

无特异性分子特征的低拷贝数子宫内膜腺癌的形态学特征和分子改变

Vivienne T. Meljen, M.D., Rhonda Mittenzwei, M.D., Janice Wong, M.S., Allison Puechl, M.D., Regina Whitaker, B.S., Gloria Broadwater, M.S., Allison H. Hall, M.D., Ph.D., Sarah M. Bean, M.D., Rex C. Bentley, M.D., Julia A. Elvin, M.D., Andrew Berchuck, M.D., Rebecca A. Previs, M.D., and Kyle C. Strickland, M.D., Ph.D.

From the Department of Obstetrics and Gynecology (V.T.M., J.W.); Department of Pathology (R.M., J.W., A.H.H., S.M.B., R.C.B., K.C.S.), Duke University Medical Center; Department of Obstetrics and Gynecology, Division of Gynecologic Oncology, Duke Cancer Institute, Duke University Medical Center (A.P., R.W., A.B., R.A.P.); Duke Cancer Institute Biostatistics (G.B.), Durham, North Carolina; and Foundation Medicine Inc., Cambridge, Massachusetts (J.A.E.).

VT.M., R.M., R.A.P., and K.C.S. contributed equally as first and last authors.

Presented at the United States and Canadian Academy of Pathology Annual Meeting, March 2019, National Harbor, Maryland

This project was funded by the Charles Hammond Research Fund. Dr R.A.P. is supported by grants from the AAOGF-GOG Foundation, Foundation for Women's Cancer, and the Emerson Collective. Dr K.C.S. is supported by grants from the Foundation for Women's Cancer, the Emerson Collective, and the International Society of Gynecological Pathologists.

V.T.M., R.M., J.W., A.P., J.A.E., A.B., R.A.P., and K.C.S.: contributed to conceptualization and study design. V.T.M., R.M., J.W., A.P., R.W., G.B., A.H.H., S.M.B., R.C.B., R.A.P., and K.C.S.: contributed to investigation and data curation. V.T.M., R.M., J.W., G.B., A.H.H., S.M.B., R.C.B., A.B., R.A.P., and K.C.S.: contributed to data analysis. V.T.M., R.M., R.A.P., and K.C.S.: contributed to writing the original draft. V.T.M., R.M., J.W., A.P., R.W., G.B., A.H.H., S.M.B., R.C.B., J.A.E., A.B., R.A.P., and K.C.S.: contributed to writing review and editing of the final manuscript. R.A.P. and K.C.S.: provided supervision for the project. V.T.M., A.B., R.A.P., and K.C.S.: contributed to funding acquisition.

K.C.S. is a consultant pathologist for Almac Pharmaceuticals and Foundation Medicine Inc. J.A.E. is Senior Vice President, Pathology and Diagnostic Medicine, for Foundation Medicine Inc. The remaining authors declare no conflict of interest.

Address correspondence to Kyle C. Strickland, MD, PhD, Department of Pathology, Duke University School of Medicine, 40 Duke Medicine Circle, Davidson Building, Room 3418, Durham, NC 27710. E-mail: kyle.strickland@duke.edu.

Supplemental Digital Content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's website, www.intjgynpathology.com.

摘要: 本研究评估了低拷贝数 (CNL) 子宫内膜腺癌 (EAs) 的形态学模式、突变谱以及 β -catenin 的免疫组化染色。从我们机构数据库中, 挑选了 19 例具有二代或全基因组测序结果, 并且可以进行 IHC 检测的子宫内膜腺癌样本。回顾临床资料及组织学切片, 行 β -catenin 免疫组化检测并与该基因突变状态进行对比。4 名病理医生对来自 TCGA 数据库的 90 例 CNL EAs 的数字切片图像进行盲评, 将形态学特征与基因突变状态进行对比。采用 Fisher 精确检验对分类变量进行分析, 采用 fleisk 评估一致性。63% (12/19) 的 CNL EAs 存在 *CTNNB1* 突变, β -catenin 细胞核表达存在于 83% (10/12) *CTNNB1* 突变型的肿瘤和 0% (0/7) *CTNNB1* 野生型的肿瘤 (敏感性为 0.83, 特异性为 1.00)。47% (9/19) 的病例存在鳞状分化 (SD), 且更常见于 *CTNNB1* 突变的肿瘤 ($P=0.02$); 黏液分化 (MD) 与 *KRAS* 突变相关 ($P<0.01$)。TCGA CNL EAs 的数字图像复阅显示, 病理学家对鳞状分化 (SD) 的一致性较强 ($\kappa=0.82$), 而黏液分化 (MD) 的一致性较弱 ($\kappa=0.48$)。病理学家识别出 22% 病例 (20/90) 存在鳞状分化, 与 *CTNNB1* 突变高度相关 ($P<0.01$)。不同形态的 CNL EAs 具有不同的分子改变。在这些肿瘤中, SD 分化与 *CTNNB1* 突变和 β -catenin 核阳性表达显著相关。 β -catenin 的核表达是 CNL EAs 中 *CTNNB1* 突变的敏感和特异性免疫组化标记物。*KRAS* 突变的 CNL EAs 常表现为 MD 分化。

关键词: 子宫内膜腺癌; 低拷贝数肿瘤; 无特异性分子特征; β -catenin; TCGA

(*IJGP.2021 Nov.;40(6):587-596*)

病 理评估, 包括组织学类型、分级和分期, 是子宫内膜腺癌 (EA) 患者危险分层的基础。以往 EAs 被分为

两种类型:具有子宫内膜样形态的低级别肿瘤(1型)(FIGO 分级1和2级)和具有高级别组织学改变的肿瘤,包括浆液性、透明细胞性、癌肉瘤和FIGO3级子宫内膜样肿瘤(2型)^[1]。尽管这种宽泛的分类方法有用,但存在一定缺点,因有一些低级别的病例易复发、对放化疗无效且预后不良^[2-7]。2013年,癌症基因组图谱(TCGA)发布了232例EAs的全面分子评估结果,确定了4个与无进展生存相关的EAs分子分类亚组:即POLE突变(7%),微卫星不稳定(28%),高拷贝数(26%),低拷贝数(39%)^[8]。CNL EAs与其他EA分子亚型具有同样的形态学和基因突变包括PTEN, PIK3CA, KRAS, 以及CTNNB1的致病突变。其他分子亚型的高突变性可能有助于解释其发病机制,但CNL肿瘤没有特异性的分子改变或可靠的替代标记,这使得CNL成为一种排除性分类。

CNL肿瘤具有异质性的基因组特征,大约有一半携带编码β-catenin的CTNNB1基因突变^[8-11]。在低级别EAs中,CTNNB1突变与预后不良有关,尤其是在年轻女性。事实上,CTNNB1突变在CNL肿瘤更多见,并具有潜在的治疗意义,因为在最近的一项随机II期临床试验中发现,具有CTNNB1突变的EA患者接受贝伐单抗治疗后显示出更长的无进展生存期^[8]。β-catenin表达异常与子宫和卵巢的子宫内膜样肿瘤有关,特别是那些显示鳞状上皮化生的子宫内膜样肿瘤^[12]。在没有被TCGA进行分子分型的EAs研究中发现,β-catenin免疫组化(IHC)的核表达可能是CTNNB1基因突变的一个敏感和特异性的标志物^[13,15]。

本研究的目的是描述在我们机构确定的CNL EAs的形态学特征,并确定这些特殊的形态学特征是否可提示该亚型内相应的分子改变。我们回顾了本机构内CNL EAs组织学切片及TCGA数据库中CNL EAs的数字切片,将形态特点与常见的突变基因进行比较。进行β-catenin免疫组化染色,并探索能否利用β-catenin免疫组化作为替代特异性识别CNL亚型中CTNNB1突变的标志物。我们的结果提示一个简单的规则:即肿瘤形态学和分子改变的信息有助于对这组异质性肿瘤进一步分层。

材料和方法

实验设计

这项研究得到了Duke大学机构审查委员会的批准(Pro00100761)。为了建立CNL EAs队列,我们选取了本机构及TCGA数据库中分类为CNL组的肿瘤。此外,我们选取晚期或复发性子宫癌患者的肿瘤样本进行商业性二代测序

(Foundation Medicine)。基因突变数据从cBioportal TCGA数据库及Foundation Medicine给出的报告中收集^[9, 15]。为了排除高拷贝数、超突变或微卫星不稳定的分子表型,TP53突变、POLE突变或微卫星不稳定超突变状态的肿瘤未被纳入本研究。存在CTNNB1、ESR1、KRAS、PIK3CA和PTEN突变时被记录下来,并与肿瘤形态相对照。临床资料从电子病历中提取获得。

形态复习和免疫组化

从病理档案中调取苏木精和伊红染色(H&E)切片,并由两位具有妇科病理经验的解剖病理学家(K.C.S. and R.C.B.)对形态学特征进行判读,直至二位意见统一为止。根据病理学家的共识将肿瘤分为三组:肿瘤具有(1)SD/特征,(2)MD/特征,或(3)完全子宫内膜样形态缺乏鳞状或黏液特征。具鳞状特征EA可以出现几种不同的形态模式,包括合体样角蛋白形成细胞构成的实性区域,或由胞浆轻微嗜酸性半透明的卵圆形或梭形细胞组成的分化良好的区域。粘液分化指肿瘤细胞高柱状且分化良好,核位于细胞基底部,具有空泡黏液样细胞质,表明黏液蛋白的产生。即使是灶性区域(<1%),也认为其具SD或MD分化特征。将所有具有肿瘤的切片,按照存在SD或MD分化特征进行亚组分类,即使HE切片中肿瘤显示的相应形态为局灶性(<1%)。为了确保病变组织出现在深切的切片上(重切的切片中依然存在病变区域),从档案中挑选含有大量病变的组织块,调取并进行切片。在常规二甲苯脱蜡和水化后,按照产品说明,使用H&E染色试剂盒(American Master Tech, Lodi, CA)对每个切片进行染色。对于免疫组化染色,在二甲苯中常规脱蜡、水化并用3%氢过氧化酶抑制内源性过氧化物酶活性,切片置于0.01M柠檬酸钠缓冲液中进行热修复,pH 6.0(Sigma,St Louis, MO)。用封闭液(Background Terminator; Biocare Medical,Pacheco, CA)孵育后,切片中加入一抗β-catenin(克隆号β-Catenin-1; IS702,Dako, Agilent, Santa Clara, CA), ERα(克隆号SP1;AB16660, Ab Cam, Cambridge, MA), or PTEN(克隆号6H2.1; M3627, Dako, Agilent), 4°C孵育过夜。载玻片加入与辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素结合的二抗小鼠抗体进行孵育(4 Plus Universal Detection System; Biocare Medical, Pacheco, CA)应用DAB显色剂进行显色。评估β-catenin免疫组化核阳性的细胞百分数,核强阳性的区域大于1%即可判定为阳性。PTEN的阳性是指大于90%的肿瘤

区域着色。ER 的免疫染色是根据核表达进行评估的，强度分为 4 级（0 阴性，1+ 弱，2+ 中，3+ 强）。如果在 $\geq 95\%$ 的肿瘤细胞表达缺失，则认为 ER 表达为阴性。形态学特征和免疫组化与分子检测结果进行对照。

回顾TCGA数据库的数字切片

对所有经 TCGA 鉴定为 CNL EAs 的 90 例公开的组织切片的数字图像 (cbioportal.org) 进行了复习。每个病例的代表性图像被整理成一份数字文档，由四名具有妇科病理学经验的病理学家 (S.M.B., R.C.B., A.H.H., K.C.S.) 审阅。病理学家查看了肿瘤代表性区域的图像，并记录下肿瘤是否显示 SD 和/或 MD 的意见。值得注意的是，没有给病理学家提供额外的培训或评估 SD 和/或 MD 的精确形态学标准。所有的病理学家对肿瘤的突变类型都是未知的。为了便于分析，如果 2 个或更多的病理学家识别了 SD 和/或 MD，则认为存在这些形态学特征。

统计学分析

Fisher 精确检验用于评估两个因素之间的关联性。Fleiss κ 系数用于评价病理医师诊断的一致程度。 κ 系数为 0-0.20 时被定义为一致性差，(0.21-0.39) 则认为一致性最小、(0.40-0.59) 则认为较弱、(0.60-0.79) 一致性中等、(0.80-0.90) 一致性较强，(>0.90) 一致性几乎完美，采用 SAS 软件 (Version 9.4; SAS Institute Inc, Cary NC) 和 R 语言 (2017) 进行统计分析。

结果

19 例 CNL EAs 来自本机构，其中 14 例作为 TCGA 研究的一部分，进行了全基因组测序，另有 5 例晚期或复发患者的肿瘤组织由 Foundation Medicine 进行了二代测序。95% (18/19) 的病例进行了微卫星不稳定的检测，且均为微卫星稳定状态，另一例病例进行了二代测序，未检测到错配修复基因、*TP53* 及 *POLE* 基因的突变。平均患者年龄为 60.8 岁，(范围 35.8-69.2)。平均体重指数 (BMI) 为 33.1 (kg/m²)，范围 (20.5-49.4) (见表 1)。大多数患者均属于疾病的早期阶段，IA 期患者占 42% (8/19)，IB 期患者占 37% (7/19)。在子宫切除时，5% (1/19) 患者处于 II 期，16% (2/19) 患者处于 III 期。EAs 组织学分级 74% 为 1 级 (14/19) 和 26% 为 2 级 (5/19)。47% (9/19) 的患者有复发病史。

我们根据肿瘤的组织学特征将肿瘤分为三组 (图 1)，包括仅具有子宫内膜样形态 (n=7)、MD (n=3) 及 SD (n=9) 的肿瘤。所有 *CTNNB1* 突变的病例中，SD 者可以占到 73% (8/11) (表 2)。与 *CTNNB1* 野生型肿瘤相比，*CTNNB1* 突变与 SD 的存在密切相关 ($P=0.02$)。MD 形态见于 16% (3/19) 患者，均为 *KRAS* 突变且 *CTNNB1* 野生型肿瘤 (3/3, 100%; 表 3)。*KRAS* 突变仅存在于伴有 MD 的肿瘤中 ($P<0.01$)。其余患者 (7/19, 36%) 均为子宫内膜样特征，缺乏可识别的 SD 或 MD 性特征。在这些子宫内膜样形态的肿瘤中，57% (4/7) 存在 *CTNNB1* 突变 (表 4)。*PIK3CA* 基因突变见于 56% (5/9) 伴有 SD 的肿瘤，33% (2/3) 伴有 MD 的肿瘤，43% (3/7) 无 SD 或 MD 肿瘤。SD ($P>0.05$) 和 MD ($P>0.05$) 分化肿瘤中 *PIK3CA* 突变的比例无显著性差异。

对队列中所有肿瘤进行 β -catenin 表达免疫组化检测。53% (10/19) 的 CNL 肿瘤中有 β -catenin 的细胞核的阳性表达，所有 β -catenin 核阳性的患者均有 *CTNNB1* 突变 (10/10, 100%)。 β -catenin 核阳性表达在 89% (8/9) SD 分化肿瘤中存在，0% (0/3) MD 分化肿瘤中存在，29% (2/7) 典型子宫内膜样形态的肿瘤中存在 (图 2)。有 2 例形态学为腺样结构，检测出了 *CTNNB1* 突变，但 β -catenin 核染色缺失。 β -catenin 免疫组化染色是 CNL 肿瘤中 *CTNNB1* 突变的敏感和特异性标志物 (敏感性 0.83，特异性 1.00，阳性预测值 1.00，阴性预测值 0.78)。

总体而言，测序分析显示 63% (12/19) 的病例中存在 *CTNNB1* 基因 3 号外显子突变。16% 的病例 (3/19) 在已知 *KRAS* 热点密码子 12 和 61 处存在突变。68% (13/19) 的肿瘤中存在 *PTEN* 突变，包括活性位点催化标准残基的错义突变、无义突变和导致提前出现终止密码子的移码突变。*PIK3CA* 突变被检测到出现在常见部位，9 号及 20 号外显子，分别对应于螺旋结构域和激酶结构域。编码雌激素受体- α 的 *ESR1* 突变存在于 16% 的病例 (3/19) 中，该突变定位于配体结合区域。进一步的测序数据分析显示 *PTEN* 突变在所有 *CTNNB1* 野生型肿瘤中均存在 (7/7, 100%)，但仅在 50% (6/12) *CTNNB1* 突变肿瘤中存在 ($P=0.04$)。此外，*KRAS* 突变与 *PTEN* (3/3, 100%) 和 *PIK3CA/PIK3R1* 突变 (3/3, 100%) 高度相关，但 *KRAS* 和 *CTNNB1* 的改变是互斥的 (0/3, 100%)。*ESR1* 突变局限于 *CTNNB1* 突变肿瘤 (3/12, 25%)，在 *CTNNB1* 野生型肿瘤中不存在 (0/7, 0%)。

在数据量更大的 TCGA 数据库中对这些 CNL 肿瘤分子改变的评估也显示出了类似的趋势。(补充表 1, 补充数字切片内容, <http://links.lww.com/IJGP/A115>), 通过免疫组化检测 PTEN 的表达, 结果显示在所有 *PTEN* 野生型肿瘤 (6/6) 中均有 PTEN 表达保留, 而在 *PTEN* 突变型肿瘤中 PTEN 表达缺失约占 46% (6/13)。在 95% (18/19) 的肿瘤中 ER 免疫组化阳性表达, 包括 (3/3) *ESR1* 突变的肿瘤。

为了进一步验证上述观察结果, 病理学家对 TCGA 鉴定的 90 个低拷贝数 EAs 公开数字切片中的代表性图像进行了盲检。病理学家诊断 SD 的一致性很强 ($\kappa=0.82$), 而病理学家诊断 MD 的一致性很弱 ($\kappa=0.48$)。至少有 2 名病理学家分别在 22% (20/90)、13% (12/90) 和 2% (2/90) 的病例中发现 SD、MD 或 SD+MD。62% (56/90) 的病例既没有发现 SD 也没有发现 MD (补充表 2, 补充数字切片内容 2 <http://links.lww.com/IJGP/A116>), 其中 45% (25/56) 存在 *CTNNB1* 突变, 11% (6/56) 存在 *KRAS* 突变。在具有鳞状特征 (SD/SD+MD) 的 TCGA 数据库肿瘤中, 82% (18/22) 为 *CTNNB1* 突变型, 14% (3/22) 为 *KRAS* 突变型, 9% (2/22) 为 *CTNNB1* 和 *KRAS* 野生型。与缺乏 SD 的肿瘤相

比, *CTNNB1* 突变在具有鳞状特征的肿瘤中所占比例更高 (82% vs. 45%, $P=0.0015$)。总体而言, SD 是 *CTNNB1* 突变相对特异的形态学标志, 具有较高的阳性预测值。(敏感性 0.38, 特异性 0.91, 阳性预测值 0.82, 阴性预测值 0.57)。在具有黏液特征 (MD/SD+MD) 的 TCGA 数据库肿瘤中 ($n=14$), 43% (6/14) 为 *CTNNB1* 突变型, 29% (4/14) 为 *KRAS* 突变型, 29% (4/14) 为 *CTNNB1* 和 *KRAS* 野生型。MD 对 *KRAS* 突变具有特异性, 但预测价值低 (敏感性 0.29, 特异性 0.87, 阳性预测值 0.29, 阴性预测值 0.87)。与缺乏黏液特征的肿瘤相比, *KRAS* 突变在具有 MD 的肿瘤中的比例更高, 但二者差异无统计学意义 (29% vs. 11%, $P=0.22$)。值得注意的是, 2 例肿瘤同时具有鳞状和黏液特征 (均显示 *CTNNB1* 突变), 2 例肿瘤同时含有 *CTNNB1* 和 *KRAS* 突变 (补充图 1, 补充数字切片内容 3, <http://links.lww.com/IJGP/A117>)。 *PIK3CA* 突变与鳞状或黏液特征无关 ($P>0.05$) (补充表 3, 补充数字切片内容 4, <http://links.lww.com/IJGP/A118>)。

作为数字图像复查的质量控制措施, 将内部 TCGA 病例 ($n=15$) 完整切片复查的形态学结果与数字图像复查的形态学

表1. 患者统计资料

	总病例数 (n=19)	鳞状 (n=10)	黏液样 (n=3)	排除鳞状及黏液样分化的宫内膜样癌 (n=6)
诊断时的平均年龄 (范围)	60.7 (36-69)	55.1 (35-64)	61.2 (54-62)	60.4 (35-69)
分期, (%)				
IA	8 (42)	7 (70)	2 (67)	0
IB	7 (37)	2 (20)	1 (33)	3 (50)
II	1 (5)	0	0	1 (17)
III	2 (11)	0	0	2 (33)
IV	0	0	0	0
IV	1 (5)	1 (10.0)	0	0
非特指, n (%)				
分级, (%)				
1	14 (77)	8 (80)	2 (67)	4 (67)
2	5 (26)	2 (20)	1 (33)	2 (33)
淋巴血管侵犯, (%)	5 (26)	4 (40)	0	1 (17)
MELF模式浸润, (%)	1 (5)	0	1 (33.3)	0
平均BMI (kg/m ²)	33.1	29.6	38.1	33.7
平均分娩次数	1	0.5	2	1.5
中位无进展生存期 (范围)	104.7 (10.1-151.1)	96.0 (10.1-149.0)	138.7 (34.3-151.1)	97.8 (52.4-113.4)
疾病复发, n (%)	9 (47)	5 (50)	1 (33)	3 (50)
复发状态未知, n (%)	1 (5)	1 (1)	0	0

BMI 体重指数; MELF, 微囊, 拉长及碎片状

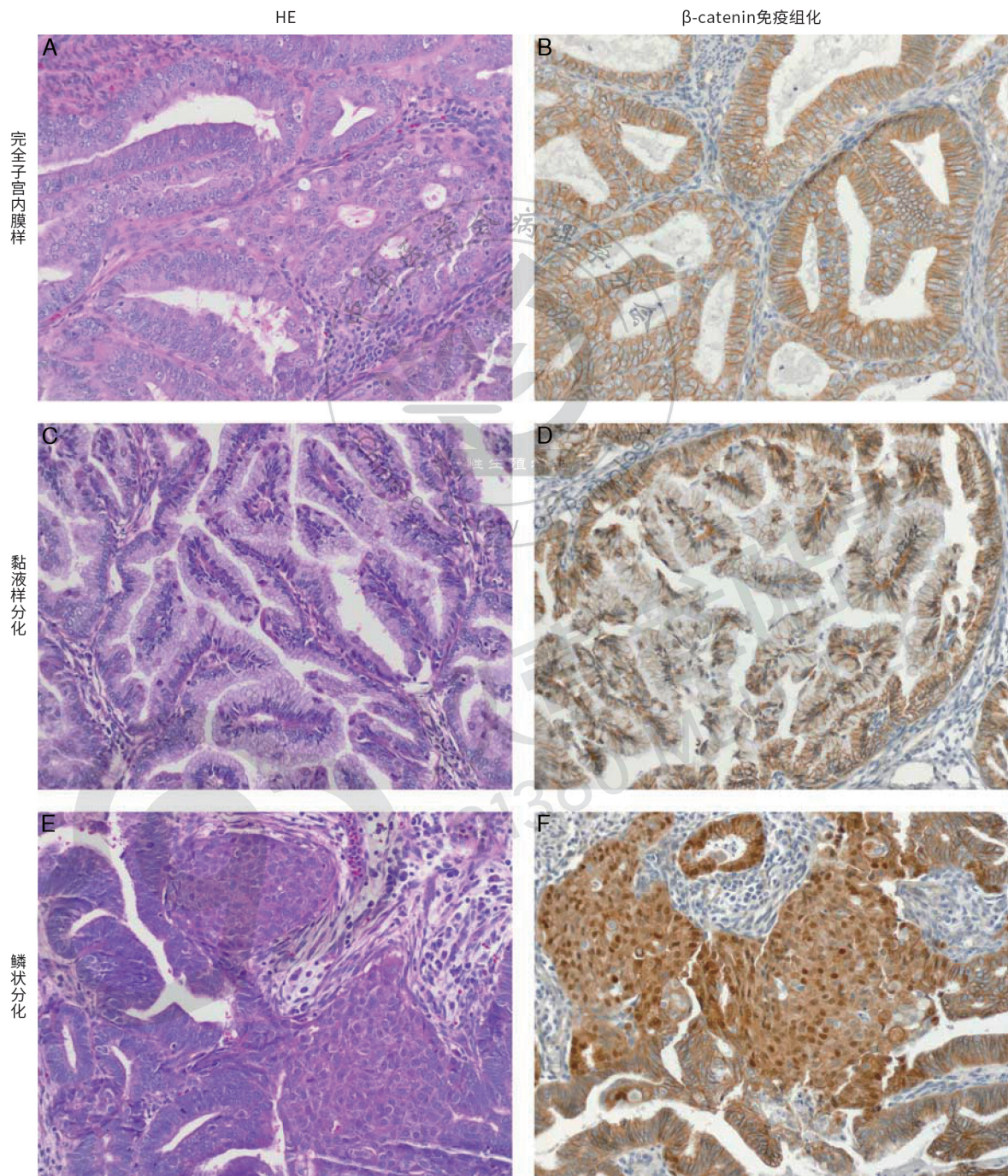


图1.低拷贝数字子宫内膜腺癌的形态学分类 A 和 B 子宫内膜腺癌缺乏黏液样或鳞状分化，免疫组化 (IHC) 显示完全子宫内膜样形态， β -catenin 膜染色。C 和 D 肿瘤亚群表现为黏液样分化，免疫组化也显示 β -catenin 的膜染色。这些肿瘤 (n=3) 被发现含有 KRAS 突变。E 和 F, 47% 的肿瘤存在鳞状分化，大多数经免疫组化证实 β -catenin 核阳性。

结果进行比较，吻合率为 87% (13/15) (补充表 4, 补充数字切片内容 5, <http://links.lww.com/IJGP/A119>)。在 13% (2/15) 的病例中，4 名病理学家中有 2 名在数字图像回

顾中诊断了 MD 形态，而在完整的切片复查中未被发现 (补充图 2, 补充数字切片内容 6)。TCGA 研究队列中不同形态学亚型患者临床特征进行了比较 (补充表 5, 补充数字切片内容 7,

<http://links.lww.com/IJGP/A121>)。

讨论

CNL 是最常见的 EA 分子亚型。尽管没有特定的分子改变特征, CNL EAs 具有几种不同的形态, 并与不同的分子特征相关。我们根据组织学将 EAs 分为三组, 包括 SD、MD 和完全子宫内膜样形态。具 SD 形态的 CNL EAs 中 *CTNNB1* 突变率高, 很少含有 *KRAS* 突变。在本实验室的研究队列中, MD 与 *KRAS* 突变相关且与 *CTNNB1* 突变相对缺乏相关性。通过对 TCGA 数字切片图像的回顾, 我们观察到了类似的关联趋势。缺乏 SD 或 MD 形态的 CNL 肿瘤多见于 *CTNNB1* 和 *KRAS* 野生型的病例。

大部分的 CNL 肿瘤存在 *CTNNB1* 突变。在一项 II 期应用贝伐单抗治疗的临床试验中, 该突变被认为与改善预后相关^[8]。二代测序技术的出现使得对实体肿瘤分子异常的综合评估成为可能, 然而, 测序在临床和/或研究环境中可能不可行或不划算。

免疫组化是一种有吸引力的选择, 例如, 在 MMR 缺失的 EAs 中, 免疫组化 β -catenin 的核表达是与免疫检查点标记物 (程序性死亡配体 1) 的表达有关^[16]。其他研究表明, β -catenin 的免疫组化方法通常是 EAs 中的 *CTNNB1* 突变是敏感和特异的检测手段^[10, 13, 14, 17]。我们的研究证实了该标记在 CNL 肿瘤中识别 *CTNNB1* 异常的实用性。虽然敏感且特异, β -catenin 的核表达在提示突变状态中仍不完美。 β -catenin 核定位通常局限于具 SD 特征的区域, 而 SD 本身对 *CTNNB1* 突变是相对敏感和特异的提示。SD 的存在通常是灶性区域, 因此在组织学检查时很容易被忽略。鳞状上皮化生灶和 β -catenin 核染色之间的密切联系意味着病理学家在选择组织染色时应该选择包含 SD 区域, 以减少假阴性结果。

在我们的队列中, *CTNNB1* 突变出现在 2 个同时缺乏 SD 和核 β -catenin 表达的肿瘤中, 这表明如果不进行测序, 假阴性结果将不可避免地发生^[13]。

尽管我们在 CNL EAs 病例的病理回顾中发现了 MD 分化

表2. 鳞状分化的低拷贝子宫内膜样腺癌分子特征

分级	CTNNB1	PTEN	PIK3CA	KRAS	ESR1	β -catenin 核阳性	PTEN表达 (IHC)	ER表达 (IHC)
2	WT	m (R130*)	WT	WT	WT	阴性	阳性	阳性 (2+)
1	m (T41A)	m (R130G)	WT	WT	WT	阳性 (5%)	阳性	阳性 (3+)
1	m (G34V)	WT	m (H1047R)	WT	WT	阳性 (5%)	阳性	阳性 (3+)
1	m (D32Y)	m (R130*)	WT	WT	WT	阳性 (10%)	阴性	阳性 (3+)
1	m (D32H)	WT	m (G118D)	WT	WT	阳性 (1%)	阳性	阴性
1	m (S37A)	m (R130L, G165R)	WT	WT	WT	阳性 (1%)	阳性	阳性 (2+)
1	m (S37C)	WT	m (N345K)	WT	WT	阳性 (70%)	阳性	阳性 (2+)
1	m (D32Y)	m (E157*, N276fs*15)	m (I1058L)	WT	WT	阳性 (20%)	阴性	阳性 (3+)
1	m (S33Y)	m (T319*)	m (H1047R)	WT	WT	阳性 (1%)	阳性	阳性 (2+)

IHC 免疫组织化学m, 突变; WT, 野生型

表3. 黏液样分化的低拷贝子宫内膜样腺癌分子特征

分级	CTNNB1	PTEN	PIK3CA	KRAS	ESR1	β -catenin 核阳性	PTEN表达 (IHC)	ER表达 (IHC)
1	WT	m (R130Q)	m (Q546K)	m (G12S)	WT	阴性	阳性	阳性 (2+)
1	WT	m (L140*, G127V)	m (H1047R)	m (Q61H)	WT	阴性	阳性	阳性 (2+)
2	WT	m (N340Kfs*3)	WT	m (G12V)	WT	阴性	阴性	阳性 (2+)

IHC 免疫组织化学m, 突变; WT, 野生型

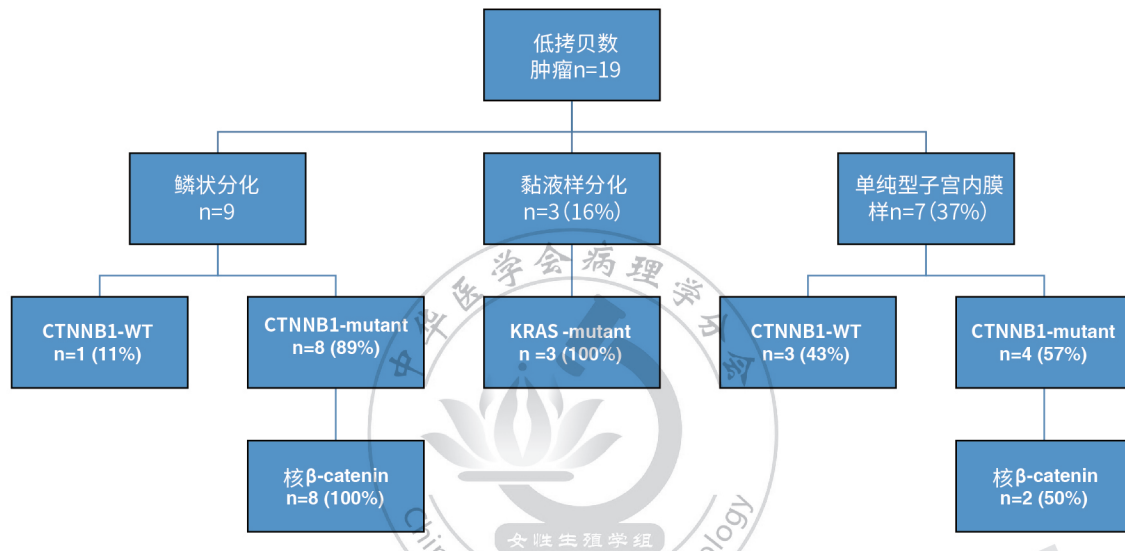


图2.总结低拷贝数子宫内膜腺癌的形态学和分子改变。WT, 野生型

和 *KRAS* 突变之间的相关性，但在我们回顾 TCGA 数据库中子宫内膜肿瘤的数字图像时，这种相关性没有统计学意义。我们比较了 15 例本机构的组织学切片与数字切片的结果，其中 87% (13/15) 的病例具有相同的形态学诊断。2 例不一致的病例，是由 4 名病理医师中的 2 名在独立数字图像回顾时发现存在黏液分化。这些发现表明 MD 分化在数字图像是被过度诊断的而不是被“采样不足”所遗漏，这可能解释了为什么 MD 分化在观察者之间的一致性较弱。未来的研究将获益于严格定义 MD 的形态学标准，包括黏液性细胞浆的鉴定、细胞浆内黏液蛋白空泡，宫颈和肠型黏液化生，以及避免将细胞外粘蛋白解释为 MD 的明确证据。尽管如此，许多 *KRAS* 突变的 CNL EAs

显示出 MD，这支持了先前研究在伴 MD 分化的 EAs 观察到 *KRAS* 突变^[18, 19]。*KRAS* 突变通常与女性生殖道的各种肿瘤有关，包括卵巢粘液性肿瘤^[20]、子宫内膜中肾样腺癌^[21, 22]和子宫粘液上皮的不典型增生^[18]。在其他实体器官恶性肿瘤中，如原发性肺和结直肠腺癌，*KRAS* 突变也与 MD 相关，但这些癌症中靶向 *KRAS* 有效疗法已开发出来^[23]。有趣的是，TCGA 研究队列中，有 2 例肿瘤显示同时具有 *KRAS* 和 *CTNNB1* 突变，其中 1 例显示显著的 SD 分化。（补充图 1C 和 1D，补充数字切片内容 3，<http://links.lww.com/IJGP/A117>）。尽管 *KRAS* 突变在 CNL EAs 中相对罕见，但具这种突变的肿瘤可能对 *KRAS* 特异性靶向药物（如曲美替尼）有效果，这些效果已在复发性进展

表4. 完全子宫内膜样低拷贝数子宫内膜腺癌的分子特征

分级	CTNNB1	PTEN	PIK3CA	KRAS	ESR1	β-catenin 核阳性	PTEN表达 (IHC)	ER表达 (IHC)
1	WT	m (A126S, N323T)	WT	WT	WT	阴性	阳性	阳性 (3+)
1	WT	m (L23Sfs*2)	WT	WT	WT	阴性	阳性	阳性 (2+)
2	WT	m (P238Tfs*5)	m (M1043V,G1007R)	WT	WT	阴性	阴性	阳性 (2+)
2	m (S33F)	WT	WT	WT	m (Y537S)	阳性 (1%)	阳性	阳性 (3+)
2	m (G34R)	WT	m (M1043I)	WT	m (Y537S)	阳性 (10%)	阳性	阳性 (3+)
1	m (S33Y)	m (R335*, R308Vfs*9, Y138C)	m (E545K)	WT	m (G415_C417del)	阴性	阴性	阳性 (2+)
1	m (S45C)	WT	WT	WT	WT	阴性	阳性	阳性 (2+)

IHC 免疫组织化学m, 突变; WT, 野生型

性低级别浆液性卵巢癌患者的 2-3 期临床试验中进行过评估^[24]。

目前的研究也是评估其他肿瘤生物标志物的假设依据。在 CNL 肿瘤的部分病例中同时存在 *CTNNB1* 和 *ESR1* 突变（编码雌激素受体- α 的基因）。在乳腺癌中，*ESR1* 的突变似乎与芳香化酶抑制剂的抵抗性有关^[25]。最近，许多妇科恶性肿瘤，包括子宫内膜癌中都有 *ESR1* 突变的报道^[26]。虽然发生率较低，但如果这些肿瘤对内分泌治疗反应与 *ESR1* 野生型腺癌不同，检测这些突变的存在就可能具有重要的临床意义。之前对 TCGA 数据的分析显示，与 *PIK3CA* 野生型肿瘤相比，具有 *PIK3CA* 突变的 CNL EAs 具有更良好的总生存期^[27]。在我们的研究中，*PIK3CA* 突变可存在于 SD 或 MD 的肿瘤中，但与 CNL EAs 的特定形态学特征无关。*PIK3CA* 突变对 CNL EAs 患者的生存有利的机制目前尚不清楚。

这种描述性研究有几个局限性。值得注意的是，由于在线数据库中仅含有具有代表性的组织切片，因而 TCGA 数字图像的形态学评估将受到限制。相比之下，我们能够评估本机构中所有组织学切片，这种差异可能解释了为什么我们没有在 TCGA 研究队列中检测到 MD 和 *KRAS* 突变之间在统计上显著的相关性。此外，我们的内部队列研究来自一个单一的中心，仅限于那些进行分子检测的病例，样本量小。内部队列的分子检测在两种情况下进行：（1）作为原发肿瘤标本，测序作为 TCGA 数据的一部分（2）作为复发性肿瘤标本，由 Foundation Medicine 进行商业测序。这种差异可能解释了为什么我们的内部研究队列显示了高复发率。因此，我们的发现可能并不完全适用于其他患者群体。

综上所述，本研究旨在评估与 CNL EAs 相关的形态学差异和分子异常。在对本机构内部 CNL EAs 病例的回顾中，确定了具有 *CTNNB1* 突变肿瘤多存在于 SD 亚型，具有 *KRAS* 突变肿瘤多存在于 MD 亚型中。SD 的存在和 β -catenin 免疫组化核阳性表达是 *CTNNB1* 突变肿瘤的敏感和特异性标志物。CNL EAs 也包含 *KRAS*、*ESR1*、*PIK3CA* 突变阳性的肿瘤亚群，未来的研究应探讨这些突变的功能意义和后果。

致谢：作者感谢妇科肿瘤科和病理科对这个项目的帮助。

参考文献

- Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1983;15:10–17.
- Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, et al. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a gynecologic oncology group study. *Gynecol Oncol* 1991;40:55–65.
- Straughn JM, Huh WK, Kelly FJ, et al. Conservative management of stage I endometrial carcinoma after surgical staging. *Gynecol Oncol* 2002;84:194–200.
- Keys HM, Roberts JA, Brunetto VL, et al. A phase III trial of surgery with or without adjunctive external pelvic radiation therapy in intermediate risk endometrial adenocarcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 2004;92: 744–51.
- Sorbe B, Nordström B, Mäenpää J, et al. Intravaginal brachytherapy in FIGO stage I low-risk endometrial cancer: a controlled randomized study. *Int J Gynecol Cancer* 2009;19: 873–8.
- Moroney MR, Davies KD, Wilberger AC, et al. Molecular markers in recurrent stage I, grade 1 endometrioid endometrial cancers. *Gynecol Oncol* 2019;153:517–20.
- Han KH, Kim HS, Lee M, et al. Prognostic factors for tumor recurrence in endometrioid endometrial cancer stages IA and IB. *Medicine (Baltimore)* 2017;96:e6976.
- Levine DA, Dizon DS, Carlson JW, et al. Predictive biomarkers of endometrial cancer response: results from NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study 86P. *Gynecol Oncol* 2018;149:12–3.
- Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio Cancer Genomics Portal: an open platform for exploring multi-dimensional cancer genomics data: figure 1. *Cancer Discov* 2012;2:401–4.
- Kurnit KC, Kim GN, Fellman BM, et al. *CTNNB1* (beta-catenin) mutation identifies low grade, early stage endometrial cancer patients at increased risk of recurrence. *Mod Pathol* 2017;30:1032–41.
- Getz G, Gabriel SB, Cibulskis K, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013;497:67–73.
- Saegusa M, Okayasu I. Frequent nuclear β -catenin accumulation and associated mutations in endometrioid-type endometrial and ovarian carcinomas with squamous differentiation. *J Pathol* 2001;194:59–67.
- Kim G, Kurnit KC, Djordjevic B, et al. Nuclear β -catenin

- localization and mutation of the CTNNB1 gene: a context-dependent association. *Mod Pathol* 2018;31:1553–9.
14. Costigan DC, Dong F, Nucci MR, et al. Clinicopathologic and immunohistochemical correlates of CTNNB1 mutated endometrial endometrioid carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2020;39:119–27.
 15. Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal* 2013;6:1–20.
 16. Rowe M, Krishnan R, Mills A, et al. β -catenin and programmed death-ligand 1 expression in mismatch repair deficient endometrial carcinomas. *Int J Gynecol Cancer* 2020; 30:993–9.
 17. Travaglino A, Raffone A, Saccone G, et al. Immunohistochemical nuclear expression of β -catenin as a surrogate of CTNNB1 exon 3 mutation in endometrial cancer. *Am J Clin Pathol* 2019;151:529–38.
 18. He M, Jackson CL, Gubrod RB, et al. KRAS mutations in mucinous lesions of the uterus. *Am J Clin Pathol* 2015;143: 778–84.
 19. Jackson CL, Hang S, Hansen K, et al. Endometrial adenocarcinomas with significant mucinous differentiation: a characterization of intratumoral heterogeneity of KRAS mutations in mucinous and endometrioid histologic components. *Int J Gynecol Cancer* 2018;28:241–7.
 20. Enomoto T, Weghorst CM, Inoue M, et al. K-ras activation occurs frequently in mucinous adenocarcinomas and rarely in other common epithelial tumors of the human ovary. *Am J Pathol* 1991;139:777–85.
 21. Mirkovic J, McFarland M, Garcia E, et al. Targeted Genomic profiling reveals recurrent KRAS mutations in mesonephriclike adenocarcinomas of the female genital tract. *Am J Surg Pathol* 2018;42:227–33.
 22. Kolin DL, Costigan DC, Dong F, et al. A combined morphologic and molecular approach to retrospectively identify KRASmutated mesonephric-like adenocarcinomas of the endometrium. *Am J Surg Pathol* 2019;43:389–98.
 23. Román M, Baraibar I, López I, et al. KRAS oncogene in nonsmall cell lung cancer: clinical perspectives on the treatment of an old target. *Mol Cancer* 2018;17:33.
 24. Pashankar F, Hale JP, Dang H, et al. Is adjuvant chemotherapy indicated in ovarian immature teratomas? A combined data analysis from the Malignant Germ Cell Tumor International Collaborative. *Cancer* 2016;122:230–7.
 25. Toy W, Shen Y, Won H, et al. ESR1 ligand-binding domain mutations in hormone-resistant breast cancer. *Nat Genet* 2013;45:1439–45.
 26. Gaillard SL, Andreano KJ, Gay LM, et al. Constitutively active ESR1 mutations in gynecologic malignancies and clinical response to estrogen-receptor directed therapies. *Gynecol Oncol* 2019;154:199–206.
 27. Lin DI. Improved survival associated with somatic PIK3CA mutations in copy-number low endometrioid endometrial adenocarcinoma. *Oncol Lett* 2015;10:2743–8.

(张丽华 翻译 董颖 审校)