



结直肠癌病理研究五十年：世界与中国

来茂德^{1,2}

1. 浙江大学医学院, 病理学与病理生理学系, 杭州 310058;

2. 浙江大学医学院附属邵逸夫医院病理科, 杭州 310058

E-mail: lmd@zju.edu.cn

2024-01-22 收稿, 2024-03-21 修回, 2024-04-23 接受, 2024-05-31 网络版发表

国家自然科学基金(82072629)资助

摘要 五十年来, 结直肠癌病理学发展经历了组织病理学类型的确定, 分子改变特征的解析, 分子检测指导个体化治疗和液体活检引导动态治疗4个阶段. 常规手术切除标本和内镜黏膜下剥离术/内镜黏膜下切除术标本规范的病理检查和诊断是临床治疗的基础. 目前对微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI), *ras*、*Braf*、*PIK3CA*、*cmet*等突变, *HER2*扩增或突变和*ALK*、*NTRK*融合基因表达的检测, 可以指导病人的个体化治疗, 获得最佳的临床结果. 右半结肠癌、左半结肠癌和直肠癌在发生机制、预后和药物治疗反应上不同. 依据三分类详细的临床观察和分层治疗, 将使结直肠癌个体化治疗更精细化. 肝转移是晚期结直肠癌治疗的关键问题, 转移的分子机制阐释和干预, 需要多学科的共同探索. 肿瘤病人的分子分层、循环肿瘤DNA (circulating tumor DNA, ctDNA)、单细胞测序和空间组学、类器官和人工智能(artificial intelligence, AI)辅助诊断应用是近期研究的热点. 基于多组学方法, 高频微卫星不稳定性病人的分层研究和微卫星稳定病人的转化研究, 是目前亟须深入研究的课题, 使更多病人从免疫治疗中获益而又避免治疗的毒性和超进展. 以ctDNA检测为主要手段的液体活检, 能帮助确定微小残留病变(minimal residual disease, MRD), 并指导临床实施动态治疗, 使晚期结直肠癌转化为一种慢性病. 单细胞测序和空间组学为我们更好地认识肿瘤微环境和时空异质性提供了新的手段. 类器官作为一个“活的生物银行”对测试新的治疗方法提供可能. AI技术的应用使我们看到, 可以用更简便的方法来对病人进行分层, 并实施个体化治疗. 这种分层的基础是分子改变所呈现的形态学表型改变. 因此 AI辅助病理诊断和分型将使病理学进入一个新的阶段.

关键词 病理学, 结直肠癌, 分子诊断, 分子分型

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)已成为全球重要的疾病负担. 2020年全球结直肠癌总发病数位列所有恶性肿瘤的第3位, 结直肠癌总死亡数位列各癌种的第2位. 中国同期结直肠癌发病人数位列所有肿瘤的第2位, 发病人数占全球总发病人数的28.8%, 结直肠癌病人总死亡数位列第5位, 死亡病例总数占全球总死亡数的30.6%. 总死亡数占比与发病数占比的比较表明, 中国结直肠癌生存率还有待进一步提高^[1]. 文献报道, 我国结直肠癌平均5年生存率为56.9%, 美国为63%, 日本

为72.5%^[2-4]. 从发病过程可知, 结直肠癌绝大多数是由腺瘤恶变而来的. 因此实行早筛, 及早发现癌前和癌性病变并处理可以有效降低结直肠癌发病率并提高生存率. 结直肠癌癌前病变和癌的确定和正确诊断, 对合理治疗方案的确立具有基础性作用. 标本的分子检测和正确报告, 对实行个体化治疗非常重要. 晚期肿瘤病人的液体活检诊断, 对临床实施动态治疗, 提高生存率和生存质量具有重要的指导作用. 本文对50年来结直肠癌病理的诊断和研究的主要成就作一总结(不含癌前

引用格式: 来茂德. 结直肠癌病理研究五十年: 世界与中国. 科学通报, 2024

Lai M D. Five decades of colorectal cancer pathology: The World and China (in Chinese). Chin Sci Bull, 2024, doi: [10.1360/TB-2024-0088](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0088)

病变和非癌性病变), 重点关注对临床诊断和治疗有实际应用价值, 并且目前还在发挥效用的成果. 近50年结直肠癌病理研究经历了组织病理学类型的确定、分子改变特征的解析、分子检测指导个体化治疗和液体活检引导动态治疗4个主要阶段.

1 组织病理学诊断

组织病理学诊断是肿瘤诊断的“金标准”. 世界卫生组织(world health organization, WHO)为了统一病理学诊断, 便于不同国家和地区的比较, 成立专家组, 启动肿瘤国际组织学分类的编写工作, 并于1967年开始陆续出版, 向全球发行, 总25个分册. 肠道肿瘤组织学分类作为第15分册, 于1976年正式出版. 1977年郑树教授组织了浙江医科大学校内的大肠癌(文中前面部分保留了过去那段时间用的术语“大肠癌”, 后面按照现在通用的术语“结直肠癌”)研究协作团队, 包括流行病学、生化、免疫、病理、临床等各学科的研究小组, 病理学科许敬尧、余心如、石秋念和陈培辉等教师组成了大肠癌研究小组. 小组首先组织病理学学科的教师翻译了世界卫生组织肿瘤组织学分类1~10册, 于1975年7月完成. 12~25册以及第1~2册的第二版的翻译工作于1989年5月完成, 内部印刷供同行学习参考. 这一工作对推动国内病理诊断的规范发挥了重要的作用. 全国大肠癌科研协作组于1978年6月在杭州成立, 北京、上海、黑龙江、浙江等30余名病理专家商议了大肠癌病理检查统一规范草案, 于1981年12月在杭州定稿, 并内部印刷. 从我们今天对大肠癌的认识去审视40余年前所制定的规范, 可以说是一份非常详细并有前瞻性的规范, 包括癌周间质的免疫反应和局部引流淋巴结的反应, 并有统一的“大肠癌手术标本病例分析卡”(图1), 各项内容都有编码, 按今天标准都可以数字化.

肠道肿瘤组织学分类WHO专家委员会合作中心于1968年在英国St. Mark医院病理系成立. 第1版肠道肿瘤组织学类型(histological typing of intestinal tumors)于1976年正式出版^[5], 第2版于1989年出版^[6], 以后平均每间隔10年, 更新再版. 第3、4、5版分别于2000年^[7]、2010年^[8]和2019年^[9]正式出版. 中国1981年定稿的大肠癌病理检查统一规范, 对国内大肠癌规范诊断和研究起到了非常重要的作用. 近些年国内不同学术组织和行政管理部门分别出台了结直肠癌诊断规范, 如2010年卫生部组织编写的“中国结直肠癌诊断规范”正式公布并施行, 以后多版更新^[10]; 中国临床肿瘤学会

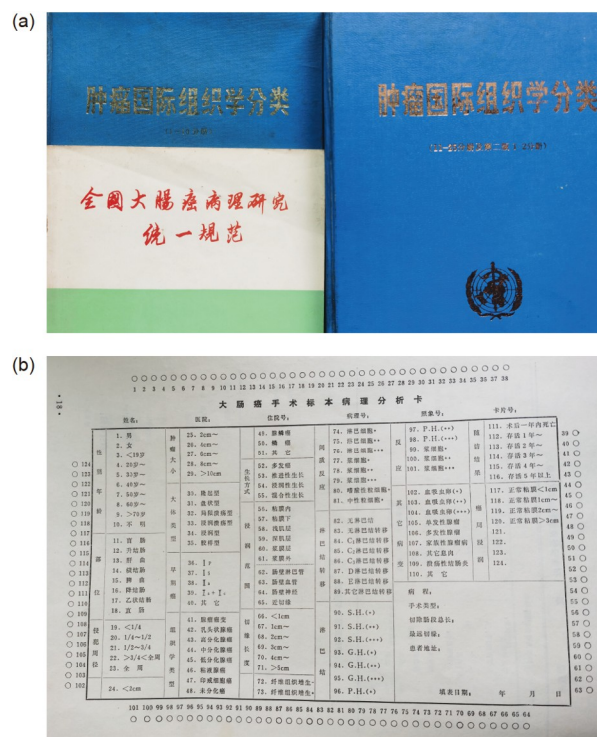


图1 WHO肿瘤病理组织学分类、大肠癌病理研究统一规范(a)和大肠癌手术标本病理分析卡(b)

Figure 1 WHO histological classification of tumor pathology, uniform norms for the pathological study of colorectal cancer (a); pathological analysis card for surgical specimens of colorectal cancer (b)

(Chinese society of clinical oncology, CSCO)于2016年在上海发布“结直肠癌诊断规范”, 由人民卫生出版社正式出版, 并每年更新^[11], 2017年中华医学会病理学分会、中国抗癌协会肿瘤病理专业委员会组织编写了10种肿瘤病理诊断标准, 结直肠癌也列入10种常见肿瘤, 在《中华病理学杂志》陆续发表^[12]. 上述这些工作对规范我国结直肠癌的病理诊断发挥了很好的引领作用. WHO对于结直肠癌分类的内容基本稳定, 国内的规范依据WHO分类, 结合我国实际情况修改而成. 第1版将结直肠癌分类为腺癌、黏液腺癌、印戒细胞癌、鳞状细胞癌、腺鳞癌、未分化癌和未分类癌. 表1对WHO结直肠癌组织病理学分类的变迁进行了总结. 基本的5个组织学类型的形态典型, 在5个版次中名称保持不变, 而且占了所有结直肠癌的绝大多数. 表格中名称的变化主要来自未分化癌. 未分类癌从第2版开始停止使用. 2000年版后出现的组织学新类型目前只有病理形态学特征, 且病例数较少, 加上其病理诊断暂不能指导治疗, 因此在临床上价值有限. 随着现代分子生物学技术的应用, 越来越多的分子亚型被鉴定, 患者可以接受

表 1 WHO结直肠癌组织病理学分类的变迁

Table 1 Changes in the WHO histopathological classification of colorectal cancers

相同的类型	变化的类型				
	1976版	1989版	2000版	2010版	2019版
腺癌	未分化癌	小细胞癌	小细胞癌	绸带粉刺癌	髓样癌
黏液腺癌	未分类癌	未分化癌	髓样癌	髓样癌	锯齿状腺癌
印戒细胞癌			未分化癌	微乳头癌	腺瘤样癌
鳞状细胞癌				锯齿状腺癌	黏附性差癌
腺鳞癌				梭形细胞癌	伴有肉瘤样成分的癌
				未分化癌	未分化癌(非特殊类型)

有效靶向药物的个体化治疗。分子医学的发展使传统病理组织学亚型的诊断价值逐渐弱化。

迄今为止, TNM (tumor node metastasis)分期仍然是评估结直肠癌预后的最有效指标。但因TNM中部分参数的诊断标准难以把握或在不同指南/共识中标准不统一, 临床应用存在一定的主观性; 另外, 仅依据TNM分期, 部分结直肠癌术后患者无法获得最佳的复发和/或转移风险分层; 处于同一疾病阶段的患者临床行为可能存在显著差异等, 因此临床和病理都在寻求更多的预后新指标并取得了一定的成绩, 如肿瘤沉积、肿瘤芽(tumor budding, TB)、低分化细胞簇(poorly differentiated cluster, PDC)等, 这些参数具有一定的预后分层及指导后续治疗的作用。基于此, 在手术切除标本的组织病理学报告中, 要确定肿瘤病变部位、肿瘤大小、大体类型、组织学类型、组织学分级和/或分化程度、浸润深度、脉管和神经侵犯、肿瘤芽和低分化细胞簇、切缘(两侧切缘和环周切缘)、淋巴结检出数(要求多于12个); 如肿瘤有穿孔需描述; 直肠癌全系膜切除术(total mesorectal excision, TME)标本, 需描述系膜的完整性; 如果术前接受过新辅助化疗, 术后标本要对其退缩进行评估; 最后要给出TNM分期。对所有新诊断的结直肠癌都要求检测并准确报告错配修复(mismatch repair, MMR)蛋白(MLH1、PMS2、MSH2、MSH6)表达和/或微卫星不稳定情况。确定为复发和/或转移性结直肠癌时, 还必须检测并报告*Kras*、*Nras*及*Braf*基因突变情况(具体见下文)。

内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)/内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)微创手术标本的病理诊断是近年重视的内容。ESD是21世纪初日本医生在食管、胃和结直肠病变治疗取得经验后推广的。病理学评估指标主要依据

经典病理学共识性结论和先期临床研究结果来确定, 特别是黏膜下浸润深度的确定和肿瘤芽作为指标的加入^[13~15]。因此中国和欧美相关临床和病理共识主要是基于日本共识来修改而成。结直肠癌如行内镜下切除或局部切除必须满足如下要求: (1) 肿瘤直径<3 cm; (2) 肿瘤侵犯肠周<30%; (3) 切缘距离肿瘤≥1 mm; (4) 活动, 不固定; (5) 仅适用于T1期肿瘤; (6) 高-中分化; (7) 治疗前影像学检查无淋巴结转移的征象; (8) 肿瘤出芽G1^[16]。因ESD/EMR切除深度仅限于黏膜下, 且不进行淋巴结清扫, 因此这些标本的病理学评估显得非常重要。如为穿透黏膜肌层浸润到黏膜下层的浸润性癌, 我们需要评估组织学分型、分级、黏膜下层浸润深度(具体数值, 精确到μm)、脉管侵犯、神经侵犯、肿瘤出芽分级(G1、G2、G3)、水平切缘及垂直切缘情况, 同时推荐检测MMR蛋白表达和/或微卫星不稳定情况。若癌具有3级或4级分化、黏膜下层深层浸润(≥1000 μm)、脉管侵犯、基底切缘阳性, 肿瘤出芽分级为“高级别(G2、G3)”等高危因素, 临床需考虑再行外科手术。肿瘤距电灼切缘<1 mm, 水平切缘可见腺瘤(或低级别异型增生)时, 切缘认定为阴性, 但需标注。要注意的是, 浸润深度是否为内镜切除术后追加外科手术的高危因素, 以及如何测量在不同国家的共识/指南以及国内不同的规范/共识中存在分歧。当然临床的处理要考虑病人的总体情况和医生的技术水平^[17~20]。一般推荐使用日本结直肠癌协会(Japanese society for cancer of the colon and rectum, JSCCR)2019版标准^[21]。这类标本要取得准确、规范的评估信息, 切除标本的完整性、及时符合要求的摊平和固定是保证正确评估的基础, 标本没有处理好, 病理医生无法给出正确的评估, 因此需要内镜医生和病理医生的密切配合^[22]。目前我国已有大量的病例需要合作并获得完整随访数

据的分析结果, 来进一步指导临床治疗.

2 分子发生机制及临床应用

结直肠癌分子机制研究曾经是所有实体瘤研究中最领先的, 以1990年Vogelstein团队提出的结直肠癌多阶段、多基因突变模式为标志. 以后其他肿瘤的发生机制理论大多参照结直肠癌模型的基本思路. 结直肠癌模型最早于1988年以“Genetic alterations during colorectal tumor development”为题发表于*The New England Journal of Medicine (NEJM)*, 对结肠癌发生不同阶段的分子改变进行了描述^[23]. 1990年在*Cell*上发表的一篇Review提出了结直肠癌发生的模型, 成为经典之作, 为广大肿瘤学工作者所接受并广泛引用^[24]. 由于遗传性结直肠癌研究的进展, Vogelstein团队^[25]对1990年的模型进行了补充, 加入了错配修复缺陷(mismatch repair deficiency, dMMR). 该模型迄今仍然为大家所接受, 但由于历史的局限性以及研究人员背景的局限性, 存在一些并不完全符合病变实际发展过程的问题, 如将腺瘤分为早期、中期和后期腺瘤, 把直径大于1 cm、有癌变的腺瘤定为后期腺瘤本身就不符合腺瘤发生的过程和机制. 从病理学角度, 腺瘤癌变应该是腺瘤的一小部分, 腺瘤与癌变组织的分子遗传学改变和生物学行为不同. 如能用微切割组织进行突变谱分析, 将可以提

供更为准确的信息^[26]. 目前, 我们认为结直肠癌病变组织在苏木精-伊红染色(hematoxylin and eosin staining, HE staining)形态学上的改变已呈现明确的癌结构特征, 侵犯不超过黏膜肌层, 不会发生转移, 因此定义结直肠癌必须是癌组织浸润超过黏膜肌层, 而限制在黏膜肌层以内的癌组织定义为高级别上皮内瘤变^[7,27,28]. 肿瘤的发生并非是线性的, 而是螺旋式的. 为了用简单的图进行说明, 作者用了不同阶段发生的基因突变的线性模型, 但明确表示肿瘤的发生并非是基因突变的顺序, 而是基因突变的累积^[24]. 在1990年的模型中, 结直肠癌由于其他基因的突变, 引起肿瘤的转移. 目前我们认为, 结直肠癌肝转移, 并没有转移驱动基因的存在, 很可能是肿瘤的表现遗传学改变和免疫微环境的综合改变触发肿瘤转移^[29-32]. 另外, 正常黏膜如何转变成为腺瘤, 还未有明确报道. 基于Vogelstein模型以及近年的进展, 结直肠癌发生途径可以归纳如图2.

通过Lokuhetty等人^[9]提出的模型及其他相关工作的发表, 结直肠癌发生相关的主要基因改变已基本清晰, 因此后期广泛开展了微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI), *Kras*突变和*Braf*突变的检测和临床应用(表2). 依据基因组分子特征和发生机制, 结直肠癌可以分为3型: 高突变型(占13%)、超突变型(占3%)和非高突变型(染色体不稳定型, 占84%). 高突变型绝大多

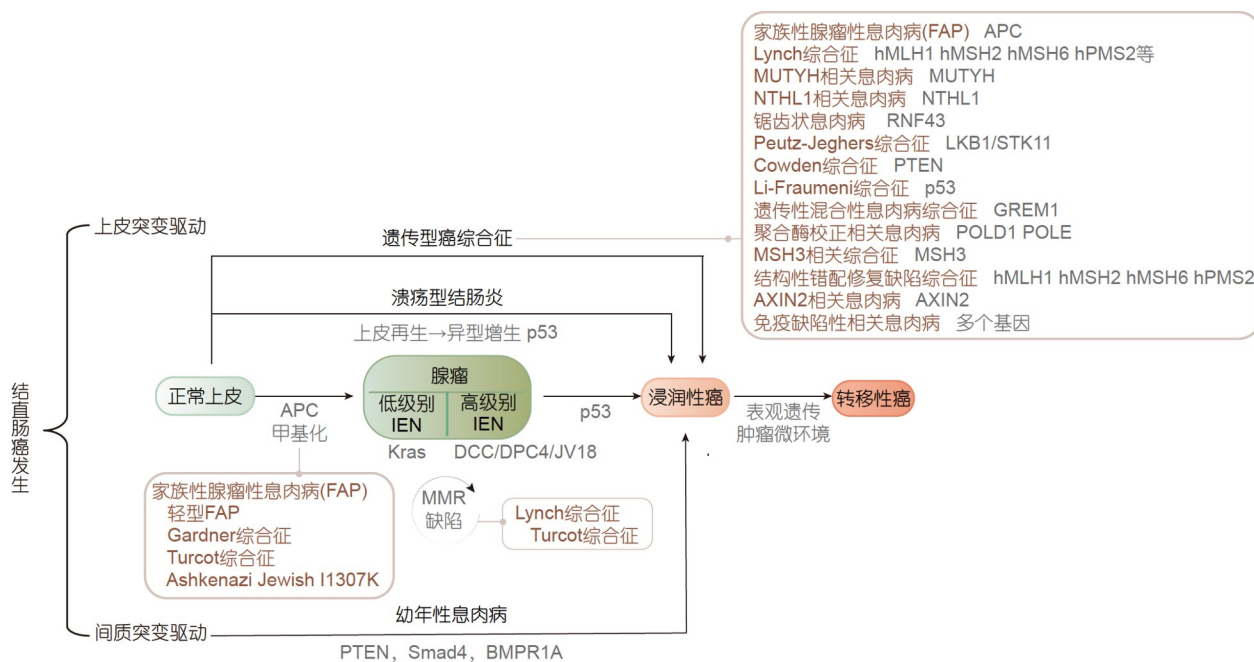


图2 结直肠癌发生模式图

Figure 2 Diagram of colorectal cancer tumorigenesis

表 2 结直肠癌突变基因和体细胞拷贝数目变异的频率^{a)}**Table 2** Frequency of mutant genes and somatic copy number variations in colorectal cancer

结直肠癌发生机制	超突变和高突变型(%)	非高突变型(%)
突变的基因及频率	<i>ACVR2A</i> (60)	<i>APC</i> (80)
	<i>APC</i> (50)	<i>TP53</i> (60)
	<i>TGFBR2</i> (50)	<i>KRAS</i> (45)
	<i>BRAF</i> (45)	<i>TTN</i> (30)
	<i>MSH3</i> (40)	<i>PIK3CA</i> (20)
	<i>MSH6</i> (40)	<i>FBXW7</i> (10)
	<i>MYO1B</i> (30)	<i>SMAD4</i> (10)
	<i>TCF7L2</i> (30)	<i>NRAS</i> (10)
	<i>CASP8</i> (30)	<i>TCF7L2</i> (10)
	<i>CDC27</i> (30)	<i>AMER1</i> (7)
	<i>FZD3</i> (30)	<i>SMAD2</i> (5)
	<i>MIER3</i> (30)	<i>CTNNB1</i> (5)
	<i>TCERG1</i> (30)	
	<i>MAP7</i> (25)	
	<i>PTPN12</i> (25)	
	<i>TP53</i> (20)	
体细胞拷贝数变异 (SCNAs)	在高突变癌, SCNAs频率明显低于非高突变癌, 但影响的染色体臂没有不同	
	获得: 1q, 7p, 7q, 8q, 12q, 13q, 19q, 20p, 20q 丢失: 1p, 4q, 5q, 8p, 14q, 15q, 17p(包括p53), 17q, 18p, 18q(包括SMAD4), 20p, 20q	

a) 数据来自TCGA (The Cancer Genome Atlas); SCNAs (somatic copy number alterations)

数是高频微卫星不稳定(microsatellite instability-high, MSI-H)和CpG岛甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP); 超突变型约占3%, 表现为基因组极高的突变率, 其突变大多为C→A的颠换, 机制是由于DNA修复酶POLE (罕由POLDI突变引起)外切酶结构域的突变所引起. 基于转录组学改变, 提出了结直肠癌共识分子分型(consensus molecular subtype, CMS). CMS可分5个类型. CMS1, 又称MSI-免疫型, 占14%, 具有高突变率, MSI-H, 因此具有高的免疫原性, 有较多的免疫细胞浸润, 对免疫治疗有效; CMS2, 又称经典型, 占31%. 对抗EGFR治疗有效, 预后好; CMS3, 又称代谢型, 占13%, 有Kras突变, 呈现代谢改变; CMS4, 又称间质型, 占23%, 有丰富的间质, TGFβ信号通路活化, 预后最差; 混合型, 占13%, 不能归入上述4型, 具有其他类型的特征. 由于mRNA的不稳定性, 基于转录组学结果的分型(CMS)很难实际应用^[33-35]. 2024版美国国家综合癌症网络(national comprehensive cancer network, NCCN)明确, POLE/POLDI突变可以作为与dMMR/

MSI等同的指标, 病人可接受免疫治疗^[36]. 已有报道, POLE/POLDI突变的病例, 女性、左半结肠多见, 80%为单纯腺癌, 14%伴有黏液特征^[37,38]. 但总体病例少, 还未明确该组病例的特征. Guo等人^[39]报道, 两组病例发生高突变/超突变的机制和免疫状态并不完全相同. dMMR/MSI-H高突变主要由插入和缺失(insertions and deletion, indel)所引起, 而POLE/POLDI超突变由非同义单核苷酸变异(non-synonymous single nucleotide variation, nsSNV)所引起. 尽管都有新抗原的增加, dMMR/MSI-H以刺激T细胞为主, 而POLE/POLDI病人肿瘤组织样本分析, 总的来说呈现相对静止的免疫表型. 在临床高突变负荷的肿瘤中3/4是由dMMR/MSI-H引起, 1/4是微卫星稳定(microsatellite stability, MSS)肿瘤伴有POLE/POLDI突变引起^[40].

1993年Thibodeau等人^[41]在Lynch综合征中证实MSI的存在, 并明确MSI与结直肠癌发生相关. 后来作为一个免疫治疗的相关标志物再次受到学界的重视^[42,43]. 肿瘤的MSI指的是肿瘤组织与相应(同一个体)的非肿瘤组织DNA结构性等位基因的大小发生改变^[44], 在Lynch综合征中非常明确, 由于MMR基因的突变, 引起MSI而发生结直肠癌. 目前明确的主要的MMR基因有MLH1、PMS2、MSH2和MSH6, 当这些基因其中之一发生突变, 就会出现MSI和相应的蛋白表达缺失(绝大多数). MMR基因改变是本质, MSI或相应的蛋白表达缺失是表型. 另外, 在散发性结直肠癌, 由于MLH1启动子区的甲基化, 基因转录静止, 引起MMR功能缺陷从而导致结直肠癌.

微卫星不稳定性的检测, 早先用聚丙烯酰胺凝胶电泳-银染方法确定, 但该法操作复杂, 重复性不够高, 且对操作人员有较高的技术要求, 随后被测序方法所取代^[45-49]. 根据国际合作组织的推荐, 用Bat25、Bat26、D5S346、D2S123、D17S250等5个位点检测肿瘤, 2或2个以上位点改变, 就确定为MSI-H, 1个位点改变确定为低频微卫星不稳定(microsatellite instability-low, MSI-L), 5个位点都没有改变, 确定为微卫星稳定(microsatellite instability-stable, MSS). 之后也有检测1个位点和比较多的位点来确定微卫星不稳定性的探索, 从简便易行和可靠性两个角度, 大多数学者接受上述5个位点判断微卫星不稳定性. 从临床价值出发, 将MSI-L和MSS归纳为一类, 简化认同为微卫星稳定^[50]. 实际工作中国内多数病理科用4个MMR蛋白免疫组织化学染色来确定是否存在微卫星不稳定性, 4个蛋白中有1

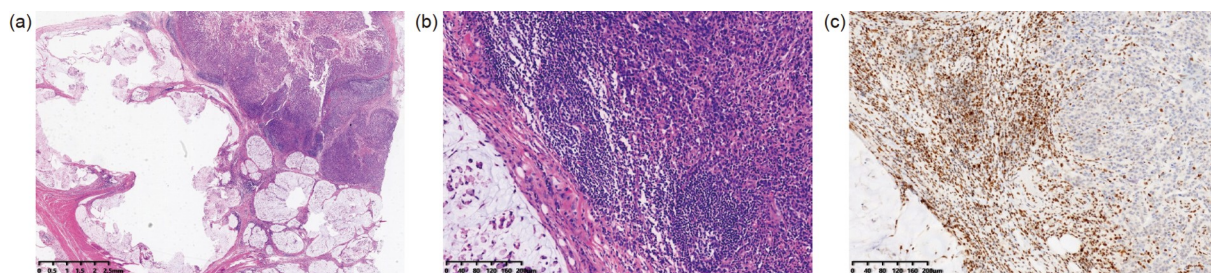


图3 MSI-H结直肠癌的病理学特征。(a) 印戒细胞癌周围有Crohn样反应; (b)为(a)的局部放大图; (c) 该例MLH1免疫组织化学染色, 癌细胞阴性而周围淋巴细胞阳性

Figure 3 Pathologic features of MSI-H colorectal cancer. (a) Crohn-like reaction around signet ring cell carcinoma; (b) localized magnification of (a); (c) immunohistochemical staining of MLH1 in this case, which was negative for carcinoma cells and positive for surrounding lymphocytes

个缺失,就可对应为dMMR/MSI-H。通过统一样本5个位点测序和4个蛋白免疫组织化学染色判断,两者确定MSI的一致性在95%以上,从此临床实际工作基本上用免疫组织化学方法来确定MSI-H^[51,52]。免疫组织化学方法简便可靠,但需要有稳定和有责任心的病理医生来判读,内部质控数据分析表明,不固定判读医生的病理科准确性明显下降。MSI-H肿瘤在病理学上有特征性,大多发生于近端结肠、低分化或产生黏液、肿瘤间质中常有多量淋巴细胞浸润,可见Crohn样反应(图3)。从经典病理学认识,低分化腺癌、黏液腺癌和印戒细胞癌等类型的预后比普通管状腺癌差,但这类MSI-H的肿瘤预后较好,这种经典认识与现实表现之间的矛盾一直没有得到很好的解释。病理医生从形态学上看到了较多免疫细胞的浸润^[34],可能与此有关,但无法给予合理的解释。MSI-H病人接受免疫检查点抑制剂治疗有效,表明这类肿瘤的免疫微环境决定了病人的预后。按TNM分期分析,MSI-H亚型在II期占20%,在III、IV期分别约占12%、4%。II期MSI-H病人预后好,III期病人的预后意义尚不明确。

MSI检测除了可以判断病人的预后外,还有其他的临床意义。MSI-H肿瘤不能从氟尿嘧啶(flourouracil, 5-Fu)治疗中获益,特别是II期MSI-H患者术后用5-Fu非但没有帮助,反而会影响生存,因此MSI-H肿瘤病人不能单用5-Fu^[53]。5-Fu对消化道肿瘤有效,毒性有限,临床上一直在使用。因此如果与其他药物联合应用可以接受。MSI-H肿瘤对抗PD1/PDL1治疗有效,MSI检测结果可作为能否接受免疫治疗的生物标志物之一。但值得注意的是MSI-H肿瘤接受治疗的有效率为30%~40%,且有少部分病例治疗以后出现超进展^[42,54,55]。尽管目前临床指南明确,抗PD1/PDL1可以作为MSI-H肿瘤的一线方案,但存在超进展的现实可能性。

*Kras*基因产物是三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)结合蛋白,是细胞信号传导的重要偶联因子。细胞生长因子信号传入,通过MAPK途径实现对细胞生长的调控,且还与血管新生和耐药等功能改变相关。*Kras*基因突变,在腺瘤形成阶段即已存在,参与了腺瘤的形成,有报道>1 cm的腺瘤,*Kras*基因突变率在50%以上,而<1 cm的腺瘤,突变率低于10%。在结直肠癌中*Kras*基因突变率在30%~45%,其中第二外显子的12、13密码子突变占了95%。突变密码子的碱基替换不同,对肿瘤的影响有差异,且靶向药物治疗的机会也不同^[23]。

*Kras*有无突变的临床意义在于接受抗EGFR抗体治疗(西妥昔单抗和帕尼单抗)治疗反应不同,*Kras*野生型的肿瘤抗体治疗有效,而*Kras*基因突变的肿瘤抗体治疗无效。当然即使是*Kras*野生型的肿瘤抗体治疗的有效率也只有40%左右。因此生物标志物检测对这类肿瘤进行分层很有价值。后期大量研究表明,除了*Kras*第二外显子的12、13密码子突变,对抗体治疗有影响外,其他位点的突变以及*Nras*基因突变对抗体治疗都有影响。因此临床样本检测时,*Kras*和*Nras*的突变要同时检测(第2、3、4外显子的12、13、59、61、117和146密码子)^[51]。

以往学界大量研究后认为,突变RAS蛋白的结构是不能开发新药的(undruggable),但经科学家努力,针对*Kras* G12C的首款药物已于2021年经FDA批准上市。此后又有其他几款药物上市。尽管针对特定碱基替换的突变的Ras蛋白,如Sotorasib针对*Kras* G12C,但这个药物在非小细胞性肺癌,胰腺癌和结直肠癌的疗效并不完全相同,需要积累更多的临床数据,包括联合治疗方案^[56-59]。针对RAS突变的更多药物还将陆续上市,其临床价值值得期待。

*Ras*基因突变的预后意义也已得到肯定。我们的研究证明,野生型结直肠癌预后好于突变型的病人,在MSS病人中*Ras*突变的预后意义在左半和右半结肠有差异。在右半结肠,*Raf*野生型的病人,*Ras*基因突变与不突变,总生存(overall survival, OS)没有差异,而在左半结肠,*Raf*野生型病人,*Ras*野生型的病人预后明显好于*Ras*突变型的病人。另外有报道对术前化疗的反应(原发灶和肝转移灶),野生型病人好于突变型的病人^[60-66]。*Ras*野生型的病人诊断后,用非甾体抗炎药,病人的总生存延长,而有*Ras*突变的病人没有这个效用^[67]。*Ras*基因突变对结肠癌的总体影响是一个复杂的问题,有待更多完整数据的整合评价。

*Raf*基因在信号通路中正好位于*Ras*的下游,理论上讲,在*Ras*野生型的肿瘤,*Raf*突变的效应类似于*Ras*突变(*Raf*野生型)的肿瘤。因此对抗EGFR抗体的治疗也有抵抗作用。*Braf*突变是一个很好的预后指标,突变的病人预后差,这部分病人往往较早就有广泛转移,常规的化疗效果欠佳,已有报道2或3个靶向药(*Braf* V600E突变抑制剂Encorafenib和西妥昔单抗Cetuximab,加或不加MEK抑制剂Binimetinib)联合应用可以作为一种选择^[11]。*Braf*突变在整个结直肠癌群体中<10%(一般在7%~9%),在结直肠癌的鉴别分型上也有价值,MSI-H病人(*MLH1*缺失),如果有*Braf*的突变(V600E),或者*Braf*野生型,*MLH1*启动子有甲基化,就可以确定为散发性病例,其他野生型(*MLH1*启动子没有甲基化)就可以确定为Lynch综合征病人^[52,68]。

其他一些基因改变目前认为也有一定的临床价值。*PIK3CA*突变预后差,也不适合用抗EGFR的抗体;*cMet*的各类基因改变的病人可以用cMET的抑制剂;*HER2*阳性的病人对抗HER2靶向治疗有效;*ALK*阳性病人靶向药物有效;*NTRK*阳性病人对小分子抑制剂有效(拉罗替尼Larotrectinib,恩曲替尼Entrectinib)。

3 结直肠癌的分型

结直肠癌是一个解剖学名词,而不同肠段的结肠和直肠在胚胎发育、组织结构、生理学和血供上是不完全相同的。因此依据解剖部位不同,分不同类型的结直肠癌,对实施个体化治疗是有价值的。病理组织学分型可一定程度提示预后,但其价值有限,特别是分子检测的发展,缩窄了组织学分型的价值,分子分型逐渐走向前台。

左右半结直肠癌区分开来已成为学界共识。从预

后分析,左半结肠癌明显好于右半结肠癌。从临床治疗和预后角度,直肠癌与结肠癌治疗上有明显不同,预后上有差异。NCCN和国内临床指南,结肠癌和直肠癌是分列两部分来叙述的。因此从病人最大获益出发,应该区分左半、右半和直肠癌3个类型^[69]。在治疗上,左半结肠癌用西妥昔单抗治疗,在客观有效率和总生存率上均优于贝伐单抗;右半结肠癌贝伐单抗较西妥昔单抗治疗患者在总生存率上有优势。因此目前一般接受右半结肠癌可用贝伐单抗,而左半结肠癌可用西妥昔单抗。我们的数据分析发现,MSI-H肿瘤预后好,而左半与右半结肠的MSI-H肿瘤的预后没有统计差异,所以在MSI-H肿瘤的治疗方案上是否也不需要考虑左半和右半结肠癌的问题,值得进一步明确。

结直肠癌的分子分型已有很多文献,有代表性、讨论比较多的是TCGA分型和共识分子分型,从实用角度基于基因组改变可能更有价值^[33-35,70]。

4 结直肠癌转移

肿瘤转移是死亡的主要原因。结直肠癌诊断时40%肿瘤生长在局部(M_0),60%有远处转移(M_1)。当然随着体检和早筛的广泛开展,早期癌的比例在总病例中占比逐步增大。在40% M_0 病例中,25%是 N_0 ,15%是 N_1 ,这部分病人单纯手术切除或手术切除加辅助治疗预后较好。60% M_1 肿瘤,15%为同时转移,45%为异时转移,在远处转移中,50%~70%有肝转移,20%~50%有腹腔转移,10%~30%有肺转移,3%~5%有骨髓转移,1%有中枢神经系统转移(一个病人同时可能有几个部位的转移)^[71-74]。肝转移成为晚期结直肠癌治疗的关键问题。

肿瘤转移的机制迄今没有完全搞清楚。Paget的“种子和土壤学说”和Ewing的“机械和解剖学说”是最有代表性的,前者强调肿瘤转移的器官特异性,后者强调的是静脉回流路径。

目前大多认为肿瘤转移机制涉及两者的结合。肿瘤转移是一个多步骤的过程,现在有充分证据表明肿瘤细胞的上皮间质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT)-间质上皮转换(mesenchymal-epithelial transition, MET)在转移过程中发挥重要作用^[75,76]。结直肠癌肝转移起始于肿瘤浸润前缘的肿瘤芽细胞,这些细胞与肿瘤其他部分的癌细胞不同,具有明显的EMT特征,形态上呈梭形,分子标记*E-cadherin*的表达降低,*Vimentin*表达增高,许多转录因子如*Snail*, *Twist*, *Zeb1/2*等的表达增高。此时的细胞有游走和运动功能,这些带有

EMT特征的癌细胞进入脉管, 随循环到达肝脏, 在肝脏预先形成的转移前生态位(premetastasis niche, PMN)中滞留并完成MET的转化, 进而形成转移灶(图4)。癌细胞进入血流后, 可以与血小板等聚集, 形成大小不一的“癌栓”, 在这些团块中通过血小板脱颗粒释放相关因子, 继续促进癌细胞的EMT。病理形态上, 原发灶组织从中央到边缘, 特别是浸润前缘, 腺管结构消失, 似低分化, 分解出去的癌细胞形成PDC和肿瘤芽, 而到肝转移灶, 这些低分化细胞又分化形成腺管样结构和腺管结构。一般可以看到肝转移灶癌组织在形态上分化要好于原发灶。有关PMN的研究是近年的热点, 有许多新的研究成果, 但目前无法总结出有临床价值的规律。

从临床价值角度, 下述3个问题希望得到回答: 一是为什么会发生转移? 二是如何早期检测转移? 三是转移的最佳治疗方案是什么? 1990年, Vogelstein模型认为, 浸润性癌再发生特异性地转移相关基因的突变, 从而促进转移^[24]。我们团队和国际多个团队, 原发灶和

转移灶配对样本的全基因组测序和全外显子测序结果表明, 结直肠癌肝转移并不是由特定基因突变所驱动, 也就是说不存在转移驱动基因, 其他肿瘤转移研究也得出类似的结果。肿瘤的转移很可能是表观遗传改变和肿瘤微环境的改变综合效应的结果^[29]。Stanger团队^[77]2011年在*Cell*上发表设计严密的胰腺癌动物模型的研究, 结论认为EMT早在上皮内瘤变阶段(癌前)就已存在, 这些细胞可以离开原处, 经过血液循环到达远处器官并停留, 在条件合适时可以形成肿瘤。在人类肿瘤, 这一研究结果迄今没有得到证实, 部分原因可能是人不能像动物一样可以对这些细胞进行荧光标记, 并追踪其迁移轨迹。假如他们的研究结果在人类肿瘤的发展中也存在, 会颠覆我们对肿瘤发生和转移形成的理解。转移形成的早期检测, 还是依靠传统的影像学方法, 没有很好的特异性标志物。治疗方案也只是手术加辅助治疗, 在临床上的不断优化, 实施基于分子改变的个体化治疗。

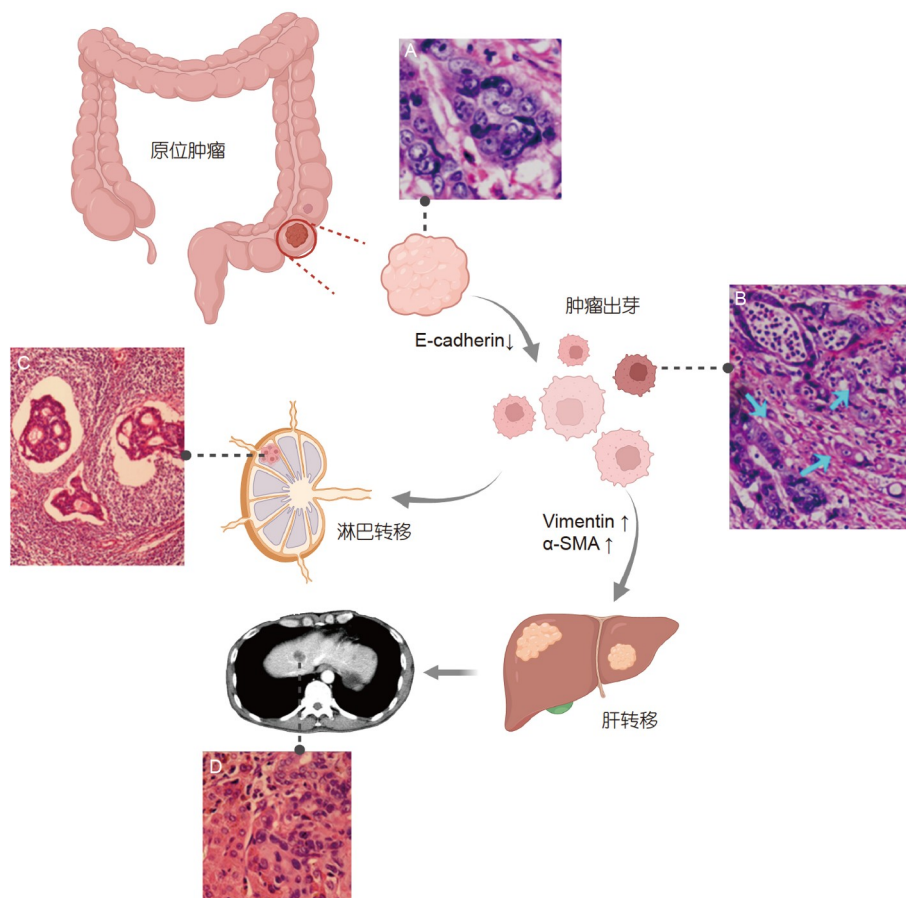


图4 结直肠癌转移发生的模式图

Figure 4 Diagram of colorectal cancer metastasis

5 结直肠癌的未来发展

分子病理学和智能病理学是病理学发展的两个主要方向^[78-80]，近年单细胞测序、类器官、ctDNA和AI辅助诊断技术应用的研究广泛开展。就结直肠癌分子病理学研究，重点在靶向治疗的进一步分层和新靶向治疗的靶向诊断方法的建立及临床使用，现阶段免疫治疗有效标志的寻找，解决MSI-H群体的分层问题，即免疫治疗有效标记和超进展标记，强调肿瘤间质微环境的研究。从获得更全面的信息，开展新标志物的发现，全基因组或者全外显子测序是必需的。芯片的目标序列捕获测序(大小panel)的二代测序只能满足临床治疗需求。结直肠肿瘤二代测序数据的充分挖掘和结果的临床验证，将为我们更好地实施个体化治疗提供方案。

单细胞测序的广泛开展为我们提供了肿瘤免疫微环境的信息。通过单细胞数据和肿瘤组织块的测序数据的整合分析，可以实现对肿瘤的分子分型，并可鉴定出CMS亚型的一些分子特征^[81]。空间转录组学结合代谢组学数据，可以分析肿瘤特定部位的代谢重编程，以及肿瘤治疗后的变化。空间转录组学为阐述肿瘤时空异质性提供了新的工具^[82]。从目前发表的大量工作看，单细胞测序大多数分析是围绕间质免疫微环境展开，没有很好解析肿瘤细胞异质性变化以及癌细胞与间质微环境的相互作用，且检测的是局部小样本，mRNA和代谢物的稳定性不高，结果的可重复性需要提升。单细胞测序目前的瓶颈是无法将研究结果与结果的临床价值联系起来。

病人来源的肿瘤类器官(patient-derived tumor organoid, PDTO)研究已广泛开展，认为这是一个结直肠癌临床前研究的理想模型^[83-86]。与传统的肿瘤细胞系研究不同，类器官基本上保留了其原始肿瘤的遗传变异特性和转录组学特性，因此比较好地反映了原始肿瘤的生物行为和治疗反应。与病人来源的肿瘤移植瘤模型(patient-derived tumor xenografts, PDXs)不同，类器官模型成功率高，耗时少，费用相对低。类器官可用于高通量药物筛选、研究基因与药物的相互作用、药物和放疗敏感性预测以及病人个体化治疗的设计。类器官可以冷冻保存，为病人最终治疗失败后探索新的治疗方案提供样本。通过类器官建立病人“活的生物银行”(living biobank)为开展系列研究提供条件。当然类器官研究有其局限性，特别是类器官间质微环境的

构成并不能完全模拟原始肿瘤的微环境，其间质细胞、血管内皮细胞和免疫细胞等构成会有较大差异。另外，原始肿瘤组织获取，特别是肿瘤中活细胞的量、培养的时间和费用也都是要考虑的问题。

细胞的核酸片段，通过被动或主动的方式释放到人的各种体液，这种无细胞DNA(cell free DNA, cfDNA)可以作为我们研究的对象。来自肿瘤细胞的这种DNA成为ctDNA(circulating tumor DNA)。系列研究证明，ctDNA可以用来确定手术后微小残留疾病(病灶)(minimal residual disease, MRD)或称分子残留疾病(病灶)(molecular residual disease, MRD)，可以监测辅助化疗的有效性和治疗后复发。ctDNA检测作为人群肿瘤筛查的指标也引起人们极大的兴趣^[87,88]。在临床上，ctDNA阳性病人较阴性病人预后差，治疗前浓度高者较浓度低者预后差已被多组大样本研究所证实^[88]。Tie等人^[89]依据ctDNA来指导Ⅱ期结直肠癌是否接受术后辅助化疗，表明在不改变复发风险的前提下，可减少ctDNA阴性病人接受化疗的数量。ctDNA检测国内主要还在临床试验中试用，还未作为一个常规检测方法用于指导临床治疗，但未来肯定将服务于肿瘤的动态治疗(dynamic therapeutics)^[90]。当然还有一些技术问题需要进一步解决，如原发肿瘤与ctDNA结果的不一致性，各种检测平台影响检测结果的可靠性等。临床上ctDNA阳性，而影像学阴性是否接受辅助治疗还有不同意见。从目前看，ctDNA有应用前景的是纵向动态评估循环肿瘤负荷的变化。

智能病理学研究为结直肠癌病理学开拓了新的领域。AI在结直肠癌临床诊治的转化研究主要涉及内镜诊断的辅助、活检标本的诊断和预后分析等^[91-93]。数字切片(whole slide image, WSI)能提示分子改变，通过不同的算法来发现数字标记(digital biomarkers)从而来预测预后。Kather等人^[94]的工作最为有代表性，通过WSI的深度学习方法预测病例的微卫星不稳定状态。此后有许多团队开展该方面的研究，2023年Wagner团队，通过多中心，13000余例结直肠癌，AI预测MSI敏感性达99%，阴性预测值达99%，已达到可实际应用的阶段^[95]。理论上讲，可以对基因突变状态、不同的分子类型实现预测，但需要足够数量病例样本来训练。AI技术最终的临床常规应用将大大提高工作效率并降低医疗成本。WSI分析从监督学习、弱监督学习和无监督学习，进入了大模型时代，发展速度超过了学者的预测^[96-100]。目前已到WSI输入大模型可以描述病理形态

和病理诊断的阶段。基于海量WSI学习的基础模型,结合专科知识库的新一代大模型会是近期发展的重点^[101~103]。AI辅助诊治的研究工作和医疗产品值得期待。

五十年结直肠癌病理学发展适应了临床诊治的要求,研究成果引导个体化治疗。现在中国病理的人力资

源和设备完全具备更好的开展分子诊断,服务于临床,造福于病患,但学科的发展还受制于管理上的重视和费用的医保政策。同样,智能病理的研发和落地很大程度上取决于多学科专家的通力合作,希望通过病理人的努力,发展环境的支撑,未来结直肠癌病理的发展能引领世界。

参考文献

- 1 Zhou X, Hu M, Li Z S, et al. Colorectal cancer in the world and China in 2020: An analysis of epidemic status (in Chinese). *Acad J Naval Med Univ*, 2022, 43: 1356–1364 [周雄, 胡明, 李子帅, 等. 2020年全球及中国结直肠癌流行状况分析. *海军军医大学学报*, 2022, 43: 1356–1364]
- 2 Zeng H, Chen W, Zheng R, et al. Changing cancer survival in China during 2003–15: A pooled analysis of 17 population-based cancer registries. *Lancet Glob Health*, 2018, 6: e555–e567
- 3 Tamakoshi A, Nakamura K, Ukawa S, et al. Characteristics and prognosis of Japanese colorectal cancer patients: The BioBank Japan Project. *J Epidemiol*, 2017, 27: S36–S42
- 4 Siegel R L, Wagle N S, Cercek A, et al. Colorectal cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin*, 2023, 73: 233–254
- 5 Morson B C, Sobin L H. *Histological Typing of Intestinal Tumours*. Geneva: World Health Organization, 1976
- 6 Jass J R, Sobin L H. *Histological Typing of Intestinal Tumours*. Berlin: Springer, 1989
- 7 Aaltonen L A, Hamilton S R. *Pathology and Genetics of Tumours of The Digestive System*. Lyon: IARC press, 2000
- 8 Bosman F T. *WHO Classification of Tumours of The Digestive System*. Lyon: IARC press, 2010
- 9 Lokuhetty D, White V A, Watanabe R, et al. *Digestive System Tumours*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2019
- 10 Ministry of Health, Department of Medical Affairs. Colorectal cancer diagnosis and treatment standard (2010 edition) (in Chinese). *Chin J Front Med Sci (Electron Ed)*, 2011, 3: 130–146 [卫生部医政司. 结直肠癌诊疗规范(2010年版). *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2011, 3: 130–146]
- 11 Guidelines Working Committee of the Chinese Society of Clinical Oncology. *Colorectal Cancer Diagnosis and Treatment Guidelines 2024* (in Chinese). Beijing: People's Health Publishing House, 2023 [中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 结直肠癌诊疗指南2024. 北京: 人民卫生出版社, 2023]
- 12 Han J A, Huang Y, Lai M D. Standardization for diagnostic tumor pathology: Colorectal cancer (in Chinese). *Chin J Pathol*, 2016, 45: 822–824 [韩安家, 黄艳, 来茂德. 肿瘤病理诊断规范(结直肠癌). *中华病理学杂志*, 2016, 45: 822–824]
- 13 Shaukat A, Kaltenbach T, Dominitz J A, et al. Endoscopic recognition and management strategies for malignant colorectal polyps: recommendations of the US multi-society task force on colorectal cancer. *Am J Gastroenterol*, 2020, 115: 1751–1767
- 14 Watanabe T, Itabashi M, Shimada Y, et al. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) Guidelines 2014 for treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol*, 2015, 20: 207–239
- 15 Haddad T S, Lugli A, Aherne S, et al. Improving tumor budding reporting in colorectal cancer: A Delphi consensus study. *Virchows Arch*, 2021, 479: 459–469
- 16 National Health Commission of the People's Republic of China, Chinese Society of Oncology. Chinese protocol of diagnosis and treatment of colorectal cancer (2023 edition) (in Chinese). *Chin J Surg*, 2023, 61: 617–644 [中华人民共和国国家卫生健康委员会, 中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2023年版). *中华外科杂志*, 2023, 61: 617–644]
- 17 Bronswijk M, Rasschaert G, Hayashi Y, et al. Colorectal endoscopic submucosal dissection: A review on patient selection and indications. *AGEB*, 2023, 86: 36–46
- 18 Groth S, Seewald S. Endoskopische prävention von darmkrebs – Detektion, therapie und kontrollintervalle. *Therapeutische Umschau*, 2018, 75: 583–591
- 19 Takezawa T, Hayashi Y, Shinozaki S, et al. The pocket-creation method facilitates colonic endoscopic submucosal dissection (with video). *Gastrointest Endosc*, 2019, 89: 1045–1053
- 20 Thorlacius H, Rönnow C F, Toth E. European experience of colorectal endoscopic submucosal dissection: A systematic review of clinical efficacy and safety. *Acta Oncol*, 2019, 58: S10–S14
- 21 Hashiguchi Y, Muro K, Saito Y, et al. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2019 for the treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol*, 2020, 25: 1–42
- 22 Gastropathology Group of Chinese Society of Pathology, Pathological Technical Expert Group, Medical Technician Committee of Chinese Medical Doctor Association, Standardization Department of China Association of Pathology Equipment, et al. Expert consensus on sample

- processing of endoscopic submucosal dissection(ESD)/endoscopic mucosal resection (EMR) (in Chinese). *Chin J Pathol*, 2023, 52: 989–994 [中华医学会病理学分会消化病理学组, 中国医师协会医学技师委员会病理技术专家组, 中国医学装备协会病理装备分会标准化部, 等. 内镜黏膜下剥离术/内镜粘膜切除术标本常规制片专家共识. *中华病理学杂志*, 2023, 52: 989–994]
- 23 Vogelstein B, Fearon E R, Hamilton S R, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*, 1988, 319: 525–532
 - 24 Fearon E R, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 1990, 61: 759–767
 - 25 Kinzler K W, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell*, 1996, 87: 159–170
 - 26 Lai M D. Molecular mechanisms of colorectal carcinogenesis (in Chinese). *J Pract Oncol*, 2000, 15: 73–78 [来茂德. 大肠癌发生的分子机理. *实用肿瘤杂志*, 2000, 15: 73–78]
 - 27 Lai M D. Characteristics of the new WHO classification of colorectal tumors (in Chinese). *Chin J Pathol*, 2003, 32: 170–172 [来茂德. WHO新的结直肠肿瘤分类的特点. *中华病理学杂志*, 2003, 32: 170–172]
 - 28 Lai M D. Changes in the concept of early colorectal cancer (in Chinese). *Chin J Dig Endosc*, 2003, 20: 431–432 [来茂德. 结直肠癌早期病变概念的变更. *中华消化内镜杂志*, 2003, 20: 431–432]
 - 29 Sun W, Sun Q, Zhong A, et al. TP53 mutation is enriched in colorectal cancer liver metastasis in the context of polyclonal seeding. *Pathol Res Pract*, 2022, 236: 153958
 - 30 Brannon A R, Vakiani E, Sylvester B E, et al. Comparative sequencing analysis reveals high genomic concordance between matched primary and metastatic colorectal cancer lesions. *Genome Biol*, 2014, 15: 454
 - 31 Jesinghaus M, Wolf T, Pfarr N, et al. Distinctive spatiotemporal stability of somatic mutations in metastasized microsatellite-stable colorectal cancer. *Am J Surg Pathol*, 2015, 39: 1140–1147
 - 32 Reiter J G, Makohon-Moore A P, Gerold J M, et al. Minimal functional driver gene heterogeneity among untreated metastases. *Science*, 2018, 361: 1033–1037
 - 33 Muzny D M, Bainbridge M N, Chang K, et al. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*, 2012, 487: 330–337
 - 34 Müller M F, Ibrahim A E, Arends M J. Molecular pathological classification of colorectal cancer. *Virchows Arch*, 2016, 469: 125–134
 - 35 Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*, 2015, 21: 1350–1356
 - 36 NCCN. Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines). Colon Cancer, Version 1.2024. <https://www.nccn.org/patients/guidelines/content/PDF/colon-patient.pdf>
 - 37 De Souza A L P B. Finding the hot spot: Identifying immune sensitive gastrointestinal tumors. *Transl Gastroenterol Hepatol*, 2020, 5: 48
 - 38 Ahn S M, Ansari A A, Kim J, et al. The somatic POLE P286R mutation defines a unique subclass of colorectal cancer featuring hypermutation, representing a potential genomic biomarker for immunotherapy. *Oncotarget*, 2016, 7: 68638–68649
 - 39 Guo L, Wang Y, Yang W, et al. Molecular profiling provides clinical insights into targeted and immunotherapies as well as colorectal cancer prognosis. *Gastroenterology*, 2023, 165: 414–428.e7
 - 40 Bae J M, Yoo S Y, Kim J H, et al. Immune landscape and biomarkers for immuno-oncology in colorectal cancers. *J Pathol Transl Med*, 2020, 54: 351–360
 - 41 Thibodeau S N, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science*, 1993, 260: 816–819
 - 42 Le D T, Uram J N, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med*, 2015, 372: 2509–2520
 - 43 André T, Shiu K K, Kim T W, et al. Pembrolizumab in microsatellite-instability-high advanced colorectal cancer. *N Engl J Med*, 2020, 383: 2207–2218
 - 44 Lai M D. Microsatellite instability in human solid tumors (in Chinese). *Int J Genet*, 1999, 22: 306–312 [来茂德. 人实体瘤中的微卫星不稳定性. *国外医学遗传学分册*, 1999, 22: 306–312]
 - 45 Gao Y T, Lai M D. A silver staining method for detecting microsatellite instability (in Chinese). *J Clin Exp Pathol*, 1998, 2: 93–94 [高玉彤, 来茂德. 检测微卫星不稳定性银染色方法. *临床与实验病理学杂志*, 1998, 2: 93–94]
 - 46 Zhang Y W, Lai M D. False-positive analysis of microsatellite DNA-polymerase chain reaction-silver staining test results (in Chinese). *Chin J Pathol*, 1999, 28: 53–54 [张伟伟, 来茂德. 微卫星DNA-聚合酶链反应-银染色检测结果的假阳性分析. *中华病理学杂志*, 1999, 28: 53–54]
 - 47 Zhang Y W, Lai M D. Microsatellite alterations in the 9p21-22 region of human colorectal cancer tissues (in Chinese). *Chin J Pathol*, 1999, 28: 418–421 [张伟伟, 来茂德. 人结直肠癌组织9p21-22区微卫星改变的研究. *中华病理学杂志*, 1999, 28: 418–421]
 - 48 Huang Z D, Huang Q, Lai M D. Methods for microdissection PCR silver stain technique in paraffin-embedded tissue sections (in Chinese). *Chin J Med Genet*, 2000, 17: 429–431 [黄智达, 黄琼, 来茂德. 在石蜡切片中进行微切割-PCR-银染的方法. *中华医学遗传学杂志*, 2000, 17: 429–431]
 - 49 Pan F, Song K, Sheng H Q, et al. Common problems in microsatellite instability analysis by multiplex fluorescence PCR-capillary electrophoresis (in Chinese). *J Clin Exp Pathol*, 2008, 24: 619–624 [潘菲, 宋坤, 盛弘强, 等. 多重荧光PCR-毛细管电泳进行微卫星不稳定性分析中的常见问题. *临床与实验病理学杂志*, 2008, 24: 619–624]

- 50 Boland C R, Thibodeau S N, Hamilton S R, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: Development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*, 1998, 58: 5248–5257
- 51 Expert Consensus Writing Group on Molecular Biomarker Testing for Colorectal Cancer. Expert consensus on molecular biomarker testing for colorectal cancer (in Chinese). *Chin J Pathol*, 2018, 47: 237–240 [结直肠癌分子生物标志物检测专家共识编写组. 结直肠癌分子生物标志物检测专家共识. *中华病理学杂志*, 2018, 47: 237–240]
- 52 Rüschoff J, Schildhaus H U, Rüschoff J H, et al. Testing for deficient mismatch repair and microsatellite instability: A focused update. *Pathologie (Heidelb)*, 2023, 44: 61–70
- 53 Sargent D J, Marsoni S, Monges G, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol*, 2010, 28: 3219–3226
- 54 Champiat S, Derclé L, Ammari S, et al. Hyperprogressive disease is a new pattern of progression in cancer patients treated by anti-PD-1/PD-L1. *Clin Canc Res*, 2017, 23: 1920–1928
- 55 Guarini C, Todisco A, Tucci M, et al. Massive hyper-progression during anti-PD1 immunotherapy in a young patient with metastatic mucinous adenocarcinoma of the right colon: A case report and literature review. *Precis Canc Med*, 2021, 4: 30
- 56 de Langen A J, Johnson M L, Mazieres J, et al. Sotorasib versus docetaxel for previously treated non-small-cell lung cancer with KRASG12C mutation: A randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*, 2023, 401: 733–746
- 57 Hong D S, Fakih M G, Strickler J H, et al. KRAS^{G12C} inhibition with sotorasib in advanced solid tumors. *N Engl J Med*, 2020, 383: 1207–1217
- 58 Yaeger R, Weiss J, Pelster M S, et al. Adagrasib with or without cetuximab in colorectal cancer with mutated KRAS G12C. *N Engl J Med*, 2023, 388: 44–54
- 59 Fakih M G, Kopetz S, Kuboki Y, et al. Sotorasib for previously treated colorectal cancers with KRAS^{G12C} mutation (CodeBreak100): A prespecified analysis of a single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 2022, 23: 115–124
- 60 Mise Y, Zimmitti G, Shindoh J, et al. RAS mutations predict radiologic and pathologic response in patients treated with chemotherapy before resection of colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22: 834–842
- 61 Duldulao M P, Lee W, Nelson R A, et al. Mutations in specific codons of the KRAS oncogene are associated with variable resistance to neoadjuvant chemoradiation therapy in patients with rectal adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol*, 2013, 20: 2166–2171
- 62 Margonis G A, Kim Y, Sasaki K, et al. Activating KRAS mutation is prognostic only among patients who receive preoperative chemotherapy before resection of colorectal liver metastases. *J Surg Oncol*, 2016, 114: 361–367
- 63 Gollins S, West N, Sebag-Montefiore D, et al. Preoperative chemoradiation with capecitabine, irinotecan and cetuximab in rectal cancer: Significance of pre-treatment and post-resection RAS mutations. *Br J Canc*, 2017, 117: 1286–1294
- 64 Bonnot P E, Passot G. RAS mutation: Site of disease and recurrence pattern in colorectal cancer. *Chin Clin Oncol*, 2019, 8: 55
- 65 Gaedcke J, Grade M, Jung K, et al. KRAS and BRAF mutations in patients with rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Radiother Oncol*, 2010, 94: 76–81
- 66 Osumi H, Shinozaki E, Suenaga M, et al. RAS mutation is a prognostic biomarker in colorectal cancer patients with metastasectomy. *Int J Canc*, 2016, 139: 803–811
- 67 Hua X, Phipps A I, Burnett-Hartman A N, et al. Timing of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drug use among patients with colorectal cancer in relation to tumor markers and survival. *J Clin Oncol*, 2017, 35: 2806–2813
- 68 Grothey A, Fakih M, Tabernero J. Management of BRAF-mutant metastatic colorectal cancer: A review of treatment options and evidence-based guidelines. *Ann Oncol*, 2021, 32: 959–967
- 69 Li F, Lai M. Colorectal cancer, one entity or three. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2009, 10: 219–229
- 70 Woischke C, Michl M, Neumann J. Molekularpathologie kolorektaler karzinome. *Pathologie*, 2023, 44: 279–286
- 71 Michl M, Heinemann V, Jung A, et al. Expression of cancer stem cell markers in metastatic colorectal cancer correlates with liver metastasis, but not with metastasis to the central nervous system. *Pathol Res Pract*, 2015, 211: 601–609
- 72 Desch C E, Benson Iii A B, Somerfield M R, et al. Colorectal cancer surveillance: 2005 update of an American Society of Clinical Oncology Practice Guideline. *J Clin Oncol*, 2005, 23: 8512–8519
- 73 Hugen N, van de Velde C J H, de Wilt J H W, et al. Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype. *Ann Oncol*, 2014, 25: 651–657
- 74 Segelman J, Granath F, Holm T, et al. Incidence, prevalence and risk factors for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Br J Surg*, 2012, 99: 699–705
- 75 Portales F, Thézenas S, Samalin E, et al. Bone metastases in gastrointestinal cancer. *Clin Exp Metastasis*, 2015, 32: 7–14
- 76 Shin A E, Giancotti F G, Rustgi A K. Metastatic colorectal cancer: Mechanisms and emerging therapeutics. *Trends Pharmacol Sci*, 2023, 44: 222–236

- 77 Rhim A D, Mirek E T, Aiello N M, et al. EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation. *Cell*, 2012, 148: 349–361
- 78 Lai M D. Pathological diagnosis of colorectal cancer in the era of individualized treatment (in Chinese). *Chin J Pathol*, 2014, 43: 73–76 [来茂德. 个体化治疗时代的结直肠癌病理诊断. *中华病理学杂志*, 2014, 43: 73–76]
- 79 Lai M D. Current and future development of pathology in China (in Chinese). *Chin J Pathol*, 2012, 41: 1–3 [来茂德. 中国病理学发展的现状和未来. *中华病理学杂志*, 2012, 41: 1–3]
- 80 Xu Y, Tang Y, Yan W, et al. Current status and prospect of artificial intelligence in pathology (in Chinese). *Chin J Pathol*, 2017, 46: 593–595 [许燕, 汤烨, 闫雯, 等. 病理人工智能的现状和展望. *中华病理学杂志*, 2017, 46: 593–595]
- 81 Khaliq A M, Erdogan C, Kurt Z, et al. Refining colorectal cancer classification and clinical stratification through a single-cell atlas. *Genome Biol*, 2022, 23: 113
- 82 Wu Y, Yang S, Ma J, et al. Spatiotemporal immune landscape of colorectal cancer liver metastasis at single-cell level. *Canc Discov*, 2022, 12: 134–153
- 83 Lau H C H, Kranenburg O, Xiao H, et al. Organoid models of gastrointestinal cancers in basic and translational research. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17: 203–222
- 84 van de Wetering M, Francies H E, Francis J M, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients. *Cell*, 2015, 161: 933–945
- 85 Ji D B, Wu A W. Organoid in colorectal cancer: Progress and challenges. *Chin Med J*, 2020, 133: 1971–1977
- 86 Farin H F, Mosa M H, Ndreshkjana B, et al. Colorectal cancer organoid–stroma biobank allows subtype-specific assessment of individualized therapy responses. *Canc Discov*, 2023, 13: 2192–2211
- 87 Loft M, To Y H, Gibbs P, et al. Clinical application of circulating tumour DNA in colorectal cancer. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2023, 8: 837–852
- 88 Manca P, Corallo S, Lonardi S, et al. Variant allele frequency in baseline circulating tumour DNA to measure tumour burden and to stratify outcomes in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer: A translational objective of the Valentino study. *Br J Canc*, 2022, 126: 449–455
- 89 Tie J, Cohen J D, Lahouel K, et al. Circulating tumor DNA analysis guiding adjuvant therapy in stage II colon cancer. *N Engl J Med*, 2022, 386: 2261–2272
- 90 Kotani D, Oki E, Nakamura Y, et al. Molecular residual disease and efficacy of adjuvant chemotherapy in patients with colorectal cancer. *Nat Med*, 2023, 29: 127–134
- 91 Sharma A, Kumar R, Yadav G, et al. Artificial intelligence in intestinal polyp and colorectal cancer prediction. *Canc Lett*, 2023, 565: 216238
- 92 Yu G, Sun K, Xu C, et al. Accurate recognition of colorectal cancer with semi-supervised deep learning on pathological images. *Nat Commun*, 2021, 12: 6311
- 93 Foersch S, Glasner C, Woerl A C, et al. Multistain deep learning for prediction of prognosis and therapy response in colorectal cancer. *Nat Med*, 2023, 29: 430–439
- 94 Kather J N, Pearson A T, Halama N, et al. Deep learning can predict microsatellite instability directly from histology in gastrointestinal cancer. *Nat Med*, 2019, 25: 1054–1056
- 95 Wagner S J, Reisenbüchler D, West N P, et al. Transformer-based biomarker prediction from colorectal cancer histology: A large-scale multicentric study. *Canc Cell*, 2023, 41: 1650–1661.e4
- 96 Verghese G, Lennerz J K, Ruta D, et al. Computational pathology in cancer diagnosis, prognosis, and prediction – Present day and prospects. *J Pathol*, 2023, 260: 551–563
- 97 Asif A, Rajpoot K, Graham S, et al. Unleashing the potential of AI for pathology: Challenges and recommendations. *J Pathol*, 2023, 260: 564–577
- 98 Deng S, Zhang X, Yan W, et al. Deep learning in digital pathology image analysis: A survey. *Front Med*, 2020, 14: 470–487
- 99 Xu Y, Li Y, Shen Z, et al. Parallel multiple instance learning for extremely large histopathology image analysis. *BMC BioInf*, 2017, 18: 360
- 100 Xu Y, Jia Z, Wang L B, et al. Large scale tissue histopathology image classification, segmentation, and visualization via deep convolutional activation features. *BMC BioInf*, 2017, 18: 281
- 101 Huang Z, Bianchi F, Yuksekgonul M, et al. A visual–language foundation model for pathology image analysis using medical Twitter. *Nat Med*, 2023, 29: 2307–2316
- 102 Vorontsov E, Bozkurt A, Casson A, et al. Virchow: A million-slide digital pathology foundation model. 2023, arxiv: 230907778
- 103 Dippel J, Feulner B, Winterhoff T, et al. RudolfV: A foundation model by pathologists for pathologists. 2024, arXiv: 240104079

Summary for “结直肠癌病理研究五十年: 世界与中国”

Five decades of colorectal cancer pathology: The World and China

Maode Lai^{1,2}

¹ Department of Pathology and Pathophysiology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China;

² Department of Pathology of Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China

E-mail: lmd@zju.edu.cn

Over the past five decade, the pathological development of colorectal cancer has gone through four stages: histopathological typing, classification of molecular alterations, molecular detection-guided personalized therapy, and liquid biopsy-helped dynamic therapeutics. The standardized pathological examination and diagnosis of routine surgical resection specimens and endoscopic submucosal dissection (ESD)/endoscopic submucosal resection (ESR) specimens are the basis of clinical treatment. For surgical patients, TNM staging is the most valuable indicator for evaluating patient prognosis. In addition to routine evaluation for TNM staging, pathologists should determine vascular and nervous invasions, tumor budding, and poorly differentiated cell clusters. In the past decade, ESD/ESR has been widely carried out. To maximize patient benefit, the close cooperation between physicians and pathologists should be emphasized. Apart from skilled operations, physicians restore and flatten the resected samples to ensure better fixation of specimens. Pathologists then carefully examine specimens and find high-risk pathological parameters, including poor differentiation, submucous invasion depth ≥ 1000 μm , vascular invasion, positive cut-edge and high-grade tumor budding(G2 or G3). Presently, the detection of MSI, ras, Braf, PIK3CA, cmet and other mutations, as well as HER2 amplification or mutations and the expressions of ALK, NTRK fusion genes can guide personalized treatment of patients and achieve the best clinical outcomes. Right colon cancer, left colon cancer, and rectal cancer have different mechanisms of carcinogenesis, prognosis, and drug treatment responses. Thus, based on detailed clinical observations and stratified treatment in these three categories, personalized treatment for colorectal cancer will be more defined. Liver metastasis poses a significant challenge in the treatment of advanced colorectal cancer, necessitating further exploration to the elucidation and intervention of the molecular mechanisms of metastasis from multiple disciplines. Molecular stratification of patients, circulating tumor DNA (ctDNA), single cell sequencing, spatial omics, organoids and artificial intelligence (AI)-assisted diagnosis applications are current research hotspots. The stratification study of patients with microsatellite instability-high-frequency and the transformation study of microsatellite stable patients based on multi-omics methods are currently urgent research topics that require in-depth research, so as to enable more patients to benefit from immunotherapy while avoiding the toxicity and super-progression associated with treatment. Liquid biopsy mainly using ctDNA detection nowadays can help identify minimal residual disease (MRD) and guide clinical implementation of dynamic treatment, transforming advanced colorectal cancer into a chronic disease. Single cell sequencing and spatial omics offer novel insights into tumor microenvironment and spacetime heterogeneity. Organoid might be served as a living biobank to test new therapeutic assays. The application of AI technology has shown us that more convenient methods can be used to stratify patients and implement personalized treatment. The basis for this stratification is the morphological phenotype changes presented by molecular changes. Therefore, AI-assisted pathological diagnosis and classification will take pathology to a new stage.

pathology, colorectal cancer, molecular diagnosis, molecular classification

doi: [10.1360/TB-2024-0088](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0088)