

• 论 著 •

基于高通量测序对非小细胞肺癌患者基因突变情况与临床病理特征关系的研究*

杨雪琪¹, 杜珍武², 刘伯红³, 庞其升⁴, 秦续元¹, 张桂珍^{1△}

1. 长春肿瘤医院基因检测中心, 吉林长春 130015; 2. 吉林大学第二医院骨科研究所, 吉林长春 130041;
3. 长春肿瘤医院胸部内科, 吉林长春 130015; 4. 长春肿瘤医院胸部外科, 吉林长春 130015

摘要:目的 探讨非小细胞肺癌患者中基因突变的检出率及其分布特征, 并分析其与临床病理特征之间的关系。方法 收集 2020 年 4 月至 2023 年 12 月在长春肿瘤医院基因检测中心进行高通量基因检测的 213 例非小细胞肺癌患者的基因检测结果及临床病理资料。采用高通量测序技术对 26 个基因进行突变检测, 分析突变频率及其分布与患者临床病理特征之间的关系。结果 213 例非小细胞肺癌患者中, 有 192 例 (90.14%) 患者至少检测到 1 种基因突变, 其中突变频率较高的基因有肿瘤蛋白 p53 (TP53, 60.56%)、表皮生长因子受体 (EGFR, 46.48%)、Kirsten 鼠肉瘤基因 (KRAS, 14.55%)、间变性淋巴瘤激酶 (ALK, 11.74%)、磷脂酰肌醇 3 激酶催化亚单位 α (PIK3CA, 8.92%); 1 类药物证据等级 132 例 (30.28%), 2 类药物证据等级 11 例 (2.52%)。在女性、非吸烟者及肺腺癌患者中, EGFR 基因突变的发生率更高 ($P < 0.05$); TP53 突变通常出现在女性、吸烟者及临床分期 IV 期的患者; ALK 突变多见于年轻的患者, 而 KRAS 突变更常见于吸烟的男性患者。结论 对非小细胞肺癌基因突变的分布特征及其临床病理特征的关系进行分析, 可为进一步优化非小细胞肺癌患者的基因检测提供科学依据, 并为临床治疗提供指导。

关键词: 非小细胞肺癌; 基因检测; 高通量测序; 基因突变; 临床病理特征

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.21.009

中图法分类号: R734.2

文章编号: 1673-4130(2025)21-2613-08

文献标志码: A

Relationship between gene mutations and clinicopathological characteristics in patients with non-small cell lung cancer based on high-throughput sequencing*

YANG Xueqi¹, DU Zhenwu², LIU Bohong³, PANG Qisheng⁴, QIN Xuyuan¹, ZHANG Guizhen^{1△}

1. Gene Detection Center, Changchun Cancer Hospital, Changchun, Jilin 130015, China;
2. Orthopedics Research Institute, Second Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin 130041, China; 3. Department of Thoracic Medicine, Changchun Cancer Hospital, Changchun, Jilin 130015, China; 4. Department of Thoracic Surgery, Changchun Cancer Hospital, Changchun, Jilin 130015, China

Abstract: Objective To explore the detection rate and distribution characteristics of gene mutations in patients with non-small cell lung cancer, and to analyze their relationship with clinicopathological characteristics. **Methods** The genetic testing results and clinicopathological data of 213 patients with non-small cell lung cancer who underwent high-throughput genetic testing at the Gene Detection Center, Changchun Cancer Hospital from April 2020 to December 2023 were collected. High-throughput sequencing technology was used to detect mutations in 26 genes, and the relationship between the mutation frequency and its distribution and the clinicopathological characteristics of patients was analyzed. **Results** Among 213 patients with non-small cell lung cancer, 192 cases (90.14%) had at least one gene mutation detected. Among them, the genes with relatively high mutation frequencies were TP53 (60.56%), EGFR (46.48%), KRAS (14.55%), ALK fusion (11.74%), and PIK3CA (8.92%). There were 132 cases (30.28%) of evidence level for Class 1 drugs and 11 cases (2.52%) of evidence level for Class 2 drugs. The incidence of EGFR gene mutations was higher in

* 基金项目: 吉林省科技厅项目 (YDZJ202201ZYTS127); 吉林省发展和改革委员会项目 (2023C041-6/2023C011); 吉林省卫生厅项目 (2024A036)。

作者简介: 杨雪琪, 女, 技师, 主要从事基因检测研究。△ 通信作者, E-mail: zgz@jlu.edu.cn。

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1176.R.20251013.0845.002\(2025-10-13\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1176.R.20251013.0845.002(2025-10-13))

women, non-smokers and patients with lung adenocarcinoma ($P < 0.05$). TP53 mutations usually occurred in women, smokers and patients with stage IV. ALK mutations were more common in young patients, while KRAS mutations were more frequently seen in male smokers. **Conclusion** Analyzing the distribution characteristics of gene mutations in non-small cell lung cancer and their relationship with clinicopathological characteristics can provide a scientific basis for further optimizing genetic testing for patients with non-small cell lung cancer and offer guidance for clinical treatment.

Key words: non-small cell lung cancer; genetic testing; high-throughput sequencing; gene mutations; clinicopathological characteristics

肺癌是全球发病率与死亡率最高的恶性肿瘤^[1]。非小细胞肺癌(NSCLC)是我国肺癌患者的主要病理类型,占 80%~85%,其 5 年生存率较低,仅有 15%^[2]。随着 NSCLC 驱动基因的发现与靶点药物的开发,分子靶向治疗已成为晚期 NSCLC 临床上主要的治疗手段^[3-4]。为保证靶向治疗用药的合理性与安全性,用药前的靶点基因突变检测已成为肺癌诊疗的主要内容。《中华医学会肺癌临床诊疗指南患者版(2024 版)》已经将多种基因包括表皮生长因子受体(EGFR)、间变性淋巴瘤激酶(ALK)、C-ros 癌基因(ROS1)、转染重排原癌基因(RET)等列为非小细胞肺癌分子靶向治疗过程中必须检测的基因^[2]。

随着靶向基因检测数目增多,原有的单基因单突变位点检测技术包括 Sanger 一代测序技术与实时定量 PCR 技术等已不能满足临床基因检测需求,而宏基因组高通量测序(NGS)技术由于同步进行多个基因检测优势已逐渐在靶向基因检测过程中得到广泛应用^[5]。根据临床检测需要,NGS 可以选择不同基因及检测突变位点组成不同的检测项目,检测项目不仅涵盖指南规定检测基因及检测位点,也可包括与肿瘤发展密切相关的基因与稀有突变位点,从而不仅对靶向药物治疗进行指导,也为发现新的突变位点与新的治疗方案提供指导。随着 NSCLC 患者 NGS 基因检测数据积累,驱动基因突变在 NSCLC 分布及与临床病理关系中得到广泛研究^[6-7],这些研究成果将有助于明确 NSCLC 人群基因突变的特点,为改善 NSCLC 的预后提供科学依据。本研究旨在通过对 213 例 NSCLC 患者的 26 个基因高通量测序结果进行回顾性分析,观察肺癌 26 个基因检测在 NSCLC 基因突变分布、靶向药物证据及其与临床病理特征之间的关系,为 NSCLC 患者的基因检测方案优化选择、改善临床治疗效果提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集了 2020 年 4 月至 2023 年 12 月在长春肿瘤医院基因检测中心进行高通量基因检测的 213 例 NSCLC 患者的高通量基因检测结果与临床病理资料。纳入标准:(1)通过组织病理学或细胞学方法诊断为 NSCLC;(2)样本肿瘤细胞比例 $\geq 10\%$ 。

排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤;(2)临床资料不完整。临床病理信息如下:(1)男 97 例,女 116 例;(2)年龄 30~89 岁,中位年龄 60 岁, < 60 岁 70 例, ≥ 60 岁 143 例;(3)有吸烟史 93 例,无吸烟史 120 例;(4)临床分期:I 期 2 例,II 期 8 例,III 期 29 例,IV 期 174 例;(5)病理分型:肺腺癌 186 例,肺鳞癌 7 例,其他类型 20 例;(6)样本类型包括固定石蜡组织切片 159 例,外周血 54 例。本研究经长春肿瘤医院伦理委员会批准(审批号:2024 年研审第 005 号)。本研究遵循《赫尔辛基宣言》。

1.2 方法

1.2.1 高通量检测方法 采用凯杰核酸提取试剂盒和美基核酸提取试剂盒分别对循环肿瘤 DNA(ctDNA)样本和 FFPE 样本进行 DNA 提取,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。对提取成功的 DNA 使用聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 DNA 降解程度。使用纳昂达文库构建试剂盒构建含目标基因的全基因组文库,建库过程中使用 UMI 接头保证数据结果的准确性,使用液相探针进行杂交捕获,确保文库的高均一性及高捕获效率。取上述文库 1 μL ,用 Qubit 4.0 测定文库质量浓度(要求 $\geq 10 \text{ ng}/\mu\text{L}$),并使用 Qseq100 进行文库片段质检,文库片段主峰 250~550 bp。使用 Illumina NovaSeq 6000 测序仪进行靶向 NGS 测序,采用 PE150 的测序读长(双端 150 bp)。将测序原始数据过滤后用于生物信息学分析。

1.2.2 检测目标基因 目标基因包括 EGFR、肿瘤蛋白 p53 (TP53)、ALK、Kirsten 鼠肉瘤基因(KRAS)、磷脂酰肌醇 3 激酶催化亚单位 α (PIK3CA)、钙黏蛋白相关蛋白(CTNNB1)、神经源性基因 Notch、同源蛋白 1(NOTCH1)、酪氨酸激酶受体 4(ERBB4)、酪氨酸激酶受体 2(ERBB2)、间质-上皮细胞转化因子(MET)、磷酸酶与张力蛋白同源物(PTEN)、人母亲 DDP 同源物 4 (SMAD4)、成纤维细胞生长因子受体 1-3(FGFR1-3)、神经纤维瘤蛋白基因 1(NF1)、ROS1、丝氨酸/苏氨酸激酶 11(STK11)、盘状结构域受体 2(DDR2)、鼠类肉瘤滤过性病毒致癌同源体 B1(BRAF)、RET、神经营养性受体酪氨酸激酶 1-3 (NTRK1-3)、F-box 和 WD 重复结构域 7

(FBXW7)及丝裂原活化蛋白激酶 1(MAP2K1)。检测基因突变类型涵盖点突变、缺失与插入、拷贝数变异(CNV)及融合突变等类型,以检测变异丰度 1%及以上的基因变异判定为阳性。

1.2.3 用药证据等级的判定 中国药品监督管理局/美国食品药品监督管理局(NMPA/FDA)批准及指南推荐药物(本癌种):相同癌种、相同位点,经 NMPA/FDA 批准或美国国家综合癌症网络/中国临床肿瘤协会(NCCN/CSCO)指南推荐的药物为 1 类药物证据等级。NMPA/FDA 批准及指南推荐药物(其他癌种):其他癌种、相同位点,经 NMPA/FDA 批准或 NCCN/CSCO 指南推荐的药物为 2 类药物证据等级。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计学软件进行

数据分析,基因突变数、突变位点数、突变频率等计数资料采用例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 检测靶基因突变在 NSCLC 患者分布结果 213 例 NSCLC 样本中,检出存在靶基因突变 192 例(90.14%),其中突变频率比较高的基因有 TP53(60.56%)、EGFR(46.48%)、KRAS(14.55%)、ALK(11.74%)、PIK3CA(8.92%)。发生突变的 192 例样本中共检出 478 个突变位点,基因突变类型包括点突变(74.27%)、插入变异(0.42%)、缺失变异(12.34%)、插入缺失变异(3.35%)、重复变异(2.93%)、融合变异(4.39%)及 CNV(2.30%)。见表 1。

表 1 26 个基因突变检出率及突变类型统计[n(%)]

基因	检测突变率			基因突变类型							
	血液样本	组织样本	合计	点突变	插入突变	缺失变异	插入缺失变异	CNV	重复变异	融合突变	合计
ALK	1(1.85)	24(15.09)	25(11.74)	9(36.00)	0	0	0	0	0	16(64.00)	25(5.23)
BRAF	1(1.85)	3(1.89)	4(1.88)	3(75.00)	0	0	1(25.00)	0	0	0	4(0.84)
CTNNB1	1(1.85)	17(10.69)	18(8.45)	17(89.47)	0	1(5.26)	0	1(5.26)	0	0	19(3.97)
DDR2	1(1.85)	3(1.89)	4(1.88)	4(100.00)	0	0	0	0	0	0	4(0.84)
EGFR	19(35.19)	80(50.31)	99(46.48)	70(56.91)	1(0.81)	31(25.20)	9(7.31)	8(6.50)	4(3.25)	0	123(25.73)
ERBB2	3(5.56)	10(6.29)	13(6.10)	10(76.92)	0	0	1(7.69)	0	2(15.38)	0	13(2.72)
ERBB4	3(5.56)	3(1.89)	6(2.82)	6(100.00)	0	0	0	0	0	0	6(1.26)
FBXW7	1(1.85)	1(0.63)	2(0.94)	2(100.00)	0	0	0	0	0	0	2(0.42)
FGFR1	0	4(2.52)	4(1.88)	4(100.00)	0	0	0	0	0	0	4(0.84)
FGFR2	0	1(0.63)	1(0.47)	1(100.00)	0	0	0	0	0	0	1(0.21)
FGFR3	2(3.70)	5(3.14)	7(3.29)	8(100.00)	0	0	0	0	0	0	8(1.67)
KRAS	7(12.96)	24(15.09)	31(14.55)	31(100.00)	0	0	0	0	0	0	31(6.49)
MAP2K1	0	1(0.63)	1(0.47)	1(100.00)	0	0	0	0	0	0	1(0.21)
MET	3(5.56)	8(5.03)	11(5.16)	8(66.67)	0	1(8.33)	0	2(16.67)	1(8.33)	0	12(2.51)
NF1	1(1.85)	5(3.14)	6(2.82)	5(83.33)	0	0	0	0	1(16.67)	0	6(1.26)
NOTCH1	2(3.70)	13(8.18)	15(7.04)	16(100.00)	0	0	0	0	0	0	16(3.35)
NTRK1	0	2(1.26)	2(0.94)	2(100.00)	0	0	0	0	0	0	2(0.42)
NTRK2	0	1(0.63)	1(0.47)	1(100.00)	0	0	0	0	0	0	1(0.21)
NTRK3	0	3(1.89)	3(1.41)	3(100.00)	0	0	0	0	0	0	3(0.63)
PIK3CA	2(3.70)	17(10.69)	19(8.92)	19(100.00)	0	0	0	0	0	0	19(3.97)
PTEN	0	11(6.92)	11(5.16)	6(42.86)	0	3(21.43)	1(7.14)	0	4(28.57)	0	14(2.93)
RET	0	4(2.52)	4(1.88)	1(25.00)	0	0	0	0	0	3(75.00)	4(0.84)
ROS1	2(3.70)	4(2.52)	6(2.82)	4(57.14)	0	0	1(14.29)	0	0	2(28.57)	7(1.46)
SMAD4	1(1.85)	8(5.03)	9(4.23)	7(77.78)	0	2(22.22)	0	0	0	0	9(1.88)
STK11	0	5(3.14)	5(2.35)	3(60.00)	0	2(40.00)	0	0	0	0	5(1.05)
TP53	22(40.74)	107(67.30)	129(60.56)	114(82.01)	1(0.72)	19(13.67)	3(2.16)	0	2(1.44)	0	139(29.08)

2.2 NSCLC 患者药物证据等级统计 在 26 个基因中检出 1 类药物证据等级 132 例,2 类药物证据等级 11 例,无药物证据等级 293 例。EGFR 基因 1 类药物证据等级 96 例,2 类药物证据等级 1 例,无药物证据等级 2 例。KRAS 基因 1 类药物证据等级 10 例,无药物证据等级 21 例。见表 2。

表 2 26 个基因药物证据等级统计(<i>n</i>)				
基因	1 类药物证据等级	2 类药物证据等级	无	合计
ALK	16	0	9	25
BRAF	1	0	3	4
CTNNB1	0	0	18	18
DDR2	0	0	4	4
EGFR	96	1	2	99
ERBB2	0	10	3	13
ERBB4	0	0	6	6
FBXW7	0	0	2	2
FGFR1	0	0	4	4
FGFR2	0	0	1	1
FGFR3	0	0	7	7
KRAS	10	0	21	31
MAP2K1	0	0	1	1
MET	4	0	7	11
NF1	0	0	6	6
NOTCH1	0	0	15	15
NTRK1	0	0	2	2
NTRK2	0	0	1	1
NTRK3	0	0	3	3
PIK3CA	0	0	19	19
PTEN	0	0	11	11
RET	3	0	1	4
ROS1	2	0	4	6
SMAD4	0	0	9	9
STK11	0	0	5	5
TP53	0	0	129	129
总计	132	11	293	436

2.3 靶基因共突变结果统计 在检出突变的 192 例样本中,包括 49 例(25. 52%)单基因突变和 143 例(74. 48%)多基因突变,多基因突变中双基因突变率为 38. 00%,3 个基因突变率为 24. 00%,4 个基因突变率为 9. 40%,5 个基因突变率为 2. 60%,7 个基因突变率为 0. 5%;其中双基因突变以 EGFR+TP53(24. 48%)和 KRAS+TP53(6. 29%)两种组合最为常见。

2.4 NSCLC 患者 EGFR 基因突变统计 本文中 EGFR 基因的突变数为 99 例(46. 48%),这些突变主要包括点突变 70 个(56. 91%)、缺失变异 31 个

(25. 20%)、插入变异 1 个(0. 81%)、插入缺失变异 9 个(7. 32%)、重复变异 4 个(3. 25%)和 CNV 8 个(6. 50%)。突变类型中 EGFR19 号外显子缺失(25. 20%)和 21 号外显子的 L858R 点突变(34. 15%)最为常见,见表 3。此外,在多点突变中,发现有 5 例存在 T790M 耐药性突变,这类患者在接受表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)靶向治疗时疗效和预后表现不佳。见表 4。

表 3 NSCLC 患者 EGFR 突变位点统计		
EGFR 外显子	突变位点	检出频次及突变率[<i>n</i> (%)]
外显子 7	T263P	2(1. 63)
外显子 13	N528D	1(0. 81)
外显子 17	V651L	1(0. 81)
外显子 18	E709K	1(0. 81)
外显子 19	G719S/C/A	7(5. 69)
	E709A	1(0. 81)
	exon19del	31(25. 20)
	E746T/S	3(2. 44)
	T751I	1(0. 81)
外显子 20	I740K	1(0. 81)
	L747P/A	5(4. 07)
	P772-C/H	2(1. 63)
	T790M	5(4. 07)
	S768-D	2(1. 63)
外显子 21	R776C	3(2. 44)
	A767	1(0. 81)
	N771T	1(0. 81)
外显子 23	L858R	42(34. 15)
外显子 28	L861Q	2(1. 63)
外显子 23	F928Q	1(0. 81)
外显子 28	V1097I	1(0. 81)
CNV	A1201T	1(0. 81)
	—	8(6. 51)
合计	—	123(100. 00)

注:—表示无数据。

表 4 NSCLC 患者 EGFR 基因检测多位点突变统计(<i>n</i> =21)		
EGFR 基因多点突变	<i>n</i>	百分率(%)
EGFR L858R/T263/扩增	1	4. 76
E790K/G719S	1	4. 76
S752_I759del/T790M/N528D	1	4. 76
EGFR G719C/S768I	1	4. 76
EGFR L858R/T790M	1	4. 76
EGFR E746_T751delinsA/V1097I	1	4. 76
EGFR G719A/E709A	1	4. 76
EGFR G719A/R776C	1	4. 76
EGFR L858R/T263P	1	4. 76
EGFR G719A/R776C/T790M	1	4. 76
EGFR L747_T751del/V651L	1	4. 76

续表 4 NSCLC 患者 EGFR 基因检测多位点
突变统计(*n* = 21)

EGFR 基因多点突变	<i>n</i>	百分率(%)
EGFR E746 T751delinsA/T790M	1	4. 76
EGFR G719A/R776C	1	4. 76
EGFR L858R/N771T	1	4. 76
EGFR E746_A750del/T790M	1	4. 76
EGFR L858R/扩增	5	23. 81
EGFR L861Q/扩增	1	4. 76

2.5 基因突变与临床病理特征的关系 在 213 例样

本中,EGFR 基因突变频率为 46. 48%(99/213),在女性、无吸烟史及肺腺癌患者当中的突变频率较高; TP53 基因突变频率为 60. 56%(129/213),在女性、肺腺癌、吸烟患者中的突变频率较高;KRAS 基因突变频率为 14. 55%(31/213),在老年(≥60 岁)、Ⅳ期、肺腺癌患者中突变频率较高;在统计中发现,ALK 基因突变的阳性率为 11. 74%(25/213),其中 64. 00%(16/25)为 EML4-ALK 融合类型。此外,这种突变在年轻患者(<60 岁)、肺腺癌患者及无吸烟史的患者中更为常见。见表 5。

表 5 EGFR、TP53、KRAS、ALK 基因与临床特征差异分析[*n*(%)]

临床特征	EGFR				TP53			
	突变型	野生型	χ^2	<i>P</i>	突变型	野生型	χ^2	<i>P</i>
性别			0. 090	0. 765			0. 839	0. 360
男	44(45. 36)	53(54. 64)			62(63. 92)	35(36. 08)		
女	55(47. 41)	61(52. 59)			67(57. 76)	49(42. 24)		
年龄(岁)			3. 575	0. 059			1. 890	0. 169
<60	39(55. 71)	31(44. 29)			47(67. 14)	23(32. 86)		
≥60	60(41. 96)	83(58. 04)			82(57. 34)	61(42. 66)		
病理分期			1. 234	0. 267			0. 902	0. 342
I ~ Ⅲ期	15(38. 46)	24(61. 54)			21(53. 85)	18(46. 15)		
Ⅳ期	84(48. 28)	90(51. 72)			108(62. 07)	66(37. 93)		
病理类型			9. 717	0. 002			0. 075	0. 785
腺癌	94(50. 54)	92(49. 46)			112(60. 22)	74(39. 78)		
非腺癌	5(18. 52)	22(81. 48)			17(62. 96)	10(37. 04)		
吸烟史			0. 380	0. 538			9. 108	0. 003
是	41(44. 09)	52(55. 91)			67(72. 04)	26(27. 96)		
否	58(48. 33)	62(51. 67)			62(51. 67)	58(48. 33)		
组织类型			3. 709	0. 054			11. 901	0. 001
固定组织	80(50. 31)	79(49. 69)			107(67. 30)	52(32. 70)		
外周血	19(35. 19)	35(64. 81)			22(40. 74)	32(59. 26)		

临床特征	KRAS				ALK			
	突变型	野生型	χ^2	<i>P</i>	突变型	野生型	χ^2	<i>P</i>
性别			0. 540	0. 463			0. 022	0. 881
男	16(16. 49)	81(83. 51)			7(7. 22)	90(92. 78)		
女	15(12. 93)	101(87. 07)			9(7. 76)	107(92. 24)		
年龄(岁)			3. 001	0. 083			6. 887	0. 009
<60	6(8. 57)	64(91. 43)			10(14. 29)	60(85. 71)		
≥60	25(17. 48)	118(82. 52)			6(4. 20)	137(95. 80)		
病理分期			0. 442	0. 506			0. 923	0. 337
I ~ Ⅲ期	7(17. 95)	32(82. 05)			1(2. 56)	38(97. 44)		
Ⅳ期	24(13. 79)	150(86. 21)			15(8. 62)	159(91. 38)		
病理类型			0. 697	0. 404			1. 322	0. 250
腺癌	29(12. 59)	157(84. 41)			12(6. 45)	174(93. 55)		
非腺癌	2(7. 41)	25(92. 59)			4(14. 81)	23(85. 19)		

续表 5 EGFR、TP53、KRAS、ALK 基因与临床特征差异分析[n(%)]

临床特征	KRAS				ALK			
	突变型	野生型	χ^2	<i>P</i>	突变型	野生型	χ^2	<i>P</i>
吸烟史			1.842	0.175			1.083	0.298
是	17(18.28)	76(81.72)			5(5.38)	88(94.62)		
否	14(11.67)	106(88.33)			11(9.17)	109(90.83)		
组织类型			0.147	0.701			2.333	0.127
固定组织	24(15.09)	135(84.91)			15(9.43)	144(90.57)		
外周血	7(12.96)	47(87.04)			1(1.85)	53(98.15)		

3 讨 论

随着针对特定基因突变的靶向治疗的发展,肺癌的个体化治疗取得了快速进展。通过 NGS 技术,识别相关基因的突变情况,为肺癌患者提供有效的个性化治疗方案^[8-9]。本文利用 NGS 技术,综合分析了 NSCLC 患者中 26 个基因突变情况,显著扩大了基因检测的范围,使得能够以高精度和高灵敏度同时筛查多种基因突变,并且具有经济性,因而受到临床医生和患者的青睐。

本研究对 213 例 NSCLC 患者进行数据统计发现,192 例(90.14%)患者至少检测到一种基因突变,其中突变频率较高的基因有 TP53(60.56%)、EGFR(46.48%)、KRAS(14.55%)、ALK 融合(11.74%)。在 SHI 等^[10]的研究中,涵盖来自 7 个亚太地区的 1 482 例肺腺癌患者,发现 EGFR 突变频率为 51.4%,而 ALK 重排的阳性检测比例为 7.5%。根据 MELOSKY 等^[11]的一项荟萃分析发现,在亚洲的 NSCLC 患者中,EGFR 突变频率为 47.9%,KRAS 突变频率达到 11.2%,而 ALK 重排的发生率则为 6.8%。本文的 EGFR 突变频率与之前的研究结果大致相符,但 ALK 和 KRAS 的突变比例稍微偏高,这可能与受试人群及其检测方式的差异有关。总体而言,本文统计的数据有效地体现了东亚 NSCLC 患者中普遍存在的 EGFR 突变频率较高,以及 KRAS 突变相对较少的特点。

本研究结果显示,1 类药物证据等级 132 例,2 类药物证据等级 11 例,其中 EGFR 1 类药物证据等级占 72.73%(96/132)。有文献指出,靶向治疗针对特定的分子靶点,如 EGFR、ALK、ROS1 等,因此对肿瘤的选择性更强,治疗效果可能更为显著,并且靶向治疗显著提升了突变阳性 NSCLC 的客观缓解率(ORR)和无疾病进展期(PFS)^[12]。在基因检测过程中发现 1 类药物证据等级对于 NSCLC 患者的治疗具有重要的指导作用,有助于实现精准医疗,提高治疗效果,优化治疗策略,并为患者提供更好的生活质量和生存获益。

本研究结果发现,74.48%的患者同时携带两个或以上基因突变,其中以 EGFR+TP53(24.48%)和 KRAS+TP53(6.29%)两种组合最为常见。有研究表明,TP53 是 EGFR 突变 NSCLC 患者中最常见的共突变基因,占 55%~65%^[13]。TP53 与 EGFR 共突变的肿瘤表现出更高层次的拷贝数基因组不稳定性 and 更高的体细胞突变负荷。TP53 与 EGFR 共突变的患者预后更差,EGFR-TKI 治疗的效果相对也会差一些^[14]。YU 等^[15]的研究显示,在 200 例接受了 TKIs 治疗的 EGFR 突变晚期肺癌患者中,119 例患者合并 TP53 突变,共突变显著降低了患者的肿瘤进展时间(TTP)和总生存期(OS)。在 CHENG 等^[16]的研究中,66.4%(73/110)的 EGFR 突变晚期 NSCLC 患者合并有 TP53 突变,并接受了第一代 TKIs 药物单药或者联合治疗,结果显示 EGFR/TP53 共突变患者的 OS 显著低于未合并突变患者(21 个月 *vs.* 40 个月),而且无论在 TKIs 单药治疗组还是联合治疗组中,EGFR/TP53 共突变患者的 OS 都显著降低。TP53 和 KRAS 是肺癌中两个最常见的突变基因,它们在肿瘤的发生、发展和治疗反应中扮演着重要角色^[17]。一些研究表明,KRAS 和 TP53 的共突变可能影响肺癌患者对免疫检查点抑制剂(ICI)的反应;例如,一项分析了 713 例接受免疫治疗的晚期肺腺癌患者的研究发现,KRAS 和 TP53 共突变与更好的 OS 相关,尤其是在接受免疫治疗的患者中;针对携带多重突变的患者,后续有必要开展更个体化的组合靶向治疗探索^[18]。总之,本研究数据为 NSCLC 患者基因突变谱勾勒了一个总体轮廓,有助于优化诊疗策略,为精准医疗提供参考依据。

在全面了解基因突变的分布情况后,深入探讨其与患者临床特征之间的关系,对于解析 NSCLC 的发病机制与多样性显得尤为重要。本研究结果显示,EGFR 基因突变具有多样性,当中最常见的突变形式为 19 号外显子缺失和 21 号外显子的 L858R 突变。在 EGFR 突变群体中,EGFR 多见于女性(55.56% *vs.* 44.44%)、不吸烟(58.59% *vs.* 41.41%)和肺腺

癌(94.95% vs. 5.05%)的患者。一项涉及 16 项前瞻性研究的综合分析表明,女性、不吸烟、腺癌类型及亚裔人种是与 EGFR 突变密切相关的主要因素^[19]。研究提示,这可能与女性体内激素水平、非烟草致癌物暴露等因素有一定关联,但其具体的作用机制仍需进行更深入的探讨。本研究发现,不同病理分型的 NSCLC 基因突变率间差异有统计学意义($P < 0.05$)。有文献指出,EGFR 基因突变在肺腺癌中的检出率较高,尤其是在亚裔人群中,大约为 50%^[20]。这一高检出率意味着肺腺癌患者中有相当一部分可能从 EGFR-TKIs 的治疗中获益,因为 EGFR 基因突变是 EGFR-TKIs 治疗的重要靶点和关键性预测标志物。相比之下,EGFR 基因突变在高加索人群中的阳性率约为 10%,显示亚裔肺腺癌患者中 EGFR 突变的检出率显著高于其他种族。这一差异可能与遗传背景、环境因素和生活方式等多种因素有关^[21]。因此,EGFR 在肺腺癌中的高检出率对于指导临床治疗具有重要意义,特别是在选择 EGFR-TKIs 治疗时,可以为患者提供更为个性化的治疗方案。

本研究结果显示,TP53 在女性(51.94% vs. 48.06%)、有吸烟史(51.94% vs. 48.06%, $P < 0.05$)及肺腺癌(86.82% vs. 13.18%)患者中的突变发生率更高。这提示其可能与吸烟导致的 DNA 损伤具有密切联系。研究表明,香烟中的有害物质可能导致 TP53 等关键抑癌基因发生失活突变,这种突变会影响细胞的凋亡过程并增加基因组的不稳定性,从而促进肿瘤的形成与发展^[22]。本研究结果显示,TP53 突变的发生率随着疾病的分期逐渐上升,在临床分期 IV 期患者中,其突变率达 83.72%,而在 I ~ III 期则为 16.28%,这表明 TP53 的突变与疾病的进展及其不良预后有着密切的关系。本研究还发现,TP53 基因的突变主要集中在外显子 5 至 8 区域,突变的比例达到 76.74%。TP53 基因的外显子 5 至 8 区域被认为是人类肿瘤突变的关键区域,突变往往会导致 p53 蛋白失去功能,从而妨碍其作为肿瘤抑制因子的正常作用^[23]。在 NSCLC 中,TP53 基因发生突变通常与预后不良有关,尤其是外显子 5 至 8 区域的变化,被视为影响患者预后的重要因素^[24]。

在 NSCLC 当中 ALK 融合被认为是继 EGFR 突变之后的第 2 个明确可用药的肿瘤驱动基因^[25]。本研究显示,ALK 融合常发生在年轻患者中(62.5% vs. 37.5%, $P < 0.05$),且无吸烟者的比例也相对较高。这一结果可能与 ALK 融合基因所引发的信号通路的异常激活具有一定关系。一项研究显示,与 EGFR 突变和 ALK/EGFR 阴性患者相比,ALK 阳性 NSCLC 患者更常见于年轻、非吸烟者、腺癌患者,ALK 阳性患者中 < 60 岁的患者占 63.5%,而 ≥ 60 岁

的患者占 36.5%,具体来说,ALK 阳性组与 ALK 阴性组在年龄上存在明显差异^[26]。这些研究结果表明,ALK 阳性 NSCLC 患者往往比 EGFR 突变患者更年轻,并且更可能发展为腺癌。这些数据为 ALK 融合突变的个体化治疗提供了依据,并强调了在年轻、非吸烟的 NSCLC 患者中进行 ALK 基因检测的重要性。

本研究结果显示,KRAS 突变在男性(51.61% vs. 48.39%)、吸烟者(54.84% vs. 45.16%)和肺腺癌患者(93.55% vs. 6.45%)中更为常见。值得关注的是,在 NSCLC 中,KRAS 和 EGFR 突变呈现出互斥的关系,本研究未能找到二者共同突变的病例。这说明这两种基因的突变可能反映了 NSCLC 不同的分子致病机制,因此在制订治疗方案时必须充分考虑这种差异。

本研究通过 NGS 检测了与 NSCLC 发生发展紧密相关的 26 种基因,如 EGFR、ALK、KRAS、BRAF、MET、ROS1 和 RET 等,同时构建了一套成熟且高效的多基因联合检测系统,这为后续开展大规模的分子流行病学研究提供了坚实的基础。肺癌 26 个基因分析中应用的 NGS 技术具备独特的优势,它展现出了极高的灵敏性和特异性,并且能够为临床提供更加全面的肿瘤突变参数,从而为 NSCLC 患者带来更为精准的个性化治疗,有助于使更多的肺癌患者能够从靶向治疗中获益。

参考文献

- [1] LEITER A, VELUSWAMY R R, WISNIVESKY J P. The global burden of lung cancer: current status and future trends[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2023, 20(9): 624-639.
- [2] 中华医学会肿瘤学分会. 中华医学会肺癌临床诊疗指南患者版(2024 版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2025, 47(1): 26-38.
- [3] TAN A C, TAN D S W. Targeted therapies for lung cancer patients with oncogenic driver molecular alterations[J]. J Clin Oncol, 2022, 40(6): 611-625.
- [4] XIA P, ZHANG L, LI P, et al. Molecular characteristics and clinical outcomes of complex ALK rearrangements identified by next-generation sequencing in non-small cell lung cancers[J]. J Transl Med, 2021, 19(1): 308.
- [5] KUANG S, FUNG A S, PERDRIZET K A, et al. Upfront next generation sequencing in non-small cell lung cancer[J]. Curr Oncol, 2022, 29(7): 4428-4437.
- [6] WANG Z, YUAN X, NIE Y, et al. Next-generation sequencing vs. clinical-pathological assessment in diagnosis of multiple lung cancers: a systematic review and meta-analysis[J]. Thorac Cancer, 2025, 16(6): e70039.
- [7] SHEN Y, CHEN J Q, LI X P. Differences between lung adenocarcinoma and lung squamous cell carcinoma: driver

genes, therapeutic targets, and clinical efficacy[J]. *Genes Dis*, 2025, 12(3):101374.

[8] HERRERA-JUÁREZ M, SERRANO-GÓMEZ C, BOTE-DE-CABO H, et al. Targeted therapy for lung cancer: beyond EGFR and ALK[J]. *Cancer*, 2023, 129(12):1803-1820.

[9] WANG M, HERBST R S, BOSHOFF C. Toward personalized treatment approaches for non-small-cell lung cancer[J]. *Nat Med*, 2021, 27(8):1345-1356.

[10] 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 Thorac Oncol*, 2014, 9(2):154-162.

[11] MELOSKY B, KAMBARTEL K, HÄNTSCHEL M, et al. Worldwide prevalence of epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer: a meta-analysis[J]. *Mol Diagn Ther*, 2022, 26(1):7-18.

[12] 戴南利. 非小细胞肺癌常见基因突变与临床因素的相关性分析[D]. 吉首: 吉首大学, 2021.

[13] 王蓉, 潘思思, 宋霞. 晚期非小细胞肺癌 EGFR-TP53 共突变的研究进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2022, 25(3):174-182.

[14] 金倩晨, 王若雨, 王刚, 等. EGFR/TP53/RB1 三重突变的小细胞肺癌转化研究及治疗进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2021, 48(16):847-851.

[15] YU H A, SUZAWA K, JORDAN E, et al. Concurrent alterations in EGFR-mutant lung cancers associated with resistance to EGFR kinase inhibitors and characterization of MTOR as a mediator of resistance[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(13):3108-3118.

[16] CHENG Y, MA L, LIU Y, et al. Comprehensive characterization and clinical impact of concomitant genomic alterations in EGFR-mutant NSCLCs treated with EGFR kinase inhibitors[J]. *Lung Cancer*, 2020, 145:63-70.

[17] BUDCZIES J, ROMANOVSKY E, KIRCHNER M, et al. KRAS and TP53 co-mutation predicts benefit of immune checkpoint blockade in lung adenocarcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2024, 131(3):524-533.

[18] 张珊珊, 李玉梅, 黄柱华, 等. KRAS 单突变及 KRAS/TP53 共突变在肺腺癌中的治疗及预后分析[J]. *包头医学院学报*, 2024, 40(5):33-38.

[19] PAN K, OWENS J, ELAMIN Y, et al. Mutational characteristics and clinical outcomes for lung adenocarcinoma with EGFR germline mutations[J]. *J Thorac Oncol*, 2024, 19(10):1438-1448.

[20] ZHANG Y L, YUAN J Q, WANG K F, et al. The prevalence of EGFR mutation in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(48):78985-78993.

[21] 李宏伟, 邢雪梅, 李国印, 等. 陕西省南部地区非小细胞肺癌 EGFR 基因突变分析[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(25):4842-4846.

[22] PFEIFER G P, DENISSENKO M F, OLIVIER M, et al. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers[J]. *Oncogene*, 2002, 21(48):7435-7451.

[23] 陈琪, 何明旭, 贾科良, 等. TP53-EGFR 共突变对非小细胞肺癌预后及治疗的研究进展[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2023, 37(3):262-266.

[24] 王蓉, 潘思思, 宋霞. 晚期非小细胞肺癌 EGFR-TP53 共突变的研究进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2022, 25(3):174-182.

[25] SCHNEIDER J L, LIN J J, SHAW A T. ALK-positive lung cancer: a moving target[J]. *Nat Cancer*, 2023, 4(3):330-343.

[26] SHAW A T, YEAP B Y, MINO-KENUDSON M, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(26):4247-4253.

(收稿日期:2025-03-05 修回日期:2025-07-10)

(上接第 2612 页)

[21] OKITA R, SENOO T, MIMURA-KIMURA Y, et al. Characterizing soluble immune checkpoint molecules and TGF-β(1, 2, 3) in pleural effusion of malignant pleural mesothelioma[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1):15947.

[22] BHAT A A, NISAR S, SINGH M, et al. Cytokine- and chemokine-induced inflammatory colorectal tumor microenvironment: emerging avenue for targeted therapy[J]. *Cancer Commun*, 2022, 42(8):689-715.

[23] GUIGUE P A, BREZINOV Y, YASMEEN A, et al. Ascites and serum interleukin-10 levels as a prognostic tool for ovarian cancer outcomes[J]. *Cancers*, 2024, 16(16):2840.

[24] CHEN S, WANG M, LU T, et al. JMJD6 in tumor-associated macrophage regulates macrophage polarization and cancer progression via STAT3/IL-10 axis[J]. *Oncogene*, 2023, 42(37):2737-2750.

(收稿日期:2025-03-02 修回日期:2025-07-03)