

错配修复蛋白的表达及MLH1的缺失在子宫内膜癌中的作用——临床病理分析

Szu-Wei Huang, M.D., Hao Lin, M.D., Chao-Cheng Huang, Ph.D., Yu-Che Ou, M.D., Hung-Chun Fu, Ph.D., Ching-Chou Tsai, M.D., Chan-Chao Changchien, M.D., and Chen-Hsuan Wu, M.D.

摘要：子宫内膜癌（EC）中错配修复（MMR）功能缺陷的筛查及错配修复蛋白缺陷型 ECs 的临床病理特征在西方人群中已充分报道，但对亚洲人群的有关研究相对较少。本研究旨在对中国台湾地区 ECs 患者 MMR 状态进行临床病理特征分析。根据 MLH1 缺失情况，我们进一步对 MMR 缺陷（dMMR）病例做亚组分析。收集本研究机构 2017 年 1 月至 2020 年 2 月期间所有 ECs 病例，进行 MLH1, PMS2, MSH2, MSH6 蛋白免疫组化染色分析，并对临床病理变量进行回顾性分析。研究共纳入 231 例 ECs 患者，其中 50 例（21.6%）为 dMMR。在这 50 例患者中，39 例 MLH1 表达缺失，11 例 MLH1 正常表达。与错配修复完整（pMMR）组相比，dMMR 组与高龄、分娩史和高组织学分级显著相关。MLH1 缺失的 ECs 与一些不良病理因素显著相关，包括高级别、淋巴结转移和淋巴管血管侵犯。此外，我们首次报道了与 pMMR 组相比，分娩史和绝经期晚与 MLH1 相关 dMMR (MLH1-dMMR) 组有很强的相关性。总之，通过免疫组化结果将 ECs 患者分为 pMMR 组、MLH1-dMMR 组和非 MLH1 相关 dMMR (非 MLH1-dMMR)

组，可能有助于预测预后及指导治疗。关于分娩史与 MLH1-dMMR ECs 之间强相关性的潜在机制值得深入探究。

关键词：DNA 错配修复；微卫星不稳定性；子宫内膜癌；免疫组化；MLH1 蛋白

(IJGP.2022 Jul.;41(4):407–416)

宫内膜癌（EC）的发病率在全球女性常见恶性肿瘤中位列第七^[1]。在台湾，EC 的发病率逐年上升，自 2012 年以来，EC 已成为最常见的妇科癌症，2017 年新诊病例高达 2695 例^[2]。TCGA 基于基因组特征将 EC 分为四种分子分型^[3]，其中微卫星不稳定（MSI）型是由 DNA 错配修复（MMR）系统功能障碍引起的，此型约占 25%-30%。生理状态下，多个 MMR 基因通过相互作用维持基因组稳定性，从而避免 DNA 复制过程微卫星序列中异常 DNA 的插入和删除。MLH1、PMS2、MSH2 和 MSH6 是 4 个关键的 MMR 基因，在 DNA MMR 中起着至关重要的作用。它们中任意一个受损，都会发生 MMR 系统功能障碍，从而导致 MSI。而 MSI 已被证实和某些特定癌症相关，并被用于检测肿瘤的遗传不稳定性^[4]。

ECs MMR 缺陷可由表观遗传或遗传事件引起。其中因 MLH1 启动子甲基化所致的 MMR 缺陷约占 75%，它导致转录沉默，进而造成蛋白表达缺失。ECs MMR 缺陷还可能与胚系或体细胞突变有关。约 3% 的 ECs 与 MMR 基因的胚系突变有关，即林奇综合征（LS），一种易导致包括 ECs 在内的多种肿瘤发生的遗传综合征^[4-6]。ECs MMR 缺陷的检测越来越被重视，原因如下：首先，对 EC 相关 LS 患者的识别有助于早期发现本人及其亲属中 LS 相关的恶性肿瘤。其次，一些研究表明，MMR 状态是一种预后标志物，可作为早期伴高中危或高危因素的 ECs 辅助放疗的预测指标^[7,8]。此外，试验数据显

From the Departments of Obstetrics and Gynecology (S.-W.H., H.L., Y.-C.O., H.-C.F., C.-C.T., C.-C.C., C.-H.W.); Pathology (C.-C.H.), Kaohsiung Chang Gung Memorial Hospital and Chang Gung University College of Medicine, Kaohsiung; and Graduate Institute of Clinical Medical Sciences, Chang Gung University, Lin Ko (C.-H.W.), Taiwan, ROC.

This work was supported by Chang Gung Memorial Hospital in Taiwan [grant number CMRPG8G1321].

The authors declare no conflict of interest.

Address correspondence to Chen-Hsuan Wu, MD, Department of Obstetrics and Gynecology, Kaohsiung Chang Gung Memorial Hospital, No. 123, Dapi Rd., Niaosong Dist., Kaohsiung City 83301, Taiwan, ROC. E-mail: chenhsuan5@gmail.com.

示，MMR 缺陷可作为包括 EC 在内的多种肿瘤免疫治疗反应的预测标志^[9,10]。

免疫组化 (IHC) 是常用的检测 MMR 缺陷的方法。其优点包括低成本，周转快速以及与 MSI 检测结果的高度一致性^[11]。因此，自 2017 年 1 月起，我们常规对所有 ECs 标本进行 MLH1、PMS2、MSH2 和 MSH6 4 种 MMR 蛋白的 IHC 染色。

已有一些大规模的研究报道西方 ECs 人群 MMR 状态和临床病理变量之间的关系^[12,13]，但来自亚洲人群的相关数据较少。且亚洲人群的研究常存在 ECs 患者选择方面的限制，比如只纳入年轻患者，或只纳入子宫内膜样型 ECs、或散发 ECs、或者仅纳入有 LS 相关家族史或个人史的 ECs 患者等^[14-17]。针对非选择性 ECs 的研究仅日本和泰国有过报道^[18-21]。因此，^{本生殖学会病学组}研究针对台湾地区未经选择的 ECs 患者，全面分析 MMR 状态与临床病理特征的关系。我们还根据是否存在 MLH1 蛋白表达缺失对 dMMR ECs 进行亚组分析，并比较两亚组间的临床病理特征是否存在差异。

材料与方法

病例收集

选取 2017 年 1 月至 2020 年 2 月在我院诊断为 EC 的患者。凡组织充分可保证 MMR IHC 分析以及有完整医疗记录的患者均纳入研究中。临床和病理数据获自于医疗记录。ECs 的分期及组织学分级均参照 2009 年版子宫肿瘤 FIGO 分期。子宫内膜样癌和黏液性癌采用三级分级法，其他组织学类型如浆液性、透明细胞性、癌肉瘤和去分化性癌被定义为 3 级/高级别癌^[22]。

IHC 检测 MMR 蛋白

对福尔马林固定石蜡包埋的 ECs 组织进行 MLH1、PMS2、MSH2 和 MSH6 蛋白的 IHC 检测。其中，>98% (227/231) 的病例为子宫切除术标本，<2% (4/231) 的病例为子宫内膜刮除标本。载玻片在二甲苯中脱蜡，再经过两次梯度酒精进行水化后，转至 3% H₂O₂ 中 15 分钟以阻断内源性过氧化物活性，然后去离子水冲洗 5 分钟。抗原修复采用微波辐射抗原修复法（原文中表述是采用高压抗原修复法，但从后边的具体表述来看是采用微波辐射抗原修复法）。将载玻片置于预热的柠檬酸缓冲液 (pH6.0) 中，微波炉加热 17 分钟。染色及检测系统分别为 Bond-Max 自动染色系统（莱卡，

Australia）、Bond Polymer Refine 检测系统 (DS9800, 莱卡, UK)。本研究中使用的一抗克隆号、抗体浓度及公司分别为 MLH1 (GM011, 1:50, Genemed, South San Francisco)、MSH2 (G219-1129, 1:100, ZETA)、MSH6 (GM024, 1:100, Genemed) 和 PMS2 (A16-4, 1:100, BD Biosciences)。非肿瘤性子宫内膜和间质细胞作内部阳性对照。正常表达定义为肿瘤细胞核染色，表达缺失定义为在内对照阳性细胞出现核染色的情况下，肿瘤细胞核染色完全缺失（图 1）。

根据 MLH1 蛋白表达情况的分组

约 70%-95% 同时缺失 MLH1 和 PMS2 蛋白表达的 ECs 是由于 MLH1 启动子区域高甲基化引起的^[13,23,24]。肿瘤中仅 MSH6 蛋白表达缺失或 MSH6、MLH1 和 PMS2 蛋白表达同时缺失时，往往可能是由于 MLH1/PMS2 异常引起的^[25]。因此，我们将 MLH1 和 PMS2 蛋白表达同时缺失及 MLH1、PMS2 和 MSH6 蛋白表达同时缺失的病例均归为 MLH1-dMMR 组。我们猜测 MLH1-dMMR 组的主要分子表型极有可能是 MLH1 高甲基化。而 MSH2 和 MSH6 蛋白同时缺失和单独缺失 MSH6 蛋白、PMS2 蛋白或者 MSH2 蛋白的病例则归为非 MLH1-dMMR 组，此组被认为与 MMR 基因突变相关^[5,23]。

统计分析

临床病理特征与 MMR 状态的相关性采用单因素和多因素分析。单因素分析采用分类变量的 Pearson χ^2 检验或 Fisher 精确检验。采用多因素 logistic 回归分析 dMMR 的独立影响因素。 P 值 < 0.05 视为有统计学差异。统计学软件为 SPSS version 22 (SPSS, Chicago, IL)。

伦理批准

本研究已于 2020 年 7 月 4 日获得长庚医学基金会机构审查委员会的批准 (No.202000704B0)。

结果

所有入选患者临床信息见表 1，包括 MMR 蛋白表达情况。共收集 231 例患者，年龄 24.4~89.9 岁（平均年龄 56.5 岁）。在本研究人群中，近 3/4 的 EC 患者无肥胖表现（体重指数 < 30kg/m²）。50 例 (21.6%，50/231) 检测出

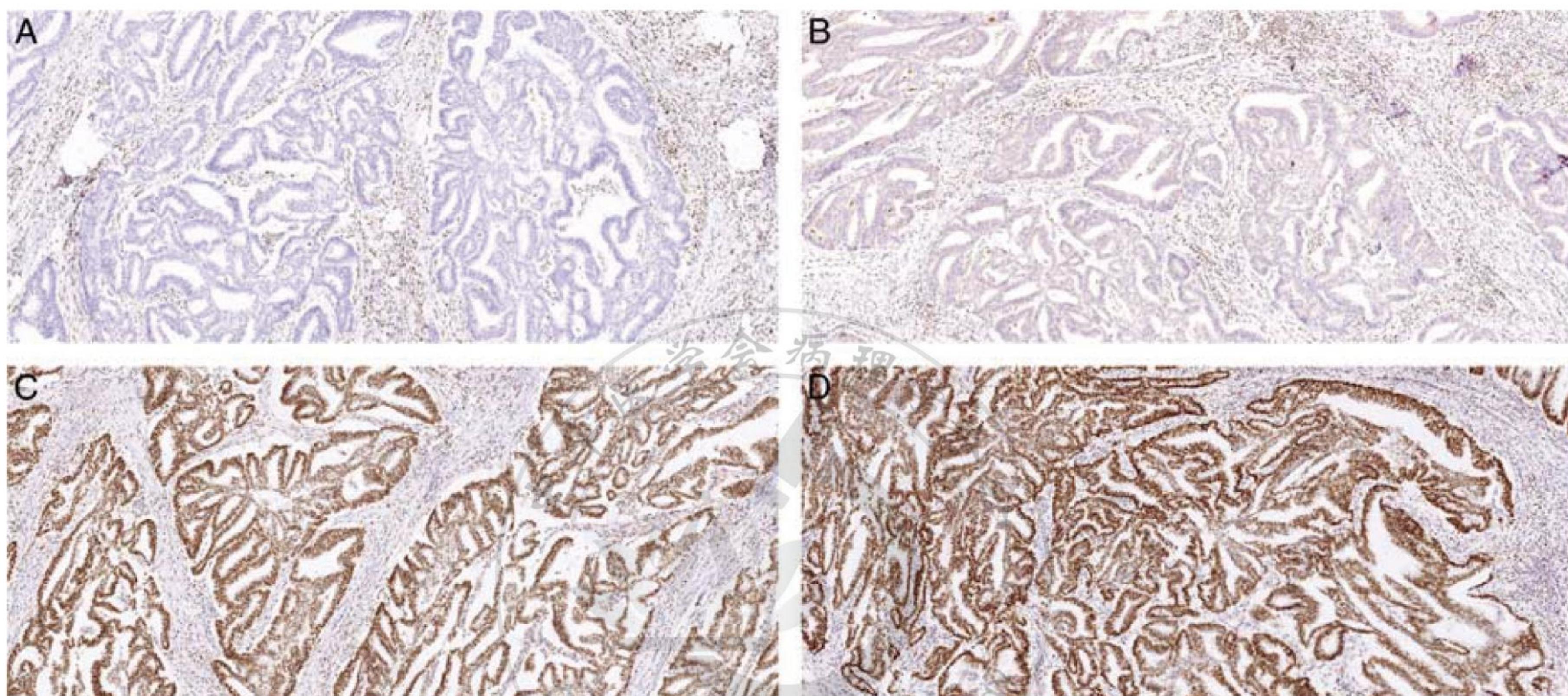


图1.通过 IHC 染色dMMR 子宫内膜癌示例 (200×)。MLH1(A) 和 PMS2 (B) 蛋白表达完全缺失，MSH2 (C) 和 MSH6 (D) 蛋白表达完整。IHC 指代免疫组织化学；MMR，错配修复。

(pMMR)。dMMR 的发生率在 50 岁以下、50~59 岁和 60 岁及以上年龄组分别为 6.7% (4/60)、33.7% (28/83) 和 20.5% (18/88)。50 岁以下年龄组中只有 4 例患者检测出 dMMR，4 例患者的详细信息见表 2。这 4 例患者均伴有 MLH1 和 PMS2 的表达缺失，其中 1 例有 LS 相关家族史，1 例有 LS 相关个人史。

dMMR 组的 50 例病例中，大多数为 MLH1 和 PMS2 蛋白同时丢失 (16.5%，38/231)，其次为单独 MSH6 蛋白丢失 (3.0%) (图 2)。

表 3 显示 dMMR 组 ECs 的临床病理特征明显不同于 pMMR 组 ECs，特别是在年龄、分娩史和肿瘤分级方面，且 dMMR 组有淋巴管血管侵犯 (LVI) 的趋势。与 pMMR 组相比，dMMR 组患者中 ≥ 50 岁及经产妇人数更多。4 例 dMMR ECs 患者有 LS 相关恶性肿瘤家族史 (1 例为结直肠癌，1 例为子宫内膜癌，1 例为胰腺癌，1 例为肾细胞癌)，但均无 LS 相关个人史。其中 3 例肿瘤组织 MLH1 和 PMS2 表达同时缺失，1 例 MSH2 和 MSH6 表达同时缺失，该例也是 4 例中唯一一位年龄 < 50 岁的患者。2 例 dMMR ECs 患者有 LS 相关恶性肿瘤个人史 (均为结直肠癌)，但均无 LS 相关家族史。其中 1 例患者年龄 < 50 岁，表现为 MLH1 和 PMS2 同时缺失，另 1 例患者年龄 > 50 岁，仅 MSH6 缺失。

高级别组织学分级在 dMMR ECs 组中更为常见，但在 FIGO 分期、组织学类型、淋巴结转移和肌层浸润深度方面，dMMR 组和 pMMR 组无显著差异。此外，在雌激素受体/孕

激素受体状态或同步子宫内膜癌和卵巢癌方面亦无显著差异。

根据肿瘤中是否存在 MLH1 缺失，我们进一步将 dMMR EC 患者分出亚组。39 例归为 MLH1-dMMR 组，11 例归为非 MLH1-dMMR 组。与 pMMR 组相比，MLH1-dMMR 肿瘤患者年龄较大，约 90% 诊断时 ≥ 50 岁 ($P = 0.009$)。此外，MLH1-dMMR 组 > 90% 的患者有分娩史，而 pMMR 组 30% 的患者无分娩史 ($P = 0.002$)。MLH1-dMMR 组中 56% 的妇女绝经年龄较晚 (≥ 51 岁)，而 pMMR 组和非 MLH1-dMMR 组中绝经年龄较晚的比例 < 40%。与 pMMR 组相比，MLH1-dMMR 组与绝经年龄较晚有显著相关性 ($P = 0.033$)，同时也与高级别组织学、淋巴结转移和 LVI 相关。在比较非 MLH1-dMMR 组和 pMMR 组之间的临床病理特征时，只有高级别组织学与非 MLH1-dMMR 组相关 (表 4)。

我们还讨论了 dMMR ECs 组以及 MLH1-dMMR 组中 MMR 蛋白表达缺失的独立影响因素 (表 5, 6)。多变量分析显示，dMMR 组患者年龄大多 ≥ 50 岁 [比值比 (OR) : 8.6， $P = 0.004$]，MLH1-dMMR 组患者大多有分娩史 (OR: 6.8， $P = 0.01$)。此外，高级别组织学与 dMMR 组和 MLH1-dMMR 组均独立相关 ($OR > 2$)。非 MLH1-dMMR 组与 pMMR 组不适用多因素分析，因为非 MLH1-dMMR 组没有患者年龄 < 50 岁。

表1. 临床病理特征

变量	N (%)
例数	231
平均年龄,范围(岁)	56.5, 24.4-89.9
分娩史	
0	53 (23.1)
≥ 1	176 (76.9)
绝经	
是	141 (61.0)
否	90 (39.0)
绝经平均年龄(岁)	51
家族史*	
是	12 (5.2)
否	219 (94.8)
个人史†	
是	9 (3.9)
否	222 (96.1)
中位 BMI (kg/m ²)	25.6
<30	173 (74.9)
≥ 30	58 (25.1)
患糖尿病	
是	48 (20.8)
否	183 (79.2)
术前血清 CA-125 (U/mL)	
<40	147 (68.1)
≥ 40	69 (31.9)
分期	
I	168 (72.7)
II	9 (3.9)
III	36 (15.6)
IV	18 (7.8)
组织学类型	
子宫内膜样	187 (81)
黏液性	9 (3.9)
浆液性	9 (3.9)
透明细胞	5 (2.2)
混合性‡	4 (1.7)
其他§	17 (7.4)
初始治疗	
完全分期手术	211 (91.3)
全子宫切除术+双侧输卵管及卵巢切除术	16 (6.9)
姑息性子宫内膜刮除术	4 (1.7)
MMR 状态	
MMR功能缺陷	50 (21.6)
年龄组(岁)	
<50	4
50-59	28
≥ 60	18
MMR功能完整	181 (78.4)
年龄组(岁)	
<50	56
50-59	55
≥ 60	70

*阳性家族史定义为有结直肠、卵巢、子宫内膜、胃、胰腺、小肠、胆道、输卵管、肾盂或脑肿瘤家族史。

†阳性个人史定义为曾患有结直肠、卵巢、胃、胰腺、小肠、胆道、输卵管、肾盂或大脑肿瘤。

‡混合组织学类型包括混合子宫内膜样和透明细胞癌、混合子宫内膜样和浆液性癌、混合子宫内膜样和浆液黏液性癌。

§其他组织学类型包括癌肉瘤和去分化癌。

BMI，身体质量指数；BSO，双侧输卵管-卵巢切除术；MMR，错配修复。

讨论

本研究人群未限定 EC 类型，结果显示 dMMR ECs 患者占比 21.6%，与以往大多数报道中 18%-30% 的比例相似^[6]。值得注意的是，与其他研究（20% - 30%）相比，本研究中年龄 < 50 岁的 dMMR ECs 患者占比相对较低（6.7%）^[15,23,26,27]。另外，我们的数据提示 dMMR ECs 中最常见的模式是 MLH1 和 PMS2 同时缺失，占所有 ECs 的 16.5%。而此前的一项荟萃分析结果则显示 MLH1 蛋白缺失是 dMMR ECs 中最常见的模式（19%）^[6]。来自中国大陆地区、泰国和希腊的少数研究则报道 MSH6 缺失或 MSH2 缺失是 ECs 中最常见模式^[19,27,28]。不同研究中 dMMR 模式的不一致可能是由于地域种族差异所致。

正如前期分子研究所揭示的，dMMR 涉及两种主要的分子表型：表观遗传型 dMMR 和突变型 dMMR^[4]。大多数 MLH1-dMMR ECs 都是由 MLH1 高甲基化引起的，被定义为表观遗传型 dMMR。

衰老和营养史是诱发与癌症相关的 DNA 甲基化的两大主要因素^[29]。一项关于结直肠癌的研究报道，衰老与 MLH1 启动子高甲基化和 MSI 散发型结直肠癌的发生相关^[30]。美国两项大规模研究显示，表观遗传型 dMMR ECs 在老年组更常见^[12,31]。我们的研究显示，高龄与 dMMR ECs 和 MLH1-dMMR ECs 均相关，这一结果支持衰老是 ECs 中 MLH1 启动子高甲基化的关键病因。

我们分析了与 ECs 相关的 2 个生殖方面的因素：绝经年龄和分娩情况。台湾女性绝经的平均年龄为 50.2 岁^[32]。因此，我们将绝经期晚的年龄视为 ≥ 51 岁。已有研究表明，绝经年龄晚是 ECs 的一个危险因素^[33]。本研究首次表明，与 pMMR ECs 相比，绝经期晚与 MLH1-dMMR ECs 有更高相关性。

少有报道关注 ECs 患者分娩情况与 MMR 状态之间的关系。无论 MMR 状态如何，分娩被认为对 ECs 具有对抗作用，怀孕期间的高孕酮暴露保障了这一作用^[13,34,35]。然而，与 pMMR ECs 相比，分娩史对 MLH1 高甲基化的 dMMR ECs

表2. < 50 岁 dMMR EC 患者的临床信息

患者序号	1	2	3	4
年龄 (岁)	49	43	40	49
分娩史	0	2	1	2
BMI (kg/m ²)	29.9	31.2	21.1	25.7
患糖尿病	否	否	否	是
家族史	是	否	否	否
个人史	否	是	否	否
组织学类型	未分化	子宫内膜样	子宫内膜样	子宫内膜样
分期	III	I	III	III
MLH1	缺失	缺失	缺失	缺失
MSH2	完整	完整	完整	完整
MSH6	完整	完整	完整	完整
PMS2	缺失	缺失	缺失	缺失

BMI，身体质量指数；MMR，错配修复。

的对抗作用似乎不那么强。Nagle 等人证明，与未产妇相比，经产妇 pMMR ECs OR 显著降低至 0.48 (95% 置信区间: 0.27-0.86)。散发性 dMMR ECs OR 降低至 0.60 (95% 置信区间: 0.25 - 1.46)，两者无显著性差异。而该研究中散发性 dMMR ECs 伴有 MLH1 高甲基化的比例高达 77.6%^[13]。

本研究EC人群中，我们发现经产的 EC 患者出现 dMMR 的可能性更高，在多变量分析中，分娩是 MLH1-dMMR 的独立影响因素，OR 值为 6.8。我们的结果与 Grzankowski 等人^[36]的报道相似，他们报道在 60 岁以下的 EC 患者中，与 pMMR 相比，分娩情况与 dMMR 相关。在日本和韩国进行的两项研究也提到了该种趋势，即经产妇更可能发生 dMMR ECs^[15, 20]。然而，这些研究都没有特别阐述表观遗传型 dMMR ECs 或 MLH1-dMMR ECs 与分娩的相关性。本研究

数据显示了分娩和 MLH1-dMMR ECs 较强的关联性，这提示可能存在一些与分娩相关的因素减弱了妊娠期间高孕酮水平对 EC 患者的对抗作用。分娩次数与绝经年龄较晚有关，特别是在社会经济地位较高的女性中^[37, 38]，这往往导致在子宫内膜老化过程中 MMR 体系发生功能障碍，因为仍然有足够的雌激素刺激子宫内膜细胞增殖。此外，Treas 等人^[39]已经证明，长期暴露于雌激素和砷中可能导致 MLH1 高甲基化，并诱导前列腺上皮细胞恶性转化。我们假设绝经年龄较晚和其他潜在因素如营养状况、生活方式或分娩史相关的环境暴露，促使子宫内膜发生 MLH1 启动子甲基化。本研究在 EC 患者中的结果值得进一步探索以确定这些与分娩史相关的因素。

众所周知，肥胖是 EC 的危险因素^[40]，在西方国家，超过一半 EC 患者的体重指数 (BMI) $\geq 30\text{kg}/\text{m}^2$ ^[12, 31]。相比之下，我们的 EC 患者中只有 25% BMI $\geq 30\text{kg}/\text{m}^2$ 。多项研究表明，EC 患者中低 BMI 与 dMMR 相关，但本研究数据未有提示^[15, 20, 41]。

MSI 已被报道在子宫内膜样 ECs 中更常见。两项 EC 人群的研究报告显示，dMMR EC 中子宫内膜样型占比 (90%) 显著高于 pMMR EC 组 (74% - 85%)^[18, 42]。然而，本研究中 dMMR ECs 组和 pMMR ECs 组子宫内膜样型占比相似 (均在 90% 左右)。这一结果与 Cosgrove 等人^[31]和 Shikama 等人^[20]报道一致，他们研究表明子宫内膜样型在 dMMR 和 pMMR ECs 中占比至少 90%。一般来说，子宫内膜样型是 dMMR ECs 的主要组织学亚型。不同研究中 dMMR ECs 和 pMMR ECs 之间子宫内膜样型占比的不一致，可能是由于

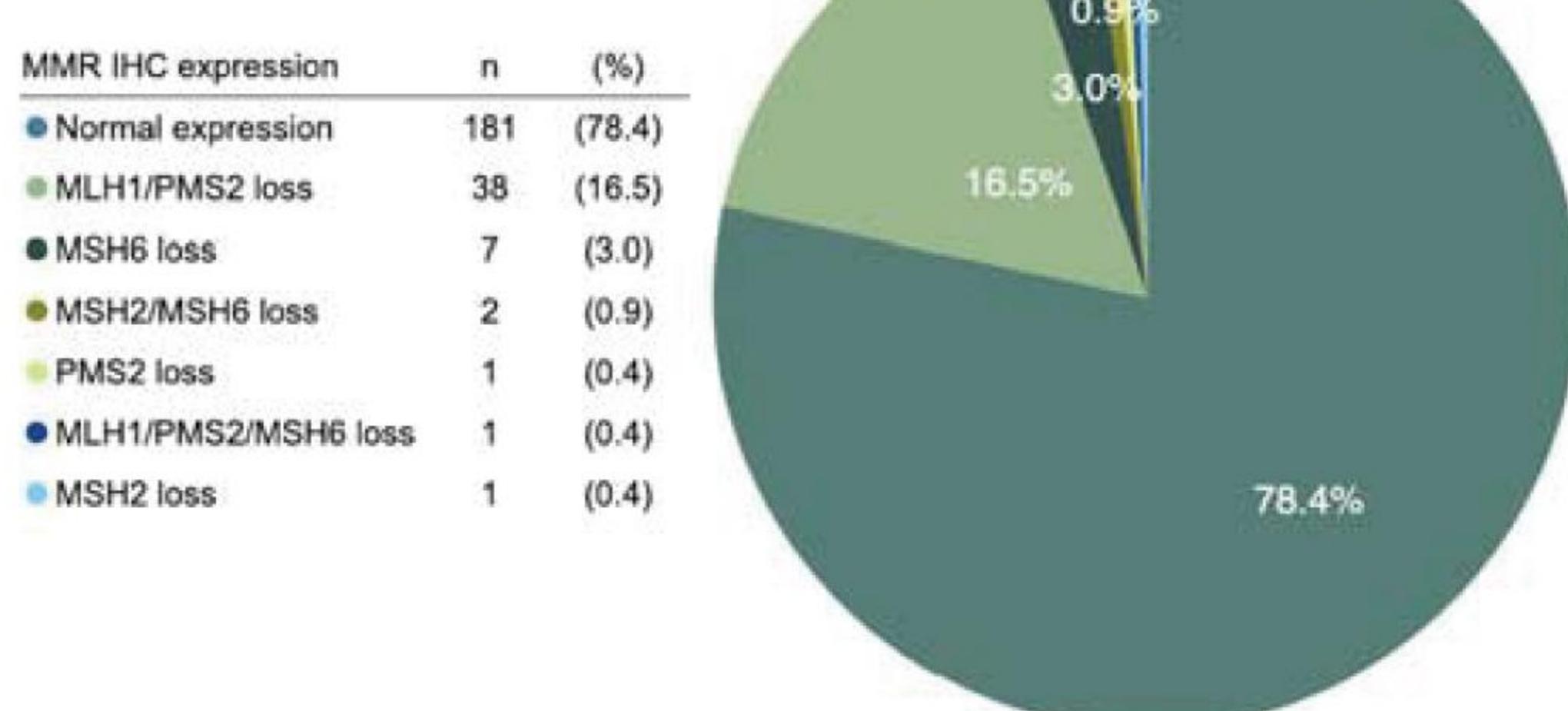
**图2.** 错配修复蛋白免疫组化表达模式。

表3. 错配修复状态的临床病理特征

变量	dMMR	pMMR	P
年龄(岁)			
<50	4 (8)	56 (30.9)	0.001
≥50	46 (92)	125 (69.1)	
分娩史			
0	3 (6)	50 (27.9)	0.001
≥1	47 (94)	129 (72.1)	
绝经			
是	35 (70)	106 (58.6)	0.190
否	15 (30)	75 (41.4)	
绝经年龄(岁)			
<51	18 (40.9)	44 (39.3)	0.858
≥51	26 (59.1)	68 (60.7)	
家族史			
是	4 (8)	8 (4.4)	0.296
否	46 (92)	173 (95.6)	
个人史			
是	2 (4)	7 (3.9)	1.0
否	48 (96)	174 (96.1)	
BMI (kg/m ²)			
<30	40 (80)	133 (73.5)	0.347
≥30	10 (20)	48 (26.5)	
患糖尿病			
是	12 (24)	36 (19.9)	0.526
否	38 (76)	145 (80.1)	
CA-125 (U/mL)			
<40	37 (78.7)	110 (65.1)	0.076
≥40	10 (21.3)	59 (34.9)	
分期			
I/II	37 (74)	140 (77.3)	0.620
III/IV	13 (26)	41 (22.7)	
组织学类型			
子宫内膜样	40 (80)	147 (81.2)	0.846
非子宫内膜样	10 (20)	34 (18.8)	
组织学分级			
1	13 (26.5)	92 (51.1)	0.002
2/3	36 (73.5)	88 (48.9)	
淋巴结转移*			
是	12 (24)	26 (14.4)	0.104
否	38 (76)	155 (85.6)	
淋巴管血管侵犯			
是	25 (51)	64 (36.8)	0.072
否	24 (49)	110 (63.2)	
肌层浸润†			
浅表浸润	27 (55.1)	115 (64.6)	0.223
深部浸润	22 (44.9)	63 (35.4)	
ER			
阳性	45 (90)	154 (89)	0.843
阴性	5 (10)	19 (11)	
PR			
阳性	39 (78)	139 (79.9)	0.771
阴性	11 (22)	35 (20.1)	
同步子宫内膜癌和卵巢癌			
是	3 (6)	11 (6.1)	1.0

否 47 (94) 170 (93.9)

数据以数字表示 (%)。

* 90% 的病例通过病理评估，9% 的病例通过临床评估，包括计算机断层扫描 (CT)、磁共振成像 (MRI) 和正电子发射断层扫描 (PET-CT)。

† 子宫肌层浸润 < 1/2 肌层厚度定义为浅表浸润，≥ 1/2 为深部浸润。

BMI，身体质量指数；dMMR，错配修复蛋白缺失；ER，雌激素受体；LVI，淋巴管血管侵犯；pMMR，错配修复蛋白完整；PR，孕激素受体；SEOC，同步子宫内膜癌和卵巢癌。

pMMR ECs 组分子表型的异质性造成的^[3, 4]。

许多研究已经证实了 ECs 中 MMR 状态和分期的关系。Tangjitgamol 和他的同事以及 Kato 和他的同事均报告了 dMMR ECs 与早期阶段显著相关。值得注意的是，在这两项研究中，dMMR ECs 中发生 MLH1 缺失的占比相对较低，为 60%-70%^[18, 19]，而包括本研究在内的其他研究该占比则接近 80%^[13, 42]。本研究结果与许多大规模研究结果相似，认为 dMMR 与分期没有相关性^[20, 41, 42]。McMeekin 等人^[12]和 Cosgrove 等人^[31]进一步报道，表观遗传型 dMMR ECs 与进展期相关。在本研究中，MLH1-dMMR 组表现出进展期的趋势 (30.8% vs. 22.7% ; P = 0.282)，但无统计学意义。综上所述，dMMR ECs 中表观遗传型所占比例可能是影响 dMMR 状态与分期关系的重要因素。

在本研究中，我们发现 MLH1-dMMR 组和非 MLH1-dMMR 组中肿瘤分级为 2/3 级的发生率均高于 pMMR 组。多因素分析显示 dMMR ECs 出现高级别的几率是 pMMR ECs 的 2.6 倍，这与之前的研究一致^[12, 15, 31, 42]。此外，我们研究表明，MLH1-dMMR 组也与 2 个影响预后的病理因素相关：LVI 的存在和淋巴结的转移。MLH1-dMMR 肿瘤的病理特征与以往报道的表观遗传型肿瘤相似^[12, 31]。在多个病理变量中，多因素分析显示仅高级别与 MLH1-dMMR ECs 相关。

本研究存在一定的局限性。首先，我们的样本量相对较小，仅 39 例 MLH1-dMMR 病例和 11 例非 MLH1-dMMR 病例。其次，本研究仅根据 MMR 状态进行详细的临床病理特征描述，但由于随访时间短尚未对这些 dMMR EC 患者进行预后分析。

总之，通过 IHC 方法，我们发现 MLH1 缺失的 ECs 与一些不良病理因素相关。高级别是 dMMR ECs 的独立影响因

表4. 临床病理变量和MMR亚组的关系

变量	pMMR	MLH1-dMMR	非MLH1-dMMR	P *	P †
年龄(岁)					
<50	56 (30.9)	4 (10.3)	0 (0)	0.009	—‡
≥ 50	125 (69.1)	35 (89.7)	11 (100)		
分娩史					
0	50 (27.9)	2 (5.1)	1 (9)	0.002	0.294
≥ 1	129 (72.1)	37 (94.9)	10 (91)		
绝经					
是	106 (58.6)	27 (69.2)	8 (72.7)	0.279	0.530
否	75 (41.4)	12 (30.8)	3 (27.3)		
绝经年龄(岁)					
<51	113 (62.4)	17 (43.6)	7 (63.6)	0.033	1.0
≥ 51	68 (37.6)	22 (56.4)	4 (36.4)		
家族史					
是	8 (4.4)	3 (7.7)	1 (9)	0.416	0.419
否	173 (95.6)	36 (92.3)	10 (91)		
个人史					
是	7 (3.9)	1 (2.6)	1 (9)	1.000	0.382
否	174 (96.1)	38 (97.4)	10 (91)		
BMI (kg/m ²)					
<30	133 (73.5)	31 (79.5)	9 (81.8)	0.435	0.731
≥ 30	48 (26.5)	8 (20.5)	2 (18.2)		
患糖尿病					
是	36 (19.9)	8 (20.5)	4 (36.4)	0.930	0.245
否	145 (80.1)	31 (79.5)	7 (63.6)		
CA-125 (U/mL)					
<40	110 (65.1)	29 (80.6)	8 (72.7)	0.071	0.751
≥ 40	59 (34.9)	7 (19.4)	3 (27.3)		
分期					
I/II	140 (77.3)	27 (69.2)	10 (91)	0.282	0.461
III/IV	41 (22.7)	12 (30.8)	1 (9)		
组织学类型					
子宫内膜样	147 (81.2)	30 (76.9)	10 (91)	0.540	0.692
非子宫内膜样	34 (18.8)	9 (23.1)	1 (9)		
组织学分级					
1	92 (51.1)	11 (28.9)	2 (18.2)	0.013	0.034
2/3	88 (48.9)	27 (71.1)	9 (81.8)		
淋巴结转移					
是	26 (14.4)	11 (28.2)	1 (9)	0.036	1.0
否	155 (85.6)	28 (71.8)	10 (91)		
淋巴管血管侵犯					
是	64 (36.8)	22 (57.9)	3 (27.3)	0.016	0.749
否	110 (63.2)	16 (42.1)	8 (72.7)		
肌层浸润					
浅表浸润	115 (64.6)	19 (50)	8 (72.7)	0.092	0.750
深部浸润	63 (35.4)	19 (50)	3 (27.3)		
ER					
阳性	154 (89)	36 (92.3)	9 (81.8)	0.772	0.364
阴性	19 (11)	3 (7.7)	2 (18.2)		
PR					
阳性	139 (79.9)	32 (82.1)	7 (63.6)	0.759	0.248
阴性	35 (20.1)	7 (17.9)	4 (36.4)		
同步子宫内膜癌和卵巢癌					
是	11 (6.1)	2 (5.1)	1 (9)	1.000	0.518
否	170 (93.9)	37 (94.9)	10 (91)		

数据以数字表示 (%)。

* p 值：比较 MLH1-dMMR 组和 pMMR 组。

† p 值：比较非 MLH1-dMMR 组和 pMMR 组。

‡：由于非 MLH1-dMMR 组没有 50 岁以下的病例，因此不适用单因素分析。

BMI，身体质量指数；dMMR，错配修复蛋白缺失；ER，雌激素受体；LVI，淋巴管血管侵犯；MLH1-dMMR，MLH1相关错配修复缺失；MMR，错配修复；non-MLH1-dMMR，非 MLH1 相关错配修复缺失；pMMR，错配修复蛋白完整；PR，孕激素受体；SEOC，同步子宫内膜癌和卵巢癌。

表5. 多因素分析 dMMR 独立影响因素

变量	dMMR, 例数 (%)	pMMR, 例数 (%)	OR (95% CI)	P
年龄 (岁)				
<50	4 (8)	50 (27.9)	1	
≥ 50	46 (92)	129 (72.1)	8.6 (2.0–37.3)	0.004
组织学分级				
1	13 (26.5)	92 (51.1)	1	
2/3	36 (73.5)	88 (48.9)	2.6 (1.2–5.5)	0.012

进入多因素分析的变量有：年龄、分娩史、绝经年龄、CA-125、分级、淋巴管血管侵犯。

95% CI 表示 95% 置信区间；dMMR，错配修复缺失；MMR，错配修复；OR，优势比；pMMR，错配修复蛋白完整。

表6. 多因素分析 MLH1-dMMR 独立影响因素

变量	MLH1-dMMR, 例数 (%)	pMMR, 例数 (%)	OR (95% CI)	P
分娩史				
0	2 (5.1)	56 (30.9)	1	
≥1	37 (94.9)	125 (69.1)	6.8 (1.6–29.6)	0.01
组织学分级				
1	11 (28.9)	92 (51.1)	1	
2/3	27 (71.1)	88 (48.9)	2.4 (1.1–5.3)	0.025

进入多因素分析的变量有：年龄、分娩史、绝经年龄、分级、淋巴结转移、淋巴管血管侵犯。

95% CI 表示 95% 置信区间；MLH1-dMMR：MLH1 相关错配修复缺失；MMR：错配修复；OR：优势比；pMMR：错配修复蛋白完整。

素。IHC 是 MMR 状态最简单、成本最低的检测方法，结果可能有助于临床医生对 EC 患者进行分诊和预测疾病行为。此外，MLH1 缺失的 EC 患者与绝经期晚和分娩状态显著相关，此前尚无类似报道。我们的结果表明，绝经期晚是表观遗传型 dMMR ECs 的重要因素。分娩与 MLH1-dMMR ECs 密切相关，其潜在机制值得深入研究。

参考文献

- Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer* 2019;144:1941–53.
- Taiwan Cancer Registry Task Force. Taiwan Cancer Registry Annual Report, 2016. 2018. Available at: <https://www.hpa.gov.tw/Pages/List.aspx?nodeid=119>. Accessed May 6, 2020.
- Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013;497:67–73.
- Wadee R, Grayson W. A potpourri of pathogenetic pathways in endometrial carcinoma with a focus on Lynch syndrome. *Ann Diagn Pathol* 2019;39:92–104.
- Kohlmann W, Gruber SB. Lynch syndrome. Seattle, WA: University of Washington, Seattle; 1993.
- Ryan NAJ, Glaire MA, Blake D, et al. The proportion of endometrial cancers associated with Lynch syndrome: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Genet Med* 2019;21:2167–80.
- Backes FJ, Haag J, Cosgrove CM, et al. Mismatch repair deficiency identifies patients with high-intermediate-risk (HIR) endometrioid endometrial cancer at the highest risk of recurrence: a prognostic biomarker. *Cancer* 2019;125:398–405.
- Reijnen C, Kusters-Vandervelde HVN, Prinsen CF, et al. Mismatch repair deficiency as a predictive marker for response to adjuvant radiotherapy in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2019;154:124–30.
- Mills AM, Liou S, Ford JM, et al. Lynch syndrome screening should be considered for all patients with newly diagnosed endometrial cancer. *Am J Surg Pathol* 2014;38:1501–9.
- Zhao P, Li L, Jiang X, et al. Mismatch repair deficiency/microsatellite instability-high as a predictor for anti-PD-1/P-DL1 immunotherapy efficacy. *J Hematol Oncol* 2019;12:54.
- McConechy MK, Talhouk A, Li-Chang HH, et al. Detection of DNA mismatch repair (MMR) deficiencies by immunohistochemistry can effectively diagnose the microsatellite instability (MSI) phenotype in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol* 2015;137:306–10.
- McMeekin DS, Tritchler DL, Cohn DE, et al. Clinico-pathologic significance of mismatch repair defects in endometrial cancer: an NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2016;34:3062–8.

13. Nagle CM, O’ Mara TA, Tan Y, et al. Endometrial risk and survival by tumor MMR status. *J Gynecol Oncol* 2018;29:e39.
14. He Y, Tao X, Huang F, et al. Clinicopathologic features of endometrial cancer in Chinese patients younger than 50 years with a family history of cancer. *Medicine (Baltimore)* 2018;97:e12968.
15. Kim J, Kong JK, Yang W, et al. DNA mismatch repair protein immunohistochemistry and MLH1 promotor methylation testing for practical molecular classification and the prediction of prognosis in endometrial cancer. *Cancers* 2018;10:279.
16. Saeki H, Hlaing MT, Horimoto Y, et al. Usefulness of immunohistochemistry for mismatch repair protein and micro satellite instability examination in adenocarcinoma and background endometrium of sporadic endometrial cancer cases. *J Obstet Gynaecol Res* 2019;45:2037–42.
17. Wang Y, Xue F, Broaddus RR, et al. Clinicopathological features in endometrial carcinoma associated with Lynch syndrome in China. *Int J Gynecol Cancer* 2009;19:651–6.
18. Kato M, Takano M, Miyamoto M, et al. DNA mismatch repair-related protein loss as a prognostic factor in endometrial cancers. *J Gynecol Oncol* 2015;26:40–5.
19. Tangjitgamol S, Kittisiam T, Tanvanich S. Prevalence and prognostic role of mismatch repair gene defect in endometrial cancer patients. *Tumour Biol* 2017;39:1010428317725834.
20. Shikama A, Minaguchi T, Matsumoto K, et al. Clinicopathologic implications of DNA mismatch repair status in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol* 2016;140:226–33.
21. Yamamoto A, Yamaguchi T, Suzuki O, et al. Prevalence and molecular characteristics of DNA mismatch repair deficient endometrial cancer in a Japanese hospital-based population. *Jpn J Clin Oncol* 2021;51:60–9.
22. Amant F, Mirza MR, Koskas M, et al. Cancer of the corpus uteri. *Int J Gynecol Obstet* 2018;143:37–50.
23. Buchanan DD, Tan YY, Walsh MD, et al. Tumor mismatch repair immunohistochemistry and DNA MLH1 methylation testing of patients with endometrial cancer diagnosed at age younger than 60 years optimizes triage for population-level germline mismatch repair gene mutation testing. *J Clin Oncol* 2014;32:90–100.
24. Dillon JL, Gonzalez JL, DeMars L, et al. Universal screening for Lynch syndrome in endometrial cancers: frequency of germline mutations and identification of patients with Lynch like syndrome. *Hum Pathol* 2017;70:121–8.
25. Shia J, Zhang L, Shike M, et al. Secondary mutation in a coding mononucleotide tract in MSH6 causes loss of immunexpression of MSH6 in colorectal carcinomas with MLH1/ PMS2 deficiency. *Mod Pathol* 2013;26:131–8.
26. Matthews KS, Estes JM, Conner MG, et al. Lynch syndrome in women less than 50 years of age with endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 2008;111:1161–6.
27. Long Q, Peng Y, Tang Z, et al. Role of endometrial cancer abnormal MMR protein in screening Lynch-syndrome families. *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7:7297–303.
28. Fountzilas E, Kotoula V, Pentheroudakis G, et al. Prognostic implications of mismatch repair deficiency in patients with nonmetastatic colorectal and endometrial cancer. *ESMO Open* 2019;4:e000474.
29. Mikeska T, Dobrovic A. Epigenetic basis of human cancer. In: Coleman WB, Tsongalis GJ, eds. *The Molecular Basis of Human Cancer*. New York, NY: Humana Press; 2017.
30. Nakagawa H, Nuovo GJ, Zervos EE, et al. Age-related hypermethylation of the 5' region of MLH1 in normal colonic mucosa is associated with microsatellite-unstable colorectal cancer development. *Cancer Res* 2001;61:6991–5.
31. Cosgrove CM, Cohn DE, Hampel H, et al. Epigenetic silencing of MLH1 in endometrial cancers is associated with larger tumor volume, increased rate of lymph node positivity and reduced recurrence-free survival. *Gynecol Oncol* 2017;146:588–95.
32. Shen TY, Strong C, Yu T. Age at menopause and mortality in Taiwan: a cohort analysis. *Maturitas*

- 2020;136:42–8.
33. Schonfeld SJ, Hartge P, Pfeiffer RM, et al. An aggregated analysis of hormonal factors and endometrial cancer risk by parity. *Cancer* 2013;119:1393–401.
 34. Dashti SG, Chau R, Ouakrim DA, et al. Female hormonal factors and the risk of endometrial cancer in Lynch syndrome. *JAMA* 2015;314:61–71.
 35. Husby A, Wohlfahrt J, Melbye M. Pregnancy duration and endometrial cancer risk: nationwide cohort study. *BMJ* 2019;366: l4693.
 36. Grzankowski KS, Shimizu DM, Kimata C, et al. Clinical and pathologic features of young endometrial cancer patients with loss of mismatch repair expression. *Gynecol Oncol* 2012;126:408–12.
 37. Gold EB. The timing of the age at which natural menopause occurs. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2011;38:425–40.
 38. Langton CR, Whitcomb BW, Purdue-Smithe AC, et al. Association of parity and breastfeeding with risk of early natural menopause. *JAMA Netw Open* 2020;3:e1919615.
 39. Treas J, Tyagi T, Singh KP. Chronic exposure to arsenic, estrogen, and their combination causes increased growth and transformation in human prostate epithelial cells potentially by hypermethylation-mediated silencing of MLH1. *Prostate* 2013; 73:1660–72.
 40. Reeves GK, Pirie K, Beral V, et al. Cancer incidence and mortality in relation to body mass index in the Million Women Study: cohort study. *BMJ* 2007;335:1134.
 41. Joehlin-Price AS, Perrino CM, Stephens J, et al. Mismatch repair protein expression in 1049 endometrial carcinomas, associations with body mass index, and other clinicopathologic variables. *Gynecol Oncol* 2014;133:43–7.
 42. Pina A, Wolber R, McAlpine JN, et al. Endometrial cancer presentation and outcomes based on mismatch repair protein expression from a population-based study. *Int J Gynecol Cancer* 2018;28:1624–30.

(刘洋 翻译 刘爱军 审校)