

Иммуногистохимия при карциноме предстательной железы

Выполнила:

Студентка 6 курса лечебного факультета 1.6.12В группы

Лаврова Анастасия Михайловна

Куратор: профессор, д.м.н., Ракша Александр Петрович

Значение метода при диагностике РПЖ:

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) является важным составляющим при диагностике РПЖ. Метод используется для дифференциальной диагностики РПЖ от других новообразований, таких как:

- Аденокарцинома мочевого пузыря;
- Колоректальный рак;
- Уротелиальный рак;
- Метастатическое поражения предстательной железы.

Также метод можно использовать для проведения дифференциальной диагностики РПЖ и доброкачественных поражений ПЖ, таких как:

- PIN (простатическая интраэпителиальная неоплазия);
- ASAP (атипичная мелкоацинарная пролиферация);
- Атрофические изменения;
- Воспалительные изменения.

В основе диагностики лежит определение базальных и секреторных клеток.

Международное общество уропатологов рекомендует использовать:

- ✓ Высокомолекулярный цитокератин (34βE12), CK5/6 или p63;
- ✓ α-метилацил-КоА-рацемазу (AMACR).

Тройное окрашивание рацемазой, высокомолекулярным цитокератином и p63 обычно используется для диагностики РПЖ.

Простатический специфический антиген (ПСА)

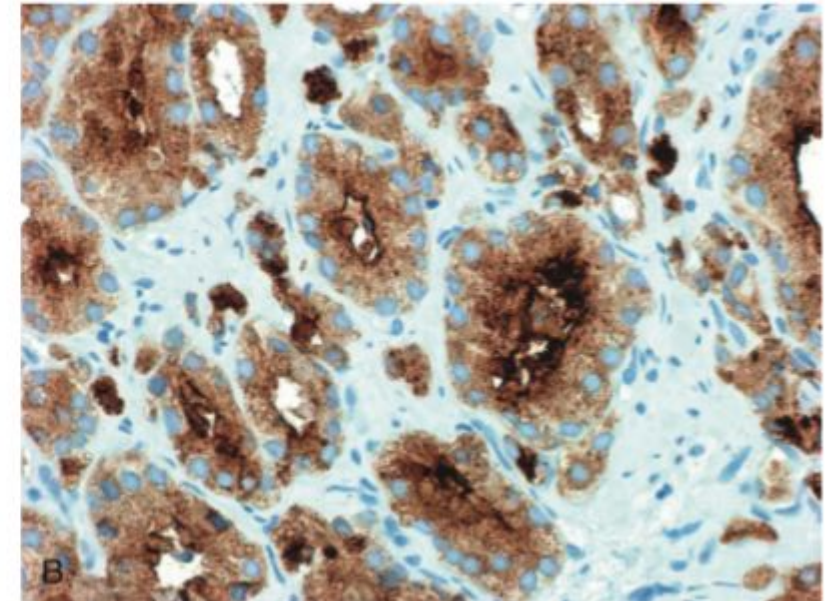
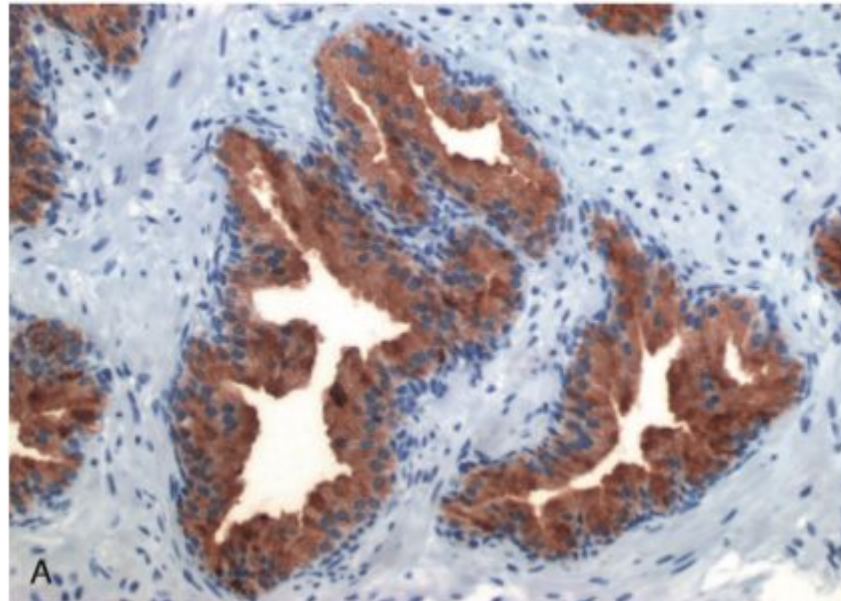
Иммуногистохимическая экспрессия ПСА полезна для дифференцировки РПЖ высокой степени и рака уротелия, рака толстой кишки, гранулематозного простатита и лимфомы. ПСА также облегчает идентификацию места возникновения опухоли при метастатической аденокарциноме.

В нормальной и гиперпластической предстательной железе ПСА равномерно присутствует в апикальной части железистого эпителия. Интенсивность окрашивания уменьшается при слабо дифференцированной аденокарциноме.

Окрашивание ПСА.

А. Нормальный эпителий простаты.

В. РПЖ.



Простатическая кислая фосфатаза (PSAP)

РАР является ценным иммуногистохимическим маркером для выявления РПЖ, когда его используют в сочетании с ПСА. В нормальной и гиперпластической предстательной железе РАР равномерно присутствует в апикальной части железистого эпителия. Более интенсивное и равномерное окрашивание раковых клеток и железистого эпителия отмечается в хорошо дифференцированной аденокарциноме, тогда как менее интенсивное и более вариабельное окрашивание наблюдалось при умеренно и слабо дифференцированной аденокарциноме.

Интенсивность иммунореактивности РАР коррелировала с выживаемостью пациентов, вероятно, из-за большей чувствительности к андрогенам при иммунореактивном раке.

Высокомолекулярный цитокератин (34βE12)

Базально-клеточный специфический антикератин 34βE12 окрашивает практически все нормальные базальные клетки предстательной железы; окрашивание не происходит в секреторных и стромальных клетках. Разрушение базально-клеточного слоя присутствует в 56% случаев PIN высокой степени, чаще в железах, прилегающих к инвазивному раку, чем в отдаленных железах. Степень разрушения увеличивается с увеличением степени PIN. Ранняя карцинома возникает в местах ацинарного выщелачивания и разрушения базального клеточного слоя.

Рак предстательной железы не реагирует с этим антителом, хотя он может окрашивать другие виды рака. Разрушение базально-клеточного слоя также происходит при воспалении ацинусов, атипичной аденоматозной гиперплазии и постатрофической гиперплазии.

Множество смешивающих факторов могут мешать окрашиванию, включая плохую консервацию и фиксацию тканей и отсутствие ферментативной предрасположенности.

р63

Ядерный белок, который является одним из лучших диагностически полезных маркеров базальных клеток. Окрашивание ядер р63, по сообщениям, является по меньшей мере таким же чувствительным и специфичным для идентификации базальных клеток в диагностических образцах предстательной железы, как окрашивание цитоплазмы высокомолекулярным цитокератином. р63 может быть более чувствительным, чем 34βЕ12 в окрашивании доброкачественных базальных клеток, особенно в трансуретральном резекция образцов простаты (ТУР), и это может предлагать преимущество над 34βЕ12 в диагностически сложных случаях.

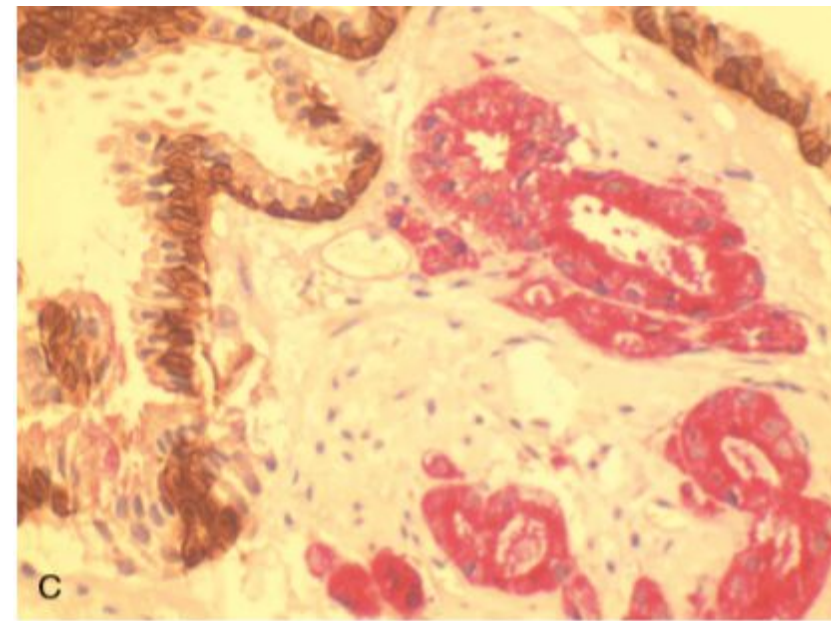
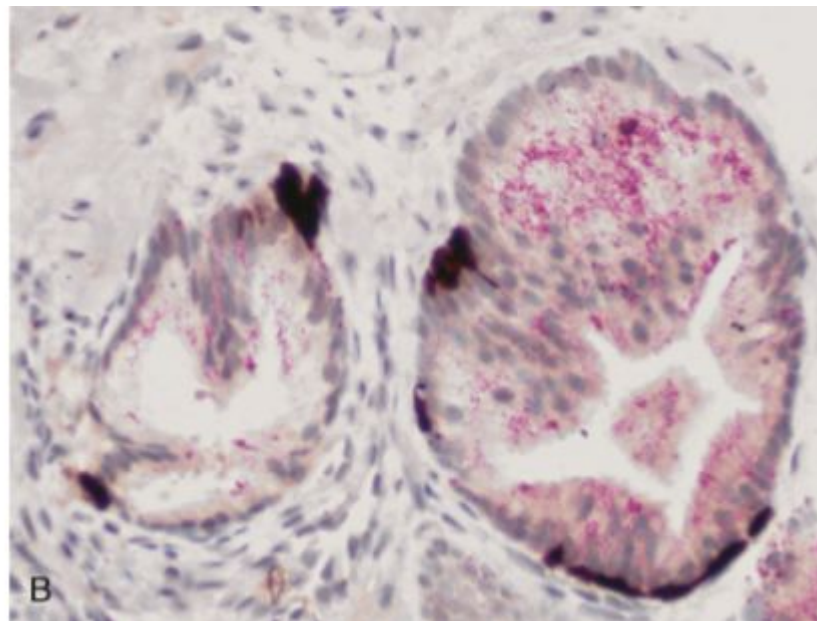
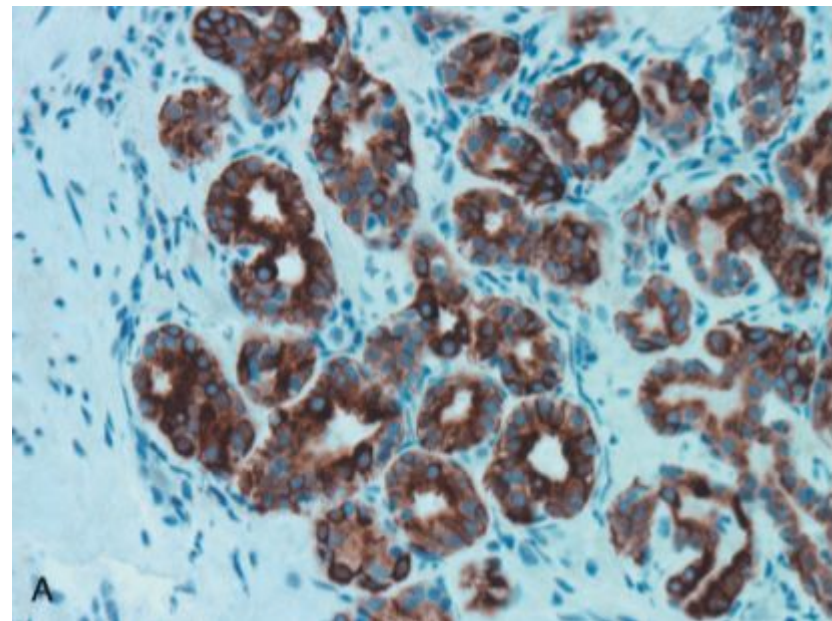
Базальный клеточный коктейль (34βЕ12 и р63) повысил чувствительность определения базальных клеток и уменьшил изменчивость окрашивания. Ген р63 также экспрессируется в респираторном эпителии, миоэпителиальных клетках молочной железы и бронхов, клетках цитотрофобластов человеческой плаценты.

Тройное окрашивание рацемазой, высокомолекулярным цитокератином и р63 используется многими лабораториями для диагностики рака простаты.

α -метилацил-КоА-рацемаза (AMACR)

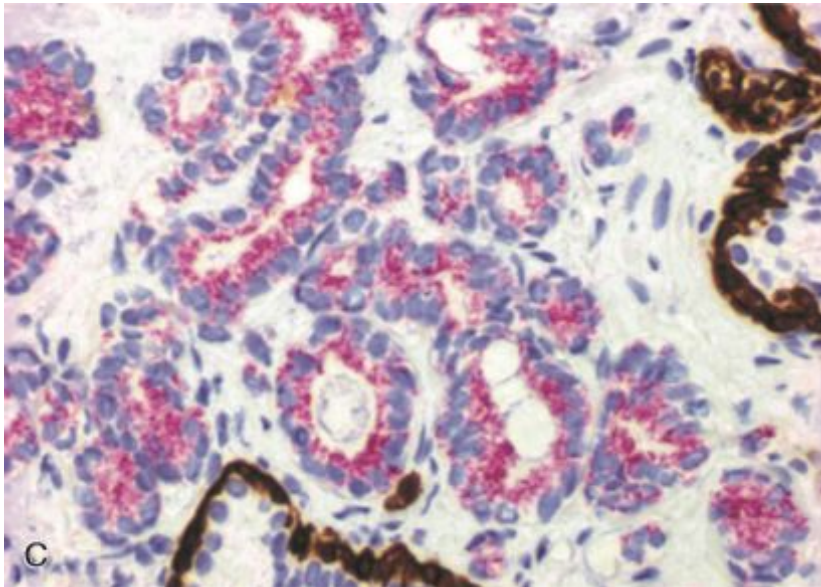
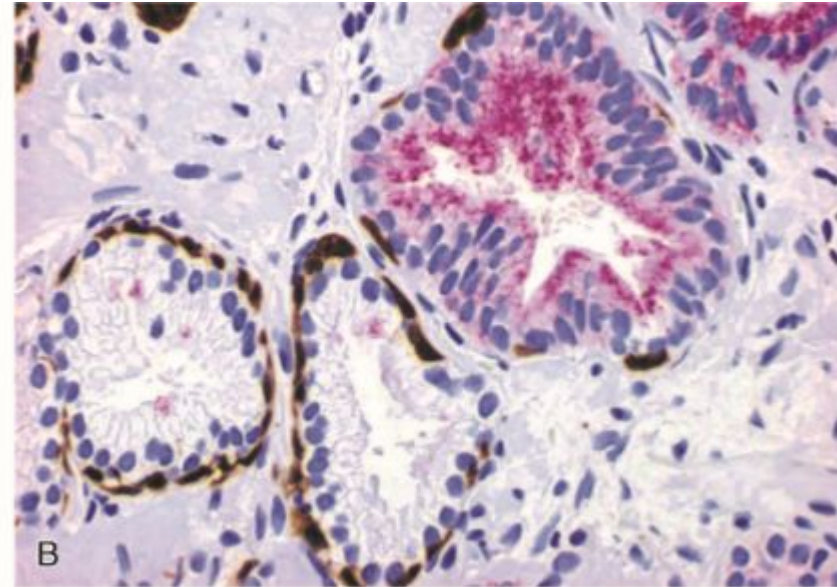
Продукт гена α -метилацил-КоА-рацемазы (AMACR, рацемаза), также называемый белком P504S, представляет собой фермент, участвующий в β -окислении жирных кислот с разветвленной цепью. Это новый опухолевый маркер для некоторых видов рака человека и их предшественников, включая рак предстательной железы.

Результаты рацемазы положительны примерно у 80% случаев рака предстательной железы при игольной биопсии и являются менее интенсивными и более гетерогенными при редких морфологических вариантах РПЖ. Андрогенная депривационная терапия снижает иммунореактивность рацемазы при раке предстательной железы. Положительное окрашивание рацемазой также обнаруживается в большинстве случаев высокого степени PIN и в 10-15% случаев случаи атипичной аденоматозной гиперплазии. Интенсивность иммуноокрашивания при аденокарциноме предстательной железы значительно выше, чем в доброкачественной ткани предстательной железы.



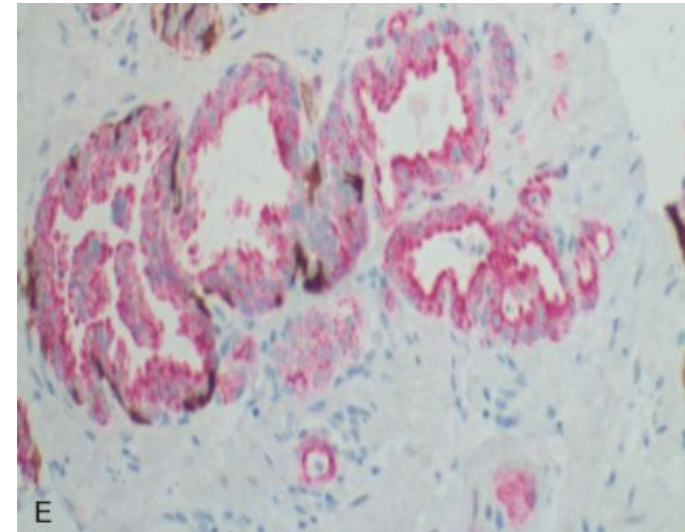
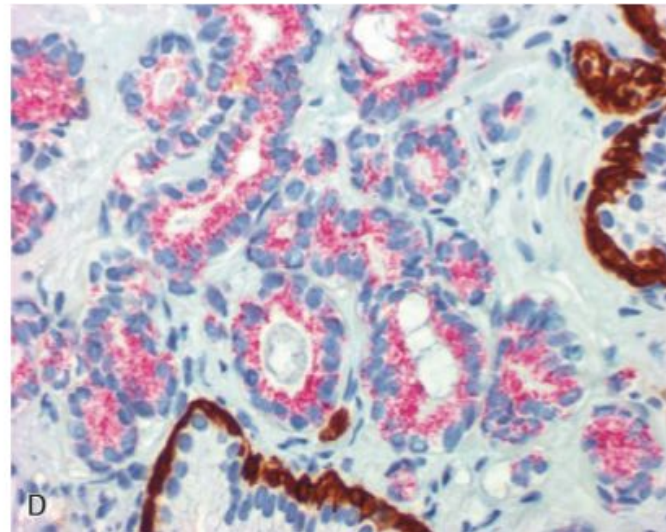
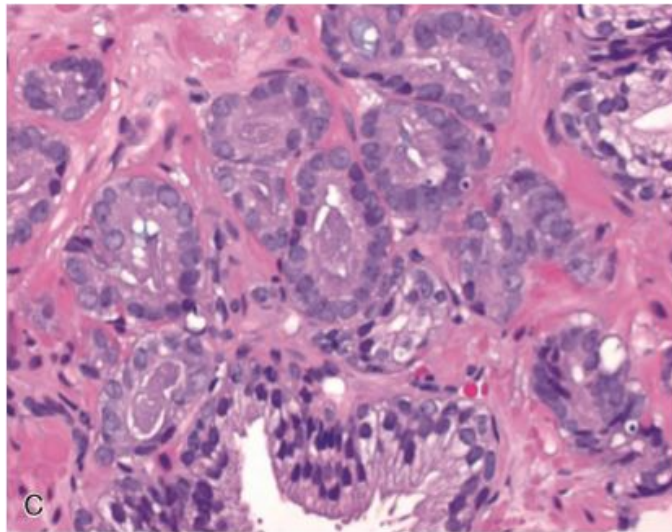
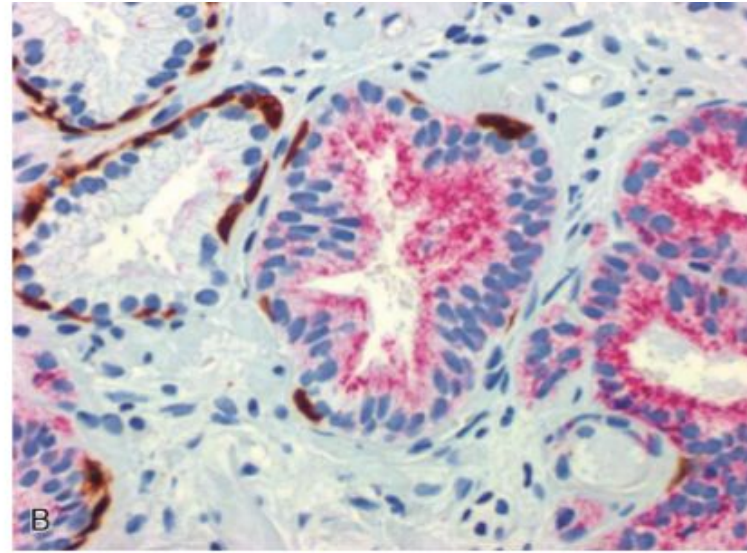
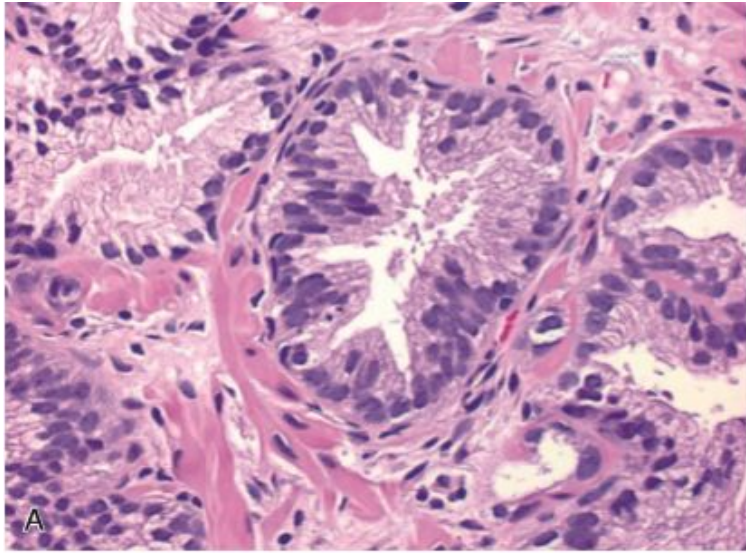
ИГХ с кератином 34βЕ12 и рацемазой.

- A.** Неповрежденный базальный слой клеток в атрофических ацинусах.
- B.** Базальный слой клеток нарушается в высокой степени PIN; отмечается положительное окрашивание рацемазой (красный).
- C.** В отсутствии базального слоя клеток при раке; отмечается положительное окрашивание рацемазой (красный).

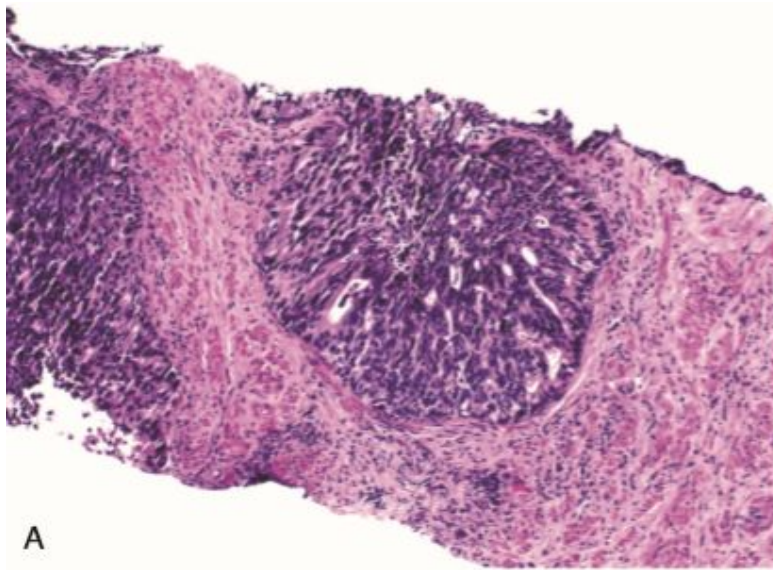


**Окрашивание тройным-
антитело коктейлем
(кератин
34βЕ12/р63/рацемаза).**

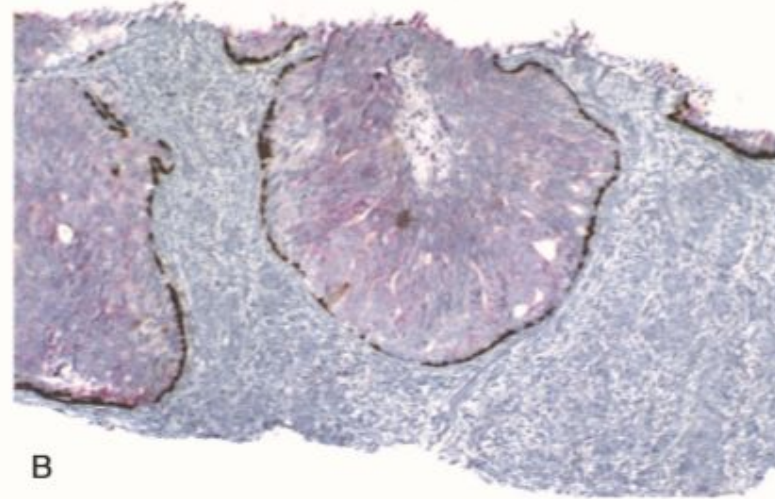
**А. Нормальный эпителий.
В. PIN высокой степени.
С. РПЖ**



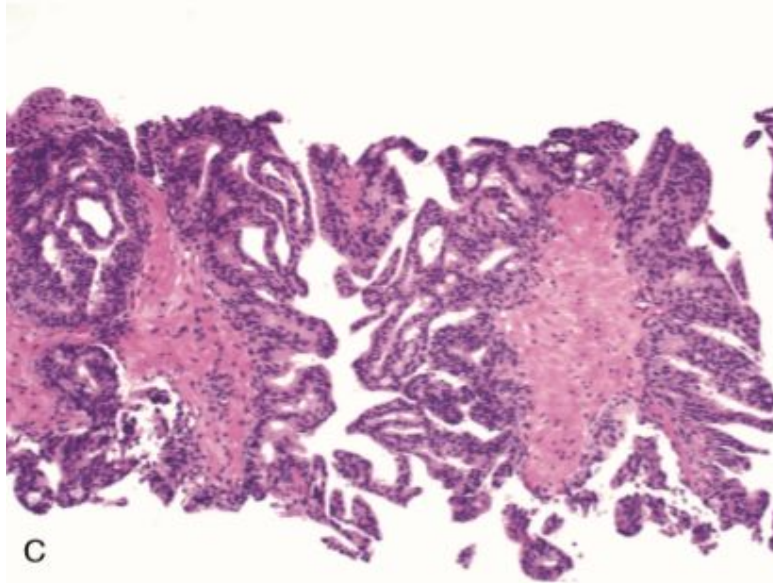
Сравнение гематоксилином и эозином (H&E) и окрашиванием тройным-антитело коктейлем (кератин 34βE12/p63/рацемаза).



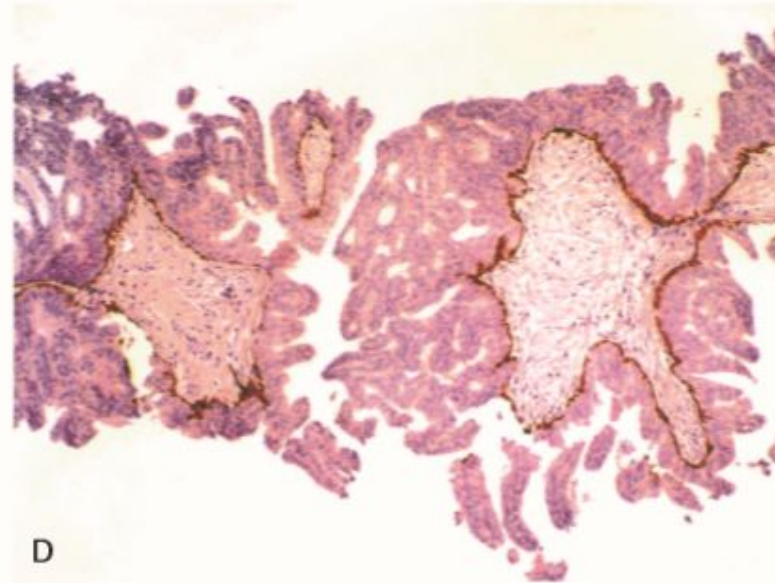
A



B



C

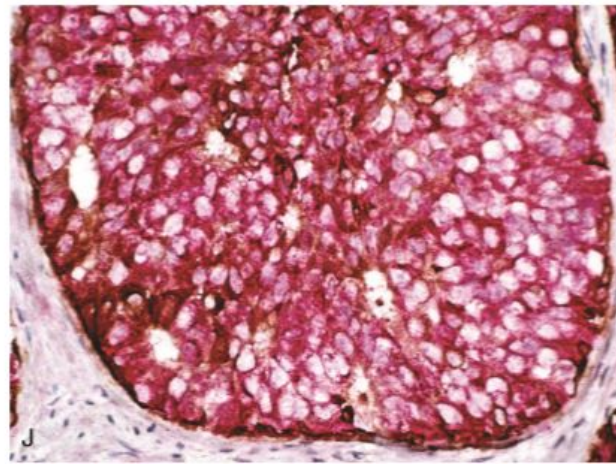
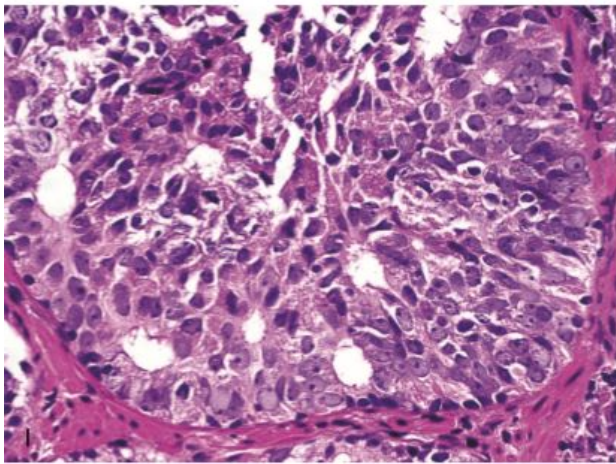
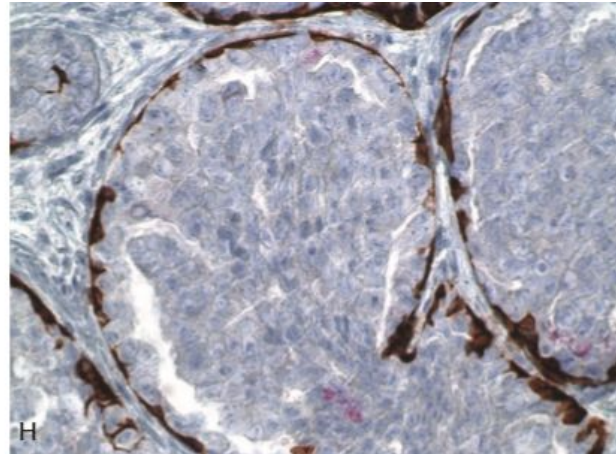
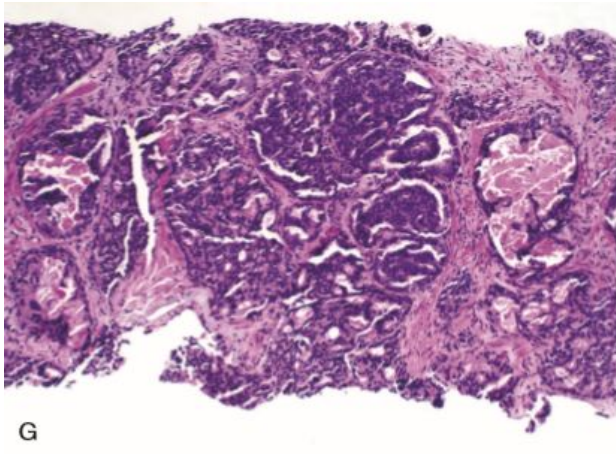
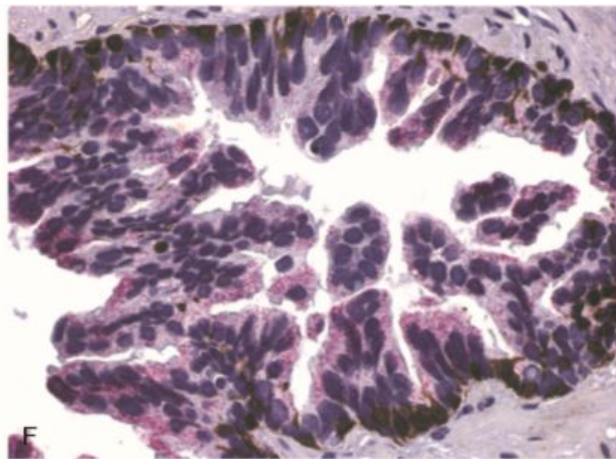
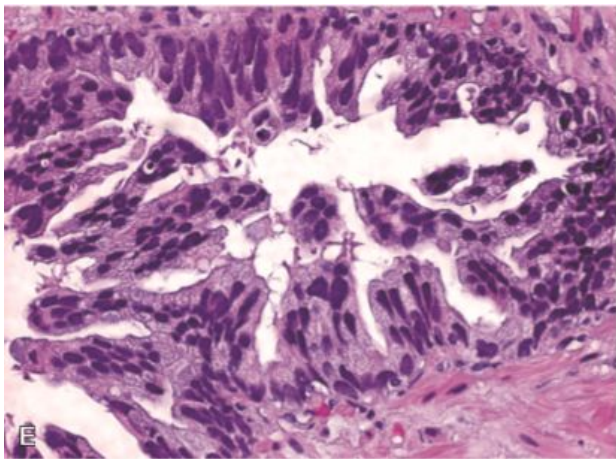


D

Внутрипротоковая карцинома.

А, В. Солидная структура.

С, D. Папиллярная структура.



Внутрипротоковая карцинома.

Е, F. Папиллярная структура.

Г, H. Крибриформная структура.

И, J. Крибриформная структура.

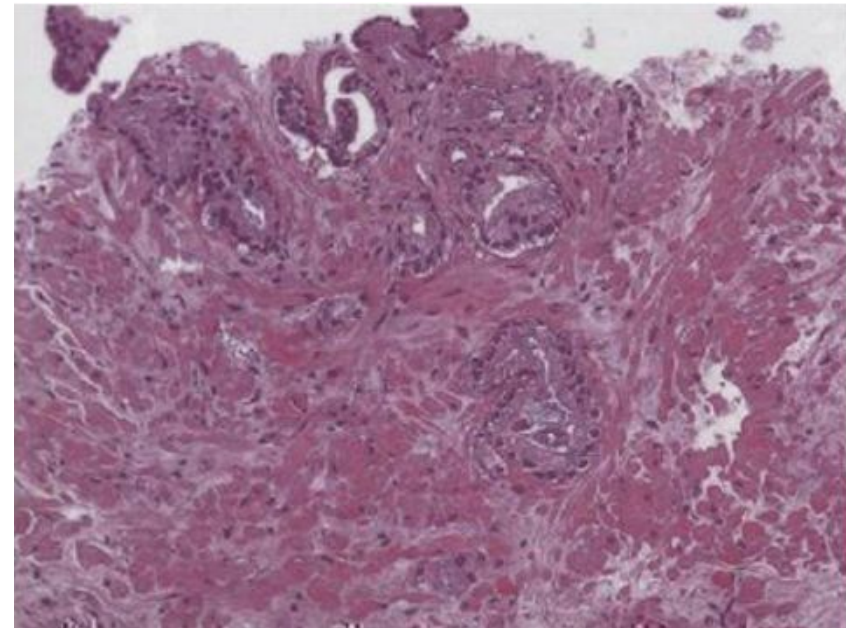
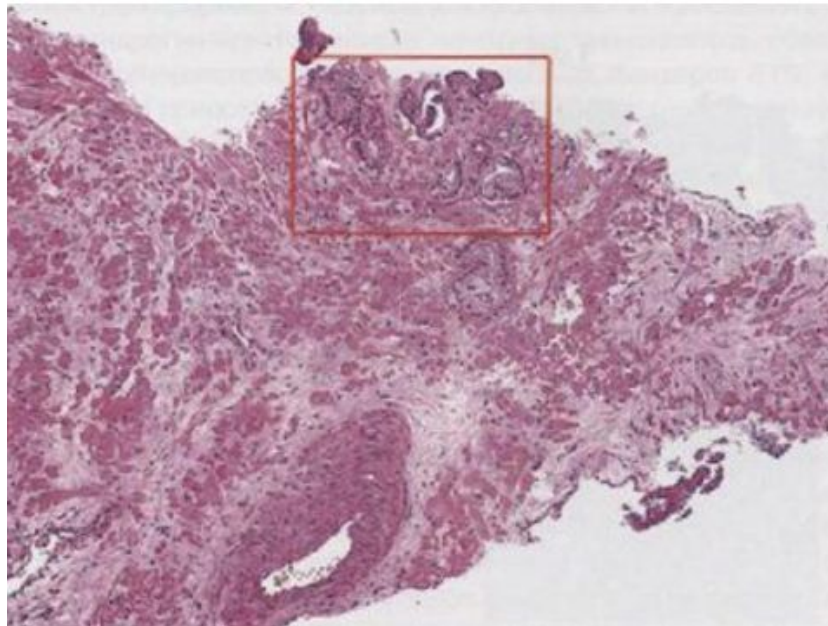
А,С,Е,Г,И. Окраска гематоксилином и
эозином.

В,Д,F,Н,Ж. Окрашивание тройным
антителом коктейлем (кератин
34βE12/p63/рацемаза).

Атипичная мелкоацинарная пролиферация (ASAP)

Представляет из себя мелкий фокус атипичных структур (не более 7 ацинусов, менее булавочной головки), недостаточный для постановки диагноза рака.

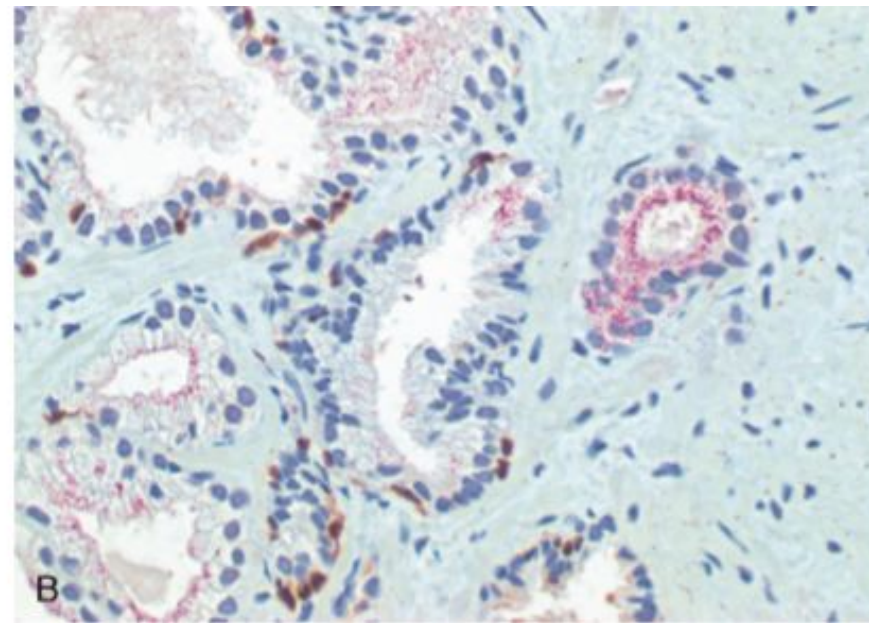
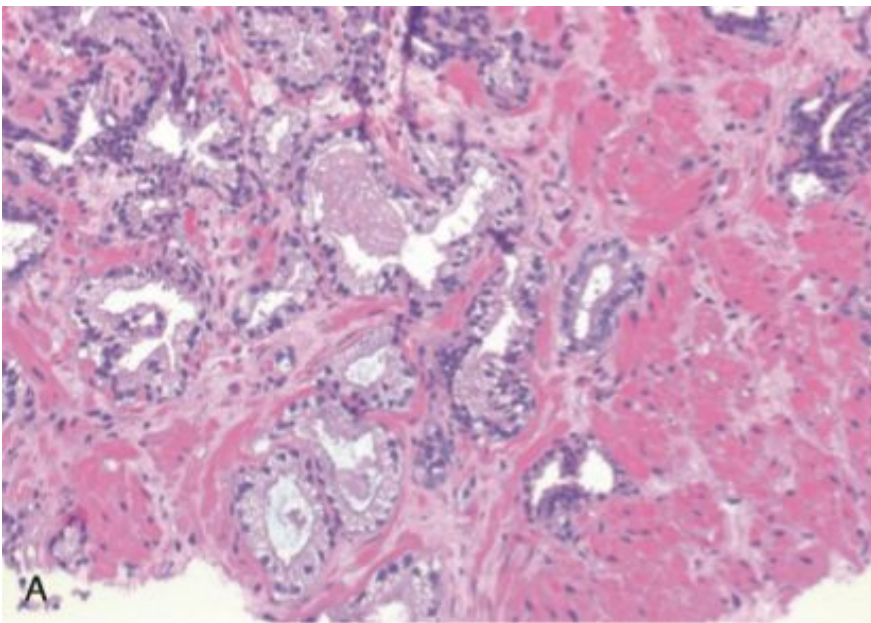
При ИГХ-исследовании базальные клетки в таких очагах не выявляются и отмечается гиперэкспрессия рацемазы, однако категорический диагноз инвазивного рака по столь малому фокусу не совсем корректен. Диагноз ASAP служит показанием для повторной биопсии.



Атипичная мелкоацинарная пролиферация (ASAP).

А и В. Проплиферация ацинулов промежуточного размера демонстрирует изменение формы и просвета.

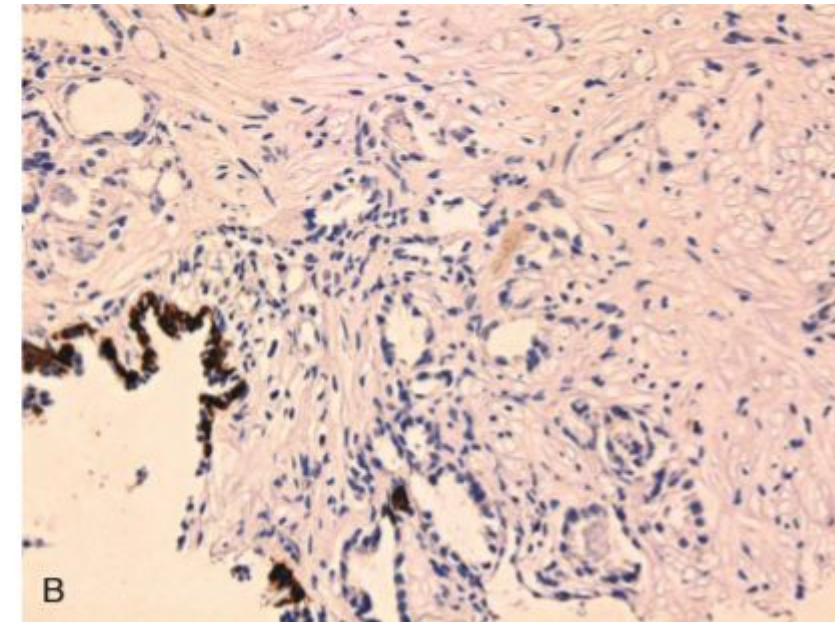
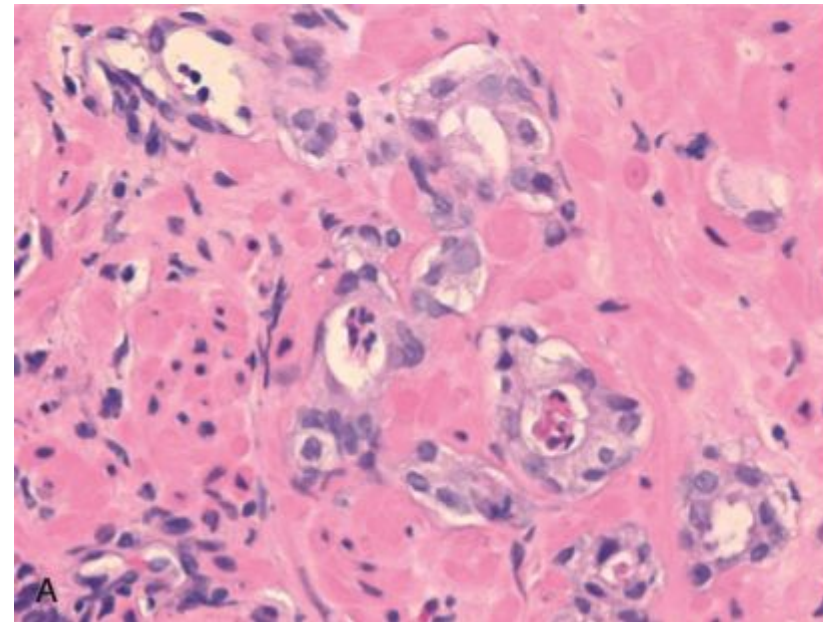
В. Один ацинулов положительно окрашен рацемазой с отсутствием р63 ядерной иммунореактивности, что крайне подозрительно, но небольшой размер фокуса и отсутствие убедительных ядерных и ядрышковых аномалий исключают определенный диагноз рака.



Атипичная мелкоацинарная пролиферация (ASAP).

А. Данный фрагмент очень подозрителен для карциномы, ввиду изменения размера ацинулов, их формы и расстояния между ними.

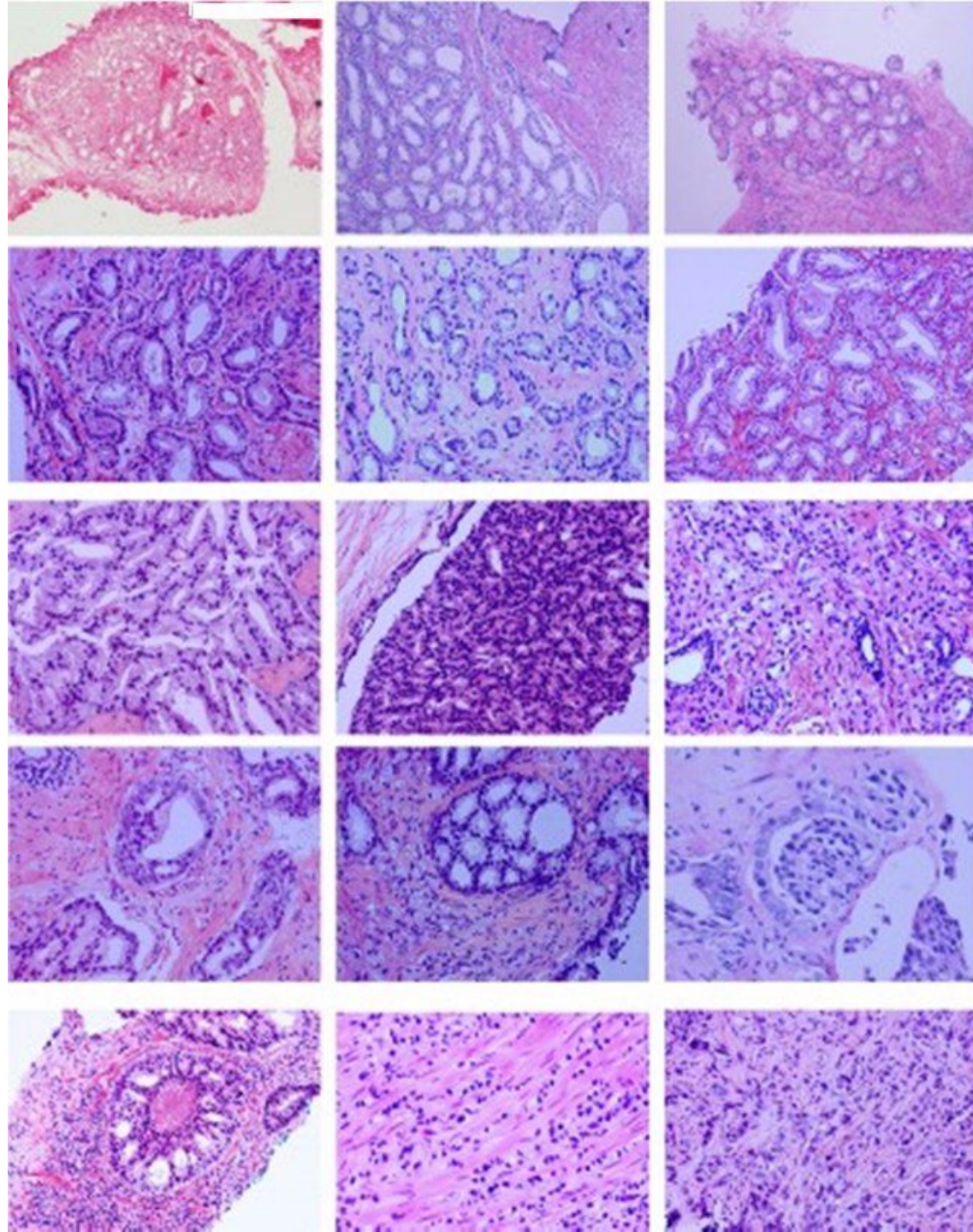
В. Отсутствие окрашивания кератином 34βЕ12 (с внутренним положительным контролем в соседнем доброкачественном эпителии) увеличивает подозрения на злокачественное новообразование.



Шкала Глисона

<i>Градация</i>	<i>Описание</i>
Градация 1	Опухоль состоит из очень хорошо очерченных узелков, из отдельных плотно упакованных желез, которые не проникают в соседние доброкачественные ткани предстательной железы. Железы имеют промежуточный размер и приблизительно равны по размеру и форме. Эта картина обычно наблюдается при раке в переходной зоне. Градация Глисона 1 чрезвычайно редка. Когда она присутствует, она обычно является лишь второстепенным компонентом опухоли и не включается в балл по Глисон.
Градация 2	Опухоль состоит из круглых или овальных желез. Железы расположены более свободно и не так однородны по размеру и форме, как при градации 1. Минимальная инфильтрация опухолевых желез в окружающие неопухолевые ткани предстательной железы. Железы имеют промежуточный размер и больше, чем в градации 3. Различия в размере желез и разделении между железами меньше, чем в градации 3. Хотя это не оценивается в классификации Глисона, цитоплазма раковых образований по градации 1 и 2 Глисона является обильной и бледно окрашенной. Градация 2 обычно наблюдается при раках переходной зоны, но иногда может обнаруживаться в периферической зоне.
Градация 3	Является наиболее распространенной градацией. Железы более инфильтративны, и расстояние между ними более изменчиво, чем при градациях 1 и 2. Злокачественные железы часто проникают между соседними неопухолевыми железами. Железы градации 3 различаются по размеру и форме и часто бывают угловатыми. Маленькие железы типичны для этой градации, но могут также быть большие нерегулярные железы. Каждая железа имеет открытый просвет и ограничена стромой. Крибриформная форма данной градации встречается редко и его трудно отличить от крибриформного PIN высокой степени.
Градация 4	Железы выглядят слитыми, согнутыми или плохо очерченными. Слитые железы состоят из группы желез, которые больше не полностью отделены стромой. Край группы слитых желез зубчатый, и в этой группе иногда встречаются тонкие нити соединительной ткани. Крибриформная картина желез характеризуется большими или неровными с зазубренными краями. В отличие от слитых желез, внутри крибриформной железы нет нитей стромы. Большинству злокачественных инвазивных злокачественных новообразований следует назначать градацию 4, а не 3. Плохо определяемые железы не имеют просвета, который полностью окружен эпителием.
Градация 5	Наблюдается почти полная потеря железистого просвета. Может быть виден только случайный просвет. Эпителий образует сплошные листы, сплошные нити или отдельные клетки, проникающие в строму. Необходимо соблюдать осторожность при назначении градации 4 или 5 Глисона для ограниченного рака при игольной биопсии, чтобы исключить артефакт тангенциального разреза рака более низкой степени. Комедонекроз может присутствовать.

The evolving Gleason grading system
Ni Chen and Qiao Zhou
Chin J Cancer Res. 2016 Feb; 28(1): 58–64.



Gleason patterns 1–3
 distinct, discrete,
 individual glands

Gleason score ≤ 6

Grade group I

Gleason score
 $3+4=7$

Grade group II

Gleason pattern 4
 fused, cribriform, or
 poorly-formed glands, or
 glomerularion

Gleason score
 $4+3=7$

Grade group III

Gleason score
 $4+4=8$
 $3+5=8$
 $5+3=8$

Grade group IV

Gleason pattern 5
 comedo necrosis, cords,
 sheets, solid nests, single
 cells

Gleason score
 $4+5=9$
 $5+4=9$
 $5+5=10$

Grade group V

Дифференциальная диагностика между низкодифференцированным РПЖ и уротериальным раком

Маркеры:

- ✓ PSA
- ✓ PSAP
- ✓ P501S
- ✓ PSMA
- ✓ NKX3.1
- ✓ AR
- ✓ GATA3
- ✓ CK7/CK20
- ✓ Uroplakin III (+ в 60% низкодифференцированных уротериальных карцином)
- ✓ Trombomodulin (+ в 63% низкодифференцированных уротериальных карцином)

Лучшими маркерами для постановки этого дифференциального диагноза являются PSA и GATA3. PSA положителен в 90-95% высокосортных (Gleason оценка 8-10) аденокарцином предстательной железы и отрицателен при уротериальных карциномах. GATA3 является положительным у 80% уротериальных карцином и почти всегда отрицательным при аденокарциноме предстательной железы.

Антитела против высокомолекулярных цитокератинов и p63 могут быть использованы в качестве маркеров второй линии для уротериального рака. Если окрашивание на PSA и уротериальные маркеры отрицательное, затем может быть выполнено окрашивание на простатические маркеры P501S и NKX3.1

Дифференциальная диагностика между низкодифференцированным РПЖ и уротериальным раком

- В качестве первого этапа диагностики можно использовать PSA для РПЖ и GATA3 для уротериального рака;
- Если GATA3 нет, можно использовать CK-N или p63;
- Если опухоль PSA+ и CK-N/p63-, то это РПЖ;
- Если опухоль PSA+/- и CK-N/p63- или отмечается фокусное окрашивание необходимо использовать PSAP, NKX3.1, GATA3;
- Если опухоль PSA- и CK-N/p63+, то это уротериальный рак;
- Если опухоль PSA- и умеренно GATA3+, то это уротериальный рак;
- Если P501S, NKX3.1, GATA3 отсутствуют в лаборатории, то каждый сомнительный случай должен быть направлен в лабораторию, где имеются данные маркеры.

Дифференциальная диагностика между низкодифференцированным РПЖ и раком толстой кишки

Маркеры:

- ✓ PSA, PSAP
- ✓ P501S, NKX3.1
- ✓ Villin
- ✓ CDX2
- ✓ b-catenin

Простатические маркеры PSA, PSAP, P501S, NKX3.1 являются отрицательными при колоректальной аденокарциноме.

Виллин и CDX2 являются чувствительными маркерами колоректального рака и редко положительны при РПЖ

Дифференциальная диагностика между низкодифференцированным РПЖ и аденокарциномой мочевого пузыря

Маркеры:

- ✓ PSA, PSAP
- ✓ P501S, NKX3.1
- ✓ Villin
- ✓ Trombomodulin
- ✓ CDX2
- ✓ CEA

В этом случае маркерами для РПЖ высокой степени злокачественности являются PSA, PSAP, P501S. PSA и моноклональные антитела к PSAP обладают высокой чувствительностью (90-95%) к РПЖ высокой степени злокачественности (оценка по шкале Глисона 8-10) и не реагируют с аденокарциномой мочевого пузыря, но иммунореактивность с аденокарциномой мочевого пузыря может наблюдаться с PSA и PSAP поликлональными антителами.

Маркерами аденокарциномы мочевого пузыря, рекомендованными в этой ситуации, являются виллин, тромбомодулин, CDX2 и CEA (с использованием моноклональных антител), с чувствительностью 47-65% к аденокарциноме мочевого пузыря и с экспрессией, присутствующей в <5% случаев РПЖ.

Диагностика метастатического РПЖ

PSA, PSAP, P501S и NKX3.1 очень чувствительны при диагностике метастатической аденокарциномы предстательной железы, причем каждый из четырех маркеров имеет чувствительность >94%. Экспрессия PSA и PSAP может быть снижена после андрогенной терапии, и в таких случаях могут использоваться P501S и NKX3.1.

PSA и PSAP не являются абсолютно специфичными для РПЖ. PSA иммунореактивность наблюдается в основном при новообразованиях слюнных желез, а иммунореактивность PSAP может быть положительной при новообразованиях слюнных желез и нейроэндокринных опухолях.

Окрашивание P501S было обнаружено в аденокарциномах мочевого пузыря, но окрашивание не является характерной гранулярной перинуклеарной картиной.

Экспрессия NKX3.1 является высокоспецифичной для РПЖ.

Простатическими маркерами с ограниченной диагностической ценностью из-за проблем чувствительности и/или специфичности являются ERG, AR и AMACR. Например, об экспрессии AMACR сообщалось в самых разных карциномах, включая уротелиальный рак, почечно-клеточный рак, колоректальный рак и аденокарциному легких.

Прогностические ИГХ маркеры:

- ❖ p53 связан с высоким метастатическим потенциалом опухоли и развитием андрогенрезистентности РПЖ;
- ❖ Ki-67 прямая зависимость между количеством клеток экспрессирующих данный маркер и стадией РПЖ;
- ❖ Vcl-2, Vax усиленная экспрессия является признаком гормоноустойчивости;
- ❖ p21/p27 коррелирует с длительностью безрецидивного течения;
- ❖ PTEN связан с опухолевой прогрессией;
- ❖ NKX3.1 связан с опухолевой прогрессией;
- ❖ C-тус гиперэкспрессия коррелирует с суммой баллов по Глиссону.

Список литературы:

1. WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs / edited by Holger Moch, Peter A. Humphrey, Thomas M. Ulbright, Victor E. Reuter. – 4th edition;
2. David G. Bostwick, MD, MBA: Urologic Surgical Pathology / David G. Bostwick, Liang Cheng. – 3rd edition;
3. Christopher D.M. Fletcher. Diagnostic histopathology of tumors. – 4th edition
4. <http://www.humpath.com>