

PIK3CA 基因突变及 PTEN 表达与西妥昔单抗疗效的关系

刘宏斌¹, 李洪涛¹, 赵青川², 韩晓鹏¹, 朱万坤¹, 苏琳¹

1. 兰州军区兰州总医院普通外科, 兰州 730050
2. 第四军医大学西京消化病医院, 西安 710032

摘要 对西妥昔单抗治疗的 *KRAS* 野生型结直肠癌患者进行疗效评估及随访, 收集每例患者的癌组织标本及临床病理资料, 检测每例患者 *BRAF*、*PIK3CA* 基因的突变情况, 采用免疫组织化学染色检测 *PTEN* 在癌及癌旁组织中的表达情况。结果显示, *KRAS*、*BRAF* 及 *PIK3CA* 基因均为野生型的患者对单抗治疗的反应率为 62.5% (CR+PR), 而存在 *BRAF* 及 *PIK3CA* 突变患者的反应率分别为 0、28.6%, 证实 *BRAF* 及 *PIK3CA* 的突变可显著影响西妥昔单抗 (C225) 的疗效。*PTEN* 主要表达在细胞核内, 在癌组织中表达降低或缺失, 在正常组织中表达正常, 并且 *PTEN* 的表达与 C225 的疗效密切相关, *PTEN* 表达阳性及阴性患者的反应率 (CR+PR) 分别为 42.9%、36.4% ($P < 0.05$)。*BRAF*、*PIK3CA* 的突变和 *PTEN* 的表达缺失可以显著影响 C225 的疗效。

关键词 表皮生长因子受体; 基因突变; 靶向治疗; 西妥昔单抗; *KRAS*; *BRAF*; *PIK3CA*; *PTEN*

中图分类号 R730.54

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2012.16.002

Relationship Among *PIK3CA* Mutation, *PTEN* Expressions, and Efficacy of Cetuximab in Colorectal Cancer

LIU Hongbin¹, LI Hongtao¹, ZHAO Qingchuan², HAN Xiaopeng¹, ZHU Wankun¹, SU Lin¹

1. General Hospital of Lanzhou Command of PLA, Lanzhou 730050, China
2. Xijing Hospital of Digestive Diseases, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Abstract Colorectal cancer patients with wild-type *KRAS* were collected and treated with cetuximab and the efficacy was assessed. Paraffin-embedded tumor specimens and clinicopathological parameters were collected and mutations of *BRAF* and *PIK3CA* were checked. The *PTEN* expression status was detected through immunohistochemistry. The study indicates that the objective response rate of patients with wild-type *BRAF* and *PIK3CA* is 62.5% (CR+PR). In contrast, the objective response rate of patients with mutation-type *BRAF* and *PIK3CA* are 0 and 28.6%, respectively. Therefore, the fact that *BRAF* and *PIK3CA* mutations could affect the effective of cetuximab is deducted. And *PTEN* expression is mainly located in cell nucleus and *PTEN* expression is associated with the response to cetuximab significantly. The objective response rate of patients with *PTEN* expression or null are 42.9% and 36.4% ($P < 0.05$), respectively. In conclusion, *BRAF*, *PIK3CA* mutations and *PTEN* expression null both have been associated with resistance to cetuximab. *BRAF*, *PIK3CA*, and *PTEN* could serve as the predictive bio-markers for the response to cetuximab.

Keywords epidermal growth factor receptor; gene mutations; targeted therapy; cetuximab; *KRAS*; *BRAF*; *PIK3CA*; *PTEN*

0 引言

2004 年以来, 抗 EGFR (表皮生长因子受体) 的单克隆抗体被广泛应用于转移性结直肠癌 (MCRC) 一线及二线的治疗^[1]。

2006 年, 西妥昔单抗 (C225) 在中国上市, 改善了部分 MCRC 患者的治疗效果。C225 可竞争性地与 EGFR 结合, 阻止 EGFR 与其天然配体的结合, 抑制 EGFR 及其下游信号传导

收稿日期: 2012-03-28; 修回日期: 2012-04-24

基金项目: 甘肃省科技重大专项 (2010GS04390)

作者简介: 刘宏斌 (中国科协所属全国学会个人会员登记号: M162601154M), 主任医师, 研究方向为消化道肿瘤的微创治疗及临床防治, 电子信箱: liuhongbin999@163.com; 李洪涛 (共同第一作者), 博士, 研究方向为消化道肿瘤的微创治疗及结直肠癌的靶向治疗, 电子信箱: lihongtao528@163.com

通路的活化,从而达到抗肿瘤的目的^[2]。实际临床应用中,CRC患者对 C225 的反应率仅可达到 10%左右^[3],大量研究表明,EGFR 蛋白的表达并不能预测 C225 的疗效。经过大量临床实验及对 EGFR 通路中各个基因的研究发现,*KRAS* 突变可以显著影响 C225 的疗效。2008 年,NCCN 指南推荐 C225 仅适用于 *KRAS* 野生型的患者,*KRAS* 基因的状态已经成为预测 C225 疗效的生物学标志物。随后的临床治疗发现,即使是 *KRAS* 野生型的患者对 C225 治疗的反应率也仅能达到 50%—60%^[4-5],一定还存在着影响 C225 疗效的其他因素。因此,发现新的 C225 疗效的预测因子成为 CRC 靶向治疗的研究热点。

有关 EGFR 信号传导通路中下游分子(如 *BRAF*、*PIK3CA* 等)和 C225 疗效关系的报道时有出现,但目前仍存在一定争议^[6-8]。本研究组收集兰州军区兰州总医院、第四军医大学西京消化病医院使用 C225 治疗的 *KRAS* 野生型 MCRC 患者,对每位患者均进行严格的随访并检测 *BRAF*、*PIK3CA* 的突变情况和 *PTEN* 表达情况,根据检测及随访结果,发现新的生物学标志物预测 C225 的疗效,实现真正的肿瘤个体化治疗。

1 材料和方法

1.1 病例收集

收集 2008 年 12 月至 2010 年 12 月入住兰州军区兰州总医院或第四军医大学西京消化病医院,并予以 C225 治疗的 CRC 患者,所有患者均有明确的病理诊断。

入组患者的标准:(1) 转移、复发和常规化疗耐药的晚期 CRC 患者;(2) 肿瘤组织的样本量充足,可进行分子生物学的检测;(3) 每例患者在进行 C225 治疗前均行 *KRAS* 基因检测,证实为 *KRAS* 野生型 CRC 患者;(4) 患者依从性良好,能

表 1 18 例患者的临床病理资料

Table 1 Clinicopathological parameters for the 18 cases of the colorectal cancer patients

病患	例数	比例/%
性别	男	12 67.7
	女	6 33.3
年龄(岁)	≤59	10 55.6
	60—69	5 27.8
	≥70	3 16.6
肿瘤部位	右半结肠	7 38.9
	左半结肠	6 33.3
	直肠	5 27.8
Duke's 分期	A(T1-2N0M0)	0 0
	B(T3-4N0M0)	0 0
	C(T1-4N1-3M0)	7 38.9
	D(T1-4N0-3M1)	11 61.1
病理组织学分型	肝脏	6 33.3
	腹膜	3 16.7
	肺	1 5.6
	其他部位	3 16.7
无转移	5 27.7	

配合治疗及随访。根据以上入选标准,收集病历 18 例,患者的临床资料见表 1。

1.2 实验方法

1.2.1 基因突变的检测

选取每例患者的肿瘤组织石蜡组织标本,切取 10—15 张切片,切片厚度为 10—15 μ m,放入离心管内,提取 DNA、PCR 扩增后,采用焦磷酸测序,分别检测 *BRAF* 和 *PIK3CA* 基因的突变状态。

1.2.2 *PTEN* 的免疫组织化学染色

分别选取每例患者癌及癌旁组织的石蜡组织标本,切片后制成组织切片、厚度为 4 μ m;将石蜡组织切片置入二甲苯溶液进行脱蜡;将石蜡组织切片分别置入浓度为 1000,900,700 mL/L 的酒精中进行脱水;pH 6.0 柠檬酸缓冲液微波处理 15min 进行抗原修复;室温下静置,PBS 液冲洗后加入 *PTEN* 抗体(鼠抗人 *PTEN* 抗体、大连宝生物工程有限公司),抗体浓度为 1:100;室温下静置 1h 后予以 PBS 液冲洗后,加入二抗,室温下静置 20min 后再次予以 PBS 液冲洗;加入 DAB 显色 15min,充分水洗;苏木素复染,并予以脱水、透明后中性树脂封片。

1.3 治疗方案及评价标准

采用德国默克公司生产的 C225 注射液(5mL/mg),首次剂量 400mg/m²,静脉滴注、时间在 2h 以上,随后每周剂量为 250mg/m²,静脉滴注,时间在 1h 以上,联合化疗方案主要有:FOLFIRI、FOLFOX、XELOX(卡培他滨加奥沙利铂)。

所有患者治疗后按照实体瘤评价标准(RECIST 标准)进行疗效评价,选择客观反应率为观察终点。共分为 4 个评价标准:(1) 完全反应(Complete Response,CR),所有可测量的目标病灶消失;(2) 部分反应(Partial Response,PR),目标病灶的长径总和的缩小程度 $\geq 30\%$;(3) 疾病稳定(Stable Disease,SD),目标病灶长径总和缩小 $< 30\%$ 或长径总和增加 $< 20\%$;(4) 疾病进展(Progression Disease,PD),目标病灶长径总和增加 $\geq 20\%$ 或出现新的病灶。

2 结果

2.1 *BRAF* 和 *PIK3CA* 基因突变的检测结果

所有患者在 C225 治疗前均已证实为 *KRAS* 野生型 CRC 患者。在入组的 18 例患者中,共检测到 *BRAF* 突变率为 16.7%(3/18),均为 15 号外显子的 600 号密码子的突变,突变类型为 GTG-GAG。*PIK3CA* 的突变率为 38.9%(7/18),突变发生在 9 和 20 号外显子的 542、1047 和 1049 密码子,突变类型为 GAA-AAA、CAT-CGT、GGT-GGC(表 2)。

表 2 *BRAF* 和 *PIK3CA* 突变率

Table 2 Mutation rates of *BRAF* and *PIK3CA*

基因	<i>BRAF</i>		<i>PIK3CA</i>	
	野生型	突变型	野生型	突变型
例数	15	3	11	7
比例/%	83.3	16.7	61.1	38.9

2.2 PTEN免疫组织化学染色结果

采用 PTEN(1:100)进行癌组织及癌旁组织免疫组织化学染色,发现 PTEN 主要在细胞核内表达、呈黄褐色,在癌旁组织内完全表达、表达率为 100%,在癌组织内表达率为 38.9% (7/18),PTEN 在癌组织中有表达降低或缺失(表 3、图 1)。

2.3 C225 的疗效

18 例转移、复发和常规化疗耐药的晚期 CRC 患者均予以 C225 加化疗的联合治疗,C225 首次剂量 400mg/m²,随后每周剂量为 250mg/m²,用药周期为 12—16 周,根据 RECIST 标准对每例患者进行疗效评价,选择客观有效率为观察终

表 3 PTEN 的表达
Table 3 PTEN expression

部位	例数	PTEN 的表达(列数(比例))	
		+	-
癌旁组织	18	18(100%)	0
癌组织	18	7(38.9%)	11(61.1%)

点。结果显示,18 例患者予以 C225 治疗后,完全反应(CR)4 例(22.2%),部分反应(PR)3 例(16.7%),疾病稳定(SD)3 例(16.7%),疾病进展(PD)8 例(44.4%)。

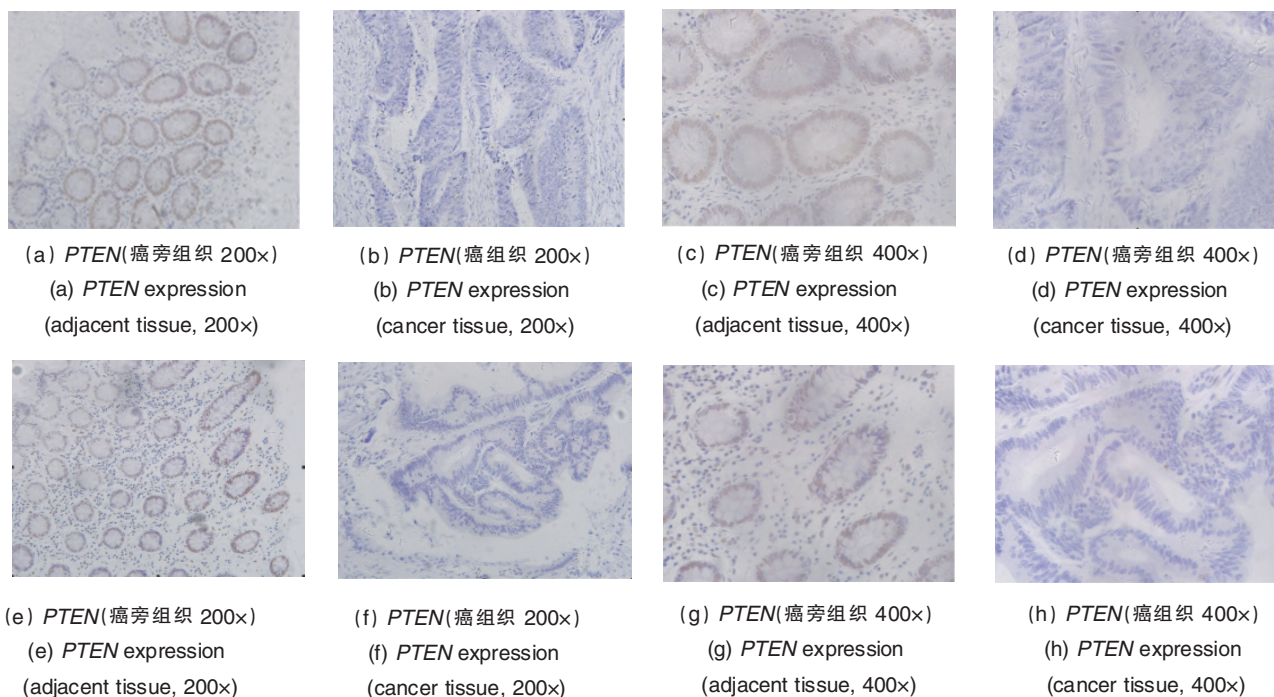


图 1 PTEN 免疫组织化学染色结果
Fig. 1 PTEN expression

2.4 西妥昔单抗的疗效与 BRAF、PIK3CA 突变和 PTEN 表达之间的关系

18 例患者晚期 CRC 患者在进行 C225 治疗前虽均已证实为 KRAS 野生型患者,但结果表明,患者对 C225 治疗的敏感性却存在一定的差别,KRAS、BRAF 及 PIK3CA 基因均为野生型的 CRC 患者对 C225 治疗的反应率为 62.5%(CR+PR),而存在 BRAF 及 PIK3CA 突变患者的反应率分别为 0,28.6%,说明 BRAF 及 PIK3CA 的突变可显著影响 C225 的疗效。结果发现,PTEN 的表达与疗效之间也存在一定的关系,PTEN 表达阳性及阴性患者的反应率(CR+PR)分别为(42.9%,36.4%,P<0.05),PTEN 表达缺失患者的疗效较差(表 4、表 5)。

3 讨论

随着靶向药物及生物学标志物的发展,MCRC 的治疗由传统治疗进入到靶向治疗的新时代,在很大程度上改善了

MCRC 的治疗效果。C225 做为抗 EGFR 单克隆抗体的代表药物,在临床应用中显示了良好的抗肿瘤作用,为 MCRC 患者带来了福音。为了更好筛选 C225 的适用人群,实现真正意义的个体化治疗,近年来 C225 疗效预测因子的研究已经成为 CRC 靶向治疗领域中的研究热点。

研究证实,EGFR 的表达并不能做为 C225 疗效的预测因子^[9]。临床试验结果表明,KRAS 基因突变状态和 C225 疗效的关系,一致认同凡是存在 KRAS 基因 12 或 13 密码子突变的 CRC 患者对 C225 的治疗是无效的,KRAS 基因的突变状态已经成了筛选 C225 适用人群的生物学标志物^[10]。然而在 KRAS 野生型的 CRC 患者中仍有部分人群对 C225 的治疗是无效的,因此一定存在其他影响单抗疗效的生物学因素。于是研究者对 EGFR 信号传导通路中的其他分子,如 BRAF、PIK3CA 和 PTEN 等进行了深入细致的研究。众所周知,CRC 的形成及发展与 EGFR 及其级联通路的活化有着密切的关系,现研究较清楚的 EGFR 所介导的信号通路主要有 2 条:KRAS/BRAF/

表 4 *KRAS*、*BRAF*、*PIK3CA* 突变和 *PTEN* 表达与单抗的疗效

Table 4 Relationship among *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* mutation, *PTEN* expressions, and efficacy of Cetuximab

编号	<i>KRAS</i>	<i>BRAF</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>PTEN</i> IHC	西妥昔单抗的疗效
1	野生型	野生型	1047 CAT-CGT	-	疾病进展
2	野生型	野生型	野生型	+	完全反应
3	野生型	野生型	1047 CAT-CGT	-	疾病进展
4	野生型	野生型	野生型	+	完全反应
5	野生型	V600E GTG-GAG	野生型	+	疾病进展
6	野生型	野生型	野生型	+	疾病进展
7	野生型	野生型	野生型	-	完全反应
8	野生型	野生型	野生型	-	疾病进展
9	野生型	野生型	野生型	+	完全反应
10	野生型	野生型	1047 CAT-CGT	-	部分反应
11	野生型	V600E GTG-GAG	野生型	+	疾病进展
12	野生型	野生型	1047 CAT-CGT	-	疾病进展
13	野生型	野生型	542 GAA-AAA	-	部分反应
14	野生型	野生型	1047 CAT-CGT	+	疾病稳定
15	野生型	野生型	1047 CAT-CGT	-	疾病进展
16	野生型	野生型	野生型	-	部分反应
17	野生型	V600E GTG-GAG	野生型	-	疾病稳定
18	野生型	野生型	野生型	-	疾病稳定

表 5 *KRAS*、*BRAF*、*PIK3CA* 突变和 *PTEN* 表达与单抗疗效之间的关系

Table 5 Relationship among *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* mutation, *PTEN* expressions, and efficacy of Cetuximab

基因状态	列数(比例)	西妥昔单抗的疗效				<i>P</i>	
		完全反应	部分反应	疾病稳定	疾病进展		
<i>KRAS/BRAF/PIK3CA</i> 野生型	8(44.4%)	4(50%)	1(12.5%)	1(12.5%)	1(12.5%)	<0.05	
<i>BRAF</i> 突变	3(16.7%)	0	0	1(33.3%)	2(66.7%)	<0.05	
<i>PIK3CA</i> 突变	7(38.9%)	0	2(28.6%)	1(14.3%)	4(57.1%)	<0.05	
<i>PTEN</i> 表达	+	7(38.9%)	3(42.9%)	0	1(14.3%)	3(42.8%)	<0.05
	-	11(61.1%)	1(9.1%)	3(27.3%)	2(18.2%)	5(45.4%)	

MAPK、*PIK3CA*/AKT, 通路中任一基因的突变或抑癌基因 *PTEN* 的表达缺失均可导致级联通路将不依赖 EGFR 的活化而持续激活, 从而影响抗 EGFR 单克隆抗体的抗肿瘤作用^[11-12]。

De Roock 等^[13]报道了 EGFR 信号传导通路中下游基因的突变与 CRC 疗效的关系, 证实 *KRAS* 基因突变的 CRC 患者不能从 CRC 的治疗中获益, 强调检测 *BRAF*、*NRAS* 和 *PIK3CA* 基因突变在 CRC 治疗中的重要性, 并指出在 *KRAS* 野生型的患者中, CRC 的客观反应率为 36%, 而在 *KRAS*、*BRAF*、*NRAS* 和 *PIK3CA* 均为野生型的 CRC 患者中的客观反应率可提高到 41%, 结果表明 *BRAF*、*NRAS* 和 *PIK3CA* 可以做为预测 C225 疗效的分子标志物。*BRAF* 基因 600 号密码子的突变、*PTEN* 的表达缺失可以显著影响 C225 的疗效, 使患者对抗 EGFR 单抗的治疗无效^[14-15], *PTEN* 及 *BRAF* 有可能成为预测 C225 疗效的生物学标志物^[16-17]。虽然已有除 *KRAS* 外其他几个 C225 疗效预测因子的报道, 但大部分实验结果来自体外细胞试验及小样本的临床试验, 存在一定的缺陷及争议^[18]。C225 价格昂贵并存在一定的毒副作用, 因此迫切需要

发现新的生物学标志物来筛选单抗的适用人群, 正确的判断患者的转归和预后, 指导临床的治疗, 从而更好的推动靶向治疗的发展。

在本研究中, 收集了 18 例予以 C225 治疗的 CRC 患者, 所有患者均为复发、转移的晚期 CRC 患者, 在单抗治疗前均行 *KRAS* 基因状态的检测, 证实为 *KRAS* 野生型的患者。采用焦磷酸技术检测每例患者 *BRAF*、*PIK3CA* 基因的突变状态和 *PTEN* 的表达情况, 按照 RECIST 标准对每例患者进行 C225 疗效评估, 以客观反应率为观察终点。本研究发现, *BRAF* 的突变率为 16.7%、均为 15 号外显子 V600E 的突变, *PIK3CA* 的突变率为 38.9%, 突变发生在 9 和 20 号外显子的 542、1047 和 1049 密码子。在 18 例患者中 *PIK3CA* 的突变率较高, 因为收集的患者均为转移、复发的晚期 CRC 患者, 结果再次验证了第一部分的结果, 说明 *PIK3CA* 的突变率随着 Duke's 分期的升高而增多, 尤其好发生在 Dukes' D 期的患者, 由此可以推断 *PIK3CA* 突变与 CRC 患者的远处转移和预后相关, *PIK3CA* 可能成为 CRC 患者预后的预测因子, 需大样本的临

床试验去验证。

本研究发现, *PTEN* 主要表达在细胞核内, 在癌组织中表达降低或缺失, 在正常组织中表达正常, 此结果和文献报道^[15] 基本一致。 *PTEN* 的表达和 C225 的疗效密切相关, 本研究中 *PTEN* 表达阳性及阴性患者的反应率 (CR+PR) 分别为 42.9%, 36.4% ($P < 0.05$), 说明 *PTEN* 表达缺失患者的疗效较差, *PTEN* 可能成为单抗疗效的预测因子。实验结果表明, *KRAS*、*BRAF* 及 *PIK3CA* 基因均为野生型的患者对单抗治疗的反应率为 62.5% (CR+PR), 而存在 *BRAF* 及 *PIK3CA* 突变患者的反应率分别为 0, 28.6%, 证实了 *BRAF* 及 *PIK3CA* 的突变可显著影响 C225 的疗效。因此认为, CRC 患者如果存在 *BRAF*、*PIK3CA* 基因的突变和 *PTEN* 表达的降低或缺失均可导致单抗治疗的无效, *BRAF*、*PIK3CA* 和 *PTEN* 可做为 C225 疗效的预测因子。本研究中, 由于 C225 价格昂贵, 收集的病例数较少、随访时间短, 只统计了反应率之间的差别。在今后的研究中将继续扩大样本量, 延长随访时间, 统计分析每例患者反应率、疾病无进展时间、总生存时间之间的差异, 期望能发现能准确预测 C225 疗效的生物学标志物。

在晚期 CRC 的治疗中, C225 联合化疗取得了良好的治疗效果, *KRAS* 基因状态的分析又为临床的合理化用药提供了坚实的保证。但 *KRAS* 基因并不能完全预测 C225 的疗效, 因此仍需进一步研究并发现一些特异敏感的预测单抗疗效的生物学标志物, 从而使 C225 的疗效更加确切可靠, 推动靶向治疗的发展, 早日实现肿瘤的个体化治疗。

4 结论

在结直肠癌患者中, *PTEN* 主要表达在细胞核内, 在癌组织中表达降低或缺失, 在正常组织中表达正常, *PTEN* 的表达和 C225 的疗效密切相关。 *KRAS*、*BRAF* 及 *PIK3CA* 基因均为野生型的结直肠癌患者对单抗治疗的反应率明显高于 *BRAF* 及 *PIK3CA* 突变患者, *BRAF* 及 *PIK3CA* 的突变可显著影响 C225 的疗效。表明 *BRAF*、*PIK3CA* 的突变和 *PTEN* 的表达缺失可以显著影响 C225 的疗效, *BRAF*、*PIK3CA* 和 *PTEN* 可做为 C225 疗效的预测因子。

参考文献 (References)

- [1] Allegra C J, Jessup J M, Somerfield M R, et al. American society of clinical oncology provisional clinical opinion: Testing for *KRAS* gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(12): 2091-2096.
- [2] Campiglio M, Locatelli A, Olgiati C, et al. Inhibition of proliferation and induction of apoptosis in breast cancer cells by the epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa) is independent of EGFR expression level [J]. *J Cell Physiol*, 2004, 198(2): 259-268.
- [3] Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal

cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(4): 337-345.

- [4] Vanhaesebroeck B, Waterfield M D. Signaling by distinct classes of phosphoinositide-3-kinases[J]. *Exp Cell Res*, 1999, 253(1): 239-254.
- [5] Riener M O, Bawohi M, Clavien P A. Rare *PIK3CA* hotspot mutations in carcinomas of the biliary tract [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2008, 47(6): 363-367.
- [6] Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G, et al. Analysis of *PTEN*, *BRAF*, and *EGFR* status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type *KRAS* metastatic colon cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(35): 5924-5930.
- [7] De Roock W, Lambrechts D, Tejpar S. *KRAS* mutations and cetuximab in colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(8): 834-836.
- [8] Piessevaux H, Buyse M, De Roock W, et al. Radiological tumor size decrease at week 6 is a potent predictor of outcome in chemorefractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab (BOND trial) [J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(8): 1375-1382.
- [9] Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(4): 337-345.
- [10] Amado R G, 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.
- [11] Siena S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, et al. Biomarkers predicting clinical outcome of epidermal growth factor receptor-targeted therapy in metastatic colorectal cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101(19): 1308-1324.
- [12] Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, et al. *PIK3CA* mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(5): 1851-1857.
- [13] De Roock W, Claes B, Bernasconi D, et al. Effects of *KRAS*, *BRAF*, *NRAS*, and *PIK3CA* mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(8): 753-762.
- [14] Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F. Wild-type *BRAF* is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(35): 5705-5712.
- [15] 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(4): 715-721.
- [16] Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann J T. *KRAS* status and efficacy of first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) with FOLFOX with or without cetuximab: The OPUS experience [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(8): 1040-1052.
- [17] van Cutsem E, Lang I, Folprecht G. Cetuximab plus FOLFIRI in the treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC): The influence of *KRAS* and *BRAF* biomarkers on outcome: updated data from the CRYSTAL trial[J]. *Gastrointestinal Cancers Symposium*, 2010, abs 281.
- [18] 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(4): 715-721.

(责任编辑 陈广仁)