明显,核的大小差异 $\geq 3:1$,核分裂相多($>12/10$ HPF)。

1.3 免疫组织化学染色及结果判定

所有标本均经 4%中性甲醛液固定,石蜡包埋,切片厚 4 μ m,行免疫组织化学 SP 法染色。一抗选用迈新公司的即用型抗体:ER(兔单克隆抗体,克隆号 SP1),PR(兔单克隆抗体,克隆号 SP2),CA125(鼠单克隆抗体,克隆号 TA347),p53(鼠单克隆抗体,克隆号 SP5)和 Ki-67(鼠单克隆抗体,克隆号 MIB-1)。以 PBS 缓冲液代替一抗作阴性对照免疫组化。

判定标准参考 O'Neill 等^[5]的研究:p53 以 $>75\%$ 肿瘤细胞核强阳性着色视为阳性,细胞核着色阴性或 $\leq 75\%$ 肿瘤细胞核着色,或 $>75\%$ 肿瘤细胞核弱至中等着色视为阴性;CA125 血清检查以 500U/ml 为界;Ki-67 阳性表达主要位于细胞核内,每张切片至少计数 1 000 个瘤细胞,计算 Ki-67 阳性细胞所占的百分率,规定阳性细胞数以 50%为界, $>50\%$ 肿瘤细胞核强阳性着色为阳性, $<50\%$ 肿瘤细胞核着色为阴性。

1.4 随访

随访资料通过查询住院病历、电话或门诊随访回顾性获得。随访 3~108 个月,截止 2011 年 12 月 28 日,随访率达 92%。总生存时间定义为手术日至患者因疾病死亡的日期,若随访截止患者仍存活,总

生存时间则记录为手术日至最后一次随访的日期。无病生存时间定义为手术日至疾病复发日期或最后一次随访的日期。疾病复发定义为体检、影像学或组织学等检查出现异常改变或血清 CA125 水平持续升高。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 16.0 软件,计数资料比较采用 Pearson 卡方检验;生存分析采用 Kaplan-Meier 法和 Log-Rank 法比较组间生存时间的差异。

2 结果

2.1 低、高级别浆液性癌的形态学特点

低级别浆液性癌组肿瘤直径平均 7.4cm (3.0~15.0cm),高级别组平均 7.5cm (2.8~19.0cm)。低级别组中 25 例(80.6%)呈微乳头结构,癌细胞轻至中度异形,细胞核大小一致,呈圆形或卵圆形,染色质细腻均匀,21 例见沙砾体结构,16 例(51.6%)可见与交界性病变移行区域。高级别组中 30 例(96.8%)呈大乳头、腺样或实性片状结构,癌细胞重度异形,细胞核大小不一致,染色质粗糙、聚集成块,核分裂相计数在 12/10 HPF 以上,坏死多见,多核瘤巨细胞可见,未见与交界性病变移行区域。与 Malpica 等提出的卵巢浆液性癌两级分级系统的标准具有较好的契合性。

2.2 低、高级别浆液性癌与临床病理因素的关系

卵巢浆液性癌共 62 例,低、高级别浆液性癌与发病平均年龄,肿块部位,肿块大小,ER、PR 表达无明显关系($P>0.05$)。低级别组的术前血清 CA125 水平低于高级别组,差异有统计学意义($P<0.05$);低级别组中 p53 表达率低于高级别组 (32.26% vs 74.19%) ($P<0.001$)。低级别组 Ki-67 阳性指数平均为 13.7%,其中 29.03% (9/31)病例 Ki-67 阳性指数 $>50\%$,低级别组 Ki-67 阳性指数低于高级别组 (29.03% vs 80.65%) ($P<0.001$);按照国际妇产科联盟 FIGO 分期,低级别组与高级别组 FIGO 分期差异无统计学意义 ($P=0.38$)。见表 1。

2.3 低、高级别浆液性癌的临床预后

随访低级别组 31 例患者中,5 年总生存率为 74.2% (23/31),无病生存率为 67.7% (21/31);患者的中位生存期为 47 个月(95%CI:29.85~56.15)。高级别

表1 低、高级别卵巢浆液性癌与临床病理因素的关系

临床病理因素	卵巢浆液性癌		χ^2	P
	高级别	低级别		
年龄(岁)				
≥50	19	16	0.59	0.44
<50	12	15		
肿块部位				
左侧	10	12	0.28	0.60
右侧	21	19		
肿块大小(cm)				
<5	14	11	0.60	0.44
≥5	17	20		
ER				
+	18	21	0.62	0.43
-	13	10		
PR				
+	15	13	0.26	0.61
-	16	18		
p53				
阳性	23	10	10.95	<0.001
阴性	8	21		
Ki-67 比例				
>50%	25	9	16.67	<0.001
≤50%	6	22		
FIGO 分期				
I~II期	8	5	0.88	0.38
III~IV期	23	26		
CA125(U/ml)				
≥500	25	17	4.72	0.03
<500	6	14		

表2 p53、CA125 表达和 Ki-67 比例与预后的关系

因素	例数	总生存		无病生存	
		生存率(%)	P	生存率(%)	P
p53					
阳性	33	45.5	0.006	39.4	0.020
阴性	29	79.3		69.0	
Ki-67 比例					
>50%	34	47.1	0.011	35.3	0.002
≤50%	28	78.6		75.0	
CA125(U/ml)					
≥500	42	47.6	0.001	42.9	0.018
<500	20	90.0		75.0	

组 31 例患者中,5 年总生存率为 48.4%(15/31),无病生存率为 38.7%(12/31);中位生存期为 23 个月(95%CI:12.46~43.54)。低级别组的总生存时间和无病生存时间均优于高级别组,差异有统计学意义(χ^2 值分别为 4.351、5.248; P 值分别为 0.04、0.01)。p53 阳性的患者总生存率为 45.5%,无病生存率为

39.4%,明显低于 p53 阴性组的 79.3%和 69.0%($P<0.05$);Ki-67 阳性指数>50%的患者总生存率为 47.1%,无病生存率为 35.3%,明显低于阳性指数≤50%患者的 78.6%和 75.0%($P<0.05$);CA125 血清≥500U/ml 患者的总生存率为 47.6%,无病生存率为 42.9%,明显低于 CA125 血清<500U/ml 患者的 90.0%和 75.0%($P<0.05$)。见表 2。

3 讨论

2002 年 Singer 等^[3]提出卵巢浆液性癌发生发展的二元模型,认为不同分级的浆液性癌发生机制不同。低级别浆液性癌的发病模式为:浆液性囊腺瘤/囊腺纤维瘤→不典型增生的浆液性肿瘤(APST)→微乳头状浆液性癌(MPSC)→癌,是一个连续的形态学和生物学过程,多数存在 *K-ras* 和 *BRAF* 基因突变,但基因 *p53* 为野生型。高级别浆液性癌由正常卵巢表面上皮或包涵囊肿上皮直接发展形成,多伴有 *p53* 基因突变,但 *K-ras* 和 *BRAF* 基因为野生型。病变过程为分泌细胞过生长(SCOUT)→p53 印迹(SCOUT 中 p53 表达阳性的细胞)→输卵管上皮内癌(STIC)→癌,该学说目前已被广泛接受^[6]。传统的三级分级系统认为,不同级别的卵巢浆液性癌均具有相同的肿瘤发生途径,与二元模型不符。近年来 Malpica 等提出的两级分级系统与卵巢浆液性癌发生的二元模型、临床参数均具有良好的契合性。

本组研究显示,低级别浆液性癌中可见到与交界性病变移行区域,以微乳头结构为主,细胞核轻中度异形,核分裂相计数为 1~12/10 HPF。高级别浆液性癌中未见与交界性病变移行区域,主要以大乳头、腺性或实性片状结构为主,细胞核异形显著,核分裂相计数全部>12/10 HPF。Kurman 等^[7]提出低级别浆液性腺癌常有 *K-ras*、*BRAF* 或 *ErbB-2* 基因之一的突变,见于约 2/3 的病例,其中以 *K-ras* 和 *BRAF* 基因突变更为多见,p53 突变仅见于 8%的病例,无纯合子缺失,DNA 复制指数明显低于高级别浆液性腺癌,同样的遗传学改变也出现在交界性浆液性肿瘤中。等位基因不稳定性从浆液性交界性肿瘤至非浸润性微乳头癌,直至浸润性微乳头癌依次增多,此种渐进性低水平的染色体不稳定性与低级别浆液性腺癌的病理发生路径相关。

高级别浆液性腺癌在卵巢浆液性腺癌中约占90%，往往发现时已盆腔广泛扩散，合并多脏器受累，约10%的患者为遗传性BRCA基因突变。肿瘤低分化，呈混合腺样、较大而复杂的乳头或实性片状结构，乳头表面被覆复层与裂隙样上皮。偶有微乳头形态，但与实性片状生长同时存在。瘤细胞显著异形，大小形状不一，常见奇异的瘤巨细胞，核分裂活跃，伴异常核分裂。80%的肿瘤有p53突变，但极少有K-ras、BRAF或ErbB-2突变，表现高水平的染色体不稳定性与高DNA复制指数，部分肿瘤有RB1、CDKN2A/B、CSMD1与DOCK4等位点的纯合子缺失^[8]。肿瘤组织形态和遗传学改变与低级别浆液性腺癌有很大不同，表现出高级别浆液性腺癌的病理发生路径。

肿瘤抑制基因p53位于17号染色体短臂，编码核转录因子p53蛋白，调节细胞生长，诱导凋亡。p53基因编码的核酸蛋白通常结合于DNA的特殊区域，在DNA转录、细胞生长和增殖以及许多新陈代谢过程中起着重要的作用^[9]。我们按照两级分级对低、高级别浆液性癌进行p53免疫组织化学染色，结果显示p53在高级别浆液性癌的表达显著高于低级别癌，与O'Neill等^[5]研究结果相近。p53染色阳性者5年生存率低于阴性患者，但p53表达与总生存时间、无病生存时间未显示出统计学相关性。因此，p53免疫组织化学结果对卵巢浆液性癌的预后判断缺乏明确的指示作用。

本组研究结果显示，高级别浆液性癌Ki-67阳性指数显著高于低级别浆液性癌，这与形态学上核分裂相在高级别癌中非常多见、在低级别癌中很少见具有一致性，也进一步证实卵巢低、高级别浆液性癌具有不同的肿瘤发生通路的理论。采用两级分级系统对卵巢浆液性癌进行分级在预后判断方面具有肯定的提示作用。根据文献报道^[10]，卵巢低级别浆液性癌的中位生存时间为4.2~6.8年，高于本研究低级别组的中位生存时间3.6年，可能与我们的病例数较少、随访时间较短有关。

与WHO分级相比，两级分级在与FIGO分期、总生存期及无病生存情况的相关性上具有明显优势，突出其对临床预后的指导价值^[11]。按照MDACC分级^[4]的标准，绝大部分病例根据细胞核的异形性即可顺利进行分级；对于少数核异形性难以把握的病

例，通过核分裂相的计数也能够进行很好的分级，因此两级分级系统具有较好的客观性、可操作性和重复性。

综上所述，卵巢低、高级别浆液性癌是具有不同发生机制和生物学行为的两类不同的肿瘤，该分级系统主要基于肿瘤细胞核的异形性进行分级，标准简单，容易掌握，可重复性好，且对预后、治疗有明确的指导意义，p53、CA125和Ki-67免疫组织化学染色可能成为分级的辅助手段，因此在卵巢浆液性癌的临床病理诊断中我们推荐使用该分级系统，但两级分级系统仍有待完善。

参考文献：

- [1] Shih IeM, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis[J]. Am J Pathol, 2004, 164 (5): 1511-1518.
- [2] Gilks CB, Prat J. Ovarian carcinoma pathology and genetics: recent advances[J]. Hum Pathol, 2009, 40(9):1213-1223.
- [3] Singer G, Kurman RJ, Chang HW, et al. Diverse tumorigenic pathways in ovarian serous carcinoma[J]. Am J Pathol, 2002, 160(4):1223-1228.
- [4] Malpica A, Deavers MT, Lu K, et al. Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system[J]. Am J Surg Pathol, 2004, 28(4):496-504.
- [5] O'Neill CJ, Deavers MT, Malpica A, et al. An immunohistochemical comparison between low-grade and high-grade ovarian serous carcinomas: significantly higher expression of p53, MIB1, BCL2, HER-2/neu, and C-KIT in high-grade neoplasms [J] Am J Surg Pathol, 2005, 29(8):1034-1041.
- [6] 申彦, 杨帆, 刘劲松. 卵巢浆液性癌的组织学分级与发病机制研究新进展[J]. 中华病理学杂志, 2011, 40(8):507-510.
- [7] Kurman RJ, Shih IeM. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory[J]. Am J Surg Pathol, 2010, 34(3):433-443.
- [8] Vang R, Shih IeM, Kurman RJ. Ovarian low-grade and high-grade serous carcinoma: pathogenesis, clinicopathologic and molecular biologic features, and diagnostic problems[J]. Adv Anat Pathol, 2009, 16(5):267-282.
- [9] 孔艳青, 孙振柱. WT 1 与 p53 在卵巢浆液性癌中的表达及意义[J]. 世界肿瘤杂志, 2011, 10(1):23-25.
- [10] Gershenson DM, Sun CC, Lu KH, et al. Clinical behavior of stage II ~ IV low-grade serous carcinoma of the ovary[J]. Obstet Gynecol, 2006, 108(2):361-368.
- [11] 林洁, 杜娟, 张春好, 等. 卵巢浆液性癌两级组织学分级系统的评估及 p53 蛋白过表达的意义[J]. 中华病理学杂志, 2010, 39(10):655-660.