

肝内胆管癌的分子研究进展及NGS技术对ICC精准治疗的临床应用价值

马 超¹, 李 硕¹, 邹 杰², 王春雷², 王光军^{1*}

¹青岛市西海岸新区中心医院普外科, 山东 青岛

²潍坊市人民医院普外科, 山东 潍坊

收稿日期: 2025年1月28日; 录用日期: 2025年2月21日; 发布日期: 2025年2月28日

摘 要

肝内胆管细胞癌(Intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)是一种恶性程度很高的肝脏肿瘤, 近年来其发病率和死亡率不断上升。然而, 由于缺乏具有代表性的遗传标记以及现有的基因组学研究仍较为有限, ICC的靶向治疗面临较大挑战。随着第二代基因测序技术(Next-generation sequencing, NGS)等先进技术的应用, 研究者对ICC中遗传异质性的理解得到了极大的拓展, 并已发现多个潜在的基因改变。本综述主要讨论ICC基因改变的最新分子研究进展, 梳理和讨论NGS技术在ICC临床研究中的应用, 特别是针对单个基因的遗传及表观遗传学改变的研究。特别地, 我们探讨了新靶向药物对具有特征性遗传标记的ICC患者的潜在疗效。尽管如此, 关于ICC术后复发相关的分子生物标志物仍不明确, 仍需进一步深入研究。未来, 借助NGS技术深入研究ICC的分子分型以及术后复发相关分子标志物, 将有助于为ICC患者提供更加精准的个体化治疗方案。

关键词

肝内胆管细胞癌, 分子分型, 第二代基因测序技术, 精准治疗

Advances in Molecular Research on Intrahepatic Cholangiocarcinoma and the Clinical Application Value of NGS Technology in the Precision Treatment of ICC

Chao Ma¹, Shuo Li¹, Jie Zou², Chunlei Wang², Guangjun Wang^{1*}

¹Department of General Surgery, Qingdao West Coast New Area Central Hospital, Qingdao Shandong

²Department of General Surgery, Weifang People's Hospital, Weifang Shandong

*通讯作者。

文章引用: 马超, 李硕, 邹杰, 王春雷, 王光军. 肝内胆管癌的分子研究进展及 NGS 技术对 ICC 精准治疗的临床应用价值[J]. 临床医学进展, 2025, 15(2): 2122-2128. DOI: 10.12677/acm.2025.152575

Abstract

Intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) is a highly malignant liver tumor, with increasing incidence and mortality in recent years. However, due to the lack of representative genetic markers and the limited genomic studies available, effective targeted therapy for ICC remains challenging. With the advent of advanced technologies such as next-generation sequencing (NGS), our understanding of the genetic heterogeneity of ICC has greatly expanded, and several potential genetic alterations have been identified. This review discusses the latest molecular research advancements on genetic alterations in ICC, and provides an overview of clinical findings from NGS technology applied to ICC. It specifically focuses on the genetic and epigenetic changes of individual genes and evaluates the efficacy of new targeted therapies in ICC patients, particularly those with characteristic genetic markers. However, molecular biomarkers related to postoperative recurrence in ICC remain unclear and warrant further investigation. In the future, deeper studies on molecular subtyping and recurrence-related markers of ICC using NGS technology are expected to provide more precise treatment options for ICC patients.

Keywords

Intrahepatic Cholangiocarcinoma, Molecular Subtyping, Next-Generation Sequencing Technology, Precision Therapy

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肝内胆管细胞癌(Intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)是继肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)之后的第二常见原发性肝癌, 占有原发性肝癌的约 15% [1]。尽管不同地区和国家的发病率有所差异, 全球范围内 ICC 的发病率和死亡率近年来持续上升。ICC 的早期诊断困难, 且常在确诊时已失去手术切除的机会, 约 70% 的患者无法接受手术治疗[2]。对于这些无法手术的患者, 5 年生存率低于 10% [3], 且缺乏有效的系统治疗方案。然而, 即便对于那些能够在早期发现并进行手术切除的 30% 患者, 远期高复发率和高死亡率也使得他们的生存前景十分有限。因此, 改善 ICC 患者的预后仍然面临巨大的挑战。

手术切除仍然是 ICC 唯一可能的治愈方法, 但其成功率受到多种因素的影响, 主要包括患者的年龄、肿瘤的大小和数量、是否存在淋巴结转移以及是否有血管侵犯等[4]。虽然大多数接受手术治疗的患者会经历短期的生存期, 但其 5 年总生存率(OS)约为 28 个月, 且 5 年生存率不到 35%。即使在 R0 切除(明确切缘阴性)的病例中, 术后 5 年无瘤生存率仍然仅为 2% 至 39%。这些结果表明, ICC 具有高度的恶性程度, 其生物学行为与其他肝胆恶性肿瘤(如 HCC、肝门部胆管癌和远端胆管癌)存在差异, 呈现出独特的临床病理和分子特征。

尽管近年来已有研究对 ICC 的分子机制进行了初步探索, 取得了一些进展, 但这些研究仍然局限于基因表达、基因突变等单一方面, 且结论尚不统一。特别是 ICC 患者术后复发的分子机制尚未得到充分探讨, 相关的分子分型仍然是一个空白领域。随着高通量测序技术的发展, 特别是第二代基因测序技术

(NGS)的应用, 我们有机会更深入地探讨 ICC 的分子异质性和术后复发机制, 为精确治疗提供潜在的新靶点和策略。

2. ICC 是高度异质性疾病, 分子研究获得一定的进展

肝内胆管细胞癌(ICC)是一种高度异质性疾病, 其发生涉及多种遗传和信号通路的改变。ICC 的致癌过程、肿瘤内异质性以及术后复发等临床异质性均与其细胞来源的多样性密切相关。传统上, ICC 被认为来源于胆管细胞的恶性转化, 但近年来的研究揭示, ICC 的异质性来源可能包括多个干细胞生态位, 这些干细胞存在于胆小管的胆管周围腺上皮细胞和 Hering 通道区域。最新的实验动物模型进一步提出, ICC 可能源自肝细胞的去分化[5] [6]。Fan 等[5]通过在正常肝细胞中过表达 Notch1 (NICD)和 AKT, 证明了肝细胞的去分化过程可能导致胆管细胞的转化, 并赋予其潜在的干细胞祖细胞特征。Sekiya 和 Suzuki [7]在癌前阶段研究中也证实了 Notch 通路在肝细胞胆管系分化中的重要作用, 并指出这一过程可导致大结节性肝硬化和 ICC 的发生。因此, Holczbauer 等[6]提出, ICC 可能起源于多种不同的细胞谱系, 甚至在肝细胞的谱系内, 包括小鼠原始肝细胞和分化的成体肝细胞都有可能成为 ICC 的起源细胞。Guest 等[8]的研究进一步支持了胆管上皮在慢性胆道炎症及 p53 缺失背景下向 ICC 转化的观点, 并加强了 Notch 通路在 ICC 转化中的驱动作用。

已知多种基因和信号通路的变异可能影响胆管细胞的恶性转化, 如 CTNNB1 (8%)、APC (13%)、AXIN1 (41%)和 CDH1 (11%)等 WNT 信号传导通路的成分[9] [10]。近年来, 多种基因工程小鼠肝癌模型的建立也揭示了与 ICC 发生发展的基因突变和通路变异[11], 包括 myr-AKT 的过度表达、Notch 激活[5]、KRAS G12D 突变和 p53 的缺失[12] Fig-ROS [13]以及 PTEN 和 SMAD4 的破坏[14], MGMT 基因的表达[15], 表明这些基因和通路的变异与 ICC 的发生发展有关。

目前, ICC 的典型发病过程已被认为是多环节的, 尽管肝炎病毒感染、酗酒和慢性炎症等被公认为其重要诱发因素, 但越来越多的研究表明, ICC 的发生可能源于慢性胆道炎症的持续刺激。胆管损伤、胆汁淤积和胆汁酸信号通路的异常激活促进了胆管细胞的增殖。炎症介质(如白细胞介素-6 (IL-6)和转化生长因子- β (TGF- β))在这一过程中发挥重要作用, 进一步促进了细胞的增殖和恶性转化。与此同时, DNA 损伤修复机制的失调以及肿瘤抑制基因和原癌基因的激活也助长了 ICC 的发生[16]。

许多研究已经探讨了 ICC 中单个基因的遗传和表观遗传学改变, 并研究了这些变化对疾病预后和诊断的影响[17]-[20]。然而, 由于研究样本量有限以及患者背景的差异, 现有研究结果往往存在较大差异。最近, 采用综合基因组学方法评估 ICC 中的分子变化, 如染色体畸变、遗传和表观遗传学改变以及转录组学变化, 取得了初步进展。例如, 已有研究识别出了 238 个与高危人群相关的基因, 这些基因可用于预测总生存率或无复发生存率。特别地, 已有研究将这些基因的特征缩小为 36 个, 这些基因主要与胆管特异性存活相关, 包括 β -连环蛋白(CTNNB1)/MYC、肿瘤坏死因子(TNF)和 VEGFR/ERBB 等[21]。

在基因组学研究中, 染色体不平衡现象在 ICC 中已得到证实[17]。通过比较基因组杂交技术(CGH)分析 98 例 ICC 病例, 研究者发现 1q、5p、7p、8q、17q 和 20q 染色体的扩增, 以及 1p、4q、8p、9p、17p 和 18q 染色体的缺失。其他研究[22]亦证实了 ICC 中常见的基因组变异, 包括 KRAS (22%)、BRAF (7%)、EGFR (2%)、IDH1/IDH2 (14%)以及 TP53 突变(15%) [23], 这些突变与 ICC 的发生和进展密切相关。值得注意的是, KRAS 突变在 ICC 中的发生率在不同分期的肿瘤中有明显升高, 特别是在原发性硬化性胆管炎(PSC)患者中, KRAS 突变率达到 30%, 表明 KRAS 突变可能是胆管细胞恶性转化的早期事件[24]。

总体而言, ICC 是一种高度异质性疾病, 不同种族和地区的 ICC 基因组学变异呈现出显著的差异[25], 部分差异可能源自不同的技术手段, 如 FISH、Sanger 测序和 IHC 等, 而新一代基因测序(NGS)技术的应用为 ICC 的精准研究提供了新的契机。未来的研究将更侧重于利用 NGS 等技术, 全面评估 ICC 的基因

组、表观遗传学和转录组学的变化,进一步揭示 ICC 的分子机制和临床特征,为 ICC 的诊断和治疗提供新的生物标志物和治疗靶点。

3. NGS 的兴起为探索 ICC 基因组变异全貌,寻找新的用药靶点提供机会

近年来,第二代基因测序(Next-Generation Sequencing, NGS)技术因其高灵敏度和高特异性,广泛应用于无创产前筛查、遗传性疾病诊断、肿瘤基因检测等多个临床领域。在肿瘤学中,NGS 技术的应用不仅能够揭示肿瘤患者的基因组变异,还能帮助肿瘤的分子分型,从而为个体化治疗提供精准依据。这一技术的应用不仅有助于对患者进行精准分层,判断预后,还能够实现“同种肿瘤异治”和“不同肿瘤同治”的精准治疗模式。对于肝内胆管细胞癌(ICC)来说,NGS 的应用一方面使得其基因组变异的全貌日益明朗,另一方面也为新靶点的发现提供了可能性,如 IDH1/2 和 FGFR2 等。

3.1. ICC 的基因变异概况

NGS 首次被用于描述肝吸虫(*Opisthorchis viverrini*)相关 ICC 的遗传变异,这种变异在泰国东北部地区较为常见。Kipp 等[26]对 8 个与肝吸虫相关的 ICC 病例及其配对正常组织进行全外显子组测序(WES),发现了共计 187 个基因的 206 个体细胞突变,平均每个肿瘤含有 26 个非同义突变(范围:19~34 个)。研究发现 TP53、KRAS 和 SMAD4 是高频突变基因,突变频率分别为 44.4%、16.7%和 16.7%。此外,该研究还鉴定出 MLL3、ROBO2、RNF43、PEG3 等新基因的突变,这些基因主要与组蛋白修饰、基因组不稳定性及 G 蛋白信号通路相关。在 IDH 基因的编码区域,研究者还发现了 IDH1 和 IDH2 的热点突变,这些突变可能与 p53 水平的升高和 DNA 甲基化水平的增加相关[27]-[29]。此外,Chan-On 等[30]和其他研究[31]也在 ICC 中鉴定出染色质调节因子如 BAP1 (10%)和 ARID1A (10%)的突变,且这些突变与组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂或去甲基化药物的靶向治疗相关。

3.2. IDH 基因变异与临床意义

在 ICC 中,IDH 基因的突变尤其引人关注。IDH1 和 IDH2 的突变常常伴随肿瘤的染色质重塑,进而影响肿瘤的免疫逃逸机制和肿瘤微环境的变化。研究表明,IDH 基因的突变不仅能够影响肿瘤的发生,还可能影响肿瘤的复发和转移。针对 IDH1 和 IDH2 突变的新药物已经进入 II 期临床试验,并取得了初步的积极结果,这为 ICC 的靶向治疗提供了新的方向。

3.3. FGFR2 基因变异与临床意义

除了 IDH 基因,FGFR2 基因的变异也引起了广泛关注。FGFR2 的基因融合形式在 ICC 中较为常见,其中 FGFR2-BICC1、FGFR2-KIAA1598 和 FGFR2-TACC3 等变异均已被报道。Arai 等[32]的研究发现,FGFR2 基因的重排在约 14%的 ICC 病例中出现,而这种基因融合导致的 MAPK 通路激活被认为是 ICC 中一个关键的致癌机制。FGFR2 的过度表达可能使肿瘤细胞对 FGFR 抑制剂具有敏感性,这为个体化治疗提供了新的靶点。

3.4. ICC 的分子分型与临床应用

除了基因突变,ICC 的分子分型也受到越来越多的关注。尽管已有多项研究揭示了 ICC 的基因突变谱,但对于 ICC 分子分型的全面总结仍然缺乏系统性分析。例如,在中国的研究中,发现 PTPN3 基因的激活突变频率较高(41%) [33],这与肿瘤的增殖和迁移密切相关。PTP 家族是 ICC 中靶向最多的基因家族,其突变不仅增加了肿瘤的发生率,还与肿瘤的复发密切相关。此外,PTP 家族成员中的遗传变异或表达改变在不同种族中的差异也提示了种族特异性基因突变的可能性[24]。

3.5. NGS 技术在 ICC 研究中的挑战与前景

尽管 NGS 技术在 ICC 研究中提供了丰富的基因组信息,但其应用仍面临一些挑战。首先,ICC 的分子异质性较大,导致不同研究结果之间存在差异,可能与样本量、种族背景、技术平台等因素密切相关。其次,虽然已有部分 ICC 病例的基因变异被揭示,但对不同 NGS 技术平台的比较和对分子分型的系统总结仍显不足。未来,针对 ICC 的基因组研究应在更大样本量和更均匀的患者群体中开展,结合临床数据和药物反应信息,推动 ICC 分子分型的完善和临床应用。

总之,NGS 技术的应用为 ICC 的基因组研究和个体化治疗提供了巨大的潜力。然而,进一步的研究需要解决样本异质性、技术平台差异以及基因变异的临床相关性等问题,才能为 ICC 患者的精准治疗提供更为有效的指导。

4. ICC 术后复发相关分子生物标志物的研究进展

尽管近年来针对肝内胆管细胞癌(Intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)的研究取得了一定进展,但术后复发相关的分子生物标志物仍未完全明确,亟需进一步研究。当前已有一些研究评估了 ICC 中单个基因的遗传和表观遗传学改变对患者预后的潜在影响及其作为诊断标志物的作用[17]-[20]。例如,一些综合组学方法探索了 ICC 中的染色体畸变、基因突变、表观遗传学改变和转录组变化等分子因素对预后的影响[21] [23] [27] [34]。这些研究为我们理解 ICC 的分子机制提供了宝贵的线索,但目前尚未形成系统的、可重复验证的分子生物标志物。

除基因表达水平外,一些研究还发现基因组变异与 ICC 术后复发及生存期之间可能存在关联。例如,有研究显示 47% 的 ICC 病例中存在至少一个与染色质修饰相关的基因突变,这些突变与较差的总体生存率相关。此外, IDH 基因突变被发现与患者的生存预后显著相关, IDH 突变阳性的患者 3 年生存率为 33%,而野生型 IDH 患者的生存率为 81% [31]。这些数据表明, ICC 的基因突变、表观遗传学改变等因素与患者的生存预后密切相关,为临床治疗提供了潜在的生物标志物。

Keun 等人的研究利用临床病理学与分子数据的整合分析,提出了对 ICC 进行分子分类的新方法,以识别具有不同临床、病理、生物学特征和预后差异的 ICC 亚型[35]。他们发现,根据不同的信号传导途径对 ICC 进行分类可能为临床提供更加合理和有针对性的治疗方案。这一研究方法强调了分子分型在指导个体化治疗中的重要性,并为进一步研究提供了方向。

尽管这些研究表明分子表达水平的变化或基因组变异可能与 ICC 的预后相关,但目前仍缺乏准确的预后预测模型,且这些标志物的临床应用价值评估尚不完善。现有研究多为单一因素的探索,缺乏综合考虑多重基因组、转录组、表观遗传学等方面的系统性分析,尚未形成具备临床实用性的标志物组合。因此,构建基于多个分子特征的综合预后预测模型,仍是未来研究的关键挑战。

尽管篇幅有限,且 ICC 的分子机制研究仍在不断发展,本综述旨在阐述 NGS 技术在 ICC 诊断和治疗中的临床应用现状,但尚不足以对 ICC 的所有分子研究进展进行全面综述。随着技术的进步,NGS 将为 ICC 的个体化治疗提供更多的可能性。精准医学,基于遗传和表观遗传特征为每个患者量身定制治疗方案,已成为现代肿瘤学的核心理念。与传统的以肿瘤原发部位为治疗依据的策略不同,精准治疗强调对基因改变的细致识别,并根据这些改变制定治疗计划。

对于约 70% 的无法手术的 ICC 患者而言,NGS 技术的应用为这些患者带来了新的希望。通过全面分析其基因组变异,NGS 可以为临床提供针对性的治疗方案,提高患者的治疗效果。此外,对于 30% 能够接受手术切除的患者,NGS 技术提供的基因变异信息,不仅有助于预后判断和患者分层,还能指导术后精准治疗的实施,最大限度地降低复发率并提高生存率。因此,未来应进一步利用 NGS 技术分析 ICC 患者术后复发相关的基因组变异,并结合 RNA 和蛋白质水平的功能变化验证,探索与 ICC 疾病进展和术

后复发相关的分子分型和机制。这将为 ICC 的患者分层、预测复发以及个体化诊疗提供有临床价值的信息，推动精准医学在 ICC 治疗中的应用。

基金项目

本研究获得山东省医药卫生科技项目(202404010049)资助。

参考文献

- [1] Bridgewater, J., Galle, P.R., Khan, S.A., Llovet, J.M., Park, J., Patel, T., *et al.* (2014) Guidelines for the Diagnosis and Management of Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Journal of Hepatology*, **60**, 1268-1289. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.01.021>
- [2] von Hahn, T., Ciesek, S., Wegener, G., Plentz, R.R., Weismüller, T.J., Wedemeyer, H., *et al.* (2011) Epidemiological Trends in Incidence and Mortality of Hepatobiliary Cancers in Germany. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, **46**, 1092-1098. <https://doi.org/10.3109/00365521.2011.589472>
- [3] Khan, S.A., Davidson, B.R., Goldin, R.D., Heaton, N., Karani, J., Pereira, S.P., *et al.* (2012) Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Cholangiocarcinoma: An Update. *Gut*, **61**, 1657-1669. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301748>
- [4] Mavros, M.N., Economopoulos, K.P., Alexiou, V.G. and Pawlik, T.M. (2014) Treatment and Prognosis for Patients with Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *JAMA Surgery*, **149**, 565-574. <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2013.5137>
- [5] Fan, B., Malato, Y., Calvisi, D.F., Naqvi, S., Razumilava, N., Ribback, S., *et al.* (2012) Cholangiocarcinomas Can Originate from Hepatocytes in Mice. *Journal of Clinical Investigation*, **122**, 2911-2915. <https://doi.org/10.1172/jci63212>
- [6] Holczbauer, Á., Factor, V.M., Andersen, J.B., Marquardt, J.U., Kleiner, D.E., Raggi, C., *et al.* (2013) Modeling Pathogenesis of Primary Liver Cancer in Lineage-Specific Mouse Cell Types. *Gastroenterology*, **145**, 221-231. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.03.013>
- [7] Sekiya, S. and Suzuki, A. (2012) Intrahepatic Cholangiocarcinoma Can Arise from Notch-Mediated Conversion of Hepatocytes. *Journal of Clinical Investigation*, **122**, 3914-3918. <https://doi.org/10.1172/jci63065>
- [8] Guest, R.V., Boulter, L., Kendall, T.J., Minnis-Lyons, S.E., Walker, R., Wigmore, S.J., *et al.* (2014) Cell Lineage Tracing Reveals a Biliary Origin of Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Cancer Research*, **74**, 1005-1010. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-13-1911>
- [9] Zender, S., Nicleleit, I., Wuestefeld, T., Sörensen, I., Dauch, D., Bozko, P., *et al.* (2013) A Critical Role for Notch Signaling in the Formation of Cholangiocellular Carcinomas. *Cancer Cell*, **23**, 784-795. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.04.019>
- [10] Dill, M.T., Tornillo, L., Fritzius, T., Terracciano, L., Semela, D., Bettler, B., *et al.* (2013) Constitutive Notch2 Signaling Induces Hepatic Tumors in Mice. *Hepatology*, **57**, 1607-1619. <https://doi.org/10.1002/hep.26165>
- [11] Chen, X. and Calvisi, D.F. (2014) Hydrodynamic Transfection for Generation of Novel Mouse Models for Liver Cancer Research. *The American Journal of Pathology*, **184**, 912-923. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.12.002>
- [12] O'Dell, M.R., Li Huang, J., Whitney-Miller, C.L., Deshpande, V., Rothberg, P., Grose, V., *et al.* (2012) Kras^{G12D} and p53 Mutation Cause Primary Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Cancer Research*, **72**, 1557-1567. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-11-3596>
- [13] Saborowski, A., Saborowski, M., Davare, F.A., Druker, B.J., Klimstra, D.S. and Lowe, S.W. (2013) Mouse Model of Intrahepatic Cholangiocarcinoma Validates FGA-ROS as a Potent Fusion Oncogene and Therapeutic Target. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **110**, 19513-19518. <https://doi.org/10.1073/pnas.1311707110>
- [14] Xu, X. (2006) Induction of Intrahepatic Cholangiocellular Carcinoma by Liver-Specific Disruption of Smad4 and Pten in Mice. *Journal of Clinical Investigation*, **116**, 1843-1852. <https://doi.org/10.1172/jci27282>
- [15] Chen, J., Li, Z., Chen, J., Du, Y., Song, W., Xuan, Z., *et al.* (2019) Downregulation of MGMT Promotes Proliferation of Intrahepatic Cholangiocarcinoma by Regulating P21. *Clinical and Translational Oncology*, **22**, 392-400. <https://doi.org/10.1007/s12094-019-02140-9>
- [16] Sakata, K., Yoshizumi, T., Izumi, T., Shimokawa, M., Itoh, S., Ikegami, T., *et al.* (2019) The Role of DNA Repair Glycosylase OGG1 in Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Anticancer Research*, **39**, 3241-3248. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13465>
- [17] Andersen, J.B. and Thorgeirsson, S.S. (2013) Genomic Decoding of Intrahepatic Cholangiocarcinoma Reveals Therapeutic Opportunities. *Gastroenterology*, **144**, 687-690. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.02.018>
- [18] Andersen, J.B. and Thorgeirsson, S.S. (2012) Genetic Profiling of Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Current Opinion in Gastroenterology*, **28**, 266-272. <https://doi.org/10.1097/mog.0b013e3283523c7e>

- [19] Andersen, J.B. and Thorgeirsson, S.S. (2013) A Perspective on Molecular Therapy in Cholangiocarcinoma: Present Status and Future Directions. *Hepatic Oncology*, **1**, 143-157. <https://doi.org/10.2217/hep.13.4>
- [20] Sia, D., Tovar, V., Moeini, A. and Llovet, J.M. (2013) Intrahepatic Cholangiocarcinoma: Pathogenesis and Rationale for Molecular Therapies. *Oncogene*, **32**, 4861-4870. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.617>
- [21] Andersen, J.B., Spee, B., Blechacz, B.R., Avital, I., Komuta, M., Barbour, A., *et al.* (2012) Genomic and Genetic Characterization of Cholangiocarcinoma Identifies Therapeutic Targets for Tyrosine Kinase Inhibitors. *Gastroenterology*, **142**, 1021-1031.e15. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.12.005>
- [22] McKay, S.C., Unger, K., Pericleous, S., Stamp, G., Thomas, G., Hutchins, R.R., *et al.* (2011) Array Comparative Genomic Hybridization Identifies Novel Potential Therapeutic Targets in Cholangiocarcinoma. *HPB*, **13**, 309-319. <https://doi.org/10.1111/j.1477-2574.2010.00286.x>
- [23] Sia, D., Hoshida, Y., Villanueva, A., Roayaie, S., Ferrer, J., Tabak, B., *et al.* (2013) Integrative Molecular Analysis of Intrahepatic Cholangiocarcinoma Reveals 2 Classes That Have Different Outcomes. *Gastroenterology*, **144**, 829-840. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.01.001>
- [24] Xu, R.F., Sun, J.P., Zhang, S.R., Zhu, G.S., Li, L.B., Liao, Y.L., *et al.* (2011) KRAS and PIK3CA but Not BRAF Genes Are Frequently Mutated in Chinese Cholangiocarcinoma Patients. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **65**, 22-26. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2010.06.009>
- [25] Khan, S.A., Thomas, H.C., Toledano, M.B., Cox, I.J. and Taylor-Robinson, S.D. (2005) P53 Mutations in Human Cholangiocarcinoma: A Review. *Liver International*, **25**, 704-716. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2005.01106.x>
- [26] Ong, C.K., Subimerb, C., Pairajkul, C., Wongkham, S., Cutcutache, I., Yu, W., *et al.* (2012) Exome Sequencing of Liver Fluke-Associated Cholangiocarcinoma. *Nature Genetics*, **44**, 690-693. <https://doi.org/10.1038/ng.2273>
- [27] Wang, P., Dong, Q., Zhang, C., Kuan, P., Liu, Y., Jeck, W.R., *et al.* (2012) Mutations in Isocitrate Dehydrogenase 1 and 2 Occur Frequently in Intrahepatic Cholangiocarcinomas and Share Hypermethylation Targets with Glioblastomas. *Oncogene*, **32**, 3091-3100. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.315>
- [28] Borger, D.R., Tanabe, K.K., Fan, K.C., Lopez, H.U., Fantin, V.R., Straley, K.S., *et al.* (2011) Frequent Mutation of Isocitrate Dehydrogenase (*IDH*)1 and *IDH*2 in Cholangiocarcinoma Identified through Broad-Based Tumor Genotyping. *The Oncologist*, **17**, 72-79. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2011-0386>
- [29] Kipp, B.R., Voss, J.S., Kerr, S.E., Barr Fritcher, E.G., Graham, R.P., Zhang, L., *et al.* (2012) Isocitrate Dehydrogenase 1 and 2 Mutations in Cholangiocarcinoma. *Human Pathology*, **43**, 1552-1558. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.12.007>
- [30] Chan-on, W., Nairismägi, M., Ong, C.K., Lim, W.K., Dima, S., Pairajkul, C., *et al.* (2013) Exome Sequencing Identifies Distinct Mutational Patterns in Liver Fluke-Related and Non-Infection-Related Bile Duct Cancers. *Nature Genetics*, **45**, 1474-1478. <https://doi.org/10.1038/ng.2806>
- [31] Jiao, Y., Pawlik, T.M., Anders, R.A., Selaru, F.M., Streppel, M.M., Lucas, D.J., *et al.* (2013) Exome Sequencing Identifies Frequent Inactivating Mutations in BAP1, ARID1A and PBRM1 in Intrahepatic Cholangiocarcinomas. *Nature Genetics*, **45**, 1470-1473. <https://doi.org/10.1038/ng.2813>
- [32] Arai, Y., Totoki, Y., Hosoda, F., Shiota, T., Hama, N., Nakamura, H., *et al.* (2014) Fibroblast Growth Factor Receptor 2 Tyrosine Kinase Fusions Define a Unique Molecular Subtype of Cholangiocarcinoma. *Hepatology*, **59**, 1427-1434. <https://doi.org/10.1002/hep.26890>
- [33] Gao, Q., Zhao, Y., Wang, X., Guo, W., Gao, S., Wei, L., *et al.* (2014) Activating Mutations in PTPN3 Promote Cholangiocarcinoma Cell Proliferation and Migration and Are Associated with Tumor Recurrence in Patients. *Gastroenterology*, **146**, 1397-1407. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.062>
- [34] Oishi, N., Kumar, M.R., Roessler, S., Ji, J., Forgues, M., Budhu, A., *et al.* (2012) Transcriptomic Profiling Reveals Hepatic Stem-Like Gene Signatures and Interplay of miR-200c and Epithelial-Mesenchymal Transition in Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Hepatology*, **56**, 1792-1803. <https://doi.org/10.1002/hep.25890>
- [35] Ahn, K.S., O'Brien, D., Kang, Y.N., Mounajjed, T., Kim, Y.H., Kim, T., *et al.* (2019) Prognostic Subclass of Intrahepatic Cholangiocarcinoma by Integrative Molecular-Clinical Analysis and Potential Targeted Approach. *Hepatology International*, **13**, 490-500. <https://doi.org/10.1007/s12072-019-09954-3>