

青年肺腺癌 EGFR、KRAS 基因突变与临床特点及预后的关系研究

朱晓丹 陈成水

【摘要】 目的 探讨青年肺腺癌患者表皮生长因子受体 (EGFR)、KRAS 基因突变与临床特点及预后的关系。**方法** 检测 168 例 18~40 岁的青年肺腺癌住院患者 EGFR 与 KRAS 基因表达情况,并收集其临床资料,分别比较肺腺癌 EGFR 与 KRAS 基因突变型与野生型患者的临床特点、治疗及预后的关系。**结果** 168 例青年肺腺癌患者中,检出 EGFR 基因突变型 74 例 (44.0%),其中 19 号和 21 号外显子突变率为 90.5% (67/74)。EGFR 基因突变型患者中,青年女性与不吸烟患者分别占 58.1%、73.0%,高于 EGFR 基因野生型患者中的 37.2%、52.1% (P 均 <0.01)。EGFR 基因突变型患者中,采取 EGFR 抑制剂 (EGFRI) 剂治疗的总体缓解率 (ORR)、无进展生存期 (PFS) 均高于采取一线化学治疗的患者 (P 均 <0.05)。检出 KRAS 基因突变型 8 例 (4.8%),其突变位点均为 2 号外显子。其中采取一线化学治疗 5 例、采取 EGFRI 治疗 3 例。3 例采取 EGFRI 治疗的 KRAS 基因突变患者 ORR、PFS 分别为 2/3、(8.4 \pm 5.7) 个月,一线化学治疗者的 ORR、PFS 分别为 2/5、(6.4 \pm 3.6) 个月。EGFR 基因突变型患者的 ORR、PFS 均优于野生型患者 (P 均 <0.05),KRAS 基因突变型与野生型患者的预后比较差异均无统计学意义 (P 均 >0.05)。**结论** 青年肺腺癌患者的 KRAS 基因突变率低,EGFR 基因突变率高,EGFR 基因突变以女性及不吸烟患者居多,EGFR 突变型患者行 EGFRI 治疗可取得良好预后,且 EGFR 基因突变型患者的预后优于野生型患者。

【关键词】 肺腺癌;表皮生长因子受体;KRAS;基因检测;预后

Correlation between EGFR, KRAS gene mutations, clinical characteristics and prognosis of lung adenocarcinoma patients Zhu Xiaodan, Chen Chengshui. Department of Respiratory, Yiwu Hospital Affiliated to Wenzhou Medical University, Yiwu 322000, China

Corresponding author, Chen Chengshui, E-mail: wzchens@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between the epidermal growth factor receptor (EGFR) and KRAS gene mutations and clinical characteristics and prognosis of young and middle-aged patients diagnosed with lung adenocarcinoma. **Methods** The expression of EGFR and KRAS genes in 168 lung adenocarcinoma patients aged 18 to 40 years was detected and relevant clinical data were collected. Clinical characteristics, therapeutic procedures and clinical prognosis between patients with mutant and wild-type EGFR and KRAS genes were statistically compared. **Results** Among 168 lung adenocarcinoma patients, 74 (44.0%) were determined to have an EGFR mutation, and exon 19 and 21 mutation accounted for 90.5% (67/74). Among them, the proportion of the young female was 58.1%, and 73.0% for the non-smokers, significantly higher compared with 37.2% and 52.1% of their counterparts with wild-type EGFR (both $P < 0.01$). The overall response rate (ORR) and progression-free survival (PFS) of EGFR mutation patients treated with EGFR inhibitor (EGFRI) were significantly higher than those of their counterparts receiving the first-line chemotherapy (both $P < 0.05$). Eight patients (4.8%) were detected to have KRAS mutation at exon 2. Five cases received the first-line chemotherapy, and 3 treated with EGFRI. The ORR and PFS of 5 patients receiving EGFRI therapy were 2/3 and (8.4 \pm 5.7) months, and 2/5 and (6.4 \pm 3.6) months for their counterparts treated with the first-line chemotherapy. The ORR and PFS of EGFR mutant patients were significantly higher than those with wild-type EGFR (both $P < 0.05$). No statistical significance was identified in terms of

the prognosis between patients with mutant and wild-type KRAS (both $P > 0.05$). **Conclusions** Young and middle-aged lung adenocarcinoma patients have a low risk of KRAS mutation, whereas a high risk of EGFR mutation. A majority of EGFR mutation patients are the female and non-smokers. EGFR mutant patients can obtain favorable clinical prognosis after EGFR therapy. The clinical prognosis of EGFR mutant patients is better than that of those with wild-type EGFR.

【Key words】 Lung adenocarcinoma; Epidermal growth factor receptor; KRAS; Gene detection; Prognosis

在我国,肺癌的发病率和病死率均居恶性肿瘤之首^[1]。近年来,肺癌的临床诊治水平不断提高,但患者预后依然不理想。肺腺癌属非小细胞肺癌。多项研究发现,表皮生长因子(EGF)信号通路的激活与肺腺癌进展密切相关,且 EGF 受体(EGFR)可促进肿瘤细胞增殖,加重患者病情^[2]。KRAS 为 EGFR 的调控基因,处于信号传导通路的下游。有研究表明,突变型 KRAS 可自发启动信号通路而进一步加速非小细胞肺癌的进展,相关分子靶向药物的应用也可能因此失效,对患者的预后造成严重不良影响^[3-5]。因此,EGFR、KRAS 基因的检测对肺腺癌患者的预后有一定临床评估作用。既往对肺腺癌 EGFR、KRAS 基因表达、临床特点等研究多针对中老年患者,为探析青年肺腺癌患者的相关特点,本研究对青年肺腺癌住院患者的 EGFR、KRAS 基因表达及临床特点进行分析,现报告如下。

对象与方法

一、研究对象

2011 年 2 月至 2015 年 2 月我院收治的肺腺癌住院患者中,选择符合以下标准者:①参照中国青年联合会的青年定义,年龄 18~40 岁;②经组织学确诊,且可获取足够组织标本用于后续制备组织芯片;③初发患者,仅采取过化学治疗。排除具备以下任何 1 项者:①合并严重内分泌疾病者;②严重肝、肾功能不全者;③有过手术或放射治疗史者。研究共纳入 168 例青年肺腺癌患者。其中男 90 例、女 78 例,年龄 30~44 岁、中位年龄 37 岁。本研究经医院医学伦理委员会批准,患者对研究知情并签署知情同意书。

二、主要试剂

DNA 提取试剂盒、EGFR 与 KRAS 基因突变检测试剂盒、甘油、二甲苯、无水乙醇、氢氧化钠均由厦门艾德生物医药科技有限公司提供,EGFR 抑制剂(EGFR)蛋白酶 K 由美国 Sigma 提供。

三、检测方法

将患者手术过程中留取的肿瘤组织以甲醛固

定、石蜡包埋、切片,厚度为 4 μm ,然后行苏木素-伊红(HE)染色,并根据 DNA 提取试剂盒说明书步骤提取标本 DNA,以焦磷酸测序法检测 EGFR 与 KRAS 基因表达情况,将所得 EGFR 及 KRAS 基因序列与基因库进行比对,根据结果将患者分为突变型组和野生型组。

四、临床资料的收集

收集入组的 168 例青年肺腺癌患者的临床资料,包括年龄、性别、临床分期(参照第 7 版临床 TNM 分期系统)、吸烟情况(不吸烟定义为入组前患者的总吸烟数 < 100 支)^[6]。分析 EGFR 与 KRAS 基因突变型与野生型患者的临床特征差异。记录 EGFR 与 KRAS 基因突变型及野生型患者的治疗方法,并进行 18 个月的随访,以随访结束时患者疾病无进展定义为预后良好,否则定义为预后较差。比较 EGFR 与 KRAS 基因突变型患者不同治疗方法间,以及 EGFR 与 KRAS 基因突变型与野生型患者间的预后差异。

五、疗效评价标准

参照实体瘤疗效评价标准,疗效分为完全缓解、部分缓解、疾病稳定及疾病进展。总体缓解率(ORR)为完全缓解及部分缓解患者所占比例。记录患者的疾病无进展生存期(PFS),即治疗第 1 日至疾病进展的时间。

六、统计学处理

应用 SPSS 17.0 处理数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料以百分率表示,组间比较采取 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、EGFR 基因的突变分布

168 例患者中,检出 EGFR 基因突变型 74 例(44.0%)、野生型 94 例(56.0%)。EGFR 基因突变位点为 19 号外显子 37 例(50.0%)、21 号外显子 30 例(40.5%)、18 号外显子 4 例(5.4%)、20 号外显子 1 例(1.4%),双突变 2 例(2.7%);19 号和 21 号外显子突变率为 90.5% (67/74)。

二、EGFR 基因突变与患者临床特征的关系

EGFR 基因突变型患者与野生型患者的年龄及临床分期比较差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。EGFR 基因突变型患者中的女性与不吸烟患者比例均高于野生型患者 (P 均 < 0.05)，见表 1。

表 1 EGFR 基因突变与野生型患者的临床特点比较				
项 目	EGFR 突变型 (74 例)	EGFR 野生型 (94 例)	ν/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	37.3 \pm 2.1	37.6 \pm 2.5	0.828	0.409
性别[例(%)]			7.253	0.008
男	31(41.9)	59(62.8)		
女	43(58.1)	35(37.2)		
吸烟[例(%)]			7.585	0.006
是	20(27.0)	45(47.9)		
否	54(73.0)	49(52.1)		
临床分期[例(%)]			0.186	0.667
I ~ II	12(16.2)	13(13.8)		
III ~ IV	62(83.8)	81(86.2)		

三、EGFR 基因突变型患者的治疗与预后情况

74 例 EGFR 基因突变型患者中，接受一线化学治疗 39 例、采取 EGFR 治疗 35 例。采取 EGFR 治疗的 EGFR 基因突变型患者 ORR、PFS 均高于采取一线化学治疗者 (P 均 < 0.05)，见表 2。

表 2 采用不同治疗方法的 EGFR 基因突变型患者预后			
治疗方法	例数	ORR [例 (%)]	PFS (月)
一线化学治疗	39	14 (35.9)	4.2 \pm 1.0
EGFR	35	23 (65.7)	10.7 \pm 2.4
ν/χ^2 值		6.074	15.491
P 值		0.013	< 0.001

四、EGFR 基因突变情况与预后的相关性分析

随访结束时，EGFR 基因突变型患者的预后良好率优于野生型患者 ($P < 0.05$)，见表 3。

表 3 EGFR 基因突变型与野生型患者的预后比较					
EGFR 基因	例数	预后良好	预后较差	χ^2 值	P 值
突变型	74	29 (39.1)	45 (60.8)	8.253	0.004
野生型	94	18 (19.1)	76 (80.9)		

五、KRAS 基因突变分布与患者临床特征的关系分析

168 例青年肺腺癌患者中，发生 KRAS 基因突变 8 例 (4.8%)，均未合并 EGFR 突变；其突变位点均为 2 号外显子。8 例 KRAS 基因突变型患者的年龄为 (36.6 \pm 3.4) 岁，其中男 5 例、女 3 例，吸烟者 4 例 (4/8)，I ~ II 期患者 3 例 (3/8)；160 例 KRAS 基因野生型患者的年龄为 (35.4 \pm 2.5) 岁，其中男 92 例、女 68 例，吸烟者 77 例 (48.1%)，I ~ II 期患者 52 例 (32.5%)。KRAS 基因突变型及野生型患者在性别构成、年龄、吸烟、临床分期等方面比较差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。

六、KRAS 基因突变患者的治疗及预后观察

8 例 KRAS 基因突变患者中，5 例采取一线化学治疗者的 ORR 为 2/5、PFS 为 (6.4 \pm 3.6) 个月；3 例采取 EGFR 治疗者的 ORR、PFS 分别为 2/3、(8.4 \pm 5.7) 个月。

七、KRAS 基因突变情况与预后的相关性分析

随访结束时，KRAS 基因突变型患者与野生型患者的预后比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，见表 4。

表 4 KRAS 基因突变型与野生型患者的预后比较					
		例 (%)			
KRAS 基因	例数	预后良好	预后较差	χ^2 值	P 值
突变型	8	3 (3/8)	5 (5/8)	0.492	0.483
野生型	160	42 (26.2)	118 (73.8)		

讨 论

在我国，肺癌的发病率较高，且以非小细胞肺癌居多，有效治疗方案的制定成为临床重要研究方向。已有研究显示，EGFR 治疗伴 EGFR 基因突变的晚期非小细胞肺癌效果良好^[7]。明确患者基因改变，并针对性给予 EGFR 治疗，可为肺腺癌的临床治疗提供新思路。

EGFR 可将细胞受体的结合位点阻断，从而中断信号向下游传递，最终产生肿瘤抑制作用^[8]。19 号外显子缺失后，ATP 结合囊角度将会随之发生改变，导致肿瘤细胞与小分子酪氨酸激酶抑制剂的结合能力减弱，故使用一线化学治疗的疗效欠佳^[9]。21 号外显子发生突变，酪氨酸激酶活化中心的活化环稳定性反而更高，更利于 EGFR 对肿瘤细胞的抑制，可实现疗效的强化^[10-11]。本研究

共纳入 168 例青年肺腺癌患者进行分析, 共 74 例患者发生 EGFR 基因突变。研究表明, EGFR 基因以 19 号及 21 号外显子突变最常见, 19 号和 21 号外显子突变率约为 90%^[9]。本研究中 19 号及 21 号外显子的 EGFR 基因突变率为 90.5%, 与上述研究的结果相符。74 例 EGFR 基因突变型的患者中, 女性与不吸烟患者分别占 58.1%、73.0%, 均高于 EGFR 野生型患者, 其治疗与预后结果显示, 采取 EGFR 治疗的 EGFR 基因突变型患者 ORR、PFS 分别为 65.7%、(10.7 ± 2.4) 个月, 均高于采取一线化学治疗的患者, 提示 EGFR 基因突变患者多发生于女性及不吸烟患者, 予有效 EGFR 治疗的效果更佳。需引起注意的是, EGFR 基因突变位点的不同, 临床治疗时所用 EGFR 也应不同, 需遵循个体化治疗原则^[16]。因此, 有必要针对肺腺癌患者的基因突变情况制定个体化治疗方案, 对患者进行基因检测是方案实施的前提。

有研究指出, KRAS 基因的突变会导致 EGFR 信号通路处于持续激活状态而引起原发性耐药, 不利于临床治疗, 因而检测 KRAS 基因突变有助患者选择最合适的抑制剂治疗^[12]。168 例肺腺癌患者中, 共 8 例发生 KRAS 基因突变。KRAS 基因突变的位点均为 2 号外显子, 与凌云等^[13]的研究结果一致。由于 KRAS 基因突变例数较少, 整体数量不足以产生统计学意义, 因而本研究中 KRAS 基因突变型与野生型患者在性别构成、年龄、吸烟及临床分期等方面比较差异均无统计学意义, 其临床特点及预后均有待进一步研究探讨。值得注意的是, 本研究不仅对 EGFR 突变型、KRAS 基因突变型患者不同治疗方案的预后进行比较, 同时还对 EGFR 基因突变型与野生型患者、KRAS 基因突变型患者与野生型患者的预后进行观察, 发现 EGFR 基因突变型患者的预后优于野生型患者。我们认为, 对于 EGFR 基因突变型患者, 采取个体化 EGFR 治疗的针对性更强, 从而更利于预后的改善, 此为 EGFR 基因突变型患者预后更佳的主要原因。KRAS 基因突变型情况与预后之间未见明显相关性, 推测与 KRAS 基因突变型患者的样本量不足有关。

综上所述, 青年肺腺癌患者的 KRAS 基因突变率较低, EGFR 基因 19 号和 21 号外显子突变率达 90.5%, 突变型患者以女性及不吸烟者为主, 对其采取 EGFR 治疗的预后更佳, 且 EGFR 基因突变型患者的预后优于野生型患者。

参 考 文 献

- [1] 林顺欢, 江冠铭, 刘淳, 郑锐年, 林钦雄, 谭钦全, 刘克军, 卢志斌, 贾筠. 贝伐珠单抗联合 EGFR-TKI 治疗 EGFR 外显子 19 或 21 突变晚期非小细胞肺癌的疗效差异. 新医学, 2016, 47 (7): 472-476.
- [2] 李全福, 金高娃, 邓淑琴, 陈凤, 侯吉祥, 郭文静, 李小荣. 鄂尔多斯地区晚期肺腺癌患者 EGFR 敏感基因突变状态与一般临床特征的关系. 现代肿瘤医学, 2016, 24 (14): 2233-2237.
- [3] Takamochi K, Mogushi K, Kawaji H, Imashimizu K, Fukui M, Oh S, Itoh M, Hayashizaki Y, Ko W, Akeboshi M, Suzuki K. Correlation of EGFR or KRAS mutation status with ¹⁸F-FDG uptake on PET-CT scan in lung adenocarcinoma. PLoS One, 2017, 12 (4): e0175622.
- [4] Simon E, Bick T, Sarji S, Shentzer T, Prinz E, Yehiam L, Sabo E, Ben-Izhak O, Hershkovitz D. Clinically significant sub-clonality for common drivers can be detected in 26% of KRAS/EGFR mutated lung adenocarcinomas. Oncotarget, 2017 Apr 24. doi: 10.18632/oncotarget.17399. [Epub ahead of print]
- [5] Huo Z, Wu H, Li S, Liang Z. Molecular genetic studies on EGFR, KRAS, BRAF, ALK, PIK3CA, PDGFRA, and DDR2 in primary pulmonary adenoid cystic carcinoma. Diagn Pathol, 2015, 10: 161.
- [6] 沈卓之, 丁贤彬, 毛德强, 张春华, 吕晓燕, 焦艳, 漆莉. 重庆市 2014 年成年人吸烟、戒烟行为及认知现状调查. 中华流行病学杂志, 2015, 36 (11): 1236-1243.
- [7] 唐纯丽, 陈小波, 谢佳星, 罗为展, 周承志. 小剂量贝伐珠单抗联合培美曲塞治疗 IV 期 EGFR 突变阴性肺腺癌的有效性和安全性研究. 新医学, 2016, 47 (2): 109-112.
- [8] 蔡祖勋, 曹峰, 钱如林, 崔东, 廖世秀. EML4-ALK 融合基因与 EGFR 基因突变在肺腺癌发生感染患者中的表达研究. 中华医院感染学杂志, 2016, 26 (12): 2679-2681.
- [9] 张卉, 杨新杰, 张新勇, 蔡毅然, 秦娜, 李曦, 农靖颖, 吕嘉林, 吴羽华. 晚期肺腺癌 EGFR 基因突变状态检测及分析. 中华肿瘤防治杂志, 2014, 21 (19): 1517-1520.
- [10] 刘冰, 于壮, 侯宪鹏, 姚如永. EGFR 和 HER-3 在人肺腺癌细胞及培美曲塞二钠耐药细胞中的表达差异. 山东大学学报 (医学版), 2013, 51 (5): 20-23, 28.
- [11] 魏冰, 马杰, 马智勇, 王慧娟, 杨科. 肺腺癌患者恶性胸腔积液中 EGFR 突变状况分析. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28 (3): 323-326.
- [12] 衣素琴, 庄园, 朱卫东, 康苏娅, 郭凌川, 国风. 非小细胞肺癌中 KRAS 基因突变分析. 中华临床医师杂志 (电子版), 2013, 7 (20): 9111-9115.
- [13] 凌云, 邱田, 李卓, 郭蕾, 应建明. 非小细胞肺癌中 EGFR 和 KRAS 基因突变的特点及与临床病理特征的关系. 临床与实验病理学杂志, 2015, 31 (5): 536-541.

(收稿日期: 2016-12-13)

(本文编辑: 林燕薇)