

IHC 免疫组化园地

本期编译：杨清海/高许力/施雯/唐娜 审稿：杨清海

2011年第1期

免疫组化与病理诊断专栏

肌上皮细胞识别在乳腺上皮性肿瘤诊断中的作用

虽然乳腺上皮性肿瘤是外科病理诊断中最常见的疾病之一，但在实际诊断中也存在着许多难点，甚至陷阱，特别是在良、恶性上皮性肿瘤病变的诊断中。这类需要特别“关注”的乳腺病变鉴别诊断包括有：非肿瘤性增生病变与恶性病变（硬化性腺病和浸润性癌）的鉴别；原位癌和浸润性恶性肿瘤（小叶或导管来源）的鉴别诊断；假性浸润性病变与浸润性癌（腺病、放射性瘢痕、硬化性乳头状瘤）的鉴别，此外还有异型导管上皮增生（ADH）、乳头状病变和微浸润性癌（浸润区域小等于1mm）等疾病的诊断。

几乎所有正常的乳腺和良性增生性病变的腺管均有肌上皮层和基膜，但在乳腺微腺腺病则是例外（乳腺微腺腺病中腺管周围基底的肌上皮细胞缺失）；在少数的乳腺原位癌中可能会有肌上皮细胞的缺失，但是在绝大多数的乳腺导管原位癌中肌上皮层完整；当癌细胞突破基膜时，浸润性癌细胞巢周围缺乏肌上皮细胞，所以在上述这些疾病的诊断中，肌上皮细胞（MECs）与肿瘤性上皮细胞之间的关系可以作为鉴别原位癌和浸润癌、良性假浸润性病变和浸润性癌的重要指标。在正常乳腺导管和小叶腺泡周围可以很容易的观察到肌上皮细胞的存在，但当乳腺导管或小叶腺泡扩张并被增生细胞填充或压迫时，在H&E切片中就难以识别出肌上皮细胞了，这时免疫组化染色可以发挥关键作用。平滑肌肌动蛋白（ α -SMA）、肌钙结合蛋白、平滑肌球蛋白重链（SMMHC）和P63对于乳腺肌上皮细胞来说更具敏感性和特异性，已取代了昔日的S-100蛋白和高分子量角蛋白（HMWK）。

S-100蛋白对乳腺肌上皮细胞标记并不敏感也缺乏特异性，但可以用于微腺管腺病（缺乏肌上皮细胞但上皮细胞表达S100）和小管癌（肿瘤细胞外周缺乏肌上皮细胞，有促纤维增生性间质，S100阴性）的鉴别。Maspin和CD10免疫组化染色结果显示这两种标记物会使包括终末导管小叶单位的管腔上皮细胞和肿瘤细胞在内的多种细胞着色，所以近来对maspin和CD10的使用也明显减少了。

细胞角蛋白(AE1/AE3)是一种鸡尾酒式抗体，可以识别大部分的CK（除CK14、CK17、CK20外），其可以识别乳腺肌上皮细胞，但也会识别乳腺腺上皮细胞，由于肌上皮细胞临近腺上皮细胞，CK（AE1/AE3）染色就难以区分这两种细胞了。平滑肌肌动蛋白（ α -SMA）和肌特异性肌动蛋白(MSA，克隆号：HHF-35)可以表达于肌上皮细胞但也会同间质中肌纤维母细胞反应，与间质肌纤维母细胞的交叉反应使之很难针对性地鉴别出肌上皮细胞，特别是当导管原位癌（DCIS）伴有导管周围间质纤维增生时。

对于上述标记物来说，Calponin和SMMHC是两种对肌上皮细胞具有更强特异性的抗体，SMMHC是平滑肌细胞特有的（200kD）、具有收缩功能的六聚肌球蛋白的结构成分；Calponin则是一种34kD的多肽，可调节平滑肌收缩组织内的平滑肌肌动蛋白腺苷三磷酸（ATPase）活性，这对于平滑肌来说是独一无二的。在Werling和同事分析的85例乳腺病变病例中，他们的结论：（1）Calponin和SMMHC在乳腺良性病变中可以检测到MEC；（2）SMMHC可在8%（7/85）的病例中对肌纤维母细胞染色，而Calponin却高达76%（65/85）。我们同样也认为SMMHC和Calponin都是优秀的抗体，只不过Calponin对于间质肌纤维母细胞的敏感性要远大于SMMHC，而且以上两个抗体还都会表达于血管平滑肌。

P63——抑癌基因p53家族成员之一，可用于多种器官中肌上皮细胞、基底细胞（前列腺）和肌上皮分化（乳腺化生性癌和唾液腺肿瘤）的检测，并可作为鳞状分化的标记物。P63在肌上皮细胞识别的优点是：仅表达于肌上皮细胞的细胞核中，对乳腺肌上皮细胞最具特异性，且不会表达于肌纤维母细胞。近来有人推荐使用SMMHC和P63的混合双染法，根据我们的经验：在有诊断难度的乳腺活检标本，特别是穿刺活检标本，如要识别乳腺肌上皮细胞，联合使用SMMHC和P63是最佳选择。现在因为乳腺外科手术方式的改进——乳腺浸润性癌患者要进行前哨淋巴结活检，所以在乳腺穿刺活检标本中鉴

腺导管原位癌和浸润癌就显得至关重要了。

需要注意的是，大约5%的乳腺导管原位癌病例（特别是乳头状结构的DCIS）会缺失肌上皮细胞。在这些情况下，正确诊断的关键是对组织学切片的评估。还有P63只表达于细胞核，这样有可能因为切面的问题使肌上皮层看上去呈中断不连续的（图1.）。任何围绕着肿瘤细胞巢外周的核染色都可以视作有肌上皮细胞的存在，但必须要特别注意排除肿瘤细胞核染色，据统计在大约10%–15%的乳腺恶性浸润性肿瘤中（基底细胞样癌、腺样囊性癌、化生性癌等），肿瘤细胞可能表达P63。

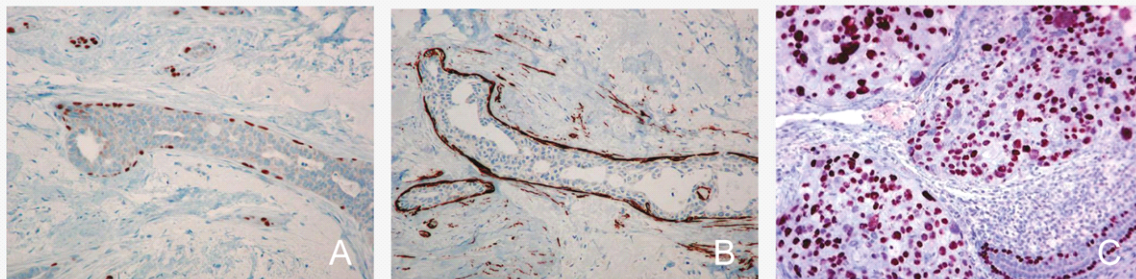


图1. P63和SMMHC（免疫组化）”陷阱”。P63染色显示在伴有放射状瘢痕的乳腺导管上皮周围非连续性核阳性（A），同样区域SMMHC免疫组化染色结果呈连续的肌上皮细胞浆阳性，但肌纤维母细胞也被表达（B），肿瘤细胞P63弥漫阳性的少见病例（C）。

诊断要点

表一 部分乳腺疾病同肌上皮细胞的关系

乳腺疾病名称	肌上皮细胞标记物（SMMHC和P63）	其他
原位癌（导管和小叶） 浸润癌（导管和小叶）	大部分病例见阳性，肌上皮细胞存在 阴性，肌上皮细胞缺失	
硬化性腺病 增生性腺病 放射性瘢痕	阳性，肌上皮细胞存在 阳性，肌上皮细胞存在 阳性，肌上皮细胞存在	
微腺管腺病 小管癌	阴性，肌上皮细胞缺失 阴性，肌上皮细胞缺失	上皮细胞S100阳性 S100阴性

表二 乳腺肌上皮细胞标记物

抗体	细胞定位	肌上皮细胞表达	肌纤维母细胞	血管平滑肌	乳腺癌
P63	细胞核	强表达	不表达	不表达	少数病例表达
SMMHC	细胞质	强表达	少量表达	强表达	不表达
Calponin	细胞质	强表达	中度强度表达	强表达	少数病例表达
α-SMA	细胞质	强表达	强表达	强表达	少数病例表达
S100	细胞质	强表达	不定	阴性	不定

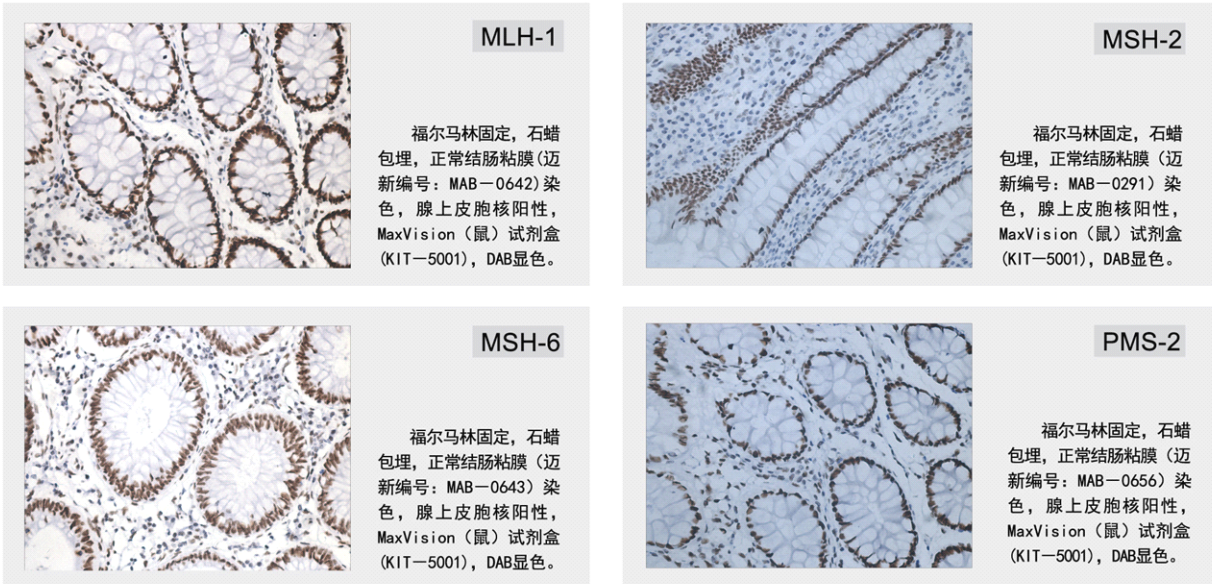
抗体推荐专栏

错配修复蛋白（MMR）

错配修复蛋白（MMR）是一组核酶，它在所有增殖细胞中参与了碱基-碱基错配修复，MMR蛋白的缺失会导致增殖细胞中DNA复制错误的积累，尤其是在带短重复核苷酸序列的基因组，导致微卫星不稳定性（MSI）进而导致肿瘤的发生。在人类身上，已经发现了9个与MMR功能相关的基因，其中5个有特别的临床意义（MLH1、PMS1、PMS2、MSH2和MSH6）。错配修复蛋白在正常组织和微卫星稳定性（MSS）肿瘤中表达，这时免疫组化检测阳性；错配修复蛋白免疫组化检测阴性提示错配修复蛋白缺失，常见于错配修复基因突变，并和微卫星不稳定（MSI）相关；低频

度微卫星不稳定性(MSI-L)肿瘤通常与一个错配修复蛋白缺失相关,而两个或两个以上错配修复蛋白缺失同高频度微卫星不稳定性(MSI-H)相关。

错配修复蛋白通常用于筛查遗传性非息肉病性结、直肠癌和高频度微卫星不稳定性肿瘤。微卫星(MS)和微卫星不稳定性(MSI)是继癌基因和抑癌基因之后,是研究肿瘤发生、发展和预后方面的又一热点。目前已有研究资料表明,与胃癌、结直肠癌、乳腺癌、子宫内膜癌等肿瘤的发生、预后、化疗方案制定有直接关联性。



免疫组化新动态专栏

最新ER/PR阅片指南简介

为了提高乳腺癌中ER和PR免疫组化检测的准确性以加强这两个标记物的预测性用途,美国临床肿瘤协会(ASCO)和美国病理学家学会(CAP)组建了一个国际性的专家小组,与安省癌症治疗中心(Cancer Care Ontario)一起进行了文献的系统性回顾和评估,并于2010年7月发表了ASCO/CAP关于乳腺癌中ER和PR免疫组化检测的指导建议。

经讨论,该小组提出免疫组化ER/PR阅片详细的标准:

(1) 首先要进行对照审核(可以设立外部阳性对照,也可以将组织中残留的正常乳腺上皮作为内部阳性对照),若对照染色结果未达到预期要求,该标本免疫组化试验应重新进行,且不进行阅片,更不能给予任何试验结果;

(2) 试验结果应提供如受体阳性、受体阴性或无法阅片的分析说明;

(3) 阳性结果定义为>1%的肿瘤细胞核阳性染色,阳性强度可以为任何强度(弱、中、强),若阳性染色肿瘤细胞数<1%,不管强度多高则报告为阴性;

(4) 若外部阳性对照染色结果未达到预期目标,或者分析条件不遵照指导手册,或者内部阳性对照不成立情况下染色无肿瘤细胞染色,这时报告应该注明无效试验结果无法阅片。

(5) 使用估算或定量报告细胞核着色的肿瘤细胞百分率,可以使用图像分析系统或人工进行定量。

(6) 要对整张切片进行审阅以评估肿瘤阳性细胞百分数,若肿瘤细胞有限的活检组织或只有少量肿瘤细胞的细胞标本必须至少计数100个细胞以上;

(7) 肿瘤细胞核的染色强度报告记为整个切片中肿瘤细胞阳性染色强、中等或弱的平均值;

(8) 确定了以上评分系统,可以提供评分结果;

(9) 对带有低百分率核染色的切片或多位阅片者意见不统一的病例建议使用定量图像分析系统,该方法对染色强度定量也是有效,而且它更客观,并能保持阅片标准的一致性;

(10) 如果出现肿瘤细胞浆染色,则需要重新检测或使用同一病例的不同蜡块进行实验;

(11) 若肿瘤细胞呈阴性着色,而内部对照(残留的正常导管或小叶细胞)呈弱阳性,建议更换组织蜡块重新检验;

表三. ER和PR IHC报告单

(12) 不能使用脱钙后组织或只有坏死的组织样本;

(13) 在对乳腺导管原位癌(DCTS)的样本进行ER/PR染色,结果用上方描述的ER/PR评分方法,而且在报告中要体现乳腺导管原位癌的病理组织学类型,在既有乳腺导管浸润癌又有浸润癌的组织进行免疫组化ER/PR评估时,评估结果主要针对浸润癌部分,而导管原位癌的染色方式只做注解即可;

(14) ER和PR结果应与以后的患者临床情况相符,阅片时要考虑乳腺浸润癌的组织学类型和级别等;就像小叶癌,粘液癌和导管癌等肿瘤几乎都呈ER强阳性表达,极少ER阴性。

另外为了达到ER/PR检测的标准化,该小组还提出ER和PR免疫组化分析报告的要点(见表三),这样可更好地为临床治疗提供有用的依据。

ER和PR IHC报告单		
染色试验编号:		
患者姓名:	性别:	年龄:
病历号(住院号):	床位号:	送检科室:
送检医生:	送检日期:	临床诊断:
报告日期:		
病理诊断:		
取材部位:	标本类型:	蜡块号:
固定剂:	组织缺血时间(取材到固定的时间间隔):	
固定时间:		
染色方法:一抗及供应商:		
分析详情及其它试剂/供应商:		
对照(高蛋白表达、低蛋白表达、阴性蛋白表达,内部因素或正常乳腺组织标本):		
评估标本量:	充足 <input type="checkbox"/>	缺乏 <input type="checkbox"/>
病理诊断结果:		
出现核染色的浸润性肿瘤细胞百分率: _____ %		
染色强度: 强 <input type="checkbox"/> 中 <input type="checkbox"/> 弱 <input type="checkbox"/>		
解释:		
阳性(用于ER或PgR受体因子表达), 阴性(用于ER或PgR受体因子表达), 或无法解释。		
对照实验(阳性、阴性或不表达)。		
标准分析条件满足或不满足(包括冷冻缺血时间和固定范围)		
最佳评分和评分系统		
建议: 如果合适的话,应该解释一下结果无法解释的原因和其他不正常条件;可以报道标本的任何DCIS染色情况;应该提供与肿瘤组织类型的关系;可以提供有关实验室认证情况的信息。		



文章涉及所有抗体列表

迈新编号	抗体名称	克隆号	迈新编号	抗体名称	克隆号
MAB-0003	Actin (Smooth Muscle)	1A4	MAB-0634	H-Caldesmon	h-CALD
MAB-0121	SMMHC	SMMS-1	MAB-0365	P63	4A4
RAB-0150	S-100	—	MAB-0585	S-100	4C4.9
MAB-0049	Cytokeratin (pan)	AE1/AE3	MAB-0335	Calponin	CALP
MAB-0001	Actin	HHF35	MAB-0642	MLH-1	G168-15
MAB-0291	MSH-2	25D12	MAB-0643	MSH-6	44
MAB-0656	PMS2	M0R4G	RMA-0501	ER	SP1
MAB-0349	ER	6F11	MAB-0062	ER	1D5
MAB-0236	PR	1A6	RMA-0502	PR	SP2