

• 肿瘤介入 Tumor intervention •

CT 引导经皮肺穿刺活检检测晚期非小细胞肺癌表皮生长因子受体基因突变

侯晓玮, 庄兴俊, 宋 谦, 李露嘉, 王宁宁

【摘要】 目的 研究 CT 引导经皮肺穿刺活检获得组织检测非小细胞肺癌(NSCLC)表皮生长因子受体(EGFR)基因突变的可行性。**方法** 入组 40 例晚期或局部晚期无法手术的 NSCLC 患者,采用 18 G 自动活检枪,经 CT 引导行肺穿刺活检获取肿瘤组织,行 EGFR 基因检测,观察术后并发症,分析检测结果。**结果** 40 例病例均经穿刺活检获得足够的病变组织进行组织学诊断和基因突变检测,EGFR 基因突变率为 37.5%(15/40),其中腺癌患者突变率为 50.0%(12/24),非腺癌患者突变率为 18.8%(3/16),两者间差异有统计学意义;3 例患者穿刺后出现气胸,3 例患者出现咯血;无血胸、纵隔气肿、感染及针道种植等并发症;EGFR 基因突变患者使用吉非替尼治疗获得良好疗效。**结论** CT 引导的经皮肺穿刺活检技术简便、安全,是晚期 NSCLC 获得肿瘤组织检测 EGFR 基因突变的可靠方法,能够用于预测晚期 NSCLC 的靶向治疗效果。

【关键词】 非小细胞肺癌; CT 引导经皮肺穿刺活检; EGFR 基因突变

中图分类号:R734.2 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2013)-02-0125-04

Application of CT-guided percutaneous lung biopsy in detecting epidermal growth factor receptor gene mutations in patients with advanced non-small cell lung cancer HOU Xiao-wei, ZHUANG Xing-jun, SONG Qian, LI Lu-jia, WANG Ning-ning. Department of Oncology, No.401 Hospital of PLA, Qingdao, Shandong Province 266071, China

Corresponding author: HOU Xiao-wei, E-mail: bluesky5581@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the feasibility of CT-guided percutaneous lung biopsy for the detection of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutations in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Forty patients with inoperable advanced or locally-advanced NSCLC were enrolled in this study. By using an 18-gauge core biopsy instrument, CT-guided lung biopsy was performed in all patients to get tumor tissue for the determination of EGFR gene mutations. Postoperative complications and histological results were analyzed. **Results** Sufficient amount of tumor tissue used for the histological examination and the determination of EGFR gene mutations was successfully obtained by puncturing biopsy in all the forty patients. EGFR mutations occurred in 37.5% of all NSCLC cases (15/40). The mutation rate in adenocarcinoma was 50% (12/24), while the mutation rate in non-adenocarcinoma was only 18.8% (3/16), the difference in the mutation rate between the two pathologic types was statistically significant ($P = 0.046$). Three patients developed pneumothorax. Hemoptysis occurred in three patients. No hemothorax, mediastinal emphysema, infection or needle tract seeding occurred. The patients with EGFR gene mutations tended to respond well to gefitinib. **Conclusion** CT-guided lung biopsy is a simple and safe technique, which can be reliably used for the detection of EGFR gene mutations in patients with advanced NSCLC. Besides, this method is also very helpful in predicting the clinic efficacy of targeted therapy for advanced NSCLC. (J Intervent Radiol, 2013, 22: 125-128)

【Key words】 non-small cell lung cancer; CT-guided percutaneous lung biopsy; epidermal growth factor receptor gene mutation

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2013.02.009

作者单位: 266071 青岛 解放军第四〇一医院肿瘤科

通信作者: 侯晓玮 E-mail: bluesky5581@126.com

在包括我国在内的大多数国家,肺癌是占恶性肿瘤死因第一位的肿瘤^[1],约 80%肺癌为非小细胞

肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC), 大多数患者在初诊时已是晚期或局部晚期, 能行手术治疗的患者不到 30%^[2]。晚期肺癌患者预后差, 采用常规化疗其平均生存期均不到 1 年^[3]。近些年来应用于临床的针对表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的靶向药物如吉非替尼(gefitinib)和厄洛替尼(erlotinib), 大大提高了晚期 NSCLC 患者的治疗效果。研究发现, NSCLC 患者对靶向治疗的反应与 EGFR 基因突变的位点和类型密切相关, 检测患者 EGFR 基因突变状态将为临床治疗选择提供依据。如能通过安全、简便的方法获得足够的组织标本进行 EGFR 基因检测, 将有助于指导治疗。

我科从 2008 年开始开展用活检枪获取肺组织标本行组织学检查技术, 至今已开展 CT 引导下经皮肺穿刺活检术 200 余例, 在明确肺肿瘤组织学分型的同时行 EGFR 基因突变检测, 方法简便、可行, 风险小, 检测结果准确, 可以为晚期 NSCLC 患者靶向治疗提供指导。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

2011 年 10 月至 2012 年 8 月, 我们共对 40 例晚期 NSCLC 患者进行了 CT 引导下经皮肺穿刺活检术。其中男 29 例, 女 11 例, 年龄 32 ~ 81 岁, 有吸烟史者 25 例。术前均经 CT 检查确定病灶。

1.2 方法

1.2.1 CT 引导下经皮肺穿刺活检术 术前常规行血常规、出凝血时间、凝血酶原时间、心电图、肝肾功能、胸部 CT 检查以确定适应证及禁忌证。采用美国 Agiotech 带外套管活检枪套装(18 G)。在 CT 引导下, 根据占位病变所在部位确定患者体位, 扫描病变局部, 确定进针点、方向及深度, 标记穿刺点。在无菌操作下, 用 2%利多卡因局麻至胸膜进行穿刺, 穿刺针到位后再行 CT 扫描, 确定活检枪套管在病灶中, 将针芯抽出, 插入活检枪进行组织切割。一般重复取活检 2 ~ 3 次, 取得病变组织 2 ~ 3 条, 用 4%中性甲醛溶液固定送检。操作完毕后用无菌敷料贴覆盖穿刺点, CT 扫描观察有无气胸或出血。

1.2.2 EGFR 基因突变检测 穿刺所取组织送检病理科, 经固定、脱水、石蜡包埋、切片后, 采用 WHO 肺癌分类及诊断标准, 经 2 名病理科医师确认诊断 NSCLC。确诊 NSCLC 的石蜡包埋组织, 以 5 μ m 厚度连续切片共 5 片, 采用 QIAmp DNA FFPE 试剂盒

(Qiagen, Germany)按说明书操作提取基因组 DNA, 提取后测 A260、A260/280 后放置于 -20℃ 冰箱备用。采用巢式 PCR 扩增 EGFR 基因外显子 18、19、20、21。引物序列及 PCR 条件参照参考文献[4]。PCR 产物采用 DNA 凝胶回收试剂盒进行纯化。纯化后的 PCR 产物用 Bigdye v3.1kit (ABI) 双向测序。实验方法均按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 软件, 组间比较采用卡方检验或 Fisher 精确概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 穿刺标本的一般特征

40 例患者均一次穿刺成功, 穿刺结节最大径平均为 3.3 cm (1.4 ~ 6.5 cm), 结节距体表平均深度为 6.1 cm, 每例穿刺取出组织 2 ~ 4 条, 组织的长度为 0.5 ~ 2 cm。40 例穿刺标本中, 腺癌共 24 例 (60.0%, 24/40), 鳞癌共 13 例 (32.5%, 13/40), 神经内分泌癌共 3 例, 其中大细胞神经内分泌癌 2 例, 1 例为非典型类癌。

2.2 EGFR 突变分析

在 40 例 NSCLC 标本中, 共检测到 EGFR 基因突变 15 例 (37.5%, 15/40)。其中, 11 例为外显子 19 突变, 突变位点均为密码子 2235 ~ 2250 缺失突变 (19 DEL 2235 ~ 2250); 3 例为外显子 21 突变, 突变位点为位于密码子 2576 位的点突变 (21 T2576G); 1 例为外显子 19、21 均存在突变, 突变位点为 19 DEL 2235 ~ 2250 和 21 T2576G。

2.3 EGFR 基因突变与临床病理特征之间的关系

在 40 例 NSCLC 患者中, 男性患者的 EGFR 基因突变率为 41.4% (12/29), 女性患者的突变率为 27.3% (3/11), 两者之间差异无统计学意义 ($P = 0.480$)。腺癌患者的 EGFR 基因突变率为 50.0% (12/24), 非腺癌患者突变率为 18.8% (3/16), 两者之间差异有统计学意义 ($P = 0.046$)。吸烟患者的 EGFR 突变率为 36% (9/25), 不吸烟患者的突变率为 40.0% (6/15), 两者之间差异无统计学意义 ($P = 0.800$)。

2.4 经皮肺穿刺活检的主要并发症

40 例行经皮肺穿刺活检的病例, 穿刺后气胸并发率为 7.5% (3/40), 气胸均发生在穿刺活检时或活检后半小时内, 无迟发性气胸出现, 气胸经过胸腔闭式引流后均在 1 周内吸收; 穿刺后咯血或血痰发生率为 7.5% (3/40), 穿刺相关性咯血均发生在拔出活检针外套管后, 经止血药物治疗后, 3 例患者咯血

症状均在穿刺后 3 d 内消失, 穿刺活检术前因肿瘤本身原因存在咯血的病例, 穿刺后未见咯血加重; 拔除穿刺针后复查 CT 及穿刺术后 3 ~ 4 h 复查胸部 X 线片, 均未见血胸、纵隔气肿等并发症; 穿刺术中严格遵循无菌操作, 且 40 例穿刺活检病例均在穿刺术后酌情使用抗生素, 所有病例在穿刺活检术后均未发生感染; 40 例病例中, 有 38 例患者成功进行随访, 29 例患者随访时间达 3 个月以上, 每 3 个月复查胸部增强 CT 扫描, 均未发现针道种植转移病例, 38 例患者未发生与穿刺相关的死亡。

2.5 EGFR 基因突变患者对分子靶向治疗的反应率

15 例 EGFR 基因突变的患者均为初治, 均在明确基因突变后即开始口服分子靶向药物吉非替尼, 目前服药时间已超过 3 个月。其中, 1 例患者达到完全缓解 (CR), 9 例患者达到部分缓解 (PR), 总有效率 (CR + PR) 为 66.7% (10/15)。10 例分子靶向治疗有效的患者均为腺癌, 3 例 EGFR 基因突变的非腺癌患者均未在分子靶向治疗中受益。

3 讨论

目前研究已证实, 分子靶向药物的疗效与 EGFR 基因突变密切相关, EGFR 基因突变状态成为晚期 NSCLC 患者选择分子靶向治疗的依据。但是, 通过手术切除标本进行 EGFR 基因检测的患者往往只占少数, 超过 70% NSCLC 患者因在确诊时已进入中晚期, 无法接受手术治疗, 从而无法获得手术切除肿瘤组织标本进行基因检测, 这使得相当一部分晚期 NSCLC 患者无法获得分子靶向治疗的确切证据, 盲目进行分子靶向治疗会增加患者的经济负担, 或者使患者错失放化疗等其他有效治疗的良机。近些年来, 国内外也有许多学者比较了肺癌患者血清循环 DNA 与肿瘤组织 EGFR 基因突变的一致性, 结果显示两种检测手段的一致性在 70% 左右^[5-6], 虽然通过血清 DNA 检测患者 EGFR 基因也有较高的敏感性, 但单纯检测血清 DNA 的 EGFR 基因如果出现假阴性结果, 仍会使部分患者丧失通过分子靶向治疗获益的机会。因此, 通过肿瘤组织穿刺活检检测 EGFR 突变仍是目前最为可靠的手段, 而获得足够的肿瘤组织则是目前无法手术的晚期 NSCLC 患者进行 EGFR 基因检测所面临的问题。

经皮肺穿刺活检确定肺内病变组织来源与性质是一项成熟的微创诊断技术。随着新的影像学引导技术的进步和穿刺针的不断改进, 经皮肺穿刺活

检的诊断率和安全性也不断提高。我科自 2011 年开始开展了 CT 引导经皮肺穿刺活检检测 NSCLC 患者 EGFR 基因突变的研究。本研究中, 我们采取 18 G 自动活检枪对 40 例 NSCLC 患者共 40 处肺癌结节进行活检取材, 成功率达 100%, 所获得组织制备成组织蜡块, 进行病理学确诊后, 剩余组织足够用于进行基因组 DNA 抽提及 EGFR 基因检测。

关于利用穿刺活检技术获取组织进行基因检测的可行性, 国外亦有相似研究予以证实。Ellis 等^[7]报道采用 14 G 细针穿刺乳腺组织, 可获得约 1.34 μg 的总 RNA, 足够用于进行组织微阵列分析。Chen 等^[8]同样证实了采用 18 G 活检枪取 3 条肺癌组织足够进行 EGFR 突变检测。Solomon 等^[9]同时比较了细针穿刺活检组织和通过手术切除标本检测肺癌 EGFR 和 KRAS 基因突变, 结果具有 100% 的一致性。庄一平等^[10]的小样本研究也证实了肺穿刺活检标本用于肺癌 EGFR 基因检测的应用价值。本研究中, 我们采用 18 G 全自动活检枪进行取材, 根据病灶大小和深度, 所取组织条数为 2 ~ 4 条, 长度范围在 0.5 ~ 2.0 cm, 40 例病例均成功进行 EGFR 基因检测, EGFR 基因的突变率为 37.5%, 突变发生在外显子 19 和外显子 21, 未检测到外显子 18 和 20 的突变, 突变类型主要为外显子 19 的缺失突变 DEL 2235 ~ 2250 和外显子 21 的点突变 T2576G, 与文献报道结果一致^[11]。本研究也发现腺癌患者的突变率明显高于非腺癌患者, 与之前的研究结果相符。但是本研究中吸烟患者与不吸烟患者, 以及男性患者与女性患者之间突变率的差异均无统计学意义, 这与目前大部分报道不符。分析原因可能与本研究所入组的病例数相对较少相关, 同时因入组患者大部分来自青岛沿海地区, 也不能排除地域环境因素影响, 未来我们将会继续扩大样本数进一步阐明此问题。

本研究中, 我们同时观察了经肺穿刺活检证实存在 EGFR 基因突变的患者对靶向药物吉非替尼的治疗反应, 结果表明, 吉非替尼治疗 15 例突变患者的总有效率达到 66.7%, 且服用吉非替尼治疗有效的患者均为腺癌患者, 结果与国内外大多数报道相符。同时, 有 2 例未检测到 EGFR 基因突变的患者, 因体力状况差等原因无法耐受化疗, 也接受了吉非替尼治疗, 但病情均在 3 个月内进展。因此, 这一结论可进一步证实通过肺穿刺活检所获得组织检测 EGFR 基因突变的准确性和实用性。

与乳腺等组织不同, 肺穿刺活检最常见的并发

症为气胸。我科自 2007 年开展经皮穿刺活检技术,总结经验发现在有吸烟史并存在肺大泡的患者中,气胸发生率较高,因此,在本研究中,我们采用较细的 18 G 穿刺针,在 CT 定位过程中尽可能选择最短的穿刺路径,并尽量避开肺大泡,在穿刺前即教育患者练习术中屏气,通过以上措施,仅有 3 例患者穿刺后发生气胸,经胸腔置管闭式引流后均在 1 d 后拔管痊愈。对于穿刺术后出现血痰或咯血的患者,在穿刺结束拔针后复查 CT 可见针道少量出血,经对症治疗症状均在 3 d 内消失,且发生针道出血的患者并发气胸的可能性更小,因此我们认为针道出血和咯血对患者的生活质量并无影响。同样,经过随访,CT 检查并未发现患者出现针道种植及感染等并发症。综上,我们认为 CT 引导的经皮肺穿刺活检技术操作简便、安全性高,是晚期 NSCLC 获得肿瘤组织检测 EGFR 基因突变的可靠方法。

[参 考 文 献]

- [1] Spiro SG, Porter JC. Lung cancer—where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 166: 1166 - 1196.
- [2] Datta D, Lahiri B. Preoperative evaluation of patients undergoing lung resection surgery[J]. *Chest*, 2003, 123: 2096 - 2103.
- [3] Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung Cancer [J]. *N Engl J Med*, 2002, 346: 92 - 98.
- [4] 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.
- [5] Brevet M, Johnson ML, Azzoli CG, et al. Detection of EGFR mutations in plasma DNA from lung Cancer patients by mass spectrometry genotyping is predictive of tumor EGFR status and response to EGFR inhibitors [J]. *Lung Cancer*, 2011, 73: 96 - 102.
- [6] Kimura H, Kasahara K, Kawaishi M, et al. Detection of epidermal growth factor receptor mutations in serum as a predictor of the response to gefitinib in patients with non-small-cell lung Cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 3915 - 3921.
- [7] Ellis M, Davis N, Coop A, et al. Development and validation of a method for using breast core needle biopsies for gene expression microarray analyses [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8: 1155 - 1166.
- [8] 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.
- [9] Solomon SB, Zakowski MF, Pao W, et al. Core needle lung biopsy specimens: adequacy for EGFR and KRAS mutational analysis[J]. *Am J Roentgenol*, 2010, 194: 266 - 269.
- [10] 庄一平, 张 晋, 史美祺, 等. 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 [J]. *介入放射学杂志*, 2011, 20: 276 - 278.
- [11] Pao W, Miller VA. Epidermal growth factor receptor mutations, small - molecule kinase inhibitors, and non - small - cell lung Cancer: current knowledge and future directions [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23: 2556 - 2568.

(收稿日期:2012-10-12)

(本文编辑:俞瑞纲)