

Ki-67在胎盘葡萄胎疾病诊断中有作用吗？

Rofieda Alwagfi, M.D., Martin C. Chang, M.D., Ph.D.,
and Terence J. Colgan, M.D.

摘要：应用 p57 免疫组织化学 (IHC) 方法可以区分完全性葡萄胎 (CM) 与部分性葡萄胎 (PM)、非葡萄胎流产 (NMA)。分子基因分型 (MG) 是确诊 PM 和 NMA 的金标准。然而，MG 价格昂贵，并不是所有实验室都能开展。一些数据资料显示 Ki-67 IHC 可能有助于鉴别 PM 和 NMA，从而取代 MG。本研究检测了 p57 和 Ki-67 IHC 在胎盘葡萄胎疾病诊断中的作用。研究对象包括 60 例妊娠物 (20 例 CM、20 例 PM 和 20 例 NMA)。所有 CM 病例中绒毛 p57 IHC 表达缺失 (<10%)。所有 PM 和 NMA 病例均进行了 MG 分析，分别为双雄三倍体和双亲遗传。60 例标本经甲醛固定石蜡包埋切片后进行 Ki-67 和 p57 IHC。在未知具体诊断的情况下对这 2 个标志物 IHC 结果进行判读，并记录绒毛滋养层细胞和间质细胞核 p57 染色的百分比。在 Ki-67 增殖活性最高的区域，通过人工计数至少 500 个绒毛细胞滋养层细胞来计算 Ki-67 阳性指数(%)。任何强度的核染色都被视为阳性。p57 IHC 主要用于排除或确诊 CM。尽管 Ki-67 在 CM 中的表达明显高于 PM 和 NMA，但缺乏诊断价值。PM 的 Ki-67 表达往往高于 NMA，但是这一差异没有统计学意义。我们的研究表明 p57 和 Ki-67 IHC 不能可靠地区分 PM 和 NMA。

关键词：免疫组织化学；完全性葡萄胎；部分性葡萄胎；非葡萄胎流产；短串联重复序列；甲醛固定石蜡包埋

(*Int J Gynecol Pathol.* 2020; 39:1-7)

From the Sinai Health System (R.A., T.J.C.); The Sinai Health System and University of Toronto (M.C.C.), Toronto, Ontario, Canada.

An earlier version of this study was a poster presentation at the United States-Canadian Academy of Pathology Annual Meeting, March 17, 2018, Vancouver.

Supported by the Department of Pathology and Laboratory Medicine, Mount Sinai Hospital.

The authors declare no conflict of interest.

Address correspondence and reprint requests to Terence J. Colgan, MD, LifeLabs, 100 International Blvd., Toronto, ON, Canada M9W 6J6. E-mail: terry.colgan@lifelabs.com

葡萄胎是一种异常的胎盘，基于形态学、细胞遗传学和临床病理学特征进一步分为完全性葡萄胎和部分性葡萄胎。通过对葡萄胎特异亚型的诊断，将其与水肿性流产区分开来，对于患者的治疗方案及疾病进展为持续性妊娠滋养细胞疾病和绒毛膜癌的风险评估均至关重要^[1]。

妊娠期常规超声检查就能在早期（通常是妊娠的前3个月）发现葡萄胎并予以清除。但是中期妊娠样本中的典型病理形态学特征在这些早期妊娠样本中并不明显，这使得 CM 和 PM 的病理学诊断变得更加困难。在其他多种遗传异常如染色体三体和单体中，也可以看到绒毛形态异常伴有水肿和滋养细胞增生。

许多研究表明，即使对于经验丰富的病理学专家，葡萄胎的诊断仍然存在观察者一致性差的问题。Conran 等^[2]的研究显示仅仅通过组织学诊断，诊断结果的一致性较差，但利用流式细胞仪检测技术则结果一致性较好。Fukunaga 等^[3]的研究中，5 位胎盘病理学专家对妊娠标本进行复查，仅凭组织学诊断，观察者一致性较差，诊断结果的不一致最常见于 PM 与 NMA，其原因是难以评估滋养细胞增生，但增加染色体倍体分析会使诊断的一致性显著提高。

p57kip2 被公认为 CM 的诊断标志物，在 CM 的绒毛细胞滋养层细胞和绒毛间质表达缺失，它可以将 CM 与 PM、NMA 区分开来^[4-8]。但是，鉴别 PM 和 NMA 仍然困难，尤其是在妊娠的最初几周。目前，MG 是确定 PM 和 NMA 诊断的金标准，但许多实验室常无法应用这种方法^[9-12]。有学者提出利用 Ki-67 等的 IHC 来区分葡萄胎和 NMA^[13, 14]。

Ki-67 是一种核蛋白，存在于细胞周期中所有活跃期(G1、S、G2和有丝分裂期)，不存在于静止期(G0)，是了解特定细胞群增殖指数非常好的标志物^[15]。Ki-67 的过度表达常见于多种恶性组织中，与膀胱癌^[16]、恶性脑肿瘤^[17]、乳腺癌^[18、19]、肾癌^[20]、肺癌^[21、22]、卵巢癌^[23]、前列腺癌^[24]或甲状腺癌^[25]患者较低的生存率相关。此外，在 WHO 胰腺和胃肠道神经内分泌肿瘤分级中，Ki-67 增殖活性也是参数之一^[26]。Ki-67

的过度表达与神经内分泌肿瘤患者较低的生存率相关，它也可以取代神经母细胞瘤的核分裂象指数^[27]。Ki-67 也被认为是淋巴瘤的预后标志物^[28]。

在正常胎盘中，细胞滋养层细胞在妊娠早期可表现出增殖活性，Ki-67 阳性指数达 30%^[29]，这种增殖活性随着孕期的延长而降低^[30]。如果 Ki-67 能可靠地区分 PM 和 NMA，将使两者的鉴别变得更加简便，因为 Ki-67 IHC 在大多数病理实验室都能够进行。本研究旨在探讨 Ki-67 在 PM 和 NMA 的鉴别诊断中是否存在价值。

资料和方法

病例选择

对本研究机构的 60 例病例（20 例 CM、20 例 PM 和 20 例 NMA）进行回顾性研究。所有 CM 病例的诊断均经 p57 IHC 证实，所有 PM 和 NMA 病例的确诊均通过 MG 分析分别证实为双雄三倍体和双亲遗传。所有病例标本均经甲醛固定、石蜡包埋（FFPE）后进行 Ki-67 和 p57 IHC。

p57^{KIP2}免疫组织化学

p57^{KIP2} (clone 25B2; Leica/Novocastra, UK) IHC 在 4 μ m 的 FFPE 组织切片上进行。绒毛外滋养细胞和母体蜕膜组织作为内对照，评估绒毛细胞滋养层细胞和绒毛间质细胞是否有核染色。当绒毛细胞滋养层细胞和间质细胞无表达或表达水平非常低 (<10%) 时，p57^{KIP2} 被认为是“缺失”。

MG

挑选出含绒毛最多的石蜡块，制备 6~8 张 10 μ m 的连续切片。按照产品说明书^[31,32]使用 Aneufast QF-聚合酶链反应试剂盒和之前描述的方法 (Molgentix, Barcelona, Spain) 对妊娠物和母体 DNA 样本进行 MG 分析。

Ki-67 IHC

所有病例 FFPE 组织 4 μ m 厚切片，行 Ki-67 (clone MIB-1; DAKO) IHC。计算 500 个细胞滋养层细胞中 Ki-67 阳性指数，盲法评价 Ki-67 的表达水平。在 200 倍光镜下，分析 Ki-67 增殖活性最高的区域，胞核棕色染色视为阳性。

结果

所有 CM 病例绒毛均为 p57 缺失，所有 PM 和 NMA 病例绒毛均有 p57 表达。表 1 列出了 3 组病例（每组 20 例）的 Ki-67 阳性指数。表 2 显示 3 组病例 Ki-67 阳性指数的范围以及均值。在 CM 病例中，Ki-67 阳性指数最高为 100%，最低为 33.8%（图 1），均值 89.9%。PM 病例 Ki-67 阳性指数范

表 1. 3 组病例中（各 20 例）
绒毛细胞滋养层细胞的 Ki-67 阳性指数

| 例序 | 完全性葡萄胎 (%) | 部分性葡萄胎 (%) | 非葡萄胎流产 (%) |
|----|------------|------------|------------|
| 1 | 99.00 | 19.20 | 2.20 |
| 2 | 99.20 | 16.40 | 1.40 |
| 3 | 99.80 | 25.40 | 86.00 |
| 4 | 98.00 | 16.00 | 25.40 |
| 5 | 80.00 | 34.80 | 3.80 |
| 6 | 97.00 | 45.60 | 40.00 |
| 7 | 100.00 | 16.20 | 2.40 |
| 8 | 90.00 | 11.00 | 8.40 |
| 9 | 89.20 | 15.20 | 29.00 |
| 10 | 94.80 | 38.20 | 16.60 |
| 11 | 96.00 | 81.60 | 0.40 |
| 12 | 33.80 | 28.00 | 26.00 |
| 13 | 92.60 | 23.00 | 24.20 |
| 14 | 80.00 | 12.00 | 15.20 |
| 15 | 92.00 | 21.60 | 14.00 |
| 16 | 85.20 | 43.20 | 16.00 |
| 17 | 99.40 | 42.60 | 28.40 |
| 18 | 96.00 | 28.40 | 7.00 |
| 19 | 93.20 | 35.80 | 22.80 |
| 20 | 82.00 | 30.00 | 1.80 |

围为 11.0%~81.6%，均值 29.21%（图 2）。在 NMA 病例中，其中 1 例 Ki-67 阳性指数高达 86%，最低 Ki-67 阳性指数为 0.4%（图 3），均值 16%。Ki-67 阳性指数的比较采用 Kruskal-Wallis H 检验、Mann-Whitney 检验和 Bonferroni 校正。P<0.05 为差异具有统计学意义。CM 与 PM、NMA 相比，P 值<0.01；而 PM 与 NMA 比较的 P 值为 0.058。我们的结果表明，Ki-67 在 CM 中的表达明显高于 PM 和 NMA。虽然 PM 的 Ki-67 表达比 NMA 高，但差异没有统计学意义。

表 2. 3 组病例中 Ki-67 阳性指数的范围和均值

| 统计值 | 完全性葡萄胎 (%) | 部分性葡萄胎 (%) | 非葡萄胎流产 (%) |
|-----|------------|------------|------------|
| 范围 | 33.8~100.0 | 11.0~81.6 | 0.40~86.0 |
| 均值 | 89.9 | 29.9 | 16.0 |

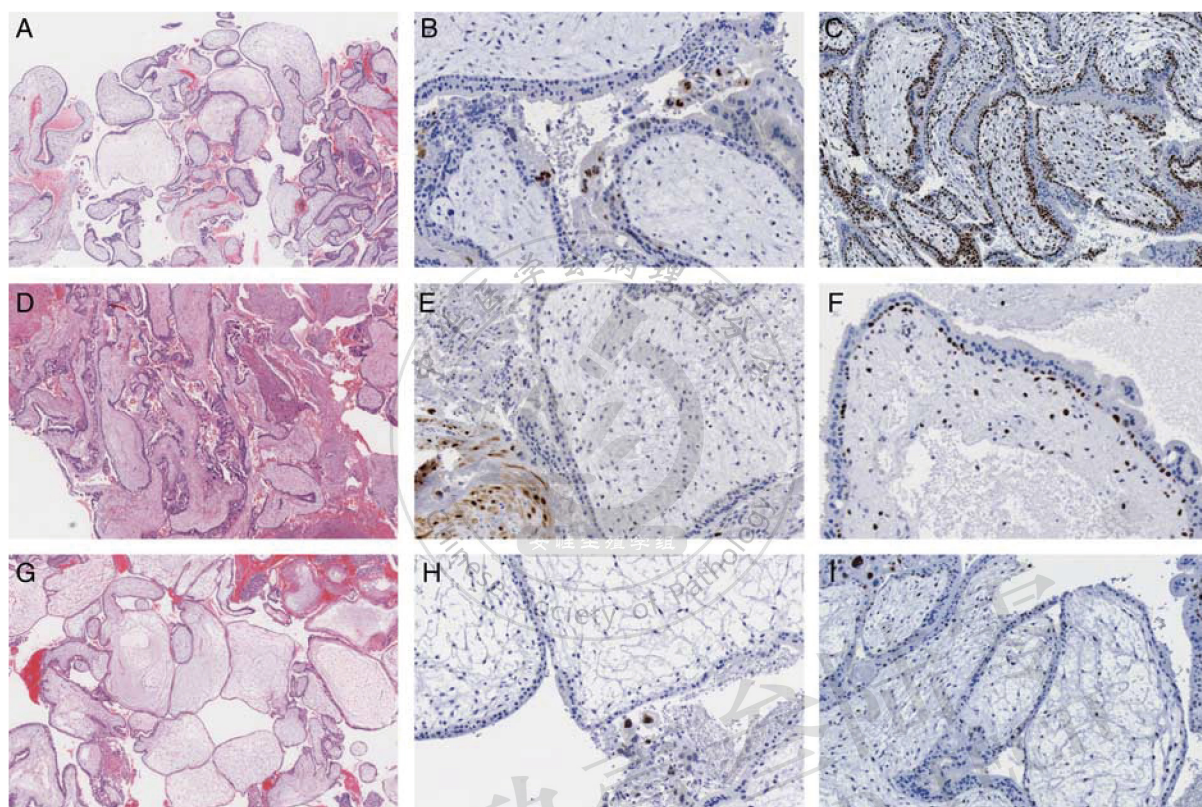


图1. p57 染色和 Ki-67 在 3 例完全性葡萄胎 (CM) 绒毛中细胞滋养层细胞的表达。CM (A) 对应的 p57 染色 (B) 和最高表达的 Ki-67 (100%) (C)。CM (D) 对应的 p57 染色 (E) 和接近平均值的 Ki-67 (89.2%) (F)。CM (G) 对应的 p57 染色 (H) 和最低表达的 Ki-67 (33.8%) (I)。

讨论

在日常工作中, CM、PM、NMA 的诊断思路是以组织形态学为基础的^[33]。典型的 CM 由增大的水肿绒毛组成, 绒毛周围围绕中-重度增生的滋养细胞, 通常伴有细胞异型, 绒毛内见显著的中央池形成和滋养细胞包涵体。早期 CM 的特征是绒毛呈异常球茎状, 绒毛间质细胞丰富、含黏液样基质和迷路样毛细血管网, 间质内出现核碎裂, 绒毛周围至少有局灶性滋养细胞增生。PM 典型的形态学特征是含有 2 种类型的绒毛 (大的、不规则的水肿绒毛和小的、未成熟的、纤维化的绒毛), 一些增大的绒毛有中央池, 绒毛轮廓不规则呈扇贝状, 间质内见滋养细胞包涵体, 围绕绒毛的滋养细胞轻度增生。对绒毛形态异常病例进行 p57 IHC 检测。p57 是一种母源性表达的父源性印记基因。CM 是以父源二倍体 (2 组父系 DNA) 为基础的细胞遗传学异常, p57 在绒毛细胞滋养层细胞和间质细胞中缺失或低水平 (<10%) 表达。p57 染色结果不但可用于 CM 的鉴别, 而且便于解读。相比之下, 使用 Ki-67 识别 CM 需要繁琐的计数, 且结果差异较大。

PM 和 NMA 的鉴别仍然是一项挑战, 因为两者都表达 p57。在这种情况下, MG 是最理想的方法, 因为它既能识别基因组来源, 又能识别常见的非整倍体异常。短串联重复序列基因分型可以确定多态性等位基因的亲本来源, 通过检测父源二倍体、双雄三倍体和双亲二倍体来分别诊断 CM、PM 和 NMA, 从而把三者区分开来。

大多数病理实验室无法开展 MG 检测。许多研究试图用 IHC 的方法将葡萄胎诊断出来并予以分型。对 Ki-67 在妊娠病理学中的作用已经有多项研究进行了评估。有些研究表明, Ki-67 有助于鉴别葡萄胎和 NMA^[13, 34, 35], 而其他研究发现 Ki-67 增殖活性在两者之间无明显差异^[36]。例如, Kale 等^[34]用 3 种增殖标志物 (包括 Ki-67、增殖细胞核抗原 PCNA、核仁形成区银染) 和 p53 来区分 NMA、PM 和 CM。他们发现这些标志物的表达在 3 组病例之间的差异有统计学意义, 在 CM 中表达最高, 其次是 PM, 在 NMA 中表达最低。然而, 这项研究并没有提及被纳入病例的具体诊断方法。

Schammel 等^[13]研究了 60 例妊娠物的绒毛细胞滋养层细

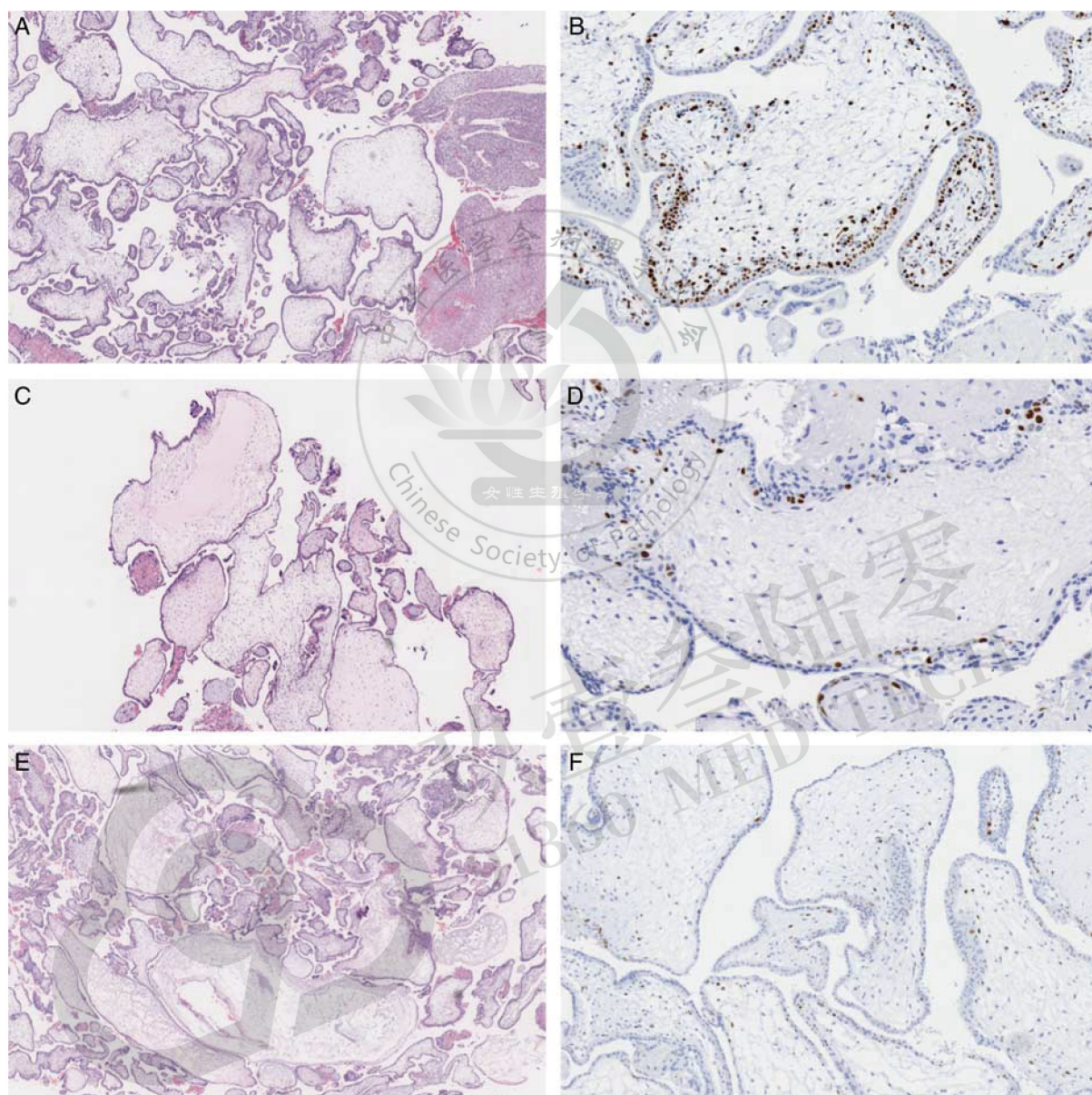


图2. Ki-67 在 3 例部分性葡萄胎 (PM) 绒毛中细胞滋养层细胞的表达。PM (A) 对应的 Ki-67 表达最高 (81.6%; B), PM (C) 对应的 Ki-67 表达最接近平均值 (28.4%; D), PM (E) 对应的 Ki-67 表达最低 (11.0%; F)。

胞 Ki-67 的增殖活性。他们得出结论, Ki-67 在葡萄胎和 NMA 之间差异存在统计学意义 ($P < 0.001$), 但是他们并没有将 PM 和 NMA 的 Ki-67 结果进行比较。

新近的一项研究表明 Ki-67 与 E-cadherin 联合应用可以区分 PM 和 NMA。PM 具有较高的 Ki-67 增殖活性和较低的 E-cadherin 膜表达, NMA 则相反^[37]。然而, 这项研究的 55 个病例, 每张切片只计数了 100 个细胞滋养层细胞的 Ki-67 阳性细胞百分率。这个研究还提出 Twist1 是另一个有助于诊断

葡萄胎的标志物, 它是一种转录因子, 在胚胎发育过程中促进上皮细胞向间充质细胞转化。Twist1 在 CM 中的表达高于 PM 和 NMA, 在 PM 中的表达又高于 NMA。尽管这些发现对诊断妊娠滋养细胞疾病很重要, 但是该研究中的病例是通过流式细胞分析技术诊断的。流式细胞分析技术不能确定纳入该研究的病例是否存在双雌三倍体, 而双雌三倍体缺乏双雄三倍体 PM 的组织学和生物学特征, 该方法也不能确定是否存在双亲二倍体病例。

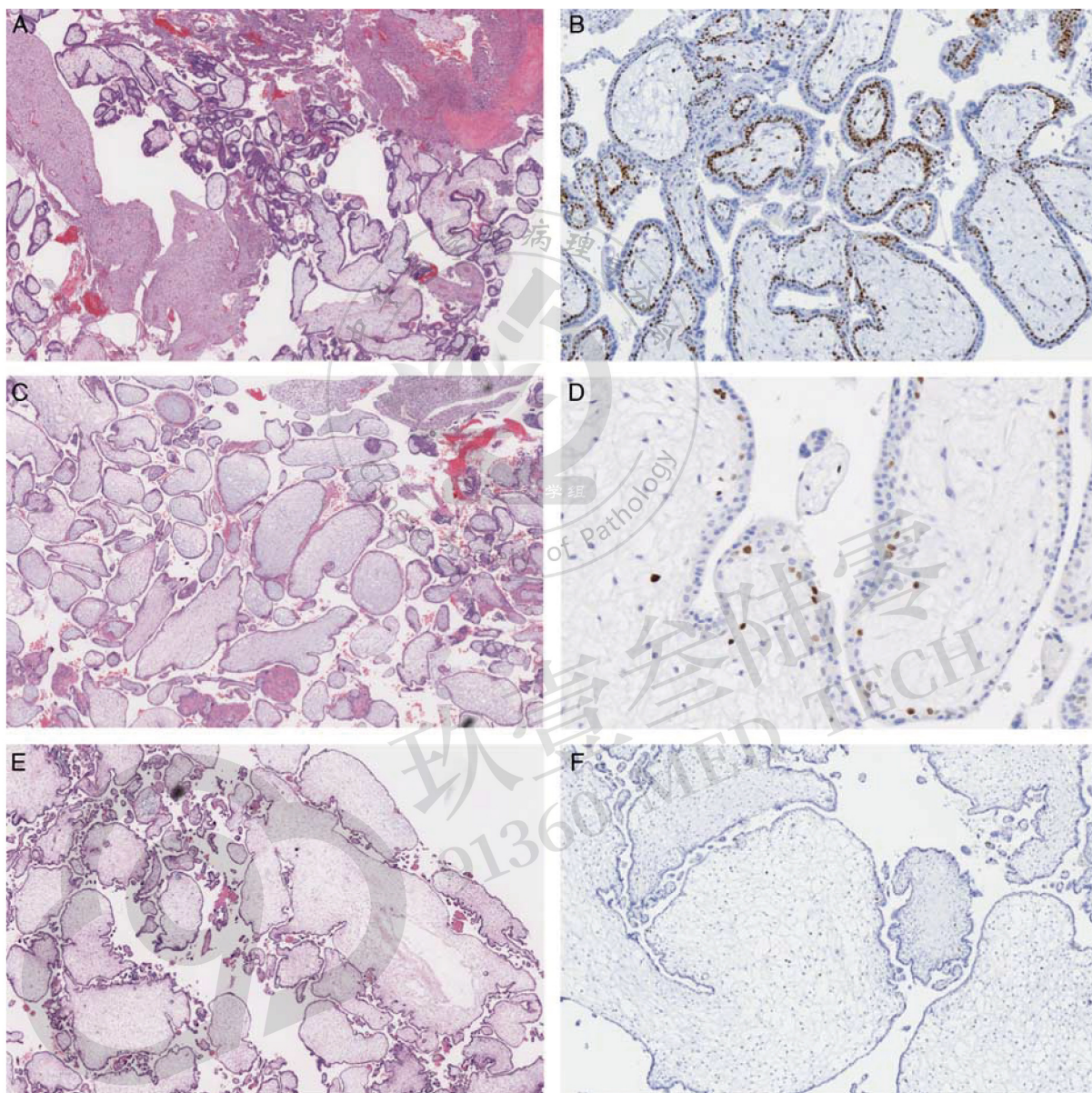


图3. Ki-67 在 3 例非葡萄胎流产 (NMA) 绒毛中细胞滋养层细胞的表达。NMA (A) 对应的 Ki-67 表达最高 (86.0%; B)。NMA (C) 对应的 Ki-67 表达最接近平均值 (16.6%; D)。NMA (E) 对应的 Ki-67 表达最低 (0.4%; F)。

鉴于 CM 绒毛中缺乏毛细血管内胎儿有核红细胞, 而转铁蛋白受体 1/CD71 能用 IHC 标记未成熟有核红细胞, 有助于 CM 诊断^[38,39]。CD71 在 NMA 和 PM 中阳性表达, 在 CM 中呈阴性。虽然 CD71 在区分 PM 和 NMA 方面作用不大, 但对于妊娠病理中常见的伴坏死组织的病例, 它是一个有用的标志物。

我们的研究清楚地表明 Ki-67 在 CM、PM 和 NMA 的诊断中缺乏实用性。本研究中的 Ki-67 阳性指数来自一位病理学家的计数, 而研究目的并不是通过多位病理学家的计数来检验

结果的可重复性。尽管不同病理学家的个人计数/评分会有所不同, 但可以推测这 3 种组织类型的评分仍然存在很大的差异。流式细胞分析和细胞遗传学的辅助检测有助于评估胎儿染色体组的倍体水平, 但是这些技术无法区分双雄三倍体和双雌三倍体, 也无法区分父源性二倍体和双亲二倍体。流式细胞分析技术的另一个局限性是很难在甲醛固定石蜡包埋组织中进行应用和验证。因此, MG 仍然是确诊的金标准, 这将有助于对患者进行持续性 GTD 的风险评估和管理^[40]。

参考文献

1. Hui P, Baergen R, Cheung A, et al. Gestational trophoblastic diseases. In: Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH, eds. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. Geneva: World Health Organ; 2014;6: 155–67.
2. Conran RM, Hitchcock CL, Popek EJ, et al. Diagnostic considerations in molar gestations. *Hum Pathol* 1993;24:41–8.
3. Funkunaga M, Katabuchi H, Naagasaka T, et al. Interobserver and intraobserver variability in the diagnosis of hydatidiform mole. *Am J Surg Pathol* 2005;29:942–7.
4. McConnell TG, Murphy KM, Hafez M, et al. Diagnosis and subclassification of hydatidiform moles using p57 immunohistochemistry and molecular genotyping: validation and prospective analysis in routine and consultation practice settings with development of an algorithmic approach. *Am J Surg Pathol* 2009;33:805–17.
5. Castrillon DH, Sun D, Weremowicz S, et al. Discrimination of complete hydatidiform mole from its mimics by immunohistochemistry of the paternally imprinted gene product p57 KIP2. *Am J Surg Pathol* 2001;25:1225–30.
6. Vang R, Gupta M, Wu LS, et al. Diagnostic reproducibility of hydatidiform moles: ancillary techniques (p57 immunohistochemistry and molecular genotyping) improve morphologic diagnosis. *Am J Surg Pathol* 2012;36:443–53.
7. Banet N, DeScipio C, Murphy KM, et al. Characteristics of hydatidiform moles: analysis of a prospective series with p57 immunohistochemistry and molecular genotyping. *Mod Pathol* 2014;27:238–54.
8. Hoffner L, Dunn J, Esposito N, et al. p57kip2 immunostaining and molecular cytogenetics: combined approach aids in diagnosis of morphologically challenging cases with molar phenotype and in detecting androgenetic cell lines in mosaic/chimeric conceptions. *Hum Pathol* 2008;39:63–72.
9. Bell KA, Van Deerlin V, Addya K, et al. Molecular genetic testing from paraffin-embedded tissue distinguishes nonmolar hydropic abortion from hydatidiform mole. *Mol Diagn* 1999;4:11–9.
10. Bifulco C, Johnson C, Hao L, et al. Genotypic analysis of hydatidiform mole: an accurate and practical method of diagnosis. *Am J Surg Pathol* 2008;32:445–51.
11. Murphy KM, McConnell TG, Hafez MJ, et al. Molecular genotyping of hydatidiform moles: analytic validation of a multiplex short tandem repeat assay. *J Mol Diagn* 2009;11:598–605.
12. Hui P. Molecular diagnosis of gestational trophoblastic disease. *Expert Rev Mol Diagn* 2010;10:1023–34.
13. Schammel DP, Bocklage T. p53, PCNA, and Ki-67 in hydropic molar and nonmolar placentas: an immunohistochemical study. *Int J Gynecol Pathol* 1996;15:158–66.
14. Miller RT. Evaluation of hydropic placentas, ProPath, Dallas, Texas. 2003. Available at: <http://pro-path.org/companies/pressclippings/26-newsletters/182-evaluation-of-hydropic-placentasmarch-2003>. Accessed June 6, 2017.
15. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000;182:311–22.
16. Tian Y, Ma Z, Chen Z, et al. Clinicopathological and prognostic value of Ki-67 expression in bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2016;11: e0158891.
17. Johannessen AL, Torp SH. The clinical value of Ki-67/MIB-1 labeling index in human astrocytomas. *Pathol Oncol Res* 2006; 12:143–7.
18. Stuart-Harris R, Caldas C, Pinder SE, et al. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. *Breast* 2008;17:323–34.
19. Viale G, Giobbie-Hurder A, Regan MM, et al. Prognostic and predictive value of centrally reviewed Ki-67 labeling index in postmenopausal women with endocrine-responsive breast cancer: results from Breast International Group Trial 1-98 comparing adjuvant tamoxifen with letrozole. *J Clin Oncol* 2008; 26:5569–75.
20. Xie Y, Chen L, Ma X, et al. Prognostic and clinicopathological role of high Ki-67 expression in patients with renal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2017; 7:44281.
21. Shiba M, Kohno H, Kakizawa K, et al. Ki-67 immunostaining and other prognostic factors including tobacco smoking in patients with resected nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2000;89:1457–65.
22. Chiriac LR. Ki-67 expression in pulmonary tumors. *Transl Lung Cancer Res* 2016;5:547–51.

23. Battista MJ, Mantai N, Sicking I, et al. Ki-67 as an independent prognostic factor in an unselected cohort of patients with ovarian cancer: results of an explorative, retrospective study. *Oncol Rep* 2014;31:2213-9.
24. Tretiakova M, Wei W, Boyer HD, et al. Prognostic value of Ki67 in localized prostate carcinoma: a multi-institutional study of >1000 prostatectomies. *Prostate Cancer and Prostatic Disease* 2016;19:264-70.
25. Dwivedi SS, Khandeparkar SG, Joshi AR, et al. Study of immunohistochemical markers (CK-19, CD-56, Ki-67, p53) in differentiating benign and malignant solitary thyroid nodules with special reference to papillary thyroid carcinomas. *J Clin Diagn Res* 2016;10:EC14-19.
26. Rindi G, Arnold R, Bosman FT, et al. Nomenclature and classification of neuroendocrine neoplasms of the digestive system. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, eds. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*. Lyon, France: IARC Press; 2010:13-4.
27. Atikankul T, Atikankul Y, Santisukwongchote S, et al. MIB-1 Index as a surrogate for Mitosis-Karyorrhexis Index in neuroblastoma. *Am J Surg Pathol* 2015;39:1054-60.
28. Broyde A, Boycov O, Strenov Y, et al. Role and prognostic significance of the Ki-67 index in non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Hematol* 2009;84:338-343.
29. Kurman RJ, Ellenson LH, Ronnett BM. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. New York, NY: Springer; 2011.
30. Olvera M, Harris S, Amezcua CA, et al. Immunohistochemical expression of cell cycle proteins E2F-1, Cdk-2, Cyclin E, p27kip1, and Ki-67 in normal placenta and gestational trophoblastic disease. *Mod Pathol* 2001;14:1036-42.
31. Kolomietz E, Maire G, Nanji S, et al. Placental molar disease: what are the benefits and barriers to the adoption of a comprehensive diagnostic service? *Int J Gynecol Pathol* 2015;34: 411-8.
32. Clinical Molecular Genetics Society (CMGS). Professional guidelines for clinical cytogenetics and clinical molecular genetics, QF-PCR for the diagnosis of aneuploidy best practice guidelines. 2012, Version 3.01. Available at: www.acgs.uk.com/quality-committee/best-practice-guidelines/. Accessed April 2, 2014.
33. Ronnett BM, DeScipio C, Murphy KM, et al. Hydatidiform moles: ancillary techniques to refine diagnosis. *Int J Gynecol Pathol* 2011;30:101-16.
34. Kale A, Söylemez F, Ensari A. Expressions of proliferation markers (Ki-67, proliferating cell nuclear antigen, and silverstaining nucleolar organizer regions) and of p53 tumor protein in gestational trophoblastic disease. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:567-74.
35. Erfanian M, Sharifi N, Omidi AA. P63 and Ki-67 expression in trophoblastic disease and spontaneous abortion. *J Res Med Sci* 2009;14:375-84.
36. Khooei A, Atabaki Pasdar F, Fazel A, et al. Ki-67 expression in hydatidiform moles and hydropic abortions. *Iran Red Crescent Med J* 2013;15:590-4.
37. Moussa RA, Eesa AN, Abdallah ZF. Diagnostic utility of Twist1, Ki-67, and E-Cadherin in diagnosing molar gestations and hydropic abortions. *Am J Clin Pathol* 2018;149:442-55.
38. Luchini C, Chilosi M, Manfrin E. The importance of immunohistochemistry in the differential diagnosis of molar disease. *Pathologica* 2016;108:151-3.
39. Luchini C, Parcesepe P, Nottegar A. CD71 in gestational pathology: a versatile immunohistochemical marker with new possible applications. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2016;24:215-20.
40. Furtado LV, Paxton CN, Jama MA. Diagnostic utility of microsatellite genotyping for molar pregnancy testing. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:55-63.

(顾伟勇 翻译 宁燕 审校)