

·肿瘤介入 Tumor intervention·

CT 导向肺癌穿刺标本表皮生长因子受体
基因突变检测的应用价值

庄一平, 张 晋, 史美祺, 冯 勇 王海彦

摘要 目的 评价应用 CT 导向肺癌穿刺活检标本检测表皮生长因子受体 (*EGFR*) 基因突变的价值。方法 21 例穿刺前未接受肿瘤治疗, 无其他肿瘤病史, 临床诊断Ⅲ~Ⅳ期肺癌病例。采用多排螺旋 CT 导向作病灶活检, 所有标本均作病理学检查并采用 PCR 法检测 *EGFR* 突变。结果 ① 21 例中 9 例使用 18 G Chiba 针, 12 例用 20 G Chiba 针。病理诊断为腺癌 12 例、鳞癌 3 例、小细胞癌 1 例、未分化癌 5 例。② 21 例穿刺术后 3 例见针道少量渗血, 无一例出现气胸。③ 21 例标本中, 共检测到 *EGFR* 突变 10 例 (47.6%)。12 例腺癌患者中 8 例检出 *EGFR* 突变, 其他类型肿瘤 2 例突变; 在 12 例女性患者中有 8 例发现 *EGFR* 体突变, 9 例男性患者有 2 例突变。结论 活检标本中 *EGFR* 基因突变可为临床药物分子靶向治疗提供依据。

【关键词】 肺癌; 表皮生长因子受体; 突变; 活检

中图分类号: R656; R734.2 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2011)-04-0276-03

Determination of epidermal growth factor receptor gene mutation of lung cancer specimen obtained by CT-guided transthoracic needle aspiration: its clinical value ZHUANG Yi-ping, ZHANG Jin, SHI Mei-qi, FENG Yong, WANG Hai-yan. Department of Radiology, Cancer Hospital of Jiangsu Province, Nanjing 210009, China

Corresponding author: ZHUANG Yi-ping, E-mail: zhuangyip@sina.com

【Abstract】 Objective To evaluate CT-guided transthoracic needle biopsy specimens in assessing epidermal growth factor receptor (*EGFR*) gene mutation in lung cancer. **Methods** Twenty-one patients (9 males and 12 females, with a mean age of 62 years) with advanced lung cancer were enrolled in this study. Before treatment all patients underwent CT-guided transthoracic needle biopsy of the lung tumor. The biopsy specimens were sent for histopathological study and *EGFR* gene mutation was determined with PCR method. A 18-gauge needle or 20-gauge needle was used for the procedures. The results were analyzed. **Results** The mean largest diameter of the lung masses was 4.5 cm (ranged from 1.5 cm to 13 cm) on CT scans. The 18-gauge puncturing needle was used in 9 cases and the 20-gauge puncturing needle was used in 12 cases. Histological diagnoses included adenocarcinoma ($n = 12$), squamous cell carcinoma ($n = 3$), poorly differentiated carcinomas ($n = 5$) and small cell lung cancer ($n = 1$). *EGFR* mutations were detected in 10 of the 21 lung tumors (47.6%). Of 12 adenocarcinoma lesions, *EGFR* gene mutations were detected in 8. Among 12 females patients, *EGFR* gene mutations were seen in 8. **Conclusion** The presence of *Egfr* gene mutation detected in biopsy specimens provides laboratory basis for the clinical targeted therapy with drug molecules. (J Intervent Radiol, 2011, 20: 276-278)

【Key words】 lung cancer; epidermal growth factor receptor; gene mutation; biopsy

肺癌是最常见的肺原发性恶性肿瘤。近数十年
来, 肺癌的发病率和病死率均逐年上升。能够手术

治疗的肺癌患者仅占到 1/3 左右, 化疗是肺癌治疗
的主要手段。近年来, 尽管化疗药物和技术发展迅
速, 但多数肿瘤类型对化疗不甚敏感, 患者在取得
疗效的同时也产生较大的不良反应。因此, 选择肺
癌细胞特异的分子靶点, 应用针对该靶点的药物进

作者单位: 210009 南京 江苏省肿瘤医院放射科 (庄一平、
张 晋、冯 勇、王海彦), 内科 (史美祺)
通信作者: 庄一平 E-mail: zhuangyip@sina.com

行治疗是肿瘤研究的热点之一。

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 是一种受体型酪氨酸激酶, 在许多肿瘤中过表达和(或)发生突变, 它通过信号转导控制肿瘤生长, 并与新生血管生成、肿瘤的侵袭和转移等密切相关, 这些特点使其成为一个有潜力的肿瘤靶向治疗分子^[1]。我们在 2008 年 5 月 - 2009 年 7 月间对 21 例肺癌患者, 应用穿刺活检标本检测 EGFR 基因突变, 为肺癌的临床药物分子靶向治疗提供依据。

1 材料与方法

临床资料: 21 例中男 9 例、女 12 例; 年龄 38~80 岁, 平均 62 岁。穿刺前均未接受肿瘤治疗, 无其他肿瘤病史, 符合临床研究条件, 需要明确诊断的 III~IV 期肺癌病例。病灶位于左上肺 4 例、左下肺 3 例, 右上肺 11 例、右中肺 2 例, 右下肺 1 例。

采用多排螺旋 CT 机, 使用 18 G 或 20 G Chiba 针取材。取常规肺穿刺活检标本量的 2 倍, 收集 2 份标本, 1 份标本箱冷藏, 待测 EGFR 基因, 另 1 份标本经 4% 甲醛固定后, 送病理学检查。穿刺过程均由本院 2 名经验丰富的影像科医师完成。PCR 法检测 EGFR 突变由宝生物工程(大连)有限公司提供。

2 结果

2.1 穿刺结果

21 例中病灶由 15 mm × 11 mm ~ 130 mm × 76 mm 不等, 其中长径 ≤ 20 mm 5 例, 病灶深度 0 ~ 40 mm, 平均 14 mm。9 例采用 18 G Chiba 针, 12 例为 20 G Chiba 针。病理确诊为肺恶性肿瘤: 腺癌 12 例、鳞癌 3 例、小细胞癌 1 例、未分化癌 5 例。本组肺癌穿刺敏感性为 100%。

21 例穿刺术后, 3 例见针道少许渗血, 观察 2 ~ 4 h 后无不适, 未做进一步处理。无气胸发生。

2.2 EGFR 基因突变情况

21 例标本中, 共检测到 EGFR 突变 10 例。外显子 19 突变 6 例, 外显子 21 突变 4 例。在外显子 19, 最常见的是 2235 ~ 2249delGGAATTAAGAGAAGC, 这一突变直接导致 5 个氨基酸的缺失 (E746 ~ A750del)(图 1)。在外显子 21 突变, 均为 2573 位核苷酸的点突变(2573T→G), 此突变导致精氨酸替代了亮氨酸(L858R)。

10 例 EGFR 突变病例, 3 例为 18G 针取材, 7 例为 20G 针取材。12 例腺癌中 8 例发生突变(8/12), 3

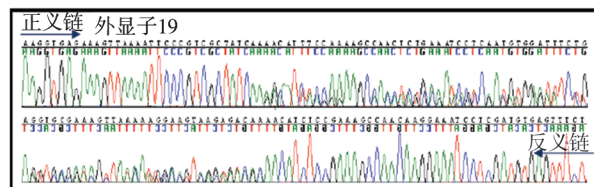


图 1 EGFR 检测外显子 19 突变为 E746-A750del

例鳞癌中 1 例突变(1/3), 未分化癌 5 例 1 例突变(1/5), 小细胞癌 1 例未检测到突变。在女性 12 例病例中有 8 例突变 (8/12), 9 例男性患者中有 2 例突变(2/9)。

3 讨论

EGFR 位于染色体 7q12, 是一种跨膜糖蛋白, 分子质量为 170 ku, 由 1 186 个氨基酸残基组成的多肽链^[2]。EGFR 基因突变主要发生在 EGFR TK, 其中第 19 号外显子 746 ~ 750 位氨基酸的缺失突变和第 21 号外显子上 858 位亮氨酸被精氨酸替代(L858R)的突变是 2 种主要的突变形式, 占有突变的 90%。这 2 种基因突变可引起更多的 EGFR 持续地自动磷酸化, 并引起其下游的分子磷酸化, 从而促使细胞增生、分化、转移、血管生成及凋亡抑制^[3-4]。EGFR 抑制剂通过可逆性竞争受体上 ATP 结合位点和诱导无活性同型或异二聚体的生成, 从而抑制 EGFR 激酶活性, 它可诱导细胞周期停滞、促进凋亡、抗血管生成, 抑制肿瘤的生长^[4]。

Lynch 等^[5]和 Paez 等^[6]2004 年首先报道了 EGFR 基因突变与 gefitinib(吉非替尼)治疗的有效率明显相关。Paez 等^[7]率先分析了 119 例非小细胞肺癌(NSCLC)患者 EGFR 基因突变的临床特征, 发现 EGFR 基因突变发生率在腺癌中高于其他病理类型, 女性高于男性。Borczuk 等^[7]认为 EGFR 基因突变可以作为治疗反应的生物标志。

目前, EGFR 突变检测的标本来源绝大多数为手术标本, 但有近 2/3 肺癌发现时都已经是 III ~ IV 期, 失去手术机会, 因而经皮肺穿刺活检的小标本检测 EGFR 突变报道渐多^[8-11]。CT 导向肺穿刺活检标本 EGFR 突变检测多采用 PCR 技术, 取材使用 core 技术, 17 G、19 G 外套针, 18 G、20 G 切割针获取肿瘤组织条。Cheung 等^[8]运用 core 技术, 以 18 G 或 20 G 切割针获取 5 条肿瘤组织条, 对 2 组取材标本做了详细记录, 使用 18 G、20 G 取材标本重量平均分别为 10.15 mg、9 mg, 萃取的 DNA 浓度平均分别为 47.13 ng/μl、35.92 ng/μl, 气胸发生率分别为

12.5%、13.3%，而 *EGFR* 突变分别为 71.9%、73.3%。两种活检针 *EGFR* 突变的穿刺成功率及并发症没有大的区别。Chen 等^[9]报道的 17 例全部使用 17 G 外套针、18 G 切割针取材，一般取 15 mm 切割条 5 次，3 条送 *EGFR* 突变检测，2 条作病理诊断用，*EGFR* 突变检测成功率为 100%。

Zudaire 等^[10]使用 22 G 细针穿刺抽吸外周小病灶肺癌，细胞学专家在穿刺现场，快速染色判断标本能满足诊断后，所取标本再检测包含 *EGFR* 突变的多个生物学指标，33 例穿刺标本中有 12.1% (4/33) 最终因标本量少未能满足检测要求。Stephen 等^[11]报道，16 例穿刺标本的 *EGFR* 分析 100% 与手术标本符合，但也有 11.1% (2/18) 标本取材 *EGFR* 突变检测不满意。因而，穿刺取材的标本质量是成败的决定性因素之一。我们穿刺现场没有细胞学医师，43% 病例使用 18 G Chiba 针，57% 病例使用 20 G Chiba 针抽吸活检，穿刺成功率为 100%，穿刺病理诊断正确率 100%。

本组突变病例中 70% 为 20 G 针取材，30% 为 18 G 针取材，穿刺标本全部能够满足 *EGFR* 检测。初始时 1 例患者，我们按病理诊断常规取材，标本不足以检测 *EGFR*，后再次穿刺取材有效。根据我们以往穿刺取标本作生物学指标检测的经验如 DNA 倍体、p53、p16 表达^[12]，标本量至少应该加倍，同时穿刺术前做增强 CT，多点取材、避免坏死组织，如见豆腐渣样、凝固性差的标本，需调整穿刺方向取材等，可以保证标本的有效性。此外对 1.5 cm 左右的病灶，活检枪需要取材 4 条（至少 4 次取材），难度很大，我们使用 Chiba 针抽吸活检成功取材。对靠近纵隔及大血管或肺门附近的病变，Chen 等^[10]报道为避免发生较高出血风险，认为不宜行 core 技术取材。类似部位的病灶，我们应用细针抽吸成功取材，且没有高出血风险。总之，本组穿刺并发症较低，未发生气胸病例，仅 14% 病例在穿刺针道少许渗血。

CT 导向经皮肺穿刺活检术检测 *EGFR* 突变率为 47.2% ~ 72.3%^[8-11]，外显子 18、19、21 突变均有出现，外显子 19 突变以 delE746-A750 为主，外显子 21 突变以 L858R 为主。*EGFR* 突变中以腺癌为多。本组 *EGFR* 突变率为 47.6%，符合 Zhang 等^[13]报道的中国人的 *EGFR* 突变率。本组病理分类中腺癌突变率 (66.7%) 高于其他类型恶性肿瘤，非吸烟女性多于男性，也与文献基本符合。虽然本组病例数少，尚需进一步增加病例，但我们认为，CT 导向肺癌针吸活检标本能有效地检测

EGFR 突变，可为进展期肺癌的分子靶向药物治疗筛选优势人群。

[参 考 文 献]

- [1] Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, et al. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signaling [J]. *Exp Cell Res*, 2003, 284: 31 - 53.
- [2] Voldborg BR, Damstrup L, Spang-Thomsen M, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and EGFR mutations, function and possible role in clinical trials [J]. *Ann Oncol*, 1997, 8: 1197-1206.
- [3] Sordella R, Bell DW, Haber DA, et al. Gefitinib-sensitizing EGFR mutations in lung cancer activate anti-apoptotic pathways [J]. *Science*, 2004, 305: 1163 - 1167.
- [4] Sibilio M, Kroismayr R, Lichtenberger BM, et al. The epidermal growth factor receptor: from development to tumorigenesis [J]. *Differentiation*, 2007, 75: 770 - 787.
- [5] 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: 2129 - 2139.
- [6] Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy [J]. *Science*, 2004, 304: 1497 - 1500.
- [7] Borczuk AC, Shah L, Pearson GD, et al. Molecular signatures in biopsy specimens of lung cancer [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 170: 167 - 174.
- [8] Cheung YC, Chang WC, Hsieh JJ, et al. Adequacy and complications of computed tomography-guided core needle biopsy on non-small cell lung cancers for epidermal growth factor receptor mutations demonstration: 18-gauge or 20-gauge biopsy needle [J]. *Lung Cancer*, 2010, 67: 166 - 169.
- [9] Chen CM, Chang JW, Cheung YC, et al. Computed tomography-guided core-needle biopsy specimens demonstrate epidermal growth factor receptor mutations in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Acta Radiol*, 2008, 49: 991 - 994.
- [10] Zudaire I, Lozano MD, Vazquez MF, et al. Molecular characterization of small peripheral lung tumors based on the analysis of fine needle aspirates [J]. *Histol Histopathol*, 2008, 23: 33 - 40.
- [11] Solomon SB, Zukowski MF, Pao W, et al. Core needle lung biopsy specimens: adequacy for EGFR and KRAS mutational analysis [J]. *AJR*, 2010, 194: 266 - 269.
- [12] 沈宗丽, 朱月清, 庄一平, 等. 流式细胞术检测遗传不稳定性: 肺癌穿刺标本中 DNA 异倍体与 P16 表达 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2007, 24: 322 - 324.
- [13] Zhang XT, Li LY, Mu XL, et al. The EGFR mutation and its correlation with response of gefitinib in previously treated Chinese patients with advanced non-small-cell lung cancer [J]. *Ann Oncol*, 2005, 16: 1334 - 1342.

(收稿日期: 2010-10-21)