

遗传性非息肉病性结直肠癌临床分子诊断的研究进展

陈红锦, 林秋, 曾莉, 杨柏霖

■背景资料

遗传性非息肉病性结直肠癌是一种由于错配修复基因突变导致的常染色体显性遗传性疾病。研究显示与HNPCC发生相关的错配修复基因有hMSH2、hMLH1、hMSH6、hPSM1和hPSM2。到目前为止, HNPCC的诊断主要依赖病史及相关遗传检测结果。对于符合Amsterdam或Bethesda标准的结直肠癌患者应进行微卫星不稳定(MSI)和免疫组织化学错配修复蛋白的检测, 继而进行错配修复基因等种系突变检测。

陈红锦, 林秋, 曾莉, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029

杨柏霖, 南京中医药大学附属医院 江苏省南京市 210029

陈红锦, 副教授, 主要从事结直肠癌外科方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30873272

江苏省自然科学基金资助项目, No. BK200845

江苏省普通高校研究生科研创新计划基金资助项目, No. C

XZZ12-0607

作者贡献分布: 本论文由曾莉设计; 由陈红锦与林秋共同完成综述; 杨柏霖审核。

通讯作者: 陈红锦, 副教授, 210029, 江苏省南京市汉中路上155号, 南京中医药大学第一临床医学院。chjtp@163.com

收稿日期: 2012-08-17 修回日期: 2012-09-15

接受日期: 2012-10-08 在线出版日期: 2012-10-18

Recent advances in molecular diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer

Hong-Jin Chen, Qiu Lin, Li Zeng, Bo-Lin Yang

Hong-Jin Chen, Qiu Lin, Li Zeng, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Bo-Lin Yang, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30873272; the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2008457; Program for Postgraduates Research Innovation in University of Jiangsu Province, No. CXZZ12-0607

Correspondence to: Hong-Jin Chen, Nanjing University of Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. chjtp@163.com

Received: 2012-08-17 Revised: 2012-09-15

Accepted: 2012-10-08 Published online: 2012-10-18

Abstract

Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) is a dominant autosomal genetic syndrome, accounting for 5%-10% of all colorectal cancers. It is caused by inactivating germ-line mutations of DNA mismatch repair (MMR) genes, including hMLH1, hMSH2, hMSH6, hPMS2, and hPMS1. HNPCC shows a tendency towards early age at onset, multiplicity of tumors, right-sided colon involvement, characteristic tumor pathology, and spectrum of extracolonic tumors. The diagnosis of HNPCC mainly relies on history and genetic linkage analysis. Patients meeting the Amsterdam criteria or Bethesda guidelines should undergo detection of microsatellite instability and immunohistochemistry analysis of hMSH2 and

hMLH1 expression. If one of the two detections yields a positive result, molecular genetic testing for germline mutations of MMR genes should be taken into consideration.

Key Words: Hereditary nonpolyposis colorectal cancer; Microsatellite instability; Immunohistochemistry; Mismatch repair gene

Chen HJ, Lin Q, Zeng L, Yang BL. Recent advances in molecular diagnostics of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(29): 2806-2811

摘要

遗传性非息肉病性结直肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)是一种由于错配修复基因(mismatch repair gene, MMR)突变导致的常染色体显性遗传性疾病, 占结直肠癌的5%-15%。研究显示, 与HNPCC发生相关的错配修复基因有hMSH2、hMLH1、hMSH6、hPSM1和hPSM2。HNPCC肿瘤具有发病早、近段结肠多见、原发性多见、肠外肿瘤多见、病理以黏液腺癌为主的特点。到目前为止, HNPCC的诊断主要依赖病史及相关遗传检测结果。对于符合Amsterdam II或Bethesda标准的结直肠癌患者应进行微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)和免疫组织化学错配修复蛋白的检测, 继而进行错配修复基因等种系突变检测。

关键词: 遗传性非息肉性结直肠癌; 微卫星不稳定; 免疫组织化学; 错配修复基因

陈红锦, 林秋, 曾莉, 杨柏霖. 遗传性非息肉病性结直肠癌临床分子诊断的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(29): 2806-2811
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2806.asp>

0 引言

2008年全球新发结直肠癌(colorectal cancer, CRC)约120例, 大约有60.87万人因CRC死亡, 男性发病率处于恶性肿瘤的第2位, 女性为第3位^[1]。研究表明, 约有20%的CRC患者具有遗传性或遗传易感性, 其中遗传性非息肉病性CRC是最常见的, 是一种区别于家族性腺瘤息肉病(family

■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

adenoma polyposis, FAP)的遗传性肿瘤, 占结肠肿瘤的5%-15%, 其外显率为90%^[2]. 遗传性非息肉病性结直肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)具有发病年龄早(平均45岁)、近端结肠多见、同时性或异时性癌多见, 以及家族成员常有子宫内膜癌、胃癌和泌尿生殖系肿瘤等肠外肿瘤发生的典型特征^[3,4]. 1991年成立了HNPCC国际合作组织(HNPCC-ICG), 并制定了HNPCC临床诊断标准(Amsterdam I标准)^[5], 并于1999年重新修订了Amsterdam标准(Amsterdam II标准)^[6], 内容如下: (1)家族中至少有3个成员确诊患HNPCC相关肿瘤包括结肠癌、子宫内膜癌、小肠癌、泌尿系统肿瘤; (2)其中1例为其他2例的一级亲属; (3)至少有连续2代患病; (4)至少1例在50岁前发病; (5)排除家族性腺瘤性息肉病及其他遗传性结肠癌综合征. 然而, 随着HNPCC肿瘤的分子生物学发展, Amsterdam标准已不能包含所有的HNPCC患者. 错配修复基因种系突变是HNPCC肿瘤发生的遗传学基础, 依据遗传学特征进行HNPCC肿瘤确定和家族成员筛选, 并进行正确的治疗和预防能够有效降低CRC的发生^[7-9].

1 HNPCC遗传学基础

HNPCC是错配修复基因(mismatch match repair genes, MMR)种系突变导致的常染色体显性遗传性疾病, 目前确定与HNPCC肿瘤发生相关的MMR包括: hMSH2、hMLH1、hMSH6、hPSM1和hPSM2, 其中以hMSH2、hMLH1突变为主, 占71%-90%^[10,11]. 微卫星(microsatellite)是广泛存在于原核生物及真核生物基因组中具有高度多态性的短的串联重复核苷酸序列. 微卫星序列多位于编码区附近, 亦可位于内含子、启动子Alu序列中, 其重复单位一般为1-6 bp, 重复次数可达10-50次. MMR基因突变或表达缺失, 导致错配修复功能下降, 细胞在增殖过程中的错误掺入和缺失不能修复而产生了微卫星序列的延长、缩短等, 表现出广泛的微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI), 引起基因组不稳定, 随机突变率增高, 导致一系列涉及细胞生长、分化、凋亡及癌转移的相关靶基因改变, 进而导致结直肠肿瘤及其他肠外肿瘤的发生^[12,13]. 研究表明MSI是HNPCC CRC发生的早期分子事件^[14], 可能是通过TGF- β 和PTEN等信号传导途径而导致肿瘤的发生, 促使良性息肉迅速向高度不典型增生发展^[15,16]. 从腺瘤到癌的发展规律在

HNPCC个体中仍然适用. 研究证实MMR缺失的携带者腺瘤形成速度明显快于正常人群, 由腺瘤发展成癌所需时间常<3年, 这与正常人群中腺瘤发展到癌的10-15年早了近10年^[17,18].

2 HNPCC肿瘤微卫星不稳定分析

由于错配修复基因的种系突变, 其功能下降或缺失, 细胞在增殖过程中表现为广泛的MSI, 导致重复编码的突变和非编码区域的基因(癌基因或抑癌基因)突变. 为获得临床研究资料和诊断的统一性, 1997年NCI(National Cancer Institution)推荐采用BAT-26、BAT-25、D2S123、D5S346、D17S250作为CRC MSI检测的标准位点, 即Bethesda标准. 若5个中有2个及以上标记显示不稳定, 称为MSI-high(MSI-H); 仅一个标记显示不稳定, 称为MSI-low(MSI-L); 所有标记均显示稳定, 则称为MS-stable(MSS)^[19]. 研究表明90%以上的HNPCC患者表现为MSI-H, 因此检测患者MSI的情况有助于筛选出HNPCC家系和高危人群. Aaltonen等^[20]检测了连续的500余例CRC患者MSI情况, 12%的患者微卫星不稳定, 2%的患者存在hMLH1或hMSH2基因的种系突变, 10例存在种系突变的患者中9例符合Amsterdam诊断标准; 在MSS的患者中均未检测到hMLH1基因的突变, 我们认为在进行错配修复基因测序之前应先确定MSI状态.

2004年NCI又对该标准进行了修订, 称为修订Bethesda标准, 目前已成为HNPCC最重要的临床筛查标准^[21]. 具体内容如下: (1)50岁以下的CRC患者; (2)任何年龄诊断的同时和异时性多原发CRC及HNPCC相关肿瘤(包括CRC、子宫内膜癌、胃癌、卵巢癌、胰腺癌、输尿管及肾盂癌、胆管癌、脑肿瘤、皮脂腺瘤和角化棘皮瘤); (3)60岁以下MSI-H CRC、组织学诊断发现有肿瘤浸润淋巴细胞、Crohn's病样淋巴细胞增生、黏液癌/印戒细胞癌或髓样癌; (4)1个或1个以上一级亲属发生HNPCC相关肿瘤且有一个肿瘤发生于50岁前; (5)任何年龄2个或2个以上一级或二级亲属发生HNPCC相关肿瘤. 只要患者符合该标准中的任意一条, 就应进行MSI检查和错配修复蛋白的免疫组织化学分析. 金黑鹰等^[22]应用修订Bethesda标准筛查了连续110例CRC患者, MSI CRC检出率为20.9%, HNPCC检出率6.4%. 多项研究证实对所有的符合修订Bethesda标准的CRC患者进行MSI检测, 能够有效地筛查HNPCC家系或可疑HNPCC患者, 以便进行早期

■相关报道

de-Jong认为免疫组织化学分析是利用MMR表达的蛋白特异性抗体进行的, 因此其敏感性与MSI相似, 分析的结果可以提示突变基因的类型. 只要其他关于该综合征错配修复基因作用的推测没有明确, 对于错配修复蛋白的免疫组织化学分析不能完全替代MSI的分析. 因此常选择MSI检测作为对于符合修订Bethesda标准患者筛查的第一步, 在MSI-H和MSI-L情况下, 进行第二步筛查即免疫组织化学分析. 另一方面, 由于符合Amsterdam II标准的家系MMR可能发生突变概率>50%. 因此, 推荐对此进行免疫组织化学分析作为诊断的第一步, 如果免疫组织化学染色阴性, 则应该进行相关基因的突变分析.

■创新盘点

本文从遗传性非息肉病性结直肠癌临床分子诊断研究现状出发,系统阐述了临床检测HNPCC的相关方法。

治疗及随访^[23-25]。

3 HNPCC肿瘤错配修复蛋白的免疫组织化学分析

另一个用来区分错配修复功能缺陷的快捷并且廉价的技术是对于肿瘤组织的错配修复蛋白的免疫组织化学分析。由于HNPCC是MMR突变导致,通常存在MSI或错配修复蛋白的免疫组织化学染色表达缺失的情况,使用特殊的抗体能够发现错配修复蛋白表达缺失或存在^[26]。Engel等^[27]研究认为MSI对于区别hMSH2突变和hMLH1突变其敏感性大于免疫组织化学分析。但是, de Jong等^[28]认为免疫组织化学分析是利用MMR表达的蛋白特异性抗体进行的,因此其敏感性与MSI相似,分析的结果可以提示突变基因的类型。理论上来说,只要其他的关于该综合症的错配修复基因作用的推测没有明确,对于错配修复蛋白的免疫组织化学分析不能完全替代MSI的分析。因此,常选择MSI检测作为对于符合修订Bethesda标准患者筛查的第1步,在MSI-H和MSI-L情况下,应进行第2步筛查即免疫组织化学分析。另一方面,由于符合Amsterdam II标准的家系MMR可能发生突变概率>50%,因此,推荐对此进行免疫组织化学分析作为诊断的第一步,如果免疫组织化学染色阴性,则应该进行相关基因的突变分析。

在HNPCC肿瘤中hMSH2和hMLH1突变大约占80%^[29-31],免疫组织化学检测显示hMSH2阴性对于预测错配修复基因hMSH2突变具有较好的作用,但hMLH1阴性结果却未能很好地预测错配修复基因hMLH1的突变^[31]。导致这种情况的主要原因是部分散发性CRC的体细胞hMLH1启动子甲基化,错配修复基因hMLH1转录沉默导致MSI,散发性MSI CRC中hMLH1突变的发生率低于10%,而该基因启动子区域的甲基化发生率大于90%^[32]。最近的研究显示, hMLH1基因与错配修复基因PMS2同时存在形成异二聚体。HNPCC肿瘤中一旦hMLH1基因种系突变,异二聚体变得不稳定, hPMS2功能下降或缺失,免疫组织化学显示hMLH1和hPMS2蛋白表达缺失^[33,34]。因此,同时进行hMLH1和hPMS2的免疫组织化学检测,有利于确定错配修复基因hMLH1的缺失。

4 HNPCC的遗传测序

错配修复基因的种系突变是HNPCC肿瘤发生的根本原因,因此错配修复基因的种系突变测序常作为HNPCC诊断的“金标准”。对CRC患者进行错配修复基因种系突变的遗传学检测来确

定HNPCC肿瘤能够降低家族成员内突变基因携带者的肿瘤发生率和病死率^[35,36]。遗传测序连锁分析显示大约80%的HNPCC肿瘤与hMLH1和hMSH2基因的种系突变相关,7%的患者MSH6突变, PMS2的突变<5%,多数突变为微小突变(点突变)、小片段插入或缺失,少部分可能出现hMLH1或hMSH2基因大片段缺失^[37,38]。国际胃肠遗传性肿瘤协会建立的InSIGHT数据库中共收集了6 079例MLH1基因突变, 4 428例hMSH2基因突变患者(<http://www.insight-group.org/mutations/2010.5.1>)。但是, MSH6基因的突变越来越受到关注^[39], Nilbert等^[40]报道了一组荷兰的家系中, 22%的患者种系突变显示MSH6的种系突变。Okkels筛查了818例HNPCC患者, 56例(7%)存在pMSH6突变, 其中23例(3%)确定为病理性突变^[38]。同时多项研究显示, MSH6突变患者子宫内膜癌高发、且发病年龄较散发性子宫内膜癌患者提前,但是CRC发病年龄却较高^[41-45]。然而,研究表明在临床高度符合Amsterdam II标准的家系中有近50%的患者未能检测到错配修复基因的突变,目前将这些家系称为“家族性结肠癌X”(familial colon cancer X)^[31]。Morak等^[46]报道了81例微卫星稳定的家族性结肠癌X,免疫组织化学显示错配修复基因DNA MLH1、MSH2和MSH6为阳性,测序显示不存在APC、MLH1、MSH2和MSH6种系突变,继而作者检测到10例(12%)存在MTH1、OGG1和MUTYH的单等位基因的错义突变。Wei等^[47]检测了98个临床疑诊的HNPCC家系, 10例患者中共发现11个突变位点, 6例hMLH1突变(54.5%), 5例hMSH2突变(45.5%);其中4个家系符合Amsterdam II标准, 6个家系符合Bethesda指南标准。Sheng等^[48]研究了30个HNPCC家系, 25个家系显示为MSI-H(83.3%), 88%的MSI患者免疫组织化学无hMLH1和hMSH2蛋白表达,其中14例患者出现病理性的错配修复基因点突变, 3例hMSH2基因大片段缺失, 3例hMLH1基因的启动子甲基化。上述研究结果显示MSL-L和MSS患者标本免疫组织化学没有错配修复蛋白的表达缺失,我们认为MSI检测与错配修复基因蛋白免疫组织化学表达具有高度的一致性,是对HNPCC肿瘤进行基因检测前的一种简单、经济的有效方法。

随着表观遗传学的发展, DNA甲基化逐渐成为新的研究热点。在人类基因组中, 50%基因在5'端启动子存在CpG岛, 正常状态下CpG岛不存在甲基化, hMLH1基因5'端CpG岛异常甲

基化会导致hMLH1基因的表达沉默。按照修订Bethesda标准进行MSI检测阳性的患者, 即使其免疫组织化学显示hMLH1蛋白表达阴性, hMLH1种系突变的发生率低于10%, 而该基因启动子区域的甲基化发生率>90%^[46]。倪敏等^[49]对34例MSI CRC进行了错配修复基因种系突变和hMLH1基因甲基化检测, 结果显示8例hMSH2和hMSH6种系突变, 19例为hMLH1基因甲基化, 提示在MSI只能作为HNPCC肿瘤初筛的手段, 最终确定仍需要进行错配修复基因种系突变测序。然而, Goel等^[50]研究了符合Amsterdam标准但微卫星稳定的CRC患者(MSS HNPCC)的多个基因的甲基化情况, 181例CRC被分为4组: 符合Amsterdam标准但微卫星稳定的CRC($n = 22$); 确定有错配修复基因种系突变的HNPCC($n = 21$); 微卫星稳定的散发性CRC($n = 92$); 微卫星不稳定的散发性CRC($n = 46$), 同时检测CCANAG1、SOCS1、RUNX3、NEUROG1、MLH1、KRAS和BRAF等基因的甲基化状态, 结果显示尽管MSS HNPCC肿瘤存在不同程度的CpG岛甲基化, 但没有表现为高甲基化状态, 我们认为MSS HNPCC肿瘤的潜在发生机制仍需进一步研究。

5 结论

目前, 在我国HNPCC已引起越来越多的临床医师的重视, 随着HNPCC临床与分子诊断研究的不断深入, 对HNPCC发病特点、遗传学特征的进一步认识, 以及分子基因水平诊断方法的正确开展, 对CRC的有效防治具有十分重要的意义。

6 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90
- Müller A, Fishel R. Mismatch repair and the hereditary non-polyposis colorectal cancer syndrome (HNPCC). *Cancer Invest* 2002; 20: 102-109
- Barrow E, Alduaij W, Robinson L, Shenton A, Clancy T, Lalloo F, Hill J, Evans DG. Colorectal cancer in HNPCC: cumulative lifetime incidence, survival and tumour distribution. A report of 121 families with proven mutations. *Clin Genet* 2008; 74: 233-242
- ten Kate GL, Kleibeuker JH, Nagengast FM, Craanen M, Cats A, Menko FH, Vasen HF. Is surveillance of the small bowel indicated for Lynch syndrome families. *Gut* 2007; 56: 1198-1201
- Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 424-425
- Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999; 116: 1453-1456
- US Preventive Services Task Force. Screening for colorectal cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2008; 149: 627-637
- Baglietto L, Lindor NM, Dowty JG, White DM, Wagner A, Gomez Garcia EB, Vriends AH, Cartwright NR, Barnetson RA, Farrington SM, Tenesa A, Hampel H, Buchanan D, Arnold S, Young J, Walsh MD, Jass J, Macrae F, Antill Y, Winship IM, Giles GG, Goldblatt J, Parry S, Suthers G, Leggett B, Butz M, Aronson M, Poynter JN, Baron JA, Le Marchand L, Haile R, Gallinger S, Hopper JL, Potter J, de la Chapelle A, Vasen HF, Dunlop MG, Thibodeau SN, Jenkins MA. Risks of Lynch syndrome cancers for MSH6 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102: 193-201
- Stoffel E, Mukherjee B, Raymond VM, Tayob N, Kastrinos F, Sparr J, Wang F, Bandipalliam P, Syngal S, Gruber SB. Calculation of risk of colorectal and endometrial cancer among patients with Lynch syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1621-1627
- Wagner A, Tops C, Wijnen JT, Zwinderman K, van der Meer C, Kets M, Niermeijer MF, Klijn JG, Tiben A, Vasen HF, Meijers-Heijboer H. Genetic testing in hereditary non-polyposis colorectal cancer families with a MSH2, MLH1, or MSH6 mutation. *J Med Genet* 2002; 39: 833-837
- Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 919-932
- 崔龙. 遗传性非息肉病性大肠癌的诊治进展. *中国实用外科杂志* 2005; 25: 189-192
- 杨柏林. 微卫星不稳定性结直肠癌分子病理特征及hMLH1基因甲基化. *结直肠肛门外科* 2005; 11: 312-314
- Fidalgo P, Almeida MR, West S, Gaspar C, Maia L, Wijnen J, Albuquerque C, Curtis A, Cravo M, Fodde R, Leita CN, Burn J. Detection of mutations in mismatch repair genes in Portuguese families with hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) by a multi-method approach. *Eur J Hum Genet* 2000; 8: 49-53
- Rijcken FE, Hollema H, Kleibeuker JH. Proximal adenomas in hereditary non-polyposis colorectal cancer are prone to rapid malignant transformation. *Gut* 2002; 50: 382-386
- Rijcken FE, Koornstra JJ, van der Sluis T, Boersma-van EW, Kleibeuker JH, Hollema H. Early carcinogenic events in HNPCC adenomas: differences with sporadic adenomas. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1660-1668
- Vasen HF, Nagengast FM, Khan PM. Interval cancers in hereditary non-polyposis colorectal cancer (Lynch syndrome). *Lancet* 1995; 345: 1183-1184
- De Jong AE, Morreau H, Van Puijenbroek M, Eilers PH, Wijnen J, Nagengast FM, Griffioen G, Cats A, Menko FH, Kleibeuker JH, Vasen HF. The role of mismatch repair gene defects in the development of adenomas in patients with HNPCC. *Gastroenterology* 2004; 126: 42-48
- Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in

■同行评价

该文为遗传性非息肉病性结直肠癌临床分子诊断研究提供了总体的思路与方法, 并为以后该病的临床治疗和研究提供了理论依据。

- colorectal cancer. *Cancer Res* 1998; 58: 5248-5257
- 20 Aaltonen LA, Salovaara R, Kristo P, Canzian F, Hemminki A, Peltomäki P, Chadwick RB, Kääriäinen H, Eskelinen M, Järvinen H, Mecklin JP, de la Chapelle A. Incidence of hereditary nonpolyposis colorectal cancer and the feasibility of molecular screening for the disease. *N Engl J Med* 1998; 338: 1481-1487
 - 21 Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burt LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomäki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 261-268
 - 22 金黑鹰, 丁义江, 刘秀芳, 杨柏林, 赖仁胜, 倪敏, 葛永盛. 修订 Bethesda 标准筛选遗传性非息肉病性结直肠癌患者的队列研究. *中华医学杂志* 2007; 87: 1445-1447
 - 23 Piñol V, Castells A, Andreu M, Castellví-Bel S, Alenda C, Llor X, Xicola RM, Rodríguez-Moranta F, Payá A, Jover R, Bessa X. Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *JAMA* 2005; 293: 1986-1994
 - 24 Mueller J, Gazzoli I, Bandipalliam P, Garber JE, Syngal S, Kolodner RD. Comprehensive molecular analysis of mismatch repair gene defects in suspected Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) cases. *Cancer Res* 2009; 69: 7053-7061
 - 25 Coolbaugh-Murphy MI, Xu JP, Ramagli LS, Ramagli BC, Brown BW, Lynch PM, Hamilton SR, Frazier ML, Siciliano MJ. Microsatellite instability in the peripheral blood leukocytes of HNPCC patients. *Hum Mutat* 2010; 31: 317-324
 - 26 Hendriks Y, Franken P, Dierssen JW, De Leeuw W, Wijnen J, Dreef E, Tops C, Breuning M, Bröcker-Vriends A, Vasen H, Fodde R, Morreau H. Conventional and tissue microarray immunohistochemical expression analysis of mismatch repair in hereditary colorectal tumors. *Am J Pathol* 2003; 162: 469-477
 - 27 Engel C, Forberg J, Holinski-Feder E, Pagenstecher C, Plaschke J, Kloor M, Poremba C, Pox CP, Rüschoff J, Keller G, Dietmaier W, Rümmele P, Friedrichs N, Mangold E, Buettner R, Schackert HK, Kienle P, Stemmler S, Moeslein G, Loeffler M. Novel strategy for optimal sequential application of clinical criteria, immunohistochemistry and microsatellite analysis in the diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int J Cancer* 2006; 118: 115-122
 - 28 de Jong AE, van Puijenbroek M, Hendriks Y, Tops C, Wijnen J, Ausems MG, Meijers-Heijboer H, Wagner A, van Os TA, Bröcker-Vriends AH, Vasen HF, Morreau H. Microsatellite instability, immunohistochemistry, and additional PMS2 staining in suspected hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 972-980
 - 29 Shia J, Klimstra DS, Nafa K, Offit K, Guillem JG, Markowitz AJ, Gerald WL, Ellis NA. Value of immunohistochemical detection of DNA mismatch repair proteins in predicting germline mutation in hereditary colorectal neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 96-104
 - 30 Shia J, Ellis NA, Klimstra DS. The utility of immunohistochemical detection of DNA mismatch repair gene proteins. *Virchows Arch* 2004; 445: 431-441
 - 31 Lynch PM. The hMSH2 and hMLH1 genes in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2009; 18: 611-624
 - 32 杨柏霖, 谷云飞, 赖仁胜, 谢玲, 金黑鹰. 散发性结直肠癌微卫星不稳定性与其临床病理生物学的关系. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1160-1164
 - 33 Boland CR, Koi M, Chang DK, Carethers JM. The biochemical basis of microsatellite instability and abnormal immunohistochemistry and clinical behavior in Lynch syndrome: from bench to bedside. *Fam Cancer* 2008; 7: 41-52
 - 34 Shia J, Tang LH, Vakiani E, Guillem JG, Stadler ZK, Soslow RA, Katabi N, Weiser MR, Paty PB, Temple LK, Nash GM, Wong WD, Offit K, Klimstra DS. Immunohistochemistry as first-line screening for detecting colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: a 2-antibody panel may be as predictive as a 4-antibody panel. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 1639-1645
 - 35 Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group. Recommendations from the EGAPP Working Group: genetic testing strategies in newly diagnosed individuals with colorectal cancer aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome in relatives. *Genet Med* 2009; 11: 35-41
 - 36 Palomaki GE, McClain MR, Melillo S, Hampel HL, Thibodeau SN. EGAPP supplementary evidence review: DNA testing strategies aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome. *Genet Med* 2009; 11: 42-65
 - 37 Peltomäki P, Gao X, Mecklin JP. Genotype and phenotype in hereditary nonpolyposis colon cancer: a study of families with different vs. shared predisposing mutations. *Fam Cancer* 2001; 1: 9-15
 - 38 Wang Y, Friedl W, Lamberti C, Jungck M, Mathiak M, Pagenstecher C, Propping P, Mangold E. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: frequent occurrence of large genomic deletions in MSH2 and MLH1 genes. *Int J Cancer* 2003; 103: 636-641
 - 39 Okkels H, Lindorff-Larsen K, Thorlasius-Ussing O, Vyberg M, Lindebjerg J, Sunde L, Bernstein I, Klar-skov L, Holck S, Krarup HB. MSH6 Mutations are Frequent in Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Families With Normal pMSH6 Expression as Detected by Immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2012; 20: 470-477
 - 40 Nilbert M, Wikman FP, Hansen TV, Krarup HB, Orntoft TF, Nielsen FC, Sunde L, Gerdes AM, Cruger D, Timshel S, Bisgaard ML, Bernstein I, Okkels H. Major contribution from recurrent alterations and MSH6 mutations in the Danish Lynch syndrome population. *Fam Cancer* 2009; 8: 75-83
 - 41 Wijnen J, de Leeuw W, Vasen H, van der Klift H, Möller P, Stormorken A, Meijers-Heijboer H, Lindhout D, Menko F, Vossen S, Mösllein G, Tops C, Bröcker-Vriends A, Wu Y, Hofstra R, Sijmons R, Cornelisse C, Morreau H, Fodde R. Familial endometrial cancer in female carriers of MSH6 germline mutations. *Nat Genet* 1999; 23: 142-144
 - 42 Schweizer P, Moio AL, Kuismanen SA, Truninger K, Vierumäki R, Salovaara R, Arola J, Butzow R, Jiricny J, Peltomäki P, Nyström-Lahti M. Lack of MSH2 and MSH6 characterizes endometrial but

- not colon carcinomas in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 2813-2815
- 43 Suchy J, Kurzawski G, Jakubowska A, Lubiński J. Ovarian cancer of endometrioid type as part of the MSH6 gene mutation phenotype. *J Hum Genet* 2002; 47: 529-531
- 44 Goodfellow PJ, Buttin BM, Herzog TJ, Rader JS, Gibb RK, Swisher E, Look K, Walls KC, Fan MY, Mutch DG. Prevalence of defective DNA mismatch repair and MSH6 mutation in an unselected series of endometrial cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 5908-5913
- 45 Devlin LA, Graham CA, Price JH, Morrison PJ. Germline MSH6 mutations are more prevalent in endometrial cancer patient cohorts than hereditary non polyposis colorectal cancer cohorts. *Ulster Med J* 2008; 77: 25-30
- 46 Morak M, Massdorf T, Sykora H, Kerscher M, Holinski-Feder E. First evidence for digenic inheritance in hereditary colorectal cancer by mutations in the base excision repair genes. *Eur J Cancer* 2011; 47: 1046-1055
- 47 Wei W, Liu F, Liu L, Li Z, Zhang X, Jiang F, Shi Q, Zhou X, Sheng W, Cai S, Li X, Xu Y, Nan P. Distinct mutations in MLH1 and MSH2 genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) families from China. *BMB Rep* 2011; 44: 317-322
- 48 Sheng JQ, Zhang H, Ji M, Fu L, Mu H, Zhang MZ, Huang JS, Han M, Li AQ, Wei Z, Sun ZQ, Wu ZT, Xia CH, Li SR. Genetic diagnosis strategy of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 983-989
- 49 倪敏, 金黑鹰, 丁义江, 刘飞, 丁曙晴, 樊志敏, 王业皇. 微卫星不稳定结直肠癌hMLH1和hMSH2及hMSH6种系突变与hMLH1启动子甲基化检测. *中华胃肠外科杂志* 2008; 11: 358-361
- 50 Goel A, Xicola RM, Nguyen TP, Doyle BJ, Sohn VR, Bandipalliam P, Rozek LS, Reyes J, Cordero C, Balaguer F, Castells A, Jover R, Andreu M, Syngal S, Boland CR, Llor X. Aberrant DNA methylation in hereditary nonpolyposis colorectal cancer without mismatch repair deficiency. *Gastroenterology* 2010; 138: 1854-1862

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号.如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7].文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.