

*BRAF*基因突变与肿瘤

张旭东 陈瑞雪* 王洁

(河北医科大学口腔医学院, 口腔医学重点实验室, 石家庄 050017)

摘要 鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体B(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B, *BRAF*)是一个重要的丝氨酸/苏氨酸激酶, 由它参与的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路调控细胞的增殖、分化和凋亡。*BRAF*基因突变发生在许多恶性肿瘤中, 与这些肿瘤的发生及发展密切相关。成釉细胞瘤是一种常见的局部侵袭性生长的良性牙源性肿瘤, 2014年, 该基因被证实成釉细胞瘤中存在高突变率, 从此开始了成釉细胞瘤分子病理研究的时代, 并为肿瘤靶向治疗的研究带来希望。该文就*BRAF*基因突变在肿瘤(尤其是成釉细胞瘤)中的研究及MAPK信号通路的作用作一综述。

关键词 *BRAF*; MAPK; 基因突变; 肿瘤; 成釉细胞瘤

BRAF Gene Mutation in Tumor

Zhang Xudong, Chen Ruixue*, Wang Jie

(The Key Laboratory of Stomatology, College of Stomatology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B (*BRAF*) is a serine/threonine kinase with a key role in the mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway which regulates cell proliferation, differentiation and apoptosis. Several mutations have been observed in the gene coding area in a variety of human malignancies. Ameloblastoma is a benign but locally infiltrative odontogenic tumor, and a high frequency of *BRAF* mutations in ameloblastoma was reported in 2014, the highlight affair offer an expectation for future application of *BRAF*-targeted therapeutics. In this review we give an update on the clinical pathological and biological characteristics relevance of *BRAF* mutation and MAPK pathway in tumor, especially in ameloblastoma.

Keywords *BRAF*; MARK; gene mutation; tumor; ameloblastoma

基因改变是肿瘤发生和发展的微观驱动力, 研究肿瘤基因变化有助于从本质上认知肿瘤并为寻求肿瘤的基因治疗提供新方法。目前已经认识到环境和遗传致癌因素能够引起DNA损害, 造成原癌基因激活和(或)抑癌基因失活, 引发细胞持续增殖, 最后形成肿瘤。鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体B(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B, *BRAF*)是人类最重要的原癌基因之一, 它在人类多个系统肿瘤中的活跃变化已经引起了学者的关注。随着

*BRAF*基因在肿瘤发生和发展过程中研究的逐渐深入, 一些针对*BRAF*基因突变的相关靶向治疗也取得了一定效果^[1], 为临床常规手段难以治疗的肿瘤提供了新的治疗思路。成釉细胞瘤(ameloblastoma, AM)作为常见的牙源性肿瘤, 在口腔颌面部的发病率较高, 但对于这个疾病分子病理机制的了解几乎是个空白。学者一直努力寻找和肿瘤相关的基因, 但包括在人类50%肿瘤中发生突变的*P53*(一种编码分子量为53 kDa的蛋白质抑癌基因)在内的许多

收稿日期: 2016-04-15 接受日期: 2016-12-09

河北省科技厅项目(批准号: 15277762D)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0311-86266192, E-mail: crxzd@163.com

Received: April 15, 2016 Accepted: December 9, 2016

This work was supported by the Science and Technology Department of Hebei Province (Grant No.15277762D)

*Corresponding author. Tel: +86-311-86266192, E-mail: crxzd@163.com

网络出版时间: 2017-04-20 16:56:30

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170420.1656.002.html>

基因, 均未在成釉细胞瘤中检测到突变发生或发生率极低。2014年, 成釉细胞瘤中首次发现*BRAF*基因突变, 立即引起了广泛的兴趣并很快成为研究热点。目前, *BRAF*基因的变化已成为成釉细胞瘤中最常见的基因改变, 但具体发生率及与肿瘤生物学行为的关系并无统一认识。本文就*BRAF*基因及在肿瘤中的研究作一综述。

1 *BRAF*基因和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路

RAF(rapidly accelerated fibrosarcoma)是一种在哺乳动物中广泛存在的、保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 它有三种亚型: ARAF(a raf proto-oncogene)、BRAF、CRAF(cellular homolog of viral raf gene)。BRAF是来自RAF家族的一个丝氨酸/苏氨酸激酶, 在RAF家族中具有最强的激酶活性。*BRAF*基因是人类最重要的原癌基因之一, 位于人染色体7q34, 由18个外显子组成, 编码蛋白约94 kDa。最常见的突变位置发生在1799位点, 由于第15外显子的单个碱基发生胸腺嘧啶(T)和腺嘌呤(A)的错义突变, 导致翻译蛋白600位密码子的缬氨酸(valine)被谷氨酸(glutamic acid)取代, 产生蛋白序列改变, 从而持续而稳定地活化下游激酶, 调控细胞增殖^[2]。除*V600E*外, 其他位点的突变也有零星报道, 但突变率很低。

BRAF能够活化丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal regulated kinase, MAPK/ERK)信号通路^[3], 该通路将细胞外的各种生长因子、细胞因子及激素的改变信息传递到细胞核, 通过配体与酪氨酸激酶受体表面相结合形成二聚体和酪氨酸残基自磷酸化。所以, 磷酸化作用在MAPK信号通路中起到了关键的作用, 具体BRAF激活与磷酸化过程可能是通过以下途径进行的: BRAF的活化最初是需要RAS(rat sarcoma viral oncogene homolog)的参与下将它定位于内膜上, 非活化的BRAF在活化环残端和P环残端形成典型的两片状的结构, P环是三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的结合位点, 结果造成阻碍催化的残基不能和ATP结合, 激活作用可能通过磷酸化作用破坏了两环间的疏水作用, 暴露了P环和ATP的结合, 从而激活BRAF。除了ARAF和CRAF需要更多的磷酸化步骤和更多的酶参与外, 激活RAF各亚型的基本方式是一致的。除此之外, 拥

有带负电荷的N-末端对RAF激酶的激活也是至关重要的^[4]。

总之, *BRAF*突变直接导致丝裂原活化的细胞外信号调节蛋白激酶(mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase, MEK)活化并继续活化ERK, 致使MAPK通路激活, 进而导致细胞周期和循环失控, 促进肿瘤的发生^[5](图1)。

2 *BRAF*与肿瘤

2.1 *BRAF*与黑色素瘤

*BRAF*是黑色素瘤(melanoma)最常见的突变基因, 突变发生率为40%~60%, *V600E*(1799T>A)突变是主要的*BRAF*突变类型。另一种此位置的突变类型是*V600K*(1798G>A), 较少发生, 但发生*V600K*突变的黑色素瘤患者较*V600E*突变的患者更易发生肺和脑转移, 并且生存率更低^[6], 提示*V600E*突变影响蛋白表达。另有报道显示, 原发黑色素瘤*BRAF V600E*突变率约80%, 转移性黑色素瘤突变率约68%, 良性色素痣中突变率也达到82%^[7], 提示存在*V600E*突变的色素痣存在更大的恶变风险。

通过对*BRAF*突变与临床病理的关系研究发现, *BRAF*突变和黑色素瘤的发病部位有一定关系, 发生在接受阳光直接照射损伤部位的肿瘤*BRAF*突变率较不受阳光照射部位突变率高^[8]。此外, *BRAF*突变还和黑色素瘤的病理分型有一定关系, 浅表扩散型突变率为63.2%, 结节性黑色素瘤为50.4%, 恶性雀斑样黑色素瘤和肢端雀斑样黑色素瘤突变率较少, 分别为20%和11%^[9]。相似的结论也被其他学者报道^[10]。这种发生在同一肿瘤中不同的突变发生率目前解释理由并不充分, 多以基因易感体质、年龄、发病部位及紫外线的强度等因素解释, 并且以上因素可能独立影响或联合影响肿瘤的突变频率。随着美国食品药品监督管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)批准*BRAF*突变抑制剂威罗菲尼应用, 对于那些不能切除的或者转移的黑色素瘤进行靶向治疗的尝试, 已取得了良好的效果^[11], 在一定程度上降低了患者死亡风险。

2.2 *BRAF*与甲状腺癌

甲状腺癌是一种常见的癌, 根据组织发生和形态结构可分为乳头状甲状腺癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)、滤泡型癌、髓样癌、未分化癌、转移癌。其中, 乳头状甲状腺癌是最常见的甲状腺

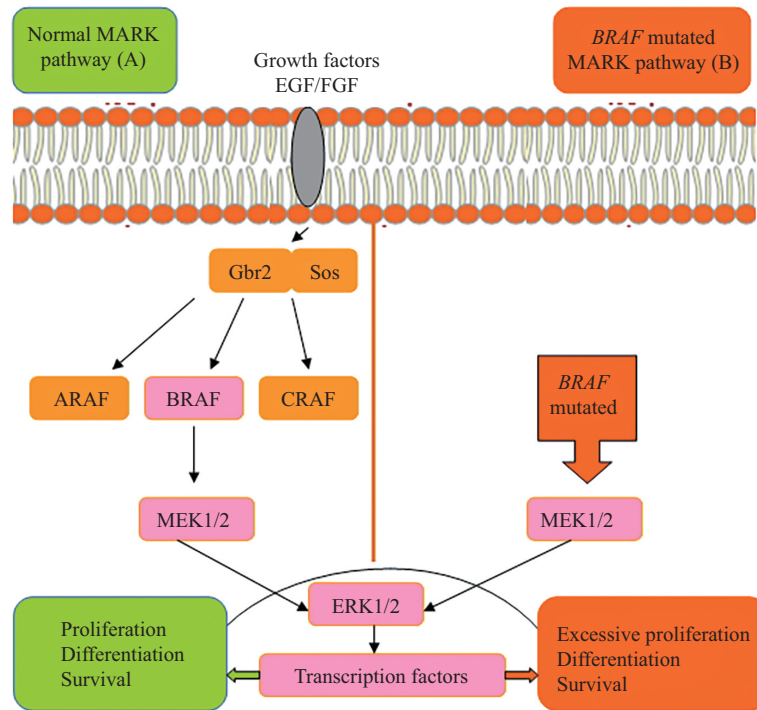


图1 BRAF野生型(A)和突变型(B)参与MAPK信号通路激活示意图(根据参考文献[5]修改)
Fig.1 Schematic representation of BRAF in (A) normal and (B) mutated state in the activation of MAPK pathway (modified from reference [5])

癌的类型, 约占甲状腺癌的50%。*BRAF*基因发生在甲状腺癌的突变位点几乎都是*V600E*突变, 突变率为40%~68%。*BRAF*突变在儿童PTC的发生率明显较低, 约31%^[12]。研究发现, *BRAF*基因突变和乳头状癌病理类型明显相关, 而在滤泡型癌、髓样癌和良性甲状腺增生中均未见突变^[13]。*BRAF V600E*突变还和肿瘤不良的病理生物行为有关, Xing等^[14]通过对219例甲状腺癌患者*BRAF*突变和临床病理的关系发现, *V600E*突变与肿瘤的复发密切相关并和甲状腺包膜外侵袭、肿瘤多中心型、肿瘤III和IV分期、肿瘤包膜缺如相关。Finkelstein等^[13]提出, *BRAF*突变和PTC的典型肿瘤细胞核特征、浸润性生长、包膜不完整或缺如、淋巴结转移、复发等相关, 推测*V600E*突变后使得*BRAF*活性增加, 促进细胞增殖从而引发肿瘤, 这可能是PTC发生的一个重要分子机制。但同样应该引起关注的是, *BRAF*突变多发生在伴有慢性淋巴细胞性甲状腺炎的PTC病例中, 这可能是肿瘤侵袭和机体产生免疫耐受的机制^[15], 也说明免疫环境的改变与肿瘤的发生密切相关。基于以上研究, *BRAF*突变已被认为可以作为PTC预后评估的一个独立指标, 更多临床应用研究的展开也为PTC患者的治疗及综合方案的制定提供明确依据。

2.3 BRAF与直肠结肠癌

直肠结肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的恶性肿瘤。研究表明, CRC发生与多种基因突变密切相关, 其中包括*KRAS*(Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog)、*BRAF*、*MEK*、*ERK*。以上基因均参与细胞增殖、分化、凋亡以及血管形成等过程的调节。有50%左右的CRC患者表现为*BRAF*和*KRAS*基因突变, 这些突变病例采用外科治疗存在一定困难, 所以倾向于选择基因靶向治疗^[16]。最近的一项研究发现, 高剂量维生素C的应用能够选择性杀死携带*BRAF*和*KRAS*突变的CRC肿瘤细胞, 而对野生型没有抑制作用。这项研究又为CRC的靶向治疗提供了新的选择^[17]。*BRAF V600E*突变更易发生在具有不稳定的微小卫星肿瘤病例中。存在错配基因参与的林奇(Lynch)综合征的患者并没有发生*BRAF*突变^[18], 所以通过临床*BRAF*突变的检测可筛选出那些属于真正林奇综合征相关直肠结肠癌患者^[19]。这个结果如果被确定, 将对临床诊断有重要意义。还有研究发现, *BRAF*突变和因癌致死的高风险联系在一起, 约有超过半数的*BRAF*突变阳性标本呈现不良的癌分化, 伴淋巴结转移和神经侵犯。在CRC肝转移的患者中, *BRAF*突变往往提示不良预

后, 所以, 部分学者考虑将*BRAF*作为肿瘤分子标志物对CRC预后进行分级评估^[20]。总之, 有越来越多的学者投身于*BRAF*与CRC的研究中, 二者的关系及相关机制将会被逐渐阐明。

2.4 *BRAF*与毛细胞白血病

毛细胞白血病(hairy cell leukemia, HCL)是淋巴系统来源的恶性肿瘤, 是特殊的一种慢性淋巴细胞白血病。Tiacci等^[21]通过对47例HCL患者外周血样本测序发现, *BRAF V600E*突变存在所有病例中, 而195名外周型B淋巴细胞白血病患者中没有发现突变。这之前已有研究证实, 在非何杰金淋巴瘤中没有发现*BRAF V600E*突变^[22]。随后的研究均证实了典型的HCL全部存在*BRAF*突变, 而其他亚型中没有发生突变^[23]。通过对285名髓样癌的患者进行*V600E*突变的筛查, 没有发现基因变化^[24]。以上多项研究表明, 典型的HCL突变率为100%, 而*BRAF*突变检测为HCL的诊断增加新的方法。有学者已将*BRAF V600E*突变抑制剂威罗菲尼应用给一个51岁临床难以治愈的HCL确诊病例, 并取得了良好的效果^[25]。还有学者也在临床尝试应用靶向治疗, 取得可靠疗效^[26]。通过对以往研究的总结, 对这类难以治疗的疾病应用威罗菲尼(vemurafenib)、达拉菲尼(dabrafenib)、曲美替尼(trametinib)、依鲁替尼(ibrutinib)可能成为治疗HCL的新方向^[27], 同时*BRAF V600E*突变的检测可能成为HCL的敏感标志物。随着研究的深入, 对HCL的发病机制、诊断和特异靶向治疗必会形成新的认识。

2.5 *BRAF*与脑瘤

早期对脑部肿瘤的研究结果提示, 除了个别的肿瘤如脑胶质瘤、星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤和室管膜瘤外, 没有发现*BRAF V600E*突变或表现出极低的突变率^[28]。但近期的研究表明, 很多低分化的脑部神经肿瘤的特定类型和儿童脑瘤存在高的突变率。学者通过对1 320例神经系统肿瘤进行*BRAF*基因突变的研究, 报道了在多形性黄色星形细胞瘤中, 神经节胶质瘤和星形细胞瘤存在较高的突变率, 分别为66%、18%和33%^[29]。有60%~80%的星形细胞瘤表现出*BRAF*的活性增强, 这种活性改变是由于基因的复制过程变化或点突变引起的^[30]。还有研究也表明了相同的观点, 发现*BRAF*突变发生在成人和儿童的脑瘤有明显的不同, 随着年龄的增长突变率明显降低^[31]。这些研究都提示, *BRAF*在脑瘤中的突变

和年龄有密切的相关性, 虽然人们对*BRAF*突变的发生频率还没有形成一致意见, 但是, 针对脑部肿瘤的位置的特殊性和周围组织的重要性, 对于那些外科不能完全切除的脑瘤或手术可能带来严重并发症的肿瘤, 可以考虑检测是否存在*BRAF*突变并针对性地选择基因治疗也可作为备选治疗方案, 尤其是对儿童患者。以上领域将是今后的热点, 也是最具有临床指导意义的。

在肿瘤中对*BRAF*基因及MAPK信号通路的研究日渐深入, 越来越多的病变被证明与*V600E*突变相关, 包括朗格汉斯组织细胞增生症^[32]、低分化卵巢癌^[33]等。随着研究的继续, 那些与肿瘤的发生及发展过程中密切相关的分子事件将会渐渐地被深入认识, 终将阐明*BRAF*基因在肿瘤形成中的作用及靶向治疗提供可靠依据。

2.6 *BRAF*与成釉细胞瘤

成釉细胞瘤是较常见的牙源性上皮性肿瘤。常常导致颌骨膨大和面部畸形, 虽属良性肿瘤, 但局部侵袭性生长, 术后复发率高, 也可恶性变或远处转移。治疗的方法需颌骨切除, 这将导致面部明显畸形。一直以来, 学者们为寻求其他治疗方法在不断的努力着, 但是由于对此肿瘤的分子背景了解很少, 所以几乎没有任何进展。2004年, Kumamoto等^[34]用10个成釉细胞瘤和1个恶性成釉细胞瘤冷冻组织样本DNA测序分析*P53*基因改变, 结果*P53*基因5~8外显子均未发现突变。这使得对成釉细胞瘤的基因研究降至冰点, 之后对成釉细胞瘤基因突变的研究少之又少, 个别的研究也因为突变率低未引起相当的关注。

直到2014年, Kurppa等^[35]用24例新鲜冷冻的滤泡型和丛状型成釉细胞瘤肿瘤样本进行DNA测序, 发现15例(63%)成釉细胞瘤出现*BRAF V600E*突变, 突变15人中包括6个白种人、7个黑人、1个加勒比黑人和1个亚洲人, 同时发现突变的发生和患者年龄、性别、肿瘤组织类型、肿瘤复发等无直接关系。研究表明, 不同种族*V600E*突变率有所不同, 但是突变是否和种族相关还需更加深入的研究。此项结果立即引起了相关学者的兴趣, 讨论接踵而来: *BRAF V600E*突变的临床意义和表现是什么, 是否也发生在其他类型中如单囊型? 成釉细胞瘤中发生的*RAS*基因突变是否会对EGFR和/或*BRAF*靶向治疗影响? *BRAF V600E*突变是否存在于所有肿瘤细胞

还是仅仅存在于肿瘤异质性的细胞中^[36]? 于是, 展开了对成釉细胞瘤中*BRAF*基因突变的研究, 由此促进了成釉细胞瘤分子病理研究水平的发展。

Sweeney等^[37]通过对28例福尔马林固定石蜡包埋的成釉细胞瘤标本进行测序发现, 46%的成釉细胞瘤发生*BRAF*突变(13/28), 表现在*V600E*位点12例, L597A位点1例; 39%的成釉细胞瘤发生癌基因*SMO*(smoothened)基因突变(11/28)。他们结合临床病理认为, *BRAF*基因突变更易发生在下颌, 但此结论并没有在以后的研究中被证实, 仍存在争议。另外, 实验中通过获取存在*BRAF V600E*突变的成釉细胞瘤(AM-1)细胞系, 检测并无*SMO*突变, 给予威罗菲尼后抑制了肿瘤细胞增殖, 最后作者建议立即针对成釉细胞瘤*V600E*突变病例采取靶向药物治疗, 对*SMO*突变靶向药物应用还要进行实验研究。

Brown等^[38]通过对过去15年中50例非脱钙成釉细胞瘤标本应用*BRAF V600E*特殊等位基因PCR后发现31例(62%)突变, 并通过统计分析认为, 突变更易发生在年轻人, 而野生型主要表现在上颌并可早期复发, 这一点和之前的研究并不一致。应用威罗菲尼于突变细胞系后显示了对瘤细胞增殖和MAPK活性的抑制。相似的研究也证实了这个结果, Brunner等^[39]通过对19例成釉细胞瘤、18例成釉细胞纤维-牙本质瘤、5例成釉细胞纤维瘤、4例成釉细胞癌、12例牙源性钙化囊性瘤等标本进行多重巢式PCR和Sanger测序, 结果发现, 14例成釉细胞瘤、6例成釉细胞纤维-牙本质瘤、2例成釉细胞纤维瘤、1例成釉细胞癌出现*BRAF V600E*突变。这些结果说明, 在牙源性肿瘤中*BRAF*突变并不是成釉细胞瘤所特有的, 可能与所有具有成釉细胞成分肿瘤的病理形成相关, 由它参与的MAPK通路对于这类病理形态肿瘤的发生起重要作用, 但这也仅仅是个猜测, 尚不能做定论, 需要更多的研究去阐述。

最近的研究也证实了成釉细胞瘤中*BRAF*的高突变率, 包括17例成釉细胞瘤和11例牙源性癌的福尔马林固定石蜡包埋的样本用于*BRAF V600E*突变的研究。*BRAF V600E*突变的检测使用特殊TaqMan探针实时PCR法并用Sanger测序验证, 结果14例(87%)成釉细胞瘤显示了*V600E*突变, 其中, 单囊型突变率83%(5/6)、多囊型突变率78%(7/9)、促结缔组织增生型突变率100%(2/2)、恶性肿瘤中突变率36%(4/11)。由此认为, *BRAF V600E*突变在成釉细胞

瘤中是常见的分子现象, 这种突变和组织类型及发生位置无关, 此研究进一步为*V600E*突变患者实施个性化和靶向治疗提供了有力支持^[40]。

3 展望

综上所述, 在2014年之前, 有关成釉细胞瘤的分子发病机制几乎零了解, 但随着*BRAF*基因在这个良性肿瘤中的高突变被证实, *BRAF V600E*突变在成釉细胞瘤中作为一个首要且稳定的基因事件被阐明, 一些问题随之而来。比如*BRAF*突变是否存在种族差异? *BRAF*突变和参与的MAPK通路在牙源性肿瘤中的具体作用机制是什么, 在成釉细胞瘤的发生和进展过程中还存在那些其他关键性基因突变位点? *BRAF*基因突变和其他这些基因突变是成釉细胞瘤特有还是牙源性瘤的共同特征? 基于这些问题之上的研究可能从以下几方面进行: 纳入较多的不同种族新鲜牙源性肿瘤标本进行测序研究以了解*V600E*突变在其他牙源性肿瘤中的突变情况; 对同在MAPK通路中的其他基因(如*ERK*、*MEK*)进行研究, 澄清MAPK通路中*BRAF*是否是唯一发生改变的; 通过原代培养成釉细胞瘤突变细胞并进行鉴定或者选用成釉细胞瘤突变细胞系培养后, 构建的特异性质粒载体沉默*V600E*的表达, 相对应地, 通过对野生型肿瘤细胞的特异性基因修饰改变构建*V600E*突变细胞后观察突变和未突变对肿瘤细胞增殖行为的影响, 并可通过裸鼠体内成瘤研究突变和野生型在肿瘤形成过程中的作用。这些研究也可在其他牙源性肿瘤中同时进行。以上讨论的实施必将为详细阐明成釉细胞瘤乃至牙源性肿瘤的发生发展提供支持。伴随着这些问题的成果, *BRAF V600E*突现有抑制剂的应用和新型抑制剂的研发及在实验室和临床的应用必将拥有广阔的前景, 同时为成釉细胞瘤的治疗提供新的选择。

参考文献 (References)

- 1 Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Cleqq S, *et al.* Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417(6892): 949-54.
- 2 Tadmor T, Tiacci E, Falini B, Polliack A. The BRAF-V600E mutation in hematological malignancies: A new player in hairy cell leukemia and langerhans cell histiocytosis. *Leuk Lymphoma* 2012; 53(12): 2339-40.
- 3 Akarca AU, Shende VH, Ramsay AD, Diss T, Pane-Foix M, Rizvi H, *et al.* BRAF V600E mutation- specific antibody, a

- sensitive diagnostic marker revealing minimal residual disease in hairy cell leukaemia. *Br J Haematol* 2013; 162(6): 848-51.
- 4 Leicht DT, Balan V, Kaplun A, Singh-Gupta V, Kaplun L, Dobson M, *et al.* Raf kinases: Function, regulation and role in human cancer. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773(8): 1196-212.
- 5 Ahmadzadeh A, Shahrabi S, Jaseb K, Norozi F, Shahiahani M, Vosoughi T, *et al.* BRAF mutation in hairy cell leukemia. *Oncol Rev* 2014; 8(2): 253-6.
- 6 Amanuel B, Grieu F, Kular J, Millward M, Iacopetta B. Incidence of BRAF p.Val600Glu and p.Val600Lys mutations in a consecutive series of 183 metastatic melanoma patients from a high incidence region. *Pathology* 2012; 44 (4): 357-9.
- 7 Bauer J, Buttner P, Wiecker TS, Luther H, Garbe C. Risk factors of incident melanocytic nevi: A longitudinal study in a cohort of 1,232 young German children. *Int J Cancer* 2005; 115(1): 121-6.
- 8 Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T, *et al.* Determinants of BRAF mutations in primary melanomas. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(24): 1878-90.
- 9 Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, *et al.* Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2011; 29(10): 1239-46.
- 10 Jakob JA, Bassett RL Jr, Ng CS, Curr JL, Joseph RW, Alvarado GC, *et al.* NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma. *Cancer* 2012; 118(16): 4014-23.
- 11 Tate SC, Burke TF, Hartman D, Kulanthaivel P, Beckmann RP, Cronier DM. Optimising the combination dosing strategy of abemaciclib and vemurafenib in BRAF-mutated melanoma xenograft tumours. *Br J Cancer* 2016; 114(6): 669-79.
- 12 Gertz RJ, Nikiforov Y, Rehrauer W, McDaniel L, Liloyd RV. Mutation in BRAF and other members of the MAPK pathway in papillary thyroid carcinoma in the pediatric population. *Arch Pathol Lab Med* 2016; 140(2): 134-9.
- 13 Finkelstein A, Levy GH, Hui P, Prasad A, Virk R, Chhieng DC, *et al.* Papillary thyroid carcinomas with and without BRAF V600E mutations are morphologically distinct. *Histopathology* 2012; 60(7): 1052-9.
- 14 Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ, *et al.* BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(12): 6373-9.
- 15 Smith RA, Salajegheh A, Weinstein S, Nassiri M, Lam AK. Correlation between BRAF mutation and the clinicopathological parameters in papillary thyroid carcinoma with particular reference to follicular variant. *Hum Pathol* 2011; 42(4): 500-6.
- 16 Koochak A, Rakhshani N, Karbalaie Niya MH, Tameshkel FS, Sohrabi MR, Babaee MR, *et al.* Mutation analysis of KRAS and BRAF genes in metastatic colorectal cancer: A first large scale study from Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016; 17(2): 603-8.
- 17 Yun J, Mullarky E, Lu C, Bosch KN, Kavalier A, Rivera K, *et al.* Vitamin C selectively kills KRAS and BRAF mutant colorectal cancer cells by targeting GAPDH. *Science* 2015; 350(6266): 1391-6.
- 18 Mas-Moya J, Dudley B, Brand RE, Thull D, Bahary N, Nikiforova MN, *et al.* Clinicopathological comparison of colorectal and endometrial carcinomas in patients with Lynch-like syndrome versus patients with Lynch syndrome. *Hum Pathol* 2015; 46(11): 1616-25.
- 19 Bouzourene H, Hutter P, Losi L, Martin P, Benhattar J. Selection of patients with germline MLH1 mutated Lynch syndrome by determination of MLH1 methylation and BRAF mutation. *Fam Cancer* 2010; 9(2): 167-72.
- 20 Lochhead P, Kuchiba A, Imamura Y, Liao X, Yamauchi M, Nishihara R, *et al.* Microsatellite instability and BRAF mutation testing in colorectal cancer prognostication. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105(15): 1151-6.
- 21 Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, Holmes A, Kern W, Martelli MP, *et al.* BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 2011; 364(24): 2305-15.
- 22 Lee JW, Yoo NJ, Soung YH, Kim HS, Park WS, Kim SY, *et al.* BRAF mutations in non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Cancer* 2003; 89(10): 1958-60.
- 23 Blombery PA, Wong SQ, Hewitt CA, Dobrovic A, Maxwell EL, Juneja S, *et al.* Detection of BRAF mutations in patients with hairy cell leukemia and related lymphoproliferative disorders. *Haematologica* 2012; 97(5): 780-3.
- 24 Tiacci E, Park JH, De Carolis L, Chung SS, Broccoli A, Scott S, *et al.* Targeting mutant BRAF in relapsed or refractory hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 2015; 373(18): 1733-47.
- 25 Dietrich S, Glimm H, Andrulis M, von Kalle C, Ho AD, Zenz T. BRAF inhibition in refractory hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366(21): 2038-40.
- 26 Bailleux C, Robert G, Ginet C, Re D, Thyss A, Sudaka I, *et al.* Successful re-treatment of a relapsed V600E mutated HCL patient with low-dose vemurafenib. *Oncoscience* 2014; 2(1): 44-9.
- 27 Sarvaria A, Topp Z, Saven A. Current therapy and new directions in the treatment of hairy cell leukemia: A review. *JAMA Oncol* 2016; 2(1): 123-9.
- 28 Jeuken J, van den Broecke C, Gijssen S, Boots-Sprenger S, Wesseling P. RAS/RAF pathway activation in gliomas: the result of copy number gains rather than activating mutations. *Acta Neuropathol* 2007; 114(2): 121-33.
- 29 Schindler G, Capper D, Meyer J, Janzarik W, Omran H, Herold-Mende C, *et al.* Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol* 2011; 121(3): 397-405.
- 30 Lawson ARJ, Tatevossian RG, Phipps KP, Picker SR, Michalski A, Sheer D, *et al.* RAF gene fusions are specific to pilocytic astrocytoma in a broad paediatric brain tumour cohort. *Acta Neuropathol* 2010; 120(2): 271-3.
- 31 Hasselblatt M, Riesmeier B, Lechtape B, Brentrup A, Stummer W, Albert FK, *et al.* BRAF-KIAA1549 fusion transcripts are less frequent in pilocytic astrocytomas diagnosed in adults. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2011; 37(7): 803-6.
- 32 Abl O, Weitzman S. Treatment of Langerhans cell histiocytosis: Role of BRAF/MAPK inhibition. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2015; 2015(1): 565-70.
- 33 Grisham RN, Iyer G, Garg K, DeLair D, Hyman DM, Zhou Q, *et al.* BRAF mutation is associated with early stage disease and improved outcome in patients with low-grade serous ovarian

- cancer. *Cancer* 2013; 119(3): 548-54.
- 34 Kumamoto H, Izutsu T, Ohki K, Takahashi N, Ooya K. p53 gene status and expression of p53, MDM2, and p14 proteins in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2004; 33(5): 292-9.
- 35 Kurppa KJ, Catón J, Morgan PR, Ristimäki A, Ruhin B, Kellokoski J, *et al.* High frequency of BRAF V600E mutations in ameloblastoma. *J Pathol* 2014; 232(5): 492-8.
- 36 Gomes CC, Diniz MG, Gomez RS. Progress towards personalized medicine for ameloblastoma. *J Pathol* 2014; 232(5): 488-91.
- 37 Sweeney RT, McClary AC, Myers BR, Biscocho J, Neahring L, Kwei KA, *et al.* Identification of recurrent SMO and BRAF mutations in ameloblastomas. *Nat Genet* 2014; 46(7): 722-5.
- 38 Brown NA, Rolland D, McHugh JB, Weigelin HC, Zhao L, Lim MS, *et al.* Activating FGFR2-RAS- BRAF mutations in ameloblastoma. *Clin Cancer Res* 2014; 20(21): 5517-26.
- 39 Brunner P, Bihl M, Jundt G, Baumhoer D, Hoeller S. BRAF p.V600E mutations are not unique to ameloblastoma and are shared by other odontogenic tumors with ameloblastic morphology. *Oral Oncol* 2015; 51(10): e77-8.
- 40 Diniz MG, Gomes CC, Guimarães BV, Castro WH, Lacerda JC, Cardoso SV, *et al.* Assessment of BRAF V600E and SMOF412E mutations in epithelial odontogenic tumours. *Tumour Biol* 2015; 36(7): 5649-53.
- 41 Bahrami A, Hesari A, Khazaei M, Hassanian SM, Ferns G, Avan A. The therapeutic potential of targeting the BRAF in patients with colorectal cancer. *J Cell Physiol* 2017; doi: 10.1002/jcp.25952.