

## 浙江省非小细胞肺癌患者 EGFR 基因与 EML4-ALK 融合基因突变的检测及其临床特征

潘丽霞<sup>1</sup>, 李娜<sup>1</sup>, 高文京<sup>1</sup>, 刘宁生<sup>1\*</sup>, 沈韦羽<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup> 南京医科大学病理学系, 江苏 南京 211166; <sup>2</sup> 宁波市医疗中心李惠利东部医院胸外科, 浙江 宁波 315041)

**[摘要]** 目的:检测中国人非小细胞肺癌表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)基因和棘皮动物微管相关蛋白样-4 与渐变性淋巴瘤激酶(EML4-ALK)融合基因的突变情况,同时分析这两种基因与非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)临床病理特征的关系。方法:采用 PCR 扩增和基因测序法检测 252 例 NSCLCs EGFR 基因外显子 19 和 21 的突变情况,real-time PCR 法检测 EML4-ALK 融合基因的突变情况,分析突变与临床特征的关系。结果:252 例非小细胞肺癌组织标本 EGFR 的突变率为 38.8%(98 例),其中 19 外显子突变率为 15.8%(40 例),21 外显子突变率为 23.0%(58 例)。EGFR 突变的患者多为女性、无吸烟史和腺癌( $P < 0.05$ ),与患者年龄无关( $P > 0.05$ )。252 例非小细胞肺癌组织标本中,EML4-ALK 融合基因突变率 4.7%(12 例)。EML4-ALK 基因突变患者多为女性和年龄较小者( $P < 0.05$ ),与患者吸烟史和病理类型无关( $P > 0.05$ )。没有检测到 EGFR 和 EML4-ALK 的突变共存情况。结论:中国人中 NSCLCs 的 EGFR 突变率较高,在使用 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂治疗前进行 EGFR 基因突变检测很有必要。EML4-ALK 基因突变代表了 NSCLC 另一种分子亚型,这为临床 NSCLC 患者的治疗提供了一种新的选择方案。EML4-ALK 融合基因突变与 EGFR 突变共存是罕见的现象。

**[关键词]** EGFR 突变;EML4-ALK 融合基因突变;非小细胞肺癌

**[中图分类号]** R734.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)07-830-05

doi:10.7655/NYDXBNS20160714

## Detection of EGFR gene and EML4-ALK fusion gene mutation and analysis of clinical features in NSCLC patients

Pan Lixia<sup>1</sup>, Li Na<sup>1</sup>, Gao Wenjing<sup>1</sup>, Liu Ningsheng<sup>1\*</sup>, Shen Weiyu<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Pathology, NJMU, Nanjing 211166; <sup>2</sup>Department of Thoracic Surgery, Li Huili East Hospital of Ningbo Medical Center, Ningbo 315041, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the relationship between epidermal growth factor receptor (EGFR) gene, EML4-ALK fusion gene and clinical features in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** Mutations of exons 19 and 21 of EGFR in 252 NSCLCs were detected by PCR amplification and gene sequencing, EML4-ALK fusion gene mutations were detected by Real-time PCR. The relationships between mutations and clinical features of NSCLCs were analyzed by SPSS software. **Results:** The total mutation rate of EGFR gene was 38.8%, including 15.8% of exon 19 and 23.0% of exon 21, respectively, and EGFR mutations usually occurred in the female, non-smokers and adenocarcinoma patients ( $P < 0.05$ ). However, there was no relationship in age ( $P > 0.05$ ). The total mutation rate of EML4-ALK fusion gene was 4.7%, EML4-ALK fusion gene mutations usually occurred in the female and younger age patients ( $P < 0.05$ ). Mutations were not related to non-smoking and pathological type ( $P > 0.05$ ). No mutation was detected to coexist in EGFR and EML4-ALK gene mutation. **Conclusion:** Due to high mutation frequency of EGFR in Chinese NSCLC patients, it is highly recommended to investigate EGFR gene mutations before treatment with tyrosine kinase inhibitors. EML4-ALK fusion gene defines another molecular subset of NSCLC with distinct characteristics, which provides a new option for the clinical treatment of patients with NSCLC. The coexistence phenomenon of EGFR mutation and EML4-ALK mutation is rare.

**[Key words]** EGFR mutation; EML4-ALK fusion gene mutation; non-small cell lung cancer

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(07):830-834]

**[基金项目]** 国家自然科学基金(31171289);浙江省自然科学基金(Y2111021)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: liuns@hotmail.com; nblhlsy@163.com

肺癌是常见的恶性肿瘤之一,每年超过 140 万人死于肺癌<sup>[1]</sup>,是全世界癌症相关性死亡的主要原因。近年来,尽管肺癌的早期诊断率有所提高,治疗手段有所改善,但是肺癌的预后仍然很差,大多数国家肺癌的 5 年生存率仍然低于 20%,中国肺癌患者 5 年生存率是 18%<sup>[2]</sup>。小细胞肺癌和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是肺癌的两种主要类型,NSCLC 占肺癌的 85%,而 NSCLC 被发现时往往已经是晚期阶段<sup>[3]</sup>。对于早期 NSCLC 患者而言,可能的有效治疗方法是手术切除,但是对于晚期 NSCLC 患者而言,化疗和靶向药物治疗则是非常有必要的<sup>[4]</sup>。而根据最新的美国肺癌治疗手册,肺癌在进行靶向药物治疗之前的基因检测也是非常必要的。近年来,随着人们对肺癌分子靶点不断深入的研究,特异性高且不良反应轻的分子靶向药物逐渐成为人们关注的焦点。新型酪氨酸激酶抑制剂(TKIs,如吉非替尼、厄洛替尼及埃克替尼等)是以突变的表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)基因等肺癌驱动基因为靶点的,这些药物在治疗 NSCLC 方面取得重大进展,其临床应用为 NSCLC 的治疗带来了新的希望<sup>[5-6]</sup>。在 EGFR 基因突变之后,2007 年许多学者又发现 EML4-ALK 融合基因是另一个 NSCLC 的作用靶点<sup>[7-8]</sup>,从而发现 ALK 酪氨酸激酶抑制剂克唑替尼对 EML4-ALK 融合基因阳性 NSCLC 患者的疗效显著<sup>[9]</sup>,这为临床 NSCLC 患者的治疗提供了一种新的选择方案。本文主要介绍 EGFR 基因及 EML4-ALK 融合基因的突变率,及其与 NSCLC 的临床病理特征的关系,为临床治疗手段提供一定的科学依据。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

收集宁波李惠利医院 2013 年 6 月—2014 年 12 月胸外科手术切除并经病理确诊的 NSCLC 标本 252 例,所有患者术前均未接受过放化疗和 EGFR-TKI 等抗肿瘤治疗。所有标本均用装有 RNAlater (QIAGEN 公司,美国)的冻存管保存于 4℃,并于 2 d 内送到实验室进行检测。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 EGFR 检测方法

采用 PCR 扩增和测序法分析 252 例 NSCLC 患者手术组织中 EGFR 外显子 19、21 突变情况。手术组织 DNA 提取采用 Wizard®基因组 DNA 纯化试剂

盒(Promega 公司,美国)并按说明书步骤进行。再使用各个外显子的相应引物,通过 PCR 方法扩增 EGFR 基因外显子 19 和 21,具体操作方法参照试剂盒(GoTaq® GreenMaster Mix, Promega 公司,美国)说明书进行。产物在 ABI3730 测序仪上机测序。最后进行结果分析。

#### 1.2.2 EML4-ALK 融合基因检测方法

采用 real-time PCR 分析 EML4-ALK 融合基因突变情况。252 例患者的手术组织首先采用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,具体步骤按试剂盒说明书(SunShineBio™,南京生兴生物有限公司)来操作。提取的总 RNA 经逆转录试剂盒逆转录成单链 cDNA,逆转录步骤按试剂盒说明书来操作。逆转录产物通过 SYBR Green Realtime PCR 试剂进行 PCR。所用引物序列如下:EML4 exon1: Sense 5'-ACTCTGTCG-GTCCGCTGAATGAAG-3', EML4 exon5: Sense 5'-AC-GACCATCACCAGCTGAAAAGTC-3', EML4 exon11: Sense 5'-GGCAGAAGAAAGCAAAAGGAGCAG-3', EML4 exon16: Sense 5'-ATGGAACACAGGCTGGAA-TGGAC-3', EML4 exon13: Sense 5'-GTGCAGTGTT TAGCATT-CTTGGGG-3', ALK exon20: Antisense-1 5'-ATGAGC-TCCAGCAGGATGAACC-3', ALK exon20: Antisense-2 5'-TCTTGCCAGCAAAGCAGTAGTTGG-3'。按照上述实验方法得出阈值和 Ct 值,而后进行熔解曲线数据分析。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析,计数资料以率表示,采用  $\chi^2$  检验评价 EGFR 基因和 EML4-ALK 融合基因突变与潜在影响因素的关系。所有得出的  $P$  值均基于双侧假设检验,以  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 EGFR 基因和 EML4-ALK 融合基因突变特点

252 例 NSCLC 标本中男 149 例,女 103 例;年龄 22~83 岁,中位数 60 岁;有吸烟史 153 例,无吸烟史 99 例;腺癌 214 例,非腺癌 38 例;252 例 NSCLC 标本中检测出 EGFR 突变 98 例,突变率为 38.8%(98/252),其中 19 外显子突变 40 例,21 外显子突变 58 例,未见外显子 19 和外显子 21 的双突变。其中,外显子 19 的突变以 del E746-A750 型为主,有 29 例(29.6%),而 del L747-A750 型突变有 5 例(5.1%),其他突变类型 6 例,del L747-P753 insS 突变类型 2 例(2.0%),del L747-T751 突变类型 2 例

(2.0%), del K745-A750 突变类型 2 例(2.0%);在本组病例中, 58 例外显子 21 的突变类型都是 L858R 型突变(59.2%, 表 1)。而 252 例 NSCLC 标本中检测出 EML4-ALK 融合基因突变 12 例, 突变率为 4.7% (12/252), 均为 EML4 exon13-ALK exon20 (E13-A20)型 V1 突变(100%, 表 1)。在 98 例 EGFR 阳性患者中并没有发现 EML4-ALK 同时阳性的病例, 在 12 例 EML4-ALK 阳性患者中也没有发现 EGFR 同时阳性病例。EGFR 基因和 EML4-ALK 融合基因突变没有发现共存现象。

表 1 EGFR 基因和 EML4-ALK 融合基因突变的特点

Table 1 Characteristics of EGFR gene mutation and EML4-ALK gene mutation

突变基因	突变类型	例数
EGFR 19 外显子	del E746-A750	29
EGFR 19 外显子	del L747-P753 insS	2
EGFR 19 外显子	del L747-A750	5
EGFR 19 外显子	del L747-T751	2
EGFR 19 外显子	del K745-A750	2
EGFR 21 外显子	L858R	58
EML4-ALK	V1	12

## 2.2 EGFR 基因突变与临床特征的相互关系

EGFR 基因突变的患者中, 女性突变率高于男性, 分别为 65%(67/103)及 20.8%(31/149), 差异有统计学意义( $\chi^2=42.611, P < 0.05$ ); 年龄 $>60$  岁和年龄 $\leq 60$  岁突变率分别为 36.8%(52/141) 及 41.4%(46/111), 差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.544, P > 0.05$ )。不吸烟高于吸烟, 突变率分别为 57.5%(57/99) 及 26.7%(41/153), 差异有统计学意义( $\chi^2 = 23.959, P < 0.05$ ); 腺癌高于非腺癌, 突变率分别为 43.9%(94/214)及 10.5%(4/38), 差异有统计学意义( $\chi^2 = 15.147, P < 0.05$ , 表 2)。

## 2.3 EML4-ALK 融合基因突变与临床特征的关系

252 例 NSCLC 中有 12 例 EML4-ALK 阳性, 阳性表达率(4.7%)明显小于 EGFR 表达率(38.8%); 女性突变率高于男性, 分别为 8.7%(9/103)及 2.0%(3/149), 差异有统计学意义( $\chi^2=6.072, P < 0.05$ ); 年龄 $>60$  岁和年龄 $\leq 60$  岁突变率分别为 1.4%(2/141) 及 9.0%(10/111), 差异有统计学意义( $\chi^2=7.890, P < 0.05$ ); 不吸烟突变率高于吸烟, 突变率分别为 8.1%(8/99)及 2.6%(4/153), 差异无统计学意

表 2 EGFR 基因和 EML4-ALK 融合基因突变与临床特征的相互关系

Table 2 Correlation between EGFR, EML4-ALK gene mutation and clinical features cases (%)

相关因素	例数	EGFR 突变			EML4-ALK		
		例数(%)	$\chi^2$ 值	P 值	例数(%)	$\chi^2$ 值	P 值
性别			42.611	$< 0.001$		6.072	0.014
男	149	31(20.8)			3(2.0)		
女	103	67(65.0)			9(8.7)		
年龄			0.544	0.461		7.890	0.005
$>60$ 岁	141	52(36.8)			2(1.4)		
$\leq 60$ 岁	111	46(41.4)			10(9.0)		
吸烟史			23.959	$< 0.001$		2.847	0.092
有	153	41(26.7)			4(2.6)		
无	99	57(57.5)			8(8.1)		
病理类型			15.147	$< 0.001$		0.448	0.503
腺癌	214	94(43.9)			11(5.1)		
非腺癌	38	4(10.5)			1(2.6)		

义( $\chi^2=2.847, P > 0.05$ ); 腺癌高于非腺癌, 突变率分别为 5.1%(94/214)及 2.6%(4/38), 差异无统计学意义( $\chi^2=0.448, P > 0.05$ , 表 2)。

## 3 讨论

有人发现 EGFR 是一种分子量为 170 kDa 的细胞膜受体, 被认为是原癌基因 *CerbB-1* 的表达产物, EGFR 同时也是一种受体型酪氨酸激酶, 在 50%~70% 人类乳腺癌、肺癌和直肠癌中有 EGFR 过度表

达<sup>[10-11]</sup>。EGF 信号通路是 NSCLC 在形成和发展过程中至关重要的通路, 其 EGFR 的激活抑制肿瘤细胞的凋亡, 促进肿瘤细胞的增殖、肿瘤血管的生成和转移<sup>[12]</sup>。表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinases inhibitors, EGFR-TKIs)可选择性地抑制 EGFR 酪氨酸激酶区域的活化, 阻断其下游信号的转导, 在 NSCLC 中疗效较好。目前分子靶向治疗已经成为肺癌治疗的重要手段, 而 EGFR 突变是靶向药物

TKI 治疗效果的重要预测指标之一<sup>[13]</sup>。2004 年, Lynch 等<sup>[13-14]</sup>首次证实 EGFR 通路拮抗剂治疗 NSCLC 效果的差异取决于 EGFR 外显子的突变与否。EGFR 基因的突变 90% 左右集中在 19 号外显子的缺失和 21 号外显子的错义突变<sup>[15]</sup>。19 外显子的突变主要表现为第 746~750 位密码子( $\Delta$ E746-E750)的缺失突变,导致相应的氨基酸序列丢失;另外有报道外显子 19 还存在少见的插入突变,为第 2 212~2 234 位核苷酸插入性突变,导致 6 个相应氨基酸序列插入<sup>[16]</sup>;21 外显子的点突变则为第 858 位密码子(L858R)出现 T-G 转换,从而使该位点的亮氨酸变为精氨酸。这 3 种突变都能够使其受体的酪氨酸激酶 ATP 结合槽(ATP-binding cleft)发生变构,导致其结合 ATP 的能力下降,从而增强肿瘤细胞对 TKIs 的亲力和反应性,成为 TKI 药物奏效的重要靶标<sup>[17]</sup>。大量研究证实,80% 的药物敏感患者均存在这些位点的突变。已有多家报道证实 EGFR-TKI 的疗效与 EGFR 外显子的突变和基因扩增明显相关<sup>[18]</sup>。但是目前在使用 TKIs 过程中还难以克服药物所导致的原发或继发性耐药,所以对于那些不能从 EGFR-TKIs 治疗中获益或者已经发生耐药的人们来说,寻找新的治疗靶向目标成为人们关注的重点。

2007 年 Soda 等<sup>[19]</sup>在 NSCLC 中第一次发现了一种新型的融合基因 EML4-ALK,这个融合基因由棘皮动物微管相关蛋白样-4(echinoderm microtubule-associated protein,EML4)与渐变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase,ALK)两者的部分基因融合而成。EML4-ALK 融合基因由第 2 号染色体断臂插入引起(包括 2p21 和 2p23),由 ALK 基因的 3'端与 EML4 基因的 5'端倒位融合形成<sup>[20]</sup>。EML4-ALK 融合基因是 NSCLC 中的分子靶标之一,而且 EML4-ALK 融合基因无论在体外还是体内的研究中均具有致癌活性<sup>[19,21]</sup>,这种活性能被 ALK 抑制剂有效阻断<sup>[21-22]</sup>,说明 EML4-ALK 融合基因突变在 NSCLC 的发生发展过程中起着关键性的作用。EML4-ALK 抑制剂为 NSCLC 患者的个体化治疗提供了新的选择方案,同时还可以作为不能耐受化疗患者的新型治疗药物<sup>[22]</sup>。在 Sasaki 等<sup>[23]</sup>的综述中显示,在各种突变类型中,最常见的类型为突变体 1 型(E13-A20,V1),检出率高达 33%。而在本文 12 例 EML4-ALK 阳性患者均为 V1 亚型,比文献报道的比例偏高。这可能与 EML4-ALK 融合基因突变率在不同区域的差异有关。

目前,EGFR 及 EML4-ALK 的检测方法有荧光原位杂交技术(FISH)、real-time PCR、免疫组化及 cDNA 末端快速扩增技术等<sup>[24]</sup>。但是仍旧没有灵敏度、特异度和稳定性均高的方法用于 EML4-ALK 的检测<sup>[25]</sup>。据研究报道,real-time PCR 是最敏感、主观性很小的方法<sup>[26]</sup>。本组实验采用了 real-time PCR 技术来检测 EML4-ALK 融合基因的突变情况。

本研究发现,EGFR 突变在女性、不吸烟和腺癌患者中突变率较高,差异有统计学意义,这与其他学者的研究结果一致<sup>[27]</sup>。而 EGFR 突变与年龄无关。张楚等<sup>[28]</sup>报道 EML4-ALK 阳性 NSCLC 多见于女性、年龄较小和不吸烟的患者当中,并且 EML4-ALK 突变多见于腺癌患者。而本研究结果表明 EML4-ALK 阳性 NSCLC 多见于女性和年龄较小患者,与患者吸烟史和病理类型无关。本研究结果显示 EML4-ALK 突变率在非腺癌患者和没有吸烟史患者中高,但差异均无统计学意义,分析其原因可能是样本量偏小,而吸烟患者和腺癌患者样本量所占比例较高有关。EGFR 阳性率明显高于 EML4-ALK 阳性率,这说明在中国的 NSCLC 患者中,EGFR-TKI 是主要的分子靶向治疗药物。EGFR 基因和 EML4-ALK 基因突变患者具有一些相同的临床病理特征,它们均多见于女性患者,这与某些研究报道结果一致<sup>[29]</sup>。另外,本研究未发现 EGFR 基因和 EML4-ALK 基因突变同时存在,这说明 EGFR 基因和 EML4-ALK 基因突变共存是罕见现象。但是也有报道 EGFR 基因和 EML4-ALK 基因突变共存的案例<sup>[30]</sup>。目前认为以上共存突变属于罕见事件。

综上所述,EGFR 基因突变和 EML4-ALK 基因突变与临床病理指标综合评估可以为 NSCLC 的靶向治疗提供更为可靠的依据。在选择使用合适的靶向药物治疗前,合理的生物标志物筛选有助于改善疗效和提高治疗成功率,除此之外还可以避免一些过度治疗和节约医疗成本,同时使疗效达到最优化、毒性最低化。

#### [参考文献]

- [1] Zhou C. Lung cancer molecular epidemiology in China: recent trends[J]. Transl Lung Cancer Res,2014,3(5): 270-279
- [2] Ryu JS,Memon A,Lee SK. ERCC1 and personalized medicine in lung cancer[J]. Ann Transl Med,2014,2(4): 2305-2311
- [3] Tang ER,Schreiner AM,Pua BB. Advances in lung adenocarcinoma classification;a summary of the new inter-

- national multidisciplinary classification system (IASLC/ATS/ERS)[J]. *J Thorac Dis*, 2014, 6 (Suppl 5): S489-S501
- [4] Liang W, Zhang L, Jiang G, et al. Development and validation of a nomogram for predicting survival in patients with resected non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(8): 861-869
- [5] Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(10): 947-957
- [6] 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
- [7] Horn L, Pao W. EML4-ALK: honing in on a new target in non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(26): 4232-4235
- [8] 张会娟, 张晓彤, 张 力. EML4-ALK 融合基因抑制剂耐药机制的研究进展[J]. *中华病理学杂志*, 2012, 41(12): 862-864
- [9] Shaw AT, Yeap BY, Solomon BJ, et al. Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis[J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(11): 1004-1012
- [10] 任学群, 李宜雄, 陈善正, 等. 胰十二指肠切除术后胰瘘的危险因素[J]. *中国普通外科杂志*, 2006, 15(10): 772-776
- [11] Sibia M, Kroismayr R, Lichtenberger BM, et al. The epidermal growth factor receptor: from development to tumorigenesis[J]. *Differentiation*, 2007, 75(9): 770-787
- [12] El-Rayes BF, Lorusso PM. Targeting the epidermal growth factor receptor[J]. *Br J Cancer*, 2004, 91(3): 418-424
- [13] Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy[J]. *Science*, 2004, 304(5676): 1497-1500
- [14] Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib[J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(21): 2129-2139
- [15] 刘 标, 周晓军. 非小细胞肺癌个体化治疗的靶向分子检测[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2012, 28(8): 831-837
- [16] Otto C, Csanadi A, Fisch P, et al. Molecular modeling and description of a newly characterized activating mutation of the EGFR gene in non-small cell lung cancer [J]. *Diagn Pathol*, 2012, 7(1): 146
- [17] Gazdar AF. Activating and resistance mutations of EGFR in non-small-cell lung cancer: Role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors [J]. *Oncogene*, 2009, 28(Suppl 1): S24-S31
- [18] Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(2): 121-128
- [19] 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
- [20] 印永祥, 时姗姗, 马恒辉, 等. 非小细胞肺癌 EML4-ALK 融合基因检测结果的初步分析[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2013, 18(9): 774-778
- [21] Soda M, Takada S, Takeuchi K, et al. A mouse model for EML4-ALK-positive lung cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(50): 19893-19897
- [22] Koivunen JP, Mermel C, Zejnullahu K, et al. EML4-ALK fusion gene and efficacy of an ALK kinase inhibitor in lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(13): 4275-4283
- [23] Sasaki T, Rodig SJ, Chirieac LR, et al. The biology and treatment of EML4-ALK non-small cell lung cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(10): 1773-1780
- [24] 金夏祥, 王旭州, 陈 兰, 等. 非小细胞肺癌 EML4-ALK、EGFR 的检测及临床病理特征的相关性研究[J]. *现代实用医学*, 2014, 26(9): 1067-1069
- [25] 赵 明. EML4-ALK 在非小细胞肺癌中的研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2012, 25(2): 200-203
- [26] Wallander ML, Geiersbach KB, Tripp SR, et al. Comparison of reverse transcription-polymerase chain reaction, immunohistochemistry, and fluorescence in situ hybridization methodologies for detection of echinoderm microtubule-associated proteinlike 4-anaplastic lymphoma kinase fusion-positive non-small cell lung carcinoma implications for optimal clinical testing[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2012, 136(7): 796-803
- [27] 凌云, 邱 田, 李 卓, 等. 非小细胞肺癌中 EGFR 和 KRAS 基因突变的特点及与临床病理特征的关系[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015, 31(5): 536-541
- [28] 张 楚, 王 琳, 赵建华, 等. 13 例 EML4-ALK 融合基因阳性非小细胞肺癌的临床病理分析[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2013, 18(5): 438-441
- [29] 钟 山, 张海萍, 郑 捷, 等. 非小细胞肺癌患者 EML4-ALK 融合基因检测及其与临床病理特征的关系[J]. *中华病理学杂志*, 2013, 42(4): 252-256
- [30] Li Y, Li Y, Yang T, et al. Clinical significance of EML4-ALK fusion gene and association with EGFR and KRAS gene mutations in 208 Chinese patients with non-small cell lung cancer[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e52093