

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00049

# 经支气管镜活检小量标本检测 *EGFR* 突变基因在晚期肺腺癌患者中的应用

聂云强<sup>1</sup>, 李翠云<sup>1</sup>, 李娜<sup>1</sup>, 张晓艳<sup>2</sup>, 王辉<sup>1</sup>, 郭大彩<sup>1</sup>, 韩平<sup>1</sup>, 吕欣<sup>1</sup>, 刘淑玲<sup>1</sup>, 王长岭<sup>1</sup>, 许新毅<sup>1\*</sup>

1. 临沂市人民医院呼吸内科, 临沂 276003

2. 临沂市人民医院肿瘤科, 临沂 276003

**[摘要]** **目的** 经支气管镜活检小量标本检测表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, *EGFR*)基因突变, 指导临床靶向治疗。**方法** ⅢB~Ⅳ期女性肺腺癌患者56例, 行内镜下气管腔内瘤组织活检或经支气管针吸活检术活检纵隔、肺门淋巴结, 共收集标本64例, 其中内镜下支气管内单纯组织活检标本20例, 单纯淋巴结穿刺活检标本(TBNA)28例, 支气管腔内组织及纵隔、肺门淋巴结均活检的标本8例。明确诊断肺腺癌后行*EGFR*基因检测, 分别检测19、21外显子突变, 将标本分为支气管腔内转移组和淋巴结转移组, 统计分析两组外显子突变情况及患者靶向治疗临床疗效。**结果** 19外显子突变在支气管腔内转移组阳性率较高( $\chi^2=4.304, P=0.038$ ), 21外显子突变在淋巴结转移组阳性率较高( $\chi^2=18.727, P=0.000$ )。共24例纳入临床疗效评估, 其中支气管腔内转移患者10例(19外显子突变8例, 21外显子突变2例), 疾病控制率90%(9/10), 中位无进展生存期14.8个月; 淋巴结转移患者14例(19外显子突变3例, 21外显子突变11例), 疾病控制率78.57%(11/14), 中位无进展生存期9.2个月, 两组疾病控制率差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 中位无进展生存期差异有统计学意义( $\chi^2=4.134, P=0.042$ )。**结论** 女性晚期肺腺癌*EGFR*外显子突变与不同转移形式有一定的关系, 19外显子突变易出现于支气管内转移, 21外显子突变易出现于淋巴结转移; 支气管内转移的患者靶向治疗效果好于淋巴结转移的患者。

**[关键词]** 肺肿瘤; 腺癌; 表皮生长因子受体; 突变; 酪氨酸激酶抑制剂; 活组织检查; 支气管镜检查

**[中图分类号]** R 734.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 0258-879X(2015)01-0049-05

## Small bronchoscopic biopsy specimens for detecting *EGFR* gene mutations in advanced lung adenocarcinoma

NIE Yun-qiang<sup>1</sup>, LI Cui-yun<sup>1</sup>, LI Na<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-yan<sup>2</sup>, WANG Hui<sup>1</sup>, GUO Da-cai<sup>1</sup>, HAN Ping<sup>1</sup>, LÜ Xin<sup>1</sup>, LIU Shu-ling<sup>1</sup>, WANG Chang-ling<sup>1</sup>, XU Xin-yi<sup>1\*</sup>

1. Department of Respiratory Medicine, People's Hospital of Linyi, Linyi 276003, Shandong, China

2. Department of Oncology, People's Hospital of Linyi, Linyi 276003, Shandong, China

**[Abstract]** **Objective** To examine epidermal growth factor receptor (*EGFR*) gene mutations in small bronchoscopic biopsy specimens, so as to provide guidance for clinical targeted therapy. **Methods** Fifty-six female patients with advanced-stage Ⅲ B-Ⅳ lung adenocarcinoma underwent endoscopic endobronchial biopsy of tumor tissues or transbronchial needle aspiration of mediastinal and hilar lymph nodes. Under the endoscope, 20 patients underwent only bronchial biopsy, 28 underwent only transbronchial needle aspiration (TBNA) lymph node biopsy, and 8 underwent both endobronchial biopsy and TBNA biopsy of mediastinal and hilar lymph nodes. A total of 64 specimens were collected and were subjected to detection of *EGFR* gene mutations after confirmation of lung adenocarcinoma. The specimens were then divided into endobronchial metastasis group and lymph node metastasis group, and the mutations of exons 19 and 21 were detected and the clinical efficacy of targeted therapy was analyzed. **Results** Exon 19 had higher positive rate in the endobronchial metastasis group ( $\chi^2=4.304, P=0.038$ ), and exon 21 had higher positive rate in lymph node metastasis group ( $\chi^2=18.727, P=0.000$ ). A total of 24 cases were included for the clinical efficacy assessments; 10 had endobronchial metastasis (exon 19 mutations in 8 cases, 21 exon in 2

**[收稿日期]** 2014-03-09 **[接受日期]** 2014-11-01

**[基金项目]** 临沂市科技发展计划项目(201313006)。Supported by Science and Technology Development Projects of Linyi(201313006)。

**[作者简介]** 聂云强, 硕士, 主治医师, E-mail: nieyunqiang1978@163.com

\* 通信作者(Corresponding author). Tel:0539-8216033, E-mail: 724560086@qq.com

cases), with the disease control rate being 90% (9/10) and median progression-free survival period being 14.8 months; 14 patients had lymph node metastasis (19 exon 3 cases, 21 exon 11 cases), with the disease control rate being 78.57% (11/14) and the median progression-free survival period being 9.2 months; the disease control rates were not significantly different between the two groups ( $P > 0.05$ ) and the median progression-free survival periods were significantly different between the two groups ( $\chi^2 = 4.134, P = 0.042$ ). **Conclusion** Mutations of different *EGFR* exons might relate to the metastasis forms of female advanced lung adenocarcinoma, with exon 19 prone to endobronchial metastasis and exon 21 to lymph node metastasis. Targeted therapy for patients with endobronchial metastasis has a better outcome than that for patients with lymph node metastasis.

**[Key words]** lung neoplasms; adenocarcinoma; epidermal growth factor receptor; mutation; tyrosine kinase inhibitors; biopsy; bronchoscopy

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(1): 49-53]

近年来,以表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)为靶点的酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)分子靶向治疗成为晚期非小细胞肺癌(NSCLC)治疗的一种新选择,然而不同患者对靶向药物的治疗反应差别很大,临床研究证明 *EGFR* 基因 19、21 外显子突变阳性的患者有效率在 75% 左右,可推荐一线靶向治疗<sup>[1]</sup>。但晚期 NSCLC 患者很难获得手术后标本,难以用基因测序法检测基因突变。同时肺癌原发灶与转移灶的异质性也是影响靶向治疗效果的又一因素,目前研究异质性多为转移灶与原发灶的对比研究<sup>[2]</sup>,对于支气管肺内转移灶与淋巴结转移灶外显子分布规律的研究未见报道。鉴于 *EGFR* 突变多出现于非吸烟者、女性、亚洲人和腺癌患者<sup>[3]</sup>,本研究以这类晚期肺癌患者为研究对象,采用内镜下活检获取标本,以扩增阻滞突变系统(ARMS)法检测获得 *EGFR* 突变情况以指导临床靶向治疗,并进一步研究 *EGFR* 基因突变外显子在转移灶间的分布规律。

## 1 资料和方法

**1.1 一般资料** 收集 2011 年 1 月 1 日至 2013 年 12 月 31 日临沂市人民医院经支气管镜检查并经病理确诊的女性原发肺腺癌患者 56 例,年龄(61.57 ± 9.77)岁,均为非吸烟患者。入选标准:TNM 分期 III B~IV 期,预期寿命大于 3 个月,功能状态(PS)评分 0~1 分;此前未接受过放疗、化疗、手术治疗及 *EGFR* 靶向小分子或抗体的治疗;收集的检测标本均为石蜡包埋标本。临床表现为咳嗽、咯血、胸闷、消瘦,胸部 CT 检查发现肺内占位,支气管狭窄或可见管腔阻塞,胸腔积液或肺门、纵隔淋巴结肿大(直径大于 10 mm),所有患者均行支气管镜检查术,术

前完善相关检查,检测血压、心电图(ECG)、血常规、凝血酶原时间(PT),术前禁饮食 6 h。排除标准:(1)严重心脏病患者;(2)呼吸衰竭患者;(3)严重潜在出血患者;(4)拒绝内镜检查患者。

**1.2 标本获取** 术前行 64 排螺旋 CT 检查并用 100 mL 碘普罗胺 300 增强扫描,对淋巴结直径大于 10 mm 者进行淋巴结穿刺。支气管镜检查发现管腔内支气管壁受侵犯时行内镜下活检,活检钳为一次性活检钳(MTN-BF-18/10-A,南京微创医学科技有限公司),活检取标本 3~5 块以上;肺门及纵隔淋巴结肿大患者经支气管针吸活检(transbronchial needle aspiration, TBNA),针吸活检针为一次性 WANG 氏针(MW319,上海诺帮生物科技有限公司),针吸活检取约 1 cm 组织条 3 条以上。均送病理科检测,经甲醛溶液固定后石蜡包埋行病理切片检测,确诊后患者再检测 *EGFR* 19、21 外显子突变情况。

**1.3 ARMS-PCR 法检测 *EGFR* 基因突变** 每例活检组织石蜡包埋标本常规切片 10 μm 厚,取 5~6 片,置于 1.5 mL 离心管,分别用二甲苯、无水乙醇进行常规处理后沉淀、烘干。加入 200 μL 缓冲液和 25 μL 蛋白酶 K 震荡混匀,55℃ 水浴消化过夜,直到样品完全裂解。溶解提出的 DNA,振荡混匀,-20℃ 冰箱保存备用。依照 *EGFR* 基因突变检测试剂盒说明书(购自厦门艾德生物医药科技有限公司),向 15 μL 待测 DNA、阳性质控品、超纯水中分别加入 1.5 μL *Taq* 酶,在涡旋器上混匀,然后离心,将混匀的 DNA、阳性质控品、超纯水依次取 5 μL 加入 PCR 八联管反应条,离心后使用 Statagene MX3000P 实时荧光定量 PCR 仪进行扩增及 DNA 突变检测(引物购自厦门艾德生物医药科技有限公司)。反应条

件:第1阶段,95℃ 5 min;第2阶段,95℃ 25 s、64℃ 20 s、72℃ 20 s,15个循环;第3阶段,93℃ 25 s、60℃ 35 s、72℃ 20 s,26个循环。信号收集:第3阶段 60℃时收集 FAM 和 HEX 信号,执行实时 PCR,保存文件。结果判定:待检测管的 FAM 信号扩增曲线的 Ct 值 < 26,则样品为阳性,若样品的 FAM 信号扩增曲线的 Ct 值 ≥ 26,则样品为阴性。

1.4 临床疗效评估 根据实体瘤治疗疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RECIST)进行疗效评价,分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、疾病稳定(stable disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD)。无进展生存期:疾病进展与否参照 RECIST,定义为患者开始治疗至出现疾病进展或末次随访的时间。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件包进行数据分析,组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析,利用 Log-rank 检验比较组间的无进展生存期差异。检验水准( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

2.1 临床特征及转移特点 肺癌患者 56 例,均为女性,均行支气管镜检查,术前均行胸部 CT 平扫加强化检查,内镜下支气管内单纯组织活检确诊患

者 20 例,其中合并有胸腔积液的患者 9 例;单纯淋巴结穿刺活检(TBNA) 28 例,其中 1 例合并胸腔积液;支气管腔内浸润组织及纵隔、肺门淋巴结均活检者 8 例,无合并胸腔积液者。转移特点(胸部 CT 特征、支气管镜下表现)和取检方式见表 1。共收集确诊肺癌患者病理切片标本 64 例,其中支气管腔内活检组织病理切片标本 28 例,淋巴结病理切片标本 36 例。

表 1 转移特点与内镜下取检方式

Tab 1 Metastatic characteristics and biopsy methods under endoscope

Metastatic characteristics	n	Biopsy
Endobronchial infiltration	20	BF
Enlarged mediastinal lymph node	28	TBNA
Endobronchial infiltration and enlarged mediastinal lymph node	8	BF, TBNA

BF: Biopsy forceps; TBNA: Transbronchial needle aspiration

2.2 EGFR 基因 19、21 外显子突变情况 分别检测支气管腔内转移标本、淋巴结转移标本 EGFR 基因 19、21 外显子突变,发现支气管腔内转移组 19 外显子突变 9 例(32.14%, 9/28), 21 外显子突变 3 例(10.71%, 3/28);淋巴结转移组 19 外显子突变 4 例(11.11%, 4/36), 21 外显子突变 12 例(33.33%, 12/36)。两组外显子突变阳性率比较见表 2。

表 2 两组 EGFR 基因外显子突变情况

Tab 2 Exons mutation of EGFR gene in the two groups

Group	N	19 exon		21 exon	
		Mutation	Normal	Mutation	Normal
Endobronchial metastasis	28	9(32.14)	19(67.86)	3(10.71)	25(89.29)
Lymph node metastasis	36	4(11.11)	32(88.89)	12(33.33)	24(66.67)
P value		0.038		0.000	

EGFR: Epidermal growth factor receptor

2.3 靶向治疗结果 28 例支气管腔内转移标本、淋巴结转移标本 19、21 外显子突变阳性患者中,1 例患者因年龄偏大、体质差拒绝靶向治疗或化疗,2 例患者优先选择化疗,25 例患者一线给予口服吉非替尼 250 mg/d 长期服用(其中 1 例因明显的胃肠道反应退出)。共 24 例纳入临床疗效评估,其中支气管腔内转移患者 10 例(19 外显子突变 8 例,21 外显子突变 2 例),临床疗效 CR 1 例(10%),PR 3 例

(30%),SD 5 例(50%),PD 1 例(10%),疾病控制率 90%(9/10),中位无进展生存期 14.8 个月;淋巴结转移患者 14 例(19 外显子突变 3 例,21 外显子突变 11 例),临床疗效 CR 0 例,PR 4 例(28.57%),SD 7 例(50%),PD 3 例(21.43%),疾病控制率 78.57%(11/14),中位无进展生存期 9.2 个月。两组疾病控制率差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),中位生存期差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.134, P = 0.042$ )。

### 3 讨论

晚期 NSCLC 患者的传统治疗方法是使用含铂二联化疗,但治疗效果已进入平台期,患者受益的维持时间较短,总生存期仅延长 2~4 个月<sup>[4]</sup>,因此针对 EGFR 的分子靶向治疗成为 NSCLC 治疗的新途径。临床常用的靶向药物为 TKIs,如吉非替尼和厄洛替尼等,但对未经 EGFR 基因检测的患者靶向治疗有效率仅为 10%左右<sup>[5]</sup>,EGFR 基因突变检测是提高 TKIs 治疗有效率的重要途径之一。

由于 NSCLC 患者首次临床诊断时约 70%已不可手术切除治疗,在诊断之初约有一半的患者已出现转移<sup>[6]</sup>,所以晚期患者很难获取手术后原发灶及转移灶的标本。但晚期肺腺癌易出现淋巴管或支气管肺内转移,常见肺门及纵隔淋巴结肿大;在管腔局部可见沿黏膜转移侵犯管壁或进入管腔,因此晚期肺腺癌患者内镜检查容易取得支气管内活检组织或淋巴结标本。本研究标本为内镜下活检标本,在明确病理诊断后采取敏感的 ARMS-PCR 法<sup>[7]</sup>检测 EGFR 基因突变情况,最低要求肿瘤细胞含量在 1%甚至更低,以初步筛选适合 TKI 治疗的患者。检测结果提示支气管内转移标本以 19 外显子突变为主(32.14%),淋巴结转移标本以 21 外显子突变为主(33.33%)。此两种外显子突变患者对 TKIs 治疗反应也有一定的差异,19 外显子突变的患者治疗效果好于 21 外显子突变的患者<sup>[8]</sup>,有相同的突变基因但临床特征不同的患者治疗效果也有一定的差异<sup>[9]</sup>,另外还有一部分 19、21 外显子突变患者服用 TKIs 治疗后仍会进展,考虑与肿瘤的异质性有关<sup>[2]</sup>,是导致 TKI 治疗失败的原因之一。

在亚洲人群中,肺腺癌有一定的异质性,但明显低于欧美患者<sup>[10]</sup>。肺腺癌的异质性与易转移有明显的相关性,肺腺癌多以外周病灶分布为主,有多种不同形式的转移,常见转移途径有血源性、淋巴管、支气管内转移等。血源性转移可表现为肺内多发结节,靠近胸膜下;淋巴管途径可表现为癌性淋巴管炎,淋巴结肿大;支气管内转移主要表现为自外膜侧浸润,管壁明显受压呈锥状狭窄。支气管镜下对管腔内转移灶或肿大淋巴结采用不同的活检方式有较高的阳性率<sup>[11]</sup>,容易进行 EGFR 基因检测,从而有利于分析不同转移灶与外显子突变的关系。EGFR

基因突变与肿瘤的发生及进展关系密切<sup>[12]</sup>,肺腺癌分化越差侵袭力和转移性就越强,TNM 分期越晚,出现淋巴结转移灶的可能性越高<sup>[13]</sup>;Ⅲ~Ⅳ期肺腺癌患者不同病理亚型检测 EGFR 突变外显子也不相同<sup>[14-15]</sup>,并有不同的转移倾向,病理分化越差 EGFR 基因突变可能性越小<sup>[16]</sup>。肺腺癌患者亦可出现原发灶与转移灶基因突变不一致性,若在靶向治疗前不能被评估,患者可能不会在靶向治疗中受益,尤其晚期肺腺癌伴有淋巴结转移的患者更容易出现 EGFR 基因突变缺失<sup>[17]</sup>,导致靶向治疗失败。因此检测转移灶 EGFR 突变有助于提高 TKIs 治疗效果<sup>[18]</sup>,在不同转移灶中检测到突变基因并明确其分布规律具有重要的临床意义。但肺内不同转移途径导致的转移灶突变基因表达机制仍未明确,不同的转移途径是否与基因突变类型有关,哪类突变基因易于出现转移灶内缺失仍需进一步研究。

早期有关 EGFR 基因突变的研究集中于原发病灶与转移淋巴结的关系及淋巴结存在突变缺失或与原发灶不一致性<sup>[14]</sup>,未能重视不同转移方式转移灶间的 EGFR 突变基因的外显子情况。本研究证实ⅢB~Ⅳ期女性肺腺癌患者同为转移病灶的支气管内活检物与淋巴结穿刺物外显子突变表达情况存在差异性,19 外显子突变较易出现于支气管内转移灶,21 外显子突变较易出现于淋巴结转移灶。同时收集的患者的临床特点提示支气管镜发现支气管内转移的患者 TKIs 治疗效果好于淋巴结转移的患者。但本研究例数较少,尚需大样本研究以进一步明确临床特征与转移灶突变外显子的关系,EGFR 突变基因多角度检测将更有利于指导临床靶向治疗。

本研究未能包括男性患者 EGFR 基因突变在转移灶中的分布情况,因此有一定的局限性,同时研究中没有涉及合并症或并发症对治疗的影响,也是不足之处,有待今后收集大样本进一步研究。

### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

### [参考文献]

- [1] Gao G, Ren S, Li A, Xu J, Xu Q, Su C, et al. Epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor

- therapy is effective as first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer with mutated *EGFR*; a meta-analysis from six phase III randomized controlled trials[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131:E822-E829.
- [2] Sun L, Zhang Q, Luan H, Zhan Z, Wang C, Sun B. Comparison of *KRAS* and *EGFR* gene status between primary non-small cell lung cancer and local lymph node metastases; implications for clinical practice[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30: 30.
- [3] Paez J G, Jänne P A, Lee J C, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. *EGFR* mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy[J]. *Science*, 2004, 304:1497-1500.
- [4] De Petris L, Crinò L, Scagliotti G V, Gridelli C, Galotta D, Metro G, et al. Treatment of advanced non-small cell lung cancer[J]. *Ann Oncol*, 2006, 17(Suppl 2): 36-41.
- [5] Sequist L V, Lynch T J. *EGFR* tyrosine kinase inhibitors in lung cancer: an evolving story[J]. *Annu Rev Med*, 2008, 59:429-442.
- [6] Ferlay J, Parkin D M, Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46: 765-781.
- [7] Horiike A, Kimura H, Nishio K, Ohyanagi F, Satoh Y, Okumura S, et al. Detection of epidermal growth factor receptor mutation in transbronchial needle aspirates of non-small cell lung cancer[J]. *Chest*, 2007, 131:1628-1634.
- [8] Carey K D, Garton A J, Romero M S, Kahler J, Thomson S, Ross S, et al. Kinetic analysis of epidermal growth factor receptor somatic mutant proteins shows increased sensitivity to the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, erlotinib[J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 8163-8171.
- [9] Wu S G, Yu C J, Tsai M F, Liao W Y, Yang C H, Jan I S, et al. Survival of lung adenocarcinoma patients with malignant pleural effusion [J]. *Eur Respir J*, 2013, 41: 1409-1418.
- [10] Chen Z Y, Zhong W Z, Zhang X C, Su J, Yang X N, Chen Z H, et al. *EGFR* mutation heterogeneity and the mixed response to *EGFR* tyrosine kinase inhibitors of lung adenocarcinomas[J]. *Oncologist*, 2012, 17: 978-985.
- [11] Garcia-Olivé I, Monsó E, Andreo F, Sanz-Santos J, Taron M, Molina-Vila M A, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for identifying *EGFR* mutations[J]. *Eur Respir J*, 2010, 35: 391-395.
- [12] Li M, Zhang Q, Liu L, Liu Z, Zhou L, Wang Z, et al. The different clinical significance of *EGFR* mutations in exon 19 and 21 in non-small cell lung cancer patients of China [J]. *Neoplasma*, 2011, 58:74-81.
- [13] Russell P A, Barnett S A, Walkiewicz M, Wainer Z, Conron M, Wright G M, et al. Correlation of mutation status and survival with predominant histologic subtype according to the new IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification in stage III (N2) patients[J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8: 461-468.
- [14] Park S, Holmes-Tisch A J, Cho E Y, Shim Y M, Kim J, Kim H S, et al. Discordance of molecular biomarkers associated with epidermal growth factor receptor pathway between primary tumors and lymph node metastasis in non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2009, 4: 809-815.
- [15] Tomonaga N, Nakamura Y, Yamaguchi H, Ikeda T, Mizoguchi K, Motoshima K, et al. Analysis of intratumor heterogeneity of *EGFR* mutations in mixed type lung adenocarcinoma[J]. *Clin Lung Cancer*, 2013, 14: 521-526.
- [16] Liu Y, Xu M L, Zhong H H, Heng W J, Wu B Q. *EGFR* mutations are more frequent in well-differentiated than in poor-differentiated lung adenocarcinomas [J]. *Pathol Oncol Res*, 2008, 14:373-379.
- [17] Na I I, Park J H, Choe du H, Lee J K, Koh J S. Association of epidermal growth factor receptor mutations with metastatic presentations in non-small cell lung cancer[J]. *ISRN Oncol*, 2011, 2011: 756265.
- [18] Han H S, Eom D W, Kim J H, Kim K H, Shin H M, An J Y, et al. *EGFR* mutation status in primary lung adenocarcinomas and corresponding metastatic lesions: discordance in pleural metastases[J]. *Clin Lung Cancer*, 2011, 12:380-386.