

论著·临床研究

结直肠癌基因突变与临床病理特征、疗效和预后的相关性[▲]

陆雪柔 黄宇 李永强

(广西医科大学附属肿瘤医院消化肿瘤内科,广西南宁市 530021)

【摘要】 目的 探讨 I~IV 期结直肠癌(CRC)患者常见基因突变与临床病理特征的关系,分析 IV 期 CRC 患者基因突变与一线治疗疗效、预后的相关性。方法 收集 45 例 I~IV 期 CRC 患者的临床资料及组织标本,采用二代测序(NGS)技术检测基因突变并筛选出突变率最高的 10 个基因,分析 I~IV 期 CRC 患者常见突变基因与临床病理特征的关系,并探讨 IV 期 CRC 患者基因突变与一线治疗疗效、预后的相关性。结果 45 例患者检测结果显示突变率最高的 10 个基因为 *TP53*(82.2%)、*KRAS*(62.2%)、*APC*(60.0%)、*FLT3*(20.0%)、*PIK3CA*(20.0%)、*ERBB2*(17.8%)、*BRCA2*(15.6%)、*DPYD*(15.6%)、*POLE*(15.6%)、*MSH6*(15.6%)。其中,*TP53* 突变与淋巴结转移相关($P<0.05$)。血清 CEA、CA199 升高患者的 *KRAS* 突变率高于血清 CEA 及 CA199 正常患者的 *KRAS* 突变率($P<0.05$)。肝转移患者 *APC* 突变率高于无肝转移患者 *APC* 突变率($P<0.05$)。在 IV 期 CRC 患者中,常见突变基因与客观缓解率、疾病控制率无相关性($P>0.05$),而 *KRAS* 基因突变与无进展生存期相关($P<0.05$)。结论 CRC 患者高频突变基因中,*KRAS*、*APC*、*TP53* 与患者临床病理特征存在高度关联。在 IV 期 CRC 患者中,*KRAS* 突变患者无进展生存期更短,因此基因分型能更精准地指导患者的个体化治疗。

【关键词】 结直肠癌;基因突变;临床病理特征;预后;疗效

【中图分类号】 R 753 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 0253-4304(2026)03-0348-11

DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2026.03.07

Correlation between gene mutation of colorectal cancer and clinicopathological features, efficacy and prognosis

LU Xuerou, HUANG Yu, LI Yongqiang

(Department of Gastrointestinal Oncology Internal Medicine, Guangxi Medical University Cancer Hospital, Nanning 530021, Guangxi, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the relation between common gene mutations and clinicopathological features in patients with colorectal cancer (CRC) in stage I-IV, and to analyze the correlation between gene mutations and first-line therapeutic efficacy and prognosis in stage IV CRC patients. **Methods** Clinical data and tissue samples of 45 CRC patients in stage I-IV were collected, next-generation sequencing (NGS) technology was adopted to detect gene mutations for screening 10 genes with the highest mutation rate. The relation between common mutant genes and clinicopathological features in stage I-IV CRC patients was analyzed, and the correlation between gene mutations and first-line therapeutic efficacy and prognosis in stage IV CRC patients was explored. **Results** The test results of 45 patients revealed that ten genes with the highest mutation rate were as follows: *TP53* (82.2%), *KRAS* (62.2%), *APC* (60.0%), *FLT3* (20.0%), *PIK3CA* (20.0%), *ERBB2* (17.8%), *BRCA2* (15.6%), *DPYD* (15.6%), *POLE* (15.6%), and *MSH6* (15.6%). Among which, *TP53* mutation was associated with lymph node metastasis ($P<0.05$). The *KRAS* mutation rate in patients with elevated serum CEA and CA199 was higher than that in patients with normal serum CEA and CA199 ($P<0.05$). The *APC* mutation rate in patients with liver metastasis was higher than that in patients without liver metastasis ($P<0.05$). In stage IV CRC patients, there was no correlation between common mutant genes and objective response rate and disease control rate ($P>0.05$), whereas *KRAS* gene mutation was correlated with progression-free survival ($P<0.05$). **Conclusion** The high-frequency mutated genes *KRAS*, *APC* and *TP53* in CRC patients are highly correlated with clinicopathological features. In stage IV CRC patients, patients with *KRAS* mutation have a shorter progression-free survival, therefore genotyping can more accurately guide individualized therapy of patients.

【Key words】 Colorectal cancer, Gene mutation, Clinicopathological features, Prognosis, Efficacy

▲基金项目:广西壮族自治区医疗卫生重点(培育)学科建设项目(桂卫科教发[2022]4号)

第一作者简介:陆雪柔,硕士,住院医师,研究方向为消化肿瘤诊断和治疗。

通信作者简介:李永强,硕士,主任医师,研究方向为消化肿瘤诊断和治疗。

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是我国乃至全球范围内常见的消化道恶性肿瘤之一。相关统计结果显示,2019年我国CRC新发病例数及死亡人数均位居全球榜首,CRC患病率和死亡率跃居我国癌症患病率和死亡率的第三位,并且呈进行性升高趋势^[1-2]。大部分CRC患者首次就诊时已出现远处转移,但不同患者对系统治疗的反应存在差异,并非所有患者均能从治疗中获益。精准治疗已成为肿瘤治疗的发展趋势,而二代测序(next-generation sequencing, NGS)可获得肿瘤基因组全貌并对癌症患者的基因突变谱进行全面分析,为临床医生制订个体化治疗方案提供指导依据。CRC的发生与发展是多因素驱动、多基因协同的复杂过程,经典的腺瘤-癌途径是70%~90%的CRC患者发病的主要原因,其核心分子特征包括腺瘤性大肠息肉病(adenomatous polyposis coli, APC)基因突变、肿瘤蛋白53(tumor protein 53, TP53)功能缺失或RAS激活^[3]。研究发现,与Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog, KRAS)野生型CRC患者相比, KRAS突变型的CRC患者对靶向治疗、化学治疗(以下简称化疗)等抗肿瘤治疗反应率更低,且与患者远处转移发生率和不良预后密切相关^[4]。TP53、乳腺癌易感蛋白2(breast cancer susceptibility protein 2, BRCA2)、磷脂酰肌醇4,5-二磷酸3-激酶催化亚基 α (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha, PIK3CA)等基因也被证实与CRC分期及预后相关^[5-6]。因此,分析CRC的临床病理和分子水平特征并寻找预测疗效和预后的因素是当前筛查、诊断和个体化治疗CRC的主要研究方向。本研究采用NGS技术对45例CRC患者进行基因突变检测,分析CRC患者的常见基因突变及其与临床病理特征、化疗疗效和预后的关系,以期对CRC的诊疗工作提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性分析2015年10月至2021年11月广西医科大学附属肿瘤医院收治并进行NGS检测的45例原发性CRC患者的临床资料。纳入标准:经肠镜或手术病理确诊为原发性CRC,可获得完整随访数据且肿瘤原发部位明确。排除标准:合并其他部位原发肿瘤。45例CRC患者的临床病理特征见表1。本研究已取得广西医科大学附属肿瘤医院医学伦理委员会批准。

表1 45例CRC患者的临床病理资料

临床特征	n	百分比(%)
性别		
男性	22	48.9
女性	23	51.1
年龄		
≥ 65 岁	9	20.0
< 65 岁	36	80.0
TNM分期		
I~III期	12	26.7
IV期	33	73.3
肿瘤原发部位		
左半结肠癌	35	77.8
右半结肠癌	10	22.2
淋巴结转移		
有	31	68.9
无	14	31.1
血清CEA		
> 5 ng/mL	33	73.3
≤ 5 ng/mL	12	26.7
血清CA125		
> 35 U/mL	15	33.3
≤ 35 U/mL	30	66.7
血清CA199		
> 37 U/mL	25	55.6
≤ 37 U/mL	20	44.4
转移部位		
肝	24	53.3
肺	12	26.7
腹膜	6	13.3

注:肿瘤原发部位按照肠镜、CT或MRI的检查结果划分,左半结肠癌包括位于直肠、乙状结肠、降结肠、结肠脾曲的癌,右半结肠癌包括位于横结肠、结肠肝曲、升结肠、回盲部的癌;TNM分期按照美国癌症联合会/国际抗癌联盟结直肠癌第八版^[7]进行分期;血清CEA指血清癌胚抗原、血清CA125指血清糖类抗原125、血清CA199指血清糖类抗原199。

1.2 方法

1.2.1 标本来源:收集所有患者相应组织标本,并取10 mL外周静脉血用于胚系过滤。其中,组织标本包括手术切除标本(26例)和穿刺活检标本(19例),手术切除标本中25例为肿瘤原发病灶标本,1例为肝转移灶切除标本,穿刺活检标本均为肠镜下穿刺活检肿瘤原发灶标本。所有标本均采用10%中性福尔马林固定后石蜡包埋。在NGS检测前先分析组织切片以评估肿瘤含量和百分比,以组织病理学评估肿瘤纯度,肿瘤纯度 $> 20\%$ 的样本才能用于基因组图谱分析。

1.2.2 NGS及测序数据分析:使用KAPA文库定量试剂盒(KAPA Biosystems,货号:KK8504)在Hiseq 6000平台(Illumina, California, USA)上进行NGS测序,肿

瘤组织样本的平均测序深度为 1000×。VarScan2 识别单核苷酸变异 (single nucleotide variant, SNV) 和短插入/缺失, 将最小变异等位基因频率阈值设为 0.01, 调用变异的 p 值阈值设为 0.05, 生成变异调用格式文件。所有的 SNV/indel 都用 ANNOVAR 注释, 每个 SNV/indel 都在 Integrative Genomics Viewer 上手工检查。拷贝数变异分析使用内部开发的管道进行。将 DNA 拷贝数的倍数变化阈值分别设定为 1.6 和 0.6, 作为扩增和缺失的截断值。以上基因组测序实验均由上海思路迪医学检验所有限公司完成。

1.2.3 疗效评价: 采用电话、病历查阅的方式进行随访, 随访日期截至 2021 年 12 月。采用 WHO 实体瘤疗效评价标准 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST) 1.1 版本^[8] 对肿瘤疗效进行评价。完全缓解 (complete response, CR) 指所有目标病灶消失; 部分缓解 (partial response, PR) 指以临界半径的总和为参照, 所有目标病灶半径的总和至少减少 30%; 疾病进展 (progressive disease, PD) 指以目标病灶半径的总和最小值为参照, 所有目标病灶半径的总和至少增加 20%, 或出现新发病灶; 疾病稳定 (stable disease, SD) 指病灶最大径之和缩小未达到 30% 或增大不超过 20%。疾病控制率 (disease control rate, DCR) = (CR+PR+SD) 例数/总例数×100%, 客观缓解率 (objective response rate, ORR) = (CR+PR) 例数/总例数×100%。无进展生存期是指第一次治疗开始至 PD 或患者死亡的时间。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 25.0 软件进行统计学

分析。计数资料以 [n(%)] 表示, 组间比较采用 χ^2 检验、连续校正 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法; 采用 Kaplan-Meier 法描绘生存曲线, 生存率差异比较采用 log-rank 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 45 例 CRC 患者基因突变的总体情况 采用 NGS 技术对 45 例 CRC 患者的 733 个基因进行检测, 共获得突变基因 399 个, 其中突变率前 10 的基因为 TP53 (82.2%)、KRAS (62.2%)、APC (60.0%)、FMS 样酪氨酸激酶 3 (FMS-like tyrosine kinase 3, FLT3) (20.0%)、PIK3CA (20.0%)、Erb-b2 受体酪氨酸激酶 2 (Erb-b2 receptor tyrosine kinase 2, ERBB2) (17.8%)、BRCA2 (15.6%)、二氢嘧啶脱氢酶 (dihydropyrimidine dehydrogenase, DPYD) (15.6%)、DNA 聚合酶 ϵ 催化亚基 (DNA polymerase epsilon catalytic subunit, POLE) (15.6%)、MutS 同源物 6 (MutS homolog 6, MSH6) (15.6%), 见图 1。基因变异的类型主要为错义突变, 其次为移码缺失、同义突变、剪切位点突变、终止密码子突变类型出现较少。进一步细分突变类型, 又以基因组水平上的 SNV 所导致的 DNA 序列多态性即单核苷酸多态性最多见, 插入和缺失的突变类型占比极少。在碱基突变的统计中, G>A 替换发生频率最高, G>T 替换的发生频率次之, A>C 替换、A>G 替换、A>T 替换、G>C 替换的发生频率较低。

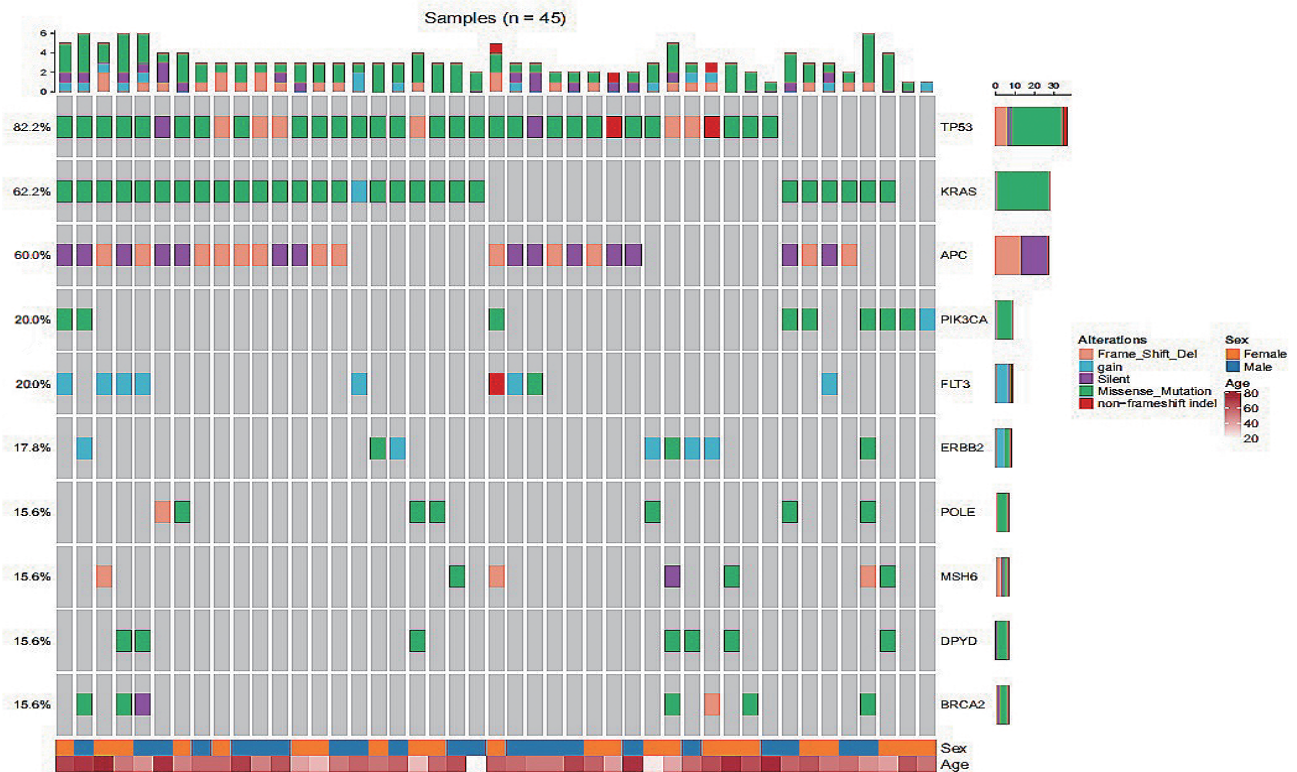


图 1 45 例 CRC 患者突变率前 10 的基因情况

2.2 各基因突变与CRC患者临床病理特征的关系

2.2.1 TP53、KRAS、APC基因突变与CRC患者临床病理特征的关系:有淋巴结转移的CRC患者TP53突变率高于无淋巴结转移的CRC患者,血清CEA>5 ng/mL、血清CA199>37 U/mL的CRC患者KRAS突变率高于血清CEA≤5 ng/mL、血清CA199≤37 U/mL的CRC患者,出现肝转移的CRC患者APC突变率高于无肝转移

的CRC患者($P<0.05$),见表2。进一步分析发现,发生KRAS突变的28例患者中,以p.G12D(7/28, 25.0%)、p.G12V(6/28, 21.4%)、p.G13D(6/28, 21.4%)常见,三者占总突变人数的67.8%,不同临床病理特征的CRC患者G12D、G12V、G13D位点突变率差异无统计学意义($P>0.05$),见表3。

表2 TP53、KRAS、APC基因突变与CRC患者临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理特征	TP53		χ^2 值	P值	KRAS		χ^2 值	P值	APC		χ^2 值	P值
	突变型 (n=37)	野生型 (n=8)			突变型 (n=28)	野生型 (n=17)			突变型 (n=27)	野生型 (n=18)		
性别												
男性	19(86.4)	3(13.6)	0.103	0.748	15(68.2)	7(31.8)	0.650	0.420	15(68.2)	7(31.8)	1.201	0.273
女性	18(78.3)	5(21.7)			13(56.5)	10(43.5)			12(52.2)	11(47.8)		
年龄												
≥65岁	9(100.0)	0	—	0.179	5(55.6)	4(44.4)	0.006	0.939	7(77.8)	2(22.2)	0.700	0.403
<65岁	28(77.8)	8(22.2)			23(63.9)	13(36.1)			20(55.6)	16(44.4)		
TNM分期												
I~III期	10(83.3)	2(16.7)	0.105	0.747	6(50.0)	6(50.0)	0.452	0.502	9(75.0)	3(25.0)	0.800	0.371
IV期	27(81.8)	6(18.2)			22(66.7)	11(33.3)			18(54.5)	15(45.5)		
肿瘤原发部位												
左半结肠癌	31(88.6)	4(11.4)	2.609	0.106	19(54.3)	16(45.7)	2.838	0.092	20(57.1)	15(42.9)	0.134	0.714
右半结肠癌	6(60.0)	4(40.0)			9(90.0)	1(10.0)			7(70.0)	3(30.0)		
淋巴结转移												
有	29(93.5)	2(6.5)	6.431	0.011	20(64.5)	11(35.5)	0.223	0.637	17(54.8)	14(45.2)	1.106	0.293
无	8(57.1)	6(42.9)			8(57.1)	6(42.9)			10(71.4)	4(28.6)		
血清CEA												
>5 ng/mL	28(84.8)	5(15.2)	0.105	0.746	25(75.8)	8(24.2)	7.607	0.006	21(63.6)	12(36.4)	0.232	0.630
≤5 ng/mL	9(75.0)	3(25.0)			3(25.0)	9(75.0)			6(50.0)	6(50.0)		
血清CA125												
>35 U/mL	14(93.3)	1(6.7)	0.931	0.335	9(60.0)	6(40.0)	0.047	0.828	6(40.0)	9(60.0)	3.750	0.053
≤35 U/mL	23(76.7)	7(23.3)			19(63.3)	11(36.7)			21(70.0)	9(30.0)		
血清CA199												
>37 U/mL	20(80.0)	5(20.0)	0.002	0.965	19(76.0)	6(24.0)	4.543	0.033	16(64.0)	9(36.0)	0.375	0.540
≤37 U/mL	17(85.0)	3(15.0)			9(45.0)	11(55.0)			11(55.0)	9(45.0)		
肝转移												
有	20(83.3)	4(16.7)	—	1.000*	16(66.7)	8(33.3)	—	1.000*	16(66.7)	8(33.3)	—	0.047
无	7(77.8)	2(22.2)			6(66.7)	3(33.3)			2(22.2)	7(77.8)		
肺转移												
有	11(91.7)	1(8.3)	—	0.379*	9(75.0)	3(25.0)	—	0.703*	6(50.0)	6(50.0)	—	0.731*
无	16(76.2)	5(23.8)			13(61.9)	8(38.1)			12(57.1)	9(42.9)		
腹膜转移												
有	5(83.3)	1(16.7)	—	1.000*	5(83.3)	1(16.7)	—	0.637*	1(16.7)	5(83.3)	—	0.070*
无	22(81.5)	5(18.5)			17(63.0)	10(37.0)			17(63.0)	10(37.0)		

注:*为采用Fisher确切概率法。

表3 KRAS G12D、G12V、G13D突变与CRC患者临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理特征	KRAS G12D			KRAS G12V			KRAS G13D		
	突变型 (n=7)	野生型 (n=21)	P值	突变型 (n=6)	野生型 (n=22)	P值	突变型 (n=6)	野生型 (n=22)	P值
性别									
男性	2(13.3)	13(86.7)	0.198	2(13.3)	13(86.7)	0.372	5(33.3)	10(66.7)	0.173
女性	5(38.5)	8(61.5)		4(30.8)	9(69.2)		1(7.7)	12(92.3)	
年龄									
≥65岁	2(40.0)	3(60.0)	0.574	1(20.0)	4(80.0)	1.000	1(20.0)	4(80.0)	1.000
<65岁	5(21.7)	18(78.3)		5(21.7)	18(78.3)		5(21.7)	18(78.3)	
TNM分期									
I~III期	3(50.0)	3(50.0)	0.144	2(33.3)	4(66.7)	0.581	0	6(100.0)	0.289
IV期	4(18.2)	18(81.8)		4(18.2)	18(81.8)		6(27.3)	16(72.7)	
肿瘤原发部位									
左半结肠癌	4(21.1)	15(78.9)	0.646	6(31.6)	13(68.4)	0.136	3(15.8)	16(84.2)	0.352
右半结肠癌	3(33.3)	6(66.7)		0	9(100.0)		3(33.3)	6(66.7)	
淋巴结转移									
有	4(20.0)	16(80.0)	0.371	5(25.0)	15(75.0)	0.640	4(20.0)	16(80.0)	1.000
无	3(37.5)	5(62.5)		1(12.5)	7(87.5)		2(25.0)	6(75.0)	
血清CEA									
>5 ng/mL	6(24.0)	19(76.0)	1.000	5(20.0)	20(80.0)	0.530	6(24.0)	19(76.0)	1.000
≤5 ng/mL	1(33.3)	2(66.7)		1(33.3)	2(66.7)		0	3(100.0)	
血清CA125									
>35 U/mL	1(11.1)	8(88.9)	0.371	2(22.2)	7(77.8)	1.000	3(33.3)	6(66.7)	0.352
≤35 U/mL	6(31.6)	13(68.4)		4(21.1)	15(78.9)		3(15.8)	16(84.2)	
血清CA199									
>37 U/mL	5(26.3)	14(73.7)	1.000	3(57.1)	16(42.9)	0.352	4(21.0)	15(79.0)	1.000
≤37 U/mL	2(22.2)	7(77.8)		3(70.0)	6(30.0)		2(22.2)	7(77.8)	
肝转移									
有	4(25.0)	12(75.0)	0.541	3(18.8)	13(81.2)	1.000	3(18.8)	13(81.2)	1.000
无	0	6(100.0)		1(16.7)	5(83.3)		3(50.0)	3(50.0)	
肺转移									
有	2(22.2)	7(77.8)	1.000	1(11.1)	8(88.9)	0.616	2(22.2)	7(77.8)	1.000
无	2(15.4)	11(84.6)		3(23.1)	10(76.9)		4(30.8)	9(69.2)	
腹膜转移									
有	1(20.0)	4(80.0)	1.000	1(20.0)	4(80.0)	1.000	1(20.0)	4(80.0)	1.000
无	3(17.6)	14(82.4)		3(17.6)	14(82.4)		5(29.4)	12(70.6)	

注:由于样本数<40,表中的P值均采用确切概率法计算。

2.2.2 其他基因突变与CRC患者临床病理特征的关系:不同临床病理特征的CRC患者的*FLT3*、*PIK3CA*、*ERBB2*、*BRCA2*、*DPYD*、*POLE*、*MSH6*基因突变率差异无统计学意义($P>0.05$),见表4。

表4 其他基因突变与CRC患者临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理特征	<i>FLT3</i>		χ^2 值	P值	<i>PIK3CA</i>		χ^2 值	P值	<i>ERBB2</i>		χ^2 值	P值	<i>BRCA2</i>		χ^2 值	P值
	突变型 (n=9)	野生型 (n=36)			突变型 (n=9)	野生型 (n=36)			突变型 (n=8)	野生型 (n=37)			突变型 (n=7)	野生型 (n=38)		
性别																
男性	4(18.2)	18(81.8)	0.006	0.941	3(13.6)	19(86.4)	0.450	0.502	4(18.2)	18(81.8)	0.103	0.749	3(13.6)	19(86.4)	0.004	0.949
女性	5(21.7)	18(78.3)			6(26.1)	17(73.9)			4(17.4)	19(82.6)			4(17.4)	19(82.6)		
年龄																
≥65岁	2(22.2)	7(77.8)	0.078	0.780	2(22.2)	7(77.8)	0.078	0.780	1(11.1)	8(88.9)	0.010	0.922	1(11.1)	8(88.9)	0.011	0.918
<65岁	7(19.4)	29(80.6)			7(19.4)	29(80.6)			7(19.4)	29(80.6)			6(16.7)	30(83.3)		
TNM分期																
I~III期	5(41.7)	7(58.3)	3.132	0.077	2(16.7)	10(83.3)	0.007	0.933	2(16.7)	10(83.3)	0.105	0.747	2(16.7)	10(83.3)	0.116	0.733
IV期	4(12.1)	29(87.9)			7(21.2)	26(78.8)			6(18.2)	27(81.8)			5(15.2)	28(84.8)		
肿瘤部位																
左半结肠癌	6(17.1)	29(82.9)	0.201	0.654	5(14.3)	30(85.7)	1.808	0.179	5(14.3)	30(85.7)	0.459	0.498	5(14.3)	30(85.7)	0.003	0.956
右半结肠癌	3(30.0)	7(70.0)			4(40.0)	6(60.0)			3(30.0)	7(70.0)			2(20.0)	8(80.0)		
淋巴结转移																
有	7(22.6)	24(77.4)	0.058	0.809	4(12.9)	27(87.1)	1.873	0.171	6(19.4)	25(80.6)	0.000	0.993	3(9.7)	28(90.3)	1.380	0.240
无	2(14.3)	12(85.7)			5(35.7)	9(64.3)			2(14.3)	12(85.7)			4(28.6)	10(71.4)		
血清CEA																
>5 ng/mL	8(24.2)	25(75.8)	0.575	0.448	6(18.2)	27(81.8)	0.007	0.933	5(15.2)	28(84.8)	0.105	0.746	4(12.1)	29(87.9)	0.347	0.556
≤5 ng/mL	1(8.3)	11(91.7)			3(25.0)	9(75.0)			3(25.0)	9(75.0)			3(25.0)	9(75.0)		
血清CA125																
>35 U/mL	1(6.7)	14(93.3)	1.406	0.236	1(6.7)	14(93.3)	1.406	0.236	3(20.0)	12(80.0)	0.019	0.890	1(6.7)	14(93.3)	0.529	0.467
≤35 U/mL	8(26.7)	22(73.3)			8(26.7)	22(73.3)			5(16.7)	25(83.3)			6(20.0)	24(80.0)		
血清CA199																
>37 U/mL	3(12.0)	22(88.0)	1.266	0.261	6(24.0)	19(76.0)	0.141	0.708	4(16.0)	21(84.0)	0.011	0.917	2(8.0)	23(92.0)	1.322	0.250
≤37 U/mL	6(30.0)	14(70.0)			3(15.0)	17(85.0)			4(20.0)	16(80.0)			5(25.0)	15(75.0)		
肝转移																
有	3(12.5)	21(87.5)	—	1.000*	5(20.8)	19(79.2)	—	1.000*	4(16.7)	20(83.3)	—	1.000*	3(12.5)	21(87.5)	—	0.597*
无	1(11.1)	8(88.9)			2(22.2)	7(77.8)			2(22.2)	7(77.8)			2(22.2)	7(77.8)		
肺转移																
有	1(8.3)	11(91.7)	—	1.000*	3(25.0)	9(75.0)	—	1.000*	2(16.7)	10(83.3)	—	1.000*	2(16.7)	10(83.3)	—	1.000*
无	3(14.3)	18(85.7)			4(19.0)	17(81.0)			4(19.0)	17(81.0)			3(14.3)	18(85.7)		
腹膜转移																
有	1(16.7)	5(83.3)	—	1.000*	1(16.7)	5(83.3)	—	1.000*	1(16.7)	5(83.3)	—	1.000*	0	6(100.0)	—	0.556*
无	3(11.1)	24(88.9)			6(22.2)	21(77.8)			5(18.5)	22(81.5)			5(18.5)	22(81.5)		

续表

临床病理特征	DPYD		χ^2 值	P值	POLE		χ^2 值	P值	MSH6		χ^2 值	P值
	突变型 (n=7)	野生型 (n=38)			突变型 (n=7)	野生型 (n=38)			突变型 (n=7)	野生型 (n=38)		
性别												
男性	2(9.1)	20(90.9)	0.576	0.448	3(13.6)	19(86.4)	0.004	0.949	2(9.1)	20(90.9)	0.576	0.448
女性	5(21.7)	18(78.3)			4(17.4)	19(82.6)			5(21.7)	18(78.3)		
年龄												
≥65岁	1(11.1)	8(88.9)	0.011	0.918	1(11.1)	8(88.9)	0.011	0.918	2(22.2)	7(77.8)	0.011	0.918
<65岁	6(16.7)	30(83.3)			6(16.7)	30(83.3)			5(13.9)	31(86.1)		
TNM分期												
I~III期	2(16.7)	10(83.3)	0.116	0.733	1(8.3)	11(91.7)	0.116	0.733	2(16.7)	10(83.3)	0.116	0.733
IV期	5(15.2)	28(84.8)			6(18.2)	27(81.8)			5(15.2)	28(84.8)		
肿瘤部位												
左半结肠癌	7(20.0)	28(80.0)	1.091	0.296	4(11.4)	31(88.6)	0.873	0.350	5(14.3)	30(85.7)	0.003	0.956
右半结肠癌	0	10(100.0)			3(30.0)	7(70.0)			2(20.0)	8(80.0)		
淋巴结转移												
有	4(12.9)	27(87.1)	0.082	0.775	6(19.4)	25(80.6)	0.363	0.547	4(12.9)	27(87.1)	0.082	0.775
无	3(21.4)	11(78.6)			1(7.1)	13(92.9)			3(21.4)	11(78.6)		
血清CEA												
>5 ng/mL	5(15.2)	28(84.8)	0.116	0.733	6(18.2)	27(81.8)	0.116	0.733	5(15.2)	28(84.8)	0.116	0.733
≤5 ng/mL	2(16.7)	10(83.3)			1(8.3)	11(91.7)			2(16.7)	10(83.3)		
血清CA125												
>35 U/mL	3(20.0)	12(80.0)	0.021	0.884	2(13.3)	13(86.7)	0.021	0.884	3(20.0)	12(80.0)	0.021	0.884
≤35 U/mL	4(13.3)	26(86.7)			5(16.7)	25(83.3)			4(13.3)	26(86.7)		
血清CA199												
>37 U/mL	3(12.0)	22(88.0)	0.104	0.748	6(24.0)	19(76.0)	1.778	0.182	4(16.0)	21(84.0)	0.104	0.745
≤37 U/mL	4(20.0)	16(80.0)			1(5.0)	19(95.0)			3(15.0)	17(85.0)		
肝转移												
有	3(12.5)	21(87.5)	—	0.597*	4(16.7)	20(83.3)	—	1.000*	3(12.5)	21(87.5)	—	0.597*
无	2(22.2)	7(77.8)			2(22.2)	7(77.8)			2(22.2)	7(77.8)		
肺转移												
有	1(8.3)	11(91.7)	—	0.630*	1(8.3)	11(91.7)	—	0.379*	2(16.7)	10(83.3)	—	1.000*
无	4(19.0)	17(81.0)			5(23.8)	16(76.2)			3(14.3)	18(85.7)		
腹膜转移												
有	1(16.7)	5(83.3)	—	1.000*	1(16.7)	5(83.3)	—	1.000*	2(33.3)	4(66.7)	—	0.216*
无	4(14.8)	23(85.2)			5(18.5)	22(81.5)			3(11.1)	24(88.9)		

注：*为采用Fisher确切概率法。

2.3 基因突变与CRC患者近期化疗疗效的关系
本研究对33例晚期CRC(仅有IV期CRC患者需要进行肿瘤疗效评价)一线化疗患者进行随访,随访至2021年12月,共获取30例患者完整治疗数据,见表5。

其中,CR 0例、PR 4例(13.3%)、SD 14例(46.7%)、PD 12例(40.0%),ORR为13.3%,DCR为60.0%。不同基因突变CRC患者的DCR、ORR差异无统计学意义($P>0.05$),见表6。

表5 30例CRC患者的一线化疗方案及其疗效(n)

一线化疗方案	n	CR	PR	SD	PD
奥沙利铂+卡培他滨	7	0	0	4	3
贝伐珠单抗+奥沙利铂+卡培他滨	4	0	0	2	2
贝伐珠单抗+奥沙利铂+5-FU	1	0	0	1	0
伊立替康+奥沙利铂+5-FU	3	0	0	2	1
西妥昔单抗+伊立替康+奥沙利铂+5-FU	3	0	2	1	0
贝伐珠单抗+伊立替康+奥沙利铂+5-FU	1	0	0	1	0
奥沙利铂+替吉奥	1	0	0	0	1
贝伐珠单抗+奥沙利铂+替吉奥	2	0	1	0	1
贝伐珠单抗+伊立替康+5-FU	1	0	0	1	0
西妥昔单抗+伊立替康+5-FU	3	0	0	1	2
奥沙利铂+雷替曲塞	1	0	0	0	1
伊立替康+卡培他滨	1	0	1	0	0
贝伐珠单抗+伊立替康+雷替曲塞	1	0	0	0	1
西妥昔单抗+伊立替康+雷替曲塞	1	0	0	1	0

表6 不同基因突变CRC患者DCR、ORR的比较[n(%)]

基因突变类型	n	DCR(%)		ORR(%)	
		CR+PR+SD	P值	CR+PR	P值
<i>TP53</i>					
突变型	26	15(57.7)	0.632	2(7.7)	0.075
野生型	4	3(75.0)		2(50.0)	
<i>KRAS</i>					
突变型	20	10(50.0)	0.235	2(10.0)	0.584
野生型	10	8(80.0)		2(20.0)	
<i>APC</i>					
突变型	17	10(58.8)	1.000	2(11.8)	1.000
野生型	13	8(61.5)		2(15.4)	
<i>FLT3</i>					
突变型	4	2(50.0)	1.000	0	1.000
野生型	26	16(61.5)		4(15.4)	
<i>PIK3CA</i>					
突变型	5	4(80.0)	0.622	2(40.0)	0.119
野生型	25	14(56.0)		2(8.0)	
<i>ERBB2</i>					
突变型	5	3(60.0)	1.000	1(20.0)	0.538
野生型	25	15(60.0)		3(12.0)	
<i>BRCA2</i>					
突变型	4	4(100.0)	0.130	1(25.0)	0.454
野生型	26	14(53.8)		3(11.5)	
<i>DPYD</i>					
突变型	5	5(100.0)	0.066	2(40.0)	0.119
野生型	25	13(52.0)		2(8.0)	
<i>POLE</i>					
突变型	4	3(75.0)	0.632	1(25.0)	0.454
野生型	26	15(57.7)		3(11.5)	
<i>MSH6</i>					
突变型	4	3(75.0)	0.632	2(50.0)	0.075
野生型	26	15(57.7)		2(7.7)	

注:由于表格中的样本数<40,表中的P值均采用确切概率法计算。

2.4 常见基因突变与无进展生存期的关系 对33例IV期CRC患者进行随访,随访至2021年12月,获取33例患者完整随访数据,中位无进展生存期(progression-free survival, PFS)为10.83个月。野生型KRAS CRC患者比突变型KRAS CRC患者可获得更长的PFS ($P < 0.05$),其余不同基因突变类型的CRC患者PFS差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表7、图2。

表7 常见基因突变的PFS比较

基因突变类型	log-rank test	P值
	PFS(95% CI)	
<i>TP53</i>		
突变型	16.38(9.20, 23.56)	0.904
野生型	10.43(8.15, 11.34)	
<i>KRAS</i>		
突变型	11.49(8.65, 14.33)	0.019
野生型	26.36(8.86, 43.85)	
<i>APC</i>		
突变型	13.39(10.06, 16.73)	0.848
野生型	18.71(6.90, 30.52)	
<i>FLT3</i>		
突变型	9.50(7.27, 11.73)	0.174
野生型	17.37(9.48, 25.26)	
<i>PIK3CA</i>		
突变型	10.95(10.58, 11.31)	0.371
野生型	15.80(8.77, 22.84)	
<i>ERBB2</i>		
突变型	8.41(6.07, 10.74)	0.484
野生型	16.81(9.58, 24.04)	
<i>BRCA2</i>		
突变型	20.60(12.52, 28.69)	0.194
野生型	16.23(8.22, 24.24)	
<i>DPYD</i>		
突变型	10.50(8.11, 12.89)	0.676
野生型	11.20(8.96, 13.43)	
<i>POLE</i>		
突变型	13.99(10.31, 17.66)	0.346
野生型	15.86(8.89, 22.84)	
<i>MSH6</i>		
突变型	10.43(6.45, 14.41)	0.501
野生型	11.20(8.94, 13.46)	

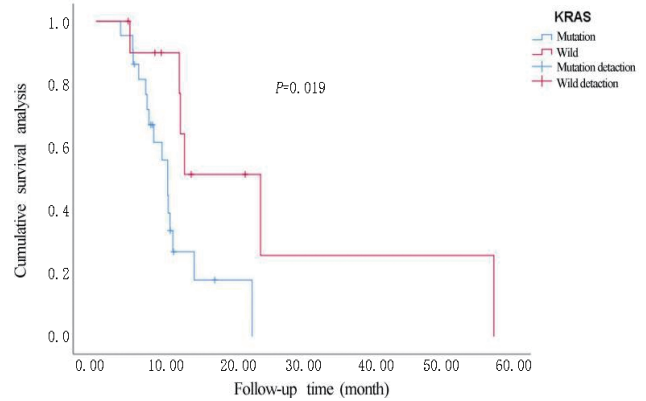


图2 KRAS基因PFS的Kaplan-Meier曲线

3 讨论

CRC的发生及发展与基因异常关系密切,而肿瘤的异质性导致患者对药物的敏感性也不尽相同。药物研发正是基于对特定致癌基因的精准识别,从而实现对肿瘤细胞的特异性攻击,而NGS技术在其中发挥了至关重要的作用。第一代DNA测序方法于1977年由Sanger等人提出,Sanger测序主要特点是测序读长较长,准确性高,但测序烦琐、耗时,测序和信号跟踪各个阶段需顺序进行,测序成本高且通量低,这限制了其大规模应用^[9]。对以较低成本对大基因组进行更高通量测序的需求促进了NGS的发展,NGS的兴起使得基因检测进入了高通量时代。NGS测序时间短,可同时实现测序和信号跟踪,可进行大量DNA序列读取和识别的大规模平行测序;检测灵敏度高,可在比Sanger测序更低的频率下检测基因组;单条DNA序列测序成本低廉^[9]。因此,NGS因其高通量、高效率、低成本等优势在临床实践中广泛应用。*TP53*基因作为重要的抑癌基因,其体细胞突变可导致p53蛋白功能失活,最终引发细胞恶性转化,而胚系突变则与早发性癌症的发生密切相关^[10]。有研究显示,CRC中*TP53*是突变频率最高的基因(70%),且*TP53*突变与较高的肿瘤分期相关^[11]。另一项对癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)和中国CRC患者基因组图谱的分析发现,*TP53*在TCGA和中国患者中均表现出了较高的突变频率(59.70% vs. 64.15%)^[6]。本研究中,*TP53*也是突变频率最高的基因(82.2%),高于既往研究^[6]的结果,这可能是由于地域和种族差异、检测手段及方法不一致等原因所致。Niyaz等^[12]研究表明,*TP53*基因突变与食管癌患者发生淋巴结转移有关,本研究也发现发生淋巴结转移患者的*TP53*突变率高于无淋巴结转移患者的*TP53*突变率,

而淋巴结转移作为CRC患者的预后影响因素之一,检测*TP53*的表达对于临床判断患者是否合并淋巴结转移有一定提示作用,进而对预测CRC患者不良预后有一定的参考价值。

*APC*基因在散发性CRC患者中占绝大多数,是高度突变的抑癌基因。研究认为*APC*基因通过Wnt信号转导通路控制胃肠道细胞的增殖和分化,*APC*突变造成的多个信号通路失调促进CRC的发生发展,且随着肿瘤的发生发展*APC*突变频率保持不变^[13]。李鹤^[14]研究发现,*APC*野生型较*APC*突变型更易发生腹腔转移。然而本研究结果显示,*APC*突变患者更易发生肝转移,虽然远处转移是影响预后的重要因素,但目前研究结果并未明确*APC*基因突变有助于判断CRC患者的预后^[15],仍需相关研究进一步探索。

*KRAS*基因是RAS家族成员,是目前研究最深入的原癌基因之一,在调节肿瘤细胞分化、增殖中发挥重要作用,其通过驱动多个下游信号转导的组成型激活并参与促进CRC的发生与发展^[16]。本研究中,*KRAS*基因突变频率为62.2%,高于既往研究报告的结果^[17],可能与样本来源的地域差异及样本量不同等有关。研究发现,*KRAS*突变的CRC患者具有更高的肿瘤分期且更易发生远处转移^[14,18]。且*KRAS*基因突变好发于右半结肠^[19-20]。在本研究中,右半结肠癌患者*KRAS*基因突变频率高于左半结肠癌患者(90.0% vs. 54.3%),但差异无统计学意义($P>0.05$),可能与本研究纳入样本量过少有关。另外,既往研究表明,血清肿瘤标志物在CRC的诊断、治疗反应评估和复发预测中起重要作用。Cao等^[21]研究发现,*KRAS*基因突变与CEA、CA199水平升高相关,且CA199水平可作为*KRAS*基因突变的阳性预测因子。Li等^[22]调查了945例CRC患者并观察到*KRAS*突变与CEA和CA199水平升高存在显著关联。同样,本研究也发现*KRAS*突变患者更易出现血清CEA、CA199水平升高。研究表明,*KRAS*突变患者较*KRAS*野生患者表现出更差的总生存期和PFS^[4],提示*KRAS*突变患者预后不良,在本研究中我们也发现*KRAS*突变患者比*KRAS*野生患者的PFS更短。此外,Zahrani等^[23]报道,*p.G12V*点突变在乙状结肠恶性肿瘤中常见,而在本研究中*p.G12V*点突变患者均为左半结肠癌,其中有66.7%(4/6)的患者原发灶为乙状结肠。而Kodaz等^[24]报道*p.G12D*点突变更易发生于右半结肠,*p.G13D*更易出现于左半结肠中,这与本研究结果不相符,考虑与本研究样本量小有关,相关结果还需要进一步扩大样本量进行验证。

*PIK3CA*基因属于PI3K/AKT/mTOR信号通路,在

CRC患者中的突变频率为10%~20%,通过激活AKT信号转导以减少细胞凋亡和增加肿瘤侵袭来促进CRC的发生发展^[25]。在本研究中,*PIK3CA*基因突变频率为20.0%。*BRCA2*基因是同源重组修复途径(homologous recombination repair, HRR)的重要蛋白之一。奥沙利铂作为CRC治疗中常用的铂类细胞毒性药物,通过诱导DNA链间交联引起细胞死亡,在S期被HRR途径修复,因此*BRCA2*基因突变患者对铂类药物的敏感性增加^[26]。在本研究中,*BRCA2*是最常见的HRR相关突变基因,回顾本研究中突变患者治疗史,其中有3例患者使用奥沙利铂治疗,2例患者在使用奥沙利铂治疗期间均未出现肿瘤进展,1例患者使用奥沙利铂治疗疗程结束后随访期间出现肿瘤进展后再次使用奥沙利铂治疗仍有效,这与既往研究^[26]结果相符。

研究发现,在CRC患者中*FLT3*基因扩增状态与性别和原发肿瘤部位有关^[27]。*ERBB2*基因可能是潜在的CRC治疗靶点,能作为抗表皮生长因子受体抗体反应的阴性预测因子^[28],这为我们在日后临床工作中筛选可能获益于抗表皮生长因子受体及抗HER-2治疗的患者有一定的参考价值。研究发现,*DYPD*基因多态性与CRC淋巴结转移和远处转移有关并与化疗药物治疗作用和不良反应相关^[29-30],而*POLE*突变被证明是结直肠多发性息肉病和早发性CRC的易感因素,是涉及CRC超突变表型的重要基因^[31],这对判断需早期筛查和免疫治疗获益的人群有一定的指导意义^[29-31]。但本研究未发现以上基因与临床病理特征的相关性,可能与纳入样本量较小有关,后续有待扩大样本量进一步研究。

综上所述,CRC患者的基因突变与临床病理特征关系密切,且一定程度影响患者的治疗效果及预后。因此,分子分型与临床病理特征组合分层,使用NGS准确检测CRC患者的基因突变情况对于指导治疗及评估预后至关重要。

参 考 文 献

- [1] GBD 2019 Colorectal Cancer Collaborators. Global, regional, and national burden of colorectal cancer and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J].Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022, 7(7):627–647.
- [2] Zhang SZ, Zhang L, Xie L. Cancer Burden in China during 1990–2019: analysis of the global burden of disease [J]. Biomed Res Int, 2022, 2022:3918045.

- [3] Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, et al. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2019, 394:1467-1480.
- [4] Zhu GM, Pei LJ, Xia HW, et al. Role of oncogenic *KRAS* in the prognosis, diagnosis and treatment of colorectal cancer[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1):143.
- [5] Gammall J, Lai AG. Pan-cancer prognostic genetic mutations and clinicopathological factors associated with survival outcomes: a systematic review[J]. NPJ Precis Oncol, 2022, 6(1):27.
- [6] Zhuang Y, Wang HL, Jiang D, et al. Multi gene mutation signatures in colorectal cancer patients: predict for the diagnosis, pathological classification, staging and prognosis[J]. BMC Cancer, 2021, 21(1):380.
- [7] Amin MB, Edge SB, Grefne FL, et al. AJCC cancer staging manual[M]. 8th ed. Chicago: Springer, 2017: 155.
- [8] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1)[J]. Eur J Cancer, 2009, 45(2): 228-247.
- [9] Sabour L, Sabour M, Ghorbian S. Clinical applications of next-generation sequencing in cancer diagnosis[J]. Pathol Oncol Res, 2017, 23(2):225-234.
- [10] Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010, 2(1):a001008.
- [11] Lee CS, Song IH, Lee A, et al. Enhancing the landscape of colorectal cancer using targeted deep sequencing[J]. Sci Rep, 2021, 11(1):8154.
- [12] Niyaz M, Ainiwaer J, Abudurehman A, et al. Association between *TP53* gene deletion and protein expression in esophageal squamous cell carcinoma and its prognostic significance[J]. Oncol Lett, 2020, 20(2):1855-1865.
- [13] Powell SM, Zilz N, Beazer-Barclay Y, et al. APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis[J]. Nature, 1992, 359:235-237.
- [14] 李鹤. 结直肠癌分子与临床病理特征及无进展生存期的关系分析[D]. 郑州: 郑州大学, 2019.
- [15] 于颖. 基于NGS方法对肠癌术后化疗预后评估的研究[D]. 大连: 大连医科大学, 2021.
- [16] Hancock JF. Ras proteins: different signals from different locations[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4(5):373-384.
- [17] Afolabi H, Md Salleh S, Zakaria Z, et al. A systematic review and meta-analysis on the occurrence of biomarker mutation in colorectal cancer among the Asian population[J]. Biomed Res Int, 2022, 2022:5824183.
- [18] 王月. Ki67、Kras 基因突变在结直肠癌中的表达及对预后的影响[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2021.
- [19] 曹跃鹏, 刘东方, 陶勇, 等. 结直肠癌组织高频突变基因与临床病理特征及 MMR 基因突变的相关性分析[J]. 现代实用医学, 2021, 33(9):1167-1170.
- [20] 孙岩岩. NGS 检测晚期不可手术大肠癌多基因表达与临床病理特征的关系研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古医科大学, 2019.
- [21] Cao YH, Gu JN, Yan LZ, et al. The value of haematological parameters and serum tumour markers for predicting *KRAS* mutations in 784 Chinese colorectal cancer patients: a retrospective analysis[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1):1099.
- [22] Li WB, Qiu T, Ling Y, et al. Molecular pathological epidemiology of colorectal cancer in Chinese patients with *KRAS* and *BRAF* mutations[J]. Oncotarget, 2015, 6(37):39607-39613.
- [23] Zahrani A, Kandil M, Badar T, et al. Clinico-pathological study of *K-ras* mutations in colorectal tumors in Saudi Arabia[J]. Tumori, 2014, 100(1):75-79.
- [24] Kodaz H, Hacibekiroglu I, Erdogan B, et al. Association between specific *KRAS* mutations and the clinicopathological characteristics of colorectal tumors[J]. Mol Clin Oncol, 2015, 3(1):179-184.
- [25] Cathomas G. *PIK3CA* in colorectal cancer[J]. Front Oncol, 2014, 4:35.
- [26] Reilly NM, Novara L, Di Nicolantonio F, et al. Exploiting DNA repair defects in colorectal cancer[J]. Mol Oncol, 2019, 13(4):681-700.
- [27] Hasegawa H, Taniguchi H, Nakamura Y, et al. FMS-like tyrosine kinase 3 (*FLT3*) amplification in patients with metastatic colorectal cancer[J]. Cancer Sci, 2021, 112(1): 314-322.
- [28] Pectasides E, Bass AJ. *ERBB2* emerges as a new target for colorectal cancer[J]. Cancer Discov, 2015, 5(8):799-801.
- [29] Negarandeh R, Salehifar E, Saghafi F, et al. Evaluation of adverse effects of chemotherapy regimens of 5-fluoropyrimidines derivatives and their association with *DPYD* polymorphisms in colorectal cancer patients[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1):560.
- [30] Zeng JZ, Wu HM, Huang QY, et al. Dihydropyrimidine dehydrogenase (*DPYD*) gene c.1627A>G A/G and G/G genotypes are risk factors for lymph node metastasis and distant metastasis of colorectal cancer[J]. J Clin Lab Anal, 2021, 35(11): e24023.
- [31] Kawai TKH, Nyuya A, Mori Y, et al. Clinical and epigenetic features of colorectal cancer patients with somatic *POLE* proofreading mutations[J]. Clin Epigenetics, 2021, 13(1):117.

(收稿日期:2025-12-17 修回日期:2026-02-20)