

Schwerpunktherausgeber
 T. Kirchner, München

Markerprofile für das Fernmetastasierungsrisiko des Dickdarmkarzinoms

Sporadische Dickdarmkarzinome treten bei 40% der Patienten als lokoregionäre Erkrankung auf, die bei 15% der Patienten auch die lokoregionären Lymphknoten befällt, aber keine Fernmetastasen entwickelt. Bei 60% der Patienten werden synchrone oder metachrone Fernmetastasen festgestellt. Die Unterscheidung des lokoregionären und des fernmetastasierenden Dickdarmkarzinoms hat eine überragende Bedeutung für die Prognose und Therapie der Erkrankung. Merkmale und Marker für diese Differenzierung könnten eine Klassifikation in Low-risk- und High-risk-Karzinome ermöglichen und damit die Indikation für die adjuvante Chemotherapie und die Nachsorge nach der Operation des Primärtumors steuern. Tatsächlich gibt es bereits heute prognostische Biomarker und Markerprofile, die – wie „eine gute und eine böse Fee“ – klinisch relevante Vorhersagen des Fernmetastasierungsrisikos erlauben und für eine Risikostratifikation der Dickdarmkarzinome geeignet sind. Sie sollen nachfolgend vorgestellt und erörtert werden.

Molekulare Merkmale bei niedrigem Fernmetastasierungsrisiko

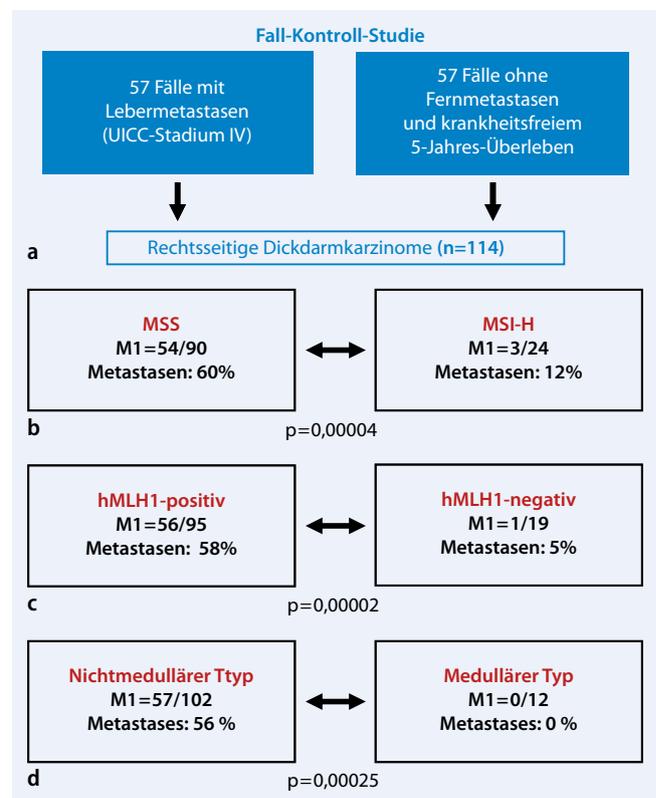
Viele prognostische Marker des sporadischen Dickdarmkarzinoms wurden in klinischen Studien mit den Endpunkten Gesamtüberleben und progressionsfreies Überleben validiert, aber nicht im

Hinblick auf den Vorhersagewert von Fernmetastasen bewertet [23, 24, 28]. Genauere Analysen zum Vorkommen von Fernmetastasen gibt es jedoch für Dickdarmkarzinome mit hochgradiger Mikrosatelliteninstabilität (MSI) und mit Mikrosatellitenstabilität (MSS). Sie zeigen, dass das signifikant bessere krankheitsspezifische Patientenüberleben bei MSI-Karzinomen im Vergleich zu MSS-Karzinomen durch eine signifikant geringere Rate von Metastasen bedingt ist. Dabei kommen Lymphknotenmetasta-

sen und Fernmetastasen bei MSI-Karzinomen seltener vor. Speziell beträgt die Rate von Fernmetastasen bei MSI-Karzinomen nur 7,9% im Vergleich zu 27% bei MSS-Karzinomen [16]. Zudem zeigen Lebermetastasen von Dickdarmkarzinomen nur sehr selten eine MSI (0–2,7% der Fälle). Das bedeutet, dass Fernmetastasen in der Leber bei MSI-Karzinomen sehr selten sind [5].

Eigene Untersuchungen bestätigen diese Beobachtungen. In einer Fall-Kontroll-Studie haben wir 57 rechtsseitige

Abb. 1 ▶ Studiendesign (a) und Ergebnisse (b, c, d) der Fall-Kontroll-Studie für die Validierung von Biomarkern hinsichtlich des Fernmetastasierungsrisikos beim rechtsseitigem Dickdarmkarzinom (Erläuterungen s. Text)



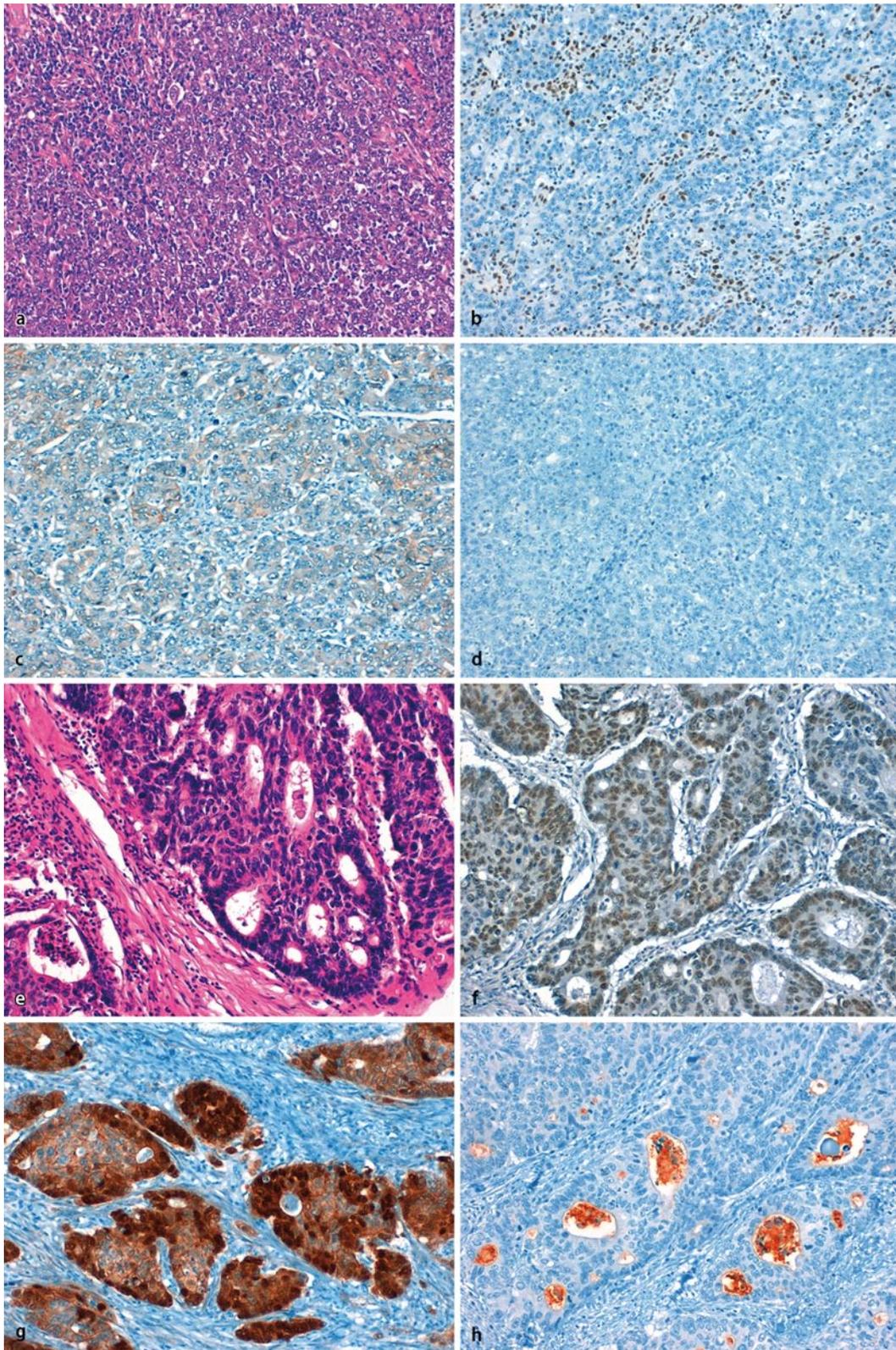


Abb. 2 ◀ Dickdarmkarzinome mit prognostisch günstigem (a–d) und ungünstigem (e–h) Markerprofil: morphologisch undifferenziertes Dickdarmkarzinom vom medullären Typ (a) mit Verlust der hMLH1-Expression (b), fehlender nukleärer β -Catenin-Expression (c) und fehlender Expression von CD133 (d). Wenig differenziertes Adenokarzinom des Dickdarms vom kribrierten Typ (e) mit erhaltener hMLH1-Expression (f), starker nukleärer β -Catenin-Expression (g) und starker CD133-Expression (h)

Dickdarmkarzinome mit synchronen Lebermetastasen mit 57 Karzinomen mit 5 Jahren krankheitsfreiem Überleben untersucht. Die beiden Gruppen wur-

den bezüglich des Patientenalters, des Geschlechts und des Tumorgrads aufeinander abgestimmt (■ Abb. 1a). In der Gruppe der MSI-Tumoren fand sich

eine Fernmetastasierungsrate von 12%. Die MSS-Tumoren zeigten hingegen bis zu 60% Fernmetastasen (■ Abb. 1b). Eine noch höhere Signifikanz konnte bei

der Stratifizierung der Fälle mithilfe der hMLH1-Immunhistochemie nachgewiesen werden. In der Gruppe der hMLH1-negativen Dickdarmkarzinome traten lediglich in 5% der Fälle Fernmetastasen auf, wohingegen 58% der hMLH1-positiven Karzinome Metastasen aufwiesen (▣ **Abb. 1c**; [17]).

Medulläres Dickdarmkarzinom als „Low-grade-Karzinom“

Das medulläre Karzinom zeigt eine distinkte Morphologie mit solidem Wachstumsmuster, undifferenzierten Tumorzellen und einer charakteristischen intra- und peritumoralen lymphoiden Stromareaktion. Rein morphologisch sind diese Karzinome als wenig differenzierte oder undifferenzierte Karzinome (G3–G4) zu graduieren. Klinisch zeigen medulläre Karzinome im Vergleich mit anderen undifferenzierten Karzinomen jedoch eine sehr gute Prognose (100% 5-Jahres-Überleben nach chirurgischer Resektion von Stadium-II- und -III-Karzinomen) sowie eine nur sehr geringe Rate von Fernmetastasen (unter 2%; [10, 12, 26, 27]).

Dieses diagnostische Paradoxon (G3/4-Karzinom mit niedrigem malignem Potential) zeigt auch die von uns durchgeführte Fall-Kontroll-Studie. Eine Stratifizierung der Fälle anhand der morphologischen Kriterien für das medulläre Karzinom ergab die besten Ergebnisse für die Vorhersage von Fernmetastasen. Medulläre Karzinome (12 der 114 Fälle) zeigten während des 5-jährigen Beobachtungszeitraums keinerlei Fernmetastasen. Hingegen waren bei 56% der Dickdarmkarzinome mit nichtmedullärer Morphologie Fernmetastasen nachweisbar (▣ **Abb. 1d**; [17]).

Medulläre Dickdarmkarzinome sind dabei durch ihre Morphologie und durch ein molekulares Markerprofil zu kennzeichnen. Die meisten Fälle weisen MSI und einen Verlust der hMLH1-Proteinexpression auf. Eine abnorme p53-Expression oder Dysregulation des Wnt/ β -Catenin-Signalwegs liegt dagegen nicht vor (▣ **Abb. 2a–d**; [10]). Somit kann das medulläre Dickdarmkarzinom, nach Ausschluss der Assoziation mit einem HNPCC („hereditary non-polyposis co-

Pathologe 2012 · 33:39–44 DOI 10.1007/s00292-011-1543-y
© Springer-Verlag 2012

J. Neumann · S. Reu · T. Kirchner

Markerprofile für das Fernmetastasierungsrisiko des Dickdarmkarzinoms

Zusammenfassung

Prognostische Marker, die mit dem Auftreten von Fernmetastasen beim Dickdarmkarzinom korrelieren, sind von großer klinischer Bedeutung. In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass sporadische Dickdarmkarzinome mit einer Mikrosatelliteninstabilität (MSI) ein äußerst niedriges Fernmetastasierungsrisiko aufweisen, wobei das medulläre Karzinom hierfür einen morphologischen Prototyp darstellt. In der aktuellen WHO-Klassifikation werden morphologische Varianten des Dickdarmkarzinoms, wie das muzinöse, das siegelringzellige, das serratierte, das kribriform-komedoartige und das solid-undifferenzierte Karzinom bereits anhand ihres Mikrosatellitenstatus graduiert. Neue Daten zeigen, dass die *BRAF*-Mutation eine ambivalente prognostische Rolle spielt. Abhängig vom Mikrosatellitenstatus indiziert eine

BRAF-Mutation in Kombination mit MSI eine sehr gute Prognose, während die *BRAF*-Mutation in Kombination mit Mikrosatellitenstabilität eine sehr schlechte Prognose anzeigt. Als Marker für ein hohes Fernmetastasierungsrisiko können, basierend auf dem Konzept der migrierenden Stammzellen, kombinierte hohe Expressionen von CD133 und nukleärem β -Catenin dienen. In Verbindung mit hMLH1 lässt sich hier ein immunhistochemischer Algorithmus definieren, der eine Unterscheidung von Dickdarmkarzinomen mit sehr niedrigem und sehr hohem Fernmetastasierungsrisiko ermöglicht.

Schlüsselwörter

Dickdarmkarzinom · Medulläre Morphologie · *BRAF* · Mikrosatelliteninstabilität · Tumorstammzellen

Prognostic marker profiles for risk of distant metastases in colorectal cancer

Abstract

In colorectal cancer (CRC) prognostic markers correlating with distant metastasis are of high clinical value. In recent years it could be demonstrated that sporadic CRC with microsatellite instability (MSI) exhibits a very low risk for distant spread. Within this group the medullary subtype represents a morphological prototype. In the new WHO classification other morphological variants, such as mucinous, signet ring cell, serrated, cribriform comedo type and solid-undifferentiated forms are graded according to their microsatellite status. The clinical value of *BRAF* mutations is also dependent on the microsatellite status. Recent data have shown an ambivalent prognostic impact of *BRAF* mutations. A *BRAF* mutation in combination with MSI is associated with a good prognosis, whereas a *BRAF*

mutation in the background of microsatellite stability indicates a very poor outcome. Based on the concept of migrating stem cells, combined high scores of CD133 and nuclear β -catenin expression can be additionally used as markers for a high risk of distant metastasis. Hence, an immunohistochemical algorithm can be defined by the combination of three markers (hMLH1, CD133 and β -catenin) which allows CRC with either a very high or a very low risk of distant spread to be identified.

Keywords

Colorectal cancer · Medullary morphology · *BRAF* · Microsatellite instability · Tumor stem cells

lorectal cancer“)-Syndrom, als Prototyp eines sporadischen Low-grade-Dickdarmkarzinoms mit Mismatch-Reparatur-Defekt (hMLH1-Ausfall) und MSI angesehen werden.

Molekulare Graduierung

Die Beobachtung, dass Dickdarmkarzinome mit Mismatch-Reparatur-Defekt

und MSI eine signifikant günstigere Prognose und ein geringes Fernmetastasierungsrisiko haben, wird auch in der aktuellen WHO-Klassifikation der malignen Tumoren des Gastrointestinaltrakts von 2010 berücksichtigt (▣ **Tab. 1**; [2]). Speziell wird in der neuen Fassung eine molekulare Graduierung für die muzinösen, siegelringzelligen, serratierten, kribriform-komedoartigen oder solid-

Tab. 1 Aktuelle Kriterien für die Graduierung von Adenokarzinomen des Dickdarms nach der WHO-Klassifikation (Mod. nach [2])

Kriterium	Differenzierung	Differenzierungsgrad	Deskriptiver Tumorgrad
>95% Drüsenformationen	Gut differenziert	1	Low
50–95% Drüsenformationen	Mäßig differenziert	2	Low
>0–49% Drüsenformationen	Schlecht differenziert	3	High
Hochgradige Mikrosatelliteninstabilität	Variabel	Variabel	Low

undifferenzierten Subtypen des Dickdarmkarzinoms vorgeschlagen. Bisher wurden diese Subtypen nach der Morphologie als G3- oder G4-Karzinome eingestuft. Jetzt sollen diese Tumoren bei einem Anhalt für MSI als Low-grade-Karzinome und bei einem Anhalt für MSS als High-grade-Karzinome graduiert werden.

Anstelle der MSI-Diagnostik setzen wir für die molekulare Graduierung die technisch einfachere und kostengünstigere Immunhistochemie für hMLH1 und hMSH2 ein, da Expressionsverluste von hMLH1 oder hMSH2 signifikant mit MSI korrelieren [15, 20–22]. Bei negativer Immunhistochemie für hMLH1 oder hMSH2 werden die muzinösen, siegelringzelligen, serratierten, kribriiform-komedoartigen oder solid-undifferenzierten Karzinome als „low grade“ und bei positiver Immunhistochemie als „high grade“ bewertet.

Ambivalente Bedeutung von BRAF-Mutationen

Sporadische Dickdarmkarzinome mit MSI leiten sich von serratierten Polypen, meist sessilen serratierten Adenomen, ab [9, 14]. Am Beginn ihrer molekularen Tumorigenese steht überwiegend eine BRAF-Mutation, selten auch eine KRAS-Mutation. Auf diese Onkogenmutation folgen eine onkogeninduzierte Seneszenz und eine Hypermethylierung von CpG-Inseln in verschiedenen Genpromotoren. Dies bedingt einen CpG-Methylator-Phänotyp mit einer messbaren Methylierung von mehreren Markergenen, die als CIMP („CpG island methylator phenotype“) definiert wurde.

Typische methylierungsbedingte Genexpressionsausfälle betreffen p16, wodurch die onkogeninduzierte Seneszenz überwunden wird, oder hMLH1, wodurch der Mismatch-Reparatur-Defekt

und die Ausprägung von MSI in der Tumorigenese bedingt sind (Abb. 3; [1, 11]). Daher wurde zunächst angenommen, dass – wie die MSI und der hMLH1-Ausfall – auch die BRAF-Mutation oder CIMP brauchbare Biomarker für eine günstige Prognose und eine geringe Fernmetastasierungsrate des Dickdarmkarzinoms sein könnten.

Überraschenderweise haben klinische Studien diese Annahme widerlegt. Nach den Studienresultaten haben Patienten mit BRAF-mutierten Dickdarmkarzinomen im Stadium II und III eine signifikant schlechtere Prognose als Patienten mit Nachweis von BRAF-Wildtyp im Dickdarmkarzinom. Die Erklärung für diesen Befund ist, dass die BRAF-Mutation kombiniert sowohl mit MSI (5% der Dickdarmkarzinome) als auch mit MSS (4% der Dickdarmkarzinome) vorkommt [19]. Eine günstige Prognose besteht nur bei Karzinomen mit BRAF-Mutation im Verbund mit MSI, während bei Karzinomen mit BRAF-Mutation im Verbund mit MSS die Prognose ausgesprochen schlecht ist und das 5-Jahres-Gesamtüberleben nur 16,7% beträgt. In Studien mit fernmetastasiertem Dickdarmkarzinom (Stadium IV) liegen in der Regel BRAF-mutierte Karzinome mit MSS vor, so dass hier die BRAF-Mutation der Indikator für die schlechteste Prognosegruppe ist [13, 18].

Der alleinige Nachweis einer BRAF-Mutation macht daher als prognostischer Biomarker für das sporadische Dickdarmkarzinom keinen Sinn, da eine Abhängigkeit vom MSI-Status bzw. dem Mismatch-Reparatur-Defekt (hMLH1-Ausfall) besteht:

- Die gute Fee ist hier das Markerprofil mit BRAF-Mutation, CIMP, hMLH1-Negativität und MSI.
- Die schlechte Fee ist das Markerprofil mit BRAF-Mutation, CIMP oder

Nicht-CIMP, hMLH1-Positivität und MSS.

Molekulare Marker bei hohem Fernmetastasierungsrisiko

Das Markerprofil BRAF-Mutation, hMLH1-Positivität und MSS wäre somit ein Indikator für eine sehr schlechte Prognose und ist bei 4% der Dickdarmkarzinome zu erwarten [19]. Weitere Markerprofile von High-risk-Karzinomen lassen sich auch aus dem 2005 publizierten Konzept der *migrierenden Krebsstammzellen* für das Dickdarmkarzinoms ableiten [3]. Das Konzept basiert auf der Beobachtung, dass in vielen Dickdarmkarzinomen, insbesondere an der Invasionsfront, eine starke nukleäre Expression von β -Catenin nachweisbar ist. Zielgene des Wnt/ β -Catenin-Signalwegs sind neben bekannten Stammzellfaktoren unter anderem Gene, die die epithelial-mesenchymale Transition (EMT) steuern und Tumorzellen die Fähigkeit zur Migration verleihen. Die resultierenden migrierenden Stammzellen könnten wesentlich zur Ausbildung von Fernmetastasen beitragen.

Tatsächlich korreliert die Expression von nukleärem β -Catenin und von dem des Stammzellmarkers CD133 signifikant mit Fernmetastasierung beim Dickdarmkarzinom (Abb. 2e–h; [6–8]). Karzinome mit hoher nukleärer β -Catenin-Expression haben eine Fernmetastasierungsrate von 71%. Bei fehlender oder nur geringer β -Catenin-Expression beträgt diese nur 39%. Ebenso zeigen Karzinome mit hoher Expression von CD133 in 79% der Fälle Fernmetastasen, wohingegen die Fernmetastasierungsrate von Karzinomen mit niedriger CD133-Expression nur 38% beträgt. Die Kombination beider Marker ergibt die höchste prognostische Relevanz: 94% der Dickdarmkarzinome mit hoher CD133-Expression und hoher nukleärer β -Catenin-Expression wiesen nach unseren Untersuchungen für das rechtsseitige Kolon Fernmetastasen auf [17].

Aus diesen Beobachtungen kann man einen 2-stufigen, auf 3 immunhistochemischen Färbungen basierenden Algorithmus ableiten, mit dessen Hilfe Dickdarmkarzinome des rechten Ko-

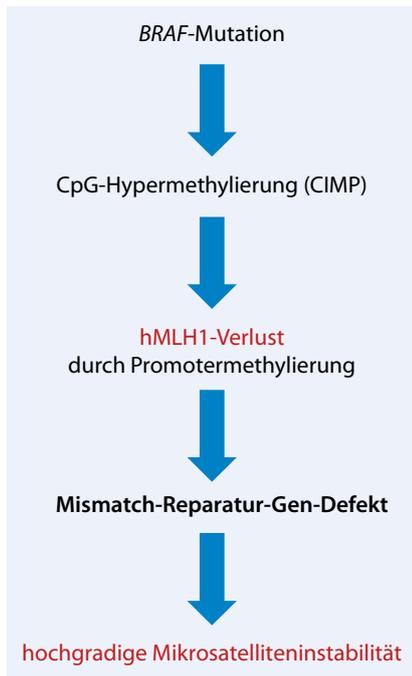


Abb. 3 ▲ Typische molekulare Karzinogenese sporadischer Dickdarmkarzinome mit Mikrosatelliteninstabilität (MSI): Initial liegt meist eine Mutation im *BRAF*-Onkogen vor, die von einer Hypermethylierung der CpG-Inseln in verschiedenen Genpromotoren gefolgt wird. Sie bedingt den „CpG island methylator phenotype“ (CIMP) und in der Regel eine Inaktivierung des hMLH1-Gen-Promotors mit hMLH1-Expressionsverlust. Daraus resultiert ein Mismatch-Reparatur-Gen-Defekt und konsekutiv eine hochgradige MSI

lons entsprechend ihres Fernmetastasierungsrisikos klassifiziert werden können (■ **Abb. 4**). Zunächst erfolgt eine Risikostratifizierung anhand der hMLH1-Expression, um die hMLH1-negativen Fälle mit einem extrem niedrigen Fernmetastasierungsrisiko (5%) zu identifizieren. Die Hochrisikopatienten für Fernmetastasen werden dann bei erhaltener hMLH1-Expression durch eine hohe CD133-Expression und eine hohe nukleäre β -Catenin-Expression erfasst. Ihre Fernmetastasierungsrate beträgt 94% [17].

Das Konzept des einfachen immunhistochemischen Algorithmus zur Klassifikation des Fernmetastasierungsrisikos ähnelt dem Ansatz des teuren, kommerziell erhältlichen Oncotype DX Colon Cancer Assay® (Genomic Health, Inc.). Dieser Test soll die Therapieentscheidung hinsichtlich einer adjuvanten Chemotherapie bei Dickdarmkarzinompatienten

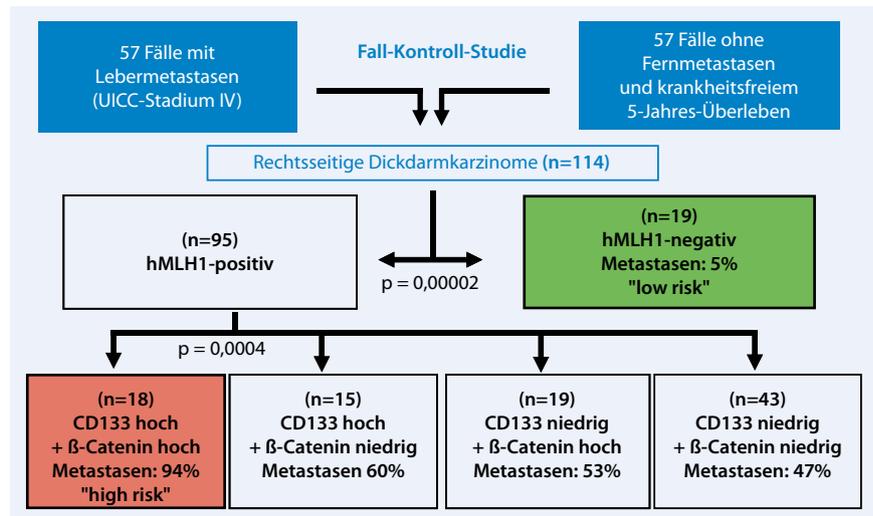


Abb. 4 ▲ Zweistufiger Algorithmus basierend auf 3 immunhistochemischen Markern (hMLH1, CD133 und β -Catenin) zur Vorhersage des Fernmetastasierungsrisikos beim rechtsseitigen Dickdarmkarzinom

im UICC-II-Stadium mit R0-Resektion erleichtern.

Hierfür werden die Dickdarmkarzinome zunächst, ähnlich wie bei dem immunhistochemischen Algorithmus, in ein Profil mit äußerst niedrigem Fernmetastasierungsrisiko (Mismatch-Reparatur-Defekt mit hMLH1-Ausfall bzw. hochgradiger MSI) und ein Profil mit einem äußerst hohen Fernmetastasierungsrisiko (pT4-Tumoren, G3/G4-Tumoren, Nachweis von Lymph- oder Blutgefäßeinbrüchen, Perforation oder Nachweis von weniger als 12 tumorfreien Lymphknoten) eingeteilt.

Die übriggebliebenen Karzinome (76% der Fälle) können anhand der bekannten Prognoseparameter nicht weiter subtypisiert werden. Sie werden mit dem Oncotype DX Colon Cancer Assay® bewertet. Dieser wird an formalinfixiertem, paraffineingebetteten Tumorgewebe (Block oder 15 Paraffinschnitte) durchgeführt und analysiert mittels mRNA-Expressionsanalyse (RT-PCR) 7 tumorassoziierte Gene sowie 5 Referenzgene. Aus dem Expressionsprofil wird dann ein individueller Rekurrenzscore abgeleitet, anhand dessen das Fernmetastasierungsrisiko abgeschätzt werden kann [4, 25].

Fazit für die Praxis

- Anhand von Markerprofilen lässt sich das sporadische Dickdarmkarzinom in lokoregionäre Tumoren und Tumoren mit hohem Fernmetastasierungsrisiko unterteilen.
- Sporadische Dickdarmkarzinome mit Verlust der hMLH1-Expression bzw. mit Mikrosatelliteninstabilität (morphologischer Prototyp hierfür ist das medulläre Karzinom des Dickdarms) weisen nur ein sehr geringes Fernmetastasierungsrisiko auf.
- In der aktuellen WHO-Klassifikation werden Sonderformen des Dickdarmkarzinoms (muzinös, siegelringzellig, serratiert, kribriiform-komedoartig und solid-undifferenziert) anhand ihres Mikrosatellitenstatus bereits molekular in Low-risk- und High-risk-Karzinome graduiert. In der täglichen Routine kann an die Stelle der molekularpathologischen Mikrosatellitenanalyse eine Immunhistochemie für hMLH1 und hMSH2 zum Nachweis eines Mismatch-Reparatur-Gen-Defekts treten.
- Eine *BRAF*-Mutation bzw. der CIMP-Status korrelieren nur vor dem Hintergrund einer Mikrosatelliteninstabilität mit einer guten Prognose. Bei mikrosatellitenstabilen Karzinomen korrelieren *BRAF*-Mutationen sogar mit

einem äußerst schlechten Krankheitsverlauf.

- Dickdarmkarzinome mit einem hohen Fernmetastasierungsrisiko können durch eine starke Expression von nukleärem β -Catenin und dem Stammzellmarker CD133 charakterisiert werden.

Korrespondenzadresse



Dr. J. Neumann
Pathologisches Institut,
Ludwig-Maximilians-
Universität München
Thalkirchner Str. 36,
80337 München
jens.neumann@
med.uni-muenchen.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Bennecke M, Kriegl L, Bajbouj M et al (2010) Ink4a/Arf and oncogene-induced senescence prevent tumor progression during alternative colorectal tumorigenesis. *Cancer Cell* 18:135–146
2. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (Hrsg) (2010) WHO classification of tumours of the digestive system. IARC, Lyon
3. Brabletz T, Jung A, Spaderna S et al (2005) Opinion: migrating cancer stem cells – an integrated concept of malignant tumour progression. *Nat Rev Cancer* 5:744–749
4. Clark-Langone KM, Sangli C, Krishnakumar J et al (2010) Translating tumor biology into personalized treatment planning: analytical performance characteristics of the Oncotype DX Colon Cancer Assay. *BMC Cancer* 10:691
5. Haddad R, Ogilvie RT, Croitoru M et al (2004) Microsatellite instability as a prognostic factor in resected colorectal cancer liver metastases. *Ann Surg Oncol* 11:977–982
6. Horst D, Kriegl L, Engel J et al (2009) CD133 and nuclear beta-catenin: the marker combination to detect high risk cases of low stage colorectal cancer. *Eur J Cancer* 45:2034–2040
7. Horst D, Kriegl L, Engel J et al (2008) CD133 expression is an independent prognostic marker for low survival in colorectal cancer. *Br J Cancer* 99:1285–1289
8. Horst D, Scheel SK, Liebmann S et al (2009) The cancer stem cell marker CD133 has high prognostic impact but unknown functional relevance for the metastasis of human colon cancer. *J Pathol* 219:427–434
9. Jass JR (2007) Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology* 50:113–130
10. Kirchner T, Reu S (2008) Development of molecular-pathologic entities of colorectal cancer. *Pathologie* 29(Suppl 2):264–269
11. Kriegl L, Neumann J, Vieth M et al (2011) Up and downregulation of p16(Ink4a) expression in BRAF-mutated polyps/adenomas indicates a senescence barrier in the serrated route to colon cancer. *Mod Pathol* 24:1015–1022
12. Lanza G, Gafa R, Matteuzzi M et al (1999) Medullary-type poorly differentiated adenocarcinoma of the large bowel: a distinct clinicopathologic entity characterized by microsatellite instability and improved survival. *J Clin Oncol* 17:2429–2438
13. Lee S, Cho NY, Choi M et al (2008) Clinicopathological features of CpG island methylator phenotype-positive colorectal cancer and its adverse prognosis in relation to KRAS/BRAF mutation. *Pathol Int* 58:104–113
14. Leggett B, Whitehall V (2010) Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 138:2088–2100
15. Lindor NM, Burgart LJ, Leontovich O et al (2002) Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors. *J Clin Oncol* 20:1043–1048
16. Malesci A, Laghi L, Bianchi P et al (2007) Reduced likelihood of metastases in patients with microsatellite-unstable colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 13:3831–3839
17. Neumann J, Horst D, Kriegl L et al (2011) A simple immunohistochemical algorithm predicts the risk of distant metastases in right-sided colon cancer. *Histopathology* [Epub ahead of print]
18. Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M et al (2010) Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60–00 trial. *J Clin Oncol* 28:466–474
19. Samowitz WS, Sweeney C, Herrick J et al (2005) Poor survival associated with the BRAF V600E mutation in microsatellite-stable colon cancers. *Cancer Res* 65:6063–6069
20. Shia J (2008) Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry. *J Mol Diagn* 10:293–300
21. Shia J, Klimstra DS, Nafa K et al (2005) Value of immunohistochemical detection of DNA mismatch repair proteins in predicting germline mutation in hereditary colorectal neoplasms. *Am J Surg Pathol* 29:96–104
22. Stone JG, Robertson D, Houlston RS (2001) Immunohistochemistry for MSH2 and MHL1: a method for identifying mismatch repair deficient colorectal cancer. *J Clin Pathol* 54:484–487
23. Tejpar S, Bertagnolli M, Bosman F et al (2010) Prognostic and predictive biomarkers in resected colon cancer: current status and future perspectives for integrating genomics into biomarker discovery. *Oncologist* 15:390–404
24. Walther A, Johnstone E, Swanton C et al (2009) Genetic prognostic and predictive markers in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 9:489–499
25. Webber EM, Lin JS, Whitlock EP (2010) Oncotype DX tumor gene expression profiling in stage II colon cancer. Application: prognostic, risk prediction. *PLoS Curr* 2 pii: RRN1177
26. Wick MR, Vitsky JL, Ritter JH et al (2005) Sporadic medullary carcinoma of the colon: a clinicopathologic comparison with nonhereditary poorly differentiated enteric-type adenocarcinoma and neuroendocrine colorectal carcinoma. *Am J Clin Pathol* 123:56–65
27. Winn B, Tavares R, Fanion J et al (2009) Differentiating the undifferentiated: immunohistochemical profile of medullary carcinoma of the colon with an emphasis on intestinal differentiation. *Hum Pathol* 40:398–404
28. Zlobec I, Lugli A (2008) Prognostic and predictive factors in colorectal cancer. *J Clin Pathol* 61:561–569