

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

徐晋珩¹, 胡月明¹, 崔永兴¹, 郝世柱², 田莉¹, 张志勇¹

1. 唐山市工人医院病理科, 河北 唐山 063000; 2. 唐山市工人医院普外科, 河北 唐山 063000

摘要: **目的** 分析淋巴结转移性结直肠癌中 DNA 错配修复基因(mismatch repair, MMR)系统 MLH1 (MutL homolog 1)和 MSH2 (MutS homolog 2)基因的表达水平及临床意义。**方法** 选取 2015 年 6 月至 2017 年 4 月收治的 120 例淋巴结转移性结直肠癌患者为研究对象,同期选取 120 例无淋巴结转移的结直肠癌患者为对照;通过免疫组化法、实时荧光定量 PCR 法(qRT-PCR)、Western blot 法,分别检测两组正常癌旁组织及病灶组织中 MLH1、MSH2 蛋白阳性表达缺失率,MLH1、MSH2 mRNA 及蛋白表达水平。**结果** 两组患者病灶组织 MLH1、MSH2 蛋白阳性表达缺失率均高于癌旁组织,而 MLH1、MSH2 mRNA 及蛋白相对表达水平均低于癌旁组织,差异均有统计学意义($P < 0.05$);淋巴结转移性结直肠癌组病灶组织 MLH1、MSH2 蛋白阳性表达缺失率均高于无淋巴结转移组,MLH1、MSH2 mRNA 及蛋白相对表达水平均低于无淋巴结转移组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);两组癌旁组织 MLH1、MSH2 蛋白阳性表达缺失率、MLH1、MSH2 mRNA 及蛋白相对表达水平比较差异均无统计学意义($P > 0.05$);MLH1、MSH 阳性表达缺失率与淋巴结转移性结直肠癌患者的肿瘤直径、浸润深度、分化程度及淋巴结转移数有密切关系($P < 0.01$),而与年龄无关($P > 0.05$)。**结论** 淋巴结转移性结直肠癌中 MLH1、MSH2 表达水平显著降低,推测其在结直肠癌由无淋巴结转移进展为发生淋巴结转移中具有重要作用。

关键词: 淋巴结转移; 结直肠癌; 错配修复蛋白 MutL 同源基因 1; 错配修复蛋白 MutS 同源基因 2; 表达缺失; 进展

中图分类号: R 735.3 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2018)01-0022-06

MLH1 and MSH2 genes expression levels in patients with lymph node metastasis colorectal cancer and its clinical significance

XU Jin-heng*, HU Yue-ming, CUI Yong-xing, HAO Shi-zhu, TIAN Li, ZHANG Zhi-yong

* Department of Pathology, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China

Corresponding author: ZHANG Zhi-yong, E-mail: zhiyongzhang6312@126.com

Abstract: Objective To analyze the expression levels of MLH1 (MutL homolog 1) and MSH2 (MutS homolog 2) genes in DNA mismatch repair (MMR) system in patients with lymph node metastasis colorectal cancer and the clinical significance. **Methods** A total of 120 patients with lymph node metastasis colorectal cancer admitted to Tangshan Gongren Hospital from June 2015 to April 2017 were selected as study objects, and 120 patients without lymph node metastasis colorectal cancer at the same time were selected as the controls. Immunohistochemistry, real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot methods were used to respectively detect the positive expression missing rates of MLH1 and MSH2 proteins, expression levels of MLH1 and MSH2 mRNA and proteins in paracancerous normal tissues and cancer tissues. **Results** The positive expression missing rates of MLH1 and MSH2 proteins in lesion tissues were significantly higher than those in paracancerous normal tissues in two groups, while the relative expression levels of MLH1 and MSH2 mRNA and protein in lesion tissues were significantly lower than those in paracancerous normal tissues (all $P < 0.05$). The positive expression missing rates of MLH1 and MSH2 proteins in the lesion tissues were significantly higher with lymph node metastasis colorectal cancer than those without lymph node metastasis colorectal cancer, and the relative expression levels of MLH1 and MSH2 mRNA and protein in the lesion tissues were significantly lower with lymph node metastasis colorectal cancer than those without lymph node metastasis colorectal cancer (all $P <$

0.05)。There were no significant differences between two groups on some indicators in paracancerous tissues (the positive expression missing rates of MLH1 and MSH2 proteins, the relative expression levels of MLH1 and MSH2 mRNA, the relative expression levels of MLH1 and MSH2 protein) (all $P > 0.05$)。The positive expression missing rates of MLH1 and MSH2 proteins were closely associated with tumor diameter, depth of invasion, degree of differentiation and the number of lymph node metastasis, but were not associated with the age in the patients with lymph node metastasis colorectal cancer.

Conclusions The expression levels of MLH1 and MSH2 decrease obviously in colorectal cancer with lymph node metastasis. It is speculated that MLH1 and MSH2 play an important role in colorectal cancer without lymph node metastasis progressing to with lymph node metastasis.

Key words: Lymph node metastasis; Colorectal cancer; Mismatch repair protein MutL homolog gene 1; Mismatch repair protein MutS homolog gene 2; Expression deficiency; Progression

结直肠癌为临床常见的一种消化系统恶性肿瘤,其发病率呈逐年上升趋势,且病死率高,严重威胁患者健康及生存预期^[1-2]。由于早期结直肠癌常不表现明显症状,待出现症状就诊时多已处于病情中晚期,即使手术治疗也不能保障患者术后 5 年生存期限,治疗效果不佳^[3]。近年来,微卫星不稳定性 (MSI) 与结直肠癌的关系已成为判断患者预后的研究热点^[4],DNA 错配修复 (mismatch repair, MMR) 系统 MLH1 (MutL homolog 1) 和 MSH2 (MutS homolog 2) 基因在 MSI 中起着关键作用^[5-6],但未见与淋巴结转移性结直肠癌相关的研究。为此,本研究分析淋巴结转移性结直肠癌中 MLH1、MSH2 的表达水平及其临床意义,旨在为其临床诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 6 月至 2017 年 4 月我院收治的 120 例淋巴结转移性结直肠癌患者为研究对象,选取同期 120 例非转移性结直肠癌患者为对照。其诊断标准均依据《中国结直肠癌诊疗规范》(2015 版)^[7],结合 CT 影像学检查及淋巴结病理学分析判定结直肠癌是否存在淋巴结转移,临床分期采用 TNM 法^[8],所有患者均进行结直肠癌根治手术。淋巴结转移性结直肠癌组男 63 例,女 57 例;年龄 28 ~ 65 (58.46 ± 6.92) 岁;右半结肠 43 例,左半结肠 38 例,直肠 39 例;TNM 临床分期为 III 期。非转移性结直肠癌组男 62 例,女 58 例;年龄 27 ~ 68 (59.24 ± 6.98) 岁;右半结肠 41 例,左半结肠 37 例,直肠 42 例;TNM 临床分期 I ~ II 期。两组的性别、年龄、病灶部位比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1) 已确诊为结直肠癌患者;(2) 入院前未接受任何化疗或手术治疗者;(3) 年龄 25 ~ 70 岁;(4) 已签署知情同意书。排除标准:(1) TNM 分期 IV 期者;(2) 合并有其他部位肿瘤者;(3) 合并慢性或急性感染性疾病者;(4) 合并心脑血管疾病者;(5) 合并重大脏器功能损伤者;

(6) 哺乳或妊娠期妇女。

1.3 免疫组化分析 结直肠癌根治术后,保留切除的结直肠癌病灶组织及其正常癌旁组织,将其置于 10% 中性缓冲甲醛固定液中固定过夜,经脱水、石蜡包埋等处理后,制作 4 μm 厚的切片,然后进行 PBS 清洗、3% H_2O_2 室温孵育、枸橼酸沸水浴等,加入正常兔血清进行封闭,分别滴加兔抗人 MLH1 及 MSH2 一抗于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h, PBS 冲洗 3 次, 5 min/次;再滴加生物素二抗, PBS 冲洗 3 次, 5 min/次,通过 DAB 显色试剂盒 (北京索莱宝科技;规格:100 ml) 进行 MLH1、MSH2 免疫组织化学染色后封片。其中,兔抗人 MLH1 及 MSH2 单克隆抗体均购自 Santa Cruz 公司。阳性细胞表达为棕黄色,在光学显微镜下随机选取 5 个不连续视野 (放大倍数 $\times 400$),依据视野中阳性细胞表达比例计算该切片 MLH1、MSH2 表达缺失率,表达缺失率 = (1 - 阳性表达比例) $\times 100\%$ 。

1.4 MLH1、MSH2 mRNA 水平检测 结直肠癌根治术后,取切除的结直肠癌病灶组织及正常癌旁组织,采用 Trizol 一步法试剂盒 (购自 Invitrogen 公司) 提取组织的总 RNA,采用琼脂糖凝胶电泳以保证总 RNA 的浓度、纯度及完整性 (见图 1),通过 RNA 反转录试剂盒 (购自 Takara 公司) 获取模板 cDNA,将模板稀释至 100 ng/ μl ,采用 RT-PCR 试剂盒 (购自 Takara 公司) 分别以 MLH1、MSH2 及内参基因 β -actin 定量引物 (引物序列见表 1,由上海生工生物有限公司合成),在 RT-PCR 仪上 (Bio-Rad 公司;型号:CFX96) 进行实时荧光定量 PCR (qRT-PCR),反应条件为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s;55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 25 s;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 20 s,40 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。数据读取由实时荧光定量 PCR 仪自动完成,供试基因的扩增效率均在 85% 以上。基因 MLH1、MSH2 及 β -actin mRNA 相对表达水平计算采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法。

1.5 Western blot 法检测 MLH1、MSH2 蛋白表达水平 结直肠癌根治术后,取切除的结直肠癌病灶组织及正常癌旁组织,提取总蛋白。将病灶组织及癌旁组织

用 $1 \times \text{PBS}$ 中漂洗 2 次,之后置于含 1 mM PMSF 的 RIPA 细胞裂解液中进行匀浆,经低温离心机以 $12\ 000 \text{ rpm/min}$ 转速离心 10 min 后分离上清液,加入 $2 \times \text{PBS}$ 上样缓冲液,经沸水浴变性 10 min ,通过

表 1 用于 RT-PCR 的基因引物序列

基因	序列
MLH1	F:5'-GTG CTG GCA ATC AAG GGA CCC-3' R:5'-CAC GGT TGA GGC ATT GGG TAG-3'
MSH2	F:5'-GTC GGC TTC GTG CGC TTC TTT-3' R:5'-TCT CTG GCC ATC AAC TGC GGA-3'
β -actin	F:5'-ACA CTG TGC CCA TCT ACG AGG-3' R:5'-AGG GGC CGG ACT CGT CAT ACT-3'

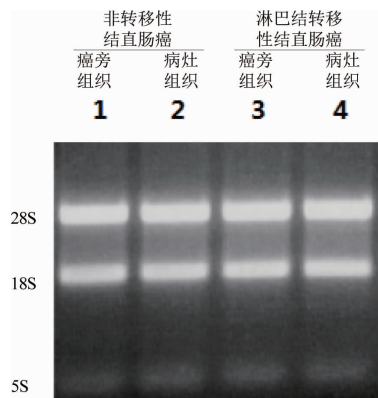
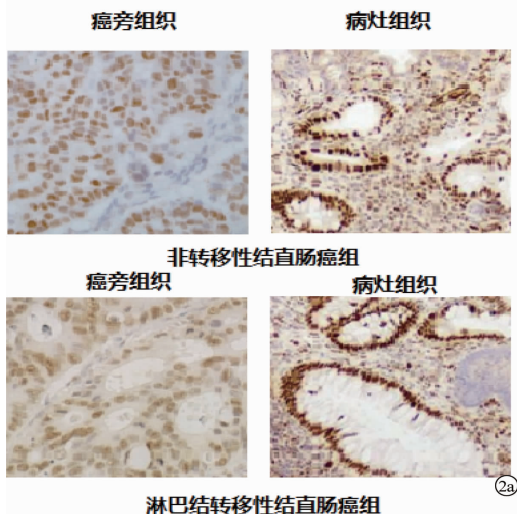


图 1 两组两种组织总 RNA 琼脂糖凝胶电泳图

10% 的 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白,将分离蛋白转移至 PVDF 膜,经 5% 脱脂奶粉于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下封闭 1 h ,并用一抗兔抗人 MLH1、MSH2 及 β -actin 单克隆抗体以 $1:500$ 比例于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下孵育过夜,之后再 HRP 结合的二抗以 $1:5\ 000$ 比例与膜于室温下孵育 1 h ,通过免疫印迹 ECL 发光试剂盒(上海硕嘉生物科技;规格 100 ml)检测两组结直肠癌病灶组织及癌旁组织



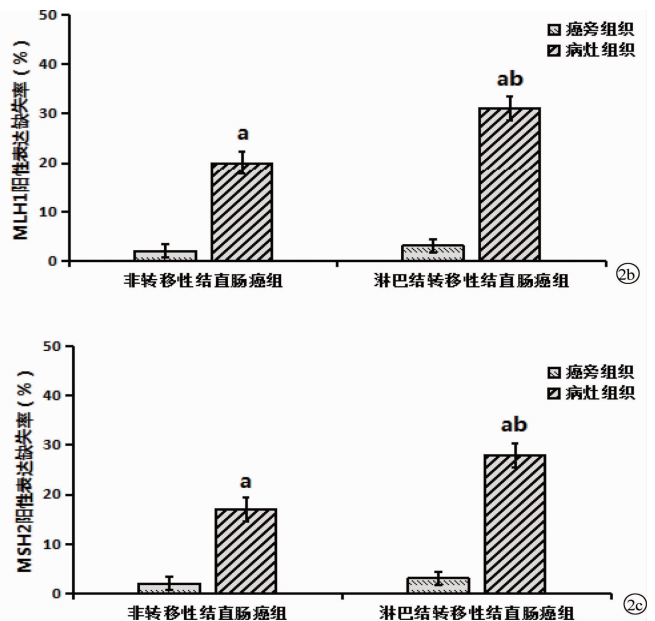
MLH1、MSH2 的蛋白表达水平。

1.6 MLH1、MSH2 阳性表达缺失率与临床病理特征的关系 统计观察淋巴结转移性结直肠癌组所有患者年龄、切除病灶直径大小、肿瘤浸润深度、分化程度及淋巴结转移数目等特征,分析 MLH1、MSH2 表达缺失率与临床病理特征的关系。

1.7 统计学分析 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析。计数资料用例(%)表示,行 χ^2 检验;计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 描述,组间、组内比较分别行独立样本 t 检验及配对样本 t 检验;并描绘柱状图。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

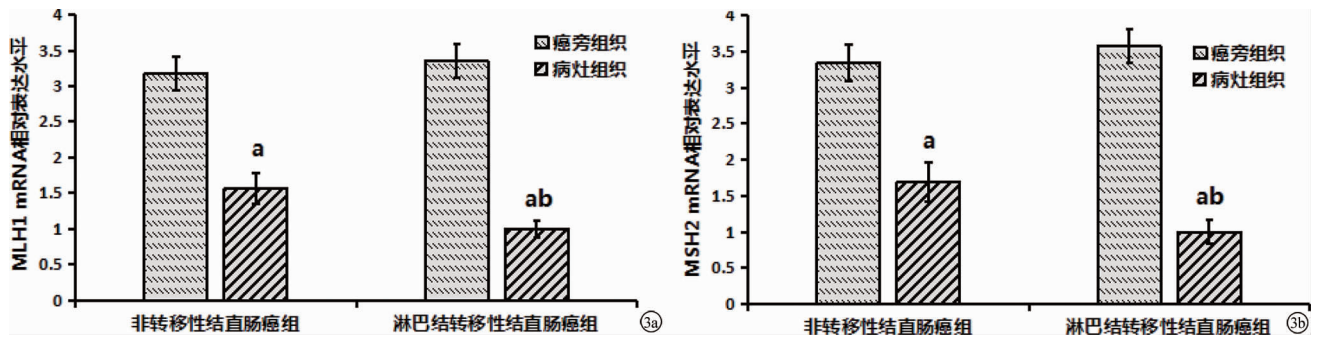
2 结果

2.1 MLH1、MSH2 蛋白阳性表达缺失情况比较 经免疫组化染色后,显微镜下观察到的棕黄色颗粒即为 MLH1 蛋白阳性表达,且该蛋白定位于细胞核。两组癌旁组织棕黄色颗粒分布密度大于病灶组织,且淋巴结转移性结直肠癌组低于非转移性组;两组病灶组织未染色区域即为该部分细胞 MLH1 蛋白阳性表达缺失,且淋巴结转移性结直肠癌组未染色区域大于非转移性组,详见图 2a,其中 MSH2 染色情况与 MLH1 相似。分析两组 MLH1、MSH2 蛋白阳性表达情况发现,两组病灶组织 MLH1、MSH2 蛋白阳性表达缺失率均高于癌旁组织,且淋巴结转移性结直肠癌组病灶组织 MLH1、MSH2 蛋白阳性表达缺失率均高于非转移性组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05);两组癌旁组织 MLH1、MSH2 蛋白阳性表达缺失率比较无统计学差异(P 均 > 0.05)。见图 2b、2c。



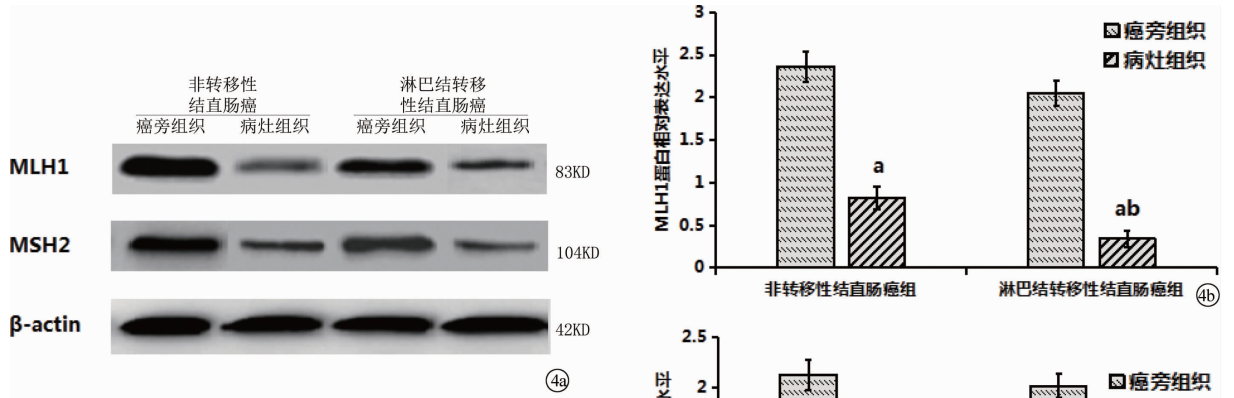
注:2a:MLH1 在癌旁组织及病灶组织中的病理图(免疫组化染色,癌旁组织放大倍数 $\times 400$,病灶组织放大倍数 $\times 200$);2b、2c:两组 MLH1、MSH2 阳性细胞表达缺失率比较;与癌旁组织相比,^a $P < 0.05$;与非转移性组相比,^b $P < 0.05$ 。

图 2 MLH1、MSH2 免疫组化分析



注:3a,3b;两组 MLH1、MSH2 mRNA 相对表达水平比较;与癌旁组织相比,^a $P < 0.05$;与非转移性结直肠癌组相比,^b $P < 0.05$ 。

图 3 MLH1、MSH2 mRNA 相对表达水平



注:4a;MLH1、MSH2 及内参 β -actin 蛋白免疫印迹电泳图;4b、4c;两组 MLH1、MSH2 蛋白相对表达水平比较;与癌旁组织相比,^a $P < 0.05$;与非转移性结直肠癌组相比,^b $P < 0.05$ 。

图 4 MLH1、MSH2 蛋白相对表达水平

表 2 病灶组织 MLH1、MSH2 阳性表达缺失与淋巴结转移性结直肠癌临床病理特征的关系 ($\bar{x} \pm s$)

临床病理特征	例数	MLH1			MSH2		
		表达缺失率 (%)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	表达缺失率 (%)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)							
≤50	48	30.53 ± 4.27	1.129	0.261	23.48 ± 3.76	1.140	0.257
>50	72	31.46 ± 4.52			24.29 ± 3.85		
肿瘤直径(cm)							
≤5	53	28.45 ± 4.21	6.122	0.000	20.64 ± 3.28	7.639	0.000
>5	67	33.67 ± 4.95			25.76 ± 3.91		
浸润深度							
T1 + T2	62	26.73 ± 3.94	9.773	0.000	17.93 ± 2.85	10.965	0.000
T3 + T4	58	34.85 ± 5.12			24.56 ± 3.74		
分化程度							
低分化	64	36.45 ± 6.38	4.706	0.000	26.95 ± 4.13	15.278	0.000
高分化	56	31.62 ± 4.57			17.22 ± 2.54		
区域淋巴结转移							
N1	69	25.67 ± 3.85	8.815	0.000	18.52 ± 2.94	8.336	0.000
N2	51	32.58 ± 4.73			23.48 ± 3.57		

2.2 MLH1、MSH2 mRNA 表达水平比较 两组经 qRT-PCR 后,分别以淋巴结转移性结直肠癌组病灶组织 MLH1、MSH2 mRNA 表达为对照进行数据分析,结果表明,两组病灶组织 MLH1、MSH2 mRNA 相对表达水平均低于癌旁组织,且淋巴结转移性组病灶组织

MLH1、MSH2 mRNA 相对表达水平均低于非转移性组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05);两组癌旁组织 MLH1、MSH2 mRNA 相对表达水平比较差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。见图 3a、3b。

2.3 MLH1、MSH2 蛋白表达水平比较 两组蛋白免

疫印迹电泳图见图 4a。经 SDS-PAGE 后,分别以内参 β -actin 蛋白表达为对照进行数据分析,结果表明两组病灶组织 MLH1、MSH2 蛋白相对表达水平均低于癌旁组织,且淋巴结转移性组病灶组织 MLH1、MSH2 蛋白相对表达水平均低于非转移性组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05);两组癌旁组织 MLH1、MSH2 蛋白相对表达水平比较差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。见图 4b、4c。

2.4 病灶组织 MLH1、MSH2 阳性表达缺失与淋巴结转移性结直肠癌临床病理特征的关系 结直肠癌组织病灶中 MLH1、MSH2 阳性表达缺失率与肿瘤直径、浸润深度、分化程度及淋巴结转移数有关,差异有统计学意义(P 均 < 0.01),肿瘤越大、浸润越深、淋巴结转移数越多则 MLH1、MSH2 表达缺失率越大,低分化程度病灶中 MLH1、MSH2 表达缺失率要高于高分化程度,而与患者年龄无关,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

3 讨论

结直肠癌是临床最常见的恶性肿瘤之一,近年来随着人们生活方式、饮食结构等改变其发病率逐年上升^[1]。目前,对于结直肠癌临床多以手术治疗为主,结合化疗、放疗为辅的方式治疗,但对于晚期患者疗效并不满意^[9-10]。

结直肠癌的发生、发展是由多种基因、多种因素共同作用的结果,其发病机制较为复杂,除与公认的致癌基因、抑癌基因等有关外,研究发现,结直肠癌与 MSI 关系密切,而 MMR 系统在 MSI 发生过程中起着关键作用^[11]。正常情况下,机体细胞 DNA 处于不断合成、复制及分裂等状态,MMR 系统可及时修复受损 DNA 以保证遗传信息的稳定性,但当 MMR 系统缺损时,MMR 系统校对修复功能减弱或缺失,使得受损的 DNA 不能得到及时修复而产生 DNA 错配积聚,导致短串联重复序列广泛分布于机体基因组而引发遗传不稳定性即 MSI,进而引发细胞癌变^[12-13]。研究显示,MSI 是 MMR 系统缺损的一种分子表型,可提示化疗药物的疗效,在结直肠癌的治疗及预后预测中具有重大意义^[14],但有关 MSI 与淋巴结转移性结直肠癌临床病理特征关系的研究较少,由此本研究分析 MMR 系统与淋巴结转移性结直肠癌的关系,旨在为其临床治疗及预后预测提供一定参考依据。

MMR 系统普遍存在于原核生物及真核生物中,多种蛋白分子参与 DNA 碱基修复过程,进而保障遗传信息的稳定性及完整性,目前人类 MMR 系统共包括 MLH1、MSH2、MLH3、MSH3、MSH4 等 9 种错配修

复蛋白,其对应基因主要通过形成 MutS α 、MutS β 、MutL α 、MutL β 、MutL γ 等异源二聚体执行相应功能,其中 MSH2 与 MSH6 构成 MutS α 以识别单一的碱基错配和插入/缺失环,MSH2 与 MSH3 构成 MutS β 以负责识别 2~8 个核苷酸的插入/缺失环,MLH1 可分别与 PMS2 及 PMS1 构成 MutL α 、MutL β 以定位于错配部位,并能协同 Exo1、增殖细胞核抗原、DNA 聚合酶消除错配,进行 DNA 再合成^[15-16]。研究发现,MLH1、MSH2 是 MMR 系统的核心蛋白,在 DNA 修复过程中起着举足轻重的作用^[17];MLH1、MSH2 基因突变或异常则可能导致 MMR 系统功能受损或丧失,不能进行异源二聚体组装,引起相应其他蛋白如 MSH6、PMS2 等丢失,进而导致基因组内 MSI 形成^[18];MSI 若位于如转录生长因子(TGF- β)等重要基因的启动子或外显子区域,则可引起该基因在转录、复制过程中发生错义突变或移码突变,导致错误蛋白合成并不断累积以干扰细胞的生长、分化与增殖,最终引发肿瘤^[19]。资料显示,结直肠癌患者病灶组织中 MLH1、MSH2 处于表达缺失状态,表明其基因组存在 MSI^[20],缺失率与患者临床病理参数关系密切^[21-22]。

本研究结果表明,两组病灶组织 MLH1、MSH2 阳性表达缺失率均高于正常癌旁组织,而其 mRNA 及蛋白相对表达水平均低于癌旁组织;淋巴结转移性结直肠癌组病灶组织 MLH1、MSH2 阳性表达缺失率均高于非转移性结直肠癌组,其 mRNA 及蛋白相对表达水平均低于非转移性结直肠癌组;两组癌旁组织 MLH1、MSH2 阳性表达缺失率、mRNA 及蛋白相对表达水平比较差异均无统计学意义,提示结直肠癌组织中 MLH1、MSH2 蛋白阳性表达缺失率升高,在非转移性结直肠癌进展为淋巴结转移性结直肠癌过程中起着重要作用。本研究中 MLH1、MSH2 阳性表达缺失率与淋巴结转移性结直肠癌患者的肿瘤直径、浸润深度、分化程度及淋巴结转移数有密切关系,而与年龄无关,提示 MLH1、MSH2 与淋巴结转移性结直肠癌的临床病理参数有密切关系。

综上所述,淋巴结转移性结直肠癌中 MLH1、MSH2 表达水平显著降低,推测其在非转移性结直肠癌进展为淋巴结转移性结直肠癌中具有重要作用,可为淋巴结转移性结直肠癌的临床诊治及预后提供一定参考。

参考文献

- [1] 代珍,郑荣寿,邹小农,等. 中国结直肠癌发病趋势分析和预测[J]. 中华预防医学杂志,2012,46(7):598-603.

- [2] 赵晓敏,李云涛,季国忠. 结直肠癌筛查现状与进展[J]. 中国临床研究,2016,29(6):838-841.
- [3] 牛文博,张娟,周超熙,等. 老年结直肠癌患者手术风险及预后[J]. 中国老年学,2015,35(7):1851-1852.
- [4] 封革,陈慧敏,胡萍,等. 雷替曲塞对微卫星高度不稳定的结肠癌细胞凋亡的作用及临床意义[J]. 中国临床研究,2016,29(12):1610-1613.
- [5] 徐燕,王胜强,廖开友,等. 结直肠癌微卫星不稳定与预后、化疗效果关系的 Meta 分析[J]. 肿瘤研究与临床,2013,25(8):530-534.
- [6] 彭俊玲,汤涛,叶祖禄,等. 散发性结直肠癌微卫星不稳定状态与错配修复蛋白表达缺失及临床病理特征的相关性[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2015,22(4):479-483.
- [7] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 中国结直肠癌诊疗规范(2015 版)[J]. 中华消化外科杂志,2015,14(10):783-799.
- [8] 姚云峰. 结直肠癌的 TNM 分期[J]. 中国继续医学教育,2011,3(9):8-10.
- [9] 殷亮. 结直肠癌治疗进展[J]. 昆明医科大学学报,2012,33(12):166-170.
- [10] 方壮伟,袁波,周卫平,等. 开放手术与腹腔镜手术治疗直肠癌的安全性及远期疗效比较[J]. 中国临床研究,2016,29(10):1375-1377.
- [11] 罗波. 散发性结直肠癌的 MSI 与临床病理特点的关系[J]. 心理医生,2016,22(22):25-26.
- [12] Laghi L, Malesci A. Microsatellite instability and therapeutic consequences in colorectal cancer[J]. Digestive Diseases,2012,30(3):304-309.
- [13] Stadler Z K. Diagnosis and management of DNA mismatch repair-deficient colorectal cancer[J]. Hematol Oncol Clin North Am,2015,29(1):29-41.
- [14] Sinicrope FA, Sargent DJ. Molecular pathways: microsatellite instability in colorectal cancer: prognostic, predictive and therapeutic implications[J]. Clin Cancer Res,2012,18(6):1506-1517.
- [15] Dekang L, Guido K, Lene JR. DNA mismatch repair and its many roles in eukaryotic cells[J]. Mutation Research,2017,773(17):174-187.
- [16] Geng H, Hsieh P. Molecular mechanisms and functions of DNA mismatch repair [M]//Vogelsang M, eds. DNA Alterations in Lynch Syndrome: Advances in molecular diagnosis and genetic counseling. Berlin: Springer Netherlands,2013:25-45.
- [17] Yamamoto H, Imai K. Microsatellite instability: an update[J]. Arch Toxicol,2015,89(6):899-921.
- [18] Kansikas M, Kasela M, Kantelinen J, et al. Assessing how reduced expression levels of the mismatch repair genes MLH1, MSH2, and MSH6 affect repair efficiency[J]. Human Mutation,2014,35(9):1123-1127.
- [19] 付煜,杜小燕. 微卫星不稳定性与肿瘤的研究进展[J]. 肿瘤学杂志,2012,18(1):64-67.
- [20] Ismael NE, El Sheikh SA, Talaat SM, et al. Mismatch Repair Proteins and Microsatellite Instability in Colorectal Carcinoma (MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2): Histopathological and Immunohistochemical Study[J]. Open Access Maced J Med Sci,2017,5(1):9-13.
- [21] 鞠海星,吴伟,胡锦涛,等. 结直肠癌中错配修复蛋白 hMLH1 和 hMSH2 的表达及临床意义[J]. 浙江临床医学,2014,19(4):505-507.
- [22] 张晓云,张春雁,王延文,等. 结直肠癌 DNA 错配修复蛋白的表达及临床病理学意义[J]. 中国医药生物技术,2016,11(2):123-127.

收稿日期:2017-08-02 修回日期:2017-10-12 编辑:王国品