

# 肺胃型黏液腺癌具有独特的 临床病理特征

郝晓梦<sup>1</sup>, 于泽源<sup>2</sup>, 张晓芳<sup>1,2</sup>

(1.山东大学齐鲁医院病理科, 山东 济南 250012; 2.山东大学基础医学院病理学系, 山东 济南 250012)

**摘要:**目的 探讨肺胃型黏液腺癌(gastric mucinous adenocarcinoma, GMA)的形态特征、临床病理特点、基因改变及临床预后,为肺黏液腺癌的个体化治疗提供帮助。方法 回顾性分析肺浸润性非黏液腺癌(invasive non-mucinous lung adenocarcinoma, INMA)48例、浸润性黏液腺癌(invasive mucinous adenocarcinoma, IMA)40例的资料,其中 IMA 包括单纯性黏液腺癌(simple invasive mucinous adenocarcinoma, SIMA)30例及黏液-非黏液混合型腺癌(mucinous and non-mucinous mixed adenocarcinoma, MNMA)10例, SIMA 根据形态进一步分为 GMA、柱状细胞型黏液腺癌(columnar cell mucinous adenocarcinoma, CMA)及混合型单纯性黏液腺癌(mixed simple invasive mucinous adenocarcinoma, MSIMA)。收集患者的临床病理资料。对所有石蜡样本行免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检测人黏蛋白 5ac(mucin 5ac, MUC5ac)、人黏蛋白 6(mucin 6, MUC6)、甲状腺转录因子-1(thyroid transcription factor-1, TTF-1)、细胞角蛋白 7(cytokeratin 7, CK7)、细胞角蛋白 5/6(cytokeratin 5/6, CK5/6)等指标,并对所有样本行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)或二代测序(next-generation sequencing, NGS)检测肺癌相关驱动基因。结果 GMA 的肿瘤平均直径显著小于 CMA、MSIMA、MNMA 及 INMA 中的肿瘤平均直径,发病年龄略高于其他类型腺癌,且好发于肺下叶。MUC6 在 GMA 中的阳性率为 92.93%,显著高于在 CMA(8.33%)、MNMA(20.00%)及 INMA(0%)中的阳性率,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );而 TTF-1 和 CK7 在 GMA 中的表达率显著低于在 MNMA 及 INMA 中的表达率( $P$  均  $< 0.001$ )。14 例 GMA 中,10 例伴有 KRAS 基因点突变,比例显著高于 CMA、MNMA 及 INMA。且 MUC6 的表达与 KRAS 基因突变呈显著正相关(Pearson 相关系数 = 0.590)。结论 GMA 直径较小,好发于肺下叶,高表达 MUC6,且 KRAS 基因突变率高,具有独特的病理、临床及分子特点,应作为独立类型。

**关键词:**肺;浸润性黏液腺癌;人黏蛋白 6;甲状腺转录因子-1;KRAS 基因

中图分类号:R365

文献标志码:A

## Gastric mucinous adenocarcinoma of lung has unique clinical and pathological characteristics

HAO Xiaomeng<sup>1</sup>, YU Zeyuan<sup>2</sup>, ZHANG Xiaofang<sup>1,2</sup>

(1. Department of Pathology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China;

2. Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China)

**Abstract: Objective** To investigate the morphological characteristics, clinicopathological features, genetic alterations, and clinical outcomes of gastric mucinous adenocarcinoma (GMA), so as to supply personalized treatment for lung mucinous adenocarcinoma. **Methods** A total of 48 cases of invasive non-mucinous lung adenocarcinoma (INMA) and 40 cases of invasive mucinous adenocarcinoma (IMA) were retrospectively analyzed. The IMA cases included 30 cases of simple invasive mucinous adenocarcinoma (SIMA) and 10 cases of mucinous and non-mucinous mixed adenocarcinoma (MNMA). SIMA was further categorized into GMA, columnar cell mucinous adenocarcinoma (CMA), and mixed simple invasive mucinous adenocarcinoma (MSIMA). The clinicopathological data from the patients were collected. Im-

munohistochemical analysis was performed on all paraffin-embedded samples to detect the expressions of mucin 5ac (MUC5ac), mucin 6 (MUC6), thyroid transcription factor-1 (TTF-1), cytokeratin 7 (CK7), and cytokeratin 5/6 (CK5/6). Additionally, polymerase chain reaction (PCR) or next-generation sequencing (NGS) was conducted to detect lung cancer-related genes. **Results** Compared with CMA, MSIMA, MNMA and INMA, the mean diameter of GMA was significantly smaller and the age of onset was slightly higher. Most of GMA occurred in the lower lobes of the lungs. The positive rate of MUC6 in GMA was 92.93%, which was significantly higher than those in CMA (8.33%), MNMA (20.00%), and INMA (0%), with a statistically significant difference ( $P < 0.001$ ). The expression rates of TTF-1 and CK7 in GMA were significantly lower than those in MNMA and INMA ( $P < 0.001$ ). KRAS gene mutation rate in GMA was higher than that in CMA, MNMA, and INMA. Additionally, MUC6 expression was positively correlated with KRAS gene mutations (Pearson correlation coefficient = 0.590). **Conclusion** GMA is characterized by small tumor size, high occurrence rate in the lower lobe of the lung, high MUC6 expression, and high KRAS gene mutation rate. These unique pathological, clinical, and molecular features suggest that GMA should be considered a distinct subtype.

**Key words:** Lung; Invasive mucinous adenocarcinoma; Human mucin 6; Thyroid transcription factor-1; KRAS gene

近年来,肺癌已成为我国发病率及死亡率占第一位的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。其中,腺癌超过鳞状细胞癌,成为肺恶性肿瘤的最常见类型。浸润性黏液腺癌(invasive mucinous adenocarcinoma, IMA)是肺腺癌的少见类型,仅占肺腺癌的3%~10%<sup>[2-4]</sup>,但其临床表现多样,可表现为单发的实性或囊实性包块、多灶生长的结节或类似大叶性肺炎的实变,甚至有些仅表现为支气管内大量渗出液<sup>[5-6]</sup>。IMA又分为单纯性黏液腺癌(simple invasive mucinous adenocarcinoma, SIMA)及黏液-非黏液混合型腺癌(mucinous and non-mucinous mixed adenocarcinoma, MNMA)。前者的特点为细胞浆内富含黏液,形态似胃小凹上皮(含有杯状细胞)或柱状上皮,且富含黏液的细胞超过10%。IMA可表达多种黏蛋白(mucin, MUC),如MUC1、MUC4、MUC5ac、MUC2和MUC6<sup>[7]</sup>;可伴有多种基因改变,如KRAS、EGFR、NRAS、BRAF等,其中KRAS点突变为最主要的基因改变,约占60%<sup>[5,8]</sup>。

既往研究普遍认为IMA预后较差,但近年研究显示不同的结论<sup>[9-10]</sup>。与浸润性肺黏液腺癌相比,IMA具有较低的淋巴结转移率和较高的肺内复发率,尽管与肺浸润性非黏液腺癌(invasive non-mucinous lung adenocarcinoma, INMA)相比,其总生存率并无显著差异,但在肺内复发的患者中,IMA的预后显著低于INMA<sup>[11]</sup>。

2020版世界卫生组织肺肿瘤分类指出,SIMA主要由两种形态的细胞构成:一种胞浆透亮,细胞核位于基底部,核浆比例极小,似宫颈微偏腺癌;另一种细胞呈高柱状,胞浆红染,细胞核常位于细胞中央,似胃小凹上皮<sup>[2]</sup>。但因SIMA发病率较低,世界卫生组织未对两种形态的SIMA在临床表现、遗传

学改变及预后等方面进行深入探讨。文献研究,宫颈微偏腺癌分化极好,但预后极差,该腺癌常高表达MUC6,可伴有KRAS、STK11等基因突变<sup>[12-14]</sup>。但关于肺胃型黏液腺癌(gastric mucinous adenocarcinoma, GMA)的遗传学改变及临床表现的研究结果不尽相同。部分学者将含有第一种细胞超过90%者称为GMA。Kishikawa等<sup>[7]</sup>的研究显示,MUC6弥漫强阳性的GMA常预后较好,且常表现为KRAS野生型,应将其单独分类。但亦有研究显示,伴有吸烟史的该类腺癌患者预后较其他类型差<sup>[15]</sup>。目前尚未检索到国内对GMA的研究,本研究拟探讨其临床病理特点、基因改变及临床预后,以期为我国肺黏液腺癌的个体化治疗提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

本研究回顾性分析了山东大学齐鲁医院2017年1月至2022年12月行手术治疗的肺浸润性腺癌标本的临床资料及病理资料。患者纳入标准:①手术完整切除;②分子检测结果明确(至少含有肺癌十基因检测,即EGFR、KRAS、BRAF、ALK、ROS1、NRAS、RET、PIK3CA、HER2、Met)。排除标准:①原位腺癌、微浸润腺癌;②术前行新辅助治疗。所有标本均经两位病理医师根据《世界卫生组织胸部肿瘤分类》第5版<sup>[2]</sup>进行复阅并分类。共纳入INMA 48例及IMA 40例。本研究经山东大学基础医学院伦理委员会批准(ECSBMSSDU2023-1-95)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 SIMA的分型

根据组织学形态,SIMA主要由两种细胞构成:

一种细胞胞浆透亮,细胞核位于基底部,核浆比例极小,似幽门腺上皮;另一种细胞呈高柱状,胞浆红染,细胞核常位于细胞中央,似胃小凹上皮。将前者超过90%者称为GMA,后者超过90%者称为柱状细胞型黏液腺癌(columnar cell mucinous adenocarcinoma, CMA),其余为混合型单纯性黏液腺癌(mixed simple invasive mucinous adenocarcinoma, MSIMA)。

### 1.2.2 数据收集及随访

通过新版电子病历系统和医院信息系统(hospital information system, HIS)查询患者临床信息,收集患者的社会人口学信息,通过病理报告系统查询临床病理信息,包括年龄、性别、吸烟史、TNM分期、淋巴结转移、远处转移、胸膜侵犯、脉管内癌栓、气道内播散等。随访资料由专人通过医院HIS系统或者经电话获得,包括术后治疗情况、是否复发、转移及复发情况、转移时间、是否死亡及死亡时间等。

### 1.2.3 DNA提取

所有病例均为福尔马林固定石蜡包埋(formalin-fixed paraffin embedded, FFPE)样本,使用FFPE DNA/RNA试剂盒(AmoyDx Diagnostics, 中国厦门),对DNA和RNA进行共提取,简单步骤如下:刮取3~8片5 $\mu$ m厚FFPE样本,置于1.5 mL离心管中,依次加入二甲苯、无水乙醇等进行脱蜡处理。按照提取说明书操作,进行DNA和RNA共提取。并使用紫外分光光度计检测DNA和RNA的浓度,评价样本质量。

### 1.2.4 PCR反应

88例肺浸润性腺癌标本中,76例应用肺癌多基因检测试剂盒(厦门艾德生物医药科技股份有限公司,货号8.01 0193)在SLAN-96S Real Time PCR系统中进行检测,包括EGFR、KRAS、BRAF、ALK、ROS1、NRAS、RET、PIK3CA、HER2、Met,其中EGFR包括EGFR L858R、Exon19-del、Exon20-ins、Exon20 T790M/S768I、Exon21 L861Q、Exon18 G719X, KRAS包括Exon2 G12D/S、G12A/V/R/C、G13C, BRAF包括Exon15 V600E/K/R/D, NRAS包括Exon3 Q61R/K/R/D。通过在融合位点两侧设计特异性引物和荧光探针,采用RT-PCR一步法对样本RNA进行ROS1、RET及ALK基因融合检测。通过ADx-ARMS技术,对样本DNA中基因突变进行检测。简单步骤如下:将待测样本DNA 42.3  $\mu$ L和RNA 45  $\mu$ L分别加入各自的LMG混合酶,涡旋混匀后,分别取5  $\mu$ L DNA混合液和10  $\mu$ L RNA混合液加入对应的LMG12联PCR反应条的Ep管中。

除待测样本外,实验均设有阳性对照和阴性对照。实时荧光PCR反应条件分为:第一阶段,预变性42 $^{\circ}$ C 5 min, 95 $^{\circ}$ C 5 min, 1个循环;第二阶段,95 $^{\circ}$ C 25 s, 60 $^{\circ}$ C 20 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 10个循环;第三阶段,93 $^{\circ}$ C 25 s, 60 $^{\circ}$ C 35 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 36个循环;第四阶段,60 $^{\circ}$ C时收集FAM和HEX信号。

### 1.2.5 NGS检测

88例肺浸润性腺癌标本中,12例样本采用南京世和医疗器械有限公司EGFR/ALK/ROS1/BRAF/KRAS/HER2基因突变检测试剂盒(可逆末端终止测序法)行二代测序(next-generation sequencing, NGS)检测,简要步骤如下:提取的核酸通过DNA打断、末端修复加A、加接头、PCR扩增构建文库,按照试剂盒说明书进行杂交富集,磁珠捕获建立文库,目标富集文库在NextSeq 550DX测序仪(Illumina 因美纳)进行双端2 $\times$ 150bp测序。测序结果经非小细胞肺癌基因突变分析软件(南京世和医疗器械有限公司)进行分析,简要步骤如下:测序所得原始数据bcl由bcl2fastq(v2.19)拆分为fastq格式,通过Trimmomatic去除低质量数据(质量值<15)和N碱基,然后通过BWA将数据比对到hg19人类参考基因组。最后通过分析软件进一步获取点突变、插入缺失突变、基因拷贝数变化和融合等全面的基因突变信息。

### 1.2.6 采用免疫组织化学法检测相关蛋白

所有病例均经免疫组织化学法检测甲状腺转录因子-1(thyroid transcription factor-1, TTF-1)、细胞角蛋白(cytokeratin 7, CK7)、细胞角蛋白5/6(cytokeratin 5/6, CK5/6)、MUC5ac、MUC6等蛋白,所有抗体一抗均购自美国Roche诊断产品公司,二抗试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司(通用二步法检测试剂盒PV9000)。简单步骤如下:4 $\mu$ m石蜡切片在烤箱(55 $^{\circ}$ C~60 $^{\circ}$ C)中烤片2 h后,脱蜡至水。将切片放入pH=8.0 EDTA抗原修复液煮沸后冷却至室温,PBS冲洗,3 min/次,3次;内源性过氧化物酶阻断剂室温避光孵育10 min, PBS冲洗,3 min/次,3次;山羊血清室温封闭10 min后滴加相应一抗,4 $^{\circ}$ C孵育过夜;37 $^{\circ}$ C复温30 min, PBS冲洗,3 min/次,3次;滴加反应增强液,37 $^{\circ}$ C孵育20 min, PBS冲洗,3 min/次,3次;滴加增强酶标山羊抗小鼠/兔IgG聚合物,37 $^{\circ}$ C孵育20 min, PBS冲洗,3 min/次,3次;DAB显色液室温孵育5 min, 苏木精复染2 min, 脱水、透明、封片。结果判读标准如下:TTF-1 $\geq$ 10%的肿瘤细胞细胞核内出现棕黄色颗粒判断为阳性,CK7、MUC5ac、MUC6均为 $\geq$ 10%

细胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性,CK5/6为>1%的肿瘤细胞细胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性<sup>[7]</sup>。

### 1.3 统计学处理

采用 IBM SPSS Statistics 22.0 软件进行数据分析。定性数据采用卡方检验或 Fisher 精确检验,定量数据采用单因素方差分析(ANOVA)。相关性分析采用 Pearson 相关系数( $R$ )。生存分析采用 Kaplan-Meier 分析,并绘制生存曲线。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 纳入患者的基本信息

40 例 IMA 中,30 例为 SIMA(黏液腺癌成分>90%),10 例为 MNMA(黏液腺癌成分占 10%~90%)。30 例 SIMA 中,14 例(46.67%)为 GMA,12 例(40.00%)为 CMA,4 例(13.33%)为 MSIMA。

88 例肺浸润性腺癌中,男 40 例,女 48 例,36~80 岁,中位年龄 57.5 岁;肿瘤直径为 0.30~8.00 cm,平均直径为(2.78±1.59)cm。临床分期 I~II 期 58 例,III~IV 期 30 例。GMA 与其他各组腺癌在发病年龄、性别、吸烟史、临床分期、胸膜侵犯、脉管内癌栓、淋巴结转移、远处转移等方面差异均无统计学意义。但 50% 的 GMA 首诊年龄超过 65 岁,而其他类

型腺癌发病年龄超过 65 岁者分别为 16.67%、0%、10.00% 和 31.25%,GMA 发病年龄较其他类型腺癌略高,但差异无统计学意义。14 例 GMA 中有 9 例位于肺下叶(64.29%),12 例 CMA 中有 8 例位于肺下叶(66.67%),INMA 多位于肺上叶(58.33%),MNMA 中有 6 例位于肺上叶(60.00%),尽管总体无统计学意义,但 GMA、CMA 与其他类型腺癌相比,差异有统计学意义( $P = 0.020$ )。此外,GMA、CMA、MSIMA、MNMA 和 INMA 的肿瘤平均直径分别为(1.61±0.53)、(3.45±2.16)、(3.98±2.90)、(3.50±2.81)和(2.70±1.26)cm,GMA 的肿瘤平均直径显著低于其他类型腺癌( $P = 0.005$ )。肿瘤随访时间为 14~72 个月,平均为(33.24±12.88)个月。其中无进展生存期(progression-free-survival, PFS)最短为 6 个月,各类型腺癌 PFS 及总生存期(overall survival, OS)差异均无统计学意义。具体临床病理指标见表 1。

14 例 GMA 中,7 例(50.00%)呈多灶跳跃式生长;4 例 MSIMA 中,1 例(25.00%)为多灶跳跃式生长;12 例 CMA 中,无多灶跳跃式生长,GMA 中多灶跳跃式生长的比率最高,差异有统计学意义( $P = 0.016$ )。18 例 GMA 及 MSIMA 中未查见脉管内癌栓,而 12 例 CMA 中有 3 例查见脉管内癌栓,差异有统计学意义( $P = 0.025$ )。

表 1 各类型腺癌临床病理特征

Table 1 Clinicopathological features of adenocarcinoma with different types

临床病理特点	总例数 ( $n = 88$ )	IMA( $n = 40$ )				INMA ( $n = 48$ )	$P$
		GMA ( $n = 14$ )	CMA ( $n = 12$ )	MSIMA ( $n = 4$ )	MNMA ( $n = 10$ )		
年龄/岁							0.156
≤65	64	7	10	4	9	33	
>65	24	7	2	0	1	15	
性别							0.327
男	40	4	5	1	7	22	
女	48	10	7	3	3	26	
吸烟							0.363
无	66	11	10	3	5	38	
有	22	3	2	1	5	10	
TNM 分期							0.152
I-II 期	58	13	8	3	6	28	
III~IV 期	30	1	4	1	4	20	
淋巴结转移							0.282
是	20	1	2	0	4	13	
否	68	13	10	4	6	35	
应用靶向药 <sup>a</sup>							0.165
是	25	1	3	0	2	19	
否	57	13	9	4	7	24	
复发							0.866
是	20	2	2	0	2	14	
否	60	12	8	4	7	29	
失访	8	0	2	0	1	5	

续表

临床病理特点	总例数 (n=88)	IMA (n=40)				INMA (n=48)	P
		GMA (n=14)	CMA (n=12)	MSIMA (n=4)	MNMA (n=10)		
死亡							0.288
是	5	0	0	0	0	5	
否	75	14	10	4	9	38	
失访	8	0	2	0	1	5	
胸膜侵犯							0.337
未侵犯	63	13	7	3	9	31	
侵犯	20	1	5	1	1	12	
侵透	5	0	0	0	0	5	
脉管内癌栓							0.198
是	13	0	3	0	3	8	
否	75	14	9	4	7	40	
气道内播散							0.059
是	27	2	4	1	7	13	
否	61	12	8	3	3	35	
远处转移 <sup>a</sup>							0.515
是	16	1	1	0	2	12	
否	67	13	9	4	8	33	
肺叶部位							0.378
上叶	44	5	4	0	6	28	
下叶	40	9	8	4	4	16	
中叶	4	0	0	0	0	4	

<sup>a</sup> 有删失病例。

## 2.2 GMA 的形态学特点及免疫组化表达

GMA 中超过 90% 的细胞形态似胃幽门腺上皮 (含有杯状细胞), 细胞排列呈单层柱状, 细胞核小, 圆形或略不规则, 位于细胞基底, 核浆比例极低, 细

胞核上方含有大量黏液空泡 (图 1); CMA 中超过 90% 的细胞呈柱状, 胞浆嗜酸, 细胞核可位于中央或基底, 核浆比例较前者大, 核膜清晰, 可见小核仁 (图 2)。MSIMA 则含有两种细胞成分。

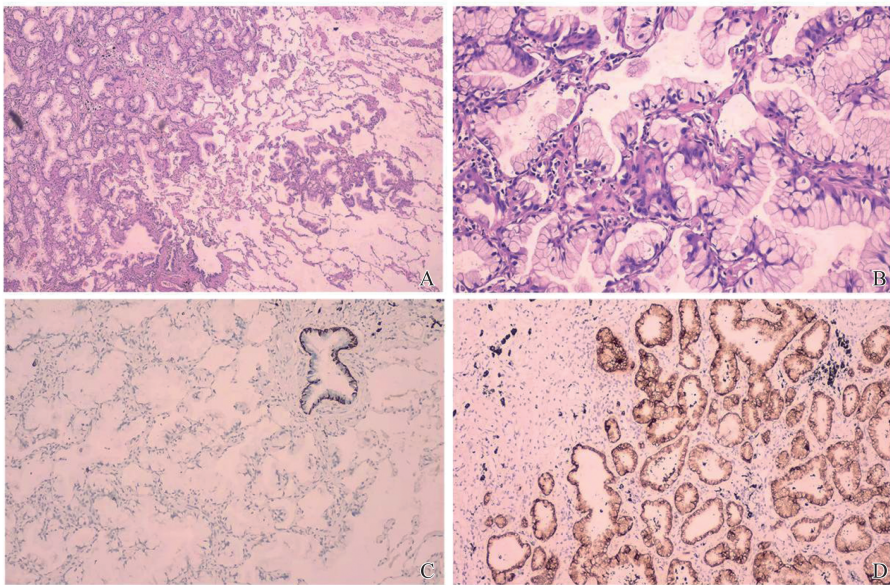


图 1 GMA 的病理形态学特点及免疫组织化学表达

A: GMA 病理图片 (H&E 染色, 40 $\times$ ); B: GMA 病理图片 (H&E 染色, 200 $\times$ ); C: GMA 免疫组织化学显示 CK5/6 阴性 (100 $\times$ ); D: GMA 免疫组织化学显示 MUC6 阳性 (100 $\times$ )。

Figure 1 Pathologic features and immunohistochemical expression of GMA

A: Pathological image of GMA (H&E staining,  $\times 40$ ); B: Pathological image of GMA (H&E staining,  $\times 200$ ); C: Immunohistochemistry of GMA showed negative CK5/6 expression ( $\times 100$ ); D: Immunohistochemistry of GMA showed positive MUC6 expression ( $\times 100$ ).

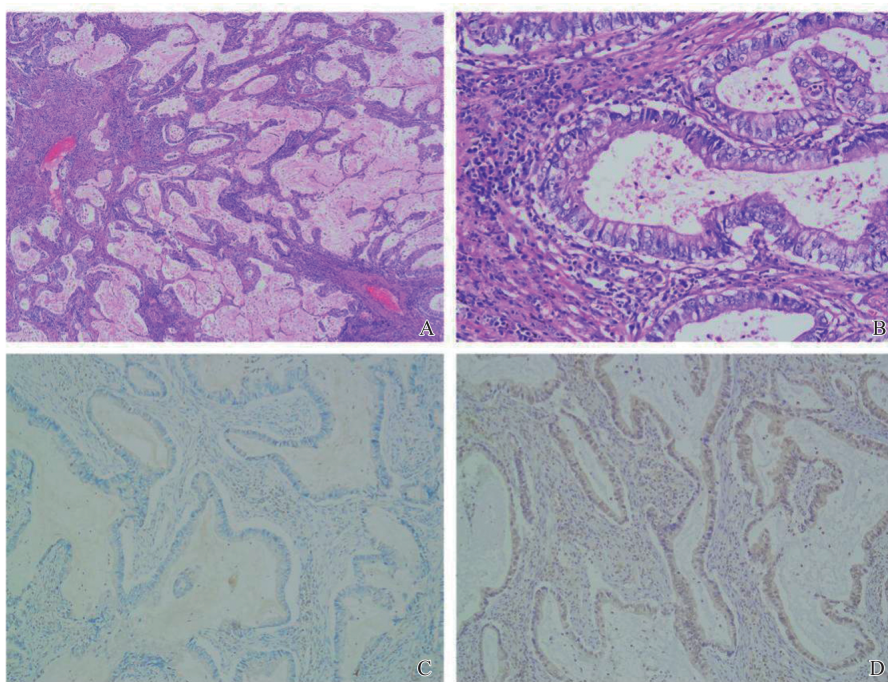


图2 CMA病理形态学特点及免疫组织化学表达

A: CMA的病理图片(H&E染色, ×40); B: CMA的病理图片(H&E染色, ×200); C: CMA免疫组织化学显示CK5/6阴性(×100); D: CMA免疫组织化学显示MUC6阳性(×100)。

Figure 2 Pathologic features and immunohistochemical expression of CMA

A: Pathological image of CMA (H&E staining, ×40); B: Pathological image of CMA (H&E staining, ×200); C: Immunohistochemistry of CMA showed negative CK5/6 expression (×100); D: Immunohistochemistry of CMA showed positive MUC6 expression (×100)。

GMA、CMA及MSIMA中CK5/6均为阴性(图1、2), MNMA和INMA中各有1例CK5/6呈弱阳性, 表明所有样本均为浸润性腺癌。而MUC5ac在GMA(92.93%)、CMA(75.00%)、MSIMA(100%)及MNMA(90.00%)中阳性率显著高于INMA(41.67%), 差异有统计学意义( $P < 0.001$ ); 而MUC6在GMA及MSIMA中阳性率分别为92.93%及100%, 显著高于CMA(8.33%)、MNMA(20.00%)及INMA(0%), 差异有统计学意义( $P < 0.001$ ), 见图1、2、3。

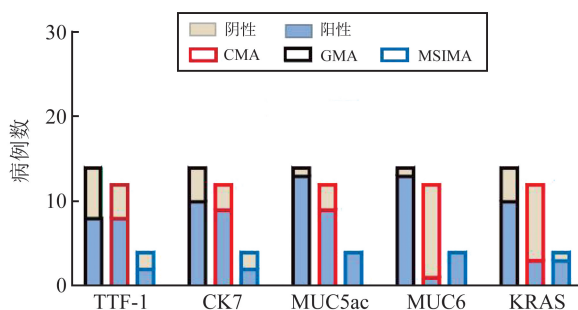


图3 不同亚型SIMA中MUC6蛋白表达情况及KRAS基因突变情况

Figure 3 Expression of MUC6 protein and KRAS gene mutation in different SIMA subtypes

而TTF-1与CK7在GMA(57.14%、71.43%)、

CMA(66.67%、75.00%)、MSIMA(50.00%、50.00%)中表达率均显著低于MNMA(90.00%、100%)及INMA(97.92%、100%), 差异有统计学意义( $P$ 均 $< 0.001$ ), 见图3。进一步分析显示, 胃型或含有胃型成分的黏液腺癌与MUC6的表达密切相关(Pearson相关系数=0.861)。但MUC6的表达不影响肿瘤的PFS和OS, 见图4。

### 2.3 驱动基因检测结果

30例SIMA中, 4例(13.33%)伴有EGFR基因突变, 16例(53.33%)伴有KRAS基因突变, 2例(6.67%)检测到ALK基因融合, 1例伴有NRAS点突变, 1例伴有TP53、FGFR3基因突变, 6例(20.00%)未检测到上述基因改变。KRAS基因突变的病例中, 8例(26.67%)伴有KRAS G12D/S突变, 8例(26.67%)伴有KRAS其他位点的突变, 见图5。10例MNMA中, 3例(30.00%)伴有EGFR点突变, 2例(20.00%)伴有KRAS点突变, 3例(30.00%)为ALK基因融合, 2例未检测出上述基因改变。48例INMA中, 28例(58.33%)伴有EGFR基因突变, 4例(8.33%)伴有KRAS基因突变, 3例(6.25%)检测ALK基因融合, 2例伴有ROS1基因融合, 1例伴有MET基因点突变, 1例伴有BRAF

突变,9例(18.75%)未检测明确基因改变,见图5。SIMA中KRAS突变率最高(53.33%),而INMA中EGFR突变率最高(58.33%),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。进一步分析KRAS突变与各临床病理指标的关系,显示KRAS突变型淋巴结转移率为4.50%,显著低于KRAS野生型(28.80%),差异有统计学意义( $P=0.037$ );KRAS突变型远处转移率低于KRAS野生型(4.55% vs 24.59%),但差异无统

计学意义( $P=0.057$ )。KRAS与其他各临床病理指标及预后无关。

对SIMA各亚型进一步分析发现,14例GMA中的10例(71.43%)伴有KRAS基因突变,4例MSIMA中的3例(75.00%)伴有KRAS基因突变,而12例CMA中仅3例(25.00%)伴有KRAS基因突变,前两者显著高于后者,差异有统计学意义( $P=0.046$ )。

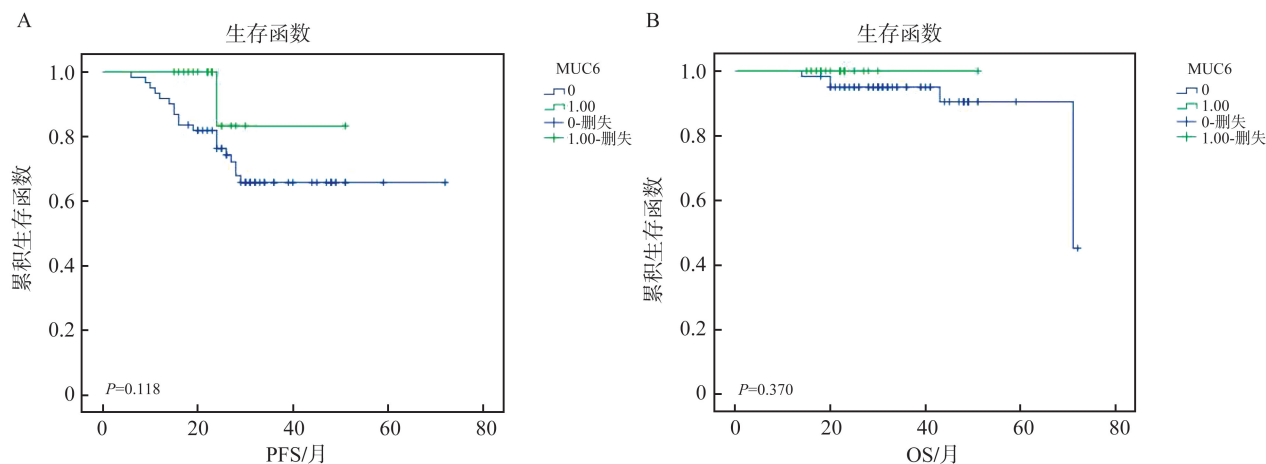


图4 肺浸润性腺癌中MUC6表达与PFS(A)及OS(B)的关系

Figure 4 Relationship between MUC6 expression and PFS (A) and OS (B) in invasive adenocarcinoma

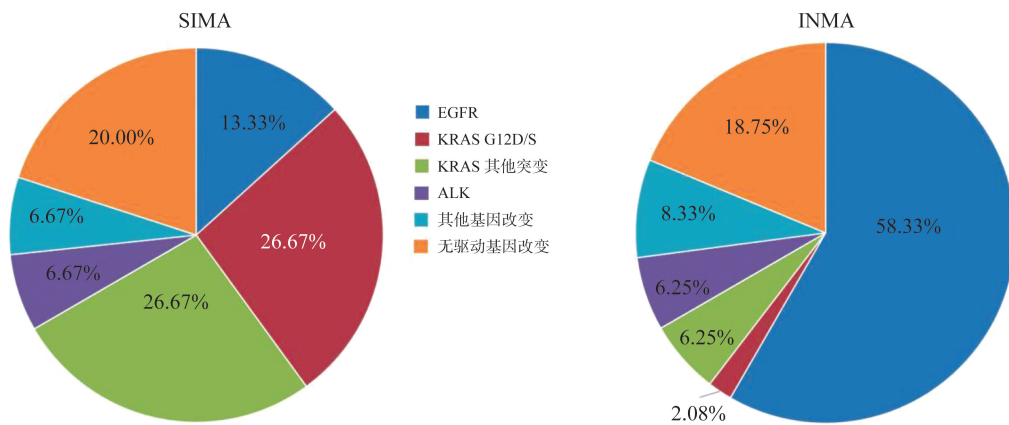


图5 SIMA及INMA驱动基因改变情况

Figure 5 Driver gene changes in SIMA and INMA

进一步分析MUC6与KRAS突变的关系,结果显示两者呈正相关,Pearson相关系数为0.590。MUC6与KRAS双阳性与其他类型在各临床病理指标(如发病年龄、肿瘤直径、临床分期、淋巴结转移、脉管内癌栓、胸膜侵犯、气道内播散等)方面,差异均无统计学意义。MUC6与KRAS双阳性的PFS及OS与其他类型差异无统计学意义。尽管14例MUC6与KRAS双阳性病例中有6例呈多灶生长,而其他类型病例中仅2例呈多灶生长,但差异无统计学意义( $P=0.061$ )。

### 3 讨论

第五版WHO胸部肿瘤分类中,有3类肺浸润性腺癌含有黏液,即IMA、胶样腺癌和肠型腺癌。尽管IMA是肺浸润性腺癌的一种独立类型,但其仍具有一定的异质性<sup>[16]</sup>。本研究将SIMA根据形态进一步分为3类,即GMA、CMA和MSIMA,并从临床表现、病理形态、遗传学特点及蛋白表达等方面分析了各组的差异。

本研究结果显示,GMA与其他类型腺癌在发病年龄、性别、吸烟史、临床分期、胸膜侵犯、脉管内癌栓、淋巴结转移、远处转移等方面差异均无统计学意义。GMA发病年龄较其他类型腺癌略高,但差异无统计学意义。GMA肿瘤平均直径明显低于其他类型腺癌。

本研究分析了各类型腺癌的发病部位,14例GMA中的9例位于肺下叶,12例CMA中的8例位于肺下叶,而INMA多位于肺上叶,与Kim等<sup>[17]</sup>的研究结果一致。既往文献报道,黏液腺癌比非黏液腺癌预后差<sup>[18-19]</sup>,但近年研究显示,二者的预后并无显著差异<sup>[11,15]</sup>。本研究显示,GMA与其他类型腺癌在PFS和OS方面无明显差异,但本研究存在随访时间较短、部分类型例数较少等情况,可能会影响研究结果。

MUC是高度糖基化的一种大分子蛋白,可在多种上皮和器官中表达,如胃肠道、宫颈等<sup>[20-21]</sup>。呼吸道中,MUC可保护呼吸道上皮免受外来粉尘、病原体、化学物质等的侵害。MUC可分为两种,一种为膜蛋白,一种为分泌蛋白。其中MUC1为膜蛋白,而MUC2、MUC4、MUC5ac和MUC6为分泌蛋白,且某些MUC表达与肺腺癌预后不良相关<sup>[22-23]</sup>。本研究结果显示,MUC5ac在各组黏液腺癌中阳性率显著高于INMA,差异有统计学意义;而MUC6在GMA及MSIMA中显著高于CMA、MNMA及INMA,差异有统计学意义。MUC6的表达与胃型或者含有胃型成分的黏液腺癌密切相关,但与其他临床病理指标及PFS、OS并无显著相关性。

肺腺癌常伴有EGFR、KRAS、ALK、ROS1、BRAF等驱动基因的改变,且不同类型的肺腺癌常伴有不同的驱动基因改变<sup>[24-26]</sup>。本研究通过PCR及NGS,分别检测了48例INMA、10例MNMA及30例SIMA,结果显示INMA中EGFR基因突变最高(58.33%),而MNMA、SIMA中KRAS基因突变最高(53.33%),与文献报道一致<sup>[11,27]</sup>。KRAS基因为RAS基因家族的最常见成员之一,KRAS点突变可促进肿瘤增殖、参与肿瘤细胞与微环境的调控<sup>[28]</sup>。部分研究显示,非小细胞肺癌人群中,其点突变与吸烟显著相关<sup>[29]</sup>。本研究分析了KRAS突变与各临床病理指标的关系,结果显示KRAS突变型淋巴结转移率低于KRAS野生型,差异有统计学意义;KRAS突变型远处转移率低于KRAS野生型,但差异无统计学意义。KRAS与其他各临床病理指标及预后无关。而既往报道显示,KRAS基因突变与预后较差相关,但也有文献显示,KRAS基因突变

或野生型预后差别不大<sup>[27,30]</sup>。本研究结果显示,KRAS基因突变与预后无明显相关,可能与随访时间较短有关。此外本研究进一步将G12D及G12S分为一组,其余KRAS突变者分为一组,结果显示,SIMA中8例伴有KRAS G12D/S突变(26.67%),8例伴有KRAS其他位点的突变(26.67%),且差异无统计学意义。而部分文献报道,超过95%的KRAS基因突变位于12号和13号外显子,以G12C最常见,约占KRAS基因突变的39%,其次为G12V、G12D<sup>[30-31]</sup>,这可能与检测方法有关。本研究显示,IMA中除KRAS基因突变外,ALK基因融合为第二位的基因突变;而Chang等<sup>[32]</sup>的研究显示,KRAS基因突变的发生率最高,其次为NRG1融合(7.00%)及ERBB2基因改变(6.00%)。

本研究进一步分析了MUC6表达与KRAS基因突变的关系,结果显示MUC6与KRAS基因突变呈正相关,Pearson相关系数为0.590。而Goto等<sup>[14]</sup>的研究显示,MUC6弥漫表达与KRAS野生型密切相关,与本研究结果相反,可能与人种差异有关。MUC6与KRAS双阳性与其他各类型相比,在各临床病理指标(如发病年龄、肿瘤直径、临床分期、淋巴结转移、脉管内癌栓、胸膜侵犯、气道内播散及预后等)等方面均无明显差异。尽管14例MUC6与KRAS双阳性病例中有6例呈多灶生长,而其他类型中仅2例呈多灶生长,但差异无统计学意义。

本研究结果显示,与其他黏液腺癌及浸润性非黏液腺癌相比,GMA具有以下特点:①肿瘤直径较小;②多发生于肺下叶;③细胞排列呈单层柱状,细胞核小,圆形或略不规则,位于细胞基底,核浆比例极低,细胞核上方含有大量黏液空泡,似幽门腺上皮;④多灶跳跃式生长常见;⑤高表达MUC6;⑥KRAS基因突变率较高。综上所述,本研究将胃型黏液腺癌作为一种独立的肺腺癌,且在该型腺癌中,MUC6表达与KRAS基因突变密切相关。由于GMA大多为早期,因此不需进一步治疗,手术切除即可。少数GMA为Ⅲ期和Ⅳ期,目前治疗KRAS点突变的靶向药主要针对KRAS G12C,但其抑制效果欠佳<sup>[33-35]</sup>。尽管本研究显示了GMA具有独特的临床病理及遗传特点,但尚存在以下缺点:①样本数量较少;②随访时间较短;③部分KRAS突变位点检测未能将G12C单独检测。

## 参考文献:

[1] 孟健丽,王庆港. 生物信息学方法探讨VPS72在肺腺/

- 鳞癌中的表达及潜在作用机制[J]. 山东大学学报(医学版), 2023, 61(8): 40-49.
- MENG Jianli, WANG Qinggang. Expression and potential mechanism of VPS72 in lung adenocarcinoma/squamous cell carcinoma by integrated bioinformatics analysis[J]. Journal of Shandong University(Health Sciences), 2023, 61(8): 40-49.
- [2] WHO Classifications of Tumours Editorial Board. Thoracic tumours[M]. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2021.
- [3] Chang WC, Zhang YZ, Nicholson AG. Pulmonary invasive mucinous adenocarcinoma [J]. Histopathology, 2024, 84(1): 18-31.
- [4] Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, et al. Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma: prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases [J]. Mod Pathol, 2011, 24(5): 653-664.
- [5] Chang JC, Offin M, Falcon C, et al. Comprehensive molecular and clinicopathologic analysis of 200 pulmonary invasive mucinous adenocarcinomas identifies distinct characteristics of molecular subtypes [J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(14): 4066-4076.
- [6] Watanabe H, Saito H, Yokose T, et al. Relation between thin-section computed tomography and clinical findings of mucinous adenocarcinoma [J]. Ann Thorac Surg, 2015, 99(3): 975-981.
- [7] Kishikawa S, Hayashi T, Saito T, et al. Diffuse expression of MUC6 defines a distinct clinicopathological subset of pulmonary invasive mucinous adenocarcinoma [J]. Mod Pathol, 2021, 34(4): 786-797.
- [8] Gow CH, Hsieh MS, Liu YN, et al. Clinicopathological features and survival outcomes of primary pulmonary invasive mucinous adenocarcinoma [J]. Cancers, 2021, 13(16): 4103. doi:10.3390/cancers13164103.
- [9] Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, et al. Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma: prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases [J]. Mod Pathol, 2011, 24(5): 653-664.
- [10] Lee HY, Cha MJ, Lee KS, et al. Prognosis in resected invasive mucinous adenocarcinomas of the lung: related factors and comparison with resected nonmucinous adenocarcinomas [J]. J Thorac Oncol, 2016, 11(7): 1064-1073.
- [11] Matsui T, Sakakura N, Koyama S, et al. Comparison of surgical outcomes between invasive mucinous and non-mucinous lung adenocarcinoma [J]. Ann Thorac Surg, 2021, 112(4): 1118-1126.
- [12] Kuruma A, Kodama M, Hori Y, et al. Gastric-type adenocarcinoma of the uterine cervix associated with poor response to definitive radiotherapy [J]. Cancers, 2022, 15(1): 170. doi:10.3390/cancers15010170.
- [13] Ehmann S, Sassine D, Straubhar AM, et al. Gastric-type adenocarcinoma of the cervix: clinical outcomes and genomic drivers [J]. Gynecol Oncol, 2022, 167(3): 458-466.
- [14] Goto E, Takamochi K, Kishikawa S, et al. Stepwise progression of invasive mucinous adenocarcinoma based on radiological and biological characteristics [J]. Lung Cancer, 2023, 184: 107348. doi:10.1016/j.lungcan.2023.107348.
- [15] Boland JM, Maleszewski JJ, Wampfler JA, et al. Pulmonary invasive mucinous adenocarcinoma and mixed invasive mucinous/nonmucinous adenocarcinoma—a clinicopathological and molecular genetic study with survival analysis [J]. Hum Pathol, 2018, 71: 8-19. doi:10.1016/j.humpath.2017.08.002.
- [16] Buettner R. Invasive mucinous adenocarcinoma: genetic insights into a lung cancer entity with distinct clinical behavior and genomic features [J]. Mod Pathol, 2022, 35(2): 138-139.
- [17] Kim M, Hwang J, Kim KA, et al. Genomic characteristics of invasive mucinous adenocarcinoma of the lung with multiple pulmonary sites of involvement [J]. Mod Pathol, 2022, 35(2): 202-209.
- [18] Russell PA, Wainer Z, Wright GM, et al. Does lung adenocarcinoma subtype predict patient survival? : a clinicopathologic study based on the new International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification [J]. J Thorac Oncol, 2011, 6(9): 1496-1504.
- [19] Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, et al. Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma: prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases [J]. Mod Pathol, 2011, 24(5): 653-664.
- [20] Battista S, Ambrosio MR, Limarzi F, et al. Molecular alterations in gastric preneoplastic lesions and early gastric cancer [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(13): 6652. doi:10.3390/ijms22136652.
- [21] Wang S, Zhou X, Niu S, et al. Assessment of HER2 in gastric-type endocervical adenocarcinoma and its prognostic significance [J]. Mod Pathol, 2023, 36(6): 100148. doi:10.1016/j.modpat.2023.100148.
- [22] Buyuk M, Ozluk Y, Bakkaloglu DV, et al. Evaluation of MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expression differences in lung adenocarcinoma subtypes by using a final immunoreactivity score (FIRS) [J]. Turk Patoloji

- Derg, 2023, 39(1): 64-74.
- [23] Kim YK, Shin DH, Kim KB, et al. MUC5AC and MUC5B enhance the characterization of mucinous adenocarcinomas of the lung and predict poor prognosis [J]. *Histopathology*, 2015, 67(4): 520-528.
- [24] 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.
- [25] 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.
- [26] Chalela R, Curull V, Enríquez C, et al. Lung adenocarcinoma: from molecular basis to genome-guided therapy and immunotherapy [J]. *J Thorac Dis*, 2017, 9(7): 2142-2158.
- [27] Reck M, Carbone DP, Garassino M, et al. Targeting KRAS in non-small-cell lung cancer: recent progress and new approaches [J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(9): 1101-1110.
- [28] Dias Carvalho P, Machado AL, Martins F, et al. Targeting the tumor microenvironment: an unexplored strategy for mutant KRAS tumors [J]. *Cancers*, 2019, 11(12): 2010. doi:10.3390/cancers11122010.
- [29] Adderley H, Blackhall FH, Lindsay CR. KRAS-mutant non-small cell lung cancer: Converging small molecules and immune checkpoint inhibition [J]. *EBioMedicine*, 2019, 41: 711-716. doi:10.1016/j.ebiom.2019.02.049.
- [30] Goulding RE, Chenoweth M, Carter GC, et al. KRAS mutation as a prognostic factor and predictive factor in advanced/metastatic non-small cell lung cancer: a systematic literature review and meta-analysis [J]. *Cancer Treat Res Commun*, 2020, 24: 100200. doi:10.1016/j.ctarc.2020.100200.
- [31] Skoulidis F, Heymach JV. Co-occurring genomic alterations in non-small-cell lung cancer biology and therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(9): 495-509.
- [32] Chang JC, Offin M, Falcon C, et al. Comprehensive molecular and clinicopathologic analysis of 200 pulmonary invasive mucinous adenocarcinomas identifies distinct characteristics of molecular subtypes [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(14): 4066-4076.
- [33] De Langen AJ, Johnson ML, Mazieres J, et al. Sotorasib versus docetaxel for previously treated non-small-cell lung cancer with KRASG12C mutation: a randomised, open-label, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2023, 401(10378): 733-746.
- [34] Jänne PA, Riely GJ, Gadgeel SM, et al. Adagrasib in non-small-cell lung cancer harboring a KRASG12C mutation [J]. *N Engl J Med*, 2022, 387(2): 120-131.
- [35] Lee A. Sotorasib: a review in KRAS G12C mutation-positive non-small cell lung cancer. *target oncol* [J]. 2022, 17(6): 727-733.

(编辑:相峰)

读者·作者·编者

## 量和单位

单位符号可以与非物理量的单位(例如件、台、人等)的汉字构成组合形式的单位。例如:件/d(件每天)。在一个组合单位符号中,斜线不应多于一条。例如:mg/kg/d应写为mg/(kg·d)或mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。表示离心加速作用时,应以重力加速度(g)的倍数的形式表达。例如:6 000×g离心10 min。或者在给出离心机转速的同时给出离心半径。例如:离心半径8 cm,12 000 r/min离心10 min。不能把ppm、pphm、ppb等缩写词作为单位使用。

(本刊编辑部)