

子宫内膜癌错配修复蛋白缺失亚组和 MLH1 甲基化与组织病理学特征的相关性

Tuce Soylemez, M.D., Gozde Kir, M.D., Zeynep C. Olgun, M.D., Safiye R. Dur, M.D.,
Muzaffer I. Tosun, M.D., Handan Ankarali, M.D., Berna Demircan, M.D., Ibrahim A. Kaya, M.D.,
and Ates Karateke, M.D.

摘要：目前关于错配修复 Mismatch repair (MMR) 蛋白缺陷和 MLH1 甲基化与临床病理特征相关性的研究比较有限。在本研究中，我们分析了 198 例连续性子宫内膜癌切除标本中 MMR 蛋白表达情况以及伴有 MLH1、PMS2 表达缺失肿瘤中的基因甲基化状态。由此，我们评估 MMR 蛋白表达缺失亚组与临床病理特征的相关性。单因素分析显示，深肌层浸润和肿瘤相关淋巴细胞在 MMR 蛋白表达缺失肿瘤中更常见（分别为 $P=0.023$ 和 $P=0.001$ ）。多因素 Logistic 回归分析表明，仅肿瘤相关淋巴细胞与 MMR 蛋白表达缺失显著相关 ($P=0.002$, $OR=2.674$, $95\%CI=1.418-5.045$)。我们还比较了 MLH1 和 PMS2 表达缺失与其他蛋白表达缺失肿瘤的临床病理特征。进而比较了 MLH1 甲基化肿瘤与 MMR 蛋白缺陷、未甲基化肿瘤的临床病理特征。51/54 例 MLH1 和 PMS2 表达缺失的肿瘤存在 MLH1 甲基化。在单因素分析中，较大瘤体与 MLH1、PMS2 表达缺失以及 MLH1 甲基化显著相关（分别为 $P=0.004$ 和 $P=0.005$ ）。多因素 Logistic 回归分析显示，较大瘤体与 MLH1 和 PMS2 表达缺失以及 MLH1 甲基化显著

相关（分别为 $P=0.002$, $OR=14.222$, $95\%CI=2.560-79.026$ 和 $P=0.008$, $OR=22.222$, $95\%CI=2.220-222.395$ ）。我们的结果表明 MLH1 和 PMS2 表达缺失发生率 (34.3%) 略高于先前的研究，这可能是由于各种突变频率存在种族差异。

关键词：子宫内膜癌；错配修复蛋白；甲基化分析
(IJGP.2022 sep;41(5):484-495)

子 宫内膜癌 (Endometrial carcinoma, EC) 是西方国家最常见的妇科恶性肿瘤。2018 年全球病例估计为 380,000 例 (<https://www.wcrf.org/diet-and-cancer/cancer-trends/endometrial-cancer-statistics>)。

与 MMR 蛋白表达完好的 EC 相比，错配修复 (MMR) 缺陷的 EC 存在肿瘤浸润淋巴细胞增多和新抗原产生增加等免疫学差异^[1-6]。由于 MLH1 甲基化几乎不存在于林奇综合征 (Lynch syndrome, LS) 相关的 ECs 中，因此 MLH1 甲基化被用于筛查散发性肿瘤。MLH1 和 PMS2 表达缺失的 ECs 更可能是由 MLH1 启动子甲基化导致的，而非继发于 LS。提示为 LS 的 MMR 蛋白表达缺失模式包括 MSH2 和 MSH6 同时缺失、MSH6 单独缺失和 PMS2 单独缺失^[7,8]。在本研究中，我们分析了 MMR 表达缺失与临床病理特征的相关性。我们比较了 MLH1 和 PMS2 表达缺失与其他蛋白表达缺失的肿瘤之间的临床病理特征。另外，我们还比较了 MLH1 甲基化与 MMR 表达缺失未甲基化肿瘤之间的临床病理特征。根据我们对现有文献的研究，已有数项研究评估 MMR 蛋白缺失亚组以及 MLH1 甲基化状态与临床病理特征之间的关系^[7-12]。

材料与方法

伦理批准

我们的研究获得了国际审查委员会的伦理批准，登记号为 2019/0513。

From the Pathology Department, Istanbul Basaksehir Cam and Sakura City Hospital (T.S.); Pathology Department, Istanbul Medeniyet University Goztepe Training and Research Hospital (G.K., Z.C.O.); Istanbul Medeniyet University School of Medicine (S.R.D.); Pathology Department, Umraniye Training and Research Hospital (M.I.T.); Biostatistics and Medical Informatics Department, Istanbul Medeniyet University (H.A.); Department of Medical Biology (B.D., I.A.K.); and Department of Gynecology, Istanbul Medeniyet University Goztepe Training and Research Hospital (A.K.), Istanbul, Turkey.
The authors declare no conflict of interest.

Address correspondence to Tuce Soylemez, MD, Pathology Department, Istanbul Basaksehir Cam and Sakura City Hospital, Istanbul, Turkey. E-mail: tucesoylemez@hotmail.com.

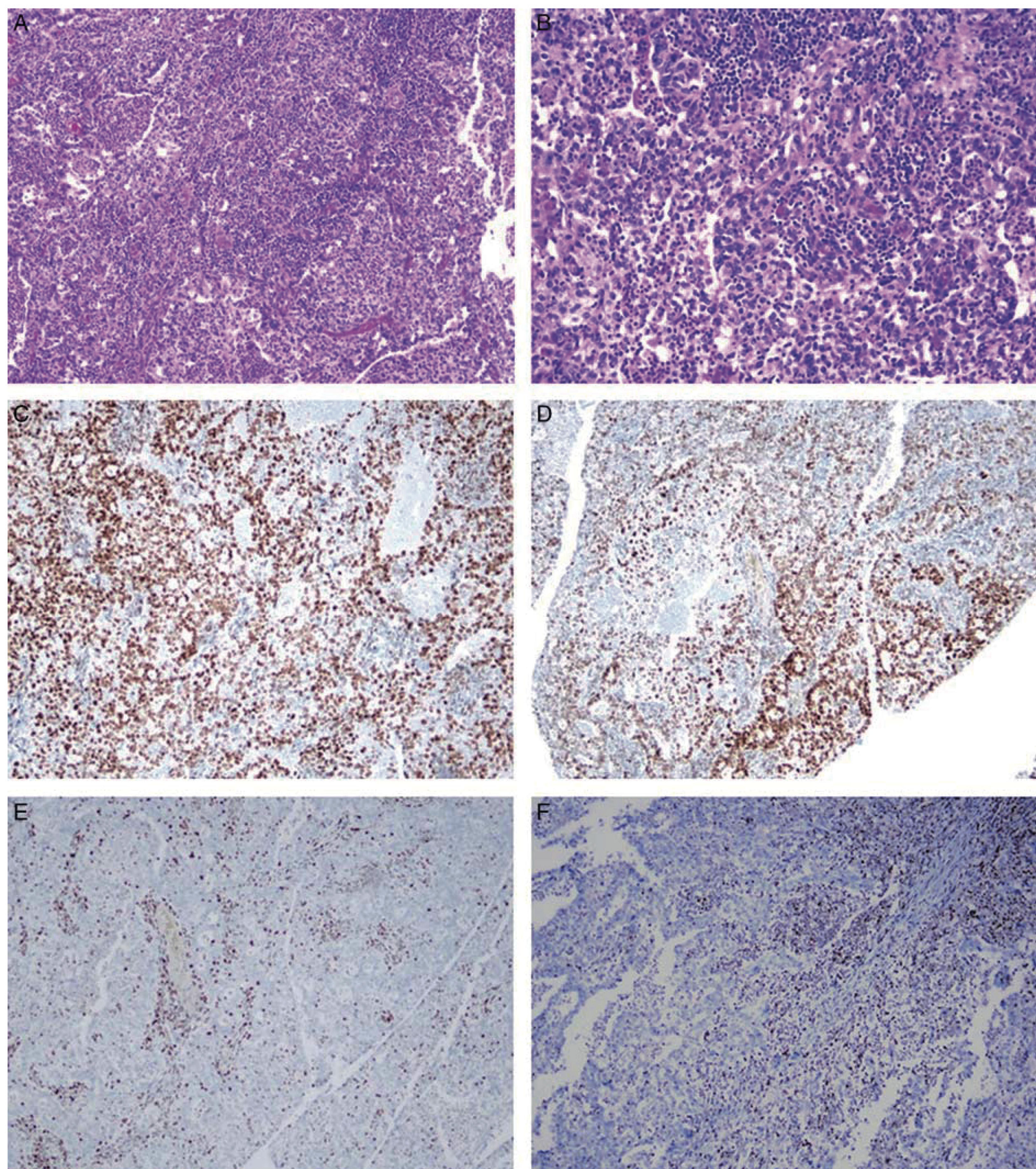


图1.肿瘤和肿瘤相关淋巴细胞（A 100×，B 200×）。MLH1 和 PMS2 在肿瘤中的表达（C，D 100×）。MSH2 和 MSH6 在肿瘤中均表达缺失（E，F 100×）。

患者

该研究包括 198 名在 2016 年 11 月至 2020 年 1 月期间在伊斯坦布尔梅德尼耶大学戈兹特佩培训研究医院接受 EC 手术的连续性患者。收集的数据包括基本临床病理信息【年龄、组织学类型、肿瘤大小、肌层浸润深度、肌层浸润模式、病理 T 分期 (pT 分期)、国际妇产科联合会分期 (FIGO 分期)，以及有无宫颈受累、淋巴结转移、肿瘤相关淋巴细胞、坏死、淋巴血管间隙侵犯 (LVI) 以及神经周围浸润 (PNI)】。

病理学评估

手术切除标本用 10% 福尔马林固定。组织按常规技术处理，石蜡包埋。4 μm 切片，苏木素、伊红常规组织学染色。回顾每个病例的所有肿瘤切片，评估临床病理特征。在回顾组织病理特征期间，阅片者不知晓 MMR 的免疫组织化学染色 (IHC) 结果。依据 Quick 等的报道，将肌层浸润模式分为浸润性腺体、宽大的前缘、微囊拉长及碎片样、腺肌病样和恶性腺瘤样^[13]。如有一种以上肌层浸润模式时，则采用主要浸润模式。

肿瘤相关淋巴细胞则采用两级分类的方法进行评估，无肿瘤相关淋巴细胞为 0 分，浸润边缘存在肿瘤相关淋巴细胞，无论多少，均为阳性^[14]。

免疫组化

仅选择一个代表性肿瘤蜡块用于 MMR 免疫组化染色。石蜡包埋组织 4 μm 切片，按照 LeicaBOND-MAX 检测系统 (Leica Biosystems, Wetzlar, 德国) 说明书进行以下抗体染色：MLH1 (Novocastra, 克隆号 ES505, 1:50)，PMS2 (Novocastra, 克隆号 MOR4G, 1:100)，MSH2 (Novocastra, 克隆号 25D12, 未稀释)，和 MSH6 (Novocastra, 克隆号 PU29, 1:100)。

2 名研究参与人员 (G.K. 和 T.S.) 分别评估 IHC 染色切片。对意见不一致的病例，2 位病理学家在双头显微镜下复片，以达成共识。MMR 蛋白 (MLH1、PMS2、MSH2 或 MSH6) 通常为弥漫强表达，与内对照一致。任何与此不同的表达模式，包括非常弱且局灶的表达，定义为表达缺失或不确定 (<https://www.thebagp.org/download/bagp-mmr-ihc-interpretation-june-2020/>) (图 1)。

DNA 甲基化分析

从 54 名 MLH1 和 PMS2 IHC 失表达的 EC 患者以及 34 例健康对照样本 (由于良性原因子宫切除标本的子宫内膜) 中，选取先前制备的蜡块 10 μm 切片，使用 Invitrogen Pure Link Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) 提取基因组 DNA。之后按照试剂说明书，使用 EZ DNA Methylation-Gold Kit (Zymo Research Corp, Irvine, CA) 对 DNA 进行修饰。简言之，每份样品取 400 ng DNA，将 DNA 与 130 μL 亚硫酸氢盐混合溶液在 200 μL PCR 管中混合，置于热循环仪 (BioRad, Hercules, CA) 中，98°C 孵育 5 分钟，64°C 孵育 2.5 小时。然后，将样品转移到 Zymo-Spin IC 柱中，冲洗、脱磺化、再冲洗。最后将亚硫酸氢盐转化后的 DNA 在 10 μL 洗脱缓冲液中洗脱。通常取 2 μL 修饰后的 DNA 用于后续 PCR。

参照文献^[15]进行甲基化特异性 PCR (MSP)。简言之，亚硫酸氢盐转化后的 DNA 采用 MSP 引物扩增，这些引物可特异性识别 *MLH1* 基因启动子未甲基化或亚硫酸氢盐转化后的甲基化序列。甲基化 *MLH1* 基因特异性 MSP 引物为正向 5'-TTTTTTAGGAGTGAAGGAGGTTAC-3' 和反向 5'-ACTAACACGAATACTACGAACGAT-3'。未甲基化 *MLH1* 基因特异性 MSP 引物为正向 5'-TTTTTTAGGAGTGAAGGAGGTTAT-3' 和反向 5'-ACTAACACAAATACTACAACAAAT-3'。PCR 采用 Zymo Taq DNA 聚合酶 (Zymo Research Corp, Irvine, CA)。该反应包含 2X PCR 缓冲液、各 25mM 的每种脱氧核苷酸三磷酸盐以及各 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的正向、反向引物。95°C 10 分钟；95°C 30 秒，55.5°C 40 秒，72°C 1 分钟，共 40 个循环 (M 和 U 引物组均如此)；最后 72°C 延伸 7 分钟。将 PCR 产物上样到 10% 聚丙烯酰胺凝胶上，溴化乙锭染色、紫外线照射下观察。MSP 引物检测启动子甲基化状态的特异性经通用甲基化人类 DNA 标准品 (ZymoResearch Corp) 显示。

统计分析

统计分析采用 IBM SPSS Statistics for Windows, 版本 22.0 (Chicago, IL)。采用 Fisher 精确检验、Pearson χ^2 检验和 Freeman-Halton 检验分析临床病理参数与 MMR 蛋白表达状态的相关性。P 值 <0.05 被认为具有统计学意义。采用多因素 Logistic 回归计算 OR 值和 95% 可信区间 (CI)，

以预测 MMR 表达缺失、MMR 表达缺失亚组以及 *MLH1* 甲基化与临床病理参数之间的相关性。总生存期的随访时间指从子宫内膜癌患者手术之日到因内膜癌死亡之间的时间。无病生存的随访时间指从子宫内膜癌患者的手术之日到第一次复发或疾病进展之间的时间。Log-rank 检验用于单因素生存分析。

结果

临床和病理情况

研究入选 198 个病例，均进行 MMR 蛋白免疫组织化学染色。患者平均年龄 60 岁，中位年龄 59 岁（28-89 岁）。由于大多数患者年龄超过 50 岁（n=176, 88.9%），因此我们以 50 岁作为分界点。子宫内膜样癌按照 FIGO 分级分为 2 组，FIGO I 级和 II 级子宫内膜样癌合并为低级别，III 级子宫内膜样癌为高级别。本研究包括未分化和去分化癌，不包括浆液性癌（n=10）、透明细胞癌（n=6）和癌肉瘤（n=9）。在组织学类型上，低级别子宫内膜样癌 164 例（82.8%）、高级别 21 例（10.6%）、未分化癌（n=2, 1%）和去分化癌（n=11, 5.6%）13 例。平均肿瘤大小 4.5 cm，中位肿瘤大小为 4cm（0.4-13cm）。根据肿瘤大小进一步分成 2 个亚组：<2cm 和 ≥2cm (<2cm: n=25, 12.6%; ≥2cm: n=171, 86.4%)。

按照肌层浸润深度分成 2 个亚组：局限于子宫内膜或浸润肌层深度小于 1/2 (<1/2: n=143, 72.2%) 和浸润肌层深度 1/2 及以上 (≥1/2: n=55, 27.8%)。明确肌层浸润模式 171 例，包括微囊拉长及碎片（n=38, 22.2%）、浸润性腺体（n=97, 56.7%）、宽大前缘（n=11, 6.4%）、腺肌病样（n=23, 13.5%）和恶性腺瘤样（n=2, 1.2%）。pT 分期分 3 组：大多数病例（n=112）为 1a 期（56.6%），43 例为 1b 期（21.7%），43 例为 2 期及以上（21.7%）。FIGO 分期也分成 3 组：大多数病例（n=112）为 IA 期（56.6%），42 例为 IB 期（21.2%），44 例为 II 期及以上（22.2%）。宫颈受累 29 例（14.6%）。115 例（58.1%）患者进行了盆腔和/或主动脉旁淋巴结清扫，其中 21 例（18.3%）发生淋巴结转移。96 例观察到肿瘤相关淋巴细胞（51.9%）。35 例出现肿瘤坏死（17.8%），37 例发生 LVI（18.7%），2 例出现 PNI（18.7%）。

MMR 蛋白表达结果

120 例肿瘤（60.6%）MMR 蛋白完整表达，78 例肿瘤

（39.4%）表达缺失。将 MMR 蛋白表达缺失肿瘤分成 2 个亚组：*MLH1* 和 *PMS2* 同时表达缺失（n=68, 87.1%）和其余 MMR 蛋白表达缺失（单独 *PMS2*、单独 *MSH2*、单独 *MSH6* 以及 *MSH2* 和 *MSH6* 表达同时缺失）（n=10, 12.8%）（图 2）。

DNA 甲基化分析

54/68 例 *MLH1* 和 *PMS2* 表达缺失的肿瘤进行 *MLH1* 甲基化检测，12 例因无肿瘤蜡块而被剔除，还有 2 例因无剩余肿瘤做甲基化检测也被排除。

在所有正常的子宫内膜组织样本（n=34）中，我们检测到仅有未甲基化特异性片段扩增，表明 *MLH1* 基因在正常子宫内膜组织中未发生甲基化。相比之下，MSP 分析显示，在 54 例 *MLH1* 和 *PMS2* 表达缺失的肿瘤中，51 例发生 *MLH1* 甲基化（94.4%）。出于本研究目的，甲基化结果明确的 MMR 蛋白表达缺失肿瘤被进一步分为 *MLH1* 甲基化（n=51）和 MMR 蛋白表达缺失未甲基化【含（假定突变）*MLH1* 未甲基化肿瘤（n=3）和其他 MMR 蛋白表达缺失的肿瘤（n=10）】两组。

MMR 蛋白表达状态与临床病理参数的关系

在单因素分析中，MMR 蛋白表达缺失与深肌层浸润和出现肿瘤相关淋巴细胞显著相关（分别为 $P=0.023$ 和 0.001 ）。多因素 Logistic 回归分析表明 MMR 蛋白缺陷是肿瘤相关淋巴细胞存在的独立预测因子（ $P=0.002$, OR=2.674, 95% CI=1.418-5.045，表 1）。

MLH1 和 *PMS2* 表达缺失与其他 MMR 蛋白表达缺失肿瘤以及 *MLH1* 甲基化与 MMR 蛋白表达缺失未甲基化肿瘤之间的临床病理参数比较

我们比较了 *MLH1* 和 *PMS2* 表达缺失与其他 MMR 蛋白表达缺失的肿瘤以及 *MLH1* 甲基化与 MMR 蛋白表达缺失未甲基化肿瘤之间的临床病理参数。在单因素分析中，较大的瘤体与 *MLH1* 和 *PMS2* 表达缺失以及 *MLH1* 甲基化显著相关（分别为 $P=0.004$ 和 0.005 ）。多因素 Logistic 回归分析表明，瘤体较大与 *MLH1* 和 *PMS2* 表达缺失以及 *MLH1* 甲基化显著相关（ $P=0.002$, OR=14.222, 95% CI=2.560-79.026； $P=0.008$, OR=22.222, 95% CI=2.220-222.395，分别见表 2）。

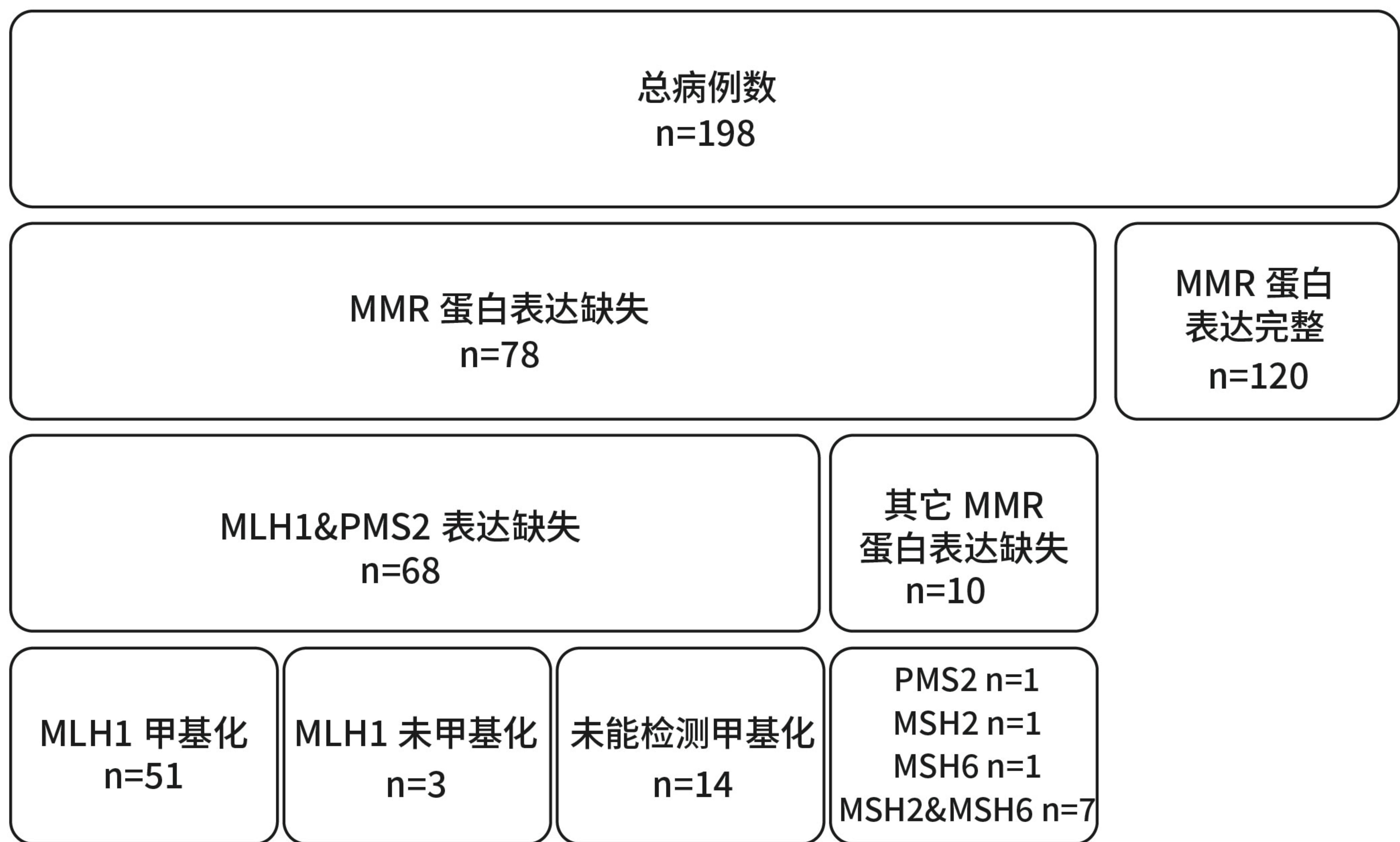


图2.研究人群的流程图。MMR：错配修复蛋白。

随访

无瘤生存期和总体生存期的平均和中位随访时间分别为20个月和18个月（范围：1-49个月）。3/74名MMR表达缺失组患者复发，而1/107名MMR表达完整组患者复发。3例复发患者为MLH1和PMS2表达缺失亚组和MLH1甲基化亚组。其他MMR蛋白缺陷和MMR蛋白缺陷、未甲基化的患者未见复发。3/78名MMR缺陷组患者死于疾病，7/119名MMR蛋白完整组患者死于疾病。3/68名MLH1和PMS2表达缺失亚组患者死于疾病，3/51名MLH1甲基化亚组患者死于疾病，而其他MMR蛋白表达缺失和MMR蛋白表达缺失未甲基化亚组中未发现有患者死于疾病。我们未能发现MMR表达状态、甲基化状态对总体生存率及无病生存率的影响有统计学意义。

讨论

EC中MMR表达缺失的发生机制是由甲基化失活或某些情况下MMR基因突变所致^[8]。DNA MMR缺陷导致微卫星不稳定和高频突变，见于20%-40%的病例^[8, 16]。MMR表达缺失肿瘤在结直肠肿瘤中已有广泛研究。然而在EC中，MMR表达缺失各亚组肿瘤的临床病理特征尚不甚清楚。

我们的结果显示，本组病例MMR蛋白表达缺失为39.4%，略高于之前大多数研究（19.6%-35.8%）^[8, 9, 11, 17, 18]。与其他研究相比（13%-29.8%和6%-23.9%），我们研究中的MLH1表达缺失率（34.3%）略高，而其他MMR蛋白的表达缺失率偏低（5.1%），可能反映了不同种族间的突变发生率差异^[8, 9, 11, 17, 18]。我们还发现，MLH1和PMS2同时表达缺失的肿瘤中有94.4%发生甲基化，这与文献报道相似^[19]。

先前的报道表明，ECs中MMR表达缺失与预后不良因素相关，包括进展期、高级别、LVI、深肌层浸润和淋巴结转移^[8, 16, 20-22]。与MMR蛋白完整的肿瘤相比，MMR表达缺失的肿瘤表现出免疫差异，例如肿瘤浸润淋巴细胞和新抗原产生增加^[1-6]。在本研究中，单因素分析表明，深肌层浸润和肿瘤相关淋巴细胞的存在与MMR蛋白缺陷显著相关，且多因素分析也显示肿瘤相关淋巴细胞与MMR表达缺失存在显著的相关性。

本研究存在一些局限性，包括随访时间相对较短、日常工作中因费用不经济而未进行胚系突变分析来确诊LS。据我们所知，已有一些研究评估了MMR表达缺失亚组与临床病理参数之间的关系以及MLH1甲基化状态与临床病理参数之间

的关系（表3）^[7-12]。Kim等^[9]通过单因素分析发现MLH1甲基化亚组与高级别、LVI和瘤体较大显著相关。他们还发现，MLH1甲基化肿瘤与无进展生存率较低有统计学相关性（ $P=0.042$ ），但对总生存率无显著影响（ $P=0.204$ ）。Cosgrove等^[10]的单因素分析表明，MLH1甲基化亚组与高级别、深肌层浸润、进展期、LVI和瘤体较大显著相关。他们还评估了MMR表达缺失亚组之间的无进展生存，发现MLH1甲基化亚组的无进展生存率降低（ $P<0.001$ ）。Pasanen等^[8]单因素分析发现，MLH1甲基化亚组与年龄大、瘤体较大显著相关，而且Kaplan-Meier生存分析揭示MLH1甲基化亚组疾病特异性生存率较低（ $P=0.007$ ）。Chavez等^[12]的单因素分析表明，其他MMR表达缺失亚组与年龄较轻、肌层浸润<50%、LVI少、肿瘤浸润淋巴细胞增加显著相关。他们发现表观遗传改变与基因突变的MMR表达缺失亚组之间的总体生存率无统计学差异。而另一项研究则报道，MLH1甲基化患者的总生存期率低于MMR蛋白缺陷、未甲基化的病例^[23]。

在我们的研究中，单因素分析发现，MLH1和PMS2缺陷亚组以及MLH1甲基化亚组与瘤体较大显著相关。而且，多因素Logistic回归分析亦表明MLH1、PMS2缺陷亚组以及MLH1甲基化亚组与瘤体较大显著相关。我们未发现MMR表达状态或甲基化状态对总体及无病生存率的影响有统计学意义（log-rank检验），这可能与复发或疾病死亡病例数较少有关。我们的研究纳入了子宫内膜样癌、去分化癌和未分化癌连续性病例，发现MLH1和PMS2表达缺失率（34.3%）略高于之前的研究。MMR表达缺失组的复发率较高。3名MMR表达缺失组复发患者均为MLH1和PMS2缺陷亚组和MLH1甲基化亚组。我们还发现，高级别、瘤体大等预后不良因素在MLH1和PMS2缺陷亚组和MLH1甲基化亚组中更常见。然而，我们发现MMR蛋白表达完整组的死亡率更高。已发表的、应用多因素Cox回归分析进行生存研究的报道有限。基于多因素分析和长期随访的深入研究，对于评估MMR表达缺失亚组和MLH1甲基化的无进展生存率和总体生存率的预测价值，是极为必要的。

表1. 免疫组织化学检测 MMR 蛋白状态与临床病理参数的单因素和多因素 Logistic 回归分析

	MMR 蛋白表达完整, n (%)	MMR 蛋白表达缺失, n (%)	P (单因素)	P (多因素)	OR值
年龄 (岁)					
<50	17 (14.2)	5 (6.4)	0.108*		
≥ 50	103 (85.8)	73 (93.6)			
组织类型					
低级别子宫内膜样 (I级和II级)	103 (85.8)	61 (78.2)	0.356†		
高级别子宫内膜样 (III级)	11 (9.2)	10 (12.8)			
未分化/去分化癌	6 (5)	7 (9)			
肿瘤大小					
<2	18 (15.1)	7 (9.1)	0.275*		
≥2	101 (84.9)	70 (90.9)			
肌层浸润				0.182	1.613 (0.799–3.258)
<1/2	94 (78.3)	49 (62.8)	0.023*		
≥1/2	26 (21.6)	29 (37.1)			
肌层浸润类型					
浸润性腺体	53 (51.5)	44 (64.7)	0.194†		
MELF	28 (27.2)	10 (14.7)			
宽大前缘	5 (4.9)	6 (8.8)			
腺肌病样	16 (15.5)	7 (10.3)			
恶性腺瘤样	1 (1)	1 (1.5)			
T 分期					
1a	71 (59.2)	41 (52.6)	0.091†		
1b	20 (16.7)	23 (29.5)			
≥2	29 (24.2)	14 (17.9)			
FIGO 分期					
Ia	71 (59.2)	41 (52.6)	0.146†		
Ib	20 (16.7)	22 (28.2)			
≥II	29 (24.2)	15 (19.2)			
宫颈受累					
无	100 (83.3)	69 (88.5)	0.412*		
有	20 (16.7)	9 (11.5)			
淋巴结受累					
阴性	55 (82.1)	39 (81.3)	0.250†		
盆腔阳性	5 (7.5)	7 (14.5)			
主动脉旁阳性	7 (10.4)	2 (4.2)			
肿瘤相关淋巴细胞				0.002	2.674 (1.418–5.045)
无	65 (59)	24 (32)	0.001*		
有	45 (40.9)	51 (68)			
坏死					
无	101 (84.9)	61 (78.2)	0.256*		
有	18 (15.1)	17 (21.8)			
LVI				0.302	1.546 (0.676–3.537)
无	103 (85.8)	58 (74.4)	0.061*		
有	17 (14.2)	20 (25.6)			
PNI					
无	118 (98.3)	78 (100.0)	0.520‡		
有	2 (1.7)	0 (0.0)			
生存状况					
存活	112 (94.1)	75 (96.2)	0.941§		
死亡	7 (5.9)	3 (3.8)			
复发					
无	106 (99.1)	71 (95.9)	0.143§		
有	1 (0.9)	3 (4.1)			

黑体值表示有统计学意义。*Pearson's χ^2 . ; † Freeman-Halton 检验. ; ‡ Fisher's 精确检验；§ Log rank 检验；LVI：淋巴血管侵犯；MELF：微囊拉长碎片；MMR：错配修复；PNI：神经周围浸润。

表2. MMR 蛋白缺失亚组、MLH1 甲基化亚组与临床病理参数的单因素和多因素 Logistic 回归分析

	MLH1、PMS2 表达缺失, n (%)	其它MMR蛋白 表达缺失, n (%)	P (单因素)	P (多因素)	OR值	MLH1 甲基化, n(%)	MMR蛋白表达 缺失, 未甲基化n(%)	P (单因素)	P (多因素)	OR值
年龄(岁)										
<50	3 (4.4)	2 (20.0)	0.120*			3 (5.9)	2 (15.4)	0.266*		
≥50	65 (95.6)	8 (80.0)				48 (94.1)	11 (84.6)			
组织类型										
低级别子宫内膜样 (I级和II级)	53 (77.9)	8 (80.0)	0.473 †			38 (74.5)	11 (84.6)	0.430 †		
高级别子宫内膜样 (III级)	8 (11.8)	2 (20.0)				7 (13.7)	2 (15.4)			
未分化/去分化癌	7 (10.3)	0 (0.0)				6 (11.8)	0 (0.0)			
肿瘤大小										
<2	3 (4.5)	4 (40.0)	0.004*	0.002	14.222 (2.560 -79.026)	1 (2.0)	4 (30.8)	0.005*	0.008	22.222 (2.220- 222.395)
≥2	64 (95.5)	6 (60.0)				50 (98.0)	9 (69.2)			
肌层浸润										
<1/2	42 (61.8)	7 (70.0)	0.736*			33 (64.7)	8 (61.5)	1.000 †		
≥1/2	26 (38.2)	3 (30.0)				18 (35.3)	5 (38.5)			
肌层浸润类型										
浸润性腺体	39 (65.0)	5 (62.5)	0.379 †			32 (65.3)	8 (72.7)	0.420 †		
MELF	10 (16.7)	0 (0.0)				9 (18.4)	0 (0.0)			
宽大前缘	4 (6.7)	2 (25.0)				3 (6.1)	2 (18.2)			
腺肌病样	6 (10.0)	1 (12.5)				4 (8.2)	1 (9.1)			
恶性腺瘤样	1 (1.7)	0 (0.0)				1 (2.1)	0 (0.0)			
T分期										
1a	35 (51.5)	6 (60.0)	0.769 †			26 (50.9)	7 (53.8)	0.882 †		
1b	20 (29.4)	3 (30.0)				14 (27.4)	4 (30.7)			
≥2	13 (19.1)	1 (10.0)				11 (21.6)	2 (15.4)			
FIGO分期										
IA	35 (51.5)	6 (60.0)	0.725 †			26 (50.9)	7 (53.8)	0.803 †		
IB	19 (27.9)	3 (30.0)				13 (25.5)	4 (30.7)			
≥II	14 (20.6)	1 (10.0)				12 (23.5)	2 (15.4)			
宫颈受累										
无	59 (86.8)	10 (100.0)	0.595*			44 (86.2)	12 (92.3)	1.000*		
有	9 (13.2)	0 (0.0)				7 (13.7)	1 (7.6)			
淋巴结受累										
阴性	36 (81.8)	3 (75.0)	0.768 †			26 (78.8)	4 (80)	0.923 †		
盆腔阳性	6 (13.6)	1 (25.0)				6 (18.1)	1 (20)			
主动脉旁阳性	2 (4.5)	0 (0.0)				1 (3)	0 (0.0)			
肿瘤相关淋巴细胞										
无	20 (30.3)	4 (44.4)	0.455*			16 (31.3)	4 (33.3)	0.425*		
有	46 (69.6)	5 (55.5)				35 (68.6)	8 (66.6)			
坏死										
无	53 (77.9)	8 (80.0)	1.000*			39 (76.5)	9 (69.2)	0.721*		
有	15 (22.1)	2 (20.0)				12 (23.5)	4 (30.7)			
LVI										
无	49 (72.1)	9 (90.0)	0.438*			37 (72.5)	11 (84.6)	0.489*		
有	19 (27.9)	1 (10.0)				14 (27.5)	2 (15.4)			
PNI										
无	68 (100.0)	10 (100.0)	—			51 (100.0)	13 (100.0)	—		
有	0 (0.0)	0 (0.0)				0 (0.0)	0 (0.0)			

生存状况

存活	65 (95.6)	10 (100.0)	0.531 §	48 (94.1)	13 (100.0)	0.286 §
死亡	3(4.4)	0 (0.0)		3 (5.8)	0 (0.0)	
复发						
无	62 (95.4)	9 (100.0)	0.482 §	49 (96.1)	12 (100.0)	0.465 §
有	3 (4.6)	0 (0.0)		2 (3.9)	0 (0.0)	

加粗值表示有统计学显著性。

‡ Fisher's 精确检验

† Freeman-Halton 检验。

*Pearson's χ^2 .

§ Log rank 检验

LVI：淋巴血管侵犯；MELF：微囊拉长碎片；MMR：错配修复；PNI：神经周围浸润。

表3. 目前和既往研究中 EC 的 MMR 蛋白表达与甲基化状态：MMR 蛋白表达缺失和 MLH1 甲基化频率，以及 MMR 表达缺失、MLH1 甲基化亚组与临床病理参数之间的相关性

研究	N	组织学类型	MMR 蛋白表达状态	甲基化率	与 MMR 表达缺失和甲基化显著相关	MMR 表达缺失和甲基化对生存的影响
Kim, 等. ^[9]	173	END	MMR 表达缺失： 26% (45/173) MLH1 和 PMS2 表达缺失： 15% (26/173), 57.7% (26/45) 其它 MMR 蛋白表达缺失： 11% (19/173), 42.2% (19/45) 散发性 (MMR 蛋白表达完好+甲基化)：84.4% (146/173) 可能为 Lynch 综合征 (未甲基化+其他MMR蛋白表达缺失)：15.6% (27/173) MMR 蛋白表达完好：74% (128/173)	69.2% (甲基化肿瘤/MLH1 和 PMS2 缺失肿瘤: 8/26)	MMR 表达缺失： 绝经后状态，肿瘤 2-3 级，FIGO I-II 期 (单因素分析) MLH1 甲基化： 肿瘤 3 级，有淋巴血管侵犯，瘤体较 MMR 蛋白表达完好者大 (单因素分析)	MMR 表达缺失：PFS 和 OS 不良，接近有统计学意义 (Kaplan-Meier) MLH1 甲基化：PFS 比 MMR 表达完好者要差 (Kaplan-Meier)
Cosgrove, 等. ^[10]	466	END+NE	MLH1 甲基化： 20.2% (94/466) MMR 表达缺失未甲基化： 4.7% (22/466) MMR 蛋白表达完好：75.1% (350/466)	资料未显示	MLH1 甲基化： 肿瘤高级别，肌层浸润，进展期 (III/IV)，有淋巴血管侵犯，瘤体较大 (单因素分析)	MMR 表达缺失甲基化：无复发生存率显著降低 (Kaplan-Meier)
Bruegl, 等. ^[11]	411	END+NE	MMR 表达缺失： 28.7% (118/411) MLH1 和 PMS2 表达缺失： 21.9% (90/411), 76.3% (90/118) 其他 MMR 蛋白表达缺失： 6.8% (28/411), 23.7% (28/118) 散发性EC (MMR 蛋白表达完好+甲基化)：88.8% (365/411) 可能为 Lynch 综合征 (非甲基化+其他 MMR 蛋白表达缺失)：10.5% (43/411), 36.4% (43/118) MMR 蛋白表达完好：71.3% (293/411)	80% (甲基化肿瘤/MLH1 和 PMS2 表达缺失肿瘤: 72/90)	散发 EC (甲基化+MMR 蛋白表达完好)： 肿瘤部位 (子宫体) (单变量分析)	——
Sloan, 等. ^[7]	67	END+NE	MMR 表达缺失： 56.7% (38/67) Lynch 综合征相关： 29.8% (20/67), 52.6% (20/38) MLH1 甲基化： 26.8% (18/67), 47.4% (18/38) MMR 蛋白表达完好：43.3% (29/67)	47.3% (甲基化肿瘤/MMR 蛋白缺失肿瘤: 18/38)	MMR 表达缺失 vs. 表达完好： 无显著性 (年龄、分期和分级, 单因素分析)	——

Pasanen, 等. ^[8]	682	END	MMR 表达缺失：35.8% (244/682) MLH1 和 PMS2 表达缺失：29.8% (203/682), 83.1% (203/244) 其他 MMR 蛋白表达缺失：4.9% (34/682), 13.9% (34/244) MLH1 甲基化：91.1% (143/157) MMR 表达缺失：【未甲基化：34 (其它 MMR 蛋白表达缺失) +14(未甲基化)】MMR 蛋白表达完好：64.2% (438/682)	91.1% (甲基化肿瘤/MLH1 和 PMS2 缺失肿瘤：143/157)	MMR 表达缺失：年龄较大，分级和分期较高，瘤体较大，大量肿瘤浸润性淋巴细胞（单因素分析）；MLH1 甲基化：年龄较大，瘤体较大（单因素分析）	MLH1 甲基化：疾病特异性生存率显著降低 (Kaplan-Meier)
Chavez, 等. ^[12]	162	END+NE	MMR 表达缺失：MLH1 甲基化：77.8% (126/162) 其他 MMR 蛋白表达缺失：22.2% (36/162)	不详	其他 MMR 蛋白表达缺失：年龄较轻，肌层浸润<50%，淋巴血管浸润少，有肿瘤相关淋巴细胞（单变量分析）；年龄较轻，有较多肿瘤相关淋巴细胞（多因素分析）	MMR 表达缺失：对 OS 无显著影响 (Kaplan-Meier)
本研究	198	END+NE	MMR 表达缺失：39.4% (78/198) MLH1 和 PMS2 表达缺失：34.3% (68/198), 87.2% (68/78) 其他 MMR 蛋白表达缺失：5.1% (10/198), 12.8% (10/78) MLH1 甲基化：94.4% (51/54) 未甲基化：5.6% (3/54) MMR 蛋白表达完好：60.6% (120/198)	94.4% (甲基化肿瘤/MLH1 和 PMS2 缺失肿瘤：51/54)	MMR 表达缺失：深肌层浸润，有肿瘤相关淋巴细胞（单因素分析），有肿瘤相关淋巴细胞（多因素 Logistic 回归分析）MLH1 和 PMS2 表达缺失及 MLH1 甲基化：瘤体较大（单因素分析和多因素 Logistic 回归分析）	MMR 蛋白丢失和 MLH1 甲基化：对 PFS 和 OS 无影响 (Kaplan-Meier)

EC：子宫内膜癌；END：子宫内膜样癌；MMR：错配修复；NE：非子宫内膜样癌；OS：总体生存率；PFS：无进展生存率；UEC+DDEC：未分化癌+去分化癌

参考文献

1. Soslow RA. Endometrial carcinomas with ambiguous features. *Semin Diagn Pathol* 2010;27:261–73.
2. 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.
3. Mills AM, Longacre TA. Lynch syndrome screening in the gynecologic tract: current state of the art. *Am J Surg Pathol* 2016;40:e35–44.
4. Howitt BE, Shukla SA, Sholl LM, et al. Association of polymerase e-mutated and microsatellite-instable endometrial cancers with neoantigen load, number of tumor-infiltrating lymphocytes, and expression of PD-1 and PD-L1. *JAMA Oncol* 2015;1:1319–23.
5. Clarke BA, Cooper K. Identifying Lynch syndrome in patients with endometrial carcinoma: shortcomings of morphologic and clinical schemas. *Adv Anat Pathol* 2012;19:231–8.
6. Mills AM, Sloan EA, Thomas M, et al. Clinicopathologic comparison of Lynch syndrome-associated and “Lynch-like” endometrial carcinomas identified on universal screening using mismatch repair protein immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol* 2016;40:155–65.
7. 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.
8. Pasanen A, Loukovaara M, Bützow R. Clinicopathological significance of deficient DNA mismatch repair and MLH1 promoter methylation in endometrioid endometrial carcinoma. *Mod Pathol* 2020;33:1443–52.
 9. 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 (Basel)* 2018;10:279.
 10. 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.
 11. Bruegl AS, Djordjevic B, Batte B, et al. Evaluation of clinical criteria for the identification of Lynch syndrome among unselected patients with endometrial cancer. *Cancer Prev Res (Phila)* 2014;7:686–97.
 12. Chavez JA, Wei L, Suarez AA, et al. Clinicopathologic characteristics, tumor infiltrating lymphocytes and programmed cell death ligand-1 expression in 162 endometrial carcinomas with deficient mismatch repair function. *Int J Gynecol Cancer* 2019;29:113–8.
 13. Quick CM, May T, Horowitz NS, et al. Low-grade, low-stage endometrioid endometrial adenocarcinoma: a clinicopathologic analysis of 324 cases focusing on frequency and pattern of myoinvasion. *Int J Gynecol Pathol* 2012;31:337–43.
 14. Klintrup K, Mäkinen JM, Kauppila S, et al. Inflammation and prognosis in colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2005;41:2645–54.
 15. Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, et al. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:9821–6.
 16. MacDonald ND, Salvesen HB, Ryan A, et al. Frequency and prognostic impact of microsatellite instability in a large population-based study of endometrial carcinomas. *Cancer Res* 2000;60:1750–2.
 17. 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.
 18. Chu MM, Liu SS, Tam KF, et al. The significance of mismatch repair deficiency in young patients with endometrial cancer. *Int J Gynecol Pathol* 2015;34:403–10.
 19. Watkins JC, Yang EJ, Muto MG, et al. Universal screening for mismatch-repair deficiency in endometrial cancers to identify patients with Lynch syndrome and Lynch-like syndrome. *Int J Gynecol Pathol* 2017;36:115–27.
 20. Garg K, Leitao MM, Jr, Kauff ND, et al. Selection of endometrial carcinomas for DNA mismatch repair protein immunohistochemistry using patient age and tumor morphology enhances detection of mismatch repair abnormalities. *Am J Surg Pathol* 2009;33:925–33.
 21. Shih KK, Garg K, Levine DA, et al. Clinicopathologic significance of DNA mismatch repair protein defects and endometrial cancer in women 40 years of age and younger. *Gynecol Oncol* 2011;123:88–94.
 22. Karamurzin Y, Rutgers JK. DNA mismatch repair deficiency in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2009;28:239–55.
 23. Shikama A, Minaguchi T, Matsumoto K, et al. Clinicopathologic implications of DNA mismatch repair status in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol* 2016;140:226–33.

(王溯 吕炳建 翻译 申彦 审校)