

胃癌分子分型研究进展

李加桩¹,王凯冰²,陈丹¹,郑红艳²,隋红¹

(1.哈尔滨医科大学附属肿瘤医院,黑龙江 哈尔滨 150081;

2.哈尔滨医科大学附属第二医院,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:胃癌是全球性常见的恶性肿瘤。胃癌是一种异质性疾病包括多种类型,每种类型都有不同的生物学特性和作用。因此,基于临床特点,病理分型,分子分型的个体化治疗对进展期胃癌尤为重要。现有的胃癌分子分型可归类为 Shah 分型,Tan 基因分型,新加坡基因分型,TCGA 基因分型和 ACRG 基因分型。从分子生物学创立引起肿瘤治疗模式的变化,从分子水平重新认识疾病,未来的肿瘤治疗模式可能是分子分型指导的个体化治疗。

关键词:胃癌;分子分型;信号通路

中图分类号:R735.3 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2016)11-0888-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2016.11.A011

Research Progress on Molecular Classification of Gastric Cancer

LI Jia-zhuang¹,WANG Kai-bing²,CHEN Dan¹,et al.

(1. Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150081, China;

2. The 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

Abstract: Gastric cancer is a highly heterogeneous disease comprising multiple subtypes and each type has distinct biological properties. Therefore, it is particularly important to treat advanced gastric cancer patients with individualized approach based on clinical features, pathological classification and molecular classification. The current molecular classifications of gastric cancer include Shah parting, Tan genotyping, Singapore genotyping, TCGA genotyping and ACRG genotyping. With the development of molecular biology and new knowledge of malignancies, the future therapeutic mode for gastric cancer would be a molecular classification-guided individualized approach.

Key words: gastric cancer; molecular classification; signal pathway

胃癌是全球性常见的恶性肿瘤。2015年,美国癌症学会(ACS)主办的权威期刊《CA Cancer J Clin》新发表的癌症统计报告^[1]显示,2012年度全世界胃癌新发病例超过95万例,仅次于肺癌、乳腺癌、结直肠癌和前列腺癌,其中在东亚地区最为高发;死亡病例约73万例,仅次于肺癌和肝癌。世界卫生组织(WHO)公布的《2014年全球癌症报告》^[2]数据显示,2012年中国新增的胃癌病例和死亡人数均占全球的40%以上。由于早期症状不典型,胃癌患者在确诊时常发生远处转移,而且生存较差^[3],严重威胁人

类的健康和生命。当前胃癌可选择的化疗药物少,靶向药物滞后,胃癌异质性高,这三项导致进展期胃癌治疗处于瓶颈期。因此,基于临床特点,病理分型,分子分型的个体化治疗对进展期胃癌尤为重要。尽管胃癌的治疗一直存在争论,但是对胃癌分型的研究从未停止。本文就现存胃癌分子分型进行归纳并作一综述,以期能够补充现存的组织系统分类的不足及导向临床重要生物标志物和潜在治疗靶点的发现。

1 胃癌分子分型的价值和背景

胃癌分型经历了大体形态分型,组织病理学分

收稿日期:2016-03-08;修回日期:2016-04-10

基金项目:国家自然科学基金(81201876);黑龙江省自然科学基金(QC2012C011);黑龙江省卫生计生厅资助项目(688)

通讯作者:隋红,E-mail:doctorsui2003@126.com

型,基于环境、遗传分型,从两种基因型、三种基因型、四种基因型,到目前基于甲基化与 microRNA 的胃癌表观遗传学分型。目前,根据不同的组织学系统对胃癌进行分类,最流行的两种分类方法为 Lauren 分型和 WHO 分型。根据 Lauren 分型法,胃癌被分为两种亚型(肠型和弥漫型)^[4]。WHO 系统将胃癌分为四种亚型(乳头状癌,管状癌,黏液癌和差黏附性癌)^[5]。现存的这些病理组织学分类不足以指导胃癌个体化精准治疗。而分子分型是对组织病理学分型的有效补充,它们可以显示出特有的基因组特征,从而对靶向治疗药物的选择和临床实验中胃癌患者的分组及临床重要生物标志物的发现具有指导性意义。近年来基因组学技术的进步,特别是高通量测序和基因芯片技术的发展允许在高分辨率和分子水平上研究胃癌。这种分子谱数据极大地促进了胃癌潜在驱动变异的识别,例如基因突变、染色体变异、转录改变及表观遗传紊乱,使得未来基于分子分型的个体化精准治疗成为可能。近期,癌症基因组谱(TCGA)进行了一项具有里程碑意义的研究,联合来自不同平台的数据报道了胃癌相关基因变异的综合性发现。这种基于分子数据谱的分类较传统组织学系统分类可提供更准确的疗效和预后预测信息。

2 胃癌的分子分型及其特征

2.1 Shah 分型

2011年Shah等^[6]分析36个原发胃腺癌样本基因表达谱,发现一个含785个基因的芯片,通过流行病学、组织病理学、解剖学和分子生物学分析将胃癌分为3种亚型:近端非弥漫型(proximal non-diffuse-subtype),弥漫型(diffuse-subtype)和远端非弥漫型(distal non-diffuse-subtype)。每个亚型均与独特的流行病学相关,一项独立研究显示:通过基因表达分析,大部分(>85%)该基因芯片样本被正确分型。该分子分型的诊断潜力通过流行病学、组织病理学和解剖学将会进一步提高。前列腺干细胞抗原(PSCA)被用于区分近端非弥漫型与弥漫型胃癌,与弥漫型胃癌的发病风险相关^[7,8]。重组人分泌磷脂酶A2(PLA2G2A)高表达可以提高胃癌患者的生存期^[9]。最近的一项研究显示,PLA2G2A是Wnt/ β -catenin信号的一个靶点,可以抑制肿瘤的侵袭和转移^[10]。该

研究基因分析显示,RAS通路活性在近端非弥漫型胃癌中下调。研究者指出,多种通路相结合将提高胃癌患者的疗效预测价值^[11]。特别是研究者发现>70%的胃癌患者存在以下3种通路的异常调节:扩散/干细胞通路,NF- κ B通路和Wnt/ β -catenin通路。慢性炎症(来自于H. pylori感染)可以增加远端胃癌的患病风险,常见于肠型,而多进食蔬菜水果对该型胃癌有防治作用。近端胃癌与肥胖和胃食管反流性疾病相关,而弥漫型胃癌无环境和临床危险因素^[12]。Bittoni等^[13]进一步研究248个晚期胃癌样本,将其分为1型(近端非弥漫型,占11.2%),2型(弥漫型,占45.2%),3型(远端非弥漫型,占43.6%)。给予氟尿嘧啶为基础的两药或三药联合方案,包括铂类衍生物或氟尿嘧啶添加一个蒽环类/紫杉类/丝裂霉素,结果表明:1型客观缓解率最高(RR=46.1%),3型次之(RR=34.3%),2型最差(RR=20.4%)($P=0.015$)。此外,2型(mPFS=4.2个月)相对于1型(mPFS=7.2个月)和3型(mPFS=5.9个月)PFS($P=0.011$)和OS($P=0.022$)均较差。该分析表明,胃癌亚型可能是晚期胃癌患者受益于化疗的重要预测因子。未来的临床试验应考虑患者分层中存在的这类差异。通过该分子分型,胃来源恶性肿瘤的流行病学和组织病理学差异能够被识别,这些数据具有重大影响,研究表明:胃来源的恶性肿瘤存在不同亚型;通过区分疾病特定的基因通路,将识别其独立的分子驱动基因,每种疾病可能都存在不同的生物标志物和治疗靶点。

2.2 Tan 基因分型

2011年Tan等^[14]通过基因芯片技术研究分析了含有37个胃癌细胞系的基因表达谱,通过识别包含171个基因的芯片提出2种主要的内在基因亚型:基因肠型(genomic intestinal,G-INT)和基因弥漫型(genomic diffuse,G-DIF)。并进一步在521例原发性胃癌的组织标本中通过基因表达谱或亚型特异性免疫组化标志物(LGALS4,CDH17)验证内在亚型。LGALS4和CDH17已经被报导^[15,16]在肠上皮化生中表达。最近,CDH17被报导是早期胃癌的不良预后因子^[16,17],是一个潜在的治疗靶点^[18]。值得注意的是:内在亚型与Lauren组织分型的一致性仅有64%,这两种分型被认为存在相关性但又同时存在差异。内在亚型是患者生存的独立预后因素,研究显示:G-INT患者的预后明显好于G-DIF患者($P=$

0.001),该研究通过微阵列平台($P=0.04$)和免疫组化($P=0.02$)研究得到进一步证实。体外研究显示:G-INT 细胞株对 5-Fu 和奥沙利铂较为敏感,而 G-DIF 细胞株对顺铂较为敏感。基于基因表达区分的内在亚型与胃癌的生存期和化疗反应存在相关性,将会被用于判断预后和制定治疗方案,其代表着临床基因分型的又一进步。

2.3 新加坡基因分型

2013 年 Lei 等^[19]通过基因芯片技术研究 248 例胃癌的基因表达谱,确定 3 种亚型:间充质型(mesenchymal-subtype),增殖型(proliferative-subtype)和代谢型(metabolic-subtype),并进一步在来自不同人种的 70 例肿瘤患者中进行验证。研究表明不同的亚型具有不同的生物学特性:(1)间充质型,间充质型胃癌中弥漫型较常见(58.2%),G-DIF 比例更高(92.5%)。其细胞特点是 CDH2(N-cadherin)高表达,CDH1(E-cadherin)低表达,与 p53、TGF β 、VEGF、mTOR、hedgehog 等信号通路存在相关性,具有肿瘤干细胞特性高表达 CD44,低表达 CD24,对 PI3K-ALK-mTOR 信号通路抑制剂敏感。(2)代谢型,代谢型胃癌中肠型和弥漫型比例相当(53.6% vs 40.6%),以 G-INT 较为常见(84.3%)。其对 5-Fu 敏感性较其它亚型高,可以从 5-Fu 中获益,其 5-Fu 敏感性很可能与胸腺苷酸合成酶(TS)和 DPD 酶在此亚型中低表达相关。(3)增殖型,增殖型胃癌中肠型较为常见(73.6%),以 G-INT 较常见(71.2%)。其细胞特点是高度基因不稳定、TP53 突变、DNA 低甲基化,细胞周期抑制剂或许有效。尽管该基因亚型具有不同的分子遗传特性和治疗反应性,但三种亚型无明显生存差异。该分型在临床治疗方面提出两个有前途的发现:5-Fu 类药物对代谢型尤为有效;PI3K-ALK-mTOR 信号通路对间充质型特别有效。该分型结果有助于针对不同亚型的胃癌患者选择更具有针对性的治疗方案,也提示多个基因检测的分子分型有助于指导胃癌的个体化精准治疗。

2.4 TCGA 基因分型

2014 年 7 月 23 日发表在《Nature》的一项研究^[20]显示:作为癌症基因组谱(TCGA)项目工作的一部分,研究者对 295 例未接受过放疗的原发性胃腺癌患者的组织标本和血液样本进行全面的分子评价,将胃癌分为 4 种基因亚型:EB 病毒感染(EBV)

型,微卫星不稳定(MSI)型,基因稳定型(GS)型和染色体不稳定(CIN)型。这 4 种分子亚型表现出不同的生物学特性:(1)EB 病毒感染(EBV)型胃癌(8.8%),好发于胃底和胃体(62%),多见于男性(81%, $P=0.037$)^[21]。EBV 相关 CpG 岛甲基化表型(EBV-CIMP)丰富,PIK3CA 高频率突变(80%)^[22,23],且突变率非常弥漫,是 PI3K 抑制剂的靶向人群;ARID1A(55%)和 BCOR(23%)突变常见,而 TP53 突变罕见;CDKN2A 启动子超甲基化/沉默(p16 失活)导致 CDKN2A 抑癌功能下降,可能是 CDK4/6 抑制剂的适合人群;JAK2,CD274(PD-L1)、PDCD1LG2(PD-L2)和 ERBB2(即 HER2)扩增,免疫治疗和 HER2 抑制剂的靶向人群;同时 PTEN、SMAD4、CDKN2A 和 ARID1A 缺失;另外该型肿瘤 IL-12 介导的信号通路提示很强免疫细胞参与,结合 PD-L1/2 的过表达,可尝试使用免疫系统检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors)。(2)微卫星不稳定(MSI)型胃癌(21.7%),好发于胃窦或幽门,女性多见(56%, $P=0.01$),初诊年龄偏高(中位年龄 72 岁)。其 DNA 超甲基化包含 MSI 相关胃型-CIMP 和特征性 MLH1 启动子超甲基化/沉默,导致 MLH1 错配修复蛋白沉默表达,被认为是造成 MSI 型病例微卫星不稳定的主要原因,基于甲基化水平可将 MSI 型分为 MSI-H 和 MSI-L 两种,MSI-H 型主要为肠型胃癌,较 MSI-L 及微卫星稳定(MSS)肿瘤预后较好;DNA 高突变率包括 PIK3CA、ERBB3、ERBB2 和 EGFR 等在内的高频突变,MSI 型缺乏靶向基因扩增,治疗策略可以是甲基化抑制剂,靶向基因突变抑制剂如 PI3K 抑制剂。(3)基因组稳定(GS)型胃癌(19.6%),大多数(73%)属于弥漫型胃癌,初诊年龄偏低(中位年龄 59 岁)。CDH1 突变(37%)、RHOA 突变(15%)或 RHO 家族 GTP 酶活化蛋白基因融合现象(CLDN18-ARHGAP26 融合);CDH1 种系突变与遗传弥漫型胃癌(HDGC)密切相关^[24];RHOA 突变为弥漫型特异性(14%~25%),致肿瘤呈分散性生长并使细胞缺乏黏附性,RHOA 可能成为预后较差弥漫型胃癌的潜在靶点;CLDN18-ARHGAP26 融合不仅影响了 ARHGAP 对 RHOA 通路的调节作用,同时也改变了 CLDN18 介导的细胞黏附作用。(4)染色体不稳定(CIN)型胃癌(49.8%),胃食管交界处和贲门多发(65%, $P=0.012$),多属肠型,p53 高表达,TP53(73%)

频繁突变, *TP53* (33%)、*APC* (36%) 发生 LOH 频率高, 提示 *P53* 功能缺失是胃癌发生的早期事件; 几乎所有受体酪氨酸激酶 (RTKs) 基因频繁扩增成为其靶向药物的目标人群; 细胞周期调节基因 (*CCNE1*, *CCND1* 和 *CDK6*) 频繁扩增, 提示其可能成为周期素依赖激酶的潜在靶点 [25]。研究显示, *CCNE1* 与 *HER2* 存在频繁复合扩增 [26], *CCNE1/HER2* 复合扩增胃癌患者通常对拉帕替尼 (小分子 *HER2* 抑制剂) 存在抗药性 [27]。TCGA 分型提出了新的分子分型, 是组织病理学分型的有效补充, 重要的是, 该分子亚型表现突出的基因特性, 为临床试验中不同胃癌人群的分组、靶向治疗药物的筛选和重要生物标志物的发现提供了指导。然而该分型在分析不同分子亚型的生存时间和复发率时并没有显著性的差异, 研究中所使用的样本也大都来自欧美国家, 亚洲样本较为缺乏。

2.5 ACRG 基因分型

2015 年 4 月 20 日发表在《Nature Medicine》杂志的一项研究结果 [28] 显示: 亚洲癌症研究组 (ACRG) 通过对 300 例全胃或部分胃切除的原发性肿瘤样本进行多种数据分析, 包括对 49 例肿瘤样本 (亚洲胃癌研究群体) 进行全基因组测序, 并确定周期性体细胞突变; 以及对另外的 251 例原发肿瘤样本进行基因表达谱分析, 全基因组拷贝数芯片, 靶向基因测序, 确定 4 种分子分型: *MSS/EMT* 亚型、*MSI* 亚型、*MSS/TP53+* 亚型和 *MSS/TP53-* 亚型。该分型与不同的分子改变、疾病进展和预后模式相关: (1) *MSS/EMT* 亚型常见 (>80%) 于弥散浸润型胃癌 (III~IV 期), 预后最差, 在四种亚型中发病较早, 复发频率 (63%) 最高; 该亚型的突变率较其它 *MSS* 群体低。(2) *MSI* 亚型主要发生在胃窦部 (75%), 60% 以上为肠型, 而且部分 (>50%) 在早期可被诊断出来 (I/II 期); 是四种亚型中预后最好且复发频率最低 (22%) 的亚型; 该型与超突变相关, 例如 *KRAS* (23.3%), *PI3K-PTEEN-mTOR* 信号通路 (42%), *ALK* (16.3%) 和 *ARID1A* (44.2%) 基因突变。(3) *MSS/TP53+* 亚型和 *MSS/TP53-* 亚型预后和复发频率居中, 其中 *MSS/TP53+* 亚型具有更好的预后; *EBV* 病毒在 *MSS/TP53+* 亚型中的感染率要高于其他三型; *MSS/TP53-* 亚型中 *TP53* 基因突变最高 (60%), 相比之下, *MSS/TP53+* 亚型中其它基因 (如 *APC*, *ARID1A*, *KRAS*,

PIK3CA 和 *SMAD4*) 具有更高的突变率。此外, 研究者观察到: (1) *MSS/EMT* 亚型中的腹膜种植率 (64%) 高于其它三种亚型之和 (23%); (2) *MSI* (23%) 和 *MSS/TP53-* (21%) 亚型的肝转移率高于 *MSS/EMT* (4.6%) 和 *MSS/TP53+* (8%) 亚型。值得关注的是, 研究者将 ACRG 的分子亚型与新加坡和 TCGA 群体进行比较发现除了细胞因子和 TCGA C2 群体 (在新加坡分类中表达亚型缺失) 之外, 他们之间具有较高相似的表达亚型, 可以得到同样的预后结果。在新加坡和 TCGA 群体中没有相同的亚型可以替代 ACRG 分型的 *MSS/TP53+* 和 *MSS/TP53-* 群体, 所有分析表明 ACRG 分型是独一无二的。ACRG 分型与之前分型最大的区别在于首次发现了不同分子亚型的生存时间和复发率的显著性差异, 得到了分子分型与临床转归的关联结果, 其样本源于亚洲人群, 对中国胃癌病人的管理更有临床意义, 将为我国胃癌的诊断和治疗带来新的突破。

3 结语与展望

胃癌是一种高度异质性疾病, 由多种基因突变和表观遗传畸变所驱动。目前, TNM 分期仍然是预测胃癌预后的全球性标准, 然而, 其他因素在胃癌患者自然进程和生存期中也是至关重要的。最近的一系列靶向药物治疗研究的失败, 使胃癌治疗药物面临着一项巨大的挑战。现存的胃癌分型对临床指导意义有限, 不能有效指导个体化精准治疗靶向药物的选择, 因此仍需要其它的分类方法。可喜的是, 近年来基因组学技术的进步, 特别是, 高通量测序和基因芯片技术的发展允许在高分辨率和分子水平上研究胃癌。这种分子谱数据极大地促进了胃癌潜在驱动变异的识别, 例如基因突变、染色体变异、转录改变及表观遗传紊乱, 使得未来基于分子分型的个体化精准治疗成为可能。癌症基因组谱 (TCGA) 是一项具有里程碑意义的研究, 它开启了胃癌分子分型的新时代。随着胃癌分子分型研究的不断深入和扩展, 靶向药物治疗和化疗的个体化有望为胃癌患者带来新的治疗选择。未来的胃癌研究工作应该潜心于阐明胃癌驱动基因的功能及其临床水平, 这种驱动基因将作为临床重要生物标志物和潜在治疗靶点, 并且可以通过精心设计的临床试验得到确认和识别。

其他有前途的研究领域还包括对增加胃癌患病风险的环境和传染性病原体 (H. Pylori 或 EBV) 等因素的进一步剖析和对影响胃癌生存期和治疗反应的肿瘤微环境 (基质细胞/免疫细胞和血管动力学) 的研究。因此伴随着不断扩增的相关知识和信息, 我们对胃癌的了解需要进一步加深。从分子生物学创立引起肿瘤治疗模式的变化, 从分子水平重新认识疾病, 相信未来的肿瘤治疗模式应该是分子分型指导的个体化精准治疗。

参考文献:

[1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.

[2] World Health Organization. Health statistics and information systems: WHO mortality database [EB/OL]. http://who.int/healthinfo/mortality_data/en/, 2015-08-10.

[3] Wohrer SS, Raderer M, Hejna M. Palliative chemotherapy for advanced gastric cancer [J]. *Ann Oncol*, 2004, 15(11): 1585-1595.

[4] Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma, an attempt at a histoclinical classification [J]. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1965, 64: 31-49.

[5] Hamilton SR, Aaltonen LA. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the digestive system [M]. Lyon: LARC Press, 2000.

[6] Shah MA, Khanin R, Tang L, et al. Molecular classification of gastric cancer: a new paradigm [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(9): 2693-2701.

[7] Sakamoto H, Yoshimura K, Saeki N, et al. Cancer SGoMGPF. Genetic variation in PSCA is associated with susceptibility to diffuse-type gastric cancer [J]. *Nat Genet*, 2008, 40(6): 730-740.

[8] Saeki N, Gu J, Yoshida T, et al. Prostate stem cell antigen: A Jekyll and Hyde molecule? [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(14): 3533-3538.

[9] Leung SY, Chen X, Chu KM, et al. Phospholipase A2 group IIA expression in gastric adenocarcinoma is associated with prolonged survival and less frequent metastases [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(25): 16203-16208.

[10] Ganesan K, Ivanova T, Wu Y, et al. Inhibition of gastric cancer invasion and metastases by PLA2G2A, a novel beta-catenin/TCF target gene [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(11): 4277-4286.

[11] Ooi CH, Ivanova T, Wu J, et al. Oncogenic pathway combinations predict clinical prognosis in gastric cancer [J]. *PLoS Genet*, 2009, 5(10): e1000676.

[12] Shah MA, Kelsen DP. Gastric cancer: a primer on the epidemiology and biology of the disease and an overview of the medical management of advanced disease [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2010, 8(4): 437-447.

[13] Bittoni A, Scartozzi M, Giampieri R, et al. Clinical evidence for three distinct gastric cancer subtypes: time for a

new approach [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e78544.

[14] Tan IB, Ivanova T, Lim KH, et al. Intrinsic subtypes of gastric cancer, based on gene expression pattern, predict survival and respond differently to chemotherapy [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(2): 476-485.

[15] Dong W, Yu Q, Xu Y. Altered expression of a Li-cadherin in gastric cancer and intestinal metaplasia [J]. *Dig Dis Sci*, 2007, 52(2): 536-542.

[16] Ito R, Oue N, Yoshida K, et al. Clinicopathological significant and prognostic influence of cadherin-17 expression in gastric cancer [J]. *Virchows Arch*, 2005, 447(4): 717-722.

[17] Lee HJ, Nam KT, Park HS, et al. Gene expression profiling of metaplastic lineages identifies CDH17 as a prognostic marker in early stage gastric cancer [J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(1): 213-225.

[18] Liu QS, Zhang J, Liu M, et al. Lentiviral-mediated miRNA against liver-intestine cadherin suppresses tumor growth and invasiveness of human gastric cancer [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(8): 1807-1812.

[19] Lei Z, Tan IB, Das K, et al. Identification of molecular subtypes of gastric cancer with different responses to PI3-kinase inhibitors and 5-fluorouracil [J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(3): 554-556.

[20] Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma [J]. *Nature*, 2014, 513(7517): 202-209.

[21] Murphy G, Pfeiffer R, Camargo MC, et al. Meta-analysis shows that prevalence of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer differs based on sex and anatomic location [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(3): 824-833.

[22] Lee J, van Hummelen P, Go C, et al. High-throughput mutation profiling identifies frequent somatic mutations in advanced gastric adenocarcinoma [J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38892.

[23] Sukawa Y, Yamamoto H, Noshio K, et al. Alterations in the human epidermal growth factor receptor 2-phosphatidylinositol 3-kinase-v-akt pathway in gastric cancer [J]. *World J Gastroenterology*, 2012, 18(45): 6577-6586.

[24] Benusiglio PR, Malka D, Rouleau E, et al. CDH1 germline mutations and the hereditary diffuse gastric and lobular breast cancer syndrome: a multicentre study [J]. *J Med Genet*, 2013, 50(7): 486-489.

[25] Kuo HW, Huang CY, Fu CK, et al. The significant association of CCND1 genotypes with gastric cancer in Taiwan [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(9): 4963-4968.

[26] Deng N, Goh LK, Wang H, et al. A comprehensive survey of genomic alterations in gastric cancer reveals systematic patterns of molecular exclusivity and co-occurrence among distinct therapeutic targets [J]. *Gut*, 2012, 61(5): 673-684.

[27] Kim J, Fox C, Peng S, et al. Preexisting oncogenic events impact trastuzumab sensitivity in ERBB2-amplified gastroesophageal adenocarcinoma [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(12): 5145-5158.

[28] Cristescu R, Lee J, Nebozhyn M, et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes [J]. *Nat Med*, 2015, 21(5): 449-456.