

HEG1 Is a Highly Specific and Sensitive Marker of Epithelioid Malignant Mesothelioma

Julia R. Naso, MD, PhD,*† Shoutaro Tsuji, PhD,‡ and Andrew Churg, MD*†
Am J Surg Pathol _x0001_ Volume 44, Number 8, August 2020

汇报人：杨高照

指导老师：颜临丽

间皮肿瘤分类

- 间皮增生：

 - 上皮样间皮增生

 - 梭形细胞间皮增生

- 良性间皮肿瘤：

 - 多囊性间皮瘤（腹膜多见，胸膜罕见）

 - 腺瘤样瘤（9054/0）

- 惰性或低度恶性潜能的间皮肿瘤：

 - 高分化乳头状间皮瘤(9052/1)

- 恶性间皮瘤：

 - 弥漫性恶性间皮瘤

 - 局限性恶性间皮瘤

恶性间皮瘤

- 弥漫性恶性间皮瘤

上皮样间皮瘤 (9052 / 3)

肉瘤样间皮瘤 (9051 / 3)

双相型间皮瘤 (9053 / 3)

- 局限性恶性间皮瘤

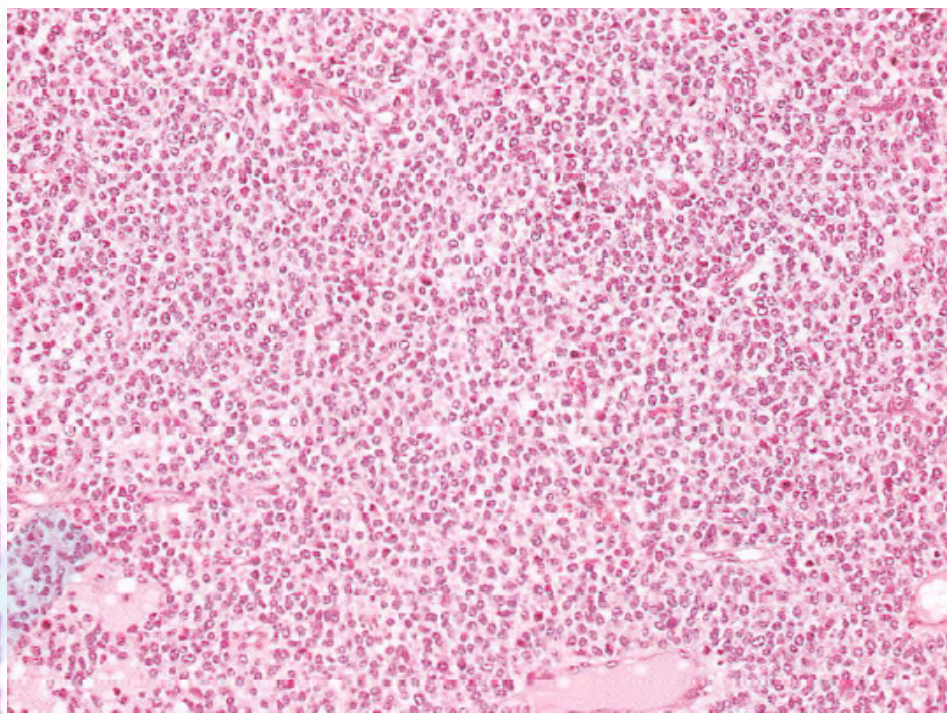
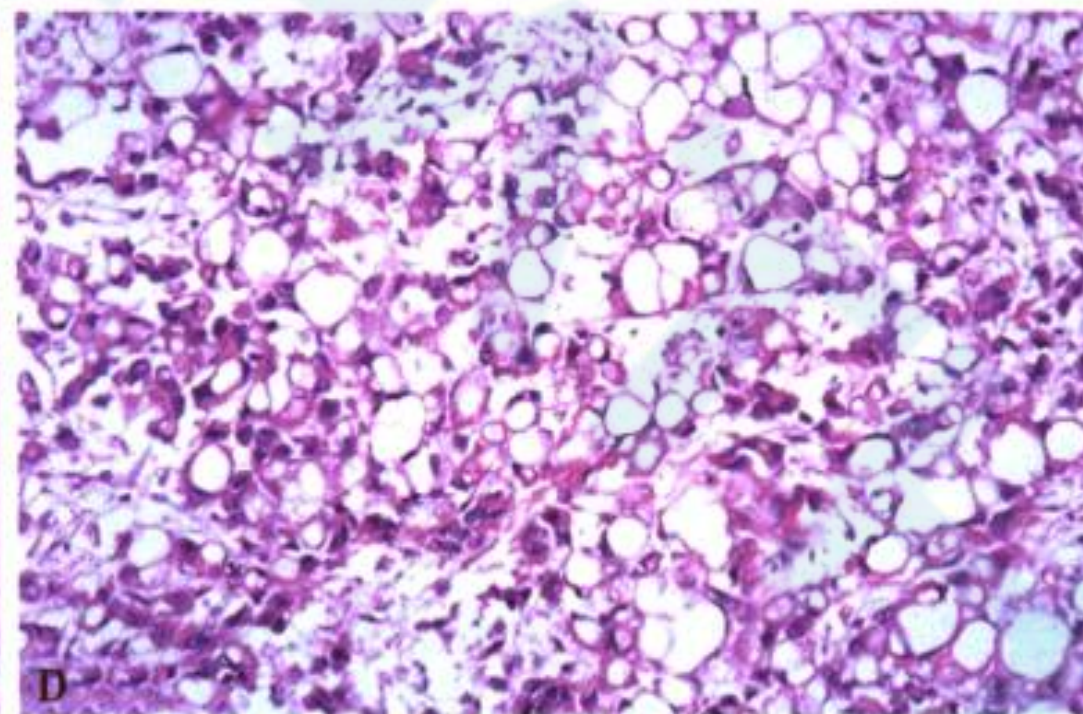
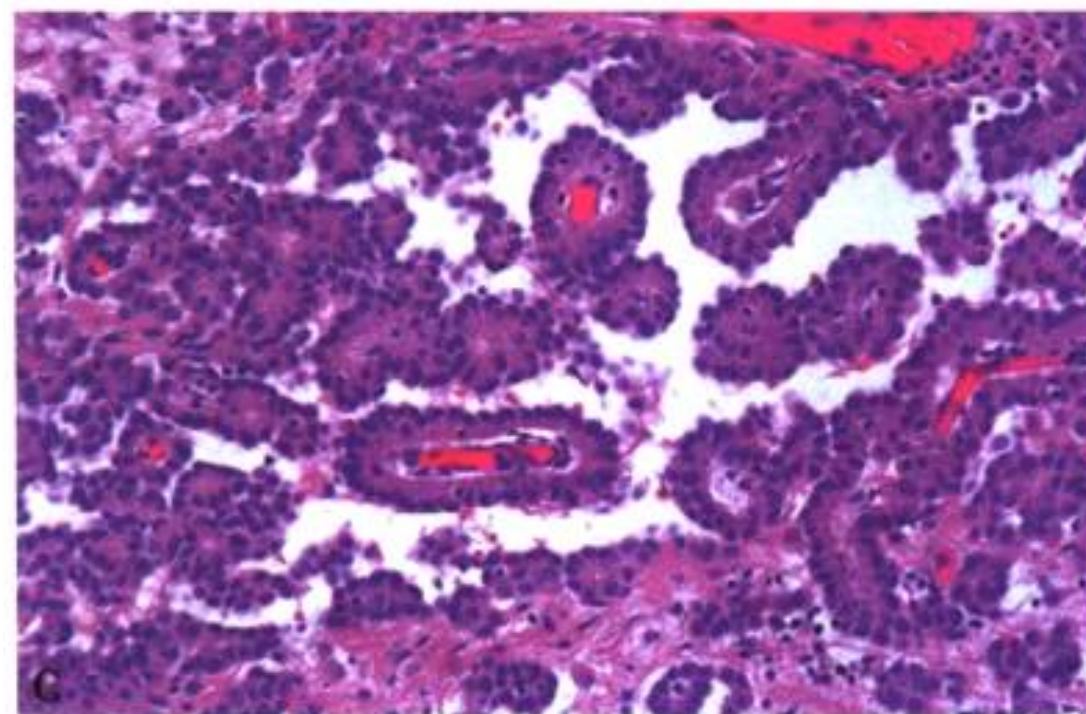
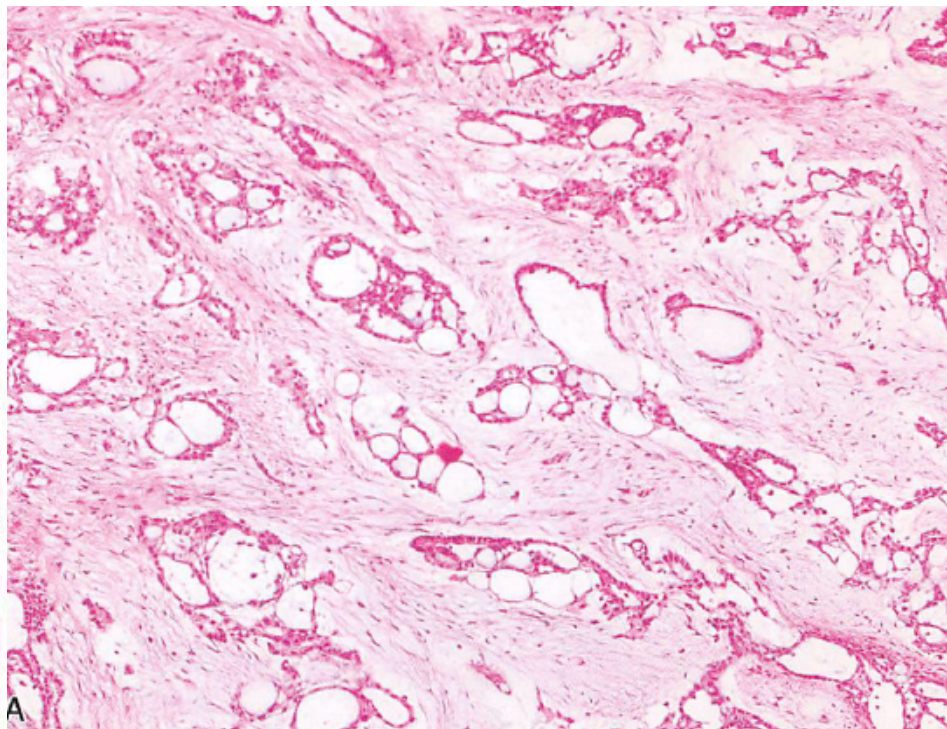
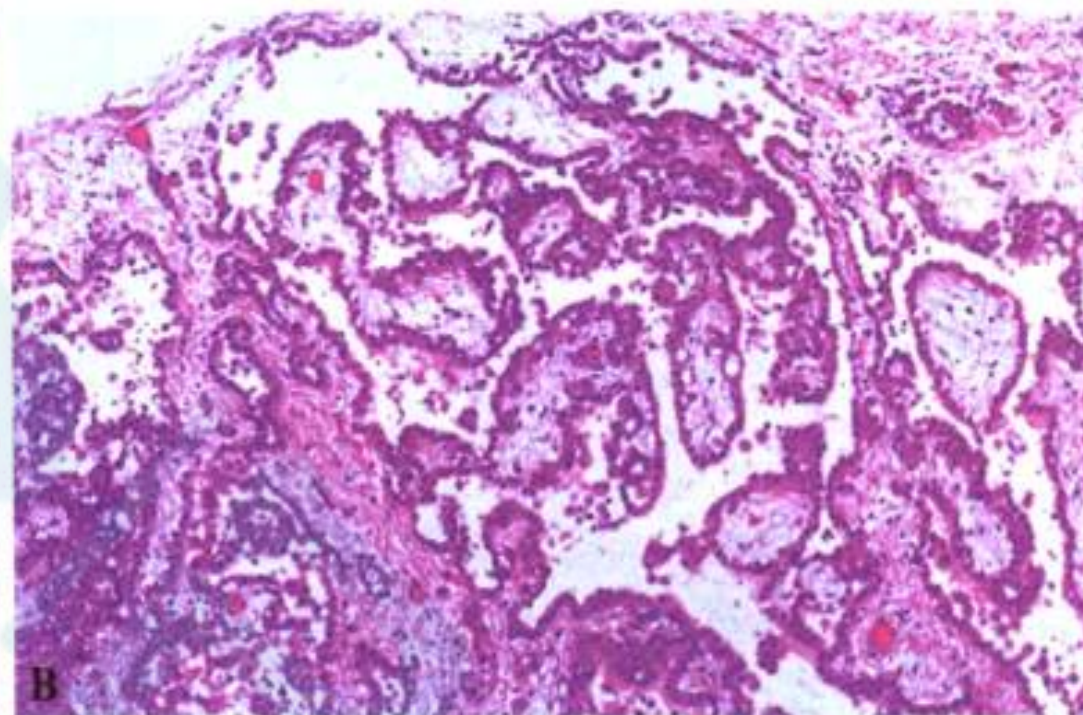
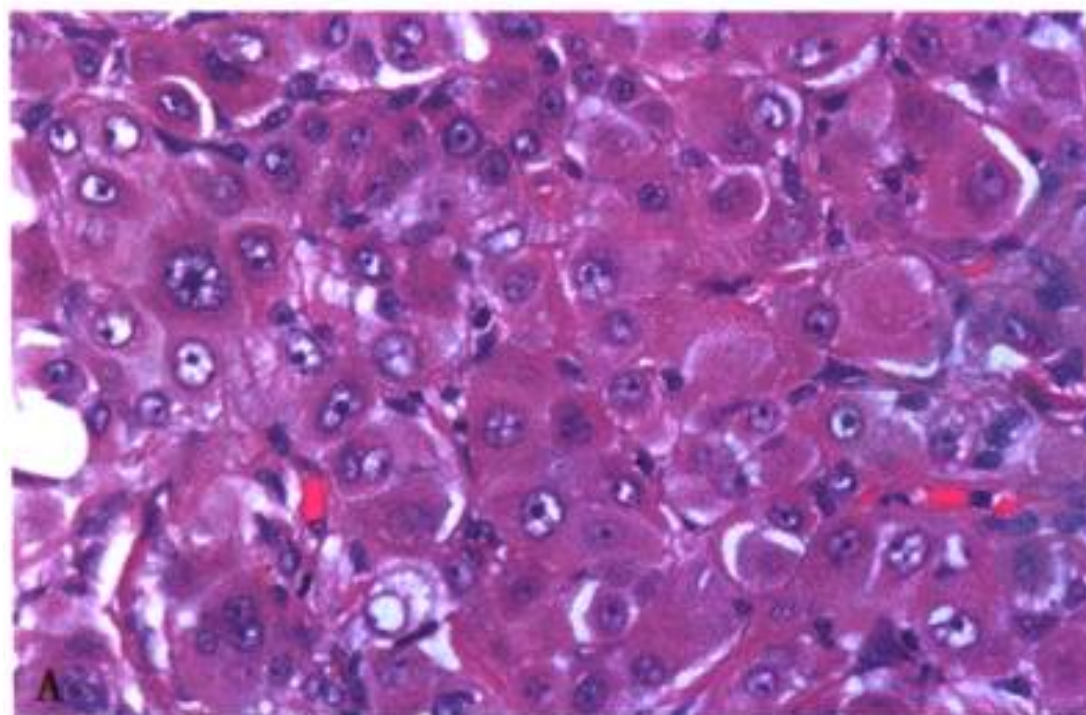
上皮样间皮瘤 (9052 / 3)

肉瘤样间皮瘤 (9051 / 3)

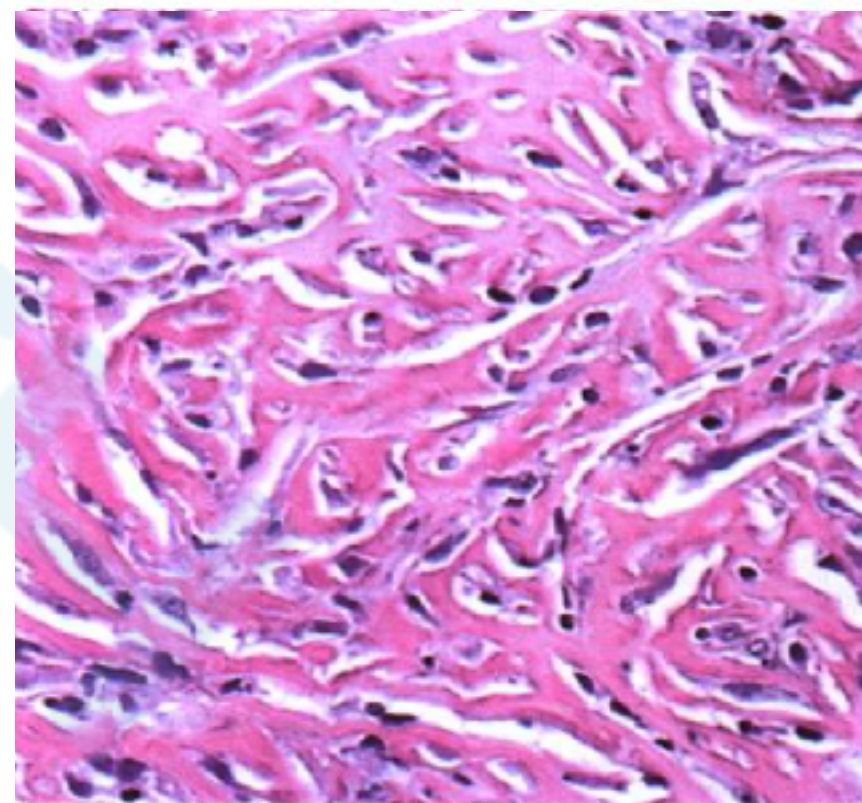
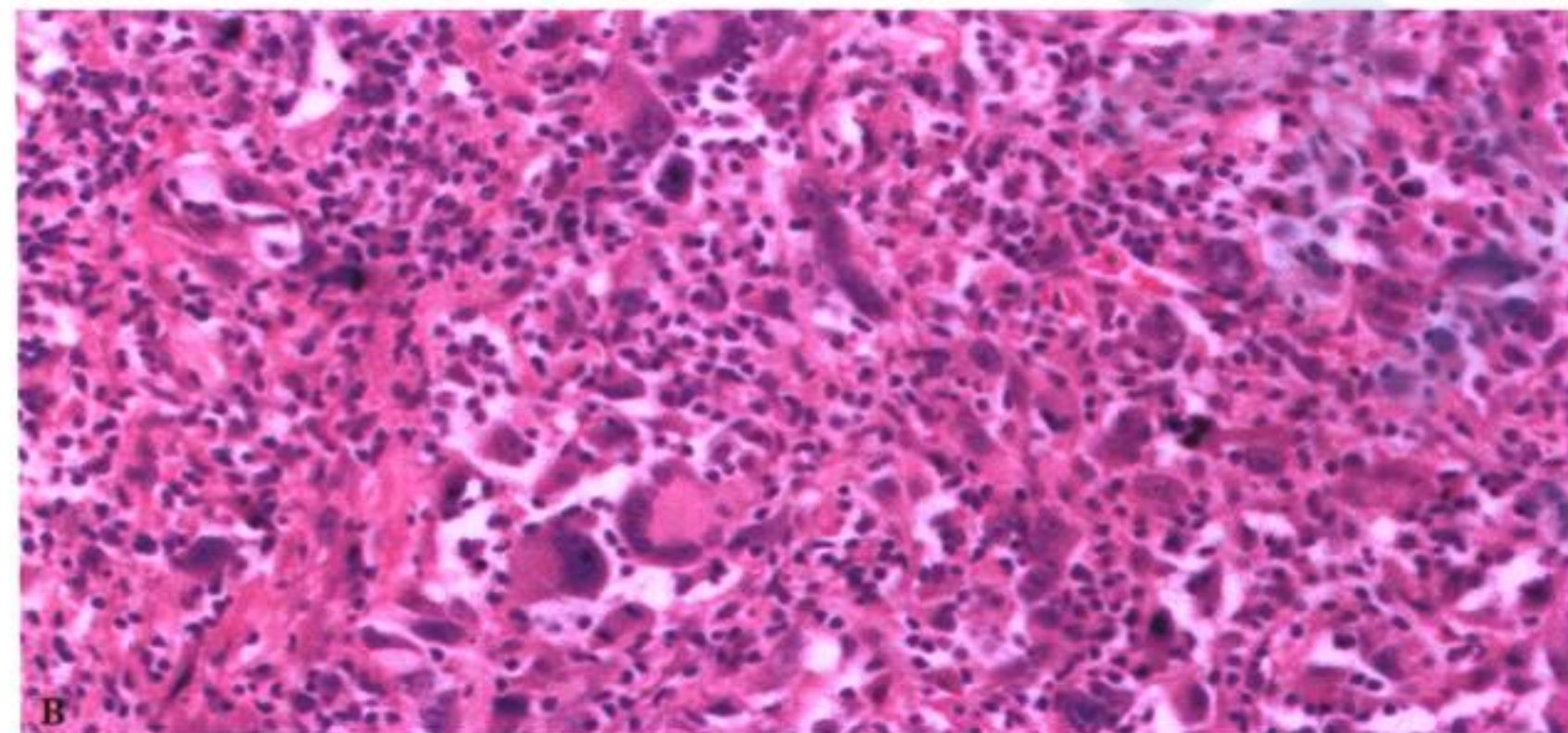
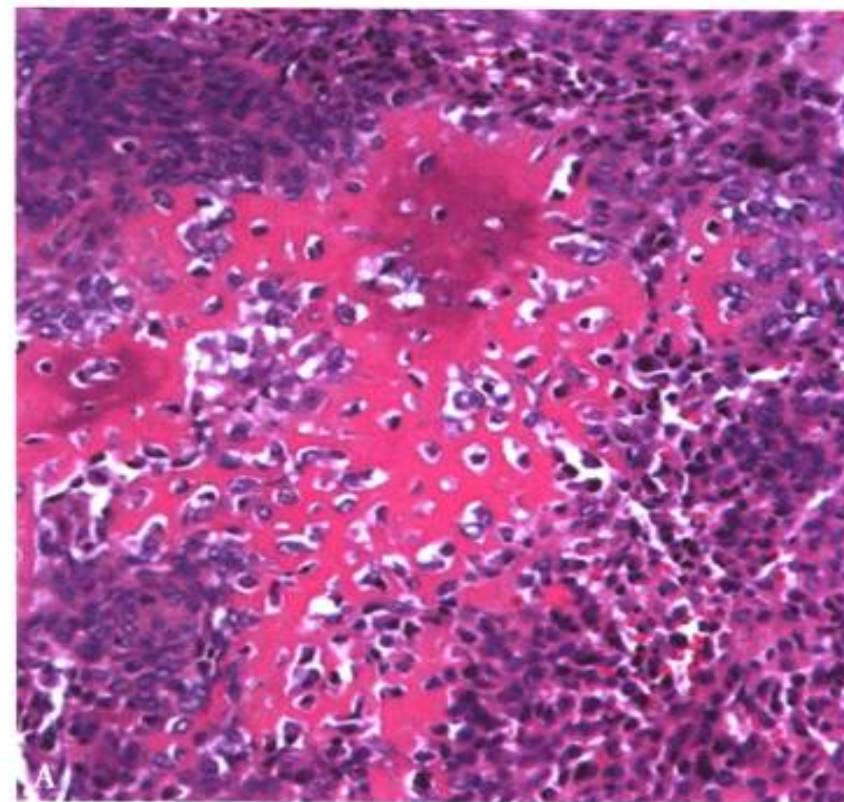
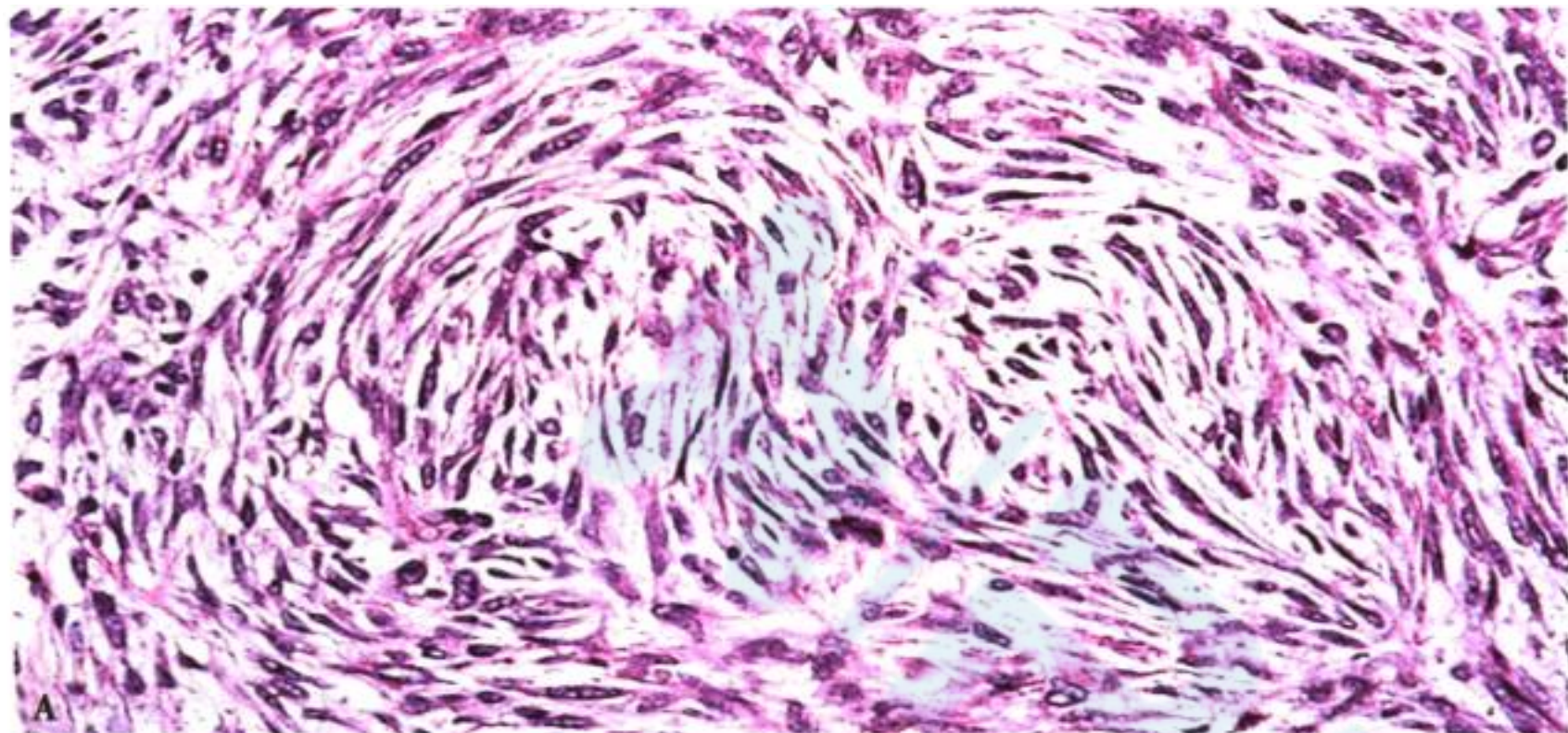
双相型间皮瘤 (9053 / 3)

管状乳头状型、微乳头型、梁状、小腺泡状/腺样型、腺瘤样/微腺样、腺样囊性型、实体型、小细胞型、透明细胞型、蜕膜样型、印戒细胞样型、横纹肌样型、多形性、淋巴组织细胞样型、粘液样型。

梭形细胞型、促结缔组织增生性、伴有异源性分化。



上皮样间皮瘤(WHO)



肉瘤样间皮瘤 (WHO)

在没有IHC的情况下，恶性间皮瘤与其它恶性肿瘤鉴别困难，尤其是非小细胞肺癌(NSCLCs)，然而，传统的间皮系标记都有不同的程度与其他肿瘤的交叉反应，包括NSCLCs，因此需要在每个病例中使用多个间皮瘤和癌的标记来准确诊断。

Table 3. Immunohistochemical Markers Used in the Differential Diagnosis of Pleural Malignant Mesothelioma Versus Lung Adenocarcinoma Involving the Pleura	
Marker	Current Value/Comments
Epithelioid mesothelioma (positive mesothelioma markers)	
Calretinin	<i>Very useful.</i> Is demonstrated in nearly all epithelioid mesotheliomas when antibodies to human recombinant calretinin are used. The staining is often strong and diffuse and is both nuclear and cytoplasmic; 5%–10% of lung adenocarcinomas are positive, but the staining is usually focal.
Cytokeratin 5 or 5/6	<i>Very useful.</i> Expressed in 75%–100% of mesotheliomas. About 2%–20% of lung adenocarcinomas can be focally positive.
WT1	<i>Very useful.</i> Approximately 70%–95% of mesotheliomas show nuclear positivity. Lung adenocarcinomas are negative.
Podoplanin (D2-40)	<i>Very useful.</i> About 90%–100% of mesotheliomas show positivity along the cell membranes; ≤15% of lung adenocarcinomas are focally positive.
Table 4. Immunohistochemical Markers Used in the Differential Diagnosis of Pleural Malignant Mesothelioma Versus Squamous Carcinoma of the Lung Involving the Pleura	
Marker	Current Value/Comments
Epithelioid mesothelioma (positive mesothelioma markers)	
WT1	<i>Very useful.</i> Up to 95% of mesotheliomas show nuclear positivity. Lung squamous carcinomas are negative.
Calretinin	<i>Somewhat useful.</i> Essentially all mesotheliomas are positive, often strongly and diffusely, with nuclear and cytoplasmic staining. About 40% of lung squamous carcinomas are positive, but the staining is often focal.
Podoplanin (D2-40)	<i>Not useful.</i> About 80%–100% of mesotheliomas are positive; 50% of lung squamous carcinomas also stain.
Cytokeratin 5 or 5/6	<i>Not useful.</i> Expressed in 75%–100% of mesotheliomas and 100% of lung squamous carcinomas.

最近报道的一种新的HEG homolog 1 (HEG1) 单克隆抗体被认为是间皮瘤的特异性标记物。

SKM9-2单克隆抗体是近来通过小鼠上皮样间皮瘤细胞株，识别粘蛋白样膜蛋白HEG homolog 1 (HEG1)的糖肽而开发的。 HEG1已被证实参与心脏发育，可能促进肝细胞癌的转移，可能促进间皮瘤细胞的存活和增殖。

关于HEG1免疫组织化学诊断效用的数据仅限于抗体研发者的初步发表和一次会议摘要。这两者的数据尽管都显示了对间皮瘤的高敏感性，但对于HEG1的特异性相互矛盾（抗体研发者报道了100%的特异性，会议报道了82.5%的特异性），之前的研究都没有评估肉瘤样癌、高级别浆液性癌(HGSC)和B3胸腺瘤(分别作为腹膜和胸膜上皮样间皮瘤的鉴别诊断)。

在本文研究中，评估了HEG1免疫组化在大范围肿瘤中的敏感性和特异性，包含：间皮瘤、反应性间皮增生、非小细胞肺癌(NSCLCs，包括肺肉瘤样癌)、HGSCs和B3型胸腺瘤。

材料和方法

- 本研究获得了英属哥伦比亚大学研究伦理委员会 (H13-00612) 的批准。
- 对组织微阵列 (TMAs) 的4 μm 厚的组织切片进行了免疫组化染色，其中包含了从温哥华总医院和不列颠哥伦比亚省癌症机构的档案中回顾性分析的样本。

TMA包含：

40个反应性上皮样间皮增生

32个反应性梭形细胞间皮增生

69个上皮样间皮瘤

32个肉瘤样间皮瘤

167个NSCLCs（60例肺鳞癌、73例肺腺癌、13例肺大细胞癌、21例肺肉瘤样癌）

17个HGSCs

此外，还染色了10个B3型胸腺瘤的完整切片。

- 免疫组织化学使用了以下一抗：

HEG1 (克隆号SKM9 - 2) , p40 , TTF-1 , CK5/6 , WT1 , calretinin , D2-40

以上免疫组化实验均由DAKO公司的Omni s全自动染色系统完成。

HEG1 免疫组化结果判读方法：

- 对于上皮样间皮瘤和反应性上皮样间皮增生，只有细胞膜染色阳性才判读为阳性；
- 对于肉瘤样间皮瘤和反应性梭形细胞间皮增生，无论细胞膜阳性或者细胞质阳性，均视为阳性（由于在梭形细胞中很难区分细胞膜和细胞质染色）；
- 对于癌，细胞膜阳性和细胞质阳性要分开计数；
- HEG 1与常规间皮标记物的符合率计算为结果一致的病例之和（即两项实验均为阳性或均为阴性）除以总病例数。

结果

HEG1 染色结果：

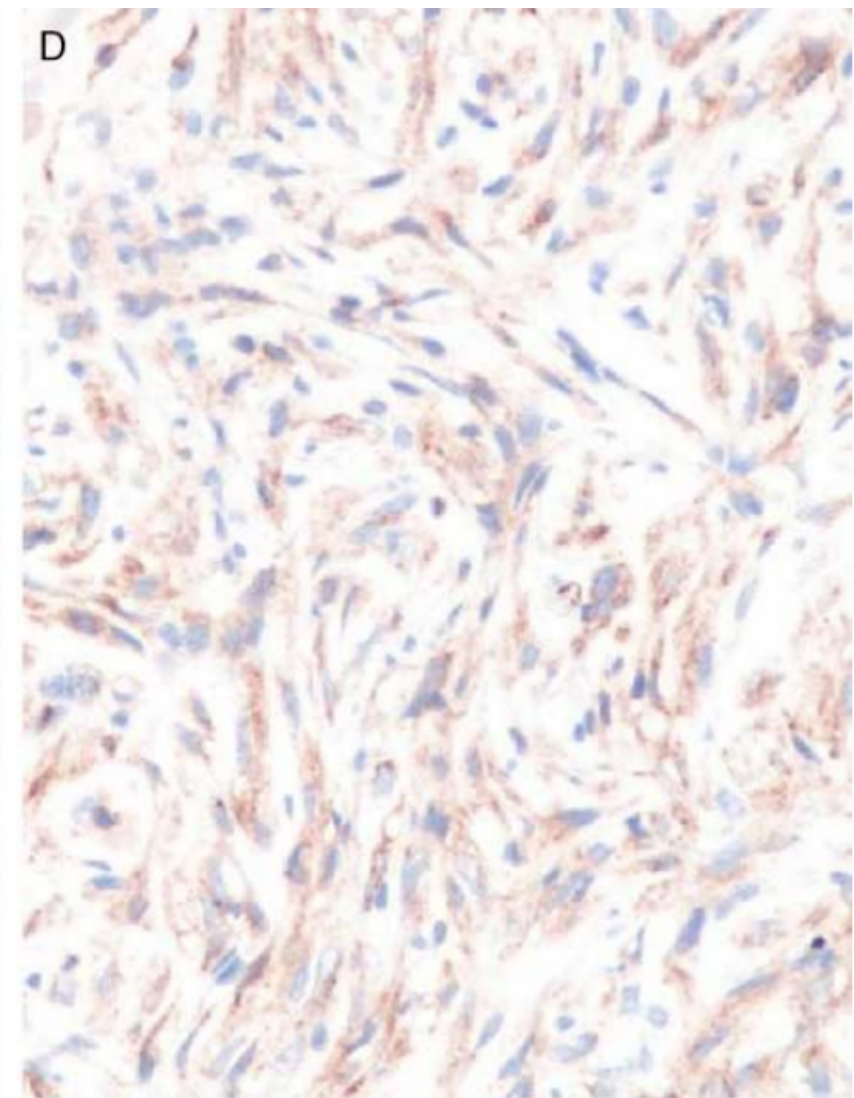
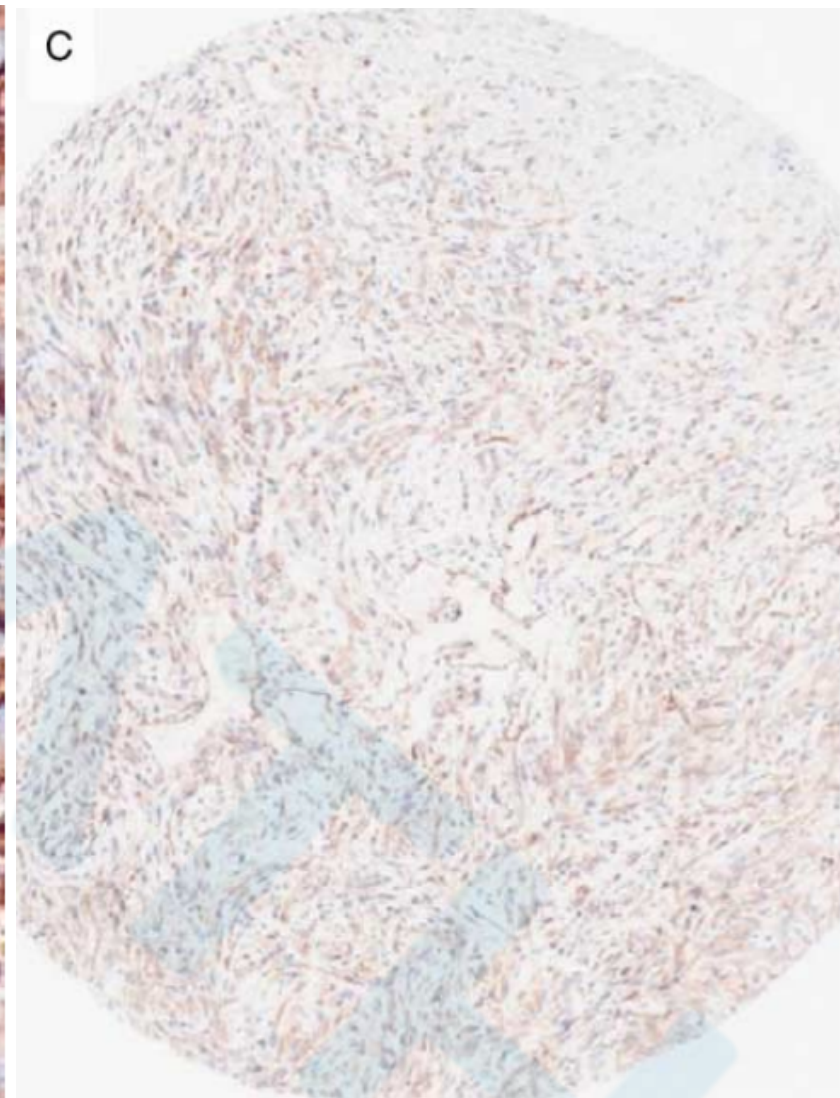
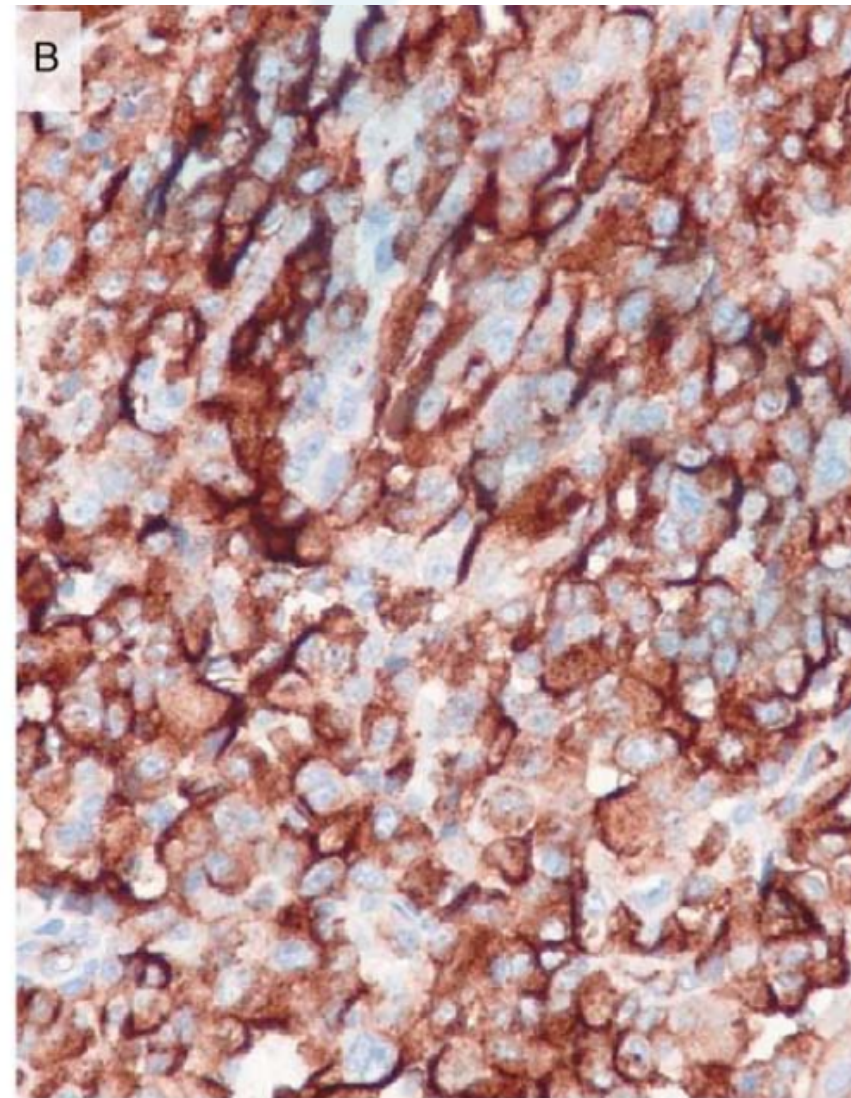
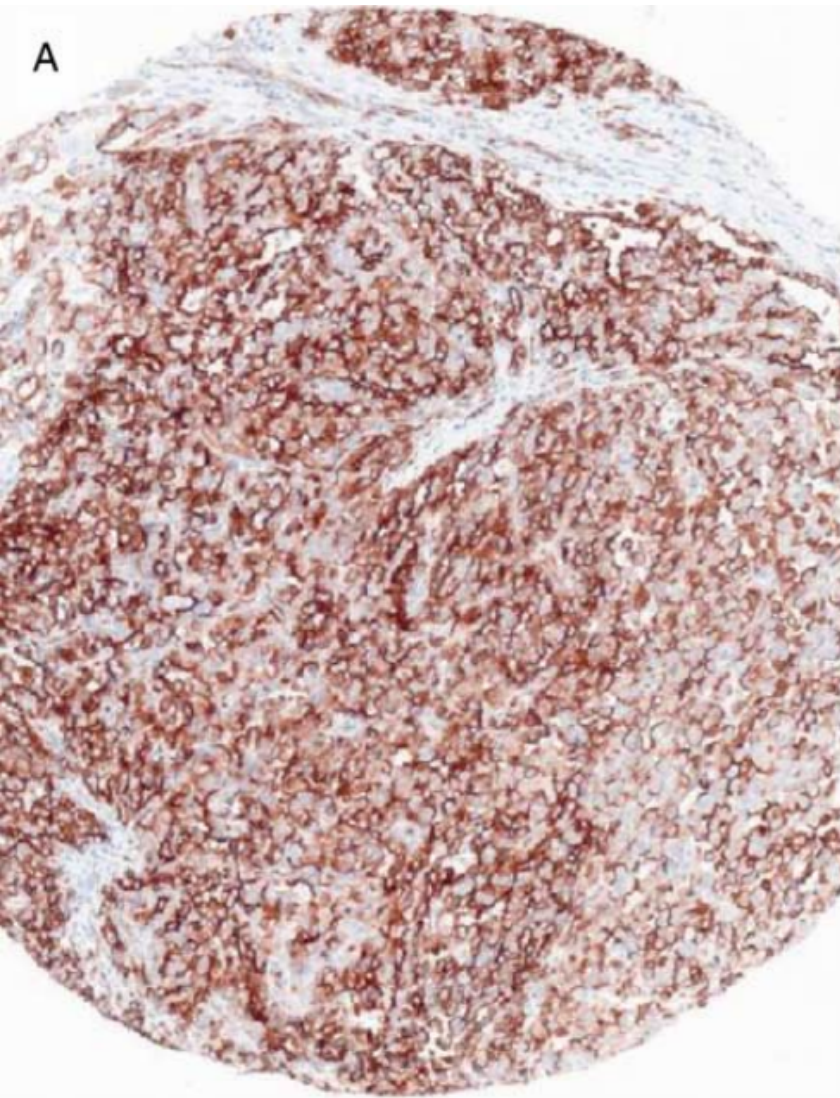
- 在65/69 (94%) 的上皮样间皮瘤出现了强的膜阳性，通常是弥漫的；在0/60的肺鳞状细胞癌、0/73的肺腺癌、0/13肺大细胞癌，没有发现膜染色阳性；
- HEG1阳性还显示14/32 (44%) 的肉瘤样间皮瘤（细胞膜或细胞质），0/21的肉瘤样肺癌均为阴性；
- 3/17例 (18%) 高级别浆液性癌中出现弱至中等膜阳性；
- 10例B3型胸腺瘤全切片阴性。

TABLE 1. Diffuseness of Positive HEG1 Immunohistochemical Staining in Mesothelioma and Reactive Mesothelial Hyperplasia

Percent of Cells With Positive Staining	Mesothelioma, n (%)		Reactive Mesothelial Proliferations, n (%)	
	Epithelioid (N = 69)	Sarcomatoid (N = 32)	Epithelioid (N = 40)	Spindle Cell (N = 32)
0	4 (6)	18 (56)	5 (13)	21 (66)
1%-25%	3 (4)	2 (6)	8 (20)	6 (19)
25%-50%	4 (6)	4 (13)	10 (25)	2 (6)
> 50%	58 (84)	8 (25)	17 (43)	3 (9)
Total ≥ 1%	65 (94)	14 (44)	35 (88)	11 (34)

在大多数阳性病例中，上皮样间皮瘤染色总是较强且呈弥漫性；
在肉瘤样间皮瘤中，染色强度通常中等。

反应性梭形细胞增殖染色倾向于弱和局灶性。

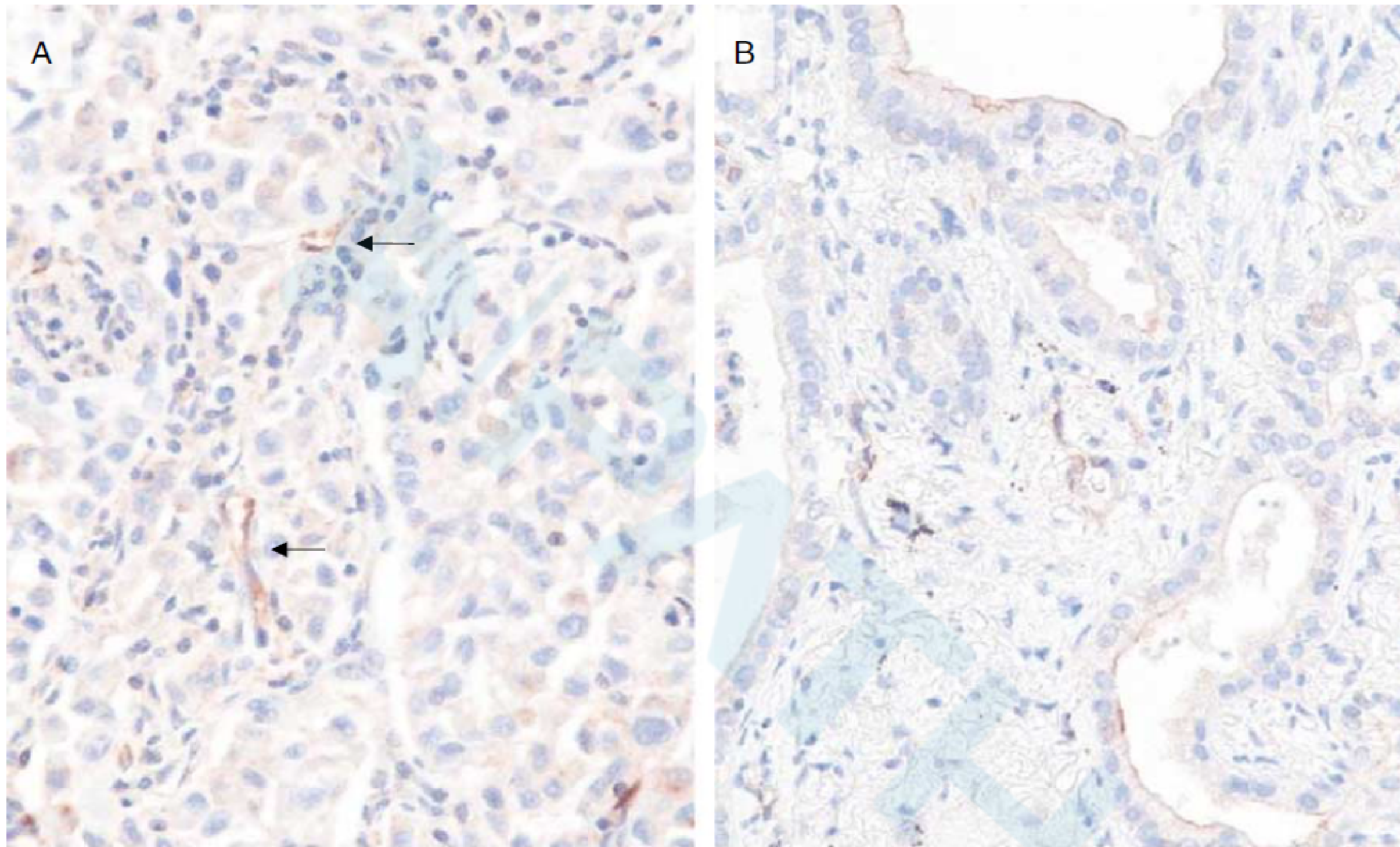


- A and B, Strong diffuse membrane staining in an epithelioid mesothelioma.
- C and D, Diffuse membrane staining in sarcomatoid mesothelioma.

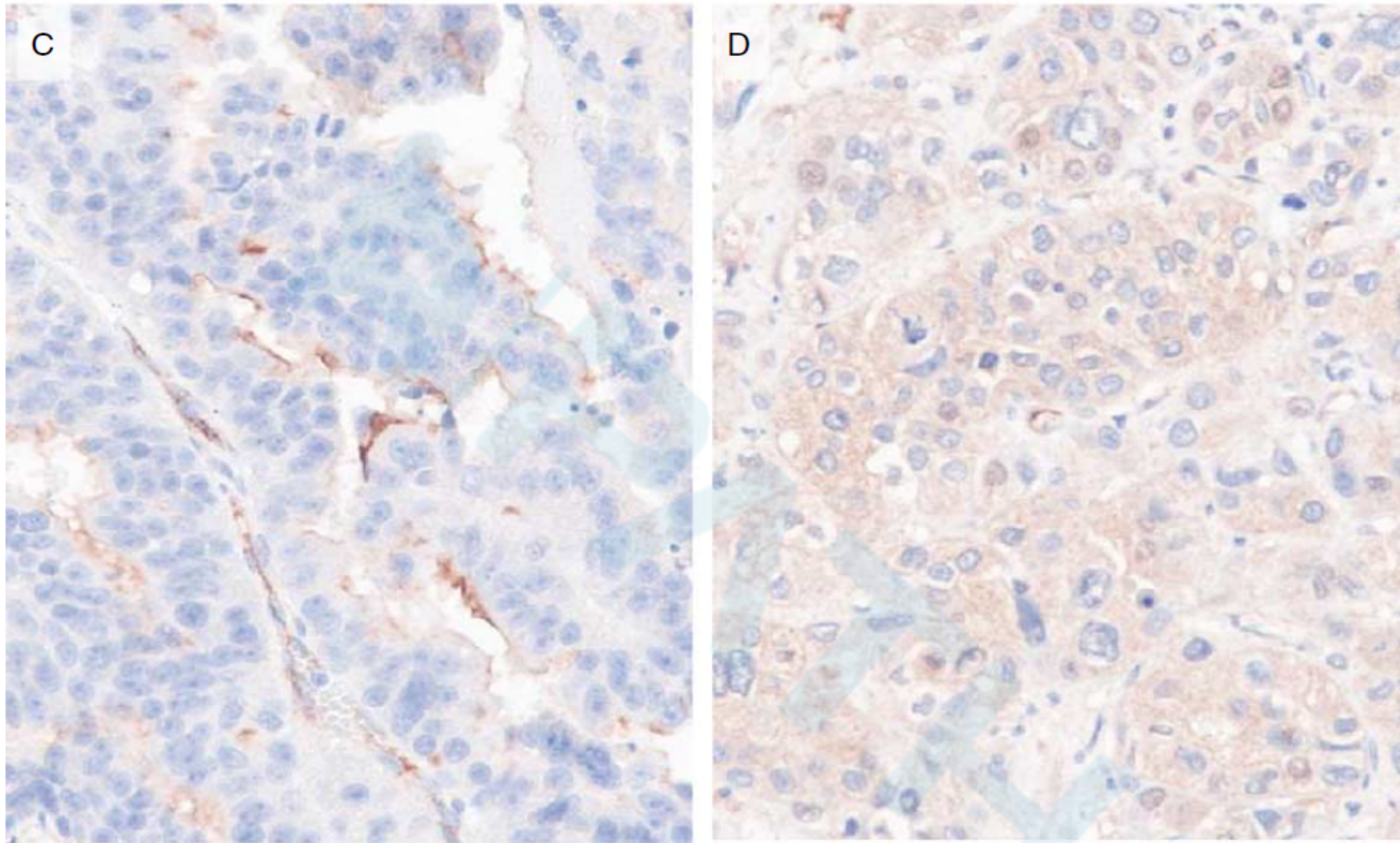
TABLE 2. HEG1 Immunostaining in NSCLC and High Grade Serous Ovarian Carcinoma

Diagnosis Subtype	Positive HEG1 Staining, n (%)	
	Membranous	Cytoplasmic
NSCLC		
Adenocarcinoma (N = 73)	0	3 (4)
Squamous cell carcinoma (N = 60)	0	16 (27)
Large cell carcinoma (N = 13)	0	2 (15)
Sarcomatoid carcinoma (N = 21)	0	0
Ovarian carcinoma		
High grade serous (N = 17)	3 (18)	0
Thymoma		
B3 (N = 10 whole sections)	0	0

17个HGSC中有3个(18%)的局灶膜染色呈弱至中等强度。



- A, Capillary endothelium (arrows) showing cytoplasmic staining, which should not be mistaken for HEG1 positivity in this pulmonary adenocarcinoma; note the very weak cytoplasmic staining as well.
- B, Focal weak apical membranous HEG1 staining in a pulmonary adenocarcinoma, scored as negative. This case was the only NSCLC that showed any membrane staining.



- C, Moderate HEG1 staining in an ovarian HGSC.
- D, Diffuse weak cytoplasmic HEG1 staining in a pulmonary squamous cell carcinoma.

TABLE 3. Positivity for HEG1 and Conventional Mesothelial Cell Markers in Mesothelioma

Mesothelial Cell Marker	Positive Staining in Mesothelioma			
	Epithelioid		Sarcomatoid	
	N = 69, n (%)	% Agreement With HEG1	N = 32, n (%)	% Agreement With HEG1
CK5/6	63 (91)	91	10 (31)	81
D2-40	66 (96)	93	16 (50)	50
Calretinin	65 (94)	91	7 (22)	81
WT1	62 (90)	93	4 (13)	72

在上皮样间皮瘤中，传统的间皮标记对上皮样的间皮瘤敏感性为90%到96%，类似于HEG1在上皮样的间皮瘤94%的敏感性，在肉瘤样间皮瘤中，传统的标记敏感性从13%到50%不等，类似于HEG1在肉瘤样间皮瘤44%的敏感性。

讨论

HEG1在正常组织中的表达情况：

最初的研发者的论著显示只有正常间皮细胞、反应性增生的间皮细胞以及血管内皮细胞出现HEG1阳性表达；

本文没有检测正常间皮组织，但是证实了反应的间皮细胞和血管内皮染色(这是一个有用的内对照)。

HEG1在其它肿瘤组织中的表达情况：

最初的研发者检测了大量其他部位的肿瘤中HEG1的表达情况，包括乳腺和肾细胞癌、滑膜肉瘤等，这些都可能出现胸膜转移，并与间皮瘤混淆，且HEG1免疫组化染色均为阴性。

其检测的> 300例肿瘤中，仅1例尿路上皮癌、1例平滑肌肉瘤、1例上皮样血管内皮瘤染色呈阳性。

HEG1在HGSCS、B3型胸腺瘤中的表达情况讨论：

根据本文的实验数据，在上皮样细胞肿瘤（非梭形细胞肿瘤）中，仅将HEG1膜染色评分为阳性可以获得很好的特异性。

本研究检查了10个B3胸腺瘤的整个切片，这种肿瘤偶尔会与涉及纵隔的间皮瘤混淆，所有的结果都为HEG1阴性。

HGSC与腹膜腔的上皮样间皮瘤鉴别困难，偶见HGSC局灶膜阳性（3/17例）。尽管没有HGSC显示强染色，但这是使用HEG1作为间皮标记的潜在隐患。

HEG1在NSCLC中的表达情况讨论：

本研究发现HEG1在上皮样间皮瘤与NSCLC鉴别时，特异性为100% (仅以膜染色评分为阳性)，在肉瘤样间皮瘤与肺肉瘤样癌鉴别时，特异性为100% (细胞质或膜染色评分为阳性)。

肺肉瘤样癌是肉瘤样间皮瘤的重要鉴别诊断。其检测的21例肺肉瘤样癌均未显示HEG1的细胞质或膜染色。在肉瘤样癌中没有细胞膜或细胞质染色表明梭形细胞的细胞质或膜染色为阳性并不影响HEG1对间皮谱系的100%特异性。

结论：与肉瘤样癌鉴别时，HEG1对肉瘤样间皮瘤敏感性低(44%)、特异性高(100%)。

与非小细胞肺癌鉴别时，HEG1免疫组化在上皮样间皮瘤中独特的高特异性(100%)和高敏感性(94%)，可能不需要其他间皮标记物来辅助确认诊断。

谢谢聆听