

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.011

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.011>

肺腺样囊性癌的分子特征

何诚¹, 黄榕芳¹, 刘伟¹, 庄武², 方美玉³, 吴标², 郑晓彬², 许春伟¹, 陈燕坪¹, 陈刚¹

(1. 福建医科大学附属福建省肿瘤医院病理科, 福州 350014; 2. 福建医科大学附属福建省肿瘤医院胸部肿瘤内科,
福州 350014; 3. 浙江省肿瘤医院综合内科, 杭州 310022)

[摘要] 目的: 探讨肺腺样囊性癌的分子特征。方法: 对2007年7月至2016年12月15例病理确诊的肺腺样囊性癌临床特征和分子特点进行回顾性分析。结果: EGFR基因突变率为6.67%(1/15), 且为19del, EGFR基因状态与性别($P=1.000$)、年龄($P=1.000$)、吸烟状态($P=1.000$)及分期($P=1.000$)均无相关性; 未见ALK融合基因和ROS1融合基因。结论: 肺腺样囊性癌中存在常见基因改变, 常规基因检测仍不可忽视。

[关键词] 腺样囊性癌; 分子特征; 基因检测

Molecular features of pulmonary adenoid cystic carcinoma

HE Cheng¹, HUANG Rongfang¹, LIU Wei¹, ZHUANG Wu², FANG Meiyu³, WU Biao², ZHENG Xiaobin²,
XU Chunwei¹, CHEN Yanping¹, CHEN Gang¹

(1. Department of Pathology, Fujian Cancer Hospital, Fujian Medical University Cancer Hospital, Fuzhou 350014;
2. Department of Medical Thoracic Oncology, Fujian Cancer Hospital, Fujian Medical University Cancer Hospital, Fuzhou 350014;
3. Department of Comprehensive Medical Oncology, Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, China)

Abstract **Objective:** To investigate the molecular characteristics of pulmonary adenoid cystic carcinoma (PACC). **Methods:** From July 2013 to December 2016, 15 PACC patients received treatment. All the patients were diagnosed by pathology. We retrospectively reviewed the clinical data and genetic state. **Results:** EGFR mutation rate was 6.67% (1/15), and it was 19del, the relationship between EGFR gene status and gender ($P=1.000$), age ($P=1.000$), smoking status ($P=1.000$) and stage ($P=1.000$) were no significant, and ALK fusion and ROS1 fusion gene was not detected. **Conclusion:** Gene change exists PACC, and the gene detection cannot be ignored in PACC.

Keywords adenoid cystic carcinoma; molecular features; gene detection

收稿日期 (Date of reception): 2017-08-25

通信作者 (Corresponding author): 许春伟, Email: xuchunweibbb@163.com; 吴标, Email: wubiao97@qq.com

基金项目 (Foundation item): 国家临床重点专科建设项目 (2013); 福建省卫生计生青年科研课题 (2017-2-7); 福建省医学创新课题 (2017-CXB-1)。This work was supported by National Clinical Key Specialty Construction Program (2013), Fujian Provincial Youth Health Science Research Project (2017-2-7) and Fujian Medical Innovation Project (2017-CXB-1), China.

根据WHO(2015版)分类标准, 肺腺样囊性癌在肺肿瘤中属于唾液腺型肿瘤的一种亚型, 占所有肺肿瘤的0.04%~0.2%^[1-5]。对于这种类型的肺肿瘤, 目前属于低度恶性肿瘤, 5年生存率超过90%以上^[6]。但仍有一些肺腺样囊性癌被发现具有侵袭性, 对放化疗不敏感, 对靶向治疗特别是表皮生长因子受体-酪氨酸酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)和间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)-TKI治疗肺腺样囊性癌仅个案报道, 缺乏数据积累^[5,7-10]。本研究对15例肺腺样囊性癌样本EGFR基因, ALK融合基因和ROS1融合基因进行回顾性分析, 旨在重视对肺腺样囊性癌常规基因检测和指导靶向治疗。

1 对象与方法

1.1 对象

收集福建省肿瘤医院和浙江省肿瘤医院2007年7月至2016年12月间的肺腺样囊性癌标本。纳入标准: 1)病理证实肺腺样囊性癌; 2)通过胸部CT, 脑磁共振、骨扫描、腹部超声或CT证实复发的肺腺样囊性癌。本研究经成员单位医院医学伦理委员会批准。

表1 EGFR基因突变类型

Table 1 Type of EGFR gene mutation

类型	EGFR基因突变
Exon 18	G719A, G719C, G719S
Exon 19	19-del(24种突变) 2235-2249del15 (E746-A750del), 2236-2250del15 (E746-A750del) 2236-2253del18 (E746-T751del), 2237-2251del15 (E746-T751>A) 2237-2254del18 (E746-S752>A), 2238-2255del18 (E746-S752>D) 2239-2247del9 (L747-E749del), 2239-2253del15 (L747-T751del) 2239-2256del8 (L747-S752del), 2240-2251del12 (L747-T751>S) 2240-2254del15 (L747-T751del), 2240-2257del18 (L747-P753>S) 2235-2252>AAT (E746-T751>I), 2237-2255>T (E746-S752>V) 2238-2248>GC (L747-A750>P), 2237-2252>GCA (L747-T751>Q) 2237-2252>GCA (L747-T751>Q), 223-2248_AAGAGAAG>C (L747-A750>P) 2239-2251>C (L747-T751>P), 2239-2258>CA (L747-P753>Q) 2254-2277del (S752-I759del), 2238-2255del2237A>T (L747-S752del, E746V) 2240-2251del (L747-A750del, T747S), 2239-2259del21>CAAC (L747-K754>QQ)
Exon 20	V769-D770insASV, D770-N771insG, H773-V774insH
Exon 20	S768I
Exon 20	T790M
Exon 21	L858R, L861Q

1.2 EGFR基因检测

实时荧光定量PCR对EGFR基因突变进行体外扩增: 显微镜下确认肿瘤细胞后, 取4 μm厚度的石蜡组织切片4~8片, 脱蜡; 应用分光光度计检测所提取DNA的纯度和浓度, 按照EGFR基因突变定性检测试剂盒(厦门艾德生物医药科技有限公司)说明书提供的方法, 在Mx3000P实时荧光定量PCR仪(美国Stratagene公司)中进行扩增。该试剂盒包含EGFR基因突变类型改变(表1)。

1.3 ALK 和 ROS1 基因检测

实时荧光定量PCR对ALK和ROS1融合基因进行体外扩增: 显微镜下确认肿瘤细胞后, 取4 μm厚度的细胞块和组织块切4~8片, 脱蜡; 按照提取基因组RNA试剂盒(QIAamp RNA FFPE Kit, 德国QIAGEN公司)说明书提供的方法提取组织RNA。应用分光光度计检测所提取RNA的纯度和浓度按照ALK和ROS1融合基因定性检测试剂盒(厦门艾德生物医药科技有限公司)说明书提供的方法, 反转录为cDNA后, 在Mx3000P实时荧光定量PCR仪(美国Stratagene公司)中进行扩增。该试剂盒包含ALK和ROS1融合基因类型改变见表2。

表2 ALK和ROS1融合基因类型**Table 2 Variant of ALK and ROS1 fusion gene**

类型	融合基因
ALK	
A	E6;A19, E6;A20, E6ins33;A20, E6;ins18A20, E13;A20, E13;ins69A20, E20;A20, E20;ins18A20
B	E14ins11;del49A20, E14;del14A20, E14;del38A20, E15del60;del71A20
C	E2;A20, E2;ins117A20, E3;ins53A20, E17;ins30A20, E17ins61;ins34A20, E17ins65;A20, E17;ins68A20, E17del58;ins39A20, E18;A20
D	KI17;A20, KI24; A20, KL9; A20, T4; A20
ROS1	
A	SL4;R32, SL14del;R32, CD6;R32, SD2;R32, SD4;R32
B	SL4;R34, SL14del;R34, CD6;R34, SD4;R34, EZ10;R34
C	TP8;R35, LR16;R35, GO8;R35
D	GO4;R36

1.4 统计学处理

采用SPSS 19.0软件进行统计学分析, 计数资料用百分率表示, 进行 χ^2 检验。P<0.05表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者特征

男10例, 女5例, 年龄29~69(中位48)岁, 46.67%(7/15)的患者有吸烟史(表3, 图1-2)。

表3 15例肺腺样囊性癌临床特征**Table 3 Clinical features of 15 cases of pulmonary adenoid cystic carcinoma**

序号	年龄/岁	性别	吸烟史	分期	EGFR基因状态	ALK融合基因状态	ROS1融合基因状态	治疗方案
1	51	男	是	IIA	野生型	阴性	阴性	手术
2	53	女	否	IIA	野生型	阴性	阴性	手术
3	30	男	是	IB	野生型	阴性	阴性	手术
4	37	女	否	IB	野生型	阴性	阴性	手术
5	69	男	否	IIA	野生型	阴性	阴性	手术+辅助化疗
6	53	女	否	IB	野生型	阴性	阴性	手术
7	51	男	是	IIB	野生型	阴性	阴性	手术+辅助放疗
8	35	男	是	IIIB	野生型	阴性	阴性	手术+辅助放疗
9	45	男	是	IIA	野生型	阴性	阴性	手术
10	39	男	否	IIIA	野生型	阴性	阴性	手术+辅助化疗
11	51	女	否	IIB	野生型	阴性	阴性	手术+辅助化疗
12	59	男	是	IA	野生型	阴性	阴性	手术
13	60	女	否	IA	野生型	阴性	阴性	手术
14	60	男	是	IV	野生型	阴性	阴性	放疗+化疗
15	29	男	否	IIB	19del	阴性	阴性	手术+辅助化疗+靶向治疗

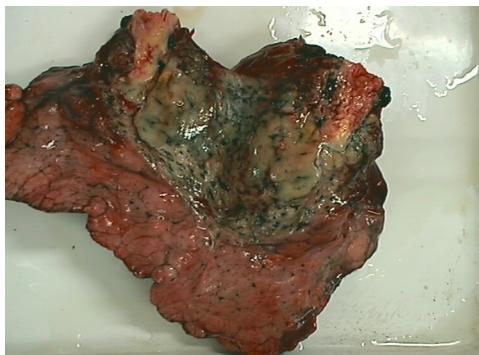


图1肺腺样囊性癌大体标本(肿物大小7.0 cm × 4.5 cm, 例3)

Figure 1 Gross specimen of pulmonary adenoid cystic carcinoma (mass size 7.0 cm × 4.5 cm, Case 3)

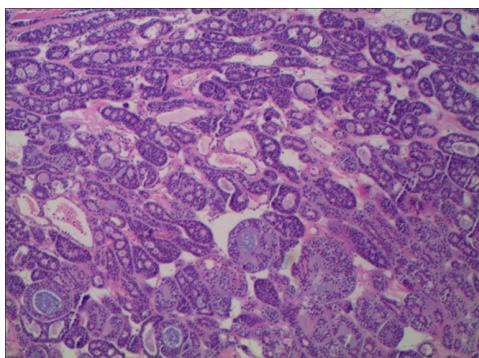


图2肺腺样囊性癌病理学改变(HE, ×100, 例3)

Figure 2 Pathological changes of pulmonary adenoid cystic carcinoma (HE, ×100, Case 3)

2.2 EGFR 基因、ALK 融合基因和 ROS1 融合基因状态

ARMS方法检测15例肺腺样囊性癌发现EGFR基因突变率为6.67%(1/15), 为19del缺失突变(图3), EGFR基因状态与性别($P=1.000$)、年龄($P=1.000$)、吸烟状态($P=1.000$)和分期($P=1.000$)均无相关性。15例肺腺样囊性癌患者均未发现ALK融合基因和ROS1融合基因。

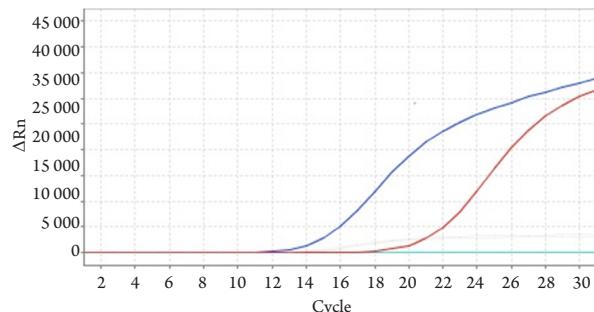


图3 EGFR基因19缺失突变检测曲线阳性样本

Figure 3 EGFR gene 19del curve mutation samples

3 讨论

肺肿瘤中黏液表皮样癌, 腺样囊性癌和上皮肌上皮癌同属于唾液腺型肿瘤, 其中肺腺样囊性癌属于唾液腺型肿瘤中第2大肿瘤, 目前研究^[9]显示肺腺样囊性癌中, 男女比与吸烟状态均接近1:1, 中位年龄40~50岁。本研究中男性患者略多于女性患者, 吸烟患者与未吸烟患者持平, 中位年龄48岁。

肺腺样囊性癌属于低度恶性肿瘤, 手术切除被认为是目前最有效的治疗手段, 术后辅助放疗对此类肿瘤可能有一定的疗效, 化疗目前仍无随机对照的临床研究, 需要积累数据^[11,12]。本研究中绝大部分患者接受手术治疗, 部分患者接收术后辅助放化疗, 有随访数据的4位患者中, 随访时间0.75~8年, 1例患者死于本疾病, 另1位患者死于车祸, 其余2例患者存活至今。

肺腺样囊性癌靶向治疗方面值得探索, Huo等^[7]通过Sanger测序方法, ARMS方法和二代测序在24例肺腺样囊性癌中未发现存在EGFR, KRAS, BRAF, ALK, PIK3CA, PDGFRA和DDR2基因状态改变; 但之前和之后陆续有研究或个案报道, 肺腺样囊性癌中存在EGFR基因突变和ALK融合基因, 可以尝试靶向治疗。2014年Song等^[5]报道1例术后4年复发的肺腺样囊性癌存在EGFR基因p.E746-A 750 del缺失突变, 且对一代EGFR-TKI埃克替尼有效; 随后Fujita等^[8]于2016年报道1例EGFR基因p.L747-T751del缺失突变的患者, 对一代EGFR-TKI吉非替尼有效, 但在7个月后死于疾病进展。不仅是EGFR基因突变, 肺腺样囊性癌中还存在ALK融合基因, Qing等^[9]在12例肺腺样囊性癌中通过荧光原位杂交发现1例存在ALK融合基因, 但未发现EGFR基因突变, 遗憾的是该例ALK融合患者, 作者并未报道是否服用克唑替尼。在本研究中1例EGFR基因突变患者, 术后进行辅助化疗以及复发后进行靶向治疗, 且治疗有效。

总之, 肺腺样囊性癌中存在EGFR基因或ALK融合基因常见位点改变, 常规基因检测仍不可忽视。

参考文献

- Miller DL, Allen MS. Rare pulmonary neoplasms[J]. Mayo Clin Proc, 1993, 68(5): 492-8.
- 许春伟, 张博, 林冬梅. WHO(2015)肺肿瘤组织学分类[J]. 诊断病理学杂志, 2015, 22(12): 815-816.

- XU Chunwei, ZHANG Bo, LIN Dongmei. WHO (2015) classification of tumours of the lung[J]. Chinese Journal of Diagnostic Pathology, 2015, 22(12): 815-816.
3. 方三高, 许春伟, 肖华亮, 等. 解读2015年WHO肺、胸膜、胸腺及心脏肿瘤分类(肺)[J]. 重庆医学, 2017, 46(1): 4-23.
- FANG Sangao, XU Chunwei, XIAO Hualiang, et al. Interpretation of WHO (2015) classification of tumours of the lung, pleural, thymus and cardiac tumors (Lung)[J]. Chongqing Medicine, 2017, 46(1): 4-23.
4. 许春伟, 王海艳, 吴永芳, 等. 2771例肺肿瘤临床病理特征分析[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(2): 173-184.
- XU Chunwei, WANG Haiyan, WU Yongfang, et al. 2771 cases of clinicopathological analysis of pulmonary neoplasm[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2016, 36(2): 173-184.
5. Song Z, Wu W, Zhang Y. Effective treatment with icotinib in primary adenoid cystic carcinoma of the lung with liver metastasis[J]. J Thorac Oncol, 2014, 9(9): e67-e69.
6. Gaissert HA, Grillo HC, Shadmehr MB, et al. Long-term survival after resection of primary adenoid cystic and squamous cell carcinoma of the trachea and carina[J]. Ann Thorac Surg, 2004, 78(6): 1889-1897.
7. Huo Z, Wu H, Li S, et al. Molecular genetic studies on EGFR, KRAS, BRAF, ALK, PIK3CA, PDGFRA, and DDR2 in primary pulmonary adenoid cystic carcinoma[J]. Diagn Pathol, 2015, 10: 161.
8. Fujita M, Matsumoto T, Hirano R, et al. Adenoid cystic carcinoma of the lung with an EGFR mutation[J]. Intern Med, 2016, 55(12): 1621-1624.
9. Qing S, Zhou K, Liu X, et al. Primary pulmonary adenoid cystic carcinoma: clinicopathological analyses of 12 cases[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(6): 7619-7626.
10. Dahse R, Driemel O, Schwarz S, et al. Epidermal growth factor receptor kinase domain mutations are rare in salivary gland carcinomas[J]. Br J Cancer, 2009, 100(4): 623-625.
11. Grillo HC, Mathisen DJ. Primary tracheal tumors: treatment and results[J]. Ann Thorac Surg, 1990, 49(1): 69-77.
12. Kanematsu T, Yohena T, Uehara T, et al. Treatment outcome of resected and nonresected primary adenoid cystic carcinoma of the lung[J]. Ann Thorac Cardiovasc Surg, 2002, 8(2): 74-77.

本文引用: 何诚, 黄榕芳, 刘伟, 庄武, 方美玉, 吴标, 郑晓彬, 许春伟, 陈燕坪, 陈刚. 肺腺样囊性癌的分子特征[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37(11): 2352-2356. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.011

Cite this article as: HE Cheng, HUANG Rongfang, LIU Wei, ZHUANG Wu, FANG Meiyu, WU Biao, ZHENG Xiaobin, XU Chunwei, CHEN Yanping, CHEN Gang. Molecular features of pulmonary adenoid cystic carcinoma[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2017, 37(11): 2352-2356. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.011