

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.11.029

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.11.029>

肿瘤出芽及其在结直肠癌中的研究进展

邓爽¹ 综述 谭林², 黄美园¹ 审校

(中南大学湘雅医学院附属株洲医院 1.病理科; 2. 消化内二科, 湖南 株洲 412007)

[摘要] 肿瘤出芽(tumor budding)现象是结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中一种特殊的病理形态学表现, 近年来, 肿瘤出芽现象开始逐渐受到关注, 随着人们对肿瘤出芽现象的重视及研究的不断深入, 肿瘤出芽的定义、病理生理意义、特征及分级的标准越来越清晰, CRC中肿瘤出芽的相关因素也逐渐明确, 肿瘤出芽与CRC的临床研究, 尤其是在预后、肿瘤转归等临床病理学方面的相关意义也逐渐显露了出来。

[关键词] 肿瘤出芽; 结直肠癌; 预后

Tumor budding and its research progress in colorectal cancer

DENG Shuang¹, TAN Lin², HUANG Meiyuan¹

(1. Department of Pathology; 2. Second Department of Gastroenterology, Affiliated Zhuzhou Hospital, Xiangya Medical College, Central South University, Zhuzhou Hunan 412007, China)

Abstract Tumor budding is a special morphological manifestation in colorectal cancer (CRC). In recent years, tumor budding has gradually attracted attention. With continuous development of people's attention and research in tumor budding, the definition, pathophysiological significance, characteristics, and grading criteria of tumor budding are becoming clearer. The relevant factors of tumor budding in CRC have gradually become definite. Clinical research in colorectal cancer, especially in the prognosis and tumor metastasis and other clinically relevant significance have also gradually revealed.

Keywords tumor budding; colorectal cancer; prognosis

肿瘤出芽是一种与多种癌症相关的病理现象。结直肠癌研究^[1]表明: 肿瘤出芽具有潜在的预后预测价值, 无论在疾病最初的病理阶段还是其他, 较高的出芽等级都与较高的复发率和较差

的整体生存率相关。欧洲肿瘤医学协会(European Society for Medical Oncology, ESMO)已提出肿瘤出芽是早期结直肠癌的潜在预后因素。因此, 关于肿瘤出芽现象及其与结直肠癌临床相关性的研

收稿日期 (Date of reception): 2019-02-16

通信作者 (Corresponding author): 黄美园, Email: 172740860@qq.com

基金项目 (Foundation item): 湖南省自然科学基金青年基金项目 (2018JJ3895)。This work was supported by Hunan Natural Science and Technology Fund Youth Fund Project, China (2018JJ3895).

究意义重大。

1 肿瘤出芽的概述

1.1 肿瘤出芽的定义

肿瘤出芽这个术语不是最近才提出来的,关于肿瘤出芽的定义也一直存在争议。其中,被广为接受的定义是^[2]:肿瘤出芽是存在于肿瘤浸润前缘、散在的呈未分化形态的单个肿瘤细胞或4个细胞构成的小灶状肿瘤细胞群。肿瘤出芽并不是一个静态的组织学特征,它代表了一个具有浸润和转移潜力的侵袭性肿瘤进展的动态过程,不仅意味着肿瘤细胞的简单脱离,而且是恶性肿瘤从局灶向全身疾病发展的一个重要步骤。

1.2 肿瘤出芽的病理生理意义

从病理生理学的角度来看,肿瘤出芽被认为是癌细胞活动的一个标志,也是肿瘤转移过程的第一步^[3]。转移的过程开始于细胞从肿瘤组织中脱离,通过周围组织渗透到小血管中,并通过血液循环转移到更远的位置,最终可能形成转移性疾病。转移中最重要的是上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程和间充质-上皮转化(mesenchymal-epithelial transition, MET)的反向过程^[4]。这些过程,有时被统称为上皮间质可塑性,是正常胚胎发生和伤口生理愈合的一部分。通过EMT,脱离的癌细胞部分或全部失去上皮特征,与邻近的上皮细胞脱离,开始移动,并获得间质特征,包括间质相关蛋白的表达。在转移位点,当它们到达细胞时,发生了相反的过程,在新的微环境信号的作用下,恢复了上皮细胞特性,并与邻近细胞重新建立了联系。事实上,与癌症相关的EMT/MET被认为赋予细胞干细胞的特性,这种与干细胞相关的可塑性可能有助于细胞在转移过程中在上皮和间质两种状态之间交替^[5-6]。

1.3 肿瘤出芽的特征

组织学上,肿瘤出芽多见于分化良好的腺癌,在肿瘤浸润的前缘组织中可见单个或小灶性肿瘤细胞群从肿瘤性腺体分离,呈细线样或小的条索状进入间质。肿瘤出芽细胞及胞核异型性大,形态多不规则,细胞质较丰富,呈嗜酸性,常发生融合,核深染。尽管肿瘤出芽在HE染色下即可观察到,但某些情况下也难以辨认。

细胞角蛋白免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)的应用可以方便地识别和快速分类肿瘤出

芽,并提高重复性。Leão等^[7]通过对2种染色方法对比,发现IHC重复性较HE染色更好。Prall等^[8]和Karamitopoulou等^[9]利用细胞角蛋白CKpan IHC评价了肿瘤出芽,并报告了良好的观察者一致性,两项研究也特别评估了常规HE染色与IHC之间的观察者一致性,发现使用IHC,观察者一致性提高。因此,近年来,大多数学者选择采用IHC染色标记肿瘤出芽细胞,从而减少对肿瘤出芽的判断错误。

1.4 肿瘤出芽的分级

一些最初关于肿瘤出芽的分级方法比较主观,例如Hase等^[10]提出的2级分级系统,简单分为“没有”或“少数”和“中等”或“重度”。Nakamura等^[11]提出了一个4级分级方法:无, <1/3为轻度, 1/3~2/3为中度, >2/3为重度。这些分级方法只应用在一部分工作中。

Ueno等^[12]提出了2个量化方法,选取肿瘤出芽密度高的热点区域,然后分别根据出芽数量(<5, 5~9, 10~19和≥20)将患者分为4组和出芽数量(<10和≥10)分为2组。当患者分为4组时,观察者之间较一致;分为2组时,一致性水平提高。随后Ueno法经过改良,根据出芽数量将患者分为低、中、高级别,出芽数分别为0~4, 5~9, ≥10芽(×20视野,即0.785 mm²区域)。这种方法在国际肿瘤出芽共识会议(international tumor budding consensus conference, ITBCC)上被提出作为肿瘤出芽的标准化判定方法^[2]。

有研究^[13]认为:应将肿瘤出芽纳入常规组织病理学报告中,以便更好地对CRC患者进行疾病风险分层。美国病理学家协会的CRC报告指南^[2]中也提出,将肿瘤出芽视为一个可选的报告指标,并建议在所有的CRC I期和II期病例中进行评估,这为CRC肿瘤出芽的标准化提供了一个报告工具。

2 结直肠癌中肿瘤出芽的相关因素

2.1 微卫星不稳定性

肿瘤出芽在缺乏错配修复蛋白基因的癌症中非常罕见^[14]。与微卫星稳定的CRC相比,微卫星不稳定的CRC有更多的肿瘤浸润淋巴细胞,肿瘤出芽发生率较低^[15]。

2.2 细胞凋亡

Dawson等^[16]的研究表明:肿瘤出芽细胞Ki-67和caspase-3阳性与患者死亡风险增加有关。此

外, 在肿瘤出芽细胞中发现了与细胞凋亡有关的各种蛋白质的变化。凋亡蛋白酶激活因子-1蛋白 (apoptosis protease-activating factor-1, Apaf-1) 是线粒体凋亡途径的关键调节因子, 它在高级别肿瘤出芽的肿瘤中减少^[17]。

从周围的细胞外基质中分离出来的上皮细胞会发生一种程序化细胞死亡的生理形式, 称为失巢凋亡。因此, 作为单个细胞的出芽, 如果要在迁移到血管并产生转移的过程中存活, 就必须发展出抵抗失巢凋亡的机制。这些机制是复杂的, 涉及到与EMT相关的多个信号通路。避免失巢凋亡可能是肿瘤出芽生物学行为的一个重要因素^[18]。

2.3 肿瘤间质

间质似乎与肿瘤出芽的过程和维持密切相关, 而且有利于肿瘤出芽细胞的传播。CD10的表达在良性基质细胞中的作用已经在CRC中被研究^[19]。由于CD10和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)在结构上相似, CD10可能创造出了一个有利于癌细胞入侵和转移的微环境。此外, MMP-9在肿瘤出芽细胞中的表达与更具侵略性的肿瘤表型之间也有很强的关系^[20]。 β -儿茶素蛋白(β -catenin protein)是一种膜细胞间黏附蛋白, 它与肿瘤出芽的发展密切相关。它在侵袭前沿的CRC细胞核中积累, 特别是在未分化或间质细胞中^[21-22]。这种累积激活了WNT信号通路和其他致癌事件的相关细胞^[23]。然而, 肿瘤出芽过程在很大程度上局限于侵袭边缘, 恶性上皮和基质之间的相互作用在此处发生, 这表明肿瘤出芽表型也是由间质细胞产生的生长信号所驱动^[13]。

2.4 缺氧和血管扩张

肿瘤出芽还与CRC肿瘤前缘低氧诱导的低血管扩张有关。肿瘤出芽细胞可以通过表达低氧诱导因子1 α (hypoxia-induced factor 1 α , HIF-1 α)介导的缺氧肿瘤表型来逃避缺氧, 从而增加其恶性潜能^[24]。此外, 转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF- β)是诱导血管发生的一个因素, 有研究^[25-26]发现: 在侵袭前缘的基质中, 毛细血管数量和TGF- β 的浓度均有所增加。

2.5 炎症浸润

有研究^[27]表明: 肿瘤出芽与CD8⁺ T细胞浸润呈负相关。这表明T细胞有可能防御CRC肿瘤微环境中肿瘤出芽细胞的浸润。一旦瘤芽形成, 这些细胞除失去主要组织相容性复合物-I (major

histocompatibility complex I, MHC-I)表达外, 还能够逃避CD8⁺ T细胞所主导的宿主免疫反应, 这支持了初级肿瘤的免疫回避可以缓解侵袭过程的观点^[28]。此外, 有2项研究^[29-30]表明: 炎症浸润的密度与较好的预后和较低级别的肿瘤出芽相关。

2.6 miRNAs

有研究^[31]发现: 接受术前化疗的直肠癌患者, 高级别肿瘤出芽患者检测到miRNA200c的降低。此外, 有研究^[32]表明: 高级别肿瘤出芽患者的miRNA200b水平有所下降。近年来, microRNAs (miRNAs)被认为是EMT的抑制者^[33], 特别是miR-200家族(miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141和miR-429), 它们可能通过抑制转录因子锌指E盒结合蛋白1(zinc finger E-box binding homeobox 1, ZEB1)和2 (ZEB2)对许多癌症中的EMT产生抑制作用。研究^[34-35]表明: miR-200低表达与肿瘤进展和生存力差有关, 而miR-200表达增加可能与MET有关。由于EMT和肿瘤出芽的相似性, 肿瘤出芽细胞可能是反映EMT这一动态过程的静态组织学图像^[3,36], 但是, miR-200的表达是否抑制肿瘤出芽还有待进一步研究。

2.7 RAS 信号

在CRC中, 鼠肉瘤(rat sarcoma, RAS)信号对EMT非常重要。正常的野生型RAS蛋白对与酪氨酸激酶结合的生长因子反应活跃。细胞增殖、细胞形状的调节和细胞迁移等过程都受到了RAS中介信号的刺激。在CRC中, 已知有约30%的肿瘤ras基因存在点突变, 且Kirsten ras (Ki-ras)突变与CRC患者复发和死亡风险增加有关^[37-38]。Trinh等^[39]的研究显示: KRAS/BRAF突变与肿瘤萌芽密切相关, 表明它们也参与了这一过程的调节。

3 肿瘤出芽与 CRC 的临床相关性

3.1 肿瘤转归

很少有研究探讨肿瘤出芽在接受术前化疗的患者术前活检中的重要性。Lugli等^[15]发现: 高度肿瘤出芽患者与低度肿瘤出芽患者相比, 其病理完全反应率增加。Almangush等^[40]系统回顾了所有在活检标本诊断中评估肿瘤出芽的研究, 结果显示: 肿瘤出芽得分与相应的手术样本之间存在着很强的相关性。肿瘤出芽的诊断活检对淋巴结转移和患者生存具有重要的预后价值。

3.2 淋巴结转移

Kawachi等^[41]通过对淋巴结转移风险分级的研究发现: 黏膜下浸润深度 ≥ 1 mm和出芽是T1期CRC患者淋巴结转移的重要预测指标。有研究^[42]发现: 伴有淋巴结转移和淋巴管侵犯的直肠癌患者中肿瘤出芽发生率显著高于无淋巴结转移者, 且局部复发多见于有肿瘤出芽的患者。此外, Ueno等^[12]的研究结果显示: 肿瘤出芽与淋巴结转移密切相关。这些研究结果提示: 肿瘤出芽是CRC具有侵袭性行为的一个重要指征, 肿瘤出芽是淋巴结转移的一个新的危险因素。

3.3 预后

CRC中肿瘤出芽与预后的关系, 国内外已有大量文献报道。一项研究^[43]对12项II期CRC的研究进行了系统回顾, 结果显示: 高度出芽是一个显著的不良预后因素, 并且能够独立预测病死率。在没有接受化疗或放疗的手术前治疗的I期至III期研究中, 高肿瘤出芽与整体生存率下降的相关性得到了证实。Ueno等^[44]发现: 在少于10个肿瘤出芽的患者中, 5年总生存率为84%, 而在 ≥ 10 个肿瘤出芽的患者中, 这一比率为40.7% ($P=0.0001$)。Okuyama等^[45]也发现高肿瘤出芽患者的5年生存率较低。在分项分析中, II期的5年生存率为71.3% vs 89.7% ($P<0.03$), III期为37.8% vs 62.5% ($P=0.396$)。此外, Choi等^[46]发现: ≤ 10 个瘤芽患者的5年生存率为76.7%, 而大于10个瘤芽的患者为47.2% ($P<0.0001$)。另一方面, Du等^[47]研究了III期化学治疗后的患者发现: 肿瘤转归阶段2, 3级患者与高肿瘤出芽组相比, 5年生存率更差, 在多元分析中, 肿瘤出芽的缺乏与较低的死亡风险有关。肿瘤出芽是新辅助放射治疗、化学治疗不良应答和患者不良预后的标志, 有可能成为避免新辅助放射治疗、化学治疗的一个指标^[48]。Cao等^[49]认为: 在CRC中预防或逆转EMT过程可能是减少转移、复发和对新辅助治疗抗药性的一种有希望的方法。然而, Bhangu等^[31]发现: 肿瘤出芽与术前化学治疗和放射治疗患者生存无关。最后, 有研究^[46-50]发现: 高级别肿瘤出芽与高复发率相关。

3.4 肿瘤出芽与其他因素的联合评估

肿瘤出芽是CRC的独立预后因素, 肿瘤浸润淋巴细胞也与CRC的预后相关。Lang-Schwarz等^[51]评估了CRC中的肿瘤出芽和肿瘤浸润淋巴细胞的结合与预后的关系, 研究表明: 将肿瘤的不同形态参数结合起来, 有助于获得更多关于肿瘤行为

和预后的信息。

此外, 低分化细胞簇 (poorly differentiated cell clusters, PDCs) 作为潜在的预测预后因子也已受到关注。Ryan等^[52]分析了肿瘤出芽和PDCs作为潜在预后预测因子的可能性, 结果显示: 肿瘤出芽与PDCs高度相关。在错配修复系统缺陷 (deficient mismatch repair, dMMR) CRC中, 无论是出芽还是PDCs分级都与WHO分级、神经侵犯、淋巴血管浸润、壁外血管侵犯和淋巴结转移相关。淋巴结转移的独立预测因子是PDCs分级。由此可见, 在dMMR CRC中WHO分级并非临床预后的独立因子, 而PDCs分级和壁外血管侵犯是淋巴结转移的独立预测因子。肿瘤出芽和肿瘤病理分期是无病生存率的最佳预测指标。如果无法评估肿瘤出芽, PDCs分级可作为评价预后的替代指标。

4 结语

肿瘤出芽虽然可以作为一种重要的预后因子, 但仍然有许多问题需要研究。CRC的分子病理学及生物学行为比较复杂, 另外, 肿瘤出芽的定义及分级标准在不同研究者之间仍然存在差异, 为了使肿瘤出芽具有充分的预测能力, 必须为其评估和报告制定一致和可重复的标准。尽管最近已公布了一项关于肿瘤出芽的共识, 但这仍不够理想。关于肿瘤出芽细胞的起源和潜在的分子机制, 还有许多尚未解答的问题, 这些问题一旦被探索出来, 将会给我们提供更多关于CRC肿瘤进展的信息。此外, 有学者^[53]提出: 肿瘤出芽并不只是定义为在浸润区域内肿瘤形成的绝对数量, 它们在重要的热点区域的空间排列同样重要, 特别是这类热点区域的数量具有重要的临床意义。因此, 将来应该更多地关注肿瘤出芽的空间分布 (如模式诊断), 而不仅是肿瘤出芽的绝对数量。相信随着人们对肿瘤出芽现象的关注, 关于肿瘤出芽在CRC中的研究及其在其他肿瘤中的探索会越来越全面, 这将会对CRC的治疗和预后判断产生深远影响。

参考文献

1. Lugli A, Karamitopoulou E, Zlobec I. Tumour budding: A promising parameter in colorectal cancer [J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(11): 1713-1717.
2. Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, et al. Recommendations for reporting

- tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016[J]. *Mod Pathol*, 2017, 30(9): 1299-1311.
3. Grigore AD, Jolly MK, Jia D, et al. Tumor budding: The name is EMT. Partial EMT[J]. *J Clin Med*, 2016, 5(5): E51.
 4. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6): 1420-1428.
 5. Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells[J]. *Cell*, 2008, 133(4): 704-715.
 6. Morel AP, Lièvre M, Thomas C, et al. Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition[J]. *PLoS One*, 2008, 3(8): e2888.
 7. Leão PLR, Marangon Junior H, Melo VVM, et al. Reproducibility, repeatability, and level of difficulty of two methods for tumor budding evaluation in oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2017, 46(10): 949-955.
 8. Prall F, Nizze H, Barten M. Tumour budding as prognostic factor in stage I/II colorectal carcinoma[J]. *Histopathology*, 2005, 47(1): 17-24.
 9. Karamitopoulou E, Zlobec I, Kölzer V, et al. Proposal for a 10-high-power-fields scoring method for the assessment of tumor budding in colorectal cancer[J]. *Mod Pathol*, 2013, 26(2): 295-301.
 10. Hase K, Shatney C, Johnson D, et al. Prognostic value of tumor "budding" in patients with colorectal cancer[J]. *Dis Colon Rectum*, 1993, 36(7): 627-635.
 11. Nakamura T, Mitomi H, Kanazawa H, et al. Tumor budding as an index to identify high-risk patients with stage II colon cancer[J]. *Dis Colon Rectum*, 2008, 51(5): 568-572.
 12. Ueno H, Murphy J, Jass JR, et al. Tumour 'budding' as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer[J]. *Histopathology*, 2002, 40(2): 127-132.
 13. Wang LM, Kevans D, Mulcahy H, et al. Tumor budding is a strong and reproducible prognostic marker in T3N0 colorectal cancer[J]. *Am J Surg Pathol*, 2009, 33(1): 134-141.
 14. Steinestel K, Lennerz JK, Eder S, et al. Invasion pattern and histologic features of tumor aggressiveness correlate with MMR protein expression, but are independent of activating KRAS and BRAF mutations in CRC[J]. *Virchows Arch*, 2014, 465(2): 155-163.
 15. Lugli A, Vljajic T, Giger O, et al. Intratumoral budding as a potential parameter of tumor progression in mismatch repair-proficient and mismatch repair-deficient colorectal cancer patients[J]. *Hum Pathol*, 2011, 42(12): 1833-1840.
 16. Dawson H, Koelzer VH, Karamitopoulou E, et al. The apoptotic and proliferation rate of tumour budding cells in colorectal cancer outlines a heterogeneous population of cells with various impacts on clinical outcome[J]. *Histopathology*, 2014, 64(4): 577-584.
 17. Zlobec I, Lugli A, Baker K, et al. Role of APAF-1, E-cadherin and peritumoral lymphocytic infiltration in tumour budding in colorectal cancer[J]. *J Pathol*, 2007, 212(3): 260-268.
 18. Lino-Silva LS, Salcedo-Hernández RA, Gamboa-Domínguez A. Tumour budding in rectal cancer. A comprehensive review[J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2018, 22(2): 61-74.
 19. Khanh do T, Mekata E, Mukaisho K, et al. Prognostic role of CD10⁺ myeloid cells in association with tumor budding at the invasion front of colorectal cancer[J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(9): 1724-1733.
 20. Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF-beta and promotes tumor invasion and angiogenesis[J]. *Genes Dev*, 2000, 14(2): 163-176.
 21. El-Gendi S, Al-Gendi A. Assessment of tumor budding in colorectal carcinoma: correlation with β -catenin nuclear expression[J]. *J Egypt Natl Canc Inst*, 2011, 23(1): 1-9.
 22. Kevans D, Wang LM, Sheahan K, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) protein expression in a cohort of stage II colorectal cancer patients with characterized tumor budding and mismatch repair protein status[J]. *Int J Surg Pathol*, 2011, 19(6): 751-760.
 23. Kobayashi M, Honma T, Matsuda Y, et al. Nuclear translocation of beta-catenin in colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2000, 82(10): 1689-1693.
 24. Righi A, Sarotto I, Casorzo L, et al. Tumour budding is associated with hypoxia at the advancing front of colorectal cancer[J]. *Histopathology*, 2015, 66(7): 982-990.
 25. Caie PD, Turnbull AK, Farrington SM, et al. Quantification of tumour budding, lymphatic vessel density and invasion through image analysis in colorectal cancer[J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 156.
 26. Mezheyeuski A, Nerovnya A, Bich T, et al. Inter- and intra-tumoral relationships between vasculature characteristics, GLUT1 and budding in colorectal carcinoma[J]. *Histol Histopathol*, 2015, 30(10): 1203-1211.
 27. Lugli A, Karamitopoulou E, Panayiotides I, et al. CD8⁺ lymphocytes/tumour-budding index: an independent prognostic factor representing a 'pro-/anti-tumour' approach to tumour host interaction in colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2009, 101(8): 1382-1392.
 28. Koelzer VH, Dawson H, Andersson E, et al. Active immunosurveillance in the tumor microenvironment of colorectal cancer is associated with low frequency tumor budding and improved outcome[J]. *Transl Res*, 2015, 166(2): 207-217.
 29. Max N, Harbaum L, Pollheimer MJ, et al. Tumour budding with and without admixed inflammation: two different sides of the same coin?[J]. *Br J Cancer*, 2016, 114(4): 368-371.
 30. van Wyk HC, Park JH, Edwards J, et al. The relationship between tumour budding, the tumour microenvironment and survival in patients with primary operable colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2016,

- 115(2): 156-163.
31. Bhangu A, Wood G, Brown G, et al. The role of epithelial mesenchymal transition and resistance to neoadjuvant therapy in locally advanced rectal cancer[J]. *Colorectal Dis*, 2014, 16(4): O133-O143.
 32. Knudsen KN, Lindebjerg J, Nielsen BS, et al. MicroRNA-200b is down-regulated in colon cancer budding cells[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0178564.
 33. De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(2): 97-110.
 34. Feng X, Wang Z, Fillmore R, et al. MiR-200, a new star miRNA in human cancer[J]. *Cancer Lett*, 2014, 344(2): 166-173.
 35. Dykxhoorn DM, Wu Y, Xie H, et al. miR-200 enhances mouse breast cancer cell colonization to form distant metastases[J]. *PLoS One*, 2009, 4(9): e7181.
 36. Zlobec I, Lugli A. Epithelial mesenchymal transition and tumor budding in aggressive colorectal cancer: Tumor budding as oncotarget[J]. *Oncotarget*, 2010, 1(7): 651-661.
 37. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the multicenter "RASCAL" study[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1998, 90(9): 675-684.
 38. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study[J]. *Br J Cancer*, 2001, 85(5): 692-696.
 39. Trinh A, Ladrach C, Dawson HE, et al. Tumour budding is associated with the mesenchymal colon cancer subtype and RAS/RAF mutations: a study of 1320 colorectal cancers with Consensus Molecular Subgroup (CMS) data[J]. *Br J Cancer*, 2018, 119(10): 1244-1251.
 40. Almangush A, Youssef O, Pirinen M, et al. Does evaluation of tumour budding in diagnostic biopsies have a clinical relevance? A systematic review[J]. *Histopathology*, 2019, 74(4): 536-544.
 41. Kawachi H, Eishi Y, Ueno H, et al. A three-tier classification system based on the depth of submucosal invasion and budding/sprouting can improve the treatment strategy for T1 colorectal cancer: a retrospective multicenter study[J]. *Mod Pathol*, 2015, 28(6): 872-879.
 42. Okuyama T, Oya M, Ishikawa H. Budding as a useful prognostic marker in pT3 well- or moderately-differentiated rectal adenocarcinoma[J]. *J Surg Oncol*, 2003, 83(1): 42-47.
 43. Petrelli F, Pezzica E, Cabiddu M, et al. Tumour budding and survival in Stage II colorectal cancer: a systematic review and pooled analysis[J]. *J Gastrointest Cancer*, 2015, 46(3): 212-218.
 44. Ueno H, Mochizuki H, Shinto E, et al. Histologic indices in biopsy specimens for estimating the probability of extended local spread in patients with rectal carcinoma[J]. *Cancer*, 2002, 94(11): 2882-2891.
 45. Okuyama T, Nakamura T, Yamaguchi M. Budding is useful to select high-risk patients in stage II well-differentiated or moderately differentiated colon adenocarcinoma[J]. *Dis Colon Rectum*, 2003, 46(10): 1400-1406.
 46. Choi HJ, Park KJ, Shin JS, et al. Tumor budding as a prognostic marker in stage-III rectal carcinoma[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2007, 22(8): 863-868.
 47. Du C, Xue W, Li J, et al. Morphology and prognostic value of tumor budding in rectal cancer after neoadjuvant radiotherapy[J]. *Hum Pathol*, 2012, 43(7): 1061-1067.
 48. Rogers AC, Gibbons D, Hanly AM, et al. Prognostic significance of tumor budding in rectal cancer biopsies before neoadjuvant therapy[J]. *Mod Pathol*, 2014, 27(1): 156-162.
 49. Cao H, Xu E, Liu H, et al. Epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer metastasis: A system review[J]. *Pathol Res Pract*, 2015, 211(8): 557-569.
 50. Syk E, Lenander C, Nilsson PJ, et al. Tumour budding correlates with local recurrence of rectal cancer[J]. *Colorectal Dis*, 2011, 13(3): 255-262.
 51. Lang-Schwarz C, Melcher B, Haumaier F, et al. Budding and tumor-infiltrating lymphocytes—combination of both parameters predicts survival in colorectal cancer and leads to new prognostic subgroups[J]. *Hum Pathol*, 2018, 79: 160-167.
 52. Ryan É, Khaw YL, Creavin B, et al. Tumor budding and PDC grade are stage independent predictors of clinical outcome in mismatch repair deficient colorectal cancer[J]. *Am J Surg Pathol*, 2018, 42(1): 60-68.
 53. Weis CA, Kather JN, Melchers S, et al. Automatic evaluation of tumor budding in immunohistochemically stained colorectal carcinomas and correlation to clinical outcome[J]. *Diagn Pathol*, 2018, 13(1): 64.

本文引用: 邓爽, 谭林, 黄美园. 肿瘤出芽及其在结直肠癌中的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(11): 2519-2524. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.11.029

Cite this article as: DENG Shuang, TAN Lin, HUANG Meiyuan. Tumor budding and its research progress in colorectal cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(11): 2519-2524. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.11.029