

错配修复缺陷，微卫星不稳定与胃癌

赵成海

赵成海, 中国医科大学病理生理教研室 辽宁省沈阳市 110001
项目负责人: 赵成海, 110001, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学病理生理教研室.
电话: 024-81032908
收稿日期: 2004-04-04 接受日期: 2004-04-29

摘要

人类错配修复系统可以识别并纠正DNA复制过程中出现的错误. 错配修复系统缺陷使这些错误往往无法消除, 导致恶性肿瘤的发生. 患者经常表现出微卫星不稳定性. 目前发现与人类恶性肿瘤发病有关的错配修复基因包括hMSH2、hMSH3、hMSH6、hMLH1及hMLH3. 这些基因的突变在遗传性非息肉肉性结直肠癌中的作用已得到广泛证实. 临床上很大一部分胃癌患者表现出微卫星不稳定性, 提示错配修复缺陷在胃癌的发病中亦起到重要作用. 众多的研究发现错配修复基因的突变在胃癌中并不常见, 而由于hMLH1启动子甲基化及失活所引起的错配修复缺陷成为胃癌发病机制中一条重要途径. 这些患者常具有微卫星不稳定性及独特的临床特征.

赵成海. 错配修复缺陷, 微卫星不稳定与胃癌. 世界华人消化杂志 2004;12(6):1384-1388
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1384.asp>

0 引言

近 10 a 来, 错配修复基因缺陷及由此导致的微卫星不稳定与肿瘤的关系, 特别是其在遗传性非息肉肉性结直肠癌(HNPCC)中的作用, 临床上进行了广泛的研究. 同时许多研究显示, 错配修复系统缺陷在胃癌发病中也起到了一定作用, 现就这方面的相关研究做一简要综述.

1 错配修复系统

DNA复制发生在细胞进行有丝分裂的准备期间. 由于发生复制错误在所难免, 因此机体进化出一些特异的修复系统以避免基因组中这些有害突变大量积聚. DNA 错配修复系统作为一个重要的“基因看管者”(caretaker gene)^[1]能够识别并及时纠正错配的DNA碱基对, 确保复制过程的保真性(fidelity). 一般而言, DNA 复制错误主要发生在链伸长阶段, 最常见的错误为在 DNA 聚合酶作用下单一的碱基不正确地配对. 这样的错配几率大约每 10^3 - 10^4 碱基对发生一次. 由于修复机制的存在, 实际发生错误的几率远远低于这一数值. DNA复制过程中还可能出现另外一种错误. 由于DNA聚合酶复合物在复制微卫星DNA序列发生滑脱(slippage), 因此导致子链上这些微卫星序列长度延长或缩短. 在错配修复系统出现缺陷的情

况下, 这些错误可能无法得到纠正, 这种现象即被称为微卫星不稳定(MSI). 不过需要指出, DNA聚合酶复合物本身也具有防止出现复制错误的功能. 该复合物中一种内源性酶的亚单位具有核酸外切酶的活性, 他能够及时发现错配的碱基对并将其切除. 同时在DNA聚合酶作用下合成正确的核苷酸. 但其机制目前仍不是十分清楚.

目前已发现的人类错配修复基因包括来自MutS家族的hMSH2、hMSH3和hMSH6及来自MutL家族的hMLH1、hPMS1、hPMS2和最新被鉴定出来的hMLH3. DNA错配修复机制需要这些基因互相合作完成. 简单而言, hMSH2能够识别错配的DNA序列并直接与其结合^[2]. 如果是单个碱基错配, 他将和hMSH6形成异二聚体. 而如果是2-8个碱基丢失或插入, 他将和hMSH3形成异二聚体. 但有研究显示, 在hMSH6缺失的情况下, hMSH2/hMSH3也可以替代hMSH2/hMSH6发挥作用. 显然在这一过程中hMSH2是必需的, 而hMSH6和hMSH3则表现出功能剩余^[3]. 此后hMLH1和hPMS2形成另外一个异二聚体复合物与相关的DNA聚合酶配合将错配的碱基切除并修复. 另外hMLH1和hPMS1及hMLH1和hMLH3均能形成异二聚体, 但其机制目前仍不清楚.

hMLH3是2000年克隆并定性的一种错配修复基因, 定位于14q24.3, 编码全区长4.3 kb, 由12个外显子组成^[4]. 由于其存在与hMLH1相互作用的区域, 且与酵母的MLH3极为相似^[4], 因而可能替代hPMS2与hMLH1形成复合物, 是另一个与人类恶性肿瘤有关的错配修复备选基因. 如同hMSH3和hMSH6, hMLH3和hPMS2可能也具有类似的功能剩余. 目前临床上对hMLH3的研究并不多, 关于其在肿瘤发病中的作用仍有待于进一步的探讨.

2 错配修复缺陷与 MSI

如前文所述, 错配修复缺陷将使由于DNA聚合酶复合物“滑脱”而引起的DNA序列微卫星长度变化无法得到修复, 导致微卫星及整个基因组的不稳定. 因此以错配修复缺陷为特征的肿瘤常常显示出微卫星不稳定这一表型改变. 1997年, 国际统一确定5个标准位点(marker)来鉴定MSI^[5], 规定有两个或两个以上位点不稳定为高微卫星不稳定(MSI-H), 而只有一个位点和没有位点不稳定分别为MSI-L和MSS. MSI-H型肿瘤常常与另外两种类型的肿瘤具有不同的临床病理表现. 由于错配修复基因的单纯失活被认为无法直接引起细胞恶变, 因此在此过程中需要有其他基因参与. 目前发现这些基因中的大多数都含有编码重复序列, 这些编码重

复序列在 MSI-H 肿瘤中特别容易出现改变, 故他们也被称为 MSI-H 肿瘤的靶基因. 第一个被报道的靶基因为 TGF β -R II^[6], 在 MSI-H 结直肠癌中发现其移码突变. 且在随后的功能研究中发现, 这种移码突变导致了 TGF β -R II 肿瘤抑制功能的丧失. 接下来众多的靶基因不断的被报道出来, 其中最为广泛的为 BAX, hMSH3, hMSH6 和 IGF II R^[7-9].

3 错配修复缺陷与肿瘤

目前广泛认为肿瘤的发生是一个复杂生物学过程, 其中有众多基因的参与. 这些基因分别调节细胞生长及死亡, 细胞外基质重塑, 基因组的稳定性及 DNA 修复. 错配修复基因的缺陷将使 DNA 复制过程中出现的错误无法及时纠正, 使得基因突变事件不断放大积累, 使大量错误信息遍布整个基因组, 最终导致肿瘤的发生. 具体而言, 错配修复基因缺陷可能通过以下几个途径促进肿瘤的发生: (1)增加癌基因和抑癌基因的突变频率. (2)使另外一些重要的基因发生遗传的不稳定性. (3)通过一些化学物质对细胞的损伤导致肿瘤发生.

目前已发现错配修复缺陷与人类多个部位的肿瘤发生有关^[10-12], 其中与 HNPCC 关系的研究最为广泛^[13-15]. 90% 以上的 HNPCC 家系可以检测到 hMLH1 和 hMSH2 的生殖系突变(<http://www.nfdht.nl>). hMSH6 的生殖系突变在部分家系中起作用^[16]. 而支持 hPMS1 和 hPMS2 在 HNPCC 起作用的证据则比较少^[17]. 另外部分学者已在 HNPCC 家系中检测到 hMLH3 的移码突变和错义突变^[18-19]. 但对 hMLH3 突变在 HNPCC 中的作用仍处于探索阶段.

4 错配修复缺陷与胃癌

4.1 hMLH1 和 hMSH2 突变 由于 HNPCC 患者广泛存在 hMLH1 和 hMSH2 的生殖系突变, 因此家族性胃癌中是否存在这种突变引起了许多学者的兴趣. 然而迄今为止却鲜有证据支持这一设想. Keller et al^[20]在家族性胃癌研究中对 10 例 MSI 阳性患者进行鉴定, 结果仅发现 1 例 hMLH1 生殖系错义突变. Yanagisawa et al^[21]在对家族性胃癌患者检测中未发现 hMLH1 和 hMSH2 生殖系突变的存在. 另外 Semba et al^[22]及 Bevilacqua et al^[23]在对散发性胃癌的研究中亦未发现生殖系突变. 但部分研究人员检测出一些 hMLH1 或 hMSH2 的体细胞突变, 如 Wu et al^[24]在对 12 例 MSI 阳性胃癌患者检测中发现 1 例 hMSH2 错义突变. Semba et al^[22]在年轻胃癌研究中发现 3 例体细胞突变. Fang et al^[25]在 68 例胃癌患者中亦发现 3 例体细胞突变. 综上所述, 由于 hMLH1 和 hMSH2 突变在胃癌患者中出现的频率较低, 说明其在胃癌的发病机制中并不象在 HNPCC 那样占有重要地位.

4.2 hMSH3、hMSH6 及 hMLH3 突变 hMSH3 和 hMSH6 突变在 HNPCC 中较为常见. 由于他们本身含有单核苷酸重复序列, 因此他们同时也是 MSI 的靶基因. 即如同其他基因一样, 他们也可能由于其他的错配修复缺陷而

出现变异. 有许多学者检测到 hMSH6 和 / 或 hMSH3 突变^[26-30]. Menoyo et al^[30]在研究中检测到的 hMSH6 和 hMSH3 移码突变更是高达 43% 和 56%. 尽管有的学者在研究中未检测到 hMSH6 或 hMLH3 突变的存在^[31], 但作为 MSI 的靶基因, 在 MSI 阳性的胃癌患者中, hMSH6 及 hMSH3 的突变仍然是一种较为常见的现象. hMLH3 作为一种新近被定性的错配修复基因, 目前的相关的报道并不多. 其在 HNPCC 中的作用目前仍存在较多的争议. 其在胃癌发病中是否起作用更是不得而知. 目前仅有 Menoyo et al^[30]在胃癌患者中对其进行了研究. 结果没有发现移码突变的存在. 由于在 HNPCC 中研究人员发现的更多的是错义突变^[18-19], 因此胃癌中是否存在 hMLH3 的错义突变有待于更多的研究.

4.3 hMLH1 甲基化及表达改变 尽管错配修复基因突变在胃癌中并不是一种常见的现象, 其在胃癌的发病机制中也不起重要作用. 但由于相当一部分胃癌患者存在 MSI, 显示出错配修复缺陷仍是胃癌发病机制中一个重要途径. 1999 年 Leung et al^[32]在对 35 例胃癌患者中的 11 例 MSI-H 分析中发现 10 例存在 hMLH1 启动子甲基化, 同时发现 hMLH1 表达消失. 结果显示 MSI-H 与 hMLH1 启动子甲基化及其表达失活具有相关性, 也提示 hMLH1 启动子甲基化导致该基因表遗传性(epigenetic)改变, 即基因失活及表达改变, 在部分胃癌的发病中可能起到一定作用. 此后又有众多学者^[21, 23, 25, 29, 33-36]发现胃癌患者中存在 hMLH1 启动子甲基化及其表达改变. 大多数研究显示 MSI-H 与 hMLH1 启动子甲基化相关, 而 MSI-L 和 MSS 患者几乎不存在这种情况. 这一情况显示 hMLH1 启动子甲基化可导致 MSI-H. 然而 hMLH1 启动子甲基化胃癌并不肯定出现 MSI, 而 MSI-H 胃癌患者也并不是全部存在 hMLH1 启动子甲基化^[29, 32]. Kang et al^[37]研究发现 hMLH1 启动子只有特定的位置发生甲基化, 才能导致其表达的改变. 而最近的一项研究^[38]进一步证实启动子近端的甲基化与 MSI 相关. 另外有一些研究发现其他一些基因的甲基化也似乎参与了胃癌的发病过程. Bae et al^[39]及 Tsujimoto et al^[40]分别发现 MGMT 和 P¹⁴ARF 甲基化与 MSI 相关. Chan et al^[41]研究发现 hMLH1 启动子甲基化与 ID4 甲基化具有相关性. Carvalho et al^[36]在 MSI-H 胃癌中发现 hMLH1 与 CDH1、MGMT 及 COX2 存在同时甲基化现象. 其各自的甲基化发生频率更是高达 37%、51%、61% 及 29%. Kang et al^[42]发现胃癌患者中 hMLH1 等 10 种基因存在甲基化情况, 其中 hMLH1 启动子甲基化频率为 20%. 以上的这些研究显示, hMLH1 启动子只有特定位置发生甲基化才能导致其表达改变及 MSI. 同时其他基因的甲基化或其他基因与 hMLH1 同时的甲基化也参与了胃癌的发病过程.

4.4 hMSH2 表达情况 由于部分胃癌患者存在 hMLH1 启动子甲基化及其表达消失, 一些学者也对 hMSH2 的表达情况进行了检测. Leung et al^[32]在对 MSI-H 胃癌患者研究中发现 hMLH1 表达消失, 而 hMSH2 的表达却正常.

Halling et al^[33]在 MSI 胃癌中却观察到 hMSH2 表达消失. Zhang et al^[43]发现 hMSH2 mRNA 表达减少. Grogg et al^[44]在对 17 例 MSI 检测中却发现 hMSH2 均正常表达. 鉴于这方面的研究报道并不多, 显然无法就其得出一个明确的结论. 由于 hMSH2 并不象 hMLH1 那样存在甲基化而失活, 同时其发生突变的频率也很低, 故其表达消失的机制仍有待于进一步探讨.

总之, 在错配修复缺陷所致胃癌中, 错配修复基因突变似乎并不起主要作用, 更多的是由于 hMLH1 甲基化而致表达改变所引起. 作为 MSI 的靶基因, hMSH6 和 hMSH3 的突变在 MSI 阳性的胃癌中较为常见. hMLH3 在胃癌中所起的作用, 有待于进一步探讨.

5 MSI 与胃癌

5.1 MSI 阳性率 散发性胃癌 MSI 阳性率大约在 10-48% 之间. 不同的研究结果存在较大差异跟以下几个因素有关: 首先位点选择存在明显的差异. 尽管 1997 年国际统一规定了检测 MSI 的 5 个标准位点, 但实际许多研究中采用的位点往往超过 5 个. 多数研究的位点在 5-12 个之间^[20, 24, 28, 45-53], Wang et al^[54]在研究中采用位点高达 29 个, 其所检测出的 MSI 阳性率也达到 34.1%. 由于位点选择的数量不同, 导致在 MSI-H 的定义上也存在明显的差异. 多数研究规定超过检测位点总数 30% 的位点出现变异即为 MSI-H. 在众多候选位点中, BAT-26 被认为比其他位点更具有敏感性^[55-56], 即大多数 MSI 阳性胃癌存在 BAT-26 变异. 其次胃癌样本差异较大. 样本的差异一方面体现在数量上, 较小的样本得出的结果往往不够准确. 另一方面, 样本的组成也存在很大的差异. 不同组织类型或不同发展时期的胃癌 MSI 的阳性率往往不同. 此外有研究显示不同地区胃癌患者中 MSI 阳性率也存在差异. Hayden et al^[52]发现胃癌低发区英国胃癌 MSI 阳性率明显低于同处欧洲胃癌相对高发的葡萄牙. Sepulveda et al^[50]在对照研究中发现韩国胃癌 MSI 阳性率明显高于美国及哥伦比亚等地区. Chetty et al^[57]在对胃癌低发区南非患者检测中未发现有 MSI-H 存在, 显示南非也是 MSI 阳性率较低的地区. 以上这几项研究显示胃癌高发区中胃癌患者中存在较高的 MSI 阳性率.

5.2 MSI 靶基因 胃癌中 MSI 的靶基因包括 TGF β -R II、BAX, hMSH3, hMSH6 和 IGF II 等. 其中最常见为 TGF β -R II^[26, 28-29, 45, 48, 53, 58-62]. 这些靶基因均含有单核苷酸重复序列. 在 MSI 阳性特别是 MSI-H 胃癌中常常出现这些序列的改变.

5.3 MSI 与临床 MSI 阳性特别是 MSI-H 胃癌与其他胃癌相比具有明显不同的临床特征. 许多研究显示组织类型为肠型的胃癌更易出现 MSI^[29, 43-44, 46, 48, 60, 63-65]. Fang et al^[51]及 Leung et al^[66]发现肠化生组织中 MSI 阳性率亦高于周围组织. 同时有研究显示 MSI 阳性与分化程度正相关^[43, 64, 67]. 在胃癌发展的各个时期, 多数研究显示 MSI 与进展期具有相关性^[24, 46, 48, 51, 68]. 另外 MSI-H 还与胃窦部发病^[33, 46, 48-67]、

低淋巴结转移^[29, 48]、家族史^[20-21, 46, 49]、高淋巴细胞浸润^[33-44]、晚发^[44, 69]具有相关性. Wu et al^[48]发现 MSI 与幽门螺旋菌感染具有相关性, Kim et al^[70]在实验中发现螺旋菌可影响错配修复系统的稳定性.

5.4 MSI 与预后 MSI 与预后之间是否具有关联目前仍存在较多争议. 一些研究发现 MSI 阳性胃癌患者预后要明显好于 MSI 阴性患者^[29, 71]. 但另外一些研究则未发现二者之间具有相关性^[46, 48]. Suzuki et al^[72]在最近的研究中发现患者预后与 MSI 没有相关性, 而与整个基因组损害比例相关. Bataille et al^[68]及 Ott et al^[73]对 MSI 阳性与胃癌化疗预后进行研究, 也发现二者之间不存在相关性.

总之, 错配修复基因的突变在胃癌中并不是一种常见的现象, 而多数具有微卫星不稳定的胃癌患者存在 hMLH1 启动子甲基化及失活. 因而由 hMLH1 甲基化所引起的错配修复缺陷成为胃癌发病机制中一条重要途径. 这些患者常具有微卫星不稳定性及独特的临床特征.

6 参考文献

- 1 Kinzler KW, Vogelstein B. Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers. *Nature* 1997;386:761
- 2 Jiricny J. Mediating mismatch repair. *Nat Genet* 2000;24:6-8
- 3 Umar A, Risinger JJ, Glaab WE, Tindall KR, Barrett JC, Kunkel TA. Functional overlap in mismatch repair by human MSH3 and MSH6. *Genetics* 1998;148:1637-1646
- 4 Lipkin SM, Wang V, Jacoby R, Banerjee-Basu S, Baxevanis AD, Lynch HT, Elliott RM, Collins FS. MLH3: a DNA mismatch repair gene associated with mammalian microsatellite instability. *Nat Genet* 2000;24:27-35
- 5 Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, Srivastava SA. National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5248-5257
- 6 Markowitz S, Wang J, Myeroff L, Parsons R, Sun L, Lutterbaugh J, Fan RS, Zborowska E, Kinzler KW, Vogelstein B. Inactivation of the type II TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 1995;268:1336-1338
- 7 Wang S, Souza RF, Kong D, Yin J, Smolinski KN, Zou TT, Frank T, Young J, Flanders KC, Sugimura H, Abraham JM, Meltzer SJ. Deficient transforming growth factor-beta1 activation and excessive insulin-like growth factor II (IGFII) expression in IGFII receptor-mutant tumors. *Cancer Res* 1997;57:2543-2546
- 8 Yin J, Kong D, Wang S, Zou TT, Souza RF, Smolinski KN, Lynch PM, Hamilton SR, Sugimura H, Powell SM, Young J, Abraham JM, Meltzer SJ. Mutation of hMSH3 and hMSH6 mismatch repair genes in genetically unstable human colorectal and gastric carcinomas. *Hum Mutat* 1997;10:474-478
- 9 Rampino N, Yamamoto H, Ionov Y, Li Y, Sawai H, Reed JC, Perucho M. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science* 1997;275:967-969
- 10 Cheng L, Lai MD. Aberrant crypt foci as microscopic precursors of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:2642-2649
- 11 Geisler JP, Goodheart MJ, Sood AK, Holmes RJ, Hatterman-Zogg MA, Buller RE. Mismatch repair gene expression defects contribute to microsatellite instability in ovarian carcinoma. *Cancer* 2003;98:2199-2206
- 12 Tomaszewska R, Okon K, Stachura J. Expression of the DNA mismatch repair proteins (hMLH1 and hMSH2) in infiltrating pancreatic cancer and its relation to some phenotypic features. *Pol J Pathol* 2003;54:31-37
- 13 Ponz De Leon M, Benatti P, Di Gregorio C, Pedroni M, Losi L,

- Genuardi M, Viel A, Fornasari M, Lucci-Cordisco E, Anti M, Ponti G, Borghi F, Lamberti I, Roncucci L. Genetic testing among high-risk individuals in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Br J Cancer* 2004;90:882-887
- 14 Cui L, Jin HY, Cheng HY, Yan YD, Meng RG, Yu DH. Genetic detection of Chinese hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2004;10:209-213
- 15 Zhao B, Wang ZJ, Xu YF, Wan YL, Li P, Huang YT. Report of 16 kindreds and one kindred with hMLH1 germline mutation. *World J Gastroenterol* 2002;8:263-266
- 16 Kolodner RD, Tytell JD, Schmeits JL, Kane MF, Gupta RD, Weger J, Wahlberg S, Fox EA, Peel D, Ziogas A, Garber JE, Syngal S, Anton-Culver H, Li FP. Germ-line msh6 mutations in colorectal cancer families. *Cancer Res* 1999;59:5068-5074
- 17 Nicolaides NC, Papadopoulos N, Liu B, Wei YF, Carter KC, Ruben SM, Rosen CA, Haseltine WA, Fleischmann RD, Fraser CM. Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* 1994;371:75-80
- 18 Wu Y, Berends MJ, Sijmons RH, Mensink RG, Verlind E, Kooi KA, van der Sluis T, Kempinga C, van dDer Zee AG, Hollema H, Buys CH, Kleibeuker JH, Hofstra RM. A role for MLH3 in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 2001;29:137-138
- 19 Liu HX, Zhou XL, Liu T, Werelius B, Lindmark G, Dahl N, Lindblom A. The role of hMLH3 in familial colorectal cancer. *Cancer Res* 2003;63:1894-1899
- 20 Keller G, Grimm V, Vogelsang H, Bischoff P, Mueller J, Siewert JR, Hofler H. Analysis for microsatellite instability and mutations of the DNA mismatch repair gene hMLH1 in familial gastric cancer. *Int J Cancer* 1996;68:571-576
- 21 Yanagisawa Y, Akiyama Y, Iida S, Ito E, Nomizu T, Sugihara K, Yuasa Y, Maruyama K. Methylation of the hMLH1 promoter in familial gastric cancer with microsatellite instability. *Int J Cancer* 2000;85:50-53
- 22 Semba S, Yokozaki H, Yasui W, Tahara E. Frequent microsatellite instability and loss of heterozygosity in the region including BRCA1 (17q21) in young patients with gastric cancer. *Int J Oncol* 1998;12:1245-1251
- 23 Bevilacqua RA, Simpson AJ. Methylation of the hMLH1 promoter but no hMLH1 mutations in sporadic gastric carcinomas with high-level microsatellite instability. *Int J Cancer* 2000;87:200-203
- 24 Wu MS, Sheu JC, Shun CT, Lee WJ, Wang JT, Wang TH, Cheng AL, Lin JT. Infrequent hMSH2 mutations in sporadic gastric adenocarcinoma with microsatellite instability. *Cancer Lett* 1997;112:161-166
- 25 Fang DC, Wang RQ, Yang SM, Yang JM, Liu HF, Peng GY, Xiao TL, Luo YH. Mutation and methylation of hMLH1 in gastric carcinomas with microsatellite instability. *World J Gastroenterol* 2003;9:655-659
- 26 Ottini L, Falchetti M, D'Amico C, Amorosi A, Saieva C, Masala G, Frati L, Cama A, Palli D, Mariani-Costantini R. Mutations at coding mononucleotide repeats in gastric cancer with the microsatellite mutator phenotype. *Oncogene* 1998;16:2767-2772
- 27 Imai Y, Inoue T, Ishikawa T. Mutations of the human MUT S homologue 6 gene in ampullary carcinoma and gastric cancer. *Int J Cancer* 1998;78:576-580
- 28 Wang Y, Shinmura K, Guo RJ, Isogaki J, Wang DY, Kino I, Sugimura H. Mutational analyses of multiple target genes in histologically heterogeneous gastric cancer with microsatellite instability. *Jpn J Cancer Res* 1998;89:1284-1291
- 29 Wu MS, Lee CW, Shun CT, Wang HP, Lee WJ, Chang MC, Sheu JC, Lin JT. Distinct clinicopathologic and genetic profiles in sporadic gastric cancer with different mutator phenotypes. *Genes Chromosomes Cancer* 2000;27:403-411
- 30 Menoyo A, Alazzouzi H, Espin E, Armengol M, Yamamoto H, Schwartz S Jr. Somatic mutations in the DNA damage-response genes ATR and CHK1 in sporadic stomach tumors with microsatellite instability. *Cancer Res* 2001;61:7727-7730
- 31 Ogata S, Tamura G, Endoh Y, Sakata K, Ohmura K, Motoyama T. Microsatellite alterations and target gene mutations in the early stages of multiple gastric cancer. *J Pathol* 2001;194:334-340
- 32 Leung SY, Yuen ST, Chung LP, Chu KM, Chan AS, Ho JC. hMLH1 promoter methylation and lack of hMLH1 expression in sporadic gastric carcinomas with high-frequency microsatellite instability. *Cancer Res* 1999;59:159-164
- 33 Halling KC, Harper J, Moskaluk CA, Thibodeau SN, Petroni GR, Yustein AS, Tosi P, Minacci C, Roviello F, Piva P, Hamilton SR, Jackson CE, Powell SM. Origin of microsatellite instability in gastric cancer. *Am J Pathol* 1999;155:205-211
- 34 Suzuki H, Itoh F, Toyota M, Kikuchi T, Kakiuchi H, Hinoda Y, Imai K. Distinct methylation pattern and microsatellite instability in sporadic gastric cancer. *Int J Cancer* 1999;83:309-313
- 35 Guo RJ, Arai H, Kitayama Y, Igarashi H, Hemmi H, Arai T, Hanai H, Sugimura H. Microsatellite instability of papillary subtype of human gastric adenocarcinoma and hMLH1 promoter hypermethylation in the surrounding mucosa. *Pathol Int* 2001;51:240-247
- 36 Carvalho B, Pinto M, Cirnes L, Oliveira C, Machado JC, Suriano G, Hamelin R, Carneiro F, Seruca R. Concurrent hypermethylation of gene promoters is associated with a MSI-H phenotype and diploidy in gastric carcinomas. *Eur J Cancer* 2003;39:1222-1227
- 37 Kang YH, Bae SI, Kim WH. Comprehensive analysis of promoter methylation and altered expression of hMLH1 in gastric cancer cell lines with microsatellite instability. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:119-124
- 38 Ishiguro K, Kawakami K, Maeda K, Ishida Y, Omura K, Watanabe G. Microsatellite instability in gastric cancer is closely associated with hMLH1 hypermethylation at the proximal region of the promoter. *Int J Mol Med* 2003;12:603-608
- 39 Bae SI, Lee HS, Kim SH, Kim WH. Inactivation of O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter CpG island hypermethylation in gastric cancers. *Br J Cancer* 2002;86:1888-1892
- 40 Tsujimoto H, Hagiwara A, Sugihara H, Hattori T, Yamagishi H. Promoter methylations of p16INK4a and p14ARF genes in early and advanced gastric cancer. Correlations of the modes of their occurrence with histologic type. *Pathol Res Pract* 2002;198:785-794
- 41 Chan AS, Tsui WY, Chen X, Chu KM, Chan TL, Chan AS, Li R, So S, Yuen ST, Leung SY. Downregulation of ID4 by promoter hypermethylation in gastric adenocarcinoma. *Oncogene* 2003;22:6946-6953
- 42 Kang GH, Lee S, Kim JS, Jung HY. Profile of aberrant CpG island methylation along the multistep pathway of gastric carcinogenesis. *Lab Invest* 2003;83:635-641
- 43 Zhang QX, Ding Y, Le XP, Du P. Studies on microsatellite instability in p16 gene and expression of hMSH2 mRNA in human gastric cancer tissues. *World J Gastroenterol* 2003;9:437-441
- 44 Grogg KL, Lohse CM, Pankratz VS, Halling KC, Smyrk TC. Lymphocyte-rich gastric cancer: associations with Epstein-Barr virus, microsatellite instability, histology, and survival. *Mod Pathol* 2003;16:641-651
- 45 Renault B, Calistri D, Buonsanti G, Nanni O, Amadori D, Ranzani GN. Microsatellite instability and mutations of p53 and TGF-beta RII genes in gastric cancer. *Hum Genet* 1996;98:601-607
- 46 Ottini L, Palli D, Falchetti M, D'Amico C, Amorosi A, Saieva C, Calzolari A, Cimoli F, Tatarelli C, De Marchis L, Masala G, Mariani-Costantini R, Cama A. Microsatellite instability in gastric cancer is associated with tumor location and family history in a high-risk population from Tuscany. *Cancer Res* 1997;57:4523-4529
- 47 Hamamoto T, Yokozaki H, Semba S, Yasui W, Yunotani S, Miyazaki K, Tahara E. Altered microsatellites in incomplete-type intestinal metaplasia adjacent to primary gastric cancers. *J Clin Pathol* 1997;50:841-846
- 48 Wu MS, Lee CW, Shun CT, Wang HP, Lee WJ, Sheu JC, Lin JT. Clinicopathological significance of altered loci of replication error and microsatellite instability-associated mutations in gastric cancer. *Cancer Res* 1998;58:1494-1497
- 49 Keller G, Rudelius M, Vogelsang H, Grimm V, Wilhelm MG, Mueller J, Siewert JR, Hofler H. Microsatellite instability and loss of heterozygosity in gastric carcinoma in comparison to family history. *Am J Pathol* 1998;152:1281-1289
- 50 Sepulveda AR, Santos AC, Yamaoka Y, Wu L, Gutierrez O, Kim JG, Graham DY. Marked differences in the frequency of

- microsatellite instability in gastric cancer from different countries. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3034-3038
- 51 Fang DC, Jass JR, Wang DX, Zhou XD, Luo YH, Young J. Infrequent loss of heterozygosity of APC/MCC and DCC genes in gastric cancer showing DNA microsatellite instability. *J Clin Pathol* 1999;52:504-508
- 52 Hayden JD, Cawkwell L, Dixon MF, Pardal F, Murgatroyd H, Gray S, Quirke P, Martin IG. A comparison of microsatellite instability in early onset gastric carcinomas from relatively low and high incidence European populations. *Int J Cancer* 2000;85:189-191
- 53 Schneider BG, Bravo JC, Roa JC, Roa I, Kim MC, Lee KM, Plaisance KT Jr, McBride CM, Mera R. Microsatellite instability, prognosis and metastasis in gastric cancers from a low-risk population. *Int J Cancer* 2000;89:444-452
- 54 Wang Y, Ke Y, Ning T, Feng L, Lu G, Liu W, E Z. Studies of microsatellite instability in Chinese gastric cancer tissues. *Zhonghua Yixue Yichuanxue Zazhi* 1998;15:155-157
- 55 Jin Z, Tamura G, Satoh M, Meguro T, Miura T, Hayashi M, Osakabe M, Ohmura K, Ogata S, Endoh Y, Motoyama T. Absence of BAT-26 instability in gastric intestinal metaplasia. *Pathol Int* 2001;51:473-475
- 56 Wu MS, Lee CW, Sheu JC, Shun CT, Wang HP, Hong RL, Lee WJ, Lin JT. Alterations of BAT-26 identify a subset of gastric cancer with distinct clinicopathologic features and better post-operative prognosis. *Hepatogastroenterology* 2002;49:285-289
- 57 Chetty R, Naidoo R, Tarin M, Sitti C. Chromosome 2p, 3p, 5q and 18q status in sporadic gastric cancer. *Pathology* 2002;34:275-281
- 58 Ohue M, Tomita N, Monden T, Miyoshi Y, Ohnishi T, Izawa H, Kawabata Y, Sasaki M, Sekimoto M, Nishisho I, Shiozaki H, Monden M. Mutations of the transforming growth factor beta type II receptor gene and microsatellite instability in gastric cancer. *Int J Cancer* 1996;68:203-206
- 59 Guo RJ, Wang Y, Kaneko E, Wang DY, Arai H, Hanai H, Takenoshita S, Hagiwara K, Harris CC, Sugimura H. Analyses of mutation and loss of heterozygosity of coding sequences of the entire transforming growth factor beta type II receptor gene in sporadic human gastric cancer. *Carcinogenesis* 1998;19:1539-1544
- 60 Chung YJ, Kim KM, Choi JR, Choi SW, Rhyu MG. Relationship between intratumor histological heterogeneity and genetic abnormalities in gastric carcinoma with microsatellite instability. *Int J Cancer* 1999;82:782-788
- 61 Kobayashi K, Okamoto T, Takayama S, Akiyama M, Ohno T, Yamada H. Genetic instability in intestinal metaplasia is a frequent event leading to well-differentiated early adenocarcinoma of the stomach. *Eur J Cancer* 2000;36:1113-1119
- 62 Takeno S, Wirtz HC, Lickvers K, Noguchi T, Scheven M, Willers R, Gabbert HE, Mueller W. Transforming growth factor beta type II receptor expression in gastric cancer: evidence for two independent subgroups. *Anticancer Res* 2002;22:2247-2252
- 63 Luinetti O, Fiocca R, Villani L, Alberizzi P, Ranzani GN, Solcia E. Genetic pattern, histological structure, and cellular phenotype in early and advanced gastric cancers: evidence for structure-related genetic subsets and for loss of glandular structure during progression of some tumors. *Hum Pathol* 1998;29:702-709
- 64 Zhou X, Fang D, Luo Y. Microsatellite instability in gastric carcinoma and intestinal metaplasia. *Zhonghua Binglixue Zazhi* 1998;27:356-358
- 65 Fang DC, Luo YH, Yang SM, Li XA, Ling XL, Fang L. Mutation analysis of APC gene in gastric cancer with microsatellite instability. *World J Gastroenterol* 2002;8:787-791
- 66 Leung WK, Kim JJ, Kim JG, Graham DY, Sepulveda AR. Microsatellite instability in gastric intestinal metaplasia in patients with and without gastric cancer. *Am J Pathol* 2000;156:537-543
- 67 Yamamoto H, Itoh F, Fukushima H, Adachi Y, Itoh H, Hinoda Y, Imai K. Frequent Bax frameshift mutations in gastric cancer with high but not low microsatellite instability. *J Exp Clin Cancer Res* 1999;18:103-106
- 68 Bataille F, Rummele P, Dietmaier W, Gaag D, Klebl F, Reichle A, Wild P, Hofstadter F, Hartmann A. Alterations in p53 predict response to preoperative high dose chemotherapy in patients with gastric cancer. *Mol Pathol* 2003;56:286-292
- 69 Kim KM, Kwon MS, Hong SJ, Min KO, Seo EJ, Lee KY, Choi SW, Rhyu MG. Genetic classification of intestinal-type and diffuse-type gastric cancers based on chromosomal loss and microsatellite instability. *Virchows Arch* 2003;443:491-500
- 70 Kim JJ, Tao H, Carloni E, Leung WK, Graham DY, Sepulveda AR. *Helicobacter pylori* impairs DNA mismatch repair in gastric epithelial cells. *Gastroenterology* 2002;123:542-553
- 71 de Manzoni G, Tomezzoli A, Di Leo A, Moore PS, Talamini G, Scarpa A. Clinical significance of mutator phenotype and chromosome 17p and 18q allelic loss in gastric cancer. *Br J Surg* 2001;88:419-425
- 72 Suzuki K, Ohnami S, Tanabe C, Sasaki H, Yasuda J, Katai H, Yoshimura K, Terada M, Perucho M, Yoshida T. The genomic damage estimated by arbitrarily primed PCR DNA fingerprinting is useful for the prognosis of gastric cancer. *Gastroenterology* 2003;125:1330-1340
- 73 Ott K, Vogelsang H, Mueller J, Becker K, Muller M, Fink U, Siewert JR, Hofler H, Keller G. Chromosomal instability rather than p53 mutation is associated with response to neoadjuvant cisplatin-based chemotherapy in gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2003;9:2307-2315