

短串联重复序列检测技术在部分性葡萄胎诊断中的作用

荆福祥,袁雪芹,史永灿

(济宁医学院附属金乡医院,山东 济宁 272200)

摘要: [目的] 探讨短串联重复序列(short tandem repeat,STR)基因多态性检测在部分性葡萄胎鉴别诊断中的临床应用价值。[方法] 收集济宁医学院附属金乡医院病理科 2005~2016 年临床及病理形态学上明确部分性葡萄胎和水肿性流产各 20 例。组织标本经 STR 基因多态性检测,STR 检测包括 9 个多态性位点(D7S820、D13S317、D16S59、TPOX、TH01、CSF1PO、VWA、F13A01、FESFPS),分析其在葡萄胎鉴别诊断中的作用。[结果] 水肿性流产患者中位年龄 27 岁(23~33 岁),部分性葡萄胎患者中位年龄 30 岁(25~37 岁)。组织病理学结果:水肿性流产可见局灶绒毛组织水肿,滋养叶细胞增生不明显;部分性葡萄胎局灶绒毛组织水肿,中度滋养叶细胞增生。STR 结果显示:水肿性流产在每个 STR 位点均含有父源性和母源性各 1 个等位基因(17/17),另外 3 例未检测成功。在部分性葡萄胎中,单卵单精型部分性葡萄胎和单卵双精型部分性葡萄胎分别为 3(3/19)例和 12 例(12/19),还有 4 例为均含有父源性和母源性各 1 个等位基因(4/19),另有 1 例未检测成功。[结论] 传统的组织病理学对部分性葡萄胎的诊断准确性仍然不够,9 个 STR 位点多态性分析对部分性葡萄胎的诊断具有重要作用。

关键词: 葡萄胎;短串联重复序列;鉴别诊断

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)01-0051-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.01.B011

Application of Short Tandem Repeat Analysis in Diagnosis of Partial Hydatidiform Mole

JING Fu-xiang, YUAN Xue-qin, SHI Yong-can

(Affiliated Jinxiang Hospital of Jining Medical College, Jining 272200, China)

Abstract: [Objective] To assess the application of short tandem repeats (STR) analysis in the diagnosis of partial hydatidiform mole (PHM). [Methods] Twenty samples of partial hydatidiform mole and 20 samples of hydropic abortus were collected from the Department of Pathology, Affiliated Jinxiang Hospital of Jining Medical College from 2005 to 2016. The STR analysis was performed in seven loci(D7S820, D13S317, D16S59, TPOX, TH01, CSF1PO, VWA, F13A01, FESFPS) on the tissue samples and their values for differential diagnosis of hydatidiform mole were assessed. [Results] Histopathologically, there was focal villous swelling and no obvious trophoblastic hyperplasia in hydropic abortus; while partial hydatidiform mole (PHM) was characterized by moderate trophoblastic hyperplasia and hydatidiform villous swelling. Three cases of hydropic abortus failed for STR detection, and STR analysis showed balanced biallelic profiles of both paternal and maternal origins in all 17 cases. In 20 PHM cases, 1 case failed for STR analysis; 3 were monospermic partial hydatidiform mole (MPM, 3/19), 12 were dispermic partial hydatidiform mole(DPM, 12/19), and 4 cases showed balanced biallelic profiles of both paternal and maternal origins(4/19). [Conclusion] The histopathologic diagnosis of partial hydatidiform mole is less accurate. STR analysis with 9 sites is of value in the diagnosis of partial hydatidiform mole.

Subject words: hydatidiform mole; short tandem repeats; differential diagnosis

葡萄胎(hydatidiform mole, HM)的病理特征为滋养层细胞增生伴绒毛组织水肿,形态学分为完全性葡萄胎(complete hydatidiform mole, CHM)、部分

性葡萄胎(partial hydatidiform mole, PHM)^[1,2]。伴随着超声技术的不断发展,妊娠早期就可以发现这些病变,但在早期这两种病变和水肿性流产非常相似,很难通过组织形态学加以鉴别。近年来,伴随着 p57 免疫组化的运用,完全性葡萄胎可以被相对容易地鉴别出来^[3,4]。但是部分性葡萄胎和水肿性流产的鉴

通讯作者: 荆福祥,副主任医师,学士;济宁医学院附属金乡医院病理科,山东省济宁市金乡县金城路 117 号(272200);E-mail: 06390639@sina.com

收稿日期: 2017-02-10; **修回日期:** 2017-04-13

别诊断仍然比较困难。由于部分性葡萄胎具有进展为滋养叶细胞肿瘤的风险,因而有必要将其鉴别出来。

短串联重复序列 (short tandem repeat, STR) 主要是 DNA 重复次数的不同,形成了丰富的群体多态性,并具有高度的遗传稳定性,它是目前应用最广泛的遗传标记。研究证实,通过多个 STR 位点的多态性分析从而鉴别 CHM 和 PHM^[5]。由于该方法需要用专门的设备及试剂,目前仍然处于科研阶段,在临床应用方面较少,且运用的标本类型也不一致。在本研究中,运用临床病理科的组织样本,采用了 9 个位点 STR 分析技术,评价其在葡萄胎鉴别诊断中的价值,希望其能为病理诊断和临床治疗提供一些指导。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集济宁医学院附属金乡医院病理科 2005~2016 年病理形态学上明确诊断部分性葡萄胎和水肿性流产各 20 例,共计 40 例。所有病理切片和相关免疫组化均经两位有经验的病理学医师复诊。患者主要以闭经后腹痛、阴道流血、早妊查体、流产后再出血等前来就诊。尿妊娠试验均阳性。B 超提示胚胎停止发育或无胎心,但在早期尚不能分辨水肿性流产或葡萄胎。20 例水肿性流产患者中位年龄 27 岁 (23~33 岁),平均闭经时间 45d (28~67d),患者首次妊娠 14 例,两次或多次妊娠 6 例,临床诊断为不全流产 12 例,稽留流产 5 例,疑似葡萄胎 2 例,死胎 1 例,2 例疑似葡萄胎者血清 β -HCG 分别为 55 578 mIU/ml、61 920 mIU/ml,其余病例无 β -HCG 记载。20 例部分性葡萄胎患者中位年龄 30 岁 (25~37 岁),平均闭经时间 52d (38~61d),患者首次妊娠 4 例,两次或多次妊娠 16 例,血清 β -HCG 中位数值为 107 298 mIU/ml (6542~271 600 mIU/ml),临床诊断为不全流产 7 例,稽留流产 3 例,疑似葡萄胎或滋养叶细胞肿瘤 8 例,早妊死胎 2 例。

1.2 方法

1.2.1 样本采集

所有组织标本经 4% 中性甲醛固定、石蜡包埋后,常规切片和 HE 染色。

1.2.2 组织样本 p57 染色

按照病理科临床常规操作进行,采用 SP 法,一抗 p57、二抗和 DAB 显色试剂盒皆购自上海长岛生

物技术开发公司。

1.2.3 STR 基因分型检测

使用 Qiagen 石蜡包埋组织 DNA 纯化试剂盒 (QIAamp DNA FFPE Tissue Kit) 提取 DNA,步骤严格按照说明书进行。提取 DNA 后样本送至金唯智生物技术有限公司进行 9 个位点的 PCR 及毛细管电泳,扩增的 STR 位点包括 D7S820、D13S317、D16S59、TPOX、TH01、CSF1PO、VWA、F13A01 和 FESFPS;使用 ABI3730xl 进行毛细管电泳检测荧光 PCR 产物;用 GeneMapper4.0 软件对检测结果进行分析。

1.2.4 STR 结果判定

研究检测了常用的 9 个 STR 位点。测序结果按以下原则判读^[6]:(1)9 个位点中至少有 2 个位点出现 2 个父源性和 1 个母源性等位基因,判定为 PHM。(2)水肿性流产:如果在每个 STR 位点均含有父源性和母源性等位基因,且两等位基因峰值、高度相似。

2 结果

2.1 组织病理学特点

水肿性流产的组织形态学主要表现为绒毛间质轻度水肿,未见明显的滋养叶细胞增生 (Figure 1A);部分性葡萄胎则表现为局灶绒毛组织水肿,局灶区域中度滋养叶细胞增生,有时可见滋养细胞包涵体形成 (Figure 1B)。

2.2 p57 免疫组化表达

20 例水肿性流产和 20 例部分性葡萄胎的绒毛组织 p57 均呈现不同程度阳性,可除外完全性葡萄胎的诊断。

2.3 STR 基因多态性检测结果

所有样本进行 9 个位点的 STR 多态性分析,以母体蜕膜组织作为对照,在水肿性流产和部分性葡萄胎中分别有 3 例和 1 例检测失败。在 20 例水肿性流产中 3 例检测失败,剩余 17 例样本在每个 STR 位点均含有父源性和母源性各 1 个等位基因 (17/17) (Figure 2A、B),水肿性流产组织学诊断和 STR 分析结果一致。在部分性葡萄胎中,1 例检测失败。在检测成功的 19 例部分性葡萄胎中,单卵单精型部分性葡萄胎和单卵双精型部分性葡萄胎分别为 3 (3/19) 例和 12 例 (12/19) (Figure 3A、B),其 STR 检测结果与组织学检测结果一致;还有 4 例为均含有父源性和母源性各 1 个等位基因 (4/19),STR 检测结果提

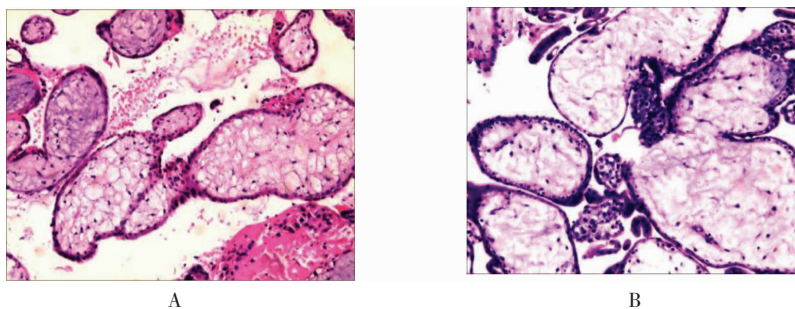
示这 4 个病例的遗传学特征符合水肿性流产。

3 讨论

研究显示约 0.5% 部分性葡萄胎可发展为侵袭性葡萄胎、绒癌及其他滋养细胞肿瘤^[7], 由于影像学技术的发展, 早期的病理性妊娠常常会被发现, 但是此时的病理学特征并不明显, 因此给病理学诊断带来了困难, 特别是部分性葡萄胎的病理诊断。近几年来随着免疫组织化学染色的广范应用, 采用简单的二步法标记 p57, 配合 Ki-67、PLAP 等标记, 对于绒毛 p57 表达缺失的完全性葡萄胎比较容易诊断^[3,4], 但对于绒毛 p57 表达较弱、部分表达, 甚至完全表达的病例, 组织病理形态学又不典型, 病理诊断往往不能下肯定的诊断, 只能用推测性或怀疑诊断, 如“不排除”、“可疑”等。因而本研究想进一步借助 STR 多态性分析辅助部分性葡萄胎的诊断。

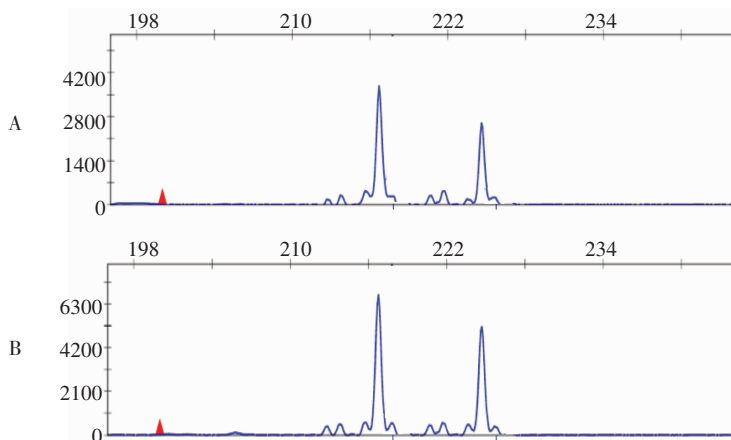
对于部分性葡萄胎的分子诊断方法, 以前的研究一般采用流式细胞仪进行细胞的倍体分析, 但时常存在着蜕膜组织的污染或样本存放过久不容易检测的缺点, 使得该方法未能在临床工作中广泛应用。近年来, 人们根据葡萄胎的分子遗传学特征, 采用亲子鉴定的 15 位点 STR 检测试剂盒进行葡萄胎的鉴别诊断, 取得比较好的敏感度和特异性。但由于试剂盒成本较高, 应用也受到一定的限制。

在本次研究中, 我们根据



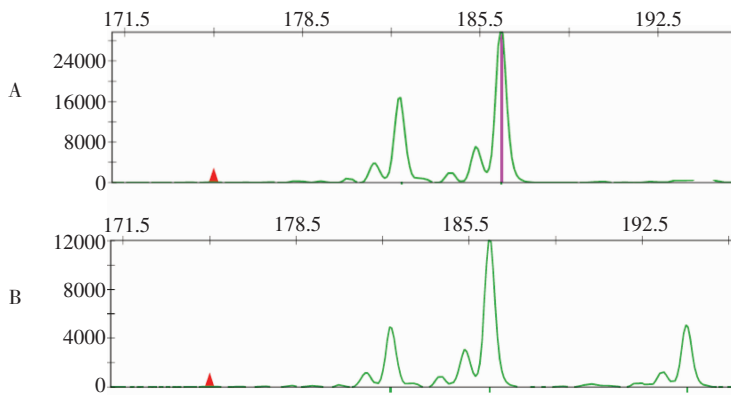
A: The hydropic abortus: the hydropic abortus often revealed focal villous swelling and no obvious trophoblastic hyperplasia was found. B: The partial hydatidiform mole is characterized by moderate trophoblastic hyperplasia and hydatidiform villous swelling.

Figure 1 The pathology of hydropic abortus and partial hydatidiform mole (HE, SP×200)



A: deciduas. B: villus. The genetic polymorphism of D7S820 were not found.

Figure 2 The hydropic abortus showed D7S820 gene polymorphism



A: Deciduas and no genetic polymorphism of D7S820.
B: Villus and the genetic locus polymorphism of D7S820

Figure 3 The partial hydatidiform mole showed D7S820 gene polymorphism

以往的文献报道,优化实验条件,选择了9个位点,进行STR检测。首先,选择了近10年的40例组织病理样本,其中有36例样本成功检测,检测成功率达90%,基本可以满足临床需求。其次,选择的基因位点均是以前研究采用的多态性位点,经过我们优化条件后,最后图形的峰形锐利、无明显的杂峰,蜕膜和绒毛组织同一位点峰形及位置均相似。这些结果提示,本实验建立的方法学是准确而可靠的;再次,结果判断原则也是参照以往的研究结果,因而该研究结果判读也是可靠的。STR基因分型也存在以下局限性:(1)STR基因分型可以区分三倍体是父源性三倍体还是母源性三倍体,不能区分双亲来源的CHM(biparental CHM, BiCHM)。(2)不能检测家族性葡萄胎^[8]。虽然此类病例比较少见,但易造成误诊或者漏诊,因而需结合病理形态学和临床资料综合判断,不是所有的病例都适合做分子检测。

我们本次研究选择了病理形态比较典型的水肿性流产和部分性葡萄胎。对于17例经过STR检测发现,STR多态性位点均含有1个父源性和1个母源性等位基因,水肿性流产组织病理和分子检测的结果一致,这个结果符合水肿性流产的遗传学特征,与既往的研究报道一致^[7]。但是部分性葡萄胎中,我们的结果显示可用于分析的19例样本中,15例属于部分性葡萄胎,与组织学诊断结果一致;但是剩余的4例样本均含有父源性和母源性各1个等位基因(4/19),这个遗传学特征符合水肿性流产。因而,对于部分性葡萄胎即使经过两位病理学家阅片并结合p57标记,仍然会有21%(4/19)的病例存在误诊。对于组织形态学不典型的病例误诊率则更高了。常彬等^[9]选择了16例组织学诊断为PHM、“倾向PHM”或“绒毛形态异常,PHM不能除外”病例,采用7个STR基因位点,分型结果显示7例符合葡萄胎的诊断,9例则应该为水肿型流产,单纯依靠组织学观察诊断PHM的误诊比例为56%。郑兴征等^[10]报道,如果单纯以组织形态学,部分性葡萄胎的误诊率会达到70%。我们在本研究中误诊率低的主要原因是选择的这些病例都是比较典型的,同时也运用p57等免疫组化进行了鉴别诊断。因而对于部分性葡萄胎的病例需要建议患者尽量进行STR分型检测。

综上所述,本实验建立的9个位点的STR分析技术在部分性葡萄胎的鉴别诊断中具有重要的价值。但本研究的不足之处在于PHM病例样本量偏

少,主要原因在于PHM本身发病率较CHM低。因此下一步的工作是扩大收集PHM的病例,结合STR基因分型进行大样本的形态学分析,希望能对临床病理医师的诊断具有一定的帮助。

参考文献:

- [1] Wilson Y, Bharat C, Crook ML, et al. Histological comparison of partial hydatidiform mole and trisomy gestation specimens[J]. Pathology, 2016, 48(6): 550-554.
- [2] Jauniaux E, Verheijen R. Diagnosis and management of hydatidiform mole and its complications: 2000 years of a medical challenge[J]. BJOG, 2016, 123(7): 1183.
- [3] Zhong PP, Gu YQ, Shun YF, et al. Diagnostic value of p57, p53 and Ki-67 protein in hydatidiform mole[J]. Chinese Journal of Diagnostic Pathology, 2014, 21(6): 391-394. [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.]
- [4] Zhang K, Bai S. Application value of p57, p53 and Ki-67 in diagnosis of hydatidiform mole[J]. Mod Med Health, 2016, 32(22): 3465-3466. [张坤, 白石. p57、p53、Ki-67在葡萄胎诊断中的应用价值[J]. 现代医药卫生, 2016, 32(22): 3465-3466.]
- [5] Xie Y, Pei X, Dong Y, et al. Single nucleotide polymorphism-based microarray analysis for the diagnosis of hydatidiform moles[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(1): 137-144.
- [6] Zheng XZ, Hui P, Chang B, et al. STR DNA genotyping of hydatidiform moles in South China[J]. International Journal of Clinical & Experimental Pathology, 2014, 7(8): 4704-4719.
- [7] Eagles N, Sebire NJ, Short D, et al. Risk of recurrent molar pregnancies following complete and partial hydatidiform moles[J]. Hum Reprod, 2016, 30(9): 2055-2063.
- [8] Zhao YY, Zhang XW. Advances in familial recurrent hydatidiform mole and its pathogenic genes[J]. Reproduction & Contraception, 2016, 36(7): 580-584. [赵琰誉, 张小为. 家族性复发性葡萄胎及相关致病基因的研究进展[J]. 生殖与避孕, 2016, 36(7): 580-584.]
- [9] Chang B, Lu LX, Zheng XZ, et al. Diagnostic utility of STR genotyping for partial hydatidiform moles[J]. Chinese Journal of Pathology, 2015, 44(12): 868-873. [常彬, 卢立霞, 郑兴征, 等. 短串联重复序列基因分型对部分性葡萄胎的诊断价值[J]. 中华病理学杂志, 2015, 44(12): 868-873.]
- [10] Zhong XZ, Wu BQ, Buza N, et al. Auxiliary technology is helpful to the accurate diagnosis and classification of hydatidiform mole[J]. Chinese Journal of Pathology, 2015, 44(1): 15-20. [郑兴征, 吴秉铨, Natalia Buza, 等. 辅助技术有助于葡萄胎的精确诊断及分型[J]. 中华病理学杂志, 2015, 44(1): 15-20.]