

ARMS技术联合Taqman探针检测100例 非小细胞肺癌EGFR基因突变

赵静 赵金银 赵肖 陈唯军 钟巍 张力 李龙芸 王孟昭

【摘要】背景与目的 表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 基因突变是决定表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂 (EGFR tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI) 疗效最重要的预测因子, 对EGFR基因突变进行检测, 对指导患者个体化治疗具有重要意义。EGFR基因突变检测方法有很多, 每种方法各有优缺点, 本研究拟采用扩增阻滞突变系统 (amplification refractory mutation system, ARMS) 技术与Taqman探针相结合的方法, 建立一种能快速、敏感及特异检测非小细胞肺癌EGFR基因突变的方法。方法 首先, 应用Primer Premier 5.0软件在EGFR基因E746_A750和L858R处设计ARMS引物及Taqman水解探针。然后, 以包含E746_A750缺失和L858R点突变的质粒为研究对象, 进一步分析所建立方法的灵敏度、敏感性以及特异性。最后, 用所建立的ARMS-Taqman法检测100例非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 临床标本。结果 在无背景DNA干扰的情况下, ARMS-Taqman法检测灵敏度可达10 copies。对于检测敏感性, 在500 copies/ μ L野生型基因背景下, 其敏感性达1%; 在5,000 copies/ μ L野生型基因背景下, 其敏感性高达0.1%-0.5%。对于检测特异性, 以正常人白细胞DNA为研究对象, 21 L858R突变存在一定程度的非特异性扩增, 但其最小 Δ Ct高达14.89, 而19 Del未见非特异性扩增。对100份临床标本进行检测, 19 Del 21例, 21 L858R 18例, 总突变率为39.0%。结论 我们所构建的ARMS-Taqman法是一种快速、简便以及具有较高灵敏度和特异性的EGFR基因突变检测方法, 值得在临床上进一步推广和验证。

【关键词】 扩增阻滞突变系统; Taqman探针; 表皮生长因子受体; 突变检测; 肺肿瘤

【中图分类号】 R734.2

Detection of EGFR Gene Mutations in 100 Non-small Cell Lung Cancer Clinical Samples by a Real-time Polymerase Chain Reaction Method Using Amplification Refractory Mutation System Specific Primers and Taqman Fluorescence Probes

Jing ZHAO¹, Jinyin ZHAO², Xiao ZHAO¹, Weijun CHEN², Wei ZHONG¹, Li ZHANG¹, Longyun LI¹, Mengzhao WANG¹

¹Department of Respiratory Medicine, Peking Union Medical College Hospital, Peking Union Medical College and Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China; ²Key Laboratory of Genome Sciences and Information, Beijing Institute of Genomics,

Chinese Academy of Sciences, Beijing 100029, China

Corresponding author: Mengzhao WANG, E-mail: mengzhaowang@sina.com

【Abstract】 Background and objective Epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutation is the most important predictor of the efficiency of EGFR-tyrosine kinase inhibitors in the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC). The detection of EGFR gene mutations can guide individual therapies for NSCLC. Numerous methods are used to detect EGFR gene mutation and each method has different features. This study aims to establish a real-time polymerase chain reaction (PCR) method for the detection of EGFR gene mutations using amplification refractory mutation system (ARMS) specific primers and Taqman fluorescence probes. **Methods** ARMS specific primers for the two EGFR gene mutations (E746_A750 and L858R) and Taqman fluorescence probes for the detection of the target sequence were carefully designed by the Primer Premier 5.0 software. Then, using the recombinants containing E746_A750 and L858R mutations as the study objects, we further analyzed the sensitivity and lower limit of this method, and then determined the cutoff Δ Ct value to evaluate specific or non-specific amplification. A total of 100 clinical samples were collected and used to detect the EGFR gene mutations using this method. **Results** The lower limit of this method for the detection of EGFR gene mutation was 10 copies if no interference of wild-type EGFR gene or background DNA existed. Regarding the method sensitivity, the detection resolution was as high as

本研究受教育部博士点基金 (20091106120014) 资助

作者单位: 100730 北京, 中国医学科学院, 北京协和医学院, 北京协和医院呼吸内科 (赵静, 赵肖, 钟巍, 张力, 李龙芸, 王孟昭); 100029 北京, 中国科学院北京基因组研究所 (赵金银, 陈唯军) (通讯作者: 王孟昭, E-mail: mengzhaowang@sina.com)

1% and 0.1%-0.5% in the background of 500 and 5,000 copies/ μL wild-type *EGFR* gene, respectively. Regarding the method specificity, non-specific amplifications were found when it was used to detect 21 L858R mutations in leukocyte DNA samples from healthy volunteers. However, the minimal ΔCt value was 14.48. Non-specific amplifications were not found when detecting 19 Del mutations. Among the 100 clinical samples, 39 mutations were detected (19 Del and 21 L858R were 21 and 18, respectively) using this method. The total mutation rate was 39.0%. **Conclusion** The proposed ARMS-TaqMan real-time PCR method for the detection of 19 Del and 21 L858R mutations in *EGFR* gene was rapid, simple, sensitive, specific, and applicable in the clinical setting.

【Key words】 Amplification refractory mutation system; Taqman probe; Epidermal growth factor receptor; Mutation detection; Lung neoplasms

This study was supported by the grant from the Doctoral Fund of Ministry of Education of China (to Mengzhao WANG)(20091106120014).

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 是一种跨膜受体酪氨酸激酶, 该区域的激活对非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 的增殖、生长相关信号传递具有重要意义。大量研究^[1-3]表明, *EGFR* 基因突变状态是决定 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitor, TKI) 疗效最重要的预测因子, 故在晚期 NSCLC 中检测 *EGFR* 基因突变状态至关重要, 是决定患者能否一线应用 EGFR-TKI 的先决条件。*EGFR* 基因突变检测方法有很多, 其中 Scorpions ARMS 法具有检测灵敏度高、操作简便、结果容易判读、省时等诸多优点, 在一些大型临床研究^[2]中被广泛采用, 但其高昂的检测费用并不适合我国国情。为此, 我们自主设计了 *EGFR* 基因常见突变的 ARMS 引物, 并联合 Taqman 探针技术建立了一种快速、简便、经济以及灵敏的检测方法, 并取得了满意效果, 特此汇报。

1 材料与方法

1.1 ARMS 引物及 Taqman 探针的设计 在美国国立生物技术信息中心 (National Center of Biotechnology Information, NCBI) 数据库下载 *EGFR* 全基因序列。*EGFR* Exon 19 E746_A750 del 和 Exon 21 L858R 突变信息分别为 2235_2249 del 15 和 2573 T>G。应用 Primer Premier 5.0 软件在 E746_A750 和 L858R 处设计 ARMS 引物, 其长度约 22 个碱基, GC 含量为 40%-60%, T_m 值为 58 °C-60 °C, 扩增片段大小为 80 bp-150 bp。Taqman 探针长度为 26 个-30 个碱基, GC 含量为 40%-60%, T_m 值为 68 °C-70 °C。另在 *EGFR* Exon 2 上设计引物和探针, 作为内参。以携带 Exon 19 E746_A750 缺失突变和 Exon 21 L858R 点突变的质粒标准品 (由中国科学院北京基因组研究所赠送) 为研究对象, 筛选和确立最佳引物和探针。

荧光定量 PCR 反应体系如下 (20 μL 反应体系): 2

\times Taqman Universal PCR Mix 10 μL , 上下游引物 (10 μM) 各 0.5 μL , 探针 (10 μM) 0.4 μL , DNA 模板 (2 ng/ μL -20 ng/ μL) 2 μL , 纯水定容至 20 μL 。PCR 反应程序: 50 °C、5 min; 95 °C 预变性 10 min; 40 个循环: 95 °C、15 s、60 °C、45 s (收集荧光)。

1.2 灵敏性试验 将 Exon 19 E746_A750 del 和 Exon 21 L858R 质粒标准品按 10^0 copies/ μL 、 1×10^1 copies/ μL 、 1×10^2 copies/ μL 、 1×10^3 copies/ μL 、 1×10^4 copies/ μL 、 1×10^5 copies/ μL 进行梯度稀释, 按 1.1 所建立的方法, 进行灵敏性试验, 每个梯度设 3 个重复孔。

1.3 敏感性试验

1.3.1 19 外显子缺失突变敏感性试验 将 Exon 19 E746_A750 del 突变型质粒分别加入到 500 copies/ μL 和 5,000 copies/ μL 的 Exon 19 野生型质粒 (由中国科学院北京基因组研究所赠送) 中, 制成突变率 (突变型基因与野生型基因拷贝数百分比) 依次为 10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0% 的样本, 按 1.1 所建立的方法进行检测, 以确定其检测敏感性。

1.3.2 21 外显子点突变敏感性试验 将 Exon 21 L858R 突变型质粒分别加入到 500 copies/ μL 和 5,000 copies/ μL 的 Exon 21 野生型质粒 (由中国科学院北京基因组研究所赠送) 中, 制成突变率依次为 10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0% 的样本, 按 1.1 所建立的方法进行检测, 以确定其检测敏感性。

1.4 特异性试验及 cutoff 值确定 以 10 份正常人白细胞 DNA 为研究对象, 浓度范围 1 ng/ μL -50 ng/ μL , 进行 6 次重复性试验, 统计每次出现的非特异性扩增 Ct 值及样本的内参 Ct 值, 计算出 ΔCt 值 ($\Delta\text{Ct} = \text{Ct}_{\text{非特异}} - \text{Ct}_{\text{内参}}$)。依据公式 $\text{cutoff } \Delta\text{Ct} = \text{平均 } \Delta\text{Ct} - 3 \times \text{Sd} - 3$, 计算出 cutoff ΔCt 。

1.5 100 份 NSCLC 组织标本的检测

1.5.1 标本收集、DNA 提取 NSCLC 标本来自 2008 年 12 月-2010 年 12 月北京协和医院呼吸内科肺癌病房收治, 且经临床、影像以及病理诊断为非小细胞肺癌患者, 共 100

例，其中男性53例，女性47例；腺癌71例（包括细支气管肺泡癌5例），鳞癌22例，其它7例（包括腺鳞癌1例，未定型6例）；既往采用Scorpions ARMS法检测过的标本29例。每例患者提供石蜡切片5张。采用离心柱法提取石蜡切片DNA（使用商品化Tiangen组织样本基因组DNA提取试剂盒）。最后，使用紫外分光光度计测定DNA浓度，调整DNA浓度于2 ng/μL-20 ng/μL之间，冻存于-20 °C冰箱备用。

1.5.2 ARMS联合Taqman探针技术检测NSCLC组织EGFR基因突变

1.5.2.1 阳性对照品制备 以提取的20 ng/μL正常人全基因组DNA为背景，加入Exon 19 E746_A750 del和Exon 21 L858R突变型质粒，制成1:1的突变阳性对照品。

1.5.2.2 临床样本的检测 按照1.1所建立的ARMS-Taqman PCR反应体系及反应程序对所收集的临床样本进行检测，每一份样本均设立一个阴性对照样本（以纯水代替）和一个阳性对照样本。

计算出每个样本的ΔCt ($\Delta Ct = Ct_{\text{突变反应}} - Ct_{\text{内参}}$)，依

据1.4所建立的cutoff ΔCt值判断结果。若ΔCt值小于cutoff ΔCt值，则为阳性样本；若ΔCt值大于cutoff ΔCt值，则为阴性样本或超出检测范围。

对ARMS-Taqman PCR检测阳性的标本均进行测序验证，测序由上海生工完成。

2 结果

2.1 ARMS引物及Taqman探针 以2外显子为内参。表1列出了2外显子内参引物，19外显子缺失突变ARMS引物、21外显子点突变ARMS引物，以及用于各自扩增产物检测的Taqman探针序列。

2.2 ARMS-Taqman PCR反应体系检测灵敏度结果 对EGFR基因突变检测的2个反应（19 Del和21 L858R），ARMS-Taqman PCR方法最低可检测至 1×10^1 copies/μL。图1、图2分别显示19 Del和21 L858R检测反应。

2.3 ARMS-Taqman PCR反应体系检测敏感性结果 对于19 Del突变，如图3，在500 copies/μL的野生型质粒背景下，

表 1 检测EGFR基因Exon 19 E746_A750 del和Exon 21 L858R突变所设计的ARMS引物和Taqman探针序列

Tab 1 Sequences of ARMS primers and Taqman probes designed for the detection of Exon 19 E746_A750 del and Exon 21 L858R mutations in EGFR gene

	Primers (5' -3')	Probes (5' -3')
Exon 2	F: TGCCAAGGCACGAGTAACAAG	FAM-TCTCAGCCTCCAGAGG
Internal control	R: TCCAAATTCCTCAAGGACCAC	ATGTTCAATAACT-BHQ1
Exon 19 E746_A750 del	F: AATTCCCGTCGCTATCAAAC R: ACCCCACACAGCAAAGC	FAM-CCAACAAGGAAATCCT CGATGTGAGTTTCTG-BHQ1
Exon 21 L858R	F: AAGATCACAGATTTGTGCG R: CAGCCTGGTCCCTGGTGT	FAM-TTCTTTCTCTCCGCAC CCAGCAGT-BHQ1

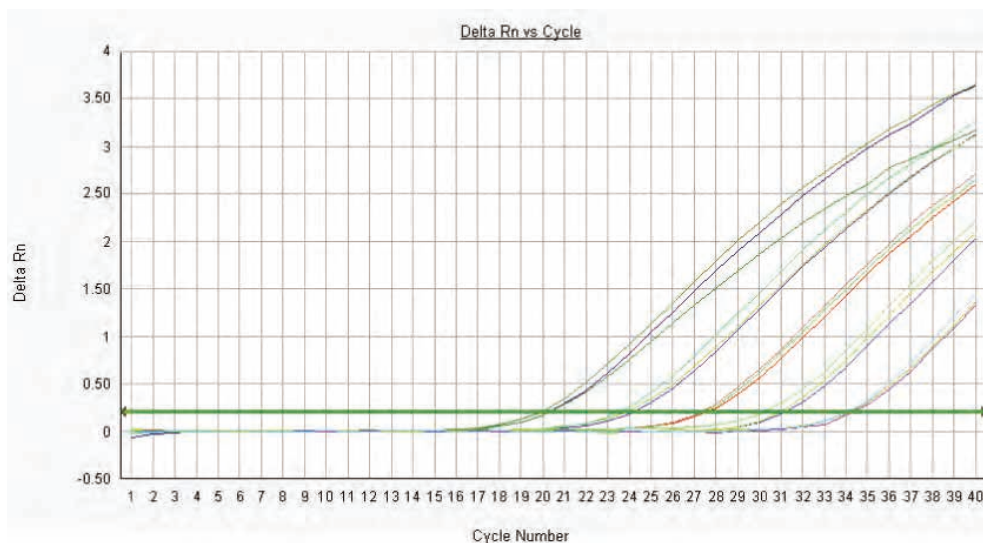


图 1 19 Del检测曲线，19 Del突变型质粒浓度梯度依次为： 1×10^5 copies/μL、 1×10^4 copies/μL、 1×10^3 copies/μL、 1×10^2 copies/μL、 1×10^1 copies/μL。
Fig 1 The amplification curves of 19 Del mutation (the concentrations of mutant plasmid was 1×10^5 copies/μL, 1×10^4 copies/μL, 1×10^3 copies/μL, 1×10^2 copies/μL and 1×10^1 copies/μL, respectively).

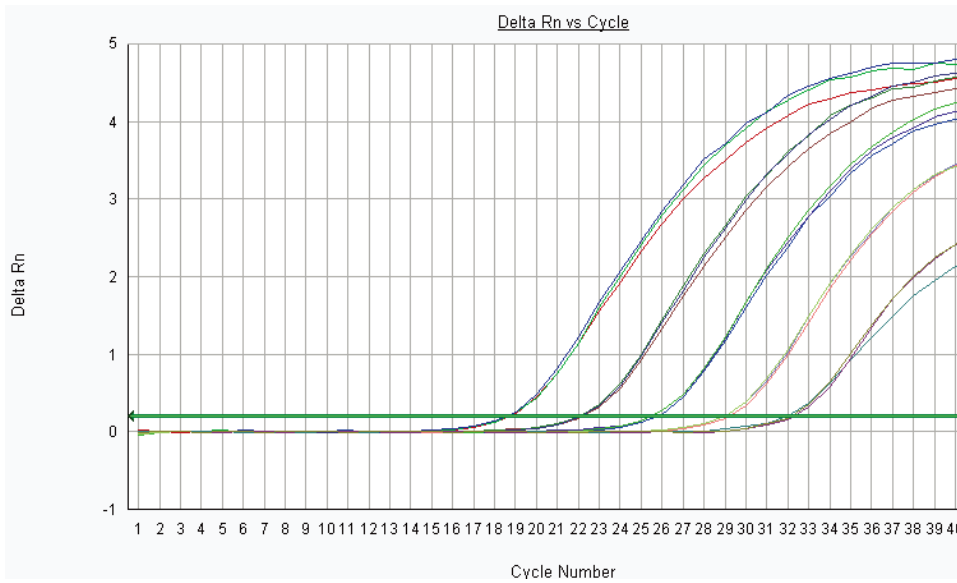


图2 21 L858R检测曲线, 21 L858R突变型质粒浓度梯度依次为: 1×10^5 copies/ μ L、 1×10^4 copies/ μ L、 1×10^3 copies/ μ L、 1×10^2 copies/ μ L、 1×10^1 copies/ μ L。
Fig 2 The amplification curves of 21 L858R mutation (the concentrations of mutant plasmid was 1×10^5 copies/ μ L, 1×10^4 copies/ μ L, 1×10^3 copies/ μ L, 1×10^2 copies/ μ L and 1×10^1 copies/ μ L, respectively).

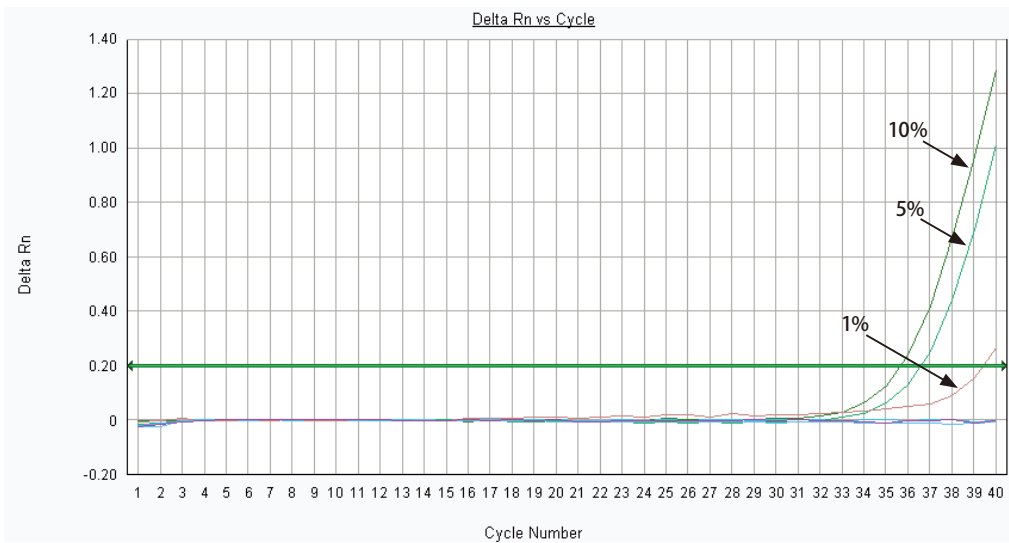


图3 19 Del在500 copies/ μ L野生型质粒背景下, 依次存在10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0%的突变率, ARMS-Taqman PCR可检出含1%突变率样本。
Fig 3 The 19 Del mutation amplification curves for different concentrations of mutant plasmids (under the background of 500 copies/ μ L wild-type plasmids) showed the detection resolution was 1%.

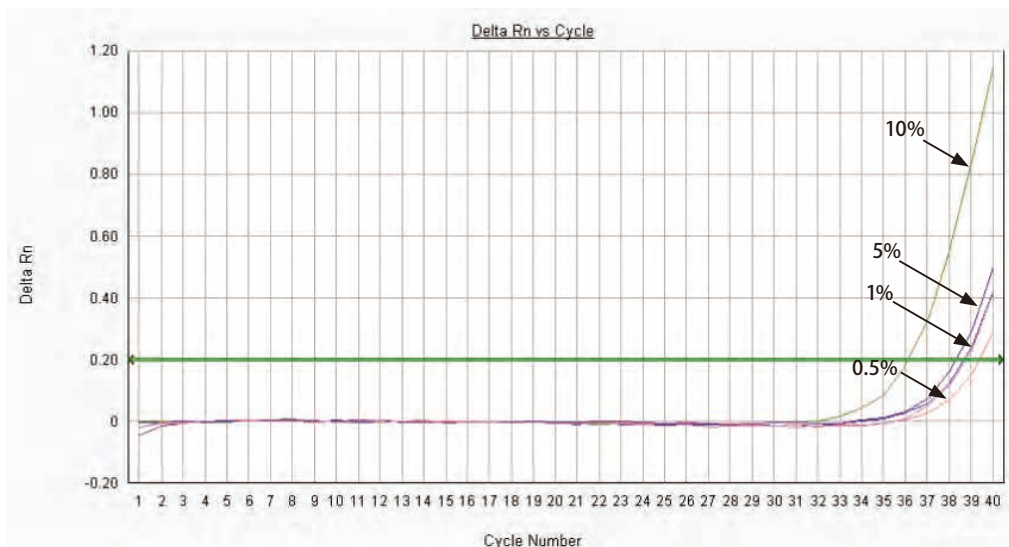


图4 19 Del, 在5,000 copies/ μ L野生型质粒背景下, 依次存在10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0%的突变率, ARMS-Taqman PCR可检出含0.5%突变率样本。
Fig 4 The 19 Del mutation amplification curves for different concentrations of mutant plasmids (under the background of 5,000 copies/ μ L wild-type plasmids) showed the detection resolution was 0.5%.

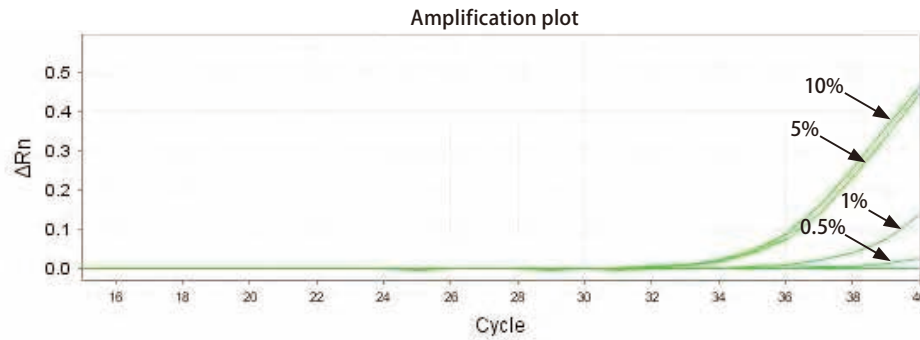


图 5 21 L858R, 在500 copies/ μ L野生型质粒背景下, 依次存在10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0%的突变率, ARMS-Taqman PCR可检出含1%突变率样本。

Fig 5 The 21 L858R mutation amplification curves for different concentrations of mutant plasmids (under the background of 500 copies/ μ L wild-type plasmids) showed the detection resolution was 1%.

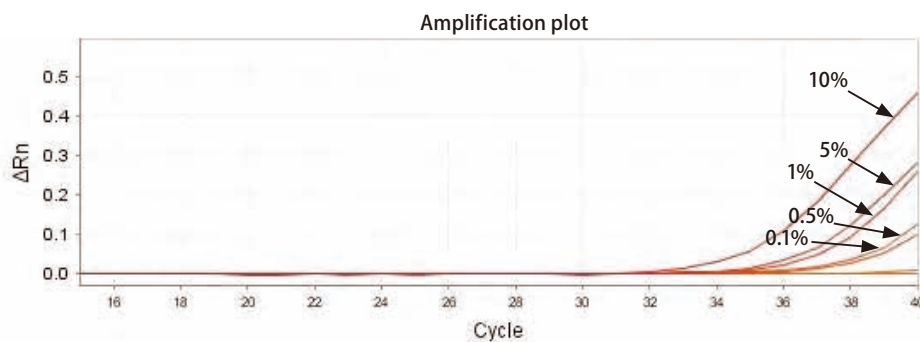


图 6 21 L858R, 在5,000 copies/ μ L野生型质粒背景下, 依次存在10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0%的突变率, ARMS-Taqman PCR可检出含0.1%突变率样本。

Fig 6 The 21 L858R mutation amplification curves for different concentrations of mutant plasmids (under the background of 5c000 copies/ μ L wild-type plasmids) showed the detection resolution was 0.1%.

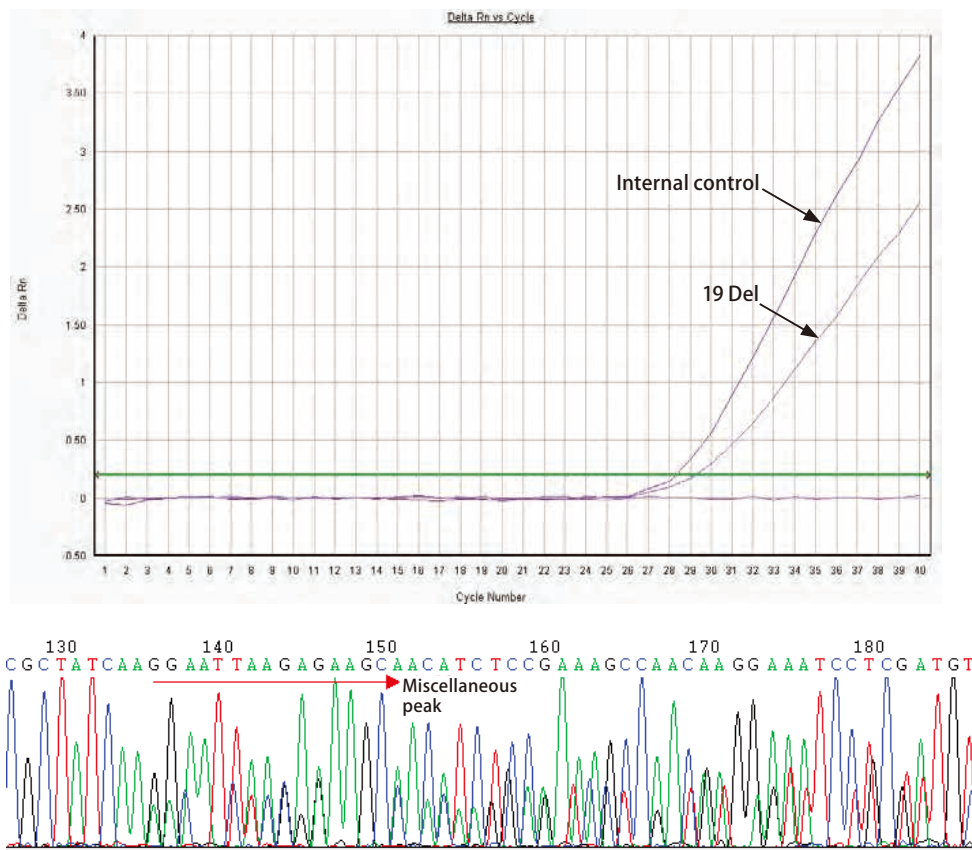


图 7 样本1 Exon 19 E746_A750 Deletion突变: 荧光检测与测序结果

Fig 7 Exon 19 E746_A750 Deletion mutation (sample 1): the results of ARMS-Taqman and sequencing

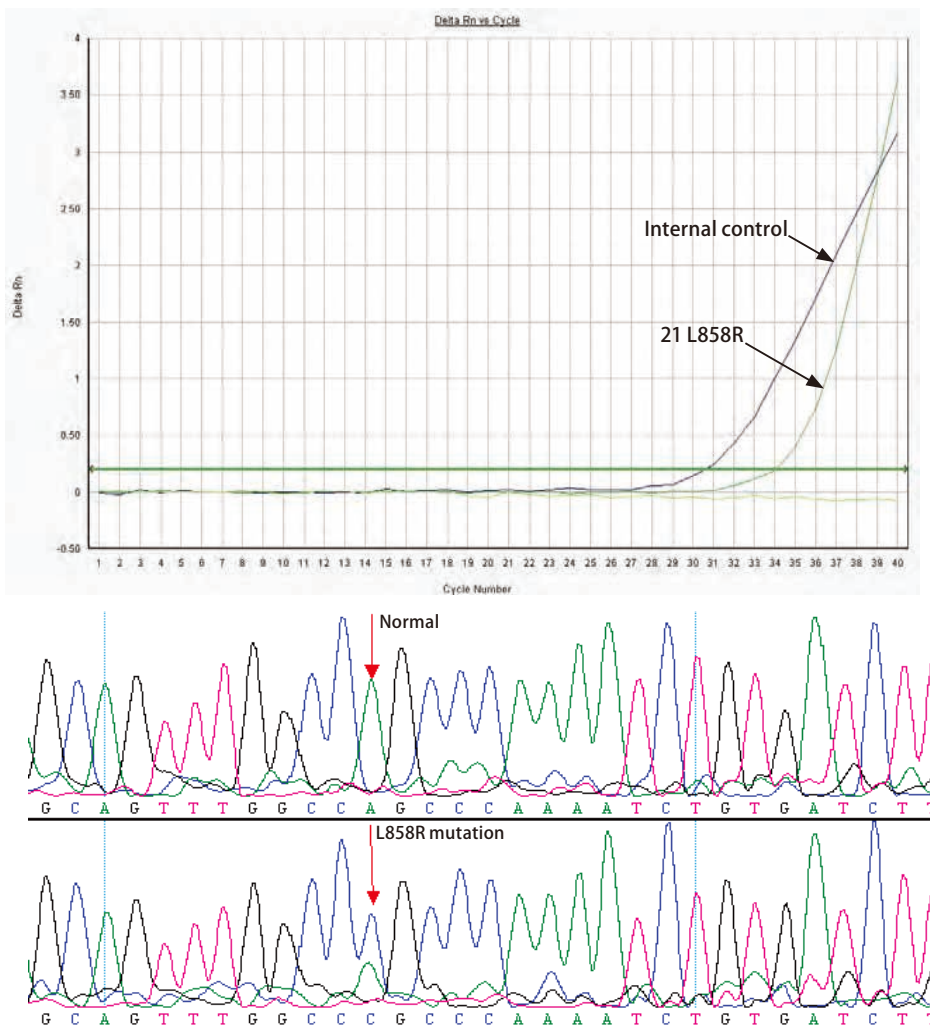


图 8 样本2 Exon 21 L858R突变: 荧光检测与测序结果
Fig 8 Exon 21 L858R mutation (sample 2): the results of ARMS-Taqman and sequencing

表 2 Cutoff ΔCt值统计结果

Fig 2 The summary of cutoff ΔCt values

Mutation	Mean ΔCt±SD	Minimal ΔCt	Maximal ΔCt	The occurrence frequency of non-specific amplification	cutoff ΔCt
19 Del	*	\	17.24	0	10
21 L858R	15.53±0.47	14.89	15.95	6/60	10

* means the non-specific amplification.

可检出突变率为1%；如图4，在5,000 copies/μL的野生型质粒背景下，可检出突变率为0.5%。对于21 L858R，如图5，在500 copies/μL的野生型质粒背景下，可检出突变率为1%；如图6，在5,000 copies/μL的野生型质粒背景下，可检出突变率为0.1%。

2.4 ARMS-Taqman PCR反应体系cutoff ΔCt值 对于检测特异性，如表2所示，19 Del未见非特异性扩增，cutoff ΔCt设定为10。而21 L858R突变存在一定程度的非特异性扩

增（6/60），根据计算公式，cutoff ΔCt为10。

2.5 100例NSCLC临床样本检测结果 100例NSCLC组织标本，采用ARMS-Taqman PCR检测EGFR基因突变，结果显示，19 Del 21例，21 L858R 18例，总突变率为39.0%（39/100）。从EGFR基因突变分布看，19 Del占51.2%（21/39），21 L858R占43.9%（18/39）。

对ARMS-Taqman检测阳性标本进行测序验证，结果显示，测序结果与ARMS-Taqman荧光检测结果完全一

致。图7、图8分别显示19 Del和21 L858R ARMS-Taqman检测结果与测序结果。

100例NSCLC标本中，有29例标本既往曾采用Scorpions ARMS法进行过EGFR基因突变检测。在这29例标本中，Scorpions ARMS法检出19 Del 3例，占10.3% (3/29)，21 L858R 6例，占20.7% (6/29)，总突变率为31.0% (9/29)。对这29例标本，ARMS-Taqman法检出19 Del 3例，占10.3% (3/29)，21 L858R 5例，占17.2% (5/29)，总突变率为27.6% (8/29)。两种方法19 Del突变检出一致率为93.1%，Kappa=0.627；21 L858R突变检出一致率为96.6%，Kappa=0.890。

3 讨论

多项临床研究^[1-6]表明：与标准化疗相比，具有EGFR基因突变的NSCLC患者使用EGFR-TKI，具有更高的客观缓解率和PFS，同时患者生活质量更佳。鉴于此，早在2011版NCCN NSCLC指南就明确指出，对于IV期非鳞NSCLC患者，应先行EGFR基因突变检测，如果存在EGFR基因突变，治疗上优先推荐EGFR-TKI。可见，EGFR基因突变的检测对指导患者个体化治疗方案的制定具有重要意义。

目前，已经报道的EGFR基因突变类型大约有60种^[7]，其中29种突变最为常见，包括19种19 Del、3种20 Ins、21 L858R、21 L861Q、20 T790M、20 S768I、18 G719A、18 G719S和18 G719C，它们约占EGFR基因突变类型的99%^[8]，其它EGFR基因突变类型罕见，而且和EGFR-TKI疗效之间的关系并不确切，因此并未在临床上指导EGFR-TKI的使用，故仅对这29种常见EGFR基因突变进行检测，足以满足临床所需。

关于EGFR基因突变检测的方法有很多，各国学者对此都进行了大量研究。已经报道的方法包括^[9]：直接测序法、DHPLC、PCR-SSCP/RFLP、Scorpions ARMS、Taqman PCR、ME-PCR等。这些方法各有优缺点，其中在临床和科研中较为常用的方法为直接测序法和Scorpions ARMS法。直接测序法检测能力有限，其检测敏感性约20%左右，而且步骤复杂、费时费力，但该方法的优点是能够发现一些新的未知突变。Scorpions ARMS方法是英国QIAGEN公司开发的一种商业化试剂盒，其即是针对上述常见29种EGFR基因突变进行检测，该方法是将分子信标（Scorpions探针、蝎形探针）与特异性的ARMS引物相结合创造出来的，ARMS引物3'端设计在

突变位点，最后一个碱基与突变碱基配对，只有引物3'末端完全配对时，才能正常扩增，当引物3'末端发生错配时，不能有效的扩增。当引物与突变模板结合并延伸出相应的产物后，引物5'端的探针部分自身双链解开并与扩增产物结合，而使分子信标两端的荧光基团和淬灭基团分离产生荧光。该方法敏感性高达1%，同时还具有操作简便、结果判读容易、省时等多种优点^[10]。但是，因其能在一次PCR反应中同时检测这29种EGFR基因突变，众多ARMS引物和Scorpions探针使得检测费用昂贵，约4,000元/例，不适合我国NSCLC患者的常规检测和筛查。

本研究中所建立的Taqman-ARMS检测方法亦是针对这29种EGFR基因突变位点，通过自主设计的ARMS引物，同时使用普通的Taqman水解探针代替Scorpions探针，使得检测成本大大降低，约300元/例。出于对知识产权的保护，我们在此仅报道了针对19 Del和21 L858R位点设计的ARMS引物和Taqman探针。在无野生型基因以及背景DNA干扰的情况下，本研究所建立的ARMS-Taqman PCR方法检测灵敏度可达10 copies，敏感性达0.1%-1%，同时具有较高的特异性。在对100例NSCLC临床标本的检测中，本研究所创立的ARMS-Taqman方法检出EGFR基因突变率为39% (39/100)，这与文献^[11-13]中报道的亚裔患者EGFR基因具有30%-50%左右的突变率的结果一致。从EGFR基因突变分布看，19 Del占53.85% (21/39)，21 L858R占46.15% (18/39)，这亦与文献^[8]中报道的EGFR基因突变分布情况较为吻合。在与Scorpions ARMS的比较研究中，两种方法具有较高的检测一致率。

综上，本研究所构建的ARMS-Taqman法是一种快速、简便以及具有较高灵敏度和特异性的EGFR基因突变检测方法，价格低廉，值得在临床上进一步推广和验证。

参考文献

- 1 Zhou C, Wu YL, Chen G, *et al.* Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol*, 2011, 12(8): 735-742.
- 2 Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, *et al.* Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*, 2009, 361(10): 947-957.
- 3 Rosell R, Moran T, Queralt C, *et al.* Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med*, 2009, 361(10): 958-967.
- 4 Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, *et al.* Gefitinib or chemotherapy

- for non-small-cell lung cancer with mutated *EGFR*. *N Engl J Med*, 2010, 362(25): 2380-2388.
- 5 Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, *et al*. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2010, 11(2): 121-128.
- 6 Rafael R, Enric C, Radj G, *et al*. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced *EGFR* mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2012, 13(3): 239-246.
- 7 Zhang X, Chang A. Somatic mutations of the epidermal growth factor receptor and non-small-cell lung cancer. *J Med Genet*, 2007; 44(3): 166-172.
- 8 Sharma SV, Bell DW, Settleman J, *et al*. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(3): 169-181.
- 9 Pao W, Ladanyi M. Epidermal growth factor receptor mutation testing in lung cancer: searching for the ideal method. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(17): 4954-4955.
- 10 Thelwell N, Millington S, Solinas A, *et al*. Mode of action and application of Scorpion primers to mutation detection. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(19): 3752-3761.
- 11 Qin BM, Chen X, Zhu JD, *et al*. Identification of *EGFR* kinase domain mutations among lung cancer patients in China: implication for targeted cancer therapy. *Cell Res*, 2005, 15(3): 212-217.
- 12 Pan ZK, Zhang L, Zhang X, *et al*. Epidermal growth factor receptor Mutation in Chinese patients with non-small cell lung cancer. *Ai Zheng*, 2005, 24(8): 919-923. [潘振奎, 张力, 张星, 等. 中国非小细胞肺癌患者表皮生长因子受体突变的研究. *癌症*, 2005, 24(8): 919-923.]
- 13 Mu XL, Li LY, Zhang XT, *et al*. Gefitinib-sensitive mutations of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase domain in Chinese patients with non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(12): 4289-4294.

(收稿: 2012-10-22 修回: 2012-11-24)

(本文编辑 丁燕)

· 消息 ·

《中国肺癌杂志》入选《中文核心期刊要目总览》

日前,《中国肺癌杂志》入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类核心期刊。这是《中国肺癌杂志》继2010年被Medline/PubMed收录以来获得的又一成绩。

《中文核心期刊要目总览》(以下简称《总览》)由北京大学图书馆和北京高校图书馆期刊工作研究会共同主持,已于1992年、1996年、2000年、2004年、2008年出版过五版,主要是为图书情报部门对中文学术期刊的评估与订购、为读者导读提供参考依据。为了及时反映中文期刊发展变化的新情况,课题组认真总结了前五版的研制经验,对核心期刊评价的基础理论、评价方法、评价软件、核心期刊的作用与影响等问题进行了深入研究,在此基础上,进一步改进评价方法,使之更加科学合理,力求使评价结果尽可能准确地揭示中文期刊的实际情况。第六版核心期刊定量评价,采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达60余种,统计文献量达221,177余万篇次(2006年-2008年),涉及期刊14,400余种。本版还加大了专家评审力度,8,200多位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1,980余种核心期刊,分属七大编73个学科类目。《中国肺癌杂志》同时被《中国科技期刊引证报告》和《中文核心期刊要目总览》收录,成为“双核心”期刊,并被国际主要检索系统Medline/PubMed、EMBASE等收录,这标志着《中国肺癌杂志》迈上了一个新台阶。

《中国肺癌杂志》编辑部

2012年2月