

KRAS 基因突变与结直肠癌患者临床病理特征及预后的关系

彭健 陈颖 董先龙 汤二将 李华光 林谋斌 李阿建

【摘要】 目的 探讨 KRAS 基因突变与结直肠癌患者临床病理特征及预后的关系。**方法** 采用回顾性病例对照研究方法。收集 2007 年 1 月至 2011 年 7 月同济大学附属杨浦医院收治的 315 例行结直肠癌手术患者的临床病理资料。采用高通量测序技术检测结直肠癌手术切除标本石蜡切片 KRAS 基因突变情况。分析指标:(1)KRAS 基因检测情况。(2)KRAS 基因突变状态与结直肠癌患者临床病理因素的关系。(3)随访和生存情况。(4)结直肠癌患者预后的 KRAS 基因突变情况多因素分析。采用门诊和电话方式进行随访,了解患者术后总体生存情况。随访时间截至 2016 年 8 月。计数资料比较采用 χ^2 检验。偏态分布的计量资料采用 M (四分位距)表示,两者比较采用非参数检验。采用 Kaplan-Meier 法计算患者生存率,采用 Log-rank 检验比较患者生存情况。多因素分析采用 COX 比例风险回归模型。**结果** (1)KRAS 基因检测情况:315 例患者手术切除标本均成功完成检测,其中 KRAS 基因野生型 172 例,KRAS 基因突变型 143 例(第 2 号外显子 12 号密码子突变患者 80 例、第 2 号外显子 13 号密码子突变患者 24 例、其余位点突变患者 40 例,其中第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子同时突变患者 1 例;错义突变 141 例、无义突变 2 例)。KRAS 基因突变位点中,点突变以 p.G12D 和 p.G13D 为主。(2)KRAS 基因突变状态与结直肠癌患者临床病理因素的关系:KRAS 基因野生型结直肠癌患者肿瘤部位分别为:近端结肠 34 例、远端结肠 48 例、直肠 90 例,KRAS 基因突变型结直肠癌患者肿瘤部位分别为:近端结肠 44 例、远端结肠 27 例、直肠 72 例,两者上述指标比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 0.038, P < 0.05$)。(3)随访和生存情况:315 例结直肠癌患者均获得术后随访,随访时间为 3~115 个月,中位随访时间为 78 个月。172 例 KRAS 基因野生型、80 例 KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子突变、24 例 KRAS 基因第 2 号外显子 13 号密码子突变、40 例 KRAS 基因其余位点突变患者术后总体生存率分别为 41.0%、27.4%、26.3%、48.2%,4 者总体生存情况比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 0.040, P < 0.05$)。(4)结直肠癌患者预后的 KRAS 基因突变情况多因素分析结果显示:KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子突变是结直肠癌患者预后不良的独立影响因素(风险比 = 1.543, 95% 可信区间:1.050~2.265, $P < 0.05$)。**结论** 我国结直肠癌患者 KRAS 基因突变位点主要在第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子,其中点突变以 p.G12D 和 p.G13D 为主;KRAS 基因突变情况可能与肿瘤部位有关;KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子突变是结直肠癌患者预后不良的独立影响因素。

【关键词】 结肠肿瘤; 直肠肿瘤; KRAS 基因; 基因突变; 外科手术; 预后

基金项目:国家自然科学基金(81272480);上海市自然科学基金(1541196900、16DZ342200)

Association between KRAS gene mutations and clinicopathological characteristics and prognosis of colorectal cancer patients Peng Jian, Chen Ying, Dong Xianlong, Tang Erjiang, Li Huagang, Lin Moubin, Li Ajian. Department of General Surgery, Yangpu Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200090, China
Corresponding author: Li Ajian, Email: ajianli1989@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the association between KRAS gene mutations and clinicopathological characteristics and prognosis of colorectal cancer (CRC) patients. **Methods** The retrospective case-control study was conducted. The clinicopathological data of 315 patients who underwent radical resection of CRC in the Yangpu Hospital Affiliated to Tongji University between January 2007 and July 2011 were collected. Next-generation sequencing was performed to identify KRAS gene mutations from surgical specimens. Observation indicators: (1) detection of KRAS gene; (2) association between KRAS gene mutations and clinicopathological characteristics of CRC patients; (3) follow-up and survival situations; (4) multivariate analysis of KRAS gene

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2018.02.005

作者单位:200090 上海,同济大学附属杨浦医院普通外科(彭健、林谋斌、李阿建),转化医学中心(陈颖、董先龙、汤二将、李华光)

通信作者:李阿建,Email:ajianli1989@126.com

mutations in the prognosis of CRC patients. Follow-up using outpatient examination and telephone interview was performed to detect postoperative overall survival up to August 2016. Comparisons of count data were analyzed using the chi-square test. Measurement data with skewed distribution were described as M (interquartile range), and comparison between groups was analyzed using the nonparametric test. The survival rate was calculated using the Kaplan-Meier method, and survival was compared using the Log-rank test. The multivariate analysis was done using the COX regression model. **Results** (1) Detection of KRAS gene: all the 315 patients finished gene detection of surgical specimens, including 172 in wide-type mutations and 143 in mutant-type mutations (mutations at codon 12 and 13 of KRAS exon 2 and other mutant points were respectively detected in 80, 24 and 40 patients, and 1 patient had simultaneous mutations at codon 12 and 13 of KRAS exon 2; missense and nonsense mutations were respectively detected in 141 and 2 patients). The major point mutations were at p. G12D and p. G13D. (2) Association between KRAS gene mutations and clinicopathological characteristics of CRC patients: tumors located in the proximal colon, distal colon and rectum were respectively detected in 34, 48, 90 patients with wild-type mutation and in 44, 27, 72 patients with mutant-type mutation, with a statistically significant difference ($\chi^2=0.038$, $P<0.05$). (3) Follow-up and survival situation: 315 patients were followed up for 3–115 months, with a median time of 78 months. The postoperative overall survival rate was 41.0% in 172 patients with wild-type KRAS mutations, 27.4% in 80 patients with KRAS codon 12 mutations, 26.3% in 24 patients with KRAS codon 13 mutations and 48.2% in 40 patients with other KRAS mutations, showing a statistically significant difference ($\chi^2=0.040$, $P<0.05$). (4) Multivariate analysis of KRAS gene mutations in the prognosis of CRC patients: the results of multivariate analysis showed that mutations at codon 12 of KRAS exon 2 was an independent factor affecting poor prognosis of CRC patients (*Hazard ratio* = 1.543, 95% confidence interval: 1.050–2.265, $P<0.05$). **Conclusions** Most KRAS mutations of CRC patients are at codon 12 and 13 of KRAS exon 2, and the major point mutations are at p. G12D and p. G13D. KRAS gene mutations may be associated with tumor location. Mutations at codon 12 of KRAS exon 2 is an independent factor affecting poor prognosis of CRC patients.

[Key words] Colonic neoplasms; Rectal neoplasms; KRAS gene; Genetic mutations; Surgical procedures, operative; Prognosis

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81272480); National Natural Science Foundation of Shanghai (1541196900, 16DZ342200)

随着外科手术技术的发展及化疗药物的应用,结直肠癌疗效显著提高,但其发病率仍居恶性肿瘤第3位,仅次于肺癌和乳腺癌,是肿瘤导致相关死亡的第四大病因^[1-2]。以表皮生长因子受体抑制剂西妥昔单抗克隆抗体为代表的靶向治疗药物问世,完善了结直肠癌的综合治疗。多项临床研究结果证实:KRAS 突变型患者不能从抗表皮生长因子受体单抗克隆抗体药物治疗中获益^[3-5]。尽管 KRAS 基因突变状态对结直肠癌临床用药指导具有重要意义,但 KRAS 基因突变与结直肠癌患者预后的关系尚无统一论。KRAS 基因突变能否作为结直肠癌患者预后预测指标仍需进一步研究。本研究回顾性分析 2007 年 1 月至 2011 年 7 月我院收治的 315 例行结直肠癌手术患者的临床病理资料,检测手术切除标本中 KRAS 基因突变状态,探讨 KRAS 基因突变与结直肠癌患者临床病理特征及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 标本来源

采用回顾性病例对照研究方法。收集 315 例行结直肠癌手术患者的临床病理资料,男 180 例,女 135 例;年龄 32~96 岁,平均年龄 68 岁。315 例患者

中,结肠癌 153 例,直肠癌 162 例。本研究通过同济大学附属杨浦医院伦理委员会审批,批号为 LL-2016-001。患者及家属术前均签署手术知情同意书。

1.2 纳入标准和排除标准

纳入标准:(1)经术后病理学检查确诊结直肠癌。(2)术前未行新辅助治疗。(3)临床病理资料完整。

排除标准:(1)除结直肠癌以外,同时合并其他器官肿瘤病史。(2)1~2 级亲属结直肠癌家族史。(3)存在严重心血管疾病。(4)临床病理资料缺失。

1.3 主要试剂

black PREP FFPE DNA 试剂盒(德国耶拿公司产品),Qubit dsDNA HS 试剂盒(美国 Invitrogen 公司产品),Agilent DNA 1000 试剂盒(美国安捷伦公司产品),Ion AmpliSeq Library 试剂盒(美国赛默飞公司产品)。

1.4 方法

将 4% 甲醛溶液固定、石蜡包埋的结直肠癌手术切除标本肿瘤组织,以 5 μm 厚度连续切片。每例患者取 10 张,保证肿瘤细胞含量>70%。根据 QIAamp DNA 提取试剂盒说明书,提取切片 DNA。采用 Qubit 3.0 荧光剂和生物分析仪 2100 测定样本

DNA 纯度和浓度。DNA 吸光度值 A_{260}/A_{280} 为 1.7~2.0 的样本为佳。采用 Ion AmpliSeq Library Kit 构建测序文库。采用 Ion S5™ XL 仪器测序^[6]。采用 IReporter 软件分析测序结果^[7]。

1.5 分析指标

(1)KRAS 基因检测情况:突变状态、突变碱基、氨基酸改变、突变类型。(2)KRAS 基因突变状态与结直肠癌患者临床病理因素的关系:纳入的患者临床病理因素包括性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤 TNM 分期、肿瘤浸润深度、肿瘤淋巴结转移。肿瘤 TNM 分期依据美国癌症联合会(AJCC)第 7 版肿瘤分期系统。(3)随访和生存情况:患者术后总体生存率。(4)结直肠癌患者预后的 KRAS 基因突变情况多因素分析。

1.6 随访

采用门诊和电话方式进行随访,了解患者术后总体生存情况。随访时间截至 2016 年 8 月。总体生存时间定义为从手术日期至末次随访日期或患者死亡。

1.7 统计学分析

应用 Stata 14.2 统计软件进行分析。计数资料比较采用 χ^2 检验。偏态分布的计量资料采用 M (四分位距)表示,两者比较采用非参数检验。采用 Kaplan-Meier 法计算患者生存率,采用 Log-rank 检验比较患者生存情况。多因素分析采用 COX 比例风险回归模型。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KRAS 基因检测情况

315 例患者手术切除标本均成功完成检测,其中 KRAS 基因野生型 172 例,KRAS 基因突变型 143 例(第 2 号外显子 12 号密码子突变患者 80 例、第 2 号外显子 13 号密码子突变患者 24 例、其余位点突变患者 40 例,其中第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子同时突变患者 1 例;错义突变 141 例、无义突变 2 例)。KRAS 基因第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子突变结直肠癌患者基因突变情况见表 1。

2.2 KRAS 基因突变状态与结直肠癌患者临床病理因素的关系

KRAS 基因野生型和 KRAS 基因突变型结直肠癌患者的肿瘤部位比较,差异有统计学意义($P<0.05$);而性别、年龄、肿瘤 TNM 分期、肿瘤浸润深度、肿瘤淋巴结转移两者比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 随访和生存情况

315 例结直肠癌患者均获得术后随访,随访时间为 3~115 个月,中位随访时间为 78 个月。172 例 KRAS 基因野生型、80 例 KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子突变、24 例 KRAS 基因第 2 号外显子 13 号密码子突变、40 例 KRAS 基因其余位点突变患者术后总体生存率分别为 41.0%、27.4%、26.3%、48.2%,4 者总体生存情况比较,差异有统计学意义($\chi^2=0.040, P<0.05$)。

表 1 103 例 KRAS 基因第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子突变结直肠癌患者基因突变情况

突变位点	例数	突变碱基	氨基酸改变	突变类型
KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子	41	c.35G>A	p.Gly12Asp	GGT>GAT(p.G12D)
	22	c.35G>T	p.Gly12Val	GGT>GTT(p.G12V)
	6	c.35G>C	p.Gly12Ala	GGT>GCT(p.G12A)
	6	c.34G>T	p.Gly12Cys	GGT>TGT(p.G12C)
	5	c.34G>A	p.Gly12Ser	GGT>AGT(p.G12S)
	23	c.38G>A	p.Gly13Asp	GGC>GAC(p.G13D)
KRAS 基因第 2 号外显子 13 号密码子	1	c.37G>A	p.Gly13Ser	GGC>AGC(p.G13S)

注:1 例患者同时存在 KRAS 基因第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子突变

表 2 KRAS 基因突变状态与 315 例结直肠癌患者临床病理因素的关系(例)

KRAS 基因突变状态	例数	性别		年龄 M (四分位距), 岁]	肿瘤部位			肿瘤 TNM 分期				肿瘤浸润深度			肿瘤淋巴结转移		
		男	女		近端 结肠	远端 结肠	直肠	I 期	II 期	III 期	IV 期	T1~2 期	T3 期	T4 期	N0 期	N1 期	N2 期
KRAS 基因野生型	172	103	69	68(18)	34	48	90	22	72	66	12	31	31	110	100	50	22
KRAS 基因突变型	143	77	66	70(17)	44	27	72	24	56	47	16	29	26	88	88	40	15
统计值		$\chi^2=0.281$		$Z=0.105$	$\chi^2=0.038$			$\chi^2=0.360$				$\chi^2=0.868$			$\chi^2=0.765$		
P 值		>0.05		>0.05	<0.05			>0.05				>0.05			>0.05		

注:肿瘤 TNM 分期依据美国癌症联合会(AJCC)第 7 版肿瘤分期系统

2.4 结直肠癌患者预后的 KRAS 基因突变情况多因素分析

多因素分析结果显示:KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子突变是结直肠癌患者预后不良的独立影响因素($P<0.05$)。见表 3。

3 讨论

KRAS 基因是较常见的突变基因。国外研究结果显示:KRAS 基因在结直肠癌中的突变率为 35%~45%^[4-5,8-9]。国内研究结果显示:中国结直肠癌患者 KRAS 基因突变率为 30%~45%^[10-13]。本研究 315 例结直肠癌患者中,143 例为 KRAS 基因突变型,与国内外研究结果一致。本研究中 KRAS 基因突变类型 141 例为错义突变,与肿瘤体细胞突变数据库(COSMIC 数据库)中错义突变率为 98.7%一致。已有的研究结果显示:中国与欧美国家结直肠癌患者 KRAS 基因突变位点均主要在第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子^[10,14]。本研究结果与上述研究一致,其中点突变以 p.G12D(41 例)和 p.G13D(23 例)为主。目前关于 KRAS 基因 p.G12D 突变与结直肠癌化疗效果及预后的相关研究较少;关于 KRAS 基因 p.G13D 突变与表皮生长因子受体单克隆抗体疗效相关性的结论不一。De Roock 等^[15]的研究结果显示:难治性结直肠癌患者接受西妥昔单抗克隆抗体治疗,与 KRAS 基因其他突变类型比较,p.G13D 突变患者总体生存时间和无进展生存时间更长,差异均有统计学意义。Tejpar 等^[16]的研究结果亦表明:KRAS 基因 p.G13D 突变的结直肠癌患者能从西妥昔单抗克隆抗体治疗中获益。一项 II 期临床试验结果显示:KRAS 基因 p.G13D 突变的结直肠癌患者接受西妥昔单抗克隆抗体单药治疗与联合伊立替康治疗比较,无进展生存时间差异无统计学意义^[17]。

KRAS 基因突变情况与结直肠癌患者预后的相关性目前仍存在争议。一项大样本量(2 721 例)、多中心临床试验(RASCAL 试验)结果显示:与 KRAS 基因野生型结直肠癌患者比较,KRAS 基因突变型

患者术后肿瘤复发和死亡风险明显增加,差异均有统计学意义^[18]。一项 II 期临床试验(4 268 例)研究结果显示:Dukes C 期结直肠癌患者中,KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子突变与无突变患者比较,前者总体生存时间和无进展生存时间更短,差异均有统计学意义^[19]。多项研究结果亦显示:与 KRAS 基因野生型结直肠癌患者比较,KRAS 基因突变型患者预后更差,差异有统计学意义^[20-22]。但也有研究结果显示:KRAS 基因突变情况与结直肠癌患者预后无明显相关性^[23-24]。本研究结果显示:KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子突变是结直肠癌患者预后不良的独立影响因素。Jones 等^[25]对 392 例进展期或复发性结直肠癌患者的研究结果与本研究一致。已有的细胞实验结果表明:与 KRAS 基因第 2 号外显子 13 号密码子突变比较,12 号密码子突变具有更强的抗凋亡、不贴壁生长、接触抑制消失等生物学特性,提示 KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子突变可能具有更强的致癌活性^[26]。一项 Meta 分析结果显示:KRAS 基因第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子突变与结直肠癌患者预后无相关性^[27]。

尽管目前临床上已有多种结直肠癌手术切除标本石蜡切片 KRAS 基因突变情况检测技术,但其检测灵敏度、耗时、成本等均存在差异^[28]。一代测序方法(Sanger 法)具有准确度高、读长较长等优势,适合检测已知突变位点,但因灵敏度低、操作复杂、耗时长、通量低等弊端限制了其应用。研究中采用的高通量测序技术突破了一代测序方法的局限性,在保证高准确度的同时,具有操作简单、耗时更短、通量高等优势,更适合肿瘤基因检测^[29-30]。

综上,我国结直肠癌患者 KRAS 基因突变位点主要在第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子,其中点突变以 p.G12D 和 p.G13D 为主;KRAS 基因突变情况可能与肿瘤部位有关;KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子突变是结直肠癌患者预后不良的独立影响因素。本研究可能为结直肠癌患者术后治疗方案的选择及随访策略提供理论依据。

表 3 315 例结直肠癌患者预后的 KRAS 基因突变情况多因素分析

KRAS 基因突变情况	<i>b</i> 值	标准误	Wald 值	风险比	95%可信区间	<i>P</i> 值
KRAS 基因野生型 ^a						
KRAS 基因第 2 号外显子 12 号密码子突变	0.433	0.196	2.211	1.543	1.050~2.265	<0.05
KRAS 基因第 2 号外显子 13 号密码子突变	0.363	0.299	1.212	1.438	0.799~2.585	>0.05
KRAS 基因其余位点突变 ^b	-0.086	0.298	-0.285	0.918	0.512~1.647	>0.05

注:^a以 KRAS 基因野生型为哑变量;^bKRAS 基因除第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子以外的位点突变;1 例患者同时存在 KRAS 基因第 2 号外显子 12 号和 13 号密码子突变

参考文献

- [1] Ferlay J, Parkin DM, Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008 [J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(4): 765-781. DOI: 10.1016/j.ejca.2009.12.014.
- [2] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [3] Lièvre A, Bachet JB, Boige V, et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(3): 374-379. DOI: 10.1200/JCO.2007.12.5906.
- [4] Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(10): 1626-1634. DOI: 10.1200/JCO.2007.14.7116.
- [5] Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(17): 1757-1765. DOI: 10.1056/NEJMoa0804385.
- [6] Shin S, Kim Y, Chul Oh S, et al. Validation and optimization of the Ion Torrent S5 XL sequencer and OncoPrint workflow for BRCA1 and BRCA2 genetic testing [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(21): 34858-34866. DOI: 10.18632/oncotarget.16799.
- [7] Diekstra A, Bosgoed E, Rikken A, et al. Translating sanger-based routine DNA diagnostics into generic massive parallel ion semiconductor sequencing [J]. *Clin Chem*, 2015, 61(1): 154-162. DOI: 10.1373/clinchem.2014.225250.
- [8] Richman SD, Seymour MT, Chambers P, et al. KRAS and BRAF mutations in advanced colorectal cancer are associated with poor prognosis but do not preclude benefit from oxaliplatin or irinotecan; results from the MRC FOCUS trial [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(35): 5931-5937. DOI: 10.1200/JCO.2009.22.4295.
- [9] Van Cutsem E, Köhne CH, Lúg I, et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(15): 2011-2019. DOI: 10.1200/JCO.2010.33.5091.
- [10] 徐晨, 刘亚岚, 黄洁, 等. 结直肠癌 KRAS 基因突变的检测及其临床意义 [J]. *中华病理学杂志*, 2012, 41(10): 667-670. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2012.10.005.
- [11] 高静, 孙志伟, 李艳艳, 等. 中国结直肠癌患者 966 例中 KRAS 和 BRAF 基因突变分析 [J]. *中华病理学杂志*, 2012, 41(9): 579-583. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2012.09.002.
- [12] 凌云, 应建明, 邱田, 等. 结直肠癌患者 KRAS, BRAF 及 PIK3CA 基因突变检测分析 [J]. *中华病理学杂志*, 2012, 41(9): 590-594. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2012.09.004.
- [13] 王琼, 钟梅, 吕亚莉, 等. 结直肠癌 KRAS 基因突变与临床病理特征的相关性 [J]. *中华病理学杂志*, 2012, 41(9): 603-606. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2012.09.007.
- [14] Wang HL, Lopategui J, Amin MB, et al. KRAS mutation testing in human cancers: The pathologist's role in the era of personalized medicine [J]. *Adv Anat Pathol*, 2010, 17(1): 23-32. DOI: 10.1097/PAP.0b013e3181c6962f.
- [15] De Roock W, Jonker DJ, Di Nicolantonio F, et al. Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab [J]. *JAMA*, 2010, 304(16): 1812-1820. DOI: 10.1001/jama.2010.1535.
- [16] Tejpar S, Celik I, Schlichting M, et al. Association of KRAS G13D tumor mutations with outcome in patients with metastatic colorectal cancer treated with first-line chemotherapy with or without cetuximab [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(29): 3570-3577. DOI: 10.1200/JCO.2012.42.2592.
- [17] Segelov E, Thavaneswaran S, Waring PM, et al. Response to Cetuximab With or Without Irinotecan in Patients With Refractory Metastatic Colorectal Cancer Harboring the KRAS G13D Mutation: Australasian Gastro-Intestinal Trials Group ICECREAM Study [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(19): 2258-2264. DOI: 10.1200/JCO.2015.65.6843.
- [18] Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the multicenter "RASCAL" study [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1998, 90(9): 675-684.
- [19] Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the "ASCAL II" study [J]. *Br J Cancer*, 2001, 85(5): 692-696. DOI: 10.1054/bjoc.2001.1964.
- [20] Conlin A, Smith G, Carey FA, et al. The prognostic significance of K-ras, p53, and APC mutations in colorectal carcinoma [J]. *Gut*, 2005, 54(9): 1283-1286. DOI: 10.1136/gut.2005.066514.
- [21] Eklöf V, Wikberg ML, Edin S, et al. The prognostic role of KRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN in colorectal cancer [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(10): 2153-2163. DOI: 10.1038/bjc.2013.212.
- [22] Kadowaki S, Kakuta M, Takahashi S, et al. Prognostic value of KRAS and BRAF mutations in curatively resected colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(4): 1275-1283. DOI: 10.3748/wjg.v21.i4.1275.
- [23] Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, et al. Prognostic Role of KRAS and BRAF in Stage II and III Resected Colon Cancer: Results of the Translational Study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 Trial [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(3): 466-474. DOI: 10.1200/jco.2009.23.3452.
- [24] Liou JM, Wu MS, Shun CT, et al. Mutations in BRAF correlate with poor survival of colorectal cancers in Chinese population [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2011, 26(11): 1387-1395. DOI: 10.1007/s00384-011-1229-1.
- [25] Jones RP, Sutton PA, Evans JP, et al. Specific mutations in KRAS codon 12 are associated with worse overall survival in patients with advanced and recurrent colorectal cancer [J]. *Br J Cancer*, 2017, 116(7): 923-929. DOI: 10.1038/bjc.2017.37.
- [26] Guerrero I, Casalova I, Farré L, et al. K-ras codon 12 mutation induces higher level of resistance to apoptosis and predisposition to anchorage-independent growth than codon 13 mutation or proto-oncogene overexpression [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(23): 6750-6756.
- [27] Kwak MS, Cha JM, Yoon JY, et al. Prognostic value of KRAS codon 13 gene mutation for overall survival in colorectal cancer: Direct and indirect comparison meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(35): e7882. DOI: 10.1097/MD.00000000000007882.
- [28] Westwood M, van Asselt T, Ramaekers B, et al. KRAS mutation testing of tumours in adults with metastatic colorectal cancer: a systematic review and cost-effectiveness analysis [J]. *Health Technol Assess*, 2014, 18(62): 1-132. DOI: 10.3310/hta18620.
- [29] Salto-Tellez M, Gonzalez de Castro D. Next-generation sequencing: a change of paradigm in molecular diagnostic validation [J]. *J Pathol*, 2014, 234(1): 5-10. DOI: 10.1002/path.4365.
- [30] Kothari N, Schell MJ, Teer JK, et al. Comparison of KRAS mutation analysis of colorectal cancer samples by standard testing and next-generation sequencing [J]. *J Clin Pathol*, 2014, 67(9): 764-767. DOI: 10.1136/jclinpath-2014-202405.

(收稿日期: 2017-12-29)

(本文编辑: 王雪梅)

本文引用格式

彭健, 陈颖, 董先龙, 等. KRAS 基因突变与结直肠癌患者临床病理特征及预后的关系 [J]. *中华消化外科杂志*, 2018, 17(2): 143-147. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2018.02.005.

Peng Jian, Chen Ying, Dong Xianlong, et al. Association between KRAS gene mutations and clinicopathological characteristics and prognosis of colorectal cancer patients [J]. *Chin J Dig Surg*, 2018, 17(2): 143-147. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2018.02.005.