

肿瘤防治研究

Cancer Research on Prevention and Treatment

应用不平衡法检测赣南地区原发性肺腺癌ALK融合突变

钟炜祥, 韦晰凤

引用本文:

钟炜祥, 韦晰凤. 应用不平衡法检测赣南地区原发性肺腺癌ALK融合突变[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(12): 1066–1070.

ZHONG Weixiang, WEI Xifeng. 5' /3' Imbalance Strategy for qRT-PCR to Detect ALK Fusion Mutation in Primary Lung Adenocarcinoma in Gannan Region[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2021, 48(12): 1066–1070.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2021.21.0455>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

非小细胞肺癌患者外周血中WNT7A甲基化检测的诊断价值

Detection of WNT7A Methylation in Peripheral Blood of NSCLC Patients and Its Diagnostic Value

肿瘤防治研究. 2019, 46(12): 1097–1100 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.19.0484>

骨巨细胞瘤术后复发原因分析

Risk Factors of Postoperative Recurrence for Giant Cell Tumor of Bone

肿瘤防治研究. 2019, 46(04): 345–349 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1369>

β 1,3-乙酰葡萄糖胺转移酶3在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义

Expression of β 1,3-N-acetylglucosaminyltransferase-3 in Non-small Cell Lung Cancer and Its Clinical Significance

肿瘤防治研究. 2018, 45(08): 571–575 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.1638>

558例维吾尔族肺癌患者的临床病理特征及预后分析

Clinicopathological Characteristics and Prognosis of Uygur Lung Cancer Patients: A Report of 558 Cases

肿瘤防治研究. 2018, 45(07): 494–499 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.0406>

原发性肺腺癌中Napsin A、TTF1及SPA蛋白的表达及其与EGFR基因突变的相关性

Napsin A, TTF1 and SPA Protein Expressions and Their Correlation with EGFR Gene Mutations in Primary Lung Adenocarcinoma

肿瘤防治研究. 2017, 44(9): 618–621 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0271>



杂志官网



微信公众号

应用不平衡法检测赣南地区原发性肺腺癌 ALK融合突变

钟炜祥¹, 韦晰凤²

5'/3' Imbalance Strategy for qRT-PCR to Detect ALK Fusion Mutation in Primary Lung Adenocarcinoma in Gannan Region

ZHONG Weixiang¹, WEI Xifeng²

1. Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China; 2. Outpatient Department, Ganzhou Maternity and Child Health Hospital, Ganzhou 341000, China

Abstract: Objective To explore the characteristics of ALK fusion gene in patients with primary lung adenocarcinoma in Gannan region, with hopes of scientifically guiding such patients towards selecting targeted drugs. **Methods** 5'/3' imbalance strategy for qRT-PCR was used to detect the expression of ALK fusion gene in 233 cases of primary pulmonary adenocarcinoma and the clinical pathological characteristics were analyzed. **Results** The expression rate of ALK fusion genes was 9.01% (21/233). The expression rate of ALK fusion gene in female and N1-3 patients was significantly higher than that in male and N0 patients ($P < 0.05$); The expression rate of ALK fusion gene in patients with no smoking history, age < 55 years, M1 stage and fresh biopsy specimens was relatively high ($P > 0.05$); The expression of ALK fusion gene was not correlated with TNM stage, T stage, surgical treatment or tumor distribution location ($P > 0.05$). Moreover, in the subgroup analysis of 153 M1-stage cases, no correlation was found between the expression of ALK fusion gene and the metastasis of common sites of lung cancer (bone, brain, opposite lung, pleural dissemination adrenal glands and liver) ($P > 0.05$). **Conclusion** The expression rate of ALK fusion gene in primary lung adenocarcinoma in Gannan region is relatively high, which is common in female patients with lymph node metastasis.

Key words: Non-small cell lung cancer; Anaplastic lymphoma kinase; Fusion gene; 5'/3' imbalance strategy

Funding: The Guidance Science and Technology Project of Ganzhou Health Committee (No. 2020-2-8); The Science and Technology Project of the First Affiliated Hospital of Gannan Medical University (No. YJYB202011)

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

摘要: 目的 探讨赣南地区原发性肺腺癌患者间变淋巴瘤激酶(ALK)融合基因的特点, 科学指导此类患者优选靶向用药。**方法** 采取不平衡法检测233例原发性肺腺癌患者ALK融合基因的表达情况, 回顾性分析其临床病理特征。**结果** 有ALK融合基因表达者21例, 表达率为9.01% (21/233)。女性、N1-3患者ALK融合基因表达率显著高于男性、N0患者 ($P < 0.05$); ALK融合基因在无吸烟史、年龄<55岁、M1期患者以及新鲜活检标本中的表达率相对较高, 但未达统计学意义 ($P > 0.05$); ALK融合基因的表达与TNM分期、T分期、是否手术治疗以及肿瘤分布位置均无相关性 ($P > 0.05$)。此外, 在153例M1期病例亚组分析中, 未发现ALK融合突变与肺癌常见部位(骨、脑、对侧肺、胸膜播散、肾上腺及肝)转移的相关性 ($P > 0.05$)。**结论** 赣南地区原发性肺腺癌中ALK融合基因表达率较高, 好发于女性和有淋巴结转移的患者。

关键词: 非小细胞肺癌; ALK; 融合基因; 不平衡法

中图分类号: R734.2

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

肺癌是目前我国发病率和死亡率最高的恶

性肿瘤, 作为非小细胞肺癌(NSCLC)继表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)基因突变之后被发现的第二大突变基因——棘皮动物微管相关蛋白4-间变淋巴瘤激酶(echinoderm microtubule-associated protein-like 4-anaplastic lymphoma kinase, EML4-ALK)融合基因在NSCLC发生、发展、预后及转归中扮演着重要角色, 尤其是肺腺癌最具有特点的致癌基因。文献^[1-4]报道

收稿日期: 2021-04-19; 修回日期: 2021-08-13

基金项目: 赣州市卫生健康委员会指导性科研计划项目(2020-2-8); 赣南医学院第一附属医院院级科技计划项目(YJYB202011)

作者单位: 1. 341000 赣州, 赣南医学院第一附属医院胸外科; 2. 341000 赣州, 赣州市妇幼保健院门诊部

作者简介: 钟炜祥(1983-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事胸部肿瘤的微创手术和肺癌的分子靶向治疗

不同地区的NSCLC患者中EML4-ALK融合突变存在差异，目前赣南地区尚无ALK融合基因的相关报道。本研究通过不平衡法（即基于3'端和5'端的表达水平不平衡策略的qRT-PCR方法）检测赣南地区原发性肺腺癌组织中ALK融合基因的表达情况，回顾性分析其临床病理特征，旨在探讨赣南地区原发性肺腺癌ALK融合基因的特点，科学指导此类患者优选靶向用药。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取赣南医学院第一附属医院2016年—2020年经病理检查确诊为原发性肺腺癌的病例233例，其中男127例（54.51%），女106例（45.49%），平均年龄（60.3±10.618）岁，中位年龄61岁（34~89岁）；无吸烟史142例（60.94%），有吸烟史91例（39.06%）；临床分期按国际肺癌研究协会第八版国际肺癌TNM分期标准执行：Ⅰ期42例（18.02%）、Ⅱ期17例（7.30%）、Ⅲ期21例（9.01%）、Ⅳ期153例（65.67%）。入组患者分布于赣南地区，均为初治，未接受过化疗、放疗或靶向治疗。

1.2 方法

1.2.1 筛选病例 经外科手术切除或CT引导下经皮肺穿刺活检或电子支气管镜活检组织标本233例，其中石蜡切片组织标本201例，新鲜活检组织标本32例。经赣南医学院第一附属医院科学研究伦理委员会审查批准（编号：LLSC-2021081601）。

1.2.2 标本固定 由医院病理科进行石蜡包埋固定，按至少5 μm厚度切取病理白片15张外送。32例新鲜组织标本离体后储存在RNAfixer组织保存液中固定后外送。经患者知情同意后，233例样本先后外送至浙江鼎晶医学检验所进行ALK融合基因检测。

1.2.3 总RNA提取 采用组织RNA抽提kit（Qiagen）试剂盒提取样本总RNA，紫外分光光度仪测定模板总RNA的浓度（>30 ng/μl）和纯度（OD₂₆₀/OD₂₈₀值为1.8~2.0）。

1.2.4 反转录（reverse transcription, RT）合成cDNA 参照M-MLV反转录试剂盒说明书设置RT程序：25℃ 5 min；42℃ 60 min；75℃ 5 min；4℃ 5 min。

1.2.5 Real-time PCR体系 RT产物通过SYBR Green PCR master mix（Applied Biosystems）试剂进行PCR反应，反应体系中加入荧光物质并采

用ABI 7500 PCR仪检测。PCR程序参照人EML4-ALK融合基因检测试剂盒（real time PCR）使用说明书进行设置：（1）UNG酶反应：50℃ 2 min 1个循环；（2）预变性：95℃ 10 min 1个循环；（3）变性：95℃ 15 s；退火、延伸及检测荧光（荧光通道为FAM）60℃ 32 s，共45个循环；（4）溶解曲线（60℃~95℃按1%的速度递增，此阶段吸收荧光信号）：95℃ 15 s 1个循环；60℃ 1 min 1个循环；95℃ 30 s 1个循环；60℃ 15 s 1个循环。引物序列见表1。

表1 Real-time PCR引物序列

Table 1 Primer sequences of real-time PCR

Gene	Primer sequences (5'→3')	Primer length
EML4-ALK-M		
ALK-21/22F1	GCAAGTGGCTGTGAAGAC	18bp
ALK-22/23R1	GGTGGTTGAATTTGCTGATG	20bp
EML4-ALK-N		
ALK-18F1	AAGGCCACGGGGAAGTG	17bp
ALK-18/19R1	GGGTGGGTGACACAATGC	18bp
GAPDH-Q		
GAPDH-QF	GCCACATCGCTCAGACACC	19bp
GAPDH-QR	GATGGCAACAATATCCACTTTACC	24bp

1.3 统计学方法

本组资料为计数资料，以百分数表示。应用SPSS24.0软件，采用 χ^2 检验或确切概率法进行统计学分析，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ALK融合基因的表达情况

入组233例样本，共检测出21例ALK基因融合，表达率为9.01%，见图1。

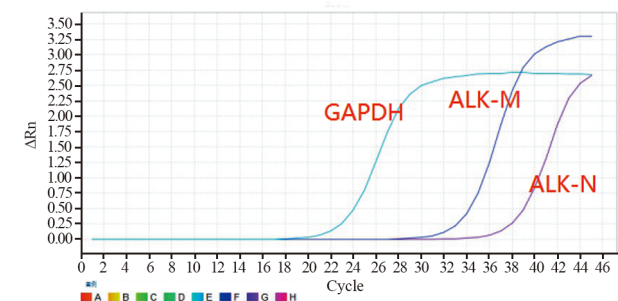


图1 ALK融合突变Real-time PCR图

Figure 1 Real-time PCR pictures of ALK fusion mutation

2.2 ALK融合突变与肺癌患者临床病理特征的关系

女性、N1-3患者ALK融合基因表达率为13.2%（14/106）、12.5%（18/144），均显著高于男性（5.5%）、N0（3.4%）患者，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）；ALK融合基因在新鲜组织标本、年龄

<55岁、无吸烟史以及M1期患者中的表达率相对较高,但未达统计学意义($P>0.05$); ALK融合基因的表达与TNM分期、T分期、是否手术治疗以及肿瘤分布位置均无相关性($P>0.05$),见表2。

表2 赣南地区肺腺癌患者ALK基因融合与临床病理特征的关系

Table 2 Relation between ALK fusion and clinicopathological characteristics of patients with lung adenocarcinoma in Gannan region

Characteristics	<i>n</i>	ALK fusion (rate, %)	χ^2	<i>P</i>
Gender			4.173	0.041
Female	106	14(13.2)		
Male	127	7(5.5)		
N stage			5.590	0.018
N0	89	3(3.4)		
N1-3	144	18(12.5)		
Tissue			3.023	0.082
Paraffin	201	15(7.5)		
Fresh	32	6(18.8)		
Age (years)			1.312	0.252
<55	74	9(12.2)		
≥55	159	12(7.5)		
Smoking history [▲]			2.254	0.133
Yes	91	5(5.5)		
No	142	16(11.3)		
M stage			1.134	0.287
M0	80	5(6.3)		
M1	153	16(10.5)		
Location [▼]			6.270	0.157
RUL	82	3(3.7)		
RML	19	3(15.8)		
RLL	47	6(12.8)		
LUL	48	6(12.5)		
LLL	37	3(8.1)		
TNM stage			3.586	0.283
I	42	1(2.4)		
II	17	1(5.9)		
III	21	3(14.3)		
IV	153	16(10.5)		
T stage			2.153	0.533
T1	89	6(6.7)		
T2	72	8(11.1)		
T3	38	5(13.2)		
T4	34	2(5.9)		
Surgery			0.821	0.365
Yes	64	4(6.3)		
No	169	17(10.1)		

Notes: ▲: Smoking was defined as a cumulative minimum of 100 cigarettes. ▼: RUL: right upper lobe; RML: right middle lobe; RLL: right lower lobe; LUL: left upper lobe; LLL: left lower lobe.

2.3 ALK融合突变与肺癌常见部位转移的关系

在153例M1期病例中,肺癌常见转移部位按发生率大小依次是骨转移、脑转移、对侧肺转移、胸膜播散(恶性胸水、心包积液或胸膜结节)/肾上腺转移以及肝转移,亚组分析均未发现

ALK融合突变与肺癌常见部位转移的相关性(均 $P>0.05$),见表3。

表3 赣南地区153例M1期肺腺癌患者ALK基因融合与肺癌常见部位转移的关系

Table 3 Relation between ALK fusion and metastasis of common sites of lung cancer in 153 M1-stage patients with lung adenocarcinoma in Gannan region

Metastasis	<i>n</i> (%)	ALK fusion(<i>n</i> (%))	χ^2	<i>P</i>
Bone			0.003	0.958
Yes	87(56.86)	9(10.34)		
No	66(43.14)	7(10.61)		
Brain			0.003	0.958
Yes	66(43.14)	7(10.61)		
No	87(56.86)	9(10.34)		
Opposite lung			0.004	0.949
Yes	42(27.45)	5(11.90)		
No	111(72.55)	11(9.91)		
Pleural dissemination			0.000	1.000
Yes	22(14.38)	2(9.09)		
No	131(85.62)	14(10.69)		
Adrenal glands			0.000	1.000
Yes	22(14.38)	2(9.09)		
No	131(85.62)	14(10.69)		
Liver			0.054	0.816
Yes	21(13.73)	3(14.29)		
No	132(86.27)	13(9.85)		

3 讨论

目前肺癌的诊疗已迈入了精准医学时代, EML4-ALK是继EGFR之后第二受关注的基因,也是NSCLC中最常见的ALK融合基因,亦是在NSCLC中第一个发现的融合基因激酶抑制靶点。在EML4-ALK融合基因中, EML4的N端与ALK胞内的络氨酸激酶区发生融合,导致ALK融合基因异常表达,此外融合伴侣EML4可促进融合蛋白的二聚和低聚反应,导致ALK酪氨酸激酶区及下游PI3K/AKT及MAPK等信号通路激活,从而引起细胞异常增殖和分化^[5]。在NSCLC中被发现的ALK融合基因还包括KIF5B-ALK、TFG-ALK、KLC1-ALK等^[6-7]。近年来,针对ALK融合基因的靶向治疗药物发展迅速,克唑替尼^[8]、阿来替尼^[9]、劳拉替尼^[10]等ALK-TKIs的临床使用显著改善了ALK阳性晚期NSCLC患者的生存,对ALK融合突变NSCLC具有类似于EGFR-TKIs的疗效, ALK-TKIs通过竞争性结合于ALK激酶区,阻断ALK下游的信号转导通路,从而达到治疗效果。

本研究入组病例来自赣南地区十八县市区,以客家人居多, ALK融合基因的表达率为9.01%(21/233),高于ALK融合基因的整体表达水平(3%~7%)^[11],提示ALK融合突变可能存在一

定的区域或人种差异。回顾性分析发现, 女性患者ALK融合基因的表达率明显高于男性患者 ($P < 0.05$), 与王惠宇等^[12]研究结果类似, Ke等^[13]研究亦表明ALK融合基因更多见于女性。ALK融合突变的性别差异可能与雌激素相关, 有研究^[14]表明雌激素受体表达增加可能与性别相关的NSCLC发生风险增加有关。同时, 有淋巴结转移(即N1-3)患者ALK融合基因的表达率显著高于无淋巴结转移(即N0)患者, Tian等^[15]回顾性研究亦表明ALK融合突变肺腺癌患者可能有淋巴结转移倾向。

既往研究^[16-18]表明ALK融合突变多见于年轻NSCLC患者, 且ALK融合突变阳性患者的年龄较阴性患者小4~5岁^[19-20]。本研究选取55岁作为年龄界定点进行统计分析, 未发现ALK融合突变在不同年龄组间的显著差异 ($P > 0.05$)。

吸烟作为肺癌最密切的致病因素, Sasaki等^[21]报道非吸烟NSCLC患者具有更高的ALK融合突变风险。本研究结果显示, ALK融合基因在无吸烟史患者中的表达率相对较高, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

目前, 手术大标本和新鲜活检组织标本是肺癌基因检测的理想标本, 肿瘤细胞含量较多, 检出率更高, 结果更为可靠^[22]。本研究比较了新鲜活检组织和石蜡切片组织标本中的ALK融合基因表达水平, 前者相对较高, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 可能与入组病例中新鲜活检组织样本量比例低有关。此外, 赣南地区原发性肺腺癌中ALK融合基因的表达与临床分期、T分期、M分期、是否手术治疗以及肿瘤分布位置均无相关性, 可能与入组病例的筛选、检测方法的选择以及地域、种族差异等因素有关。

ALK融合突变一般与肿瘤的恶性程度相关, 且更易发生淋巴结转移、胸膜转移及脑转移^[23], ALK融合突变患者的预后相对更差。本研究亚组分析未发现ALK融合突变与肺癌常见部位(骨、脑、对侧肺、胸膜播散、肾上腺及肝)转移的相关性 ($P > 0.05$), 可能是由样本量的差异、回顾性研究的偏倚等因素造成的。

本实验采用基于3'端和5'端的表达水平不平衡策略的qRT-PCR方法^[24]检测肿瘤组织中ALK基因在3'端和5'端的表达差异, 分析二者之间的不平衡现象, 进而明确是否存在ALK融合基因。只要存在ALK融合基因, 即无论是已知的ALK融合基因, 还是新的ALK融合基因, 不平衡法就可以检

测到, 而且与肿瘤靶基因高通量测序、FISH等比较, 其检测时间更短, 对仪器设备和人员要求更低, 值得在临床中广泛应用并积极推广。

综上所述, 赣南地区原发性肺腺癌患者ALK融合基因的表达率相对较高, 好发于女性、有淋巴结转移患者。明确赣南地区原发性肺腺癌患者ALK融合基因的临床特点, 科学指导赣南地区NSCLC患者个体化治疗, 为此类患者优选靶向用药提供理论依据, 进而建立赣南地区肺癌靶向治疗模式并推广应用于临床。

(致谢: 感谢鼎晶医学检验所为本研究提供实验部分的支持与帮助!)

参考文献:

- [1] 李秀忠, 赵志军, 郭雅琪, 等. 宁夏地区非小细胞肺癌EML4-ALK融合基因的表达特征分析[J]. 宁夏医学杂志, 2019, 41(11): 970-972. [Li XZ, Zhao ZJ, Guo YQ, *et al.* Analysis of expression characteristics of EML4-ALK fusion gene in non-small cell lung cancer in Ningxia[J]. Ningxia Yi Xue Za Zhi, 2019, 41(11): 970-972.]
- [2] 刘光峨, 杨玲, 李佩洁, 等. 贵州黔北地区922例非小细胞肺癌EGFR、ALK、ROS-1基因突变状态及其临床病理特征分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(21): 1691-1697. [Liu GE, Yang L, Li PJ, *et al.* Analysis of the mutaiton status of EGFR, ALK and ROS-1 genes and their clinicopathological characteristics in 922 cases of non-small cell lung cancer in northern Guizhou province[J]. Zhonghua Zhong Liu Fang Zhi Za Zhi, 2020, 27(21): 1691-1697.]
- [3] 王娟, 苏国苗, 潘国庆, 等. 云南地区非小细胞肺癌EGFR、ALK和ROS1基因突变联合检测[J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(9): 1-6. [Wang J, Su GM, Pan GQ, *et al.* Combined Detections and Analysis to the Genetic Mutation of EGFR, ALK and ROS1 in Non-small Cell Lung Cancer in Yunnan[J]. Kunming Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2020, 41(9): 1-6.]
- [4] 冯征, 文苗苗, 王雪娇, 等. 中国西北地区非小细胞肺癌EGFR、ALK、ROS1基因突变和临床病理特征分析[J]. 临床肿瘤学杂志, 2021, 26(1): 29-33. [Feng Z, Wen MM, Wang XJ, *et al.* Mutation analysis and clinicopathological features of EGFR, ALK, ROS1 in patients with non-small cell lung cancer in northwest of China[J]. Lin Chuang Zhong Liu Xue Za Zhi, 2021, 26(1): 29-33.]
- [5] Golding B, Luu A, Jones R, *et al.* The function and therapeutic targeting of anaplastic lymphoma kinase (ALK) in non-small cell lung cancer(NSCLC)[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 52.
- [6] Su Y, Long X, Song Y, *et al.* Distribution of ALK Fusion Variants and Correlation with Clinical Outcomes in Chinese Patients with Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Crizotinib[J]. Target Oncol, 2019, 14(2): 159-168.
- [7] 祁春艳, 吴涛, 齐晓光. ALK融合基因阳性肺腺癌患者耐药核心基因鉴定及药物靶点分析[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(5):

- 451-456. [Qi CY, Wu T, Qi XG. Identification of Drug-resistance Core Genes and Drug Targets in Lung Adenocarcinoma Patients Harboring ALK Fusion Gene[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu, 2021, 48(5): 451-456.]
- [8] Wu Y, Lu S, Lu Y, *et al.* Results of PROFILE 1029, a Phase III Comparison of First-Line Crizotinib versus Chemotherapy in East Asian Patients with ALK -Positive Advanced Non-Small Cell Lung Cancer[J]. J Thorac Oncol, 2018, 13(10): 1539-1548.
- [9] Zhou C, Kim SW, Reungwetwattana T, *et al.* Alectinib versus crizotinib in untreated Asian patients with anaplastic lymphoma kinase-positive non-small-cell lung cancer (ALESIA): a randomised phase 3 study[J]. Lancet Respir Med, 2019, 7(5): 437-446.
- [10] Shaw AT, Bauer TM, de Marinis F, *et al.* First-Line Lorlatinib or Crizotinib in Advanced ALK-Positive Lung Cancer[J]. N Engl J Med, 2020, 383(21): 2018-2029.
- [11] Solomon B. First-line treatment options for ALK-rearranged lung cancer[J]. Lancet, 2017, 389 (10072): 884-886.
- [12] 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 HY, Xia DD, Wang RJ, *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]. Xian Dai Zhong Liu Yi Xue, 2018, 26(19): 3058-3061.]
- [13] Ke L, Xu M, Jiang X, *et al.* Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Mutations and Anaplastic Lymphoma Kinase/Oncogene or C-Ros Oncogene 1 (ALK/ROS1) Fusions Inflict Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Female Patients Older Than 60 Years of Age[J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 9364-9369.
- [14] 靳科, 詹钦文, 刘星, 等. 非小细胞肺癌雌激素受体表达与性别关系的Meta分析[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(23): 4205-4209. [Jin K, Zhan QW, Liu X, *et al.* Meta analysis of the association between estrogen receptor expression and gender in non-small cell lung cancer[J]. Xian Dai Zhong Liu Yi Xue, 2019, 27(23): 4205-4209.]
- [15] Tian G, Zhao X, Nie J, *et al.* Clinical characteristics associated with non-small-cell lung cancer harboring ALK rearrangements in Chinese patients[J]. Future Oncol, 2016, 12(10): 1243-1249.
- [16] 黄清洁, 陈天东, 陈海瑞, 等. 基于二代测序的300例非小细胞肺癌中驱动基因突变与临床病理特征关系[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(3): 286-290. [Huang QJ, Chen TD, Chen HR, *et al.* Relationship between driver gene mutation and clinicopathological features in 300 cases of non-small cell lung cancer based on next generation sequencing[J]. Lin Chuang Yu Shi Yan Bing Li Xue Za Zhi, 2019, 35(3): 286-290.]
- [17] 贺佳子, 黄清洁, 李莉, 等. 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. [He JZ, Huang QJ, Li L, *et al.* Mutation status of EGFR, KRAS, ALK and BRAF genes and their clinicopathological characteristics in 396 patients with non-small cell lung cancer[J]. Lin Chuang Yu Shi Yan Bing Li Xue Za Zhi, 2020, 40(9): 2252-2258.]
- [18] 王勇, 冯佳, 钱粒, 等. 非小细胞肺癌中ALK阳性病例临床病理特征分析[J]. 交通医学, 2019, 33(6): 568-571. [Wang Y, Feng J, Qian L, *et al.* Analysis of clinicopathological features of ALK positive cases of non-small cell lung cancer[J]. Jiao Tong Yi Xue, 2019, 33(6): 568-571.]
- [19] Wong DW, Lai-Han LE, Kam-Ting SK, *et al.* The EML4-ALK fusion gene is involved in various histologic types of lung cancers from nonsmokers with wild-type EGFR and KRAS[J]. Cancer, 2009, 115(8): 1723-1733.
- [20] Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, *et al.* EML4-ALK Fusion Is Linked to Histological Characteristics in a Subset of Lung Cancers[J]. J Thorac Oncol, 2008, 3(1): 13-17.
- [21] 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.
- [22] 符萌, 冷再君, 李传应, 等. 非小细胞肺癌患者eml4-alk基因检测及eml4-alk阳性患者临床特征分析[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(4): 528-533. [Fu M, Leng ZJ, Li CY, *et al.* Detection of eml4-alk fusion gene and analysis of its clinical features in NSCLC patients with eml4-alk fusion gene[J]. Anhui Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2017, 52(4): 528-533.]
- [23] 高歌, 邓立力. 非小细胞肺癌EGFR、KRAS、ALK基因突变与不同转移器官分布的相关性研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2018, 21(7): 536-542. [Gao G, Deng LL. Association between EGFR, ALK and KRAS Gene Status and Synchronous Distant Organ Metastasis in Non-small Cell Lung Cancer[J]. Zhongguo Fei Ai Za Zhi, 2018, 21(7): 536-542.]
- [24] Tong Y, Zhao Z, Liu B, *et al.* 5'/3' imbalance strategy to detect ALK fusion genes in circulating tumor RNA from patients with non-small cell lung cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 68.

[编辑校对: 安凤]

作者贡献:

钟炜祥: 实验设计、实施及评估, 数据统计分析及文章执笔
韦晰凤: 筛选病例, 收集、整理及汇总病例临床资料及其基因检测结果, 文章审校