Am J Surg Pathol • Volume 42, Number 6, June 2018

### Distinct Genomic Copy Number Alterations Distinguish Mucinous Tubular and Spindle Cell Carcinoma of the Kidney From Papillary Renal Cell Carcinoma With Overlapping Histologic Features

Qinghu Ren, MD, PhD, Lu Wang, MD, PhD, Hikmat A. Al-Ahmadie, MD, Samson W. Fine, MD, Anuradha Gopalan, MD, Sahussapont J. Sirintrapun, MD, Satish K. Tickoo, MD, Victor E. Reuter, MD, and Ying-Bei Chen, MD, PhD

> 汇报卫美辰 指导教授王哲 2018.07.04

The solid variant of papillary renal cell carcinoma (实性型乳头) 状肾细胞癌): PRCC的一个亚型, 形态特点为小而挤压的小 管、短的流产乳头形成实性结构、无或极少有真性乳头。上 皮细胞胞浆稀少,核仁小,有时类似梭形细胞





### 肿瘤为实性生长模式

M. Ulamec et al. Solid papillary renal cell carcinoma: clinicopathologic, morphologic, and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature. Annals of Diagnostic Pathology 23 (2016) 51–57





### 肿瘤由小管组成,PAS(右)染色更明显

M. Ulamec et al. Solid papillary renal cell carcinoma: clinicopathologic, morphologic, and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature. Annals of Diagnostic Pathology 23 (2016) 51–57



### 挤压、流产乳头(右: PAS染色)

M. Ulamec et al. Solid papillary renal cell carcinoma: clinicopathologic, morphologic, and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature. Annals of Diagnostic Pathology 23 (2016) 51–57



成角状小管; 胞浆少, 核(ISUP 1/2)小, 圆形或拉长(左); 上皮样及梭形细胞(右)

M. Ulamec et al. Solid papillary renal cell carcinoma: clinicopathologic, morphologic, and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature. Annals of Diagnostic Pathology 23 (2016) 51–57 Am J Surg Pathol • Volume 32, Number 9, September 2008



### 左: CK7; 右: AMACR

M. Ulamec et al. Solid papillary renal cell carcinoma: clinicopathologic, morphologic, and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature. Annals of Diagnostic Pathology 23 (2016) 51–57

# 关键词: MTSCC

- Mucinous Tubular and Spindle Cell Carcinoma (MTSCC, 黏液 小管梭形细胞癌) 最初在1997年报道, 命名为"低级别集合 管癌"
- 2004版WHO 将其命名为黏液小管梭形细胞癌
- MTSCC是一种肾脏的上皮细胞肿瘤



# 关键词: MTSCC



特点 1. 拉长、相互吻合的管状结 构,上皮常为立方形,低核 级 2.温和的梭形细胞 3.间质内显著的黏液

9





Classic MTSCC: 黏液间质内(A)短的小管; (B)细胞索及小管, (C)小管及梭形细胞过渡

Am J Surg Pathol • Volume 30, Number 12, December 2006

### 关键词: MTSCC



### "Mucin-poor" MTSCC: 拉长的小管, 显著小管, 梭形细胞

Am J Surg Pathol • Volume 30, Number 12, December 2006

### 关键词: Hippo pathway

Glucagon

Nucleus

Plasma

Membrane

Epinephrine

- Hippo pathway (Hippo信号通路)在早期发育、器官尺寸 维持、机体再生及肿瘤发生发展等过程中发挥重要作用
- 由一系列蛋白激酶和转录因子组成激酶链,是一种抑癌信 • 号通路。
- YAP(Yes. associated protein)转录辅助因子是Hippo通路 • 关键效应分子,其活性主要被上游激酶LATS1/2抑制。磷酸 化修饰(S127等位点)后,YAP主要定位细胞质,不能发挥 其调节基因转录的功能;相反,非磷酸化修饰的YAP能够转 位细胞核,调控一系列促增值、抗凋亡及细胞干性相关基 因的表达。同时,YAP也是一个致癌蛋白,YAP高表达或细 胞核定位在多种肿瘤(如大肠癌、肝癌等)中广泛存在。





### 转录共激活剂YAP/TAZ(Tafazzin)

### Bi-allelic Alteration and Dysregulation of the Hippo Pathway in Mucinous Tubular and Spindle Cell Carcinoma of the Kidney

Article in Cancer Discovery · November 2016

DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0267



Yu, F. X., Zhao, B., & Guan, K. L. (2015). Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. Cell, 163(4), 811-828.

- 左侧为背景中正常肾组织, YAP细胞核阴性,部分胞浆 阳性
- 右侧为MTSCC, YAP为核阳

### Bi-allelic Alteration and Dysregulation of the Hippo Pathway in Mucinous Tubular and Spindle Cell Carcinoma of the Kidney

Article in Cancer Discovery · November 2016

DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0267



Hippo通路相关的分子在各个 MTSCC病例中的突变情况(红色: 插入、缺失; 黄色: 剪切位点突变; 黑色:无义突变;绿色:错义突变; 白斜线:双等位基因突变) • 最终,大多肿瘤细胞免疫组化显示 YAP核阳性

双等位基因突变

Yu, F. X., Zhao, B., & Guan, K. L. (2015). Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. Cell, 163(4), 811-828.

• 即: MTSCC有Hippo通路的失调及



• MTSCC与1型PRCC(尤其是实性型),有重叠的形态学和免 疫组化特征,对于不典型或形态重叠的病例,诊断有挑战 性, 通过本研究希望明确两种肿瘤的形态学特点和基因改 变的差异

### **MATERIALS AND METHODS**

病例选择和组织学回顾

•选取2006-2016年的26个手术切除的病例,依据组织学特点,分为3组

- MTSCC组: 11例: 小管与梭形细胞混合, 多少不等的黏液性间质, 低级别核
- PRCC对照组: 6例实性生长模式的1型PRCC: 微结节, 流产的乳头, 不明确的小管
- IND组(indeterminate cases): 9例
- •记录以下各种生长模式的比例
  - 拉长的小管、短的小管、梭形细胞、实性片状细胞、微结节、流产的乳头(无纤维血管轴 心)、结构良好的乳头、纤维性包膜/假包膜、黏液成分、泡沫细胞

### **MATERIALS AND METHODS**

- 免疫组化: CK7、AMACR、CD10、EMA、CD15、PAX8、YAP/TAZ: H score = intensity  $(0-3) \times \text{percentage of positive cells}$  (1-100)
- DNA样本制备
- 高分辨SNP序列分析

### RESULTS

18

# 临床病理特征

### TABLE 1. Summary of Clinicopathologic Features of 3 Diagnostic Groups

		N (%)			
	MTSCC (n = 11)	$\frac{PRCC}{(n=6)}$	IND (n = 9)		
Age (y)*	61 (21-74)	61 (56-74)	63 (41-74)		
Sex					
Male	2 (18)	5 (83)	7 (78)		
Female	9 (82)	1 (17)	2 (22)		
Nephrectomy					
Partial	7 (64)	4 (67)	8 (89)		
Total/radical	4 (36)	2 (33)	1 (11)		
Tumor size (cm)*	4.2 (1.3-16.5)	2.35 (1.4-9.5)	3.5 (1-16)		
T stage (at nephrectom	y)				
pT1	7 (64)	5 (83)	6 (67)		
pT2	4 (36)	1 (17)	2 (22)		
pT3	0	0	1 (11)		
Regional lymph nodes (at nephrectomy)					
Nx/N0	11 (100)	6 (100)	9 (100)		
Distant metastases (dur	ing follow-up)				
M0	11 (100)	6 (100)	8 (89)		
M1	0	0	1 (11)		
Papillary adenoma(s)	1 (9)	0	3 (33)		
Follow-up (mo)*	46 (3-88)	27 (4-91)	57 (19-120)		
Deaths (n)	0	0	0		

- - IND好发于男性
- 3组之间肿瘤大小无差异
- 4例有乳头状肾瘤
- - 随访结束仍带病存活

# • MTSCC好发于女性, PRCC、

### • IND组有1例侵及肾周脂肪(T3)

# • 随访期间, IND组1例在术后五 年发生淋巴结和远处转移,在

Case #	Capsule	Elongated Tubules (%)	Short Tubules (%)	Spindle Cells (%)	Solid Sheets (%)	Micronodules/Abortive Papillae (%)	Well-formed Papillae (%)	Mucin	Foamy Macrophages
MTSCC1	Yes	80	0	10	0	10	0	Apparent	Not apparent
MTSCC2	No	70	5	20	0	5	Rare foci (<1)	Apparent	Not apparent
MTSCC3	Yes	60	20	0	10	10	0	Apparent	Not apparent
MTSCC4	No	20	40	20	15	5	0	Apparent	Present
MTSCC5	No	50	20	10	15	5	0	Poor	Present
MTSCC6	Yes	30	20	25	20	5	0	Apparent	Present
MTSCC7	Yes*	10	30	20	30	10	Rare foci (<1)	Poor	Present
MTSCC8	Yes	40	20	30	0	10	0	Apparent	Present
MTSCC9	Yes	80	10	10	0	0	0	Apparent	Present
MTSCC10	No	50	10	10	20	10	Rare foci (<1)	Poor	Present
MTSCC11	No	30	35	20	10	5	Rare foci (<1)	Poor	Not apparent
PRCC1	Yes	0	40	0	50	0	10	No	Abundant
PRCC2	Yes*	0	0	30	10	60	0	No	Not apparent
PRCC3	Yes*	10	35	10	40	5	Rare foci (<1)	No	Abundant
PRCC4	Yes	5	5	10	20	50	10	No	Abundant
PRCC5	No	20	5	0	25	30	20	No	Abundant
PRCC6	No	10	0	0	5	80	5	No	Not apparent
IND1	Yes	30	20	10	10	30	Rare foci (<1)	Focal	Present
IND2	No	20	10	0	50	20	Rare foci (<1)	Poor	Not apparent
IND3	Yes	40	5	10	0	40	5	Poor	Present
IND4	No	30	20	10	0	40	0	No	Present
IND5	No	5	20	0	30	5	40	Apparent	Present
IND6	No	10	5	20	20	10	35	Apparent	Present
IND7	Yes*	10	35	0	40	10	5	Present	Not apparent
								(luminal)	
IND8	No	10	20	10	0	55	5	Poor	Present
IND9	Yes*	10	5	10	60	5	10	No	Abundant

TABLE 2. Morphologic Features of MTSCC, PRCC, and IND Cases (n = 26)

\*Fibrous capsule is present but only partially surrounding the tumor.



- 所有肿瘤生长都相对局限, 14例有包膜, 12例缺乏包膜
- MTSCC组:
  - 黏液间质: 7/11(64%)
  - 拉长、分支小管: 最显著的生长模式 6/11 (55%)
    - 其他排列模式: 短小管、梭形细胞、实性片状结构
  - 微结节: 10/11(91%) 病例有局灶(5% to 10%) 微结节
  - 泡沫细胞: 7/11(64%)
  - 4/11有极小灶小乳头(有纤维轴心)



21





A拉长的管状结构、梭形细胞和间质黏液

B 短管状结构和灶性泡沫细胞

C梭形细胞





D 实性区域和极小灶乳头

E,F 漩涡状拉长的管状结构形成微结节

# 形态学特点——PRCC组

- 微结节和流产的乳头:最显著的生长模式 4/6 (67%)
- 拉长的小管: 缺失或极有限 (5% to 20%)
  - 也可见小的、结构不良的小管、片状生长模式、低级别的梭形细胞
- 3例 (10% to 20%)的区域有结构良好的乳头(1型PRCC形态)
- 间质黏液: 6例均无
- 丰富的泡沫细胞: 4/6(67%)





FIGURE 2. Morphologic spectrum of solid variant of PRCC.

A肾小球样的微结节和流产的乳

B 实性片状细胞,散在管状结构 (右)和结构良好的乳头(1型 PRCC组织学形态,左)

C 紧凑排列的结构不良的小管混 合泡沫细胞

D 成角的、弯曲的小管衬附低级 别梭形细胞,管腔不规则、粗糙

# 形态学特点——IND组

IND组的9例按照形态学特点分为2个子集

1.3例(33%, IND5, IND6, and IND9)有明显的乳头状区域(1型PRCC的结构良好 的乳头), 同时包含大片区域显示MTSCC样的特点: 混合性小管、实性区域和 梭形细胞, 2例有黏液间质

2.6例(67%)混杂有管状、实性、梭形成分以及微结节或流产的乳头

- 与PRCC相比, 这组病例拉长的管状结构比例高

– 与MTSCC相比,这组病例微结节/流产乳头比例高,2/6可见黏液,但1例 主要在管腔内, 2/6显示微结节内发达的分枝状乳头





A, 明确的1型PRCC样区域(形态良好的乳头, 左)和MTSCC样区域(混合小管、梭形细胞和黏液 间质,右)

- B, (A) 图中MTSCC样区域高倍
- C, 病例IND4显示混合有拉长的小管和流产的乳头





D, 病例IND7显示混合小管、实性生长和梭形细胞及黏液

E, 混合性管状结构和微结节

F, 微结节内小的分支的有轴心的乳头(2/6)

# 全基因组拷贝数改变

- 评估了26个病例, 33个DNA样本
  - 7 例(1 MTSCC, 1 PRCC, and 5 INDs),从不同组织形态区域取2个独立的DNA样本
- 11例MTSCC的12个DNA样本显示一致的多个染色体拷贝数丢失,最常见为染色体1 (100%), 4(83%), 6(100%), 8(92%), 9(83%), 13(83%), 14(100%), 15(100%), 22(100%);
  - MTSCC10: 小管、梭形及实性混合区域与微结节区域拷贝数变化一致
- 相反, 6例PRCC的7个DNA样本显示一致的拷贝数增加, 包括染色体7(100%), 16 (71%), 17(100%), 20(71%);
  - PRCC4: 微结节和流产微乳头区域与实性、梭形区域拷贝数变化一致



FIGURE 4.A and B, Genome-wide view of copy number (CN) (top panel) and B allele frequency (BAF) (bottom panel) results from representative MTSCC (A) and PRCC (B) cases.

C, Heat map of SNP-array results for all cases (n = 26). CN gains (blue), losses (red), and copy-neutral LOH (CN-LOH, yellow) are displayed for each sample

# 全基因组拷贝数改变

- 9例IND组的14个DNA样本显示多种染色体拷贝数增加,最常见的包括染色体 7(79%),16 (57%), • 17 (100%), 20 (93%), 类似PRCC组
- 包括在MTSCC样区域取得的DNA样本,没有样本显示在MTSCC组见到的染色体拷贝数缺失。同 • 一个肿瘤内取得的一对样本显示同样的拷贝数变化。
- 最有分歧的样本是IND9:虽然都有17和20号染色体拷贝数增加,但乳头状区域(IND9\_1)和实性 区域(IND9 2)有其他不同的染色体拷贝数增加。
- 总的来说,IND组病例的基因拷贝改变强烈支持将其分类为PRCC  $\bullet$



# 形态学特征有助于区分PRCC与MTSCC

- SNP序列数据确认了最初的 MTSCC 和PRCC分组,也将IND组 的病例分类为PRCC
- 进一步比较MTSCC病例(n =11)和分子学定义的PRCC 病例(n
  - =15).



### 形态学特征有助于区分PRCC与MTSCC

- 特点1: PRCC 病例存在明确的结构良好的1型乳头。相反, MTSCC 罕见乳头, 常为散在于扭曲小管背景中有限的小乳头
- 特点2: 低级别梭形细胞灶在PRCC显示被覆于成角的、弯曲的小管 表面, 管腔不规则、毛糙。相反, MTSCC的管腔光滑。
- 特点1和2在40% (n = 6) PRCC出现,并且与诊断为PRCC的相关性有统 计学意义 (P < 0.05).



# 全基因组拷贝数改变

• 特点3: 包含分支状乳头(有纤维血管轴心)的微结节只在PRCC观察 到,虽然在本研究中只有2/15例。其他PRCC病例的微结节和流产的乳 头与MTSCC中(漩涡状紧密排列的小管)的结节都缺乏结构良好的纤 维血管轴心,很难区分

# 形态学特征有助于区分PRCC与MTSCC

TABLE 3. Morphologic Features Identified in PRCC but not MTSCC

		PRCC	
Morphologic	MTSCC	(n = 15)	
Features	(n = 11)	(N [%])	Illustration
Distinct area of	0	6 (40)	Figures 2B,
type 1 PRCC			3A
Low-grade spindle	0	6 (40)	Figure 2D
cells lining tubules			
with irregular and			
"shaggy" lumina			
Micronodules	0	2 (13)	Figure 3F
encompassing			
small papillae			

\*Statistical significance P < 0.05.</p>



P (Fisher Exact)

0.02\*

0.02\*

0.5



TABLE 4. Immunohistochemical Features Between MTSCC and PRCC

	(		n/N (%)		
	CD10	CK7	AMACR	CD15	
MTSCC	3/10	10/10	10/10	6/10	
	(30)	(100)	(100)	(60)	
PRCC	9/13	13/13	13/13	7/10	
	(69)	(100)	(100)	(70)	

- 13例PRCC病例中, CD10阴性的4例来自IND组, 表明CD10在区分这种形态模棱 两可的病例时有局限性
- 其他的免疫组化结果均在两组无差异







由于 MTSCC有Hippo信号通路失调,所以本研究检测了 YAP/TAZ的表达。 C, YAP/TAZ 核的免疫组化染色评分 (H-scores) MTSCC的平均H-score: 207 (range, 130 to 280); PRCC 的平均H-score: 232 (range, 170 to 280) H-Scores [H = intensity (0-3)×percentage of positive cells (1-100)]. Bars, mean values; error bars, 95% confidence interval.



•本研究表明MTSCC和PRCC有不同的基因拷贝数变化,可以 明确区分这两类肿瘤实体,SNP序列分析能将形态学重叠病 例的分类问题彻底解决。



### 本研究独特之处:

1.观察肿瘤内的形态学异质性,并发现在同一个肿瘤内,基因拷贝数 改变是完全相同或相似的

2.关注形态学不明确的病例(IND)并观察形态学细节和分子学特点, 发现IND病例基因改变与PRCC一致, 依据这些形态学不明确的病例, 本研究结果强调,在PRCC可存在十分类似MTSCC的区域,包括管状结 构、梭形细胞及上皮样细胞实性片状生长、间质黏液



依据分子学明确的PRCC和MTSCC两组病例,重新评估形态学特点,发 现以下3点与PRCC的诊断相关 1.明确的、结构良好的1型PRCC乳头状区域 2.梭形细胞被覆的成角/弯曲的管腔不规则或毛糙的小管 3.有明确纤维血管轴心的小的分支状乳头形成的微结节,也只在PRCC

出现(频率较低)

这3个特点对PRCC和MTSCC的鉴别诊断有决定性作用,然而本研究病 例数有限,尚需更大的独立性队列研究进一步评估其实用性。





### 关于免疫组化

•CD10在70%MTSCCs阴性,但是其诊断作用局限,因为CD10在 30%PRCCs也是阴性的

•Hippo 信号通路失常最近被提出是MTSCC发生的分子学基础, >90%的病例有YAP1蛋白表达;本研究确实证实MTSCC核高表达 YAP/TAZ, 但PRCCs也有YAP/TAZ高表达且表达水平与MTSCCs相当, 所以此信号通路对二者鉴别意义不大



• 虽然本研究中MTSCC均为低核级,但我们仍要注意到最近 研究发现高核级(Fuhrman grade 3 or WHO/ISUP nucleolar grade 3)MTSCC的基因拷贝数变化类似经典型MTSCC。利用 本研究的SNP序列平台,我们检测了7例高级别MTSCC,均 发现与本研究类似的基因拷贝数缺失。但是更复杂的高级 别肿瘤或肉瘤,其基因改变的数据有限。



- MTSCC显示独特的基因拷贝数改变,常出现单体性1,4,6,8,9,13,14, 15,22号染色体,然而实性型PRCC的特点为7,17,20号染色体获得。
- 对于重叠有MTSCC和PRCC形态学特点的难以分类的病例, SNP分析 是有用的鉴别诊断工具。
- 明确的、结构良好的1型PRCC乳头状区域和梭形细胞被覆的成角/弯 曲的管腔不规则或毛糙的小管倾向诊断为PRCC, 但其鉴别诊断的作 用需要进一步研究验证。

# **THANKS**!

44