

Tumor Budding and PDC Grade Are Stage Independent Predictors of Clinical Outcome in Mismatch Repair Deficient Colorectal Cancer

汇报人：杨巧

指导教授：李增山

- 癌症分期有助于评估预后，但肿瘤的异质性导致同一分期的结直肠癌（CRC）治疗结果各不相同
- 肿瘤分级是CRC侵袭性最重要的预测因素之一，以肿瘤内腺体分化的百分比为基础，观察者间的可变性限制其预后价值；其他预后分级系统包括组织病理学和临床参数，可重复性差未广泛应用
- **目的：** 确定预测因素对治疗和结局的反应，标准化病理分级系统，研究**肿瘤出芽和低分化细胞簇（PDC）**对dMMR CRC预后的影响

- 肿瘤出芽是肿瘤侵袭的初始阶段，有文献报道与CRC的转移活性和预后相关

肿瘤出芽定义：指肿瘤浸润的前沿间质内散在**单个癌细胞或一簇细胞<5个癌细胞**

- **PDC定义：**一个视野内的**最大细胞簇 ≥ 5 个癌细胞，无腺体形成**
- 越来越多的证据表明肿瘤出芽和PDC分级比常规分级更具可重复性，能提供更重要的预后信息

- 错配修复缺陷的结直肠癌（dMMR CRC）：最常见于右半结肠，低分化肿瘤、富含黏液成分、大量肿瘤相关淋巴细胞浸润，存在“克罗恩样”改变
- MMR有重要意义包括：作为林奇综合征的筛查标记；可作为预测标记；可以确定化疗和新辅助化疗的疗效

有研究表明dMMR CRC比pMMR CRC预后更好，前者更少发生淋巴结转移（LNM）和肝转移，提示传统的WHO分级和dMMR CRC的预后不完全相关

本文研究**肿瘤出芽和低分化细胞簇（PDC）**对dMMR CRC预后的影响

材料与amp;方法

2005—2015年2086例早期检测过MMR的患者进行回顾性研究，所有患者确诊为CRC并行手术切除，少数患者行二次手术，最终有238例是dMMR CRC

病理分期参考第七版AJCC分期

IHC: hMLH1 、 hPMS2 、 hMSH2 、 hMSH6

评估组织学分级（腺体分化程度）、肿瘤出芽、PDC分级

统计学分析

组织学分级标准：根据腺体分化程度

低级别

高分化：腺体 $\geq 95\%$

中分化：50%—95%

高级别

低分化：5%—50%实性/未分化区域

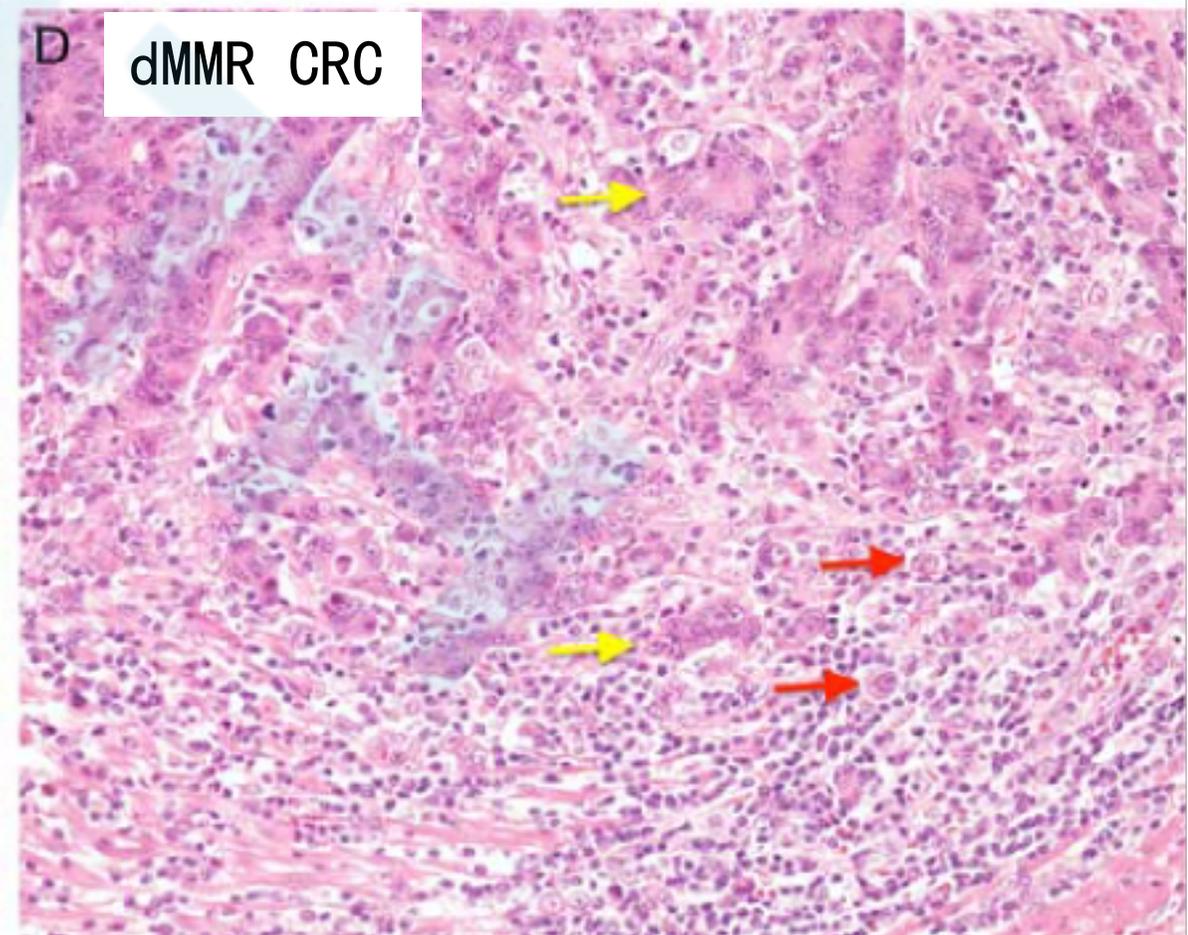
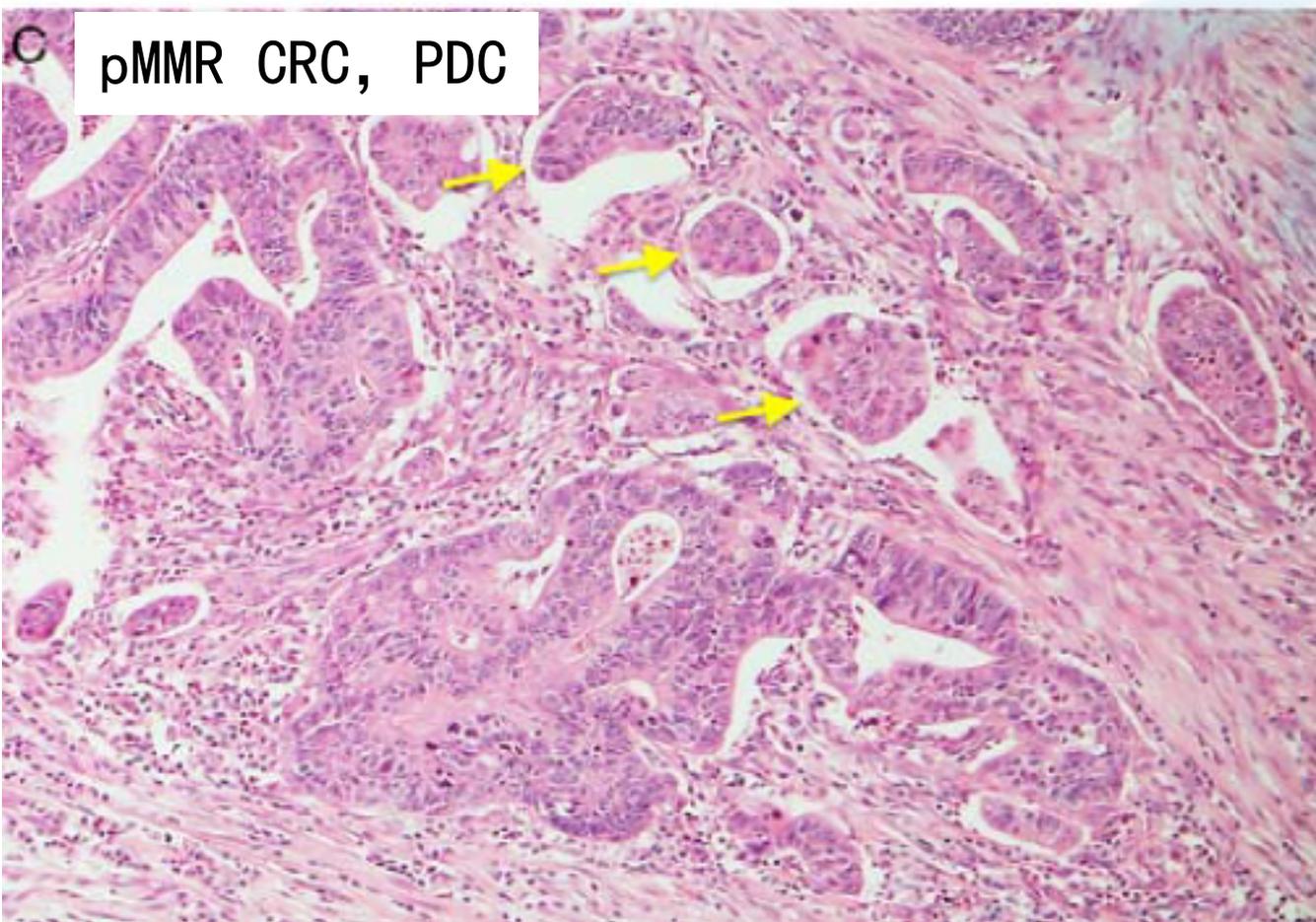
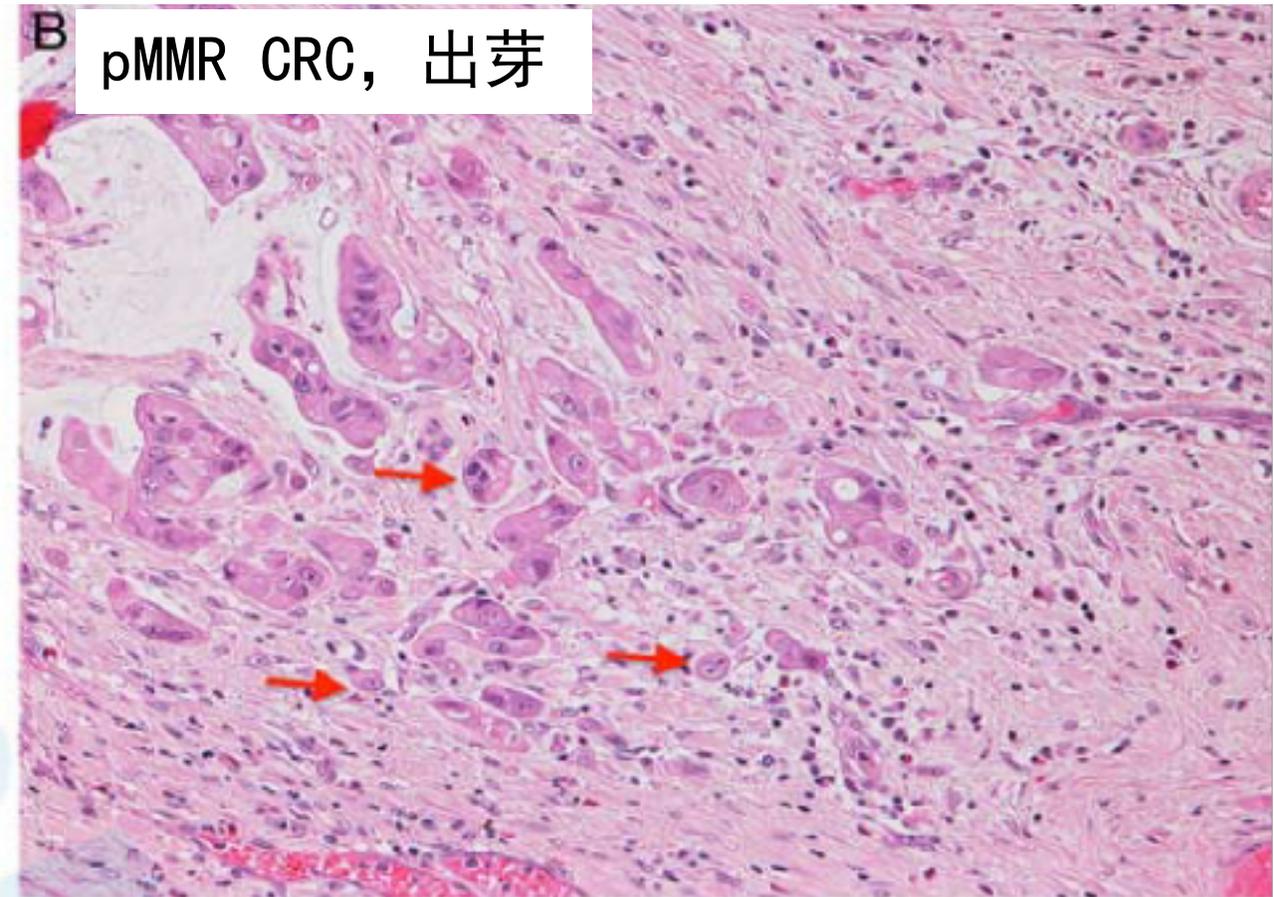
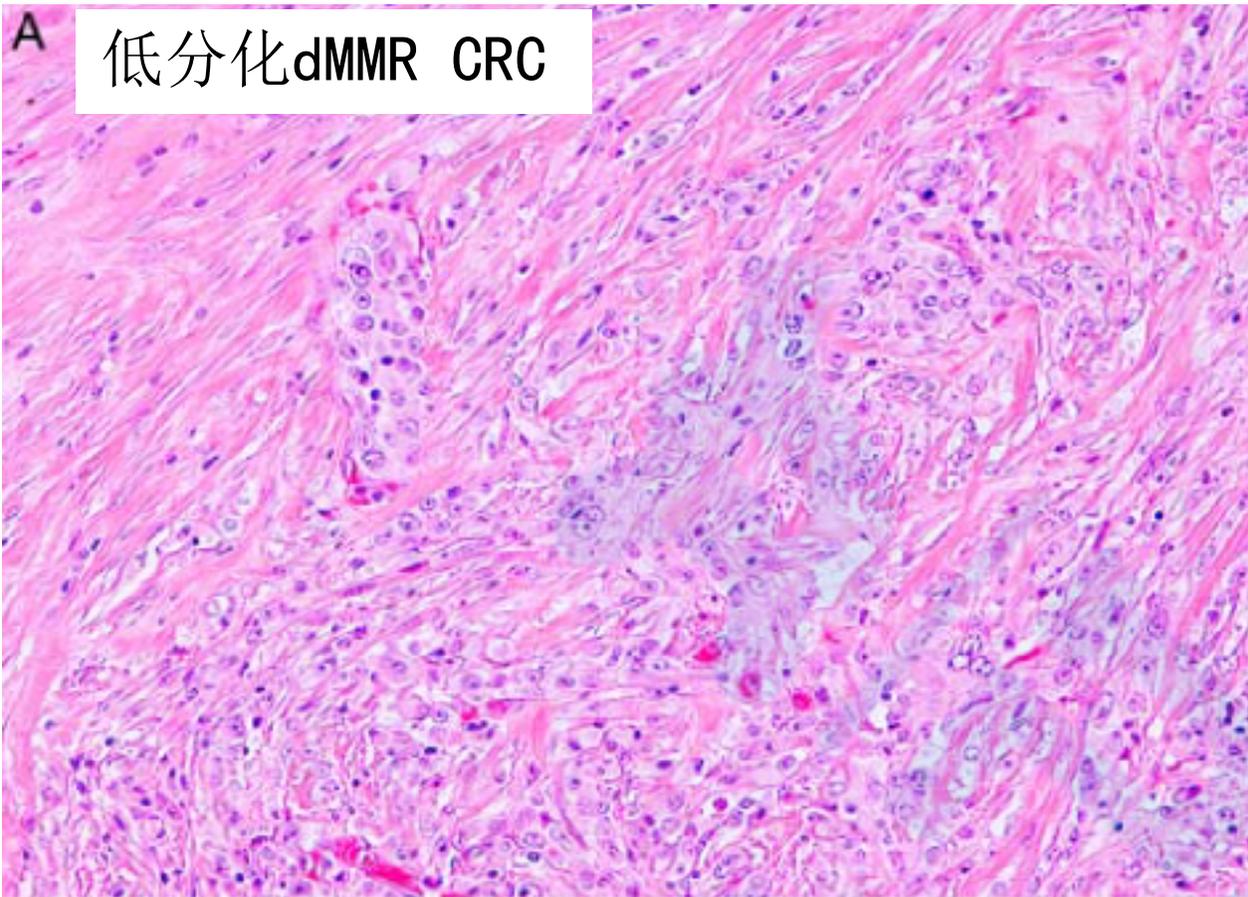
未分化： $< 5\%$

肿瘤出芽评分标准：低倍镜（X4）仔细观察肿瘤出芽最密集的区域，放大后（X20）观察5个视野

0分：无肿瘤出芽证据；

1分：至少50%区域有0-1个肿瘤出芽；

2分：50%区域至少1个肿瘤出芽



PDC分级：（20倍镜）一个视野内观察肿瘤浸润前沿的最大细胞簇

PDC定义：一个视野内的最大细胞簇 ≥ 5 个细胞，无腺体形成

PDC分级标准：3级分级系统

低PDC分级

0级：无PDCs

1级：1—4个PDCs

高PDC分级

2级：5—9个PDCs

3级： ≥ 10 个PDCs

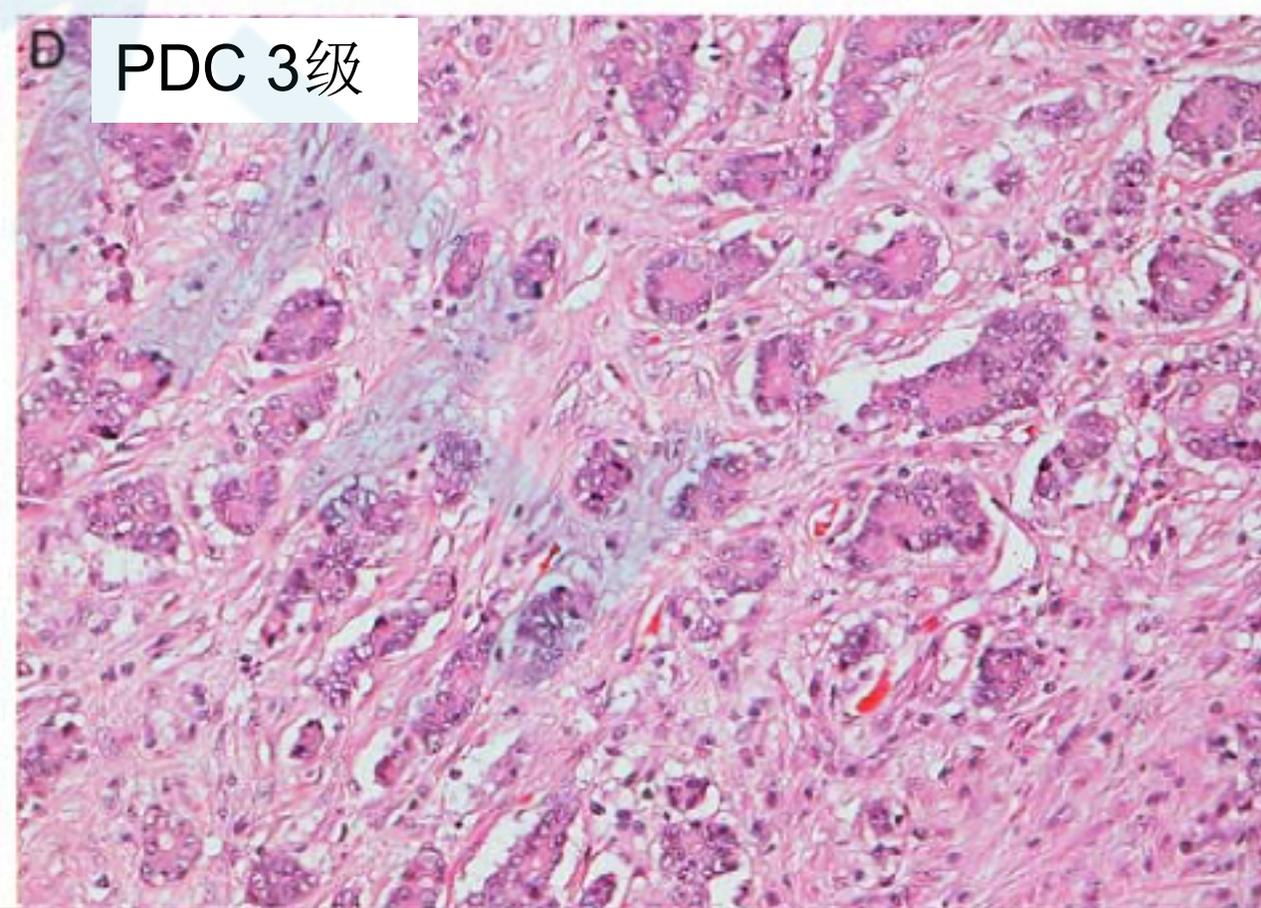
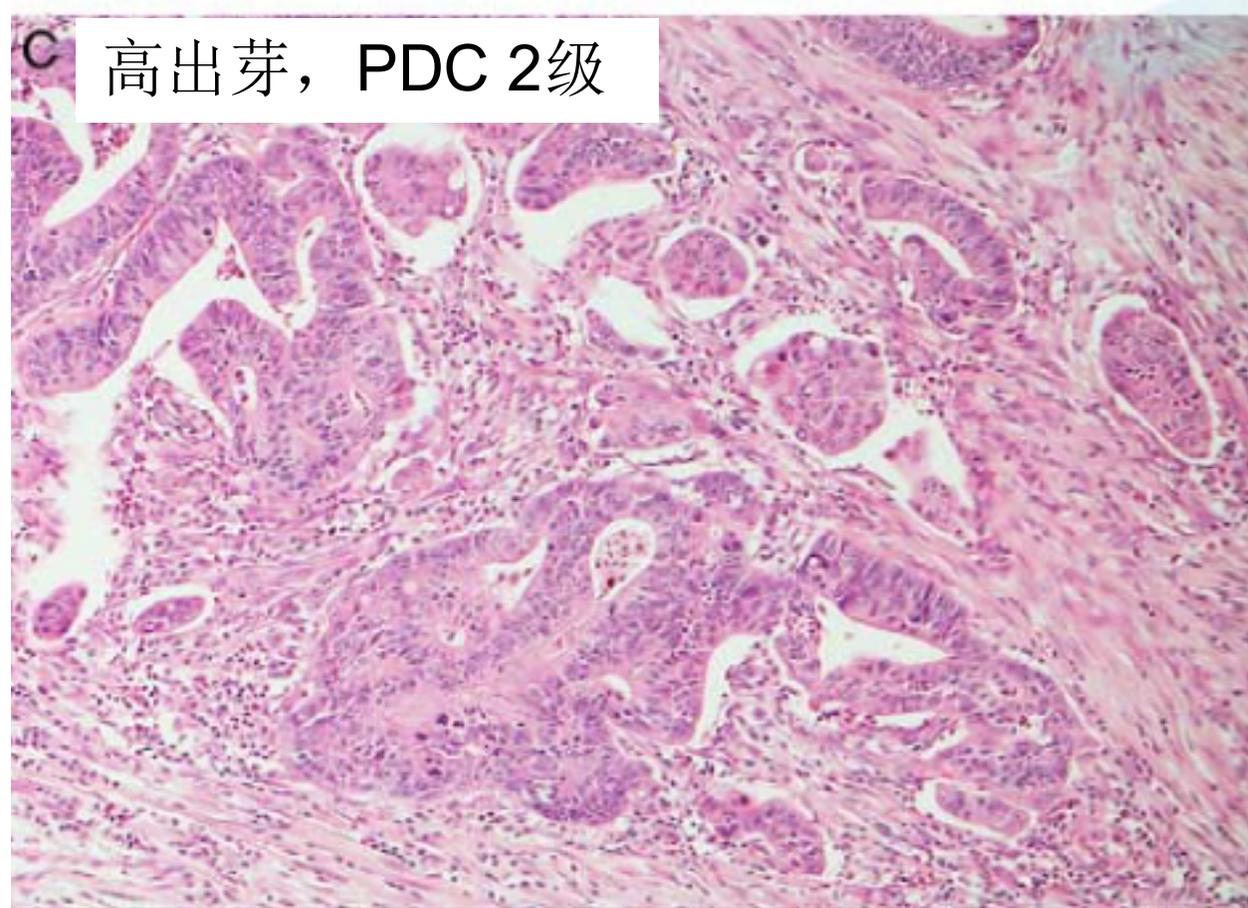
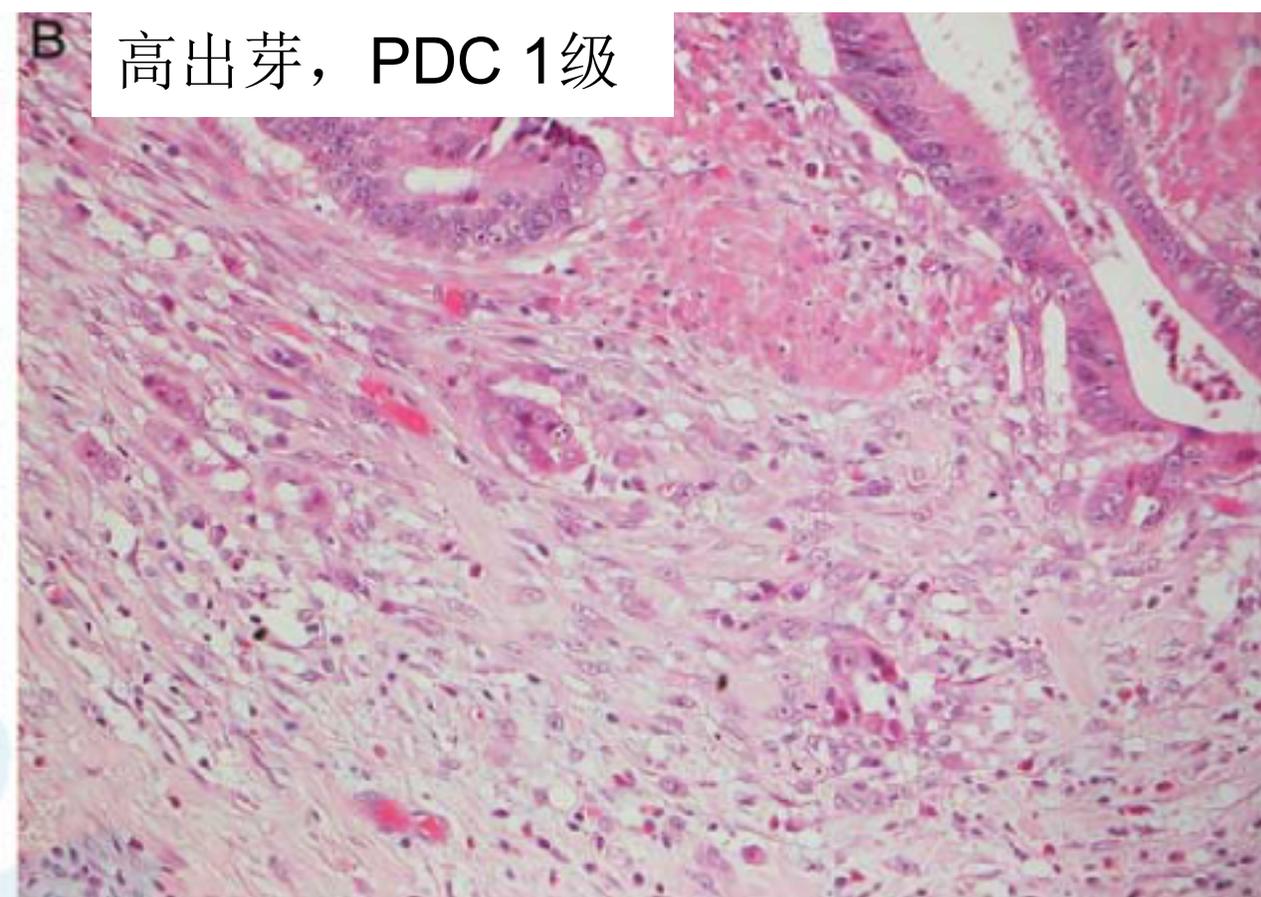
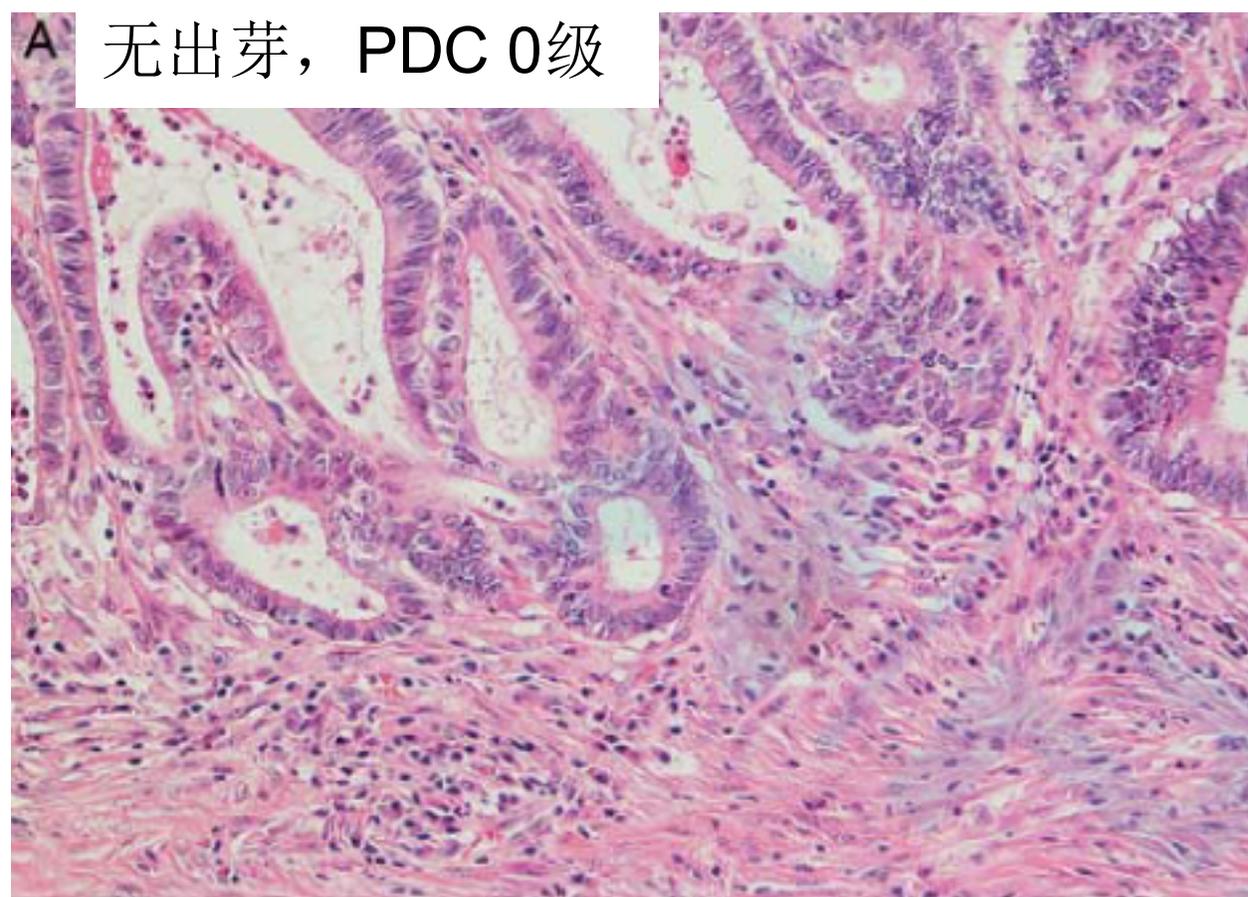


TABLE 1. Patient Demographics and Tumor Histopathologic Features

| Parameter | Strata | n (Valid %) |
|----------------------------------|--------------|----------------------------|
| Mean age (\pm SD [range]) (y) | | 71.18 \pm 13.757 (23-97) |
| Gender | Female | 156 (65.5) |
| | Male | 82 (34.5) |
| Median size (range) (mm) | | 50 (33-104) |
| | Site | |
| AJCC 7th TNM | Right | 200 (84) |
| | Left | 38 (16) |
| WHO grade | 1 | 37 (15.5) |
| | 2 | 131 (55) |
| | 3 | 64 (26.9) |
| | 4 | 6 (2.5) |
| | 1 | 36 (15.1) |
| Budding score | 2 | 113 (47.5) |
| | 3 | 56 (23.5) |
| | 4 | 33 (13.9) |
| | 0 | 89 (53.3) |
| PDC grade | 1 | 41 (24.5) |
| | 2 | 37 (22.2) |
| | 3 | 24 (14.3) |
| WHO type | 0 | 100 (59.8) |
| | 1 | 26 (15.7) |
| | 2 | 17 (10.2) |
| LVI | 3 | 24 (14.3) |
| | Conventional | 132 (55.5) |
| | Mucinous | 38 (16) |
| PNI | Signet ring | 19 (8) |
| | Medullary | 49 (20.6) |
| EMVI | Absent | 107 (45) |
| | Present | 131 (55) |
| Margin | Absent | 204 (85.7) |
| | Present | 34 (14.3) |
| pT stage | Absent | 162 (68.1) |
| | Present | 75 (31.5) |
| pN stage | Expansile | 116 (48.9) |
| | Infiltrative | 121 (51.1) |
| | pT 1 | 8 (3.4) |
| | pT 2 | 32 (13.4) |
| pM stage | pT 3 | 93 (39.1) |
| | pT 4 | 105 (44.1) |
| | pN 0 | 168 (70.6) |
| | pN 1 | 45 (18.9) |
| | pN 2 | 25 (10.5) |
| | M0 | 232 (97.5) |
| | M1 | 6 (2.5) |

结果

2086例结直肠癌中有238例 (11.4%) 是dMMR CRC

平均随访时间：45个月

好发于女性：65.5%

右半结肠多见：200/238例 (84%)

167例有肿瘤出芽，37例评分2分

41例PDC分级为2-3级

未评估肿瘤出芽和PDC

肿瘤出芽评分和PDC分级在dMMR CRC 中无显著差异，但两者与淋巴结转移情况和第七版AJCC TNM分期密切相关

EMVI indicates extramural vascular invasion; LVI, lympho-vascular invasion; PNI, perineural invasion.

TABLE 2. Histopathologic Predictors of LNM Using Binary Logistic Regression

| Parameter | Odds Ratio | | | Odds Ratio | | |
|-------------|-------------|--------------|-----------|---------------|--------------|----------|
| | Univariable | 95% CI | <i>P</i> | Multivariable | 95% CI | <i>P</i> |
| Age | 0.996 | 0.976-1.016 | NS | | | |
| Sex | 0.563 | 0.303-1.046 | 0.069 | | | |
| Side | 0.974 | 0.453-2.090 | NS | | | |
| WHO grade | 2.501 | 1.412-4.432 | 0.002** | | | |
| Mucinous | 1.130 | 0.534-2.390 | NS | | | |
| Signet ring | 8.150 | 2.809-23.649 | <0.000*** | | | |
| Medullary | 0.950 | 0.475-1.902 | NS | | | |
| Budding | 5.182 | 2.349-11.430 | <0.000*** | | | |
| PDC grade | 6.521 | 2.977-14.284 | <0.000*** | 4.122 | 1.693-10.036 | 0.002** |
| LVI | 4.439 | 2.325-8.474 | <0.000*** | | | |
| PNI | 5.110 | 2.383-10.955 | <0.000*** | | | |
| EMVI | 6.091 | 3.305-11.225 | <0.000*** | 3.785 | 1.558-9.194 | 0.003** |
| Margin | 2.809 | 1.557-5.068 | 0.001** | | | |
| pTstage | 4.500 | 1.537-13.177 | 0.006** | | | |

*indicates *P* < 0.05.

**indicates *P* < 0.001.

***indicates *P* < 0.0001.

EMVI indicates extramural vascular invasion; LVI, lympho-vascular invasion; NS, nonsignificant; PNI, perineural invasion.

结论：dMMR CRC中肿瘤出芽和PDC与WHO分级、神经侵犯、淋巴血管侵犯，肠壁外血管侵犯（EMVI）、切缘浸润、pT分期均有明显相关性

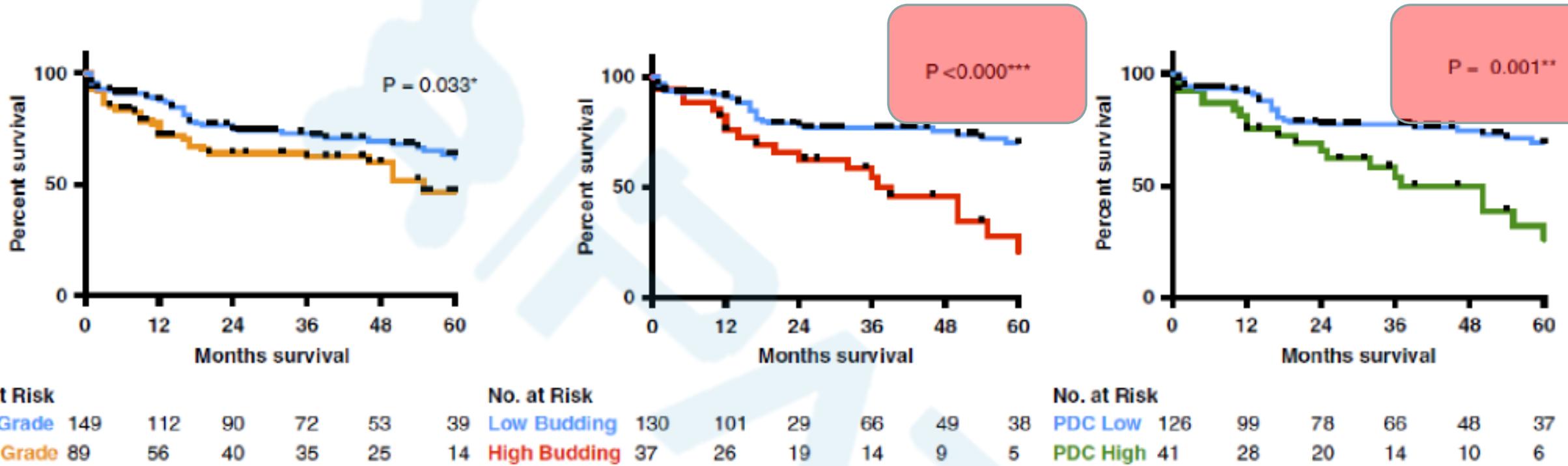
TABLE 3. Univariable and Multivariable Analyses for Disease Free Survival in CRC With dMMR Using the Cox Regression Method

| Parameter | Hazard Ratio | | | Hazard Ratio | | |
|--------------|--------------|-------------|------------|---------------|--------------|----------|
| | Univariable | 95% CI | <i>P</i> | Multivariable | 95% CI | <i>P</i> |
| Age | 0.987 | 0.973-1.001 | 0.074 | | | |
| Sex | 1.112 | 0.716-1.726 | NS | | | |
| Side | 1.400 | 0.832-2.355 | NS | | | |
| WHO Grade | 1.574 | 1.029-2.407 | 0.036* | | | |
| Mucinous | 1.040 | 0.587-1.844 | NS | | | |
| Signet ring | 1.545 | 0.745-3.207 | NS | | | |
| Medullary | 1.615 | 1.002-2.604 | 0.049* | | | |
| Budding | 2.911 | 1.681-5.040 | < 0.000*** | 2.987 | 1.718-5.193 | < 0.000 |
| PDC Grade | 2.415 | 1.388-4.203 | 0.003** | | | |
| LVI | 1.700 | 1.088-2.656 | 0.020* | | | |
| PNI | 2.440 | 1.455-4.095 | 0.001** | | | |
| EMVI | 2.781 | 1.816-4.258 | < 0.000*** | | | |
| Margin | 2.388 | 1.515-3.736 | < 0.000*** | | | |
| pTstage | 4.177 | 1.692-10.31 | 0.002** | 4.105 | 1.483-11.364 | 0.007 |
| Nodal status | 2.452 | 1.597-3.765 | < 0.000*** | | | |

单变量分析显示：在dMMR CRC中WHO分级、髓样癌、肿瘤出芽、PDC分级等均与更差的DFS相关

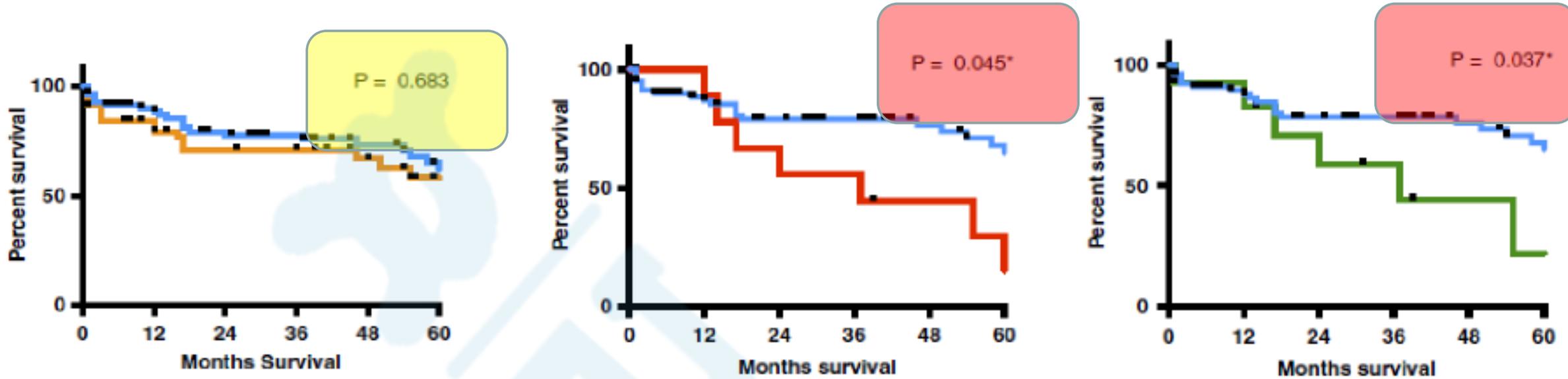
多变量分析显示：肿瘤出芽和pT分期与更差的DFS相关

肿瘤出芽、PDC分级的关系和结果



- 结论：
- 1、肿瘤分级的5年无病生存率差异小
 - 2、肿瘤出芽、PDC分级的高低有显著差异

TNM分期: II



No. at Risk

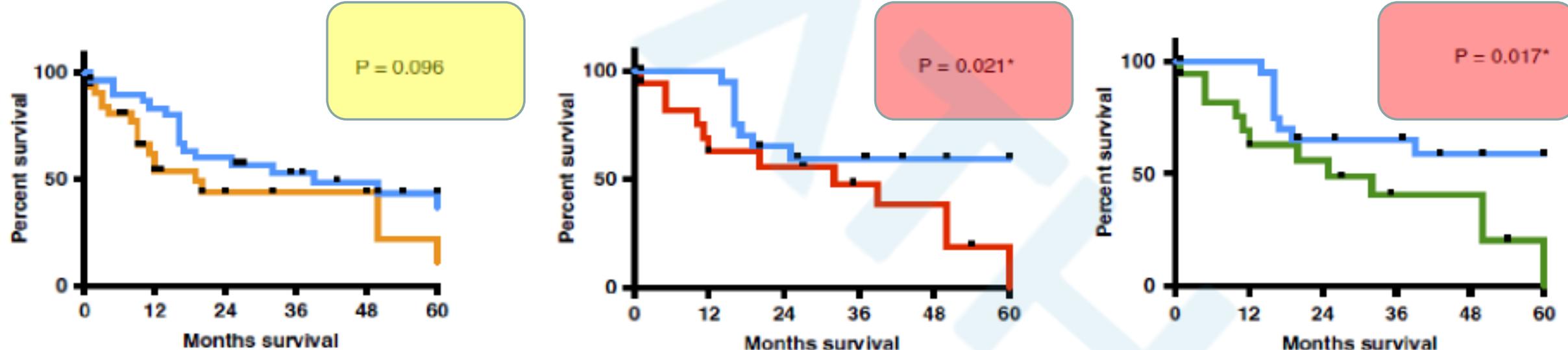
| | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|
| Low Grade | 86 | 60 | 49 | 43 | 31 | 23 |
| High Grade | 45 | 33 | 28 | 25 | 17 | 11 |

No. at Risk

| | | | | | | |
|--------------|----|----|----|----|----|----|
| Low Budding | 80 | 58 | 48 | 41 | 30 | 23 |
| High Budding | 13 | 9 | 6 | 5 | 4 | 3 |

No. at Risk

| | | | | | | |
|----------|----|----|----|----|----|----|
| PDC Low | 79 | 58 | 48 | 43 | 21 | 24 |
| PDC High | 14 | 9 | 6 | 5 | 3 | 2 |



No. at Risk

| | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|---|
| Low Grade | 31 | 26 | 19 | 14 | 11 | 7 |
| High Grade | 33 | 15 | 7 | 6 | 5 | 4 |

No. at Risk

| | | | | | | |
|--------------|----|----|----|----|---|---|
| Low Budding | 21 | 21 | 13 | 11 | 9 | 7 |
| High Budding | 17 | 11 | 9 | 6 | 5 | 2 |

No. at Risk

| | | | | | | |
|----------|----|----|----|----|---|---|
| PDC Low | 21 | 21 | 13 | 12 | 9 | 7 |
| PDC High | 17 | 14 | 9 | 5 | 5 | 2 |

TNM分期: III

结论: 1、肿瘤分级高低的5年无病生存率无差异
2、肿瘤出芽、PDC分级的高低有显著差异

讨论

本文证实肿瘤出芽和PDC分级是dMMR CRC预后的独立预测因素

肿瘤出芽、PDC分级似乎有相同的生物学意义，两者密切相关

假设出芽和PDC在dMMR CRC中相对罕见，至少能部分解释其预后较好，本文中肿瘤高出芽和PDC分级的发生率仅22.2%和24.5%

1: 认为dMMR CRC比pMMR CRC**预后更好**;
PDC分级是淋巴结转移的预测指标

2: 转移性dMMR CRC**预后更差**, 肿瘤出芽多见、PDC分级更高;
肿瘤出芽、PDC分级与淋巴结转移密切相关 (淋巴结转移率在肿瘤出芽和PDC分级高的肿瘤中分别为52.6%和46.3%)
淋巴结转移的**独立预测因素有EMVI和PDC分级**

作用机制：出芽和PDC可能存在上皮间质转化（EMT），通过下调E-cadherin（细胞粘附分子），EMT的迁徙能力增强帮助肿瘤微环境（TME）呈弥漫浸润特性

新的证据表明，肿瘤出芽的EMT可起始于TME间质细胞的分子改变，而不是传统的EMT通路和肿瘤出芽相关的肿瘤前TME

dMMR肿瘤TME选择性高上调表达程序性死亡1（PD-1）

TME的评估可能是的新兴的免疫治疗重要的指导策略，PD-1在dMMR CRC中表达非常活跃

如果免疫位点活性抑制，基于我们的研究结果，II / III期dMMR CRC存在高出芽和/或PDC分级，也许是与TME评估相结合的结果

局限性：

- 一部分黏液腺癌和印戒细胞癌无法评估肿瘤出芽或PDC
- 免疫组化标记CK可提高肿瘤出芽检测率，但证据有限
- 单中心研究，样本量小，随访时间相对较短
- 不是可重复性的研究，每个病例只进行过一次检查

优势：肿瘤出芽的标准是可重复应用的

总结

在dMMR CRC中传统的WHO分级与预后不相关，有15%到20%的结直肠癌评估分级不能提供有用的预后信息

肿瘤出芽和PT分期是最好的预测因子，提示预后较差

作者建议在dMMR CRC中应常规评估肿瘤出芽，“高危”的II期、III期患者评估肿瘤出芽有助于选择术后辅助治疗

如果不能评估肿瘤出芽，PDC分级可作为预后替代

谢谢大家！