

PCNA 表达水平对上皮性卵巢癌化疗效果的影响

杨国奋, 何勉, 梅卓贤

(中山医科大学附属第一医院妇产科, 广东 广州 510080)

摘要: 【目的】探讨增殖细胞核抗原(PCNA)表达水平对上皮性卵巢癌化疗效果的影响。【方法】应用 PCNA 单克隆抗体检测 81 例上皮性卵巢癌的表达水平, 术后用铂类为基础的方案进行化疗, 并分析她们的 2 次探查结果及生存率。【结果】PCNA 总的阳性表达率为 80% (65/81), 按增殖指数水平分 A、B、C 3 组, 2 次探查结果 A 组阳性率为 44.18%, B 组 20.69%, C 组 11.11%, ($P < 0.05$)。A 组 3 年及 5 年生存率是 59.68% 和 45.60%, B 组 55.70% 和 45.57%, C 组 74.66% 和 74.66%。Kaplan-Meier 生存曲线无差异 (Log-rank 检验 $P > 0.05$)。【结论】PCNA 表达对上皮性卵巢癌化疗效果近期有影响, 随 PCNA 增殖指数升高, 第二次手术探查阳性率下降。对化疗的远期效果——生存时间影响不大。

关键词: 卵巢肿瘤/药物疗法; 增殖细胞核抗原

中图分类号: R737.31 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)05-0378-04

The Expression Level of PCNA to the Effect of Chemotherapy on Epithelial Ovarian Carcinoma

YANG Guo-fen, HE Mian, MEI Zhuo-xian

(Department of Obstetric and Gynecology, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080 China)

Abstract: 【Objective】To evaluate the expression level of PCNA on the effect of chemotherapy of epithelial ovarian carcinoma. 【Methods】Tumor samples were obtained from 81 patients with epithelial ovarian carcinoma before chemotherapy, and tested by monoclonal anti-PCNA (PC-10). All cases were treated with platinum-based chemotherapy after surgery. Second operation results and follow-up information were available on all patients. 【Results】The overall positive rate of PCNA is 80% (65/81). Based on the level of PCNA labelling index, all cases were divided into three groups: A, B, C. According to the second operation results, positive rate group A is 44.18%, group B 20.69%, group C 11.11% ($P < 0.05$). In group A, the 3-year and 5-year survival rates were 59.68%, 45.60%. In the group B 55.70%, 45.57% and in the group C 74.66%, 74.66% respectively. The Kaplan-Meier survival curves was not significant different by the Log-Rank test. 【Conclusions】The expression level of PCNA has an recent effect on chemotherapy of the epithelial ovarian carcinoma. The higher the expression level of PCNA, the lower the positive rate of the second operation, but it has little effect on prognosis.

Key words: ovarian neoplasms/drug therapy; proliferating cell nuclear antigen

增殖细胞核抗原(PCNA)作为原位检测肿瘤增殖状态的新指标, 近几年开始用于肿瘤动力学的研究。在临床上, PCNA 用来估计肿瘤生物学行为

及预后, 已有较大进展^[1-3]。但是, 化疗与肿瘤增殖活性的关系仍少见报道, 本文用单克隆抗体(PC-10)检测 81 例上皮性卵巢癌细胞 PCNA 的表达水

收稿日期: 2001-06-02

基金项目: 中山医科大学科研基金资助(98023)

作者简介: 杨国奋(1963-)男, 广东徐闻人, 硕士, 主治医师

http://www.cnki.net

平, 术后用以铂类为基础的方案进行化疗, 并分析她们的 2 次探查结果及生存率。旨在了解 PCNA 表达水平对上皮性卵巢癌化疗效果的影响。

1 材料与 方法

1.1 临床资料

全部病例为 1992 年 1 月至 1999 年 12 月在中山医科大学附属第一医院妇科住院的病人, 共 81 例。每一份组织标本都做 PCNA 检测, 根据计算 PCNA 增殖指数 PI 值, 分 A (0~34%), B (34.1%~67%), C (67.1%~100%) 3 组, A 组 43 例, B 组 29 例, C 组 9 例。年龄 25 岁~74 岁, 平均 49 岁, 3 组病例平均年龄分别是 A 组 50 岁, B 组 47 岁, C 组 53 岁, 无统计学差异 ($P > 0.05$)。3 组经病理确诊为上皮性卵巢癌, 其中浆液性 47 例, 黏液性 14 例, 子宫内膜样 6 例, 混合性 2 例, 透明细胞性 4 例, 勃勒纳瘤 2 例, 未分化癌 6 例。术前不做化疗和放疗的任何治疗。

81 例病例均行腹式全宫双附件加部分大网膜切除, IIb 期以上尽可能行细胞减灭术或腹膜后淋巴结清扫术, 术后无残存病灶 (Residual focus) 者 35 例, 残存病灶 ≤ 2 cm 者 26 例, > 2 cm 者 20 例。按

FIGO (1985 年) 修正的临床分期标准进行分期 (Clinical stage), 其中 I 期 20 例, II 期 9 例, III 期 35 例, IV 期 17 例。按 WHO 组织学分级标准进行组织学分级 (histological classification), 其中高分化 (grade 1) 4 例, 中分化 (grade 2) 46 例, 低分化 (grade 3) 31 例。术后 7~10 d 开始以铂类为主的化疗方案, 顺铂 (cisplatin) 50 mg/m² 加生理盐水 500 mL 腹腔注入, 阿霉素 (ADM) 50 mg/m² 静脉滴注, 环磷酰胺 (CTX) 500 mg/m² 或 5-氟尿嘧啶 (5-Fu) 1~1.3 g 静脉滴注, 疗程间隔 3~4 周, 根据临床分期及化疗毒性反应决定化疗疗程数 (duration of chemical therapy), I~II 期 6 个疗程, III~IV 期 12 个疗程, III~IV 期病例如果化疗毒性反应严重, 部分病例可以化疗 6 个疗程。化疗期间监测血白细胞、血小板、肝肾功能、胃肠反应及心电图, 化疗结束后 4 周行 2 次探查术, 每次手术均有本研究 3 位医生中一位参加。手术中除肉眼见可疑癌灶直接行活检外, 所有患者 (包括阴性者) 均行双圆韧带、双骶韧带、双主韧带、双骨盆漏斗韧带断端, 阴道断端, 大网膜、肠系膜多点活检, 同时腹水或腹水冲洗液送病理检查, 常规探查肝、胆、脾、胰。若标本病理发现癌细胞即为探查阳性。临床分期, 组织学分级, 术后残存病灶及化疗疗程数情况见表 1。

表 1 81 例上皮性卵巢癌临床资料
Table 1 The clinical data of 81 ovarian epithelial carcinoma

Group	PCNA level (%)	Clinical stage				Histological classification			Residual focus			Duration of chemical therapy	
		I	II	III	IV	Grade 1	Grade 2	Grade 3	0	≤ 2 cm	> 2 cm	6	12
A	0~34	14	7	16	6	3	24	16	22	12	9	21	22
B	34.1~67	5	1	16	7	1	17	11	12	10	7	14	15
C	67.1~100	1	1	3	4	0	5	4	1	4	4	5	4
Total		20	9	35	17	4	46	31	35	26	20	40	41
$\chi^2 (P)$		10(0.125)				1.067(0.90)			5.184(0.269)			0.157(0.925)	

81 例进行跟踪随访, 以信访为主。失访 6 例, 占 7.4%, 失访病例截止日期取病人末次住院的出院日期。存活 52 例, 其中带瘤存活 9 例 (占 17.3%), 无瘤存活 43 例 (占 82.6%)。死亡 29 例, 其中 28 例因卵巢癌死亡, 1 例因青霉素过敏死亡, 此例当作截尾数据, 共随访 6 年 4 个月。

1.2 PCNA 表达测定

1.2.1 主要有关试剂 (1) PCNA 抗体: 丹麦 DAKO, PCNA 鼠单克隆抗体, PC 10 (M0879), 溶液

体积比 1:50 [1 μ L PCNA 抗体加入 49 μ L 磷酸缓冲液 (PBS)]。(2) SP 试剂盒: 链霉素抗生物素蛋白—过氧化酶免疫组化染色超敏试剂盒。含有: ①即用型过氧化酶阻断剂; ②即用型阻断血清, 体积分数 10% 非免疫血清; ③即用型生物素标记的第 2 抗体; ④即用型链霉素抗生物素蛋白—过氧化酶溶液。

1.2.2 标本制备 81 例研究对象的卵巢肿瘤组织, 石蜡包埋标本切片 2 张, 厚 3~4 μ m, 分别行

HE 染色、PCNA 免疫组化分析, 免疫组化采用 LSAB 法。PCNA 无须抗原修复, 一抗溶液体积比 1:50。用已知阳性片作阳性对照, 用 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.2.3 结果判定 肿瘤细胞核棕黄染色为阳性细胞。每张片观察 10 个高倍视野($\times 200$), 各数 100 个肿瘤细胞, 每张病理玻片固定 2 位病理医生重复阅片。

PI(PCNA 增殖指数)=

$$\frac{10 \text{ 个视野肿瘤细胞阳性细胞数总和}}{10 \text{ 个视野肿瘤细胞数总和}} \times 100$$

1.3 统计分析

在计算机上进行, 用 SPSS 8.0 统计软件包做统计学分析。数值变量用 t 检验或方差分析, 分类变量用卡方检验。用寿命表法计算 3 年和 5 年生

存率, 患者生存率统计用 Kaplan-Meier 法, 其差异性检验采用 Log-rank 检验。

2 结果

2.1 3 组病例卵巢癌细胞的增殖情况

81 例上皮性卵巢癌 PCNA 表达总的阳性率为 80% (65/81), A、B、C 3 组卵巢癌增殖指数见表 2。

2.2 2 次探查结果

从 2 次探查结果可见, 共 26 例活检阳性, 主要分布于盆腔腹膜、大网膜及阴道断端, 其中 A 组 19 例, B 组 6 例, C 组 1 例。阳性率 A 组 > B 组 > C 组, 即随增殖指数上升, 阳性率下降, 确切概率法 $P = 0.037$, 见表 3。

表 2 81 例卵巢癌 PCNA 增殖指数

Table 2 PCNA labeling index of 81 ovarian carcinoma^{1), 2)}

Group	PCNA level(%)	n	PI(\bar{x})	Minimum	Maximum
A	0~34	43	10.962 8	0.00	33.97
B	34.1~67	29	44.856 9	34.26	66.75
C	67.1~100	9	76.260 0	70.56	89.50
Total		81	30.353 0	0.00	89.50

1) PI: PCNA index; 2) variance analysis. $P < 0.01$

表 3 81 例卵巢癌 2 次探查术结果

Table 3 The second operation results of 81 ovarian carcinoma¹⁾

Group	PCNA level(%)	Positive	Negative	Total	Positive rate(%)
A	0~34	19	24	43	44.18
B	34.1~67	6	23	29	20.69
C	67.1~100	1	8	9	11.11
Total		26	55	81	32.10

1) Fisher's method. $P < 0.05$

2.3 81 例卵巢癌的生存情况

81 例卵巢癌 3 年及 5 年生存率(寿命表法)见表 4 及其情况(表 5), Log-Rank 检验(远期效果), $P = 0.5079$, 差异无统计学意义。

3 讨论

增殖细胞核抗原(PCNA)是 3 600 g/mol 的酸性蛋白, 定位于细胞核中。有研究表明, PCNA 是

表 4 81 例卵巢癌生存率(寿命表法)

Table 4 Survival rates of 81 ovarian carcinoma (life table)¹⁾ %

Group	PCNA level (%)	3-year survival rate	5-year survival rate
A	0~34	0.596 8	0.456 3
B	34.1~67	0.557 0	0.455 7 ¹⁾
C	67.1~100	0.746 6	0.746 6

1) Log-Rank test, $P > 0.05$

表5 81例卵巢癌 Kaplan-Meier 生存曲线情况

Table 5 The information of 81 ovarian carcinoma Kaplan-Meier survival curves¹⁾

Group	PCNA level(%)	n	Survival	Death	t (Median survival time)/d
A	0~34	45	27	16	1 294
B	34.1~67	29	18	11	1 229
C	67.1~100	9	7	2	1 324

1) Log-Rank test, $P = 0.6684$

DNA 多聚酶 δ 的一种辅助蛋白, 直接参与 DNA 的合成⁴。G₁ 晚期出现, 表达逐渐增加, S 期达高峰, G₂/M 减少或消失, G₀ 期无 PCNA 表达。不论是肿瘤细胞, 还是正常细胞, 只要处在增殖周期, 该蛋白均有表达, 其表达水平代表细胞的增殖情况。本组 81 例上皮性卵巢癌中, 65 例 PCNA 表达阳性, 占 80%。按 PI 值高低分成 A、B、C 3 组, 她们的 PI 值差异显著 ($P < 0.001$)。而影响预后有关因素如年龄、临床分期、组织分化、组织残留及化疗疗程数等, 3 组病人无差异 ($P > 0.05$), 本组资料有可比性。

Conte 等⁵ 用胸腺嘧啶标记 74 例卵巢癌的增殖水平, 全部患者随机分组接受顺铂化疗, 结果表明增殖水平高则对化疗敏感。本研究化疗结束后 4 周, 行 2 次探查术结果表明, 随增殖指数升高 (A < B < C), 其阳性率下降 (A 44.18%, B 20.69%, C 11.11%), 有明显差异 ($P < 0.05$), 支持增殖水平高则对化疗敏感, 近期疗效好。从远期疗效来看, 不同增殖指数的 3 组病例, 3 年和 5 年生存率无明显差异 ($P > 0.05$), Kaplan-Meier 生存曲线中位生存期分别是 1 294 d、1 229 d、1 324 d, Log-Rank 检验无统计学意义 ($P > 0.05$)。Hartmann 等³ 回顾性研究 92 例 III~IV 期卵巢癌 PCNA 表达, PCNA 高于中位指数者 5 年生存率为 44%, 低于中位指数 5 年生存率为 15%, 差异显著 ($P < 0.01$), 他们认为由于 PCNA 表达高者对化疗敏感, 生存率提高。这与本研究结果不同。而 Konishi 等⁶ 对一组宫颈癌化疗敏感性的研究中, 发现化疗后肿瘤肿块随增殖指数 (PI) 上升, 缩小比例增加, (58.8% ± 10.2%, 75.0% ± 10.2%, 86.0% ± 6.0%, 85.0% ± 4.2%), 对化疗敏感, 近期疗效好, 但 PCNA 增殖指数与生存期无关, 与本研究结论一致。PCNA 增殖指数高则对化疗敏感, 短期内肿瘤包块缩小快, 微小肿块甚至消失, 2 次探查术阳性率下降。但

是, 本组研究的 3 组病例中, 尽管均行腹式全宫双附件加部分大网膜切除术, IIb 以上病例尽可能行细胞减灭术或腹膜后淋巴结清扫术, 仍有占一定比例的病例有组织残留, 其中残存组织直径 > 2 cm 者 20 例 (占 23%), ≤ 2 cm 者 26 例 (占 30%)。短期内化疗致使残存病灶的大部分肿瘤细胞死亡, 但从远期来看, 剩余的小部分肿瘤细胞或对化疗耐药, 或增殖速度快而超过化疗所产生的肿瘤细胞消失速度时, 增殖指数此时不再起作用, 因此不同增殖指数 3 组病例其生存期无明显差异。

参考文献:

- [1] 陈伟良, 孔庆瑜, 李海刚, 等. PCNA 和 DNA 含量估测腮腺混合瘤增殖活性[J]. 中山医科大学学报, 1997, 18(1): 31.
- [2] 吴小华, 张志毅, 蔡树模, 等. 增殖细胞核抗原在卵巢癌中表达与淋巴结转移、预后的关系[J]. 中华肿瘤杂志, 1998, 1(20): 68.
- [3] Hartmann L C, Sebo T J, Karl N A, et al. Proliferating cell nuclear antigen in epithelial ovarian cancer: relation to results at second-look laparotomy and survival[J]. Gynecol Oncol, 1992, 47(2): 191.
- [4] Bravo R, Frank R, Blundell P A, et al. Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase- δ [J]. Nature, 1987, 326(6112): 515.
- [5] Conte P F, Alama A, Rubagotti A, et al. Cell kinetics in ovarian cancer relationship to clinicopathologic features, responsiveness to chemotherapy, and survival[J]. Cancer, 1989, 64(6): 1188.
- [6] Konishi I, Nanbu K, Mandai M, et al. Tumor response to neoadjuvant chemotherapy correlates with the expression of P-Glycoprotein and PCNA but not GST- π in the tumor cells of cervical carcinoma[J]. Gynecol Oncol, 1998, 70(3): 365.

(编辑 关淡庄, 张敏瑞)