

150 例青海地区非小细胞肺癌患者表皮生长因子受体突变状态分析*

卢天龙, 杨启英(青海大学附属医院检验科, 西宁 810000)

【摘要】 目的 探讨青海地区非小细胞肺癌(NSCLC)治疗过程中表皮生长因子受体(EGFR)突变状态。方法 利用实时荧光 Taqman 探针法,采用 PCR 体外扩增,回顾性分析 150 例晚期 NSCLC 患者的临床特征、EGFR 突变状态。**结果** 150 例 NSCLC 患者标本检测发现 EGFR(exon18)突变 2 例,突变率 1.3%;EGFR(exon19)突变 18 例,突变率 12.0%;EGFR(exon20)未检测出;EGFR(exon21)突变 27 例,突变率 18.0%。**结论** 青海地区 NSCLC 患者 EGFR 基因外显子 19 和 21 的突变(体细胞突变)率较高,可接受 EGFR-TKIs 治疗。

【关键词】 非小细胞肺癌; 表皮生长因子受体; 突变

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.01.013 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)01-0031-02

Analysis on EGFR mutation status in 150 cases of non-small cell lung cancer in Qinghai region* LU Tian-long, YANG Qi-ying (Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital, Qinghai University, Xining, Qinghai 810000, China)

【Abstract】 Objective To explore the mutation status of epidermal growth factor receptor (EGFR) during the treatment process of non-small cell lung cancer(NSCLC) in Qinghai region. **Methods** The real-time fluorescence Taqman probe method was used and the PCR amplification in vitro was adopted. The clinical characteristics and EGFR mutation status in 150 cases of advance NSCLC were retrospectively analyzed. **Results** In the sample detection of 150 NSCLC cases, EGFR mutation (exon18) was in 2 cases with the mutation rate of 1.3%; EGFR mutation (exon19) was in 18 cases with the mutation rate of 12.0%; EGFR (exon20) was not detected; EGFR mutations (exon 21) was in 27 cases with the mutation rate of 18.0%. **Conclusion** The mutation rate of EGFR gene exon 19 and 21 (somatic mutation) is higher in NSCLC patients of Qinghai region. The EGFR-TKIs treatment is acceptable.

【Key words】 non-small-cell lung cancer; epidermal growth factor receptor; mutation

肺癌的发病率和病死率位居恶性肿瘤首位,晚期肺癌的标准治疗方式之一是化疗,但传统化疗的疗效近来已经到达瓶颈。随着肺癌驱动基因的发现和相应靶向药物的研究和应用,肺癌的治疗已经走上了以基因为导向的个体化治疗之路^[1]。以表皮生长因子受体(EGFR)为靶点的药物临床应用肺癌的个体化治疗中具有里程碑式的意义^[2]。肺癌的分子分型在指导临床治疗方案、药物选择及建立分子分型个体化治疗模式等方面扮演着越来越重要的角色。但是,携有特定基因型的患者只能从相应靶向药物中获益。为使更多患者从靶向治疗中获益,精确地对非小细胞肺癌(NSCLC)患者群体进行分子亚型区分成为接受表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)治疗的必要过程。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选用 2005 年 1 月至 2014 年 6 月于青海大学附属医院(100 例)及青海省人民医院(50 例)手术切除肺癌的 150 例患者为研究对象,其中男 93 例,女 57 例;年龄 35~75 岁,中位年龄 55 岁;小于 55 岁 28 例,大于或等于 55 岁 122 例;鳞癌 64 例,腺癌 86 例。所有患者均有完整的临床病理资料,常规石蜡包埋制成 4 μm 厚切片,进行 HE 染色和免疫组织化学染色确定组织类型。所有患者术前均未经过放化疗等抗癌治疗。

1.2 仪器与试剂 石蜡切片组织 DNA 提取试剂购自 BI-

OMIGA 公司,人 EGFR 基因突变检测试剂盒购自上海源奇生物医药科技有限公司。检测仪器为 ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪。

1.3 方法

1.3.1 检测方法 利用实时荧光 Taqman 探针法,采用 PCR 体外扩增,通过荧光信号的变化,检测患者标本中 EGFR 突变情况,具体实验步骤按试剂盒使用说明书进行。

1.3.2 结果判定 阴性对照有效性判定:CT 值大于或等于 38 或显示“Undet”。阳性对照有效性判定:CT 值小于 36。结果判定:参照试剂盒说明。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

150 例肺癌患者标本检测发现:EGFR(exon18)突变 2 例,突变率 1.3%,与患者年龄、性别、吸烟状态、组织类型等均无关($P > 0.05$);EGFR(exon19)突变 18 例,突变率 12.0%,与患者年龄无关($P > 0.05$),与性别、吸烟状态、组织类型等有关($P < 0.05$);EGFR(exon20)未检测出突变;EGFR(exon21)突变 27 例,突变率 18.0%,与患者年龄无关($P > 0.05$),与性别、吸烟状态、组织类型等有关($P < 0.05$)。见表 1。

* 基金项目:青海省(应用)基础研究计划项目(2013-Z-735)。

作者简介:卢天龙,男,硕士,主管检验师,主要从事分子生物学检验工作。

表 1 EGFR 突变与临床病理特征关系[n(%)]

| 病理特征 | n | EGFR(exon18) | | EGFR(exon19) | | EGFR(exon21) | |
|-------|-----|--------------|--------|--------------|----------|--------------|----------|
| | | 阴性 | 阳性 | 阴性 | 阳性 | 阴性 | 阳性 |
| 年龄 | | | | | | | |
| <55 岁 | 28 | 27(96.4) | 1(3.6) | 25(89.3) | 3(10.7) | 24(85.7) | 4(14.3) |
| ≥55 岁 | 122 | 121(99.2) | 1(0.8) | 107(87.7) | 15(12.3) | 99(81.1) | 23(18.9) |
| 性别 | | | | | | | |
| 男 | 93 | 92(98.9) | 1(1.1) | 87(93.5) | 6(6.5) | 86(92.5) | 7(7.5) |
| 女 | 57 | 56(98.2) | 1(1.8) | 45(78.9) | 12(21.1) | 37(64.9) | 20(35.1) |
| 吸烟状态 | | | | | | | |
| 不吸 | 53 | 52(98.1) | 1(1.9) | 38(71.7) | 15(28.3) | 30(56.7) | 23(43.3) |
| 吸 | 97 | 96(99.0) | 1(1.0) | 94(96.9) | 3(3.1) | 93(95.9) | 4(4.1) |
| 组织类型 | | | | | | | |
| 鳞癌 | 64 | 63(98.4) | 1(1.6) | 62(96.9) | 2(3.1) | 58(90.6) | 6(9.4) |
| 腺癌 | 86 | 85(98.8) | 1(1.2) | 70(81.4) | 16(18.6) | 65(85.6) | 21(24.4) |
| 合计 | 150 | 148(98.7) | 2(1.3) | 132(88.0) | 18(12.0) | 123(82.0) | 27(18.0) |

3 讨 论

目前,针对 EGFR 所开发的分子靶向药物主要分两类^[2-4]:(1)酪氨酸激酶抑制剂(TKI),如吉非替尼(易瑞沙)和厄罗替尼(特罗凯),抑制 EGFR 胞内区酪氨酸激酶活性;(2)单克隆抗体,如西妥昔(爱必妥司)和帕尼单抗(维克替比),与 EGFR 胞外区结合,阻断依赖于配体的 EGFR 活化。上述药物通过不同途径阻断 EGFR 介导的细胞内信号通路,从而抑制肿瘤生长、转移和血管生成,并促进肿瘤细胞凋亡,提高化疗敏感性。EGFR-TKI、吉非替尼和厄罗替尼已被 FDA 批准用于治疗晚期 NSCLC^[4-7]。这些靶向药物已应用于晚期和不宜传统化疗方案的 NSCLC 患者的临床治疗。但是,临床应用结果表明这些靶向药物仅对部分患者有效。进一步的研究发现 EGFR 基因外显子 19 和 21 的突变(体细胞突变)是患者对此类靶向药物有效的必要前提^[8]。2004 年,美国哈佛医学院的研究人员 Lynch 等^[9]率先报道,肺癌细胞中有 EGFR 酪氨酸激酶基因编码区外显子 19 缺失或外显子 21 突变的患者,靶向药物吉非替尼的有效率高达 80% 以上。临床研究表明,EGFR 突变分布与临床上 EGFR-TKI 治疗的优势人群相一致,主要见于女性、腺癌、非吸烟者及亚裔患者^[10]。然而,一部分对 EGFR-TKI 治疗有效的患者最终都会对 EGFR-TKI 产生耐药性。进一步临床研究还表明,EGFR 基因外显子 20 的体细胞突变是 EGFR-TKI 继发耐药的主要机制之一^[11]。外显子 20 的突变类型主要是第 790 位密码子出现 C-T 的转换,引起 EGFR 蛋白中该位点的氨基酸由苏氨酸转变为甲硫氨酸(T790M)。这一突变仅见于药物治疗后复发者,突变使得 NSCLC 患者对吉非替尼和厄罗替尼产生抗性。美国国家癌症综合网络 2009 年版的临床指南中明确指出:EGFR 突变,尤其是外显子 19 缺失突变与肿瘤对如吉非替尼的敏感度有重要关系。

本研究结果显示,通过对青海地区 150 例 NSCLC 患者研究发现,青海地区 EGFR 基因突变主要为 19 和 21 外显子,突变率分别为 12.0% 和 18.0%。无 20 号外显子的突变,说明青海地区尚无 NSCLC 患者对吉非替尼和厄罗替尼产生抗性,肺癌患者有使用 TKIs 药物指征,且无 20 号外显子的突变。总之,青海地区肺癌患者使用 TKIs 药物有必要。

参考文献

[1] 李榕. EGFR 检测在肺癌中的临床意义[J]. 临床肿瘤学

杂志,2004,9(4):420-425.

[2] 王荣,石冬琴,谢华,等. 癌中 EGFR 基因突变及靶向药物治疗研究进展[J]. 中国药理学通报,2013,29(1):22-26.

[3] Spaulding DC, Spaulding BO. Epidermal growth factor receptor expression and measurement in solid tumors[J]. Semin Oncol,2002,29(Suppl 14):45-54.

[4] Dancey JE, Freidlin B. Targeting epidermal growth factor receptor—are we missing the mark[J]. Lancet,2003,362(9377):62-64.

[5] Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR Mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy[J]. Science,2004,304(5676):1497-1500.

[6] 刘宝全,范圣第. EGFR 信号转导机制及靶向治疗[J]. 大连民族学院学报,2008,10(1):13-16.

[7] Janne PA, Engelman JA, Johnson BE, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in non-small-cell lung cancer: implications for treatment and tumor biology[J]. J Clin Oncol,2005,23(14):3227-3234.

[8] Pao W, Miller V, Zakowski M, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2004,101(36):13306-13311.

[9] Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib[J]. N Engl J Med,2004,350(21):2129-2139.

[10] Kimura H, Kasahara K, Kawaiishi M, et al. Detection of epidermal growth factor receptor mutations in serum as a predictor of the response to gefitinib in patients with non-small-cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res,2006,12(13):3915-3921.

[11] Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells[J]. N Engl J Med,2008,359(4):366-377.