

· 论 著 ·

PMS2、MLH1、MSH2、MSH6在散发性结直肠癌中错配修复蛋白的表达及临床意义

李平 潘建锋

[摘要] 目的 探讨PMS2、MLH1、MSH2、MSH6等错配修复蛋白在散发性结直肠癌患者中的表达水平及临床意义。方法 选取84例散发性结直肠癌患者,采用免疫组织化学检测法检测其组织样本中4种错配修复蛋白的阳性表达,分析其与结直肠癌患者临床特征的关系。结果 直肠散发性结直肠癌和淋巴转移患者的PMS2阳性表达率高于左半结肠、右半结肠和未淋巴转移患者,差异均有统计学意义(χ^2 分别=6.22、5.74、5.39, P 均 <0.05);直肠、中低分化和淋巴转移的散发性结直肠癌患者的MLH1阳性表达率高于左半结肠、右半结肠、高分化和未淋巴转移患者,差异均有统计学意义(χ^2 分别=2.44、7.60、3.86、5.39, P 均 <0.05);淋巴转移的散发性结直肠癌患者的MSH2阳性表达率高于未淋巴转移者,差异有统计学意义($\chi^2=4.37$, $P<0.05$)。Spearman相关分析显示,MSH2阳性表达与MSH6阳性表达有相关性($r_s=0.67$, $P<0.05$),PMS2阳性表达与MLH1阳性表达有相关性($r_s=0.81$, $P<0.05$)。结论 淋巴转移、病灶部位分化程度是影响PMS2与MLH1、MSH2阳性表达的影响因素;MSH2阳性表达与MSH6阳性表达有相关性,PMS2阳性表达与MLH1阳性表达有相关性。

[关键词] 散发性结直肠癌; 错配修复蛋白; 病灶部位; 淋巴转移; 分化程度

Expression and clinical significance of PMS2, MLH1, MSH2, MSH6 in sporadic colorectal cancer LI Ping, PAN Jianfeng. Department of Physical Examination, Hangzhou Xiaoshan District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 311200, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the expression level and clinical significance of mismatch repair proteins such as PMS2, MLH1, MSH2, MSH6 in patients with sporadic colorectal cancer. **Methods** A total of 84 patients with sporadic colorectal cancer were selected. Immunohistochemistry was used to detect the positive expression of four mismatch repair proteins in their tissue samples, and the relationship between them and the clinical characteristics of colorectal cancer patients was analyzed. **Results** The positive expression rates of PMS2 in patients with sporadic rectal colorectal cancer and lymphatic metastasis were higher than that of the left colon, right colon and non-lymphatic metastasis ($\chi^2=6.22, 5.74, 5.39, P<0.05$). The positive expression rates of MLH1 in patients with sporadic colorectal cancer with moderate, poorly differentiated, and lymphatic metastasis were higher than that of left colon, right colon, well differentiated and non-lymphatic metastasis ($\chi^2=2.44, 7.60, 3.86, 5.39, P<0.05$). The positive expression rate of MSH2 in sporadic colorectal cancer patients with lymphatic metastasis was higher than that of patients without lymphatic metastasis ($\chi^2=4.37, P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that the positive expression of MSH2 was correlated with the positive expression of MSH6 ($r_s=0.67, P<0.05$), and the positive expression of PMS2 was correlated with the positive expression of MLH1 ($r_s=0.81, P<0.05$). **Conclusion** Lymphatic metastasis, location and degree of differentiation are influencing factors for the positive expression of PMS2 and MLH1 and MSH2; the positive expression of MSH2 is correlated with the positive expression of MSH6, and the positive expression of PMS2 is correlated with the positive expression of MLH1. **[Key words]** sporadic colorectal cancer; mismatch repair protein; lesion location; lymphatic metastasis; degree of differentiation

DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2020.010.007

作者单位:311200 浙江杭州,杭州市萧山区中医院体检科

由于环境恶化,生活方式改变,饮食结构变化及基因遗传作用,近年来结直肠癌在中国的发病率

呈逐年上升趋势^[1]。国内外研究表明,结直肠癌主要存在染色体不稳定性、表观遗传不稳定性及微卫星不稳定性三种遗传不稳定性^[2,3]。微卫星不稳定性主要与DNA错配修复蛋白基因缺陷相关,目前已知9种错配修复蛋白,其中PMS2、MLH1、MSH2及MSH6是目前研究热点^[4],但4种错配修复蛋白与散发性结直肠癌的相关性,国内相关研究仍较为少见。因此,本次研究选取84例散发性结直肠癌患者作为研究对象,分析4种错配修复蛋白在该病患者中的表达及临床病理意义。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2016年1月至2019年10月于杭州市萧山区中医院进行治疗的84例散发性结直肠癌患者作为研究对象,其中男性52例、女性32例;年龄28~57岁,平均年龄(42.50±4.83)岁。本研究经本院伦理委员会同意,所有患者均签署知情协议书。纳入标准为:结肠镜活检和/或手术后病理检查明确诊断为结直肠癌,癌组织源发于结直肠癌,并行直肠癌根治术;排除林奇综合征患者,其他恶性肿瘤患者,家族性腺瘤性息肉病患者。

1.2 方法 所有患者的病理标本均通过4%福尔马林完成固定,随后采用石蜡包埋进行EnVision法染色。将石蜡切片进行脱蜡、水化处理后,采用磷酸

缓冲盐溶液冲洗,加入一抗过氧化物酶阻断剂,室温孵育后,加入二抗,含链霉素的过氧化物酶溶液,孵育完成后滴加二氨基联苯胺显色,随后通过苏木精复染,常规脱水、封片。采用免疫组化法检测PMS2、MLH1、MSH2及MSH6的表达水平,选用由武汉珈源生物医学工程有限公司生产的单克隆抗体及由丹麦Dako公司生产的EnVision免疫组织化学检测试剂盒,严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 染色结果判定 ①根据染色强度(浅黄色1分、深黄色2分、深棕色3分)及阴性细胞率(<10%1分,11%~50%为2分,51%~80%为3分,>80%为4分)综合判定,两者分数相乘≥2分则为阳性表达;②缺乏情况判定:4种错配修复蛋白中若有1种及以上表达缺失者则判定为错配修复基因缺乏^[5]。

1.4 统计学方法 选用SPSS 20.0统计学处理软件进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。计量资料比较采用 t 检验;计数资料比较采用例(%)表示,采用 χ^2 检验。4种错配修复蛋白缺失的相关分析采用Spearman相关分析。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 散发性结直肠癌患者组织中MMR错配修复蛋白表达与临床特征的关系见表1

表1 散发性结直肠癌患者组织中4种错配修复蛋白表达与病理特征的关系/例

临床特征		<i>n</i>	PMS2		MLH1		MSH2		MSH6	
			+	−	+	−	+	−	+	−
年龄	<60 岁	44	38(86.36)	6(13.64)	38(86.36)	6(13.64)	42(95.45)	2(4.55)	42(95.45)	2(4.55)
	≥60 岁	40	37(92.50)	3(7.50)	36(90.00)	4(10.00)	38(95.00)	2(5.00)	39(97.50)	1(2.50)
性别	男	52	46(88.46)	6(11.54)	46(88.46)	6(11.54)	51(98.08)	1(1.92)	50(96.15)	2(3.85)
	女	32	29(90.63)	3(9.38)	28(87.50)	4(12.50)	30(93.75)	2(6.25)	30(93.75)	2(6.25)
部位	直肠	32	32(100)	0	31(96.88)	1(3.12)	32(100)	0	32(100)	0
	左半结肠	28	23(82.14)	5(17.86)	24(85.71)	4(14.29)	26(92.86)	2(7.17)	26(92.86)	2(7.17)
	右半结肠	24	20(83.33)	4(16.67)	17(70.83)	7(29.17)	22(91.67)	2(8.33)	20(83.33)	4(16.67)
病灶大小	<5 cm	64	56(87.50)	8(12.50)	56(87.50)	8(12.50)	61(95.31)	3(4.69)	62(96.88)	2(23.11)
	≥5 cm	20	18(90.00)	2(10.00)	18(90.00)	2(10.00)	18(90.00)	2(10.00)	18(90.00)	2(10.00)
分化程度	中低分化	56	15(26.79)	41(73.21)	14(25.00)	42(75.00)	1(1.79)	55(98.21)	1(1.79)	55(98.21)
	高分化	28	2(7.17)	26(92.86)	2(7.17)	26(92.86)	2(7.17)	26(92.86)	2(7.17)	26(92.86)
淋巴转移	是	40	39(97.50)	1(2.50)	39(97.50)	1(2.50)	39(97.50)	1(2.50)	38(95.00)	2(5.00)
	否	44	36(81.82)	8(18.18)	36(81.82)	8(18.18)	37(84.09)	7(15.91)	42(95.45)	2(4.55)

由表1可见,直肠散发性结直肠癌和淋巴转移患者的PMS2阳性表达率高于左半结肠、右半结肠和未淋巴转移患者,差异有统计学意义

(χ^2 分别=6.22、5.74、5.39, P 均<0.05);中低分化、年龄<60岁、男性及病灶<5 cm的散发性结直肠癌患者PMS2阳性表达率与高分化、年龄≥60岁、女性及

病灶 ≥ 5 cm患者比较,差异均无统计学意义(χ^2 分别=1.89、0.83、0.10、0.09, P 均 >0.05)。直肠、中低分化和淋巴转移的散发性结直肠癌患者的 MLH1 阳性表达率高于左半结肠、右半结肠、高分化和未淋巴转移者,差异均有统计学意义(χ^2 分别=2.44、7.60、3.86、5.39, P 均 <0.05),不同年龄、性别及病灶大小的散发性结直肠癌患者的 MLH1 阳性表达率比较,差异均无统计学意义(χ^2 分别=0.26、0.02、0.09, P 均 >0.05)。淋巴转移的散发性结直肠癌患者的 MSH2 阳性表达率高于未淋巴转移者,差异均有统计学意义($\chi^2=4.37$, $P<0.05$),直肠、年龄 <60 岁、男性和中低分化程度 MSH2 阳性表达率与左半结肠、右半结肠、年龄 ≥ 60 岁、女性和高分化程度者比较,差异均无统计学意义(χ^2 分别=2.36、0.77、1.56、0.01、1.08、2.63, P 均 >0.05)。淋巴转移、直肠、病灶 <5 cm、年龄 <60 岁、男性、高分化程度散发性结直肠癌的 MSH6 阳性表达率与未淋巴转移、左半结肠、右半结肠、病灶 ≥ 5 cm、年龄 ≥ 60 岁、女性、中低分化程度者比较,差异均无统计学意义(χ^2 分别=0.26、0.25、2.36、2.63、1.59、1.56、0.11, P 均 >0.05)。

2.2 84例散发性结直肠癌患者 PMS2、MLH1、MSH2 及 MSH6 阳性表达 84例散发性结直肠癌患者中共有18例患者出现错配修复蛋白缺失(至少缺失1种错配修复蛋白),缺失率为21.42%;PMS2 错配修复蛋白总缺失者为8例(9.52%),MLH1 错配修复蛋白总缺失者为7例(8.33%),两种蛋白共同缺失者为6例(7.14%);MSH2 错配修复蛋白共缺失2例(2.38%),MSH6 错配修复蛋白共缺失1例(1.19%),两种蛋白共同缺失者为1例(1.19%)。

2.3 散发性结直肠癌患者组织中错配修复蛋白表达的相关性 经过 Spearman 相关分析得到 MSH2 蛋白阳性表达与 MSH6 蛋白阳性表达有相关性, PMS2 蛋白阳性表达与 MLH1 蛋白阳性表达存在相关性(r_s 分别=0.67、0.81, P 均 <0.05)。

3 讨论

结直肠癌的发生与多种因素相关,如饮食结构(尤其是肉类食物的增加)、生活方式等生活因素、遗传因素及疾病等,是多种因素共同作用下导致的多基因改变的复杂过程。正常人体内通常存在一条完整的 DNA 错配修复系统,此系统一般由错配修复系统基因编码的一系列错配修复蛋白组成,是人体为防止细胞复制出现异常的一种自我保护机制,其主要功能为识别错配碱基并水解修复,维持 DNA 复制保真及

稳定性^[6,7]。因此当错配修复蛋白出现甲基化、突变或缺失,则会导致简单重复序列增多或丢失,最终导致子细胞出现突变或癌变^[8]。研究显示,早期筛查错配修复蛋白,评估患者的病情,可有效预防癌变^[9],而2017年美国NCCN指南提出,结直肠癌患者的病理标本都应行错配修复蛋白检测^[10]。但散发性结直肠癌与错配修复蛋白的相关性研究仍在起步阶段。

采用组织化学免疫法检测散发性结直肠癌组织标本,其特异性较高,可操作性强,经济性高,是临床错配修复蛋白初筛的常规方法。本次研究结果显示,84例患者错配修复蛋白的总缺失率为21.42%,这与国内外某些文献报道缺失率略有差别,这可能与散发性结直肠癌错配修复蛋白缺失在不同国家及地区略有不同,或与林奇综合征的漏诊及误诊相关,也与本次研究样本量较少相关。同时研究结果显示,MSH2 阳性表达与 MSH6 阳性表达有相关性, PMS2 阳性表达与 MLH1 阳性表达有相关性(P 均 <0.05)。分析这是由于 MMR 蛋白是通过组成二聚体发挥作用,其中 MHL1 与 MSH2 为主导蛋白, PMS2 与 MSH6 为配对蛋白,互相结合形成异二聚体 MutLa 和 MutSa,当主导蛋白突变时则配对蛋白会出现缺失^[11,12]。

MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 蛋白的表达是散发性直结肠癌相关的错配修复蛋白,其如果发生突变会使得散发性直结肠癌发生的概率大大增加^[13]。本次研究结果显示,直肠散发性结直肠癌和淋巴转移患者的 PMS2 阳性表达率高于左半结肠、右半结肠和未淋巴转移患者;直肠、中低分化、和淋巴转移的散发性结直肠癌患者的 MLH1 阳性表达率高于左半结肠、右半结肠、高分化和未淋巴转移者;淋巴转移的散发性结直肠癌患者的 MSH2 阳性表达率高于未淋巴转移者,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。表明 MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 蛋白的表达在病灶部位和淋巴转移与否、分化程度有一定关系。蛋白表达缺失者淋巴转移概率低。

综上所述,淋巴转移与否、病灶部位及分化程度是影响 PMS2 与 MLH1、MSH2 阳性表达的影响因素;MSH2 阳性表达与 MSH6 阳性表达有相关性, PMS2 阳性表达与 MLH1 阳性表达有相关性。但由于本次研究样本较小,不具有广泛代表性,因此具有一定的局限性。接下来需扩大样本量进一步研究 MHL1 及 PMS2 错配修复蛋白在散发性直结肠癌中的作用机制,及其与临床病理特征的相关性。

参考文献

- 1 杜灵彬,李辉章,王悠清,等.2013年中国结直肠癌发病与死亡分析[J].中华肿瘤杂志,2017,39(9):701-706.
- 2 程世芳,毛永芸,唐生业.癌组织及外周血中CD44、PLCE1、甲基化Sept9基因及DNA错配修复蛋白表达水平与结直肠癌病理分期及预后的相关性分析[J].胃肠病学和肝病杂志,2020,29(2):183-188.
- 3 Markowitz SD, Bertagnoli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer[J]. N Engl J Med, 2009, 361(25):2449-2460.
- 4 Fujiwara I, Yashiro M, Kubo N, et al. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer is frequently associated with the microsatellite instability pathway[J]. Dis Colon Rectum, 2008, 51(9):1387-1394.
- 5 Delahunty R, Memmrick P, Carne P, et al. Screening for mismatch repair deficiency in colorectal cancer[J]. Asia Pac Clin Oncol, 2015, 11(S3):52.
- 6 姜武,凌逸虹,吴晓丹,等.结直肠癌错配修复蛋白免疫组化结果误判与对策[J].中国全科医学,2019,22(24):2967-2970.
- 7 肖艳景,白慧丽,赵红梅,等.结直肠癌患者MMRP、BS69、Id-2水平表达及与病理特征的关系[J].实验与检验医学,2019,37(2):327-330.
- 8 王丽,毛海燕,童建东,等.错配修复/微卫星不稳定性对晚期结直肠癌化疗敏感性及其预后的影响[J].中国医药导报,2019,16(8):108-111.
- 9 Edelbrock MA, Kaliyaperumal S, Williams KJ. Structural, molecular and cellular functions of MSH2 and MSH6 during DNA mismatch repair, damage signaling and other noncanonical activities[J]. Mutat Res, 2013, 743(3):53-66.
- 10 Benson AB, Venook AP, Cederquist L, et al. Colon cancer, version 1.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2017, 15(3):370-398.
- 11 徐晋珩,刘丽云,田莉,等.散发性结直肠癌组织中错配修复蛋白和nm23蛋白表达与临床病理特征的关系[J].东南大学学报(医学版),2018,37(4):642-648.
- 12 Van Der Klift HM, Mensenkamp AR, Drost M, et al. Comprehensive mutation analysis of PMS2 in a large cohort of probands suspected of lynch syndrome or constitutional mismatch repair deficiency syndrome[J]. Hum Mutat, 2016, 37(11):1162-1179.
- 13 徐晋珩,胡月明,崔永兴,等.淋巴结转移性结直肠癌中MLH1与MSH2基因的表达水平及其临床意义[J].中国临床研究,2018,31(1):22-27.

(收稿日期 2020-06-29)

(本文编辑 蔡华波)

(上接第877页)

重程度有关。因此,HBP具有极大潜质应用于临床脓毒症早期诊断和病情监测的指标。本次研究的不足之处在于样本量有限,且缺少HBP与当前临床常用指标的横向比较。另一方面,缺少非感染因素休克组的比较。同时,脓毒症患者HBP水平变化的机制尚需要进一步基础实验验证。

参考文献

- 1 Timsit JF, Citerio G, Bakker J, et al. Year in review in intensive care medicine 2013: III. Sepsis, infections, respiratory diseases, pediatrics[J]. Intensive Care Med, 2014, 40(4):471-483.
- 2 吴田田,姚咏明.脓毒症免疫紊乱及其临床意义[J].解放军医学杂志,2017,42(2):95-102.
- 3 Gautam N, Maria Olofsson A, Herwald H, et al. Heparin-binding protein (HBP/CAP37): A missing link in neutrophil-evoked alteration of vascular permeability[J]. Nat Med, 2001, 7(10):1123-1127.
- 4 Kandil M, Khalil G, El-Attar E, et al. Accuracy of heparin binding protein: as a new marker in prediction of acute bacterial meningitis[J]. Braz J Microbiol, 2018, 49(Suppl 1):213-219.
- 5 Bentzer P, Fisher J, Kong HJ, et al. Heparin-binding protein is important for vascular leak in sepsis[J]. Intensive Care Med Exp, 2016, 4(1):33.
- 6 Liu XW, Ma T, Liu W, et al. Sustained increase in angiopoietin-2, heparin-binding protein, and procalcitonin is associated with severe sepsis[J]. J Crit Care, 2018, 45(1):14-19.
- 7 Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315(8):801-810.
- 8 Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, et al. Biomarkers for diagnosis of neonatal sepsis: A literature review[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2018, 31(12):1646-1659.
- 9 Linder A, Soehnlein O, Akesson P. Roles of heparin-binding protein in bacterial infections[J]. J Innate Immun, 2010, 2(5):431-438.
- 10 Lee TD, Gonzalez ML, Kumar P, et al. CAP37, a neutrophil-derived inflammatory mediator, augments leukocyte adhesion to endothelial monolayers[J]. Microvasc Res, 2003, 66(1):38-48.

(收稿日期 2020-05-24)

(本文编辑 蔡华波)