

不同标本类型在非小细胞肺癌基因检测中的应用及意义^{*}

朱启淦 孟加榕 魁国菊 张小红 黄江宾 禹乐

(联勤保障部队第九〇九医院·厦门大学附属东南医院病理科, 福建 漳州 363000)

【摘要】 目的 研究分析不同标本类型在非小细胞肺癌(NSCLC)患者的驱动基因检出率,并分析表皮生长因子受体(EGFR)、间变性淋巴瘤激酶(ALK)、C-ros 原癌基因 1-受体酪氨酸激酶(ROS1)、Kristen 鼠肉瘤病毒原癌基因同源体(KRAS)、鼠类肉瘤滤过性病毒致癌基因同源体 B(BRAF)等驱动基因异常情况与临床病理特征关系。**方法** 收集 2021 年 1 月—2021 年 12 月我院病理科明确诊断为 NSCLC 样本 180 例,包括手术切除标本 25 例,肺活检标本 80 例,恶性胸腔积液细胞蜡块标本 29 例,转移病灶标本 46 例,采用扩增阻滞突变系统(ARMS)法检测驱动基因突变状态。**结果** 5 种驱动基因的总突变率为 53.33%(96/180),驱动基因突变可在不同标本类型中检出,不同标本间突变率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。EGFR 基因突变率 40.56%(73/180),性别及组织类型突变率比较差异有统计学意义($P<0.05$),年龄类型突变率比较差异无统计学意义($P>0.05$);KRAS 基因突变率 6.11%(11/180),其中性别类型突变率比较差异有统计学意义($P<0.05$),年龄与组织类型突变率比较差异无统计学意义($P>0.05$);ALK 融合基因突变率 4.44%(8/180),年龄、性别及组织类型突变率比较差异无统计学意义($P>0.05$);BRAF 基因突变率 1.11%(2/180),ROS1 融合基因突变率 1.11%(2/180)。**结论** 不同标本类型均可检出驱动基因,增加了临床基因检测的取样途径。NSCLC 患者 EGFR 基因突变率明显高于其他驱动基因,EGFR 基因突变与患者性别及组织类型有差异,KRAS 基因突变与患者性别有差异;ALK、ROS1、BRAF 基因突变率较低,但指导 NSCLC 治疗有重要意义。多基因联合检测可一次获取更多驱动基因突变信息,能够更快、更全面地指导临床治疗。

【关键词】 扩增阻滞突变系统;非小细胞肺癌;驱动基因;基因突变

【中图分类号】 R734.2 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2024.04.008

Application and significance of different specimen types in the genetic detection of non-small cell lung cancer

ZHU Qigang, MENG Jiarong, KUI Guojie, ZHANG Xiaohong, HUANG Jiangbi, YU Le

(Department of Pathology, The 909th Hospital of Joint Logistic Support Force, Dongnan Hospital, Xiamen University, Zhangzhou 363000, Fujian, China)

【Abstract】 **Objective** To study the driver gene detection rate of different sample types in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC), the abnormal driver genes of epidermal growth factor receptor (EGFR), anergic lymphoma kinase (ALK), C-ros protooncogene1-receptor tyrosine kinase (ROS1), Kristen mouse sarcoma virus protooncogene homology (KRAS), murine sarcoma viral toxin oncogene homology B (BRAF), and their clinicopathology characteristic relationship. **Methods** A total of 180 NSCLCs from 909th hospital from January 2021 to December 2021 were collected for driver genes testing including 25 surgical resection specimens, 80 lung biopsy specimens, 29 malignant pleural effusion cell wax block specimens and 46 metastatic lesion specimens. The specimens were tested for driver gene mutations using the amplification refractory mutation system (ARMS) method. **Results** The total mutation rate of the five driver genes was 53.33% (96/180), and the mutations of the driver genes could be detected in different specimen types, and the difference in mutation rate was not statistically significant ($P>0.05$). The mutation rate of EGFR gene was 40.56% (73/180), and the difference in gender and tissue type was statistically significant ($P<0.05$), and the difference in age

基金项目:联勤保障部队第九〇九医院青年苗圃基金资助项目(16Y020.17Y015)

通讯作者:禹乐,副主任技师,E-mail:422245066@qq.com

引用本文:朱启淦,孟加榕,魁国菊,等.不同标本类型在非小细胞肺癌基因检测中的应用及意义[J].西部医学,2024,36(4):512-517. DOI:10.

3969/j.issn.1672-3511.2024.04.008

mutation rate was not statistically significant ($P > 0.05$). KRAS gene mutation rate was 6.11% (11/180), of which the difference between gender was statistically significant ($P < 0.05$), and the difference between age and tissue type mutation rate was not statistically significant ($P > 0.05$). ALK fusion gene mutation rate was 4.44% (8/180), and the difference between age, gender and tissue type mutation rate was not statistically significant ($P > 0.05$). ROS1 fusion gene mutation rate was 1.11% (2/180), and BRAF gene mutation was rate 1.11% (2/180). **Conclusion** Driver genes can be detected in different specimen types, increasing the sampling pathway for clinical genetic testing. The EGFR gene mutation rate was significantly higher in NSCLC patients than in other driver genes, EGFR gene mutations are different from patients' gender and pattern of organization. KRAS gene mutations are different from patients' gender. The mutation rate of ALK, ROS1 and BRAF genes is low, but it is of great significance to guide the treatment of NSCLC. Multi-gene combined testing can obtain more information about driver gene mutations at a time, which can guide clinical treatment faster and more comprehensively.

【Key words】 ARMS; NSCLC; Driver genes; Gene mutations

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,全世界每年因肺癌死亡人数约 160 万人^[1-2]。非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)占肺癌的 75%~85%,初诊并发现转移的患者 5 年生存期约为 5%,生存率较低^[3-4]。随着基因检测技术及分子病理学的发展,NSCLC 驱动基因异常被相继发现,肺癌的诊断从组织学分型转向分子分型,促使肺癌的诊疗进入到个体化分子靶向药物治疗时代^[5]。明确驱动基因状态是分子靶向药物治疗的基础,中国 NSCLC 诊疗指南^[6]推荐,在 NSCLC 患者治疗前需检测表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor, EGFR)基因,条件允许时可同时进行 EGFR、间变性淋巴瘤激酶(Anaplastic lymphoma kinase, ALK)、C-ros 原癌基因 1-受体酪氨酸激酶(C-ros oncogene 1-receptor tyrosine kinase, ROS1)等多基因联合检测,以协助临床诊疗。因我国肺癌一经发现大多处于晚期或伴有转移而无法手术切除,且标本的来源及质量常影响到基因检测结果。本研究采用扩增阻滞突变系统(Amplification refractory mutation system, ARMS)法对 180 例不同标本类型 NSCLC 患者行驱动基因联合检测,分析不同标本类型基因突变的检出率及驱动基因状态与临床病理参数的关系,分析驱动基因联合检测的意义,进而为 NSCLC 患者个体化靶向药物治疗提供取样途径参考及分子病理学依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2021 年 1 月—2021 年 12 月联勤保障部队第九〇九医院病理科明确诊断为 NSCLC 患者,并有足够的肿瘤细胞进行后续驱动基因联合检测的标本 180 例。其中女性 56 例,男性 124 例;年龄 33~87 岁,中位年龄(57 ± 5)岁;腺癌 154 例,非腺癌 26 例(包括鳞癌、腺鳞癌及未分化癌);手术切除标本 25 例,肺活检标本 80 例(包括肺细针穿刺和支气管镜活检),胸腔积液细胞蜡块标本 29 例,转移病灶标本

46 例(包括骨、淋巴结、肝、脑等转移)。本研究通过医院伦理委员会审核通过。

1.2 试剂与仪器 德国 LEICA RM2245 切片机,厦门恺硕 HF24 全自动核酸纯化仪,石蜡包埋组织切片组织样品基因组 DNA/RNA 一步式提取试剂盒均购于厦门凯硕生物科技有限公司,人类 5 种突变基因检测试剂盒购于厦门艾德生物医药科技股份有限公司, UPT-100 超微量核酸蛋白测定仪,美国 ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪。

1.3 FFPE DNA 和 RNA 的提取 石蜡包埋组织按 5~10 μm 的厚度进行切片,取 5~10 片于 1.5 mL 离心管中(视标本组织量增减切片数量),每个组织样本取 2 管,分别用于 DNA 和 RNA 提取。样本 DNA 和 RNA 提取操作方法及步骤严格按 FFPE 组织样品基因组 DNA 和 RNA 一步式提取试剂盒说明书进行。所提 DNA 和 RNA 需立即检测,或 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.4 FFPE DNA 和 RNA 浓度测定 使用微型紫外分光光度计测定样本 RNA 和 DNA 浓度,所提 RNA 浓度应介于 10~500 $\text{ng}/\mu\text{L}$,DNA 浓度应大于 2 $\text{ng}/\mu\text{L}$,DNA 和 RNA 的 OD_{260/280} 应在 1.8~2.1 之间。样本 DNA 上机浓度稀释至 1.5~3 $\text{ng}/\mu\text{L}$ 。

1.5 ARMS PCR 检测驱动基因突变 向体积均为 45 μL 的待检样品 RNA、LMG 阳性质控品、纯化水中各加入 5 μL LMG 混合酶 A;向体积均为 42.3 μL 的待检样品 DNA、LMG 阳性质控品、纯化水中各加入 2.7 μL LMG 混合酶 B;混匀后短暂离心,将混好的 RNA 样品依次取 10 μL 加入 LMG 12 联 PCR 反应条的①—④号管中,将混好的同一份 DNA 样品依次取 5 μL 加入 LMG 12 联 PCR 反应条的⑤—⑫号管中,盖上 LMG 12 联 PCR 反应条管盖,短暂离心,放入 ABI7500 实时 PCR 仪中。反应程序严格按照试剂盒说明书进行设置。

1.6 结果判断 5 种突变基因检测试剂盒常见基因

异常包括 ALK 基因融合、ROS1 基因融合、BRAF 15 号外显子基因突变、KRAS 2 号外显子基因突变及 EGFR 18、19、20 及 21 号外显子基因突变。基因突变结果的判读严格按照试剂盒说明书阳性判断值及检验结果的解释进行。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 22.0 统计软件分析, 基因突变率以(%)表示, 临床病理参数组间比较用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5 种驱动基因突变在 NSCLC 中的分布 5 种驱

动基因的总突变率为 53.33 % (96/180), 未发现不同驱动基因之间的共存突变。EGFR 基因突变率 40.56 % (73/180), 包括 19Del 突变 29 例、L858R 突变 36 例、L861Q 突变 2 例、20-Ins 突变 1 例、19Del 和 T790M 双突变 2 例、L858R 和 T790M 双突变 2 例、G719X 和 L861Q 双突变 1 例, 在 5 种驱动基因中突变频率最高。KRAS 基因突变率 6.11 % (11/180), ALK 融合基因突变率 4.44 % (8/180), ROS1 融合基因突变率 1.11 % (2/180), BRAF 基因突变率 1.11 % (2/180), 见图 1、表 1。

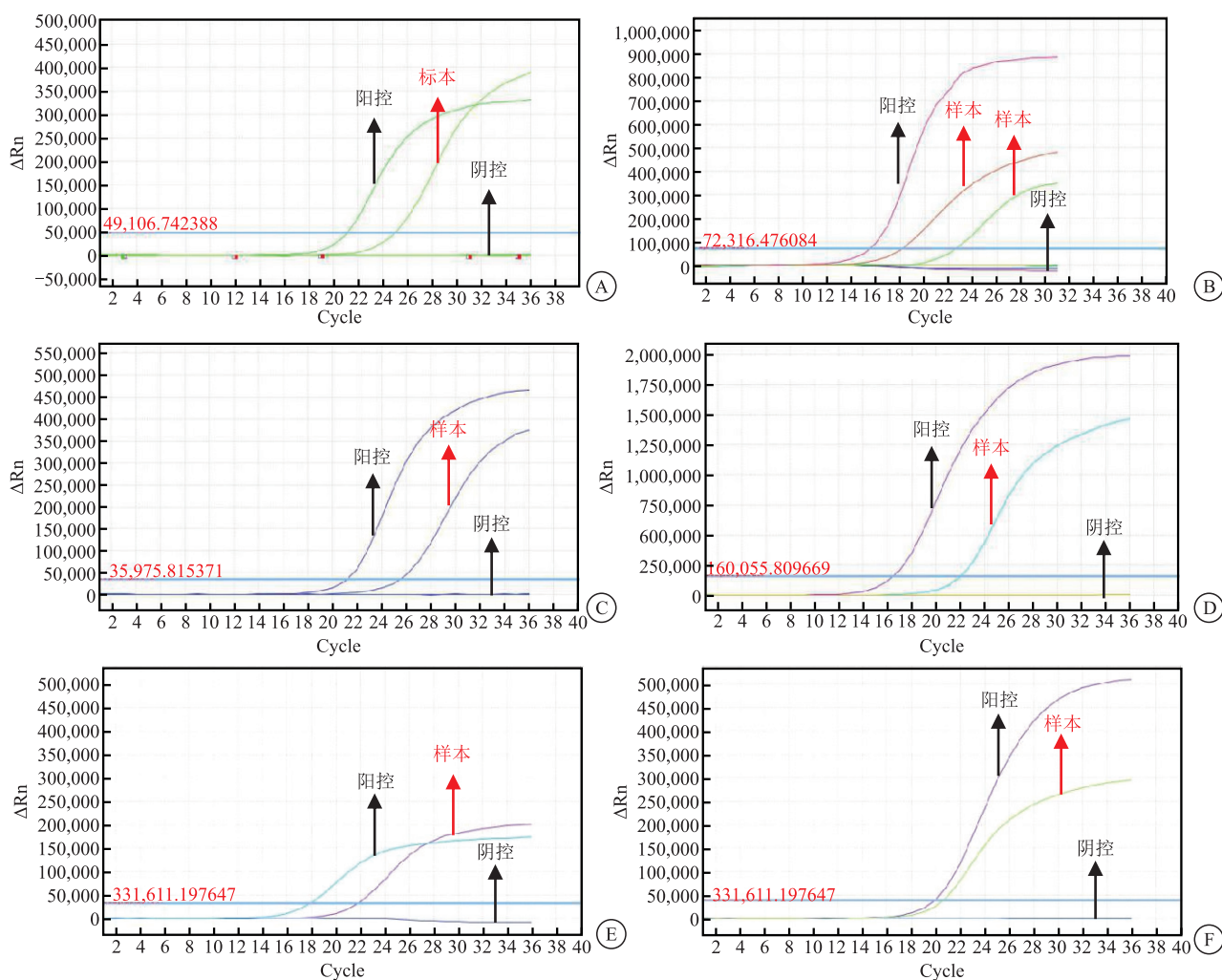


图 1 NSCLC 标本驱动基因扩增曲线

Figure 1 Amplification curves of driving gene in non-small cell lung cancer

注: A. EGFR 21 号外显子 L858R 突变; B. EGFR 19 号外显子 19Del 和 20 号外显子 T790M 双突变; C. KRAS 基因突变; D. ALK 基因融合; E. BRAF 基因突变; F. ROS1 基因融合。

2.2 NSCLC 中 EGFR、KRAS 和 BRAF 基因突变与临床病理特征关系 EGFR 基因突变率在女性患者 53.57 % (30/56) 及腺癌患者 44.81 % (69/154) 中较高, 性别及组织类型差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与年龄差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。KRAS 基因突变更容易发生于男性患者 8.87 % (11/124), 性别差异有

统计学意义 ($P < 0.05$); 与年龄、组织类型差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。BRAF 基因突变率 1.11 % (2/180), 与临床病理特征无明显相关 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.3 NSCLC 中 ALK 和 ROS1 融合基因与临床病理特征关系 融合基因阳性率为 5.56 % (10/180), 其中

ALK 阳性率在年龄小于 60 岁患者 6.58%(5/76),男性患者 4.84%(6/124),腺癌患者 5.19%(8/154)中较高,但与年龄、性别、组织类型差异均无统计学意义($P>0.05$)。ROS1 融合基因突变率 1.11%(2/180),与临床病理特征无明显相关。见表 2。

2.4 5 种驱动基因在不同标本类型中的检测情况
EGFR 基因在手术标本突变率为 36.00%(9/25),活检标本突变率为 41.25%(33/80),转移病灶标本突变率为 43.48%(20/46),细胞块标本突变率为 37.93%(11/29),转移病灶标本突变率较高,但不同标本类型突变率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。KRAS

基因在手术标本突变率为 8.00%(2/25),活检标本突变率为 6.25%(5/80),转移病灶标本突变率为 6.52%(3/46),细胞块标本突变率为 3.45%(1/29),不同标本类型突变率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。ALK 基因在手术标本突变率为 8.00%(2/25),活检标本突变率为 5.00%(4/80),转移病灶标本突变率为 4.35%(2/46),细胞块标本突变率为 0.00%(0/29),不同标本类型突变率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。BRAF 基因突变手术标本及转移病灶标本各 1 例。ROS1 基因活检标本及转移病灶标本各 1 例。见表 1、2。

表 1 EGFR、KRAS、BRAF 基因突变与临床病理特征的关系
Table 1 The relationship between EGFR, KRAS and BRAF gene mutation rate and clinicopathological parameters

病理特征	EGFR 基因		χ^2	P	KRAS 基因		χ^2	P	BRAF 基因		χ^2	P
	突变型 ($n=73$)	野生型 ($n=107$)			突变型 ($n=11$)	野生型 ($n=169$)			突变型 ($n=2$)	野生型 ($n=178$)		
年龄(岁)			0.009 8	0.921 1			0.519 9	0.470 9			0.050	0.832
≥60	42	62			8	96			1	103		
<60	31	45			3	73			1	75		
性别			5.712 5	0.016 8			3.857 9	0.049 5			0.337	0.562
女	30	26			0	56			1	55		
男	43	81			11	113			1	123		
组织类型			6.812 9	0.009 1			0.006 2	0.937 3			0.341	0.559
腺癌	69	85			10	144			2	152		
非腺癌	4	22			1	25			0	26		
标本类型			0.477 1	0.923 9			0.530 1	0.912 2			3.596	0.308
手术标本	9	16			2	23			1	24		
活检标本	33	47			5	75			0	80		
转移病灶标本	20	26			3	43			1	45		
细胞蜡块标本	11	18			1	28			0	29		

表 2 ALK、ROS1 基因突变与临床病理特征的关系
Table 2 The relationship between ALK, ROS1 gene mutation rate and clinicopathological parameters

病理特征	ALK 基因		χ^2	P	ROS1 基因		χ^2	P
	融合($n=8$)	野生型($n=172$)			融合($n=2$)	野生型($n=178$)		
年龄(岁)			0.675 3	0.411 2			0.050	0.832
≥60	3	101			1	103		
<60	5	71			1	75		
性别			0.000 1	0.993 1			0.931	0.339
女	2	54			0	56		
男	6	118			2	122		
组织类型			0.454 9	0.500 0			0.341	0.559
腺癌	8	146			2	152		
非腺癌	0	26			0	26		
标本类型			2.152 2	0.541 4			1.094	0.779
手术标本	2	23			0	25		
活检标本	4	76			1	79		
转移病灶标本	2	44			1	45		
细胞蜡块标本	0	29			0	29		

3 讨论

根据国家癌症中心 2019 年公布的癌症统计数据
显示,我国肺癌的发病率和死亡率居所有恶性肿瘤之

首^[7]。近年来,随着新的检测技术和针对 NSCLC 不
同驱动基因的发现,以及靶向治疗药物的不断研发上
市,靶向药物治疗在肿瘤治疗中愈发重要,更加促进

了 NSCLC 驱动基因的检测。标本来源及肿瘤细胞 DNA 的质量是检测的前提, DNA 质量及低肿瘤细胞比例会影响驱动基因的检出率, 李玉勤^[8]报道标本质量不佳会引起假阴性。本研究采用的 ARMS 法是针对驱动基因突变设计特异的突变引物, 确保了高度特异性, 是一种高灵敏度的检测方法, 灵敏度可低至 1%, 适合于活检及细胞蜡块等各种不同样本类型的检测。该检测方法还有操作简易, 结果易于判读, 报告周期短等优势, 目前在各级医院驱动基因检测中广泛使用。

EGFR 基因其酪氨酸激酶区域的激活即磷酸化对肿瘤细胞生长、肿瘤侵袭及细胞凋亡等相关信号传递具有重要意义^[9-11], 突变患者可从酪氨酸激酶抑制剂靶向治疗中获益。既往研究表明亚洲 NSCLC 人群 EGFR 突变率为 30%~50%^[12], 主要以 19DEL 和 L858R 突变为主, 约占 EGFR 突变的 90%^[13]。本实验中 EGFR 突变率为 40.56%, 其中 19Del 突变及 L858R 突变占 89.04%, 稀有突变占 10.96%, 与上述文献报道相近。本研究发现女性、腺癌患者的 EGFR 突变率明显高于男性、非腺癌患者, 两者比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而与患者年龄和标本类型无关 ($P > 0.05$), 与既往报道一致^[9,14]。KRAS 基因是 EGFR 信号通路的下游调控基因, 在 EGFR 信号传导通路中起着分子开关作用, KRAS 基因突变是 EGFR-TKIs 耐药的重要原因之一^[15]。本研究中 KRAS 基因突变率为 6.11%, 以 2 号外显子的 12 密码子为主; 男性患者 KRAS 突变率高于女性, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 研究发现老年、肺腺癌患者阳性率较高, 但突变与患者年龄、组织类型无关, 与李洁等^[16]报道基本一致。BRAF 基因突变导致信号通路的改变和激酶活性的增加, 从而促使肿瘤的产生及转移^[17], BRAF 基因突变患者可在 RAF 抑制剂威罗菲尼和达拉菲尼治疗中获益。有研究表明 BRAF 在 NSCLC 患者中突变率为 1%~8%, 与患者性别、年龄及组织学类型等无关^[18]。本研究中 BRAF 基因突变率 1.11%, 与上述文献报道相近。

ALK 基因常与棘皮动物微管蛋白 4 (Echinoderm microtubule-associated protein like 4, EML4) 形成 EML4-ALK 融合基因, 从而激活 ALK 酪氨酸激酶区、下游 PIK3/AKT 及 MAPK 等信号通路导致肿瘤的发生^[19]。ROS1 基因与 ALK 在氨基酸序列上有 49% 的相似, 在酪氨酸激酶催化区的 ATP 结合位点同源性也高达 77%^[20]。ALK 及 ROS1 基因融合患者在 ALK/ROS 抑制剂中明显受益。有研究表明 EML4-ALK 融合基因在 NSCLC 患者中的阳性率为

3%~7%^[21], ROS1 融合基因在 NSCLC 患者中的阳性率为 1.0%~3.4%^[22]。本研究中 ALK 融合基因突变率 4.44%, ROS1 融合基因突变率 1.11%, 与上述文献报道相近。研究发现 ALK 基因融合更好发于年龄小于 60, 男性, 腺癌患者, 但与年龄、性别、组织类型及标本类型突变率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。ROS1 融合基因突变患者因例数过少无法进行统计分析, 后续将继续积累数据进行探讨。

本研究组前期报道活检小标本、转移病灶标本及细胞蜡块等不同标本类型可用于 EGFR 基因检测^[9,23], 结果发现其他驱动基因突变也可在此类不同标本类型中检出, 且突变率与标本类型之间差异无统计学意义, 从而为临床根据患者实际情况选择合适的标本类型提供了依据, 增加了基因检测的取材途径。本研究 4 种不同标本类型, 虽均可检出驱动基因突变, 但实验发现血性胸水细胞蜡块标本因含大量红细胞及炎细胞, 肿瘤细胞比例往往较低, 在制作细胞蜡块前可用免疫磁珠阴性富集法富集肿瘤细胞能有效提高肿瘤细胞比例^[24]; 对于活检标本因肿瘤大小、活检部位及肿瘤异质性存在取样误差, 导致肿瘤细胞数量往往有限, 故对基因检测切片前及切片后的 HE 切片进行细胞分析, 可大致评估出样本中的肿瘤细胞数和比例, 对于肿瘤细胞数及比例过低的样本, 可采取显微切割的方法对切片中的肿瘤细胞进行富集, 以提高肿瘤细胞的比例, 从而达到 ARMS 法检测阈值^[25]; 转移病灶标本, 特别是骨转移标本切片时常因骨组织而难以切片, 取材前需置于酸性条件下进行脱钙处理, 引起 DNA 的降解及片段化, 从而导致 PCR 的扩增效率下降, 对于骨转移组织样本可采用表面脱钙法, 脱钙后流水冲洗, 可有效降低浸泡法对细胞 DNA 的降解, 并在上机时适当增加上样浓度, 可增加此类样本实验的检出率。综上可知, 手术标本为首选样本, 在患者无法手术的情况下活检标本、转移病灶标本及细胞蜡块标本也可作为有效检测样本, 对于少数无法获得组织学或细胞学标本的晚期患者, 可用血液替代检测^[6]。

早期研究认为 NSCLC 的基因突变是相互独立、相互排斥的, 近年来有文献报道双驱动基因共突变在 NSCLC 中可以共存^[26]。本研究未发现不同驱动基因之间的共存突变, 可能与肿瘤异质性、样本量不够大有关, 在后续的检测中继续积累数据探讨。本实验 EGFR 基因手术标本突变率低于其他标本类型, 可能与手术标本量较少有关, 也证实我国 NSCLC 患者一经发现大多失去最佳的手术机会, 后续的检测中将继续积累数据探讨; 转移病灶样本 EGFR 突变率最高,

可能与突变导致肿瘤高负荷,更易导致肿瘤生长、侵袭及转移有关^[27]。实验中活检标本及细胞蜡块标本经过 HE 及免疫组化的连续切片,导致样本的损耗,以往单基因多次检测造成样本的不足,且提供的基因信息有限,多基因联合检测相比单基因检测能一次测出多种基因状态,为临床治疗提供更多指导信息,同时解决样本量不足的问题,也可缩短报告周期。

4 结论

不同类型标本均可用于驱动基因检测,增加了患者基因检测取样途径,并分析与临床病理特征的关系,从而筛选出适合基因检测的 NSCLC 患者,为患者靶向药物治疗提供更多基因信息参考和依据。

【参考文献】

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1):7-30.
- [2] HERBST R S, MORGENSZTERN D, BOSHOF C. The biology and management of non-small cell lung cancer[J]. Nature, 2018, 553(7689): 446-454.
- [3] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al.* Cancer statistics, 2021[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1):7-33.
- [4] 董跃华,王贵刚,杨燕君,等. NSCLC 患者基因突变与其临床病理特征的相关性[J]. 西部医学, 2022, 34(4):493-497.
- [5] 李晓峰,张冠军,汪园园,等. 非小细胞肺癌 EGFR、ALK 和 ROS1 基因联合检测及突变共存分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(6):378-384.
- [6] 中华医学会病理学分会,国家病理质量控制与指导中心,中华医学会肿瘤学分会肺癌学组,等. 非小细胞肺癌分子病理检测临床实践指南(2021 版)[J]. 中华病理学杂志, 2021, 50(4): 323-332.
- [7] 郑荣寿,孙可欣,张思维,等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1):19-28.
- [8] 李玉勤,顾莹莹,姜桔红. 非小细胞肺癌小活检标本质量与 EGFR 基因突变检出率关系分析[J]. 中国肺癌杂志, 2021, 24(5): 331-337.
- [9] 朱启淦,陈丽丹,禹乐,等. ARMS 法在肺腺癌 EGFR 基因突变检测中的应用及意义[J]. 山西医科大学学报, 2020, 51(8): 744-748.
- [10] 张倩,文世民. 阿法替尼与非小细胞肺癌 T790M 基因的研究进展[J]. 西部医学, 2018, 30(9):1397-1400,1404.
- [11] SHI Y K, AU J S K, THONGPRASERT S, *et al.* A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER)[J]. J Thorac Oncol, 2014, 9(2):154-162.
- [12] TASDEMIR S, TAHERI S, AKALIN H, *et al.* Increased EGFR mRNA Expression Levels in Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Eurasian J Med, 2019, 51(2): 177-185.
- [13] 王芳,付莎,汤涛,等. 非小细胞肺癌表皮生长因子受体基因突变与临床病理特征的关系[J]. 中华病理学杂志, 2011, 40(10):664-666.
- [14] 邹琳,邵伟伟,李蕾,等. 非小细胞肺癌患者 EGFR、ALK、ROS1 基因突变状态及其临床意义[J]. 诊断病理学杂志, 2020, 27(2): 85-89.
- [15] KHAN S A, ZENG Z, SHIA J, *et al.* EGFR Gene amplification and KRAS mutation predict response to combination targeted therapy in metastatic colorectal cancer[J]. Pathology & Oncology Research, 2016, 23(3):1-5.
- [16] 李洁,伍锦凤,叶庆,等. 非小细胞肺癌中 EGFR、ALK、KRAS 基因突变及 PD-L1 表达的关系[J]. 临床与实验病理学杂志, 2021, 37(9):1108-1112.
- [17] TAN I, STINCHCOMBE T E, READY N E, *et al.* Therapeutic outcomes in non-small cell lung cancer with mutations: a single institution, retrospective cohort study[J]. Transl lung cancer res, 2019, 8(3):258-267.
- [18] 贺佳子,黄清洁,李莉,等. 396 例非小细胞肺癌 EGFR、KRAS、ALK 和 BRAF 基因突变状态及其临床病理特征[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(9):2252-2258.
- [19] 李华芳. 非小细胞肺癌患者 ALK、ROS1 及 BRAF-V600E 基因突变与临床特征的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(6):701-704.
- [20] OU S H, TAN J, YEN Y, *et al.* ROS1 as a 'druggable' receptor tyrosine kinase: lessons learned from inhibiting the ALK pathway[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2012, 12(4): 447-456.
- [21] 张绪超,陆舜,张力,等. 中国间变性淋巴瘤激酶阳性、ROS1 阳性非小细胞肺癌诊疗指南[J]. 中华病理学杂志, 2018, 47(4):241-247.
- [22] LANDI L, CHIARI R, TISEO M, *et al.* Crizotinib in -Deregulated or Rearranged Pretreated Non-Small Cell Lung Cancer (METROS): A Phase II, Prospective, Multicenter, Two Arms Trial[J]. Clin cancer res, 2019, 25(24):7312-7319.
- [23] 禹乐,朱启淦,杨立民,等. 胸水细胞块 EGFR 基因突变检测在非小细胞肺癌中的临床意义[J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(5): 462-466.
- [24] 禹乐,朱启淦,温路生,等. 免疫磁珠阴性富集法在恶性胸腔积液细胞块制作中的应用[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(7):1137-1141.
- [25] AISNER D L, DESHPANDE C, BALOCH Z, *et al.* Evaluation of EGFR mutation status in cytology specimens: an institutional experience. Diagn Cytopathol, 2013, 41(4): 316-323.
- [26] 王鑫,钟殿胜. 非小细胞肺癌 EGFR 和 ALK 基因双突变研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2018, 21(9):686-691.
- [27] 高歌,邓立力. 非小细胞肺癌 EGFR、KRAS、ALK 基因突变与不同转移器官分布的相关性研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2018, 21(7):536-542.

(收稿日期:2022-11-15;修回日期:2023-11-06;编辑:黎仕娟)