

# 表皮生长因子受体基因突变与肺腺癌亚型关系的研究

李 歆<sup>1</sup>, 徐韞健<sup>2</sup>, 张承和美<sup>3</sup>

(1. 广州医科大学附属肿瘤医院检验科, 广州 510095; 2. 广州医科大学附属第一医院检验科, 广州 5101200;  
3. 广州医科大学生物技术 2011 级, 广州 528244)

**摘要:**目的 探讨表皮生长因子受体(EGFR)基因突变类型与肺腺癌亚型的相关性。方法 收集 2011~2015 年该院 3 028 例非小细胞肺腺癌(NSCLC)患者的肿瘤组织,提取 DNA 后采用突变阻滞扩增系统(ARMS)检测 EGFR 基因突变。结果 3 028 例 NSCLC 患者标本中,EGFR 基因突变率为 39.7%,其中第 19 号外显子缺失突变 543 例,第 21 号外显子 L858R 点突变 535 例,共占 89.8%;新分类中浸润前病变与微浸润性腺癌、浸润性腺癌的 EGFR 基因突变比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );中分化肺腺癌有较高的 EGFR 突变率,不同分化程度的 EGFR 突变率比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 新分类表现出与分子诊断的相关性,不同亚型 EGFR 突变率有差异,EGFR 基因突变与腺癌组织分化程度存在一定的相关性。

**关键词:**肺腺癌; 表皮生长因子受体; 基因突变; 亚型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.007

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)20-2820-03

## Association of EGFR mutation with histologic subtypes in lung adenocarcinoma

LI Xin<sup>1</sup>, XU Yunjian<sup>2</sup>, ZHANG Chenghemei<sup>3</sup>

(1. Department of Medical Laboratory, Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510095, China; 2. Department of Medical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 3. Department of Biotechnology 2011 Grade, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 528244, China)

**Abstract:** **Objective** To assess the association of epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation with histologic subtypes in lung adenocarcinoma. **Methods** Lung cancer tissues were collected from 3 028 cases of patients with non-small cell lung cancer, DNA was extracted respectively, and EGFR gene exons 18, 19, 20 and 21 mutations were detected by ARMS-PCR amplification. The association of EGFR mutation with histologic subtypes in lung adenocarcinoma was analyzed. **Results** The mutation rate of EGFR detection was 39.7%, most were exon 19 del and exon 21 L858R (proportion 89.8%); according to the new classification, EGFR gene mutation in infiltrating lesions with micro infiltrating adenocarcinoma and infiltrating adenocarcinoma were different ( $P < 0.05$ ). EGFR mutation rates were higher in moderately differentiated lung adenocarcinoma, degree of differentiation of EGFR mutation rates were statistically different ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The new classification shows a correlation with molecular diagnosis, different subtypes of EGFR mutation rate is different. There is a certain correlation between EGFR gene mutation and the degree of differentiation in adenocarcinoma.

**Key words:** lung adenocarcinoma; epidermal growth factor receptor; gene mutation; histologic subtype

肺癌已成为发病率和病死率最高的恶性肿瘤,其中非小细胞肺腺癌(NSCLC)占原发性肺癌的 80%<sup>[1]</sup>。近年来,肺腺癌发病率逐渐上升,已成为最常见的肺癌类型。分子靶向药物治疗是目前肿瘤治疗的最新策略之一,肺癌分子靶向治疗药物代表为表皮生长因子受体酪氨酸酶抑制剂(EGFR-TKI)。表皮生长因子受体(EGFR)基因突变与 EGFR-TKI 靶向药物的临床疗效密切相关。通过 EGFR 基因检测可筛选出最适合的患者进行有针对性的靶向治疗,从而显著提高药物疗效。有研究发现 EGFR 突变和肺腺癌的某些特殊亚型相关,如贴壁样为主型的腺癌具有更高的 EGFR 突变率,对 EGFR-TKI 也更为敏感<sup>[2]</sup>。有研究报道,EGFR 突变与含乳头状和微乳头状亚型成分的腺癌呈正相关,与此相反,黏液性细支气管肺泡癌(BAC)的 EGFR 突变率却非常低<sup>[3-4]</sup>。现探讨不同肺腺癌亚型与 EGFR 基因突变的关系,为临床用药提供依据,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集肿瘤医院 2011~2015 年临床确诊的 NSCLC 患者 3 028 例,获取组织标本。根据国际多学科肺腺癌新分类标准<sup>[5-6]</sup>: I 型为浸润前病变:非典型腺瘤样增生、原位腺癌(包括非黏液型、黏液型、黏液/非黏液混合型); II 型为微浸润性腺癌(包括非黏液型、黏液型、黏液/非黏液混合型); III 型为浸润性腺癌:贴壁样生长为主型(原来的非黏液型 BAC)、腺泡样为主型、乳头状为主型、微乳头状为主型、实性为主型伴黏液产生; IV 型为浸润性腺癌变异型:浸润性黏液腺癌(原来的黏液型 BAC)、胶样型腺癌、胎儿型腺癌(低分化和高分化)、肠型腺癌。

**1.2 仪器与试剂** 人类 EGFR 基因突变检测试剂盒(荧光 PCR 法)和石蜡组织 DNA 提取试剂盒均购自厦门艾德生物医药科技有限公司;微量紫外分光光度计购自美国 Thermo fisher scientific 公司;CFX96 荧光定量 PCR 仪购自美国 BIO-RAD

公司。

**1.3 方法** (1)石蜡切片标本病理评估:抽取用于检测的连续切取石蜡切片 1 张, HE 染色。高倍镜下选择切片上、下、左、右、中 5 个视野,每个视野连续计数 30 个细胞,合并 5 个视野结果,计算平均肿瘤细胞含量作为标本的肿瘤细胞含量。(2)DNA 提取:严格按照艾德配套石蜡组织 DNA 提取试剂盒说明书进行操作。所提 DNA 经微量紫外分光光度计检测提取质量并确定含量, DNA 的 A260/A280 在 1.8~2.0 之间,石蜡组织 DNA 于 -20 ℃ 保存。(3)加样:分别向 45 mL 待测标本 DNA(约 3.5 ng/μL)、阳性质控品和阴性对照加入 2.25 μL Taq 酶,混匀后依次取 5 μL 加入 8 联 PCR 管反应条的每孔中。(4)PCR 反应参数:95 ℃ 5 min, 1 个循环;95 ℃ 25 s, 64 ℃ 20 s, 72 ℃ 20 s, 15 个循环;93 ℃ 25 s, 60 ℃ 35 s, 72 ℃ 20 s, 31 个循环。在第 3 阶段 60 ℃ 收集信号。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较使用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 EGFR 基因突变类型与突变率结果比较** 3 028 例 NSCLC 患者标本中, EGFR 基因突变率为 39.7%。突变类型为第 19 号外显子缺失突变最多,占 45.2%;其次为第 21 号外显子 L858R 点突变,占 44.6%。见表 1。

**表 1 EGFR 基因突变类型与突变率结果比较**

突变类型	突变例数(n)	突变率(%)
Exon 18 G719X	23	1.90
Exon 19 deletion	543	45.20
Exon 20 T790M	1	0.08
Exon 20 ins	32	2.70
Exon 20 S768I	4	0.30
Exon 21 L858R	535	44.60
Exon 21 L861Q	21	1.80
Exon 18 G719X+Exon 20 S768I	5	0.40
Exon 18 G719X+Exon 21 L861Q	1	0.08
Exon 19 deletion+Exon 21 L858R	9	0.80
Exon 19 deletion+Exon 20 T790M	7	0.60
Exon 19 deletion+Exon 20 ins	1	0.08
Exon 19 deletion+Exon 21 L861Q	1	0.08
Exon 21 L858R+Exon 20 T790M	10	0.80
Exon 21 L858R+Exon 20 S768I	7	0.60
Exon 21 L858R+Exon 21 L861Q	1	0.08
合计	1 201	39.70

**2.2 新分类组织亚型与 EGFR 基因突变结果比较** 1 201 例 EGFR 基因突变 NSCLC 患者标本中,有 217 例病理分型不明确,不纳入统计。在新分类中,腺泡样为主型的浸润性腺癌例数最常见,占 40.4%,其次是乳头状为主型的浸润性腺癌,占 18.1%;腺泡样为主型的浸润性腺癌有较高的 EGFR 基因突变率(70.9%),浸润前病变、微浸润性腺癌、浸润性腺癌和浸润

变异型的 EGFR 基因突变比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

**表 2 组织亚型与 EGFR 基因突变的结果比较[n(%)]**

组织亚型	例数	EGFR 野生型	EGFR 突变型
<b>浸润前病变</b>			
原位腺癌	36(2.2)	18(50.0)	18(50.0)
非典型瘤样增生	12(0.7)	10(83.3)	2(16.7)
微浸润性腺癌	56(3.4)	19(33.9)	37(66.1)
<b>浸润性腺癌</b>			
贴壁样生长为主型	198(12.1)	68(34.3)	130(65.7)
腺泡样为主型	662(40.4)	193(29.2)	469(70.9)
乳头状为主型	296(18.1)	112(37.8)	184(62.2)
微小乳头状为主型	69(4.2)	26(37.7)	43(62.3)
实体型为主型	192(11.7)	122(63.5)	70(36.5)
<b>浸润变异型</b>			
浸润性黏液腺癌	110(6.7)	81(73.6)	29(26.4)
胶质样腺癌	0	0	0
胎儿型腺癌	2(0.1)	1(50.0)	1(50.0)
肠腺癌	4(0.2)	3(75.0)	1(25.0)
合计	1 637(100.0)	653(100.0)	984(100.0)

**2.3 分化程度与 EGFR 基因突变的结果比较** 603 例有明确分化程度的标本中,低分化肺腺癌所占比例较多(54.9%),高分化较少(2.3%),而中分化肺腺癌则有较高的 EGFR 突变率(38.4%),且不同分化程度的 EGFR 基因突变率比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

**表 3 分化程度与 EGFR 基因突变的结果比较[n(%)]**

分化程度	例数	EGFR 野生型	EGFR 突变型
低分化	331(54.9)	243(73.4)	88(26.6)
中分化	258(42.8)	159(61.6)	99(38.4)
高分化	14(2.3)	12(85.7)	2(14.3)
合计	603(100.0)	414(100.0)	189(100.0)

注:  $\chi^2 = 11.297$ ;  $P = 0.0035$ 。

**3 讨 论**

国外有学者发现肺腺癌亚型与 EGFR 突变状态密切相关,并认为 EGFR 突变在非黏液性 BAC、乳头状和微乳头状腺癌亚型中发生率更高,而在其他组织学亚型中发生率较低,尤其在黏液性 BAC 亚型中 EGFR 突变率更低<sup>[2,4]</sup>。本研究结果表明,EGFR 突变多见于微浸润性和浸润性(贴壁样、腺泡样、乳头状、微小乳头状为主型)肺腺癌,而 EGFR 突变率在非典型瘤样增生、浸润性黏液腺癌则相对较低;胶质样腺癌、胎儿型腺癌、肠腺癌标本量较少,因此突变率也较低。与有关报道基本一致<sup>[7]</sup>。混合有非黏液性 BAC 成分和以乳头状成分为主的腺癌都可预测高 EGFR 突变率,而含黏液性 BAC 成分的腺癌突变率较低。

有关组织学亚型与 EGFR 突变之间的密切联系,目前仍

不清楚其真正原因。有研究报道,外周型肺腺癌主要起源于终末细支气管的 Clara 细胞和肺癌 II 型上皮细胞,在该型腺癌中,甲状腺转录因子-1(TTF-1)的表达常为阳性;位于中央气道的腺癌主要起源于支气管基底细胞和黏液分泌细胞,TTF-1 的表达为阴性<sup>[8]</sup>。有学者研究显示,TTF-1 在肺癌组织学分型等方面有着一定的作用,分别从其蛋白表达和 mRNA 水平进行研究,可作为鉴别组织学分型的标志物<sup>[9]</sup>。层序聚类分析也提示,2 个差异的基因簇分别对应终末呼吸单位(TRU)和非终末呼吸单位(N-TRU)来源的腺癌。Yatabe<sup>[10]</sup>研究证实,TRU 来源的腺癌是一种特别的腺癌类型,与细支气管肺泡癌特征非常符合,表现出独特的细胞学形态,以及 TTF-1 和细胞表面蛋白表达。有实验研究显示,在 149 例 TRU 腺癌中,EGFR 突变率为 61.1%,97 例 EGFR 突变患者中,高达 91 例(93.8%)为 TRU 腺癌。TRU 腺癌预测 EGFR 突变具有高敏感性和特异性,对 EGFR-TKI 治疗更为有效。

关于肺癌组织分化程度与 EGFR 基因突变的关系,国内外文献少有报道。本研究对 603 例有明确分化程度的肺腺癌标本进行 EGFR 突变分析,发现中分化肺腺癌有较高的 EGFR 突变率,且不同分化程度的 EGFR 基因突变率比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),与黄光辉等<sup>[11]</sup>的研究相似。高、中、低分化基因突变率分别为 35.1%、50.6%、23.7%,说明 EGFR 基因突变与 NSCLC 腺癌组织分化程度存在一定的相关性。

## 参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Inamura K, Ninomiya H, Ishikawa YA. Is the epidermal growth factor receptor status in lung cancers reflected in clinicopathologic features? [J]. Arch Pathol Lab Med, 2010, 134(1): 66-72.
- [3] Ninomiya H, Hiramatsu M, Inamura K, et al. Correlation

between morphology and EGFR mutations in lung adenocarcinomas Significance of the micropapillary pattern and the hobnail cell type[J]. Lung Cancer, 2009, 63(2): 235-240.

- [4] Sun PL, Seol H, Lee HJ, et al. High incidence of EGFR mutations in Korean men smokers with no intratumoral heterogeneity of lung adenocarcinomas; correlation with histologic subtypes, EGFR/TTF-1 expressions, and clinical features[J]. J Thorac Oncol, 2012, 7(2): 323-330.
- [5] 刘伟. 肺腺癌 2011 年国际新分类[J]. 实用癌症杂志, 2012, 27(4): 432-434.
- [6] 钟文昭, 董嵩, 李磊, 等. 国际肺癌研究协会/美国胸科学会/欧洲呼吸学会肺腺癌的国际多学科分类[J]. 循证医学, 2011, 11(4): 193-225.
- [7] 贺锐, 李建民, 王跃华, 等. EGFR 基因突变与肺腺癌新分类及临床病理特征的关系[J]. 临床与实验病理学杂志, 2013, 29(12): 1323-1328.
- [8] 赵艳秋, 刘杰, 刘瑞青, 等. 肺腺癌组织学亚型与 EGFR 突变及临床特征的关系[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2014, 35(1): 94-98.
- [9] 牛媛媛, 王慧娟, 马智勇. TTF-1 表达与肺癌组织学分型及 EGFR 突变关系研究[J]. 中国实用医刊, 2014, 41(15): 108-110.
- [10] Yatabe Y. EGFR mutations and the terminal respiratory unit[J]. Cancer Metastasis Rev, 2010, 29(1): 23-36.
- [11] 黄光辉, 杜娟, 候襄河, 等. 表皮生长因子受体基因突变表达与非小细胞肺癌分化程度关系的研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2014, 6(2): 97-100.

(收稿日期: 2016-04-11 修回日期: 2016-06-26)

(上接第 2819 页)

- [7] 刘斌. 超敏 C 反应蛋白与冠状动脉粥样硬化[C]. 乌鲁木齐: 第五届西部长城心脏病学会会议论文集, 2011.
- [8] 中华医学会心血管病学分会流行病学组. 糖代谢异常与动脉粥样硬化性心血管疾病临床诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2015, 43(6): 1223-1225.
- [9] 陈涛, 王应良, 王一萍, 等. 胱抑素 C、同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白和 D-二聚体联合检测动脉粥样硬化性脑梗死的临床意义[J]. 中国临床神经科学, 2013, 21(5): 562-565.
- [10] Cui R, Moriyama Y, Koike KA, et al. Serum total homocysteine concentrations and risk of mortality from stroke and coronary heart disease in Japanese: The JACC study [J]. Atherosclerosis, 2008, 198: 412-418.
- [11] 陈湘桂. 冠心病患者不同胱抑素 C 和同型半胱氨酸与冠状动脉病变的相关性[J]. 临床心血管病杂志, 2009, 25(8): 1056-1057.
- [12] 李绪斌, 杨文东. 血清同型半胱氨酸和超敏 C 反应蛋白与冠状动脉病变严重程度的关系[J]. 内科理论与实践,

2009, 4(1): 52-53.

- [13] 闰斌, 郭金涛, 刘乐, 等. 同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白与急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化的相关性研究[J]. 中国实用医刊, 2011, 38(8): 50-52.
- [14] Biselli PM, Guerzoni AR, De Godoy MF, et al. Genetic polymorphisms involved in folate metabolism and concentrations of methylmalonic acid and folate on plasma homocysteine and risk of coronary artery disease [J]. J Thromb Thrombolysis, 2010, 29(1): 32-40.
- [15] Bengtsson E, Nilsson J, Jovinge S. Cystatin C and cathepsins in cardiovascular disease[J]. Front Biosci, 2008, 13(10): 5780-5786.
- [16] 刘宗波. 胱抑素 C 与心血管疾病关系研究新进展[J]. 心血管康复医学杂志, 2013, 22(2): 194-196.
- [17] 刘菊. 4 项指标联检用于脑梗死早期诊断效果评价[J]. 中国卫生标准管理, 2015, 6(29): 154-155.

(收稿日期: 2016-03-10 修回日期: 2016-05-26)