

· 论 著 ·

卵巢上皮性肿瘤核 DNA 含量、p53 蛋白表达与其 CT 表现、预后的关系

江魁明*, 李维枢, 肖国宏, 董天发, 李志钊, 宋 亭
(广州医学院附属广州市第二人民医院放射科, 广州 510150)

[摘要] **目的:**观察卵巢上皮性肿瘤(EOT)患者核 DNA 含量、p53 蛋白表达情况,探讨二者与其 CT 表现、预后的关系。**方法:**对 88 例 EOT 患者核 DNA 含量、p53 蛋白表达与其 CT 表现作对照分析。随访 26 例卵巢上皮癌患者,按瘤核的倍体性分为异倍体肿瘤(AT)组($n=19$)、二倍体肿瘤(DT)组($n=7$),按肿瘤 p53 蛋白表达分 p53 蛋白(+)组($n=15$)、p53 蛋白(-)组($n=11$);分析核 DNA 含量、p53 蛋白表达与卵巢上皮癌患者 CT 表现及生存期的关系。**结果:**EOT 的囊壁 ≥ 3 mm 与 < 3 mm 患者、囊壁有结节与无结节患者、肿瘤边界毛糙与光滑患者间的 DNA 指数(DI)、AT 患者数、p53 蛋白阳性率均存在显著性差异($P<0.01$)。随访的 26 例卵巢上皮癌患者 AT 组“肿瘤实质强化程度”高于 DT 组($P<0.01$),p53 蛋白(+)组与 p53 蛋白(-)组间无显著差异;随访病例中 DT 患者生存期显著长于 AT 患者($P<0.05$),p53 蛋白(-)患者显著长于 p53 蛋白(+)患者($P<0.01$);随访中有 12 例 p53 蛋白(+)的 AT 组卵巢癌患者术后生存期均小于 48 个月。**结论:**EOT 患者核 DNA 含量、p53 蛋白表达与其 CT 表现存在一定的相关性;AT 和(或)p53 蛋白(+)卵巢上皮癌患者预后不良。

[关键词] 卵巢肿瘤;肿瘤,腺和上皮;DNA,肿瘤;p53 蛋白;体层摄影术;预后

[中图分类号] R 737.31; R 730.261 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)01-0054-04

Correlation of nuclear DNA contents and p53 protein expression with CT image and prognosis of patients with epithelial ovarian tumors

JIANG Kui-ming*, LI Wei-shu, XIAO Guo-hong, DONG Tian-fa, LI Zhi-zhao, SONG Ting(Department of Radiology, the Second People's Hospital of Guangzhou, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510150, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the nuclear DNA contents and expression of p53 protein in epithelial ovarian tumors (EOT) and to explore their correlation with CT images and prognosis in EOT patients. **Methods:** The nuclear DNA contents, expression of p53 protein and CT findings of 88 EOT patients were analyzed. Twenty-six EOT patients were followed up and were divided into AT group (aneuploid, $n=19$) and DT group (diploid, $n=7$) according to DNA ploid, and into p53 protein (+) group ($n=15$) and p53 protein (-) group ($n=11$) according to expression of p53 protein. The correlation of nuclear DNA content and p53 protein expression with CT findings and prognosis of EOT patients was analyzed. **Results:** The DNA index, patient number with AT and protein p53 (+) rate were significantly different between patients with their cystic wall thickness ≥ 3 mm and < 3 mm, patients with and without cystic wall nodus, and patients with poorly-defined tumor boundary and well-defined tumor boundary in 88 patients with EOT($P<0.01$). The “enhanced degree of tumor parenchyma” in AT group was obviously higher than that in DT group($P<0.01$), and was similar between protein p53 (+) group and (-) group. The survival periods of patients in DT group and protein p53 (-) group were longer than those in AT group and protein p53 (+) group ($P<0.05$, $P<0.01$). The survival periods of 12 patients in AT group with p53 protein (+) expression were all less than 48 months. **Conclusion:** Nuclear DNA and p53 protein are correlated with CT findings in EOT patients; the prognosis of ovarian carcinoma with aneuploidy and/or p53 protein (+) expression is poor.

[KEY WORDS] ovarian neoplasms; neoplasms, glandular and epithelial; DNA, neoplasm; p53 protein; tomography; prognosis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(1): 54-57]

肿瘤影像学表现的分子基础已成为目前研究的热点。肺癌、鼻咽癌、肝癌、脑星形细胞瘤等的影像学表现与瘤核 DNA 含量、p53 蛋白、肿瘤血管生成因子的关系已获得某些重要结果^[1]。但卵巢肿瘤影像表现的分子基础迄今仍未见报道。卵巢上皮肿瘤(epithelial ovarian tumor, EOT)占卵巢原发性肿瘤的 50%~70%,恶性类型占卵巢恶性肿瘤的 85%~90%^[2]。本实验拟研究 EOT 患者的 CT 表现、预后与其 DNA 含量、p53 蛋白表达的关系,旨在探讨

EOT 患者预后及其 CT 表现所展示的生物行为的分子基础。

[基金项目] 广东省医学科研基金(A2001570)。Supported by Medical Science Foundation of Guangdong Province(A2001570)。
[作者简介] 江魁明,博士,副教授、副主任医师,硕士生导师。
* Corresponding author. E-mail: kmjiang64@sina.com

1 资料和方法

1.1 一般资料 本组样本共 88 例,年龄 35~68 岁,平均(48±12)岁。均经 CT 诊断、手术和病理证实。88 例 EOT 中,卵巢浆液性肿瘤 52 例,其中良性囊腺瘤 25 例,交界性囊腺瘤 9 例,浆液性囊腺癌 18 例;卵巢黏液性肿瘤 36 例,其中良性囊腺瘤 16 例,交界性囊腺瘤 6 例,黏液性囊腺癌 14 例。所用组织学标本均为石蜡包埋病理组织。

1.2 CT 设备、技术和观察内容 本组样本均使用 Picker 公司 PQ-6000 螺旋 CT 扫描,平扫范围自耻骨联合至髂骨嵴、肝脏不等,层厚 8 mm、间距 8 mm。增强扫描兴趣区层厚 5 mm、间距 5 mm、螺距 1.0 的连续扫描;造影剂为优维显 300 型,1.5 ml/kg 肘前静脉高压注射,速率 2.5 ml/s。动脉期扫描启动时间为肘前静脉高压注射造影剂到达临近髂总动脉分叉处腹主动脉强化的峰值时间。

CT 研究内容和测量标准:瘤体大小,囊壁厚度,囊壁赘生物,囊液 CT 值,肿瘤边界,腹水,浸润毗邻器官和(或)转移,肿瘤实质的增强程度。“瘤体大小”取瘤体最大“前后径+左右径+上下径”除以 3;“囊壁厚度”系指囊壁最大厚度值;“肿瘤实质的强化程度”=动脉期瘤实质 CT 值-平扫时同层面瘤实质 CT 值,取“肿瘤实质强化程度”最大值。由两位高年资医师机上双盲法测量“瘤体大小、囊壁厚度、囊液 CT 值、肿瘤实质的强化程度”,取两位测量者测量值的均值。

1.3 EOT 患者核 DNA 含量、p53 蛋白的测定 肿瘤核 DNA 含量、p53 蛋白检测均使用石蜡包埋病理组织。使用 EPICS-751 型流式细胞仪,参照有关资料制备单细胞悬液,利用人血淋巴细胞作标准仪器的标准样品,控制变异系数(CV 值)≤5%。核 DNA 含量用 DNA 指数(DNA index,DI)表示其相对含量。DI=1±3CV 为二倍体肿瘤(diploid tumor,DT),DI>或<1±3CV 为异倍体肿瘤(aneuploid tumor,AT)。免疫组化染色使用 SP 法。p53 单克隆抗体(DO-1)、SP 试剂盒分别为 Santa Cruz 公司和 Zymed 公司产品。操作方法按 SP 试剂盒说明进行,DAB 染色,用已知 p53 阳性片对照,PBS 代替一抗作空白对照。判断标准:细胞核染成棕黄色为阳性。

1.4 随访资料 鉴于行“减瘤术”的卵巢上皮癌瘤组织残留量显著影响肿瘤的预后,本组纳入随访的标准是行“瘤体全切”的卵巢上皮癌患者,术后采用

统一的苯丙氨酸氮芥联合六甲密胺化疗,共 26 例,其中浆液性囊腺癌 16 例,黏液性囊腺癌 10 例。随访时间从术后第 1 天开始,4 年(48 个月)后截止。

1.5 统计学处理 统计学分析使用 SPSS 软件,两样本均数比较 *t* 检验、两样本率比较 *u* 检验,生存率比较 Log rank 检验,检验水准 *P*<0.05。

2 结果

2.1 EOT 患者核 DNA 含量的测定结果及 p53 蛋白的表达情况 25 例良性浆液性、16 例良性黏液性 EOT,均为 DT、p53 蛋白阴性;9 例交界性浆液性 EOT,AT 3 例,p53 蛋白阳性 1 例,6 例交界性黏液性 EOT,AT 1 例,p53 蛋白均阴性;18 例浆液性癌,AT 14 例,p53 蛋白阳性 11 例,14 例黏液性癌 AT 9 例,p53 蛋白阳性 8 例;纳入随访的浆液性、黏液性囊腺癌共 26 例,AT 19 例,p53 蛋白阳性 15 例,AT 患者中 p53 蛋白阳性 12 例。

2.2 EOT 患者核 DNA 含量、p53 蛋白表达与 CT 表现的关系 EOT 的囊壁≥3 mm 与<3 mm 患者、囊壁有结节与无结节患者、肿瘤边界毛糙与光滑患者间的 DI、AT 患者数、p53 蛋白阳性率均存在显著性差异(*P*<0.01),详见表 1。

表 1 EOT 的核 DNA 含量、p53 蛋白表达与 CT 表现的关系

Tab 1 Relationship of nuclear DNA contents and p53(+) rate with CT findings in EOT patients

(x±s)				
CT findings	<i>n</i>	DI	AT	p53(+)
Cystic wall ≥3 mm	38	1.52±0.49	23(61%)	20(53%)
< 3 mm	50	1.09±0.10**	4(8%)**	0**
With CWN	28	1.56±0.49	21(75%)	17(61%)
Without CWN	60	1.11±0.09**	6(10%)**	3(5%)**
Well-defined border	61	1.11±0.10	6(10%)	4(7%)
Poorly-defined border	27	1.50±0.50**	21(78%)**	16(59%)**

** *P*<0.01 vs the other condition of each findings; CWN:Cystic wall nodus

2.3 卵巢上皮癌患者核 DNA 含量、p53 蛋白表达与 CT 表现的关系 卵巢上皮癌 AT 组与 DT 组患者的“肿瘤大小”、“囊液 CT 值”的差异无显著性,AT 组的“腹水”、“淋巴结或远隔器官转移”多于 DT 组,但差异尚无统计学意义;AT 组“肿瘤实质增强程度”高于 DT 组,差异有显著性(*P*<0.01);p53(+)组的“肿瘤大小”、“腹水”和“淋巴结或远隔器官转移”、“肿瘤实质增强程度”与 p53(-)组的比较差异无显著性,详见表 2。

表 2 卵巢上皮癌核 DNA 含量、p53 蛋白表达与 CT 表现的关系

Tab 2 Relationship of nuclear DNA contents and p53 (+) rate with CT finding in patients of ovarian carcinomas

Group	n	Tumor size (l/cm)	Cystic fluid CT values(Hu)	Ascites	Lymph node and/or distant metastasis	Tumor parenchyma enhanced degree(Hu)
AT	19	11.40±5.46	22.50±10.24	12(52%)	16(70%)	28.45±8.05
DT	7	10.23±6.12	20.32±11.40	3(33%)	3(33%)	16.24±7.50**
p53(+)	15	10.80±5.88	21.60±9.80	9(47%)	12(63%)	23.60±8.40
p53(-)	11	11.25±6.00	20.45±10.66	6(46%)	7(54%)	21.80±8.66

** P<0.01 vs AT group

2.4 核 DNA 含量、p53 蛋白表达与卵巢上皮癌患者生存期的关系 随访的 26 例卵巢上皮癌,AT 19 例,DT 7 例;p53 蛋白阳性 15 例,阴性 11 例。未出现中途失访的样本。表 3 显示 26 例卵巢癌随访病

例中 DT 患者生存期显著长于 AT($P<0.05$),p53 蛋白(-)患者显著长于 p53 蛋白(+)患者($P<0.01$);随访中有 12 例 p53 蛋白(+)的 AT 组卵巢癌患者术后生存期均小于 48 个月。

表 3 卵巢上皮癌核 DNA 含量、p53 蛋白表达与生存率的关系

Tab 3 Relationship of nuclear DNA contents and p53 (+) rate with survival rates in patients of ovarian carcinomas

Serial No.	Time (t/month)	AT			DT			p53(+)			p53(-)			Summation	
		n1i	d1i	T1i	n2i	d2i	T2i	n3i	d3i	T3i	n4i	d4i	T4i	ni	di
1	8	19	1	0.730	7	0	0.269	15	1	0.577	11	0	0.423	26	1
2	13	18	1	0.720	7	0	0.280	14	1	0.560	11	0	0.440	25	1
3	15	17	0	0.708	7	1	0.292	13	1	0.542	11	0	0.458	24	1
4	20	17	1	0.739	6	0	0.261	12	1	0.522	11	0	0.478	23	1
5	25	16	2	1.455	6	0	0.545	11	1	1.000	11	0	1.000	22	2
6	27	14	2	1.400	6	0	0.545	10	2	1.000	10	0	1.000	20	2
7	30	12	1	1.333	6	1	0.667	8	2	0.889	10	0	1.111	18	2
8	34	11	3	2.060	5	0	0.938	6	2	1.125	10	1	1.875	16	3
9	39	8	1	0.615	5	0	0.385	4	0	0.308	9	1	0.692	13	1
10	40	7	2	1.167	5	0	0.833	4	1	0.667	8	1	1.333	12	2
11	43	5	1	0.500	5	0	0.500	3	0	0.300	7	1	0.700	10	1
12	47	4	1	0.889	5	1	1.111	3	1	0.667	6	1	1.333	9	2
13	48	3	1	0.429	4	0	0.571	2	0	0.286	5	1	0.714	7	1
Summation	-	-	17	12.745	-	3	7.252	-	13	7.318	-	7	10.168	-	-

Between the AT group and DT group, and the p53(+) group and p53(-) group, Log rank test of the survival periods after operation: $\chi^2=3.911, P<0.05, \chi^2=5.399, P<0.01$, respectively. "Time" indicates living time; n1i,d1i and T1i indicate the sample number,the dead number and expected mortality size at a living time in the ATgroup,respectively; ni=n1i+n2i=n3i+n4i,di=d1i+d2i=d3i+d4i

3 讨论

以往的 CT 影像学研究通常仅注重于组织、器官的“CT 表现”与其大体病理和病理生理学的关系。近年来,旨在揭示肿瘤生物行为物质基础的分子病理、分子生物学的研究取得了很大的发展^[1~3]。结合现代分子病理、分子生物学研究成果,探讨目前以大体形态病理学为理论依据的 CT 表现的分子病理基础,对 CT 影像学的发展无疑有重要意义。

3.1 EOT 患者的 CT 表现与其核 DNA 含量、p53 蛋白表达的关系 目前认为^[2]CT 显示 EOT 的实性成分越多、囊壁越厚、囊壁的赘生物越多,EOT 生物行为则越趋向恶性,恶性程度亦越强;囊壁厚度>

3 mm、囊壁赘生物多是恶性 EOT 重要的 CT 表现。本组研究表明囊壁≥3 mm 组和囊壁赘生物组的 DI、AT 患者数、p53 蛋白阳性率显著高于囊壁<3 mm 组、囊壁无赘生物组,阐明了病理学、CT 对 EOT 这种生物行为的认知具有分子病理的基础。肿瘤边界毛糙、模糊、向毗邻结构浸润是恶性肿瘤的生物特性^[2,4],浸润性越强,恶性程度越高。EOT 患者 CT 显示的边界模糊组 DI、AT 患者数、p53 蛋白阳性率显著高于边界光滑组,说明 EOT 肿瘤的浸润生物行为具有高 DI、AT、p53 蛋白阳性的物质基础。腹水、肿瘤周围淋巴结肿大或远隔器官转移是卵巢上皮癌临床分期Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ期常见的 CT 表现^[2]。本组资料卵巢上皮癌中的 AT 组、p53 蛋白阳性组患

者其腹水、淋巴结和远隔器官的转移率虽然高于 DT 组、p53 蛋白阴性组,但无统计学差异,这提示卵巢上皮癌转移的生物行为可能还存在其他更重要的影响因素。肿瘤实质的强化程度通常反映肿瘤的血供及瘤血管的成熟度。肿瘤实质强化程度越高表示瘤血管越丰富。肿瘤丰富的血供促进瘤细胞增殖速度加快,恶性程度增高。卵巢上皮癌 AT 组的肿瘤实质强化程度高于 DT 组,也说明肿瘤实质的强化程度反映肿瘤的恶性程度,而 p53 蛋白阳性组与阴性组未表现显著差异,则说明异倍体卵巢上皮癌与 p53 蛋白阳性卵巢上皮癌的恶性行为并非均一致。卵巢上皮癌 AT 组与 DT 组, p53 阳性组与阴性组,各自间“肿瘤大小”、“囊液 CT 值”的比较无显著性差异。“肿瘤大小”直接反映肿瘤增殖能力,通常是评价肿瘤恶性程度的重要指标^[4],本组资料 AT 组与 DT 组、p53 阳性与阴性组“肿瘤大小”均未显示显著性差异,可能与卵巢上皮癌的生物特征、临床表现,如囊液聚集、临床症状轻微、常于中晚期才发现有关。EOT 的“囊液 CT 值”与其组织学类型有关,黏液性 EOT 的囊液 CT 值明显高于浆液性 EOT,本组资料显示其与 EOT 的恶性程度无关。

3.2 卵巢上皮癌核 DNA 含量、p53 蛋白表达对其预后的影响 组织病理学分级、临床分期(FIGO)是目前公认的评价卵巢上皮癌预后的有效指标^[2,5~8]。卵巢上皮癌的病理分级、FIGO 分期越高,术后复发、转移的时间就越早,患者生存期越短。本组资料显示:卵巢上皮癌瘤核的倍体性、p53 蛋白表达与患者的术后生存期也有一定的相关性。26 例卵巢癌随访病例中 DT 患者生存期显著长于 AT, p53 蛋白(一)患者显著长于 p53 蛋白(+)患者;随访中有 12 例 p53 蛋白(+)的 AT 组卵巢癌患者术后生存期均

小于 48 个月。尽管本研究显示瘤核的倍体性、p53 蛋白表达与卵巢上皮癌的预后明显相关,但有关文献对它们的关系仍有争议^[8~10]。异倍体瘤核、p53 蛋白阳性是否存在更为复杂的相互作用来干预卵巢上皮癌的预后,能否成为评价卵巢上皮癌预后的凶险指标很值得扩大样本进一步研究。

[参 考 文 献]

[1] 田建明,郝强.加强基因水平上的影像医学研究[J].中华放射学杂志,2000,34:653-654.

[2] Abeloff MD, Armitage JO, Lichter AS,等主编.临床肿瘤学(上卷)[M].徐光伟主译.沈阳:辽宁教育出版社,1999.3-148.

[3] Shimizu Y. Recent developments in the molecular genetic understanding of ovarian carcinoma[J]. Nippon Rinsho,2004,62 (Supl 10):570-577.

[4] Nowell PC. Mechanism of tumor progression [J]. Cancer Res, 1986,46:2203-2207.

[5] Valverde JJ, Martin M, Garcia-Asenjo JA, et al. Prognostic value of DNA quantification in early epithelial ovarian carcinoma [J]. Obstet Gynecol,2001,97:409-416.

[6] Geisler JP, Geisler HE, Miller GA, et al. p53 and bc1-2 in epithelial ovarian carcinoma; their value as prognostic indicators at a median follow-up of 60 months [J]. Gynecol Oncol,2000,77: 278-282.

[7] Wen WH, Reles A, Runnebaum IB, et al. p53 mutations and expression in ovarian cancers; correlation with overall survival [J]. Int J Gynecol Pathol,1999,18:29-41.

[8] Kihana T, Tsuda H, Teshima S, et al. High incidence of p53 gene mutation in human ovarian cancer and its association with nuclear accumulation of p53 protein and tumor DNA aneuploidy [J]. Jpn J Cancer Res,1992,83:978-984.

[9] 孙丽君,刘丽萍,张锚链,等.卵巢癌化疗与 DNA 含量测定的关系[J].贵州医药,2004,28:403-405.

[10] 周决,曹世龙,陈洁,等. p53 蛋白在卵巢癌组织中的表达及其意义[J].实用癌症杂志,2000,15:505-507.

[收稿日期] 2005-10-31 [修回日期] 2005-11-29

[本文编辑] 贾泽军,邓晓群