

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.01247

· 研究快报 ·

指纹基因群分析揭示锯齿型结直肠癌的预后和耐药特性

苗 华^{1△}, 曹付傲^{2△}, 李 旭², 缪宗原¹, 叶 淳¹, 张 畅², 王汉涛^{2*}

1. 浙江省平湖市第一人民医院外科, 平湖 314200

2. 第二军医大学长海医院肛肠外科, 上海 200433

[摘要] **目的** 利用指纹基因群(GES)分析技术挖掘现有公共芯片数据揭示锯齿型结直肠癌的预后和耐药特性。

方法 从基因表达谱数据储存公共平台(GEO)中下载4个有预后信息的结直肠癌表达谱芯片数据(GSE14333、GSE17538、GSE33113、GSE37892),用批间误差校正和单基因信息抽提等信息技术获得1个整合的表达谱队列($n=600$)。获得锯齿型结直肠癌表达谱有关数据及相应特异性指纹基因群,并与前面的表达谱队列合并,建立指纹基因群评分系统,依托已知锯齿型结直肠癌样本的基因群评分确定分组阈值。根据分组阈值,将600例结直肠癌分为锯齿型、过渡型和传统型结直肠癌组,利用Kaplan-Meier和Cox模型分析锯齿型结直肠癌的预后特征。同时,收集并下载与不可切除结直肠癌姑息治疗有关的表达谱数据(GSE28702、GSE5851),经表达谱数据抽提整理后,获得每个样本的锯齿型指纹基因群评分,通过比较治疗有效组和无效组之间评分的统计学差异来揭示锯齿型结直肠癌与药物耐药的的关系。**结果** 根据结直肠癌亚型评分阈值,600个结直肠癌中有50个被分为锯齿型,126个被分类为过渡型,424个被分为传统型。锯齿型和过渡型结直肠癌与传统型结直肠癌相比具有几乎完全相同的预后能力,多因素Cox模型发现锯齿型和过渡型结直肠癌是患者术后复发的独立危险因素。单纯比较锯齿型和传统型结直肠癌,多因素Cox模型发现锯齿型结直肠癌是患者预后的不良因素($AHR=1.792, 95\%CI 1.011\sim 3.177$)。西妥昔治疗有效组的指纹基因群评分显著低于无效组($P=0.017$),但FOLFOX治疗有效组和无效组的基因群评分无差异。

结论 结直肠癌锯齿型亚型是结直肠癌患者术后复发的独立危险因素,且与西妥昔单抗治疗耐药相关。

[关键词] 锯齿型结直肠癌;指纹基因群;预后;肿瘤抗药性

[中图分类号] R 735.3

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2014)11-1247-07

Integrated gene expression signature analysis of prognosis and drug-resistance in patients with serrated colorectal adenocarcinoma

MIAO Hua^{1△}, CAO Fu-ao^{2△}, LI Xu², MIAO Zong-yuan¹, YE Chun¹, ZHANG Chang², WANG Han-tao^{2*}

1. Department of General Surgery, The First People's Hospital of Pinghu, Pinghu 314200, Zhejiang, China

2. Department of Colorectal Surgery, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To conduct an integrated analysis of gene expression signature and gene expression profile, so as to provide reference for the prognosis and drug-resistance of serrated colorectal adenocarcinoma (SCA). **Methods** We downloaded four gene expression datasets (GSE14333, GSE17538, GSE33113, and GSE37892) of colorectal carcinoma with the follow-up survival data from GEO database, and then integrated them into an entire expression profile ($n=600$) with batch adjustment and gene expression value extraction. An SCA gene signature and the corresponding expression profile were integrated with the previous expression dataset. Using the gene signature score model we assigned score to each patient in the gene expression dataset and classified the patients into serrated, transitional, or conventional subtypes. Kaplan-Meier analysis and Cox model were used to compare the risks of cancer recurrence between three subtypes of colorectal carcinoma. Gene signature model were also used to generate the score for each patient in the datasets associated with alleviative therapy of colorectal cancer (GSE28702, GSE5851). The SCA drug-resistance was analyzed by observing the therapeutic effective group and non-effective group. **Results** According to cut-off value of CRC subtypes, 600 patients in the combined dataset were classified as 50 with serrated subtype, 126 with transitional subtype, and 424 with conventional subtype. Survival analysis showed the serrated and transitional subtypes had very similar scores to predict patient survival, and they were also independent risk factors for

[收稿日期] 2014-01-12 **[接受日期]** 2014-09-25

[作者简介] 苗 华, 副主任医师。E-mail: 13567330917@139.com; 曹付傲, 硕士, 主治医师。E-mail: caofuao@gmail.com

△共同第一作者(Co-first authors).

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31161607, E-mail: hantaowang@126.com

postoperative recurrence. When comparing serrated and conventional subtypes, multivariate Cox model analysis indicated the patients with serrated subtype was an unfavorable independent risk factor for prognosis(AHR=1.792, 95%CI 1.011-3.177). Responders to cetuximab treatment had significantly higher signature scores than non-responders ($P=0.017$), while responders to FOLFOX treatment had similar signature scores with the non-responders. **Conclusion** Serrated subtype is an independent risk factor of postoperative recurrence in SCA patients, and is related to the treatment with cetuximab.

[Key words] serrated colorectal adenocarcinoma; gene expression signature; prognosis; neoplasm drug resistance

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(11):1247-1253]

锯齿型结直肠癌(serrated colorectal adenocarcinoma, SCA)是近年来新确认的一种呈现锯齿形态的特殊结直肠癌(CRC)亚型,这种亚型可以由高度增生性息肉、广基锯齿型息肉、传统锯齿型息肉以及混合型息肉演化而来^[1]。上述息肉向锯齿型肠癌演变的分子过程呈现独特的“锯齿”信号通路,不同于传统的结肠腺瘤样息肉病蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)演变通路^[2]。结直肠锯齿型息肉患者更容易进展为结直肠恶性病变,其血清中有更高水平的癌相关自身抗体^[3]。锯齿型结直肠癌倾向于具有 *K-RAS* 或 *BRAF* 基因突变,不具有染色体不稳定特征,但具有高水平的微卫星不稳定以及甲基化表型特征^[2,4]。从细胞学上看,锯齿型结直肠癌缺乏坏死特征但呈现低分化特征,往往具有大量黏蛋白分泌且肿瘤细胞周围伴有明显的淋巴细胞渗透^[2,4]。尽管一项锯齿型结直肠癌全基因组表达谱研究发现锯齿型结直肠癌与其他结肠直肠癌亚型预后没有差别^[5],但是,一项最近的有关结直肠癌全基因组表达谱分型的研究却发现:一种与锯齿型息肉特异性表达谱相似的结肠癌亚型具有化疗耐药和预后不良等临床特征^[6]。除了研究结果不一致外,两项研究的共同缺点之一是样本量较小。

指纹基因群(gene expression signature, GES)是一组能够指示疾病表型、通路活性、分子亚型和治疗效果等重要特征的基因群,多通过高通量组学技术分析而得,已被多项研究科学整合并用于医学事件和分子机制的探索研究^[7-11]。基于上述背景,本研究采用指纹基因群分析技术在一个大样本表达谱队列($n=600$)中探索锯齿型结直肠癌的临床预后和治疗特征,以便为今后该类型结直肠癌的深入研究提供新的信息。

1 资料和方法

1.1 结直肠癌预后和治疗相关表达谱芯片的下载

和处理 基因表达谱数据储存公共平台(gene expression omnibus, GEO)中存在大量肿瘤研究的表达谱数据。根据设计我们下载了 3 组芯片数据:(1) 4 个有预后信息的结直肠癌表达谱研究数据,包括 GSE14333^[12]、GSE17538^[13]、GSE33113^[14] 和 GSE37892^[15],这些数据均产生自 Affymetrix hgu133plus 2.0 芯片平台;(2) 1 个与锯齿型肿瘤相关的表达谱数据(GSE4045, Affymetrix hgu133a)及其相应文献中的 226 个锯齿型结直肠癌相关探针的信息^[5];(3) 2 个有治疗效果信息的表达谱数据组 GSE28702^[16] 和 GSE5851^[17],前者为 Affymetrix hgu133plus 2.0,后者为 Affymetrix hug133a 2.0。对于上述芯片数据,我们首先用 R 软件 Affy 包中的 Robust multi-array average (RMA)法^[18]获取各研究的 mRNA 表达谱数据,并去除 GSE14333 与 GSE17538 中重复的样本;然后仔细对应不同芯片平台的探针信息,并合并 GSE14333、GSE17538、GSE33113、GSE37892 和 GSE4045 等 5 个研究,用 Sva 软件包中的“ComBat”命令^[19]进行批间误差校正,再用 Limma 软件包中的“normalize Quantiles”命令^[20]和 survJamda 软件包中的 Z-score 功能^[21]对数据进行标准化和 Z 转化。对于 GSE28702 和 GSE5851,我们仅用 Affy 包对其进行 RMA 数据抽取,并进行 Z-score 转化。最后根据各芯片平台探针与已知锯齿型指纹基因群相关探针的对应情况抽取相应探针的表达谱数据以便进行后续分析。

1.2 指纹基因群评分的计算 指纹基因群评分模型主要参照以往研究^[8]进行,其计算公式如下:

$$\text{Module Score (s)} = \frac{\sum_{i \in n} w_i x_i}{\sum_{i \in n} |w_i|}$$

其中 n 是指纹基因群中所包含的单一基因的数量, x_i 是指基因的表达水平, w_i 是指基因特异性的权重系数(在本研究中高表达为 +1, 低表达为 -1, 其高低表达需根据指纹基因群的出处文献^[5] 决定)。

对于锯齿型结直肠癌指纹基因群^[5], 包含 226 个探针, 其中 128 个在锯齿型癌中高表达, 98 个在锯齿型癌中低表达。在指纹基因群评分模型计算时, 无法与表达谱数据对应的探针将不纳入计算。

1.3 统计学处理 对于合并的 5 个芯片研究, 以 GSE4045^[5] 作为指示研究, 根据该研究中锯齿型和传统型癌的病理确定结果和指纹基因群评分结果确定锯齿型、过渡型与传统型结直肠癌分组的界值, 并将该界值用于大样本队列中 600 个 CRC 的亚型界定。预后分析时, 对年龄、性别、TNM 分期以及结直肠亚型分组等变量进行单变量和多变量 Cox 模型分析, 对有协同作用的变量在进行分层后进行 Kaplan-Meier 模型分析。分析锯齿型指纹基因群评分与 FOLFOX 方案及西妥昔单抗疗效的关系时, 采用独立样本 *t* 检验比较有反应组和无反应组的评分水平。统计分析主要用 R 软件和 SPSS16.0 来实现,

检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 CRC 亚型分组界值确定 GSE14333、GSE17538、GSE33113、GSE37892 和 GSE4045 的合并数据共包含 637 个样本, 其中指示研究 GSE4045 包含 8 个锯齿型癌和 29 个传统型癌。如图 1A 所示, 8 个锯齿型癌的指纹基因群最低评分为 0.701, 29 个传统型癌的指纹基因群最高评分 0.294。根据 GSE4045 的研究结果, 设置指纹基因群评分 >0.700 为锯齿型结直肠癌, 指纹基因群评分 ≥ 0.300 且 ≤ 0.700 为过渡型结直肠癌, 指纹基因群评分 <0.300 为传统型结直肠癌。由此, 我们将 600 个未知分型的结直肠癌分为锯齿型($n=50$)、过渡型($n=126$)和传统型($n=424$)3 个亚型, 具体如图 1B 所示。

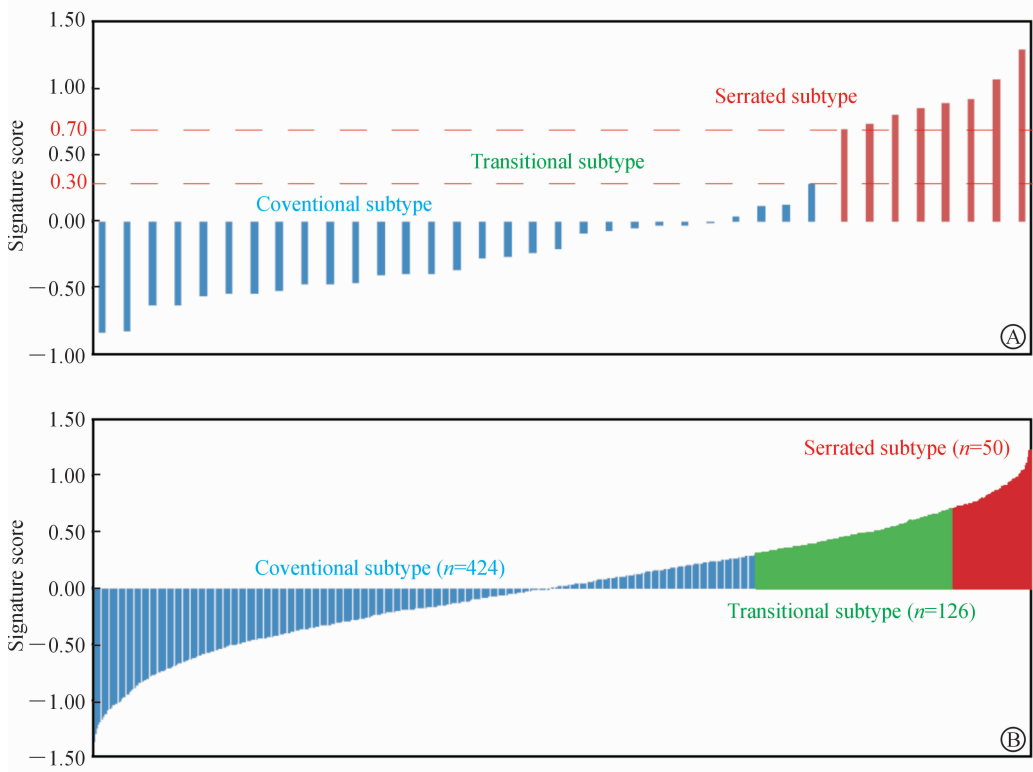


图 1 锯齿型、过渡型和传统型结直肠癌分型的确定

Fig 1 Cut-off values of subtypes of serrated carcinoma, transitional carcinoma and conventional carcinoma of colorectal cancer

A: Result of GSE4045; B: Results of GSE14333, GSE17538, GSE33113, and GSE37892

2.2 CRC 亚型与一般临床指标的关系 如表 1 所示, 50 个锯齿型结直肠癌、126 个过渡型结直肠癌和 424 个传统型结直肠癌在年龄和肿瘤分期构成等方面差异无统计学意义; 但在性别构成上 3 组之间差

异有统计学意义, 主要表现为锯齿型结直肠癌患者中女性比例明显高于传统型($P=0.03$)和过渡型结直肠癌($P=0.02$)。

表 1 锯齿型、过渡型和传统型结直肠癌的人口特征和肿瘤分期特征比较

Tab 1 Clinical characteristics of serrated, transitional, and conventional subtypes of colorectal carcinoma

	Conventional subtype (N=424)	Transitional subtype(N=126)	Serrated subtype (N=50)
Age (years)			
$\bar{x} \pm s$	66.89 ± 12.83	66.49 ± 12.74	66.04 ± 14.08
Median	67.00	66.96	69.00
Gender n (%)			
Male	230 (54.25)	73 (57.94)	19 (38.00)
Female	278 (45.75)	53 (42.06)	31 (62.00)
Stage n (%)			
I	40 (9.43)	6 (4.76)	3 (6.00)
II	189 (44.58)	63 (50.00)	24 (48.00)
III	108 (25.47)	40 (31.75)	21 (42.00)
IV	87 (20.52)	17 (13.49)	2 (4.00)

2.3 锯齿型结直肠癌与 CRC 预后的关系 600 例 CRC 患者中, 有 488 个具有完整复发随访信息的 I ~ III 期患者, 本研究中预后研究主要围绕该部分

样本展开。如图 2, Kaplan-Meier 分析结合 Log-rank 检验发现锯齿型和过渡型结直肠癌在 I ~ III 期、II 期、III 期患者中对预后的影响非常相似, 没有差别, 且上述两型的预后不同于传统型结直肠癌患者的预后。基于上述研究结果, 我们合并锯齿型和过渡型两组样本与传统型结直肠癌进行单因素和多因素 Cox 模型的分析。如表 2, 单因素 Cox 模型发现, 年龄、性别、肿瘤分期和肿瘤分型这几个变量中, 仅肿瘤分期和肿瘤分型这两个变量与患者复发显著相关; 进一步多因素 Cox 模型分析发现肿瘤分期和肿瘤分型(锯齿型+过渡型 vs 传统型)这两个变量是患者复发的独立危险因素, 其中肿瘤分型的 HR=2.118(95%CI 1.460~3.072)。比较锯齿型和传统型结直肠癌对预后的影响发现, 单因素分析锯齿型相对于传统型结直肠癌其 HR(95%CI)为 2.081(1.179~3.674), 差异有统计学意义(P=0.012); 多因素分析(年龄、性别、肿瘤分期为协变量)发现其 HR(95%CI)为 1.792(1.011~3.177), 差异有统计学意义(P=0.046)。

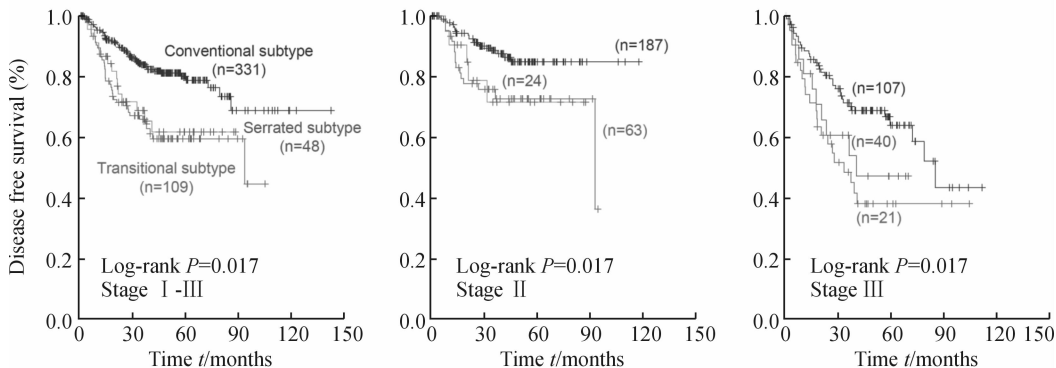


图 2 比较锯齿型、过渡型和传统型结直肠癌在不同肿瘤分期时的预后作用

Fig 2 Prognostic values of serrated and conventional colorectal carcinoma at different tumor stages

表 2 结直肠癌分型、分期等变量对患者预后影响的单因素和多因素 Cox 模型分析

Tab 2 Univariate and multivariate Cox model analysis of effect of subtypes and stages on prognosis of patients with colorectal cancer

Items	Univariate Cox analysis		Multivariate Cox analysis	
	HR (95%CI)	P value	HR (95%CI)	P value
Age (years)	0.990 (0.976-1.004)	0.179	0.998 (0.984-1.012)	0.786
Gender (Male vs Female)	1.021 (0.705-1.479)	0.913	1.049 (0.718-1.533)	0.804
Stage (I, II, III)	2.847 (2.205-4.002)	0.000	2.739 (1.934-3.878)	0.000
Subtypes (Conventional subtype vs others)	2.293 (1.582-3.323)	0.000	2.118 (1.460-3.072)	0.000

HR: Hazard ratio; CI: Confidence interval

2.4 不可切除锯齿型结直肠癌与姑息治疗的关系 结果(图 3)表明:GSE5851 中包含 25 个对西妥昔单抗治疗有反应者和 46 个无反应者,两组的锯齿型指纹基因群评分有差异,前者低于后者($P=0.017$),提示锯齿型表型对西妥昔单抗治疗有一定

的抗药性;GSE28702 中包含 42 个对 FOLFOX 化疗方案有反应者和 41 个无反应者,两组的锯齿型指纹基因群评分无差异($P=0.380$),提示锯齿型表型可能与 FOLFOX 耐药无关。

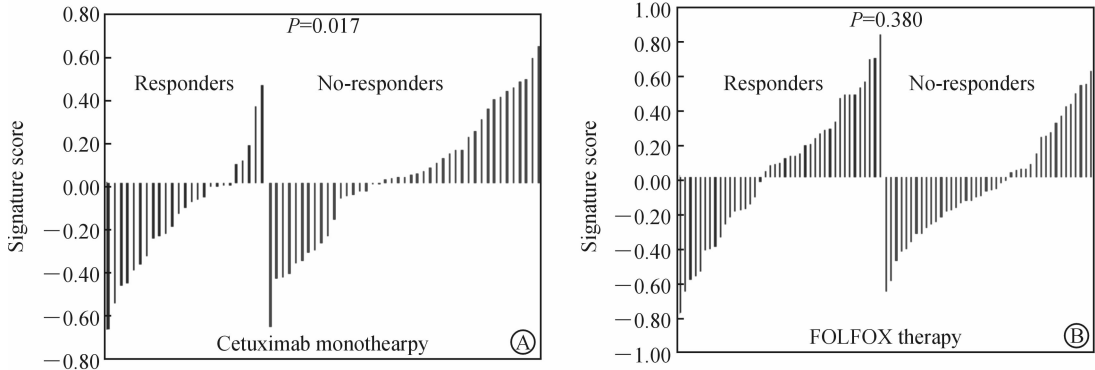


图 3 锯齿型基因群评分与辅助治疗的关系

Fig 3 Relationship between serrated gene signature scores and adjuvant therapy effective

A: GSE5851; B: GSE28702

3 讨论

具有典型锯齿形态的锯齿型结直肠癌约占结直肠癌的 7%~8%^[5],许多由锯齿型通路演化而来的结直肠癌并无典型的锯齿型形态。据估计锯齿型通路形成的肿瘤约占结直肠癌的 30%^[22]。本研究基于 Laiho 等^[5]建立的锯齿型指纹基因群及建立该基因群所用的表达谱数据,以其中 29 例传统型结直肠癌的锯齿型指纹基因群评分上限和 8 例锯齿型结直肠癌的下限为界值,对 600 例未知亚型分类的结直肠癌进行了亚型预测,结果将其预测为 50 例锯齿型结直肠癌、126 例过渡型结直肠癌和 424 例传统型结直肠癌。由于 Laiho 等^[5]研究中 29 例传统型结直肠癌的样本量并不算太小,故这 29 例样本的基因群评分分布更接近于总体分布,故本研究中对传统型结直肠癌的界值划分有一定准确性;相对而言,指示研究(GSE4045)中仅 8 例病理上明确的锯齿型癌,由于样本量小,这 8 例所代表的界值划分相对容易存在误差。因此,在本研究中我们推测过渡型结直肠癌可能与锯齿型结直肠癌有相似的特征。这种利用指纹基因群对锯齿型亚型预测的方法,最大程度上识别了形态学上不典型的锯齿型结直肠癌,为本研究深入揭示锯齿型结直肠癌的重要特征提供基础。

利用 600 例结直肠癌患者的临床信息,我们发现锯齿型、过渡型结直肠癌相对于传统型结直肠癌,其年龄和肿瘤分期在三者间均无差异。肿瘤分期在 3 个结直肠癌亚型之间的无差异,提示该亚型分类可能为传统的 TNM 分期提供新的互补预测指标。进一步对 488 例具有肿瘤复发数据的 I~III 期结直肠癌进行生存分析,发现锯齿型、过渡型和传统型肿瘤分期与结直肠癌患者术后复发密切相关;由于 II 期和 III 期结直肠癌的预后预测更具临床价值(更能有效指导治疗),我们在分期分层后分别评级了锯齿型、过渡型和传统型结直肠癌的预后特征,结果发现锯齿型癌和过渡型亚型无论在 II 期结直肠癌还是在 III 期结直肠癌,均是有效的预后不良预测因子。有趣的是,锯齿型和过渡型结直肠癌对患者的复发预测几乎具有完全相同的影响。单因素和多因素 Cox 模型分析发现,无论是合并锯齿型和过渡型结直肠癌与传统型结直肠癌比较,还是直接比较锯齿型和传统型结直肠癌,均发现除了 TNM 分期以外,锯齿型和(或)过渡型结直肠癌是患者术后复发的独立危险因素。由于部分锯齿型亚型有典型的细胞形态学特征,如细胞核的嗜酸染色、细胞核呈周边型等特点^[2]。因此,有效利用这些形态学改变与 TNM 分期信息能更好地促进临床患者预后预测。

结合一些具有药物疗效信息的表达谱数据,本

研究发现西妥昔单抗治疗无效组的锯齿型指纹基因群评分显著高于治疗有效组,提示锯齿型结直肠癌可能对表皮生长因子受体(EGFR)抗体治疗不敏感。锯齿型结直肠癌往往倾向于发生 K-RAS 突变或 BRAF 突变^[2,4],进一步发现 K-RAS 突变和 BRAF 突变在小鼠模型中均能诱导锯齿型癌症表型的出现^[2,4],而携带这两种突变的患者往往对 EGFR 抗体治疗不敏感^[24]。这些研究和我们的锯齿型指纹基因群评分研究结果相互支持。进一步研究锯齿型亚型和 FOLFOX 治疗的关系,结果发现两者之间无差异。由于我们的研究主要基于基因芯片的信息挖掘,而芯片等高通量数据往往容易存在明显的批间误差,故其研究结果可能存在一定的偏差。

总之,本研究提供了一种新的疾病表型和临床数据研究思路,利用系统生物学的方法建立了锯齿型结直肠癌与预后不良以及 EGFR 抗体药物耐药的联系,为后续深入研究提供了参考信息。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Noffsinger A E. Serrated polyps and colorectal cancer: new pathway to malignancy[J]. *Ann Rev Pathol*, 2009, 4:343-364.
- [2] Bennecke M, Kriegl L, Bajbouj M, Retzlaff K, Robine S, Jung A, et al. Ink4a/Arf and oncogene-induced senescence prevent tumor progression during alternative colorectal tumorigenesis[J]. *Cancer Cell*, 2010, 18:135-146.
- [3] Chang W, Wu L, Cao F, Liu Y, Ma L, Wang M, et al. Development of autoantibody signatures as biomarkers for early detection of colorectal carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17:5715-5724.
- [4] Rad R, Cadiñanos J, Rad L, Varela I, Strong A, Kriegl L, et al. A genetic progression model of brafV600E-induced intestinal tumorigenesis reveals targets for therapeutic intervention[J]. *Cancer cell*, 2013, 24:15-29.
- [5] Laiho P, Kokko A, Vanharanta S, Salovaara R, Sammalcorpi H, Järvinen H, et al. Serrated carcinomas form a subclass of colorectal cancer with distinct molecular basis[J]. *Oncogene*, 2006, 26:312-320.
- [6] Felipe De Sousa E M, Wang X, Jansen M, Fessler E, Trinh A, de Rooij LP, et al. Poor-prognosis colon cancer is defined by a molecularly distinct subtype and develops from serrated precursor lesions[J]. *Nat Med*, 2013, 19:614-618.
- [7] Tian S, Roepman P, Popovici V, Michaut M, Majewski I, Salazar R, et al. A robust genomic signature for the detection of colorectal cancer patients with microsatellite instability phenotype and high mutation frequency [J]. *J Pathol*, 2012, 228:586-595.
- [8] Ignatiadis M, Singhal S K, Desmedt C, Haibe-Kains B, Criscitiello C, Andre F, et al. Gene modules and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer subtypes: a pooled analysis[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30:1996-2004.
- [9] Tian S, Simon I, Moreno V, Roepman P, Taberero J, Snel M, et al. A combined oncogenic pathway signature of BRAF, KRAS and PI3KCA mutation improves colorectal cancer classification and cetuximab treatment prediction[J]. *Gut*, 2013, 62:540-549.
- [10] Gatz M L, Lucas J E, Barry W T, Kim J W, Wang Q, Crawford M D, et al. A pathway-based classification of human breast cancer [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107:6994-6999.
- [11] Watanabe T, Kobunai T, Yamamoto Y, Matsuda K, Ishihara S, Nozawa K, et al. Chromosomal instability (CIN) phenotype, CIN high or CIN low, predicts survival for colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30:2256-2264.
- [12] Jorissen R N, Gibbs P, Christie M, Prakash S, Lipton L, Desai J, et al. Metastasis-associated gene expression changes predict poor outcomes in patients with Dukes stage B and C colorectal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15:7642-7651.
- [13] Smith J J, Deane N G, Wu F, Merchant N B, Zhang B, Jiang A, et al. Experimentally derived metastasis gene expression profile predicts recurrence and death in patients with colon cancer [J]. *Gastroenterology*, 2010, 138:958-968.
- [14] de Sousa E Melo F, Colak S, Buikhuisen J, Koster J, Cameron K, de Jong J H, et al. Methylation of cancer-stem-cell-associated Wnt target genes predicts poor prognosis in colorectal cancer patients [J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 9:476-485.
- [15] Laibe S, Lagarde A, Ferrari A, Monges G, Birnbaum D, Olschwang S. A seven-gene signature aggregates a sub-

- group of stage II colon cancers with stage III [J]. *OMICS*, 2012, 16: 560-565.
- [16] Tsuji S, Midorikawa Y, Takahashi T, Yagi K, Takayama T, Yoshida K, et al. Potential responders to FOLFOX therapy for colorectal cancer by Random Forests analysis[J]. *Br J Cancer*, 2011, 106: 126-132.
- [17] Khambata-Ford S, Garrett C R, Meropol N J, Basik M, Harbison C T, Wu S, et al. Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25: 3230-3237.
- [18] <http://www.bioconductor.org/packages/2.14/bioc/html/affy.html>
- [19] Leek J T, Johnson W E, Parker H S, Jaffe A E, Storey J D. The sva package for removing batch effects and other unwanted variation in high-throughput experiments [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28: 882-883.
- [20] <http://www.bioconductor.org/packages/2.13/bioc/html/limma.html>
- [21] Yasrebi H. *SurvJamda*: an R package to predict patients' survival and risk assessment using joint analysis of microarray gene expression data[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27: 1168-1169.
- [22] Rex D K, Ahnen D J, Baron J A, Batts K P, Burke C A, Burt R W, et al. Serrated lesions of the colorectum: review and recommendations from an expert panel[J]. *Am J Gastroenterol*, 2012, 107: 1315-1329.
- [23] Huang C S, O'Brien M J, Yang S, Farraye F A. Hyperplastic polyps, serrated adenomas, and the serrated polyp neoplasia pathway[J]. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99: 2242-2255.
- [24] de Roock W, Claes B, Bernasconi D, de Schutter J, Biesmans B, Fountzilias G, 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: 753-762.

[本文编辑] 贾泽军