

CD105和VEGF在水泡状胎块中的表达及意义*

刘艳^① 高健^② 师宜荃^② 赵立武^{②③} 刘易欣^②

摘要 目的:研究CD105及VEGF在水泡状胎块(hydatidiform mole, HM)与水肿性流产(hydropic abortus, HA)绒毛滋养细胞中的表达差异及意义。**方法:**采用免疫组织化学S-P法分别检测20例正常妊娠(normal pregnancy, NP), 30例HA, 20例部分性水泡状胎块(partial hydatidiform mole, PHM)和20例完全性水泡状胎块(complete hydatidiform mole, CHM)的绒毛滋养细胞中CD105和VEGF的表达水平。**结果:**1)CD105在HM中阳性表达率明显高于HA和NP, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 2)VEGF在HM中阳性表达率低于HA和NP, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 3)经Spearman等级相关检验, CD105和VEGF在HA与HM中表达呈负相关($r = -0.447, P < 0.05$)。**结论:**在HM绒毛滋养细胞中, VEGF的表达下降与CD105的表达增强可能在滋养细胞增殖与侵袭作用中起着一定作用。CD105和VEGF可作为标记绒毛滋养细胞的免疫组织化学标记物, 用于HM和HA的鉴别诊断。

关键词 水泡状胎块 水肿性流产 CD105 血管内皮生长因子

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.09.021

Expression and Significance of CD105 and VEGF in Hydatidiform Mole

Yan LIU¹, Jian GAO², Yiquan SHI², Liwu ZHAO^{2,3}, Yixin LIU²

Correspondence to: Yixin LIU, E-mail: yixinliu66@yahoo.com.cn

¹Department of Gynecology and Obstetrics, First Central Clinic Institute of Tianjin Medical University, Tianjin 300192, China

²Department of Pathology, Central Gynecology and Obstetrics Clinic Institute of Tianjin Medical University, Tianjin 300100, China

³Department of Gynecology and Obstetrics, Ninghe Country Hospital, Tianjin 301500, China

This work was supported by the Natural Science Foundation of Tianjin (No.06YFJMJC08000)

Abstract Objective: To research the different expression and significance of CD105 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in villous trophoblast between hydatidiform mole (HM) and hydropic abortus (HA). **Methods:** Immunohistochemical SP method was used to detect the expression level of CD105 and VEGF in villous trophoblast with 20 cases of normal pregnancy (NP), 30 cases of HA, 20 cases of partial hydatidiform mole (PHM) and 20 cases of complete hydatidiform mole (CHM). **Results:** The expression rates of CD105 in HM were significantly higher than those in HA and NP, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The expression rates of VEGF in HM were lower than those in HA and NP, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The result of Spearman correlation test showed a negative correlation between CD105 and VEGF expression in HM and HA ($r = -0.447, P < 0.05$). **Conclusion:** The decreased expression of VEGF and the increased expression of CD105 may be associated with the proliferation and invasion of the villous trophoblast in HM. CD105 and VEGF can be used as immunohistochemical markers of villous trophoblasts for differential diagnosis of HM and HA.

Keywords Hydatidiform mole; Hydropic abortus; CD105; Vascular endothelial growth factor

水泡状胎块(hydatidiform mole, HM)是滋养细胞异常增生伴随绒毛间质水肿的妊娠滋养细胞疾病。根据有无胎儿及附属物分为完全性水泡状胎块(complete hydatidiform mole, CHM)和部分性水泡状胎块(partial hydatidiform mole, PHM)。水肿性流产(hydropic abortus, HA)的镜下表现也出现绒毛变性水肿。孕早期这两种疾病临床表现和组织学形态上特征非常相似, 影响对其更准确病理诊断^[1]。本研究旨在通过观察CHM、PHM、HA和正常妊娠的绒毛滋养细胞中CD105和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达差异, 寻找新的鉴

别诊断标记物。

1 材料与方法

1.1 资料

收集2009年1月至2011年12月在天津医科大学中心妇产临床学院首次清宫获得并经病理证实为HM及HA标本70例, 由两名高年资病理医师再次阅片诊断, 并经P57免疫组化确诊。其中包括: CHM组20例, 患者年龄21~44岁, 中位年龄(27.34±0.23)岁, 妊娠天数39~60天, 中位时间(45.43±0.84)天; PHM组20例, 患者年龄20~39岁, 中位年龄(24.51±0.44)岁, 妊娠天数40~61天, 中位时间(42.11±0.65)

作者单位: ①天津医科大学一中心临床学院妇产科(天津市300192); ②天津医科大学中心妇产临床学院病理科; ③天津市宁河县医院妇产科

*本文课题受天津市自然科学基金(编号:06YFJMJC08000)资助

通信作者: 刘易欣 yixinliu66@yahoo.com.cn

天; HA组30例,患者年龄22~37岁,中位年龄(25.11±0.42)岁,妊娠天数44~70天,中位时间(51.64±0.71)天。另收集同期本院计划生育门诊人工流产的20例正常绒毛为NP组,患者年龄19~37岁,中位年龄(25.71±0.55)岁,妊娠天数42~60天,中位时间(47.21±0.77)天。4组在患者年龄、妊娠天数差异无统计学意义($P>0.052$)。

1.2 方法

1.2.1 试剂 所用鼠抗人CD105单克隆抗体(克隆号4G11,工作浓度1:100)、兔抗人VEGF多克隆抗体(工作浓度1:100)、鼠抗人P57单克隆抗体(克隆号57P06,工作浓度1:200)、S-P试剂盒及DAB试剂盒均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2.2 免疫组织化学S-P法 所选标本常规石蜡包埋,经厚4 μm连续切片,SP染色步骤严格按照试剂盒说明书操作。CD105用扁桃体作阳性对照,VEGF用子宫血管作阳性对照,两者均以PBS代替一抗作为阴性对照。

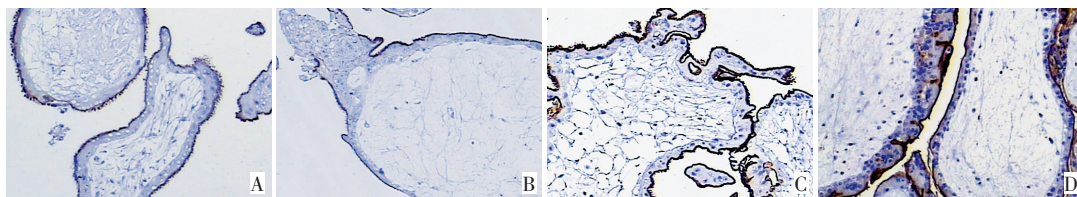
1.2.3 结果判定 绒毛滋养细胞中,CD105和VEGF的免疫组织化学染色阳性均为出现棕黄色颗粒。由两名病理医师采用双盲法独立阅片,每张切片随机选取不重叠的10个高倍镜视野(×400),每个视野计数100个细胞。采用半定量评分标准,根据每张切片的细胞着色强度和阳性细胞比例确定表达:1)无着色为0分;淡黄色为1分;棕黄色为2分;棕褐色为3分。2)阳性细胞<5%为0分;5%~25%为1分;26%~50%为2分;51%~80%为3分;>80%为4分。两项结果相加判定阳性等级:<2分为阴性(-);2~3分为弱阳性(+);4~5分为阳性(++);6~7分为强阳性(+++)。

1.3 统计学分析

应用SPSS 18.0软件包对数据进行分析。计数资料采用 χ^2 检验及Fisher确切概率法;相关性采用Spearman等级相关检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD105在HM、HA及NP中的表达



A: CD105在NP组弱表达; B: CD105在HA组弱表达; C: CD105在PHM组强表达; D: CD105在CHM组强表达

图1 CD105在不同组织绒毛滋养细胞的表达(S-P×100)

Figure 1 Expression of CD105 in villous trophoblasts of different tissues

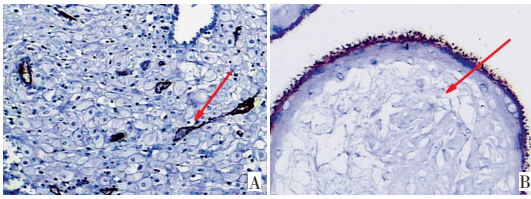
见表1。早孕清宫标本中,CD105抗原阳性表达主要定位于合体滋养细胞胞膜(图1),同时少量表达于合体滋养细胞的细胞质,在蜕膜组织的血管内皮细胞表达阳性(图2A),但不表达于细胞滋养细胞层、绒毛间质及绒毛间质血管内皮细胞(图2B)。CD105在HM中绒毛滋养细胞增生明显的合体滋养细胞胞膜强表达,在NP中弱表达,在HA中局部缺失明显。NP组中CD105阳性表达率为55%(图1A);HA组中CD105阳性表达率为36.7%(图1B);PHM组中阳性表达率为85%(图1C);CHM组中CD105阳性表达率为95%(图1D)。CD105抗原在HM中的阳性率明显高于NP($P=0.023$)及HA($P=0.012$),差异均有统计学意义。但在CHM与PHM之间,NP与HA之间CD105阳性率比较,差异无统计学意义。

2.2 VEGF在HM、HA及NP中的表达

见表1。早孕清宫标本中,VEGF阳性表达主要定位于细胞滋养细胞和合体滋养细胞的细胞质,绒毛间质和蜕膜的血管内皮细胞少量着色。20例NP组织中,10例VEGF表达阳性,阳性率为50%(图3A);30例HA组织中,10例VEGF表达阳性,阳性率为33.3%(图3B);20例PHM组织中,5例VEGF表达阳性,阳性率为25%(图3C);20例CHM组织中,3例VEGF表达阳性,阳性率为15%(图3D),且4组在表达部位无显著性差异。VEGF在HM组织中的阳性率小于NP($P=0.033$)及HA($P=0.037$)组,差异均有统计学意义。但在CHM与PHM,NP与HA组织中VEGF的阳性率比较,差异无统计学意义。

表1 CD105和VEGF在NP、HA、PHM及CHM绒毛滋养细胞中的表达
Table 1 Expression of CD105 and VEGF in villous trophoblasts of NP, HA, PHM, and CHM

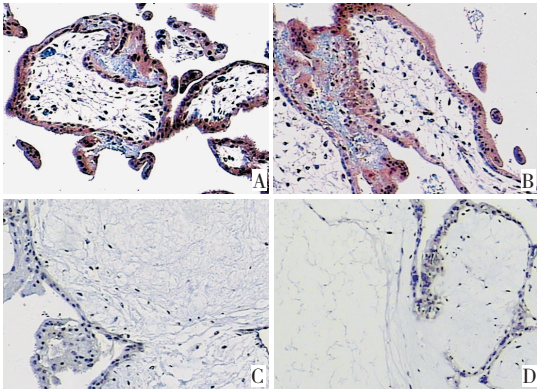
组别	例数	CD105表达			VEGF表达		
		-	+~+++	阳性率/%	-	+~+++	阳性率/%
NP	20	9	11	55.0	10	10	50.0
HA	30	19	11	36.7	20	10	33.3
PHM	20	3	17	85.0	15	5	25.0
CHM	20	1	19	95.0	17	3	15.0



A: CD105在蜕膜血管内皮细胞阳性表达;B: CD105在绒毛间质血管内皮细胞失表达

图2 CD105在NP血管内皮细胞的表达(S-P×200)

Figure 2 Expression of CD105 in vascular endothelial cells of NP



A: VEGF在NP组强表达;B: VEGF在HA组强表达;C: VEGF在PHM组弱表达;D: VEGF在CHM组弱表达

图3 VEGF在不同组织绒毛滋养细胞的表达(S-P×100)

Figure 3 Expression of VEGF in villous trophoblasts of different tissues

2.3 CD105与VEGF在HM、HA及NP中表达的相关性分析

CD105在HA→NP→PHM→CHM组织中的表达依次升高。VEGF在NP→HA→PHM→CHM组织中的表达逐渐下降。经Spearman等级相关检验,CD105和VEGF在HA与HM中表达呈负相关($r=-0.447, P<0.05$)。

3 讨论

绒毛滋养细胞(villous trophoblast, VT)位于绒毛表面,分为外层的合体滋养细胞(syncytiotrophoblast, ST)和内层的细胞滋养细胞(cytotrophoblast, CT)。CT是滋养干细胞,具有向ST和IT分化的能力,位于绒毛外的CT分化为中间滋养细胞(intermediate trophoblast, IT)。ST是一层内衬于整个绒毛间隙的唯一连续结构,参与了母胎之间复杂的物质转运机制^[2]。正常妊娠过程中绒毛滋养细胞具有增殖、侵袭子宫内膜及逃避免疫攻击的功能,这既是一种极为复杂的生物学行为,又表现出明显的平衡性和可控性。当某种因素作用下,增殖与侵袭超过一定范围时就形成了滋养细胞疾病。HM典型镜下表现常见于妊娠中期,表现为绒毛间质水肿,中心液化池形成,周围环绕成片状滋养细胞增生,绒毛间质内血管减少或消失^[2]。而早期妊娠(<10 w)HM的形态不典型,绒毛

水肿直径多在2 mm以下,常常与HA相混淆。目前已知HM的恶变率高达15%,而HA的恶变极为罕见。Zhao等^[3]回顾12例绒毛膜癌病例的末次妊娠与成因性妊娠诊断的误差率达87.5%,说明两种疾病亟待正确诊断。研究表明,细胞因子参与并调节了滋养细胞的分泌和增殖行为^[4],其中CD105及VEGF在滋养细胞表达的特异性及相关性,与HM发病密切相关。

CD105又名内皮因子(endoglin),是一种包含有RGD序列的同二聚体跨膜糖蛋白,分子量180kD。研究显示^[5],CD105为转化因子 β (TGF- β)受体,通过调节细胞对TGF- β 的反应,参与信号传导及内皮细胞的增殖。妊娠期CD105的主要功能是参与TGF- β 1和TGF- β 3型受体复合体形成,并参与滋养细胞增殖和侵袭。近年来,CD105主要用于恶性肿瘤组织中新生血管及抗血管生成靶向治疗的研究^[5-6],以及循环系统的细胞黏附等方面的研究^[7],但其在HM绒毛滋养细胞表达的研究少有报道。

本研究结果显示,在绒毛组织中,CD105主要定位于ST胞膜,在NP中阳性表达率为55%,说明CD105可以作为ST高度特异性和敏感性的标记物,与Henry-Berger等^[8]报道相同。CD105表达于ST胞膜,尤其在ST游离面的微绒毛膜表面,提示CD105参与了早期胎盘形成过程中滋养细胞侵入母体蜕膜的生物学行为。本研究中,HM中CD105在ST胞膜的强表达,阳性率明显高于NP($P=0.023$)及HA($P=0.012$),差异均有统计学意义。说明CD105的表达因某种原因被激活,导致过表达,抵抗TGF- β 的抗浸润抗增殖作用,提高了滋养细胞的侵袭能力,促进滋养细胞向母体浸润,尤其是蜕膜中新生血管或血管芽形成处,扰乱母体微血管形态,从中获得大量营养物质,进一步促成了绒毛水肿^[8]。本研究中,CD105在HA中的阳性表达率最低,在某些ST细胞膜表面甚至失表达,与HA发病机制中不出现成片滋养细胞增生相吻合。CD105对ST表面微绒毛膜结构清晰的描绘,说明绒毛外层的微绒毛结构是母胎之间的免疫屏障^[9],可以避免胚胎被母体免疫排斥。当微绒毛结构减少甚至消失时,免疫屏障瓦解,母体的免疫排斥作用,导致胚胎死亡甚至流产。本研究同时发现,CD105作为新生血管的标记物,在母体蜕膜新生血管内皮细胞阳性表达,但在绒毛间质血管内皮细胞中却无表达,与同样作为血管标记物的CD31、CD34表达迥异。推测原因为单克隆抗体CD105虽与肿瘤、新生组织的增殖异常活跃的内皮细胞具有高度的免疫反应性,但绒毛间质的血管内皮细胞处于母体免疫监控状态下,因而无免疫反应性或反应极弱。

VEGF又称血管调素,特异性地作用于血管内皮细胞,具有增加血管通透性,促进血管内皮细胞分裂、增殖以及诱导血管形成等作用^[10]。VEGF及家族参与并调节正常妊娠过程中滋养细胞的侵入行为。本研究中,VEGF在NP的绒毛滋养细胞中阳性表达率为50%,这与胎盘发育过程中绒毛间质血管的生长是一致的。VEGF在HA中表达率略低于NP,但差异无统计学意义。VEGF在PHM和CHM组织中表达率分别为25%和15%,这一结果明显低于NP和HA,证实在HM中VEGF的下调影响绒毛间质血管的生成,造成绒毛间质血管发育障碍,导致胚胎死亡,但外覆的滋养细胞继续将母血中的液体运输到绒毛间质中,由于内循环停止,形成绒毛间质水肿,这与Bolot等^[11]的研究结果相符。

本研究中,细胞因子CD105和VEGF在HA与HM中表达呈负相关,说明VEGF在滋养细胞的表达下调,某种程度上促进了CD105在ST中的过表达,导致滋养细胞过度增殖从而引发HM,与Martins等^[12]报道肿瘤细胞中两者的表达及关联相一致。由此进一步说明,HM发病过程中,CD105和VEGF同时参与了滋养细胞增生,绒毛间质水肿,绒毛间质内血管消失的一系列过程。

本研究分析了CD105和VEGF在HM滋养细胞的表达状况及意义,同时探讨了两者在HM与HA鉴别诊断中的作用,这些结果为进一步研究滋养细胞疾病的发生起到重要作用,同时指导临床诊断及治疗。但CD105作为新生血管的标记物,在绒毛间质血管内皮细胞的表达缺失,仍需进一步深入研究。

参考文献

- Hui P, Martel M, Parkash V. Gestational trophoblastic diseases: recent advances in histopathologic diagnosis and related genetic aspects[J]. *Adv Anat Pathol*, 2005, 12(3): 116–125.
- Rebecca N, Baergen. *Manual of Pathology of the Human Placenta* [M]. 2nd ed. New York: Spring, 2011: 59–120; 415–446.
- Zhao J, Xiang Y, Wan XR, et al. Molecular Genetic Analyses of Choriocarcinoma[J]. *Placenta*, 2009, 30(9): 816–820.
- Xuan YH, Choi YL, Shin YK, et al. Expression of TGF- β signaling proteins in normal placenta and gestational trophoblastic disease[J]. *Histol Histopathol*, 2007, 22(3): 227–234.
- Dallas NA, Samuel S, Xia I, et al. Endoglin(CD105): a marker of tumor or vasculature and potential target for therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(7): 1931–1937.
- Raluca A, Anca M, Pusa G, et al. CD105/Ki67 double immunostaining expression in liver metastasis from colon carcinoma[J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2011, 52(2): 613–616.
- Chen S, Ziyadeh FN. Vascular endothelial growth factor and diabetic nephropathy[J]. *Curr Diab Rep*, 2008, 8(6): 470–476.
- Henry-Berger J, Mouzat K, Baron S, et al. Endoglin (CD105) expression is regulated by the liver X receptor alpha(NR1H3) in human trophoblast cell line JAR[J]. *Biol Reprod*, 2008, 78(6): 968–975.
- Sarah JG, Gavin PS, Christopher WR, et al. Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles[J]. *J Immunol*, 2007, 17(1): 5949–5956.
- Sun JK. Intravitreal anti-VEGF therapy with prompt or deferred laser compared with steroid with prompt laser and prompt laser alone for treatment of diabetic macular edema[J]. *Curr Diab Rep*, 2011, 11(4): 227–229.
- Bolat F, Haberal N, Tunali N, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), hypoxia inducible factor 1 alpha (HIF-1 α), and transforming growth factors beta1 (TGF β 1) and beta3 (TGF β 3) in gestational trophoblastic disease[J]. *Pathol Res Pract*, 2010, 206(1): 19–23.
- Martins SF, Reis RM, Rodrigues AM, et al. Role of endoglin and VEGF family expression in colorectal cancer prognosis and anti-angiogenic therapies[J]. *World J Clin Oncol*, 2011, 2(6): 272–280.

(2012-01-31 收稿)

(2012-04-13 修回)

(本文编辑:王展宏)