

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.19.012

桂西地区壮族非小细胞肺癌患者 EGFR 基因突变与 临床病理特征的相关性分析*

韦礼肥, 黄林达, 陆相磊, 杨 洁, 王兴枝子, 龙喜带, 朱晓莹[△]

右江民族医学院附属医院病理科/右江民族医学院临床病理诊断与研究中心/广西分子病理学(肝胆疾病)
重点实验室, 广西百色 533000

摘 要:目的 分析桂西地区壮族非小细胞肺癌(NSCLC)患者表皮生长因子受体(EGFR)基因突变与临床病理特征的相关性。**方法** 以右江民族医学院附属医院 2018 年 1 月至 2021 年 3 月收集的 NSCLC 标本 269 例为研究对象,采用突变扩增系统聚合酶链反应(ARMS-PCR)法检测 EGFR 基因 18~21 号外显子的突变情况,分析基因突变情况与临床病理特征的相关性并做生存分析。**结果** 269 例桂西地区壮族 NSCLC 患者中 EGFR 基因总突变率为 40.5%(109/269),其中女性突变率高于男性(51.4% vs. 33.5%),腺癌突变率高于肺鳞癌(45.5% vs. 8.3%),差异有统计学意义($P<0.05$)。常见突变位点为 19 外显子 19-Del,占总突变的 55.0%(60/109);21 外显子 21-L858R,占总突变的 29.4%(32/109);Logistic 回归分析显示,性别、组织分型是 EGFR 突变的影响因素($P<0.05$),与其他临床病理因素无关。EGFR 突变型的肺癌患者经靶向治疗后,总生存率高于 EGFR 野生型($P<0.001$)。**结论** 桂西地区壮族 NSCLC 的女性、肺腺癌患者 EGFR 基因总突变率较高,而性别、组织分型是 EGFR 基因突变的独立影响因素。

关键词:壮族; 非小细胞肺癌; 表皮生长因子受体; 基因突变

中图分类号:R734.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)19-2635-04

Correlation of clinicopathological features with non-small cell lung cancer EGFR gene mutation analysis of Zhuang population in Guangxi Guixi area*

WEI Lifei, HUANG Linda, LU Xianglei, YANG Jie, WANG Xingzhizi, LONG Xidai, ZHU Xiaoying[△]

Department of Pathology, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities/
Clinical Pathological Diagnosis & Research Center, Youjiang Medical University for
Nationalities/The Key Laboratory of Molecular Pathology (Hepatobiliary
Diseases) of Guangxi, Baise, Guangxi 533000, China

Abstract: Objective To investigate the correlation between epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutation and clinicopathological features of Zhuang population in Guixi area with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Two hundreds and sixty-nine cases of tissue in patients with NSCLC were collected from the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities from January 2018 to March 2021. The mutations in EGFR gene 18 to 21 exons were detected by ARMS-PCR technology, and the correlation of clinicopathological features of patients with mutation status of EGFR and survival analysis were analyzed. **Results** The total mutation rate of EGFR gene was 40.5% (109/269) in 269 cases with NSCLC in Zhuang population in Guixi Area, among which the mutation rate of female were higher than male (51.4% vs. 33.5%), the mutation rate of adenocarcinoma were higher than non-adenocarcinoma (45.5% vs. 8.3%), differences were statistically significant ($P<0.05$). The common mutation sites were exon 19 19-Del, and mutation rate was 55.0% (60/109). And exon 21 21-L858R mutation rate was 29.4% (32/109). Logistic analysis showed that gender and tissue types were influenced factors of EGFR mutation ($P<0.05$). There were no statistical difference between other clinicopathologic factors. After targeted therapy, NSCLC patients with EGFR mutations had a better overall survival than non-mutated patients ($P<0.001$). **Conclusion** The total mutation rate of EGFR gene NSCLC patients of Zhuang population in Guixi area has been higher in female and lung adenocarcinoma patients, and gender and tissue types are independent factors on EGFR gene mutation.

Key words: Zhuang population; non-small cell lung cancer; epidermal growth factor receptor; gene mutation

* 基金项目:2019 年度百色市科学研究与技术开放计划项目[百科字(2019)31 号-22]。

作者简介:韦礼肥,男,技师,主要从事肿瘤基因检测研究。 [△] 通信作者, E-mail:00422@ymcn.edu.cn。

肺癌是威胁人类生命健康的恶性肿瘤之一,2020 年全球癌症数据显示,肺癌是发病率仅次于乳腺癌,病死率最高的恶性肿瘤之一,非小细胞肺癌(NSCLC)是肺癌的主要类型,占肺癌的 80%~85%^[1-2]。近年来,随着对肺癌分子分型的深入研究,肺癌的靶向药物研究发展迅速,患者的无进展生存期、总生存期延长,生活质量明显改善。明确患者人表皮生长因子受体(EGFR)基因突变状态,有助于筛选出合适的人群,开展靶向治疗,实现精准医疗。目前已有研究报道,中国不同地区不同民族肺癌患者 EGFR 突变的类型及突变率存在差异^[3]。桂西地区群众以壮族人口为主,本研究通过检测桂西地区壮族肺癌患者 EGFR 基因突变情况,进一步分析其与肺癌组织分型、患者性别、年龄等临床病理特征的相关性,为本地区 NSCLC 患者 EGFR 突变检测分析提供可靠的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月至 2021 年 3 月在右江民族医学院附属医院就诊并经病理组织学确诊的 269 例 NSCLC 患者为研究对象,纳入研究对象为长期居住在百色、河池等桂西地区的壮族人群。其中男 164 例,女 105 例;年龄 34~84 岁,中位年龄 59 岁;临床分期 I~II 期 28 例(10.4%),III~IV 期 241 例(89.6%);未发生转移 86 例(32.0%),单发转移 62 例(23.0%),多发转移 121 例(45.0%);研究样本来源于手术标本 34 例(12.6%),支气管镜活检/穿刺标本 186 例(69.1%),胸腔积液标本 49 例(18.3%);建立含患者年龄、性别、组织分型、吸烟史及临床分期的资料库。所有患者均知晓基因检测的风险和意义,并签署了知情同意书。患者组织分型参照文献[4],由 2 名病理专家阅片确诊为 NSCLC(其中肺腺癌 233 例,肺鳞癌 36 例)。临床分期依据文献[5]。

1.2 试剂和仪器 石蜡包埋组织(FFPE)DNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司)、EGFR 基因突变检测试剂盒(北京鑫诺美迪基因检测技术有限公司);ABI 7500 Fast 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司),微量分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific)。

1.3 方法

1.3.1 标本质控 所有标本离体 30 min 以内,经 10%甲醇固定、脱水、石蜡包埋、切片及 HE 染色。行基因突变检测的组织由高年资病理医生评估肿瘤细胞占比,选取肿瘤细胞占比>20%的肿瘤标本,切取 5~8 张 5 μm 厚的蜡卷,置于灭菌 EP 管内,严格按照 FFPE DNA 提取试剂盒说明书进行 DNA 提取。

1.3.2 DNA 浓度及纯度鉴定 提取标本 DNA 浓度>5 ng/μL, A_{260 nm/280 nm} 在 1.8~2.2 为合格标本,才能进行下一步检测。

1.3.3 EGFR 基因突变检测 采用突变扩增系统聚合酶链反应(ARMS-PCR)法对 EGFR 基因 18~21 外显子突变位点进行检测,所有检测均设阴、阳性对照。操作均在标准 PCR 实验室内完成,并严格按照

实验室相关 SOP 开展试验。

1.4 随访 以电话随访为主要方式,失访患者以末次住院时间作为末次随访时间。随访时间为 1~30 个月,中位随访时间为 6 个月。随访截止时间为 2021 年 7 月 30 日。

1.5 统计学处理 采用 SPSS24.0 软件处理数据。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法;EGFR 基因突变与临床病理特征关系分析采用 Logistic 回归分析;总生存时间(OS)定义为从确诊 NSCLC 到死亡或最后一次随访的时间,采用 Kaplan-Meier 进行生存分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 患者 EGFR 基因突变分析 NSCLC 患者临床特点、临床分期、组织分型见表 1。269 例 NSCLC 壮族患者中 EGFR 突变例数为 109 例(EGFR 突变组),总突变率为 40.52%(109/269);其余 160 例为 EGFR 野生组。在 EGFR 基因突变标本中,女性的突变率显著高于男性,差异有统计学意义($P=0.004$);EGFR 在肺腺癌中的突变率显著高于肺鳞癌,差异有统计学意义($P<0.001$),而年龄、吸烟史、临床分期、标本类型等临床病理特征在组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 NSCLC 患者临床病理特征分析[n(%)]

临床病理特征	n	EGFR 突变组 (n=109)	EGFR 野生组 (n=160)	χ^2	P
性别				8.503	0.004
男	164	55(33.5)	109(66.5)		
女	105	54(51.4)	51(48.6)		
年龄(岁)				0.451	0.502
<59	135	52(38.5)	83(61.5)		
≥59	134	57(42.5)	77(57.5)		
吸烟史				3.659	0.056
无	159	72(45.3)	87(54.7)		
有	110	37(33.6)	73(66.3)		
组织分型				17.866	<0.001
肺腺癌	233	106(45.5)	127(54.5)		
肺鳞癌	36	3(8.3)	33(91.6)		
临床分期				4.991	0.172
IV 期	207	89(42.9)	118(58.0)		
III 期	34	8(23.5)	26(76.5)		
II 期	10	5(50.0)	5(50.0)		
I 期	18	7(38.9)	11(61.1)		
转移情况				1.504	0.471
无	86	36(41.9)	50(58.1)		
单发	62	21(33.9)	41(66.1)		
多发	121	52(43.0)	69(57.0)		

续表 1 NSCLC 患者临床病理特征分析[n(%)]				
临床病理特征	n	EGFR 突变组 (n=109)	EGFR 野生组 (n=160)	χ^2 P
肺内合并症				1.945 0.163
无	74	35(47.3)	39(52.7)	
有	195	74(37.9)	121(62.1)	
标本类型				0.840 0.959
手术标本	34	13(38.2)	21(61.8)	
活检/穿刺标本	186	76(40.9)	110(59.1)	
胸腔积液标本	49	20(40.8)	29(59.2)	

2.2 NSCLC 患者 EGFR 基因突变类型分析 269 例 NSCLC 患者中检出 EGFR 基因突变 109 例,以单一突变位点为主,在总体突变中占 91.7%(100/109)。最常见的突变位点为 19-Del 和 21-L858R,分别占总体突变的 55.0%(60/109)和 29.4%(32/109);原发 T790M 突变有 4 例,突变率为 3.6%(4/109);G719X 和 L861Q 突变分别有 1 例,突变率为 0.9%(1/109);20-Ins 突变有 2 例,突变率为 1.8%(2/109));19-Del+T790M 双突变有 6 例,其中原发性和继发性各 3 例,占总体突变的 5.5%(6/109),原发性 L858R+T790M 双突变 3 例。见表 2。

表 2 NSCLC 患者 EGFR 基因突变分析			
外显子	突变位点	突变例数(n)	突变率(%)
19	19-Del	60	55.0
21	21-L858R	32	29.4
20	T790M	4	3.6
18	G719X	1	0.9
21	L861Q	1	0.9
20	20-Ins	2	1.8
19+20	19-Del+T790M	6	5.5
21+20	L858R+T790M	3	2.8

2.3 EGFR 基因突变与临床病理特征的 Logistic 回归分析 将患者性别、年龄、组织分型、吸烟史、临床分期、合并症和转移情况纳入多元 Logistic 回归分析模型中,结果显示,不同年龄、性别和组织分型患者的 EGFR 基因突变率差异有统计学意义($P<0.05$),而吸烟史、临床分期、合并症和转移情况与 EGFR 基因突变率无关($P>0.05$)。剔除无统计学意义因素,重新选择性别和组织分型进行 Logistic 回归分析,结果显示在 $\alpha=0.05$ 时,性别的 OR 值为 0.57($P=0.034$),即在其他因素固定的情况下,男性 EGFR 基因突变风险是女性的 0.57 倍。见表 3。

2.4 NSCLC 患者 EGFR 基因突变与 OS 的关系 通过 EGFR 基因突变列队分析发现,经过表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)治疗后 EGFR 突变组中位 OS 为 12 个月(95%CI:9.34~14.66),

EGFR 野生组的中位 OS 为 6 个月(95%CI:5.03~6.96)。同时作 EGFR 基因突变的 OS 生存曲线,结果显示,EGFR 突变组的生存率和野生组明显不同,EGFR 突变组的总生存率高于 EGFR 野生组($P<0.001$)。

表 3 影响 EGFR 基因突变的 Logistic 回归分析					
参数	β	SE	Wald χ^2	OR(95%CI)	P
性别	0.56	0.26	4.49	0.57(0.34~0.96)	0.034
组织分型	-2.07	0.62	11.07	7.92(2.34~26.78)	0.001

3 讨 论

随着精准医学发展,肿瘤靶向治疗日益普及和下沉基础研究,分子诊断成为辅助临床诊断和指导临床靶向治疗的重要手段^[6]。EGFR 的生物学特性为跨膜糖蛋白受体,EGFR 的高表达/突变,可引起下游信号转导增强/持续活化,从而使得肿瘤细胞持续增殖、抗凋亡和侵袭性等作用^[7]。靶向药物 EGFR-TKI 治疗 NSCLC 患者,具有较好的疗效和较好的生存获益,已经成为 NSCLC 患者一线治疗手段^[8]。《非小细胞肺癌分子病理检测临床实践指南(2021 版)》中指出 EGFR 基因是中国 NSCLC 患者分子变异谱的主要基因,变异率达 45%~55%^[9]。

本研究回顾性分析了桂西地区壮族人群 269 例 NSCLC 患者 EGFR 基因突变情况,其突变率为 40.52%(109/269),其中腺癌突变率为 45.5%(106/233),肺鳞癌突变率为 8.3%(3/36),突变以单一位点突变为主,最常见突变位点是 19-Del(55.0%)和 21-L858R(29.4%),与文献报道基本一致^[10-12]。桂西地区壮族 NSCLC 患者 EGFR 突变常见于女性肺腺癌患者,与患者年龄、临床分期、转移情况等均无关。此外,不同送检标本中,胸腔积液、活检/穿刺标本的检测率略高于手术标本,但差异无统计学意义($P>0.05$),考虑为手术标本例数较少,不具有代表性。另外,本研究检测前对所有标本进行严格的病理质控,肿瘤细胞占比不能低于 20%,如未能质控合格,不予检测。

通过对年龄、性别、吸烟史、组织分型等多个临床病理因素进行多元 Logistic 回归分析发现,性别和组织分型是 EGFR 基因突变的独立影响因素($P<0.05$)。这与国内文献报道一致,但与国外文献报道有所出入,考虑可能因为研究对象例数较少以及构成不同,需纳入更多研究数据开展进一步研究^[13-14]。

在临床随访过程中,EGFR 基因突变的患者有 9 例由于经济原因放弃治疗,其余患者接收了 EGFR-TKI 治疗,有 5 例患者对 EGFR-TKI 不敏感,考虑除了 EGFR 基因突变外,可能合并有 KRAS、MET 等基因突变^[15-16]。但由于其他原因未能开展进一步检测。通过随访分析 EGFR 突变组经靶向治疗的效果,其中位 OS 为 12 个月,EGFR 野生组为 6 个月,差异有统计学意义($P<0.05$)。

综上所述,桂西地区壮族 NSCLC 患者 EGFR 基因突变主要影响因素为性别和组织分型。EGFR 基因突变检测对指导临床靶向治疗效果显著,其中女性肺腺癌患者更易从 EGFR-TKI 治疗中获益。为进一步了解桂西地区 NSCLC 患者基因突变情况,今后需进一步积累样本数据,为今后临床开展精准医疗提供指导依据。

参考文献

[1] 曹毛毛,陈万青. GLOBOCAN 2020 全球癌症统计数据解读[J/CD]. 中国医学前沿杂志(电子版),2021,13(3):63-69.

[2] 李鹤,赵燕,何婧,等. 非小细胞肺癌患者 Th22 细胞水平及临床意义[J]. 实用肿瘤杂志,2020,35(6):495-500.

[3] 姜文容,蔡勇骏,缪应新,等. 上海地区肺癌患者 EGFR 突变与临床特性的相关性分析[J]. 检验医学,2017,32(1):30-34.

[4] 杨欣,林冬梅. 2015 版 WHO 肺癌组织学分类变化及其临床意义[J]. 中国肺癌杂志,2016,19(6):332-336.

[5] 张用,毕建平,皮国良,等. 国际肺癌研究协会第八版国际肺癌 TNM 分期修订稿解读[J]. 肿瘤防治研究,2016,43(4):313-318.

[6] 赵瑾,田俏梅,黄玉梅,等. 湖南地区 238 例非小细胞肺癌 EGFR 基因突变状态分析[J]. 肿瘤药,2014,4(3):187-192.

[7] ZANDI R, LARSEN A B, ANDERSEN P, et al. Mechanisms for oncogenic activation of the epidermal growth factor receptor[J]. Cell Signal,2007,19(10):2013-2023.

[8] 陈伟文,郑锦阳,沈冰寒,等. 泉州地区非小细胞肺癌人群中表皮生长因子受体基因突变分析[J]. 中国老年学杂

志,2016,36(20):5055-5056.

[9] 中华医学会病理学分会,国家病理质控中心,中华医学会肿瘤学分会肺癌学组,等. 非小细胞肺癌分子病理检测临床实践指南(2021 版)[J]. 中华病理学杂志,2021,50(4):323-332.

[10] 王娟,苏国苗,潘国庆,等. 云南地区非小细胞肺癌 EGFR、ALK 和 ROS1 基因突变联合检测[J]. 昆明医科大学学报,2020,41(9):1-6.

[11] 吴丹,李静,姚梅宏,等. 非小细胞肺癌表皮生长因子受体,间变性淋巴瘤激酶,ROS1 基因突变及突变共存的临床病理学意义[J]. 中华病理学杂志,2021,50(3):251-253.

[12] 睦玉霞,邓晓宇,伍铮,等. 非小细胞肺癌驱动基因突变与临床病理特征的关系[J]. 临床与实验病理学杂志,2020,36(9):19-24.

[13] 师艺,潘钰,崔文丽等. 新疆地区非小细胞肺癌中表皮生长因子受体基因突变与临床病理特征的关系[J]中华病理学杂志,2017,46(5):300-313.

[14] AGUIAR F, FERNANDES G, QUEIROGA H, et al. Overall Survival Analysis and Characterization of an EGFR Mutated Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Population[J]. Arch Bronconeumol (Engl Ed),2018,54(1):10-17.

[15] 王芳,刁夏尧,张晓,等. EGFR 敏感突变的晚期非小细胞肺癌患者 EGFR-TKIs 原发性耐药相关基因突变分析[J]. 癌症,2020,39(9):421-436.

[16] 赵璐,李靖,赵晓光,等. 非小细胞肺癌患者肿瘤突变负荷影响因素探究[J]. 中国实用内科杂志,2021,41(6):541-544.

(收稿日期:2021-12-26 修回日期:2022-04-11)

(上接第 2634 页)

[10] TAKES R P, RINALDO A, SILVER C E, et al. Future of the TNM classification and staging system in head and neck cancer[J]. Head Neck,2010,32(12):1693-1711.

[11] 李悦,徐丽梅. 脂肪因子趋化素的相关研究进展[J]. 安徽医药,2017,21(2):215-220.

[12] TREECK O, BUECHLER C. Chemerin Signaling in Cancer[J]. Cancers (Basel),2020,12(11):3085.

[13] SHIN W J, PACHYNSKI R K. Chemerin modulation of tumor growth: potential clinical applications in cancer[J]. Discov Med,2018,26(141):31-37.

[14] 佟娟. 血清中趋化素在非小细胞肺癌中的表达和预后意义[J]. 临床肺科杂志,2018,23(3):417-420.

[15] ALKADY M M, ABDEL-MESSEIH P L, NOSSEIR N M. Assessment of Serum Levels of the Adipocytokine Chemerin in Colorectal Cancer Patients[J]. J Med Biochem,2018,37(3):313-319.

[16] WANG N, WANG Q J, FENG Y Y, et al. Overexpression of chemerin was associated with tumor angiogenesis and poor clinical outcome in squamous cell carcinoma of the oral tongue[J]. Clin Oral Investig, 2014, 18(3):997-1004.

[17] GHALLAB N A, SHAKER O G. Serum and salivary levels of chemerin and MMP-9 in oral squamous cell carcinoma and oral premalignant lesions[J]. Clin Oral Investig,2017,21(3):937-947.

[18] LU Z, LIANG J, HE Q, et al. The serum biomarker chemerin promotes tumorigenesis and metastasis in oral squamous cell carcinoma[J]. Clin Sci (Lond), 2019,133(5):681-695.

[19] KUMAR J D, KANDOLA S, TISZLAVICZ L, et al. The role of chemerin and ChemR23 in stimulating the invasion of squamous oesophageal cancer cells[J]. Br J Cancer, 2016,114(10):1152-1159.

[20] LI J J, YIN H K, GUAN D X, et al. Chemerin suppresses hepatocellular carcinoma metastasis through CMKLR1-PTEN-Akt axis[J]. Br J Cancer, 2018,118(10):1337-1348.

[21] HU X, XIANG F, FENG Y, et al. Neutrophils Promote Tumor Progression in Oral Squamous Cell Carcinoma by Regulating EMT and JAK2/STAT3 Signaling Through Chemerin[J]. Front Oncol,2022,12:812044.

(收稿日期:2022-01-30 修回日期:2022-04-08)