

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.12.009

· 临床研究 ·

## Super-ARMS 法检测云南地区非小细胞肺癌患者外周血中 EGFR 突变及其临床意义

蔡静静, 李鸿生, 沈正海, 马露瑶, 李权, 杜亚茜, 刘俊熙, 王晓雄, 郭银金, 周永春(昆明医科大学第三附属医院 云南省肿瘤医院 云南省肺癌研究重点实验室 高原区域性高发肿瘤国际合作联合实验室, 云南 昆明 650118)

**[摘要]** **目的:** 探讨使用超级扩增阻滞突变系统(Super-ARMS)法检测云南地区非小细胞肺癌(NSCLC)患者外周血中表皮生长因子受体(EGFR)基因突变与临床病理特征之间的关系。**方法:** 收集2017年1月到2018年12月云南省肿瘤医院分子诊断中心共检测的222例NSCLC患者外周血,以Super-ARMS法检测外周血浆中EGFR基因突变并分析其与临床病理特征的关系,同时分析影响EGFR突变的独立危险因素。**结果:** 222例NSCLC患者的外周血浆中,EGFR基因突变阳性81例、突变率为36.5%,其中19号外显子缺失和L858R基因点突变最常见(占总突变的75.3%)。女性突变较男性高(45.9% vs 27.0%); <60岁患者突变率高于≥60岁患者(43.2% vs 28.8%)(均 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );无吸烟史、无根治性手术史、腺癌、晚期和无化疗史患者EGFR基因突变率较高(43.9% vs 21.6%, 39.2% vs 21.2%, 43.9% vs 4.8%, 39.7% vs 23.3%, 44.0% vs 23.5%)( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。多因素分析显示,年轻、无吸烟史、腺癌、无手术史是EGFR基因突变的独立危险因素(均 $P<0.01$ )。**结论:** 在云南地区NSCLC患者外周血浆中,年龄<60岁、腺癌、不吸烟患者EGFR基因突变率更高,Super-ARMS法对肺癌患者外周血EGFR突变检测更灵敏。

**[关键词]** 超级扩增阻滞突变系统;非小细胞肺癌;表皮生长因子受体;DNA突变分析

**[中图分类号]** R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)12-1350-06

## Detection of EGFR gene mutation in peripheral blood of NSCLC patients in Yunnan by Super-ARMS and its clinical significance

CAI Jingjing, LI Hongsheng, SHEN Zhenghai, MA Luyao, LI Quan, DU Yaqian, LIU Junxi, WANG Xiaoxiong, GUO Yinjin, ZHOU Yongchun (Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yunnan Cancer Hospital, Yunnan Key Laboratory of Lung Cancer Research, Joint Laboratory of International Cooperation for Regional High-Incidence Tumors at High Altitude, Kunming 650118, Yunnan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To detect the mutation of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene in peripheral blood of non-small cell lung cancer (NSCLC) patients in Yunnan area with Super-ARMS, and to explore its correlation with clinicopathological characteristics. **Methods:** A total of 222 blood samples from patients with NSCLC were collected between January 2017 to December 2018 in the Molecular Diagnostic Center of Yunnan Cancer Hospital. The EGFR gene mutation in peripheral blood samples was detected by Super-ARMS, and the relationship between EGFR gene mutation and clinicopathological features was analyzed. Meanwhile, the independent risk factors influencing EGFR mutation were also analyzed. **Results:** In the peripheral blood of 222 NSCLC patients, there were 81 cases (36.5%) with EGFR gene mutation. Among them, exon 19 deletion and L858R gene point mutation were the most common (75.3% of total mutation); female patients had a higher mutation rate than male patients (45.9% vs 27.0%); patients <60 years old had a higher incidence of mutation than patients ≥60 years old (43.2% vs 28.8%) ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ); moreover, patients with no history of smoking, no history of radical surgery, adenocarcinoma, advanced stage and no history of chemotherapy had higher incidence of EGFR mutation (43.9% vs 21.6%, 39.2% vs 21.2%, 43.9% vs 4.8%, 39.7% vs 23.3% and 44.0% vs 23.5%) ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Multivariate logistic analysis showed that young, no smoking history, adenocarcinoma and no surgical history were independent risk factors for EGFR gene

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 8186110513);云南省科技计划资助项目(No. 2017FA037, No. 2017NS202)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81860513), and the Science and Technology Project of Yunnan Province (No. 2017FA037, No. 2017NS202)

**[作者简介]** 蔡静静(1993-),女,硕士生,主要从事肿瘤分子分型的研究,E-mail:546876045@qq.com

**[通信作者]** 周永春(ZHOU Yongchun, corresponding author),博士,主任医师,硕士生导师,主要从事肿瘤分子分型的研究,E-mail:chun-gui7625@163.com

mutation (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** In the peripheral blood of patients with NSCLC in Yunnan, the mutation rate of EGFR gene is higher in patients with age < 60 years old, adenocarcinoma and non-smoking. Super-ARMS method is more sensitive in the detection of EGFR mutation in peripheral blood of lung cancer patients.

**[Key words]** super amplification refractory mutation system(Super-ARMS); non-small cell lung cancer(NSCLC); epidermal growth factor receptor (EGFR); DNA mutation

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(12): 1350-1355. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.12.009]

肺癌是世界高发恶性肿瘤,其发生率、病死率均居于所有恶性肿瘤的首位<sup>[1]</sup>,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是肺癌中最常见的亚型,约占85%<sup>[2]</sup>。到目前为止,NSCLC的发病及发生机制仍不完全清楚,表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是已知的与肺癌发生发展关系最为密切的驱动基因之一,其突变状态是酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKI)靶向药物应用与否及其敏感性的有效指标<sup>[3-4]</sup>。不同亚型肺癌患者突变率迥然不同,因此,EGFR基因检测对NSCLC患者尤为重要。肿瘤组织标本依然是目前突变检测的金标准,但标本组织在获取、保存及其异质性等方面存在着一定局限和不足<sup>[5]</sup>。近年来,有报道<sup>[6-7]</sup>指出,对于无法或难以获取足够肿瘤组织标本的晚期肺癌患者,血浆游离肿瘤DNA检测是良好的替代标本。本研究采用超级扩增阻滞突变系统(super amplification block mutation system, Super-ARMS)法检测222例肺癌患者的EGFR突变情况,并对其与临床病理特征的相关性进行分析。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

收集2017年1月至2018年12月在云南省肿瘤医院分子诊断分中心进行EGFR基因突变检测的222例NSCLC患者临床资料,所有患者均使用Super-ARMS法检测外周血EGFR基因突变的情况。其中男性111例,女性111例;年龄26~86岁,中位年龄60岁,其中≥60岁的患者共104例,<60岁的患者118例;既往吸烟(>400支/年)或正在吸烟者74例,无吸烟者148例;既往饮酒或正在饮酒者54例,无饮酒者168例;云南肺癌高发地区56例,来自非高发地区166例;汉族198例,少数民族24例;检测前已进行过化疗者81例,无化疗者141例;检测前肺部肿瘤病灶手术切除者33例,无手术者189例;有肿瘤家族史者18例,无家族史者204例;腺癌180例,非腺癌42例;IA~IIIA期43例,IIIB~IV期179例(肿瘤临床分期按照国际抗癌联盟肺癌TNM分期第八版<sup>[8]</sup>);有远处转移灶者173例,无远处转移灶者48例。

### 1.2 血液采集、处理及核酸提取

使用EDTA抗凝采血管,采集10 ml外周血,并立

即温和地上下颠倒混匀血标本,置于离心机中离心获取血浆(4℃, 2 000×g离心10 min,取上清,在将上述血清8 000×g离心10 min,取上清,即为所需血浆)。随后根据Circulating DNA Kit(Spin Column公司)说明书提取DNA进行检测。

### 1.3 Super-ARMS法检测NSCLC患者外周血浆中EGFR突变基因

根据人类EGFR基因突变多重荧光PCR检测说明书进行操作,取待测样品DNA、P-EGFR阳性对照、纯化水(NTC)阴性对照各67.5 μl,分别加入247.5 μl的P-EGFR反应液及2.16 μl的P-EGFR混合酶,充分混匀,依此取70 μl加入P-EGFR 8联反应条中。PCR反应过程第一阶段:95℃ 10 min,1个循环;第二阶段:95℃ 40 s,64℃ 40 s,72℃ 30 s,15个循环;第三阶段:93℃ 40 s,60℃ 45 s,72℃ 30 s,28个循环;在第三阶段60℃时收集FAM和HEX信号。具体的结果判读根据试剂盒说明书进行。

### 1.4 统计学处理

应用SPSS 24.0软件进行统计学分析,采用卡方检验或确切概率法评估EGFR基因突变与临床病理特征的相关性,再采用Logistic回归对EGFR基因突变与影响因素的关系进行验证。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计意义。

## 2 结果

### 2.1 外周血浆EGFR基因突变情况

222例NSCLC患者外周血标本中,共检测出81例EGFR基因突变,总突变率为36.5%,其中敏感突变61例(19del:32例;L858R:29例),罕见突变15例(S768I:3例;20ins:1例;G719X:3例;L861Q:1例;G719X+S768I:5例;G719X+L861Q:2例),另外5例双突变包括19del+T790M、L858R+T790M:各2例;19del+L858R:1例。各类型突变所占比例见图1。

### 2.2 外周血浆EGFR基因突变与临床病理特征的关系

统计学分析结果(表1)显示,111例女性患者,突变率为45.9%(51/111);111例男性患者,突变率是27%(30/111),两者比较有统计学意义( $P < 0.01$ )。年龄≥60岁者突变率为28.8%,年龄<60岁的患者突变率为43.2%( $P < 0.01$ )。在148例未吸烟患者中,65例(43.9%)有突变,明显高于既往或正在吸烟的患者

(21.6%、16/74,  $P < 0.01$ )。33例行手术切除肺部肿瘤病灶的患者有7例突变, 突变率(21.2%), 明显低于无手术史的患者突变率(39.2%) ( $P < 0.01$ )。腺癌患者EGFR基因突变率(43.9%)显著高于非腺癌患者基因突变率(4.8%) ( $P < 0.01$ )。IIIB~IV期EGFR基因突变率患者较I~IIIA期患者明显增多(39.7% vs 23.3%,  $P < 0.01$ )。无化疗史患者EGFR突变率明显高于较有化疗史的患者(44.0% vs 23.5%,  $P < 0.01$ )。而民族、地区、慢性病史、饮酒史、远处转移及家族史与EGFR基因突变无相关性(均  $P > 0.05$ )。

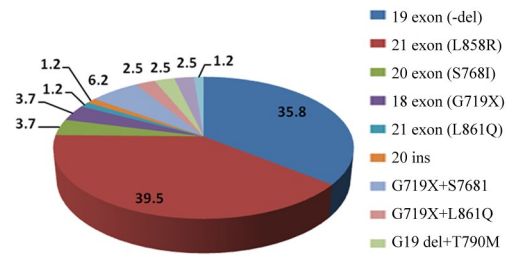


图1 NSCLC患者外周血浆中EGFR突变分析  
Fig.1 Analysis of EGFR mutations in peripheral plasma of NSCLC patients

表1 NSCLC患者外周血浆中EGFR基因突变与临床病理特征的关系

Tab.1 Relationship between EGFR gene mutation in peripheral blood and clinicopathological features of NSCLC patients

| Characteristic            | N   | EGFR mutation |      | Log-rank |        |
|---------------------------|-----|---------------|------|----------|--------|
|                           |     | n             | %    | $\chi^2$ | P      |
| <b>Gender</b>             |     |               |      |          |        |
| Female                    | 111 | 51            | 45.9 | 8.572    | 0.003  |
| Male                      | 111 | 30            | 27   |          |        |
| <b>Age(t/a)</b>           |     |               |      |          |        |
| >60                       | 104 | 30            | 28.8 | 4.929    | 0.026  |
| ≤60                       | 118 | 51            | 43.1 |          |        |
| <b>Region</b>             |     |               |      |          |        |
| High                      | 56  | 23            | 41.1 | 0.679    | 0.41   |
| No-high                   | 166 | 58            | 34.9 |          |        |
| <b>Nationality</b>        |     |               |      |          |        |
| Han                       | 198 | 13            | 54.2 | 3.63     | 0.057  |
| Minority groups           | 24  | 68            | 34.3 |          |        |
| <b>Smoking status</b>     |     |               |      |          |        |
| Yes                       | 74  | 16            | 21.6 | 10.584   | 0.001  |
| No                        | 148 | 65            | 36.5 |          |        |
| <b>Drinking status</b>    |     |               |      |          |        |
| Yes                       | 54  | 16            | 29.6 | 1.448    | 0.229  |
| No                        | 168 | 65            | 38.7 |          |        |
| <b>Surgical resection</b> |     |               |      |          |        |
| Yes                       | 33  | 7             | 21.2 | 3.902    | 0.048  |
| No                        | 189 | 74            | 39.2 |          |        |
| <b>Chemotherapy</b>       |     |               |      |          |        |
| Yes                       | 80  | 18            | 22.5 | 10.558   | 0.001  |
| No                        | 142 | 63            | 44.4 |          |        |
| <b>Chronic history</b>    |     |               |      |          |        |
| Yes                       | 66  | 24            | 36.4 | 0.001    | 0.980  |
| No                        | 156 | 57            | 36.5 |          |        |
| <b>Family history</b>     |     |               |      |          |        |
| Yes                       | 18  | 9             | 50.0 | 1.544    | 0.214  |
| No                        | 204 | 72            | 35.3 |          |        |
| <b>Histology</b>          |     |               |      |          |        |
| Adenocarcinoma            | 180 | 79            | 43.9 | 22.497   | <0.001 |
| Non-adenocarcinoma        | 42  | 2             | 4.8  |          |        |
| <b>Distant metastasis</b> |     |               |      |          |        |
| One                       | 79  | 40            | 50.6 | 5.108    | 0.024  |
| More                      | 95  | 32            | 33.7 |          |        |
| <b>Clinical stages</b>    |     |               |      |          |        |
| I~IIIA                    | 43  | 10            | 23.3 | 4.028    | 0.045  |
| IIIB~IV                   | 179 | 71            | 39.7 |          |        |

### 2.3 外周血浆EGFR基因突变与临床病理特征的多因素分析

对性别、年龄、吸烟史、根治性手术史、病理类型、分期、化疗史等因素进行 Logistic 回归分析,发现

EGFR 基因突变与年龄、吸烟史、病理类型及手术史的关系有统计学意义( $P < 0.01$ ), 而与其他临床病理特征的关系无统计学意义( $P > 0.05$ )。总之, 年轻、无吸烟及腺癌患者的 EGFR 基因突变率更高。见表 2。

表 2 外周血 EGFR 基因突变与临床病理特征的多因素分析

Tab.2 Multivariate analysis of EGFR mutation in peripheral blood and clinicopathological characteristics

| Characteristic | Exp ( $\beta$ ) | OR(95%CI) |        | P      |
|----------------|-----------------|-----------|--------|--------|
|                |                 | Low       | Upper  |        |
| Age            | 0.396           | 0.21      | 0.746  | 0.004  |
| Smoking status | 2.628           | 1.302     | 5.301  | 0.007  |
| Histology      | 17.392          | 3.964     | 76.316 | <0.001 |
| Surgery        | 3.766           | 1.461     | 9.707  | 0.006  |

### 3 讨论

本研究回顾性分析了 2017~2018 年云南省肿瘤医院分子诊断分中心检测的 222 例 NSCLC 患者外周血 EGFR 基因突变情况, 其总突变率为 36.5%, 高于之前相关文献<sup>[9]</sup>报道的突变率, 也明显高于杨长绍等<sup>[10]</sup>的研究结果 (25.5%), 表明 Super-ARMS 法对肺癌患者外周血 EGFR 基因突变检出率更高, 其突变率更接近肿瘤组织样本, 是一种用于血液循环游离或肿瘤 DNA (cf/ctDNA) 检测更优的方式, 但 Super-ARMS 的费用较 ARMS 法稍高, 对经济条件更充裕的患者不失为一种更好的外周血检测方法。另外, 突变组中仍以第 19 号外显子缺失和 L858R 点突变最为常见 (75.3%), 与国内外报道一致<sup>[11]</sup>。

根据现有文献<sup>[12-13]</sup>报道, EGFR 基因罕见突变包括外显子 18 G719X、外显子 20 S768I、外显子 21 L861Q、外显子 20 插入和外显子 20 T790M 突变, 根据对已知的第一代和第二代口服 TKI 治疗的敏感性, 可将上述罕见突变进一步分为 TKI 敏感突变 (外显子 18 G719X、外显子 20 768I 和外显子 21 L861Q) 和 TKI 不敏感或耐药突变 (外显子 20 插入和外显子 20 T790M)。研究<sup>[14]</sup>显示, EGFR 基因罕见突变发生率为 5.9%~20.4%。本研究结果发现云南地区肺癌患者的罕见突变率 (24.7%) 较世界其他地区高, 且表现为以复杂的双突变 (13.7%) 为主。另外, 本研究观察到在双突变亚型中 G719X+S768I 突变 (6.2%) 最为常见, 提示似乎云南地区 EGFR 罕见突变的靶向治疗有效性更佳, 对指导云南地区肺癌患者个体化治疗更有益。

本研究结果经卡方检验和多因素 Logistic 分析均显示, 腺癌患者中 EGFR 基因突变率明显高于非腺癌患者, 这与 GOTO 等<sup>[15]</sup>报道的病理类型是 EGFR 基因突变的独立影响因素相一致。但非腺癌患者中也

检测出突变<sup>[16]</sup>, 而且非腺癌患者使用 TKI 治疗也有一定的疗效<sup>[17]</sup>, 因此, 对晚期非腺癌患者进行 EGFR 基因检测也是一种可行的治疗手段。不吸烟患者突变率较吸烟患者突变率更高, 这也与之前的报道<sup>[18-20]</sup>结果相符。导致不吸烟患者突变率更高的一个因素在于云南部分地区 (宣威、个旧等) 的燃煤等燃烧污染严重, 其排放出大量含苯并芘为主的致癌性多环芳烃类物质, 这也是导致云南省宣威地区女性肺癌发病率常年居高不下的原因。云南地区低于 60 岁的患者表现出更高的突变率, 与既往研究不完全一致<sup>[21-23]</sup>, 但至少提示应更加重视对年轻患者 EGFR 基因突变的检测。但考虑到本研究中年轻患者样本数所占比例较高, 因此, 其结论有待从更多的研究中得到支持。虽然本次研究显示根治性手术对突变有影响, 但由于手术组数据少, 可能不具有代表性, 所以需要后期扩大样本量进一步验证。

卡方检验显示, 女性比男性突变率高, 但 Logistic 回归分析未发现性别是 EGFR 基因突变的独立影响因素, 这与既往的一些研究报道相悖<sup>[24]</sup>, 造成此结果的原因, 一方面可能是本研究的样本例数不够大, 其次在于纳入 Logistic 分析的因素较多, 虽然多因素分析可以排除混杂因素的干扰, 但本研究中各多因素之间样本量差距很大 (例如手术组数据少, 而病理类型中腺癌患者多)。因此, 对于性别是否是影响 EGFR 基因突变的独立因素还有待进一步确认, 但从突变率可明显看出女性患者更高, 这与之前的报道<sup>[25]</sup>是一致的。另外, 本研究在比较高发地区和非高发地区及汉族和少数民族 (尤其是彝族等) 之间的关系时, 未发现各组间突变率存在统计学差异, 其原因可能是比较的两组间样本量存在极大的数量差别, 对统计结果造成了影响, 因此, 这些方面的突变差异也有待平衡样本量后加以证实。

综上所述, NSCLC 患者年龄、吸烟史、病理类型

及根治性手术史可能是EGFR基因突变的独立影响因素,但云南地区NSCLC患者EGFR突变的情况仍需进行更大样本量的研究,以便对云南特殊分布(点状区域分布)的肺癌患者进行有针对性的基因检测,从而制定个体化的临床治疗方案,提高肺癌患者的生存预后。另外,本研究还指出对于需要使用外周血进行基因突变检测的患者,Super-ARMS法较ARMS法是一种更值得推荐的检测方法,其在检测EGFR基因突变上表现出更高的敏感性,突变率也更接近组织标本,可能更适于临床检测。

### [参考文献]

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. *CA: Cancer J Clin*, 2018, 68(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21442.
- [3] WU Y L, ZHOU C, HU C P, et al. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(2): 213-222. DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70604-1.
- [4] CHOU T Y. Mutation in the tyrosine kinase domain of epidermal growth factor receptor is a predictive and prognostic factor for gefitinib treatment in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(10): 3750-3757. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-04-1981.
- [5] GERLINGER M, ROWAN A J, HORSWELL S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(10): 976. DOI: 10.1056/nejmx120044.
- [6] DIAZ L A, BARDELLI A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(6): 579-586. DOI:10.1200/jco.2012.45.2011.
- [7] WU Y L, SEQUIST L V, HU C P, et al. EGFR mutation detection in circulating cell-free DNA of lung adenocarcinoma patients: analysis of LUX-Lung 3 and 6[J/OL]. *Br J Cancer*, 2017, 116(2): 175-185 [2019-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5243999/>. DOI:10.1038/bjc.2016.420.
- [8] ZHOU F, HOU L K, DING T, et al. Distinct clinicopathologic features, genomic characteristics and survival of central and peripheral pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma: From different origin cells?[J]. *Lung Cancer*, 2018, 116: 30-37. DOI:10.1016/j.lungcan.2017.12.009.
- [9] JING C W, WANG Z, CAO H X, et al. High resolution melting analysis for epidermal growth factor receptor mutations in formalin-fixed paraffin-embedded tissue and plasma free DNA from non-small cell lung cancer patients[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 14(11): 6619-6623. DOI:10.7314/apjcp.2013.14.11.6619.
- [10] 杨长绍, 杜亚茜, 丁晓洁, 等. 云南地区非小细胞肺癌患者外周血EGFR基因突变与临床病理特征的关系[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2017, 33(8): 874-878. DOI:10.13315/j.cnki.cjcep.2017.08.010.
- [11] LAI Y Y, ZHANG Z P, LI J Z, et al. EGFR mutations in surgically resected fresh specimens from 697 consecutive Chinese patients with non-small cell lung cancer and their relationships with clinical features[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(12): 24549-24559 [2019-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3876127/>. DOI:10.3390/ijms141224549.
- [12] DE PAS T, TOFFALORIO F, MANZOTTI M, et al. Activity of epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in patients with non-small cell lung cancer harboring rare epidermal growth factor receptor mutations[J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(11): 1895-1901. DOI:10.1097/JTO.0b013e318227e8c6.
- [13] BEAU-FALLER M, PRIM N, RUPPERT A M, et al. Rare EGFR exon 18 and exon 20 mutations in non-small-cell lung cancer on 10 117 patients: a multicentre observational study by the French ERMETIC-IFCT network[J/OL]. *Ann Oncol*, 2014, 25(1): 126-131 [2019-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3868323/>. DOI:10.1093/annonc/mdt418.
- [14] ARRIETA O, CARDONA A F, CORRALES L, et al. The impact of common and rare EGFR mutations in response to EGFR tyrosine kinase inhibitors and platinum-based chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2015, 87(2): 169-175. DOI:10.1016/j.lungcan.2014.12.009.
- [15] GOTO K, ICHINOSE Y, OHE Y, et al. Epidermal growth factor receptor mutation status in circulating free DNA in serum: from IPASS, a phase III study of gefitinib or carboplatin/paclitaxel in non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2012, 7(1): 115-121. DOI:10.1097/JTO.0b013e3182307f98.
- [16] 乔秀丽, 艾丹, 梁洪陆, 等. 山东地区非小细胞肺癌分子靶向治疗驱动基因表达情况及临床特征分析[J]. *中国肺癌杂志*, 2017, 20(1): 14-20. DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2017.01.02.
- [17] GAO J, CHEN J Q, ZHANG L, et al. Relationship between EGFR and KRAS mutations and prognosis in Chinese patients with non-small cell lung cancer: a mutation analysis with real-time polymerase chain reaction using scorpion amplification refractory mutation system[J]. *Chin J Pathol*, 2012, 41(10): 652-656. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2012.10.002.
- [18] LIU H Y, LI Y, CHEN G, et al. Detection and its clinical significance of EGFR gene mutation and gene amplification in 187 patients with non-small cell lung cancer[J]. *Chin J Lung Cancer*, 2009, 12(12): 1219-1228. DOI:10.3779/j.issn.1009-3419.2009.12.01.
- [19] DEARDEN S, STEVENS J, WU Y L, et al. Mutation incidence and coincidence in non small-cell lung cancer: meta-analyses by ethnicity and histology (mutMap)[J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(9): 2371-2376. DOI:10.1093/annonc/mdt205.
- [20] AN S J, CHEN Z H, SU J, et al. Identification of enriched driver gene alterations in subgroups of non-small cell lung cancer patients based on histology and smoking status[J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7

- (6): e40109[2019-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3387024/>. DOI:10.1371/journal.pone.0040109.
- [21] FENG Q, LI X H, CHEN Z, et al. Epidermal growth factor receptor gene mutations and clinicopathologic correlation in 309 patients with non-small cell lung cancer[J]. *Chin J Pathol*, 2011, 40(10): 660-663.
- [22] UENO T, TOYOOKA S, SUDA K, et al. Impact of age on epidermal growth factor receptor mutation in lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2012, 78(3): 207-211. DOI:10.1016/j.lungcan.2012.09.006.
- [23] 王琼, 吕亚莉, 钟梅, 等. 二代测序技术检测肺癌相关基因突变状态临床病理意义[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2018, 25(13): 944-950. DOI:10.16073/j.cnki.cjcp.2018.13.006.
- [24] SHIGEMATSU H, LIN L, TAKAHASHI T, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(5): 339-46. DOI: 10.1093/jnci/dji055.
- [25] SHI Y, AU J S, 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 Thoracic Oncol*, 2014, 9(2): 154-162. DOI: 10.1097/jto.0000000000000033.

[收稿日期] 2019-09-18

[修回日期] 2019-11-29

[本文编辑] 王映红