

Application and Research Progress of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer

Shuai Huang Hansong Du*

Tongji Medical College Affiliated Wuhan Central Hospital, Wuhan, Hubei, 430000, China

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is the third most common malignant tumor of digestive tract in China with the third incidence rate, only second to lung cancer and breast cancer. Currently, research has identified three ways in which genomic instability can cause molecular carcinogenesis, including chromosomal instability (CIN), microsatellite instability (MSI), and CpG island methylation phenotype (CIMP). The instability of microsatellites is closely related to mismatch repair (MMR) genes. MSI, as one of the earliest and most important molecular markers of colon cancer, is of great significance for the diagnosis, pathological characteristics, prognosis evaluation, and treatment selection of colon cancer. Therefore, this paper provides a brief review of the application and research progress of microsatellite instability in colon cancer.

Keywords

microsatellite instability; colon cancer; review

微卫星不稳定在结直肠癌的应用及研究进展

黄帅 杜寒松*

同济医学院附属武汉市中心医院, 中国·湖北 武汉 430000

摘要

结直肠癌 (CRC) 在中国发病率第三, 仅次于肺癌和乳腺癌, 是最常见的消化道恶性肿瘤之一。目前研究发现了三种基因组不稳定方式引起分子致癌, 包括染色体不稳定性 (CIN), 微卫星不稳定性 (MSI), CpG 岛甲基化表型 (CIMP)。其中微卫星不稳定与错配修复 (MMR) 基因密切相关。MSI 作为结肠癌最早且最为重要的分子标记物之一, 对结肠癌的诊断、病理特征、预后评估、治疗手段选择具有重要意义。因此, 论文就微卫星不稳定在结肠癌的应用及研究进展做简要综述。

关键词

微卫星不稳定; 结肠癌; 综述

1 引言

结直肠癌是世界癌症发病率排名第四的恶性肿瘤, 结肠癌是常见的恶性疾病之一, 根据 2020 年全球癌症网发布数据, 结肠癌在全球发病率为 19.5/10 万人, 致死率为 9.0/10 万人, 位于恶性肿瘤第四位^[1], 是全球生命安全的严重威胁。对结肠癌发生发展机制、分子标志物、治疗方法等都是目前研究热点。结肠癌是多基因参与的复杂疾病, 其中微卫星不稳定性是目前已知三种基因组不稳定方式之一, 可以对肿瘤的生长、转移、浸润、微环境等进行影响。MSI 是结直肠癌最早且最为重要的分子标记物之一, 对于结直肠癌的诊断、化疗及免疫治疗方案选择和预后评估具有重要意义。

2 结直肠癌治疗方法

近年来, 结肠癌的发病率越来越高, 但结肠癌确切病因尚未明确, 早期结直肠癌以手术治疗为主, 但对于一旦发现就为晚期的结肠癌患者, 很难从手术治疗中获益。于是逐渐衍生出化疗、放疗、免疫治疗、靶向治疗、细胞治疗等疗法。结肠癌早期就可有淋巴结转移, 因此通常对 II 期有高危因素或 III 期结肠癌患者应用化学治疗, 但化疗缺乏特异性, 是对全身细胞无差别损害, 容易引起各种毒副作用。随着分子生物学的发展, 针对免疫系统的肿瘤治疗备受关注。肿瘤细胞可以通过多种方式达到利用或逃避人体免疫系统及免疫检查的效果, 如 CTLA-4/CD80/CD86 通路抑制 T 细胞活化增值、IDO 通路消耗肿瘤微环境色氨酸等。20 世纪初期, 此时免疫治疗之父 William.B.Coley^[2] 就利用免疫疗法系统的进行了癌症治疗。直到几十年之后, 随着干扰素、免疫细胞、基因组等与癌症之间研究的深入, 才进一步加速了免疫治疗的进程。人们也开始信任了免疫治疗这种肿瘤特异性治

【作者简介】黄帅 (1997-), 男, 中国河南永城人, 硕士, 从事胃肠外科研究。

疗,如今免疫治疗已经成为肿瘤治疗的第四大支柱。目前在结肠癌的免疫治疗方面,PD-1及CTLA-4检查点是新的研究热点并且疗效得以证实。而多项研究发现PD-1抑制剂对MSI结肠癌预后更好,如Mifen Chen等发现,PD-1/PD-L1联合化疗在MSI患者ORR(61.8% vs 38.8%; P=0.001)、DCR(92.6% vs 74.5%)^[1]有显著改善。这也意味着MSI作为最早的生物标志物之一,对结肠癌的指导和治疗仍能提供巨大帮助。癌症疫苗也是当今热点之一,通过发现肿瘤的抗原成分,使免疫系统正常运行,如OncoVAX等。目前而言,对结直肠癌患者多采用综合治疗方式,清除原发灶,减少复发及毒副作用,达到最好的治疗效果。

3 MSI 分子生物学特征及历史

微卫星又称为短串联重复序列(STRs),是在1968年对色素干皮病遗传学的研究中首次在人类基因组发现了MSI。MS是指基因组中以少于10个核苷酸为简单重复,有50万个这样的具有一定稳定性微卫星位点存在人类基因组中。在1993年,首次报道了MSI与结直肠癌之间的关系,即MSI主要见于右半结肠癌,且生存率较左半结肠癌更高。同年,MSI在遗传性Lynch综合征患者的结直肠癌组织中被发现,从而揭示了MSI与Lynch综合征之间具有联系。随后在微生物研究中,发现错配修复(MMR)基因的突变会导致微卫星区域的显著突变。基于这项发现,最终将Lynch综合征与MMR基因联系起来,并开发了相应抗体来检测MMR缺乏(dMMR)。错配修复基因可以编码翻译出错配修复蛋白,当发生DNA复制错误时,错配修复蛋白识别并纠正DNA复制过程中的错误,保证遗传基因正常稳定运行。因此,当MMR其中之一发生突变或MLH1启动子的高甲基化时,微卫星序列发生错误无法得到修正,导致其碱基对组成改变,遗传稳定性也发生改变,也称之为MSI/dMMR。2009年,专家们在实践和预防中的应用评估(EGAPP)会议达成共识,将家族史作为MSI检测的初步考虑因素。2010年,耶路撒冷的一个研讨会建议,将年龄小于70岁的结直肠癌患者纳入MSI筛查因素,以发现可能出现的Lynch综合征。2016年,美国健康与护理卓越研究所(NICE)呼吁进行普遍的MSI或IHC检测,以指导CRC患者进一步检测Lynch综合征。而现在,中国结直肠诊疗指南推荐所有结直肠息肉及结直肠癌患者均进行MSI的检测。

4 MSI 与 Lynch 综合征及散发性结肠癌

Lynch(林奇)综合征是最常见的遗传性结肠癌综合征,又称为遗传性非息肉病性结直肠癌(HNPCC),2.5%-5%的CRC与Lynch综合征相关。在过去的二十年里,MSI检测的最主要作用是筛查Lynch综合征,原因在于Lynch综合征患者发生结肠肿瘤的风险很大且容易发生肠外癌症,到40岁时癌症风险约为40%,到80岁时为70%,风险远远高于常人。Lynch综合征的遗传因素包括两种,DNA错配修

复基因(MLH1突变)和上皮细胞粘附分子(EpCAM),无法利用错配修复基因修复错配的DNA,使Lynch综合征的微卫星状态表现为MSI,并且易同时出现异时性CRC伴结肠外癌的患病率增加,如子宫内膜癌、卵巢癌、移行细胞癌、胃癌、小肠癌、胰腺癌、肝胆癌等。因此MSI检测是Lynch综合征筛查的基础,2004年,随着对Lynch综合征的了解愈发深入,NCI修订了Bethesda指南,将更多指标纳入需要检测MSI的指征。散发性MSI结直肠癌和Lynch综合征CRC之间存在显著差异,MSI约占散发性CRC的15%左右,与Lynch综合征不同,散发性CRC的MSI主要表现为MLH1或PMS2的缺失,这可以解释了散发性MSI CRC通常是晚发病。MSI CRC的MLH1失活,导致MLH1的转录沉默或BRAF V600E突变,这又是与Lynch综合征异时性肿瘤的区别之一。BRAF V600E是一种常见的肿瘤基因突变,在结肠癌中更常见于散发性MSI型CRC,而不是HNPCC,可以通过BRAF第600位的苏氨酸错误突变为谷氨酸,导致激活MAPK通路,促进肿瘤发生,BRAF V600E突变可为散发性CRC提供免疫检查位点,并指导预后。当然,相同点散发性MSI结直肠癌和Lynch综合征结肠癌都为MSI,都常见POLE(聚合酶E)/POLD1(人类DNA聚合酶I)的种系突变,也都可以通过缩短3'UTRs(3'-非翻译区)来提高癌基因的翻译水平,导致miRNA介导的调节功能丧失,在临床特征也具有相关性,具体表现为肿瘤直径较大,分化差,粘液细胞型或印戒型等。

5 MSI 在 CRC 临床病理特征

大量文献研究认为MSI与MSS结直肠癌的生物学行为及临床病理特征存在明显差异。MSI型患者的临床病理特征具体表现有以下几点:①肿瘤主要起源于结肠右侧;②肿瘤通常呈现较差的分化程度;③肿瘤内多见存在粘液成分;④肿瘤边缘显示膨胀性浸润,与较低的T分期相关;⑤区域性淋巴结转移的发生率较低。此外有研究发现MSI结直肠癌患者以女性多见,有肿瘤间质克罗恩样淋巴细胞反应。对于MSI-H CRC患者而言,其发病年龄相对较MSS型较早,多为绒毛乳头状结构,且常伴有瘤周淋巴浆细胞浸润。MSI在TNM分期I/II期的病人中的出现率高,且肿瘤直径常大于6cm。综上,MSI CRC患者病理特征具有有利因素,如表达更多淋巴细胞而提供免疫原性,浸润较浅,淋巴结较少转移,又具有不利因素,如低分化更多见,这表明MSI-H结直肠癌患者可能同时面临着良好和不良的预后情况,但更多研究证明MSI-H CRC患者有更好的预后。

6 MSI 对化疗的指导

2000年时,研究发现MSI与化疗药物的关系,认为MSI-H的病人们对化疗药物更加敏感。因此引起科研工作者对MSI患者进行化学药物治疗如火如荼的研究,其中对5-FU(5-氟尿嘧啶)的研究开展最早,以5-FU为基础的辅助化

疗是晚期结直肠癌术后治疗的主要方法,通过将5-FU与其他化疗药物如伊立替康和奥沙利铂联合使用,作为III期结直肠癌术后的主要治疗方法,可提高治愈率、缓解率及总生存期、无进展生存期等。而一些回顾性临床试验表明,5-FU单药治疗与MSI-H型CRC的预后改善与MSS型CRC相比存在争议^[4]。因此有研究发现5-FU与奥沙利铂及亚叶酸钙组成FOLFOX治疗方案,可使MSI型CRC病人明显获益。而5-FU与伊立替康(Irinotecan)与亚叶酸钙组成的FOLFIRI化疗方案能否在微卫星类型结肠癌中获得收益目前还存在争议。有研究认为MSI-H结直肠癌患者对伊立替康治疗的反应高于MSS CRC肿瘤患者,但对氟尿嘧啶的敏感性不高。但一项2015年欧洲大型随机性临床试验研究对1254名结直肠癌患者进行随访^[5],表明伊立替康可能并不能使MSI-H CRC患者受益。MSI对化疗药物的指导可见还有不确定性。

7 MSI对免疫治疗的指导

多项研究证实MSI-H CRC患者被认为具有生存优势,考虑这与MSI表现更多的免疫原性和TILs(肿瘤淋巴浸润细胞)增加有关,TILs主要包括T细胞和B细胞,这些细胞能够识别并攻击肿瘤细胞。高TILs水平的肿瘤往往对免疫疗法有更好的反应,可以提高机体的抗肿瘤反应性,因此TILs的丰富度被认为是一个独立的良好预后因素,MSI CRC患者的组织病理学标本中当检测出较高TILs时较MSS结肠癌更加具有生存优势。过去一项综述验证了MSI结直肠癌总体生存获益,预后较好^[6],而这也可能是由于在MSI-H CRC中发现了丰富的移码特异性新肽,即产生了TILs,从而为抗肿瘤提供了免疫原性,避免发生了免疫逃避有关。最近的研究主要集中在MSI状态在免疫治疗中的指导作用,多项研究证明免疫治疗可提高转移性MSI-H CRC的无进展生存期及总体存活率。2015年Llosa NJ等^[7]认为与MSS CRC相比,MSI-H CRC中不仅有更多的辅助T细胞(Th1)和细胞毒性T淋巴细胞(CTL)浸润和干扰素 γ (IFN- γ)产生,PD-1(阻断程序性细胞死亡受体-1)和程序性死亡-L1(PD-L1)的表达更高,因此MSI CRC患者经过免疫治疗具有更好的预后。随着癌症免疫治疗初见成效,与常规化疗的联合治疗在临床试验中越来越多地进行测试,PD-1/PD-L1正是研究MSI免疫治疗的热点之一,PD-1是T细胞表面的一种蛋白,通过与PD-L1结合来帮助维持免疫耐受,防止免疫系统对正常组织的攻击。然而,许多类型的癌细胞也表达PD-L1,通过这种机制抑制T细胞的活性,逃避免疫系统的监视和攻击。PD-1治疗药物通过阻断PD-1与PD-L1之间的相互作用,解除对T细胞的抑制,从而增强对癌细胞的免疫反应。目前越来越多的临床研究肯定了PD-1/PD-L1免疫检查点抑制剂对晚期MSI CRC的疗效。因此NCCN指南推荐帕博利珠单抗及纳武利尤单抗作为对

dMMR/MSI-H的晚期CRC患者标准治疗失败后的二、三线治疗。美国食品和药物管理局批准了帕博利珠单抗治疗无法手术或5-FU、奥沙利铂或伊立替康治疗后失败的MSI-H结直肠癌。

8 结语

MSI作为最早的生物标记物之一,与结肠癌密切相关,在随着免疫检查点的出现,如今又再次成为研究热点之一。早期应用PCR、IHC、NGS等检测技术对MSI进行检测,对结肠癌患者的预后及治疗具有重要意义。对MSI的认识近年来在飞速发展,但目前MSI具体是通过什么方式的作用机制来影响肿瘤的目前仍未可知,相信随着MSI检测技术的更加精准,以及MSI发生机制与MSI相关肿瘤之间关系的更加清晰,MSI将为结肠癌的诊断、预防和治疗开辟新的领域,为肿瘤患者带来更多福音。

参考文献

- [1] Praphulla Chandra S, Krishna KS, Philip AK. P-2 Re-evaluating the trends in colon cancer[J]. *Annals of Oncology*,2023(6):5.
- [2] Kevin R. Loughlin. William B. Coley[J]. *Urologic Clinics of North America*,2020,47(4):413-417.
- [3] Chen M, Wang Z, Liu Z, et al. PD-1/PD-L1 Inhibitor Plus Chemotherapy Versus PD-1/PD-L1 Inhibitor in Microsatellite Instability Gastrointestinal Cancers: A Multicenter Retrospective Study[J]. *JCO Precis Oncol*. 2023;7:e2200463.
- [4] Zoran Gatalica, Semir Vranic, Gargi D. et al. Thymidylate Synthase Over-Expression Underlies the Observed Lack of 5-FU Therapy Benefit for Msi-H Colorectal Cancers[J]. *Annals of Oncology*,2014;25 (0):iv195-iv195.
- [5] Klingbiel D, Saridakis Z, Roth AD, et al. Prognosis of stage II and III colon cancer treated with adjuvant 5-fluorouracil or FOLFIRI in relation to microsatellite status: results of the PETACC-3 trial[J]. *Ann Oncol* 2015;26:126-132.
- [6] Guastadisegni C, Colafranceschi M, Ottini L, et al. Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a meta-analysis of colorectal cancer survival data[J]. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 2010,46(15):2788-2798.
- [7] Llosa NJ, Cruise M, Tam A, et al. The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints[J]. *Cancer Discovery*,2015,5(1):43-51.