DOI:10.16016/j.2097-0927.202112273

免疫组化联合半定量法检测淋巴脉管间隙浸润在早期子宫内膜癌的预后价值

林颖欣[1],张月华[2],张淦梅[2],房惠琼[2],张良运[2],李财枝[1],胡 倩[1],庞丹梅[1] 528000 广东 佛山,中山大学附属佛山医院:乳腺肿瘤内科[1],病理科[2]

[摘要] **目的** 探讨应用免疫组化联合半定量法检测淋巴脉管间隙浸润(lymphovascular space invasion,LVSI)在早期子宫内膜癌预后评价中的价值。**方法** 回顾性收集2010-2017年在中山大学附属佛山医院妇科住院接受根治性手术的早期(2009 FIGO分期Ⅰ~Ⅱ期)子宫内膜癌患者临床病理资料203例,并调取其手术标本病理玻片,采用免疫组化方法判定LVSI的类型属于淋巴管侵犯(lymphatic vessel invasion,LVI)或血管侵犯(blood vessel invasion,BVI),再运用半定量分层法判定脉管侵犯程度,从而将所有病例分类归为6组:局灶LVI、广泛LVI、局灶BVI、广泛BVI、LVI+BVI、LVSI(-)组。采用χ^2检验比较各组5年无复发生存率的差异,采用Kaplan-Meier法进行生存分析,采用Cox比例风险模型进行单因素及多因素分析不同LVSI状况和其他临床病理因素对早期子宫内膜癌无复发生存时间的影响。**结果** 全组203例患者,局灶LVI、广泛LVI、局灶BVI、广泛BVI、LVI+BVI的比例依次为14.7%、7.8%、4.4%、2.0%、5.9%;5年无复发生存率依次为56.7%、50.0%、33.3%、25.0%、33.3%,与LVSI(-)组相比差异均有统计学意义($P<0.01$);中位无复发生存时间依次为74.3、51.5、34.4、26.1、40.7个月,与LVSI(-)组比较均有统计学差异($P<0.01$)。单因素分析显示,年龄、肌层浸润深度、LVSI状况、术后放疗与早期EC的无复发生存时间有关($P<0.05$)。多因素预后分析显示,广泛LVI者(*HR*:5.832,95%*CI*:2.463~13.808)较局灶LVI者(*HR*:3.380,95%*CI*:1.708~6.688)复发风险高,局灶BVI者(*HR*:12.536,95%*CI*:4.692~33.493)、广泛BVI者(*HR*:11.538,95%*CI*:2.869~46.399)、LVI+BVI者(*HR*:10.065,95%*CI*:4.215~24.032)的复发风险相差不大,均高于广泛LVI者;年龄、分期、LVSI状况、术后放疗、术后化疗是影响早期EC预后的独立预后因素($P<0.05$)。**结论** 应用免疫组化联合半定量评价体系来判定脉管侵犯状况可能有助于预测早期子宫内膜癌患者的复发风险。

[关键词] 脉管侵犯;子宫内膜癌;免疫组化;半定量;预后
[中图法分类号] R181.32;R446.6;R737.33 [文献标志码] A

Prognostic value of lymphovascular space invasion evaluated by immunohistochemistry and stratification with a semi-quantitative scoring system for early-stage endometrial cancer

LIN Yingxin[1], ZHANG Yuehua[2], ZHANG Ganmei[2], FANG Huiqiong[2], ZHANG Liangyun[2], LI Caizhi[1], HU Qian[1], PANG Danmei[1] [1]Department of Breast Oncology, [2]Department of Pathology, the Affiliated Foshan Hospital of Sun Yat-sen University, Foshan, Guangdong Province, 528000, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the prognostic value of lymphovascular space invasion (LVSI) evaluated by immunohistochemistry and then stratification with a semi-quantitative scoring system for early-stage endometrial cancer. **Methods** We retrospectively reviewed 203 patients with 2009 International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) stage Ⅰ to Ⅱ endometrial cancer who underwent radical surgery in the gynecology department of our hospital between 2010 and 2017. Their clinicopathological and follow-up data were collected. All available slides from the hysterectomy specimens were examined, and

[基金项目] 佛山市卫生健康局医学科研项目(20200187);佛山市"登峰计划"科研项目(2019D054)
[通信作者] 庞丹梅,E-mail:pdmei@fsyyy.com

2097-0927/Copyright © 2022,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

immunohistochemical techniques were used to detect LVSI and determine whether the type of LVSI belonged to lymphatic vessel invasion (LVI) or blood vessel invasion (BVI), and then the results were stratified with a semi-quantitative scoring system to assess the extent of LVSI. All the patients were classified into 6 groups: focal LVI, substantial LVI, focal BVI, substantial LVI, LVI+BVI, and LVSI (-). We used *Chi*-square test to compare the difference in the 5-year recurrence-free survival rate (RFS) among groups and Kaplan-Meier analysis for survival analysis. Univariate and multivariate analyses was used to analyze the influencing factors for survival, and Cox proportional hazards model was adopted to determine the effects of different LVSI statuses and other clinicopathological factors on RFS of early-stage endometrial cancer. **Results** Among the 203 patients, the proportions of focal LVI, substantial LVI, focal BVI, substantial LVI, LVI+BVI were 14.7%, 7.8%, 4.4%, 2.0% and 5.9%, respectively, and their 5-year RFS was 56.7%, 50.0%, 33.3%, 25.0% and 33.3% respectively, and statistical differences were observed when compared with the LVSI (-) group ($P<0.01$). Their median RFS was 74.3, 51.5, 34.4, 26.1 and 40.7 months, respectively, which were significantly different from that of the LVSI(-) group ($P<0.01$). Univariate analysis showed that age, depth of myometrial invasion, LVSI status, and adjuvant radiotherapy were closely associated with the RFS (all $P<0.05$). Multivariate analysis indicated that the patients with substantial LVI (*HR*:5.832, 95%*CI*: 2.463~13.808) were more likely to relapse than those with focal LVI (*HR*:3.380, 95%*CI*: 1.708~6.688), and those with focal BVI (*HR*:12.536, 95%*CI*: 4.692~33.493), substantial BVI (*HR*:11.538, 95%*CI*: 2.869~46.399) or LVI+BVI (*HR*:10.065, 95%*CI*: 4.215~24.032), had similiar risk levels of recurrence and a higher risk than patients with substantial LVI; And age, stage, LVSI status, adjuvant radiotherapy, and adjuvant chemotherapy were independent prognostic factors for early-stage endometrial cancer (all $P<0.05$). **Conclusion** LVSI evaluated by immunohistochemistry and then stratified with a semi-quantitative scoring system may help predicting the risk of recurrence in early-stage endometrial cancer.

[**Key words**] lymphovascular space invasion; endometrial cancer; immunohistochemistry; semi-quantitative; prognosis

Supported by the Medical Research Project of Foshan Municipal Health Bureau (20200187) and the Scientific Research Project of Foshan Summit Plan (2019D054). Corresponding author: PANG Danmei, E-mail: pdmei@fsyyy.com

80%的子宫内膜癌(endometrial cancer,EC)确诊时属于早期,其5年生存率可达到95%以上,但其中约20%最终会出现复发转移[1]。淋巴脉管间隙浸润(lymphovascular space invasion,LVSI)是指光学显微镜下在肿瘤外围的正常淋巴管或血管间隙中清楚地看到至少一簇癌细胞。LVSI(+)被公认是EC复发并影响总生存期的独立高危因素,尤其在淋巴结阴性的早期患者中,是临床医师决策是否给予术后辅助放化疗的重要参考[1-3]。然而,目前LVSI的检测仍存在较多争议,主要包括以下几个方面:其一,无公认的标准指南可供参照,主观性强,假阳性及假阴性率高,从而导致危险因素的误判分层;其二,LVSI的范围和严重程度(局灶/广泛)的预后价值可能不同,但目前无成熟的定量/半定量评价体系;其三,苏木精-伊红染色法(HE)下无法分辨血管侵犯(blood vessel invasion,BVI)还是淋巴管侵犯(lymphatic vessel invasion,LVI),而两者的预后意义可能也不相同。长期以来,多数研究将LVSI看作单个变量来研究其对EC的预后价值,而并未"分型"(区分LVI或BVI)和"定量"(评价程度为广泛或局灶)。近几年有研究分别从"分型"或"定量"角度分析发现,BVI较LVI患者预后更差[4],程度广泛的LVSI较局灶LVSI更影响患者生存[5]。但是,这些研究能"分型"者不能"定量",已"定量"者未行"分类"。本研究旨在通过纳入早期EC患者人群,运用联合免疫组化(immunohistochemistry,IHC)与半定量评价方法来进一步明确其LVSI类型和程度,并分析其与预后的关系,探讨该联合评价体系的应用价值,为临床决策提供参考依据。本研究依据观察性流行病学研究报告论文国际报告规范清单(STROBE)进行报道。

1 资料与方法

1.1 样本量计算

查阅文献,Ⅰ期EC的LVSI阳性率约为15%,LVSI(+)与(-)的5年无复发生存率(5-year relapse-free survival,5y-RFS)分别为66.1%与91.4%[6]。设检验水准$\alpha=0.05$,检验效能$(1-\beta)=0.8$,按1∶3比例入组,用PASS软件估算样本量。计算样本量约需96例,其中LVSI(+)至少24例,加上10%失访率,总样本量

需 106 例。

1.2 临床资料

回顾性收集 2010-2017 年在中山大学附属佛山医院妇科住院接受手术切除且有完整病历及随访资料的早期子宫内膜癌病例 203 例,患者均为女性,中位年龄 54(27~75)岁。纳入标准:①年龄≥18 岁;②接受子宫内膜癌根治性手术(全子宫+双附件+盆腔淋巴结切除±主动脉旁淋巴结切除术);③术后分期:2009FIGO 分期Ⅰ~Ⅱ期;④术后病理组织学类型:子宫内膜样腺癌。排除标准:①合并第二原发肿瘤;②合并妊娠;③合并心、肺、肝、肾等脏器功能不全且未有效控制者;④围术期(生存期在 3 个月以内)死亡;⑤病历资料不完整,患者依从性差,不配合随访。本研究通过医院伦理委员会批准(伦审研[2020]第 68-1 号),所有患者由其本人签署知情同意书。具体病例临床病理特征见表 1。

表 1 入组患者基线特征(n=203)

临床病理特征	例数
年龄/岁	
<60	157
≥60	46
分期(FIGO 2009)	
ⅠA	110
ⅠB	55
Ⅱ	38
组织学分级	
1	34
2	122
3	47
肌层侵犯	
<1/2	137
≥1/2	66
术后治疗	
盆腔外照射+阴道后装放疗	20
阴道后装放疗	26
化疗	39
无	131
复发	
局部复发(5 年内)	27
(5 年以上)	2
远处转移(5 年内)	29
(5 年以上)	3

1.3 LVSI 的 IHC 分型及半定量分层方法

调阅符合入组标准患者的病理玻片与蜡块,复核其 HE 染色下的 LVSI 情况,选取最具代表性的区域对应蜡块切取白片进行 IHC 检测。每个蜡块切取 4~10 张白片,最多检测 5 张白片作半定量。LVSI 的 IHC 标记过程使用 D2-40 和Ⅷ因子分别特异性标记淋巴管和血管。使用 DAKO Omnis 全自动免疫组化染色机进行石蜡切片的脱蜡、抗原修复和免疫染色过程。具体程序如下:碱性修复液(Tirs-EDTA9.0,DAKO,Denmark)97 ℃ 30 min,分别加入一抗小鼠抗人 D2-40(DAKO,Denmark)和兔抗人第Ⅷ因子(DAKO,Denmark)32 ℃ 孵育 20 min,3%过氧化氢(DAKO,Denmark)阻断 3 min,酶标羊抗兔和鼠免疫球蛋白聚合物二抗试剂(DAKO,Denmark)32 ℃孵育 20 min,二氨基联苯胺显色 5 min,苏木精复染,盐酸酒精分化,流水冲洗,梯度酒精脱水,烤干后中性树胶封片。显微镜下观察染色效果,染色可疑者即行重新标记染色。以 PBS 缓冲液取代一抗作阴性对照,以已知阳性反应片作阳性对照。

盲法判读:由不清楚患者临床信息和 HE 染色 LVSI 情况的 2 位病理科医师对 IHC 结果进行判读。在肿瘤外围的正常淋巴管或血管内皮间隙中清楚地看到至少一簇癌细胞,判定为 LVSI(+)。根据内皮细胞的 IHC 着色情况,D2-40(+)Ⅷ(-)判为 LVI(+),D2-40(-)Ⅷ(+)判为 BVI(+),D2-40(+)Ⅷ(+)判为 LVI+BVI,D2-40(-)Ⅷ(-)判为 LVSI(-)。如两位医师意见不一致,则会经过商议达成共识。

半定量分层:经过 IHC 区分 LVSI 类型后,分别对 LVI(+)或 BVI(+)的患者采用 3 层分级体系进行半定量分层,分别统计局灶 LVI、广泛 LVI、局灶 BVI、广泛 BVI、LVI+BVI、LVSI(-)的例数。计算平均每张玻片的 LVSI 数量=全部玻片看到的 LVSI 总数/玻片数量。具体分层标准如下:①无:即 LVSI(-);②局灶:平均每片玻片中肿瘤组织周围≤1 处 LVSI;③广泛:平均每片玻片中肿瘤组织周围可见>1 处的 LVSI。

1.4 随访方法

对入组患者进行随访,随访形式以患者定期返院复诊及电话方式进行。术后 2 年内每 3 个月复诊一次,其后 3 年内每半年复诊一次,满 5 年后每年一次,每 2 个月电话随访 1 次。返院复查内容包括问诊、体格检查、血常规、肿瘤标记物、影像学等。记录所有患者的无复发生存时间(relapse-free survival,RFS,从手术到首次随访发现复发或随访截止日之间的时间),计算 5y-RFS(术后 5 年内未复发的患者人数/总患者人数×100%)。随访时间截至 2021 年 11 月。随访率 100%。203 例患者中位随访时间 55.3(2~139)个月。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计数资料比较采用 χ^2 检验,多组率两两比较采用 Holm-Bonferroni

校正法。采用 Kaplan-Meier 法描绘生存曲线,Log-rank 检验比较组间差异,Cox 比例风险模型分析各临床病理因素与 RFS 的关系。采用双侧检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义,可信区间采用 95% 的可信度(95%*CI*)。

2　结果

2.1　早期子宫内膜癌中各 LVSI 类型与程度的分布

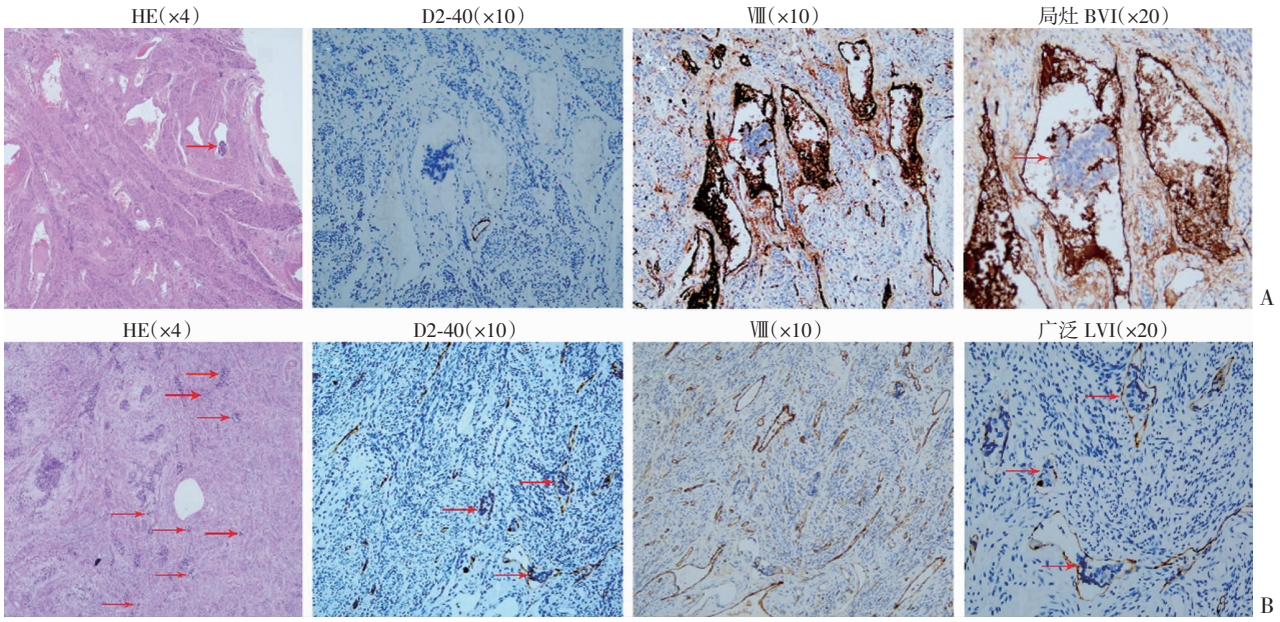
各 LVSI 类型与程度判定见图 1。78.8%(56/71)HE 染色下判定为 LVSI(-)的病例用 IHC 法被确认为 LVSI(+),而有 37.5%(9/24)HE 法认定的 LVSI 在 IHC 染色下未显色。HE 染色下,LVSI 阳性率为 11.8%(24/203),LVSI(+)组与(-)组 5y-RFS 无统计学差异;使用 IHC 染色法后,LVSI 阳性率提高到 35.0%(71/203),LVSI(+)组与(-)组 5y-RFS 差异有统计学意义。引入分类半定量法后,LVSI(+)被细分为 5 个亚组,局灶 LVI 组 30 例(14.7%),广泛 LVI 组 16 例(7.8%),局灶 BVI 组 9 例(4.4%),广泛 BVI 组 4 例(2.0%)和 LVI+BVI 组 12 例(5.9%)。其 5y-RFS 与 LVSI(-)组相比差异均有统计学意义($P<0.01$),但各亚组两两比较差异无统计学意义。见表 2。

2.2　LVSI 类型和程度与早期子宫内膜癌预后的关系

按分类半定量法分组后各亚组的 RFS 曲线见图 2。LVSI(+)的病例中,广泛 BVI 组中位无复发生存时间(median relapse-free survival,mRFS)最短(26.1 个月),局灶 LVI 组最长(mRFS=74.3 个月),均与 LVSI(-)组(mRFS未达到)有统计学差异($P<0.01$)。单因素分析显示,年龄、肌层浸润深度、LVSI 状况、术后放疗与早期 EC 的 RFS 有关($P<0.05$),分期、组织学分级、术后化疗则与之无关。Cox 多因素回归显示,年龄、分期、LVSI 状况、术后放疗、术后化疗是影响早期 EC 预后的独立预后因素($P<0.05$),而肌层浸润深度、组织学分级并不是早期 EC 预后的独立危险因素。见表 3。进一步比较各 LVSI 亚组,广泛 LVI 者(*HR*:5.832,95%*CI*:2.463~13.808)较局灶 LVI 者(*HR*:3.380,95%*CI*:1.708~6.688)复发风险高,局灶 BVI 者(*HR*:12.536,95%*CI*:4.692~33.493)、广泛 BVI 者(*HR*:11.538,95%*CI*:2.869~46.399)、LVI+BVI 者(*HR*:10.065,95%*CI*:4.215~24.032)的复发风险相差不大,均高于广泛 LVI 者。

表 2　不同 LVSI 判定方法下各亚组的 5 年无复发生存率比较

判定方法	*n*	5 年内复发	5y-RFS(%)	χ^2 值	*P* 值
HE 法					
LVSI(+)	24	8	66.7	0.450	0.502
LVSI(-)	179	48	73.2		
IHC 法					
LVSI(+)	71	38	46.5	36.765	<0.01
LVSI(-)	132	18	86.3		
分类半定量法					
局灶 LVI	30	13	56.7	41.164	<0.01
广泛 LVI	16	8	50.0		
局灶 BVI	9	6	33.3		
广泛 BVI	4	3	25.0		
LVI+BVI	12	8	33.3		
LVSI(-)	132	18	86.3		



A:局灶 BVI　↑:示淋巴管侵犯病灶;B:广泛 LVI　↑:示血管侵犯病灶

图 1　免疫组化分型联合半定量分层法判定 LVSI 类型与程度

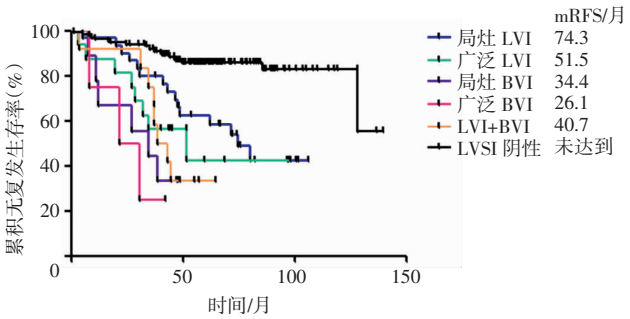


图 2 分类半定量法分组后各亚组 RFS 曲线

3 讨论

LVSI(+)被认为是恶性肿瘤发生淋巴或血行转移播散的开始,对 EC 淋巴结转移和远处转移复发都具有重要的预后价值。然而,长期以来大部分文献都将 LVSI 看作单个预后因素来分析。近年逐渐有对 LVSI 做进一步分型或定量的研究,发现不同类型和程度的 LVSI 预后价值并不一致,这很可能影响早期 EC 术后患者的临床分层决策。从表4可见,大多数研究都未兼顾 LVSI“分型”与“定量”的同步评估,而且将早期与晚期 EC 病例同时入组一并统计,基线特征差异较大,结论多不一致。本研究入组病例全部为Ⅰ~Ⅱ期 EC 患者,旨在将 IHC 联合半定量评价方法二者结合以探讨其在早期 EC 预后的应用价值。

传统 LVSI 的认定是在 HE 染色下由病理科医师依据个人经验进行形态学判定,并无公认的标准指南可供参照执行,主观性强,个体差异大,制片过程中形成的肿瘤碎屑,伴微囊性、伸长及碎片状(microcystic,elongated,fragmented,MELF)模式的浸润也常常难以与 LVSI 鉴别,假阳性及假阴性率较高。IHC 染色法使用能特异性标记淋巴管与血管的 D2-40 和Ⅷ因子抗体,不仅能准确地判定 LVSI,提高敏感性和特异性,还能区分 LVI 与 BVI,为进一步研究两者的预后价值提供基础。本研究发现,HE 法判定的 LVSI 阳性率偏低,从 5y-RFS 差异上看也无法体现其预后价值;IHC 染色法则使 LVSI 检出率明显提高,据其划分的两组也观察到 5y-RFS 差异有统计学意义,提示该方法可作为 LVSI 的优选判定方法。

表 3 早期子宫内膜癌无复发生存时间预测因素的 Cox 比例风险模型分析

临床病理因素	单因素			多因素		
	HR	95%*CI*	*P* 值	*HR*	95%*CI*	*P* 值
年龄/岁						
<60	1			1		
≥60	1.877	1.099~3.206	0.021	2.636	1.409~4.933	0.002
分期						
ⅠA~ⅠB	1			1		
Ⅱ	1.502	0.825~2.732	0.183	1.867	1.002~3.480	0.049
肌层浸润						
<1/2	1			1		
≥1/2	1.673	1.003~2.788	0.049	1.292	0.732~2.281	0.376
组织学分级						
1~2	1			1		
3	1.358	0.766~2.408	0.295	1.335	0.734~2.431	0.344
LVSI 情况						
LVSI 阴性	1			1		
局灶 LVI	3.530	1.806~6.900	<0.01	3.380	1.708~6.688	<0.01
广泛 LVI	5.243	2.294~11.982	<0.01	5.832	2.463~13.808	<0.01
局灶 BVI	9.137	3.602~23.177	<0.01	12.536	4.692~33.493	<0.01
广泛 BVI	14.270	4.124~49.372	<0.01	11.538	2.869~46.399	0.001
LVI+BVI	6.592	2.868~15.147	<0.01	10.065	4.215~24.032	<0.01
术后治疗						
无	1			1		
放疗	0.306	0.131~0.711	0.006	0.270	0.112~0.652	0.004
化疗	0.854	0.444~1.642	0.637	0.465	0.227~0.952	0.036

表 4 近年对子宫内膜癌 LVSI 作分型或定量研究的文献

研究(发表年份)	样本量	研究设计	患者分期	检测方法	LVI(%)	BVI(%)	半定量	主要终点	主要结论
ALEXANDER-SEFRE 等(2009)[7]	77	回顾性队列	Ⅰ	IHC	22(29)	23(30)	否	RFS, OS	首次报道使用 IHC 法区分 EC 的 LVSI 类型的预后意义(未比较 LVI 与 BVI 的预后差异)
MANNELQVIST 等(2009)[4]	286	回顾性队列	Ⅰ~Ⅳ	IHC	84(31)	50(18)	否	RFS, OS	LVI 与 BVI 都是独立危险因子,BVI(+)者预后更差
VANDENPUT 等(2010)[8]	62	回顾性队列	Ⅰ~Ⅲ	IHC	32(52)	41(66)	否	RFS, OS	BVI 是 OS 独立危险因子
VISSER 等(2017)[9]	183	病例-对照	Ⅰ~Ⅲ	IHC	59(32)	12(7)	否	不同结局病例的 LVI 和 BVI 比例	BVI 是复发的独立危险因子
SATO 等(2018)[10]	376	回顾性队列	Ⅰ~Ⅲ	IHC	82(22)	87(23)	否	RFS	BVI 是复发的独立危险因子
WAKAYAMA 等(2018)[11]	189	回顾性队列	Ⅰ~Ⅳ	IHC	55(31)	36(19)	否	RFS, OS	LVI 是 OS 独立危险因子
HACHISUGA 等(1999)[12]	303	回顾性队列	Ⅰ~Ⅳ	HE	未报告	未报告	是	OS	OS:广泛 LVSI 者最短,局灶 LVSI 与 LVSI(-)者相近
BOSSE 等(2015)[5]	926	前瞻性队列	Ⅰ	HE	未报告	未报告	是	RFS, OS	远处转移风险:广泛 LVSI 者最高,局灶 LVSI 者次之,LVSI(-)者最低 OS:广泛 LVSI 者最短,局灶 LVSI 与 LVSI(-)者相近
MATSUO 等(2015)[13]	711	回顾性队列	Ⅰ~Ⅲ	HE	未报告	未报告	是	RFS	远处转移风险:广泛 LVSI 者最高,局灶 LVSI 与 LVSI(-)者相近

RFS:无复发生存时间;OS:总生存时间

在本研究中,引入分类半定量法后,LVSI(+)被细分为 5 个亚组:局灶 LVI、广泛 LVI、局灶 BVI、广泛 BVI、LVI+BVI。其中局灶 LVI 最常见(14.7%),广泛 BVI 发生率最低(2.0%)。各亚组的 5y-RFS 与 LVSI(-)组相比差异均有统计学意义,但各亚组两两比较无统计学差异。由于本研究纳入病例均为早期(Ⅰ~Ⅱ期)患者,较局部晚期患者发生脉管侵犯概率更低,故部分亚组病例数偏少,两两比较时难以获得统计学差异。VISSER 等[9]报道,经过 IHC 标记,LVSI 的检出率从 HE 下的 24.6%提高到 36.1%,其中大部分(29.5%)仅有 LVI(+),3.8%为 BVI(+),2.7%是 LVI+BVI,本研究结果与文献报道基本一致。

在单因素分析中,我们发现,年龄、肌层浸润深度、LVSI 状况、术后放疗均与 RFS 相关,经 Cox 回归多因素分析校正后,年龄、分期、LVSI 状况、术后放疗、术后化疗是影响早期 EC 预后的独立预后因素,而肌层浸润深度、组织学分级并不是早期 EC 预后的独立危险因素。本研究观察到,大多数早期 EC 复发病例的复发时间都在 5 年内,几个 LVSI 亚组的 5 年复发率虽然相近,但 RFS 却显示出差异。Cox 回归模型多因素分析显示,虽然 LVI(+)与 BVI(+)都属于 LVSI(+),复发风险都高于 LVSI(-)者,但半定量分组后预后意义差别较大。广泛 LVI 者的 mRFS 短于局灶 LVI 者(51.5 *vs* 74.3 个月),复发风险更高;而局灶 BVI 者与广泛 BVI 者的 mRFS 和 HR 相近,复发风险都明显高于广泛 LVI 者;而 LVI+BVI 组的复发风险则更接近于单纯 BVI(+)组。

既往研究发现,虽然 LVI 比 BVI 更常见[4],但在很多区域淋巴结阴性的早期恶性肿瘤病例中都可以检测出循环肿瘤细胞,这个现象提示血行转移并非全都由 LVI 侵入淋巴系统继而进入血液循环发展而来,而是在肿瘤发生早期已经具备的能力[14]。发生淋巴管扩散与血行转移的分子机制差异较大,倾向于先发生 LVI 还是 BVI,是由肿瘤细胞本身的侵袭能力及基因表达决定的,部分恶性程度高的肿瘤细胞很可能在侵犯淋巴管之前就已经直接入血[15]。在 EC[16]、乳腺癌[17]中都观察到多个基因的上调/下调与 LVSI 相关。LVI 与 BVI 之间,也许不是因果关系,而是并列关系。

理论上,LVI 与 BVI 可能导致截然不同的临床结局:LVI 更多的与区域淋巴结转移和局部复发相关,BVI 则可能是全身转移的根源[4, 18]。乳腺癌[19]、结肠癌[20]等恶性肿瘤中都观察到 LVI 与 BVI 的预后价值不一样。VISSER 等[9]、SATO 等[10]均发现,在 EC 患者中,LVI(+)与淋巴结转移的关联性更显著,却并非预后的独立危险因子;而 BVI(+)出现血行转移风险更高,RFS 更短,尤其是在淋巴结阴性患者中。KIMYON 等[21]报道,BVI(而非 LVI)是 EC 宫颈间质浸润的重要途径。最近一项多中心回顾性研究[3]提示,对于 LVSI 阳性Ⅰ期 EC,术后辅助治疗(放疗±化疗)可改善其无进展生存。但是,辅助治疗的方式与疗效是否受 LVSI 类型的影响则暂未见相关文献报道。

本研究的半定量评价体系选用了经文献证实预后区分度最明确的三级半定量法(无/局灶/广泛)[5]。一项基于 926 例样本的前瞻性队列研究(PORTEC 1 和 2)[5]发现,同为Ⅰ期 EC 患者,广泛 LVSI 者远处转移风险最高(*HR*:4.5, 95%*CI*: 2.4~8.5),局灶 LVSI 者次之(*HR*:2.4, 95%*CI*: 1.3~4.9),无 LVSI 者最低。HACHISUGA 等[12]研究表明,广泛 LVSI 者 OS 最短,而局灶 LVSI 与无 LVSI 者 OS 并无显著差别。本研究也发现,从 LVI 亚组看,复发风险从高至低依次为 LVI+BVI 者>广泛 LVI 者>局灶 LVI 者>无 LVSI 者,与以上研究相印证。本研究还发现,BVI 对预后的影响更大,局灶 BVI 与广泛 BVI 预后相当,一旦出现 BVI,即使仅是局灶 BVI,其预后也较广泛 LVI 差。MANNELQVIST 等[4]报道,LVI(+)者复发风险(*HR*: 4.5, 95%*CI*: 2.0~10.5),介乎于 LVSI(-)(*HR*=1)与 BVI(+)(*HR*:8.7, 95%*CI*: 3.9~19.5)之间,一旦出现 BVI,即使同时合并存在 LVI 也不增加额外的风险,BVI 是更主要的预后因子。这与本研究结果基本一致。

综合上述结果,我们推断,两种 LVSI 类型的预后价值可能不一样:LVI 的预后价值受淋巴管侵犯程度影响较大,广泛 LVI 者复发转移风险更高;BVI 较 LVI 的远期预后价值更高,对 RFS 影响更显著,且与 BVI 程度无关。从临床角度分析,一方面,全面手术分期的实施,使潜在淋巴结转移灶得到切除,目前以放疗为主的术后治疗方案也有助于降低局部复发的风险,从而可能一定程度削弱了 LVI 的预后影响;另一方面,血行转移是 EC 的主要复发模式[10],对于淋巴结阴性的早期患者,辅助化疗并非必选,而常规病理报告 HE 法检出 LVSI 的敏感性和特异性较差,无法早期识别出 BVI(+),可能使这些 BVI(+)患者错过接受全身化疗降低复发的机会。基于本研究结果,对于 BVI(+)和广泛 LVI 的患者,可能需要实施更积极的术后辅助治疗方案。本研究也是目前所知首次关于早期 EC 的 LVSI 分类半定量的预后价值的报道。

综上所述,应用 IHC 联合半定量来评价 LVSI 的方法有助于更精确地评估细分早期 EC 患者的预后风险,广泛 LVI 较局灶 LVI 者复发风险高,BVI(+)者较 LVI(+)者预后更差,且与 BVI 程度无关;年龄、分期、LVSI 状况、术后放疗、术后化疗是影响早期 EC 预后的独立预后因素。本研究为回顾性研究,受入组样本量、病历资料完整度、患者随访依从性等限制,可能存在偏倚,尚需更大规模的前瞻性多中心临床研究及更长的随访时间来进一步证实 IHC 联合半定量评价 LVSI 的方法在早期 EC 中的应用价值。

参考文献:

[1] BEAVIS A L, YEN T T, STONE R L, *et al*. Adjuvant therapy for early stage, endometrial cancer with lymphovascular space invasion: is there a role for chemotherapy?[J]. Gynecol Oncol, 2020, 156(3): 568-574. DOI:10.1016/j.ygyno.2019.12.028.

[2] CONCIN N, MATIAS-GUIU X, VERGOTE I, *et al*. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma[J]. Int J Gynecol Cancer, 2021, 31(1): 12-39. DOI:10.1136/ijgc-2020-002230.

[3] SON J, CHAMBERS L M, CARR C, *et al*. Adjuvant treatment improves overall survival in women with high-intermediate risk early-stage endometrial cancer with lymphovascular space invasion[J]. Int J Gynecol Cancer, 2020, 30(11): 1738-1747. DOI: 10.1136/ijgc-2020-001454.

[4] MANNELQVIST M, STEFANSSON I, SALVESEN H B, *et al*. Importance of tumour cell invasion in blood and lymphatic vasculature among patients with endometrial carcinoma[J]. Histopathology, 2009, 54(2): 174-183. DOI:10.1111/j.1365-2559.2008.03201.x.

[5] BOSSE T, PETERS E E, CREUTZBERG C L, *et al*. Substantial lymph-vascular space invasion (LVSI) is a significant risk factor for recurrence in endometrial cancer: a pooled analysis of PORTEC 1 and 2 trials[J]. Eur J Cancer, 2015, 51(13): 1742-1750. DOI: 10.1016/j.ejca.2015.05.015.

[6] LOIZZI V, CORMIO G, LORUSSO M, *et al*. The impact of lymph vascular space invasion on recurrence and survival in patients with early stage endometrial cancer[J]. Eur J Cancer Care (Engl), 2014, 23(3): 380-384. DOI:10.1111/ecc.12115.

[7] ALEXANDER-SEFRE F, NIBBS R, RAFFERTY T, *et al*. Clinical value of immunohistochemically detected lymphatic and vascular invasions in clinically staged endometrioid endometrial cancer[J]. Int J Gynecol Cancer, 2009, 19(6): 1074-1079. DOI:10.1111/IGC.0b013e3181abb0c0.

[8] VANDENPUT I, VANHOVE T, CALSTER B V, *et al*. The use of lymph vessel markers to predict endometrial cancer outcome[J]. Int J Gynecol Cancer, 2010, 20(3): 363-367. DOI:10.1111/IGC.0b013e3181d4a0b9.

[9] VISSER N C M, WERNER H M J, KRAKSTAD C, *et al*. Type of vascular invasion in association with progress of endometrial cancer[J]. APMIS, 2017, 125(12): 1084-1091. DOI:10.1111/apm.12774.

[10] SATO M, TAGUCHI A, FUKUI Y, *et al*. Blood vessel invasion is a strong predictor of postoperative recurrence in endometrial cancer[J]. Int J Gynecol Cancer, 2018, 28(5): 875-881. DOI:10.1097/IGC.0000000000001262.

[11] WAKAYAMA A, KUDAKA W, MATSUMOTO H, *et al*. Lymphatic vessel involvement is predictive for lymph node metastasis and an important prognostic factor in endometrial cancer[J]. Int J Clin Oncol, 2018, 23(3): 532-538. DOI:10.1007/s10147-017-1227-6.

[12] HACHISUGA T, KAKU T, FUKUDA K, *et al*. The grading of lymphovascular space invasion in endometrial carcinoma[J]. Cancer, 1999, 86(10): 2090-2097.

[13] MATSUO K, GARCIA-SAYRE J, MEDEIROS F, *et al*. Impact of depth and extent of lymphovascular space invasion on lymph node metastasis and recurrence patterns in endometrial cancer[J]. J Surg Oncol, 2015, 112(6): 669-676. DOI:10.1002/jso.24049.

[14] ALONSO-ALCONADA L, MUINELO-ROMAY L, MADISSOO K, *et al*. Molecular profiling of circulating tumor cells links plasticity to the metastatic process in endometrial cancer[J]. Mol Cancer, 2014, 13: 223. DOI:10.1186/1476-4598-13-223.

[15] PADUCH R. The role of lymphangiogenesis and angiogenesis in tumor metastasis[J]. Cell Oncol (Dordr), 2016, 39(5): 397-410. DOI:10.1007/s13402-016-0281-9.

[16] WATANABE T, HONMA R, KOJIMA M, *et al*. Prediction of lymphovascular space invasion in endometrial cancer using the 55-gene signature selected by DNA microarray analysis[J]. PLoS One, 2019, 14(9): e0223178. DOI:10.1371/journal.pone.0223178.

[17] KUROZUMI S, JOSEPH C, SONBUL S, *et al*. A key genomic subtype associated with lymphovascular invasion in invasive breast cancer[J]. Br J Cancer, 2019, 120(12): 1129-1136. DOI:10.1038/s41416-019-0486-6.

[18] GUJAM F J, GOING J J, EDWARDS J, *et al*. The role of lymphatic and blood vessel invasion in predicting survival and methods of detection in patients with primary operable breast cancer[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2014, 89(2): 231-241. DOI:10.1016/j.critrevonc.2013.08.014.

[19] KLINGEN T A, CHEN Y, STEFANSSON I M, *et al*. Tumour cell invasion into blood vessels is significantly related to breast cancer subtypes and decreased survival[J]. J Clin Pathol, 2017, 70(4): 313-319. DOI:10.1136/jclinpath-2016-203861.

[20] FUJII T, SUTOH T, MORITA H, *et al*. Vascular invasion, but not lymphatic invasion, of the primary tumor is a strong prognostic factor in patients with colorectal cancer[J]. Anticancer Res, 2014, 34(6): 3147-3151.

[21] KIMYON COMERT G, BASARAN D, ERGIN AKKOZ H, *et al*. Blood vessel invasion in endometrial cancer is one of the mechanisms of spread to the cervix[J]. Pathol Oncol Res, 2019, 25(4): 1431-1436. DOI:10.1007/s12253-018-0498-1.

(收稿:2021-12-31;修回:2022-01-23)

(编辑 张艺霖)