

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.006

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.006

## 139 例肺癌小活检标本 *EGFR*, *ALK*, *ROS1* 基因状态分析

刘春样, 孙怡, 高丽丽, 王耀辉, 章宜芬, 王剑蓉

(南京中医药大学附属医院病理科, 南京 210029)

**[摘要]** 目的: 探讨肺癌小活检标本 *EGFR*, *ALK*, *ROS1* 基因突变状态。方法: 回顾性分析 2014 年 1 月至 2017 年 1 月南京中医药大学附属医院经活检初诊为原发性肺癌的 139 例患者, 分析其临床病理特征及 *EGFR*, *ALK*, *ROS1* 基因突变状态。结果: 入组的 139 例患者中, *EGFR* 敏感突变阳性率为 38.85% (54/139), 其中腺癌突变率为 49.52% (52/105), 鳞状细胞癌突变率为 4.17% (1/24), 非小细胞癌(非特指型)突变率为 12.50% (1/8), 腺癌患者突变率明显高于其他类型癌患者 ( $P=0.0001$ )。男性患者突变率为 30.39% (31/102), 女性患者突变率为 62.16% (23/37), 女性患者突变率显著高于男性 ( $P=0.0014$ )。不吸烟患者突变率为 53.13% (34/64), 吸烟患者突变率为 26.67% (20/75), 不吸烟者突变率显著高于吸烟者 ( $P=0.0017$ )。临床 I, II, III 期患者突变率分别为 33.33% (1/3), 0.00% (0/3), 8.70% (2/23), IV 期患者突变率为 47.19% (42/89), 分期未知者突变率为 42.86% (9/21), IV 期患者突变率显著高于 I, II, III 期患者 ( $P=0.0038$ )。 *EGFR* 的突变类型包括: E19-del 占 44.44% (24/54), L858R 占 51.85% (28/54), L861Q 占 1.85% (1/54), S768I 占 1.85% (1/54)。 *ALK* 融合基因检出率为 3.28% (2/61), 均为不吸烟的腺癌患者。 *ROS1* 融合基因检出率 1.72% (1/58), 为不吸烟的男性鳞状细胞癌患者。结论: *EGFR* 突变更常见于女性、非吸烟及腺癌患者。 *ALK* 融合见于不吸烟的腺癌患者。 *ROS1* 融合见于鳞状细胞癌患者。

**[关键词]** 肺癌; 活检; *EGFR* 基因; *ALK* 基因; *ROS1* 基因

## Analysis of the mutation state of *EGFR*, *ALK* and *ROS1* genes in 139 biopsy specimens of lung cancer

LIU Chunyang, SUN Yi, GAO Lili, WANG Yaohui, ZHANG Yifen, WANG Jianrong

(Department of Pathology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

**Abstract** **Objective:** To evaluate *EGFR*, *ALK* and *ROS1* gene mutation rate in biopsy specimens of primary lung cancer. **Methods:** Between January 2014 and January 2017, 139 biopsy specimens of primary lung cancer were included in this study and the clinicopathological data, and *EGFR*, *ALK* and *ROS1* mutation status were reviewed. **Results:** The *EGFR*-TKIs sensitive mutations were detected in 38.85% (54/139) patients, and the mutation rate of adenocarcinoma was 49.52% (52/105), mutation rate of squamous cell carcinoma was 4.17% (1/24), and mutation rate of NSCLC-NOS was 12.50% (1/8). The mutation rate of adenocarcinoma was significantly

收稿日期 (Date of reception): 2017-12-07

通信作者 (Corresponding author): 王剑蓉, Email: jrwang00@126.com

higher than other types of lung cancer ( $P=0.0001$ ). 30.39% (31/102) male and 62.16% (23/37) female patients carried *EGFR* mutation respectively. The mutation rate of female patients was significantly higher than that of male patients ( $P=0.0014$ ). The mutation rates of non-smokers and smokers were 53.13% (34/64) and 26.67% (20/75) respectively, and the mutation rate of non-smokers was significantly higher than that of smokers ( $P=0.0017$ ). Mutation rates in patients with clinical stage I, stage II and stage III were 33.33% (1/3), 0.00% (0/3), and 8.70% (2/23) separately, and the mutation rate of stage IV patients was 47.19% (42/89), and the mutation rate in patients with stage unknown was 42.86% (9/21). The mutation rate of stage IV patients was significantly higher than that of patients with stage I, II and III ( $P=0.0038$ ). The types of *EGFR* mutation included: E19-del accounting for 44.44% (24/54), L858R accounting for 51.85% (28/54), L861Q and S768I accounting for 1.85% (1/54) separately. *ALK* fusion gene positive rate was 3.28% (2/61), all of which were non-smokers with adenocarcinoma. *ROS1* fusion gene positive rate was 1.72% (1/58), who was a nonsmoking man with squamous cell carcinoma. **Conclusion:** *EGFR*-TKIs sensitive mutations are commonly seen in females, non-smokers and adenocarcinoma patients. *ALK* fusion is found in non-smokers with adenocarcinoma. *ROS1* fusion can be detected in patients with squamous cell carcinoma.

**Keywords** lung cancer; biopsy; *EGFR* gene; *ALK* gene; *ROS1* gene

肺癌居我国癌症患病率和病死率首位<sup>[1]</sup>, 约2/3的患者初诊时已是晚期, 病灶不可切除, 临床以传统的放化疗为主, 但治疗效果差, 且毒副作用较大。近年来, 随个体化医疗和精准医学的发展, 肺癌的分子靶向治疗取得显著进展。2017年美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)临床实践指南<sup>[2]</sup>及中国晚期非小细胞肺癌分子靶向治疗专家共识<sup>[3]</sup>均表明: 对于晚期非小细胞肺癌患者活检小标本, 应充分合理应用, 尽可能留取足够的组织用于分子检测, 以便于临床制定更有效的治疗方案。目前, 国内文献中鲜有关于小活检标本中*EGFR*, *ALK*, *ROS1*基因状态的报道。本文回顾性分析2014年1月至2017年1月南京中医药大学附属医院139原发性肺癌患者的活检标本, 旨在探讨肺癌原发灶小活检标本中*EGFR*, *ALK*, *ROS1*基因状态, 并回顾相关文献进行讨论。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

在南京中医药大学附属医院病理信息系统的分子诊断模块中检索2014年1月至2017年1月行*EGFR*, *ALK*, *ROS1*检测的肺癌患者资料, 剔除手术标本、细胞学标本、转移灶标本及靶向治疗后标本, 共纳入139例患者活检标本。所有入组患者组织学及免疫组织化学切片均经2名资深医师同时

复习阅片, 诊断标准参考WHO(2015)肺肿瘤组织学分类<sup>[4]</sup>, 临床分期参考AJCC第7版<sup>[5]</sup>。本研究已获得医院伦理委员会审核批准。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 石蜡组织 DNA 及 RNA 提取

对于所有肺活检标本均预先收集石蜡组织样本, 确定组织学诊断后对石蜡组织常规脱蜡, 提取组织DNA及RNA用于后续检测。使用试剂盒(厦门艾德生物医药科技有限公司)提取组织DNA模板, Eppendorf BioPhotometer核酸定量仪(德国Eppendorf公司)测定DNA含量及OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>比值; 使用石蜡样本分离试剂盒(RNeasy FFPE Kit, 德国QIAGEN公司)提取石蜡组织RNA, Eppendorf核酸定量仪测定RNA含量及OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>比值。

#### 1.2.2 基因检测

*EGFR*基因突变部分病例行直接测序法, 部分病例行突变阻滞扩增系统(ADx-ARMS<sup>®</sup>)法。*ALK*, *ROS1*基因融合检测采用RT-PCR法。直接测序法使用ABI-9700型测序级扩增仪(美国Applied Biosystems公司)扩增目的基因片段, 使用ABI3100I-Avant测序仪(美国Applied Biosystems公司)进行测序。若直接测序法发现有突变者, 均行反向测序验证<sup>[6]</sup>。ADx-ARMS<sup>®</sup>法及RT-PCR法按说明书操作, 试剂盒均购自厦门艾德生物医药科技有限公司(*EGFR*基因: 20143402001; *ALK*, *ROS1*基因: 01217072801X)。*EGFR*突变及*ALK/ROS1*

基因融合均在Agilent Stratagene Mx3000实时荧光定量PCR仪(美国Agilent Technologies公司)中进行扩增。

### 1.3 统计学处理

采用GraphPad Prism 6统计软件进行分析, 率的比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概法,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 临床病理特征

符合入组病例139例, 其中男性占73.38%(102/139), 女性占26.62%(37/139), 年龄38~84(66±10)岁; 吸烟患者占53.96%(75/139), 不吸烟患者占46.04%(64/139); 腺癌患者占75.54%(105/139), 鳞状细胞癌患者占17.27%(24/139), 小细胞癌患者占1.44%(2/139), 非小细胞癌患者(非特指型)占5.76%(8/139)。临床分期I, II期患者占4.32%(6/139), III, IV期占80.58%(112/139), 分期未知者占15.11%(21/139; 表1)。

### 2.2 EGFR 基因状态

139例肺癌活检标本中, 10.79%(15/139)行直接测序法, 其余行ADx-ARMS<sup>®</sup>法。EGFR敏感突变阳性率为38.85%(54/139), 其中腺癌突变率为49.52%(52/105), 鳞状细胞癌突变率为4.17%(1/24), 非小细胞癌(非特指型)突变率为12.50%(1/8), 腺癌患者突变率明显高于其他类型癌患者, 差异有统计学意义( $P=0.0001$ )。男性患者突变率为30.39%(31/102), 女性患者突变率为62.16%(23/37), 女性患者突变率显著高于男性患者, 差异有统计学意义( $P=0.0014$ )。不吸烟患者突变率为53.13%(34/64), 吸烟患者突变率为26.67%(20/75), 不吸烟者突变率显著高于吸烟者, 差异有统计学意义( $P=0.0017$ )。临床分期I期患者突变率为33.33%(1/3), II期患者突变率为0.00%(0/3), III期患者突变率为8.70%(2/23), IV期患者突变率为47.19%(42/89), 分期未知者突变率为42.86%(9/21), IV期患者突变率显著高于I, II, III期患者, 差异有统计学意义( $P=0.0038$ )。EGFR突变的类型包括: E19-del1占44.44%(24/54),

L858R占51.85%(28/54), L861Q占1.85%(1/54), S768I占1.85%(1/54)。此外, 直接测序法检出6例EGFR 20号外显子Q787Q多态性突变(表2, 3)。

### 2.3 ALK 及 ROS1 基因融合状态

ALK融合基因检出率为3.28%(2/61), 2例患者均为腺癌且不吸烟, 1例为IV期64岁男性患者, 1例为III期64岁女性患者, 均为EML4-ALK融合。性别、组织学类型及抽烟与否与ALK融合差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。ROS1融合基因检出率为1.72%(1/58), 检出的1例为不吸烟的IV期63岁男性鳞状细胞癌患者, 融合类型为SLC34A2-ROS1/CD74-ROS1/EZR-ROS1。性别、组织学类型及抽烟与否与ROS1融合差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。3例融合基因阳性携带者均未检出EGFR突变, 未检出同时携带2种及以上基因改变的患者(表2, 3)。

表1 观察组患者的临床病理特征

Table 1 Clinicopathological features of the patients in the observation group

临床病理特征	例数(%)
组织学类型	
腺癌	105 (75.54)
鳞状细胞癌	24 (17.27)
小细胞癌	2 (1.44)
非小细胞癌(非特指型)	8 (5.76)
性别	
男	102 (73.38)
女	37 (26.62)
抽烟	
是	75 (53.96)
否	64 (46.04)
临床分期	
I	3 (2.16)
II	3 (2.16)
III	23 (16.55)
IV	89 (64.03)
未知	21 (15.11)

表2 EGFR, ALK, ROS1基因突变者的临床特征

Table 2 Clinical features of EGFR, ALK, and ROS1 gene mutations

临床特征	EGFR突变/[例(%)]			ALK融合/[例(%)]			ROS1融合/[例(%)]		
	+	-	P	+	-	P	+	-	P
总数	54 (38.85)	85 (61.15)	—	2 (3.28)	59 (96.72)	—	1 (1.72)	57 (98.28)	—
性别			0.0014			0.4344			0.5421
男	31 (30.39)	71 (69.61)		1 (2.17)	45 (97.83)		1 (2.27)	43 (97.73)	
女	23 (62.16)	14 (37.84)		1 (6.67)	14 (93.33)		0 (0.00)	14 (100.00)	
组织学类型			0.0001			0.491			0.4407
腺癌	52 (49.52)	53 (50.48)		2 (4.17)	46 (95.83)		0 (0.00)	45 (100.00)	
鳞状细胞癌	1 (4.17)	23 (95.83)		0 (0.00)	11 (100.00)		1 (9.09)	10 (90.91)	
小细胞癌	0 (0.00)	2 (100.00)		0 (0.00)	2 (100.00)		0 (0.00)	2 (100.00)	
非小细胞癌 (非特指型)	1 (12.50)	7 (87.50)		0 (0.00)	0 (0.00)		0 (0.00)	0 (0.00)	
抽烟			0.0017			0.1776			0.2465
是	20 (26.67)	55 (73.33)		0 (0.00)	35 (100.00)		0 (0.00)	33 (100.00)	
否	34 (53.13)	30 (46.87)		2 (7.69)	24 (92.31)		1 (4.00)	24 (96.00)	

表3 EGFR, ALK, ROS1基因突变类型

Table 3 Types of EGFR, ALK and ROS1 gene mutations

基因突变/融合类型	例数(%)
EGFR	
E19-del	24/54 (44.44)
L858R	28/54 (51.85)
L861Q	1/54 (1.85)
S768I	1/54 (1.85)
ALK	
EML4-ALK E13; A20/E6ins33; A20/ E20: A20	1/2 (50.00)
EML4-ALK E15del60; del71A20	1/2 (50.00)
ROS1	
SLC34A2-ROS1/CD74-ROS1/ EZR-ROS1	1/1 (100.00)

### 3 讨论

随人口老龄化加剧, 以肺癌为首的恶性肿瘤已成为我国严峻的社会公共卫生问题。癌症筛查尚处于起步阶段, 但进展期肺癌在临床实践中占

比超过70%。本研究中, 观察组139例患者平均年龄为66岁, 男女比例约为2.8:1, 吸烟患者占53.96%, III, IV期患者占80.58%。

大量研究<sup>[7-9]</sup>显示: EGFR敏感突变阳性的晚期非小细胞肺癌患者可从EGFR-TKIs一线治疗中获益, 其无病生存期显著改善, 疾病复发率、远处转移及死亡风险降低。因此, 如何准确检测无法手术患者活检小标本的EGFR突变状态尤其重要。在本组原发性肺癌病例中, 直接测序法及ADx-ARMS<sup>®</sup>法检测EGFR突变率为38.85%, 与文献[10]报道的55%相比偏低。在所有EGFR突变中, E19-del及L858R共占96.29%, L861Q及S768I分别占1.85%, 与文献[10-12]报道相似。

本研究中EGFR突变率相对偏低可能有以下几个原因: 1)本研究中10.79%病例采用直接测序法, 其余采用ADx-ARMS<sup>®</sup>法, 直接测序法敏感性相对较低, ADx-ARMS<sup>®</sup>法敏感性虽高于传统的直接测序法<sup>[13]</sup>, 但试剂盒覆盖的是常见的29个突变位点, 通过焦磷酸测序可检测出27.3%少见类型突变<sup>[14]</sup>, 等位基因特异性PCR检测可检出21.4%只存在血浆样本而不存在于肿瘤组织样本中的EGFR突变<sup>[15]</sup>。2)小活检标本无法富集肿瘤组织, 受较多淋巴细胞和非肿瘤组织干扰, 导致突变携带细胞的含量降低。3)直接测序法测定切除

肺癌组织标本中*EGFR*的瘤内异质性为13.3%<sup>[16]</sup>,小活检标本肿瘤细胞数量有限,无法显示癌细胞*EGFR*基因突变状态的全貌。4)本研究中女性患者的*EGFR*突变率为62.16%,与文献[17]报道相似,而男性的突变率为30.39%,这可能与男性患者组中吸烟者占72.55%,而女性患者组吸烟者占2.7%有关。研究<sup>[18-19]</sup>显示:吸烟可以引起染色体等位基因杂合性缺失,及趋化因子信号通路、细胞因子交互作用、细胞黏附分子表达相关的大量基因异常,推测吸烟可使肺癌的组织学及基因突变异质性更强,对于组织量有限的活检小标本影响较大。因此,临床实践操作中对于吸烟的男性肺癌患者可以考虑多平台、多次活检或同时补充细胞学及体液活检等多层次、多水平测定*EGFR*的突变状态,提高其检出率,以发现更多潜在的*EGFR*-TKIs治疗获益患者。

本研究观察到1例携带*EGFR* S768I突变的鳞状细胞癌患者,该患者长期吸烟。研究<sup>[12,20]</sup>报道的鳞状细胞癌*EGFR*突变率为3%~20%,与腺癌相比较低,主要为非吸烟者。由于*EGFR*敏感阳性突变的鳞状细胞癌患者可从TKIs治疗中获益,建议所有鳞状细胞癌患者常规行*EGFR*检测。

RT-PCR法检出2例*ALK*融合基因携带者(检出率3.28%),均为不吸烟的肺癌患者,男性和女性各1例,均为*EML4-ALK*融合,与文献[11-12]报道相比稍低,其原因一方面为本研究样本量稍低,另一方面由于肿瘤存在异质性。庄武等<sup>[12]</sup>报道:肺鳞状细胞癌中*ALK*融合基因发生率为6.14%。本研究中未发现鳞状细胞癌*ALK*融合基因阳性患者,后续尚需进一步扩大样本量。RT-PCR法检出1例*ROS1*融合基因携带者(检出率1.72%),为不吸烟的63岁男性鳞状细胞癌患者,与文献[21]报道的1%~2%相似。值得注意的是,目前已报道的4例(包括本例)携带*ROS1*融合基因的鳞状细胞癌患者<sup>[22-23]</sup>,其余3例均为非吸烟的中国患者(女性2名,男性1名),年龄39~55岁,因此鳞状细胞癌患者也应行*ROS1*融合基因检测。3例携带*ALK*或*ROS1*融合基因阳性的患者均未检出*EGFR*突变,未检出同时携带2种及以上基因突变的患者。

综上所述,活检小标本可检测*EGFR*, *ALK*, *ROS1*基因突变状态, *EGFR*突变更常见于女性、非吸烟及腺癌患者, *ALK*融合见于不吸烟的腺癌患者, *EGFR*突变和*ROS1*融合可见于鳞状细胞癌或非小细胞癌(非特指型)患者。建议对进展期的非小细胞肺癌患者检测靶向治疗相关基因,必要时可多平台、多次检测以提高敏感突变的检出率,使更

多的患者获益,而病理科对小标本的合理利用是精准治疗的基石。

## 参考文献

1. Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
2. Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, et al. Non-small cell lung cancer, version 5.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2017, 15(4): 504-535.
3. 中华医学会呼吸病学分会肺癌学组, 中国肺癌防治联盟. 晚期非小细胞肺癌分子靶向治疗专家共识(2013版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2014, 37(3): 177-183.  
Lung cancer group Society of the Chinese Thoracic Society, Chinese Alliance Against Lung Cancer. The consensus of molecular targeted treatment for advanced non-small cell lung cancer (2013 version)[J]. *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 2014, 37(3): 177-183.
4. Travis W, Brambilla E, Muller-Hermelink HK, et al. World Health Organization classification of tumors of the lung, pleura, thymus, and heart[M]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer Press, 2015: 9-21.
5. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al. *AJCC cancer staging manual*. 7th ed[M]. Chicago: Springer-Verlag, 2010.
6. 王剑蓉, 陈劫, 孙怡, 等. 肺癌表皮生长因子受体基因测序分析[J]. *海南医学*, 2014, 25(10): 1405-1408.  
WANG Jianrong, CHEN Jie, SUN Yi, et al. Epidermal growth factor receptor sequencing analysis in lung cancer[J]. *Hainan Medical Journal*, 2014, 25(10): 1405-1408.
7. Zhou C, Wu YL, 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.
8. Lee JK, Hahn S, Kim DW, et al. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors vs conventional chemotherapy in non-small cell lung cancer harboring wild-type epidermal growth factor receptor: a meta-analysis[J]. *JAMA*, 2014, 311(14): 1430-1437.
9. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in Untreated *EGFR*-mutated advanced non-small cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(2): 113-125.
10. Ho HL, Chang FP, Ma HH, et al. Molecular diagnostic algorithm for epidermal growth factor receptor mutation detection in Asian lung adenocarcinomas: comprehensive analyses of 445 Taiwanese patients with immunohistochemistry, PCR-direct sequencing and Scorpion/

- ARMS methods[J]. *Respirology*, 2013, 18(8): 1261-1270.
11. 许春伟, 王海艳, 吴永芳, 等. 2 771 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. 2 771 cases of clinicopathological analysis of pulmonary neoplasm[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2016, 36(2): 173-184.
  12. 庄武, 钟礼花, 陈芳芳, 等. 肺鳞状细胞癌 *EGFR/ALK* 的基因状态[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(5): 981-985.  
ZHANG Wu, ZHONG Lihua, CHEN Fangfang, et al. *EGFR/ALK* gene status of lung squamous cell carcinoma[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(5): 981-985.
  13. Ellison G, Zhu G, Moulis A, et al. *EGFR* mutation testing in lung cancer: a review of available methods and their use for analysis of tumour tissue and cytology samples[J]. *J Clin Pathol*, 2012, 66(2): 79-89.
  14. Righi L, Cuccurullo A, Vatrano S, et al. Detection and characterization of classical and "uncommon" exon 19 epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer by pyrosequencing[J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 114.
  15. Weber B, Meldgaard P, Hager H, et al. Detection of *EGFR* mutations in plasma and biopsies from non-small cell lung cancer patients by allele-specific PCR assays[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 294.
  16. Zhong WZ, Su J, Xu FP, et al. Rare discrepancies in a driver gene alteration within histologically heterogeneous primary lung cancers[J]. *Lung Cancer*, 2015, 90(2): 205-211.
  17. 康丽菲, 郑杰, 朱翔. *EGFR* 基因突变与肺腺癌主要病理分型及标本类型的关系[J]. *中国肺癌杂志*, 2017, 20(6): 382-388.  
KANG Lifei, ZHENG Jie, ZHU Xiang. Relationship between *EGFR* mutations and pathological classification and specimen of lung adenocarcinoma[J]. *Chinese Journal of Lung Cancer*, 2017, 20(6): 382-388.
  18. Brody JS. Transcriptome alterations induced by cigarette smoke[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(12): 2754-2762.
  19. Sun S, Schiller JH, Gazdar AF. Lung cancer in never smokers—a different disease[J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(10): 778-790.
  20. Zhang Q, Zhu L, Zhang J. Epidermal growth factor receptor gene mutation status in pure squamous-cell lung cancer in Chinese patients[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 88.
  21. 王晶晶, 许春伟, 张博. *ROS1* 融合基因在非小细胞肺癌中的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2015, 35(6): 1144-1147.  
WANG Jingjing, XU Chunwei, ZHANG Bo. Research progress of *ROS1* fusion gene in non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2015, 35(6): 1144-1147.
  22. Song Z, Yu X, Zhang Y. Clinicopathological characteristics and survival of *ALK*, *ROS1* and *RET* rearrangements in non-adenocarcinoma non-small cell lung cancer patients[J]. *Cancer Biol Ther*, 2017, 18(11): 883-887.
  23. Li Q, Wu J, Yan LX, et al. *ALK* and *ROS1* double-rearranged lung squamous cell carcinoma responding to crizotinib treatment: a case report[J]. *J Thorac Oncol*, 2017, 12(12): e193-e197.

本文引用: 刘春样, 孙怡, 高丽丽, 王耀辉, 章宜芬, 王剑蓉. 139 例肺癌小活检标本 *EGFR*, *ALK*, *ROS1* 基因状态分析[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(3): 498-503. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.006

**Cite this article as:** LIU Chunyang, SUN Yi, GAO Lili, WANG Yaohui, ZHANG Yifen, WANG Jianrong. Analysis of the mutation state of *EGFR*, *ALK* and *ROS1* genes in 139 biopsy specimens of lung cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(3): 498-503. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.006