

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190830

同时性结直肠癌原发灶和肝转移灶中 KRAS 基因突变的一致性分析

林 奇, 周鹏扬, 庄奥博, 许剑民*

复旦大学附属中山医院普通外科, 上海 200032

[摘要] **目的:** 比较 KRAS 基因突变率在结直肠癌原发灶和肝转移灶之间的差异, 并探索 KRAS 突变对初始可切除同时性结直肠癌肝转移患者同期切除术后预后的影响。 **方法:** 回顾性分析同期切除的 139 例同时性结直肠癌肝转移患者的临床病理资料。运用 Pyrosequencing 焦磷酸测序法检测原发灶和转移灶中 KRAS 基因的突变情况, 比较两者之间 KRAS 突变率的差异; 同时采用 Kaplan-Meier 生存分析和 Cox 回归模型分析 KRAS 突变对预后的影响。 **结果:** 139 例患者的围手术期死亡率为 0%, 并发症发生率为 28.1%。28.8%(40/139) 的患者原发灶中 KRAS 发生了突变; KRAS 突变和临床病理因素无明显相关性。KRAS 突变率在原发灶中为 29.5%(28/95), 在转移灶中为 31.6%(30/95), 两者间差异无显著统计学意义($P=0.157$)。KRAS 突变与总生存时间无相关性, 与较短的无疾病生存时间相关($P=0.041$), 且是短的无疾病生存时间的独立预后因素($P=0.012$)。 **结论:** KRAS 突变率在原发灶和转移灶中存在高度一致性, 且与短的无疾病生存时间相关, 在决定同期手术决策时需要考虑 KRAS 状态。

[关键词] IV 期结直肠肿瘤; 同期切除; KRAS; 预后

[中图分类号] R 735.3 **[文献标志码]** A

Consistency analysis of KRAS mutation between primary tumors and paired liver metastases in synchronous colorectal live metastasis

LIN Qi, ZHOU Peng-yang, ZHUANG Ao-bo, XU Jian-min*

Department of General Surgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

[Abstract] **Objective:** To compare the KRAS mutation of primary and liver metastasis tumors and explore the prognostic impact of KRAS mutation in patients underwent simultaneous resection for synchronous colorectal liver metastases (SCRLMs) that were initially resectable. **Methods:** Clinicopathological and outcome data of 139 consecutive patients with SCRLMs underwent simultaneous resection were collected. The KRAS genotype was evaluated in the primary cancer and liver metastasis tissues by Pyrosequencing. The prognostic value of KRAS status was assessed by Kaplan-Meier and Cox regression analyses. **Results:** The perioperative mortality was 0%, and the incidence of complications was 28.1%. KRAS mutated in 28.8% of the primary tumors of the SCRLMs patients, but the genotypes did not significantly associate with any clinicopathological characteristics. There was a high degree of consistency in KRAS mutation rates between primary (29.5%, 28/95) and metastatic lesions (31.6%, 30/95; $P=0.157$). Kaplan-Meier survival analysis showed that KRAS mutation was not significantly associated with overall survival (OS), but was significantly correlated with short disease-free survival (DFS, $P=0.041$). Multivariate survival analysis showed that KRAS mutation was an independent negative prognostic factor for DFS ($P=0.012$). **Conclusions:** KRAS mutation rate is highly consistent in primary and metastatic lesions, and correlated with DFS, so KRAS status should be taken into account when determining concurrent surgical decisions.

[Key Words] stage IV colorectal cancer; simultaneous resection; KRAS; prognosis

约 25% 的结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 患者在首诊时即发现有同时性肝转移, 15%~25% 的患者会发生异时性肝转移^[1-2]。无法手术切除的结直肠癌肝转移 (colorectal liver metastasis,

CRLM) 患者的中位生存时间仅为 2.3~21.3 个月^[3], 而手术切除是患者获得治愈的唯一途径, 约 25%~50% 的患者获得手术切除后能存活超过 5 年^[2, 4-5]。但是, 即使获得 R₀ 切除的患者也有超过

[收稿日期] 2019-05-25 **[接受日期]** 2019-07-26

[基金项目] 国家自然科学基金(81472228)。Supported by Natural Science Foundation of China (81472228)。

[作者简介] 林 奇, 博士, 主治医师。E-mail: lin777qi@163.com

* 通信作者 (Corresponding author)。Tel: 021-64041990, E-mail: xujmin@aliyun.com

2/3 会在 2 年内再次复发,从而无法获得长期生存^[1, 6-7]。

转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)在临床表现和生物学方面均存在高度异质性^[8],因此需要对患者进行分层治疗。目前,包括肝转移灶大小和数目、原发灶术后发生肝转移的间隔时间、糖类抗原(CEA)水平和原发灶分期在内的临床风险评分(clinical risk score, CRS)已无法精确判断术后 mCRC 复发率和决定手术选择^[9-11]。因此,有必要纳入更多的分子标志物,以提高疗效预测的准确性。

KRAS 基因作为 RAS 基因家族(包括 KRAS、NRAS 和 HRAS)的成员,在上皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)信号通路的下游发挥作用,促进 mCRC 的发生和进展^[12-13]。32%~40%的 mCRC 肿瘤组织中存在 KRAS 突变,其中 85%~90%的突变位于密码子 12 和 13,密码子 61 和 146 各占 5%^[12]。目前 KRAS 突变已成为不能获得抗 EGFR 治疗疗效的标志^[12-15]。同时,已有研究^[9, 16-17]表明 KRAS 的突变还可以作为 CRLM 切除术后预后因素。但是目前缺乏对于初始可切除同时性结直肠癌肝(synchronous colorectal liver metastases, SCRLM)转移同期切除术后预后研究。本研究比较了 SCRLM 患者原发灶和转移灶中 KRAS 基因突变的差异,同时分析了 KRAS 突变对于初始可切除 SCRLM 患者同期切除术后预后的影响。

1 资料与方法

1.1 入组标准 收集 2003 年 7 月至 2013 年 7 月在复旦大学附属中山医院行同期切除的 139 例同时性结直肠癌肝转移患者的临床资料。入组标准^[18]:(1)原发灶和肝转移灶初始可以切除,肝外转移灶可获得 R₀ 切除;(2)术后肝容量 $\geq 50\%$;(3)保留肝脏解剖功能。术前接受过肝切除或者射频消融治疗的患者排除出组。所有患者术前均经结直肠多学科团队根据患者的一般情况和检查结果进行评估,决定具体治疗方案。具体手术由固定的结直肠外科和肝外科手术小组共同完成。

1.2 数据收集及随访 患者的基本情况、临床病理数据、手术过程、手术死亡率以及术后短期疗效

(术后并发症)和长期疗效(术后生存情况)的数据和资料均录入结直肠癌肝转移数据库。由专职人员负责随访,每半年随访 1 次,随访截止时间为 2014 年 12 月 31 日。随访采用门诊、电话、书信形式。随访内容包括肿瘤指标、胸 X 线片、彩超、CT 和 MRI 等,必要时行 PET-CT 检查。无瘤生存时间(disease-free survival, DFS)是自手术切除至发现复发或转移的时间;总生存时间(overall survival, OS)是自手术切除至最后 1 次随访或因该疾病死亡的时间。

1.3 基因突变检测 选取结直肠癌原发灶和转移灶石蜡标本,采用基因科技(上海)有限公司“GTpure FFPE 组织 DNA 提取试剂盒”,从石蜡切片中抽提基因组,制备 DNA 模板,PCR 扩增后行 Pyrosequencing 焦磷酸测序。检测 KRAS 基因 12、13、61 和 146 密码子突变情况^[13]。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,计数资料的比较采用 χ^2 检验(或校正 χ^2 检验),计量资料的比较采用 t 检验,原发灶和转移灶突变率的差异采用配对样本的非参数检验(Wilcoxon)。存活率采用寿命表法进行推算,用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,并采用 log-rank 法进行比较。多因素分析用 Cox 比例风险回归模型。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 患者的临床病理特征 139 例行结直肠癌原发灶和肝转移灶同期切除患者中 58.3%(81/139)的患者为男性,60.0%(89/139)的患者年龄小于 60 岁,69.8%(97/139)的患者肿瘤原发部位在结肠,肝转移灶数目为 1.0~7.0(1.85 ± 1.14)个,最大转移灶的直径为(3.79 ± 2.32) cm ($0.5 \sim 15$ cm, 表 1)。

2.2 手术方式及术后并发症 139 例患者均获得了原发灶和肝转移灶 R₀ 切除,28.1%(39/139)的患者出现并发症,发生率较高的是少量腹腔积液(7.2%,10/139),膈下积液(5.8%,8/139),胸腔积液(5.0%,7/139),并发症较重的为胆漏(1.4%,2/139),以及吻合口漏(1.4%,2/139),这些并发症均经胸腔引流、抗炎支持治疗等非手术治疗措施获得治愈或明显缓解。

表 1 KRAS 基因状态和临床病理特征的相关性

变 量	患者		KRAS 状态 <i>n</i> (%)		<i>t</i> / χ^2	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	%	野生型	突变型		
年龄					0.869	0.351
≤ 60 岁	89	64.0	61 (68.54)	28 (31.46)		
> 60 岁	50	36.0	38 (76.00)	12 (24.00)		
性别					0.014	0.906
男性	81	58.3	58 (71.60)	23 (28.40)		
女性	58	41.7	41 (70.69)	17 (29.31)		
原发灶位置					1.586	0.208
结肠	97	69.8	66 (68.04)	31 (31.96)		
直肠	42	30.2	33 (78.57)	9 (21.43)		
组织学类型					0.734	0.392
腺癌	117	84.2	85 (72.65)	32 (27.35)		
黏液腺癌	22	15.8	14 (63.64)	8 (36.36)		
肿瘤分化					1.032	0.310
高、中	74	53.2	50 (67.57)	24 (32.43)		
差	65	46.8	49 (75.38)	16 (24.62)		
T 分期					0.508	0.354
T _{1~2}	6	4.3	3 (50.00)	3 (50.00)		
T _{3~4}	133	95.7	96 (72.18)	37 (27.82)		
淋巴结分期					0.754	0.385
阴性	53	38.1	40 (75.47)	13 (24.53)		
阳性	86	61.9	59 (68.6)	27 (31.40)		
血管浸润					0.009	0.925
阴性	114	82.0	81 (71.05)	33 (28.95)		
阳性	25	18.0	18 (72.00)	7 (28.00)		
神经浸润					0.845	0.358
阴性	122	87.8	89 (72.95)	33 (27.05)		
阳性	17	12.2	10 (58.82)	7 (41.18)		
肝转移灶数目					0.341	0.906
≤ 3	125	89.9	87 (69.60)	38 (30.40)		
≥ 4	14	10.1	12 (85.71)	2 (14.29)		
肝转移灶最大直径					0.009	0.926
< 5 cm	100	71.2	71 (71.00)	29 (29.00)		
≥ 5 cm	39	28.8	28 (71.79)	11 (28.21)		
CEA ^a					1.312	0.252
≤ 5 ng/mL	44	31.7	34 (77.27)	10 (22.73)		
> 5 ng/mL	93	68.3	63 (67.74)	30 (32.26)		

^a因 2 例 KRAS 野生型患者未查 CEA,仅纳入 137 例分析

2.3 KRAS 突变在原发灶和转移灶中的一致性分析及其与临床病理因素的关系 139 例患者的原发灶中,KRAS 突变占 28.8%(40/139),其中 22.3%(31/139)为密码子 12 突变,6.5%(9/139)为密码子 13 突变。原发灶和转移灶均完成 KRAS 突变检测者有 95 例(44 例患者因资料不全未完成相应配对检测),28 例患者原发灶和转移灶中均有突变,其突变位完全一致;均无突变者 65 例;仅有 2 例患者原发灶中无突变,而在转移灶中检测到了 KRAS 突

变。采用配对样本的非参数检验发现,原发灶[29.5%(28/95)]和转移灶[31.6%(30/95)]的突变率,差异无显著统计学意义(*P*=0.157)。

经过 χ^2 检验,KRAS 的突变和年龄、性别、原发灶位置、组织学类型、肿瘤分化、T 分期、N 分期、血管浸润、神经浸润、肝转移灶数目、肝转移灶最大直径以及 CEA 水平等临床病理因素之间均无显著相关性(表 1)。

2.4 生存分析 截至随访日期,139 例患者的 5 年

OS 为 50.0%，5 年 DFS 为 36.0%。其中 28.8% (40/139) 的患者已经死亡，49.6% (69/139) 的患者出现肿瘤复发，35.3% (49/139) 的患者仅有肝内复发，6.5% (9/139) 的患者仅有肺内转移。Kaplan-Meier 曲线生存分析(图 1)发现，KRAS 突变野生型

患者 OS 没有显著差异($P=0.213$)，KRAS 突变患者的 DFS 明显短于野生型患者($P=0.041$)。多因素分析发现，转移灶数 ≥ 4 ($P=0.005$)和 KRAS 突变($P=0.012$)是短 DFS 的独立预后因素(表 2)。

表 2 DFS 相关因素分析

预后因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	95 % CI	P 值	HR	95 % CI	P 值
年龄 (> 60 : ≤ 60)	0.711	0.429~1.178	0.186			
性别(女性 : 男性)	1.573	0.983~2.519	0.059			
肿瘤位置(直肠 : 结肠)	1.369	0.839~2.232	0.208			
组织学类型(黏液腺癌 : 腺癌)	0.650	0.311~1.358	0.252			
肿瘤分化(好 : 中等 : 差)	1.525	0.947~2.456	0.083			
T 分期(T _{3~4} : T _{1~2})	1.476	0.463~4.700	0.510			
N 分期(N _{1~2} : N ₀)	1.596	0.962~2.647	0.070			
血管浸润(阳性 : 阴性)	1.572	0.874~2.826	0.131			
神经浸润(阳性 : 阴性)	1.535	0.759~3.103	0.233			
转移灶数(≥ 4 : ≤ 3)	2.109	1.075~4.139	0.030	2.758	1.357~5.607	0.005
肝转移大小(≥ 5 cm : <5 cm)	1.361	0.820~2.260	0.233			
CEA (>5 ng/mL : ≤ 5 ng/mL)	1.380	0.827~2.304	0.218			
化疗(术后化疗 : 新辅助)	1.128	0.656~1.937	0.664			
KRAS 状态 (突变型 : 野生型)	1.628	1.005~2.636	0.048	1.914	1.156~3.170	0.012

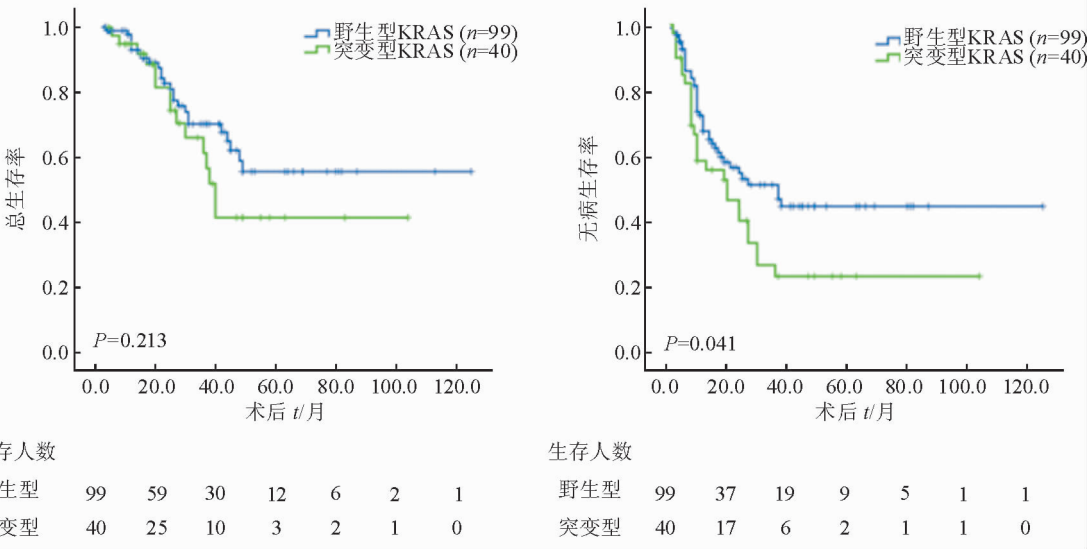


图 1 KRAS 突变和 OS 及 DFS 的相关性

3 讨论

同期切除结直肠原发灶和肝转移灶曾被认为是会增加手术并发症和围手术期死亡率^[19-20]，但是随着手术、麻醉和重症监护等技术的进步，近年来肝切除(包括半肝切除)的并发症发生率和死亡率逐

渐下降，同期切除原发灶和肝转移灶逐渐得到了开展^[4, 21-23]。和分期切除相比，同期切除后 5 年 OS 和 DFS 也无明显差异^[3-4, 24]。同期切除不仅能减少住院费用和减轻患者二次手术的精神负担，重要的是避免肿瘤进展或化疗导致的肝损伤贻误手术时机^[3]。本研究结果显示：围手术期死亡率为 0%，虽

然 28.1% 的患者出现了术后并发症,但均经非手术治疗后获得治愈或明显缓解,充分说明同期切除结肠癌肝转移是安全可行的。同时,这些患者的 5 年 OS 达到了 50.0%,5 年 DFS 为 36.0%,这些生存数据也从肿瘤学角度说明同期切除的可行性。但是肝转移灶术后的高复发率(本研究复发率为 49.6%)仍然是外科医生面临的难题。既往的临床病理因素评估体系已经不能精确判断预后,需要从分子水平寻找更多的疗效预测标志物,用于筛选病例,避免不必要的手术。

目前 KRAS 突变已成为不能获得抗 EGFR 治疗疗效的标志^[12-15],临床意义重大。但是因为肿瘤的高异质性,还不能确定原发灶和转移灶之间 KRAS 突变率是否存在差异。本研究结果显示:原发灶和转移灶之间 KRAS 突变差异无统计学意义,对原发灶中基因突变的检测可以代表转移灶中基因突变情况,这和既往的一些研究^[25-28]结果一致。本研究发现,2 例患者原发灶中无突变,转移灶中检测到了 KRAS 突变。Vakiani 等^[27]研究表明仅有 2.4%(2/84)的患者在原发灶中 KRAS 无突变,而在转移灶中发现突变,且研究者怀疑可能由多原发肿瘤导致;也有研究中多达 6%(5/83)的患者原发灶中存在 KRAS 突变,而在转移灶中未发现突变^[25]。而研究^[28]发现,11.3% 的 mCRC 患者原发灶肿瘤为 KRAS 突变型,而转移灶为野生型。这些研究充分说明了原发灶和转移灶之间的异质性。另外靶向治疗可导致 KRAS 基因型的改变^[28],这提醒临床治疗效果不佳时,需要考虑行病灶的重新穿刺活检或液态活检进一步明确基因状态,适时调整治疗方案。本研究的缺陷为:对于存在多个转移灶的患者,没有检测所有转移灶的突变情况。

目前已有一些研究得出 KRAS 突变和肝脏转移灶切除术后短 OS^[16, 29-31]和 DFS^[16-17, 29, 31-34]相关,同时 KRAS 突变是短 OS^[16, 30, 35-36]和 DFS^[31, 33-35]的独立预后因素。本研究仅发现 KRAS 突变和短 DFS 相关,且是 DFS 的独立预后因素,表明 KRAS 突变的患者术后容易复发,在决定同期手术决策时需要考虑 KRAS 状态。

参考文献

[1] DE JONG M C, PULITANO C, RIBERO D, et al. Rates and patterns of recurrence following curative intent surgery for colorectal liver metastasis: an international multi-institutional analysis of 1669 patients[J]. *Ann Surg*, 2009,

250(3): 440-448.

- [2] MANFREDI S, LEPAGE C, HATEM C, et al. Epidemiology and management of liver metastases from colorectal cancer[J]. *Ann Surg*, 2006, 244(2): 254-259.
- [3] YIN Z, LIU C, CHEN Y, et al. Timing of hepatectomy in resectable synchronous colorectal liver metastases (SCRLM): simultaneous or delayed? [J]. *Hepatology*, 2013, 57(6): 2346-2357.
- [4] MAYO S C, PULITANO C, MARQUES H, et al. Surgical management of patients with synchronous colorectal liver metastasis: a multicenter international analysis[J]. *J Am Coll Surg*, 2013, 216(4): 707-716; discussion 716-718.
- [5] ROBERTSON D J, STUKEL T A, GOTTLIEB D J, et al. Survival after hepatic resection of colorectal cancer metastases: a national experience[J]. *Cancer*, 2009, 115(4): 752-759.
- [6] KOBAYASHI H, MOCHIZUKI H, SUGIHARA K, et al. Characteristics of recurrence and surveillance tools after curative resection for colorectal cancer: a multicenter study [J]. *Surgery*, 2007, 141(1): 67-75.
- [7] CHOTI M A, SITZMANN J V, TIBURI M F, et al. Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases [J]. *Ann Surg*, 2002, 235(6): 759-766.
- [8] BRONTE G, ROLFO C, PEETERS M, et al. How to find the Ariadne's thread in the labyrinth of salvage treatment options for metastatic colorectal cancer? [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2014, 14(6): 743-748.
- [9] BRUDVIK K W, KOPETZ S E, LI L, et al. Meta-analysis of KRAS mutations and survival after resection of colorectal liver metastases[J]. *Br J Surg*, 2015, 102(10): 1175-1183.
- [10] BALACHANDRAN V P, ARORA A, GONEN M, et al. A validated prognostic multigene expression assay for overall survival in resected colorectal cancer liver metastases [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(10): 2575-2582.
- [11] ZAKARIA S, DONOHUE J H, QUE F G, et al. Hepatic resection for colorectal metastases: value for risk scoring systems? [J]. *Ann Surg*, 2007, 246(2): 183-191.
- [12] DE ROOCK W, DE VRIENDT V, NORMANNO N, et al. KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(6): 594-603.
- [13] RICHMAN S D, SEYMOUR M T, 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.
- [14] BOKEMEYER C, BONDARENKO I, HARTMANN J T, et al. Efficacy according to biomarker status of cetuximab plus FOLFOX-4 as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the OPUS study[J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(7):

- 1535-1546.
- [15] KARAPETIS C S, KHAMBATA-FORD S, JONKER D J, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2008, 359 (17): 1757-1765.
- [16] ZIMMITTI G, SHINDOH J, MISE Y, et al. RAS mutations predict radiologic and pathologic response in patients treated with chemotherapy before resection of colorectal liver metastases [J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(3): 834-842.
- [17] SCHIRRIPIA M, BERGAMO F, CREMOLINI C, et al. BRAF and RAS mutations as prognostic factors in metastatic colorectal cancer patients undergoing liver resection [J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(12): 1921-1928.
- [18] XU J, QIN X, WANG J, et al. Chinese guidelines for the diagnosis and comprehensive treatment of hepatic metastasis of colorectal cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137 (9): 1379-1396.
- [19] NORDLINGER B, GUIGUET M, VAILLANT J C, et al. Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver. A prognostic scoring system to improve case selection, based on 1568 patients. *Association Francaise de Chirurgie* [J]. *Cancer*, 1996, 77(7): 1254-1262.
- [20] BOLTON J S, FUHRMAN G M. Survival after resection of multiple bilobar hepatic metastases from colorectal carcinoma [J]. *Ann Surg*, 2000, 231(5): 743-751.
- [21] MARTIN R C 2ND, AUGENSTEIN V, REUTER N P, et al. Simultaneous versus staged resection for synchronous colorectal cancer liver metastases[J]. *J Am Coll Surg*, 2009, 208(5): 842-850; discussion 850-852.
- [22] TANAKA K, SHIMADA H, MATSUO K, et al. Outcome after simultaneous colorectal and hepatic resection for colorectal cancer with synchronous metastases[J]. *Surgery*, 2004, 136(3): 650-659.
- [23] WEBER J C, BACHELLIER P, OUSSOULTZOGLOU E, et al. Simultaneous resection of colorectal primary tumour and synchronous liver metastases[J]. *Br J Surg*, 2003, 90 (8): 956-962.
- [24] SLESSER A A, SIMILLIS C, GOLDIN R, et al. A meta-analysis comparing simultaneous versus delayed resections in patients with synchronous colorectal liver metastases [J]. *Surg Oncol*, 2013, 22(1): 36-47.
- [25] VOUTSINA A, TZARDI M, KALIKAKI A, et al. Combined analysis of KRAS and PIK3CA mutations, MET and PTEN expression in primary tumors and corresponding metastases in colorectal cancer[J]. *Mod Pathol*, 2013, 26 (2): 302-313.
- [26] FUJIYOSHI K, YAMAMOTO G, TAKAHASHI A, et al. High concordance rate of KRAS/BRAF mutations and MSI-H between primary colorectal cancer and corresponding metastases[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(2): 785-792.
- [27] VAKIANI E, JANAKIRAMAN M, SHEN R, et al. Comparative genomic analysis of primary versus metastatic colorectal carcinomas[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(24): 2956-2962.
- [28] MAO C, WU X Y, YANG Z Y, et al. Concordant analysis of KRAS, BRAF, PIK3CA mutations, and PTEN expression between primary colorectal cancer and matched metastases [J]. *Sci Rep*, 2015, 5:8065.
- [29] VAUTHEY J N, ZIMMITTI G, KOPETZ S E, et al. RAS mutation status predicts survival and patterns of recurrence in patients undergoing hepatectomy for colorectal liver metastases [J]. *Ann Surg*, 2013, 258 (4): 619-626; discussion 626-627.
- [30] BRUDVIK K W, MISE Y, CHUNG M H, et al. RAS mutation predicts positive resection margins and narrower resection margins in patients undergoing resection of colorectal liver metastases[J]. *Ann Surg Oncol*, 2016, 23 (8): 2635-2643.
- [31] LOES I M, IMMERVOLL H, SORBYE H, et al. Impact of KRAS, BRAF, PIK3CA, TP53 status and intraindividual mutation heterogeneity on outcome after liver resection for colorectal cancer metastases [J]. *Int J Cancer*, 2016, 139 (3): 647-656.
- [32] DENBO J W, YAMASHITA S, PASSOT G, et al. RAS mutation is associated with decreased survival in patients undergoing repeat hepatectomy for colorectal liver metastases [J]. *J Gastrointest Surg*, 2017, 21(1):68-77.
- [33] 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.
- [34] KEMENY N E, CHOU J F, CAPANU M, et al. KRAS mutation influences recurrence patterns in patients undergoing hepatic resection of colorectal metastases [J]. *Cancer*, 2014, 120(24): 3965-3971.
- [35] KARAGKOUNIS G, TORBENSON M S, DANIEL H D, et al. Incidence and prognostic impact of KRAS and BRAF mutation in patients undergoing liver surgery for colorectal metastases [J]. *Cancer*, 2013, 119(23): 4137-4144.
- [36] MARGONIS G A, SPOLVERATO G, KIM Y, et al. Effect of KRAS mutation on long-term outcomes of patients undergoing hepatic resection for colorectal liver metastases [J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(13): 4158-4165.

[本文编辑] 翟铖铖, 贾泽军