

微卫星不稳定性(MSI)检测技术专家共识

中国医师协会医学技师委员会病理技术专家组, 中国医学装备协会病理装备分会标准化部, 中国研究型医院学会病理学专业委员会病理技术学组, 中国抗癌协会肿瘤病理专业委员会病理技术学组

关键词: 微卫星; 微卫星不稳定性; 错配修复; 毛细管电泳法; 高分辨率熔解曲线法; NGS; 专家共识

中图分类号: R 36; R-33 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-7399(2024)03-0228-08

doi: 10.13315/j.cnki.cjcep.2024.03.002

微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)是DNA复制过程中形成大量移码突变、引起的核苷酸重复单元数量改变的现象,多种肿瘤中均可见MSI,常见于结直肠癌、子宫内膜癌和胃癌。MSI检测对多种实体瘤患者有重要意义,包括林奇综合征筛查、指导5-FU类化疗药物的选择、预后分层和筛选免疫检查点抑制剂获益人群等。目前,MSI检测主要包括PCR+毛细管电泳法、PCR+高分辨率熔解曲线法和NGS法,其中以PCR+毛细管电泳法为金标准。本文基于3种常用的技术平台并结合临床工作经验,对MSI相关机制、检测方法和质量控制等进行阐述,以进一步指导与规范我国MSI的检测工作。

1 MSI的概念

微卫星是存在于原核生物和真核生物的基因组中,通常由1~6个碱基对组成的DNA串联重复序列,其又被称作简单重复序列或短串联重复序列^[1-2],常见类型包括单核苷酸重复、二核苷酸重复、三核苷酸重复或四核苷酸重复等。微卫星的多态性主要由核心区重复序列的拷贝数差异引起,在一类重复序列中1个特定序列重复的丰度可能有较大差异,如在单核苷酸重复的情况下,poly(A)或poly(T)的密度比poly(G)或poly(C)的密度大300倍。在二核苷酸重复序列中,AC和AT较多,CG最少。由于DNA错配修复(mismatch repair, MMR)基因的突变或表观遗传发生变化,DNA MMR系统的正常功能被破坏、微卫星碱基对数量发生改变称为MSI。微卫星作为重要的序列组成部分,在基因组调控中发挥多种作用^[3-4]。微卫星DNA多样性,是构成人类基因组多样性的分子机制之一。

2 MSI的发展史

1984年,英国莱斯特大学发现人类肌红蛋白基因中存在多态GGAT重复序列。1989年,由Litt和Luty首次提出“微卫星”的概念^[5](图1)。微卫星是短而重复的DNA序列,具有分布广泛、非随机的特点,约占人类基因组的3%,主要分布在基因的非编码区和染色体末端^[3]。在真核生物

中,高保真的DNA复制对维持细胞基因组稳定性和正常生理功能至关重要,但基因复制过程中受环境因素等影响,易发生核苷酸的错误掺入或缺失,引起基因组中重复序列次数的增加或丢失。在DNA聚合酶和多种修复机制的基础上,一般情况下DNA复制的错误会被修复。然而,当作为高保真DNA复制最后一道防线的MMR系统出现启动子超甲基化或基因突变时,DNA复制错误无法纠正并连续积累,微卫星的序列长度或碱基组成发生变化称为MSI,使基因组表现高突变表型^[6]。

1993年,研究者发现在遗传性非息肉病结直肠癌(hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC)中MSI的发生率高达86%,而在散发性结直肠癌中MSI的发生率也达16%^[7]。与此同时,陆续有研究者在结直肠癌中发现类似分子现象,与MMR系统功能缺陷密切相关,影响结直肠癌患者的生存时间^[8]。1997年,美国国家癌症研究所(National Cancer Institute, NCI)在结直肠癌的国际专题会议上,对MSI进行统一定义,即与正常组织相比,肿瘤组织中由微卫星重复单元的插入或缺失导致的微卫星长度改变称为MSI。同年,美国NCI在MSI研讨会对MSI检测位点的选择和诊断标准进行规范和统一,推荐了简称为“2B3D”的MSI位点检测Panel,称之为Bethesda Panel或NCI Panel,该Panel包括2个单核苷酸位点(BAT-25和BAT-26)和3个双核苷酸位点(D2S123、D5S346和D17S250)。同时,专家组也制定Panel判读标准:若5个微卫星位点中有2个或2个以上的微卫星位点不稳定,则为微卫星高度不稳定性(microsatellite instability-high, MSI-H);若有1个微卫星位点不稳定,则为微卫星低度不稳定性(microsatellite instability-low, MSI-L);若5个微卫星位点均稳定,则为微卫星稳定(microsatellite stability, MSS)^[9]。2002年,美国NCI对MSI的检测进行修订和补充,推荐含有5个单核苷酸位点(BAT-25、BAT-26、NR-21、NR-22和NR-24)构成的Pentaplex Panel,检测灵敏度远高于“2B3D”NCI Panel^[10]。2004年,美国Promega公司发布全球首个商品化MSI检测试剂盒;2006年,Promega Panel MSI检测体系出现,将Pentaplex Panel中的NR-22替换为Mono-27,包括5个单核苷酸位点(BAT-25、BAT-26、NR-21、MONO-27和NR-24)和2个对照位点(Penta C、Penta D)^[11]。目前,国内外权威指南和专家共识推荐MSI检测方法主要是2B3D Panel和Promega Panel。

2015~2017年,大量临床研究证实PD-1/PD-L1抑制剂对MSI-H/错配修复功能缺陷(deficient mismatch repair, dMMR)实体瘤患者疗效显著^[12-13]。2017年,美国食品药品监

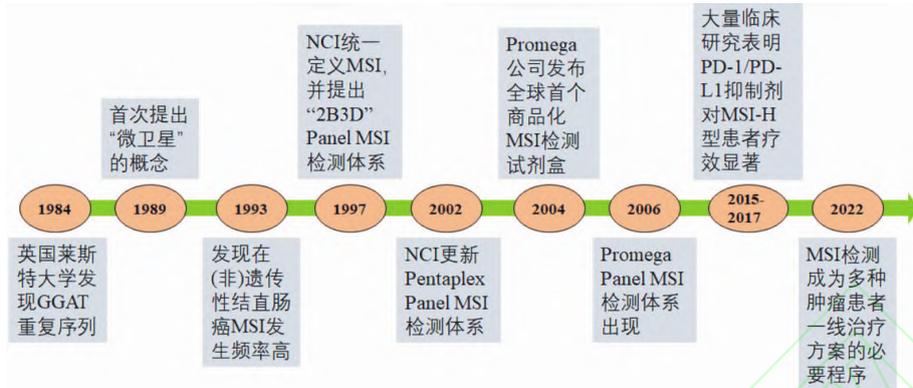


图1 MSI 发展历史中的代表性事件

督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 正式批准帕博利珠单抗用于 MSI-H 型晚期或转移性实体瘤患者的治疗。目前, MSI-H 发生率高的实体瘤包括子宫内膜癌 (20% ~ 30%)、胃癌 (15% ~ 20%) 和结直肠癌 (12% ~ 15%)^[14]。中国每年新增 MSI-H 患者人数近 30 万, 美国国立综合癌症网络 (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) 或中国临床肿瘤学会 (Chinese Society of Clinical Oncology, CSCO) 的最新指南, 将 MSI 检测作为结直肠癌、子宫内膜癌、小肠腺癌和胃癌一线治疗方案的必要检测。此外, 行林奇综合征筛查和接受免疫治疗的实体瘤患者均推荐行 MSI 检测^[15-16]。

3 MSI 的致病机制 (MMR 机制)

3.1 MMR 组成与功能 1964 年, MMR 系统阐述了细菌和酵母中的 DNA 切除-再合成过程, 主要纠正 DNA 中产生的错配核苷酸或插入-缺失环的复制错误。MMR 基因的产物是 MMR 蛋白, 属于核酸水解酶。DNA 在复制过程中不可避免地发生错误, 而 MMR 系统起到负责监视和修正 DNA 复制和重组过程中的错误, 使 DNA 能精确复制, 保证遗传的保守性和稳定性^[17]。

MMR 系统广泛存在于生物体内, 在大肠埃希菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 中发现 MMR, 即 MutSLH 依赖于 MutS、MutL、MutH 等基因编码的产物。在 *E. coli* 的 DNA 复制过程中, 新生链上约 256 个碱基对出现 1 次 GATC 序列, 在被合成后的短时间内不会被甲基化, 而此时模板链上的 GATC 序列已被甲基化。该差异使模板链与新生链暂时得以区分, 为 MutSLH-MMR 特异性识别提供前提和基础。MutS 识别错配或未配对碱基并与之结合, MutL 参与形成复合体“MutL-MutS-DNA”, 并激活 MutH 的核酸内切酶活性, 在错配位点附近 (GATC) 序列处将非甲基化的 DNA 链切割, 然后核酸外切酶在解螺旋酶和单链 DNA 结合蛋白的协助下, 将非甲基化的 DNA 序列从 GATG 位点至错配位点整段去除。

目前, 真菌和哺乳动物体内的 MMR 系统也开始得到进一步探索。研究发现多个 MMR 相关分子, 主要包括 5 个 MutS 同源体 (MSH2、MSH3、MSH4、MSH5、MSH6)、4 个 MutL 同源体 (MLH1、MLH2/PMS1、MLH3、MLH4/PMS2)、MutH 同源体和 UvrD 同源体^[18]。人类 MMR 系统中的主要蛋白包括

MLH1、MSH2、MSH3、MSH6、PMS1、PMS2 和 MLH3, 它们以异源二聚体的形式相互作用。MSH2 与 MSH6 或 MSH3 偶联 (分别形成 MutS α 和 MutS β 复合物), 2 个异源二聚体均可识别新合成的 DNA 核苷酸链上的碱基错配, 并与错配位点结合; MLH1 与 PMS2、PMS1 或 MLH3 偶联 (分别形成 MutL α 、MutL β 或 MutL γ 复合物), 与结合到 DNA 链上的 MutS α 或 MutS β 形成暂时性的复合物启动 MMR, 与有关的酶相互配合, 切除含有错配碱基的 1 段 DNA 链, 以代替被切除的 DNA 链, 完成含错配碱基 DNA 核酸链的修复 (图 2)。

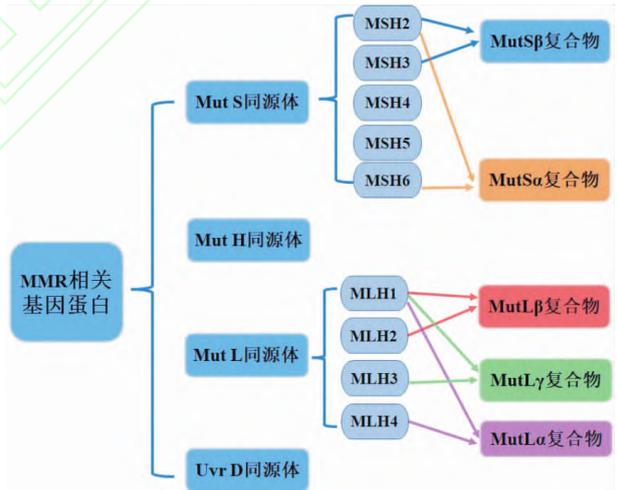


图2 MMR 相关基因蛋白的具体组成结构及其形成复合物的作用机制

3.2 MMR 与 MSI 的关系 微卫星序列是 DNA 复制过程中最易发生错配的序列, 需要 MMR 相关蛋白修复。MMR 是高度保守的细胞过程, 在 DNA 复制过程中起重要作用。有研究证实, MMR 使 DNA 复制的准确性提高 100 ~ 1 000 倍。若 MMR 功能缺陷, 微卫星出现的复制错误得不到纠正并不断累积, 使微卫星序列长度或碱基组成发生改变称为 MSI。同时, 导致基因组呈高突变表型, 即 MSI 是 MMR 缺陷导致的结果, 故可通过检测 MMR 蛋白缺失反映 MSI 状态。采用免疫组化法检测肿瘤样本中 MLH1、MSH2、MSH6 和 PMS2 表达, 若 4 个 MMR 蛋白均阳性, 则为错配修复功能完整 (mis-

match repair proficient, pMMR);任一 MMR 蛋白缺失即为 dMMR。通常 dMMR 相当于 MSI-H 表型, pMMR 相当于 MSI-L/MSS 表型,根据免疫组化检测结果可提示是否进行特定 MMR 基因的突变检测。

4 MSI 的临床意义

MSI 最早在结直肠癌中发现,其在结直肠癌、胃癌和子宫内腺癌等多种实体瘤中高发^[19],在林奇综合征筛查、化疗药物选择、预后预测和免疫检查点抑制剂获益人群筛选等方面具有重要意义。2021 年,美国 NCCN 指南推荐结直肠癌、子宫内腺癌、胃癌和小肠腺癌^[20-22]的新确诊患者常规检测 MSI,同时也推荐前列腺癌、胰腺癌等进行 MSI 检测以指导免疫治疗。CSCO 结直肠癌诊疗指南推荐结直肠癌患者行 MSI/MMR 检测,《结直肠癌分子检测高通量测序中国专家共识》(2021)也将 MSI/MMR 列为“必须检测的生物学标志物”^[23]。《子宫内腺癌分子检测中国专家共识》(2021)推荐对子宫内腺癌 MMR/MSI 患者行林奇综合征筛查^[24]。MSI 检测对结直肠癌和子宫内腺癌等多种实体瘤患者的治疗,均有重要的临床意义。

4.1 MSI 检测与林奇综合征的关系 林奇综合征是由 MMR 基因(包括 MLH1、MSH2、MSH6 和 PMS2 基因)胚系致病性突变,或 EPCAM 基因失活导致 MSH2 启动子高度甲基化,引起 MSH2 基因沉默所致的常染色体显性遗传性肿瘤综合征。林奇综合征发病时间早,约占结直肠癌发生率的 3%,包括结直肠癌、子宫内腺癌、卵巢癌和胃癌等多种肿瘤^[25]。由于 MMR 基因的功能失活,微卫星出现的复制错误得不到纠正并不断累积,90% 的林奇综合征患者表现为 dMMR 和(或)MSI-H 表型^[26-27]。结直肠癌患者无论年龄和分期,行林奇综合征筛查均有助于发现疾病。《遗传性结直肠癌临床诊治和家系管理中国专家共识》推荐对 MSI-H/dMMR 的结直肠癌患者行 MMR 胚系检测,以明确诊断林奇综合征^[28]。

4.2 MSI 检测与 5-FU 类化疗药物的选择 MSI 检测能够预测结直肠癌辅助化疗的疗效,2003 年一项回顾性研究表明,MSI-H 结直肠癌 II/III 期患者未从 5-FU 的单药辅助治疗中获益^[29]。2010 年,Sargent 等^[30]研究证实 II 期 MSI-H 的结肠癌患者术后预后较好,患者未从 5-FU 单药化疗中获益,总生存期(overall survival, OS)缩短($HR = 2.95$)。国内外权威指南均指出,II 期 MSI-H/dMMR 的结直肠癌患者预后较好,不建议使用氟尿嘧啶类药物化疗。因此,II 期患者术后应常规行 MSI 检测以制定个体化治疗方案,MSI-H 的结直肠癌患者应尽可能避免氟尿嘧啶的单药辅助治疗。

4.3 MSI 检测与预后分层关系 MSI 检测对预测结直肠癌患者预后具有重要价值,MSI-H 的结直肠癌患者有显著的病理特征,包括近端结肠优势、分化程度差、丰富的黏液成分和淋巴细胞浸润增加^[31]。MSI-H 在结直肠癌患者发生率为 15%,现有数据表明,MSI-H/dMMR 是 II 期结直肠癌患者的独立预后指标,与 MSI-L/pMMR 患者相比,其 OS 长和复发风险低^[32-33]。此外,MSI 还可作为胃癌和小肠腺癌的预后因

子。一项荟萃分析表明,MSI-H 胃癌患者预后较好($HR = 0.63$)^[34],但 MSI-H 胃癌患者未从 5-FU 单药辅助化疗获益^[30]。在小肠腺癌中,与 MSS 患者相比,MSI-H 患者预后更佳^[35]。

4.4 MSI 检测与免疫检查点抑制剂获益人群的关系 2017 年,美国 FDA 批准 PD-1 抗体帕博利珠单抗,用于不能手术或转移的 MSI-H/dMMR 实体瘤患者的治疗,已成为首个不限癌种、仅以生物学标志物进行治疗选择的抗肿瘤药物^[36-37]。随后,CheckMate 142 研究表明^[13],纳武利尤单抗治疗 MSI-H/dMMR 转移性结直肠癌患者的有效率为 31%,中位无进展生存期(progression-free survival, PFS)为 14.3 个月。美国 FDA 批准纳武利尤单抗治疗 MSI-H 晚期结直肠癌患者。KEYNOTE-177 研究表明,MSI-H/dMMR 患者姑息一线应用帕博利珠单抗、标准化疗靶向治疗的客观有效率(objective response rate, ORR)分别为 43.8% 和 33.1%,中位 PFS 分别为 16.5 和 8.2 个月,差异有统计学意义^[38],晚期结直肠癌一线用药——帕博利珠单抗也再次获批,MSI 跻身为一线治疗标志物。2021 年,我国首款自主研发的 PD-L1 抗体恩沃利单抗经国家药品监督管理局(National Medical Products Administration, NMPA)获批上市,用于 MSI-H/dMMR 成人晚期实体瘤患者治疗,结直肠癌、胃癌和其他实体瘤患者的 ORR 为 42.7%,疾病控制率为 66.0%,抗肿瘤疗效佳,为患者增加新的治疗选择^[39]。总之,MSI-H/dMMR 晚期结直肠癌患者可从 PD-1/PD-L1 治疗中获益,通过检测 MSI 状态可以预估免疫检查点抑制剂的使用价值。

5 MSI 的检测方法

5.1 PCR + 毛细管电泳技术 采用多重荧光聚合酶链式反应扩增(quantitative fluorescent polymerase chain reaction, QF-PCR)结合毛细管电泳法,对微卫星位点和对照位点进行检测。当微卫星位点用于判定样本 MSI 状态,对照位点除作为内部质控外,还可用于验证肿瘤组织和正常组织是否来自同一个体。扩增体系中对每个检测位点设置 2 条引物,其中 1 条标记特定荧光基团。引物与对应的基因组 DNA 模板结合进行扩增,产生特定长度和荧光标记的扩增产物,扩增产物用毛细管电泳检测,通过特定长度的产物可以判定特定位点重复单元的重复状态。

目前,PCR + 毛细管电泳技术是 MSI 检测的公认“金标准”。首先检测时分别提取肿瘤样本和对照样本的 DNA,其次使用试剂盒对正常组织和肿瘤组织的 DNA 进行 PCR 扩增,采用基因分析仪进行 DNA 片段分析,比较肿瘤组织和对照组织中各微卫星位点的电泳图峰型和数目,判断肿瘤组织相应位点的不稳定状态。

为避免 PCR 实验室污染,建议选用含有尿嘧啶 DNA 糖基化酶(UDG)防污染 MSI 检测体系^[40-41],在 PCR 扩增前消化可能存在含有尿嘧啶的扩增产物,保证实验结果的准确性。

5.1.1 位点选择 目前,本文推荐选用已通过 NMPA 或

FDA 注册审批要求的试剂盒位点组合,如:(1)BAT-25、BAT-26、D2S123、D17S250 和 D5S346^[9]; (2)BAT-25、BAT-26、NR-21、NR24、MONO-27 和 NR-27^[42-44]; (3)BAT-25、BAT-26、NR-21、NR-24 和 MONO-27^[11,45]。同时为保证结果的准确性,可增加对照位点作为内部质控,常见对照位点为 PentaC、PentaD 和 Amel 等。

5.1.2 检测流程 检测流程包括:DNA 提取、PCR 扩增、毛细管电泳分离样品和结果分析。

5.2 PCR + 高分辨率熔解曲线法 除多重荧光 PCR 结合毛细管电泳法外,也可使用 PCR 结合高分辨率熔解曲线法检测相关 MSI 标志物。高分辨率熔解曲线法通过在反应体系中加入饱和 DNA 双链荧光染料,PCR 结束后进行 DNA 双链产物升温解链反应获取荧光信号。随着温度升高,DNA 双链氢键不断被打开,荧光染料释放,荧光强度逐渐降低。不同核酸片段有特异性温度,即荧光强度变化曲线(又称熔解曲线)。总的 DNA 双螺旋结构降解一半的温度称为熔解温度(T_m),不同序列 DNA 的 T_m 值不同。DNA 中 G-C 含量与 T_m 值成正比,G-C 含量越高, T_m 值越高。高分辨率熔解曲线法通过比较不同样本之间熔解曲线的位置和形状上的差异,区分基因的分型。

熔解曲线技术被认为是最适合分辨单碱基的差异,因为饱和染料的使用,显著提高了高分辨率熔解曲线法在单碱基突变、小片段插入/缺失方面检测的灵敏度和分辨率。PCR 结合高分辨率熔解曲线法检测相关 MSI 单态性生物学标志物,该标志物一般为 8~12 个 A 或 T 碱基的单碱基重复序列(均聚物),分布在多个基因中。在正常细胞(即 MMR 功能正常的细胞)中碱基数目保持稳定(如 11 个)。在 MMR 功能缺陷的细胞(如癌细胞)中,这些均聚物更易变,并且通常观察到 1 或 2 个碱基对的删除,将长度为 11 的均聚物与长度为 10 的均聚物用于鉴别 MMR 的缺陷。

5.2.1 位点选择 Zhao 等^[46]对 MMR 缺陷的肿瘤行全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)分析,发现 59 个单核苷酸微卫星位点对 MSI 检测具有代表意义,其中 50 个位点位于非翻译区,提示组织特异性好。59 个均聚物长度 ≤ 12 bp,与 PCR 技术和 NGS 技术都能较好地兼容。

目前,有 2 组较为成熟的标志物组合:(1)ACVR2A、BTBD7、DIDO1、MRE11、RYR3、SEC31A 和 SULF2;(2)EIF4E3、IFT140、PPP1CC、UBAC2、PRR5-ARHGAP8、ACVR2A、TAOK3 和 RBM14-RBM4。

5.2.2 检测流程 检测流程包括:DNA 提取、PCR 扩增、高分辨率熔解检测和结果分析。

5.3 NGS 检测 MSI 状态可应用 WGS、全外显子组测序(whole exon sequencing, WES)或靶向测序(targeted gene sequencing, TGS)等 NGS 技术进行检测^[47]。美国 NCCN 结直肠癌临床实践指南(2022)推荐可使用经验证的 NGS panel 进行 MSI 检测,尤其适用于需 RAS 和 BRAF 基因分型的转移性结直肠癌患者^[48-49];美国 NCCN 小肠腺癌临床实践指南(2023)中 MSI 检测仅推荐经验证的 NGS panel^[50]。《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》(2019)、《结直肠癌靶向治疗中国专家共识》(2022)和《中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南》(2023),亦推荐可通过经验证的 NGS 法进行 MSI 检测^[16,51-52]。NGS 检测 MSI 的优势:可覆盖大量的微卫星位点,根据 panel 设计不同,可检测五至数十万个的微卫星位点,可针对特异性肿瘤或泛肿瘤选择不同的位点组合,对 MSI 状态的评估更加全面^[53-54]。

目前,NGS 开发的 panel 主要根据两种检测原理,通过不同的算法来检测 MSI。(1)通过比较肿瘤样本与正常对照样本(或正常人的基线水平)之间的微卫星重复序列长度分布,以不定位点比例是否超过既定阈值来判断微卫星状态。如 MSI-sensor 使用成对的肿瘤和正常 WES 数据,比较单核苷酸到五核苷酸重复微卫星的等位基因长度分布,并对每个分析的基因座应用 χ^2 分析,给出对应于不稳定微卫星基因座百分比的 MSI 得分,阈值为 3.5%^[55]。MSI-ColonCore 中微卫星状态由样本中不稳定基因座与正常基线水平的百分比来确定,阈值为 40%^[56]。(2)基于序列中的突变负荷和(或)微卫星中的突变负荷判断 MSI 状态,如 MSI-seq Index 是基于 RNA 测序数据和两个测量值(PI-微卫星中的插入占 RNA 转录本中所有插入的比例;PD-微卫星中的缺失占 RNA 转录本中所有缺失的比例)的比率检测 MSI 状态,MSI-H 的 PI/PD 比值 < 0.9 。Nowak 等^[57]使用 275 个与癌症相关的基因定向测序数据,把总突变负担(> 40 Mb)和单核苷酸微卫星中的 INDELS(> 5 Mb)定义为 MSI-H。NGS 平台的 MSI 算法包括但不限于 MSI-sensor、MSI-ColonCore、MSI-seq Index 和 Nowak 等,随着 NGS 的不断发展,将陆续开发出更多新算法,不断提高 NGS 检测 MSI 的准确度和敏感度。

临床和病理医师对无法获取肿瘤组织的患者,可使用外周血循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)进行 MSI NGS 检测^[16]。由于液体活检诊断的准确性和灵敏度有限,目前不推荐常规行 ctDNA 的 MSI NGS 检测,仅作为无法获取肿瘤患者评价 MSI 状态的替代检测。

6 检测的样本类型与要求

6.1 肿瘤活检或手术的新鲜标本 建议标本离体后 30 min 内,置于液氮或 -80 °C 保存,防止核酸降解。

6.2 福尔马林固定石蜡包埋标本 建议标本离体后 30 min 内,经 10% 中性福尔马林充分固定,活检小标本固定 6~12 h,手术大标本应切开固定 6~48 h。蜡块保存的环境应温湿度恒定,尽量减缓核酸降解。

6.3 石蜡切片数量要求 福尔马林固定石蜡包埋组织切片厚 5~8 μm ,切片数量 ≥ 5 张,组织大小 ≥ 1 cm $\times 1$ cm。PCR + 毛细管电泳技术检测 MSI 需选择癌旁组织或外周血作为对照样本,PCR + 高分辨率熔解曲线法和 NGS 技术无需对照样本。

6.4 血液标本 根据不同 panel 检测要求选择合适抗凝剂的采血管或专用保存管,血液标本的采集、运输和保存应严格按照相关操作流程进行,血液标本应在采集 2 h 内完成处

理,避免反复冻融,防止核酸降解。

6.5 核酸样本用量 提取的基因组 DNA 可通过紫外分光光度仪或 Qubit 等检测浓度,必要时对 DNA 样本进行浓度调整和稀释,确保单个 PCR 管中 DNA 的上样量为 10~250 ng。提取 DNA 样本于 2~8 °C 保存 7 天内检测,于 -20 °C 保存 6 个月内检测。

本文建议使用 Qubit 检测 DNA 浓度,由于提取的 DNA 样本中混有不同比例 RNA,紫外吸收法可能高估样本中 DNA 的浓度,Qubit 检测加入 DNA 染料可准确检测 DNA 浓度。

7 质量控制

标本的质量控制在检测的前、中、后各过程中应注意以下几点:(1)待测样本需病理医师进行可行性评估,一般肿瘤细胞比例 >20%,细胞学样本中肿瘤细胞数 >200 个。必要时可宏观解剖或显微切割富集肿瘤细胞;(2)需有独立的切片设备和场地,使用一次性刀片、棉签和漂片液,避免切片时样本之间的交叉污染;(3)PCR + 毛细管电泳法检测 MSI 分子量内标需合格,采用经试剂盒配套验证的分子量内标,各片段大小标注正确;如采用其他外配分子量内标则需进行验证,保证无明显荧光渗透现象;(4)微卫星位点检测峰高,未出现超阈值 (3500 /3500xl、3500Dx/3500xLDx、GenReader 7010,峰高 <30 000;3130xl,峰高 <8 000);反之,应调整产物稀释比例重新检测,可取 PCR 产物 ≥2 μL 用纯化水稀释 2~40 倍,将稀释后的产物进行毛细管电泳分离;(5)待检测位点和内参位点引物荧光基团标记及其产物片段大小,符合预期;(6)空白对照以无核酸酶纯水为模板进行扩增,无任何扩增产物;(7)以质控品为模板进行扩增,所有质控内参位点有效峰位置与预期相差 <2 nt;(8)每个对照位点至少出现 1 个不低于 100 RFU 的产物峰,核实同一组肿瘤样本和对照样本的对照位点是否一致;每个微卫星位点至少出现一组连续峰,其最高峰 ≥100 RFU;(9)采用 NGS 检测 MSI 的 Panel,应做好实验操作和生物信息等信息确认;(10)文库的质量是影响 NGS 数据的关键,建议使用荧光定量或其他准确性高的方法鉴定,实验中需设置阴阳性监控整个实验流程;根据测序深度、测序覆盖度、数据产出和运行时间等选择合适的 NGS 测序平台,并做相应指标的质控标准;(11)实验操作、生物信息分析和报告分析等人员应取得上岗资质,参加必要的培训;(12)进行月度或季度的数据统计,分析 MSI-H 的频率与文献报道是否相符;(13)实验室应定期参加相应的室内质评或选择同级别或高级别的实验室,进行室内比对^[47]。

8 结果判读和报告模板

PCR + 毛细管电泳技术和 PCR + 高分辨率熔解曲线法的结果判断:出现 2 个及以上不稳定的核苷酸重复位点时,判定为 MSI-H;出现 1 个或未出现不稳定的核苷酸重复位点时,判定为 MSI-L/MSS。

目前,采用 NGS 检测 MSI 的结果判断尚缺乏统一标准。

各实验室需根据不同检测平台和 Panel 的性能确认设定 MSI 阳性阈值。

实验室出具的报告内容除患者基本信息外,还需体现组织学病理诊断结果、肿瘤细胞含量、DNA 质控信息、检测方法、检测位点、检测结果、检测结论、结果解释、注意事项(可描述检测技术的局限性、相关注意事项)和参考文献等(表 1)。若采用 NGS 检测 MSI 状态,则需另外注明测序质量评估指标^[58]。

表 1 微卫星不稳定性 (MSI) 检测报告单

姓名		性别		年龄		住院号		
科别		床号		送检医师		送检日期		
样品类型		病理诊断		微卫星不稳定性 (MSI) 检测		报告编号		
		检测项目				病理号		
(1) 检测方法								
(2) 肿瘤细胞含量								
(3) 检测结果								
				DNA 质控				
	检测位点	GenBank ID	片段大小 (bp)	检测结果				
(4) 检测结论								
(5) 结果解释								
(6) 注意事项								
(7) 参考文献								
报告日期:	检测者:	审核者:					报告医师:	

参考文献:

- [1] Ellegren H. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference[J]. Trends Genet, 2000,16(12):551-558.
- [2] Zane L, Bargelloni L, Patarnello T. Strategies for microsatellite isolation: a review[J]. Mol Ecol, 2002,11(1):1-16.
- [3] Yang G, Zheng R Y, Jin Z S. Correlations between microsatellite instability and the biological behaviour of tumours[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2019,145(12):2891-2899.
- [4] Srivastava S, Avvaru A K, Sowpati D T, et al. Patterns of microsatellite distribution across eukaryotic genomes[J]. BMC Genomics, 2019,20(1):153.
- [5] Litt M, Luty J A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene[J]. Am J Hum Genet, 1989,44(3):397-401.
- [6] Ijsselstein R, Jansen J G, de Wind N. DNA mismatch repair-dependent DNA damage responses and cancer[J]. DNA Repair (Amst), 2020,93:102923.
- [7] Peltomäki P, Lothe R A, Aaltonen L A, et al. Microsatellite instability is associated with tumors that characterize the hereditary non-polyposis colorectal carcinoma syndrome[J]. Cancer Res, 1993,53(24):5853-5855.
- [8] Thibodeau S N, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon[J]. Science, 1993,260(5109):816

- 819.

- [9] Boland C R, Thibodeau S N, Hamilton S R, *et al.* 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 colorectal cancer[J]. *Cancer Res*, 1998,58(22):5248-5257.
- [10] Buhard O, Suraweera N, Lectard A, *et al.* Quasimonomorphic mononucleotide repeats for high-level microsatellite instability analysis[J]. *Dis Markers*, 2004,20(4-5):251-257.
- [11] Bacher J W, Flanagan L A, Smalley R L, *et al.* Development of a fluorescent multiplex assay for detection of MSI-high tumors[J]. *Dis Markers*, 2004,20(4-5):237-250.
- [12] Le D T, Uram J N, Wang H, *et al.* PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency[J]. *N Engl J Med*, 2015,372(26):2509-2520.
- [13] Overman M J, McDermott R, Leach J L, *et al.* Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study[J]. *Lancet Oncol*, 2017,18(9):1182-1191.
- [14] Hause R J, Pritchard C C, Shendure J, *et al.* Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types[J]. *Nat Med*, 2016,22(11):1342-1350.
- [15] Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, *et al.* ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer[J]. *Ann Oncol*, 2016,27(8):1386-1422.
- [16] 中国临床肿瘤学会结直肠癌专业委员会, 中国抗癌协会大肠癌专业委员会遗传学组, 中国医师协会结直肠肿瘤专业委员会遗传专委会. 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]. *中华肿瘤杂志*, 2019,41(10):734-741.
- [17] Baretto M, Le D T. DNA mismatch repair in cancer[J]. *Pharmacol Ther*, 2018,189:45-62.
- [18] Fishel R. Mismatch repair[J]. *J Biol Chem*, 2015,290(44):26395-26403.
- [19] Latham A, Srinivasan P, Kemel Y, *et al.* Microsatellite instability is associated with the presence of lynch syndrome pan-cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2019,37(4):286-295.
- [20] Benson A B, Venook A P, Al-Hawary M M, *et al.* Colon cancer, version 2. 2021, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2021,19(3):329-359.
- [21] 中华医学会检验医学分会分子诊断学组. 循环肿瘤细胞临床应用与实验室检测专家共识[J]. *中华检验医学杂志*, 2021,44(11):1008-1020.
- [22] 中国医学装备协会基因检测分会, 中国医学装备协会现场快速检测(POCT)装备技术分会, 国家医学检验临床医学研究中心, 等. 新型冠状病毒核酸快速检测临床规范化应用专家共识[J]. *中华检验医学杂志*, 2021,44(8):698-702.
- [23] Kahn R M, Gordhandas S, Maddy B P, *et al.* Universal endometrial cancer tumor typing: how much has immunohistochemistry, microsatellite instability, and MLH1 methylation improved the diagnosis of Lynch syndrome across the population? [J]. *Cancer*, 2019,125(18):3172-3183.
- [24] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会, 中华医学会病理学分会, 国家病理质控中心. 子宫内膜癌分子检测中国专家共识(2021年版)[J]. *中国癌症杂志*, 2021,31(11):1126-1144.
- [25] Vasen H F, Mösllein G, Alonso A, *et al.* Guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (hereditary non-polyposis cancer) [J]. *J Med Genet*, 2007,44(6):353-362.
- [26] Aronson M, Colas C, Shuen A, *et al.* Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency (CMMRD): recommendations from the international consensus working group[J]. *J Med Genet*, 2022,59(4):318-327.
- [27] Weiss J M, Gupta S, Burke C A, *et al.* NCCN guidelines insights: genetic/familial high-risk assessment: colorectal, version 1. 2021 [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2021,19(10):1122-1132.
- [28] 袁瑛, 熊斌, 徐焯, 等. 遗传性结直肠癌临床诊治和家系管理中国专家共识[J]. *实用肿瘤杂志*, 2018,33(1):3-16.
- [29] Ribic C M, Sargent D J, Moore M J, *et al.* Tumor microsatellite instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer[J]. *N Engl J Med*, 2003,349(3):247-257.
- [30] Sargent D J, Marsoni S, Monges G, *et al.* Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010,28(20):3219-3226.
- [31] Karahan B, Argon A, Yildirim M, *et al.* Relationship between MLH-1, MSH-2, PMS-2, MSH-6 expression and clinicopathological features in colorectal cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015,8(4):4044-4053.
- [32] Sinicrope F A, Sargent D J. Molecular pathways: microsatellite instability in colorectal cancer: prognostic, predictive, and therapeutic implications[J]. *Clin Cancer Res*, 2012,18(6):1506-1512.
- [33] Popat S, Hubner R, Houlston R S. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis[J]. *J Clin Oncol*, 2005,23(3):609-618.
- [34] Lordick F. Chemotherapy for resectable microsatellite instability-high gastric cancer? [J]. *Lancet Oncol*, 2020,21(2):203.
- [35] Giuffrida P, Arpa G, Grillo F, *et al.* PD-L1 in small bowel adenocarcinoma is associated with etiology and tumor-infiltrating lymphocytes, in addition to microsatellite instability [J]. *Mod Pathol*, 2020,33(7):1398-1409.
- [36] Marcus L, Lemery S J, Keegan P, *et al.* FDA approval summary: pembrolizumab for the treatment of microsatellite instability-high solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2019,25(13):3753-3758.
- [37] Marabelle A, Le D T, Ascierto P A, *et al.* Efficacy of pembrolizumab in patients with noncolorectal high microsatellite instability/mismatch repair-deficient cancer: results from the Phase II KEYNOTE-158 study[J]. *J Clin Oncol*, 2020,38(1):1-10.
- [38] Casak S J, Marcus L, Fashoyin-Aje L, *et al.* FDA approval summary: pembrolizumab for the first-line treatment of patients with MSI-H/dMMR advanced unresectable or metastatic colorectal carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2021,27(17):4680-4684.

- [39] Li J, Deng Y, Zhang W, *et al.* Subcutaneous enfafolimab monotherapy in patients with advanced defective mismatch repair/microsatellite instability high solid tumors[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1):95.
- [40] Smith C, Day P J, Walker M R. Generation of cohesive ends on PCR products by UDG-mediated excision of dU, and application for cloning into restriction digest-linearized vectors[J]. *PCR Methods Appl*, 1993,2(4):328-332.
- [41] 陆建荣, 章幼奕, 华文久, 倪丽萍. 用尿嘧啶-DNA-糖基化酶控制聚合酶链反应的产物污染[J]. *南通大学学报(医学版)*, 1995,15(2):337-339.
- [42] Suraweera N, Duval A, Reperant M, *et al.* Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR[J]. *Gastroenterology*, 2002,123(6):1804-1811.
- [43] Umar A, Boland C R, Terdiman J P, *et al.* Revised Bethesda guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2004,96(4):261-268.
- [44] Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg M, *et al.* ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach[J]. *Ann Oncol*, 2019,30(8):1232-1243.
- [45] Boyle T A, Bridge J A, Sabatini L M, *et al.* Summary of microsatellite instability test results from laboratories participating in proficiency surveys: proficiency survey results from 2005 to 2012[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2014,138(3):363-370.
- [46] Zhao H, Thienpont B, Yesilyurt B T, *et al.* Mismatch repair deficiency endows tumors with a unique mutation signature and sensitivity to DNA double-strand breaks[J]. *Elife*, 2014,3:e02725.
- [47] Baudrin L G, Deleuze J F, How-Kit A. Molecular and computational methods for the detection of microsatellite instability in cancer[J]. *Front Oncol*, 2018,8:621.
- [48] National Comprehensive Cancer Network. NCCN clinical practice guidelines in oncology (NCCN Guidelines). Colon cancer version 3. 2022 [EB/OL]. (2023-01-25) [2023-03-20]. <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1428>.
- [49] National Comprehensive Cancer Network. NCCN clinical practice guidelines in oncology (NCCN Guidelines). Rectal cancer version 4. 2022 [EB/OL]. (2023-01-25) [2023-03-20]. <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1461>.
- [50] National Comprehensive Cancer Network. NCCN clinical practice guidelines in oncology (NCCN Guidelines). Small bowel adenocarcinoma version 1. 2023 [EB/OL]. (2023-01-09) [2023-03-20]. <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1495>.
- [51] 顾艳宏, 姜争, 李健, 等. 结直肠癌靶向治疗中国专家共识[J]. *中华普通外科学文献(电子版)*, 2023,17(1):1-8.
- [52] 樊嘉, 顾晋, 贾宝庆, 等. 中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(2023)[J]. *中国临床医学*, 2023,30(1):166-198.
- [53] Gan C, Love C, Beshay V, *et al.* Applicability of next generation sequencing technology in microsatellite instability testing[J]. *Genes (Basel)*, 2015,6(1):46-59.
- [54] Cortes-Ciriano I, Lee S, Park W Y, *et al.* A molecular portrait of microsatellite instability across multiple cancers[J]. *Nat Commun*, 2017,8:15180.
- [55] Niu B, Ye K, Zhang Q, *et al.* MSI sensor: microsatellite instability detection using paired tumor-normal sequence data[J]. *Bioinformatics*, 2014,30(7):1015-1016.
- [56] Zhu L, Huang Y, Fang X, *et al.* A novel and reliable method to detect microsatellite instability in colorectal cancer by next-generation sequencing[J]. *J Mol Diagn*, 2018,20(2):225-231.
- [57] Nowak J A, Yurgelun M B, Bruce J L, *et al.* Detection of mismatch repair deficiency and microsatellite instability in colorectal adenocarcinoma by targeted next-generation sequencing[J]. *J Mol Diagn*, 2017,19(1):84-91.
- [58] 陈功, 王峰. 结直肠癌分子检测高通量测序中国专家共识[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2021,26(3):253-264.

参与本版共识编写专家组成员(按单位和姓氏拼音为序):安徽医科大学第一附属医院(潘美华);北京大学医学部/北京大学第三医院(张燕);北京大学肿瘤医院(周立新);重庆市人民医院(刘瑾);福建省立医院(陈昕);福建省肿瘤医院(师怡、吴在增);福建医科大学附属第一医院(李国平);复旦大学附属华山医院(高名士);复旦大学附属中山医院(宿杰阿克苏、黄洁);复旦大学附属肿瘤医院(张静、周学科);广东省人民医院(骆新兰);广西医科大学第一附属医院(党喬武);广西中医药大学第一附属医院(崔锦珠);海军军医大学附属长海医院(倪灿荣);哈尔滨医科大学附属肿瘤医院(孟宏学);航天中心医院(侯芳);河南省人民医院(孙廷谊);湖北省肿瘤医院(王明伟);华中科技大学同济医学院附属协和医院(罗丹菊、翁密霞);江苏省人民医院(张炜明);江南大学附属中心医院(汤鸿);空军军医大学第一附属医院(胡沛臻、钱守斌);辽宁省肿瘤医院(何莲);陆军军医大学大坪医院(毛成毅);南京大学医学院附属鼓楼医院(杨军、吴鸿雁);宁波临床病理诊断中心(陈洁、俞吉霞);宁夏医科大学总医院(秦璟、李国富);青岛大学口腔医学院(赵洁);陕西省宝鸡市中心医院(徐燕);陕西省肿瘤医院(王晓敏);上海交通大学医学院附属新华医院(虞文伟);上海交通大学医学院附属瑞金医院(许海敏);上海中医药大学附属岳阳医院(洗志红);首都医科大学附属北京世纪坛医院(高颖);四川大学华西医院(雷松、陈敏);苏州大学附属第一医院(朱卫东);山西省肿瘤医院(肖彦增);天津市中心妇产科医院(宋剑婵);温州医科大学附属第一医院(黄卡特);西安交通大学第二附属医院(靳耀锋);新疆石河子大学第一附属医院(郑玉琴);新疆医科大学第一附属医院(师艺、苗娜);云南省肿瘤医院(陈芸);云南省第三人民医院(徐开军);浙江大学医学院附属第一医院(丁伟、姚洪田、徐黎明、邹尹影、张婧);浙江大学医学院附属第二医院(王海军);浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院(王炜);浙江省肿瘤医院(胡锦林、张谷);郑州大学第一附

网络出版时间:

网络出版地址:

· 专家论坛 ·

少见子宫间叶源性肿瘤病理诊断的新进展

李慧^{1,2}, 毕蕊^{1,2}

关键词: 子宫肿瘤; 间叶源性肿瘤; 诊断; 新思路

中图分类号: R 737.33 文献标志码: A

文章编号: 1001-7399(2024)03-0235-08

doi:10.13315/j.cnki.cjcep.2024.03.003

随着分子病理检测技术的不断发展,研究者们对各种子宫间叶源性肿瘤的认识进一步深化。WHO(2020)女性生殖系统肿瘤(简称第五版WHO)对子宫间叶源性肿瘤的分类、分级进行更新和补充,本文根据第五版WHO分类并结合最新研究进展,对原发于子宫和近年新发现的几种少见间叶源性肿瘤的特点进行归纳和总结,旨在为临床、病理医师的诊断和鉴别诊断提供新思路。

1 平滑肌源性肿瘤

平滑肌源性肿瘤的亚型繁多,本文重点介绍新近引起重视的几种特殊类型的肿瘤。

1.1 延胡索酸水合酶(fumarate hydratase, FH)缺陷型子宫平滑肌瘤 FH缺陷型子宫平滑肌瘤临床罕见,约占子宫平滑肌瘤的1%。第五版WHO首次将其纳入子宫平滑肌瘤亚型,并强调FH基因的胚系或体系变异均可导致FH缺陷型子宫平滑肌瘤。FH胚系变异会导致遗传性平滑肌瘤病和肾细胞癌(hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer, HLRCC),主要表现为多发性皮肤平滑肌瘤、多发性子宫平滑肌瘤和肾细胞癌^[1]。70%~80%的患者约在30岁发生皮肤平滑肌瘤和子宫平滑肌瘤,15%~20%的患者在40岁以后出现恶性度高、侵袭性强的II型乳头状肾细胞癌。因此,皮肤

和子宫的平滑肌瘤被认为是HLRCC患者的前哨肿瘤。

FH缺陷型子宫平滑肌瘤往往多发,镜下主要特征包括:间质内鹿角样血管(图1A);间质水肿,形成肺泡样水肿结构;散在分布奇异核细胞和多核细胞(图1B);卵圆形细胞核有时出现链状排列;可见胞质内嗜伊红包涵体;嗜酸性大核仁和核周空晕^[2],瘤体周围肌层可见平滑肌瘤病样的模糊结节生长。免疫组化检测显示FH染色缺失(图1C)、2SC弥漫性颗粒状着色(图1D),分子检测示1q43杂合性缺失。FH表达缺失和2SC表达,有助于识别FH缺陷型平滑肌瘤。上述形态不仅出现于平滑肌瘤中,也可在恶性潜能未定的平滑肌肿瘤和平滑肌肉瘤中见到相似形态,并有FH缺失表达。因此,应对形态学具有提示特征的子宫平滑肌肿瘤进行免疫组化筛查,如发现FH缺失表达和(或)2SC的异常表达,建议进一步行分子检查筛选HLRCC的患者。

1.2 伴PGR基因重排的上皮样平滑肌肉瘤 Chiang等^[3]发现在上皮样平滑肌肉瘤伴横纹肌样和梭形细胞特征时,可伴PGR基因重排,伴侣基因主要为NR4A3。患者中位年龄45岁,肿瘤呈棕色、红色或黄白色,质脆伴出血,偶可见囊性变和坏死。肿瘤位于子宫体肌层或子宫颈间质,未累及内膜。镜下呈双相性分化,上皮样或横纹肌样细胞与梭形细胞混合存在;均匀一致的上皮样细胞含丰富的嗜酸性胞质,有时胞质内可见致密的嗜酸性包涵体类似横纹肌样细胞,细胞核不规则,位于中央或偏位,偶见核沟,染色质空泡状,核仁明显,间质可见黏液样基质和微囊形态的水肿变性(图2);梭形细胞成分通常由小而温和的细胞组成,核仁不明显,细胞质丰富嗜酸呈波浪状,有时梭形细胞可呈席纹状,细胞核略拉长,核仁明显,细胞质丰富嗜酸。上皮样或横纹肌样细胞区域核分裂象活跃(约10个/10HPF),梭形细胞区域核分裂象少见(<1个/10HPF)。可见小动脉或大血管和脉管侵犯,坏死少见。免疫表型:desmin、ER、PR均阳性,h-Caldesmon极少阳性,CD10、HMB-45和Myogenin均阴性。伴PGR基因重排的上皮样平滑肌肉瘤患者术后均未见复发,预后较好,提示可能呈惰性生物学行为。由于文献报道的病例数有限,需积累更多数据进一步分析。

接受日期:2024-01-18

基金项目:国家自然科学基金(82303274)

作者单位:¹复旦大学附属肿瘤医院病理科,上海 200030²复旦大学上海医学院肿瘤学系,上海 200030

作者简介:李慧,女,博士,医师。E-mail: haifei16@163.com

毕蕊,女,博士,主任医师,通讯作者。E-mail: br_fdec@

163.com

属医院(高冬玲、黄培);中国人民解放军总医院第一医学中心(宋欣);中国人民解放军东部战区总医院(马恒辉、王璇);中国人民解放军北部战区总医院(秦海明);中国人民解放军总医院第四医学中心(康佳蕊);中国医学科学院北京协和医院(王德田、薛晓伟、周良锐、庞钧译);中国医学科学院肿瘤医院(郑波、郭蕾);中南大学湘雅医院(傅春燕、徐志杰);中日友好医院(张红雷);中山大学附属第一医院(梁英杰、董愉);中山大学肿瘤防治中心(肖永波、卢佳斌)。

本版共识执笔者:杨军,徐志杰,朱卫东,张静,师艺

通讯作者:丁伟(E-mail: 181010@zju.edu.cn)