

错配修复缺陷的胃癌微卫星不稳定性及临床病理特征分析

王慧云¹, 陈云庆², 张丽², 宋姍爱¹, 刘宁¹, 刘自民^{1*}, 侯和磊^{1*}

¹青岛大学附属医院肿瘤科, 山东 青岛

²青岛大学附属医院病理科, 山东 青岛

收稿日期: 2024年2月27日; 录用日期: 2024年3月21日; 发布日期: 2024年3月29日

摘要

目的: 研究免疫组织化学(Immunohistochemistry, IHC)结果为错配修复缺陷(Mismatch Repair deficiency, dMMR)的胃癌中微卫星不稳定状态(Microsatellite Instability, MSI), 比较胃癌中dMMR/MSI不同检测方法一致性, 分析dMMR胃癌临床病理特征。方法: 选取2020年3月至2022年7月青岛大学附属医院术前未经治疗、接受胃癌根治术的错配修复(Mismatch Repair, MMR)蛋白IHC检测结果为dMMR的病例85例, 由2名病理医师对IHC结果进行复核。利用聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)对85例同样本进行MSI状态的检测, 同时分析dMMR胃癌临床病理特征。结果: 在85例胃癌样本中, 经复核, IHC结果均为dMMR, 其中3例经PCR法测定为微卫星稳定(Microsatellite Stability, MSS), 免疫组化检测dMMR与PCR检测结果的一致率为96.47%。本研究中dMMR胃癌患者以男性多见(61.2%), 初诊时中位年龄在70岁(45岁~86岁), 好发于胃窦(76.5%), 以MLH1与PMS2这两种MMR蛋白联合缺失为主(94%), Lauren分型中混合型较多(43.5%), 分期以II期为主(54.1%), PD-L1表达CPS ≥ 5 (81.2%), EBER表达为阴性(98.9%), HER2基因均无扩增(100%), 所有患者中大部分未接受辅助化疗(68.2%), 截至随访时间, 有85.9%患者未出现复发以及转移(中位随访时间17月)。结论: 本研究强调了免疫组化和聚合酶链式反应在检测胃癌错配修复缺陷和微卫星不稳定性方面的显著相关性。主要临床病理特征包括以老年男性为主, 好发于胃窦, 分期较早, 预后较好。

关键词

胃肿瘤, 错配修复缺陷, 微卫星不稳定性, 免疫组织化学, 聚合酶链式反应

Analysis of Microsatellite Instability and Clinical Pathological Features in Gastric Cancer with Mismatch Repair Deficiency

Huiyun Wang¹, Yunqing Chen², Li Zhang², Shan'ai Song¹, Ning Liu¹, Zimin Liu^{1*}, Helei Hou^{1*}

*通讯作者。

文章引用: 王慧云, 陈云庆, 张丽, 宋姍爱, 刘宁, 刘自民, 侯和磊. 错配修复缺陷的胃癌微卫星不稳定性及临床病理特征分析[J]. 临床医学进展, 2024, 14(3): 2090-2098. DOI: 10.12677/acm.2024.143948

¹Department of Oncology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

²Department of Pathology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Feb. 27th, 2024; accepted: Mar. 21st, 2024; published: Mar. 29th, 2024

Abstract

Objective: This study is dedicated to assessing mismatch repair deficiency (dMMR) in gastric cancer utilizing immunohistochemistry (IHC) and determining microsatellite instability (MSI) via polymerase chain reaction (PCR) testing. Its primary aim is to evaluate the consistency between these diagnostic methods for dMMR and MSI in gastric cancer, and to comprehensively analyze the clinical-pathological features that characterize these molecular markers. **Methods:** Between March 2020 and July 2022, we selected 85 gastric cancer patients from The Affiliated Hospital of Qingdao University who had not received prior treatment and underwent radical surgery. These cases exhibited dMMR based on immunohistochemistry (IHC) results for mismatch repair proteins. The IHC results were reviewed by two pathologists. Polymerase chain reaction (PCR) was employed to evaluate MSI status in the same cohort. Concurrently, we analyzed the clinicopathological characteristics of dMMR/MSI-H gastric cancer. **Results:** In the analysis, all 85 gastric cancer samples exhibited mismatch repair deficiency (dMMR), as determined by immunohistochemistry (IHC). Polymerase chain reaction (PCR) testing on these samples identified 3 cases as microsatellite stable (MSS). The concordance rate between IHC for dMMR and PCR results in these gastric cancer samples was 96.47%. The cohort predominantly consisted of male patients (61.2%), presenting a median age of 70 years at initial diagnosis (range: 45~86 years). The tumors were primarily located in the gastric antrum (76.5%) and displayed a joint loss of MLH1 and PMS2 MMR proteins in 94% of cases. Regarding histology, the mixed subtype according to the Lauren classification was most frequent (43.5%). Stage II tumors were the most common (54.1%). PD-L1 expression, with a combined positive score (CPS) of ≥ 5 , was observed in 81.2% of the cases. EBER expression was negative in 98.9% of cases, and no HER2 gene amplification was detected across the cohort (100%). A majority of patients (68.2%) did not undergo adjuvant chemotherapy. As of the last follow-up, with a median duration of 17 months, 85.9% of patients exhibited no signs of recurrence or metastasis. **Conclusion:** This study underscores a significant correlation between immunohistochemistry and polymerase chain reaction in detecting mismatch repair deficiency and microsatellite instability in gastric cancer. Key clinical-pathological features include a predominance of the condition in elderly males and a frequent tumor localization in the gastric antrum, leading to a generally favorable prognosis for these patients.

Keywords

Gastric Tumor, Mismatch Repair Deficiency, Microsatellite Instability, Immunohistochemistry, Polymerase Chain Reaction

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

DNA 错配修复(MMR)是 DNA 损伤修复机制的主要类型之一,对 DNA 复制和基因重组等过程中产生的碱基错配进行纠正和修复,主要有 4 个蛋白 MLH1, MSH2, MSH6 和 PMS2 [1]。4 个蛋白之一出现

异常时,引起 dMMR,导致 DNA 错误复制中微卫星(microsatellite,具有简单重复单元的 DNA 序列)重复数目的改变,即 MSI。微卫星稳态长时间无法维持会使肿瘤基因组的编码区处于高突变状态即为微卫星高度不稳定(Microsatellite Instability-High, MSI-H) [2]。目前常用于检测 MMR 的方法主要有 3 种:错配修复蛋白的免疫组织化学染色(MMR-IHC)、微卫星区域聚合酶链式反应(MSI-PCR)、MSI 二代测序(MSI-NGS)。MMR-IHC 检测是临床上 MMR 状态检测的最常用方法,通过分析四种蛋白来反应 MMR 的功能状态。PCR 法是 MSI 检测的“金标准”,对正常样本和肿瘤样本扩增的 DNA 片段大小进行电泳测量和比较。NGS 可以检测 DNA MSI 状态,因其成本较高且耗时长等特点,目前未能在临床实践中常规使用,但有研究证明,不同 NGS 平台的肿瘤基因测序与 PCR 法检测 MSI 的符合率达 95% [3]。

亚洲癌症研究组织(ACRG)将胃癌分为 MSI 和微卫星稳定(Microsatellite Stability, MSS)两大类型[4]。MSI 胃癌的发病率差异性较大,占胃癌患者总数的 8%~25% [5],常见于老年女性,具有远端胃癌、肠型(Lauren 分型)、较早的病理分期(II 和 III 期)、少淋巴结转移等特点[6]。与 MSS 胃癌相比,单纯手术治疗的 MSI 型胃癌患者预后较好[7]。另外 MSI-H 肿瘤具有高肿瘤负荷和细胞毒性 T 淋巴细胞浸润等特点,表现出活跃的免疫微环境,对于 MSI 型胃癌来说,传统的治疗方案包括化疗、靶向治疗获益都十分有限,但易从免疫治疗中获益[8] [9]。比如在 KEYNOTE-062 研究中,帕博利珠单抗单药组的 ORR 为 57.1% (95% CI: 28.9%~82.3%),帕博利珠单抗联合化疗组的 ORR 为 64.7% (95% CI: 38.3%~85.8%),单纯化疗组的 ORR 为 36.8% (95% CI: 16.3%~61.6%) [10]。

目前国内关于胃癌 MSI 的报道较少,本研究拟对 IHC 结果为 dMMR 的胃癌利用多重 PCR 法进行检测 MSI,比较胃癌中 MMR/MSI 不同检测方法一致性,同时分析 dMMR 胃癌临床病理特征和预后,指导临床诊疗。

2. 材料与方法

2.1. 材料

研究选取 2020 年 3 月至 2022 年 7 月青岛大学附属医院术前未经治疗、接受胃癌根治术的错配修复(MMR)蛋白 IHC 检测结果为 dMMR 的胃腺癌病例共 85 例。

2.2. 方法

2.2.1. 免疫组化检测及病理质控

85 例术后病理样本均经 3.7%中性甲醛固定,石蜡包埋,3 μm 切片,在 Roche Benchmark XT 或 Benchmark Ultra 平台进行免疫组化染色,使用的原装即用型抗体克隆号分别是:ES05 (MLH1)、FE11 (MSH2)、EP49 (MSH6)、EP51 (PMS2)。

由 2 名病理医师评估 HE 切片上的肿瘤组织含量,并对 IHC 结果进行重新核实,达成一致。

2.2.2. PCR 检测 MSI 状态

对 85 例 dMMR 胃癌样本使用商品化试剂盒 Microread 对肿瘤组织和正常组织 NDA 中 NR21、Bat26、NR27、Bat25、NR24、Mono27 6 个单核苷酸微卫星位点进行检测。6 个单核苷酸微卫星位点中 2 个或 2 个以上出现不稳定状态定义为 MSI-H, 1 个位点出现不稳定状态定义为微卫星低度不稳定(MSI-L),没有位点出现不稳定状态定义为 MSS。

2.2.3. 收集 85 例胃腺癌患者临床资料

包括年龄、性别、肿瘤位置、分化程度、Lauren 分型、TNM 分期(UICC/AJCC 第 8 版)、HER2 (FISH/SISH 检测)、EBER、PD-L1 CPS (22C3)、吸烟史、饮酒史、肿瘤家族史、是否接受术后辅助化疗等临床资料,

并对入组患者进行复发及生存随访。本研究经青岛大学附属医院伦理委员会审核批准(审批号 QYFYWZLL28299)。

3. 结果

3.1. MMR IHC 检测结果

对 85 例胃癌样本 MMR IHC 结果的重新判读与复核, 均为 dMMR, 其中 MLH1 蛋白与 PMS2 蛋白共同缺失 80 例(80/85, 94%), 另 PMS2 蛋白单独缺失 2 例, MSH6 蛋白表达单独缺失 1 例, MSH2、MSH6 蛋白共同缺失 1 例, MLH1、PMS2、MSH2 蛋白共同缺失 1 例。

MSI PCR 检测结果: 85 例经 PCR 法检测 MSI 胃癌样本中, MSI-H 为 82 例, MSS 为 3 例。在 IHC 复核为 dMMR 与经确认 MSI-H 病例中, dMMR 与 MSI-H 的一致率为 96.47% (表 1 和图 1)。

Table 1. Immunohistochemical detection results of mismatch repair protein and microsatellite instability test results based on multiplex PCR method in 85 gastric cancer samples (example)

表 1. 85 例胃癌样本错配修复蛋白免疫组化检测结果和基于多重 PCR 法的微卫星不稳定检测结果(例)

错配修复蛋白免疫组化检测结果	例数	基于多重 PCR 法的微卫星不稳定检测结果	
		MSI-H	MSS
MLH1/PMS2 (-)	80	78	2
PMS2 (-)	2	1	1
MSH2/MSH6 (-)	1	1	0
MSH6 (-)	1	1	0
MLH1/PMS2/MSH2 (-)	1	1	0
合计	85	82	3

MSI-H: 微卫星高度不稳定; MSS: 微卫星稳定。

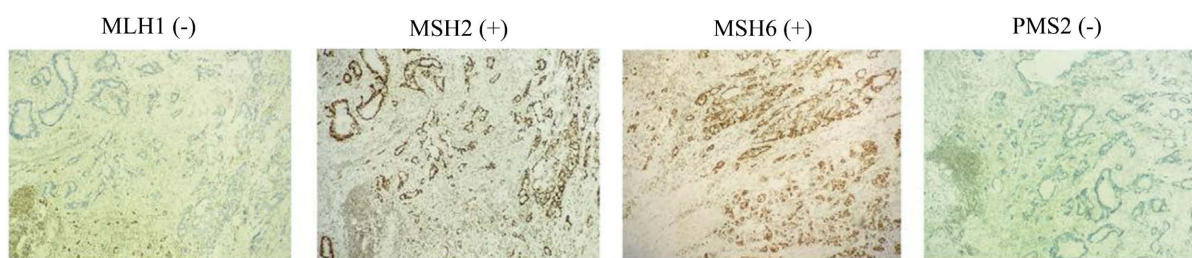


Figure 1. Immunohistochemical staining of mismatch repair protein in representative cases between dMMR and MSS (immunohistochemical staining $\times 100$)

图 1. dMMR 与 MSS 不一致代表性病例错配修复蛋白免疫组织化学染色(免疫组织化学染色 $\times 100$)

3.2. dMMR 胃癌患者临床病理特征

符合纳入标准的 85 例患者中, 男性 52 人, 女性 33 人, 初诊时中位年龄在 70 岁(45 岁~86 岁), 有饮酒史患者占 31.8% (27/85), 有肿瘤家族史患者占 30.6% (26/85), 好发于胃窦, 占 76.5% (65/85), Lauren 分型方面肠型、弥漫型、混合型分别占 33.0%、23.5%、43.5%, 分期以 II 期为主(54.1%), 其次为 III 期(25.9%), I 期为 20.0%, PD-L1 表达 CPS ≥ 5 (81.2%)、CPS 1~4 (8.2%)、CPS < 1 (3.5%), EBER 表达为阴性(98.9%)、阳性(1.1%), HER2 基因均无扩增(100%), 未接受辅助化疗的患者 68.2%, 截至随访时间, 有 85.9%患者未出现复发以及转移(中位随访时间 17 月)(表 2)。

Table 2. Clinicopathological features of 85 dMMR GC patients
表 2. 85 例 dMMR 胃癌患者临床病理特征

临床特征	
性别(人数/比例)	
男	52 (61.2%)
女	33 (38.8%)
年龄(平均年龄/范围 - 岁)	70 (45~86)
饮酒史(人数/比例)	
有	27 (31.8%)
无	58 (68.2%)
肿瘤家族史(人数/比例)	
有	26 (30.6%)
无	59 (69.4%)
病理分期(人数/比例)	
I 期	17 (20.0%)
II 期	46 (54.1%)
III 期	22 (25.9%)
部位(人数/比例)	
胃窦	65 (76.5%)
胃窦以外	20 (23.5%)
分化程度(人数/比例)	
低分化	45 (52.9%)
高/中分化	40 (47.1%)
Lauren 分型	
肠型	28 (33.0%)
弥漫型	20 (23.5%)
混合型	37 (43.5%)
HER2 状态	
阴性	85 (100.0%)
EBER 状态	
阳性	1 (1.1%)
阴性	84 (98.9%)
PD-L1 CPS	
<1	3 (3.5%)
1~4	7 (8.2%)
≥5	69 (81.2%)
未测	6 (7.1%)

续表

辅助化疗	
接受	27 (31.8%)
未接受/不适合	58 (68.2%)
复发/转移	
有	7 (8.2%)
无	73 (85.9%)
未知	5 (5.9%)

3.3. 免疫组化染色和 PCR 检测示例

如图 1。

MSI 多重荧光 PCR 检测结果:

癌组织: NR21 阴性 Bat26 阴性 NR27 阴性 Bat25 阴性 NR24 阴性 Mono27 阴性

正常组织: NR21 阴性 Bat26 阴性 NR27 阴性 Bat25 阴性 NR24 阴性 Mono27 阴性

结果判读: MSS 稳定型

如图 2。

MSI 多重荧光 PCR 检测结果:

癌组织: BAT26 阳性 BAT25 阳性 D5S346 阳性 D17S250 阴性 D2S123 阳性

正常组织: BAT26 阴性 BAT25 阴性 D5S346 阴性 D17S250 阴性 D2S123 阴性

结果判读: MSI-H 用药指导: 高频型

4. 讨论

胃癌作为目前全球第五大常见恶性肿瘤和第三大癌症死亡原因,其预后不仅与临床分期有关,还取决于不同的组织病理学特征和特定的分子分型。MSI 状态可以反应肿瘤的预后情况,例如 II 期 MSI-H 结肠直肠癌(CRC)预后良好,其不能从氟尿嘧啶类辅助化疗中获益,因此不推荐辅助化疗[11]。同样 MSI-H 状态与早期胃癌的良好预后相关[6],但也有研究认为 III 期 MSI-H 型胃癌的围手术期化疗可能使患者获得更好的生存获益[8]。与此同时 MMR 检测还可以指导个体化治疗方案的制定。对于 dMMR 胃癌来说较强的免疫原性、广泛的免疫检查点表达使其对免疫治疗有较强反应。也有研究表明 10% MSI 胃癌病例表现出家族聚集性,可能与 Lynch 综合征相关,因此,MMR 检测可以帮助早期筛查出家族中有遗传性癌症风险的人群[12]。

目前检测 MMR 的几种方法中常用的是 MMR-IHC 和 MSI 分析(利用 PCR 法或者 NGS 来检测 DNA 中的微卫星稳定性)。上述方法各有利弊,需要根据患者具体病情以及经济状况进行选择,其中 IHC 普及范围广,灵敏度高,便宜易行,通过检测四种错配修复蛋白即可确定,但有可能漏掉一些其他 MMR 蛋白引起的异常,而且由于肿瘤的异质性,整个肿瘤的评分有可能不一致。PCR 检测的稳定性高,能够更客观地进行评估,但费用较高,且对样本的要求高,需要与正常组织对照方能得出结果。NGS 是三者当中费用最高的,但优势在于对样本的兼容性更好,肿瘤和血液样本均可以完成检测,对于需要同时检测肿瘤驱动基因、治疗相关基因突变的患者更为合适,同时可以减少人为和实验室间的差异[13]。

应用不同 MMR 检测方法时需要注意不同检测结果一致性问题,有研究表明 MMR-IHC 和 MSI 分析的不一致率为 1%~10%,故应该重视检测技术相互验证。其中最常见的不一致的原因是 MSS 状态的 MSH6

表达缺失, 由于 MSH6 和其他 MMR 蛋白之间存在功能重复, 当 MSH6 单独缺失时, MSH2/MSH3 异源二聚体替代 MSH6 部分活化 MMR 系统, 从而保持 MSS 状态[14]。本研究利用 IHC 法检测结果为 dMMR 的 85 例胃癌病例作为研究对象, 对其结果进行复核和 PCR 法的验证, 结果提示 85 例经 PCR 法验证 MSI 胃癌样本中, 有 3 例 dMMR 样本检测为 MSS, 其中有两例为 MLH1/PMS2 表达缺失(图 1), 有一例为 PMS2 表达缺失, 未检测到单独 MSH6 表达缺失, 可能与本研究地域不同、样本量不足等有关。

在临床实践中, IHC 检测和基于 PCR 的 MSI 检测是在胃癌中评估 MMR 状态的两种常用方法, 吻合率和特异度较高, 灵敏度 > 90% [15]。本研究应用多重 PCR 验证吻合率达 96%, 与上述研究结果一致。在其他 MSI 常见肿瘤如结直肠癌和子宫内膜癌中, 利用 IHC 法和 PCR 法检测 MSI 理论上也高度一致[16], 国内外已有研究报道显示子宫内膜癌中使用免疫组化法检测 MMR 蛋白和使用多重 PCR 法检测 MSI 状态, 两者吻合率达 90% 以上[17] [18]。然而, 尽管这两种方法通常很可靠, 但在特定情况下, 可能会出现假阳性或假阴性结果, 必要时可以同时使用 MMR-IHC 和 MSI 分析两种方法来提高 MMR 状态的确定性。另外在有条件时可以考虑追加 NGS 检测。一项包括 645 例上消化道肿瘤的大型研究发现, MSI-NGS 和 MMR-IHC 之间的一致性为 100%, 20 例 MSI 患者中有 19 例(95%)存在至少 1 种 MMR 蛋白表达缺失, 其中 14 例 MLH1 和 PMS2 缺失; 2 例 PMS2 缺失; 2 例 MSH2 和 MSH6 缺失; 1 例 MSH6 缺失, 最后 1 例四种 MMR 蛋白的 5% 肿瘤核染色, 被列入为不确定[19]。由此可见, 利用 NGS 法检测 MSI 状态与 IHC 法或者 PCR 法一致性较高, 而且可能更具独特的优势, 可以实现单瘤种的所有基因变异及泛瘤种的热点基因变异同时检测[20], 同时 Latham 等[21]发现, 在忽略肿瘤类型、家族遗传史等因素下, MSI-NGS 可以帮助确定 Lynch 综合征在实体肿瘤中的患病率和评估胚系基因的状态。

我们发现除了部分 dMMR 胃癌患者经 PCR 法验证为 MSS 外, 还存在少部分 pMMR 胃癌患者经 PCR 法检测为 MSI-H (图 2)。因为 MMR 蛋白 IHC 依赖于染色过程, 存在假阳性问题, 如三分之一的 MLH1 突变是编码非功能蛋白的错义突变, 通过 IHC 可以检测到 MLH1 的表达但实际 MMR 蛋白并无功能, 肿瘤为 MSI [22]。其他少见的原因比如实验室技术问题, 包括 PCR 反应条件等, 这种情况可能需要重新检测或审查实验室技术的标准化程度, 另外还有肿瘤异质性和样本质量问题, 肿瘤组织不同区域可能具有不同的 MMR 状态, 样本质量不佳可能会导致不一致的结果[14]。近期, 美国病理学家协会(CAP)发表 MMR 和 MSI 检测指南, 推荐在面对上述不一致情况时, 首先考虑进行复核, 确保检测结果的准确性, 包括重新进行免疫组化和 PCR 检测不同肿瘤组织, 以验证结果的一致性, 也可以考虑采用其他方法来评估 MMR 状态, 如 NGS 检测。同时推荐对于正在考虑免疫检查点抑制剂治疗的胃食管和小肠癌患者, 应使用 MMR-IHC 和/或 MSI PCR, 优于 NGS 的 MSI 检测[23]。

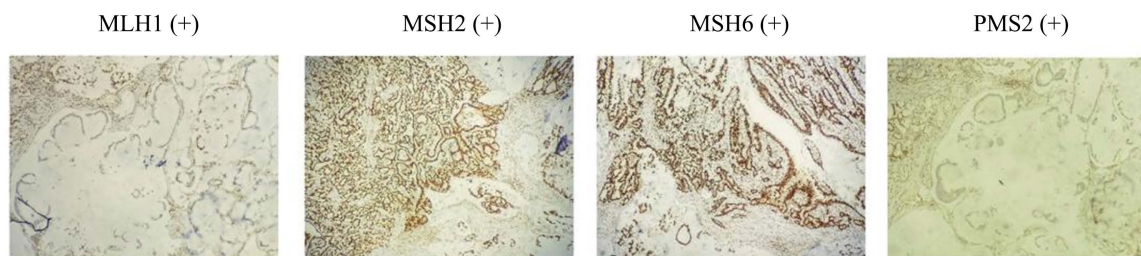


Figure 2. Immunohistochemical staining of mismatch repair protein in representative cases inconsistent pMMR and MSI-H (immunohistochemical staining $\times 100$)

图 2. pMMR 与 MSI-H 不一致代表性病例错配修复蛋白免疫组织化学染色(免疫组织化学染色 $\times 100$)

本研究纳入的 85 例 dMMR 胃癌在远端、老年男性患者中更为常见, Lauren 分型中差异不明显, TNM 分期以 II、III 期为主。与 TCGA 的分类结果以及以往研究报道的微卫星高度不稳定的胃癌的患者常见于

老年女性、Lauren 肠型、TNM 分期较早(多为 I 或 II 期)有一定差异[5] [24] [25]。这种差异很有可能与地理差异有关。同时本研究 dMMR 胃腺癌患者术后未出现复发转移比例为 85.9% (中位随访时间 17 月), 提示总体预后较好, 可能与分期相对较早等因素有关, 还需要延长随访时间和扩大病例数量, 进一步追踪优化生存数据。

MSI-H 型胃癌除了具有独特的临床病理特征以外, 在分子基因表型方面也值得关注。本研究中, 大部分患者呈现出 PD-L1 高表达, 这与之前的研究相似[26], 提示我们 MSI 胃癌微环境中存在多种免疫分子的表达, 使其成为免疫治疗的优势人群, 通过探究 MSI 胃癌与 PD-L1 的相互作用机制, 可以为 MSI-H 型胃癌患者晚期以及围手术期免疫治疗提供更多理论依据。本研究入组的 85 例患者 HER2 基因均无扩增, 结合亚洲癌症研究小组(ACRG)的研究结果, 61 例 MSI-H 胃癌患者均未见 HER2 扩增, HER2 扩增更常见于 MSS 胃癌患者, 提示胃癌 MSI-H 与 HER2 基因扩增可能存在互斥关系, 但因样本量都较少, 所以有待进一步研究。

综上所述, 在本研究中 dMMR 的胃癌 IHC 和多重 PCR 检测结果一致率很高, 可以互为补充, 但仍需要重视检测技术相互验证。dMMR 胃癌有独特的临床病理特征, 尤其是在分子基因表型方面, 评估 MMR 表达状态和基因表型有助于分析患者预后和指导临床治疗。

另外本研究是一项单队列、回顾性研究, 缺少对照数据, 由于条件所限缺少使用 NGS 检测 MSI 状态的结果, 无法进一步分析不同检测手段对胃癌 MSI 状态的影响。下一步我们将扩充样本量并对纳入研究的患者进行二代测序(NGS)以明确 MSI 状态, 并将开展与 MSS 人群临床病理特征进行对照的研究来更好地得出不同 MMR 状态胃腺癌患者的特征及预后情况。同时本研究随访时间较短、随访资料有限, 需要继续跟踪随访, 为胃癌的预后和治疗提供更多的临床数据信息。

基金项目

中关村精准医学基金编号 GXZDH15 题目: PTEN 介导 PI3K/AKT/FOXO3 通路促进自噬效应调控胃癌耐药的机制研究。

参考文献

- [1] Puliga, E., Corso, S., Pietrantonio, F., *et al.* (2021) Microsatellite Instability in Gastric Cancer: Between Lights and Shadows. *Cancer Treatment Reviews*, **95**, Article ID: 102175. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2021.102175>
- [2] Olave, M.C. and Graham, R.P. (2022) Mismatch Repair Deficiency: The What, How and Why It Is Important. *Genes Chromosomes Cancer*, **61**, 314-321. <https://doi.org/10.1002/gcc.23015>
- [3] Trabucco, S.E., Gowen, K., Maund, S.L., *et al.* (2019) A Novel Next-Generation Sequencing Approach to Detecting Microsatellite Instability and Pan-Tumor Characterization of 1000 Microsatellite Instability-High Cases in 67,000 Patient Samples. *The Journal of Molecular Diagnostics*, **21**, 1053-1066. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2019.06.011>
- [4] Cristescu, R., Lee, J., Nebozhyn, M., *et al.* (2015) Molecular Analysis of Gastric Cancer Identifies Subtypes Associated with Distinct Clinical Outcomes. *Nature Medicine*, **21**, 449-456. <https://doi.org/10.1038/nm.3850>
- [5] Cancer Genome Atlas Research Network (2014) Comprehensive Molecular Characterization of Gastric Adenocarcinoma. *Nature*, **513**, 202-209. <https://doi.org/10.1038/nature13480>
- [6] Pietrantonio, F., Miceli, R., Raimondi, A., *et al.* (2019) Individual Patient Data Meta-Analysis of the Value of Microsatellite Instability as a Biomarker in Gastric Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **37**, 3392-3400. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.01124>
- [7] Kim, S.Y., Choi, Y.Y., An, J.Y., *et al.* (2015) The Benefit of Microsatellite Instability Is Attenuated by Chemotherapy in Stage II and Stage III Gastric Cancer: Results from a Large Cohort with Subgroup Analyses. *International Journal of Cancer*, **137**, 819-825. <https://doi.org/10.1002/ijc.29449>
- [8] Cai, Z., Rui, W., Li, S., *et al.* (2020) Microsatellite Status Affects Tumor Response and Survival in Patients Undergoing Neoadjuvant Chemotherapy for Clinical Stage III Gastric Cancer. *Frontiers in Oncology*, **10**, Article No. 614785. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.614785>

- [9] Mandal, R., Samstein, R.M., Lee, K.W., *et al.* (2019) Genetic Diversity of Tumors with Mismatch Repair Deficiency Influences Anti-PD-1 Immunotherapy Response. *Science*, **364**, 485-491. <https://doi.org/10.1126/science.aau0447>
- [10] 李健, 沈琳. 基于KEYNOTE-059/061/062研究评估帕博利珠单抗治疗微卫星高度不稳定的胃癌或胃食管结合部癌的疗效[J]. 中国肿瘤临床, 2023, 50(16): 816-820.
- [11] Tougeron, D., Mouillet, G., Trouilloud, I., *et al.* (2016) Efficacy of Adjuvant Chemotherapy in Colon Cancer with Microsatellite Instability: A Large Multicenter AGEO Study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **108**, djv438. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv438>
- [12] Pedrazzani, C., Corso, G., Velho, S., *et al.* (2009) Evidence of Tumor Microsatellite Instability in Gastric Cancer with Familial Aggregation. *Familial Cancer*, **8**, 215-220. <https://doi.org/10.1007/s10689-008-9231-7>
- [13] 结直肠癌及其他相关实体瘤微卫星不稳定性检测中国专家共识[J]. 临床医学研究与实践, 2019, 4(30): 201.
- [14] Evrard, C., Tachon, G., Randrian, V., *et al.* (2019) Microsatellite Instability: Diagnosis, Heterogeneity, Discordance, and Clinical Impact in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*, **11**, Article No. 1567. <https://doi.org/10.3390/cancers11101567>
- [15] Sun, B.L. (2021) Current Microsatellite Instability Testing in Management of Colorectal Cancer. *Clinical Colorectal Cancer*, **20**, E12-E20. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2020.08.001>
- [16] Svrcek, M., Lascols, O., Cohen, R., *et al.* (2019) MSI/MMR-Deficient Tumor Diagnosis: Which Standard for Screening and for Diagnosis? Diagnostic Modalities for the Colon and Other Sites: Differences between Tumors. *Bulletin du Cancer*, **106**, 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2018.12.008>
- [17] Zhang, X. and Li, J. (2013) Era of Universal Testing of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, **5**, 12-19. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v5.i2.12>
- [18] Stelloo, E., Jansen, A., Osse, E.M., *et al.* (2017) Practical Guidance for Mismatch Repair-Deficiency Testing in Endometrial Cancer. *Annals of Oncology*, **28**, 96-102. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw542>
- [19] Christakis, A.G., Papke, D.J., Nowak, J.A., *et al.* (2019) Targeted Cancer Next-Generation Sequencing as a Primary Screening Tool for Microsatellite Instability and Lynch Syndrome in Upper Gastrointestinal Tract Cancers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **28**, 1246-1251. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-18-1250>
- [20] Mosele, F., Remon, J., Mateo, J., *et al.* (2020) Recommendations for the Use of Next-Generation Sequencing (NGS) for Patients with Metastatic Cancers: A Report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Annals of Oncology*, **31**, 1491-1505. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.07.014>
- [21] Latham, A., Srinivasan, P., Kemel, Y., *et al.* (2019) Microsatellite Instability Is Associated with the Presence of Lynch Syndrome Pan-Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **37**, 286-295. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.00283>
- [22] Zhang, L. (2008) Immunohistochemistry versus Microsatellite Instability Testing for Screening Colorectal Cancer Patients at Risk for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome. Part II. The Utility of Microsatellite Instability Testing. *The Journal of Molecular Diagnostics*, **10**, 301-307. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2008.080062>
- [23] Bartley, A.N., Mills, A.M., Konnick, E., *et al.* (2022) Mismatch Repair and Microsatellite Instability Testing for Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: Guideline from the College of American Pathologists in Collaboration with the Association for Molecular Pathology and Fight Colorectal Cancer. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **146**, 1194-1210. <https://doi.org/10.5858/arpa.2021-0632-CP>
- [24] Mathiak, M., Warneke, V.S., Behrens, H.M., *et al.* (2017) Clinicopathologic Characteristics of Microsatellite Instable Gastric Carcinomas Revisited: Urgent Need for Standardization. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, **25**, 12-24. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000264>
- [25] Bae, Y.S., Kim, H., Noh, S.H., *et al.* (2015) Usefulness of Immunohistochemistry for Microsatellite Instability Screening in Gastric Cancer. *Gut and Liver*, **9**, 629-635. <https://doi.org/10.5009/gnl15133>
- [26] De Rosa, S., Sahnane, N., Tibiletti, M.G., *et al.* (2018) EBV(+) and MSI Gastric Cancers Harbor High PD-L1/PD-1 Expression and High CD8(+) Intratumoral Lymphocytes. *Cancers (Basel)*, **10**, Article No. 102. <https://doi.org/10.3390/cancers10040102>