

· 专题研究:妇产科疾病 ·

两种测序技术在子宫内膜癌分子分型中的应用比较

张志聪, 戚晓瑜, 马志芳, 徐敏, 顾芸*

南京医科大学附属妇产医院(南京市妇幼保健院)病理科, 江苏 南京 210004

[摘要] 目的:探讨免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)染色联合 Sanger 测序与二代测序(next-generation sequencing, NGS)在子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)分子分型中的应用价值。方法:回顾性分析2019年10月—2023年6月123例EC患者资料,其中48例采用IHC联合Sanger测序,75例采用NGS技术进行分子分型,比较两组分子分型结果。另选取10例涵盖POLE超突变型(POLE ultramutated, POLEmut)、错配修复缺陷型(mismatch repair deficiency, dMMR)、无特定分子特征型(no specific molecular profile, NSMP)和p53异常型(p53 abnormal, p53abn)4种分子亚型且兼具不同临床分期与组织学分级的代表性样本,同步进行IHC联合Sanger测序与NGS检测结果的比较分析。结果:123例EC患者中,POLEmut型12例(9.7%)、dMMR型31例(25.2%)、NSMP型67例(54.5%)及p53abn型13例(10.6%)。其中48例经IHC联合Sanger测序检出POLEmut型1例(2.1%)、dMMR型12例(25.0%)、NSMP型29例(60.4%)及p53abn型6例(12.5%);75例经NGS检出POLEmut型11例(14.7%)、dMMR型19例(25.3%)、NSMP型38例(50.7%)及p53abn型7例(9.3%)。10例验证实验发现,IHC联合Sanger测序与NGS在检测POLE突变和微卫星状态方面结果完全一致,但IHC对p53异常表达的漏检率为10%(1/10)。结论:IHC联合Sanger测序与NGS在EC分子分型中具有较好的一致性,但NGS对POLE突变及复杂亚型的检测更具优势,有助于提高分型准确性,降低临床误判风险。

[关键词] 子宫内膜癌;分子分型;免疫组织化学;Sanger测序;二代测序**[中图分类号]** R737.33**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2026)05-644-08**doi:** 10.7655/NYDXBNSN250792

Comparison of two sequencing technologies for molecular classification of endometrial carcinoma

ZHANG Zhicong, QI Xiaoyu, MA Zhifang, XU Min, GU Yun*

Department of Pathology, Women's Hospital of Nanjing Medical University (Nanjing Women and Children's Healthcare Hospital), Nanjing 210004, China

[Abstract] **Objective:** To explore the application value of immunohistochemistry (IHC) combined with Sanger sequencing versus next-generation sequencing (NGS) in the molecular classification of endometrial carcinoma (EC). **Methods:** Clinical data of 123 patients with EC between October 2019 and June 2023 were retrospectively analyzed. Among them, 48 cases were classified using IHC combined with Sanger sequencing, and 75 cases were classified using NGS technology. The molecular classification results of the two groups were compared. Additionally, 10 representative samples covering the four molecular subtypes, POLE ultramutated (POLEmut), mismatch repair deficiency (dMMR), no specific molecular profile (NSMP), and p53 abnormal (p53abn), with varying clinical stages and histological grades were selected for a comparative analysis of the results obtained from IHC combined with Sanger sequencing and NGS. **Results:** Among the 123 EC patients, 12 (9.7%) were POLEmut, 31 (25.2%) were dMMR, 67 (54.5%) were NSMP, and 13 (10.6%) were p53abn. Of the 48 cases assessed by IHC combined with Sanger sequencing, 1 (2.1%) was POLEmut, 12 (25.0%) were dMMR, 29 (60.4%) were NSMP, and 6 (12.5%) were p53abn. Among the 75 cases assessed by NGS, 11 (14.7%) were POLEmut, 19 (25.3%) were dMMR, 38 (50.7%) were NSMP, and 7 (9.3%) were p53abn. The validation experiment on 10 samples showed that IHC combined with Sanger sequencing and NGS yielded completely consistent results in detecting POLE mutations and microsatellite status. However, IHC had a 10% (1/10) missed detection rate for aberrant p53 expression. **Conclusion:** IHC combined with Sanger

[基金项目] 国家自然科学基金(82403223)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: guyun1979@njmu.edu.cn(ORCID: 0000-0002-2783-2929)

sequencing and NGS show good consistency in the molecular classification of EC. Nevertheless, NGS offers advantages in detecting POLE mutations and complex subtypes, contributing to improved classification accuracy and reduced risk of clinical misjudgment.

[Key words] endometrial carcinoma; molecular classification; immunohistochemistry; Sanger sequencing; next-generation sequencing
[J Nanjing Med Univ, 2026, 46(05): 644-651]

子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)作为女性生殖系统高发恶性肿瘤,在我国经济发达地区的发病率已超过宫颈癌。全球癌症统计数据库的数据显示,全球范围内2022年新增确诊病例约41.7万例,占女性恶性肿瘤总发病数的4.5%,年度死亡病例达9.7万例,严重威胁女性健康^[1]。根据组织学特征及预后差异,EC传统上分为雌激素依赖型(I型,多为低级别子宫内膜样癌,预后较好)和非雌激素依赖型(II型,包括浆液性癌等,预后较差)。随着癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)分子分型系统中4种亚型[POLE超突变型(POLE ultramutated, POLE mut)、错配修复缺陷型(mismatch repair deficiency, dMMR)、无特定分子特征型(no specific molecular profile, NSMP)和p53异常型(p53 abnormal, p53abn)]被美国国家综合癌症网络、欧洲妇科肿瘤学会-欧洲放射肿瘤学会-欧洲病理学会及中国妇科肿瘤学会指南列为预后分层和治疗决策的核心依据,EC的诊疗进入精准化时代^[2]。通过分子分型反映肿瘤的生物学生物学特征,能够更准确、稳定地评估预后,显著降低观察者差异,为辅助治疗及免疫治疗策略提供直接依据,从而实现更精准的风险分层和个体化治疗。在此背景下,检测方法的选择成为临床实践中的关键问题。目前EC分子分型检测方法主要包括免疫组织化学染色(immunohistochemistry, IHC)联合Sanger测序与二代测序(next-generation sequencing, NGS)这两种技术路径。然而这两种方法在精准性、成本、检测通量和操作复杂性等方面各有优劣。本研究旨在比较IHC+Sanger与NGS在EC分子分型测序中的应用效果,以期为临床检测策略的优化提供参考依据。

1 对象和方法

1.1 对象

回顾性分析2019年10月—2023年6月于南京市妇幼保健院病理科就诊的123例EC患者,收集入组病例的相关病理资料,明确其组织学分级、病理

类型、肌层浸润深度、脉管浸润、淋巴结转移、国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)分期等,其中48例行IHC+Sanger检测,75例行NGS检测,选取10例已行NGS的样本行IHC+Sanger同步检测。本研究纳入标准:在本院病理确诊为EC且接受全面分期手术的病例,所有病例均具有完整的临床病理资料及可供分析的肿瘤组织蜡块;排除标准:术前曾接受新辅助治疗,肿瘤组织样本不足或质量不佳无法进行分子检测。所有病例均来自同一中心,纳入和排除标准一致。两组病例的临床资料完整可比。本研究经医院伦理委员会批准(批件号:2024KY-082)。

1.2 方法

1.2.1 分子分型

2019年10月—2021年12月,本院常规分型检测以IHC+Sanger为主;自2022年1月起逐步引入NGS。

1.2.1.1 IHC+Sanger测序

IHC:所有标本经福尔马林固定,常规包埋、切片,采用EnVision两步法,石蜡切片经脱蜡、水化及适当抗原修复后,依次滴加一抗、二抗进行孵育,DAB显色,苏木素复染,最后脱水、透明、中性树脂封片。本研究检测错配修复(mismatch repair, MMR)相关蛋白如MutL同源蛋白1(MutL homolog 1, MLH1)、减数分裂分离缺陷蛋白2(postmeiotic segregation increased 2, PMS2)、MutS同源蛋白2(MutS homolog 2, MSH2)和MutS同源蛋白6(MutS homolog 6, MSH6),以及p53蛋白的表达情况。上述鼠抗人MLH1、PMS2、MSH2、MSH6单克隆抗体及p53蛋白抗体均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。所有的免疫组织化学染色结果由经验丰富的病理医师判读。

IHC结果判读标准:以正常淋巴细胞或间质细胞为内对照,4种MMR蛋白(MLH1、MSH2、MSH6、PMS2)的IHC染色均显示细胞核为棕褐色则判读为MMR表达完整,如有一种或几种MMR蛋白经IHC染色后,细胞核未出现着色则判读为MMR表达缺

失。p53经IHC染色后,如肿瘤细胞核呈现均匀且弥漫性强阳性表达(阳性率≥80%);或完全缺失表达,未检测到抗体信号;或仅胞质表达而无法进入细胞核;或肿瘤细胞呈现强弱不等的差异性染色。出现上述任一现象则为p53蛋白表达异常,判定为p53突变型,否则为p53野生型。

Sanger测序:所有组织标本均经10%中性福尔马林固定,常规脱水、石蜡包埋,制备5 μm厚切片,脱蜡脱水后刮取肿瘤组织,常规提取、纯化DNA后,根据文献报道设计合成引物^[3],PCR扩增后获取PCR产物。委托厦门艾德生物医药科技有限公司进行Sanger测序,将测序结果与GenBank标准序列进行比对,观察序列有无突变。

1.2.1.2 NGS测序

从石蜡包埋组织中提取肿瘤DNA,采用BPTM Plus检测试剂盒(货号:8.06.0165,厦门艾德生物医药科技股份有限公司)进行文库构建。将DNA预变性后,加入特异性探针进行杂交捕获靶基因区域,随后进行延伸连接、酶切纯化,再使用带双端索引的引物进行PCR扩增。纯化后的文库经质控(总量≥150 ng)后上机进行双末端测序。对数据执行质控后,利用配套生物信息学软件检测POLE基因(外切酶结构域、Exon 3~14及Exon 19部分区域)、TP53基因全编码区的序列变异以及微卫星不稳定性状态。NGS测序委托厦门艾德生物医药科技股份有限公司进行。测序结果判读标准:①具有已知的致病性突变:P286R、V411L、S297F、S459F、A456P、F367S、M444K、L424I、M295R、P436R、D368Y的样本判读为

POLE突变型^[4];②当检测到2个或以上微卫星位点不稳定时,判读为微卫星高度不稳定(microsatellite instability-high, MSI-H);1个位点不稳定为微卫星低度不稳定(microsatellite instability-low, MSI-L);所有位点均稳定即为微卫星稳定(microsatellite stable, MSS);③TP53基因发生任何无义突变、错义突变、插入缺失、移码突变等变异,均提示其为突变状态。

1.2.2 分子分型判读标准

按照第5版世界卫生组织(World Health Organization, WHO)推荐的分类标准,分子分型分为4种:POLE mut型、dMMR型、NSMP型、p53abn型^[5]。基于不同检测平台,其判读流程如下:①IHC联合Sanger测序组首先通过Sanger测序检测POLE基因外切酶结构域,存在热点突变者确定为POLEmut型;随后通过IHC检测MMR蛋白(MLH1、PMS2、MSH2、MSH6)的表达,任一蛋白缺失则判定为dMMR型;剩余病例进一步进行p53 IHC检测,若呈现过度表达或完全缺失模式,则归类为p53abn型;其余无上述特征的病例划分为NSMP型。②NGS组首先基于测序数据分析POLE基因外切酶结构域,存在致病性热点突变者为POLEmut型;其次通过MSI分析或MMR基因突变及杂合性缺失状态判断dMMR型;剩余病例依据TP53基因是否存在致病性突变区分p53abn型与NSMP型。全部流程遵循系统、逐层分类的原则(图1)。

1.3 统计学方法

采用SPSS 23.0软件进行统计分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间差异比较采用

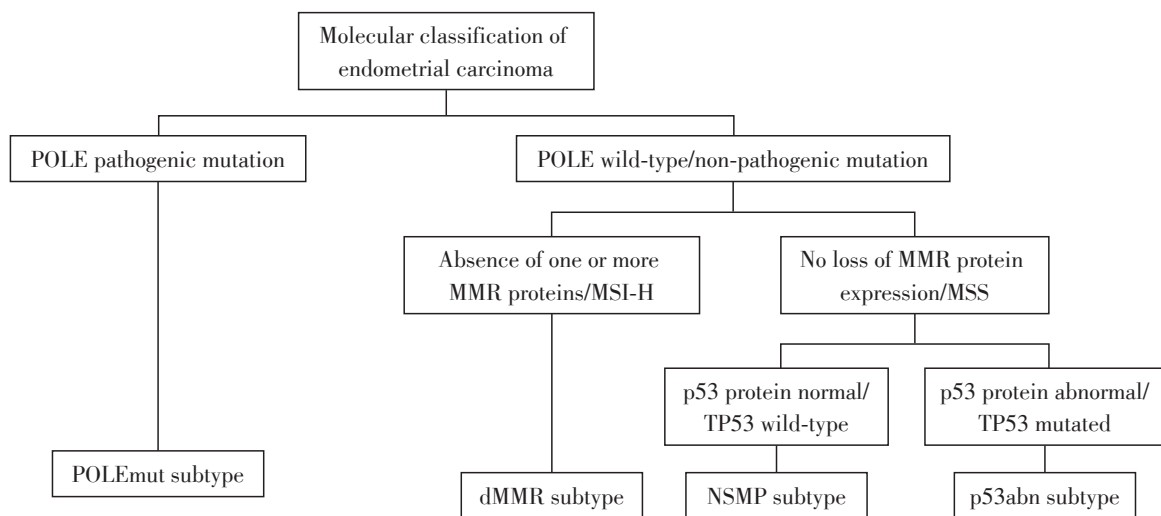


图1 分子分型判读流程

Figure 1 Interpretation workflow for molecular classification

t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 不符合正态分布者以中位数(四分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示, 组间差异比较采用非参数检验; 分类资料采用频数(百分比)[$n(\%)$]表示, 组间差异比较采用卡方检验和连续校正的卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病理资料

123例EC患者平均年龄为55.21岁, 范围35~68岁。子宫内膜样癌共108例(87.8%), 组织学分级低级别组102例(G1~G2子宫内膜样癌), 高级别组6例(G3子宫内膜样癌); 非子宫内膜样癌15例(12.2%), 包括浆液性癌9例、透明细胞癌2例、小细

胞神经内分泌癌1例、未分化癌2例、癌肉瘤1例。所有病例中, 48例采用IHC联合Sanger测序进行分析, 75例采用NGS进行检测。

2.2 分子分型结果

①POLEmut型12例(9.7%), 其组织学类型包括子宫内膜样癌11例、透明细胞癌1例; ②dMMR型31例(25.2%), 其组织学类型包括子宫内膜样癌27例、浆液性癌3例、小细胞神经内分泌癌1例; ③NSMP型67例(54.5%), 其组织学类型包括子宫内模样腺癌64例、浆液性癌1例、未分化癌2例; ④p53abn型13例(10.6%), 其组织学类型包括子宫内膜样癌6例、浆液性癌5例、子宫癌肉瘤1例, 透明细胞癌1例。123例EC的临床病理特征见表1。

表1 123例EC 4种分子亚型临床病理特征

Table 1 Clinicopathological characteristics of four molecular subtypes in 123 EC cases

Pathological parameter	POLEmut(<i>n</i> =12)	dMMR(<i>n</i> =31)	NSMP(<i>n</i> =67)	p53abn(<i>n</i> =13)
Age[years, $M(P_{25}, P_{75})$]	56.0(52.0, 60.0)	55.0(51.0, 58.0)	56.0(51.0, 60.0)	66.0(47.0, 67.0)
Histological type[<i>n</i> (%)]				
Endometrioid	11(91.7)	27(87.1)	64(95.5)	6(46.2)
G1-2	10(90.9)	26(96.3)	61(95.3)	5(83.3)
G3	1(9.1)	1(3.7)	3(4.7)	1(16.7)
Serous	0(0)	3(9.7)	1(1.5)	5(38.5)
Clear cell carcinoma	1(8.3)	0(0)	0(0)	1(7.7)
Other	0(0)	1(3.2)	2(3.0)	1(7.7)
Depth of myometrial invasion[<i>n</i> (%)]				
< 1/2	7(58.3)	19(61.3)	49(73.1)	10(76.9)
≥1/2	5(41.7)	12(38.7)	18(26.9)	3(23.1)
Lymphovascular space invasion[<i>n</i> (%)]	3(25.0)	18(58.1)	17(25.4)	4(30.8)
Lymph node metastasis[<i>n</i> (%)]	2(16.7)	6(19.4)	6(9.0)	3(23.1)
FIGO stage[<i>n</i> (%)]				
I-II	10(83.3)	24(77.4)	57(85.1)	10(76.9)
III-IV	2(16.7)	7(22.6)	10(14.9)	3(23.1)

2.3 不同方法检出情况对比

IHC+sanger检测: 在48例样本中, POLEmut型1例(2.1%), dMMR型12例(25.0%), NSMP型29例(60.4%), p53abn型6例(12.5%)。需特别说明的是, dMMR组中有6例因未进行POLE基因检测, 无法排除潜在POLE共突变; NSMP组中2例缺乏MMR系统检测数据, 存在潜在dMMR型误判风险, 1例仅完成POLE检测(结果为野生型), 无法进行完整的分子分型归类; p53abn组中1例未实施POLE检测, 存在POLE突变漏检可能。

NGS检测: 在75例样本中, POLEmut型11例(14.7%), dMMR型19例(25.3%), NSMP型38例

(50.7%), p53abn型7例(9.3%)。

两种分子分型检测方法的结果比较见表2。NGS在POLE突变检测中展现显著优势($P < 0.05$)。

统计分析显示, 两组患者除FIGO分期外, 其余病理学特征差异均无统计学意义(P 均 >0.05 , 表3)。FIGO分期的组间差异可能与技术迭代及临床选择偏倚有关(NGS更多应用于近期收治的早期患者), 但两组在组织学类型、浸润及转移等关键病理指标上均衡可比, 不影响后续分子分型结果的比较分析。

2.4 分型病理特征

POLEmut型: 在12例POLEmut型病例中, 常见

表2 EC分子分型在不同检测方法中的检出率对比

Table 2 Comparison of detection rates for molecular classification of endometrial carcinoma by different detection methods

Detection method	POLEmut(n=12)	dMMR(n=31)	NSMP(n=67)	p53abn(n=13)
IHC+Sanger(n=48)	1(2.1)	12(25.0)	29(60.4)	6(12.5)
NGS(n=75)	11(14.7)	19(25.3)	38(50.7)	7(9.3)
χ^2	3.932	0.002	1.122	0.311
<i>P</i>	0.047*	0.967	0.354	0.765

*Continuity-corrected chi-square test.

表3 不同检测方法临床病理特征的基线特征

Table 3 Baseline clinicopathological characteristics across different detection methods

Pathological parameter	IHC+Sanger(n=48)	NGS(n=75)	$\nu\chi^2$	<i>P</i>
Age(years, $\bar{x} \pm s$)	55.2 ± 7.3	55.9 ± 8.3	0.503	0.616
Histological type[n(%)]			0.419	0.517
Endometrioid	41(85.4)	67(89.3)		
Non-endometrioid	7(14.6)	8(10.7)		
Depth of myometrial invasion[n(%)]			1.609	0.205
< 1/2	30(62.5)	55(73.3)		
≥ 1/2	18(37.5)	20(26.7)		
Lymphovascular space invasion[n(%)]			1.980	0.159
Present	20(41.7)	22(29.3)		
Absent	28(58.5)	53(70.7)		
Lymph node metastasis[n(%)]			3.250	0.071
Present	10(20.8)	7(9.3)		
Absent	38(79.2)	68(90.7)		
FIGO stage[n(%)]			4.534	0.033
I – II	35(72.9)	66(88.0)		
III – IV	13(27.1)	9(12.0)		

热点突变包括第9号外显子P286R(5例)、S297F(1例),第13号外显子V411L(4例)及第14号外显子S459F(1例)。此外,检测中还发现了1例第9号外显子S297Y的罕见变异。值得注意的是,该组存在2例同时具有POLE热点突变(均为V411L)和p53异常表达的“双分子特征”病例。具体突变分类见表4。

dMMR型: 31例dMMR型EC中,以MLH1与PMS2共缺失为主(11例,35.5%),其他模式包括MSH2与MSH6共缺失2例,MSH2单独缺失3例,MLH1、PSM2和MSH2共缺失1例等。在该组中还发现5例同时具有dMMR和p53异常表达的“双分子特征”病例,其中2例表现为MLH1和PSM2同时缺失,3例经检测为MSI-H型。此外,该组中1例MLH1表达缺失的病例检出存在MLH1基因启动子区甲基化,为散发性EC(非Lynch综合征相关EC)。

p53abn型: 13例p53abn型EC中,7例行TP53基

表4 EC患者POLE突变分类

Table 4 Classification of POLE mutations in EC patients

Exon	Nucleotide change	Amino acid change	Number of cases(n)
9	857C>G	P286R	5
9	890C>T	S297F	1
9	890C>A	S297Y	1
13	1231G>T	V411L	2
13	1231G>C	V411L	2
14	1376C>T	S459F	1

因全外显子检测,结果显示突变位点分别位于4、5、6、7号外显子。具体突变位点信息详见表5。

2.5 验证实验结果

选取10例既往经NGS检测的EC样本,采用IHC联合Sanger测序进行同步检测。10例样本涵盖POLEmut型(4例)、dMMR型(2例)、NSMP型(2例)及p53abn型(2例)4种主要分子亚型,并兼顾不同分

表5 EC患者TP53突变位点分类

Table 5 Classification of TP53 mutation sites in EC patients

Exon	Nucleotide change	Amino acid change	Number of cases(n)
4	202G>T	E68*	1
5	384dup	A129Cfs*20	1
5	395A>G	K132R	1
6	581T>G	L194R	1
7	733G>A	G245S	1
7	734G>T	G245V	1
7	743G>A	R248Q	1

期与分级。复测结果显示:①在 POLE 基因突变方面, NGS 与 Sanger 测序结果一致。②NGS 判定的微卫星状态(MSI/MSS)与 IHC 评估的 MMR 蛋白表达状态(缺失/完整)结果一致。③在 TP53/p53 检测中, IHC 与 NGS 结果存在 1 例不一致, 均为 NGS 检测到 TP53 基因突变而 IHC 未显示 p53 蛋白异常表达。样本突变情况详见表 6。

3 讨论

TCGA 基于多组学技术, 首次提出 EC 分子分型^[6]。

表6 经NGS检测的10例EC样本复测突变情况

Table 6 Retested mutation findings in 10 EC samples detected by NGS

Age (years)	Histologic type	FIGO stage	Tumor grade	Molecular subtype	POLE status (Sanger)	MMR protein expression(IHC)	Microsatellite status(NGS)	p53(IHC)	TP53(NGS)
52	Endometrioid carcinoma	I	Low-grade	POLEmut	Exon 13 mutation	Intact	MSS	Wild-type	No mutation
60	Endometrioid carcinoma	I	High-grade	POLEmut	Exon 9 mutation	Intact	MSS	Wild-type	No mutation
56	Endometrioid carcinoma	II	Low-grade	POLEmut	Exon 13 mutation	Intact	MSS	Wild-type	No mutation
56	Endometrioid carcinoma	III	Low-grade	POLEmut	Exon 13 mutation	Intact	MSS	Wild-type	No mutation
62	Endometrioid carcinoma	II	Low-grade	dMMR	Not detected	PMS2(-) MLH1(-)	MSI-H	Wild-type	No mutation
60	Endometrioid carcinoma	III	Low-grade	dMMR	Not detected	PMS2(-) MLH1(-)	MSI-H	Wild-type	No mutation
59	Undifferentiated carcinoma	I	High-grade	NSMP	Not detected	Intact	MSS	Wild-type	No mutation
45	Endometrioid carcinoma	I	Low-grade	NSMP	Not detected	Intact	MSS	Wild-type	No mutation
46	Endometrioid carcinoma	I	Low-grade	p53abn	Not detected	Intact	MSS	Wild-type	Mutation
72	Serous carcinoma	III	High-grade	p53abn	Not detected	Intact	MSS	Mutant	Mutation

随后, WHO 于 2020 年正式提出 4 个与预后相关的分子亚型, 分别为 POLE mut 型、dMMR 型、NSMP 型、p53abn 型, 其中, POLEmut 型预后最好, p53abn 型预后最差^[7]。TCGA 分子分型的提出弥补了传统组织学分型的不足, 其高重复性和与预后的显著相关性展现出广阔的应用前景^[8]。

在对分子分型检测方法的实际应用中, IHC 联合 Sanger 测序与 NGS 均展现出各自的临床应用价值与局限性。IHC 联合 Sanger 测序作为临床常用的分子诊断方法, 具有操作简便、成本可控和结果直观等优势, 尤其适用于特定基因位点的精准检测。然而该方法检测通量有限, 难以满足大规模筛查需求, 且检测结果易受主观判读和抗体特异性等因素影响^[9]。相比之下, NGS 显著提升了检测通量并降低了单个样本单个位点的测序成本, 能够同时检测 MMR 基因变异、MSI 状态和相关耐药机制, 可实现 MSI 状态与 TMB 的联合评估, 为临床诊疗决策提供更全面的分子图谱。然而, NGS 技术在实际临床应

用中仍存在若干关键性限制, 包括缺乏统一的质量控制标准导致的假阳性/假阴性风险、不完善的基因数据库、复杂的操作流程, 以及对低载量样本检测灵敏度不足等技术瓶颈^[10]。

本研究共纳入 123 例 EC 样本, 其中 48 例采用 Sanger 测序, 检出 1 例突变, 75 例通过 NGS 检测, 检出 11 例突变, 筛查出的 POLE 基因突变率为 9.7% (12/123), 与文献报道的 POLEmut 型 EC 占比(7%~10%)一致^[11]。既往研究多建议对 POLE 基因的检测应至少包括 5 个热点突变(P286R、V411L、S297F、A456P 和 S459F), 但也有研究表明, 致病性变异的突变位点由于种族和民族的差异会有所不同^[12]。本组检测的 12 例 POLEmut 中, 除以上热点突变外, 还检出 1 例 POLE 基因第 9 号外显子 S297Y 的罕见变异。结果提示, 在对亚洲 EC 女性进行 POLE 基因突变的评估时, 采用更为先进的 NGS 技术对 POLE 基因外显子结构域进行全面筛查从而发现新的可能突变位点是有必要的。本研究中 IHC+Sanger 组

检测 POLE 基因 9~14 号外显子, NGS 组覆盖全外显子域(3~14 号及 19 号), NGS 检出的所有 POLE 致病性突变均位于 9~14 号外显子, 与 IHC+Sanger 的覆盖区域一致, 本研究中 POLE 检出率差异(14.7% vs. 2.1%)并非由检测范围差异造成, 更可能与技术灵敏度、测序深度、样本质量及数据完整性等因素有关。

EC 是 dMMR/MSI-H 发生率最高的肿瘤, 本研究中 dMMR 型病例占比达 25.2%^[13]。MMR 成对缺失在判读中经常出现, 表现为 MLH1/PMS2 同时缺失或 MSH2/MSH6 同时缺失, 此外, MSH6 或 PMS2 表达的缺失可以作为孤立事件发生^[14]。在本组 31 例 dMMR 型 EC 中, 11 例(11/31, 35.5%)为 MLH1、PMS2 同时缺失, 2 例(2/31, 6.5%)为 MSH2、MSH6 同时缺失。此外, 还发现 1 例(3.2%)存在 MLH1、PMS2、MSH2 三者同时缺失, 以及 3 例(9.7%)MSH2 单独缺失的情况。虽然这些模式与前文所述典型情况略有差异, 但均应被判定为 dMMR 型。既往研究表明, MSI 检测与 IHC 分析具有高度一致性, IHC 通常可作为 EC 患者 MMR 缺陷检测的首选方法^[15]。本研究数据同样验证了这一说法: 在 Sanger 测序中, 12 例同时接受 MSI 和 IHC 检测的病例中有 2 例(16.7%)结果不一致; 而在 NGS 中, 17 例受检病例中仅 1 例(5.9%)出现不一致。然而 IHC 检测仅能反映 MMR 蛋白的表达情况, 无法识别潜在的基因突变。相比之下 NGS 不仅能准确判定 MSI 状态, 还能同步检测 MMR 相关基因的突变情况。因此对于检出 MSI-H 但 IHC 未显示 MMR 蛋白缺失的特殊病例, 可以采用 NGS 进行进一步验证^[16]。

抑癌基因 p53 表达异常与 EC 患者预后不良相关。该亚型可通过 IHC 检测异常的 p53 蛋白表达进行识别, 也可通过 NGS 鉴定 TP53 致病性变异。NGS 技术能够直接评估 TP53 基因突变状态, 在鉴别 p53abn 亚型中具有一定优势^[2]。研究显示, 在所有 EC 病例中, IHC 预测 TP53 突变存在的准确性为 92%, 在排除 MMRd 和 POLEmut 后, IHC 和 TP53 突变状态确定的 p53 蛋白表达的准确率达到 95%^[17]。通过染色情况及突变位点致病性综合分析, p53 IHC 和 TP53 NGS 分析已具有很高的 consistency^[18]。本研究中共有 70 例同时进行 TP53 和 p53 IHC 检测, 其中仅 3 例检测结果不相符, 占比 4.3%, 这与文献报道的结果相一致。

为直接比较不同检测方法在 EC 分子分型中的一致性, 有效规避因时间跨度及群体异质性可能造成的误差, 本研究选取了 10 例已经 NGS 检测的标

本, 采用 IHC 联合 Sanger 测序进行同步复测。所选样本涵盖 4 种主要分子亚型, 并兼顾不同临床分期与组织学分级, 具有良好的代表性。复测结果显示, 两种检测方法在 POLE 基因突变及微卫星稳定性状态的检测中结果完全一致。然而, 在 TP53/p53 检测方面, IHC 与 NGS 之间存在 1 例不一致情况, 差异可能源于 IHC 判读过程中的主观因素, 以及其在蛋白表达检测灵敏度方面的固有局限。在本研究中, POLEmut 型的检出率在两种方法间的差异具有统计学意义($P=0.047$), 考虑到 NGS 样本中 POLEmut 型病例的实际比例较高, 该差异更可能源于两组人群的异质性, 而非检测方法本身的优劣。因此, IHC 联合 Sanger 测序可作为一种快速、经济的临床初筛策略, 但在检测精准度方面, NGS 技术具有更高可靠性, 能够提供更为准确的分子分型结果。

综上所述, 本研究为一项回顾性分析, 受临床应用技术自然迭代影响, IHC-Sanger 组与 NGS 组的样本收集时间存在差异, 并非严格的直接平行比较; 同时, 用于直接比对的验证样本量有限。这些局限可能影响对两种方法一致性的精确评估, 未来仍需大样本研究予以确证。尽管如此, 本研究结果仍提示, NGS 技术凭借其高通量整合优势, 在 EC 分子分型中具有重要价值。相比传统 IHC+Sanger 方法的片段化检测, NGS 可同步完成 MSI 状态、MMR 基因及 TP53 的一站式分析, 有效避免因复杂分型导致的临床误判, 为预后分层与个体化治疗提供更全面的决策依据。随着检测成本下降与标准化程度提高, NGS 有望逐步成为分子分型的首选方案。

利益冲突声明:

全体作者声明没有利益冲突。

Conflict of Interests:

The authors declared no conflict of interests.

作者贡献声明:

张志聪负责数据收集、研究设计、资料分析、论文撰写与修改; 戚晓瑜负责论文修改、文献查找、研究方法优化; 马志芳负责数据分析、论文修改、技术支持与指导; 徐敏负责数据分析、优化研究方案、论文修改; 顾芸负责提供研究方案与项目基金支持、研究方法优化指导、论文修订。

Author's Contributions:

ZHANG Zhicong was responsible for data collection, study design, data analysis, and manuscript writing and revision; QI Xiaoyu was responsible for manuscript revision, literature search, and optimization of research methods; MA Zhifang was responsible for data analysis, manuscript revision, and technical support and guidance; XU Min was responsible for data analysis, optimization of the research protocol, and manuscript revision;

GU Yun was responsible for the provision of the research protocol and project funding support, guidance on the optimization of research methods, and manuscript revision.

[参考文献]

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263
- [2] GALANT N, KRAWCZYK P, MONIST M, et al. Molecular classification of endometrial cancer and its impact on therapy selection [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(11): 5893
- [3] 王家祎, 郭瑞霞, 姜国忠, 等. 分子分型预测子宫内膜癌及子宫内膜非典型增生患者保留生育功能治疗后的预后及生育结局 [J]. *现代妇产科进展*, 2024, 33(9): 648-655
- WANG J Y, GUO R X, JIANG G Z, et al. Molecular typing predicts the prognosis and fertility outcomes of patients with endometrial cancer and atypical endometrial hyperplasia after fertility - sparing treatment [J]. *Modern Advances in Obstetrics and Gynecology*, 2024, 33(9): 648-655
- [4] DORCA E, VELASCO A, VARELA M, et al. Validation of Modaplex POLE mutation assay in endometrial carcinoma [J]. *Virchows Arch*, 2023, 483(6): 787-794
- [5] ZHU D Q, SHI K Y, HU D X, et al. Clinicopathological and molecular characterization of non - endometrioid endometrial carcinoma [J]. *J Cancer*, 2025, 16(7): 2312-2320
- [6] 高敏, 宋坤. 分子分型对子宫内膜癌诊治和预后判断的临床价值及意义 [J]. *实用妇产科杂志*, 2025, 41(4): 271-275
- GAO M, SONG K. Clinical value and significance of molecular typing in the diagnosis, treatment and prognosis of endometrial cancer [J]. *Journal of Practical Obstetrics and Gynecology*, 2025, 41(4): 271-275
- [7] KIM G, LEE S K, SUH D H, et al. Clinical evaluation of a droplet digital PCR assay for detecting POLE mutations and molecular classification of endometrial cancer [J]. *J Gynecol Oncol*, 2022, 33(2): e15
- [8] ENNELI D. The importance of molecular classification in clinical practice of endometrial carcinomas: how to apply it and difficulties in application [J]. *J Turk Ger Gynecol Assoc*, 2023, 24(3): 197-205
- [9] 李红英, 覃再隆. 单分子测序技术的应用与研究进展 [J]. *广西医学*, 2024, 46(12): 1935-1940
- LI H Y, QIN Z L. Application and research progress of single molecule sequencing technology [J]. *Guangxi Medical Journal*, 2024, 46(12): 1935-1940
- [10] 卢美伊, 朱志军, 胡开明, 等. 高通量测序技术在病原体检测中的临床应用进展 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2023, 23(1): 107-110
- LU M Y, ZHU Z J, HU K M, et al. Clinical application progress of high - throughput sequencing technology in pathogen detection [J]. *Chinese Journal of Infection and Chemotherapy*, 2023, 23(1): 107-110
- [11] MCALPINE J N, CHIU D S, NOUT R A, et al. Evaluation of treatment effects in patients with endometrial cancer and POLE mutations: an individual patient data meta - analysis [J]. *Cancer*, 2021, 127(14): 2409-2422
- [12] OAKNIN A, BOSSE T J, CREUTZBERG C L, et al. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up [J]. *Ann Oncol*, 2022, 33(9): 860-877
- [13] OAKNIN A, GILBERT L, TINKER A V, et al. Safety and antitumor activity of dostarlimab in patients with advanced or recurrent DNA mismatch repair deficient/microsatellite instability - high (dMMR/MSI - H) or proficient/stable (MMRp/MSS) endometrial cancer: interim results from GARNET-a phase I , single-arm study [J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(1): e003777
- [14] MENDIOLA M, HEREDIA-SOTO V, RUZ-CARACUEL I, et al. Comparison of methods for testing mismatch repair status in endometrial cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14468
- [15] RIEDINGER C J, ESNAKULA A, HAIGHT P J, et al. Characterization of mismatch - repair/microsatellite instability-discordant endometrial cancers [J]. *Cancer*, 2024, 130(3): 385-399
- [16] LI Y, FENG J N, ZHAO C Z, et al. A new strategy in molecular typing: the accuracy of an NGS panel for the molecular classification of endometrial cancers [J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(16): 870
- [17] SINGH N, PISKORZ A M, BOSSE T, et al. p53 immunohistochemistry is an accurate surrogate for TP53 mutational analysis in endometrial carcinoma biopsies [J]. *J Pathol*, 2020, 250(3): 336-345
- [18] VERMIJ L, LÉON-CASTILLO A, SINGH N, et al. p53 immunohistochemistry in endometrial cancer: clinical and molecular correlates in the PORTEC-3 trial [J]. *Mod Pathol*, 2022, 35(10): 1475-1483
- (收稿: 2025-07-13; 修回: 2026-03-03; 录用: 2026-03-10)
(本文编辑: 蒋莉)