

个体化治疗对结直肠癌病理诊断和分期的新要求

盛伟琪

复旦大学附属肿瘤医院病理科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032

[关键词] 结直肠肿瘤; 病理诊断; 分期; 个体化治疗

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2013.04.013

中图分类号: R735.3⁺7 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2013)04-0315-06

近年来, 由于生活方式的改变, 例如高蛋白、脂肪, 少谷物、蔬果的不合理膳食, 身体活动程度减少, 超重等因素的影响, 我国结直肠癌的发病率、死亡率逐年上升, 尤其在北京、上海、天津等大型发达城市。最近20年中, 上海结直肠癌的发病率以每年约4.2%的速度递增, 据上海市疾病预防控制中心2011年报告, 2009年上海市恶性肿瘤中, 结直肠癌的发病率在男性和女性中均居第二位, 死亡率居男性第四、女性第二位^[1]。虽然多学科综合治疗手段的应用使得近60%的中晚期结直肠癌患者得到治愈, 但仍然有40%~50%的患者出现复发、转移, 成为患者死亡的主要原因^[2]。影响结直肠癌生存、治疗策略选择、患者随访管理的最主要因素是肿瘤分期。然而, 同一分期的患者预后也存在差异, 分期也不能预测患者对辅助治疗的有效性。因此, 根据结直肠癌患者个体的具体情况选择恰当的治疗手段, 制定合适患者的个体化治疗策略, 成为当今结直肠癌诊疗的主要发展方向。个体化治疗的发展, 对病理诊断的模式也提出了新的要求, 除了传统的组织病理学诊断和病理分期外, 病理诊断工作者还需要准确地评估手术切缘、寻找预后相关的组织学表现(如神经、脉管侵犯)、检测并评价与辅助治疗疗效相关的指标以及评价新辅助治疗后的疗效, 并负责对这些检查结果进行解释。结直肠癌90%以上为源自结直肠黏膜上皮的腺癌^[3], 本文就结直肠腺癌术后病理诊断规范和个体化治疗相关病理检测和评估进行介绍。

1 结直肠腺癌的常规病理诊断和分期

1.1 组织病理学分级和类型

传统型结直肠腺癌主要表现为腺管的形成, 肿瘤细胞形成腺管的比例是组织学分级判断的指标, 组织学分级是独立于肿瘤分期的预后指标^[4]。过去, 组织学分级根据腺管形成的比例分为高分化(腺管形成>95%)、中分化(腺管形成50%~95%)、低分化(腺管形成<50%)和未分化四级, 复旦大学附属肿瘤医院病理科2012年诊断根治性结直肠癌1 379例, 其中68.3%为中分化腺癌。但这种分级往往受到病理医生主观因素的影响, 重复性不佳。研究表明, 以腺管形成比例50%作为界值, 分为低级别($\geq 50\%$ 腺管形成)和高级别($< 50\%$ 腺管形成)腺癌, 具有更高的可重复性以及和预后的相关性^[5-6]。但基于腺管形成比例的组织学分级只适用于传统型腺癌, 不适用于特殊类型的结直肠腺癌。

在2010版世界卫生组织消化系统肿瘤分类中列出的特殊类型结直肠癌包括以下几种: 黏液腺癌、印戒细胞癌、髓样癌、锯齿状腺癌、筛状粉刺型腺癌、微乳头状癌、腺鳞癌、梭形细胞癌、未分化癌和其他少见类型癌, 其中以黏液腺癌、印戒细胞癌相对常见。

黏液腺癌是指肿瘤50%以上的成分由细胞外黏液组成, 黏液湖中肿瘤细胞呈腺泡状、巢状或印戒细胞样单个排列。如果黏液成分不足50%, 可以诊断为“含黏液腺癌成分”。在黏液湖中, 上皮成分的成熟程度决定了肿瘤的分化程度, 但是黏液腺癌的组织学分级取决于肿瘤的微卫星不

稳定(microsatellite instability, MSI)类型。大多数黏液腺癌呈高水平MSI(high levels of MSI, MSI-H), 生物学行为较好, 呈低级别肿瘤; 而少部分微卫星稳定型(microsatellite stable, MSS)和低水平MSI(low levels of MSI, MSI-L)的黏液腺癌则侵袭性强, 表现为高级别腺癌。

印戒细胞癌是指50%以上肿瘤细胞的细胞质内富含黏液、胞核偏位或贴边的结直肠癌, 往往呈弥漫浸润性生长。如果印戒细胞癌比例不足50%, 则诊断为“含印戒细胞癌成分”。结直肠印戒细胞癌不如胃常见, 不足结直肠癌的1%^[7]。同胃一样, 结直肠印戒细胞癌是高度侵袭性肿瘤, 预后比传统型腺癌差^[7]。但部分印戒细胞癌具有MSI-H表型, 生物学行为呈低级别^[3]。

其他特殊类型腺癌比较少见, 分别具有不同的分子表型, 其中髓样癌大多表现为MSI-H, 尽管肿瘤细胞呈片状排列, 鲜有腺管形成, 但预后较好^[8]。

1.2 结直肠癌病理分期

尽管尚需完善, 但首先由法国人Pierre Denoix提出, 后经美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)和国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)逐步建立, 并于1968年正式出版第1版的《肿瘤TNM分期系统》。该系统目前仍是国际上最为通用的肿瘤分期系统, 是目前对于恶性肿瘤进行分期的标准方法, 是目前最能预测预后、指导治疗的肿瘤分期系统^[9]。通过显微镜下检查手术切除标本中肿瘤组织的浸润深度(T)、淋巴结转移(N)和远处转移(M)状况决定肿瘤分期。就结直肠腺癌T分期而言, T₁(浸润黏膜下层)、T₂(浸润固有肌层)和T₃(穿透肌层浸润浆膜下层或无腹膜覆盖的结直肠旁组织)相对比较容易判断, 但是对于T₄的理解可能存在偏差或不确定。当手术标本取材不当、不完整时, 可能遗漏“浆膜侵犯”; 当肿瘤所在部位没有脏层腹膜覆盖时, “浆膜面”和由手术切除形成的平整或不平整的“环切缘”难以区别, T₃的肿瘤可能因手术不当造成环切缘阳性而误

认为T_{4a}(浆膜面浸润), 而T₄的肿瘤环切缘阴性误判为T₃。其次, 当肿瘤与邻近器官或组织粘连伴有炎症, 甚至形成脓肿或纤维化时, 局部结构不清可能误诊为T_{4b}。另外, 对于“脏层腹膜侵犯”的判断, 病理医生之间可能存在意见不一致, 尤其当肿瘤细胞邻近浆膜而后者伴有炎症或增生时, 不一致性更加显著。因此, 美国病理医师协会(College of American Pathologists, CAP)只将以下两种情况列为“浆膜侵犯”, 一为肿瘤细胞出现在浆膜面伴炎症反应、间皮增生和(或)糜烂, 二是浆膜面出现游离肿瘤细胞伴下方脏层腹膜溃疡时^[10]。

淋巴结转移的判断对大多数病理医生来说并非难事, 但对于在肠壁旁纤维脂肪组织中出现的和肿块不延续的肿瘤细胞团, 且没有残留淋巴结结构时, 淋巴结转移和癌结节的区分意见不一。第5版TNM分期规定3 mm大小以上的结节记为淋巴结转移, 3 mm以下则划归非连续性浸润(T₃)。第6版则无论大小, 将边缘平整、圆形的结节都记为淋巴结转移, 将形状不规则的结节划归T分期或静脉侵犯。研究表明, 无论非连续性浸润、静脉侵犯伴血管外播散还是淋巴结转移后完全性结构消失都能形成“肿瘤种植”(tumor deposit), 均导致无病生存和总生存时间的减少, 与预后相关^[11-12]。因此, 现行的第7版TNM分期规定, 当无区域性淋巴结转移时, 无论形状、大小, 将出现肿瘤种植归为N_{1c}, 提示需要进行术后辅助治疗, 肿瘤种植不影响T分期^[9]。

2 高危因素的评估

肿瘤分期是影响结直肠癌患者生存的最主要因素, 也是目前临床辅助治疗应用的主要判断依据。但是同一分期的不同患者预后存在差异, 分期也不能预测辅助治疗的疗效, 由于辅助化疗存在不良反应, 治疗费用高也会对患者的生活质量产生影响, 因此需要分析除了分期以外影响预后的因素和预测化疗获益的指标, 筛选需要进一步治疗并能从中获益的结直肠癌患者, 予以辅助治疗, 降低复发转移, 提高疗效。

2.1 环切缘(circumferential resection margin, CRM)

CRM是指结直肠癌手术切除标本上没有腹膜覆盖的表面。根据解剖学特点,除了部分上段直肠外,整个中下段直肠表面均为CRM。CRM是评价直肠癌手术质量、与直肠癌局部复发相关的重要指标,对新辅助治疗后手术切除标本进行CRM评估作为预后指标的价值更大。第7版TNM分期对直肠癌全系膜切除标本CRM阴性的定义为“距离肿瘤边缘 $>1\text{ mm}$ ”。Bernstein等^[13]随访了3 196例直肠癌根治术后患者,发现CRM在0~2 mm之间的患者5年复发率为23.7%,5年远处转移率为43.9%,5年生存率为44.5%,而CRM $>2\text{ mm}$ 的患者相应5年复发率、转移率和生存率分别为8.9%、21.7%和66.7%,差别具有统计学意义。因此,CRM阳性的患者需要接受术后局部放疗。

CRM受累的模式多种,包括肿瘤连续性直接浸润、淋巴结转移、肿瘤种植和脉管侵犯等。大体检查手术标本时,需要仔细观察肿瘤所在部位的表面是否完整、光滑,若有表现为虫蚀状、固有肌层暴露等CRM受累高度可疑病例,必须多取材制片,显微镜下观察确定切缘性质。

2.2 神经周侵犯(perineural invasion, PNI)

作为恶性肿瘤较为常见的组织病理学表现,PNI在头颈部、前列腺、胰腺肿瘤中的预后价值已经被广泛接受,也是异质性较大的II期结直肠癌公认的高危因素之一。复旦大学附属肿瘤医院对173例直肠癌根治术病例回顾性研究发现,PNI阳性患者5年局部复发率是阴性组织的2.9倍^[14],PNI阳性也是直肠癌术后局部复发的重要因素。过去认为,只有肿瘤细胞浸润至神经外膜、神经束膜或神经内膜的任意一层才能诊断神经侵犯,但Liebig等^[15]研究发现,神经周侵犯具有相同的意义,PNI阳性和阴性患者5年无病生存率和总生存率差异有统计学意义,前者PNI阴性的患者5年总生存率达72%,而阳性患者只有25%。广义的PNI阳性有两种表现:肿瘤细胞围绕神经周围至少1/3周,未浸润至神

经内;或肿瘤细胞浸润至神经外膜、束膜和内膜任意一层。过去由于对PNI的认识不足,实际工作中不予重视,漏诊率很高,复旦大学附属肿瘤医院回顾性分析发现漏诊率高达69%^[14],可能和过去PNI定义不统一,某些特殊类型肿瘤出现较多炎症细胞和大片黏液湖,肿瘤细胞浸润神经组织不易被辨认有关。

2.3 淋巴结检出数目

在TNM分期中,虽然N分期取决于转移的淋巴结数量,但是淋巴结检出总数同样具有重要意义。Le Voyer等^[16]分析了3 411例结直肠癌病例,发现淋巴结受累数目和总生存期相关,当受累淋巴结数量相同时,淋巴结检出数目越多,生存时间越长;即使没有淋巴结转移,检出淋巴结数量越多,总生存越好。AJCC和CAP都建议结直肠癌手术标本淋巴结检出数目至少达到12个,尤其对于II期结直肠癌患者,淋巴结检出数目不足12枚是N₀病例的高危因素^[9-10]。大多数病理医生都能根据规范找到至少12枚淋巴结进行评估,当淋巴结检出数不足12枚时,可以通过一些辅助方法提高检出率,例如注射美兰^[17]。需要指出的是淋巴结检出数量不仅仅与检查的病理医生相关,也和患者个体差异、标本长度、肠壁旁纤维脂肪组织的厚度、肿瘤大小等有关。经新辅助放化疗的手术标本的淋巴结数目可能显著较少,建议病理医生在仔细寻找后淋巴结数目仍达不到12枚时,应在病理报告中予以说明。

3 免疫组织化学和分子病理检测

3.1 免疫表型

角蛋白(cytokeratin, CK)7、20和肠道特异性尾型同源盒转录因子2(caudal related homeodomain transcription 2, CDX2)是常用的结直肠癌免疫标志物,绝大多数结直肠癌表现为CK7⁺,CK20⁺,CDX2⁺,但约20%的结直肠癌呈CK7⁺/CK20⁻或CK7⁻/CK20⁺表型。研究提示,CK20表达的减弱和缺失往往和MSI-H相关^[18]。逾90%结直肠癌CDX2呈阳性表达,但是任何伴有肠分化的上皮性肿瘤都可以表达CDX2,因此CDX2并不是结直肠癌特异性标志

物^[19]。一些特殊类型的结直肠腺癌, 免疫表型不同于传统型腺癌, 比如髓样癌往往不表达CK20和CDX2, CK20表达的缺失与肿瘤MSI-H表型相一致^[18]。

3.2 MSI和错配修复蛋白的检测

结直肠癌的发生、发展是一个多步骤、多阶段、多基因参与的过程, 除了25%具有独特的分子遗传学改变的遗传性结直肠癌外, 其余75%的散发性结直肠癌的发生机制较为复杂, 目前至少有两种导致结直肠癌发生的基因途径得到广泛认可, 第一是染色体不稳定性(chromosomal instability, CIN)以及癌基因和抑癌基因的变异, 主要由APC、K-ras以及p53基因参与^[20]; 第二是DNA错配修复(mismatch repair, MMR)功能缺失导致的广泛MSI^[21]。约10%~15%散发性结直肠癌表现为MSI, 并具有独特的临床病理特点, 包括右半结肠癌、肿块较大、腺管形成少等, 与MMS型结直肠癌相比, MSI结直肠癌一般预后较好, 但对氟尿嘧啶(5-FU)类化疗药物不敏感^[22]。

微卫星序列是重复单位1~6个核苷酸的DNA简单重复序列, 广泛分布于染色体基因组。正常情况下, 微卫星DNA在人群中表现高度的个体特异性, 并且突变率极低, 稳定性高。DNA错配修复基因保证了DNA的高保真复制, 若DNA错配修复系统存在缺陷, DNA复制过程中, DNA多聚酶链滑现象得不到及时修正, 便会出现微卫星序列重复次数的增多或减少, 这种现象被称为MSI。MSI是DNA错配修复系统异常的表现。1997年遗传性费息肉病性结直肠癌(hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC)国际合作小组统一了基于PCR的MSI检测位点(Bethesda panel), 即2个单核苷酸重复序列BAT25、BAT26和3个双核苷酸重复序列D2S123、D5S346、D17S250, 并对MSI进行了定义: 比较肿瘤和相匹配的正常组织DNA, 5个位点中至少2个位点有重复序列长度变化者为MSI-H, 只有1个位点有长度变化者为MSI-L, 无任何位点变化的为MSS。MSI-L的临床意义存在争议^[23]。

由于MSI检测对组织的要求较高, 通常要选择含70%以上肿瘤细胞的组织提取DNA进行检测, 需要正常组织对照, 检测所需时间较长、费用较高。研究证实MSI与MMR功能改变呈正相关, MSI和MMR蛋白缺失是MMR基因发生异常的两种表现型, 通过MSI检测可以反映MMR基因突变, 亦可以检测MMR蛋白表达的改变来反映MMR基因的改变, 从而反映MSI的状态。运用免疫组织化学方法联合检测4种MMR蛋白: MLH1、MSH2、PMS2及MSH6的表达可以间接反映MSI状态, 也可以作为II期结直肠癌运用5-FU类化疗药物的疗效评估^[22, 24]。这4种蛋白广泛存在于正常细胞, 但在MSI肿瘤细胞中表达缺失, 不同的表达模式可以间接反映潜在的遗传或表观遗传学异常。

3.3 K-ras和BRAF基因突变的检测

随着表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)抑制剂西妥昔单抗和帕尼单抗在结直肠腺癌治疗中的应用, 结直肠腺癌治疗步入了靶向治疗时代, 然而西妥昔单抗治疗的效果受其下游基因K-ras状态的影响^[25]。K-ras是EGFR通路下游的重要癌基因, 在细胞生长和血管生成等信号转导通路中起重要的调控作用。当K-ras基因发生突变, 可以不依赖于上游的EGFR发生自身磷酸化而处于持续激活状态, 因此突变型K-ras基因的结直肠癌患者使用抗EGFR药物治疗无效^[25-26]。此外, EGFR信号通路中其他下游基因, 包括BRAF也可以影响抗EGFR靶向治疗的疗效^[27]。因此, K-ras、BRAF等基因突变的检测分析对结直肠腺癌治疗方案的选择, 尤其是抗EGFR靶向药物治疗的选择具有重要意义。K-ras突变检测已纳入中国版《国家综合癌症网络(NCCN)结直肠癌临床实践指南》2011版。

结直肠腺癌K-ras突变率为30%~40%^[28], 已报道的点突变多达3000个, 最常见的是2号外显子第12和13位密码子(85%~95%), 其他位点包括3号外显子的第61和146位密码子, 约5%。复旦大学附属肿瘤医院病理科检测557例结直肠腺癌中K-ras基因2号外显子突变, 突变率为

40.4%，常见位点为也是第12和13位密码子，突变率分别为32.0%和8.3%^[29]。国外研究报道，结直肠腺癌中BRAF基因突变率8%~15%^[28]，中国台湾地区仅为3.8%^[30]，复旦大学附属肿瘤医院病理科检测197例结直肠腺癌患者BRAF突变率为5.1%^[28]，与中国香港地区报道一致，提示中国结直肠癌患者经BRAF突变途径的发生率较低，突变热点同样位于第600位密码子(V600E)^[30]。

除了与抗EGFR靶向治疗疗效预测相关外，BRAF基因突变几乎只发生于通过锯齿状途径发生的散发型MSI结直肠腺癌，从未有出现于Lynch综合征的报道，在70%~90%的MSI型散发型结直肠癌中发现，突变的被激活的BRAF基因和DNA甲基化以及MLH1基因表观遗传沉默高度相关^[31]，因此在MSI肿瘤中检测BRAF突变将有助于阐明肿瘤发生的机制。另外，BRAF突变对MSI型及直肠癌的预后判断也有意义，野生型BRAF MSI-H肿瘤预后最好，BRAF突变的MSS肿瘤预后最差，野生型BRAF MSS肿瘤预后介于两者之间^[32]。

4 小结

结直肠癌是一种具有明显异质性的恶性肿瘤，近年来其发病率和死亡率在我国逐年上升，分子靶向药物的运用和个体化治疗的快速发展，需要病理医生在原有传统病理检查和诊断的基础上为临床疗效预测、患者治疗策略选择和预后管理方案制定提供更加完整、全面的信息，免疫组织化学和分子病理学技术在现代病理诊断中的广泛应用为满足现代病理诊断提供了技术平台，病理医生应当及时更新知识，加强与临床医生的沟通，积极参与多学科综合治疗讨论，符合个体化治疗时代对病理医生和诊断的新要求。

[参 考 文 献]

[1] 2011上海市恶性肿瘤报告[J].上海市疾病预防控制中心,2007.
[2] DE GRAMONT. Adjuvant therapy for stage II and III colorectal cancer [J]. *Semin Oncol*, 2007, 34(Suppl 1): 37-40.

[3] HAMILTON S R, BOSMAN F T, BOFFETTA P, et al. Carcinoma of the colon and rectum. In: WHO Classification of Tumours of the Digestive System [M]. Lyon: IARC Press, 2010: 134-146.
[4] COMPTON C C. Pathology report in colon cancer: what is prognostically important? [J]. *Dig Dis*, 1999, 17: 67-79.
[5] COMPTON C C, FIELDING L P, BURGART L J, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999 [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2000, 124: 979-994.
[6] COMPTON C C. Updated protocol for the examination of specimens from patients with carcinomas of the colon and rectum, excluding carcinoid tumors, lymphomas, sarcomas, and tumors of the vermiform appendix: a basis for checklists. Cancer Committee [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2000, 124: 1016-1025.
[7] CHEN J S, HSIEH P S, CHIANG J M, et al. Clinical outcome of signet ring cell carcinoma and mucinous adenocarcinoma of the colon [J]. *Chang Gung Med J*, 2010, 33: 51-57.
[8] ALEXANDER J, WATANABE T, WU T T, et al. Histopathological identification of colon cancer with microsatellite instability [J]. *Am J Pathol*, 2001, 158: 527-535.
[9] EDGE S B, BYRD D R, COMPTON C C, et al. *AJCC Cancer Staging Handbook*, 7th edition [M]. New York: Springer, 2010: 173-206.
[10] CAP Cancer Protocols and Checklists [EB/OL]. <http://www.cap.org/apps/cap.portal>.
[11] LO D S, POLLETT A, SIU L L, et al. Prognostic significance of mesenteric tumor nodules in patients with stage III colorectal cancer [J]. *Cancer*, 2008, 112: 50-54.
[12] PUPPA G, MAISONNEUVE P, SONZOGNI A, et al. Pathological assessment of pericolic tumor deposits in advanced colonic carcinoma: relevance to prognosis and tumor staging [J]. *Mod Pathol*, 2007, 20: 843-855.
[13] BERNSTEIN T E, ENDRESETH B H, ROMUNDSTAD P, et al. Circumferential resection margin as a prognostic factor in rectal cancer [J]. *Br J Surg*, 2009, 11: 1348-1357.
[14] PENG J, SHENG W, HUANG D, et al. Perineural invasion in pT3N0 rectal cancer: the incidence and its prognostic effect [J]. *Cancer*, 2011, 7: 1415-1421.
[15] LIEBIG C, AYALA G, WILKS J, et al. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 3: 5131-5137.
[16] LE VOYER T E, SIGURDSON E R, HANLON A L, et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089 [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21: 2912-2919.
[17] MÄRKL B, KERWEL T G, JÄHNIG H G, et al. Methylene blue-assisted lymph node dissection in colon specimens: a prospective, randomized study [J]. *Am J Clin Pathol*, 2008, 130: 913-919.

- [18] MCGREGOR D K, WU T T, RASHID A, et al. Reduced expression of cytokeratin 20 in colorectal carcinomas with high levels of microsatellite instability [J] . *Am J Surg Pathol*, 2004, 28: 712-718.
- [19] WERLING R W, YAZIJI H, BACCHI C E, et al. CDX2, a highly sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas [J] . *Am J Surg Pathol*, 2003, 27: 303-310.
- [20] VOGELSTEIN B, FEARON E R, HAMILTON S R, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development [J] . *N Engl J Med*, 1988, 319: 525-532.
- [21] IONOV Y, PEINADO M A, MALKHOSYAN S, et al. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis [J] . *Nature*, 1993, 363: 558-561.
- [22] SINICROPE F A, SARGENT D J. Molecular pathways: microsatellite instability in colorectal cancer: prognostic, predictive, and therapeutic implications [J] . *Clin Cancer Res*, 2012, 18: 1506-1512.
- [23] 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: 5248-5257.
- [24] KOOPMAN M, KORTMAN G A, MEKENKAMP L, et al. Deficient mismatch repair system in patients with sporadic advanced colorectal cancer [J] . *Br J Cancer*, 2009, 100: 266-273.
- [25] LIEVRE A, BACHET J B, LE CORRE D, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer [J] . *Cancer Res*, 2006, 66: 3992-3995.
- [26] KHAMBATA-FORD S, GARRETT C R, MEROPOL N J, et al. Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab [J] . *J Clin Oncol*, 2007, 25: 3230-3237.
- [27] LOUPAKIS F, RUZZO A, CREMOLINI C, et al. KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer [J] . *Br J Cancer*, 2009, 101: 715-721.
- [28] YUEN S T, DAVIES H, CHAN T L, et al. Similarity of the phenotypic pattern associated with BRAF and KRAS mutation in colorectal neoplasia [J] . *Cancer Res*, 2002, 22: 6451-6455.
- [29] 朱晓丽, 蔡旭, 张玲, 等. 中国结直肠癌患者中KRAS与BRAF基因突变特征及其临床病理相关性 [J] . *中华病理学杂志*, 2012, 9: 584-589.
- [30] CHAN T L, ZHAO W, LEING S Y, et al. BRAF and KRAS mutations in colorectal hyperplastic polyps and serrated adenomas [J] . *Cancer Res*, 2003, 6: 4878-4881.
- [31] KOINUMA K, SHITOH K, MIYAKURA Y, et al. Mutations of BRAF are associated with extensive hMLH1 promoter methylation in sporadic colorectal carcinomas [J] . *Int J Cancer* 2004, 108: 237-242.
- [32] OGINO S, SHIMA K, MEYERHARDT J A, et al. Predictive and prognostic roles of BRAF mutation in stage III colon cancer: results from intergroup trial CALGB 89803 [J] . *Clin Cancer Res*, 2012, 18: 890-900.

(收稿日期: 2013-03-30)