短篇论著

DOI:10.16016/j.1000-5404.201410069

264例肺腺癌患者EGFR基因突变及TKI类药物临床疗效分析

刘 冰[1],刘 毅[2],刘 雪[3],汤传昊[1],李晓燕[1] (100071 北京,军事医学科学院附属医院:肺癌内科[1],肿瘤分子生物学研究室[2];300161 天津,总后军交运输研究所卫生所[3])

[摘要] **目的** 分析肺腺癌患者EGFR 19、21基因突变的发生率,以及野生型和突变型患者对EGFT-TKI治疗的有效率。**方法** 收集2011年7月至2013年7月在我科诊治的肺腺癌患者病理组织或体液标本264例,采用DNA直接测序法检测EGFR 19、21外显子突变情况。回顾性分析进行EGFR-TKI分子靶向药物治疗的患者临床疗效。**结果** 264例标本中有72例(27.3%)被检测出具有EGFR 19缺失突变或EGFR 21 L858R外显子点突变,其中EGFR 19缺失突变率和EGFR 21 L858R点突变率分别是15.1%和12.1%。另发现EGFR 19 P753L、EGFR 21 L861Q和EGFR 21 L861P等少见突变。在接受EGFR-TKI类药物治疗的患者中,突变阳性患者的疾病控制率明显优于突变阴性患者(87.0% *vs* 55.9%, $P<0.01$),EGFR 19缺失突变患者的疾病控制率也明显优于EGFR 21 L858R点突变患者(94.4% *vs* 60.0%, $P<0.01$),且TKI治疗毒性小,耐受性良好。**结论** EGFR基因突变在肺腺癌患者中较为常见,其中以EGFR 19外显子缺失和EGFR 21外显子L858R点突变最为常见,这类患者对TKI类药物具有更好的临床疗效,特别是EGFR 19缺失突变。

[关键词] 肺腺癌;表皮生长因子受体;酪氨酸激酶抑制剂
[中图法分类号] R181.24;R730.53;R734.2 [文献标志码] A

晚期非小细胞肺癌的标准一线治疗是以铂类为基础的两药联合化疗,疗效已达平台期,治疗有效率20%~35%,中位生存期10~12个月[1-3]。随着表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)吉非替尼和厄洛替尼的出现,晚期非小细胞肺癌的治疗发生了巨大变革。早期研究表明,14%~18%的非小细胞肺癌患者对TKI类药物可产生显著疗效[4]。随着研究的深入,人们发现EGFR 19、21外显子突变与TKI类药物的疗效存在密切联系。国外多项临床研究表明,具有EGFR 19外显子缺失突变和EGFR 21外显子L858R点突变的患者应用TKI靶向治疗有效率可高于70%,疾病控制率更高达90%[5-6],同时这两种突变类型无论从发生率、TKI治疗的疗效还是无疾病进展时间都有所差别[7]。为了验证上述观点,本研究收集军事医学科学院附属医院诊治的部分肺腺癌患者病理组织或体液标本,进行突变检测,分析EGFR-TKI分子靶向治疗的临床疗效。

1 材料与方法

1.1 临床资料

收集2011年7月至2013年7月在我院诊治的肺腺癌患者(均经病理组织学活检明确)264例临床资料,其中男性138例,女性126例,年龄30~84岁,平均55岁。140例吸烟、124例不吸烟。标本组成:石蜡组织124例,穿刺或手术获得的新鲜组织14例,胸水73例,血浆53例。

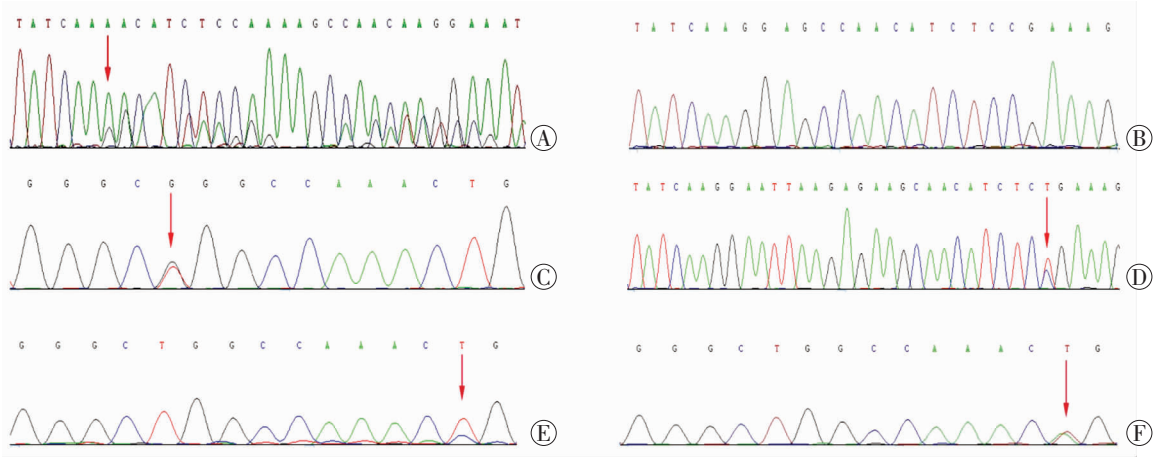
1.2 方法

1.2.1 突变检测 应用直接测序法对肿瘤组织或体液标本进行EGFR 19、21外显子突变检测。①石蜡组织采用Qiagen公司的QIAamp® DNA FFPE Tissue试剂盒,新鲜组织采用大连宝生物的通用型基因组DNA提取试剂盒,胸水和血浆采用Qiagen公司的QIAamp® DNA Mini and Blood Mini试剂盒,分别提取基因组DNA。操作按照试剂盒使用说明书进行。提取所得DNA于-20 ℃冰箱中保存备测。②分别给予外引物和内引物。引物序列见表1。③巢式PCR。第1轮扩增:25 μL体系,包括2 μL模板,0.2 μL EX *Taq*酶,2.5 μL缓冲液,2 μL dNTP,双蒸水补齐。扩增条件:94 ℃ 3 min→94 ℃ 1 min→59 ℃ 45 s→72 ℃ 1 min(32个循环)→72 ℃ 10 min→4 ℃保存。第2轮扩增:50 μL体系为5 μL一轮产物,0.4 μL EX *Taq*酶,5 μL缓冲液,4 μL dNTP,双蒸水补齐。扩增条件同第1轮。④PCR扩增产物经电泳确认条带正确后送英骏公司测序。

[通信作者] 刘 冰,E-mail liubing307@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141217.1328.003.html(2014-12-17)

表 1 EGFR 19 和 21 外显子引物序列

EGFR	正义链	反义链
19 外显子内引物	5′-GTGCATCGCTGGTAACATCC-3′	5′-TGTGGAGATGAGCAGGGTCT-3′
19 外显子外引物	5′-AAATAATCAGTGTGATTCGTGGAG-3′	5′-GAGGCCAGTGCTGTCTCTAAGG-3′
21 外显子内引物	5′-GCTCAGAGCCTGGCATGAA-3′	5′-CATCCTCCCCTGCATGTGT-3′
21 外显子外引物	5′-GCAGCGGGTTACATCTTCTTTC-3′	5′-CAGCTCTGGCTCACACTACCAG-3′



A:EGFR 19 外显子缺失突变;B:EGFR 19 外显子纯合子缺失突变;C:EGFR 21 外显子 L858R 点突变;D:EGFR 19 外显子 P753L 点突变;E:EGFR 21 外显子 L861P 点突变;F:EGFR 21 外显子 L861Q 点突变 ↑:示突变点

图 1 典型的突变结果

1.2.2 临床用药 回顾性分析服用 EGFR-TKI 类药物吉非替尼(250 mg/d)或厄罗替尼(150 mg/d)的临床疗效,第 2 个月复查胸部 CT 确认疗效。疗效评价应用 RESCIST 标准。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 10.0 统计软件,计数资料采用 χ^2 检验。

2 结果

264 例肺腺癌患者中 72 例(27.3%)被检测出存在 EGFR 19 缺失或 EGFR 21L858R 点突变(表 2)。其中 EGFR 19 缺失突变 40 例(纯合子突变 1 例),突变率为 15.1%;EGFR 21 L858R 点突变 32 例,突变率为 12.1%。检测中还发现,EGFR 21 外显子 L861P 突变 1 例(0.38%),L861Q 突变 1 例(0.38%);EGFR 19 外显子 P753L 突变 1 例(0.38%,图 1、表 2)。

受测患者中有 82 例(23 例突变型、59 例野生型)进行了 EGFR-TKI 类靶向药物治疗,82 例均可进行疗效评价,整体疾病控制率为 64.6%(53/82),突变型患者的疾病缓解率 82.6%(19/23),疾病控制率为 87.0%(20/23)。其中 EGFR 19 缺失患者的疾病缓解率 88.9%(16/18),疾病控制率为 94.4%(17/18),EGFR 21 外显子 L858R 点突变的疾病缓解率 60.0%(3/5),疾病控制率为 60.0%(3/5)。野生型患者的疾病缓解率 50.8%(30/59),疾病控制率为 55.9%(33/59)。EGFR 19 缺失、EGFR 21 外显子 L858R 点突变以及野生型患者的 TKI 治疗疗效有明显差异($P<0.01$)。

表 2 264 例肺腺癌患者 EGFR 19、21 外显子突变情况

[例(%)]

标本类型	n	19 缺失	21 L858R	野生型
胸水	73	17(23.3)	9(12.3)	47(64.4)
石蜡	124	20(16.1)	20(16.1)	84(67.7)
新鲜组织	14	2(14.3)	2(14.3)	10(71.4)
血浆	53	1(1.9)	1(1.9)	51(92.6)
合计	264	40(15.1)	32(12.1)	192(72.7)

药物不良反应:最常见皮疹、皮肤干燥、腹泻和口腔溃疡、转氨酶Ⅰ~Ⅲ度升高等,但不影响疗效,或在短期停药对症治疗后可继续服药。值得注意的是,1 例患者出现肺间质性改变伴自发性气胸,后永久停药,该患者经激素、抗生素、胸腔穿刺排气等治疗后肺间质性改变减轻,疗效为 SD;另有 1 例患者出现转氨酶Ⅲ度升高,停药对症治疗后转氨酶恢复正常,后减量继续治疗,疗效为 PR。

3 讨论

本研究显示 EGFR 19 缺失突变和 EGFR 21 L858R 点突变的患者对 TKI 类药物疗效有差别。可能由于结构不同,EGFR 19 缺失突变不论从疗效上还是疾病控制时间上都明显优于 EGFR 21 L858R 点突变。另外 EGFR 19 缺失突变的发生率也都明显高于 21 L858R 点突变[7]。

本研究采用 DNA 直接测序法,在进行常见突变检测时还发现了 EGFR 19 P753L、EGFR 21 L861Q、EGFR 21 L861P 等少见突变。本研究中发生 EGFR 19 P753L 突变患者对于 TKI 类药物疗效为 PR,TTP 时间 1 年半;EGFR L861P 突变患者对于 TKI 类药物疗效为 PR,TTP 时间 10 个月;EGFR 21 L861Q 突变患者未行 TKI 治疗,国外有疗效 PR 的相关报道。

多项国际多中心研究表明,亚裔、不吸烟、腺癌女性患者应用 TKI 类药物的临床疗效较好,由此确立了 TKI 治疗的优势人群[8]。近期研究表明,上述原因是由于优势人群发生基因突变概率较大。本研究所涉及的病例均为亚洲肺腺癌患者,27.3% 的 EGFR 19 缺失或 EGFR 21 点突变的突变率相对显得偏低,同时野生型患者的疾病缓解率和控制率偏高,导致此偏差的原因主要有以下两点:①突变检测方法。本研究采用的是直接测序法,虽可直接发现突变所在位点,但其灵敏度不高,故不排除假阴性的存在。这也是发生偏差的主要原因。②标本原因。本研究结果显示,胸水的突变率最高,而血浆的突变率最低,因为胸水中的肿瘤细胞含量高,且分布均一,而血液中肿瘤细胞含量少,难以被敏感性较差的直接测序法检测;同时对于石蜡标本大多为针吸穿刺活检标本,而非手术活检标本,并经历过病理分析后,所剩标本所含肿瘤组织较少,故大大减低了阳性检出率。

与 IPASS 等研究比较,本研究患者的疾病控制率和疾病缓解率偏低,其原因可能与 TKI 类药物的治疗时机相关,IPASS 研究是针对 EGFR 敏感性突变阳性患者进行一线应用 TKI 类药物,而本研究部分患者是二、三线甚至四线应用 TKI 类药物,故其有效性随着治疗时机的延后,疗效也随之受影响。

在毒性方面,EGFR-TKI 类药物具有良好的耐受性,不良反应大多为皮疹、腹泻、口腔溃疡等,故对于老年、体质较弱等不能耐受化疗的患者是很好的选择,但也不能忽视个别患者出现放射性肺炎和严重肝功能损伤,特别是放射性肺炎致死率较高,如发现应立即停药给予激素、抗生素等药物治疗。

综上所述,具有 EGFR 19 缺失突变和 EGFR 21 L858R 点突变患者应用 TKI 类分子靶向药物具有更好的临床疗效,同时进行 EGFR 基因突变检测将成为确定患者是否进行 TKI 类治疗的有效工具,也是制定个体化治疗的有效手段,另外寻求更准确、简易的检测手段也是今后不断探索的课题。

参考文献:

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

[2] Sandler A, Gray R, Perry M C, *et al*. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2006, 355(24): 2542 – 2550.

[3] Fossella F, Pereira J R, von-Pawel J, *et al*. Randomized, multinational, phase Ⅲ study of docetaxel plus platinum combinations versus vinorelbine plus cisplatin for advanced non-small-cell lung cancer: the TAX 326 study group[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(16): 3016 – 3024.

[4] Bell D W, Lynch T J, Haserlat S M, *et al*. Epidermal growth factor receptor mutations and gene amplification in non-small-cell lung cancer: molecular analysis of the IDEAL/INTACT gefitinib trials[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(31): 8081 – 8092.

[5] Tamura K, Okamoto I, Kashii T, *et al*. Multicentre prospective phase Ⅱ trial of gefitinib for advanced non-small cell lung cancer with epidermal growth factor receptor mutations: results of the West Japan Thoracic Oncology Group trial (WJTOG0403)[J]. Br J Cancer, 2008, 98(5): 907 – 914.

[6] Rosell R, Moran T, Queralt C, *et al*. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer[J]. N Engl J Med, 2009, 361(10): 958 – 967.

[7] Jackman D M, Yeap B Y, Sequist L V, *et al*. Exon 19 deletion mutations of epidermal growth factor receptor are associated with prolonged survival in non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib or erlotinib[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(13): 3908 – 3914.

[8] 王孟昭, 张紫萱. 肺癌的靶向治疗[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(20): 2035 – 2038.

(**收稿**:2014-10-14;**修回**:2014-11-18)

(编辑 汪勤俭)