

肺腺癌 EGFR、ALK 突变与 TTF-1 表达的关系*

彭昆伟¹,何湘军²,罗漫君¹,尤长宣^{1△}

(南方医科大学南方医院:1.肿瘤科;2.惠侨医疗中心,广州 510515)

[摘要] **目的** 分析肺腺癌表皮生长因子受体(EGFR)、间变性淋巴瘤激酶(ALK)基因突变与甲状腺转录因子-1(TTF-1)表达之间的关系。**方法** 收集南方医科大学南方医院 2016 年 1 月至 2017 年 5 月收治的肺腺癌患者 242 例,采用免疫组织化学法检测 TTF-1 表达、ALK 突变,采用扩增阻滞突变系统法检测 EGFR 突变情况,分析 EGFR、ALK 突变与 TTF-1 表达的关系。**结果** TTF-1 阳性患者中,检测出 79 例 EGFR 突变,23 例 ALK 突变。TTF-1 阴性患者中,检测出 2 例 EGFR 突变,未检出 ALK 突变者。TTF-1 阳性患者的 EGFR 基因突变率高于阴性患者,差异有统计学意义(46.74% vs. 8.00%, $P < 0.05$);TTF-1 阳性患者的 ALK 基因突变率高于阴性患者,差异无统计学意义(11.68% vs. 0, $P > 0.05$)。TTF-1 预测 EGFR、ALK 突变的阴性预测值分别为 92.00%、100.00%。**结论** 在肺腺癌中,EGFR、ALK 突变少见于 TTF-1 阴性患者。

[关键词] 肺肿瘤;腺癌;受体,表皮生长因子;间变性淋巴瘤激酶;甲状腺转录因子-1

[中图分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)29-3763-03

Correlation between EGFR, ALK mutation and TTF-1 expression in lung adenocarcinoma*

PENG Kunwei¹, HE Xiangjun², LUO Manjun¹, YOU Changxuan^{1△}

(1. Department of Oncology; 2. Hui Qiao Medical Center, Nan Fang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlations between epidermal growth factor receptor (EGFR), anaplastic lymphoma kinase (ALK) mutation and thyroid transcription factor-1 (TTF-1) expression in lung adenocarcinoma. **Methods** A total of 242 cases of patients with lung adenocarcinoma were collected from Nan Fang Hospital, Southern Medical University from January 2016 to May 2017. Immunohistochemistry was used to detect the expression of TTF-1 and the mutation of ALK, amplification refractory mutation system was used to detect the EGFR mutation. The relationships between EGFR, ALK mutation and TTF-1 expression were analysed. **Results** Among the TTF-1 positive patients, 79 cases of EGFR mutation and 23 cases of ALK mutation were found. Among the TTF-1 negative patients, 2 cases of EGFR mutation was observed, and none of ALK mutation was found. The mutation rate of EGFR in the TTF-1 positive cases was higher than that in the TTF-1 negative cases, the difference was statistically significant (46.74% vs. 8.00%, $P < 0.05$); the mutation rate of ALK in the TTF-1 positive cases was also higher than that in the TTF-1 negative cases, but no statistically significant difference was found (11.68% vs. 0, $P > 0.05$). The negative predictive value of TTF-1 for predicting EGFR and ALK mutation was 92.00% and 100.00%, respectively. **Conclusion** In lung adenocarcinoma, EGFR and ALK mutation are exceptionally rare in TTF-1 negative patients.

[Key words] lung neoplasms; adenocarcinoma; receptor, epidermal growth factor; anaplastic lymphoma kinase; thyroid transcription factor-1

肺癌是最常见的恶性肿瘤^[1],病死率高,严重影响人类健康,分为非小细胞肺癌和小细胞肺癌两大类型。以往主要根据患者的一般状态、病理分型、肿瘤分期等决定治疗方式,综合运用手术、化疗、放疗等手段。随着对肿瘤分子生物学的研究深入,影响肿瘤细胞生长、侵袭、转移及肿瘤血管生成的信号传导通路逐渐被认识,通过特定的靶向药物阻断信号

传导过程,可以达到治疗肿瘤的目的。表皮生长因子受体(EGFR)、间变性淋巴瘤激酶(ALK)基因是非小细胞肺癌的两个主要治疗靶点,常见于肺腺癌、非吸烟或少吸烟的年轻患者^[2],除个别罕见病例,二者之间相互排斥^[3]。针对 EGFR、ALK 突变的靶向药物(EGFR-TKIs:吉非替尼、厄洛替尼,ALK-TKIs:克唑替尼)相继被批准用于临床,对比传统化疗有更好的

* 基金项目:广东省科技计划项目(2017B090901067)。 作者简介:彭昆伟(1991—),住院医师,在读硕士,主要从事肺癌内科及靶向治疗。

△ 通信作者,E-mail:ycx6026@126.com。

疗效及安全性^[4-6],为晚期肺腺癌患者的治疗提供了新的选择。甲状腺转录因子-1(thyroid transcription factor-1 TTF-1)正常情况下可在甲状腺和肺组织中表达,是诊断肺癌常用的免疫组织化学标志物,在60%~90%的肺腺癌、90%的小细胞肺癌、大多数的甲状腺癌中表达^[7],少见于非肺腺癌、肺鳞癌^[8],主要用于肺腺癌的诊断与鉴别诊断。TTF-1、EGFR、ALK具有一些类似的临床特点(均常见于肺腺癌),为了解其中是否存在关联,TTF-1表达状态是否可预测EGFR、ALK突变,本研究以南方医科大学南方医院肿瘤科、呼吸科收治的肺腺癌患者为对象,研究肺腺癌EGFR、ALK突变与TTF-1表达之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取南方医科大学南方医院肿瘤科、呼吸科2016年1月至2017年5月收治的肺腺癌患者242例,男146例,女96例;年龄28~87岁,平均(58.12±10.77)岁;有吸烟史者109例,无吸烟史者133例。本研究通过本院医学伦理委员会审查批准。

1.2 方法 采用免疫组织化学技术(D5F3抗体)检测ALK突变,其灵敏度和特异度均较高(分别达86%~90%和95%~100%)^[9-10],国家食品药品监督管理总局(CFDA)批准可以替代FISH检测技术。采用扩增阻滞突变系统法检测标本中EGFR基因18~21外显子的突变情况。由南方医科大学南方医院病理科完成检测。

1.3 判断标准 采用二元判别法,TTF-1、ALK阳性表达标准:无论着色细胞多少,只要肿瘤细胞有染色颗粒,即判定为阳性。

1.4 统计学处理 采用SPSS20.0统计软件进行统计分析。计数资料以例数或百分率表示,比较采用 χ^2 检验及Fisher确切概率法(理论频数小于5时),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺腺癌患者EGFR、ALK突变情况 所有患者均行TTF-1检测,阳性210例,阴性32例。行EGFR、ALK基因检测者分别有194、224例(部分患者因经济原因未行基因检测),EGFR总体突变率为41.75%(81/194),女性突变率[55.26%(42/76)]高于男性[33.05%(39/118)],以19、21外显子突变为主,占96.30%(78/81)。ALK总体突变率为10.27%(23/224);未发现EGFR、ALK双突变共存。基因突变情况见表1。

2.2 EGFR基因突变与TTF-1表达的关系 共194例患者行EGFR基因检测,169例TTF-1阳性患者中检测出79例EGFR突变,25例TTF-1阴性患者中检测出2例EGFR突变,TTF-1阳性患者中EGFR基因突变率明显高于阴性患者(46.74% vs. 8.00%),差异有统计学意义($\chi^2 = 13.44, P = 0.000$)。TTF-1

表达与EGFR突变关系密切,肺腺癌TTF-1表达预测EGFR突变的阳性预测值为46.74%(79/169),阴性预测值为92.00%(23/25),灵敏度为97.53%(79/81),特异度为20.35%(23/113)。

表1 不同临床特征下患者TTF-1表达情况(n)

临床特征	TTF-1 表达	
	阳性	阴性
年龄(岁)		
≥60	100	18
<60	110	14
性别		
男	124	22
女	86	10
吸烟史		
有	91	18
无	119	14
EGFR 突变		
EGFR-18	2	0
EGFR-19	42	2
EGFR-20	1	0
EGFR-21	34	0
阴性	90	23
未检测	41	7
ALK 突变		
阳性	23	0
阴性	174	27
未检测	13	5

2.3 ALK基因突变与TTF-1表达的关系 197例TTF-1阳性患者中检测出23例ALK突变,27例TTF-1阴性患者中未检测出ALK突变,TTF-1阳性患者中ALK基因突变率明显高于阴性患者(11.68% vs. 0),差异无统计学意义($\chi^2 = 3.51, P = 0.085$)。肺腺癌TTF-1表达预测ALK突变的阳性预测值为11.68%(23/197),阴性预测值为100.00%(27/27),灵敏度为100.00%(23/23),特异度为13.43%(27/201)。

3 讨论

TTF-1是一种细胞核蛋白,属于核蛋白转录因子NKX2家族中的成员,参与肺细胞的发育、生长、分化、表面活性物质生成等过程。TTF-1常表达于肺腺癌,灵敏度、特异度分别为60%~89%、75%~98%^[11-12],可作为肺腺癌的特异性标志物,对原发性肺腺癌及转移性肺腺癌的鉴别诊断具有重要作用。近年来,有关肺腺癌的靶向治疗研究进展迅速,不断有新一代的靶向药物进入临床应用(如最新的EGFR-TKIs奥西替尼,ALK-TKIs艾乐替尼),疗效显著,在进行靶向治

疗前均应行基因突变检测,非突变患者的靶向治疗疗效欠佳。SOMAIAH 等^[13]研究显示,TTF-1 阴性的肺腺癌患者,EGFR 突变率非常低。95 例 TTF-1 阳性患者中有 20 例 EGFR 突变,36 例 TTF-1 阴性患者仅有 1 例 EGFR 突变,TTF-1 预测 EGFR 突变的灵敏度和特异度分别为 95.24%、31.82%,阴性预测值高达 95.00%。另有研究显示,508 例 TTF-1 阳性患者有 105 例 EGFR 突变,237 例 TTF-1 阴性患者中仅有 9 例 EGFR 突变^[14]。EGFR 突变与 TTF-1 表达明显相关,TTF-1 预测 EGFR 突变的阴性预测值超过 95%。本研究同样显示,EGFR 突变与 TTF-1 表达关系密切,在 TTF-1 阴性患者中,仅 8.00% 的患者存在 EGFR 突变,灵敏度为 97.53%,阴性预测值 92.00%,提示 EGFR 突变少见于 TTF-1 阴性患者,有助于指导患者个体化的治疗。虽然 ALK 突变与 TTF-1 表达均常见于肺腺癌,但本研究显示二者无明显关系,分析原因可能为:(1)肺腺癌中 ALK 突变率低,造成 TTF-1 阳性、TTF-1 阴性患者 ALK 突变率相差不大;(2)本研究样本量较小,可能产生误差。本研究显示,所有 ALK 突变患者均为 TTF-1 阳性,未发现 TTF-1 阴性的 ALK 突变患者,TTF-1 预测 ALK 突变的阴性预测值 100.00%,灵敏度为 100.00%,与以往研究结果相近^[15-16],提示 ALK 突变罕见于 TTF-1 阴性患者。此外,本研究中 EGFR 总体突变率为 41.75%,女性突变率高于男性,以 19、21 外显子突变为主,占 96.30%。ALK 总体突变率为 10.27%,未发现 EGFR、ALK 双突变共存。TTF-1 不仅可作为肺腺癌的特异性诊断标志物,还可作为判断预后的指标。MA 等^[17]研究表明,在早期可手术肺癌患者中,TTF-1 阳性预后较好,两组人群的 5 年生存率分别为 84.8%、65.0%。有研究表明,在晚期肺癌中,TTF-1 阳性患者总生存时间较 TTF-1 阴性患者长(18 个月 vs. 9 个月, $P < 0.01$)^[18]。但对于 TTF-1 表达状态是否会影响靶向药物的疗效,目前尚无报道,本研究将继续追踪此类患者的疗效。

综上所述,EGFR、ALK 基因在 TTF-1 阴性患者中突变率极低。基因检测费用较高,且费时,从节约时间和经济成本的角度考虑,可根据 TTF-1 表达情况,合理筛选 EGFR、ALK 阳性率高的人群。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] 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.
- [3] GAINOR J F, VARGHESE A M, OU S H, et al. ALK rearrangements are mutually exclusive with mutations in EGFR or KRAS: an analysis of 1,683 patients with non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(15): 4273-4281.
- [4] SHAW A T, KIM D W, NAKAGAWA K, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer[J]. N Engl J Med, 2013, 368(25): 2385-2394.
- [5] SOLOMON B J, MOK T, KIM D W, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer[J]. N Engl J Med, 2014, 371(23): 2167-2177.
- [6] ZHOU C, WU Y L, CHEN G, et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study[J]. Lancet Oncol, 2011, 12(8): 735-742.
- [7] MUKHOPADHYAY S, KATZENSTEIN A. Comparison of monoclonal napsin a, polyclonal napsin a, and TTF-1 for determining lung origin in metastatic adenocarcinomas[J]. Am J Clin Pathol, 2012, 138(5): 703-711.
- [8] REKHTMAN N, ANG D C, SIMA C S, et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens[J]. Mod Pathol, 2011, 24(10): 1348-1359.
- [9] LE QUESNE J, MAURYA M, YANCHEVA S G, et al. A comparison of immunohistochemical assays and FISH in detecting the ALK translocation in diagnostic histological and cytological lung tumor material[J]. J Thorac Oncol, 2014, 9(6): 769-774.
- [10] WYNES M W, SHOLL L M, DIETEL M, et al. An international interpretation study using the ALK IHC antibody D5F3 and a sensitive detection kit demonstrates high concordance between ALK IHC and ALK FISH and between evaluators[J]. J Thorac Oncol, 2014, 9(5): 631-638.
- [11] AO M H, ZHANG H, SAKOWSKI L, et al. The utility of a novel triple marker (combination of TTF1, napsin A, and p40) in the subclassification of non-small cell lung cancer[J]. Hum Pathol, 2014, 45(5): 926-934.
- [12] WHITHAUS K, FUKUOKA J, PRIHODA T J, et al. Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung[J]. Arch Pathol Lab Med, 2012, 136(2): 155-162.
- [13] SOMAIAH N, FIDLER M J, GARRETT-MAYER E, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations are exceptionally rare in thyroid transcription factor (TTF-1)-negative adenocarcinomas of the lung[J]. Oncoscience, 2014, 1(8): 522-528.
- [14] VINCENTEN J, SMIT E F, VOS W, et al. Negative NKX2-1 (TTF-1) as temporary surrogate marker for treatment selection during EGFR-Mutation analysis in patients with Non-Small-Cell lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2012, 7(10): 1522-1527.

发与未复发 NIP 患者中 CK10 表达阳性率有明显差异,提示 CK10 在 NIP 中的高表达与 NIP 的复发相关,这与 SHABANA 等^[12]的研究结果一致。CK10 表达阳性率在 T₁~T₂ 期与 T₃~T₄ 期 NIP 患者中无明显差异,说明 CK10 表达与肿瘤的临床分级无关。本研究 NIP 组的复发率为 26.0%,当 CK10 及 Ki-67 阳性表达时 NIP 的复发率高于不表达时的复发率,其表达与 NIP 的复发呈正相关,可作为预测术后复发的指标。Ki-67、CK10 均表达时的复发率(18%)高于 Ki-67、CK10 均不表达时的复发率(2%),可侧面反映二者在 NIP 发病过程中可能通过某种机制相关联。但肿瘤的复发可由多种因素影响,如手术方式、术后复查情况等。部分 Ki-67 和 CK10 高表达患者亦无复发,可能与随访时间较短相关,将进一步随访进行研究。

CK10 与 Ki-67 的表达也密切相关,表明这两种免疫指标可能通过某种机制相关联。在 3 例 NIP 伴癌变组织中,病理类型为鳞状细胞癌,CK10 及 Ki-67 的表达均为强阳性,免疫组织化学染色强度明显高于其他病理类型,猜测 CK10 与 Ki-67 可能参与了 NIP 的癌变过程,但由于样本量较小,不足以说明 CK10 及 Ki-67 在 NIP 的癌变过程中所起的作用,需进一步收集病例验证,若结果符合,可能实现新的、有效的靶向治疗。

综上所述,CK10 与 Ki-67 可分别从细胞核内及细胞质水平反映肿瘤细胞的增殖能力,亦可能参与 NIP 的恶变过程,CK10 在 NIP 发病过程中可能起到了重要作用。

参考文献

- [1] WANG M J, NOEL J E. Etiology of sinonasal inverted papilloma: a narrative review[J]. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2017, 3(1): 54-58.
- [2] ZHAO R W, GUO Z Q, ZHANG R X. Human papillomavirus infection and the malignant transformation of sinonasal inverted papilloma: a meta-analysis[J]. *J Clin Virol*, 2016, 79: 36-43.
- [3] FANG G, LOU H, YU W, et al. Prediction of the originating site of sinonasal inverted papilloma by preoperative magnetic resonance imaging and computed tomography[J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2016, 6(12): 1221-1228.
- [4] LISAN Q, LACOURREYE O, BONFILS P. Sinonasal inverted papilloma: from diagnosis to treatment[J]. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*, 2016, 133(5): 337-341.
- [5] NYGREN A, KISS K, von Buchwald C, et al. Rate of recurrence and malignant transformation in 88 cases with inverted papilloma between 1998-2008[J]. *Acta Otolaryngol*, 2016, 136(3): 333-336.
- [6] JIANG X D, DONG Q Z, LI S L, et al. Endoscopic surgery of a sinonasal inverted papilloma: Surgical strategy, follow-up, and recurrence rate[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2017, 31(1): 51-55.
- [7] LIU M, LAWSON G, DELOS M, et al. Predictive value of the fraction of cancer cells immunolabeled for proliferating cell nuclear antigen or Ki67 in biopsies of head and neck carcinomas to identify lymph node metastasis: comparison with clinical and radiologic examinations[J]. *Head Neck*, 2003, 25(4): 280-288.
- [8] 孟宪影, 郭旭, 袁益兵. 鼻内翻性乳头状瘤中 COX-2、p21、Ki-67 的表达及 HPV 感染的临床意义[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28(23): 1823-1827.
- [9] BURA M, SEIWERTH S, VLADIKA I, et al. Possible prognostic significance of p53 and Ki 67 in inverted sinonasal papilloma[J]. *Coll Antropol*, 2007, 31(2): 545-549.
- [10] 韩旭, 蒋靖. 慢性紫外线损伤小鼠模型皮肤角质形成细胞中 CK1 和 CK10 的表达研究[J]. *临床皮肤科杂志*, 2016, 45(11): 762-765.
- [11] 姜莉, 涂平. 日光性角化病与基底细胞癌 CK10、Ki-67 和 Bcl-2 的表达差异分析[J]. *中国皮肤性病杂志*, 2015, 29(7): 677-680.
- [12] SHABANA E H, DEPOND J, HOURSEAU M, et al. Production and significance of CCAAT enhancer binding proteins alpha and beta in sinonasal inverted papilloma[J]. *Histol Histopathol*, 2013, 28(1): 53-60.
- [13] (收稿日期: 2018-05-24 修回日期: 2018-06-27)
- [14] (上接第 3765 页)
- [15] FALLET V, CADRANEL J, DOUBRE H, et al. Prospective screening for ALK: Clinical features and outcome according to ALK status[J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(7): 1239-1246.
- [16] KOH Y, KIM D W, KIM T M, et al. Clinicopathologic characteristics and outcomes of patients with anaplastic lymphoma Kinase-Positive advanced pulmonary adenocarcinoma suggestion for an effective screening strategy for these tumors[J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(5): 905-912.
- [17] MA Y, FAN M, DAI L, et al. The expression of TTF-1 and Napsin A in early-stage lung adenocarcinoma correlates with the results of surgical treatment[J]. *Tumor Biol*, 2015, 36(10): 8085-8092.
- [18] SCHILSKY J B, NI A, AHN L, et al. Prognostic impact of TTF-1 expression in patients with stage IV lung adenocarcinomas[J]. *Lung Cancer*, 2017, 108: 205-211.
- [19] (收稿日期: 2018-05-02 修回日期: 2018-06-06)