

国际肺癌研究协会

IASLC 诊断免疫 组织化学图谱

编辑

Yasushi Yatabe, MD, PhD

Alain C. Borczuk, MD

Wendy A. Cooper, MBBS, Bsc(Med), FRCPA, PhD

Sanja Dacic, MD, PhD

Keith M. Kerr, MD, FRCPATH, FRCPE

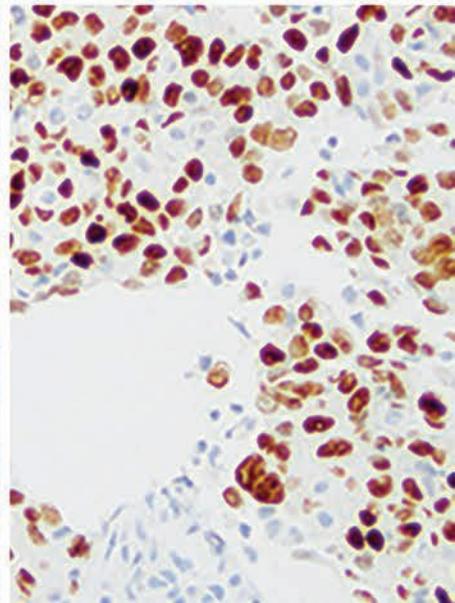
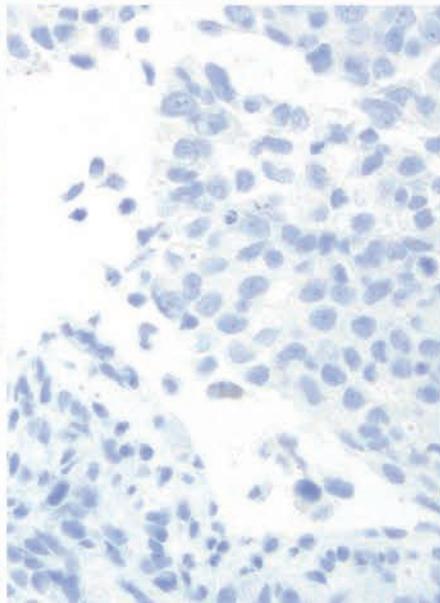
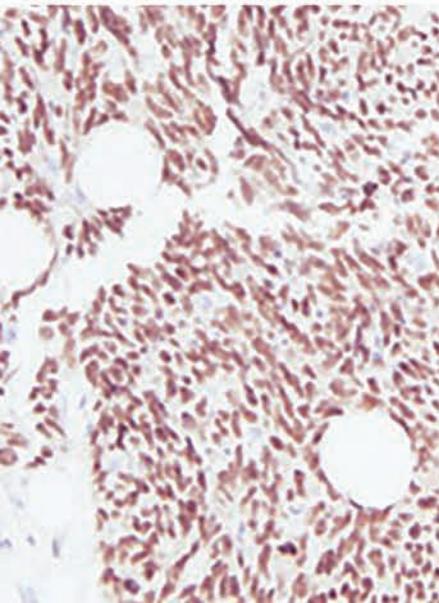
Andre L. Moreira, MD, PhD

Ming Sound Tsao, MD, FRCPC

IASLC



征服全世界的胸部癌症



IASLC



征服全世界的胸部癌症

IASLC 诊断 免疫组织化学图谱

国际肺癌研究协会，美国科罗拉多州丹佛市

编辑：

Yasushi Yatabe, MD, PhD

Alain C. Borczuk, MD

Wendy A. Cooper, MBBS, Bsc(Med), FRCPA, PhD

Sanja Dacic, MD, PhD

Keith M. Kerr, BSc, MB ChB, FRCPath, Hon FRCPEd, Hon FRCSI

Andre L. Moreira, MD, PhD

Ming Sound Tsao, MD, FRCPC

IASLC 办公室：

IASLC, 999 17th Street, Suite 200, Denver, Colorado 80202, USA

www.iaslc.org

2020 年 9 月

10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

ISBN: 978-1-940488-07-3

版权所有 © 2020 国际肺癌研究协会

保留所有权利

在不限上述版权下所保留权利的情况下，未经事先书面许可，不得复制、存储或引入检索系统，或以任何形式或任何方式传播本出版物的任何部分。

虽然本书中的信息在出版之日被认为是真实准确的，但 IASLC、编辑和出版商均不对可能出现的任何错误或遗漏承担任何法律责任。出版商对其中包含的材料不作任何明示或暗示的保证。

IASLC 诊断 免疫组织化学图谱

编辑

YASUSHI YATABE, MD, PhD

ALAIN C. BORCZUK, MD

WENDY A. COOPER, MBBS, Bsc(Med), FRCPA, PhD

SANJA DACIC, MD, PhD

KEITH M. KERR, BSc, MB ChB, FRCPath, Hon FRCPEd, Hon FRCSI

ANDRE L. MOREIRA, MD, PhD

MING SOUND TSAO, MD, FRCPC

鸣谢

国际肺癌研究协会 (IASLC) 对以下组织为《IASLC 诊断免疫组织化学图谱》提供的慷慨资助和支持表示感谢：安捷伦 (Agilent)、阿斯利康 (AstraZeneca)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、Daiichi Sankyo、Merck KGaA (位于德国达姆施塔特) 和 罗氏组织诊断 (Roche Tissue Diagnostics)。

共同编辑和贡献者还感谢 IASLC 科学事务项目经理 Jillian Daigneault 博士在协调项目方面的协助；Terese Platten 的编辑协助；Stephen Adams 的图像和合成协助；以及 Glacier Publishing Services 总裁 Jane Olivier 对本文出版的支持。

目录

贡献者.....	vi
缩略词.....	x
关键问题和简短回答摘要.....	xiv
1 简介.....	1
2 使用免疫组织化学准确诊断胸部肿瘤的临床意义.....	3
3 免疫组织化学原理.....	15
4 免疫组织化学中的技术.....	23
5 小标本的免疫组织化学.....	33
6 已切除的主要肺癌分类中的免疫标志物.....	43
7 甲状腺转录因子 1.....	53
8 肺癌中 p40 和 p63 的免疫组织化学.....	61
9 细胞角蛋白标志物.....	67
10 神经内分泌标志物.....	75
11 增殖标志物.....	85
12 细胞学中的免疫组织化学.....	91
13 肺腺癌变体的免疫标志物.....	103
14 其他罕见肿瘤的免疫标志物.....	113
15 胸肉瘤免疫标志物.....	125
16 用于区分转移性肿瘤的免疫标志物.....	143
17 间皮瘤和免疫组织化学.....	157
18 胸腺肿瘤和免疫组织化学.....	167
19 免疫组织化学在预测性生物标志物检测中的应用.....	175
20 总结观点.....	189
附录 A: 抗体列表.....	193
附录 B: 制造商.....	199

贡献者

编辑



Yasushi Yatabe, MD, PhD

主任
病理诊断科
国立癌症研究中心
日本东京



Alain C. Borczuk, MD

解剖病理学副主席
解剖病理学主任
胸腔病理学主任
病理学系
威尔康奈尔医学院 (Weill Cornell Medicine)
美国纽约州纽约市



Wendy A. Cooper, MBBS, Bsc(Med), FRCPA, PhD

副教授
组织病理学和诊断肿瘤学
新南威尔士州健康病理学
皇家阿尔弗雷德王子医院
澳大利亚新南威尔士州悉尼



Sanja Dacic, MD, PhD

教授
病理学系
匹兹堡大学医学中心
美国宾夕法尼亚州匹兹堡



Keith M. Kerr, BSc, MB ChB, FRCPath, Hon FRCPEd, Hon FRCSI
 顾问病理学家
 病理学系
 Aberdeen Royal Infirmary (阿伯丁皇家医院)
 肺部病理学教授
 阿伯丁大学医学院
 英国苏格兰阿伯丁



Andre L. Moreira, MD, PhD
 病理学教授
 生物样本研究与开发中心 (CBRD) 主任
 外科病理学和心胸病理学主任
 纽约大学朗格尼医学中心 (Langone Health)
 美国纽约州纽约市



Ming Sound Tsao, MD, FRCPC
 病理学家, 高级科学家, 教授
 M. Qasim Choksi Chair, 肺癌
 转化研究中心
 玛嘉烈公主癌症中心, 大学医疗网络
 检验医学与病理生物学系
 多伦多大学
 加拿大安大略省多伦多

作者

Mary Beth Beasley, MD

病理学教授
 西奈山伊坎医学院
 美国纽约州纽约市

Sabina Berezowska, MD

副教授
 病理研究所
 洛桑大学医院和洛桑大学
 瑞士洛桑

Lukas Bubendorf, MD

教授和细胞病理学负责人
 医学遗传与病理学研究所
 巴塞尔大学医院
 瑞士巴塞尔

周德盈, MD, PhD, MBA

教授和主席
 病理与检验医学系
 台北荣民总医院
 中国台湾台北

Jin-Haeng Chung, MD, PhD

教授
 病理学与转化医学系
 盆唐首尔大学医院
 韩国首尔

Balazs Halmos, MD

科长, 胸科/头颈肿瘤科
 主任, 临床癌症基因组学
 临床医学教授/阿尔伯特爱因斯坦医学院
 美国纽约州布朗克斯

韩昱晨

教授
 病理科
 上海市胸科医院
 中国上海

Fred Hirsch, MD, PhD

执行董事
胸部肿瘤学中心
西奈山癌症中心, 西奈山卫生系统
医学教授
伊坎医学院

Joe Lowe 和 Louis Price 医学教授

副主任
蒂施癌症研究所
美国纽约州纽约市

David M. Hwang, BSc, MD, PhD, FRCPC

检验医学和分子诊断学系主任
新宁健康科学中心
检验医学及病理学系教授
多伦多大学
加拿大安大略省多伦多

Deepali Jain, MD, FIAC

Additional Professor (替补教授)
病理科
All India Institute of Medical Sciences (全印
度医学研究所)
印度新德里

Philippe Joubert, MD, PhD

魁北克大学心脏病与肺病学研究所
拉瓦尔大学
加拿大魁北克省魁北克市

Sylvie Lantuejoul, MD, PhD

生物病理学系
研究病理学平台 CRCL
Centre de Lutte Contre le Cancer
UNICANCER Leon Berard
格勒诺布尔-阿尔卑斯大学
法国格勒诺布尔

Fernando Lopez-Rios, MD, PhD, FIAC

病理学与分子病理学教授
病理靶向治疗实验室
HM 医院
CEU 圣巴勃罗大学
西班牙马德里

Diasuke Matsubara, MD, PhD

病理学系
综合病理学部
自治医科大学
日本-木县下野市

Yuko Minami, MD, PhD

病理科主任
国立中央医院茨城国立医院
胸部疾病和严重运动和智力疾病中心
日本茨城

Mari Mino-Kenudson, MD

病理学教授
哈佛医学院
麻省总医院
美国马萨诸塞州波士顿

Andrew G. Nicholson, DM, FRCPath

顾问组织病理学家
皇家布朗普顿和哈雷菲尔德医院 NHS
基金会信托
国家心肺科呼吸病理学名誉教授
帝国理工学院
英国伦敦

Masayuki Noguchi, MD

诊断病理学教授
医学院
筑波大学
日本筑波

Mauro Papotti, MD

病理学教授
肿瘤科
都灵大学
意大利都灵

Harvey I. Pass, MD

Stephen E. Banner 胸部肿瘤学教授
普通胸外科主任
心胸外科研究副主任
纽约大学朗格尼医学中心 (Langone Health)
美国纽约州纽约市

Claudia Poleri, MD

病理学顾问办公室
阿根廷布宜诺斯艾利斯

Anja C. Roden, MD

检验医学和病理学教授
顾问
检验医学和病理学系
梅奥诊所
美国明尼苏达州罗切斯特

Prudence A. Russell, MBBS (Hons), FRCPA

副教授

圣文森特医院和墨尔本大学

澳大利亚维多利亚州墨尔本

Kurt A. Schalper, MD, PhD

病理学系

耶鲁医学院

美国康涅狄格州纽黑文

Lynette M. Sholl, MD

病理学系

布莱根妇女医院和哈佛医学院

美国马萨诸塞州波士顿

Erik Thunnissen, MD, PhD

阿姆斯特丹大学医学中心 (VUmc)

荷兰阿姆斯特丹

William Travis, MD

主治胸腔病理学家

病理学系

纪念斯隆-凯特琳癌症中心

美国纽约州纽约市

Ignacio I. Wistuba, MD

教授和主席

转化分子病理学系

德克萨斯大学 MD 安德森癌症中心

美国德克萨斯州休斯敦

Akihiko Yoshida, MD, PhD

病理诊断科

国立癌症研究中心中央病院

日本东京

缩略词

本文中使用了下列缩略词：

3-D：三维
ABC：抗生物素蛋白-生物素复合物
AC：非典型类癌
ADC：腺癌
AEC：3-氨基-9-乙基咪唑
AFP：甲胎蛋白
ALK：间变性淋巴瘤激酶
AMP：分子病理学协会
AP：酸性[或碱性]磷酸酶
AUC：曲线下面积
BALT：支气管相关淋巴组织
BAP1：BRCA1 相关蛋白 1
BET：溴结构域及超末端结构
 β -HCG： β 人绒毛膜促性腺激素
BRAF：B-raf 原癌基因
BRD：含溴结构域及超末端结构 (BET) 域的蛋白质
CA IX：碳酸酐酶IX
CAMTA1：钙调蛋白结合转录激活因子 1
CAP：美国病理学家学院
CDK4：细胞周期蛋白依赖性激酶 4
CE：符合欧洲标准
CEA：癌胚抗原
CK5/6：细胞角蛋白 5/6
CLSI：临床和实验室标准协会
CMPT：纤毛黏液结节性乳头状肿瘤
CMV：巨细胞病毒
CRC：结直肠癌
CSA：催化信号放大
CSA-II：催化信号放大
CT：计算机断层扫描
ctDNA：循环肿瘤 DNA
DAB：3,3'-二氨基联苯胺
DAPI：4',6-二脒基-2-苯基吲哚

EBUS-FNA: 内镜超声引导下经支气管细针穿刺
ECT2: 上皮细胞转化 2
EDTA: 乙二胺四乙酸
EGFR: 表皮生长因子受体
EHE: 上皮样血管内皮瘤
ELISA: 酶联免疫吸附测定
EMA: 上皮膜抗原
EQA: 外部质量评估
ER: 雌激素受体
ETV4: ETS 变异转录因子 4
EZH2: *zeste* 基因增强子同源物 2
FDA: 美国食品药品监督管理局
FFPE: 福尔马林固定石蜡包埋
FISH: 荧光原位杂交
FNA: 细针穿刺抽吸
FOB: 柔性纤维支气管镜检查
GCDFP: 囊性病变液蛋白
GFAP: 胶质纤维酸性蛋白
GI: 胃肠道
H&E: 苏木精和伊红
hASH1: 人类无刚毛鳞甲复合体同源物 1 (human achaete-scute homolog-1)
HB_s: 乙型肝炎表面抗原
HCC: 肝细胞癌
HepPar1: 肝细胞石蜡 1
HER2: 人类表皮生长因子受体 2
HIAR: 热诱导抗原修复
HiDAC: 高剂量阿糖胞苷
HMW: 高分子量
HNF4 α : 肝细胞核因子 4 α
HPV: 人乳头瘤病毒
HQ: 3-羟基-2-喹喔啉
HRP: 辣根过氧化物酶
IC: 免疫细胞
ICAPC: 免疫组织化学关键检测性能控制
IFN- γ : 干扰素 γ
IHC: 免疫组织化学
IL-8: 白细胞介素-8
IMA: 浸润性粘液腺癌
IMT: 炎性肌纤维母细胞瘤
INI1: 整合酶相互作用物 1
INSM1: 胰岛素瘤相关蛋白 1
irPRC: 免疫相关病理反应标准
ISH: 原位杂交
IVD: 体外诊断
KRAS: Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物
LAG-3: 淋巴细胞激活基因 3
LCA: 白细胞共同抗原
LCNEC: 大细胞神经内分泌癌

LDT: 实验室开发的测试
LMW: 低分子量
LSAB: 标记的链霉亲和素-生物素
MDM2: 小鼠双分钟 2 同源物/E3 泛素蛋白连接酶
MEK: 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 激酶
MET: MET 原癌基因
MIBI: 基于多离子束的电离
MiTF: 小眼炎转录因子
MPM: 恶性胸膜间皮瘤
MPNST: 恶性周围神经鞘瘤
MPR: 主要病理反应
mRNA: 信使 RNA
MSA: 肌肉特异性肌动蛋白
MSI: 微卫星不稳定性
MTAP: 甲基硫腺苷磷酸化酶
MYB: 成髓细胞原癌基因, 转录因子
NCAM1: 神经细胞粘附分子 1
NE: 神经内分泌
NEC: 神经内分泌癌
NEN: 神经内分泌肿瘤
NGS: 下一代测序
NKX3.1: NK3 同源框 1 基因
NOS: 没有特别说明
NRG1: 神经调节蛋白
NSCC: 非小细胞癌
NSCLC: 非小细胞肺癌
NSE: 神经元特异性烯醇化酶
NTRK: 神经营养性酪氨酸受体激酶基因
NUT: 睾丸核蛋白
OTP: 骨科同源异型盒蛋白
PI3KCA: 磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸3-激酶催化亚基 α 基因
PAS: 高碘酸-希夫
PBMC: 外周血单个核细胞
PCNA: 增殖细胞核抗原
PCR: 聚合酶链反应
Pd-1: 程序性细胞死亡蛋白 1
PD-L1: 程序性死亡配体 1
PEComa: 血管周围上皮样细胞肿瘤
PET: 正电子发射断层扫描
PMA: 佛波肉豆蔻酸酯醋酸酯
PR: 孕激素受体
PSA: 前列腺特异性抗原
PSAP: 前列腺特异性酸性磷酸酶
PSMA: 前列腺特异性膜抗原
RB: 视网膜母细胞瘤
RET: *ret* 原癌基因
ROC: 接收器操作特性
ROSI: C-ros 致癌基因 1

RT-PCR: 逆转录聚合酶链反应
SALL4: spalt 样转录因子 4 (或 sal 样蛋白 4)
SCC: 小细胞癌
SCLC: 小细胞肺癌
SFT: 孤立性纤维瘤
SLBx: 外科肺活检
SMA: 平滑肌肌动蛋白
SP-A、SP-B: 表面活性蛋白 A、表面活性蛋白 B
SQCC: 鳞状细胞癌
STAS: 通过肺泡腔传播
STAT6: 信号转导和转录激活因子 6
SUVmax: 最大标准化吸收值
TBBx: 经支气管活检
TBNA: 经支气管针吸活检术
TC: 典型类癌
TdT: 末端脱氧核苷酸转移酶
TFE3: 转录因子 E3
TIM-3: 含粘蛋白结构域的蛋白 3
TKI: 酪氨酸激酶抑制剂
TLE1: 转导样增强子蛋白 1
TMB: 肿瘤突变负荷
TNBC: 三阴性乳腺癌
TPS: 肿瘤比例评分
TTF1: 甲状腺转录因子 1
UIP: 普通间质性肺炎
英国 NEQAS: 英国国家外部质量评估服务机构
VEGF: 血管内皮生长因子
WHO: 世界卫生组织
WT: 野生型
WT1: 维尔姆斯瘤蛋白
ZEB1: 锌指结构 E-box 结合蛋白 1

关键问题和简短回答摘要

标题	关键问题	简短回答
第 5 章		
小型标本免疫组织化学	5.1 是否应在所有小活检中进行免疫组织化学 (IHC)?	病理学家的形态学印象应推动最初的诊断方法：如果活检显示鳞状细胞癌（即角化型）或腺癌（即腺体形成）的明确形态学分化，则鼓励病理学家做出相应的诊断，而不是强制应用确认性 IHC。
	5.2 何时应进行 IHC 以对非小细胞癌 (NSCC) 进行分类?	对于低分化癌（通常为实体生长型）应进行 IHC 检查。
	5.3 对 NSCC 进行分类的最佳首选标志物是什么?	p40 和甲状腺转录因子 1 (TTF1) 的组合对于将 NSCC 分为腺癌和鳞状细胞癌具有最佳的敏感性和特异性。
	5.4 还有哪些肿瘤标志物有助于 NSCC 的分类?	天冬氨酸蛋白酶 A 和细胞角蛋白 5/6 (CK5/6) 可能会改善某些 NSCC 的分类，未另行指定 (NOS)。对于 TTF1、p40、CK5/6 和天冬氨酸蛋白酶 A 呈阴性的低分化肿瘤，应添加泛角蛋白。
	5.5 神经内分泌 (NE) 肿瘤的最佳标志物是什么?	应添加一组 NE 标志物（嗜铬粒蛋白、突触素、CD56 和/或胰岛素瘤相关蛋白 1 (INSM1)）以确认 NE 表型。此外，增殖标志物有助于具有明显挤压伪影的小活检。
	5.6 小活检有哪些具有挑战性的诊断场景?	与小活检相关的伪影，包括细胞保存不良、挤压伪影和变形，很可能混淆良性结构的解释，因为它们掩盖了肿瘤细胞的形态特征。组织学和免疫组织化学染色的仔细关联是必要的。
	5.7 应如何处理活检标本以优化预测性生物标志物检测结果?	每个实验室都应制定详细的组织利用方案，以确定预测性标志物
第 6 章		
已切除的主要肺癌分类中的免疫标志物	6.1 日常实践中区分腺癌和鳞状细胞癌的最佳标志物组合是什么?	在日常实践中，TTF1 和 p40 足以对大多数 NSCC 进行亚型分型，而无需定义形态特征或 NE 形态。当怀疑有转移或更罕见的变异时，可以扩展该小组。
	6.2 免疫标志物在腺鳞癌诊断中的作用是什么?	当 TTF1 和 p40 的 IHC 突出显示 2 个不同的肿瘤细胞群时，它们有助于诊断腺鳞癌。
	6.3 IHC 在肉瘤样癌中的作用是什么?	细胞角蛋白的免疫反应性有助于支持多形性癌的恶性梭形或巨细胞瘤模式。罕见亚型中的 IHC 可以确认异源性成分，或在母细胞瘤中，可确定胎儿腺癌成分。
	6.4 IHC 在大细胞癌诊断中的作用是什么?	在没有 TTF1、napsin A 或 p40 染色的粘液脂红阴性未分化癌中，在考虑 SMARCA4 缺失性癌后，可以诊断为大细胞癌。

标题	关键问题	简短回答
第 7 章		
甲状腺转录因子 1	7.1 TTF1 克隆间肺腺癌染色是否有差异?	TTF1 的染色性能因克隆而异。在最常用的抗体中, 8G7G3/1 是识别肺腺癌最具特异性的抗体。
	7.2 多大程度的 TTF1 染色被认为是阳性测试结果?	TTF1 的局灶阳性被认为是一种阳性反应, 表明在适当的临床环境中的肺腺癌, 并且不同克隆的最佳临界值有所不同。
	7.3 TTF1 免疫染色分析前有什么考虑因素吗?	关于 TTF1 免疫染色有一些特定的分析前考虑因素, 主要与用酒精固定剂固定并经过某些脱钙剂的标本染色减少或缺失有关。
第 8 章		
肺癌中 p40 和 p63 的免疫组织化学	8.1 在什么情况下应该使用 p40 而不是 p63?	p40 应该用于识别形态学上未分化的鳞状细胞癌, 因为它在这种情况下表现出优于 p63 的准确性。
	8.2 在什么情况下应该使用 p63 而不是 p40?	如果在肿瘤的鉴别诊断中考虑睾丸核蛋白 (NUT) 癌, 那么 p63 可能比 p40 更有帮助。
	8.3 什么程度的 p40/p63 阳性反应应被视为阳性?	鳞状细胞癌中 p40 (和 p63) 通常呈弥漫性强阳性, 至少 50% 的细胞核表达应视为阳性结果。
第 9 章		
细胞角蛋白标志物	9.1 什么是全细胞角蛋白染色, 它们在肺癌诊断中的作用是什么?	当肿瘤形态未分化时, 全角蛋白染色可以确定癌症的诊断。
	9.2 CK5 或 CK5/6 是否是肺鳞状细胞癌的敏感和特异性标志物?	CK5/6 没有足够的敏感性和特异性, 因此不应单独用于诊断肺鳞癌。
	9.3 CK7 是否应该用于区分肺腺癌和鳞状细胞癌?	CK7 不应用于区分肺腺癌和鳞状细胞癌。
	9.4 CK7 弥漫性阳性但 TTF1 和 p40 阴性的 NSCC 是否应被视为“可能是腺癌”?	仅 CK7 不足以确定肺腺癌的诊断。
	9.5 CK7 染色有助于区分肺腺癌和间皮瘤吗?	CK7 不能区分肺腺癌和恶性间皮瘤。
	9.6 哪种细胞角蛋白抗体更适合小细胞肺癌 (SCLC) 染色?	当用于识别 SCLC 时, 优选全细胞角蛋白抗体。
	9.7 CK20 在肺癌诊断中的作用是什么?	CK20 阳性不排除肺来源的粘液腺癌。
	9.8 间皮瘤应使用哪种细胞角蛋白抗体?	全细胞角蛋白和 CK5/6 与其他间皮瘤标志物一起用于诊断间皮瘤。
	9.9 细胞角蛋白在胸腺瘤诊断中的作用是什么?	全细胞角蛋白在鉴别诊断来自其他纵隔病变的胸腺瘤方面非常有用。
第 10 章		
神经内分泌标志物	10.1 在神经内分泌肿瘤的分类中, 哪些 IHC 标志物有助于支持神经内分泌形态学?	嗜铬粒蛋白、突触素、CD56 和 INSM1 是支持 NE 形态的有用 NE 标志物。
	10.2 在神经内分泌肿瘤 (NEN) 的鉴别诊断中, 哪些非 NE 标志物可以帮助进行肿瘤分类?	泛角蛋白和低分子量角蛋白 (而非高分子重量角蛋白) 在 NEN 中应该是阳性的。

标题	关键问题	简短回答
	10.3 NE 标志物应何时应用于 NSCC?	NE 标志物应仅在存在 NE 分化的形态学特征时使用。在可能难以评估 NE 形态的小样本中, 当 2 个或更多标志物为阳性时可能会有更大的特异性。
第 11 章		
增殖标志物	11.1 什么时候应该在诊断中使用增殖标志物?	增殖标志物, 如 Ki-67, 可用于小型压碎活检或细胞学样本, 以帮助区分类癌肿瘤和高级别 NE 癌, 因为压碎且保存不良的细胞可以模拟高级别肿瘤。在原发性胸部 NE 肿瘤或任何其他胸部肿瘤的常规诊断评估中, 不需要增殖标志物。
	11.2 Ki-67 在区分典型类癌和非典型类癌中的作用是什么?	目前, Ki-67 的常规评估在区分典型和非典型类癌方面还没有确定的作用。
	11.3 活检样本的增殖指数与手术标本的一致性程度如何?	小活检和切除标本之间 Ki-67 增殖指数的一致性尚未得到很好的表征。
	11.4 Ki-67 在 NSCC 中的预后作用是什么?	评估 Ki-67 作为 NSCC 预后标志物没有确定的临床作用。
	11.5 Ki-67 免疫组化抗体重要吗?	MIB1 克隆是评估 Ki-67 最常用的抗体, 尽管比较胸部肿瘤中不同克隆的数据很少。
	11.6 如何评估 Ki-67	没有确定的标准化方法来评估胸部肿瘤中的 Ki-67。
第 12 章		
细胞学中的免疫组织化学	12.1 细胞学样本的哪一部分最适合免疫染色: 细胞块涂片、风干涂片还是乙醇固定涂片	所有细胞学制备, 包括细胞块和乙醇固定和风干的载玻片, 主要可用于免疫染色。福尔马林固定的细胞块是最直接和最常用的。免疫染色细胞学标本需要严格的方案优化、验证和质量控制, 特别是在非细胞块制备中。
	12.2 细胞学肺癌标本中预测性免疫组织化学生物标志物检测的可靠性如何?	细胞学标本可用于预测性程序性死亡配体-1 (PD-L1)、间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 和 c-ros 致癌基因 1 (ROS1) IHC, 细胞块是目前推荐的制备方式。非细胞块载玻片上这些预测性 IHC 的有限数据很有希望, 但需要进一步确认。
第 13 章		
肺腺癌变体的免疫标志物	13.1 浸润性粘液腺癌 (IMA) 的免疫特征是什么?	IMA 经常表达肠道分化标志物, 包括 CDX2 和肝细胞核因子 4 α (HNF4 α) 以及 CK7, 而 TTF1 和 napsin A 的表达有限。
	13.2 免疫染色对 IMA 的诊断有用吗?	IHC 可用于区分 IMA 与非恶性实体和非 IMA 肺腺癌, 尽管 IMA 与肺外原发肿瘤, 特别是上消化道 (GI) 原发肿瘤或胰胆管原发肿瘤的转移之间的区分可能极具挑战性。
	13.3 肺胶体腺癌的免疫特征是什么?	一组 IHC (CK7、CK20、TTF1、napsin A、CDX2 和其他肺外部位特异性标志物) 可用于区分肺胶体腺癌和肺外部位转移性粘液腺癌。
	13.4 区分肺肠型腺癌和转移性结肠腺癌的最佳 IHC 组合是什么?	一组 IHC (包括 CK7 和 SATB2) 可能有助于区分肺肠型腺癌和转移性结肠腺癌。
	13.5 低级别和高级别胎儿肺腺癌的免疫特征是什么?	低级别胎儿型腺癌的特征是 β -连环蛋白的异常核定位, 通常在特征性桑葚小体 (morule) 中, 而高级别胎儿型腺癌通常表达癌胚蛋白: 甲胎蛋白、glypican 3 和/或 sal 样蛋白 4 (SALL4)。此外, 可能需要一组 IHC (包括 TTF1 和 PAX8) 来区分肺胎儿型肺腺癌和转移性子宫内膜腺癌。

标题	关键问题	简短回答
第 14 章		
其他罕见肿瘤的免疫标志物	14.1 IHC 是否有助于诊断肺泡腺癌?	虽然主要是苏木精和伊红 (H&E) 诊断, 但 IHC 可用于突出肿瘤性肺细胞和间充质基质。
	14.2 p40 IHC 在纤毛黏液结节性乳头状肿瘤 (CMPT) 的诊断中是否有作用, 可将其与腺癌区分开来?	基底细胞标志物, 如 p40、p63 和 CK5/6, 有助于识别 CMPT 中的双上皮细胞层。
	14.3 NUT 癌的免疫特征是什么?	除了 NUT 表达外, 还经常表达角蛋白和基底细胞标志物, 但也可能发现 TTF1 和上皮膜抗原 (EMA)。
	14.4 NUT 在 NUT 癌中的表达模式是什么?	超过 50% 的肿瘤细胞中的核斑点模式是 NUT 癌的特征性和诊断性特征。NUT 免疫染色是敏感的 (87%) 和特异的 (排除精原细胞瘤后 100%)。
	14.5 免疫标志物可用于区分硬化性肺泡细胞瘤和腺癌吗?	免疫染色可能有助于诊断硬化性肺泡细胞瘤, 通过帮助识别具有不同免疫特征的 2 个细胞区室; 角蛋白和 TTF1 是这种区别的关键因素。
	14.6 免疫标志物有助于诊断肺粘液表皮样癌吗?	p63、p40 或 CK5/6 的 IHC 用途有限, 可能会突出表皮样细胞成分。
	14.7 免疫染色是否有助于肺腺样囊性癌的诊断及其与非小细胞癌和小细胞癌的区别?	与粘液表皮样癌一样, 腺样囊性癌的诊断通常基于 H&E 染色。然而, 当 CD117 可以突出导管/管腔细胞而 p63 和 S100 染色肌上皮/外周细胞时, IHC 可能有助于识别双细胞群, 尤其是在形态学上具有挑战性的样本中。
	14.8 免疫组织化学染色是否有助于诊断肺上皮-肌上皮癌?	与其他唾液腺型肿瘤一样, IHC 仅有助于在 H&E 染色切片的正确形态背景中识别定义病变的不同细胞群。
第 15 章		
胸肉瘤免疫标志物	15.1 哪些免疫标志物可用于诊断所谓的 SMARCA4 缺失性胸部恶性肿瘤?	胸部 SMARCA4 缺失性未分化恶性肿瘤显示 SMARCA4 (BRG1) 的免疫染色缺失或显著降低。
	15.2 在评估胸部肿瘤时, 何时应考虑 SMARCA4 染色?	SMARCA4 染色应在形态学未分化、相对单调、不粘或横纹肌样肿瘤中进行, 而不是更普遍地在形态学未分化癌中进行。
	15.3 哪些免疫标志物可用于证明血管内皮分化?	ERG 和 CD31 是有用的内皮标志物。其他标志物, 如 CD34 和 FLI1, 可能有用, 但不太确定。
	15.4 哪些免疫标志物可用于对恶性血管内皮瘤进行亚型分型?	钙调蛋白结合转录激活因子 1 (CAMTA1) 和转录因子 E3 (TFE3) 的 IHC 是易位的替代物, 可用于血管肿瘤亚分类。
	15.5 哪些免疫标志物可用于区分滑膜肉瘤及其模拟物?	细胞角蛋白和转导蛋白样增强蛋白 1 (TLE1) 的 IHC 相关阴性, 可有助于滑膜肉瘤的诊断。但是, 疑难病例可以通过荧光原位杂交 (FISH) 或分子检测来确认。
	15.6 哪些免疫标志物可用于评估孤立性纤维瘤 (SFT)?	信号转导和转录激活因子 6 (STAT6) 使用单克隆抗体, 是 SFT 的敏感且相对特异的标志物。
	15.7 免疫标志物是否有助于炎性肌纤维母细胞瘤的诊断?	在正确的形态学背景下, ALK 或 ROS1 的 IHC 有助于 IMT 的诊断。
	15.8 哪些免疫标志物可用于评估多形性梭形细胞肉瘤?	多种标志物可以帮助对梭形细胞肉瘤进行分类, 包括 MDM2、肌肉标志物和 H3K27me3, 但都可以在超过 1 种肿瘤类型中具有反应性。

标题	关键问题	简短回答
	15.9 哪些免疫标志物可用于评估圆形细胞肉瘤?	圆形细胞肉瘤的标志物可能有助于诊断, 但与更常见的实体如小细胞癌仍有一些重叠。流行病学考虑因素(年龄)和肿瘤位置可能会有所帮助, 必要时还可以进行 FISH 和分子检测。
	15.10 哪些免疫标志物有助于区分血管周围上皮样细胞肿瘤(PEComa)及其模拟物?	PEComa 通常细胞角蛋白呈阴性, 而 HMB45、melan A 和酪氨酸酶 A 呈阳性。
第 16 章		
用于区分转移性肿瘤的免疫标志物	16.1 IHC 对区分转移性鳞状细胞癌和原发性肺鳞状细胞癌有用吗?	没有 IHC 标志物能够可靠地帮助区分肺中转移性鳞状细胞癌和原发性鳞状细胞癌。需要临床病理相关性。
	16.2 哪些 IHC 标志物可用于区分胃肠道来源的转移性肿瘤和原发性肺肿瘤?	细胞角蛋白(CK7/CK20)、肺(TTF1/napsin A)和胃肠(CDX2)道标志物的 IHC 组合可用于确认胃肠道起源的转移。在 TTF1/napsin A 阴性肿瘤中, CDX2 阳性表明胃肠道转移。在 TTF1/napsin A/CDX2 阴性肿瘤中, CK7/CK20 谱可能有帮助, 但通常需要临床和放射学相关性来确认起源。
	16.3 哪些 IHC 标志物可用于区分乳腺来源的转移性癌和原发性肺癌?	对于任何有乳腺癌病史的患者, 建议尽可能与原发乳腺癌的组织学特征进行比较。在大多数情况下, 包括 TTF1 和/或 napsin A 和雌激素受体/孕激素受体(ER/PR)或 GATA3 在内的肺和乳腺标志物的组合可以提供明确的答案。当临床相关时, GATA3 应与乳珠蛋白结合以排除乳房外恶性肿瘤, 如膀胱癌。在三阴性乳腺癌(TNBC)中, 推荐结合肺标志物与 GATA3 和 SOX10 来区分转移性乳腺癌和原发性肺癌。
	16.4 哪些 IHC 标志物可用于区分女性生殖道起源的转移性癌和原发性肺癌?	当肺肿瘤的鉴别诊断包括转移性女性生殖道癌时, 应与原发性肺癌一样谨慎使用 TTF1, 这些肿瘤也可能表达 TTF1。PAX8 染色有助于识别女性生殖道起源的转移性肿瘤。
	16.5 哪些 IHC 标志物可用于区分尿路上皮来源的转移性癌和原发性肺癌?	CK7、CK20 和 GATA3 的组合在区分转移性尿路上皮癌和肺鳞状细胞癌中最有用。
	16.6 哪些 IHC 标志物可用于区分肾源性转移癌和原发性肺癌?	PAX8 和 TTF1 可用于区分转移性肾细胞癌(PAX8+/TTF1-)和原发性肺癌(PAX8-/TTF1±)。Napsin A 在这种情况下没有用, 因为它在不同比例的肾细胞癌中表达。
	16.7 哪些 IHC 标志物可用于区分前列腺来源的转移性癌和原发性肺癌?	阴性 CK7、CK20 和 TTF1 与前列腺标志物(如 NK3 同源框 1 [NKX3.1])的阳性染色相结合, 可用于识别转移性前列腺癌。
	16.8 哪些 IHC 标志物可用于区分肝源性转移癌和原发性肺癌?	肝细胞标志物(例如精氨酸酶 1 和肝细胞石蜡 1 [HepPar1])与阴性 CK7 和肺标志物的组合可用于识别转移性肝细胞癌。
	16.9 哪些 IHC 标志物可用于区分甲状腺源性转移癌和原发性肺癌?	PAX8 和 TTF1 阳性以及不存在 napsin A 的组合可用于识别转移性甲状腺癌。
第 17 章		
间皮瘤和免疫组织化学	17.1 区分上皮样恶性胸膜间皮瘤(MPM)与癌的最佳标志物是什么?	钙视网膜蛋白和维尔姆斯瘤蛋白(WT1)是诊断上皮样 MPM 的最佳阳性间皮标志物。Claudin 4、MOC31、单克隆 CEA、B72.3 和 Ber-EP4 与位点特异性标志物相结合, 最能区分癌与上皮样 MPM。

标题	关键问题	简短回答
	17.2 区分肉瘤样 MPM 和肉瘤样癌的最佳标志物是什么？	肉瘤样 MPM 可通过阳性细胞角蛋白和间皮标志物诊断，最常见的是 D2-40 和钙视网膜蛋白，而癌标志物为阴性。如果细胞角蛋白为阴性，鉴别诊断应包括肉瘤，并应考虑扩大特定基因融合/重排的检查。
	17.3 细胞角蛋白在 MPM 诊断中的作用是什么？	细胞角蛋白染色有助于突出全层胸膜细胞结构、缺乏分区以及存在间皮细胞侵入胸壁脂肪组织。
	17.4 哪些免疫组织化学标志物可用于区分良性和恶性间皮增生？	BRCA1 相关蛋白 1 (BAP1) IHC 和甲基硫腺苷磷酸化酶 (MTAP) (作为 <i>CDKN2A</i> 纯合缺失的替代物) 有助于区分手术和液体标本中的良恶性间皮增生。
第 18 章		
胸腺肿瘤和免疫组织化学	18.1 诊断胸腺瘤的最佳标志物是什么？	角蛋白和末端脱氧核苷酸转移酶 (TdT) 的组合是诊断胸腺瘤的最佳组合。CD1a 或 CD99 也可用于标记胸腺未成熟淋巴细胞。
	18.2 还有哪些标志物可以用来突出胸腺上皮细胞？	多克隆 PAX8 和 p40/p63 可以添加到角蛋白和 TdT 小组中，用于表征胸腺瘤。
	18.3 IHC 如何帮助胸腺瘤的分类？	角蛋白染色可以揭示上皮细胞的模式，这有助于区分 B1 和 B2 胸腺瘤。
	18.4 如何区分胸腺瘤和胸腺癌？	在小活检标本中鉴别诊断世界卫生组织 (WHO) B3 型胸腺瘤和胸腺癌具有挑战性。TdT 阳性淋巴细胞的存在有利于胸腺瘤的诊断。CD5 和/或 CD117 阳性表达有助于胸腺癌的诊断以及与肺鳞状细胞癌的鉴别诊断。
	18.5 哪些染色可用于诊断生殖细胞瘤？	SALL4 是一种泛生殖细胞瘤标志物，应包含在一个小组中以处理这些肿瘤。一旦阳性 SALL4 提示生殖细胞瘤，OCT3/4、KIT (CD117)、CD30 和 glypican 3 可用作精原细胞瘤和非精原细胞瘤的分类器。组织学检查后应包括其他标志物并相应添加。
第 19 章		
免疫组织化学在预测性生物标志物检测中的应用	19.1 IHC 在检测表皮生长因子受体 (EGFR) 改变方面是否有作用？	EGFR WT IHC 目前没有常规推荐的临床用途。在特定情况下偶尔会使用 IHC 来检测有限范围的突变 EGFR 蛋白。
	19.2 IHC 在检测带有 ALK 基因重排的肿瘤中的作用是什么？	ALK IHC 在晚期非小细胞肺癌 (NSCLC) 患者的 ALK 预测性生物标志物检测中具有关键作用。
	19.3 IHC 在检测带有 ROS1 基因重排的肿瘤中的作用是什么？	ROS1 IHC 是一种成熟的技术，用于富集晚期 NSCLC 患者群体，以通过替代分子方法确认 ROS1 基因重排。
	19.4 IHC 在识别具有神经营养性酪氨酸受体激酶 (NTRK1-3) 基因重排的肿瘤中是否起作用？	辅助检测 <i>NTRK1-3</i> 基因重排的 IHC 测试是一项新兴技术，但没有确定的作用。
	19.5 IHC 检测在任何其他可靶向基因组改变的预测性生物标志物检测中是否有任何作用？	IHC 测试在识别具有其他可靶向改变的患者方面没有既定的作用。
	19.6 PD-L1 IHC 在选择 NSCC 患者进行免疫治疗方面的作用是什么？	尽管正在积极寻找用于 NSCC 免疫疗法的替代生物标志物，但 PD-L1 IHC 似乎很有可能继续作为 NSCC 临床样本与抗程序性细胞死亡蛋白 1 (PD1) 和 PD-L1 免疫疗法。然而，关于不同的检测方法、样本类型、肿瘤与免疫细胞中的表达以及 IHC 数据应如何用于临床决策等问题仍然存在。
	19.7 IHC 能否用于评估肿瘤微环境以选择患者进行免疫治疗？	未来如何评估和使用肿瘤微环境因素仍有待确定。这必须基于可靠的证据和临床试验。

简介

1

Yasushi Yatabe, Keith M. Kerr, Alain C. Borczuk, Wendy A. Cooper
Sanja Dacic, Andre L. Moreira 和 Ming Sound Tsao

免疫组织化学 (IHC) 是病理诊断的基石，是迄今为止应用最广泛的辅助技术，用于疾病的识别和分类。在过去的 30 年里，病理学家利用这项强大的技术改变了我们在病理医学领域，特别是在肿瘤病理学领域的诊断方式。虽然组织化学技术和电子显微镜仍然占有一席之地，但 IHC 是解决问题的首选技术。

免疫组织化学标志物现在是肺癌和其他胸部恶性肿瘤提供更准确诊断的关键。许多问题在癌症诊断的许多领域都很常见，例如使用角蛋白和其他上皮标志物来识别和诊断癌，使用淋巴标志物来识别淋巴增生性疾病并进行分类，以及在诊断转移到肺部的肿瘤时使用器官特异性标志物，在形态不足的情况下，免疫表型对确保正确诊断至关重要。神经内分泌标志物对于诊断肺部神经内分泌肿瘤非常重要，例如，区分小细胞肺癌 (SCLC) 与非小细胞家族的肿瘤的病例 (见下面的讨论)，因为它们的治疗方法有很大的不同。诊断大细胞神经内分泌癌也需要神经内分泌标志物，以确认具有适当形态的肿瘤的神经内分泌分化。IHC 是诊断恶性间皮瘤的基础部分，甚至可以在非常小的样本中进行准确的诊断，并在这一诊断具有特殊法医学意义的领域提供更大的诊断安全性。要想更好地了解胸腺瘤的形态分类，必须先了解某些细胞角蛋白的表达，还有与胸腺 T 细胞有关的抗原，IHC 也可以在这种情况下对小的诊断样本作出更安全的诊断。

然而，肺癌个性化医疗的发展和不同抗癌疗法 (根据患者肿瘤的特定病理特征开具处方) 的出现，使 IHC 具有非常特殊和额外的作用，超越了将 IHC 作为诊断辅助工具的传统观点。

如前所述，与晚期非小细胞肺癌 (NSCLC) 的替代方案不同，IHC 在分离小细胞肺癌 (SCLC) 时是有用的，晚期小细胞肺癌是用铂/依托泊苷药物组合进行治疗的。铂/培美曲塞联合疗法被批准用于晚期非鳞状细胞肺癌患者，使 IHC 在决定晚期非小细胞肺癌患者的治疗选择方面发挥了关键作用。在大多数晚期患者的小活检和细胞学类型样本中，有 25% 到 40% 的 NSCLC 病例无法准确分型，仅在形态学上被标记为

NSCLC-未另行指定(NOS)。在根据 NSCLC 亚型引入不同的化疗方案之前,这种情况不会阻碍治疗, NSCLC-NOS 的诊断在临床上是可以接受的。当治疗选择建立在特定诊断的基础上时, IHC 成为完善 NSCLC-NOS 诊断的关键工具, 通过明智地使用甲状腺转录因子 1 (TTF1) 来预测腺癌组织学以及使用 p63 或 p40 来预测鳞状组织学, 从而将 NSCLC-NOS 的患病率降低到 10% 以下。这一原则现已纳入世界卫生组织 (WHO) 对肺部肿瘤的分类中。

在 2015 年发布的世卫组织分类中, IHC 也被赋予了更基本的作用。在手术切除的肿瘤中, 这些相同的标志物 (p40 和 TTF1) 的存在在定义鳞状细胞和腺癌时被赋予了与经典形态学特征相同的地位。因此, 根据 p40 或 TTF1 IHC 染色阳性, 可能有三分之二的病例 (以前被称为大细胞癌) 通过 IHC 被重新诊断为鳞状细胞癌或腺癌。

最后, 虽然不是这本图谱的重点, 但 IHC 在确定治疗预测生物标志物方面发挥了关键作用, 根据这些标志物, 患者可以接受治疗范围不断扩大的靶向治疗, 主要针对成癌致癌驱动因子和对特定肿瘤生长至关重要的其他分子因素。考虑到这些靶点在腺癌中发生的倾向, NSCLC 的初始亚型诊断对于确保分子检测病例的准确分型也是至关重要的。肺癌免疫治疗的发展使 IHC 在确定适合患者治疗方法方面发挥了更重要的作用。

很明显, 为了给胸部恶性肿瘤患者提供最好和最准确的诊断, 病理学家必须了解 IHC 的原理, 如何使用, 何时使用, 以及如何恰当地解释所执行的分析结果。在本图谱中, 国际肺癌研究协会病理学委员会的成员以发表在 *Journal of Thoracic Oncology* (《胸部肿瘤学杂志》) (Yatabe 等, 2019) 上的一篇综述文章为基础, 对与胸部肿瘤诊断相关的 IHC 的许多方面进行了简明而全面的综述。我们非常希望读者能发现本图谱是帮助他们工作的有用工具。

参考文献

Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practice recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.

使用免疫组织化学准确诊断胸部肿瘤的 临床意义

2

Harvey I. Pass 和 Balazs Halmos

免疫组织化学在肺部结节和肺癌分期诊断检查中的价值

不确定性肺部结节的肺癌诊断

并不是每个患者都需要恶性肿瘤的组织学验证，外科医生才会认为这个结节是可以手术的。术前活检很少用于具有正在发育或生长的实性成分的高危个体的部分实性结节，特别是在有其他恶性特征提示的情况下，即正电子发射断层扫描/计算机断层扫描 (PET/CT) 的最大标准化摄取值 (SUVmax)。然而，在一些病例中，组织学的绝对确认是有用的，特别是在排除良性过程的情况下，或者对于有胸外恶性肿瘤病史的患者，建议在切除前记录转移情况。其中，细针抽吸或组织芯活检和特异性肺癌免疫组织化学 (IHC) 检测组合的补充对于确定适当的治疗或许很有价值。IHC 补充对于确定活检中是否存在异常情况也至关重要，包括肿瘤是否是伪装成肺癌的良性结节，或者将小细胞肺癌与神经内分泌谱中的其他实体区分开来。区分空洞性病变（可能是真菌或霉菌引起的）和空洞性癌，是组织学和特殊染色（包括 IHC）可以极大地改变处方疗法的另一个例子。

肺癌诊断

IHC 在某些情况下对肺癌的诊断和明确分类至关重要。外科医生的职责是为正确的诊断进行手术，并向患者保证进行了完整的切除手术。如果外科医生对恶性肿瘤有明确的术前诊断，并且恶性肿瘤的类型以及与异常病理相关的任何相关分期细节得到了正确诊断，则明显可以避免治疗中的错误。外科医生要处理针对胸部各种情况

的经皮穿刺和细针抽吸检查，包括肺癌、伪装成肺癌的良性结节以及纵隔和胸膜肿瘤。为了指导外科医生的决定，活检特异性不仅取决于病理学家正在处理的标本的大小和苏木精-伊红染色的模式识别，还取决于区分良性疾病与恶性疾病和恶性肿瘤类型的特定 IHC 检测组合。

淋巴结状态与 IHC

在疑似或确诊了肺癌的患者中，根据大小或 PET 敏感性对可疑腺病进行免疫组织化学检查可能具有显著的适用性。根据使用细胞角蛋白鸡尾酒或其他肺癌 IHC 标志物检测到的微转移情况，外科医生可以确定让患者接受诱导方案还是先进行手术。此外，在有慢性淋巴细胞性白血病/小淋巴细胞性淋巴瘤或其他惰性淋巴瘤病史的患者中，确认可疑淋巴结肿大与淋巴瘤而非肺癌有关可能需要流式细胞术和淋巴瘤 IHC 检测组合。

判断错误和伪装身份

已发表的胸部肿瘤学文献中有很多“差点弄错”或切除后才被确定为“意外”的手术案例。已有多份报告指出，IHC 可将感染，例如克雷伯氏菌病 (McCartney 等, 2014 年)、放线菌病 (Papakonstantinou 等, 2019 年) 和巨细胞病毒 (CMV) (Allen 等, 2005 年) 与肿瘤区分开来。一直以来，人们容易将脱屑性间质性肺炎与肺腺癌相混淆，后者有盘状区，空隙中有大量细胞 (Raparia 等, 2014 年; Mutton 等, 1998 年)。IHC 和细胞角蛋白染色在区分这类病例的诊断方面是非常有价值的。

间皮瘤

对疑似胸膜疾病患者的鉴别诊断需要使用多抗体检测组合，以决定是否适合进行手术。使用 BRCA1 相关蛋白 1 (BAP1) 染色缺失，以及钙网膜蛋白和维尔姆斯瘤蛋白 (WT1) 等抗体染色的存在，再加上腺癌和鳞状标志物缺乏染色，对专门治疗间皮瘤的胸外科医生有帮助 (见第 17 章)。有恶性肿瘤史的胸腔积液患者也可能被误认为患有间皮瘤，原发肿瘤的 IHC 与胸膜疾病的 IHC 相匹配，可以排除细胞减灭术。虽然围绕手术治疗间皮瘤的使用存在争议，但做出正确的 IHC 诊断是最重要的。将间皮瘤与其他胸腔恶性肿瘤区分开来，可以对这种疾病进行专门的治疗，也可以使患者了解疾病的病因，这具有潜在的法律和经济意义。认识到更具侵袭性的肉瘤样组织学也可以使临床团队避免采取治疗干预，例如广泛的手术，这些干预在这一亚组中的益处有限，可能只会使患者面临过度治疗的病态情况。

神经内分泌癌

推动临床决策的一个非常重要的病理区别是神经内分泌癌的亚型（见第 10 章）。通过正确的 IHC 测试来评估神经内分泌 (NE) 分化和 Ki-67 染色可能有助于正确的分类，从而优化治疗方案。典型（低级 NE 肿瘤）和非典型（中级）癌一般按照为低级胃肠道 (GI) NE 肿瘤制定的指南进行治疗，包括生长抑素类似物、mTOR 抑制剂（依维莫司）（Yao 等，2011 年）、血管内皮生长因子 (VEGF) 靶向药物（舒尼替尼）（Raymond 等，2011 年），以及最近的肽受体放射性核素疗法（Strosberg 等，2017 年）。对于更具侵袭性的、高级别 NE 恶性肿瘤，如大细胞 NE 癌和小细胞癌，传统的治疗方法是联合化疗和最近的整合治疗，并显示出检查点抑制剂治疗的有效性。这些联合疗法促使阿特珠单抗联合卡铂/依托泊苷化疗和帕博利珠单抗获批用于治疗广泛期小细胞肺癌（Horn 等，2018 年；Chung 等，2020 年）。

其他胸部恶性肿瘤

对胸腺恶性肿瘤（包括浸润性胸腺瘤、胸腺癌和类癌）进行正确的亚型分型，可以选择最佳治疗方法、预后和进一步参与实验研究。世界卫生组织 (WHO) 最近的分类承认了 IHC 研究在正确的亚型分配中的重要作用（Marx 等，2014 年；见第 18 章）。胸腺恶性肿瘤治疗的一个独特方面是副肿瘤综合征，最近的研究表明，在这类肿瘤中，使用检查点抑制剂治疗的潜在严重免疫不良事件的发生频率很高（Lippner 等，2019 年）。考虑到潜在的靶向分子改变，其他具有潜在治疗相关性的新出现的亚群是睾丸核蛋白 (NUT) 癌（Stathis 等，2016 年；见第 14 章）和 *SMARCA4* 缺失性胸腔内恶性肿瘤（Le Loarer 等，2015 年；见第 15 章）。尽管被列为非小细胞肺癌，但识别肺肉瘤样癌还是很重要的，因为它具有侵袭性，而且携带 *MET* 14 外显子改变的频率很高（Liu 等，2016 年），以及对 *Met* 靶向和免疫治疗都有反应（Schrock 等，2017 年）。

转移性疾病

肺部病变或肺门/纵隔/锁骨淋巴结肿大的鉴别诊断的一个关键区别是其他器官的转移性疾病（见第 16 章）。临床医生和病理学家之间的仔细沟通对于确保向病理学家转达病例的关键历史、临床和放射要素，从而指导其诊断检查至关重要。尽管对转移性恶性肿瘤进行正确诊断至关重要，但在已知的肺部恶性肿瘤病例中，浪费组织进行一系列多余的 IHC 研究，其中进行活检是为了让生物标志物研究能够指导治疗，这样可能会产生严重的负面后果。最近的研究表明，除了 IHC 研究之外，扩大分子检测可能有助于识别原发部位/肿瘤的同步性（Chang 等，2019 年）。

关于使用 IHC 选择治疗方案的特殊注意事项

辅助治疗选择的预后标志物

目前 WHO 对腺癌的组织学分类定义了与复发和死亡几率增加相关的亚型 (Warth 等, 2012 年; Tsao 等, 2015 年)。然而, 并不是所有的微乳头状/实体疾病的患者都会出现早期复发现象, 必须研究其他更准确的预测方法。某些微观形态学问题, 如淋巴血管侵犯、内脏胸膜侵犯、通过肺泡腔 (STAS) 扩散, 以及高级别的核特征也与更具侵袭性的表型相关; 然而, 这些特征不能成功预测复发情况, 这是它们不被视为辅助治疗的绝对适应症的一个原因。匹配的特征 (始终与复发和/或死亡有关) 与增加潜在有益疗法的合理需要之间的这种相互关系也受到过度治疗患者和引起毒性并发症的可能性的影响。25 年前, 人们就希望单抗体或多抗体 IHC 预测能够提高复发预测的准确性, 当时对 271 例早期肺癌患者的 *erbB-2* (人表皮生长因子受体 2 [HER2]/*neu*)、*p53* 和 *Ki-67* 的癌蛋白进行染色 (Harpole 等, 1995 年)。自此, 已经有数百篇关于基于 IHC 预后标志物的报告发表, 但对实践并没有产生明确的影响 (Zhu 等, 2006 年; Woodard 等, 2016 年; Seymour 等, 2019 年)。这在很大程度上可以归因于所使用的 IHC 方法缺乏标准化, 包括所用抗体的来源和质量、染色方案、评分算法和“截断值”, 以及分析数据的统计方法。结果不一致也可能是由一些研究中的样本量小造成的, 因为其中包括的案例不太具有代表性。制度和出版偏见也可能起到重要作用 (Zhu 和 Tsao, 2014 年)。这些研究大多缺乏验证集, 并且未能通过多变量分析来证明单组 IHC 测试是事件的独立预测因子。

预测 IHC 生物标志物

Hung 和 Sholl (2018 年) 的一项综述详细说明了哪些靶向融合和突变伴随着特定的 IHC 抗体。间变性淋巴瘤激酶 (*ALK*) 重排可以用克隆 D5F3 (Roche Tissue Diagnostics) 和 5A4 (Leica) 进行检测, 其敏感性和特异性大于 95%, 可以作为独立的检测方法用于选择基于 *ALK* 疗法的患者 (Lindeman 等, 2018 年; Tsao 等, 2016 年)。*c-ros* 癌基因 1 (*ROS1*) 重排与 *ALK* 一样, 最常见的是可以通过荧光原位杂交 (FISH) 进行诊断; Hung 和 Sholl (2018 年) 强调, 尽管克隆 D4D6 (Cell Signaling Technology, Inc.) 的敏感性可以达到 95%, 但不同研究中的特异性有所不同。因此, *ROS1* IHC 应该得到其他平台对阳性结果的确认 (Lindeman 等, 2018 年); 然而, *ROS1* IHC 阴性结果可以被认为是可靠的, 可以排除 *ROS1* 易位。对于 L858R 和 19 号外显子 E746-A750 缺失的表皮生长因子受体 (EGFR) 突变特异性抗体, 其临床表现各不相同, 总敏感性为 59%, 特异性为 98% (Ragazzi 等, 2016 年)。假阳性的 IHC 结果已经被记录下来 (Kitamura 等, 2010 年), *EGFR* 突变特异性 IHC 结果阴性的肿瘤应使用分子方法重新检测 *EGFR* 突变。因此, *EGFR* 突变特异性抗体不应用作治疗的独立测试 (Lindeman 等, 2018 年)。更多详情将在第 19 章进行讨论。

鳞状细胞肺癌

鳞状细胞癌依然能在非小细胞肺癌中占据相当大的比例，并且与吸烟史高度相关，通常表现出中级/高级的肿瘤突变负担以及可明显通过检查点抑制剂治疗受益。出于几个方面的考虑，病理区分仍然非常重要。首先，针对抗 VEGF 单克隆抗体贝伐珠单抗在晚期非小细胞肺癌患者中的初步研究强调了实质性的毒性，即咯血风险较高，有致死风险，尤其在鳞状细胞肿瘤患者中较常见（Johnson 等，2004 年；表 2-1）。这种高风险是否与生物学或解剖学特征有关（通常有空洞的中心型大肿块风险最高，这在鳞状组织学中更为常见）目前尚不清楚；然而，由于贝伐珠单抗的批准仍仅限于非鳞状肿瘤，毒性问题确实让人担忧，如果考虑使用贝伐珠单抗，则组织学确认十分重要。第二，鳞状细胞肺癌的分子遗传学与腺癌有很大的不同，一般情况下，确定腺癌的常见可操作发现的可能性很低。因此，一般来说，不推荐对鳞状细胞癌进行前期分子检测。这里的关键注意事项是，罕见的非吸烟者鳞状细胞肺癌亚群需要进行腺癌类型的检测，因为合格率和可操作性都很高（Sholl, 2017 年）。此外，如果很有可能通过混合型组织学从非常小的样本中鉴定出鳞状组织学，那么进行分子检测时要谨慎，尽管由于样本类型的巨大异质性，很难为这一子集制定明确的指导方针。鳞状细胞癌的 EGFR 受体表达几乎一致呈强阳性，事实上，SQUIRE（质量改进报告卓越标准）研究表明，抗 EGFR 单克隆抗体耐昔妥珠单抗联合铂类

表 2-1. 根据基因改变的潜在治疗方法

诊断（测试）	可能需要的治疗	可能排除的治疗
鳞状 NSCLC	耐昔妥珠单抗（抗 EGFR mAb）	贝伐珠单抗（抗 VEGF mAb）
非鳞状 NSCLC	培美曲塞、贝伐珠单抗	
EGFR 突变	EGFR TKIs	免疫治疗
ALK 易位	ALK TKIs	免疫治疗
ROS1 易位	ROS1 TKIs	
BRAF V600E	BRAF/MEK 联合疗法	
NTRK1/2/3 易位	TRK 抑制剂疗法	
MET 14 外显子跳跃改变	MET TKIs	
RET 易位	RET TKIs	
ERBB2/HER2 突变	实验期 ERBB2 抑制剂	
PD-L1 阳性	单药免疫疗法	
NUT 癌	实验期 BET/HiDAC 抑制剂	
SMARCA4-缺失性胸肉瘤	实验期 EZH2 抑制剂	

缩略词：ALK = 间变性淋巴瘤激酶；BET = 溴结构域和末端外结构域；BRAF = B-raf 原癌基因；EGFR = 表皮生长因子受体；EZH2 = zeste 基因增强子同源物 2；HER2 = 人类表皮生长因子受体 2；HiDAC = 大剂量阿糖胞苷；MEK = 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 激酶；MET = MET 原癌基因；NSCLC = 非小细胞肺癌；NTRK = 神经营养性酪氨酸受体激酶；NUT = 睾丸核蛋白；PD-L1 = 程序性死亡配体-1；RET = ret 原癌基因；ROS1 = c-ros 致癌基因 1；TKI = 酪氨酸激酶抑制剂；VEGF = 血管内皮生长因子。

的双重化疗对于晚期鳞状非小细胞肺癌 (NSCLC) 具有明显的统计学优势, 这一疗法已获得美国食品和药物管理局 (FDA) 的批准; 但由于临床疗效有限和成本较高, 一般不采用这种治疗方法 (Thatcher 等, 2015 年)。例如, 最近的基因组学和蛋白质组学研究突出了鳞状细胞肿瘤中关键的分子定义的肿瘤亚群, 其特征是具有潜在治疗意义的氧化途径的改变 (Stewart 等, 2019 年)。

非鳞状非小细胞肺癌

从治疗的角度来看, 随着抗多靶点抗叶酸培美曲塞的引入, 对“非鳞状”非小细胞肺癌 (主要由大多数腺癌组成, 大细胞癌的比例随着时间的推移而缩小) 的正确分类变得越来越重要。一系列的研究证明, 培美曲塞在晚期 NSCLC 患者的二线和一线治疗中都有很好的活性和耐受性, 有些研究的子集分析表明, 鳞状细胞癌患者的活性存在组织学差异, 活性较差 (Scagliotti 等, 2008 年)。相反, 在晚期非鳞状肿瘤患者中, 铂/培美曲塞联合化疗已成为全球最常用的一线化疗方案, 也被广泛用于辅助治疗 (Scagliotti 等, 2011 年)。最终基于前面的研究, 这种广泛使用和备受青睐的化疗药物被批准仅用于非鳞状肿瘤; 因此, 对于临床医生和患者来说, 尽可能地由病理学家做出这种区分仍然很重要, 尽管不可否认的是, 这种构造是人为的, 并且仍存在争议。免疫疗法的引入并没有降低这一区别的重要性, 因为基于高度阳性的 KEYNOTE-189 研究, 非鳞状非小细胞肺癌最常用的化疗/免疫疗法组合仍然以培美曲塞为基础 (Gandhi 等, 2018 年)。维持性培美曲塞治疗通常仅用于晚期非鳞状非小细胞肺癌患者, 而鳞状细胞肿瘤不推荐使用维持性化疗 (Ciuleanu 等, 2009 年)。此外, 鉴于腺癌和大细胞癌中可操作的分子改变的频率要高得多, 需要进行正确的组织学分类和区分 (Chan 等, 2019 年)。

分子检测与组织管理

自从发现激活 *EGFR* 基因突变可以确定对 *EGFR* 酪氨酸激酶抑制剂具有极高敏感性的分子定义的肿瘤亚群 (Lynch 等, 2004 年) 以来, 已经有大量的知识表明, 为了对晚期非小细胞肺癌进行最佳的前期治疗, 需要完成广泛的分子基因分型。这至少包括 *EGFR/ALK/ROS/B-RAF* 原癌基因 (*BRAF*) 检测, 其中有高质量的证据表明可以在前期使用高效的分子靶向疗法 (Lindeman 等, 2018 年; Halmos, 2018 年)。最近令人振奋的数据显示, 神经营养性酪氨酸受体激酶 (*NTRK*) 抑制剂对 *NTRK1/2/3* 融合阳性癌症具有极好的活性, 以及 FDA 随后批准将其用于治疗此癌症, 对这种可操作但罕见的改变进行测试也变得非常重要 (Drilon 等, 2018a)。关于 *MET* 14 外显子跳跃改变 (Drilon 等, 2020 年) 和 *RET* 易位 (Subbiah 等, 2018 年) 的可操作性的新数

据完善了目前的目标群体。最后，HER2 改变 (Pillai 等, 2017 年)、Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物 (KRAS) G12C 突变 (Lanman 等, 2020 年) 以及神经调节蛋白 (NRG1) 融合 (Drilon 等, 2018b) 现在是当前研究的重点, 有希望的数据表明, 检测这些基因至少可以让患者参与正在进行的临床试验。总而言之, 要正确完成基因分型, 并及时获得可信的阳性和阴性结果以指导患者治疗, 需要制定制式的反射测试方案。这表明多重检测, 最好是下一代测序 (NGS) 检测比单基因检测方法有潜在的优越性。这些问题也要求在组织管理方面进行专门的协调和极度关注, 以最大限度地改善临床相关测试的结果, 而不是浪费组织, 这会导致基因分型不完整和失去治疗机会, 或者可能增加风险和/或患者成本, 导致需要进行进一步的侵入性手术。然而, 即使在 NGS 测试的时代, IHC 在现实实践中也可能会起一些作用 (Tsao 和 Yatabe, 2019 年)。

PD-L1 测试

在过去的几年里, 检查点抑制剂已经改变了肺癌治疗的现状。目前, 几乎所有晚期非小细胞肺癌和广泛期小细胞肺癌患者的护理标准都包括抗程序性细胞死亡蛋白-1 (PD1) 或抗程序性死亡配体-1 (PD-L1) 联合化疗, 或者对于 PD-L1 肿瘤比例评分 (TPS) 呈阳性的非小细胞肺癌患者单独使用帕博利珠单抗 (Alexander 等, 2020 年)。此外, 免疫疗法, 即抗 PD-L1 抗体, 得瓦鲁单抗, 被批准并广泛用于无法通过同步放化疗切除的 III 期非小细胞肺癌的最终治疗 (Antonia 等, 2018 年)。目前正在进行大量的临床研究, 以扩大免疫疗法在这些情景中的效用, 并进一步评估免疫疗法在早期治疗中的作用, 在早期治疗中, 免疫疗法对治愈的影响可能会更大。

虽然检查点抑制带来的益处是明确的, 但如何丰富患者群体以获得更大的益处或减少毒性仍然没有明确的定义。在众多正在评估的生物标志物中, PD-L1 IHC 仍然是唯一有效的生物标志物。目前批准的用途是确定帕博利珠单抗对于晚期非小细胞肺癌 (NSCLC) 的前期治疗资格情况。对于 PD-L1 IHC TPS 评分为 50% 或更高的患者群体, 帕博利珠单抗优于双药化疗。对于得分在 1% 到 49% 之间的患者群体, 帕博利珠单抗的疗效似乎与双药化疗相似, 但毒性较小 (Lantuejoul 等, 2020 年)。根据 KEYNOTE-189/407 和 IMpower-150/130 研究的结果, 大多数患者的治疗标准不再是双药化疗, 而是化疗/免疫治疗, 因此需要正确看待和谨慎解释这些结果 (Gandhi 等, 2018 年; Paz-Ares 等, 2018 年; Horn 等, 2018 年)。目前, PD-L1 检测在小细胞肺癌的治疗中还没有明确的作用, 无论 PD-L1 IHC 测试结果如何, FDA 都批准了得瓦鲁单抗用于 III 期 NSCLC (尽管亚组分析表明, 对于 PD-L1 TPS 评分为 0 的患

者，即便有益处，也是有限的）（Gray 等，2020 年）。IMpower 系列研究评估了抗 PD-L1 抗体阿特珠单抗的使用情况，重点关注了一种不同的 PD-L1 IHC 评分系统，包括免疫细胞阳性 (TC/IC) (Vennapusa 等，2019 年)。新的结果表明，在 TC/IC 评分较高的患者中，单药免疫疗法也有类似的丰富益处。

尽管 PD-L1 IHC 检测在抗体选择、评分系统和时间/肿瘤内异质性方面存在许多问题 (Rimm 等，2017 年；Lantuejoul 等，2020 年)，但基于前面的考虑，它仍然是一种临床相关的检测方法，推荐用于所有晚期 NSCLC 患者，无论是鳞状还是非鳞状。出现进一步的生物标志物以优化患者选择的希望还是很大的，这是基于：(1) 肿瘤遗传学，例如肿瘤突变负荷 (TMB) (组织或循环肿瘤 DNA [ctDNA]) (Vokes 等，2019 年)、微卫星不稳定 (MSI) (低频率对肺癌的影响较小) 和单基因标志物 (例如 *STK11/KEAP1* 作为免疫治疗疗效的阴性预测因子 [Skoulidis 等，2018 年])；或 (2) 选择性免疫相关基因 RNA 表达的免疫标记 (Socinski 等，2018 年)。然而，还没有一个达到推荐日常使用的验证水平。

肺癌治疗模式演变中关于 IHC 研究的新思考

新辅助治疗后的组织学评估

随着新辅助治疗越来越多地用于治疗所选择的较晚期患者群体或用于机会窗试验的疗效评估，在诱导后切除术时，在诱导后切除术时对治疗反应的病理解释采取更标准化的方法至关重要。Hellman 及其同事 (2014 年) 和 Blumenthal 及其同事 (2018 年) 的精彩评论强调了 0 至 10% 残余活力细胞作为主要病理反应 (MPR) 类别的准确性，这最初由 Pataer 及其同事 (2012 年) 描述为新辅助治疗试验中生存的替代指标。残存活动性疾病的量化可能需要具体考虑个体所接受的治疗类型，即是化疗还是免疫治疗。免疫治疗相关反应的特征促使了特异性免疫相关病理反应标准 (irPRC) 的提出 (Cottrell 等，2018 年)。显然，MPR 评估必须标准化，可能包括局部淋巴结的反应，国际肺癌研究协会 (IASLC) 关于 MPR 评估的建议刚刚公布 (Travis 等，2020 年)。然而，在解释残余肿瘤床时，可以使用多重免疫荧光平台 (Parra 等，2018 年) 和所关注的特定区域的数字空间分析 (Beechem，2020 年) 对标准化进行微调。

获得性耐药和组织学转化

靶向治疗极大地改善了对携带可操作改变的晚期非小细胞肺癌患者的护理；然而，在这种情况下，普遍存在获得性耐药问题。虽然在表皮生长因子受体突变的肺癌环境中最容易理解获得性耐药性，但同样的范式似乎适用于所有其他可使用有效分子

靶向治疗的疾病亚群（Attarian 等，2017 年；Lim 和 Ma，2019 年）。一般来说，获得性耐药是受肿瘤中的次生遗传或表观遗传变化驱动的，据预测，这些变化可影响以下三个方面：

1. 通路的改变，通常是靶基因的次级突变，经常影响靶蛋白的药物结合特性。最著名的例子是第一代或第二代 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂普遍出现门控开关 EGFR T790M 突变（Kobayashi 等，2005 年）。这样的次级突变可能对下一代药物敏感，因此可以量身制定治疗方案。
2. 旁路改变，例如，MET 扩增，代表了使用阻断两种通路的联合靶向治疗的潜在可操作性改变（Nguyen 等，2009 年）。
3. 组织学转化，最常见的是肿瘤的小细胞转化，这些肿瘤通常携带 TP53、视网膜母细胞瘤（RB）或磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸3-激酶催化亚单位 α (PIK3CA) 共同突变。这种小细胞类肿瘤会对小细胞定向治疗方案做出反应，这就要求进行适当的检测。

最近，还观察到鳞状细胞癌和肉瘤样癌的其他组织学转化的频率越来越高（Schoenfeld 等，2020 年）。总体而言，分子重采样的价值越来越大，有助于提高理解水平、优化实验试验设计，最重要的是，改善患者的日常护理。虽然目前分子检测最初往往是通过 ctDNA 检测进行的，但当 ctDNA 检测没有信息，或怀疑存在组织学转化时，通常仍需要进行组织检测。在这种情况下，肿瘤学家和病理学家之间的仔细沟通对于合理区分可用组织的优先顺序至关重要，这些组织可用于常规 IHC 检测，以正确诊断恶性肿瘤和组织转化，为通常基于 NGS 的检测平台保存组织，以仔细定义不断增长的潜在获得性耐药改变的范围。

结论

在诊断过程中，为了实行谨慎的组织管理，对组织保留的需求与日俱增。此外，有些组织核心被认为是理想的，可以满足在整个诊断过程中应用最佳实践的研究要求，只要安全可行，就可以获得组织。谨慎地利用 IHC 研究是一个关键因素，可以最大限度地提高诊断率、最大限度地减少重复手术的需要，从而提高效率和改善治疗启动的周转时间。

参考文献

Alexander M, Ko B, Lambert R, et al. The evolving use of pembrolizumab in combination treatment approaches for non-small cell lung cancer. *Expert Rev Respir Med.* 2020;14(2):137-147.

Allen TC, Bag R, Zander DS, Cagle PT. Cytomegalovirus infection masquerading as carcinoma in a lung transplant patient. *Arch Pathol Lab Med.* 2005;129(1):e1-3.

- Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Overall survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;379(24):2342-2350.
- Attarian S, Rahman N, Halmos B. Emerging uses of biomarkers in lung cancer management: molecular mechanisms of resistance. *Ann Transl Med*. 2017;5(18):377.
- Beechem JM. High-plex spatially resolved RNA and protein detection using digital spatial profiling: a technology designed for immuno-oncology biomarker discovery and translational research. *Methods Mol Biol*. 2020;2055:563-583.
- Blumenthal GM, Bunn PA Jr, Chaft JE, et al. Current status and future perspectives on neoadjuvant therapy in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2018;13(12):1818-1831.
- Chan AW, Chau SL, Tong JH, et al. The landscape of actionable molecular alterations in immunomarker-defined large-cell carcinoma of the lung. *J Thorac Oncol*. 2019;14(7):1213-1222.
- Chang JC, Alex D, Bott M, et al. Comprehensive next-generation sequencing unambiguously distinguishes separate primary lung carcinomas from intrapulmonary metastases: comparison with standard histopathologic approach. *Clin Cancer Res*. 2019;25(23):7113-7125.
- Chung HC, Piha-Paul SA, Lopez-Martin J, et al. Pembrolizumab after two or more lines of previous therapy in patients with recurrent or metastatic SCLC: results from the KEYNOTE-028 and KEYNOTE-158 studies. *J Thorac Oncol*. 2020;15(4):618-627.
- Ciuleanu T, Brodowicz T, Zielinski C, et al. Maintenance pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care for non-small-cell lung cancer: a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet*. 2009;374(9699):1432-1440.
- Cottrell TR, Thompson ED, Forde PM, et al. Pathologic features of response to neoadjuvant anti-PD-1 in resected non-small-cell lung carcinoma: a proposal for quantitative immune-related pathologic response criteria (irPRC). *Ann Oncol*. 2018;29(8):1853-1860.
- Drilon A, Clark JW, Weiss J, et al. Antitumor activity of crizotinib in lung cancers harboring a MET exon 14 alteration. *Nat Med*. 2020;26(1):47-51.
- Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. *N Engl J Med*. 2018;378(8):731-739. (a)
- Drilon A, Somwar R, Mangatt BP, et al. Response to ERBB3-directed targeted therapy in NRG1-rearranged cancers. *Cancer Discov*. 2018;8(6):686-695. (b)
- Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2018;378(22):2078-2092.
- Gray JE, Villegas A, Daniel D, et al. Three-year overall survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III NSCLC-update from PACIFIC. *J Thorac Oncol*. 2020;15(2):288-293.
- Halmos B. Molecular testing in lung cancer: where to draw the line?. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(7):787-789.
- Harpole DH Jr, Herndon JE 2nd, Wolfe WG, et al. A prognostic model of recurrence and death in stage I non-small cell lung cancer utilizing presentation, histopathology, and oncoprotein expression. *Cancer Res*. 1995;55(1):51-56.
- Hellmann MD, Chaft JE, William WN Jr, et al. Pathological response after neoadjuvant chemotherapy in resectable non-small-cell lung cancers: proposal for the use of major pathological response as a surrogate endpoint. *Lancet Oncol*. 2014;15(1):e42-50.
- Horn L, Mansfield AS, Szczesna A, et al. First-line atezolizumab plus chemotherapy in extensive-stage small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2018;379(23):2220-2229.
- Hung YP, Sholl LM. Diagnostic and predictive immunohistochemistry for non-small cell lung carcinomas. *Adv Anat Pathol*. 2018;25(6):374-386.
- Johnson DH, Fehrenbacher L, Novotny WF, et al. Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus carboplatin and paclitaxel with carboplatin and paclitaxel alone in previously untreated locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2004;22(11):2184-2191.
- Kitamura A, Hosoda W, Sasaki E, et al. Immunohistochemical detection of EGFR mutation using mutation-specific antibodies in lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16(13):3349-3355.
- Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T, et al. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2005;352(8):786-792.
- Lanman BA, Allen JR, Allen JG, et al. Discovery of a covalent inhibitor of KRASG12C (AMG 510) for the treatment of solid tumors. *J Med Chem*. 2020;63(1):52-65.
- Lantuejoul S, Sound-Tsao M, Cooper WA, et al. PD-L1 Testing for lung cancer in 2019: perspective from the IASLC Pathology Committee. *J Thorac Oncol*. 2020;15(4):499-519.
- Le Loarer F, Watson S, Pierron G, et al. SMARCA4 inactivation defines a group of undifferentiated thoracic malignancies transcriptionally related to BAF-deficient sarcomas. *Nat Genet*. 2015;47(10):1200-1205.
- Lim ZF, Ma PC. Emerging insights of tumor heterogeneity and drug resistance mechanisms in lung cancer targeted therapy. *J Hematol Oncol*. 2019;12(1):134.
- Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of

- lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358.
- Lippner EA, Lewis DB, Robinson WH, et al. Paraneoplastic and therapy-related immune complications in thymic malignancies. *Curr Treat Options Oncol*. 2019;20(7):62.
- Liu X, Jia Y, Stoopler MB, et al. Next-generation sequencing of pulmonary sarcomatoid carcinoma reveals high frequency of actionable MET gene mutations. *J Clin Oncol*. 2016;34(8):794-802.
- Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350(21):2129-2139.
- Marx A, Ströbel P, Badve SS, et al. ITMIG consensus statement on the use of the WHO histological classification of thymoma and thymic carcinoma: refined definitions, histological criteria, and reporting. *J Thorac Oncol*. 2014;9(5):596-611.
- McCartney C, Moghadam A, Sriram KB. Lung adenocarcinoma masquerading as refractory *Klebsiella pneumoniae*. *BMJ Case Rep*. 2014;2014.
- Mutton AE, Hasleton PS, Curry A, et al. Differentiation of desquamative interstitial pneumonia (DIP) from pulmonary adenocarcinoma by immunocytochemistry. *Histopathology*. 1998;33(2):129-135.
- Nguyen KS, Kobayashi S, Costa DB. Acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancers dependent on the epidermal growth factor receptor pathway. *Clin Lung Cancer*. 2009;10(4):281-289.
- Papakonstantinou NA, Vlachou G, Vourlakou C, et al. Pulmonary actinomycosis masquerading as lung cancer: keep it in mind. *ANZ J Surg*. 2019;89(7-8):966-968.
- Parra ER, Villalobos P, Behrens C, et al. Effect of neoadjuvant chemotherapy on the immune microenvironment in non-small cell lung carcinomas as determined by multiplex immunofluorescence and image analysis approaches. *J Immunother Cancer*. 2018;6(1):48.
- Pataer A, Kalhor N, Correa AM, et al. Histopathologic response criteria predict survival of patients with resected lung cancer after neoadjuvant chemotherapy. *J Thorac Oncol*. 2012;7(5):825-832.
- Paz-Ares L, Luft A, Vicente D, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy for squamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2018;379(21):2040-2051.
- Pillai RN, Behera M, Berry LD, et al. HER2 mutations in lung adenocarcinomas: a report from the Lung Cancer Mutation Consortium. *Cancer*. 2017;123(21):4099-4105.
- Ragazzi M, Tamagnini I, Bisagni A, et al. Diamond: immunohistochemistry versus sequencing in EGFR analysis of lung adenocarcinomas. *J Clin Pathol*. 2016;69(5):440-447.
- Raparia K, Ketterer J, Dalurzo ML, et al. Lung tumors masquerading as desquamative interstitial pneumonia (DIP): report of 7 cases and review of the literature. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(7):921-924.
- Raymond E, Dahan L, Raoul JL, et al. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors [published correction appears in *N Engl J Med*. 2011;364(11):1082]. *N Engl J Med*. 2011;364(6):501-513.
- Rimm DL, Han G, Taube JM, et al. A prospective, multi-institutional, pathologist-based assessment of 4 immunohistochemistry assays for PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol*. 2017;3(8):1051-1058.
- Scagliotti G, Brodowicz T, Shepherd FA, et al. Treatment-by-histology interaction analyses in three phase III trials show superiority of pemetrexed in nonsquamous non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2011;6(1):64-70.
- Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naive patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(21):3543-3551.
- Schoenfeld AJ, Chan JM, Kubota D, et al. Tumor analyses reveal squamous transformation and off-target alterations as early resistance mechanisms to first-line osimertinib in EGFR-mutant lung cancer. *Clin Cancer Res*. Published online January 7, 2020. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-3563
- Schrock AB, Li SD, Frampton GM, et al. Pulmonary sarcomatoid carcinomas commonly harbor either potentially targetable genomic alterations or high tumor mutational burden as observed by comprehensive genomic profiling. *J Thorac Oncol*. 2017;12(6):932-942.
- Seymour L, Le Teuff G, Brambilla E, et al. LACE-Bio: Validation of predictive and/or prognostic immunohistochemistry/histochemistry-based biomarkers in resected non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2019;20(2):66-73.e6.
- Sholl L. Molecular diagnostics of lung cancer in the clinic. *Transl Lung Cancer Res*. 2017;6(5):560-569.
- Skoulidis F, Goldberg ME, Greenawalt DM, et al. STK11/LKB1 mutations and PD-1 inhibitor resistance in KRAS-mutant lung adenocarcinoma. *Cancer Discov*. 2018;8(7):822-835.

- Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, et al. Atezolizumab for first-line treatment of metastatic nonsquamous NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;378(24):2288-2301.
- Stathis A, Zucca E, Bekradda M, et al. Clinical response of carcinomas harboring the BRD4-NUT oncoprotein to the targeted bromodomain inhibitor OTX015/MK-8628. *Cancer Discov*. 2016;6(5):492-500.
- Stewart PA, Welsh EA, Slebos RJC, et al. Proteogenomic landscape of squamous cell lung cancer. *Nat Commun*. 2019;10(1):3578.
- Strosberg J, El-Haddad G, Wolin E, et al. Phase 3 trial of 177Lu-dotatate for midgut neuroendocrine tumors. *N Engl J Med*. 2017;376(2):125-135.
- Subbiah V, Velcheti V, Tuch BB, et al. Selective RET kinase inhibition for patients with RET-altered cancers. *Ann Oncol*. 2018;29(8):1869-1876.
- Thatcher N, Hirsch FR, Luft AV, et al. Necitumumab plus gemcitabine and cisplatin versus gemcitabine and cisplatin alone as first-line therapy in patients with stage IV squamous non-small-cell lung cancer (SQUIRE): an open-label, randomised, controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(7):763-774.
- Travis WD, Dacic S, Wistuba I, et al. IASLC multidisciplinary recommendations for pathologic assessment of lung cancer resection specimens after neoadjuvant therapy. *J Thorac Oncol*. 2020;15(5):709-740.
- Tsao MS, Hirsch FR, Yatabe Y, eds. *IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer*. 2nd ed. IASLC; 2016.
- Tsao MS, Marguet S, Le Teuff G, et al. Subtype classification of lung adenocarcinoma predicts benefit from adjuvant chemotherapy in patients undergoing complete resection. *J Clin Oncol*. 2015;33(30):3439-3446.
- Tsao MS, Yatabe Y. Old soldiers never die: is there still a role for immunohistochemistry in the era of next-generation sequencing panel testing?. *J Thorac Oncol*. 2019;14(12):2035-2038.
- Vennapusa B, Baker B, Kowanetz M, et al. Development of a PD-L1 complementary diagnostic immunohistochemistry assay (SP142) for atezolizumab. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(2):92-100.
- Vokes NI, Liu D, Ricciuti B, et al. Harmonization of tumor mutational burden quantification and association with response to immune checkpoint blockade in non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol*. 2019;3:10.1200/PO.19.00171.
- Warth A, Muley T, Meister M, et al. The novel histologic International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification system of lung adenocarcinoma is a stage-independent predictor of survival. *J Clin Oncol*. 2012;30(13):1438-1446.
- Woodard GA, Jones KD, Jablons DM. Lung cancer staging and prognosis. *Cancer Treat Res*. 2016;170:47-75.
- Yao JC, Shah MH, Ito T, et al. Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med*. 2011;364(6):514-523.
- Zhu CQ, Shih W, Ling CH, Tsao MS. Immunohistochemical markers of prognosis in non-small cell lung cancer: a review and proposal for a multiphase approach to marker evaluation. *J Clin Pathol*. 2006;59(8):790-800.
- Zhu CQ, Tsao MS. Prognostic markers in lung cancer: is it ready for prime time? *Transl Lung Cancer Res*. 2014;3(3):149-158.

免疫组织化学原理

Erik Thunnissen 和 Alain C. Borczuk

简介

免疫组织化学 (IHC) 是一种可将组织学切片中的蛋白质可视化的技术；对细胞学标本中的细胞采取类似的方法被称为免疫细胞化学。在 IHC 中，一抗的可变区识别抗原并与其结合，抗原通常是蛋白质表位。这些表位可以反映二级和三级蛋白质结构，但现在更多的是针对 4-25 个氨基酸的多肽开发单克隆抗体 (Saper, 2009 年)，使抗原修复后福尔马林固定组织的检测更加可行。与一抗结合的二抗和随后的化学反应被用于可视化表位的定位，这一过程被称为信号增强。利用显微镜在组织范围内检测 IHC 染色的位置。IHC 染色可位于一个或多个亚细胞区域，如细胞膜上、细胞质中或细胞核内。IHC 是一种快速且相对便宜的方法，被大多数病理学家所青睐，主要是因为它可以评估组织结构和肿瘤细胞 (Tsao 等, 2017 年)。

免疫组织化学的协议和程序

IHC 分析部分的主要步骤包括：(1) 表位修复，(2) 一抗孵育，以及 (3) 信号增强和可视化系统 (Taylor 和 Rudbeck, 2013 年)。组织学切片通常放置在带有特殊涂层的载玻片上，在 IHC 过程中，切片要始终粘附在载玻片上。进行表位修复是为了恢复（揭示）在固定过程中可能被掩盖的抗原。这些技术中的大多数都涉及结合加热和高或低 pH 来逆转固定引起的蛋白质交联；更激进的方法是使用蛋白酶将蛋白质裂解成更小的肽表位。由于在信号增强和可视化步骤中使用了外源酶，可能的、功能相似的内源酶的效果会被阻断步骤所阻断。

一抗的可变区与目标蛋白质的表位相结合。在孵育过程中，一抗在缓冲液中稀释，便于结合。标准化这一孵育步骤的温度和时间对于稳定结果十分重要。

在直接 IHC 方法（见第 4 章）中，一抗还带有一个用于可视化的标记。然而，组织切片中表位的浓度必须非常高，才能使用这项技术在显微镜下检测到信号。

在间接 IHC 方法（见第 4 章）中，需要进行第二次孵育，即二抗的可变区与一抗的恒定区结合。二抗携带一种用于可视化的酶。间接 IHC 方法提供了更强的信号增强，这意味着可以检测到比直接方法更低表位浓度的蛋白质（Prinsen 等，2003 年）。一个相对较新的进展是使用含有若干二抗和酶的葡聚糖聚合物进行可视化。这种信号增强方法（就像多个灯泡而非一个灯泡）的效果比间接 IHC（酶标记二抗）方法强 10 至 20 倍，使更低的表位浓度变得可见。

在用增强剂孵育和清洗后，加入显色溶液。溶液中的可溶性色原通常是无色的。在增强步骤中加入的酶（如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）将色原转移到不溶性底物中，该底物沉淀在一抗-二抗复合物的位置，即蛋白质的位置。这种沉淀物的大小取决于细胞中表位的数量和位置，当可见时，最低等于光学显微镜的分辨率（500 nm 或 0.5 μm ），但也可以累积填充整个细胞质（20-30 μm ）。

在 IHC 可视化步骤和清洗后，进行核反染色，这有利于识别细胞核和底层组织结构。主要步骤中间的清洗步骤旨在洗掉未结合的产品和溶剂，保持组织学切片的背景清洁。

随后，对显微载玻片上的切片进行脱水，并覆盖上封固剂（耐火指数为 1.5，与玻璃相同）和薄玻璃盖片。这会使组织切片的上方和下方形成平行的玻璃面，避免了“水中棒”的弯折效应。

评价和解释

2003 年，Prinsen 及其同事展示了不同增强系统的表位浓度和信号强度之间的关系，如图 3-1 所示。S 型曲线强度的差异可以半定量地分为阴性、阳性 (+)、双阳性 (++) 或三阳性 (+++)。一旦达到了最大强度 (+++) 稳定期，进一步增加表位浓度不会增加强度。阴性和 +++ 之间的范围相当窄，根据扩增系统的不同，表位浓度的范围在 2-4 倍之间。虽然酶联免疫吸附试验 (ELISA) 可以作为定量蛋白质检测方法，但 IHC 仅在线性动态范围 (S 形曲线的陡峭部分，即 + 和 ++ 之间) 是定量的。因此，IHC 充其量是半定量的，而且只在曲线的这个范围内。因此，信号可能会变得饱和和非定量。

在间变性淋巴瘤激酶 (ALK) IHC 的商业检测中使用额外的酪胺信号放大可以得到定性的 IHC (因此在陡峭的 S 型曲线上有一条几乎垂直的直线)：这种设置中的 IHC 测试结果纯粹是定性的，要么是阴性，要么是阳性 (Wynes 等, 2014 年)。更强的扩增系统可能偶尔会导致背景染色增加，可能出现假阳性结果 (Ibrahim 等, 2016 年)。

染色强度的测定具有主观因素，实际上可以通过使用具有固有的相关空间分辨率的连续显微镜物镜作为建立强度水平的物理辅助来降低主观因素。

该方法首次应用于人类表皮生长因子受体 2 (HER2) 检测，可能会使强度评分更均匀 (Ruschoff 等, 2010 年)。使用 2.5 倍或 5 倍显微镜物镜可以清楚地看到强染色 (+++)；中度染色 (++) 需要使用 10 倍或 20 倍物镜才能看清楚；弱染色 (+) 只有使用 40 倍物镜才能看到 (Ruschoff 等, 2013 年)。

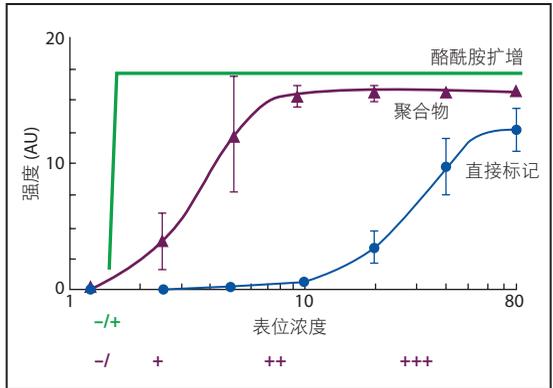


图 3-1. 免疫组织化学 (IHC) 中表位浓度与信号增强的关系 AU = 任意单位。(经 Prinsen 等人许可后修改, 2003 年)

兔、鼠单克隆抗体

尽管小鼠单克隆抗体被广泛使用，但兔单克隆抗体的性能特点使其越来越受人们青睐。具体来说，兔的免疫系统对在小鼠系统中没有反应的人类肽有反应，而且一般来说，兔产生的抗体亲和力更高。小肽尤其如此，它们被用作抗体以产生抗原 (Rief 等, 1998 年; Weber 等, 2017 年)。

实验室自建检测

对于诊断性和预测性测试，有许多商业检测方法可供选择。预测性测试的定价远远高于诊断性测试，诊断性商业检测一般比实验室自建检测 (LDT) 更昂贵。在大多数实验室预算有限的情况下，考虑到预测性测试的费用较高，鼓励使用 LDT 来代替商业检测。

商业检测的优势在于，IHC 检测/试剂盒的大多数方面都经过了严格的检测，而且已经选择了检测条件以便及时提供稳定的检测结果。需要开发 LDT 以达到相同的标准。

IHC 的标准化

理想情况下，与 ELISA 类似，IHC 检测应该有一个参考或校准标准，但 IHC 在日常病理中并没有这种标准。标准化是必需的，因为样品制备的不一致性 (分析前变量) 和试剂验证不充分 (分析变量) 可能会影响 (通常会削弱) IHC 测试结果。

分析前变量列表至少包括：固定剂类型；置于固定剂中的时间；脱水剂、清洗剂和石蜡浸渍的试剂和条件；以及载玻片干燥和储存条件（Engel 和 Moore, 2011 年）。在固定期间，中性缓冲福尔马林在小样本中的渗透速度可能相对较快（1 mm/h）（Howat 和 Wilson, 2014 年），但在塌陷肺（肺泡壁之间有多层薄空气层）中的渗透速度要慢得多（0.2 mm/h）（van Seijen 等, 2019 年）。固定延迟可能会降低蛋白质的稳定性，从而妨碍 IHC（van Seijen 等, 2019 年）。固定延迟的不利影响也可见于苏木精和伊红染色切片，例如基底膜上皮脱落，以及细胞核固缩或接近固缩（Radonic 等, 2019 年）。这些样品不应用于 IHC 的分析验证。组织处理将在第 5 章中更详细地讨论。

在开始开发 LDT 时，高表位浓度的对照样品是很有用的，因为它在可能的初始次优条件下应该是阳性的。当此对照为阳性，而阴性对照（例如，除一抗步骤外的全部步骤）为阴性时，具有较低表位浓度的样品对于微调 LDT 是有用的。

监测日常表现以及验证 IHC 检测的最佳样本是抗原表位浓度足够接近阈值的样本，这种样本即为阳性（通常用 + 表示）。特定仪器上 IHC 程序的自动化（例如，控制孵育温度和时间）在很大程度上提高了条件的稳定性和 IHC 结果的稳健性，有助于获得一致的结果。

IHC 的验证

根据 College of American Pathologists (CAP, 美国病理学家协会) 对非预测性（诊断性）IHC 检测的初步分析验证指南，实验室应至少检测 10 个阳性组织和 10 个阴性组织（Fitzgibbons 等, 2014 年）。当实验室医疗主任确定无需 20 个验证案例就足以作为特异性标志物（例如，稀有抗原，意味着罕见阳性病例）时，需要记录做出该决定的理由。出于诊断目的，当样本的质量足够进行 IHC 检测时，与试验分析的符合率应该很高（最好是 100%，意味着敏感性和特异性都是 100%）。

当考虑到（连续的）临床样本时，并非总是可控的分析前因素可能会起作用，这也解释了这样一种建议：“对于临床上使用的每一种检测方法的初始验证，实验室应在新测试和比较测试或预期结果之间达到至少 90% 的总体一致性”（Fitzgibbons 等, 2014 年）。

对于实验室自建的所有预测性标志物分析的初步分析验证，根据 CAP 的要求，实验室应检测至少 20 个阳性和 20 个阴性病例（Fitzgibbons 等, 2014 年）；根据临床和实验室标准协会 (CLSI) 的要求，应检测 50 个阳性和 50 个阴性样本（Garrett 等, 2008 年）。这些数字有一个任意要素，后者的置信区间较低。其他指南没有涉及到这个问题，或者没有那么明确。两种（CAP 和 CLSI）指南都提到了要与比较测试达到 90% 的一致性。然而，这两种指南都有一个缺陷：一致率取决于病例的构成。诊断

性测试的分析/技术验证和预测性测试的临床验证之间的区别在于，后者与特定治疗的预测反应相关。在这方面，LDT IHC 测试验证必须确定测试的目的，因为正确的验证要求抗原检测的对照样本和工作范围是适合检测的。这种“合乎目的”的概念非常重要，因为基于这一原则，同一抗体可能需要不同的验证。例如，为了在正确的工作范围内进行诊断，检测乳腺癌与淋巴细胞中的 GATA3 可能需要根据抗原水平的差异而采用不同的方案 (Cheung 等, 2017a)。除了最初的验证外，LDT 还可能需要重新验证，包括新的抗体批次、新的抗体克隆或更改方案或检测设备。

对于非小细胞肺癌 (NSCLC) 的程序性死亡配体-1 (PD-L1) IHC，在至少 50% 的肿瘤细胞中，任何强度的膜染色都被视为阳性，这种预测性测试直接得到了来自 3 期随机临床试验的临床数据的验证 (Reck 等, 2016 年)。从概念上讲，使用 3 期研究的样本 (已知的患者结果) 进行临床验证，并将其与新的 PD-L1 检测的性能进行比较，这是一个前进的方向。然而，来自这些研究的肿瘤组织 (主要是小活检) 的可用性是有限的，并且禁止广泛的检测。另一种方法是将待验证的试验与 3 期研究中使用的相同商业 PD-L1 检测进行比较，因为研究验证的阈值与临床结果有关。这种方法的假设是，商业检测在时间和地点上都是可靠的。

最近，关于如何进行 PD-L1 IHC 临床验证的更具体指南已经公布 (Thunnissen, 2019a)。为此，关键样本 (Thunnissen 等, 2018 年; Thunnissen, 2019 b) 是合适的，其表位浓度接近验证检测的阈值。一种实用的方法是在大约 20 至 40 个连续的临床样本上以配对的方式对概念 LDT 和汇编诊断测试进行染色 (Thunnissen, 2019b)。如果这两种检测方法没有太大偏差，大约 80% 至 90% 的样品在整个载玻片上都是一致的。至少表现出病灶不一致性 (包括病灶强度差异) 的 2 或 3 个样本可用于 LDT 的进一步滴定；例如，通过提高或降低一抗浓度。因此，新的 PD-L1 测试应在与临床验证测试 (比较测试) 相同的强度下呈阳性。这一程序可被称为 *预测性检测的间接临床验证*。

如果两种 PD-L1 检测方法之间的偏差较大，通常概念 LDT 的染色程度要低于商业检测，或者根本没有染色。更多不一致样本随后可用于进一步改进概念 LDT，还可以考虑采取更严格的适应方法，例如修改 IHC 方法的表位修复和/或信号增强步骤。为了促进这一过程，仔细的组织管理是很有帮助的 (Bubendorf 等, 2017 年)，例如预先切割若干备用部分以进行额外的 PD-L1 测试。随后，可以在初始切割后的几天或几周内对合适的样品进行重复测试。

实际上，这一关键样本的选择过程利用了 PD-L1 的异质性：有些肿瘤细胞可能是阴性的，而其他彼此相距不远的肿瘤细胞在同一切片上可能是阳性的。同样，有些肿瘤细胞的 PD-L1 表达强度可能较高，而另一些肿瘤细胞的表达强度可能较低。

具有高表位浓度的样本可达到最大的染色水平 (+++), 与大多数其他 PD-L1 检测相比, 很可能呈阳性 (Fitzgibbons 等, 2014 年)。这样的样本对于检测日常实践中的变异不太有用, 这一观点也可能适用于作为外部阳性对照的胎盘中的高表位浓度 (Dodson 等, 2019 年), 尽管胎盘是美国食品和药物管理局 (FDA) 批准的检测方法 (VENTANA PD-L1 [SP263] 检测, 药品说明书) 中推荐的阳性对照。要验证 IHC 测试, 只使用具有高表位浓度的样本可能会产生错误的安全感。用作对照的样本必须符合测试的目的 (Cheung 等, 2017a)。

表位浓度很低的样品在任何 PD-L1 检测中都呈阴性。因此, 表位浓度高、极低或不存在的病例对于比较 PD-L1 测试性能没有帮助。如果对 50% 的 PD-L1 阴性样本和 40% 的 PD-L1 强阳性样本进行检查, 那么这两项测试实现 90% 的一致性的先验几率会很高。同样, 与诊断性外科病理学研究中的 kappa 值 (0.6-0.7) 相比, 这两项 IHC 检测的 kappa 值非常高 (>0.8)。因此, 这种类型的病例选择会导致大多数检测呈现出一致性, 而对于更广泛的样本, 这还有待观察。

以前曾有人对分析检测验证“免疫组织化学关键检测性能控制 (ICAPC)”进行了描述 (Torlakovic 等, 2015 年), 作为 4 篇系列论文的一部分, 内容涵盖了 IHC 诊断环境的若干方面 (Cheung 等, 2017a, 2017b; Torlakovic 等, 2015 年, 2017 年)。ICAPC 和“关键”样本之间的不同之处在于, 后者有与临床反应相关的阈值, 虽然这一点 (无意中) 也可能适用于某些 ICAPC, 但并不适用于所有 ICAPC。此外, 大多数实验室可以在小系列 (~ n = 20-40) 的 NSCLC 病例中检测到关键样本, 而 ICAPC, 例如异种移植, 并不总是很容易在每个实验室获得。预测性检测的间接临床验证这一术语相比旧术语 *诊断验证* 更适合预测性 IHC 验证, 这不仅是因为其与临床治疗相关, 而且也便于与医院管理层进行讨论: 每个诊断类别中的预测性检测是诊断性测试的“附加项” (需要在现有诊断预算基础上加上额外预算), 以便对本质上不同的治疗方案提供建议。

质量保证

除了前面讨论的内部质量保证措施外, 外部质量保证对于确保 IHC 充分发挥作用至关重要。外部质量评估 (EQA) 的目的是在独立组织 (EQA 提供者) 的支持下确定诊断性或预测性测试的性能。基本上, EQA 提供者在不同的实验室分发测试样本, 并评估测试结果, 例如, 真阳性、假阳性、真阴性和假阴性。为了取得成功, 实验室需要获得一定数量的正确测试结果 (van Krieken 等, 2013 年)。

在某些国家，实验室有义务参与并达到可接受的水平。参与 EQA 的好处是对检测结果进行独立验证。有时，IHC 检测的缓慢恶化可能会在不知不觉中发生，特别是在缺乏最佳检测样本（即稳定的低阳性 [+] 样本）的情况下。在这种情况下，可以通过参加 EQA 来发现这种表现不佳的情况。

最初，预测性 EQA 的提供者在当地范围内采取行动（Thunnissen 等，2011 年；Normanno 等，2011 年，2013 年；Scheel 等，2016 年）。十多年来，EQA 已经在国际层面得以实施，包括欧洲病理学会（Tembuysen 等，2014 年；Keppens 等，2018 年）、英国国家外部质量评估服务（UK NEQAS）（Ibrahim 等，2016 年；Dodson 等，2019 年）、NordiQC（Vyberg 和 Nielsen，2016 年）、CAP 等（Patton 等，2014 年）。在最初的几轮 EQA 中，LDT 测试的得分可能较低，但经过一段学习期后，LDT 在随后几轮 EQA 中的表现可与 FDA 批准的检测方法相当（Adam 等，2018 年）。

结论

IHC 是一款强大的诊断工具，其方案在检测与病理肿瘤分类和器官来源相关的抗原方面已经变得十分强大。然而，基本技术是定性的，而不是定量的，但半定量的评估可以通过仔细的方案构建和验证来实现。验证方法越来越明确，并可以在诊断和预测领域支持 LDT。

参考文献

- Adam J, Le Stang N, Rouquette I, et al. Multicenter harmonization study for PD-L1 IHC testing in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2018;29(4):953-958.
- Bubendorf L, Lantuejoul S, de Langen AJ, et al. Nonsmall cell lung carcinoma: diagnostic difficulties in small biopsies and cytological specimens. In: Dorfmueller P, Cavazza A, eds. *Pathology for the Clinician*, vol 2. *Eur Respir Rev*. 2017;26(144):170007.
- Cheung CC, D'Arrigo C, Dietel M, et al. Evolution of quality assurance for clinical immunohistochemistry in the era of precision medicine: part 1: fit-for-purpose approach to classification of clinical immunohistochemistry biomarkers. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(1):4-11. (a)
- Cheung CC, D'Arrigo C, Dietel M, et al. Evolution of quality assurance for clinical immunohistochemistry in the era of precision medicine: part 4: tissue tools for quality assurance in immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(4):227-230. (b)
- Dodson A, Parry S, Lissenberg-Witte B, et al. External quality assessment demonstrates that PD-L1 22C3 and SP263 assays are systematically different. *J Pathol Clin Res*. Published online December 17, 2019. doi:10.1002/cjp.2.153
- Engel KB, Moore HM. Effects of preanalytical variables on the detection of proteins by immunohistochemistry in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135(5):537-543.
- Fitzgibbons PL, Bradley LA, Fatheree LA, et al. Principles of analytic validation of immunohistochemical assays: guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(11):1432-1443.
- Garrett PE, Lasky FD, Meier KL. *User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline*. 2nd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2008.
- Howat WJ, Wilson BA. Tissue fixation and the effect of molecular fixatives on downstream staining procedures. *Methods*. 2014;70(1):12-19.
- Ibrahim M, Parry S, Wilkinson D, et al. ALK immunohistochemistry in NSCLC: discordant staining can impact patient treatment regimen. *J Thorac Oncol*. 2016;11(12):2241-2247.
- Keppens C, Tack V, Hart N, et al. A stitch in time saves nine: external quality assessment rounds demonstrate improved quality of biomarker analysis in lung cancer. *Oncotarget*. 2018;9(29):20524-20538.
- Normanno N, Pinto C, Castiglione F, et al. KRAS mutations testing in colorectal carcinoma patients in Italy: from guidelines to external quality assessment. *PLoS One*. 2011;6(12):e2916.
- Normanno N, Pinto C, Taddei G, et al. Results of the first Italian external quality assurance scheme for somatic EGFR mutation testing in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2013;8(6):773-778.

- Patton S, Normanno N, Blackhall F, et al. Assessing standardization of molecular testing for non-small-cell lung cancer: results of a worldwide external quality assessment (EQA) scheme for EGFR mutation testing. *Br J Cancer*. 2014;111(2):413-420.
- Prinsen CF, Klaassen CH, Thunnissen FB. Microarray as a model for quantitative visualization chemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2003;11(2):168-173.
- Radonic T, Dickhoff C, Mino-Kenudson M, et al. Gross handling of pulmonary resection specimen: maintaining the 3-dimensional orientation. *J Thorac Dis*. 2019;11(suppl 1):S37-S44.
- Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1823-1833.
- Rief N, Waschow C, Nastainczyk W, et al. Production and characterization of a rabbit monoclonal antibody against human CDC25C phosphatase. *Hybridoma*. 1998;17(4):389-394.
- Ruschoff J, Dietel M, Baretton G, et al. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development and standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch*. 2010;457(3):299-307.
- Ruschoff J, Kerr KM, Grote HJ, et al. Reproducibility of immunohistochemical scoring for epidermal growth factor receptor expression in non-small cell lung cancer: round robin test. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(9):1255-1261.
- Saper CB. A guide to the perplexed on the specificity of antibodies. *J Histochem Cytochem*. 2009;57(1):1-5.
- Scheel AH, Dietel M, Heukamp LC, et al. Harmonized PD-L1 immunohistochemistry for pulmonary squamous-cell and adenocarcinomas. *Mod Pathol*. 2016;29(10):1165-1172.
- Taylor CR, Rudbeck L. *Immunohistochemical Staining Methods*. Dako; 2013.
- Tembuysen L, Tack V, Zwaenepoel K, et al. The relevance of external quality assessment for molecular testing for ALK positive non-small cell lung cancer: results from two pilot rounds show room for optimization. *PLoS One*. 2014;9(11):e112159.
- Thunnissen E. How to validate predictive immunohistochemistry testing in pathology? A practical approach exploiting the heterogeneity of programmed death ligand-1 present in non-small cell lung cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(1):11-21. (a)
- Thunnissen E. In Reply. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(8):909-910. (b)
- Thunnissen E, Allen TC, Adam J, et al. Immunohistochemistry of pulmonary biomarkers: a perspective from members of the pulmonary pathology society. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):408-419.
- Thunnissen E, Bovee JV, Bruinsma H, et al. EGFR and KRAS quality assurance schemes in pathology: generating normative data for molecular predictive marker analysis in targeted therapy. *J Clin Pathol*. 2011;64(10):884-892.
- Torlakovic EE, Cheung CC, D'Arrigo C, et al. Evolution of quality assurance for clinical immunohistochemistry in the era of precision medicine. Part 3: technical validation of immunohistochemistry (IHC) assays in clinical IHC laboratories. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(3):151-159.
- Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G, et al. Standardization of positive controls in diagnostic immunohistochemistry: recommendations from the International Ad Hoc Expert Committee. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(1):1-18.
- Tsao MS, Kerr KM, Dacic S, et al, eds. *IASLC Atlas of PD-L1 Immunohistochemistry Testing in Lung Cancer*. IASLC; 2017.
- van Krieken JH, Normanno N, Blackhall F, et al. Guideline on the requirements of external quality assessment programs in molecular pathology. *Virchows Arch*. 2013;462(1):27-37.
- van Seijen M, Brcic L, Gonzales AN, et al. Impact of delayed and prolonged fixation on the evaluation of immunohistochemical staining on lung carcinoma resection specimen. *Virchows Arch*. 2019;475(2):191-199.
- Vyberg M, Nielsen S. Proficiency testing in immunohistochemistry—experiences from Nordic Immunohistochemical Quality Control (NordiqC). *Virchows Arch*. 2016;468(1):19-29.
- Weber J, Peng H, Rader C. From rabbit antibody repertoires to rabbit monoclonal antibodies. *Exp Mol Med*. 2017;49(3):e305.
- Wynes MW, Sholl LM, Dietel M, et al. An international interpretation study using the ALK IHC antibody D5F3 and a sensitive detection kit demonstrates high concordance between ALK IHC and ALK FISH and between evaluators. *J Thorac Oncol*. 2014;9(5):631-638.

免疫组织化学中的技术

David M. Hwang, Kurt A. Schalper 和 Sanja Dacic

简介

近几十年来，免疫组织化学技术以及自动化和增强通过免疫组织化学染色所获得信息的技术都取得了重大进展。本章回顾了检测和扩增系统、自动染色机、数字成像和形态测量的应用，以及免疫组织化学的新兴技术。

免疫组织化学的基本原理

抗体与抗原的结合可以用荧光标记（即免疫荧光）或显色底物来检测。由于绝大多数胸部肿瘤临床免疫组织化学染色使用的是显色标记而不是荧光标记，本章重点介绍显色技术。

早期的免疫组织化学迭代通常使用与辣根过氧化物酶 (HRP) 或酸性（或碱性）磷酸酶 (AP) 等酶结合的抗体 (Nakane 和 Piells, 1966, 1967)，使色原的酶能够沉积在抗体结合位点上。虽然现在有多种显色底物可用，但最常用的是 3,3'-二氨基联苯胺 (DAB) 和 3-氨基-9-乙基咔唑 (AEC)，前者通过 HRP 产生棕色沉淀物，后者产生红色沉淀物。

目标检测可以通过直接或间接方法进行。在直接检测中，对抗原的一抗进行标记以进行检测（图 4-1A）。然而，由于直接检测的敏感性有限，且通常只适用于高表达的蛋白质，所以间接检测技术更常用于临床应用。在间接方法中，一抗是未标记的，被标记以进行检测的是靶向生成一抗的物种的二抗（图 4-1B）。多个二抗分子可以与单个一抗分子结合，从而可实现一定程度的信号放大并提高检测敏感性。间接方法还支持使用少量的针对特定物种的二抗（例如，抗小鼠、抗兔）检测许多不同的抗原，而无需标记每个一抗，也无需因一抗的标记而对抗原结合产生潜在的负面影响。

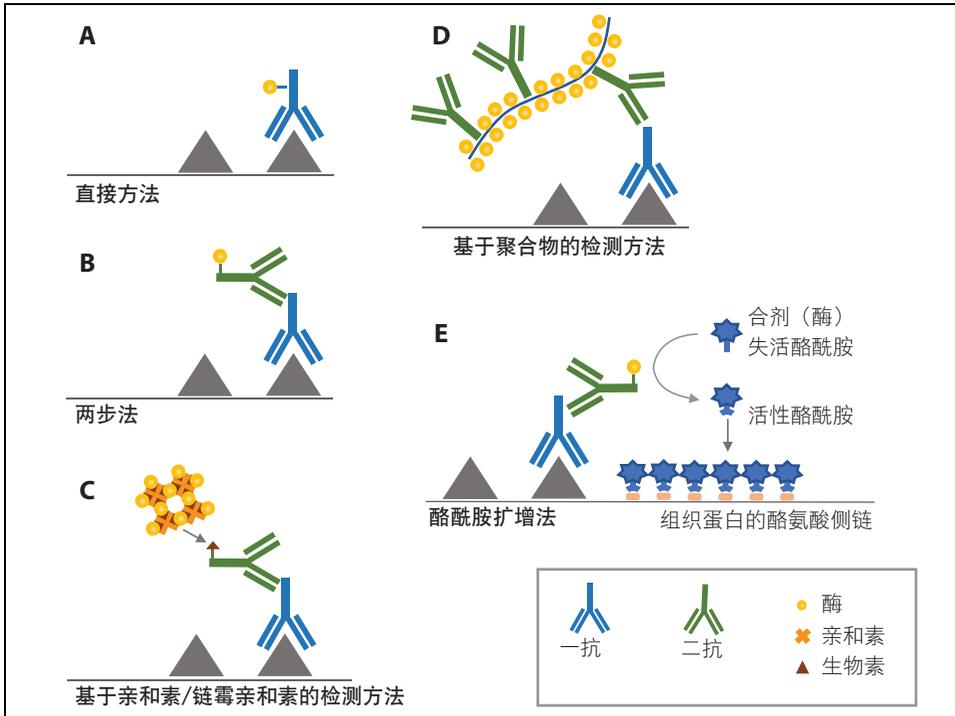


图 4-1.免疫组织化学检测的各种方法。(A) 直接法，使用酶标记的一抗。(B) 两步法，使用半抗原标记的二抗，特异于一抗。(C) 基于亲和素/链霉亲和素的检测方法，使用生物素标记的二抗将一抗与亲和素、链霉亲和素和酶的大型复合物连接。(D) 基于聚合物的检测方法，通过与聚合物偶联的二抗。(E) 酪氨酸扩增法，使用生物素化的酪氨酸沉积到组织酪氨酸侧链上，该侧链因抗体标记的过氧化物酶的自由基形成而激活。

还制定了一些通过额外的信号放大以进一步提高敏感性的策略，包括以下内容。

亲和素/链霉亲和素-生物素-检测酶复合物

这些复合物包括亲和素-生物素复合物 (ABC) 和标记链霉亲和素-生物素 (LSAB) 方法 (图 4-1C)。在这两种方法中，生物素化的二抗与一抗结合后，加入生物素化的检测酶（例如 HRP、AP）以及亲和素 (ABC 法) 或与链霉亲和素偶联的检测酶 (LSAB 法)，大大增加了检测酶分子的数量和抗原结合位点的色原沉积。这些方法的局限性是亲和素或链霉亲和素与组织内的内源性生物素或凝集素之类的分子结合，可能导致较高的非特异性背景染色。

聚合物和其他非生物素检测复合物

为了规避一些与生物素方法相关的问题，人们开发了一些非生物素的检测方法 (图 4-1D)。基于聚合物的方法将多个二抗和检测酶分子连接到葡聚糖聚合物主链

上，构成了广泛使用的检测试剂盒的基础，包括 EnVision (Agilent Dako) 试剂盒和 *ultra* View Universal DAB 检测试剂盒 (Roche Tissue Diagnostics)。由于聚合复合物的尺寸较大，可能会抑制组织的渗透，有些方案在一抗和聚合物之间使用二抗（连接物）来提高敏感性，这是 Dako PD-L1 IHC 22C3 pharmDx 检测所使用的一种方法。

OptiView 检测系统 (Roche Tissue Diagnostics) 采取了一种不同的非生物素的方法，其中二抗采用多分子的非内源性合剂（3-羟基-2-噻啉 [HQ]）标记，然后用与 HRP 偶联的抗 HQ 抗体进行检测 (Nitta 等, 2013 年)。

催化信号放大方法

在催化信号放大 (CSA) 方法中，通常用于产生色原的 HRP 酶先用来催化另一种化学反应，该化学反应可沉积更多的结合位点以募集更多酶分子 (图 4-1E)。例如，如果存在过氧化氢，则 HRP 氧化生物素化的酪胺会产生一种自由基物种，该物种会与生物素反应并使生物素在周围组织中沉积。然后，使用这种沉积的生物素并添加亲和素或链霉亲和素-生物素-酶复合物即可募集更多的检测酶分子，与前面描述的传统 ABC 方法相比，信号放大可达 1000 倍 (Ramos-Vara, 2017 年)。OptiView 扩增系统 (Roche Tissue Diagnostics) 采用了这种策略的一个变体，即用 HQ-酪胺代替生物素化的酪胺，该系统与 OptiView 检测系统一起用于 VENTANA ALK (D5F3) CDx 检测 (Nitta 等, 2013 年)。

自动免疫组织化学染色剂

人工操作的免疫组织化学是一个时间和劳动密集型的过程，每块染色玻片都需要多达 100 次的人工参与，每次都有可能出现变化和错误。大部分或所有这些步骤的自动化极大地减少了技术人员染色所需的时间，从而降低成本，同时通过确保个体内和个体间更大的一致性来提高质量。

自 20 世纪 80 年代末报道了第一台用于免疫细胞化学染色的机器人工作站以来 (Brigati 等, 1988 年)，自动免疫组织化学染色机已在临床实验室得到普遍应用。目前已有多个平台，每个平台都有各自的优势和劣势，没有一个自动染色机好到可以用于所有场合 (表 4-1)。相反，实验室必须选择最能满足其特定需求和要求的自动染色剂 (Prichard, 2014 年; Myers, 2008 年)。就这方面而言，考虑因素可能包括以下几点。

尺寸

自动染色机有各种尺寸，可以是台式设备，也可以是落地式设备，这取决于可用空间。

表 4-1. 几种常用自动免疫组织化学平台的比较

	台式		落地式			
	Agilent Dako	Leica	Agilent Dako	Leica	Roche	Roche
	Autostainer	Bond Max	Omnis	Bond III	BenchMark XT	BenchMark ULTRA
自动染色步骤						
载玻片烘烤	否	是	否	是	是	是
脱蜡	否	是	是	是	是	是
片上加热	否	是	是	是	是	是
片上原位杂交	否	DNA/RNA	DNA/RNA	DNA/RNA	DNA/RNA	DNA/RNA
尺寸						
尺寸 (宽 × 深 × 高), 厘米	89 × 66 × 68	76 × 77.5 × 70.3	150 × 80 × 177	79 × 80.6 × 137.8	89 × 66 × 153	112 × 84 × 159
载玻片管理						
载玻片容量	48	30	60	30	30	30
批次大小, 载玻片	4 × 12	3 × 10	12 × 5	3 × 10	1 × 30	30 × 1
免疫组织化学 (IHC) 的处理能力/24 小时	144	90	165	90/120	90	90
试剂						
位置	42	36	60	36	35	35
温度控制	否	否	是	否	否	否
开放系统	是	一抗	一抗	一抗	一抗 + 酶	一抗 + 酶

改编自 De Wiest 和 van Hecke, 2017 年。

开放式系统与封闭式系统

有些自动染色机在试剂选择或方案方面具有更大的灵活性（开放式系统），而另一些则限制了可使用的试剂和方案的类型或来源（封闭式系统）。开放式系统更适用于需要为大量标志物制定和优化新的染色方案的场合（例如研究和设计场合），而封闭式系统则更倾向于通过使用标准化的试剂和方案最大限度地提高可重复性和减少动手操作时间。

通量和批次大小

在评估自动化平台时，通量通常是一个主要考虑因素，通常被认为是载玻片容量和运行时间的函数。然而，除了处理的载玻片的数量之外，其他考虑因素可能包括需要运行的各种测试和协议的数量，因为不同的平台针对批量大小提供了不同程度的灵活性，其中批量中所有载玻片的染色协议应该是相似的，以便优化加载用于染色的新载玻片的能力和运行时间。

其他功能

不同的自动染色机可能提供其他不同的功能，例如，载玻片烘烤、脱蜡、加热（用于抗原修复）和原位杂交（ISH）。虽然这些额外功能可以提高一致性，减少动手操作

时间，但它们可能会延长运行时间。有关自动染色机的其他详细信息可以在文献中找到（Prichard, 2014 年；Myers, 2008 年）。

数字成像和形态测定分析

快速、准确的数字化全玻片组织学制备的突出进展也使形态学和免疫组织化学在病理学实践中发挥着越来越多的作用。苏木精和伊红染色或免疫组织化学的数字化载玻片（也被称为*虚拟载玻片*）目前被用于多种目的，包括初级诊断、生物标志物评估、临床会议、远程病例评估、第二诊断咨询、教育和研究以及病例储存（Pantanowitz 等, 2013 年；Evans 等, 2018 年；Liu 和 Pantanowitz, 2019 年）。目前，多个数字化载玻片成像平台已投入商业使用，有些已获得监管部门的批准和/或临床使用许可（Liu 和 Pantanowitz, 2019 年）。这使得数字化病理学在世界范围内得到越来越多的采用，有些机构完全依靠虚拟载玻片运作。数字化样本的可用性也促使人们使用计算工具进行更详细的形态分析和变量的定量评估。这些发展扩大了免疫组织化学的范围，但也带来了新的问题和挑战。

用于初级诊断和生物标志物评估的数字化免疫组织化学

数字化载玻片在临床中的使用与负责管理各自站点或机构的监管环境有关，世界各地的监管部门在定义和要求上存在差异（Pantanowitz 等, 2013 年；Evans 等, 2018 年；Garcia-Rojo 等, 2019 年；Zhao 等, 2015 年）。例如，数字化病理学在 2017 年首次获得了美国食品药品监督管理局（FDA）的监管批准，可用于外科病理学的初步诊断，这是基于对苏木精-伊红标本显微诊断的非劣势研究（Evans 等, 2018 年）。数字化免疫组织化学载玻片的使用代表了另一种潜在的临床应用，但它并不适用于初级诊断。一般来说，免疫组织化学通过鉴别分化标志物或检测预后或预测性生物标志物来完善或补充诊断（见下文“定性定量分析”部分）。因此，只要达到适当的实验室和检测验证以及质量控制要求，便可使用 FDA 认可的或非 FDA 认可的平台进行免疫组织化学载玻片的数字化分析，例如实验室自建检测。在美国，数字化免疫组织化学测试需要达到 College of American Pathologists（CAP, 美国病理学家协会）的标准，包括对准确性、精确性和可重复性的评估（Evans 等, 2018 年）。数字化病理系统获得了欧盟的体外诊断（例如 *Conformité Européenne* [CE]）认证，使其得以在临床上获得广泛使用，包括免疫组织化学和用于自动评估生物标志物的特定软件（Garcia-Rojo 等, 2019 年）。

定性与定量分析

免疫组织化学载玻片的解释通常是基于光镜下色原反应的定性或半定量的视觉估计，并结合形态学特征进行分析。大多数分化标志物，如角蛋白、甲状腺转录因子 1

(TTF1) 和 p63/p40，需要一个相对简单的二元评估（例如，阳性或阴性）。预测性或伴随性生物标志物，如程序性死亡配体-1 (PD-L1)、间变性淋巴瘤激酶 (*ALK*)、c-ros 癌基因 1 (*ROS1*)、人表皮生长因子受体 2 (*ERBB2*，也称 *HER2*) 或激素受体，都需要更复杂的评估，包括数量和/或染色强度的表达。病理学家评估的主观性提供了许多优势，例如分析的简单性、效率和成本效益。然而，实验室间的一致性和病理学家间的一致性也有局限性。

克服这种局限性的策略包括建立基于专家的标准分析法和评分指南 (Lindeman 等, 2018 年; Wolff 等, 2018 年; Lantuejoul 等, 2019 年; Jain 等, 2019 年; Tsao 等, 2016 年)。定量图像分析 (如果操作正确) 可以产生精确和高度可重复的组织标志物读数 (Aeffner 等, 2019 年)。大多数先进的图像分析工具使用特征提取和机器学习分割算法，以获得基于特定样本区域、细胞或非细胞物体的局部信息。尽管实现跨病例的准确组织分割和事件量化面临许多挑战，但是用于数字化免疫组织化学载玻片评分的多种自动定量分析算法早已建立，并且获得了监管机构 (例如 FDA) 的批准用于评估乳腺癌的生物标志物 (例如雌激素受体 [ER]、孕激素受体 [PR]、*HER2* 和 Ki-67)。据我们所知，目前还没有临床级别的自动免疫组织化学评分设备或算法来检测胸部/气道恶性肿瘤的生物标志物。然而，目前有多种商业和开源软件可用来开展组织生物标志物的定量分析 (例如, Aperio ImageScope、In Form、Halo、QuPath、Cyto-mine、Orbit、ImageJ/SlideJ 和 Visiopharm)。图 4-2 显示了使用组织细胞/组织分割和 2 个不同商业平台的自动细胞计数对非小细胞肺癌进行 PD-L1 定量评分的例子。为了支持进行自动 PD-L1 免疫组织化学评估的可行性，最近有研究在使用了商业仪器或定制软件后报告称，在肺癌标本中，基于病理学的评分具有较高的一致性 (Taylor 等, 2019 年; Althammer 等, 2019 年; Widmaier 等, 2020 年)。

机器学习、人工智能和载玻片解读

通过机器学习策略，我们可以迭代、快速、客观和统计控制的方式分析复杂的数据；以最小的人为干预识别模式；促进不同单位/维度的变量的整合；并利用电脑模拟增强策略提高数据集的价值 (Esteva 等, 2019 年; Bera 等, 2019 年)。机器学习可应用于数字化病理学，以实现组织分割和标志物/细胞计数以外的高级任务，包括识别亚视觉形态测量模式、集成诊断和获得预后/预测结果。具体来说，使用卷积神经网络的深度学习分析在图像表示的模式识别方面显示出了突出的潜力，在目标分类方面达到了人类水平。为此，一种深度学习算法最近被证明能够分析数

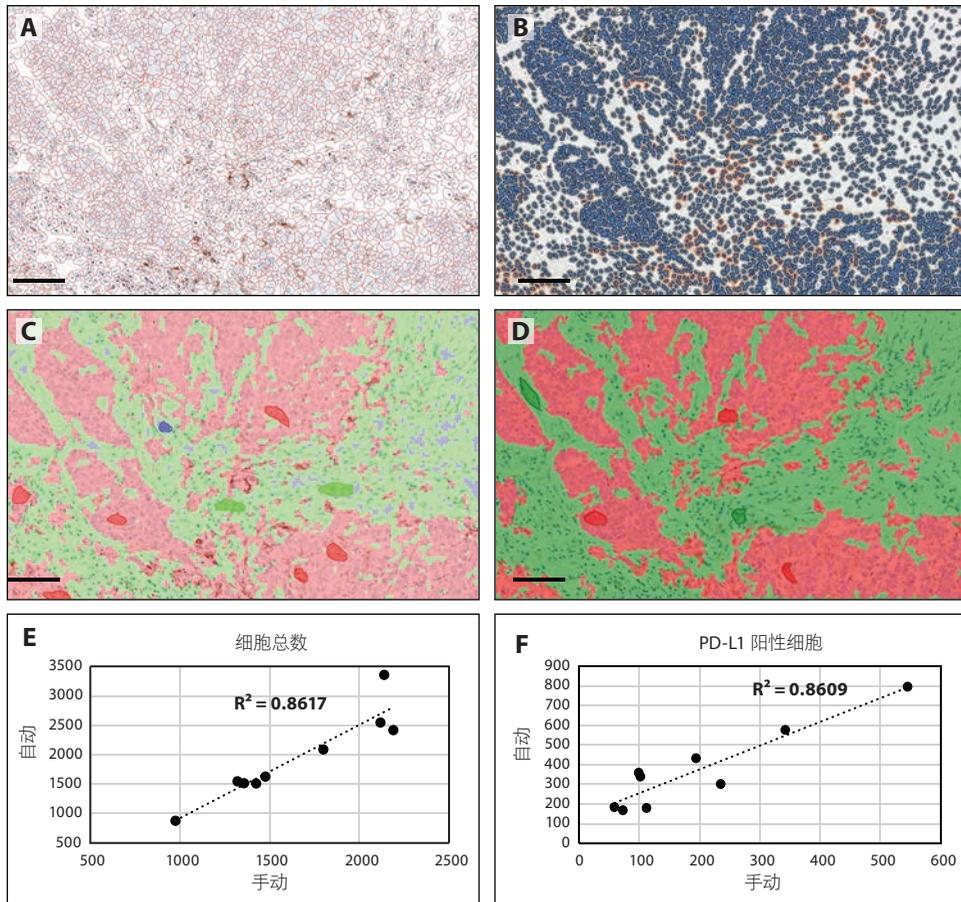


图 4-2. 程序性细胞死亡配体 1 染色的非小细胞肺癌的自动化组织分析 (PD-L1)。(A-C) 用 PD-L1 (克隆 E1L3N) 染色的非小细胞肺癌标本, 提交给 (A) 自动细胞分割或用 InForm 软件 (Akoya Biosciences) 进行 (C) 组织分割。(B-D) 用 PD-L1 染色的非小细胞肺癌标本, 提交给 (B) 自动细胞分割 (D) 或使用 Halo 软件 (Indica Labs) 进行组织分割。在 C 和 D 中, 红色表示肿瘤区, 绿色表示基质区。Bar = 300 μ m。(E-F) 图表显示了使用手工计数或自动图像分析软件 (E) 对标题中的所有细胞或 (F) 对那些 PD-L1 阳性的细胞进行计数的相关性。R² = 线性回归系数。

字化苏木精-伊红染色标本, 准确预测非小细胞肺癌病例的 PD-L1 状态 (Sha, 2019 年)。此外, 生成式对抗网络已被用于肺癌核芯穿刺活检的自动数字化 PD-L1 免疫组织化学评分 (Kapil 等, 2018 年)。建立基于人工智能的数字化载玻片自动诊断 (包括免疫组织化学) 的工作正在进行中, 多家研究此概念的公司已成立 (例如 PathAI、Paige、Protisa 和 SpIntellX 等)。

免疫组织化学中的新兴技术和平台

最近的进展集中在通过同时进行多个靶点的染色/检测来提高免疫组织化学分析的通量。多重免疫荧光已经成为一个主导平台, 因为它可以克服色原免疫组织化学的动态范围限制, 避免了在光镜下准确分离不同比色底物信号这方面的困难 (表 4-2)。此外, 免疫荧光允许使用带通滤波器和光谱分离策略从不同的荧光通道有选择地获取标志物特异性信号, 有利于线性/定量目标测量 (Carvajal-Hausdorf 等, 2015 年)。

表 4-2. 组织分析平台的特性

平台	免疫组织化学	免疫荧光法	质谱成像法
信号生成	吸光率	光发射	质量标签离子流
合适的 FFPE 样本	是	是	是
线性/定量输出	否	是	是
标志物的最佳数量	1-2	1-6	30-35
动态范围	1 log	2.5 logs	4-5 logs
最高分辨率	200 nm	200 nm	1 μ m
信号外溢	+++	++	+
信号放大	~300-3000 tags/ab (HRP-TSA)	~300-3000 tags/ab (HRP-TSA)	~160 atoms/ab
分析通量	<0.5 min/mm ² 组织	0.5-1 min/mm ² 组织	1-2 h/mm ² 组织

缩略词: ab = 抗体; FFPE = 福尔马林固定石蜡包埋; HRP = 辣根过氧化物酶; TSA = 酪胺信号放大。

当前的多重定量免疫荧光方案允许使用商业试剂和/或仪器对不同波长的多达 6 至 7 种标志物进行同时检测和信号量化。自动化多重免疫荧光平台已成功用于对福尔马林固定石蜡包埋的肺癌标本中的肿瘤和免疫相关标志物进行客观和局部测量 (Velcheti 等, 2014 年; Carvajal-Hausdorf 等, 2015 年; Schalper 等, 2015 年)。此外, 多重免疫荧光方案可以同时识别不同的分析物, 包括蛋白质和信使 RNA (mRNA) 转录本。为此, 已在肺癌活检组织中成功检测到肿瘤蛋白标志物和 PD-L1 或 IL-8 (IL-8) mRNA 转录本 (Velcheti 等, 2014 年; Sanmame 等, 2017 年)。图 4-3 显示了同时映射 5 个免疫相关蛋白或 mRNA 靶点的多重荧光面板的代表性图像。最近, 我们将质谱技术和显微镜结合起来, 使用 30 至 40 个 1 μ m 分辨率的靶点 (理论上 > 150 个) 对组织样本进行定量研究 (Giesen 等, 2014 年)。这种技术被称为质谱成像法 (表 4-2), 也被称为元素免疫组织化学法, 使用的是与镧系元素偶联的一抗, 现已投入商用 (Hyperion, Fluidigm Corporation)。使用金属偶联抗体和基于多离子束的电离 (MIBI, IONpath) 等类似技术也有报道, 并正在商业化 (Angelo 等, 2014 年)。预计在不久的将来, 高通量、定量和靶点的空间分辨分析将与先进的计算策略相结合, 这将显著增强病理学家的医疗设备, 进而增强诊断和生物标志物评估。

结论

免疫组织化学技术的最新进展扩大了对抗原表位、浓度 (敏感度) 和各种分子的检测范围。此外, 自动染色机有利于高通量、可靠和可重复的染色, 这些都是临床实

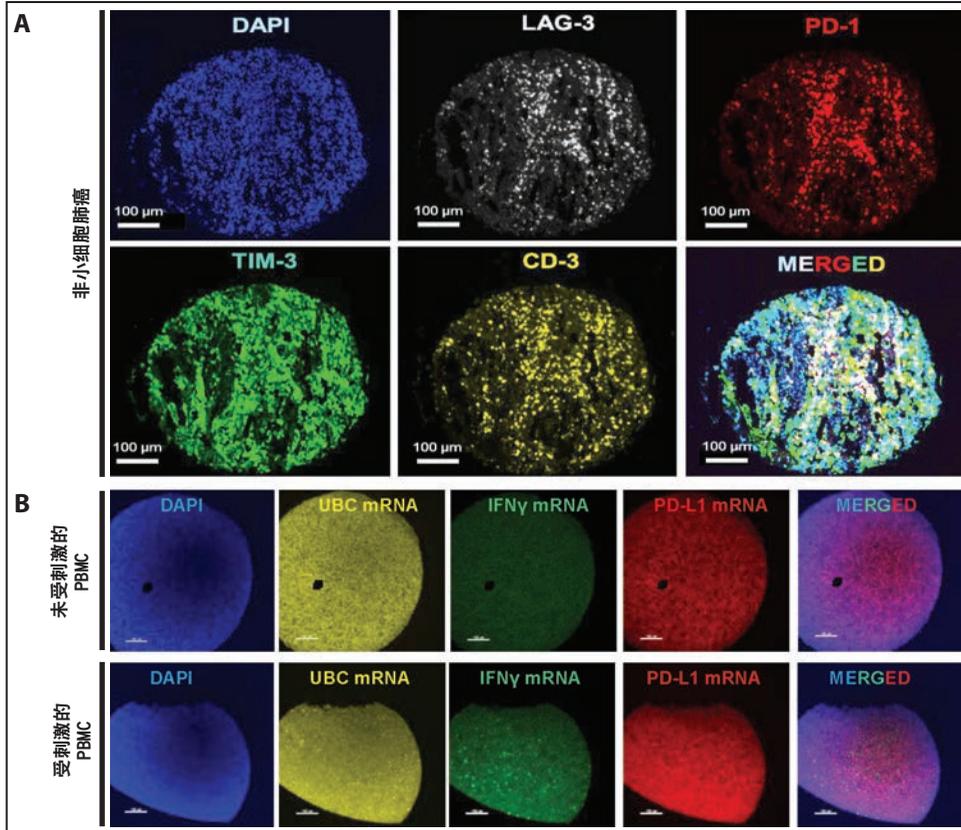


图 4-3. 用免疫荧光法同时检测肺癌中的多个蛋白质或信使 RNA (mRNA) 靶点。(A) 具有代表性的荧光图像显示, 在福尔马林固定石蜡包埋的人类非小细胞肺癌中, 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (DAPI) (所有细胞, 蓝色通道)、CD3 (T 细胞, 黄色通道)、PD-1 (红色通道)、淋巴细胞激活基因 3 (LAG-3) (白色通道) 和粘蛋白结构域包含-3 (TIM-3) 蛋白 (绿色通道) 的表达。(B) 代表性的荧光图像, 显示在福尔马林固定石蜡包埋的标本 (来自未受刺激的人外周血单核细胞 [PBMCs] 或用乙酸苯丙醇-肉豆蔻酯 [PMA] 刺激了 4 个小时的 PBMCs 加离子霉素) 中表达 DAPI (所有细胞, 蓝色通道)、泛素 C (UBC) 信使 RNA (mRNA) (黄色通道)、干扰素 γ (IFN- γ) mRNA (绿色通道) 和 PD-L1 mRNA (红色通道)。Bar = 300 μm 。

践中所需要的。目前, 各种数字成像技术不断涌现, 其中许多技术显示出良好的效果, 这表明免疫组织化学技术正得到进一步发展。

参考文献

- Aeffner F, Zarella MD, Buchbinder N, et al. Introduction to digital image analysis in whole-slide imaging: a white paper from the Digital Pathology Association. *J Pathol Inform.* 2019;10(1):9.
- Althammer S, Tan TH, Spitzmuller A, et al. Automated image analysis of NSCLC biopsies to predict response to anti-PD-L1 therapy. *J Immunother Cancer.* 2019;7(1):121.
- Angelo M, Bendall SC, Finck R, et al. Multiplexed ion beam imaging of human breast tumors. *Nat Med.* 2014;20(4):436-442.
- Bera K, Schalper KA, Rimm DL, et al. Artificial intelligence in digital pathology—new tools for diagnosis and precision oncology. *Nat Rev Clin Oncol.* 2019;16(11):703-715.
- Brigati DJ, Budgeon LR, Unger ER, et al. Immunocytochemistry is automated: development of a robotic workstation based upon the capillary action principle. *J Histotechnol.* 1988;11(3):165-183.
- Carvajal-Hausdorf DE, Schalper KA, Neurmeister VM, et al. Quantitative measurement of cancer tissue biomarkers in the lab and in the clinic. *Lab Invest.* 2015;95(4):385-396.

- De Wiest B, van Hecke D. IHC stainer platforms: overview, pros and cons. NordiQC database. 2017. Accessed January 31, 2020. <https://www.nordiqc.org/downloads/documents/81.pdf>
- Esteva A, Robicquet A, Ramsundar B, et al. A guide to deep learning in healthcare. *Nat Med*. 2019;25(1):24-29.
- Evans AJ, Bauer TW, Bui MM, et al. US Food and Drug Administration approval of whole slide imaging for primary diagnosis: a key milestone is reached and new questions are raised. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(11):1383-1387.
- Garcia-Rojo M, De Mena D, Muriel Cueto P, et al. New European Union regulations related to whole slide image scanners and image analysis software. *J Pathol Inform*. 2019;10:2.
- Giesen C, Wang HA, Schapiro D, et al. Highly multiplexed imaging of tumor tissues with subcellular resolution by mass cytometry. *Nat Methods*. 2014;11(4):417-422.
- Jain D, Nabirajan A, Borczuk A, et al. Immunocytochemistry for predictive biomarker testing in lung cancer cytology. *Cancer Cytopathol*. 2019;127(5):325-339.
- Kapil A, Meier A, Zuraw A, et al. Deep semi supervised generative learning for automated tumor proportion scoring on NSCLC tissue needle biopsies. *Sci Rep*. 2018;8(1):17343.
- Lantuejoul S, Sound-Tsao M, Cooper WA, et al. PD-L1 testing for lung cancer in 2019: perspective from the IASLC pathology committee. *J Thorac Oncol*. 2019;S1556-0864(19)33847-X.
- Lindeman NI, Cagel PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):321-346.
- Liu Y, Pantanowitz L. Digital pathology: review of current opportunities and challenges for oral pathologists. *J Oral Pathol Med*. 2019;48(4):263-269.
- Myers J. A review of automated slide stainers for immunohistochemistry and in situ hybridization. *Med Lab Obs*. 2008;40(1):41-44.
- Nakane PK, Pierce GB Jr. Enzyme-labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. *J Cell Biol*. 1967;33(2):307-318.
- Nakane PK, Pierce GB Jr. Enzyme-labeled antibodies: preparation and application for the localization of antigens. *J Histochem Cytochem*. 1966;14(12):929-931.
- Nitta H, Tsuta K, Yoshida A, et al. New methods for ALK status diagnosis in non-small-cell lung cancer: an improved ALK immunohistochemical assay and a new, brightfield, dual ALK IHC-in situ hybridization assay. *J Thorac Oncol*. 2013;8(8):1019-1031.
- Pantanowitz L, Sinard JH, Hendricks WH, et al. Validating whole slide imaging for diagnostic purposes in pathology: guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(12):1710-1712.
- Prichard JW. Overview of automated immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(12):1578-1582.
- Ramos-Vara JA. Principles and methods of immunohistochemistry. *Methods Mol Biol*. 2017;1641:115-128.
- Sanmamed MF, Perez-Gracia JL, Schalper KA, et al. Changes in serum interleukin-8 (IL-8) levels reflect and predict response to anti-PD-1 treatment in melanoma and non-small-cell lung cancer patients. *Ann Oncol*. 2017;28(8):1988-1995.
- Schalper KA, Brown J, Carvajal-Hausdorf D, et al. Objective measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2015;107(3):dju435.
- Sha L, Osinski BL, Ho IY, et al. Multi-field-of-view deep learning model predicts nonsmall cell lung cancer programmed death-ligand 1 status from whole-slide hematoxylin and eosin images. *J Pathol Inform*. 2019;10:24.
- Taylor CR, Jadhav AP, Gholap A, et al. A multi-institutional study to evaluate automated whole slide scoring of immunohistochemistry for assessment of programmed death ligand 1 (PD-L1) expression in non-small cell lung cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(4):263-269.
- Tsao MS, Hirsch FR, Yatabe Y, eds. *IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer*. 2nd ed. IASLC; 2016.
- Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Lab Invest*. 2014;94(1):107-116.
- Widmaier M, Wiestler T, Walker J, et al. Comparison of continuous measures across diagnostic PD-L1 assays in non-small cell lung cancer using automated image analysis. *Mod Pathol*. 2020;33(3):380-390.
- Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline focused update. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(11):1364-1382.
- Zhao C, Wu T, Ding X, et al. International telepathology consultation: three years of experience between the University of Pittsburgh Medical Center and KingMed Diagnostics in China. *J Pathol Inform*. 2015;6:63.

小标本的免疫组织化学

Lynette M. Sholl 和 Claudia Poleri

简介

据估计，70% 的原发性肺癌是通过小活检和/或细胞学标本进行诊断和分期的。获取肺部肿瘤组织的技术方法包括经胸穿刺活检和/或细针穿刺（FNA）、支气管内或经支气管活检和/或 FNA，以及恶性积液情况下的胸水穿刺（Ofiara 等，2012 年）。细胞学标本的具体原则将在第 12 章中进行更详细的讨论。刚刚描述的小活检来自于微创手术，相对于手术活检，病人的不适感和风险都有所降低。然而，小活检对最佳诊断和下游的生物标志物检测构成了几个潜在的挑战。首先，这些标本的体积较小，可能会造成可评估肿瘤细胞数量和下游分子检测核酸数量不足的挑战。第二，肺部原发部位活检可被良性细胞大量污染，如正常肺实质、支气管上皮或胸膜组织，这对诊断和分子检测敏感性都有影响。第三，小活检经常会出现类似伪影的挤压和组织变形，这是在获取组织的过程中的一个功能。最后，这些标本仅代表整个肿瘤的一小部分，可能无法反映肿瘤异质性的程度。本章重点介绍小活检的处理方法，重点介绍免疫组织化学（IHC）在诊断和治疗预测中的作用，以及在实践中优化该工具的建议。

是否应在所有小活检中进行 IHC?

由于分子谱在选择晚期非小细胞癌（NSCC）患者进行靶向治疗方面的本质，病理学家必须认识到保留肿瘤组织进行生物标志物检测的必要性，同时仍然能够得出最准确和具体的诊断。最初在 2011 年提出的诊断策略构成了目前命名的基础（Travis 等，2011 年，2013 年，2015 年），并强调对疑似 NSCC 的患者明智地使用 IHC（[图 5-1](#)）。

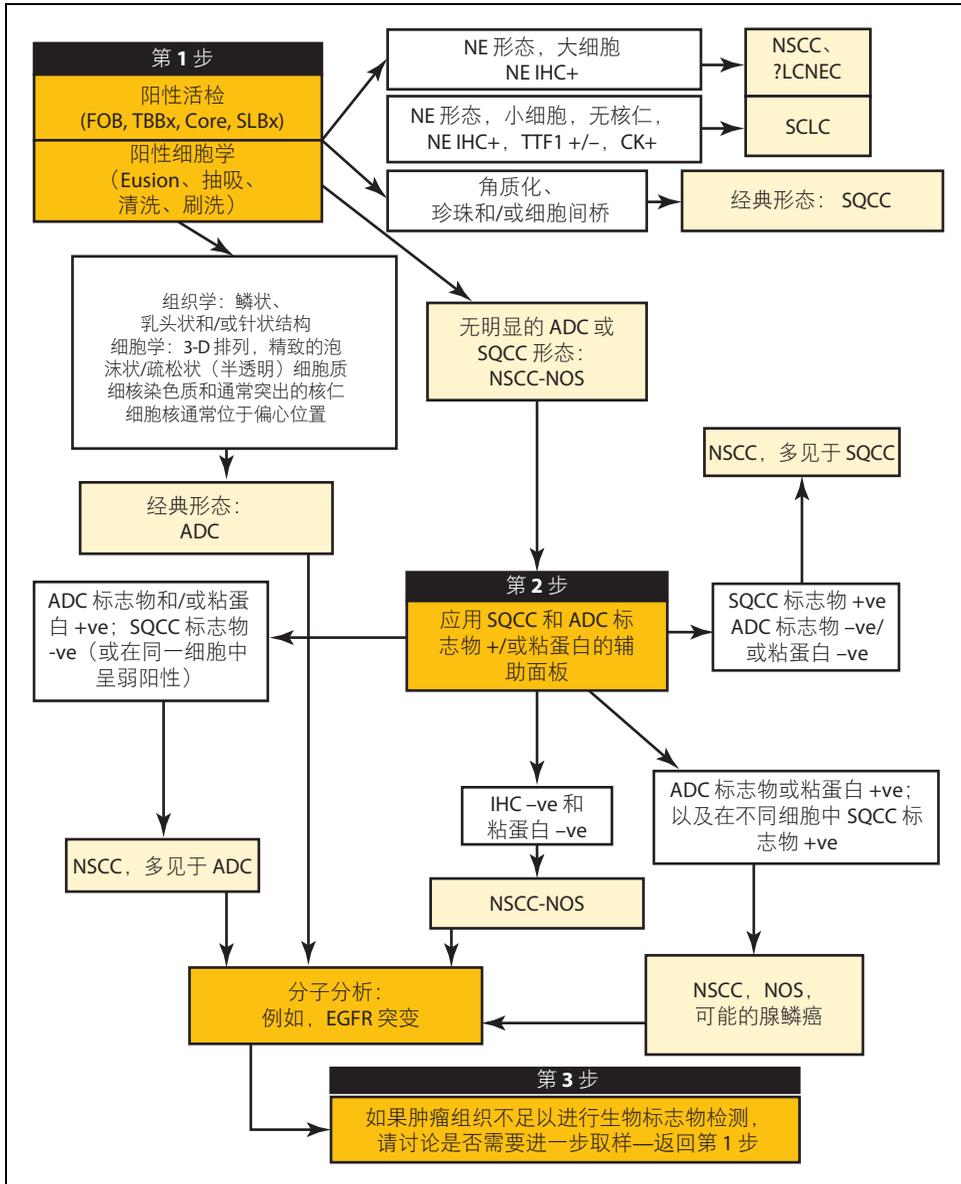


图 5-1. 肺癌小活检和/或细胞学样本的检查算法。不需要对具有腺癌或鳞状细胞癌经典形态的样本进行免疫组织化学 (IHC) 检测。如果有神经内分泌的形态, 可以根据标准对肿瘤进行分类。对于没有明确的腺癌、鳞状细胞癌或神经内分泌 (NE) 形态的病例, 应进行 IHC 检查。ADC = 腺癌; CK = 细胞角蛋白; EGFR = 表皮生长因子受体; FOB = 柔性纤维支气管镜检查; LCNEC = 大细胞神经内分泌癌; NOS = 未另行指定; NSCC = 非小细胞癌; SCLC = 小细胞肺癌; SLBx = 外科肺活检; SQCC = 鳞状细胞癌; TBBx = 经支气管活检; TTF1 = 甲状腺转录因子 1。(改编自 Travis 等, 2011 年)

简要回答

简而言之, 病理学家的形态学印象应驱动最初的诊断方法: 如果活检显示鳞状细胞癌 (即角化型) 或腺癌 (即腺体形成) 的明确形态学分化, 则鼓励病理学家做出相

应的诊断，而不是强制应用确认性 IHC。当然，这是假设临床背景支持原发性肺癌的诊断，并适时考虑了潜在的模拟（转移性疾病，间皮瘤）。

何时应进行 IHC 对 NSCC 进行分类？

对于低分化癌（没有腺癌或鳞状细胞癌的形态学证据）的活检，很难做出可靠的形态学诊断。在这种情况下，如未另行指定（NOS），假设至少在形态学上排除了小细胞癌，那么病理学家就只能诊断为 NSCC。在这一点上，应该利用 IHC 来确定组织更可能代表腺癌还是鳞状细胞癌（或其他）。此时，使用 IHC 与 NSCC-NOS 的诊断频率大大降低有关（Loo 等，2010 年；Nicholson 等，2010 年；Mukhopadhyay 和 Katzenstein，2011 年；Zhao 等，2014 年），并为治疗的临床医生在选择治疗和/或要求预测性生物标志物测试时提供更大的信心。

简要回答

对于低分化癌（通常为实体生长型）应进行 IHC 检查。此模式见于腺癌和非角化性鳞状细胞癌。

对 NSCC 进行分类的最佳首选标志是什么？

选择某些抗体和克隆的基本原理在本图谱的其他部分有详细介绍。简而言之，NSCC 诊断的最佳一线 IHC 组合只包括甲状腺转录因子 1 (TTF1) 和 p40 (Travis 等，2013 年；Yatabe 等，2019 年)。表 5-1 提供了根据阳性程度对这些染色进行解释的指南。图 5-2 和图 5-3 展示了通过 IHC 进一步表征的形态上未分化的肿瘤的示例。

简要回答

p40 和 TTF1 的组合对将 NSCC 分为腺癌和鳞状细胞癌具有最佳的敏感性和特异性。

还有哪些肿瘤标志物有助于 NSCC 的分类？

天冬氨酸蛋白酶 A 在识别腺癌方面与 TTF1 相对应 (Tran 等，2016 年)，作为细胞质标志物，它可以与核染色剂 p40 复用，因此 IHC 分析只需要一张载玻片 (Nishino

表 5-1. 非小细胞癌 (NSCC) 的初步诊断免疫组织化学组合 (NSCC) 诊断。
在小活检或细胞学标本上

TTF1	p40	诊断	评论
+ ^a 到 +++	或 +	NSCC，多见于腺癌	当同一细胞群染色时
	>50% 时为 +	NSCC：多见于鳞状细胞癌	
	10% 至 <50% 时为 +	NSCC、NOS	
+ ^a 到 ++	任何范围	NSCC、NOS，可能的腺鳞癌	当单独的细胞群染色时

缩略词：NOS = 没有特别说明；TTF1 = 甲状腺转录因子 1。

^a 局灶性肿瘤细胞染色。

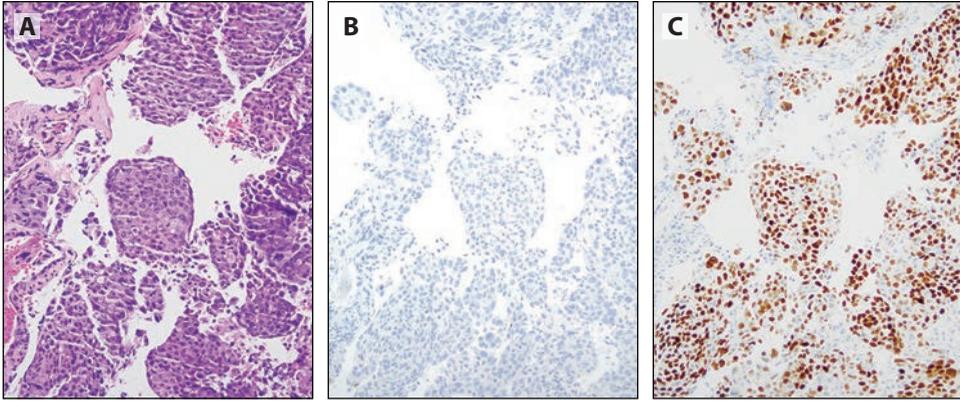


图 5-2. 非小细胞癌 (NSCC), 多见于腺癌。(A) 常规 H&E 切片上可见低分化癌, 实体生长, 无腺体、鳞状或神经内分泌分化的形态学证据。癌细胞为 (B) p40 阴性, (C) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 弥漫性阳性。

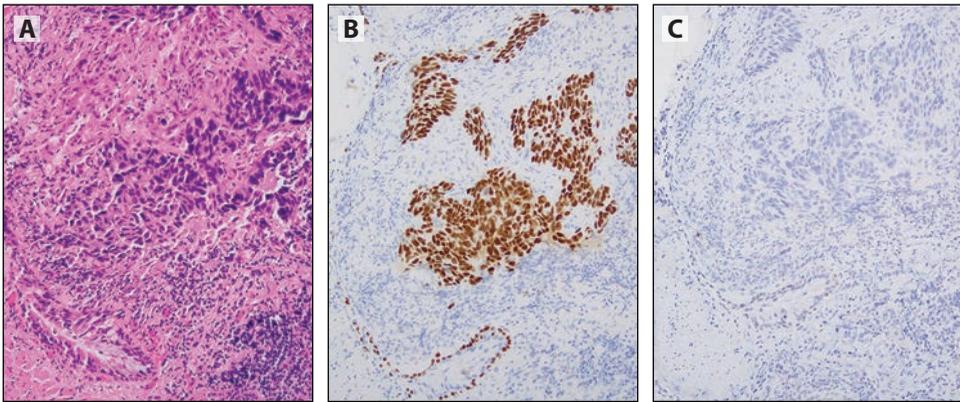


图 5-3. 非小细胞癌 (NSCC), 多见于鳞状细胞癌。(A) 在常规 H&E 切片上可见低分化癌, 实体生长, 广泛坏死。癌细胞为 (B) p40 弥漫性阳性, (C) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 阴性。

等, 2016 年)。然而, 由于解释天冬氨酸蛋白酶 A 染色的挑战, 一般不推荐一线使用 (Yatabe 等, 2019 年)。如果 TTF1 和 p40 染色缺少信息或信息不明确, 有限的二线 IHC 标志物组合, 包括天冬氨酸蛋白酶 A、细胞角蛋白 5/6 (CK5/6), 偶尔可以为诊断提供信息 (Travis 等, 2015 年)。细胞角蛋白 7 是肺腺癌和肺部鳞状细胞癌的不良鉴别因素。不建议用于此目的 (Yatabe 等, 2019 年)。对 NSCC-NOS 应考虑分子研究, 因为不能排除腺癌的诊断。对于 NSCC-NOS, 空型, 没有显示 TTF1 或 p40 染色的, 应加入泛角蛋白染色。

简要回答

天冬氨酸蛋白酶 A 和 CK5/6 可能改善一些 NSCC-NOS 的分类。对于 TTF1、p40、CK5/6 和天冬氨酸蛋白酶 A 为阴性的低分化癌, 应加入泛角蛋白。

神经内分泌肿瘤的最佳标志物是什么？

神经内分泌肿瘤，特别是类癌家族肿瘤和小细胞癌，通常来自中央气道，可采用支气管内或经支气管活检方法。肿瘤细胞非常脆弱，在取样过程中容易被人为挤压。此外，小细胞癌、类癌、良性结构（如淋巴组织）和其他小而圆的蓝色细胞肿瘤（基底样鳞状癌、淋巴瘤、肉瘤）的形态可能显示出很大程度的重叠。因此，当出现这种差异时，IHC 通常是确定诊断的关键。本图谱后面将详细介绍相关标志的详细信息。这里介绍了一些基本注意事项。

如果细胞类似淋巴细胞，并且怀疑是支气管相关淋巴组织（BALT），仅用白细胞共同抗原染色就足以确认这一诊断（图 5-4）。BALT 组织在成人肺中很常见，在气道分支点可能很突出（Churg 等，2005 年）。

角蛋白染色可以用来确认上皮性肿瘤的诊断；然而，小细胞癌可能很少是阴性的，或者只是局灶性阳性。神经内分泌标志物染色包括突触素、嗜铬粒蛋白、CD56 和/或胰岛素瘤相关蛋白 1 (INSM1) 可用于确认神经内分泌分化，但在高达 10% 的病例中呈阴性（Travis 等，2015 年）（图 5-5）。

类癌缺乏小细胞癌所特有的恶性特征（非典型性、频繁的有丝分裂、片状坏死）。在有限且保存不良的样本上，Ki-67 IHC 或许可以证实类癌的增殖率很低，或者在小细胞癌中增殖率很高（神经内分泌标志物，参见第 10 章）。

与其他肺癌不同，小细胞癌在形态上类似于基底样鳞状细胞癌；p40 阳性表达将支持后者的诊断。

简要回答

应增加一组神经内分泌标志物（嗜铬素、突触素、CD56 和/或 INSM1）以确认神经内分泌表型。此外，增殖标志物有助于具有明显挤压伪影的小活检。泛角蛋白标志

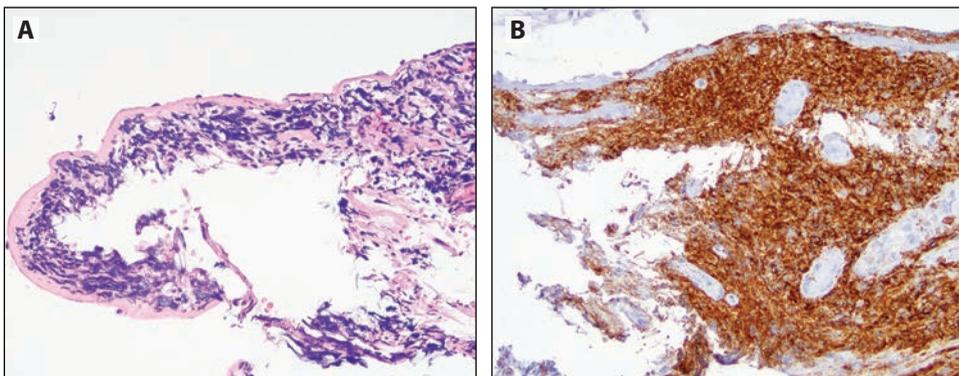


图 5-4. (A) 小的粉碎和剥落的气道活检，常规 H&E 检查发现有保存不良的小蓝细胞。(B) 白细胞共同抗原 (LCA)-CD45 的弥漫染色证实了支气管相关淋巴组织 (BALT) 的形态学印记。

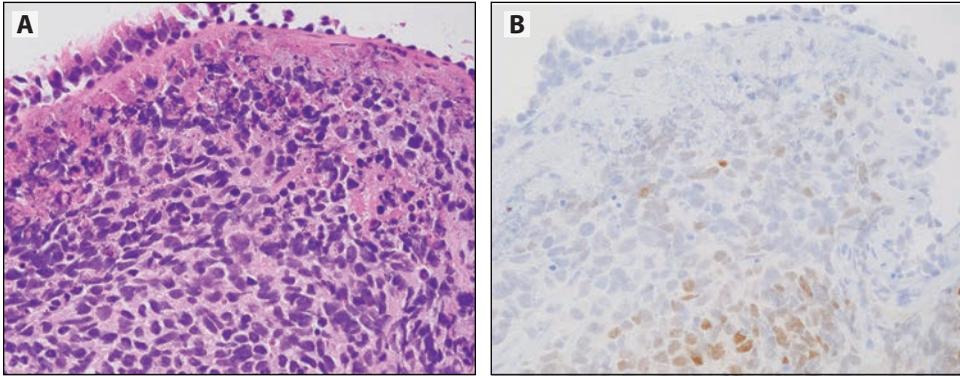


图 5-5. (A) H&E 检查发现支气管活检包含小细胞癌。(B) 胰岛素瘤相关蛋白 1 (INSM1) 多灶性阳性核染色。

物可以区分神经内分泌肿瘤和淋巴瘤。加入 p40 可以避免将基底样鳞状细胞癌和高级别神经内分泌癌相混淆的陷阱。

小活检有哪些具有挑战性的诊断场景？

与小活检相关的伪影（包括细胞保存不良、压碎伪影和扭曲）既可能混淆对良性结构的解释，也可能掩盖肿瘤细胞的形态特征。在某些情况下，IHC 可能有助于突显良性或恶性细胞群。在其他情况下，病理学家必须完全依靠形态学线索和背景。在支气管内活检中区分保存不良的粘膜下腺或反应性内皮细胞和浸润性腺癌是一项挑战。TTF1 染色会突显浸润性腺癌，但当使用高特异性克隆 (8G7G3/1) 时，良性气道壁成分应为阴性（图 5-6）。

相反，病理学家不应过度解读包裹的或相邻的 TTF1 阳性反应性肺细胞作为腺癌诊断的指示物（图 5-7）。仔细交叉参照连续切片中的苏木精伊红 (H&E) 染色可确保评估适当人群的免疫反应性。

简要回答

仔细将组织学和免疫组化染色联系起来是必要的，以避免活检伪影对后者的误解。

应如何处理活检标本以优化预测性生物标志物检测结果？

分子检测的准确性在很大程度上取决于接受检测的标本的质量。样本质量，例如蛋白质和核酸的保存和数量，既取决于肿瘤的固定属性（大小、浸润性质、炎症浸润程度、肿瘤坏死等），也取决于更可控的变量，如活检套件和病理实验室的样本处理。许多关键的分析前变量在本图谱的其他部分进行了讨论；活检相对独特，因为它们具有微妙的性质，需要快速固定以防止样品干燥和降解。骨活检通常需要在酸

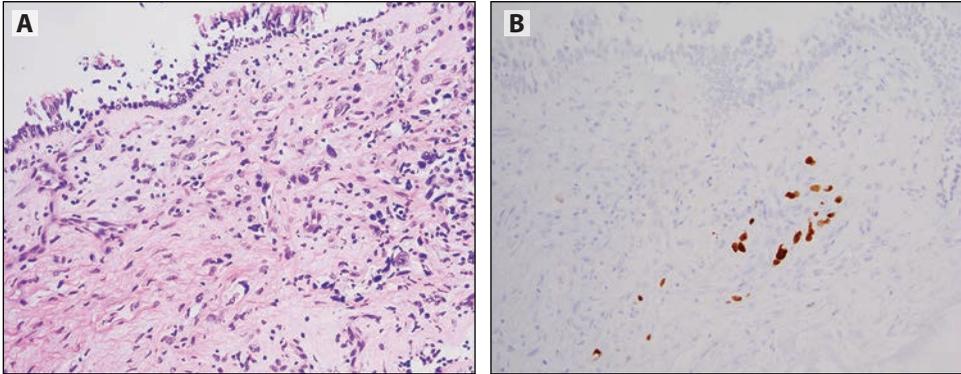


图 5-6. (A) 气道壁罕见高度非典型细胞混合慢性炎症；(B) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 染色剂突显了浸润的肿瘤细胞。

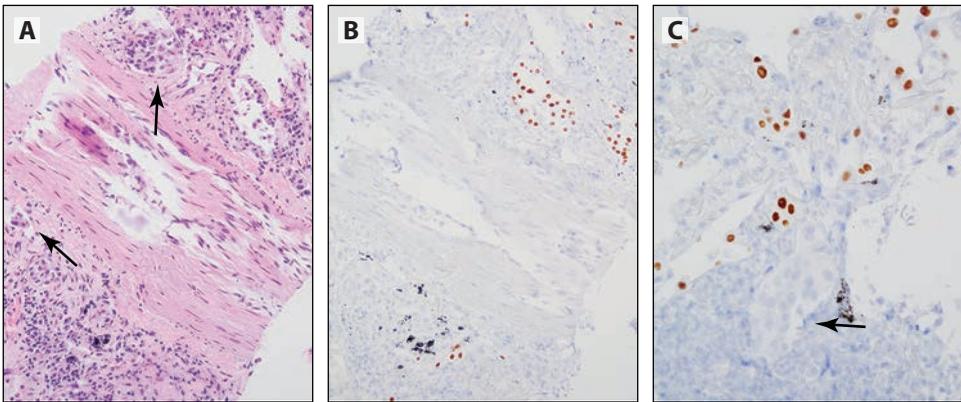


图 5-7. (A) 非小细胞肺癌，未另行指定，广泛存在于淋巴管内（箭头）；(B) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 突显相邻的反应性肺细胞。(C) 注意淋巴管内的阴性细胞（箭头）（在 A 组合的 $\times 400$ 放大镜下最明显）。突显泛角蛋白的肿瘤细胞染色（未显示）。

性或螯合溶液中进行脱钙步骤，然后才能在组织学实验室进行常规载玻片处理。酸溶液（盐酸、甲酸）会降解蛋白质和核酸，并会通过 IHC、聚合酶链式反应 (PCR) 和基于测序的分子测试严重削弱反应性 (Lindeman 等, 2013 年; Maclary 等, 2017 年)。螯合溶液，如含有乙二胺四乙酸 (EDTA) 的溶液，对于小活检组织的脱钙相对有效，可以更好地保存蛋白质的抗原性和核酸完整性，对 IHC 和分子研究的负面影响较小 (Schrijver 等, 2016 年)。

在疑似非小细胞肺癌的准备工作中，最重要的是病理学家要考虑后续预测生物标志物检测的潜在需要，包括程序性死亡配体-1 (PD-L1) IHC、间变性淋巴瘤激酶 (ALK)、c-ros 癌基因 1 (ROS1) 荧光原位杂交 (FISH) 或 IHC，以及表皮生长因子受体 (EGFR) 和 B-raf 原癌基因 (*BRAF*) 序列变异的分子分析，以及一系列其他潜在的治疗

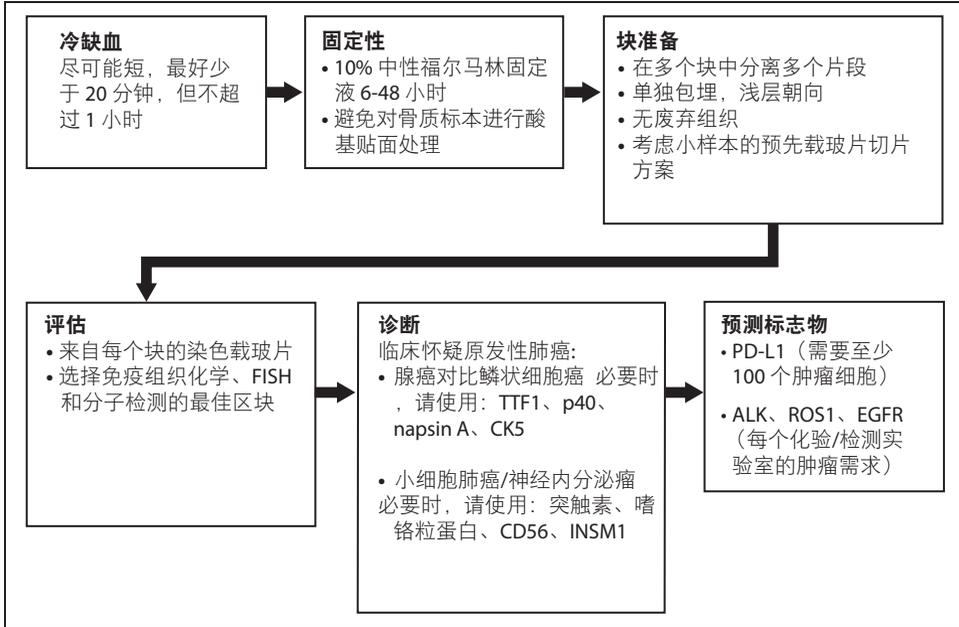


图 5-8. 小活检制备建议的实验室流程概述。ALK = 间变性淋巴瘤激酶；CK5 = 细胞角蛋白 5；EGFR = 表皮生长因子受体；FISH = 荧光原位杂交；INSM1 = 胰岛素瘤相关蛋白 1；PD-L1 = 程序性死亡配体 1；ROS1 = c-ros 致癌基因 1 蛋白；TTF1 = 甲状腺转录因子 1。

目标（Lindeman 等，2018 年）。因此，正确使用诊断性 IHC 至关重要。实验室的工作流程应适应于管理可能需要大量和多样化的临床测试的小标本（图 5-8）。

一些实验室主张建立“分子优先”的活检方案（Aisner 等，2016 年），该方案会将样本标记为在组织学实验室中进行专门处理，包括单个活检片段的单独包埋和表面处理，以及预先的载玻片切割方案，以确保有足够的未染色载玻片可用于诊断和预测性 IHC 以及分子和/或细胞遗传学测试。来自新鲜核心活检的触摸印记或涂片也可用于分子分析（Roh，2019 年）。由于这种方法更加费时费力，病理学实验室必须与获得这些活检的临床医生合作，以确保在收到标本时明确基因组检测的适应症和潜在需求。

最低的预测性生物标志物测试要求因靶点和有关的检测方法而异。PD-L1 pharmDx IHC 检测的配套诊断标签需要至少 100 个肿瘤细胞；在肿瘤细胞少于 100 个的标本中，PD-L1 肿瘤比例得分可能会被低估（Gagne 等，2019 年）。ALK FISH 检测（Abbott/Vysis）需要 50 个肿瘤细胞核。然而，ALK IHC 不需要最低数量的肿瘤核；ROS1 IHC 也是如此，它可以作为 ROS1 融合检测的筛选工具。越来越多的分子方法，如基于 DNA 和 RNA 的下一代测序分析，即使在有大量良性细胞污染的小样本中也能检测到融合事件。基于 RNA 的融合检测（包括针对 ALK、ROS1、ret 原癌基因 [RET]、神经营养性酪氨酸受体激酶 [NTRK1-3]）可能在有限的样本中是一

种特别强大的工具，因为它被优化为检测表达的转录，它可能在肿瘤细胞中以非常高的水平存在，因此即使在次优标本中也能检测到（Davies 等，2018 年；Benayed 等，2019 年）。

简要回答

小型活检在患者管理中发挥着关键作用。因此，每个实验室应制定详细的组织利用方案，以确定预测性标志物。了解每种生物标志物的局限性、陷阱和要求是建立有效工作流程的首要条件。

结论

免疫组织化学染色是对低分化癌进行分类的有力工具，特别是在活检标本中，程序性伪影和采样可能会成为问题。

病理学家应采用推荐的组合和算法，对预测标志物进行分类和确定，以提高小活检材料的利用率，从而实现准确的诊断以及确定预测性生物标志物。

参考文献

- Aisner DL, Rumery MD, Merrick DT, et al. Do more with less: tips and techniques for maximizing small biopsy and cytology specimens for molecular and ancillary testing: the University of Colorado experience. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140(11):1206-1220.
- Benayed R, Offin M, Mullaney K, et al. High yield of RNA sequencing for targetable kinase fusions in lung adenocarcinomas with no mitogenic driver alteration detected by DNA sequencing and low tumor mutation burden. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4712-4722.
- Churg AM, Myers JL, Tazelaar HD, et al. *Thurlbeck's Pathology of the Lung*. 3rd ed. Thieme; 2005.
- Davies KD, Le AT, Sheren J, et al. Comparison of molecular testing modalities for detection of ROS1 rearrangements in a cohort of positive patient samples. *J Thorac Oncol*. 2018;13(10):1474-1482.
- Gagne A, Wang E, Bastien N, et al. Impact of specimen characteristics on PD-L1 testing in non-small cell lung cancer: validation of the IASLC PD-L1 testing recommendations. *J Thorac Oncol*. 2019;14(12):2062-2070.
- Lindeman NI, Cagel PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):321-346.
- Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2013;8(7):823-859.
- Loo PS, Thomas SC, Nicolson MC, et al. Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchial biopsy specimens. *J Thorac Oncol*. 2010;5(4):442-447.
- Maclary SC, Mohanty SK, Bose S, et al. Effect of hydrochloric acid decalcification on expression pattern of prognostic markers in invasive breast carcinomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(2):144-149.
- Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphological differentiation on biopsy specimens: utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(1):15-25.
- Nicholson AG, Gonzalez D, Shah P, et al. Refining the diagnosis and EGFR status of non-small cell lung carcinoma in biopsy and cytologic material, using a panel of mucin staining, TTF-1, cytokeratin 5/6, and P63, and EGFR mutation analysis. *J Thorac Oncol*. 2010;5(4):436-441.
- Nishino M, Hoang MP, Della Pelle P, et al. Napsin A/p40 antibody cocktail for subtyping non-small cell lung carcinoma on cytology and small biopsy specimens. *Cancer Cytopathol*. 2016;124(7):472-484.
- Ofiara LM, Navasakulpong A, Ezer N, et al. The importance of a satisfactory biopsy for the diagnosis of lung cancer in the era of personalized treatment. *Curr Oncol*. 2012;19(suppl 1):S16-23.
- Roh MH. The utilization of cytologic and small biopsy samples for ancillary molecular testing. *Mod Pathol*. 2019;32(suppl 1):77-85.

Schrijver WA, van der Groep P, Hoefnagel LD, et al. Influence of decalcification procedures on immunohistochemistry and molecular pathology in breast cancer. *Mod Pathol*. 2016;29(12):1460-1470.

Tran L, Mattsson JS, Nodin B, et al. Various antibody clones of napsin A, thyroid transcription factor 1, and p40 and comparisons with cytokeratin 5 and p63 in histopathological diagnostics of non-small cell lung carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016;24(9):648-659.

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. *WHO Classification of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015.

Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2011 International Association for the

Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(5):668-684.

Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2011;6(2):244-285.

Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.

Zhao W, Wang H, Peng Y, et al. Δ Np63, CK5/6, TTF-1 and napsin A, a reliable panel to subtype non-small cell lung cancer in biopsy specimens. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(7):4247-4253.

已切除的主要肺癌分类中的免疫标志物

6

Sabina Berezowska, Andrew G. Nicholson, William D. Travis,
Alain C. Borczuk 和 Ming Sound Tsao

简介

在大约 60% 的活检 (Nicholson 等, 2010 年; Loo 等, 2010 年) 和 80% 的切除术中, 存在确定的形态学模式和特征就足以诊断为主要类型的非小细胞癌 (NSCC)。对于腺癌来说, 这些模式是表皮型、尖锐型、乳头型、微乳头型、筛型结构, 和/或粘蛋白的产生和标志环形态等特征 (Travis 等, 2011 年)。对于鳞状细胞癌, 这些是角质化和具有细胞间桥的鳞状珍珠形成。如果缺乏这些特征, 且粘蛋白染色呈阴性, 则应采用免疫组织化学染色, 以便对 NSCC 进行进一步分型。这种根据免疫组织化学表达谱对形态未分化的肿瘤进行分型的概念在 2015 年世界卫生组织 (WHO) 的分类中获得了推荐 (Travis 等, 2015 年)。在小型活检和细胞学标本中, 用于诊断或预测性标志物检测的染色剂数量应保持在最低水平, 以尽可能多地保留用于分子分析的组织 (如第 5 章所讨论), 在切除术中, 应限制在准确分类所需的最低限度。

日常实践中区分腺癌和鳞状细胞癌的最佳标志物组合是什么?

在形态上未分化的切除的非小细胞癌中, 没有神经内分泌形态 (图 6-1A 和 B), 区分腺癌和鳞状细胞癌的最有用和经常足够的面板由甲状腺转录因子 1 (TTF1; clone 8G7G3/1) 和 p40 (Yatabe 等, 2019 年)。排除转移性疾病的问题, TTF1 的表达将肿瘤的特征定为肺腺癌, 而不是其他主要的非鳞状细胞癌类别 (图 6-1C 和 D)。TTF1 是一种核标志物, 在 75% 到 80% 以上的非粘液原发性肺腺癌中表达, 它取决于克隆, 克隆 8G7G3/1 的特异性比克隆 SPT24 高, 但敏感性较低 (Ordenez, 2012

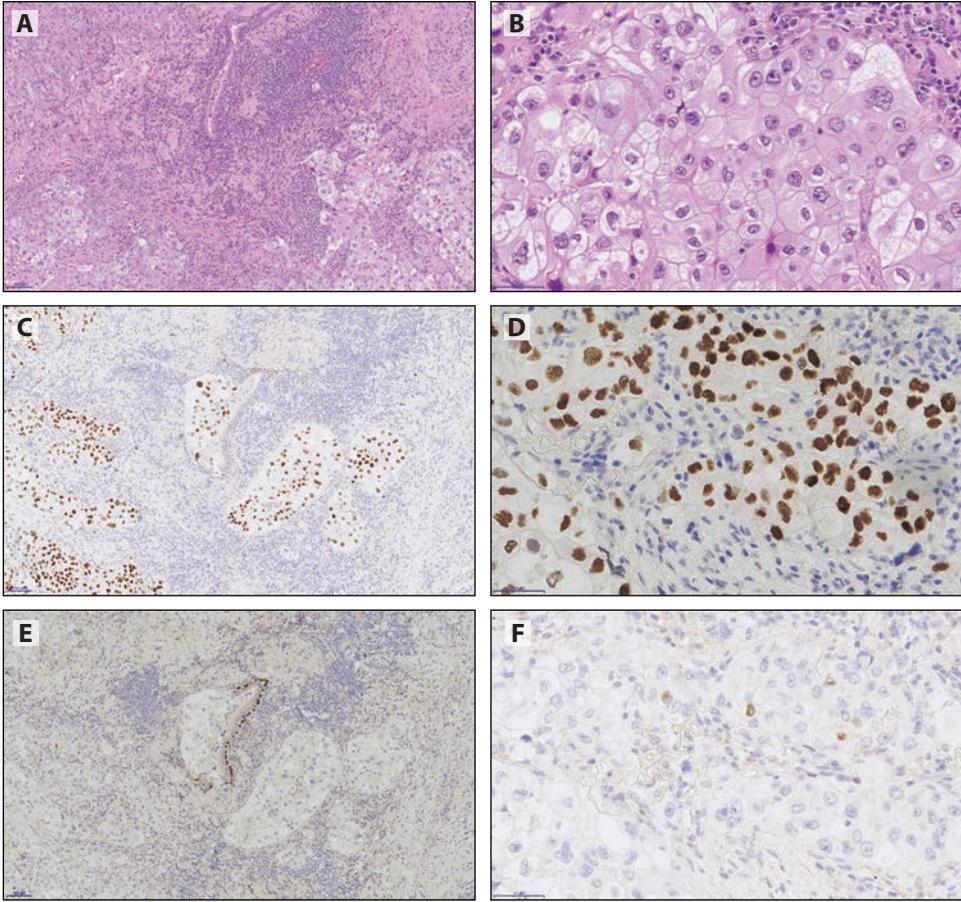


图 6-1. 利用甲状腺转录因子 1 (TTF1) 和 p40 对切除的肺癌中的低分化癌细胞进行分类。这种固体模式的腺癌用 TTF1 而不是 p40 染色。TTF1 阳性的肿瘤中 p40 染色较弱, 并不表示腺鳞癌组织学: (A, C, E) $\times 10$, (B, D, F) $\times 40$, (A 和 B) H&E, (C 和 D) TTF1-8G7G3/1, 和 (E 和 F) p40。

年; Kadota 等, 2015 年; Kashima 等, 2014 年)。局灶性 TTF1 (克隆 8G7G3/1) 阳性足以判定肿瘤 TTF1 阳性, 且反应性可能较弱。(TTF1 将在第 7 章详细讨论。) p40 (ΔN_{p63}) 是鳞状细胞分化的核标志。在 TTF1 阳性的肿瘤中可以观察到局灶性或弱阳性的 p40, 这些病例仍应归类为腺癌。

天冬氨酸蛋白酶 A 可能是诊断原发性肺肿瘤 TTF1 阴性病例中腺癌的一个有价值的标志物, 因为鳞状细胞癌一直被报道为天冬氨酸蛋白酶 A 阴性 (Kadota 等, 2015 年; Whithaus 等, 2012 年)。天冬氨酸蛋白酶 A (单克隆) 显示为颗粒状的细胞质形态 (图 6-2)。它在 II 型肺细胞、肺泡巨噬细胞、肾小管、外分泌腺体和胰腺导管中表达。单克隆抗体比多克隆抗体更受欢迎, 因为它的特异性更高 (Mukhopadhyay 和 Katzenstein, 2012 年)。然而, 如果 TTF1 呈阳性, 则不建议使用它, 因为大多数肺腺癌会同时表达 TTF1 和天冬氨酸蛋白酶 A。

在形态上未分化的非小细胞癌的另一肿瘤细胞中 TTF1 和 p40 共同表达的情况下, 即使是 TTF1 弱阳性也足以将肿瘤分型为腺癌。

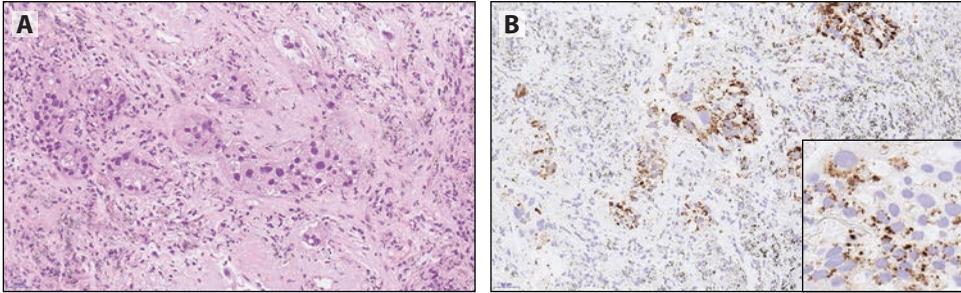


图 6-2. 天冬氨酸蛋白酶 A 可能是诊断甲状腺转录因子 1 (TTF1) 阴性的原发性肺部肿瘤病例中腺癌的一个有价值的标志物。天冬氨酸蛋白酶 A (单克隆) 显示颗粒状、细胞质模式 (插入 × 40)。× 20 (A) H&E 和 (B) 天冬氨酸蛋白酶 A。

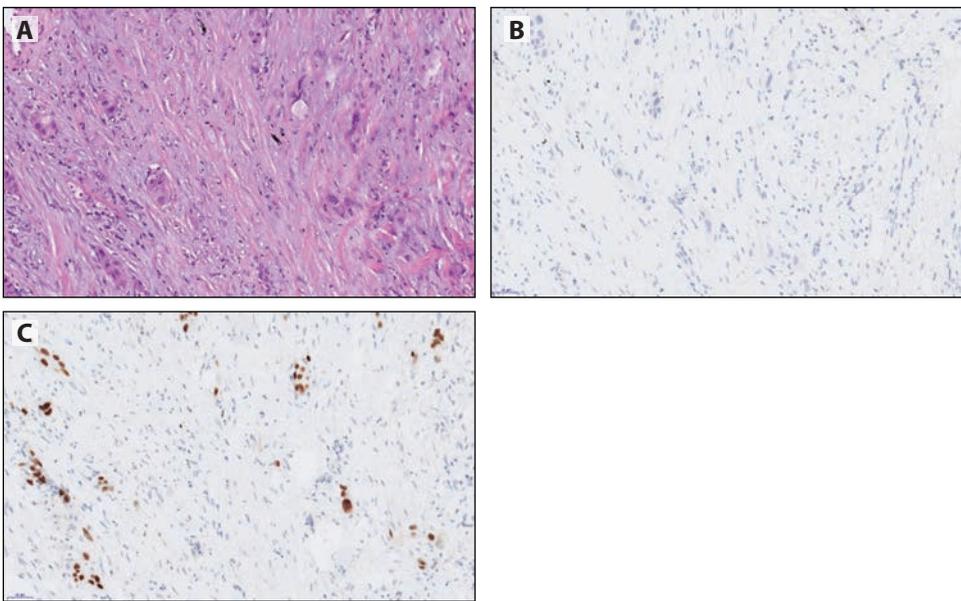


图 6-3. 没有 (A) 角质化或 (B) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 表达的高度浸润的、形态上未分化的肿瘤，如果它们显示出强烈的 p40 阳性，如图所示，则可被分型为鳞状细胞癌。× 20 (A) H&E, (B) TTF1, 和 (C) p40。

鳞状细胞癌在 50% 以上的肿瘤细胞中强烈表达 p40，而且必须是 TTF1 阴性 (图 6-3)。p63 显示出与 p40 相似的敏感性，但特异性较差 (Bishop 等，2012 年)，如果有 p40，则不应该使用。细胞角蛋白 5/6 (CK5/6) 也可作为鳞状分化的额外标志物，但单独使用时不能区分腺癌和鳞状细胞癌 (Righi 等，2011 年; Rekhtman 等，2011 年; Warth 等，2012 年)。

棘皮鳞状细胞癌可能会与腺癌混淆，在某些情况下可能会与上皮性血管肉瘤混淆。在这些病例中，TTF1 和 p40 的组合对确认鳞状细胞癌非常有用 (图 6-4)，如果两者都是阴性，则需要扩大检查范围。

由于其特异性低，细胞角蛋白 7 (CK7) 阳性不应被用来区分腺癌和鳞状分化 (图 6-5)。尽管 CK7 在 91% 至 100% 的肺腺癌中呈阳性，但鳞状细胞癌可能表现出

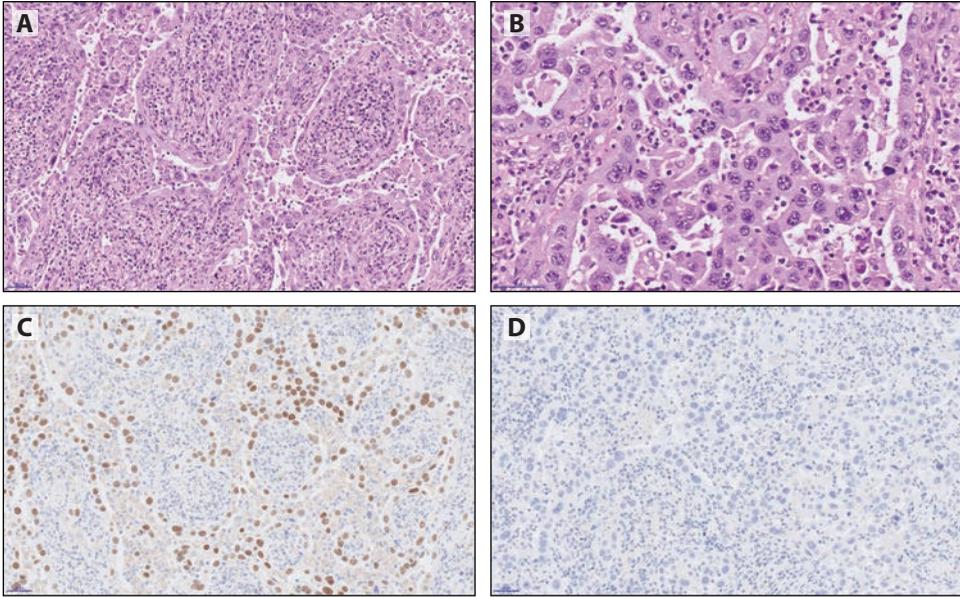


图 6-4. 由于治疗结果，在不确定的情况下，应用免疫组织化学验证非小细胞癌 (NSCC) 亚型的门槛应该很低。(A 和 B) 该肿瘤的皮肤棘层松解生长模式指向了腺癌。然而，免疫组织化学表达模式具有强烈的 (C) p40 阳性和 (D) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 阴性，证实是鳞状细胞癌。(A、C 和 D) $\times 20$ ，(B) $\times 40$ ；(A 和 B) H&E，(C) p40 和 (D) TTF1。

强烈和弥漫性的 CK7 阳性，据报道占 5% 至 77% 的病例 (Warth 等, 2012 年; Mukhopadhyay 和 Katzenstein, 2012 年; Johansson, 2004 年; Noh 和 Shim, 2012 年; Righi 等, 2011 年; Koh 等, 2014 年; Gurda 等, 2015 年)。关于细胞角蛋白用途的深入讨论见第 9 章。

并非所有具有鳞状分化的原发性肺癌，如 p40 强烈表达或角质化都代表鳞状细胞癌。一些形态上未分化的肿瘤有很强的 p40 表达，可能代表了睾丸核蛋白 (NUT) 癌 (Haack 等, 2009 年)。角质化的典型病灶可能只出现在切除标本中 (图 6-6) (见第 14 章)。肺内胸腺瘤也可表现为弥漫性强 p40 表达。

在形态上未分化的肿瘤中，小于 10% 的肿瘤中的局灶性 p40 或弱免疫反应性不应被解释为鳞状分化。在这种情况下，应归类为具有不确定免疫组化特征的大细胞癌，而不是非角化性鳞状细胞癌。

简要回答

在日常实践中，TTF1 和 p40 足以对大多数非小细胞癌进行分型，而不需要定义形态学特征或神经内分泌形态学。当怀疑有转移或更罕见的变异时，可以扩展该小组。

免疫标志物在腺鳞癌诊断中的作用是什么？

腺鳞癌的诊断需要切除标本中每个成分的至少 10%。与组织形态学诊断的腺癌和鳞状细胞癌一样，在由形态学上明确的鳞状细胞癌和腺癌成分组成的腺鳞癌病例中，

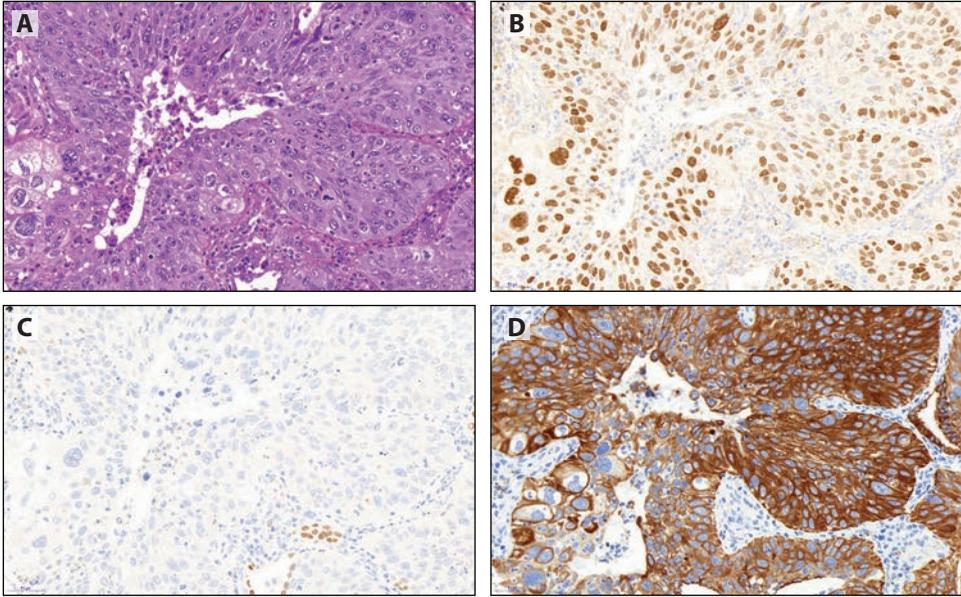


图6-5.非角化性鳞状细胞癌，有(B)p40表达，(C)没有甲状腺转录因子1(TTF1)，(D)强而均匀的细胞角蛋白7(CK7)表达。利用额外的免疫标志物和病史，排除了尿道癌的转移。(A-D)×30；(A) H&E，(B) p40，(C) TTF1 和 (D) CK7。

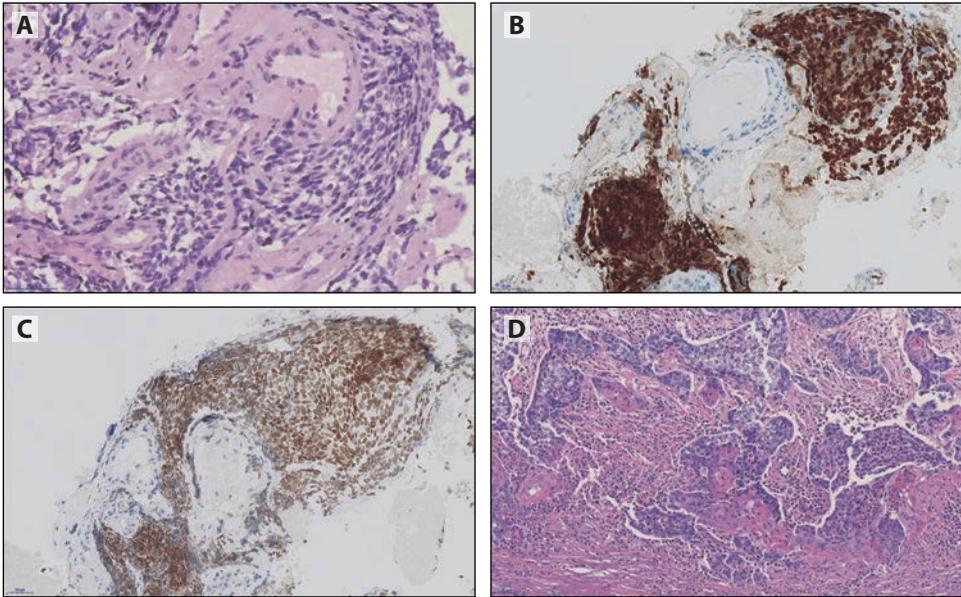


图6-6.睾丸核蛋白(NUT)癌是通过NUT基因重排定义的，可使用现有的具有斑点状核阳性的单克隆NUT抗体检测。角质化可能只是局灶性的。(A)×40，(B-D)×20；(A和D) H&E，(B) p40和(C) NUT。

不需要对2种不同的成分进行免疫组织化学确认(Travis等, 2015年)。当其中一个或两个成分为低分化时，免疫组织化学有必要支持这一诊断，以显示2个明确分化的成分。1个TTF1和1个p40阳性(图6-7)。当TTF1和p40在同一肿瘤细胞中共同表达时，此类病例应归类为腺癌。

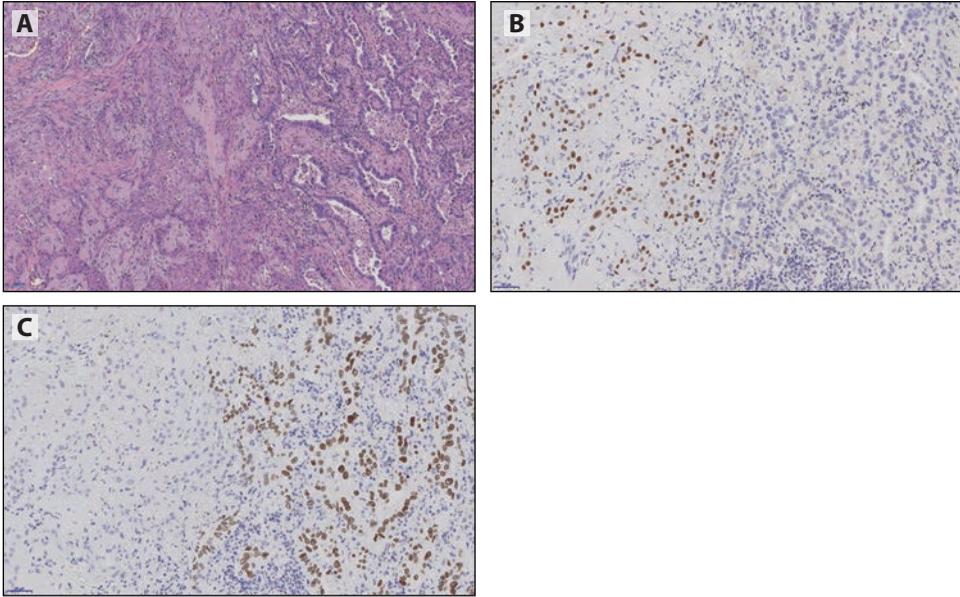


图 6-7. 2 个肿瘤成分被清楚地划定，左边是具有 p40 表达/甲状腺转录因子 1 (TTF1) 阴性的鳞状细胞癌成分，右边是具有 p40 阴性/TTF1 表达的腺癌成分。×20；(A) H&E，(B) p40 和 (C) TTF1。

简要回答

TTF1 和 p40 的免疫组织化学在突显 2 个不同的肿瘤细胞群时，对腺鳞癌的诊断会有帮助。

免疫组织化学在肉瘤样癌中的作用是什么？

诊断多形性癌需要确定腺癌、鳞状细胞癌或大细胞癌与纺锤形或巨细胞癌的结合（图 6-8A 和 C）。在这种情况下，使用 TTF1 和 p40 可能有助于确定癌变成分的特征。纺锤形细胞或巨细胞癌成分往往只有细胞角蛋白阳性，这对纯纺锤形细胞或巨细胞癌的分类可能有帮助（图 6-8B 和 D）。锌指 E 盒结合蛋白 1 (ZEB1) 的核免疫反应性已在这些肿瘤的肉瘤成分中进行了报道（Matsubara 等，2014 年；Viswanathan 等，2019 年），但其在诊断方面的确切作用仍不确定（图 6-8E）。在某些情况下，可能需要广谱细胞角蛋白而不是单一的细胞角蛋白来确认肿瘤的上皮来源。

胚胎瘤的诊断需要结合胎儿型腺癌与肉瘤，通常是恶性软骨或骨骼肌的异源性成分。因为这是一个 β -连环蛋白突变的肿瘤，它显示 β -连环蛋白的核免疫反应性，就像在胎儿型腺癌中看到的那样（见图 13-5）。

卡西诺肉瘤的诊断包括癌和异源性肉瘤成分的结合。在这种情况下，免疫组织化学的使用可能仅限于表征或确认异源性元素，如肌原蛋白或 MYOD1，以确认横纹肌肉瘤成分。

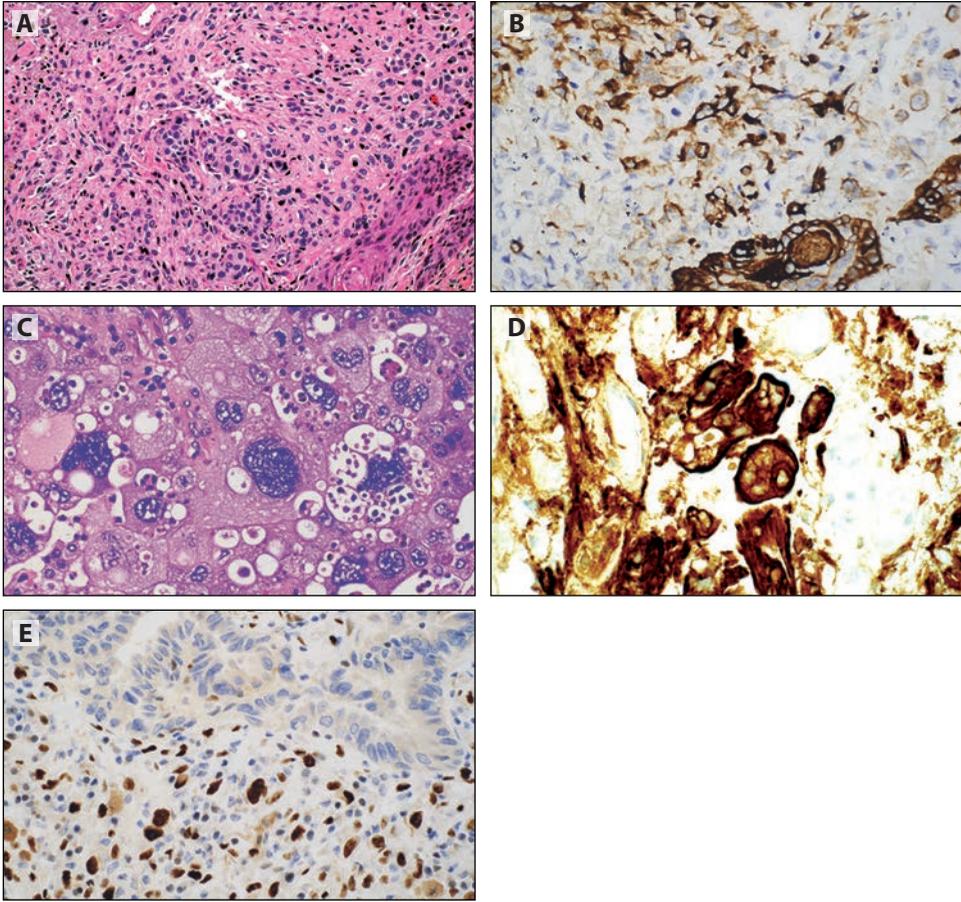


图 6-8. 免疫组织化学在肉瘤中的应用。(A) 多形性癌显示鳞状成分和 (B) 纺锤形细胞成分中的细胞角蛋白反应性。(C) 利用 (D) 细胞角蛋白免疫反应性确认为巨细胞癌。尽管其诊断用途仍不确定，但 ZEB1 免疫组织化学显示在多形性癌的肉瘤成分中存在核染色。(A, B, E) $\times 20$ ；(C 和 D) $\times 40$ ；(A 和 C) H&E, (B 和 D) 细胞角蛋白 AE1/AE3 和 (E) ZEB1。

简要回答

细胞角蛋白的免疫反应性有助于支持多形性癌的恶性梭形或巨细胞癌模式。罕见亚型中的免疫组织化学可以确认异源性成分，或在母细胞瘤中，可确定胎儿腺癌成分。

免疫组织化学在大细胞癌诊断中的作用是什么？

按照目前 2015 年 WHO 分类的定义，大细胞癌是一种未分化的非小细胞癌，没有形态学（图 6-9A）或免疫组织化学特征，可以进一步分型。因此，大细胞癌是一种排

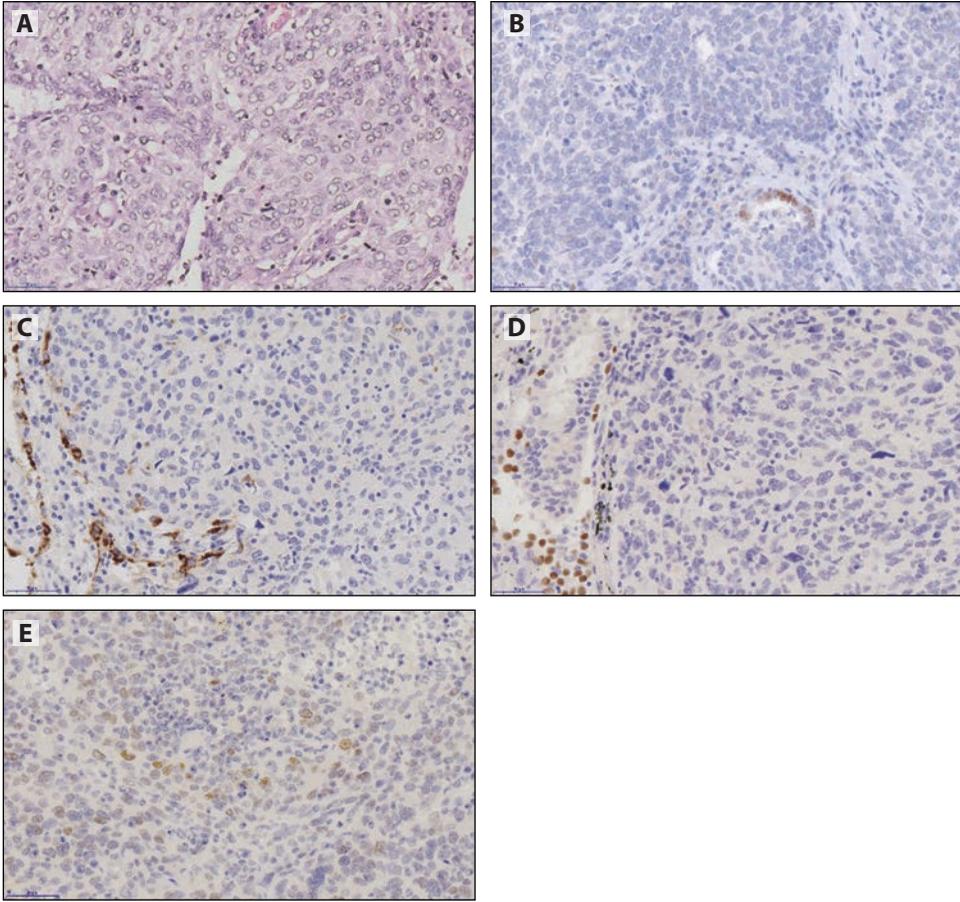


图 6-9. 大细胞癌。(A) 形态上未分化的非小细胞癌 (B) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 阴性, (C) 天冬氨酸蛋白酶 A, (D) p40 和 (E) p63。× 40; (A) H&E, (B) TTF1, (C) 天冬氨酸蛋白酶 A (D) p40 和 (E) p63。

除性诊断, 因此只能在切除标本上考虑。除免疫染色阴性外, 粘蛋白染色也需阴性以进一步排除实体腺癌。

在大细胞癌中, TTF1 和 p40 必须为阴性。TTF1 可能只突显了衬托着预先存在的肺泡壁的肺细胞 (图 6-9B)。天冬氨酸蛋白酶 A 也应该是阴性的 (图 6-9C), p40 只突显支气管基底细胞层 (如果存在), 作为内部阳性对照 (图 6-9D)。大细胞癌或腺癌中可见到微弱和局灶性的 p63 阳性, 是非特异性的 (图 6-9E)。特别是, 它不足以将肿瘤分型为鳞状细胞癌。

这种诊断需要切除标本, 因此, 在选择进行免疫组织化学的区块时, 应审查所有的肿瘤载玻片, 通过审查苏木精和伊红 (H&E) 染色, 确定可能显示腺癌或鳞状细胞癌的最佳区块。

如果固体肿瘤的 TTF1 和 p40 的初步检查结果为阴性, 应进行额外的染色以确认肿瘤是癌 (细胞角蛋白染色) 而不是黑色素瘤、淋巴瘤或肉瘤, 并应根据临床情况和形态学特征考虑进行排除转移的检查 (见第 16 章)。

此外，根据组织学特征，可考虑用 SMARCA4 对未另行指定 (NOS)/大细胞癌进行染色。研究表明，在 80% 的病例中，SMARCA4 缺陷的肺腺癌为 TTF1 阴性 (Agaimy 等，2017 年；Herpel 等，2017 年)。然而，这不能与 SMARCA4 缺陷的胸部肿瘤相混淆 (见第 15 章)。

简要回答

在没有 TTF1、天冬氨酸蛋白酶 A 或 p40 染色的粘液胭脂红阴性未分化癌中，在考虑 SMARCA4 缺失性癌后，可能会被诊断为大细胞癌。

结论

在日常实践中，TTF1 和 p40 足以对大多数非小细胞癌进行分型，而不需要定义形态学特征或神经内分泌形态学。当怀疑有转移或更罕见的变异时，可以扩展该小组。

参考文献

- Agaimy A, Fuchs F, Moskalev EA, et al. SMARCA4-deficient pulmonary adenocarcinoma: clinicopathological, immunohistochemical, and molecular characteristics of a novel aggressive neoplasm with consistent TTF1^{neg}/CK7^{pos}/HepPar-1^{pos} immunophenotype. *Virchows Arch.* 2017;471(5):599-609.
- Bishop JA, Teruya-Feldstein J, Westra WH, et al. p40 (ΔNp63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Mod Pathol.* 2012;25(3):405-415.
- Gurda GT, Zhang L, Wang Y, et al. Utility of five commonly used immunohistochemical markers TTF1, napsin A, CK7, CK5/6 and P63 in primary and metastatic adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung: a retrospective study of 246 fine needle aspiration cases. *Clin Transl Med.* 2015;4:16.
- Haack H, Johnson LA, Fry CJ, et al. Diagnosis of NUT midline carcinoma using a NUT-specific monoclonal antibody. *Am J Surg Pathol.* 2009;33(7):984-991.
- Herpel E, Rieker RJ, Dienemann H, et al. SMARCA4 and SMARCA2 deficiency in non-small cell lung cancer: immunohistochemical survey of 316 consecutive specimens. *Ann Diagn Pathol.* 2017;26:47-51.
- Johansson L. Histopathologic classification of lung cancer: relevance of cytokeratin and TTF-1 immunophenotyping. *Ann Diagn Pathol.* 2004;8(5):259-267.
- Kadota K, Nitadori J, Rekhtman N, et al. Reevaluation and reclassification of resected lung carcinomas originally diagnosed as squamous cell carcinoma using immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(9):1170-1180.
- Kashima K, Hashimoto H, Nishida H, et al. Significant expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary squamous cell carcinoma detected by SPT24 monoclonal antibody and CSA-II system. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22(2):119-124.
- Koh J, Go H, Kim MY, et al. A comprehensive immunohistochemistry algorithm for the histological subtyping of small biopsies obtained from non-small cell lung cancers. *Histopathology.* 2014;65(6):868-878.
- Loo PS, Thomas SC, Nicholson MC, et al. Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchia biopsy specimens. *J Thorac Oncol.* 2010;5(4):442-447.
- Matsubara D, Kishaba Y, Yoshimoto T, et al. Immunohistochemical analysis of the expression of E-cadherin and ZEB1 in non-small cell lung cancer. *Pathol Int.* 2014;64(11):560-568.
- Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Comparison of monoclonal napsin A, polyclonal napsin A, and TTF-1 for determining lung origin in metastatic adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol.* 2012;138(5):703-711.
- Nicholson AG, Gonzalez D, Shah P, et al. Refining the diagnosis and EGFR status of non-small cell lung carcinoma in biopsy and cytologic material, using a panel of mucin staining, TTF-1, cytokeratin 5/6, and P63, and EGFR mutation analysis. *J Thorac Oncol.* 2010;5(4):436-441.
- Noh S, Shim H. Optimal combination of immunohistochemical markers for subclassification of non-small cell lung carcinomas: a tissue microarray study of poorly differentiated areas. *Lung Cancer.* 2012;76(1):51-55.
- Ordóñez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2012;20(5):429-444.

Rekhtman N, Ang DC, Sima CS, et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens. *Mod Pathol*. 2011;24(10):1348-1359.

Righi L, Graziano P, Fornari A, et al. Immunohistochemical subtyping of nonsmall cell lung cancer not otherwise specified in fine-needle aspiration cytology: a retrospective study of 103 cases with surgical correlation. *Cancer*. 2011;117(15):3416-3423.

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al, eds. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015.

Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2011;6(2):244-285.

Viswanathan K, Siddiqui MT, Borczuk AC. The diagnostic utility of zinc E-box-1 (ZEB1) transcription factor for identification of pulmonary sarcomatoid carcinoma in cytologic and surgical specimens. *J Am Soc Cytopathol*. 2019;9(1):55-61.

Warth A, Muley T, Herpel E, et al. Large-scale comparative analyses of immunomarkers for diagnostic subtyping of non-small-cell lung cancer biopsies. *Histopathology*. 2012;61(6):1017-1025.

Whithaus K, Fukuoka J, Prihoda TJ, et al. Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(2):155-162.

Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practice recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.

甲状腺转录因子 1

7

Prudence A. Russell, Jin-Haeng Chung 和 Yasushi Yatabe

简介

甲状腺转录因子 1 (TTF1) 是一种 38 kDa 核蛋白，属于 *NKX2-1* 基因家族的同源域转录因子，由 14q13 染色体上的 *NKX2-1* 基因编码 (Ordonez, 2012b)。它是肺部和甲状腺发育所必需的。在正常的肺中，TTF1 会刺激 Club (以前称为 Clara) 细胞分泌蛋白和肺部特异性表面活性剂蛋白的产生，并在 II 型肺细胞和 Club 细胞的细胞核中表达，提供了一个有用的阳性内部控制 (Ordonez, 2012b)。TTF1 是临床实践中最有用和最广泛使用的抗体之一。它通常被用于 2 个主要的临床病理环境，即区分原发性肺腺癌和其他原发部位的癌，以及在形态不确定的非小细胞癌 (NSCC) 中鉴别诊断肺腺癌和鳞状细胞癌。这 2 种环境需要 TTF1 染色的特异性，这涉及到与敏感性的权衡。此外，在精确医学时代，确定肺部与非肺部原发部位以及区分肺腺癌和鳞状细胞癌，对于指导晚期 NSCC 患者的治疗决策具有极其重要的意义。后一个问题将在第 5 章中进行更广泛的探讨。冒着陈述明显事实的风险，值得病理学家记住的是，TTF1 会在甲状腺上皮肿瘤中广泛表达。在高达 90% 的小细胞肺癌、三分之二的大细胞神经内分泌癌和纺锤形细胞类癌中也发现了 TTF1 (见第 6 章) (Travis 等, 2015a, 2015b)。

本章探讨了 TTF1 在区分肺腺癌和肺外腺癌 (尤其是在检查小样本时) 以及鳞状细胞癌方面的关键作用，重点探讨了最广泛使用的 TTF1 克隆之间的染色差异以及 TTF1 阳性所需的阳性反应程度。还研究了有关 TTF1 免疫染色的前期分析问题。

TTF1 克隆间肺腺癌染色是否有差异？

市面上有许多不同的 TTF1 克隆，包括兔和山羊多克隆抗体；小鼠单克隆抗体，包括 8G7G3/1、SPT24、BGX-397A、SMP150 和 5S143 克隆；以及兔单克隆抗体，包括 SP141、EP15844、C12-I 和 G21-G 克隆 (Ordonez, 2012b)。然而，小鼠单克隆抗体 8G7G3/1 和 SPT24 以及最近上市的兔单克隆抗体 SP141 在临床实践中应用最为广泛 (Ordonez, 2012a, 2012b; Smits 等, 2015; Klebe 等, 2016; Tran 等, 2016)，这里重点介绍。

首先看一下报告的不同克隆检测肺腺癌的敏感性和特异性，最近的一项综述发现，在 37 项已发表的研究中，76.7% 的肺腺癌病例在 8G7G3/1 克隆中呈阳性，而 7 项研究中 81.3% 的肺腺癌病例在 SPT24 克隆中呈阳性 (Ordonez, 2012b)。唯一一项比较所有 3 个广泛使用的 TTF1 克隆的研究发现，89% 的肺腺癌对 8G7G3/1 染色呈阳性，93% 对 SPT24 染色，93% 对 SP141 染色，以 1% 的染色为界限表示阳性反应 (Vidarsdottir 等, 2018 年)。这些结果强调了 8G7G3/1 克隆对肺腺癌的检测敏感性低于 SPT24 和 SP141 克隆 (图 7-1)。

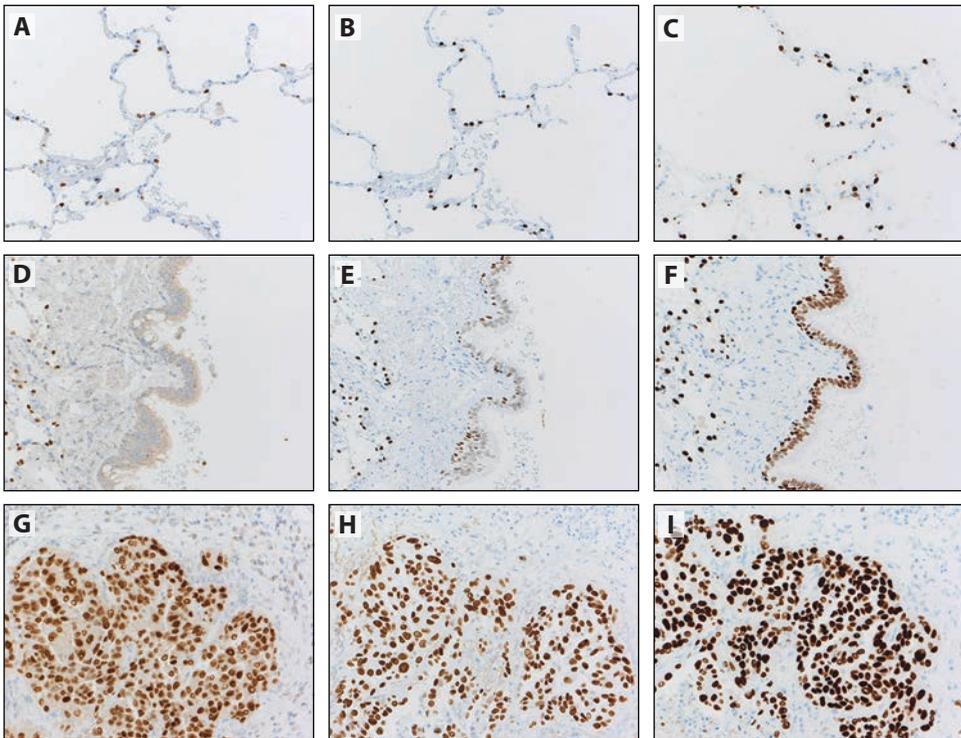


图 7-1. 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 在非肿瘤性肺组织 ([A-C] 周围实质和 [D-F] 支气管上皮) 和 (G-I) 实体腺癌中染色，如分组 A、D 和 G 所示，使用 8G7G3/1；如分组 B、E 和 H 所示，显示 SPT24；以及如分组 C、F 和 I 所示，显示 SP141。各克隆的强度不同，因为检测系统和扩增程序不同 (8G7G3/1 的 Dako Flex 系统；SPT24 和 SP141 的 OptiView DAB IHC 检测试剂盒)。然而，在周围实质和腺癌中的阳性分布是相同的，相反，在支气管上皮中的染色程度不同。

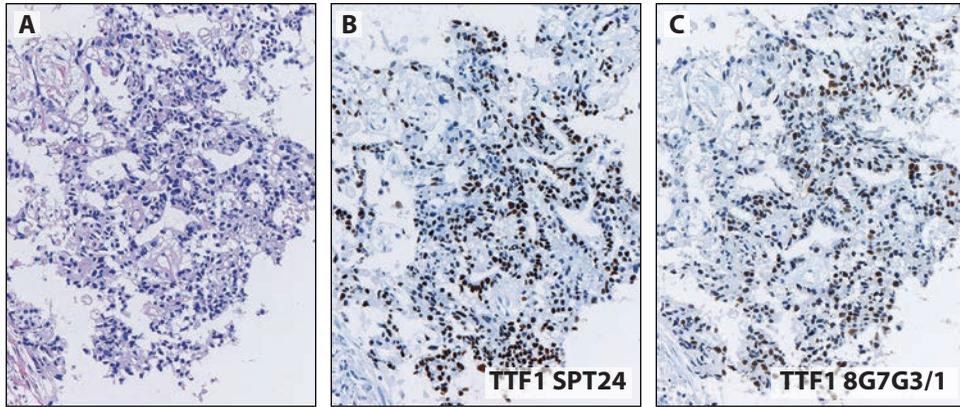


图 7-2. 转移到肺部的卵巢癌的甲状腺转录因子 1 (TTF1) 表达。(A) 肿瘤细胞 (H&E) 显示与(B) SPT24 和 (C) 8G7G3/1 克隆的阳性反应。妇科肿瘤中的 TTF1 表达可能是转移瘤和原发性肺腺癌鉴别诊断中的一个陷阱。

表 7-1. TTF1 在女性生殖道、乳腺、结肠和胃等非肺原发部位肿瘤中的表达^a

原发性癌	8G7G3/1		SPT24	
	n	阳性, n (%)	n	阳性, n (%)
卵巢癌	615	22 (3.6%)	161	16 (9.9%)
子宫内膜腺癌	215	17 (7.9%)	68	19 (27.9%)
宫颈腺癌	92	3 (3.3%)	39	6 (15.4%)
宫颈鳞状癌	7	0 (0%)		
乳腺癌	297	4 (1.5%)	580	13 (2.4%)
结肠腺癌	594	11 (1.8%)	258	15 (5.8%)
胃腺癌	170	3 (1.8%)	110	1 (0.9%)

^a 克隆 8G7G3/1 和 SPT24 的数据是根据 Ordonez 2012b 的数据修改的。

考虑到肺腺癌与其他原发部位的腺癌的区别，最近的一项评论比较了 SPT24 和 8G7G3/1 克隆，发现一小部分来自肺部以外的原发部位的腺癌可能是 TTF1 阳性 (Ordonez, 2012b)。这些主要部位包括女性生殖道 (图 7-2)、乳腺、结肠和胃，据报道，SPT24 克隆的染色率高于 8G7G3/1 克隆 (表 7-1)。值得注意的是，据推测，SPT24 克隆对 TTF1 蛋白有更强的结合力，与 8G7G3/1 克隆相比，它的核阳性更均匀，细胞质染色的不可预测性更小，后者可显示肝细胞和肝癌细胞质的非特异性染色 (Bae 等, 2018 年; Pan 等, 2004 年; Smits 等, 2015 年)。与 8G7G3/1 克隆相比，SPT24 更强的结合力被认为是其在非肺癌部位染色增加的原因 (Smits 等, 2015 年; Compérat 等, 2005 年)。另外，一些非肿瘤性的基底支气管上皮细胞也可被 SPT24 染色；因此，在使用这种克隆时，特别是当组织严重破碎时，应将肿瘤细胞的阳性染色与非肿瘤细胞中发现的阳性染色区分开来 (图 7-3) (另见第 5 章的进一步讨论)。很少有文献研究较新的 SP141 克隆的染色性能。然而，现有的

研究 (Vidarsdottir 等, 2018 年; Klebe 等, 2016 年; Bae 等, 2018 年; Prabhakaran 等, 2019 年) 似乎都表明, SP141 克隆具有与 SPT24 克隆类似的特征, 与 8G7G3/1 克隆相比, 检测肺腺癌的特异性较低 (表 7-2)。

在肺腺癌与鳞状细胞癌的鉴别诊断中, 最近的几项研究发现 TTF1 在肺鳞状细胞癌中的阳性表达比例总体较低, 但 SPT24 克隆的报告比例较高, 8G7G3/1 克隆的报告比例低得多或没有染色 (表 7-2; 图 7-4) (Vidarsdottir 等, 2018 年; Ordonez, 2012a; Matoso 等, 2010 年; Kadota 等, 2015 年; Kashima 等, 2014 年)。使用 SP141 克隆也有类似的发现 (Vidarsdottir 等, 2018 年; Klebe 等, 2016 年), 在少数鳞状细胞癌中观察到了阳性, 而使用 8G7G3/1 克隆则全部为阴性 (表 7-3)。鉴于 TTF1 免疫组织化学 (IHC) 目前在 2015 年世界卫生组织 (WHO) 分类中定义低分化

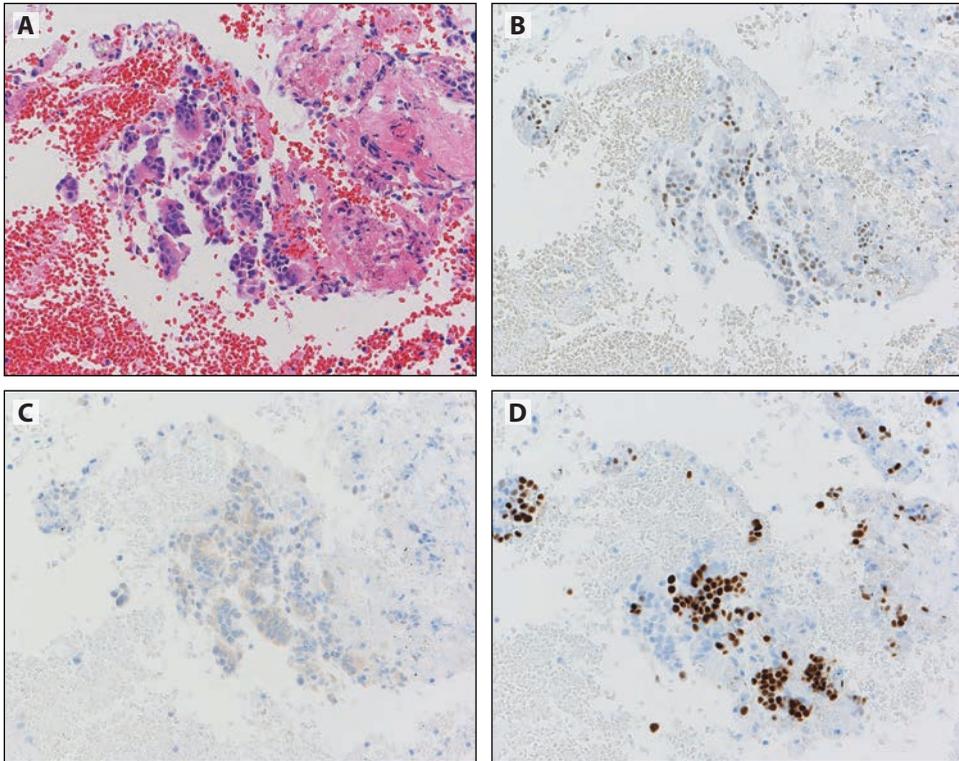


图 7-3. (A) 非肿瘤性支气管上皮细胞的片段 (H&E), 其中 (B) 克隆 SPT24 为阳性, 但 (C) 克隆 8G7G3/1 为阴性。 (D) p40 染色的阳性细胞与 SPT24 阳性细胞重叠, 表明支气管基底细胞会与克隆 SPT24 反应。

表 7-2. 3 个广泛使用的 TTF1 克隆在 3 个已发表的研究中对非肺原发部位 (包括结肠和前列腺) TTF1 表达的研究结果

		8G7G3/1		SPT24		SP141	
		n	阳性, n (%)	n	阳性, n (%)	n	阳性, n (%)
Vidarsdottir 等, 2018 年	结肠癌	166	3 (2%)	166	7 (4%)	166	7 (4%)
Bae 等, 2018 年	结肠癌	1319	0 (0%)	1319	68 (5%)	1319	68 (5%)
Prabhakaran 等, 2019 年	结肠癌	104	2 (2%)	104	6 (5.7%)	104	6 (5.7%)
Prabhakaran 等, 2019 年	前列腺癌	112	6 (5.3%)	112	31 (28%)	112	26 (23%)

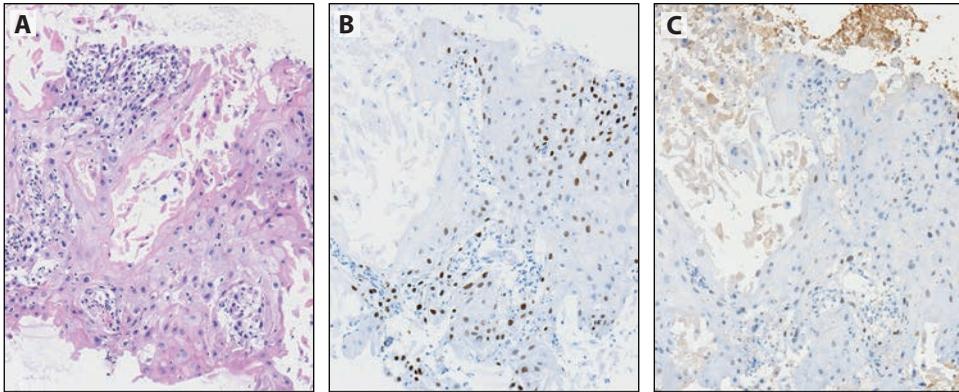


图 7-4. (A) 根据抗体克隆, 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 在肺部原发性鳞状细胞癌中的表达。(A) H&E 染色显示分化良好的鳞状细胞癌。(B) 克隆 SPT24 染色呈阳性反应与(C) 克隆 8G7G3/1 染色呈弱阳性或阴性反应。

表 7-3. 所有 3 个广泛使用的 TTF1 克隆在肺部鳞状细胞癌组织中的 TTF1 表达

鳞状细胞癌	8G7G3/1		SPT24		SP141	
	n	阳性, n (%)	n	阳性, n (%)	n	阳性, n (%)
Vidarsdottir 等, 2018 年	201	0 (0%)	201	12 (6%)	201	16 (8%)
Klebe 等, 2016 年	12	0 (0%)			12	5 (42%)
Ordenez, 2012a	85	0 (0%)				
Matoso 等, 2010 年	97	1 (1%)	97	14 (16.8%)		
Kadota 等, 2015 年	449	0 (0%)	448	27 (6%)		
Kashima 等, 2014 年	38	1 (3%) 使用 EnVision ^a	38	5 (13%) 使用 EnVision ^b		
	38	4 (11%) 使用 CSA-II ^c	38	20 (53%) 使用 CSA-II ^b		

^a EnVision 由 Dako 公司生产。

^b 该研究直接比较了 8G7G3/1 克隆和 SPT24 克隆在相同系列病例中的情况。

^c CSA-II 由 Roche Tissue Diagnostics 生产。

腺癌的特征方面具有重要作用 (Travis 等, 2015a), 这些抗体克隆性能的差异变得更加重要 (见第 6 章)。另外, 一项调查 TTF1 在肺鳞状细胞癌中表达的研究发现, 使用信号放大系统 (催化信号放大 [CSA]-II 检测系统), 肺鳞状细胞癌中的 SPT24 阳性率增加, 作者认为该系统有可能区分肺部原发性鳞状细胞癌, 以及从头颈部等原发部位转移到肺部的癌症 (Kashima 等, 2014 年)。在这种方法能够用于临床实践之前, 还需要更多的数据。

总的来说, 现有文献似乎表明, 与 SP141 和 SPT24 克隆相比, 8G7G3/1 克隆在使用 TTF1 的两种常见临床病理情况下, 包括区分原发性肺腺癌与非肺部部位的腺癌, 以及肺腺癌与鳞状细胞癌的鉴别诊断, 对肺腺癌的检测特异性都有所提高。

简要回答

TTF1 的染色性能因克隆而异。在最常用的抗体中, 8G7G3/1 是识别肺腺癌最具特异性的抗体。

多大程度的 TTF1 染色被认为是阳性检测结果？

在刚才提到的两种常见的临床病理情况下，TTF1 的局灶性阳性被认为是一种阳性反应。然而，这就提出了病灶染色的定义问题（即 1% 比 10% 比 50% 等），以及不同的克隆体是否对此有影响。从现有的文献来看，用来表示阳性反应的染色量可能会受到所用的 TTF1 克隆的影响。

通过使用 8G7G3/1 和 SPT24 克隆，Smits 和同事发现，当两个克隆使用相同的阳性临界值时，在所有的临界值下，克隆之间存在着明显的差异，导致 8G7G3/1 在高临界值下的敏感性较低，SPT24 在低临界值下的特异性较低（Smits 等，2015 年）。在确定了 8G7G3/1 的染色大于 5% 和 SPT24 的染色大于 50% 的每个克隆的最佳临界值后，敏感性（8G7G3/1 为 0.79，SPT24 为 0.82）或特异性（8G7G3/1 为 0.98，SPT24 为 0.98）没有明显差异（Smits 等，2015 年）（图 7-5）。

在最近的一项研究中（Vidarsdottir 等，2018 年）调查了所有 3 个广泛使用的克隆，以区分非鳞状肺癌与肺鳞状细胞癌和肺转移，接收器工作特征（ROC）曲线分析表明，8G7G3/1 和 SPT24 克隆的最佳临界点是 1% 染色（8G7G3/1 曲线下面积 [AUC] 为 0.92，SPT24 的 AUC 为 0.94），而 SP141 克隆的最佳临界点为 10% 染色（AUC 为 0.93）。在进行 ROC 分析时，为了将肺腺癌与其他肺癌和肺转移区分开来，有必要将 SPT24 的染色率提高到 10%，SP141 的染色率提高到 50%（SPT24 和 SP141 克隆的 AUC 均为 0.93），而 1% 的染色率仍然是 8G7G3/1 克隆的最佳临界点（AUC 为 0.93）。

因此，根据这些最近的研究，表明与 TTF1 阳性反应的局灶性染色量在 3 个最广泛使用的克隆中似乎有所不同（图 7-1）。有必要进行进一步的调查来验证这些发现，但似乎表明更特异的 8G7G3/1 克隆的阳性反应的最佳临界点比更敏感的克隆 SPT24 和 SP141 的最佳临界点小得多。建议病理学家在实验室选择、使用和解释特定的 TTF1 克隆时考虑这些报道的最佳临界点的差异，以确保在适当的临床背景下检测肺腺癌的同等可靠性。在实践中，当使用 8G7G3/1 克隆时，任何强度的阳性反应都可能被视为“阳性”，特别是在小样本中使用时。

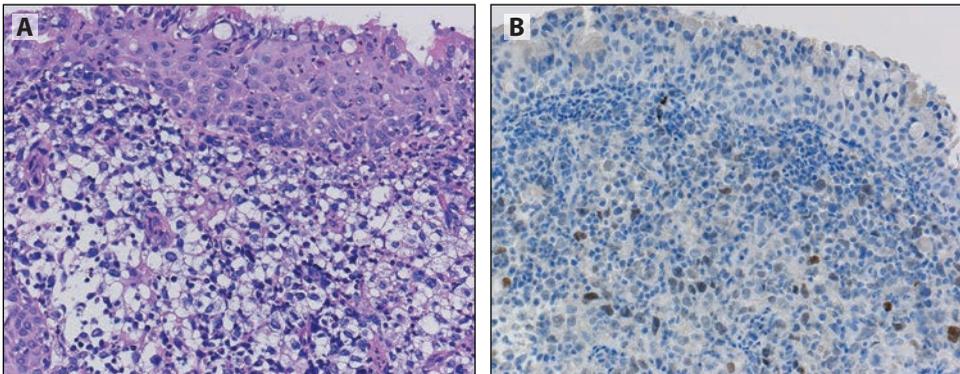


图 7-5. (A) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 在低分化癌细胞中的染色 (H&E)。 (B) 即使有这样的阳性程度，对于克隆 8G7G3/1，该标本也应该被视为 TTF1 阳性。

简要回答

TTF1 的局灶阳性被视为一种阳性反应，表明肺腺癌发生在适当的临床环境中；但是，最佳临界值会因克隆而异。

TTF1 免疫染色分析前有什么考虑因素吗？

关于 TTF1 免疫染色，有几个分析前的考虑，其中一些值得特别提及。最近的一项研究发现，在用酒精基固定剂（包括 CytoLyt）固定的细胞学标本以及用甲酸或盐酸等脱钙剂固定的外科病理标本中，TTF1 染色出现了减少或消失（Gruchy 等，2015 年）。在只用常规的 10% 缓冲福尔马林固定的标本中没有看到 TTF1 染色的减少。重要的是要认识到，IHC 方案必须在与测试组织经历相同分析前条件的对照组织上进行验证，包括在酒精基固定剂中的固定和脱钙处理，即使使用较温和的乙二胺四乙酸 (EDTA) 基溶液时也是如此。为 10% 缓冲福尔马林固定的组织制定的 IHC 方案在用于酒精固定的组织时可能会得到不太理想的结果。

有趣的是，在手术切除的肺腺癌标本中可能观察到 TTF1 表达的染色梯度，这意味着固定性较差可能与特定染色方案的表位检测较差有关。

简要回答

关于 TTF1 免疫染色，有一些特定的分析前考虑因素，主要与酒精基固定剂固定的标本中染色减少或缺失有关，并受到某些脱钙剂的影响。

结论

TTF1 的染色性能在不同的抗体克隆中是不同的，所以病理学家应该了解其特点，并根据实验室中使用的克隆做出明智的决定。鉴于该标志物在肺癌分类的几个方面发挥了关键作用，这一点至关重要，这对治疗有重大意义。

参考文献

- Bae JM, Kim JH, Park JH, et al. Clinicopathologic and molecular implications of aberrant thyroid transcription factor-1 expression in colorectal carcinomas: an immunohistochemical analysis of 1319 cases using three different antibody clones. *Histopathology*. 2018;72(3):423-432.
- Compérat E, Zhang F, Perrotin C, et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. *Mod Pathol*. 2005;18(10):1371-1376.
- Gruchy JR, Barnes PJ, Dakin Hache KA. CytoLyt fixation and decalcification pretreatments alter antigenicity in normal tissues compared with standard formalin fixation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(4):297-302.
- Kadota K, Nitadori J, Rekhtman N, et al. Reevaluation and reclassification of resected lung carcinomas originally diagnosed as squamous cell carcinoma using immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(9):1170-1180.
- Kashima K, Hashimoto H, Nishida H, et al. Significant expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary squamous cell carcinoma detected by SPT24 monoclonal antibody and CSA-II system. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2014;22(2):119-124.
- Klebe S, Swalling A, Jonavicius L, et al. An immunohistochemical comparison of two TTF-1 monoclonal antibodies in atypical squamous lesions and sarcomatoid carcinoma of the lung, and pleural malignant mesothelioma. *J Clin Pathol*. 2016;69(2):136-141.

Matoso A, Singh K, Jacob R, et al. Comparison of thyroid transcription factor-1 expression by 2 monoclonal antibodies in pulmonary and nonpulmonary primary tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2010;18(2):142-149.

Ordonez NG. Thyroid transcription factor-1 is not expressed in squamous cell carcinomas of the lung: an immunohistochemical study with review of the literature. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012;20(6):525-530 (a)

Ordonez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012;20(5):429-444. (b)

Pan CC, Chen PC, Tsay SH, et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. *Am J Clin Pathol*. 2004;121(3):343-349.

Prabhakaran S, Woo WLW, Xing G, et al. The incidence of labelling of non-lung adenocarcinomas with antibodies against TTF-1 and diagnostic implications. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*.

Published online May 23, 2019. doi:10.1097/PAI.0000000000000775

Smits AJ, Vink A, Tolenaars G, et al. Different cutoff values for thyroid transcription factor-1 antibodies in the diagnosis of lung adenocarcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(6):416-421.

Tran L, Mattson JS, Nodin B, et al. Various antibody clones of napsin A, thyroid transcription factor 1, and p40 and comparisons with cytokeratin 5 and p63 in histopathologic diagnostics of non-small cell lung carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016;24(9):648-659.

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al, eds. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015. (a)

Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 WHO classification. *J Thorac Oncol*. 2015;10(9):1243-1260. (b)

Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, et al. Comparison of three different TTF-1 clones in resected primary lung cancer and epithelial pulmonary metastases. *Am J Clin Pathol*. 2018;150(6):533-544.

肺癌中 p40 和 p63 的免疫组织化学

Teh-Ying Chou 和 Wendy A. Cooper

简介

p63 基因是 *p53* 肿瘤抑制基因的同源物，它是上皮细胞发育所需的祖细胞群增殖或分化所必需的 (Nobre 等, 2013 年)。*p63* 基因位于染色体 3q27-29，包含 15 个外显子，并与 *p53* 表现出显著的序列和结构同源性。与 *p53* 一样，*p63* 基因编码一个 N 端转录结构域、一个核心 DNA 结合结构域和一个羧基多聚体结构域。*p63* 通常在皮肤、食道、扁桃体、尿道、宫颈外口和阴道的分层上皮的基底细胞和祖细胞以及胸腺、前列腺、乳腺和支气管的腺体结构的基底细胞中表达 (Di Como 等, 2002 年)。

p63 亚型由几种变体组成，分为两大类 (TAp63 和 Δ Np63)，它们在 N 端结构上有所不同 (Nylander 等, 2002 年)。TAp63 异构体含有一个与 *p53* 同源的反式激活能力的 TA 结构域，能调节生长抑制基因的表达。然而， Δ Np63 亚型包含一个替代性的转录失活的 Δ N 结构域，它被认为能拮抗 TAp63 和 *p53* 的活性，从而起到癌蛋白的作用。*p63* 抗体可识别 TAp63 和 Δ Np63 亚型，因此是一种泛 63 标志物。相比之下，*p40* 抗体是针对 Δ Np63 亚型的，无法识别 TAp63 亚型。

在什么情况下应该使用 p40 而不是 p63?

病理实验室中最广泛使用的 *p63* 抗体克隆是 4A4，它对鳞状细胞癌的敏感度高达 94% 到 100%。然而，*p63* 免疫组织化学的主要局限性是特异性低，因为在肺腺癌 (16%-65%) 和其他恶性肿瘤 (如大细胞淋巴瘤，高达 50%) (Bishop 等, 2012 年)，以及一些软组织肿瘤中很少表达 (Jo 和 Fletcher, 2011 年)。虽然在非鳞状肿瘤中的表达通常是在少数细胞中呈弱到中等程度，但在极少数情况下可以观察到强烈和弥漫的表达。

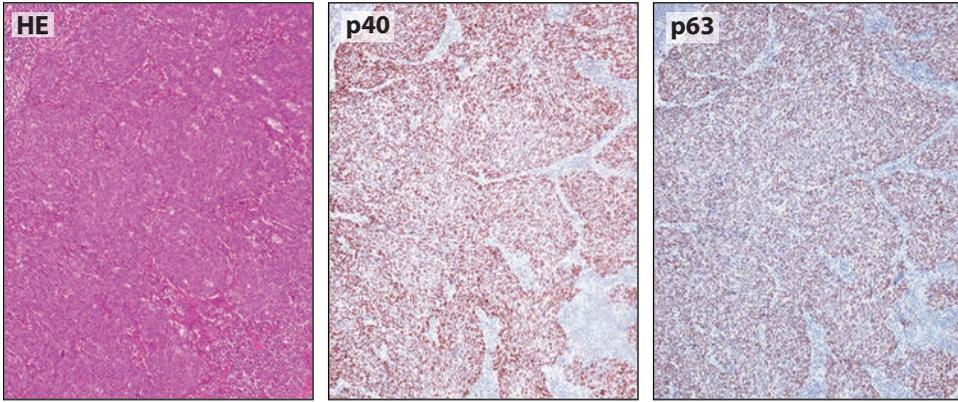


图 8-1. 低分化的鳞状细胞癌显示 p40 和 p63 的强烈弥漫性表达。HE = 苏木精-伊红。

一些研究表明，p40 对鳞状细胞癌具有与 p63 相当的高敏感度，但特异性更高，是识别鳞状细胞分化的可靠标志（图 8-1 和 8-2）（Kriegsmann 等，2019 年）。多克隆和单克隆 p40 抗体（克隆 BC28）都在实验室中使用，一项研究显示，多克隆和单克隆抗体的敏感性和特异性相当，具有高度一致性（Tran 等，2016 年）。p40 在鉴定鳞状细胞癌方面比 p63 的精度更高。

然而，应该记住的是，如果肿

瘤中有鳞状分化的形态学证据（角质化或细胞间桥），则不需要免疫组织化学（IHC）来确认。在小活检样本中形态未分化的非小细胞肺癌中，鳞癌标志物和腺癌标志物都应该用于肿瘤亚型的尝试（例如，p40 和 TTF1）。如果在同一个肿瘤细胞中同时有 p63/p40 和 TTF1 的表达，那么 TTF1 的表达胜过 p63/p40 的表达，并且肿瘤更有可能是腺癌（Travis 等，2013 年）。一项研究发现，在无性淋巴瘤激酶（ALK）阳性的腺癌中经常检测到 TTF1 和 p63 的共同表达，但没有观察到 TTF1 和 p40 的共同表达（Sakai 等，2013 年）。

简要回答

p40 应该用于识别形态学上未分化的鳞状细胞癌，因为它在这种情况下表现出优于 p63 的准确性。

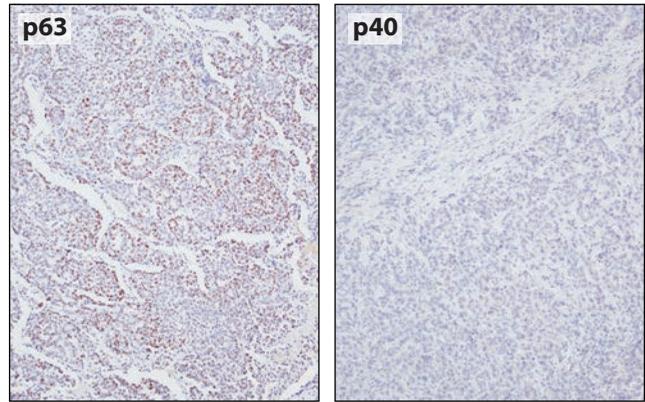


图 8-2. p63 对鳞状细胞癌没有特异性。低分化的肺腺癌，显示 p63 强弥漫性表达，无 p40 表达。

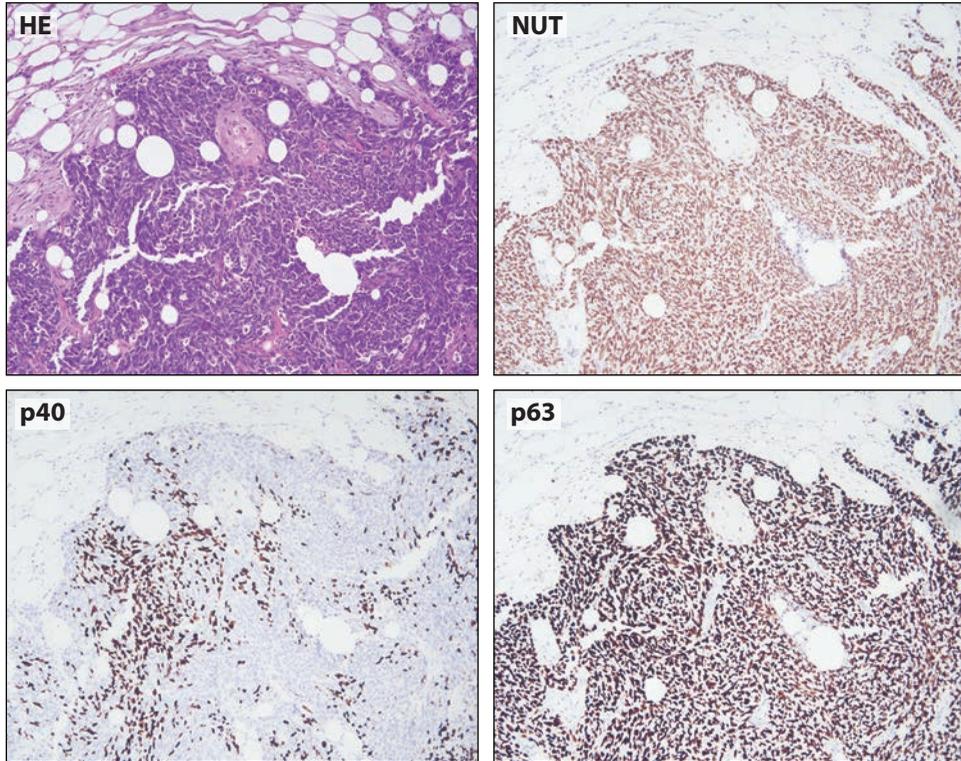


图 8-3. 睾丸核蛋白 (NUT) 肺癌显示局灶性 p40 和弥漫性 p63 表达。HE = 苏木精-伊红。

在什么情况下应该使用 p63 而不是 p40?

在某些情况下，p63 和 p40 的不和谐表达出现在睾丸核蛋白 (NUT) 癌中，p63 呈弥漫性表达，而表达 p40 的细胞很少 (图 8-3)。这可能导致在使用 p40 时出现诊断上的误区，特别是在活检的情况下。因此，在 NUT 癌被列为鉴别诊断的情况下，除了评估形态学和其他 IHC 标记外，p63 可能比 p40 更有用 (有关 NUT 癌的详细信息，见第 14 章)。

简要回答

如果在肿瘤的鉴别诊断中考虑 NUT 癌，那么 p63 可能比 p40 更有用。

什么程度的 p40/p63 阳性反应应该被视为阳性?

在鳞状细胞癌中，p40 和 p63 通常呈强而弥漫的阳性 (图 8-1)。p40 和 p63 的临界值应该是在 50% 以上的肿瘤细胞核中呈阳性，才能被认为是鳞状细胞癌的特异性。不到 10% 的细胞核阳性不能单独用于诊断分类，因为在腺癌和其他类型的肿瘤中可以看到局灶性和弱阳性的 p40 或 p63 的。10% 至 50% 的阳性范围是一个需要考虑的问题，这取决于临床背景和染色强度，以及形态学特征和其他免疫组织化学结果

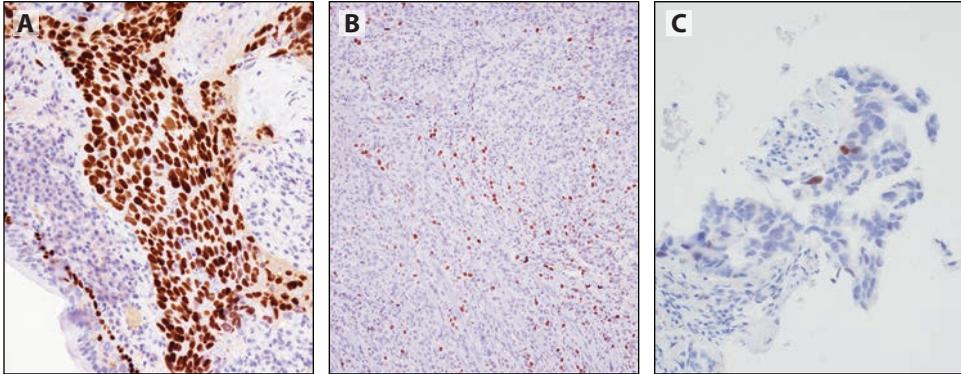


图 8-4. 肺癌中 p40 的不同表达水平。(A) 鳞状细胞癌，有强烈的弥漫性 p40 染色。(B) 腺癌，约 10% 的核有斑点状染色。(C) 腺癌，只有非常局部的 p40 染色 (<5% 的核)。

(图 8-4)。其他鳞状分化的 IHC 标志物，如细胞角蛋白 5/6 (CK5/6)，在有问题的病例中可以作为有用的备份 (Loo 等, 2010 年) (见第 9 章)。值得注意的是，鳞状细胞癌的角质化成分通常是 p40 阴性的，因此该成分的阴性染色并不能排除鳞状细胞癌的诊断。然而，鉴于角质化是鳞状细胞癌的诊断标准，在这种情况下不需要 p40 免疫染色。

简要回答

鳞状细胞癌中 p40 (和 p63) 通常呈弥漫性强阳性，至少 50% 的细胞核表达应视为阳性结果。

结论

在日常实践中，如果形态学特征不充分，p40 比 p63 更适合用来鉴别鳞状细胞癌或鳞状分化 (表 8-1)。阳性的临界点应该是 50% 以上的肿瘤核出现染色，因为局灶性

表 8-1. 鳞状细胞癌 (SQCC) 中 p40 和 p63 的比较研究

研究	总计, n	SQCC, n	p40			p63		
			克隆	敏感性, %	特异性, %	克隆	敏感性, %	特异性, %
Bishop 等, 2012 年	470	81	5-17	100	98	4A4	100	60
Nonaka, 2012 年	200	50	p40	100	100	4A4	100	82
Pelosi 等, 2013 年	141	27	Poly	100	97	4A4	100	78
Ao 等, 2014 年	154	77	Poly	81	90	4A4	94	80
Koh 等, 2014 年	184	59	Poly	93	98	7JUL	80	98
Tatsumori 等, 2014 年	580	158	5-17	97	97	4A4	97	73
Kadota 等, 2015 年	469	449	5-17	100	85	4A4	100	60
Tran 等, 2016 年	557	167	BC28	94	96	4A4	95	87
Micke 等, 2016 年	656	192	BC28	97	98	4A4	97	74
Affandi 等, 2018 年	70	35	BC28	77	100	DAK-p63	86	63
Kriegsmann 等, 2019 年	1244	569	BC28	94	97	4A4	94	84

或弱阳性不能诊断为鳞状细胞癌。在有问题的病例中应考虑附加的鳞状标志物，如 CK5/6。区分鳞状细胞癌和其他类型的肿瘤还应该考虑到形态学特征和其他 IHC 标志物（例如，未分化的非小细胞癌 [NSCC] 中的 TTF1）。

参考文献

- Affandi KA, Tizen NMS, Mustangin M, et al. p40 immunohistochemistry is an excellent marker in primary lung squamous cell carcinoma. *J Pathol Transl Med.* 2018;52(5):283-289.
- Ao MH, Zhang H, Sakowski L, et al. The utility of a novel triple marker (combination of TTF1, napsin A, and p40) in the subclassification of non-small cell lung cancer. *Hum Pathol.* 2014;45(5):926-934.
- Bishop JA, Teruya-Feldstein J, Westra WH, et al. p40 (Δ Np63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Mod Pathol.* 2012;25(3):405-415.
- Di Como CJ, Urist MJ, Babayan I, et al. p63 expression profiles in human normal and tumor tissues. *Clin Cancer Res.* 2002;8(2):494-501.
- Jo VY, Fletcher CD. P63 immunohistochemical staining is limited in soft tissue tumors. *Am J Clin Pathol.* 2011;136(5):762-766.
- Kadota K, Nitadori J, Rekhman N, et al. Reevaluation and reclassification of resected lung carcinomas originally diagnosed as squamous cell carcinoma using immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(9):1170-1180.
- Koh J, Go H, Kim MY, et al. A comprehensive immunohistochemistry algorithm for the histological subtyping of small biopsies obtained from non-small cell lung cancers. *Histopathology.* 2014;65(6):868-878.
- Kriegsmann K, Cremer M, Zgorzelski C, et al. Agreement of CK5/6, p40, and p63 immunoreactivity in non-small cell lung cancer. *Pathology.* 2019;51(3):240-245.
- Loo PS, Thomas SC, Nicolson MC, et al. Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchial biopsy specimens. *J Thorac Oncol.* 2010;5(4):442-447.
- Micke P, Mattsson JS, Djureinovic D, et al. The impact of the fourth edition of the WHO classification of lung tumours on histological classification of resected pulmonary NSCCs. *J Thorac Oncol.* 2016;11(6):862-872.
- Nobre AR, Albergaria A, Schmitt F. p40: a p63 isoform useful for lung cancer diagnosis—a review of the physiological and pathological role of p63. *Acta Cytol.* 2013;57(1):1-8.
- Nonaka D. A study of Δ Np63 expression in lung non-small cell carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(6):895-899.
- Nylander K, Vojtesek B, Nenutil R, et al. Differential expression of p63 isoforms in normal tissues and neoplastic cells. *J Pathol.* 2002;198(4):417-427.
- Pelosi G, Rossi G, Cavazza A, et al. Δ Np63 (p40) distribution inside lung cancer: a driver biomarker approach to tumor characterization. *Int J Surg Pathol.* 2013;21(3):229-239.
- Sakai Y, Nakai T, Ohbayashi C, et al. Immunohistochemical profiling of ALK fusion gene-positive adenocarcinomas of the lung. *Int J Surg Pathol.* 2013;21(5):476-482.
- Tatsumori T, Tsuta K, Masai K, et al. p40 is the best marker for diagnosis pulmonary squamous cell carcinoma: comparison with p63, cytokeratin 5/6, desmocollin-3, and sox2. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22(5):377-382.
- Tran L, Mattsson JS, Nodin B, et al. Various antibody clones of napsin A, thyroid transcription factor 1, and p40 and comparisons with cytokeratin 5 and p63 in histopathologic diagnostics of non-small cell lung carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2016;24(9):648-659.
- Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(5):668-684.

细胞角蛋白标志物

Deepali Jain, Sylvie Lantuejoul, Ming Sound Tsao 和 Alain C. Borczuk

简介

细胞角蛋白是构成上皮细胞细胞骨架的中间丝。超过 20 种类型的角蛋白在一组成对的碱性/I 型 (CK1-8) 和酸性/II 型 (CK9-20) 角蛋白中表达 (Winter 和 Schweizer, 1981 年; Eichner 等, 1985 年; Ordonez 等, 2013 年)。在每个类别中, 它们被分为低分子量 (LMW) 和高分子量 (HMW) 角蛋白。一些细胞角蛋白在特定的器官或组织中表达, 其表达一般会在肿瘤转化后会保持。CK1 至 CK6 (碱性) 和 CK9-17 (酸性) 是表达于鳞状上皮和基底上皮细胞的高分子角蛋白, 而低分子角蛋白是 CK7 和 CK8 (碱性) 以及 CK18-20 (酸性), 表达于包括腺上皮在内的简单上皮 (Winter 等, 1980 年)。由于临床上使用细胞角蛋白表达谱来确定各种肿瘤的来源, 因此本章描述了不同的细胞角蛋白在肺部肿瘤诊断中的价值。

什么是全细胞角蛋白染色, 它们在肺癌诊断中的作用是什么?

AE1/AE3、KL1、MNF116 和 OSCAR 是与不同类型的 LMW 和 HMW 角蛋白反应的抗体鸡尾酒。表 9-1 显示了一些常用的与不同类型细胞角蛋白反应的单克隆抗体克隆 (Ordonez, 2013 年)。在肺部, 它们在腺癌和鳞状细胞癌中显示出弥漫性的细胞质阳性 (Tan 和 Zander, 2008 年) (图 9-1A 和 B)。核周和点状表达是小细胞癌的特征 (图 9-1C 和 D), 但也可能发现弥漫性的细胞质染色 (Thunnissen 等, 2017 年)。这些全细胞角蛋白抗体鸡尾酒在肿瘤形态上未分化并带有癌、黑色素瘤、淋巴瘤、间皮瘤和肉瘤的鉴别诊断时很有用 (图 9-1E 和 F)。角蛋白染色的弥漫性和强烈的细胞质阳性实际上确定了癌的诊断。一部分淋巴瘤、滑膜肉瘤、上皮样肉瘤、血管肉瘤和平滑肌肿瘤会显示角蛋白表达。在这些情况下, 应进一步做线粒体特异性标记。

表 9-1. 角蛋白抗体的常用克隆及其对多种角蛋白的反应性

抗体克隆	对角蛋白的反应性
AE1/AE3	CK1-8、10、14-16
CAM5.2	CK8、CK7（程度较轻）
KL1	CK1、K2、CK5-8、CK11、CK14、CK16-K18
Lu5	CK1、CK5、CK6、CK8、CK14、CK18、CK19
MNF116	CK5、6、8、17
OSCAR	CK7、8、18和19
Pan-CK	CK4-K8、CK10、CK13-CK16、CK18
34 β E12	CK1、5、10、14

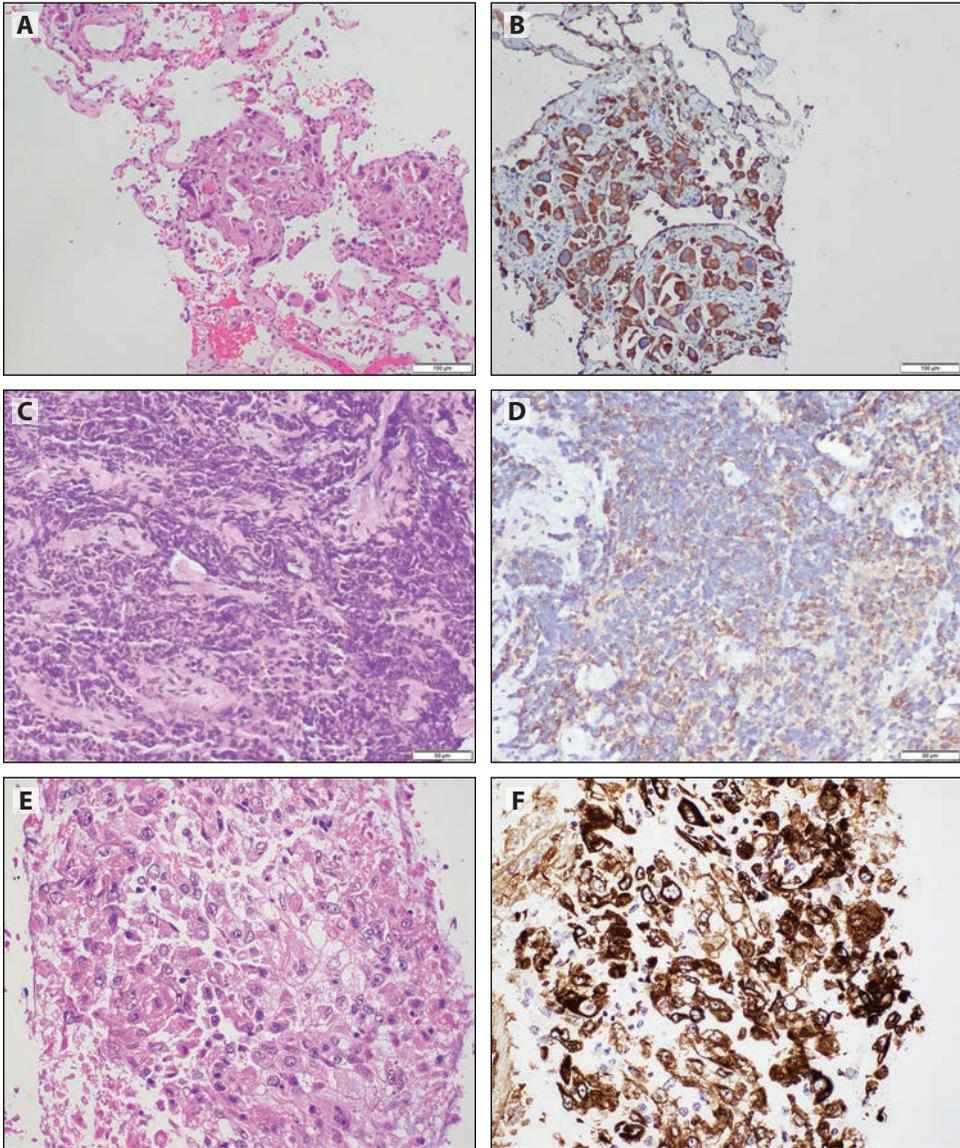


图 9-1. 全细胞角蛋白抗体有助于将形态未分化的肿瘤识别为癌症。(A 和 B) 肺腺癌, (C 和 D) 小细胞癌, 以及 (E 和 F) 未分化非小细胞癌。(A, C, E) 苏木精-伊红和 (B, D, F) 泛角蛋白 AE1/AE3。

简要回答

当肿瘤在形态学上未分化时，全细胞角蛋白染色可以确定癌的诊断。

CK5 或 CK5/6 是否是肺鳞状细胞癌的敏感和特异性标志物？

细胞角蛋白 5 和 6 是相关蛋白；细胞角蛋白 5/6 (CK5/6) 抗体能检测到这两种蛋白，而 CK5 的特异性更强。CK5/6 对支气管和支气管基底（储备）细胞进行染色会呈现细胞质和膜状模式。CK5/6 抗体对手术标本的鳞状细胞癌诊断的整体敏感性和特异性分别为 98% 和 82%。然而，敏感性下降到 90%，而当染色是弥漫性的时候，特异性达到 97% (Rekhtman 等, 2011 年; Whithaus 等, 2012 年)。值得注意的是，CK5/6 在 25% 的切除的鳞状细胞癌中可能为局灶性、弱阳性或缺失，在 18% 的腺癌中可能会表达 (Rekhtman 等, 2011 年)。因此，更敏感和特异的标志物，如 p40，应改为用于诊断肺鳞状细胞癌 (Wang 等, 2002 年; Tatsumori 等, 2014 年; Walia 等, 2017 年; Jain 等, 2014 年)。此外，CK5/6 还能对间皮细胞和间皮瘤进行染色 (Ordonez, 2013 年; King 等, 2006 年)。因此，在胸膜活检中，CK5/6 阳性应结合其他间皮细胞染色，如钙网膜蛋白、维尔姆斯瘤蛋白 (WT1) 和鳞状细胞标志物 (34βE12, p40) 阴性，以分别建立对间皮瘤和鳞癌的正确诊断。

简要回答

CK5/6 没有足够的敏感性和特异性；因此不应单独用于诊断肺鳞状细胞癌。

CK7 是否应该用于区分肺腺癌和鳞状细胞癌

细胞角蛋白 7 (CK7) 在传导性气道的支气管上皮、支气管上皮、I 型和 II 型肺细胞以及 Club (以前被称为 Clara) 细胞中表达。CK7 还能对粘膜下的血清粘液腺进行染色。其表达模式为细胞质。CK7 对几乎所有的肺腺癌都有染色作用，敏感性超过 90%-100% (Chu 等, 2000 年) (图 9-2A-C)。值得注意的是，粘液性变体在较少的病例中显示阳性 (50%-90%)。然而，超过三分之一 (Vidarsdottir 等, 2019 年) 的鳞状细胞癌对 CK7 呈阳性，从而使其在肺内的血统鉴别中的特异性降低 (图 9-2D-F)。因此，不建议用 CK7 来区分腺癌和肺鳞状细胞癌。此外，CK7 不是肺部来源的特异性，因为它也可能见于其他器官系统的腺癌，如胰胆管、胃、卵巢和乳腺 (Chu 等, 2000 年)。因此，需要一个更重要的包括甲状腺转录因子 1 (TTF1) 和 p40 的完整组合来对非小细胞癌进行分类，必要时还需要额外的标志物，如天冬氨酸蛋白酶 A。细胞角蛋白图谱对挑战低分化的病例很重要，如上节所讨论。

简要回答

CK7 不应被用来区分肺腺癌和鳞状细胞癌。

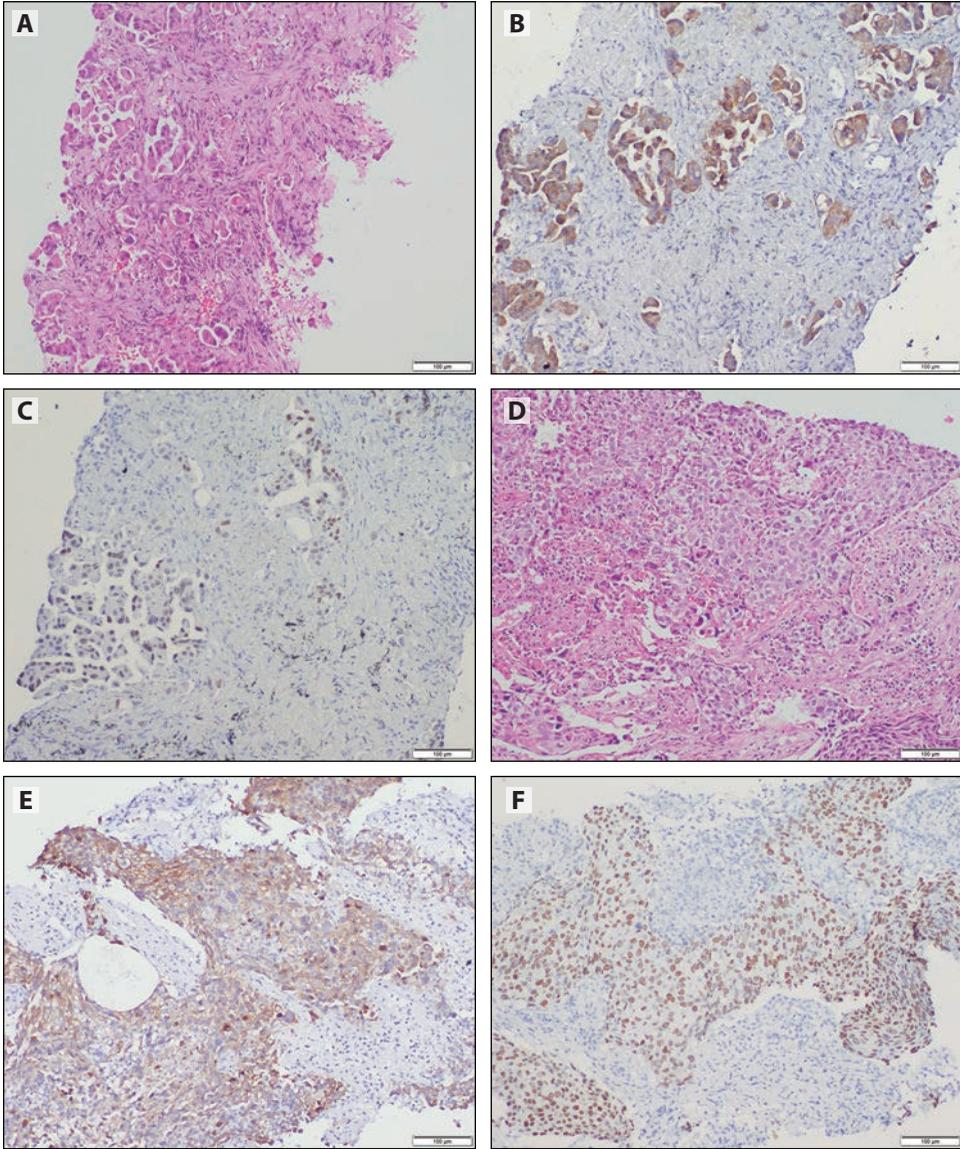


图 9-2. 细胞角蛋白 7 (CK7) 不是肺腺癌所特有的。(A, B, C) 腺癌和 (D, E, F) 低分化鳞状细胞癌。(A 和 D) 苏木精-伊红, (B 和 E) CK7, (C) 甲状腺转录因子 1 (TTF1), 和(F) p40。

CK7 弥漫性阳性但 TTF1 和 p40 阴性的非小细胞癌是否应被视为“可能是腺癌”？

CK7 对腺癌不是特异性的, 因为它在鳞状细胞癌中也可显示阳性。因此, 不鼓励使用 CK7 对非小细胞癌进行亚型鉴定 (Yatabe 等, 2019 年)。这类癌症最好被视为非小细胞癌, 未另行指定 (NSCC, NOS)。

简要回答

仅凭 CK7 不足以确定肺腺癌的诊断。

CK7 染色有助于区分肺腺癌和间皮瘤吗?

CK7 也可能在上皮样间皮瘤中强烈表达, 因此, 它对区分腺癌和间皮瘤没有用 (Tot, 2001 年)。大约 90% 的间皮瘤病例为 CK7 阳性 (Tot, 2001 年)。值得注意的是, CK7 在大多数胸腺癌、前列腺癌、肝细胞癌、大多数结肠腺癌和肾透明细胞癌中缺失 (Chu 等, 2000 年) (见第 16 章)。

简要回答

CK7 不能区分肺腺癌和恶性间皮瘤。

哪种细胞角蛋白抗体更适合小细胞肺癌染色?

CK7 和 CK5/6 不是诊断小细胞肺癌 (SCLC) 的有用染色剂。CK7 在小细胞癌中不是阴性就是局灶性阳性, 只有约一半的 SCLC 染色 (图 9-3) (Chu 等, 2000 年)。HMW 细胞角蛋白, 如 34 β E12, 在神经内分泌肿瘤中为阴性, 包括小细胞和大细胞神经内分泌癌 (Sturm 等, 2001 年; Zhang 等, 2005 年; Lyda 和 Weiss, 2000 年)。

简要回答

当用于识别 SCLC 时, 优选全细胞角蛋白抗体。

CK20 在肺癌诊断中的作用是什么?

细胞角蛋白 20 (CK20) 只在不到 5% 的正常支气管上皮细胞中表达。侵袭性粘液腺癌、胶质和肠型腺癌以及其他具有粘液特征的肺部腺癌通常与 CK7 共同表达 CK20 (图 9-4)。在

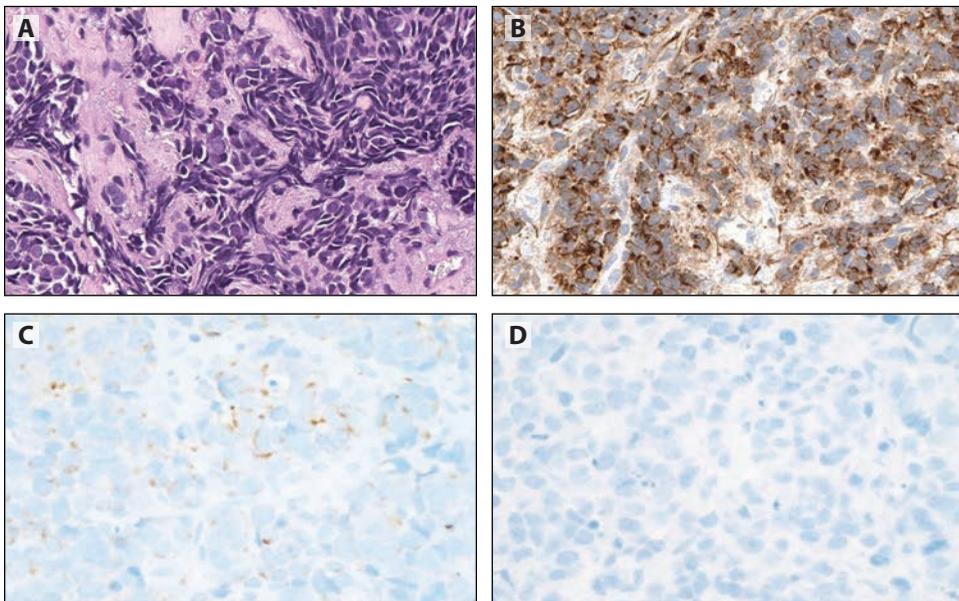


图 9-3. 小细胞癌最好用广谱全细胞角蛋白抗体染色。(A) 苏木精-伊红, (B) AE1/AE3, (C) 细胞角蛋白 7 (CK7), (D) 细胞角蛋白 5/6 (CK5/6)。

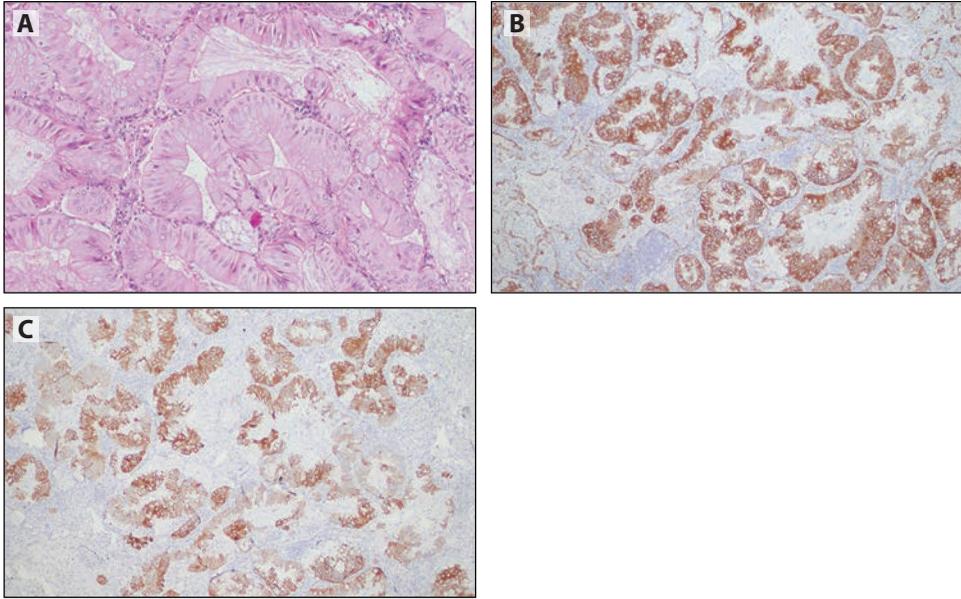


图 9-4. 肺部侵袭性粘液腺癌可同时表达细胞角蛋白 7 (CK7) 和细胞角蛋白 20 (CK20)。(A) 苏木精-伊红, (B) CK7, 和 (C) CK20。

90% 以上的病例中, 为斑点状表达。CK20 在 SCLC 中基本上为阴性, 只有大约 10% 的病例为阳性 (Chu 等, 2000 年)。在这些罕见的 CK20 阳性 SCLC 病例中, 应做其他免疫组织化学 (IHC), 如 TTF1 和神经丝蛋白, 以排除转移性 Merkel 细胞癌 (Bobos 等, 2006 年)。

简要回答

CK20 阳性并不排除肺部粘液腺癌的可能。

间皮瘤应使用哪种细胞角蛋白抗体?

AE1/AE3、CAM5.2 和 MNF116 对识别几乎所有的上皮样和大多数肉瘤性间皮瘤都有用 (见第 17 章)。大约 5% 到 10% 的肉瘤性间皮瘤对广谱细胞角蛋白呈阴性 (Attanoos 等, 2000 年; Klebe 等, 2008 年)。CK5 或 CK5/6 在 75% 至 100% 的上皮样间皮瘤中表达; 然而, CK5/6 在肉瘤性间皮瘤中的低敏感性限制了其在后者诊断中的效用 (Cury 等, 2000 年; Husain 等, 2018 年)。

简要回答

全细胞角蛋白和 CK5/6 与其他间皮瘤标志物一起用于诊断间皮瘤。

细胞角蛋白在胸腺瘤诊断中的作用是什么?

细胞角蛋白在纵隔病变的小活检中发挥了重要作用, 以区分 B 型胸腺瘤和淋巴瘤以及 A 型胸腺瘤和梭形细胞瘤 (见第 18 章)。一般来说, 皮质和髓质上皮细胞都会表达全细胞角蛋白和 CK19。然而, CK10 和 CK14 仅限于成熟的髓质上皮细胞和 Hassall 小体。A 型

和 AB 型胸腺瘤对除 CK20 外的所有酸性角蛋白均呈阳性。B 型胸腺瘤的泛细胞角蛋白 (AE1/AE3) 呈阳性, CK20 除外。CK20 在罕见的胸腺腺癌中表达 (Kuo, 2000 年)。

简要回答

全细胞角蛋白在鉴别诊断来自其他纵隔病变的胸腺瘤方面非常有用。

结论

肺癌是上皮性的, 表达所有类型的细胞角蛋白, 因此, 对于具有挑战性的低分化肿瘤, 鼓励对广谱细胞角蛋白进行 IHC, 以确定其上皮性来源。然而, 由于大多数角蛋白的非特异性, 并且为了保存肿瘤组织以进行进一步的分子检测, 不建议在肺癌病例的小活检中进行常规使用 (表 9-2)。CK7 在区分肺癌的不同亚型以及区分肺腺癌和肺外转移癌方面没有作用。HMW 细胞角蛋白在鳞状细胞癌中的表达更具特异性; 然而, 一小部分腺癌也表达 HMW 细胞角蛋白。小细胞癌表现为典型的全角蛋白核周和点状分布, 但也可见弥漫性胞浆染色。SCLC 的 CK5/6、CK7 和 CK20 通常为阴性。了解细胞角蛋白模式和特征分析对其在肺癌诊断中的明智使用非常重要。

表 9-2. 肺部和胸膜肿瘤诊断中首选细胞角蛋白综述

肿瘤	角蛋白
低分化恶性肿瘤	广谱细胞角蛋白/全细胞角蛋白
鳞状细胞癌	CK5、CK5/6、34βE12
腺癌	CK7; 见文本
侵袭性粘液腺癌	CK7、CK20
小细胞癌	广谱细胞角蛋白/全细胞角蛋白
上皮样间皮瘤	CK5 或 CK5/6
肉瘤性间皮瘤	广谱细胞角蛋白/全细胞角蛋白

参考文献

Attanoos RL, Dojcinov SD, Webb R, et al. Anti-mesothelial markers in sarcomatoid mesothelioma and other spindle cell neoplasms. *Histopathology*. 2000;37(3):224-231.

Bobos M, Hytiroglou P, Kostopoulous I, et al. Immunohistochemical distinction between Merkel cell carcinoma and small cell carcinoma of the lung. *Am J Dermatopathol*. 2006;28(2):99-104.

Chu P, Wu E, Weiss LM. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases. *Mod Pathol*. 2000;13(9):962-972.

Cury PM, Butcher DN, Fisher C, et al. Value of the mesothelium-associated antibodies thrombomodulin, cytokeratin 5/6, calretinin, and CD44H in distinguishing epithelioid mesothelioma from adenocarcinoma metastatic to the pleura. *Mod Pathol*. 2000;13(2):107-112.

Eichner R, Rew P, Engel A, et al. Human epidermal keratin filaments: studies on their structure and assembly. *Ann N Y Acad Sci*. 1985;455:381-402.

Husain AN, Colby TV, Ordonez NG, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma 2017 update of the consensus statement from the

- International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(1):89-108.
- Jain D, Mathur SR, Guleria R, et al. Utility and pattern of positivity of p40 in the diagnosis of squamous cell carcinoma of the lung by cytology: the first study on fine needle aspiration smears. *Cytopathology.* 2014;25(5):330-335.
- King JE, Thatcher N, Pickering CA, et al. Sensitivity and specificity of immunohistochemical markers used in the diagnosis of epithelioid mesothelioma: a detailed systematic analysis using published data. *Histopathology.* 2006;48(3):223-232.
- Klebe S, Mahar A, Henderson DW, et al. Malignant mesothelioma with heterologous elements: clinicopathological correlation of 27 cases and literature review. *Mod Pathol.* 2008;21(9):1084-1094.
- Kuo Tt. Cytokeratin profiles of the thymus and thymomas: histogenetic correlations and proposal for a histological classification of thymomas. *Histopathology.* 2000;26(5):403-414.
- Lyda MH, Weiss LM. Immunoreactivity for epithelial and neuroendocrine antibodies are useful in the differential diagnosis of lung carcinomas. *Hum Pathol.* 2000;31(8):980-987.
- Ordóñez NG. Broad-spectrum immunohistochemical epithelial markers: a review. *Hum Pathol.* 2013;44(7):1195-1215.
- Rekhtman N, Ang DC, Sima CS, et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens. *Mod Pathol.* 2011;24(10):1348-1359.
- Sturm N, Lantuejoul S, Laverriere MH, et al. Thyroid transcription factor 1 and cytokeratins 1, 5, 10, 14 (34betaE12) expression in basaloid and large-cell neuroendocrine carcinomas of the lung. *Hum Pathol.* 2001;32(9):918-925.
- Tan D, Zander DS. Immunohistochemistry for assessment of pulmonary and pleural neoplasms: a review and update. *Int J Clin Exp Pathol.* 2008;1(1):19-31.
- Tatsumori T, Tsuta K, Msai K, et al. p40 is the best marker for diagnosis pulmonary squamous cell carcinoma: comparison with p63, cytokeratin 5/6, desmocollin-3, and sox2. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22(5):377-382.
- Thunnissen E, Borczuk AC, Flieder DB, et al. The use of immunohistochemistry improves the diagnosis of small cell lung cancer and its differential diagnosis. An international reproducibility study in a demanding set of cases. *J Thorac Oncol.* 2017;12(2):334-346.
- Tot T. The value of cytokeratins 20 and 7 in discriminating metastatic adenocarcinoma from pleural mesotheliomas. *Cancer.* 2001;92(10):2727-2732.
- Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, et al. Immunohistochemical profiles in primary lung cancers and epithelial pulmonary metastases. *Hum Pathol.* 2019;84:221-230.
- Walia R, Jain D, Madan K, et al. p40 & thyroid transcription factor-1 immunohistochemistry: a useful panel to characterize non-small cell lung carcinoma-not otherwise specified (NSCLC-NOS) category. *Indian J Med Res.* 2017;146(1):42-48.
- Wang BY, Gil J, Kaufman D, et al. P63 in pulmonary epithelium, pulmonary squamous neoplasms, and other pulmonary tumors. *Hum Pathol.* 2002;33(9):921-926.
- Whithaus K, Fukuoka J, Prihoda TJ, et al. Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136(2):155-162.
- Winter H, Schweizer J. Carcinoma-specific keratin polypeptide patterns in keratinizing epithelia of rodents: independence of species- and tissue-specific variations. *Carcinogenesis.* 1981;2(7):613-621.
- Winter H, Schweizer J, Goerttler K. Keratins as markers of malignancy in mouse epidermal tumors. *Carcinogenesis.* 1980;1(5):391-398.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practice recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(3):377-407.
- Zhang H, Liu J, Cagle PT, et al. Distinction of pulmonary small cell carcinoma from poorly differentiated squamous cell carcinoma: an Immunohistochemical approach. *Mod Pathol.* 2005;18(1):111-118.

神经内分泌标志物

10

Mary Beth Beasley, Mauro Papotti 和 Alain C. Borczuk

简介

肺原发性神经内分泌肿瘤 (NEN) 包括中低级典型类癌 (TC)、非典型类癌 (AC) 和高级神经内分泌癌 (NEC)、大细胞神经内分泌癌 (LCNEC) 和小细胞肺癌 (SCLC) (Travis 等, 2015a)。可能表现出神经内分泌 (NE) 分化的较罕见的肿瘤, 如睾丸核蛋白 (NUT)、中线癌 (Stathis 等, 2016 年)、原始神经外胚层肿瘤 (Weissferdt 和 Moran, 2012 年; Marino-Enriquez 和 Fletcher, 2014 年) 以及促结缔组织增生性小圆细胞肿瘤 (Parkash 等, 1995 年) 也可能发生在肺部 (罕见肿瘤的免疫标志物将在第 14 和 15 章讨论)。

有一组 NE 标志物, 包括嗜铬粒蛋白 A、突触素和神经细胞粘附分子 1 (NCAM1, 也被称为 CD56) 是最常用的用于识别 NEN 的标志物 (Travis 等, 2015a, 2015b; Yatabe 等, 2019 年)。最近, 胰岛素瘤相关蛋白 1 (INSM1) 在标记 NEN 的整个光谱方面显示出高度的敏感性和特异性 (Mukhopadhyay 等, 2019 年; Rooper 等, 2017 年; Rosenbaum 等, 2015 年)。其他标志物也可能具有实用性, 这在下一节中讨论。对于免疫组织化学 (IHC) 染色阳性由什么构成, NE 标志物没有明确的分界线, 应该根据形态学特征、样本类型和阳性反应的程度进行解释。同样, 对于应该使用一个还是多个标志物也没有达成共识。一般来说, 结合 NE 形态学特征 (器官样嵌套、玫瑰花样结构、栅栏样) 和 NE 标志物的阳性染色, 可诊断 NEN。不同的组织亚型阳性反应的程度和/或强度可能不同, 大约 5% 到 10% 的 SCLC 可能对嗜铬粒蛋白、突触素和 CD56 呈阴性。相反, 大约 10% 到 20% 的非小细胞肺癌 (NSCLC), 即腺癌或鳞状细胞癌, 没有明显的 NE 形态, 表现出一个或多个标志物的阳性染色 (Travis 等, 2015a; Yatabe 等, 2019 年)。这类肿瘤被称为“神经内分

泌分化的非小细胞癌”；然而，研究表明，这一发现对于治疗、结果或预后并没有任何意义，这类肿瘤应该归为非小细胞肺癌进行治疗（Travis 等，2011 年）。有时，肿瘤具有 NE 分化的形态特征，但缺乏嗜铬粒蛋白、突触素或 CD56 的表达，这种肿瘤被称为“具有 NE 形态的非小细胞癌”（Travis 等，2015a）。

在神经内分泌肿瘤的分类中，哪些 IHC 标志物有助于支持神经内分泌形态学？

常用神经内分泌免疫染色

常用的 NE 免疫染色见[图 10-1](#)和[10-2](#)。

嗜铬粒蛋白 A 和突触素

嗜铬粒蛋白 A 和突触素是 NE 分化的真正标志物。嗜铬粒蛋白 A 包含在密集的核心颗粒中，而突触蛋白则存在于突触小泡中。这两种标志物的染色都是细胞质的（Loy 等，1995 年）。嗜铬粒蛋白 A 在 90% 至 100% 的 TC、60% 至 70% 的 AC 和 LCNEC 中呈阳性，而 SCLC 中的阳性率仅为 25% 左右。突触素，无论何种级别，在大约 70% 到 80% 的肺部 NEN 中突触蛋白是阳性的，但在高级别 NEC 中，突触素一般较弱且弥漫性较差（Yatabe 等，2019 年）。

CD56 (NCAM)

CD56 尤其对高级别 NEC 的敏感性要高于嗜铬粒蛋白或突触素，但对 NE 分化的特异性不如嗜铬粒蛋白、突触素或 INSM1（Rooper 等，2017 年；Pelosi 等，2017

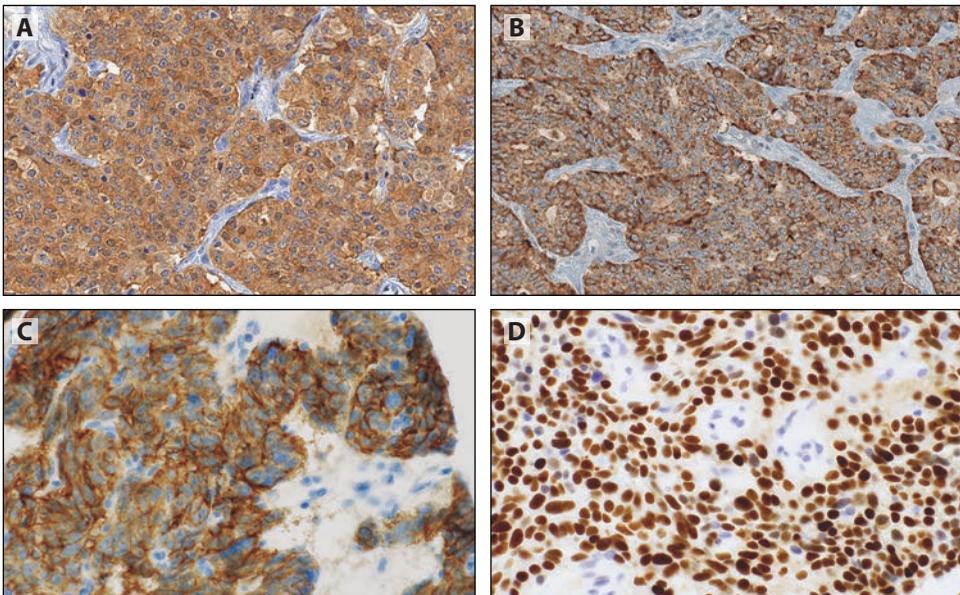


图 10-1. 类癌肿瘤的神经内分泌标志物。(A) 突触素呈弥漫性和强烈的细胞质免疫反应，(B) 嗜铬粒蛋白，以及(C) CD56/NCAM。(D) 胰岛素瘤相关蛋白 1 (INSM1) 可见强烈的弥漫性核染色。

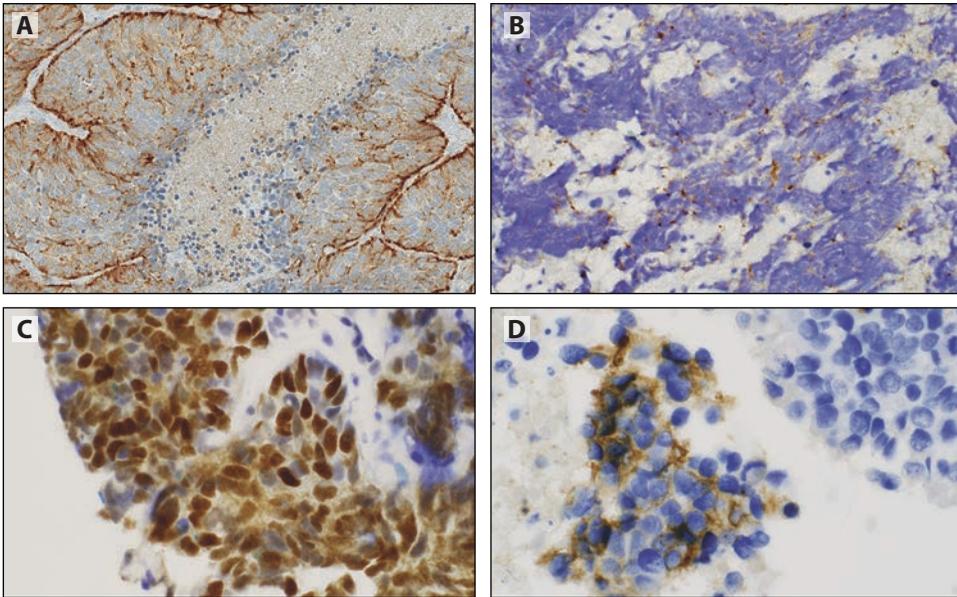


图 10-2. 小细胞肺癌的神经内分泌标志物。与类癌相比，小细胞肺癌神经内分泌标志物的免疫反应性可能更弱、更不均匀。(A) 嗜铬粒蛋白呈片状，程度由弱至中度。(B) 突触素的感受性很弱，呈“点状和环状”，而非弥漫性。(C) 胰岛素瘤相关蛋白 1 (INSM1) 表现出不规则但呈中度的核染色。(D) CD56 细胞质和胞膜染色。

年；Lantuejoul 等，1998 年）。阳性染色通常是膜性的。CD56 可在各种正常细胞上表达，包括神经元、胶质细胞、各种造血细胞（自然杀伤细胞、 $\gamma\delta$ -T 细胞、活化的 CD8 + T 细胞和树突状细胞），以及骨骼肌。此外，CD56 在高达 30% 的非小细胞肺癌以及一些间叶性肿瘤、多发性骨髓瘤、肉瘤和一些间皮瘤中表达（Lantuejoul 等，2000 年；Agaimy 和 Wunsch，2008 年；Olsen 等，2006 年）。因此，CD56 阳性应在上皮分化和 NE 形态学特征背景下进行解释。

INSM1

INSM1 通常被证明是一种对整个 NEN 谱高度敏感和特异的标志物。研究表明，关于 INSM1 是否比嗜铬粒蛋白、突触素和/或 CD56 或它们的组合更具敏感性和/或特异性，结果各不相同（Kriegsmann 等，2020 年）。到目前为止，INSM1 已被证明是稳定可靠的标志物，特别是在小细胞肺癌中，其中嗜铬粒蛋白等标志物可能是阴性的，而且核染色使其更加容易解释。此外，考虑到 CD56 在许多肿瘤类型中的表达，INSM1 可能比 CD56 更具特异性（Mukhopadhyay 等，2019 年；Nakra 等，2019 年；Rooper 等，2017 年；Rosenbaum 等，2015 年；Roy 等，2019 年）。

其他神经内分泌标志物

人类无刚毛鳞甲复合体同源物 1 (hASH1) 被认为是 NE 细胞的谱系标志，因为它是 NE 分化的胚胎核决定因素，因此对 NEN 具有高度特异性。该标志物的总体敏感性

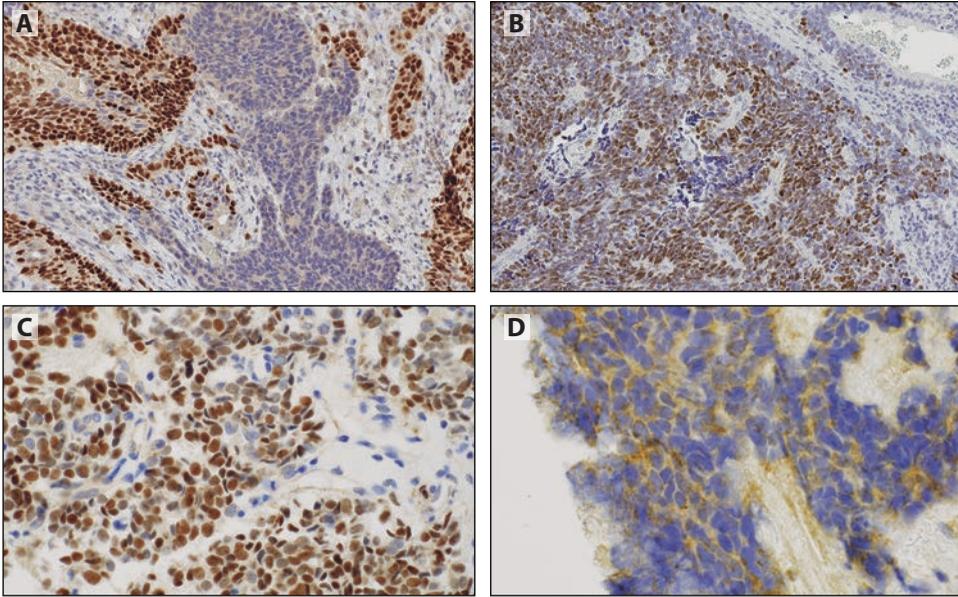


图 10-3. 神经内分泌肿瘤的其他标志物。(A) p40 的核免疫反应性突出了合并的小细胞癌和鳞癌的鳞状成分。(B) 人类无刚毛鳞甲复合体同源物 1 (hASH1) 在小细胞肺癌中呈核免疫反应性。(C) 在类癌肿瘤中，同源框蛋白 (OTP) 显示出特异性的核免疫反应性，而(D) 小细胞肺癌仅表现出非特异性胞质反应性。

较低，因为 hASH1 通常在类癌中丢失或表达较差；然而，在高级别肿瘤，特别是小细胞肺癌中仍保留着该标志物 (Miki 等，2012 年；Ye 等，2016 年) (图 10-3)。

同源框蛋白 (OTP) 被认为在下丘脑 NE 系统的发育中起作用。细胞质染色通常是非特异性的，但核染色对 NE 分化具有高度特异性 (Nonaka 等，2016 年)。OTP 在类癌中优先表达，在 SCLC 中很少表达 (Hanley 等，2018 年；Viswanathan 等，2019 年)。虽然对肺癌的研究最为广泛，但在其他部位的 NE 肿瘤中也有关于 OTP 表达的报道，包括前列腺和卵巢 (Roy 等，2019 年)，尽管数据是矛盾的，其他研究显示 OTP 染色仅在肺部 NE 肿瘤中呈阳性 (Nonaka 等，2016 年) (图 10-3)。

Leu7 (CD57) 作为 NE 标志物有一定的作用，但其敏感性低，对 NE 分化没有特异性。与 CD56 相似，Leu7 在各种造血细胞中呈阳性，另外在各种神经鞘瘤、纺锤形细胞胸腺瘤、滑膜肉瘤和一些甲状腺乳头状癌中也呈阳性 (Uherova 等，2003 年；Miettinen，1993 年)。

神经元特异性烯醇化酶 (NSE) 具有高敏感性，但特异性很低，因此一般不推荐作为评估肺部 NEC 的标志物 (Travis 等，2015a)。

简要回答

嗜铬粒蛋白、突触素、CD56 和 INSM1 是支持 NE 形态的有用 NE 标志物。

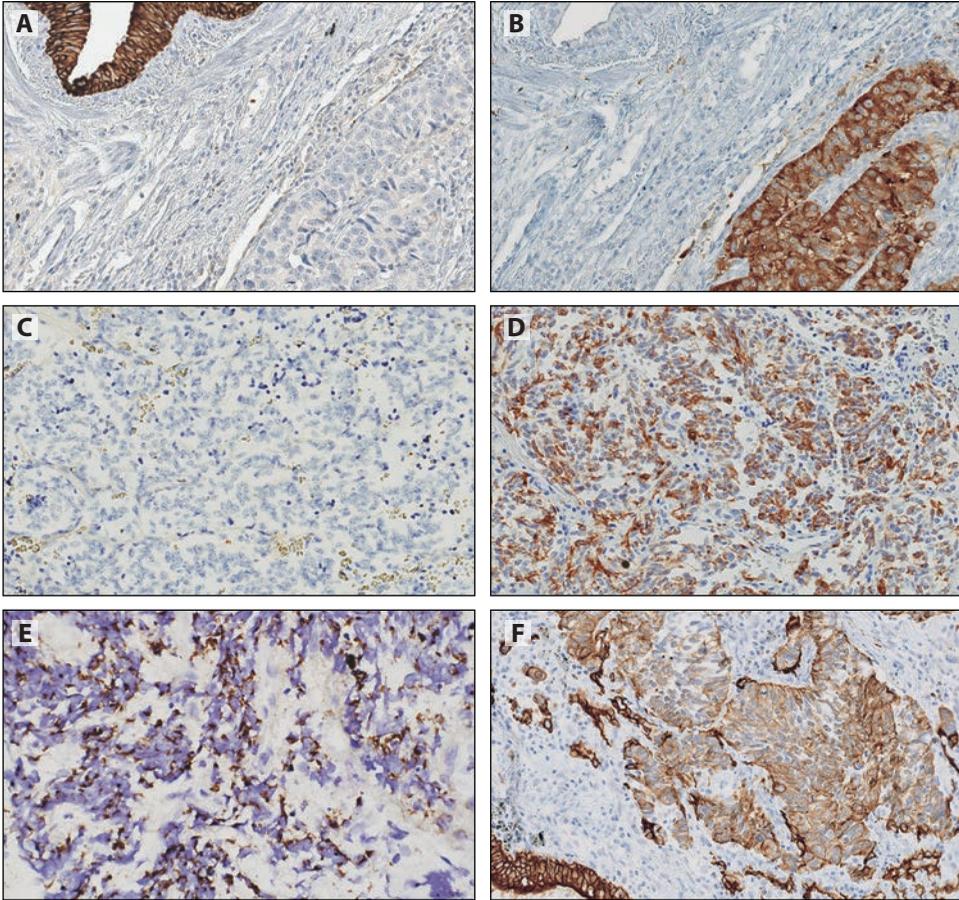


图 10-4. 神经内分泌肿瘤中的细胞角蛋白。(A 和 B) 大分子细胞角蛋白 (A) 在这个大细胞神经内分泌癌中呈阴性，气道上皮呈阳性，而 (B) 突触素突出肿瘤。(C 和 D) 该类癌对细胞角蛋白 AE1/AE3 (C) 呈阴性。如果诊断需要，可以尝试使用 CAM5.2，AE1/AE3 阴性肿瘤的一个子集是 CAM5.2 阳性，如 (D) 所示。如 (E) 所示，小细胞肺癌中的细胞角蛋白染色呈斑点状和点状，但在 (F) 中也可见更多弥漫的胞浆/膜染色。

在 NEN 的鉴别诊断中，哪些非神经内分泌标志物可以帮助进行肿瘤分类？

广泛的细胞角蛋白鸡尾酒，如 AE1/AE3 和低分子量角蛋白 CAM5.2 (细胞角蛋白 8 [CK8] 和一些细胞角蛋白 7 [CK7]) 会对大多数 NEN 进行染色，无论其级别如何 (图 10-4)。据报道，大约 10% 的 NEN 是阴性的 (Rekhtman, 2010 年)，尤其是对 AE1/AE3，尽管可能会对其他细胞角蛋白如 CAM5.2 进行染色。SCLC 通常表现为“边缘和点状”的细胞角蛋白染色模式，特别是 CAM5.2 (Travis 等, 2015a)。虽然 CK7 可能在数量不等的肺部 NEN 中呈阳性，但 CK20 染色阳性应该会增加患梅克尔细胞癌的可能性 (Cheuk 等, 2001 年)。大分子细胞角蛋白，如 CK34 β E12，在肺部 NEN 中一般为阴性，NE 标志物阴性的阳性染色通常表明存在基底鳞状细胞癌，其形态可能与高级别神经上皮细胞相似 (Sturm 等, 2001 年, 2003 年)。p40 或 p63

的弥漫性阳性染色支持鳞状细胞癌的诊断。一小部分高级别 NEC 可能显示 p63 的病灶染色，很少显示 p40 的染色，但不应出现弥漫性染色（Rekhtman 等，2016 年）（[图 10-4](#)）。

简要回答

泛角蛋白和低分子量角蛋白（而非高分子量角蛋白）在 NEN 中应该呈阳性。

NE 标志物应何时用于非小细胞癌？

NE IHC 标志物应仅在存在 NE 分化的形态学特征时使用。如前所述，在无 NE 形态的非小细胞肺癌（伴有 NE 分化的非小细胞癌）中，NE 标志物可能呈不同比例的阳性（[图 10-5](#)）。因此，由于在没有 NE 形态的情况下，NE 标志物阳性的临床意义缺乏数据支持，一般不建议对缺乏 NE 形态的肿瘤进行 NE 标记。此外，偶发肿瘤可能显示 NE 形态，但缺乏嗜铬粒蛋白、突触素或 CD56（具有 NE 形态的非小细胞癌）染色（Travis 等，2015a, 2015b；Yatabe 等，2019 年；Rekhtman，2010 年；Zacharias 等，2003 年）。INSM1 的加入至少可以在一些肿瘤中解决这一问题，但它对疑难病例的补充还需要进一步研究（[图 10-6](#)）。

在小活检或细胞学标本中，NE 的形态学特征可能更难辨别，在小活检中做出 LCNEC 的明确诊断可能特别困难。目前，如果在非小细胞肺癌中检测到 NE 标志物的阳性染色，并且存在 NE 形态，则建议给出“非小细胞癌（NSCC），倾向于

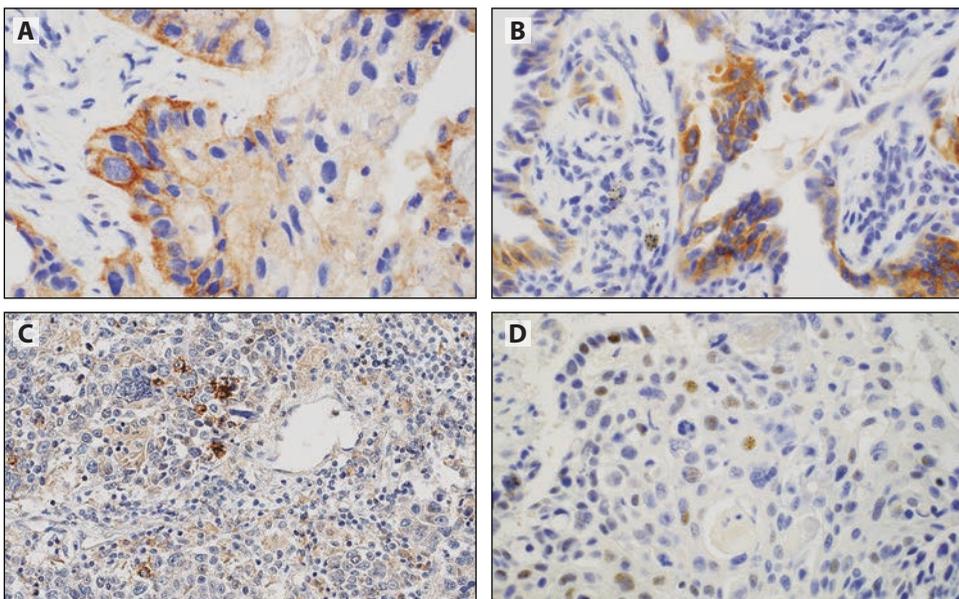


图 10-5. 非神经内分泌、小细胞肺癌（具有 NE 分化的非小细胞癌）的神经内分泌标志物。(A) 鳞状细胞癌 CD56 呈中度和多灶性免疫反应。(B) 伴有多灶性突触素反应性的腺癌。(C) 大细胞癌中可见局灶性嗜铬粒蛋白反应性。(D) 胰岛素瘤相关蛋白 1 (INSM1) 在鳞状细胞癌中表现为局灶性染色，程度较弱。

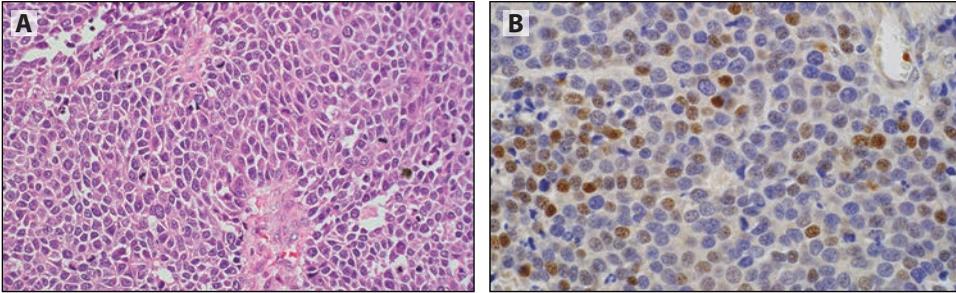


图 10-6. 具有神经内分泌形态的非小细胞肺癌。(A) 在 CD56, 嗜铬粒蛋白和突触素的阴性染色后, 肿瘤预先被诊断为具有神经内分泌形态的非小细胞肺癌。最近, (B) 使用胰岛素瘤相关蛋白 1 (INSM1) 可重新分类为大细胞神经内分泌癌。

LCNEC”的诊断 (Travis 等, 2015a)。如果肿瘤缺乏 NE 形态, 建议给出 NSCC 诊断, 并对 NE 染色的阳性作出说明。鉴于大多数肺癌都是通过小活检或细胞学诊断的, 考虑到与其他 NSCLC 相比在治疗策略上的潜在差异, 在小活检中正确识别 LCNEC 比较困难 (Travis 等, 2015a)。在 LCNEC 的小活检中可能没有明显的 NE 形态, 其存在与活检的大小相关。根据 Derks 及其同事 (2019 年) 的一项研究, 2 个或 3 个 NE 标志物 (嗜铬粒蛋白、突触素、CD56) 的阳性染色的敏感性为 80%, 特异性为 99%。这需要进一步的验证, 而在算法中加入 INSM1 的影响也同样值得研究。

类癌的诊断在小活检上一般是直接了当的; 然而, 有丝分裂的数字和坏死区分的 TC 和 AC 可能不存在, 因此亚型的诊断最好在切除的标本上进行。增殖标志物 Ki-67 的作用将在第 11 章详细讨论, 但目前 Ki-67 在区分 TC 和 AC 方面没有作用。然而, Ki-67 在小活检中对区分高级别 NEC 和类癌肿瘤非常有用, 尤其是在形态不理想的情况下 (Travis 等, 2015a; Pelosi 等, 2014 年, 2017 年)。

简要回答

NE 标志物应仅在存在 NE 分化的形态学特征时使用。在可能难以评估 NE 形态的小样本中, 当 2 个或更多标志物为阳性时可能会有更大的特异性。

结论

在具有 NE 形态的肿瘤中, 嗜铬粒蛋白、突触素、CD56 和 INSM1 的组合是有用的 IHC 标志物, 可以确认 NE 分化。在高级别肿瘤中, 标志物可能更加集中或缺失, 因此可能需要将标志物结合起来使用。在 NE 形态难以评估的小样本中, 2 个阳性标志物可能比单个标志物更具特异性。在疑难病例中, 大分子细胞角蛋白、低分子量角蛋白和 p63/p40 的组合可能有助于与非 NE 形态学模拟物的鉴别诊断。

参考文献

- Agaimy A, Wunsch PH. Distribution of neural cell adhesion molecule (NCAM/CD56) in gastrointestinal stromal tumors and their intra-abdominal mesenchymal mimics. *J Clin Pathol*. 2008;61(4):499-503.
- Cheuk W, Kwan MY, Suster S, et al. Immunostaining for thyroid transcription factor 1 and cytokeratin 20 aids the distinction of small cell carcinoma from Merkel cell carcinoma, but not pulmonary from extrapulmonary small cell carcinomas. *Arch Pathol Lab Med*. 2001;125(2):228-231.
- Derks JL, Dingemans AC, van Suylen RJ, et al. IS the sum of positive neuroendocrine immunohistochemical stains useful for diagnosis of large cell neuroendocrine carcinoma (LCNEC) on biopsy specimens? *Histopathology*. 2019;74(4):555-566.
- Hanley KZ, Dureau ZJ, Cohen C, et al. Orthopedia homeobox is preferentially expressed in typical carcinoids of the lung. *Cancer Cytopathol*. 2018;126(4):236-242.
- Kriegsmann K, Zgorzelski C, Kazdal D, et al. Insulinoma-associated protein 1 (INSM1) in thoracic tumors is less sensitive but more specific compared with synaptophysin, chromogranin A, and CD56. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2020;28(3):237-242.
- Lantuejoul S, Laverriere MH, Strum N, et al. NCAM (neural cell adhesion molecules) expression in malignant mesotheliomas. *Hum Pathol*. 2000;31(4):415-421.
- Lantuejoul S, Moro D, Michalides RJ, et al. Neural cell adhesion molecules (NCAM) and NCAM-PSA expression in neuroendocrine lung tumors. *Am J Surg Pathol*. 1998;22(10):1267-1276.
- Loy TS, Darkow GV, Quesenberry JT. Immunostaining in the diagnosis of pulmonary neuroendocrine carcinomas. An immunohistochemical study with ultrastructural correlations. *Am J Surg Pathol*. 1995;19(2):173-182.
- Marino-Enriquez A, Fletcher CD. Round cell sarcomas—biologically important refinements in subclassification. *Int J Biochem Cell Biol*. 2014;53:493-504.
- Miettinen M. Immunohistochemistry in tumour diagnosis. *Ann Med*. 1993;25(3):221-233.
- Miki M, Ball DW, Linnoila RI. Insights into the achaete-scute homolog-1 gene (hASH1) in normal and neoplastic human lung. *Lung Cancer*. 2012;75(1):58-65.
- Mukhopadhyay S, Dermawan JK, Lanigan CP, et al. Insulinoma-associated protein 1 (INSM1) is a sensitive and highly specific marker of neuroendocrine differentiation in primary lung neoplasms: An immunohistochemical study of 345 cases, including 292 whole-tissue sections. *Mod Pathol*. 2019;32(1):100-109.
- Nakra T, Nambirajan A, Guleria P, et al. Insulinoma-associated protein 1 is a robust nuclear immunostain for the diagnosis of small cell lung carcinoma in cytology smears. *Cancer Cytopathol*. 2019;127(8):539-548.
- Nonaka D, Papaxoinis G, Mansoor W. Diagnostic utility of orthopedia homeobox (OTP) in pulmonary carcinoid tumors. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(6):738-744.
- Olsen SH, Thomas DG, Lucas DR. Cluster analysis of immunohistochemical profiles in synovial sarcoma, malignant peripheral nerve sheath tumor, and Ewing sarcoma. *Mod Pathol*. 2006;19(5):659-668.
- Parkash V, Gerald WL, Parma A, et al. Desmoplastic small round cell tumor of the pleura. *Am J Surg Pathol*. 1995;19(6):659-665.
- Pelosi G, Rindi G, Travis WD, et al. Ki-67 antigen in lung neuroendocrine tumors: unraveling a role in clinical practice. *J Thorac Oncol*. 2014;9(3):273-284.
- Pelosi G, Sonzogni A, Harari S, et al. Classification of pulmonary neuroendocrine tumors: new insights. *Transl Lung Cancer Res*. 2017;6(5):513-529.
- Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(11):1628-1638.
- Rekhtman N, Pietanza MC, Hellmann MD, et al. Next-generation sequencing of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma reveals small cell carcinoma-like non-small cell carcinoma-like subsets. *Clin Cancer Res*. 2016;22(14):3618-3629.
- Rooper LM, Sharma R, Li QK, et al. INSM1 demonstrates superior performance to the individual combined use of synaptophysin, chromogranin and CD56 for diagnosing neuroendocrine tumors of the thoracic cavity. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(11):1561-1569.
- Rosenbaum JN, Guo Z, Baus RM, et al. INSM1: a novel immunohistochemical and molecular marker for neuroendocrine and neuroepithelial neoplasms. *Am J Clin Pathol*. 2015;144(4):579-591.
- Roy M, Buehler DG, Zhang R, et al. Expression of insulinoma-associated protein 1 (INSM1) and orthopedia homeobox (OTP) in tumors with neuroendocrine differentiation at rate sites. *Endocr Pathol*. 2019;30(1):35-42.
- Stathis A, Zucca E, Bekradda M, et al. Clinical response of carcinomas harboring the BRD4-NUT oncoprotein to the targeted bromodomain inhibitor OTX015/MK-8628. *Cancer Discov*. 2016;6(5):492-500.
- Sturm N, Lantuejoul S, Laverriere MH, et al. Thyroid transcription factor 1 and cytokeratins 1, 5, 10, 14

- (34betaE12) expression in basaloid and large-cell neuroendocrine carcinomas of the lung. *Hum Pathol.* 2001;32(9):918-925.
- Sturm N, Rossi G, Lantuejoul S, et al. 34BetaE12 expression along the whole spectrum of neuroendocrine proliferations of the lung, from neuroendocrine cell hyperplasia to small cell carcinoma. *Histopathology.* 2003;42(2):156-166.
- Travis WD, Brambilla, E, Burke, AP, et al. *WHO Classification of the Lung, Pleura, Thymus and Heart.* 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015. (a)
- Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. *J Thorac Oncol.* 2015;10(9):1243-1260. (b)
- Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2011;6(2):244-285.
- Uherova P, Valdez R, Ross CW, et al. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma. An immunophenotypic reappraisal based on a single-institution experience. *Am J Clin Pathol.* 2003;119(2):192-198.
- Viswanathan K, Borczuk AC, Siddiqui MT. Orthopedia homeobox protein (OPT) is a sensitive and specific marker for primary pulmonary carcinoid tumors in cytologic and surgical specimens. *J Am Soc Cytopathol.* 2019;8(1):39-46.
- Weissferdt A, Moran CA. Primary pulmonary primitive neuroectodermal tumor (PNET): a clinicopathological and immunohistochemical study of six cases. *Lung.* 2012;190(6):677-683.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(3):377-407.
- Ye B, Cappel J, Findeis-Hosey J, et al. hASH1 is a specific immunohistochemical marker for lung neuroendocrine tumors. *Hum Pathol.* 2016;48:142-147.
- Zacharias J, Nicholson AG, Ladas GP, et al. Large cell neuroendocrine carcinoma and large cell carcinomas with neuroendocrine morphology of the lung: prognosis after complete resection and systematic nodal dissection. *Ann Thorac Surg.* 2003;75(2):348-352.

增殖标志物

Fernando Lopez-Rios, Masayuki Noguchi 和 Wendy A. Cooper

简介

有许多与增殖相关或细胞周期调节的标志物，如 Ki-67、增殖细胞核抗原 (PCNA)、拓扑异构酶、MCM 和上皮细胞转化因子 2 (ECT2)。其中，Ki-67 免疫组化染色是一种广泛使用的评估肿瘤增殖活性的方法。Ki-67 是一种 DNA 结合蛋白，由位于人类 10 号染色体上的 *MKI67* 基因进行编码。Ki-67 在细胞周期的所有活动期都有表达，但在G₀期不表达 (Chirieac, 2016 年; Rekhtman 等, 2019a)。

什么时候应该在诊断中使用增殖标志物?

虽然评估 Ki-67 增殖率有助于确定高度增殖的肿瘤，但原发性胸部肿瘤无需 Ki-67 作为诊断标准评估。有丝分裂计数评估是对肺部神经内分泌肿瘤进行分类和分级的必要条件，但这种评估有时候很难进行，尤其是在小碎块活检或次优细胞学标本中。在这些情况下，Ki-67 增殖标志物有助于区分类癌和高级别神经内分泌癌（大细胞神经内分泌癌和小细胞癌）(Yatabe 等, 2019 年) (图 11-1)。Ki-67 增殖指数阈值 20% 被认为是非典型类癌的上限 (Travis 等, 2015 年)，高级别神经内分泌癌的下限是 40% 至 50% (Yatabe 等, 2019 年)。然而，从实用的角度来看，小细胞肺癌通常表现出 50% 至 100% 的非常高的 Ki-67 增殖率 (Travis 等, 2015 年; Rekhtman, 2010 年) (图 11-2)。

简要回答

增殖标志物，如 Ki-67，可用于小型压碎活检或细胞学样本，以帮助区分类癌肿瘤和高级别神经内分泌癌，因为压碎且保存不良的细胞可以模拟高级别肿瘤。在原发性胸部神经内分泌肿瘤或任何其他胸部肿瘤的常规诊断评估中不需要增殖标志物。

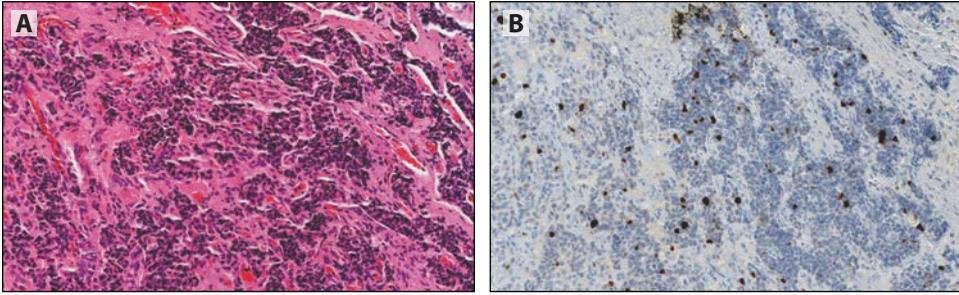


图 11-1. 显示为低增殖指数的 Ki-67 染色有助于从形态上模仿高级别神经内分泌肿瘤的压碎活检中识别类癌肿瘤: (A) H&E, $\times 400$; (B) Ki-67, $\times 400$ 。

Ki-67 在区分典型和非典型类癌中的作用是什么?

在肺部(和胸腺)类癌中,根据 2015 年世界卫生组织 (WHO) 的分类,通过评估有丝分裂比率和有无坏死来区分典型类癌和非典型类癌 (Travis 等, 2015 年)。这种分类无需 Ki-67 即可诊断胸部神经内分泌肿瘤或或对其进行分级。虽然这有些争议,因为肠胰腺神经内分泌肿瘤的常规评估都会使用 Ki-67 (Marchevsky 等, 2018 年; Naheed 等, 2019 年),但发生在不同解剖位置的神经内分泌肿瘤的生物学不一定相同 (Pelosi 等, 2014 年),而且对于肺神经内分泌肿瘤, Ki-67 的支持性数据相对缺乏。类癌可以显示一定范围的 Ki-67 染色(有些数据表明 Ki-67 增殖指数范围在典型类癌中为 2.3%-4.15%,在非典型类癌中为 9%-17.8%) (Pelosi 等, 2014 年)。最近,单独使用 Ki-67 标记指数 ($< 10\%$, 介于 10% 和 19% 之间, $\geq 20\%$) 或结合组织学 (Ki-67 $< 5\%$ 的典型类癌, Ki-67 $\geq 5\%$ 的典型类癌,以及非典型类癌)的几个三方分类与预后有关 (Marchevsky 等, 2018 年; Pelosi 等, 2019 年)。最近一项对 165 个类癌的研究发现, Ki-67 指数(使用数字算法进行评估)在非典型类癌(相比于典型类癌)中显著增加,是队列中唯一有意义的疾病复发预测因子 (Dermawan 和 Farver, 2020 年)。

简要回答

目前, Ki-67 的常规评估在区分典型和非典型类癌方面还没有确定的作用。

活检样本的增殖指数与手术标本的一致性程度如何?

在比较不同标本类型的增殖指数时,现有的大多数证据都与类癌有关。在小活检和切除标本中,类癌的增殖指数可能不同(图 11-3)。目前对于一致性程度存在争议,部分原因是缺乏标准化的评分方法(参见“如何评估 Ki-67”部分) (Fabbri 等, 2017 年; Boland 等, 2020

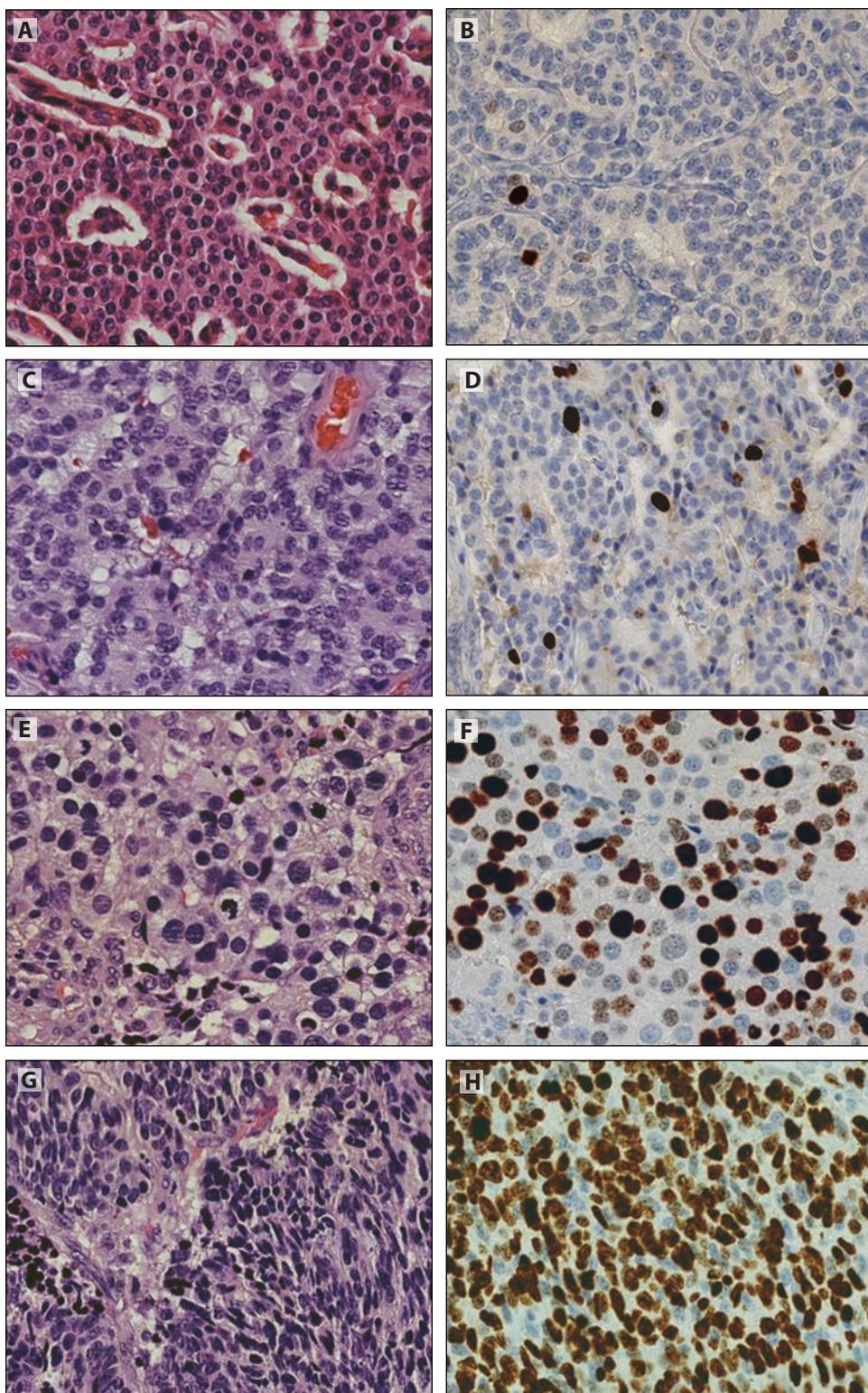


图 11-2. 肺神经内分泌肿瘤的谱系包括 (A 和 B) 典型类癌, (C 和 D) 非典型类癌, (E 和 F) 大细胞神经内分泌癌, 以及 (G 和 H) 小细胞癌; (左栏) H&E, $\times 400$ 和 (右栏) Ki-67 (MIB-1 克隆) $\times 400$ 。

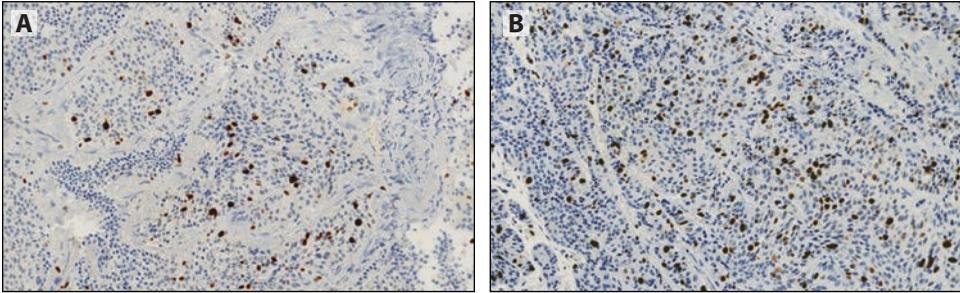


图 11-3. 该类癌在 (A) 初次支气管活检中的标记指数为 8.96%，在 (B) 手术切除标本中的标记指数为 17.25%。Ki-67 (MIB-1 克隆)，× 400。

年)，Ki-67 的异质性，以及这些肿瘤的生物学特征，与原发性肿瘤相比，转移样本中经常出现更高的 Ki-67 和有丝分裂率 (Rekhtman 等, 2019b)。

简要回答

小活检和切除标本之间 Ki-67 增殖指数的一致性尚未得到很好的表征。

Ki-67 在非小细胞肺癌中的预后作用是什么？

有些研究和荟萃分析表明，Ki-67 水平高是小细胞肺癌患者的负面预后因素 (Wei 等, 2018 年; Yatabe 等, 2019 年; Chirieac, 2016 年)。缺乏基于 Ki-67 标准化评估的高质量数据，以及缺乏明确的临床实用价值，阻碍了其在常规临床实践中的使用。

简要回答

评估 Ki-67 作为非小细胞癌预后标志物的临床作用尚未确定。

Ki-67 免疫组织化学抗体重要吗？

目前市面上有几种 Ki-67 抗体 (Biocompare, 日期不详)。MIB-1 克隆是最常用的，尽管目前还没有高质量的数据来比较不同抗体克隆在肺部肿瘤中的表现 (Pelosi 等, 2014 年)。CytoLyt 固定剂的使用抑制了 MIB-1 的免疫反应性，因此 Ki-67 30-9 克隆最近被推荐用于 CytoLyt 固定的细胞块 (Buonocore 等, 2019 年)。或者，中性缓冲福尔马林中的固定剂可以避免这个问题 (图 11-4)。如果正确执行抗原活化 (热诱导表位检索)，固定不足 (< 6 小时) 可能比过度固定更不利于 MIB-1 染色。

简要回答

MIB-1 克隆是评估 Ki-67 最常用的抗体，尽管比较胸部肿瘤中不同克隆的数据很少。

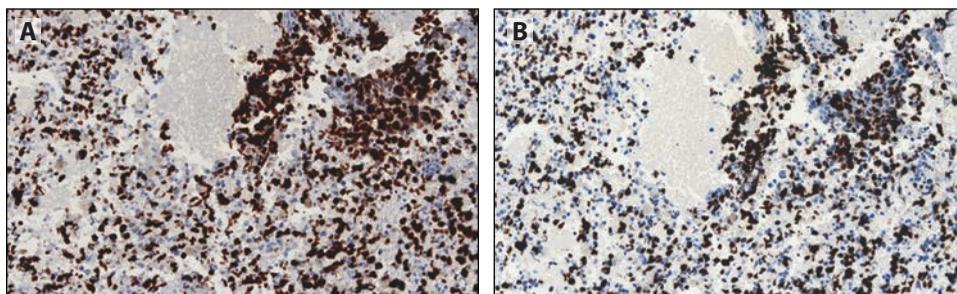


图 11-4. 这个来自转移性小细胞肺癌的细胞块被固定在缓冲福尔马林中。当比较 (A) MIB-1 克隆与 (B) 30-9 克隆时, Ki-67 的表达无明显差异。Ki-67 (MIB-1 克隆), $\times 400$ 。

如何评估 Ki-67?

肺部神经内分泌肿瘤(或任何胸部肿瘤)的标准评分方法尚未建立,也缺乏比较不同方法的可重复性研究。大多数研究都集中于类癌肿瘤(Rekhtman 等, 2019b; Marchevsky 等, 2018 年; Boland 等, 2020 年),并使用热点法和人工计数阳性细胞(Marchevsky 等, 2018 年)。在表达均匀的肿瘤中, Ki-67 增殖指数的单一数值可以根据 (1) $a \times 20$ 视野或 2 mm^2 区域显示的核 Ki-67 染色的细胞百分比,或 (2) 500 至 2000 个细胞来计算(Rekhtman 等, 2019b; Pelosi 等, 2019 年)。在异质性的情况下,使用热点和 Ki-67 平均值(Rekhtman 等, 2019b)。使用经过验证的核算法进行自动量化可能有助于标准化(Boland 等, 2020 年),但这种方法并不广泛使用。

简要回答

没有确定的标准化方法来评估胸部肿瘤中的 Ki-67。

结论

目前,常规使用免疫组织化学增殖标志物对肺神经内分泌肿瘤(或其他胸部肿瘤)的诊断评估没有作用。在神经内分泌肿瘤的小型压碎活检或不理想的细胞学标本中, Ki-67 有助于区分类癌和高级别神经内分泌癌,避免落入过度诊断高级别神经内分泌肿瘤的诊断陷阱。

参考文献

Biocompare. Anti-Ki-67 antibody products. Accessed March 30, 2020. <https://www.biocompare.com/pfu/110447/soids/3219/Antibodies/Ki-67>

Boland JM, Kroneman TN, Jenkins SM, et al. Ki-67 labeling index in pulmonary carcinoid tumors: comparison between small biopsy and resection using tumor tracing and hot spot methods. *Arch Pathol Lab Med*. Published online January 16, 2020. doi:10.5858/arpa.2019-0374-OA

Buonocore DJ, Konno F, Jungbluth AA, et al. CytoLyt fixation significantly inhibits MIB1 immunoreactivity whereas alternative Ki-67 clone 30-9 is not susceptible to the inhibition: critical diagnostic implications. *Cancer Cytopathol*. 2019;127(10):643-649.

Chirieac LR. Ki-67 expression in pulmonary tumors. *Transl Lung Cancer Res*. 2016;5(5):547-551.

Dermawan JKT, Farver CF. The role of histologic grading and Ki-67 index in predicting outcomes in pulmonary carcinoid tumors. *Am J Surg Pathol*. 2020;44(2):224-231.

Fabbri A, Cossa M, Sonzogni A, et al. Ki-67 labeling index of neuroendocrine tumors of the lung has a high level of correspondence between biopsy samples and surgical specimens when strict counting guidelines are applied. *Virchows Arch*. 2017;470(2):153-164.

Marchevsky AM, Hendifar A, Walts AE. The use of Ki-67 labeling index to grade pulmonary well-differentiated neuroendocrine neoplasms: current best evidence. *Mod Pathol*. 2018;31(10):1523-1531.

Naheed S, Holden C, Tanno L, et al. The utility of Ki-67 as a prognostic biomarker in pulmonary neuroendocrine tumours: protocol for a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2019;9(8):e031531.

Pelosi G, Massa F, Gatti G, et al. Ki-67 evaluation for clinical decision in metastatic lung carcinoids: a proof of concept. *Clin Pathol*. 2019;12:2632010X19829259.

Pelosi G, Rindi G, Travis WD, et al. Ki-67 antigen in lung neuroendocrine tumors: unraveling a role in clinical practice. *J Thorac Oncol*. 2014;9(3):273-284.

Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(11):1628-1638.

Rekhtman N, Baine MK, Bishop JA. *Quick Reference Handbook for Surgical Pathologists*. 2nd ed. Springer; 2019. (a)

Rekhtman N, Desmeules P, Litvak AM, et al. Stage IV lung carcinoids: spectrum and evolution of proliferation rate, focusing on variants with elevated proliferation indices. *Mod Pathol*. 2019;32(8):1106-1122. (b)

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. eds. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015.

Wei DM, Chen WJ, Meng RM, et al. Augmented expression of Ki-67 is correlated with clinicopathological characteristics and prognosis for lung cancer patients: an up-dated systematic review and meta-analysis with 108 studies and 14,732 patients. *Respir Res*. 2018;19(1):150.

Yatabe Y, Dacic S, Borcuk AC, et al. Best practice recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.

细胞学中的免疫组织化学

Lukas Bubendorf, Yuchen Han 和 Andre L. Moreira

12

简介

在细胞学标本中进行高精度免疫染色的能力是至关重要的，因为高达 40% 的肺癌诊断是仅通过细胞学做出的。细胞学不仅等同于组织学，用于小细胞肺癌 (NSCC) 的亚型划分，而且是一种极具吸引力的微创方法，可以收集肿瘤材料，用于复发或转移疾病的重复生物标志物的分析 (Sigel 等, 2011 年)。经支气管超声内镜引导的细针穿刺 (EBUS-FNA) 是最有价值的细胞学技术之一。然而，其他方式，如胸腔 FNA，支气管分泌物或刷检，支气管肺泡灌洗和胸腔积液，或远处转移位点的 FNA 也很重要。与组织学相比，细胞学的主要差异和挑战在于分析前条件的更大变异性和组织结构的缺乏。随着 NSCC 中出现的预测生物标志物的数量不断增加，免疫组织化学 (IHC) 已被用作荧光原位杂交 (FISH) 和分子检测的快速且划算的替代方法，用于筛查其中几种改变 (Jain 等, 2019 年)。最近的几篇出版物阐述了细胞学中 IHC 检测的现状和挑战 (Zhou 和 Moreira, 2016 年; Bubendorf 等, 2017 年; Yatabe 等, 2019 年; Jain 等, 2019 年)。对细胞学肺癌标本进行免疫组织化学检测的必要性是毋庸置疑的。

细胞学样本的哪一部分最适合免疫染色： 细胞块涂片、风干涂片还是乙醇固定涂片？

细胞块标本

原则上，可以将细胞学制备分为 *细胞块细胞学* 和 *非细胞块细胞学*。细胞块是最容易获得的免疫染色细胞学形式，因为可以像处理福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 组织标本一样对其进行处理，这种处理方法可以对免疫染色方案进行优化 (图 12-1A 和 B)。研究表明，细胞块和匹配的组织标本之间不同标记的高度一致，这一结果支持了这一

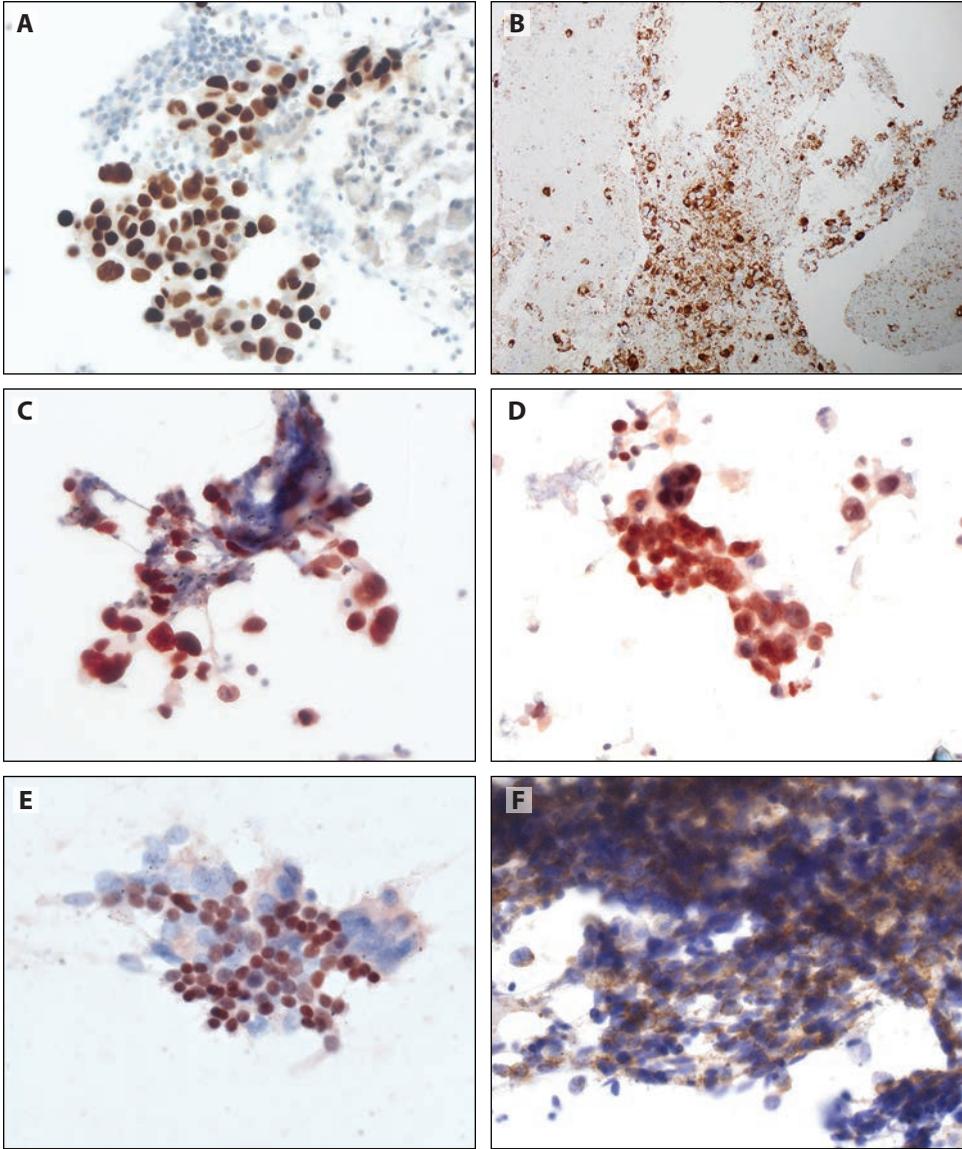


图 12-1. (A) 使用 3,3'-二氨基联苯胺 (DAB) 色原 (BenchMark ULTRA, $\times 400$) 在超声内镜引导 (EBUS) 下的经支气管镜活检 (TBNA) 的细胞块上发现甲状腺转录因子 1 (TTF1)-阳性非小细胞肺癌 (NSCC)。 (B) 使用 DAB 色原 (BenchMark ULTRA, $\times 400$) 在 EBUS-TBNA 细胞块上发现天冬氨酸蛋白酶 A 阳性的 NSCC。 (C-F) 使用 3-氨基-9-乙基咔唑 (AEC) 色原 (Leica Bond) 对先前乙醇固定的涂片和巴氏染色涂片进行 IHC。 (C) EBUS-TBNA 中 TTF1 阳性的 NSCC ($\times 400$)。 (D) 细胞刷检中的 p40 阳性鳞状细胞癌 ($\times 630$)。 (E) 纤毛呼吸道细胞下的 p40 阳性良性基底细胞 ($\times 400$)。 (F) CD56 在膜性突起小细胞肺癌中的表达 (TBNA, $\times 400$)。

点 (Yatabe 等, 2019 年)。然而, 缺乏预固定方法和制备方案的国际标准仍然是细胞块的一个主要问题 (Jain 等, 2014 年; Saqi, 2016 年)。目前, 用于制备细胞块的方法超过 10 种, 在美国最常见的方法是血浆凝血酶、HistoGel (Thermo Fisher Science)、Cellient 自动细胞块系统 (Hologic) (Crapanzano 等, 2014 年), 以及这些方法的改进版 (Rekhtman 等, 2018 年)。几乎所有方案的最后一步都相同, 即将颗粒固定在

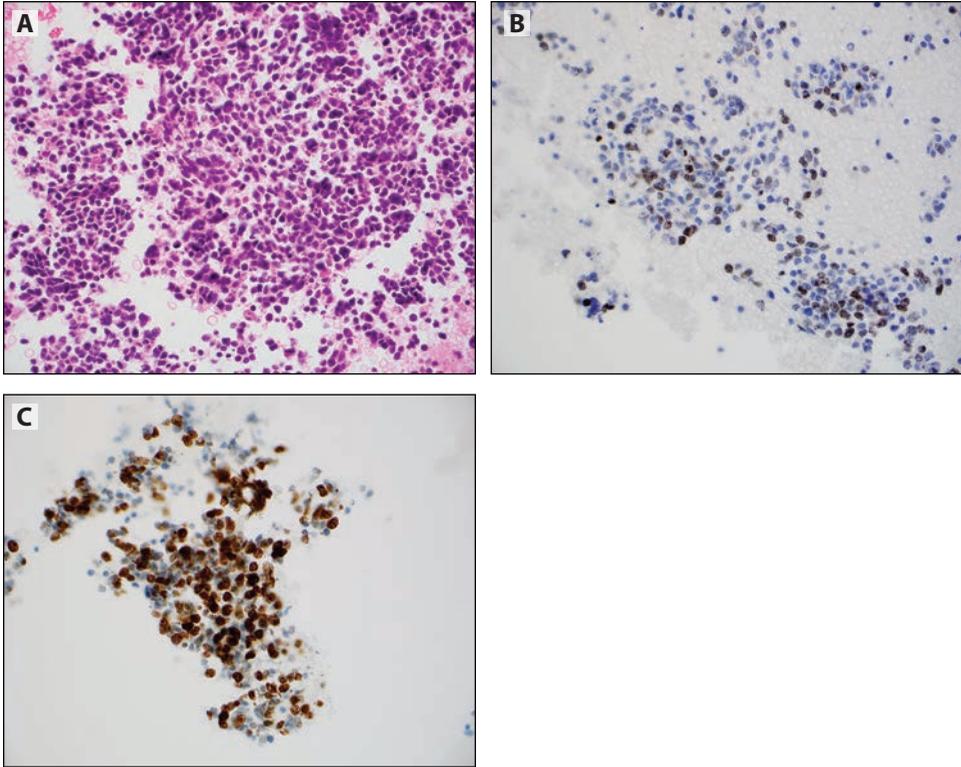


图 12-2. (A) 神经内分泌肿瘤细胞块的 H&E 染色切片、嗜铬粒蛋白和突触素染色均为阳性。标本用乙醇**(B)**和福尔马林**(C)**固定，并进行免疫染色。**(B)** Ki-67 (克隆 MIB-1) 的 IHC 染色显示该标志物的低阳性，表明是低级别类癌。**(C)** Ki-67 (克隆 30.9) 的 IHC 染色在 50% 以上的肿瘤细胞中呈阳性，表明是高级别的神经内分泌 (NE) 肿瘤。（图片由纪念斯隆-凯特琳癌症中心的 Dr. N. Rekhtman 提供）。

10% 的缓冲福尔马林中，并将其加工成 FFPE 块。固定的范围很广，细胞材料可以固定在 10% 的缓冲福尔马林中，也可以在用福尔马林固定之前预先固定在乙醇或甲醇溶液中，甚至是纯固定在 95% 的乙醇中。

尽管根据之前的一项调查 (Fischer 等, 2014 年)，大量的传输介质、预固定剂和细胞块协议似乎不会导致免疫染色的系统性问题，但最近的分析指出了与细胞块分析前因素有关的具体挑战，特别是乙醇或甲醇预固定 (Zhou 和 Moreira, 2016 年)。除了在 CytoLyt 固定剂中甲状腺转录因子 1 (TTF1) 无表达或几乎无表达外 (Gruchy 等, 2015 年)，在 Cellient (Hologic) 细胞块系统上测试的 30 种抗体中，近一半 (43%) 的抗体未能通过使用 BenchMark XT 自动 IHC/ISH 染色仪为 FFPE 组织标本制定的条件而进行的初步验证 (Sauter 等, 2016 年)。此外，认识到抗体克隆和预固定条件的影响可以防止在评估诊断 IHC 时出现重大问题。[图 12-2](#) 突出了在常用的 Ki-67 克隆中酒精基固定剂的影响 (Buonocore 等, 2019 年)。

虽然 FFPE 细胞块已经成为针对 IHC 分析的主要细胞学制备类型，但它们也有一些局限性。细胞块比非细胞块制备更耗时、更昂贵，在技术上也更具挑战性，而且

并不是所有患者和所有实验室都能获得细胞块（Nambirajan 和 Jain，2018 年；Hendry 等，2020 年）。

非细胞块标本

非细胞块细胞学标本的制备多种多样，包括风干和酒精固定涂片、离心涂片标本（Cytospin, Thermo Fisher Scientific）、ThinPrep (Hologic) 或 SurePath (Becton Dickinson) 液体标本。多种分析前条件和制备方法使得非细胞块标本的免疫染色标准化比细胞块标本的标准化更具挑战性。非细胞块细胞学中使用最广泛的固定剂包括基于乙醇的 Saccomanno（50% 乙醇和 2% 聚乙二醇），Delaunay（等量乙醇和丙酮混合 0.5 mL 1 M 三氯乙酸），以及商用喷雾固定剂，而基于甲醇的 CytoLyt 或 PreservCyt 溶液（后者正针对 ThinPrep 液基细胞学载玻片制备系统进行优化）可用作防腐剂 and 传输介质。基于乙醇的 CytoRich Red 收集液 (Thermo Fisher Scientific) 也含有福尔马林。所有这些固定剂和传输介质对于免疫染色都可能是有问题的，并且有些抗体经常得到与组织学不一致的结果（Gong 等，2003 年；Skoog 和 Tani 2011 年；Sauter 等，2016 年；Gorman 等，2012 年；Buonocore 等，2019 年）。

然而，对于免疫组织化学，在英国国家外部质量评估服务（UK NEQAS），几乎所有非福尔马林固定剂，包括 Delaunay、甲醇和乙醇溶液，以及基于乙醇和福尔马林的 CytoRich Red，都产生了与单独使用福尔马林相似的免疫染色质量（Kirbis 等，2011 年）。因此，实验室可以根据自身需要使用这些固定剂中的任何一种，唯一要注意的是在临床应用之前，需要严格重新验证免疫组织化学程序。事实上，有很好的证据表明，通过对分析因素进行适当修改，非细胞块制备的 IHC 可以等同于 FFPE 组织或细胞块切片的 IHC（Abendroth 和 Dabbs，1995 年；Leung 和 Bedard 1996 年；Denda 等，2012 年；Kalhor 等，2006 年；Savic 等，2013 年；Russell-Goldman 等，2018 年；Lozano 等，2019 年）。许多对非细胞块标本应用免疫染色的实验室使用诊断性巴氏染色载玻片（Fischer 等，2014 年；Schmitt 等，2011 年）（图 12-1C-F）。

之前的巴氏染色不会对免疫染色反应产生负面影响，因此可以对可用的载玻片进行分类以进行免疫染色，并标记重点目标区域。使用风干直接涂片和细胞学标本所获得的结果并不相同，有些作者报告称完全没有染色（Fischer 等，2014 年；Liu 和 Farhood，2004 年），而有些作者则报告称在福尔马林后固定的未染色载玻片上成功进行了 IHC（Fulciniti 等，2008 年；Roh 等，2012 年）和/或酒精/甲醇-丙酮（Skoog 和 Tani，2011 年）。巴氏染色的复染色通常会在内源性过氧化物酶阻断和/或抗原修复期间褪色（Denda 等，2013 年）。在 IHC 前，非细胞块细胞学的预染载玻片需要在二甲苯中浸泡，以溶解永久的安装介质并去除盖玻片。这一过程需要几个小时才能获得新鲜标本，但在回顾性研究中可能需要几天时间，具体取决于存档时间的长

短。如果用盖玻片适当密封，先前染色的酒精固定细胞学载玻片中的表位可以在至少 1 到 2 年的档案期内保持完好 (Vlajnic 等, 2018 年)。热诱导抗原修复 (HIAR) 对于发现酒精固定的巴氏染色涂片中所有核抗原和部分细胞质和膜抗原的表位反应性至关重要 (Denda 等, 2012 年)。HIAR 可以改善 ThinPrep 标本上某些抗原的 IHC 染色 (Zhang 等, 2012 年) 和福尔马林固定后的风干涂片的染色 (Roh 等, 2012 年)。与 FFPE 组织相比, 较短的 HIAR 时间对于细胞学涂片来说通常是足够的。HIAR 应针对每个抗体分别进行优化。

使用自动染色平台可以提高 IHC 结果的标准化和可重复性, 但关于非细胞块制备的公开数据仍然很少。有些实验室使用 Leica Bond 自动染色仪 (Vlajnic 等, 2018 年)、BenchMark XT/ULTRA 平台 (Jain 等, 2018 年; Martinez 等, 2013 年; Lozano 等, 2019 年), 或 Dako 自动染色仪 (Noll 等, 2018 年)。外部质量评估对于保持高免疫染色质量也很重要。事实上, 英国 NEQAS 已经启动了一个外部质量评估项目, 以帮助规范和提高细胞学免疫染色的质量 (Kirbis 等, 2011 年)。

简要回答

所有细胞学制备, 包括细胞块, 乙醇固定和风干的载玻片, 主要可用于免疫染色。福尔马林固定的细胞块是最直接和最常用的。免疫染色细胞学标本需要严格的方案优化、验证和质量控制, 特别是在非细胞块制备中。

细胞学肺癌标本中预测性免疫组化生物标志物检测的可靠性如何?

在预测性生物标志物检测时代, 人们对细胞学 IHC 的兴趣陡然增加, 要么作为治疗的选择性生物标志物 (例如, 程序性死亡配体-1 [PD-L1] 和间变性淋巴瘤激酶 [ALK]), 要么作为后续分子检测的预筛选方法 (例如, *c-ros* 致癌基因 1 [ROS1] 和神经源性酪氨酸受体激酶 [NTRK])。PD-L1 显然是这一发展的主要驱动力, 过去几年中关于细胞学 PD-L1 检测的出版物数量大大增加就是证明 (Gosney 等, 2020 年)。经过验证的预测性 IHC 检测是针对组织学标本的, 而细胞学标本在相关的靶向药物或免疫检查点抑制剂的临床试验中尚未进行分析 (Thunnissen 等, 2018 年)。然而, 随着主要产生细胞学样本的微创诊断程序的进展, 在临床实践中, 对细胞学样本的预测性生物标志物测试的需求越来越大 (Jain 等, 2019 年)。由于处理技术的不同, 当对细胞学标本进行有效的 IHC 检测时, 需要重新验证检测结果 (Fitzgibbons 等, 2014 年)。正如前面所讨论的, 细胞学样本分析前因素的较大变异性使得细胞学中免疫组织化学的标准化具有挑战性。

PD-L1 IHC

细胞块 PD-L1 检测已经成为一种常见的诊断实践, 使用的是为组织标本开发的分析和方案。事实上, 近对 9 项合格研究的综述显示, PD-L1 IHC 的高成功率和细胞

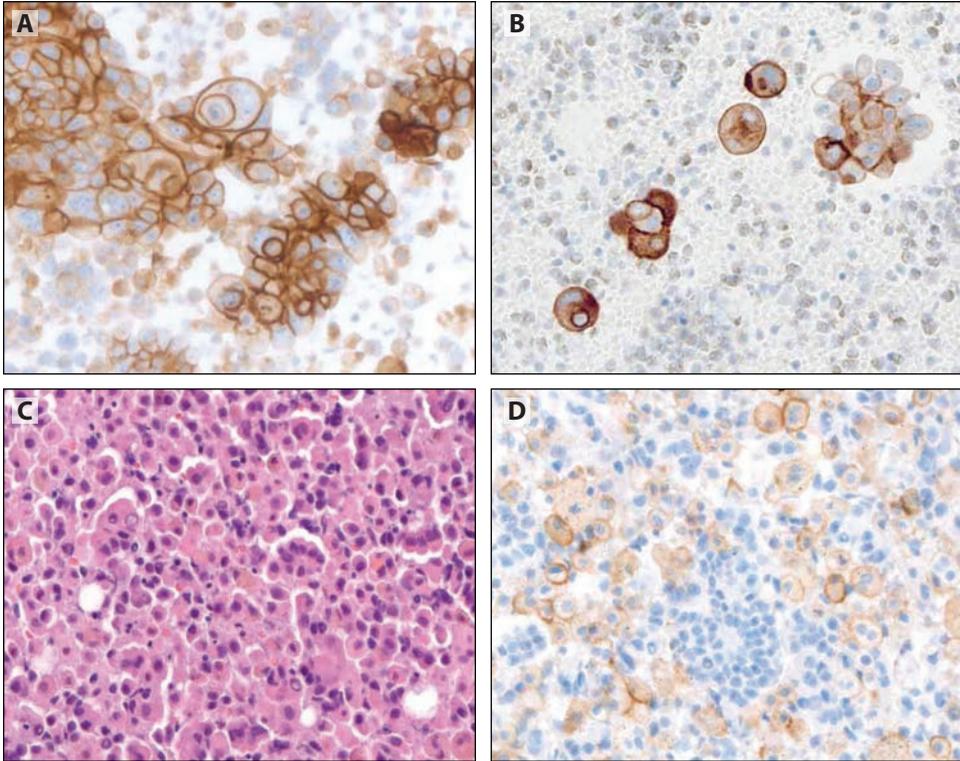


图 12-3. 使用 BenchMark ULTRA VENTANA PD-L1 (SP263) 检测法对细胞块非小细胞肺癌 (NSCLC) 标本进行程序性死亡配体 1 (PD-L1) IHC 检测。(A) 所有肿瘤细胞或 (B) 大部分肿瘤细胞 (恶性积液; $\times 400$, 每例) 有明显的膜性染色。(C-D) PD-L1 阴性的腺癌细胞聚集物和混合的局灶性色素组织细胞, 其中大多数呈 PD-L1 弱阳性 (H&E 和 PD-L1, FNA: $\times 400$, 每例)。

块与匹配的组织学之间的高一致性等不断累积的事后证据证明了这种做法是正确的 (Gosney 等, 2020 年)。相比之下, 非细胞块样本只有新兴数据, 但却指向相同的方向 (Noll 等, 2018 年; Jain 等, 2018 年; Capizzi 等, 2018 年; Lozano 等, 2019 年; Munari 等, 2019 年)。

在组织学标本中, PD-L1 染色阳性定义为任何强度的肿瘤细胞的完全环状或部分线状胞浆膜染色。肿瘤细胞中只有胞浆染色在评分时不被视为阳性。细胞块切片也是如此 (图 12-3A 和 B)。然而, 在非细胞块的细胞学标本中, 膜染色不太明显, 因为细胞膜是完整的, 不像 FFPE 组织切片那样被切割 (Bubendorf 等, 2017 年)。因此, 水平定向细胞膜的 PD-L1 染色可以表现为类似于细胞质染色的弥漫表面染色 (图 12-4)。对背景巨噬细胞和炎性细胞导致的 PD-L1 阳性的高估可能发生在细胞块和非细胞块标本中, 尤其是在以单细胞为主的肿瘤细胞夹杂着炎症细胞和间皮细胞的渗出标本中 (图 12-3C 和 D 和 12-4D)。在相应的切片上进行 TTF1 和/或泛白细胞标志物 (如 CD45) 等确认性免疫染色, 有助于确认肿瘤细胞的 PD-L1 阳性的评分。考虑到 PD-L1 IHC 免疫组化解释的这些固有困难, 以及 PD-L1 表达的已知异

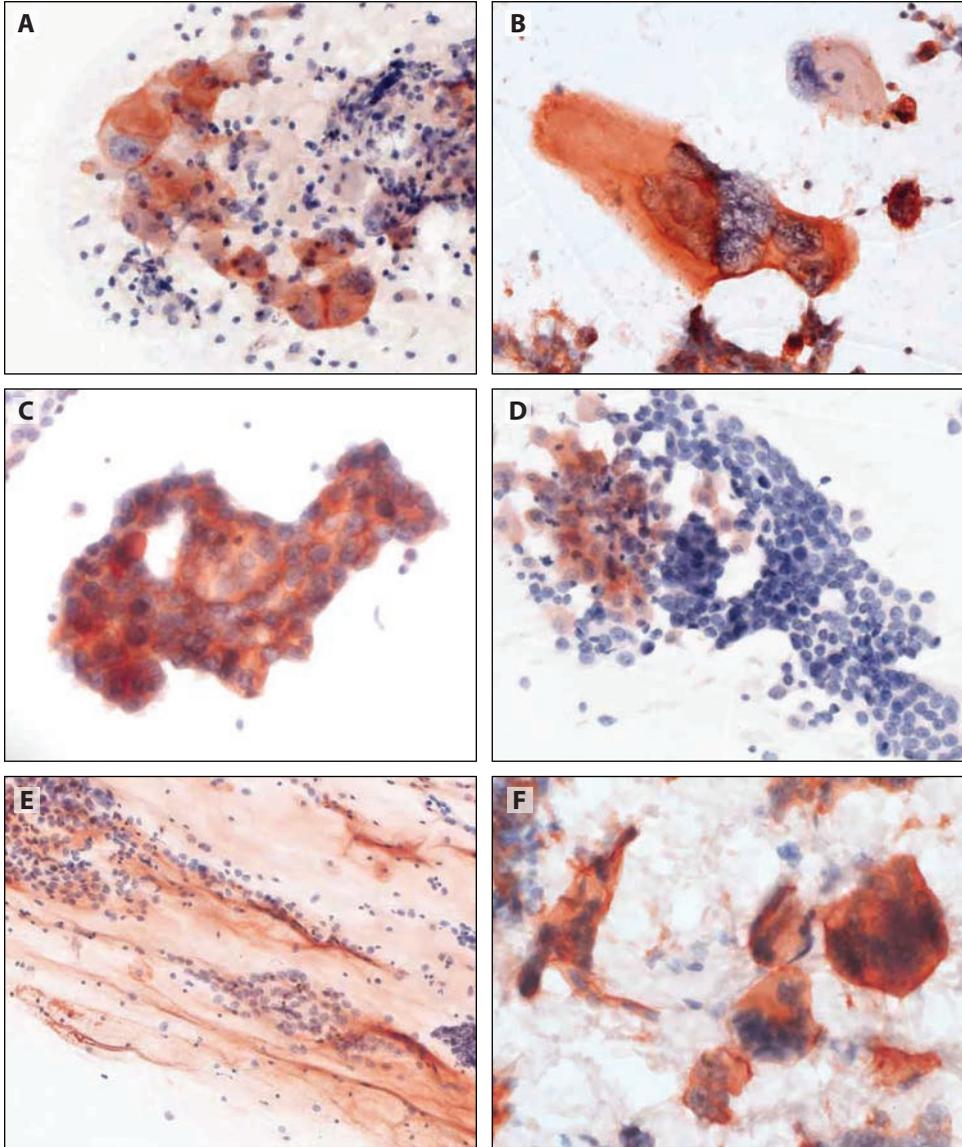


图 12-4. 在 Leica Bond 上使用 PD-L1 实验室自建检测 (LDT) 对乙醇固定和巴氏染色的 NSCC 细胞学标本进行程序性死亡配体 1 (PD-L1) IHC。(A) 带有膜状突起的 PD-L1 阳性肿瘤细胞 (VENTANA PD-L1 [SP263] 检测, $\times 400$)。(B) 带有弥漫性胞浆染色的多形性肿瘤细胞 (VENTANA PD-L1 [SP142] 检测, $\times 630$)。(C) 带有胞浆类染色和局灶性膜状突起的肿瘤细胞 (Leica 73-10, $\times 400$)。(D) PD-L1 阴性肿瘤细胞, 以巨噬细胞为内阳性染色对照 (VENTANA PD-L1 [SP263] 检测, $\times 400$)。(E) 粘蛋白和肿瘤细胞的非特异性弱染色均为 PD-L1 阴性 (VENTANA PD-L1 [SP263] 检测, $\times 200$)。(F) 分离的胎盘绒毛滋养层细胞作为 PD-L1 阳性对照 (VENTANA PD-L1 [SP263] 检测, $\times 400$)。

质性, 应避免对肿瘤细胞少于 100 的细胞学样本进行检测 (Hendry 等, 2020 年), 而有些人甚至建议肿瘤细胞至少为 400 个 (Dong 等, 2020 年)。与肿瘤细胞评分相比, 对细胞学标本进行可靠的免疫细胞 (IC) 评分几乎是不可能的, 因为缺乏组织结构背景, 因此不应该实施。

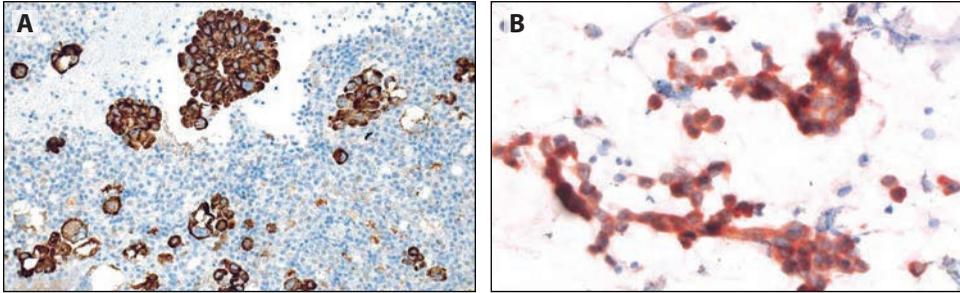


图 12-5. 两例间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 重排的肺腺癌的 IHC。用 5A4 抗体 (Novocastra) 对 (A) 有肺腺癌恶性积液的细胞块 (BenchMark ULTRA, 3,3'-二氨基联苯胺 [DAB], $\times 200$) 和 (B) 先用乙醇固定和巴氏染色的支气管针吸活检 (TBNA) 样本 (Leica Bond, 3-氨基-9-乙基吡唑 [AEC], $\times 400$) 进行实验室自建检测 (LDT)。

ALK、ROS1 和 pan-TRK IHC

用 IHC 检测 ALK 或 ROS1 蛋白的过表达是一种行之有效的方法，可以筛查 NSCC 以进行后续 FISH 或进一步评估不确定的 FISH 结果（在第 19 章详述）。与组织学标本一样，ALK IHC 法同样适用于细胞学标本（图 12-5）。对于细胞学 ALK IHC 的大多数研究都是在 FFPE 细胞块上进行的（无需修改 IHC 程序），使用 5A4 或 D5F3 克隆和各种自动化染色平台上（Jain 等，2019 年）。这些研究一致表明，FISH 对 ALK 重排具有 100% 的敏感性，尽管特异性不一（83%-100%）。乙醇固定的非细胞块制剂也已由 ALK IHC 进行了测试。除了有 2 项研究报告了对酒精固定的涂片有 100% 的敏感性外，其他研究报告的 IHC 敏感性相对较差，从 66% 到 86% 不等（Jain 等，2019 年）。后面的研究都没有使用高度敏感的 VENTANA ALK (D5F3) CDx 检测法，这是大多数细胞块研究中所使用的检测方法。

如第 19 章所述，ROS1 IHC 对组织标本和细胞块中 ROS1 重排的肺癌进行预筛查是非常准确的。对于细胞学涂片和 Cytospin 标本，当在 Leica Bond 自动免疫染色仪上使用 D4D6 兔单克隆抗体 (Cell Signaling Technology, Inc.) 时，情况似乎也是如此（Vlajnic 等，2018 年）（图 12-6）。对于细胞学标本，目前还没有关于新的 VENTANA ROS1 (SP384) 兔单克隆一抗方面的数据。ROS1 IHC 高度敏感，但缺乏特异性（Hung 和 Sholl，2018 年）。该抗体染色巨噬细胞和反应性肺细胞，在非 ROS1 重排的腺癌中显示出一定的反应性，因此建议通过 FISH 或下一代测序来确认结果。

NTRK1-3 重排检测是一种肿瘤诊断性生物标志物，用于选择接受 NTRK 抑制剂治疗的患者，已成为 NSCC 和其他实体肿瘤的另一项必要检测。由于 *NTRK* 重排在 NSCC 中的发生率非常低 ($< 0.5\%$)，推荐采用 IHC 进行预筛查。使用抗 pan-TRK 抗体 EPR173 的 pan-TRK IHC 已被证明在组织标本中具有敏感性和特异性。现在可以使用一种用于 FFPE 肿瘤组织的商业 Ventana 体外诊断 (IVD) 检测方法（Hechtman 等，2017 年）。可以预见的是，pan-TRK 也将对细胞学样本进行研究，但目前还没有这方面的数据（图 12-7）。

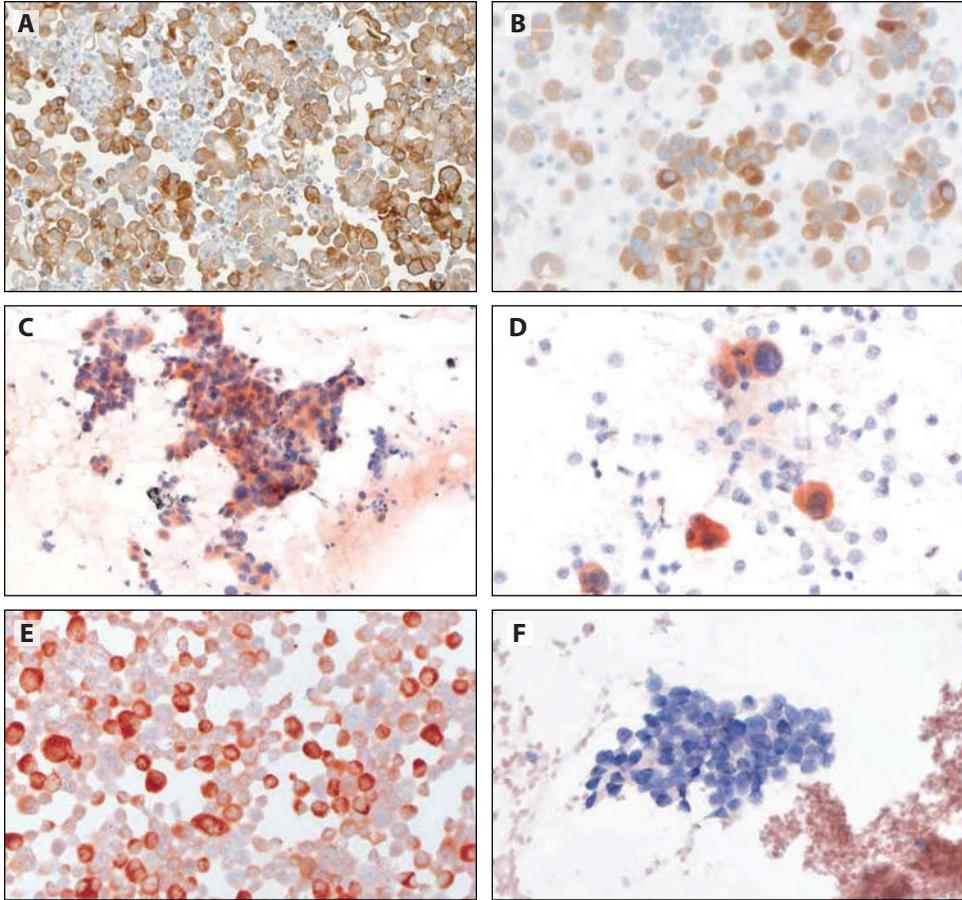


图 12-6. ROS1 IHC。 (A-B) 使用 Optiview DAB IHC 检测试剂盒在 BenchMark ULTRA 上进行检测的细胞块和 (C-F) 使用 D4D6 抗体 (Cell Signaling Technology, Inc.) 在 Leica Bond (AEC 作为色原) 上进行检测的之前用乙醇固定的巴氏染色标本。(A) 使用 D4D6 抗体 (Cell Signaling Technology, Inc., × 200) 的恶性积液与 c-ros 致癌基因 1 (ROS1) 重排的肺腺癌。(B) 使用 VENTANA ROS1 (SP384) 兔单克隆一抗检测非 ROS1 重排、Kirsten 鼠肉瘤病毒癌基因同源物 (KRAS) 突变的肺腺癌的非特异性 ROS1 染色 (× 400)。(C-D) ROS1 重排的肺腺癌胞浆染色均匀 (× 400, 每例)。(E) 以 ROS1 重排的非小细胞癌 (NSCC) 细胞系 HCC78 为阳性染色对照 (× 200)。(F) ROS1 阴性、出血性 NSCC (× 400)。

简要回答

细胞学标本可用于预测 PD-L1、ALK 和 ROS1 IHC，细胞块是目前推荐的制备方法。非细胞块载玻片上这些预测性 IHC 的有限数据很有希望，但需要进一步确认。

结论

毋庸置疑，细胞学标本是肺癌辅助检测的有用和不可或缺的资源，无论是出于诊断还是预测的目的，包括 IHC。FFPE 细胞块是首选

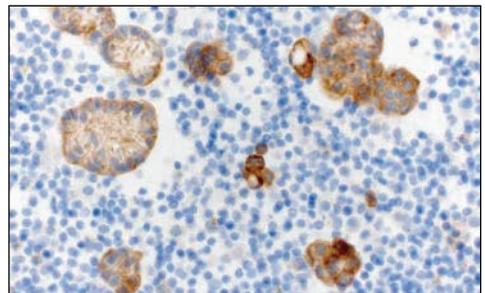


图 12-7. 证实有 CLIP1-NTRK1 基因融合的肺腺癌的细胞。用 Abcam pan-TRK 抗体 EPR17341 进行阳性免疫组化 (细胞块, × 400)。(图片由卢塞恩的 Joachim Diebold 提供)

且最常用的格式，可以使用基于组织的 IHC 协议将其集成到现有技术工作流程中。虽然 IHC 检测在经验丰富的实验室中对非细胞块细胞学标本也有效果，但还需要进行进一步的工作。

参考文献

- Abendroth CS, Dabbs DJ. Immunocytochemical staining of unstained versus previously stained cytologic preparations. *Acta Cytol.* 1995;39(3):379-386.
- Bubendorf L, Lantuejoul S, de Langen AJ, et al. Nonsmall cell lung carcinoma: diagnostic difficulties in small biopsies and cytological specimens. In: Dorfmueller P, Cavazza A, eds. *Pathology for the Clinician*, vol. 2. *Eur Respir Rev.* 2017;26(144):170007.
- Buonocore DJ, Konno F, Jungbluth AA, et al. CytoLyt fixation significantly inhibits MIB1 immunoreactivity whereas alternative Ki-67 clone 30-9 is not susceptible to the inhibition: critical diagnostic implications. *Cancer Cytopathol.* 2019;127(10):643-649.
- Capizzi E, Ricci C, Giunchi F, et al. Validation of the immunohistochemical expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) on cytological smears in advanced non small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2018;126:9-14.
- Crapanzano JP, Heymann JJ, Monaco S, et al. The state of cell block variation and satisfaction in the era of molecular diagnostics and personalized medicine. *Cytojournal.* 2014;11:7.
- Denda T, Kamoshida S, Kawamura J, et al. Optimal antigen retrieval for ethanol-fixed cytological smears. *Cancer Cytopathol.* 2012;120(3):167-176.
- Denda T, Kamoshida S, Kwamura J, et al. Rapid immunocytochemistry with simple heat-induced antigen retrieval technique for improvement in the quality of cytological diagnosis. *J Histochem Cytochem.* 2013;61(12):920-930.
- Dong Z, Liu Y, Jiang T, et al. Cell block as a surrogate for programmed death-ligand 1 staining testing in patients of non-small cell lung cancer. *J Cancer.* 2020;11(3):551-558.
- Fischer AH, Schwartz MR, Moriarty AT, et al. Immunohistochemistry practices of cytopathology laboratories: a survey of participants in the College of American Pathologists Nongynecologic Cytopathology Education Program. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(9):1167-1172.
- Fitzgibbons PL, Bradley LA, Fatheree LA, et al. Principles of analytic validation of immunohistochemical assays: guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(11): 1432-1443.
- Fulciniti F, Frangella C, Staiano M, et al. Air-dried smears for optimal diagnostic immunocytochemistry. *Acta Cytol.* 2008;52(2):178-186.
- Gong Y, Sun X, Michael CW, et al. Immunocytochemistry of serous effusion specimens: a comparison of ThinPrep vs cell block. *Diagn Cytopathol.* 2003;28(1):1-5.
- Gorman BK, Kosarac O, Chakraborty S, et al. Comparison of breast carcinoma prognostic/predictive biomarkers on cell blocks obtained by various methods: cellient, formalin and thrombin. *Acta Cytol.* 2012;56(3):289-296.
- Gosney JR, Boothman AM, Ratcliffe M, et al. Cytology for PD-L1 testing: a systematic review. *Lung Cancer.* 2020;141:101-106.
- Gruchy JR, Barnes PJ, Dakin Hache KA. CytoLyt fixation and decalcification pretreatments alter antigenicity in normal tissues compares with standard formalin fixation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2015;23(4):297-302.
- Hechtman JF, Benayed R, Hyman DM, et al. Pan-TRK immunohistochemistry is an efficient and reliable screen for the detection of NTRK fusions. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(11):1547-1551.
- Hendry S, Byrne DJ, Christie M, et al. Adequate tumour cellularity is essential for accurate PD-L1 immunohistochemistry assessment on cytology cell-block specimens. *Cytopathology.* 2020;31(2):90-95.
- Hung YP, Sholl LM. Diagnostic and predictive immunohistochemistry for non-small cell lung carcinomas. *Adv Anat Pathol.* 2018;25(6):374-386.
- Jain D, Mathur SR, Iyer VK. Cell blocks in cytopathology: a review of preparative methods, utility in diagnosis and role in ancillary studies. *Cytopathology.* 2014;25(6):356-371.
- Jain D, Nambirajan A, Borczuk A, et al. Immunocytochemistry for predictive biomarker testing in lung cancer cytology. *Cancer Cytopathol.* 2019;127(5):325-339.
- Jain D, Sukumar S, Mohan A, et al. Programmed death-ligand 1 immunoreactivity in matched biopsy and liquid-based cytology samples of advanced stage non-small cell lung carcinomas. *Cytopathology.* 2018;29(6):550-557.
- Kalhor N, Zander DS, Liu J. TTF-1 and p63 distinguishing pulmonary small-cell carcinoma from

- poorly differentiated squamous cell carcinoma in previously pan-stained cytologic material. *Mod Pathol.* 2006;19(8):1117-1123.
- Kirbis IS, Maxwell P, Flezar MS, et al. External quality control for immunocytochemistry on cytology samples: a review UK NEQAS ICC (cytology module) results. *Cytopathology.* 2011;22(4):230-237.
- Leung SW, Bedard YC. Immunocytochemical staining on ThinPrep processed smears. *Mod Pathol.* 1996;9(3):304-306.
- Liu J, Farhood A. Immunostaining for thyroid transcription factor-1 on fine-needle aspiration specimens of lung tumors: a comparison of direct smears and cell block preparations. *Cancer.* 2004;102(2):109-114.
- Lozano MD, Abengozar-Muela M, Echeveste JI, et al. Programmed death-ligand 1 expression on direct Pap-stained cytology smears from non-small cell lung cancer: comparison with cell blocks and surgical resection specimens. *Cancer Cytopathol.* 2019;127(7):470-480.
- Martinez P, Hernandez-Losa J, Montero MA, et al. Fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry as diagnostic methods for ALK positive non-small cell lung cancer patients. *PLoS One.* 2013;8(1):e52261.
- Munari E, Zamboni G, Sighele G, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 in non-small cell lung cancer: comparison between cytologic smears, core biopsies, and whole sections using the SP263 assay. *Cancer Cytopathol.* 2019;127(1):52-61.
- Nambirajan A, Jain D. Cell blocks in cytopathology: an update. *Cytopathology.* 2018;29(6):505-524.
- Noll B, Wang WL, Gong Y, et al. Programmed death ligand 1 testing in non-small cell lung carcinoma cytology cell block and aspirate smear preparations. *Cancer Cytopathol.* 2018;126(5):342-352.
- Rekhtman N, Buonocore DJ, Rudomina D, et al. Novel modifications of HistoGel-based cell block preparation method: improved sufficiency for molecular studies. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(4):529-535.
- Roh MH, Schmidt L, Placido J, et al. The application and diagnostic utility of immunocytochemistry on direct smears in the diagnosis of pulmonary adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Diagn Cytopathol.* 2012;40(11):949-955.
- Russell-Goldman E, Kravets S, Dahlberg SE, et al. Cytologic-histologic correlation of programmed death-ligand 1 immunohistochemistry in lung carcinomas. *Cancer Cytopathol.* 2018;126(4):253-263.
- Saqi A. The state of cell blocks and ancillary testing: past, present, and future. *Arch Pathol Lab Med.* 2016;140(12):1318-1322.
- Sauter JL, Grogg KL, Vrana JA, et al. Young investigator challenge: validation and optimization of immunohistochemistry protocols for use on cellient cell block specimens. *Cancer Cytopathol.* 2016;124(2):89-100.
- Savic S, Bode B, Diebold J, et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. *J Thorac Oncol.* 2013;8(8):1004-1011.
- Schmitt F, Cochand-Priollet B, Toetsch M, et al. Immunocytochemistry in Europe: results of the European Federation of Cytology Societies (EFCS) inquiry. *Cytopathology.* 2011;22(4):238-242.
- Sigel CS, Moreira AL, Travis WD, et al. Subtyping of non-small cell lung carcinoma: a comparison of small biopsy and cytology specimens. *J Thorac Oncol.* 2011;6(11):1849-1856.
- Skoog L, Tani E. Immunocytochemistry: an indispensable technique in routine cytology. *Cytopathology.* 2011;22(4):215-229.
- Thunnissen E, Allen TC, Adam J, et al. Immunohistochemistry of pulmonary biomarkers: a perspective from the members of the Pulmonary Pathology Society. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(3):408-419.
- Vlajnic T, Savic S, Barascud A, et al. Detection of ROS1-positive non-small cell cancer on cytological specimens using immunocytochemistry. *Cancer Cytopathol.* 2018;126(6):421-429.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practice recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(3):377-407.
- Zhang Z, Zhao L, Guo H, et al. Diagnostic significance of immunocytochemistry on fine needle aspiration biopsies processed by thin-layer cytology. *Diagn Cytopathol.* 2012;40(12):1071-1076.
- Zhou F, Moreira AL. Lung carcinoma predictive biomarker testing by immunoperoxidase stains in cytology and small biopsy specimens: advantages and limitations. *Arch Pathol Lab Med.* 2016;140(12):1331-1337.

肺腺癌变体的免疫标志物

Mari Mino-Kenudson 和 Sanja Dacic

简介

肺腺癌变体包括浸润性粘液腺癌 (IMA)、胶体腺癌、肠型腺癌和胎儿型腺癌。它们具有特征性的细胞形态学特征，通常不需要采用免疫组织化学法 (IHC) 来诊断。然而，肺外转移可能具有相同的组织学特征。因此，IHC 可能有助于区分原发性肿瘤和转移性肿瘤，而临床病理相关性往往是形成正确诊断的必要条件。此外，IHC 可能有助于排除非恶性模拟物，从而确认 IMA 的诊断。

浸润性粘液腺癌

IMA 诊断通常是基于特征性的细胞形态：高柱状细胞，胞浆内有丰富的粘蛋白和/或杯状细胞，这类细胞由大量肿瘤细胞组成，呈鳞状生长模式。因此，通常不需要通过 IHC 做出诊断，但在某些情况下，IHC 可能有助于确诊。这些情况包括：(1) 支持小组织样本的诊断；(2) 与非恶性病变相区分，包括支气管周围粘液化生和纤毛黏液结节乳头状肿瘤（细支气管腺瘤）等。此外，普通型腺癌很少产生大量的粘液，可能会与 IMA 相混淆。由于 IMA 的免疫特征与胰胆管和胃肠道 (GI) 原发腺癌相同，因此 IMA 与肺外部位产生粘液的肿瘤的鉴别会具有一定的难度。

浸润性粘液腺癌的免疫特征是什么？

大多数 IMA 对甲状腺转录因子 1 (TTF1) 和天冬氨酸蛋白酶 A 呈阴性或仅局灶性免疫反应，而几乎所有病变都表达细胞角蛋白 7 (CK7) ([图 13-1](#))。同时，CK20 和肠道转录因子 CDX2 在 40% 到 50% 的 IMA 中呈阳性 (Yatabe 等, 2019 年)。有趣的是，

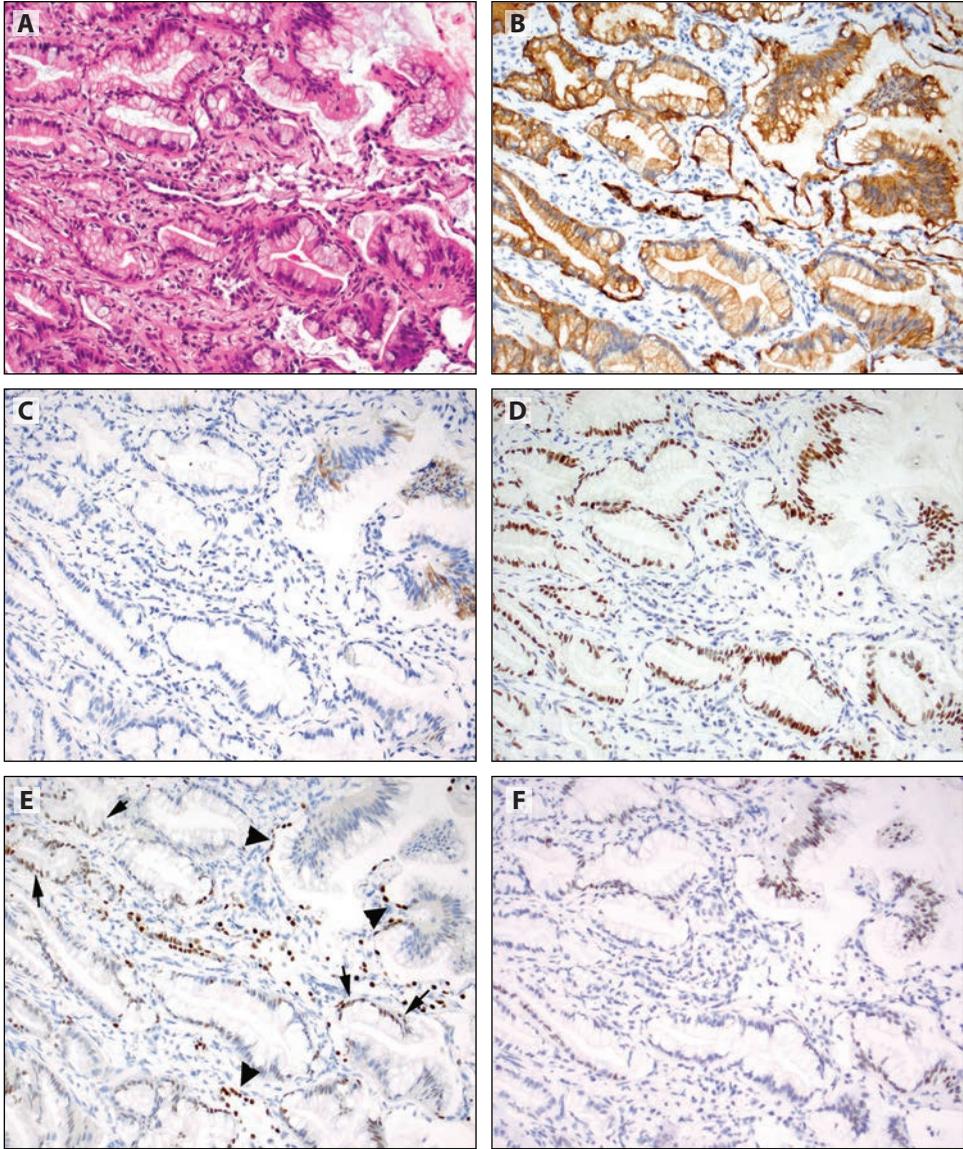


图 13-1. (A) 浸润性粘液腺癌，表现为高柱状细胞，胞浆内有丰富的粘蛋白和分散的杯状细胞，呈腺泡状和细毛状。(B) 病变细胞的细胞角蛋白 7 (CK7) 呈弥漫性阳性，(C) CK20 呈局灶性阳性。(D) 肝细胞核因子 4 α (HNF4 α) 免疫染色突出了几乎所有的肿瘤细胞核，而 (E, 箭头) 甲状腺转录因子 1 的核表达 (TTF1) 和 (F) CDX2 仅限于肿瘤细胞亚群。CK20 和 CDX2 倾向于在一处共生。值得注意的是，(E, 箭头) 背景肺细胞表现出强烈的 TTF1 核表达。

大多数 IMA，特别是那些缺乏 TTF1 表达的 IMA，会对肝细胞核因子 4 α (HNF4 α) 产生反应。HNF4 α 是在肝胆和胃肠道中发现的另一种核转录因子 (Sugano 等, 2013 年)。

免疫染色对浸润性粘液腺癌的诊断有用吗？

肺外部位的粘液腺癌在转移到肺部时可能表现出一种多毛状的生长模式；因此，仅从形态学的角度来区分原发肺 IMA 和这些肿瘤是极具挑战性的。遗憾的是，IHC 在

这方面可能并无用处，因为 IMA 经常表达肠道分化标志物，包括 CDX2 和 HNF4 α 以及 CK7，这些都是胰胆和上消化道原发肿瘤共有的标志物。然而，显著的 TTF1 表达支持肺原发性肿瘤。

不过，IHC 可以用来区分 IMA 与非恶性实体。例如，在寻常型间质性肺炎 (UIP) 患者发生的肺癌中，IMA 占很大比例 (Masai 等, 2016 年; Calio 等, 2017 年)，而粘液性化生 (通常与 UIP 中发现的细支气管周围化生/牵引性细支气管扩张有关) 可能会模仿 IMA。鉴于 IMA 的形态通常分化良好，在间质纤维化背景和/或小活检标本中诊断 IMA 可能具有挑战性。在这种情况下，一组 TTF1 (\pm 天冬氨酸蛋白酶 A)、p40 和 HNF4 α 染色可能有用。非肿瘤性增生保留 p40 表达的基底细胞，而不表达 HNF4 α 。纤毛黏液结节乳头状肿瘤是另一种重要的鉴别诊断，因为它具有丰富的粘液池，存在粘液细胞，以及多样化的生长模式，这与 IMA 非常相似 (Lu 和 Yeh, 2019 年)。p40+ 基底细胞的缺失以及一组排列在肺泡壁或形成腺体的粘液细胞中纤毛的缺失，可以支持 IMA 的诊断 (Chang 等, 2018 年)。

图 13-2E 和 F 显示了另一例间质纤维化患者的 IMA。纤维间质背景下可见轻度不规则的粘液腺，但未见明显的细胞学异型性，支气管周围化生伴有或不伴有粘蛋白 (图 13-2E, 箭头)。p40 免疫组织化学染色显示支气管和肺泡实质内有阳性细胞核，并伴有支气管周围化生 (图 13-2F)，而粘液腺组的 p40 (无基底细胞) 呈完全阴性，作证了 IMA 的诊断。

简要回答

肠系膜上皮瘤常表达肠道分化标志物 CDX2、HNF4 α 和 CK7，而 TTF1 和天冬氨酸蛋白酶 A 的表达有限，因此，IMA 与肺外原发肿瘤，特别是上消化道或胰胆原发肿瘤转移之间的鉴别可能极具挑战性，且无临床病理相关性。不过，IHC 可以用来区分 IMA 与非恶性实体和非 IMA 腺癌。

胶体腺癌

胶体腺癌是一种极其罕见的肿瘤，其特征是黏蛋白堆积，上皮稀少，与胃肠道、卵巢和乳腺的粘液腺癌有相似的组织学特征。因此，可能需要 IHC 来帮助诊断肺原发性肿瘤。

胶体腺癌的免疫特征是什么？

胶体腺癌通常对肺腺癌和肠腺癌标志物都有反应性 (图 13-3)。TTF1、天冬氨酸蛋白酶 A 和 CK7 分别在 60%、50% 和 90% 的肿瘤中表达，而 CDX2 和 CK20 分别在 70% 和 90% 的肿瘤中表达 (Rossi 等, 2004 年; Zenali 等, 2015 年; Yatabe 等, 2019 年)。如

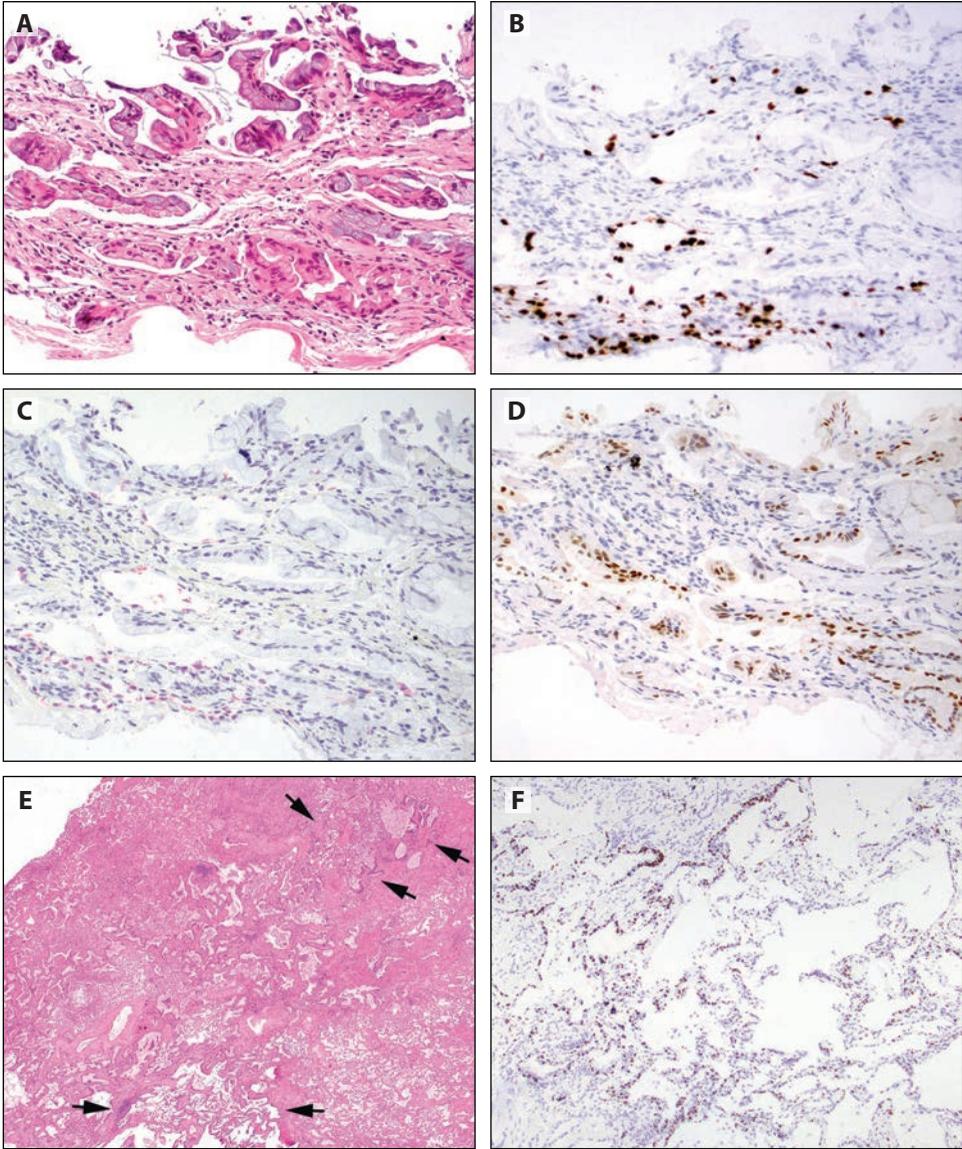


图 13-2. (A-D)浸润性粘液腺癌的核心活检结果显示，在肺泡壁内或在**(A)**轻度纤维间质背景下，有成群的带有轻度细胞异型性的粘液细胞。甲状腺转录因子 1 (TTF1) 免疫染色突出了肺细胞，而粘液细胞对**(B)** TTF1 或**(C)**p40 没有反应。相反，绝大多数粘液细胞表现为**(D)**肝细胞核因子 4 α (HNF4 α) 核表达，证实为浸润性粘液腺癌。**(E 和 F)**间质纤维化患者的另一例浸润性粘液腺癌。直径 1.5 厘米，边界不清的胸膜下结节，由粘液腺组成，腺体轮廓稍不规则，但纤维间质背景无明显的细胞学异型性，支气管周围化生伴有或不伴有粘液**(E, 箭头)**。p40 免疫染色显示支气管和肺泡实质内有阳性细胞核，并伴支气管周围化生**(F)**，而粘液腺组的 p40 (无基底细胞) 呈完全阴性，证实为浸润性粘液腺癌。

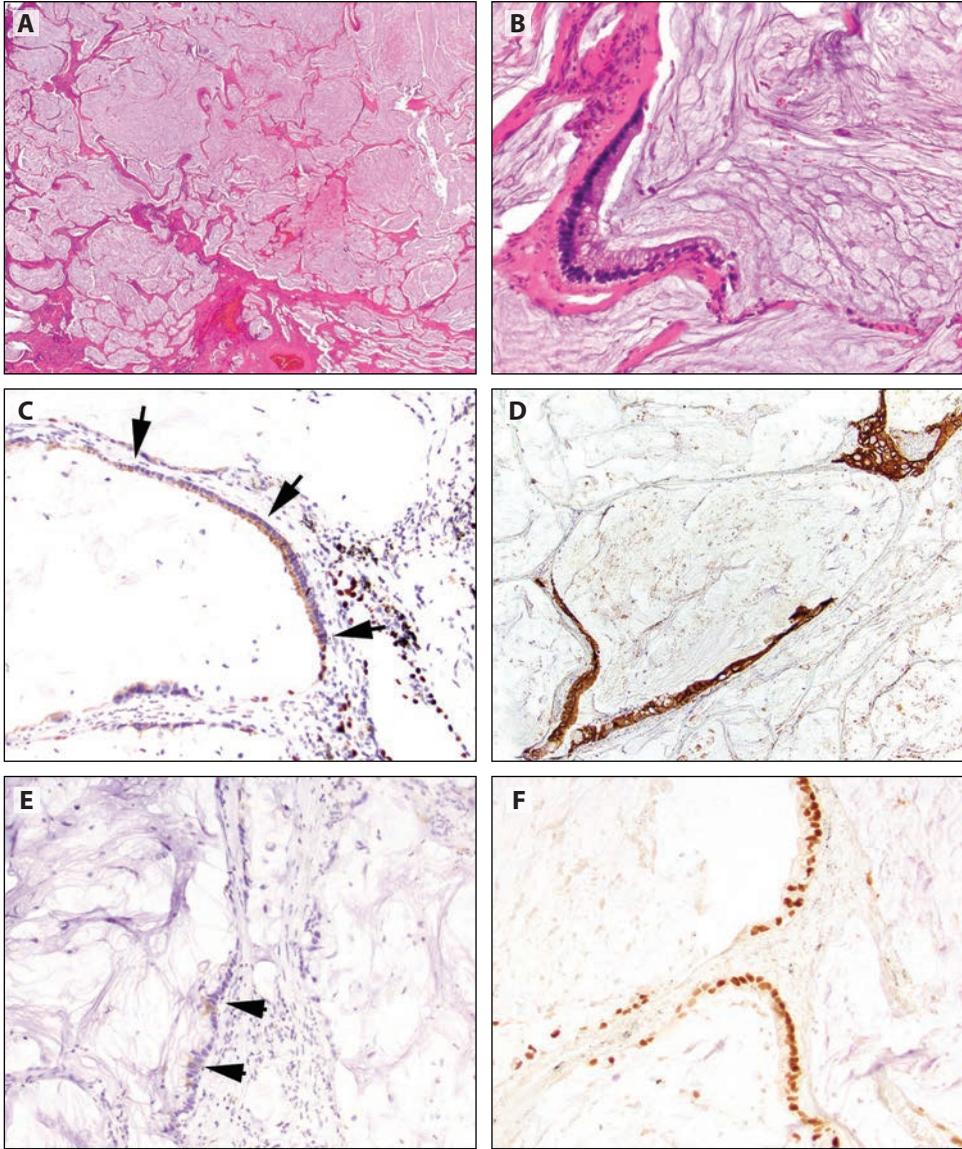


图 13-3.(A) 胶体腺癌由一个粘液池、扩张和破坏的肺泡组成，(B) 罕见的粘液细胞散在灶性排列的肺泡间隔内。(C, 箭头) 免疫组织化学显示甲状腺转录因子 1 (TTF1) 在肿瘤细胞中呈阴性核表达，胞浆表达较弱。后者对鉴别诊断没有帮助。(D) 肿瘤表现为弥漫性 CK7 表达和 (E, 箭头) 局灶 CK20 表达。(F) CDX2 也突出了大多数肿瘤核。这种肺和肠道标志物的混合表达模式是胶体腺癌的特征。

果将这些标志物与 GATA3、雌激素受体 (ER) (乳房胶质癌)和 PAX8 (卵巢黏液性癌)结合起来,可能有助于区分肺原发性肿瘤和其他部位的转移。遗憾的是,在这种情况下,IHC 无法始终提供明确的结论,因为并不是所有的转移性肿瘤都复制了原发部位的表达模式。因此,临床病理相关性始终很重要。

简要回答

一组 IHC (CK7、CK20、TTF1、napsin A、CDX2 和其他肺外部位特异性标志物)可用于区分肺胶体腺癌和肺外部位转移性粘液腺癌。

肠型腺癌

肠型腺癌是一种罕见的肺腺癌变体,类似于发生在结肠直肠的腺癌。因此,诊断需要排除结肠直肠原发部位的转移 (Travis 等, 2015 年)。仔细的临床病理相关性和 IHC 检查是有帮助的。

区分肺肠型腺癌和转移性结直肠癌的最佳 IHC 组合是什么?

不出所料,肺肠型腺癌通常表达肠道标志物。一半的肿瘤表达 CK20 和 CDX2,而 TTF1 和天冬氨酸蛋白酶 A 的表达只限于三分之一的病例。在这种情况下,将 CK7 和 SATB2 纳入 IHC 组合可能有帮助,尽管数据显示鉴别能力可能很弱。CK7 通常在大约 85% 的肺腺癌中呈强弥漫性,但在高达 27% 的结直肠腺癌中呈弱局灶性,而 SATB2 的情况通常相反;在 85% 的结直肠癌 (CRC) 中呈强弥漫性,在大约 14% 的肺腺癌中呈弱局灶性 (Lin 等, 2013 年; Jurmeister 等, 2019 年; Gu 等, 2019 年; Zhang 等, 2019 年; Bian 等, 2017 年; Matsushima 等, 2017 年)。

简要回答

一组 IHC (包括 CK7 和 SATB2)可能有助于区分肺肠型腺癌和转移性结直肠腺癌 (图 13-4)。

胎儿型腺癌

胎儿型腺癌类似于胎肺的假腺期,其特点是腺体结构复杂,由富含糖原的无纤毛细胞组成。关于低级别和高级别的胎儿型腺癌,已经有相关描述。低级别腺癌在疏松的纤维粘液间质背景下表现出低的核异型性和桑椹状形成,而高级别的腺癌则表现出更突出的核异型性,缺乏桑椹状、坏死,并过渡到普通型腺癌的一个次要组成部分 (Travis 等, 2015 年)。可能需要一组 IHC 来区分肺胎儿型肺腺癌和转移性子宫内膜腺癌。

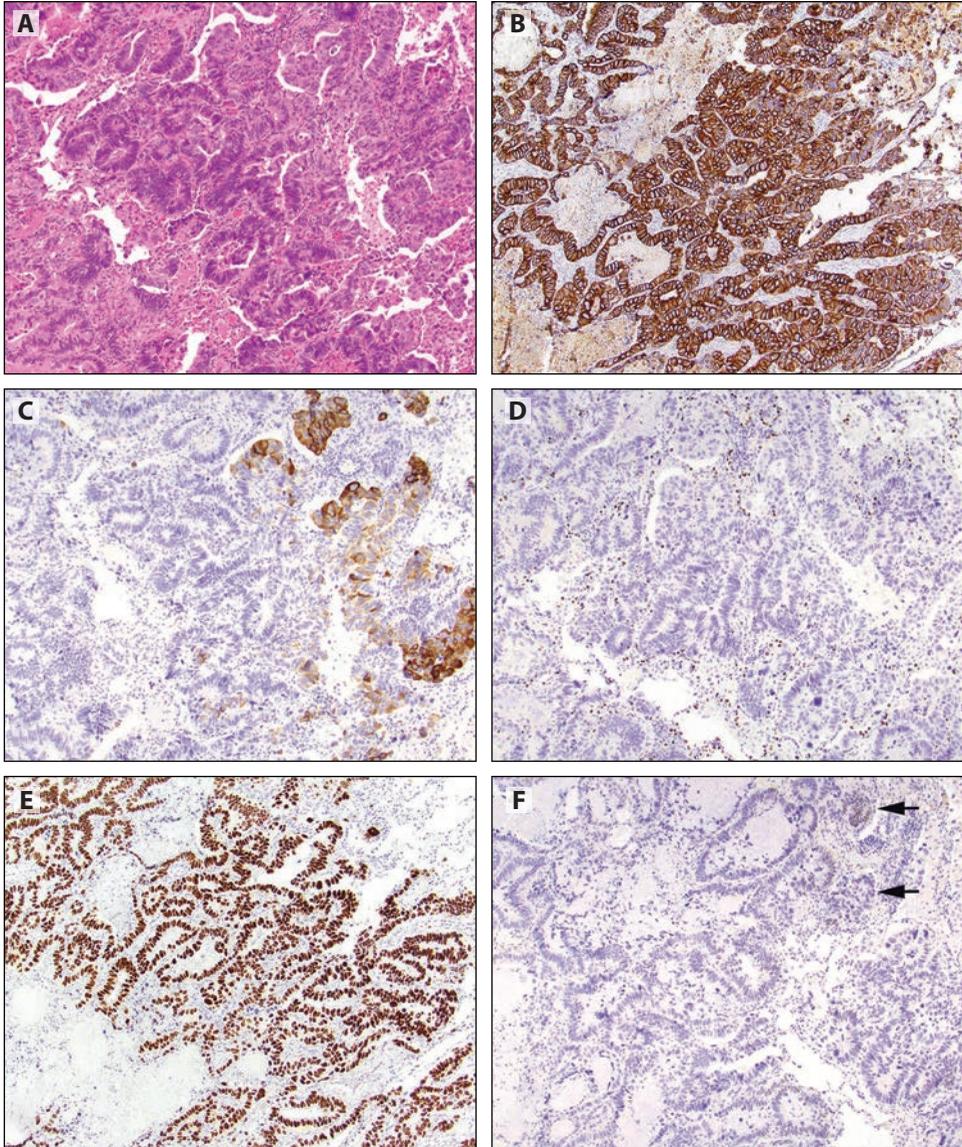


图 13-4. 肠型腺癌示例。(A) 肿瘤由高大的柱状细胞组成，有高色素的核形成腺体。管腔坏死也很明显。(B) 几乎所有肿瘤细胞都对细胞角蛋白 7(CK7) 呈阳性反应；(C) 部分肿瘤细胞有 CK20 表达；(D) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 仅突出包裹的肺细胞，而不突出肿瘤细胞。(E) 绝大多数肿瘤细胞对 CDX2 也有反应，但 (F, 箭头) 仅有一小部分显示 SATB2 弱表达。CK7 和 SATB2 的这种表达模式与原发性肺肿瘤一致。

低级别和高级别的胎儿型腺癌的免疫特征是什么？

低级别胎儿型腺癌表达 TTF1，并显示出异常的 β -连环蛋白核定位，通常位于桑葚胚中，而高级别形式保留了 β -连环蛋白的胞浆膜染色，TTF1 的表达仅见于大约 50% 的高级别肿瘤中（图 13-5 和 13-6）。90% 以上的低级别肿瘤携带对突触素和/或嗜铬粒蛋白有免疫反应的神经内分泌细胞，而只有大约 50% 的高级别肿瘤含有这种细胞（Nakatani 等，2002 年，2004 年；Morita 等，2013 年；Suzuki 等，2015 年）。

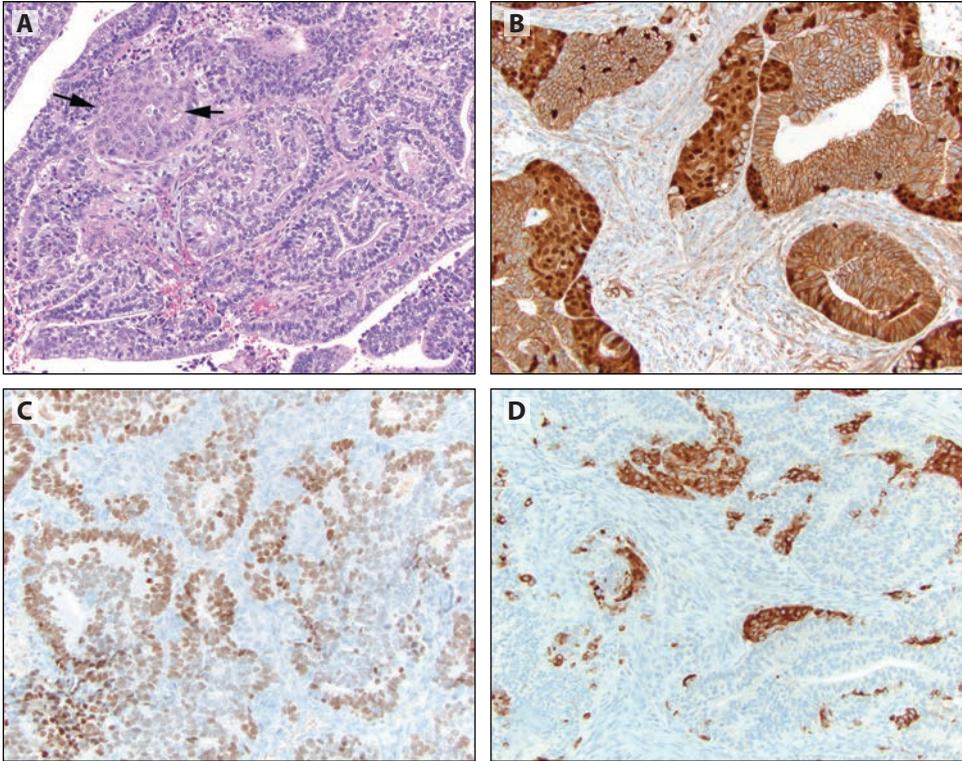


图 13-5. (A, 箭头) 低级别胎儿型肺腺癌, 其特征是腺体结构复杂, 由富含糖原的无纤毛细胞和与(B) β -连环蛋白核表达相关的桑椹状结构组成。(C)大多数肿瘤细胞呈不同强度的甲状腺转录因子 1 (TTF1) 核染色, (D)突触素突出肿瘤中分散的神经内分泌细胞群。肿瘤细胞雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 和 PAX8 (未显示) 均为阴性。

有趣的是, 高级别胎儿型腺癌经常表达癌胚蛋白, 例如甲胎蛋白、glypican 3 和/或 sal 样蛋白 4 (SALL4) (Morita 等, 2013 年; Suzuki 等, 2015 年)。无论是低级别还是高级别的胎儿型腺癌都不表达 ER、孕激素受体 (PR) 或 PAX8, 这些表达通常见于子宫内膜腺癌。

简要回答

低级别胎儿型腺癌的特征是异常的 β -连环蛋白核定位, 通常在桑葚胚中, 而高级别胎儿型腺癌通常表达癌胚蛋白: 甲胎蛋白、glypican 3 和/或 SALL4。此外, 可能需要一组 IHC (包括 TTF1 和 PAX8) 来区分胎儿型肺腺癌和转移性子宫内膜腺癌。

结论

一组 IHC 可用于诊断肺部胶体腺癌或肺部肠型腺癌 (CK7、CK20、TTF1、天冬氨酸蛋白酶 A、CDX2 和 SATB2) 以及区分胎儿型腺癌和转移性子宫内膜腺癌 (TTF1 和 PAX8)。而仅根据形态学和 IHC, 区分 IMA 和来自胰胆管或胃肠道部位的转移瘤可

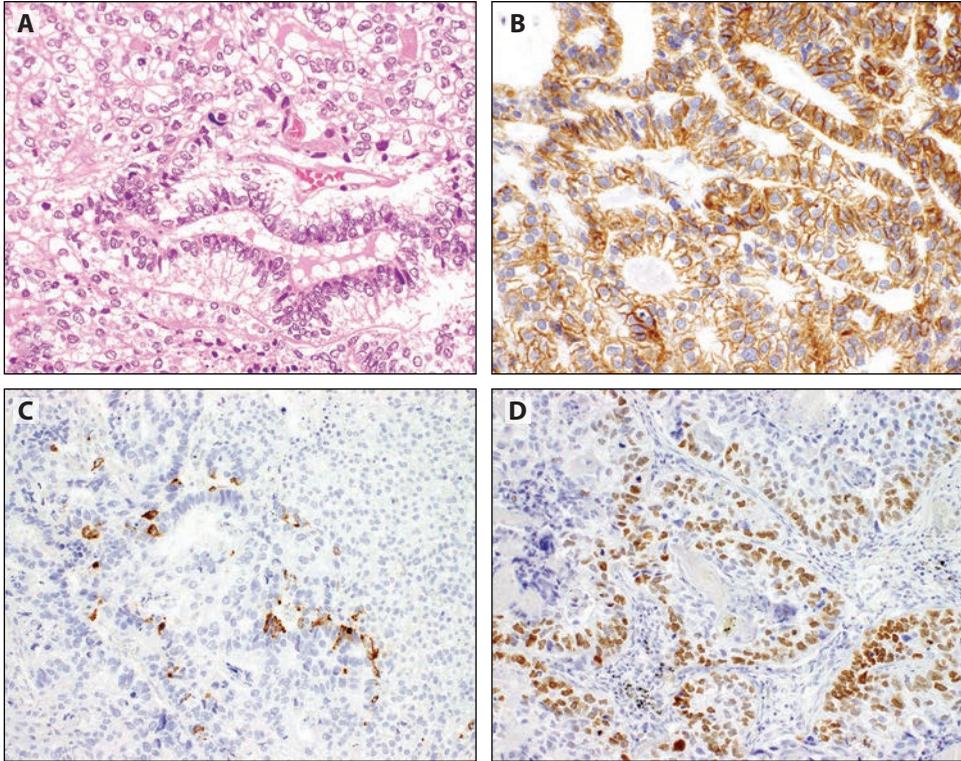


图 13-6. (A) 高级别的胎儿肺腺癌，表现为富含糖原的无纤毛细胞，核异型性明显，形成无桑葚胚的复杂腺结构。(B) β -连环蛋白的表达以细胞质膜的形式保留下来。(C) 嗜铬粒蛋白 A 突出了分散的神经内分泌细胞，(D) SALL4 表达也见于一部分肿瘤细胞，而雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 和 PAX8 (未显示) 无表达。(图片由 Yukio Nakatani 博士提供)

能极具挑战性。相反，当病变组织有限，或鉴别诊断中存在非恶性实体时，将 IHC 与 TTF1、p40 和/或 HNF4 α 相结合可能有助于诊断 IMA。

参考文献

- Bian T, Zhao J, Feng J, et al. Combination of cadherin-17 and SATB homeobox 2 serves as potential optimal makers for the differential diagnosis of pulmonary enteric adenocarcinoma and metastatic colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017;8(38):63442-63452.
- Calio A, Lever V, Rossi A, et al. Increased frequency of bronchiolar histotypes in lung carcinomas associated with idiopathic pulmonary fibrosis. *Histopathology*. 2017;71(5):725-735.
- Chang JC, Montecalvo J, Borsu L, et al. Bronchiolar adenoma: expansion of the concept of ciliated muconodular papillary tumors with proposal for revised terminology based on morphologic, immunophenotypic, and genomic analysis of 25 cases. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(8):1010-1026.
- Gu L, Wang XZ, Wen W, et al. Clinical analysis of 23 patients pathologically diagnosed with primary and secondary pulmonary enteric adenocarcinoma. *Chin Med J (Engl)*. 2019;132(11):1368-1369.
- Jurmeister P, Scholer A, Arnold A, et al. DNA methylation profiling reliably distinguishes pulmonary enteric adenocarcinoma from metastatic colorectal cancer. *Mod Pathol*. 2019;32(6):855-865.
- Lin D, Zhao Y, Xing X. Pulmonary enteric adenocarcinoma with villin brush border immunoreactivity: a case report and literature review. *J Thorac Dis*. 2013;5(1):E17-20.
- Lu YW, Yeh YC. Ciliated muconodular papillary tumors of the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(1):135-139.

- Masai K, Tsuta K, Motoi N, et al. Clinicopathological, immunohistochemical, and genetic features of primary lung adenocarcinoma occurring in the setting of usual interstitial pneumonia pattern. *J Thorac Oncol*. 2016;11(12):2141-2149.
- Matsushima J, Yazawa T, Suzuki M, et al. Clinicopathological, immunohistochemical, and mutational analysis of pulmonary enteric adenocarcinoma: usefulness of SATB2 and β -catenin immunostaining for differentiation from metastatic colorectal carcinoma. *Hum Pathol*. 2017;64:179-185.
- Morita S, Yoshida A, Goto A, et al. High-grade lung adenocarcinoma with fetal lung-like morphology clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular analysis of 17 cases. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(6):924-932.
- Nakatani Y, Masudo K, Miyagi Y, et al. Aberrant nuclear localization and gene mutation of beta-catenin in low-grade adenocarcinoma of fetal lung type: up-regulation of the Wnt signaling pathway may be a common denominator for the development of tumors that form morules. *Mod Pathol*. 2002;15(6):617-624.
- Nakatani Y, Miyagi Y, Takemura T, et al. Aberrant nuclear/cytoplasmic localization and gene mutation of beta-catenin in classic pulmonary blastoma: beta-catenin immunostaining is useful for distinguishing between classic pulmonary blastoma and a blastomatoid variant of carcinosarcoma. *Am J Surg Pathol*. 2004;28(7):921-927.
- Rossi G, Murer B, Cavazza A, et al. Primary mucinous (so-called colloid) carcinomas of the lung: a clinicopathologic and immunohistochemical study with special reference to CDX-2 homeobox gene and MUC2 expression. *Am J Surg Pathol*. 2004;28(4):442-452.
- Sugano M, Nagasaka T, Sasaki E, et al. HNF4 α as a marker for invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(2):211-218.
- Suzuki M, Yazawa T, Ota S, et al. High-grade fetal adenocarcinoma of the lung is a tumour with a fetal phenotype that shows diverse differentiation, including high-grade neuroendocrine carcinoma: a clinicopathological, immunohistochemical and mutational study of 20 cases. *Histopathology*. 2015;67(6):806-816.
- Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. *WHO Classification of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.
- Zenali MJ, Weissferdt A, Solis LM, et al. An update on clinicopathological, immunohistochemical, and molecular profiles of colloid carcinoma of the lung. *Hum Pathol*. 2015;46(6):836-842.
- Zhang J, Xiang C, Han Y, et al. Differential diagnosis of pulmonary enteric adenocarcinoma and metastatic colorectal carcinoma with the assistance of next-generation sequencing and immunohistochemistry. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2019;145(1):269-279.

其他罕见肿瘤的免疫标志物

Anja C. Roden 和 Yuko Minami

简介

除了前面几章已经讨论过的一些肿瘤外, 其他罕见的原发性肿瘤发生在胸部, 从良性病变 (如支气管腺瘤) 到恶性肿瘤 (如睾丸核蛋白 [NUT] 癌和唾液腺型肿瘤)。及时诊断这些肿瘤对于患者的治疗和管理非常重要, 对于这些肿瘤的一个亚群而言, 尽早加入临床试验也很重要 (例如, 用于治疗 NUT 癌的含溴结构域及超末端结构 [BET] 域家族抑制剂 [Salati 等, 2019 年])。其中一些肿瘤, 如肺腺瘤或硬化性肺泡细胞瘤, 主要通过苏木精-伊红 (H&E) 诊断, 但另一些需要免疫染色来确定诊断或确认 H&E 印记, 特别是在较小的活检中。此外, 有些肿瘤可能难以与形态学上的模拟物区分开来; 腺癌经常被列入肺泡腺瘤、硬化性肺泡细胞瘤或细支气管腺瘤/纤毛黏液结节乳头状肿瘤 (CMPT) 的鉴别诊断中。其中一些肿瘤是由基因改变定义的 (表 14-1)。然而, 免疫组织化学 (IHC) 在某些情况下确实可以发挥作用。

IHC是否有助于诊断肺泡腺瘤?

甲状腺转录因子 1 (TTF1)、泛角蛋白、上皮膜抗原 (EMA) 和表面活性蛋白 A (SP-A) 突出显示单层平坦、立方或扁平的 II 型肺细胞 (图 14-1B, 箭头), 这些细胞排列在囊肿内, 覆盖在富含纺锤体的间质上。这些间质细胞 (图 14-B, 箭头) 可能表达 CD34, 也可能表达 S100 和平滑肌肌动蛋白 (SMA)。肺泡腺瘤一般为 H&E 诊断, 但 IHC 可用于确诊或将这种肿瘤与缺乏角蛋白阳性囊衬细胞的淋巴管瘤以及硬化性肺细胞瘤区别开来。在肺泡腺瘤中, TTF1 只对囊肿衬里细胞进行染色, 而在硬化性肺泡细胞瘤中, 腔细胞和间质细胞

表 14-1. 罕见胸部肿瘤高度特异性的基因改变

肿瘤	基因改变	存在基因改变的肿瘤, %	针对致癌基因的抗体
支气管肺粘液表皮样癌	t(11;19)(q21;p13) CRCT1-MAML2 ^a	67-100	无
NUT 癌	t(15;19)(q14;p13.1) <i>BRD4-NUT</i> ^b <i>BRD3-NUT</i> 与其他非 BRD 基因 (如 <i>NDS3</i> 、 <i>ZNF532</i>) ^c 的 NUT 变异体融合	70-86 (BRD4-NUT)	NUT (克隆 C52B1)
腺样囊性癌 ^d	t(6;9)(q22-23;p23-24) MYB-NFIB	41-50	MYB (59%) ^e

缩略词: BRD = 含溴结构域及超末端结构 (BET) 域的蛋白质; MYB = 成髓细胞原癌基因, 转录因子; NUT = 睾丸核蛋白。

^a Roden 等, 2014 年; Achcar Rde 等, 2009 年; Huo 等, 2015 年。

^b French 等, 2003 年; Chau 等, 2016 年。

^c French 等, 2014 年; Alekseyenko 等, 2017 年。

^d Roden 等, 2015 年; Brill 等, 2011 年。

^e Vallonhail 等, 2017 年; Poling 等, 2017 年。

都表达 TTF1 (见“免疫标志物可用于区分硬化性肺泡细胞癌和腺癌吗?”) (Sak 等, 2007 年; Burke 等, 1999 年; De Rosa 等, 2012 年)。

简要回答

虽然主要是 H&E 诊断, 但 IHC 对突出肺泡腺瘤的肿瘤性肺细胞和间充质基质是有价值的 (图 14-1)。

p40 IHC 在 CMPT 的诊断中是否有作用, 可将其与腺癌区分开来?

与鳞状细胞分化相关的基底细胞标志物, 包括 p40、p63 和细胞角蛋白 5/6 (CK5/6), 突出了病变柱状细胞下完整的基底细胞层 (图 14-2B, 箭头), 这有助于将 CMPT 与缺乏基底细胞层的腺癌区分开来。Ki-67 增殖指数低, 据悉, CMPT 中肿瘤细胞核染色值小于 1% 到小于 5%, 单个病例的增殖指数为 10% (Lu 和 Yeh, 2019 年; Shao 等, 2019 年, Kataoka 等, 2018 年)。MUC5AC 和 EMA 在纤毛细胞中有不同程度的表达。CK7、CK20、TTF1、天冬氨酸蛋白酶 A 和 CDX2 通常对这种区分没有帮助, 因为与肺腺癌相似, CMPT 中纤毛柱状细胞 (图 14-2B, 箭头) 和杯状细胞表达 CK7, 大多数也呈 TTF1 阳性; 而 CK20、CDX2 和天冬氨酸蛋白酶 A 通常为阴性 (Shao 等, 2019 年; Kashima 等, 2019 年; Lu 和 Yeh, 2019 年)。

简要回答

基底细胞标志物, 如 p40、p63 和 CK5/6, 有助于识别 CMPT 中的双上皮细胞层 (图 14-2)。

NUT 癌的免疫特征是什么?

部分 NUT 癌可能对角蛋白、鳞状分化的标志物和其他标志物呈阴性 (图 14-3A-D)。然而, 许多这些肿瘤至少显示出各种角蛋白的局灶性表达, 包括泛角蛋白 (77%)、OSCAR 角蛋白和 CK7, 以及与鳞状分化有关的标志物, 如 p40、p63 (90%) 和 CK5/6。它们有时可

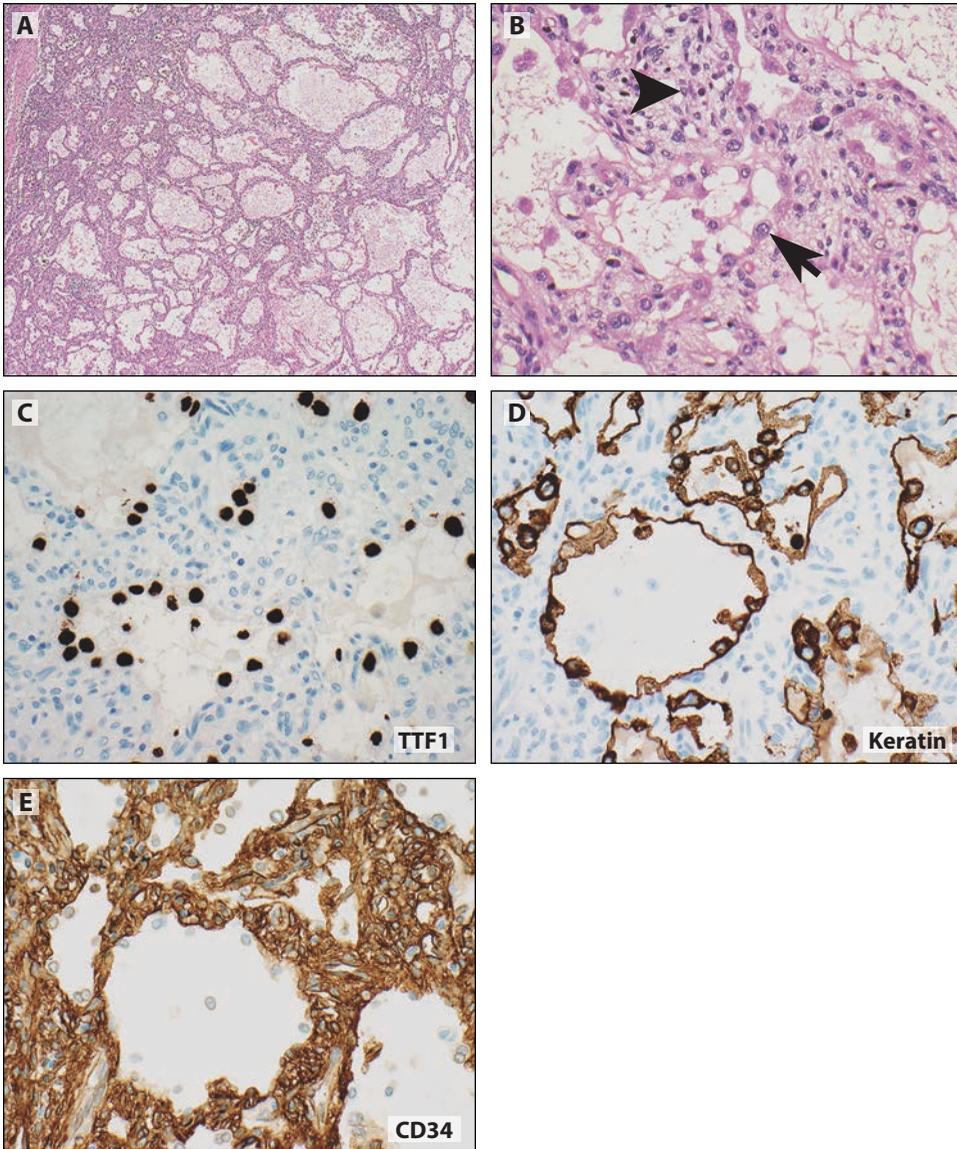


图 14-1. 肺泡腺瘤。(A) 低倍镜下可见肺泡腺瘤的囊性外观, (B) 再加上空间内衬的鞋钉细胞 (箭头), 尽管基质的组织学 (箭头) 可能会引起与淋巴管瘤或硬化性肺泡细胞瘤的区别。(C) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 和 (D) 细胞角蛋白的染色突出了衬里细胞的肺细胞分化。(E) 间质细胞 TTF1 阴性, CD34 通常为阳性。放大倍数 (A) H&E, $\times 40$; (B) H&E, $\times 400$; (C) TTF1 (克隆 SPT24), $\times 400$; (D) pankeratin (克隆 AE1/AE3), $\times 400$; 和 (E) CD34, $\times 400$ 。

能在表达 p63 的相同肿瘤细胞中表达 TTF1, 这可能意味着 NUT 癌, 尽管这也可以见于分化不良的腺癌 (见第 8 章)。有些 NUT 癌细胞也表达 EMA (75%)、CD34, 和/或 CD99 (Evans 等, 2012 年)。NUT IHC 阳性足以做出诊断, 但可以通过荧光原位杂交 (FISH) 或逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 确认 NUT 重排 (图 14-4) (French, 2012 年)。

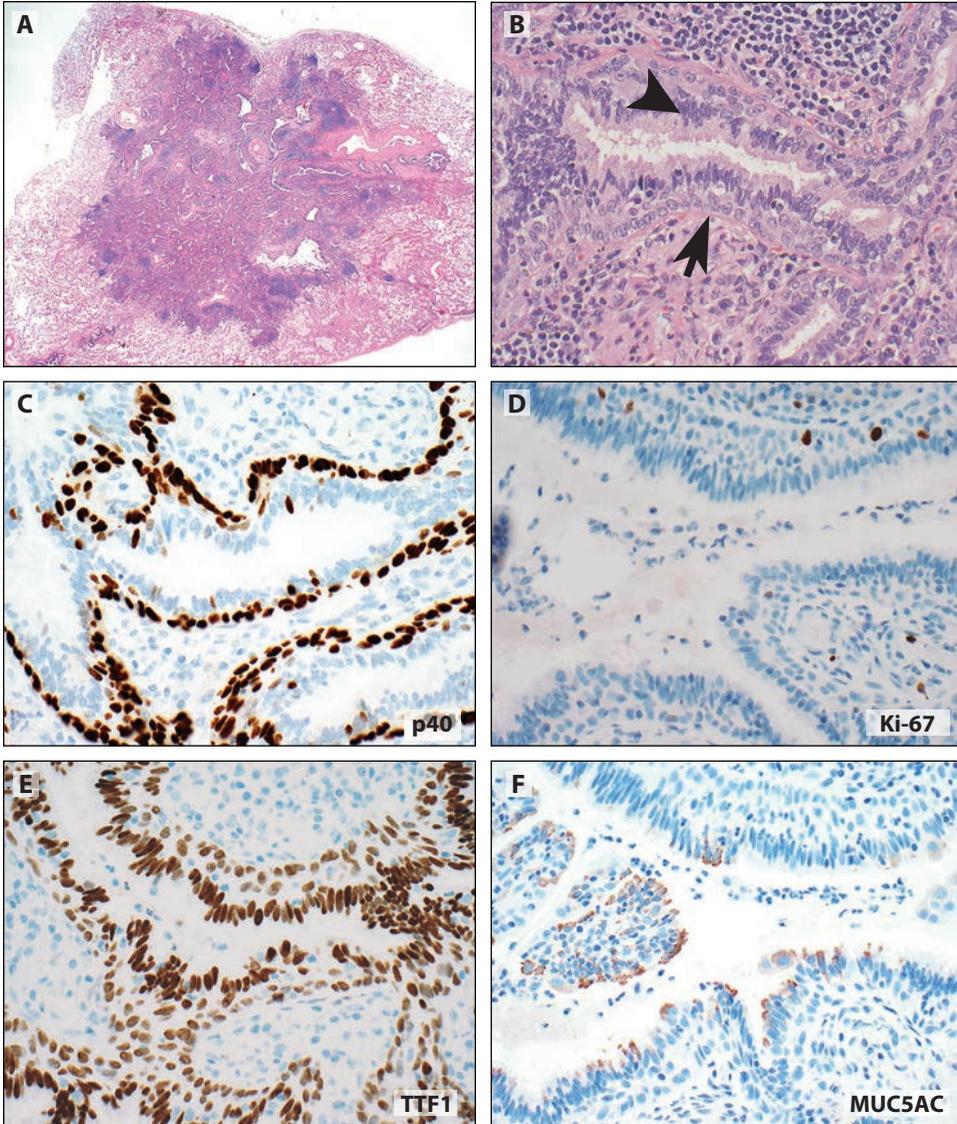


图 14-2. 纤毛黏液结节乳头状肿瘤(A) 这些肿瘤在低倍镜下看起来边界模糊, 但没有包膜(B) 包含具有双层(箭头)的上皮衬里空间(箭头)。(C) 通过 p40 染色可以突出这一点。衬里细胞(C) Ki-67 指数低, (D) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 阳性。纤毛细胞可能为 MUC5AC 阳性。放大倍数 (A) H&E, $\times 12.5$; (B) H&E, $\times 400$; (C) p40, $\times 400$; (D) Ki-67, $\times 400$; (E) TTF1 (克隆 SPT24), $\times 400$; 和 (F) MUC5AC, $\times 400$ 。

简要回答

除了 NUT 表达外, 还经常表达角蛋白和基底细胞标志物, 但也可能发现 TTF1 和 EMA。

NUT 在 NUT 癌中的表达模式是什么?

简要回答

NUT 癌的特征和诊断依据是超过 50% 的肿瘤细胞呈核斑点模式 (Haack 等, 2009 年; French, 2018 年) (图 14-4)。NUT 免疫染色具有敏感性 (87%) 和特异性 (排除精原细胞瘤后 100%) [French, 2018 年]。

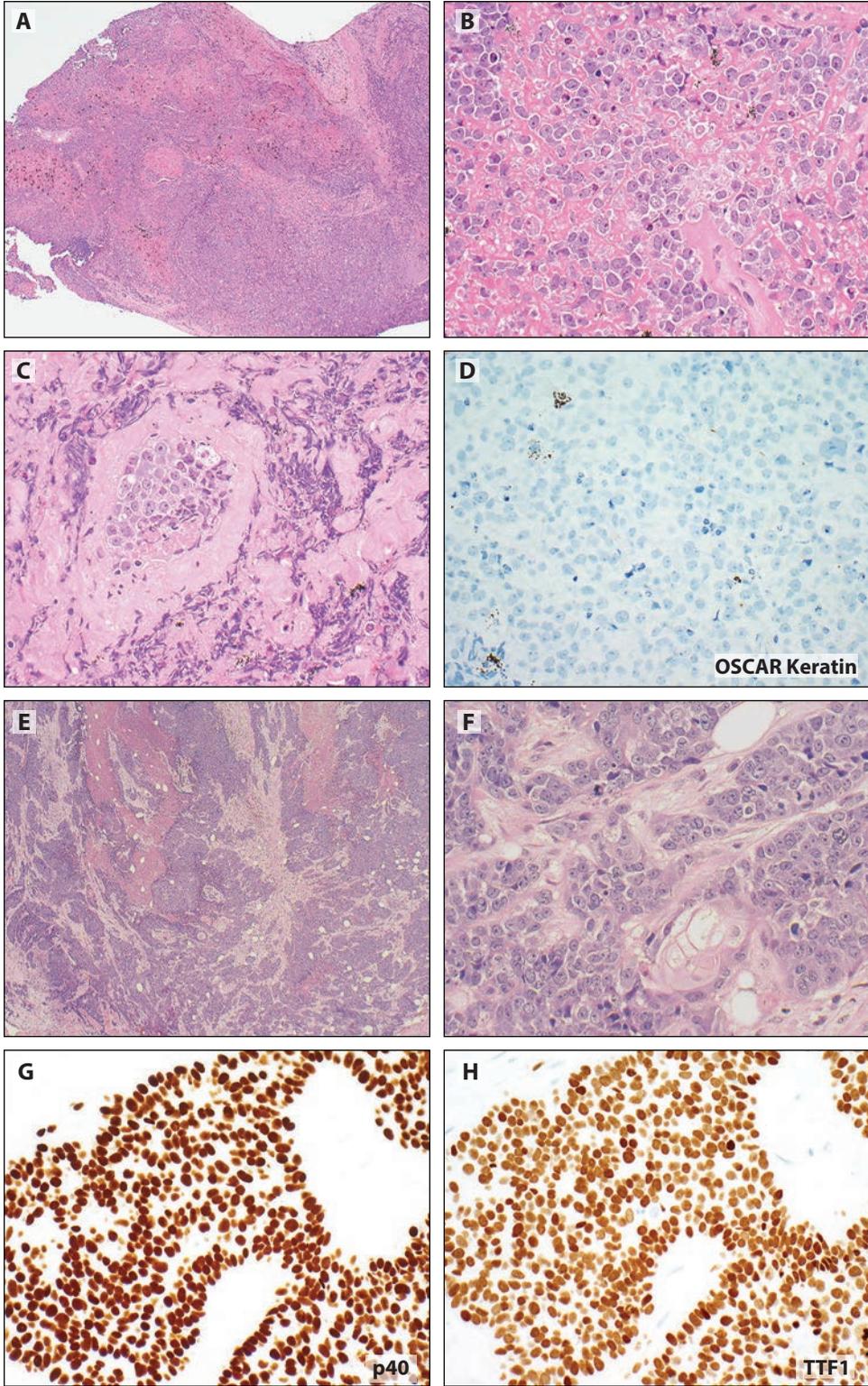


图 14-3. 睾丸核蛋白 (NUT) 癌。(A) 该细胞瘤的特征是 (E 和 F) 上皮样细胞不粘连, 间质呈透明状, 坏死, 局灶性鳞状分化。(C) 细胞角蛋白的免疫组织化学 (IHC) 可以是灶性的, 也可以是阴性的, 但 (G 和 H) p40 和甲状腺转录因子 1 (TTF1) 在同一细胞中可以呈双阳性。放大倍数 (A 和 E) H&E, $\times 40$; (B、C 和 F) H&E, $\times 400$; (D) 角蛋白 (克隆 OSCAR), $\times 400$; (G) p40, $\times 400$; 和 (H) TTF1 (克隆 SPT24), $\times 400$ 。

免疫标志物可用于区分硬化性肺泡细胞瘤和腺癌吗？

H&E 表面立方细胞 (图 14-5B, 箭头) 上两个不同的细胞群的识别, 在形态和免疫表型上与 II 型肺细胞和基质圆形细胞 (图 14-5B, 箭头) 相似, 对于诊断和鉴别该肿瘤与腺癌非常重要。有区别地突出这两种细胞群并因而有助于与腺癌进行区分的标志物包括泛角蛋白 (AE1/AE3)、天冬氨酸蛋白酶 A 以及表面活性蛋白 (SP-A 和 SP-B) 标志物 (如果有), 它们几乎选择性地突出表面细胞成分 (表 14-2)。虽然在 Rodriguez-Soto 等人 (2000) 的研究中显示, 孕激素受体在大多数情况下只突出圆形细胞成分, 但这一点尚未得到证实。TTF1 在这两种成分中都有表达, 虽然它可能总体上对硬化性肺泡细胞瘤的诊断有用, 但它无助于与肺腺癌的鉴别 (Devouassoux-Shisheboran 等, 2000 年; Schmidt 等, 2012 年)。

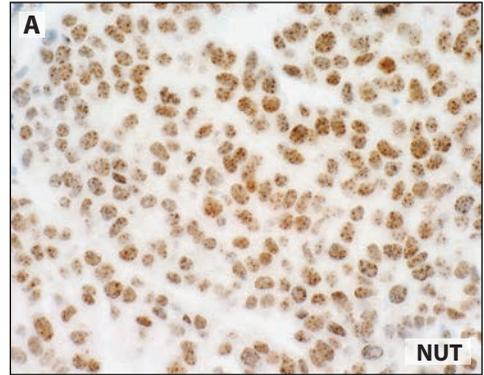


图 14-4. 睾丸核蛋白 (NUT) 免疫组化染色。超过 50% 的细胞有核染色, 通常呈斑点状。(A) 放大倍数 $\times 600$ 。

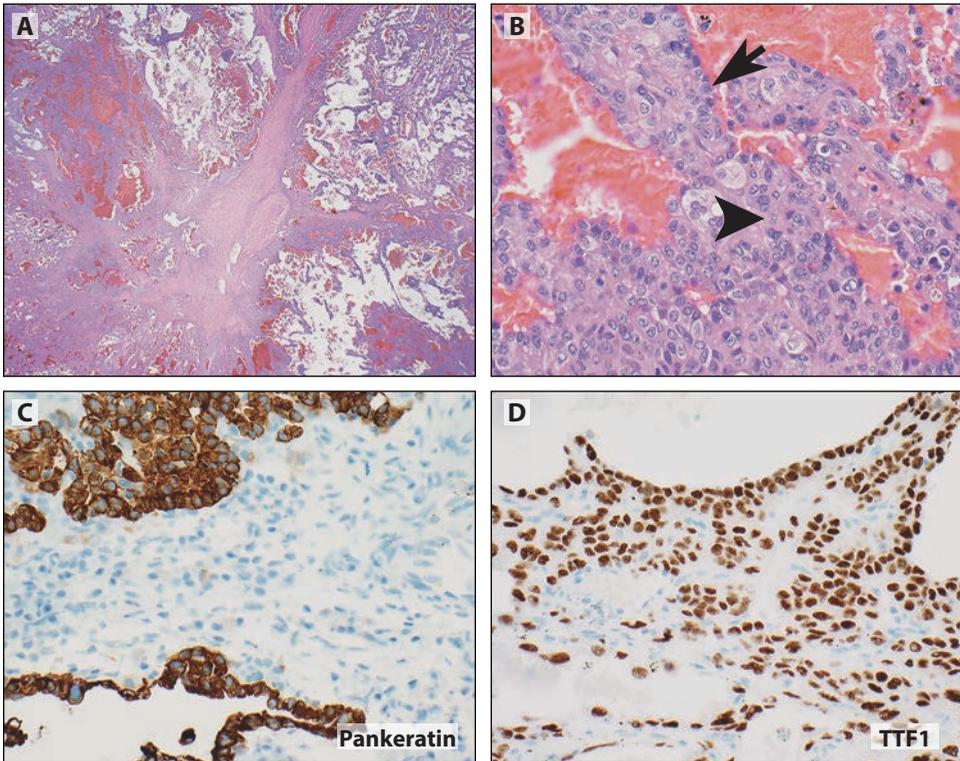


图 14-5. 硬化性肺泡细胞瘤。(A) 低倍镜显示硬化性和乳头状结构, 高倍镜 (B) 显示间质圆形细胞群 (箭头) 和上皮衬里 (箭头)。(C) 细胞角蛋白染色仅在衬里细胞呈阳性, 而 (D) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 则同时突出圆形细胞和衬里细胞。放大倍数 (A) H&E, $\times 40$; (B) H&E, $\times 400$; (C) 泛角蛋白 (克隆 AE1/AE3), $\times 400$; 和 (D) TTF1 (克隆 SPT24), $\times 400$ 。

表 14-2. 硬化性肺泡细胞瘤细胞成分表达的抗原。

抗体	表面立方细胞	基质圆细胞
	细胞染色 ^a ≥ 10% 或 1% 的 % 病例	
TTF1	97 ^a -100 ^{b,c}	92 ^a -100 ^{b,c}
泛角蛋白	100	1
CAM5.2	73	17
角蛋白 903	0	0
CK7	100	31
Pro SP-A, p	92	0
Pro SP-B, p	100	0
天冬氨酸蛋白酶 A	100 ^b	17 ^d

缩略词: CK7 = 细胞角蛋白 7; SP-A = 表面活性蛋白 A; SP-B = 表面活性蛋白 B; TTF1 = 甲状腺转录因子 1。

^a 未提供克隆。

^b 1% 的细胞染色。

^c 克隆 8G7/G3/1。

^d 在 1%-25% 的细胞中。

来源: Devouassoux-Shisheboran 等, 2000 年; Schmidt 等, 2012 年。

简要回答

免疫染色可能有助于诊断硬化性肺泡细胞瘤, 通过帮助识别具有不同免疫特征的 2 个细胞区室; 角蛋白和 TTF1 是这种区别的关键因素 (图 14-5)。

唾腺型肿瘤

免疫标志物有助于诊断肺粘液表皮样癌吗?

低级别粘液表皮样癌的诊断通常基于 H&E 染色, 显示存在 3 种细胞类型—粘液 (图 14-6B, 箭头)、表皮 (图 14-6B, 箭头) 和中间细胞, 并且缺乏角质化。如有必要, 可通过 *MAML2* 重排研究确认诊断 (表 14-1)。在小活检或高级别粘液表皮样癌中, 诊断可能具有一定的难度。在这些病例中, 当 p63、p40 和 CK5/6 突出显示表皮样细胞亚群, 且 TTF1 和天冬氨酸蛋白酶呈阴性时, 免疫染色可以帮助诊断 (Roden 等, 2014 年; Huo 等, 2015 年)。粘蛋白染色, 如粘液胺或阿新蓝/高碘酸希夫 (PAS), 可以用来突出粘液细胞中的胞质粘蛋白。肺粘液表皮样癌中 p40 的敏感性可能低于 p63 (Roden 等, 2014 年)。同样, 如果有疑问, 应该进行 *MAML2* 重排研究以确定诊断 (Roden 等, 2014 年; Huo 等, 2015 年)。

简要回答

p63、p40 或 CK5/6 的 IHC 用途有限, 可以会突出表皮样细胞成分 (图 14-6)。TTF1 和天冬氨酸蛋白酶应为阴性。

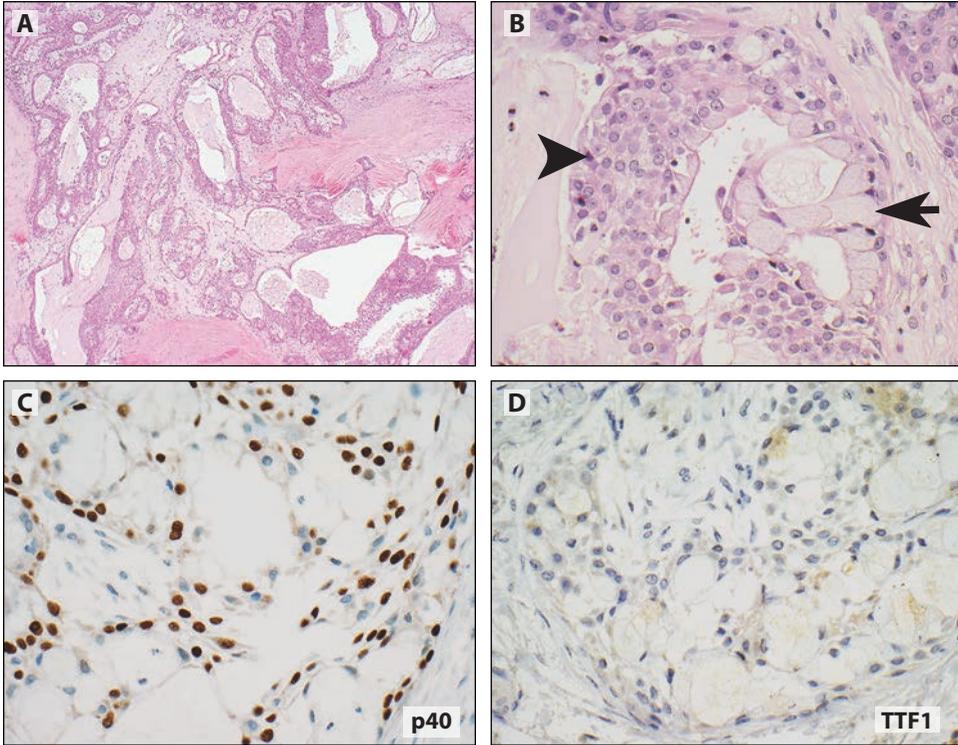


图 14-6. 粘液表皮样癌。低倍变囊性实性嵌套瘤 (A) 在高倍镜下 (B) 显示均匀的上皮样细胞 (箭头) 和粘液阳性细胞 (箭头)。(C) p40 的免疫组织化学 (IHC) 在部分细胞亚群呈阳性, 突出了双细胞群, 但 (D) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 在该肿瘤中呈阴性。放大倍数 (A) H&E, $\times 40$; (B) H&E, $\times 400$; (C) p40, $\times 400$; 和 (D) TTF1, $\times 400$ 。

免疫染色是否有助于肺腺样囊性癌的诊断及其与非小细胞癌和小细胞癌的区别?

一般来说, 腺样囊性癌的诊断可以通过 H&E 染色来实现 (图 14-7)。为了帮助确认诊断, 可以对通常表达 CD117 和 EMA 的导管/管腔细胞进行免疫染色, 而肌上皮/外周细胞对 p63、S100、SMA、肌肉特异性肌动蛋白 (MSA) 和钙蛋白 (Calponin) 呈阳性 (Roden 等, 2015 年; Nambodiripad, 2014 年)。角蛋白对区分这两种细胞成分没有帮助, 因为它在两种细胞中都有表达。CD117、p63 和 S100 可能有助于确定疑难病例的诊断, 如实体模式或小活检, 因为这些染色不同程度地突出了两种不同的细胞群。然而, 鉴别诊断为腺样囊性癌的其他肺癌也可能表达 (至少局灶性表达) 这些标志物。MYB 基因重排研究和/或 MYB 蛋白免疫染色对部分病例可能有帮助, 尽管后者仍需要在更大规模的研究中加以验证 (表 14-1) (Roden 等, 2015 年; Brill 等, 2011 年; Vallonhthaiel 等, 2017 年; Poling 等, 2017 年)。

简要回答

与粘液表皮样癌一样, 腺样囊性癌的诊断通常基于 H&E 染色。然而, 当 CD117 可以突出导管/管腔细胞而 p63 和 S100 染色肌上皮/外周细胞时, IHC 可能有助于识别双细胞群, 尤其是在形态学上具有挑战性的样本中。

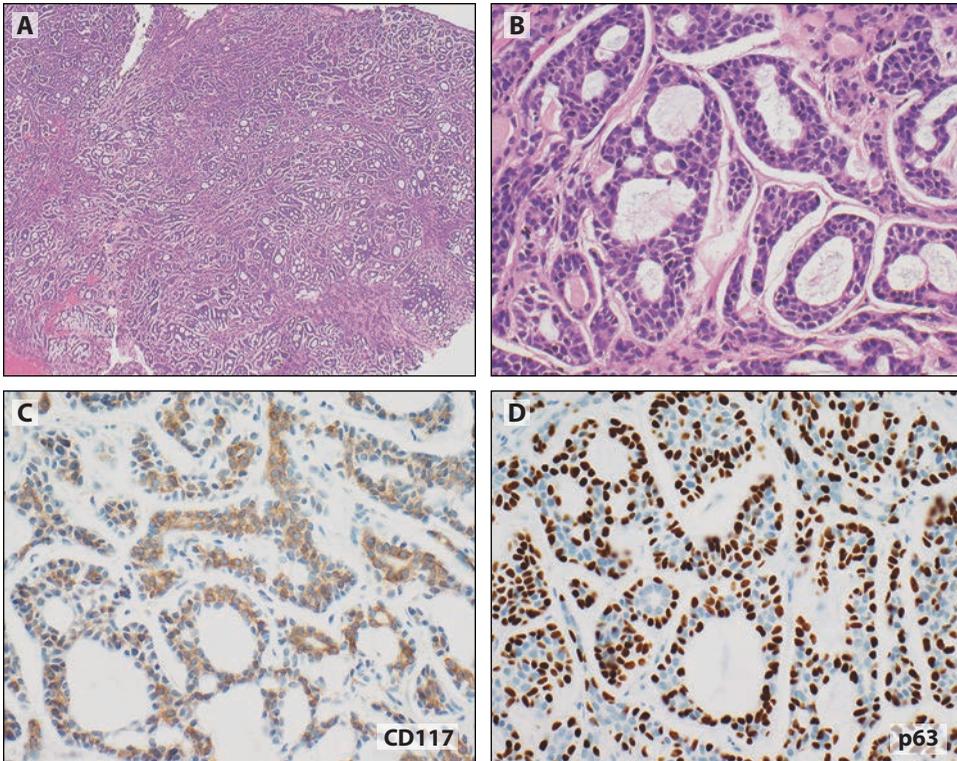


图 14-7. 腺样囊性癌。(A) 该细胞肿瘤具有典型的结构完好的腺体结构, 具有(B) 双衬里, (C 和 D) CD117 和 p63 染色突出的腺体结构。放大倍数 (A) H&E, $\times 40$; (B) H&E, $\times 400$; (C) CD117, $\times 400$; 和 (D) p63, $\times 400$ 。

免疫组织化学染色是否有助于诊断肺上皮-肌上皮癌?

肺上皮-肌上皮癌由 2 个细胞群组成, 即对角蛋白呈阳性的上皮细胞 (图 14-8B-E, 箭头) 和对 p63、p40、S100、SMA、MSA 呈阳性, 以及对角蛋白、CD117 和胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 呈弱阳性的肌上皮细胞 (图 14-8B-E, 箭头) (Dimitrijevic 等, 2015 年; Gule-ria 等, 2019 年)。上皮细胞很少表达 TTF1 和 SP-A (所谓肺细胞性腺肌上皮瘤 [Chang 等, 2007 年])。p63、S100、角蛋白、CD117 和粘蛋白可以帮助区分这种肿瘤和粘液腺癌; 但是, 由于免疫特征相似, 与腺样囊性癌的区别可能具有挑战性 (图 14-8)。

简要回答

与其他唾液腺型肿瘤一样, IHC 仅有助于在 H&E 染色切片的正确形态背景中识别定义病变的不同细胞群。

结论

在罕见胸部肿瘤中, IHC 在与常见肿瘤的鉴别诊断中最有用。但不可避免的是, 因为大多数病理学家不熟悉这种罕见实体, 所以需要借助于 IHC 的帮助来提供支持性证据。有些罕见胸部肿瘤由两种或两种以上的细胞成分组成, 虽然通常可以在切除标本中通过 HE 鉴定, 但在小活检、高级别肿瘤或有实体生长模式时, 这可能比较困难。此外, 许多这样的肿

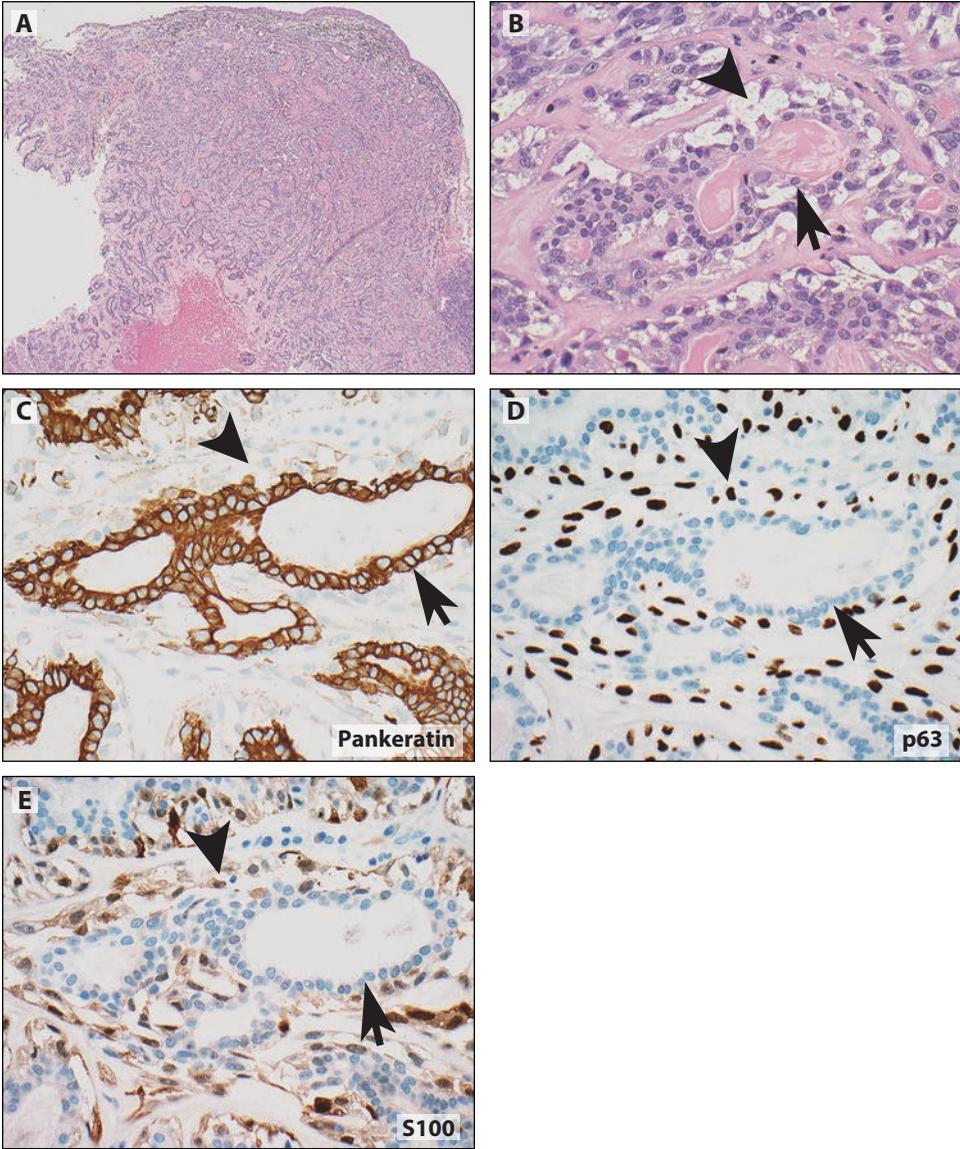


图 14-8. 肺上皮-肌上皮癌。 (A) 这个由弥漫性腺体形成的肿瘤 (B) 有双层, 外层显示双层群体 (箭头), (B) 外层 (箭头) 显示与肌上皮细胞一致的透明细胞。 (C) 泛角蛋白染色的是管腔群体 (箭头), 而非基础群体 (箭头), 而 (D) p63 和 (E) S100 突出显示的是基础群体 (箭头), 而非管腔群体 (箭头)。放大倍数 (A) H&E, $\times 40$; (B) H&E, $\times 400$; (C) pankeratin, $\times 400$ (克隆 AE1/AE3); (D) p63, $\times 400$; 和 (E) S100, $\times 400$ 。

瘤, 如唾液腺型肿瘤或 NUT 癌, 并不具有胸部肿瘤特异性, 可在身体其他部位看到。这些肿瘤的免疫表型与发生在其他部位的肿瘤相同, 因此必须通过临床病理相关性来排除转移性疾病。肺部或胸部没有特异性标志物可以帮助区分。

参考文献

- Achcar Rde O, Nikiforova MN, Dacic S, et al. Mammalian mastermind like 2 11q21 gene rearrangement in bronchopulmonary mucoepidermoid carcinoma. *Hum Pathol*. 2009;40(6):854-860.
- Alekseyenko AA, Walsh EM, Zee BM, et al. Ectopic protein interactions within BRD4-chromatin complex drives oncogene megadomain formation in NUT midline carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(21):E4184-E4192.
- Brill LB 2nd, Kanner WA, Fehr A, et al. Analysis of MYB expression and MYB-NFIB gene fusions in adenoid cystic carcinoma and other salivary neoplasms. *Mod Pathol*. 2011;24(9):1169-1176.
- Burke LM, Rush WI, Khor A, et al. Alveolar adenoma: a histochemical, immunohistochemical, and ultrastructural analysis of 17 cases. *Hum Pathol*. 1999;30(2):158-167.
- Chang T, Husain AN, Colby T, et al. Pneumocytic adenomyoepithelioma: a distinctive lung tumor with epithelial, myoepithelial, and pneumocytic differentiation. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(4):562-568.
- Chau NG, Hurwitz S, Mitchell CM, et al. Intensive treatment and survival outcomes in NUT midline carcinoma of the head and neck. *Cancer*. 2016;122(23):3632-3640.
- De Rosa N, Maiorino A, De Rosa I, et al. CD34 expression in the stromal cells of alveolar adenoma. *Case Rep Med*. 2012;913517.
- Devouassoux-Shisheboran M, Hayashi T, Linnoila RI, et al. A clinicopathologic study of 100 cases of pulmonary sclerosing hemangioma with immunohistochemical studies: TTF1 is expressed in both round and surface cells, suggesting an origin from primitive respiratory epithelium. *Am J Surg Pathol*. 2000;24(7):906-916.
- Dimitrijevic MV, Tomanovic NR, Jesic SD, et al. Epithelial-myoeplithelial carcinoma—a review of clinicopathological and immunohistochemical features. *Arch Iran Med*. 2015;18(4):218-222.
- Evans AG, French CA, Cameron MJ, et al. Pathologic characteristics of NUT midline carcinoma arising in the mediastinum. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(8):1222-1227.
- French CA. NUT carcinoma: clinicopathological features, pathogenesis, and treatment. *Pathol Int*. 2018;68(11):583-595.
- French CA. Pathogenesis of NUT midline carcinoma. *Annu Rev Pathol*. 2012;7:247-265.
- French CA, Miyoshi I, Kubonishi I, et al. BRD4-NUT fusion oncogene: a novel mechanism in aggressive carcinoma. *Cancer Res*. 2003;63(2):304-307.
- French CA, Rahman S, Walsh EM, et al. NSD3-NUT fusion oncoprotein in NUT midline carcinoma: implications for a novel oncogenic mechanism. *Cancer Discov*. 2014;4(8):928-941.
- Guleria P, Madan K, Kumar S, et al. Pulmonary epithelial myoepithelial carcinoma with papillary architecture: an uncommon morphology of a rare tumor. *Pathology*. 2019;51(4):443-445.
- Haack H, Johnson LA, Fry CJ, et al. Diagnosis of NUT midline carcinoma using a NUT-specific monoclonal antibody. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(7):984-991.
- Huo Z, Wu H, Li J, et al. Primary pulmonary mucoepidermoid carcinoma: histopathological and molecular genetic studies of 26 cases. *PLoS One*. 2015;10(11):e0143169.
- Kashima J, Hishima T, Tonooka A, et al. Genetic and immunohistochemical analysis of ciliated muconodular papillary tumors of the lung: a report of five cases. *SAGE Open Med Case Rep*. 2019;7:e2050313X19830483.
- Kataoka T, Okudela K, Matsumura M, et al. A molecular pathological study of four cases of ciliated muconodular papillary tumors of the lung. *Pathol Int*. 2018;68(6):353-358.
- Lu YW, Yeh YC. Ciliated muconodular papillary tumors of the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(1):135-139.
- Namboodiripad PC. A review: immunological markers for malignant salivary gland tumors. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2014;4(2):127-134.
- Poling JS, Yonescu R, Subhawong AP, et al. MYB labeling by immunohistochemistry is more sensitive and specific for breast adenoid cystic carcinoma than MYB labeling by FISH. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(7):973-979.
- Roden AC, Garcia JJ, Wehrs RN, et al. Histopathologic, immunophenotypic and cytogenetic features of pulmonary mucoepidermoid carcinoma. *Mod Pathol*. 2014;27(11):1479-1488.
- Roden AC, Greipp PT, Knutson DL. Histopathologic and cytogenetic features of pulmonary adenoid cystic carcinoma. *J Thorac Oncol*. 2015;10(11):1570-1575.
- Rodriguez-Soto J, Colby TV, Rouse RV. A critical examination of the immunophenotype of pulmonary sclerosing hemangioma. *Am J Surg Pathol*. 2000;24(3):442-450.
- Sak SD, Koseoglu RD, Demirag F, et al. Alveolar adenoma of the lung. Immunohistochemical and flow cytometric characteristics of two new cases and a review of the literature. *APMIS*. 2007;115(12):1443-1449.

Salati M, Baldessari C, Bonetti LR, et al. NUT mid-line carcinoma: current concepts and future perspectives of a novel tumour entity. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019;144:102826.

Schmidt LA, Meyers JL, McHugh JB. Napsin A is differentially expressed in sclerosing hemangiomas of the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(12):1580-1584.

Shao K, Wang Y, Xue Q, et al. Clinicopathological features and prognosis of ciliated muconodular papillary tumor. *J Cardiothorac Surg*. 2019;14(1):143.

Vallonthaiel AG, Jain D, Singh V, et al. c-Myb overexpression in cytology smears of tracheobronchial and pulmonary adenoid cystic carcinomas. *Acta Cytol*. 2017;61(1):77-83.

胸肉瘤免疫标志物

Akihiko Yoshida 和 Anja C. Roden

简介

胸腔内有多种肉瘤表型的肿瘤，包括肉瘤样癌、肉瘤样间皮瘤和真肉瘤。诊断工作始于临床放射学背景下的传统组织学；然而，在大多数情况下，免疫组织化学 (IHC) 对于诊断评估是必要的。分子分析对于诊断具有特殊遗传异常的肿瘤也是有帮助的，有时也是必要的，例如滑膜肉瘤 (*SS18-SSX* 融合) 和尤文肉瘤 (*EWSR1-ETS* 融合)。起源于胸腔的肉瘤性间皮瘤很可能是肉瘤样癌或肉瘤样间皮瘤。因此，对肉瘤的诊断应该非常谨慎，特别是当形态学和免疫表型与老年患者的特定类型肉瘤不一致时。肉瘤样癌和间皮瘤一般呈细胞角蛋白阳性，应使用广谱抗角蛋白，如 AE1/AE3 进行检测。然而，有些肉瘤也可能呈细胞角蛋白阳性，因此，需要更具特异性的标志物来进行分化。有些肉瘤样癌和肉瘤样间皮瘤的分化很差，甚至无法通过免疫组化检查找到其来源，如果缺乏背景信息，可能难以将其与真正的肉瘤进行区分。

哪些免疫标志物可用于诊断所谓的 *SMARCA4* 缺失性胸部恶性肿瘤？

虽然最初提出的术语，即 *SMARCA4* 缺失性胸肉瘤在文献中被广泛使用 (Le Loarer 等，2015 年；Perret 等，2019 年；Sauter 等，2017 年；Yoshida 等，2017 年)，但最近的数据表明其中许多病例都起源于上皮 (Rekhtman 等，2020 年)，这引发了关于适当术语的争议。2020 世界卫生组织 (WHO) 分类使用的术语是胸部 *SMARCA4* 缺失性未分化肿瘤。

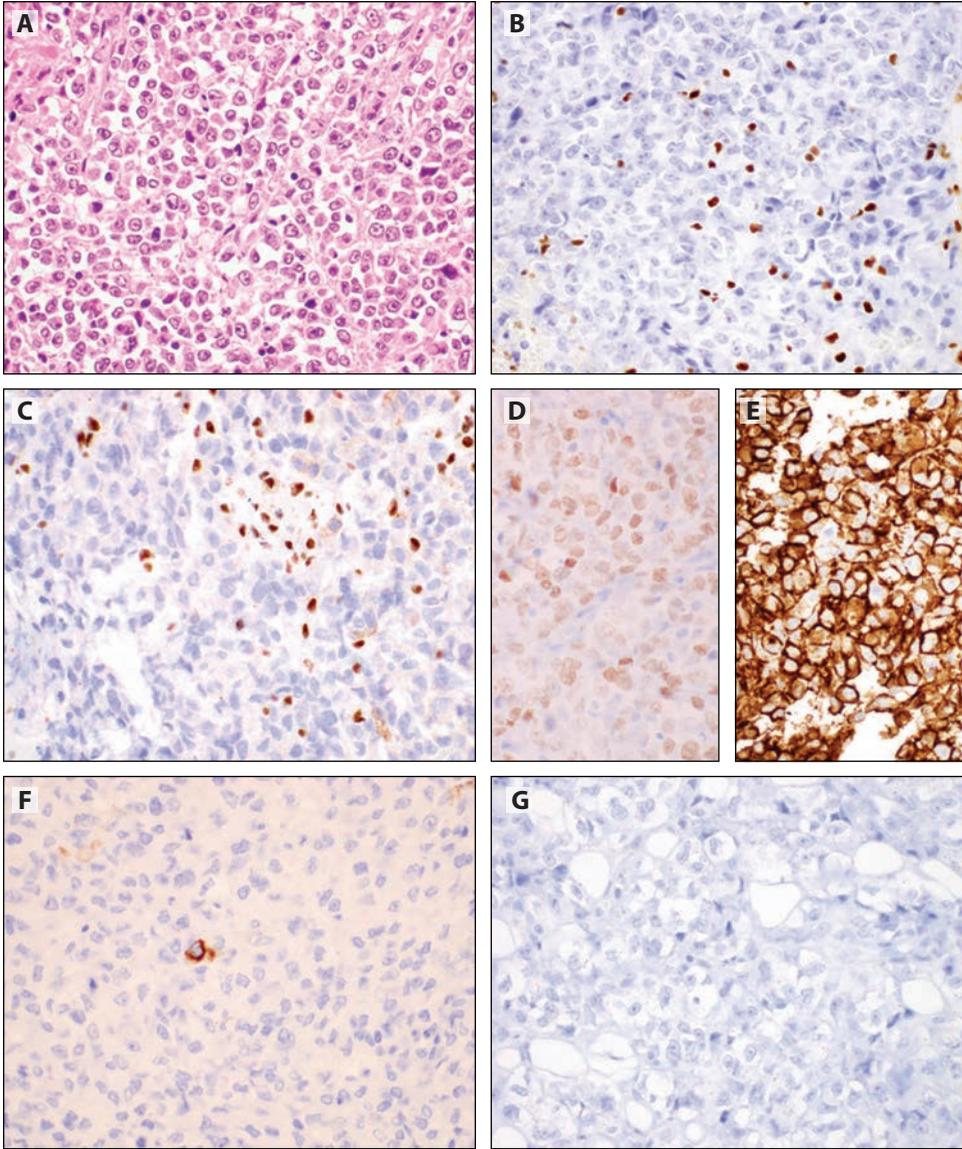


图 15-1. (A) 胸部肿瘤 SMARCA4 缺失性未分化肿瘤。(B) 在完整的阳性对照如内皮细胞或炎症细胞中, SMARCA4 的表达通常完全丧失。(C) 在绝大多数病例中, SMARCA2 (BRM) 染色丢失。SMARCB1 (整合酶相互作用物 1 [INI1]) 的表达始终保持不变。许多病例表达 (D) spalt 样转录因子 4 (sal 样蛋白 4 [SALL4]) 和 (E) CD34。(F) 细胞角蛋白应该是局灶性的或阴性的, (G) claudin-4 应该是阴性的。

除了经典的组织学之外, 该实体的定义特征是 SMARCA4 (BRG1) 缺失。与内皮细胞或炎症细胞等内部阳性对照相比, SMARCA4 的表达通常完全丧失 (Perret 等, 2019 年; Sauter 等, 2017 年; Yoshida 等, 2017 年)。此外, SMARCA2 (BRM) 染色在绝大多数情况下是缺失的 (Perret 等, 2019 年; Yoshida 等, 2017 年), 但 SMARCB1 (整合酶相互作用物 1 [INI1]) 的表达总是会被保留。病例可以表达 spalt 样转录因子 4 (sal 样蛋白 4 [SALL4])、CD34 或 SOX2 (Perret 等, 2019 年; Yoshida 等, 2017 年), SALL4 表达可能会导致误诊为生殖细胞瘤。细胞角蛋白通常

以局灶性方式表达，弥漫性强固相胞浆细胞角蛋白染色非常罕见，建议诊断为癌或间皮瘤。Claudin-4 在大多数情况下呈阴性。例外病例可能表达甲状腺转录因子 1 (TTF1)。它们的睾丸细胞核蛋白 (NUT)、肌间线蛋白、肌细胞生成素和 S100 均为阴性。SMARCA4 表达缺失并非特定于胸部 SMARCA4 缺失性未分化肿瘤，因为它可见于各种器官的癌症，包括肺癌、卵巢小细胞癌、高钙血症型和中枢神经系统的一组非典型畸胎样横纹肌样瘤 (图 15-1A-G)。

在一小部分病例中，与对照细胞相比，SMARCA4 染色可能显著减少，但仍然可见 (Yoshida 等, 2017 年; Rekhtman 等, 2020 年)，如图 15-2 所示。

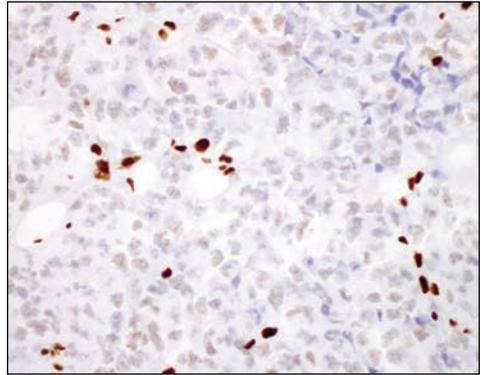


图 15-2. 与内部对照相比，SMARCA4 染色可能会减少，但却可见。

简要回答

胸部 SMARCA4 缺失性未分化肿瘤显示 SMARCA4 (BRG1) 的免疫染色缺失或显著降低 (BRG1)。

在评估胸部肿瘤时，何时应考虑 SMARCA4 染色？

肺腺癌、大细胞癌和多形性癌的小部分亚型缺乏 SMARCA4 免疫反应性 (Matsubara 等, 2013 年; Oike 等, 2013 年; Yoshimoto 等, 2015 年)。这种亚型癌往往表现组织学分化差，通常呈 TTF1 阴性。这些肿瘤不符合胸部 SMARCA4 缺失性未分化肿瘤的组织学标准，因为它们缺乏未分化的组织学，这些组织学由相对单调的轻度松散的圆形细胞组成 (有或没有横纹肌样成分)，类似于恶性横纹肌样瘤或上皮样肉瘤的近端变体 (图 15-3)。当有明显的上皮分化，如粘连片、腺体形成、乳头状结构

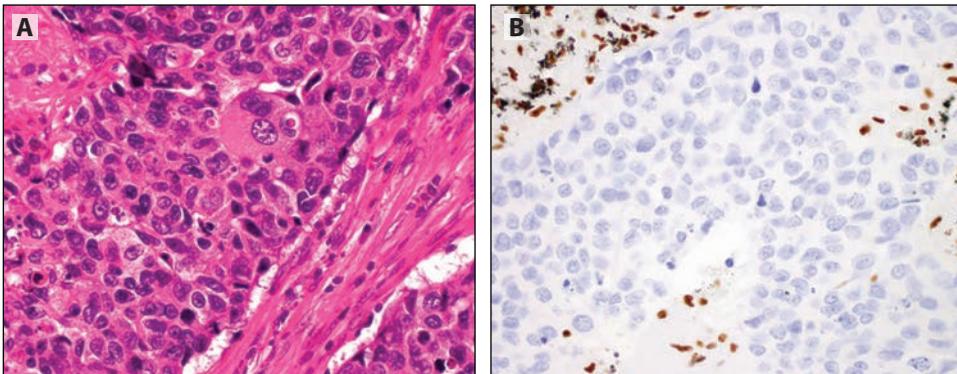


图 15-3. (A and B) 一个明确的癌症病例显示缺少 SMARCA4 染色。

或角质化时，SMARCA4 染色不是常规的诊断指征。最近的一项研究也发现了少量的复合肿瘤，包括并列的明确的癌细胞成分（Rekhtman 等，2020 年）。

简要回答

SMARCA4 染色应在形态学未分化、相对单调、不粘或横纹肌样肿瘤中进行，而不是更普遍地在形态学未分化癌中进行。

哪些免疫标志物可用于证明血管内皮分化？

血管内皮标志物的可靠组合是 ERG 和 CD31，它对 95% 以上的血管内皮瘤进行染色（Miettinen 等，2011 年）。内皮瘤的 ERG 核表达通常是弥漫的，而且很强，而有些癌的核 ERG 表达通常是阴性的或至多是局灶性的弱表达。CD31 的表达通常在皮细胞中呈弥漫性和膜状。（图 15-4）。其他内皮标志物包括 CD34、FLI1 和因子 VIII 相关抗原，但它们的敏感性和特异性不够，因此不推荐作为内皮分化的决定性标志物。

CD31 也在巨噬细胞/组织细胞中表达（图 15-5）。肿瘤浸润性组织细胞 CD31 的强表达不应被误解为肿瘤的反应性和内皮分化的证据（McKenney 等，2001 年）。

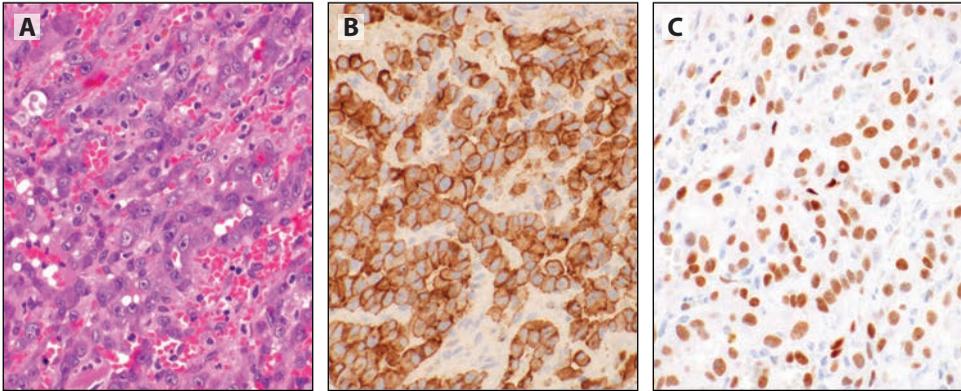


图 15-4. 上皮样血管肉瘤(A)，免疫组织化学染色(B)CD31弥漫性膜染色，和(C)ERG 强核染色。

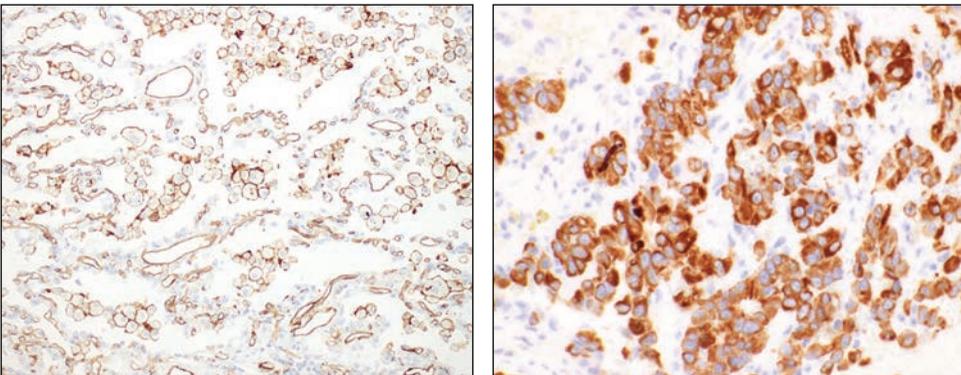


图 15-5. 肺泡巨噬细胞免疫组织化学检测 CD31。

图 15-6. 上皮样血管肉瘤细胞角蛋白免疫组织化学染色呈阳性。

ERG 在血淋巴细胞、软骨细胞、上皮样肉瘤、前列腺癌亚群和尤文肉瘤中也有表达。

细胞角蛋白的表达在上皮样血管内皮肿瘤中相对常见，不应作为上皮分化的证据（图 15-6）。

简要回答

ERG 和 CD31 是有用的内皮标志物。其他标志物，如 CD34 和 FLI1，可能有用，但不太确定。

哪些免疫标志物可用于对恶性血管内皮瘤进行亚型分型？

血管肉瘤和上皮性血管内皮瘤 (EHE) 是 2 种不同的恶性血管内皮肿瘤，可能产生于肺部和胸膜。通常，形态学可以区分这 2 种实体。除了在这两种肿瘤中发现的内皮细胞标志物外，没有其他针对血管肉瘤的特异性标志物。

95% 以上的 EHE 携带 *WWTR1-CAMTA1* 融合，因此，钙调蛋白-结合转录激活因子 1 (CAMTA1) IHC 在肿瘤细胞核内呈弥漫性表达。（Shibuya 等，2015 年；Doyle 等，2016 年）（图 15-7）。

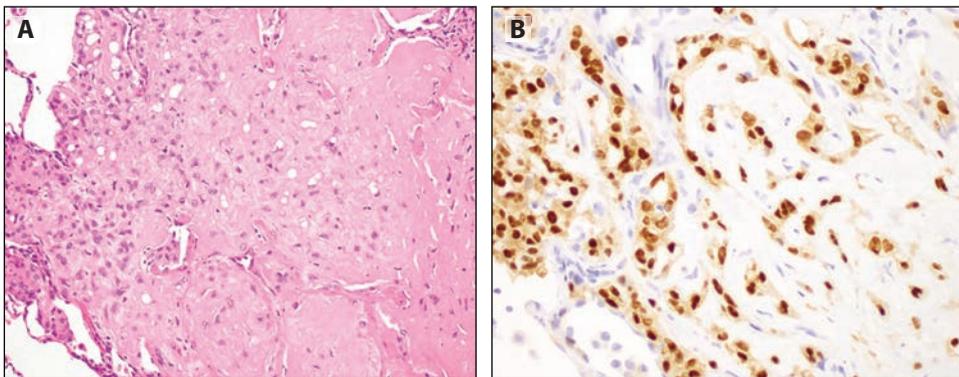


图 15-7. (A) 上皮样血管内皮瘤 (EHE)，显示 (B) 钙调蛋白结合转录激活因子 1 (CAMTA1) 强核表达。

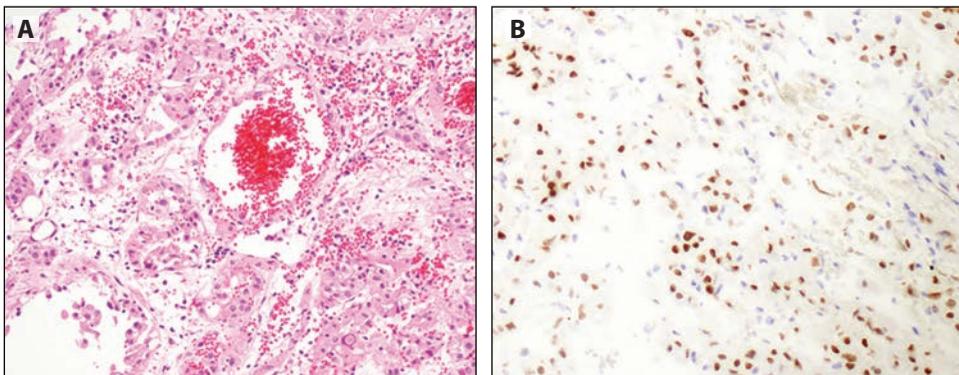


图 15-8. (A) *TFE3* 重排上皮样血管内皮瘤 (EHE)，显示 (B) 转录因子 E3 (TFE3) 核反应性。

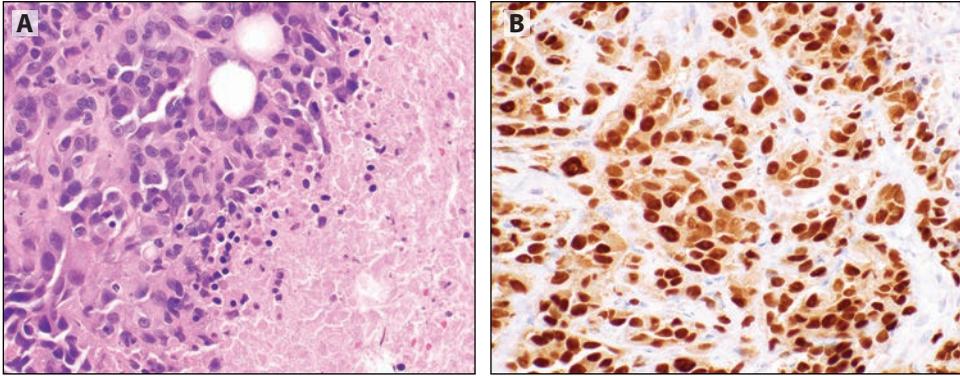


图 15-9. (A)具有侵袭性形态的上皮样血管内皮瘤(EHE)显示(B)钙调蛋白结合转录激活因子1(CAMTA1)染色阳性。这证实了该诊断。

其余不到 5% 的 EHE 携带 *YAP1-TFE3* 融合，因此，它们对核转录因子 E3 (TFE3) 的反应性是弥漫性阳性 (图 15-8) (Antonescu 等，2013 年)。

有些 EHE 表现出侵略性的组织学，其 CAMTA1 反应性 (在上皮性血管肉瘤中缺乏) 有助于解决鉴别诊断 (图 15-9)。

简要回答

CAMTA1 和 TFE3 的 IHC 是易位的替代物，可用于血管肿瘤亚分类。

哪些免疫标志物可用于区分滑膜肉瘤及其模拟物？

滑膜肉瘤的细胞角蛋白和/或上皮膜抗原 (EMA) 在 80% 到 90% 的病例中呈阳性，EMA 染色通常比细胞角蛋白染色更广泛 (Pelmsus 等，2002 年) (图 15-10)。相反，许多其他具有肉瘤样组织学的肿瘤 (如肉瘤样癌) 可能表达 EMA 和细胞角蛋白，因此，对于滑膜肉瘤的诊断，不能过度依赖这些标志物。与孤立性纤维瘤相比，滑膜肉瘤通常呈 CD34 阴性 (Pelmsus 等，2002 年)，它们缺乏信号转导和转录激活因子 6 (STAT6) 染色。p40 有助于区分滑膜肉瘤和 A 型胸腺瘤。在 90% 的滑膜肉瘤中观察到中度到强度的转导蛋白样增强蛋白 1 (TLE1) 的核表达 (图 15-10C)；然而，这并不完全是特异性的 (Terry 等，2007 年；Kosemehmetoglu 等，2009 年；Foo 等，2011 年)。与背景内皮细胞和炎症细胞的完整强度相比，90% 的病例中的 SMARCB1 (INI1) 的表达有所降低，这被认为是梭形细胞肿瘤中滑膜肉瘤的特异性 (Ito 等，2016 年；Arnold 等，2013 年) (图 15-10D)。

许多滑膜肉瘤表达 CD56 (Hartel 等，2007 年)，少数病例突触素呈阳性 (Satoh 等，2015 年)，这种表型可能会导致误诊为神经内分泌癌，特别是在小活检中。(图 15-11)。

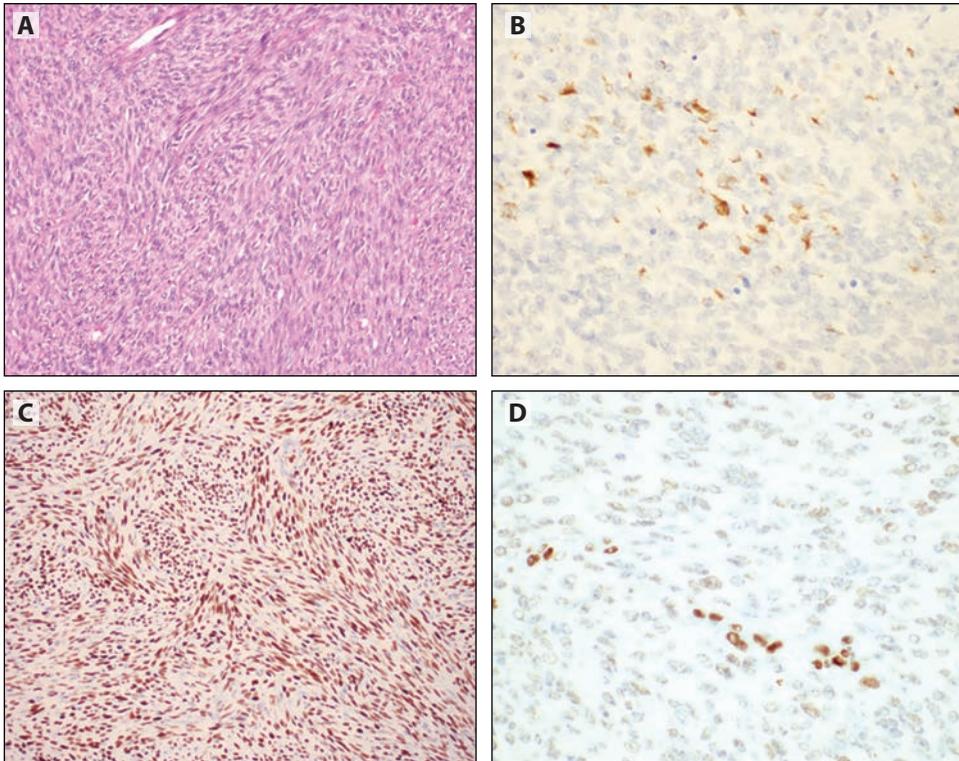


图 15-10. 滑膜肉瘤免疫组织化学。(A)单相滑膜肉瘤对于(B)细胞角蛋白呈局灶性阳性，但显示出(C)分裂蛋白1(TLE1)核表达的弥漫性转导素样增强子。与上皮细胞相比，SMARCB1（整合酶相互作用物1[INI1]）的减少是一种已知的染色模式，如(D)所示。

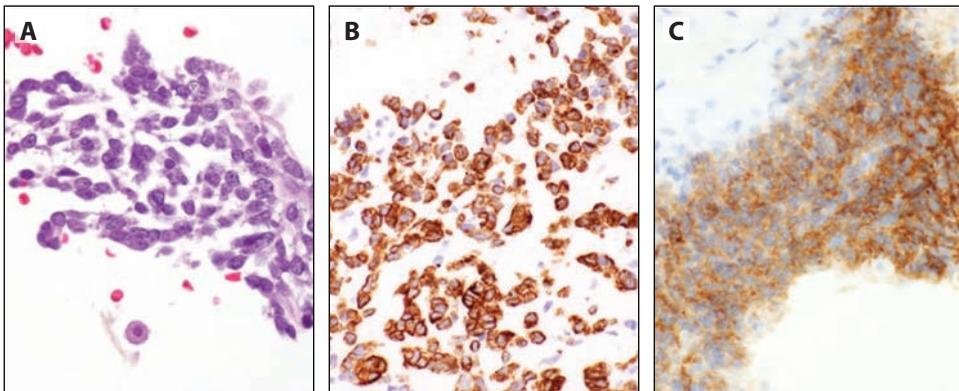


图 15-11. (A)具有小细胞形态的滑膜肉瘤，其中(B)角蛋白和(C)突触素的阳性在这种情况下可以模拟小细胞癌。

简要回答

细胞角蛋白和 TLE1 的 IHC 相关阴性，可有助于滑膜肉瘤的诊断。但是，疑难病例可以通过荧光原位杂交 (FISH) 或分子检测来确认。

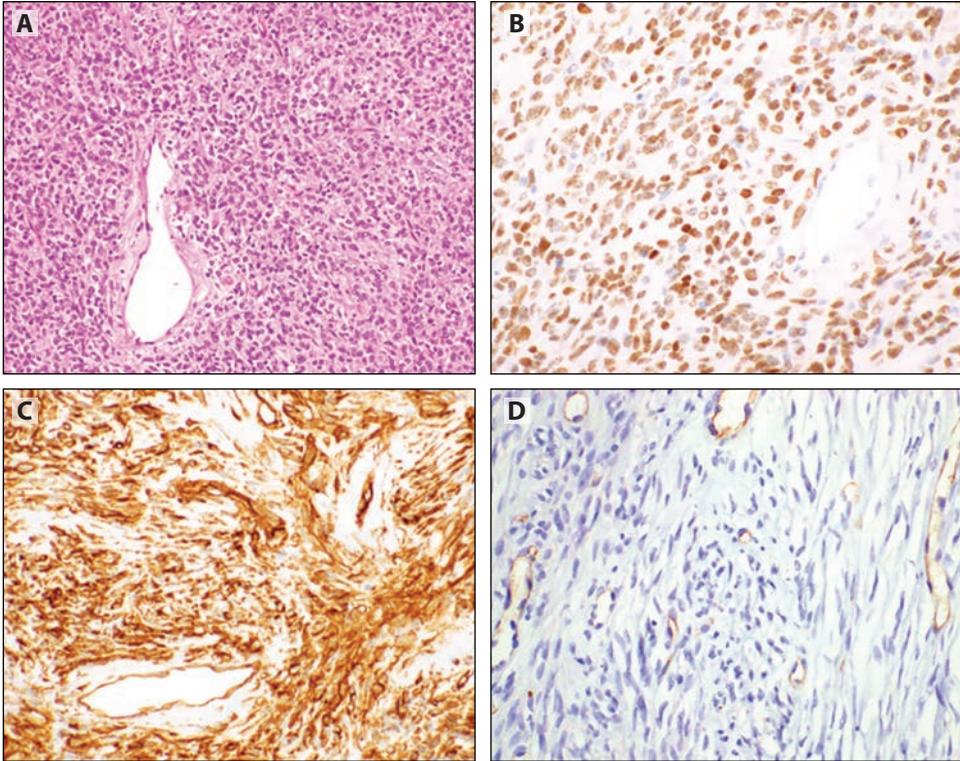


图 15-12. (A)孤立性纤维瘤，(B)核信号转导和转录激活子 6 (STAT6)，和(C)阳性 CD34。然而，CD34 在某些情况下是阴性的(D)，特别是恶性肿瘤。

哪些免疫标志物可用于评估孤立性纤维瘤？

几乎所有孤立性纤维瘤 (SFT) 都携带特异融合 *NAB2-STAT6*。这种融合导致 STAT6 蛋白在细胞核中异常积聚，很容易被检测到强烈的核 STAT6 免疫染色 (图 15-12A 和 B)。这种反应性在 SFT 的广泛组织学范围内都能观察到，并被认为是一种高度敏感和特异的诊断标志物 (Doyle 等, 2014b; Yoshida 等, 2014 年)。CD34 在 90% 以上的 SFT 中呈阳性表达，但染色可为局灶性，甚至缺失，尤其在恶性 SFT 中。虽然 *bcl-2* 通常是阳性的，但这种标志物没有特异 (图 15-12C 和 D)。

STAT6 IHC 的性能明显会受到固定的影响。例如，大型切除标本往往只在外围显示反应性，而样本中心是阴性的 (图 15-13A)，需要仔细寻找阳性区域 (Yoshida 等, 2014 年)。

虽然可以通过单克隆 STAT6 抗体进行明确的解释 (Cheah 等, 2014 年)，但在非 SFT 肿瘤中，多克隆 STAT6 抗体有时会在细胞质和细胞核中产生模糊反应，应谨慎进行解释 (图 15-13B)。由于 *STAT6* 扩增，一小部分去分化脂肪肉瘤 (~10%) 显示出 STAT6 免疫反应性 (Doyle 等, 2014a) (图 15-13C)。

简要回答

STAT6 使用单克隆抗体，是 SFT 的敏感且相对特异的标志物。

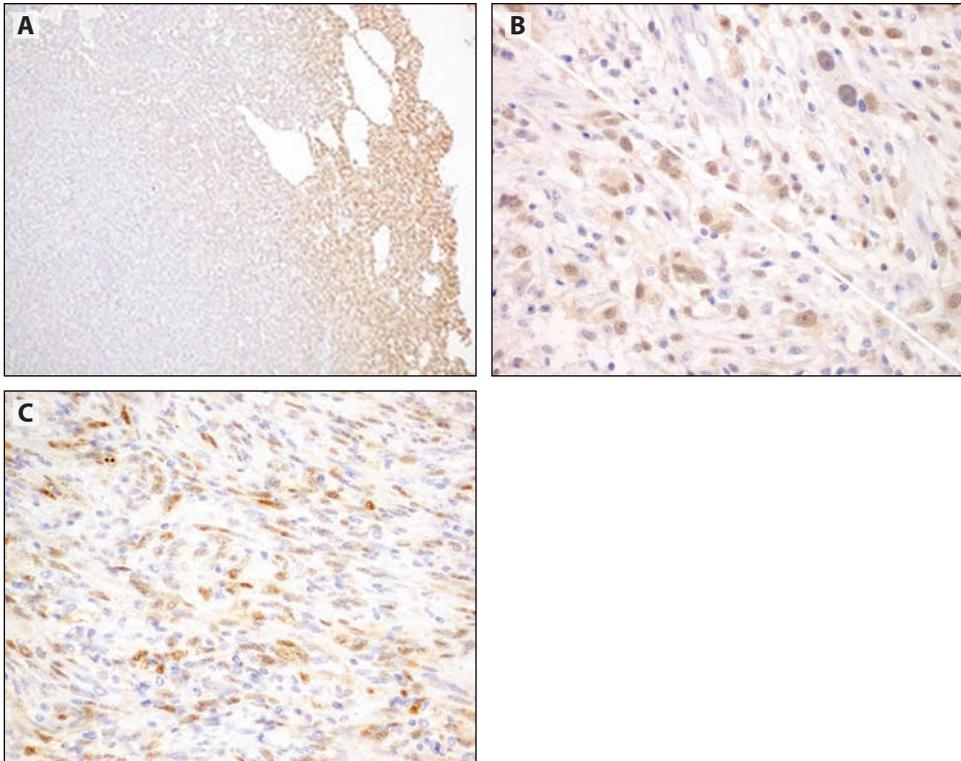


图 15-13. 信号转导和转录激活因子 6 (STAT6) 免疫组织化学的缺陷。(A)固定可导致肿瘤组织中的周边染色模式。(B)未分化的多形性肉瘤,用多克隆试剂显示细胞质/细胞核 STAT6 反应性,不应将其解释为孤立性纤维肿瘤 (SFT) 的诊断阳性。(C)去分化脂肪肉瘤,STAT6 多焦点染色,胞浆和细胞核均有分布。

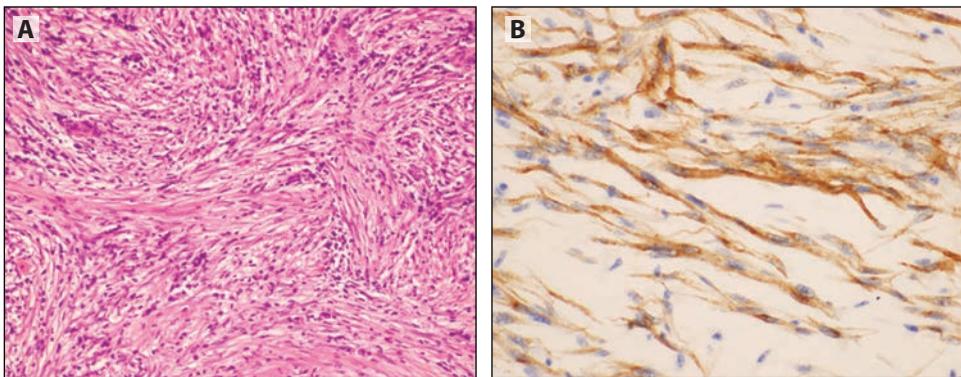


图 15-14. (A)炎性肌纤维母细胞瘤对(B)间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 呈免疫阳性。这见于 ALK 易位阳性病例 (60%-70%)。

免疫标志物是否有助于炎性肌纤维母细胞瘤的诊断?

大约 60% 到 70% 的炎性肌纤维母细胞瘤 (IMT) 携带 ALK 融合, 并有许多不同的配对基因 (图 15-14)。有些融合 (例如 *PPFIBP1-ALK*) 表达低水平的间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 蛋白, 因此为了实现最佳检测, 建议使用高灵敏度的 ALK 克隆, 如 D5F3、1A4

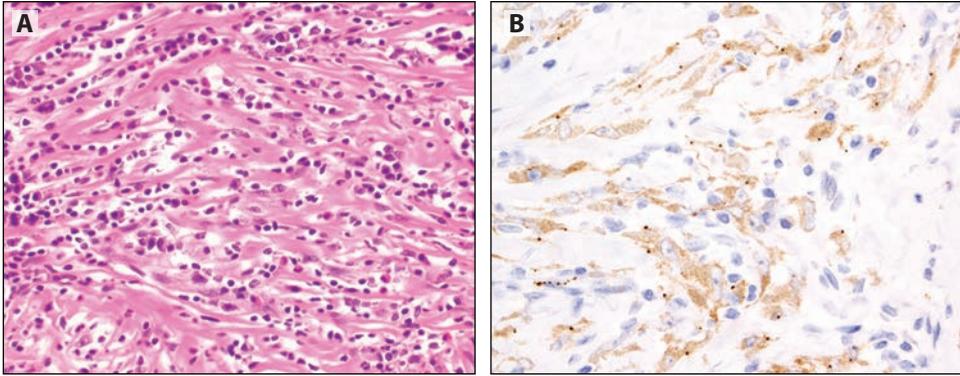


图 15-15. (A) 这种具有 *c-ros* 致癌基因 1 (B) (*ROS1*) 蛋白易位的炎性肌纤维母细胞瘤 (IMT) 显示 *ROS1* 免疫反应性。

或 5A4 (Takeuchi 等, 2011 年)。在肺内梭形细胞肿瘤中, *ALK* 表达对 IMT 没有特异性。除了 *ALK* 重排的非小细胞肺癌 (NSCLC) 的肉瘤样分化 (Mason 等, 2016), 其他肿瘤, 如横纹肌肉瘤和血管瘤样纤维组织细胞瘤, 也可能表达 *ALK*, 尽管缺乏融合基因 (Cheah 等, 2019 年; Yoshida 等, 2013 年)。IMTs 不同程度地表达平滑肌肌动蛋白 (SMA) 和/或肌间线蛋白, 反映肌成纤维细胞分化。SMA 和肌间线蛋白的共同表达并不一定表示平滑肌的分化。IMTs 可呈细胞角蛋白阳性, 这不应该导致误诊为上皮性肿瘤 (Coffin 等, 1995 年)。

小部分 *ALK* 阴性的 IMTs 亚群携带替代的 *c-ros* 致癌基因 1 (*ROS1*) 或神经营养性酪氨酸受体激酶 (*NTRK*) 重排, 这些亚群可分别通过 *ROS1* (图 15-15) 和 pan-TRK IHC 进行检测 (Hornick 等, 2015 年; Yamamoto 等, 2019 年)。

简要回答

在正确的形态学背景下, *ALK* 或 *ROS1* 的 IHC 有助于 IMT 的诊断。

哪些免疫标志物可用于评估多形性梭形细胞肉瘤?

几乎所有去分化脂肪肉瘤都携带 *MDM2* 基因的高水平扩增, 80% 的病例都存在 *CDK4* 共扩增。在超过 90% 的病例中, 小鼠双微体 2 同源/E3 泛素蛋白连接酶 (*MDM2*) 和细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (*CDK4*) 的免疫组织化学共表达反映了这一点 (图 15-16) (Binh 等, 2005 年)。单纯的 *MDM2* 或 *CDK4* 的表达对基因扩增没有特异性, *MDM2* 反应性本身可以在 20% 的其他肉瘤类型中看到 (Binh 等, 2005 年)。此外, 肉瘤样癌或间皮瘤可能显示 *MDM2* 过表达, 因此, 有必要与形态学和其他标志物相关联。

大约 70% 的内膜肉瘤 (包括心脏内膜肉瘤 [Neuville 等, 2014 年]) 携带 *MDM2* 扩增, 因此, *MDM2* 免疫染色为阳性 (Bode-Lesniewska 等, 2001 年) (图 15-17)。

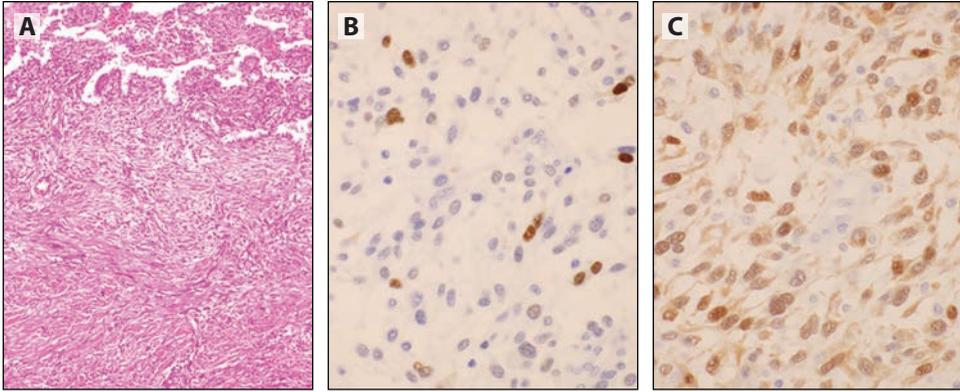


图 15-16. (A) 肺部去分化脂肪肉瘤显示(B)对于 MDM2 和(C)CDK4 的免疫反应性。

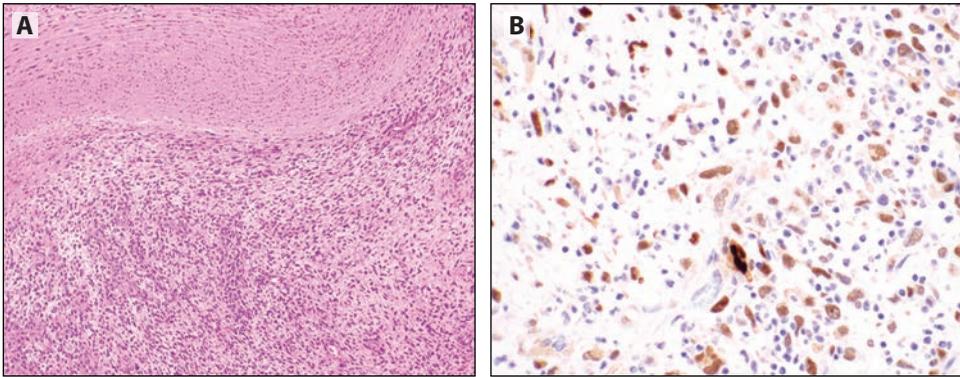


图 15-17. (A)肺动脉内膜肉瘤（图像中动脉介质位于上方）对(B)核 MDM2 呈阳性。

然而，缺乏 *MDM2* 扩增或 *MDM2* 过表达并不能排除诊断。内膜肉瘤通常表现为未分化的多形性肉瘤组织学；然而，有一部分病例在形态学和免疫表型上都显示出异源性分化。

平滑肌肉瘤表现为平滑肌分化，表现为对 SMA、肌间线蛋白和高分子量钙结合蛋白的反应性。在大多数情况下，除了经典的组织学，这些标志物中至少有 2 个是阳性，高分子量钙结合蛋白是其中最具特异性的（图 15-18）。

只有一半的恶性周围神经鞘瘤 (MPNST) 显示出对 S100 蛋白和/或 SOX10 的免疫反应性，并且染色往往比较弱，呈局灶性。因此，弥漫性强的 S100 或 SOX10 染色表明存在其他诊断，如细胞性分裂症或肉瘤性恶性黑色素瘤。MPNST 经常携带编码基因 *SUZ12* 或 *EED* 的失活改变，这些基因是多瘤抑制复合体 2 的关键成分，因此，组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸三甲基化消失了。这种现象直观地表现为 H3K27me3 的表达缺失（图 15-19），可见于大约 50% 至 60% 的 MPNSTs，其模拟物（如滑膜肉瘤）与之不同，保留了 H3K27me3（Schaefer 等，2016 年；Asano 等，2017 年；Prieto-Granada 等，2016 年）。

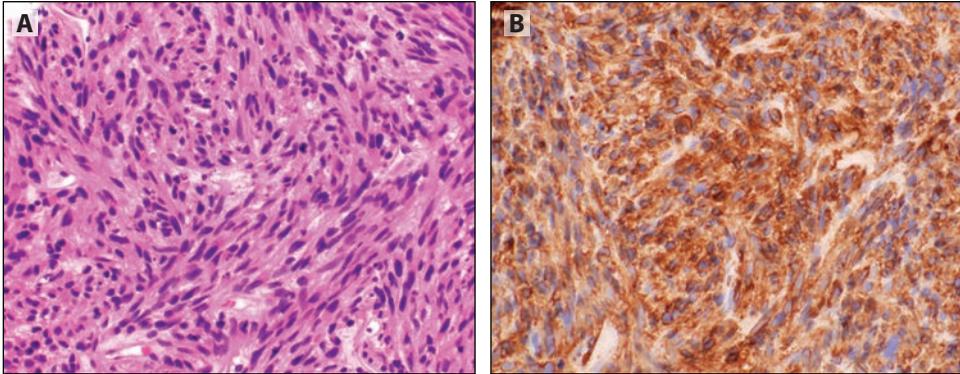


图 15-18. (A) 平滑肌肉瘤对(B)高分子量钙结合蛋白呈阳性。

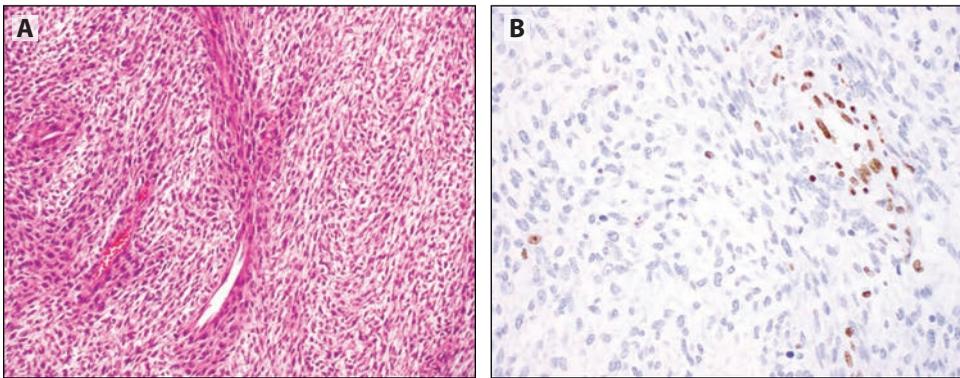


图 15-19. (A)恶性周围神经鞘瘤 (MPNSTs), 伴(B) H3K27me3 核缺失。

简要回答

多种标志物可以帮助对梭形细胞肉瘤进行分类，包括 MDM2、肌肉标志物和 H3K27me3，但都可以在超过 1 种肿瘤类型中具有反应性。

哪些免疫标志物可用于评估圆形细胞肉瘤？

大多数尤文肉瘤都显示 CD99 表达。虽然 CD99 阳性本身可见于许多肿瘤中，但弥漫性强膜性 CD99 染色仍有助于尤文肉瘤的进一步检查。这些肿瘤也可能表达 CD56、突触素和/或胰岛素瘤相关蛋白 1 (INSM1)，并且在大约 20% 的病例中呈细胞角蛋白阳性，使其更难与小细胞癌进行区分。更具特异性的尤文肉瘤标志物包括 NKX2-2 和 PAX7 (Toki 等，2018 年) (图 15-20)。

然而，NKX2-2 在一部分胰腺和胃肠道来源的小细胞癌和神经内分泌肿瘤中呈阳性，应根据临床组织学背景谨慎使用 (Hung 等，2016 年；Yoshida 等，2012 年) (图 15-21)。

与尤文肉瘤不同，CIC-重排肉瘤在 80% 到 90% 的病例中显示出核 Wilms 瘤 1 (WT1) 和 ETS 变异转录因子 4 (ETV4) 的表达 (Yoshida 等，2016 年；Hung 等，2016 年)。CIC-重排肉瘤有时表现为上皮样形态，并伴有分散的细胞角蛋白表达，许多

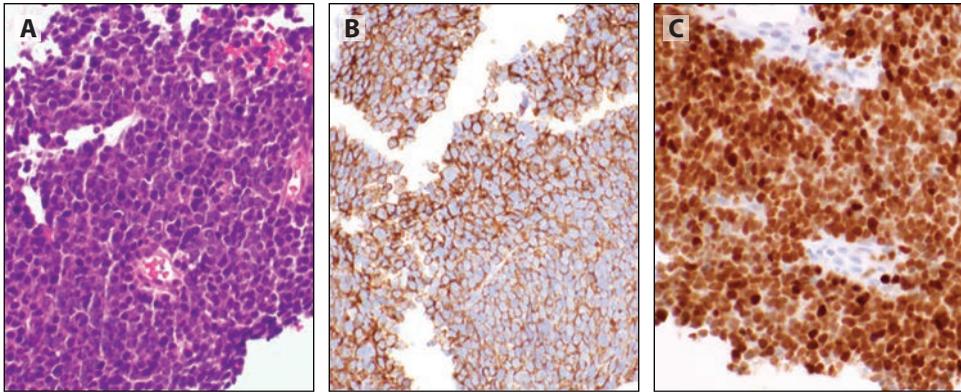


图 15-20. (A)尤文肉瘤，伴(B)强膜性 CD99和(C)核 NKX2-2 表达。

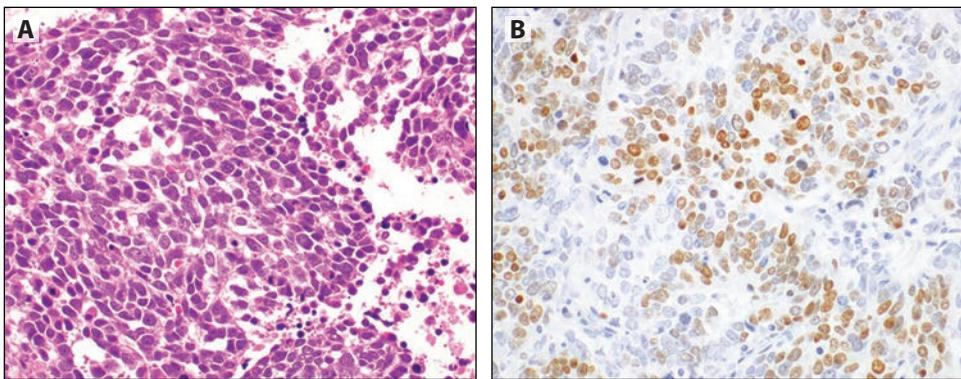


图 15-21. (A)小细胞癌呈(B)NKX2-2阳性，这是尤文肉瘤的诊断陷阱。

病例除 WT1 外还表达钙网膜蛋白，导致可能误诊为间皮瘤（Yoshida 等，2016 年）（图 15-22）。

促结缔组织增生性小圆细胞肿瘤很少发生在胸膜。它们显示出细胞角蛋白和肌间线蛋白的共同表达。这些肿瘤的特点是只有在使用 WT1（C 端）抗体时才有 WT1 核表达，而 WT1（N 端）的染色呈阴性（Barnoud 等，2000 年）（图 15-23）。

横纹肌肉瘤源发于胸腔的情况很罕见。横纹肌肉瘤的肌原蛋白和/或 MYOD1 通常呈阳性，此外还有肌间线蛋白（图 15-24）。

肺泡横纹肌肉瘤的细胞角蛋白（图 15-25A）、CD56（图 15-25B）和突触素（图 15-25C）可能呈阳性，这可能导致误诊为小细胞癌（Bahrami 等，2008 年；Wallace 等，2019 年）。

简要回答

圆形细胞肉瘤的标志物可能有助于诊断，但与更常见的实体如小细胞癌仍有一些重叠。流行病学考虑因素（年龄）和肿瘤位置可能会有所帮助，必要时还可以进行 FISH 和分子检测。

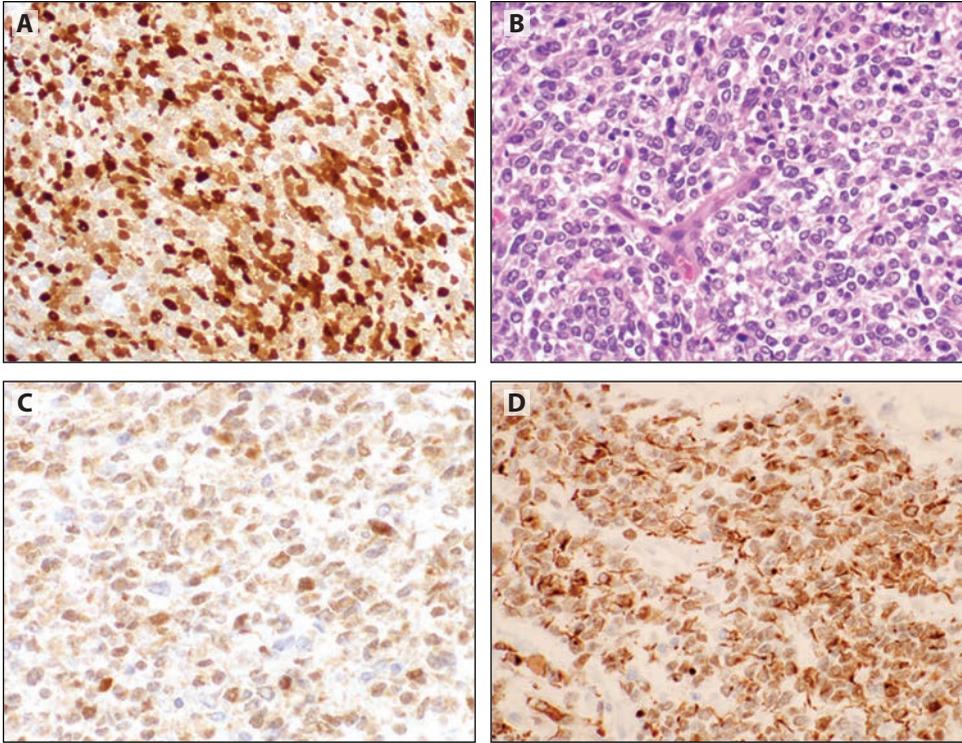


图 15-22. (A)CIC重排肉瘤，伴(B)膜性 ETS 易位变体 4 (ETV4)，(C)核 Wilms 瘤 1 (WT1) 和(D)钙蛋白阳性表达。

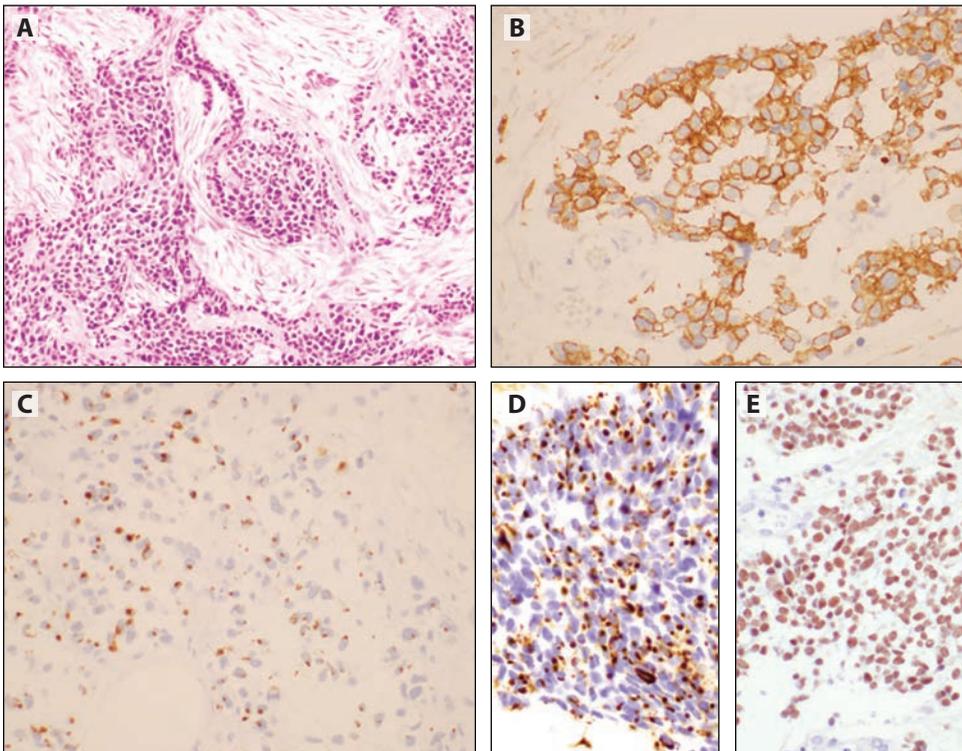


图 15-23. (A)促结缔组织增生性小圆细胞肿，(B)细胞角蛋白 AE1/AE3 阳性，(C)肌间线蛋白，(D)Wilms 肿瘤 1 (WT1) N 端仅显示核染色阴性的胞质反应性，(E)WT1 C 端显示阳性核染色。

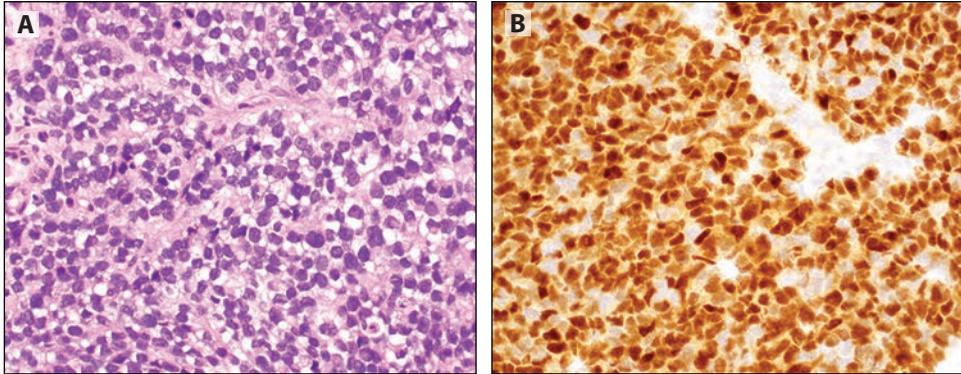


图 15-24. (A)肺泡横纹肌肉瘤，(B)肌原蛋白阳性。

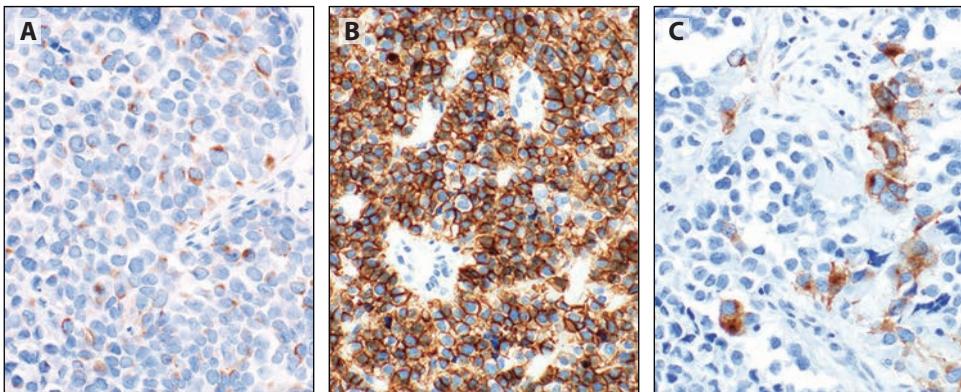


图 15-25. (A)肺泡横纹肌肉瘤，细胞角蛋白阳性，(B)CD56 和(C)突触素。

哪些免疫标志物有助于区分 PEComa 及其模拟物？

PEComa（血管周上皮样细胞瘤的同义词是透明细胞瘤或糖瘤）通常表达黑色素细胞标志物，包括 HMB45（局灶性颗粒细胞质染色模式）、黑色素 A、酪氨酸酶 A、CD68（克隆 KP1）和组织蛋白酶 K；还有一个亚群表达 S100 和/或小眼炎转录因子 (MiTF)。一般来说，这些肿瘤的角蛋白和 TTF1 均为阴性。这些染色剂有助于将这种肿瘤与可能显示透明细胞特征的癌症区分开来，如鳞状细胞癌、实体型腺癌或转移性透明细胞肾细胞癌。与 PEComas 相比，淋巴管肌瘤病的病变细胞更广泛地表达 SMA，有时也表达肌间线蛋白，而对 S100 呈阴性 (Calio 等，2018 年；Thway 和 Fisher，2015 年；Lantuejoul 等，1997 年) (图 15-26)。

简要回答

PEComa 通常对细胞角蛋白呈阴性，而对 HMB45、melan A 和酪氨酸酶 A 呈阳性。

结论

虽然原发性胸部肿瘤和肉瘤很少见，但它们可以模仿肺和纵隔的许多其他肿瘤，因此需要在诊治其他肿瘤时加以考虑。此外，肉瘤经常转移到胸腔，有时是在原发肿瘤治疗多年之后。IHC 在鉴别许多此类肿瘤方面很有价值，通常需要应用一系列免

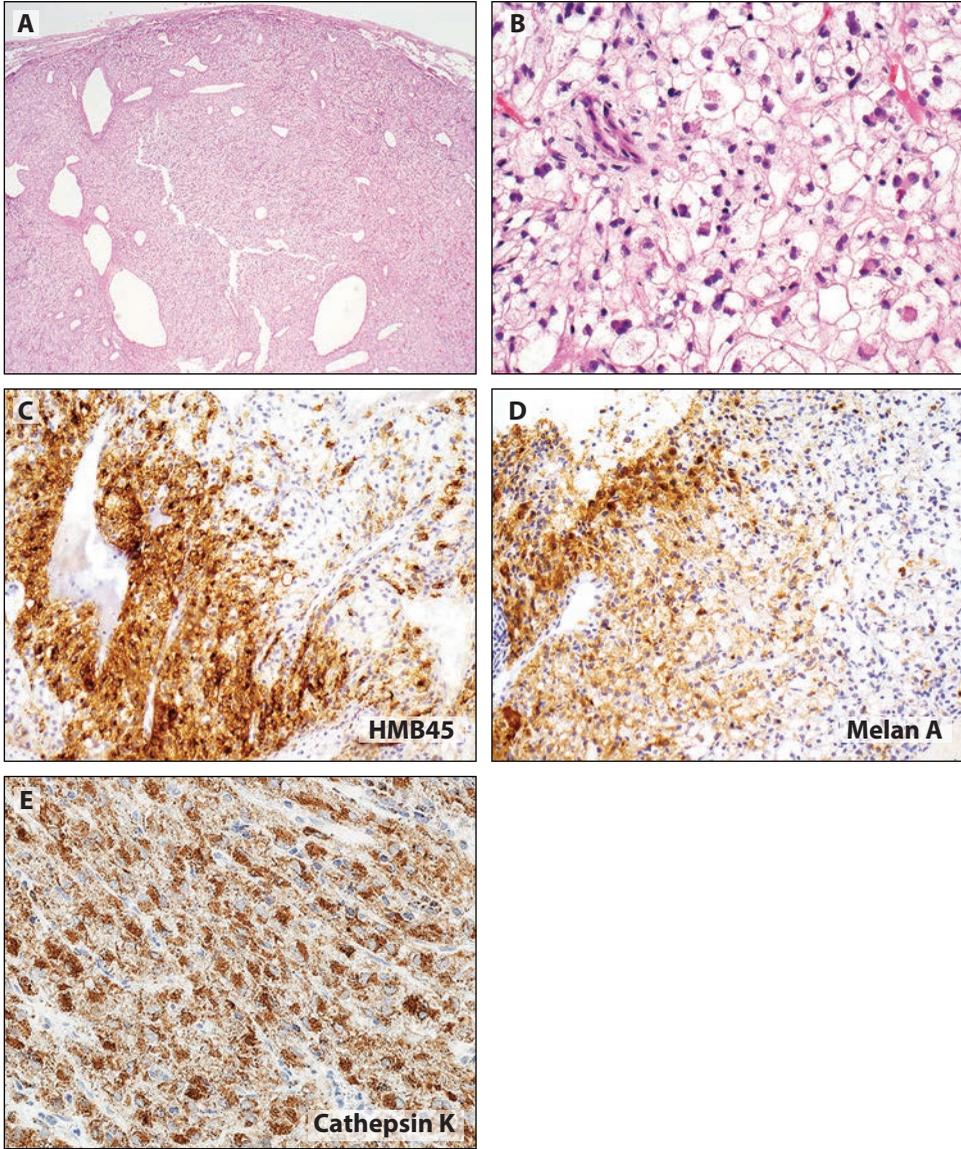


图 15-26. (A)低倍镜下的 PEComa 呈环状, (B)高倍镜下显示清晰的细胞。(C)HMB45 的免疫组化 (IHC), (D)黑色素 A 和(E)酪氨酸酶 A 呈阳性。(E 由日本东京的日本癌症研究基金会癌症研究所病理科的 H. Ninomiya 博士提供)

疫染色, 因为大多数标志物对单个肿瘤实体都不具有特异性。此外, 在一些肿瘤中, 尽管 IHC 可以帮助诊断, 但最终的诊断可能需要使用分子研究(如滑膜肉瘤或尤文肉瘤)。

参考文献

Antonescu CR, Le Loarer F, Mosquera JM, et al. Novel YAP1-TFE3 fusion defines a distinct subset of epithelioid hemangioendothelioma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2013;52(8):775-784.

Arnold MA, Arnold CA, Li G, et al. A unique pattern of INI1 immunohistochemistry distinguishes synovial sarcoma from its histologic mimics. *Hum Pathol*. 2013;44(5):881-887.

- Asano N, Yoshida A, Ichikawa H, et al. Immunohistochemistry for trimethylated H3K27 in the diagnosis of malignant peripheral nerve sheath tumours. *Histopathology*. 2017;70(3):385-393.
- Bahrami A, Gown AM, Baird GS, et al. Aberrant expression of epithelial and neuroendocrine markers in alveolar rhabdomyosarcoma: a potentially serious diagnostic pitfall. *Mod Pathol*. 2008;21(7):795-806.
- Barnoud R, Sabourin JC, Pasquier D, et al. Immunohistochemical expression of WT1 by desmoplastic small cell tumor: a comparative study with other small round cell tumors. *Am J Surg Pathol*. 2000;24(6):830-836.
- Binh MB, Sastre-Garau X, Guillou L, et al. MDM2 and CDK4 immunostainings are useful adjuncts in diagnosing well-differentiated and dedifferentiated liposarcoma subtypes: a comparative analysis of 559 soft tissue neoplasms with genetic data. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(10):1340-1347.
- Bode-Lesniewska B, Zhao J, Speel EJ, et al. Gains of 12q13-14 and overexpression of mdm2 are frequent findings in intimal sarcomas of the pulmonary artery. *Virchows Arch*. 2001;438(1):57-65.
- Calio A, Mengoli MC, Cavazza A, et al. Cathepsin K expression in clear cell "sugar" tumor (PEComa) of the lung. *Virchows Arch*. 2018;473(1):55-59.
- Cheah AL, Billings SD, Goldblum JR, et al. STAT6 rabbit monoclonal antibody is a robust diagnostic tool for the distinction of solitary fibrous tumour from its mimics. *Pathology*. 2014;46(5):389-395.
- Cheah AL, Zou Y, Lanigan C, et al. ALK expression in angiomatoid fibrous histiocytoma: a potential diagnostic pitfall. *Am J Surg Pathol*. 2019;43(1):93-101.
- Coffin CM, Watterson J, Priest JR, et al. Extrapulmonary inflammatory myofibroblastic tumor (inflammatory pseudotumor). A clinicopathologic and immunohistochemical study of 84 cases. *Am J Surg Pathol*. 1995;19(8):859-872.
- Doyle LA, Fletcher CD, Hornick JL. Nuclear expression of CAMTA1 distinguishes epithelioid heman-gioendothelioma from histologic mimics. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(1):94-102.
- Doyle LA, Tao D, Marino-Enriquez A. STAT6 is amplified in a subset of dedifferentiated liposarcoma. *Mod Pathol*. 2014;27(9):1231-1237. (a)
- Doyle LA, Vivero M, Fletcher CD, et al. Nuclear expression of STAT6 distinguishes solitary fibrous tumor from histologic mimics. *Mod Pathol*. 2014;27(3):390-395. (b)
- Foo WC, Cruise MW, Wick MR, et al. Immunohistochemical staining for TLE1 distinguishes synovial sarcoma from histological mimics. *Am J Clin Pathol*. 2011;135(6):839-844.
- Hartel PH, Fanburg-Smith JC, Frazier AA, et al. Primary pulmonary and mediastinal synovial sarcoma: a clinicopathologic study of 60 cases and comparison with five prior series. *Mod Pathol*. 2007;20(7):760-769.
- Hornick JL, Sholl LM, Dai Cin P, et al. Expression of ROS1 predicts ROS1 gene rearrangement in inflammatory myofibroblastic tumors. *Mod Pathol*. 2015;28(5):732-739.
- Hung YP, Fletcher CD, Hornick JL. Evaluation of NKX2-2 expression in round cell sarcomas and other tumors with EWSR1 rearrangement: imperfect specificity for Ewing sarcoma. *Mod Pathol*. 2016;29(4):370-380.
- Ito J, Asano N, Kawai A, et al. The diagnostic utility of reduced immunohistochemical expression of SMARCB1 in synovial sarcomas: a validation study. *Hum Pathol*. 2016;47(1):32-37.
- Kosemehmetoglu K, Vrana JA, Folpe AL. TLE1 expression is not specific for synovial sarcoma: a whole section study of 163 soft tissue and bone neoplasms. *Mod Pathol*. 2009;22(7):872-878.
- Lantuejoul S, Issac S, Pinel N, et al. Clear cell tumor of the lung: an immunohistochemical and ultrastructural study supporting a pericytic differentiation. *Mod Pathol*. 1997;10(10):1001-1008.
- Le Loarer F, Watson S, Pierron G, et al. SMARCA4 inactivation defines a group of undifferentiated thoracic malignancies transcriptionally related to BAF-deficient sarcomas. *Nat Genet*. 2015;47(10):1200-1205.
- Mason EF, Fletcher CD, Sholl LM. 'Inflammatory myofibroblastic tumour'-like dedifferentiation of anaplastic lymphoma kinase-rearranged lung adenocarcinoma. *Histopathology*. 2016;69(3):510-515.
- Matsubara D, Kishaba Y, Ishikawa S, et al. Lung cancer with loss of BRG1/BRM, shows epithelial mesenchymal transition phenotype and distinct histologic and genetic features. *Cancer Sci*. 2013;104(2):266-273.
- McKenney JK, Weiss SW, Folpe AL. CD31 expression in intratumoral macrophages: a potential diagnostic pitfall. *Am J Surg Pathol*. 2001;25(9):1167-1173.
- Miettinen M, Wang ZF, Paetau A, et al. ERG transcription factor as an immunohistochemical marker for vascular endothelial tumors and prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(3):432-441.
- Neuville A, Collin F, Bruneval P, et al. Intimal sarcoma is the most frequent primary cardiac sarcoma: clinicopathologic and molecular retrospective analysis of 100 primary cardiac sarcomas. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(4):461-469.
- Oike T, Oglwara H, Tominaga Y, et al. A synthetic lethality-based strategy to treat cancers harboring a genetic deficiency in the chromatin remodeling factor BRG1. *Cancer Res*. 2013;73(17):5508-5018.

- Pelmus M, Gillou L, Hostien I, et al. Monophasic fibrous and poorly differentiated synovial sarcoma: immunohistochemical reassessment of 60 t(X;18)(SYT-SSX)-positive cases. *Am J Surg Pathol*. 2002;26(11):1434-1440.
- Perret R, Chalabreysse L, Watson S, et al. SMARCA4-deficient thoracic sarcomas: clinicopathologic study of 30 cases with an emphasis on their nosology and differential diagnoses. *Am J Surg Pathol*. 2019;43(4):455-465.
- Prieto-Granada CN, Wiesner T, Messina JL, et al. Loss of H3K27me3 expression is a highly sensitive marker for sporadic radiation-induced MPNST. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(4):479-489.
- Rekhtman N, Montealvo J, Chang JC, et al. SMARCA4-deficient thoracic sarcomatoid tumors represent primarily smoking-related undifferentiated carcinomas rather than primary thoracic sarcomas. *J Thorac Oncol*. 2020;15(2):231-247.
- Satoh H, Takayashiki N, Shiozawa T, et al. Recurrent pulmonary synovial sarcoma effectively treated with amrubicin: a case report. *Exp Ther Med*. 2015;9(5):1947-1949.
- Sauter JL, Graham RP, Larsen BT, et al. SMARCA4-deficient thoracic sarcoma: a distinct clinicopathological entity with undifferentiated rhabdoid morphology and aggressive behavior. *Mod Pathol*. 2017;30(10):1422-1432.
- Schaefer IM, Fletcher CD, Hornick JL. Loss of H3K27 trimethylation distinguishes malignant peripheral nerve sheath tumors from histologic mimics. *Mod Pathol*. 2016;29(1):4-13.
- Shibuya R, Matsuyama A, Shiba E, et al. CAMTA1 is a useful immunohistochemical marker for diagnosis epithelioid haemangioendothelioma. *Histopathology*. 2015;67(6):827-835.
- Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. Pulmonary inflammatory myofibroblastic tumor expression a novel fusion, PPFIBP1-ALK: reappraisal of anti-ALK immunohistochemistry as a tool for novel ALK fusion identification. *Clin Cancer Res*. 2011;17(10):3341-3348.
- Terry J, Saito T, Subramanian S, et al. TLE1 as a diagnostic immunohistochemical marker for synovial sarcoma emerging from gene expression profiling studies. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(2):240-246.
- Thway K, Fisher C. PEComa: morphology and genetics of a complex tumor family. *Ann Diagn Pathol*. 2015;19(5):359-368.
- Toki S, Wakai S, Sekimizu M, et al. PAX7 immunohistochemical evaluation of Ewing sarcoma and other small round cell tumors. *Histopathology*. 2018;73(4):645-652.
- Wallace WA, Dorward DA, Salter DM. Immunohistochemistry for small-cell carcinoma: a potential diagnostic pitfall. *Histopathology*. 2019;74(5):792-794.
- Yamamoto H, Nozaki Y, Kohashi K, et al. Diagnostic utility of pan-TRK immunohistochemistry for inflammatory myofibroblastic tumours. *Histopathology*. Published online October 3, 2019. doi:10.1111/his.14010
- Yoshida A, Goto K, Kodaira M, et al. CIC-rearranged sarcomas: a study of 20 cases and comparisons with Ewing sarcomas. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(3):313-323.
- Yoshida A, Kobayashi E, Kubo T, et al. Clinicopathological and molecular characterization of SMARCA4-deficient thoracic sarcomas with comparison to potentially related entities. *Mod Pathol*. 2017;30(6):797-809.
- Yoshida A, Sekine, S, Tsuta K, et al. NKX2.2 is a useful immunohistochemical marker for Ewing sarcoma. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(7):993-999.
- Yoshida A, Shibata T, Wakai S, et al. Anaplastic lymphoma kinase status in rhabdomyosarcomas. *Mod Pathol*. 2013;26(6):772-781.
- Yoshida A, Tsuta K, Ohno M, et al. STAT6 immunohistochemistry is helpful in the diagnosis of solitary fibrous tumors. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(4):552-559.
- Yoshimoto T, Matsubara D, Nakano T, et al. Frequent loss of the expression of multiple subunits of the SWI/SNF complex in large cell carcinoma and pleomorphic carcinoma of the lung. *Pathol Int*. 2015;65(11):595-602.

用于区分转移性肿瘤的免疫标志物

16

Yasushi Yatabe, Phillipe Joubert, Sabina Berezowska,
Daisuke Matsubara 和 Wendy A. Cooper

简介

鉴别原发性肺癌和肺外转移癌是诊断病理学实践中的一项重要任务。临床病史和与任何已知既往肿瘤的形态学比较很重要；然而，免疫组织化学（IHC）为解释提供了强有力的支持，特别是当以前的资料无法审查或形态学评估结果不明确的时候。在本章中，我们回顾了肺部转移性肿瘤的常见类型和部位，重点介绍了 IHC 和原发性肺肿瘤的区别。

IHC 对区分转移性鳞状细胞癌和原发性肺鳞状细胞癌有用吗？

由于来自不同部位的肺部鳞状细胞癌缺乏明显的形态学特征，因此区分原发于肺鳞状细胞癌和起源于其他器官的转移性肺部鳞状细胞癌非常具有挑战性。此外，肿瘤的生长模式和角质化程度可能会改变，特别是在化疗和/或放射治疗之后。目前还没有 IHC 标志物可以可靠地帮助区分肺内的原发性和转移性 SQCC，且需要临床病理联系。基因检测比较肺和肺外肿瘤的分子谱可以帮助区分，但这在常规临床实践中往往不可行。当鉴别诊断为来自口咽、宫颈内膜、外阴、肛门和阴茎转移性 SQCC 时，检测高危人类乳头状瘤病毒（HPV）很有帮助，因为这些部位的肿瘤通常是 HPV 阳性（Plummer 等，2016 年）。在肿瘤组织中检测 HPV（例如，使用 HPV RNA 或 DNA 原位杂交或其他分子技术）非常有利于这些部位的转移，因为 HPV 感染被认为是原发性肺部 SQCC 的例外。p16 IHC 是 HPV 的替代标志物；然而，尽管没有 HPV 感染，但大约 20% 的原发性肺非小细胞癌（NSCC）有弥漫性和强烈的 p16 表达（Bishop 等，2012 年；Chang 等，2015 年），因此这种方法并不完全可靠。图 16-1

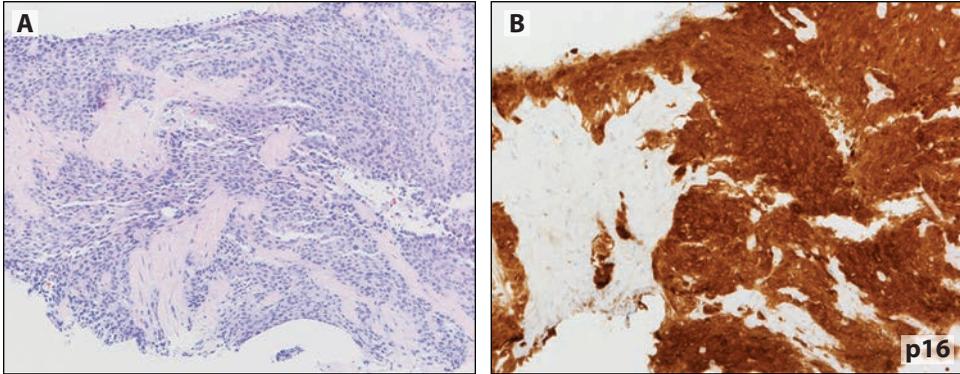


图 16-1. 有人乳头瘤病毒 (HPV+) 口咽癌病史患者肺部病变的针刺活检标本。(A) 形态学特征不能区分转移性肺鳞状细胞癌和原发性肺鳞状细胞癌。(B) 弥漫性和强烈的 p16 免疫组织化学 (IHC) 染色表明是转移性口咽癌。然而, p16 在没有 HPV 感染的原发性肺癌中也可能过度表达, 需要进一步的分子检测来确认 HPV 的存在, 才能更明确地诊断。

为口咽癌 HPV+ 肺转移的一个示例, p16 IHC 阳性。在评估 p16 时应使用严格的诊断标准, 根据美国病理学家学会评估口咽部 SQCC 的指南 (Lewis 等, 2018 年), 当至少有 70% 的细胞核和细胞质表达至少中等强度时, 应考虑阳性 p16。

简要回答

没有 IHC 标志物能够可靠地帮助区分肺中转移性鳞状细胞癌和原发性鳞状细胞癌。需要临床病理相关性。

哪些 IHC 标志物可用于区分胃肠道来源的转移性肿瘤和原发性肺肿瘤?

胃肠道 (GI) 是肺转移的最常见来源, 占有肺外来源的肺部病变的 35% 以上 (Casiraghi 等, 2011 年)。当评估任何潜在的肺转移时, 强烈建议对任何先前胃肠道肿瘤的病理进行形态学检查, 以比较其形态学特征。一般来说, 细胞角蛋白 7 (CK7) 和细胞角蛋白 20 (CK20) 的 IHC 是有作用的, 因为大多数肺部腺癌显示 CK7+/CK20- 图谱, 而下消化道癌表现出一致的 CK7-/CK20+ 免疫表型 (Jagirdar, 2008 年; Bahrami 等, 2008 年)。然而, 在胰胆管和上消化道 (胃和食道) 癌中, CK7/CK20 的标记是不同的, 人们可以看到混合的表型, 包括 CK7-/CK20+、CK7+/CK20- 和 CK7+/CK20+ (Selves 等, 2018 年)。添加肺部 (甲状腺转录因子-1 [TTF1]和/或天冬氨酸蛋白酶 A 和胃肠道 (CDX2) 特异性 IHC 染色有助于确认肺与胃肠道起源 (Bahrami 等, 2008 年; Jagirdar, 2008 年)。TTF1 和单克隆天冬氨酸蛋白酶 A 染色在大约 80% 的肺腺癌中呈阳性, 在消化道癌中很少表达 (Turner 等, 2012 年; Bishop 等, 2010 年; Rekhman 和 Kazi, 2015 年; Ordonez, 2012b; Ye 等, 2011 年)。相反, CDX2 在较低比例的肺腺癌中表达, 但在绝大多数下消化道癌中呈强阳性和弥漫性阳性, 而在胰胆管癌和上消化道癌中表现出不同的免疫反应性 (Cowan 等, 2016 年; Werling 等, 2003 年; Kaimaktchiev 等, 2004 年) (图 16-2)。

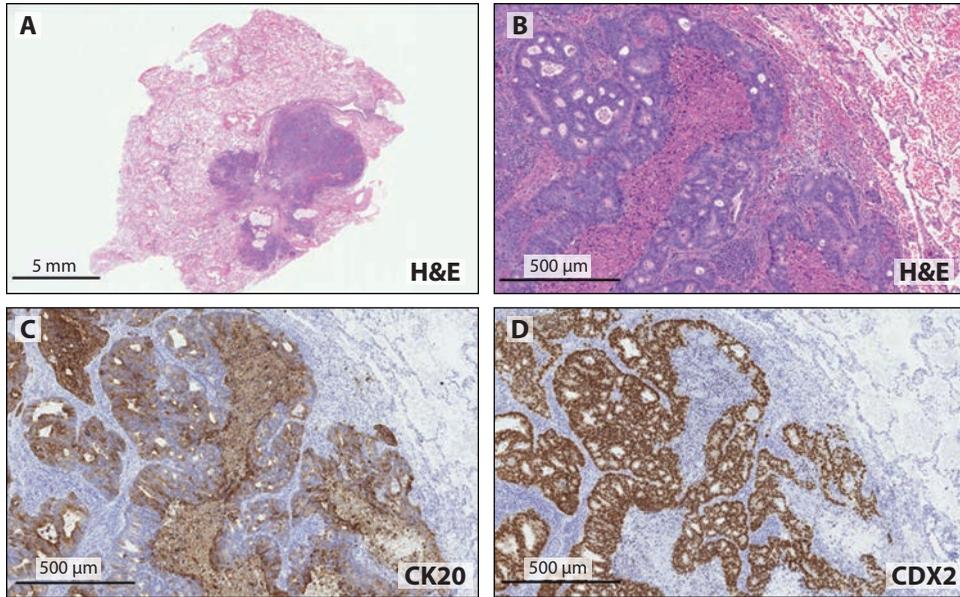


图 16-2. (A 和 B) 结肠腺癌的肺转移, 其特征是筛状腺和脏性坏死 (H&E)。正如预期的那样, 肿瘤显示 (C 和 D) 细胞角蛋白 20 (CK20) 和 CDX2 均呈强阳性。

值得注意的是, CDX2 可以在肺腺癌的肠道变异中表达 (Nottegar 等, 2018 年)。在这些病例中, TTF1 和天冬氨酸蛋白酶 A 染色通常都是阴性的, 但 CK7 标记在大多数病例中可见, 这可能有助于与结肠转移区别。在这种情况下, 临床上必须排除原发性胃肠道肿瘤。CDX2、TTF1 和 CK7/CK20 标志物在原发性肺浸润性粘液腺癌 (CK7+, 通常为 CK20+、CDX2+ 和 TTF1-) 中也有不同程度的表达, 强调了临床和放射学相关性的重要性 (Selves 等, 2018 年)。一种新的 IHC 标志物肝细胞核因子 4 α (HNF4 α) 在大多数原发性肺浸润性粘液腺癌中表达, 但由于它是一种主要的肠道分化转录因子, 它也会在胃肠道和胰腺癌中表达, 因此对区分它们没有帮助 (Sugano 等, 2013 年)。

鉴于其高度特异性, TTF1 或 CDX2 的表达也有助于确认分化良好的神经内分泌肿瘤的来源。 (Kyriakopoulous 等, 2018 年)。在 91% 和 83% 的转移性空肠和阑尾神经内分泌肿瘤中显示了 CDX2 免疫染色, 但在十二指肠 (31%)、胃 (14%)、胰腺 (16%) 和直肠 (29%) 肿瘤中较少出现 (Erickson 等, 2004 年; Srivastava 和 Hornick, 2009 年)。TTF1 对肺类癌也显示出很高的特异性, 尽管对这些肿瘤的敏感性有限, 在 33% 到 46% 之间 (Sriastava 和 Hornick, 2009 年; Chan 等, 2012 年; Zhang 等, 2014 年)。值得注意的是, 鉴于 TTF1 和 CDX2 标志物在小细胞癌中的特异性和敏感性有限, 它们对小细胞癌并无用处 (Kaufmann 和 Dietel, 2000 年; Agoff 等, 2000 年)。

简要回答

细胞角蛋白 (CK7/CK20)、肺部 (TTF1/天冬氨酸蛋白酶 A) 和胃肠道 (CDX2) 标志物的 IHC 组合可用于确认胃肠道来源的转移。在 TTF1/天冬氨酸蛋白酶 A 阴性肿瘤中, CDX2 阳性表明胃肠道转移。在 TTF1/天冬氨酸蛋白酶 A /CDX2 阴性肿瘤中, CK7/CK20 图谱可能会有帮助, 但通常需要临床和放射学相关性来确认起源。

哪些 IHC 标志物可用于区分乳腺来源的转移性癌和原发性肺癌?

鉴于乳腺癌的高发病率, 以及乳腺癌患者发展为第二种非乳腺恶性肿瘤 (包括肺癌) 的风险较高, 区分原发性肺腺癌和转移到肺部的乳腺癌是临床上经常遇到的情况 (Mellekjær 等, 2006 年)。乳腺癌是肺部第三常见的上皮转移类型 (Casiraghi 等, 2011 年), 临床病理相关性在区分原发性和转移性肿瘤方面的重要性怎么强调都不为过。如果可以, 回顾以前的乳腺病变病理以进行比较非常有用。然而, 在组织病理学上区分乳腺转移瘤和原发性非小细胞肺癌可能是一个挑战, 特别是对于分化不良的病变。

绝大多数肺癌和乳腺癌都有相似的细胞角蛋白表达谱 (CK7+/CK20-), 通常需要额外的免疫染色来确认组织发生 (Chu 等, 2000 年)。除了雌激素和孕激素受体, 有助于乳腺转移的有用染色是 GATA3 阳性染色 (敏感性: 32%-100%; 特异性: 71%-93%), 乳腺珠蛋白 (敏感性: 26%-84%; 特异性: 85%-100%), 和巨囊性病的液状蛋白 15 (GCDFP-15) (敏感性: 15%-74%; 特异性: 93%-100%) (Hsu 等, 2016 年)。在分化良好的癌症中, TTF1 和/或天冬氨酸蛋白酶 A 染色阴性与雌激素受体/孕激素受体 (ER/PR) 阳性的组合可以区分乳腺转移, 其敏感性和特异性可以接受 (Yang 和 Nonaka, 2010 年; Yatabe 等, 2019 年; Provenzano 等, 2016 年)。在这种情况下, 添加天冬氨酸蛋白酶 A 仅能略微增加 TTF1 单独的敏感性和特异性, 并且仅在有限数量的病例中有帮助 (Yang 和 Nonaka, 2010 年)。

总体而言, GATA3 染色有助于识别乳房来源, 因为与 ER、PR、乳腺珠蛋白或 GCDFP-15 相比, GATA3 染色显示出更高的敏感性 (Sangoi 等, 2016 年; Gown 等, 2016 年; Ni 等, 2018 年)。然而, 需要注意的是, GATA3 的特异性较低, 因为它会在其他非乳腺癌中表达, 特别是尿路上皮癌, 在较小程度上也表达在胰腺癌、一些皮肤癌和其他癌症中 (Miettinen 等, 2014 年)。GATA3 (Vidarsdottir 等, 2019 年) 和 ER (Yang 和 Nonaka, 2010 年) 仅在肺腺癌中罕见表达, 而一小部分乳腺癌可能表达 TTF1 (Ordonez, 2012b)。因此, 对于有肺部病变且无乳腺癌病史的患者, 建议将 GATA3 与对乳腺癌有较高特异性的 IHC 染色相结合, 如乳腺珠蛋白 (Yang 和 Nonaka, 2010 年)。

最近, SOX10 已成为确认三阴性乳腺癌 (TNBC) 转移的有用的标志物, 因为它显著提高了单独检测 GATA3 的特异性 (图 16-3)。这些肿瘤约占乳腺癌的 10% 至

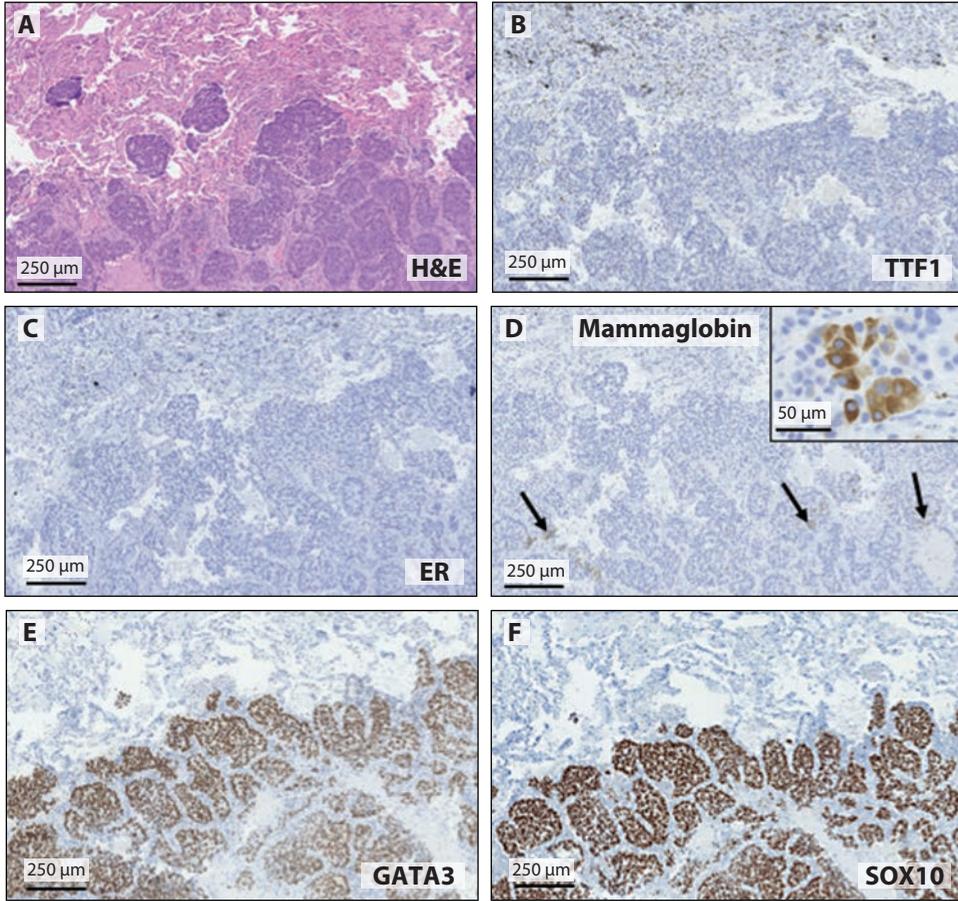


图 16-3. (A-F) 三阴性乳腺癌的肺转移。(B) 甲状腺转录因子-1 (TTF1) 和 (C) 雌激素受体 (ER) 均为阴性。(D) 乳腺珠蛋白的局灶阳性 (箭头和插入)，以及 (E) GATA3 和 (F) SOX10 的强烈和弥漫性阳性。

20%，其特点是肺转移风险较高，且缺乏 ER/PR 和人表皮生长因子受体 2 (HER2) (Foulkes 等，2010 年)。TTF1/天冬氨酸蛋白酶 A (阴性)、GATA3 (敏感性为 30.4%) 和 SOX10 (敏感性为 62.3%) 免疫阳性组合已被证明可识别绝大多数 TNBC (Tozbikian 和 Zynger, 2019 年; Laurent 等, 2019 年)。

简要回答

对于任何有乳腺癌病史的患者，建议尽可能与原发乳腺肿瘤的组织学特征进行比较。在大多数情况下，包括 TTF1 和/或天冬氨酸蛋白酶 A 和 ER/PR 或 GATA3 在内的肺和乳腺标志物的组合可以提供明确的答案。当临床相关时，GATA3 应与乳房珠蛋白结合以排除乳房外恶性肿瘤，如膀胱癌。在 TNBC 中，推荐结合肺标志物与 GATA3 和 SOX10 来区分转移性乳腺癌和原发性肺癌。

哪些 IHC 标志物可用于区分女性生殖道来源的转移性癌和原发性肺癌？

肺部女性生殖道转移癌的诊断可能具有挑战性，因为 10% 至 20% 的子宫颈、子宫内膜和卵巢腺癌显示 TTF1 表达，即使使用更特异的抗体克隆（Kubba 等，2008 年；Siami 等，2007 年）（图 16-4）。TTF1 阳性在宫颈和子宫内膜的中肾和中肾样腺癌中尤其高（Pors 等，2018 年；McFarland 等，2016 年）。此外，包括女性生殖道在内的所有高级别神经内分泌癌，无论其来源如何，TTF1 均可能呈阳性。为了区分转移性女性生殖道癌和原发性肺癌，PAX8 是有用的，因为大多数女性生殖道癌（不包括宫颈鳞状细胞癌）呈阳性，而肺癌几乎总是呈阴性（Laury 等，2011 年；McHugh 等，2019 年）。在其他部位的肿瘤中也可以看到 PAX8 的表达，包括肾脏、胸腺和甲状腺（Ordonez，2012a）。

简要回答

当肺肿瘤的鉴别诊断包括转移性女性生殖道癌时，应与原发性肺腺癌一样谨慎使用 TTF1，这些肿瘤也可能表达 TTF1。PAX8 染色有助于识别女性生殖道起源的转移性肿瘤。

哪些 IHC 标志物可用于区分尿路上皮来源的转移性癌和原发性肺癌？

肺部是膀胱转移最常见的部位之一（Goldman 等，1979 年；Wallmeroth 等，1999 年；Babaian 等，1980 年），尿路上皮癌是最常见的膀胱癌类型，占肿瘤的 90% 以上（Moch 等，2016 年）。评估形态特征并与任何已知的原发肿瘤进行比较可能不足以确定原发部位，因为一些肺部非角化型 SQCC 在形态上与传统的尿路上皮癌相似（Travis 等，2015 年）。此外，高达 60% 的尿路上皮癌会表现出鳞状分化（Amin，2009 年）。区分转移性尿路上皮癌和原发性肺癌可能很困难，特别是在分化不良的肿瘤中，但一些研究表明，免疫组织化学标志物可能是一种有用的辅助手段。

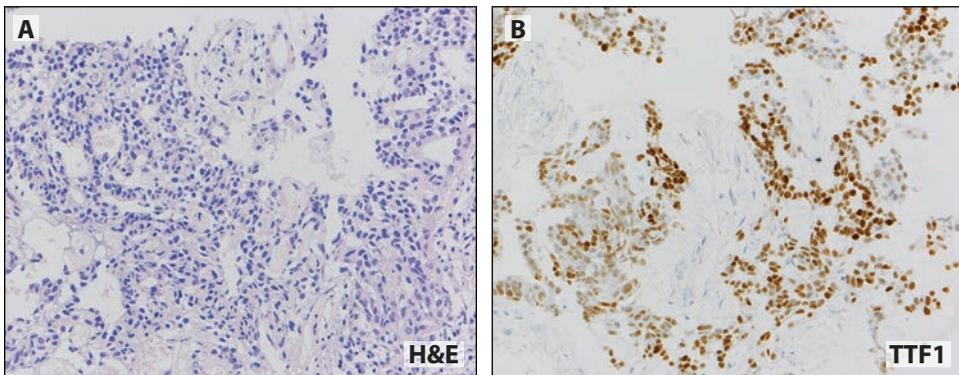


图 16-4. (A 和 B) 子宫颈转移性腺癌，甲状腺转录因子-1 (TTF1) 表达。

CK7、CK20 和 GATA3 在尿路上皮癌中的阳性表达率比肺 SQCC 高（分别为 100% 比 33%、54% 比 7% 和 78% 比 23%）（图 16-5），相反，CK14 和桥粒芯糖蛋白 3 在肺 SQCC 比尿路上皮癌更有可能呈阳性（分别为 77% 比 32% 和 87% 比 11%）（Gruver 等，2012 年）。

Uroplakin III 对尿路上皮癌具有特异性，但敏感性不是很高（只有 14% 阳性）（Gruver 等，2012 年）。据报道，在尿路上皮癌中，Uroplakin II 是一个比 Uroplakin III 更敏感的标志物（Li 等，2014 年；Hoang 等，2015 年），但这个标志物的作用还没有完全确定。在大多数尿路上皮癌和肺部 SQCC 中，鳞状标志物 p40 和 p63 呈阳性（Gruver 等，2012 年；Gailey 和 Bellizzi，2013 年），而 PAX8 呈阴性（Laury 等，2011 年），这使得这些 IHC 标志物在区分这些肿瘤类型方面没有帮助。

简要回答

CK7、CK20 和 GATA3 的组合在区分转移性尿路上皮癌和肺鳞状细胞癌中最有用。

哪些 IHC 标志物可用于区分肾源性转移癌和原发性肺癌？

转移性肾癌可能会模拟原发性非小细胞肺癌，除了与任何已知的原发肿瘤进行形态学比较外，IHC 还有助于区分。虽然天冬氨酸蛋白酶 A 在肾癌中可呈阳性表达（乳头状癌中约 80%，常规透明细胞癌中约 40%），但肾细胞癌在大多数情况下会表达 PAX8 (>90%)（图 16-6），而在肺腺癌中的表达很罕见（0%-2%）。此外，

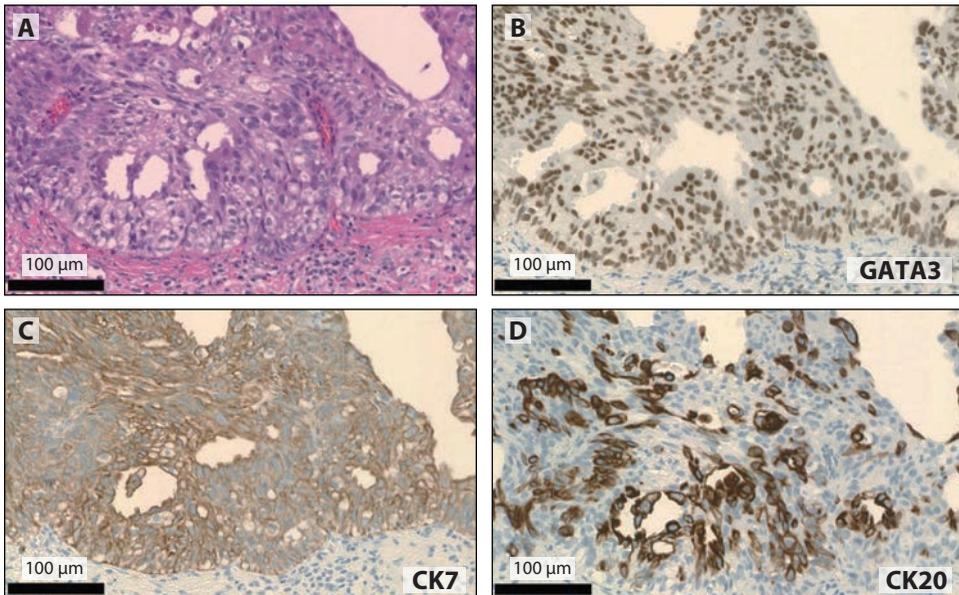


图 16-5. (A-D) 转移性尿路上皮癌 (A)H&E 表达 (B) GATA3、(C) 细胞角蛋白 7 (CK7) 和 (D) 细胞角蛋白 20 (CK20) 的频率高于肺部鳞状细胞癌。

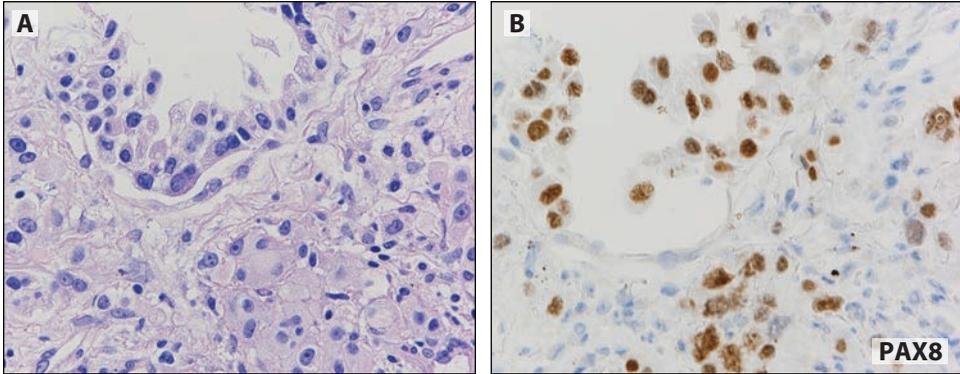


图 16-6. (A 和 B) 肾细胞癌转移 [(A) H&E]. 肿瘤模拟肺腺癌，具有针状和实体生长模式。然而，患者有肾透明细胞癌的历史。(B) PAX8 免疫组织化学 (IHC) 显示强烈的核染色，表明是转移性肾细胞癌。

几乎所有肾透明细胞癌（这是最常见的转移到肺部的亚型）都是碳酸酐酶 IX (CA IX) 呈阳性。TTF1 会在大多数肺腺癌中表达，但在肾细胞癌中为阴性 (Bishop 等, 2010 年)。CD10 对识别转移性肾细胞癌没有用，因为它也会在各种癌症中表达，包括肺腺癌 (Gurel 等, 2012 年)。

简要回答

PAX8 和 TTF1 可用于区分转移性肾细胞癌 (PAX8+/TTF1-) 和原发性肺腺癌 (PAX8-/TTF1±)。天冬氨酸蛋白酶 A 在这种情况下没有用，因为它不会在不同比例的肾细胞癌中表达。

哪些 IHC 标志物可用于区分前列腺来源的转移性癌和原发性肺癌？

转移性前列腺癌是一种相对常见的实体，在一项对 1589 例尸检病例的研究中，肺是仅次于骨骼的第二大转移部位 (46%) (Bubendorf 等, 2000 年)。形态学特征可能有助于确定肿瘤的前列腺起源，在肺转移病变中，肿瘤通常表现为微腺泡或管状乳头状模式 (Copeland 等, 2002 年) (图 16-7)。

有几个有用的 IHC 标志物可以识别肺转移瘤的前列腺起源。低分子量细胞角蛋白 CK7 和 CK20 是有帮助的，因为前列腺癌 CK7 和 CK20 通常都为阴性 (>80%) (Bassily 等, 2000 年) (图 16-8)。此外，TTF1 在前列腺癌中几乎总是阴性 (Goldstein, 2002 年)。

前列腺特异性抗原 (PSA)、前列腺特异性酸性磷酸酶 (PSAP) 和前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 多年来一直被用作前列腺癌的敏感性和特异性细胞质标志物，尽管在低分化癌中染色强度通常较弱 (Chuang 等, 2007 年; Varma 和 Jasani, 2005 年)。在转

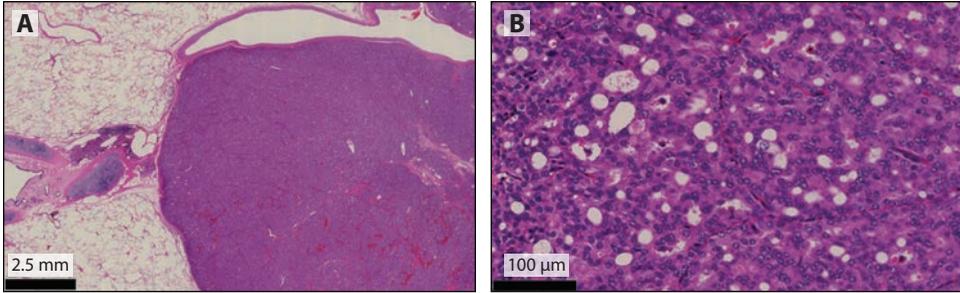


图 16-7. (A 和 B) 典型的肺内转移性前列腺癌。(A) 边界清楚并有淋巴侵入的肿瘤。(B) 伴有筛状腺形成的微腺泡模式。

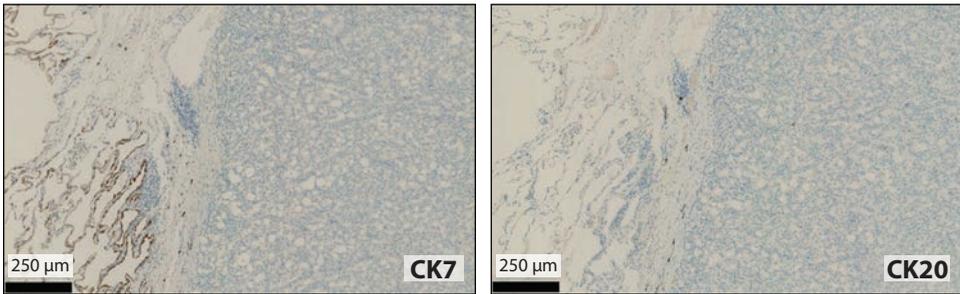


图 16-8. (A 和 B) 转移性前列腺癌在大多数情况下都不表达细胞角蛋白 7 (CK7) 和细胞角蛋白 20 (CK20)。

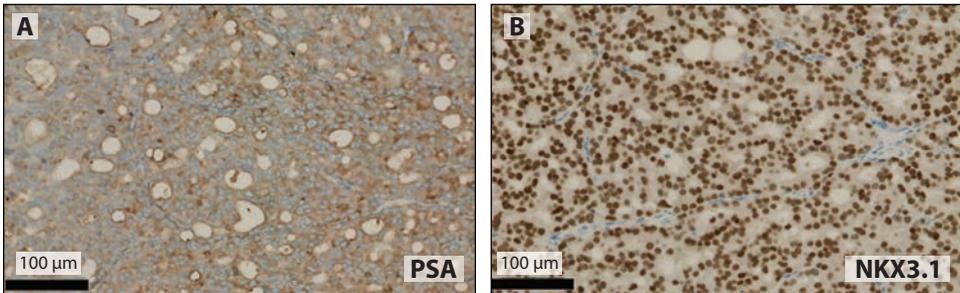


图 16-9. 转移性前列腺癌: (A) 前列腺特异性抗原 (PSA) 为阳性, (B) NKX3.1 细胞核强阳性。

移性前列腺癌中, PSMA 的检出率约为 85%, PSA 的检出率约为 80%, PSAP 的检出率约为 60% (Kristiansen 等, 2017 年; Steffens 等, 1985 年)。

NK3 同源框 1 (NKX3.1) 是一个受雄激素调节的同源域基因, 在前列腺上皮中有特征性的表达 (Abate-Shen 等, 2008 年)。NKX3.1 IHC 是前列腺癌 (>98% 阳性) 的一种高度敏感的核标志物, 多项研究报告 NKX3.1 是一种比 PSA 和 PSAP 更敏感、特异性更强的标志物 (Gurel 等, 2010 年; Gan 等, 2019 年) (图 16-9)。

简要回答

阴性 CK7、CK20 和 TTF1 与前列腺标志物 (如 NKX3.1) 阳性染色可用于识别转移性前列腺癌。

哪些 IHC 标志物可用于区分肝源性转移癌和原发性肺癌？

肺部转移性肝细胞癌 (HCC) 的诊断在某些情况下可能具有挑战性, 因为 HCC 可能模拟低分化的非小细胞肺癌。p40、CK7 和神经内分泌标志物在 HCC 中均呈阴性, 而 TTF1 可显示胞浆异常反应, 而非细胞核染色。肝细胞石蜡 1 (HepPar1)、精氨酸酶 1 和磷脂酰肌醇聚糖 3 是识别 HCC 的有用 IHC 标志物 (图 16-10 和图 16-11), 其中精氨酸酶 1 和 HepPar1 对高分化肿瘤最敏感, 精氨酸酶 1 和磷脂酰肌醇聚糖 3 对低分化肿瘤最敏感 (Nguyen 等, 2015 年)。然而, 最近有报道 (Haninger 等, 2014 年; Chandan 等, 2016 年) 发现了类似于肝癌的原发性肝样腺癌, 并且 HepPar1、精氨酸酶 1 和甲胎蛋白 (AFP) 呈阳性。需要仔细的临床病理对照和 CK7 染色阳性才能区别肺肝样腺癌和转移性肝细胞癌。

简要回答

肝细胞标志物 (例如精氨酸酶 1 和 HepPar1 与阴性 CK7 和肺部标志物的组合可用于识别转移性肝细胞癌。

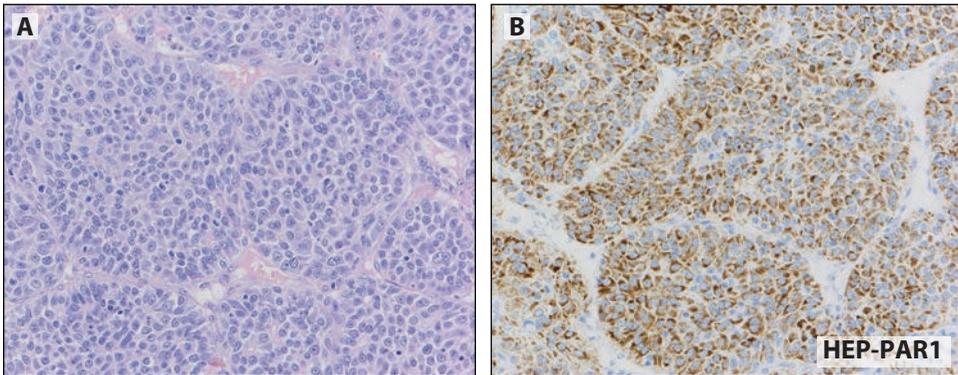


图 16-10. (A 和 B) 肝细胞癌的肺转移 ([A]H&E)。肿瘤细胞的实体生长类似于高级别非小细胞癌 (NSCC)。然而, 该肿瘤 p40、甲状腺转录因子-1 (TTF1)、细胞角蛋白 (CK7) 和神经内分泌标志物均为阴性。(B) 肝细胞石蜡 1 (HepPar1) 阳性(免疫组织化学 [IHC]) 可诊断为转移性肝细胞癌 (HCC)。患者血清乙肝表面抗原 (HB_s) 抗体阳性。

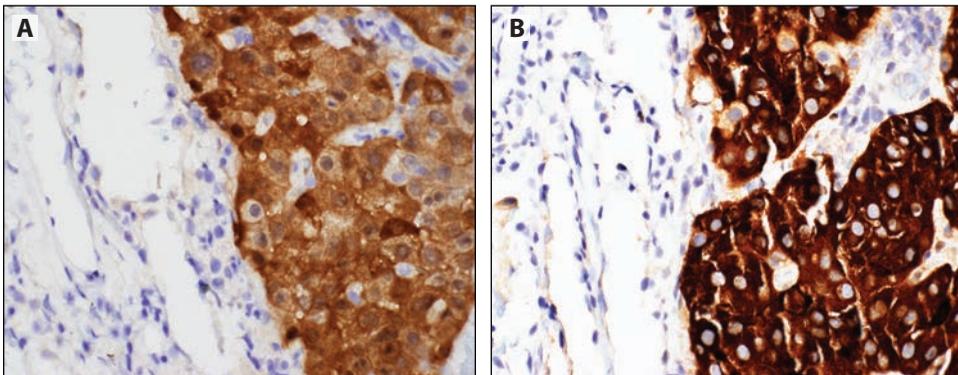


图 16-11. 肝细胞癌表现为 (A) 精氨酸酶-1 和 (B) 磷脂酰肌醇聚糖 3 强染色。

哪些 IHC 标志物可用于区分甲状腺源性转移癌和原发性肺癌？

转移性甲状腺癌可能与非小细胞肺癌 (NSCLC) 具有重叠的形态学特征。尽管 TTF1 在大多数甲状腺癌 (除间变性癌, 大多数呈阴性) 和大多数肺腺癌中都有表达, 但天冬氨酸蛋白酶 A 在甲状腺肿瘤中通常呈阴性 (Nonaka 等, 2008 年; Bishop 等, 2010 年)。PAX8 是一种核标志物, 在甲状腺、甲状旁腺、胸腺、肾脏和女性生殖道来源的肿瘤中表达, 但在肺腺癌中呈阴性 (Ordonez, 2012a) (图 16-12 和 16-13)。

简要回答

PAX8 和 TTF1 阳性以及不存在天冬氨酸蛋白酶 A 的组合可用于识别转移性甲状腺癌。

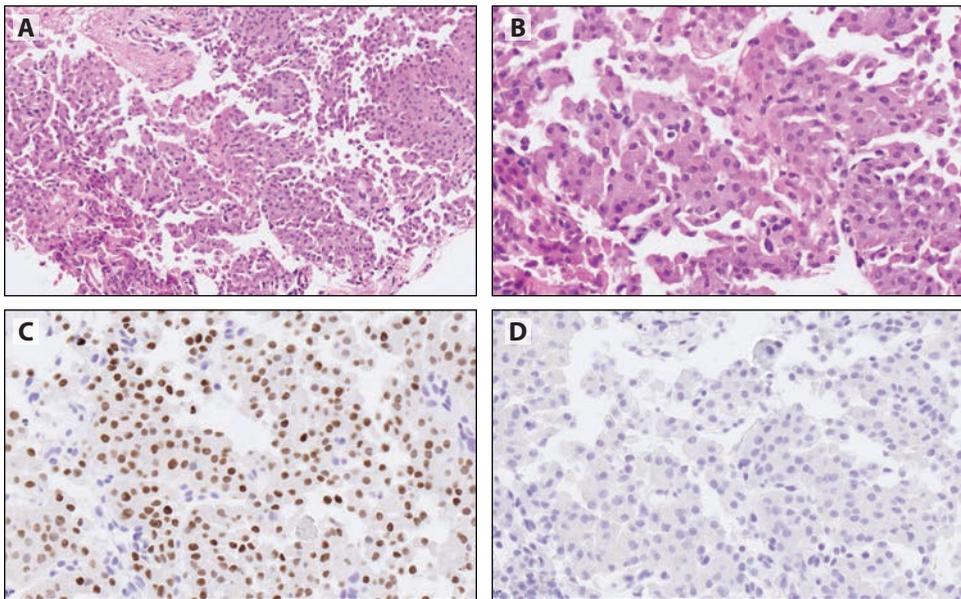


图 16-12. 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 阳性的肿瘤很少需要额外的免疫组织化学检查, 这取决于病史。(A 和 B) 该嗜酸性肿瘤 ([A] H&E) 表现为 (C) TTF1 强表达。(D) 天冬氨酸蛋白酶 A (单克隆) 为阴性。

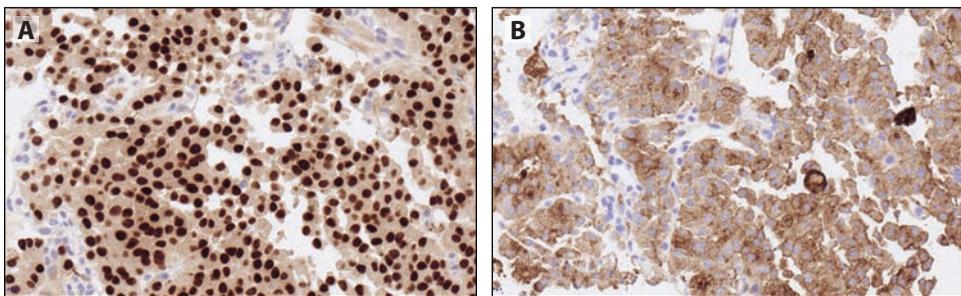


图 16-13. 在图 16-12 所示的病例中, 在提供甲状腺肿块临床信息后, 以重点方式进行额外的免疫组化染色。(A) PAX8 和 (B) 甲状腺球蛋白免疫组化 (IHC) 阳性证明这是甲状腺肿瘤转移。

结论

尽管对肺部任何肿瘤进行彻底的形态学评估，以及获得准确的临床病史，并与其他部位的任何肿瘤的病理进行比较，对于区分原发肿瘤和转移瘤是至关重要的，但这种方法可能不足以得出明确的诊断。准确区分肺内原发性和转移性肿瘤对于适当的患者治疗至关重要，在许多情况下，需要 IHC 来确认或排除肺转移。目前还没有完全准确的 IHC 标志物来确定肿瘤的来源，病理学家需要意识到不同的 IHC 标志物的优点、局限性和缺陷，这些标志物可以用来实现更准确的诊断。

参考文献

- Abate-Shen C, Shen MM, Gelmann E. Integrating differentiation and cancer: the Nkx3.1 homeobox gene in prostate organogenesis and carcinogenesis. *Differentiation*. 2008;76(6):717-727.
- Agoff SN, Lamps LW, Philip AT, et al. Thyroid transcription factor-1 is expressed in extrapulmonary small cell carcinomas but not in other extrapulmonary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol*. 2000;13(3):238-242.
- Amin MB. Histological variants of urothelial carcinoma: diagnostic, therapeutic and prognostic implications. *Mod Pathol*. 2009;22(suppl 2):S96-S118.
- Babaian RJ, Johnson DE, Llamas L, et al. Metastases from transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Urology*. 1980;16(2):142-144.
- Bahrami A, Truong LD, Ro JY. Undifferentiated tumor: true identity by immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(3):326-348.
- Bassily NH, Vallorosi CJ, Akdas G, et al. Coordinate expression of cytokeratins 7 and 20 in prostate adenocarcinoma and bladder urothelial carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2000;113(3):383-388.
- Bishop JA, Ogawa T, Chang X, et al. HPV analysis in distinguishing second primary tumors from lung metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(1):142-148.
- Bishop JA, Sharma R, Illei PB, Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid, and malignant mesothelioma. *Hum Pathol*. 2010;41(1):20-25.
- Bubendorf L, Schopfer A, Wagner U, et al. Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients. *Hum Pathol*. 2000;31(5):578-583.
- Casiraghi M, De Pas T, Maisonneuve P, et al. A 10-year single-center experience on 708 lung metastasectomies: the evidence of the "International Registry of Lung Metastases." *J Thorac Oncol*. 2011;6(8):1373-1378.
- Chan ES, Alexander J, Swanson PE, et al. PDX-1, CDX-2, TTF-1, and CK7: a reliable immunohistochemical panel for pancreatic neuroendocrine neoplasms. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(5):737-743.
- Chandan VS, Shah SS, Torbenson MS, et al. Arginase-1 is frequently positive in hepatoid adenocarcinomas. *Hum Pathol*. 2016;55:11-16.
- Chang SY, Keeney M, Law M, et al. Detection of human papillomavirus in non-small cell carcinoma of the lung. *Hum Pathol*. 2015;46(11):1592-1597.
- Chu P, Wu E, Weiss LM. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases. *Mod Pathol*. 2000;13(9):962-972.
- Chuang AY, DeMarzo AM, Veltri RW, et al. Immunohistochemical differentiation of high-grade prostate carcinoma from urothelial carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(8):1246-1255.
- Copeland JN, Amin MD, Humphrey PA, et al. The morphologic spectrum of metastatic prostatic adenocarcinoma to the lung: special emphasis on histologic features overlapping with other pulmonary neoplasms. *Am J Clin Pathol*. 2002;117(4):552-557.
- Cowan ML, Li QK, Illei PB. CDX-2 expression in primary lung adenocarcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016;24(1):16-19.
- Erickson LA, Papouchado B, Dimashkieh H, et al. CDX2 as a marker for neuroendocrine tumors of unknown primary sites. *Endocr Pathol*. 2004;15(3):247-252.
- Foulkes WD, Smit IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(20):1938-1948.
- Gailey MP, Bellizzi AM. Immunohistochemistry for the novel markers glypican 3, PAX8, and p40 (Δ Np63) in squamous cell and urothelial carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2013;140(6):872-880.
- Gan Q, Joseph CT, Guo M, et al. Utility of NKX3.1 immunostaining in the detection of metastatic prostatic carcinoma on fine-needle aspiration smears. *Am J Clin Pathol*. 2019;152(4):495-501.

- Goldman SM, Fajardo AA, Naraval RC, et al. Metastatic transitional cell carcinoma from the bladder: radiographic manifestations. *AJR Am J Roentgenol.* 1979;132(3):419-425.
- Goldstein NS. Immunophenotypic characterization of 225 prostate adenocarcinomas with intermediate or high Gleason scores. *Am J Clin Pathol.* 2002;117(3):471-477.
- Gown AM, Fulton RS, Kandalaf PL. Markers of metastatic carcinoma of breast origin. *Histopathology.* 2016;68(1):86-95.
- Gruver AM, Amin MB, Luthringer DJ, et al. Selective immunohistochemical markers to distinguish between metastatic high-grade urothelial carcinoma and primary poorly differentiated invasive squamous cell carcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136(11):1339-1446.
- Gurel B, Ail TZ, Montgomery EA, et al. NKX3.1 as a marker of prostatic origin in metastatic tumors. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(8):1097-1105.
- Gurel D, Kargi A, Karaman I, et al. CD10 expression in epithelial and stromal cells of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): a clinic and pathologic correlation. *Pathol Oncol Res.* 2012;18(2):153-160.
- Haninger DM, Kloecker GH, Bousamra Ii M, et al. Hepatoid adenocarcinoma of the lung: report of five cases and review of the literature. *Mod Pathol.* 2014;27(4):535-542.
- Hoang LL, Tacha D, Bremer RE, et al. Uroplakin II (UPII), GATA3, and p40 are highly sensitive markers for the differential diagnosis of invasive urothelial carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2015;23(10):711-716.
- Hsu C, Chiang AW, Hwang MJ, et al. Proteins with highly evolvable domain architectures are nonessential but highly retained. *Mol Biol Evol.* 2016;33(5):1219-1230.
- Jagirdar J. Application of immunohistochemistry to the diagnostic of primary and metastatic carcinoma to the lung. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132(3):384-396.
- Kaimaktchiev V, Terracciano L, Tornillo L, et al. The homeobox intestinal differentiation factor CDX2 is selectively expressed in gastrointestinal adenocarcinomas. *Mod Pathol.* 2004;17(11):1392-1399.
- Kaufmann O, Dietel M. Expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary and extra pulmonary small cell carcinomas and other neuroendocrine carcinomas of various primary sites. *Histopathology.* 2000;36(5):415-420.
- Kristiansen I, Stephan C, Jung K, et al. Sensitivity of HOXB13 as a diagnostic immunohistochemical marker of prostatic origin in prostate cancer metastases: comparison to PSA, prostein, androgen receptor, ERG, NKX3.1, PSAP, and PSMA. *Int J Mol Sci.* 2017;18(6):E1151.
- Kubba LA, McCluggage WG, Liu J, et al. Thyroid transcription factor-1 expression in ovarian epithelial neoplasms. *Mod Pathol.* 2008;21(4):485-490.
- Kyriakopoulos G, Mavroei V, Chatzellis E, et al. Histopathological, immunohistochemical, and genetic and molecular markers of neuroendocrine neoplasms. *Ann Transl Med.* 2018;6(12):252.
- Laurent E, Begueret H, Bonhomme B, et al. SOX10, GATA3, GCDPF15, androgen receptor, and mammaglobin for the differential diagnosis between triple-negative breast cancer and TTF1-negative lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2019;43(3):293-302.
- Laury AR, Perets R, Piao H, et al. A comprehensive analysis of PAX8 expression in human epithelial tumors. *Am J Surg Pathol.* 2011;35(6):816-826.
- Lewis JS Jr, Beadle B, Bishop JA, et al. Human papillomavirus testing in head and neck carcinomas: guideline from the College of American Pathologists. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(5):559-597.
- Li W, Liang Y, Deavers MT, et al. Uroplakin II is a more sensitive immunohistochemical marker than uroplakin III in urothelial carcinoma and its variants. *Am J Clin Pathol.* 2014;142(6):864-871.
- McFarland M, Quick CM, McCluggage WG. Hormone receptor-negative, thyroid transcription factor 1-positive uterine and ovarian adenocarcinomas: report of a series of mesonephric-like adenocarcinomas. *Histopathology.* 2016;68(7):1013-1020.
- McHugh KE, Arrossi AV, Farver CF, et al. Does strong and diffuse PAX-8 positivity occur in primary lung carcinoma? An immunohistochemical study of 418 cases and review of the literature. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2019;27(2):140-146.
- Mellemkjaer L, Friis S, Olsen JH, et al. Risk of second cancer among women with breast cancer. *Int J Cancer.* 2006;118(9):2285-2292.
- Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, et al. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. *Am J Surg Pathol.* 2014;38(1):13-22.
- Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, et al. *WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs.* 4th ed. World Health Organization; 2016.
- Nguyen T, Phillips D, Jain D, et al. Comparison of 5 immunohistochemical markers of hepatocellular differentiation for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139(8):1028-1034.
- Ni YB, Tsang JYS, Shao MM, et al. GATA-3 is superior to GCDPF-15 and mammaglobin to identify primary and metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2018;169(1):25-32.

- Nonaka D, Tang Y, Chiriboga L, et al. Diagnostic utility of thyroid transcription factors Pax8 and TTF-2 (FoxE1) in thyroid epithelial neoplasms. *Mod Pathol*. 2008;21(2):192-200.
- Nottegar A, Tabbo F, Luchini C, et al. Pulmonary adenocarcinoma with enteric differentiation: immunohistochemistry and molecular morphology. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2018;26(6):383-387.
- Ordonez NG. Value of PAX8 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Adv Anat Pathol*. 2012;19(3):140-151. (a)
- Ordonez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012;20(5):429-444. (b)
- Plummer M, de Martel C, Vignat J, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Glob Health*. 2016;4(9):e609-616.
- Pors J, Cheng A, Leo JM, et al. A comparison of GATA3, TTF1, CD10, and calretinin in identifying mesonephric and mesonephric-like carcinomas of the gynecologic tract. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(12):1596-1606.
- Provenzano E, Byrne DJ, Russell PA, et al. Differential expression of immunohistochemical markers in primary lung and breast cancers enriched for triple-negative tumours. *Histopathology*. 2016;68(3):367-377.
- Rekhtman N, Kazi S. Nonspecific reactivity of polyclonal napsin A antibody in mucinous adenocarcinomas of various sites: a word of caution. *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139(4):434-436.
- Sangoi AR, Shrestha B, Yang G, et al. The novel marker GATA3 is significantly more sensitive than traditional markers mammaglobin and GCDFP15 for identifying breast cancer in surgical and cytology specimens of metastatic and matched primary tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016;24(4):229-237.
- Selves J, Long-Mira E, Mathieu MC, et al. Immunohistochemistry for diagnosis of metastatic carcinomas of unknown primary site. *Cancers (Basel)*. 2018;10(4):E108.
- Siami K, McCluggage WG, Ordonez NG, et al. Thyroid transcription factor-1 expression in endometrial and endocervical adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(7):1759-1763.
- Srivastava A, Hornick JL. Immunohistochemical staining for CDX-2, PDX-1, NESP-55, and TTF-1 can help distinguish gastrointestinal carcinoid tumors from pancreatic endocrine and pulmonary carcinoid tumors. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(4):626-632.
- Steffens J, Friedmann W, Lobeck H. Immunohistochemical diagnosis of the metastasizing prostatic carcinoma. *Eur Urol*. 1985;11(2):91-94.
- Sugano M, Nagasaka T, Sasaki E, et al. HNF4 α as a marker for invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(2):211-218.
- Tozbikian GH, Zynger DL. A combination of GATA3 and SOX10 is useful for the diagnosis of metastatic triple-negative breast cancer. *Hum Pathol*. 2019;85:221-227.
- Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2015.
- Turner BM, Cagel PT, Sainz IM, et al. Napsin A, a new marker for lung adenocarcinoma, is complementary and more sensitive and specific than thyroid transcription factor 1 in the differential diagnosis of primary pulmonary carcinoma: evaluation of 1674 cases by tissue microarray. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(2):163-171.
- Varma M, Jasani B. Diagnostic utility of immunohistochemistry in morphologically difficult prostate cancer: review of current literature. *Histopathology*. 2005;47(1):1-16.
- Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, et al. Immunohistochemical profiles in primary lung cancers and epithelial pulmonary metastases. *Hum Pathol*. 2019;84:221-230.
- Wallmeroth A, Wagner U, Moch H, et al. Patterns of metastasis in muscle-invasive bladder cancer (pT2-4): an autopsy study on 367 patients. *Urol Int*. 1999;62(2):69-75.
- Werling RW, Yaziji H, Bacchi CE, et al. CDX2, a highlight sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2003;27(3):303-310.
- Yang M, Nonaka D. A study of immunohistochemical differential expression in pulmonary and mammary carcinomas. *Mod Pathol*. 2010;23(5):654-661.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.
- Ye J, Findeis-Hosey JJ, Yang Q, et al. Combination of napsin A and TTF-1 immunohistochemistry helps in differentiating primary lung adenocarcinoma from metastatic carcinoma in the lung. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2011;19(4):313-317.
- Zhang C, Schmidt LA, Hatanaka K, et al. Evaluation of napsin A, TTF-1, p63, p40, and CK5/6 immunohistochemical stains in pulmonary neuroendocrine tumors. *Am J Clin Pathol*. 2014;142(3):320-324.

间皮瘤和免疫组织化学

17

Mauro Papotti, Andrew G. Nicholson 和 Sanja Dacic

简介

恶性胸膜间皮瘤 (MPM) 是一种高度恶性的原发性胸膜肿瘤，其形态呈异质性，分为上皮样、肉瘤样及双相三种亚型。诊断应该通过免疫表型标志物的评估来确认，因为它与其他肿瘤，特别是经常转移到该部位的癌在形态上有重叠。国际指南建议，至少应该通过免疫组织化学 (IHC) 对 2 个阳性间皮瘤标志物和 2 个非间皮瘤标志物进行评估。根据恶性增生的上皮样或肉瘤样形态的不同，这一目的的理想标志物组合可能有所不同 (Galateau-Salle 等, 2016 年; Churg 等, 2018 年; Chapel 等, 2019 年; Nicholson 等, 2020 年)。标志物组合的选择不受样本类型的影响 (胸膜活检对比手术标本对比渗出细胞学)，因为它们 在福尔马林固定和酒精固定的样本中都表现良好。

区分上皮样恶性胸膜间皮瘤 (MPM) 与癌的最佳标志物是什么？

大量的免疫组化标志物可用于上皮样 MPM 与腺癌的鉴别诊断。上皮样 MPM 会弥漫且频繁强烈地表达大多数“间皮瘤相关”标志物。阳性间皮瘤标志物的最佳组合之一是钙网膜蛋白和 Wilms 肿瘤蛋白 1 (WT1)，据报道诊断准确率高达 87%，其次是细胞角蛋白 5/6 (CK5/6) 和 D2-40。诊断腺癌最常用的标志物有 claudin 4、MOC31、单克隆癌胚抗原 (CEA)、B72.3、Ber-EP4 和 BG8。甲状腺转录因子 1 (TTF1) 和天冬氨酸蛋白酶 A 有助于肺腺癌的诊断。可以根据形态学和临床病史考虑其他标志物，如 CDX2 (胃肠道)、PAX8 (肾细胞、胸腺癌、卵巢)、NKX3.1 (前列腺) 或乳腺标志物，如巨囊性疾病液体蛋白 (GCDFP) 和乳腺珠蛋白。对于鳞状细胞癌，p40 或 p63 的强烈且弥漫性核阳性是非常有用的，因为间皮瘤很少出现局灶性阳性。

上皮样 MPM 中钙网膜蛋白染色通常强烈且弥漫，包括核和胞浆（图 17-1），据报道，其敏感性为 97%，特异性为 87%（Galateau-Salle 等，2016 年；Le Stang 等，2020 年）。大约 5% 到 10% 的腺癌可以表达钙网膜蛋白，但染色通常较弱且具有局灶性，而且倾向于胞浆。

WT1 在上皮样 MPM 中呈弥漫性核表达，据报道，敏感性为 88%，特异性为 94%（Le Stang 等，2020 年）。WT1 抗体可能与胞浆蛋白，包括内皮细胞的胞浆蛋白发生交叉反应，这种反应性不应被误解为 MPM 相关。相反，只有任何强度的核反应

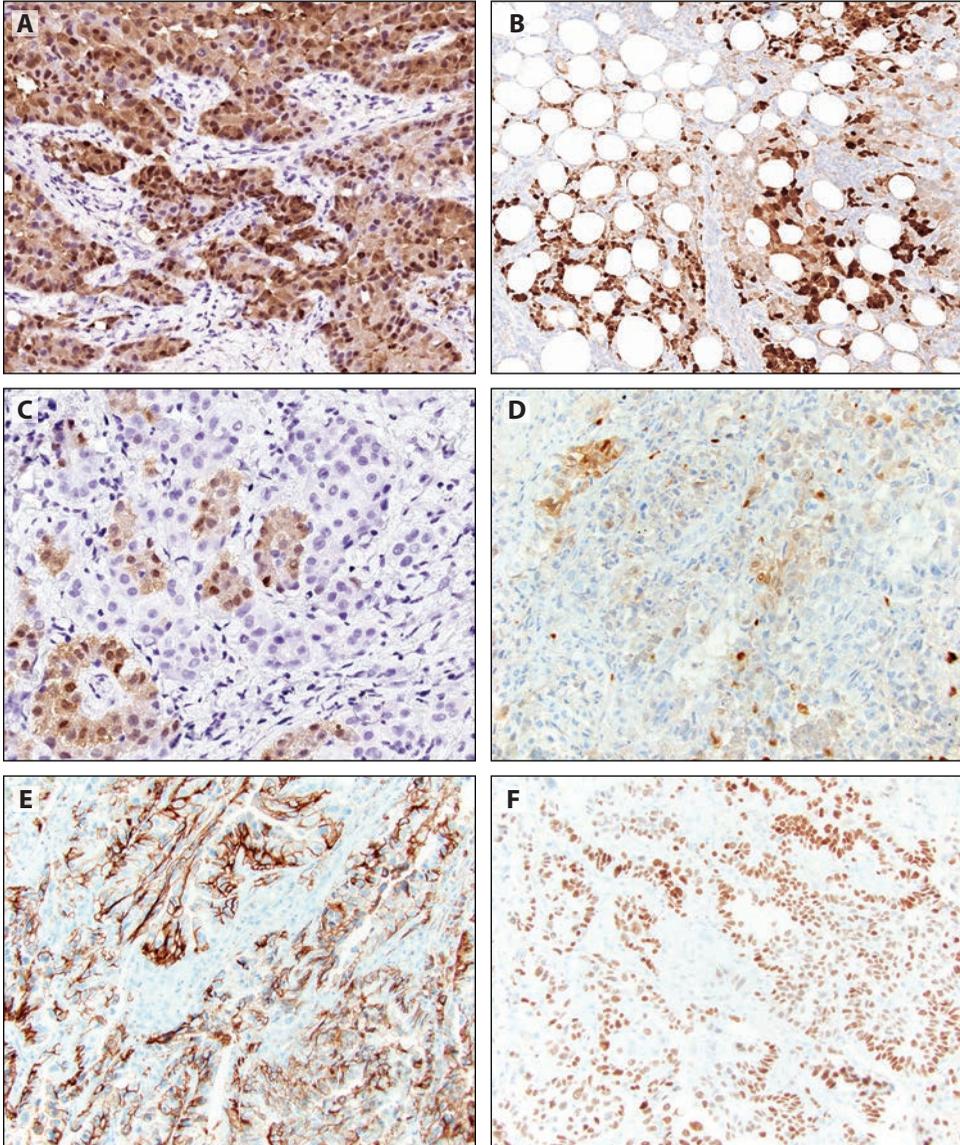


图 17-1. (A) 上皮样间皮瘤中的弥漫性胞浆和胞核钙网膜蛋白表达，(B) 广泛的脂肪组织被单细胞或小簇的浸润。(C) 在另一个上皮样间皮瘤病例中，钙网膜蛋白仅有微弱的局灶性表达。(D) 一个腺癌病例，钙网膜蛋白表达较弱，但“癌”标志物 (E) BerEP4 和 (F) 甲状腺转录因子 1 (TTF1) 证实了腺癌的诊断。

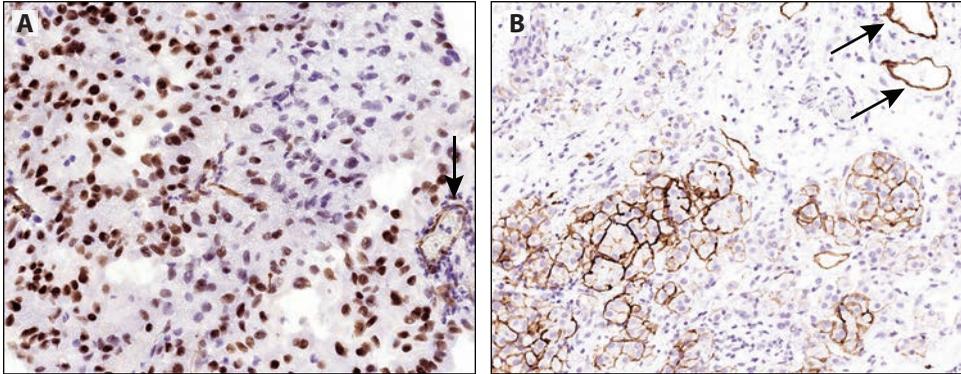


图 17-2. (A) Wilms 肿瘤蛋白 1 (WT1) 在上皮样间皮瘤中的核表达强度可变, 可能是弥漫性的, 也可能是局灶性的。值得注意的是, 小血管内皮细胞也表达 WT1 (箭头)。(B) D2-40 在大多数上皮样间皮瘤细胞中常有较强的膜染色。与 WT1 相似, 该标志物标志物内皮细胞, 主要位于淋巴管 (箭头)。

性应被视为间皮瘤的指标 (Husain 等, 2018 年) (图 17-2)。WT1 在肺腺癌中呈阴性, 而某些癌, 特别是卵巢癌, 可呈阳性。

D2-40 (平足蛋白) 在 90%-100% 的上皮样 MPM 中呈膜状, 常为弥漫性染色, 敏感性为 94%, 特异性为 68% (Le Stang 等, 2020 年; He 等, 2017 年) (图 17-2)。它还会对淋巴管染色。大约 15% 的肺腺癌可以呈局灶性阳性。

简要回答

钙网膜蛋白和维尔姆斯瘤蛋白 (WT1) 是诊断上皮样 MPM 的最佳阳性间皮标志物。Claudin 4、MOC31、单克隆 CEA、B72.3 和 Ber-EP4 与部位特异性标志物组合, 最能区分癌与上皮样 MPM。

区分肉瘤样 MPM 与肉瘤样癌的最佳标志物是什么?

胸膜肉瘤样瘤的检查除细胞角蛋白和间皮瘤标志物外, 还应包括一组间充质标志物, 如肌间线蛋白、S100 蛋白、肌原蛋白、信号转导和转录激活因子 6 (STAT6)、CD34、ERG、CD31、FLI1, 以及黑色素瘤标志物 (HMB45 和 melan A) (Galateau-Salle 等, 2016 年)。肿瘤标志物, 如 claudin 4、MOC31、Ber-EP4 和 CEA, 在肉瘤样瘤的鉴别诊断中帮助不大, 不需要包括在小组中, 特别是在组织有限的情况下 (Husain 等, 2018 年)。在与肉瘤样癌的鉴别诊断中, 器官部位和分化特异性标志物, 如 TF1 和 p40, 可能会有所帮助。

肉瘤样间皮瘤几乎总是至少局部染色细胞角蛋白, 包括 AE1/AE3、CAM5.2 和全细胞角蛋白抗体 OSCAR 和 KL1 (图 17-3A)。全细胞角蛋白在高达 7% 的肉瘤样 MPM 中可能呈阴性 (Klebe 等, 2010 年)。单纯的细胞角蛋白阳性表达不能区分肉瘤样癌或某些肉瘤, 但应作为检查的第一步, 并应与其他间皮和非间皮标志物一起解释。 (Marchevsky 等, 2017 年)。在某些情况下, 如果有多个块, 应该染色以显示细胞角蛋白的表达。

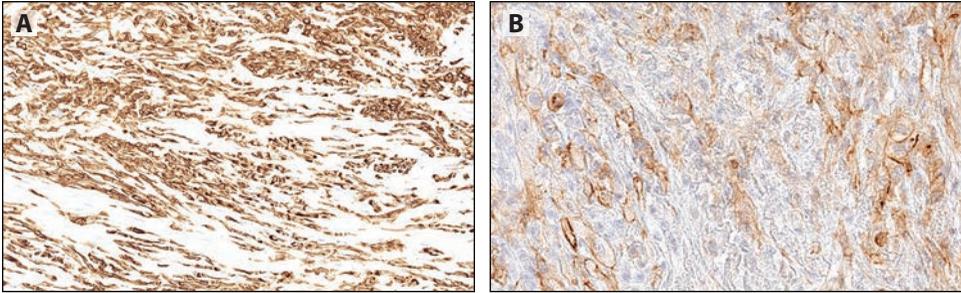


图 17-3. (A) 广谱细胞角蛋白（如克隆 AE1/AE3）在肿瘤梭形细胞中强表达；**(B)** D2-40 在肉瘤样间皮瘤中呈局灶性表达，典型的梭形或椭圆形肿瘤细胞膜染色。

D2-40（平足蛋白）是支持肉瘤样 MPM 诊断的可靠选择，因为它在突出肿瘤性间皮瘤细胞膜方面具有更高的敏感性（Churg 等，2018 年；Chapel 等，2019 年；Nicholson 等，2020 年）（[图 17-3B](#)）。此类间皮标志物对确定肉瘤样 MPM 的诊断最有用，并且在大约 74% 的病例中呈阳性（Marchevsky 等，2017 年）。在肉瘤样 MPM 中，与淋巴管的区分可能是有挑战性的，特别是在少见的梭形细胞散布在促结缔组织间质的病例中。在肉瘤样 MPM 病例中，内皮反应性不应被误解为肿瘤相关。此区别非常重要，因为在极少数病例中，D2-40 可能是唯一阳性的间皮瘤标志物（虽然为局灶性表达），缺乏钙网膜蛋白、WT1，甚至缺乏细胞角蛋白反应性。

钙网膜蛋白在大约 54% 的肉瘤样 MPM 中的表达更为不规则，它可能为局灶性，甚至缺失（[图 17-4A](#) 和 [B](#)）。核染色被认为对间皮瘤更具特异性。WT1 会在大约 45% 的肉瘤样 MPM 中表达（Marchevsky 等，2017 年）。核反应性，在某些情况下可能很弱，但被认为是具有特异性的（Galateau-Salle 等，2016 年）（[图 17-4C](#)）。

最近，GATA3 IHC 被认为是区分肉瘤样癌和结缔组织增生性 MPM 与肉瘤样肺癌的标志物（Berg 和 Churg，2017 年）。GATA3 在间皮瘤中呈强烈而弥漫性表达，而肉瘤样癌大部分呈阴性或染色较弱或呈斑片状。

简要回答

肉瘤样 MPM 可通过阳性细胞角蛋白和间皮标志物诊断，最常见的是 D2-40 和钙网膜蛋白，而癌标志物为阴性。如果细胞角蛋白为阴性，鉴别诊断应包括肉瘤，并应考虑检查特定的基因融合/重排。

细胞角蛋白在 MPM 诊断中的作用是什么？

细胞角蛋白通常在 MPM 的所有组织学亚型中都有表达，对上皮样 MPM 的敏感性为 100%（Le Stang 等，2020 年）。它在排除肉瘤时很有用，但有两点需要注意：第一种是罕见的肉瘤可能表达细胞角蛋白（包括血管肉瘤和滑膜肉瘤），第二种是罕见的肉瘤样 MPM 病例缺乏细胞角蛋白的表达（7%）（Klebe 等，2010 年）。

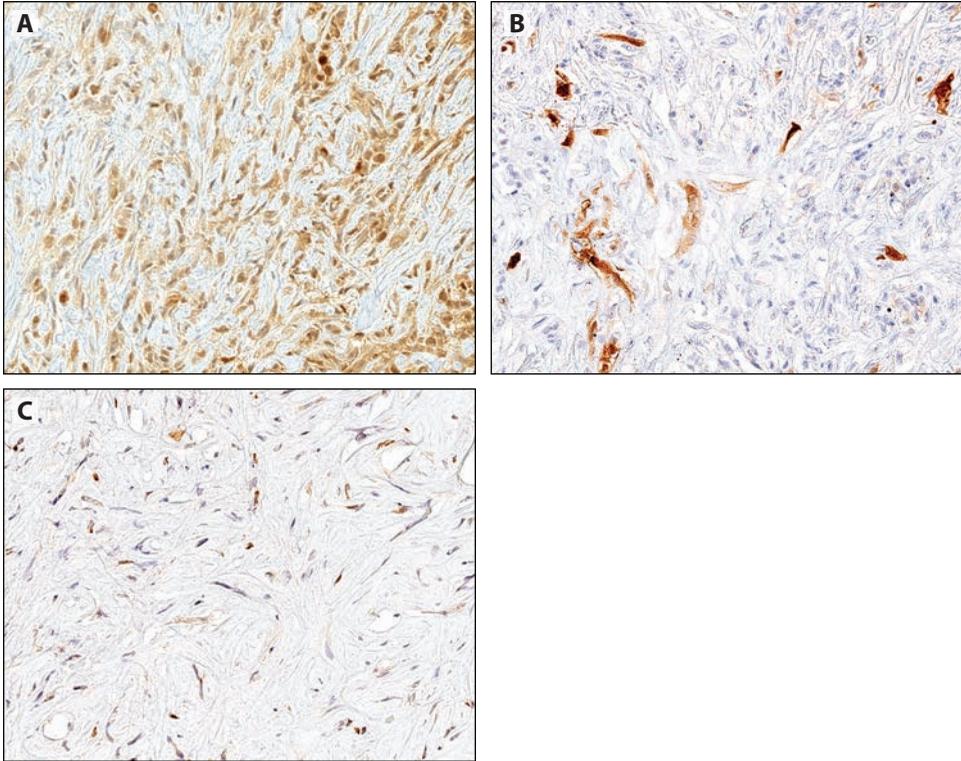


图 17-4. 钙网膜蛋白在这 2 例肉瘤样间皮瘤中有不同程度的表达，表现为 **(A)** 弥漫性和 **(B)** 局灶性反应性。在某些情况下，只有罕见的单个细胞会表达这个标志物。有时，染色可能很弱**(A)**，并可能被解释为非特异性或伪影，但相关的核阳性可能是一个有用的陷阱，即染色是真实的。**(C)** 一个肉瘤样间皮瘤示例，梭形肿瘤性细胞核内 Wilms 肿瘤蛋白 1 (WT1) 表达强弱。

据报道，在细胞角蛋白亚型中，CK5/6在大多数腺癌中特异性染色 MPM（[图 17-5A](#)）。然而，重要的是要记住，同样的细胞角蛋白亚型也会在不同解剖部位的鳞状细胞癌中表达，因此它在与鳞状细胞癌转移的区别中的应用价值有限。

细胞角蛋白在慢性胸膜炎的反应性间质和单纯上皮样 MPM 周围的间质中也有表达（[图 17-5B](#) 和 [C](#)），但随着成纤维细胞间质的成熟，角蛋白在远离表面的地方逐渐减少。因此，就绝对表达而言，该标志物在区分间皮瘤和反应性（非典型）间皮细胞增生方面没有价值，其在间质中的表达本身也不支持双相性 MPM 的诊断（Galateau-Salle 等，2016 年）。然而，它有助于鉴别浸润到胸壁脂肪组织的肿瘤细胞，而常规苏木精-伊红 (H&E) 染色不容易发现这些肿瘤细胞。

细胞角蛋白染色有助于鉴别肉瘤样间皮瘤，因为纤维基质内有不规则的染色模式，特别是在胸膜的深层，而反应性胸膜炎中梭形细胞的染色倾向于远离表面（[图 17-6](#)）。因此，在将样品放入切片盒中进行切片时，确定样品的方向很重要。

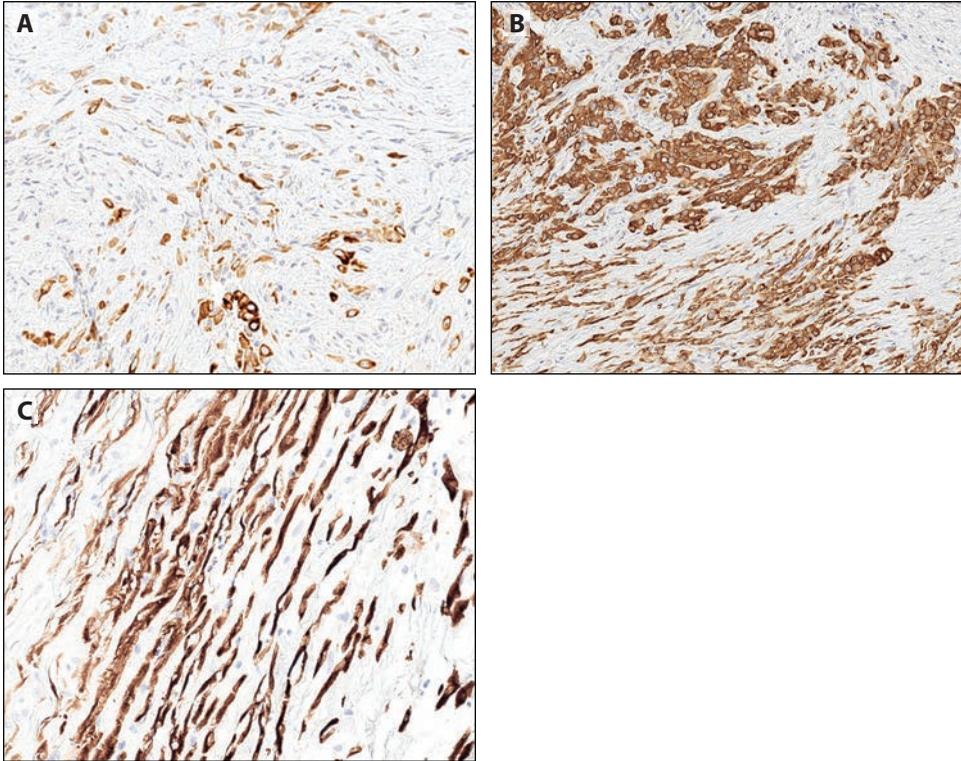


图 17-5. (A) 高分子细胞角蛋白（如CK5/6）在上皮样间皮瘤细胞簇中强表达，并可与某些非肿瘤性间质细胞弱而灶性染色有关。**(B 和 C)** 广谱细胞角蛋白（如 AE1/AE3 克隆）和特异性克隆（如 CK5/6）同时染色肿瘤和良性反应性间皮细胞，因此该标志物对间皮瘤与反应性异型性明显的良性病变的鉴别诊断价值有限。此双相间皮瘤**(B)**的上皮样和梭形肿瘤细胞，以及硬化性机化胸膜炎**(C)**的反应性基质细胞均强表达细胞角蛋白。

简要回答

细胞角蛋白染色有助于突出全层胸膜细胞结构、缺乏分区以及存在间皮细胞侵入胸壁脂肪组织。

哪些免疫组织化学标志物可用于区分良性和恶性间皮增生？

大量研究支持 BRCA1 相关蛋白 1 (BAP1) 在良性不典型间皮增生和间皮瘤的鉴别诊断中的应用。BAP1 是一种去泛素化蛋白，具有肿瘤抑制功能，能够在细胞增殖和生长抑制中发挥作用。它会在所有正常细胞的细胞核中表达。位于染色体 3p21 上的 *BAP1* 基因的体细胞改变导致肿瘤细胞中蛋白表达的缺失，大约 65% 的上皮样和 20% 的肉瘤样 MPM 都会出现这种情况 (Hida 等, 2017 年; Churg 等, 2018 年; Galateau-Salle 等, 2018 年)。最新建议，不要将该标志物与其他形态学和免疫表型数据分开使用 (Nicholson 等, 2020 年)。

除了罕见的 BAP1 胚系改变外，BAP1 免疫反应性在所有脂肪、血管和结缔组织的非肿瘤细胞中都保持不变 (图 17-7)。

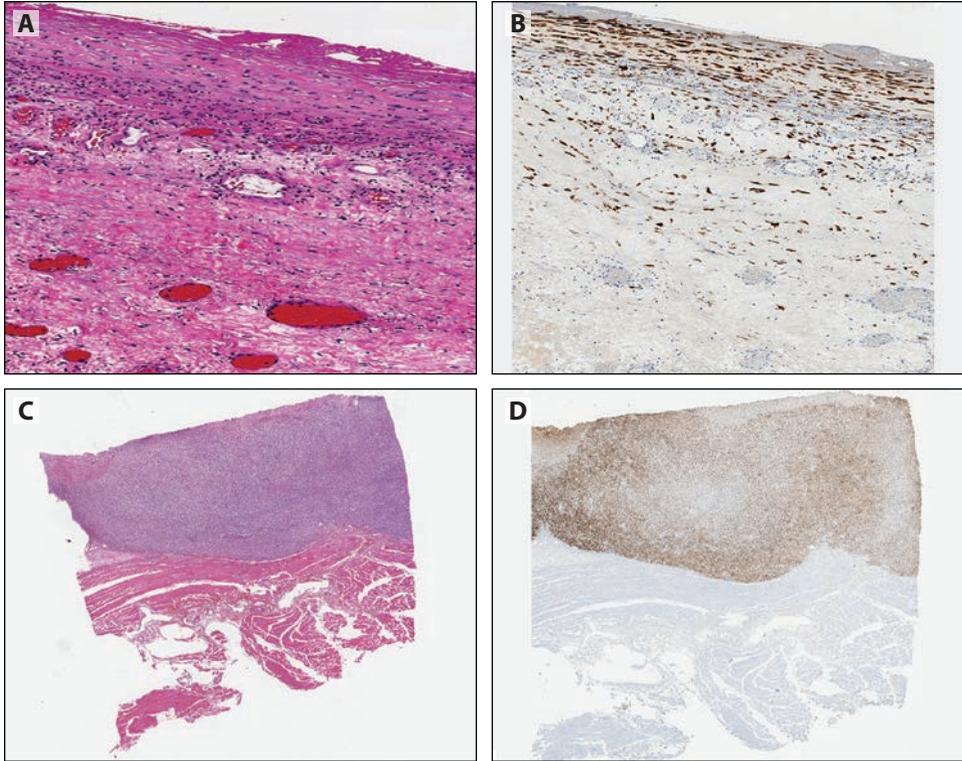


图 17-6. (A 和 B) 反应性纤维性胸膜炎的细胞角蛋白表达突出分区 (表面细胞增多, 胸壁深层细胞减少) 和良性间皮细胞的水平分布, (C 和 D) 恶性肉瘤样增生表现为占据整个胸膜厚度的间皮细胞随意生长模式。

BAP1 IHC 可用于区分反应性不典型间皮增生和 MPM。BAP1 染色的缺失也有助于建立细胞学标本中上皮样 MPM 的诊断 (图 17-8)。

BAP1 IHC 对双相 MPM 的诊断也有一定帮助。它在上皮样肿瘤细胞中缺失, 而未在间质细胞中缺失, 这与双相 MPM 的诊断相矛盾, 即使在存在非典型梭形细胞的情况下也是如此, 因为这反而代表了基质反应 (图 17-9) (Righi 等, 2016 年; Galateau-Salle 等, 2018 年; Wu 等, 2017 年)。然而, 解释应该谨慎, 因为偶尔的双相间皮瘤可能显示上皮样成分和间质成分之间不一致的结果 (Bueno 等, 2016 年)。在这些情况下, 其他辅助检测, 如甲基硫腺苷磷酸化酶 (MTAP) IHC 或荧光原位杂交 (FISH) 检测 *CDKN2A* 纯合缺失可能会有帮助。

MTAP IHC 最近被认为是 *CDKN2A/p16* 基因突变的替代标志物。位于染色体 9p21 上的 *CDKN2A* 基因纯合缺失是恶性间皮细胞增殖的一个公认的标志, 在大约 70% 的上皮样和几乎 100% 的肉瘤样 MPM 中缺失 (Illei

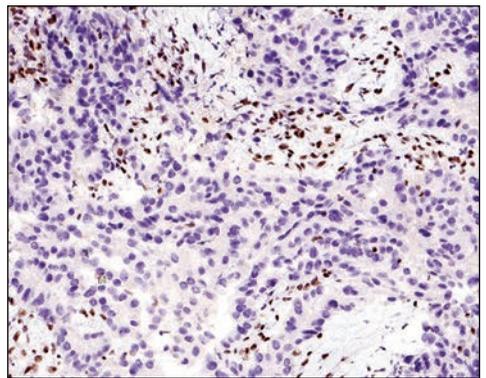


图 17-7. BRCA1 相关蛋白 1 (BAP1)在这例上皮样间皮瘤中缺失, 肿瘤细胞无核染色, 非肿瘤间质细胞完整表达。

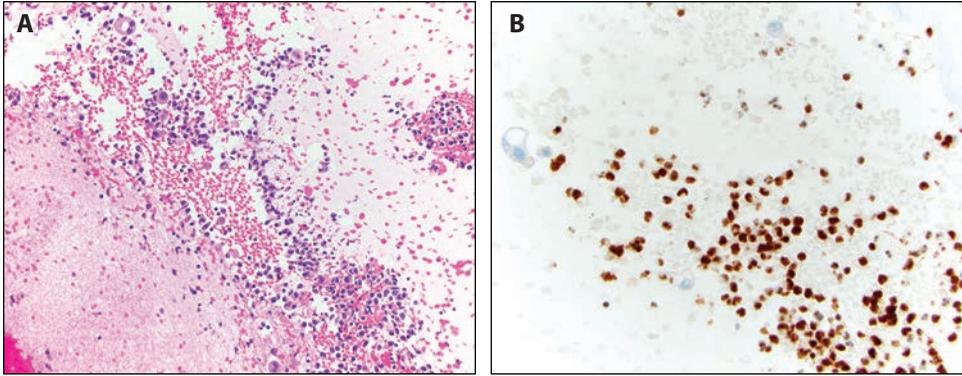


图 17-8. 胸腔积液标本中有散在的不典型间皮细胞和淋巴细胞。(A) 形态学上, 这种胸腔积液被解释为不典型。(B) 然而, BRCA1 相关蛋白 1 (BAP1) 在同一组间皮细胞中的表达缺失证实它们确实为恶性。

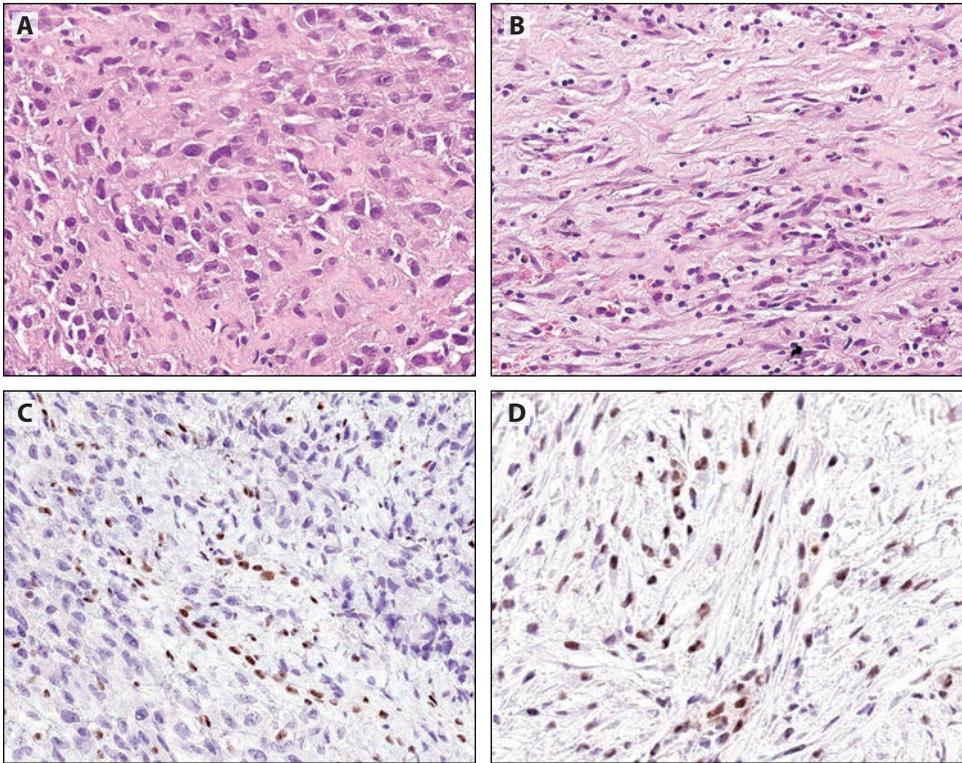


图 17-9. (A) 疑似双相间皮瘤的病例, 其上皮样细胞成分与 (B) 明显不典型间质有关。(C) BRCA1 相关蛋白 1 (BAP1) 仅在上皮样成分缺失。(D) BAP1 在非典型间质细胞中的完整表达有利于其反应性而非肿瘤性, 从而支持上皮样间皮瘤的最终诊断 (伴有非典型间质反应)。

等, 2003 年; Chiosea 等, 2008 年; Husain 等, 2018 年)。MTAP 是一种参与嘌呤代谢的酶, 其基因位于非常接近 *CDKN2A* 的 9p21.3 位点, 据报道在高达 100% 的 MPM 中与 *CDKN2A* 串联发生缺失。

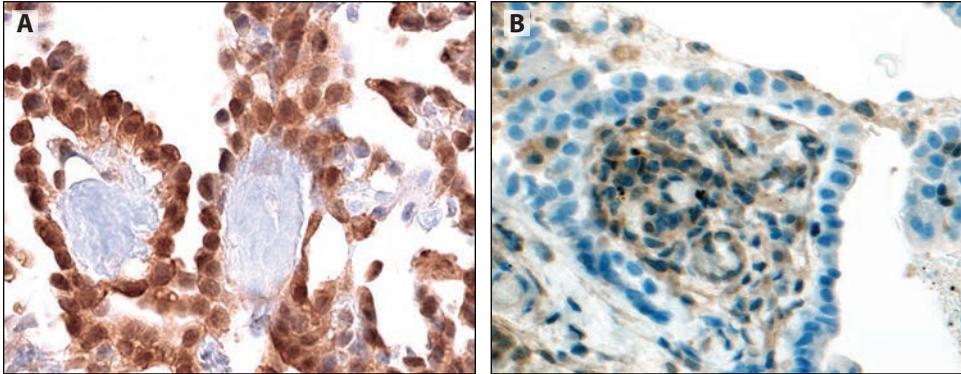


图 17-10. (A) 带有野生型 *CDKN2A* 基因的乳头状间皮瘤在所有肿瘤细胞和间质细胞中都广泛表达甲硫腺苷磷酸化酶 (MTAP)。(B) 一个伴有 MTAP 缺失的乳头状间皮瘤的示例。乳头状柄内的肿瘤细胞呈阴性，而非肿瘤性间质细胞正常表达该蛋白。

在正常人细胞和 30% 的野生型上皮样 MPM 病例中，MTAP 在正常细胞和肿瘤细胞的胞浆和细胞核中均有表达 (图 17-10A)。

MPM 细胞中的基因缺失与细胞核和胞浆免疫反应性的丧失有关 (图 17-10B)，其中肿瘤性间皮细胞 (阴性) 可以与间质细胞 (如果是反应性的而不是肿瘤性的，间质细胞保持其核表达) 区分开来。当存在时，在所有肿瘤细胞中都观察到 MTAP 缺失，只有 10% 的病例被发现在一小部分细胞中部分缺失 (Berg 等，2018 年; Chapel 等，2020 年)。

据报道，在高达 23% 的反应性间皮细胞增生中也有 MTAP 缺失 (Zimling 等，2012 年)，这一发现没有得到其他作者的证实 (Hida 等，2017 年)，如果反应性与炎症细胞 (内部对照) 的强度相同或更高，则被解释为阳性。

简要回答

BAP1、IHC 和 MTAP (*CDKN2A* 纯合缺失的替代物) 有助于鉴别手术标本和积液标本中的良性和恶性间皮增生。

结论

IHC 对于确认恶性间皮瘤的诊断是必要的，因为许多病例具有法医学意义。对于上皮样间皮瘤，在形态学、放射学和临床典型病例中，建议使用 2 个间皮瘤标志物和 2 个癌标志物进行诊断。如果结果不一致，则应使用额外的标志物。对于肉瘤样间皮瘤，应进行细胞角蛋白染色，辅以间充质和间皮标志物的经验性使用，抗体的选择可能反映形态学特征。通常，由于特异性和敏感性远低于上皮样肿瘤，组织病理学的结论是概率的平衡，需要多学科的投入。BAP1 和 MTAP (作为 *CDKN2A/p16* 纯合缺失的替代物) IHC 有助于区分恶性间皮细胞增生和良恶性间皮细胞增生，并有助于在积液和有限的组织标本中建立恶性间皮瘤的诊断。

参考文献

- Berg KB, Churg A. GATA3 immunohistochemistry for distinguishing sarcomatoid and desmoplastic mesothelioma from sarcomatoid carcinoma of the lung. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(9):1221-1225.
- Berg KB, Dacic S, Miller C, et al. Utility of methylthioadenosine phosphorylase compared with BAP1 immunohistochemistry, and CDKN2A and NF2 fluorescence in situ hybridization in separating reactive mesothelial proliferations from epithelioid malignant mesotheliomas. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(12):1549-1553.
- Bueno R, Stawiski EW, Goldstein LD, et al. Comprehensive genomic analysis of malignant pleural mesothelioma identifies recurrent mutations, gene fusions and splicing alterations. *Nat Genet*. 2016;48(4):407-416.
- Chapel DB, Churg A, Santoni-Rugiu E, et al. Molecular pathways and diagnosis in malignant mesothelioma: a review of the 14th international conference of the international mesothelioma interest group. *Lung Cancer*. 2019;127:69-75.
- Chapel DB, Schulte JJ, Berg K, et al. MTAP immunohistochemistry is an accurate and reproducible surrogate for CDKN2A fluorescence in situ hybridization in diagnosis of malignant pleural mesothelioma. *Mod Pathol*. 2020;33(2):245-254.
- Chiosea S, Krasinkskas A, Cagle PT, et al. Diagnostic importance of 9p21 homozygous deletion in malignant mesotheliomas. *Mod Pathol*. 2008;21(6):742-747.
- Churg A, Nabeshima K, Ail G, et al. Highlights of the 14th international mesothelioma interest group meeting: pathologic separation of benign from malignant mesothelial proliferations and histologic/molecular analysis of malignant mesothelioma subtypes. *Lung Cancer*. 2018;124:95-101.
- Galateau-Salle F, Churg A, Roggli V, et al. The 2015 World Health Organization classification of tumors of the pleura: advances since the 2004 classification. *J Thorac Oncol*. 2016;11(2):142-154.
- Galateau-Salle F, Le Stang N, Nicholson AG, et al. New insights on diagnostic reproducibility of biphasic mesotheliomas: a multi-institutional evaluation by the International Mesothelioma Panel from the MESOPATH Reference Center. *J Thorac Oncol*. 2018;13(8):1189-1203.
- He C, Wang B, Wan C, et al. Diagnostic value of D2-40 immunostaining for malignant mesothelioma: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(38):64407-64416.
- Hida T, Hamasaki M, Matsumoto S, et al. Immunohistochemical detection of MTAP and BAP1 protein loss for mesothelioma diagnosis: comparison with 9p21 FISH and BAP1 immunohistochemistry. *Lung Cancer*. 2017;104:98-105.
- Husain AN, Colby TV, Ordóñez NG, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma 2017 update of the consensus statement from the international mesothelioma interest group. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(1):89-108.
- Illei PD, Rusch VS, Zakowski MF, et al. Homozygous deletion of CDKN2A and codeletion of the methylthioadenosine phosphorylase gene in the majority of pleura mesotheliomas. *Clin Cancer Res*. 2003;9(6):2108-2113.
- Klebe S, Brownlee NA, Mahar A, et al. Sarcomatoid mesothelioma: a clinical-pathologic correlation of 326. *Mod Pathol*. 2010;23(3):470-479.
- Le Stang N, Burke L, Blaizot G, et al. Differential diagnosis of epithelioid malignant mesothelioma with lung and breast pleural metastasis: a systematic review compared with a standardized panel of antibodies—a new proposal that may influence pathologic practice. *Arch Pathol Lab Med*. 2020;144(4):446-456.
- Marchevsky AM, LeStang N, Hiroshima K, et al. The differential diagnosis between pleural sarcomatoid mesothelioma and spindle cell/pleomorphic (sarcomatoid) carcinomas of the lung: evidence-based guidelines from the International Mesothelioma Panel and the MESOPATH National Reference Center. *Hum Pathol*. 2017;67:160-168.
- Nicholson AG, Sauter JL, Nowak AK, et al. EURACAN/IASLC proposals for updating the histologic classification of pleural mesothelioma: towards a more multidisciplinary approach. *J Thorac Oncol*. 2020;15(1):29-49.
- Righi L, Duregon E, Vatrano S, et al. BRCA1-associated protein 1 (BAP1) immunohistochemical expression as a diagnostic tool in malignant pleural mesothelioma classification: a large retrospective study. *J Thorac Oncol*. 2016;11(11):2006-2017.
- Wu D, Hiroshima K, Yusa T, et al. Usefulness of p16/CDKN2A fluorescence in situ hybridization and BAP1 immunohistochemistry for the diagnosis of biphasic mesothelioma. *Ann Diagn Pathol*. 2017;26:31-37.
- Zimling ZG, Jorgensen A, Santoni-Rugiu E. The diagnostic value of immunohistochemically detected methylthioadenosine phosphorylase deficiency in malignant pleural mesotheliomas. *Histopathology*. 2012;60(6B):E96-105.

胸腺肿瘤和免疫组织化学

Andre L. Moreira 和 William D. Travis

18

简介

胸腺肿瘤很少见，估计在普通人群中的患病率接近 1% (Araki 等, 2015 年; Siesling 等, 2012 年)。对这些病变患者的治疗结合了临床、实验室和影像学特征，以确定鉴别诊断、疾病范围，最重要的是，组织病理学分类。前纵隔病变，包括那些累及胸腺的病变，在病因上是不同的，这增加了部位的复杂性。本章支持使用免疫组织化学染色鉴别诊断最常见的前纵隔肿块，并集中于胸腺上皮病变（胸腺瘤、胸腺癌）和生殖细胞肿瘤的鉴别诊断。

诊断胸腺瘤的最佳标志物是什么？

尽管组织学分类不同，但所有胸腺瘤都表现出相似的免疫组织化学反应模式。胸腺瘤由胸腺上皮细胞（角蛋白阳性）和胸腺未成熟淋巴细胞（来自末端脱氧核苷酸转移酶 [TdT]、CD1a 或 CD99 的阳性细胞）组成 (Marx 等, 2014 年) (图 18-1)。这种组合在适当的形态学背景下可诊断为胸腺瘤。不推荐进行角蛋白 7 和 20 的染色，因为胸腺瘤这两种标志物都可能呈阴性 (Chu 等, 2000 年; Pomplun 等, 2002 年)。淋巴瘤可以累及纵隔，并进入世界卫生组织 (WHO) B1 和 B2 型胸腺瘤的鉴别诊断。一个陷阱是急性淋巴母细胞淋巴瘤，这在年轻人中更常见，肿瘤细胞 TdT 阳性；然而，所有的淋巴瘤都缺乏角蛋白阳性细胞。

简要回答

角蛋白和 TdT 的组合是诊断胸腺瘤的最佳组合。CD1a 或 CD99 也可用于标记胸腺未成熟淋巴细胞。

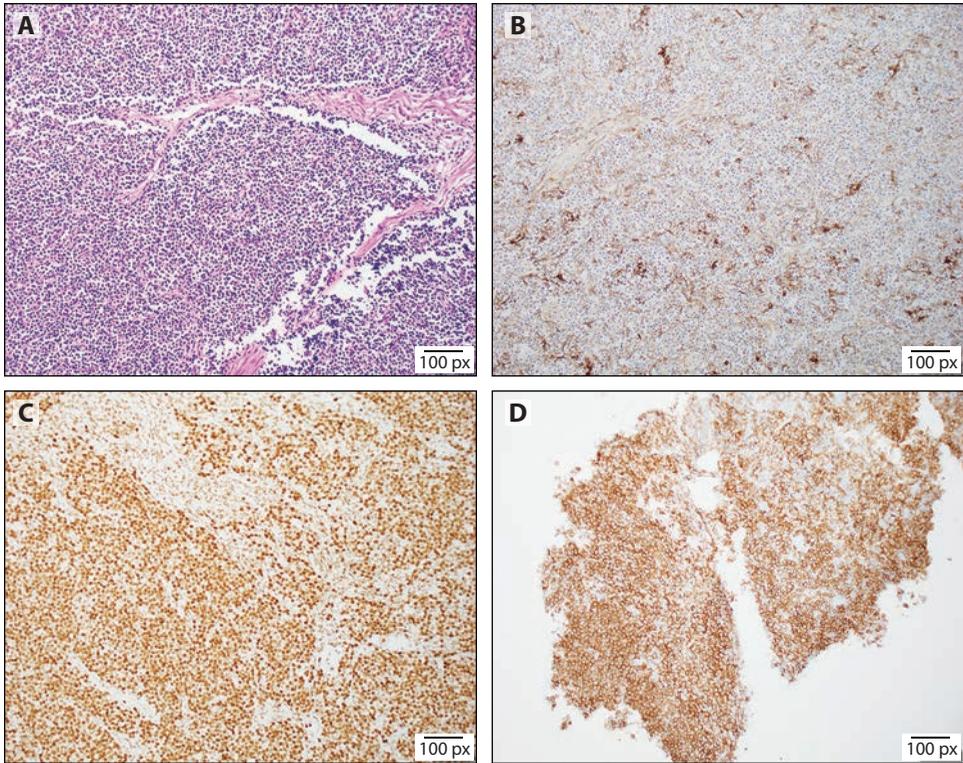


图 18-1. (A) 世界卫生组织 (WHO) B1 型胸腺瘤 H&E 染色切片, 显示纤维带、小叶生长模式和丰富的淋巴细胞。上皮细胞不是很明显。(B) 角蛋白 (AE1/AE3) 免疫组织化学染色显示胸腺上皮细胞呈网状分布。(C) TdT 免疫组织化学染色突显胸腺淋巴细胞。(D) CD1a 免疫组织化学染色突显胸腺淋巴细胞, 核心活检为 B2 型胸腺瘤。

还有哪些标志物可以用来突显胸腺上皮细胞?

胸腺上皮细胞 p40/p63 (Su 等, 2015 年; Marx 等, 2014 年) 和 PAX8 (Ordenez, 2012 年; Asirvatham 等, 2014 年) 阳性, 两者均染色细胞核 (图 18-2)。后者也可以在胸腺的神经内分泌肿瘤中呈阳性, 但胸腺肿瘤的反应只有在使用多克隆 PAX8 抗体时才能看到 (Toriyama 等, 2014 年)。

简要回答

多克隆 PAX8 和 p40/p63 可以添加到角蛋白和 TdT 小组中, 用于表征胸腺瘤。

免疫组织化学如何帮助胸腺瘤的分类?

免疫组织化学染色可能会提高 WHO B 型胸腺瘤分类的重复性 (图 18-3)。B1 胸腺瘤呈网状分布, 角蛋白阳性细胞呈网状分布 (图 18-1B), 而 B2 胸腺瘤呈成簇状角蛋白阳性细胞。

简要回答

角蛋白染色可以揭示上皮细胞的模式, 这有助于区分 B1 和 B2 胸腺瘤。

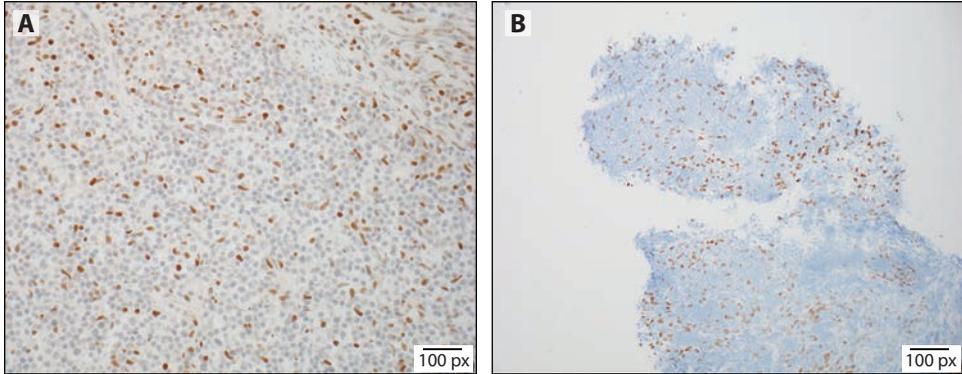


图 18-2. (A) PAX8 免疫组织化学染色突出胸腺上皮细胞。(B) B2 型胸腺瘤核心活检组织中 p40 免疫组织化学染色突出胸腺上皮细胞。

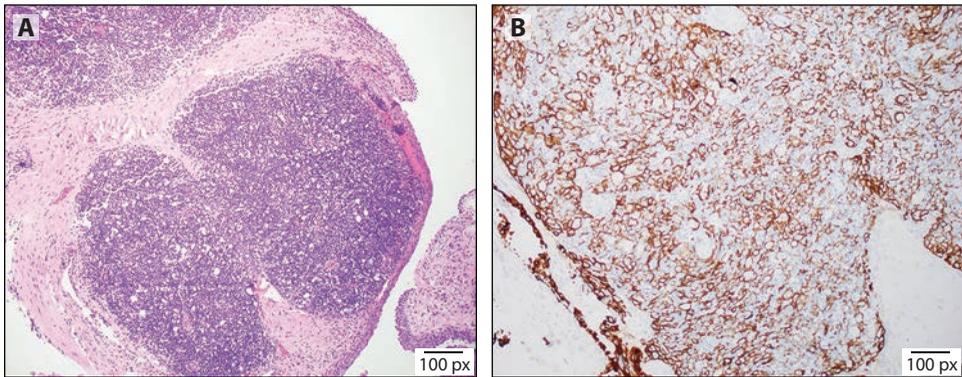


图 18-3. (A) 世界卫生组织 (WHO) B 型胸腺瘤的 H&E 染色切片。(B) 角蛋白免疫组织化学染色 (AE1/AE3) 显示成簇的上皮细胞, 符合 B2 型胸腺瘤的分类标准。与图 18-1B 相比, 该图显示了 B1 型胸腺瘤中角质蛋白阳性细胞的网状结构。

如何区分胸腺瘤和胸腺癌?

B3 胸腺瘤和胸腺癌的鉴别诊断可能很有挑战性, 特别是在小活检中。诊断依赖于肿瘤细胞的形态学特征, 但免疫组化 (IHC) 有助于诊断 (图 18-4)。世卫组织 B3 型胸腺瘤与 TdT 阳性淋巴细胞相关, 而胸腺癌与胸腺淋巴细胞无关, 因此 TdT 或 CD1a 免疫组织化学染色在这些癌症中为阴性 (Weissferdt 等, 2016 年; Marx 等, 2014 年)。大多数胸腺癌是鳞状细胞癌; 因此, 这些肿瘤 p40/p63 和 PAX8 呈阳性。虽然这些标志物不是特异性的, 但阳性反应能够提示胸腺起源。此外, 60% 到 70% 的胸腺癌上皮细胞会表达 KIT (CD117) 和 CD5, 而肺癌中缺乏 KIT 和 CD5 双阳性。这 4 个标志物可以提高胸腺癌与 B3 胸腺瘤和肺鳞癌的鉴别诊断效率 (Asirvatham 等, 2014 年; Su 等, 2015 年; Kriegsmann 等, 2015 年)。

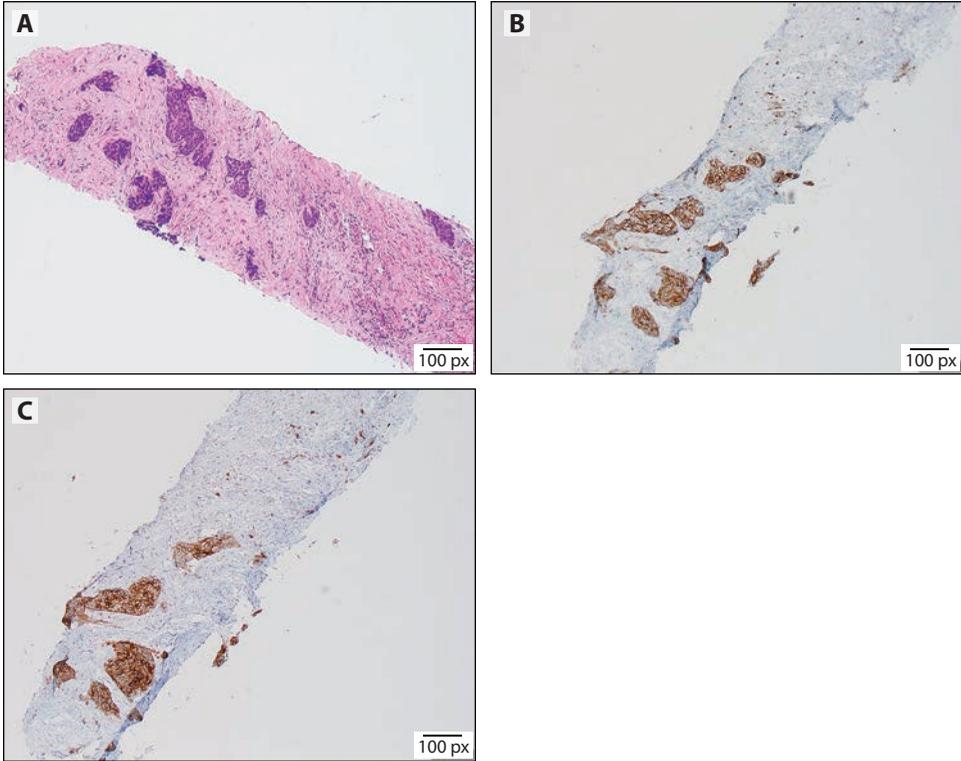


图 18-4. (A) 胸腺癌 H&E 染色切片, 核心活检, 纤维间质内可见成簇的上皮细胞。(B) CD5 和 (C) CD117 免疫组化染色, 显示 (B) 上皮细胞胞膜和胞浆阳性反应。上皮性肿瘤细胞 p40 也呈阳性, 未见与肿瘤相关的 TDT 阳性淋巴细胞 (未显示)。

简要回答

在小活检标本中鉴别诊断 WHO B3 型胸腺瘤和胸腺癌具有挑战性。TdT 阳性淋巴细胞的存在有利于胸腺瘤的诊断。CD5 和/或 CD117 阳性表达有助于胸腺癌的诊断以及与肺鳞状细胞癌的鉴别诊断。

哪些染色可用于诊断生殖细胞瘤?

纵隔生殖细胞肿瘤的诊断在很大程度上依赖于临床、影像学和组织学信息。生殖细胞肿瘤在年轻成年男性中很常见 (Calaminus 和 Joffe, 2016 年), 并与卵黄囊肿瘤和绒毛膜癌的血清标志物如甲胎蛋白 (AFP) 和绒毛膜促性腺激素 (β -HCG) 的升高有关 (Salem 和 Gilligan, 2011年), 尽管没有精原细胞瘤、畸胎瘤或胚胎癌的血清标志物。生殖细胞肿瘤的组成成分可以通过组织学和 IHC 来确定, 因为每种肿瘤都有特定的免疫反应模式, 但畸胎瘤除外, 因为这种肿瘤没有特异性标志物。为了与其他肿瘤相区别, sal 样蛋白 4 (SALL4) 在包括畸胎瘤在内的生殖细胞肿瘤中的表达最为广泛 (图 18-5)。尽管有一些急性淋巴细胞性 B 细胞白血病和急性髓性白血病也呈阳性, 但 SALL4 表达会提示纵隔生殖细胞肿瘤的诊断。在临床上, 精原细胞瘤和非精原细胞瘤之间的区别很重要; 因此, 为了区分精原细胞瘤, 推荐使用 OCT3/4、KIT (CD117)、CD30 和磷脂酰肌醇聚糖 3 作为标志物 (图 18-5) (Ulbright 等, 2014), 而大多数肿瘤是混合性生殖细胞肿瘤, 包含肿瘤的任意组合。OCT3/4 在精原细胞瘤和胚胎性癌中呈阳性表达, 在卵黄囊肿瘤 (图 18-6) 和绒毛

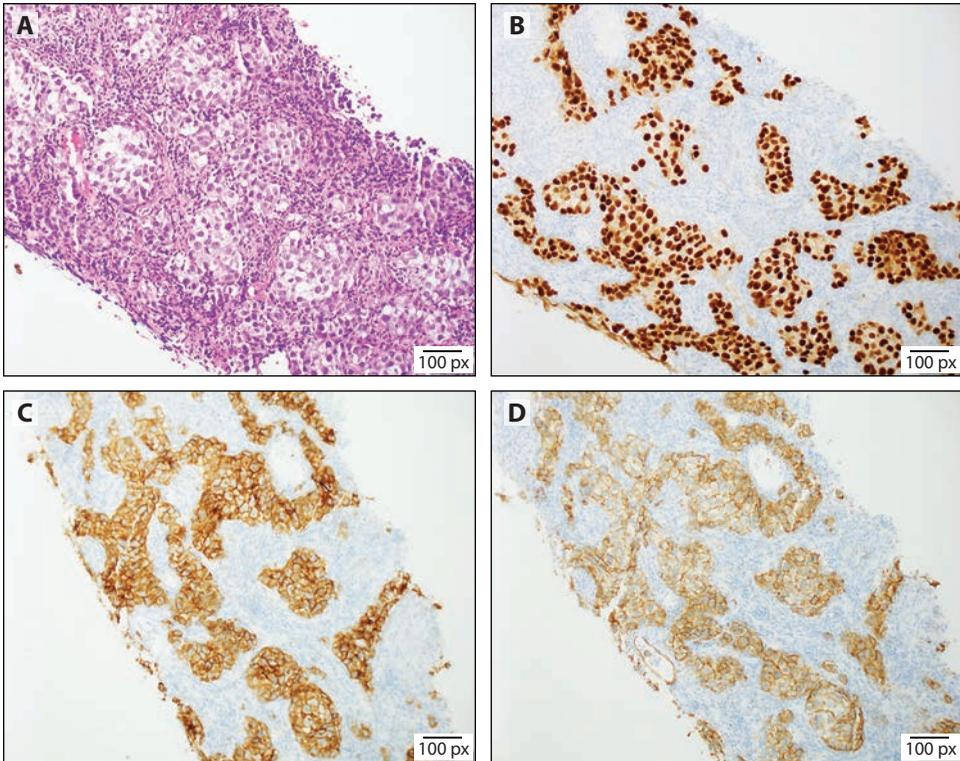


图 18-5. (A) 纵隔精原细胞瘤 H&E 染色切片, 核心活检。由淋巴细胞包围的大肿瘤细胞巢。(B) 精原细胞瘤的泛生殖细胞肿瘤标志物 SALL4 (核染色)、OCT4 (未显示)、(C) CD117 和 (D) D2-40 呈阳性。

膜癌中呈阴性表达。CD117 在几乎所有精原细胞瘤中均有表达,但在胚胎性癌中呈阴性表达,在卵黄囊肿瘤中表达不同。CD30 在大多数胚胎性癌中呈阳性表达(图 18-7),但在其他生殖细胞肿瘤中呈阴性;而磷脂酰肌醇聚糖 3 在卵黄囊肿瘤和大多数绒毛膜癌中可见,但在胚胎性癌和精原细胞瘤中通常为阴性。大多数卵黄囊肿瘤为 AFP 阳性,但这可能是局灶性的。绒毛膜癌也表达人绒毛膜促性腺激素(图 18-8)(Ulbright 等, 2014 年)。与睾丸相反,纵隔生殖细胞肿瘤可以呈细胞角蛋白阳性(Suster 等, 1998 年; Weissferdt 等, 2015 年),因此角蛋白阳性并不能立即表明是上皮性肿瘤(图 18-9)。

简要回答

SALL4 是一种泛生殖细胞瘤标志物,应包含在一个小组中以检查这些肿瘤(Camparo 和 Comperat, 2013 年)。一旦阳性 SALL4 提示生殖细胞瘤, OCT3/4、KIT (CD117)、CD30 和磷脂酰肌醇聚糖 3 可用作精原细胞瘤和非精原细胞瘤的分类器(Cheng 等, 2007 年; Weissferdt 等, 2019 年)。其他标志物应在组织学检查后纳入并相应添加(Ulbright, 2005 年; Weissferdt 等, 2015 年)。

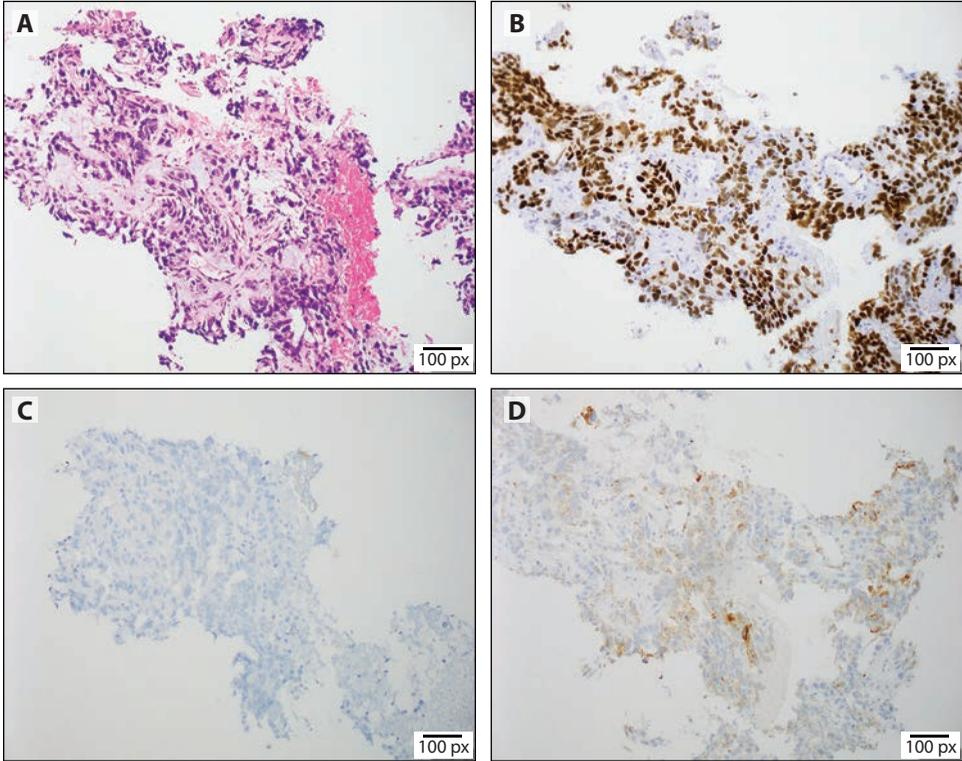


图 18-6. (A) H&E 染色的纵隔卵黄囊肿瘤切片，形成类似胚胎结构的组织学模式。卵黄囊肿瘤 (B) SALL4 阳性，(C) OCT4 阴性。卵黄囊肿瘤也呈磷脂酰肌醇聚糖 3 (D) 阳性，通常呈斑片状分布。肿瘤的甲胎蛋白也呈阳性 (未显示)。

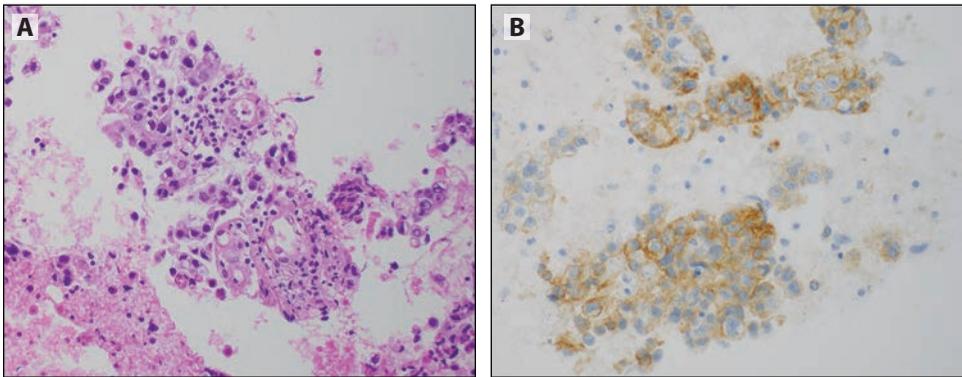


图 18-7. 胚胎癌 H&E 染色切片，细胞块。(A) 肿瘤细胞比卵黄囊肿瘤更大，更具多形性。(B) 胚胎性癌 CD30 阳性。肿瘤细胞 SALL4 和 OCT4 也呈阳性 (未显示)。

结论

胸腺肿瘤是一种罕见的肿瘤，包括多种组织学亚型。IHC 为胸腺肿瘤的鉴别诊断提供了实质性的帮助，特别是在小活检标本中。除了本章讨论的胸腺上皮肿瘤和生殖细胞肿瘤外，淋巴瘤、神经内分泌肿瘤和其他一些罕见的肿瘤也可能发生在胸腺。其他地方描述了与这些肿瘤的鉴别诊断 (Marx 等, 2015 年)。

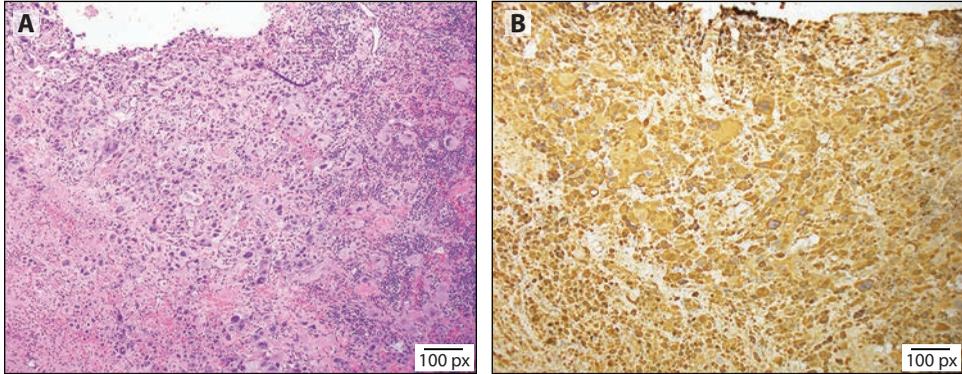


图 18-8. 绒毛膜癌 H&E 染色切片。(A) 常伴有出血的大的多形性多核细胞。(B) 绒毛膜癌 β -人绒毛膜促性腺激素 (β -HCG) 呈阳性, 而其他生殖细胞肿瘤标志物通常为阴性。

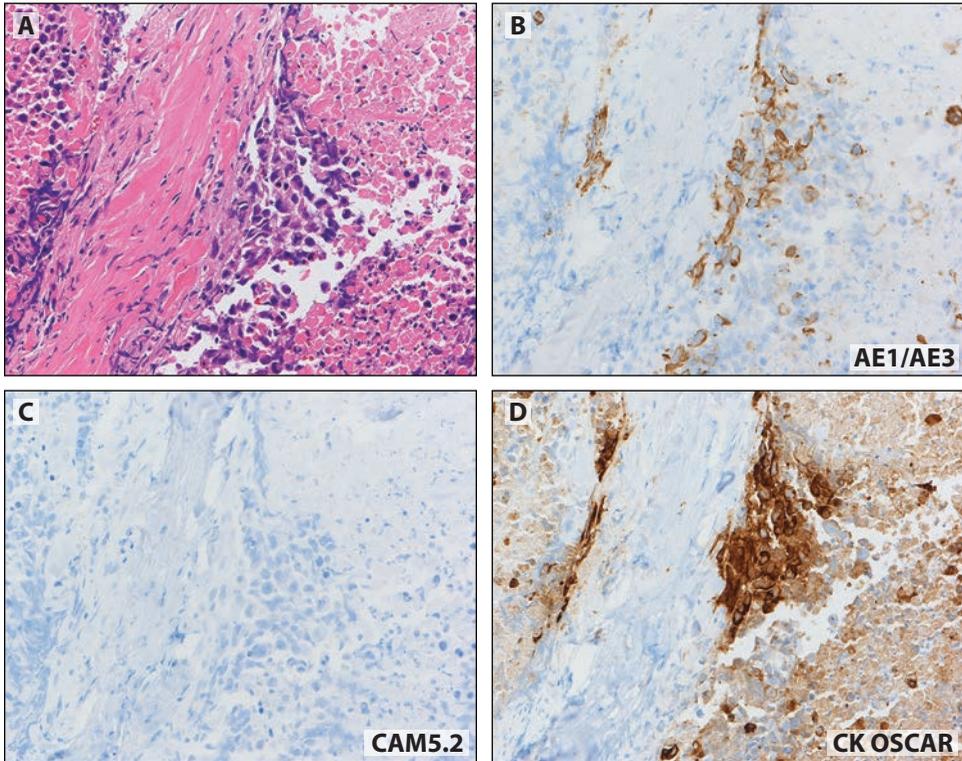


图 18-9. 精原细胞瘤细胞角蛋白染色。因为精原细胞瘤的细胞角蛋白呈阳性, 所以该阳性并不直接表明是上皮性肿瘤。

参考文献

Araki T, Nishino M, Gao W, et al. Anterior mediastinal masses in the Framingham Heart Study: prevalence and CT image characteristics. *Eur J Radiol Open*. 2015;2:26-31.

Asirvatham JR, Esposito MJ, Bhuiya TA. Role of PAX-8, CD5, and CD117 in distinguishing thymic carcinoma from poorly differentiated lung

carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2014;22:372-376.

Calaminus G, Joffe J. Germ cell tumors in adolescents and young adults. *Prog Tumor Res*. 2016;43:115-127.

Camparo P, Comperat EM. SALL4 is a useful marker in the diagnostic work-up of germ cell tumors in extra-testicular locations. *Virchows Arch*. 2013;462:337-341.

- Cheng L, Sung MT, Cossu-Rocca P, et al. OCT4: biological functions and clinical applications as a marker of germ cell neoplasia. *J Pathol.* 2007;211:1-9.
- Chu P, Wu E, Weiss LM. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases. *Mod Pathol.* 2000;13:962-972.
- Kriegsmann M, Muley T, Harms A, et al. Differential diagnostic value of CD5 and CD117 expression in thoracic tumors: a large scale study of 1465 non-small cell lung cancer cases. *Diagn Pathol.* 2015;10:210.
- Marx A, Chan JK, Coindre JM, et al. The 2015 World Health Organization classification of tumors of the thymus: continuity and changes. *J Thorac Oncol.* 2015;10(10):1383-1395.
- Marx A, Strobel P, Badve SS, et al. ITMIG consensus statement on the use of the WHO histological classification of thymoma and thymic carcinoma: refined definitions, histological criteria, and reporting. *J Thorac Oncol.* 2014;9(5):596-611.
- Ordóñez NG. Value of PAX 8 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Adv Anat Pathol.* 2012;19:140-151.
- Pomplun S, Wotherspoon AC, Shah G, et al. Immunohistochemical markers in the differentiation of thymic and pulmonary neoplasms. *Histopathology.* 2002;40:152-158.
- Salem M, Gilligan T. Serum tumor markers and their utilization in the management of germ-cell tumors in adult males. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2011;11:1-4.
- Siesling S, van der Zwan JM, Izarzugaza, I, et al. Rare thoracic cancers, including peritoneum mesothelioma. *Eur J Cancer.* 2012;48(7):949-960.
- Su XY, Wang WY, Li JN, et al. Immunohistochemical differentiation between type B3 thymomas and thymic squamous cell carcinomas. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8:5354-5362.
- Suster S, Moran CA, Dominguez-Malagon H et al. Germ cell tumors of the mediastinum and testis: a comparative immunohistochemical study of 120 cases. *Hum Pathol.* 1998;29(7):737-742.
- Toriyama A, Mori T, Sekine S, et al. Utility of PAX8 mouse monoclonal antibody in the diagnosis of thyroid, thymic, pleural and lung tumours: a comparison with polyclonal PAX8 antibody. *Histopathology.* 2014;65(4):465-472.
- Ulbright TM. Germ cell tumors of the gonads: a selective review emphasizing problems in differential diagnosis, newly appreciated, and controversial issues. *Mod Pathol.* 2005;18(suppl 2):S61-79.
- Ulbright TM, Tickoo SK, Berney DM, et al. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in testicular tumors: a report from the International Society of Urological Pathology consensus conference. *Am J Surg Pathol.* 2014;38(8):e50-59.
- Weissferdt A, Kalhor N, Moran CA. Thymomas with extensive clear cell component: a clinicopathologic and immunohistochemical study of nine cases. *Am J Clin Pathol.* 2016;146:132-136.
- Weissferdt A, Kalhor N, Rodriguez Canales J, et al. Primary mediastinal yolk sac tumors: an immunohistochemical analysis of 14 cases. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2019;27:125-133.
- Weissferdt A, Rodriguez-Canales J, Liu H, et al. Primary mediastinal seminomas: a comprehensive immunohistochemical study with a focus on novel markers. *Hum Pathol.* 2015;46(3):376-383.

免疫组织化学在预测性生物标志物检测中的应用

19

Keith M. Kerr, Ming Sound Tsao, Fred R. Hirsch 和 Ignacio I. Wistuba

简介

正如本书其他部分所广泛讨论的，免疫组织化学（IHC）在很大程度上与组织切片中蛋白质的检测有关。相反，除了少数例外，使肿瘤对分子靶向药物敏感的细胞致癌改变通常与 DNA 和/或 RNA 水平的基因改变有关。尽管如此，发挥致癌活性的是发生了改变的蛋白质，药物的靶点正是这种蛋白质，而不是改变的核酸序列。

人类表皮生长因子受体 2 (HER2) IHC 在 20 世纪 90 年代初引入乳腺癌检测是一个困难的过程，这使得许多肿瘤学家普遍对 IHC 保持警惕。非小细胞癌 (NSCC) 中，一些基于 IHC 的生物标志物（胸苷酸合成酶、表皮生长因子受体 [EGFR] 和 MET）时而出现时而消失，但其中一些可能会再次出现（见以下章节）。然而，最近，程序性死亡配体 1 (PD-L1) IHC 已经将这项技术坚定地确立为 NSCC 生物标志物检测的核心。

IHC 在检测 EGFR 改变方面是否有作用？

在寻找生物标志物以选择 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 治疗患者的过程中，针对 EGFR 野生型 (WT) 蛋白的 IHC 分析进行了研究，直到发现从这些药物中受益的是一组更特殊的患者，这些患者在 *EGFR* 的 TK 区域具有一系列激活和致敏突变 (Clark 等, 2006 年; Eberhard 等, 2008 年)。在 FLEX 试验中，EGFR WT IHC 有效地选择了更有可能受益于抗 EGFR 单克隆抗体西妥昔单抗的患者 (Douillard 等, 2014 年)，但该药物未能获得监管部门的批准，因此 EGFR WT IHC 检测从未进入过常规临床实践。该生物标志物也用于另一种抗 EGFR 单克隆抗体治疗药物耐昔妥珠单抗的试验，但未能证明有效的患者选择 (Diaz-Serrano 等, 2019 年)。

抗体可用于 IHC 检测，以检测 *EGFR* L858R21 号外显子突变的突变 *EGFR* 蛋白和某些 19 号外显子缺失突变蛋白。虽然抗 L858R 蛋白的敏感性和特异性是可以接受的，但临床实践中发现的 19 号外显子缺失的范围使得抗体无法识别所有突变的蛋白，因为抗体只检测到 19 号外显子中的 15 个碱基对缺失，而没有其他致敏缺失 (Cooper 等, 2013 年; Chen 等, 2014 年)。因此，所有 19 号外显子缺失突变的敏感性都很低，并且低于临床实践中常规可接受的水平。然而，这些 IHC 检测用于不可能进行突变序列检测的临床实践中，或者突变检测的周转时间较长导致需要 1 至 2 天周转时间的 IHC 检测的临床实践中 (图 19-1)。在美国病理学家学会 (CAP)、国际肺癌研究协会 (IASLC) 和分子病理学协会 (AMP) 给出的最新版本的分子检测指南中，不建议将这种使用 IHC 进行 *EGFR* 突变检测的方法作为常规做法 (Lindeman 等, 2018 年)。

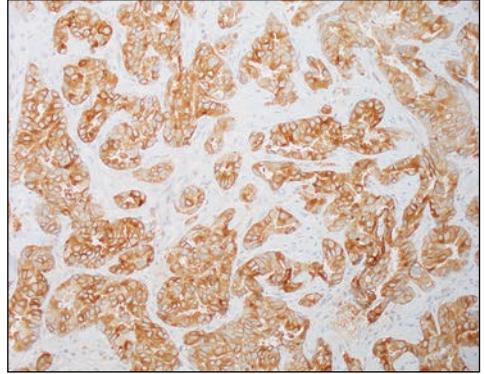


图 19-1. 一位 86 岁妇女乳房核心活检发现转移性肺腺癌。肿瘤 *EGFR* 19 号外显子缺失突变特异性抗体阳性 (E746_A750del- clone 6B6, Roche Tissue Diagnostics [罗氏公司组织诊断])。

简要回答

EGFR WT IHC 目前没有常规推荐的临床用途。在特定情况下偶尔会使用 IHC 来检测有限范围的突变 *EGFR* 蛋白。

IHC 在检测带有 *ALK* 基因重排的肿瘤中的作用是什么？

间变性淋巴瘤激酶 (*ALK*) IHC 在检测 *ALK* 基因重排患者中起着关键作用。它有时被用作筛查工具，但当 VENTANA *ALK* (D5F3) CDx 检测被用作治疗决定测试时，它也被美国食品和药物管理局 (FDA) 接受，而没有实际的直接证据证明 *ALK* 基因重排 (Lindeman 等, 2018 年)。

携带 *ALK* 基因重排的 NSCC 肿瘤细胞胞浆中的 *ALK* 蛋白略有升高。除一些神经组织外，*ALK* 蛋白在正常成人组织中不存在 (Hallberg 和 Palmer, 2013 年)。因此，*ALK*-IHC 筛查被认为是一种识别 NSCC 患者的快速、廉价的方法，提交这些患者的样本以进行确认性荧光原位杂交 (FISH) 或其他分子检测。这有助于实验室不必进行大量昂贵的 FISH 检测，就可以确定仅在大约 4% 的测试人群中所存在的分子异常。*ALK1* 克隆通常用于诊断 *ALK* 蛋白水平较高的间变性淋巴瘤，研究证明，在 *ALK* 重排的 NSCC 中发现较低水平的 *ALK* 蛋白不够敏感 (Mino-Kenudson 等, 2010 年)。采用 5A4 和 D5F3 抗 *ALK* 克隆的检测方法已经得到开发，几项研究表明，这些检测方法可用于筛查 NSCC 样本人群和识别 *ALK* 基因重排病例 (图 19-2

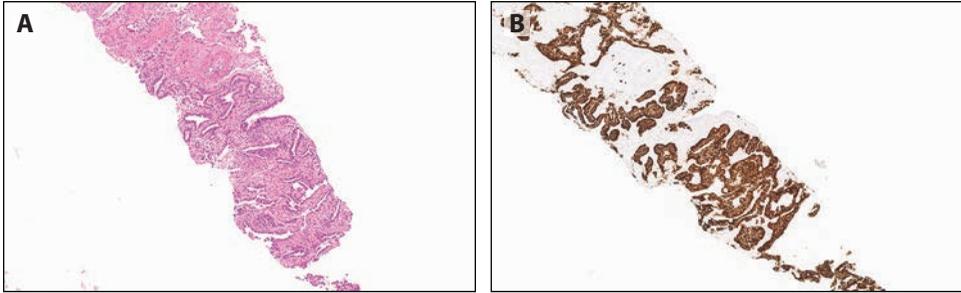


图 19-2. (A) 肺核心活检显示腺泡型腺癌。(B) 该肿瘤存在间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 基因重排, 实验室建立的 5A4 克隆检测显示 ALK 免疫组化 (IHC) 呈强阳性。

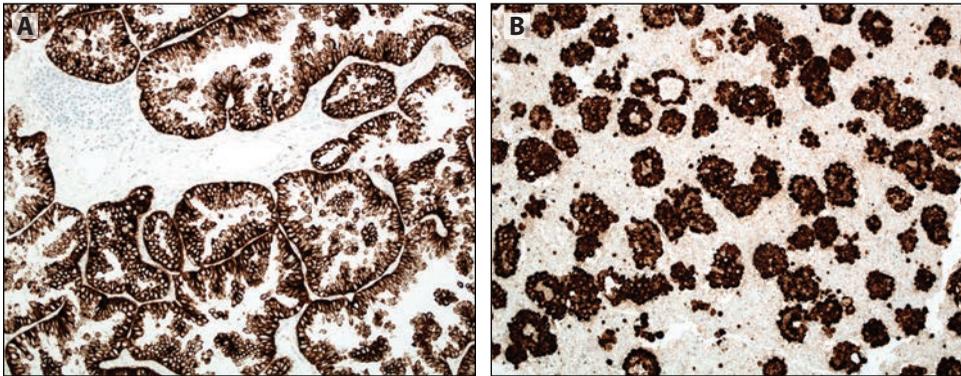


图 19-3. 肺腺癌间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 在 (A) 手术活检和 (B) 胸腔积液细胞块中用 VENTANA ALK (D5F3) CDx 检测呈强而弥漫染色。荧光原位杂交 (FISH) 检测均显示 ALK 基因重排。

和 19-3) (Tsao 等, 2016 年)。尽管敏感性一般来说是足够的, 取决于任何特定实验室开发的检测 (LDT) 的检测化学, 但特异性较低, 特别是当 IHC 阳性处于较低水平时 (Tsao 等, 2013 年; Blackhall 等, 2014 年; von Laffert 等, 2014 年; Minca 等, 2013 年; Selinger 等, 2013 年; Nitta 等, 2013 年)。为此, 最好将这种检测作为筛查工具, 选择患者进行确认性 FISH 或其他分子检测 (Lindeman 等, 2018 年)。然而, 癌症护理团队可能会验证他们自己的 ALK IHC LDT 检测。如果这项检测具有可接受的高特异性, 且得到相关监管机构的准许, 他们可能会选择直接使用它来做出治疗决策。然而, 应该指出的是, 在一些外部质量保证计划中, ALK LDTs 测试的结果还达不到可接受的结果 (Ibrahim 等, 2016 年)。VENTANA ALK (D5F3) CDx 检测方法具有高敏感性和特异性, 经批准可用于晚期 NSCC 患者 ALK TKIs 的治疗选择。该检测方法在检测系统中采用了酪酰胺放大步骤, 消除了 ALK 重排的 NSCC 样本染色的动态范围, 产生了有效的二进制读数: 阳性或阴性。VENTANA ALK (D5F3) CDx 检测与 NSCC 中 ALK 基因重排的存在高度相关 (Nitta 等, 2013 年)。

在 NSCC 的 ALK 重排测试过程中, 出现了一个有趣的转折, 现在来自学术研究和 Alex 试验的证据表明, 与重排呈阳性但 IHC 呈阴性的患者相比, 拥有 ALK 基因

重排的肿瘤患者和 IHC 阳性的肿瘤患者显示出更高的应答率 (van der Wekken 等, 2017 年; Mok 等, 2017 年)。这是有道理的, 因为蛋白质是致癌的部分, 也是药物的靶点。同时, 这也表明 ALK IHC 在经下一代测序 (NGS) 检测到 *ALK* 基因重排的患者中可能发挥作用 (见“结论”)。

最后, 如上所述, 在没有 FISH 或分子确认的情况下使用 ALK IHC 时要注意。在没有基因重排的情况下, 高达 20% 的高级别肺神经内分泌癌有时表现为强烈的弥漫性 ALK IHC 阳性 (图 19-4)。偶尔, 基于甲状腺转录因子 1 (TTF1) IHC 阳性, 这类肿瘤可能会被误诊为腺癌, 特别是在小样本、形态学有问题的样本中 (Kondoh 等, 2019 年)。

简要回答

ALK IHC 在晚期 NSCC 患者 ALK 预测生物标志物检测中起着关键作用。

IHC 在检测带有 *ROS1* 基因重排的肿瘤中的作用是什么?

与 ALK 检测相比, *c-ros* 肿瘤基因 1 (*ROS1*) 基因重排检测不太成熟。目前还没有配套的诊断 *ROS1* IHC 检测可用, 尽管 *ROS1* IHC 的使用已得到很好的认可和推荐, 但该方法仅应用作丰富检测人群的筛查工具, 以进行 *ROS1* 基因重排的 FISH 或分子检测 (Lindeman 等, 2018 年; Tsao 等, 2016 年)。

因此, 根据定义, 目前使用的所有 *ROS1* IHC 测试都是 LDTs。D4D6 克隆在临床上使用频率较高。已公布的数据表明, 有可能开发一种足够灵敏的分析方法 (图 19-5), 但特异性通常低于最好的 ALK IHC 检测方法 (Bubendorf 等, 2016 年; Selinger 等, 2017 年)。*ROS1* 蛋白水平在重排肿瘤的不同部位可能是不同的, 这可能会导致活检抽样错误, 而且在存在某些重排的情况下, *ROS1* 的表达可能非常低, 这使得一些融合基因有可能被 IHC 筛查遗漏。相反, 在没有 *ROS1* 融合的情况下, 一些腺癌可能表现为局灶性中到

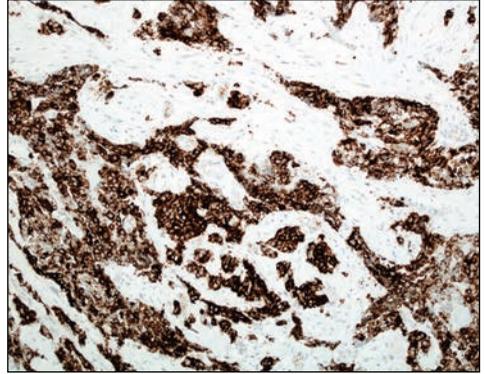


图 19-4. 经 VENTANA ALK (D5F3) CDx 检测小细胞癌支气管内膜活检标本呈阳性。荧光原位杂交 (FISH) 检测未见重排。

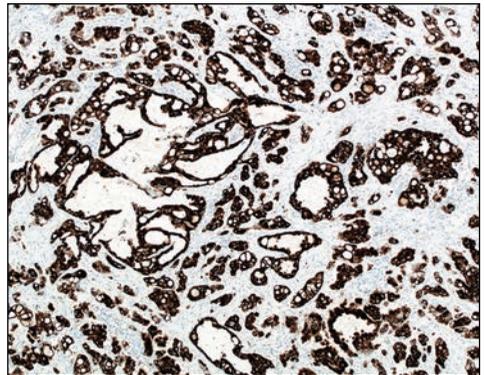


图 19-5. 用基于 D4D6 的方法对肺腺癌组织中 *c-ros* 癌基因 1 (*ROS1*) 进行弥漫染色。该病例在荧光原位杂交 (FISH) 检测中显示 *ROS1* 基因重排。

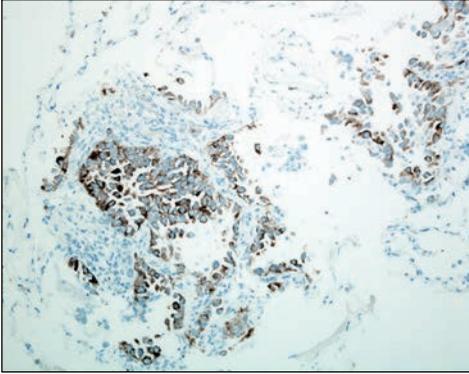


图 19-6. 肺核心活检显示以 D4D6 为基础的 *c-ros* 癌基因 1 (*ROS1*) 阳性染色的腺癌。荧光原位杂交 (FISH) 检测未见基因重排。

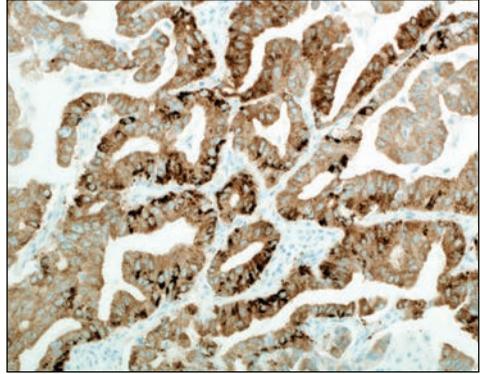


图 19-7. 带有 *c-ros* 癌基因 1 (*ROS1*) 基因重排的肺腺癌，使用 SP384 克隆进行 *ROS1* 染色呈阳性。这个病例很好地显示了这类病例中常见的染色强度和颗粒性的变异性。

强阳性 (图 19-6)。数据显示，在 *ROS1* IHC 阳性病例中，可能只有 20% 的病例发现 *ROS1* 基因重排 (Tsao 等，2016 年)。最近，抗 *ROS1* SP384 克隆已经面世 (罗氏组织诊断)，也是一种有效的筛查工具 (图 19-7) (Huang 等，2019 年；Conde 等，2019 年；Hofman 等，2019 年)。

到目前为止，还没有数据表明治疗反应和 IHC 阳性之间的关系，但这肯定值得研究。

简要回答

ROS1 IHC 是一种成熟的技术，用于富集晚期 NSCC 患者群体，以通过替代分子方法确认 *ROS1* 基因重排。

IHC 在识别 *NTRK1-3* 基因重排的肿瘤中是否起作用？

与以前的改变相比，在 NSCC 中检测神经营养酪氨酸受体激酶 (*NTRK*) 融合基因的经验更少，但 IHC 阳性筛查范式再次出现。情况尤其如此，因为 *NTRK* 重排在 NSCC 中极其罕见 (0.1%-1%) (Farago 等，2018 年)，对于许多实验室来说，例如使用独立的 FISH 检测来筛查所有相关病例是不可行的。数据有限，但使用克隆 EPR17341 (图 19-8) (Abcam) 的泛 TRK IHC 已显示与通过其他方式发现的 *NTRK1-3* 基因重排的存在相关，并代表了一种可行的筛查策略 (Hechtman 等，2017 年)。针对 NSCC 生物标志物检测这一困难领域的方法仍在开发中，但一些建议现已公布 (Penault-Llorca 等，2019 年；Marchio 等，2019 年)。NTRK IHC 阳性也可能出现在没有基因重排的神经内分泌肿瘤中 (图 19-9) (K.M.Kerr, 个人观察)。

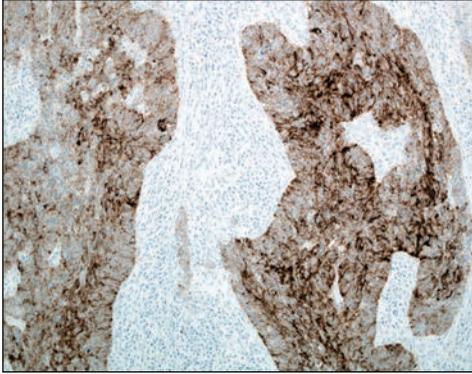


图 19-8. 肺腺癌 pan-TRK 免疫组化染色呈阳性。

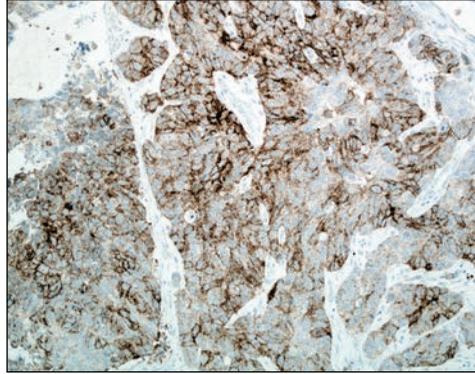


图 19-9. 肺大细胞神经内分泌癌显示泛 TRK 免疫组织化学 (IHC) 阳性, 但无神经营养酪氨酸受体激酶 (NTRK) 基因重排的证据。

简要回答

辅助检测 *NTRK1-3* 基因重排的 IHC 测试是一项新兴技术, 但没有确定的作用。

IHC 检测在任何其他可靶向基因组改变的预测性生物标志物检测中是否有任何作用?

许多国家批准将 B-RAF 原癌基因蛋白 (BRAF) 和 MEK 激酶抑制剂用于 BRAF V600E 突变患者 (Planchard 等, 2017 年; Planchard 和 Johnson, 2018 年; Leonetti 等, 2018 年)。已批准的用于识别接受此类治疗的患者的方法是某种形式的测序。用于 IHC 检测的抗体可用于鉴定 V600E 突变蛋白。虽然这些药物有时用于恶性黑色素瘤患者, 但不推荐用于 NSCC 患者 (Lindeman 等, 2018 年)。

MET 的 IHC 检测被引入作为一种假定的选择性生物标志物, 与抗 MET 单克隆抗体治疗性奥纳妥珠单抗一起使用 (Spigel 等, 2017 年)。尽管基于 SP44 克隆的分析显示, MET 的高水平表达似乎确实丰富了患者的预后, 但该疗法未能获得监管部门的批准。最近, NSCC 中 MET 基因在 2 种特殊情况下再次成为人们关注的药物靶点: 从新开始的 MET 基因扩增, 或者更重要的是, 在 EGFR TKI 治疗后复发的耐药机制的背景下, 作为 MET 靶向治疗的生物标志物 (Salgia, 2017 年; Wang 等, 2019 年)。这种治疗方法也正在研究中, 患者的肿瘤携带 MET 基因外显子 14 及其周围的广泛突变, 这些突变导致转录和致癌驱动过程中跳过外显子 14, 因为 MET 蛋白的降解受损 (Salgia, 2017 年; Paik 等, 2015 年)。在这两种情况下, 尤其是在 MET 14 号外显子跳跃的情况下, 人们已经推断, 蛋白质水平的升高可能是一种 IHC 标志物, 可以用于筛查肿瘤以进行 MET 靶向的分子检测。到目前为止, 文献似乎表明, 尽管 MET 的 IHC 阳性与基因组变化的存在有关, 但迄今所研究的 IHC 方法不够敏

感和特异，不足以用作筛查工具，许多病例将被遗漏（Baldacci 等，2020 年；Guo 等，2019 年）。在这种情况下，MET IHC 在 NSCC 的未来是不确定的。

虽然 HER2-IHC 作为乳腺癌的预测性诊断试验已经得到了很好的证实，但目前它在肺癌检测中还没有被批准的作用。HER2 突变在肺癌中很少见，但蛋白过度表达更为常见。最近的数据提高了对这些患者群体进行有效靶向治疗的可能性（Smit 等，2020 年）。虽然 HER2 IHC 不是当前测试方案的一部分，但这种情况在未来可能会改变。

RET 原癌基因 (*RET*) 的基因重排是肺癌治疗的一个很有前途的靶点，尽管很少见，但有几种新的药物能有效地对抗出现这种改变的 NSCC。按照已经为描述的 ALK、ROS1 和 NTRK 检测的范式，RET IHC 也有意义和可能的价值，但目前还没有数据。

NRG1 基因重排是在 NSCC 病例中发现的，特别是在侵袭性粘液腺癌中，EGFR TKI 治疗显示出了良好的疗效。在这些病例中已发现 *NRG1* 蛋白的 IHC 阳性，但这种检测的作用尚未确定（Nagasaka 和 Ou，2019 年；Trombetta 等，2018 年）。

在小细胞癌中，*DLL3* 的 IHC 检测最近被作为抗体-细胞毒药物偶联物罗伐珠单抗 Tesiine 的富集策略（Morgensztern 等，2019 年）。由于试验结果令人失望和相当大的毒性，该药物目前没有获得监管部门的批准（Morgensztern 等，2019 年；Mullard，2019 年）。

简要回答

如上讨论，IHC 测试在识别具有其他可靶向改变的患者方面没有既定的作用。

PD-L1 IHC 在选择 NSCC 患者进行免疫治疗方面的作用是什么？

PD-L1 的 IHC 现在已经在 III 和 IV 期 NSCC 的常规生物标志物检测算法中得到了很好的确立。这个主题已经在其他地方得到了广泛的审查，包括在 *IASLC 肺癌 PD-L1 免疫组织化学检测图谱*（Tsao 等，2017 年）中。在这里，仅对一些要点进行简要回顾。

PD-L1 IHC 的表达一直显示出能够丰富 NSCC 患者群体，从而受益于抗程序性细胞死亡蛋白 1 (PD1) 或 PD-L1 药物。在任何强度的细胞膜上表达 PD-L1 的肿瘤细胞所占比例越大，患者受益的可能性就越高（图 19-10）。在 NSCC 患者中研究的大多数药物的 PD-L1 IHC 生物标志物只关注在肿瘤细胞中的表达，但阿替利珠单抗是基于 PD-L1 的 SP142 克隆和 PD-L1 在肿瘤和免疫细胞中的表达而开发的（图 19-11）（Fehrenbacher 等，2016 年）。

尽管 PD-L1 表达水平和临床结果之间的剂量-反应关系在二线或更高免疫疗法的临床试验中得到了保留，但在这种情况下，只有帕博利珠单抗 (pembrolizumab) 的处方需要 PD-L1 肿瘤比例评分 (TPS) 大于或等于 1%（Herbst 等，2016 年）。其他获批的抑制剂可以不考虑 PD-L1 的表达；这种情况下的测试被认为是互补的（Brahmer 等，2015 年；Borghaei 等，2015 年；Fehrenbacher 等，2016 年）。使用一线帕博利珠

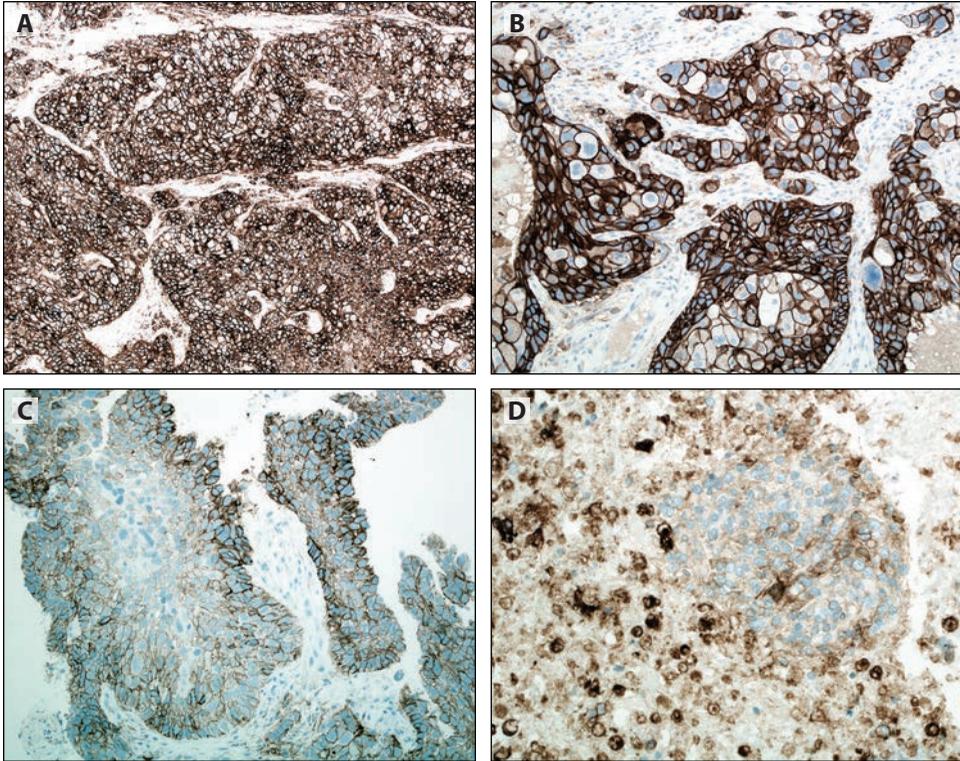


图 19-10. (A 和 B) 低分化腺癌表现为强烈而广泛的膜编程死亡配体 1 (PD-L1) 阳性。(C) 鳞状细胞癌表现为肿瘤细胞膜可变染色的特征性模式。转移性非小细胞癌 (NSCC) 在支气管内超声 (EBUS) 细胞学细胞块中显示非常局灶性肿瘤细胞染色, 但也 (D) 染色于巨噬细胞和细胞碎片。用 Dako 22C3 pharmDx 法染色。

姆单抗 (pembrolizumab) 单一疗法需要 PD-L1 IHC TPS 达到 50% 或更高, 22C3 和 SP263 检测 (参见以下段落) 都被批准为该设置中的配套诊断 (Reck 等, 2016 年; VENTANA PD-L1 [SP263] 检测)。无论 PD-L1 表达情况如何, 一线帕博利珠单抗 (pembrolizumab) 和含铂双药化疗的组合应用获得了监管部门的批准, 尽管根据 PD-L1 IHC TPS 的不同, 结果存在很大差异; 而且该诊断方法被普遍认为是对个别患者进行细微治疗选择的有用的补充诊断方法 (Mok 等, 2019 年; Peters 等, 2019b)。在第三阶段 NSCC 中, PD-L1 抑制剂度伐利尤单抗 (durvalumab) 被批准在放化疗后使用。在美国, 这一批准与 PD-L1 表达无关, 尽管受益的可能性更大与 PD-L1 TPS 更高相关 (Antonia 等, 2017, 2018 年)。在欧洲, 对太平洋试验数据的一项有争议的事后分析显示, 低于 1% 的 TPS 队列中没有总体生存益处, 因此欧洲药品管理局 (European Medicines Agency) 要求 PD-L1 IHC 测试和 TPS 大于或等于 1% 的患者使用 Pacific 方案 (Peters 等, 2019a)。

包括前面提到的批准适应症在内的 5 种抗 PD1 或 PD-L1 药物处于开发的最高级阶段, 它们是帕博利珠单抗 (pembrolizumab)、纳武单抗 (nivolumab)、度伐利尤单抗 (durvalumab)、阿替利珠单抗 (atezolizumab) 和阿维单抗 (avelumab)。其中每一个都是通过分别使用抗 PD-L1 IHC 克隆 22C3、28-8、SP263、SP142 和 73-10 进行

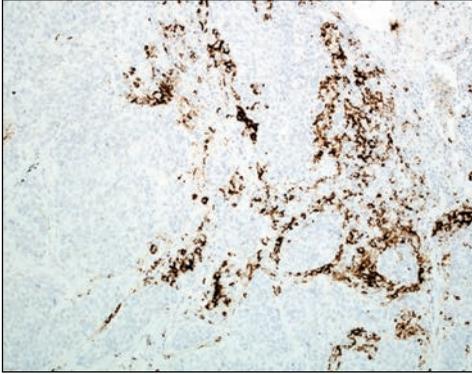


图 19-11. 在肺实性腺癌周围的间质免疫细胞中，程序性死亡配体 1 (PD-L1) 染色明显，未见肿瘤细胞阳性。用 VENTANA PD-L1 (SP142) 染色。

PD-L1 IHC 检测的临床试验而发展起来的。不同的 PD-L1 检测方法的多样性在肿瘤学家中引起了一些困惑，在病理学上也引起了恐慌。病理学面临的主要难题是要做哪些检查的问题？大多数实验室无法合理地提供所有这些化验，那么是否可以进行单次检测，然后将结果用于所有之前的临床适应症？这些经过试验验证的检测方法有多大的相似性？包括 IASLC Blueprint 研究在内的多项化验比较研究表明，22C3、28-8 和 VENTANA PD-L1 (SP263) 检测在评估 NSCC TPS 方面的一致性可以接受 (Hirsch 等, 2017 年; Scheel 等, 2016 年; Ratcliffe 等, 2017 年; Hendry 等, 2018 年; Adam 等, 2018

年; Tsao 等, 2018 年; Rimm 等, 2017 年; Torlakovic 等, 2020 年)。VENTANA PD-L1 (SP142) 检测一直显示较低的 TPS 评分，而 73-10 检测的敏感性明显更高；在阿维单抗 (avelumab) 试验中，80% 的 TPS 被认为等同于 22C3 检测的 50% (Barlesi 等, 2018 年)。还有一些新出现的数据表明，VENTANA PD-L1 (SP263) 检测实际上可能比 22C3 检测更敏感，尽管其程度和意义仍不清楚 (Hendry 等, 2018 年; Munari 等, 2018 年)。

一些实验室将使用他们自己的 PD-L1 LDT 检测，而不是商业试验验证的检测。虽然这些 LDT 可以达到试验验证化验的技术性能 (Adam 等, 2018 年; Neuman 等, 2016 年; Roge 等, 2017 年)，但不能保证他们会这样做，并且需要严格的内部和外部质量保证验证 (Cheung 等, 2019 年)。

细胞学类型的样本没有在上述任何临床试验或商业化开发中使用。因此，人们一直不愿使用细胞学类型的材料进行临床 PD-L1 检测。然而，现在有大量文献表明，使用试验验证的分析方法，将细胞学与来自同一肿瘤的组织活检样本进行比较，对 TPS 进行 PD-L1 评估具有可接受的同等性能 (Heymann 等, 2017 年; Buttner 等, 2017 年; Skov 和 Skov, 2017 年; Gosney 等, 2020 年; Yatabe 等, 2019 年)。细胞学类型的样本在固定、处理和准备染色的方式上存在差异，因此需要仔细关注这些分析前的步骤，而标准化将有助于将这些研究观察结果转化为常规临床实践。建议使用细胞学类型样本进行临床 PD-L1 检测的实验室对其内部程序进行内部验证，以确保同等性能。

简要回答

尽管正在积极寻找用于 NSCC 免疫疗法的替代生物标志物，但 PD-L1 IHC 似乎极有可能继续作为抗 PD1 和 PD-L1 免疫治疗所需的 NSCC 临床样本评估的一部分。然而，关于不同的检测方法、样本类型、肿瘤与免疫细胞中的表达以及 IHC 数据应如何用于临床决策等问题仍然存在。

IHC 能否用于评估肿瘤微环境以选择患者进行免疫治疗？

IHC 有可能在细胞水平上评估肿瘤炎症的程度，或评估其他可能暗示 NSCC 对当前免疫疗法的敏感性或耐药性的调节分子。然而，相关数据相对较少，而且所有这些因素都还处于研究阶段，因为没有一个因素被批准用于治疗。CD8 IHC 已被用于评估肿瘤炎症（Conde 等，2018 年），多重 IHC 正在探索作为在同一肿瘤样本中同时评估多个细胞因子的一种方式（Lu 等，2019 年）。

简要回答

未来如何评估和使用肿瘤微环境因素仍有待确定。这必须基于可靠的证据和临床试验。

结论

IHC 是一种相对简单、廉价但功能强大的工具，用于直接研究临床 NSCC 样本中蛋白质的状态，通常是致癌成分和药物靶点。NSCC 个性化治疗中的分子革命主要集中在基因组改变上，过多的突变和其他基因组数据在科学上具有诱惑力和说服力。然而，前面的讨论清楚地表明，使用 IHC 的蛋白质组学评估在 NSCC 诊断中仍然起着关键作用，以确保患者接受最有效的治疗。随着我们 NSCC 患者肿瘤中临床相关生物标志物数量的增加，使用多路并行 NGS 作为基因组生物标志物信息、突变、融合基因甚至基因拷贝数的“一站式商店”的吸引力也在增加。随着 NGS 成为标准的分子测试平台，上述 IHC 的使用是否会减少或消失？目前在一些中心的实践肯定是这样的，但是关于与 *ALK* 基因重排相关的蛋白质表达的重要性的数据又如何呢？有没有可能出现一种范式，即 NGS 检测到的融合基因需要展示蛋白质，以便更好地预测药物疗效？这是一个中肯而合乎逻辑的问题。制药公司赞助的试验或科学界是否会提供数据给我们一个答案还有待观察。

参考文献

- Adam J, Le Stang N, Rouquette I, et al. Multicenter harmonization study for PD-L1 IHC testing in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2018;29(4):953-958.
- Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Durvalumab after chemoradiotherapy in stage III non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2017;377(20):1919-1929.
- Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Overall survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;379(24):2342-2350.
- Baldacci S, Figeac M, Antoine M, et al. High MET overexpression does not predict the presence of MET exon 14 splice mutations in MSCLC: results from the IFCT PREDICT.amm study. *J Thorac Oncol*. 2020;15(1):120-124.
- Barlesi F, Vansteenkiste J, Spigel D, et al. Avelumab versus docetaxel in patients with platinum-treated advanced non-small-cell lung cancer (JAVELIN Lung 200): an open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2018;19(11):1468-1479.
- Blackhall FH, Peters S, Bubendorf L, et al. Prevalence and clinical outcomes from patients with ALK-positive resected stage I to III adenocarcinoma: results from the European Thoracic Oncology Platform Lungscape Project. *J Clin Oncol*. 2014;32(25):2780-2878.
- Borghaei H, Ares-Paz L, Horn L, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(17):1627-1639.

- Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(2):123-135.
- Bubendorf L, Buttner R, Al-Dayel F, et al. Testing for ROS1 in non-small lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch*. 2016;469(5):489-503.
- Buttner R, Gosney JR, Skov BG, et al. Programmed death ligand-1 immunohistochemistry testing: a review of analytical assays and clinical implementation in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2017;35(34):3867-3876.
- Chen Z, Liu HB, Yu CH, et al. Diagnostic value of mutation-specific antibodies for immunohistochemical detection of epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(9):e105940.
- Cheung CC, Lim HJ, Garatt J, et al. Diagnostic accuracy in fit-for-purpose PD-L1 testing. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(4):251-257.
- Clark GM, Zborowski DM, Culbertson JL et al. Clinical utility of epidermal growth factor receptor expression for selecting patients with advanced non-small cell lung cancer for treatment with erlotinib. *J Thorac Oncol*. 2006;1(8):837-846.
- Conde E, Caminoa A, Dominguez C, et al. Aligning digital CD8+ scoring and targeted next-generation sequencing with programmed death ligand 1 expression: a pragmatic approach in early-stage squamous cell lung carcinoma. *Histopathology*. 2018;72(2):270-284.
- Conde E, Hernandez S, Martinez R, et al. Assessment of a new ROS1 immunohistochemistry clone (SP384) for the identification of ROS1 rearrangements in patients with non-small cell lung carcinoma: the ROSING Study. *J Thorac Oncol*. 2019;14(12):2120-2132.
- Cooper WA, Yu B, Yip PY, et al. EGFR mutant-specific immunohistochemistry has high specificity and sensitivity for detecting targeted activating EGFR mutations in lung adenocarcinoma. *J Clin Pathol*. 2013;66(9):744-748.
- Diaz-Serrano A, Sanchez-Torre A, Paz-Ares L. Nectinmab for the treatment of advanced non-small-cell lung cancer. *Future Oncol*. 2019;15(7):705-716.
- Douillard JY, Pirker R, O'Byrne KJ, et al. Relationship between EGFR expression, EGFR mutation status, and the efficacy of chemotherapy plus cetuximab in FLEX study patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2014;9(5):717-724.
- Eberhard DA, Giaccone G, Johnson BE, et al. Biomarkers of response to epidermal growth factor receptor inhibitors in Non-Small-Cell Lung Cancer Working Group: standardization in the clinical trial setting. *J Clin Oncol*. 2008;26(6):983-994.
- Farago AF, Taylor MS, Doebele RC, et al. Clinicopathologic features of non-small-cell lung cancer harbouring an NTRK gene fusion. *JCO Precis Oncol*. 2018. doi:10.1200/PO.18.00037
- Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomized controlled trial. *Lancet*. 2016;387(10030):1837-1846.
- Gosney JR, Boothman AM, Ratcliffe M, et al. Cytology for PD-L1 testing: a systematic review. *Lung Cancer*. 2020;141:101-106.
- Guo R, Berry LD, Aisner DL, et al. MET IHC is a poor screen for MET amplification of MET exon 14 mutations in lung adenocarcinomas: data from tri-institutional cohort of the Lung Cancer Mutation Consortium. *J Thorac Oncol*. 2019;14(9):1666-1671.
- Hallberg B, Palmer RH. Mechanistic insight into ALK receptor tyrosine kinase in human cancer biology. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(10):685-700.
- Hechtman JF, Benayed R, Hyman DM, et al. Pan-TRK immunohistochemistry is an efficient and reliable screen for the detection of NTRK fusions. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(11):1547-1551.
- Hendry S, Byrne DJ, Wright GM, et al. Comparison of four PD-L1 immunohistochemical assays in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):367-376.
- Herbst RS, Baas P, Kim DW, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387(10027):1540-1550.
- Heymann JJ, Bulman WA, Swinarski D, et al. PD-L1 expression in non-small cell lung carcinoma: comparison among cytology, small biopsy, and surgical resection in specimens. *Cancer Cytopathol*. 2017;125(12):896-907.
- Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, et al. PD-L1 immunohistochemistry assays for lung cancer: results from phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC assay comparison project. *J Thorac Oncol*. 2017;12(2):208-222.
- Hofman V, Rouquette I, Long-Mira E, et al. Multicenter evaluation of a novel ROS1 immunohistochemistry assay (SP384) for detection of ROS1 rearrangements in a large cohort of lung adenocarcinoma patients. *J Thorac Oncol*. 2019;14(7):1204-1212.
- Huang RSP, Smith D, Le CH, et al. Correlation of ROS1 immunohistochemistry with ROS1 fusion status determined by fluorescence in situ hybridization. *Arch Pathol Lab Med*. Published online September 11, 2019. doi:10.5858/arpa.2019-0085-OA
- Ibrahim M, Parry S, Wilkinson D, et al. ALK immunohistochemistry in NSCLC: discordant

- staining can impact patient treatment regimen. *J Thorac Oncol.* 2016;11(12):2241-2247.
- Kondoh C, Horio Y, Hayashi Y, et al. Anaplastic lymphoma kinase expression in small-cell lung cancer. *Histopathology.* 2019;75(1):20-28.
- Leonetti A, Facchinetti F, Rossi G, et al. BRAF in non-small cell lung cancer (NSCLC): pickaxing another brick in the wall. *Cancer Treat Rev.* 2018;66:82-94.
- Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol.* 2018;13(3):323-358.
- Lu S, Stein JE, Rimm DL, et al. Comparison of biomarker modalities for predicting response to PD-1/PD-L1 checkpoint blockade: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2019;5(8):1195-1204.
- Marchio C, Scaltriti M, Ladanyi M, et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research. *Ann Oncol.* 2019;30(9):1417-1427.
- Minca EC, Portier BP, Wang Z, et al. ALK status testing in non-small cell lung carcinoma: a correlation between ultrasensitive IHC and FISH. *J Mol Diagn.* 2013;15(3):341-346.
- Mino-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, et al. A novel, highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. *Clin Cancer Res.* 2010;16(5):1561-1571.
- Mok T, Peters, S, Camidge DR, et al. Patients with ALK IHC-positive/FISH-negative NSCLC benefit from ALK TKI treatment: response data from the global ALEX trial. *J Thorac Oncol.* 2017;12(11):S1739-S1749.
- Mok TSK, Wu YL, Kudaba I, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-024): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2019;393(10183):1819-1830.
- Morgensztern D, Besse B, Greillier L, et al. Efficacy and safety of rovalpituzumab tesirine in third-line and beyond patients with DLL3-expressing, relapsed/refractory small-cell lung cancer: results from the phase II TRINITY study. *Clin Cancer Res.* 2019;25(23):6958-6966.
- Mullard A. Cancer stem cell candidate Rova-T discontinued. *Nat Rev Drug Discov.* 2019;18(11):814.
- Munari E, Rossi G, Zamboni G, et al. PD-L1 assays 22C3 and SP263 are not interchangeable in non-small cell lung cancer when considering clinically relevant cutoffs: an interclone evaluation by differently trained pathologists. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(10):1384-1389.
- Nagasaka M, Ou SI. Neuregulin 1 fusion-positive NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2019;14(8):1354-1359.
- Neuman T, London M, Kania-almog J, et al. A harmonization study for the use of 22C3 PD-L1 immunohistochemical staining on Ventana's platform. *J Thorac Oncol.* 2016;11(11):1863-1868.
- Nitta H, Tsuta K, Yoshida A, et al. New methods for ALK status diagnosis in non-small-cell lung cancer: an improved ALK immunohistochemical assay and a new, Brightfield, dual ALK IHC-in situ hybridization assay. *J Thorac Oncol.* 2013;8(8):1019-1031.
- Paik PK, Drilon A, Fan PD, et al. Response to MET inhibitors in patients with stage IV lung adenocarcinomas harbouring MET mutations causing exon 14 skipping. *Cancer Discov.* 2015;5(8):842-849.
- Penault-Llorca F, Rudzinski ER, Sepulveda AR. Testing algorithm for identification of patients with TRK fusion cancer. *J Clin Pathol.* 2019;72(7):460-467.
- Peters S, Dafni U, Boyer M, et al. Position of a panel of international lung cancer experts on the approval decision for use of durvalumab in stage III non-small-cell lung cancer (NSCLC) by the Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). *Ann Oncol.* 2019;30(2):161-165. (a)
- Peters S, Reck M, Smit EF, et al. How to make the best use of immunotherapy as first-line treatment of advanced/metastatic non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2019;30(6):884-896. (b)
- Planchard D, Johnson BE. BRAF adds an additional piece of the puzzle to precision oncology-based treatment strategies in lung cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(7):796-797.
- Planchard D, Smit EF, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAF^{V600E}-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(10):1307-1316.
- Ratcliffe MJ, Sharpe A, Midha A, et al. Agreement between programmed cell death ligand-1 diagnostic assays across multiple protein expression cutoffs in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2017;23(14):3585-3591.
- Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2016;375(19):1823-1833.
- Rimm DL, Han G, Taube JM, et al. A prospective, multi-institutional, pathologist-based assessment of 4 immunohistochemistry assays for PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol.* 2017;3(8):1051-1058.

- Roge R, Vyberg M, Nielsen S. Accurate PD-L1 protocols for non-small cell lung cancer can be developed for automated staining platforms with clone 22C3. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(6):381-385.
- Salgia R. MET in lung cancer: biomarker selection based on scientific rationale. *Mol Cancer Ther*. 2017;16(4):555-565.
- Scheel AH, Dietele M, Heukamp LC, et al. Harmonized PD-L1 immunohistochemistry for pulmonary squamous-cell and adenocarcinomas. *Mod Pathol*. 2016;29(10):1165-1172.
- Selinger CI, Li BT, Pavlakis N, et al. Screening for ROS1 gene rearrangements in non-small-cell lung cancers using immunohistochemistry with FISH confirmation is an effective method to identify this rare target. *Histopathology*. 2017;70(3):402-411.
- Selinger CI, Rogers TM, Russell PA, et al. Testing for ALK rearrangement in lung adenocarcinoma: a multicentre comparison of immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization. *Mod Pathol*. 2013;26(12):1545-1553.
- Skov BG, Skov T. Paired comparison of PD-L1 expression on cytologic and histologic specimens from malignancies in the lung assessed with PD-L1 IHC 28-8pharmDx and PD-L1 IHC 22C3pharmDx. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(7):453-459.
- Smit EF, Nakagawa K, Nagasaka M, et al. Trastuzumab deruxtecan (T-DXd; DS-8201) in patients with HER2-mutated metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC): interim results of DESTINY-Lung 01. *J Clin Oncol*. 2020;38 (suppl; abstr 9504).
- Spigel DR, Edelman MJ, O'Byrne K, et al. Results from the phase III randomized trial of onartuzumab plus erlotinib versus erlotinib in previously treated stage IIIB or IV non-small-cell lung cancer: METLung. *J Clin Oncol*. 2017;35(4):412-420.
- Torlakovic E, Lim HJ, Adam J, et al. "Interchangeability" of PD-L1 immunohistochemistry assays: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *Mod Pathol*. 2020;33(1):4-17.
- Trombetta D, Graziano P, Scarpa A. Frequent NRG1 fusions in Caucasian pulmonary mucinous adenocarcinoma predicted by phosphor-ErbB3 expression. *Oncotarget*. 2018;9(11):9661-9671.
- Tsao MS, Hirsch FR, Yatabe Y, eds. *IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer*. 2nd ed. IASLC; 2016.
- Tsao MS, Hirsch FR, Yatabe Y, eds. *IASLC Atlas of ALK Testing in Lung Cancer*. IASLC; 2013.
- Tsao MS, Kerr KM, Dacic S, et al., eds. *IASLC Atlas of PD-L1 Immunohistochemistry Testing in Lung Cancer*. IASLC; 2017.
- Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, et al. PD-L1 immunohistochemistry comparability study in real-life clinical samples: results of BluePrint phase 2 project. *J Thorac Oncol*. 2018;13(9):1302-1311.
- van der Wekken AJ, Pelgrim R, 't Hart N, et al. Dichotomous ALK-IHC is a better predictor for ALK inhibition outcome than traditional ALK-FISH in advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2017;23(15):4251-4258.
- von Laffert M, Warth A, Penzel R, et al. Multicenter immunohistochemical ALK-testing of non-small-cell lung cancer shows high concordance after harmonization of techniques and interpretation criteria. *J Thorac Oncol*. 2014;9(11):1685-1692.
- Wang Q, Yang S, Wang K, et al. MET inhibitors for targeted therapy of EGFR TKI-resistant lung cancer. *J Hematol Oncol*. 2019;12(1):63.
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):377-407.

总结观点

20

Keith M. Kerr, Alain C. Borczuk, Wendy A. Cooper, Sanja Dacic,
Andre L. Moreira, Yasushi Yatabe 和 Ming Sound Tsao

本图谱广泛地说明了免疫组织化学 (IHC) 在胸腔恶性肿瘤诊断中的重要地位。这项技术在我们的患者组织样本采集的诊断过程中的每一个环节都发挥着作用。

我们描述了 IHC 的基本原理和生化基础，以及 IHC 技术在许多不同情况下对胸部恶性肿瘤诊断的贡献，回顾了世界卫生组织 (WHO) 分类的实质，以及如何在手术切除的病例和小活检和细胞学样本中做出诊断。WHO 分类和本图谱中的后一部分至关重要，因为在肺癌领域，至少三分之二的患者在确诊时患有晚期疾病，因此，病理学家只有少量的活检和/或细胞学样本可用于诊断性和预测性生物标志物测试。

这本图谱还提供了关于我们最常用的个体标志物和各种可用的克隆的具体讨论。市场上用于识别同一实体的克隆体之间可能发生的变化是相当重要的，代表了一个有时被病理学家低估的问题。如果不了解克隆的特征和特异性，克隆之间的差异可能会导致误解和误诊。此外，我们的大多数诊断 IHC 检测基本上都是实验室自建检测，这意味着在检测数量方面，实验室之间可能会有相当大的差异。因此，在临床使用之前，应对每个标志物的检测方案进行强有力的实验室内部验证。其他问题可以通过参与 IHC 外部质量保证 (EQA) 计划来确定和纠正。

现代病理诊断实践在很大程度上依赖于 IHC。在一个可利用大量 IHC 标志物来识别无数大分子的时代，接受培训的病理学家可能会在可能并不真正需要的情况下只是“因为可以”而使用这项技术，但 IHC 所能提供的更高诊断确定性始终受到欢迎。相反，正如 Juan Rosai 在 David J.Dabb 的 *诊断免疫组织化学* (Dabbs, 2010 年) 第三版序言中富于表现力地指出的那样，在常规诊断中过度使用或过度依赖 IHC 可

能会将病理学家引向歧途。我们的 IHC 标志物很少对任何特定的诊断具有特异性，而这些诊断标志物中的绝大多数都是生理学表达。因此，最重要的是，IHC 的发现总是会结合肿瘤形态学来考虑。

肺癌的诊断也是如此，特别是在小样本诊断的情况下。WHO 分类和其他地方强调了不过度使用 IHC 的重要性（Lindeman 等，2018 年），因为在初始诊断中进行过多的 IHC 可能会造成后续的预测性生物标志物检测，特别是分子检测（荧光原位杂交除外）没有足够的材料，这些检测需要的材料通常比 IHC 所需的更多。这是许多肿瘤学家和患者面临的主要问题（Cane 等，2015 年）。

IHC 未来可能会发生怎样的变化？毫无疑问，将会出现更多的克隆和标志物。我们对 IHC 的大部分评估是定性的，而不是定量的。随着数字病理学的兴起，人们可以设想采用一种更容易量化 IHC 标志物表达的方法。在肺癌诊断中，Ki-67 的评估可能是这种技术可以提供帮助的一个示例，但需要证据来证明，我们使用的任何标志物都有更准确和更细粒度的表达数据，这实际上可能具有诊断价值。如果发生这种情况，那我们的 IHC 技术变得更加标准化和更加受控将变得更加重要。

更多的标志物和更多的复杂表达谱的排列，但只有少量的可用组织会构成挑战。快速的技术进步使基于明视野和免疫荧光的多重 IHC 技术在临床和常规诊断中成为可能。这可以为从有限的组织中榨取更多信息提供解决方案。与数字技术相结合，这些技术可以提供迄今为止很难生成的协同表达的空间数据。随着数据复杂性的增加，以及随着更多数据点（标志物）的添加，发现的排列数量也在增加，人工智能平台可能会发挥越来越大的作用。然而，这种方法要从研究转向常规实践，其临床价值仍有待证明。通常会存在这样的风险，即我们检测肺癌样本的技术和能力远远领先于肿瘤学的发展，而肿瘤学则可以利用这些额外的数据。这就是为什么研究和临床实践之间的衔接会如此重要。也许更有可能的是，在免疫治疗的复杂领域以及异常信号通路和调节蛋白的相互作用中，在由成瘾性致癌基因驱动细胞中，这种多重 IHC 的发展可能会在预测性生物标志物测试中发现更大的价值，特别是当肿瘤对靶向治疗产生抗药性时，而不是在肺癌诊断和分类的初始阶段。

然而，基因组学和蛋白质组学很可能在肺癌的诊断和分类中发挥越来越大的作用。2015 年 WHO 分类出现了关键变化，将 IHC 标志物的表达纳入了鳞状细胞和腺癌的基本定义。随着重要的肺癌临床亚型在分子水平上被识别和定义，我们可以预见更多这样的变化。然而，由于 IHC 使用最少的组织材料对特定标志物的表达提供单细胞分辨率，并且蛋白质是最终的致癌效应和治疗靶点，这项技术将继续在诊断和生物标志物检测领域发挥关键作用（Tsao 和 Yatabe，2019 年）。因此，了解 IHC 的工作原理，以及哪些因素可能会干扰检测性能将变得更加重要。

IHC 是一种非常有价值和强大的技术，如果正确和恰当地应用，可以极大地提高肺癌和其他胸部肿瘤的诊断准确率。通过帮助确定治疗方案，这一点已被清楚地证明是对我们患有这种具有生物多样性但往往致命的疾病的患者是有益的。我们希望，此图谱不仅能够为病理学家提供资源，也能为任何其他对肺癌及其治疗感兴趣的人提供资源。这本关于肺癌诊断 IHC 的书增加了由国际肺癌研究协会 (IASLC) 提供的一系列诊断图谱，并且肯定还会有其他新的标题紧随其后。

参考文献

Cane P, Linklater KM, Nicholson AG, et al. Morphological and genetic classification of lung cancer: variation in practice and implications for tailored treatment. *Histopathology*. 2015;67(2):216-224.

Dabbs DJ, ed. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications*. 3rd ed. Saunders Elsevier; 2010.

Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted

tyrosine kinase inhibitors: Guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358.

Tsao MS, Yatabe Y. Old soldiers never die: is there still a role for immunohistochemistry in the era of next-generation sequencing panel testing? *J Thorac Oncol*. 2019;14(12):2035-2038.

附录 A: 抗体列表

抗体名称	功能	物种	克隆	图谱参考 页面
肌动蛋白, 平滑肌	SMA (alpha 平滑肌肌动蛋白)	鼠	1A4	113, 120-121, 134-135, 139
		鼠	ASM-1	
AE1/AE3	全细胞角蛋白	鼠	AE1/3	49, 67-68, 71-73, 79, 115, 118, 122, 125, 138, 159-160, 162, 168-169
		鼠	AE1/AE3/PCK26	
ALK	间变性淋巴瘤激酶基因产物, p80	鼠	ALK1	6-8, 17, 25, 28, 39-40, 62, 95, 98-99, 133-134, 176-178, 181, 184
		鼠	5A4	
		兔	D5F3	
B72.3	TAG-72 (肿瘤相关糖蛋白 72)	鼠	B72.3	157, 159
BAP1	BRCA1 相关蛋白 1, 其产物通过乳腺癌 1 型易感蛋白 (BRCA1) 的 RING 指域与后者结合, 作为肿瘤抑制因子	鼠	C4	4, 162-166
Ber-EP4	Ep-CAM	鼠	Ber-EP4	157, 159
34 β E12	细胞角蛋白, 主要与细胞角蛋白 1、5、10 和 14 (高分子量角蛋白) 反应。	鼠	34 β E12	68-69, 71, 73
		鼠	鸡尾酒 (34 β E12+p63)	
BG8, Lewis y	Lewis y 血抗原	鼠	F3	157
CAM5.2	CK8, CK7 (程度较轻)	鼠	CAM5.2	68, 72, 79-80, 119, 159, 173
		鼠	5D3	
钙网膜蛋白	一种 29 kD 的钙结合蛋白, 是所谓的 EF-hand 蛋白家族的成员, 也包括 S-100 蛋白	鼠	CAL6	4, 69, 136, 138, 157-161
		鼠	DAK-Calret 1	
		兔	DC8	
		兔	SP65	
连环蛋白	β -连环蛋白	鼠	β -连环蛋白 1	48, 109-112
		鼠	14	
		鼠	17C2	
	p120 连环蛋白	鼠	98	
		兔	EP66	

抗体名称	功能	物种	克隆	图谱参考 页面
CD5	见于胸腺细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞亚群表面的I型跨膜糖蛋白，可作为受体调节T细胞的增殖。	鼠	4C7	69, 169-170
		兔	SP19	
CD31 (PECAM-1)	血小板和内皮细胞粘附分子1 (PECAM1)	鼠	JC70A	128-129, 159
		鼠	1A10	
CD34	在干细胞附着于骨髓细胞外基质或基质细胞中发挥作用	鼠	QBEnd 10	113, 115, 123, 126, 128-130, 132, 159
		鼠	MY10	
CD45	白细胞共同抗原	鼠	2B11+PD7/26	37, 96
		鼠	RP2/18	
CD56 (NCAM)	神经细胞粘附分子1	鼠	123C3	37, 75-78, 80-82, 92, 130, 136-137, 139
		兔	MRQ-42	
		鼠	CD564	
CD99 (MIC2)	MIC2 基因产物，尤文氏肉瘤标志物	鼠	12E7	115, 136-137, 167
		鼠	O13	
		鼠	PCB1	
CD117 (KIT)	KIT 原癌基因，受体酪氨酸激酶	鼠	EP10	120-121, 169-171
		兔	多克隆	
		兔	9.7	
CDK4	C细胞周期蛋白依赖性激酶4	鼠	DCS-31	134-135
CDX2	尾型同源框2	鼠	DAK-CDX2	104-105, 107-110, 114, 144-146, 154-157
		兔	EPR2764Y	
		兔	EP25	
CEA	癌胚抗原	鼠	CEA31	157, 159
		鼠	COL-1	
		鼠	II-7	
		鼠	TF3H8-1	
嗜铬粒蛋白 A	嗜铬粒蛋白/分泌蛋白家族神经内分泌蛋白的成员，存在于神经元和内分泌细胞的分泌小泡中	鼠	DAK-A3	36, 76, 111
		鼠	LK2H10	
		鼠	5H7	
		兔	EP1030Y	
CK5/6	细胞角蛋白5/6	鼠	D5/16B4	36, 41-42, 45, 51, 64-65, 69, 71-73, 114-115, 119, 156-157, 161-162
CK5/6/8/18	细胞角蛋白，多(5/6/8/18), NCL-CK5/6/8/18, NCL-L-CK5/6/8/18 和 RTU-CK5/6/8/18	鼠	5D3/LP34	67-68, 79
CK7	细胞角蛋白7	鼠	OV-TL12/30	45-47, 51, 67-73, 79, 103-105, 107-110, 114, 119, 144-146, 149-152, 154
		鼠	RN7	
		兔	SP52	
CK20	细胞角蛋白20	鼠	Ks20.8	71-73, 79, 104-105, 107-110, 114, 144-146, 149-151
		鼠	PW31	
		兔	SP33	

抗体名称	功能	物种	克隆	图谱参考 页面
CK OSCAR	广谱细胞角蛋白	鼠	OSCAR	67-68, 114, 117, 159, 173
Claudin 4	构成上皮细胞紧密连接的完整膜蛋白	鼠	3E2C1	126, 157, 159
肌间线蛋白	中间丝	鼠	D33	127, 134-135, 137-139, 159
		鼠	DE-R-11	
D2-40	平足蛋白 (D2-40)	鼠	D2-40	157, 159-160, 166, 171
EMA	上皮膜抗原	鼠	E29	113-116, 120, 130
		鼠	GP1.4	
ER	雌激素受体	鼠	6F11	13, 28, 31, 108, 110-111, 146-147, 186
	雌激素受体 α 链	兔	SP1	
		鼠	1D5	
	雌激素受体 β 1	兔	EP1	
		鼠	PPG5/10	
GATA3	GATA 结合蛋白 3	鼠	HG3-31	19, 108, 146-147, 149, 155-156, 160, 166
		鼠	L50-823	
GCDFP15	囊性病变液蛋白 15	鼠	23A3	155-156
		兔	EP1582Y	
磷脂酰肌醇聚糖 3	细胞表面硫酸肝素蛋白多糖的成员	鼠	GC33, 1G12	110, 152, 170-172
		鼠	IG12	
H3K27me3	组蛋白 H3 赖氨酸 27 三甲基化	兔	C36B11	135-136, 142
HMB45	黑色素瘤相关抗原	鼠	HMB45	139-140, 159
		鼠	三重鸡尾酒 (HMB45+A103+T311)	
HNF4 α	肝细胞核因子 4 α	鼠	H1415	106, 145, 156
		兔	C11F12	
ISMN1	胰岛素瘤相关蛋白 1	鼠	A-8	37-38, 75-77, 81, 136
Ki-67	与细胞增殖相关的核蛋白	鼠	MIB-1	5-6, 28, 37, 81, 85-89, 93, 114, 116, 190
		鼠	MM1	
		鼠	K2	
		兔	30-9	
KL1	全细胞角蛋白	鼠	KL1	67-68, 159
Lu5	全细胞角蛋白	鼠	Lu5	68
MDM2	核定位 E3 泛素连接酶, 通过靶向肿瘤抑制蛋白, 如 p53, 促进肿瘤的形成	鼠	IF2	134-136
MNF116	CK5/6/8/17	鼠	MNF116	67-68, 72
MOC31	Ep-CAM/上皮特异性抗原	鼠	MOC31	157, 159
MTAP	甲基硫代腺苷磷酸化酶, 被用作 p16 同源性缺失的替代标志物	鼠	2G4	163-166

抗体名称	功能	物种	克隆	图谱参考 页面
天冬氨酸蛋白酶 A	天冬氨酸蛋白酶 A1 家族的成员	鼠	MRQ-60	35-36 , 40-41 , 44-45 , 50-51 , 69 , 92 , 103 , 105 , 108 , 110 , 114 , 118-119 , 124 , 144-147 , 149-150 , 153-154 , 156-157
		鼠	IP64	
		兔	多克隆	
NKX3.1	NK3 同源框 1, 它编码一个含有同源盒的转录因子, 在前列腺组织中作为上皮细胞生长的负调控因子	兔	EP356	151 , 154-155 , 157
NUT	睾丸核蛋白	兔	C52B1	5 , 7 , 14 , 46-47 , 51 , 63 , 75 , 82 , 113-118 , 122-124 , 127
OCT3/4	POU 第 5 类同源框 1, 编码含有 POU 同源结构域的转录因子, 该结构域在胚胎发育和干细胞多能性中起关键作用	鼠	N1NK	170-171
p16	周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2A, CDKN2A	鼠	E6H4	143-144 , 163 , 165-166
		鼠	G175-405	
		鼠	JC8	
p40	TP63 产物的异构体, 也称为 ΔNP63	鼠	BC28	2 , 28 , 35-38 , 41-48 , 50-51 , 56 , 60-65 , 69-70 , 74 , 78 , 80-81 , 92 , 105-106 , 111 , 114-117 , 119-121 , 130 , 149 , 152 , 157 , 159 , 168-170
p63	TP63 产物	鼠	4A4	2 , 28 , 41-42 , 45 , 50-52 , 60-65 , 74 , 80-81 , 100 , 114-115 , 119-122 , 149 , 156-157 , 168-169
		鼠	鸡尾酒 (34 β E12+p63)	
		鼠	DAK-p63	
		鼠	7JUL	
PAX8	配对框 8, 一种调节甲状腺发育的转录因子	鼠	MRQ-50	108 , 110-111 , 148-150 , 153-157 , 168-169 , 174
		鼠	PAXR1	
S100	钙结合蛋白	兔	多克隆	113 , 120-122 , 127 , 135 , 139 , 159
SALL4	Spalt 样转录因子 4, 编码锌指转录因子, 被认为会在外展运动神经元的发育中发挥作用	鼠	6E3	110-111 , 126 , 170-173
SMARCA4/BRG1	SWI/SNF 相关, 基质相关, 染色质肌动蛋白依赖的调节因子, 亚家族 a, 成员 4, 编码为 SWI/SNF 家族蛋白的一个成员	鼠	G-7	5 , 7 , 12 , 51 , 125-128
		兔	EPNCIR111A	
SMARCB1 (BAF47, hSNF5, INI1)	SWI/SNF 相关, 基质相关, 染色质肌动蛋白依赖的调节因子, 亚家族 b, 成员 1, 是解除抑制染色质结构的复合物的一部分	鼠	25/BAF47	126 , 130-131
SOX10	SRY-box 转录因子 10 编码 SOX (SRY 相关 HMG-box) 转录因子家族成员, 参与调节胚胎发育和决定细胞命运。	兔	SP267	135 , 146-147
		鼠	多克隆	

抗体名称	功能	物种	克隆	图谱参考 页面
STAT6	信号转导和转录激活因子6, 编码为 STAT 转录因子家族的一个成员	兔	多克隆	130-133 , 159
		兔	多克隆 (SC-20)	
		兔	YE361	
突触素	脑和内分泌细胞中小突触囊泡的整体膜蛋白	鼠	DAK-SYNAP	37 , 40 , 75-81 , 93 , 109-110 , 130-131 , 136- 137 , 139
		鼠	27G12	
		兔	MRQ-40	
		兔	SP11	
TTF1	甲状腺转录因子1, 又称 NKX2-1; 是调节甲状腺和肺部发育的转录因子	鼠	8G7G3/1	2 , 28 , 34-36 , 38-40 , 43-48 , 50-51 , 53-59 , 62 , 65 , 69-70 , 72 , 92-93 , 96 , 103-111 , 113- 121 , 127 , 139 , 144-148 , 150- 153 , 158-159 , 178
		鼠	SPT24	
		兔	SP141	
WT1	维尔姆斯瘤蛋白	鼠	6F-H2	4 , 69 , 136-138 , 157-160
		鼠	WT49	

附录 B: 制造商

本图集注明了以下制造商及其产品。每个制造商都有多个分支机构; 大多数制造商在世界各地都有办事处。

[Abcam](#)

英国剑桥

[Abnova](#)

中国台湾台北

[Active Motif](#)

美国加利福尼亚州卡尔斯巴德

[Agilent Dakot](#)

美国加利福尼亚州圣克拉拉

[BD Biosciences](#)

美国加利福尼亚州圣何塞

[BioLegend](#)

美国加利福尼亚州圣地亚哥

[Cell Signaling Technology, Inc.](#)

美国马萨诸塞州丹佛斯

[Invitrogen - Thermo Fisher Scientific](#)

美国加利福尼亚州卡尔斯巴德

[Leica Biosystems](#)

美国伊利诺伊州布法罗格罗夫

[Nichirei Bioscience](#)

日本东京

[Roche Tissue Diagnostics](#)

美国亚利桑那州图森

[Santa Cruz Biotechnology, Inc.](#)

美国德克萨斯州达拉斯

[Sigma-Aldrich](#)

美国密苏里州圣路易斯

[Signet Laboratories, Inc.](#)

美国马萨诸塞州戴德姆

