

# 非小细胞肺癌表皮生长因子受体突变表达与肿瘤突变负荷的临床研究

熊焯玉<sup>1,2</sup>, 纪娟娟<sup>2</sup>, 王 潇<sup>1,2</sup>, 周 玉<sup>1,2</sup>, 林 婴<sup>1,2</sup>

1. 西南医科大学临床医学院附属医院检验科, 四川 泸州 646000; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院(电子科技大学附属医院), 四川省人类疾病基因研究重点实验室, 医学遗传学与罕见病研究中心, 四川 成都 610072

**【摘要】 目的** 研究非小细胞肺癌(NSCLC)患者表皮生长因子受体(EGFR)基因的突变情况,并探讨这种突变对肿瘤突变负荷(TMB)的影响。**方法** 纳入2022年1月至2023年12月就诊于四川省人民医院收治的356例非小细胞肺癌患者,采用靶向二代测序技术行全基因组437基因检测,研究肿瘤组织标本突变情况及TMB水平,并分析EGFR基因突变与TMB的关系。**结果**在356例非小细胞肺癌组织中共检测到605个突变,EGFR基因总突变率为61.2%,外显子18、19、20和21的突变率分别为3.1%、38.0%、7.1%和50.9%。60岁以下患者EGFR突变率为65.2%,女性患者EGFR的突变率高于男性(74.5% vs 46.4%,  $P<0.001$ ),突变主要发生在腺癌中(66.7%),并且EGFR突变阳性NSCLC患者TMB相对较低( $P<0.001$ )。**结论** NSCLC患者EGFR的突变率总体较高,且与性别、吸烟史、病理类型及TMB均有相关性,但年龄及EGFR突变位置与TMB无关。

**【关键词】** 非小细胞肺癌;表皮生长因子;肿瘤突变负荷

**【中图分类号】** R73-3

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** 1672-6170(2025)06-0079-05

**Clinical significance of expressions of epidermal growth factor receptor mutation and tumor mutation burden in non-small cell lung cancer** XIONG Chan-yu<sup>1,2</sup>, JI Juan-juan<sup>2</sup>, WANG Xiao<sup>1,2</sup>, ZHOU Yu<sup>1,2</sup>, LIN Ying<sup>1,2</sup> 1. Department of Medical Laboratory, The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Sichuan Provincial Key Laboratory for Human Disease Gene Study and Medical Genetics and Rare Diseases Center, Department of Laboratory Medicine, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital (Affiliated Hospital of University of Electronic Science and Technology of China), Chengdu 610072, China

**【Corresponding author】** LIN Ying

**【Abstract】 Objective** To investigate the mutation of epidermal growth factor receptor (EGFR) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and to explore its effect on tumor mutational burden (TMB). **Methods** A cohort of 356 NSCLC patients treated in Sichuan Provincial People's Hospital from January 2022 to December 2023 were selected. Targeted second-generation sequencing technology was used to perform a comprehensive genomic profiling of 437-gene test. The mutation status and TMB level of tumor tissue specimens were investigated. The relationship between EGFR gene mutation and TMB was analyzed. **Results** Among the 356 NSCLC tissues, 605 mutations were identified. The overall mutation rate of the EGFR gene was 61.2%. Exon-specific mutation rates were 3.1% in exon 18, 38.0% in exon 19, 7.1% in exon 20, and 50.9% in exon 21. The mutation rate of EGFR in individuals under the age of 60 years old was 65.2%. The EGFR mutation rate in female patients with NSCLC was 74.5% that was higher than 46.4% in male patients with NSCLC. Mutations occurred primarily in adenocarcinoma (66.7%). Patients with EGFR mutation-positive NSCLC had a relatively lower TMB ( $P<0.001$ ). **Conclusions** The EGFR mutation rate in NSCLC patients is generally high. It is correlated with gender, smoking history, pathological type and TMB. However, age and EGFR mutation location are not associated with TMB.

**【Key words】** Non-small cell lung cancer; Epidermal growth factor receptor; Tumor mutational burden

自2000年以来,中国的癌症病例和死亡人数以及癌症粗发病率和死亡率逐渐上升<sup>[1,2]</sup>。2022年我国的肺癌发病率与死亡率均位居榜首,并且在男性中最常见<sup>[3]</sup>。表皮生长因子受体(EGFR)突变是亚洲人中最常检测到的致癌驱动因素,其发生率为50%<sup>[4]</sup>。其中近90%的突变为19号外显子缺失或21号外显子L858R点突变,作为致癌驱动因素导致EGFR下游信号传导配体激活,从而促进细胞增殖、存活和迁移。目前,以免疫检查点抑制剂(ICIs)为

代表的新型免疫治疗已成为NSCLC患者的一项重要治疗手段,然而免疫治疗的有效率仍旧不理想<sup>[5]</sup>。之前的研究表明,TMB水平与免疫疗效呈现线性正相关,高于中位TMB值的NSCLC患者的无进展生存期(PFS)更长<sup>[6,7]</sup>。本研究采用NGS(二代测序)检测肿瘤组织基因突变情况及TMB的表达水平,探讨EGFR突变的NSCLC患者TMB情况及可能存在的免疫治疗预测效果。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集2022年1月至2023年12月四川省人民医院行肺手术切除或病理活检的标本356例石蜡包埋组织,并经病理诊断证实为非小细

**【基金项目】** 国家自然科学基金资助项目(编号:81970825)

**【通讯作者】** 林 婴

胞肺癌。纳入标准:①年龄>18岁;②经病理学检查确诊,符合原发性非小细胞肺癌诊断标准。排除标准:①患有除原发性肺癌外的其他恶性肿瘤;②怀孕。其中男168例,女188例;年龄 $\geq 60$ 岁158例,<60岁198例;肺腺癌321例,鳞状细胞癌29例,未明确分型或为腺鳞癌6例<sup>[8]</sup>。本研究按照《赫尔辛基宣言》的原则进行,并获得了医院伦理委员会的批准。所有参与本研究的患者均提供了基因检测研究的书面知情同意书,所有实验均按照批准的方案进行。

## 1.2 方法

**1.2.1 DNA提取** 选取石蜡包埋的肿瘤组织切片(厚10 $\mu$ m,大小1cm $\times$ 1cm)5~8张,用适量二甲苯脱蜡并加入适量乙醇洗脱,室温晾干后加入200 $\mu$ l缓冲液GA和20 $\mu$ l蛋白酶K,混匀后56 $^{\circ}$ C孵育1小时直至样品完全裂解,90 $^{\circ}$ C孵育1小时逆转福尔马林交联。用QIAamp DNA FFPE Tissue试剂盒(Qiagen)提取DNA(gDNA)。

**1.2.2 基因突变检测** 采用靶向二代测序技术进行全景437基因突变检测(步骤参见世和一号<sup>®</sup>试剂盒),分析非小细胞肺癌肿瘤组织中EGFR突变的情况。所有实验程序均采用经过验证的检测方法进行。

**1.3 TMB的计算** TMB是指编码区(CDS区)1Mb内所包含的肿瘤特异性突变的数量。将肿瘤样本与白细胞数据进行对比,去除种系突变后,计算检测到的非同义突变体细胞突变个数与样本CDS区长度的比例。然后,将356例患者分为高TMB组(TMB $\geq 10$ )和中低TMB组(TMB<10)。

**1.4 统计学方法** 采用SPSS 27.0统计软件进行数据分析。计数资料以例数(%)表示,采用卡方检验或Fisher精确检验分析EGFR突变率与各临床特征及TMB(肿瘤突变负荷)的相关性,以列联系数(C值)评估关联强度。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 NSCLC样本突变图谱分析** 在356例样本中总共检测到了605个突变,其中有527个为体细胞突变,12个为胚系突变,34个为染色体拷贝数变异(CNV),32个为结构变异(SV)。对这605个突变进行了可视化分析。瀑布图(图1)展示了样本中突变频率最高的前10项基因排名,如EGFR、TP53、KRAS、CDKN2A、PIK3CA等。其中EGFR突变在218例样本中检测到,总突变率为61.2%,且EGFR与TP53双突变情况较多。15例样本检测到EGFR的双突变位点,1例检测到EGFR的3个突变位点。

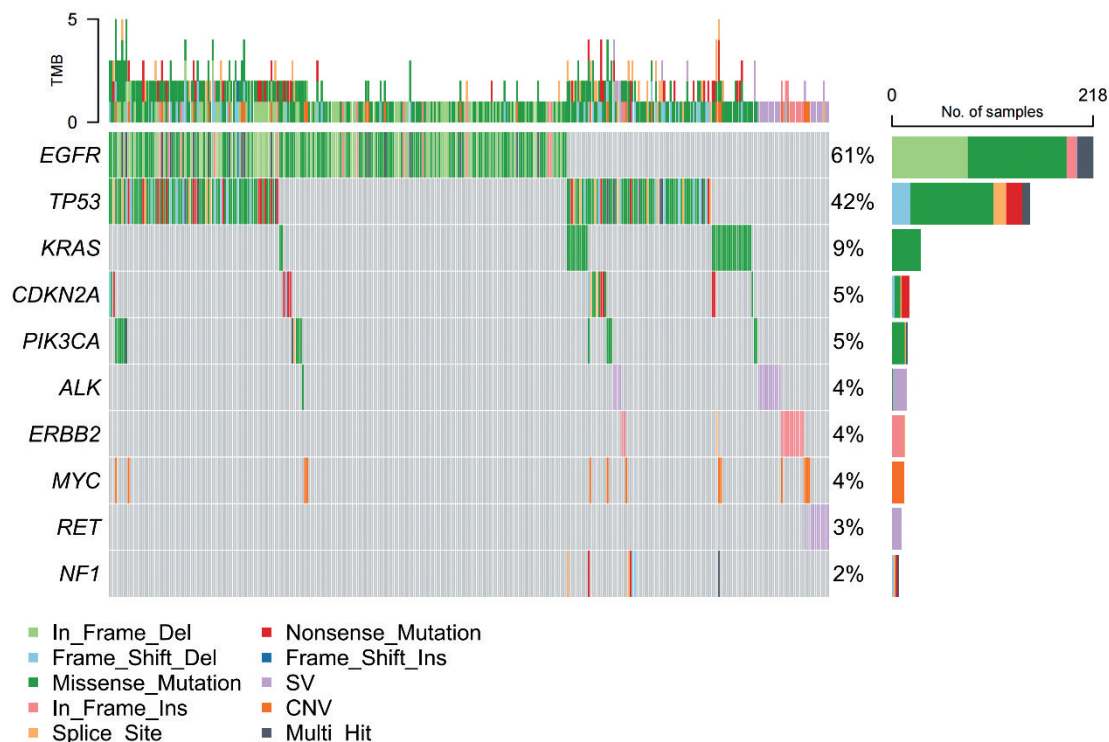


图1 NSCLC突变基因瀑布图

**2.2 具体突变分类信息** 根据不同的突变分类,在NSCLC样本中,错义突变所占比例最高(图2a),单核苷酸多态性(SNPs)占大多数,在单核苷酸变异

(SNV)的分级中,最常见的变异是T>G。对前10个突变基因的互斥突变和并发突变的映射显示,与EGFR并发突变的基因较多(图2b)。

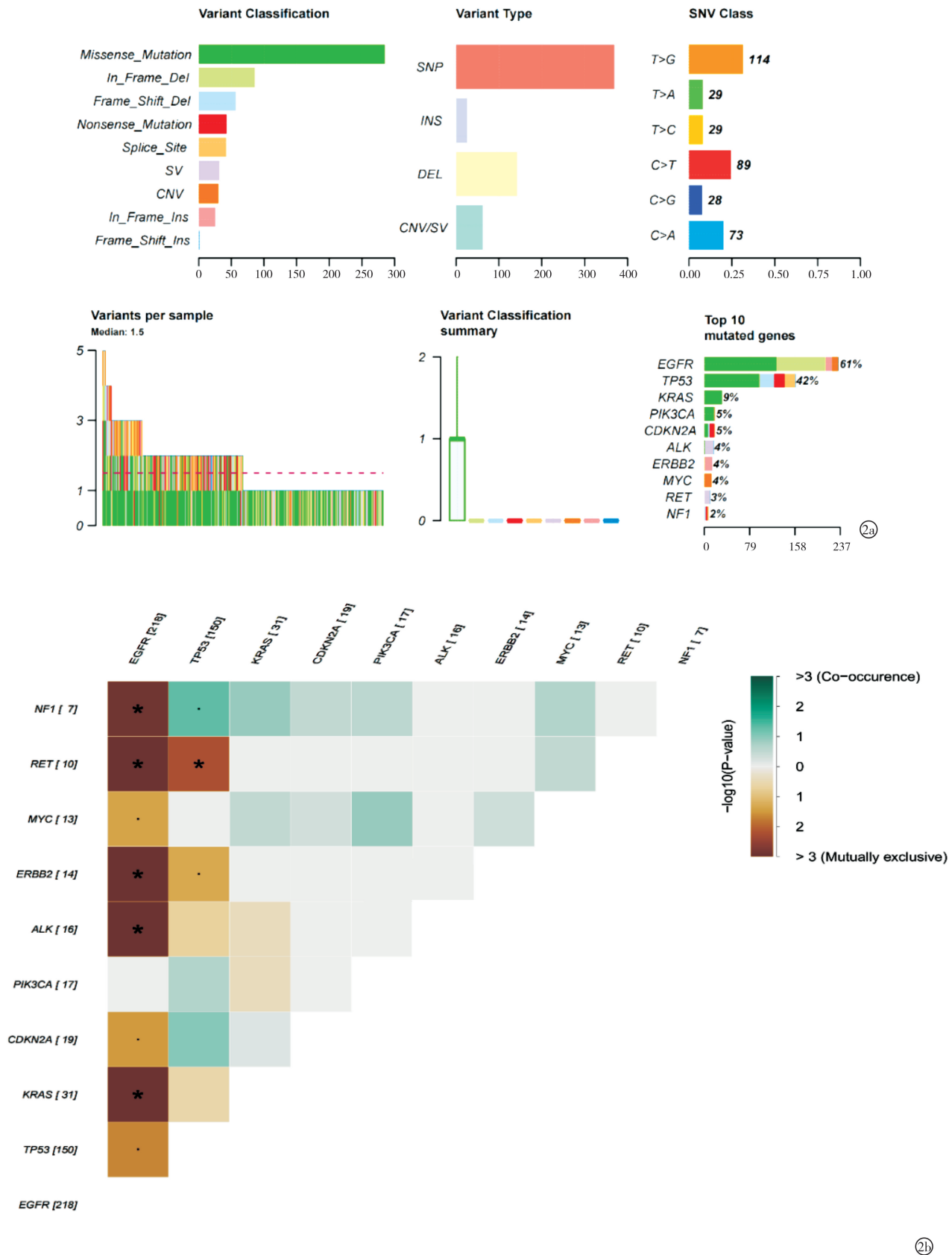


图2 非小细胞肺癌患者突变谱 a:突变信息概况;b:互斥或共同发生的基因突变。 $P<0.05$ , \*  $P<0.01$

**2.3 非小细胞肺癌患者 EGFR 基因突变分析** 本研究调取了 356 例 NSCLC 患者的临床信息及 EGFR

突变结果后,合并结果如表 1 所示。女性 NSCLC 患者 EGFR 突变率明显高于男性( $P<0.001$ ),非吸烟

组突变率更高( $P=0.090$ )。同时,病理分型为腺癌的患者 EGFR 突变率显著高于其他类型的肺癌( $P<0.001$ )。采用 Quartile 方法计算患者样本信息的

TMB,TMB-H 组患者合并 EGFR 突变的频率较 TMB-L 组低( $P<0.001$ )。

表 1 EGFR 基因突变率与患者临床病理信息及 TMB 的关系 [n (%) ]

项目	n	EGFR 突变		$\chi^2$	P
		阳性	阴性		
年龄 ≥60 岁	158	89 (56.3)	69 (43.7)	2.88	0.090
<60 岁	198	129 (65.2)	69 (34.8)		
性别 女	188	140 (74.5)	48 (25.5)	29.38	<0.001
男	168	78 (46.4)	90 (53.6)		
吸烟 是	74	37 (50.0)	37 (50.0)	6.08	0.014
否	282	185 (65.6)	97 (34.4)		
病理分型 腺癌	321	214 (66.7)	107 (33.3)	-	0.001
鳞癌或其他	35	4 (11.4)	31 (88.6)		
TMB TMB-L (<10 muts/Mb)	249	208 (83.5)	41 (16.5)	173.53	<0.001
TMB-H (≥10muts/Mb)	107	10 (9.3)	97 (90.7)		

**2.4 EGFR 基因突变对 TMB 的影响** 在 218 例 EGFR 突变阳性 NSCLC 患者中,总共发现 235 个突变,其中 11 个为 CNV,224 个为体细胞突变。有 1 例患者同时存在外显子 18 和 21 双重突变,另外 1 例患者同时存在 19 和 20 双重突变,还有 2 例患者同时存在 20 和 21 双重突变,而 1 例患者同时存在 18、20 和 21 外显子三重突变。中位 TMB 水平为 2.1 个 muts/Mb,TMB-H 组的患者中位 TMB 为 11.8 muts/Mb,而 TMB-L 组的患者中位 TMB 为 2.1 muts/Mb。体细胞突变的结果如表 2 所示,其中 2 例为 EGFR 基因外显子 20 的 T790M 突变;外显子 21 的突变除 1 例为 L816Q 外,其余均为 L858R 突变。EGFR 突变位置与 TMB 分组无关( $P>0.05$ )。

表 2 224 个 EGFR 体细胞阳性突变位点分析 [n (%) ]

EGFR 突变情况	总突变 (n=224)	低 TMB 组 (n=212)	高 TMB 组 (n=12)
外显子 18	7(3.1)	7(3.1)	0(0.0)
外显子 19	85(38.0)	81(36.2)	4(1.8)
外显子 20	16(7.1)	14(6.2)	2(0.9)
外显子 21	114(50.9)	108(48.2)	6(2.7)
其他	2(0.9)	2(0.9)	0(0.0)

**2.5 吸烟对 EGFR 突变的影响** 吸烟者 EGFR21 及 19 号外显子的突变情况见表 3。吸烟状态与总体 EGFR 突变率显著相关( $\chi^2=29.35,P<0.001$ ),但与 EGFR 特定外显子突变位置的关联强度较弱( $\chi^2=4.47,P=0.034$ ;列联系数  $C=0.15$ )。

表 3 吸烟者 EGFR21 及 19 号外显子突变情况 [n (%) ]

吸烟状态	总突变数	外显子 21	外显子 19
是	30	12 (40.0)	18 (60.0)
否	168	102 (60.7)	66 (39.3)

3 讨论

在高风险及已发生肿瘤的人群中筛查突变基因对于精准肿瘤学是必要且重要的,这为预防及精准治疗提供了新的机会。中国临床肿瘤学会 CSCO 指南推荐晚期非小细胞肺非鳞癌患者进行 EGFR 突变检测,针对 IB-IIIb 期患者,NCCN 指南推荐检测基因为 EGFR 19 号外显子缺失或 L858R<sup>[9]</sup>。本研究主要探究 NSCLC 患者标本中检测到的 EGFR 突变的频率及突变谱,并对 EGFR 阳性的结果进行 TMB 分组分析。

本研究结果显示,NSCLC 患者 EGFR 基因的总突变率(61.2%)与其他东亚地区相接近,明显高于西方人群<sup>[10]</sup>。腺癌 NSCLC 最常见的组织类型,本研究中肺腺癌 EGFR 基因突变率为 60.1%,高于此前针对亚洲人群的研究<sup>[11]</sup>。性别是 NSCLC 中 EGFR 基因突变的临床预测因素之一,女性有较高的 EGFR 突变率,这与之前的研究报道一致<sup>[12]</sup>,进一步证实肺腺癌患者和女性 NSCLC 患者 EGFR 的突变率较高。突变主要发生在 19 及 21 号外显子上,突变率分别为 38.0% 及 50.9%,提示 19 外显子和 21 外显子易受环境致癌物的攻击,尤其是 L858R 突变,突变后可能进一步激活 EGFR 信号转导通路,在 NSCLC 的发生及预后中可能起重要的作用。

近年来,EGFR 免疫治疗已成为一种新颖有效的肺癌治疗策略,TMB 已被证实是一种可以定量评估肿瘤突变负荷的生物标志物,这对于免疫检查点抑制剂(ICI)治疗反应的预测具有重要意义。对于 TMB-H 和 TMB-L 的患者而言,细胞死亡蛋白 1(PD-1)/抗 PD-L1 治疗的成功率分别为 58% 和 20%,这表明 TMB 与免疫治疗反应改善之间存在关联<sup>[13,14]</sup>。在既往研究中,TMB-H 患者的 ORR 明显



更长<sup>[14]</sup>。我们检测到的 EGFR 突变阳性 NSCLC 患者 TMB 相对较低,这可能是免疫治疗疗效不佳的原因。

先前的研究已确定吸烟状况是 EGFR 突变患病率的重要预测因素<sup>[15]</sup>。然而,只有少数研究关注吸烟状况与 EGFR 突变谱之间的关联。本研究结果表明,不吸烟者 EGFR 突变率高于吸烟者,EGFR 吸烟者表达 L858R 及 exon19 缺失突变发生率低于既往研究<sup>[16]</sup>。证明除吸烟外的其他危险因素在 EGFR 突变诱发的非小细胞肺癌中的影响相对以往更高。

微卫星不稳定型往往会引发更多的 DNA 移码突变,从而间接导致了 TMB 的增加。在本研究中,所有 EGFR 突变阳性的样本都属于微卫星稳定型,这可能与本研究中 TMB 结果较低有关。此外,目前高 TMB 临界值定义尚不明确,《肿瘤突变负荷检测及临床应用中国专家共识(2020 年版)》指出,应根据各自的临床实验数据,将在“五分位法”排序中排在前 20% 的病例定义为 TMB-H 组,较高的 TMB 临界值将具有更高的特异性和更低的敏感性<sup>[17]</sup>。本研究尚缺乏 EGFR 突变患者总生存期数据以及用药信息,无法分析 EGFR 突变与耐药性及预后的关系,需要后续进一步研究深入分析。

#### 【参考文献】

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Wei W, Zeng H, Zheng R, et al. Cancer registration in China and its role in cancer prevention and control[J]. Lancet Oncol, 2020, 21(7): e342-e349.
- [3] Xia C, Dong X, Li H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chinese medical journal, 2022, 135(5): 584-590.
- [4] 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.
- [5] 韦坤辰, 吴骏峰, 唐昊. 免疫治疗在 EGFR 突变非小细胞肺癌中的研究进展[J]. 重庆医科大学学报, 2023, 48(11): 1282-

12891.

- [6] Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer[J]. Science, 2015, 348(6230): 124-128.
- [7] Rizvi H, Sanchez-Vega F, La K, et al. Molecular determinants of response to anti-programmed cell death (PD)-1 and anti-programmed death-ligand 1 (PD-L1) blockade in patients with non-small-cell lung cancer profiled with targeted next-generation sequencing[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(7): 633-641.
- [8] Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 world health organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification-science[J]. Journal of Thoracic Oncology, 2015, 10(9): 1243-1260.
- [9] 邵楚楚, 王婉莹, 任胜祥. CSCO 非小细胞肺癌诊疗指南(2021 版)解读[J]. 同济大学学报:医学版, 2022, 43(1): 9.
- [10] Choong WK, Sung TY. Somatic mutation subtypes of lung adenocarcinoma in East Asian reveal divergent biological characteristics and therapeutic vulnerabilities[J]. iScience, 2021, 24(6): 102522.
- [11] Wu CC, Hsu HY, Liu HP, et al. Reversed mutation rates of KRAS and EGFR genes in adenocarcinoma of the lung in Taiwan and their implications[J]. Cancer, 2010, 113(11): 3199-3208.
- [12] Shukla S, Pandey RK, Mishra S, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in adenocarcinoma lung: Comparison of techniques for mutation detection[J]. Indian J Pathol Microbiol, 2022, 65(2): 296-304.
- [13] Goodman AM, Kato S, Bazhenova L, et al. Tumor mutational burden as an independent predictor of response to immunotherapy in diverse cancers[J]. Mol Cancer Ther, 2017, 16(11): 2598-2608.
- [14] Herbst RS, Lopes G, Kowalski DM, et al. LBA79 Association between tissue TMB (tTMB) and clinical outcomes with pembrolizumab monotherapy (pembro) in PD-L1-positive advanced NSCLC in the KEYNOTE-010 and -042 trials[J]. Annals of Oncology, 2019, 30: v916-v917.
- [15] Qin BD, Jiao XD, Wang Y, et al. Effect of smoking habits on the efficacy of EGFR-TKI plus anti-angiogenic agent in advanced EGFR-mutant NSCLC[J]. Lung Cancer, 2022, 170: 91-97.
- [16] Jst A, Clwb C, Tyra D, et al. Divergent epidermal growth factor receptor mutation patterns between smokers and non-smokers with lung adenocarcinoma[J]. Lung Cancer, 2015, 90(3): 472-476.
- [17] 肇伟奇, 聂勇战, 应建明, 等. 肿瘤突变负荷检测及临床应用中国专家共识(2020 年版) [J]. 中国癌症防治杂志, 2020, 12(5): 10.

(收稿日期: 2024-07-14; 修回日期: 2024-11-20)

(本文编辑: 林 赟)

欢迎投稿, 欢迎订阅