

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.32.013
文章编号: 1005-8982 (2018) 32-0069-04

PIK3CA 突变影响因素对鳞状细胞肺癌预后的影响*

陆乘俊¹, 肖华², 金海¹, 王晓伟¹, 姚仕华¹, 施博文¹

(上海长海医院 1. 胸外科, 2. 呼吸与危重症学科, 上海 200433)

摘要: 目的 探讨 PIK3CA 基因突变与鳞状细胞肺癌患者临床病理特征及预后的关系。**方法** 选取 2013 年 2 月-2016 年 2 月于上海长海医院收治的鳞状细胞肺癌患者 81 例, 同时选取癌旁组织 (≥ 5 cm) 作为对照组, 检测样本 PIK3CA 突变情况, 以及随访患者生存情况。**结果** 肺癌组织 PIK3CA 基因突变率高于癌旁组织 ($P < 0.05$); 不同性别、年龄、分化程度、TNM 期及有无淋巴结转移患者 PIK3CA 基因突变率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); PIK3CA 基因突变组患者中位生存期与 PIK3CA 基因未突变组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 分化程度、TNM 分期及 PIK3CA 基因突变是患者预后的影响因素 ($P < 0.05$)。**结论** 鳞状细胞肺癌组织 PIK3CA 基因突变高于癌旁组织, 但与病理特征无明显关系, PIK3CA 基因突变患者预后较未突变者差。

关键词: 鳞状细胞肺癌; PIK3CA 基因; 突变; 预后

中图分类号: R734.2

文献标识码: A

Influence of PIK3CA mutation affecting factors on prognosis of squamous cell lung carcinoma*

Cheng-jun Lu¹, Hua Xiao², Hai Jin¹, Xiao-wei Wang¹, Shi-hua Yao¹, Bo-wen Shi¹

(1. Department of Thoracic Surgery, 2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Changhai Hospital of Shanghai, Shanghai 200433, China)

Abstract: Objective To investigate the relationships of mutation of PIK3CA gene with the clinicopathological features and prognosis of squamous cell carcinoma of the lungs. **Methods** From February 2013 to February 2016, 81 patients with lung squamous cell carcinomas were treated in our hospital, and the adjacent tissues (≥ 5 cm) were taken as controls. PIK3CA mutations were detected and the survival of the patients were followed up. **Results** The mutation rate of PIK3CA gene in the lung carcinoma tissues was 19.51%, which was significantly higher than 0.00% in the adjacent tissues, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There were no significant differences in the rate of PIK2CA gene mutation among the patients of different sex, age, differentiation degree, TNM stage and lymph node metastasis ($P > 0.05$). The median survival time of the PIK3CA mutation group was 14 m, significantly shorter than 26 m of the PIK3CA gene non-mutation group ($P < 0.05$). Cox regression analysis showed that differentiation degree, TNM stage and PIK3CA gene mutation were the factors influencing the prognosis of the patients ($P < 0.05$). **Conclusions** The mutation rate of PIK3CA gene in lung squamous cell carcinoma is significantly higher than that in paracancerous tissues, but it is not related to pathological features. The prognosis of the patients with PIK3CA gene mutation is worse than that of the patients without PIK3CA mutation.

Keywords: squamous cell carcinoma of the lungs; PIK3CA gene; mutation; prognosis

收稿日期: 2018-05-16

* 基金项目: 吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金 (No: 320.6750.12213)

[通信作者] 金海, E-mail: lusygx@163.com; Tel: 13601870779

流行病学研究显示鳞状细胞肺癌的发病率接近 0.05% ~ 0.16%，特别是在吸烟人群中发病率更高^[1]。类磷脂酰肌醇-3-激酶（phosphatidylinositol 3-kinases, *PI3Ks*）基因突变可以导致恶性肿瘤细胞的细胞增殖调控、癌细胞分化及侵袭等病理特性的改变，导致恶性肿瘤病情的进展^[2-4]。为了进一步揭示 *PIK3CA* 基因突变与肺癌的关系，为临床上肺癌的预后评估提供参考，本研究选取 81 例鳞状细胞肺癌患者，探讨 *PIK3CA* 基因突变与临床病理特征及生存预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2013 年 2 月-2016 年 2 月于上海长海医院收治的鳞状细胞肺癌患者 81 例。其中，男性 48 例，女性 33 例；年龄 24 ~ 68 岁，中位年龄 51 岁。根据 *PIK3CA* 突变情况将患者分为 *PIK3CA* 突变组和未突变组，分别为 8 和 33 例。纳入标准：①术前接受放化疗；②经病理确诊；③经过肺叶或全肺根治性切除术；④术后接受以铂类为基础的联合化疗；⑤临床病理资料保存完整。排除标准：①标本不符合检测要求；②依从性差，不配合治疗随访。同时选取同患者癌旁组织（≥ 5 cm）作为对照。患者及家属均知情同意并签署同意书。

1.2 方法

取冻存已裂解的血清细胞裂解液，室温放置 5 min 使其完全溶解，每 1 ml 的 Trizol 试剂裂解的样品中加入 0.2 ml 的氯仿，手动剧烈振荡管体 15 s 后，15 ~ 30 °C 孵育 2 ~ 3 min。4 °C 下 1 500 r/min 离心 15 min，将水相上层转移到一干净无 RNA 酶的离心管中。于 4 °C 下 1 500 r/min 离心 10 min，加入逆转录酶之前先 70 °C 干浴 3 min，终溶液即为 cDNA 溶液，配置反应体系：上游引物 1 μl，下游引物 3 μl，Taq 聚合酶 2 μl，cDNA 5 μl，SYBR Green 110 μl，ddH₂O 30 μl，总体积 50 μl。

检测仪器使用 ABOI2008RT-PCR 仪（日本 Panasonic 公司），反应产物采用树脂脱盐，经自动点样仪的 spector 芯片，采用基质辅助激光吸附电离飞行时间质谱进行检测。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计学软件，计数资料以率（%）表示，比较用 χ^2 检验，Kaplan-Meier 法

绘制生存曲线，比较用 Log-rank χ^2 检验，预后影响因素采用 Cox 回归模型， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *PIK3CA* 基因突变情况

对 81 例石蜡包埋肺癌组织提取进行检测，共有 66 例提取 DNA 成功，成功率为 81.48%；81 例癌旁组织提取成功 68 例，成功率 83.95%；肺癌组织和癌旁组织同时扩增 *PIK3CA* 外显子 9 和 20 的例数分别为 41 和 43 例，扩增效率分别为 62.12% 和 63.24%。

同时扩增出 *PIK3CA* 外显子 9 和 20 的癌旁组织和肺癌组织，外显子 9 中有 5 例出现单个碱基突变，外显子 20 中有 3 例出现单个碱基突变，均为肺癌组织。肺癌组织 *PIK3CA* 基因突变率为 19.51%，癌旁组织 *PIK3CA* 无基因突变，基因突变率为 0.00%，两者基因突变率比较，差异有统计学意义（ $\chi^2=7.147$ ， $P=0.000$ ）。

2.2 *PIK3CA* 基因突变与病理特征的关系

不同性别、年龄、分化程度、TNM 期及有无淋巴结转移患者 *PIK3CA* 基因突变率比较，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。见表 1。

表 1 *PIK3CA* 基因突变与病理特征关系

病理特征	例数	<i>PIK3CA</i> 基因突变例 (%)	χ^2 值	P 值
性别				
男	26	5 (19.23)	0.000	1.000
女	15	3 (20.00)		
年龄				
≤ 50 岁	21	3 (14.29)	0.222	0.638
>50 岁	20	5 (25.00)		
分化程度				
高	10	2 (20.00)	0.006	0.997
中	21	4 (19.05)		
低	10	2 (20.00)		
淋巴结转移				
无	25	4 (16.00)	0.093	0.760
有	16	4 (25.00)		
TNM 期				
I 期	27	6 (22.22)	0.037	0.847
II 期	14	2 (14.29)		

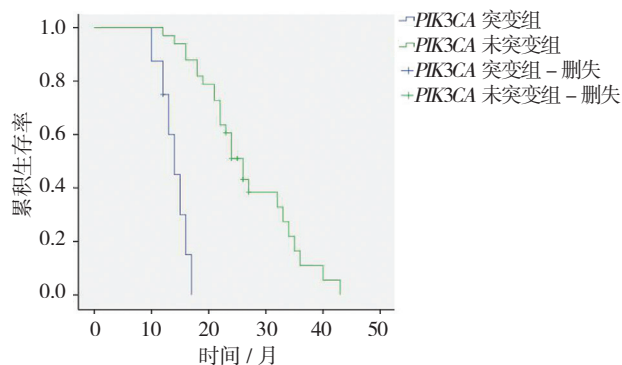
2.3 PIK3CA 基因突变与未突变组患者中位生存期比较

PIK3CA 基因突变组患者中位生存期为 14 个月, 生存率为 37.50%, PIK3CA 基因未突变组患者中位生存期为 26 个月, 生存率为 73.91%, 经 Log-rank χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=32.915, P=0.000$)。见附图。

2.4 鳞状细胞肺癌患者预后的影响因素分析

将患者性别、年龄、分化程度、淋巴结转移、TNM 分期及 PIK3CA 基因突变作为自变量, 患者预后及生存时间作为因变量, 进行 Cox 回归分析。结果显示: 分化程度、TNM 分期及 PIK3CA 基因突变是影响

患者预后的影响因素 ($P < 0.05$)。见表 2。



附图 PIK3CA 基因突变与未突变组患者生存曲线比较

表 2 多因素分析参数

变量	b	S _e	Wald χ^2	P 值	RR	95%CI	
						下限	上限
性别	0.121	0.413	0.086	0.964	1.129	0.897	1.876
年龄	0.087	0.227	0.148	0.783	1.091	0.815	1.779
淋巴结转移	0.212	0.503	0.177	0.760	1.236	0.716	2.011
分化程度	1.024	0.821	8.291	0.000	2.784	1.302	7.174
TNM 分期	1.113	0.317	9.114	0.000	3.043	1.678	9.112
PIK3CA 基因突变	0.894	0.228	10.201	0.000	2.445	1.150	6.046

3 讨论

肺癌特别是鳞状细胞癌容易早期发生淋巴结或者血行的转移, 临床预后较差^[5-6]。一项包含了 124 例样本量的临床回顾性随访研究显示, 鳞状细胞癌的 5 年生存率 <35%, 中位生存时间 <32 个月^[7-8]。而近年来越来越多的基础研究显示, 在影响到肺癌的发病或者临床预后的相关因素中, 基因或者表观遗传学的改变可能是促进肺癌临床预后不佳的重要风险因素^[9-10]。

PIK3CA 突变可以促进癌细胞的凋亡率的下降, 抑制免疫监视细胞对于癌细胞的杀伤作用, 并可以在影响到癌细胞的生存微环境或者氧化应激障碍等方面发挥作用, 进而促进鳞状细胞癌临床分期、组织学分型等病理过程的进展^[11-12]。

本研究采用基因扩增法进行了相关 PIK3CA 突变基因的扩增, 结果发现在鳞状细胞癌癌旁组织中并没有发现明显的 PIK3CA 突变情况, 而在癌原发病灶组织中, PIK3CA 突变情况较为明显, 基因突变的阳性率平均 20% 左右, 提示 PIK3CA 突变可能参与到了肺癌的发生发展过程中。PIK3CA 突变能够在影响

到磷酸激酶的磷酸化、三磷酸肌醇的修饰或者干预肺癌细胞基因的转录翻译活性等方面, 发挥了一定的刺激作用, 从而促进了鳞状细胞癌的病情进展^[12]。杨熹、王娜等^[13-14]通过收集分析了 82 例样本量的肺底部鳞状细胞癌的 PCR 检测资料, 发现其癌基因的突变率为 15% ~ 20%, 且患者的病情越严重、手术效果越差或者远期生存预后越差, 相关基因的阳性突变率越高, 这与本研究结论较为相似。但本研究并未发现 PIK3CA 突变与癌组织分化细胞、临床分期或者淋巴结转移的关系, 提示相关临床特征不影响 PIK3CA 突变效果, PIK3CA 突变主要与患者的遗传表观学改变或者父系或者母系的遗传携带等有关^[14]。本研究发现 PIK3CA 基因突变组患者中位生存期较差, 生存时间较短, 提示 PIK3CA 基因突变可以作为临床上评估肺癌患者临床预后的重要指标。Cox 回归分析显示分化程度、TNM 分期及 PIK3CA 基因突变是影响患者预后的影响因素, PIK3CA 基因的突变对于恶性肿瘤临床预后的影响, 主要考虑其通过癌细胞的不同特性的影响, 或者在癌细胞的治疗敏感性、程序性凋亡的发生等方面发挥一定的作用, 导致不良预后的发生。

综上所述,鳞状细胞肺癌组织 *PIK3CA* 基因突变高于癌旁组织,但与病理特征无明显关系, *PIK3CA* 基因突变患者预后较未突变者差。

参 考 文 献:

- [1] DIRICAN N D A A C. A new inflammatory prognostic index, based on c-reactive protein, the neutrophil to lymphocyte ratio and serum albumin is useful for predicting prognosis in non-small cell lung cancer cases[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(12): 6001-6006.
- [2] 李学兆. 内质网激动剂调控 PI3K/AKT/mTOR 通路诱导人小细胞肺癌 NCI-H446 细胞凋亡 [J]. *癌症进展*, 2017, 15(6): 638-641.
- [3] 谢会君, 俞莎莎, 张乐乐, 等. 中国人群中 16 个已知肺癌基因突变的综合性分析 [J]. *现代生物医学进展*, 2015, 0(33): 6449-6454.
- [4] 周建平, 梁立轩, 李志芳. 非小细胞肺癌细胞系中关键致癌相关基因突变检测 [J]. *攀枝花学院学报*, 2016, 33(05): 65-68.
- [5] ZANG J L, HU Y, XU X Y, et al. Elevated serum levels of vascular endothelial growth factor predict a poor prognosis of platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer[J]. *Oncotargets Ther*, 2017, 32(05): 409-415.
- [6] SUN F, CHEN L, SHI M, et al. Prognosis of video-assisted thoracoscopic pulmonary metastasectomy in patients with colorectal cancer lung metastases: an analysis of 154 cases[J]. *International Journal of Colorectal Disease*, 2017, 24(04): 90-92.
- [7] 吴楠, 闵鹤鸣, 屈惠莹, 等. 自噬基因 *pulK*、*PI3KC3* 在非小细胞肺癌中的表达及相关性研究 [J]. *天津医药*, 2015, 43(06): 635-638.
- [8] 杨宁, 郭妹, 宋玉兰, 等. 430 例中国非小细胞肺癌患者 *EGFR*、*KRAS*、*BRAF* 和 *PIK3CA* 基因突变状态及其临床意义 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015(06): 734-739.
- [9] NAKAMURA K, UKAWA S, OKADA E, et al. Characteristics and prognosis of Japanese male and female lung cancer patients: the biobank japan project[J]. *Journal of Epidemiology*, 2017, 22(05): 56-58.
- [10] DINGLIN X, MA S, WANG F, et al. Establishment of an adjusted prognosis analysis model for initially diagnosed non-small-cell lung cancer with brain metastases from sun yat-sen university cancer center[J]. *Clinical Lung Cancer*, 2017, 32(08): 45-48.
- [11] 高小燕, 江爱桂, 卢慧宇. *PI3K/Akt* 信号传导通路蛋白在晚期非小细胞肺癌中的表达及临床意义 [J]. *交通医学*, 2014, 28(04): 322-326.
- [12] 张连斌, 王彬, 初向阳, 等. 非小细胞肺癌组织中表皮生长因子受体磷脂酰肌醇 3 激酶蛋白激酶 B1 及哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 mRNA 表达及其临床意义 [J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2014(12): 1409-1412.
- [13] 杨熹, 胡福清, 李海杰, 等. 磷脂酰肌醇-3 激酶调节亚基 3 在非小细胞肺癌上皮-间充质转化及迁移中的作用 [J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(4): 787-791.
- [14] 王娜, 栾材富. *EGFR/PI3K/AKT* 信号通路在肺癌中的研究进展 [J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(14): 1984-1987.

(李科 编辑)