维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)03-0373-04

层粘连蛋白及其受体在葡萄胎中表达与预后的相关研究

周 玮[1],安瑞芳[2],刘 建[1],孙江川[1]

(1. 重庆医科大学附属第二医院妇产科,重庆 400010;2. 西安交通大学第一医院妇产科,西安 710061)

【摘 要】目的:探讨层粘连蛋白(Laminin,LN)和受体(Laminin Receptor,LN-R)的表达在葡萄胎预后中的意义。方法:应用免疫组化方法对 41 例葡萄胎组织(经随访 13 例发生恶变)和 20 例正常早孕绒毛组织中 LN 及 LN-R 进行检测。结果:LN 在正常绒毛、葡萄胎未恶变组和恶变组中的强表达率分别为,90.0%(18/20)、71.4%(20/28)、38.5%(5/13);LN-R 分别为 70.0%(14/20)、71.4%(20/28)、84.6%(11/13)。LN 表达葡萄胎预后恶变组显著高于其他两组。结论:LN 和 LN-R 在葡萄胎中的表达可能在葡萄胎恶变过程中起重要作用,有望作为判断葡萄胎预后的参考指标之一。

【关键词】层粘连蛋白;层粘连蛋白受体;葡萄胎;预后

【中国图书分类法分类号】R737.33 【文献标识码】A 【收稿日期】2005-10-28

Research on expression of laminin and laminin receptor in hydatidiform mole and prognosis factors

ZHOU Wei, et al

(*Department of Gynecology and Obstetric, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To investigate the significance of laminin (LN) and laminin receptor (LN-R) in the proceeding and prognosis of hydatidiform mole. ***Methods***: Immunohistochemical SP staining was used to detect the expression of LN and LN-R in 41 hydatidiform mole cases (13 cases were learned to have turned malignant by following up). 20 cases of normal early gestational chorion were detected as control. ***Results***: The strong positive rates of LN and LN-R in normal chorion, hydatidiform mole un-malignant group and malignant group were respectively 90.0% (18/20), 71.4% (20/28), 38.5% (5/13), and 70.0% (14/20), 71.4% (20/28), 84.6% (11/13). The strong expression of LN had a significant difference between malignant group and the other 2 groups ($P < 0.05$). ***Conclusion***: LN and LN-R may play an important role in malignant proceeding of hydatidiform mole. Detection of LN and LN-R may be of great value in assessing the prognosis of moles.

【Key words】Laminin; Laminin receptor; Hydatidiform mole; Prognosis

滋养细胞有着恶性细胞的某些特性,增殖快、具有一定侵袭性。葡萄胎是妊娠滋养细胞疾病中的良性病变,常在妊娠 12 周以前就被诊断,多数病例可以通过及时清宫而治愈。和正常的妊娠滋养细胞相比较,葡萄胎组织的滋养细胞具有增生异常活跃的特性,虽为良性病变,但是有 15%~20%的葡萄胎会发生恶变,并在早期就通过血行转移至远处脏器,严重危害患者的健康和生命[1]。层粘连蛋白是一种大分子非胶原性糖蛋白,它与Ⅳ型胶原结合形成基底膜骨架,层粘连蛋白受体是存在于细胞表面的许多细胞表面分子的总称,近年来研究发现两者相互作用与恶性肿瘤的侵袭、转移密切相关[2]。本文拟通过对正常妊娠绒毛组织、葡萄胎中的 LN 和 LN-R 表达进行检测,探讨两者与葡萄胎恶变的关系,希望能为临床预测葡萄胎恶变提供一项新的指标。

1 材料与方法

1.1 资料来源

取 1990 年 1 月~2002 年 12 月在西安交通大学第一医院妇科刮宫所得葡萄胎标本 41 例,其标本经 HE 染色病理检查确诊,均为首次清宫标本;年龄 18~43 岁,中位年龄 28 岁;平均孕周 11 周;所有病例均进行两年随访,按照人卫出版社统编教材《妇产科学》第 6 版,侵蚀性葡萄胎和绒毛膜癌临床诊断[3]或子宫切除标本病理证实 13 例发生恶变而入院治疗。取正常早期妊娠行人工流产术的绒毛组织 20 例作

作者介绍:周 玮(1977-),男,硕士,主治医师,主要研究方向:妇科肿瘤基础和临床。

维普资讯 http://www.cqvip.com

为对照组，孕妇年龄为 16～34 岁，平均 28 岁，从末次月经第 1 天算起，孕 6 周 5 例，孕 7 周 9 例，孕 8 周 3 例，孕 9 周 2 例，孕 10 周 1 例。

1.2 方法

利用链霉菌抗生物素蛋白－过氧化酶连接（SP）法检测 LN 和 LN-R 的表达，鼠抗人单克隆 LN、LN-R 即用型抗体和即用型超敏 SP（鼠／兔）免疫组化染色试剂均购自福州迈新生物技术开发公司，PBS 代替一抗做为阴性对照，用已知正常绒毛组织切片染色做阳性对照，严格按照说明书方法染色。

1.3 结果判定

结果判定参照 Constantine 等[5]的标准：在 400 倍光学显微镜下综合染色强度和阳性细胞所占比例进行半定量测定进行评分。染色强度评分标准：不着色 0 分，黄色 1 分，棕黄色 2 分，黄褐色 3 分；阳性细胞所占比例评分标准：阳性细胞数＜10%者为 0 分；10%～40%者 1 分；40%～70%者 2 分；≥70 者 3 分。两种评分之和 0～2 分为弱表达；3～6 分为强表达。

1.4 统计学方法

资料采用 SPSS11.0 进行统计分析，2×2 列联 χ^2 检验，有理论频数小于 5 时进行 Fisher' s 精确概率计算，以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 LN 和 LN-R 在正常绒毛组织与葡萄胎组织中的表达

比较正常早孕绒毛组织[1]与所有葡萄胎中 LN 和 LN-R 的表达，葡萄胎组织中 LN 强表达率为 61.0%（25/41），较正常绒毛表达率 90.0%（18/20）显著降低；LN-R 的强表达葡萄胎中为 75.6%（31/41），正常绒毛 70.0%（14/20），两者无显著性差异。

2.2 LN 与 LN-R 在正常绒毛和两组葡萄胎组织中的表达

LN 在正常绒毛组织中均匀一致的表达于上皮组织基底膜，呈连续线状，部分胞浆内颗粒状表达，强表达率为 90.0%（18/20）。28 例未恶变葡萄胎组织中，强表达率为 71.4%（20/28），仍然主要在基底膜线状表达，有些部位强弱不一，与正常绒毛组织中的表达无显著差异。13 例恶变葡萄胎组织中强表达率 38.5%（5/13），主要为胞浆表达，呈均匀颗粒状，上皮基底膜多数弱表达，细胞间质呈弱阳或阳性表达，与其他两组表达相比较有显著性差异。

LN-R 在正常早孕绒毛中的表达主要位于绒毛上皮细胞膜上呈包绕状表达，葡萄胎未恶变组的表



图 1 正常绒毛组织中 LN 的表达×100



图 2 葡萄胎组织中 LN 的表达×40

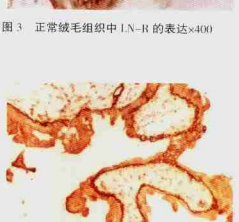


图 3 正常绒毛组织中 LN-R 的表达×400



图 4 葡萄胎组织中 LN-R 的表达×40

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 各组织中 LN 的表达

组别	例数	LN表达				LN-R表达			
		强表达	%	弱表达	%	强表达	%	弱表达	%
恶变组	13	5*	38.5	8	61.5	11	84.6	2	15.4
未恶变组	28	20**	71.4	8	28.6	20	71.4	8	28.6
对照组	20	18	90.0	2	10.0	14	70.0	6	30.0

* 与未恶变组比较 $P<0.05$；** 与对照组比较 $P>0.05$

达方式与正常绒毛类似，胞浆内也有少许阳性着染色，而葡萄胎恶变组的表达除细胞膜上包绕外，胞浆内也可见散布的阳性颗粒染色。在葡萄胎恶变组、未恶变组和正常早孕绒毛中的强表达率分别为84.6%、71.4%、70.0%，呈下降趋势，两组之间比较，强表达率无显著性差异（见表 1）。

3 讨 论

层粘连蛋白是存在于基底膜中的大分子糖蛋白，在正常组织里很难分离，一般只能得到其变性或降解成分。LN 主要由上皮细胞、内皮细胞、平滑肌细胞及贮脂细胞合成，在肝脏主要由内皮细胞及贮脂细胞合成，然后分泌到细胞外参与基底膜的形成，一部分在体内降解成若干大小不等的片段或经肾脏排出体外，正常人血清含量很低。

LN 与 LN-R 表达异常多见于恶性肿瘤组织，如乳腺癌、肺癌、卵巢癌及子宫内膜癌等，研究证实当恶性肿瘤发生转移时，细胞表面 LN 与 LN-R 的粘附是肿瘤细胞与基底膜相互作用关键的一步，为肿瘤粘附、侵袭突破基底膜提供了分子基础。同时 LN-R 不仅能促进细胞在 LN 基质上粘附，而且能诱导细胞的趋化性迁移和Ⅳ型胶原酶的分泌[5]。另外慢性肝纤维化患者血清及肝脏组织中也发现了两者的异常表达[6]。在正常生理状态下，LN 和受体 LN-R 的表达与妊娠密切相关，研究发现妊娠小鼠子宫内膜上皮基膜和腺上皮基膜内 LN 的表达随妊娠天数呈逐渐升高→骤然降低→再次升高→再逐渐降低的趋势，与子宫内膜细胞增殖、胚泡植入和蜕膜组织形成有密切关系[7]。

滋养细胞虽然是良性细胞，却有着某些类似恶性细胞的生物行为，所以由正常的滋养细胞向葡萄胎、侵蚀性葡萄胎和绒毛膜癌进展的过程有时是非常短促的。葡萄胎是妊娠滋养细胞疾病中唯一的良性病变，但是和其它良性病变相比，恶变率是比较高的，约 15~20%，本研究中恶变率更是达到了 30.7%（13/41），考虑是由两方面原因造成，一是病例数较少，概率不够准确；二是部分患者失去随访未纳入本实验中，而这部分流失的病例包括未发生恶变以及恶变后在外院治疗或死亡者。目前根据葡萄胎患者的年龄、血 HCG、宫体及黄素化囊肿大小来初步预测葡萄胎的预后，但是还缺乏确切的指标，对是否进行预防性化疗仍然存在很多争议和疑问。

正常绒毛组织具有一定的侵袭性，可以长入底蜕膜组织中形成胎盘，这一点和恶性细胞颇为相象。仅仅从滋养细胞的角度来看，正常绒毛和葡萄胎，葡萄胎和侵蚀性葡萄胎之间的分别是比较模糊的，区别就在于滋养细胞的增生以及绒毛组织的侵袭程度。可能有某些因素在绒毛中生长过程中对细胞增生和侵袭进行调控，一旦这些调控因素失衡，就会导致滋养细胞向恶性化转变。正常滋养细胞中 LN 和 LN-R 的表达方式与其他组织类似，两者都随胎盘发育和妊娠的进展而降低，在妊娠早期，胎盘绒毛的 LN、LN-R 含量最高，认为与胎盘结构建立初期，胎盘绒毛滋养层与母体蜕膜相互粘附共同构建胎盘有关[8]。

由本实验结果来看，整个葡萄胎组织里 LN 的强表达低于正常绒毛组织。LN 在正常早孕绒毛细胞上皮基底层呈现连续均匀线样染色，葡萄胎组织中也基本呈线性表达，但部分区域出现表达减弱的情况。尤其在葡萄胎随访恶变组的绒毛上皮基膜中甚至出现阶段性接近阴性的表达，但胞浆内却含有大量阳性染色的颗粒，胞浆内染色较正常绒毛和未恶变组强。可能和有恶变倾向的细胞在 LN 合成转运过程中出现障碍有关。LN-R 的强表达在葡萄胎组织中略高于正常早孕绒毛，主要表现为细胞膜和胞浆内染色增强，由正常绒毛、葡萄胎未恶变组到葡萄胎恶变组强表达率依次升高，但各组之间比较无显著性差异。

维普资讯 http://www.cqvip.com

总的来说 LN 表达随病变的恶性化程度增加而降低，LN-R 却呈相反趋势。这一点与安瑞芳等[9]对葡萄胎、侵蚀性葡萄胎以及绒毛膜癌组织中 LN 和受体 LN-R 的研究结果相符合。恶性滋养细胞疾病的转移能力是非常强的，这也是它发病致死的主要原因，所以在恶性滋养细胞疾病发展过程中依赖于 LN 的细胞粘附和基膜突破必然存在。本实验结果提示在有恶变倾向的葡萄胎组织 LN 表达减弱，上皮基膜中已经出现了 LN 的减少甚至缺失。理论上讲，LN 的降低会削弱细胞的粘附能力，这与恶性滋养细胞疾病在病变早期就可能脱离原发病灶而通过血道发生远处转移的特点相互矛盾，但是参与肿瘤细胞侵袭、粘附、转移的粘附分子除 LN 外，还有钙粘蛋白家族、选择蛋白家族、免疫球蛋白超家族和 CD44 粘附分子等，可能在葡萄胎发生恶变的过程中发挥主要粘附作用的分子并非 LN，而有恶变倾向葡萄胎组织 LN 表达减弱则可能是基底膜发生早期损伤的一种分子表现。虽然三组之间比较 LN-R 强表达无显著性差异，但是与正常早孕绒毛的规则包绕性表达不同，恶变组的强表达并不是以细胞基底膜侧为主，而显示出无序的整个细胞膜表面强表达，胞浆里则多见粗大的染色颗粒。

因此 LN 和 LN-R 不仅在正常绒毛胎盘形成中发挥重要的作用，而且还参与了妊娠滋养细胞疾病，尤其是良性滋养疾病向恶性滋养细胞疾病进展，以及恶性细胞的侵袭、转移过程。并且在滋养细胞疾病发展中有着特征性的表现，可以为疾病的预测和预后提供有用的信息，对临床诊断和治疗有一定指导意义。

参 考 文 献

[1] Li HW, Tsao SW, Cheung An. Current understandings of the molecular genetics of gestational trophoblastic disease[J]. Placenta, 2002;23(1): 20-31.

[2] Molino A, Pedersini R, Micciolo R, et al. Prognostic significance of laminin, laminin receptor and bone marrow micrometastases in breast cancer patients: are these markers of aggressive behavior and metastatic potential [J]? Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2003;11(4):311-318.

[3] 乐杰主编. 妇产科学[M]. 第 6 版，北京：人民卫生出版社，2004；325-326.

[4] Constantine A, Monteagudo C, Merino MJ, et al. Immunohistochemical detection of P glycoprotein in endometrial adenocarcinoma[J]. Am J Pathol, 1991; 138(4): 799-806.

[5] Givant-Horwitz V, Davidson B, Van de Putte G, et al. Expression of the 67 kDa laminin receptor and the alpha6 intergrin subunit in serous ovarian carcinoma [J]. Clin Exp Metastasis, 2003; 20(7):599-609.

[6] Skiba E, Lebensztejn DM, Werpachowska I, et al. The evaluation of hyaluronic acid and laminin concentration in serum in children with chronic hepatitis B treated with lamivudine, unresponsive to previous interferon-alpha therapy[J]. Pol Merkuriusz Lek, 2005; 18(105):268-270.

[7] 龙洪清.层粘连蛋白在早妊小鼠子宫内膜中的表达[J].咸宁医学院学报，2000;14(3):156-159.

[8] 崔彩莲，李 英.人胎盘绒毛层粘连蛋白及其受体的定位与定量研究[J]. 北京医科大学学报，1998;30(4):302-304.

[9] 安瑞芳，王 姝，张永爱，等.层粘连蛋白及其受体在妊娠滋养细胞肿瘤中的表达及意义 [J]. 四川大学学报 (医学版)，2005;36(3):344-346.

(上接第 348 页)

heart rate variability in twins[J]. Am J Cardiol, 1998;81(6):755-760.

[16] Wang YM, Liu XD, Dong WW, et al. The relationship between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and heart rate variability in cerebral stroke [J]. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi, 2004;21(2):156-160.

[17] Stolarz K, Staessen JA, Kawecka-Jaszcz K. Genetic variation in CYP11B2 and AT1R influences heart rate variability conditional on sodium excretion[J]. Hypertension, 2004;44(2):156-162.

[18] Suzuki N, Matsunaga T, Nagasumi K. Alpha(2B)-adrenergic receptor deletion polymorphism associates with autonomic nervous system activity in young healthy Japanese[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003;88(3):1184-1187.

[19] Sivenius K, Niskanen L, Laakso M. Uusitupa M A deletion in the alpha2B-adrenergic receptor gene and autonomic nervous function in central obesity [J]. Obes Res, 2003;11(8):962-970.

[20] Yasuda K, Matsunaga T, Moritani T. T393C polymorphism of GNAS1 associated with the autonomic nervous system in young, healthy Japanese subjects [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2004; 31(9):597-601.