

免疫组化和下一代测序是子宫内膜癌活检中识别PTEN异常的互补检测技术

Linyuan Wang, M.D., Ph.D., Anna Piskorz, Ph.D., Tjalling Bosse, M.D., Ph.D., Mercedes Jimenez-Linan, M.D., Brian Rous, M.D., C. Blake Gilks, M.D., James D. Brenton, M.D., Ph.D., Naveena Singh, M.D., and Martin Köbel, M.D.

摘要: PTEN 在子宫内膜癌的发病机制中起着核心作用。先前的研究报道 PTEN 免疫组化 (IHC) 的解读具有较高的观察者间可重复性。然而, 在实验室实践中 PTEN 的 IHC 及其解读仍然具有挑战性。本研究的目的是重新评价 PTEN 的 IHC 模式, 并直接与下一代测序在识别 PTEN 异常方面进行比较。对 5 个中心 (巴特, 卡尔加里, 剑桥, 莱顿, 和温哥华) 的 182 例子宫内膜活检/刮宫标本进行 PTEN 的 IHC 和标记扩增的下一代测序。计算 PTEN IHC 预测 PTEN 突变功能缺失的敏感性、特异性和准确性。评估 PTEN 异常与组织学类型和分子亚型的相关性。共记录了 5 个 PTEN IHC 模式: 缺失型、亚克隆丢失型、意义不明型、减弱型 (相对于内对照) 和保留型。PTEN IHC 缺失预测 PTEN 突变功能缺失的敏感性为 75.4% (95% 置信区间: 62.7–85.5%), 特异性为 84.6% (95% 置信区间: 76.2%–90.9%), 准确性为 81.2% (95% 置信区间: 74.4%–

86.9%)。通过两种方法的互补解释表明: PTEN 异常存在于 91.9% 的子宫内膜的子宫内膜样癌 1 级并且所有级别的子宫内膜样癌的 PTEN 异常均明显高于子宫内膜浆液性癌 (80.0% vs. 19.4%, $P < 0.0001$)。PTEN 异常在子宫内膜样癌的所有分子亚型中都很常见。我们的数据支持 PTEN IHC 可用于子宫内膜肿瘤的辅助诊断。然而, 在临床试验设计中, 应考虑 IHC 检测和 PTEN 测序互补来评估子宫内膜癌中的 PTEN 状态。

关键词: 子宫内膜癌; 分子亚型; PTEN

(*IJGP.2022 Jan.;41(1):12–19*)

PTEN 是子宫内膜样癌中最常见到的改变基因 (84%)^[1]。是其前驱病变子宫内膜非典型增生中可检测到的早期事件^[2]。作为 *PTEN* 错构瘤综合征 / Cowden 综合征的一部分, 具有 *PTEN* 胚系突变的女性患子宫内膜肿瘤的风险增加^[3]。尽管在已发表的系列文章中突变率有相当大的差异, 但 *PTEN* 仍是子宫内膜样组织学类型癌变机制中的特征性改变, 且在子宫内膜浆液性癌中并不常见 (在 TCGA 数据中为 2.6%)^[1]。我们之前曾提出使用 PTEN 免疫组化 (IHC) 来鉴别子宫内膜样癌与浆液性癌的组织类型^[4–7]。然而, 尽管有报告显示了良好的观察者间可重复性和作为检测 PTEN 突变状态替代方法的价值, 但 PTEN IHC 并未在诊断实践中广泛应用, 部分原因是关于染色的解读标准不明确^[8, 9]。

子宫内膜癌的治疗原则仍然是早期发现, 然后手术切除, 辅以或不辅助放疗和/或者化疗^[10]。然而, 对于晚期或复发性患者, 或那些适合保留生育功能的患者, 针对 PI3K/AKT/mTOR 通路的系统化治疗已在临床试验的各个阶段显示出可喜的成绩^[11, 12]。因此, 可靠的识别 PTEN 异常不仅有助于正确

From the Department of Pathology, University of Calgary, Calgary, Alberta (L.W., M.K.); Department of Pathology Vancouver General Hospital, Vancouver, British Columbia (C.B.G.), Canada; Cancer Research UK Cambridge Institute, University of Cambridge (A.P., J.D.B.); Department of Pathology, Addenbrooke's Hospital (M.J.-L., B.R.), Cambridge; Department of Pathology, Barts Health NHS Trust, London (N.S.), UK; and Department of Pathology, University of Leiden, Leiden, The Netherlands (T.B.).

M.K. received internal support from Calgary Laboratory Services (RS19-612). J.D.B. received support from Cancer Research UK Institute Group Award UK A22905 and A15601. This project was funded by a research grant from Barts and the London Charity, MRD0206, supported by the Gynecological Cancer Research Fund at Barts and the London NHS Trust. The authors declare no conflict of interest.

Address correspondence to Martin Köbel, MD, Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Calgary, Calgary, AB, Canada T2N 2S9. E-mail: mkobel@ucalgary.ca.

判断子宫内膜癌的组织学类型，而且与入选临床试验相关，例如，临床试验 NCT03218826 正在研究一种 PI3Kbeta 抑制剂在 *PTEN* 突变的晚期实体瘤中的作用。

两种截然不同的 IHC 模式已被多个出版物广泛接受和证实：肿瘤细胞的胞浆中 *PTEN* 表达的正常“保留”模式；以及“缺失/完全丢失”模式，其特征是肿瘤细胞中没有 *PTEN* 染色，但在作为内对照的间质（通常是细胞核）和炎症细胞中保留了表达。此外，还报道了 2 种其他的染色方式：“亚克隆丢失/异质性”模式显示 *PTEN* 蛋白表达地图样缺失并部分区域保留染色。另一种“减少/减弱”模式显示肿瘤细胞与内对照相比 *PTEN* 表达的强度降低。亚克隆丢失和染色减少以前都被解释为 *PTEN* 表达异常^[2, 9, 13]，然而，尚没有很好的显示出后两种染色模式与突变分析的相关性。

本研究的目的是在大队列的子宫内膜活检标本中评估 *PTEN* IHC 全切片预测下一代测序评估 *PTEN* 功能缺失 (LOF) 突变的准确性。第二个目的是评估 *PTEN* 改变与子宫内膜癌的组织学类型和分子亚型的关系。

材料与方法

患者样本

使用先前研究收集过的子宫内膜癌活检/刮宫标本的切片。标本收集来自 5 个病理科，病例包括诊断为浆液性子宫内膜癌：非浆液性高级别癌：G1-2 子宫内膜样癌，比例约为 2:1:1，先前研究的目的是确定 200 例 >50% *TP53* 突变的病例^[14]。*PTEN* IHC 主要采用 DAKO Omnis 方案 (H30-R10-30) 和兔单克隆 *PTEN* 抗体克隆号 138G6 (Cell Signaling)，稀释 1/60。已获得 Alberta 癌症委员会健康研究伦理委员会 (HRE-BA-CC-16-0156) 的伦理批准。

PTEN IHC：免疫组化模式的解读

PTEN IHC 由两位提前未知晓突变数据的病理医生 (L.W. 和 M.K.) 独立解读。IHC 不一致的病例在多头显微镜下复核以达成共识。记录的模式如下：(1) 与内对照相比，在肿瘤细胞质中保留了相似的 *PTEN* IHC 染色强度；(2) 在内对照 (中间的间质和炎症细胞) 保留的情况下，肿瘤细胞 *PTEN* 染色完全缺失；(3) 亚克隆缺失，肿瘤细胞存在清晰可辨识区域 *PTEN* 染色完全缺失，且该区域内对照保留，其他区域具有明确的表达 (保留或减少)；(4) 与内对照相比，肿瘤细胞质中的 *PTEN* 染色减少；(5) 以及一种新的不确定类别，这类病例肿

瘤细胞中仅有 *PTEN* 微弱的细胞质染色，即使在共识评估后仍难以分类^[13]。在对突变数据揭晓后，没有对 IHC 评分进行修改。亚细胞定位由于肿瘤细胞定位细胞浆而间质细胞定位在细胞核的不同，在对突变数据进行对照后，未对免疫组化评分进行修订。在肿瘤细胞 (细胞浆) 与间质 (细胞核) 是不同的。

PTEN 测序

在先前的研究中使用了 PE-150 bp 方案，即在 Illumina MiSeq 或 HiSeq.4000 上使用靶向标记扩增子深度测序 (TAmSeq)^[14]。*PTEN* 的整个编码区都包含在目标组中。

如前所述，测序数据和变异验证使用内部分析管和 IGV 软件进行^[15]。*PTEN* 突变使用公开数据库 (ClinVar 和 COSMIC)^[16, 17]。

统计学分析

POLE 突变、错配修复和 p53 状态数据来自先前的研究^[14]，并计算了 95% 置信区间的敏感性、特异性和一致性或准确性。

结果

PTEN IHC 观察者间一致性和与下一代测序 (NGS) 的一致性

最初，从 5 个中心收集了 207 份诊断为子宫内膜癌的内 膜活 检/刮除标本。24 例测序失败，1 例 *PTEN* IHC 失败，因此，182 例 *PTEN* 测序和 IHC 数据被纳入分析。通过我们的 *PTEN* IHC 方案，我们将伴有细胞质微弱染色的病例归入一个新的 *PTEN* 染色模式亚型，我们称之为意义不明确类别 (图1)。当队列被分层为异常 IHC 染色 (完全缺失和亚克隆缺失) 与其他队列相比较时，观察者间的可重复性是中等的 ($\kappa=0.71$ ，86% 一致，156/182 例)。综合 IHC 分类的分布如表1 所示。在 42% 的病例中可检测到有害的 *PTEN* 突变。大多数具有 LOF (56.7%) 或非同义 (NS) 突变 (77.8%) 的病例还具有第二种甚至第三种 *PTEN* 突变。绝大多数第二种或第三种 *PTEN* 突变是非同义突变。

由于测序的样本方案未优化到检测亚克隆改变，我们从随后的一致性分析中排除了 17/182 (9.3%) 例具有亚克隆 IHC 模式的病例 (图 2)。*PTEN* 突变和 IHC 状态之间的一致性仍然不完美 (表 1)。*PTEN* IHC 缺失预测 *PTEN* LOF 突变的敏感性为 75.4% (95% 置信区间: 62.7%–85.5%)，特异性为 84.6% (95% 置信区间: 76.2%–90.9%)，准确度为 81.2%

(74.4%–86.9%)。有 16 例 PTEN 表达缺失但未检测到 LOF 突变。对不一致病例的 IHC 模式进行了重新复核，但未进行任何修改。另一方面，有 15 例存在 LOF 突变却仍保留了 PTEN 表达。这 15 例 LOF 突变的详细分类见表 2。15 例假阳性病例中有 10 例可以解释为检测到 LOF 突变的低等位基因频率、mRNA 未经历无义介导衰减的晚期截断突变或剪接突变对表达的不可预测的影响和/或 IHC 失败。值得注意的是，15 例假阳性病例中有 11 例存在第二种 *PTEN* 突变 (14/15 NS, 1 个剪接)。

依据组织学类型和分级的 PTEN 改变

我们直接比较了 IHC 染色模式与测序分析结果，以确定不同组织学类型/级别的 PTEN 异常 (表 3)。总体而言，测序检测到的异常多于 IHC (44.7%vs.37.6%)。由于上述大量不一致的病例，我们通过对两种方法的互补解释创建了 PTEN 异

常变量，其中 PTEN 异常包括 PTEN IHC 表达缺失和/或存在任何 *PTEN* LOF 和 NS 突变。根据这一定义，91.9% 的子宫内膜样癌 1 级存在 PTEN 异常。与子宫内膜浆液性癌相比，所有级别的子宫内膜样癌中 PTEN 异常的发生率显著增加 (80.0%vs.19.4%, $P<0.0001$)。在不同中心，子宫内膜浆液性癌 PTEN 异常的发生率为 0~33%，子宫内膜样癌为 70.8%~100%。同样，所有级别的子宫内膜样癌中 PTEN 突变的频率显著高于子宫内膜浆液性癌 (72.5%vs.13.6%, $P<0.0001$)。在不同中心，子宫内膜浆液性癌 PTEN 突变频率为 0% 至 28% (2 个中心为 0%)，而子宫内膜的子宫内膜样癌 PTEN 突变频率为 61.5% 至 78.8%。

不同分子亚型的 PTEN 改变

子宫内膜样癌分子亚型中 PTEN 染色缺失、PTEN 突变和 PTEN 组合异常的频率见表 4。与之前发表的 TCGA 队列

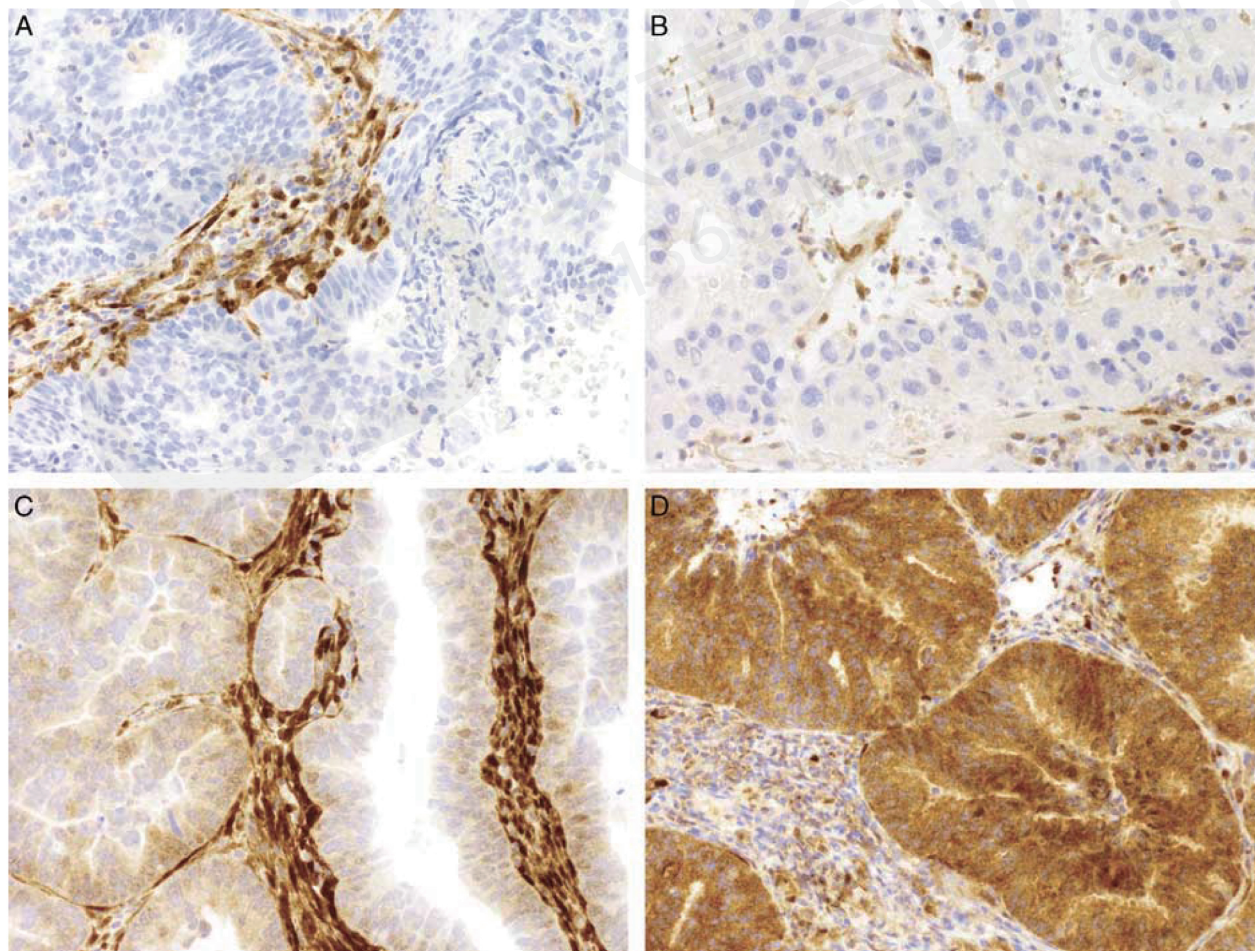


图 1. PTEN 的免疫组化染色模式。缺失 (A)、意义不明确 (B)、减弱 (C) 和保留 (D)。

表1. PTEN 免疫组化染色和二代测序之间的一致性

	n/N (%)				合计
	LOF	NS	VUS	NMD	
缺失	46 (74.2)	1 (1.6)	2 (3.2)	13 (21.0)	62 (34.1)
亚克隆性缺失	6 (35.3)	0	2 (11.8)	9 (52.9)	17 (9.3)
意义不明确	4 (33.3)	0	0	8 (66.7)	12 (6.6)
减弱	5 (12.8)	3 (7.7)	2 (5.1)	29 (74.4)	39 (21.4)
保留	6 (11.5)	5 (9.6)	6 (11.5)	35 (67.3)	52 (28.6)
合计	67 (36.8)	9 (5.0)	12 (6.6)	94 (51.6)	182

LOF表示功能缺失；NMD，未检测到突变；NS，非同义；VUS，不确定意义的变化。

发现相似，POLEmut 和 MMRd 中 PTEN 异常的发生率非常高，而非特定分子改变和 p53 异常亚型中的频率稍低（无显著趋势， $P=0.18$ ）。PTEN 亚克隆缺失在所有分子亚型中均有发现，且缺失频率相似。

讨论

我们的研究表明 PTEN IHC 和 PTEN LOF 突变之间具有良好的一致性。然而，PTEN IHC 的准确性尚不够高，尚不足以作为 PTEN 突变的替代方法。虽然一些携带 PTEN 突变的病例仍然 IHC 呈现 PTEN 表达（假阴性 IHC），但也有相似数量的病例由突变以外的机制导致 PTEN 蛋白表达缺失。IHC 和测序的联合评估可以检测到子宫内膜样癌中高频率的 PTEN 改变。

Djordjevic 及其同事发现在预测子宫内膜癌中的 PTEN

LOF 突变方面，PTEN IHC 与 Sanger 测序具有相似的准确性：其准确性为 73.2%（根据表 6 计算，不包括亚克隆），而我们的研究准确性为 81.2%^[9]。在这项研究中，我们报告的敏感性较低（75.4%，与 Djordjevic 及其同事的 86.3% 相比），但特异性较高（84.6%，与 Djordjevic 等人的 64.5% 相比）^[9]。特异性较高部分是由于与 Sanger 测序相比，NGS 的敏感性更高，在 IHC 缺失病例中突变的检出率更高。尽管我们的队列选择倾向于具有 TP53 突变的子宫内膜癌，但 PTEN 总体突变频率仍然保持与之前报道的相一致（34%–65%）^[14,18,19]。我们发现子宫内膜样癌（72.5%）PTEN 突变率最高，特别是子宫内膜样癌 1 级（84.6%）曾经报道过。然而，即使 NGS 具有卓越的灵敏性，我们仍然观察到相对较高数量（N=16）的病例明确显示缺乏 PTEN 表达，但没有可检测到的突变。这与之前的观察结果一致，即 IHC 检测到许多外显子组测序未发现的表现遗传学异常。大多数改变可归因于 PTEN 启动子高甲基化，19% 的子宫内膜癌中检测到这种改变^[20]。相反，拷贝数丢失（纯合子或杂合子）存在于 6% 的输卵管卵巢高级别浆液性癌中，这似乎在子宫内膜癌中并不起主要作用（在 TCGA 数据中，出现在 2% 的子宫内膜癌中）^[19]。此外，PTEN IHC 可以检测到由多种其他机制导致的 PTEN 表达缺失，包括 microRNA、调节蛋白质稳定性和降解^[21]。

与 Djordjevic 及其同事的研究相比，我们的研究 IHC 预测 PTEN 突变的敏感性较低，这是由于 15 例检测到 LOF 突变，但 IHC 表达 PTEN。这些病例中的大部分可以用检测到的突变性质来解释：三例具有晚期截断（晚期截短）LOF 突变，

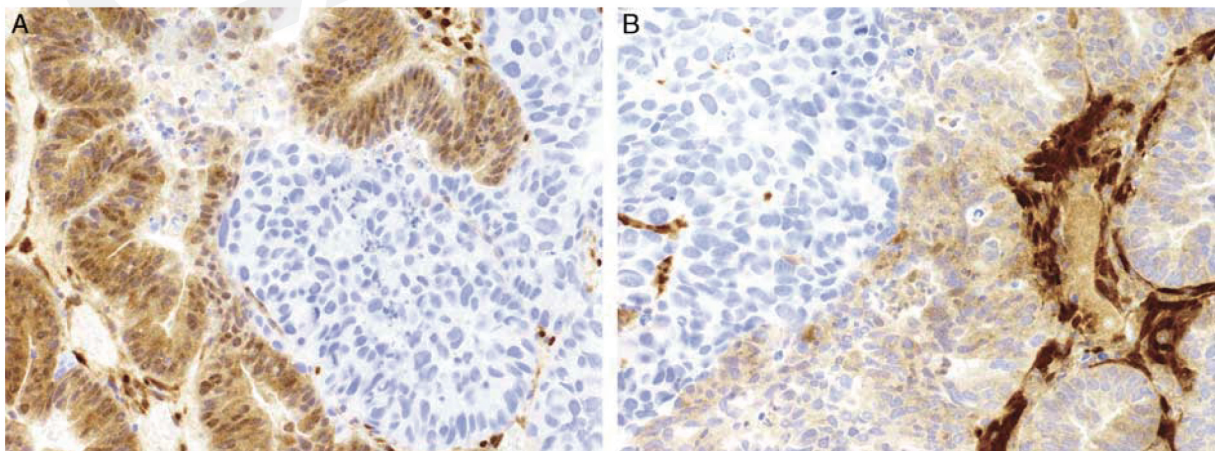


图2.PTEN 的亚克隆染色模式。病例显示染色保留和右侧清晰分界的缺失区域（A），与间质染色更强和左侧染色缺失相比，表现为肿瘤细胞染色减弱的病例（B）。

表2. 具有功能缺失突变和 PTEN IHC表达的假阴性 IHC 病例

IHC 模式	样本 ID	突变类型	位置	预测突变蛋白长度	等位基因频率	注释
减弱	VAN13	插入缺失	p.I101Nfs*6	107	0.61	无解释
保留	BAR07	提前终止	p.W111*	111	0.15	无解释
减弱	VAN28	插入缺失	p.P169Afs*11	180	0.39	无解释
保留	CAM14	提前终止	p.Q214*	214	0.32	无解释
保留	CAL42	插入缺失	p.K267Rfs*9	276	0.18	无解释
保留	BAR10	插入缺失	p.E18Gfs*25	43	0.05	低等位基因频率
保留	CAL26	提前终止	p.T319*	319	0.77	晚期截断
保留	LEI21	插入缺失	p.T319*	319	0.45	晚期截断
减弱	VAN03	插入缺失	p.T319Nfs*6	325	0.54	晚期截断
减弱	BAR21	剪切		NA	NA	剪切突变
减弱	VAN30	剪切		NA	NA	剪切突变
意义不明确	CAM23	插入缺失	p.S305Rfs*4	309	0.37	晚期截断或 IHC 失败
意义不明确	CAM31	提前终止	p.R233*	233	0.36	IHC 失败
意义不明却	CAM24	插入缺失	p.K164Rfs*3	167	0.36	IHC 失败
意义不明确	BAR04	插入缺失	p.R47Sfs*9	56	0.48	IHC 失败

IHC表示免疫组化；NA，不适用。

可能会产生一种非功能性蛋白，该蛋白仍可通过使用 N 末端抗体的 IHC 检测到；另外三例具有剪切突变，可能对蛋白质转录产生不可预测的影响；2 例可能与低等位基因频率有关。其余 5 例可能与两项研究之间 IHC 检测的差异有关。我们的研究（克隆 138G6，DAKO Omnis 上的细胞信号传导）和 Djordjic 等人的研究^[9]（clone 6H2.1，DAKO on LeicaBond）使用不同的 IHC 方案。这两种 PTEN 抗体均已显示与 PI3K-AKT 激活相关^[22-24]。我们在解读过程中注意到一些涉及检测相关的

表3. 通过IHC、测序和补充解读比较不同组织学类别子宫内癌中PTEN的改变（排除了亚克隆IHC或测序意义不明确变异的病例）

组织学类别/级别	n/N (%)		
	PTEN IHC缺失	PTEN LOF 或NS突变	补充解读PTEN异常
所有病例	62/165 (37.6)	76/170 (44.7)	85/165 (51.5)
EEC1	22/37 (59.5)	33/39 (84.6)	34/37 (91.9)
EEC2	10/22 (45.5)	14/18 (77.8)	16/22 (72.7)
EEC3	13/21 (61.9)	11/23 (47.8)	14/21 (66.7)
未分化	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)
浆液性	9/62 (14.5)	9/66 (13.6)	12/62 (19.4)
混合性	5/9 (55.6)	7/10 (70)	6/9 (66.7)
癌肉瘤	3/8 (37.5)	2/8 (25)	3/8 (37.5)
透明细胞	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)

数字代表肿瘤级别。

EEC表示子宫内膜样癌；LOF，功能缺失；NS，非同义突变。

潜在技术问题，特别是在低蛋白表达的病例。即使在多头显微镜上讨论来解读结果，6.6%的病例仍然显示不能确定 PTEN 缺失（意义不明确类型）。与“缺失”类型中表达完全缺失的肿瘤细胞相比，这些病例的肿瘤细胞胞质呈粉红色。但这种着色比“减少/减弱”类型明显弱，后者肿瘤细胞与内对照对比时虽染色减弱，但仍为明确阳性。当意义不明确类型与保留和亚克隆缺失伴有缺失分组时，我们研究中的观察者间的一致性略低于使用 Dako 克隆 6H2.1^[8]的研究（86%vs.91%）。与 Dako Omnis 上的 Cell Signaling 克隆 138G6 组合相比，可能比较同意的是 Leica Bond 上的 Dako 克隆 6H2.1 组合检测

表4. 通过IHC、测序和互补解读比较子宫内癌不同分子亚型中PTEN的改变（排除了亚克隆IHC或测序意义不明变的病例）

分子亚型	n/N (%)		
	PTEN IHC 缺失	PTEN LOF 或 NS 突变	互补解读 PTEN 异常
所有子宫内膜样癌	45/80 (56.2)	58/80 (72.5)	64/80 (80)
POLE mut	4/8 (50.0)	7/8 (87.5)	7/8 (87.5)
NSMP	19/31 (61.3)	20/28 (71.4)	25/31 (80.7)
MMRd	16/30 (53.3)	27/32 (84.4)	26/30 (86.7)
P53abn	4/8 (50)	4/8 (50)	6/11 (54.5)

EEC表示子宫内膜样癌；LOF，功能缺失；MMRd，错配修复缺陷；NS，非同义突变；NSMP，非特定分子改变；p53abn、p53异常。

LOF 突变的敏感性较高^[6]。

在大多数病例中 PTEN 表达缺失在整个肿瘤切片中均可见到，这与子宫内膜样癌癌变机制中的早期前驱事件相一致^[2]。然而，相当比例的病例（9.3%）显示出 PTEN 亚克隆缺失，表明一些 PTEN 改变是在肿瘤进展过程中作为后期的克隆事件发生的。后者可发生于子宫内膜样癌的所有分子亚型以及子宫内膜浆液性癌中。这种模式之前被称为异质性^[2, 9]。PTEN 表达缺失可以是非常局灶的，这就强调了使用全石蜡切片进行 PTEN IHC 的重要性。在我们研究系列中，PTEN 的这种亚克隆/异质性表达模式与突变状态呈现明显的不一致。对有 IHC 缺失的区域进行定向钻取组织可以最大限度地减少未来测序分析中的此类错误。先前已经描述了 PTEN 表达的减弱模式，并且既往曾经将其与 PTEN 蛋白完全缺失一起归入异常组^[2]。在我们的研究中，大多数 PTEN 表达减弱的病例没有 LOF 突变（87.2%），这与保留表达的病例（88.5%）相似。因此，我们的数据不支持将表达减弱模式与缺失模式归为一组。上述问题再加上 5% NS *PTEN* 突变而不改变 PTEN 表达，都导致 PTEN IHC 预测 LOF 突变的总准确性低于其他蛋白，比如 TP53 或 ARID1A^[25, 26]。在 TP53 和 ARID1A 中，蛋白功能缺失很少是由于表观遗传调控引起的。

我们的研究结果与临床具有相关性，因为 PTEN 已经被提出有助于区分子宫内膜样癌与浆液性癌的组织学类型，特别是在 p53 异常的子宫内膜癌中^[7, 27]。值得注意的是，我们的研究中子宫内膜浆液性癌的 *PTEN* 突变率明显高于 TCGA 数据（13.6% 对 2.6%）^[1]。鉴于高级别子宫内膜癌中观察者之间可重复性问题^[5, 28]，一种解释是不同中心的诊断标准不同。跨中心的子宫内膜浆液性癌中 PTEN 突变范围广证实了这一点：2 个中心突变率为 0，而另 1 个中心突变率为 28%。关于 PTEN 在鉴别子宫内膜 P53 异常的子宫内膜样癌和浆液性癌中的诊断价值的进一步研究，应该谨慎设计。另一个潜在的诊断性应用是区分肿瘤性与非肿瘤性子宫内膜增生。随着年龄的增长，组织学正常的子宫内膜中可以出现 IHC PTEN 表达缺失的腺体，但这些潜在的变化并不足以（不是限速点）发生肿瘤性转化^[29-31]。然而，这一概念最近受到挑战，因为在组织学正常的子宫内膜中很少发生 PTEN 突变，这表明 PTEN 实际上可能是一个守门人^[32]。然而，后一项研究并没有采用靶向激光显微切割获取 PTEN IHC 呈现的 PTEN 不着色腺体来与以往旧的研究相比较^[29, 30]。出于实际目的，组织学正常的子宫内膜中出现孤立腺体 PTEN 表达缺失尚不知晓

其进展风险，因此不应考虑将其在报告中体现^[30]。然而，在具有明确细胞学改变和结构拥挤的病变中，PTEN 表达缺失支持子宫内膜非典型增生的诊断，这是子宫内膜样癌的前驱病变。

综上所述，我们发现 PTEN IHC 与测序相比既有优势也有局限性。我们确认了 PTEN IHC 对执业病理医生诊断子宫内膜肿瘤的作用，特别是在牢记其局限性的情况下，我们发现 PTEN IHC 和测序的互补可以更准确地评估 PTEN 状态。然而，由于 PTEN 状态仅被用作辅助信息，出于诊断目的进行测序和额外增加成本可能并不合理，对于针对 PTEN 功能缺失治疗的临床试验设计，我们推荐在中心实验室内进行 PTEN IHC 和测序互补检测。

参考文献

1. Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013;497:67-73.
2. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:924-30.
3. Tan MH, Mester JL, Ngeow J, et al. Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. *Clin Cancer Res* 2012;18:400-7.
4. Alkushi A, Köbel M, Kalloger SE, et al. High-grade endometrial carcinoma: serous and grade 3 endometrioid carcinomas have different immunophenotypes and outcomes. *Int J Gynecol Pathol* 2010;29:343-50.
5. Han G, Sidhu D, Duggan MA, et al. Reproducibility of histological cell type in high-grade endometrial carcinoma. *Mod Pathol* 2013;26:1594-604.
6. Chen W, Husain A, Nelson GS, et al. Immunohistochemical profiling of endometrial serous carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2017;36:128-39.
7. Brett MA, Woodbeck R, Nelson GS, et al. High-grade endometrial carcinoma: a practical approach using ancillary testing to distinguish grade 3 endometrioid from serous carcinoma. *Can J Pathology* 2019;11:44-58.
8. Garg K, Broaddus RR, Soslow RA, et al. Pathologic scoring of PTEN immunohistochemistry in endometrial carcinoma is highly reproducible. *Int J Gynecol*

- Pathol* 2012;31:48–56.
9. Djordjevic B, Hennessy BT, Li J, et al. Clinical assessment of PTEN loss in endometrial carcinoma: immunohistochemistry outperforms gene sequencing. *Mod Pathol* 2012;25:699–708.
 10. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, et al. ESMO-ESGOESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2016;27:16–41.
 11. Slomovitz BM, Coleman RL. The PI3K/AKT/mTOR pathway as a therapeutic target in endometrial cancer. *Clin Cancer Res* 2012;18:5856–64.
 12. Dillon LM, Miller TW. Therapeutic targeting of cancers with loss of PTEN function. *Curr Drug Targets* 2014;15:65–79.
 13. Martins FC, Couturier DL, Paterson A, et al. Clinical and pathological associations of PTEN expression in ovarian cancer: a multicentre study from the Ovarian Tumour Tissue Analysis Consortium. *Br J Cancer* 2020;123:793–802.
 14. Singh N, Piskorz AM, Bosse T, et al. p53 immunohistochemistry is an accurate surrogate for TP53 mutational analysis in endometrial carcinoma biopsies. *J Pathol* 2020;250:336–45.
 15. Piskorz AM, Ennis D, Macintyre G, et al. Methanol-based fixation is superior to buffered formalin for next-generation sequencing of DNA from clinical cancer samples. *Ann Oncol* 2016;27:532–9.
 16. Forbes SA, Beare D, Gunasekaran P, et al. COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer. *Nucleic Acids Res* 2015;43:D805–11.
 17. Landrum MJ, Lee JM, Riley GR, et al. ClinVar: public archive of relationships among sequence variation and human phenotype. *Nucleic Acids Res* 2014;42:D980–85.
 18. Risinger JI, Hayes AK, Berchuck A, et al. PTEN/M-MAC1 mutations in endometrial cancers. *Cancer Res* 1997;57:4736–8.
 19. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov* 2012;2:401–4.
 20. Salvesen HB, MacDonald N, Ryan A, et al. PTEN methylation is associated with advanced stage and microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Int J Cancer* 2001;91:22–26.
 21. Zhang S, Yu D. PI(3)K apart PTEN's role in cancer. *Clin Cancer Res* 2010;16:4325–30.
 22. Pallares J, Bussaglia E, Martínez-Guitarte JL, et al. Immunohistochemical analysis of PTEN in endometrial carcinoma: a tissue microarray study with a comparison of four commercial antibodies in correlation with molecular abnormalities. *Mod Pathol* 2005;18:719–27.
 23. Pfeifer M, Grau M, Lenze D, et al. PTEN loss defines a PI3K/AKT pathway-dependent germinal center subtype of diffuse large B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:12420–5.
 24. Waniczek D, Śnietura M, Lorenc Z, et al. Assessment of PI3K/AKT/PTEN signaling pathway activity in colorectal cancer using quantum dot-conjugated antibodies. *Oncol Lett* 2018;15:1236–40.
 25. Kobel M, Piskorz AM, Lee S, et al. Optimized p53 immunohistochemistry is an accurate predictor of TP53 mutation in ovarian carcinoma. *J Pathol Clin Res* 2016;2:247–58.
 26. Khaliq S, Naidoo K, Attygalle AD, et al. Optimised ARID1A immunohistochemistry is an accurate predictor of ARID1A mutational status in gynaecological cancers. *J Pathol Clin Res* 2018;4:154–66.
 27. Brett MA, Atenafu EG, Singh N, et al. Equivalent survival of p53 mutated endometrial endometrioid carcinoma grade 3 and endometrial serous carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2020;40:116–23.
 28. Gilks CB, Oliva E, Soslow RA. Poor interobserver reproducibility in the diagnosis of high-grade endometrial carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2013;37:874–81.
 29. Mutter GL, Ince TA, Baak JP, et al. Molecular identification of latent precancers in histologically normal endometrium. *Cancer Res* 2001;61:4311–4.
 30. Mutter GL, Monte NM, Neuberg D, et al. Emergence, involution, and progression to carcinoma of mutant clones in normal endometrial tissues. *Cancer Res* 2014;74:2796–802.

31. Lac V, Nazeran TM, Tessier-Cloutier B, et al. Oncogenic mutations in histologically normal endometrium: the new normal? *J Pathol* 2019;249:173–81.

32. Moore L, Leongamornlert D, Coorens THH, et al. The mutational landscape of normal human endometrial epithelium. *Nature* 2020;580:640–6.

(卢珊珊 沈丹华 翻译 金玉兰 审校)



玖壹叁陆零
91360 MED TECH