

结肠癌组织中 KRAS 基因突变的临床意义

张盼¹, 刘淑真², 胡晓迪¹

(1. 潍坊医学院内科学教研室, 山东 潍坊 261000;

2. 山东省潍坊市人民医院肿瘤内科, 山东 潍坊 261000)

摘要:目的 研究结肠癌中 KRAS 基因突变的频率, 探讨结肠癌 KRAS 基因突变的临床意义。方法 整理收集我院 2016 年 1 月 1 日—2018 年 1 月 1 日经病理明确诊断为结肠癌的 93 例患者, 用直接测序法检测 KRAS 基因突变情况, 采用 χ^2 检验分析 KRAS 基因突变与临床特征的关系。**结果** 93 例结肠癌中有 35 例发生 KRAS 基因突变情况, 其中第 12 位密码子突变患者 25 例, 占 26.88%(25/93), 第 13 位密码子突变患者 10 例, 占 10.75%(10/93); 结肠癌 KRAS 基因突变与性别、肿瘤部位、肿瘤分期、血清 CEA 水平有关 ($P < 0.05$); 与年龄、吸烟史、饮酒史、远处转移、血清 724 无关 ($P > 0.05$)。**结论** 结肠癌基因第 12 位密码子突变率高; KRAS 基因突变多发生在女性、右半结肠癌、血清 CEA 水平高的患者中。KRAS 基因突变较多提示临床预后不良, 并对治疗具有指导意义。

关键词: 结肠肿瘤; KRAS 基因; 基因突变

中图分类号: R735.35

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2018)05-0435-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.05.009

The clinical significance of KRAS gene mutation in colon cancer tissues

Zhang Pan¹, Liu Shuzhen², Hu Xiaodi¹

(1. Department of Internal Medicine, Weifang Medical University,
Weifang 261000, Shandong, China;

2. Department of Oncology, People's Hospital of Weifang
City, Weifang 261000, Shandong, China)

Abstract: **Objective** To study the frequency of KRAS gene mutation in colon cancer tissues and evaluate the clinical significance of KRAS gene mutation in colon cancer. **Methods** We collected 93 patients with pathological diagnosis of colon cancer in our hospital from January 1, 2016 to January 1, 2018. The KRAS gene mutation was detected by direct sequencing, and the relationship between KRAS gene mutation and clinical characteristics was analyzed by chi-square test. **Results** Among 93 patients with colon cancer, 35 of them carried KRAS gene mutation, and 25 of them had the 12th codon mutation, accounting for 26.88% (25/93), and 10 of them had the 13th codon mutation, accounting for 10.75% (10/93). The KRAS gene mutation in colon cancer was associated with gender, tumor location, tumor stage, and serum CEA levels ($P < 0.05$) and was not associated with age, smoking history, drinking history, distant metastasis, serum 724 levels ($P > 0.05$). **Conclusion** The mutation rate of codon 12 in the colon cancer gene is high; KRAS mutations occur frequently in female, right hemicolon cancer and high serum CEA level patients. More mutations in the KRAS gene suggest a poor clinical prognosis and can guide for treatment.

Key words: colonic neoplasms; KRAS gene; gene mutation

随着人民生活水平的提高和现代医疗科技的迅速发展, 对结直肠癌的研究也有了更深的认识。结直肠

癌(Colorectal cancer, CRC)是目前临床上比较常见的消化道恶性肿瘤, 也是病死率较高的癌种。中国大肠

第一作者简介: 张盼(1993—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 肿瘤学, E-mail: 1104200501@qq.com

通信作者简介: 刘淑真(1975—), 女, 硕士, 主任医师, 研究方向: 肿瘤学

癌发病中位年龄为 45 岁左右,2012 年数据统计大肠癌发病率居恶性肿瘤第 3 位,严重威胁着患者的生命健康^[1]。目前的观点认为:结肠癌 KRAS 基因突变与信号通路的激活有关。RAS-RAF/PI3K 信号通路是目前结肠癌研究的热点与重点,通路中表皮生长因子受体(EGFR)及其下游调控着细胞增殖和生长,同时驱动着细胞增殖与生长。RAS 是 EGFR 下游的关键基因,野生型 KRAS 基因可抑制肿瘤细胞的生长,一旦突变就会导致细胞持续生长,发生肿瘤^[2]。KRAS 检测是目前筛选抗 EGFR 靶向药物治疗最有效直接的方法^[3]。KRAS 基因突变在临床为我们提供了一个新的结肠癌治疗手段和研究方向。本研究收集我院 93 例结肠癌患者,进一步分析结肠癌 KRAS 基因突变的临床意义,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集我院 2016 年 1 月 1 日—2018 年 1 月 1 日收治的并经病理明确诊断为结直肠癌的 93 例患者,其中女性 58 例,男性 35 例;年龄在 38~81 岁,平均年龄(58.5±7.13)岁;所有患者均经彩超、CT、病理确诊为晚期结肠癌,患者病历资料均在该院病案室及病理科存档并且确认临床资料完整。另外,这项研究符合负责人体试验的委员会所制订的伦理学标准,并获得患者和家属的知情同意。

1.2 实验方法 将 93 例结肠癌患者术后或肠镜切除的新鲜组织放入液氮中冷冻,并于-80℃冰箱中保存。肿瘤组织经过甲醛固定、石蜡包埋,脱蜡、水化等过程制成肿瘤切片。用上海碧云天生物有限公司的 DNA 提取试剂盒提取 DNA,上游引物为 5'-AATCATATGGCGTGCCCTCTGGAG-3',下游引物为 5'-GTAGGATCCCAACCACATCAGAGGAGT-3'。采用 DNA 分子直接测序,用纯化试剂盒将 PCR 产物纯化,取 5 μl PCR 产物 2% 琼脂糖凝胶电泳经溴化乙啶染色,紫外灯下照相存盘,按要求设置阴性、阳性对照孔及空白对照孔,使用紫外凝胶分析成像系统观察电泳结果并打印。将检测有单一条带的样本送公司测序,经人工校对记录后用 DNAMAN 6.0 软件与基因库 KRAS 基因序列比较结果,检测出 KRAS 基因外显子 2 第 12/13 位密码子的突变情况并判读。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件对数据进行分析,计数资料用百分比或(%)表示,应用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

发生 KRAS 基因突变 35 例,其中第 12 位密码子突变占 26.88%,第 13 位密码子突变占 10.75%。女性患者 KRAS 基因突变率较男性高,晚期(Ⅲ~Ⅳ期)患者基因突变率较早期(Ⅰ~Ⅱ期)高,右半结肠突变

率较左半结肠癌高,血清 CEA 水平升高的患者基因突变率较 CEA 正常者高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而结肠癌 KRAS 基因突变与患者年龄、吸烟史、饮酒史、远处转移、血清 724 水平无明显相关($P > 0.05$),见表 1。

表 1 结直肠癌组织 KRAS 基因突变与患者临床特征的关系 (n,%)

因素	n	KRAS 基因突变数	χ^2	P
年龄(岁)			0.001	0.981
≥60	40	15(37.50)		
<60	53	20(37.73)		
性别			5.221	0.022
男	35	8(22.85)		
女	58	27(46.55)		
吸烟			0.015	0.903
是	18	7(38.88)		
否	75	28(37.33)		
饮酒			0.033	0.856
是	10	4(40.00)		
否	83	31(37.34)		
AJCC 分期			9.305	0.002
早期(Ⅰ~Ⅱ)	28	4(14.28)		
晚期(Ⅲ~Ⅳ)	65	31(47.69)		
肿瘤部位			8.786	0.003
左半结肠	67	19(28.35)		
右半结肠	26	16(61.53)		
远处转移			0.221	0.638
有	37	15(40.54)		
无	56	20(35.71)		
血清 CEA			4.573	0.032
升高	40	20(50.00)		
正常	53	15(28.30)		
血清 724			1.328	0.249
升高	19	8(42.10)		
正常	74	21(28.37)		

3 讨论

据统计,结直肠癌每 10 万人有 49 人罹患此病,是发病率较高的恶性肿瘤^[4],年龄是结直肠癌发生的主要危险因素。绝大多数结直肠癌是散发病例,而非家族性疾病。大多数结直肠癌由腺瘤性息肉引起,腺瘤性息肉由小变大、再到异型增生直至癌变至少需要 10 年时间。而目前的研究观点则认为结直肠癌是在多种基因的共同作用下发生发展的,例如,KRAS、BRAF、PIK3CA、PTEN 等基因。而本文所重点讨论的是 KRAS 基因,也是最主要最常见的突变基因。KRAS 基因位于人类 12 号染色体上,编码一种具有 GTP 酶活性的 RAS 蛋白,这种蛋白是 EGFR 下游的关键基

因,在许多结肠癌中突变激活和/或过度表达。当KRAS基因一旦突变,异常的RAS蛋白将不受上游EGFR信号调控并启动下游信号转导,刺激肿瘤细胞异常增生,RAS的持续活化最终会导致细胞恶变。在结直肠癌中,KRAS基因突变常发生在2号外显子上的12、13号密码子^[5],而进一步研究发现12号密码子的突变率大于第13位密码子,本次结果与临床研究是完全吻合的。另外,突变更倾向发生于女性、右半结肠、血清CEA水平升高、AJCC分期为Ⅲ~Ⅳ期患者中($P < 0.05$);而与患者年龄、吸烟史、饮酒史、远处转移无关($P > 0.05$),但关于KRAS基因突变在肿瘤远处转移及进展中存在争议。国外一项研究表明^[6],结直肠癌患者远处转移后,KRAS基因在转移灶的突变率增加,而原发病灶并无明显变化。而我国丁莉等^[7]则认为RAS基因家族的KRAS基因突变是结直肠癌的早期事件,其在转移灶及原发灶中保持高度一致性,KRAS基因突变与肿瘤复发及转移有显著关系^[8]。分析认为这可能与检测方法、纳入样本量以及地区、人种差异有关,晚期结直肠癌患者应进行KRAS基因突变的检测。CEA在多种癌组织中呈现高表达状态,已被证实与消化道恶性肿瘤的进展和转移有密切的关系^[9]。而本研究结果显示血清CEA水平升高与结直肠癌KRAS基因突变有关。由于样本量小,需要进一步验证。

综上所述,结直肠癌患者KRAS基因突变与性别、原发部位、AJCC分期、血清CEA水平升高有关;而与患者年龄、吸烟史、饮酒史、远处转移、血清724水平无关。因此,监测KRAS基因突变对临床治疗有着指导意义。

参考文献:

- [1] 秦琼,应建明,吕宁,等. DNA错配修复状态与结肠癌患者临床病理特征及预后的相关性[J]. 中华肿瘤杂志, 2015,37(8):591-596.
- [2] 伍洁. 结肠癌组织和转移灶中KRAS基因突变的临床意义[J]. 中外医疗, 2016(7):48-49.
- [3] Baas JM, Krens LL, Guchelaar HJ, et al. Concordance of predictive markers for EGFR inhibitors in primary tumors and metastases in colorectal cancer: a review[J]. Oncologist, 2011,16(9):1239-1249.
- [4] 郑树,张苏展,黄彦钦. 结直肠癌研究30年回顾和现状[J]. 实用肿瘤杂志, 2016,31(1):2-5.
- [5] Allegra CJ, Jessup M, Somerfield MR, 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, 2009,27:2091-2096.
- [6] Barker N, Ridgway RA, van Es JH, van den Born M, et al. Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer[J]. Nature, 2009,457:608-612.
- [7] 丁莉,韩义明. 结直肠癌中KRAS基因突变及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016,32(10):1156-1158
- [8] Blons H, Emile J F, Le Malicot K, et al. Prognostic value or KRAS mutation in stage III colon cancer: post hoc analysis of the PETACC8 phase III trial dataset[J]. Ann Oncol, 2014,25(12):2378-2385.
- [9] 涂志强,杨海燕,杨敏. 术前血清癌胚抗原水平与结肠癌临床病理特征及其预后关系的分析[J]. 实用癌症杂志, 2018,33(2):301-303.

收稿日期:2018-07-12;修回日期:2018-10-17

(上接第434页)

- [5] Kanis JA. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. WHO Study Group[J]. World Health Organization, 1994,4(6):368.
- [6] 王晶晶,张强. HIV相关骨质疏松的研究进展[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2015,9(4):454-457.
- [7] Pmhdev, Pub Med Helath. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review[J]. Centre for Reviews and Dissemination (UK), 2006,20(17):2165-2174.

- [8] 周粟,施裕新,袁敏,等. 定量CT评估含替诺福韦高效抗反转录病毒治疗对HIV/AIDS男性患者骨密度的影响[J]. 放射学实践, 2017,32(7):750-754.
- [9] 覃绍坚. 艾滋病的T淋巴细胞免疫学的研究进展[J]. 右江民族医学院学报, 2007,29(1):98-100.
- [10] 常志芳,冯成龙,史晓霞,等. 免疫与骨质疏松的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015,21(4):508-513.
- [11] 魏丽,张海燕,张新玉,等. 体重指数对骨性关节炎及骨质疏松的相关影响[J]. 河北医学, 2016,22(3):391-394.

收稿日期:2018-06-27;修回日期:2018-08-31