

非小细胞肺癌患者组织 MutS 同种组织蛋白 2、O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶表达分析

昌建波,陈科伍,殷小强,雷乘强,石 帅,周秋明

重庆医科大学附属大足医院/重庆市大足区人民医院,重庆 402360

【摘要】 目的 探讨非小细胞肺癌(NSCLC)患者癌组织 MutS 同种组织蛋白 2(MSH2)、O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(MGMT)表达情况及与临床病理参数、预后的关系。**方法** 2021 年 7 月至 2022 年 7 月我院收治的 96 例 NSCLC 患者,取其手术切除的 NSCLC 组织标本(NSCLC 组)及距癌边缘 3 cm 处的癌旁正常组织(对照组)。检测两组 MSH2 和 MGMT 的表达水平,分析 MSH2 和 MGMT 表达水平与患者临床病理参数及预后的关系。**结果** 与对照组比较,NSCLC 组 MSH2 和 MGMT 阳性率更低($P<0.05$);MSH2 阳性与患者分化程度有关($P<0.05$);MGMT 阳性与患者吸烟史和分化程度有关($P<0.05$);与 MSH2 和 MGMT 阴性患者比较,阳性患者 1 年生存率均更高($P<0.05$)。**结论** MSH2 和 MGMT 均在 NSCLC 组织中存在较低表达,其表达水平与临床病理参数、预后密切相关。

【关键词】 非小细胞癌;癌组织;MutS 同种组织蛋白 2;O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶;临床病理参数;预后

【中图分类号】 R734.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-6170(2024)03-0121-05

Analysis of expressions of mutS homolog 2 and O6-methylguanine-DNA methyltransferase in patients with non-small cell lung cancer CHANG Jian-bo, CHEN Ke-wu, YIN Xiao-qiang, LEI Cheng-qiang, SHI Shuai, ZHOU Qiu-ming *Dazu Hospital Affiliated to Chongqing Medical University/Dazu District People's Hospital, Chongqing 402360, China*

【Corresponding author】 ZHOU Qiu-ming

【Abstract】 Objective To explore the expressions of mutS homolog 2 (MSH2) and O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) in cancer tissues and their relationship with clinicopathological parameters and prognosis of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** A total of 96 patients with NSCLC admitted to our hospital were enrolled between July 2021 and July 2022. NSCLC tissue specimens (NSCLC group) and normal para-carcinoma tissues which were 3 cm away from the cancer margin were collected (control group). The expression levels of MSH2 and MGMT in the two groups were detected, and their relationship with clinicopathological parameters and prognosis was analyzed. **Results** Compared with the control group, positive rates of MSH2 and MGMT were lower in the NSCLC group ($P<0.05$). MSH2 was positively correlated with differentiation degree ($P<0.05$), and MGMT was positively correlated with smoking history and differentiation degree ($P<0.05$). The 1-year survival rate in patients with positive MSH2 and MGMT was higher than that in negative patients ($P<0.05$). **Conclusions** The expressions of MSH2 and MGMT are down-regulated in NSCLC tissues. The two indexes are closely related to clinicopathological parameters and prognosis.

【Key words】 Non-small cell lung cancer; Cancer tissue; MutS homolog 2; O6-methylguanine-DNA methyltransferase; Clinicopathological parameter; Prognosis

非小细胞肺癌(non-small cell lung carcinoma, NSCLC)是由于多种因素影响导致的常见恶性肿瘤,约占肺癌的 80%~85%,其发病率和死亡率较高^[1]。由于 NSCLC 早期无典型症状,发现较为困难,确诊时往往为中晚期,其五年生存率仅为 15.2%^[2,3]。因此,NSCLC 的早期诊断意义重大。肺组织在发生损伤时,会通过增生进行修复,在这一过程中,容易出现碱基错配等 DNA 复制相关的错误,而为了确保基因遗传的稳定性,人体形成了一种基因损伤修复系统,可以维持 DNA 复制的高保真性,保障肺脏基因组的稳定性,MutS 同种组织蛋白 2(MSH2)是错配修复系统中的重要蛋白,可以通过

错配修复途径参与 DNA 修复,在结直肠癌、子宫内膜癌中均有异常表达^[4]。O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(MGMT)为基因损伤修复系统的直接修复酶,可以预防烷化剂引起的细胞突变和死亡,修复 DNA 损伤,阻止肿瘤的发生^[5]。本研究探讨 NSCLC 患者癌组织 MSH2、MGMT 表达情况及与临床病理参数、预后的关系,旨在为 NSCLC 的诊疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2021 年 7 月至 2022 年 7 月我院收治的 96 例 NSCLC 患者。纳入标准:①经病理学检查确诊为 NSCLC;②术前无放化疗史;③年龄 ≥ 18 周岁。排除标准:①自身免疫疾病者;②心肝肾功能障碍者;③妊娠或哺乳期女性;④其他恶性肿瘤者;⑤精神类疾病者。男 59 例,女 37 例;年龄 51~83 岁[(64.71 \pm 6.46)岁];体重指数(BMI)19.47~

【基金项目】 重庆市大足区科技发展项目(编号: DZKJ2022JSYJ-KWXM1016)

【通讯作者】 周秋明

26.25 kg/m² [(22.38±2.19) kg/m²]。取其手术切除的 NSCLC 组织标本(NSCLC 组)及距癌边缘3 cm 处的癌旁正常组织(对照组)。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》要求。

1.2 方法 对 NSCLC 组织及癌旁正常组织进行免疫组化染色。①胞质/核内呈棕黄色即为 MSH2 阳性。根据染色情况评分:强着色(3分),中度着色(2分),轻度着色(1分),不着色(0分);阳性细胞百分比>50%(3分),25%~50%(2分),<25%(1分),无阳性细胞(0分);两项之和评分≥3分为阳性,反之为阴性^[6]。②胞质/核内呈棕黄色或棕褐色即为 MGMT 阳性。根据染色情况评分:棕褐色(3分),棕黄色(2分),淡黄色(1分),无色(0分)。阳性细胞百分比>75%(4分),50%~75%(3分),10%~50%(2分),0%~10%(1分),0%(0分);两项的乘积评分>3分为阳性,反之为阴性^[7]。

1.3 随访 于术后对 NSCLC 患者随访 12 个月,截

止时间为 2023 年 7 月 31 日,以患者死亡为观察终点,记录生存情况。

1.4 观察指标 ①两组组织中 MSH2 和 MGMT 的表达水平比较;②分析 MSH2 和 MGMT 表达水平与患者临床病理参数的关系;③分析 MSH2 和 MGMT 表达水平与患者预后的关系。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件处理数据。计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以例数(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;生存分析采用 Kaplan-Meier 生存曲线,组间比较采用 Log-rank 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 MSH2 和 MGMT 表达情况比较 与对照组比较,NSCLC 组 MSH2 和 MGMT 阳性率更低($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组 MSH2 和 MGMT 表达情况比较 [n(%)]

组别	例数	MSH2		MGMT	
		阳性	阴性	阳性	阴性
NSCLC 组	98	42(43.75)	54(56.25)	34(35.42)	62(64.58)
对照组	98	83(86.46)	13(13.54)	65(67.71)	31(32.29)
χ^2		38.538		20.040	
<i>P</i>		<0.001		<0.001	

2.2 MSH2 表达水平与患者临床病理参数的关系 MSH2 阳性与患者分化程度有关,差异有统计学

意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 MSH2 表达水平与患者临床病理参数的关系 [n(%)]

临床特征	例数	MSH2		χ^2	<i>P</i>	列联系数(<i>r</i>)
		阳性	阴性			
性别	男	59	23(38.98)	1.414	0.234	0.120
	女	37	19(51.35)			
年龄	<60 岁	53	26(49.06)	1.354	0.245	0.118
	≥60 岁	43	16(37.21)			
BMI	<25 kg/m ²	72	28(38.89)	2.765	0.096	0.167
	≥25 kg/m ²	24	14(58.33)			
吸烟史	是	54	20(37.04)	2.260	0.133	0.152
	否	42	22(53.38)			
饮酒史	是	29	10(34.48)	1.450	0.229	0.122
	否	67	32(47.76)			
高血压史	是	55	20(36.36)	2.855	0.091	0.170
	否	41	22(53.66)			
高血脂症史	是	23	12(52.17)	0.872	0.350	0.095
	否	73	30(41.10)			
糖尿病史	是	31	15(48.39)	0.400	0.527	0.064

临床特征	例数	MSH2		χ^2	P	列联系数(<i>r</i>)	
		阳性	阴性				
冠心病史	否	65	27(41.54)	38(58.46)	1.002	0.317	0.102
	是	27	14(51.85)	13(48.15)			
肿瘤大小	否	69	28(40.58)	41(59.42)	2.381	0.123	0.156
	<3 cm	33	18(54.55)	15(45.45)			
病理类型	≥3 cm	63	24(38.10)	39(61.90)	0.154	0.695	0.040
	鳞癌	57	24(42.11)	33(57.89)			
分化程度	腺癌	39	18(46.15)	21(53.85)	12.064	0.001	0.334
	高、中	54	32(59.26)	22(40.74)			
TNM 分期	低	42	10(23.81)	32(76.19)	0.400	0.527	0.064
	I+II 期	31	15(48.39)	16(51.61)			
淋巴结转移	III 期	65	27(41.54)	38(58.46)	1.320	0.251	0.116
	是	61	24(39.34)	37(60.66)			
	否	35	18(51.43)	17(48.57)			

2.3 MGMT 表达水平与患者临床病理参数的关系 (0.05)。见表 3。
 MGMT 阳性与患者吸烟史和分化程度有关 ($P <$

表 3 MGMT 表达水平与患者临床病理参数的关系 [n(%)]

临床特征	例数	MGMT		χ^2	P	列联系数(<i>r</i>)	
		阳性	阴性				
性别	男	59	23(38.98)	36(61.02)	0.851	0.356	0.094
	女	37	11(29.73)	26(70.27)			
年龄	<60 岁	53	18(33.96)	35(66.04)	0.109	0.741	0.034
	≥60 岁	43	16(37.21)	27(62.79)			
BMI	<25 kg/m ²	72	23(31.94)	49(68.06)	1.518	0.218	0.125
	≥25 kg/m ²	24	11(45.83)	13(54.17)			
吸烟史	是	54	13(24.07)	41(75.93)	6.942	0.008	0.260
	否	42	21(50.00)	21(50.00)			
饮酒史	是	29	11(37.93)	18(62.07)	0.115	0.735	0.035
	否	67	23(34.33)	44(65.67)			
高血压史	是	55	16(29.09)	39(70.91)	2.253	0.133	0.151
	否	41	18(43.90)	23(56.10)			
高血症史	是	23	10(43.48)	13(56.52)	0.859	0.354	0.094
	否	73	24(32.88)	49(67.12)			
糖尿病史	是	31	12(38.71)	19(61.29)	0.217	0.641	0.047
	否	65	22(33.85)	43(66.15)			
冠心病史	是	27	8(29.63)	19(70.37)	0.550	0.458	0.075
	否	69	26(37.68)	43(62.32)			
肿瘤大小	<3 cm	33	15(45.45)	18(54.55)	2.215	0.137	0.150
	≥3 cm	63	19(30.16)	44(69.84)			
病理类型	鳞癌	57	19(33.33)	38(66.67)	0.266	0.606	0.053
	腺癌	39	15(38.46)	24(61.54)			
分化程度	高、中	54	26(48.15)	28(51.85)	8.747	0.003	0.289
	低	42	8(19.05)	34(80.95)			

临床特征	例数	MGMT		χ^2	P	列联系数(<i>r</i>)	
		阳性	阴性				
TNM 分期	I+II 期	31	10(32.26)	21(67.74)	0.200	0.655	0.046
	III 期	65	24(36.92)	41(63.08)			
淋巴结转移	是	61	21(34.43)	40(65.57)	0.072	0.789	0.027
	否	35	13(37.14)	22(62.86)			

2.4 MSH2 和 MGMT 表达水平与患者预后的关系 96 例患者 1 年总生存率为 69.79% (67/96)。MSH2 阴、阳性患者 1 年生存率分别是 57.41% (31/54)、85.71% (36/42), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.979, P=0.003$)。见图 1。MGMT 阴、阳性患者 1 年生存率分别是 61.29% (38/62)、85.29% (29/34), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.001, P=0.014$)。见图 2。

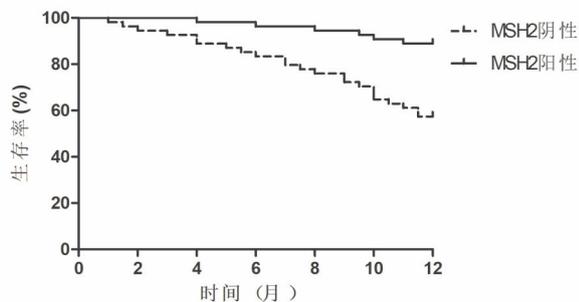


图1 不同 MSH2 表达 NSCLC 患者生存曲线图

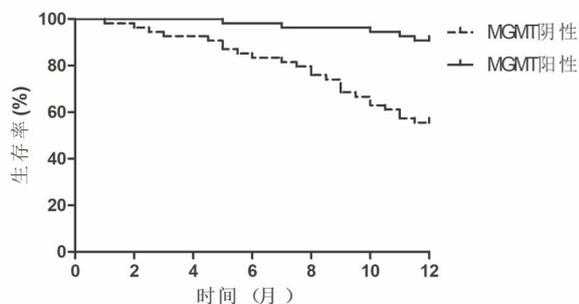


图2 不同 MGMT 表达 NSCLC 患者生存曲线图

3 讨论

近年来,伴随国内工业化进程的加快,环境污染日益严重,罹患肺癌的患者不断增加,尤其是 NSCLC 类型的肺癌患者,成为威胁人们身体健康的主要癌症之一^[8]。NSCLC 患者早期会出现胸痛、痰血、咳嗽、低热等症状,随着病情进程,患者会有呼吸困难、食欲不振、咯血等表现^[9]。临床诊断 NSCLC 主要通过 X 射线检查、磁共振成像、支气管镜、细胞学检查等,其方法各有优缺点^[10]。伴随分子生物学的发展,已有研究证实,肿瘤的发生是内外因共同影响的结果,外因是指化学等致癌因子引起细胞受损,而内因涉及到 DNA 的修复^[11]。由于

肺脏生理和解剖结构的特殊性,其组织容易受到电离辐射、烷化剂、空气污染等影响而受损,DNA 修复在肺组织的修复过程中会起着重要作用,MSH2 和 MGMT 均是 DNA 修复相关的蛋白^[12,13]。由于修复蛋白的表达会受到各种因素的影响,因此,MSH2 和 MGMT 的表达与 NSCLC 发生的关系尚未明确。

正常情况下,DNA 通过氢键互补组成稳定的双螺旋结构,如果其配对碱基由于某些原因导致错误配对,就会引起 DNA 损伤^[14]。MSH2 为人们从人类遗传性非息肉性结直肠癌中发现的错配修复基因,其基因突变会导致蛋白缺陷,从而降低错配修复功能,增加基因组的不稳定性,从而诱导人类遗传性非息肉性结直肠癌的发生^[15,16]。本研究发现,与对照组比较,NSCLC 组 MSH2 阳性率更低,且 MSH2 阳性与患者分化程度有关,说明 MSH2 的阳性低表达与 NSCLC 的发生和发展有关。钟璧璟等^[17]研究同样发现,MSH2 在结直肠癌中的表达缺失是引发癌症的主要原因之一。分析认为,MSH2 作为错配修复蛋白,对于维持 DNA 的完整性和稳定性意义重大,而 MSH2 的缺失会导致 DNA 的修复作用减弱,从而诱导 NSCLC 的发生和发展。本研究显示,与 MSH2 阴性患者比较,阳性患者 1 年生存率均更高,提示 MSH2 可以用来评估预后。

DNA 修复系统是机体自我防御的分子基础,可以确保基因组的完整性和稳定性,其修复过程与几十种蛋白质有关,可以对不同类型的 DNA 损伤发挥信号传递与修复作用^[18]。MGMT 可以通过执行甲基接受体和转移酶的功能,单独修复 DNA 烷基加合物引起的损伤,复原 DNA 链上的鸟嘌呤,且无需其他蛋白质和辅助因子的帮助,在完成修复的同时其自身会丧失活性,这种反应机制使得 MGMT 蛋白的水平 and 合成速度决定着机体对烷基加合物的修复功能^[19,20]。本研究结果显示,与对照组比较,NSCLC 组 MGMT 阳性率更低,提示 MGMT 参与了 NSCLC 的发生。患者肺组织 DNA 损伤增多,诱导 MGMT 修复 DNA 损伤,随着 MGMT 大量消耗,机体调节能力下降,引发 NSCLC。本研究中,MGMT 阳性与患者吸烟史有关,烟草中含有的烷化剂属于强致癌物质,会增加 NSCLC 的风险;MGMT 阳性还

与分化程度有关,在低分化 NSCLC 患者中,MGMT 蛋白部分出现甲基化,影响 MGMT 蛋白的表达,导致其修复能力减弱,而肿瘤恶性增加。本研究还发现,与 MGMT 阴性患者比较,阳性患者 1 年生存率均更高,证实 MGMT 可以作为抑癌蛋白,改善 NSCLC 患者预后。

综上所述,相比正常组织,NSCLC 组织中 MSH2 和 MGMT 阳性率均较低,两者与临床病理参数和预后均有关,其中,MSH2 和 MGMT 阳性 NSCLC 患者生存情况均优于阴性患者。

【参考文献】

- [1] 朱蕾,陈蕾. BCL-2、Bax 及 Beclin-1 表达与非小细胞肺癌临床病理特征的相关性分析[J]. 保健医学研究与实践,2023,20(4):49-54.
- [2] 袁杨,周雨霏,陈伟,等. 合并尘肺的非小细胞肺癌患者围手术期安全性分析[J]. 四川大学学报:医学版,2022,53(3):488-492.
- [3] 贾俊,赵勇,陈方. 胸腔镜肺叶切除术与肺段切除术治疗非小细胞肺癌的疗效比较[J]. 保健医学研究与实践,2023,20(5):40-43.
- [4] Engel C, Ahadova A, Seppälä TT, et al. Associations of Pathogenic Variants in MLH1, MSH2, and MSH6 With Risk of Colorectal Adenomas and Tumors and With Somatic Mutations in Patients With Lynch Syndrome[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(5):1326-1333.
- [5] Ban X, Mo S, Lu Z, et al. Expression and methylation status of MMR and MGMT in well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors and potential clinical applications[J]. *Endocrine*, 2022, 77(3):538-545.
- [6] 杨剑,费维伦,钟玲玲,等. 不同 TNM 分期肺癌患者糖脂代谢、Fib、D-D 水平变化及与预后的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志,2023,15(3):468-471,476.
- [7] 刘莹,王静,吴逸明,等. 非小细胞肺癌组织 MGMT 蛋白的表达[J]. 中华肿瘤防治杂志,2010,17(15):1196-1198.
- [8] Zhu L, Liu Y, Tang H, et al. FOXP3 activated-LINC01232 accelerates the stemness of non-small cell lung carcinoma by activating TGF- β signaling pathway and recruiting IGF2BP2 to stabilize TGFBR1 [J]. *Exp Cell Res*, 2022, 413(2):113024-113024.
- [9] 张卫强,裴迎新,赵京. 3D 胸腔镜手术联合三维肺血管支气管重建教学在胸外科临床实习中的应用[J]. 中华医学教育探索杂志,2022,21(1):50-53.
- [10] Kazdal D, Hofman V, Christopoulos P, et al. Fusion-positive non-small cell lung carcinoma: Biological principles, clinical practice, and diagnostic implications[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2022, 61(5):244-260.
- [11] Romano FJ, Ronga R, Ambrosio F, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Is a Major Prognostic Factor in Non-small Cell Lung Carcinoma Patients Undergoing First Line Immunotherapy With Pembrolizumab[J]. *Cancer Diagn Progn*, 2023, 3(1):44-52.
- [12] Okita Y, Shofuda T, Kanematsu D, et al. The association between 11C-methionine uptake, IDH gene mutation, and MGMT promoter methylation in patients with grade II and III gliomas [J]. *Clin Radiol*, 2020, 75(8):622-628.
- [13] Salem ME, Bodor JN, Puccini A, et al. Relationship between MLH1, PMS2, MSH2 and MSH6 gene-specific alterations and tumor mutational burden in 1057 microsatellite instability-high solid tumors [J]. *Int J Cancer*, 2020, 147(10):2948-2956.
- [14] Oh JM, Kang Y, Park J, et al. MSH2-MSH3 promotes DNA end resection during homologous recombination and blocks polymerase theta-mediated end-joining through interaction with SMARCAD1 and EXO1 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(11):5584-5602.
- [15] Shigematsu Y, Yamashita K, Takamatsu M, et al. Primary intramucosal synovial sarcoma of the sigmoid colon in a patient with a germline mutation in the MSH2 gene: A case report [J]. *Pathol Int*, 2020, 70(12):1015-1019.
- [16] 徐燕,雷俊平,尚松,等. 结直肠癌中错配修复蛋白 MLH1、PMS2、MSH2、MSH6 和 Ki-67 表达的意义及与预后的关系[J]. 广东医学,2023,44(1):90-95.
- [17] 钟璧环,雷芹. 结直肠癌患者 MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 蛋白的表达水平及其与淋巴转移的相关性[J]. 海南医学,2020,31(3):287-290.
- [18] Bani-Sadr A, Berner LP, Barritault M, et al. Combined analysis of MGMT methylation and dynamic-susceptibility-contrast MRI for the distinction between early and pseudo-progression in glioblastoma patients [J]. *Rev Neurol (Paris)*, 2019, 175(9):534-543.
- [19] Qian J, Herman MG, Brinkmann DH, et al. Prediction of MGMT Status for Glioblastoma Patients Using Radiomics Feature Extraction From 18F-DOPA-PET Imaging [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2020, 108(5):1339-1346.
- [20] Katsigiannis S, Grau S, Kriscsek B, et al. MGMT-Positive vs MGMT-Negative Patients With Glioblastoma: Identification of Prognostic Factors and Resection Threshold [J]. *Neurosurgery*, 2021, 88(4):E323-E329.

(收稿日期:2023-10-24;修回日期:2024-01-20)

(本文编辑:林 贇)