

# Clear Cell Carcinoma of Salivary Glands Is Frequently p16 Positive

A Pitfall in the Interpretation of Oropharyngeal Biopsies

Justin A. Bishop, MD,<sup>\*†</sup> Lisa M. Rooper, MD,<sup>\*</sup> Simion I. Chiosea, MD,<sup>‡</sup> and William H. Westra, MD<sup>\*</sup>

汇报人：李佳妮 指导老师：马世荣

# 研究背景

- CCC最早是在1994年被提出，被认为是一种涎腺的低级别恶性肿瘤，最初被称为玻璃样变透明细胞癌。
- 2005版WHO头颈部肿瘤分类中被命名为“透明细胞癌--非特殊类型”。
- 2008版美国陆军病理研究所（AFIP）肿瘤分类中被命名为“透明细胞腺癌”。
- 2017版WHO头颈部肿瘤分类中被简称为“透明细胞癌”。

## 研究背景-1

CCC曾经被认为是混合唾液腺肿瘤，肿瘤组织由难以分类的透明细胞组成，不能作为独立诊断的实体。然而，后来发现大多数CCCs中存在EWSR1-ATF1基因融合，而在任何其他类型的涎腺肿瘤中不存在EWSR1-ATF1基因融合，所以支持CCC是一种独特的肿瘤实体的结论。

部分CCCs在形态学上表现为明显的鳞状细胞分化，不存在玻璃样变，甚至形态学主体细胞成分为不透明细胞。所以，CCCs存在被误诊为高级别鳞状细胞癌(Sqcc)的风险，特别是当它发生于口咽和其他粘膜部位的小唾液腺时。

## 研究背景-2



目前已知大多数口咽 Sqccs 均具有高危型人乳头瘤病毒 ( HPV ) 感染，与 HPV 感染无关的 Sqccs 的治疗相比较，这些 HPV 相关的口咽部 Sqccs 具有有效的治疗反应，并且生存率明显提高。因此，HPV 检测现在被常规推荐用于诊断口咽部的 Sqccs。p16 免疫组化被作为一种单独可靠的检测方法来检测 HPV 的感染。

目前还无人质疑单独的 P16 染色在 HPV 感染检测中是否存在陷阱。

本文研究的目的是为了确定 P16 着色情况对于鉴别 CCC 和 P16 阳性的 Sqcc 是否有帮助。

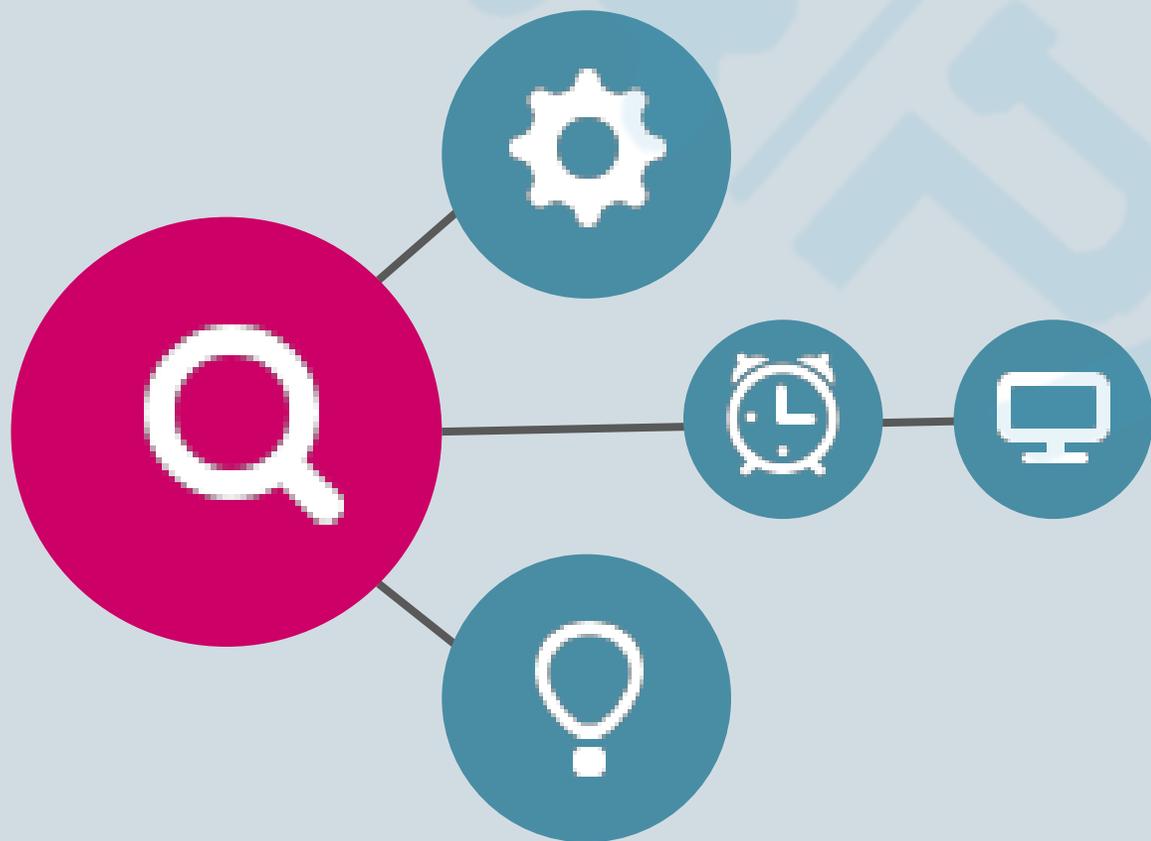
# 材料及方法

11例女性，5例男性

年龄30岁-85岁（平均58岁）

应用p16免疫组织化学、高危HPVRNA原位杂交(ISH)、EWSR 1基因断裂原位杂交(ISH)的方法对所有病例进行检测

# 检测方法



EWSR 1基因断裂原位杂交(ISH)，采用双色分离探针检测EWSR 1基因的断裂重排；阴性标准-两对橙绿信号融合的存在。阳性标准-1对橙绿融合信号和1对橙绿分离信号的存在。

p16(克隆号INK4a )免疫组化，主要评估肿瘤细胞阳性范围(%)和着色分布(细胞核和/或细胞质)。

高危HPVRNA原位杂交(ISH)检测，使用HPV-HR18探针,该探针可识别18种高危型HPV感染 (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53,56、 58、 59、 66、 68、 73和 82)。此检测所用阳性对照组为HPV16阳性的头颈部Sqcc以及HPV 16阳性的两类宫颈癌细胞株 ( SIHA和CaSki )；阴性对照组为HPV16阴性的头颈部Sqcc 。

# 研究结果

**TABLE 1.** Clinicopathologic Characteristics of CCCs

Case #	Age (y)	Sex	Location	p16 IHC (%)	Clear Cells (%)	<i>EWSR1</i> FISH	Submitted Diagnosis
1	67	M	Base of tongue	5	30	+	SqCC
2	50	F	Base of tongue	5	80	+	Mucoepidermoid carcinoma
3	43	M	Base of tongue	50	20	+	None
4	47	F	Base of tongue	60	50	+	SqCC
5	78	F	Base of tongue	80	50	+	CCC
6	71	F	Base of tongue	10	50	+	None
7	59	M	Base of tongue	70	10	+	SqCC
8	69	M	Tonsil	30	20	+	Low-grade carcinoma with clear cells, cannot exclude SqCC
9	45	F	Nasopharynx	20	20	+	Mucoepidermoid carcinoma
10	66	F	Nasopharynx	50	80	+	CCC
11	30	F	Nasopharynx	5	30	+	Salivary carcinoma, NOS, cannot exclude SqCC
12	67	F	Nasopharynx	10	80	+	Low-grade adenocarcinoma, NOS
13	40	F	Retromolar trigone	20	50	+	Carcinoma with clear cell features
14	31	M	Gingiva	5	30	+	CCC
15	85	F	Hard and soft palate	30	80	+	None
16	80	F	Tongue	30	90	+	None

F indicates female; FISH, fluorescence in situ hybridization; IHC, immunohistochemistry; M, male; NOS, not otherwise specified.

# 结果

- 16例中11名女性和5名男性，年龄在30-85岁不等(平均58岁)
- 8例(50%)发生在口咽(舌根7例，扁桃体1例)，鼻咽4例(25%)，磨牙后三角1例，牙龈1例，硬腭和软腭1例，舌部1例
- 16例均有p16免疫反应。着色范围为5%-80%不等(平均30%)，大于70%的有两例。
- 16例病例均显示部分细胞胞浆透明，透明细胞所占比例为10%-90%，(平均48%)
- 16例均有EWSR1基因断裂重排并且呈阳性结果
- 16例的最初诊断包括SqCC ( n = 3 )、CCC ( n = 3 )、粘液表皮样癌 ( 2例 )、低级别癌 ( 具有透明细胞特征，不能除外sqcc ) ( n = 1 )、涎腺癌 ( 非特殊类型，不能除外sqcc ) ( n = 1 )、低级别腺癌，非特殊类型( n = 1 )、具有透明细胞特征的癌( n = 1 )、未明确诊断( n = 4 )

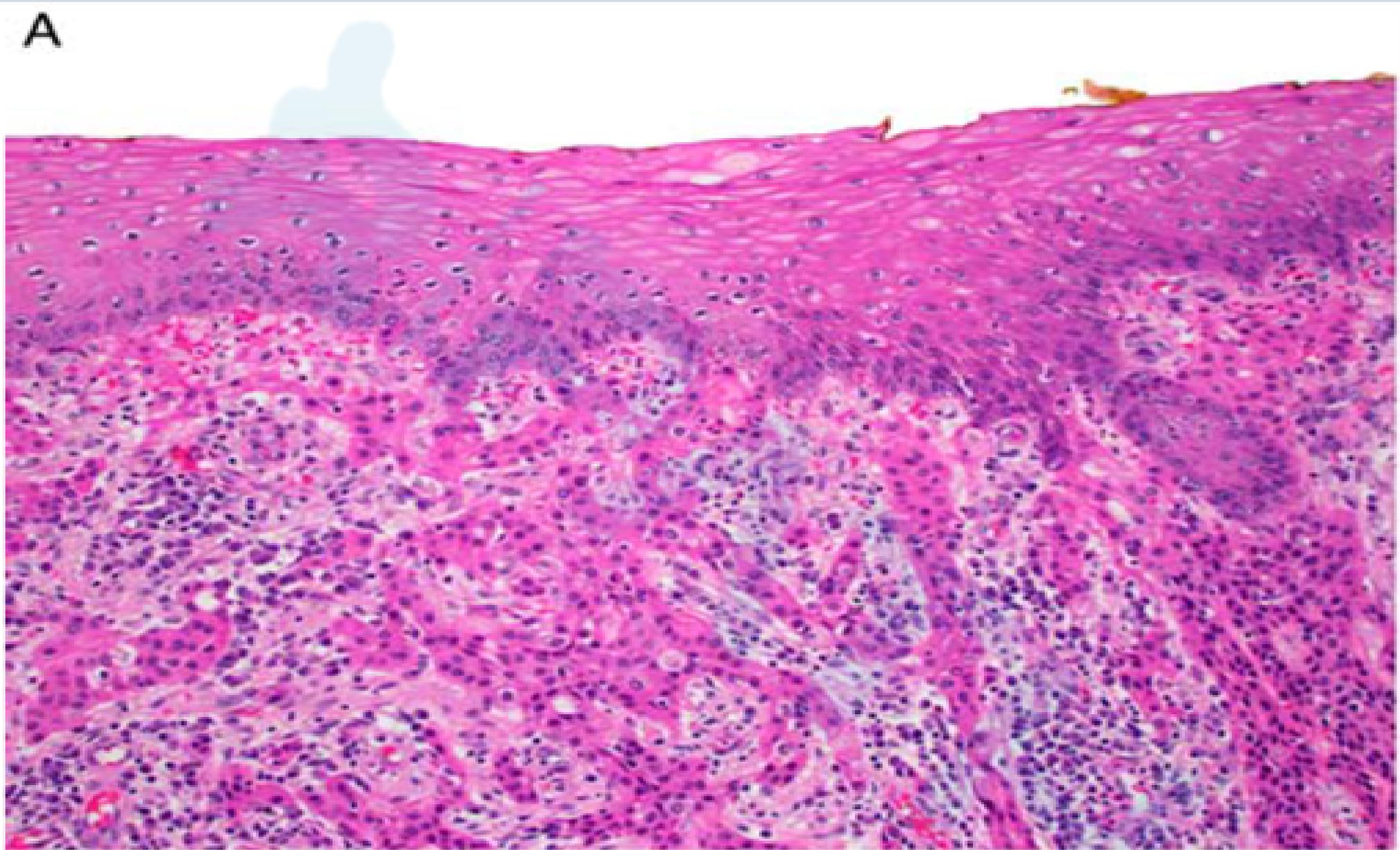


FIGURE 1. A, CCC frequently demonstrates surface epithelial involvement and an eosinophilic appearance, features that overlap with SqCC.

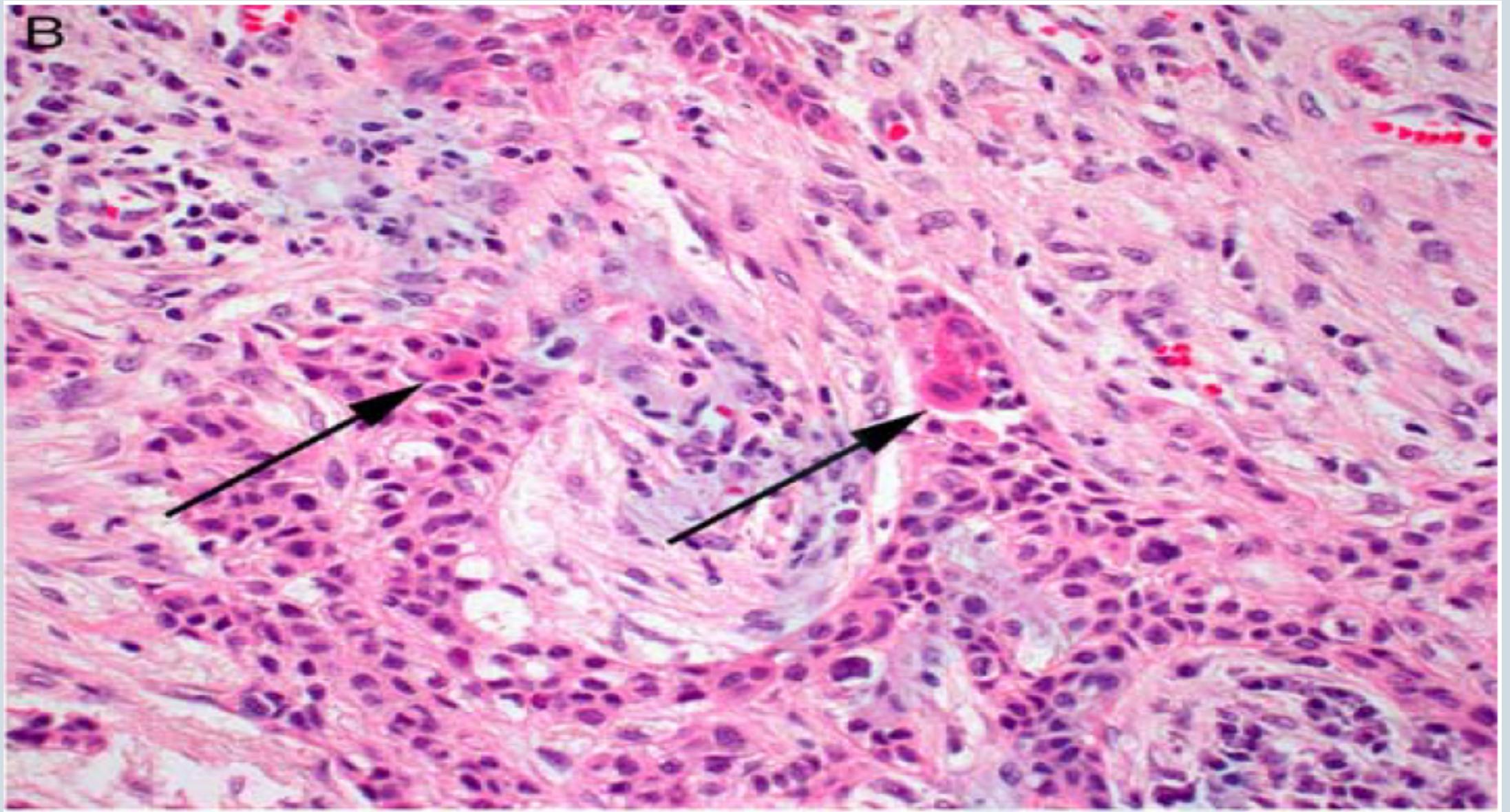


FIGURE 1.B, CCC may also exhibit overt keratinization (arrows).

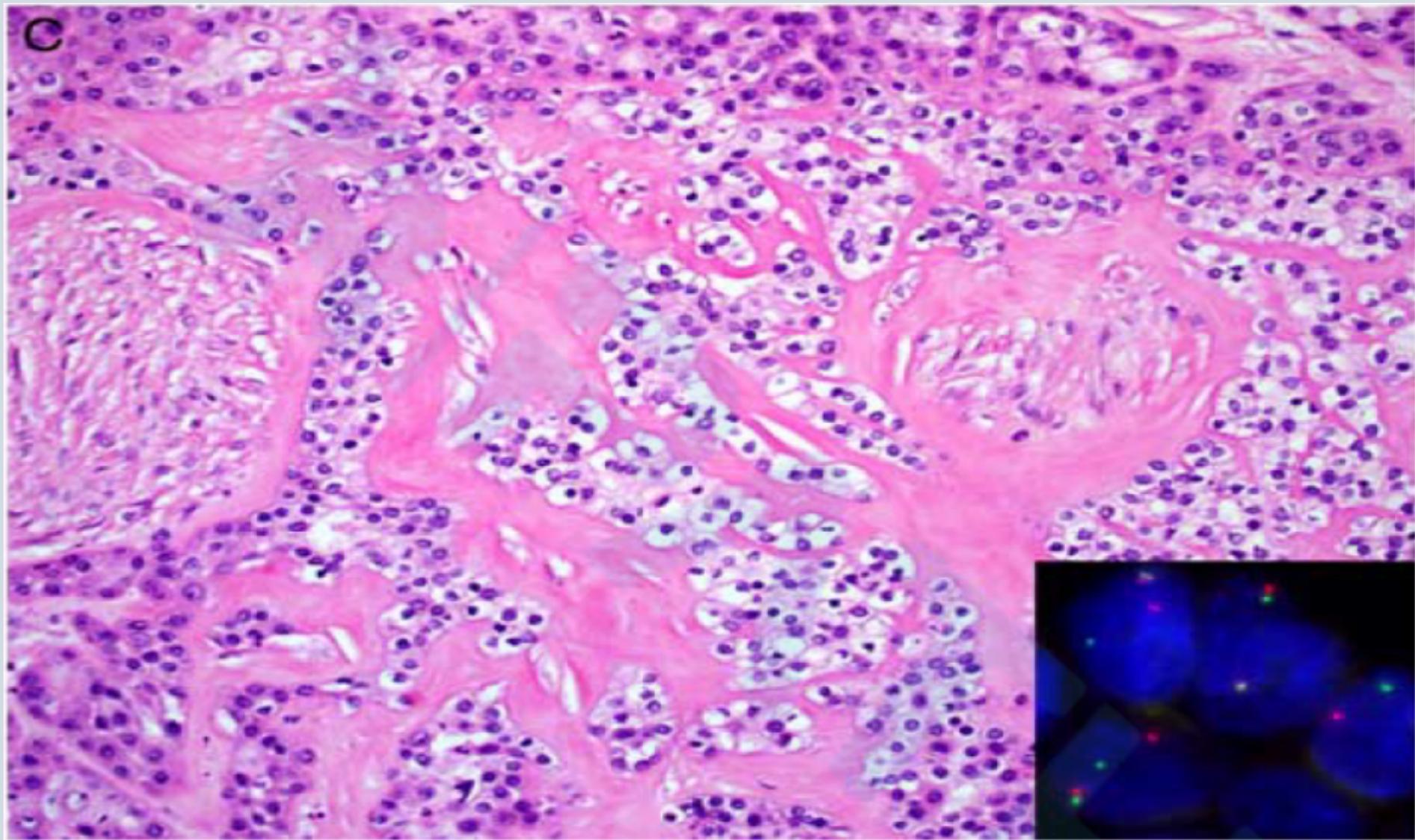


FIGURE 1.C, More classically, CCC is comprised of nests and cords of bland cells with clear cytoplasm surrounded by hyalinized fibrosis. Most cases of CCC harbor EWSR1 rearrangements, demonstrated by break-apart fluorescence in situ hybridization (inset).

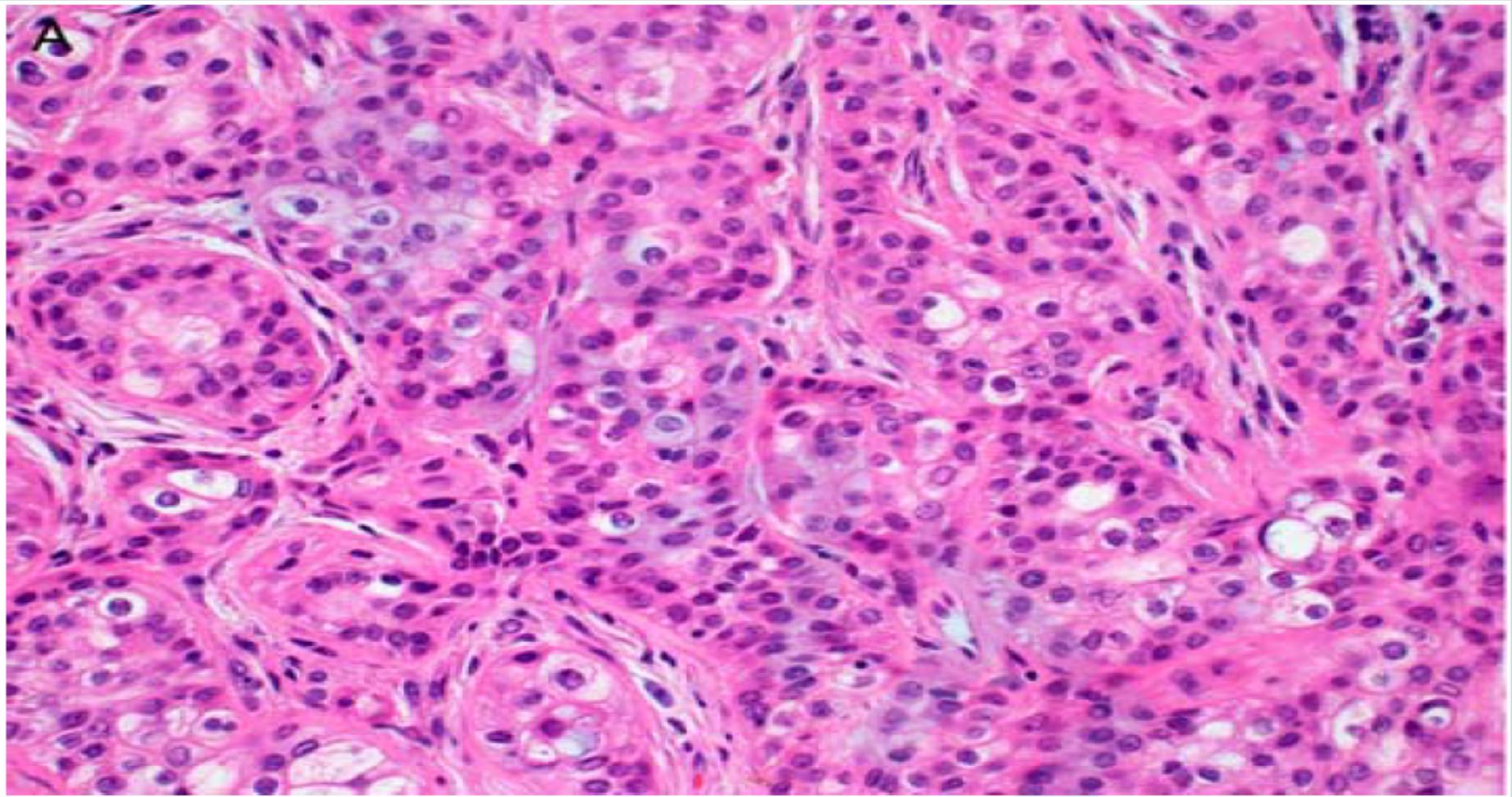


FIGURE 2. A, CCC with a mix of eosinophilic and clear cells. B, CCC was positive to varying degrees for p16 by immunohistochemistry with a cytoplasmic and nuclear pattern. All cases, however, were negative for high-risk HPV by RNA in situ hybridization (inset).

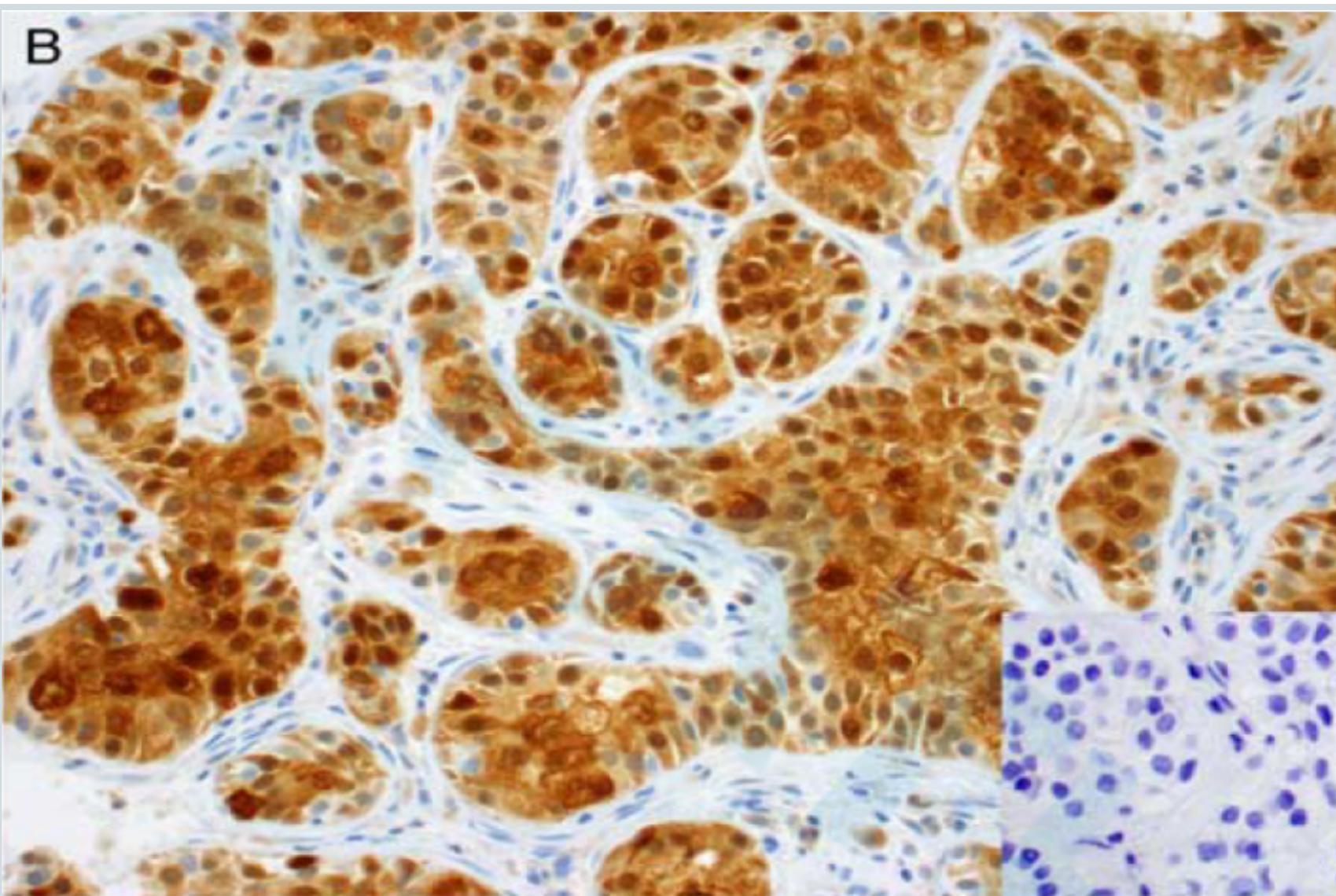


FIGURE 2. B, CIN was positive to varying degrees for p16 by immunohistochemistry with a cytoplasmic and nuclear pattern. All cases, however, were negative for high-risk HPV by RNA in situ hybridization (inset).

# 讨论

- 在以往的研究中，已经证实涎腺肿瘤具有特异性基因融合。如CCC(EWSR1-ATF1)，粘液表皮样癌(CRTC1-MAML 2或CRTC3-MAML 2)，腺样囊性癌(MYB-NFIB或MYBL 1-NFIB)，分泌性癌(ETV 6-NTRK 3)，多形性腺癌(PRKD1-3与多种基因联合),这些反复出现的肿瘤特异性基因融合拓宽了病理学诊断的形态谱。

- CCCS有时缺乏透明细胞的优势，表现为表面上皮的累及，分化良好的鳞状细胞，甚至产生粘液。所以，CCCs有被误诊为Sqcc或粘液表皮样癌的风险。
- 头颈部有鳞状分化的癌，鉴别诊断不一定仅局限于鳞状细胞癌，尤其是当它缺乏表面上皮异型，并且有明显角化，细胞一致且没有高级别特点，并表现出不同程度的透明细胞和基质玻璃样变。此时需要做EWSR1-ATF1基因融合检测。
- 口咽部的CCC更易误诊为Sqcc，口咽部鳞癌需要进行HPV检测。本文发现CCC都具有p16的阳性表达，尽管程度和范围不一样，按以往标准均应被视为HPV阳性。但是，这些CCC分子检测均为HPV阴性。由此表明，仅将P16染色作为HPV感染相关癌的确切证据是有风险的。



- 虽然CCC与HPV相关的Sqcc混淆是可以理解的，但是错误的诊断会带来严重的临床后果。CCC是一种低度癌，可通过手术切除轻易治愈，而HPV相关的Sqcc是一种高级别的癌，通常采用各种治疗方案，包括放化疗或不加化疗。本文中，有两名患者因误诊为Sqcc，已经或即将接受放化疗。
- 本文提出对p16免疫组化阳性的正确解读十分重要，根据美国病理学会最近的指导方针，口咽癌p16阳性标准为（ $\geq 70\%$ 的细胞为阳性表达；着色部位为核和/细胞质，强度为中等-强）。对于不符合这些标准的CCC，p16应视为阴性。按这一标准，本文16例中仅有2例是P16阳性。



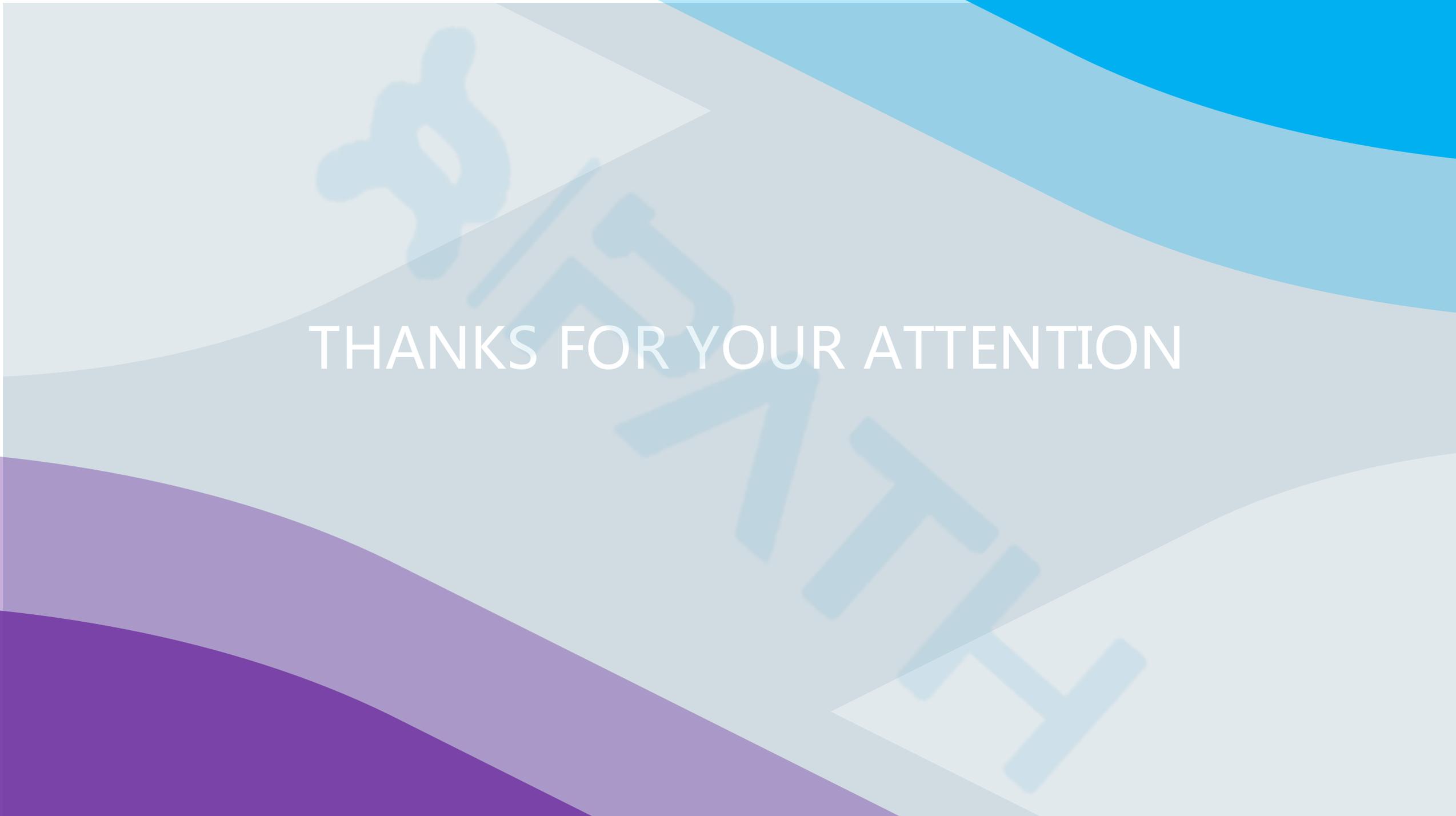
# 结论

CCCs常常出现在口咽部，常常表现出成熟的鳞状上皮的特征，往往缺乏突出的透明细胞特征，并总是p16阳性。这可能会导致CCCs与口腔Sqcc的混淆，尤其是与HPV相关的口咽部鳞癌的混淆。

1

2

因此，p16染色本身不能单独作为HPV相关癌的指标，尤其是发生在口咽部并且有鳞状分化。



THANKS FOR YOUR ATTENTION