

SP70 在卵巢癌组织中的表达及临床病理意义

李月梅^{1,2},荆俊鹏¹,吴蕾¹,韦莉¹,吴梦¹,龚雪¹,谢乐¹,潘世扬^{1*}

(¹南京医科大学第一附属医院检验学部,江苏 南京 210029;²江苏省钟山干部疗养院检验科,江苏 南京 210014)

[摘要] 目的:探讨 SP70 在卵巢癌患者组织中的表达及其与临床病理特征之间的关系。方法:收集 65 例卵巢癌组织和 30 例卵巢良性疾病(15 例卵巢良性肿瘤,15 例卵巢良性囊肿)组织的石蜡切片,采用免疫组化的方法检测其中 SP70 的表达情况,并使用半定量评分法判定结果,采用卡方检验或 Fisher 确切概率法分析 SP70 在卵巢癌患者组织中的表达及其与临床病理特征之间的关系。应用 Spearman 等级相关分析研究 SP70 与 CA125 在卵巢癌中表达的关系。结果:SP70 在卵巢癌组织中的表达显著高于卵巢良性疾病组,差异有显著统计学意义(72.3% vs. 3.3%, $P < 0.001$)。SP70 在低分化卵巢癌组织中的阳性率高于中高分化组(84.4% vs. 45.0%, $P < 0.05$)。Ⅲ~Ⅳ期卵巢癌患者组织中的阳性率亦高于 I~II 期组(94.1% vs. 64.6%, $P < 0.05$)。SP70 表达阳性者易发生淋巴结转移(100.0% vs. 64.0%, $P < 0.05$)。SP70 与 CA125 的表达无显著相关($r=0.039$, $P > 0.05$),提示有互补作用。结论:SP70 在卵巢癌组织中高表达,特异性高,且与卵巢癌的分化程度、临床分期及淋巴结转移密切相关,可为卵巢癌的诊断及预后评估提供参考。联合检测 SP70 与 CA125 可以明显提高卵巢癌诊断的敏感性,对卵巢癌的早发现、早诊断具有重要临床意义。

[关键词] 卵巢癌;抗体;单克隆;免疫组化

[中图分类号] R737.31

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)01-065-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20160113

Expression of SP70 in ovarian cancer and its clinical pathological significance

Li Yuemei^{1,2}, Jing Junpeng¹, Wu Lei¹, Wei Li¹, Wu Meng¹, Gong Xue¹, Xie Le¹, Pan Shiyang^{1*}

(¹Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029; ²Department of Laboratory Medicine, Jiangsu Provincial Zhongshan Cadre Sanatorium, Nanjing 210014, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of SP70 in human ovarian cancer and its correlations with clinicopathological significance. **Methods:** A case-control study was conducted. Paraffin sections of tumor tissues from 65 patients with ovarian cancer and 30 patients with benign ovarian disease (15 benign ovarian tumor and 15 benign ovarian cyst) were collected. The expression of SP70 was examined by immunohistochemical staining. The results were scored by semiquantitative analysis. Statistical analysis was evaluated by chi-square test or Fisher exact test. The expression of SP70 in human ovarian cancer and their clinicopathological significance was analyzed. Relationship between SP70 and CA125 expression in ovarian cancer was analyzed by using Spearman rank correlation analysis. **Results:** The positive rate of SP70 in ovarian cancer was higher than that in benign ovarian disease (72.3% vs. 3.3%, $P < 0.05$). The positive rate of SP70 in poor differentiation was also higher than that in well and moderate differentiation cancers (84.4% vs. 45.0%, $P < 0.05$). Meanwhile, the high expression of SP70 in ovarian cancer between I~II stage and III~IV stage was significantly different (94.1% vs. 64.6%, $P < 0.05$). SP70 expression in patients with lymph node metastasis was very strong and there was significant difference between the former and that without lymph node metastasis (100% vs. 64.0%, $P < 0.05$). The expression of SP70 and CA125 showed a complementary effect, but there was no significant correlation ($r=0.039$, $P > 0.05$). **Conclusion:** High expression of SP70 in ovarian cancer showed significant association with clinical stage, differentiation and lymph node metastasis. Therefore, it would be of some value in the evaluation of the diagnosis and prognosis of ovarian cancer. Joint detection of SP70 and CA125 can obviously improve the diagnostic sensitivity of ovarian cancer, having important clinical significance in early detection and diagnosis of ovarian cancer.

[Key words] ovarian cancer; antibodies; monoclonal; immunohistochemistry

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(01):065-068]

[基金项目] 国家自然科学基金(81371894, 81201359, 81101322);江苏省实验诊断学重点实验室(XK201114);江苏高校优势学科建设工程基金项目;教育部博士基金(20113234110012);国家临床重点专科建设项目

*通信作者(Corresponding author), E-mail: sypan@njmu.edu.cn

卵巢癌是女性生殖器官常见的肿瘤之一,发病率仅次于宫颈癌和宫体癌而列居第3位,而病死率位居第1位。因其深居盆腔,发现时约70%患者已达晚期,至今缺乏有效的早期诊断方法,卵巢癌5年存活率较低,徘徊在30%左右,已成为严重威胁妇女生命的恶性疾病。

单克隆抗体 NJ001 识别的特异性抗原 SP70 是非小细胞肺癌的相关标志物,本实验室前期研究已证实该抗原的表达与肺癌及胰腺癌的临床病理学特征及其预后密切相关^[1-5]。本研究旨在探讨该抗原在卵巢癌组织中的表达情况,并初步分析其与临床病理特征之间的关系。

1 对象和方法

1.1 对象

收集 2013—2015 年南京医科大学附属南京医院及江苏省中医院 65 例卵巢癌和 30 例卵巢良性疾病组织标本。30 例卵巢良性疾病包括 15 例卵巢良性肿瘤,15 例卵巢良性囊肿。65 例卵巢癌患者年龄 29~78 岁,包括浆液性卵巢癌 47 例,黏液性卵巢癌 7 例,子宫内膜样卵巢癌 8 例,透明细胞癌 3 例。按照 2004 年 WHO 卵巢癌分类标准进行分化程度评估,中高分化癌 20 例,低分化癌 45 例;按照 2014 版 AJCC 癌症分期手册的标准进行 TNM 分期, I~II 期 48 例, III~IV 期 17 例;无淋巴结转移者 50 例,有淋巴结转移者 15 例,有远端转移者 4 例。所有患者均经病理检查确诊且术前未经放疗、化疗或其他治疗。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色

采用即用型二步法进行 NJ001 特异性抗原的免疫组化染色。标本均经 10%福尔马林固定,石蜡包埋,4 μm 连续切片,固定,烘烤,脱蜡、梯度酒精水化,新配制的质量分数为 3%过氧化氢灭活内源性酶 10 min, PBS 洗片,滴加 10%正常羊血清室温封闭 2 h,擦片,滴加 1:100 稀释的单克隆抗体 NJ001(由本实验室自制),4℃冰箱孵育过夜, PBS 浸洗后,滴加酶标记羊抗鼠 IgG 聚合物工作液(福州迈新生物技术公司),37℃孵育 15 min; PBS 浸洗后,加 DAB 显色液(北京中杉金桥生物技术有限公司)显色约 3 min,去离子水冲洗 30 min;苏木素复染,1%盐酸酒精分化,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,在显微镜下观察。以确诊肺腺癌切片作为阳性对照,1%的 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.2.2 结果判定

SP70 的阳性部位均主要定位于胞浆,呈棕黄色颗粒。根据肿瘤细胞阳性反应百分率和染色程度进行综合评定和分析。先在低倍(100 \times)光学显微镜下寻找肿瘤区域,再在高倍(400 \times)视野下观察 200 个肿瘤细胞中阳性细胞所占百分率,随机 5 次。阳性细胞率计分标准:阳性百分率 0%为 0 分,1%~33%为 1 分,34%~66%为 2 分,67%~100%为 3 分;染色强度计分标准:无染色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。按 2 种得分的乘积分为 3 个等级:0 分为(-),1~2 分为(+),3~4 分为(++),6~9 分为(+++)。结果判断:将(-)和(+)定为阴性表达,(++)和(+++)定为阳性表达。

1.3 统计学方法

所有资料均采用 SPSS18.0 统计软件包进行分析。结果采用卡方检验或 Fisher 精确概率法进行统计学处理, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。四格表法分析诊断指标值;敏感性=真阳性例数/卵巢癌组总例数;特异性=真阴性例数/卵巢良性疾病组总例数;准确性=(真阳性例数+真阴性例数)/标本总例数。采用 Spearman 等级相关分析研究 SP70 与 CA125 在卵巢癌表达中的相关性。

2 结果

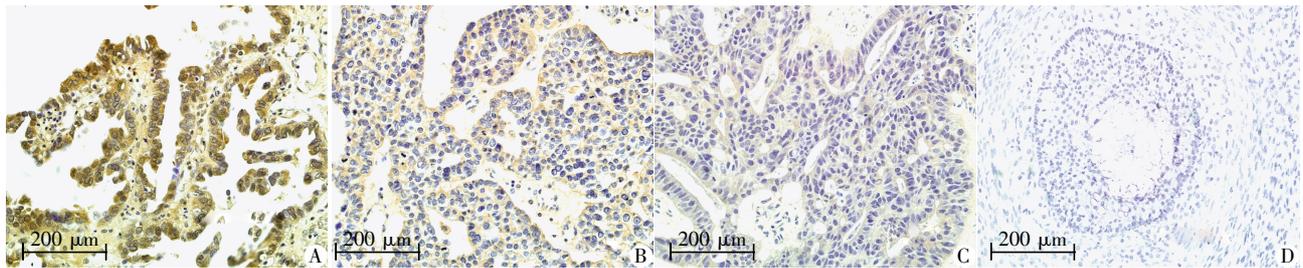
2.1 SP70 在卵巢癌组织及卵巢良性疾病组织中的表达

SP70 表达以细胞浆中出现棕黄色颗粒为阳性反应。大部分卵巢良性疾病组织中未见 SP70 的表达,而绝大多数卵巢癌组织出现较多棕黄色或棕褐色颗粒,显示该抗原的表达在卵巢癌变时明显增强(图 1)。SP70 在卵巢癌及卵巢良性疾病组织中的阳性率分别为 72.3%和 3.3%,差异具有显著统计学意义($\chi^2=39.066, P < 0.001$, 表 1)。

2.2 SP70 的表达与卵巢癌临床病理特征之间的关系

如表 2 所示,低分化卵巢癌组织中 SP70 的阳性表达率显著高于中高分化组(84.4% vs. 45.0%, $P = 0.001$),且该抗原的阳性表达率随 TNM 分期的升高而升高, III~IV 期卵巢癌患者组织中的阳性率高于 I~II 期组(94.1% vs. 64.6%, $P = 0.0026$);有淋巴结转移的患者其阳性率高于无淋巴结转移者(100.0% vs. 64.0%, $P = 0.006$),差异均有统计学意义。SP70 的表达与卵巢癌患者的年龄、肿瘤大小、组织学类型无显著关系。

2.3 SP70 与 CA125 联合检测与单一检测的对比



A: 卵巢癌(+++); B: 卵巢癌(++); C: 卵巢癌(+); D: 卵巢良性肿瘤(-)。
图 1 SP70 在卵巢癌及卵巢良性肿瘤组织中的表达(免疫组织化学染色, ×400)

Figure 1 SP70 expression in tissues of ovarian cancer and benign ovarian tumor (IHC, ×400)

表 1 SP70 在良恶性卵巢组织中的表达

Table 1 SP70 expression in tissues of ovarian cancer and benign ovarian disease

组别	例数	SP70				阳性率(%)	χ^2 值	P 值
		(-)	(+)	(++)	(+++)			
卵巢癌	65	5	13	24	23	72.3	39.066	<0.001
卵巢良性疾病	30	18	11	1	0	3.3		

表 2 SP70 的表达与卵巢癌患者临床病理特征之间的关系

Table 2 Correlations of SP70 expression with clinicopathological characteristics of ovarian cancer

病理参数	病例数	SP70 阳性[n(%)]	χ^2 值	P 值
年龄			0.134	0.715
≤50 岁	23	16(69.6)		
>50 岁	42	31(73.8)		
肿瘤直径			0.376	0.539
≤5 cm	25	17(68.0)		
>5 cm	40	30(75.0)		
组织学类型			-	0.073*
浆液性	47	37(78.7)		
其他	18	10(55.6)		
分化程度			10.759	0.001
中高分化	20	9(45.0)		
低分化	45	38(84.4)		
临床分期			-	0.026*
I~II	48	31(64.6)		
III~IV	17	16(94.1)		
淋巴转移			-	0.006*
否	50	32(64.0)		
是	15	15(100.0)		

*: 采用 Fisher 确切概率法。

对上述 95 例卵巢疾病患者(65 例卵巢癌和 30 例卵巢良性疾病)进行分析, 查找到其中有 70 例(40 例卵巢癌和 30 例卵巢良性疾病)做过 CA125 的免疫组化。回顾性分析比较 SP70 与 CA125 在卵巢癌及卵巢良性组织中的表达, 发现 SP70 与 CA125 相比具有相似的敏感性(72.3% vs. 75.0%), 但有更高的特异性(96.6% vs. 80.0%)。两者联合检测敏感性明显升高, 高达 92.5%(表 3)。采用 Spearman 等级

表 3 SP70 与 CA125 联合与单一检测的比较

Table 3 Comparison between combination of SP70 and CA125 detection and single detection (%)

检测指标	阳性情况	敏感性	特异性	准确性
CA125	阳性	75.0	80.0	82.1
SP70	阳性	72.3	96.6	80.0
SP70+CA125	两者任一种阳性	92.5	80.0	87.1
	两者均阳性	55.0	96.6	72.9

表 4 卵巢癌组织中 SP70 与 CA125 表达的相关性

Table 4 Correlation of expression of SP70 and CA125 in ovarian cancer tissues (n)

SP70	CA125		r 值	P 值
	阳性	阴性		
阳性	22	6	0.039	0.810
阴性	9	3		

相关分析, 初步探讨 SP70 与 CA125 在这 40 例卵巢癌组织中表达的相关性。如表 4 所示, 统计学指标 $r=0.039, P > 0.05$, 提示两者的表达无显著相关, 这就说明 SP70 与 CA125 的表达具有互补性, 联合检测对卵巢癌诊断意义更大。

3 讨论

NJ001 是本实验室前期以人肺腺癌细胞粗抗原作为免疫原, 制备的一株能特异性针对非小细胞肺癌的单克隆抗体^[1]。NJ001 所识别的靶抗原相对分子质量为 70 kDa, 因而被命名为 SP70。本课题组前期研究结果已表明, SP70 与非小细胞肺癌和胰腺癌的发生、发展和预后密切相关, 可能是一种新的肿瘤诊断与治疗的理想靶标^[2,5]。

卵巢癌在女性恶性肿瘤中的发病率居第 3 位, 病死率居第 1 位, 且一旦确诊已有 2/3 患者为浸润晚期癌; I~II 期卵巢癌 5 年生存率可达 90%, 而 III~IV 期卵巢癌 5 年生存率小于 30%^[6-10]。许多新的肿瘤标志物还处于研究中, 现阶段临床主要依靠检测 CA125 进行辅助实验诊断^[11]。Moss 等^[12]对 799 例接

受过血清 CA125 测定的患者进行回顾性研究发现,在血清 CA125 水平异常者中,20%为卵巢癌,14%为卵巢良性疾病,26%为非妇科恶性肿瘤,而其余均为其他妇科良性疾病。因此,血清 CA125 测定用于卵巢癌诊断的敏感度、特异度都不高,特别是在良恶性肿瘤鉴别方面的临床意义不十分明确。

本研究结果表明,SP70 在卵巢癌组织中强阳性表达率高达 72.3%,显著高于卵巢良性疾病组织(3.3%);初步研究发现,SP70 的表达与卵巢癌肿瘤细胞分化程度、临床分期及淋巴结转移密切相关。本研究中 15 例淋巴结转移病例的 SP70 阳性率为 100%,有 4 例远端转移,SP70 均呈高表达(+++),提示该抗原的高表达预示肿瘤有较高的侵袭与转移能力,患者预后差。本研究结果提示,SP70 在卵巢肿瘤细胞中的表达可能与肿瘤的发展预后密切相关,该抗原可以作为卵巢癌实验诊断的分子靶标。

本研究首次发现 SP70 在卵巢癌组织中高表达,且特异性很高,特别适用于良恶性卵巢肿瘤的鉴别诊断。SP70 与 CA125 联合检测可以大大提高其敏感性,为卵巢癌的早期检测开辟新途径。但因本研究标本量较小,预后资料少,SP70 阳性表达与卵巢癌发生、发展、预后的确切关系及该抗原在卵巢癌细胞中所起的作用和机制还有待进一步探讨。

[参考文献]

- [1] Pan SY, Wang F, Huang PJ, et al. The study on newly developed McAb NJ001 specific to non-small cell lung cancer and its biological characteristics [J]. PLoS One, 2012, 7(3): e33009
- [2] 韩月, 王芳, 徐婷, 等. NJ001 特异性抗原在肺腺

癌中的表达及临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(10): 895-898

- [3] 彭夔, 潘世扬, 王芳, 等. 非小细胞肺癌患者血清中 SP70 的检测及其临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(6): 554-558
- [4] 凌芸, 王芳, 朱全, 等. 非小细胞肺癌特异性循环肿瘤细胞的检测及其临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(11): 1002-1007
- [5] 吴蕾, 李大千, 荆俊鹏, 等. NJ001 特异性抗原在胰腺癌组织中表达的初步研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2015, 35(8): 1127-1130
- [6] Salehi F, Dunfield L, Phillips KP, et al. Risk factors for ovarian cancer: An overview with emphasis on hormonal factors[J]. J Toxicol Environ Health B Crit Rev, 2008, 11(3/4): 301-321
- [7] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90
- [8] Anonymous. Ovarian cancer, five-year stage-specific relative survival rates (2004-2008)[J]. J Natl Cancer Inst, 2011, 103(17): 1287
- [9] Schummer M, Drescher C, Forrest R, et al. Evaluation of ovarian cancer remission markers HE4, MMP7 and mesothelin by comparison to the established marker CA125[J]. Gynecol Oncol, 2012, 125(1): 65-69
- [10] Bast RC, Feeney M, Lazarus H, et al. Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma[J]. J Clin Invest, 1981, 68(5): 1331-1337
- [11] Gagnon A, Ye B. Discovery and application of protein biomarkers for ovarian cancer[J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2008, 20(1): 9-13
- [12] Moss EL, Hollingworth J, Reynolds TM. The role of CA125 in clinical practice[J]. J Clin Pathol, 2005, 58(3): 308-312

[收稿日期] 2015-07-24