

· 临床研究 ·

DNA 甲基化检测在绝经后女性子宫内膜癌筛查中的应用价值

孔令华¹ 肖晓萍¹ 万茹¹ 钱晓培¹ 陈晓静¹ 王婧² 吴焕文² 李雷¹

¹中国医学科学院北京协和医院妇产科, 国家妇产疾病临床医学研究中心, 北京 100730; ²中国医学科学院北京协和医院病理科, 北京 100730

通信作者:李雷, Email: lileigh@163.com

【摘要】目的 探讨 DNA 甲基化检测在绝经后女性子宫内膜癌筛查中的应用价值。方法 选取 2020 年 5 月至 2021 年 10 月就诊于北京协和医院妇产科、可疑内膜病变、拟行宫腔镜检查的绝经女性 143 例,术前收集宫颈脱落细胞进行基因甲基化检测。同时收集患者基本临床信息、生物标记物与经阴道超声(TVS)的子宫内膜厚度等。以宫腔镜下内膜组织病理学诊断为金标准,采用多因素 logistic 回归模型分析子宫内膜癌的相关因素,利用受试者工作特征(ROC)曲线下的面积(AUC)重点分析基因甲基化检测联合或不联合超声检查对绝经后妇女子宫内膜癌的筛查效能。结果 143 例患者分为内膜癌组(56 例)和对照组(87 例),年龄分别为(59.27±6.45)岁和(61.07±8.26)岁($P=0.051$)。多因素分析发现,CA125≥35 U/ml、绝经出血、绝经内膜厚度≥5 mm、CDO1 甲基化($\Delta Ct\leq 8.4$)、CELF4 甲基化($\Delta Ct\leq 8.8$)是发生子宫内膜癌的相关因素,OR 值(95%CI)分别为 33.23(2.51~1 335.28)、8.41(1.81~39.05)、14.45(2.35~88.84)、17.34(3.34~89.98)、44.01(6.79~285.25),均 $P<0.05$ 。双基因甲基化(CDO1 $\Delta Ct\leq 8.4$ 或 CELF4 $\Delta Ct\leq 8.8$)诊断内膜癌的灵敏度、特异度最高,分别为 87.5%(95%CI: 75.9%~94.8%) 和 90.8%(95%CI: 82.7%~95.9%)。TVS 联合 DNA 甲基化检测可进一步提高灵敏度,为 100.0%(95%CI: 93.6%~100.0%),但不能改善特异度,为 59.8%(95%CI: 48.8%~70.1%)。结论 对于绝经后女性宫颈细胞学 DNA 甲基化筛查内膜癌的准确性优于其他无创临床方案。联合 TVS 可以改善筛查的敏感性。

【关键词】 子宫内膜癌; 癌症早筛; DNA 甲基化; 经阴道超声; 异常子宫出血

基金项目:中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2020-PT320-003);北京市科技委员会首都临床诊疗技术研究及转化应用(Z211100002921068);中央高水平医院临床科研专项(2022-PUMCH-A-117)

The role of DNA methylation in the screening of endometrial cancer in postmenopausal women

Kong Linghua¹, Xiao Xiaoping¹, Wan Ru¹, Chao Xiaopei¹, Chen Xiaojing¹, Wang Jing², Wu Huanwen², Li Lei¹

¹Department of Obstetrics and Gynecology, National Clinical Research Center for Obstetric & Gynecologic Diseases, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China; ²Department of Pathology, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China

Corresponding author: Li Lei, Email: lileigh@163.com

【Abstract】Objective To explore the application value of cervical exfoliated cell DNA methylation (CDO1^m and CELF4^m) combined with or without transvaginal sonography (TVS) for

DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20220929-02058

收稿日期 2022-09-29 本文编辑 梁明修

引用本文:孔令华,肖晓萍,万茹,等. DNA 甲基化检测在绝经后女性子宫内膜癌筛查中的应用价值[J]. 中华医学杂志, 2023, 103(12): 907-912. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20220929-02058.



screening endometrial cancer in postmenopausal women. **Methods** A total of 143 postmenopausal women who underwent hysteroscopy for suspected endometrial lesions in the Department of Obstetrics and Gynecology of Peking Union Medical College Hospital from May 2020 to October 2021 were enrolled in this study. The cervical exfoliated cells were collected for gene methylation before hysteroscopy. Clinical information, tumor biomarkers, and endometrial thickness of TVS were also collected. With endometrial histopathology as the gold standard, multivariate unconditional logistic regression was applied to analyze the risk factors of endometrial cancer. The role of gene methylation with or without TVS were specifically explored. **Results** The 143 patients were divided into an endometrial cancer group ($n=56$) and a control group ($n=87$), aged (59.27 ± 6.45) and (61.07 ± 8.26) years, respectively ($P=0.051$). Multivariate logistic regression analysis showed that, CA125 ≥ 35 U/ml, postmenopausal bleeding, endometrial thickness ≥ 5 mm, CDO1 $^m \Delta Ct \leq 8.4$, and CELF4 $^m \Delta Ct \leq 8.8$ were the risk factors for endometrial cancer, with OR (95%CI) of 33.23 (2.51-1 335.28), 8.41(1.81-39.05), 14.45 (2.35-88.84), 17.34 (3.34-89.98), and 44.01 (6.79-285.25), respectively (all P values <0.05). The sensitivity and specificity of dual-gene methylation (CDO1 or CELF4) in the screening of endometrial carcinoma were both higher than others factors, reaching 87.5% (95%CI: 75.9%-94.8%) and 90.8% (95%CI: 82.7%-95.9%), respectively. TVS combined with DNA methylation detection further improved the sensitivity to 100.0% (95%CI: 93.6%-100.0%), but could not improve the specificity (59.8%, 95%CI: 48.8%-70.1%). **Conclusions** In postmenopausal women with suspected endometrial lesions, the accuracy of cervical cytology DNA methylation is better than other noninvasive clinical indicators for the screening of endometrial cancer. DNA methylation combined with TVS can further improve the sensitivity of screening.

[Key words] Endometrial cancer; Early cancer screening; DNA methylation; Transvaginal sonography; Abnormal uterine bleeding

Fund program: Non-profit Central Research Institute Fund of Chinese Academy of Medical Sciences (2020-PT320-003); Beijing Science and Technology Commission Capital Clinical Treatment Technology Research and Transformation Application (Z211100002921068); National High Level Hospital Clinical Research Funding (2022-PUMCH-A-117)

子宫内膜癌是最常见的妇科恶性肿瘤,全球和我国每年新发分别达到41.74万和7.11万例,每年死亡病例9.7万和1.71万^[1-2]。早期识别高危患者及癌前病变、实现癌症早筛、有效检测癌症进展和治疗,是当前内膜癌诊疗领域的重大课题之一^[3]。对于绝经后出血、子宫内膜厚度超过4 mm的患者,仅有8%的患者存在内膜增生和内膜癌^[4];反复绝经后出血的患者中内膜病变的比例仅提升到9%^[5]。内膜癌评估主要依赖于有创性操作,如诊断性刮宫、宫腔镜检查、宫腔细胞学和病理学微量检测等,但漏诊率较高。目前国内外都没有可用于临床实践的、无创性筛查方案推荐^[6-7]。

抑癌基因的表观遗传学沉默对于癌症发生和进展有重要作用^[8-10]。已有大量有关内膜癌发生发展的甲基化研究,最新研究表明通过宫颈脱落细胞的自采集可以改善内膜癌的早期诊断^[11-12]。研究者已经申请了多项宫颈细胞学甲基化检测用于内膜癌的临床试验,开发了相应的试剂盒(NCT03744962、NCT04651738、NCT05290922 和 NCT05290415)。基于这些工作,本研究在队列研究中,应用宫颈脱落细胞中CDO1基因甲基化(CDO1 m)和CELF基因甲基化(CELF4 m)检测对可疑

内膜病变的绝经后女性进行筛查,并探索细胞学甲基化联合或不联合经阴道超声(transvaginal ultrasound, TVS)的准确性。

对象与方法

一、研究对象

本研究为横断面研究。以2020年5月至2021年10月在北京协和医院妇科门诊就诊、怀疑内膜病变、拟行宫腔镜检查的患者作为研究对象。纳入标准:年龄 ≥ 40 岁,基于《绝经管理与绝经激素治疗中国指南(2018)》^[13]、根据临床表现和检查考虑为绝经后女性;根据《子宫内膜癌筛查规范》^[6]建议怀疑内膜病变或由临床医师建议进行宫腔镜检查及活检;既往未因内膜病变接受过任何治疗或手术治疗;愿意接受检测并签署知情同意书;宫腔镜前评估未发现浸润性宫颈癌。本研究通过了北京协和医院伦理委员会审批(批号:ZS-2740),接受检测前患者均签署相关知情同意书。

宫颈脱落细胞学的样本来自患者术前进行传统细胞学检查和(或)高危人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)检测的剩余样本总计2 ml。



患者的宫腔镜检查由北京协和医院具有资质的术者在静脉麻醉下完成,根据病情对内膜及病变进行活检、切除或诊断性刮宫。患者宫颈细胞学和HPV检测以及组织病理评估由研究者完成并进行复核。

二、研究方法

患者与内膜癌发病相关的一般情况和临床表现由专门的病例收集表采集。本研究重点关注如下与内膜癌相关的临床指标与检查结果,包含年龄、绝经状态、孕产次、既往病史、体质指数(body mass index,BMI)、宫腔镜前1个月内经TVS评估内膜厚度以及宫腔镜前1个月内的糖类抗原125(carbohydrate antigen 125, CA125)数值。结合病史和临床表现,基于国内指南判断是否存在多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)病史^[14]。在本研究中,定义TVS评估的阳性发现为内膜厚度≥5 mm(绝经后)。血清CA125≥35 U/ml定义为异常。根据国内指南^[15]定义异常子宫出血或绝经后阴道流血。

三、细胞学甲基化检测及判断

实验样本均为参与者进行宫颈癌筛查后残留的宫颈细胞学样本2 ml。在获得患者知情同意的情况下,进行样本采集。细胞离心分离后利用细胞DNA提取试剂盒进行宫颈脱落细胞DNA提取,利用DNA重亚硫酸盐转化试剂盒处理提取后的核酸,转化完成的DNA(Bis-DNA)立即进行PCR检测。按照“人CDO1和CELF4基因甲基化检测试剂盒(PCR-荧光探针法)”(NCT05290922,北京起源聚禾生物科技有限公司)产品说明书进行操作^[16]。使用SLAN-96S全自动医用PCR分析系统或ABI 7500实时荧光定量PCR仪进行PCR反应,反应条件:预变性96 °C/10 min;45个循环,变性94 °C/15 s,退火64 °C/5 s,延伸、荧光采集60 °C/30 s;仪器冷却25 °C/1 min。反应结束后根据CDO1基因、CELF4基因与内参基因的Ct值,计算ΔCt(ΔCt=Ct检测基因-Ct内参基因);甲基化判断标准阳性采用Youde指数计算方案。

四、统计学分析

采用SPSS 26.0统计软件包进行统计分析。计数资料用例(%)表示,组间比较采用χ²检验。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用t检验。非正态分布的计量资料用M(Q₁, Q₃)表示,两组间比较采用非参数Mann-Whitney U检验。采用多因素logistic回归模型分析子宫内膜癌发生的相关因素。利用受试者工作特征(receiver

operator characteristic, ROC)曲线下面积(area under curve, AUC)评估各指标诊断子宫内膜癌的效果,并计算灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、OR值及其各自的95%CI。双侧检验,检验水准α=0.05。

结 果

一、基本情况

143例患者分为内膜癌组(56例)和对照组(87例),年龄分别(59.27±6.45)岁和(61.07±8.26)岁(P=0.051)。其中对照组包含良性80例,内膜增生3例,其他癌症4例。2组临床特征的比较见表1。

表1 子宫内膜癌组与对照组患者临床特征比较

项目	子宫内膜癌组(n=56)	对照组(n=87)	χ ² 值	P值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	59.27±6.45	61.07±8.26	1.64	0.051
BMI(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	26.62±4.24	24.32±3.16	1.80	0.014
BMI≥25 kg/m ² [例(%)]	35(62.5)	33(37.9)	7.29	0.006
孕次[例(%)]			7.18	0.023
0	2(3.6)	3(3.4)		
1~2	37(66.1)	38(43.7)		
≥3	17(30.4)	46(52.9)		
产次[例(%)]			2.13	0.560
0	5(8.9)	3(3.4)		
1	39(69.6)	63(72.4)		
2	9(16.1)	17(19.5)		
3	3(5.4)	4(4.6)		
糖尿病[例(%)]	9(16.1)	10(11.5)	0.29	0.457
PCOS史[例(%)]	21(37.5)	36(41.4)	0.08	0.727
合并肌瘤[例(%)]	13(23.2)	29(33.3)	0.27	0.259
合并腺肌症[例(%)]	7(12.5)	5(5.7)	0.64	0.217
CA125≥35 U/ml[例(%)]	22(39.3)	8(9.2)	13.30	<0.001
绝经后出血[例(%)]	48(85.7)	25(28.7)	42.01	<0.001
内膜厚度≥5 mm[例(%)]	43(76.8)	30(34.5)	22.74	<0.001
CDO1 ^m (ΔCt)≤8.4[例(%)]	42(75.0)	5(5.7)	70.95	<0.001
CELF4 ^m (ΔCt)≤8.8[例(%)]	44(78.6)	4(4.6)	80.32	<0.001

注:BMI为体质指数;PCOS为多囊卵巢综合征;CA125为糖类抗原125;CDO1^m为CDO1基因甲基化;CELF4^m为CELF4基因甲基化

二、绝经妇女子宫内膜癌发病的相关因素分析

多因素分析发现,CA125≥35 U/ml、绝经出血、绝经内膜厚度≥5 mm、CDO1^mΔCt≤8.4、CELF4^mΔCt≤8.8(基于Youde指数)是发生子宫内膜癌的相关因素,OR值(95%CI)分别为33.23(2.51~335.28)、8.41(1.81~39.05)、14.45(2.35~88.84)、17.34(3.34~89.98)、44.01(6.79~285.25),均P<0.05。详见表2。



表 2 与子宫内膜癌发生相关临床指标的多因素 logistic 回归模型分析

项目	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	P 值	OR 值(95%CI)
BMI(kg/m^2)					
<25					1.00
≥ 25	0.315	0.819	0.384	0.701	1.15(0.20~6.74)
CA125(U/ml)					
<35					1.00
≥ 35	2.526	1.045	2.418	0.022	33.23(2.51~1 335.28)
绝经后出血					
否					1.00
是	2.772	1.020	2.718	0.007	8.41(1.81~39.05)
内膜厚度(mm)					
<5					1.00
≥ 5	2.809	1.051	2.673	0.004	14.45(2.35~88.84)
CDO1 ^m (ΔCt)					
>8.4					1.00
≤ 8.4	2.686	1.077	2.494	0.001	17.34(3.34~89.98)
CELF4 ^m (ΔCt)					
>8.8					1.00
≤ 8.8	4.011	1.098	3.654	<0.001	44.01(6.79~285.25)

注: BMI 为体质指数; CA125 为糖类抗原 125; CDO1^m 为 CDO1 基因甲基化; CELF4^m 为 CELF4 基因甲基化

三、两组患者子宫内膜厚度与 CDO1^m、CELF4^m 表达的组间差异 59.8% (95%CI: 48.7%~70.1%)、61.5% (95%CI: 55.3%~67.4%)、100.0% (95%CI: 93.2%~100.0%)。

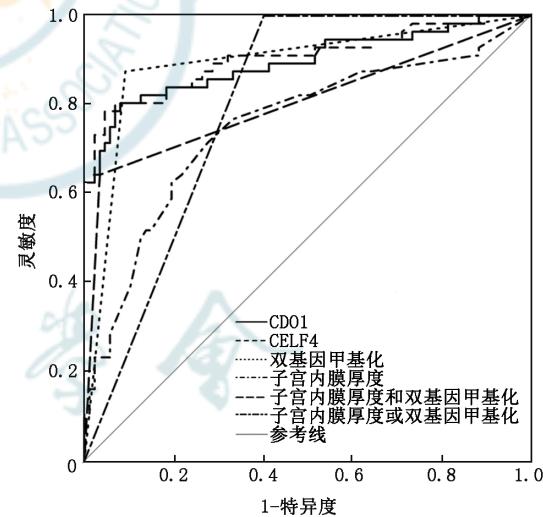
子宫内膜癌组患者的内膜厚度为 9.5(5.0, 12.0) mm, 高于对照组的 3.2(2.0, 6.0) mm ($Z=-5.10$, $P<0.001$)。子宫内膜癌组患者基因 CDO1^m 水平 ΔCt 值为 5.2(2.5, 8.4), 低于对照组的 17.4(14.6, 18.2) ($Z=-7.97$, $P<0.001$), 而子宫内膜癌组患者基因 CELF4^m 水平 ΔCt 值为 4.9(3.2, 8.5), 低于对照组的 16.4(10.9, 17.9) ($Z=-8.17$, $P<0.001$)。

四、预测子宫内膜癌的诊断效能

各临床指标筛查内膜癌的 ROC 曲线见图 1。内膜厚度 ≥ 5 mm、CDO1^m(+)、CELF4^m(+) 以及双基因甲基化(+) 的 AUC(95%CI) 分别为 0.71(0.64~0.80)、0.85(0.77~0.92)、0.87(0.80~0.94) 和 0.89(0.83~0.95)。超声检查(+) 或双基因甲基化(+) 的 AUC(95%CI) 为 0.80(0.73~0.87)。

五、子宫内膜癌筛查指标的临床效能

子宫内膜癌筛查指标的临床效能见表 3。CDO1^m 与 CELF4^m 双基因联合灵敏度为 87.5% (95%CI: 75.9%~94.8%), 特异度为 90.8% (95%CI: 82.7%~95.9%), 阳性预测值为 86.0% (95%CI: 75.8%~92.3%), 阴性预测值为 91.9% (95%CI: 84.9%~95.8%)。以 TVS 子宫内膜厚度联合双基因甲基化诊断子宫内膜癌的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 100.0% (95%CI: 93.6%~100.0%)、



注: 双基因甲基化; CDO1^m(+) 或 CELF4^m(+); 内膜厚度和双基因甲基化: 两种检测皆为阳性判为最终阳性; 子宫内膜厚度或基因甲基化: 两种检测任一阳性判为最终阳性; CDO1^m 为 CDO1 基因甲基化; CELF4^m 为 CELF4 基因甲基化
图 1 高危因素用于子宫内膜癌筛查的受者工作特征曲线

讨 论

本研究首次以宫颈脱落细胞学基因甲基化检测的无创液体活检方案对绝经后女性进行内膜癌



表 3 子宫内膜癌筛查指标的临床效能(95%CI)

项目	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	AUC
出血	85.7(73.8~93.3)	71.3(60.6~80.5)	65.8(57.6~73.1)	88.6(80.1~93.7)	0.79(0.71~0.86)
内膜厚度	76.8(63.6~87.0)	65.5(54.6~75.4)	58.9(50.9~66.5)	81.4(72.7~87.8)	0.71(0.64~0.80)
CDO1 ^m (+)	75.0(61.6~85.6)	94.3(87.1~98.1)	89.4(78.0~95.2)	85.4(78.8~90.2)	0.85(0.77~0.92)
CELF4 ^m (+)	78.6(65.6~88.4)	95.4(88.6~98.7)	91.7(80.7~96.7)	87.4(80.7~92.0)	0.87(0.80~0.94)
双基因甲基化(+)	87.5(75.9~94.8)	90.8(82.7~95.9)	86.0(75.8~92.3)	91.9(84.9~95.8)	0.89(0.83~0.95)
超声检查(+)/双基因甲基化(+)	100.0(93.6~100.0)	59.8(48.7~70.1)	61.5(55.3~67.4)	100.0(93.2~100.0)	0.80(0.73~0.87)

注:AUC 为受试者工作特征曲线下面积;CDO1^m 为 CDO1 基因甲基化;CELF4^m 为 CELF4 基因甲基化

筛查,获得了高于其他任何无创检测方案的准确性。基因甲基化联合 TVS 检查进一步提高了对内膜癌筛查的灵敏度,证实了这种无创筛查方案在临床应用中的价值。研究选择了绝经后可疑内膜病变的女性入组,一是这一人群中内膜病变的发生率最高,从而可以以较小的队列规模实现各种筛查方案检验效能的比较;二是可以充分检验临床症状(绝经后出血)对于筛查诊断内膜癌的效能。

选择宫颈脱落细胞 DNA 甲基化检测进行内膜癌的筛查诊断是本研究的重要创新。已有研究开展了脱落细胞用于细胞病理分析^[17]、内膜癌靶基因检测^[18]、遗传综合征确诊^[19]、外泌体分析^[20]、MSI 检测^[21]以及多组学检测^[22]。但还没有开展脱落细胞表观遗传学分析的相关研究,更没有应用于临床的可靠筛查方案。另一方面,利用血液 ctDNA 进行内膜癌检测的工作因为肿瘤细胞丰度不足,缺少充分的敏感性,仅适合内膜癌中的少数情况,如高级别内膜癌(占内膜癌不足 10% 的Ⅱ型内膜癌)、晚期内膜癌等^[23],并不适合进行内膜癌的早筛早诊。宫颈脱落细胞用于内膜癌筛查和诊疗具有很多突出优点:(1)完全无创。除了没有性生活的女性外,取样不会对阴道、宫颈造成任何损害,比留取外周血还要简便、安全;(2)取材方便。准确性完全不亚于医师或检测者取样的结果^[24];(3)细胞量充分。少许的阴道冲洗液就完全能够胜任甲基化检测,并与组织学结果高度一致^[16]。

宫颈脱落细胞学用于内膜癌筛查需要选择可靠的靶基因,以区分阳性结果的癌肿特异性,即筛查结果提示宫颈癌还是内膜癌。如果是内膜癌,能否考虑纳入不同类型的内膜癌。研究已经表明,选择合适的靶基因是可以实现区分的^[25]。已有研究利用宫颈脱落细胞学对内膜和宫颈细胞进行区分,并开展了内膜细胞外泌体及代谢组学的工作。宫颈脱落细胞评估内膜病变的准确性不亚于有创操作获得的宫腔细胞学(或冲洗液)^[26]。本研究中选

择的靶基因 CDO1 和 CELF4 表观遗传改变与内膜癌的关系已经获得文献支持^[27]。

TVS 以无创、经济、易操作的优点成为绝经后女性子宫内膜疾病临床诊断首选的筛查方法^[28]。TVS 对于筛查内膜癌敏感度高,但特异度低,常常造成不必要的有创操作。本研究中,细胞学甲基化检测在联合 TVS 后,可以进一步改善对内膜癌筛查敏感性。但由于 TVS 的特异性过低,二者的联合检测未能实现更高水平的特异性。如果结合 TVS,将牺牲部分特异性、增加有创操作的可能。这种情况能否重复和改善,仍需大队列研究的证实。

本研究最具创新意义的价值在于采用细胞学甲基化检测用于内膜癌的筛查。本研究也存在一些缺点,包括总体样本量小亟需在大队列中进行推广等问题。这将在研究者开展的大规模多中心前瞻性研究(NCT05290415)中进一步满足和弥补。

总之,研究通过宫颈脱落细胞学 DNA 甲基化,为绝经后女性的内膜癌筛查提供了一种简便、无创、高敏感性的筛查方案,亟待在大规模临床研究中进一步验证。

志谢 北京起源聚禾生物科技有限公司提供的甲基化分析试剂盒
利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 孔令华:数据整理、统计学分析、论文撰写;
钞晓培、陈晓静:数据整理;肖晓萍、万茹:细胞病理学分析;王婧、
吴焕文:组织病理学分析;刘禹利、王林海:研究设计、检测分析;
杨玉洁、靳希桐:论文撰写;刘沛:研究指导、经费支持;李雷:研究
设计与指导、论文修改

参 考 文 献

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- 孙可欣, 郑荣寿, 佐晶, 等. 2015 年中国子宫内膜癌发病和死亡情况分析 [J]. 中华医学杂志, 2022, 102(26): 1987-1992. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20211029-02403.
- Crosbie EJ, Kitson SJ, McAlpine JN, et al. Endometrial



- cancer[J]. *Lancet*, 2022, 399(10333): 1412-1428. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00323-3.
- [4] ACOG Committee Opinion No. 734: the role of transvaginal ultrasonography in evaluating the endometrium of women with postmenopausal bleeding [J]. *Obstet Gynecol*, 2018, 131(5): e124-e129. DOI: 10.1097/AOG.0000000000002631.
- [5] Smith PP, O'Connor S, et al. Recurrent postmenopausal bleeding: a prospective cohort study[J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2014, 21(5): 799-803. DOI: 10.1016/j.jmig.2014.03.007.
- [6] 俞梅, 向阳, 马晓欣, 等. 子宫内膜癌筛查规范建议[J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55(5): 307-311. DOI: 10.3760/cma.j.cn112141-20200201-00070.
- [7] 全国卫生产业企业管理协会妇幼健康产业分会生殖内分泌学组. 中国子宫内膜增生诊疗共识[J]. 生殖医学杂志, 2017, 26(10): 957-960. DOI: 10.3969/j.issn.1004-3845.2017.10.001.
- [8] Saavedra KP, Brebi PM, Roa JC. Epigenetic alterations in preneoplastic and neoplastic lesions of the cervix[J]. *Clin Epigenetics*, 2012, 4(1):13. DOI: 10.1186/1868-7083-4-13.
- [9] Egger G, Liang G, Aparicio A, et al. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy[J]. *Nature*, 2004, 429(6990):457-463. DOI: 10.1038/nature02625.
- [10] Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer[J]. *Nat Rev Genet*, 2002, 3(6): 415-428. DOI: 10.1038/nrg816.
- [11] Herzog C, Marín F, Jones A, et al. A Simple Cervicovaginal Epigenetic Test for screening and rapid triage of women with suspected endometrial cancer: validation in several cohort and case/control sets[J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(33): 3828-3838. DOI: 10.1200/JCO.22.00266.
- [12] den Helder RV, Wever BM, van Trommel JA, et al. DNA methylation markers for endometrial cancer detection in minimally invasive samples: a systematic review[J]. *Epigenomics*, 2020, 12(18): 1661-1672. DOI: 10.2217/epi-2020-0164.
- [13] 中华医学会妇产科学分会绝经学组. 绝经管理与绝经激素治疗中国指南(2018)[J]. 中华妇产科杂志, 2018, 53(11): 729-739. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2018.11.001.
- [14] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组. 多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J]. 中华妇产科杂志, 2018, 53(1): 2-6. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2018.01.002.
- [15] 中华医学会妇产科学分会妇科内分泌学组. 异常子宫出血诊断与治疗指南[J]. 中华妇产科杂志, 2014, 49(11): 801-806. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2014.11.001.
- [16] Kong L, Wang L, Wang Z, et al. DNA methylation for cervical cancer screening: a training set in China[J]. *Clin Epigenetics*, 2020, 12(1):91. DOI: 10.1186/s13148-020-00885-7.
- [17] Odashima H, Yoshioka H, Ota K, et al. Morphological differences between liquid-based cytology and conventional preparation in endometrial endometrioid carcinoma grade 1 and grade 3, and the differentiation of grades in each method[J]. *Acta Cytol*, 2021, 65(3): 227-234. DOI: 10.1159/000512867.
- [18] Akahane T, Kitazono I, Yanazume S, et al. Next-generation sequencing analysis of endometrial screening liquid-based cytology specimens: a comparative study to tissue specimens[J]. *BMC Med Genomics*, 2020, 13(1): 101. DOI: 10.1186/s12920-020-00753-6.
- [19] Buglyó G, Styk J, Pös O, et al. Liquid biopsy as a source of nucleic acid biomarkers in the diagnosis and management of lynch syndrome[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(8).DOI: 10.3390/ijms23084284.
- [20] Srivastava A, Moxley K, Ruskin R, et al. A non-invasive liquid biopsy screening of urine-derived exosomes for miRNAs as biomarkers in endometrial cancer patients[J]. *AAPS J*, 2018, 20(5):82. DOI: 10.1208/s12248-018-0220-y.
- [21] Silveira AB, Bidard FC, Kasperek A, et al. High-accuracy determination of microsatellite instability compatible with liquid biopsies[J]. *Clin Chem*, 2020, 66(4): 606-613. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa013.
- [22] Martinez-Garcia E, Lesur A, Devis L, et al. Targeted proteomics identifies proteomic signatures in liquid biopsies of the endometrium to diagnose endometrial cancer and assist in the prediction of the optimal surgical treatment[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(21): 6458-6467. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0474.
- [23] Vizza E, Corrado G, De Angeli M, et al. Serum DNA integrity index as a potential molecular biomarker in endometrial cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 16. DOI: 10.1186/s13046-018-0688-4.
- [24] Verhoef VM, Bosgraaf RP, van Kemenade FJ, et al. Triage by methylation-marker testing versus cytology in women who test HPV-positive on self-collected cervicovaginal specimens (PROTECT-3): a randomised controlled non-inferiority trial[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(3): 315-322. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70019-1.
- [25] O'Flynn H, Ryan N, et al. Diagnostic accuracy of cytology for the detection of endometrial cancer in urine and vaginal samples[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 952. DOI: 10.1038/s41467-021-21257-6.
- [26] Hirai Y, Sakamoto K, Fujiwara H, et al. Liquid-based endometrial cytology using SurePath™ is not inferior to suction endometrial tissue biopsy for detecting endometrial malignancies: midterm report of a multicentre study advocated by Japan Association of Obstetricians and Gynecologists[J]. *Cytopathology*, 2019, 30(2):223-228. DOI: 10.1111/cyt.12657.
- [27] Liew PL, Huang RL, Wu TI, et al. Combined genetic mutations and DNA-methylated genes as biomarkers for endometrial cancer detection from cervical scrapings[J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1): 170. DOI: 10.1186/s13148-019-0765-3.
- [28] 严小帅, 李萌, 梁华茂, 等. 子宫内膜癌分子分型在术后辅助治疗选择中的应用价值[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(32): 2500-2505. DOI: 10.3760/cma.j. cn112137-20220125-00187.

