

· 综 述 ·

错配修复基因与胃癌相关性的研究进展

李昕雨, 李娟, 屈怡帆, 白莉*

(解放军总医院肿瘤内科, 北京 100853)

【摘要】 DNA 错配修复(MMR)基因可以修复 DNA 碱基错配、保持遗传物质的保守性和稳定性,从而保证 DNA 复制的忠实性。一旦存在 MMR 基因缺陷, DNA 的复制过程就会出现错误,基因片段的数量就会发生变化,导致微卫星不稳定(MSI)。近年来,关于 MMR 基因与胃癌发病关系的研究较多,越来越多的证据证明 MSI 与微卫星稳定(MSS)胃癌的预后和化疗敏感性不同。本文将就此内容进行综述,阐述 MMR 基因在胃癌发生发展过程中的作用机制,并探讨其对胃癌临床预后的意义。

【关键词】 DNA 错配修复基因;微卫星不稳定;胃癌

【中图分类号】 R735.2

【文献标识码】 A

【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2017.01.017

Research progress on correlation of mismatch repair genes with gastric carcinoma

LI Xin-Yu, LI Juan, QU Yi-Fan, BAI Li*

(Department of Oncology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 DNA mismatch repair (MMR) gene plays vital role in repairing the mismatch of DNA bases and keeping the faithful duplication of the genetic material, so as to ensure the fidelity of DNA replication. Defects of MMR genes leads to the accumulation of numerous mutations across the genome, and then creates a molecular phenotype known as microsatellite instability (MSI). In recent years, there are many researches about the relationship of MMR with gastric cancer. Much evidence shows that the prognosis and chemotherapy sensitivity of gastric cancer are quite different from the tumors with MSI and those with microsatellite stability (MSS). In this review, we elucidated the role of MMR in the pathogenesis and its significance in the prognosis of gastric cancer.

【Key words】 mismatch repair gene; microsatellite instability; gastric carcinoma

Corresponding author: BAI Li, E-mail: baili_0795@163.com

肿瘤的发生过程复杂,涉及多方面因素。目前已明确的机制包括原癌基因的激活、抑癌基因的失活和凋亡基因的异常活化。在肿瘤的形成过程中, DNA 错配修复(mismatch repair, MMR)基因起一定作用。近年来,在某些散发性肿瘤中均发现了 MMR 系统功能的缺陷,如胃癌、子宫内膜癌和胰腺癌等^[1]。

1 MMR 系统和微卫星

1.1 MMR 基因的组成

MMR 系统由一系列能够特异性识别并修复 DNA 碱基错配的蛋白组成^[2],用于维持遗传物质保持其原有的完整性及稳定性,确保 DNA 复制的忠实性。在目前已发现的人类 MMR 系统中,所发现的蛋

白至少有 7 种,分别为 h-MLH1、h-MLH3、h-MSH2、h-MSH3、h-MSH6、h-PMS1 和 h-PMS2。这些蛋白相互之间形成异源二聚体,用于识别 DNA 复制过程中碱基的不匹配以及小核苷酸的插入或删除(1~4 碱基配对)^[3]。DNA 的 MMR 功能丧失不仅可以发生在基因组水平,也可以发生在细胞水平^[4]。

MMR 系统最早发现于原核生物中。酵母 MMR 系统中有 5 种 mutS 同源蛋白(MSH1、MSH2、MSH3、MSH4 和 MSH5)和 3 种 mutL 同源蛋白(PMS1、MLH1 和 MLH2)。其中,MSH1 主要参与线粒体对应的 MMR 过程;MSH2 属于核 MMR 基因;MSH3 主要确保简单重复序列能够较好地维持其本身的稳定性;MSH4 与 MSH5 同源,参与减数分裂的重组,但与其与 MMR 过程无关。

1.2 MMR 基因的功能

MMR 基因通过编码 MMR 蛋白之间相互形成的复合物参与 MMR 过程。MMR 过程主要包括 3 个步骤,即错配位点的定位、识别和蛋白的聚集修复,其可能的机制为 MSH2 与 MSH6 形成 MutS α ,识别单独的碱基错配/插入缺失环。MSH2 与 MSH3 形成异源二聚体 MutS β ,识别 2~8 个碱基的插入缺失环。MutS α 或 MutS β 均具有内在的 ATP 酶活性,两者在 MMR 的起始过程中起到关键作用,同时也与识别错配碱基相关^[5]。就插入缺失环整个过程来讲,MutL α 与 MutS α 先形成一种复合物,复合物再与 ExoI 进行协同作用,完成错配部位的有效定位。在完成定位以后,就需要借助于增殖细胞的核抗原来完成后续的修复启动。具体的过程是,同 MMR 所涉及到的酶进行有效结合,使存在错配碱基的这条 DNA 链能够被切除掉,之后将会得到正确 DNA 链,也就达到了修复的目的。其中,hMLH1 和 hMSH2 是 MMR 系统最重要的两个组分。正常情况下它们在胞浆内合成,被转运到细胞核后才参与完成 MMR 反应。其中之一异常则可使 MMR 系统的功能受损甚至丧失,从而阻断复合物形成,导致相关的其他蛋白丢失,而 MMR 家族中其他基因的异常则仅会导致编码蛋白的丢失^[6]。

由于 MMR 基因的高保守性,一旦出现了 MMR 基因缺失,基因组的稳定性就会降低,导致突变率升高。由于 MMR 基因缺陷增高细胞突变频率,突变表型形成加剧了基因突变累积,进一步导致肿瘤的发生。

目前研究表明,单一 MMR 基因的缺陷不足以引起肿瘤发生。MMR 基因缺陷引起肿瘤发生的原因有 4 个方面^[7-9]:(1)癌/抑癌基因出现更高的突变频率;(2)人体内部分功能基因遗传存在很大程度的不稳定;(3)可能会产生烷化剂等对细胞造成较大损害的物质,进而导致肿瘤的发生^[10];(4)诱导损伤细胞凋亡功能的缺陷。

1.3 微卫星

微卫星(microsatellite)属于 DNA 重复序列,主要由 2~6 个核苷酸重复单位构成,约占人类总基因的 10%^[11]。目前认为,微卫星的遗传稳定性较高。当某个 MMR 基因出现缺陷时,DNA 复制过程出现的错误不能被及时矫正,导致微卫星移码突变(插入/删除),基因片段的数量产生变化,从而产生微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)^[8,12,13]。

美国国立癌症研究院的检测标准包含了 5 个微卫星位点,其中有 2 个单核苷酸重复序列,即

BAT-25 和 26;还包含了 3 个二核苷酸重复序列,分别是 D-17S25015、D2S123 和 D5S346。由于 MSI 的发生频率不同,可将其分为 3 种类型,即高度 MSI (high microsatellite instability, MSI-H)、低度 MSI (low microsatellite instability, MSI-L) 以及微卫星稳定 (microsatellite stability, MSS)。在以上 5 个位点中,有 ≥ 2 个出现 MSI 现象称为 MSI-H,仅 1 个产生 MSI 则称为 MSI-L,若没有 MSI 现象产生称为 MSS^[14]。Nagasaka 等^[15]针对 MSI 给出了一个比较新的定义,首先需要保证 ≥ 1 个单核苷酸重复序列不稳定,其次是需要保证在上述 5 个微卫星位点之中出现 1 个不稳定,这样才能够被判定为 MSI,用以降低 2 个二核苷酸重复序列不稳定产生的假阳性率。

1.4 检测方法

1.4.1 免疫组织化学 免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)法是常用的检测 MMR 蛋白方法。MMR 基因表达特定的 MMR 蛋白,应用此方法检测 MMR 蛋白,可以反映 MMR 基因的功能情况。IHC 的优势在于简单、实用,且花费少^[16]。

1.4.2 聚合酶链式反应 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)通过对上述提到的 5 个位点,即 BAT-25、BAT-26、D-17S25015、D2S123 和 D5S346 PCR 进行检测,对 PCR 产物行 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳以检测 MSI 状态^[17]。PCR 技术能够检测出被 IHC 忽略的 MMR 基因缺失(MMR-deficient, dMMR),被认为是 dMMR 筛查的标准方法。

1.4.3 基因检测 对外周血进行基因测序。因价格昂贵,目前不作为常用的检测方法。

前两种检测方法的一致性近 90%,如联合使用,敏感性更高^[18]。

2 MMR 基因与胃癌

MMR 基因已成为预测结肠癌预后的标志物。2016 年美国国家综合癌症网(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南提出,II 期结肠癌术后患者应检测 MMR 基因,dMMR 患者无需进行辅助化疗,MMR 基因完整(MMR-proficient, pMMR)患者才应考虑行术后辅助化疗。MMR 基因在癌症家族中的作用已经成为研究热点。

近年来,国内外对 MSI 与胃癌的研究结果显示^[19],MSI-H 胃癌患者具有明显特征。Jahng 等^[20]对 219 例胃癌患者的分析结果表明,与 MSS 和 MSI-L 患者相比,MSI-H 患者病灶发生于胃窦部者更多($P < 0.001$),表现为肠型者更多($P < 0.05$),且伴

明显淋巴细胞浸润者更多 ($P < 0.001$)。Oki 等^[21]对 240 例胃癌患者的研究表明, MSI-H 患者的肿瘤大多位于胃窦部, 淋巴结转移更常见。An 等^[22]对 1990 例胃癌患者的研究表明, MSI-H 者老年女性居多, 病灶位于胃窦部者居多, 组织学分型为肠型者居多。上述结果表明, MSI 胃癌大多数为肠型, 位于远端胃, 多发生于老年女性。

一些研究表明 MSI-H 患者预后相对较好, 但由于 MSI-L 和 MSS 患者对氟尿嘧啶类药物相对敏感, 也有研究得出相反的结果^[18]。Fang 等^[23]对 214 例接受胃癌根治性手术患者进行分析后总结, 与 MSI-L 和 MSS 患者相比, MSI-H 患者具有更高的 5 年总生存率 ($P = 0.030$)。An 等^[22]观察了进行 R0 手术切除胃癌的 1990 例患者, 认为 MSS、MSI-L 与 MSI-H 患者之间的总生存期差异无统计学意义。胃癌患者 MSI 的发生率为 15% ~ 30%。伴 MSI 胃癌患者多发生遗传性疾病, 如林奇综合征, 但大多数为散发, 只有小部分患者 (约 10%) 有家族史。

目前, 以抗程序性死亡受体 - 1 (programmed cell death-1, PD-1)/PD-1 - 配体 1 (PD-1-ligand 1, PD-L1) 为代表的新型癌症免疫疗法取得的成功已经有目共睹。已有研究证明, 与无 MMR 缺陷或 MSS 肿瘤患者相比较, 伴有 MMR 缺陷或 MSI 的肿瘤患者对 PD-1 抑制剂的反应性更好, 派姆单抗 (pembrolizumab) 在 MSI 肿瘤患者中的反应率、无进展生存期以及总生存期具有明显优势^[8]。与其他免疫治疗方法不同, 抗 PD-1/PD-L1 可以针对肿瘤诱导的免疫缺陷以及正在进行的肿瘤免疫过程使得肿瘤特异性免疫过程激活^[24]。如果存在 MSI, 肿瘤细胞的突变则较多, 患者对免疫治疗则更敏感。

3 小 结

MMR 基因对胃癌的诊断、治疗及预后具有重要提示作用。目前胃癌的治疗策略及 MMR 系统在胃癌中的作用尚不十分明确。越来越多证据表明 dMMR 与 pMMR 胃癌的预后和化疗敏感性不尽相同。因此, MMR 基因可否成为筛查胃癌高危人群的常规检测需要更大规模的临床试验验证。

【参考文献】

[1] 崔晋峰, 姜 蕾, 曹力勇, 等. 食管胃交界腺癌和远端胃癌中 hMLH1 和 hMLH2 表达及其意义[J]. 肿瘤研究与临床, 2014, 26(12): 805 - 807. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2014.12.004.
Cui JF, Lou L, Cao LY, et al. Comparative study on the expression of hMLH1 and hMLH2 between adenocarcinoma of the esophagogastric junction and distal gastric adenocarcinoma and its clinical significance [J]. Cancer Res Clin, 2014, 26 (12): 805 - 807. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2014.12.004.

[2] 种子劭, 王 静. DNA 错配修复基因与大肠癌相关性的研究进展[J]. 现代消化及介入诊疗, 2015, 20(4): 452 - 454. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2015.04.056.
Zhong ZX, Wang J. Advances on the correlation between DNA mismatch repair genes and colorectal cancer [J]. Mod Dig Interv, 2015, 20(4): 452 - 454. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2015.04.056.

[3] Jiricny J. The multifaceted mismatch-repair system [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7 (5): 335 - 346. DOI: 10.1038/nrm1907.

[4] Lin AY, Lin E. Programmed death 1 blockade, an Achilles heel for MMR-deficient tumors [J]? J Hematol Oncol, 2015, 8: 124. DOI: 10.1186/s13045-015-0222-5.

[5] 徐芹芹, 刘丽萍, 阚 瑛, 等. 人类错配修复基因及其与胃癌发病机制的关系 [J]. 医学信息, 2013, 26(3): 670 - 671. DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2013.20.973.
Xu QQ, Liu LP, Kan Y, et al. The relationship between mismatch repair genes and the pathogenesis of gastric cancer in human [J]. Med Inform, 2013, 26(3): 670 - 671. DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2013.20.973.

[6] Drucea A, Angelescu C, Danciulescu M, et al. Mismatch repair gene expression in gastroesophageal cancers [J]. Turk J Gastroenterol, 2015, 26 (5): 373 - 377. DOI: 10.5152/tjg.2015.0139.

[7] Samowitz WS, Holden JA, Curtin K, et al. Inverse relationship between microsatellite instability and K-ras and p53 gene alterations in colon cancer [J]. AM J Pathol, 2001, 158 (4): 1517 - 1524. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64102-8.

[8] Velho S, Fernandes MS, Leite M, et al. Causes and consequences of microsatellite instability in gastric carcinogenesis [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(44): 16433 - 16442. DOI: 10.3748/wjg.v20.i44.16433.

[9] Brown KD, Rathi A, Kamath R, et al. The mismatch repair system is required for S-phase checkpoint activation [J]. Nat Genet, 2003, 33(1): 80 - 84. DOI: 10.1038/ng1052.

[10] 孙红梅, 鲍云华, 郑丽平, 等. 多原发癌 46 例临床分析 [J]. 中华多器官疾病杂志, 2016, 15(8): 609 - 612. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2016.08.144.
Sun HM, Bao YH, Zheng LP, et al. Clinical analysis of multiple primary carcinoma in 46 patients [J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2016, 15 (8): 609 - 612. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2016.08.144.

[11] 陈国庭, 朱正纲, 尹浩然, 等. 胃癌微卫星不稳定性及其与临床病理生物学的关系 [J]. 中华胃肠外科杂志, 2004, 7(3): 225 - 228. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2004.03.019.
Chen GT, Zhu ZG, Yin HR, et al. Microsatellite instability in gastric carcinoma and its relationship with clinicopathological features [J]. Chin J Gastrointest Surg, 2004, 7(3): 225 - 228. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2004.03.019.

[12] Jacob S, Praz F. DNA mismatch repair defects: role in colorectal

- carcinogenesis[J]. *Biochimie*, 2002, 84(1): 27-47. DOI: 10.1016/S0300-9084(01)01362-1.
- [13] Kulke MH, Thakore KS, Thomas G, *et al.* Microsatellite instability and hMLH1/hMSH2 expression in barrett esophagus associated adenocarcinoma[J]. *Cancer*, 2001, 91(8): 1451-1457. DOI: 10.1002/1097-0142(20010415)91:8<1451::AID-CNCR1152>3.0.CO;2-Z.
- [14] 曹伟, 张长乐. 胃癌微卫星不稳定研究进展[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2013, 20(7): 826-831. DOI: 10.7507/1007-9424.20130212.
Cao W, Zhang CL. Advances on the research of microsatellite instability in human gastric cancer[J]. *Chin J Bases Clin Gen Surg*, 2013, 20(7): 826-831. DOI: 10.7507/1007-9424.20130212.
- [15] Nagasaka T, Koi M, Kloor M, *et al.* Mutations in both KRAS and BRAF may contribute to the methylator phenotype in colon cancer[J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(7): 1950-1960. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.094.
- [16] 马俊丽, 曾珊. 错配修复基因和结肠癌的关系[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2014, 39(2): 190-194. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2014.02.014.
Ma JL, Zeng S. Relation between mismatch repair genes and colon cancer[J]. *J Cent South Univ (Med Sci)*, 2014, 39(2): 190-194. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2014.02.014.
- [17] 韩晶. 结直肠癌微卫星不稳定(MSI)与其发病及预后的关系[J]. *中国肿瘤临床*, 2012, 39(1): 56-59. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2012.01.015.
Han J. Relationship of microsatellite instability with the incidence and prognosis of colorectal cancer[J]. *Chin J Clin Oncol*, 2012, 39(1): 56-59. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2012.01.015.
- [18] Yoon YS, Yu CS, Kim TW, *et al.* Mismatch repair status in sporadic colorectal cancer: immunohistochemistry and microsatellite instability analyses[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(12): 1733-1739. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06784.x.
- [19] 叶敏, 孙大志, 魏品康. DNA 微卫星不稳定与胃癌[J]. *中华临床医师杂志*, 2013, 7(9): 4000-4002. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.09.053.
Ye M, Sun DZ, Wei PK. Microsatellite DNA instability and gastric cancer[J]. *Chin J Clin (Electro Ed)*, 2013, 7(9): 4000-4002. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.09.053.
- [20] Jahng J, Youn YH, Kim KH, *et al.* Endoscopic and clinicopathologic characteristics of early gastric cancer with high microsatellite instability[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(27): 3571-3577. DOI: 10.3748/wjg.v18.i27.3571.
- [21] Oki E, Kakeji Y, Zhao Y, *et al.* Chemosensitivity and survival in gastric cancer patients with microsatellite instability[J]. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16(9): 2510-2515. DOI: 10.1245/s10434-009-0580-8.
- [22] An JY, Kim H, Cheong JH, *et al.* Microsatellite instability in sporadic gastric cancer: its prognostic role and guidance for 5-FU based chemotherapy after R0 resection[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(2): 505-511. DOI: 10.1002/ijc.26399.
- [23] Fang WL, Chang SC, Lan YT, *et al.* Microsatellite instability is associated with a better prognosis for gastric cancer patients after curative surgery[J]. *World J Surg*, 2012, 36(9): 2131-2138. DOI: 10.1007/s00268-012-1652-7.
- [24] 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. DOI: 10.1056/NEJMoa1500596.

(编辑: 吕青远)