

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.09.005

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.09.005

396例非小细胞肺癌 *EGFR*, *KRAS*, *ALK* 和 *BRAF* 基因突变状态及其临床病理特征

贺佳子^{1,2}, 黄清洁¹, 李莉¹, 杜汉阳³, 陈壬寅¹

(1. 郑州大学第一附属医院病理科, 郑州 450052; 2. 郑州大学医学科学院, 郑州 450052;
3. 新乡医学院研究生院, 河南 新乡 453003)

[摘要] 目的: 探讨非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者表皮生长因子受体(*EGFR*)基因、Kirsten鼠肉瘤基因(*KRAS*)、间变性淋巴瘤激酶(*ALK*)基因和鼠类肉瘤病毒癌基因同源物B1(*BRAF*)基因的表达及其临床病理特征。方法: 收集郑州大学第一附属医院病理确诊NSCLC患者396例临床病理资料, 采用高通量二代测序(next-generation sequencing, NGS)检测肿瘤组织中*EGFR*, *KRAS*, *ALK*和*BRAF*基因的突变状态, 分析基因的突变率及其与临床病理特征的关系。结果: *EGFR*基因突变阳性率为49.24%(195/396例), 女性、腺癌、非吸烟患者中突变率较高($P<0.05$); *KRAS*基因突变阳性率为8.59%(34/396例), 男性、腺癌、大于60岁老年吸烟患者中突变率较高($P<0.05$); *ALK*基因突变阳性率为6.06%(24/396例), 60岁以下年轻患者中突变率较高; *BRAF*基因突变阳性率为3.28%(13/396例)。其中*EGFR*合并*ALK*突变共存1例, *EGFR*合并*BRAF*突变共存2例, *KRAS*合并*ALK*突变共存1例, *ALK*合并*BRAF*突变共存1例, *KRAS*合并*BRAF*突变共存1例, *EGFR*, *KRAS*合并*BRAF*三基因突变共存1例。结论: NSCLC患者*EGFR*, *KRAS*, *ALK*和*BRAF*基因突变阳性率与国内外报道相仿, 与患者临床病理特征存在相关性, 存在2个及以上基因突变共存, 共存突变患者的临床治疗方案仍有待进一步研究提供循证依据。

[关键词] 非小细胞肺癌; *EGFR*基因; *KRAS*基因; *BRAF*基因; *ALK*基因; 二代测序

Mutation status of *EGFR*, *KRAS*, *ALK* and *BRAF* genes and their clinicopathological characteristics in 396 patients with non-small cell lung cancer

HE Jiazi^{1,2}, HUANG Qingjie¹, LI Li¹, DU Hanyang³, CHEN Renyin¹

(1. Department of Pathology, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052; 2. Academy of Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052; 3. Graduate School of Xinxiang Medical University, Xinxiang Henan 453003, China)

Abstract **Objective:** To investigate the expression of epidermal growth factor receptor (*EGFR*) gene, Kirsten mouse

收稿日期 (Date of reception): 2019-08-27

通信作者 (Corresponding author): 陈壬寅, Email: chenrenyin@zzu.edu.cn

基金项目 (Foundation item): 河南省科技厅普通攻关项目 (162102310188)。This work was supported by the General Research Project of Henan Provincial Department of Science and Technology, China (162102310188).

sarcoma (*KRAS*) gene, anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) gene and mouse sarcoma virus oncogene homolog B1 (*BRAF*) gene and their clinicopathological characteristics in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. **Methods:** The clinicopathological data of 396 patients with pathologically confirmed NSCLC in the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University were collected. The mutation status of *EGFR*, *KRAS*, *ALK* and *BRAF* genes in tumor tissues were detected by high-throughput next-generation sequencing (NGS), and the gene mutation rate and its relationship with clinicopathological characteristics were analyzed. **Results:** The positive rate of *EGFR* gene mutation was 49.24% (195/396), and the mutation rate was higher in female, adenocarcinoma and non-smoking patients ($P<0.05$). The positive rate of *KRAS* gene mutation was 8.59% (34/396), and the mutation rate was higher in male, adenocarcinoma and smoking patients over 60 years old ($P<0.05$). The positive rate of *ALK* gene mutation was 6.06% (24/396), and the mutation rate was higher in young patients under 60 years old. The positive mutation rate of *BRAF* gene was 3.28% (13/396). Among them, there were 1 case of *EGFR* combined with *ALK* mutation coexistence, 2 cases of *EGFR* combined with *BRAF* mutation coexistence, 1 case of *KRAS* combined with *ALK* mutation coexistence, 1 case of *ALK* combined with *BRAF* mutation coexistence, 1 case of *KRAS* combined with *BRAF* mutation coexistence, and 1 case of *EGFR* and *KRAS* combined with *BRAF* mutation coexistence. **Conclusion:** The positive rate of *EGFR*, *KRAS*, *ALK* and *BRAF* gene mutations in NSCLC patients is similar to that reported at home and abroad, and is related to the clinical and pathological characteristics of patients. In some cases, two or more gene mutations can coexist, and the clinical treatment of patients with coexisting mutations still needs to be further studied to provide evidence-based evidence.

Keywords non-small cell lung cancer; *EGFR* gene; *KRAS* gene; *BRAF* gene; *ALK* gene; next-generation sequencing

肺癌是全球癌症相关死亡的最常见原因, 每年有180万人被诊断出患有肺癌^[1]。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占肺癌的80%, 其常见的突变基因有表皮生长因子受体(*EGFR*)基因、Kirsten鼠肉瘤(*KRAS*)基因、间变性淋巴瘤激酶(*ALK*)基因和鼠类肉瘤病毒癌基因同源物B1(*BRAF*)基因等^[2]。2005年以来, 有学者^[3-4]发现了多种NSCLC的关键激活途径, 并对*EGFR*突变和*ALK*重组的NSCLC进行了非常有效的靶向药物治疗, 从而改善了NSCLC患者的预后情况。基因突变检测能够指导相应靶向药物的研发和应用, 常用的基因突变或蛋白检测方法有免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)、荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)和实时荧光PCR(RT-PCR)。二代测序(next-generation sequencing, NGS)能同时检测多基因突变状态和新发基因突变类型, 具有较高的敏感性和特异性^[5]。早期研究认为NSCLC的基因突变是相互独立、相互排斥的, 如*EGFR*, *KRAS*, *HER2*, *BRAF*, *ALK*, *RET*, *ROS1*和*MET*, 近年来, 越来越多的报道表明这些基因可以共存^[6]。因此, 本研究通过NGS技术检测396例河南地区NSCLC患者*EGFR*, *KRAS*, *ALK*及*BRAF*基因突变率及突变位点, 并探讨这几种基因突变状态与临床病理特征的关系,

旨在为分子靶向治疗、改善NSCLC患者的预后提供基础。

1 对象与方法

1.1 对象

收集2017至2018年郑州大学第一附属医院收治且明确病理学诊断的396例NSCLC患者的病历资料, 且所有病例的组织蜡块保存完整(活检标本328例、手术标本61例、细胞块7例)。其中男209例, 女187例; 肺腺癌318例, 非腺癌78例; 年龄<60岁的165例, ≥60岁的231例; 有吸烟史144例, 不吸烟患者252例; 临床分期为I~II期141例, III~IV期255例。本研究已获得郑州大学第一附属医院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

收集NSCLC患者甲醛固定、石蜡包埋(FFPE)组织, 从甲醛固定的石蜡切片中提取肿瘤DNA, 并将其打断、扩增, 从而建立含目标基因的全基因组文库。超深度测序的靶基因谱包括88个NSCLC相关基因, 然后采用Illumina HiSeq X10测序平台进行测序, 将得到的原始数据过滤, 并进行生物信息学分析。

1.3 统计学处理

采用SPSS 21.0统计软件进行数据分析, 组间率的比较采用 χ^2 检验, 计数资料采用例数或率(%)表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EGFR基因突变状态与临床病理特征的关系

在396例NSCLC患者中, EGFR基因突变阳性率为49.24%(195例), 其中单位点突变率86.15%(168例), 包括3号外显子突变1例, 7号外显子突变1例, 18号外显子突变2例, 19号外显子突变73例, 20号外显子突变10例, 21号外显子突变81例; 双位点突变率13.85%(27例), 包括3例为18与20号外显子突变, 3例为18与21号外显子突变, 10例为19与20号外显子突变, 6例为21与20

号外显子突变, 4例21号外显子双突变, 1例为21号外显子L858R与LINC01446-EGFR(E5:E25)基因融合同时突变。EGFR基因突变患者的临床病理特征为女性高于男性、腺癌高于非腺癌、非吸烟者高于吸烟者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。EGFR基因突变与患者年龄和TNM分期无关($P > 0.05$, 表1)。

2.2 KRAS基因突变状态与临床病理特征的关系

在396例NSCLC患者中, KRAS基因突变阳性率为8.59%(34例), 第2外显子突变31例(其中包含1例第2外显子双位点突变), 第3外显子突变3例。男性的KRAS基因突变率高于女性, 腺癌高于非腺癌, 吸烟者高于不吸烟者, ≥ 60 岁高于 < 60 岁, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。而KRAS突变率与患者TNM分期无关($P > 0.05$, 表1)。

表1 EGFR, KRAS阳性与阴性患者的临床病理特征的对比

Table 1 Comparison of clinicopathological features between EGFR and KRAS positive and negative patients

病理特征	EGFR基因/[例(%)]				KRAS基因/[例(%)]			
	+	-	χ^2	P	+	-	χ^2	P
n	195	201			34	362		
性别			33.897	<0.001			13.053	<0.001
男	74 (35.4)	135 (64.6)			28 (13.4)	181 (86.6)		
女	121 (64.7)	66 (35.3)			6 (3.2)	181 (96.8)		
年龄/岁			1.374	0.241			6.799	0.009
<60	87 (52.7)	78 (47.3)			7 (4.2)	158 (95.8)		
≥ 60	108 (46.8)	123 (53.2)			27 (11.7)	204 (88.3)		
吸烟			31.615	<0.001			6.123	0.013
是	44 (30.6)	100 (69.4)			19 (13.2)	125 (86.8)		
否	151 (59.9)	101 (40.1)			15 (6.0)	237 (94.0)		
组织类型			51.552	<0.001			6.602	0.010
腺癌	185 (58.2)	133 (41.8)			33 (10.4)	285 (89.6)		
非腺癌	10 (12.8)	68 (87.2)			1 (1.3)	77 (98.7)	2.128	0.145
TNM分期			0.261	0.610				
I~II	67 (47.5)	74 (52.5)			16 (11.3)	125 (88.7)		
III~IV	128 (50.2)	127 (49.8)			18 (7.1)	237 (92.9)		

2.3 ALK基因突变状态与临床病理特征的关系

在396例NSCLC患者中, ALK基因突变阳性率为6.06%(24例)。ALK基因单位点突变率70.83%(17例), 其中有13例为EML4-ALK基因融合, 1例为LCAS-ALK基因融合, 1例为LOC101927577-ALK基因融合, 1例为第3外显子Arg311His错义突变, 1例为第3外显子Trp288Arg错义突变; 双位点突变率29.17%(7例), 分别是EML4-ALK基因融合合并ADAM28-ALK, LINC01250-ALK, FTH1P3-ALK, NRXN1-ALK, SLC8A1-AS1-ALK, XDH-ALK, LOC100288911-ALK基因融合。年龄<60岁的ALK基因突变率高于≥60岁患者($P<0.05$), 突变率与患者性别、肿瘤组织类型、吸烟状态和TNM分期无明显相关性($P>0.05$, 表2)。

2.4 BRAF基因突变状态与临床病理特征的关系

在396例NSCLC患者中, BRAF基因突变

阳性率为3.28%(13例), 其中单位点突变率92.31%(12例), 包括第6外显子和第8外显子突变各1例, 第11外显子突变2例, 第13外显子突变1例, 第15外显子突变7例; 双位点突变率7.69%(1例), 即第15外显子V600E合并第11外显子R462T突变。BRAF基因突变率与患者性别、年龄、肿瘤组织类型、吸烟状态和TNM分期这些临床病理特征均无明显相关性($P>0.05$, 表2)。

2.5 2个及以上基因突变患者的临床病理特征

在7例多基因突变患者中, 男6例, 女1例; 4例年龄<60岁, 3例年龄≥60岁; 右肺来源的患者5例, 左肺来源的患者2例; 有吸烟史的患者5例, 无吸烟史的患者2例; I~II期的患者1例, III~IV期的患者6例; 7例多基因突变共存患者均为腺癌(表3)。

表2 ALK, BRAF阳性与阴性患者的临床病理特征的对比

Table 2 Comparison of clinicopathological features between ALK and BRAF positive and negative patients

病理特征	ALK基因/[例(%)]				BRAF基因/[例(%)]			
	+	-	χ^2	P	+	-	χ^2	P
<i>n</i>	24	372			13	383		
性别			2.393	0.122			3.144	0.076
男	9 (4.3)	200 (95.7)			10 (4.8)	199 (95.2)		
女	15 (8.0)	172 (92.0)			3 (1.6)	184 (98.4)		
年龄/岁			14.782	<0.001			0.657	0.418
<60	19 (11.5)	146 (88.5)			4 (2.4)	161 (97.6)		
≥60	5 (2.2)	226 (97.8)			9 (3.9)	222 (96.1)		
吸烟			0.572	0.450			3.681	0.055
是	7 (4.9)	137 (95.1)			8 (5.6)	136 (94.4)		
否	17 (6.7)	235 (93.3)			5 (2.0)	247 (98.0)		
组织类型			2.086	0.149			3.297	0.069
腺癌	22 (6.9)	296 (93.1)			13 (4.1)	305 (95.9)		
非腺癌	2 (2.6)	76 (97.4)			0 (0.0)	78 (100.0)		
TNM分期			1.253	0.263			0.048	0.827
I~II	6 (4.3)	135 (95.7)			5 (3.5)	136 (96.5)		
III~IV	18 (7.1)	237 (92.9)			8 (3.1)	247 (96.9)		

表3 多基因突变共存患者的临床病理特征

Table 3 Clinicopathologic features of patients with multiple gene mutations

编号	性别	年龄/岁	部位	病理诊断	吸烟史	TNM分期	EGFR基因	KRAS基因	ALK基因	BRAF基因
1	男	56	右肺	腺癌	是	Ia	Exon-20 D770-N77IinsG	Exon-2 G12V	—	Exon-13 T521A
2	男	68	右肺	腺癌	否	IV	Exon-20 Va1769Met	—	—	Exon-8 Arg347Gln
3	男	53	右肺	腺癌	是	IV	Exon-21 Leu858Arg	—	—	15外V600E
4	男	56	左上肺	腺癌	是	IV	Exon-3 Gln83Leu	—	LOC101927577- ALK	—
5	男	53	右肺	腺癌	是	IIIb	—	—	Exon-3 Trp288Arg	Exon-11 Gly469Val
6	女	65	左肺	腺癌	否	IV	—	Exon-2 G12D	—	Exon-15 V600E
7	男	63	右顶 镰旁	腺癌	是	IV	—	Exon-2 G12V	EML4- ALK(E6:E20), LINC01250-ALK (Lintergenic:A20)	—

3 讨论

EGFR最常见的突变是第19外显子缺失和第21外显子L858R点突变。这两个突变约占所有EGFR突变的90%^[7]。Shi等^[8]认为EGFR突变与某些临床和组织学因素有关,在腺癌、女性、亚洲人和从不吸烟的人群中更为常见。吴菡等^[9]研究发现:EGFR基因突变率为25.35%,其中以19号外显子E19del(48.15%)和21号外显子L858R(37.03%)突变为主,在女性、非吸烟和腺癌患者发生风险更高。本研究中19号外显子和21号外显子单位点突变分别为73例(43.45%)、81例(48.21%),总突变率(91.66%),且多见于女性、非吸烟和腺癌患者,与以往研究一致。

KRAS突变是最常见的致癌驱动突变,20%~30%的NSCLC患者发生KRAS突变^[10]。突变在男性、老年患者、吸烟者、腺癌、黏液性肿瘤类型、肿瘤体积较大、低分化肿瘤和实体型肿瘤中较为常见^[7]。刘静等^[11]发现KRAS的突变率为11.40%,多见于老年、男性、组织学类型为腺癌的患者。Yu等^[12]研究发现:624例(92%)患者的12密码子突变,53例(8%)患者的13密码子突变,且13密码子突变患者比12密码子突变患者生存期短。本研究中KRAS突变率为8.59%,第2外显子突

变31例(91.17%),第3外显子突变3例(8.83%),男性、腺癌、大于60岁老年吸烟患者突变率较高,同以往研究结果相似。

ALK基因融合是NSCLC中最常见的活化和过表达机制,约占5%^[13]。最常见的ALK融合是EML4-ALK,它具有多种变体,可以被酪氨酸激酶抑制剂克唑替尼靶向抑制。ALK重排常见于男性、年轻、从不吸烟的晚期腺癌患者^[14]。王惠宇等^[15]研究表明:ALK融合基因阳性比例为9.0%,阳性率仅与性别相关。本研究中ALK阳性率6.06%,60岁以下年轻患者中突变率较高,临床病理特征与以往研究有差异,原因可能跟纳入研究的样本量少,地区环境因素或者人种差异有关。已报道^[16-17]的与ALK发生融合的基因有EML4, TFG, KIF5B, KLC1, HIP1, SPTBN1, TPR, CLTCL1, NPM1, VCL, ATIC, TPM3, TSPYL2, RANBP2, RNF213等。本研究通过NGS检测首次发现与ALK融合的基因型有:LCAS-ALK, LOC101927577-ALK, ADAM28-ALK, LINC01250-ALK, FTH1P3-ALK, NRXN1-ALK, SLC8A1-AS1-ALK, XDH-ALK, LOC100288911-ALK, 这些融合基因在NSCLC中形成及下调机制尚不明确,需要更多样本数据来研究新型ALK融合基因形成的原因,进而研制更高效、多靶点的药物来抑制其形

成和表达。

BRAF基因突变发生在3%~8%的肺腺癌中,约50%为BRAFV600E突变。其他常见的BRAF突变包括BRAFG469A/V和BRAFD594G突变,分别发生在35%和6%的BRAF突变的NSCLC患者中^[10]。Ding等^[18]共纳入1 680例患者,研究结果显示:BRAF突变率1.7%(28例),常见于不吸烟、腺癌患者,BRAF突变率与年龄、性别分布、转移、诊断时分期等无显著相关性。韩义明等^[19]发现BRAF基因突变率为7.5%(11/146),与患者吸烟史有关,而与患者性别、年龄、组织学类型及分化程度等无关。在本研究中,BRAF基因突变阳性率为3.28%(13例),且突变阳性率与临床病理特征无相关性。突变率与国内外报道符合,临床病理特征与国内外结论不一致的原因可能是国内外基因的检测方法不同导致阳性率有偏差,而且阳性样本量普遍偏少致使结论不一。

本研究中EGFR, KRAS, ALK和BRAF基因双位点突变率分别为13.85%(27/195)、2.9%(1/34)、29.17%(7/24)、7.69%(1/13),与以往报道^[7,10,13]略有不同,可能跟以往的检测针对位点单一,双位点突变漏检有关。双位点突变的治疗及预后尚不明确,这有可能是靶向治疗耐药的原因之一,需要更深入的研究来探讨其机制及靶向治疗的预后。

Alrifai等^[20]报道了1例长期吸烟、治疗前合并BRAF突变和ALK融合的69岁鳞状细胞癌患者。患者接受了1个疗程化疗后死亡。Shin等^[21]报道了3例非吸烟的晚期NSCLC患者,患者均合并EGFR和ALK融合突变,且EGFR-TKI对EGFR/ALK突变共存的NSCLC患者的疗效优于ALK-TKI。有研究^[22]认为EGFR合并ALK突变的患者对克唑替尼比吉非替尼有更好的反应率。Ulivi等^[23]研究报道:使用EGFR-TKI治疗EGFR和ALK共存突变患者达到67%的临床获益率,而单突变患者的疾病控制率为81.7%。本研究共检测到7例2个及以上基因共同突变的腺癌患者,男性(6例,85.71%)、吸烟(5例,71.43%)、TNM晚期(6例,85.71%)易发生多基因突变,临床病理特征与以往研究有部分差异,多数发生于吸烟、晚期NSCLC患者。多基因突变常在晚期NSCLC患者中检测出来,可能是因为多基因合并突变导致肿瘤高负荷,从而使肿瘤的增长及扩散更易发生。

综上所述,EGFR, KRAS, ALK和BRAF的突变率与NSCLC患者的临床病理特征有一定相关性,且都存在双位点突变,基因单位点和双位点

突变的机制及靶向治疗疗效尚待深入分析,NGS能够高效检测多基因突变及具体位点,在NSCLC的基因检测中具有重要意义,且2个及以上的EGFR, KRAS, ALK和BRAF突变可同时发生于同1例患者,鉴于目前多基因突变靶向药治疗效果不确定,有待更多的样本来验证。

参考文献

- Hirsch FR, Scagliotti GV, Mulshine JL, et al. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments[J]. Lancet, 2017, 389(10066): 299-311.
- Martín Martorell P, Huerta M, Compañ Quilis A, et al. Coexistence of EGFR, KRAS, BRAF, and PIK3CA mutations and ALK rearrangement in a comprehensive cohort of 326 consecutive Spanish nonsquamous NSCLC patients[J]. Clin Lung Cancer, 2017, 18(6): e395-e402.
- Pao W, Miller V, Zakowski M, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(36): 13306-13311.
- Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer[J]. N Engl J Med, 2013, 368(25): 2385-2394.
- Letovanec I, Finn S, Zygoura P, et al. Evaluation of NGS and RT-PCR methods for ALK rearrangement in European NSCLC patients: results from the European Thoracic Oncology Platform Lungscape Project[J]. J Thorac Oncol, 2018, 13(3): 413-425.
- Gainor JF, Varghese AM, Ou SH, 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.
- Lee B, Lee T, Lee SH, et al. Clinicopathologic characteristics of EGFR, KRAS, and ALK alterations in 6,595 lung cancers[J]. Oncotarget, 2016, 7(17): 23874-23884.
- Shi Y, Au JS, 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.
- 吴茜, 孙苏安, 刘海燕, 等. 非小细胞肺癌EGFR基因突变与EML4-ALK融合基因的表达及其临床病理特征[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(13): 2119-2122.
- WU Han, SUN Su'an, LIU Haiyan, et al. EGFR mutation and expression of EML4-ALK fusion gene in non-small cell lung cancer and their clinicopathological characteristics[J]. The Journal of Practical Medicine, 2018, 34(13): 2119-2122.

10. Rotow J. Understanding and targeting resistance mechanisms in NSCLC[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(11): 637-658.
11. 刘静, 姜桔红, 顾莹莹, 等. 非小细胞肺癌患者ALK, EGFR及KRAS基因的检测及临床病理特征[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(6): 1146-1152.
LIU Jing, JIANG Juhong, GU Yingying, et al. Detection and clinicopathological features of ALK, EGFR and KRAS in non-small cell lung cancer patients[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(6): 1146-1152.
12. Yu HA, Sima CS, Shen R, et al. Prognostic impact of KRAS mutation subtypes in 677 patients with metastatic lung adenocarcinomas[J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10(3): 431-437.
13. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer[J]. *Nature*, 2007, 448(7153): 561-566.
14. Le T. ALK alterations and inhibition in lung cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2017, 42: 81-88.
15. 王惠宇, 夏丹丹, 王润洁, 等. 非小细胞肺癌患者EML4-ALK和EGFR共存突变的检测及其与临床病理特征的关系[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(19): 3058-3061.
WANG Huiyu, XIA Dandan, WANG Runjie, et al. Detection of co-existing mutation of EML4-ALK and EGFR and its relationship with clinicopathological features in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2018, 26(19): 3058-3061.
16. Wang P, Xiao P, Ye Y, et al. Rapid response of brain metastasis to crizotinib in a patient with KLC1-ALK fusion and MET gene amplification positive non-small cell lung cancer: a case report[J]. *Cancer Biol Med*, 2017, 14(2): 183-186.
17. Boi M, Zucca E, Inghirami G. Advances in understanding the pathogenesis of systemic anaplastic large cell lymphomas[J]. *Br J Haematol*, 2015, 168(6): 771-783.
18. Ding X, Zhang Z, Jiang T, et al. Clinicopathologic characteristics and outcomes of Chinese patients with non-small-cell lung cancer and BRAF mutation[J]. *Cancer Med*, 2017, 6(3): 555-562.
19. 韩义明, 饶兰, 丁莉, 等. 非小细胞肺癌中BRAF V600、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(4): 375-378.
HAN Yiming, RAO Lan, DING Li, et al. Relationship between the status of BRAF V600 and EGFR gene mutation and clinicopathological features in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2017, 33(4): 375-378.
20. Alrifai D, Popat S, Ahmed M, et al. A rare case of squamous cell carcinoma of the lung harbouring ALK and BRAF activating mutations[J]. *Lung Cancer*, 2013, 80(3): 339-340.
21. Shin HJ, Kho BG, Kim MS, et al. Co-alteration of EGFR mutation and ALK rearrangement in non-small cell lung cancer: case series[J]. *Medicine*, 2019, 98(9): e14699.
22. Won JK, Keam B, Koh J, et al. Concomitant ALK translocation and EGFR mutation in lung cancer: a comparison of direct sequencing and sensitive assays and the impact on responsiveness to tyrosine kinase inhibitor[J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(2): 348-354.
23. Ulivi P, Chiadini E, Dazzi C, et al. Nonsquamous, non-small-cell lung cancer patients who carry a double mutation of EGFR, EML4-ALK or KRAS: frequency, clinical-pathological characteristics, and response to therapy[J]. *Clin Lung Cancer*, 2016, 17(5): 384-390.

本文引用: 贺佳子, 黄清洁, 李莉, 杜汉阳, 陈壬寅. 396例非小细胞肺癌EGFR, KRAS, ALK和BRAF基因突变状态及其临床病理特征[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(9): 2252-2258. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.09.005

Cite this article as: HE Jiazi, HUANG Qingjie, LI Li, DU Hanyang, CHEN Renyin. Mutation status of EGFR, KRAS, ALK and BRAF genes and their clinicopathological characteristics in 396 patients with non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2020, 40(9): 2252-2258. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.09.005