

临床病理

【文章编号】1006-6233(2019)08-1401-05

肺浸润性腺癌组织 EGFR 基因突变与临床病理特征的相关性分析

冯丽萍¹, 张志勇¹, 常利名¹, 鄢丽敏¹, 闫继东¹, 吴晨鹏¹, 李雪梅¹, 王会恩²

(1.河北省唐山市工人医院, 河北 唐山 063000

2.河北省人民医院胸外科, 河北 石家庄 050000)

【摘要】目的:研究肺浸润性腺癌组织中表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)基因突变与其临床病理特征之间的相关性。**方法:**采用 qReal-time PCR 法对 206 例肺浸润性腺癌组织学标本进行 EGFR 基因外显子 18-21 (E18-21) 突变状态的检测, 同时分析其与 ALK、c-MET、Ki-67、ROS-1 的关系。**结果:**206 例肺浸润性腺癌中 104 例发生 EGFR 突变, 突变率为 50.5%。各组织学亚型中, 腺泡为主型较非腺泡为主型突变率高(62.3%, $P=0.047$), 实性为主型较非实性为主型突变率低(25%, $P=0.034$); ALK 蛋白表达阴性者 EGFR 突变高(52.9%, $P=0.014$)。**结论:**腺泡为主型的肺浸润性腺癌较易发生 EGFR 基因突变; 多数浸润性肺腺癌中 EGFR 突变与 ALK 突变相互排斥。

【关键词】 肺肿瘤; 浸润性腺癌; 表皮生长因子受体; 基因突变

【文献标识码】 A

【doi】10.3969/j.issn.1006-6233.2019.08.045

肺癌的发病率和死亡率在我国恶性肿瘤呈快速增长趋势。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是一种受体酪氨酸激酶, 通过信号转导控制肿瘤生长, 与新生血管生成、肿瘤的侵袭和转移等有密切关系^[1]。EGFR 基因突变是肺癌研究热点之一。本研究通过 qReal-time PCR 法(ARMS 法)检测肺浸润性腺癌组织的 EGFR 突变情况, 分析其与临床病理特征之间的关系, 以探讨 EGFR 基因突变在肺浸润性腺癌临床生物学行为中的意义。

1 资料与方法

1.1 材料:收集 2016 年 3 月至 2017 年 5 月唐山市工人医院胸外科手术切除肺标本, 经病理诊断为肺浸润性腺癌者 206 例。其中, 男性 90 例, 女性 116 例。年龄 27~82 岁, 平均 57 ± 10.05 岁。有吸烟史者 63 例, 无吸烟史者 143 例。组织学亚型中附壁为主型 112 例, 腺泡为主型 53 例, 乳头为主型 20 例, 实性为主型 16 例, 微乳头为主型 5 例。

1.2 方法:提取肿瘤组织 DNA(DNA Sample Preparation Kit, Roche 公司), 以其为模板采用 qReal-time PCR 法(ARMS 法)扩增 EGFR 基因第 18-21 外显子, 分析扩增结果(cobas EGFR Mutation Test, Roche)并同时行阴性及阳性对照。肿瘤组织同时行免疫组化检测间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)、c-MET、ROS-1、Ki-67 蛋白的表达(北京中杉

金桥生物有限公司)。免疫组化二抗试剂盒:酶标山羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物(北京中杉金桥生物有限公司)。严格按照说明进行操作, 同时设立阳性对照(ALK:阑尾, c-MET:结直肠癌, ROS-1:非小细胞肺癌, Ki-67:扁桃体)。

1.3 统计学方法:使用 SPSS17.0 软件进行数据分析, 计数资料进行 χ^2 检验及确切概率法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺浸润性腺癌组织中 EGFR 突变情况:206 例肺浸润性腺癌中 104 例发生 EGFR 突变, 突变率 50.5%。104 例突变病例中 18 号外显子突变 3 例, 位点均为 G719x; 19 号外显子缺失突变 42 例; 20 号外显子突变 2 例, 其中插入 1 例, S768I 位点 1 例; 21 号外显子突变 55 例, L858R6224 位点 24 例、L858R12429 位点 11 例、L861Q 位点 10 例; 19、20 号外显子共同突变 1 例, 为 19del+20T790M; 20、21 号外显子共同突变 1 例, 为 20T790M+21L858R(见表 1)。

2.2 肺浸润性腺癌组织中 EGFR 突变与临床病理指标的关系:90 例男性中 EGFR 基因突变 38 例, 突变率 42.2%, 116 例女性中 EGFR 基因突变 66 例, 突变率 56.9%, 差异有统计学意义($P=0.037$); 143 例吸烟者中发生 EGFR 基因突变 79 例, 突变率 55.2%, 63 例不吸烟者中发生 EGFR 基因突变 25 例, 突变率 39.7%,

【基金项目】2017 年河北省医学适用技术跟踪项目; 2016 年河北省科技计划自筹经费项目, (编号:162777167); 2017 年度医学科学研究课题计划项目, (编号:20171380)

【通讯作者】张志勇

差异有统计学意义($P=0.040$)。EGFR 突变状态与患者年龄、肿瘤部位、大小、淋巴结转移、临床分期无关($P>0.05$),见表2。在肺浸润性腺癌的各组织学亚型中,腺泡为主型(62.3%)较非腺泡为主型(46.4%)突变率高($P=0.047$),实性为主型(25%)较非实性为主型(52.6%)突变率低($P=0.034$),见表3。

2.3 肺浸润性腺癌组织中 EGFR 突变与 ALK、c-

MET、ROS-1、Ki-67 蛋白表达的关系:206 例肺浸润性腺癌中,ALK 蛋白表达阳性者 15 例中发生 EGFR 突变 3 例,突变率 20.0%,ALK 蛋白表达阴性者 191 例,发生 EGFR 突变 103 例,突变率 52.9%,差异具有统计学意义($P=0.014$)。EGFR 突变状态与 c-MET、ROS-1、Ki-67 的表达无关($P>0.05$),见表4。

表 1 104 例肺浸润性腺癌组织中 EGFR 突变位点表

外显子	突变位点	例数	比例(%)
E18	G719x	3	2.9
E19	delete	42	40.4
E20	S768I;Insertion	2	1.9
E21	L858R6224;L858R12429;L861Q	55	52.9
E19/20	19del+20T790M	1	1.0
E20/21	20T790M+21L858R	1	1.0

表 2 肺浸润性腺癌组织中 EGFR 突变与临床病理特征的关系

变量	n	EGFR 突变		突变率(%)	χ^2	P
		无	有			
性别					4.366	0.037
男	90	52	38	42.2		
女	116	50	66	56.9		
年龄(岁)					2.850	0.091
<60	111	61	50	45.0		
≥ 60	95	41	54	56.8		
吸烟史					4.237	0.040
无	143	64	79	55.2		
有	63	38	25	39.7		
发生部位					0.002	0.964
左侧	71	35	36	50.7		
右侧	135	67	68	50.4		
组织学亚型					8.491	0.075
附壁为主	112	59	53	47.3		
腺泡为主	53	20	33	62.3		
乳头为主	20	8	12	60.0		

实性为主	16	12	4	25.0		
微乳头为主	5	3	2	40.0		
T 分期					1.850	0.174
T1+T2	196	94	102	52.0		
T3+T4	10	8	2	20.0		
淋巴结转移					0.748	0.387
无	171	87	84	49.1		
有	35	15	20	57.1		
临床分期					0.462	0.497
I + II	196	96	100	51.0		
III + IV	10	6	4	40.0		

表 3 肺浸润性腺癌不同组织学亚型的 EGFR 突变情况

组织学分型	n	EGFR 突变		突变率 (%)	χ^2	P
		无	有			
是否附壁为主					0.983	0.321
是	112	59	53	47.3		
否	94	43	51	54.3		
是否腺泡为主					3.960	0.047
是	53	20	33	62.3		
否	153	82	71	46.4		
是否乳头为主					0.802	0.371
是	20	8	12	60.0		
否	186	94	92	49.4		
是否实性为主					4.507	0.034
是	16	12	4	25.0		
否	190	90	100	52.6		
微乳头为主					0.225	0.635
是	5	3	2	40.0		
否	201	99	102	50.7		

表 4 肺浸润性腺癌组织中 EGFR 突变状态与其他基因蛋白指标的关系

基因蛋白指标	n	EGFR 突变		突变率 (%)	χ^2	P
		无	有			

ALK					6.015	0.014
-	191	90	101	52.9		
+	15	12	3	20.0		
c-MET					0.974	0.324
-	20	12	8	25.0		
+	186	90	96	51.6		
ROS-1					1.271	0.259
-	199	100	99	99.0		
+	7	2	5	71.4		
Ki-67					3.206	0.073
<20%	133	72	61	41.5		
≥20%	73	30	43	56.0		

3 讨论

由于肺腺癌异质性较大,同一肿瘤可由多种类型的成分组成,因此基因突变与肺浸润性腺癌生物学行为是肺癌研究的热点内容之一。

研究表明,肺腺癌 EGFR 基因突变与患者性别、吸烟和病理组织类型有关,女性、非吸烟患者突变率较高,提示预后不佳^[2],该人群多数对 EGFR-TKI 治疗有效。本研究显示 EGFR 基因突变在女性、非吸烟者中突变率较高,而 EGFR 基因突变与年龄、发生部位、肿瘤大小、淋巴结转移和分期无关。

2011年 ISALC/ATS/ERS 肺腺癌新的国际多学科分类中根据肿瘤各种成分的含量比例将其细分为多种亚型。本研究中 EGFR 基因突变多见于腺泡为主型肺浸润性腺癌,少见为实性为主型肺浸润性腺癌。Yanagawa^[3]等研究显示,腺癌中 EGFR 突变的病例中,腺泡型所占比例最高,其次是贴壁型和乳头型,实体型则比例最少。这对肺浸润性腺癌按新分类标准进行亚型分型,对指导临床治疗及预测预后具有重要意义。浸润性肺腺癌病灶内混合病理亚型具有不同的基因突变和通路改变的倾向性。腺泡样生长方式区域的基因突变多与代谢的过程相关,腺泡样生长方式的区域倾向于位于病灶的中心,与边缘区的肿瘤细胞相比,病灶中心区域的肿瘤细胞因为积累时间长而有着较高的突变负荷。这可能是本研究腺泡为主型肺浸润性腺癌 EGFR 基因突变率高的原因。这一结果或可为不同亚型肺浸润性腺癌患者的临床治疗提供依据。而 Revannasiddiah^[4]认为 EGFR 突变最常见于附壁为主型、乳头为主型和微乳头为主型腺癌,这类腺癌可能起源于共同的干细胞,具有 II 型肺泡上皮细胞、Clara 细胞和无纤毛

柱状上皮细胞分化的特征,且 TTF-1 显著高表达,这一观点尚未得到其他研究证实。

肺腺癌中 ALK 融合基因最常见的类型为 EML4-ALK 融合基因,少部分为 KIF5B-ALK 和 TFG-ALK 融合基因。ALK 在肺癌中基因变异主要为基因重排,通过 EML4 的胞外结构形成的二聚体使 ALK 在缺乏配体的情况下受体持续自磷酸化,进而持续激活下游细胞信号通路。ALK 融合基因是肺腺癌的一个潜在治疗靶点,克唑替尼为其靶向抑制剂。非小细胞肺癌中 EGFR 和 ALK 等肺癌驱动基因的激活突变是绝对互斥的,在 EGFR 基因未发生突变的非小细胞肺癌中,ALK 融合基因阳性的比例高达 25%^[5]。本研究的 206 例浸润性肺腺癌中,104 例发生 EGFR 基因突变,ALK 基因重排 15 例,两者呈负相关的关系。然而,王旭洲等^[6]发现了 6 例 EML4-ALK 与 EGFR 两种驱动基因的同时突变,说明 EML4-ALK 融合基因与 EGFR 基因可发生双突变,只是概率较低。本研究中 12 例 ALK 融合基因发生突变而无 EGFR 突变的病例中,8 例腺泡为主型,3 例附壁为主型,1 例实性为主型。3 例肺腺癌发生 ALK 融合基因与 EGFR 基因同时突变,其中 2 例的病理分型为腺泡为主型腺癌,1 例为附壁为主型。对于 EML4-ALK 融合基因与 EGFR 基因突变共存型患者,目前的研究和报道较少,机制尚不明了。

综上所述,EGFR 基因突变多见于腺泡为主型的肺浸润性腺癌组织中,EGFR 和 ALK 基因的突变多呈相互排斥。这些结果可为临床选择治疗人群提供具有一定价值的线索。

【参考文献】

[1] 陈文杰,李高峰.非小细胞肺癌的分子靶向治疗研究进展

[J].现代肿瘤医学,2017,25(12):1994~1996.

[2] Spaht F, Anaersson U, Dahlin A M, et al. Pre-diagnostic serum levels of EGFR and ErbB2 and genetic glioma risk variants: a nested case-control study [J]. Tumor Biol, 2016, 37(8):11065~11072.

[2] Kadota K, Yeh Y C, D'angelo S P, et al. Associations between mutations and histologic patterns of mucin in lung adenocarcinoma: invasive mucinous pattern and extracellular mucin are associated with KRAS mutation. [J]. Am Surg Pathol, 2014, 38(8):1118~1127.

[3] Yanagawa N, Shiono S, Abiko M, et al. The correlation of the international association for the study of lung cancer (IASLC)/american thoracic society (ATS)/european respiratory society (ERS) classification with prognosis and EGFR mutation in lung adenocarcinoma [J]. Ann Thorac Surg, 2014, 98(2):453~458.

[4] Revannasiddaiah S, Thakur P, Bhardwaj B, et al. Pulmonary adenocarcinoma: implications of the recent advances in molecular biology, treatment and the IASLC / ATS / ERS classification[J].Thorac Dis, 2014, 6:502~525.

[5] Wen M, Wang X, et al. Detection of EML4-ALK fusion gene and features associated with EGFR mutations in Chinese patients with non-small-cell lung cancer [J]. Onco Targets and Ther, 2016, 9(1):1989~1995.

[6] 王旭洲,陈炜生,余英豪.非小细胞肺癌患者 EML4-ALK 融合基因突变研究[J].中国肺癌杂志,2015,18(2):80~84.

中医中药

【文章编号】1006-6233(2019)08-1405-04

三仁汤与二妙散加减联合西药治疗阴虚夹湿型干眼症的疗效观察

许 婷, 杨丽颖, 郭铁柱

(辽宁省沈阳市第七人民医院眼科, 辽宁 沈阳 110003)

【摘要】目的:观察三仁汤与二妙散加减联合西药治疗阴虚夹湿型干眼症的疗效。**方法:**选取2016年6月至2018年12月本院收治的82例164眼干眼症患者,按照随机数字表分成观察组、对照组各41例82眼,对照组给予玻璃酸钠滴眼液外用,观察组在对照组之上给予三仁汤与二妙散加减方口服,治疗1个月后比较两组中医症候积分及疗效指数、客观指标[泪液分泌试验(SIt)、泪膜破裂时间(BUT)、角膜荧光素染色(FL)]、视觉参数[斯特列尔比(SR)、客观散射指数(OSI)]及临床疗效。**结果:**治疗1月后,观察组症候积分显著低于对照组($P<0.05$),SIt、BUT均显著高于对照组、FL显著低于对照组($P<0.05$),SR显著高于对照组、OSI显著低于对照组($P<0.05$),且观察组症候积分、SIt、BUT、FL、SR、OSI治疗前后差值均大于对照组($P<0.05$);观察组总有效率95.12%,显著高于对照组的74.39%($P<0.05$)。**结论:**三仁汤与二妙散加减联合西药治疗阴虚夹湿型干眼症,可以更好减轻患者中医症候,改善泪膜稳定性及视觉质量,提高临床疗效。

【关键词】 干眼症; 阴虚夹湿型; 三仁汤; 二妙散; 疗效

【文献标识码】 A **【doi】**10.3969/j.issn.1006-6233.2019.08.046

Therapeutic Effect of Sanren Decoction and Ermiao Powder combined with Western Medicine on Dry Eye of Yin Deficiency and Dampness

XU Ting, YANG Liying, GUO Tiezhu

(Shenyang Seventh People's Hospital, Liaoning Shenyang 110003, China)

【Abstract】Objective: To observe the efficacy of addition and subtraction of Sanren decoction and Ermiao powder combined with western medicine in the treatment of yin deficiency and dampnesstype of xerophthalmia. **Methods:** 82 patients (164 eyes) with xerophthalmia admitted to our hospital from June 2016 to December 2018 were selected. According to the random number table method, the patients were divided into observation group and control group, with 41 cases (82 eyes) in each group. Control group was given sodium hyaluronate eye drops for external use, and observation group was given addition and subtraction of Sanren decoction and