

非小细胞肺癌患者组织 EGFR 基因突变状况及预后分析*

刘延梅^a, 马少君^b, 马庆^a, 张静^a

(陕西省人民医院 a. 西院二病区; b. 放射科, 西安 710068)

摘要:目的 分析非小细胞肺癌(NSCLC)患者组织表皮生长因子受体(EGFR)基因突变状况、临床病理相关性以及表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKI)EGFR-TKIs治疗的结果。方法 选取陕西省人民医院2014年1月~2017年5月一线口服EGFR-TKIs并进行EGFR检测的NSCLC患者111例,分析患者EGFR基因的突变状态、临床病理特征及对患者进行长期随访并评价预后。结果 在111个被评估样本中,EGFR基因突变34例(30.6%),女性明显高于男性,差异具有统计学意义(44% vs 19.7%, $\chi^2=7.65$, $P=0.0072$)。吸烟者明显高于不吸烟者,差异具有统计学意义(41.4% vs 12.2%, $\chi^2=10.40$, $P=0.0013$)。其中外显子19缺失突变19例(71%),外显子21点突变21例(25%)。肺腺癌EGFR突变率明显高于非腺癌的NSCLC,差异具有统计学意义(34.7% vs 6.3%, $\chi^2=5.29$, $P=0.018$)。使用一线TKIs治疗患者中,EGFR基因突变患者中位无进展生存时间(progression free survival, PFS)明显长于野生型患者,差异具有统计学意义(10个月 vs 3个月, $P<0.0001$),EGFR基因突变患者中位总生存时间(overall survival, OS)明显长于野生型患者,差异具有统计学意义(20个月 vs 9个月, $P=0.0002$)。结论 NSCLC患者进行EGFR基因突变检测具有重要性,EGFR基因突变与性别及吸烟状况相关,EGFR基因状态可为EGFR-TKIs的一线治疗提供有效依据,EGFR基因突变患者一线EGFR-TKIs口服治疗的预后优于野生型患者。

关键词:表皮生长因子受体突变;非鳞状非小细胞肺癌;酪氨酸激酶抑制剂

中图分类号:R734.2;R730.43 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2019)01-022-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2019.01.006

Analysis of the Status and Outcome of Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer Patients

LIU Yan-mei^a, MA Shao-jun^b, MA Qing^a, ZHANG Jing^a

(a. the Second Ward of West Department;

b. Department of Radiology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the status of EGFR mutations in patients with NSCLC, clinico-pathological correlation and outcome to treatment with EGFR TKIs. **Methods** A total of 111 NSCLC patients with advanced oral EGFR-TKIs in Shaanxi Provincial People's Hospital from January 2014 to May 2017 were tested for EGFR gene mutation status, clinico-pathologic features, and all patients were received long-term follow-up and prognosis evaluation. **Results** EGFR mutations were seen in 30.6% of the 111 evaluable specimens, with a significantly higher rate in females (44% vs 19.7%, $\chi^2=7.65$, $P=0.0072$) as compared to men and non-smokers (41.4% vs 12.2%, $\chi^2=10.40$, $P=0.0013$) as against smokers. Most common mutations were observed in exons 19 (71%) and 21 (25%). The EGFR mutation rate in patients with lung adenocarcinoma was significantly higher than that of patients with other no-adenocarcinoma types of NSCLC (34.7% vs 6.3%, $\chi^2=5.29$, $P=0.018$). The estimated median progression free survival for patients with and without mutations when treated with upfront TKIs was 12 months and 3 months respectively and the estimated median overall survival for patients with and without mutations was 20 and 9 months respectively. There were significant difference in PFS and OS ($P<0.0001$, $P=0.0002$). **Conclusion** This study further establishes the importance of upfront EGFR mutation testing in all NSCLC patients, the status of the mutation of EGFR gene were related to gender and smoking status, which can predict abenefit from EGFR-TKIs given as first-line therapy, and the prognosis of first-line oral egfr-tkis is better than that of wild-type patients. **Keywords:** epidermal growth factor receptor mutations; non-squamous non-small cell lung cancer; tyrosine-kinase inhibitor

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,在中国,肺癌的发病率和死亡率均位居所有恶性肿瘤的首位^[1],肺癌的两种主要形式是非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)和小细胞肺癌(small-cell

* 基金项目:陕西省自然科学基金项目(编号:2017JM8174),陕西科学技术研究发展计划项目(编号:2012K-16-01-01)。

作者简介:刘延梅(1976—),女,副主任医师,从事呼吸、内分泌、老年病治疗工作, E-mail: ma20020407@163.com。

通讯作者:马少君(1975—),男,副主任医师,从事呼吸、消化疾病影像诊断工作。

lung cancer, SCLC), 非小细胞肺癌约占所有肺癌的80%~85%^[2]。肺腺癌的发病率已超过肺鳞癌, 超过四分之三的肺癌患者在诊断时处于晚期(Ⅲ期和Ⅳ期), 导致更高的死亡^[3]。近年来, 表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)等靶向药物已经成为晚期非小细胞肺癌(NSCLC)重要的治疗方式之一, 一系列国内外临床研究已证实EGFR靶向治疗能显著降低在EGFR-TKIs基因突变的晚期NSCLC患者疾病进展或死亡风险, 改善患者生活质量, 而这些临床研究和系统分析均指出EGFR基因突变检测是晚期肺癌患者使用EGFR-TKIs治疗的先决条件, 本研究旨在探讨NSCLC患者组织中EGFR基因突变状况及其与EGFR-TKI疗效的相关性。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2014年1月~2017年5月陕西省人民医院住院治疗的NSCLC患者石蜡包埋组织标本共111例, 其中男性61例, 平均年龄 57.5 ± 5.6 岁, 女性50例, 平均年龄 56.8 ± 7.2 岁; 肺腺癌95例, 其他非小细胞肺癌16例, I和Ⅱ期患者5例, Ⅲ和Ⅳ期患者106例。所有患者确诊后一线经EGFR-TKIs治疗, 每天服用吉非替尼250 mg, 每天一次, 厄洛替尼150 mg, 每天一次或埃克替尼125 mg, 每天三次, 靶向治疗期间未接受其他放化疗、粒子植入及手术治疗, 所有患者均选取肺组织样本。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 试剂: 石蜡切片样品DNA提取试剂选用厦门艾德生物医药科技股份有限公司的核酸提取试剂(型号: FFPE DNA, Cat NO. ADx-FF01); EGFR基因检测使用荧光PCR法, 采用艾德生物公司人类EGFR基因突变检测试剂盒(货号: ADx-EG01-SL, ADx-EG08-SL)。

1.2.2 仪器: ABI7500荧光定量扩增仪(美国ABI公司), Nanodrop 2000微量分光光度计(美国Nanodrop公司)。

1.3 检测方法

1.3.1 石蜡样本DNA提取: 由病理医师确定肿瘤区域后, 用一次性手术刀片刮取5~10 μm 石蜡切片5~10张到EP管中, 按照FFPE核酸提取试剂盒的说明书提取DNA。

1.3.2 EGFR基因荧光扩增: 提取的DNA通过Nanodrop微量分光光度计测定DNA浓度和质量, 将DNA浓度稀释到1~3 ng/L, 按照人类EGFR基因突变检测试剂盒说明书的程序扩增并分

析结果。

1.4 随访方法生存评价指标

1.4.1 随访方法: 自患者开始接受化疗即开始随访, 每两个化疗周期进行疗效评估, 化疗结束后每3个月门诊随访, 随访时间为: 健在患者随访至今, 死亡患者随访至死亡时间。根据病情需要可行胸片、CT等相关检查。

1.4.2 生存评价指标: 随访患者无进展生存时间(PFS)和总生存时间(OS)。定义PFS为从检测分组开始到第一次肿瘤进展或死亡时间, OS为从检测分组开始至任何原因引起死亡的时间。

1.5 统计学分析 所有数据采用SPSS 17.0统计软件包进行处理, 计数资料采用 χ^2 检验及Fisher精确概率法, Kaplan Meier法绘制生存曲线, 生存率差异采用log-rank检验, 当 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC患者EGFR基因突变类型分析 共有111例NSCLC患者进行了EGFR基因突变的检测, 34例EGFR基因突变, 突变率30.6%, 其中19外显子缺失突变24例(70.6%, 24/34), 第21外显子L858R点突变10例(29.4%, 10/34)。

2.2 NSCLC患者临床病理特征与EGFR表达关系 见表1。女性NSCLC患者的EGFR基因突变率(44%)明显高于男性患者(19.6%), 差异具有统计学意义($\chi^2 = 7.65$, $P = 0.0072$)。不吸烟NSCLC患者的EGFR基因突变率(41.4%)明显高于吸烟NSCLC患者(12.2%), 差异具有统计学意义($\chi^2 = 10.40$, $P = 0.0013$)。年龄 < 60 岁的NSCLC患者EGFR基因突变率(35%)与年龄 ≥ 60 岁患者(25.4%)相比差异无统计学意义($\chi^2 = 1.17$, $P = 0.27$)。EGFR基因突变与疾病的组织学和分期无关($P > 0.05$)。肺腺癌患者EGFR基因突变率(34.7%)明显高于非腺癌的NSCLC患者(6.3%), 差异具有统计学意义($\chi^2 = 5.29$, $P = 0.018$)。TNM分期各期NSCLC患者EGFR基因突变率差异无统计学意义($\chi^2 = 1.87$, $P = 0.39$)。

2.3 EGFR基因突变与PFS及OS关系 一线TKIs治疗EGFR基因突变患者的无进展生存期中位时间为12个月, 而野生型EGFR患者的无进展生存期中位时间为3个月, 经log-rank(Mantel-Cox)统计学分析 $P < 0.0001$, EGFR基因突变患者的总体存活时间也明显高于野生型患者(20个月 vs 9个月), 经log-rank(Mantel-Cox)统计学分析 $P = 0.0002$ 。见图1。

表1 NSCLC 患者 EGFR 突变状况与临床病理特征的关系[$n=111, n(\%)$]

项 目		n	EGFR 基因状况		χ^2	P
			突变型($n=34$)	野生型($n=77$)		
年龄	<60 岁	60	21(35)	39(65)	1.17	0.27
	≥60 岁	51	13(25.5)	38(74.5)		
性别	男	61	12(19.7)	49(80.3)	7.65	0.007 2
	女	50	22(44)	28(56)		
组织学分型	腺癌	95	33(34.7)	62(65.3)	5.29	0.018*
	非腺癌	16	1(6.3)	15(93.7)		
吸烟状况	吸烟	41	5(12.2)	36(87.8)	10.40	0.001 3
	不吸烟	70	29(41.4)	41(59.6)		
TNM 分期	I	1	0	1(100)	1.87	0.39*
	II	4	1(25)	3(75)		
	III	7	4(57.1)	3(42.9)		
	IV	99	29(29.3)	70(70.7)		

注：* Fisher 精确概率法。

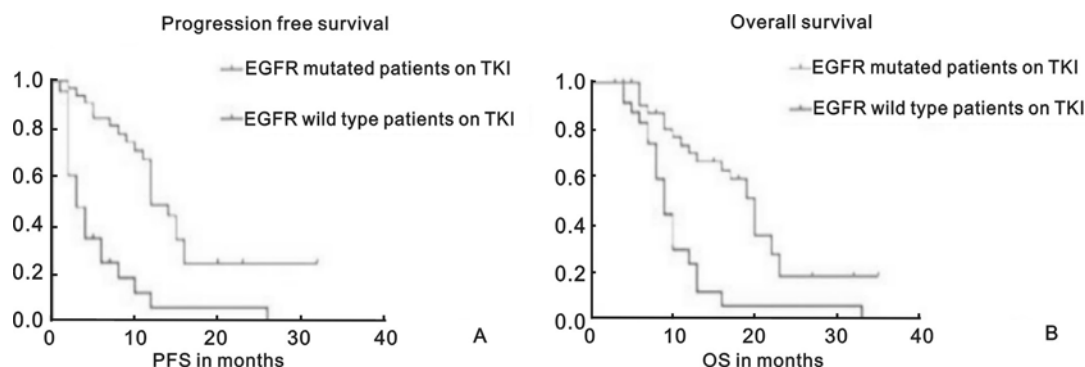


图1 A. EGFR 基因突变型与野生型患者的 PFS 曲线;B. EGFR 基因突变型与野生型患者的 OSF 曲线

3 讨论 EGFR 是一种跨膜酪氨酸激酶受体,该受体激酶域的激活对癌细胞增殖、生长的相关信号传递具有重要意义,EGFR 基因主要的突变为 19 外显子缺失(约占 45%)和 21 外显子 L858R 突变(约占 40%)^[4],二者均可导致酪氨酸激酶结构域活化,且均为 EGFR-TKIs 的敏感性突变,非小细胞肺癌 EGFR 基因突变的发现和对 TKIs 的敏感性是近十年来在 NSCLC 患者治疗方面取得的重大突破^[5],近年来 EGFR-TKIs 已逐渐成为 EGFR 基因突变的晚期 NSCLC 患者的一线标准治疗手段,多项研究证明 EGFR 酪氨酸激酶域的激活突变,主要发生在细胞酪氨酸激酶区的 19、21 外显子上,特别是 19 外显子缺失突变和 21 外显子的替代突变(L858R),是 EGFR-TKIs 疗效和预后的最佳预测因子^[6]。NSCLC 中 EGFR 基因突变状况在不同种族间差异很大,有报道显示在北美和欧洲,这一比例为 10%~15%,而在包括中国、韩国和日本在内的东亚地区,这一比例为 26%~30%^[7],本研究 EGFR 基因突变率为 30.6%,在所有 EGFR 突变的患者中,女性约占三分之二(64.7%),非吸

烟者占 85.3%,略高于文献报道,可能与样本数较少有关。EGFR 基因突变已被发现与腺癌组织学、妇女和非吸烟者高度相关^[8],在本研究中,EGFR 基因突变率在腺癌组织学更高,差异具有统计学意义($\chi^2=5.29, P=0.018$),而女性(44%)和非吸烟者(41.4%)的 EGFR 基因突变率明显高于男性和吸烟者,差异具有统计学意义($\chi^2=7.65, P=0.0072; \chi^2=10.40, P=0.0013$),这与国内外文献报道的结果一致。

研究显示^[9],如果 EGFR 基因突变检测只局限于女性 31%的患者将会漏诊,如果 EGFR 基因突变检测只局限于不吸烟者将会有 40%的患者漏诊,如果 EGFR 突变检测局限于女性从不抽烟 57%的患者会漏诊,本研究中 30.6%患者的 EGFR 突变,EGFR 基因突变检测诊断使其受益于 TKI 治疗。全世界越来越多的学者达成共识,如果组织是可用的和尽可能的获取的话,所有病理诊断 NSCLC 的患者都应该进行 EGFR 基因突变检测诊断^[10]。本研究 EGFR 基因突变类型的频率,75%的患者外显子 19 的缺失突变,25%的患者外

显子 21 的 L858R 点突变,根据已发表的文献^[11],大约有 45%~54% 的 EGFR 基因突变是 19 外显子的缺失突变,40% 的 EGFR 突变是 21 外显子 L858R 的点突变,4%~9% 的突变是 20 外显子突变的报道,有所差异。

EGFR 酪氨酸酶抑制剂(EGFR-TKIs)已经被世界各地接受为激活 EGFR 突变的患者的标准一线治疗手段,在生存分析方面,在本研究中使用 TKIs 治疗的 EGFR 基因突变患者无进展生存期 PFS 中位数(12 个月)明显长于使用一线 TKIs 治疗的 EGFR 阴性患者(3 个月),通过 log-rank(Mantel Cox)统计学分析, $P < 0.0001$ 。EGFR 基因突变患者 20 个月时的总体生存中位数(OS)明显长于 EGFR 阴性患者的总体生存中位数(9 个月),通过 log-rank(Mantel Cox)统计学分析, $P = 0.0002$,均具有统计学差异。我们的结果与 Noronha 等^[12]人最近发表的数据相当,他们报道 TKIs 治疗 EGFR 野生型和 EGFR 突变患者的中位 PFS 分别为 4 个月和 10 个月,突变型和野生型 EGFR 患者的中位 OS 分别为 21 个月和 10 个月。在无 EGFR 基因突变的患者中,TKI 治疗的存活率差异可能是由于缺乏高灵敏度的方法来检测 EGFR 基因突变,很有可能少数被标记为 EGFR 野生型的患者可能实际上已经存在基因突变,而以现有检测方法无法检测到这种突变。

综上所述,在我们的研究中 EGFR 基因突变状况和临床特征及预后相关性与文献报道相近,而且在 EGFR 酪氨酸酶抑制剂(EGFR-TKIs)治疗下,患者无进展生存率和总体生存率显著提高,这些数据表明 EGFR 基因突变检测应作为 NSCLC 患者靶向治疗的筛查条件,以便更多的 NSCLC 患者能受益于 EGFR-TKIs 治疗。

参考文献:

- [1] CHEN Wanqing, ZHONG Rongshou, BAAD P D, et al. Cancer statistics in China 2015[J]. CA A Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] RECK M, HEIGENER D F, MOK T, et al. Management of non-small cell lung cancer: recent developments[J]. Lancet, 2013, 382(9893): 709-719.
- [3] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2015[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2015, 65(1): 5-29.
- [4] SHARMA S V, BELL D W, SETTLEMAN J, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(3): 169-181.
- [5] LYNCH T J, BELL D W, 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(2): 2129-2139.
- [6] PAEZ J G, JÖNNE P A, LEE J C, et al. EGFR mutations in lung cancer: Correlation with clinical response to gefitinib therapy[J]. Science, 2004, 304(5676): 1497-1500.
- [7] 喻晶, 李运雷, 刘晓翌. 非小细胞肺癌患者不同类型样本中表皮生长因子受体基因突变的差异研究[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(4): 31-33.
- YU Jing, LI Yunlei, LIU Xiaoyi, et al. Detection of epidermal growth factor receptor gene mutation in different sample types of 238 patients with non-small cell lung cancer[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(4): 31-33.
- [8] 张永庆, 尚立群, 苗毅, 等. 表皮生长因子受体基因突变与非小细胞肺癌病理的相关性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(6): 78-80.
- ZHANG Yongqing, SHANG Liqun, MIAO Yi, et al. Analysis of the correlation between mutations of the epidermal growth factor receptor gene and pathological of non small cell lung cancer[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(6): 70-80.
- [9] DOGAN S, SHEN R, ANG D C, et al. Molecular epidemiology of EGFR and KRAS mutations in 3 026 lung adenocarcinomas: Higher susceptibility of women to smoking-related KRAS-mutant cancers[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(22): 6169-6177.
- [10] WU Yilong, ZHONG Wenzhao, LI Longyun, et al. Epidermal growth factor receptor mutations and their correlation with gefitinib therapy in patients with non-small cell lung cancer: A meta-analysis based on updated individual patient data from six medical centers in mainland China[J]. J Thorac Oncol, 2007, 2(5): 430-439.
- [11] D'ANGELO S P, PIETANZA M C, JOHNSON M L, et al. Incidence of EGFR exon 19 deletions and L858R in tumor specimens from men and cigarette smokers with lung adenocarcinomas[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(15): 2066-2070.
- [12] NORONHA V, PRABHASH K, THAVAMANI A, et al. EGFR mutations in indian lung cancer patients: Clinical correlation and outcome to EGFR targeted therapy[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61561.