

Уушгины жижиг бус эст өмөн оношлогдсон эдэд *EGFR* генийн мутацийг илрүүлсэн нь

Б.Эрдэнэцэцэг¹, Ц.Маналжав², Х.Гэрэлээ³, Г.Явуухулан⁴, Э.Баярмаа¹

¹АШУУИС, Био-АС, Эмгэг судлал, Шүүх эмнэлгийн тэнхим

²АШУУИС, АВС, Уушги, хариул судлалын тэнхим

³ХСҮТ, Эмгэг судлалын тасаг ⁴Бона Вита эмнэлзүйн лаборатори

Цахим шуудан: amd24e006@gt.mn.ums.edu.mn, Утас: 99540596

Түлхүүр үг:

Хавдрын бай
эмчилгээ
Тирозинкиназын
дарангуйлагч
Бодит
хугацааны ПГУ

Товч утга:

Үндэслэл: Уушгины жижиг бус эст өмөн (УЖБЭӨ) нь уушгины хорт хавдрын дийлэнх хувийг эзэлж, нас баралтын тэргүүлэх шалтгааны нэг хэвээр байна. Сүүлийн жилүүдэд хавдрын молекул биологийн судалгаа эрчимжиж, *EGFR* гений мутаци нь оношилгоо, бай эмчилгээ (тирозин киназын дарангуйлагч)-г оновчтой сонгоход чухал ач холбогдолтой байна. Гэвч *EGFR* мутаци илрүүлэхэд биопсийн төрөл, чанар ихээхэн нөлөөлдөг бөгөөд ялангуяа дурангийн болон мэс заслын сорьцын хэмжээнээс хамааралтай байж болзошгүй. Иймээс УЖБЭӨ-тэй өвчтөнүүдийн дурангийн болон мэс заслын сорьцод *EGFR* мутаци илрүүлэх боломжийг харьцуулан судлах шаардлага тулгарч байсан нь энэхүү судалгааны үндэслэл болсон. **Зорилго:** УЖБЭӨ оношлогдсон эмчлүүлэгчдийн дурангийн болон мэс заслын аргаар авсан эдэд *EGFR* гений мутацийн илрэлийг харьцуулан үнэлэх. **Арга, аргачлал:** Энэхүү судалгааг ретроспектив чиглэлтэй, ажиглалтын харьцуулсан загвараар хийж гүйцэтгэв. Судалгаанд нийт 35 формалинд бэхжүүлж, парафинд нэвчүүлсэн (FFPE) эдийн сорьц хамруулснаас 19 нь дурангийн, 16 нь мэс заслын сорьц байв. Сорьц бүрээс 5 мкм зузаантай 12 зүсмэг бэлтгэн геномын ДНХ ялгаж, *EGFR* мутацийг cobas® *EGFR* Mutation Test v2 урвалж ашиглан бодит хугацааны полимеразын гинжин урвалын аргаар тодорхойлов. **Үр дүн:** Судалгаанд хамрагдагсдын дундаж нас 64.5±10.5 жил ба 74% нь эрэгтэйчүүд, 26% нь эмэгтэйчүүд байв. Амьд сорьцын төрлөөс хамааран хавдрын эсийн агууламж болон ДНХ гарц ялгаатай байв. Дурангийн 19 сорьцод хавдрын эсийн дундаж агууламж 34% ба ДНХ гарц 73.6%-д хангалттай, 26.3%-д хангалтгүй илрэв. Мэс заслын 16 сорьцод хавдрын эсийн дундаж агууламж 93% бөгөөд бүх сорьцод ДНХ гарц хангалттай илрэв. *EGFR* мутаци дурангийн сорьцод илрээгүй (0/19) бол мэс заслын сорьцын 31.3%-д илэрсэн (exon 19 deletion n=3, L858R n=1, T790M n=1). Дурангийн сорьцод ДНХ гарц хангалтгүй байсан тохиолдлуудад ПГУ шинжилгээ хийх боломжгүй байсан нь илрүүлэлтийн боломжийг хязгаарласан. Хоёр бүлгийн хооронд *EGFR* мутаци илрэх хувь статистикийн ач холбогдол бүхий ялгаатай байлаа (p=0.045). **Дүгнэлт:** Уушгины дурангийн амьд сорьцод хавдрын эсийн агууламж болон ДНХ гарц харьцангуй бага, зарим тохиолдолд шинжилгээ хийхэд хангалтгүй байсан бол мэс заслын сорьцод эдгээр үзүүлэлтүүд хангалттай илрэв. *EGFR* гений мутацийн илрүүлэлтийг харьцуулахад дурангийн сорьцод хязгаарлагдмал байсан бол мэс заслын амьд сорьцод мутаци илэрсэн нь боломж өндөр байгааг илэрхийлж байна.

Үндэслэл: Уушгины хорт хавдар нь дэлхий даяар хорт хавдрын шалтгаант нас баралтын тэргүүлэх шалтгаан хэвээр байна. Жил бүр 2.2 сая орчим шинэ тохиолдол бүртгэгдэж, 1.8 сая гаруй хүн нас барж байна.¹ Монгол улсад ч уушги, гуурсан хоолойн хорт хавдар нь өвчлөл,

нас баралтаараа өндөр түвшинд хэвээр байгаа бөгөөд ихэнх тохиолдол хожуу үе шатанд оношлогдож байна.² Уушгины хорт хавдрын 85%-ийг уушгины жижиг бус эст өмөн (УЖБЭӨ) эзэлдэг.³ Сүүлийн жилүүдэд *EGFR* гений мутаци нь УЖБЭӨ, ялангуяа аденокарциномын

үед чухал үүрэгтэй болох нь тогтоогджээ.^{4,6} *EGFR* мутаци нь хавдрын эсийн өсөлт, хуваагдлыг идэвхжүүлдэг бөгөөд уг мутацийтай эмчлүүлэгчдэд тирозинкиназын дарангуйлагч (TKI) бүлгийн бай эмчилгээ өндөр үр дүнтэй байна.⁷

Иймээс *EGFR* мутацийг тодорхойлох нь оношилгоо, эмчилгээний тактик сонгоход чухал ач холбогдолтой.⁸ Гэвч Монгол улсад молекул оношилгооны хүртээмж хязгаарлагдмал бөгөөд сорьцын төрөл, чанараас хамааран шинжилгээний үр дүн ялгаатай байж болзошгүй. Иймээс УЖБӨӨ-тэй өвчтөнүүдийн дурангийн болон мэс заслын сорьцод *EGFR* мутаци илрүүлэх боломжийг харьцуулан судлах шаардлага тулгарч байсан нь энэхүү судалгааны үндэслэл болсон.

Зорилго: Уушгины жижиг бус эст өмөнгөөр оношлогдсон эмчлүүлэгчдийн дурангийн болон мэс заслын аргаар авсан эдэд *EGFR* гений мутацийн илрэлийг харьцуулан үнэлэх.

Зорилт:

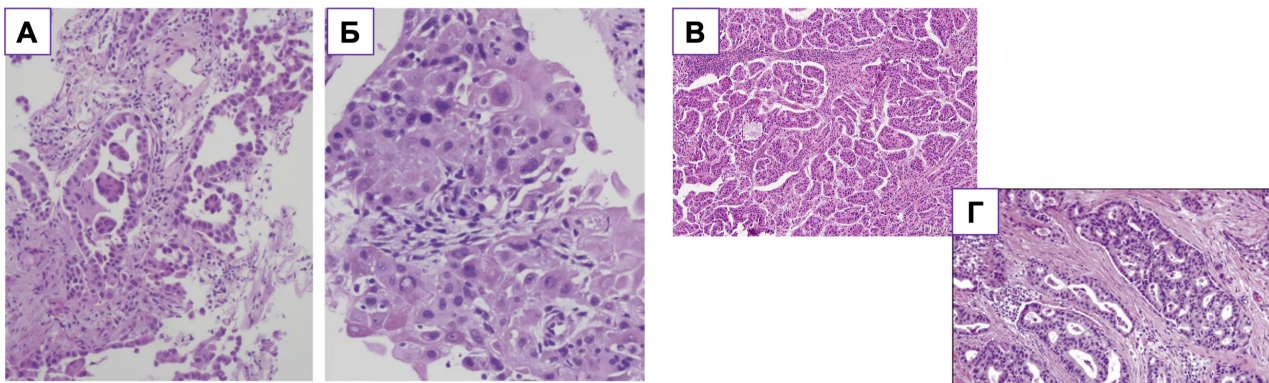
1. Уушгины дурангийн ба мэс заслаар авагдсан эдэд хавдрын эсийн агууламж болон ДНХ гарцыг тодорхойлж, *EGFR* гений мутацийг илрүүлэх.
2. Уушгины дурангийн болон мэс заслаар авагдсан эдэд *EGFR* мутацийн илрүүлэлтийн боломжийг харьцуулан үнэлэх.

Арга, аргачлал: Энэхүү судалгааг ретроспектив, ажиглалтын харьцуулсан загвараар хийж гүйцэтгэсэн. Судалгаанд нийт 35 формалинд бэхжүүлж, парафинд нэвчүүлсэн (FFPE) эдийн сорьцыг хамруулснаас 19 нь Монгол-Японы эмнэлгээс авсан дурангийн эд, 16 нь Хавдар судлалын үндэсний төвөөс авсан мэс заслын

амьд сорьц байв. Судалгаанд уушгины жижиг бус эст өмөн онош батлагдсан, ≤ 12 сар хадгалсан FFPE эдийн блок бүхий амьд сорьцыг хамруулсан. Сорьц бүрээс 5 мкм зузаантай 12 зүсмэг бэлтгэн, хавдрын эсийн агууламжийг туршлагатай эмгэг судлаач эмч үнэлсэн. Геномын ДНХ-ийг Cobas DNA Sample Preparation kit ашиглан ялгав. *EGFR* гений мутацийг cobas® *EGFR* Mutation Test v2 урвалж ашиглан Cobas z 480 анализатор дээр бодит хугацааны полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-ын аргаар тодорхойлов. Тус тест нь *EGFR* гений Exon 18–21 бүхий дараах түгээмэл мутациудыг илрүүлэх боломжтой: G719X (G719A, G719C, G719S), Exon 19 deletion, S768I, T790M, Exon 20 insertion, L858R, L861Q. Шинжилгээг Бона-Вита эмнэлзүйн лабораторид гүйцэтгэсэн.

Энэхүү судалгааг АШУҮИС-ийн Судалгааны Ёс Зүйн Хяналтын Хорооны 2024 оны 4-р сарын 19-ний өдрийн хурлаар (Протокол № 2024/3-04) хэлэлцүүлэн судалгааг явуулах зөвшөөрөл авч гүйцэтгэсэн.

Үр дүн: Судалгаанд нийт 35 эмчлүүлэгч хамрагдсаны дундаж нас 64.5 ± 10.5 жил байв. Үүнээс 26 (74%) нь эрэгтэйчүүд, 9 (26%) нь эмэгтэйчүүд байна. Биопсийн төрлөөс хамааран хавдрын эсийн агууламж болон ДНХ гарцад ялгаа ажиглагдлаа. Дурангийн 19 амьд сорьцод хавдрын эсийн дундаж агууламж 34% байсан бол мэс заслаар авагдсан 16 эдэд 93% байв. Дурангийн болон мэс заслын сорьц дахь хавдрын эсийн агууламжийн ялгааг Зураг 2-т харуулав. Дурангийн эдэд ДНХ гарц 14 (73.7%)-д хангалттай, 5 (26.3%)-д хангалтгүй бөгөөд хангалтгүй сорьцуудад ДНХ-ийн концентраци $2 \text{ ng}/\mu\text{l}$ -ээс бага байсан тул бодит хугацааны ПГУ шинжилгээ хийх боломжгүй байв. Харин мэс заслаар авагдсан хавдартай эдэд ДНХ гарц хангалттай байсан бөгөөд ПГУ шинжилгээ бүрэн хийгдсэн.



Зураг 1. Дурангийн биопси болон мэс заслын сорьц дахь хавдрын эсийн агууламжийн харьцуулсан гистологийн зураг

(А–Б) Дурангийн биопсийн сорьц – хавдрын эсийн агууламж бага, хэвийн эд давамгайлсан.

(В–Г) Мэс заслын сорьц – хавдрын эсийн агууламж өндөр, хавдрын эсүүд нягт байрласан.

Дурангаар авагдсан хавдрын эдийн гистологийн дэд хэвшинжийг ангилбал: 11 (57.9%) нь хавтгай эст өмөн, 3 (15.8%) нь аденокарцинома, 5 (26.3%) нь ялгарал муутай өмөн байв. Харин мэс заслаар авагдсан хавдрын эд бүгд 100% уушгины булчирхайлаг өмөн буюу аденокарцинома байв (Хүснэгт 1).

Хүснэгт 1. Дурангийн болон мэс заслын сорьцын гистологийн төрөл

Гистологи	Дурангийн	Мэс заслын
Аденокарцинома	3 (15.8%)	16 (100%)
Хавтгай эст өмөн	11 (57.9%)	0
Ялгарал муутай өмөн	5 (26.3%)	0
Нийт	19	16

EGFR гений мутаци нь дурангийн сорьцод илрээгүй бол мэс заслын сорьцын 5 (31.3%)-д илэрсэн. Дурангийн болон мэс заслын сорьцын хавдрын эсийн агууламж, ДНХ гарц болон *EGFR* мутаци илрүүлэлтийн үзүүлэлтүүдийг Хүснэгт 2-т харуулав.

Хүснэгт 2. Дурангийн ба мэс заслын сорьцын харьцуулалтын дүн

Үзүүлэлт	Дурангийн (n=19)	Мэс заслын (n=16)
Хавдрын эсийн агууламж (%)	34%	93%
ДНХ гарц хангалттай	14 (73.7%)	16 (100%)
ДНХ гарц хангалтгүй	5 (26.3%)	0
<i>EGFR</i> мутаци (+)	0	5 (31.3%)

Илэрсэн мутацийн төрөлд Exon 19 deletion (n=3), L858R (n=1), T790M (n=1) багтаж байв. Дурангийн сорьцод ДНХ гарц хангалтгүй байсан тохиолдлуудад ПГУ шинжилгээ хийх боломжгүй байсан нь илрүүлэлтийн боломжийг хязгаарлаж байна. Хоёр бүлгийн хооронд *EGFR* мутаци илрэх хувь статистикийн ач холбогдол бүхий ялгаатай байв ($p=0.045$).

Эмнэлзүйн мэдээллийг зөвхөн дурангийн эд авагдсан эмчлүүлэгчдэд үнэлсэн бөгөөд үүнд эрэгтэй эмчлүүлэгчид бүгд 100% тамхи татдаг өгүүлэмжтэй байсан бөгөөд тамхи татсан хугацаа 20–50 жил, *pack-year* 20–100 байв. Харин эмэгтэй эмчлүүлэгчид тамхи татдаггүй, дам тамхидалтад өртөөгүй байв. Эмнэлзүйн зовуурийн хувьд 12 (80%)-д ханиалгах, 8 (53.3%)-д цээжээр өвдөх, 6 (40%)-д амьсгаадах, 9 (60%)-д цэр гарах, үүнээс 4 (26.6%)-д цустай цэр гарах шинж илэрсэн. TNM үе шатаар ангилахад I шатанд 3 (15.8%), II шатанд 4 (21%), III шатанд 6 (31.6%), IV шатанд 6 (31.6%) байсан бол нийт эмчлүүлэгчдийн 63.2% нь III–IV шатанд оношилгогдсон байв. Анатомын байршлын хувьд 12 (63.2%) нь уушгины дээд дэлбэнд, 4 (21%) нь доод дэлбэнд, 3 (15.8%) нь дунд дэлбэнд байрласан байв.

Хэлцэмж: Энэхүү судалгаагаар уушгины жижиг бус эст өмөнтэй эмчлүүлэгчдийн дурангийн болон мэс заслын амьд сорьцод *EGFR* гений мутаци илрүүлэх боломжийг харьцуулан үнэлэхэд биопсийн төрөл, чанар нь молекул оношилгооны үр дүнд нөлөөлж байгааг тогтоолоо. Ялангуяа хавдрын эсийн агууламж болон ДНХ гарц нь мутаци илрүүлэлтийн мэдрэг чанарт шууд нөлөөлж байна.

Манай судалгаанд мэс заслын сорьцод *EGFR* мутаци 31.3%-д илэрсэн нь олон улсын судалгаанд мэдээлэгдсэн 20–40%-ийн тархалттай нийцэж байна.¹⁰ Энэ нь мэс заслын сорьцын чанар болон хавдрын эсийн эзлэх хувь өндөр байгаатай холбоотой. Харин дурангийн эдэд *EGFR* мутаци илрээгүй нь хавдрын эсийн агууламж бага, мөн зарим амьд сорьцод ДНХ гарц хангалтгүй байснаас ПГУ шинжилгээ хийх боломж хязгаарлагдаж байв. Жижиг хэмжээний сорьцод молекул шинжилгээний мэдрэг чанар буурах эрсдэлтэйг өмнө нь хийгдсэн судалгаанууд

тодорхойлсонтой дүйж байна.^{11,12}

Мөн түүнчлэн хавдрын гистологийн дэд хэв шинжийн ялгаа нь үр дүнд нөлөөлсөн байх магадлалтай. Дурангийн эдийн сорьцод хавтгай эст өмөн зонхилж байсан бол мэс заслаар авагдсан эдэд аденокарцинома давамгай байв. *EGFR* мутаци нь аденокарциномд илүү өндөр давтамжтай илэрдэг болох нь тогтоогдсон.^{13,14} Энэхүү ялгаа нь дурангийн сорьцод мутаци илрээгүй үр дүнг тайлбарлах боломжтой. Иймээс үр дүнг зөв тайлбарлахад сорьцын төрөл болон гистологийн онцлогийг хамтад нь авч үзэх шаардлагатай.¹⁵

Манай судалгааны хязгаарлагдмал тал нь түүврийн хэмжээ бага байсан бөгөөд бүлгүүдийн гистологийн дэд хэв шинж ялгаатай байсан явдал юм. Энэ нь *EGFR* мутацийн илрүүлэлтийн ялгааг зөвхөн биопсийн төрлөөр тайлбарлахад хүндрэл учруулж байна. Цаашид илүү олон тохиолдлыг хамруулж, гистологийн дэд хэв шинж хоорондын харьцуулсан судалгаа хийх шаардлагатай. Энэхүү судалгаа нь Монгол улсад УЖБЭӨ-тэй өвчтөнүүдийн сорьцын төрөл болон молекул оношилгооны хамаарлыг харьцуулсан цөөн судалгааны нэг бөгөөд клиник практикт ач холбогдолтой.

Дүгнэлт:

1. Уушгины дурангийн амьд сорьцод хавдрын эсийн агууламж болон ДНХ гарц харьцангуй бага, зарим тохиолдолд шинжилгээ хийхэд хангалтгүй байсан бол мэс заслаар авагдсан эдэд дээрх үзүүлэлтүүд хангалттай байв.
2. *EGFR* гений мутаци илрүүлэх боломжийг харьцуулахад дурангийн амьд сорьцод илрүүлэлт хязгаарлагдмал байсан бол мэс заслын сорьцод мутаци илэрсэн нь илрүүлэлтийн боломж өндөр байгааг харууллаа.

Ном зүй:

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209-249.
2. Ганзориг Б, нар. Монгол улсад уушгины өмөнгийн өвчлөл, нас баралт, амьдрах чадварын судалгаа. 2017.
3. Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature*. 2018;553(7689):446-454.
4. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(3):169-181.
5. 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.
6. 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.
7. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009;361(10):947-957.
8. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for *EGFR* and *ALK* tyrosine kinase inhibitors. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358.
9. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2011;6(2):244-285.

10. Rosell R, Moran T, Queralt C, et al. Screening for EGFR mutations in lung cancer: *N Engl J Med.* 2009;361(10):958-967.
11. Thunnissen E, Kerr KM, Herth FJ, et al. The challenge of NSCLC diagnosis and predictive analysis on small samples. *J Thorac Oncol.* 2012;7(6):806-815.
12. Rekhtman N, Roy-Chowdhuri S. Cytology specimens: a valuable resource for molecular testing in lung adenocarcinoma. *Cancer Cytopathol.* 2016;124(6):404-412.
13. Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small cell lung cancer. *Lancet Oncol.* 2011;12(2):175-180.
14. Tsao MS, Sakurada A, Cutz JC, et al. Erlotinib in lung cancer – molecular and clinical predictors of outcome. *N Engl J Med.* 2005;353(2):133-144.
15. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(6):828-860.

Detection of *EGFR* gene mutations in Non-small cell lung cancer tissues

Erdenetsetseg B¹, Manaljav Ts², Gerlee Kh³, Yavuukhulan G⁴, Bayarmaa E¹

¹Department of Pathology and Forensic Medicine, School of Bio-Medicine, MNUMS

²Department of Pulmonology and Allergology, School of Medicine, MNUMS

³Department of Pathology, National Cancer Center, Mongolia

⁴Bona Vita Clinical Laboratory

E-mail: amd24e006@gt.mnms.edu.mn, Tel: +976-99540596

Abstract:

Background: Non-small cell lung cancer (NSCLC) accounts for the majority of lung cancer cases and remains one of the leading causes of cancer-related mortality worldwide. Advances in molecular oncology have shown that mutations in the epidermal growth factor receptor (*EGFR*) gene play a crucial role in diagnosis and in guiding targeted therapy with tyrosine kinase inhibitors (TKIs). However, the detection of *EGFR* mutations is influenced by specimen type and quality, and differences may exist between bronchoscopic and surgical samples. In Mongolia, studies addressing this issue remain limited.

Aim: To evaluate the feasibility of detecting *EGFR* gene mutations in bronchoscopic and surgically obtained tissue samples from patients with non-small cell lung cancer (NSCLC).

Materials and Methods: This prospective comparative study included 35 formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue samples, of which 19 were bronchoscopic and 16 were surgical specimens. Tumor cell content was assessed histologically, and genomic DNA was extracted from each sample. *EGFR* mutation analysis was performed using the cobas® *EGFR* Mutation Test v2 with real-time PCR. Statistical analysis was conducted using SPSS version 26.0, and differences between groups were evaluated using Fisher's exact test.

Results: The mean age of the participants was 64.5±10.5 years; 74% were male and 26% were female. Significant differences in tumor cell content and DNA yield were observed between specimen types. Bronchoscopic samples showed a mean tumor cell content of 34%, with sufficient DNA yield in 73.6% of cases, whereas surgical specimens demonstrated a mean tumor cell content of 93%, with adequate DNA yield in all cases. *EGFR* mutations were detected in 31.3% of surgical specimens (including exon 19 deletion, L858R, and T790M mutations). In bronchoscopic samples, insufficient DNA yield in some cases precluded PCR analysis, thereby limiting mutation detection. A statistically significant difference in *EGFR* mutation detection rates was observed between the two groups (p=0.045).

Conclusions:

1. Bronchoscopic samples demonstrated lower tumor cell content and DNA yield, which may limit their suitability for molecular analysis in some cases.
2. Compared to bronchoscopic samples, surgically obtained specimens provided higher-quality tissue and demonstrated a greater feasibility for *EGFR* mutation detection.

Keywords: Targeted therapy, Tyrosine kinase inhibitors, Real-time PCR, Adenocarcinoma, Formalin-fixed paraffin-embedded tissue