

子宫内膜癌的POLE、MMR和MSI检测:2020年USCAP年会国际妇科病理学会联席会议论文集

Laura Casey, F.R.C.Path. and Naveena Singh, M.D., F.R.C.Path.

摘要: 仅根据形态学特征对子宫内膜癌 (EC) 进行亚分类, 无论是活检标本与子宫切除标本结果对比, 还是观察者间的一致性比较, 均被证明其可重复性不够理想, 这限制了 EC 的形态学分类作为预测风险和制定治疗计划的指导作用。一种基于 EC 癌症基因组图谱 (TCGA) 分类的诊断推算流程有望提高其风险预测的准确性。该分类将 EC 分为 4 组: 携带 DNA 聚合酶 ϵ (POLE) 核酸外切酶结构域突变组 (POLEmut)、错配修复缺陷组、TP53 突变组 (p53abn) 以及无上述 3 种异常的异质性组 (目前称为无特异性分子特征组)。利用一组有限的检测套餐 (即错配修复蛋白和 p53 的免疫组织化学检测以及 POLE 核酸外切酶结构域致病突变的检测) 可以在活检样本中准确、重复地诊断这些分组。本文就 EC 中 POLE 和错配修复缺陷的生物学、检测和解读作一简要综述。

关键词: 子宫内膜癌, 分子分型, 世界卫生组织, POLE, 错配修复蛋白, 微卫星不稳定性

(*IJGP.2021 Jan.;40(1):5-16*)

子宫内膜癌 (Endometrial Carcinoma, EC) 是富裕社会最常见的妇科恶性肿瘤, 且其发病率持续上升。自 20 世纪 70 年代以来, 尽管同期女性所有癌症死亡人数的总和有所下降, 但子宫癌症的死亡率保持不变^[1]。肿瘤形态学是目前 EC 分类的基础 (2020 版 WHO, 表 1)^[2], 同时, 自 Bokhman 在 20 世纪 80 年代初发表其论文以来, 这些肿瘤在传统上已被接受是发病机制截然不同的两大类型, 据称 I 型肿瘤发生于肥胖、高脂血症和高雌激素症状 (无排卵性子宫出血、不孕症、更年期延迟和子宫内膜增生) 的女性, 肿瘤被认为呈高~中分化、有限的肌层浸润倾向 (低分期)、预后良好; 另一方面, 据称 II 型肿瘤是在没有明显内分泌或代谢紊乱的情况下发生的, 肿瘤呈低分化、肌层浸润深且有转移至盆腔淋巴结的倾向 (高分期)、预后不良^[3]。尽管 Bokhman 模型简洁明了, 但并未能体现出 EC 的真正异质性。

现有形态学肿瘤分类系统的另一个问题是病理医生无法根据肿瘤的组织学特征, 准确、一致地进行组织学分型 (甚至分级)。这一困难可能在高级别 EC 中最为明显, 即使在经验丰富的妇科病理医生中, 观察者之间的重复性也不理想^[4-7], 而 FIGO 分级和肿瘤组织学类型是当前风险分层模型和治疗流程的核心 (表 2)^[8]。超过 50% 罹患 EC 的女性具有早期、低风险疾病并且仅接受手术治疗, 而辅助治疗的推荐则是基于个体患者疾病复发的风险而定^[9], 该风险是由临床病理因素 (如年龄、分期、组织学亚型、肿瘤分级以及是否存在淋巴血管间隙侵犯) 决定的^[10]。

表1. 子宫内膜癌 2020 版 WHO 分类^[2]

子宫内膜样癌
浆液性癌
透明细胞癌
未分化癌和去分化癌
混合性癌
其他子宫内膜癌: 中肾样癌; 鳞状细胞癌; 胃肠型癌
癌肉瘤

From the Department of Cellular Pathology, Barts Health NHS Trust, London, UK.

The authors declare no conflict of interest.

Address correspondence to Naveena Singh, MD, FRCPath, Barts Health NHS Trust, London E11 1LT, UK. E-mails: singh.naveena@nhs.net; naveenasingh7@gmail.com.

在 2013 年，癌症基因组图谱研究网络（TCGA）首次发布了 EC 的全面基因组表征，指导 EC 辅助治疗的新风险分组并取得重大突破。通过整合一系列技术【包括全外显子二代测序(NGS)、全基因组拷贝数分析、全转录组测序、甲基化图谱分析、反向蛋白芯片和微卫星不稳定(MSI)评估】所收集的数据，该小组将子宫内膜癌分为 4 种不同的分子亚群^[11]。利用一种经过验证且临床适用的推算流程，能够可靠地区分这 4 种类别（图 1）^[2,12-14]：

- (1) POLE 突变型（POLEmut）EC：肿瘤在 DNA 聚合酶 ϵ （*POLE*）的核酸外切酶结构域内含有致病性突变体，由于肿瘤突变负荷超高，也称为超突变。
- (2) 错配修复缺陷型（MMRd）EC：肿瘤呈现错配修复（MMR）缺陷或 MSI，也称为高突变，显示出高肿瘤突变负荷。
- (3) 无特异性分子特征（NMSP）EC：目前被认为是 NMSP 的肿瘤，即 *POLE*、*TP53* 野生型以及 MMR 完整，由于与下面一组（第 4 组）相比，拷贝数改变较低，也称为低拷贝数，根据本推算流程为排除性诊断。
- (4) p53 突变型（p53abn）EC：存在 *TP53* 基因突变，基于拷贝数改变较多，也称为高拷贝数或浆液样。

越来越明确的是这些组别不仅在预后上截然不同，而且还表现出对治疗的特有反应，这是现行治疗流程无法实现的^[15-17]。在过去几十年里，我们一直在研究 EC 的形态学和 Bokhman 的 I 型和 II 型分类，但现在已认识到这些分类的局限性：首先，它们不能像分子学联合传统临床病理危险因素那样，对风险进行准确预测；其次，我们不能非常简单地

表 2. 指导子宫内膜癌辅助治疗的新风险分组

风险分组	类型
低	I 期子宫内膜样，1~2 级；肌层浸润 < 50%；LVSI 阴性
中	I 期子宫内膜样，1~2 级；≥ 50% 肌层浸润；LVSI 阴性
中~高	I 期子宫内膜样，3 级；肌层浸润 < 50%；无论 LVSI 状态
高	I 期子宫内膜样，1~2 级；LVSI 明确阳性；无论浸润深度
	I 期子宫内膜样，3 级；≥ 50% 肌层浸润；无论 LVSI 状态
	II 期
	III 期子宫内膜样，无残留病变
	非子宫内膜样（浆液性、透明细胞、未分化或癌肉瘤）

ESMO-ESGO-ESTRO 子宫内膜癌共识会议^[8]
LVSI 指淋巴血管间隙侵犯

仅利用形态学来识别这些实体。这 4 种类型肿瘤的风险因素（包括关联潜在遗传性癌症风险及治疗意义）完全不同（表 3），可以使用有限的检测套餐【即 MMR 蛋白和 p53 的免疫组织化学 (IHC) 和 *POLE* 核酸外切酶结构域的致病性突变体检测】在活检样本中准确、可重复性地诊断出这些肿瘤。

基于这些原因，2020 版 WHO 分类建议至少在条件允许的情况下，将分子分型纳入临床诊断。因此，病理医生有责任确保临床医生了解这些分子亚型，接受新兴的诊断技术，并为临床医生提供直接影响患者管理的有意义的报告。但必须承认，该分类本身过于简单化，特别是对于 NSMP EC 的异质性分类；在等待进一步揭示分类的多样性和治疗意义的同时，我们应该接受那些已经相对明确的、反映 EC 的分子病理学/基因组结构并体现当前改进的分类。最新研究显示，该分类也与子宫内膜样卵巢癌有关^[22]。

本文简要介绍了 EC 中 *POLE* 和 MMR 缺陷的生物学、检测和解读。

POLE 和 MMR 缺陷的生物学

机体为了维持正常的细胞功能，必须严格控制遗传的稳定性。DNA 复制的保真度是通过聚合酶碱基的选择、3' 到 5' 核酸外切校对和错配修正的联合作用而保持的（图 2）。这些控制机制中的任何一种缺陷都会通过重复刺激促进肿瘤发生的突变、选择和克隆性扩增过程，从而推动癌症的发展。TCGA 的研究结果表明，聚合酶校对缺陷和 MMR 缺陷是子宫内膜癌发生的关键^[23]。重要的是，由于 *POLE* 和 MMR 缺陷都会导致很高的突变率，它们通常会表现出额外的继发性异常，导致 EC 出现多分子分类模型；不过这种诊断困惑最近已经被阐明，推荐的方法被纳入图 1。

POLE 的生物学

DNA 双螺旋由两条互补链组成。在 DNA 复制过程中，这些 DNA 链被分离，然后每条链均作为模板，用于产生新的互补对应物（半保留复制）。由于半保留复制，新的螺旋由 1 条原始 DNA 链和 1 条新合成的 DNA 链组成。细胞校对和错误勘查机制确保了 DNA 复制近乎完美的保真度，每个细胞分裂的每个碱基对仅有约 10^{-10} 的突变^[24]。

聚合酶 δ （*pol* δ ）和聚合酶 ϵ （*pol* ϵ ）是真核细胞主要的 DNA 复制酶，它们分别由基因 *POLD* 1（和 *POLD* 2、3、4）

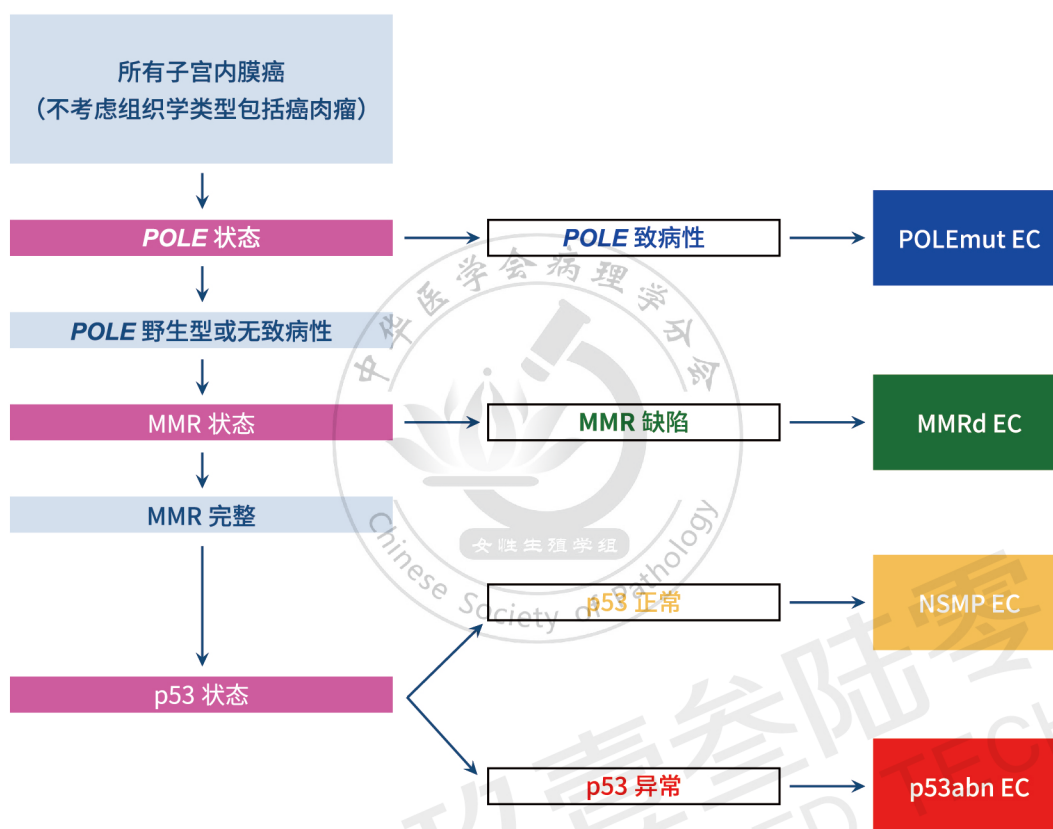


图1. 分子检测在子宫内膜癌分类中的应用：正确解读 EC 中 *POLE*、*MMR* 和 *TP53* 缺陷的检测是利用推荐的推算流程，这是由于 *POLE* 和 *MMR* 缺陷均会导致高突变状态，可能致使其他基因发生突变，从而产生错误分类的可能。因此，只有在知道其他两项结果时，才能正确解读任何一项测试的结果。EC 指子宫内膜癌；MMR：错配修复；MMRd EC：携带 MMR 缺陷的 EC，即 ≥ 1 项 MMR 蛋白（MLH1、PMS2、MSH2 和 MSH6）功能丧失；NSMP EC：EC 无特异性分子特征，即缺乏致病性 *POLE* 突变体、MMRd 或 *TP53* 突变；*POLE*：DNA 聚合酶 ϵ ；POLEmut EC：携带 *POLE* 致病性突变体的 EC；p53abn EC：存在 *TP53* 致病突变体的 EC。

和 *POLE*（和 *POLE* 2、3、4）编码。一条核酸单链有两个末端，5' 端（5'）和 3' 端（3'）。5' 端有一个磷酸基团连接到 DNA 的核糖骨架上，而 3' 端有一个羟基。这种不对称性给 DNA 链确定了“方向”。在 DNA 复制过程中，通过解旋酶驱动分离组成双螺旋的两条 DNA，形成“复制叉”。由此产生的结构有两个分叉，每个分叉由一条 DNA 单链组成。一条沿 3' 至 5' 方向延伸，而另一条沿 5' 至 3' 方向延伸。DNA 聚合酶以 3' 到 5' 的方向读取 DNA，这意味着新生的链是以 5' 到 3' 的方向合成。这两条新链被命名为“前导链”和“滞后链”。新生的前导链，其合成方向与延伸的复制叉方向相同。这种 DNA 复制是连续的。但是新生的滞后链，它的合成方向与复制叉延伸的方向相反，由于定向相反，滞后链的复制比前导链的复制更复杂且不是连续的，而是以短的、分离的片段合成。

pol δ 复制前导链和滞后链，而 *pol* ϵ 的功能被认为仅限于精确合成前导链^[25]。

除了 DNA 链合成，这些聚合酶还通过 DNA 复制的两个关键作用在核基因组的忠实复制中发挥核心作用：（1）对伸长的 DNA 链进行准确校对以及（2）纠错^[26]。正是这种校对、催化和纠错功能的丧失导致了超突变状态，并因此在基因组中积累了无数的错误。这种额外的功能受 *POLE* 和 *POLD1* 核酸外切酶结构域的调控。

MMR 的生物学

尽管 *pol* δ 和 *pol* ϵ 在 DNA 合成过程中的活性很高，但仍可能发生两种类型的 DNA 复制错误：（1）碱基不匹配（例如，在 A 的相反位置插入 C 而非 T）以及（2）在重复

表3. POLEmut、MMRd、NSMP 和 p53abn EC 的临床病理特征^[16]

	POLEmut EC	MMRd EC	NSMP EC	p53abn EC
所有EC的占比 ^[14]	9%	28%	50%	12%
临床特征	相对年轻; 与代谢综合征无关	年龄范围广; 与代谢综合征无关	年龄范围广; 与BMI和高雌激素状态高度相关	老年人; 与代谢综合征无关
遗传易感性	罕见	10%遗传	罕见	与 BRCA1/BRCA2 遗传综合征低度相关 ^[18]
前驱病变	非典型增生/EIN ^[19]	非典型增生/EIN ^[20,21]	非典型增生/EIN	子宫内膜腺体异型增生/浆液性子宫内膜上皮内癌
基因组特征	POLE 核酸外切酶结构域致病性突变 (EDM) 超高TMB	MMR 缺陷; 最常见的散发性和表观遗传学是 MLH1 启动子甲基化高 TMB	野生型 POLE 和 TP53 以及 MMR 完整异质组, 可能被进一步亚分类	致病性 TP53 突变且缺乏 POLEmut/MMRd
形态学	肿瘤分级高, 散在瘤巨细胞, 显著淋巴细胞浸润	更高级别, 子宫内膜样细胞, 大量肿瘤浸润性淋巴细胞	经典型子宫内膜样; 鳞状化生, 任何级别, 但大多为1或2级	典型的高级别, 多数具有“浆液性”形态; 可以是任何形态
诊断的可重复性	未被广泛检测; 在NGS或其他平台中可能会高	建立于MMR IHC	排除性诊断	建立于p53 IHC
IHC结果	可能呈现弥漫性或亚克隆性异常p53; 可能呈现异常MMR IHC	MMR异常; 可能呈弥漫性或亚克隆性p53异常; MMR可能正常, 需经MSI检测确认	MMR正常; p53正常	p53异常; MMR正常
诊断时分期	通常为低分期, LVSI常见	更可能为高分期和存在大量LVSI	通常为低分期	高分期可能, 在缺乏肌层浸润时也会腹膜扩散
预后	非常好	在缺乏不良风险因素的情况下绝对风险低	通常较好	差
治疗意义	存在治疗降级的可能; 对晚期或复发疾病有免疫抑制剂治疗的可能	推荐给临床遗传学服务进行胚系MMR检测; 中~高危病例: 阴道近距离放疗可较好控制; 高危病例: 对RT反应良好, 铂类化疗无效; 免疫抑制剂治疗为候选; 内分泌治疗存疑	对内分泌 (孕酮) 治疗可能有反应; 存在不良危险因素的患者对辅助治疗反应良好	除RT外, 对铂类为基础的化疗反应良好; 基于HER2 (曲妥珠单抗) 和同源重组缺陷 (PARP抑制剂) 的靶向治疗可能有效

这些是相对于最大比例的 NSMP 类别的概括性比较。

BMI: 体重指数; EC: 子宫内膜癌; EIN: 子宫内膜上皮内癌变; IHC: 免疫组织化学; LVSI: 淋巴血管间隙侵犯; MMR: 错配修复; MMRd: 错配修复缺陷; MSI: 微卫星不稳定; NGS: 二代测序; NSMP: 无特异性分子特征; RT: 放疗; TMB: 肿瘤突变负荷

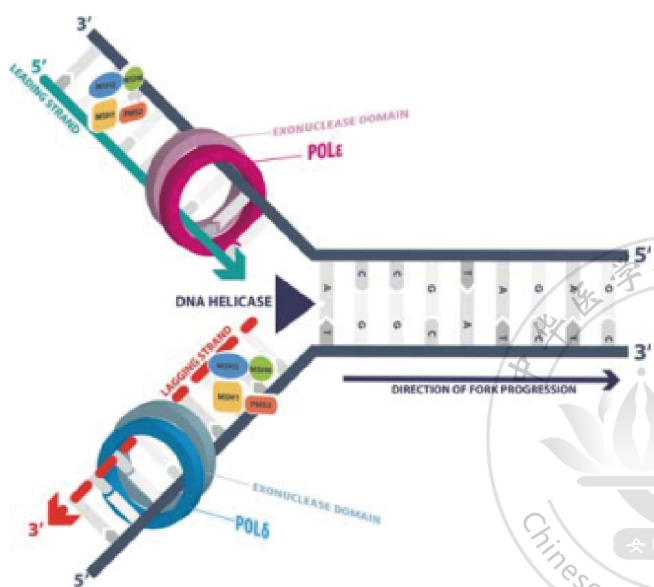


图2. DNA复制的精确度通过聚合酶碱基选择、3'到5'的核酸裂解校对和错配修复来维持。在DNA复制过程中，两条互补链被分离，每条链均作为新的互补链模板。聚合酶δ (pol δ) 和聚合酶ε (pol ε) 是主要的DNA复制酶；pol δ既复制前导链又复制滞后链，而pol ε的功能被认为仅限于精确合成前导链。除了链的合成，这两种酶的核酸外切酶结构域还对延长的DNA链进行准确地校对和纠错。错配修复系统是一种复制后机制，用于识别和纠正DNA合成过程中产生的碱基错配和插入/缺失。错配修复蛋白MLH1、PMS2、MSH2和MSH6识别错配并针对它们进行切除、准确的重新合成和链接。

序列上出现最常见的插入/缺失错误。这些重复序列由1~6个核苷酸组成，通常重复5~50次，被称为短串联重复序列或微卫星^[27]。微卫星内的插入/缺失错误不易被DNA聚合酶监测到。

MMR系统是一种复制后机制，能识别和纠正DNA合成和重组过程中产生的碱基错配和插入/缺失，从而限制突变向子代细胞的传播^[23,28,29]。MMR蛋白(MLH1、PMS2、MSH2和MSH6)识别错配并针对其进行切除、准确的重新合成和链接。由于MMR机制减少了复制相关错误的数量[除了某些类型DNA损伤的背景下导致细胞周期停滞和程序性细胞死亡^[30,31]]，MMR缺陷增加了自发性突变率，导致短期的突变形成和长期的肿瘤形成。虽然所有碱基错配都会在MMR缺陷的存在下积累，但微卫星特别容易出错，这些错误会导致MSI状态——微卫星插入/缺失错误在基因组的编码和非编码区都广泛出现。因此，尽管2个术语经常交替使用，但是MSI是有缺陷的MMR的产物。

POLE和MMR的检测

POLE 突变检测

约7%~12%的EC在**POLE**的核酸外切酶结构域发生突变^[11,14]。多项研究一致证明，不论组织学类型、分级和分期，该分子类型的肿瘤都有很好的临床预后，但该组也有复发/转移的文献报道^[32]。尽管获得了这些总体令人鼓舞的发现，但采取普遍的**POLE**突变检测仍然存在障碍，其中前两项直到最近才得以解决：

- (1) 直到最近方确定致病性突变体。最近的工作不仅定义了致病性突变体，还提出了确定未被描述的致病性突变体的推算流程^[33]。
- (2) 直到最近方建立具有多分子分类器病例的临床预后。例如具有**POLE**和**TP53**突变的病例是否应该更准确地归类为POLEmut还是p53abn，该问题最近得到了解决并被纳入目前推算流程测试解读的推荐中(图1)^[34,35]，这些双重分类器中包括显示POLEmut和MMRd类别；尽管目前根据**POLE**突变体将这些缺陷归类为图1所示，但它们可能协同作用并呈现特有的突变特征，具有进行性缺陷和与众不同的临床表现^[32,36]。
- (3) 虽然几项临床试验提示了治疗意义，但在缺乏随机对照临床试验的前瞻性数据情况下，无法将其纳入常规临床实践中。目前，在分子基础上对EC进行分类的目的，尤其是**POLE**检测，仅限于提供了解预后^[37]以及对临床上具有挑战性的病例进行治疗调整^[16]。这对具有p53异常的浆液样癌年轻患者也有诊断价值。
- (4) 尽管POLEmut EC不足所有EC的10%，但经过一系列检测验证和优化策略推荐将**POLE**检测作为常规第一步^[12]。然而，由于**POLE**测序是目前病理实验室最昂贵和最难实现的检测方法，需要评估替代的策略(例如仅检测那些考虑采用辅助治疗的病例)。

迄今为止，已证实11种独立的致病突变体(表4)，其中2种(P286R和V411L)存在于约2/3的**POLE**突变EC中，5种“热点”涵盖了绝大多数EC^[33]。**POLE**突变没有免疫组织化学替代物，因此，肿瘤组织必须进行DNA提取和**POLE**“热点”的分子测序，这可以通过Sanger测序或9、13和14或9~14号外显子的NGS来实现^[12]。最近一种单核苷酸延伸分析已被优化用于福尔马林固定的石蜡包埋组织。用PCR

扩增 **POLE** 核酸外切酶结构域外显子后, 通过单碱基延伸检测热点单核苷酸突变体, DNA 聚合酶由此将单个荧光标记的双脱氧核苷酸 (ddNTP) 添加到未标记的、大小不等的寡核苷酸引物的 3' 末端, 产物用毛细电泳进行分析, 并用长度和荧光进行解析。这种新报道的方法如果得到验证, 可能会成为 NGS 的一种较经济的替代方法, 具有用作替代或筛查检测的可能^[38]。

表4. 已报道的子宫内膜癌 POLE致病突变体^[33]

蛋白改变	核苷酸替代
P286R	c.857C>G
V411L	c.1231G>T/C
S297F	c.890C>T
S459F	c.1376C>T
A456P	c.1366G>C
F367S	c.1100T>C
L424I	c.1270C>A
M295R	c.884T>G
P436R	c.1307C>G
M444K	c.1331T>A
D368Y	c.1102G>T

MMR/MSI检测

大约 25%~30% 的 ECs 以 MMR 缺陷为特征^[11], 体细胞 MMR 缺陷为散发性, 大多数病例是 **MLH1** 启动子区高度甲基化以及其所致的 **MLH1** 表观遗传学沉默的结果。然而, 10% 的 MMR 缺陷是 Lynch 综合征 (LS) 遗传的组成部分, LS 是一种遗传性癌症综合征, 由 4 个关键 MMR 基因【mutL 同源物 1 (MLH1)、mutS 同源物 2 (MSH2)、MSH6 或减数分裂后分离增加 2 (PMS2)】中的 1 个发生常染色体显性遗传的杂合性胚系突变并导致编码蛋白的功能丧失引起。当个体遭到被累及的 MMR 基因其他野生型等位基因的体细胞功能缺失时, 就会发生 LS 相关性癌症。LS 中最常见的两种癌症是子宫内膜癌和结直肠癌^[39]。

因此, 建议对所有 EC 进行常规的 MMR/MSI 检测, 原因如下:

(1) LS 筛查: 据估计, 每 250 人中大约有 1 人受到 LS 的影响, 其中 > 95% 的人尚未意识到其遗传性癌症易感性风险。EC 通常是家系中的首发或前哨癌症, 因此为一个家系中 LS 检测提供了宝贵的机会^[40]。罹患 LS 的 EC 患者可能会继续发生其他癌症, 并且 EC 先于后续癌症 (最常见的是潜在致命性结直肠癌) 大约十年^[41,42]。LS 的检测

使监测和预防措施得以实施, 从而显著降低随后与 LS 相关性癌症的死亡率^[41]。重要的是, MMR IHC / MSI 是 LS 的筛查检测, 异常结果仅提示发生 LS 的可能性不超过 50%, 因此无需强制要求同意进行检测。

(2) 子宫内膜癌的分子诊断: 与 TCGA 的 EC 分类要求一致, 需要对所有病例进行 MMR IHC 或 MSI 检测。准确鉴定 EC 的 MMRd / MSI 突变类型具有重要的治疗意义^[16,17]。这类肿瘤不可能对孕酮保守治疗有反应, 具有较高的淋巴血管间隙浸润倾向, 因此适合接受前哨或其他淋巴结手术; 虽然患者对放疗反应良好, 但对化疗无显著的生存获益。

(3) MMRd 的预测性检测: 所有部位的 MMRd 肿瘤均符合免疫抑制剂的靶向治疗条件^[43]。

有两种检测 MMR 缺陷的方法^[44]:

- ① 错配蛋白免疫组织化学染色 (MMR IHC)。
- ② MSI 的分子检测。

这些方法具有相当的灵敏度并且呈现约 95% 的一致率^[44]。IHC 能识别可能的基因缺陷, 同时具有更便宜、更容易获得且符合现有外部质量保证计划的额外优势。

MMR IHC

正常组织 MMR 蛋白染色显示细胞核呈不同强度的阳性^[45]。MMR 完整的癌症, 通常较正常组织的增殖速度更快、具有更强的细胞核染色。虽然不同癌症之间和单个肿瘤内的强度可能略有不同, 但在固定良好的活检标本中, 其强度往往是强而一致, 超过内对照 (背景内间质、良性腺体和炎症细胞)。任何偏离整个肿瘤细胞核着色的正常模式 (即其强度明显强于内对照), 都可能构成异常模式并反映出 MMRd。在具有 MMR 缺陷的病例中, 通常 1 个或多个 MMR 蛋白的细胞核表达完全缺失。

MMR 蛋白以异二聚体的形式存在, MLH1 与 PMS2 配对, MSH2 与 MSH6 配对。如果通常的配对伴侣缺失时, MLH1 和 MSH2 可以通过与其他蛋白形成异二聚体在细胞内保持稳定, 而 PMS2 和 MSH6 只有在 MLH1 和 MSH2 存在的情况下, 才能在细胞内稳定存在。这产生两种重要的结果, 第一种是 MMRd 导致 4 种典型的 MMR IHC 模式:

(1) MLH1 和 PMS2 均缺失; 这发生于胚系和获得性 MLH1 缺陷;

- (2) MSH2 和 MSH6 均缺失；这发生于胚系和获得性 MSH2 缺陷；
- (3) MSH6 单独缺失；这发生于胚系和获得性 MSH6 缺陷；
- (4) PMS2 单独缺失；这发生于胚系和获得性 PMS2 缺陷。

第二种结果仅检测两种蛋白（PMS2 和 MSH6）就可以筛查 MMRd，其准确性等同于对所有 4 种蛋白进行检测^[44,46,47]，前提是需要适当注意表 5 中汇总的陷阱。由于 MMR IHC 是正式推算流程检测的组成部分，特别是对 LS 筛查的病例，对报告术语和进一步检测的推荐进行标准化是至关重要的。每种 MMR 蛋白表达模式都有其临床意义，报告的推荐汇总于表 6^[40,50]。有学者建议，MMR IHC 应简单地

报告为“正常”或“异常”（可接受的替代方案“缺陷的”或“缺陷性”），而非潜在的模棱两可的术语，如“阳性”、“阴性”、“存在”、“缺乏”、“保留的”或“缺失的”。

MSI检测

MSI 检测有赖于基因组内重复序列长度改变的证实^[51]。一组微卫星标记套餐的核苷酸重复数目在肿瘤组织和来自同一个体的正常组织之间进行比较。如果在所有检测的标志物中发现相同数目的重复，肿瘤被诊断为微卫星稳定；如果肿瘤和正常组织之间的核苷酸重复数目不同，则被认为是 MSI。临床上应用最广泛的检测是使用由 5 个微卫星组成的

表5. MMR 解读的问题和陷阱^[45,48,49]

问题/陷阱	注解，包括报告术语和解决方案
MMR IHC 对固定灵敏	推荐使用活检标本；在缺乏可评估和阳性内对照的情况下，不要签发为异常
在 MMRd 中可能见到非常微弱或非常局灶的表达	与任何基因缺陷一样，会有截短蛋白表现出微弱的或非常局灶的表达；这种病例不应该报告为“正常”。肿瘤细胞的着色应该较内对照的着色强并且存在于整个肿瘤中
在 MMRd 中可能见到正常的表达	与任何基因缺陷一样，无功能的蛋白也有可能表现出抗原的保留。因此正常表达并不排除遗传学缺陷，这应该在报告被体现（表6）
少数病例可能出现亚克隆性表达	肿瘤进展和高突变状态可导致任何 EC 中 MMRd 亚克隆性表达，无论其本身是 MMRd 还是 MMRp；由于表观遗传学的 MLH1 启动子甲基化，任何 EC 都可能发生亚克隆性 MLH1 和 PMS2 缺失；亚克隆性 MSH6 缺失可发生于任何 MMRd EC（如因为 MLH1 缺失），这归因于 MSH6 基因的第5外显子多聚胞嘧啶（polycytosine tract）插入突变；POLEmut EC 可能发生亚克隆性 MMR 缺失；亚克隆性缺失代表潜在的遗传性缺陷，应报告为异常（表6）
MLH1 缺失会在少数病例中呈现点状的胞核着色；如果为强阳性，可能被错误判读为正常表达	这种着色假象被报道于用抗 MLH1（M1）抗体（罗氏诊断）。正确认识和分析单独性 PMS2 缺失的病例可将出错的几率降至最低
胞质/胞膜/核仁着色不属于正常表达，应报告为异常	胞质和胞膜着色属于技术性假象，染色方案应该被优化并接受外部质控。有报道新辅助治疗后的结直肠癌出现核仁着色
新辅助治疗会影响 MMR 蛋白的着色模式	这在 EC 中没有报道，因为新辅助治疗不是常规/普遍使用的，但在结直肠癌中有较多报道。MMR IHC 应该在未经治疗、固定良好的肿瘤组织中进行评估
其他可能出现的模式/问题范畴，如 ≥3 种蛋白缺失、MMR IHC 和 MSI 之间或 MMR IHC 和遗传学检测之间的一致性	获得性缺陷、遗传学和表观遗传学，可导致任何模式的组合，特别是在 POLEmut 和 MMRd 高突变的状态下

EC：子宫内膜癌；IHC：免疫组织化学；MMR：错配修复；MMRd：错配修复缺陷；MSI：微卫星不稳定

表6. 错配修复蛋白免疫组织化学 (MMR IHC) +/- MLH1 启动子甲基化结果的报告推荐术语^[40,49]

MMR 结果	推荐报告
正常, MLH1、PMS2、MSH2 和 MSH6 检测	MMR IHC 正常: 肿瘤细胞 MLH1、PMS2、MSH2 和 MSH6 呈正常的胞核着色。 结论: 无错配修复缺陷的免疫组化证据*
正常, 仅 MSH6 和 PMS2 检测	MMR IHC 正常: 肿瘤细胞 PMS2 和 MSH6 呈正常的胞核着色。 结论: 无错配修复缺陷的免疫组化证据*
异常, MSH6 缺失	MMR IHC 异常, MSH6 缺失: 肿瘤细胞呈错配修复蛋白 MSH6 表达缺失 (MLH1、MSH2 和 PMS2 细胞呈正常的胞核着色)。 结论: 该错配修复缺陷与 Lynch 及相关综合征有关 该患者应该转诊进行临床遗传学检测
异常, PMS2 缺失	MMR IHC 异常, PMS2 缺失: 肿瘤细胞呈错配修复蛋白 PMS2 表达缺失 (MLH1、MSH2 和 MSH6 细胞呈正常的胞核着色)。 结论: 该错配修复缺陷与 Lynch 及相关综合征有关 该患者应该转诊进行临床遗传学检测
异常, MSH2 和 MSH6 缺失	MMR IHC 异常, MSH2 缺失: 肿瘤细胞呈错配修复蛋白 MSH2 和 MSH6 表达缺失 (MLH1 和 PMS2 呈正常的胞核着色)。 结论: 该错配修复缺陷与 Lynch 及相关综合征有关 该患者应该转诊进行临床遗传学检测
异常, MLH1 和 PMS2 缺失, 缺乏 MLH1 启动子高甲基化	MMR 异常, MLH1 缺失和缺乏 MLH1 启动子高甲基化: 肿瘤细胞呈错配修复蛋白 MLH1 和 PMS2 表达缺失 (MSH2 和 MSH6 呈正常的胞核着色), 无 MLH1 启动子高甲基化。 结论: 虽然这种错配修复缺陷可能是散发性的, 但该错配修复缺陷也可能由 Lynch 或相关综合征引起。 该患者应该转诊进行临床遗传学检测
异常, MLH1 和 PMS2 缺失, 存在 MLH1 启动子高甲基化	MMR 异常, MLH1 缺失和 MLH1 启动子高甲基化: 肿瘤细胞呈错配修复蛋白 MLH1 和 PMS2 表达缺失 (MSH2 和 MSH6 呈正常的胞核着色), 肿瘤存在 MLH1 启动子的高甲基化。 结论: 这种组合表明该错配修复缺陷几乎肯定是散发性的, 而非由 Lynch 综合征引起 该患者不需要转诊进行临床遗传学检测*
异常, MLH1 和 PMS2 缺失, MLH1 启动子高甲基化未检测	MMR 异常, MLH1 缺失和 MLH1 启动子高甲基化未检测: 肿瘤细胞呈错配修复蛋白 MLH1 和 PMS2 表达缺失 (MSH2 和 MSH6 呈正常的胞核着色)。MLH1 启动子高甲基化未被检测。 结论: 这种模式可能是散发的, 尽管该错配修复缺陷可能由 Lynch 或相关综合征引起 建议进行 MLH1 启动子高甲基化检测或者该患者可能需要转诊进行临床遗传学检测
异常, MLH1 和 PMS2 缺失, MLH1 启动子高甲基化待定	MMR 异常, MLH1 缺失和 MLH1 启动子高甲基化检测结果待定: 肿瘤细胞呈错配修复蛋白 MLH1 和 PMS2 表达缺失 (MSH2 和 MSH6 呈正常的胞核着色), 已要求对肿瘤进行 MLH1 启动子高甲基化检测。 结论: 该错配修复缺陷可能是散发性的, 也可能是由 Lynch 或相关综合征引起, MLH1 启动子高甲基化检测的结果将提供进一步的信息。当这些结果获知后, 将签发补充报告
异常, MLH1 和 PMS2 亚克隆性缺失	MMR 异常, MLH1 亚克隆性缺失: 肿瘤细胞呈错配修复蛋白 MLH1 和 PMS2 亚克隆性表达缺失 (MSH2 和 MSH6 呈正常的胞核着色)。 结论: 这种模式可能是散发性的, 尽管该错配修复缺陷可能由于 Lynch 或相关综合征引起, 建议对 MLH1 启动子高甲基化进行检测。
异常, MLH1 和 PMS2 缺失伴 MSH6 亚克隆性缺失	同上述 MLH1 缺失其他情况的报告
异常, MSH6 亚克隆性缺失	MMR IHC 异常, MSH6 亚克隆性缺失: 肿瘤细胞呈错配修复蛋白 MSH6 表达缺失 (MLH1、MSH2 和 PMS2 呈正常的胞核着色)。 结论: 该错配修复缺陷可能与 Lynch 及相关综合征有关 该患者应该转诊进行临床遗传学检测

*尽管有强有力的家族/临床病史, 但仍应该考虑转诊进行临床遗传学检测。

Bethesda 组合: BAT-25、BAT-26、D5S346、D2S123、D17S250, 其中包括 2 个单核苷酸和 3 个双核苷酸重复序列^[52]。但是适用的检测范围已经被扩大, 作为独立的标记物, MSI 检测可能会被灵敏度更高的 NGS 平台所取代^[53]。

MSI 结果分类如下^[52,54]:

- 高水平 MSI (MSI-H): 核心组合的 5 个标记物中有 ≥ 2 个呈现不稳定, 或超过 30% 的标记物在其他标记物组合中呈现不稳定。
- 低水平 MSI (MSI-L): 核心组合中的 5 个标记物中有 1 个呈现不稳定, 或者不足 30% 标记物在其他标记物组合中呈现不稳定。
- MSI 稳定 (MSS): 无标记物在核心组合或其他标记物组合中呈现不稳定。

MSI 检测的准确性与 MMR IHC 相当^[12,44], 但普及率较低^[50], 其精确度很高 (特别是在更新的测试平台上) 且需要的组织非常少^[55]。MSI 检测对评估 MMR IHC 正常而高度可疑 LS 的病例非常有用。MMR 缺陷呈现一定程度的组织和肿瘤类型的特异性; 因此, 不同于 CRC 检测, 对 EC 中 MSI 的解读可能更精细, 除非使用采用大量单核苷酸重复序列的定制组合^[56]。MMR IHC 和 MSI 都可能产生假阴性结果; 在 MSI 检测的病例中, MSH6 缺陷尤其具有不确定性。目前, 尽管 MMR IHC 具有确定特定基因缺陷的优点, 但 MSI 检测的这一局限性将通过引入多基因 (而非单基因) 组合检测来解决。尽管一些中心对所有病例都会同时进行 MMR IHC 和 MSI 检测, 但由于这两种检测之间的高度一致性, 该重复性检测通常被认为是昂贵且没有必要的; 通常情况下, 第二种检测 (MSI 检测) 应该仅在第一种检测 (MMR IHC) 出现意外或不确定的结果时使用。

结论

EC 的分子分型识别了具有不同生物学特征的 4 种主要肿瘤类型。虽然经典型子宫颈内膜样癌和浆液性癌为病理医生所熟悉, 但现在人们已经认识到, 形态学分类是不精确的, 可重复性差, 缺乏风险预测的准确性。准确区分 POLEmut、MMRd、p53abn 和 NSMP EC 需要推荐的推算流程检测。该分类对确保精准的预后评估至关重要, 并为未来数年的最佳临床治疗提供依据。全球的病理医生必须寻求将 POLE

和 MMR 检测纳入常规诊断的方法。

致谢: 作者对 C. Blake Gilks 教授在准备这篇文稿时的建议表示感谢。

参考文献

1. CRUK. Uterine cancer statistics. 2020. Available at: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/uterine-cancer>. Accessed July 3, 2020.
2. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Female genital tumours. WHO classification of tumours series, 5th ed, (Vol. 4). Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2020. Available at: <https://publications.iarc.fr/592>.
3. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1983;15:10-7.
4. Murali R, Davidson B, Fadare O, et al. High-grade endometrial carcinomas: morphologic and immunohistochemical features, diagnostic challenges and recommendations. *Int J Gynecol Pathol* 2019;38(suppl 1):S40-63.
5. Gilks CB, Oliva E, Soslow RA. Poor interobserver reproducibility in the diagnosis of high-grade endometrial carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2013;37:874-81.
6. Han G, Sidhu D, Duggan MA, et al. Reproducibility of histological cell type in high-grade endometrial carcinoma. *Mod Pathol* 2013;26:1594-604.
7. Fadare O, Parkash V, Dupont WD, et al. The diagnosis of endometrial carcinomas with clear cells by gynecologic pathologists: an assessment of interobserver variability and associated morphologic features. *Am J Surg Pathol* 2012;36:1107-18.
8. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on endometrial cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Int J Gynecol Cancer* 2016;26:2-30.
9. Creasman WT, Odicino F, Maisonneuve P, et al. Carcinoma of the corpus uteri. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2006;95(suppl 1):S105-43.
10. Kong A, Johnson N, Kitchener HC, et al. Adjuvant radiotherapy for stage I endometrial cancer: an

- updated Cochrane systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1625–34.
11. Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013;497:67–73.
 12. Talhouk A, McConechy MK, Leung S, et al. A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *Br J Cancer* 2015;113:299–310.
 13. Talhouk A, Hoang LN, McConechy MK, et al. Molecular classification of endometrial carcinoma on diagnostic specimens is highly concordant with final hysterectomy: earlier prognostic information to guide treatment. *Gynecol Oncol* 2016;143:46–53.
 14. Kommoss S, McConechy MK, Kommoss F, et al. Final validation of the ProMisE molecular classifier for endometrial carcinoma in a large population-based case series. *Ann Oncol* 2018;29:1180–8.
 15. Stelloo E, Nout RA, Osse EM, et al. Improved risk assessment by integrating molecular and clinicopathological factors in early-stage endometrial cancer-combined analysis of the PORTEC cohorts. *Clin Cancer Res* 2016;22:4215–24.
 16. Vermij L, Smit V, Nout R, et al. Incorporation of molecular characteristics into endometrial cancer management. *Histopathology* 2020;76:52–63.
 17. Leon-Castillo A, de Boer SM, Powell ME, et al. Molecular classification of the PORTEC-3 trial for high-risk endometrial cancer: impact on prognosis and benefit from adjuvant therapy. *J Clin Oncol* 2020. Doi: 10.1200/JCO.20.00549.
 18. de Jonge MM, Mooyaart AL, Vreeswijk MP, et al. Linking uterine serous carcinoma to BRCA1/2-associated cancer syndrome: a meta-analysis and case report. *Eur J Cancer* 2017; 72:215–25.
 19. Bakhsh S, Kinloch M, Hoang LN, et al. Histopathological features of endometrial carcinomas associated with POLE mutations: implications for decisions about adjuvant therapy. *Histopathology* 2016;68:916–24.
 20. Russo M, Broach J, Sheldon K, et al. Clonal evolution in paired endometrial intraepithelial neoplasia/atypical hyperplasia and endometrioid adenocarcinoma. *Hum Pathol* 2017;67:69–77.
 21. Lucas E, Chen H, Molberg K, et al. Mismatch repair protein expression in endometrioid intraepithelial neoplasia/atypical hyperplasia: should we screen for Lynch syndrome in precancerous lesions? *Int J Gynecol Pathol* 2019;38:533–42.
 22. Krämer P, Talhouk A, Brett MA, et al. Endometrial cancer molecular risk stratification is equally prognostic for endometrioid ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2020. Doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-1268.
 23. Preston BD, Albertson TM, Herr AJ. DNA replication fidelity and cancer. *Semin Cancer Biol* 2010;20:281–93.
 24. Drake JW, Charlesworth B, Charlesworth D, et al. Rates of spontaneous mutation. *Genetics* 1998;148:1667–86.
 25. Johnson RE, Klassen R, Prakash L, et al. A major role of DNA polymerase delta in replication of both the leading and lagging DNA strands. *Mol Cell* 2015;59:163–75.
 26. Rayner E, van Gool IC, Palles C, et al. A panoply of errors: polymerase proofreading domain mutations in cancer. *Nat Rev Cancer* 2016;16:71–81.
 27. Richard GF, Kerrest A, Dujon B. Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in eukaryotes. *Microbiol Mol Biol Rev* 2008;72:686–727.
 28. Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Res* 2008;18:85–98.
 29. Hsieh P, Zhang Y. The Devil is in the details for DNA mismatch repair. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017;114:3552–4.
 30. Li GM. The role of mismatch repair in DNA damage-induced apoptosis. *Oncol Res* 1999;11:393–400.
 31. Stojic L, Brun R, Jiricny J. Mismatch repair and DNA damage signalling. *DNA Repair (Amst)* 2004;3:1091–101.
 32. Stasenko M, Tunnage I, Ashley CW, et al. Clinical outcomes of patients with POLE mutated endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2020;156:194–202.
 33. Leon-Castillo A, Britton H, McConechy MK, et al. Interpretation of somatic POLE mutations in endometrial carcinoma. *J Pathol* 2020;250:323–35.
 34. Leon-Castillo A, Gilvazquez E, Nout R, et al. Clinicopathological and molecular characterisation of ‘multiple-classifier’ endometrial carcinomas. *J Pathol* 2020;250:312–22.
 35. Singh N, Piskorz AM, Bosse T, et al. p53 immunohistochemistry is an accurate surrogate for TP53 mutational analysis in endometrial carcinoma biopsies. *J Pathol* 2020; 250:336–45.

36. Alexandrov LB, Kim J, Haradhvala NJ, et al. The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature* 2020;578: 94–101.
37. Raffone A, Travaglino A, Mascolo M, et al. TCGA molecular groups of endometrial cancer: pooled data about prognosis. *Gynecol Oncol* 2019;155:374–83.
38. Devereaux K, Steiner D, Ho C, et al. A multiplex SNaPshot assay is a rapid and cost-effective method for detecting POLE mutations in endometrial carcinoma. *Mod Pathol* 2020;33(suppl 2):1040.
39. Lynch HT, Snyder CL, Shaw TG, et al. Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nat Rev Cancer* 2015;15:181–94.
40. Crosbie EJ, Ryan NAJ, Arends MJ, et al. The Manchester International Consensus Group recommendations for the management of gynecological cancers in Lynch syndrome. *Genet Med* 2019;21:2390–400.
41. Moller P, Seppala T, Bernstein I, et al. Incidence of and survival after subsequent cancers in carriers of pathogenic MMR variants with previous cancer: a report from the prospective Lynch syndrome database. *Gut* 2017;66:1657–64.
42. Moller P, Seppala TT, Bernstein I, et al. Cancer risk and survival in path_MMR carriers by gene and gender up to 75 years of age: a report from the Prospective Lynch Syndrome Database. *Gut* 2018;67:1306–16.
43. Sloan EA, Ring KL, Willis BC, et al. PD-L1 expression in mismatch repair-deficient endometrial carcinomas, including Lynch syndrome-associated and MLH1 promoter hypermethylated tumors. *Am J Surg Pathol* 2017;41:326–33.
44. Stelloo E, Jansen AML, Osse EM, et al. Practical guidance for mismatch repair-deficiency testing in endometrial cancer. *Ann Oncol* 2017;28:96–102.
45. Mills AM, Longacre TA. Lynch Syndrome screening in the gynecologic tract: current state of the art. *Am J Surg Pathol* 2016;40:e35–44.
46. Niu BT, Hammond RFL, Leen SLS, et al. Two versus four immunostains for Lynch syndrome screening in endometrial carcinoma. *Histopathology* 2019;75:442–5.
47. Raffone A, Travaglino A, Cerbone M, et al. Diagnostic Accuracy of immunohistochemistry for mismatch repair proteins as surrogate of microsatellite instability molecular testing in endometrial cancer. *Pathol Oncol Res* 2020;26:1417–27.
48. Wong RW-C, Palicelli A, Hoang L, et al. Interpretation of p16, p53 and mismatch repair protein immunohistochemistry in gynaecological neoplasia. *Diagn Histopathol* 2020;26:257–77.
49. Singh N, Wong RW-C, Tchrakian N, et al. Interpretation and reporting terminology for mismatch repair protein immunohistochemistry in endometrial cancer. 2020. Available at: <http://www.thebagp.org:education-resources>. Accessed July 23, 2020.
50. Ryan N, Wall J, Crosbie EJ, et al. Lynch syndrome screening in gynaecological cancers: results of an international survey with recommendations for uniform reporting terminology for mismatch repair immunohistochemistry results. *Histopathology* 2019;75:813–24.
51. Gruber SB, Kohlmann W. The genetics of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2003;1:137–44.
52. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5248–57.
53. Nowak JA, Yurgelun MB, Bruce JL, et al. Detection of mismatch repair deficiency and microsatellite instability in colorectal adenocarcinoma by targeted next-generation sequencing. *J Mol Diagn* 2017;19:84–91.
54. Hegde M, Ferber M, Mao R, et al. Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics. ACMG technical standards and guidelines for genetic testing for inherited colorectal cancer (Lynch syndrome, familial adenomatous polyposis, and MYH-associated polyposis). *Genet Med* 2014;16:101–16.
55. Zhang L. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part II. The utility of microsatellite instability testing. *J Mol Diagn* 2008;10:301–7.
56. Wu X, Snir O, Rottmann D, et al. Minimal microsatellite shift in microsatellite instability high endometrial cancer: a significant pitfall in diagnostic interpretation. *Mod Pathol* 2019;32:650–8.

(秦平 江庆萍 翻译 张静 审校)