

国际宫颈腺癌标准与分类系统中形态学参数的可重复性及与临床病理参数的相关性：一项多中心研究

*Pinar Bulutay, M.D., Nihan Haberal, M.D., Özlem Özen, M.D., Özlem Erdem, M.D.,
Emine H. Zeren, M.D., İbrahim Kulac, M.D., Çagatay Taskiran, M.D., Dogan Vatansever, M.D.,
Ali Ayhan, M.D., and Nilgün Kapucuoğlu, M.D.*

摘要：最近，国际宫颈腺癌标准与分类（IECC）根据与病因相关的形态学特征对宫颈腺癌（ECAs）进行了重新分类，WHO 2020 采用了该分类系统。该分类将 ECAs 分为人乳头瘤病毒（HPV）相关（HPVA）和非 HPV 依赖（HPVI）亚型。

根据WHO 2020，组织学上高危（HR）HPV 相关型腺癌可以通过出现腔缘核分裂和凋亡来识别。因此，研究这种新分类形态学标准的可重复性对于识别肿瘤类型极为重要。本研究收集了土耳其 4 家机构的 94 例 ECAs 所有切片，根据 IECC/WHO 2020 标准与是否存在 HR-HPV 重新分类。通过 HPV DNA 原位杂交和 p16 免疫化染色证实 HR-HPV 的存在，有争议的病例则用实时聚合酶链反应证实。结合组织学评估和辅助检查结果做出最终诊断。该队列研究包括 73.4% 的 HPVA 和 26.6% 的HPVI 病例。根据WHO 2020标准，92.7% 的 HPVAs 和 88% 的 HPVIs 很容易被分类。91.3% 的 HPVAs HPV DNA 原位杂交阳性。p16 阳性见于全部 HPVAs 及 8%

的 HPVIs。总之，大多数 ECAs 可以通过WHO 2020标准中典型的形态学特征分类。然而，需要强调的是，特别是在黏液性 ECAs 中，核分裂/凋亡标准可能没有帮助，对于具有挑战性的病例，应进行 HR-HPV 辅助检测。

关键词：宫颈腺癌；国际宫颈腺癌标准和分类；HPV DNA原位杂交；p16

(*IJGP.2022 sep;41(5):447-458*)

宫颈癌是全球第四大最常见的癌症类型（6.6%），也是女性癌症相关死亡的第四大原因，主要与高危（HR）人类乳头瘤病毒（HPV）感染有关^[1, 2]。宫颈腺癌（ECA）比鳞状细胞癌少见。此外，非 HPV 依赖型病例在 ECAs 中的发生率高于鳞状细胞癌^[3]。自引入宫颈癌筛查以来，宫颈癌总体发病率和病死率已大幅下降^[4]。尽管宫颈癌的发病率下降，但 ECA 的相对和实际发病率近年来已从 5% 上升到 20%~25%^[5-7]。2014 版世界卫生组织（WHO）分类主要根据组织学特征对其进行分类，但其标准并未明确定义^[8]。有鉴于此，国际宫颈腺癌标准和分类（IECC）提出了病因学与形态学相结合的新标准，将 40 至 100x 放大倍数下存在腺腔侧核分裂和凋亡小体作为 HPV 相关肿瘤的筛选标记^[9]。目前 WHO 2020 女性生殖系统肿瘤分类中已采用 IECC 的标准，将 ECAs 分为两大类，HPV 相关型（HPVA）和非 HPV 依赖型（HPVI）^[10]。HPVAs 进一步分为“普通型（包括绒毛腺变异型）和黏液型”两大类。黏液型根据其形态学特征分为一些特殊亚型：黏液-非特指型腺癌、肠型腺癌、印戒细胞腺癌和浸润性复层产黏液的癌（iSMILE）。同时，将 HPVIs 分为以下 3 个主要亚组：“胃型腺癌、透明细胞癌和中肾癌”^[9]。普通型占有 ECAs 的 85%，胃型是第二常见

From the Departments of Pathology (P.B., I.K., N.K.); Gynecology and Obstetrics (Ç.T., D.V.), School of Medicine, Koc University; Department of Pathology, School of Medicine, Acibadem University (E.H.Z.), Istanbul; Departments of Pathology (N.H., Ö.Ö.); Gynecology and Obstetrics (A.A.), School of Medicine, Baskent University; and Department of Pathology, School of Medicine, Gazi University (Ö.E.), Ankara, Turkey.

This study has financially supported by the KUTTAM (Koc University Translational Medical Research Center) Foundation. P.B. and N.K.: analyzing the cases and preparing the results. P.B.: writing—original draft. N.K.: writing—reviewing and editing. I.K.: language editing; RT-PCR test analysis. N.H., Ö.E., E.H.Z.: external medical center pathologists. A.A., Ç.T., D.V.: gynecological surgeons. The study was reviewed and approved by the Research Ethics Boards of the Koc University (#2020.317.IRB2.086).

The authors declare no conflict of interest.

Address correspondence to Nilgün Kapucuoğlu, MD, Department of Pathology, Koc University School of Medicine, Zeytinburnu, Istanbul 34010, Turkey. E-mail: nkapucoglu@kuh.ku.edu.tr.

的肿瘤类型^[11]。此外，临床研究证实基于 HPV 状态的分类对预后具有显著影响。HPVAs 和 HPVIs 之间的生存差异有统计学意义^[11, 12]。另一方面，Silva 系统被推荐用于 HPVAs，以便进行更好地风险分层，该系统根据肿瘤间质界面、是否存在淋巴血管侵犯、结构和细胞异型程度来分类^[13]。该基于浸润模式的分类是对 HPVAs 发生淋巴结转移和复发风险分层的可靠系统^[14]。

HR-HPV 检测对 ECA 的诊断至关重要。几种直接检测 HPV 的方法包括 HPV DNA 原位杂交 (HPV DNA ISH)，HPV 实时聚合酶链反应 (RT-PCR)，HPV RNA ISH，此外，p16 免疫组化 (IHC) 可被认为是证实 HR-HPV 存在的间接方法^[15, 16]。然而，对于检测 HR-HPV 的最佳方法，目前尚无明确共识。RT-PCR 是一种检测 HPV 状态的特异性高但灵敏度中等的技术^[17, 18]。ISH 技术始终具有较高的灵敏度和特异性，而 p16 的特异性较低^[19]。因此，使用多种方法有助于更准确地识别具有高危 HPV 转录活性的患者。

本研究的主要目的是盲评 WHO 2020 ECA 分类系统形态学参数的可重复性。应用 p16 IHC、HPV DNA ISH 和 RT-PCR 验证所选病例的结果。第二个目的是对研究病例进行免疫组化评估雌激素 (ER) 和孕激素 (PR) 受体以及 p53 状态。

材料与方法

研究队列、重新分期和 Silva 分类

对 2005~2020 年 4 家不同机构的外科病理档案筛选“宫颈腺癌”诊断，共发现 105 例连续性 ECAs。从参加研究的科室收集苏木精和伊红 (H&E) 染色切片、石蜡包埋组织块和原始病理报告。所有 H&E 染色切片均由 2 名妇科病理医生 (P.B., N.K.) 复阅。所有样本均根据 WHO 2020 标准进行复阅^[10]。6 例伴有神经内分泌癌成分、3 例未分化癌和 2 例子宫内膜样癌被排除。最后，94 例 ECA 被纳入研究。本队列包括 6 例环形电刀手术切除标本、4 例锥切标本和 84 例伴或不伴淋巴结切除的子宫切除标本。基本统计学信息、临床和随访数据从参研机构的电子病历中获得。浸润深度、肿瘤大小、肿瘤侵犯、淋巴血管和神经侵犯、盆腔和/或腹主动脉淋巴结受累情况从原始的病理报告中摘录。按 AJCC (第 9 版) 和 2018 FIGO 癌症报告^[20]进行临床分期。每例按文献描述^[13]进行 Silva 浸润模式分析。计算总生存期 (OS) 和无进展生存期 (PFS)。OS 被定义为从诊断之日起到最后一次随

访之间的时间。PFS 定义为从诊断之日到首次复发 (局部复发、区域淋巴结或远处转移) 之间的时间。

形态学盲评

所有 H&E 染色的肿瘤切片由 P.B. 和 N.K. 在双人共览显微镜下重新阅片，主要关注以下 3 个组织病理学特征：腔缘核分裂 (M)、凋亡 (A) 和胞浆内黏液^[9]。简言之，在低倍放大或较高放大倍数下，有腔缘核分裂像和/或凋亡小体的病例，形态学上归类为 HPVAs (图 1A)。HPVAs 组的病例根据胞浆内黏液的含量和组织学结构进一步分类；普通型：胞浆内含黏液的肿瘤细胞少于 50%，胞浆不清晰，细胞核细长、假复层排列。乳头状 (包括绒毛腺状) 和微乳头状生长也被视为普通型；绒毛腺变异型：肿瘤细胞形态同普通型，具有明显的外生性细长乳头结构；黏液腺癌—非特指型：普通型肿瘤的背景下，>50% 的肿瘤细胞胞浆内含黏液；印戒细胞型：普通型肿瘤的背景下，>50% 的肿瘤细胞呈松散的、无粘附性的、具有胞浆内黏液的印戒细胞形态；iSMILE：肿瘤由胞浆内含有数量不等黏液的浸润性复层柱状细胞巢组成，巢周围细胞呈栅栏状排列，肿瘤还有宽泛的结构和细胞学特征，如岛状、腺样、实性、乳头状、小梁状和微乳头状生长模式，胞浆可呈嗜酸、透明、毛玻璃样^[21]。无上述特征的病例则被纳入 HPVIs^[9]。胃型腺癌依据现有标准诊断，如肿瘤细胞具有丰富的透明/浅淡、泡沫状嗜酸性胞浆，胞浆界限明显，细胞核不规则、位于基底，核浆比通常较低，HPVAs 样特征缺乏或非常有限^[22]。透明细胞癌的组织学诊断参照如下形态学标准：出现多边形或鞋钉状细胞，具有透明或嗜酸性/嗜碱性胞浆，核均一而有异型，具有不同的生长模式，如乳头状、管囊状或实性，胞浆内不含黏液。间质伴透明变性的乳头和透明小体被认为是重要的诊断线索。核分裂像通常很低^[10]。Napsin-A 染色可进一步支持形态学诊断。HPVIs ECA 的最后一种亚型是宫颈中肾癌。这是一种 Wolffian (午非氏) 残件起源的罕见肿瘤。组织学上可表现出多种结构：导管状、小管状、实性、乳头状、网状和性索样，部分管腔内含有致密的嗜酸性分泌物，如中肾残件中所见^[23, 24]。本研究以 CD10、GATA3 和 PAX8 免疫组化染色证实形态学诊断的中肾癌 (数据未显示)。

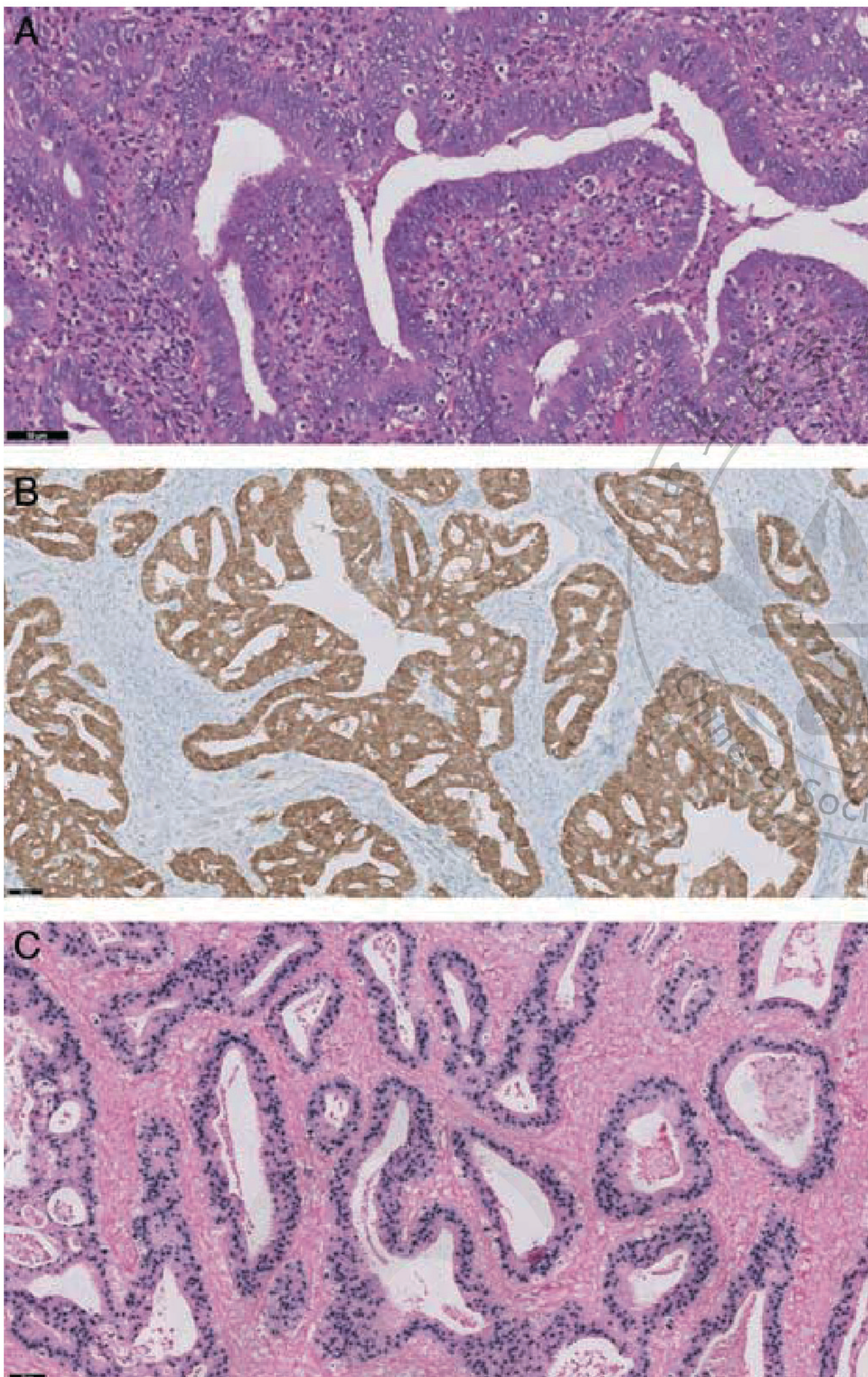


图1.人乳头瘤病毒 (HPV) 相关宫颈腺癌; 普通型。(A) 高分化 HPV 相关腺癌, 细胞核深染, 胞浆内可见黏液。低倍放大可见多个腔缘核分裂像和凋亡小体。(B) p16 免疫组化染色弥漫块状阳性表达。(C) HPV 核阳性染色 (HPV DNA 原位杂交, 原图放大)。

组织芯片的制备

对所有 H&E 染色切片进行重新评估, 选择具有代表性的蜡块用于制备组织芯片。组织芯片制备按照先前描述的方法进行^[25]。在 H&E 切片上圈出肿瘤靶标区域, 使之与蜡块相应区域重合。用 0.6cm 穿刺活检工具从蜡块中取出组织芯。其中 80 例每例取 2 个组织芯。其余 14 例因蜡块肿瘤体积较小而仅取了单个组织芯。为尽量减少由于固定或技术因素导致的可能染色问题, 本研究尽可能从不同的蜡块中留取组织。

免疫组化

免疫组化染色采用自动免疫组化染色仪 (Ventana Benchmark XT; Ventana Medical Systems, Tucson, AZ)。福尔马林固定、石蜡包埋 (FFPE) 组织 4 μ m 切片, 所用一抗为 p16 (预稀释, 单克隆小鼠抗体, 克隆号 E6H4; Ventana Medical Systems)、p53 (1: 200, 单克隆小鼠抗体, 克隆号 DO7, Ventana Medical Systems)、PR (1: 50, 单克隆兔抗体、克隆号 1E2, Ventana Medical Systems)、ER (1: 50, 单克隆兔抗体, 克隆号 SP1, Ventana Medical Systems) 和 Napsin-A (即用型, 单克隆兔抗体, Bio-care Medical Systems)。每种抗体均设立合适的阴性和阳性对照。记录每个组织芯的免疫组化结果。计算各病例 2 个组织芯的平均分。两个组织芯均弥漫中重度染色为 p16 阳性 (图1B), 斑片状或无染色为阴性。p53, $\geq 75\%$ 的肿瘤细胞核呈强阳性, 或肿瘤中无染色但内对照正常, 判读为“突变型”。其他比率的染色判读为“野生型”。 $> 25\%$ 的肿瘤细胞核呈阳性, 判读为 ER 和 PR 阳性^[26]。Napsin A, 胞浆颗粒状着色判读为阳性 (仅应用于透明细胞癌)。

HPV DNA ISH 染色程序和判读

使用样本专用试剂 (Inform HPV III family 16 Probe; Ventana) 在自动化设备 (Ventana Benchmark XT; Ventana Medical Systems) 上进行 HPV DNA ISH 检测, 操作参照制造商说明书^[27]。该探针针对 HR-HPV 的 16、18、31、33、35、45、52、56、58 和 66 亚型检测。阴性和阳性对照组织用于染色质量控制。所有组织芯均单个判读, 并在不同时间评分两次, 2 名病理医生 (P.B., N.K.) 达成一致。出现弥漫、点状或混合信号提示阳性反应^[28]。HPV DNA ISH 只要出现弱的染色, 即可判读为阳性。仅上皮细胞核染色判读为阳性 (图1C)。非细胞的间质沉着和胞浆染色被认为是人工非特异性染色, 且无特异性核染色时判读为阴性。

盲法组织形态学分类与 HPV 标记物遴选结果比对

盲法组织学诊断与 HPV DNA ISH 和 p16 检测结果进行比对。

基于 PCR 的 HPV 检测

我们对 6 例形态学分类与 p16 和/或 HPV DNA ISH 结果不一致的病例 (如下所述) 进行 RT-PCR 检测。RT-PCR 采

用NLM HPV Genotypes 14 Real-TM Quant 试剂盒 (Nuclear Laser Medicine, Settala, MI, Italy), 参照 Bio-Rad CFX96 平台制造商的操作指南进行。该检测涵盖 14 种 HR-HPV 类型: 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 和 68。肿瘤蜡块的 FFPE 组织 6 μ m 厚切片 5 张, 放入 Eppendorf 管, 提取 DNA。使用 Qiagen FFPE DNA 试剂盒 (Qiagen, Valencia, CA) 按照产品说明书从组织样本中提取 DNA。

统计学分析

使用 SPSS 26.0 软件包 (SPSS Inc.Chicago, IL) 进行统计学分析。 χ^2 , Fisher 精确检验和 Mann-Whitney U 检验用于确定分类变量之间的相关性。Kaplan-Meier 法用于比较各组间的死亡率和复发率。Log-rank 检验用于分析各组间差异的统计学意义。统计学阈值 (p) 设为 0.05 (双侧)。

结果

临床病理结果

表1总结了所有 HPV A 和 HPV I 类型的基本临床病理特征。对 HPV A 和 HPV I 肿瘤的临床病理特征的统计学分析

见表2。HPVAs 占有所有病例的 73.4%(69/94), 其余 26.6% (25/94) 为 HPV I 肿瘤。本组病例中, 普通型肿瘤 (61.7%) 和透明细胞癌 (14.9%) 是最常见的两种类型, 胃型腺癌 (8.5%) 是第三种常见类型。中肾癌占总病例的 3.2%。HPVA 肿瘤的其他类型相对少见, 分布如下: iSMILE, 5.3%; 非特指型黏液腺癌, 4.3%; 印戒细胞癌, 2.1%。HPVI 肿瘤与 HPV A 肿瘤相比, 老年患者略多见 (平均 56 岁 vs 51 岁), 且肿瘤体积更大 (平均 3.3cm vs 2.6cm) ($P>0.05$)。淋巴血管 (LVI) 侵犯和神经 (PNI) 侵犯分别见于 44 例 (46.8%) 和 11 例 (11.7%) 患者。大多数胃型腺癌 (6/8, 85.7%), 全部印戒细胞癌 (2/2, 100%) 和半数 iSMILEs (2/4; 50%) 均有 LVI。PNI 最常见于中肾癌 (100%) 和印戒细胞癌 (50%)。大多数普通型肿瘤为 FIGO I 期 (35/56, 70%), 而多数胃型腺癌为 III 期和 IV 期 (4/7, 57.1%)。透明细胞癌病例多为 FIGO I 期 (53.8%), 30.8% 的病例为 FIGO III 期。Silva A 型、B 型和 C 型在 HPV A 肿瘤中分别为 8 例 (12%)、13 例 (19.4%) 和 46 例 (66.6%)。HPVAs 与 HPV I 在 LVI、PNI、FIGO 分期上的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表1. 94 例 ECAs 的 WHO 2020 分类与临床病理特征

	n (%)							
	普通型	绒毛腺变异型	黏液-非特指型	印戒细胞型	iSMILE	胃型癌	透明细胞癌	中肾癌
年龄 (岁)	56 (59.6)	2 (2.1)	4 (4.3)	2 (2.1)	5 (5.3)	8 (8.5)	14 (14.9)	3 (3.2)
平均	52	43	42	55	49	62	53	58
中位	49	43	42	55	43	58	50	67
肿瘤大小								
平均	2.6	2.25	1.5	3.75	3.8	2.9	3.4	3.8
中位	2.5	2.25	1.65	3.75	3.8	2	3.7	2.75
淋巴血管侵犯								
阳性	25 (45.5)	0	1 (25)	2 (100)	2 (50)	6 (85.7)	7 (50)	1 (33.3)
阴性	30 (54.5)	2(100)	3 (75)	0	2 (50)	1 (14.3)	7 (50)	2 (66.7)
神经侵犯								
阳性	5 (8)	0	1 (25)	1 (50)	—	2 (28.6)	2 (14.3)	3 (100)
阴性	50 (91)	2 (100)	3 (75)	1 (50)	3 (100)	5 (71.4)	12 (85.7)	0

pT									
1	38 (76)	2 (100)	4 (100)	1 (50)	3 (100)	4 (57.1)	8 (57.1)	1 (33.3)	
2	9 (18)	0	0	0	—	1 (14.3)	5 (42.9)	1 (33.3)	
3	0	0	0	3(50)	—	0	0	1 (33.3)	
4	3 (6)	0	0	0	—	2 (28.6)	0	0	
pN									
0	34 (77.2)	2 (100)	3 (100)	0	3 (100)	3 (42.8)	9 (69.2)	2 (66.7)	
1	8 (18.1)	0	—	2 (100)	—	3 (42.8)	2 (15.4)	1 (33.3)	
2	2 (4.7)	0	—	0	—	1 (14.4)	2 (15.4)	0	
FIGO 分期									
I	35 (70)	2 (100)	4 (100)	0	3 (100)	2 (28.6)	7 (53.8)	1 (33.3)	
II	4 (8)	0	0	0	0	1 (14.3)	2 (15.4)	1 (33.3)	
III	10 (20)	0	0	1 (50)	0	3 (42.8)	4 (30.8)	1 (33.3)	
IV	1 (2)	0	0	1 (50)	0	1 (14.3)	0	0	
Silva 模式									
模式 A	6 (11)	2 (100)	0	0	0	—	—	—	
模式 B	12 (21.4)	0	1 (25)	0	0	—	—	—	
模式 C	36 (66.6)	0	3 (75)	2 (100)	5 (100)	—	—	—	

iSMILE 表示浸润性复层产黏液的癌；RT-PCR，实时聚合酶链反应。

表2. HPVA 和 HPVI 的临床病理特征比较

	HPVA, n (%) /n/N (%)	HPVI, n (%) /n/N (%)	<i>P</i>	FIGO分期		
病例数	69 (74.3)	25 (26.6)		I	44 (72.1)	10 (43.3)
年龄	平均: 51 中位: 50	平均: 56 中位: 53	0.081	II	4 (6.5)	4 (17.3)
肿瘤大小	平均: 2.6 中位: 2.5	平均: 3.3 中位: 3	0.138	III	11 (18)	8 (34.8)
淋巴血管侵犯				IV	2 (3.4)	1 (4.5)
阳性	30(44.8)	14 (58.3)	0.367	核分裂/凋亡		
阴性	37(55.2)	10 (41.7)		核分裂	64/69 (92.7)	3/25 (12)
神经侵犯				凋亡	50/69 (72.4)	2/25 (8)
阳性	6(9.2)	5 (20)	0.449			
阴性	59(90.8)	20 (80)				
pT						
1	48 (78.6)	13 (56.6)	0.109			
2	9 (14.7)	7 (30.4)				
3	0 (0)	1 (4.3)				
4	4 (6.7)	2 (8.7)				
pN						
0	42 (77)	14 (61)	0.089			
1	10 (18.5)	6 (26)				
2	2 (4.5)	3 (13)				

加粗斜体的 *P* 值表示有统计学意义。HPVA，人乳头瘤病毒相关；HPVI，非人乳头瘤病毒依赖型。

免疫组化表达

结果见表 3。大部分 HPVAs 和 HPVIs ER 和 PR 阴性。ER、PR 的表达与 HPV 状态无关 ($P>0.05$)。31.8% (22/69) 的 HPVAs 和 8% (2/25) 的 HPVIs 中 ER 表达阳性。24.6% (17/69) 的 HPVAs 和 12% (3/25) 的 HPVIs PR 表达阳性。仅 1 例 HPVI 同时表达 ER 和 PR。所有透明细胞癌 ER 和 PR 均阴性。1 例中肾癌 PR 阳性，ER 阴性，其余病例 ER 和 PR 均阴性。HPVIs 中 ER 表达显著降低，差异有统计学意义 ($P=0.025$)。HPVAs 中未见 p53 突变型表达 (0%)，而胃型腺癌有 2 例 p53 呈突变型表达 (8%) ($P=0.018$)。

表3. HPVA 和 HPVI 腺癌的免疫组化和 HPV DNA ISH 结果

	HPVA, n (%)	HPVI, n (%)	<i>P</i>
p16			
阳性	69(100)	2(18)	<0.001
阴性	0	23(92)	
HPV DNA ISH			
阳性	63(91.3)	0	<0.001
阴性	6(8.7)	25(100)	
ER			
阴性	48(69.5)	23(92)	0.025
阳性	21(30.5)	2(8)	
PR			
阴性	52(75.3)	22(88)	0.186
阳性	17(24.7)	3(12)	
p53			
野生型	69(100)	23(92)	0.018
突变型	0	2(8)	

加粗斜体的 *P* 值表示有统计学意义。ER, 雌激素受体; HPVA, 人乳头瘤病毒相关; HPVI, 非人乳头瘤病毒依赖型; ISH, 原位杂交; PR, 孕激素受体。

p16、HPV DNA ISH、RT-PCR 及 WHO 2020 初始分类的可重复性评估

本组病例中, 75.5% p16 呈阳性表达。所有HPVA肿瘤 (69/69) p16呈弥漫阳性。8%[2/25 (2例胃型腺癌)]的HPVIs也见到p16弥漫阳性表达。但这两例的RT-PCR检测均阴性。63/94例 (67%) HPV DNA ISH 阳性。HPVAs 多为 HPV DNA ISH 阳性 (63/69, 91.3%), 所有病例 (69/69; 100%) p16 IHC 均阳性。另一方面, 部分 HPVAs 病例 HPV DNA ISH 阴性【6/69; 8.7% (4例普通型, 2例iSMILE)】(表4)。其中2例(如下所述) HPV DNA ISH 阴性的 HPVA 病例经 RT-PCR 检测为 HPV 阳性。HPV DNA ISH 检测 HPVAs 的敏感性为 91.3%。p16 IHC 对 HPVAs 的敏感性为 100%, 特异性为 82%。总体而言, 联合应用 HPV DNA ISH 和 p16 IHC 技术把基于形态学标准的 WHO 2020 分类诊断准确率提高到 97.9% (92/94)。

形态学标准的可重复性

根据 WHO 2020 推荐的形态学标准, 91.5% 的病例易于分类。分别观察两组结果, HPVAs 的可重复率高于 HPVIs 【分别为 92.7% (64/69) 和 88% (22/25)】。大多数普通型肿瘤 (包括绒毛腺变异型) 很容易根据其特征性的黏液减少、复层柱状细胞形态进行分类。有些病例表现为弥漫或局灶微乳头, 筛状、乳头状结构和浆样高级别细胞形态不常见, 即

表4. HPV DNA ISH 和 p16 IHC 染色在 HPVA 与 HPVI 病例中的表达比较

	HPV DNA ISH, n (%)		p (16) IHC, n (%)	
	阳性	阴性	阳性	阴性
HPVA	63 (91.3)	6 (8.7)	69 (100)	0 (0)
HPVI	0 (0)	25 (100)	2 (8)	23 (92)

HPV, 人乳头瘤病毒; HPVA, HPV相关; HPVI, 非HPV依赖; IHC, 免疫组化; ISH, 原位杂交。

使在这些病例, 腔缘 M/A 也容易识别。1例普通型肿瘤被错误分类。该例组织学显示腺样结构, 衬覆有胃型嗜酸性胞浆和圆形细胞核的细胞, 但因核分裂像散在而被诊断为胃型腺癌 (图 2F)。如“盲法形态学评估”部分^[14]所述, iSMILE 型肿瘤具有非常典型的组织学表现。此外, 本研究显示 5 例 iSMILE 中, 腔缘 M/A 标准对其中 4 例都未能帮助识别与 HPV 相关。因此, 特有的组织学特征对 iSMILE 分类更有帮助 (图 2A)。所有印戒细胞肿瘤均易于识别。大多数胃型腺癌可以根据其丰富的透明/浅淡的嗜酸性胞浆, 明显的胞浆界限, 不规则的、位于基底的圆形细胞核进行形态学分类。其中 1 例胃型腺癌伴有乳头状和微乳头状结构, 浅淡、含黏液的胞浆, 与普通型肿瘤类似 (图 2B)。由于没有明显的腔缘 M/A, 该病例被正确地归类为胃型腺癌。另外有 2 例 (25%) 胃型腺癌被错误分类。它们均呈黏液柱状细胞形态, 散在腔缘核分裂像, 而被诊断为 HPVA—黏液—非特指型 (图 2D, E)。另一个被误诊的病例为透明细胞癌。该病例大部分为实性和筛状结构, 而不是管囊状或乳头状结构, 从而将其归类为普通型肿瘤 (图 2H)。

不一致的病例

出于各种原因, 6 个病例的诊断具有挑战性。它们基于形态学的诊断、p16、HPV DNA ISH 与 RT-PCR 检测结果以及最终诊断见表 5。病例 1 不满足 M/A 标准, 但根据其组织学特征分类为“HPVA; iSMILE”。辅助检测提示, HPV DNA ISH 阴性, 但 p16 IHC 和 RT-PCR 均为阳性, 证实 iSMILE 形态学诊断 (图 2A)。病例 2 因 M/A 不明显, 形态学诊断为“HPVI, 胃型”。不同于其他胃型肿瘤, 其明显的乳头和微乳头结构与普通型肿瘤类似 (图 2B)。该病例 p16 弥漫阳性, 但 HPV DNA ISH 和 RT-PCR 检测均阴性 (图 2C), 从而支持 HPVI, 胃型的形态学诊断。该病例再次证明形态学评估的重要性。病例 3 和病例 4 均为柱状黏液样细胞形态, 散在腔缘核分裂像, 形态学判读为“HPVA, 黏液—非

液-非特指型”（图 2D, E）。辅助检测发现，1 例 p16 弥漫阳性，另 1 例阴性，2 例 HPV DNA ISH 和 RT-PCR 均阴性。最后诊断改为“HPVI; 胃型”。病例 5 具有胃型样嗜酸性胞浆，核圆，散在腔缘 M/A（图 2F）。不过，该例形态学上判读为“HPVI, 胃型”。该例 p16（图 2G）及 RT-PCR 检测阳

性，但 HPV DNA ISH 阴性。盲法形态学诊断修正为“HPVA, 普通型”。病例 6 因一些区域可见复层柱状细胞，且伴有核分裂，形态学诊断为“HPVA, 普通型”。但根据辅助检查结果，诊断修正为“HPVI, 透明细胞癌”（图 2H）。与其他透明细胞癌一样，Napsin-A 阳性也证实该诊断（图 2I）。



玖壹叁陆零
91360 MED TECH

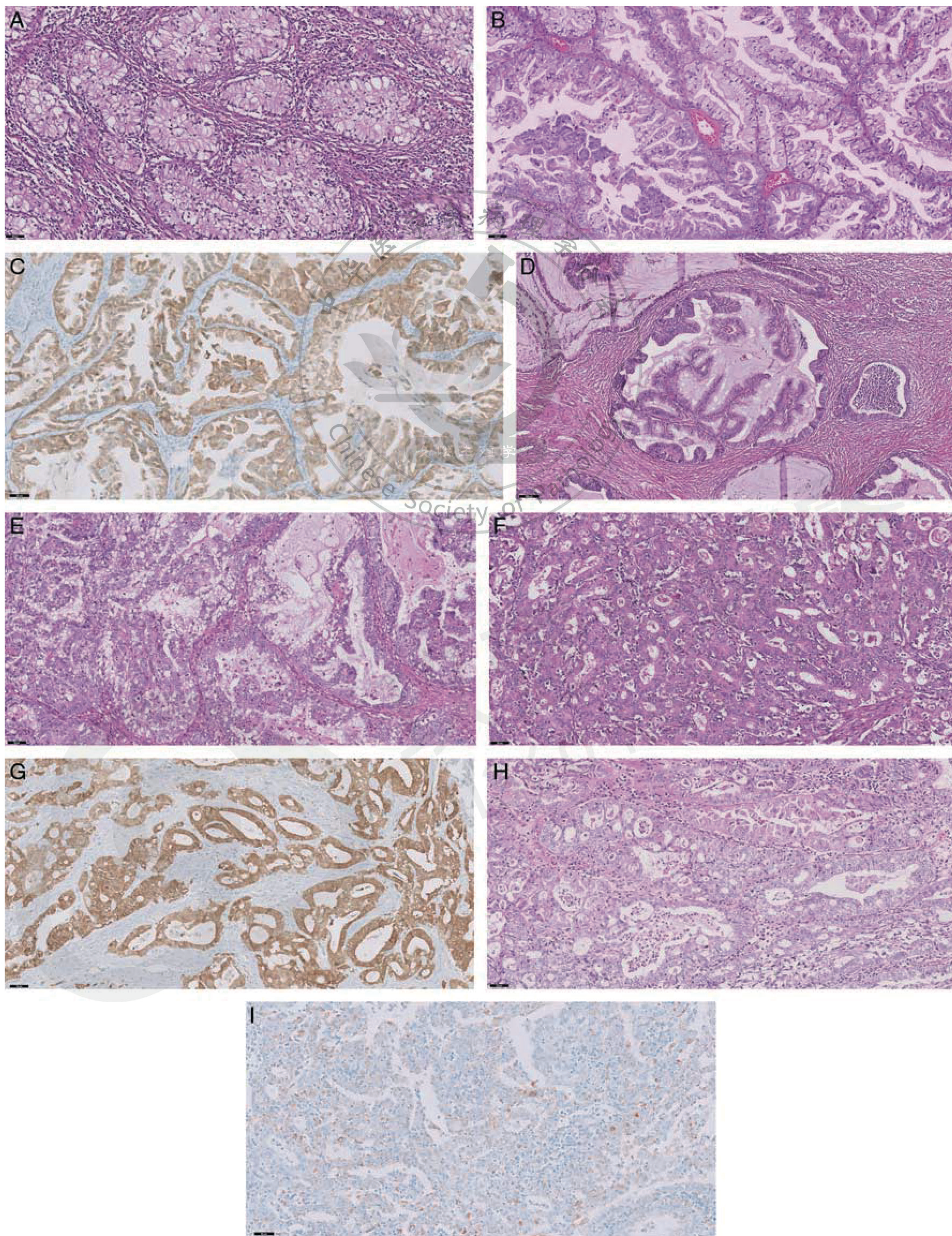


图2.诊断困难的病例。(A) (病例1) 浸润性复层产黏液的癌 (iSMILE), 无明显的核分裂像或凋亡小体。(B) (病例2) 胃型腺癌, 具有明显的乳头和微乳头结构。(C) 同一肿瘤, p16弥漫阳性, 在这类肿瘤中不常见。(D) (病例3) 胃型腺癌显示柱状细胞, 嗜酸性胞浆, 细胞核靠近细胞基底。(E) (病例4) 胃型腺癌, 腺体被覆细胞胞浆浅淡透明。(F) (病例5) 普通型腺癌, 显示小的、管状腺体, 嗜酸性胞浆。(G) 同一肿瘤, 显示p16弥漫阳性。(H) (病例6) 透明细胞癌, 显示腺样/筛状结构, 无典型的鞋钉细胞。(I) 同一肿瘤, 显示Napsin-A颗粒状胞浆阳性。

表5. 不一致的病例：基于形态学的盲法组织学诊断、p16、HPV DNA ISH 与 RT-PCR 结果以及最终诊断

病例	形态学的诊断	p16	HPV DNA ISH	RT-PCR	最终诊断
1	HPVA, iSMILE 型	阳性	阴性	16, 18 型	HPVA, iSMILE 型
2	HPVI, 胃型	阳性	阴性	阴性	HPVI, 胃型
3	HPVA, 黏液非特指型	阴性	阴性	阴性	HPVI, 胃型
4	HPVA, 黏液非特指型	阳性	阳性	阴性	HPVI, 胃型
5	HPVI, 胃型	阳性	阴性	18型	HPVA, 普通型
6	HPVA, 普通型	阴性	阴性	阴性	HPVI, 透明细胞癌

HPV, 人乳头瘤病毒; HPVA, 人乳头瘤病毒相关; HPVI, 非人乳头瘤病毒依赖型; ISH, 原位杂交; iSMILE, 浸润性复层产黏液的癌; RT-PCR, 实时聚合酶链反应。

生存分析

91 例 (96.8%) 有完整的临床及随访资料。中位随访时间 43 个月 (1-180 个月)。4 例 (15.4%) HPVI、5 例 (7.3%) HPVA 患者术后复发。HPVI 患者 PFS 中位时间为 29 个月 (15-36 个月), HPVA 患者 PFS 中位时间为 12 个月 (范围: 5-23 个月)。所有复发的 HPVI 病例均为胃型腺癌。胃型腺癌的复发率和死亡率分别为 50% (4/8) (中位复发时间: 29 个月, 15-36 个月) 和 62.5% (5/8) (中位 OS 时间: 53 个月, 7-132 个月)。HPVAs 的 OS 率为 76.8%, HPVIs 的 OS 率为 66.3% ($P=0.046$)。HPVIs 的中位 OS 明显短于 HPVAs 肿瘤 ($P=0.046$)。7 例 (28%) HPVI 患者 (中位时间: 55 个月, 范围: 7-132 个月) 和 10 例 (14.5%) HPVA 患者 (中位时间: 53 个月, 范围: 16-168 个月) 死于疾病。

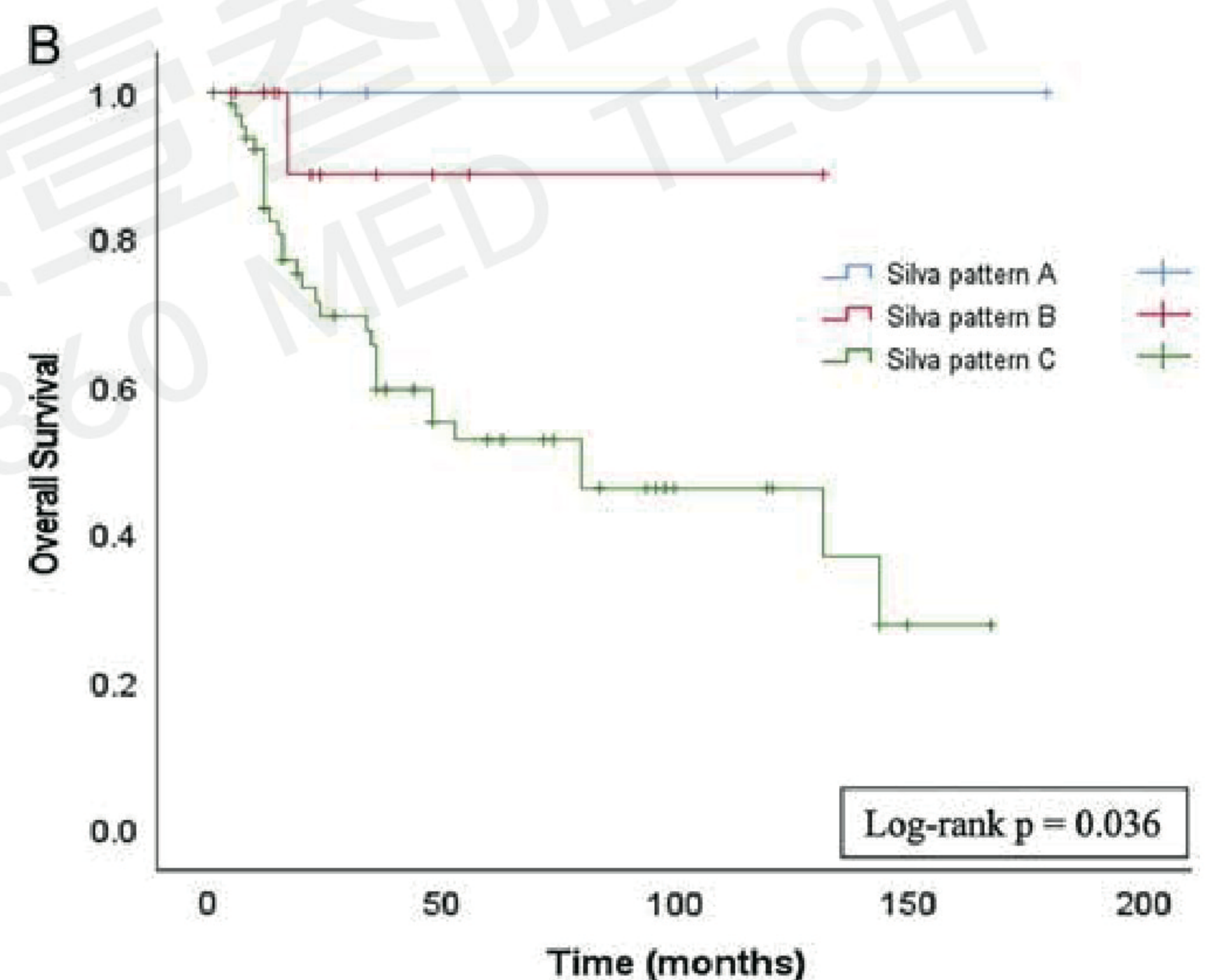
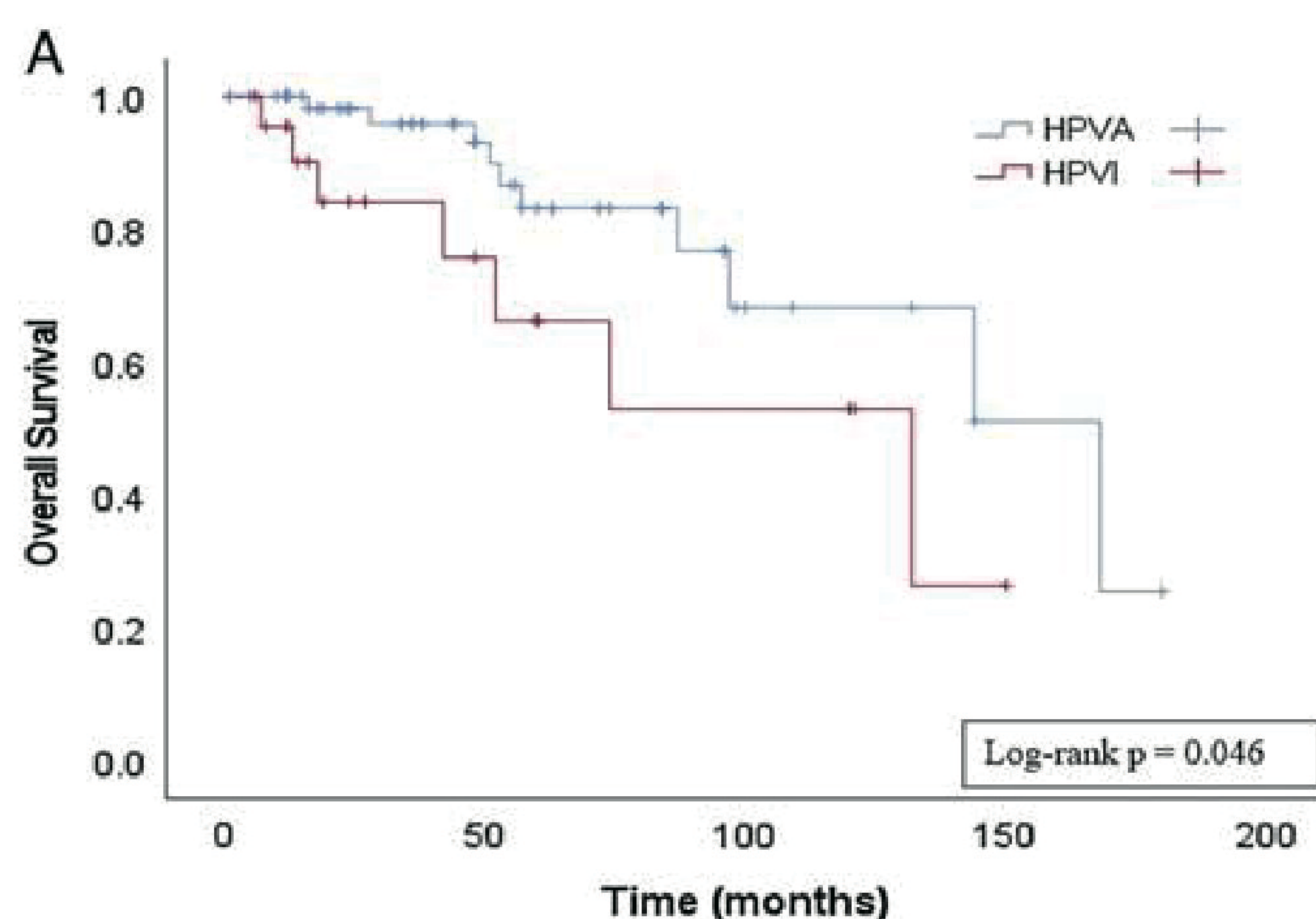


图3. (A) Kaplan-Meier 总体生存曲线显示人乳头瘤病毒 (HPV) 相关 (HPVA) 和非 HPV 依赖 (HPVI) 型宫颈腺癌的生存率差异。(B) Silva A 型肿瘤的无进展生存率优于 Silva B 型和 C 型肿瘤 (100% vs. 92.3%, 和 54.3%, $P<0.0001$)。

HPVAs 的 OS: Silva A 为 100%, Silva B 为 100%, Silva C 为 78.8%。Silva C 和其他两个模式之间的 PFS 差异有统计学意义 ($P=0.036$)。Silva C 的 PFS 比其他模式更差。Kaplan-Meier 曲线如图所示 (图 3A, B)。log-rank 检验显示, 其他临床和病理特征与生存无显著相关性。

讨论

一个由国际妇科病理学专家组成的小组，基于不常见肿瘤的病因学，于2019年提出了一种新的宫颈腺癌分类，该系统具有更好重复性和临床指导价值^[9]。本文讨论了被WHO 2020腺癌分类标准所采用的IECC形态学参数的可重复性结果。

WHO 2014将ECA根据形态学特征（尤其胞浆特征）进行分类，缺乏临床和/或病因学相关性。例如，普通型肿瘤并无特征性标准，仅被定义为黏液相对缺失的肿瘤。此外，所有HPV相关和非HPV依赖的黏液型肿瘤被合并在同一标题下，包括胃型、肠型、印戒细胞型和iSMILE型肿瘤^[29]。但来自外阴和口咽的数据表明，基于病因学的分类比WHO 2014分类可提供更有价值的临床信息和可重复性^[30]。因此，现行WHO 2020将ECAs分为HPVA型和HPVI型，并纳入了新近描述的镜下亚型/模式。此外，Hodgson等报道，WHO 2020标准在观察者之间的一致性好于WHO 2014版，H&E检查的κ值分别为0.46和0.3^[31]。

本组病例中，91.5%的ECAs可参照WHO 2020形态学标准成功分类。但HPVIs的形态学分类正确率略低于HPVA（分别为88%和92.7%）。另一方面，中肾癌和几乎所有的透明细胞癌都可以根据其典型的结构特征被正确分类。这一结果与Hodgson等人^[32]的研究结果相似。在该研究中，中肾癌和透明细胞癌在观察者间有较高的一致性。Ren等人^[15]也报了WHO 2020可以预测大多数病例的HPV状态。

在一些病例，鉴别黏液性肿瘤与胃型腺癌具有挑战性。根据M/A标准，本研究中有8例（8.5%）被错误分类。一些HPVA肿瘤核分裂不易被发现，相反，一些HPVI肿瘤则有腔缘核分裂像。简而言之，对于一些病例，M/A标准和胞浆特征不足以正确分类，因此需要进行辅助检测。Ren等^[15]也报道了5例HPVA，黏液性ECAs最初组织学诊断面临的挑战。它们被重新分类为HPVI-胃型、HPVI-黏液-非特指型和不能分类的。该研究认为，任何具有黏液性胞浆的病变，病理医生都应该特别关注明显的HPV相关的组织学特征，包括原位病变。杯状细胞或非常局灶的凋亡小体或腔缘核分裂不足以诊断为HPVA^[15]。正如Pirog等人^[22]所述，胃型腺癌很可能因病理医生镜下见到不熟悉的形态学变异而漏诊。因此，当发现不寻常的ECA形态时，在鉴别诊断中要考虑胃型腺癌，应进行HPV检测和/或免疫组化染色证实。

具有典型组织学形态的肿瘤，如绒毛腺型肿瘤可以很容易根据明确的标准进行分类。此外，大多数普通型肿瘤可以通过其典型的假复层失黏液的形态，结合腔缘核分裂和凋亡小体得以诊断。然而，有些普通型肿瘤具有浆液性高级别形态或乳头状和微乳头状特征。更为少见的是，可以出现筛状和实性结构^[32, 33]。目前研究认为，子宫颈浆液性癌非常罕见，可能不存在。在排除子宫或输卵管/卵巢转移外，还应牢记HPVAs和HPVIs均

可以见到浆液性癌样的特征^[33]。对于基于形态学分类而言，另一个具有挑战性的领域是“HPVA; iSMILE类型”。本研究中，某些iSMILEs腔缘M/A并不像其他HPVA类型那样容易识别。这些肿瘤由复层柱状上皮细胞巢组成，巢内细胞伴有圆形至卵圆形深染的细胞核及数量不等的胞浆内黏液，胞浆内黏液可以形成大的黏液滴或细小的黏液空泡。这些黏液在相邻的细胞核和外周栅栏之间形成空隙。上述特征在腔缘M/A不易识别的情况下有助于做出诊断。认识该肿瘤类型尤为重要，因为它与预后差、早期复发和远处转移风险高相关^[34, 35]。

普通型是最常见的HPVA ECA，占文献报道ECAs的75%-80%，其他HPVA的发生率如下：绒毛腺型，0.8%；肠型，3%；黏液-非特指型，3%；iSMILE，2.4%；印戒细胞型0.3%^[9]。HPVI ECAs在大多数西方国家占同期ECA的~15%，在东亚发病率略高，可能由于该地区胃型肿瘤的发病率相对较高^[36]。胃型ECA是第二常见的宫颈腺癌，在不同研究中，占ECA的10-29%不等^[37, 38]。其他HPVI类型的发病率如下：透明细胞癌，3%；腺癌，非特指型，2.4%；子宫内膜样腺癌，1.1%；中肾癌，0.3%^[9, 36]。有趣的是，透明细胞癌是本研究中第二常见的肿瘤类型（14.9%）。已知子宫内己烯雌酚暴露可能引起透明细胞癌，最近Talia等人报道的“非典型输卵管-宫内膜样化生”可能是透明细胞癌的前驱病变^[39]。我们不清楚本组病例己烯雌酚暴露史，但重新评估伴发“非典型输卵管-宫内膜样化生”的病例将很有意思。几乎所有的透明细胞癌都可以通过其典型的形态来识别。患者均行经腹全子宫和双侧输卵管卵巢切除术，未发现子宫内和卵巢病变。透明细胞癌病例HPV DNA ISH和p16 IHC均阴性，p53染色为野生型。

如前所述，p16在HPVA肿瘤中几乎总是弥漫阳性，而在HPVIs中则为阴性或局灶阳性。然而，少数HPVI p16可弥漫性阳性（块状型）^[36]。本研究显示，p16在所有HPVAs和8%的HPVIs中呈弥漫阳性。Carleton等人^[40]有类似报道。Stolnicu等人^[26]也在33%的胃型腺癌和17%的透明细胞癌中检测到p16的阳性表达。综上所述，可以认为，宫颈腺癌中p16弥漫“块状型”表达不一定表明均为HR-HPV相关性肿瘤。据报道，RNA ISH技术在识别HR-HPV方面比p16和HPV DNA ISH技术具有更高的敏感性、特异性、阳性和阴性预测值（26）。虽然在不同的研究中，HPV DNA ISH在识别HPV相关癌症类型中的敏感性略低（63%-67%）^[41, 42]，但在本研究中它对HPVA肿瘤检测HPV的敏感性为

91.3%。联合HPV DNA ISH 和 p16 IHC, 敏感性可提高到 97.9% (92/94)。结合以上结果, 对于有挑战性的病例, 最佳的方法是使用 p16 IHC 和 HPV DNA ISH 或 RT-PCR 联合检测。直接检测HR-HPV 可以使用不同的技术, 由实验室自身决定。本研究 25% 的胃型腺癌出现 p53 突变型表达, 低于以往报道^[37, 43]。

与 HPVA 相比, 虽然 HPVI ECAs 淋巴血管侵犯、神经侵犯、pT、pN 和 FIGO 分期等预后不良特征更常见, 但这些差异在本组病例中无统计学意义, 可能是由于病例数量少。HPVIs 的 OS 明显短于 HPVAs, 该发现与之前的研究结果一致^[11, 38]。HPVI, 尤其胃型腺癌, 病例数量少, 是本研究的主要局限性之一。不能对所有 DNA-ISH 阴性病例进行 RT-PCR 检测, 是本研究的另一局限性。

综上所述, 虽然原发 ECAs 的形态学谱系宽泛, 在诊断上存在一系列挑战, 但大多 ECAs 都有一些典型特征。本研究显示, 大多数 HPVA 和 HPVI 肿瘤可以根据 WHO 2020 定义的形态学标准进行准确分类。对于具有黏液特征的肿瘤, 如 HPVI-胃型和 HPVA-黏液-非特指型, 仅通过形态学特征识别尤为具有挑战性, 可通过辅助检测如 p16 和直接 HPV 检测进行鉴别。p16 IHC 是一项非常敏感的、可佐证形态学诊断的技术。但应牢记的是, 30% 的 HPVIs 中也可以阳性表达。而且, 本研究 HPV DNA ISH 的敏感性略低于 p16。因此, 我们建议 p16 IHC 和一种可直接检测 HR-HPV 的方法联合应用, 以提高具有挑战性病例的诊断准确性。

致谢: 作者谨对 Koc 大学转化医学研究中心 (土耳其, 伊斯坦布尔) 主任 Ihsan Solaroglu 教授所做作的宝贵贡献表示诚挚的感谢。

参考文献

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68:394-424.
2. Fontham ETH, Wolf AMD, Church TR, et al. Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin* 2020;70: 321-46.
3. Wang SS, Sherman ME, Hildesheim A, et al. Cervical adenocarcinoma and squamous cell carcinoma incidence trends among White women and Black women in the United States for 1976-2000. *Cancer* 2004;100:1035-44.
4. Simms KT, Steinberg J, Caruana M, et al. Impact of scaled up human papillomavirus vaccination and cervical screening and the potential for global elimination of cervical cancer in 181 countries, 2020-99: a modelling study. *Lancet Oncol* 2019;20:394-407.
5. Orumaa M, Leinonen MK, Campbell S, et al. Recent increase in incidence of cervical precancerous lesions in Norway: Nationwide study from 1992 to 2016. *Int J Cancer* 2019;145:2629-38.
6. van der Horst J, Siebers AG, Bulten J, et al. Increasing incidence of invasive and in situ cervical adenocarcinoma in the Netherlands during 2004-2013. *Cancer Med* 2017;6:416-23.
7. Pan X, Yang W, Wen Z, et al. Does adenocarcinoma have a worse prognosis than squamous cell carcinoma in patients with cervical cancer? A real-world study with a propensity score matching analysis. *J Gynecol Oncol* 2020;31:1-12.
8. Lu Z, Chen J. Introduction of WHO classification of tumours of female reproductive organs, fourth edition. *Chinese J Pathol* 2014;43:649-50.
9. Stolnicu S, Barsan I, Hoang L, et al. International endocervical adenocarcinoma criteria and classification (IECC): a new pathogenetic classification for invasive adenocarcinomas of the endocervix. *Am J Surg Pathol* 2018;42:214-26.
10. WHO Classification of Tumours Editorial Board. *WHO Classification of Tumours Editorial Board Female Genital Tumours (Vol 4)*, 5th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2020.
11. Stolnicu S, Hoang L, Chiu D, et al. Clinical outcomes of HPV-associated and unassociated endocervical adenocarcinomas categorized by the International Endocervical Adenocarcinoma Criteria and Classification (IECC). *Am J Surg Pathol* 2019;43:466-74.
12. Radomska A, Lee D, Neufeld H, et al. A retrospective study on incidence, diagnosis, and clinical outcome of gastric-type endocervical adenocarcinoma in a single institution. *Diagn Pathol* 2021;16:68.

13. De Vivar AD, Roma AA, Park KJ, et al. Invasive endocervical adenocarcinoma: proposal for a new pattern-based classification system with significant clinical implications: a multiinstitutional study. *Int J Gynecol Pathol* 2013;32:592–601.
14. Park KJ. Cervical adenocarcinoma: integration of HPV status, pattern of invasion, morphology and molecular markers into classification. *Histopathology* 2020;76:112–27.
15. Ren H, Pors J, Chow C, et al. Evaluation of human papillomavirus (HPV) prediction using the International Endocervical Adenocarcinoma Criteria and Classification system, compared to p16 immunohistochemistry and HPV RNA in-situ hybridization. *J Pathol Transl Med* 2020;54:480–8.
16. Mills AM, Dirks DC, Poulter MD, et al. HR-HPV E6/E7 mRNA in situ hybridization. Validation against PCR, DNA in situ hybridization, and p16 immunohistochemistry in 102 samples of cervical, vulvar, anal, and head and neck neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2017;41:607–15.
17. Ikenberg H. Laboratory diagnosis of human papillomavirus infection. *Curr Probl Dermatol* 2014;45:166–74.
18. Schiavetto CM, de Abreu PM, von Zeidler SV, et al. Human papillomavirus DNA detection by droplet digital PCR in formalin-fixed paraffin-embedded tumor tissue from oropharyngeal squamous cell carcinoma patients. *Mol Diagn Ther* 2021;25:59–70.
19. Craig SG, Anderson LA, Moran M, et al. Comparison of molecular assays for HPV testing in oropharyngeal squamous cell carcinomas: a population-based study in Northern Ireland. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2020;29:31–8.
20. Park KJ, Roma A, Singh N, et al. Tumor staging of endocervical adenocarcinoma: recommendations from the International Society of Gynecological Pathologists. *Int J Gynecol Pathol* 2021;40:S92–101.
21. Stolnicu S, Segura S, Parra-Herran C, et al. Invasive stratified mucin-producing carcinoma (ISMC) of the cervix: a study on morphologic diversity. *Am J Surg Pathol* 2020;44:873–80.
22. Pirog EC, Park KJ, Kiyokawa T, et al. Gastric-type adenocarcinoma of the cervix: tumor with wide range of histologic appearances. *Adv Anat Pathol* 2019;26:1–12.
23. Montalvo N, Redrobán L, Galarza D. Mesonephric adenocarcinoma of the cervix: a case report with a three-year followup, lung metastases, and next-generation sequencing analysis. *Diagn Pathol* 2019;14:71.
24. Pors J, Segura S, Chiu DS, et al. Clinicopathologic characteristics of mesonephric adenocarcinomas and mesonephric-like adenocarcinomas in the gynecologic tract. *Am J Surg Pathol* 2021;45:498–506.
25. Fedor HL, De Marzo AM. Practical methods for tissue microarray construction. *Methods Mol Med* 2005;103:89–101.
26. Stolnicu S, Barsan I, Hoang L, et al. Diagnostic algorithmic proposal based on comprehensive immunohistochemical evaluation of 297 invasive endocervical adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol* 2018;42:989–1000.
27. Zhang W, Kapadia M, Sugarman M, et al. Adjunctive HPV insitu hybridization (ISH) assay as an aid in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia in cervical tissue specimens. *Int J Gynecol Pathol* 2012;31:588–95.
28. Guo M, Gong Y, Deavers M, et al. Evaluation of a commercialized in situ hybridization assay for detecting human papillomavirus DNA in tissue specimens from patients with cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma. *J Clin Microbiol* 2008;46:274–80.
29. Kurman R, Carcangiu M, Herrington CYR. *World Health Organisation Classification of Tumors of Female Reproductive Organs*, 4th ed. Lyon, France: Lyon Fr Int Agency Res Cancer Press; 2014.
30. Kortekaas KE, Bastiaannet E, van Doorn HC, et al. Vulvar cancer subclassification by HPV and p53 status results in three clinically distinct subtypes.

- Gynecol Oncol* 2020;159:649–56.
31. Hodgson A, Park KJ, Djordjevic B, et al. International endocervical adenocarcinoma criteria and classification: validation and interobserver reproducibility. *Am J Surg Pathol* 2019;43:75–83.
 32. Hodgson A, Olkhov-Mitsel E, Howitt BE, et al. International Endocervical Adenocarcinoma Criteria and Classification (IECC): correlation with adverse clinicopathological features and patient outcome. *J Clin Pathol* 2019;72:347–53.
 33. Wong RWC, Ng JHY, Han KC, et al. Cervical carcinomas with serous-like papillary and micropapillary components: illustrating the heterogeneity of primary cervical carcinomas. *Mod Pathol* 2021;34:207–21.
 34. Lastra RR, Park KJ, Kenneth Schoolmeester J. Invasive stratified mucin-producing carcinoma and stratified mucinproducing intraepithelial lesion (SMILE) 15 cases presenting a spectrum of cervical neoplasia with description of a distinctive variant of invasive adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2016;40: 262–9.
 35. Horn LC, Handzel R, Borte G, et al. Invasive stratified mucinproducing carcinoma (i-SMILE) of the uterine cervix: report of a case series and review of the literature indicating poor prognostic subtype of cervical adenocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019;145:2573–82.
 36. Stolnicu S, Park KJ, Kiyokawa T, et al. Tumor typing of endocervical adenocarcinoma: contemporary review and recommendations from the International Society of Gynecological Pathologists. *Int J Gynecol Pathol* 2021;40:S75–91.
 37. Lu S, Shen D, Zhao Y, et al. Primary endocervical gastric-type adenocarcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of 23 cases. *Diagn Pathol* 2019;14:72.
 38. Nishio S, Mikami Y, Tokunaga H, et al. Analysis of gastrictype mucinous carcinoma of the uterine cervix – an aggressive tumor with a poor prognosis: a multi-institutional study. *Gynecol Oncol* 2019;153:13–9.
 39. Talia KL, Arora R, McCluggage WG. Precursor lesions of cervical clear cell carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2021. [Epub ahead of print].
 40. Carleton C, Hoang L, Sah S, et al. A detailed immunohistochemical analysis of a large series of cervical and vaginal gastric-type adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol* 2016;40: 636–44.
 41. Fauzi FH, Hamzan NI, Rahman NA, et al. Detection of human papillomavirus in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Zhejiang Univ Sci B* 2020;21:961–76.
 42. Henley-Smith R, Santambrogio A, Andoniadou CL, et al. RNA in situ hybridization for human papillomavirus testing in oropharyngeal squamous cell carcinoma on a routine clinical diagnostic platform. *J Oral Pathol Med* 2021;50:68–75.
 43. Park KJ, Kiyokawa T, Soslow RA, et al. Unusual endocervical adenocarcinomas: an immunohistochemical analysis with molecular detection of human papillomavirus. *Am J Surg Pathol* 2011;35:633–46.

(申彦 翻译 吕炳建 审校)