



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.04.011
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2021.04.011
Chinese Journal of General Surgery, 2021, 30(4):464-470.

· 文献综述 ·

全外显子组测序技术在结直肠癌研究中的应用进展

谢承霖, 沈鑫, 李占武

(大连大学附属中山医院 普通外科, 辽宁 大连 116001)

摘要

结直肠癌(CRC)是常见的消化道肿瘤,其治疗以手术切除为主,同时辅以放化疗。目前治疗模式已经从传统的基于“群体化”诊治进入了精准的“个体化”医疗。而精准医疗是通过基因组检测寻找病因和治疗的靶点,借助癌症基因组测序和信息分析,最终形成对癌症分子标记物筛选、精准诊断分型及精准治疗的体系。全外显子组测序(WES)是一项新的基因测序技术,在人类复杂疾病领域和多种恶性肿瘤中逐渐被广泛应用,其在CRC发病机制、治疗、转移风险评估以及预后判断等方面的研究应用也取得了一定的进展。

关键词

结直肠肿瘤;全外显子组测序;精准医学;综述
中图分类号:R735.3

Progress in the application of whole exome sequencing in research for colorectal cancer

XIE Chenglin, SHEN Xin, LI Zhanwu

(Department of General Surgery, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian, Liaoning 116001, China)

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is a common digestive tract tumor for which surgical resection is mainstay of treatment, or in combination with chemotherapy and radiotherapy. At present, the treatment mode has evolved from the traditional "group-based" diagnosis and treatment to the precise "individualized" therapy. Precision medicine is to find the cause of the disease and the therapeutic targets through genome detection, and finally forms a diagnosis and treatment system involving the screening of cancer-related molecular markers, accurate diagnosis and classification, and precise treatment with the help of cancer genome sequencing and information analysis. Whole exome sequencing (WES) is a new gene sequencing technique, which has been widely applied in the fields of complex human diseases and various malignant tumors. Some progress has also been achieved in its application in studies concerning the pathogenesis, treatment, metastasis risk assessment and prognosis estimation of CRC.

Key words

Colorectal Neoplasms; Whole Exome Sequencing; Precision Medicine; Review
CLC number: R735.3

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常

见的消化道恶性肿瘤之一^[1]。在中国CRC是目前仅有的发病率仍在上升的消化系统恶性肿瘤,且年轻化趋势日益明显^[2-3],不少患者在初次诊断时已属晚期,5年生存率偏低^[4-6]。目前治疗是以手术切除为主,同时辅以放化疗。近年治疗模式已经从传统的基于“群体化”诊治进入了精准的“个体

收稿日期:2020-10-23; 修订日期:2021-03-17。

作者简介:谢承霖,大连大学附属中山医院住院医师,主要从事急腹症、胃肠肿瘤方面的研究。

通信作者:李占武, Email: dllizhanwu@sina.cn

化”医疗。而精准医疗是通过基因组检测寻找疾病的原因和治疗的靶点,借助癌症基因组测序和信息分析,最终形成对癌症分子标记物筛选、精准诊断分型及精准治疗。全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)是一项新的基因测序技术,在人类复杂疾病领域中逐渐被广泛应用。本文就WES技术以及其在CRC发病机制、治疗、转移风险评估、以及预后判断方面的研究应用进行综述,以期对CRC的靶向治疗、基因治疗、免疫治疗和化疗等方面提供更加精准化的指导。

1 WES技术的应用现状

全外显子组(whole exome)是基因组中所有外显子区域的总和,仅含约 1.8×10^5 个外显子,总长30 Mb,作为蛋白质的编码区,其是DNA中更具研究潜力的功能序列^[7-8],与全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)需对整个基因组的所有碱基进行测序不同。WES是指针对基因外显子区域即编码区进行的测序,大部分基因突变相关疾病的基因位于编码区,相对全基因组测序,外显子测序技术专门针对基因编码区进行测序,因其稳定性与经济实用性被广泛应用于临床基因相关疾病的诊断。爱丁堡大学的学者们^[9]通过对41例智力发育障碍和不明原因代谢异常的先证者进行WES,发现了11个与神经代谢疾病相关的候选基因。近期Rees等^[10]利用WES发现了一类能增加精神分裂症患病风险的新变异体,也体现了其在探索复杂疾病易感基因方面的关键作用。目前WES在多种恶性肿瘤方面的研究也逐渐开展。比如学者^[11-13]利用WES探究胃癌的克隆起源、致癌机制及免疫治疗效果等多个方面。又比如研究人员^[14-16]将WES应用于肝癌来研究其发病机理、诊断筛查及预后生存。新加坡的学者^[17]利用WES来分析亚洲EGFR突变型肺腺癌的基因组结构。美国的学者^[18]将WES运用于三阴性乳腺癌小鼠模型,确定了一系列由原癌基因扩增和融合驱动的体细胞遗传学改变。Wang等^[19]则通过WES揭示了肝细胞胆管癌的起源和转化。这些研究常通过寻找潜在的原癌基因和抑癌基因来探究未曾报导的突变,完成更精确的基因分型协助诊断,以期寻找新的治疗靶点,或者尝试阐明侵袭性、转移机制用于预后判断及精准个性化治疗。

2 WES技术在CRC中的应用

2.1 肿瘤异质性及克隆起源方面

肿瘤异质性分为肿瘤间异质性和肿瘤内异质性(intratumor heterogeneity, ITH),以往关于CRC肿瘤异质性的研究较少。Liu等^[20]对2例相同分子亚型的直肠癌患者进行WES,并在多区域和单细胞水平上对其突变谱和体细胞拷贝数目变异(somatic copy number variations, SCN)进行分析,2例患者表现出不同程度的基因异质性,单细胞水平分析显示肿瘤内异质性更显著,说明同一直肠肿瘤中也有很多不同的基因型和细胞亚群。之后日本学者Saito等^[21]对包括腺瘤和原位癌在内的10例早期CRC肿瘤进行了多区域WES,通过与进展期CRC肿瘤测序数据的比较,发现早期肿瘤积累的亚克隆驱动突变率高于晚期肿瘤,其中KRAS和APC的亚克隆突变尤其明显。此外,变异等位基因频率在早期肿瘤中较高,表明亚克隆突变在肿瘤发生早期被选择性清除,而中性进化在晚期肿瘤中占主导地位。近年Sato等^[22]在构建肿瘤动物模型后,将其与多区域WES相结合,以此来分析CRC的ITH及克隆动力学机理,发现CRC的亚克隆结构在动物体内连续传代时会发生动态变化,环境选择性压力能促进次级亚克隆的扩张。上述研究以CRC肿瘤异质性为切入点,灵活运用多种组合形式的WES技术,展现出WES不仅可用于发掘CRC基因分型指标,还具有探究克隆起源方面的应用潜力。

2.2 散发性CRC(sporadic colorectal cancer, SCRC)中微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)及染色体不稳定性(chromosome instability, CIN)

约15%的SCRC在微卫星序列上存在广泛变异,称为MSI,是由于错配修复缺陷(deficient mismatch repair, dMMR)导致单核苷酸水平突变率增加所致,其不仅存在于SCRC,也存在于林奇综合征(Lynch syndrome, LS)以及其他癌症中。早期关于SCRC的研究多是通过WES构建MSI的基因组图谱^[23],而近年Jonchere等^[24]开展了一项对47例MSI-CRC进行WES的研究,并在另外53例MSI-CRC独立队列中进行验证测序,来完成对CRC的MSI相关基因突变正、负选择驱动因子的鉴定,从而阐明其对后续致癌作用及抑癌作用的影响。结果表明MSI-CRC基因的不稳定性在肿

瘤细胞转化中起着双重作用,即促进致癌作用的同时抵消抑癌作用,进而导致患者预后更差。另外约85%的SCRC为微卫星稳定性(microsatellite stability, MSS),表现为CIN,由于染色体片段易位、重排和丢失,产生异倍体细胞。为探究散发性CRC中CIN的遗传原因,同年梅奥医学中心的Drulliner等^[25]利用WES对15例错配修复高效型(proficient mismatch repair, pMMR)患者和24例dMMR患者的外周血、正常结肠上皮细胞及肿瘤组织中的杂合缺失情况和SCNV进行分析,结果表明染色体18q上的变异与SCRC的早期发生相关,这可作为SCRC检测和风险评估的有效临床指标。

2.3 结直肠腺瘤及其发生发展过程

Wu等^[26]应用单细胞全外显子组测序(single-cell whole-exome sequencing, scWES)和WES对2例CRC患者的肿瘤组织和腺瘤性息肉进行分析,发现结直肠腺瘤和CRC都是单克隆起源的,但CRC能通过GPCR、PI3K-Akt和FGFR信号通路积累异质性突变,从而进一步分化成不同的亚克隆。这种scWES与WES联合分析的方法帮助识别出主要的癌症亚克隆,这种亚克隆将成为定义癌症的关键特征,而随着测序成本的降低,对癌症亚克隆进行全面分类的大规模分析也将实现。之后一项来自安德森癌症中心的研究,利用149例腺瘤标本及配对外周血进行WES和靶向测序,获得了20个新的驱动基因突变,可作为指导CRC早期诊断和预防新的靶点^[27]。不久泰国一项实验,将5例CRC和6例结直肠腺瘤分成两组进行WES分析,结果提示APC和TP53可作为结直肠腺瘤和早期CRC的筛查指标,有利于鉴别这两类患者,从而制定预防和监测策略,以降低CRC的发病率^[28]。而另一项研究,对来自美国18组结肠癌、结肠腺瘤和结肠正常组织的WES数据进行基因突变率评估,不仅证实了以往研究发现的候选基因,还成功将结肠癌发生过程中不同阶段的潜在驱动基因进行分类,这有利于剖析肿瘤发生发展过程中的相关途径^[29]。

2.4 遗传性CRC方面

LS是最常见的遗传性CRC,也是最近WES在遗传性CRC研究中的热点^[30-34]。Liu等^[35]利用WES比较LS与散发性dMMR肿瘤之间的异质性,发现LS比散发性dMMR患者生存预后好的关键在于其具有更多的体细胞突变及肿瘤抗原,从而导致更强烈的免疫反应。而另一项研究^[36]通过对134例LS患者进行大规模的WES检测分析后,发现了

一类能导致LS提前发展为CRC的基因修饰物。近期Golubicki等^[37]通过对15例早发性CRC的LS患者进行WES并分析他们的肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)及突变特征,发现了一组与DNA修复及早发性相关的易感候选基因。

家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)主要由APC基因突变引起。Borras等^[38]应用WES分析了12例家族性腺瘤性息肉病患者的25例腺瘤及其邻近黏膜组织的突变谱和SCNV,并用SNP阵列对等位基因进行了验证,发现大多数反复突变的基因都与WNT途径有关,证实APC突变可促进腺瘤早期生长。另外一项研究^[39]对6例FAP患者和1例MUTYH相关性息肉病患者进行WES、WGS和单细胞RNA测序,全面探索腺瘤发生过程中基因组的改变、克隆结构和转录组动态变化,结果显示,来自同一FAP患者的癌旁病变可起源于同一肿瘤细胞,这项研究准确描绘了一个遗传性CRC发生发展,尤其是从腺瘤到癌转变过程中的基因组和转录组景象。

2.5 长期炎症相关性CRC方面

WES等测序技术的发展及癌症分子遗传学进步使得许多肿瘤类型基因图谱得到完善,从早期单个基因测序来进行突变分析到如今成对组织的WES,越来越多的证据显示炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)相关CRC与SCRC之间的遗传异质性。美国学者^[40]通过对31例同时患有IBD的CRC病例,包括15例溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)、14例克罗恩病、2例不确定结肠炎的肿瘤组织和非肿瘤组织进行WES分析,并与SCRC常见高频突变基因对比。发现慢性炎症导致的CRC中存在有与SCRC明显差异的遗传特征,其可作为疾病特异性标志物,用于IBD和CRC患者的诊断和治疗。之后Yan等^[41]通过对10例UC相关的CRC患者的肿瘤组织和邻近的稳定黏膜组织进行全外显子组测序,鉴定出25个有害突变,将癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)作为SCRC对照,发现其中11个突变在UC相关的CRC与SCRC之间存在显著差异。对主要突变基因进行荟萃分析,显示UC相关CRC中NF- κ B途径和表观遗传调控因子如KMT2D和NCOA6的突变比SCRC更常见,这项研究首次向我们展现了结肠炎相关癌在中国人群中的表观遗传病理机制,还揭示了UC相关CRC与SCRC,甚至与克罗恩病相关CRC之间不同的突变特征。

2.6 在放、化疗及免疫治疗方面

在基因组引导的个体化癌症治疗时代,还可以利用测序技术了解化疗诱导的肿瘤基因组变化的情况。FOLFOX是一种在全球范围内被广泛使用于III、IV期经手术切除后CRC的标准辅助化疗方案,近年一项对4例原发性CRC肿瘤、未经治疗的转移性肿瘤及FOLFOX辅助化疗后复发肿瘤共三类标本进行WES的研究^[42],结果显示无论是否接受过FOLFOX治疗,三类标本突变率、突变谱和拷贝数变异几乎相同,这些发现可能会作为更大规模测序研究的先导数据,帮助阐明FOLFOX辅助化疗引起的突变景观变化。术前新辅助放化疗(neoadjuvant chemoradiotherapy, nCRT)是治疗中低位局部进展期直肠癌(locally advanced rectal cancer, LARC)的金标准^[43], Bettoni等^[44]也利用WES进行了一项探索性研究,首先对79例来自TCGA的CRC的测序数据进行分析,并在后期通过WES检验nCRT的医源性效应及nCRT对ITH的影响,结论证实nCRT可使肿瘤内异质性增加,并可能导致残余肿瘤中耐药细胞数增多。

PD-1抑制剂已成为治疗CRC的有效靶向治疗药物^[45],目前PD-1抑制剂多用于dMMR转移性CRC的治疗。早期Le等^[46]对41例属于dMMR的晚期转移癌患者进行WES分析,结果提示错配修复状态可用于预测帕博利珠单抗(pembrolizumab)阻断免疫检查点的效果及临床疗效,即dMMR型CRC比错配修复高效型(proficient mismatch repair, pMMR)CRC对PD-1抑制剂的效果更敏感。纳武单抗(nivolumab)已被用作部分dMMR型LARC患者的新辅助治疗方案,一项对2例免疫治疗后临床完全缓解的患者进行WES及多重免疫荧光分析的研究,WES结果显示患者肿瘤细胞内存在较高TMB,多重免疫荧光分析显示治疗前后免疫微环境发生变化,说明免疫治疗可能成为dMMR直肠癌新辅助治疗的另一种替代方案^[47]。近年一项涉及1 000多例中国癌症患者的大样本研究^[48]选用WES作为测序手段,对这些患者的肿瘤及血液标本中包括TMB、错配修复状态、MSI和PD-L1扩增情况进行分析后,揭示了这些生物标志物在CRC等不同癌症中频率及分布,结果提示TMB升高与CRC中的dMMR显著相关,这项研究对我国癌症患者使用PD-1/PD-L1阻滞剂也有潜在的指导意义。

2.7 在CRC转移风险评估方面

利用WES了解CRC转移过程中表型演变的分

子学遗传机制,对于降低CRC的转移率和病死率至关重要。肝转移是CRC最为常见的转移,一项关于CRC肝转移中体细胞突变及途径的研究,通过收集8例CRC肝转移患者的原发肿瘤组织和血样进行WES检测基因组变异,再对肿瘤突变负荷差异、信号传导途径等进行综合分析,结果显示突变频率最高的前三位基因是TP53、APC和KRAS,这有助于我们了解CRC肝转移的相关基因范围及调控通途^[49]。Kim等^[50]先建立3对原发性CRC和相应的腹膜转移细胞系,再利用WES检测腹膜转移瘤中特殊基因的表达及异常信号通路,发现CYP2A7基因突变只在腹膜转移细胞系中存在,腹膜转移细胞中CNN3的表达在mRNA和蛋白水平上均显著增强,提示这两种基因的检测和分布可为预测原发性CRC腹膜种植转移提供线索。Sun等^[51]对19组匹配的脑转移瘤(brain metastases, BM)、原发性CRC和邻近正常组织的WES和WGS数据进行了分析,发现与原发性CRC相比,转移瘤表现出同源重组缺陷(homologous recombination deficiency, HRD)和dMMR的高突变特征。进一步分析发现,2个DNA损伤反应(DNA damage response, DDR)信号可能早期出现,并在转移瘤组织中增强,但最终在原发性CRC组织中消失。同时还鉴定出了一些BM相关高频特异突变,这为从基因层面探究CRC脑转移提供参考。初始转移细胞群体大小是转移动力学最重要的参数之一,为了研究CRC转移肿瘤细胞群体的起源,近期日本的研究人员对原发CRC肿瘤及转移瘤进行成对WES,并开发了一种可量化初始转移细胞群体大小的方法,并将此方法应用于4例CRC患者,结果显示每例患者的初始转移细胞群体数量范围从3~17个不等,所有样本均支持原发肿瘤的转移是多细胞起源的观点,表明在同一个体中,原发肿瘤和转移瘤之间遗传相似性存在显著差异^[52]。

2.8 在CRC预后评估方面

Yu等^[53]先应用WES对22例CRC患者肿瘤组织进行测序,然后再对另外160例患者使用靶向捕获测序验证复发相关的通路和基因,最终发现3个突变基因及1个可用于评估CRC预后情况的突变标志物,而此标志物可独立于TNM分期。Sho等^[54]从肿瘤基因组图谱中获取207例II/III期CRC患者的WES资料并进行分析,发现了5个与预后相关的基因(APAF1、DIAPH2、NTNG1、USP7和VAV2),而这些基因经过数据分析及整合可构成一个用于

评估预后的突变模板。Shia等^[55]为了探究肿瘤形态学及基因组突变特征之间的相关性,利用肿瘤基因组图谱中270例CRC的WES数据,得出与免疫检查点基因变异相关的形态学模式,此模式可用于CRC免疫检查点临床试验患者的筛选。一项以中国人群中50例直肠癌患者进行WES的研究^[56],结果检测到1个新的基因PCDHB3,其突变频率较高,进一步分析发现PCDHB3是一种通过抑制NF- κ B通路的抑癌基因,其表达和定位可作为评估CRC晚期预后的指标。另外一项对63例中国CRC患者进行WES分析的研究^[57]中发现,CRC驱动基因FCGBP和NBPF1的缺失可促进CRC的进展,并导致患者生存率降低,认为其可作为中国人群中新的CRC相关调控因子及用于预后判断的生物标志物。

3 展 望

WES技术的发展使得在分子水平上对肿瘤进行更准确的研究成为可能,外显子获得的分子谱数据促进了对肿瘤基因突变、染色体变异、转录改变及表观遗传紊乱的了解,增加了对肿瘤潜在驱动变异的识别。在CRC方面的研究,如发现肿瘤的体细胞突变,找寻新的易感基因,比较分析基因异质性,有助于在分子生物学层面阐明发病机理,又可作为诊断筛查的标志物或者判断预后以及复发转移风险评估的参考指标,从而在整体层面提高生存率,同时为局部晚期或者部分类型转移患者创造更多备选治疗方案。随着测序技术的进一步完善,通过该研究策略对CRC进行基因水平的诊断、分型,确定治疗靶点及预后判断等,将成为CRC分子生物学及精准个体化治疗的有效手段。

参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
- [2] Pan R, Zhu M, Yu C, et al. Cancer incidence and mortality: A cohort study in China, 2008–2013[J]. *Int J Cancer*, 2017, 141(7):1315–1323. doi:10.1002/ijc.30825.
- [3] Zhang Y, Chen Z, Li J. The current status of treatment for colorectal cancer in China: A systematic review[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(40):e8242. doi:10.1097/MD.00000000000008242.
- [4] Diagnosis And Treatment Guidelines For Colorectal Cancer Working Group CSOCOC. Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO) diagnosis and treatment guidelines for colorectal cancer 2018 (English version)[J]. *Chin J Cancer Res*, 2019, 31(1):117–134. doi:10.21147/j.issn.1000-9604.2019.01.07.
- [5] Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, et al. NCCN Guidelines Insights: Colon Cancer, Version 2.2018[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2018, 16(4):359–369. doi: 10.6004/jnccn.2018.0021.
- [6] Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, et al. Rectal Cancer, Version 2.2018, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2018, 16(7):874–901. doi: 10.6004/jnccn.2018.0061.
- [7] Yang Y, Muzny DM, Reid JG, et al. Clinical Whole-Exome Sequencing for the Diagnosis of Mendelian Disorders[J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(16):1502–1511. doi: 10.1056/NEJMoa1306555.
- [8] Tabor HK, Auer PL, Jamal SM, et al. Pathogenic variants for Mendelian and complex traits in exomes of 6,517 European and African Americans: implications for the return of incidental results[J]. *Am J Hum Genet*, 2014, 95(2):183–193. doi:10.1016/j.ajhg.2014.07.006.
- [9] Tarailo-Graovac M, Shyr C, Ross C, et al. Exome Sequencing and the Management of Neurometabolic Disorders[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(23):2246–2255. doi: 10.1056/NEJMoa1515792.
- [10] Rees E, Han J, Morgan J, et al. De novo mutations identified by exome sequencing implicate rare missense variants in SLC6A1 in schizophrenia[J]. *Nat Neurosci*, 2020, 23(2):179–184. doi: 10.1038/s41593-019-0565-2.
- [11] Xing X, Jia S, Wu J, et al. Clonality analysis of synchronous gastro-oesophageal junction carcinoma and distal gastric cancer by whole-exome sequencing[J]. *J Pathol*, 2017, 243(2):165–175. doi:10.1002/path.4932.
- [12] Wang A, Li Z, Wang M, et al. Molecular characteristics of synchronous multiple gastric cancer[J]. *Theranostics*, 2020, 10(12):5489–5500. doi:10.7150/thno.42814.
- [13] Kwon M, An M, Klempner SJ, et al. Determinants of Response and Intrinsic Resistance to PD-1 Blockade in Microsatellite Instability-High Gastric Cancer[J]. *Cancer Discov*, 2021, doi:10.1158/2159-8290.CD-21-0219. [Online ahead of print]
- [14] Paradiso V, Garofoli A, Tosti N, et al. Diagnostic Targeted Sequencing Panel for Hepatocellular Carcinoma Genomic Screening[J]. *J Mol Diagn*, 2018, 20(6):836–848. doi:10.1016/j.jmoldx.2018.07.003.
- [15] Yang J, Trépo E, Nahon P, et al. A 17-Beta-Hydroxysteroid

- Dehydrogenase 13 Variant Protects From Hepatocellular Carcinoma Development in Alcoholic Liver Disease[J]. *Hepatology*, 2019, 70(1):231–240. doi:10.1002/hep.30623.
- [16] Yang H, Sun L, Guan A, et al. Unique TP53 neoantigen and the immune microenvironment in long-term survivors of Hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(3):667–677. doi:10.1007/s00262-020-02711-8.
- [17] Nahar R, Zhai W, Zhang T, et al. Elucidating the genomic architecture of Asian EGFR-mutant lung adenocarcinoma through multi-region exome sequencing[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):216. doi:10.1038/s41467-017-02584-z.
- [18] Liu H, Murphy CJ, Karreth FA, et al. Identifying and Targeting Sporadic Oncogenic Genetic Aberrations in Mouse Models of Triple-Negative Breast Cancer[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(3):354–369. doi:10.1158/2159-8290.CD-17-0679.
- [19] Wang A, Wu L, Lin J, et al. Whole-exome sequencing reveals the origin and evolution of hepato-cholangiocarcinoma[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):894. doi:10.1038/s41467-018-03276-y.
- [20] Liu M, Liu Y, Di J, et al. Multi-region and single-cell sequencing reveal variable genomic heterogeneity in rectal cancer[J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1):787. doi:10.1186/s12885-017-3777-4.
- [21] Saito T, Niida A, Uchi R, et al. A temporal shift of the evolutionary principle shaping intratumor heterogeneity in colorectal cancer[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):2884. doi:10.1038/s41467-018-05226-0.
- [22] Sato K, Niida A, Masuda T, et al. Multiregion Genomic Analysis of Serially Transplanted Patient-derived Xenograft Tumors[J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2019, 16(1):21–27. doi:10.21873/cgp.20109.
- [23] Kim TM, Laird PW, Park PJ. The landscape of microsatellite instability in colorectal and endometrial cancer genomes[J]. *Cell*, 2013, 155(4):858–868. doi:10.1016/j.cell.2013.10.015.
- [24] Jonchere V, Marisa L, Greene M, et al. Identification of Positively and Negatively Selected Driver Gene Mutations Associated With Colorectal Cancer With Microsatellite Instability[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2018, 6(3):277–300. doi:10.1016/j.jcmgh.2018.06.002.
- [25] Druliner BR, Ruan X, Sicotte H, et al. Early genetic aberrations in patients with sporadic colorectal cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(1):114–124. doi:10.1002/mc.22738.
- [26] Wu H, Zhang XY, Hu Z, et al. Evolution and heterogeneity of non-hereditary colorectal cancer revealed by single-cell exome sequencing[J]. *Oncogene*, 2016, 36(20):2857–2867. doi:10.1038/onc.2016.438.
- [27] Lin S, Raju G, Huff C, et al. The somatic mutation landscape of premalignant colorectal adenoma[J]. *Gut*, 2018, 67(7):1299–1305. doi:10.1136/gutjnl-2016-313573.
- [28] Intarajak T, Udomchaiprasertkul W, Bunyoo C, et al. Genetic Aberration Analysis in Thai Colorectal Adenoma and Early-Stage Adenocarcinoma Patients by Whole-Exome Sequencing[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(7):977. doi: 10.3390/cancers11070977.
- [29] Wolff RK, Hoffman MD, Wolff EC, et al. Mutation analysis of adenomas and carcinomas of the colon: Early and late drivers[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2018, 57(7):366–376. doi:10.1002/gcc.22539.
- [30] Yu L, Yin B, Qu K, et al. Screening for susceptibility genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(6):9413–9419. doi:10.3892/ol.2018.8504.
- [31] Zaib T, Zhang C, Saleem K, et al. Functional Characterization of a Missense Variant of MLH1 Identified in Lynch Syndrome Pedigree[J]. *Dis Markers*, 2020, 2020:8360841. doi:10.1155/2020/8360841.
- [32] Wallander K, Thutkawkorapin J, Sahlin E, et al. Massive parallel sequencing in a family with rectal cancer[J]. *Hered Cancer Clin Pract*, 2021, 19(1):23. doi:10.1186/s13053-021-00181-2.
- [33] Kumar A, Paramasivam N, Bandapalli OR, et al. A rare large duplication of MLH1 identified in Lynch syndrome[J]. *Hered Cancer Clin Pract*, 2021, 19(1):10. doi:10.1186/s13053-021-00167-0.
- [34] Saleem K, Zaib T, Ji W, et al. Combinatorial approach of in silico and in vitro evaluation of MLH1 variant associated with Lynch syndrome like metastatic colorectal cancer[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(6):BSR20200225. doi: 10.1042/BSR20200225.
- [35] Liu GC, Liu RY, Yan JP, et al. The Heterogeneity Between Lynch-Associated and Sporadic MMR Deficiency in Colorectal Cancers[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110(9):975–984. doi:10.1093/jnci/djy004.
- [36] Fernandez-Rozadilla C, Alvarez-Barona M, Schamschula E, et al. Early Colorectal Cancers Provide New Evidence for a Lynch Syndrome-to-CMMRD Phenotypic Continuum[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(8):1081. doi:10.3390/cancers11081081.
- [37] Golubicki M, Díaz-Gay M, Bonjoch L, et al. Comprehensive Genomic Characterization of Fifteen Early-Onset Lynch-Like Syndrome Colorectal Cancers[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(6):1259. doi:10.3390/cancers13061259
- [38] Borrás E, San Lucas FA, Chang K, et al. Genomic Landscape of Colorectal Mucosa and Adenomas[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2016, 9(6):417–427. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-16-0081.
- [39] Li J, Wang R, Zhou X, et al. Genomic and transcriptomic profiling of carcinogenesis in patients with familial adenomatous polyposis[J]. *Gut*, 2020, 69(7):1283–1293. doi:10.1136/gutjnl-2019-319438.
- [40] Robles AI, Traverso G, Zhang M, et al. Whole-Exome Sequencing

- Analyses of Inflammatory Bowel Disease-Associated Colorectal Cancers[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4):931–943. doi:10.1053/j.gastro.2015.12.036.
- [41] Yan P, Wang Y, Meng X, et al. Whole Exome Sequencing of Ulcerative Colitis-associated Colorectal Cancer Based on Novel Somatic Mutations Identified in Chinese Patients[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2019, 25(8):1293–1301. doi:10.1093/ibd/izz020.
- [42] Harada K, Okamoto W, Mimaki S, et al. Comparative sequence analysis of patient-matched primary colorectal cancer, metastatic, and recurrent metastatic tumors after adjuvant FOLFOX chemotherapy[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):255. doi:10.1186/s12885-019-5479-6.
- [43] 程康文, 李佳, 王贵和, 等. 错配修复蛋白在直肠癌中的表达及其对新辅助化疗敏感性的预测价值[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29(10):1178–1186. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.10.004.
- Cheng KW, Li J, Wang GH, et al. Expression of mismatch repair proteins in rectal cancer and its predictive value for sensitivity of neoadjuvant chemoradiotherapy[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2020, 29(10):1178–1186. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.10.004.
- [44] Bettoni F, Masotti C, Corrêa BR, et al. The Effects of Neoadjuvant Chemoradiation in Locally Advanced Rectal Cancer-The Impact in Intratumoral Heterogeneity[J]. *Front Oncol*, 2019, 9:974. doi:10.3389/fonc.2019.00974.
- [45] 冯道夫, 章志翔. 程序性细胞死亡蛋白配体1在结直肠癌免疫治疗中的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29(4):473–479. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.04.011.
- Feng DF, Zhang ZX. Research progress of programmed death ligand 1 in immunotherapy of colorectal carcinoma[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2020, 29(4):473–479. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.04.011.
- [46] Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26):2509–2520. doi:10.1056/NEJMoa1500596.
- [47] Zhang J, Cai J, Deng Y, et al. Complete response in patients with locally advanced rectal cancer after neoadjuvant treatment with nivolumab[J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(12):e1663108. doi:10.1080/2162402x.2019.1663108.
- [48] Zang YS, Dai C, Xu X, et al. Comprehensive analysis of potential immunotherapy genomic biomarkers in 1000 Chinese patients with cancer[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(10):4699–4708. doi:10.1002/cam4.2381.
- [49] Feng L, Hong S, Gao J, et al. Whole-Exome Sequencing Characterized the Landscape of Somatic Mutations and Pathways in Colorectal Cancer Liver Metastasis[J]. *J Oncol*, 2019, 2019:2684075. doi:10.1155/2019/2684075.
- [50] Kim SC, Hong CW, Jang SG, et al. Establishment and Characterization of Paired Primary and Peritoneal Seeding Human Colorectal Cancer Cell Lines: Identification of Genes That Mediate Metastatic Potential[J]. *Transl Oncol*, 2018, 11(5):1232–1243. doi:10.1016/j.tranon.2018.07.014.
- [51] Sun J, Wang C, Zhang Y, et al. Genomic signatures reveal DNA damage response deficiency in colorectal cancer brain metastases[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):3190. doi:10.1038/s41467-019-10987-3.
- [52] Nishino J, Watanabe S, Miya F, et al. Quantification of multicellular colonization in tumor metastasis using exome-sequencing data[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(9):2488–2497. doi:10.1002/ijc.32910.
- [53] Yu J, Wu WK, Li X, et al. Novel recurrently mutated genes and a prognostic mutation signature in colorectal cancer[J]. *Gut*, 2015, 64(4):636–645. doi:10.1136/gutjnl-2013-306620.
- [54] Sho S, Court CM, Winograd P, et al. A prognostic mutation panel for predicting cancer recurrence in stages II and III colorectal cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2017, 116(8):996–1004. doi:10.1002/jso.24781.
- [55] Shia J, Schultz N, Kuk D, et al. Morphological characterization of colorectal cancers in The Cancer Genome Atlas reveals distinct morphology-molecular associations: clinical and biological implications[J]. *Mod Pathol*, 2017, 30(4):599–609. doi:10.1038/modpathol.2016.198.
- [56] Ye W, Ling S, Liu RY, et al. Exome sequencing reveals the genetic landscape and frequent inactivation of PCDHB3 in Chinese rectal cancers[J]. *J Pathol*, 2018, 245(2):222–234. doi:10.1002/path.5073.
- [57] Ma R, Jing C, Zhang Y, et al. The somatic mutation landscape of Chinese Colorectal Cancer[J]. *J Cancer*, 2020, 11(5):1038–1046. doi:10.7150/jca.37017.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 谢承霖, 沈鑫, 李占武. 全外显子组测序技术在结直肠癌研究中的应用进展 [J]. *中国普通外科杂志*, 2021, 30(4):464–470. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.04.011

Cite this article as: Xie CL, Shen X, Li ZW. Progress in the application of whole exome sequencing in research for colorectal cancer [J]. *Chin J Gen Surg*, 2021, 30(4):464–470. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.04.011