

# 中国新疆维吾尔族人群中肺癌驱动基因的表达

张淑娟<sup>1,2</sup>, 常建华<sup>2</sup>, 王磊<sup>1</sup>, 阿提坎·卡吾力<sup>1</sup>

1. 新疆维吾尔自治区喀什地区第二人民医院肿瘤科, 新疆 喀什 844000;
2. 复旦大学附属肿瘤医院肿瘤内科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032

**[摘要]** **背景与目的:** 肺癌的发病率和肿瘤相关死亡率居当前世界各地恶性肿瘤的首位。肺癌亦存在多种驱动基因。各民族间的差异反映出肺癌的不同基因突变存在差异。该研究旨在探讨新疆维吾尔族患者中肺癌驱动基因的表达状况。**方法:** 收集维吾尔族肺癌患者组织标本43例, 采用扩增受阻突变系统(amplification refractory mutation system, ARMS)检测*EGFR*基因表达, 采用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)检测*K-ras*、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*及*PIK3CA*基因表达, 分析肺癌驱动基因突变与新疆维吾尔族肺癌患者临床病理特征之间的相关性。**结果:** 43例标本中, *EGFR*基因突变率为11.63%, 其中腺癌及鳞癌*EGFR*基因突变检出率分别为26.67%和4.76%; 大细胞癌、腺鳞癌及小细胞肺癌均未测出*EGFR*基因突变。肺腺癌患者*EGFR*基因突变率为26.67%, 明显高于非腺癌者的3.57%, 差异有统计学意义( $P=0.024$ )。 *K-ras*12/13杂合突变6例, 突变检出率为16.28%(6/43); *PIK3CA*杂合突变2例, 突变检出率为4.65%(2/43)。1例发生*EGFR*基因与*K-ras*基因同时突变。维吾尔族肺癌患者*EGFR*基因突变与年龄、性别、吸烟状况、TNM分期、ECOG评分均无关。43例标本中均未见*ALK*、*ROS1*融合基因及*BRAF*基因突变。**结论:** 与亚洲人群相比, 新疆维吾尔族肺癌患者*EGFR*突变率较低, *K-ras*突变率高, 类似于欧美高加索人群的突变特点。

**[关键词]** 肺癌; 维吾尔族; 驱动基因

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2017.01.003

中图分类号: R734.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2017)01-0014-06

**The expression of driver genes in Uyghur patients with lung cancer in Xinjiang China** ZHANG Shujuan<sup>1,2</sup>, CHANG Jianhua<sup>2</sup>, WANG Lei<sup>1</sup>, ATIKAN·Kawuli<sup>1</sup> (1.Department of Medical Oncology, Kashgar Prefecture Second People's Hospital, Kashgar 844000, Xinjiang Uyghur Autonomous Region, China; 2. Department of Medical Oncology, Fudan University Shanghai Cancer Center; Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Correspondence to: ATIKAN·Kawuli E-mail: atikan0998@163.com

**[Abstract]** **Background and purpose:** Lung cancer is the leading cause of morbidity and cancer-related mortality worldwide. A variety of driver genes were detected in lung cancer. Studies have shown that different gene mutations of lung cancer were found between different races. Most of Uyghurs live in Xinjiang, accompanied by a high morbidity of lung cancer. This study aimed to investigate the expression of driver genes in Uyghur patients with lung cancer in Xinjiang, China. **Methods:** This study collected the tissue specimens of 43 Uyghur patients with lung cancer, with a very different method to detect *EGFR* gene expression. real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (RTFQ-PCR) was used to detect *K-ras*, *ALK*, *ROS1*, mutated *BRAF* and *PIK3CA* gene expression. Analysis of the correlation between lung cancer gene mutations in Uyghur and clinical features of patients with lung cancer were performed. **Results:** Among 43 cases of specimens, *EGFR* mutation rate was 11.63%, while the *EGFR* gene mutation rates in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma were 26.67% and 4.76%, respectively. *EGFR* gene mutation was not detected in large cell carcinoma, adenosquamous carcinoma and small cell lung cancer. *EGFR* gene mutation rate in patients with adenocarcinoma (26.67%) was significantly higher than that in other types of lung cancer (3.57%). The

difference was statistically significant ( $P=0.024$ ). There were 6 patients with *K-ras*12/13 heterozygous mutation, and the mutation detection rate was 16.28% (6/43). There were 2 patients with *PIK3CA* heterozygous mutation, and the mutation detection rate was 4.65% (2/43). *EGFR* and *K-ras* mutations occurred simultaneously in 1 case. No relationship was found between *EGFR* mutations and age, gender, smoking status, TNM staging, ECOG score among Uyghur lung cancer patients. This study did not find mutation in *ALK*, *ROS1* fusion gene and *BRAF* gene among the 43 specimens.

**Conclusion:** Compared with Asian populations, Xinjiang Uyghur patients with lung cancer have a lower rate of *EGFR* mutations and a higher rate of *K-ras* mutations, which is similar to the characteristics of European Caucasians.

[ **Key words** ] Lung cancer; Uyghur; Driver gene

目前在世界范围内恶性肿瘤死因当中,肺癌居于首位。中国每年新增肺癌病例已超过50万人。虽然近年来关于肺癌的临床诊疗已经取得了较大的进展,但是肺癌的5年生存率也仅有15%~17%<sup>[1]</sup>。表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, *EGFR*)表达异常与肿瘤发展有关,而*EGFR*基因突变与肺癌组织学类型、预后密切相关。目前,包括*EGFR*、*K-ras*、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*等多种基因变异所致的特定分子亚型肺癌已经被发现<sup>[2]</sup>。根据肺癌患者不同驱动基因状态来选择正确的治疗方案,成为肺癌精准治疗的基石。有报道,东亚人和西方人在某些基因表达上有明显不同,在西方国家中,肺腺癌的*K-ras*突变率高,而*EGFR*突变率低;而东亚人群*EGFR*基因突变率高;*K-ras*基因突变率低。说明人种差异会导致不同基因发生突变。有报道维吾尔族人基因有30%与高加索人类似<sup>[2]</sup>。本研究旨在检测新疆维吾尔族人群中肺癌驱动基因的表达,了解新疆维吾尔族人群中肺癌常见基因情况,与中国汉族人群的差异,以便准确评估患者的预后情况,更好地选择靶向药物治疗。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

收集2003年1月—2013年12月新疆医科大学附属医院及喀什地区第二人民医院保存的维吾尔族原发性肺癌患者组织蜡块43例。有完整的临床及病理资料。其中男性30例,女性13例;年龄38~76岁,中位年龄57.6岁;功能评分:ECOG小于等于2分;组织学类型:腺癌15例,

鳞癌21例,大细胞癌4例,腺鳞癌1例,小细胞肺癌2例;有吸烟史4例。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 取材

所有病理标本均为石蜡包埋标本,常规HE染色,筛选出肿瘤成分大于80%的瘤组织切片。

#### 1.2.2 仪器与试剂

主要试剂包括:石蜡包埋组织基因组DNA提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司),石蜡包埋组织基因组RNA提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司),2×GoldstarMasterMix(北京康为世纪生物技术有限公司),2×SuperRealPreMix (SYBR Green 1) [天根生化科技(北京)有限公司]和M-MLV反转录试剂(美国Promega公司)。各基因特异性引物由苏州金唯智生物科技有限公司合成。

主要仪器采用ABI7500荧光定量PCR仪购自赛默飞世尔(中国)有限公司,梯度PCR仪购自杭州晶格科学仪器有限公司。

#### 1.2.3 基因检测

采用扩增受阻突变系统(amplification refractory mutation system, ARMS)法及实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)法(ARMS-PCR)检测*EGFR*基因,并进行结果判定。

ARMS-PCR法采用厦门艾德生物公司的人类*EGFR*基因突变检测试剂盒和LightCycler480 II仪器。严格按照厦门艾德生物公司的人类*EGFR*基因突变检测试剂盒说明书,检测*EGFR*基因突变状态。

采用RTFQ-PCR法检测*K-ras*、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*、*PIK3CA*的表达。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0统计学软件对数据进行处理。采用 $\chi^2$ 检验统计计数资料,采用方差分析检验方法统计计量资料。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 *EGFR*与*K-ras*、*ALK*、*PIK3CA*、*BRAF*及*ROS1*基因突变检出结果

患者组织标本数43例,其中腺癌15例(37.2%),鳞癌21例(46.8%),大细胞癌4例(9.30%),腺鳞癌1例(2.3%),小细胞肺癌2例

(4.7%)。43例标本中*EGFR*基因的突变率为11.63%,其中腺癌*EGFR*基因的19号外显子突变1例,突变检出率为6.67%(1/15);21号外显子L858突变2例,突变检出率为13.33%(2/15);20号外显子T790突变1例,突变检出率为6.67%(1/15)。鳞癌的*EGFR*基因的21号外显子L858突变1例,突变检出率为4.76%(1/21)。4例大细胞癌及2例小细胞肺癌均未见*EGFR*基因突变。

43例标本中*K-ras*12/13杂合突变6例,突变检出率为16.28%(6/43);*PIK3CA*杂合突变2例,突变检出率为4.65%(2/43)。43例标本中均未见*ALK*基因、*BRAF*融合基因及*ROS1*融合基因突变(图1)。

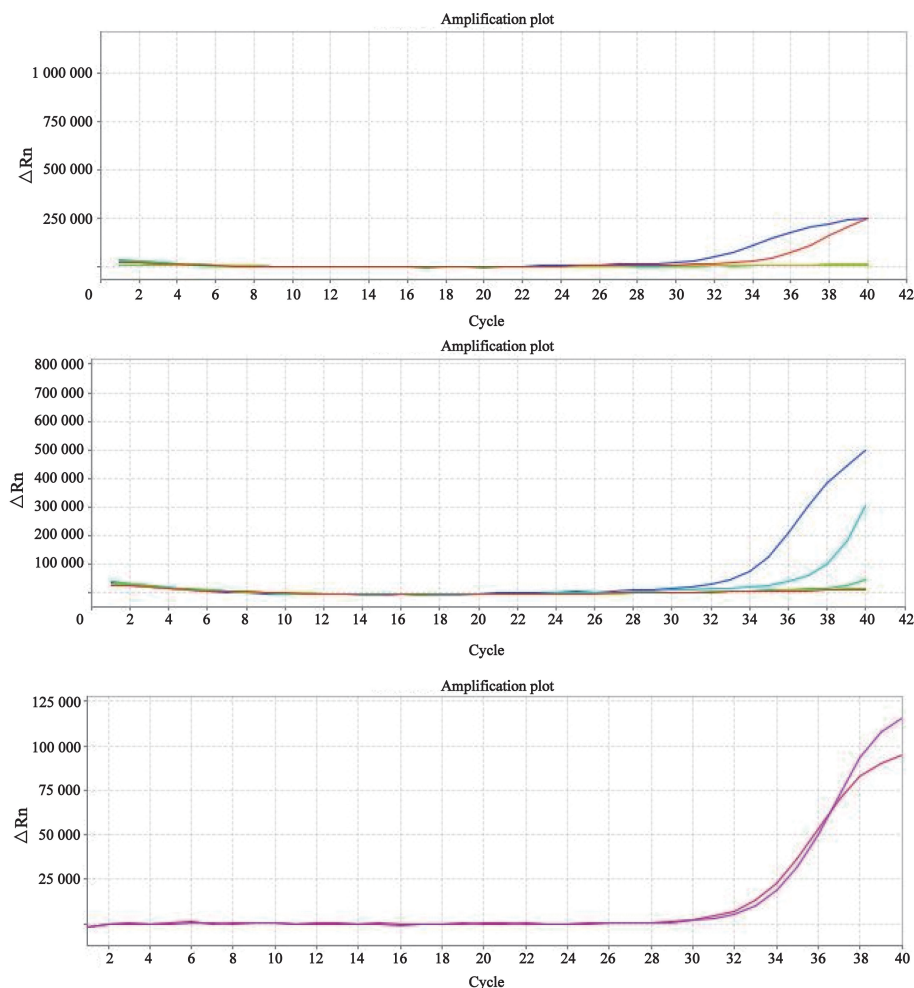


图1 *K-ras*12、*K-ras*13和*PIK3CA*基因突变检测结果

Fig. 1 The detection of *K-ras*12/13 and *PIK3CA* mutation

A: *K-ras*12 mutation, GGT>AGT; B: *K-ras*13 mutation, GGC>GAC; C: *PIK3CA* Exon20 A/G mutation

## 2.2 EGFR与K-ras及ROS1基因突变的关系

43例标本中, 1例同时发生EGFR及K-ras基因突变。无一例发生EGFR、K-ras及ROS1基因同时突变。

## 2.3 EGFR、K-ras、ALK、PIK3CA及BRAF基因与临床病例特征的关系

腺癌及鳞癌EGFR基因突变检出率分别为26.67%和4.76%; 大细胞癌、腺鳞癌及小细胞肺癌均未测出EGFR基因突变。腺癌患者EGFR基因突变率(26.67%)远远超出非腺癌患者(3.57%), 差异有统计学意义( $P=0.024$ )。维吾尔族患者EGFR基因突变与性别、年龄、吸烟状况、TNM分期以及ECOG评分等无显著相关

( $P>0.05$ )。但与病理类型显著相关( $P<0.05$ )。43例组织标本中无一例发生EGFR与K-ras、ALK、PIK3CA及ROS1基因同时突变。

43例组织标本中腺癌及鳞癌K-ras基因突变检出率各自为20.0%(3/15)、14.28%(3/21); 大细胞癌、腺鳞癌及小细胞癌均未检出K-ras基因突变。腺癌与非腺癌K-ras基因突变比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。K-ras基因突变与年龄、性别、TNM分期及ECOG评分均无关。PIK3CA基因发现突变2例, 分别为腺鳞癌及大细胞癌各1例, 均为非吸烟年龄小于60岁女性, 突变率为4.65%。维吾尔族肺癌患者驱动基因突变与临床病理特征的关系见表1。

表1 新疆维吾尔族肺癌患者驱动基因突变与临床病理各参数之间的关系

Tab. 1 Driver gene mutation and the relationship between the clinical pathologic features in Xinjiang Uygur lung cancer patients

Clinical features	Genetic type					
	EGFR mutation	K-ras mutation	ALK fusion	ROS1 fusion	BRAF mutation	PIK3CA mutations
[n(%)]						
Age/year						
< 60 (n=21)	2(9.5)	3(14.29)	0	0	0	2(9.52)
≥60 (n=22)	3(13.6)	3(13.64)	0	0	0	0
Gender						
Male (n=30)	3(10.0)	4(13.33)	0	0	0	0
Female (n=13)	2(15.4)	2(15.4)	0	0	0	2(15.38)
Pathologic type						
Adenocarcinoma (n=15)	4 (26.7)	3(20.00)	0	0	0	0
Non-adenocarcinoma (n=28)	1(3.6)	3(10.71)	0	0	0	2(7.14)
Smoking history						
Smoking (n=5)	1(20.0)	0(0.0)	0	0	0	0
Non-smoking (n=38)	3(7.89)	6(15.79)	0	0	0	2(5.26)
TNM staging						
III (n=31)	4(12.90)	4(12.90)	0	0	0	1(3.33)
IV (n=12)	1(8.30)	2(16.67)	0	0	0	1(8.33)
ECOG score						
≤2 (n=43)	4(9.30)	6(13.95)	0	0	0	2(4.65)

### 3 讨 论

*EGFR*基因是目前研究最为成熟, 该基因突变在亚洲人群中最常见。但*EGFR*基因突变率在不同种族的人群中差异有统计学意义。有文献报道, 亚洲人口*EGFR*基因突变率达40%, 而高加索人群则不足10%<sup>[2]</sup>。有研究报道, 当前我国新疆地区的维吾尔族是汉唐时期的突厥人、匈奴人以及汉族人互相融合的结果, 因此, 维吾尔族应属于高加索人群<sup>[3]</sup>。在本研究中, 维吾尔族患者的*EGFR*基因突变率仅为11.63%, 这和亚洲人群相比要低很多, 却和欧美人群接近<sup>[2]</sup>。

本研究中维吾尔族患者的*EGFR*基因突变检出率为11.63%, 腺癌患者突变率为26.67%, 明显高于非腺癌者的3.57%。因此, *EGFR*基因突变与组织学类型有关; 但与年龄、性别、吸烟状况、TNM分期均无关, 这与文献报道的*EGFR*基因突变与吸烟史、性别相关不同<sup>[4]</sup>, 考虑可能与样本量小有关。本研究结果显示, *EGFR*基因突变主要类型为外显子19缺失突变, 突变率为2.33%, 外显子21号L858R点突变, 突变率为6.98%, 两者之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。这可能与本研究样本量较小有关, 因此无法进一步明确当地民族与*EGFR*突变类型的相关性。

目前, 有关中国汉族肺癌患者*EGFR*基因突变的报道很多, 但是关于新疆维吾尔自治区汉族人肺癌患者*EGFR*基因突变的报道较少, 仅在小样本研究中报道*EGFR*基因突变率为40.7%~44.2%<sup>[4-5]</sup>。但是缺乏大样本量的研究进一步验证。与新疆本地汉族*EGFR*基因突变率相比, 新疆维吾尔族肺癌患者*EGFR*突变率较低, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。对于*EGFR*基因敏感突变的新疆维吾尔族患者与汉族患者的TKI类药物治疗有无疗效的差异, 需要进一步临床试验验证。

在*K-ras*基因研究中发现, 欧美人群*K-ras*基因突变率为20%~40%, 平均突变率为27.2%,

其中肺腺癌占30%~56%, 鳞癌占0~25%<sup>[6]</sup>。而中国台湾省报道结果显示, *K-ras*基因突变率仅为3.8%, 其中腺癌为5.03%, 鳞癌为1.56%, 与文献报道的*K-ras*基因突变率差异无统计学意义<sup>[7]</sup>。本研究结果显示, 43例标本中, *K-ras*基因突变率为13.95%, 明显高于亚洲人群的突变率。

磷脂酰肌醇激酶-3(phosphoinositide-3-kinase, *PI3K*)突变在肺鳞状细胞癌中尤为明显<sup>[8-10]</sup>。*PIK3CA*与其他基因共突变有报道<sup>[8, 11-12]</sup>, 然而在基因突变率上却显示出民族差异性。总体而言, 亚裔人群*PIK3CA*和其他致癌基因一起突变的现象极为罕见。

肺癌患者中同时存在*EGFR*和*K-ras*基因突变非常罕见。一直以来研究者均认同两者互斥<sup>[13-15]</sup>。本研究的43例样本中, 仅有1例同时存在*EGFR*和*K-ras*基因突变。此外, *PIK3CA*基因突变并非与*EGFR*和*K-ras*基因突变互斥, 但在本研究中, 未能发现*PIK3CA*基因与其他基因同时突变。

本研究发现, 在维吾尔族肺癌患者中, *EGFR*基因突变率较低, *K-ras*基因突变率较亚洲人群高, 接近欧美人群水平。但由于本研究样本量较小, 标本留存时间较长, 可能在一定程度上影响检测结果。液体活检即通过敏感的血液学检测方法在多种血细胞背景里面寻找到潜在的肿瘤细胞。二代测序可针对多个基因的突变进行一次性检测, 可以有效地减少肿瘤样本DNA用量。如果采用液体标本或采用更敏感的二代测序法进行检测, 并扩大样本量, 应该能得到更真实可靠的数据。

综上所述, 与亚洲人群相比, 新疆维吾尔族肺癌患者*EGFR*基因突变率较低, *K-ras*基因突变率高, 类似于欧美高加索人群的突变特点。

#### [参 考 文 献]

- [1] SHE J, YANG P, HONG Q, et al. Lung cancer in China: challenges and interventions [J]. *Chest*, 2013, 143(4): 1117-1126.
- [2] LAM K C, MOK T S. Targeted therapy: an evolving world of

- lung cancer [J]. *Respirology*, 2011, 16(1): 13-21.
- [ 3 ] 苗普生. 塔里木盆地边缘地区的民族融合和维吾尔族的形成与发展 [J]. *西域研究*, 2005, 4: 1.
- [ 4 ] 申红丽, 张 峤, 单 莉. 新疆维吾尔族与汉族非小细胞肺癌EGFR突变和HER-2过表达的差异及相关性 [J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(12): 2723-2726.
- [ 5 ] 杨 媚, 张 莉, 张建清. 新疆维吾尔族与汉族非小细胞肺癌EGFR突变的差异 [J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(3): 404-406.
- [ 6 ] MASSARELLI E, MARILEILAVARELLA-GARCIA M, TANG X, et al. *K-ras* mutation is an important predictor of resistance to therapy with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(10): 2890-2896.
- [ 7 ] WU C C, HSU H Y, LIU H P. Reversed mutation rates of *K-ras* and *EGFR* genes in adenocarcinoma of the lung in Taiwan and their implications [J]. *Cancer*, 2008, 113(11): 3199-3208.
- [ 8 ] YAMAMOTO H, SHIGEMATSU H, NOMURA M, et al. *PIK3CA* mutations and copy number gains in human lung cancers [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(17): 6913-6921.
- [ 9 ] KAWANO O, SASAKI H, OKUDA K, et al. *PIK3CA* gene amplification in Japanese non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2007, 58(1): 159-160.
- [ 10 ] DRILON A, REKHTMAN N, LADANYI M, et al. Squamous-cell carcinomas of the lung: emerging biology, controversies, and the promise of targeted therapy [J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(10): 418-426.
- [ 11 ] CHAFT J E, ARCILA M E, PAIK P K, et al. Coexistence of *PIK3CA* and other oncogene mutations in lung adenocarcinoma—rationale for comprehensive mutation profiling [J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(2): 485-491.
- [ 12 ] ENDOH H, YATABE Y, KOSAKA T, et al. PTEN and PIK3CA expression is associated with prolonged survival after gefitinib treatment in *EGFR*-mutated lung cancer patients [J]. *J Thrac Oncol*, 2006, 1(7): 629-634.
- [ 13 ] SHIBATA T, HANADA S, KOKUBU A, et al. Gene expression profiling of epidermal growth factor receptor/*K-ras* pathway activation in lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(7): 985-991.
- [ 14 ] 孙蕾娜, 栾焕玲, 臧凤琳, 等. 中国人非小细胞肺癌EGFR和*K-ras*基因突变与临床病理特征及厄洛替尼治疗效果的关系 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2010, 32(9): 667-670.
- [ 15 ] DO H, KRYPUY M, MITCHELL P L, et al. High resolution melting analysis for rapid and sensitive *EGFR* and *K-ras* mutation detection in formalin fixed paraffin embedded biopsies [J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 142.

(收稿日期: 2016-09-02 修回日期: 2016-12-15)