

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.02.008

· 个案报告 ·

肛管恶性黑色素瘤伴 MSI-H/TMB-H 的 1 例报告及诊疗策略分析

A case report of anal canal malignant melanoma with MSI-H/TMB-H and analysis of diagnosis and treatment strategies

沈煜秋^{1,2,3}, 邹征云^{1,2,3}, 桑剑锋^{1,2,3} (1. 江苏大学鼓楼临床医学院 南京鼓楼医院 甲状腺外科, 江苏 南京 210008; 2. 南京大学医学院附属鼓楼医院 肿瘤科, 江苏 南京 210008; 3. 南京大学医学院附属鼓楼医院 甲状腺外科, 江苏 南京 210008)

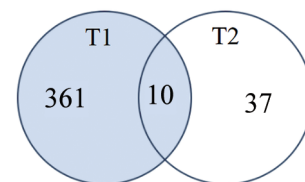
1 病例资料

患者, 男性, 62 岁, 2024 年 9 月 12 日因“大便带血 1 个月”就诊, 行肠镜检查发现肛管 1.5 cm × 1.5 cm 息肉样新生物, 病理诊断为肛管恶性黑色素瘤 (anorectal malignant melanoma, AMM) [肿瘤细胞人黑色素瘤标志物 45 (human melanoma black-45, HMB-45) 卅, S100 卅, SRY 盒转录因子 10 (SRY-box transcription factor 10, SOX10) ++, Ki-67 50%+], 辅助检查未见远处转移。患者拒绝经腹会阴联合切除术 (abdominoperineal resection, APR), 遂于 2024 年 9 月 18 日行肛管病损切除术 (Mason 术), 术后病理提示恶性黑色素瘤, 肿瘤组织紧邻切缘。肛管肿瘤组织基因检测显示微卫星高度不稳定 (microsatellite instability-high, MSI-H) 和高肿瘤突变负荷 (tumor mutation burden-high, TMB-H) (211 mut/Mb), PD-L1 联合阳性评分 (combined positive score, CPS) = 8。术后患者于 2024 年 10 月 9 日接受替莫唑胺联合 PD-1 抑制剂帕博利珠单抗辅助治疗。

2025 年 2 月 24 日复查肠镜提示肛管见一直径约 0.6 cm × 0.6 cm 的“暗红色”黏膜隆起, 病理活检提示恶性黑色素瘤; 复查 PET-CT 示肛管区局灶性葡萄糖代谢增高灶, 病灶位置同前相仿, 最大标准化摄取值 (standardized uptake value maximum, SUVmax) 为 7.5; 患者仍坚持保肛手术, 遂于 2025 年 2 月 27 日行 Mason 术; 后因病理提示切缘阳性, 遂于 2025 年 3 月 14 日加肛提肌外腹会阴联合切除术及区域淋巴结清扫术, 术后病理诊断为恶性黑色素瘤 (肿瘤细胞 S100 局灶+, HMB-45 -, SOX10 卅, Ki-67 60%+), 肛周查见淋巴结 12 枚, 其中 5 枚见转移。

将第二次 Mason 术后肿瘤组织再次进行二代基因测序 (next-generation sequencing, NGS), 前后比较, 结果显示: 第一次手术标本 MSI 状态为 MSI-H,

TMB 为 211 mut/Mb; 第二次手术标本为微卫星稳定 (microsatellite stable, MSS), TMB 为 43 mut/Mb。基因突变分析提示, 第一次手术标本共计检测出 371 个突变; 第二次手术标本共计检测出 47 个突变, 其中只有 10 个突变是两次标本共有的 (图 1、表 1), 另 37 个突变集中在新发的克隆群 6 号中, 异质性显著 (见表 2)。肿瘤免疫微环境 (tumor immune microenvironment, TIME) 分析提示第一次手术标本中免疫细胞以 M1 型巨噬细胞和单核-巨噬细胞为主, 分别占 10.6% 和 13.9%。化疗联合免疫治疗后 TIME 状态有一些变化: 以 B 细胞为主, 由 1.12% 增至 9.42%; CD4⁺ (非调节性) T 细胞由 2.03% 增至 9.33%; 调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 增加了约 3.8 倍, 从 1.2% 增至 5.7%; NK 细胞由 2.96% 增至 3.87%; CD8⁺ T 细胞由 0 增至 2.32%; M2 型巨噬细胞占比增至 0.7%; M1 型巨噬细胞从 10.6% 降至 4.4%; 中性粒细胞的比例也从 1.6% 降至 0.8%, 髓样树突状细胞从 1.7% 降至 0 (见图 2)。



第一次手术标本 (T1) 检测出 371 个突变, 第二次手术标本 (T2) 检测出 47 个突变; 其中只有 10 个突变前后重叠。

图 1 第一次及第二次 Mason 术标本的突变分析比较

通过对治疗前后 RNA 表达成分免疫溯源, 按照 PyClone 方法进行分群^[1], 从整个克隆亚群进化分析

【基金项目】江苏省重点研发计划社会发展项目 (BE2023657)

【作者简介】沈煜秋, 硕士生

【通信作者】桑剑锋 (扫码获取作者通信方式)



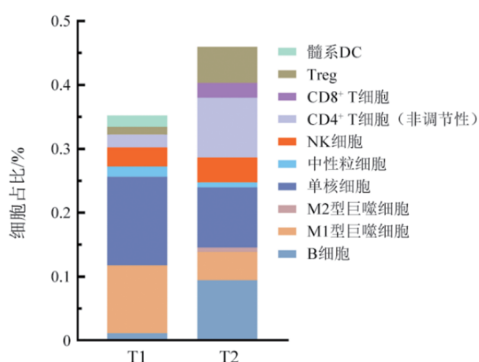
来看, 肿瘤开始由 5 个亚群主导, MSI-H, TMB-H, 免疫原性高。随着化疗联合免疫治疗进行, 原来的克隆群 1、4、5 完全消失, 在克隆群 2、3 降低但未消失的情况下新出现克隆群 6 (图 3); 而克隆群 6 的分子特征 (表 2) 和免疫原性特征相对偏向冷肿瘤 [微卫星稳定 (microsatellite stable, MSS), 低肿瘤突变负荷 (tumor mutation burden-low, TMB-L), 无免疫正向相关基因]。从克隆分析角度看, 治疗后肿瘤克隆群发生了显著转化, 由新的亚克隆主导了新病灶, 该克隆对免疫治疗不敏感。

目前患者复发后, 于 2025 年 4 月 2 日起, 采用化疗联合双重免疫治疗。其中替莫唑胺联合顺铂化疗共计使用 6 周期; “双重免疫治疗”为伊匹木单抗联合帕博利珠单抗。

表 1 10 个重叠突变基因具体情况

基因	PyClone Cluster	CITUP Cluster	突变频率	
			T1	T2
LRRC24	2	2	32.00%	5.19%
DTNA	3	1	15.69%	37.59%
MUC2	3	1	26.18%	22.19%
PCDHGA12	3	1	40.58%	21.69%
ATM	3	1	32.68%	20.68%
ABCB11	3	1	26.28%	16.09%
NEB	3	1	27.49%	15.88%
TCF7L1	3	1	28.49%	15.0%
MRPS18B	3	1	19.10%	14.89%
SPAG5	3	1	28.49%	14.88%

T1: 第一次手术标本; T2: 第二次手术标本。



第一次 (T1)、第二次 (T2) Mason 术标本中肿瘤免疫微环境内各类免疫细胞的浸润占比, 免疫细胞组成存在明显差异, T2 中促肿瘤的免疫细胞 (如 M2 型巨噬细胞、调节性 T 细胞) 占比升高。

图 2 第一次及第二次 Mason 术标本 TIME 中免疫细胞浸润比较

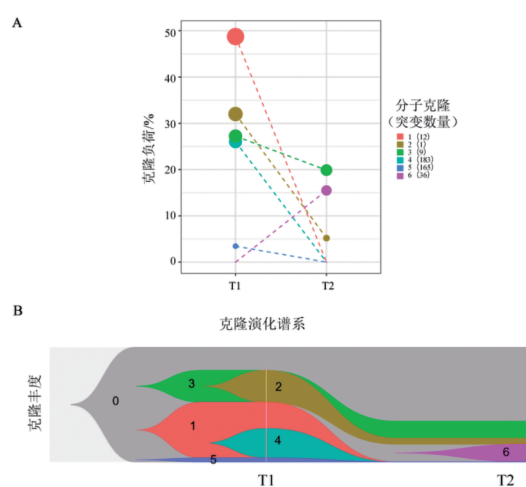
2 讨论

本例初诊时为 MSI-H 和 TMB-H (211 mut/Mb), 但复发后转变为 MSS 且 TMB 下降至 43 mut/Mb, 这

种变化可能由肿瘤的异质性所致, 原发灶可能包含多个亚克隆, 其中 MSI-H 和 TMB-H 的亚克隆对治疗 (如免疫治疗) 敏感^[2], 其被清除后, 残留的 MSS、TMB-L 亚克隆因耐药性成为主导; 同时因该患者第一次肿瘤组织 NGS 提示 MLH1 剪接突变, Janus 激酶 1 (Janus kinase 1, JAK1) 错义突变及移码突变, 因此治疗后耐药也可能与患者免疫编辑有关, 如 JAK1/MLH1 突变导致 IFN- γ 通路失活进而引起克隆选择^[3]。MSI-H 由错配修复缺陷 (deficient mismatch repair, dMMR) 导致, 本例初诊时 MLH1 剪接突变和 JAK1 错义突变证实了这一机制^[4-5]。

表 2 第二次手术标本检测出的 37 个新发突变及其所属聚类分类

基因	PvClone Cluster	Citup Cluster	突变频率
LGSN	6	6	9.98%
MUC16	6	6	9.49%
HFE	6	6	9.00%
GBX1	6	6	7.79%
TINAG	6	6	7.78%
SDR39U1	6	6	6.29%
PRRG3	6	6	5.49%
TAF3	6	6	5.10%
JARID2	6	6	5.09%
MAPK1	6	6	4.80%
DNAH17	6	6	4.69%
OR2T33	6	6	4.50%
TMEM27	6	6	32.10%
ANKRD30A	6	6	29.79%
POU2F2	6	6	27.40%
SPTBN5	6	6	25.99%
VSTM4	6	6	25.19%
PGRMC2	6	6	24.29%
ONECUT1	6	6	23.69%
HSD11B1	6	6	22.59%
MS4A1	6	6	21.69%
FMN2	6	6	20.88%
SPATA17	6	6	20.79%
TPST1	6	6	20.19%
SLC1A6	6	6	19.39%
PCLO	6	6	18.68%
PCDHA12	6	6	17.38%
CAPN14	6	6	17.19%
WNT16	6	6	17.08%
ZP1	6	6	15.10%
GLIS3	6	6	14.49%
PKDCC	6	6	14.20%
AXDND1	6	6	13.70%
C6orf58	6	6	13.70%
SPHK2	6	6	11.89%
POP1	6	6	10.10%



A:第一次(T1)及第二次(T2)Mason术标本中克隆占比变化散点图,其中不同颜色的数据点代表携带特定突变数量的肿瘤克隆,图例标注了克隆编号及对应突变数,如克隆1携带12个突变;虚线连接同一克隆在T1、T2的占比,直观呈现各克隆从T1到T2的丰度变化,如克隆1占比显著下降,克隆3占比相对稳定。**B:**第一次(T1)及第二次(T2)Mason术标本克隆演化谱系图,不同颜色对应上方散点图的克隆,色块宽度代表该克隆的占比;两次标本的肿瘤克隆组成存在显著动态变化,部分克隆的占比发生明显消长,且经过化疗联合免疫治疗后肿瘤克隆发生异质性演化,第二次(T2)Mason术标本中出现新的克隆6。

图3 基于PyClone方法的两次手术标本克隆演化分析

高TMB与高免疫原性并非完全等同,这也导致并非所有TMB-H患者都能从免疫治疗获益;免疫治疗能否奏效,关键取决于肿瘤基因突变类型、克隆性、肿瘤抗原提呈能力及肿瘤免疫微环境的协同作用^[6-7];某些基因突变,如SMAD2、MTOR、KEAP1,可能抑制免疫反应,即使TMB高,免疫治疗效果仍不佳^[8]。

针对AMM伴MSI-H/TMB-H的这类肿瘤术后辅助治疗和进展期患者姑息治疗,目前缺乏大样本研究的数据报道,因此本例患者在辅助治疗阶段,基于国内黏膜黑色素瘤辅助治疗前瞻性研究数据^[9-10],即替莫唑胺联合顺铂化疗是黏膜黑色素瘤辅助治疗优选方案,结合其MSI-H/TMB-H,给予替莫唑胺化疗联合帕博利珠单抗治疗;在辅助治疗期间复发、行手术后,结合其肿瘤组织全外显子DNA检测数据,在帕博利珠单抗联合伊匹木单抗免疫治疗基础上,继续加用替莫唑胺联合顺铂方案化疗。

两次手术标本免疫细胞发生了变化:M1型巨噬细胞从10.6%降至4.4%,M2型巨噬细胞占比增至0.7%;Treg增加约3.8倍(1.2%→5.7%)。一项回顾性研究^[11]表明,黑色素瘤的肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)中较高的M2/M1比例与患者较差的预后显著相关,M2型富集的患者往往

对PD-1抑制剂响应较差。本例复发后Treg增加约3.8倍,Treg通过分泌IL-10/TGF- β 抑制效应T细胞功能^[12],可能是耐药的重要原因。

肛管恶性黑色素瘤传统多行APR术,切缘阴性时局部手术与APR的5年总生存率相近^[13]。新辅助特瑞普利单抗联合阿昔替尼显示良好病理缓解率和安全性,可改善肿瘤免疫微环境,为可切除黏膜黑色素瘤提供新治疗选择^[14]。新辅助免疫治疗联合根治术可显著提高3年总生存期(overall survival, OS)至71%,远优于传统辅助化疗(11%)和辅助免疫治疗(8%)^[15]。本例患者首次手术(Mason术)后病理提示紧靠侧切缘,而AMM具有极强的局部侵袭性,肛管解剖结构复杂,常导致手术范围受限,因此,对于此类病例,术前影像学评估(如磁共振成像)和术中冰冻病理检查至关重要。若首次手术无法保证足够切缘,应考虑更广泛的切除方式(如APR),或辅以局部放疗。尽管患者初诊时具有MSI-H/TMB-H特征(通常预示免疫治疗敏感),但仍出现复发,结合NGS检测到JAK1 p.K860NFs16突变,该突变可能导致Janus激酶-信号转导与转录激活因子(Janus kinase-signal transducer and activator of transcription, JAK-STAT)信号通路缺陷,使肿瘤细胞对IFN- γ 介导的免疫杀伤作用不敏感。类似现象在已有报道,JAK1/2功能缺失突变可导致PD-1抑制剂耐药,提示此类患者可能需要联合靶向干预(如JAK抑制剂)^[3]。

本病例诊疗轨迹显示,肿瘤基因组特征随治疗压力动态演变(MSI-H向MSS转化、TMB下降),为肿瘤克隆进化与亚克隆选择理论提供了临床实证,即在免疫治疗压力下,敏感亚克隆被清除,耐药亚克隆成为主导^[16-17]。本例不同于结直肠腺癌伴MSI-H,此类患者若保肛意愿强烈,初诊时可以进行NGS检测,通过免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI),如PD-1/CTLA-4双重免疫治疗,或在此基础上联合放疗,有可能获得病理完全缓解(pathological complete response, pCR),可能免于手术。未来需通过基础实验验证克隆进化机制,开展大样本随机对照研究与多组学分析,深入阐明此类肿瘤免疫耐药机制,最终实现基因指导下的个体化精准治疗,避免盲目与过度治疗。

[关键词] 肛管恶性黑色素瘤;免疫治疗;微卫星不稳定性;肿瘤突变负荷;克隆进化;肿瘤免疫微环境

[中图分类号] R739.5;R730.51 **[文献标识码]** A

[文章编号] 1007-385x(2026)02-0170-04

[参考文献]

[1] ROTH A, KHATTRA J, YAP D, et al. PyClone: statistical inference of clonal population structure in cancer[J]. Nat Methods, 2014, 11

- (4): 396-398. DOI:10.1038/nmeth.2883.
- [2] DUDLEY J C, LIN M T, LE D T, et al. Microsatellite instability as a biomarker for PD-1 blockade[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(4): 813-820. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-15-1678.
- [3] ZARETSKY J M, GARCIA-DIAZ A, SHIN D S, et al. Mutations associated with acquired resistance to PD-1 blockade in melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(9): 819-829. DOI: 10.1056/NEJMoa1604958.
- [4] SAMMALKORPI H, ALHOPURO P, LEHTONEN R, et al. Background mutation frequency in microsatellite-unstable colorectal cancer[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(12): 5691-5698. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4314.
- [5] KIM T M, LAIRD P W, PARK P J. The landscape of microsatellite instability in colorectal and endometrial cancer genomes[J]. *Cell*, 2013, 155(4): 858-868. DOI:10.1016/j.cell.2013.10.015.
- [6] MATSUSHITA H, VESELY M D, KOBOLDT D C, et al. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoeediting[J]. *Nature*, 2012, 482(7385): 400-404. DOI:10.1038/nature10755.
- [7] JARDIM D L, GOODMAN A, DE MELO GAGLIATO D, et al. The challenges of tumor mutational burden as an immunotherapy biomarker[J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(2): 154-173. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.10.001.
- [8] WANG J Y, XIU J, FARRELL A, et al. Mutational analysis of microsatellite-stable gastrointestinal cancer with high tumour mutational burden: a retrospective cohort study[J]. *Lancet Oncol*, 2023, 24(2): 151-161. DOI:10.1016/S1470-2045(22)00783-5.
- [9] LIAN B, SI L, CUI C L, et al. Phase II randomized trial comparing high-dose IFN- α 2b with temozolomide plus cisplatin as systemic adjuvant therapy for resected mucosal melanoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(16): 4488-4498. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0739.
- [10] LIAN B, SI L, CHI Z H, et al. Toripalimab (anti-PD-1) versus high-dose interferon- α 2b as adjuvant therapy in resected mucosal melanoma: a phase II randomized trial[J]. *Ann Oncol*, 2022, 33(10): 1061-1070. DOI:10.1016/j.annonc.2022.07.002.
- [11] ZHANG Q D, SIOUD M. Tumor-associated macrophage subsets: shaping polarization and targeting[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(8): 7493. DOI:10.3390/ijms24087493.
- [12] KUMAR P, SAINI S, PRABHAKAR B S. Cancer immunotherapy with check point inhibitor can cause autoimmune adverse events due to loss of Treg homeostasis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 64: 29-35. DOI:10.1016/j.semcancer.2019.01.006.
- [13] FADEL M G, MOHAMED H S, WEIR J, et al. Surgical management of primary anorectal melanoma: is less more? [J]. *J Gastrointest Cancer*, 2024, 55(2): 714-722. DOI: 10.1007/s12029-023-01009-z.
- [14] LIAN B, LI Z, WU N, et al. Phase II clinical trial of neoadjuvant anti-PD-1 (toripalimab) combined with axitinib in resectable mucosal melanoma[J]. *Ann Oncol*, 2024, 35(2): 211-220. DOI: 10.1016/j.annonc.2023.10.793.
- [15] SASSUN R, SILEO A, NG J C, et al. Multidisciplinary management of anorectal melanoma: a retrospective analysis of surgical and systemic therapies from the national cancer database [J]. *J Gastrointest Cancer*, 2025, 56(1): 108. DOI:10.1007/s12029-025-01234-8.
- [16] GERLINGER M, ROWAN A J, HORSWELL S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(10): 883-892. DOI: 10.1056/NEJMoa1113205.
- [17] GREAVES M, MALEY C C. Clonal evolution in cancer[J]. *Nature*, 2012, 481(7381): 306-313. DOI:10.1038/nature10762.

[收稿日期] 2025-09-15

[修回日期] 2026-02-16

[本文编辑] 黄静怡