

· 论著 ·

# MLH1和CK20在结直肠癌前病变与结直肠癌中的表达及临床意义

周德祥\*

天津市滨海新区中医医院(天津中医药大学第四附属医院)病理科 (天津 300451)

**【摘要】目的** 探讨错配修复蛋白MLH1及细胞角蛋白20(CK20)在结直肠癌前病变与结直肠癌中的表达及临床意义。**方法** 选取2019年1月至2020年12月在我院经结肠镜切除直径0.5cm以上的结直肠病变组织学标本80例及2016年1月至2020年12月确诊的结直肠癌(CRC)患者肿瘤组织标本48例,采用免疫组化方法检测MLH1及CK20在结直肠癌前病变与CRC组织标本中的表达情况,分析MLH1和CK20与结直肠癌前病变及CRC临床病理特征的相关性。**结果** 在80例结直肠锯齿状病变组织中,增生性息肉(HP)39例、无蒂锯齿状息肉或腺瘤(SSA/P)16例、传统锯齿状腺瘤(TSA)25例。在HP、SSA/P和TSA中,MLH-1表达率分别为97.4%、75.0%和64.0%,CK20的表达率分别为20.5%、56.2%和72.0%。在48例CRC组织标本中,MLH1表达缺失率和CK20的阳性表达率分别35.4%和89.6%。MLH1蛋白表达缺失与性别、年龄、淋巴结转移以及TNM分期无关,与分化程度有关;CK20的表达水平与性别、年龄以及有无淋巴结转移无关,与分化程度有关。**结论** MLH1和CK20在结直肠癌前病变与结直肠癌中的表达对于判断疾病病情、治疗和预后具有重要的价值。

**【关键词】** 结直肠癌前病变; 结直肠癌; MLH1; CK20; 临床病理特征

**【中图分类号】** R735.3

**【文献标识码】** A

**DOI:**10.3969/j.issn.1009-3257.2021.05.030

## Expression and Significance of Mismatch Repair Proteins MLH1 and CK20 in Colorectal Precancerous Lesions and Colorectal Cancer

ZHOU De-xiang\*

Department of Pathology, Tianjin Binhai New District Traditional Chinese Medicine Hospital (the Fourth Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine), Tianjin 300451, China

**Abstract: Objective** To discuss the expression and significance of the mismatch repair proteins (MLH1) and cytokeratin 20(CK20) in colorectal precancerous lesions and colorectal cancer (CRC). **Methods** A total of 80 patients with colorectal precancerous lesions from our hospital from January 2019 to December 2020 and 48 patients with CRC who were operated in our hospital from January 2016 to December 2020 were selected. The expression levels of MLH1 and CK20 in colorectal precancerous lesions and CRC were detected by immunohistochemical method, and the association was analyzed between MLH1, CK20, and clinicopathological characteristics. **Results** Among 80 colorectal precancerous lesions patients, there were 39 cases with hyperplastic polyps (HP), 16 cases with sessile serrated polyps or adenomas (SSA/P), and 25 cases with traditional serrated adenomas (TSA). The expression levels of MLH1 in HP, SSA/P and TSA were 97.4%, 75.0%, 64.0%, and the expression levels of CK20 in HP, SSA/P, and TSA were 20.5%, 56.2%, 72.0%. Among 48 CRC patients, the expression loss level of MLH1 was 35.4%, and the positive expressions level of CK20 was 89.6%. MLH1 was not related to gender, age, lymph node metastasis, and TNM staging, but related to the degree of differentiation. CK20 was not related to gender, age, and lymph node metastasis, but related to the degree of differentiation. **Conclusion** These results suggest that the expression of MLH1 and CK20 have an important value in evaluating the condition, treatment, and prognosis in colorectal precancerous lesions and CRC.

**Keywords:** Colorectal Precancerous Lesions; Colorectal Cancer; MLH1; CK20; Clinicopathologic Features

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是消化道常见的一种恶性肿瘤,近年来发现其发病率和死亡率均出现上升趋势<sup>[1-2]</sup>。2018年流行病学学数据显示,欧洲新发结直肠癌病例约为38.8万例,结直肠癌相关死亡病例约为17.4万例,而我国每年约有超过25万例新增病例和14万例结直肠癌相关死亡病例<sup>[3]</sup>。2019年,我国国家癌症中心公布的全国癌症统计数据显示,在所有恶性肿瘤里,CRC的发病率排列在第3位,死亡率排列在第5位,严重危害着公众的生命健康<sup>[4]</sup>。

目前,结直肠癌的发生主要以正常黏膜-息肉-腺瘤伴癌前病变-癌变演变进程为主,这种演变主要分为增生性息肉(hyperplastic poly, HP)、无蒂锯齿状息肉或腺瘤(sessile serrate adenoma/poly, SSA/P)、传统锯齿状腺瘤(traditional serrated adenoma, TSA)和锯齿状腺癌(serrated adenocarcinoma, SA)<sup>[5]</sup>。其中,无蒂锯齿状息肉

或腺瘤和传统锯齿状腺瘤可能通过锯齿状通路发生癌变,这种癌变与错配修复基因(MMR)缺陷导致的微卫星不稳定(MSI)有较大的相关性。微卫星不稳定主要与MMR蛋白表达异常相关,研究显示错配修复蛋白MLH1是结直肠癌发生的主要相关蛋白,如果表达异常会使得结直肠癌的患病概率大大提高<sup>[6]</sup>。

此外,细胞角蛋白20(CK20)是一种中间丝蛋白,其表达具有严格的上皮组织特异性,可能与淋巴结转移和肿瘤浸润程度有一定的关系,有研究者提出CK20可作为检测结直肠癌的一种肿瘤分子标志物<sup>[7]</sup>。CRC早期诊断和判断预后的分子指标对于提高CRC患者的生存率、改善患者生存质量以及降低复发风险都至关重要。本研究采用免疫组化方法检测结直肠癌癌前病变组织样本以及结直肠癌组织样本中MLH1和CK20的表达,分析其在结直肠癌中的表达及临床病理特征,同时也为早期发现高危患病人群以及结直肠癌的临床治疗和预后

**【第一作者】** 周德祥,男,主治医师,主要研究方向:消化,乳腺病理诊断。E-mail: kangtao12022@163.com

**【通讯作者】** 周德祥

提供相关科学依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集2019年1月至2020年12月我院经手术完整切除的结直肠癌病变组织学标本,根据2010版WHO消化系统肿瘤分类标准进行重新分类<sup>[5]</sup>,由资深病理医生对于标本共同进行确认,最终筛选出锯齿状病变组织样本80例,其中男性和女性分别为50例和30例,年龄25~81岁,中位年龄62岁。根据组织学分类,其中增生性息肉(HP)、无蒂锯齿状息肉或腺瘤(SSA/P)和传统锯齿状腺瘤(TSA)分别为39例、16例和25例,并收集结肠镜检及相关临床资料。

此外还收集了我院2016年1月至2020年12月确诊的结直肠癌患者肿瘤组织标本48例,其中男性和女性分别为27例和21例,年龄48~83岁,中位年龄62岁。每个患者病理切片均经病理医生确诊为CRC,其中高分化、中分化和低分化CRC患者分别为8例、31例和9例;临床分期:Ⅰ期患者有5例,Ⅱ期患者有23例,Ⅲ期患者有16例,Ⅳ期患者有4例,所有患者的临床资料保留均较完整。

**1.2 方法** 所有标本均由10%中性福尔马林固定,石蜡包埋,采用免疫组化MaxVision二步法检测样本中MLH1和CK20的表达水平。对于石蜡标本切片,采用血清室温封闭,然后分别加入MLH和CK20一抗孵育,再加二抗孵育,上述每个步骤均用PBS清洗3次,每次清洗5min,之后通过DAB显色,苏木素复染,然后常规脱水、透明、封片,最后进行观察。MLH1抗体试剂购自福州迈新公司,CK20抗体试剂购自中杉金桥生物。

**1.3 结果判定** 根据染色强度和阳性细胞率分析MLH1和CK20表达水平。染色判定标准为:无着色,阴性0分;浅黄色1分;棕黄色2分;棕褐色,阳性3分。阳性细胞百分率的判定标准为:≤10%(0分),10%~25%(1分),25%~50%(2分),50%~75%(3分),>75%(4分)。阳性表达的判断:染色评分与阳性细胞数相乘≥2分。

**1.4 统计学分析** 运用SPSS 22.0统计软件对研究结果进行分析,计数资料以率(%)表示,采用 $\chi^2$ 检验。设 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 结直肠癌前病变组织中MLH1蛋白表达率** 在80例结直肠癌前变组织标本中,增生性息肉(HP)、无蒂锯齿状息肉或腺瘤(SSA/P)和传统锯齿状腺瘤(TSA)分别为39例、16例和25例。MLH-1蛋白阳性表达位于细胞核,在HP、SSA/P和TSA中错配修复基因MLH-1蛋白表达率在分别为97.4%(38/39)、75.0%(12/16)和64.0%(16/25),见表1。

表1 结直肠癌前病变组织中错配修复基因MLH1的蛋白表达情况

| 类型         | 例数 | MLH1[n(%)] |         |
|------------|----|------------|---------|
|            |    | 表达         | 缺失      |
| 增生性息肉      | 39 | 38(97.4)   | 1(2.6)  |
| 无蒂锯齿状息肉或腺瘤 | 16 | 12(75.0)   | 4(25.0) |
| 传统锯齿状腺瘤    | 25 | 16(64.0)   | 9(36.0) |

**2.2 结直肠癌前病变组织中CK20蛋白表达率** 如表2所示,在HP、SSA/P和TSA组织样本中,CK20的表达的阳性率分别为20.5%(8/39)、56.2%(9/16)和72.0%(18/25),呈逐渐上升趋势。

表2 结直肠癌前病变组织中CK20的蛋白表达情况

| 类型         | 例数 | CK20[n(%)] |          |
|------------|----|------------|----------|
|            |    | 阳性         | 阴性       |
| 增生性息肉HP    | 39 | 8(20.5)    | 31(79.5) |
| 无蒂锯齿状息肉或腺瘤 | 16 | 9(56.2)    | 7(43.8)  |
| 传统锯齿状腺瘤    | 25 | 18(72.0)   | 7(28.0)  |

**2.3 CRC组织中MLH1表达率与临床病理特征的关系** 对48例CRC组织标本通过免疫组化方法对MLH1蛋白进行检测,结果显示有17例患者存在MLH1蛋白表达缺失,其中男性患者9例,女性患者8例,MLH1整体蛋白表达缺失率为35.4%(17/48)。在CRC组织中,患者性别、年龄、淋巴结转移以及TNM分期对MLH1蛋白表达缺失没有影响( $P>0.05$ ),MLH1蛋白表达缺失主要与分化程度有关。在低分化腺癌患者中,MSH1表达缺失明显高于中分化和高分化腺癌患者( $P<0.05$ ),表明细胞分化程度较低的结直肠癌患者更易发生MLH1蛋白表达缺失,见表3。

表3 在结直肠癌组织中MLH1的表达情况

| 临床特征  |         | 例数 | MLH1[n(%)] |          | P      |
|-------|---------|----|------------|----------|--------|
|       |         |    | 缺失         | 表达       |        |
| 性别    | 男       | 27 | 9(33.3)    | 18(66.7) | 0.859  |
|       | 女       | 21 | 8(38.1)    | 13(61.9) |        |
| 年龄    | <60     | 26 | 9(34.6)    | 17(65.4) | 0.747  |
|       | ≥60     | 22 | 8(36.4)    | 14(63.6) |        |
| 分化程度  | 高分化     | 8  | 2(25.0)    | 6(75.0)  | <0.001 |
|       | 中分化     | 31 | 10(32.3)   | 21(67.7) |        |
|       | 低分化     | 9  | 5(55.6)    | 4(44.4)  |        |
| 淋巴结转移 | 有       | 16 | 6(37.5)    | 10(62.5) | 0.761  |
|       | 无       | 32 | 11(34.4)   | 22(65.6) |        |
| TNM分期 | I ~ II期 | 28 | 9(32.1)    | 19(67.9) | 0.296  |
|       | III~IV期 | 20 | 8(40.0)    | 13(60.0) |        |

**2.4 CRC组织中CK20表达率与临床病理特征的关系** 在收集的48例CRC患者组织标本中,经检测发现CK20的阳性表达率为89.6%(43/48),患者性别、年龄以及有无淋巴结转移不影响CK20的表达水平( $P>0.05$ ),CK20的表达水平主要与分化程度有关。低分化CRC患者CK20表达水平为100%(9/9),中分化CRC患者CK20表达水平为90.3%(28/31),高分化的CRC患者CK20表达水平为75%(6/8),差异具有统计学意义。见表4。

表4 在结直肠癌组织中CK20的表达情况

| 临床特征  | 例数      | CK20[n(%)] |         | P     |
|-------|---------|------------|---------|-------|
|       |         | 阴性         | 阳性      |       |
| 性别    | 男       | 27         | 3(11.1) | 0.894 |
|       | 女       | 21         | 2(9.5)  |       |
| 年龄    | <60     | 26         | 3(11.5) | 0.921 |
|       | ≥60     | 22         | 2(9.1)  |       |
| 分化程度  | 高分化     | 8          | 2(25)   | 0.013 |
|       | 中分化     | 31         | 3(9.7)  |       |
|       | 低分化     | 9          | 0(0)    |       |
| 淋巴结转移 | 有       | 16         | 2(12.5) | 0.371 |
|       | 无       | 32         | 3(9.4)  |       |
| TNM分期 | I~II期   | 28         | 3(10.7) | 0.889 |
|       | III~IV期 | 20         | 2(10.0) |       |

### 3 讨论

结直肠癌是胃肠道系统中的一种异质性恶性肿瘤，它的发生与多种因素，比如生活方式(吸烟、饮酒等)、饮食结构等生活因素以及环境因素、遗传因素等有关，这些因素均可引起多基因的改变。正常人体内都有着一套非常完善的DNA错配修复体系，它可以防止DNA在复制的过程中出现异常或者缺失，从而保证细胞基因组的稳定性和完整性<sup>[8-9]</sup>。然而，当错配修复蛋白出现突变或缺失时，细胞内的DNA序列会出现增多或丢失，从而引起细胞出现突变或癌变<sup>[10]</sup>。

结直肠癌变中的锯齿状癌变通路是近年来提出的一条新的癌变途径，在锯齿状癌变通路中，错配修复(MMR)基因表达缺失发挥着重要的作用<sup>[11]</sup>。错配修复基因包括MLH1、MSH2、MSH6、PMS2等，其中MLH1发挥主要的作用。近年来在结直肠癌中关于MLH-1的研究逐渐开始增多，而在结直肠癌变中的研究却并不多。本研究通过免疫组化方法检测了增生性息肉、无蒂锯齿状息肉或腺瘤和传统锯齿状腺瘤组织中MLH-1蛋白的表达情况，发现在增生性息肉、无蒂锯齿状息肉或腺瘤和传统锯齿状腺瘤组织中MLH1表达率分别为97.4%、75.0%和64.0%，呈现出逐渐降低的趋势，故推测MLH-1基因的表达与结直肠癌锯齿状癌变通路具有一定的相关性，随着癌变程度的加剧，MLH1缺失率依次递增。此外，本研究还对48例CRC组织标本进行MLH1蛋白表达的检测，结果发现有17例患者存在MLH1的表达缺失，MLH1蛋白表达缺失率为35.4%。在本研究结果中发现，患者性别、年龄、淋巴结转移以及TNM分期对MLH1蛋白表达缺失没有影响( $P>0.05$ )，MLH1蛋白表达缺失主要与分化程度有关( $P>0.05$ )，分化程度越低，越容易出现MLH1蛋白表达的缺失。

据文献报道，早期结直肠癌患者的5年生存率可以达到将近90%，但多数结直肠癌患者确诊时已到中晚期，对于晚期的患者，生存率显著下降<sup>[12]</sup>。因此，鉴别结直肠癌前病变是早期预防结直肠癌的关键，特别是早期识别可以发展为癌的

无蒂锯齿状息肉或腺瘤和传统锯齿状腺瘤更加重要，继而在病变发生发展的早期阶段进行干预，从而达到早期预防和治疗的目的。CK20是分布于上皮细胞中间纤维丝的多肽，当细胞出现恶化增殖时，CK20呈现高强度的表达状态。本研究结果显示，在无蒂锯齿状息肉或腺瘤和传统锯齿状腺瘤组织样本中，CK20表达率明显较高；而在增生性息肉中，CK20的表达率相对较低，提示增生性息肉与无蒂锯齿状息肉或腺瘤和传统锯齿状腺瘤具有不同的分子生物学进程，无蒂锯齿状息肉或腺瘤和传统锯齿状腺瘤有很大可能向肿瘤方面演变。在48例CRC患者组织标本中，CK20的阳性表达率为89.6%，在分化程度较高的CRC患者组织中CK20的表达率均较高，这提示CK20可能为结直肠癌发病的关键基因之一，参与了肿瘤发生、发展、侵袭的整个过程。

综上所述，检测错配修复蛋白MLH1和CK20在结直肠癌前病变与结直肠癌中的表达对于判断疾病进展，疾病病情、疾病治疗和疾病预后方面都有很重要的价值。通过早期筛查错配修复蛋白MLH1及CK20的表达情况，评估患者的病情状况，降低癌变的发生，改善患者预后。

### 参考文献

- [1] 周宾经, 秦宏兴, 刘庆文, 等. 同时性与异时性结直肠癌肝内微转移的危险因素分析[J]. 罕少疾病杂志, 2018, 25(4): 25-27, 88.
- [2] Arnold M, Sierra M S, Laversanne M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality[J]. Gut, 2017, 66(4): 683-691.
- [3] Chen L, Chen G, Zheng X, et al. Expression status of four mismatch repair proteins in patients with colorectal cancer: clinical significance in 1238 cases[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2019, 12(10): 3685-3699.
- [4] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.
- [5] Hamilton S R, Bosman F T, Boffetta P, et al. Carcinoma of the colon and rectum [A] WHO classification of tumors of the digestive system Pathology and genetics tumours and digestive system[M]. 4th ed, Lyon: IARCpress, 2010: 134-146, 160-165.
- [6] Ramchander N C, Ryan NAJ, Crosbie E J, et al. Homozygous germ-line mutation of the PMS2 mismatch repair gene: a unique case report of constitutional mismatch repair deficiency (CMMRD) [J]. BMC Med Genet, 2017, 18(1): 40.
- [7] 李玉洁, 曹立宇, 蔡永萍, 等. 联合检测CK7、CK20和SATB2在卵巢原发性黏液腺癌和转移性结直肠腺癌中的表达及鉴别意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 34(4): 399-403.
- [8] 揭育添, 吴莹, 郝金华, 等. 多层螺旋CT灌注成像在结直肠癌术后评价的应用探讨[J]. 罕少疾病杂志, 2014, 21(2): 43-45.
- [9] Caja F, Vodickova L, Kral J, et al. DNA mismatch repair gene variants in sporadic solid cancers[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(15): 5561.
- [10] SAUS E, IRAOLA-GUZMÁN S, WILLIS J R, et al. Microbiome and colorectal cancer: roles in carcinogenesis and clinical potential[J]. Mol Aspects Med, 2019, 69: 93-106.
- [11] 黄文亭, 邱田, 凌云, 等. 结直肠癌前病变与结直肠癌免疫表型及基因突变分析[J]. 中华病理学杂志, 2013, 42(10): 655-659.
- [12] Wang J, Liu L, Qiu H, et al. Ursolic acid simultaneously targets multiple signaling pathways to suppress proliferation and induce apoptosis in colon cancer cells[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e63872.

(收稿日期: 2021-05-25)