

微卫星不稳定性与结直肠癌关系的研究

何佳明 张 燕

河北医科大学第三医院胃肠外科, 河北石家庄 050011

[摘要] 微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MSI) 作为结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 重要的发生机制广泛存在于生物基因组中。MSI 的发生由错配修复蛋白表达缺失 (deficient mismatch repair, dMMR) 引起, MSI 也是 CRC 患者判断预后、指导化疗辅助手段及评价免疫治疗效果的标志物, 其治疗过程中具有重要的临床意义。

[关键词] 微卫星不稳定性; 结直肠癌; 错配修复缺失; 分子检测技术; 治疗

[中图分类号] R735.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-9701(2022)25-0101-04

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是常见消化道恶性肿瘤, 根据世界卫生组织癌症统计数据显示, 2020 年我国新发 CRC 达到 56 万人, 死亡人数达到 29 万人, 发病率逐年增加^[1]。随着细胞分子标志物与 CRC 相关性研究的深入, 微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MSI) 逐渐成为研究热点之一, 本文通过对 MSI 定义、分类、与 CRC 发病的关系、检测方法及治疗特点进行综述, 旨在加深临床对 MSI 与 CRC 关系的认识。

1 微卫星不稳定性

微卫星由数个甚至数十个多次重复核苷酸构成短串重复的 DNA 片段, 其在复制时容易发生突变造成新的微卫星等位基因出现, 使得整个基因片段结构和长度发生改变, 从而产生微卫星遗传不稳定性。错配修复 (mismatch repair, MMR) 主要识别和纠正微卫星复制中的错误, 这种修复机制缺失则会导致某些调控细胞生长或凋亡的重要基因在复制时发生的错误得不到修正, 复制错误随基因遗传不断积累, 从而导致正常细胞逐渐向恶变的方向发展^[2]。目前根据 MSI 发生频率可分为微卫星高度不稳定 (high-frequency microsatellite instability, MSI-H)、微卫星低度不稳定 (low-frequency microsatellite instability, MSI-L) 和微卫星稳定 (microsatellite stable, MSS)。MSI-H 肿瘤被发现具有密集的免疫浸润和丰富的细胞因子环境特征, 与肿瘤的发生关系密切。

2 微卫星不稳定性与结直肠癌

MSI 作为 CRC 重要的发生机制之一, 目前仅在肿瘤细胞中被发现, 而在肿瘤周围正常组织细胞中未发现 MSI。10%~20% 的 CRC 存在 MSI, MSI 在

CRC 中发生机制主要有两种, 一种是 MMR 突变失活, 约占 CRC 的 3%, 可分布于整个 DNA 序列而无显著热点, 常见于林奇综合征 (lynch syndrome, LS); 另一种是 MMR 启动子 CpG 岛超甲基化而引起下游基因错配修复错误, 约占 CRC 的 12%, 常见于散发性结直肠癌 (sporadic colorectal cancer, SCRC)。

2.1 林奇综合征

LS 是遗传性 CRC 中最常见的一类常染色体显性遗传病。其发生机制主要与 MLH1、MSH2、MSH6 和 PMS2 基因突变有关, 其中 MLH1、MSH2 基因突变约占 MMR 基因突变的 90%, 且 MLH1 较 MSH2 更为常见, 而 MSH6 和 PMS2 约占 10%, 其中 PMS2 占比不到 5%。此外, MSH2 蛋白表达缺失也可由上皮细胞黏附分子 (epithelial cell adhesion molecule, EPCAM) 基因缺陷导致, 研究证实 EPCAM 基因缺陷可导致 MSH2 基因启动子高甲基化而引起基因表观沉默^[3]。普通人群 CRC 发生风险仅有 5.5% 左右, 而在 LS 患者发生风险则高达 80% 以上, 其中 90% 以上的 CRC 表现出 MSI-H, 约 70% 由 MSH2 和 MLH1 基因突变造成。LS 患者各种恶性肿瘤发生风险增加, 早期进行肿瘤基因筛查有助于诊断和干预^[4,5]。

2.2 散发性结直肠癌

既往研究证明启动子 CpG 岛超甲基化可使抑癌基因突变失活, 这种现象在人类肿瘤基因中普遍存在。SCRC 患者通常发病年龄较大, 平均发病年龄 67 岁, 常见于女性, 主要为低分化癌, 多伴有淋巴细胞浸润。研究发现在 SCRC 中肿瘤实性体积的增大可导致 MSH2 和 MSH6 的表达错误率升高。在 SCRC 中, MSI-H 的患者通常存在 BRAF 基因突变, BRAF 基因突变与肿瘤转移扩散相关, 是转移性 CRC 较强的生存预测因素^[6]。在 LS 中, MSI 患者并未检

通讯作者: 张燕, 电子信箱: zhangyanmd@126.com

测到 BRAF 基因突变, 当 MLH1 发生缺失时, 应检测 BRAF 基因以排除 LS^[7]。

3 常用检测方法

美国及中国的 CRC 临床诊疗指南均推荐 MSI 检测用于所有的 CRC 患者。常用 MSI 状态或 MMR 蛋白表达预测 CRC 患者的疗效, 常用检测方法主要包括: ①多重荧光聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 及毛细管电泳技术检测 MSI 位点, ②免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 法检测 MMR 蛋白表达; ③二代测序 (next-generation sequencing, NGS) 平台的 MSI 算法^[8-10]。多重荧光 PCR 及毛细管电泳技术是检测 MSI 的“金标准”, 2 个或 2 个以上微卫星位点表现不稳定性可诊断为 MSI-H; 仅有 1 个微卫星位点表现不稳定性可诊断为 MSI-L; 没有任何位点表现不稳定性可诊断为 MSS。PCR 技术是目前敏感度较高的检测方法, 可检测到常见突变基因以外的突变造成的 MSI。IHC 通过 4 种最常见 MMR 蛋白 (MLH1、MSH2、MSH6 和 PMS2) 与特异性检测抗体结合进行免疫检测, MMR 蛋白反映了 MSI 状态, 若 MMR 基因任何一种表达错误, 则认为是错配修复蛋白表达缺失 (deficient mismatch repair, dMMR); 4 种基因表达全部阳性, 则认为错配修复蛋白正常表达 (proficient mismatch repair, pMMR), 一般认为 MSI-H 相当于 dMMR, 而 MSI-L 或 MSS 相当于 pMMR。目前基于 NGS 平台的 MSI 算法有 MSI sensor、MSI FOne、MSI ColonCore 和 MANTIS 等, 主要检测单核苷酸、插入缺失及基因融合等变异, 与 PCR 检测技术相比, NGS 的优势在于具有高通量性, 1 次可检测数百至数百万个基因, 甚至可检测整个基因组的变异情况, 对指导治疗及预测预后具有重要的临床价值。

4 指导疾病治疗

4.1 MSI 状态用于结直肠癌的预后判断

研究显示 MSI-H 的 CRC 患者预后显著优于 MSS 患者, 包括 SCRC 和 LS, Popat 等^[11]通过 Meta 分析发现, MSI-H 患者在各个分期中生存风险均较低, 在接受 CRC 根治术的患者中, MSI-H 的肿瘤患者预后要显著优于 MSS, 肿瘤远处转移复发的趋势相对更低, 且晚期 MSI-H 患者的死亡率低于 MSS。Benatti 等^[12]研究发现 II ~ III 期的 MSI-H 的 CRC 患者与 MSS 和 MSI-L 相比有生存优势, 然而 IV 期患者则生存状况较差。Roth 等^[13]对 CRC 术后患者的预后进行随访和研究, MSI-H 的 CRC 患者预后优于 MSS 患者, 其无病生存期 (disease-free survival, DFS)

和总生存 (overall survival, OS) 更长, 可能是肿瘤淋巴细胞浸润过高所致。Venderbosch 等^[14]研究发现, MSI-H/dMMR 患者 DFS 和 OS 均较短, 且 BRAF 基因突变概率高于 pMMR 的患者, 而 BRAF 突变的 CRC 患者往往预后不良, 可能是由 BRAF V600E 突变所驱动, 使得 IV 期 CRC 患者生存期缩短。一项 III 期临床研究表明 MSI 状态与患者生存预后的关系主要与 MSI 是散发还是遗传相关, 且可用 BRAF 突变区分 SCRC 和 LS。研究发现 MSI-H 肿瘤多发生于右半结肠, 分化程度较差, 黏液腺癌和印戒细胞癌多见, 肿瘤体积较大, 具有密集的免疫浸润和丰富的细胞因子的环境特征, 其与肿瘤的发生关系密切。MSI-H 的 CRC 患者的淋巴结和远处转移概率均较低, I/II 期 CRC 患者 DFS 较长, 与 MSS 比较, MSI-H 的 III 期 CRC 患者预后较好, 淋巴结转移和远处转移较少^[15]。

4.2 MSI 状态用于结直肠癌的治疗效果

4.2.1 化疗 对于局部进展期结直肠癌 (locally advanced colorectal cancer, LACRC), dMMR 或 MSI-H 状态的 II 期 CRC 患者接受根治术后预后相对较好, 5 年生存率高达 80%, 优于 MSS 和 MSI-L 患者, 有更长的 OS 和较低的转移率, 但无法从单药氟尿嘧啶类辅助治疗中获得较好疗效, 因此, 所有 II 期 CRC 患者治疗前均应进行 MMR 检测^[16]。在新辅助治疗方面, 有研究报道新辅助化疗对大多数 dMMR/MSI-H 的 CRC 患者不敏感。Morton^[17]报道 dMMR/MSI-H 组结肠癌患者 FOxTROT 新辅助化疗的有效率仅为 4.7%, 其中 73.6% 的肿瘤组织并未退缩。一项关于 FOLFOX 作为直肠癌新辅助化疗的研究显示, dMMR/MSI-H 直肠癌病例中有 29% 发生肿瘤不良进展, 而 pMMR 组则未见肿瘤进展^[18]。对 LACRC 的治疗, 目前美国国立综合癌症网络 (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) 指南推荐术前新辅助放化疗 (neoadjuvant chemoradiotherapy, NCRT) + 根治性全直肠系膜切除术 (total mesorectal excision, TME) + 辅助化疗作为治疗方案, 虽然 NCRT 可降低局部复发率, 但患者的远期生存并未改善, MSS 组患者术后病理完全缓解 (pathological complete response, pCR) 率显著高于 MSI-H 组, 其中约 20% 的患者对 NCRT 并不敏感, 且术后不良反应和并发症较多, 如吻合口瘘、膀胱功能障碍、性功能障碍^[19,20]。

4.2.2 免疫治疗 免疫治疗的出现, 为肿瘤治疗开辟了新的道路。研究发现程序性死亡蛋白-1 (programmed death-1, PD-1) / 程序性死亡蛋白配体-1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 对 dMMR

或 MSI-H 晚期 CRC 患者具有较好的治疗效果, PD-1/PD-L1 抑制剂可诱导 T 细胞活化, 重新激活 T 细胞对肿瘤的免疫应答系统, 加强对肿瘤细胞的监测与清除, 从而发挥抗肿瘤作用, 以此达到肿瘤术前降期、提高 R0 切除率和术后病理缓解率及降低术后复发率^[21]。KEYNOTE016 研究首次报道 PD-1 抑制剂用于经标准治疗后无效的晚期 CRC 患者, 该项研究纳入 41 例患者, 其中 dMMR CRC 患者 11 例、pMMR CRC 患者 21 例、其他 CRC 患者 9 例, 结果显示 11 例 dMMR 患者的客观缓解率 (objective response rate, ORR) 为 62%, 而 pMMR 患者 ORR 为 0。dMMR 患者的中位无进展生存 (progression-free survival, PFS) 和 OS 也长于 pMMR 患者。初步证明 PD-1 抑制剂对 dMMR 的晚期肿瘤患者有效^[22]。Check Mate 142 研究^[23]结果表明 MSI-H/dMMR CRC 患者均可从纳武利尤单抗单药或纳武利尤单抗+伊匹木单抗治疗中获益, ORR 分别为 31.1%和 55.0%; 12 个月的 PFS 率分别为 50%和 71%; 12 个月 OS 率分别为 73%和 85%, 且两药耐受性均良好。再次肯定 PD-1 抑制剂对 dMMR CRC 的作用。由于 90%以上的 LS 表现出 MSI-H, 所以 PD-1 抑制剂能使 LS 患者直接受益。KEYNOTE-177 研究^[24]是一项关于一线治疗应用帕博利珠单抗治疗 MSI-H/dMMR CRC 对比标准化疗 (化疗±贝伐珠单抗或西妥昔单抗) 的研究, 共 307 例 MSI-H/dMMR CRC 患者入组, 结果表明帕博利珠单抗对 MSI-H/dMMR 患者姑息治疗 12 个月和 24 个月的 PFS 率分别为 55.3%和 48.3%, 均分别高于标准化疗组的 37.3%和 18.6%。帕博利珠单抗治疗的 ORR 为 43.8%, 高于标准化疗的 33.1%。表明帕博利珠单抗可作为 MSI-H/dMMR CRC 患者的一线治疗方案。虽然中国尚未有大量 MSI-H/dMMR CRC 患者应用 PD-1 抑制剂治疗的研究数据, 但基于国际上已有的临床数据及 2021 版 NCCN 指南^[8]推荐, PD-1 抑制剂可应用于适合的 MSI-H/dMMR 晚期 CRC 患者^[25-27]。虽然目前免疫检查点抑制剂仍在探索之中, 但对 dMMR/MSI-H CRC 与免疫检查点抑制剂辅助治疗正进行着不同模式的研究, 如免疫联合化疗、双免疫治疗、免疫联合靶向, 相信在未来 CRC 的免疫治疗将探索出一种新的道路。

5 结语

综上所述, MSI 是 CRC 发生的重要途径之一, 是 CRC 早期筛查和诊断的重要方法, 是评估患者预后的重要预测手段及选择辅助治疗方法和免疫治疗效果的预测标志物。因此, 应对所有的 CRC 患者

进行 MSI 状态或 MMR 蛋白表达检测。除此之外, 如子宫内膜癌、肺癌、胆囊癌等也常伴有 MSI-H。总之, 加深临床对 MSI 与 CRC 关系的认识, 对给予患者正确合理的诊断、治疗及干预具有积极作用。

【参考文献】

- [1] 周家琛, 郑荣寿, 王少明, 等. 2020 年中国和世界部分国家主要消化道肿瘤负担比较[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 26-32.
- [2] Li K, Luo H, Huang L, et al. Microsatellite instability: A review of what the oncologist should know[J]. Cancer Cell Int, 2020, 20: 16.
- [3] Bohaumilitzky L, Kluck K, Hüneburg R, et al. The different immune profiles of normal colonic mucosa in cancer-free Lynch syndrome carriers and Lynch syndrome colorectal cancer patients[J]. Gastroenterology, 2022, 162(3): 907-919.
- [4] Seppälä TT, Latchford A, Negoi I, et al. European guidelines from the EHTG and ESCP for Lynch syndrome: An updated third edition of the Mallorca guidelines based on gene and gender[J]. Br J Surg, 2021, 108(5): 484-498.
- [5] Dominguez-Valentin M, Sampson JR, Seppälä TT, et al. Cancer risks by gene, age, and gender in 6350 carriers of pathogenic mismatch repair variants: Findings from the prospective Lynch syndrome database[J]. Genet Med, 2020, 22(1): 15-25.
- [6] Guo TA, Wu YC, Tan C, et al. Clinicopathologic features and prognostic value of KRAS, NRAS and BRAF mutations and DNA mismatch repair status: A single-center retrospective study of 1, 834 Chinese patients with stage I - IV colorectal cancer[J]. Int J Cancer, 2019, 145(6): 1625-1634.
- [7] Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer[J]. Nature, 2012, 487(7407): 330-337.
- [8] National Comprehensive Cancer Network. Colon cancer (Version 2021) [OL]. (2021-01-21)[2022-07-20]. <https://www.nccn.org/patients/guidelines/content/PDF/colon-patient.pdf>.
- [9] 中国临床肿瘤学会(CSCO)结直肠癌专家委员会. 结直肠癌分子标志物临床检测中国专家共识[J]. 中华胃肠外科杂志, 2021, 24(3): 191-197.
- [10] 中国抗癌协会肿瘤靶向治疗专业委员会. 结直肠癌分子检测高通量测序中国专家共识[J]. 临床肿瘤学杂志, 2021, 26(3): 253-264.
- [11] Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of

- microsatellite instability and colorectal cancer prognosis[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(3): 609–618.
- [12] Benatti P, Gafà R, Barana D, et al. Microsatellite instability and colorectal cancer prognosis[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(23): 8332–8340.
- [13] Roth AD, Delorenzi M, Tejpar S, et al. Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stage II/III colon cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2012, 104(21): 1635–1646.
- [14] Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, et al. Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: A pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(20): 5322–5330.
- [15] Mohan HM, Ryan E, Balasubramanian I, et al. Microsatellite instability is associated with reduced disease specific survival in stage III colon cancer[J]. Eur J Surg Oncol, 2016, 42(11): 1680–1686.
- [16] Zhang L, Zhao J, Yu B, et al. Correlations between microsatellite instability, ERCC1/XRCC1 polymorphism and clinical characteristics, and FOLFOX adjuvant chemotherapy effect of colorectal cancer patients[J]. Cancer Genet, 2017, 218–219: 51–57.
- [17] Morton D. 523OFOXtROT: An international randomised controlled trial in 1053 patients evaluating neoadjuvant chemotherapy (NAC) for colon cancer. On behalf of the FOXtROT collaborative group[J]. Ann Oncol, 2019, 30(Supplement_5): v198.
- [18] Cercek A, Dos Santos Fernandes G, Roxburgh CS, et al. Mismatch repair-deficient rectal cancer and resistance to neoadjuvant chemotherapy[J]. Clin Cancer Res, 2020, 26(13): 3271–3279.
- [19] Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, et al. Rectal cancer, version 2. 2018, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2018, 16(7): 874–901.
- [20] Al-Sukhni E, Attwood K, Mattson DM, et al. Predictors of pathologic complete response following neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2016, 23(4): 1177–1186.
- [21] Topalian SL, Taube JM, Pardoll DM. Neoadjuvant checkpoint blockade for cancer immunotherapy[J]. Science, 2020, 367(6477): eaax0182.
- [22] 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.
- [23] Overman MJ, McDermott R, Leach JL, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): An open-label, multicentre, phase 2 study[J]. Lancet Oncol, 2017, 18(9): 1182–1191.
- [24] André T, Shiu KK, Kim TW, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for microsatellite instability-high/mismatch repair deficient metastatic colorectal cancer: The phase 3 KEYNOTE-177 study[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(18_suppl): LBA4.
- [25] Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, et al. Durable clinical benefit with nivolumab plus ipilimumab in DNA mismatch repair-deficient/microsatellite instability-high metastatic colorectal cancer[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(8): 773–779.
- [26] 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.
- [27] Lenz HJ, Lonardi S, Zagonel V, et al. Nivolumab (NIVO) + low-dose ipilimumab (IPI) as first-line (1L) therapy in microsatellite instability-high/mismatch repair-deficient (MSI-H/dMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC): Two-year clinical update[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(15_suppl): 4040.
- (收稿日期: 2022-05-02)
(修回日期: 2022-07-25)

(上接第 79 页)

- [13] 杨秋萍. 新生儿抚触护理联合中医推拿效果评定[J]. 光明中医, 2019, 35(1): 146–148.
- [14] 徐昕, 孙霞, 陶美青. 小儿推拿法对新生儿黄疸的干预效果观察[J]. 中国中医药科技, 2019, 26(3): 444–445.
- [15] 唐云芳. 中医穴位按摩对新生儿黄疸指数的影响[J]. 新中医, 2015, 47(4): 249–250.
- [16] 余舒. 清胎毒法小儿推拿对新生儿黄疸的临床疗效观察[D]. 成都: 成都中医药大学, 2019.
- [17] 谭敢峰, 廖沛光, 黎念. 新生儿高胆红素血症的治疗进展[J]. 临床合理用药杂志, 2019, 12(16): 178–179.
- [18] 张贵娟. 论推拿三字经流派的学术特点[D]. 成都: 成都中医药大学, 2004.
- [19] 葛涓菲, 郭晓琳. 三字经流派推拿的学术特点[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(12): 3500–3501.
- (收稿日期: 2022-05-18)
(修回日期: 2022-08-04)