

• 论 著 •

盐城地区 109 例肺腺癌患者 EGFR 基因 19、21 号外显子突变研究

夏爱华¹, 邹琳², 兰建云^{2△}

(南通大学第四附属医院/盐城市第一人民医院:1. 检验科;2. 病理科, 江苏盐城 224001)

摘要:目的 探讨该地区肺腺癌患者表皮生长因子受体(EGFR)基因 19、21 号外显子突变情况及其在不同人群中的分布差异。方法 收集该院 2013 年 4 月至 2014 年 9 月 109 例肺腺癌患者相关标本,应用突变特异性扩增系统-聚合酶链式反应(ARMS-PCR)对本 EGFR 基因外显子 19、21 号进行检测。结果 109 例患者中,19、21 号外显子突变 56 例(51.38%),其中 19 号外显子突变 24 例(22.02%),21 号外显子突变 33 例(30.28%);男性共 59 例,突变型 19 例(32.20%),女性 50 例,突变型 37 例(74.00%);大于或等于 60 岁患者 64 例,突变型 34 例(53.13%),小于 60 岁患者 45 例,突变型 22 例(48.89%);男性吸烟者 33 例,突变型 7 例(21.21%),非吸烟者 25 例,突变型 12 例(48.00%)。结论 该地区肺腺癌患者 EGFR 基因 19、21 号外显子总突变率较高,21 号外显子突变率稍高于 19 号外显子,但差异无统计学意义($P>0.05$);突变类型及突变率与性别、吸烟史相关,与年龄不相关。

关键词:表皮生长因子受体基因; 肺腺癌; 突变

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.24.025

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)24-3568-02

Research of exons 19 and 21 mutations of epidermal growth factor receptor gene in 109 cases of lung adenocarcinoma in Yancheng area

Xia Aihua¹, Zou Lin², Lan Jianyun²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Pathology, Fourth Affiliated Hospital of Nantong University/Yancheng Municipal First People's Hospital, Yancheng, Jiangsu 224001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the 19 and 21 exon mutation status of the epidermal growth factor receptor(EGFR) gene in the patients with lung adenocarcinoma and its distribution differences among different groups. **Methods** The related samples in 109 cases of lung adenocarcinoma were collected in our hospital during 2013—2014. The 19 and 21 exons of EGFR gene were detected by adopting the ARMS-PCR method. **Results** Among 119 cases, 19 and 21 exons mutations were found in 56 cases(51.38%), in which 24 cases (22.02%) were in exon 19 and 33 cases (30.28%) were in exon 21. 59 cases were male with 19 cases(32.20%) of mutant type and 50 cases were female with 37 cases (74.00%) of mutant type; 64 cases were ≥ 60 years old with 34 cases (53.13%) of mutant type, 45 cases were <60 years old with 22 cases(48.89%) of mutant type; 33 male cases were smoking with 7 cases(21.21%) of mutant type and 25 male cases were non-smoking with 12 cases (48.00%) of mutant type. **Conclusion** The 19 and 21 exon mutation rate of EGFR gene in the patients with lung adenocarcinoma is higher in this area, the 21 exon mutation rate is slightly higher than that of 19 exon; the mutation type and mutation rate are correlated with sex and smoking history, but have no correlation with age.

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

肺癌是全球发病率最高的恶性肿瘤之一,中国肺癌的发病率逐年上升。非小细胞肺癌(NSCLC)占 80%~85%,主要是腺癌或鳞癌。该病起病隐匿、转移早、扩散快。大部分患者发现时即已失去手术机会,故化疗已成为肺癌的主要治疗手段。但传统的化疗对大多数患者的预后没有明显的改善,其缓解率为 15%~21%,中位生存期为 7.4~8.2 月,一年生存率为 31%~36%,5 年生存率仅为 10%~15%^[1-2]。靶向药物酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的问世,为晚期肺癌患者的治疗开辟了新的路径,并取得了很好的疗效。NSCLC 人群中表皮生长因子受体(EGFR)基因突变状态是决定 EGFR-TKI 疗效的重要预测因子。不同位点突变的生物学功能不同,18、19、21 外显子突变型患者对 EGFR-TKI 有明显的疗效,而 20 号外显子突变型患者形成对 EGFR-TKI 继发性耐药。因此,美国国立综合癌症网络(NCCN)指南中明确规定在接受 EGFR-TKI 治疗前需检测 EGFR 基因状态。进一步研究显示,EGFR 基因突变频

率、类型存在明显的地域、人种、性别等差异^[3],因此本研究对盐城地区 109 例肺腺癌患者 EGFR 基因突变检测结果进行回顾,分析该地区肺腺癌患者 EGFR 基因突变状况。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2013 年 4 月至 2014 年 9 月本院确诊的肺腺癌患者 109 例,均来自盐城市及市辖区各县(市)。其中男 59 例,女 50 例;男性中包括吸烟者 33 例,未吸烟者 25 例(有 1 例吸烟史不详);大于或等于 60 岁 64 例,小于 60 岁 45 例。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 检测标本包括组织标本、穿刺细胞、淋巴结活检、胸腔积液标本等,每份标本经病理科确认保证足够数量的癌细胞,所有标本按标本类型用相应的 QIAGEN 试剂盒进行 DNA 提取,所提 DNA 用 UNIC 2802 型紫外可见分光光度计进行浓度检测和质量评估,260 与 280 nm 处的吸光度比值(A_{260}/A_{280})在 1.8~2.0,保证 DNA 的质量和浓度达到检测

试剂盒所规定的要求。

1.2.2 EGFR 基因突变检测 采用厦门艾德生物技术有限公司提供的突变特异性扩增系统 (ARMS) 荧光聚合酶链式反应 (PCR) 试剂进行 EGFR 基因突变的检测, 检测严格按试剂盒规定的程序在 ABI 公司 StepOne Plus PCR 扩增仪进行, 每批次加阴阳性质控, 保证检测质量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析, 计数资料以例数及百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 109 例肺腺癌患者总突变情况 109 例患者中, 共检出 56 例存在 19、21 外显子的突变 (有 1 例 19、21 外显子同时突变), 突变率 51.38%, 其中 19 号外显子 24 例 (22.02%), 21 号外显子 33 例 (30.28%)。

2.2 19、21 号外显子突变率比较 21 号外显子突变率稍高于 19 号外显子, 但其差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 19、21 号外显子突变率比较 (n)

19 号外显子	21 号外显子	
	突变型	野生型
突变型	1	23
野生型	32	53

2.3 19、21 号外显子突变率的性别差异 女性患者 EGFR 基因 19、21 号外显子突变率明显高于男性患者 ($\chi^2 = 18.926, P < 0.05$)。男性不吸烟患者 EGFR 基因 19、21 号外显子突变率高于男性吸烟患者, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.634, P < 0.05$)。女性患者 EGFR 基因 19、21 外显子突变率高于男性不吸烟患者, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.974, P < 0.05$)。见表 2。

表 2 19、21 号外显子突变率的性别差异

性别	标本数 (n)	突变数 [n (%)]
女性	50	37 (74.00)
男性	59	19 (32.20)
不吸烟者	25	12 (48.00)
吸烟者	33	7 (21.21)

2.4 19、21 号外显子突变率年龄差异 高龄患者 (≥ 60 岁)、低龄患者 (< 60 岁) EGFR 基因 19、21 号外显子突变率分别为 53.13% (34/64), 47.89% (22/45), 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.190, P > 0.05$)。

3 讨 论

随着吉非替尼、厄罗替尼等 TKI 类靶向药物越来越广泛地用于 NSCLC 的治疗, EGFR 基因突变相关的研究受到了临床的普遍关注和重视。EGFR 是酪氨酸激酶 I 型受体家族成员, 是一种跨膜糖蛋白, 广泛分布于各种上皮细胞的细胞膜, 分为胞外区、跨膜区和胞内区。EGFR 基因突变主要发生于胞内酪氨酸激酶区域 18、19、20、21 号 4 个外显子, 其中 19、21 号外显子的突变约覆盖整个突变的 90%, 本研究对盐城地区肺腺癌患者 EGFR 基因 19、21 号外显子的突变情况进行了分析。

本研究显示 EGFR 突变率与突变类型存在人种和区域差异: EGFR 基因突变在亚洲肺腺癌人群为 25%~50%, 明显高

于白种人^[4-6]; 国内相关报道也不尽相同, 如四川地区肺腺癌突变率为 53.85%, 21 号外显子的突变明显高于 19 号外显子^[7]; 台湾地区以 21 号外显子突变为主, 云南地区以 19 号外显子突变为主, 上海地区 19、21 号外显子突变率基本相同^[8-10]; 另有文献报道, 肺腺癌 EGFR 基因突变率高达 60.3%^[11]。盐城地区肺腺癌 EGFR 19、21 号外显子突变率为 51.38%, 与相关报道基本相符; 21 号外显子突变稍高于 19 号外显子, 但其差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

本研究还对 EGFR 基因突变与一些临床因素的相关性进行了分析, 发现本地区女性患者突变率明显高于男性患者; 吸烟患者突变率低于非吸烟患者, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 由于女性吸烟者较少, 将男性非吸烟患者与女性患者进行了比较, 结果女性患者突变率仍高于男性非吸烟患者, 提示在排除吸烟因素影响的情况下, EGFR 基因突变仍存在性别差异; 以 60 岁为界, 笔者将患者分为高龄和低龄患者, 比较后认为 EGFR 基因的突变与年龄无明显相关性; 上述结论与国内外相关报道较为一致^[7,10,12]。

参考文献

[1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2006[J]. CA Cancer J Clin, 2006, 56(3): 106-130.

[2] Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer [J]. N Engl J Med, 2002, 346(2): 92-98.

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

[4] Sequist LV, Bell DW, Lynch TJ, et al. Molecular predictor of response to epidermal growth factor receptor antagonist in non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(5): 587-595.

[5] Mistudomi T, Kosaka T. Biological and clinical implications of EGFR mutations in lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2006, 11(3): 190-198.

[6] Dacic S. EGFR assays in lung cancer[J]. Adv Anat Pathol, 2008, 15(4): 241-247.

[7] 董丹丹, 唐源. 四川地区肺腺癌中 EGFR 基因 19、21 外显子突变研究[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 27(12): 1306-1309.

[8] Huang SF, Liu H P. High frequency of epidermal growth factor receptor mutations with complex pattern in non-small cell lung cancers related to gefitinib responsiveness in Taiwan [J]. Clin Cancers Res, 2004, 10(24): 8195-8203.

[9] Mu XL, Li LY, Zhang XT, et al. Gefitinib sensitive mutations of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase domain in Chinese patients with non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(12): 4289-4294.

[10] 董刚强, 韩宝惠. 176 例非小细胞肺癌的 EGFR 基因突变分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2006, 28(9): 686-690.

[11] 张静, 梁智勇. 非小细胞肺癌表皮生长因子受体基因及 k-ras 基因突变与临床病理特征的关系[J]. 协和医学杂志, 2010, 10(1): 53-59.

[12] Toyooka S, Soh J, Shigematsu H, et al. The impact and role of EGFR gene mutations non-small cell lung cancer cancer[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2006, 58(2): 25-31.