

西妥昔单抗联合化疗治疗晚期结直肠癌的生存分析及 KRAS对疗效的影响

郭桂芳¹, 夏良平¹, 徐瑞华², 陈徐贤¹, 汪芳¹, 何文卓¹, 姜文奇^{2*}

(华南肿瘤学国家重点实验室//中山大学肿瘤防治中心 1.综合科; 2.内科, 广州 510060)

摘要:【目的】探讨影响西妥昔单抗联合化疗治疗晚期结直肠癌患者的生存因素及 KRAS 基因状态对疗效的影响。【方法】收集 2005 年 3 月至 2008 年 12 月中山市肿瘤防治中心接受西妥昔单抗联合化疗的晚期结直肠癌患者 102 例的临床资料,对可能影响预后的临床病理因素进行单因素及多因素生存分析;检测 45 例石蜡标本 KRAS 基因,比较不同 KRAS 状态有效率(ORR)、疾病控制率(DCR)、无进展生存(PFS)、总生存时间(OS)的差异。【结果】初诊时有肿瘤相关症状者较无症状者 OS 短(34.0 个月 vs 43.5 个月, $P = 0.03$);初诊时临床分期高者 OS 短(Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ的 OS 分别为 88.5 个月、51.0 个月、22.5 个月, $P < 0.01$);西妥昔单抗联合化疗达到疾病控制者较疾病进展者 OS 长(43.5 个月 vs 28.0 个月, $P < 0.01$)。39 例可检测标本的 KRAS 突变率为 28.2% (11/39),野生型者的 ORR、DCR 均高于突变型者(ORR 42.9% vs 9.1%, $P = 0.049$; DCR 71.4% vs 36.4%, $P = 0.046$)。野生型的 PFS 较突变型长(5.0 个月 vs 2.5 个月, $P = 0.02$),但 OS 差异无统计学意义(42.5 个月 vs 33.0 个月, $P = 0.80$),KRAS 状态不是独立的预后因素($P = 0.42$)。【结论】西妥昔单抗联合化疗治疗 ACRC,疾病得到控制者预后好,KRAS 野生型者 ORR、DCR 及 PFS 均优于突变型者,但两者的 OS 可能无显著差异,KRAS 状态不是独立的预后因素。

关键词: 西妥昔单抗; 化学疗法; KRAS; 预后; 治疗效果; 结直肠癌

中图分类号:R735.3

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2011)05-0637-07

Survival Analysis of Cetuximab Combined with Chemotherapy for Advanced Colorectal Cancer and Effect of KRAS on Treatment

GUO Gui-fang¹, XIA Liang-ping¹, XU Rui-hua², CHEN Xu-xian¹, WANG Fang¹, HE Wen-zhuo¹, JIANG Wen-qi^{2*}

(1. Department of VIP inpatient service, 2. Department of Medical Oncology, State Key Laboratory of Oncology in South China// Cancer Center of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

Abstract: 【Objective】To study the prognostic factors of advanced colorectal cancer (ACRC) accepting cetuximab combined with chemotherapy and effect of KRAS on efficacy of that regimen. 【Methods】Clinical data of 102 ACRC patients, treated by cetuximab plus chemotherapy in Sun Yat-sen University Cancer Center from March 2005 to December 2008, were collected. The prognostic value of clinical factors was evaluated by univariate and multivariate analysis. The KRAS status of 45 paraffin-embedded specimens were tested and the difference in objective response rate (ORR), disease control rate (DCR), progress free survival (PFS) and overall survival (OS) between patients with wild type and mutant type of KRAS were compared. 【Results】The OS of patients with cancer-associated symptom was shorter than those without (34.0 months vs 43.5 months, $P = 0.03$). The patients with advanced primary clinical stage had short OS (88.5 months, 51.0 months and 22.5 months for clinical stage Ⅱ, Ⅲ, and Ⅳ, $P < 0.01$). The OS of patients with DCR by cetuximab combined with chemotherapy was longer than that with PD (43.5 months vs 28.0 months, $P < 0.01$). The KRAS status of 39 cases were tested successfully and mutant rate was 28.2% (11/39). The ORR, DCR, and PFS of wild type KRAS were all better than those of mutant type KRAS (ORR 42.9% vs 9.1%, $P = 0.049$; DCR 71.4% vs 36.4%, $P = 0.046$; PFS, 5.0 months vs 2.5 months, $P = 0.02$). However, the difference of OS between wild and mutant type KRAS was not statistically significant (42.5 months vs 33.0 months, $P = 0.80$) and the status of KRAS was not an independently prognostic factor ($P = 0.42$). 【Conclusions】ACRC patients with DCR by cetuximab combined with chemotherapy had good prognosis. The ORR, DCR and PFS of

收稿日期:2011-03-17

基金项目:广东省科技计划项目(2010B031600317);"重大新药创制"科技重大专项资助(2008ZX09312-002)

作者简介:郭桂芳,博士,主治医师,E-mail:guogf@sysucc.org.cn; * 通信作者,姜文奇,博士,教授,E-mail:wqjiang@yahoo.com

wild type KRAS were all better than those of mutant type KRAS, but the difference of OS was not significant and the status of KRAS was not an independently prognostic factor.

Key words: cetuximab; chemotherapy; KRAS; prognosis; therapeutic efficacy; colorectal neoplasms

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2011, 32(5):637-643]

结直肠癌在美国的发病率及死亡率均位居恶性肿瘤的前列,整个疾病进程中大约有 50%患者成为晚期结直肠癌(advanced colorectal cancer, ACRC),化疗是 ACRC 的主要治疗手段,近几年西妥昔单抗联合化疗显著提高了疗效^[1-2],但关于影响预后因素的报道较少,大型的临床试验结果均基于欧美的数据。本研究以应用西妥昔单抗联合化疗的中国 ACRC 为研究对象,探讨了影响预后的临床病理因素, KRAS 基因状态对该方案疗效的影响。

1 材料与方法

1.1 病例资料

入选标准:①有明确的病理学诊断;②接受西妥昔单抗治疗时有转移或(和)复发;③完成 ≥ 2 周的西妥昔单抗治疗;④有可评价的病灶;⑤临床病理资料记录完整。2005 年 3 月至 2008 年 12 月中山大学肿瘤防治中心接受西妥昔单抗联合化疗的结直肠癌患者,102 例病例入选,临床病理特征见表 1。102 例 ACRC 中,收集到 45 例石蜡标本。

1.2 西妥昔单抗联合化疗疗效的评价标准

按实体瘤疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RECIST)对西妥昔单抗的疗效进行评价,分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、稳定(stable disease, SD)、疾病进展(progression disease, PD),以 CR+PR+SD 为疾病控制率(DCR),以 CR+PR 为有效率(ORR)。本组患者均依据 CT 检查结果进行评价。

1.3 定量 PCR 法测定 KRAS 突变

1.3.1 切片 由我院病理医生阅读石蜡包埋 HE 切片,挑选癌组织多的蜡块进行切片,用非涂胶玻片切取,5 μm 厚共 6 张,58℃烤箱中烤片过夜。

1.3.2 DNA 提取 室温下将切片浸入二甲苯中脱蜡,随后浸入梯度乙醇中复水,去离子水放置 3 min,再放入烤箱烤片 10 min。用刀片把癌巢刮下放入 EP 管,加入 200 μL 的 GA 缓冲液,并加入 60 μL 的蛋白酶 K,振荡混匀,40℃消化过夜。然后按 DNA 提取试剂盒(QIAGEN 公司产品)实验步骤提

取 DNA。取 2 μL 样品于紫外分光光度仪检测其浓度及纯度,余放置 4℃冰箱保存备用。

1.3.3 DNA 含量验证(内参法) PCR 反应体系: Master mix 10 μL , GAPDH-F 0.15 μL , GAPDH-R 0.15 μL , ddH₂O 7.7 μL , DNA 2 μL , 反应总体积为 20 μL 。反应条件:94℃ 5 min; (94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 1 min) $\times$ 20 个循环;72℃ 7 min;4℃ 保存。取 5 μL PCR 产物在琼脂糖凝胶上电泳,确定 DNA 提取成功。

1.3.4 PCR 扩增 KRAS 基因 PCR 反应引物序列^[3] 上游为 5'-AAGGCCTGCTGAAAATGAC-3',下游为 5'-TGGTCCTGCACCAGTAATATG-3'。PCR 反应体系:CS PCR mix 12.5 μL , Primer A 0.5 μL , Primer B 0.5 μL , Probe 1 (FAM marker)0.3 μL , Probe 2 (VIC marker)0.6 μL , ddH₂O 8.1 μL , DNA 2.5 μL , 反应总体积为 25 μL 。7 条探针,每两条不同荧光标记的探针为一组,多出一条单独配体系上 PCR 仪(7900 定量 PCR 仪)。反应条件:95℃ 5 min; (95℃ 30 s, 60℃ 1 min) $\times$ 40 个循环。

1.3.5 结果分析 CT 值 < 35, 曲线呈标准的 S 型判断为阳性;CT 值 > 38, 则判断为阴性;35 < CT 值 < 38, 呈标准 S 型则判断为阳性,曲线不好的标本重新处理上 PCR 仪。

1.4 统计学方法

SPSS 17.0 软件进行统计分析, Kaplan-Meier 法及 COX 回归模型对临床病理因素进行单因素及多因素生存分析;精确概率法比较 ACRC 不同 KRAS 状态有效率(ORR)、疾病控制率(DCR)差异;Kaplan-Meier 法比较不同 KRAS 状态的无进展生存(Progress free survival, PFS)、总生存时间(overall survival, OS)的差异;Cox 回归模型分析 KRAS 状态是否是独立的预后因素。

2 结果

2.1 西妥昔单抗联合化疗治疗 ACRC 的生存分析

Kaplan-Meier 法及 Cox 模型对以下可能影响预后的因子进行单因素及多因素生存分析,性别,

表 1 102 例晚期结直肠癌应用西妥昔单抗的生存分析
Table 1 Survival analysis of 102 cases with ACRC
treated by cetuximab combined with chemotherapy

Clinical factor	No.	MOS (month)	Univariate	Multivariate	
			analysis <i>P</i>	<i>P</i>	Exp(B)
Gender					
Male	72	40.0	0.87	0.84	0.94
Female	30	34.0			
Age					
Risk group(40~59 years)	53	36.0	0.84	0.75	0.92
Non-risk group(<40 or>60 years)	49	35.0			
Family history of tumor					
No	84	36	0.76	0.66	1.16
Yes	18	37			
Cancer-associated symptom					
No	36	43.5	0.03	<0.01	2.49
Yes	66	34.0			
Tumor site					
Colon	70	36.0	0.75	0.82	1.11
Rectum	32	35.0			
Primary clinical stage					
I	1	50.0	<0.01	<0.01	3.39
II	13	88.5			
III	36	51.0			
IV	52	22.5			
Histological differentiation					
Well	15	36.0	0.03	0.58	1.14
Media	69	43.0			
Poor	18	24.0			
Primary treatment					
Multidiscipline therapy	65	34.0	0.89	0.28	0.63
Others	37	42.0			
First-line chemotherapy					
With Cetuximab	32	51.0	0.14	0.74	0.89
Without Cetuximab	70	34.0			
Chemotherapy regimen with Cetuximab					
OXA-based	24	36.0	0.29	0.15	0.66
IRI-based	75	35.0			
OXA and IRI-based	3	71.5			
Efficacy of chemotherapy with Cetuximab					
PD	26	28.0	<0.01	<0.01	0.29
DC	76	43.5			

ACRC: advanced colorectal cancer, all patients were ACRC when accepting cetuximab, though some of them were not ACRC at initial visit. Multidiscipline therapy: operation and chemotherapy for colon cancer, operation and radiochemotherapy for rectal cancer. OXA: oxaliplatin; IRI: irinotecan; MOS: median overall survival

年龄(据是否为高发年龄划分),肿瘤家族史,初诊时是否有肿瘤相关症状,原发部位(直肠/结肠),初诊时临床分期(TNM, I 期病例仅 1 例,统计分析时将其并入 II 期),组织分化程度,首次治疗方案是否采用综合治疗(结肠癌是否采用手术联合化疗,直肠癌是否应用放化疗联合手术治疗),西妥昔单抗是否在一线姑息化疗中应用,西妥昔单抗与伊立替康和/或奥沙利铂联合,西妥昔单抗联合化疗的近期疗效(分为疾病控制组与进展组)。因本组病例均为腺癌,故排除了病理类型对疗效的影响。结果见表 1,生存曲线图的差异见图 1。

单因素生存分析结果,初诊时有无肿瘤相关症状,初诊时临床分期,癌组织病理分级,西妥昔单抗联合化疗的近期疗效是影响生存的因素。有肿瘤相关症状者预后差($P = 0.03$),有无肿瘤相关症状者 OS 分别为 34.0 个月(25 ~ 141.5 个月)、43.5 个月(3 ~ 137.0 个月)。临床分期高者预后越差,II、III、IV 的中位 OS 分别为 88.5 个月(25 ~ 141.5 个月)、51.0 个月(9 ~ 110.5 个月)、22.5 个月(3 ~ 69 个月), $P < 0.01$,进一步两两分析 II 期与 III 期间的差别无统计学意义($P = 0.11$),但两者与 IV 期间差别有统计学意义($P < 0.01$);癌组织分化低者预后越差($P = 0.03$),高、中、低分化的中位 OS 分别为 36.0 个月(3 ~ 137 个月)、43.0 个月(5.5 ~ 141.5 个月)、24.0 个月(3.5 ~ 65.0 个月), $P = 0.03$,进一步两两分析高、中分化间的差别无统计学意义($P = 0.75$),两者与低分化间的差别有统计学意义($P = 0.01$);西妥昔单抗联合化疗达到疾病控制者预后好,疾病进展者预后差,OS 分别为 43.5 个月(5.5 ~ 141.5 个月)、28.0 个月(3 ~ 63.5 个月), $P < 0.01$ 。其它因素对生存均无显著影响。

多因素生存分析结果,初诊时有无肿瘤相关症状、临床分期、西妥昔单抗联合化疗的近期疗效是独立的预后因素, P 值均小于 0.01。初诊时无肿瘤相关症状者预后好,有肿瘤相关症状者预后差;临床分期越高,预后越差;西妥昔单抗联合化疗疾病得到控制者预后好。其它因素对生存均无显著影响。

2.2 KRAS 基因对西妥昔单抗联合化疗疗效的影响

KRAS 基因状态检测结果:102 例 ACRC 患者中收集到 45 例石蜡标本,6 例因提取 DNA 失败而无法检测 KRAS 状态。39 例可检测标本的 KRAS

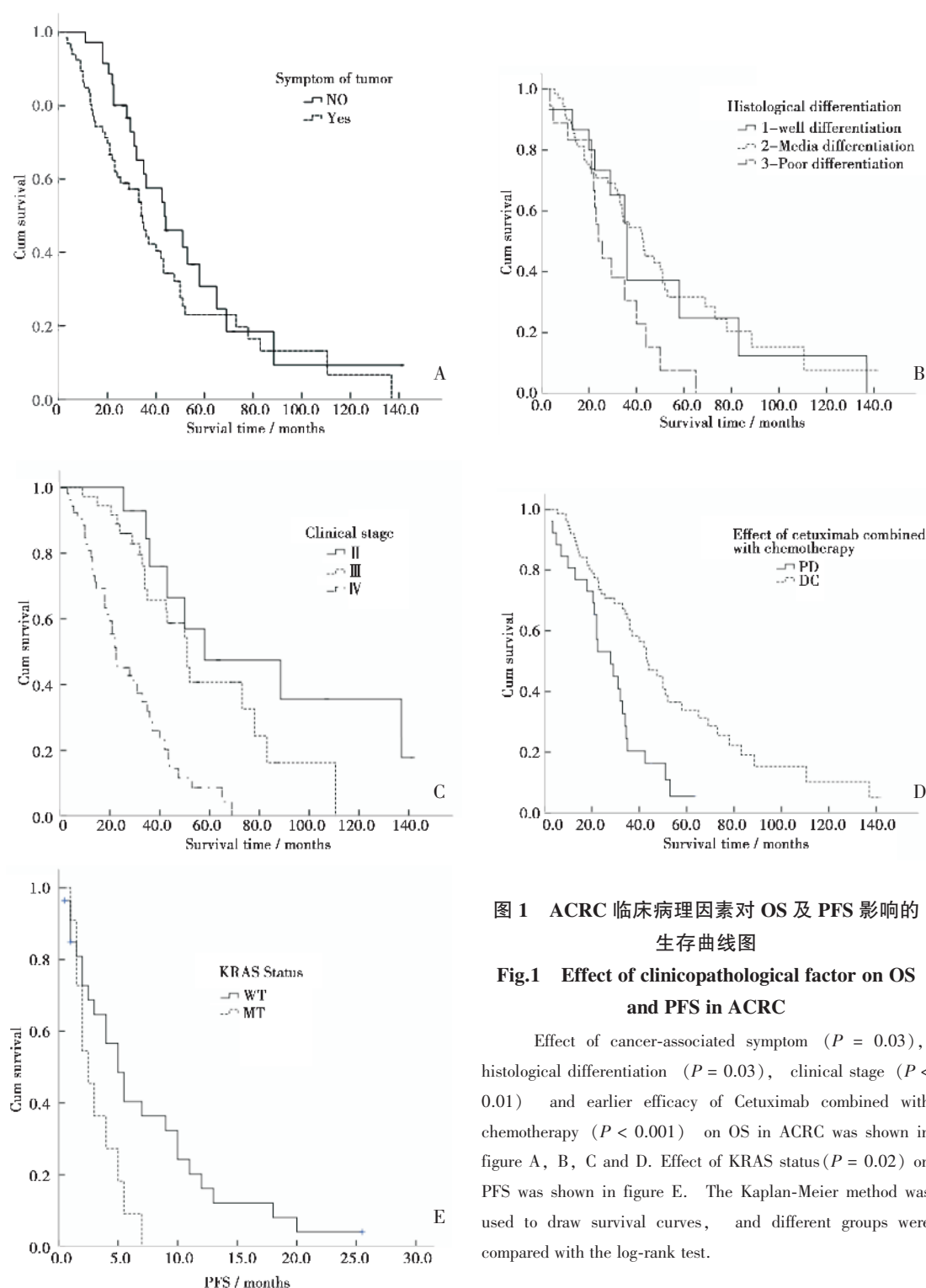


图 1 ACRC 临床病理因素对 OS 及 PFS 影响的生存曲线图

Fig.1 Effect of clinicopathological factor on OS and PFS in ACRC

Effect of cancer-associated symptom ($P = 0.03$), histological differentiation ($P = 0.03$), clinical stage ($P < 0.01$) and earlier efficacy of Cetuximab combined with chemotherapy ($P < 0.001$) on OS in ACRC was shown in figure A, B, C and D. Effect of KRAS status ($P = 0.02$) on PFS was shown in figure E. The Kaplan-Meier method was used to draw survival curves, and different groups were compared with the log-rank test.

突变率为 28.2% (11/39), 且突变均为 12 密码子突变, 未发现 13 密码子突变, 其中 9 例为 G12D 突变 (12 GGT→GAT, Gly→Asp), 1 例为 G12C 突变 (12 GGT→TGT, Gly→Cys), 1 例为 G12S 突变 (12 GGT→AGT, Gly→Ser)。本研究采用 PCR-定量法检测 KRAS 状态, 见图 2。

KRAS 基因对西妥昔单抗联合化疗近期疗效的影响: 统计分析表明西妥昔单抗联合化疗在 KRAS 野生型者的 ORR、DCR 均高于 KRAS 突变型者 ($P < 0.05$, 表 2)。KRAS 野生型的 PFS 较突变型长, 中位 PFS 分别为 5.0 个月和 2.5 个月, 其差异有统计学意义 ($P = 0.02$, 图 1)。

表 2 KRAS 基因对西妥昔单抗联合化疗有效率及疾病控制率的影响

Table 2 KRAS status effect on the ORR and DCR of Cetuximab combined with chemotherapy n(%)			
Effect	Wild type	Mutant type	Total
	KRAS	KRAS	
Objective reaction	12 (42.9)	1(9.1)	13(33.3)
No objective reaction	16 (57.1)	10(90.9)	26(66.7)
P	0.049		
Disease control	20 (71.4)	4(36.4)	24(61.5)
Progression disease	8 (28.6)	7(63.6)	15(38.5)
P	0.046		

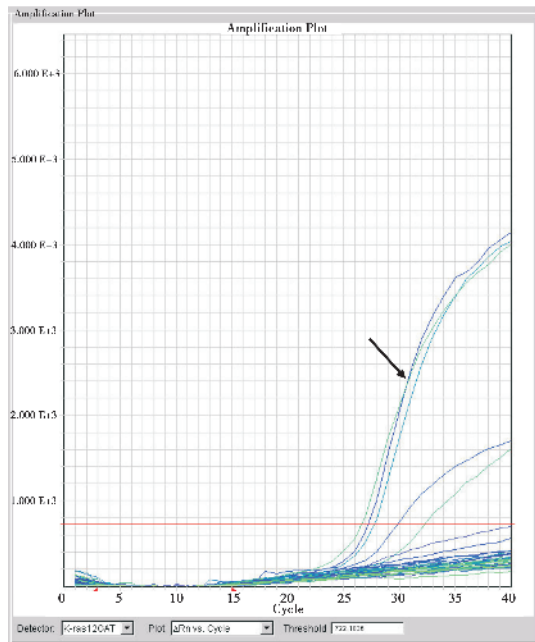


图 2 定量 PCR 法检测 KRAS 基因突变图
Fig.2 KRAS status was tested by PCR

“S” curve in the figure indicated KRAS mutation in 12 exon (12 GGT→GAT, Gly→Asp), as shown at the arrow.

KRAS 基因对西妥昔单抗联合化疗远期疗效的影响:单因素分析表明野生型及突变型中位 OS 分别为 42.5 个月及 33.0 个月,差异无统计学意义 ($P = 0.80$)。多因素分析将以下几个因素引入 COX 模型,KRAS 基因状态及上述分析表明影响生存的四个因素,初诊时有无肿瘤相关症状,初诊时临床分期,癌组织病理分级,西妥昔单抗联合化疗的近期疗效。统计结果为初诊时临床分期($P < 0.01$)和西妥昔单抗联合化疗的近期疗效($P = 0.01$)是独

立的预后因素,KRAS 基因状态不是独立的预后因素, $P = 0.42$ 。

3 讨 论

西妥昔单抗联合化疗将 ACRC 中位生存期提高到 24 个月左右,成为 ACRC 治疗的新突破,2009 年 NCCN 指南推荐西妥昔单抗联合化疗作为 KRAS 野生型 ACRC 化疗的一线用药^[1-2],我们以往报道亦肯定了西妥昔单抗联合化疗在我国 ACRC 的疗效和安全性^[4-5]。大型临床研究表明西妥昔单抗联合化疗的有效率与既往化疗药的类型和数量,化疗疗程数,多少线化疗无关^[6-7]。我们既往对近期疗效的研究与上述结果一致^[5],现在我们分析各种临床病理因素对西妥昔单抗联合化疗远期疗效的影响。

我们的研究显示初诊时是否有肿瘤相关症状,初诊时临床分期及西妥昔单抗联合化疗是否达到疾病控制是独立的预后因素。临床分期高者预后差,随着时间的延长,这种差异越来越明显,初诊时即有远处转移者长期生存的机率非常小,这也验证了癌症早发现、早诊治的重要性。初诊时有肿瘤相关症状者预后差,尤其是前 5 年差异明显,5 年后差异减小,这可能归因于有症状的患者多为临床分期晚期的患者,初诊时无症状者为早期的患者,5 年后早期的患者大多亦发展为晚期患者。西妥昔单抗联合化疗的近期疗效达到疾病控制者总生存获益,这提示我们西妥昔单抗联合化疗提高 ACRC 疾病控制率对改善预后是非常有意义的。上述的研究结果与大型的临床研究一致,对 BOND 研究的病例分析表明^[8],西妥昔单抗联合伊立替康治疗 ACRC 6 周时,肿瘤缩小者较无缩小者 OS 长(13.4 个月 vs 7.3 个月, $P < 0.001$)。一项Ⅲ期临床试验^[9]证明西妥昔单抗治疗时 PS 状态好者生存期长($PS = 2$ vs $PS = 0$, $P < 0.0001$)。

ACRC 肿瘤组织 KRAS 状态影响西妥昔单抗疗效,KRAS 突变者西妥昔单抗联合化疗的 ORR 为 0 ~ 6%^[10],两个大型临床试验^[11-12]均证明 KRAS 突变者对西妥昔单抗原发耐药,KRAS 突变患者西妥昔单抗联合化疗的疗效甚至低于化疗组,而 KRAS 野生型患者中联合组较单纯化疗组有效率高 (61% vs 37%, $P = 0.01$),中位生存期延长 1.2 月, $P < 0.05$ 。临床用药前应检测 KRAS 有无突变,

有突变者不可使用西妥昔单抗,这一观点在 2009 年 2 月作为 ASCO 的特约文章在 JCO 报道^[1-2]。我们的研究表明西妥昔单抗联合化疗在 KRAS 野生型者的 ORR 和 DCR 均明显高于突变型者,分别为 42.9% vs 9.1% 和 71.4% vs 36.4%;野生型的 PFS 较突变型长,中位 PFS 分别为 5.0 个月和 2.5 个月,上述差异均有统计学意义;KRAS 野生型及突变型中位 OS 分别为 42.5 个月及 33.0 个月,虽然差异明显,但单因素及多因素分析均显示差异无统计学意义,这与影响总生存的因素较多,回顾性研究混杂因素多有关。本组研究测得 39 例 KRAS 状态,病例数尚少,但对在东方人 KRAS 状态影响西妥昔单抗疗效的数据进行了初步总结。

结直肠癌中 KRAS 野生型者约 60%,然而野生型中只有 40% ~ 53% (约相当于所有肠癌的 20% ~ 30%) 的患者获益于西妥昔单抗治疗^[2],其余的患者并没有从此昂贵的药物中获益,进一步探索可靠实用的预测标志物是非常有必要的。西妥昔单抗是 EGFR 受体的抑制剂,但多项研究说明^[6,13-14]用目前免疫组化方法检测的 EGFR 表达水平不能作为西妥昔单抗疗效预测的指标。EGFR 的基因拷贝数和突变与西妥昔单抗疗效关系的研究结果亦尚有争议^[15-16]。EGFR 下游的信号传导通路上其它有希望的预测指标包括 BRAF、PTEN、PI3KCA、NRAS、epiregulin (表皮调节素)、TP53 等。

虽然美国 NCCN 指南已将西妥昔单抗列为 ACRC 的一线用药,但西妥昔单抗临床应用中还存在着一些亟待解决的问题:是一线还是非一线应用更好;是否与一些新的细胞毒药物联合取得较目前经典的化疗方案联合更好的疗效;与生物治疗(包括生物制剂及自体免疫细胞回输的治疗)联合作用如何?由于价格昂贵和在中国上市比较晚,西妥昔单抗联合化疗治疗中国结直肠癌患者的大宗病例报道尚缺乏,我们首次分析了影响远期生存的临床病理因素,但为回顾性资料,有待今后扩大样本量并设立对照组进一步研究。KRAS 状态是影响西妥昔单抗联合化疗疗效的重要因素,但绝不是唯一因素,进一步探索预测疗效的标志物是非常有必要的,目前基础研究集中在凋亡途径上的各种因子,细胞另一种重要的死亡途径自噬对西妥昔单抗抗肿瘤作用的影响是非常有前景的研究方向。

参考文献:

- [1] Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(12): 2091-2096.
- [2] Röcken C. Molecular targets for colon cancer: VEGF, EGFR- and what else [J]. Pathologe, 2008, 29(suppl 2): 200-203.
- [3] Franklin WA, Haney J, Sugita M, et al. KRAS mutation: comparison of testing methods and tissue sampling techniques in colon cancer [J]. J Mol Diagn, 2010, 12(1): 43-50.
- [4] 郭桂芳,夏良平,张蓓,等.西妥昔单抗联合化疗治疗 53 例晚期结直肠癌的疗效[J]. 癌症, 2009, 28(12): 1317-1323.
- [5] 郭桂芳,夏良平,丘惠娟,等.西妥昔单抗联合化疗治疗 102 例 K-ras 状态不明晚期结直肠癌的疗效[J]. 中华肿瘤杂志, 2010, 32(10): 777-781.
- [6] Cunningham D, Humbler Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer [J]. N Engl J Med, 2004, 351(8): 337-345.
- [7] Van Cutsem E, Mayer RJ, Gold P, et al. Correlation of acne rash and tumor response with cetuximab monotherapy in patients with colorectal refractory to both irinotecan and oxiplatin [J]. Eur J Cancer, 2004, (supply2): 85-86.
- [8] Piesseaux H, Buyse M, De Roock W, et al. Radiological tumor size decrease at week 6 is a potent predictor of outcome in chemorefractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab (BOND trial) [J]. Ann Oncol, 2009, 20(8): 1375-1382.
- [9] Asmis TR, Powell E, Karapetis CS, et al. Comorbidity, age and overall survival in cetuximab-treated patients with advanced colorectal cancer (ACRC): results from NCIC CTG CO.17: a phase III trial of cetuximab versus best supportive care [J]. Ann Oncol, 2011, 22(1): 118-126.
- [10] Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer [J]. N Engl J Med, 2008, 359(17): 1757-1765.
- [11] Van Cutsem E, Köhne CH, Láng I, et al. Cetuximab plus

irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(15): 2011–2019.

- [12] Carsten B, Igor B, Anatoly M, et al. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(5): 663–671.
- [13] Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ Sr, et al. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(7): 1201–1208.
- [14] Scartozzi M, Bearzi I, Berardi R, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) status in primary

colorectal tumors does not correlate with EGFR expression in related metastatic sites: implications for treatment with EGFR-targeted monoclonal antibodies[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(23): 4772–4778.

- [15] Goncalves A, Esteyries S, Taylor-Smedra B, et al. A polymorphism of EGFR extracellular domain is associated with progression free-survival in metastatic colorectal cancer patients receiving cetuximab-based treatment[J]. *BMC Cancer*, 2008, 8(6): 169–180.
- [16] Yen LC, Uen YH, Wu DC, et al. Activating KRAS mutations and overexpression of epidermal growth factor receptor as independent predictors in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab [J]. *Ann Surg*, 2010, 251(2): 254–260.

(编辑 张思健)

~~~~~

(上接第 636 页 from page 636)

Prognostic value of visual evoked responses in childhood amblyopia[J]. *Eur J Ophthalmol*, 1993, 3(3): 114–120.

- [8] Fioretto M, Gandolfo E, Burtolo C, et al. Evaluation of amblyopic scotoma by electrophysiological examinations and computerized perimetry [J]. *Eur J Ophthalmol*, 1996, 6(2): 201–207.
- [9] Demirci H, Gezer A, Sezen F, et al. Evaluation of the functions of the parvocellular and magnocellular

pathways in strabismic amblyopia [J]. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2002, 39(4): 215–221.

- [10] Davis AR, Sloper JJ, Neveu MM, et al. Differential changes of magnocellular and parvocellular visual function in early- and late-onset strabismic amblyopia [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(11): 4836–4841.

(编辑 刘清海)