

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.04.002

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.04.002>

· 论著 ·

276例手术切除肺腺癌亚型与EGFR/ALK基因状态

庄武¹, 钟礼花², 陈芳芳², 陈燕坪², 黄韵坚¹, 黄章洲¹, 卢建平²,
王晓江², 师怡², 林贤东², 许春伟², 陈刚²

(福建医科大学附属福建省肿瘤医院 1. 胸部肿瘤内科; 2. 病理科, 福州 350014)

[摘要] 目的: 探讨手术切除肺腺癌各亚型EGFR和ALK基因状态分布。方法: 应用ARMS方法检测手术切除肺腺癌石蜡组织中EGFR基因突变和ALK融合基因情况。结果: 276例肺腺癌手术样本中, EGFR基因突变率为54.71%(151/276), 其中19del为28.99%(80/276), L858R为23.19%(64/276), 20-ins为0.72%(2/276), L861Q为0.72%(2/276), G719X为1.09%(3/276), S768I为0.36%(1/276)和T790M为0.72%(2/276), 其中包含G719X+S768I, 19del+T790M, L858R+T790M各1例, ALK基因融合阳性率为5.80%(12/207), 在肺腺癌各亚型中EGFR基因突变附壁状腺癌, 腺泡状腺癌, 乳头状腺癌, 实体状腺癌和浸润性黏液腺癌之间差异有统计学意义($P<0.001$, $P=0.009$, $P=0.023$, $P<0.001$ 和 $P=0.030$), 与其他类型之间差异均无统计学意义($P>0.05$); 在肺腺癌各亚型中ALK融合基因突变各亚型之间差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论: 肺腺癌组织学亚型与EGFR基因突变有关, 附壁状腺癌、腺泡状腺癌和乳头状腺癌出现EGFR基因突变比其他亚型更加明显。

[关键词] 肺腺癌; 手术; EGFR基因; ALK基因; 突变率

EGFR/ALK gene status of 276 cases of surgically resected lung adenocarcinomas

ZHUANG Wu¹, ZHONG Lihua², CHEN Fangfang², CHEN Yanping², HUANG Yunjian¹, HUANG Zhangzhou¹,
LU Jianping², WANG Xiaojiang², SHI Yi², LIN Xiandong², XU Chunwei², CHEN Gang²

(1. Department of Medical Thoracic Oncology; 2. Department of Pathology, Fujian Cancer Hospital,
Fujian Medical University Cancer Hospital, Fuzhou 350014, China)

Abstract **Objective:** To investigate the mutations of EGFR gene and ALK fusion gene in surgically resected lung adenocarcinomas. **Methods:** ARMS method was used to detect the tissues in 276 patients of surgically resected lung adenocarcinomas with paraffin tissue EGFR gene mutation and ALK fusion gene. **Results:** The total mutation rate in 276 patients of surgically resected lung adenocarcinomas was 54.71% (151/276). EGFR gene mutation rate were found in 19del (28.99%, 80/276), L858R (23.19%, 64/276), 20-ins (0.72%, 2/276), L861Q (0.72%,

收稿日期 (Date of reception): 2016-12-09

通信作者 (Corresponding author): 黄韵坚, Email: 13805099580@126.com; 许春伟, Email: xuchunweibbb@163.com; 陈刚, Email: naichengang@126.com

基金项目 (Foundation item): 国家临床重点专科建设项目 (2013); 福建省科技厅引导性项目 (2015Y0011, 2016Y0019)。This work was supported by National Clinical Key Specialty Construction Program (2013), Leading Project Foundation of Science Department of Fujian Province (2015Y0011, 2016Y0019), China.

2/276), G719X (1.09%, 3/276), S768I (0.36%, 1/276) and T790M (0.72%, 2/276) in surgically resected lung adenocarcinomas, including one case of G719X+S768I, 19del+T790M, L858R+T790M, respectively. The total fusion positive rate in 207 patients of surgically resected lung adenocarcinomas was 5.80% (12/207). There were statistically significant ($P<0.001$, $P<0.001$, $P=0.023$, $P<0.001$ and $P=0.030$) in each subtype of lung adenocarcinoma of *EGFR* gene mutation, including lepidic predominant adenocarcinoma, acinar predominant adenocarcinoma, papillary predominant adenocarcinoma, solid predominant adenocarcinoma and invasive mucous adenocarcinoma, and there were not statistically significant ($P>0.05$) among other types. There were not statistically significant ($P>0.05$) among each types of lung adenocarcinoma of *ALK* fusion gene. **Conclusion:** Histologic subtyping was found to be associated with *EGFR* mutations. The *EGFR* mutation frequency of lepidic predominant, acinar predominant and papillary predominant subtypes was found to be more pronounced than that of other subtypes.

Keywords lung adenocarcinoma; surgery; *EGFR* gene; *ALK* gene; mutation rate

肺癌的发病率和病死率逐渐攀升, 已跃居恶性肿瘤之首, 其中非小细胞肺癌占80%~85%, 其中60%以上均为肺腺癌^[1-3], 在肺腺癌靶基因的研究中, IIIB~IV肺腺癌中*EGFR*基因和*ALK*基因状态已非常明朗^[4], *EGFR*基因和*ALK*基因状态与I~IIIA肺腺癌各亚型之间关系仍未明了, 本研究对福建医科大学附属福建省肿瘤医院2013年7月至2016年11月间经手术诊治的276例手术样本进行回顾性分析, 旨在了解肺腺癌各亚型与*EGFR*基因以及*ALK*基因相关性, 并结合相关文献进行讨论。

1 对象与方法

1.1 对象

收集福建医科大学附属福建省肿瘤医院2013年7月至2016年11月间经手术切除标本276例, 术前无任何化疗及放疗且有完整随访资料。组织学类型根据WHO(2015)肺肿瘤组织学分类确诊为肺腺癌^[5]。分期是根据AJCC癌症分期(第7版)。本研究经成员单位医院伦理学委员会批准, 所有患者均知情同意。

1.2 组织学评估

所有手术切除样本经4%中性甲醛液固定, 常规脱水, 石蜡包埋, 切片厚4 μm , 常规HE染色, 光镜观察。所有样本经两位及以上专家复诊, 平均每例样本复片8张以上。根据IASLC/ATS/ERS标准, 具体亚型分为非典型腺瘤性增生、原位腺癌、附壁状腺癌、腺泡状腺癌、乳头状腺癌、微

乳头状腺癌、实体状腺癌、浸润性黏液腺癌、胎儿型腺癌、肠型腺癌及微浸润性腺癌。

1.3 *EGFR* 基因和 *ALK* 融合基因检测

经病理质控确认样本中肿瘤含量超过80%后, 进行*EGFR*基因和*ALK*基因检测, 检测按照*EGFR*基因突变定性检测试剂盒(厦门艾德生物医药科技有限公司)和*ALK*融合基因定性检测试剂盒(厦门艾德生物医药科技有限公司)说明书提供的方法, 在Mx3000P实时荧光定量PCR仪(美国Stratagene公司)中进行扩增。*EGFR*基因检测位点包括: 18外显子(G719A, G719C, G719S); 19外显子[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), 223-2248_AAGAGAAG>C(L747-A750>P), 2239-2251>C(L747-T751>P), 2239-2258>CA(L747-P753>Q), 2254-2277del(S752-I759del), 2238-2255del12237A>T(L747-S752del, E746V), 2240-2251del(L747-A750del,T747S),

2239-2259del121>CAAC(L747-K754>QQ)]; 20外显子(V769-D770insASV, D770-N771insG, H773-V774insH, S768I, T790M); 21外显子(L858R, L861Q)。ALK融合基因检测位点包括: E6;A19, E6;A20, E6ins33;A20, E6;ins18A20, E13;A20, E13;ins69A20, E20;A20, E20;ins18A20, E14ins11;del149A20, E14;del114A20, E14;del38A20, E15del60;del71A20, E2;A20, E2;ins117A20, E3;ins53A20, E17;ins30A20, E17ins61;ins34A20, E17ins65;A20, E17;ins68A20, E17del58;ins39A20, E18;A20, KI17;A20, KI24;A20, KL9;A20, T4;A20。

1.4 统计学处理

所有数据采用SPSS19.0统计软件, 结果运用 χ^2 及Fisher确切概率法, 检验水准 $\alpha=0.05$, 并设定P值为双侧分布, 且以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病理特征

276例手术切除肺腺癌病例中男57.25%(158/276), 女42.75%(118/276); <65岁占76.09%(210/276), ≥ 65 岁占23.91%(66/276); 未吸烟占81.16%(224/276), 吸烟占18.84%(52/276); EGFR基因突变占54.71%(151/276), 未突变占45.29%(125/276); ALK基因融合阳性占5.80%(12/207), 融合阴性占94.20%(195/207); I期占39.13%(108/276), II期占14.13%(39/276), III期占46.74%(129/207); 病理亚型(IASLC/ATS/ERS): 非典型腺瘤性增生占0.36%(1/276), 原位腺癌占1.09%(3/276), 附壁状腺癌占37.32%(103/276), 腺泡状腺癌占69.57%(192/276), 乳头状腺癌占28.62%(79/276), 微乳头状腺癌占8.70%(24/276), 实体状腺癌占19.20%(53/276), 浸润性黏液腺癌占3.99%(11/276), 胎儿型腺癌占0.36%(1/276), 肠型腺癌占1.09%(3/276), 微浸润性腺癌占1.50%(4/276)(表1)。

表1 276例手术切除肺腺癌临床病理特征

Table 1 Clinicopathological features of 276 cases of surgically resected lung adenocarcinomas

临床特征	例数/%
性别	
男	158 (57.25)
女	118 (42.75)
年龄/岁	
<65	210 (76.09)
≥ 65	66 (23.91)
吸烟	
否	224 (81.16)
是	52 (18.84)
EGFR基因突变	
是	151 (54.71)
否	125 (45.29)
ALK基因融合*	
是	12 (5.80)
否	195 (94.20)
分期	
I	108 (39.13)
II	39 (14.13)
IIIA	129 (46.74)
病理亚型(IASLC/ATS/ERS)*	
非典型腺瘤性增生	1 (0.36)
原位腺癌	3 (1.09)
附壁状腺癌	103 (37.32)
腺泡状腺癌	192 (69.57)
乳头状腺癌	79 (28.62)
微乳头状腺癌	24 (8.70)
实体状腺癌	53 (19.20)
浸润性黏液腺癌	11 (3.99)
胎儿型腺癌	1 (0.36)
肠型腺癌	3 (1.09)
微浸润性腺癌	4 (1.50)

*ALK融合基因检测207例, 69例未做ALK融合基因检测; *同一例病例可能同时存在2~5种亚型。

*207 cases make ALK fusion gene detection, and 69 cases do not make ALK fusion gene detection; *one case may have 2-5 kinds of subtypes.

2.2 EGFR 和 ALK 基因状态分析

276例肺腺癌手术样本中, EGFR基因突变率为54.71%(151/276), 其中19del为28.99%(80/276), L858R为23.19%(64/276), 20-ins为0.72%(2/276), L861Q为0.72%(2/276), G719X为1.09%(3/276), S768I为0.36%(1/276)和T790M为0.72%(2/276), 其中包含G719X+S768I, 19del+T790M, L858R+T790M各1例, ALK基因融合阳性率为5.80%(12/207)。其中非典型瘤样增生1例, 为EGFR基因18外显子G719A点突变, 未见ALK基因融合; 原位腺癌EGFR基因突变率为66.67%(2/3), 其中19del 1例, G719A 1例, ALK基因融合阳性率为0(0/3); 附壁状腺癌EGFR基因突变率为72.82%(75/103), 其中19del突变率为37.86%(39/103), L858R突变率为33.01%(34/103), L861Q突变率为0.97%(1/103), T790M突变率为1.94%(2/103), 其中包含19del+T790M和L858R+T790M各1例, ALK基因融合阳性率为3.75%(3/80); 腺泡状腺癌EGFR基因突变率为59.90%(115/192), 其中19del突变率为32.81%(63/192), L858R突变率为23.96%(46/192), L861Q突变率为1.04%(2/192), T790M突变率为0.52%(1/192), 其中包含G719X+S768I和L858R+T790M各1例,

ALK基因融合阳性率为4.52%(7/155); 乳头状腺癌EGFR基因突变率为63.46%(66/104), 其中19del突变率为29.81%(31/104), L858R突变率为28.85%(30/104), 20-ins突变率为1.92%(2/104), L861Q突变率为1.92%(2/104), G719X突变率为0.96%(1/104), T790M突变率为0.96%(1/104), 其中包含L858R+T790M 1例, ALK基因融合阳性率为1.29%(2/79); 微乳头状腺癌EGFR基因突变率为58.33%(14/24), 其中19del突变率为20.83%(5/24), L858R突变率为37.50%(9/24), G719X突变率为4.17%(1/24), ALK基因融合阳性率为13.04%(3/23); 实体状腺癌EGFR基因突变率为32.08%(17/53), 其中19del突变率为15.09%(8/53), L858R突变率为15.09%(8/53), G719X突变率为1.89%(1/53), S768I突变率为1.89%(1/53), 其中包含G719X+S768I 1例, ALK基因融合阳性率为8.33%(4/48); 浸润性黏液腺癌EGFR基因突变率为18.18%(2/11), 均为19del突变, 未发现ALK基因融合; 胎儿型腺癌1例, 未发现EGFR基因突变, 未做ALK基因融合; 肠型腺癌3例, 均未发现EGFR基因突变和ALK基因融合; 微浸润性腺癌EGFR基因突变率为50.00%(2/4), 均为L858R突变, 未发现ALK基因融合(表2)。

表2 肺腺癌组织亚型与EGFR/ALK状态关系

Table 2 Relationship between lung adenocarcinoma tissue subtype and EGFR/ALK state

病理亚型	EGFR		P	ALK		P
	突变型	野生型		融合阳性	融合阴性	
非典型腺瘤性增生			1.000			1.000
是	1	0		0	1	
否	150	125		12	194	
原位腺癌			1.000			1.000
是	2	1		0	3	
否	149	124		12	192	
附壁状腺癌			<0.001			0.487
是	75	28		3	77	
否	76	97		9	118	
腺泡状腺癌			0.009			0.173
是	115	77		7	148	
否	36	48		5	47	

表2 (续)

病理亚型	EGFR			ALK		
	突变型	野生型	P	融合阳性	融合阴性	P
乳头状腺癌			0.023			0.203
是	66	38		2	77	
否	85	87		10	118	
微乳头状腺癌			0.709			0.270
是	14	10		3	20	
否	137	115		9	175	
实体状腺癌			<0.001			0.613
是	17	36		4	44	
否	134	89		8	151	
浸润性黏液腺癌			0.030			1.000
是	2	9		0	6	
否	149	116		12	189	
胎儿型腺癌			0.924			—
是	0	1		0	0	
否	151	124		12	195	
肠型腺癌			0.183			1.000
是	0	3		0	3	
否	151	122		12	192	
微浸润性腺癌			1.000			1.000
是	2	2		0	3	
否	149	123		12	192	

2.3 EGFR 和 ALK 基因状态与肺腺癌组织亚型关系

在肺腺癌各亚型中 EGFR 基因突变附壁状腺癌, 腺泡状腺癌, 乳头状腺癌, 实体状腺癌和浸润性黏液腺癌之间比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$, $P = 0.009$, $P = 0.023$, $P < 0.001$ 和 $P = 0.030$), 其他类型差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 在肺腺癌各亚型中 ALK 融合基因突变各亚型比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

2015 版 WHO 肺肿瘤组织学分类基于国际肺癌研究协会 (International Association for the Study of Lung Cancer, IASLC)、美国胸科学会 (American Thoracic Society, ATS) 和欧洲呼吸学会 (European Respiratory Society, ERS) 提出了 2011 年国际多学科肺腺癌分类, 将肺腺癌部分分为非典型腺瘤性增生、原位腺癌、附壁状腺癌、腺泡状腺癌、乳头状腺癌、微乳头状腺癌、实体状腺癌、浸润性黏液腺癌、胎儿型腺癌、肠型腺癌和微浸润性腺

癌^[5]。特别是 EGFR 基因突变, ALK 融合基因存在的晚期肺腺癌患者, EGFR-TKI, ALK-TKI 治疗发挥重要作用, 但是在早中期肺腺癌患者中 EGFR 基因突变和 ALK 融合基因的研究并不多^[6-10], 也存在一定的争议性。EGFR 基因突变方面, Shim 等^[6]在 107 例手术切除的肺腺癌病例中发现在附壁状腺癌和微乳头状腺癌中 EGFR 基因突变更加频繁。Sun 等^[7]在 249 例手术切除的肺腺癌中突变率为 55.4%, 其中腺泡状腺癌为 56.7%, 乳头状腺癌为 70.0%, 微乳头状腺癌为 50.0%。Zhang 等^[8]在 349 例肺腺癌中发现腺泡状腺癌比其他亚型存在更多的 EGFR 基因突变。ALK 融合基因方面, 张楚等^[11]研究发现 ALK 融合基因阳性的腺癌中, 最常见的为腺泡状腺癌, 其次为乳头状腺癌, 再次为实体状腺癌 (印戒细胞样)。本研究中我们系统性分析了肺腺癌各大亚型的 EGFR 基因突变和 ALK 融合基因的情况, 发现腺泡状腺癌、附壁状腺癌和乳头状腺癌出现 EGFR 基因比其他亚型更加明显, 实体状腺癌 EGFR 基因明显比其他亚型偏低, 肠型腺癌几乎不发生 EGFR 基因突变, 这与我们之前的研究也一

致^[12-13]。同样实体状腺癌、腺泡状腺癌、附壁状腺癌及微乳头状腺癌中ALK融合基因发生更加频繁。

总之,肺腺癌组织学亚型与EGFR基因突变有关,附壁状腺癌、腺泡状腺癌和乳头状腺癌出现EGFR基因比其他亚型更加明显。肺腺癌组织学亚型与ALK融合基因关系不显著,但在实体状腺癌,腺泡状腺癌,附壁状腺癌和微乳头状腺癌中ALK融合基因也频繁发生。

参考文献

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1):7-30.
2. Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
3. Sher T1, Dy GK, Adjei AA. Small cell lung cancer[J]. Mayo Clin Proc, 2008, 83(3): 355-367.
4. 许春伟, 王海艳, 吴永芳, 等. 2771例肺肿瘤临床病理特征分析[J].临床与病理杂志, 2016, 36(2): 173-184.
XU Chunwei, WANG Haiyan, WU Yongfang, et al. 2 771 cases of clinicopathological analysis of pulmonary neoplasm[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2016, 36(2): 173-184.
5. 许春伟, 张博, 林冬梅. WHO(2015)肺肿瘤组织学分类[J].诊断病理学杂志, 2015, 22(12): 815-816.
XU Chunwei, ZHANG Bo, LIN Dongmei. WHO(2015) Classification of tumours of the lung[J]. Chinese Journal of Diagnostic Pathology, 2015, 22(12): 815-816.
6. Shim HS, Lee DH, Park EJ, et al. Histopathologic characteristics of lung adenocarcinomas with epidermal growth factor receptor mutations in the International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society lung adenocarcinoma classification[J]. Arch Pathol Lab Med, 2011, 135(10): 1329-1334.
7. 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.
8. 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.
9. Ang DC, Zakowski MF, Ladanyi M, et al. Characteristic morphology and immunoprofile of lung adenocarcinoma with KRAS mutations: propensity for solid growth pattern and correlation with TTF-1 expression[J]. Mod Pathol, 2010, 23: 396A.
10. Russell PA, Barnett SA, Walkiewicz M, et al. Correlation of mutation status and survival with predominant histologic subtype according to the new IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification in stage III (N2) patients[J]. J Thorac Oncol, 2013, 8(4): 461-468.
11. 张楚, 王琳, 赵建华, 等. 13例EML4-ALK融合基因阳性非小细胞肺癌的临床病理分析[J]. 临床肿瘤学杂志, 2013, 18(5): 438-441.
ZHANG Chu, WANG Lin, ZHAO Jianhua, et al. Clinicopathological research on 13 patients with non-small cell lung cancer of EML4-ALK gene positive expression[J]. Chinese Clinical Oncology, 2013, 18(5): 438-441.
12. 林莉, 许春伟. 肺肠型腺癌6例诊疗分析并文献复习[J].临床与病理杂志, 2016, 36(8): 1134-1139.
LIN Li, XU Chunwei. Diagnosis and treatment analysis of lung enteric adenocarcinoma: 6 case report and review of the literature[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2016, 36(8): 1134-1139.
13. Lin LI, Xu CW, Zhang BO, et al. Clinicopathological observation of primary lung enteric adenocarcinoma and its response to chemotherapy: A case report and review of the literature[J]. Exp Ther Med, 2016, 11(1): 201-207.

本文引用: 庄武, 钟礼花, 陈芳芳, 陈燕坪, 黄韵坚, 黄章洲, 卢建平, 王晓江, 师怡, 林贤东, 许春伟, 陈刚. 276例手术切除肺腺癌亚型与EGFR/ALK基因状态[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37(4): 661-666. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.04.002

Cite this article as: ZHUANG Wu, ZHONG Lihua, CHEN Fangfang, CHEN Yanping, HUANG Yunjian, HUANG Zhangzhou, LU Jianping, WANG Xiaojiang, SHI Yi, LIN Xiandong, XU Chunwei, CHEN Gang. EGFR/ALK gene status of 276 cases of surgically resected lung adenocarcinomas[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2017, 37(4): 661-666. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.04.002