

EGFR 突变转化型晚期小细胞肺癌 或神经内分泌癌的病理表型时空异质性

张仕灵^{1,2} 张婵媛^{1,2} 陈雨晴^{2,3} 杨衿记^{1,2}

摘要 目的 探索表皮生长因子受体(EGFR)突变转化型局部晚期或转移性小细胞肺癌(SCLC)、神经内分泌癌(NEC)的病理表型时空异质性。方法 回顾性收集曾接受EGFR-TKIs治疗并转化为SCLC/NEC的LUAD患者,总结首次转化后的基线临床病理特征。根据首次确诊SCLC/NEC转化的病理成分不同而定义为不完全转化和完全转化。针对不完全转化定义为3大类:瘤内不完全转化、瘤间不完全转化和恶性积液不完全转化。结果 该研究收集49例符合入组标准的患者。在49例患者中,不完全转化为34.7%(17/49),完全转化为65.3%(32/49)。此外,不完全转化患者中瘤内不完全转化、瘤间不完全转化和恶性积液不完全转化分别为82.3%(14/17)、5.9%(1/17)和11.8%(2/17)。即首次转化的转化型SCLC/NEC的病理表型空间异质性为34.7%。在首次转化后的动态组织学活检和(或)细胞学活检中的15例患者中,转化型SCLC/NEC的病理表型时间异质性为46.7%(7/15)。此外,不完全转化组与完全转化组的转化后无进展生存期差异无统计学意义以及转化后的总生存期差异也无统计学意义。结论 EGFR突变转化型局部晚期或转移性SCLC/NEC在病理表型方面存在时空异质性。

关键词 EGFR突变;小细胞肺癌;神经内分泌癌;组织学转化;时空异质性

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)12-1985-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.12.023

根据近期发表的中国癌症统计数据^[1]显示男性癌症发病率首位为肺癌,女性则为乳腺癌,但男性和女性的癌症病死率排在首位的仍然是肺癌。

2022-09-13 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81972164);广东省自然科学基金(编号:2019A1515010931)

作者单位:¹南方医科大学第二临床医学院,广州 510515

²广东省人民医院,广东省医学科学院,广东省肺癌研究所,广东省肺癌转化医学重点实验室,广州 510080

³华南理工大学医学院,广州 510006

作者简介:张仕灵,男,硕士研究生;

杨衿记,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: yangjinji@gdph.org.cn

肺癌按病理分型,主要可分为2大类:小细胞肺癌(small-cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC),其中NSCLC占80%~85%,主要包括了肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)、肺鳞癌(lung squamous cell carcinoma, LUSC)、肺大细胞癌^[2-3]。根据世界卫生组织发布的肺肿瘤分类^[4],SCLC为神经内分泌癌(neuroendocrine carcinoma, NEC)的一种。SCLC相比NSCLC,具有高度侵袭性、早期广泛转移性的特点,同时SCLC肿瘤生长迅速、基因组不稳定性^[5-6]。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)改善了EGFR敏感突变的LUAD的临床治疗结局。然而,不可避免地LUAD经EGFR-TKIs治疗后出现获得性耐药,其中LUAD获得性耐药机制中包括了LUAD向SCLC发生组织学转化。目前关于转化型SCLC/NEC的肿瘤异质性的相关研究较少。本研究回顾性分析49例转化型SCLC/NEC患者,总结患者的临床病理、分子特征和病理表型时空异质性。

1 材料与方法

1.1 病例资料及分组 本研究回顾性收集2010年1月—2020年9月在广东省人民医院接受EGFR-TKIs治疗并转化为SCLC/NEC的LUAD患者的住院和门诊就诊信息。主要纳入标准为:①参照美国癌症联合委员会(American joint committee on cancer, AJCC)第8版TNM分期标准^[7],纳入研究的为不可根治性的局部晚期ⅢB期(无根治性放疗或局部治疗指征的ⅢB期)或Ⅳ期患者;②经组织学或细胞学病理诊断基线为ⅢB期或Ⅳ期LUAD;③经组织学或细胞学病理确诊转化时为SCLC/NEC;④组织/恶性积液/外周血经基因检测确认为基线存在EGFR突变;⑤在转化为SCLC/NEC前的局部晚期ⅢB或Ⅳ期LUAD曾接受过EGFR-TKIs治疗。排除标准为:①早期肺癌患者(如早期复合型SCLC

患者); ② 基线确诊 III B 期或 IV 期患者的病理诊断为复合型 SCLC。经筛选后共计 49 例入组患者。

通过广东省人民医院电子病历系统收集纳入分析的 49 例患者的住院号、姓名、性别、出生年月、吸烟史、病理资料、基因检测结果、肿瘤治疗史、(第 8 版) TNM 分期、美国东部肿瘤协作组(eastern cooperative oncology group , ECOG) 体能状态(performance status , PS) 评分等临床资料。所有患者相关的临床资料均取得了患者的知情同意。

根据 49 例患者首次确诊 SCLC/NEC 转化的病理成分不同而定义为不完全转化组和完全转化组。完全转化组即首次确诊转化时组织病理学和(或)细胞病理学仅为纯 SCLC/NEC ,与之相对应的不完全转化组即首次确诊转化时组织病理学和(或)细胞病理学为复合型 SCLC(复合成分为 LUAD)或 NEC 复合 LUAD。

1.2 基因检测 使用突变扩增系统(amplification refractory mutation system ,ARMS) 法、广州燃石公司和南京世和公司的二代测序技术(next-generation sequencing ,NGS) 检测患者肿瘤组织、血浆、脑脊液或恶性浆膜腔积液中的 EGFR 突变等其他基因情况 ,详细的操作流程可参考已发表的文献^[8-9]。

1.3 研究定义 该研究根据患者发生首次 SCLC/NEC 转化后紧跟的治疗定义为一线治疗 ,患者转化后的无进展生存期(post-transformation progression-free survival , pPFS) 定义为患者首次病理确诊 SCLC/NEC 转化后紧跟的治疗开始当天至出现疾病进展或任何原因出现死亡的时间。转化后的总生存期(post-transformation overall survival , pOS) 定义为患者首次病理确诊 SCLC/NEC 转化的当天时间至任何原因引起死亡的时间 ,若患者在该研究随访时间截止前仍存活 ,则为随访结束时间。随访截止时间为 2022 年 2 月 22 日。

1.4 2 次及 2 次以上活检方法 活检方法 ≥ 2 次包含了肺原发灶切除手术活检、经 CT 引导下肺或肝或肾上腺穿刺活检、经 CT 引导下行胸膜穿刺活检或胸腔镜下胸膜组织活检、锁骨淋巴结切除活检、胸腔穿刺或心包穿刺引流细胞学活检、腰椎软组织穿刺活检、腹壁结节穿刺活检、胸椎或颈椎或腰椎手术切除活检、支气管镜活检。

1.5 统计学处理 用 Kaplan-Meier 方法计算 pPFS 和 pOS ,并使用 Log-rank 检验以比较完全转化组与不完全转化组之间的 pPFS 和 pOS 差异。在 49 例患者中 ,共 5 例患者在确诊 SCLC/NEC 转化后无后

续治疗信息而无 pPFS 记录 ,但其中 4 例患者仍通过后续生存随访获得 pOS 信息。所有统计分析均应用 SPSS 20.0 软件 ,用 R 语言 3.6.1 版本绘制 pPFS 和 pOS 曲线。完全转化组与不完全转化组的临床病理基线特征比较采用 χ^2 检验 ,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 完全转化组与不完全转化组的临床病理特征

按照完全转化组与不完全转化组的临床病理特征 ,汇总成表 1。患者年龄 ≥ 65 岁有 16.3% (8/49) ;抽烟的患者占 24.5% (12/49) ;首次转化时 ECOG PS 评分 0 ~ 1 分患者 43 例(87.8%) ,评分 ≥ 2 分患者 5 例(10.2%) ,而不能确定评分的患者为 1 例(2.0%) ;首次转化时诊断为 III B-IV A 期的患者为 13 例(24.5%) ;首次转化时有脑转移患者占 44.9% (22/49) 且两组差异无统计学意义;首次转化时两组各有 1 例患者未检测到初始 LUAD 时的 EGFR 突变状态 ,两组共有 9 例患者未在首次转化时行基因检测。即在首次转化时 ,约 95.0% (38/40) 患者仍保留初始 LUAD 时的 EGFR 突变。

表 1 首次 SCLC/NEC 转化后的患者基线临床病理特征 [n(%)]

项目	完全转化组 (n = 32)	不完全转化组 (n = 17)	χ^2 值	P 值
年龄(岁)			<0.001	1.000
<65	27(84.4)	14(82.4)		
≥65	5(15.6)	3(17.6)		
性别			3.989	0.046
女	19(59.4)	5(29.4)		
男	13(40.6)	12(70.6)		
吸烟史			2.660	0.103
无	27(84.4)	10(58.8)		
有	5(15.6)	7(41.2)		
首次确诊转化时 ECOG 评分			0.727	1.000
0 ~ 1	28(87.5)	15(88.2)		
≥2	3(9.4)	2(11.8)		
Unknown	1(3.1)	0(0.0)		
首次转化时的临床分期			0.453	0.501
III B-IV A	7(21.9)	6(35.3)		
IV B	25(78.1)	11(64.7)		
脑转移			0.049	0.825
有	14(43.7)	8(47.1)		
无	18(56.3)	9(52.9)		
首次转化时 EGFR 突变状态			1.718	0.953
19 deletion	14(43.7)	8(47.0)		
L858R	4(12.5)	1(5.9)		
19deletion + T790M	5(15.6)	2(11.8)		
L858R + T790M	2(6.3)	2(11.8)		
Unknown	6(18.8)	3(17.6)		
No mutation	1(3.1)	1(5.9)		

2.2 EGFR 突变转化型局部晚期或转移性 SCLC/NEC 的病理表型空间异质性 在 49 例患者中,不完全转化为 34.7% (17/49),完全转化为 65.3% (32/49) (图 1)。① 瘤内不完全转化: LUAD 和 SCLC/NEC 存在同一组织中(图 2A); ② 瘤间不完全转化: 即一个活检组织中的病理为 LUAD, 并且同时另一个活检组织的病理为 SCLC/NEC(图 2B); ③ 恶性积液不完全转化, 即恶性积液的病理与同时期的活检组织的病理结果不同(如恶性积液的病理为 LUAD, 而同期的组织活检为 SCLC/NEC) (图 2C)。这 3 类不完全转化分别占 82.3% (14/17)、5.9%

(1/17) 和 11.8% (2/17) (图 1)。即 EGFR 突变转化型局部晚期或转移性 SCLC/NEC 的病理表型空间异质性为 34.7% (17/49)。

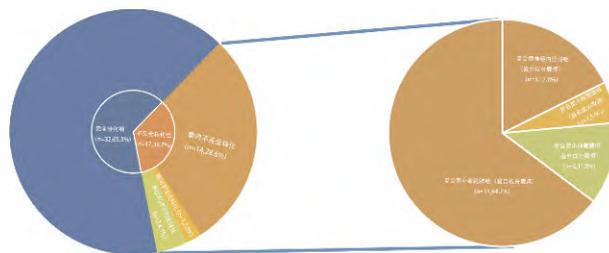


图 1 首次确诊转化中 SCLC/NEC 的分类

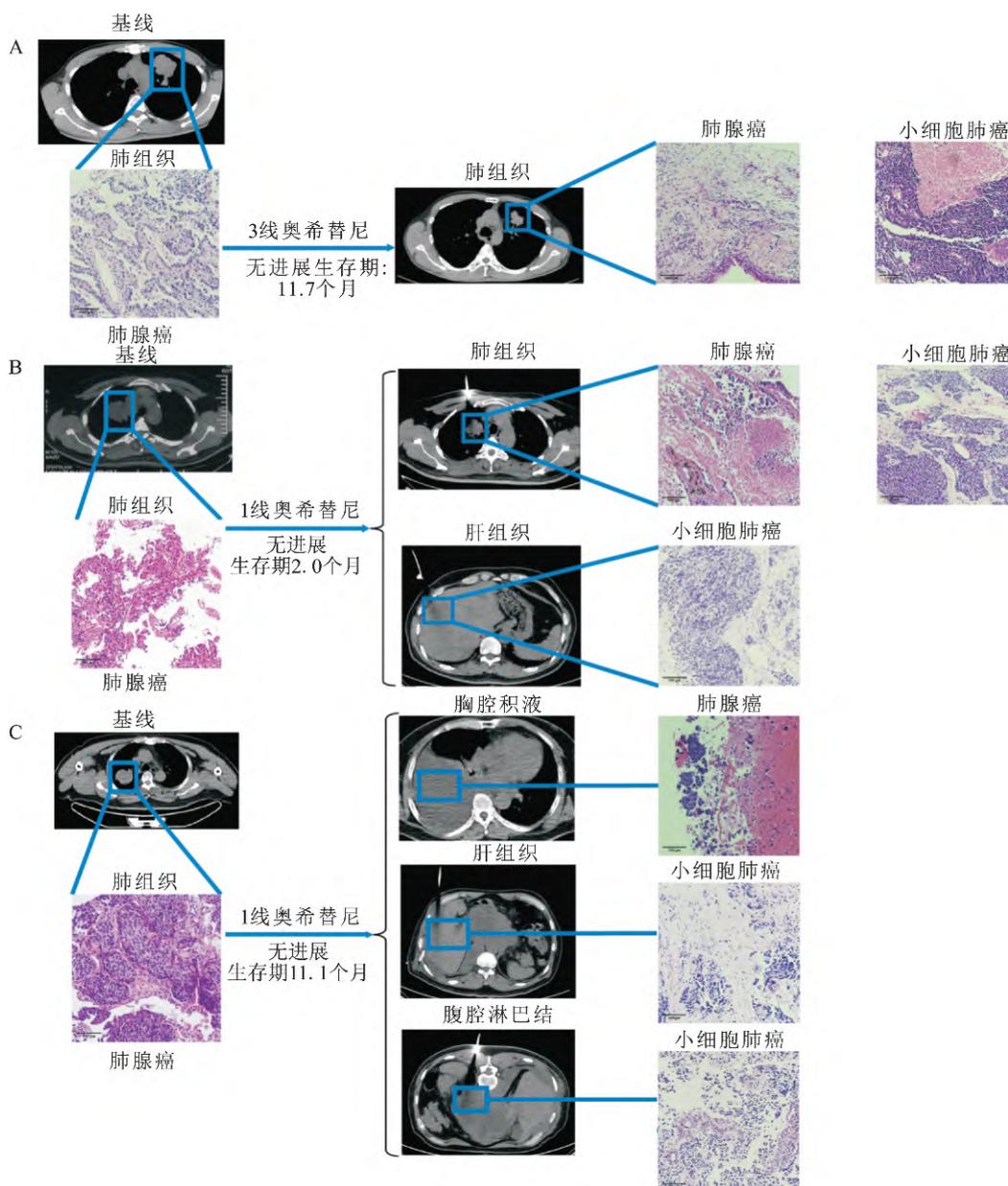


图 2 首次确诊转化 SCLC/NEC 的 3 种不完全转化类型 ×200
A: 瘤内不完全转化; B: 瘤间不完全转化; C: 恶性积液不完全转化

2.3 EGFR 突变转化型局部晚期或转移性 SCLC/NEC 的病理表型时间异质性 在完全转化组和不转化组中筛选出首次确诊 SCLC/NEC 转化后 ≥ 2 次组织学活检和(或)细胞学活检的 15 例患者(图 3)。在完全转化组中的 P1 患者在首次转化时的胸膜组织病理为 SCLC,然而,第 2 次肺组织穿刺活检病理为 LUAD,但第 3 次腹壁肿块活检病理为 SCLC。此外,值得注意的是 P3 患者首次确诊转化的肺组织穿刺活检病理为 SCLC,第 2 次、第 3 次组织活检均为 SCLC,但第 4 次 L5 椎旁软组织活检病理却为 LUSC。相似地,在首次定义为不完全转化的 P12 患者中,首次确诊的肺组织穿刺活检病理为复

合型 SCLC(复合 LUAD),然而第 2 次肺组织穿刺活检为纯 SCLC,此外,第 3 次胸腔积液和第 4 次胸腔积液的病理均为 LUAD。

整理 15 例患者结果可知在完全转化组的 11 例患者中,共有 4 例再活检时表现出不完全转化,即病理表型时间异质性约 36.4% (4/11);与之相比,在不完全转化组的 4 例患者中,病理表型时间异质性为 75.0% (3/4)。总体而言,EGFR 突变转化型局部晚期或转移性 SCLC/NEC 的病理表型时间异质性为 46.7% (7/15)。值得注意的是,该研究只有 8.2% (4/49) 患者在首次转化时对病灶 ≥ 2 个进行了活检。

2.4 完全转化组与不完全转化组的 pPFS 和 pOS

两组在转化后紧跟的一线治疗详细信息可见表 2。从表 2 可知,两组的一线治疗模式较为繁杂。这凸显了目前 EGFR 突变转化型 SCLC/NEC 缺乏临床推荐的一线治疗方案。由图 4 可知,两组在转化后紧跟的一线治疗 pPFS 差异无统计学意义(完全转化组与不完全转化组的中位 PFS 分别为 4.5 个月和 4.1 个月 $P=0.900$) ,此外,转化后的 pOS 两组差异无统计学意义(完全转化组与不完全转化组的中位 pOS 分别为 7.4 和 9.4 个月 $P=0.824$) 。

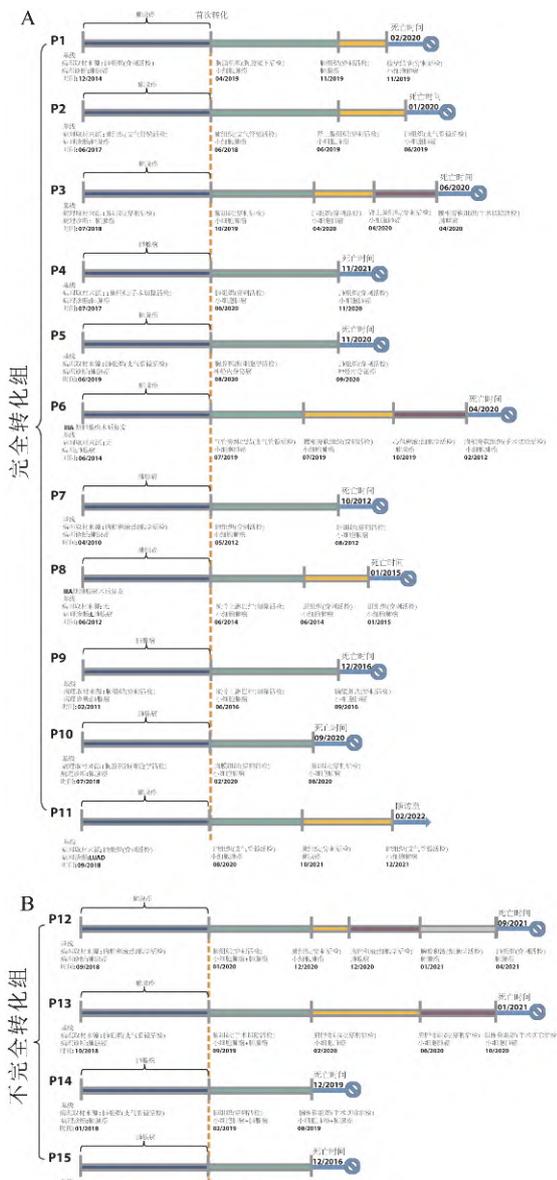


图 3 患者首次转化后的动态液体和组织活检
A: 完全转化组; B: 不完全转化组

表 2 完全转化组和不完全转化组患者在首次转化后的一线治疗方案

首次 SCLC/NEC 转化后的一线治疗	完全转化组 (n = 32)	不完全转化组 (n = 17)
化疗联合 EGFR-TKI	7	4
化疗	19	4
最佳支持治疗	2	0
化疗联合抗血管生成	1	3
EGFR-TKI	0	2
化疗联合免疫	0	1
放疗	0	1
Unknown	3	2

3 讨论

既往研究^[10-11]表明 EGFR 突变的 LUAD 在发生 SCLC 转化后,在 SCLC 成分的组织基因检测中大多数都能检测到基线 LUAD 的 EGFR 突变,该研究通过在基线和首次转化后的患者肿瘤组织、血浆、脑脊液或恶性浆膜腔积液检测 EGFR 突变,约 95.0% 患者仍保留有初始 LUAD 时的 EGFR 突变。因此,该研究更倾向支持肿瘤干细胞假说,即认为 SCLC 与 LUAD 拥有共同的前体细胞,LUAD 患者在接受

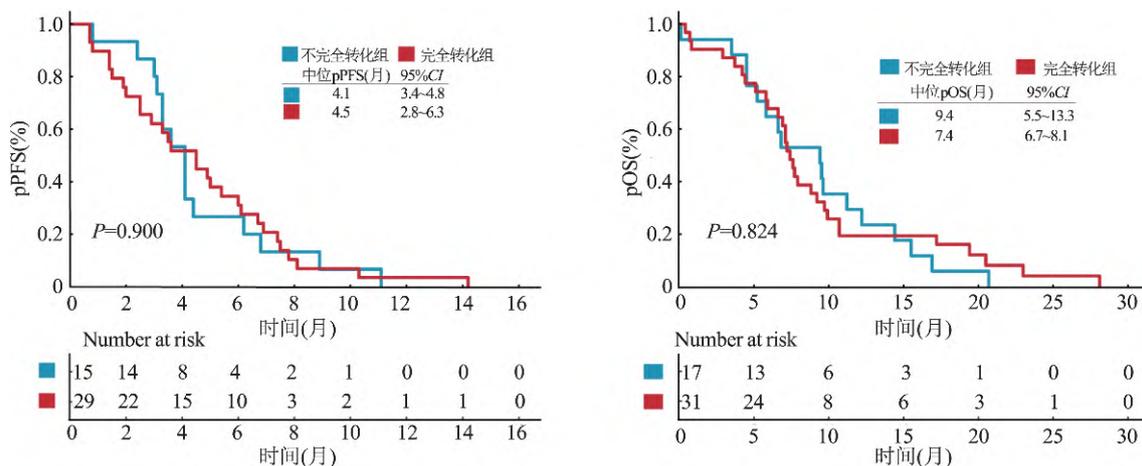


图4 完全转化组和不完全转化组的 pPFS 和 pOS

EGFR-TKIs 等其他治疗后,肿瘤为了对抗药物,从而产生了组织类型转化,最终耐药。

该研究根据首次确诊 SCLC/NEC 转化的病理成分不同而定义为不完全转化和完全转化,并将不完全转化定义为 3 种类型转化,即瘤内不完全转化、瘤间不完全转化和恶性积液不完全转化。通过动态的组织学活检和(或)细胞学活检揭示了 EGFR 突变转化型局部晚期或转移性 SCLC/NEC 在病理表型方面的时间异质性和空间异质性分别为 46.7% 和 34.7%。来自中国的多中心回顾性研究揭示,EGFR 突变 LUAD 发生 SCLC 转化后患者接受铂类联合依托泊苷的中位 PFS 约为 3.5 个月,这与另一项单中心回顾性分析的结果相类似。但值得注意的是研究表明化疗联合 EGFR-TKIs 相比单纯化疗,能提高转化型 SCLC 的 PFS(中位 PFS 为 5.2 个月),并且差异有统计学意义($P=0.014$)。这 2 项研究的结果与该研究的转化型 SCLC/NEC 的一线治疗 PFS 相接近,因此,结合前两者^[12-13]的研究结果和该研究阐述的转化型 SCLC/NEC 具有病理表型方面的时空异质性,对于转化型 SCLC/NEC 的治疗可能需要兼顾 EGFR 通路和病理表型的变化。

由于病例数有限,该研究未能进一步分析完全转化组和不完全转化组患者在首次转化后的一线各种治疗方案之间的差异;该研究为单中心回顾性分析,可能存在选择偏倚,未来需要进一步扩大样本来探索 EGFR 突变转化型局部晚期或转移性 SCLC/NEC 在病理表型方面的时空异质性;该研究未能进一步研究复合型 SCLC/NEC 的基因型,即未将复合型的 SCLC/NEC 与 LUAD 的成分相比较分析。

综上所述,该研究初步证实了 EGFR 突变转化

型局部晚期或转移性 SCLC/NEC 在病理表型方面存在时空异质性,可能为后续的治疗策略提供研究依据。

参考文献

- [1] Zheng R, Zhang S, Zeng H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016 [J]. J Natl Cancer Cent, 2022.
- [2] Gridelli C, Rossi A, Carbone D P, et al. Non-small-cell lung cancer [J]. Nat Rev Dis Primers, 2015, 1: 15009.
- [3] Travis W D, Brambilla E, Nicholson A G, et al. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification [J]. J Thorac Oncol, 2015, 10(9): 1243-60.
- [4] Nicholson A G, Tsao M S, Beasley M B, et al. The 2021 WHO classification of lung tumors: impact of advances since 2015 [J]. J Thorac Oncol, 2022, 17(3): 362-87.
- [5] Bunn P A, Jr, Minna J D, Augustyn A, et al. Small cell lung cancer: can recent advances in biology and molecular biology be translated into improved outcomes? [J]. J Thorac Oncol, 2016, 11(4): 453-74.
- [6] George J, Lim J S, Jang S J, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer [J]. Nature, 2015, 524(7563): 47-53.
- [7] Rami-porta R, Asamura H, Travis W D, et al. Lung cancer - major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual [J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(2): 138-55.
- [8] Mao X, Zhang Z, Zheng X, et al. Capture-based targeted ultra-deep sequencing in paired tissue and plasma samples demonstrates differential subclonal ctDNA-releasing capability in advanced lung cancer [J]. J Thorac Oncol, 2017, 12(4): 663-72.
- [9] Yang Z, Yang N, Ou Q, et al. Investigating novel resistance mechanisms to third-generation EGFR tyrosine kinase inhibitor osimertinib in non-small cell lung cancer patients [J]. Clin Cancer

- Res, 2018, 24(13): 3097–107.
- [10] Lee J K, Lee J, Kim S, et al. Clonal history and genetic predictors of transformation into small-cell carcinomas from lung adenocarcinomas [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(26): 3065–74.
- [11] Xie T, Li Y, Ying J, et al. Whole exome sequencing (WES) analysis of transformed small cell lung cancer (SCLC) from lung adenocarcinoma (LUAD) [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2020, 9(6): 2428–39.
- [12] Wang W, Xu C, Chen H, et al. Genomic alterations and clinical outcomes in patients with lung adenocarcinoma with transformation to small cell lung cancer after treatment with EGFR tyrosine kinase inhibitors: multicenter retrospective study [J]. *Lung Cancer*, 2021, 155: 20–7.
- [13] Wang S, Xie T, Hao X, et al. Comprehensive analysis of treatment modes and clinical outcomes of small cell lung cancer transformed from epidermal growth factor receptor mutant lung adenocarcinoma [J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(19): 2585–93.

Spatial and temporal heterogeneity of pathological phenotype of EGFR – mutant transformed locally advanced or metastatic small-cell lung cancer or neuroendocrine carcinoma

Zhang Shiling^{1,2}, Zhang Chanyuan^{1,2}, Chen Yuqing^{2,3}, Yang Jinji^{1,2}

(¹The Second School of Clinical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515;

²Guangdong Lung Cancer Institute, Guangdong Provincial Key Laboratory of Translational Medicine in Lung Cancer, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080;

³School of Medicine, South China University of Technology, Guangzhou 510006)

Abstract Objective To explore the spatial and temporal heterogeneity of pathological phenotype of epidermal growth factor receptor (EGFR) –mutant transformed locally advanced or metastatic small-cell lung cancer (SCLC) or neuroendocrine carcinoma (NEC). **Methods** This study retrospectively analyzed EGFR-mutant LUAD patients who were treated with EGFR-TKIs and underwent a transformation into SCLC/NEC. Baseline clinicopathological characteristics after initial transformation were summarized. According to the different pathological components of initial SCLC/NEC transformation, it was defined as incomplete transformation and complete transformation. Incomplete transformation was defined as three categories: intratumoral transformation, intertumoral transformation and effusional transformation. **Results** This study collected 49 patients who met the criteria. Among forty-nine patients, incomplete transformation was 34.7% (17/49) and complete transformation was 65.3% (32/49). In addition, intratumoral transformation, intertumoral transformation and effusional transformation were respectively 82.3% (14/17), 5.9% (1/17) and 11.8% (2/17). It was mean that the spatial heterogeneity of pathological phenotype of initially transformed SCLC/NEC was 34.7%. After initial transformation, among the fifteen patients in dynamic histological and/or cytological biopsies, the temporal heterogeneity of pathological phenotype of initially transformed SCLC/NEC was 46.7% (7/15). In addition, there was no significant difference in first-line treatment post-transformation progression-free survival and post-transformation overall survival between incomplete transformation group and complete transformation group. **Conclusion** EGFR-mutant transformed locally advanced or metastatic SCLC/NEC has spatial and temporal heterogeneity in pathological phenotype.

Key words EGFR mutation; small-cell lung cancer; neuroendocrine carcinoma; histological transformation; spatial and temporal heterogeneity