

免疫组化用于乳腺上皮性病变诊断：概述及进展

对于大部分乳腺病变的准确评估及分类而言，组织形态学检查已经足够。但在一些病例中，仅根据形态学标准进行解读可能有困难，且容易产生显著的观察者间差异。此时，免疫组化有助于不明确及疑难病变的恰当解读，并有助于避免误诊误治。马里兰大学医学院Teklu Legesse博士及Olga B. Ioffe博士共同撰写了免疫组化用于乳腺上皮性病变诊断的相关综述，文章发表在2016年第1期美国外科病理学杂志 (AJSP)。本期简报我们对其中内容进行了摘译，希望能重新梳理我们关于乳腺上皮性病变诊断的知识和要点，并切实应用于诊断和鉴别诊断工作中。

浸润的评估

乳腺原位癌及浸润性癌的组织学鉴别依据是有无肌上皮细胞。肌上皮细胞既有上皮细胞的特点，又有平滑肌细胞的特点，且含有收缩性组件、中间丝、桥粒及其他细胞-细胞连接成分。肌上皮细胞在导管周围形成连续的单层排列，并稍疏松、连续性稍差的排列在腺泡周围。

大部分情况下，仅凭形态学检查即可确定是否存在浸润；但偶见必须应用抗肌上皮抗体的情况。这对于鉴别增生充填导管、使得导管扩张而肌上皮受压变薄、组织学评估困难的导管内癌是否存在浸润时，尤其有意义。免疫组化检测肌上皮细胞具有重大意义的其他例子还有原位癌伴显著小叶癌化、或累及硬化性病变、或伴显著间质反应。

p63是p53基因家族成员，表达于复层上皮中的上皮细胞、腺样结构中的基底细胞及乳腺的肌上皮细胞。p63表达于细胞核，被认为是最特异、最敏感的肌上皮标记；该抗体不太可能与管腔细胞、间质成肌纤维细胞、血管平滑肌细胞发生交叉反应。罕见的情况下，浸润性导管癌、尤其是化生性癌可能会有肌上皮分化并表达p63。此外，该抗体为细胞核着色，最好与其他肌上皮标记联合应用。

平滑肌重链肌球蛋白(Myosin Heavy Chain(Smooth Muscle), SMHCM)是一个200kd的胞质结构蛋白，被认为是平滑肌分化的“终末”标记物，该蛋白在肌上皮细胞呈胞质着色。SMHCM抗体相比平滑肌肌动蛋白(SMA)抗体而言更加特异，且相比CD10来说着色更强、更加完整。但SMHCM与间质成肌纤维细胞及血管平滑肌细胞具有交叉反应，程度比SMA稍弱。

钙调节蛋白(Calponin)是一种与肌动蛋白结合蛋白有关的细胞骨架，也是平滑肌终末分化的标志。该蛋白免疫组化为胞质着色，是一种敏感的肌上皮细胞标记物。该蛋白也表达于间质成肌纤维细胞及血管平滑肌细胞。相比SMHCM而言，

Calponin特异性稍低。标记肌上皮细胞时，Calponin相比SMA敏感性稍差；但相比肌动蛋白而言，Calponin与间质成肌纤维细胞的交叉反应性更低。

肌特异性肌动蛋白(MSA)及SMA(HHF-35)标记正常乳腺及乳腺良性病变中的肌上皮细胞；但由于该抗体与间质成肌纤维细胞及血管平滑肌细胞具有显著交叉反应，所以作用有限。MSA的特异性相当低。

CD10(急性淋巴细胞性白血病共同抗原)是细胞表面的一种中性肽链内切酶，表达于多种组织。该抗体在肌上皮细胞中着色模式为细胞膜深染、胞质着色，在正常乳腺及乳腺良性病变的肌上皮细胞中表达一致。该抗体与间质成肌纤维细胞有交叉反应，且上皮细胞可有非特异性着色。其敏感性可能降低，且在周围具有炎症反应的导管内染色一致性稍差。

其他应用较少的肌上皮细胞标记还有S-100、p-cadherin、高分子量角蛋白或基底型角蛋白(CK5/6、CK14、CK17、CK903(CK34βE12))。S-100蛋白标记肌上皮细胞时为胞质着色。但与其他肌上皮细胞标记相比，其敏感性和特异性相当低；如该抗体可以在管腔内上皮细胞及诸多浸润性癌中呈阳性。P-cadherin是一种细胞黏附分子，标记肌上皮细胞时敏感性高。该抗体与成肌纤维细胞无交叉反应，但在某些浸润性导管癌中为阳性。正常乳腺组织中的导管上皮(管腔上皮)细胞仅表达低分子量角蛋白(CK8、CK18)，而肌上皮细胞主要表达高分子量或基底型角蛋白(CK5/6、CK14、CK17、CK903)。这类高分子量角蛋白是肌上皮细胞的敏感标记物，且并不标记间质成肌纤维细胞或血管平滑肌细胞。但在非典型增生及DCIS时表达是降低的，且DCIS及浸润性癌中有相当比例的病变细胞表达这类标记的一种或多种。

总之，应用肌上皮细胞标记评估浸润时，一般建议应用一

组兼顾敏感性及特异性的抗体（表1）。敏感性标记物如SMHCM或Calponin，联合特异性标记物如p63，可以得出较好的结果。还要注意部分肌上皮细胞可能并不表达这类抗体中的任何一个。除室内质控、室内质控确保质量外，认真进行HE切片阅片并将其与免疫组化染色切片进行比较也会有所帮助。

表1.常用肌上皮标记物及其在乳腺病理学中的应用

标记物	定位	敏感性/特异性	备注
p63	细胞核	最特异； 敏感性低于SMHCM	仅肌上皮细胞阳性； 与间质成肌纤维细胞及血管平滑肌无交叉反应； 最好与SMHCM或calponin联合应用
SMHCM	胞质	敏感性高，但特异性低于p63	与间质成肌纤维细胞及血管平滑肌有交叉反应
Calponin	胞质	敏感性高，但特异性低于SMHCM	间质成肌纤维细胞及血管平滑肌阳性
CD10	胞质/细胞膜	敏感性低	与间质成肌纤维细胞有交叉反应，但与血管平滑肌细胞无交叉反应； 上皮具有非特异性染色
SMA、MSA	胞质	敏感，但不特异	成肌纤维细胞及血管结构阳性
S-100	胞质	敏感性及特异性均低	部分、但并非全部肌上皮细胞阳性；成肌纤维细胞及癌细胞可阳性
推荐套餐		p63+SMHCM / p63+Calponin	

小叶癌与导管癌的鉴别

由于预后及治疗不同，因此导管癌及小叶癌的鉴别非常重要。切除标本中诊断为小叶非典型增生或小叶原位癌，则需更加积极的随访并关注对侧乳腺。与此相反，确诊为DCIS则需完整切除并放疗，对于切缘受累者还需进一步切除。与此类似，由于涉及进一步治疗，因此鉴别浸润性小叶癌与浸润性导管癌（尤其是在穿刺活检时）也很重要：诊断为浸润性小叶癌则需术前进行MRI检查评估是否为多灶性病变，并评估对侧乳腺；同时还会影响手术方案及手术范围。

很多情况下，根据形态学可以区分小叶分化及导管分化；但某些模棱两可的病例中则需加做免疫组化。表达于正常管腔上皮细胞的细胞粘分子E-cadherin表达缺失，是小叶性肿瘤的鉴别要点。E-cadherin蛋白是E-cadherin复合物组分之一，后者包括 α 、 β 、 γ 及p120 Catenin。E-cadherin蛋白与Catenin复合物结合锚定于细胞的肌动蛋白细胞骨架。小叶癌中具有E-cadherin功能的缺失和/或CDH1基因突变导致的功能异常型Cadherin-catenin复合物。浸润性导管癌或导管原位癌E-cadherin染色仍为弥漫性胞膜着色，而大部分小叶癌则完全缺失。偶见小叶癌表现为E-cadherin异常表达，据报道可高达15%的病例出现此情况。不过此时的染色模式多为胞质着色，且为颗粒状、阳性程度弱。有作者提出如果形态学特征符合小叶癌，则即使存在E-cadherin染色，仍可诊断。

除E-cadherin缺失外，小叶性肿瘤的特点是胞质中存在p120 Catenin的弥漫定位，因此免疫组化中呈胞质弥漫着色而胞膜无染色。与此相反，正常乳腺组织及导管癌中p120 Catenin则呈细胞膜致密、线性着色。少量导管癌也会呈p120 Catenin胞膜弱阳性，相应的也有少部分小叶性肿瘤中p120 Catenin可能呈轻-中度膜阳性。模棱两可的病例中，p120 Catenin联合E-cadherin，相比仅用E-cadherin而言会得出更加准确的结果。

导管普通型增生、非典型增生及导管原位癌

有时区分导管普通型增生（UDH）与导管非典型增生（ADH）和导管原位癌（DCIS）很困难，尤其是穿刺活检时。由于穿刺活检诊断为ADH意味着检出更严重病变（DCIS或浸润性癌）的可能性增加，因此需进一步行切除手术。此时可以根据形态学进行鉴别，但判读的重复性很低，因此可能对准确治疗产生不良影响。在协助准确区分导管内增生性病变方面，免疫组化可能很有价值。高分子量角蛋白、低分子量角蛋白的不同表达，加之雌激素受体（ER）的表达有助于区分UDH和属于克隆性病变的ADH及DCIS。诸多研究表明高分子量角蛋白（CK903、CK5/6）表达于UDH，而ADH/DCIS中无表达、或局灶弱表达。大部分DCIS的病例表达低分子量角蛋白（CAM5.2）。

UDH中ER为斑片状弱表达，而ADH及DCIS、尤其低级别及中级别时一般为弥漫性强阳性。因此仅形态学无法准确区分导管内增生性病变时，联合应用高分子量角蛋白及ER非常关键。此套餐中的潜在陷阱包括柱状细胞病变及伴大汗腺分化的增生性病变。柱状细胞病变一般ER的表达水平高，而大汗腺增生，包括大汗腺型DCIS时，ER为阴性。

乳腺Paget病中的免疫组化标记物

乳腺Paget病的特点为乳头表皮内存在恶性腺上皮。乳腺Paget病几乎总是伴有隐匿性原位癌或浸润性癌。最常见的隐匿性癌为高级别DCIS或浸润性导管癌，但罕见的情况下也可见小叶性肿瘤。存在细胞核大、胞质丰富、有时胞质内存在黏液空泡的非典型细胞浸润乳头表皮时，一般根据形态学即可做出诊断。

乳腺Paget病在形态学方面需鉴别的病变包括恶性黑色素瘤及原位鳞状细胞癌（Bowen病）。鉴别诊断时CK7是最佳的单一指标：几乎所有的Paget病均为阳性，而鳞状细胞癌和黑色素瘤则为阴性。一般潜在的DCIS表达HER2而ER及孕激素受体（PR）阴性；与此对应，Paget病中约90%的病例HER2阳性。因此，联合应用CK7及HER2是证实乳头Paget病的最佳套餐。

如果考虑恶性黑色素瘤，则应联合应用S-100及HMB45，因为Paget细胞一般恶性黑色素瘤标记为阴性。不过还应注意个别Paget病例会罕见的出现S-100阳性，因此谨慎的做法应为联合应用标记物。原位鳞状细胞癌则呈CK7阴性，CK5、CK6及p63阳性。

Paget病中较少见的鉴别诊断还有非典型Toker细胞。Toker细胞是位于乳头表皮、胞质透明的上皮细胞。其形态学一般较温和，但罕见的情况下也可数量增多且具有非典型，因此可与Paget病混淆。这类细胞CK7阳性，可进一步导致混淆并产生错误诊断。不过，它们几乎总是ER、PR阳性，这一点与高级别DCIS不同，后者一般与Paget病有关。此外也可进行Ki-67免疫组化染色，因为高度恶性的细胞会出现Ki-67显著

升高；当然还应注意与来自鳞状上皮基底层的细胞进行鉴别，因为后者也可呈现Ki-67阳性。仔细评估形态学、并结合应用ER及PR免疫组化染色，可能有助于这类细胞与Paget病的鉴别。

总之，本文概述了免疫组化有助于疑难病例诊断的几个例子。尽管本文强调了乳腺病变诊断中不同标记物的敏感性和特异性，但仍要时刻牢记并无敏感性或特异性均极好的单一标志物；因此应用不止一种标记物的免疫组化套餐才是谨慎做法。不过，还要牢记诊断时形态学评估居于首位，免疫组化染色只是辅助；因此要结合HE染色切片所见进行解读，且不能依据免疫组化结果否定形态学解读。

软组织肿瘤中常用的部分细胞特异性免疫组化标记物

免疫组化现已成为外科病理学中的重要组成部分，对软组织肿瘤的诊断更是不可或缺。本期简报以表格的形式对软组织肿瘤中常用的部分细胞特异性免疫组化标记物进行列举，希望对大家的日常工作有所帮助。

表2. 软组织肿瘤中常用的部分细胞特异性免疫组化标记物

细胞类型	常用免疫组化标记物	细胞类型	常用免疫组化标记物
生殖细胞	甲胎蛋白 (AFP)	造血细胞	髓过氧化物酶 (中性粒细胞)
	OCT3/4		TdT (淋巴细胞, 胸腺细胞)
	SALL4		CD21、CD23、CD35 (滤泡-树突细胞)
	CD30	内皮细胞	血管性血友病因子 (vWF, VIII因子相关抗原)
	胎盘碱性磷酸酶 (PLAP)		CD31
上皮细胞	角蛋白 (一组标记物, 可分为高分子量及低分子量角蛋白)	CD34	
	上皮膜抗原 (EMA)	ERG	
肌细胞	肌动蛋白 (actin, 广谱肌特异性或平滑肌特异性)	神经内分泌细胞	神经元特异性烯醇化酶 (NSE)
	钙调结合蛋白 (Caldesmon)		CD56
	结蛋白 (Desmin)		CD57
	肌红蛋白 (Myoglobin)		PGP5.5
	肌浆蛋白 (Myogenin)		突触素 (Syn)
	MyoD		嗜铬粒蛋白 (CgA)
造血细胞	CD45 (白细胞共同抗原)	NeuroN	
	CD20 (B细胞)	神经细丝	
	CD79a (B细胞)	产黑色素细胞	S100
	CD15 (粒细胞, R-S细胞)		HMB45
	CD1a (Langerhan细胞)		小眼转录因子 (Mitf)
	CD68 (巨噬-单核细胞)		MelanA
	CD3 (T细胞)		

注：
上述抗体中有些并无严格的细胞种类特异性，可表达于其他细胞类型。

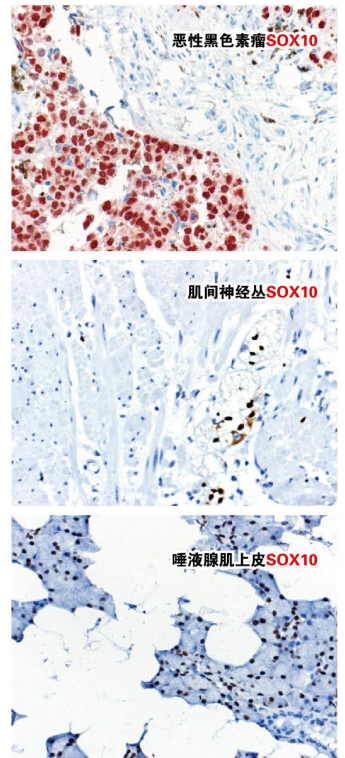
新抗体推荐

特征: SOX10是一种特殊的转录因子，在神经脊细胞生长过程中起重要作用，并且能够保持神经脊细胞的多向分化潜能。最近研究表明，SOX10在恶性黑色素瘤、施万细胞来源的肿瘤、涎腺肿瘤，尤其是含有肌上皮分化特性的肿瘤中过表达，同时还表达于乳腺基底样癌。

表3 SOX10阳性表达的肿瘤类型

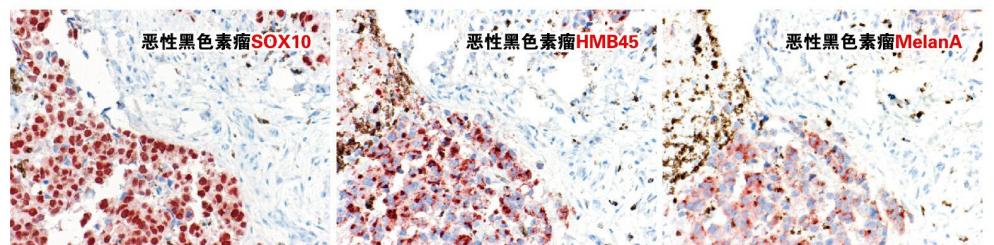
肿瘤名称	n	阳性例数	肿瘤名称	n	阳性例数
黑色素瘤			神经系统肿瘤		
恶性黑色素瘤	194	190	神经鞘瘤	45	45
梭形细胞黑色素瘤	7	7	神经纤维瘤	77	76
促结缔组织增生的黑色素瘤	57	57	恶性外周神经鞘瘤	182	98
转移性黑色素瘤	42	41	颗粒细胞瘤	31	31
透明细胞肉瘤	12	12	纤维状细胞性星形细胞瘤	26	26
涎腺肿瘤			胶质母细胞瘤	44	24
单形性腺瘤	10	10	少突胶质神经瘤	24	22
多形性低级别腺癌	16	16	退行性少突胶质神经瘤	15	13
腺样囊腺癌	84	84	神经节瘤	5	5
腺泡细胞瘤	23	22	嗜铬细胞瘤（支持细胞阳性）	19	14

数据引自 程凯, 王海, 王建东, 石群立. SOX10在肿瘤病理诊断中的应用[J]. 诊断病理学杂志, 2014, 780-783



1. SOX10在恶性黑色素瘤中的表达

大量研究发现SOX10在皮内痣中100%阳性，在原发性恶性黑色素瘤90%~95%阳性，转移性恶性黑色素瘤97%~100%阳性，所有的梭形细胞恶性黑色素瘤和促结缔组织增生的恶性黑色素瘤中均阳性。它是恶性黑色素瘤高度敏感且特异的标记物，可用于辅助诊断不同类型的恶性黑色素瘤。

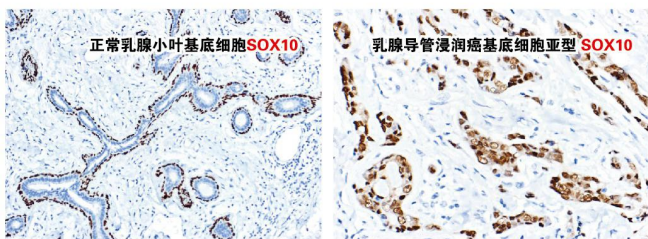


2. SOX10在中枢神经系统中的表达

SOX10调控施万细胞的发育以及脊索内少突胶质细胞的终末分化。在正常成人神经系统中，SOX10在少突胶质细胞、施万细胞、肠神经节、神经节和交感神经节为阳性表达。

3. SOX10在乳腺癌中的表达

SOX10是一种特异性的肌上皮细胞标记物，表达在所有的乳腺肌上皮细胞，其余类型细胞均不表达。此外，SOX10表达于乳腺癌基底细胞亚型，而在管腔A、管腔B和HER2过表达型中均不表达，可用于确诊乳腺癌基底细胞亚型。



SOX10及其相关抗体信息

抗体名称	克隆号	产品编号
SOX10	EP268	RMA-0726
Melanoma	HMB45	MAB-0098
MelanA	A103	MAB-0275

相关产品信息敬请垂询：800-8581156；400-889-9853，更多产品使用咨询及建议请关注微信公众号“迈新诊断”。