

转移相关基因 CD44 和 nm23 在滋养细胞疾病中的表达及临床意义

胡红波¹, 林仲秋², 黄志锋¹, 许红雁¹

(1. 粤北人民医院妇产科, 广东 韶关 512026; 2. 中山大学附属第二医院妇科, 广东 广州 510120)

摘要:【目的】探讨转移相关基因 CD44 和 nm23 在预测葡萄胎恶变和滋养细胞肿瘤转移潜能的意义。【方法】采用 SP 免疫组织化学法检测 30 例葡萄胎新鲜标本和 57 例滋养细胞疾病石蜡标本中 CD44v6 和 nm23H1 的表达情况。【结果】① nm23H1 在 30 例葡萄胎未恶变组中的表达显著高于恶变组 ($P < 0.05$); ② 57 例滋养细胞疾病的石蜡标本中, nm23H1 在葡萄胎组中的表达显著高于滋养细胞肿瘤, 而 CD44v6 表达与之相反 ($P < 0.05$); ③ CD44v6 在恶性滋养细胞肿瘤临床 II ~ III 期的表达显著高于临床 I 期 ($P < 0.05$)。【结论】nm23 的缺失可能使葡萄胎恶变可能性增大; 滋养细胞肿瘤中 CD44v6 过度表达者转移潜能增强; CD44v6 和 nm23H1 在滋养细胞肿瘤中的表达呈负相关性。

关键词: 葡萄胎; 滋养层肿瘤; 基因, CD44; 基因, nm23; 免疫组织化学

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-257X(2002)04-0248-03

Expression of Transfer Corelation Gene CD44 and nm23 in Gestational Trophoblastic Diseases and its Clinical Significance HU Hong-bo¹, LIN Zhong-qiu², HUANG Zhi-feng¹, XU Hong-yan¹. (1. Department of Obstetrics and Gynecology, Yuebei People's Hospital, Guangdong Shaoguan, 512026; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Second Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】To access the significance of nm23H1 and CD44v6 in predicting the malignant transformation of hydatidiform mole and metastasis of trophoblastic tumor. 【Methods】Immunohistochemical SP method was used to detect the expressions of CD44 and nm23 in 30 cases verdure tissues of hydatidiform mole and 57 cases paraffin tissues of gestational trophoblastic disease (GTD). 【Results】① In 30 cases verdure tissues of hydatidiform mole, expression of nm23H1 in non-malignant transforming group (NMTG) was significantly higher than that in malignant transforming group (MTG) ($P < 0.05$); ② In 57 cases paraffin tissues of GTD. Expression of nm23H1 in hydatidiform mole group was significantly higher than that in trophoblastic tumor group, expression of CD44 was opposite ($P < 0.05$); ③ Expression of CD44v6 at clinical stage II ~ III was significantly higher than that at clinical stage I in trophoblastic tumors. 【Conclusion】The absent expression of nm23H1 has high value in predicting malignant transformation of hydatidiform mole. Abnormal expression of CD44v6 is correlated with metastasis of trophoblastic tumor. The expression of CD44v6 is negatively correlated with that of nm23H1 in trophoblastic tumor.

Key words: hydatidiform mole; trophoblastic neoplasms; genes, CD44; genes, nm23; immunohistochemistry

滋养细胞疾病 (gestational trophoblastic disease, GTD) 的一个显著特征是早期具有血行远处转移的生物学特性。绒癌的肺、阴道转移发生率高达 80% 和 30%^[1]。故早期预测其恶性程度成为提高治愈率的关键。本文采用免疫组化法检测与肿瘤转移密切相关的基因 CD44v6 和 nm23H1 在滋养细胞疾病中的表达, 寻找可以预测葡萄胎恶变和滋养细胞肿瘤转移潜能的指标。

1 材料与方 法

1.1 标本来源

收集广东省粤北人民医院病理科 1990 年 1 月

至 1998 年 12 月妊娠滋养细胞疾病患者手术切除及清宫组织的存档组织蜡块 57 份, 包括 25 份葡萄胎, 21 份侵蚀性葡萄胎, 11 份绒毛膜癌。另收集 1999 年 1 月 ~ 1999 年 6 月 30 例葡萄胎新鲜组织, 制作蜡片标本, 综合采用 HCG- β -RIA、盆腔 B 超、胸片等辅助检查进行 2 年的随访, 随访方法和组织学分型及临床分期的标准按《妇产科学》(第 5 版)。

1.2 方 法

1.2.1 试剂来源 鼠抗人单克隆抗体 CD44v6、nm23H1 及 S-P 试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。

1.2.2 免疫组化方法 每一标本均先作常规苏木

收稿日期: 2002-03-12

基金项目: 广东省卫生厅基金资助项目(A2001722)

作者简介: 胡红波(1969-), 女, 湖南湘潭人, 主治医师, 林仲秋, 导师, 教授

素(HE)染色, 石蜡切片脱蜡至水→微波抗原修复→用体积分数 3%过氧化氢去除内源性过氧化物酶的活性, 微波低档 1~2 min→PBS 洗 1 min×3 次→滴加正常血清(B 液), 室温孵育 10~15 min→滴加一抗, 恒温水浴箱孵育 60 min→PBS 洗 3 min×3 次→滴加二抗(C 液), 恒温水浴箱(37 °C)孵育 10~15 min→PBS 洗 3 min×3 次→滴加三抗(D 液), 恒温水浴箱(37 °C)孵育 10~15 min→PBS 洗 3 min×3 次→DAB 显色剂显色, HE 复染→常规脱水透明, 中性树胶封片→显微镜下观察结果。以 PBS 代替一抗为阴性对照, 阳性对照片由福州迈新生物技术开发公司提供。

1.2.3 结果判定 采用兼顾阳性染色强度和阳性细胞所占百分比的判断标准³。染色强度打分: 0 分为无色, 1 分为淡黄色, 2 分为棕黄色, 3 分为棕褐色。在高倍镜下计数 400 个细胞, 按染色阳性细胞所占百分比打分: 0 分为阴性, 1 分为阳性细胞≤10%, 2 分为 11%~50%, 3 分为 51%~75%, 4 分为 >75%。染色强度与阳性百分比的乘积>3 为

免疫反应阳性。并按乘积分数分为 4 个等级: - (0、1、2 分)、+(3、4 分)、++ (6、8 分)、+++ (9、12 分)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS10.0 统计软件包进行 χ^2 检验和精确概率检验法进行检验。

2 结 果

2.1 CD44v6 和 nm23H1 在葡萄胎新鲜组织标本中的表达

CD44v6 表达在恶变组和未恶变组间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而 nm23H1 在两组间的阳性表达率有显著性差异 ($P < 0.05$, 表 1)。

2.2 CD44v6 和 nm23H1 基因在滋养细胞疾病石蜡标本中的表达

CD44v6 和 nm23H1 表达在葡萄胎组与滋养细胞肿瘤组间差异有显著性 ($P < 0.05$), 而在侵蚀性葡萄胎和绒毛膜癌组间差异无显著性 ($P > 0.05$, 表 2)。

表 1 CD44v6 和 nm23H1 基因在葡萄胎新鲜组织标本中的表达
Table 1 The expression of CD44v6 and nm23H1 in hydatidiform mole

Group	n	CD44				Positive rate of CD44v6	nm23				Positive rate of nm23H1
		(-)	(+)	(++)	(+++)		(-)	(+)	(++)	(+++)	
MTG	10	9	1	0	0	10% ¹⁾	5	3	1	1	50% ²⁾
NMTG	20	19	1	0	0	5%	1	3	9	7	95%

Compared with NMTG group, 1) $P > 0.05$; 2) $P < 0.05$

表 2 CD44v6 和 nm23H1 基因在滋养细胞疾病石蜡标本中的表达
Table 2 The expression of CD44v6 and nm23H1 in paraffin tissues of gestational trophoblastic diseases

Group	n	CD44				Positive rate of CD44v6	nm23				Positive rate of nm23H1
		(-)	(+)	(++)	(+++)		(-)	(+)	(++)	(+++)	
Hydatidiform mole	25	22	3	0	0	12.0% ¹⁾	4	4	9	8	84.0% ¹⁾
Invasive mole	21	9	4	5	3	57.1%	13	5	2	1	38.1%
Choriocarcinoma	11	4	1	3	3	63.6%	6	4	1	0	45.5%

Compared with Invasive mole and Choriocarcinoma group, 1) $P < 0.05$

2.3 CD44v6 和 nm23H1 在滋养细胞肿瘤不同临床分期的表达

CD44 在临床 I 期和 II、III 期间的表达差异有显著性 ($P < 0.05$); 在临床 II 期和 III 期间差异无显著性 ($P > 0.05$)。而 nm23 表达在临床各期中的表达差异无显著性 ($P > 0.05$, 表 3)。

2.4 CD44v6 和 nm23H1 表达在滋养细胞疾病各组间的相关性

经 Fisher's 精确检验, 葡萄胎组 CD44v6 和 nm23H1 表达无相关性 ($P > 0.05$), 而侵蚀性葡萄胎及绒毛膜癌组中 CD44v6 和 nm23H1 表达呈负相关 ($P < 0.05$), 相应相关系数 r 和 P 值见表 4。

表3 CD44v6 和 nm23H1 在滋养细胞肿瘤不同临床分期的表达

Table 3 The expression of CD44v6 and nm23H1 in different clinical stage of gestational trophoblastic tumor

Clinical stage	n	CD44				Positive rate of CD44v6	nm23				Positive rate of nm23H1
		(-)	(+)	(++)	(+++)		(-)	(+)	(++)	(+++)	
I	19	13	4	1	1	31.6% ¹⁾	9	7	2	1	52.6% ²⁾
II	7	0	1	4	2	100.0%	6	1	0	0	14.3%
III	6	0	0	3	3	100.0%	4	1	1	0	33.3%

Compared with clinic stage II and III. 1) $P < 0.05$; 2) $P > 0.05$

表4 CD44v6 和 nm23H1 表达在滋养细胞疾病各组间的相关性

Table 4 Relationship between CD44v6 and nm23H1 expression in gestational trophoblastic diseases

Group	CD44v6(+)	CD44v6(+)	CD44v6(-)	CD44v6(-)	r	P
	/nm23(+)	/nm23(-)	/nm23(+)	/nm23(-)		
Hydatidiform mole	1	2	20	2	-0.510	0.057
Invasive mole	2	10	6	3	-0.510	0.032
Choriocarcinoma	1	6	4	0	-0.828	0.015

Note: using Spearman rank correlation

3 讨论

3.1 CD44v6 和 nm23H1 基因与肿瘤转移的关系

人CD44基因定位于11号染色体短臂上,有20个高度保守的外显子,它们被长短不一的内含子分隔,CD44外显子有两种,一种是组成型外显子,另一种是V区变异性拼接的外显子,其产生的亚型主要有标准型CD44(CD44s)和变异型CD44(CD44v)两种。CD44v的主要功能包括介导淋巴细胞与后毛细血管小静脉的高柱状内皮细胞结合,使淋巴细胞穿过血管壁回到淋巴组织,参与细胞迁移运动;调节细胞的运动和形态,将自身锚定在宿主细胞外间质及基底膜上而使浸润和转移发生^[3]。nm23基因是1988年Steeg等^[4]分离出来的一种肿瘤转移抑制基因,定位于染色体17q21区带,人类基因中存在nm23H1和nm23H2两种基因亚型,对肿瘤转移起抑制作用的主要是nm23H1,其蛋白产物与二磷酸核苷酸激酶(NDPK)具有高度同源性,通过调节细胞内微管系统的状态和阻断肿瘤信息传递而抑制肿瘤转移^[5]。

3.2 CD44v6 和 nm23H1 在葡萄胎新鲜组织表达

本研究采用免疫组化和临床随访相结合的方法,检测30例葡萄胎新鲜组织标本中CD44v6和nm23H1的表达。结果显示葡萄胎恶变组的nm23H1缺失发生率明显高于未恶变组($P < 0.05$),推测葡萄胎恶变早期即有nm23H1基因分

子结构或调控变化,将在疾病的进程中丧失肿瘤转移抑制作用,故nm23H1表达缺失可作为预测葡萄胎恶变的一个参考指标。CD44v6在30例葡萄胎新鲜组织标本中表达低,在恶变组和未恶变组的表达率无显著差异($P > 0.05$),是否对葡萄胎的早期恶变有预测价值,尚需扩大例数进一步研究。

3.3 CD44v6 和 nm23H1 在滋养细胞肿瘤中的表达及意义

从葡萄胎→侵蚀性葡萄胎→绒毛膜癌,随着疾病的恶性程度增加,CD44v6的表达呈上升趋势,葡萄胎和滋养细胞肿瘤的CD44v6阳性表达率有显著差异($P < 0.05$);在滋养细胞肿瘤临床分期中,CD44v6在临床II、III期的阳性表达率明显高于临床I期($P < 0.05$)。提示CD44v6阳性者较阴性者易发生脉管浸润和远处转移,CD44v6的过度表达意味着滋养细胞侵蚀能力的加强,可作为预测滋养细胞肿瘤远处转移的参考指标。nm23H1阳性表达率在滋养细胞肿瘤中的表达明显低于葡萄胎($P < 0.05$),在滋养细胞肿瘤的临床各期中无显著差异($P > 0.05$),对预测滋养细胞肿瘤的远处转移能力,目前未发现有临床价值。

3.4 滋养细胞疾病中 CD44v6 和 nm23H1 表达的关系

肿瘤的转移是多基因、多因子共同作用的结果,不少学者认为在肿瘤发生发展和转移的各阶

(下转第264页 to page 264)

结构异常, 新生儿发生率为 0.1%~0.2%^[2], 其父或母常为携带者, 因其保留了原有基因总数, 基因作用和个体发育一般无严重影响, 所以表型正常。我们检出的 10 例平行易位中有 8 例是属父或母遗传而来。由于携带者与正常人结婚后其子女可能接受一条易位衍生的染色体, 造成单体或部分三体, 破坏了基因平衡, 引起胎儿发育异常。另检出缺失型染色体 1 例, 缺失型染色体随染色体丢失的大小和片断不同而不同, 当出现较大缺失或缺失重要片段时, 可产生畸形或死胎。因此, 染色体结构异常的夫妇在妊娠时应进行产前诊断。

3.3 染色体多态性变异

检出 9qh+、16qh+、15s+ 等染色体变异共 7 例。染色体变异通常指 D 组、G 组染色体随体区变异, 其他主要指 1 号、9 号、16 号染色体次溢痕区加长或缺如, 通常认为, 上述区域变异不会引起临床症状^[6], 而将其归为染色体多态性现象。也有学者认为这些区段易受环境因素或遗传因素影响而诱发异常。因此, 对于产前诊断检出的这些病例, 也应对其父、母做染色体检查, 以确定其变异来源。

参考文献:

- [1] 方群, 游泽山, 王彩玲, 等. 妊娠中、晚期 300 例胎儿脐血染色体核型分析[J]. 中华医学遗传学, 2000, 17(1): 16.
- [2] 张思仲. 染色体畸变综合征[A]. 见: 杜传书, 刘祖洞主编. 医学遗传学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1992. 175~205.
- [3] 方群, 游泽山, 王彩玲, 等. 染色体三体胎儿妊娠期临床表现——20 例产前诊断分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2001, 9(1): 40.
- [4] Donner C, Rypens F, Paquet V, et al. Cordocentesis for rapid karyotype: 421 consecutive cases[J]. Fetal Diagn Ther, 1995, 10(3): 192.
- [5] 李锋. 先天愚型的产前诊断[J]. 国外医学妇产科分册, 1999, 26(1): 23.
- [6] 王树玉, 赵强, 贾婵维. 1 000 例遗传咨询患者的细胞遗传学分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2000, 8(5): 36.
- [7] 翁亚光, 王应雄, 刘学庆, 等. 精神发育迟滞患儿的细胞遗传学研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 1995, 3(2): 41.
- [8] 周月华, 高岳生, 阳冬玉, 等. 195 例男女性不育症患者临床与细胞遗传学分析[J]. 衡阳医学院学报, 1996, 24(4): 316.
- [9] 蔡柳洪, 侯红瑛, 李小毛, 等. 异常孕产史夫妇的细胞遗传学分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2001, 9(3): 47.
- [10] 王峻峰, 耿金花, 许飞. 9 号染色体异常 41 例分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2001, 9(6): 45.

(编辑 黄小延)

(上接第 250 页 from page 250)

段, 至少有两个或两个以上功能不同的异常激活的癌基因各自发挥不同作用, 并在时间和空间上相互配合, 协同促进了组织的癌变。我们发现侵蚀性葡萄胎和绒毛膜癌组中 CD44v6 表达和 nm23H1 的表达呈负相关, CD44v6 阳性表达且 nm23H1 阴性表达意味着发生血行远处转移的可能较大, 有资料表明^[6], CD44 也具有 GTP 连接蛋白和 G 蛋白的特性, 而且 CD44 作为黏附分子与细胞骨架蛋白结合, 参与细胞的伪足形成, 并与细胞的迁移运动有关。因此 CD44 和 nm23 可能共同通过对 G 蛋白及细胞骨架蛋白调节来影响转移的发生。

参考文献:

- [1] 乐杰. 妇产科学[M]. 第 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001.

(编辑 张恩健)

355~358.

- [2] 郑丰平, 袁世珍, 王俊雅, 等. 血管内皮生长因子表达与结直肠癌血管生成、转移的关系[J]. 中山医科大学学报, 2002, 23(1): 73.
- [3] Bennett K L, Modrell B, Greenfield B et al. Regulation of CD44 binding to hyaluronan by glycosylation of variably spliced exons[J]. J Cell Biol, 1995, 131(6): 1623.
- [4] Steeg P S, Bevilacqua G, Kopper L, et al. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential[J]. J Natl Cancer Inst, 1988, 80(3): 200.
- [5] Leone A, Flatow U, King C R, et al. Reduced tumor incidence metastatic potential and cytokine responsiveness of nm23-transfected melanoma cells[J]. Cell, 1991, 65(1): 25.
- [6] Friedrichs K, Franke F, Lisboe B W, et al. CD44 isoforms correlate with cellular differentiation but not with prognosis in human breast cancer[J]. Cancer Res, 1995, 55(22): 5424.