

Advances in the Diagnosis of Lung Cancer: The Contribution of Molecular Biology to Bronchoscopy

Donghai Wang Mengxian Ren Houzhou Jiang Youfei Zhao Dong Liu

Taihe County People's Hospital, Fuyang, Anhui, 236600, China

Abstract

In recent years, major advances in genomics, transcriptomics, and proteomics have changed our understanding of the molecular mechanisms of lung cancer pathogenesis, and are revolutionizing our diagnosis and treatment methods. Although these techniques have traditionally been described as large-volume biopsies of surgically removed tumors, major technological advances have allowed them to be applied to smaller samples obtained under bronchoscopy, which are usually the only samples available for advanced lung cancer. The use of advanced molecular techniques for histological examination includes: early diagnosis and screening of non-small cell lung cancer through fluorescence in situ hybridization; accurate histological diagnosis through new immunohistochemical markers and targeted and conventional chemotherapy prognosis and response prediction of drugs. Molecular biology techniques are increasingly applied to smaller biopsy specimens, making it possible to apply them in advanced unresectable non-small cell lung cancer.

Keywords

lung cancer; molecular biology; diagnosis; treatment

肺癌诊断的进展：分子生物学对支气管镜诊断的贡献

王东海 任孟先 江后洲 赵友飞 刘冬

太和县人民医院, 中国·安徽 阜阳 236600

摘要

近年来, 基因组学、转录组学和蛋白质组学的重大进展改变了我们对肺癌发病机理的分子机制的理解, 并正在彻底改变我们的诊断和治疗方法。虽然这些技术传统上被描述为对手术切除的肿瘤进行大体积活检, 但重大的技术进步使它们可以应用于支气管镜下获得的较小样本, 这通常是晚期肺癌唯一可用的样本。使用先进的分子技术进行组织学检查的手段包括: 通过荧光原位杂交技术对非小细胞肺癌的早期诊断和筛查; 通过新的免疫组织化学标记进行准确的组织学诊断以及靶向和常规化疗药物的预后和反应预测。分子生物学技术越来越多地应用于较小的活检标本, 使其在晚期不可切除的非小细胞肺癌中的应用成为可能。

关键词

肺癌; 分子生物学; 诊断; 治疗

1 引言

肺癌仍然是当今世界癌症死亡的第一大原因, 据估计, 只有 15%~20% 的患者病变可切除, 但由于多种原因, 最终被认为是不适合手术。近年来, 立体定向体放射治疗被广泛应用于医学上不能手术的早期肺癌患者。对于不能切除的病人或者能耐受治疗的病人, 化疗加或不加胸部放疗是最佳的选择。

目前, 已经观察到的基因组学、转录组学和蛋白质组学方面的巨大进步正在彻底改变我们诊断和治疗肺癌的方法。它们还帮助改进了更传统的技术, 如免疫组织化学 (IHC) 或荧光原位杂交 (FISH)。这些方法曾经仅限于切除的肺癌

组织, 现在越来越多地应用于较小的活检标本。临床上, 晚期非小细胞肺癌的组织样本通常是通过支气管镜和 CT 引导下的小体积活检获得的, 大多数患者就诊已经是晚期, 无法取得切除标本。在这篇综述中, 我们将总结近年来在分子生物学方面的进展, 这些进展可能会对支气管镜下获得的组织标本进行形态学检查, 从而有助于 NSCLC 的筛查和早期诊断、准确的组织学和细胞学诊断以及对治疗反应的预测。

2 肺癌诊断方法

肺癌的筛查和早期诊断是重要的, 直接影响患者的预后。支气管镜检查, 特别是在自动荧光支气管镜检查 (AFB) 和

窄带成像技术的帮助下,可以帮助识别并治疗侵袭前小病变^[1]。

传统的肺癌诊断方法依赖于组织特征的形态学分析。具体的模式包括小细胞与非小细胞、细胞间桥和/或鳞状细胞癌中的角蛋白珍珠、腺癌中的腺体形成和/或胞浆内粘蛋白。总的来说,有20%~30%的肿瘤样本不能在常规的制备方法上精确地表现,因此免疫组化技术的应用越来越广泛^[2]。

微阵列技术和基因表达谱分析最近允许鉴定新的生物标记。Savci-Heijink等人最近的一项研究评估了作为鳞状细胞癌标记的纤维桥粒芯蛋白3的诊断准确性。在该研究中,免疫组化方法鉴定的桥粒芯蛋白3的敏感性和特异性分别为98%[95%置信区间(CI)97-100%]和99%(95%CI95.6-100%),似乎与微阵列分析有很好地相关性。Bishop等人^[3]的一项研究报道,在肺腺癌中,Napsin-A,一种参与表面活性剂代谢的蛋白酶,比甲状腺转录因子-1(TTF-1)的识别更为一致。敏感性提高了10%(83%),两者联合使用优于单独使用。因此,免疫组化对TTF-1和napsin-A的双重染色可能有助于肺腺癌的诊断,尽管在肾癌和甲状腺恶性肿瘤中也呈阳性。Ring等人^[4]使用551例手术肺活检样本,从基因表达谱分析结果中筛选出400个免疫组化抗体(TRIM29、CEA CAM5、SLC7A5、MUC1和CK5/6)。然后在三个验证组中使用这五种标记的加权算法来区分从针穿刺获得的1111个小活检样本中的鳞癌和腺癌。与TP63和TTF-1的免疫组化相比,该方法导致无法分类的非小细胞肺癌的比例减少了一半,这表明该算法可能在临床环境中有用,特别是当小的活检样本使形态学检查困难时。

分子生物学目前对肺癌的诊断与治疗有着重大的贡献,学者观察到的分子生物学技术的进步使我们理解重大改进的分子机制,革新了非小细胞肺癌的治疗方法。表皮生长因子受体(EGFR)的抑制剂,无论是受体酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)、埃罗替尼和吉非替尼的酪氨酸激酶胞内功能的抑制剂,还是针对细胞外受体(西妥昔单抗)的单克隆抗体,已成为胸外科医生治疗手段中不可或缺的一部分^[5]。现在有强有力的证据表明EGFR-TKIs在某一特定亚群患者中得到了最好的利用。从不吸烟且组织学诊断为腺癌的女性,尤其是东亚裔,对EGFR-TKIs的反应似乎更好^[6]。然而,正如一项具有里程碑意义的研究报道的,这些临床特征可能不够敏感或特异性,不足以选择可能受益于这些药物(相对于传

统的细胞毒性药物)的患者。即使在高度选择的人群中,在考虑治疗之前也应寻求EGFR突变^[7]。同样,KRAS基因的突变已被证明对埃罗替尼和吉非替尼都具有耐药性,但与较差的生存率之间的相关性尚不清楚。这些突变的识别曾经需要从切除的肿瘤中获得大样本,现在通常通过较小的活检来进行,这通常是用于分析晚期非小细胞肺癌的唯一可用材料^[8]。通过IHC检测EGFR表达,我们选择了西妥昔单抗与顺铂双偶联剂进行FLEX试验的患者,生存率明显提高。因为EGFR仅在50%-90%的非小细胞肺癌中表达,而在未选择的人群中,西妥昔单抗除常规治疗外并没有发现获益^[9]。

PCR直接测序越来越多地用于较小的活检样本,包括CT引导下的活检和支气管镜下的肺活检。一项研究表明,支气管超声引导下获得的纵隔淋巴结活检是这类分析的优秀标本。然而,小活检标本直接测序的技术局限性仍然存在^[10]。仔细分离肿瘤细胞通常需要大解剖和微解剖,蜡块包埋样本的遗传物质可能会改变并导致PCR伪影。对于小体积活检,各种高灵敏度技术可能更好,但临床价值尚不明确:高分辨率熔融分析、高性能液相色谱和扩增难治突变系统等^[11]。这些技术可以在肿瘤细胞数量有限的异质样本中识别低水平的突变。然而,这些方法检测到的突变的临床意义目前还不确定。非小细胞肺癌中表皮生长因子受体抑制剂反应的生物标志物工作组的一组建议已经发表,并强调了标准化这些程序的必要性。

另一个有前景的研究领域依赖于对传统细胞毒性化疗反应的分子预测因子的识别。切除修复交叉互补组1(ERCC1)基因表达、核糖核苷酸还原酶亚基1(RRM1)和胸腺嘧啶合酶的酶促功能分别对顺铂、吉西他滨和渗透曲塞产生抗性^[12]。测量这些基因表达水平可能改变目前的NSCLC治疗,导致个体化治疗。分子分析指导的晚期非小细胞肺癌个体化治疗前瞻性试点研究使用支气管镜活检样本和经胸穿刺针组织,通过RT-PCR确定ERCC1和RRM1状态,选择化疗方案,证明可行性和潜在改善临床结果^[13]。一些使用类似验证性研究正在进行中。

3 结语

分子生物学的进步改变了我们对肺癌,特别是非小细胞肺癌的认识,并正在彻底改变这些患者的治疗方法。必须确定蛋白质和基因组表达的特定模式,要求应用复杂的技术,

以更小的活检样本。先进的分子技术可能提供早期诊断，准确表征非小细胞肺癌的组织学亚型，并了解疾病的预后和对化疗或靶向治疗的预期反应。然而，这些技术仍处于早期发展阶段，需要付出相当大的努力来将其标准化。

参考文献

- [1] McWilliams A, Lam B, Sutedja T. Early proximal lung cancer diagnosis and treatment. *Eur Respir J*, 2009(33):656–665.
- [2] Jagirdar J. Application of immunohistochemistry to the diagnosis of primary and metastatic carcinoma to the lung. *Arch Pathol Lab Med*, 2008(132):384–396.
- [3] Bishop JA, Sharma R, Illei PB. Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid, and malignant mesothelioma. *Hum Pathol*, 2010(41):20–25.
- [4] Ring BZ, Seitz RS, Beck RA, et al. A novel five-antibody immunohistochemical test for subclassification of lung carcinoma. *Mod Pathol*, 2009(22):1032–1043.
- [5] Pirker R, Pereira JR, Szczesna A, et al. Cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer (FLEX): an open-label randomised phase III trial. *Lancet*, 2009(373):1525–1531.
- [6] Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, et al. Erlotinib in previously treated nonsmall-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2005(353):123–132.
- [7] Rosell R, Moran T, Queralt C, et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med*, 2009(361):958–967.
- [8] Nomoto K, Tsuta K, Takano T, et al. Detection of EGFR mutations in archived cytologic specimens of nonsmall cell lung cancer using high-resolution melting analysis. *Am J Clin Pathol*, 2006(126):608–615.
- [9] Giaccone G. HER1/EGFR-targeted agents: predicting the future for patients with unpredictable outcomes to therapy. *Ann Oncol*, 2005(16):538–548.
- [10] Eberhard DA, Giaccone G, Johnson BE. Biomarkers of response to epidermal growth factor receptor inhibitors in Non-Small-Cell Lung Cancer Working Group: standardization for use in the clinical trial setting. *J Clin Oncol*, 2008(26):983–994.
- [11] Janne PA, Borras AM, Kuang Y, et al. A rapid and sensitive enzymatic method for epidermal growth factor receptor mutation screening. *Clin Cancer Res*, 2006(12):751–758.
- [12] Reed E. ERCC1 and clinical resistance to platinum-based therapy. *Clin Cancer Res*, 2005(11):6100–6102.
- [13] Simon G, Sharma A, Li X, et al. Feasibility and efficacy of molecular analysis-directed individualized therapy in advanced nonsmall-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2007(25):2741–2746.