

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2015.06.020

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2015.06.020

非小细胞肺癌患者肿瘤组织中驱动基因的分子病理检测分析

宋业颖, 许春伟, 吴永芳, 班怡, 张博, 邵云, 李晓兵

(军事医学科学院附属医院病理科, 北京 100071)

[摘要] 目的: 探讨非小细胞肺癌患者肿瘤组织中驱动基因EGFR、KRAS、ALK、ROS1、c-Met和Her-2基因各亚型改变情况。方法: 应用Taqman-ARMS方法检测273例非小细胞肺癌石蜡组织中EGFR基因、KRAS基因、ALK基因、ROS1基因、c-Met基因和Her-2基因改变情况。结果: 非小细胞肺癌肿瘤组织中EGFR基因总突变率为36.26%(99/273), 外显子18、19、20和21的突变率分别为0(0/273)、16.12%(44/273)、4.49%(15/273)和17.95%(49/273); EGFR基因各外显子之间双重突变共12例(4.40%); KRAS基因总突变率为4.76%(13/273); ALK融合基因总阳性率为9.16%(25/273); ROS1融合基因总阳性率为2.20%(6/273); c-Met基因总扩增率为3.66%(10/273); Her-2基因总突变率为0.73%(2/273); 各驱动基因双突变共存型11例(4.03%), 其中EGFR基因突变与ALK融合基因阳性共存型2例(0.73%), EGFR基因突变与KRAS基因突变共存型3例(1.10%), EGFR基因突变与c-Met基因扩增共存型6例(2.20%)。结论: 非小细胞肺癌患者中EGFR基因19和21外显子突变和ALK融合基因均存在较高的突变率, 基因突变亚型分类能指导精准医学的个体化靶向治疗, KRAS、ROS1、c-Met、Her-2基因改变以及驱动基因双突变共存型基因突变率虽低但不容忽视。

[关键词] Taqman-ARMS方法; 非小细胞肺癌; 驱动基因; 突变率

The molecular pathology examination analysis of drive gene change in non-small cell lung cancer

SONG Yeying, XU Chunwei, WU Yongfang, BAN Yi, ZHANG Bo, SHAO Yun, LI Xiaobing

(Department of Pathology, Affiliated Hospital of Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

Abstract **Objective:** To investigate the mutations of each subtype of EGFR gene, KRAS gene, ALK gene, ROS1 gene, c-Met gene and Her-2 gene in non-small cell lung cancer. **Methods:** Taqman-ARMS was used to test the tissues in 273 patients of non-small cell lung cancer with paraffin tissue EGFR, KRAS, ALK, ROS1, c-Met and Her-2 gene change. **Results:** The total mutation rate in exons 18 to 21 of EGFR gene was 36.26% (99/273) in NSCLC. EGFR gene mutation rate were found in exons 18(0, 0/550), 19 (16.12%, 44/273), 20 (4.49%, 15/273), and exon 21 (17.95%, 49/273) in the NSCLC. The total double mutation rate among every exon of EGFR gene was

收稿日期 (Date of reception): 2015-05-02

通信作者 (Corresponding author): 许春伟, Email: xuchunweibbb@163.com; 张博, Email: zenwo@qq.com

基金项目 (Foundation item): 军事医学科学院附属医院创新科研基金 (ZH-2014-10)。This work was supported by Affiliated Hospital of Academy of Military Medical Science Innovation Research Foundation (ZH-2014-10), P. R. China.

4.49%(12/273); the total mutation rate in *KRAS* gene was 4.76%(13/273); the total positive rate in *ALK* fusion gene was 9.16%(25/273); the total positive rate in *ROS1* fusion gene was 2.20%(6/273); the total amplification rate in *c-Met* gene was 3.66%(10/273) and the total mutation rate in *Her-2* gene was 0.73%(2/273). Drive gene double mutations coexist was 11 cases (4.03%), including 2 cases of *EGFR* gene mutation and *ALK* fusion gene positive coexist in (0.73%), 3 cases of *EGFR* gene and *KRAS* gene mutation coexist (1.10%), 6 cases of *EGFR* gene mutation and *c-Met* gene amplification coexistence type (2.20%). **Conclusion:** The mutation rate of *EGFR* gene is high in NSCLC patients especially in 19 and 21 exons and *ALK* fusion gene, and the subtype mutations can guide the precision medical for individualized target therapy. Though *KRAS*, *ROS1*, *c-Met* and *Her-2* gene change are low in NSCLC patients, they should not be ignored.

Keywords Taqman-ARMS method; non-small cell lung cancer; drive gene; mutation rate

肺癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 其中非小细胞肺癌(NSCLC)占85%以上^[1-3]。传统放化疗及支持治疗等总综合治疗虽有很大改进, 但总体疗效已达瓶颈^[4]。由第一个靶向药物表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(*EGFR*-TKI)抑制剂开发并成功应用临床治疗非小细胞肺癌, 如吉非替尼(*Iressa*, ZD1839; 阿斯利康)和埃罗替尼(*Tarceva*, OSI-774; 罗氏制药), 使肿瘤治疗真正进入靶向治疗时代, 其中非小细胞肺癌的分子靶向治疗是目前最受欢迎的和最具有前途的领域^[5-7]。目前非小细胞肺癌靶向治疗主要驱动基因检测包括*EGFR*、*KRAS*、*PIK3CA*、*BRAF*和*Her-2*基因突变, *ALK*、*ROS1*、*RET*和*NTRK1*融合基因, *c-Met*基因扩增^[8-17]。由于本研究中*PIK3CA*和*BRAF*基因突变、*RET*和*NTRK1*融合基因2014年3月至2015年2月间未检出阳性样本, 故本研究分析非小细胞肺癌中*EGFR*、*KRAS*和*Her-2*基因突变, *ALK*和*ROS1*融合基因, *c-Met*基因扩增的情况, 旨在为判定疾病发展过程、预后及驱动基因靶向治疗提供分子病理学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 一般材料

收集军事医学科学院附属医院2014年3月至2015年2月间经手术切除、穿刺活检及会诊非小细胞肺癌标本273例。

1.1.2 主要试剂和仪器

FFDE样本DNA分离试剂盒, 人*EGFR*基因突变定性检测试剂盒、人*KRAS*基因突变定性检测试剂盒、人*ALK*基因表达检测试剂盒、人*ROS1*基因表达检测试剂盒、人*c-Met*基因扩增检测试剂盒和人*Her-2*基因突变定性检测试剂盒均购自福建厦门艾德生物医药科技有限公司, 核酸蛋白质浓度测量仪B-500购自上海创萌生物科技有限公司, Mx3000P实时荧光定量PCR仪购自美国Stratagene公司。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取

采用福建厦门艾德生物医药科技有限公司的FFPE样本DNA分离试剂盒提取组织, 比照苏木精-伊红染色(HE)在显微镜下标记肿瘤区域, 切片过程中仅选取相关肿瘤区域, 将含有肿瘤区域的DNA组织的蜡块10 μm厚连续切片5张, 严格按照试剂盒说明步骤进行操作。DNA提取后应用紫外分光光度计测量DNA质量及浓度。按照测量的DNA浓度稀释至2~5 mg/L备用。

1.2.2 实时荧光定量PCR检测非小细胞肺癌组织中*EGFR*、*KRAS*、*ALK*、*ROS1*、*c-Met*和*Her-2*基因改变

以DNA为模板, 按照人*EGFR*、*KRAS*和*Her-2*基因突变定性检测试剂盒、人*ALK*、*ROS1*基因表达检测试剂盒以及人*c-Met*基因扩增检测试剂盒, 说明书提供的方法, 在Mx3000P实时荧光定量PCR仪中进行扩增。该试剂盒包含扩增驱动基因改变见表1。

表 1 驱动基因状态改变类型

Table 1 The type of drive gene state change

突变基因	突变类型
EGFR 基因突变	
Exon-18	G719A、G719C、G719S
Exon-19	19-del(24 种突变) 2235-2249del15 (E746-A750del)、2236-2250del15 (E746-A750del) 2236-2253del18 (E746-T751del)、2237-2251del15 (E746-T751>A) 2237-2254del18 (E746-S752>A)、2238-2255del18 (E746-S752>D) 2239-2247del9 (L747-E749del)、2239-2253del15 (L747-T751del) 2239-2256del8 (L747-S752del)、2240-2251del12 (L747-T751>S) 2240-2254del15 (L747-T751del)、2240-2257del18 (L747-P753>S) 2235-2252>AAT (E746-T751>I)、2237-2255>T (E746-S752>V) 2238-2248>GC (L747-A750>P)、2237-2252>GCA (L747-T751>Q) 2237-2252>GCA (L747-T751>Q)、2239-2248TTAAGAGAAG>C (L747-A750>P) 2239-2251>C (L747-T751>P)、2239-2258>CA (L747-P753>Q) 2254-2277del (S752-I759del)、2238-2255del2237A>T (L747-S752del, E746V) 2240-2251del (L747-A750del, T747S)、2239-2259del21>CAAC (L747-K754>QQ)
Exon-20	V769-D770insASV、D770-N771insG、H773-V774insH
Exon-20	S768I
Exon-20	T790M
Exon-21	L858R、L861Q
KRAS 基因突变	
	G12A、G12S、G12V、G12C、G12D、G13D、Q61H、Q61L、Q61R
ALK 融合基因	
A	E6; A19、E6; A20、E6ins33; A20、E6; ins18A20、E13; A20、E13; ins69A20、E20; A20、E20; ins18A20
B	E14ins11; del49A20、E14; del14A20、E14; del38A20、E15del60; del71A20
C	E2; A20、E2; ins117A20、E3; ins53A20、E17; ins30A20、E17ins61; ins34A20、E17ins65; A20、E17; ins68A20、E17del58; ins39A20、E18; A20
ROS1 融合基因	
A	SL4; R32、SL14del; R32、CD6; R32、SD2; R32、SD4; 32
B	SL4; R34、SL14del; R34、CD6; R34、SD4; R34、EZ10; 34
C	TP8; R35、LR16; R35、GO8; R35
D	GO4; R36
Her-2 基因突变	
A(Exon-20)	A775_G776insYVMA、A774_G775insAYVM
B(Exon-20)	G776>VC、P780_Y781insGSP

2 结果

2.1 EGFR、KRAS 和 Her-2 基因突变分析

非小细胞肺癌肿瘤组织中 EGFR 基因总突变率为 36.26% (99/273)，外显子 18、19、20 和 21 的突变率分别为 0 (0/273)、16.12% (44/273)、4.49% (15/273) 和 17.95% (49/273)；EGFR 基因各外显子之间双重突变共 12 例 (4.40%)，其中 19 外显

子与 20 外显子双重突变 3 例 (1.10%)，19 外显子与 21 外显子双重突变 3 例 (1.10%)，20 外显子与 21 外显子双重突变 6 例 (2.20%)。KRAS 基因总突变率为 4.76% (13/273)，外显子 2 的密码子 12、13 和 61 的突变率分别为 3.30% (9/273)、1.47% (4/273) 和 0 (0/273)，其中 G12A、G12S、G12V、G12C、G12D 和 G13D 的突变率分别为 0.37% (1/273)、0.73% (2/273)、0.73% (2/273)、0.73% (2/273)、

0.73%(2/273)和1.47%(4/273)。Her-2基因总突变率为0.73%(2/273), A型突变和B型突变均为0.37%(1/273); 各驱动基因双突变共存型11例(4.03%), 其中EGFR基因突变与ALK融合基因阳性共存型2例(0.73%), EGFR基因突变与KRAS基因突变共存型3例(1.10%), EGFR基因突变与c-Met基因扩增共存型6例(2.20%)。273例非小细胞肺癌患者共99例(36.26%)检测到EGFR基因突变, 44例(16.12%)检测到EGFR基因19外显子突变; 15例(4.49%)检测到EGFR基因20外显子突变; 49例(17.95%)检测到EGFR基因21外显子突变, EGFR基因各外显子之间双重突变共12例(4.40%), 其中19外显子与20外显子双重突变3例(1.10%), 19外显子与21外显子双重突变3例(1.10%), 20外显子与21外显子双重突变6例(2.20%)。KRAS基因总突变率为4.76%(13/273), 外显子2的密码子12、13和61的突变率分别为3.30%(9/273)、1.47%(4/273)和0(0/273), 其中G12A、G12S、G12V、G12C、

表 2 非小细胞肺癌患者驱动基因改变类型分析 [n(%)]

Table 2 Analysis the type of Drive gene change in non-small cell lung cancer[n(%)]

基因突变	例数
EGFR 基因	99 (36.26)
外显子 19	44 (16.12)
外显子 20	15 (4.49)
外显子 21	49 (17.95)
KRAS 基因	13 (4.76)
G12A	1 (0.37)
G12S	2 (0.73)
G12V	2 (0.73)
G12C	2 (0.73)
G12D	2 (0.73)
G13D	4 (1.47)
ALK 基因	25 (9.16)
A	25 (9.16)
ROS1 基因	6 (2.20)
A	4 (1.47)
B	4 (1.47)
c-Met 基因	10 (3.66)
Her-2 基因	2 (0.73)
A	1 (0.37)
B	1 (0.37)

G12D和G13D的突变率分别为0.37%(1/273)、0.73%(2/273)、0.73%(2/273)、0.73%(2/273)、0.73%(2/273)和1.47%(4/273)。Her-2基因总突变率为0.73%(2/273), A型突变和B型突变均为0.37%(1/273) (表2-3)。

2.2 ALK、ROS1 融合基因和 c-Met 基因扩增分析

273例非小细胞肺癌患者共25例ALK融合基因阳性9.16%(25/273), 且均为A型融合, 未见B型和C型融合, ROS1融合基因总阳性率为2.20%(6/273), A型和B型均为1.47%(4/273), 未见C型和D型融合, 其中A型和B型之间融合共存型2例(0.73%), c-Met基因总扩增率为3.66%(10/273) (表2-3)。

表 3 14 例驱动基因内部双重突变资料

Table 3 14 cases of Drive gene internal double mutations

序号	驱动基因改变 1	驱动基因基因改变 2
EGFR	EGFR 基因突变 1	EGFR 基因突变 2
1	外显子 19	外显子 21
2	外显子 20	外显子 21
3	外显子 20	外显子 21
4	外显子 20	外显子 21
5	外显子 19	外显子 21
6	外显子 19	外显子 20
7	外显子 20	外显子 21
8	外显子 20	外显子 21
9	外显子 19	外显子 20
10	外显子 19	外显子 20
11	外显子 20	外显子 21
12	外显子 19	外显子 20
ROS1	ROS1 融合基因亚型 1	ROS1 融合亚型 2
13	A	B
14	A	B

2.3 各驱动基因共存型分析

各驱动基因双突变共存型11例(4.03%), 其中EGFR基因突变与ALK融合基因阳性共存型2例(0.73%), EGFR基因突变与KRAS基因突变共存型3例(1.10%), EGFR基因突变与c-Met基因扩增共存型6例(2.20%)(表4)。

表4 11例驱动基因间双突变共存型资料

Table 4 11 cases of drive gene double mutation coexistence data

序号	驱动基因改变1	驱动基因基因改变2
1	EGFR基因突变(外显子21)	<i>c-Met</i> 基因扩增
2	EGFR基因突变(外显子21)	<i>c-Met</i> 基因扩增
3	EGFR基因突变(外显子21)	KRAS基因突变(G12S)
4	EGFR基因突变(外显子21)	<i>c-Met</i> 基因扩增
5	EGFR基因突变(外显子21)	<i>c-Met</i> 基因扩增
6	EGFR基因突变(外显子19)	<i>c-Met</i> 基因扩增
7	EGFR基因突变(外显子19)	ALK融合基因(A)
8	EGFR基因突变(外显子21)	<i>c-Met</i> 基因扩增
9	EGFR基因突变(外显子21)	KRAS基因突变(G12V)
10	EGFR基因突变(外显子19)	ALK融合基因(A)
11	EGFR基因突变(外显子21)	KRAS基因突变(G12D)

3 讨论

随着非小细胞肺癌靶向治疗的突破性进展, 针对驱动基因的个体化靶向治疗成为目前非小细胞肺癌治疗的趋势。目前多项临床研究显示靶向治疗相对于传统铂类为基础的化疗方案有明显的优势, 延长PFS, 减少药物副作用并改善患者生活质量。例如, 针对EGFR基因突变及ALK、ROS1融合基因的特定靶向药物都取得了显著临床疗效, 基于以上原因, 对非小细胞肺癌患者应进行一系列已知基因检测, 对每一位肺癌患者根据其驱动基因改变类型制定相应靶向治疗方案。

目前已有几项临床研究对这些基因进行了检测并进行了分析。规模最大的一项为法国BM项目, 其对9 911例法国非小细胞肺癌患者检测目前已发现的十种基因突变, 其中包括EGFR、KRAS、ALK、BRAF、PIK3CA、Her-2, 发现各种基因所在比例: EGFR基因突变率为10.3%, KRAS基因突变率为27%, ALK融合基因阳性率3.7%, PIK3CA基因突变率为2.6%, Her-2基因突变为0.9%, BRAF基因突变为1.7%^[18], 其次为美国的LCMC项目, 其对733例肺腺癌进行全基因分析, EGFR基因突变为21%, KRAS基因突变为25%, ALK基因融合阳性率为8%, 双基因共变异为4%, BRAF基因突变为2%, Her-2基因突变为2%, PIK3CA基因突变为1%, *c-Met*基因扩增率为1%, NRAS基因突变为1%, MEK-1基因突变率为0.1%^[18]。而三项来自亚洲的研究显示了不同的基因结构。Sun等^[19]对52例中国无吸烟史的肺腺癌患者检测九种基因, 包括EGFR、KRAS、NRAS、HRAS、Her-2、

BRAF、ALK、PIK3CA、LKB-1, 发现基因分布为: EGFR基因突变率为78.8%, ALK融合基因阳性率5.8%, Her-2基因突变率为3.8%, KRAS基因突变率为1.9%, 未知基因为9.6%。另外一项来自韩国的对于229例无吸烟史的肺腺癌患者检测EGFR、KRAS、ALK三种基因, 结果显示: EGFR基因突变率为48%, ALK融合基因阳性率为8.3%, KRAS基因突变率为3.5%, 未知基因为40.2%^[20]。Xia等^[21]研究对110例中国肺腺癌患者进行了EGFR、KRAS、ALK、*c-Met*基因检测, 结果显示EGFR基因突变率为52.7%、ALK融合基因阳性率为10%, KRAS基因突变率为3.6%, *c-Met*基因扩增率为5.5%, 未知基因为28.2%。由此可见, 亚裔肺腺癌患者中各项基因分布与欧洲人群有着普遍的不同。本研究显示273例非小细胞肺癌患者共99例(36.26%)检测到EGFR基因突变, 44例(16.12%)检测到EGFR基因19外显子突变; 15例(4.49%)检测到EGFR基因20外显子突变; 49例(17.95%)检测到EGFR基因21外显子突变, EGFR基因各外显子之间双重突变共12例(4.40%), 其中19外显子与20外显子双重突变3例(1.10%), 19外显子与21外显子双重突变3例(1.10%), 20外显子与21外显子双重突变6例(2.20%)。KRAS基因总突变率为4.76%(13/273), 外显子2的密码子12、13和外显子3的密码子61的突变率分别为3.30%(9/273)、1.47%(4/273)和0(0/273), 其中G12A、G12S、G12V、G12C、G12D和G13D的突变率分别为0.37%(1/273)、0.73%(2/273)、0.73%(2/273)、0.73%(2/273)、0.73%(2/273)和1.47%(4/273)。Her-2基因总突变率为0.73%(2/273)。本研究为非小细胞肺癌肿瘤组织

中驱动基因的各比例关系, 目前国内外除法国BM项目为在非小细胞肺癌中报道外, 其余均为肺腺癌或具有吸烟史的肺腺癌中报道。本研究与法国BM项目比较, 国外非小细胞肺癌驱动基因表达谱与国内略有差异。根据目前大型临床研究实验结果, *EGFR*-TKI可以用于*EGFR*基因突变患者^[22-25], *Crizotinib*可用于*ALK*、*ROS1*融合基因阳性患者^[26-27], *Crizotinib*、*MetMab*和*Cabozantinib*可用于*c-Met*基因扩增阳性的NSCLC患者^[28], *Trastuzumab*以针对*Her-2*基因突变患者^[29]。即约70%的中国肺腺癌患者可以根据基因检测行肺癌个体化靶向治疗。因此, 行治疗之前, 在非小细胞肺癌人群中常规检测这几种基因显得尤为重要。

既往研究^[30-31]认为NSCLC中驱动基因改变是相互排斥的。近期陆续发现有*ALK*融合基因和*EGFR*基因突变共存^[21,32-39], *KRAS*基因和*EGFR*基因双突变共存型^[40-43], *c-Met*基因扩增和*EGFR*基因突变共存型^[44]。本研究中驱动基因双突变共存型11例(4.03%), 其中*EGFR*基因突变与*ALK*融合基因阳性共存型2例(0.73%), *EGFR*基因突变与*KRAS*基因突变共存型3例(1.10%), *EGFR*基因突变与*c-Met*基因扩增共存型6例(2.20%)。目前双突变研究^[45]表明, *KRAS*基因和*EGFR*基因双突变共存型中*KRAS*基因额外突变并未影响*EGFR*-TKI治疗, 目前国内研究^[46]报道*EGFR*基因突变与*ALK*融合基因双突变共存型为1.3%, 与本研究结果接近。其靶向药物治疗选择方面, 中国肺癌靶向治疗十年峰会上吴一龙教授指出*ALK*融合基因和*EGFR*基因突变共存型则需检测*EGFR*基因的磷酸化水平来优先考虑*EGFR*-TKI抑制剂还是*ALK*-TKI抑制剂。

总之, 非小细胞肺癌患者中*EGFR*基因19和21外显子突变和*ALK*融合基因均存在较高的突变率, 基因突变亚型分类能指导精准医学的个体化靶向治疗, *KRAS*、*ROS1*、*c-Met*、*Her-2*基因改变以及驱动基因双突变共存型基因突变率虽低但不容忽视。

参考文献

1. Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1): 9-29.
2. Xu CW, Wang G, Wang WL, et al. Association between epidermal growth factor receptor mutations and the expression of excision repair cross-complementing protein 1 and ribonucleotide reductase subunit

- M1 mRNA in patients with non-small cell lung cancer[J]. Exp Ther Med, 2015, 9(3): 880-884.
3. Sher T, Dy GK, Adjei AA. Small cell lung cancer[J]. Mayo Clin Proc, 2008, 83(3): 355-367.
4. Fang MY, Wang SY, Zheng YB, et al. Prognostic and predictive significance of plasma hepatocyte growth factor and carcinoembryonic antigen in non-small lung cancer after surgery[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014, 18(3): 398-403.
5. Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, et al. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer (The IDEAL 1 Trial) [corrected][J]. J Clin Oncol, 2003, 21(12): 2237-2246.
6. Kris MG, Natale RB, Herbst RS, et al. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial[J]. JAMA, 2003, 290(16): 2149-2158.
7. Zhou C, Wu YL, Chen G, et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study[J]. Lancet Oncol, 2011, 12(8): 735-742.
8. 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.
9. 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 U S A, 2004, 101(36): 13306-13311.
10. Li H, Pan Y, Li Y, et al. Frequency of well-identified oncogenic driver mutations in lung adenocarcinoma of smokers varies with histological subtypes and graduated smoking dose[J]. Lung Cancer, 2013, 79(1): 8-13.
11. Zhang Y, Sun Y, Pan Y, et al. Frequency of driver mutations in lung adenocarcinoma from female never-smokers varies with histologic subtypes and age at diagnosis[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(7): 1947-1953.
12. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2010, 363(18): 1693-1703.
13. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma[J]. N Engl J Med, 2010, 363(9): 809-819.
14. Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer[J]. Lancet Oncol, 2011, 12(2): 175-180.
15. Gridelli C, Morgillo F, Favaretto A, et al. Sorafenib in combination with erlotinib or with gemcitabine in elderly patients with advanced non-small-cell lung cancer: a randomized phase II study[J]. Ann Oncol,

- 2011, 22(7): 1528-1534.
16. Mazières J, Peters S, Lepage B, et al. Lung cancer that harbors an HER2 mutation: epidemiologic characteristics and therapeutic perspectives[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(16): 1997-2003.
 17. Vaishnavi A, Capelletti M, Le AT, et al. Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer[J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1469-1472.
 18. 张绪超, 吴一龙. 2013年度ASCO肺癌生物标志物进展报道[C]. 第13届全国肺癌学术大会, 吉林长春, 2013.
ZHANG Xuchao, WU Yilong. The 2013 annual ASCO lung cancer biomarkers progress reports[C]. The Thirteenth Lung Cancer National Academic Conference, Changchun Jilin, 2013.
 19. Sun Y, Ren Y, Fang Z, et al. Lung adenocarcinoma from East Asian never-smokers is a disease largely defined by targetable oncogenic mutant kinases[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(30): 4616-4620.
 20. Kim HR, Shim HS, Chung JH, et al. Distinct clinical features and outcomes in never-smokers with nonsmall cell lung cancer who harbor EGFR or KRAS mutations or ALK rearrangement[J]. *Cancer*, 2012, 118(3): 729-739.
 21. Xia N, An J, Jiang QQ, et al. Analysis of EGFR, EML4-ALK, KRAS, and c-MET mutations in Chinese lung adenocarcinoma patients[J]. *Exp Lung Res*, 2013, 39(8): 328-335.
 22. Fukuoka M, Wu YL, Thongprasert S, et al. Biomarker analyses and final overall survival results from a phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib versus carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer in Asia (IPASS)[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(21): 2866-2874.
 23. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(2): 121-128.
 24. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(25): 2380-2388.
 25. Zhou C, Wu YL, Chen G, et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study[J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(8): 735-742.
 26. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(18): 1693-1703.
 27. Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(21): 1963-1971.
 28. Nishio M, Horiike A, Nokihara H, et al. Phase I study of the anti-MET antibody onartuzumab in patients with solid tumors and MET-positive lung cancer[J]. *Invest New Drugs*, 2015, 33(3): 632-640.
 29. Mazières J, Peters S, Lepage B, et al. Lung cancer that harbors an HER2 mutation: epidemiologic characteristics and therapeutic perspectives[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(16): 1997-2003.
 30. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer[J]. *Nature*, 2007, 448(7153): 561-566.
 31. Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, et al. EML4-ALK fusion is linked to histological characteristics in a subset of lung cancers[J]. *J Thorac Oncol*, 2008, 3(1): 13-17.
 32. Koivunen JP, Mermel C, Zejnullahu K, et al. EML4-ALK fusion gene and efficacy of an ALK kinase inhibitor in lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(13): 4275-4283.
 33. Zeng Z, Wu Y. Research progress in non-small cell lung cancer with concomitant EML4-ALK fusion gene and EGFR gene mutation[J]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*, 2011, 14(11): 880-884.
 34. Zhang X, Zhang S, Yang X, et al. Fusion of EML4 and ALK is associated with development of lung adenocarcinomas lacking EGFR and KRAS mutations and is correlated with ALK expression[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 188.
 35. Kuo YW, Wu SG, Ho CC, et al. Good response to gefitinib in lung adenocarcinoma harboring coexisting EML4-ALK fusion gene and EGFR mutation[J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5(12): 2039-2040.
 36. Tiseo M, Gelsomino F, Boggiani D, et al. EGFR and EML4-ALK gene mutations in NSCLC: a case report of erlotinib-resistant patient with both concomitant mutations[J]. *Lung Cancer*, 2011, 71(2): 241-243.
 37. Popat S, Vieira de Araújo A, et al. Lung adenocarcinoma with concurrent exon 19 EGFR mutation and ALK rearrangement responding to erlotinib[J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(11): 1962-1963.
 38. Tanaka H, Hayashi A, Morimoto T, et al. A case of lung adenocarcinoma harboring EGFR mutation and EML4-ALK fusion gene[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 558.
 39. Santelmo C, Ravaioli A, Barzotti E, et al. Coexistence of EGFR mutation and ALK translocation in NSCLC: literature review and case report of response to gefitinib[J]. *Lung Cancer*, 2013, 81(2): 294-296.
 40. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, et al. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: biological and clinical implications[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(24): 8919-8923.
 41. Pao W, Wang TY, Riely GJ, et al. KRAS mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib[J]. *PLoS Med*, 2005, 2(1): e17.
 42. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in

- lung cancers[J]. J Natl Cancer Inst, 2005, 97(5): 339-346.
43. Tam IY, Chung LP, Suen WS, et al. Distinct epidermal growth factor receptor and KRAS mutation patterns in non-small cell lung cancer patients with different tobacco exposure and clinicopathologic features[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(5): 1647-1653.
 44. Miyoshi S, Kato T, Katayama H, et al. A case of EGFR mutant lung adenocarcinoma that acquired resistance to EGFR-tyrosine kinase inhibitors with MET amplification and epithelial-to-mesenchymal transition[J]. Onco Targets Ther, 2015, 8: 783-787.
 45. Choughule A, Sharma R, Trivedi V, et al. Coexistence of KRAS mutation with mutant but not wild-type EGFR predicts response to tyrosine-kinase inhibitors in human lung cancer[J]. Br J Cancer, 2014, 111(11): 2203-2204.
 46. Yang JJ, Zhang XC, Su J, et al. Lung cancers with concomitant EGFR mutations and ALK rearrangements: diverse responses to EGFR-TKI and crizotinib in relation to diverse receptors phosphorylation[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(5): 1383-1392.

本文引用: 宋业颖, 许春伟, 吴永芳, 班怡, 张博, 邵云, 李晓兵. 非小细胞肺癌患者肿瘤组织中驱动基因的分子病理检测分析 [J]. 临床与病理杂志, 2015, 35(6): 970-977. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2015.06.020

Cite this article as: SONG Yeying, XU Chunwei, WU Yongfang, BAN Yi, ZHANG Bo, SHAO Yun, LI Xiaobing. The molecular pathology examination analysis of drive gene change in non-small cell lung cancer[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2015, 35(6): 970-977. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2015.06.020