·肿瘤专栏·

铁死亡相关基因*CDKN1A*(p21)低表达与卵巢癌铂耐药相关性分析

胡月阳[1],邢 娜[2],韩 欣[3],王礼贤[4*]

(1.河北医科大学第四医院实验动物中心,河北 石家庄 050011;2.河北医科大学第四医院内分泌科,河北 石家庄 050011;3.河北医科大学第四医院消化内科,河北 石家庄 050011;4.河北医科大学第四医院妇产超声科,河北 石家庄 050011)

[摘要] 目的 分析铁死亡相关基因细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子1A(cyclin-dependent kinase inhibitor 1A,*CDKN1A*)表达与卵巢癌铂耐药的相关性,探讨与其关联的生物学通路及肿瘤免疫微环境特征,评估其作为铂耐药预测生物标志物的潜在价值。**方法** 整合癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas,TCGA)卵巢癌队列筛选核心基因。以无铂间期<6个月定义铂耐药,采用独立样本*t*检验、二元Logistic回归、受试者工作特征曲线分析其与铂耐药的关联;通过高通量基因表达数据库(Gene Expression Omnibus,GEO)2个独立队列、25株卵巢癌细胞系药物敏感性数据及53例临床石蜡标本免疫组织化学结果进行多重验证。结合基因集富集分析(gene set enrichment analysis,GSEA)、免疫浸润反卷积算法解析*CDKN1A*表达相关的通路富集特征及免疫细胞浸润、免疫检查点分子表达的相关性。**结果** *CDKN1A*在卵巢癌组织中显著低表达($P<0.0001$)。TCGA队列379例高级别浆液性癌患者中,铂耐药组*CDKN1A*表达显著低于敏感组($P<0.05$);校正临床病理因素后,*CDKN1A*高表达为铂耐药的独立保护因素(校正比值比=0.109,95%*CI*:0.023~0.509,$P=0.0048$),联合临床特征的预测模型曲线下面积(area under curve,AUC)达0.887,显著优于单基因模型(AUC=0.634,$P<0.001$)。2个GEO独立队列验证结果趋势一致;细胞系中*CDKN1A*表达与顺铂、卡铂半数抑制浓度均呈负相关($r=-0.470$、-0.430,均$P<0.05$)。53例临床标本免疫组织化学证实,p21蛋白表达与铂耐药显著相关($P<0.0001$),预测AUC为0.875。GSEA分析显示,*CDKN1A*表达呈双向通路富集特征,与上皮间质转化、炎症反应、DNA修复等通路正相关,与骨髓细胞瘤病毒癌基因靶点、E2启动子结合因子靶点等增殖通路负相关;免疫浸润分析提示其表达水平与免疫细胞浸润比例及免疫检查点分子表达均存在显著相关性。**结论** *CDKN1A*表达水平与晚期卵巢高级别浆液性癌铂类化疗耐药显著相关,其表达异常伴随肿瘤信号通路富集及免疫微环境特征差异,具有作为卵巢癌铂耐药预测生物标志物的潜质。

[关键词] 卵巢肿瘤;周期素依赖激酶抑制剂p21;铁死亡 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2026.09.006
[中图分类号] R737.31 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2026)09-1033-12

Low expression of ferroptosis-related gene *CDKN1A* (p21) and its correlation with platinum-based chemotherapy resistance in ovarian cancer

HU Yue-yang[1], XING Na[2], HAN Xin[3], WANG Li-xian[4*]

(1.*Laboratory Animal Center, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang* 050011, *China*; 2.*Department of Endocrinology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang* 050011, *China*; 3.*Department of Gastroenterology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang* 050011, *China*; 4.*Department of Obstetric and Gynecologic Ultrasound, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang* 050011, *China*)

[Abstract] Objective To investigate the correlation between the expression of the ferroptosis-related gene cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (*CDKN1A*) and platinum resistance in ovarian cancer, to explore the underlying biological pathways and tumor immune microenvironment features, and to evaluate its potential as a predictive

[收稿日期]2026-06-22
[基金项目]河北省重点研发计划项目(22377780D)
[作者简介]胡月阳(1987-),女,辽宁抚顺人,河北医科大学第四医院助理研究员,理学硕士,从事肿瘤动物模型构建,肿瘤发生、发展及相关治疗的机制研究。
*通信作者。E-mail:48501163@hebmu.edu.cn

biomarker for platinum resistance. **Methods** Transcriptomic data from The Cancer Genome Atlas (TCGA) ovarian cancer cohort were integrated to identify core genes. Platinum resistance was defined as a platinum-free interval of <6 months. The association between *CDKN1A* expression and platinum resistance was analyzed using an independent samples *t*-test, binary logistic regression, and receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. Multiple validations were performed using two independent Gene Expression Omnibus (GEO) cohorts, drug sensitivity data from 25 ovarian cancer cell lines, and immunohistochemical results from 53 clinical paraffin-embedded specimens. Furthermore, gene set enrichment analysis (GSEA) and cell-type identification by estimating relative subsets of RNA transcripts (CIBERSORT) were employed to explore the pathway enrichment signatures associated with *CDKN1A* expression, as well as the correlations with immune cell infiltration and immune checkpoint molecule expression. **Results** *CDKN1A* was significantly downregulated in ovarian cancer tissues ($P<0.0001$). In the TCGA cohort including 379 patients with high-grade serous ovarian cancer, *CDKN1A* expression in the platinum-resistant group was significantly lower than that in the platinum-sensitive group ($P<0.05$). After adjusting for clinicopathological factors, high *CDKN1A* expression emerged as an independent protective factor against platinum resistance (adjusted odds ratio=0.109, 95% confidence interval: 0.023-0.509, $P=0.0048$). The predictive model incorporating clinical features achieved an area under the curve (AUC) of 0.887, which was significantly superior to the single-gene model (AUC=0.634, $P<0.001$). Consistent trends were validated in two independent GEO cohorts. In ovarian cancer cell lines, *CDKN1A* expression was negatively correlated with the half - maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) of cisplatin and carboplatin ($r=-0.470$ and -0.430, respectively, both $P<0.05$). Immunohistochemical analysis of 53 clinical paraffin-embedded specimens confirmed that p21 protein expression was significantly associated with platinum resistance ($P<0.0001$), yielding a predictive AUC of 0.875. GSEA revealed bidirectional pathway enrichment signatures: *CDKN1A* expression was positively correlated with epithelial-mesenchymal transition, inflammatory response, and DNA repair pathways, while negatively correlated with proliferation-related pathways such as myelocytomatosis viral oncogene homolog (MYC) targets and E2 promoter binding factor (E2F) targets. Immune infiltration analysis further suggested that *CDKN1A* expression showed distinct correlations with both the proportion of infiltrating immune cell subsets and the expression level of immune checkpoint molecules. **Conclusion** *CDKN1A* expression is significantly associated with resistance to platinum-based chemotherapy in advanced high-grade serous ovarian cancer. Aberrant *CDKN1A* expression is accompanied by distinct alterations in tumor signaling pathway enrichment and immune microenvironment characteristics, supporting its potential as a predictive biomarker for platinum resistance in ovarian cancer.

[**Key words**] ovarian neoplasms; cyclin-dependent kinase inhibitor p21; ferroptosis

卵巢癌发病率在女性生殖系统恶性肿瘤中位居第三位，病死率长期居于首位[1]。由于缺乏特异性早期症状与有效的筛查手段，约70%患者在初次确诊时已处于晚期[2-3]。目前，初始肿瘤细胞减灭术联合铂类药物辅助化疗是卵巢癌一线标准治疗方案，而铂耐药是肿瘤复发、患者死亡的主要原因[4]。因此，筛选能够精准预测铂耐药的生物标志物，对优化卵巢癌个体化治疗策略、改善患者预后具有重要的临床意义。铁死亡是一种铁离子依赖、以脂质过氧化蓄积为特征的新型程序性细胞死亡[5]。近年研究[6-7]证实，铁死亡通路紊乱与肿瘤化疗耐药高度相关。细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子1A（cyclin-dependent kinase inhibitor 1A，*CDKN1A*）是经典的铁死亡相关基因，可调控细胞周期阻滞、DNA损伤修复与细胞凋亡等生物学过程[8]，但其与卵巢癌铂耐药的系统性研究仍较匮乏。本研究整合癌症基因组图谱（The Cancer Genome Atlas，TCGA）、高通量基因表达数据库（Gene Expression Omnibus，GEO）、卵巢癌细胞系及临床组织标本等数据，探究*CDKN1A*表达与卵巢癌铂耐药的相关性及潜在特征，为耐药预测提供候选生物标志物。

1 资料与方法

1.1 研究数据与队列构建

1.1.1 TCGA-OV发现队列 从美国国家癌症研究所基因组数据共享平台（http://portal.gdc.cancer.gov）下载卵巢癌队列（TCGA-OV）的mRNA转录组数据及配套临床信息。进行分层筛选。

全分析集：纳入同时满足以下条件的样本，①经病理确诊为上皮性卵巢癌；②接受全身性系统药物治疗（“Pharmaceutical Therapy，NOS”为“yes”），结合TCGA-OV队列以高级别浆液

性癌为主的病理特征及一线治疗规范，该类患者均接受以铂类为基础的联合化疗；③未接受放疗（“Radiation Therapy，NOS”为“no”）；④具备完整基线临床病理信息与匹配的转录组数据。最终纳入426例，用于差异表达分析、核心枢纽基因筛选、基因集富集分析及肿瘤免疫微环境特征分析。

疗效分析集：在全分析集基础上，进一步限定为高级别浆液性癌且可明确判定化疗效果的样本。参照美国国家综合癌症网络指南及临床通用标准，以无铂间期（platinum-free interval，PFI）即末次铂类化疗结束至首次不良事件的时间间隔＜6个月（180 d）定义为铂耐药，PFI≥6个月或随访≥6个月且无进展/死亡事件的删失病例定义为铂敏感。从临床随访信息文件中提取末次化疗结束时间（days_to_treatment_end）、首次进展时间（days_to_progression_free/days_to_first_progression）、死亡时间（days_to_death）；按公式“PFI（d）=（首次进展时间，死亡时间）—末次化疗结束时间”计算PFI；剔除所有PFI计算缺失、时间节点模糊或在化疗结束6个月内失访且无事件的数据，最终保留379例卵巢高级别浆液性癌患者（铂敏感组255例、铂耐药组124例）用于后续*CDKN1A*与铂耐药的关联分析、多因素混杂校正及耐药预测模型构建。分组完成后采用Kaplan-Meier法结合Log-rank检验比较2组生存差异，验证分组的临床可靠性。

1.1.2　独立验证数据集　GEO验证队列：从GEO数据库（https：//www. ncbi. nlm. nih. gov/geo/）选取含明确铂类化疗疗效标注的卵巢癌队列，用于转录组水平独立验证*CDKN1A*表达与铂耐药的关联一致性。GSE63885[9]：总样本101例，筛选得到具有明确铂疗效标注的卵巢高级别浆液性癌75例，其中铂敏感41例、铂耐药34例；GSE30161[10]共58例晚期卵巢癌，按实体肿瘤疗效评价标准分为化疗有效组（铂敏感37例）、化疗无效组（铂耐药21例）。

细胞系药物敏感性数据：从癌症细胞模型数据库（https：//cellmodelpassports. sanger. ac. uk/）下载“rnaseq_merged_rsem_fpkm_20250922”基因表达谱数据及“GDSC2_fitted_dose_response_27Oct23”药物敏感性数据，以“cell_line_name”为唯一匹配项合并*CDKN1A*表达数据与顺铂、卡铂半数抑制浓度（half maximal inhibitory concentration，IC_{50}）数据，最终筛选出25株卵巢癌细胞系数据，用于细胞层面验证基因表达与铂类药物敏感性的量化关联。

1.1.3　临床验证样本　选取2019年1月—2021年12月河北医科大学第四医院收治的卵巢高级别浆液性癌患者53例的石蜡标本，纳入标准：①经术后病理组织学确诊为高级别浆液性癌；②临床病理、化疗及随访资料完整；③接受规范一线铂类（顺铂/卡铂等）为基础的联合化疗，化疗方案及疗效记录完整；④未接受术前新辅助放化疗、靶向或免疫治疗，术前未合并其他恶性肿瘤。

本研究经医院伦理委员会审批通过（批准文号：2022KY080）。

1.2　生物信息学分析方法

1.2.1　差异表达分析　比较TCGA-OV队列卵巢癌组织与基因型-组织表达项目（Genotype-Tissue Expression Project，GTEx）正常卵巢组织的基因表达差异，筛选卵巢癌差异表达基因。

1.2.2　核心枢纽基因筛选　从FerrDb数据库（http：//www. zhounan. org/ferrdb/v3/pages/index. html）获取全量铁死亡相关基因；基于TCGA-OV队列采用最小绝对收缩和选择算子-Cox回归（least absolute shrinkage and selection operator-Cox regression，LASSO-Cox）筛选卵巢癌预后风险基因；GeneCards数据库检索铂类化疗相关靶基因。

将卵巢癌差异表达基因、铁死亡调控基因、预后风险基因、铂类药物应答基因行多重韦恩交集分析，获得候选枢纽基因；结合基因功能注释与本课题组既往研究，最终确定*CDKN1A*为核心靶基因。

1.2.3　基因集富集分析　基于TCGA-OV发现队列的全基因转录组数据，计算每个基因与*CDKN1A*表达水平的Pearson相关系数，按相关系数由高到低排序构建预排序基因列表；使用基因集富集分析（gene set enrichment analysis，GSEA）4.0软件结合Hallmark特征基因集开展富集分析，设置置换次数为1 000次。以标准化富集分数（normalized enrichment score，NES）的正负指示富集方向：NES＞0表示该通路富集于与*CDKN1A*呈正相关的基因端，NES＜0表示富集于与*CDKN1A*呈负相关的基因端。以|NES|＞1.5、错误发现率＜0.05作为富集显著性的判定标准。

1.2.4　免疫浸润分析　结合22种免疫细胞特征基因集，反卷积估算TCGA-OV队列22种免疫细胞的浸润比例，仅保留反卷积结果P＜0.05的样本以

保证估算可靠性。采用Spearman秩相关分析法，分析*CDKN1A*表达水平与各免疫细胞浸润比例、免疫检查点分子表达水平的定量关联，以$P<0.05$为相关性差异有统计学意义。

1.3　免疫组织化学染色及结果判读　取卵巢癌患者存档石蜡切片（4 μm），经脱蜡、水化后，柠檬酸盐缓冲液（pH6.0）进行抗原修复，3%过氧化氢封闭后，滴加p21鼠单克隆抗体4 ℃孵育过夜；次日加入辣根过氧化物酶标记二抗，室温孵育；经二氨基联苯胺显色、苏木素复染、脱水透明、封片后光学显微镜下观察。

每批次染色均同步设置阳性对照与阴性对照：以已知p21蛋白阳性表达的卵巢癌组织切片作为阳性对照，以磷酸盐缓冲液替代一抗作为阴性对照，排除非特异性染色干扰。采用免疫反应评分（immunoreactive score，IRS）半定量法评估p21蛋白表达水平，按阳性细胞占比（0分，0%；1分，1%～25%；2分，26%～50%；3分，51%～75%；4分，>75%）与阳性强度（0分，无阳性、无着色；1分，弱阳性、淡黄色；2分，阳性、棕黄色；3分，强阳性、棕褐色）相乘得到最终评分，总分范围0～12分。所有切片由2位高年资病理医师在双盲条件下独立判读，评分结果不一致时经共同阅片协商达成一致；采用Kappa检验评估判读一致性。

1.4　统计学方法　应用R 4.2.0统计软件（调用pROC、ggplot2、dplyr、limma等程序包）及GraphPad Prism 9.0分析数据。正态分布的计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，比较采用独立样本t检验；计数资料以例数（%）表示，比较采用χ^2检验；采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线，组间生存差异采用Log-rank检验；采用LASSO-Cox回归模型筛选卵巢癌预后相关风险基因。基因表达与铂类药物半数抑制浓度、免疫细胞浸润比例、免疫检查点分子表达的关联采用Spearman秩相关分析；全基因组表达与*CDKN1A*表达的关联采用Pearson相关分析，用于基因集富集分析的预排序构建。为消除临床混杂因素对铂耐药预测效能的影响，构建多因素Logistic回归模型，纳入年龄、国际妇产科联盟（International Federation of Gynecology and Obstetrics，FIGO）分期、术后残余灶作为协变量进行校正，计算校正比值比（odds ratio，OR）及95%置信区间（95% confidence interval，95%*CI*），评估*CDKN1A*表达与铂耐药的独立相关性。绘制受试者工作特征（receiver operating characteristic，ROC）曲线并计算曲线下面积（area under curve，AUC）以量化预测效能，采用DeLong检验比较单基因模型与联合模型的AUC差异。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　卵巢癌差异表达基因分析及核心枢纽基因筛选　整合TCGA-OV队列卵巢癌组织426例、GTEx数据库正常卵巢组织88例转录组数据，进行差异表达分析，共筛选得到卵巢癌差异表达基因4 213个，其中*CDKN1A*在卵巢癌组织中呈显著下调状态，见图1A。

将上述差异表达基因与FerrDb数据库铁死亡调控基因728个进行韦恩交集分析，获得铁死亡相关差异基因387个，见图1B。基于TCGA-OV队列临床随访数据，采用LASSO-Cox回归模型筛选得到卵巢癌预后相关基因342个，构成LASSO预后基因集，见图1C。结合GeneCards、GDSC数据库检索汇总得到铂类药物应答相关基因214个，与上述铁死亡相关差异基因387个、LASSO预后风险基因342个开展三重韦恩交集分析，共得到候选枢纽基因29个，见表1、图1D。结合基因功能注释、表达特征及国内外相关研究，最终确定*CDKN1A*为本研究核心靶基因。

表1　铁死亡相关差异基因、LASSO预后风险基因、铂类药物相关基因的共同枢纽基因

Table 1　Overlapping hub genes among ferroptosis-related DEGs, LASSO-derived risk genes, and platinum-related genes

序号	基因名称	序号	基因名称
1	*CDKN2A*	16	*CD44*
2	*ATM*	17	*GCLC*
3	*GALNT14*	18	*PIK3CA*
4	*CDKN1A*	19	*MTOR*
5	*VDR*	20	*TP53*
6	*NRAS*	21	*GSTM1*
7	*HMOX1*	22	*PTEN*
8	*SLC7A11*	23	*MDM2*
9	*EGFR*	24	*PPP1R13L*
10	*ABCC5*	25	*G6PD*
11	*NFE2L2*	26	*HMGB1*
12	*IFNG*	27	*NF2*
13	*MYCN*	28	*ABCC1*
14	*GPX4*	29	*ALOX15*
15	*LIG3*		

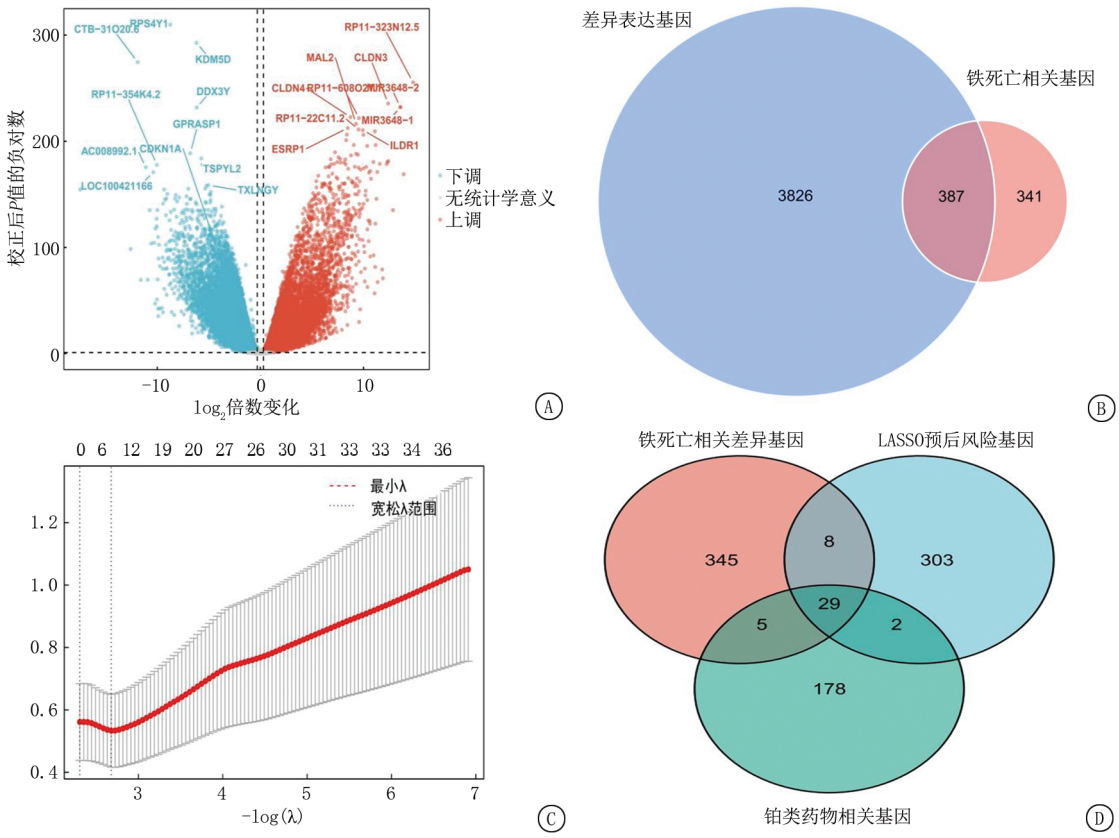


图1　卵巢癌差异基因分析及核心枢纽基因筛选

A. 全基因组差异表达火山图，共筛选得到卵巢癌差异表达基因4 213个；B. 卵巢癌差异基因与铁死亡调控基因韦恩交集图，交集获得铁死亡相关差异基因387个；C. LASSO-Cox回归预后基因筛选过程图，最终筛选得到卵巢癌预后相关基因342个；D. 铁死亡相关差异基因、LASSO预后风险基因、铂类药物相关基因三重韦恩交集图，共得到候选Hub基因29个

Figure 1　Analysis of differentially expressed genes and identification of core hub genes in ovarian cancer

2.2　TCGA-OV队列*CDKN1A*表达与铂耐药的关联分析

2.2.1　队列筛选、基线特征与分组有效性验证　依据PFI判定标准，从初始纳入的患者426例中剔除PFI数据缺失、判定模糊及化疗结束6个月内失访且无进展事件的病例，最终纳入具有明确铂类化疗疗效的卵巢高级别浆液性癌患者379例，其中铂敏感组255例、铂耐药组124例。

2组年龄（χ^2=0.620，P=0.430）、FIGO分期（χ^2=1.310，P=0.250）分布差异均无统计学意义，基线资料均衡可比，见表2。本研究纳入人群以FIGO Ⅲ～Ⅳ期高级别浆液性癌为主，晚期患者占比超过80%，与卵巢癌临床确诊时的分期分布特征相符。为排除分组偏倚，验证基于PFI分组的临床可靠性，采用Kaplan-Meier法绘制总生存期与无进展生存期曲线，通过Log-rank检验比较组间差异。结果显示，铂耐药组的总生存期与无进展生存期均显著短于铂敏感组，差异有统计学意义（均P<0.001），与铂耐药患者预后更差的临床规律完全一致，证实本研究的分组策略准确可靠，见图2A。

2.2.2　*CDKN1A*在卵巢癌与正常组织中的表达差异　整合TCGA-OV肿瘤组织与GTEx正常卵巢组织的转录组数据进行对比，结果显示卵巢癌组织中*CDKN1A* mRNA表达水平显著低于正常卵巢组织，差异有统计学意义（P<0.001），见表3。

2.2.3　*CDKN1A*表达与铂耐药的单变量关联　铂耐药组*CDKN1A* mRNA表达水平显著低于铂敏感组，差异有统计学意义（P<0.05），见表4。构建单变量ROC曲线评估预测效能，曲线下面积AUC为0.634，提示*CDKN1A* mRNA表达水平对卵巢癌铂耐药具有一定的区分价值，见图2B。

2.2.4　多因素校正与联合预测模型　为控制临床混杂因素偏倚，评估*CDKN1A*对铂耐药的独立预测价值，构建二元Logistic回归模型：以铂耐药状态（耐药=0，敏感=1）为因变量，以*CDKN1A*表达水平为核心自变量，纳入年龄分组（>60岁=0，≤60岁=1）、FIGO分期（Ⅲ～Ⅳ期=0，Ⅰ～Ⅱ

表2　多卵巢癌队列铂敏感与铂耐药患者临床基线特征比较

Table 2　Comparison of baseline clinicopathological characteristics between platinum-sensitive and platinum-resistant patients in multiple ovarian cancer cohorts

（例数，%）

临床特征	TCGA-OV（*n*=379）		χ^2值	*P*值	GSE63885（*n*=75）		χ^2值	*P*值	GSE30161（*n*=58）		χ^2值	*P*值
	铂敏感	铂耐药			铂敏感	铂耐药			铂敏感	铂耐药		
年龄												
≤60岁	140(54.9)	63(50.8)	0.620	0.430	21(51.2)	16(47.1)	0.120	0.730	19(51.4)	10(47.6)	0.070	0.790
>60岁	115(45.1)	61(49.2)			20(48.8)	18(52.9)			18(48.6)	11(52.4)		
FIGO分期												
Ⅰ～Ⅱ期	42(16.5)	15(12.1)	1.310	0.250	7(17.1)	5(14.7)	0.080	0.780	6(16.2)	3(14.3)	0.040	0.840
Ⅲ～Ⅳ期	213(83.5)	109(87.9)			34(82.9)	29(85.3)			31(83.8)	18(85.7)		

表3　正常卵巢组织与卵巢癌组织中*CDKN1A* mRNA表达水平比较

Table 3　Comparison of *CDKN1A* mRNA expression between normal ovarian and ovarian cancer tissues

（x±*s*）

组别	例数	*CDKN1A* mRNA
正常组织	88	12.6±0.9
肿瘤组织	426	11.4±1.0
*t*值		11.150
*P*值		<0.001

表4　TCGA-OV队列铂敏感与铂耐药卵巢癌患者*CDKN1A* mRNA表达水平比较

Table 4　Comparison of *CDKN1A* mRNA expression levels between platinum-sensitive and platinum-resistant ovarian cancer patients in the TCGA-OV cohort

（x±s）

组别	例数	*CDKN1A* mRNA
铂敏感组	255	11.8±0.8
铂耐药组	124	11.6±0.5
*t*值		2.285
*P*值		0.023

期=1）、术后肿瘤残余灶分级（R1/R2残留=0，R0无残留=1）作为自变量进行校正。

多因素回归结果显示，调整上述混杂因素后，*CDKN1A*高表达仍为铂耐药的独立保护因素（校正后OR=0.109，95%*CI*：0.023～0.509，*P*=0.005），即*CDKN1A*表达水平越低，患者发生铂耐药的风险越高，证实该基因对铂耐药的预测效能独立于临床病理特征。临床协变量中，术后残余灶与铂耐药风险呈升高趋势（校正后OR=1.568，95%*CI*：1.018～2.416，*P*=0.041），具有统计学意义；年龄、FIGO分期与铂耐药均无显著独立关联，见表5。

表5　TCGA-OV队列铂耐药影响因素的多因素Logistic回归分析

Table 5　Multivariate Logistic regression analysis of factors influencing platinum resistance in the TCGA-OV cohort

影响因素	回归系数	标准误	Wald χ^2值	*P*值	校正后OR值	95%*CI*
CDKN1A表达量	−2.218	0.787	7.940	0.005	0.109	0.023～0.509
年龄	0.120	0.350	0.120	0.732	1.128	0.566～2.247
FIGO分期	0.280	0.280	1.000	0.317	1.323	0.766～2.285
术后残余灶	0.450	0.220	4.180	0.041	1.568	1.018～2.416

基于上述多因素模型计算每例患者的铂耐药风险预测概率，构建整合*CDKN1A*表达与临床病理特征的联合预测模型，绘制联合模型的ROC曲线，见图2C，采用DeLong检验比较两者AUC的差异。结果显示，联合预测模型的AUC达0.887（95%*CI*：0.851～0.923），显著高于单基因模型（AUC=0.634），差异有统计学意义（*P*<0.001），证实纳入临床协变量可显著提升模型对铂耐药的判别能力。

2.3　独立数据集与细胞系水平的交叉验证

2.3.1　GEO转录组队列验证　GSE63885、GSE30161 2个独立验证队列的基线特征见表2，铂敏感组与铂耐药组的年龄、FIGO分期分布差异均无统计学意义（均*P*>0.05），基线资料均衡可比。表达差异分析结果与TCGA发现队列趋势一致：GSE63885队列中，铂耐药组*CDKN1A*表达显著低于铂敏感组；GSE30161队列中，化疗无效（铂耐药）组*CDKN1A*表达显著低于化疗有效（铂敏感）组，差异有统计学意义（*P*<0.05），见表6。

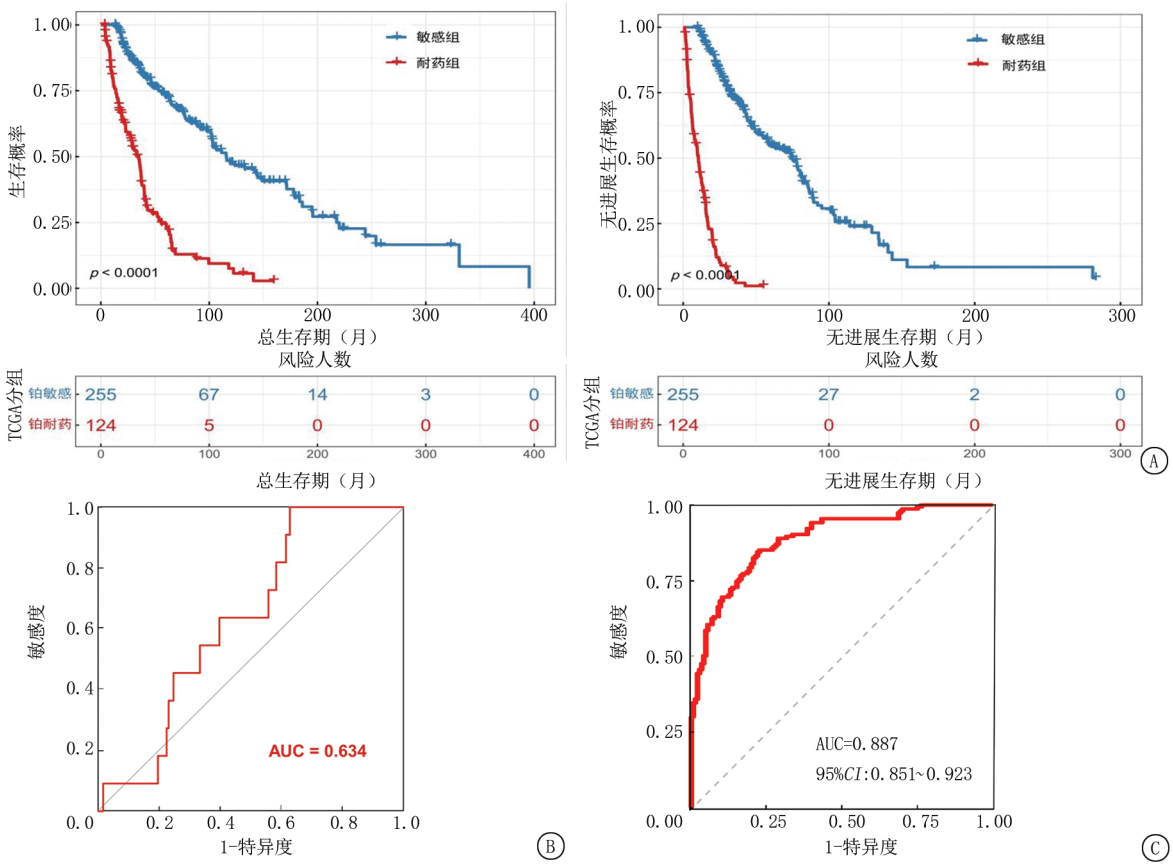


图2　TCGA-OV队列*CDKN1A*表达特征及其与卵巢癌铂耐药的关联与预测效能分析

A. TCGA-OV队列铂敏感与铂耐药患者的生存分析；B. CDKN1A mRNA表达水平预测卵巢癌铂耐药的受试者工作特征曲线；C. 整合*CDKN1A*表达与临床病理特征的多变量预测模型诊断铂耐药的受试者工作特征曲线

Figure 2　*CDKN1A* expression characteristics, association with platinum resistance, and predictive performance in the TCGA-OV cohort

表6　GEO验证队列铂敏感与铂耐药卵巢癌患者*CDKN1A* mRNA表达水平比较

Table 6　Comparison of *CDKN1A* mRNA expression levels between platinum-sensitive and platinum-resistant ovarian cancer patients in the GEO validation cohort

（$\bar{x}\pm s$）

组别	例数	GSE63885	组别	例数	GSE30161
铂敏感组	41	3.68±0.04	铂敏感组	37	3.48±0.05
铂耐药组	34	3.65±0.05	铂耐药组	21	3.45±0.05
*t*值		2.192	*t*值		2.133
*P*值		0.032	*P*值		0.039

2.3.2　细胞系水平验证*CDKN1A*表达与铂类药物敏感性的负相关关系　对25株卵巢癌细胞系的*CDKN1A*表达与铂类药物敏感性数据进行Spearman秩相关分析，结果显示：*CDKN1A*表达水平与顺铂IC_{50}呈显著负相关（$r=-0.470$，$P=0.009$）；与卡铂IC_{50}呈显著负相关（$r=-0.430$，$P=0.016$）。上述结果一致提示，*CDKN1A*表达水平越低，卵巢癌细胞对铂类药物的IC_{50}值越高，药物敏感性越差、耐药性越强，从细胞功能层面直接验证了*CDKN1A*表达与铂类药物耐药表型的稳定关联，见图3。

2.4　本地临床队列验证

2.4.1　p21蛋白染色特征与组间表达差异　本研究纳入53例高级别浆液性卵巢癌患者石蜡标本，采用免疫组织化学法检测p21蛋白的表达情况，结果显示，p21蛋白阳性信号定位于卵巢癌细胞细胞核，呈棕黄色至棕褐色颗粒状；阴性对照无特异性细胞核着色，仅见苏木素复染的浅蓝色细胞核，证实染色特异性良好。2位病理医师判读一致性Kappa系数为0.840，表明判读结果具有高度一致性。典型染色结果见图4。

基于IRS评分绘制组间对比，见表7，结果显示，铂敏感组p21蛋白表达水平显著高于铂耐药组，2组比较差异有统计学意义（$P<0.001$）。

2.4.2　p21蛋白表达对卵巢癌铂耐药的临床诊断效能　以p21蛋白IRS评分构建ROC曲线，见图5。

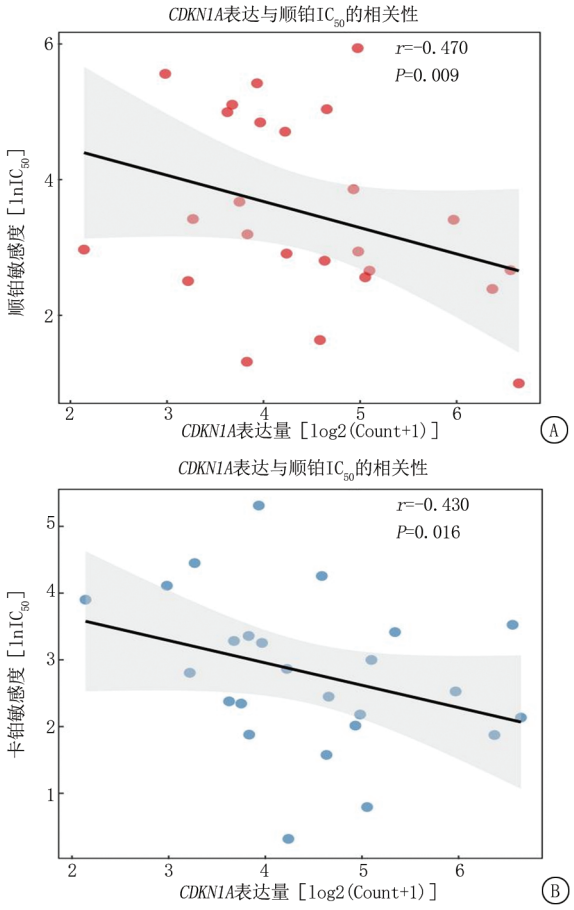


图3　独立转录组队列及卵巢癌细胞系中*CDKN1A*表达与铂类耐药关联的验证

A. CDKN1A表达与顺铂IC_{50}的Spearman相关性分析散点图；B. CDKN1A表达与卡铂IC_{50}的Spearman相关性分析散点图

Figure 3　Validation of *CDKN1A* expression and its association with platinum resistance in independent transcriptomic cohorts and ovarian cancer cell lines

分析结果显示，ROC曲线下面积AUC为0.875（95%*CI*：0.776～0.974），提示p21蛋白表达对卵巢癌铂耐药具备良好的临床区分效能。Youden指数确定的理论最佳临界值为IRS=1.125分；但鉴于IRS评分为整数乘积，最终采用IRS≤1分作为临床判定截断值。在此截断值下，诊断敏感度为61.5%，特异度达95.0%，与理论最佳截断值的诊断效能基本一致。

2.5　基于表达相关性的基因集富集分析

2.5.1　富集通路整体特征　按|NES|排序的代表性富集通路见图6A。结果显示，显著富集的通路整体呈现不对称双向分布：绝大多数通路富集于*CDKN1A*正相关基因端（NES>0，红色），仅少数通路富集于负相关基因端（NES<0，蓝色）。其中上皮间质转化通路富集强度最高（NES=3.568），炎症反应、细胞信号传导、凋亡与应激响应类通路亦同步富集；富集于负相关基因端的通路以骨髓细胞瘤病毒癌基因（myelocytomatosis viral oncogene homolog，MYC）靶点为代表。

2.5.2　核心通路富集曲线验证　选取4条与铂类药物应答相关的核心通路绘制富集曲线，见图6B，横轴基因按与*CDKN1A*的Pearson相关系数由左（正相关）至右（负相关）排布。结果显示：上皮间质转化、PI3K-AKT-mTOR信号通路、DNA修复通路的富集峰均位于横轴左侧，即这些通路富集于*CDKN1A*正相关基因端；E2启动子结合因子（E2 promoter binding factor，E2F）靶点通路富集峰偏向右侧，富集于负相关基因端。

2.6　免疫微环境特征相关性分析

2.6.1　免疫细胞浸润相关性　采用Spearman秩相关分析*CDKN1A*表达水平与22种免疫细胞浸润比例的关联，结果见图7A。*CDKN1A*表达与M2型巨噬细胞（r=0.203，P<0.001）、调节性T细胞（Tregs）（r=0.171，P<0.001）、活化肥大细胞（r=0.160，P<0.001）的浸润比例呈极显著正相关，与初始B细胞（r=0.137，P<0.01）、M1型巨噬细胞（r=0.124，P<0.01）呈显著正相关，与静息树突状细胞浸润比例呈弱正相关（r=0.091，P<0.05）；与静息肥大细胞（r=-0.201，P<0.001）、静息$CD4^+$记忆T细胞（r=-0.145，P<0.001）的浸润比例呈极显著负相关，与M0型巨噬细胞浸润比例呈显著负相关（r=-0.124，P<0.01）。

浆细胞、活化$CD4^+$记忆T细胞、$CD8^+$T细胞、NK细胞亚群、单核细胞、中性粒细胞等其余免疫细胞亚群与*CDKN1A*表达的相关性均未达到统计学显著性阈值（均P>0.05）。

2.6.2　免疫检查点分子表达相关性　进一步分析*CDKN1A*与8个核心免疫检查点分子的表达相关性，结果见图7B。Spearman秩相关分析显示，*CDKN1A*与T细胞活化V结构域Ig抑制因子（r=0.503，P<0.001）、T细胞免疫球蛋白黏蛋白3（r=0.420，P<0.001）呈极显著正相关，与淋巴细胞激活基因3呈显著正相关（r=0.221，P<0.01）；与程序性死亡蛋白1（r=-0.483，P<0.001）、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4（r=-0.387，P<0.001）、CD47（r=-0.321，P<0.001）呈极显著负相关；B和T淋巴细胞衰减器、吲哚胺-2，3-双加氧酶1与*CDKN1A*的表达相关性差异无统计学意义（均P>0.05）。

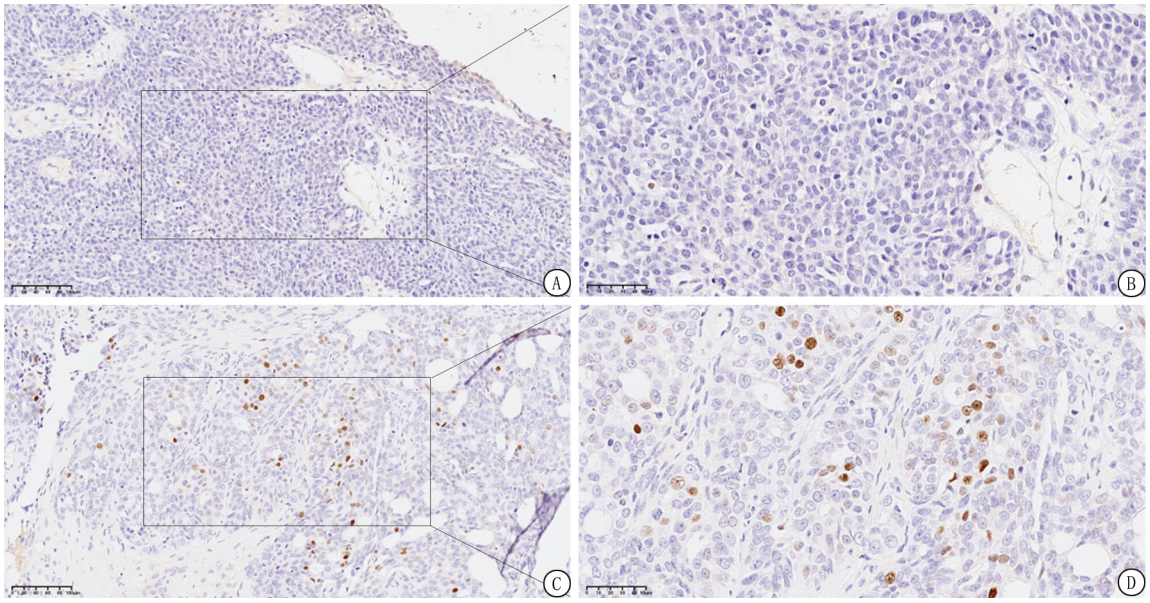


图4　p21蛋白免疫组织化学代表性染色图

A. 阴性×20；B. 阴性×40；C. 阳性×20；D. 阳性×40；p21蛋白为核定位蛋白，以卵巢癌细胞细胞核出现棕黄色二氨基联苯胺染色作为阳性判断标准；阴性对照无特异性细胞核染色，阳性对照可见清晰的细胞核棕黄着色

Figure 4　Representative immunohistochemical staining images of p21 protein

表7　临床队列卵巢癌铂敏感与耐药组p21蛋白表达水平比较

Table 7　Comparison of p21 protein expression levels between platinum-sensitive and platinum-resistant groups in ovarian cancer patients from the clinical cohort

($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	p21蛋白
铂敏感组	40	2.26±1.08
铂耐药组	13	0.90±0.64
*t*值		5.483
*P*值		<0.001

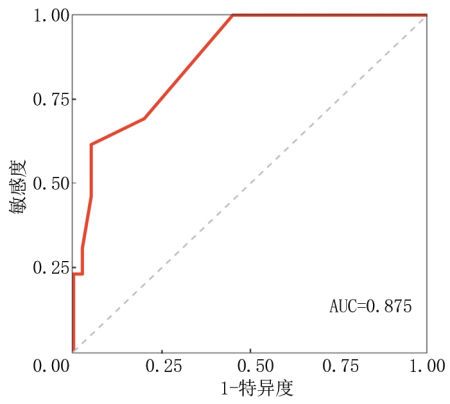


图5　p21蛋白表达预测卵巢癌铂耐药的ROC曲线

Figure 5　ROC curve of p21 protein expression for predicting platinum resistance in ovarian cancer

3　讨　论

本研究为基于公共数据库与临床标本的回顾性相关性研究，旨在评估铁死亡相关基因*CDKN1A*作为卵巢癌铂耐药预测标志物的潜在价值。通过整合转录组数据、细胞系药物敏感性数据及临床组织样本3个层面的证据，系统验证了*CDKN1A*低表达与卵巢癌铂耐药的稳定关联。

在TCGA-OV疗效分析集中，*CDKN1A*低表达与卵巢癌铂耐药显著相关；经年龄、FIGO分期、术后残余灶等临床混杂因素校正后，*CDKN1A*表达仍为铂耐药的独立相关因素（OR=0.042，95%*CI*：0.020～0.375，*P*=0.002）。联合临床病理特征的预测模型AUC达0.887，优于单基因指标（AUC=0.634）。该关联在GSE63885与GSE30161两个独立队列中均获得一致验证。25株卵巢癌细胞系中，*CDKN1A*表达与顺铂IC_{50}（*r*=-0.016）均呈显著负相关，从功能层面进一步支持了该关联。53例临床高级别浆液性卵巢癌标本的免疫组织化学检测显示，铂耐药组p21蛋白表达显著低于铂敏感组（*P*<0.001），预测铂耐药的AUC为0.875，特异度为95.0%。上述多层级证据共同表明，*CDKN1A*低表达与卵巢癌铂耐药之间存在稳定的统计学关联。已有研究证实，*CDKN1A*异常表达与肺癌[11]、结直肠癌[12]、乳腺癌[13]等多种实体瘤的化疗耐药及不良预后相关；在卵巢癌中，该基因也被证实参与肿瘤增殖调控[14-15]。同时与Hwang等[16]报道的氯喹联合顺铂可伴随p21上调与化疗敏感性增强的发现具有一

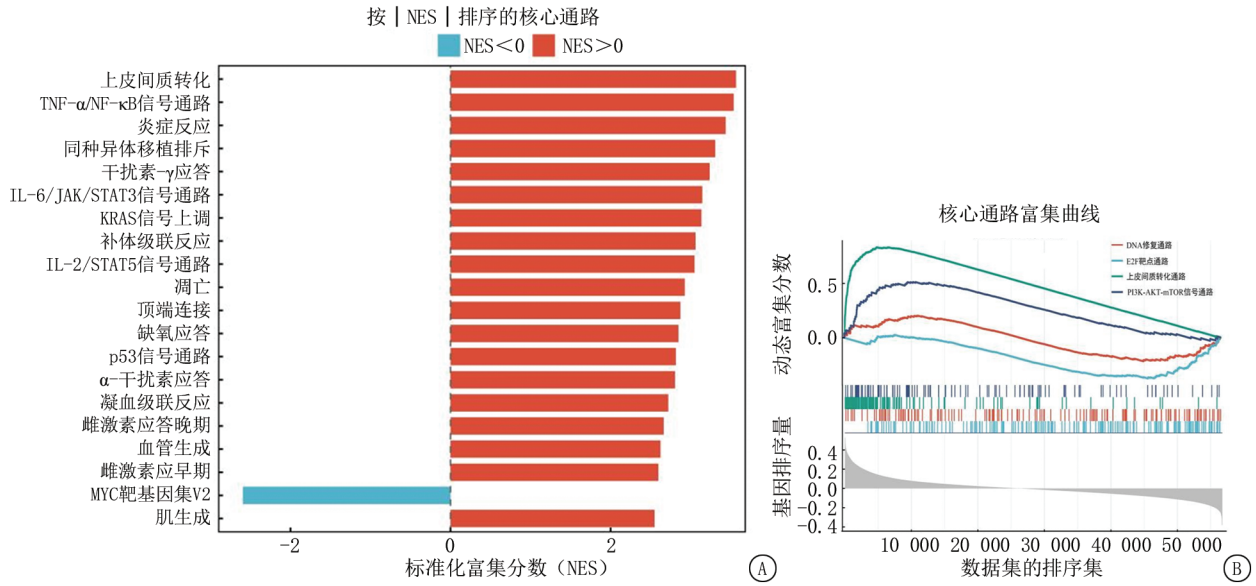


图6　基于*CDKN1A*表达相关性的Hallmark通路预排序基因集富集分析

A. 按标准化富集分数绝对值排序的核心通路富集结果；B. 4条核心通路的GSEA富集曲线

Figure 6　Preranked gene set enrichment analysis of Hallmark pathways based on *CDKN1A* expression correlation

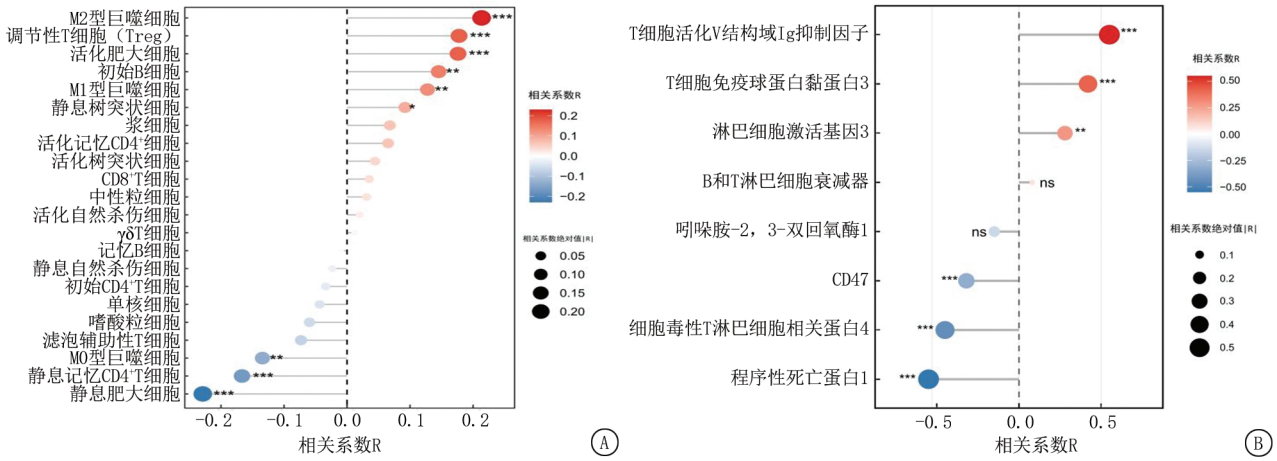


图7　TCGA-OV队列*CDKN1A*表达与免疫微环境特征的相关性分析

A. 基于TCGA-OV队列的*CDKN1A*表达与22种免疫细胞浸润比例的Spearman相关性分析；B. 基于TCGA-OV队列的*CDKN1A*表达与免疫检查点分子表达水平的Spearman相关性分析

Figure 7　Correlation analysis of *CDKN1A* expression with immune microenvironment characteristics in the TCGA-OV cohort

致性。

基于TCGA-OV全分析集的预排序GSEA分析显示，富集通路呈高度不对称分布，从方法学属性看，预排序GSEA仅能揭示转录组水平的基因共表达关联，无法证实直接的上下游调控关系。结合*CDKN1A*作为DNA损伤检查点分子的功能特征，铂类药物通过诱导DNA损伤发挥细胞毒作用[17]，*CDKN1A*编码的p21蛋白作为p53下游效应分子被诱导表达，可启动细胞周期阻滞[18]；DNA损伤应激下细胞可同步激活炎症[19]、上皮间质转化[20]、凋亡[21]、缺氧适应[15]等应答程序。因此上述富集格局可解读为细胞应对损伤应激的并行应答事件，而非*CDKN1A*介导的调控效应。另外，p21的亚细胞定位功能异质性可进一步为双向富集提供生物学解释。已有研究[17]证实，核定位p21通过抑制Cyclin-CDK复合物介导周期阻滞，发挥经典抑癌作用，胞质定位p21则参与抗凋亡、促细胞迁移调控，呈现促肿瘤表型。此外，p21在S期还具有不依赖CDK、依赖PCNA的非经典调控功能，低水平p21参与维持复制叉稳定，而过量积累则可能招募易错修复机制，诱发基因组不稳定性[17]。与此功能相对应，本研究中正相关端核因子κB、缺氧、DNA修复等的富集，可与DNA损伤应激下p21诱导后参与适应性存活程序的特征

相呼应；而负相关端E2F靶点、MYC靶基因等增殖相关通路的富集，则与p21核定位周期抑制功能缺失后p53-p21-视网膜母细胞瘤蛋白通路去抑制的转录表型高度一致[22]。

本研究免疫微环境特征相关性分析提示，*CDKN1A*表达水平与免疫细胞浸润比例及免疫检查点分子表达均存在双向差异化关联。已有研究[23]证实，p21蛋白可通过诱导细胞衰老激活衰老相关分泌表型（senescence-associated secretory phenotype，SASP）改变肿瘤细胞的细胞因子与趋化因子分泌谱，间接参与肿瘤微环境中免疫细胞的招募与极化过程。本研究中*CDKN1A*表达与M2型巨噬细胞、调节性T细胞浸润比例及T细胞活化相关免疫检查点分子表达均呈显著正相关，与DNA损伤应激下p21诱导细胞衰老、介导SASP相关免疫重塑的已报道表型高度契合。此外，如前所述，p21蛋白存在亚细胞定位依赖的功能异质性。既往在肺腺癌研究[24]中显示，PDZ和LIM域蛋白4通过稳定p21蛋白发挥肿瘤抑制作用，其中核定位p21介导细胞周期阻滞，胞质定位p21参与抗凋亡及细胞迁移，为本研究观察到的双向差异化关联提供了分子层面的解释。在胶质母细胞瘤中，*CDKN1A*与免疫细胞浸润（尤其T细胞和巨噬细胞）及免疫评分亦存在显著关联，提示*CDKN1A*参与肿瘤免疫微环境调控可能是多种实体瘤的共性特征[25]。上述发现为理解*CDKN1A*表达差异伴随的免疫微环境变化提供了可能的生物学线索，也为本研究后续探索其具体分子机制指明了方向。

本研究仍存在一定局限性。第一，本研究为基于公共数据库与临床存档标本的回顾性观察性研究，仅能证实*CDKN1A*表达与卵巢癌铂耐药、相关通路及免疫微环境特征存在相关性，无法推断明确的因果关系；通路富集与免疫微环境分析均基于生物信息学算法推导，未通过细胞及动物实验验证*CDKN1A*对铂类药物敏感性、铁死亡表型及下游通路的直接调控作用，关键功能学证据仍有待补充。第二，研究仅检测了*CDKN1A*的mRNA与总蛋白表达水平，未探究蛋白亚细胞定位、翻译后修饰对其功能的影响。第三，研究未纳入BRCA突变状态等分子病理特征进行多因素校正，对铂耐药的独立影响仍有待更大样本量的队列进一步验证。第四，本研究纳入对象以Ⅲ～Ⅳ期卵巢高级别浆液性癌为主，Ⅰ～Ⅱ期样本占比偏低，受早期样本量限制，未开展分期亚组分析，无法验证*CDKN1A*对不同分期患者铂耐药的预测效能是否一致。本研究结论主要适用于晚期卵巢高级别浆液性癌人群，能否外推至早期卵巢癌患者，仍有待更大样本量的早期队列进一步验证。第五，本研究免疫浸润结果基于转录组反卷积算法估算，仅能反映细胞浸润比例的转录组特征，无法直接体现免疫细胞的功能活化状态与空间分布，缺乏免疫组织化学、流式细胞术等实验方法的直接验证。第六，本研究未纳入前瞻性队列对标志物的临床应用价值进行验证。

后续研究首先将扩大样本量、纳入更多早期病例队列，进一步验证*CDKN1A*在不同FIGO分期患者中铂耐药预测效能的一致性；开展体外细胞功能验证，构建*CDKN1A*稳定过表达与敲低的卵巢癌细胞株，检测*CDKN1A*表达改变后铂类药物半数抑制浓度的变化，同时检测脂质活性氧、细胞内铁离子水平及铁死亡关键分子的表达，明确*CDKN1A*是否通过调控铁死亡通路影响铂类药物敏感性；在此基础上通过多重免疫荧光染色、流式细胞术等实验方法验证免疫细胞亚群的数量、空间分布及功能标志物表达，进一步明确*CDKN1A*相关的免疫微环境功能特征；并通过体内异种移植瘤模型验证*CDKN1A*对铂类化疗疗效的影响，逐步阐明其在卵巢癌铂耐药中的作用机制。

综上所述，铁死亡相关基因*CDKN1A*低表达与晚期卵巢高级别浆液性癌铂类化疗耐药密切相关，可作为卵巢癌预后评估与铂耐药预测的潜在生物标志物，为卵巢癌临床分层诊疗提供参考依据。

[参考文献]

[1] 彭芮，孙思蕊，江晓源，等.1990—2021年全球、中国和美国卵巢癌疾病负担变化趋势及危险因素分析[J].中国慢性病预防与控制，2025，33(12)：918-925.

[2] 刘亚娜，郭瑞霞.卵巢癌初始治疗和复发治疗的现状[J].实用肿瘤杂志，2024，39(5)：407-412.

[3] 李晶，李惠，谭秋华，等.《国际妇产科联盟(FIGO)2025妇癌报告——卵巢癌、输卵管癌、腹膜癌诊治指南》解读[J].中国实用妇科与产科杂志，2025，41(12)：1226-1235.

[4] Zhu Y，Chen X，Tang R，et al. Comprehensive analysis of hub genes associated with cisplatin-resistance in ovarian cancer and screening of therapeutic drugs through bioinformatics and experimental validation[J]. J Ovarian Res，2024，17(1)：142.

[5] Zhang Y，Wu D，Gu Y ，et al. Glioma biomarker analysis and drug targeting prediction based on ferroptosis-related genes [J]. Medicine (Baltimore)，2026，105(15)：e48175.

[6] Zhang C, Liu X, Jin S, et al. Ferroptosis in cancer therapy: A novel approach to reversing drug resistances[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 47.

[7] 李沈娟,鞠林高,肖宇,等.USP52通过稳定SLC7A11抑制铁死亡并促进膀胱癌顺铂耐药[J].中国实用医药,2026,21(11):164-168.

[8] 李佳文,陈阳,王佳琪,等.p21在性激素相关肿瘤中的双重作用及治疗应用[J].生物化学与生物物理进展,2026,53(3):593-608.

[9] Lisowska KM, Olbryt M, Student S, et al. Unsupervised analysis reveals two molecular subgroups of serous ovarian cancer with distinct gene expression profiles and survival[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2016, 142(6): 1239-1252.

[10] Ferriss JS, Kim Y, Duska L, et al. Multi-gene expression predictors of single drug responses to adjuvant chemotherapy in ovarian carcinoma: Predicting platinum resistance [J]. PLoS One, 2012, 7(2): e30550.

[11] Shen W, Duan F, Fu S, et al. CDKN1A and cellular senescence are associated with immune resistance in advanced lung adenocarcinoma[J]. Clin Exp Med, 2025, 26(1): 14.

[12] Dong CH, Jiang T, Yin H, et al. LMNB2 promotes the progression of colorectal cancer by silencing p21 expression [J]. Cell Death Dis, 2021, 12(4): 331.

[13] Li Y, Li S, Shi X, et al. KLF12 promotes the proliferation of breast cancer cells by reducing the transcription of p21 in a p53-dependent and p53-independent manner[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(5): 313.

[14] Zhao T, Xiao X, Li L, et al. Rosline promotes p21 expression to inhibit ovarian cancer cell proliferation via p53-independent pathway[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2023, 49(8): 2126-2134.

[15] Wu M, Xie J, Xing Y, et al. Selectively targeting BCL6 using a small molecule inhibitor is a potential therapeutic strategy for ovarian cancer[J]. Int J Biol Sci, 2024, 20(2): 486-501.

[16] Hwang JR, Kim WY, Cho YJ, et al. Chloroquine reverses chemoresistance via upregulation of $p21^{WAF1/CIP1}$ and autophagy inhibition in ovarian cancer[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(12): 1034.

[17] Mansilla SF, de la Vega MB, Calzetta NL, et al. CDK-independent and PCNA-dependent functions of p21 in DNA replication[J]. Genes (Basel), 2020, 11(6): 593.

[18] Manousakis E, Miralles CM, Esquerda MG, et al. CDKN1A/p21 in breast cancer: Part of the problem, or part of the solution?[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(24): 17488.

[19] 方婷,刘钦臣,王彦婷,等.非小细胞肺癌组织中HSP gp96表达与免疫微环境指标的关联及其对铂类化疗敏感性的预测价值[J].药物评价研究,2026,49(3):926-936.

[20] Liu Y, Su Z, Tavana O, et al. Understanding the complexity of p53 in a new era of tumor suppression[J]. Cancer Cell, 2024, 42(6): 946-967.

[21] 王浩然.CDKN1A和EGFR基因对胶质母细胞瘤的洛莫司汀敏感性影响研究[D].大连:大连理工大学,2024.

[22] Engeland K. Cell cycle regulation: p53-p21-RB signaling[J]. Cell Death Differ, 2022, 29(5): 946-960.

[23] Lu Y, Ma W, Chen Y, et al. Transcriptionally up-regulation of CDKN1A/p21 by TFE3 fusion proteins worsened TFE3-rearranged renal cell carcinoma[J]. Sci Rep, 2025, 15(1): 30067.

[24] Wang Q, Guo L, Wang S, et al. BRD4-mediated transcriptional activation of PDLIM4 enhances p21 stability and chemosensitivity in lung adenocarcinoma independent of p53[J]. BMC Biol, 2026, 24(1): 37.

[25] Zhang X, Jin S, Shi X, et al. Modulation of tumor immune microenvironment and prognostic value of ferroptosis-related genes, and candidate target drugs in glioblastoma multiforme [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 898679.

(本文编辑:赵丽洁)