

• 论 著 •

# 结直肠癌患者 KRAS、NRAS、BRAF、HER2 基因突变及 MSI 状态与临床特征的相关性分析\*

赵 洁, 江 珊, 廖 鑫, 王晓凤, 陈雪萍, 吴 江, 李小松, 沈依帆<sup>△</sup>

重庆医科大学附属第一医院临床分子医学检测中心, 重庆 400042

**摘要:**目的 探讨结直肠癌患者的 Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(KRAS)、神经母细胞瘤病毒癌基因 RAS 同源物(NRAS)、鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B(BRAF)、人表皮生长因子受体 2(HER2)基因突变及微卫星不稳定性(MSI)状态与临床病理特征之间的关系。方法 收集 2019 年 10 月至 2022 年 3 月在该院接受治疗的 226 例结直肠癌患者的临床资料,采用二代测序技术检测 KRAS、NRAS、BRAF、HER2 基因突变情况和 MSI 状态,应用免疫组化法评估错配修复系统(MMR)状态,采用多因素 Logistic 回归分析 KRAS、NRAS、BRAF、HER2 与临床病理特征的关系。结果 在 226 例结直肠癌患者中,KRAS 基因突变频率为 54.9%,NRAS 基因突变频率为 5.3%,BRAF 基因突变频率为 8.4%,HER2 基因扩增突变频率为 1.8%。黏液腺癌 KRAS 基因的突变频率高于普通腺癌( $P < 0.05$ ),右半结肠癌 KRAS 基因突变的风险增加( $OR = 2.145, P = 0.012$ )。而 NRAS 基因突变在左半结肠和直肠癌频率较高( $P < 0.05$ )。BRAF 基因突变在低分化类型及微卫星高度不稳定(MSI-H)的结直肠癌中突变频率均较高( $P < 0.05$ ),右半结肠 BRAF 基因突变的风险增加( $OR = 2.844, P = 0.042$ )。HER2 基因扩增突变表现肝肺等远处转移( $P < 0.05$ )。KRAS 基因突变与 NRAS、BRAF、HER2 扩增突变是相互排斥的,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。MSI-H 在右半结肠中的发生频率更高( $P < 0.05$ )。226 例标本检出 10 例标本错配修复缺陷(dMMR)/MSI-H,8 例标本 dMMR/微卫星稳定,5 例标本错配修复正常/MSI-H,dMMR 和 MSI-H 之间存在中等程度的一致性( $Kappa = 0.575$ )。结论 结直肠癌患者中,KRAS、NRAS、BRAF、HER2 基因及 MSI 状态与临床病理特征有关,联合检测能够提供更准确、有效的数据,以指导患者的治疗临床用药和预后判断。

**关键词:**结直肠癌; 基因突变; 微卫星不稳定性

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2024.19.011

**中图法分类号:**R735.3

**文章编号:**1673-4130(2024)19-2360-07

**文献标志码:**A

## Analysis of the relationship between KRAS, NRAS, BRAF, HER2 gene mutations and MSI status and clinical features in colorectal cancer patients\*

ZHAO Jie, JIANG Shan, LIAO Xin, WANG Xiaofeng, CHEN Xueping,

WU Jiang, LI Xiaosong, SHEN Yifan<sup>△</sup>

Clinical Molecular Medical Detection Center, the First Affiliated Hospital of  
Chongqing Medical University, Chongqing 400042, China

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS), neuroblastoma viral oncogene RAS homolog (NRAS), V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B(BRAF), human epidermal growth factor receptor 2(HER2) gene mutations and microsatellite instability (MSI) status and clinicopathological features in patients with colorectal cancer. **Methods** The clinical data of 226 patients with colorectal cancer treated in the hospital from October 2019 to March 2022 were collected. Next-generation sequencing technology was used to detect KRAS, NRAS, BRAF, HER2 gene mutations and MSI status. Immunohistochemistry was used to evaluate the mismatch repair system (MMR) status. Multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the relationship between KRAS, NRAS, BRAF, HER2 gene mutations and clinicopathological features. **Results** Among 226 colorectal cancer patients, the mutation frequencies of KRAS, NRAS, BRAF and HER2 were 54.89%, 5.3%, 8.4% and 1.8%, respectively. The frequency of KRAS mutation in mucinous adenocarcinoma was higher than that in common adenocarcinoma ( $P < 0.05$ ). The risk of KRAS mutation in right colon cancer was increased ( $OR = 2.145, P = 0.012$ ). NRAS

\* 基金项目:重庆英才·创新创业示范团队项目(CQYC202203091342)。

作者简介:赵洁,女,技师,主要从事临床检验诊断新技术相关研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: 418101899@qq.com。

gene mutation was more frequent in left colon and rectal cancer ( $P < 0.05$ ). The frequency of BRAF gene mutation was higher in poorly differentiated and microsatellite instability-high (MSI-H) colorectal cancer ( $P < 0.05$ ), and the risk of BRAF gene mutation in the right colon was increased ( $OR = 2.844, P = 0.042$ ). HER2 gene amplification mutation showed distant metastasis ( $P < 0.05$ ). KRAS mutations were mutually exclusive with NRAS, BRAF and HER2 amplification mutations ( $P < 0.05$ ). MSI-H was more frequent in the right colon ( $P < 0.05$ ). Of the 226 cases, 10 cases were defective mismatch repair (dMMR)/MSI-H, 8 cases were dMMR/microsatellite stable, and 5 cases were proficient mismatch repair/MSI-H. There was a moderate agreement between dMMR and MSI-H ( $Kappa = 0.575$ ). **Conclusion** KRAS, NRAS, BRAF, HER2 and MSI status are associated with clinicopathological features in patients with colorectal cancer. Combined detection of KRAS, NRAS, BRAF, HER2 and MSI can provide more accurate and effective data to guide the treatment and prognosis of patients.

**Key words:** colorectal cancer; gene mutation; microsatellite instability

据国家癌症中心 2022 年发布的最新数据显示, 2016 年我国结直肠癌新发病例 40.8 万例, 死亡病例 19.6 万例, 发病率和死亡率均位于恶性肿瘤前列<sup>[1]</sup>。手术切除和放化疗是目前临床常用的治疗方法, 然而仍有部分患者不能获益于常规放化疗而出现耐药进展或复发转移。近年来的研究表明, Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(KRAS)、神经母细胞瘤病毒癌基因 RAS 同源物(NRAS)或鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B(BRAF)基因野生型且人表皮生长因子受体 2 (HER2) 基因表达扩增的转移性结直肠癌(mCRC)患者, 抗 HER2 靶向治疗显示出较好的抗肿瘤活性, 为晚期肿瘤患者的治疗提供了新的选择方案<sup>[2]</sup>。此外, KRAS、NRAS 或 BRAF 突变及 HER2 基因扩增的状态与 mCRC 患者抗 HER2 靶向治疗药物的耐药性相关<sup>[3]</sup>。KRAS、NRAS 和 BRAF 基因突变与结直肠癌患者术后辅助化疗的预后不良相关<sup>[4]</sup>。因此, 明确结直肠癌患者分子分型特征, 不仅可以提供预测预后的信息, 更为靶向用药提供了指导方向<sup>[5]</sup>。

同时, 免疫治疗也已获批适用于晚期结直肠癌患者, 微卫星不稳定性(MSI)和错配修复系统(MMR)蛋白可作为分子标志物指导免疫抑制剂的使用。MSI 和 MMR 状态常规采用 PCR 评估 7 个高度保守位点<sup>[6]</sup>和免疫组化染色检测 MMR 蛋白。近年来, 随着高通量测序(NGS)技术的发展, 一次性检测可以全面分析一系列靶向基因的突变情况和 MSI 状态。这样不仅可以节约标本, 节省检测时间, 还能使临床和患者有更多的治疗选择。

本研究旨在分析结直肠癌患者 KRAS、NRAS、BRAF、HER2 基因的突变情况和 MMR、MSI 状态, 探讨其与结直肠癌患者临床病理特征的关系, 以指导患者的治疗用药和预后判断。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 回顾性收集 2019 年 10 月至 2022 年 3 月在本院接受手术治疗, 并进行了肿瘤基因二代测序检测的 226 例结肠癌患者的临床资料, 包括年

龄、性别、吸烟史、饮酒史、家族史、伴随息肉、肿瘤位置、分化程度、组织学类型、远处转移及临床分期等。其中男 131 例, 女 95 例, 年龄 24~90 岁, 中位年龄 62 岁。排除标准: (1) 不符合结直肠原发性腺癌诊断标准; (2) 临床病理资料不完整。肿瘤组织由病理科制作成厚度为 4~5  $\mu m$  的石蜡切片, 组织肿瘤占比  $\geq 20\%$ , 肿瘤细胞占比由病理专家进行评估。抽取外周血 2 mL 用作对照。本研究方案经本院伦理委员会批准, 所有进入本研究患者检查前均先签署知情同意书。本临床研究遵循《赫尔辛基宣言》的原则进行。

## 1.2 NGS 检测基因突变

**1.2.1 基因组 DNA 提取** 使用 FFPE-DNA 样品核酸提取试剂盒(燃石医学检验所有限公司, 广州)提取石蜡切片及外周血基因组 DNA。提取后的 DNA 样品使用 Qubit<sup>®</sup> 3.0 荧光定量仪(Thermo Life, 美国)确定浓度。使用 NanoDro<sup>™</sup> One 微量 UV-Vis 分光光度计(Thermo Scientific<sup>™</sup>, 美国)检测浓度和纯度。为了评估 DNA 的完整性, 采用琼脂糖凝胶电泳进行 DNA 条带的测量。只有符合以下标准的样品才会继续下一步的分析: DNA 总量大于 250 ng, 纯度在 1.8~2.0, 电泳结果显示 DNA 条带主要集中在 1 000 bp 以上。

**1.2.2 文库制备和靶向二代测序** 采用超声破碎仪(Covaris, 美国)将 200 ng 的基因组 DNA 随机剪切成 200~220 个碱基对的片段。随后, 采用 OncoScreen Plus 520 组织白细胞版多基因突变检测试剂盒(燃石医学检验所有限公司, 广州)和 437 个肿瘤相关基因检测试剂盒(世和基因生物技术股份有限公司, 南京)构建文库。对打断后的文库进行末端修复、连接接头和扩增, 并测量文库的水平。随后, 杂交捕获靶序列, 通过 PCR 扩增捕获的文库, 采用 Illumina Nextseq 550(Illumina, 美国)测序平台对目标文库进行上机测序。组织标本的平均测序深度为 500 倍。

**1.2.3 结果判定** 体细胞变异检测使用 Burrows-Wheeler Aligner 软件将测序数据映射到人类参考基因组(GRCh37/hg19)以进行肿瘤特异性体细胞突变

检测。由 GATK 中的 VarScan2 和 HaplotypeCaller/UnifiedGenotyper 进行识别标本的突变,并与匹配的正常组织或白细胞相比鉴定肿瘤组织中的体细胞突变。(1)突变型:NGS 检测出任一基因突变为突变型;(2)野生型:未检测出任何基因突变为野生型。

HER2 基因扩增检测与判读,437 个肿瘤相关基因检测试剂盒基于生物信息学算法将基因和对照标本做比较,当覆盖高于对照标本即判断扩增(阈值:CN>3.6);OncoScreen Plus 520 组织白细胞版多基因突变检测试剂基于测序深度分布情况的生物信息学算法计算扩增比例,当 CN>2.25 且要有 60%的区域显著扩增满足条件判断为扩增。

MSI 状态测定方法及结果判断突变特征:437 个肿瘤相关基因检测试剂盒 NGS 方法测定 MSI 状态的分析流程主要参考 Msisensor 流程,流程共覆盖 61 个微卫星位点,当微卫星评分≥10 分时,判断为微卫星高度不稳定(MSI-H)。OncoScreen Plus 520 组织白细胞版多基因突变检测试剂测定 MSI 状态是基于读数分布的方法<sup>[7]</sup>,使用一组特定重复长度的覆盖率比作为每个微卫星位点的主要特征,并且如果覆盖率比低于给定阈值,则将该位点归类为不稳定。标本的 MSI 状态由给定标本中不稳定位点的百分比确定,组织中 MSI 比例≥30%判断为 MSI-H。

1.3 免疫组化检测 MMR 蛋白 4 μm 厚石蜡切片进行脱蜡、抗原修复、染色和脱水封片等常规免疫组化检测。MLH1、MSH2、MSH6 和 PMS2 蛋白均位于细胞核中。这 4 种 MMR 蛋白的其中一个缺乏都表示为错配修复缺陷(dMMR)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行数据处理和分析,计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;采用多因素 Logistic 回归模型分析结直肠癌患者的基因突变的风险因素。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 临床和标本信息 统计分析了 226 例患者的临床和标本信息,主要包括年龄、性别、吸烟史、饮酒史、

家族史、伴随息肉、肿瘤位置、分化程度、组织学类型、远处转移及临床分期等。病理结果显示,27.9%的患者发现肝、肺等远处转移,分化较差(低分化)的患者有 32 例,占比 14.2%,黏液腺癌患者占 19.9%,左半结肠+直肠归的患者共有 158 例,占 69.9%。此外,还有 26 例患者伴有多发性结直肠息肉。dMMR 有 18 例,MSI-H 有 15 例。KRAS 基因突变频率为 54.9%(124/226),NRAS 基因突变频率为 5.3%(12/226),BRAF 基因突变频率为 8.4%(19/226),HER2 基因扩增突变频率为 1.8%(4/226),见表 1。

2.2 结直肠癌组织中 KRAS、NRAS、BRAF、HER2 基因突变与患者临床病理特征的关系 KRAS 基因在黏液腺癌中的突变频率高于普通腺癌( $P=0.035$ ),右半结肠的突变频率高于左半结肠+直肠( $P=0.011$ )。NRAS 基因在左半结肠+直肠的突变频率高于右半结肠( $P=0.020$ )。BRAF 基因突变在低分化、右半结肠及 MSI-H 的结直肠癌中突变频率均较高( $P=0.035、0.006、0.027$ )。HER2 基因扩增突变的患者均发生了肝肺等远处转移( $P=0.006$ )。见表 1。

2.3 KRAS、BRAF 突变患者的多因素 Logistic 回归分析 多因素 Logistic 回归分析结果显示,发生部位是影响 KRAS 和 BRAF 基因突变的独立危险因素( $OR=2.145,95\%CI 1.181\sim3.893,P=0.012$ ;  $OR=2.844,95\%CI 1.039\sim7.783,P=0.042$ )。发生部位在右半结肠的患者 KRAS 基因突变风险是发生在左半结肠癌或直肠癌患者的 2.145 倍,发生部位在右半结肠的患者 BRAF 基因突变风险是发生在左半结肠癌或直肠癌患者的 2.844 倍。而 NRAS、HER2 基因突变及其他相关的因素纳入多因素 Logistic 回归分析后并未发现相关的独立风险因素。见表 2。

2.4 结直肠癌组织中 KRAS、NRAS、BRAF、HER2 基因之间的关系 KRAS 基因突变与 NRAS、BRAF、HER2 扩增突变是相互排斥的,差异有统计学意义( $P=0.001、0.033、0.040$ ),NRAS、BRAF、HER2 这 3 个基因突变没有关系( $P>0.05$ )。

表 1 226 例结直肠癌患者 KRAS、NRAS、BRAF 及 HER2 基因突变与结直肠癌患者临床病理特征的关系[n(%)]

临床特征	n	KRAS 突变(n=124)		NRAS 突变(n=12)		BRAF 突变(n=19)		HER2 扩增(n=4)	
		占比	P	占比	P	占比	P	占比	P
年龄(岁)			0.092		0.686		0.338		0.624
≤62	119	59(49.6)		7(5.9)		12(10.1)		3(2.5)	
>62	107	65(60.7)		5(4.7)		7(6.5)		1(0.9)	
性别			0.187		0.240		0.328		0.641
女	95	57(60.0)		7(7.4)		10(10.5)		1(1.1)	
男	131	67(51.1)		5(3.8)		9(6.9)		3(2.3)	
家族史			0.076		1.000		0.510		1.000
无	218	117(53.7)		12(5.5)		18(8.3)		4(1.8)	
有	8	7(87.5)		0(0.0)		1(12.5)		0(0.0)	

续表 1 226 例结直肠癌患者 KRAS、NRAS、BRAF 及 HER2 基因突变与结直肠癌患者临床病理特征的关系[ <i>n</i> (%) ]									
临床特征	<i>n</i>	KRAS 突变( <i>n</i> =124)		NRAS 突变( <i>n</i> =12)		BRAF 突变( <i>n</i> =19)		HER2 扩增( <i>n</i> =4)	
		占比	<i>P</i>	占比	<i>P</i>	占比	<i>P</i>	占比	<i>P</i>
饮酒史			0.457		0.302		0.782		1.000
无	172	92(53.5)		11(6.4)		14(8.1)		3(1.7)	
有	54	32(59.3)		1(1.9)		5(9.3)		1(1.9)	
吸烟史			0.196		0.756		0.291		0.594
无	154	89(57.8)		9(5.8)		15(9.7)		2(1.3)	
有	72	35(48.6)		3(4.2)		4(5.6)		2(2.8)	
TNM 分期			0.877		0.369		0.251		0.150
Ⅰ～Ⅱ期	91	51(56.0)		3(3.3)		10(11.0)		0(0.0)	
Ⅲ～Ⅳ期	135	73(54.1)		9(6.7)		9(6.7)		4(3.0)	
远处转移			0.897		0.742		0.220		0.006
无	163	89(54.6)		8(4.9)		16(9.8)		0(0.0)	
有	63	35(55.6)		4(6.3)		3(4.8)		4(6.3)	
分化程度			0.550		1.000		0.035		1.000
中高分化	194	108(55.7)		11(5.7)		13(6.7)		4(2.1)	
低分化	32	16(50.0)		1(3.1)		6(18.8)		0(0.0)	
病理类型			0.035		1.000		1.000		0.587
普通腺癌	181	93(51.4)		10(5.5)		15(8.3)		4(2.2)	
黏液腺癌	45	31(68.9)		2(4.4)		4(8.9)		0(0.0)	
发生部位			0.011		0.020		0.006		1.000
左半结肠+直肠	158	78(49.4)		12(7.6)		8(5.1)		3(1.9)	
右半结肠	68	46(67.6)		0(0.0)		11(16.2)		1(1.5)	
伴随息肉			0.252		1.000		0.248		0.389
无	200	107(53.5)		11(5.5)		15(7.5)		3(1.5)	
有	26	17(65.4)		1(3.8)		4(15.4)		1(3.8)	
淋巴结转移			0.979		0.235		0.472		0.122
无	113	63(55.8)		4(3.5)		11(9.7)		0(0.0)	
有	113	61(54.0)		8(7.1)		8(7.1)		4(3.5)	
MSI 状态			0.083		1.000		0.027		1.000
MSS	211	119(56.4)		12(5.7)		15(7.1)		4(1.9)	
MSI-H	15	5(33.3)		0(0.0)		4(26.7)		0(0.0)	

注:MSS 为微卫星稳定。

表 2 KRAS、BRAF 突变患者的多因素 Logistic 回归分析						
临床病例特征	KRAS 突变型 <i>vs.</i> KRAS 野生型			BRAF 突变型 <i>vs.</i> BRAF 野生型		
	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>	<i>P</i>
病理类型(黏液腺癌 <i>vs.</i> 普通腺癌)	1.921	0.948~3.892	0.070	—	—	—
发生部位(右半结肠 <i>vs.</i> 左半结肠+直肠)	2.145	1.181~3.893	0.012	2.844	1.039~7.783	0.042
组织分化(低分化 <i>vs.</i> 中高分化)	—	—	—	2.471	0.812~7.522	1.111
MSI 状态(MSI-H <i>vs.</i> MSS)	—	—	—	3.063	0.787~11.911	0.106
转移(转移 <i>vs.</i> 无转移)	—	—	—	—	—	—

注:—为此项无数据。



**2.5 结直肠癌组织中 MSI 与患者临床病理特征的关系** MSI-H 在右半结肠中的发生频率高于左半结肠+直肠( $P<0.05$ ),与其他特征无关,见表 3。226 例标本检出 10 例标本 dMMR/MSI-H,8 例标本 dMMR/MSS,5 例标本错配修复正常(pMMR)/MSI-H,203 例标本 pMMR/MSS,差异有统计学意义( $\chi^2=75.527, P<0.001$ ),*Kappa* 值为 0.575,dMMR 和 MSI-H 之间存在中等程度的一致性,见表 4。

表 3 结直肠癌组织中 MSI 状态与临床病理特征的关系[n(%)]		
临床病理特征	MSI-H	P
年龄(岁)		0.121
≤62	5(33.3)	
>62	10(66.7)	
性别		0.869
男	9(60.0)	
女	6(40.0)	
家族史		0.428
有	1(6.7)	
无	14(93.3)	
饮酒史		1.000
有	3(20.0)	
无	12(80.0)	
吸烟史		0.780
有	4(26.7)	
无	11(73.3)	
TNM 分期		0.107
I~Ⅱ期	9(60.0)	
Ⅲ~Ⅳ期	6(40.0)	
远处转移		0.073
有	1(6.7)	
无	14(93.3)	
组织分化		0.239
低分化	4(26.7)	
中高分化	11(73.3)	
病理类型		0.741
黏液腺癌	2(13.3)	
普通腺癌	13(86.7)	
发生部位		0.016
右半结肠	9(60.0)	
左半结肠+直肠	6(40.0)	
伴随息肉		0.391
有	3(20.0)	
无	12(80.0)	

续表 3 结直肠癌组织中 MSI 状态与临床病理特征的关系[n(%)]		
临床病理特征	MSI-H	P
淋巴结转移		0.182
无	10(66.7)	
有	5(33.3)	
MMR 状态		<0.001
dMMR	10(66.7)	
pMMR	5(33.3)	

表 4 结直肠癌组织中 MSI 与 MMR 的关系[n(%)]		
项目	MSI-H	MSS
dMMR	10(66.7)	8(3.8)
pMMR	5(33.3)	203(96.2)

3 讨 论

结直肠癌是世界范围内常见的恶性肿瘤,发病率和死亡率一直位于恶性肿瘤前列,我国结直肠癌的发病率和死亡率也是逐年增加。目前其发病机制并不十分清楚。除了手术和常规治疗外,分子靶向药物的应用对结直肠癌的预后有明显提高。

RAS 原癌基因编码了一组可调控 GDP/GTP 的“开关”,用于传递细胞外信号,控制细胞增殖、分化、迁移等过程,其中包含 KRAS 基因和 NRAS 基因。NRAS 基因和 KRAS 基因突变的结直肠癌患者预后不佳,中位生存期较短<sup>[8-12]</sup>。KRAS 基因是抗表皮生长因子受体(EGFR)单克隆抗体耐药的预测基因,NRAS 基因突变的结直肠癌患者对抗 EGFR 治疗反应不佳,由于 NRAS 基因在结直肠癌中突变频率较低,与 KRAS 基因相比,NRAS 基因缺乏完整的功能研究<sup>[8,12]</sup>。本研究中,KRAS 基因突变频率为 54.9%,NRAS 基因突变频率为 5.3%,与以往研究结果一致<sup>[10,12]</sup>。KRAS 基因突变常见于右侧结直肠癌与黏液腺癌,与其他研究报道一致<sup>[8-14]</sup>。研究发现 33%的 NRAS 突变发生在近端结肠,36%在远端结肠,31%在直肠<sup>[12]</sup>。IRAHARA 等<sup>[13]</sup>在 225 例结直肠癌标本中发现具有 NRAS 基因突变的肿瘤均位于远端(左侧)结肠。本研究中 NRAS 基因突变均发生在左半结肠+直肠中,而 NRAS 基因与其他临床病特征之间并无关系。

BRAF 是 RAF 基因家族的成员。BRAF 突变频率在不同研究中差异较大,1.1%~25.0% 不等<sup>[14]</sup>,本研究中 BRAF 突变频率为 8.4%。BRAF 基因突变可以通过“畸形隐窝灶-增生性息肉-锯齿状腺瘤-癌”途径促进肿瘤发展,该途径与 CpG 岛甲基化和 MSI 密切相关<sup>[15]</sup>,与本研究中 BRAF 基因突变频率在 MSI-H 中明显高于 MSS 的结果一致。此外,

BRAF 突变在右半结肠比在左半结肠和直肠更常见,其突变频率在低分化癌中明显高于中高分化。有研究也曾报道发生 BRAF 突变的结直肠癌病理类型 60% 为低分化型,只有 36% 为中高分化型<sup>[14,16-17]</sup>。

HER2 基因是酪氨酸激酶酶家族的成员,激活后促进肿瘤细胞的增殖和转移。本研究中 HER2 基因扩增突变率为 1.8%,均伴有肝肺等远处转移,HER2 的过表达与肿瘤侵袭性相关,包括浸润深度、淋巴转移和远处转移,且肺转移中 HER2 过表达的发生频率更高<sup>[18-20]</sup>。在携带野生型 RAS 基因的 mCRC 患者中,HER2 基因扩增是抗 EGFR 单抗疗效的负向预测因素,针对此类患者,抗 HER2 靶向治疗显示出较好的抗肿瘤活性,为 mCRC 患者提供了新的治疗选择<sup>[21]</sup>。本研究进一步分析发现 KRAS 基因突变与 NRAS、BRAF、HER2 基因扩增突变是相互排斥的,与其他研究结果相一致<sup>[14]</sup>。

帕博利珠单抗可用于指导 MSI-H/dMMR 晚期患者免疫抑制剂的使用,本研究结果显示右半结肠癌更易发生 MSI-H,与既往研究结果一致<sup>[22]</sup>。本研究 MMR 蛋白与 MSI 状态之间呈中等一致性,在不相符的案例中,有 8 例 dMMR/MSS,有 5 例 pMMR/MSI-H<sup>[22-23]</sup>。研究表明,出现 MMR 缺失但 MSS 可能由于 MMR 系统功能补偿机制,也有报道 MLH1 启动子的甲基化或 MLH1 基因的致病性突变可以解释多数 MLH1 蛋白缺失且 MSS 的现象<sup>[24-26]</sup>。对于 pMMR/MSI-H 标本,当编码 MMR 蛋白的基因发生错义突变时,MMR 蛋白功能出现异常但可能并不影响其抗原结构,在这种情况下,免疫组化能够检测到 MMR 蛋白的表达,但其错配修复功能异常,MSI 的检测结果为 MSI-H 或者当编码 MMR 蛋白的基因发生错义突变时,MMR 蛋白功能出现异常但可能并不影响其抗原结构也会出现类似的结果<sup>[26]</sup>。有报道显示,对于 dMMR 标本,NGS 方法比 PCR 方法可能更敏感,并且可以在不进行筛查的各种癌症中识别 MSI-H<sup>[24]</sup>,因此,临床实践中均应常规检测 MMR 和 MSI 状态,以便为临床治疗决策提供更完善的参考。

结直肠癌患者的生物标志物检测在临床实践中变得常见。其中 KRAS、NRAS、BRAF、HER2 和 MSI 等分子标志物已被广泛用于指导治疗方案的选择。本研究发现结直肠癌患者 KRAS 和 NRAS 突变与肿瘤的部位有关,KRAS 突变更易见于黏液腺癌,BRAF 基因突变提示肿瘤分化较差,并且与 MSI-H 有关系,HER2 过表达与转移密切相关。所有这些信息都有助于制订患者的个体化治疗方案,采用 NGS 技术,通过一次性检测进而全面分析一系列靶向基因的突变情况和 MSI 状态,这样不仅可以节约标本,节省检测时间,更精准、有效地为临床治疗决策提供可靠的依据。

# 参考文献

- [1] ZHENG R S,ZHANG S W,ZENG H M,et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016[J]. JNCC, 2022, 2 (1):1-9
- [2] 唐平秀,杜琼,王萌萌,等. HER2 基因扩增或其编码的蛋白过表达型转移性结直肠癌的靶向治疗进展[J]. 中国合理用药探索, 2022, 19(9):29-34.
- [3] NAM S K,YUN S M,KOH J,et al. BRAF, PIK3CA, and HER2 oncogenic alterations according to KRAS mutation status in advanced colorectal cancers with distant metastasis[J]. PLoS One, 2016, 11(3):e0151865
- [4] 谭晶,高波. KRAS、NRAS 及 BRAF 基因突变状态对结直肠癌术后辅助化疗患者预后的影响[J]. 河南医学研究, 2023, 32(22):4132-4135.
- [5] BILLER L H,SCHRAG D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer: a review[J]. JAMA, 2021, 325(7):669-685.
- [6] BAI H,WANG R,CHENG W,et al. Evaluation of concordance between deficient mismatch repair and microsatellite instability testing and their association with clinicopathological features in colorectal cancer[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12:2863-2873.
- [7] ZHU L Z,HUANG Y Q,FANG X F,et al. A novel and reliable method to detect microsatellite instability in colorectal cancer by next-generation sequencing[J]. J Mol Diagn, 2018, 20(2):225-231.
- [8] AFRĂSĂNIE V A,MARINCA M V,ALEXA-STRATULAT T,et al. KRAS,NRAS,BRAF,HER2 and microsatellite instability in metastatic colorectal cancer-practical implications for the clinician[J]. Radiol Oncol, 2019, 53(3):265-274.
- [9] ZHU G,PEI L,XIA H,et al. Role of oncogenic KRAS in the prognosis, diagnosis and treatment of colorectal cancer[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1):143.
- [10] KWAK M S,CHA J M,CHO Y H,et al. Clinical predictors for KRAS codon 13 mutations in patients with colorectal cancer[J]. J Clin Gastroenterol, 2018, 52:431-436.
- [11] AHN H M,KIM D W,OH H J,et al. Different oncological features of colorectal cancer codon-specific KRAS mutations; not codon 13 but codon 12 have prognostic value[J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(32):4883-4899.
- [12] SCHIRIPA M,CREMOLINI C,LOUPAKIS F,et al. Role of NRAS mutations as prognostic and predictive markers in metastatic colorectal cancer[J]. Int J Cancer, 2015, 136:83-90.
- [13] IRAHARA N,BABA Y,NOSHO K,et al. NRAS mutations are rare in colorectal cancer[J]. Diagn Mol Pathol, 2010, 19(3):157-163.
- [14] ZHANG J,ZHENG J,YANG Y,et al. Molecular spectrum of KRAS,NRAS,BRAF and PIK3CA mutations in Chinese colorectal cancer patients; analysis of 1,110 cases[J]. Sci Rep, 2015, 5:18678.
- [15] RUSTGI A K. BRAF: a driver of the (下转第 2371 页)

• 论 著 •

# 支气管肺发育不良早产儿血清 Periostin、IL-18 水平及临床意义\*

李伟娜, 郭秀亚, 何 仙, 李 研, 马欢欢, 付琳琳, 郝学敏<sup>△</sup>

保定市妇幼保健院新生儿一科, 河北保定 071000

**摘要:**目的 研究血清骨膜蛋白(Periostin)、白细胞介素(IL)-18 在支气管肺发育不良(BPD)早产儿中的水平,分析二者与病情严重程度及对 BPD 的预测价值。方法 回顾性选取 2019 年 1 月至 2022 年 1 月于该院诊治的 62 例 BPD 早产儿为 BPD 组,以同期 80 例非 BPD 早产儿为非 BPD 组。根据病情严重程度,将 BPD 组患儿分为轻度亚组 22 例,中度亚组 24 例和重度亚组 16 例。采用酶联免疫吸附试验检测血清 Periostin、IL-18 水平。各临床参数间的相关性采用 Pearson 相关分析。采用多因素 Logistic 回归分析 BPD 发生的影响因素,受试者工作特征(ROC)曲线分析各指标对 BPD 的预测价值。结果 BPD 组使用肺泡表面活性物质(PS)、新生儿呼吸窘迫综合征、呼吸暂停、动脉导管未闭占比及血清 Periostin、IL-18 水平高于非 BPD 组,机械通气时间、无创呼吸支持时间、住院时间长于非 BPD 组,而肺功能指标[千克体重潮气量(VT/kg)、达峰时间比(TPTEF/TE)、达峰容积比(VPEF/VE)、50%潮气量时呼气流速(50%TEF)、75%潮气量时呼气流速(75%TEF)]及 1、5 min Apgar 评分低于非 BPD 组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。轻度亚组、中度亚组及重度亚组患儿血清 Periostin、IL-18 水平依次升高( $P<0.05$ )。血清 Periostin、IL-18 水平与肺功能指标(VT/kg、50%TEF、75%TEF、TPTEF/TE、VPEF/VE)均呈负相关( $P<0.05$ )。早产儿血清 Periostin、IL-18、新生儿呼吸窘迫综合征是影响 BPD 发生的独立危险因素( $P<0.05$ ),使用 PS 是保护因素( $P<0.05$ )。早产儿血清 Periostin、IL-18、新生儿呼吸窘迫综合征是影响 BPD 病情严重程度的独立危险因素( $P<0.05$ )。血清 Periostin、IL-18 单独及联合对 BPD 预测的曲线下面积(95%CI)分别为 0.841(0.814~0.899)、0.863(0.820~0.897)、0.922(0.878~0.949),联合预测的灵敏度和特异度分别为 0.902、0.825;二者联合对 BPD 预测的曲线下面积大于各指标单独预测,差异有统计学意义( $Z=5.357、4.894$ ,均  $P<0.001$ )。结论 BPD 患儿血清 Periostin、IL-18 水平升高,二者与 BPD 病情严重程度及肺功能有关,血清 Periostin、IL-18 联合对 BPD 具有较高的预测价值。

**关键词:**支气管肺发育不良; 骨膜蛋白; 白细胞介素-18; 早产儿

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.19.012

中图法分类号:R722.6

文章编号:1673-4130(2024)19-2366-06

文献标志码:A

## Serum levels and clinical significance of Periostin and IL-18 in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia\*

LI Weina, GUO Xiuya, HE Xian, LI Yan, MA Huanhuan, FU Linlin, XI Xuemin<sup>△</sup>

First Department of Neonatology, Baoding Maternal and Child Health

Hospital, Baoding, Hebei 071000, China

**Abstract: Objective** To study the levels of serum Periostin and interleukin (IL)-18 in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia (BPD), and to analyze their correlation with the severity of the disease and their predictive value for BPD. **Methods** A total of 62 preterm infants with BPD diagnosed and treated in the hospital from January 2019 to January 2022 were retrospectively selected as the BPD group, and 80 preterm infants without BPD during the same period were selected as the non-BPD group. According to the severity of BPD, the infants with BPD were divided into mild subgroup (22 cases), moderate subgroup (24 cases) and severe subgroup (16 cases). The serum levels of Periostin and IL-18 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between the clinical parameters. Multivariate Logistic regression was used to analyze the influencing factors of BPD, and receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the predictive value of each indicator for BPD. **Results** Compared with the non-BPD group, the BPD group had a significantly higher proportion of infants with pulmonary surfactant (PS) use, neonatal respiratory distress syndrome, apnea, patent ductus arteriosus, and serum levels of Periostin and

\* 基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20191170);保定市科技计划项目(2341ZF120)。

作者简介:李伟娜,女,主治医师,主要从事新生儿科呼吸方向研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: qxm333666666@126.com。