

胃癌分子分型的研究进展

刘 灿,孟祥瑞,王 峰

(郑州大学第一附属医院,河南 郑州 450052)

摘要:胃癌异质性强,预后差,TNM分期目前仍是预测患者预后的金标准。随着新一代测序技术和其他分子生物学方法的出现,有关胃癌分子分型的研究正深入开展。高通量技术的发展实现了全面研究胃癌相关的新型基因突变、染色体改变及表观遗传学改变。更精细的分子分型已打破常规组织分型,无论是已经明确的 Tan 基因分型、Shah 基因分型、新加坡基因分型、TCGA 基因分型和 ACRG 基因分型,或是从免疫特征、肿瘤基质、miRNA、信号通路、克隆、风险评估模型等各个不同层面进行与预后相关的胃癌分子分型的探索,都能够让我们重新认识胃癌的生物学本质,指导未来以分子分型为基础的个体化治疗及更好的预后评估。

主题词:胃肿瘤;分子分型;预后

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2018)12-1141-06

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2018.12.B001

Research Progress on Molecular Classification of Gastric Cancer

LIU Can, MENG Xiang-rui, WANG Feng

(The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: Gastric cancer has high heterogeneity and poor prognosis. TNM staging is still the gold standard for predicting the prognosis of patients currently. With the emergence of next generation sequencing technology and other molecular biological methods, researches on molecular typing of gastric cancer is being carried out in depth. The development of high-throughput technology has facilitated the comprehensive study of novel gene mutations, chromosome alterations and epigenetic changes in gastric cancer. Finer molecular typing has broken conventional tissue typing, whether it is well-defined Tan genotyping, Shah genotyping, Singapore genotyping, TCGA genotyping and ACRG genotyping, or the exploration of prognosis-associated molecular typing of gastric cancer from immunological characteristics, tumor stroma, miRNA, signaling pathways, cloning, risk scoring models, and other aspects, all of these can allow us to further recognize the biological nature of gastric cancer, to precisely guide the individualized treatment based on molecular typing and better prognostic assessment in the future.

Subject words: gastric cancer; molecular classification; prognosis

胃癌(gastric cancer, GC)是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一。据统计,胃癌的发病率居所有肿瘤第5位,死亡率则高居第3位,其5年生存率不足30%^[1]。胃癌东西方的流行病学和组织病理学差异极大,其平均基因拷贝数的变化远高于其他肿瘤类型,表明胃癌是一种异质性极强的肿瘤^[2]。而其临床异质性很可能是由于癌细胞分子特征的差异所致。随着现代医学技术的发展,包括基因组学、蛋白组学、代谢组学等研究使多种肿瘤的分子生物学特征更加

明确,及二代测序技术的广泛开展,有助于我们更加全面的定义胃癌复杂的基因组景观,指导其治疗与预后^[3]。

既往胃癌的临床病理分型系统主要包括 Lauren 分型^[4]和世界卫生组织(WHO)分型^[5]。Lauren 分型将胃癌分为两大亚型:肠型和弥漫型;WHO 分为管状、乳头状、黏液状和黏连/印戒等类型。分型的依据是胃癌的形态特征、生长方式、组织结构和病理特征。但这类分型受到观察者个人观点与临床经验等诸多因素影响,获得的分型结果与肿瘤的实际生物学行为存在较大偏差,对临床治疗指导意义不足。随着基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等研

通讯作者:王峰,副主任医师,副教授,博士生导师,博士;郑州大学第一附属医院肿瘤科,河南省郑州市二七区建设东路1号(450052);E-mail:fengw010@163.com

收稿日期:2018-06-21; **修回日期:**2018-08-17

究的开展,胃癌的分子分型逐渐成熟。

1 分子分型的概念及发展

肿瘤分子分型的概念最早出现在 20 世纪 90 年代,是指通过综合的分子分析技术获取更多的肿瘤信息并在此基础上建立的新分型。2004 年 Jinawatch 等利用一代基因芯片技术分析胃癌基因表达谱,归纳出 46 个特征基因来区分弥漫型及肠型胃癌。2011 年 Tan 等^[6]分析了 37 个胃癌细胞株,确定了 2 种内在基因亚型:基因肠型(G-INT)和基因弥漫型(G-DIF)。两种亚型与组织学 Lauren 分型部分一致,是独立预后因子和疗效预测因子。基因肠型预后较好,基因弥漫型预后差。G-INT 亚型对顺铂的耐药性更高,但对 5-氟尿嘧啶和奥沙利铂更敏感。2011 年 Shah 等^[7]用基因芯片对 36 例局灶性胃癌样本进行差异基因表达谱分析,将胃癌分为近端非弥漫型胃癌、弥漫型胃癌和远端非弥漫型胃癌三类。

随着新一代测序技术应用到肿瘤研究中,分子分型迎来了全盛时期。2013 年 Lei 等^[8]对 248 例胃癌标本进行分析,依靠基因特征将 GC 分为三种不同的亚型,称为增殖型、代谢型和间充质型。这三个亚组显示出分子和遗传特征的差异以及对药物治疗反应的不同。增殖型亚型具有高水平的基因组不稳定性,TP53 突变和 DNA 低甲基化,而代谢和间充质亚型分别表现出对 5-氟尿嘧啶治疗和磷脂酰肌醇 3 激酶-AKT-mTOR 抑制剂的敏感性^[8]。尽管该分类基因亚型具有不同的分子遗传特性和治疗敏感性,但该分型没有显示出明显的生存差异。

2014 年癌症基因组图谱研究协作组(TCGA)在《Nature》上发表了胃癌分子分型研究结果^[9],研究小组对 295 例胃癌患者组织和血液标本进行体细胞拷贝数分析、全外显子测序分析、DNA 甲基化分析、mRNA 测序、microRNA 测序、反相蛋白组分析(RP-PA),通过对数据的整合分析,将胃癌分为四个亚型:EBV 感染型、微卫星不稳定型(MSI)、基因组稳定型(GS)和染色体不稳定型(CIN)。随着对大样本的分析发现,这种分子分型虽对预后有一定的预测作用,但因各亚型均有相对特殊的靶向治疗通路,故其更多的意义是指导临床实践。如 EBV 感染型中 PD-L1 和 PD-L2 高表达,JAK2 基因扩增,PI3KA 突

变,为靶向治疗提供了潜在靶点。MSI 型的基因突变率较高,表达肿瘤特异性抗原增多,常可见 MHC-I 类基因改变,提示了免疫治疗的潜在可能。CIN 亚型是 TCGA 分型中所占比例最高的一型,也是涉及以往和未来靶向治疗药物最多的一型,该型多有 RTK 扩增基因(HER2、EGFR、MET、FGFR、VEFGA),为层出不穷的靶向药物提供了靶点^[10]。GS 亚型与组织学弥漫型关系密切,包括基因突变或 CLDN18-ARHGAP26 融合引起的 RHOA 信号通路异常^[11]。由于 RHOA 信号通路在细胞运动方面起作用,这也可以解释该型胃癌的弥漫浸润的特性。目前尚无针对 RHOA 信号通路的靶向药物,但是这一发现为治疗弥漫型胃癌提供了启示。

2015 年亚洲癌症研究组(ACRG)在《Nature Medicine》发表了一项大样本胃癌分子水平的研究数据^[12]。该研究采用了新一代测序技术,累计分析了 300 例胃癌组织样本。通过对数据的整合,提出了 4 个分子亚型:微卫星不稳定(MSI)型、上皮间质转化(EMT)型、微卫星稳定(MSS)/p53+型和微卫星稳定(MSS)/p53-型。这 4 种胃癌亚型也具有临床相关性,并且与 TCGA 亚型不同^[13]。研究者对四种亚型进行生存分析,不同亚型之间的总生存率存在实质性差异:MSI 亚型预后最好,其次是 MSS/TP53+和 MSS/TP53-亚型,MSS/EMT 亚型预后最差。在调整几种协变量后,MSS/EMT 亚型在多变量分析中保持了其在 ACRG 群组预后中的显著统计学意义。此后研究者三个独立队列中及三个或四个数据集合并的组合集中分别验证了 GC 亚型的生存趋势,发现 GC 亚型在不同队列中与 ACRG 队列总体生存趋势一致。即 ACRG 亚型与总体生存率存在高度相关性,且这些分子亚型是稳健存在的。验证 GC 亚型及其在不同 GC 群组中的预后意义,可提供用于 GC 的临床前、临床和转化研究的分子亚型框架。

TCGA 和 ACRG 分类进行比较,既有重叠又有很大不同。例如,TCGA 分型是基于全球人群的,ACRG 分型主要基于日韩为主的亚洲人群;两种分类系统都能够鉴别 MSI 阳性肿瘤,并且 TCGA 的 GS、EBV+和 CIN 亚型可能分别与 ACRG 的 MSS/EMT、MSS/TP53+和 MSS/TP53-亚型重叠。但是,CDH1 和 RHOA 这些在 TCGA GS 肿瘤中高频突变的基因在 ACRG MSS/EMT 亚型中突变率低^[12]。

TCGA 胃癌亚型通过基因组和蛋白质组综合分析,基于相似的关键 DNA 缺陷和分子异常将它们分组。这种分类方式将有助于研究人员筛选治疗靶点,指导临床研究和药物研发。ACRG 分类对预后具有预测意义,可指导治疗策略的制定。这些发现表明,TCGA 和 ACRG 分类系统是相关但不同的。

近来关于胃癌分子分型的研究日益增多,我国也有针对国人的队列研究:香港中文大学的研究团队针对胃癌分子亚型开展系列研究,研究分析了 544 例胃癌的体细胞突变情况,根据突变负荷分为过度突变(86.8%)和常规突变(13.2%)两个亚型,前者与微卫星不稳定性高度相关。根据突变基因类型,常规突变亚型可进一步分为 C1 和 C2 这两个预后迥然的亚型,C1 亚型预后明显优于 C2 亚型,是独立于分期的不良预后因素。这一新的分子分型体系有助于区分不同预后的群体,为制定个体化治疗方案提供依据。但是,该研究缺乏临床和手术资料(残留肿瘤、切除淋巴结数和更精确的临床肿瘤分期),造成了其的局限性。在弥漫型胃癌中,发现 *CDH1* 突变与患者生存时间缩短相关,与疾病分期无关^[14]。提示 *CDH1* 突变可能将弥漫型胃癌分成预后不同的两个亚组^[8]。

2 与预后相关的胃癌分子分型

2.1 根据免疫特征的分子分型

PD-L1 的表达与错配修复(MMR)状态一起,是潜在预测免疫调节治疗疗效的生物标记物^[15],但是它们在食管癌与胃癌患者中的预后价值仍不明确。在 2018 年 ASCO-GI 上,发表了一项评价 PD-1、PD-L1 的表达水平和 MMR 状态与未经化放疗的胃腺癌和食管癌的预后相关性研究结果^[16],该研究分析了 174 例未经放化疗手术切除的食管癌和胃癌,检测原发肿瘤部位的肿瘤细胞和肿瘤浸润性免疫细胞中的 PD-1 和 PD-L1 的表达,并行免疫组化检测 MMR 状态。并利用 TCGA 数据库中 354 例胃腺癌数据,在 mRNA 水平检测患者 PD-1 和 PD-L1 的表达,关注它们与 MMR 状态和预后的相关性。结果发现,PD-1 表达与 MMR 状态无关,但肿瘤细胞和肿瘤浸润免疫细胞中 PD-L1 的表达与 dMMR 相关($P=0.001$),肿瘤细胞 PD-L1 表达水平、MMR 状态与预后均无关。

但是,肿瘤浸润免疫细胞中高 PD-1 表达和高 PD-L1 表达与 OS 延长显著相关,特别是在 pMMR 肿瘤中。

2.2 根据东西方胃癌免疫特征差异的分子分型

亚洲和非亚洲国家胃癌患者临床结局的差异既往归因于临床管理的差异。然而,最近的国际 III 期试验表明,即使采用标准化治疗,GC 结果也因地理区域而异^[17]。研究者们研究了亚洲和非亚洲 GCs 之间的基因表达差异,判断这些分子差异是否影响其临床预后。研究比较了来自 6 个亚洲和 3 个非亚洲 GC 队列的 1016 个 GC 的基因表达谱,利用计算机对来自亚洲和非亚洲地区($n=665$)的两个独立组织芯片(TMA)队列进行免疫组化分析,结果发现在亚洲人和非亚洲人 GC 之间差异表达的基因特征与免疫功能和炎症有关。非亚洲 GC 显著富集与 T 细胞生物学相关的特征,包括 CTLA-4 信号传导。同样在 TMA 队列中,与亚洲 GC 相比,非亚洲 GC 中 T 细胞标志物表达更高(CD3,CD45RO,CD8),免疫抑制调节性 T 细胞标志物 FOXP3 表达较低($P<0.05$)。嗜中性粒细胞和巨噬细胞是与炎症相关的常见细胞,日本 GC 具有显著更高数量的嗜中性粒细胞标记 CD66b 阳性细胞,相反,高加索 GC 显著富集巨噬细胞标志物 CD68。免疫细胞标志物(即 CD3,CD68,CD66b,CD8,CD45RO 和 FOXP3)可以单独降低地理位置引起特异性预后的显著性。这表明,肿瘤浸润性免疫细胞的差异可能影响队列中的局部特异性存活。单变量与多变量 Cox 回归模型显示 CD68 和 CD3 是与生存独立相关的免疫标记,然而,它们与预后呈复杂且非线性关系。先前研究发现,肿瘤内 CD68/CD3 比例高的肿瘤通常是具有高度侵袭性,此类患者通常预后不良^[18,19]。事实上,在 TMA 队列,CD68/CD3 比例与 5 年生存率的回归分析也表明了此种趋势。在 TMA 队列内发现与亚洲人相比,非亚洲人倾向于具有显著更高的 CD68/CD3 比例,这一观察可能部分解释了为什么非亚洲 GC 患者与亚洲 GC 患者相比,一般存活率较差。

研究对 1600 个 GCs 的分析表明,亚洲和非亚洲 GC 可能具有不同的免疫相关组分,尤其是非亚洲 GC 中 T 细胞浸润的丰度更高。这些差异可能会影响不同地域的临床结果以及未来试验的设计,特别是在肿瘤免疫学领域。

2.3 根据肿瘤基质的分子分型

在亚洲癌症研究组(ACRG)项目中,研究者定义了胃癌中的四种不同的分子亚型。间充质型(微卫星稳定的上皮-间质转化表型, MSS/EMT)在所有亚型中预后最差^[20]。为了开发用于预测间充质亚型 GC 的基因标记,研究者在 70 个 ACRG 标本中使用 NanoString 测定进行了基因表达谱分析,获得了 71 个基因的 MSS/EMT 标记,并在 ARTIST 试验的队列中进行了验证^[15],评价间充质亚型与生存之间的关联。鉴定的间充质亚型表现出更强的侵袭性,例如弥漫型胃癌,涉及全胃的 GC,低分化或印戒细胞癌, MSS 和更短的总生存期。当根据临床预后参数分析亚型时,存活差异仍然显著。该研究表明,基于 NanoString 的间充质亚型 71 基因标记是 GC 患者预后的有力预测指标。而且发现 MSS/EMT 亚型与其他亚型相比复发率显著提高,5 年内生存率持续下降。因此,应该为 GC 的这个亚型开发更积极的治疗策略以改善生存。

2.4 根据 microRNA 的分子分型

MicroRNA 是一类小型非编码 RNAs,在细胞的发育、分化、应激反应、细胞凋亡和增殖过程中发挥重要作用^[21]。一些研究已经报道 microRNA 表达的特征与发展与恶性肿瘤预后之间的关联^[22,23]。其中一项研究采用 microRNA 芯片分析来自日本两个独立亚组患者的 353 份胃癌样本,评估 microRNA 表达与胃癌进展和预后之间的关系。通过多变量回归分析,以确定微小 RNA 是否是独立的预后因子。结论为 let-7g 和 miR-433 的低表达、miR-214 的高表达预示着胃癌患者更差的预后^[24]。

另有一项研究通过实时 RT-PCR 分析 100 例胃癌患者的 microRNA 表达谱,使用 Cox 比例风险回归和风险评估分析来鉴定 7-miRNA 标记,可将不同预后的患者分类。7-miRNA 标记(miR-10b, miR-21, miR-223, miR-338, let-7a, miR-30a-5p, miR-126 ($P=0.0005$))和总生存(OS)和无复发生存(RFS)相关。多变量分析显示 7-miRNA 标记是 OS 和 RFS 的独立预测因子^[25],其预测价值在两个独立队列中均得到验证。此项研究表明 7-miRNA 标记与胃癌患者的临床预后密切相关,可能有助于对患者进行危险分层。

2.5 根据信号通路的分子分型

2018 年美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤研讨会

(ASCO-GI)上,北京大学肿瘤医院的沈琳教授团队公布了一项关于 RhoA 活性调控通路与接收化疗的胃癌患者生存相关性的研究结果^[26]。RhoA 是 Ras 超家族中一种具有 GTP 酶活性的小 G 蛋白分子,该研究从 48 个 RhoA 活性调控通路基因中发现有 27 个基因存在突变频率差异 ($P<0.05$),这 27 个基因组成的亚组标记为 RhoA_S。对 4 个独立的胃癌患者队列行高通量测序,对测序数据行肿瘤体细胞突变图谱分析,通过计算克隆突变负荷(clonal mutation Burden, CMB)评估不同克隆的肿瘤内部异质性,并评估 RhoA_S 对 OS 的预测作用。结果发现:(1)RhoA_S 突变与基因组变化呈正相关;RhoA_S 突变与更高的 CMB 相关,显示肿瘤内部异质性更高,同时也具有更复杂的克隆结构。(2)RhoA_S 突变患者的总体生存期延长。对不同队列进行生存分析发现,携带 RhoA 活性调控通路突变的胃癌患者与野生型或者携带功能获得性 RhoA 突变的患者相比生存时间更长,即携带 RhoA_S 突变的胃癌患者预后更好。在中国患者 CGC 组,无论是 MSI-H/MSS, TMB 高/低, NAB 高/低,均与总体生存率无显著相关性。对 TCGA 样本的分析也得到了类似的结果。说明了相对于免疫标记, RhoA_S 基因突变状态能更好地预测胃癌患者预后,其可作为胃癌患者总生存期的一个预后标志物。该研究为我们提供了一个选择,可将胃癌患者生存对应的 RhoA 基因突变扩展到调控通路水平,是基因组时代胃癌研究领域一次创新性的科研尝试。

2.6 根据克隆的分子分型

为了确定可能为个体化治疗策略提供指导的潜在临床可行治疗靶点,有研究^[27]对 78 个不同组织学和解剖位置的 GC 进行了全外显子测序,并对两个 GC 病例进行了全基因组测序,数据显示具有高克隆性(HiC)或低克隆性(LoC)的两种不同的 GC 亚型。HiC 亚型的肿瘤内异质性与年龄较大、TP53、突变较高、C>G 过渡富集、生存期显著缩短有关,而 LoC 亚型与年龄较小、富含 ARID1A(AT 富含交互域 1A)突变、存活时间显著延长相关。生存分析显示,与 LoC 亚型相比,HiC 亚型与生存期较短显著相关($P=0.02$)。HiC 和 LoC 亚型之间的治疗方案没有显著性差异。调整年龄、性别、分期、组织分型、TP53 突变和 ARID1A 后,这种关联仍然显著存在,表明克隆亚型

是 GC 的独立预后因素。

3 风险评分模型

TCGA 的胃癌组织的基因组和蛋白质组综合分析揭示了四种分子不同的亚型,为确定这四种亚型的临床意义, Lee 等重新分析了 TCGA 中胃癌部分四种亚型的基因表达数据,通过汇集四个预测因子(亚型)的概率来开发综合风险评估模型(TRS)^[11],并且在两个大型独立队列(共 699 例患者)中测试此模型,证明了模型的稳健性。为了评估 TRS 与其他临床变量的预后价值,研究者合并临床病理变量的汇总队列(MDACC 和 SMC 队列),进行单变量和多变量 Cox 比例风险回归分析,并根据 TRS 分层,低危患者的 5 年 RFS 率为 66.7%,中危患者为 52.1%,高危患者为 37.5%^[28]。发现除了 T 期、N 期、远处转移和 AJCC 分期这些众所周知的预后因素外,TRS 是单因素分析中 RFS 的重要预测因子。当将所有相关临床变量纳入多变量 Cox 回归分析时,TRS 仍然是一个显著的预后因子,与 5 年复发率呈线性相关。TRS 值在四种亚型中的分布反映了每种亚型的预后:GS 亚型患者 TRS 值最高,EBV 亚型患者 TRS 值最低。再次验证了 EBV 亚型在无复发生存和总生存方面预后最好,而 GS 型预后最差,微卫星不稳定型与染色体不稳定型预后中等。模型中使用的亚型特异性遗传特征不仅预测了生存结果,还预测了辅助化疗的相对益处。研究结果表明,染色体不稳定型患者化疗的获益最大,GS 型患者未见化疗获益,而微卫星不稳定型患者具有中等程度获益;EBV 亚型患者由于均进行了化疗,无法进行化疗获益评估。

有研究利用筛选出的胃癌生物标志物和多变量 Cox 回归相结合,建立了一个风险评分模型来预测胃癌的生存,比较高/低风险组之间的生存差异^[28]。搜索 TCGA 数据库,选取其中与总体存活性显著相关的 13 个基因,采用 Cox 多变量模型进行风险评分模型的建立。通过将 TCGA 数据集中的样本分成高风险和低风险两个亚组,评估风险评分表现。低风险分数的存活时间及无复发生存期较高风险分数组显著更长。此后在三个独立的数据集 GSE15459(n=192)、GSE26253(n=422)和 GSE62254(n=300)验证,得到相似的结果。临床相关性分析显示该评分与其

他临床信息如性别、年龄和原发肿瘤大小无显著相关性,但与肿瘤分级及分期显著相关。此外,风险评分也不受放疗的影响。Cox 多因素回归分析和 3 年生存分析表明,风险评分是胃癌预后的重要指标。GSEA 用于鉴定与风险评分显著相关的 KEGG 通路,并且鉴定了涉及粘着斑和 TGF- β 信号传导途径的信号传导途径。为了研究风险评分如何预测胃癌患者的生存,用 GSEA 检测高/低风险组之间的差异基因表达。结果显示富集了多种与癌症有关的 KEGG 信号传导途径,包括 TGF- β 信号传导途径、黏着斑、缝隙连接、肌动蛋白细胞骨架调节和 MAPK 信号传导通路。这些结果表明,风险评分反映了胃癌细胞的多种状态,从而预测了存活率。

此外,也有研究使用微阵列技术,预测胃癌患者术后的复发风险^[29]。研究分析了来自 65 例胃癌患者的基因表达谱数据,以鉴定根治性切除术后与复发相关的基因,根据可预测复发可能性的六种基因的表达开发建立实用的基于生物标志物的风险评分系统。在多变量分析中,GSH1 队列(n=96)中高风险评分组患者的无复发生存率显著降低,显示风险评分是复发的独立预测因子。此后在另外的独立队列(GSH2)中显示高风险评分组患者的无复发生存率和总生存率均显著降低,进一步验证六基因风险预测评分系统的稳健性。多个基于多基因的风险评分模型已被开发,有待于进一步完善和更大队列的验证。

基因技术的进步促使胃癌的分子分型从组织学分型到更加精确的基因分型,使分子分型与预后及个体化治疗的发展联系更为密切,有重要的药物研发和临床研究价值,但临床实践价值仍待验证。现阶段胃癌分子分型的局限性表现为:仍以单个生物标志物驱动为主,缺乏根据不同分型区分人群进行临床研究;肿瘤多重角度分析,肿瘤免疫、代谢等复杂的肿瘤微环境因素正在探索阶段;对于靶向药物的研发具备一定的筛选价值,但指导化疗药物欠缺充分依据;单一的分子生物标志物往往由于胃癌的异质性而不能准确预测预后,多个基于多基因的风险评分模型已被开发,有待于进一步完善和更大队列的验证。

分子生物学的发展使我们从分子水平重新认识疾病,包括胃癌在内的肿瘤治疗模式已逐步向分子分型指导的个体化治疗模式转变,需要更深入的基

础、转化和临床研究完善胃癌的分子分型,使之能更好的指导胃癌新药临床研究及个体化治疗。

参考文献:

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] Bang YJ, Kim YW, Yang HK, et al. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a phase 3 open-label, randomised controlled trial[J]. Lancet, 2012, 379(9813): 315-321.
- [3] Sarda S, Hannenhalli S. Next-generation sequencing and epigenomics research: a hammer in search of nails[J]. Genomics Inform, 2014, 12(1): 2-11.
- [4] Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. an attempt at a histo-clinical classification [J]. Acta Pathol Microbiol Scand, 1965, 64: 31-49.
- [5] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [6] 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, e1-e11.
- [7] 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.
- [8] 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): 554-565.
- [9] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma [J]. Nature, 2014, 513(7517): 202-209.
- [10] Katona BW, Rustgi AK. Gastric cancer genomics: advances and future directions [J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2017, 3(2): 211-217.
- [11] Sohn BH, Hwang JE, Jang HJ, et al. Clinical significance of four molecular subtypes of gastric cancer identified by the cancer genome atlas project[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(15): 4441-4449.
- [12] 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.
- [13] Zou L, Wu Y, Ma K, et al. Molecular classification of esophagogastric junction carcinoma correlated with prognosis[J]. Onco Targets Ther, 2017, 10: 4765-4772.
- [14] 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.
- [15] Sunakawa Y, Lenz HJ. Molecular classification of gastric adenocarcinoma: translating new insights from the cancer genome atlas research network[J]. Curr Treat Options Oncol, 2015, 16(4): 17.
- [16] Svensson M, Borg D, Zhang C, et al. Associations of PD-1 and PD-L1 expression with mismatch repair status and prognosis in chemoradiotherapy-naïve esophageal and gastric adenocarcinoma[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(4_suppl): 9.
- [17] Lin SJ, Gagnon-Bartsch JA, Tan IB, et al. Signatures of tumour immunity distinguish Asian and non-Asian gastric adenocarcinomas[J]. Gut, 2015, 64(11): 1721-1731.
- [18] Eiro N, Pidal I, Fernandez-Garcia B, et al. Impact of CD68/(CD3+CD20) ratio at the invasive front of primary tumors on distant metastasis development in breast cancer [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e52796.
- [19] Sjobahl G, Lovgren K, Lauss M, et al. Infiltration of CD3 (+) and CD68(+) cells in bladder cancer is subtype specific and affects the outcome of patients with muscle-invasive tumors[J]. Urol Oncol, 2014, 32(6): 791-797.
- [20] Lee J, Cristescu R, Kim KM, et al. Development of mesenchymal subtype gene signature for clinical application in gastric cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(39): 66305-66315.
- [21] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [22] Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis[J]. Cancer Cell, 2006, 9(3): 189-198.
- [23] Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, et al. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma [J]. JAMA, 2008, 299(4): 425-436.
- [24] Ueda T, Volinia S, Okumura H, et al. Relation between microRNA expression and progression and prognosis of gastric cancer: a microRNA expression analysis[J]. Lancet Oncol, 2010, 11(2): 136-146.
- [25] Li X, Zhang Y, Zhang Y, et al. Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature [J]. Gut, 2010, 59(5): 579-585.
- [26] Gao J, Huang W, Mu S, et al. The pathway regulating RhoA activity to predict the survival of gastric cancers[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(4_suppl): 49.
- [27] Chen K, Yang D, Li X, et al. Mutational landscape of gastric adenocarcinoma in Chinese: implications for prognosis and therapy [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(4): 1107-1112.
- [28] Deng X, Xiao Q, Liu F, et al. A gene expression-based risk model reveals prognosis of gastric cancer [J]. Peer J, 2018, 6: e4204.
- [29] Cho JY, Lim JY, Cheong JH, et al. Gene expression signature-based prognostic risk score in gastric cancer [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(7): 1850-1857.