

267例错配修复状态缺失/高度微卫星不稳定表型结直肠肿瘤临床病理特征及亚组分析

刘细邦¹, 易小江², 张志发³, 刁德昌^{2*}

1. 深圳市龙华区中心医院 肛肠科, 广东 深圳 518110

2. 广州中医药大学第二附属医院/广东省中医院 胃肠肿瘤中心结直肠外科, 广东 广州 510120

3. 广州中医药大学第二附属医院/广东省中医院 病理科, 广东 广州 510120

【摘要】 目的 探讨错配修复状态缺失/高度微卫星不稳定(dMMR/MSI-H)表型结直肠癌临床病理特征及亚组分析。方法 回顾性分析2016年5月至2022年8月在广东省中医院医院就诊的267例dMMR/MSI-H表型结直肠癌的临床病理资料并进行交叉亚组分析。结果 男女患者分别为139和128例,平均年龄为(59.8±16.0)岁。MLH1和PMS2同时表达缺失率为58.1%(154/265),MSH2和MSH6同时表达缺失率18.5%(49/265),90例(33.7%)发生区域淋巴结转移。亚组分析提示右半结肠肿瘤分化程度更差,脉管浸润率更高;淋巴结转移患者分化更差,T₃₋₄期率更高,神经管浸润和癌结节出现率更高;肿瘤长径≥8 cm患者区域淋巴结转移率更高,分化更差,T₃₋₄期率更高,脉管浸润和癌结节出现率更高;分化差患者T₃₋₄期率更高,脉管浸润和癌结节出现率更高;T分期晚患者神经管浸润和癌结节出现率更高。结论 dMMR/MSI-H表型结直肠癌具有独特的临床病理特征,且相互间存在紧密关联。

【关键词】 错配修复状态缺失/高度微卫星不稳定; 结直肠癌; 临床病理; 亚组分析

Clinicopathologic characteristics and subgroup analysis in 267 cases dMMR/MSI-H colorectal cancer

Liu Xibang¹, Yi Xiaojiang², Zhang Zhifa³, Diao Dechang^{2*}

1. Department of Anorectum, Shenzhen Longhua District Central Hospital, Shen Zhen 518110, Guangdong, China

2. Department of Colorectal Surgery, Gastrointestinal Tumor Center, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine/ Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510120, China

3. Department of Pathology, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine/ Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, Guangdong, China

*Corresponding author: Diao Dechang, E-mail: diaodechang223@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the clinicopathological characteristics of dMMR/MSI-H colorectal cancer and their relationship. **Method** The clinicopathological data of 267 patients with dMMR/MSI-H phenotype colorectal cancer treated in Guangdong Hospital of Traditional Chinese Medicine from May 2016 to August 2022 were retrospectively analyzed and cross subgroup analysis was performed. **Result** 139 male and 128 female patients were included with an average age of (59.8±16.0) years. The common loss rate of simultaneous expression of MLH1 and PMS2 was 58.1% (154/265), the loss rate of simultaneous expression of MSH2 and MSH6 was 18.5% (49/265), and 90 cases (33.7%) developed regional lymph node metastasis. Subgroup analysis showed that the differentiation of right colon tumors was worse and the vascular invasion rate was higher; Patients with lymph node metastasis had worse differentiation, higher T₃-T₄ stage rate, higher

* 通信作者: 刁德昌, E-mail: diaodechang223@163.com

neurovascular invasion and higher incidence of cancer nodules; Patients with tumor length ≥ 8 cm had higher regional lymph node metastasis rate, worse differentiation, higher T₃-T₄ stage rate, higher vascular invasion and higher incidence of cancer nodules; Patients with poor differentiation had a higher rate of stage T₃-T₄, vascular invasion and cancer nodules; The incidence of neurovascular invasion and cancer nodules was higher in patients with late T stage. **Conclusion** Colorectal cancer with dMMR/ MSI-H phenotype has unique clinicopathological characteristics and is closely related to each other.

[Key words] dMMR/ MSI-H; Colorectal cancer; Clinicopathology; Subgroup analysis

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发生常见两种途径,包括染色体不稳定途径和微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)途径^[1]。错配修复基因(mismatch repair, MMR)在体内主要编码错配修复蛋白 MLH1、MSH2、MSH6 和 PMS2,保持微卫星稳定状态。错配修复状态缺失(deficient mismatch repair, dMMR)是指肿瘤组织中 MLH1、MSH2、MSH6 和 PMS2 错配修复蛋白任一个出现种系或散发突变,引起 DNA 错配修复功能缺陷,导致 MSI 的发生,dMMR 状态表现为高度微卫星不稳定(microsatellite instability-high, MSI-H)^[2]。

在欧美国家的报道中,dMMR 表型占全部结直肠癌的 15%左右,而亚洲人群的研究发现该表型占全部结直肠癌的 5.5%~7.3%,低于欧美人群^[3-5]。dMMR/MSI-H 状态的结直肠癌具有其独特的临床病理学和分子生物学特征。这类患者往往发病年龄早,肿瘤多见于右半结肠且肿瘤分化差,区域淋巴结转移概率小,部分患者预后好和晚期患者接受免疫治疗效果好等^[6-10]。

既往的研究多关注结直肠癌 dMMR/MSI-H 表型与微卫星稳定表型的对比,很少关于 dMMR/MSI-H 结直肠癌临床病理特征的详细描述和进行亚组分层分析的大样本研究。基于此,我们中心收集 267 例 dMMR/MSI-H 结直肠癌病例,研究临床病理特征及其相互间的关系,探索其中的临床意义。

1 资料和方法

1.1 临床资料 回顾性分析 2016 年 5 月至 2022 年 8 月在广东省中医院就诊的 3633 例结直肠癌患者的临床病理资料,其中纳入 267 例 dMMR/MSI-H 结直肠癌患者。纳入标准:行手术治疗;术后病理证实为结直肠腺癌;术后病理免疫组织化学提示 dMMR 或基因检测 MSI-H。排除标准:仅有

内镜下活检或切除病理结果患者;仅有腹腔穿刺或手术探查(非肠段切除)获取的活检病理结果患者;术后病理提示结直肠非腺癌。其中,IV 期患者为术前合并梗阻、穿孔或出血。共 267 例(7.3%)行手术治疗的 I~IV 期 dMMR/MSI-H 结直肠癌患者纳入本研究。平均年龄为(59.8±16.0)岁,男性 139 例,女性 128 例,其中,I 期肿瘤 29 例,II 期低危肿瘤 101 例,II 期高危肿瘤 36 例,III 期肿瘤 77 例和 IV 期肿瘤 24 例。60.7%(162/267)的肿瘤位于右半结肠。肿瘤长径为(6.3±2.5)cm,肿瘤短径为(4.8±2.1)cm。肿瘤大体类型溃疡型占比 61.0%(163/267),最为常见。

1.2 病理诊断标准 使用瑞士罗氏公司全自动免疫组织化学染色仪(BenchMark[®] XT)检测 265 例患者(2 例患者仅有 MSI 检测)的错配修复蛋白 MSH2、MSH6、MLH1 和 PMS2。癌组织经固定、包埋制成石蜡切片,免疫组织化学染色采用 EnVision 两步法,DAB 显色,苏木精对比染色,均定位于细胞核,将 4 种 MMR 蛋白中的 1 种或以上表达缺失(阴性)判定为 dMMR。21 例患者进行了 MSI 检测:遗传标记 Bat25、Bat26、D5S346、D2S123 和 D17S250 共 5 个位点,对同一患者的肿瘤组织和血液的 DNA 进行 PCR 扩增,再用毛细管电泳检测扩增的产物,判断检测的肿瘤组织和正常组织是否存在微卫星不稳定性。病理分期:采用美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer,AJCC)分期(第 8 版)/国际抗癌联盟(International Union Against Cancer,UICC)TNM 分期进行术后分期。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件进行分析,检查计量资料正态性,计量资料若符合正态分布,以均数和标准差表示,非正态分布采用中位数和四分位间距 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示;计数资料组间比较采用 χ^2 检验,不满足 χ^2 检验条件的用 Fisher 确切概率法,检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 一般临床病理特点 267例 dMMR/MSI-H 结直肠癌患者中,按 T 分期:T₁期 11例(4.1%),T₂期 21例(7.9%),T₃期 145例(54.3%),T_{4a}期 71例(26.6%)和 T_{4b}期 19例(7.1%);按 N 分期:N₀期 177例(66.3%),N₁期 57例(21.3%)和 N₂期 33例(12.4%)。89例(33.3%)患者有脉管浸润,88例(33.0%)有神经浸润,27例(10.1%)发现癌结节。肿瘤分化程度方面,分化差(包括低分化和黏液腺癌)为 114例(42.7%),分化较好(中高分化及其他情况)为 153例(57.3%)。Ki-67 平均值为(74.1±13.0)%,155例患者进行人类表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor,HER)-2 检测,阴性为 45例(29.0%),阳性+为 75例(48.4%),阳性++为 35例(22.6%)。见表 1。

表 1 患者一般临床病理特点

项目	数据[例(%)]	
T 分期	T ₁ 期	11(4.1)
	T ₂ 期	21(7.9)
	T ₃ 期	145(54.3)
	T _{4a} 期	71(26.6)
	T _{4b} 期	19(7.1)
	N 分期	N ₀ 期
N ₁ 期		57(21.3)
N ₂ 期		33(12.4)
脉管浸润		是 89(33.3)
神经浸润	是 88(33.0)	
癌结节	有 27(10.1)	
肿瘤分化程度	分化差	114(42.7)
	分化好	153(57.3)
HER-2 检测 ^a	阴性	45(29.0)
	+	75(48.4)
	2++	35(22.6)

注:dMMR,错配修复状态缺失;MSI-H,高度微卫星不稳定;HER-2,人类表皮生长因子受体;a,HER-2检测患者例数为155。

2.2 MMR 蛋白的表达情况 267例 dMMR/MSI-H 结直肠癌中,265例患者行 MMR 蛋白检测,其中总 MSH2 表达缺失率为 25.7%(68/265),总 MSH6 表达缺失率为 27.5%(73/265),总 MLH1 表达缺失率为 62.3%(165/265),总 PSM2 表达缺失率为 68.3%(181/265)。单一 MSH2 表达缺失率 4.2%(11/265),单一 MSH6 表达缺失率 6.4%(17/265),单一 MLH1 表达缺失率 0.2%(5/265),单一 PSM2 表达缺失率 6.8%

(18/265);MSH2 和 MSH6 同时表达缺失率 18.5%(49/265),MLH1 和 PSM2 同时表达缺失率 58.1%(154/265),其余组合 MSH2+MLH1、MSH6+MLH1、MSH2+PSM2 和 MSH6+PSM2 同时表达缺失各有 1 例;MSH2+MSH6+PSM2、MSH2+MLH1+PSM2 和 MSH6+MLH1+PSM2 三项表达缺失分别有 3 例、2 例和 1 例;MSH2+MSH6+MLH1+PSM2 全部表达缺失有 1 例。见表 2。

表 2 患者 MMR 蛋白的表达情况

项目	结果	数据[例(%)]
总 MSH2	(-)	68(25.7)
总 MSH6	(-)	73(27.5)
总 MLH1	(-)	165(62.3)
总 PSM2	(-)	181(68.3)
单一 MSH2	(-)	11(4.2)
单一 MSH6	(-)	17(6.4)
单一 MLH1	(-)	5(0.2)
单一 PSM2	(-)	18(6.8)
MSH2+MSH6	(-)	49(18.5)
MLH1+PSM2	(-)	154(58.1)
MSH2+MLH1	(-)	1(0.4)
MSH6+MLH1	(-)	1(0.4)
MSH2+PSM2	(-)	1(0.4)
MSH6+PSM2	(-)	1(0.4)
MSH2+MSH6+PSM2	(-)	3(1.1)
MSH2+MLH1+PSM2	(-)	2(0.8)
MSH6+MLH1+PSM2	(-)	1(0.4)
MSH2+MSH6+MLH1+PSM2	(-)	1(0.4)

注:MMR,错配修复状态。

2.3 淋巴结转移情况 267例 dMMR/MSI-H 结直肠癌中,有 90例(33.7%)患者发生区域淋巴结转移,平均清扫淋巴结 17.0(14.0,21.0)个,阳性淋巴结 0(0,1.0)个。59例患者对区域淋巴结进行了分站,28.8%(17/59)患者发生第一站淋巴结转移,平均清扫淋巴结 12.0(8.0,18.0)个,阳性淋巴结数为 0(0,1.0)个;13.8%(9/59)患者发生第二站淋巴结转移,平均清扫淋巴结数为 6.5(8.0,18.0)个,阳性淋巴结数为 0(0,0)个;6.8%(4/59)患者发生第三站淋巴结转移,平均清扫淋巴结数为 9.0(5.0,15.0)个,阳性淋巴结数为 0(0,0)个。

2.4 临床病理特征亚组分析 如表 3 示,以肿瘤部位左右半结肠分层进行亚组分析,右半结肠患者中,肿瘤分化差为 48.3%(87/180),非右半结肠为 31.0%(27/87);脉管浸润情况,右半结肠组为 37.8%

表 3 患者临床病理特征交叉亚组分析(例)

变量	肿瘤部位		肿瘤长度		淋巴结转移		分化程度		T分期		P值	χ ² 值	P值
	右半结肠	非右半结肠	≥8 cm	<8 cm	有	无	分化差	分化好	T ₃₋₄ 期	T ₁₋₂ 期			
肿瘤长度													
≥8 cm	54	17											
<8 cm	126	70											
淋巴结转移													
有	64	26	34	56									
无	116	61	37	140									
分化程度													
分化差	87	27	48	66	51	63							
分化好	93	60	23	130	39	114							
T分期													
T ₃₋₄ 期	161	74	70	165	87	148	111	124					
T ₁₋₂ 期	19	13	1	31	3	29	3	29					
脉管浸润													
有	68	21	31	58	56	33	50	39					
无	112	66	40	138	34	144	64	114					
癌结节													
有	14	13	12	15	26	1	18	9					
无	166	74	59	181	64	176	96	144					
神经浸润													
有	61	27	25	63	50	38	43	45					
无	119	60	46	133	40	139	71	108					

(68/180) 高于非右半结肠组的 24.1% (21/87); 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

以肿瘤长径 8 cm 分层进行亚组分析, 肿瘤长径 ≥ 8 cm 患者中, 淋巴结转移率为 47.9% (34/71), 肿瘤长径 < 8 cm 为 28.6% (56/196); 分化程度方面, 肿瘤长径 ≥ 8 cm 组分化程度差为 67.6% (48/71) 高于肿瘤长径 < 8 cm 组的 33.7% (66/196); T 分期方面, 肿瘤长径 ≥ 8 cm 组 T_{3-4} 期为 98.6% (70/71) 高于肿瘤长径 < 8 cm 组的 84.2% (165/196); 脉管浸润情况, 肿瘤长径 ≥ 8 cm 组为 43.7% (31/71) 高于肿瘤长径 < 8 cm 组的 29.6% (58/196); 癌结节方面, 肿瘤长径 ≥ 8 cm 组为 16.9% (12/71) 高于肿瘤长径 < 8 cm 组的 7.7% (15/196); 差异均有统计学意义。

以区域淋巴结转移分层进行亚组分析, 转移组患者中肿瘤分化差为 56.7% (51/90), 非转移组为 35.6% (63/177); T 分期方面, 转移组 T_{3-4} 期为 96.7% (87/90) 高于非转移组的 83.6% (148/177); 脉管浸润情况, 转移组为 62.2% (56/90) 高于非转移组的 18.6% (33/177); 癌结节方面, 转移组为 28.9% (26/90) 高于非转移组的 0.6% (1/177); 神经浸润方面, 转移组为 55.6% (50/90) 高于非转移组的 21.5% (38/177); 差异均有统计学意义。

以分化程度进行亚组分析, 分化差患者中 T_{3-4} 期为 97.4% (111/114) 高于分化好组的 81.0% (124/153); 脉管浸润情况, 分化差组为 43.9% (50/114) 高于分化好组的 25.5% (39/153); 癌结节方面, 分化差组为 15.8% (18/114) 高于分化好组的 5.9% (9/153); 差异均具有统计学意义。以 T 分期进行亚组分析, 脉管浸润情况, T_{3-4} 期组为 37.0% (87/235) 高于分化好组的 6.3% (2/32); 神经浸润情况, T_{3-4} 期组为 36.6% (86/235) 高于分化好组的 6.3% (2/32), 差异均具有统计学意义。

3 讨论

MSI 是指由于 MMR 蛋白缺失导致由 1~6 个核苷酸为单位的串联重复微卫星 DNA 序列复制错误不能被修复, 当错误累积到一定程度即形成 MSI-H 状态。因此 dMMR/MSI-H 状态的结直肠癌在临床、病理和分子特征方面具有其异质性, 在判断预后结果、化疗和免疫治疗反应, 以及参与诊断 Lynch 综合征^[11]上均有作用。

我们的研究提示 dMMR/MSI-H 表型在总体

结直肠癌中占 7.3%, 符合亚洲人群发生率特点^[4-5]。根据免疫组织化学结果, 总 PSM2 表达缺失率最高, 为 68.3%, 其次为 MLH1 的 62.3%, MSH6 的 27.5% 和 MSH2 的 25.7%, 与国内其他研究报道的结果类似^[12]。同时提示 MMR 蛋白表达缺失常出现联合缺失情况, 常见为 MLH1 和 PMS2 联合缺失, MSH2 和 MSH6 联合缺失, 其中以 MLH1 和 PMS2 联合缺失更为常见, 与既往的报道类似^[13-14]。究其原因, MMR 中 MLH1 与 MSH2 是主导蛋白, MLH1 与 PMS2、MSH2 与 MSH6 常配对形成二聚体产生作用。MLH 启动子发生胚系突变或体细胞甲基化时, 常出现 MLH1 和 PMS2 表达缺失; MSH2 发生胚系突变时, 会出现 MSH2 和 MSH6 缺失^[15]。

国内武云龙等^[12]认为在 dMMR 结直肠癌患者中, 区域淋巴结转移率为 25.5% (91/357), 术后 T 分期、肿瘤分化程度和 MSH6 蛋白的表达情况是区域淋巴结转移的独立影响因素, 通过术前评估有望进一步提高预测区域淋巴结转移的准确性。同样在我们的研究中, 有 90 例 (33.7%) 患者发生区域淋巴结转移, 区域淋巴结转移率较高可能与纳入了 IV 期患者有关。亚组分析提示区域淋巴结转移组患者中肿瘤分化较差, 具有更晚的 T 分期, 脉管浸润、癌结节发生和神经浸润出现概率更高。此外, 我们首次对 59 例患者区域淋巴结进行分站, 可见第一站转移率最高, 为 28.8%, 其次为第二站的 13.8% 和第三站的 6.8%。

与多数研究结果一致, 左右半结肠癌具有不同的分子生物学特征^[16]。本研究中右半结肠癌患者肿瘤分化程度较差, 同时更常见脉管浸润, 预示在 dMMR/MSI-H 表型结直肠癌中右半结肠预后更差。肿瘤大小方面, 本研究提示肿瘤长径 ≥ 8 cm 患者中更易出现区域淋巴结转移, 具有较差的肿瘤分化程度, 更晚的 T 分期, 更容易出现脉管浸润和癌结节。同时, 分化差的患者 T 分期较晚, 更容易出现脉管浸润和癌结节。此外, T 分期较晚的患者也更容易出现脉管、神经浸润和癌结节。

本研究为单队列 dMMR/MSI-H 结直肠癌研究, 未与 pMMR/MSS 队列进行对比研究, 也未对患者预后进行分析, 具有局限性。

dMMR/MSI-H 是目前结直肠癌诊疗中的重要分子标志物, 建议对所有结直肠癌患者进行检测。本研究是目前国内样本量较大的单中心研究之一, 为后续进一步研究 MMR 蛋白与预后关系提

供了流行病学基础。同时,该领域还存在许多未知和争议,仍需在临床和基础研究中不断探索。

参考文献

- [1] SIDDIQUE S, TARIQ K, RAFIQ S, et al. Sporadic Early Onset Colorectal Cancer in Pakistan: A Case-Control Analysis of Microsatellite Instability [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(5): 2587-2592.
- [2] SAMEER AS, NISSAR S, FATIMA K. Mismatch repair pathway: molecules, functions, and role in colorectal carcinogenesis [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2014, 23(4): 246-257.
- [3] GUINNEY J, DIENSTMANN R, WANG X, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer [J]. *Nat Med*, 2015, 21(11): 1350-1356.
- [4] OGURA T, KAKUTA M, YATSUOKA T, et al. Clinicopathological characteristics and prognostic impact of colorectal cancers with NRAS mutations [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(1): 50-56.
- [5] OH JR, KIM DW, LEE HS, et al. Microsatellite instability testing in Korean patients with colorectal cancer [J]. *Fam Cancer*, 2012, 11(3): 459-466.
- [6] GRYFE R, KIM H, HSIEH ET, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer [J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(2): 69-77.
- [7] MALESCI A, LAGHI L, BIANCHI P, et al. Reduced likelihood of metastases in patients with microsatellite-unstable colorectal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(13): 3831-3839.
- [8] MEROK MA, AHLQUIST T, RYRVIK EC, et al. Microsatellite instability has a positive prognostic impact on stage II colorectal cancer after complete resection: results from a large, consecutive Norwegian series [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(5): 1274-1282.
- [9] LE DT, URAM JN, WANG H, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26): 2509-2520.
- [10] ANDRÉ T, SHIU KK, KIM TW, et al. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer [J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(23): 2207-2218.
- [11] 丁伟杰, 李庆贤. Lynch 综合征 1 例 [J/CD]. *消化肿瘤杂志(电子版)*, 2021, 13(4): 319-322.
- [12] 武云龙, 张晴晴, 申朔豪, 等. 错配修复蛋白表达缺陷结直肠癌区域淋巴结转移的危险因素分析 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2021, 43(10): 1082-1087.
- [13] KIM HR, KIM HC, YUN HR, et al. An alternative pathway in colorectal carcinogenesis based on the mismatch repair system and p53 expression in Korean patients with sporadic colorectal cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2013, 20(12): 4031-4040.
- [14] 王青兵, 王雁军, 张勇, 等. 结直肠癌中错配修复蛋白的表达及临床意义 [J]. *河南外科学杂志*, 2021, 27(1): 107-109.
- [15] SALEM ME, BODOR JN, PUCCINI A, et al. Relationship between MLH1, PMS2, MSH2 and MSH6 gene-specific alterations and tumor mutational burden in 1057 microsatellite instability-high solid tumors [J]. *Int J Cancer*, 2020, 147(10): 2948-2956.
- [16] SHEN H, YANG J, HUANG Q, et al. Different treatment strategies and molecular features between right-sided and left-sided colon cancers [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(21): 6470-6478.