

微卫星不稳定性与结直肠癌及癌前病变相关性研究进展

郑雪*, 邹佳芮, 李宝华, 张亚楠, 解水杉, 郝俊梅#

滨州医学院烟台附属医院病理科, 山东 烟台
Email: zhengxuexhr@163.com, #ytfyblk@163.com

收稿日期: 2020年10月11日; 录用日期: 2020年11月2日; 发布日期: 2020年11月9日

摘要

结直肠癌(Colorectal cancer)是常见的恶性肿瘤之一, 其发病率逐年增高。结直肠癌的发病原因与发病机制十分复杂, 由错配修复系统(MMR)异常导致的微卫星不稳定性(MSI)与结直肠癌的发生存在着密切联系, 这为结直肠癌诊断与治疗提供了许多思路与方法, 其中不少MSI相关的结直肠癌的诊断与治疗方方法已应用于临床实践中, 特别是Lynch综合症的筛选对于患者及其亲属癌症的早期诊断和治疗至关重要。本文将从MSI及其发生机制、MSI与CRC及癌前病变的相关性和MSI检测方法等方面展开, 就MSI与CRC及癌前病变相关性的研究进展做一综述。

关键词

微卫星不稳定性, 结直肠癌, 错配修复系统, Lynch综合征, 癌前病变

Research Progress on the Relationship between Microsatellite Instability and Colorectal Cancer and Precancerous Lesions

Xue Zheng*, Jiarui Zou, Baohua Li, Ya'nan Zhang, Shuishan Xie, Junmei Hao#

Department of Pathology, Yantai Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Yantai Shandong
Email: zhengxuexhr@163.com, #ytfyblk@163.com

Received: Oct. 11th, 2020; accepted: Nov. 2nd, 2020; published: Nov. 9th, 2020

*第一作者。
#通讯作者。

文章引用: 郑雪, 邹佳芮, 李宝华, 张亚楠, 解水杉, 郝俊梅. 微卫星不稳定性与结直肠癌及癌前病变相关性研究进展[J]. 临床医学进展, 2020, 10(11): 2471-2477. DOI: 10.12677/acm.2020.1011373

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is one of the common malignant tumors, and its incidence is increasing year by year. The pathogenesis and pathogenesis of colorectal cancer are very complicated. The microsatellite instability (MSI) caused by the abnormality of the mismatch repair system (MMR) is closely related to the occurrence of colorectal cancer, which is the diagnosis and treatment of colorectal cancer. Many ideas and methods are provided. Many of the diagnosis and treatment methods of MSI-related colorectal cancer have been applied in clinical practice. In particular, the screening of Lynch syndrome is very important for the early diagnosis and treatment of cancer of patients and their relatives. This article will review the correlation between MSI and CRC and precancerous lesions.

Keywords

Microsatellite Instability, CRC, MSS, Lynch Syndrome, Precancerous Lesions

Copyright © 2020 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

结直肠癌是常见的消化系统肿瘤，是导致癌症死亡的第二大原因。收入水平不同的国家，其发病率也显著不同。结直肠癌多见于西方发达国家，近年来，高收入水平的发达国家结直肠癌发病率已趋于稳定，而发展中国家结直肠癌的发病率却急剧增加。据估计，2018年全球约有180万例新发病例，其发生率在女性中居于第二位，在男性中居于第三位[1]。从发病机制上来看，除了常见的APC, KRAS, TP53, SMAD4等基因突变促进腺瘤癌变外，微卫星不稳定性发挥着一定作用；从发病形式来看，结直肠癌可分为散发性结直肠癌和遗传性结直肠癌。散发性结直肠癌约占75%，遗传性结直肠癌可达25%，其中，遗传性结直肠癌(CRC)综合征占有结直肠癌病例的2%~5%，而Lynch综合征是遗传性结直肠癌(CRC)最常见的原因，在所有结直肠癌中占比约为3%。

2. MSI 及其发生机制

微卫星(MS)是短串联的DNA重复序列，分布于整个基因组的编码和非编码区，含有1~6个碱基。在DNA合成过程中，聚合酶的滑移会导致微卫星的突变，最常见的错误类型是碱基错配和插入缺失。这些错误通常通过DNA错配修复(MMR)系统检测和纠正，由MMR基因的突变或甲基化引起的MMR活性不足(dMMR)可导致基因组水平上的超可变表型，称为微卫星不稳定性(MSI)。

DNA错配修复(MMR)系统中的蛋白包括MLH1, PMS2, MSH2, MSH6, MLH3, MSH3, PMS1和Exo1等，起主要作用的MMR蛋白有：MLH1, MSH2, MSH6和PMS2。当核苷酸复制出现错误时，首先，必需蛋白MSH2与其主要配体MSH6(或MSH3)结合形成异二聚体复合物，识别新复制的DNA中的核苷酸错配；而另一种必需蛋白MLH1与其主要配体PMS2(或PMS1或MLH3)形成的二聚体被招募到MSH2配体复合物中；随后，增殖的细胞核抗原蛋白激活MLH1配体复合物，切除错配的DNA核苷酸；最后，重新合成并连接为正确的DNA序列，完成修复过程[2]。

当四种蛋白质(MLH1、PMS2、MSH2 或 MSH6)中的一种丧失功能,则 MMR 系统功能丧失,继而致使复制保真度丧失和突变积累,这种超突变的特征导致了 dMMR/MSI 的发生[3]。

3. MSI 与结直肠癌及 Lynch 综合征的相关性

散发性结直肠癌的分子发病机制是异质性的,多个基因参与了癌变的过程,较为经典的是 APC 基因突变所导致的一系列致癌过程[4]。此外,约 15%的散发性结直肠癌中存在微卫星不稳定,其中,80%~90%是由 MLH1 基因启动子高甲基化所致的沉默表达引起的,是一种与 CpG 岛甲基化表型相关的现象(CIMP+) [5]。

遗传性结直肠癌中有一部分表现为综合征的形式,主要包括:Lynch 综合征(LS)和某些息肉病综合征:家族性腺瘤性息肉病(FAP),MUTYH 相关性息肉病,Peutz-Jeghers 综合征,青少年息肉病和 Cowden/PTEN 错构瘤综合征等。其中,与 MSI 关系最为密切的是 Lynch 综合征。

Lynch 综合征是由于“MLH1, MSH2, MSH6 和 PMS2”四个 DNA 错配修复基因中的一个或多个发生原发性(胚系)突变而产生的。当这种遗传性突变与正常等位基因的散在性体细胞突变相结合,会导致 DNA 错配修复系统缺陷,从而引起微卫星基因长度变化突变的积累,即所谓的“微卫星不稳定性” [6]。

Vincent [7]及其同事的研究显示:Lynch 综合征相关的微卫星不稳定性结直肠癌的种系突变中,MLH1 占 45%、MSH2 占 45%、MSH6 占比 ≤ 10%,另外,约有 1%~3%的患者为上皮细胞粘附分子(EPCAM)基因缺乏。大多数 LS 病例可归因于 MLH1, MSH2, PMS2 或 MSH6 等四个 MMR 基因中的胚系杂合突变,其中 MLH1 和 MSH2 的胚系缺陷在所有的 LS 突变中占比约为 80%,而 PMS2 和 MSH6 缺陷占 LS 所有突变的 10%~20% [8]。

4. MSI 与结直肠癌前病变的相关性

结直肠癌的发生发展过程是一个连续的多步骤突变过程,绝大多数是由癌前病变进展而来,结直肠癌前病变包括:传统腺瘤、锯齿状病变和炎性肠病等。研究表明:70%的 CRC 来自散发性腺瘤和 FAP 中的腺瘤-癌序列,30%来自其他途径,主要包括 Lynch 综合征中的 MMR 基因缺陷、无蒂锯齿状病变中的 BRAF 突变以及 MUTYH 相关息肉综合征中的基底切除修复基因(BER)缺陷[9]。

在所有结直肠癌的癌前病变中,与 MSI 关系最密切的为锯齿状病变。结直肠锯齿状病变是指肠上皮以锯齿状/星形结构为特征的病变。2019 版 WHO 消化系统肿瘤将锯齿状病变分为:1) 增生性息肉(HP),又分为:微泡型增生性息肉(MVHP)和富于杯状细胞型增生性息肉(GCHP);2) 无蒂锯齿状病变(SSL);3) 无蒂锯齿状病变伴异型增生(SSLD);4) 传统锯齿状腺瘤(TSA);5) 锯齿状腺瘤,未分化。其中,HP,尤其是近端结肠的 MVHP 可能是 SSL 的前期病变;GCHPs 和某些 MVHPs 也可能进展为 TSA。

高达 30%的结直肠癌是由锯齿状致癌通路引起的,锯齿状致癌通路主要涉及 BRAF 和 KRAS 突变两条途径[10]。在癌变过程中,相关基因的 CpG 岛甲基化发挥了重要作用。其中,MLH1 启动子 CpG 岛甲基化是大数目的无蒂锯齿状病变进展为癌的关键步骤,部分不伴异型增生的无蒂锯齿状病变通过 MLH1 甲基化发展为 MLH1 缺陷型无蒂锯齿状病变伴异型增生,最终进展为伴 MSI 的散发性结直肠癌。

Lynch 综合征患者相关腺瘤的基因改变比较复杂,除了 MMR 基因缺陷外还可伴有其它基因(如:APC、CTNNB1 等)的改变,这种复杂性导致了 Lynch 综合征患者结直肠癌发生的分子途径的多样性。

Ahadova [11]等人总结了 Lynch 综合征结直肠癌发生的三种分子途径:1) 发生 MMR 缺陷的 MMR 缺陷型隐窝病灶(MMR-DCF)通过 CTNNB1 基因突变激活 WNT 通路,直接进展为结直肠癌,此为主要的分子途径;2) 发生 MMR 缺陷的 MMR 缺陷型隐窝病灶(MMR-DCF)获得 APC 基因的突变,首先发展为 MMR 缺陷型腺瘤,再进展为结直肠癌。3) MMR 功能完整型腺瘤经过二次打击变为 MMR 缺陷型腺瘤,

最终发展为结直肠癌。

与上述第三种分子途径基本一致的是：Ma [12]等人在 Lynch 综合征相关的一小部分低度腺瘤中发现了 MMR 功能完整型。这可能是因为在 LS 患者出生时等位基因中已有一个发生突变，而此时其 MMR 还能够行使正常功能，由于 APC 等基因的突变导致腺瘤的发生，一旦当其遭受“二次打击”时，另一 MMR 等位基因也发生突变，此时 MMR 缺陷。因此，在这一部分患者中，Ma 等认为 MMR 缺陷是晚期腺瘤的特征，是从腺瘤发展到癌的早期步骤。

Parag D. Dabir [13]等人通过对 LS 患者的腺瘤进行荟萃分析和系统评价，发现了腺瘤中存在 DNA 错配修复缺陷(dMMR)和微卫星不稳定性(MSI)的危险因素，在 LS 队列中，通过对 dMMR/MSI 筛查常规腺瘤可检测出 69.5%的 LS 患者，但目前尚不明确将其用于筛查 Lynch 综合征(LS)患者是否可行。

5. MSI 检测方法

MSI 的检测方法主要有免疫组化技术(IHC)、聚合酶链反应技术(PCR)和二代测序等技术方法。

免疫组织化学法(IHC)：IHC 是通过检测细胞中错配修复蛋白的表达，对标本的 MSI 状态进行推测，其检测结果与 MSI 高度一致。临床工作中常联合使用 MLH1、MSH2、PMS2 和 MSH6 等抗体来进行检测。判读标准如下：在正常上皮细胞、淋巴细胞、间质细胞等对照组织中等-强阳性的背景下，只要 MMR 四个蛋白在肿瘤细胞核着色即可判为 MMR 蛋白阳性表达。当四个 MMR 蛋白均阳性表达时，可判为微卫星稳定(MSS)；当四个 MMR 蛋白只有一个表达缺失，可判为低度微卫星不稳定(MSI-L)；当四个 MMR 蛋白中有 2 个或 2 个以上发生表达缺失时，判为高度微卫星不稳定(MSI-H)。

聚合酶链反应(PCR)：PCR 是通过荧光引物和毛细管电泳对微卫星重复体进行扩增，并对正常细胞与肿瘤细胞中的扩增结果进行比较。国家癌症研究所推荐使用 BAT-25、BAT-26 两个单核苷酸标志物位点和 D2S123、D5S346 和 D17S250 三个双核苷酸标志物位点。然而，目前广泛应用的标志物组合为单核苷酸 BAT-25、BAT-26、NR-21、NR24、NR22 或 NR27。当标志物均未发现异常，则定义为 MSS；当标本 < 40%的微卫星标志物异常时，则定义为 MSI-L；当标本 \geq 40%的微卫星标志物异常时，则定义为 MSI-H。

目前，Hsp110 T17E-ice-COLD-PCR 检测方法是常规 PCR 技术的一项重大改进。该方法使用了单核苷酸 DNA 重复序列 Hsp110T17 以及一种与野生基因型互补的 LAN 阻滞探针[14]。与使用 HT17 的标准 PCR 相比，该检测可显著提高 MSI 检测的准确性。

基于二代高通量测序(NGS)技术可分为两类：突变负担法和读取计数分布法。突变负担法需要数万个昂贵的基因测序模板，甚至需要进行全基因组的分析，因为小数量的模板计算可能会偏离其真实价值，因此在临床实践中受到诸多限制。相比之下，基于读取计数分布法的 MSI 分析更适于临床实践，它不仅显示出与基因检测的高度一致性，而且，它与更便宜、更高效的测序模板具有兼容性[15]。新一代测序技术的不断进展使得识别人类 MSI 肿瘤的所有基因改变成为了可能，为 MSI 肿瘤的筛查提供了新的方法。

6. Lynch 综合征相关性结直肠癌

Lynch 综合征曾被命名为遗传性非息肉病性结直肠癌(HNPCC)，主要是由胚系突变引起的，是一种常染色体显性遗传病。Lynch 综合征(LS)结直肠癌的发生主要是因为 DNA 错配修复(MMR)系统的基因缺陷，其中多数为 MLH1、MSH2、MSH6 和 PMS2 等 DNA 错配修复(MMR)基因的胚系突变。MSH2 和 MLH1 对于自身异二聚体伴侣的稳定性是必需的，造成必需蛋白 MSH2 或 MLH1 丢失的突变分别导致 MSH6 和 PMS2 的降解与丢失，然而，MSH6 或 PMS2 的有害突变将只导致 MSH6 或 PMS2 的自身的丢失[16]。另外，约有 3%的 LS 是由于 MSH2 上游的 EPCAM 基因 3'末端外显子缺失导致 MSH2 基因启动

子高甲基化所致。此外,常规方法无法检测到的胚系 MSH2 外显子易位,成为 LS 的另一个原因[17]。这些胚系突变进而导致 MMR 蛋白水平降低,从而加速新生体细胞突变的发生或损害 MMR 基因的其他功能,如凋亡信号,从而增加恶性肿瘤的风险[18]。

二次打击[19]学说认为:所有的肿瘤至少都会经历两次突变才会向肿瘤转变。遗传性结直肠癌患者由于出生时已携带一个突变的等位基因,再经历一次基因突变便会发生癌变,相对于出生无等位基因突变的散发性结直肠癌患者更易发生恶性肿瘤。各项研究表明, Lynch 综合征患者易诱发各种癌症,患者终生 CRC 以及胃癌、肝癌、胰腺癌、胆道癌、小肠癌、泌尿道癌、脑癌和皮肤癌的风险均增加。其中, CRC 的患病率最高,达到了 52%~82%;此外,女性约有 4%~12%的概率患卵巢癌及 25%~60%的概率患子宫内膜癌[20]。因此,了解 Lynch 综合征与 MSI 的相关性,筛查 Lynch 综合征患者,及早进行监测与干预,一定程度上可预防癌症的发生。

LS 的筛查方法经历了不断的改进。传统上,获得准确的家族史可以有针对性的识别 LS 的风险人群。目前较为流行的指南方法包括 Amsterdam II 标准和修订后的 Bethesda 指南: Amsterdam II 标准对 LS 诊断的敏感性和特异性分别为 22%和 98%,而修订后的 Bethesda 指南由于纳入了切除癌的组织病理学特征,诊断的灵敏度提高到了 82%,而特异性为 77% [21]。

目前, LS 最为准确的筛查方法是对错配修复基因进行测序。但是,由于基因测序价格昂贵,而免疫组化具有价格低廉,操作简单快速的特点,因此,在实际工作中,首先应用免疫组化检测错配修复蛋白进行初步筛查。当样本为 MSS 时,患者不可能患林奇综合征,不必进行基因测序筛查 Lynch 综合征;当样本为 MSI-L 时,绝大部分患者不可能患有林奇综合征;当样本确定为 MSI-H 时,患者患有林奇综合征的可能性极高,需进一步进行林奇综合征的筛查诊断。

绝大多数散发性 MSI 相关性结直肠癌是由于 MLH1 启动子区域甲基化造成的,并且这部分患者常伴随 BRAF (通常为 V600E)的突变,而 Lynch 综合征患者大多数未发现 BRAF 的突变[22],仅有 1%的 MLH1 缺失的 LS 患者为 BRAF 基因 V600E 突变[23]。近年来,由于 BRAF V600E 抗体的问世,对 BRAF V600E 的检测变得迅速而快捷[24]。因此,对 MLH1 蛋白缺失患者进行 MLH1 启动子甲基化检测和 BRAF V600E 免疫组化检测可将 LS 与散发性 MSI-H 结肠癌区分开来。二代高通量测序(NGS)检测标准中已明确指出: MSI 阳性,且 BRAF V600E 和 MHL1 甲基化检测阴性的患者适合进行 NGS 的检测[25]。

7. 研究展望

结直肠癌的发病原因和发病机制较为复杂,而微卫星不稳定的发现进一步增加了人们对结直肠癌的认识,目前,微卫星的检测在结直肠癌中较为普遍,微卫星的状态可以预测免疫治疗敏感性,指导临床治疗,并能预测患者预后。

目前, LS 患者的检测主要还是依靠传统的临床定义,但是为了识别这些患者,越来越多地提倡对新诊断的结直肠癌进行 MMR/MSI 检测[26],这种识别对于正确治疗和监视个人及其家人至关重要。许多国家已经实施了基于人群的肠癌筛查[27],通过筛查 LS 并内镜切除高级别腺瘤可以预防 CRC。

研究表明: DNA 错配修复缺陷(dMMR)是 LS 相关致癌的早期事件,基于此,对腺瘤的 dMMR/MSI 检测将有助于 LS 的筛查。多项研究[28]表明 dMMR/MSI 检测腺瘤在 LS 的诊断中具有一定价值,但是,由于研究规模较小且腺瘤中 dMMR/MSI 发病率较低,这些研究尚未达成共识。

因此,明确结直肠癌及腺瘤等癌前病变的微卫星状态、BRAF 等基因的表达情况,寻找它们之间的相关性,将有助于 LS 的筛查,对结直肠癌的发生进行提前干预,这对于癌症的预防及治疗具有重要价值。

参考文献

- [1] Keum, N. and Giovannucci, E. (2019) Global Burden of Colorectal Cancer: Emerging Trends, Risk Factors and Pre-

- vention Strategies. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, **16**, 713-732. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0189-8>
- [2] Sinicrope, F.A. and Sargent, D.J. (2012) Molecular Pathways: Microsatellite Instability in Colorectal Cancer: Prognostic, Predictive, and Therapeutic Implications. *Clinical Cancer Research*, **18**, 1506-1512. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1469>
- [3] Evrard, C., Tachon, G., Randrian, V., *et al.* (2019) Microsatellite Instability: Diagnosis, Heterogeneity, Discordance, and Clinical Impact in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*, **11**, 1567. <https://doi.org/10.3390/cancers11101567>
- [4] Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Pradilla Dieste, A., *et al.* (2017) Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**, 197. <https://doi.org/10.3390/ijms18010197>
- [5] Battaglin, F., Naseem, M., Lenz, H., *et al.* (2018) Microsatellite Instability in Colorectal Cancer: Overview of Its Clinical Significance and Novel Perspectives. *Clinical Advances in Hematology & Oncology*, **16**, 735.
- [6] Seth, S., Ager, A., Arends, M.J., *et al.* (2018) Lynch Syndrome—Cancer Pathways, Heterogeneity and Immune Escape. *The Journal of Pathology*, **246**, 129-133. <https://doi.org/10.1002/path.5139>
- [7] Jonchere, V., Marisa, L., Greene, M., *et al.* (2018) Identification of Positively and Negatively Selected Driver Gene Mutations Associated with Colorectal Cancer with Microsatellite Instability. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, **6**, 277-300. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2018.06.002>
- [8] Chen, E., Xu, X. and Liu, T. (2018) Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer and Cancer Syndromes: Recent Basic and Clinical Discoveries. *Journal of Oncology*, **2018**, 3979111-3979135. <https://doi.org/10.1155/2018/3979135>
- [9] Ahmed, M. (2020) Colon Cancer: A Clinician's Perspective in 2019. *Gastroenterology Research*, **13**, 1-10. <https://doi.org/10.14740/gr1239>
- [10] O'Brien, M.J., Zhao, Q. and Yang, S. (2015) Colorectal Serrated Pathway Cancers and Precursors. *Histopathology*, **66**, 49-65. <https://doi.org/10.1111/his.12564>
- [11] Ahadova, A., Gallon, R., Gebert, J., *et al.* (2018) Three Molecular Pathways Model Colorectal Carcinogenesis in Lynch Syndrome. *International Journal of Cancer*, **143**, 139-150. <https://doi.org/10.1002/ijc.31300>
- [12] Ma, H., Brosens, L.A.A., Offerhaus, G.J.A., *et al.* (2018) Pathology and Genetics of Hereditary Colorectal Cancer. *Pathology*, **50**, 49-59. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2017.09.004>
- [13] Dabir, P.D., Bruggeling, C.E., van der Post, R.S., *et al.* (2020) Microsatellite Instability Screening in Colorectal Adenomas to Detect Lynch Syndrome Patients? A Systematic Review and Meta-Analysis. *European Journal of Human Genetics*, **28**, 277-286. <https://doi.org/10.1038/s41431-019-0538-7>
- [14] How-Kit, A., Daunay, A., Buhard, O., *et al.* (2018) Major Improvement in the Detection of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer Using HSP110 T17 E-Ice-COLD-PCR. *Human Mutation*, **39**, 441-453. <https://doi.org/10.1002/humu.23379>
- [15] Zhu, L., Huang, Y., Fang, X., *et al.* (2018) A Novel and Reliable Method to Detect Microsatellite Instability in Colorectal Cancer by Next-Generation Sequencing. *The Journal of Molecular Diagnostics*, **20**, 225-231. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.11.007>
- [16] Paredes, S.R., Chan, C. and Rickard, M. (2020) Immunohistochemistry in Screening for Heritable Colorectal Cancer: What to Do with an Abnormal Result. *ANZ Journal of Surgery*, **90**, 702-707. <https://doi.org/10.1111/ans.15586>
- [17] Rhees, J., Arnold, M. and Boland, C.R. (2014) Inversion of Exons 1-7 of the MSH2 Gene Is a Frequent Cause of Unexplained Lynch Syndrome in One Local Population. *Familial Cancer*, **13**, 219-225. <https://doi.org/10.1007/s10689-013-9688-x>
- [18] Mäki-Nevala, S., Valo, S., Ristimäki, A., *et al.* (2019) DNA Methylation Changes and Somatic Mutations as Tumorigenic Events in Lynch Syndrome-Associated Adenomas Retaining Mismatch Repair Protein Expression. *EBioMedicine*, **39**, 280-291. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.12.018>
- [19] Bandinelli, L.P., Levandowski, M.L. and Grassi-Oliveira, R. (2017) The Childhood Maltreatment Influences on Breast Cancer Patients: A Second Wave Hit Model Hypothesis for Distinct Biological and Behavioral Response. *Medical Hypotheses*, **108**, 86-93. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2017.08.007>
- [20] Yılmaz, A., Mirili, C., Bilici, M., *et al.* (2020) Colorectal Cancer in Lynch Syndrome Associated with PMS2 and MSH6 Mutations. *International Journal of Colorectal Disease*, **35**, 351-353. <https://doi.org/10.1007/s00384-019-03454-4>
- [21] Ladabaum, U., Wang, G., Terdiman, J., *et al.* (2011) Strategies to Identify the Lynch Syndrome among Patients with Colorectal Cancer: A Cost-Effectiveness Analysis. *Annals of Internal Medicine*, **155**, 69-79. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-155-2-201107190-00002>
- [22] Parsons, M.T., Buchanan, D.D., Thompson, B., *et al.* (2012) Correlation of Tumour BRAF Mutations and MLH1 Me-

- thylation with Germline Mismatch Repair (MMR) Gene Mutation Status: A Literature Review Assessing Utility of Tumour Features for MMR Variant Classification. *Journal of Medical Genetics*, **49**, 151-157. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2011-100714>
- [23] 白雪杉, 林国乐. V1 版《NCCN 结直肠癌诊治指南》更新要点解析[J]. 中国全科医学, 2019, 22(33): 4031-4034.
- [24] Capper, D., Voigt, A., Bozukova, G., *et al.* (2013) BRAF V600E-Specific Immunohistochemistry for the Exclusion of Lynch Syndrome in MSI-H Colorectal Cancer. *International Journal of Cancer*, **133**, 1624-1630. <https://doi.org/10.1002/ijc.28183>
- [25] Kašubová, I., Holubeková, V., Janíková, K., *et al.* (2018) Next Generation Sequencing in Molecular Diagnosis of Lynch Syndrome—A Pilot Study Using New Stratification Criteria. *Acta Medica (Hradec Kralove, Czech Republic)*, **61**, 98-102. <https://doi.org/10.14712/18059694.2018.125>
- [26] Leenen, C.H.M., Goverde, A., de Bekker-Grob, E.W., *et al.* (2016) Cost-Effectiveness of Routine Screening for Lynch Syndrome in Colorectal Cancer Patients Up to 70 Years of Age. *Genetics in Medicine*, **18**, 966-973. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.206>
- [27] Navarro, M., Nicolas, A., Ferrandez, A., *et al.* (2017) Colorectal Cancer Population Screening Programs Worldwide in 2016: An Update. *World Journal of Gastroenterology*, **23**, 3632. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i20.3632>
- [28] Mendelsohn, R.B., Herzog, K., Shia, J., *et al.* (2017) Molecular Screening for Lynch Syndrome in Young Patients with Colorectal Adenomas. *Clinical Colorectal Cancer*, **16**, 173-177. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2017.01.002>