

· 综述 ·

原发性醛固酮增多症的组织病理学新分类及其意义

王敏^{1,2} 杨宇宏¹ 孙敏¹¹南京医科大学第一附属医院内分泌科, 南京 210029; ²南京医科大学第四附属医院内分泌科, 南京 210031

通信作者: 孙敏, Email: drsunm@njmu.edu.cn

【摘要】 原发性醛固酮增多症(primary aldosteronism, PA)是为数不多可以通过手术治愈的继发性高血压,其术后病理对确认诊断及评估预后具有重要意义。近年来针对醛固酮合成酶(CYP11B2)的免疫组化分析发现了多样性的 PA 病理表现形式,据此由多国家病理学专家组成专家组,提出了原发性醛固酮增多症的组织病理学(histopathology of primary aldosteronism, HISTALDO)国际共识,将 PA 病理进行了重新定义与归类。本文介绍了 HISTALDO 分型规则并就 PA 病理功能学表现与临床表型、手术转归及基因分型的相关性研究进展进行综述。

【关键词】 原发性醛固酮增多症;免疫组化;HISTALDO 共识;体细胞突变;组织病理学

基金项目:江苏省基础 Research 计划自然科学基金-青年基金项目(BK20220717);中国博士后科学基金第 4 批特别资助(2022TQ0132)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20220604-06010

New histopathological classification of primary aldosteronism and its significance Wang Min^{1,2}, Yang Yuhong¹, Sun Min¹. ¹Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China; ²Department of Endocrinology, the Fourth Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210031, China

Corresponding author: Sun Min, Email: drsunm@njmu.edu.cn

【Abstract】 Primary aldosteronism (PA) is one of the few secondary hypertension that can be cured by surgery and its postoperative pathology have great significance to confirm diagnosis and evaluate prognosis. Immunohistochemical of aldosterone synthase (CYP11B2) revealed a variety of pathologic manifestations of PA in recent years, based on which the International histopathology of primary aldosteronism (HISTALDO) consensus proposed by a group of expert pathologists from many countries redefines and classifies PA pathology. This article will introduce the HISTALDO classification rules and review the research progress in the correlation between the pathological functional findings of PA and clinical phenotype, surgical outcome as well as genotyping.

【Keywords】 Primary aldosteronism; Immunohistochemistry; HISTALDO consensus; Somatic mutation; Histopathology

Fund program: Jiangsu Basic Research Program Natural Science Foundation-Youth Foundation Project (BK20220717); China Postdoctoral Science Foundation (2022TQ0132)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20220604-06010

原发性醛固酮增多症(primary aldosteronism, PA)是最常见的继发性高血压,精准分型下及时治疗有助于病情的缓解甚至治愈。肾上腺静脉采血(adrenal venous sampling, AVS)作为 PA 分型诊断的金标准^[1],依据双侧肾上腺是否存在优势分泌侧选择治疗方案,但两侧肾上腺激素分泌的差异,并不能直接反映 PA 的病理生理改变。临床上不乏 AVS

单侧术后病理非腺瘤的患者,且即使基于 AVS 单侧手术的患者其临床特征及术后转归也存在差异性^[2],因此术后病理对确认诊断及评估预后显得尤为重要。遗憾的是目前术后常规开展的苏木精-伊红(HE)染色既不能准确区分腺瘤与增生也无法提供病变的分泌功能信息,限制了 PA 病理诊断的推进。近十年来,随着醛固酮合成酶(CYP11B2)特异

性抗体在 PA 组织病理诊断中的应用,分泌醛固酮的多种组织病理形式被不断定义与更新,特别是原发性醛固酮增多症组织病理学(histopathology of primary aldosteronism, HISTALDO)国际共识的推出为原醛的功能病理学诊断提供了统一标准^[3]。本文就 PA 组织病理学的发展及其与临床表型、预后、基因型的相关重要研究进展进行综述。

1 正常肾上腺皮质分区演变及功能表达

CYP11B2 作为球状带特异性表达酶催化醛固酮的最终合成^[4]。CYP11B2 抗体的运用,促进了肾上腺皮质功能区的进一步研究。除了传统的功能分区外,2010 年 Nishimoto 等^[5]在成人正常肾上腺皮质中首次报道了“杂色带”的存在,由被膜下球状带样细胞组成的宽 200~1 300 μm ,深 100~500 μm 的细胞簇,延伸至束状带,HE 染色下与正常皮质无法区分,但 CYP11B2 免疫组化强烈着色,而 11- β 羟化酶(CYP11B1)染色阴性,将其命名为分泌醛固酮的细胞簇(alosterone-producing cell clusters, APCC)。基于 APCC 的研究揭示了肾上腺皮质功能生理和病理改变的复杂性,肾上腺皮质重塑在 PA 的发生发展中可能扮演着重要角色^[6]。

2 CYP11B2 免疫组化染色在 PA 病理分型中的应用

正常肾上腺中,CYP11B2 特异性表达于球状带,而 CYP11B1 在束状带和网状带均表达。由于 CYP11B2 和 CYP11B1 的氨基酸序列的高度同源性(95%)^[7],CYP11B2 特异性抗体制备困难。2014 年 Gomez-Sanchez 等^[8]成功制备 CYP11B2 单克隆抗体促使 PA 病理诊断跨入新阶段。醛固酮瘤(alosterone-producing adenoma, APA)作为单侧 PA 最典型的病理改变在功能染色中 CYP11B2 的表达具有显著的异质性,不同腺瘤内 CYP11B2 染色均一程度不一致,同一腺瘤内不同区域 CYP11B2 染色强弱也存在差异,其表达水平及分布可能与 APA 体细胞突变类型相关^[9]。不同人群研究报道的临床诊断腺瘤中存在 5.0%~12.6% 的 CYP11B2 阴性腺瘤,说明部分腺瘤实际上为无功能腺瘤,在这些无功能腺瘤旁常可发现 APCC 的存在^[10-11],提示常规病理上的腺瘤并非都是过量醛固酮的来源。特发性醛固酮增多症(idiopathic hyperaldosteronism, IHA)是双侧 PA 最常见的原因,传统观点认为球状带细胞弥漫性增生导致了 IHA 的发生,但免疫组化表明几乎所有的 IHA 都存在多发功能结节或微结节(多个 APCC)^[12],与正常肾上腺的 APCC 相比,IHA 表达的 APCC 数量更多,体积更大^[13],提示了 IHA 可能不是或者不完全是双侧肾上腺增生导致,APCC 积

累也有可能引起 IHA。由于 IHA 切除标本稀缺其具体的病理表现形式仍有待商榷。可见 APCC 不仅存在于正常肾上腺中,也存在于 PA 患者的肾上腺中。单侧 PA 病理中发现的可能的 APCC 到 APA 的过渡性病变(possible APCC-to-APA transitional lesions, pAATLs)支持 APA 可能由 APCC 发展而来的观点^[14],但这样的病理改变只存在于少数的病例报道中,尚未证实其普遍性。

由于 CYP11B2 染色结果的差异,不同的研究对于 PA 的病理表现称呼不尽相同,为了解决命名混乱的现状,实现不同病理学家们对原醛病理诊断的统一性,2021 年发表的 HISTALDO 共识将 PA 的病理分型进行了重新定义与整合^[3]。HISTALDO 共识将组织形态学与 CYP11B2 免疫组化相结合,整理出了 6 种可诊断的 PA 组织病理学实体(表 1),考虑到术语“细胞簇”的指意不明,无法与结节明确区分,共识中采用醛固酮生成微结节(alosterone-producing micronodule, APM)取代 APCC 的描述。为了便于比较,HISTALDO 共识将 PA 的病理进一步分为经典型和非经典型。经典型包括孤立性 APA 和显性醛固酮生成结节(alosterone-producing nodule, APN)相关的单侧 PA 病变;非经典型包括 APM、多发醛固酮生成结节或多发醛固酮生成微结节(multiple aldosterone-producing nodules or multiple aldosterone-producing micronodules, MAPN/MAPM)及醛固酮产生弥漫性病变(alosterone-producing diffuse hyperplasia, APDH),即 HE 染色下与周边皮质不易区分的病变。共识中建议在描述 APA 组成细胞时应该使用病理学专业术语致密嗜酸性细胞或透明细胞,而非球状带样细胞或束状带样细胞。2022 年第 5 版 WHO 肾上腺皮质肿瘤分类也认识到结构和功能相关的重要性,认可并采纳了 HISTALDO 分型方法,推荐 PA 术后进行功能病理学评估^[15]。HISTALDO 分型下,经 AVS 证实的单侧 PA 中经典型与非经典型之比为 2:1~3:1^[3,16],故而单侧 PA 病变中除腺瘤外其他病理改变并不罕见。

3 病理分型与临床表型及预后的相关性

3.1 病理分型与临床表现的相关性 PA 中类固醇生成酶的差异化表达是其临床表现异质性的基础。通过 McCarthy H 评分半定量评估类固醇生成酶的免疫反应性是目前研究中最常用的方法^[17]。CYP11B2 的表达与腺瘤的大小呈负相关,高表达 CYP11B2 的腺瘤致密细胞占比更多,经肿瘤面积校正后的 CYP11B2 的 H 评分与血清醛固酮及血浆醛固酮与肾素活性比值(alosterone/renin ratio, ARR)呈正相关,与血钾呈负相关^[18]。糖皮质

表 1 原发性醛固酮增多症组织病理学临床特征比较

病理分型	病理分型	缩写	直径 ^a	HE	CYP11B2 免疫组化	代表性病理示意图 ^b
经典型	产生醛固酮的肾上腺皮质癌	APACC	—	—	—	
	醛固酮瘤	APA	≥10 mm	可见	境界清楚的 CYP11B2 阳性孤立性肿瘤	
	醛固酮生成结节	APN	<10 mm	可见	CYP11B2 阳性病变, 通常 CYP11B2 染色强度由外向内逐渐降低	
	醛固酮生成微结节	APM	<10 mm	不可见		
	多发醛固酮生成结节或多发醛固酮生成微结节	MAPN/MAPM	—	可见/不可见		
非经典型	醛固酮产生弥漫性病变	APDH	—	有时可见	伴有正常的肾上腺球状带间隔, MAPN 和 MAPM 可共存于同一个肾上腺 球状带较宽且一半以上细胞显示 CYP11B2 阳性染色	

注: APACC: 产生醛固酮的肾上腺皮质癌; APA: 醛固酮瘤; APN: 醛固酮生成结节; APM: 醛固酮生成微结节; MAPN: 多发醛固酮生成结节; MAPM: 多发醛固酮生成微结节; APDH: 醛固酮产生弥漫性病变; CYP11B2: 醛固酮合成酶; HE: 苏木精-伊红; ^a: CYP11B2 阳性染色区域的直径; ^b: 圆圈代表病变; 紫红色代表 HE 染色可见; 棕色代表 HE 染色不可见, CYP11B2 染色可见[病理示意图创建自: www. BioRender. com, 引自 Endocrine Pathology, 2021, 32(1): 102-133.]

激素过量分泌是 PA 患者一项不可忽视的特征, 单侧手术 PA 患者中伴发亚临床皮质醇增多症 (sub-clinical hypercortisolism, SCH) 比例达 32%^[19], 追溯病理可以发现 CYP11B1 的表达水平与腺瘤大小及高皮质醇血症的严重程度呈正相关^[20-21]。

基于 HISTALDO 分型, 不同研究报道的病理类型在临床生化特征有所差异, 但总体而言经典型患者表现出更鲜明的 PA 特征, 如年龄偏小^[10], 血清醛固酮及 ARR 更高^[10, 16], 低钾程度更严重^[3], 结节直径更大^[3, 10, 16], 而非经典型患者往往已知的高血压病程更长^[3, 10]。AVS 中经典型的偏侧化指数 (lateralization index, LI) 更高, 提示其单侧优势更为明显^[3]。

3.2 病理分型与治疗转归的相关性 Mayo 医学中心的一项大型回顾性研究表明经 AVS 证实的单侧 PA 在普通病理分型上手术结局并无差异^[22], 但经免疫组化证实的腺瘤较增生具有更高的临床治愈率^[23]。HISTALDO 分型下, 观察到经典型患者的生化预后优于非经典型^[3, 16], 血压的改善程度也更好^[10], MAPN/MAPM 的病理改变增加了自主皮质醇分泌的风险, 同时也降低临床生化缓解的可能性^[19]。因此功能病理诊断是正确识别病变类型、改善患者随访的重要工具。

4 病理与基因突变及代谢表型的相关性

编码细胞膜离子通道或离子泵的基因突变可能是 PA 病理改变异质性的内在原因^[24]。CYP11B2 免疫组化引导下的靶向测序中 APA 的基因突变率高达 96%^[25], 其中 *KCNJ5* 突变最常见且与其他突变相比 CYP11B2 的表达降低而 CYP11B1 表达显著增加^[9, 26]。体细胞基因突变不仅存在于 APA 中, 也存在于 APM 中。正常肾上腺中有 34% 的 APM 存在突变, 最常见的是 *CACNA1D*, 并没有发现 *KCNJ5* 突变^[27]; APA 相邻皮质的 APM 突变既可与 APA 突变相同也可不同, 且同一肾上腺内的多个 APM 可呈现不同的突变类型, APA 相邻的 APM 中可存在 *KCNJ5* 突变^[9]; IHA 中的 APM 超一半存在突变, 其中 58% 为 *CACNA1D* 突变, 仅 1% 为 *KCNJ5* 突变^[13]。研究推测 *KCNJ5* 突变诱导的细胞毒性及其对肾上腺皮质细胞生长的影响可能是 APM 中缺乏 *KCNJ5* 突变的原因^[28], 至于 APM 是否确定为 APA 的前体病理改变仍需可靠研究的支持。

综上所述, 分子生物学技术的突飞猛进使 PA 病理诊断与研究得到了长足发展。首先为探索 PA 的发病机制提供了新思路, 肾上腺发生发展过程中伴随着 APM 数量及大小的增加, 突变的积累, 最终可能发展为 APA 及 IHA。其次 PA 的组织学异质性

伴随着临床表型的多变性和疾病谱的扩大,需要进一步的探讨合理的 PA 筛查范围及方法。最后基于肾上腺组织合成醛固酮方式的异质性而定义的新的病理分型结合临床特征有助于建立组织病理学风险预测模型协助判断预后,制定个体化治疗及随访策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 中华医学会内分泌学分会. 原发性醛固酮增多症诊断治疗的专家共识(2020 版)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2020, 36(9): 727-736. DOI: 10. 3760/cma. j. cn311282-20200615-00444.
- [2] Williams TA, Lenders JWM, Mulatero P, et al. Outcomes after adrenalectomy for unilateral primary aldosteronism: an international consensus on outcome measures and analysis of remission rates in an international cohort [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017, 5(9): 689-699. DOI: 10. 1016/s2213-8587(17)30135-3.
- [3] Williams TA, Gomez-Sanchez CE, Rainey WE, et al. International histopathology consensus for unilateral primary aldosteronism[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, 106(1): 42-54. DOI: 10. 1210/clinem/dgaa484.
- [4] Curnow KM, Tusie-Luna MT, Pascoe L, et al. The product of the CYP11B2 gene is required for aldosterone biosynthesis in the human adrenal cortex [J]. *Mol Endocrinol*, 1991, 5(10): 1513-1522. DOI: 10. 1210/mend-5-10-1513.
- [5] Nishimoto K, Nakagawa K, Li D, et al. Adrenocortical zonation in humans under normal and pathological conditions[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(5): 2296-2305. DOI: 10. 1210/jc. 2009-2010.
- [6] Nishimoto K, Seki T, Hayashi Y, et al. Human adrenocortical remodeling leading to aldosterone-producing cell cluster generation [J]. *Int J Endocrinol*, 2016, 2016: 7834356. DOI: 10. 1155/2016/7834356.
- [7] Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, et al. A chimaeric 11 beta-hydroxylase/aldosterone synthase gene causes glucocorticoid-remediable aldosteronism and human hypertension [J]. *Nature*, 1992, 355(6357): 262-265. DOI: 10. 1038/355262a0.
- [8] Gomez-Sanchez CE, Qi X, Velarde-Miranda C, et al. Development of monoclonal antibodies against human CYP11B1 and CYP11B2 [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 383(1-2): 111-117. DOI: 10. 1016/j. mce. 2013. 11. 022.
- [9] De Sousa K, Boulkroun S, Baron S, et al. Genetic, Cellular, and Molecular Heterogeneity in Adrenals With Aldosterone-Producing Adenoma[J]. *Hypertension*, 2020, 75(4): 1034-1044. DOI: 10. 1161/HYPERTENSIONAHA. 119. 14177.
- [10] Wang H, Wang F, Zhang Y, et al. Surgical outcomes of aldosterone-producing adenoma on the basis of the histopathological findings[J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 663096. DOI: 10. 3389/fendo. 2021. 663096.
- [11] Nanba K, Omata K, Gomez-Sanchez CE, et al. Genetic characteristics of aldosterone-producing adenomas in Blacks[J]. *Hypertension*, 2019, 73(4): 885-892. DOI: 10. 1161/HYPERTENSIONAHA. 118. 12070.
- [12] 王慧萍, 崔云英, 马晓森, 等. 特发性醛固酮增多症的病理分型和手术预后[J]. 基础医学与临床, 2021, 41(10): 1481-1485. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-6325. 2021. 10. 015.
- [13] Omata K, Satoh F, Morimoto R, et al. Cellular and Genetic Causes of Idiopathic Hyperaldosteronism[J]. *Hypertension*, 2018, 72(4): 874-880. DOI: 10. 1161/HYPERTENSIONAHA. 118. 11086.
- [14] Nishimoto K, Koga M, Seki T, et al. Immunohistochemistry of aldosterone synthase leads the way to the pathogenesis of primary aldosteronism [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2017, 441: 124-133. DOI: 10. 1016/j. mce. 2016. 10. 014.
- [15] Mete O, Erickson LA, Juhlin CC, et al. Overview of the 2022 WHO classification of adrenal cortical tumors[J]. *Endocr Pathol*, 2022, 33(1): 155-196. DOI: 10. 1007/s12022-022-09710-8.
- [16] Meyer LS, Handgriff L, Lim JS, et al. Single-Center prospective cohort study on the histopathology, genotype, and postsurgical outcomes of patients with primary aldosteronism[J]. *Hypertension*, 2021, 78(3): 738-746. DOI: 10. 1161/HYPERTENSIONAHA. 121. 17348.
- [17] Budwit-Novotny DA, Mccarty KS, Cox EB, et al. Immunohistochemical analyses of estrogen receptor in endometrial adenocarcinoma using a monoclonal antibody [J]. *Cancer Res*, 1986, 46(10): 5419-5425.
- [18] Sun L, Jiang Y, Xie J, et al. Immunohistochemical analysis of CYP11B2, CYP11B1 and β -catenin helps subtyping and relates with clinical characteristics of unilateral primary aldosteronism [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 751770. DOI: 10. 3389/fmolb. 2021. 751770.
- [19] Lin JH, Peng KY, Kuo YP, et al. Aldosterone-producing nodules and CYP11B1 signaling correlate in primary aldosteronism[J]. *Endocrine-related cancer*, 2022, 29(2): 59-69. DOI: 10. 1530/erc-21-0287.
- [20] Ono Y, Nakamura Y, Maekawa T, et al. Different expression of 11 β -hydroxylase and aldosterone synthase between aldosterone-producing microadenomas and macroadenomas[J]. *Hypertension*, 2014, 64(2): 438-444. DOI: 10. 1161/HYPERTENSIONAHA. 113. 02944.
- [21] Ahn CH, Na HY, Park SY, et al. Expression of CYP11B1 and CYP11B2 in adrenal adenoma correlates with clinical characteristics of primary aldosteronism[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2022, 96(1): 30-39. DOI: 10. 1111/cen. 14628.
- [22] Shariq OA, Mehta K, Thompson GB, et al. Primary aldosteronism: Does underlying pathology impact clinical presentation and outcomes following unilateral adrenalectomy? [J]. *World J Surg*, 2019, 43(10): 2469-2476. DOI: 10. 1007/s00268-019-05059-y.
- [23] Volpe C, Hamberger B, Zedenius J, et al. Impact of immunohistochemistry on the diagnosis and management of primary aldosteronism: an important tool for improved patient follow-up[J]. *Scand J Surg*, 2020, 109(2): 133-142. DOI: 10. 1177/1457496918822622.
- [24] Xie J, Zhang C, Wang X, et al. Exploration of KCNJ5 somatic mutation and CYP11B1/CYP11B2 staining in multiple nodules in primary aldosteronism [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 823065. DOI: 10. 3389/fmed. 2022. 823065.
- [25] Nanba K, Yamazaki Y, Bick N, et al. Prevalence of somatic mutations in aldosterone-producing adenomas in Japanese patients [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(11): e4066-4073. DOI: 10. 1210/clinem/dgaa595.
- [26] 陈亮, 宋颖, 肖明, 等. 不同基因突变的醛固酮瘤患者的临床生化及免疫组化特征[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2021, 37(1): 45-51. DOI: 10. 3760/cma. j. cn311282-20200522-00373.
- [27] Omata K, Anand SK, Hovelson DH, et al. Aldosterone-producing cell clusters frequently harbor somatic mutations and accumulate with age in normal adrenals[J]. *J Endocr Soc*, 2017, 1(7): 787-799. DOI: 10. 1210/js. 2017-00134.
- [28] Yang Y, Gomez-Sanchez CE, Jaquin D, et al. Primary aldosteronism: KCNJ5 mutations and adrenocortical cell growth[J]. *Hypertension*, 2019, 74(4): 809-816. DOI: 10. 1161/HYPERTENSIONAHA. 119. 13476.

(收稿日期: 2022-06-04)