

的目^[8]。

胰腺癌可早期播散至区域淋巴结,即使影像学检查正常也会有亚临床肝转移,并可沿神经束转移,一般先侵及胰腺内的神经,然后沿神经束扩散到胰腺外的神经丛^[9]。胰腺癌淋巴结转移的比例为 50% ~ 80%,腹膜后淋巴结阳性率接近 30%,不在标准的胰十二指肠切除范围内^[8]。本组 32 例胰头癌患者均在全麻下施行 Whipple 手术 + 腹膜后神经、淋巴、软组织廓清,神经浸润 23 例(71.88%),淋巴结阳性患者 22 例(68.75%)。神经浸润或淋巴结阳性患者的生存率显著高于神经浸润或淋巴结患者。胰腺癌有与其他实体肿瘤共有的血行和淋巴转移途径,而其固有的胰周浸润,特别是胰后及胰外神经丛浸润的发生率很高,即使达到了组织学根治的患者,其预后仍然不佳^[10]。研究发现胰腺癌的腹主动脉旁淋巴结转移率与肿瘤的大小没有相关性,即使很小的肿瘤也可以有腹主动脉旁淋巴结的转移,倘若不清扫主动脉、腔静脉三角区的淋巴结,胰腺癌在术后复发的概率甚高。

胰腺癌根治术后复发的主要原因是由于胰周神经丛侵犯腹膜后切缘残留造成的,因而整块切除腹膜后组织(神经、淋巴、软组织)应作为胰腺癌手术的一个基本原则^[6]。

参考文献

- 1 McPhee JT, Hill JS, Whalen GF, *et al.* Perioperative mortality for pancreatectomy: a national perspective. *Ann Surg*, 2007, 246(2): 246 - 253
- 2 Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al.* Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin*, 2009, 59(4): 225 - 249
- 3 Kato K, Yamada S, Sugimoto H, *et al.* Prognostic factors for survival after extended pancreatectomy for pancreatic head cancer: influence of resection margin status on survival. *Pancreas*, 2009, 38(6): 605 - 612
- 4 邵钦树, 叶再元. 腹膜后神经、淋巴结及软组织廓清在胰头癌胰十二指肠切除术中的意义. *中华医学杂志*, 2010, 90(28): 1966 - 1969
- 5 Li D, Xie K, Wolff R, *et al.* Pancreatic cancer. *Lancet*, 2004, 363(9414): 1049 - 1057
- 6 张群华, 倪泉兴. 胰腺癌 2340 例临床病例分析. *中华医学杂志*, 2004, 84(3): 214 - 218
- 7 董平, 刘颖斌, 全志伟. 血管外科技术在胰十二指肠切除中的应用. *临床外科杂志*, 2009, 17(6): 373 - 375
- 8 邵永孚, 吴铁成. 胰腺癌的外科治疗. *肿瘤研究与临床*, 2010, 22(2): 73 - 74
- 9 赵玉沛. 中国胰腺癌治疗 20 年的成绩和需研究的问题. *外科理论与实践*, 2007, 12(3): 193 - 195
- 10 van Geenen RC, Keyzer - Dekker CM, van Tienhoven G, *et al.* Pain management of patients with unresectable peripancreatic carcinoma. *World J Surg*, 2002, 26(6): 715 - 720

(收稿: 2010 - 11 - 25)

EGFR 基因突变检测与肿瘤指标相关性研究

徐 琳 郑明峰 张 稷 朱幸汎 陈 若 陆荣国 吴 波 陈静瑜

摘 要 **目的** 分析非小细胞肺癌患者(NSCLC)中表皮生长因子(EGFR)基因突变与相关肿瘤指标:癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 125(CA125)、糖类抗原 199(CA199)之间的相关性。**方法** 对笔者医院 2010 年 1 ~ 10 月间 78 例非小细胞肺癌患者术前进行肿瘤指标(CEA、CA125、CA199)检测,同时手术切除肿瘤标本进行 EGFR 基因检测,对所得结果进行统计分析。**结果** 78 例患者 EGFR 突变率为 55.1%,其中 16 例患者发生了第 19 号外显子缺失突变,突变率为 20.5%,27 例患者发生了第 21 号外显子 L858R 点突变,突变率为 34.6%。37 例 NSCLC 患者的 CEA 表达阳性,占 47.44%,均为腺癌患者。28 例患者 CA125 表达阳性,占 35.90%。11 例患者 CA199 表达阳性,占 14.1%。**结论** EGFR 基因突变阳性与血清肿瘤指标 CEA 表达阳性具有统计学意义,而与 CA125、CA199 表达无统计学意义。因此,对不能进行外科手术的晚期肺癌患者,同时无法获取满意组织标本进行 EGFR 基因检测时,若肿瘤指标 CEA 阳性时,可能具有更高的 EGFR 基因突变率。

关键词 非小细胞肺癌 EGFR 基因突变 CEA

EGFR Mutations in Correlation with the Tumor Markers in NSCLC Patients. Xu Lin, Zheng Mingfeng, Zhang Ji, Zhu Xingfeng, Chen Ruo, Lu Rongguo, Wo Bo, Chen Jingyu, Wuxi People's Hospital, The Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Jiangsu 214023, China

Abstract Objective To analyze the correlation between the epidermal growth factor (EGFR) gene mutations and tumor mark-

作者单位:214023 南京医科大学附属无锡市人民医院胸外科

通讯作者:郑明峰,电子信箱:zhengmf@wuxiph.com

ers——carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 125 (CA125), carbohydrate antigen 199 (CA199) in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** The tumor markers (CEA, CA125, CA199) were detected before surgery in 78 cases of non-small cell lung cancer patients in hospital from January 2010 to October 2010, while EGFR genetic examination from surgical tumor specimens was performed, and statistical analysis of results was carried out. **Results** In 78 patients, EGFR mutation rate was 55.1%, and of these, 16 patients had No. 19 deletion mutation, with the mutation rate of 20.5%, while 27 patients had No. 21 L858R point mutation, with the mutation rate of 34.6%. Thirty-seven patients had positive expression of CEA in patients with NSCLC, accounting for 47.44%, and all the pathology diagnosis were adenocarcinoma. Twenty-eight patients were positive for CA125 expression, accounting for 35.90%. CA199 expression was positive in 11 patients, accounting for 14.1%. **Conclusion** Positive EGFR mutation and increased serum level of tumor markers of CEA, CA125 has statistical significance. There wasn't statistically significant in CA199 expression. Therefore, in patients with advanced lung cancer being unable to be surgically treated and having no satisfactory tissue samples to perform EGFR genetic exams, CEA-positive may suggest a higher rate of EGFR mutations.

Key words Non-small cell lung cancer; EGFR gene mutations; CEA

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 是一种受体酪氨酸激酶。经多种机制激活后,通过一系列信号转导过程将增殖信号传导至细胞核,发挥调节细胞的增殖、存活及血管生成等作用。一系列研究发现,在某些 NSCLC 亚型中,EGFR 的基因突变率非常高,达 40% 以上,而且这些突变均发生在 EGFR 酪氨酸激酶区的 ATP 结合域附近,90% 位于外显子 19 和外显子 21 上,且各个位点突变无统计学意义^[1]。大量的回顾性研究表明,对 EGFR-TKI 治疗有效的 NSCLC 患者的 EGFR 突变率为 77%,但是存在约 20% 对吉非替尼敏感的 NSCLC 的患者不存在 EGFR 突变,提示 EGFR 对吉非替尼疗效是一个必不可少的因素。基因检测指导使用 EGFR-TKI 药物治疗非小细胞肺癌将成为今后肺癌治疗的主要方向。EGFR 突变基因检测需要手术标本,文献报道,非小细胞肺癌患者,尤其是老年非小细胞肺癌患者中有 33% 为 I 或 II 期,而仅 6% 得到手术治疗^[2]。相关实验提示提示:非小细胞肺癌患者 EGFR 基因表达距肿瘤边缘 3cm 以内癌旁组织表达较高,6cm 以远的正常肺组织表达不明显^[3]。在基因靶向治疗的重要性逐日突显时,对不能手术的非小细胞肺癌患者如何选用分子靶向治疗药物尤为重要。大量实验及文献已证明^[4] EGFR 基因突变在亚裔、女性、非吸烟、腺癌患者中发生率较高。EGFR 基因突变 (此处我们选择突变率高的外显子 19 和外显子 21) 与临床肿瘤指标 (CEA、CA125、CA199) 是否有联系? 我们选取临床上 78 例进行手术的肺癌患者进行分析。

材料与方法

1. 临床标本资料:2010 年 1~10 月期间在无锡市人民医院胸外科行手术切除并经病理学证实为非小细胞肺癌的 78 例患者进入本研究。标本选择手术标本,使用甲醛固定液保

存。其中男性 40 例,女性 38 例,平均 63.3 岁。腺癌 63 例,鳞癌 12 例,大细胞癌 2 例,腺鳞癌 1 例。吸烟 31 例,均为男性;吸烟年限均超过 30 年,吸烟指数均 >400 支/年;不吸烟者 47 例,9 例为男性,38 例为女性。临床分期为 I 期 45 例,II 期 23 例,III 期 3 例,IV 期 7 例。所有肺癌患者术前均未行化放疗、分子靶向药物治疗。

2. 研究方法:(1)基因组 DNA 提取:新鲜肿瘤组织经 4% 中性甲醛固定 12~24h 后行石蜡包埋、切片、常规苏木素-伊红 (HE) 染色,选择典型肿瘤细胞巢部位,以组织微阵列取直径 2mm 组织芯,排列入包含 60 个组织芯的受体蜡块,行厚 4μm 连续切片,应用 PCR 直接扩增 EGFR 基因第 19、21 外显子的基因片段。扩增片段包含外显子及其相连的内含子部分。PCR 反应条件为变性 95℃ 15min;变性 94℃ 30s,退火 65℃ 30s 和延伸 72℃ 1min,35 个循环;最后延伸 72℃ 5min。2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定扩增片段,通过 Alpha Innotech 凝胶成像系统观察 PCR 产物电泳结果。采用 Chromas 软件分析测序图谱,分析判断 EGFR 基因第 19、21 外显子突变区域 (表 1)。(2)所有患者初入院时抽取清晨空腹静脉血 3ml,分离血清,采用酶联免疫吸附实验 (ELISA) 检测血清癌胚抗原 CEA、糖类抗原 CA125、糖类抗原 CA199。

3. 统计学方法:各种比较均采用卡方检验。

表 1 第 19、21 号外显子 PCR 引物序列

引物名称		引物序列 (5'→3')
19 号外显子	上游	AAGTCTTCCTCTCTCTCTGTCA
	下游	CCACACAGCAAAGCAGAAACT
21 号外显子	上游	TCTTCTGTGTTTCAGGGCATG
	下游	GGCTGACCTAAAGCCACCTC

结 果

1. EGFR 基因突变表达:78 例 NSCLC 患者的 EGFR 突变率为 55.1%,其中 16 例患者发生了第 19 号外显子缺失突变,突变率为 20.5%,27 例患者发生了第 21 号外显子 L858R 点突变,突变率为 34.6%。

2. 肿瘤指标与病理表达:37 例 NSCLC 患者 CEA 表达阳性,占 47.44%,均为腺癌。28 例患者 CA125 表达阳性,占 35.90%。11 例患者 CA199 表达阳性,占 14.1%。

3. EGFR 突变与肿瘤指标的相关性:37 例 CEA 表达阳性者,其中 EGFR 阳性率有 25 例,占 67.57%。

4. 统计分析:EGFR 基因突变阳性患者的血清肿瘤指标 CEA 阳性表达有统计学意义,与 CA125、CA199 表达无统计学意义(表 2)。

表 2 78 例 NSCLC 患者 EGFR 基因突变与 CEA、CA125、CA199 相关性[n(%)]

EGFR 突变	CEA 阳性	CA125 阳性	CA199 阳性
阳性 (n = 43)	25 (58.1)	12 (27.9)	7 (16.3)
阴性 (n = 35)	12 (34.2)	16 (45.7)	4 (11.4)
P	0.036	0.103	0.540

讨 论

EGFR 是表皮生长因子受体(ErbB)家族的一员。ErbB 是一组跨膜糖蛋白,属于 I 型跨膜酪氨酸激酶家族,是将细胞外信号传递到细胞核内的重要途径,其功能的发挥需要与相应的配体结合,从而调控正常细胞的增殖、分化。EGFR 蛋白由定位于人类染色体 7p11-13 上的 HER-1 基因编码,为 I 型跨膜酪氨酸激酶生长因子受体,相对分子质量 70×10^3 kDa,定位于细胞膜上,由胞外区、跨膜区、胞内区 3 部分组成,广泛分布于除血管以外的上皮细胞膜上。目前的大量研究显示:NSCLC 患者 EGFR 的突变均发生在酪氨酸激酶域 ATP 结合域附近(第 18~21 外显子),表现为 1 个或一段碱基的缺失、插入以及碱基替换引起的错义突变,这些突变可以引起酪氨酸激酶的活性增强^[5]。Scorpions ARMS 检测到 42 例突变,其中 90% 以上突变发生在第 19 和 21 外显子。Pao 等^[6]研究表明第 19 外显子多个核苷酸框架缺失突变,位于 EGFR TK 活化部位,都包含共同的碱基序列缺失(第 747~750 个密码子),分别编码亮氨酸、精氨酸、谷氨酸、丙氨酸(LREA),这一序列在脊椎动物中高度保守,说明它在 EGFR 功能中起重要作用。第 21 外显子点突变位于 EGFR TK 活化环高度保守区附近,使 858 位上亮氨酸被精氨酸替代(L858R)。本试验 EGFR 检测与既往结果一致。

癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA)属于细胞表面的糖蛋白家族,这一家族基因位于 19 号染色体,可分泌 36 种不同的糖蛋白,最主要的一种即 CEA。CEA 存在于细胞膜上属于免疫球蛋白超家族

成员中的细胞黏附分子,具有同嗜和异嗜黏附功能,在肿瘤转移中可能起重要作用^[7]。Plavec 等测定的 73 例原发性肺癌患者术前血清 CEA 值,阳性率为 60%,其中腺癌的阳性率达 87.9%,鳞癌与 SCLC 的阳性率分别为 25.9% 和 13.3%,特异性为 99%,阳性预测值为 97%。显示 CEA 对诊断腺癌的临床价值较大。而 CA 是由一组糖基转移酶综合作用产生的基因产物,当细胞癌变时,肿瘤糖类抗原能从各种不同组织或转移癌中分离出来,而正常的组织则不存在。

本研究 78 例肺癌患者中,EGFR 基因突变阳性与血清肿瘤指标 CEA 表达阳性具有统计学意义,而与 CA125、CA199 表达无统计学意义。我们考虑肺腺癌患者血清 CEA 阳性表达率高,与肺腺癌患者 EGFR 基因突变率高相一致,通过本研究,EGFR 基因突变阳性与血清肿瘤指标 CEA 表达阳性有统计学意义($P=0.036$)。因而对不能进行手术治疗获取手术标本进行 EGFR 基因检测时,我们选择肿瘤指标表达 CEA 阳性的 NSCLC 患者接受 EGFR-TKI 行一线治疗,或者化疗后序贯给予 EGFR-TKI 维持治疗或者化疗间期间断给予 EGFR-TKI 交替给药方案可能会取得更好的疗效。是否与肿瘤患者的预后有一定的相关性,为化疗后序贯靶向治疗提供一定的依据,尚待进一步研究。

参考文献

1 Chan SK, Gullick WJ, Hill ME. Mutations of the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer search and destroy. *Eur J Cancer*, 2006, 42(1): 17-23

2 Dexter EU, Jahangir N, Kohman LJ. Resection for lung cancer in the elderly patient. *Thorac Surg Clin*, 2004, 14(2): 163-171

3 Sequist LV, Bell DW, Lynch TJ, et al. Molecular predictors of response to epidermal growth factor receptor antagonists in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2007, 25(5): 587-595

4 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. *N Engl J Med*, 2004, 350(21): 2129-2139

5 Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*, 2004, 304(5676): 1497-1500

6 Pao W, Miller V, Zakowski M, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gdlitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(36): 13306-13311

7 Salgia R, Harpole D, Herndon JE, et al. Role of serum tumor markers CA125 and CEA in non-small cell lung cancer. *Anticancer es*, 2001, 21(2B): 1241-1246

(收稿:2010-11-16)

(修回:2010-12-01)