

positive expression rate of Ki-67 between HA and normal pregnant tissues ($\chi^2 = 0.015, P > 0.05$), and there was no significant difference in the positive expression rate of Ki-67 between CHM and PHM tissues ($\chi^2 = 0.787, P > 0.05$). **Conclusion** p57 helps to identify CHM and other edematous lesions of placental villi, CD34 and Ki-67 help to identify hydatidiform mole and HA. Combined detection of p57, CD34 and Ki-67 is helpful for differential diagnosis of CHM, PHM and HA.

Key words: p57; CD34; Ki-67; complete hydatidiform mole; partial hydatidiform mole; hydropic abortion

完全性葡萄胎 (complete hydatidiform mole, CHM) 和部分性葡萄胎 (partial hydatidiform mole, PHM) 的遗传起源、疾病进展和预后均有很大不同, CHM 发生恶变的概率为 15% ~ 20%, 而 PHM 恶变的概率仅为 4% ~ 6%^[1]。水肿性流产胎 (hydropic abortus, HA) 是由于绒毛发育不良退变所形成, 遗传学表型为正常二倍体。因此, 有效鉴别 CHM、PHM 和 HA 对患者的进一步治疗有重要指导意义。p57 作为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子, 可以有效鉴别 CHM 和 PHM、HA^[2]。CD34 是一种形成血管的再生上皮细胞的标志物, 可作为水泡状胎块与 HA 和正常绒毛组织鉴别诊断的依据之一。Ki-67 是一种与细胞增殖相关的核抗原, 其功能与细胞有丝分裂密切相关。本研究采用免疫组织化学法检测 CHM、PHM、HA 及正常胎盘组织中 p57、CD34、Ki-67 的表达, 以期对 CHM、PHM、HA 的诊断与鉴别诊断提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2003 年 1 月至 2013 年 12 月安丘市人民医院病理科保存的 CHM 组织 45 例、PHM 组织 40 例、HA 组织 28 例和正常妊娠胎盘组织 22 例, 均经病理学检测确诊。CHM 患者的年龄为 18 ~ 34 (28.9 ± 7.4) 岁; PHM 患者的年龄为 17 ~ 36 (27.5 ± 5.6) 岁; HA 患者的年龄为 17 ~ 35 (26.9 ± 6.8) 岁; 正常妊娠者的年龄为 16 ~ 38 (28.4 ± 5.5) 岁; CHM、PHM、HA 患者及正常妊娠者的年龄比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 仪器与试剂 RM2235 切片机 (德国 LEICA 公司), BX51 显微镜 (日本 OLYMPUS 株式会社), 丹吉尔数字医学图像分析系统 (济南丹吉尔电子有限公司), Costar 微量加样器 (美国 Costar 公司), MA200 型电子天平 (上海良平仪器仪表有限公司), DHG202 型电热干燥箱 (潍坊标诺工业有限公司), 石蜡包埋机 (常州郝思琳医用仪器有限公司)。p57、CD34、Ki-67 鼠抗人单克隆抗体 (上海太阳生物技术有限公司), PV-9000 免疫组织化学染色试剂盒、二氨基联苯胺 (diaminobenzidine, DAB) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

1.3 免疫组织化学法检测 CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中 p57、CD34、Ki-67 的表达 组织标本经 40 g · L⁻¹ 多聚甲醛固定过夜, 制备石蜡块, 4 μm 切片, 常规脱蜡至水, 体积分数 3% H₂O₂ 室温孵育 5 ~ 10 min, 体积分数 5% ~ 10% 正常山羊血清封闭, 一抗孵育过夜 (p57 稀释度 1 : 200, CD34 稀释度 1 : 500, Ki-67 稀释度 1 : 500), 磷酸盐缓冲液冲洗, 滴加适量辣根过氧化物酶标记二抗, 37 °C 孵育 30 min, 二氨基联苯胺显色, 复染, 脱水, 透明, 封片。

1.4 结果判定及观察 (1) p57 的免疫组织化学染色结果判断参照管淑敏等^[3]的方法, p57 阳性表达定位于细胞核, 呈棕色颗粒; 显微镜下随机选取 4 个视野, 计算绒毛表面的滋养细胞着色, 阳性细胞数大于总数的 10% 为阳性。滋养细胞不着色或散在着色, 阳性细胞数小于总数的 10% 为阴性。(2) CD34 主要表达于绒毛间质血管内皮细胞, 阳性表达为细胞质或细胞膜可见黄色颗粒; CD34 表达水平采用微血管密度 (microvessel density, MVD) 测定法^[4], 400 倍光学显微镜下选取 5 个视野, 计算每个视野的 MVD, 取均值作为 CD34 阳性表达水平。(3) Ki-67 阳性表达为细胞核可见棕黄色颗粒。染色强度积分: 无棕黄色染色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。阳性细胞数积分: 阳性细胞数 ≤ 5% 为 0 分, 6% ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, > 50% 为 3 分。阳性细胞数积分 × 染色强度积分为单片染色总分, 总分 0 ~ 1 分为阴性 (-), 2 ~ 4 分为弱阳性 (+), 5 ~ 7 分为阳性 (++) , ≥ 8 分为强阳性 (+++) ; ≥ 2 分定义为阳性。

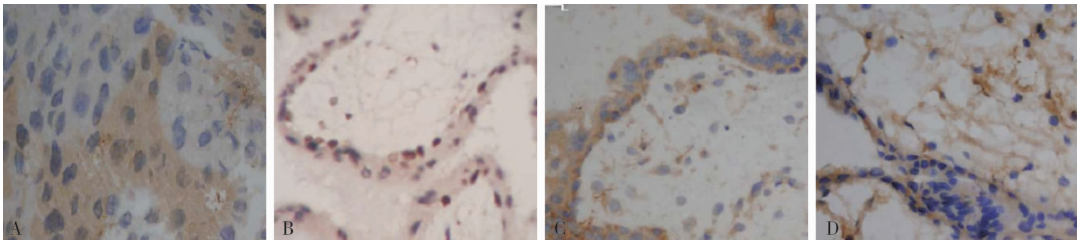
1.5 统计学处理 应用 SPSS 13.0 软件分析数据, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两样本均数比较采用成组设计 *t* 检验, 率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中 p57、CD34、Ki-67 的表达 结果见图 1、图 2 和图 3。p57 和 Ki-67 主要表达于滋养细胞、绒毛间质细胞、蜕膜细胞的细胞核; CD34 主要表达在滋养细胞、蜕膜细胞及绒毛及滋养层细胞的细胞质和细胞膜。p57 在

正常妊娠组织、HA 组织和 PHM 组织中表达较强,在 CHM 组织中表达较弱。CD34 在正常妊娠组织和 HA 组织中表达较强,在 PHM 组织和 PHM 组织

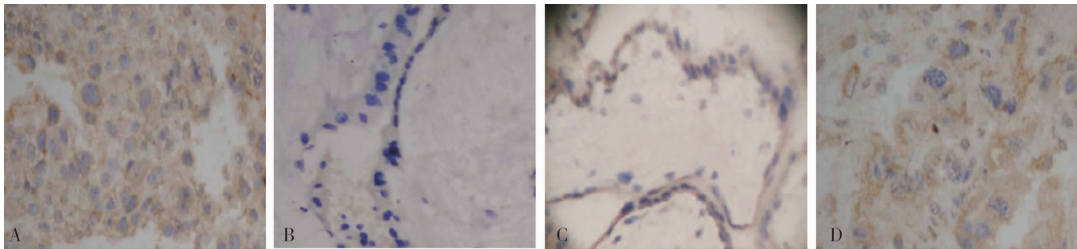
中表达较弱。Ki-67 在 CHM 组织和 PHM 组织中表达较强,在 HA 组织和正常妊娠组织中表达较弱。



A: 正常妊娠组织;B:CHM 组织;C:PHM 组织;D:HA 组织。

图1 CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中 p57 的表达(免疫组织化学,×400)

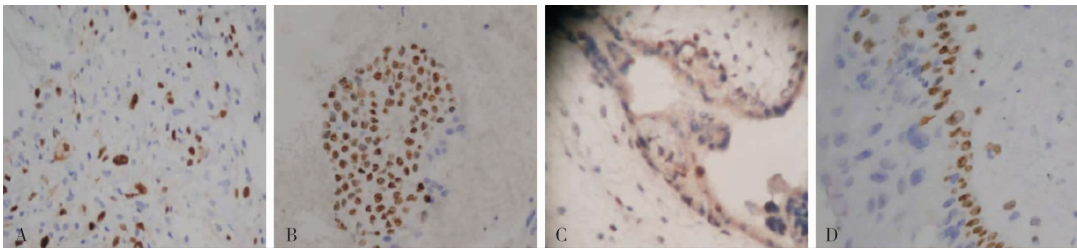
Fig.1 Expression of p57 in CHM,PHM,HA and normal pregnancy tissues (immunohistochemistry, ×400)



A: 正常妊娠组织;B:CHM 组织;C:PHM 组织;D:HA 组织。

图2 CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中 CD34 的表达(免疫组织化学,×400)

Fig.2 Expression of CD34 in CHM,PHM,HA and normal pregnancy tissues (immunohistochemistry, ×400)



A: 正常妊娠组织;B:CHM 组织;C:PHM 组织;D:HA 组织。

图3 CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中 Ki-67 的表达(免疫组织化学,×400)

Fig.3 Expression of Ki-67 in CHM,PHM,HA and normal pregnancy tissues (immunohistochemistry, ×400)

2.2 CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中 p57、CD34、Ki-67 表达比较 结果见表 1。CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中 p57 阳性表达率分别为 2.22% (3/45)、85.00% (34/40)、89.29% (25/28)、95.45% (21/22),CHM 组织中 p57 阳性表达率显著低于 PHM、HA 及正常妊娠组织($\chi^2 = 59.908$ 、57.055、58.238, $P < 0.01$),PHM、HA 及正常妊娠组织中 p57 阳性表达率比较差异均无统计学意义($\chi^2 = 0.022$ 、0.681、0.074, $P > 0.05$)。CD34 在 CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中的表达分别为 10.27 ± 3.00 、 11.13 ± 2.58 、 35.57 ± 2.36 、 35.55 ± 2.22 ,CHM、PHM 组织中 CD34 表达显著低于 HA 及正常妊娠组织($t = 37.89$ 、 37.86 、 39.79 、 37.40 , $P <$

0.01),HA 与正常妊娠组织中 CD34 表达比较差异无统计学意义($t = 1.485$, $P > 0.05$),CHM 与 PHM 组织中 CD34 表达比较差异无统计学意义($t = 1.404$, $P > 0.05$)。Ki-67 在 CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中的阳性表达率分别为 64.44% (29/45)、55.00% (22/40)、14.29% (4/28)、9.09% (2/22),CHM、PHM 组织中 Ki-67 阳性表达率显著高于 HA 及正常妊娠组织($\chi^2 = 18.21$ 、 12.61 、 17.53 、 11.56 , $P < 0.01$),HA 与正常妊娠组织中 Ki-67 阳性表达率比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.015$, $P > 0.05$),CHM 与 PHM 组织中 Ki-67 阳性表达率比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.787$, $P > 0.05$)。

表 1 CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中 p57、CD34、Ki-67 表达比较

Tab.1 Comparison of the expressions of p57,CD34 and Ki-67 in CHM,PHM,HA and normal pregnancy tissues

组织类型	n	p57		Ki-67		CD34(MVD)
		阴性/例(%)	阳性/例(%)	阴性/例(%)	阳性/例(%)	
正常妊娠组织	22	1(4.55)	21(95.45)	20(90.91)	2(9.09)	35.55±2.22
HA 组织	28	3(10.71)	25(89.29)	24(85.71)	4(14.29)	35.57±2.36
PHM 组织	40	6(15.00)	34(85.00)	18(45.00)	22(55.00) ^b	11.13±2.58 ^b
CHM 组织	45	42(97.78)	3(2.22) ^a	16(35.56)	29(64.44) ^b	10.27±3.00 ^b

注:与 PHM、HA 及正常妊娠组织比较^a $P<0.01$;与 HA 及正常妊娠组织比较^b $P<0.01$ 。

3 讨论

CHM、PHM 和 HA 的遗传起源、疾病进展和预后均有很大不同,有效鉴别 CHM、PHM 和 HA 对患者的进一步治疗有重要意义。早期葡萄胎的图像不容易区分,限制了早期葡萄胎的诊断。目前,葡萄胎的主要确诊手段仍然是组织病理学检查^[6-8]。

大多数葡萄胎患者存在父系和母系印记基因表达紊乱,提示印记基因异常表达是葡萄胎常见的分子机制。p57 作为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子与抑癌因子,同时为父源性印记基因,仅在母源性等位基因表达。国外有研究显示,p57 是一项兼具灵敏性与特异性的生物学指标,有助于从遗传基因学角度对 CHM 和 PHM 进行鉴别诊断^[9]。本研究结果显示,CHM、PHM、HA 及正常妊娠组织中 p57 阳性表达率分别为 2.22%、85.00%、89.29%、95.45%,CHM 组织中 p57 阳性表达率显著低于 PHM、HA 及正常妊娠组织,提示 p57 在 CHM 与其他胎盘绒毛水肿性病变的鉴别诊断中起重要作用。CD34 是一种相对分子质量为 100 000 的单链跨膜蛋白,由早期淋巴造血干细胞、组细胞、血管内皮细胞、胚胎成纤维细胞和某些神经组织细胞表达产生^[10],CD34 是一种形成血管的再生上皮细胞的标志物,该特征可用于血管的标记。妊娠滋养细胞疾病的典型病理表现之一就是绒毛间质血管减少或消失,通过检测 CD34 可以较为准确地反映妊娠滋养细胞疾病中血管的变化。HA 和正常妊娠组织绒毛间质血管无明显减少。因此,通过对 CD34 进行免疫组织化学标记血管,可以有效鉴别葡萄胎和 HA。MVD 可准确反映新生血管的数量。本研究结果显示,CHM、PHM 组织中 CD34 表达显著低于 HA 及正常妊娠组织,提示 CD34 检测有助于鉴别诊断葡萄胎与 HA。由此说明,葡萄胎与水肿性流产胎的不同病理改变在于绒毛间质血管明显减少^[11]。Ki-67 是一种与细胞增殖相关的核抗原,其功能与有丝分裂密切相关,其是鉴别良恶性肿瘤、判断肿瘤预后的一个重要辅助指标。HA 属于退行性变,滋养细胞增生不明显,而葡萄胎均有不同程度的滋养细胞增生。本研究

结果显示,Ki-67 在 CHM 和 PHM 组织中呈高表达,而在 HA 及正常妊娠组织中呈低表达,提示 Ki-67 对 CHM、PHM 与 HA 的鉴别诊断具有重要意义。

综上所述,p57 有助于鉴别 CHM 和其他绒毛水肿性病变,CD34 和 Ki-67 有助于鉴别葡萄胎和 HA,p57、CD34 和 Ki-67 联合检测有助于 CHM、PHM 及 HA 的鉴别诊断。

参考文献:

[1] OTA H,ODA C,HAYASHI M,*et al.* Rare case of peritoneal complete hydatidiform mole[J]. *J Obstet Gynaecol Res*,2014,40(4):1154-1156.

[2] SUN S Y,MELAMED A,JOSEPH N T,*et al.* Clinical presentation of complete hydatidiform mole and partial hydatidiform mole at a regional trophoblastic disease center in the United States over the past 2 decades[J]. *Int J Gynecol Cancer*,2016,26(2):367-370.

[3] 管淑敏,孙丽丽,安志强,等. p57、p53、CD34 蛋白在葡萄胎诊断中的应用[J]. *实用妇科内分泌杂志*,2016,3(2):33-35.

[4] 何英,杨开选,王红静,等. p57Kip2 在完全性和部分性葡萄胎与流产伴绒毛水肿中的表达及意义[J]. *中华病理学杂志*,2007,36(3):197-199.

[5] 钟萍萍,顾依群,孙云飞,等. p57、p53 和 Ki-67 蛋白在葡萄胎诊断中的价值[J]. *诊断病理学杂志*,2014,21(6):391-394.

[6] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. *中国癌症杂志*,1996,6(4):229-231.

[7] 杨绍英,刘朝荣,张志刚,等. 乳腺癌新辅助化学治疗前后雌激素受体、孕激素受体、Ki-67 抗原和人类表皮生长因子受体-2 的表达[J]. *新乡医学院学报*,2017,34(2):125-128.

[8] FOWLER D J,LINDSAY I,SECKL M J,*et al.* Routine pre-eclampsia ultrasound diagnosis of hydatidiform mole:experience of more than 1 000 cases from a regional center[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*,2006,27(1):56-60.

[9] ISHIKAWA N,HARADA Y,TOKUYASU Y,*et al.* Re-evaluation of the histological criteria for complete hydatidiform mole:comparison with the immunohistochemical diagnosis using p57 and CD34[J]. *Biomed Res*,2009,30(3):141-147.

[10] EL-MASRRRI O,SLIM R. Familial hydatidiform mole pregnancy: the germline imprinting defect hypothesis[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*,2006,301:229-241.

[11] 李昌秀,杨达荣,徐红梅,等. p57、p53、Her-2 及 Ki-67 在胎盘绒毛水肿性病变中的表达及其意义[J]. *重庆医学*,2017,46(4):519-522.

(本文编辑:徐自超 英文编辑:徐自超)