

国际肺癌研究协会

# IASLC 肺癌靶向治疗 分子检测图谱

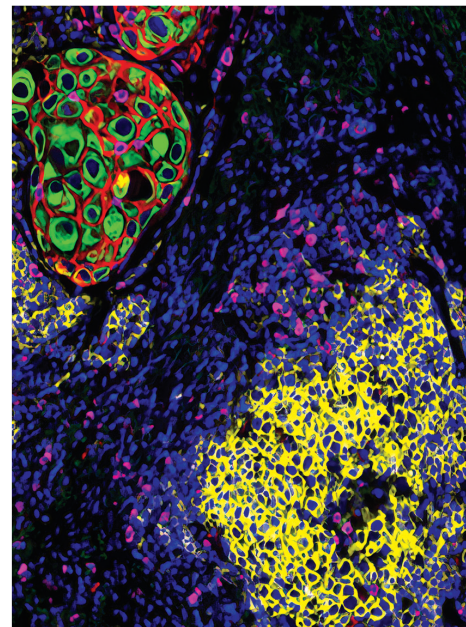
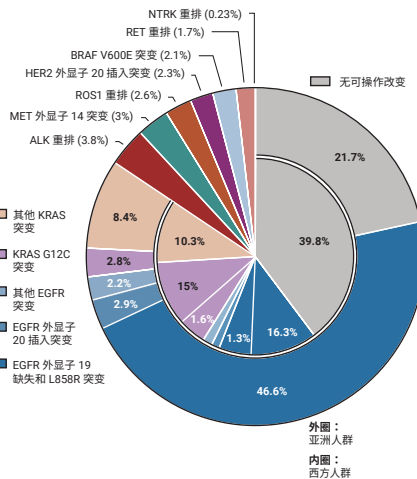
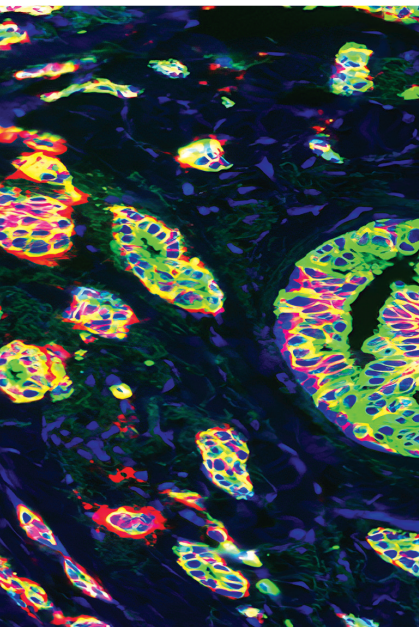
编辑

Lynette M. Sholl, MD  
Wendy A. Cooper, BSc(Med), MBBS, PhD, FRCPA  
Keith M. Kerr, BSc(Hons), MBChB, FRCPath  
Daniel SW Tan, B.Sc (Hons), MBBS, MRCP, PhD  
Ming-Sound Tsao, MD, FRCPC  
James Chih-Hsin Yang, MD, PhD

IASLC



征服全世界的胸部癌症





# IASLC 肺癌靶向治疗 分子检测 图谱



国际肺癌研究协会 (IASLC) 与本图谱编辑团队感谢您的反馈。请扫描二维码, 根据您使用《IASLC 肺癌靶向治疗分子检测图谱》的教学体验, 完成一个简短的调查。

国际肺癌研究协会，美国科罗拉多州丹佛市

编辑：

Lynette M. Sholl, MD

Wendy A. Cooper, BSc(Med), MBBS, PhD, FRCPA

Keith M. Kerr, BSc(Hons), MBChB, FRCPath

Daniel SW Tan, BSc(Hons), MBBS, MRCP, PhD

Ming-Sound Tsao, MD, FRCPC

James Chih-Hsin Yang, MD, PhD

IASLC 办公室：

IASLC, 999 17th Street, Suite 200, Denver, Colorado 80202, USA

[www.iaslc.org](http://www.iaslc.org)

2023 年 2 月

10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

ISBN：979-8-9878292-0-2

版权所有 © 2023 国际肺癌研究协会

保留所有权利

在不限制上述版权下所保留权利的情况下，未经事先书面许可，不得复制、存储或引入检索系统，或以任何形式或任何方式传播本出版物的任何部分。

虽然本书中的信息在出版之日被认为是真实准确的，但 IASLC、编辑和出版商均不对可能出现的任何错误或遗漏承担任何法律责任。出版商对其中包含的材料不作任何明示或暗示的保证。

# IASLC 肺癌靶向治疗分子检测图谱

## 编辑

Lynette M. Sholl, MD

Wendy A. Cooper, BSc(Med), MBBS, PhD, FRCPA

Keith M. Kerr, BSc(Hons), MBChB, FRCPath

Daniel SW Tan, BSc(Hons), MBBS, MRCP, PhD

Ming-Sound Tsao, MD, FRCPC

James Chih-Hsin Yang, MD, PhD



# 鸣谢

国际肺癌研究协会 (IASLC) 感谢以下企业给予的慷慨资助：

阿斯利康 (AstraZeneca)

辉瑞公司 (Pfizer)

安进公司 (Amgen)

诺华 (Novartis)

杨森制药 (Janssen Pharmaceuticals)

礼来公司 (Eli Lilly & Company)

基因泰克 (Genentech)

感谢以下企业提供的其他赞助：

第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)

武田制药 (Takeda)

默克集团 (Merck KGaA)

共同编辑和贡献者还感谢 IASLC 公共卫生硕士暨科学事务专员 Casey Connolly 在协调项目方面的协助；高级科学顾问 Murry Wynes 博士的原始概念模型；Terese Platten 的编辑协助；Stephen Adams 的图像和影像合成协助；以及 Glacier Publishing Services 总裁 Jane Olivier 对本文出版的支持。

# 目录

序言 .....	vii
贡献者 .....	ix
缩略词 .....	xv
<b>1</b> 引言 .....	1
<b>2</b> 肺癌生物标志物检测的临床意义 .....	7
<b>3</b> 样本采集与分析前考虑因素 .....	21
<b>4</b> 液体活检：样本采集、检测策略与临床作用 .....	37
<b>5</b> 生物标志物检测技术 .....	51
<b>6</b> 全球视野下分子检测的指南与实践 .....	69
<b>7</b> 表皮生长因子受体 .....	81
<b>8</b> 间变性淋巴瘤激酶 .....	95
<b>9</b> ROS 原癌基因 1 .....	107
<b>10</b> 鼠类肉瘤病毒癌基因同源物 B .....	115
<b>11</b> 神经营养性酪氨酸受体激酶 .....	123
<b>12</b> 转染重排 .....	129
<b>13</b> 原癌基因受体酪氨酸激酶 .....	135
<b>14</b> Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因 .....	149
<b>15</b> 人类表皮生长因子受体 2 .....	159
<b>16</b> 神经调节蛋白-1 .....	167
<b>17</b> 新靶点和新技术 .....	171
<b>18</b> 分子检测结果和多学科分子肿瘤委员会的职责 .....	181
<b>19</b> 分子生物标志物检测算法 .....	187
<b>20</b> 总结与未来展望 .....	195



# 序言

50年前，国际肺癌研究协会 (IASLC) 成立，愿景是建立一个汇聚人才、专注肺癌研究治疗的组织。今天，IASLC 已经发展成为一家强大的全球性多学科组织，致力于促进成员间合作，为推动该领域的发展提供机遇。病理学委员会是 IASLC 实力最为雄厚、最为活跃的一个委员会，在肺癌和其他胸部恶性肿瘤的分期标准确立方面颇有建树，同时也在重要病理课题，如罹患肺癌的 ALK 阳性综合检测指南和 PD-L1 测试标准化方式比较等标准发布方面声名远播。2020 年发布的《IASLC 诊断免疫组织化学图谱》总结了免疫组织化学 (IHC) 领域的先进发展成果。新版图谱的国际编辑委员会由全球知名专家组成，为优秀作者团队提供指导，将图谱内容扩展到了分子诊断领域。

在多年发展中，IASLC 听取患者权益工作者团体的强烈呼声，从其角度出发，在图谱中用一章介绍生物标志物检测的临床意义，帮助我们了解本图谱内容如何为肺癌患者直接提供助益。

本书的核心是为肺癌领域的医生提供一份实用指南。没有回顾标本采集的先进技术，就不足以探讨病理学标本评估，因此，第二章涉及肺科医生、外科医生、介入放射科医生、病理科医生，具有广泛的实用性。本图谱还囊括了液体活检这一重要章节，对于非小细胞肺癌患者的优化管理，尤其是对组织少且获取难的情况管理，具有越来越重要的意义。作者团队参考其他已经出版的指南，以全球视野，探索了分子检测。本图谱的主要内容根据特定相关基因展开，包括 *EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*KRAS*，以及 *NRG1* 等其他新兴靶点。在图谱结尾，作者团队重点介绍了分子检测算法及未来展望。

《IASLC 肺癌靶向治疗分子检测图谱》总结了分子检测领域的最新发展成果，方便读者查阅，意义重大。制定肺癌最佳治疗方案需要了解肺癌分子基础的最新发展成果和替代方案及其临床意义，从而为患者提供最佳护理。因此，所有病理科医生、肺科医生、外科医生、介入放射科医生、内科肿瘤医生、医疗辅助人员、患者权益

工作者，以及其他致力于为肺癌患者提供最佳护理的工作人员均可将本图谱作为简明实用指南使用。

——Heather Wakelee, MD, FASCO, IASLC 主席

美国加利福尼亚州斯坦福大学

斯坦福大学医学院

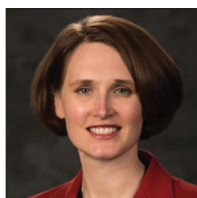
斯坦福癌症研究所

医学系

肿瘤学部

# 贡献者

## 编辑



**Lynette M. Sholl, MD**  
哈佛医学院病理学副教授  
布莱根妇女医院病理学科  
助理病理学家  
美国马萨诸塞州波士顿



**Wendy A. Cooper, BSc(Med), MBBS, PhD, FRCPA**  
副教授  
组织病理学和诊断肿瘤学  
新南威尔士州健康病理学  
皇家阿尔弗雷德王子医院  
澳大利亚新南威尔士州坎珀当



**Keith M. Kerr, BSc(Hons), MBChB, FRCPath**  
阿伯丁皇家医院病理科顾问病理学家  
阿伯丁大学医学院肺部病理学教授  
英国苏格兰阿伯丁



**Daniel SW Tan, BSc(Hons), MBBS, MRCP, PhD**  
肿瘤内科高级顾问  
肿瘤内科  
新加坡国家癌症中心  
新加坡



**Ming-Sound Tsao, MD, FRCPC**

病理学家，高级科学家，教授  
病理学系  
玛嘉烈公主癌症中心，大学医疗网络  
多伦多大学  
加拿大安大略省多伦多



**James Chih-Hsin Yang, MD, PhD**

台湾大学肿瘤医学研究所所长  
台湾大学附属医院肿瘤科主任  
中国台湾台北

## 作者

**Myung-Ju Ahn, MD, PhD**

血液和肿瘤学部  
医学系  
三星医疗院  
成均馆大学医学院  
韩国首尔

**Maria E. Arcila, MD**

病理学科  
纪念斯隆 - 凯特琳癌症中心  
美国纽约州纽约市

**Lyudmila Bazhenova, MD**

血液和肿瘤学部  
医学系  
摩尔癌症中心  
加利福尼亚大学  
美国加利福尼亚州拉荷亚

**Mary Beth Beasley, MD**

伊坎医学院  
西奈山卫生系统  
美国纽约州纽约市

**Sabina Berezowska, MD**

病理研究所  
洛桑大学医院和  
洛桑大学  
瑞士洛桑

**Lukas Bubendorf, MD**

病理研究所  
巴塞尔大学医院  
瑞士巴塞尔

**Federico Cappuzzo, MD, PhD**

Azienda Unità Sanitaria Locale della Romagna  
意大利拉文纳

**Jason C. Chang, MD**

病理学科  
纪念斯隆 - 凯特琳癌症中心  
美国纽约州纽约市

**周德盈, MD, PhD, MBA**

分子病理学部  
病理与检验医学科  
台北荣民总医院  
中国台湾台北

**Jin-Haeng Chung, MD, PhD**

病理学科与呼吸中心  
盆唐首尔大学医院  
韩国城南市

**Sanja Dacic, MD, PhD**

病理学系  
耶鲁大学医学院  
美国康涅狄格州纽黑文

**Ibiayi Dagogo-Jack, MD**

血液 / 肿瘤科  
麻省总医院癌症中心  
美国马萨诸塞州波士顿

**Jessica S. Donington, MD, MSCR**

心胸外科系  
纽约大学医学院  
美国纽约州纽约市

**Alexander Drilon, MD**

胸部肿瘤服务与发育治疗学  
纪念斯隆 - 凯特琳癌症中心  
美国纽约州纽约市

**Ivy Elkins**

患者权益工作者  
EGFR Resisters  
美国伊利诺伊州布法罗格罗夫

**Kwun M. Fong, MBBS, PhD, FRACP**

胸内科  
查尔斯王子医院  
澳大利亚昆士兰彻姆赛德

**Justin F. Gainor, MD**

血液 / 肿瘤科  
麻省总医院  
美国马萨诸塞州波士顿

**David R. Gandara, MD**

内科  
血液 / 肿瘤癌症中心  
加州大学戴维斯分校医学中心  
美国加利福尼亚州萨克拉门托

**Ritu R. Gill, MD, MPH**

放射科  
布莱根妇女医院  
美国马萨诸塞州波士顿

**Apoorva Gogna, MD**

血管与介入放射科  
新加坡中央医院  
新加坡

**Yasushi Goto, MD**

内科与胸部肿瘤学部  
国立癌症研究中心中央病院  
日本东京中央区

**Jhanelle E. Gray, MD**

胸部肿瘤学项目学部  
李莫菲特癌症中心和研究所  
美国佛罗里达州坦帕

**韩昱晨, PhD**

病理科  
上海市胸科医院  
上海交通大学  
中国上海

**Lizza E. Hendriks, MD, PhD**

肺病科  
马斯特里赫特大学医学中心  
荷兰马斯特里赫特

**Paul J. Hesketh, MD**

血液与肿瘤科  
莱黑临床医学中心  
塔夫茨大学医学院  
美国马萨诸塞州伯灵顿

**Fred R. Hirsch, MD, PhD**

胸部肿瘤学中心  
蒂施癌症研究所  
伊坎医学院  
西奈山卫生系统  
美国纽约州纽约市

**Paul Hofman, MD, PhD**

病理学系  
Laboratoire de Pathologie Clinique et  
Experimentale et Biobanque CRB  
CHU de Nice  
法国尼斯

**David M. Hwang, MD**

病理学系  
多伦多大学和大学医疗网络  
加拿大安大略省多伦多

**Malinda Itchins, MD**

肿瘤内科  
皇家北岸医院  
澳大利亚新南威尔士州悉尼

**Deepali Jain, MD**

病理学系  
全印度医学研究所  
印度新德里



**Philippe Joubert, MD, PhD**

病理学

魁北克大学心脏病与肺病学研究所

加拿大魁北克省魁北克市

**Mehdi Karkouri, MD**

病理学系

哈桑二世卡萨布兰卡大学

摩洛哥卡萨布兰卡

**Dong-Wan Kim, MD**

内科

医学肿瘤中心

首尔大学医院

韩国首尔

**Sylvie Lantuejoul, PhD**

病理学系

Université Grenoble Alpes

法国格勒诺布尔

病理学系

Centre Léon Bérard Unicancer and CRCL

法国里昂

**Natasha B. Leighl, MD, MMSc, FRCPC, FASCO**

肿瘤 / 血液内科学部

玛嘉烈公主癌症中心

加拿大安大略省多伦多

**李健逢, MD**

病理学科

奇美医院

台湾癌症研究所

台湾卫生研究院

精准医学研究院

台湾中山大学

中国台湾高雄

**林冬梅, MD**

病理学

恶性肿瘤转化研究重点实验室

教育部

北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所

中国北京

**Jessica J. Lin, MD**

血液 / 肿瘤科

麻省总医院癌症中心

美国马萨诸塞州波士顿

**Stephen V. Liu, MD**

肿瘤内科

伦巴第综合癌症中心

乔治城大学医学中心

美国华盛顿特区

**Fernando Lopez-Rios, MD, PhD**

病理学系

Hospital Universitario 12 de Octubre

西班牙马德里

**Laura Mezquita, MD, PhD**

肿瘤内科

巴塞罗那医院诊所

实体瘤转化基因组学和靶向治疗实验室

Institut d' Investigacions Biomèdiques

August Pi i Sunyer (IDIBAPS)

西班牙巴塞罗那

**Mari Mino-Kenudson, MD**

病理学系

麻省总医院和哈佛医学院

美国马萨诸塞州波士顿

**Andrew G. Nicholson, DM**

组织病理科

皇家布朗普顿医院

英国伦敦

**Sai-Hong Ignatius Ou, MD, PhD**

血液 / 肿瘤学部, 内科

台湾加大赵氏家族综合癌症中心

加利福尼亚大学尔湾分校医学中心

美国加利福尼亚州橙县

**Mauro Papotti, MD**

病理学系

都灵大学

意大利都灵

**David Planchard, MD, PhD**

肿瘤内科

古斯塔夫·鲁西研究所

法国犹太城

**Luis E. Raez, MD**

血液与肿瘤科

纪念癌症研究所

纪念医疗保健系统

美国佛罗里达州彭布罗克派恩斯

**Natasha Rekhman, MD**

病理学科  
纪念斯隆 - 凯特琳癌症中心  
美国纽约州纽约市

**Jordi Remon, MD**

肿瘤内科  
Centro Integral Oncológico Clara Campal  
(HM-CIOCC)  
Hospital HM Delfos, HM Hospitales  
西班牙巴塞罗那

**Anja C. Roden, MD**

检验医学和病理学科  
妙佑国际医疗  
美国明尼苏达州罗切斯特

**Christian Rolfo, MD, PhD**

内科、血液学与内科肿瘤系  
伊坎医学院  
西奈山卫生系统  
美国纽约州纽约市

**Julia K. Rotow, MD**

罗氏胸腔肿瘤学中心  
丹娜—法伯癌症研究所  
美国马萨诸塞州波士顿

**Kurt A. Schalper, MD, PhD**

病理学系  
耶鲁大学医学院  
美国康涅狄格州纽黑文

**Lecia V. Sequist, MD, MPH**

医学系  
麻省总医院癌症中心  
美国马萨诸塞州波士顿

**Shani Shilo**

患者权益工作者  
以色列肺癌基金会  
以色列瑞荷渥特

**Anders Skanderup, MD**

肿瘤内科  
新加坡基因组研究所  
新加坡

**Benjamin J. Solomon, MBBS, PhD, FRACP**

肿瘤内科  
彼得麦克卡勒姆癌症中心  
澳大利亚维多利亚州墨尔本

**Emily Stone, MBBS, MMed, FRACP**

胸内科  
圣文森特医院  
澳大利亚新南威尔士州悉尼

**Erik Thunnissen, MD, PhD**

病理学系  
阿姆斯特丹大学医学中心  
荷兰阿姆斯特丹

**Paul E. Van Schil, MD, PhD**

胸腔及血管外科  
安特卫普大学医院  
比利时安特卫普

**Ignacio Wistuba, MD**

转化病理学科  
德克萨斯大学 MD 安德森癌症中心  
美国德克萨斯州休斯敦

**吴一龙, MD**

广东省肺癌研究所  
广东省人民医院  
广东省医学科学院  
中国广东

**Soo-Ryum Yang, MD**

病理学科  
纪念斯隆 - 凯特琳癌症中心  
美国纽约州纽约市

**Yasushi Yatabe, PhD**

病理诊断科  
国立癌症研究中心中央病院  
日本东京

**Helena Yu, MD**

胸部肿瘤科  
纪念斯隆 - 凯特琳癌症中心  
美国纽约州纽约市



# 缩略词

本文中使用了下列缩略词：

ACMG：美国医学遗传学与基因组学学会

ADC：抗体药物偶联物

AHRQ：美国医疗保健研究和质量局

ALK：间变性淋巴瘤激酶

ALKi：ALK 酪氨酸激酶抑制剂

AMP：锚定多重聚合酶链反应

AMP：分子病理学协会

APC：结肠腺瘤性息肉病

AR：获得性耐药性

AREG：双调蛋白

ARMS：等位基因阻碍突变系统

ASCO：美国临床肿瘤学会

ATP：腺苷三磷酸

BRAF：鼠类肉瘤病毒癌基因同源物 B

B-TMB：血液肿瘤突变负荷

CAP：美国病理学家学院

CAR T 细胞：嵌合抗原受体 T 细胞

CDx：伴随式诊断

CEP：染色体计数探针

cfDNA：细胞游离 DNA

CHIP：潜能未定克隆性造血

CI：置信区间

CML：慢性髓性白血病

CNB：粗针穿刺活检

CNS：中枢神经系统

CPI：检查点抑制剂

CPK：肌酸磷酸激酶

CT：计算机断层扫描

ctDNA：循环肿瘤 DNA

DAPI：4',6-二脒基-2-苯基吲哚

DCR：疾病控制率

ddPCR：微滴式数字聚合酶链反应

del：缺失  
DFG：天冬氨酸，苯基丙氨酸，甘氨酸  
dNTP：脱氧核苷三磷酸  
DOR：缓解持续时间  
EBM：循证医学  
EBUS：支气管内超声  
ECD：细胞外结构域  
EDTA：乙二胺四乙酸  
EGF：表皮生长因子  
*EGFR*：表皮生长因子受体  
18 FDG-PET：18 氟 - 氟代脱氧葡萄糖正电子发射计算机断层显像  
ELCC：欧洲肺癌大会  
ELISA：酶联免疫吸附测定  
EMA：欧洲药品管理局  
*EML4*：棘皮动物微管相关蛋白样 4  
EMN：电磁导航  
EQA：外部质量评估  
*ERBB2*：erb-b2 受体酪氨酸激酶 2  
ERK：细胞外信号调节激酶  
ESMO：欧洲肿瘤内科学会  
EU：欧盟  
FDA：美国食品药品监督管理局  
FFPE：福尔马林固定石蜡包埋  
*FGFR-1*：成纤维细胞生长因子受体 1  
FISH：荧光原位杂交  
FNA：细针穿刺抽吸  
GAP：GTP 酶激活蛋白质  
GCN：基因拷贝数  
GDNF：胶质细胞源性神经营养因子  
GDP：鸟苷二磷酸  
GEF：鸟嘌呤核苷酸交换因子  
GEJ：胃食管连接部  
GFRAL：胶质细胞系源性神经营养因子家族  $\alpha$  样受体  
GI：胃肠道  
GLIDES：决策支持指南  
GRADE：推荐意见分级评估、制定和评价  
GTP：鸟苷三磷酸  
GTP 酶：三磷酸鸟苷水解酶或鸟苷三磷酸酶  
H&E：苏木精和伊红  
*HER2*：人类表皮生长因子受体 2  
HGF：肝细胞生长因子  
HR：危险比  
HSP：热休克蛋白  
IASLC：国际肺癌研究协会  
ICI：免疫检查点抑制剂  
*IGFR-1*：胰岛素样生长因子受体 -1  
IHC：免疫组织化学  
ILD：间质性肺病

IMA：浸润性粘液腺癌  
indel：插入和 / 或缺失  
ins：插入  
IOM：医学研究院  
IPASS：国际授权后监督研究  
ISH：原位杂交  
IVCS：静脉清醒镇静  
IVD：体外诊断  
JAK：Janus 激酶  
JLCS：日本肺癌协会  
JMD：近膜结构域  
KD：激酶结构域  
kDa：千道尔顿  
KDD：激酶结构域重复  
KRAS：Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因  
LDCT：低剂量计算机断层扫描  
LSI：位点特异性识别  
LuCE：Lung Cancer Europe  
MAPK：丝裂原活化蛋白激酶  
MDT：多学科团队  
MEK：丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 激酶  
MEKi：MEK1/2 抑制剂  
MEN：多发性内分泌肿瘤  
MET：MET 原癌基因受体酪氨酸激酶  
mIF：多重免疫荧光  
mOS：中位总生存期  
mPFS：中位无进展生存期  
MRD：微小残留病变  
MRFF：医学研究未来基金  
mRNA：信使 RNA  
MTB：分子肿瘤委员会  
MTC：甲状腺髓样癌  
mTOR：雷帕霉素激酶的机制靶点  
NCCN：美国国家综合癌症网络  
NGS：下一代测序  
NHMRC：澳大利亚国家健康与医学研究委员会  
NIR：近红外  
NK 细胞：自然杀伤细胞  
NLST：美国国家肺部筛查试验  
NOS：没有特别说明  
NRG1：神经调节蛋白 -1  
NSCLC：非小细胞肺癌  
NTRK：神经营养性原肌球蛋白受体激酶  
ORR：总缓解率  
OS：总生存期  
PA：主肺动脉  
PCR：聚合酶链反应  
PD-L1：程序性死亡配体 1

PFS：无进展生存期  
*PI3K*：磷脂酰肌醇 3- 激酶  
PKC：蛋白激酶 C  
PLC $\gamma$ ：磷脂酶 C- $\gamma$   
PSI：丛蛋白 - 信号素 - 整合素  
*PTEN*：磷酸酯酶和张力蛋白同源物  
RAS：大鼠肉瘤病毒癌基因同源物  
RATS：机器人辅助胸腔镜手术  
*RET*：转染重排  
RNAseq：RNA 测序  
*ROS1*：C-ros 致癌基因 1  
ROSE：快速现场评价  
RR：缓解率  
RTK：受体酪氨酸激酶  
RT-PCR：逆转录聚合酶链反应  
SCLC：小细胞肺癌  
SNV：单核苷酸变异  
SOC：护理标准  
STAT：信号转导和转录激活因子  
SV：结构变异  
TAT：周转时间  
TBNA：经支气管针吸活检术  
TGF $\alpha$ ：转化生长因子  $\alpha$   
TIL：肿瘤浸润淋巴细胞  
TKD：酪氨酸激酶结构域  
TKI：酪氨酸激酶抑制剂  
TM：跨膜  
TMB：肿瘤突变负荷  
TMD：跨膜结构域  
TPS：肿瘤比例评分  
TRK：原肌球蛋白受体激酶  
TROP2：滋养层细胞表面抗原 2  
TTF1：甲状腺转录因子 1  
TTNB：经胸穿刺活检  
US：美国  
VATS：电视胸腔镜手术  
VBN：虚拟支气管镜导航  
VEGF：血管内皮生长因子  
VEGFR2：血管内皮生长因子受体 2  
VUS：意义不明变异或临床意义不明变异  
WBC：白细胞  
WES：全外显子组测序  
WGS：全基因组测序

# 引言

# 1

Lynette M. Sholl、Wendy A. Cooper、Keith M. Kerr、Daniel SW Tan、Ming-Sound Tsao 和 James Chih-Hsin Yang

在过去的 20 年里，肺癌患者生物标志物检测从无到有，临床意义不断扩大，已成为常规肿瘤治疗的重要一环。从“一刀切”式的化疗到高度定制化精准治疗方案，是什么推动了这样的变革？很多见解与技术进步推动了这一进程，首先是认识到一些癌症存在导致蛋白激酶信号传导失控的改变。随后，一个革命性的概念横空出世，即利用小分子酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 靶向酪氨酸激酶，阻止肿瘤细胞的生长和增殖。不过，这个概念在提出之处就引发了争议。

TKI 治疗方案第一次临床应用是将 ABL 抑制剂伊马替尼 (imatinib) 用于治疗慢性髓性白血病 (CML) 患者。慢性髓性白血病是一种基因组相对同质的肿瘤，由 *BCR::ABL1* 融合引发。第一次靶向治疗取得巨大成功，许多患者的症状迅速得到缓解，在药物毒性降至最低的同时获得了持久疗效（甚至可能治愈）。自此，人们开始寻找其他具有激酶依赖性的肿瘤病例，以及专门干扰这些关键激酶信号通路的治疗方案。

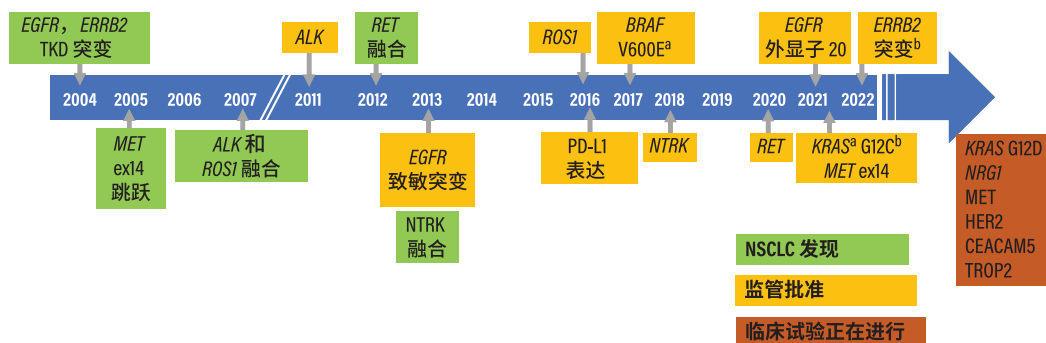
促使伊马替尼 (imatinib) 成功治疗 CML 患者的驱动因素是充分了解 ABL 结构与功能，全面认识致癌融合在肿瘤细胞内的活性作用。重点是伊马替尼 (imatinib) 并不适用于所有白血病患者，而仅对肿瘤存在 *ABL* 融合的患者或由激酶驱动、对这种特定抑制剂敏感的一些其他致癌病症有效。因此，理性的或由生物标志物驱动的癌症护理领域应运而生。这不仅要求准确的组织病理学诊断，还需要精准的基因组特征描述，从而推动分子诊断的重点从最初的诊断生物标志物逐渐转移到预测性检测上来，以指导治疗决策。

本图谱遵循这些原则，从认识 *EGFR* 激酶结构域突变对 *EGFR* TKI 反应的预测开始，总结了 20 年以来在肺癌生物标志物和药物研发方面取得的突出进展。如今，要治疗肿瘤存在某种明确致病改变（图 1-1；表 1-1）的肺癌患者，有数十种主要针对酪氨酸激酶和丝裂通路的合理疗法可以选择。患者服用适当的药物，同时接受这种个性



化的多样性靶向治疗方法，效果显著。这种靶向疗法的发展，很大程度上得益于大规模并行测序技术带来的肿瘤基因组表征的巨大进步。自 20 世纪 90 年代以来，这些规模化技术借鉴半导体革新的原理，将基因组测序的成本降低了几个量级，并允许各机构、国家、跨国组织，如癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas) 等应用这些技术，系统定义最常见肿瘤类型的基因组和转录组变化。与此同时，重点及综合测序技术的商业化，使多数发达国家的癌症患者可以相对容易地获取肿瘤基因组图谱。

然而，为肺癌患者提供及时、准确、具有临床意义的生物标志物检测依然面临诸多挑战。肿瘤控制丝裂通路，促使癌细胞生长和增殖机制多样化，要求实验室制定并验证一系列 DNA、RNA 和 / 或蛋白质靶向策略，以确保完整的生物标志物检测。



<sup>a</sup> 时间轴上没有显示发现日期; *KRAS* 突变于 1984 年首次在 NSCLC 中观察到; 2002 年 *BRAF* 突变。

<sup>b</sup> 表示仅批准用于二线治疗

有关支持一线(或二线)监管批准的临床试验, 见参考文献。<sup>1-8</sup>  
参考文献列出了生物标志物发现报告。<sup>9-17</sup>

**图 1-1.** 美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用于晚期 NSCLC 患者一线治疗药物的生物标志物依赖性时间表。  
缩略词: NSCLC = 非小细胞肺癌; TKD = 酪氨酸激酶结构域。

**表 1-1.** 生物标志物驱动治疗显著延长晚期 NSCLC 患者的生存期

靶点	FDA 批准的药物	治疗线	中位 OS (月)
无生物标志物	化疗 <sup>18</sup>	1L	8-10
EGFR (1G) <sup>19,20</sup>	厄洛替尼、吉非替尼	1L	21.6-35.5 <sup>a</sup>
EGFR (2G) <sup>21,22</sup>	阿法替尼、达可替尼	1L	31.4-34.1
EGFR (3G) <sup>20</sup>	奥西替尼	1L	38.6
ALK 融合 <sup>23-26</sup>	克唑替尼、色瑞替尼、阿来替尼、布加替尼、 <sup>b</sup> 洛拉替尼 <sup>b</sup>	1L	>51
ROS1 融合 <sup>23,27</sup>	克唑替尼, 恩曲替尼 <sup>c</sup>	≥ 1L	51.4; 47.8 <sup>b</sup>
BRAF V600E <sup>28</sup>	达拉非尼 + 曲美替尼	1L	17.3
TRK 融合 <sup>29,30</sup>	拉罗替尼、恩曲替尼	≥ 2L	40.7; NE
RET 融合 <sup>31,32</sup>	塞尔帕替尼、普拉替尼	1L	<sup>b</sup>
PD1/PD-L1 <sup>33</sup>	纳武单抗、帕博利珠单抗、阿替利珠单抗	1L	26.3 <sup>d</sup>

缩略词: 1L = 一线; 2L = 二线; FDA = 美国食品药品监督管理局; NSCLC = 非小细胞肺癌; OS = 总生存期; TKI = 酪氨酸激酶抑制剂。

<sup>a</sup> 患者可能在病情进展时接受了第三代 EGFR TKI 治疗。

<sup>b</sup> 不成熟的 OS 数据。

<sup>c</sup> 对 ROS1 TKI 初治患者队列进行恩曲替尼分析。

<sup>d</sup> 帕博利珠单抗, PD-L1 ≥ 50%。

这种多样性体现在重排基因 (*ALK*、*ROS1*、*RET*、*NTRK1-3*、*NRG1* 等) 或要求由异常剪接 (*MET*) 驱动的基因内“融合”。在 DNA 水平中, 重排一般是由内在 DNA 断裂引起的。这些“断裂点”无法预测, 发生在基因组广泛区域内, 混淆 DNA 检测。相比之下, 这类重排致癌产物具有高度重复的融合转录本, 便于在肿瘤 RNA 中检测到它们。虽然在易发生单核苷酸变异或小插入缺失 (*EGFR*、*KRAS*、*BRAF*、*ERBB2*) 的基因中, 突变的多样性可能较为有限, 但不断发现新的或罕见的致癌激活机制, 需要专业的分子基因注释。患者样本常规测序带来的“实时”发现, 要求采取综合报告策略。目前, 这种策略通常采用以多学科会议的形式, 由病理学家、肿瘤学家、操作医师和整个患者护理团队利用生物标志物数据来指导治疗 (见图 2-2)。

尽管有证据表明, 多数靶向治疗在一线治疗时能够取得最佳临床效果, 但即便靶向治疗已获批应用在一线治疗中, 许多患者在接受靶向治疗之前, 仍然接受化疗和 / 或免疫疗法。未能采用靶向治疗的部分原因在于缺少生物标志物检测, 以及 / 或未能及时获得生物标志物检测结果。组织质量或数量有限, 往往会使组织生物标志物检测变得复杂; 虽然在获取组织的过程中, 操作医师和病理学家可以通过积极沟通, 在一定程度上克服这一难题, 但这需要一定的协调能力和专业知识, 而并非所有环境都能做到这一点。

利用患者血浆做循环肿瘤 DNA 检测的可靠性和灵敏度不断提高, 改善了生物标志物检测结果的获取途径, 缩短了获取结果的时间。但是, 并非世界上所有地区都能进行这种检测, 因为即使技术上可行, 有些地区会因经济条件限制而难以使用这种方法。此外, 这种方法本身并不涵盖所有所需的生物标志物, 其敏感性也受限於肿瘤 DNA 进入血液循环的程度。由此表明, 要求在全球范围内更便捷地采用可靠的检测方法和靶向治疗, 宣传发挥着至关重要的作用。

最后需要强调一点, 在《IASLC 肺癌靶向治疗分子检测图谱》中, 我们在肺癌靶向治疗情境中使用的“分子”、“生物标志物”、“分子生物标志物”、“预测性生物标志物”这几个术语在一定程度上可以互换。尽管每个术语语义可能更具象或含义略有不同, 近期也有人提议将这些术语统一为“生物标志物检测”,<sup>34</sup> 但这些词经常用作同义词。“突变检测”这个术语的含义比“生物标志物 / 分子检测”更为具体, 因为前者常用于基因水平的检测, 而后者则可能包括基因和 / 或蛋白质。理想情况下, 从本图谱中受益的所有利益相关方普遍接受并理解的术语, 会在未来达成共识。

我们希望这本由国际肺癌诊疗专家编写而成的图谱能够帮助广大读者了解肺癌分子异常的基础, 进而指导当前非小细胞肺癌患者的靶向治疗。

## 参考文献

1. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004;304(5676):1497-1500. doi:10.1126/science.1099314.
2. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350(21):2129-2139. doi:10.1056/NEJMoa040938.

3. Stephens P, Hunter C, Bignell G, et al. Lung cancer: intragenic ERBB2 kinase mutations in tumours. *Nature*. 2004;431(7008):525-526. doi:10.1038/431525b.
4. Ma PC, Jagadeeswaran R, Jagadeesh S, et al. Functional expression and mutations of c-Met and its therapeutic inhibition with SU11274 and small interfering RNA in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2005;65(4):1479-1488. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-2650.
5. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007;448(7153):561-566. doi:10.1038/nature05945.
6. Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell*. 2007;131(6):1190-1203. doi:10.1016/j.cell.2007.11.025.
7. Wang R, Hu H, Pan Y, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(35):4352-4359. doi:10.1200/JCO.2012.44.1477.
8. Vaishnavi A, Capelletti M, Le AT, et al. Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer. *Nat Med*. 2013;19(11):1469-1472. doi:10.1038/nm.3352.
9. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, 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. doi:10.1016/S1470-2045(11)70393-X.
10. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer [published correction appears in *N Engl J Med*. 2011 Feb 10;364(6):588]. *N Engl J Med*. 2010;363(18):1693-1703. doi:10.1056/NEJMoa1006448.
11. Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(21):1963-1971. doi:10.1056/NEJMoa1406766.
12. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAF(V600E)-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(7):984-993. doi:10.1016/S1470-2045(16)30146-2.
13. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. *N Engl J Med*. 2018;378(8):731-739. doi:10.1056/NEJMoa1714448.
14. Wolf J, Seto T, Han JY, et al. Capmatinib in MET exon 14-mutated or MET-amplified non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(10):944-957. doi:10.1056/NEJMoa2002787.
15. Paik PK, Felip E, Veillon R, et al. Tepotinib in non-small-cell lung cancer with MET exon 14 skipping mutations. *N Engl J Med*. 2020;383(10):931-943. doi:10.1056/NEJMoa2004407.
16. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, et al. Sotorasib for lung cancers with KRAS p.G12C mutation. *N Engl J Med*. 2021;384(25):2371-2381. doi:10.1056/NEJMoa2103695.
17. Li BT, Smit EF, Goto Y, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2022;386(3):241-251. doi:10.1056/NEJMoa2112431.
18. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2002;346(2):92-98. doi:10.1056/NEJMoa011954.
19. Lee CK, Davies L, Wu YL, et al. Gefitinib or erlotinib vs chemotherapy for EGFR mutation-positive lung cancer: individual patient data meta-analysis of overall survival. *J Natl Cancer Inst*. 2017;109(6):10.1093/jnci/djw279. doi:10.1093/jnci/djw279.
20. Ramalingam SS, Vansteenkiste J, Planchard D, et al. Overall survival with osimertinib in untreated, EGFR-mutated advanced NSCLC. *N Engl J Med*. 2020;382(1):41-50. doi:10.1056/NEJMoa1913662.
21. Yang JC, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol*. 2015;16(2):141-151. doi:10.1016/S1470-2045(14)71173-8.
22. Mok TS, Cheng Y, Zhou X, et al. Updated overall survival in a randomized study comparing dacomitinib with gefitinib as first-line treatment in patients with advanced non-small-cell lung cancer and EGFR-activating mutations. *Drugs*. 2021;81(2):257-266. doi:10.1007/s40265-020-01441-6.

23. Drilon A, Chiu CH, Fan Y, et al. Long-term efficacy and safety of entrectinib in ROS1 fusion-positive NSCLC. *JTO Clin Res Rep.* 2022;3(6):100332. doi:10.1016/j.jtocrr.2022.100332.
24. Nishio M, Felip E, Orlov S, et al. Final overall survival and other efficacy and safety results from ASCEND-3: phase II study of ceritinib in ALKi-naive patients with ALK-rearranged NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2020;15(4):609-617. doi:10.1016/j.jtho.2019.11.006.
25. Camidge DR, Kim HR, Ahn MJ, et al. Brigatinib versus crizotinib in ALK inhibitor-naive advanced ALK-positive NSCLC: final results of phase 3 ALTA-1L trial [published correction appears in *J Thorac Oncol.* 2022 Oct 14]. *J Thorac Oncol.* 2021;16(12):2091-2108. doi:10.1016/j.jtho.2021.07.035.
26. Solomon BJ, Bauer TM, Mok TSK, et al. Efficacy and safety of first-line lorlatinib versus crizotinib in patients with advanced, ALK-positive non-small-cell lung cancer: updated analysis of data from the phase 3, randomised, open-label CROWN study. *Lancet Respir Med.* 2022;S2213-2600(22)00437-4. doi:10.1016/S2213-2600(22)00437-4.
27. Shaw AT, Riely GJ, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): updated results, including overall survival, from PROFILE 1001. *Ann Oncol.* 2019;30(7):1121-1126. doi:10.1093/annonc/mdz131.
28. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Phase 2 study of dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF V600E-mutant metastatic NSCLC: updated 5-year survival rates and genomic analysis. *J Thorac Oncol.* 2022;17(1):103-115. doi:10.1016/j.jtho.2021.08.011.
29. Drilon A, Tan DSW, Lassen UN, et al. Efficacy and safety of larotrectinib in patients with tropomyosin receptor kinase fusion-positive lung cancers. *JCO Precis Oncol.* 2022;6:e2100418. doi:10.1200/PO.21.00418.
30. Demetri GD, De Braud F, Drilon A, et al. Updated integrated analysis of the efficacy and safety of entrectinib in patients with NTRK fusion-positive solid tumors [published correction appears in *Clin Cancer Res.* 2022;28(10):2196]. *Clin Cancer Res.* 2022;28(7):1302-1312. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-3597.
31. Drilon A, Subbiah V, Gautschi O, et al. Selpercatinib in patients with RET fusion-positive non-small-cell lung cancer: updated safety and efficacy from the registrational LIBRETTO-001 phase I/II trial. *J Clin Oncol.* 2023;41(2):385-394. doi:10.1200/JCO.22.00393.
32. Griesinger F, Curigliano G, Thomas M, et al. Safety and efficacy of pralsetinib in RET fusion-positive non-small-cell lung cancer including as first-line therapy: update from the ARROW trial. *Ann Oncol.* 2022;33(11):1168-1178. doi:10.1016/j.annonc.2022.08.002.
33. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Five-year outcomes with pembrolizumab versus chemotherapy for metastatic non-small-cell lung cancer with PD-L1 tumor proportion score  $\geq 50$ . *J Clin Oncol.* 2021;39(21):2339-2349. doi:10.1200/JCO.21.00174.
34. Martin NA, Tepper JE, Giri VN, et al. Adopting consensus terms for testing in precision medicine. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:PO.21.00027. doi:10.1200/PO.21.00027.



# 肺癌生物标志物检测的临床意义

Benjamin J. Solomon、Paul J. Hesketh、Lyudmila Bazhenova、Shani Shilo 和 Lecia V. Sequist

## 2

### 肺癌个性化治疗的概念

为什么准确、及时、完整的生物标志物检测对非鳞状非小细胞肺癌 (NSCLC) 患者的最佳护理如此重要？简单来说，因为几乎在这种疾病的每个阶段、每种情况中，循证治疗建议主要依赖于对肿瘤生物标志物的了解，以便优先考虑并定制可用的治疗方案，改善 NSCLC 患者的治疗效果。在过去的 15 年里，最初诊断时需要检测 NSCLC 驱动突变的范式，已经从实验模式转变为治疗转移疾病患者的标准要求，并逐渐成为所有疾病阶段的标准护理内容。与此同时，为了优化治疗建议，单个基因的突变检测已经不再适用，必须检测的基因数量庞大，并在不断增长，还开发了多个平台和技术，用于检测肿瘤组织和血浆中的循环肿瘤 DNA (ctDNA)。

自 21 世纪初以来，对 NSCLC 致癌基因组改变的识别以及旨在阻断致癌驱动因素的靶向治疗的发展，使个体化治疗成为可能，并促使治疗结果发生变化。尽管亚洲人群和西方人群的发病率不同，但在大多数肺腺癌中都可以确定潜在的可操作分子靶点（图 2-1）。当前已经有了治疗 *EGFR*、*MET*、*BRAF*、*ERBB2 (HER2)*、*KRAS* 特异性突变肿瘤，以及与 *ALK*、*ROS1*、*RET*、*NTRK1-3*（图 2-2；表 2-1）有关的致癌融合特异性突变肿瘤的有效疗法。全面的突变检测和生物标志物导向治疗让治疗 NSCLC 的个性化医疗方法成为可能，还可改善临床结果。



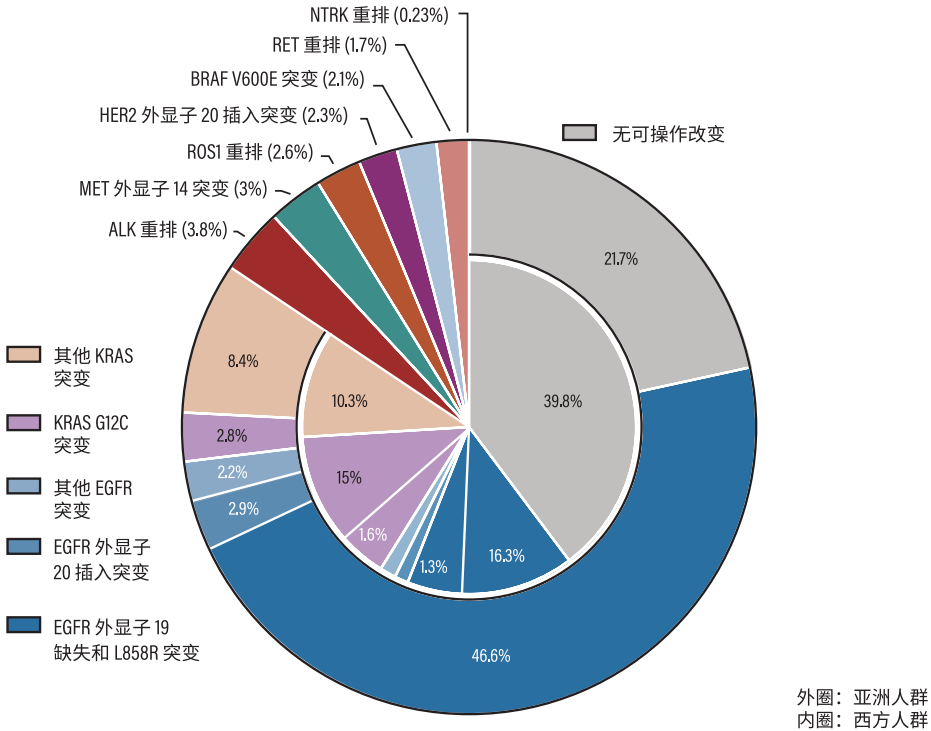


图 2-1. NSCLC 致癌驱动因素频率 (来源: Tan 和 Tan, 2022 年, <sup>1</sup> 美国临床肿瘤学会版权所有 © 2022. 威科集团 [Wolters Kluwer] 出版。保留所有权利。)

## NSCLC 靶向治疗的发展：历史回顾

第一个重大突破是 2004 年在肺癌中发现 *EGFR* 突变。当时，测试新型 *EGFR* 阻断酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 发现，尽管大部分肺癌患者没有从这种治疗中受益，但有一些患者产生了明显的快速持久反应。<sup>2-5</sup> 进一步研究其肿瘤发现，*EGFR* 酪氨酸激酶结构域发生突变，产生了一种“致癌成瘾”的生物学特征，其中癌症生存所唯一依赖的 *EGFR* 通路信号传导，被抑制这一通路的治疗破坏。<sup>6,7</sup> IPASS 研究表明，最好的结果是根据肿瘤中的 *EGFR* 突变而非临床特征选择患者，并在一线治疗中开始采用 *EGFR* TKI (表 2-1)。<sup>8,9</sup> 随后，这些发现在其他多项研究中得到了证实。<sup>10-13</sup>

这些研究表明，与历史对照相比，缓解率、无进展生存期、生存期均有所改善。<sup>14</sup> 可能由于交叉现象，与治疗 *EGFR* 突变的 NSCLC 化疗相比，要在使用吉非替尼或厄洛替尼一线试验中证明总生存期优势挑战性更大。与第一代 TKI 相比，<sup>15</sup> 已经研发面世的第二代化合物包括阿法替尼<sup>16</sup> 和达可替尼<sup>17</sup> 在内，虽然具有额外的毒性，但某些人群中的疗效更好，更具生存期优势。与第一代 TKI 相比，第三代 TKI 奥西替尼疗效更好，可延长生存期，降低毒性，<sup>20,21</sup> 为新确诊的 *EGFR* 突变患者的一线治疗建立了新的护理标准。最近，奥西替尼凭借其可以延长无病生存期的功效，成为美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的第一个用于辅助治疗的靶向治疗药物。<sup>43</sup>

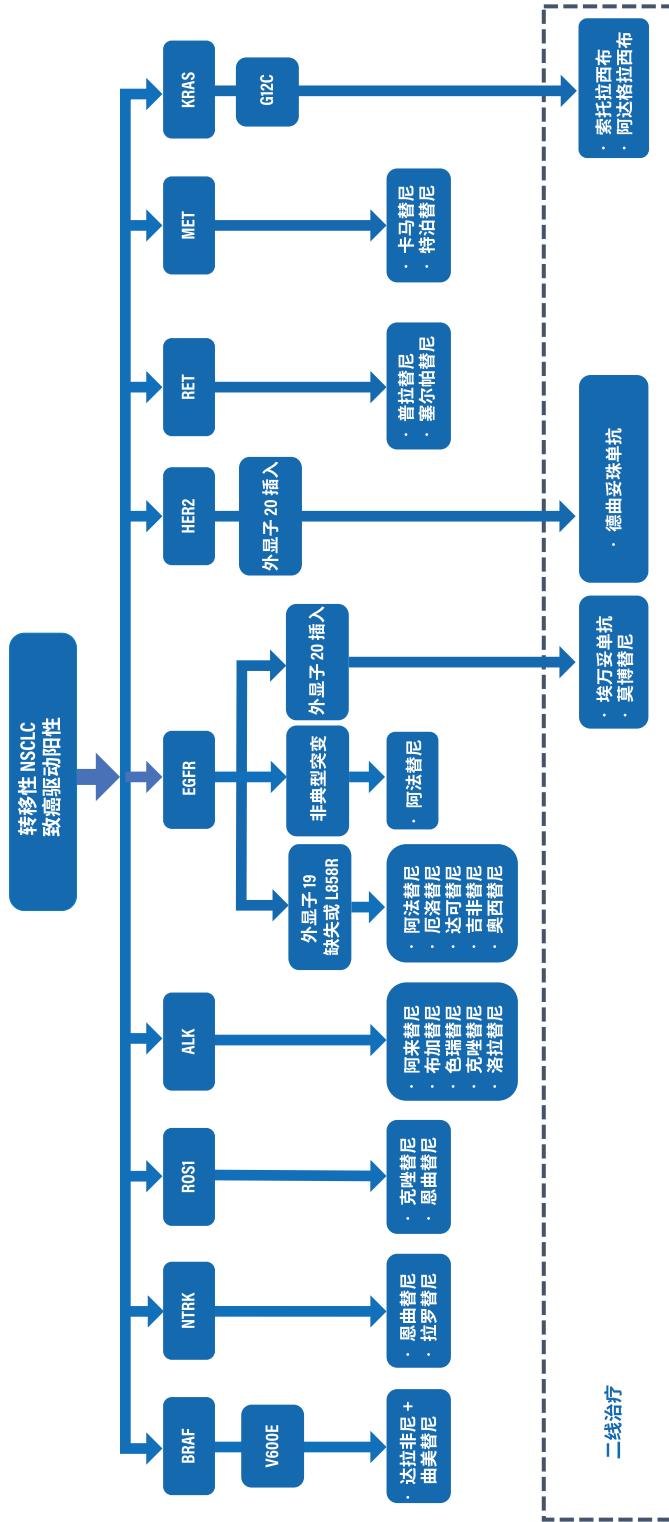


图 2-2. NSCLC 靶向治疗生物标志物驱动算法 (另见美国国家综合癌症网络 [NCCN]<sup>18</sup> 及欧洲肿瘤内科学会 [ESMO]<sup>19</sup> 最新指南)



表 2-1. FDA 批准的靶向药物疗效和毒性概况

抑制剂	研究	药物	研究设计	患者数量	客观缓解率 (%)	中位缓解持续时间 (月)	中位无进展生存期 (月)	中位总生存期 (月)	主要治疗相关不良事件
EGFR	IPASS <sup>8,9</sup>	吉非替尼	吉非替尼对比化疗	1217, 总体人群	43.0 对比 32.2	NS	5.7 对比 5.8 ; HR, 0.74	18.8 对比 17.4 ; HR, 0.90	皮疹、腹泻
							HR, 0.48	21.6 对比 21.9 ; HR, 1.00	
ALK	EURTAC <sup>11</sup>	厄洛替尼	厄洛替尼与化疗	174	64 对比 1	NS	HR, 2.85	11.2 对比 12.7 ; HR, 1.18	皮疹、腹泻
							9.7 和 5.2 ; HR, 0.37	19.3 对比 19.5	
ALK	LUX-Lung III <sup>10</sup>	阿法替尼	阿法替尼与化疗	345	56 对比 23	11.1 对比 5.5	11.1 对比 6.9 ; HR, 0.58	28 对比 28 (外显子 19 缺失患者的生存益处, 33 对比 21.1)	腹泻、皮疹、口腔炎、甲沟炎
							14.7 对比 9.2 ; HR, 0.59	34 对比 27; HR, 0.78	
ALK	Archer 1050 <sup>17</sup>	达可替尼	达可替尼对比吉非替尼	452	76 对比 70	14.8 对比 8.3	18.9 对比 10.2 ; HR, 0.46	38.6 对比 31.8 ; HR, 0.80 (0.64-0.997)	皮疹 / 痤疮、腹泻、皮肤干燥、甲沟炎、口腔炎
							80 对比 76		
ALK	FLAURA <sup>20,21</sup>	奥西替尼	奥西替尼对比吉非替尼或厄洛替尼	556	80 对比 76	17.2 对比 8.5	10.9 对比 7.0 ; HR, 0.45	NR 对比 47.5 (4 年界限, 56.6% 克唑替尼对比 49.1% 化疗)	视觉障碍、腹泻、恶心、水肿
							16.6 对比 8.1 ; HR, 0.55	NR 对比 26.2 (2 年界限, 70.6% 色瑞替尼对比 58.2% 化疗)	
ALK	PROFILE 1014 <sup>22</sup>	克唑替尼	3 期: 克唑替尼对比化疗	343	74 对比 45	11.3 对比 5.3			腹泻、恶心、呕吐、丙氨酸氨基转移酶升高
ALK	ASCEND-4 <sup>23</sup>	色瑞替尼	3 期: 色瑞替尼对比化疗	376	73 对比 50	23.9 对比 11.1			

(续)

表 2-1. FDA 批准的靶向药物疗效和毒性概况 (续)

抑制剂	研究	药物	研究设计	患者数量	客观缓解率 (%)	中位缓解持续时间 (月)	中位无进展生存期 (月)	中位总生存期 (月)	主要治疗相关不良事件
	ALEX <sup>24,25</sup>	阿来替尼	3期: 阿来替尼对比化疗	303	83 对比 76	NR 对比 11.1	34.8 对比 10.9; HR, 0.43	NR 对比 57.4 (5 年界标, OS 率 62.5% 对比 45.5%)	贫血、肌痛、胆红素升高、体重增加、肌肉骨骼疼痛、光敏反应
ALK	ALTA-1L <sup>26</sup>	布加替尼	3期: 布加替尼对比克唑替尼	275	74 对比 62	NR 对比 13.9	24.0 对比 11.1; HR, 0.48	NR	GI 事件 (腹泻、恶心、呕吐) 导致血液 CPK 升高、咳嗽、转氨酶升高
	CROWN <sup>27</sup>	洛拉替尼	3期: 洛拉替尼对比克唑替尼	296	76 对比 58	NR 对比 11.1	NR 对比 9.3; HR, 0.28	NR	高脂血症、水肿、体重增加、周围神经病变、认知影响
ROS1	Dziadziuszko 等 <sup>28</sup>	恩曲替尼	多数之前接受过铂类治疗	107	67.1	15.7	15.7	NE	味觉障碍、头晕、便秘、疲劳、腹泻、体重增加、感觉异常
	Shaw 等 <sup>29</sup>	克唑替尼	13% 初治患者	53	72	24.7	19.3	51.4	视力障碍、恶心、水肿、腹泻、呕吐、转氨酶升高、便秘
RET	Drilon 等 <sup>30</sup>	塞尔帕替尼	之前接受过铂类治疗	105	61	28.6	24.6	NE	口干、腹泻、门冬氨酸转氨酶升高、丙氨酸氨基转移酶升高、高血压
	Griesinger 等 <sup>31</sup>	普拉替尼	初治患者	39	84	20.2	22	NE	
			之前接受过铂类治疗	136	59	22.3	16.5	NR	中性粒细胞减少、白蛋白减少、门冬氨酸转氨酶升高、贫血、丙氨酸氨基转移酶升高、便秘、疲劳、血肌酸磷酸酶升高
			初治患者	75	72	未达标	13	NR	

(续)

表 2-1. FDA 批准的靶向药物疗效和毒性概况 (续)

抑制剂	研究	药物	研究设计	患者数量	客观缓解率 (%)	中位缓解持续时间 (月)	中位无进展生存期 (月)	中位总生存期 (月)	主要治疗相关不良事件
NTRK	Demetri 等 <sup>32</sup>	恩曲替尼	大部分之前接受过治疗	22	63.6	19.9	14.9	NE (20.8-NE)	味觉障碍、腹泻、疲劳、体重增加。
	Drilon 等 <sup>33</sup>	拉罗替尼	大部分之前接受过治疗	15	73	33.3	35.4	40.7	肌痛、头晕、恶心、丙氨酸氨基转移酶升高
HER2	Li 等 <sup>34</sup>	德曲妥珠单抗 6.4 mg/kg	之前接受过铂类治疗	91	55	9.2	8.2	17.8	恶心、疲劳、脱发、呕吐、中性粒细胞减少、贫血、腹泻
	Goto 等 <sup>35</sup>	德曲妥珠单抗 6.4 mg/kg	之前接受过铂类治疗	28	42.9	5.9	NR	NR	药物相关 ILD 14%
	Wolf 等 <sup>36</sup>	德曲妥珠单抗 5.4 mg/kg	之前接受过铂类治疗	52	53.8	NE	NR	NR	药物相关 ILD 5.9%
MET	Wolf 等 <sup>36</sup>	卡马替尼	初治患者	28	68	12.6	12.4	20.8	周围水肿、恶心、呕吐、血肌酐升高、疲劳、腹泻
	Paik 等 <sup>37</sup>	特泊替尼	之前接受过铂类治疗	69	41	9.7	5.4	13.3	
BRAF	Paik 等 <sup>37</sup>	特泊替尼	43% 初治患者	99	46	11.1	8.5	17.1	周围水肿、恶心、腹泻、血肌酐升高、低白蛋白血症
	Planchard 等 <sup>38</sup>	达拉非尼联合曲美替尼	初治患者	36	64	10.2	10.8	17.3	发热、恶心、呕吐、皮肤干燥、周围水肿、腹泻、食欲减退、咳嗽
KRAS	Skoulidis 等 <sup>39</sup>	索托拉西布	之前接受过铂类治疗	124	37.1	11.1	6.8	12.5	腹泻、恶心、丙氨酸氨基转移酶升高、AST 升高、疲劳
	Jänne 等 <sup>40</sup>	阿达格拉西布	之前接受过铂类治疗	116	42.9	8.5	6.5	12.6	腹泻、恶心、呕吐、疲劳、丙氨酸氨基转移酶或 AST 升高，肌酸酐升高
EGFR 外显子 20	Park 等 <sup>41</sup>	埃万妥单抗	之前接受过铂类治疗	81	40	11.1	8.3	22.8	输液反应、皮疹、甲沟炎
	Zhou 等 <sup>42</sup>	莫博替尼	之前接受过铂类治疗	114	28	17.5	7.3	24	腹泻、皮疹

缩略词：AST = 门冬氨酸氨基转移酶；CPK = 肌酸磷酸激酶；GI = 胃肠道；HR = 危险比；ILD = 间质性肺炎；NE = 不可估计；NR = 未报告；NS = 不显著；OS = 总生存期。

继 2007 年在肺癌中发现第二个致癌驱动因素 *ALK* 基因融合后，这种肿瘤先验治疗的概念在 NSCLC 药物开发和临床实践中得到了进一步验证。<sup>44</sup> 在克唑替尼 1 期首次人体试验刚开始时，偶然研发出一种可抑制 *MET* 的新型多激酶 TKI，其本身也能抑制 *ALK* 和 *ROS1*。<sup>45</sup> 试验设计迅速将重点从 *MET* 转移到通过荧光原位杂交 (FISH) 识别和招募肿瘤中存在 *ALK* 重排的患者上来。该试验及其后的 3 期试验结果显示出比标准化疗更明显的疗效和治疗结果。<sup>22,45,46</sup> 在 4 年内，克唑替尼经 FDA 批准，成为第一个以基因型特异性方式进行研究和批准的药物。克唑替尼的快速、成功开发为靶向药物开发树立了标准，并一直沿用至今。

更新一代的 *ALK* TKI 已经研发出来，包括色瑞替尼、阿来替尼、布加替尼、恩沙替尼和洛拉替尼，疗效更好，中枢神经系统 (CNS) 渗透性更强。<sup>23,24,26,27,47</sup> 其中四种新一代化合物（阿来替尼、布加替尼、恩沙替尼和洛拉替尼）在 3 期临床试验中显示出比克唑替尼更好的疗效，提高了 *ALK* 重排 NSCLC 一线治疗的标准。与历史对照<sup>48</sup> 相比，这些靶向治疗改善了结果，带来了前所未有的生存率，中位生存期超过 5 年。<sup>25</sup>

随后，针对 *BRAF* V600E 突变、<sup>38</sup>*MET* 外显子 14 跳跃突变，以及<sup>36,37</sup>*ROS1*、<sup>28,29</sup>*RET*、<sup>30,31</sup>*NTRK1-3*<sup>32,33</sup> 基因重排的激酶抑制剂得到快速发展。这些疗法的批准主要基于单臂 1 期或 2 期试验结果，证明对特定致癌靶点的肿瘤有高缓解率。未采纳 3 期试验结果的原因主要是在有罕见靶点的稀有人群中进行大型随机临床试验具有局限性。双特异性抗体和抗体药物偶联物等新型靶向策略的利用，扩大了可操作致癌基因的范围，包括 *EGFR* 外显子 20 突变<sup>41,42</sup> 和 *HER2* 突变。<sup>34</sup> 尽管 *KRAS* 鸟苷三磷酸水解酶 (GTP 酶) 突变一直难以使用靶向治疗，<sup>49</sup> 但 2021 年 5 月，FDA 批准了 *KRAS* G12C 抑制剂索托拉西布。<sup>39</sup> 随后，根据之前接受治疗的 NSCLC 患者的缓解率，FDA 于 2022 年 12 月批准阿达格拉西布用于该适应症。<sup>40</sup>

## 靶向治疗的耐药性

靶向治疗最终会产生获得性耐药，疗效减弱。靶向治疗耐药性的常见课题包括受抑制通路中的中靶畸变、通过获得旁路路径或组织学转化为小细胞或鳞状细胞癌的脱靶耐药性。进展期活检有助于了解耐药机制，在一些情况下可指导进展期治疗。本图谱关于基因的章节更详细地讨论了不同致癌驱动因素背景下的耐药机制。

## 肺癌患者生物标志物导向治疗的结果

采用靶向治疗，改善了晚期 NSCLC 患者的治疗效果。2013 年至 2016 年期间，*EGFR* 和 *ALK* TKI 获批，与此同时，美国 NSCLC 确诊后人群的死亡率下降，生存期延长。<sup>50</sup> 美国<sup>51</sup> 和欧洲<sup>52,53</sup> 大规模区域性和国家性的分子检测项目表明，在大量人群中检测多种分子驱动因素是可行的，对确定有分子改变的患者接受适当的靶向治疗进行指导是有价值的。美国肺癌突变联盟分析了 733 名患者肿瘤的 10 个基因，在 64% 的病例中识别出了潜在的可靶向驱动突变。与未接受靶向治疗且有致癌驱动因素的患者 (n = 318, 中位生存期为 2.4 年) 相比，接受靶向药物治疗且有致癌驱

动因素的患者 ( $n = 260$ , 中位生存期为 3.5 年) 的治疗结果有所改善。<sup>51</sup> 法国的一项全国性项目在一年内对 6 个基因组进行了检测, 发现在 17664 名 NSCLC 患者中, 约有一半产生了分子改变,<sup>52</sup> 项目还注意到治疗结果得到了改善, 发现患者的缓解率、无进展生存期和总生存期都存在可操作的基因组改变。同样地, 德国一项涉及 5145 名患者的研究表明, 肿瘤基因分型具有可行性, 对于存在 *EGFR* 突变或 *ALK* 重排的患者而言, 接受适当的靶向治疗, 对肿瘤进行基因分型, 可改善生存期结果。<sup>53</sup> 一项对 4064 名美国 NSCLC 患者进行的分析, 利用 Flatiron 电子数据库, 并结合标准护理基因组图谱, 发现与未发生驱动基因改变的患者 ( $n = 560$ ) 相比, 肿瘤存在驱动因素改变并接受适当靶向治疗的患者 ( $n = 575$ ), 其总生存期得到延长 (中位数, 18.6 个月 对比 11.4 个月;  $P < 0.001$ )。<sup>54</sup>

### 生物标志物检测的障碍

适用临床生物标志物检测有几个确定的障碍。<sup>55-59</sup> 尽管每个障碍的相对影响因地理位置 (发达国家与发展中国家或农村与大都市) 和护理环境 (社区与学术机构) 而异, 但不同环境的关键因素具有显著的一致性。国际肺癌研究协会进行了一项最全面的调查, 评估了全球范围内的检测障碍,<sup>59</sup> 发现所有地区存在五个共同因素。每个地理区域最常见的障碍是费用问题。组织质量 (样本不足、处理欠佳) 也是一个主要限制因素。还有可供检测的机会 (单一基因与更广泛的单一基因组)、较长的周转时间和认知 (对指南的熟悉程度以及解释结果的难度)。此外, 在发展中国家和中等收入国家, 缺乏各种靶向药物是进行生物标志物检测的主要阻碍因素。<sup>60</sup>

这些问题的潜在解决方案包括: 制定反射测试方案; 促进肿瘤样本提供者、病理科医生和内科肿瘤医生之间的互动; 由多学科肿瘤委员会进行病例审查; 提高血浆 ctDNA 检测的利用率, 缩短周转时间。随着多个新的潜在可治疗分子靶点的快速发展, 加强对提供者的教育工作, 特别是针对社区和非胸部样本提供者的教育工作, 可促进分子检测工作的开展。<sup>56</sup> 美国临床肿瘤学会进行的一项调查显示, 尽管这种肿瘤类型相对缺乏可靶向致癌基因, 但与胸部专家相比, 全科医师对鳞状 NSCLC 患者进行生物标志物检测的频率明显更高。此外, 尽管已证明在一线环境中使用靶向治疗有益, 但与肿瘤专家相比, 全科医师在等待生物标志物结果时也很少推迟非靶向治疗。<sup>56</sup>

### 不检测的影响

及时准确地进行生物标志物检测, 以指导晚期 NSCLC 治疗决策的价值已得到广泛认可。接受靶向治疗或免疫疗法的患者, 因生物标志物不同, 其 5 年生存率在 15% 至 50% 之间不等, 而接受细胞毒性化疗的患者, 其历史 5 年生存率约为 6%。<sup>62</sup> 近期的两项研究表明, 遵守生物标志物检测指南可改善 NSCLC 的治疗结果。<sup>62,63</sup> John 等人对来自美国 280 个癌症诊所的 28784 名晚期 NSCLC 患者队列进行了回顾研究。<sup>62</sup> 这些患者有三分之二接受了美国国家综合癌症网络 (NCCN) 推荐的生物标志物检测 (依

从组)。与未接受生物标志物检测的患者(非依从组)相比,依从组观察结果显示,死亡率降低、中位生存期延长,临床治疗结果有所改善。肯塔基大学的一项研究表明,分子肿瘤委员会(MTB)有助于克服获得和应用适当生物标志物检测方面的很多障碍。<sup>63</sup>其中,与未经MTB审查的倾向匹配对照组相比,经过MTB审查的病例的生存期结果更好(危险比[HR]:8.61;  $P < 0.0001$ )。

虽然生物标志物检测在疾病早期阶段的作用尚未明确,但批准辅药奥西替尼用于EGFR突变阳性NSCLC患者的肿瘤切除手术,<sup>43</sup>以及新辅助性和辅助免疫肿瘤药物在EGFR和ALK阴性肿瘤患者中的疗效,也表明生物标志物检测在这种情况下的重要作用。

### 患者权益工作者的视角

个性化医疗的新时代为肺癌患者及其家庭护理人员带来了新的希望,使他们更加乐观。生物标志物检测对于确定最佳的个性化治疗方案、实现最优结果至关重要。从患者或护理人员的角度来看,有几个重要的考虑因素。

### 获取机会、费用、公平

尽管在许多国家,生物标志物检测是常规检测,确诊后由卫生系统提供保障,但这并不是普遍情况。例如,Lung Cancer Europe (LuCE)立场文件<sup>64</sup>显示,西欧/北欧和东欧之间存在显著差异,国家内部种族之间也存在重大差异。<sup>65</sup>此外,检查靶向治疗的获得性耐药机制,需要重复进行生物标志物检测,这部分费用卫生系统可能无法报销,患者只能自掏腰包获取后续靶向治疗方案。

### 教育和希望

确定可操作驱动突变的影响可能有着巨大影响,有时真的决定生死。不过,许多肺癌并不携带致癌驱动因素,而在有些肺癌中检测发现的基因改变,还没有对症的可用靶向治疗方案。进行分子检测时,患者及其家人接受咨询至关重要,咨询内容涵盖可能的结果范围、潜在发现的意义以及检测的局限性。应对患者及其家人的期望也很重要。此外,解读分子病理学报告会有难度,应该随时提供支持。患者权益支持者、专业人士和教育组织通过在线或纸质形式,提供简单易懂的教育材料,这种方式很重要,对于可能没有接受过分子检测的人员,倡导进行必要的检测尤其重要。此外,还有数字社交社区,患者和家属可以在这里分享经验、互相学习,彼此给予支持和希望。医疗服务提供者可以指导新确诊的肺癌患者使用这些资源,为他们提供帮助。

### 结论

目前,NSCLC诊断和治疗在很大程度上依赖于及时、全面、彻底的肿瘤生物标志物检测,以及现有疗法的适用使用。本图谱可作为综合参考,指导读者为肺癌患者提供最佳的个性化治疗方法。



## 参考文献

1. Tan AC, Tan DSW. Targeted therapies for lung cancer patients with oncogenic driver molecular alterations. *J Clin Oncol*. 2022;40(6):611-625.
2. Gatzemeier U, Pluzanska A, Szczesna A, et al. Phase III study of erlotinib in combination with cisplatin and gemcitabine in advanced non-small-cell lung cancer: the Tarceva Lung Cancer Investigation Trial. *J Clin Oncol*. 2007;25:1545-1552.
3. Herbst RS, Prager D, Hermann R, et al. TRIBUTE: a phase III trial of erlotinib hydrochloride (OSI-774) combined with carboplatin and paclitaxel chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23:5892-5899.
4. Herbst RS, Giaccone G, Schiller JH, et al. Gefitinib in combination with paclitaxel and carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial—INTACT 2. *J Clin Oncol*. 2004;22:785-794.
5. Giaccone G, Herbst RS, Manegold C, et al. Gefitinib in combination with gemcitabine and cisplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial—INTACT 1. *J Clin Oncol*. 2004;22:777-784.
6. Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004;304:1497-1500.
7. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350:2129-2139.
8. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009;361:947-957.
9. Fukuoka M, Wu YL, Thongprasert S, et al. Biomarker analyses and final overall survival results from a phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib versus carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer in Asia (IPASS). *J Clin Oncol*. 2011;29:2866-2874.
10. Sequist LV, Yang JC, Yamamoto N, et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol*. 2013;31:3327-3334.
11. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, 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;13:239-246.
12. 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;362:2380-2388.
13. 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;11:121-128.
14. Takano T, Fukui T, Ohe Y, et al. EGFR mutations predict survival benefit from gefitinib in patients with advanced lung adenocarcinoma: a historical comparison of patients treated before and after gefitinib approval in Japan. *J Clin Oncol*. 2008;26:5589-5595.
15. Lee CK, Davies L, Wu YL, et al. Gefitinib or erlotinib vs chemotherapy for EGFR mutation-positive lung cancer: individual patient data meta-analysis of overall survival. *J Natl Cancer Inst*. 2017;109.
16. Yang JC, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol*. 2015;16:141-151.
17. Mok TS, Cheng Y, Zhou X, et al. Improvement in overall survival in a randomized study that compared dacomitinib with gefitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer and EGFR-activating mutations. *J Clin Oncol*. 2018;36:2244-2250.
18. NCCN Guidelines Committee. *Clinical Practice Guidelines in Oncology: Non-Small Cell Lung Cancer*, version 5.2022. [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/nscl.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf).

19. ESMO Guidelines Committee. *Clinical Practice Guidelines—Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up*. Updated September 15, 2020. <https://www.esmo.org/guidelines/guidelines-by-topic/lung-and-chest-tumours/clinical-practice-living-guidelines-metastatic-non-small-cell-lung-cancer>.
20. Ramalingam SS, Vansteenkiste J, Planchard D, et al. Overall survival with osimertinib in untreated, EGFR-mutated advanced NSCLC. *N Engl J Med*. 2020;382:41-50.
21. Soria JC, Ramalingam SS. Osimertinib in EGFR mutation-positive advanced NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;378:1262-1263.
22. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*. 2014;371:2167-2177.
23. Soria JC, Tan DSW, Chiari R, et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2017;389:917-929.
24. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus crizotinib in untreated ALK-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2017;377:829-838.
25. Mok T, Camidge DR, Gadgeel SM, et al. Updated overall survival and final progression-free survival data for patients with treatment-naive advanced ALK-positive non-small-cell lung cancer in the ALEX study. *Ann Oncol*. 2020;31:1056-1064.
26. Camidge DR, Kim HR, Ahn MJ, et al. Brigatinib versus crizotinib in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2018;379:2027-2039.
27. Shaw AT, Bauer TM, de Marinis F, et al. First-line lorlatinib or crizotinib in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*. 2020;383:2018-2029.
28. Dziadziuszko R, Krebs MG, De Braud F, et al. Updated integrated analysis of the efficacy and safety of entrectinib in locally advanced or metastatic ROS1 fusion-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2021;39:1253-1263.
29. Shaw AT, Riely GJ, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): updated results, including overall survival, from PROFILE 1001. *Ann Oncol*. 2019;30:1121-1126.
30. Drilon A, Subbiah V, Gautschi O, et al. Selpercatinib in patients with RET fusion-positive non-small-cell lung cancer: updated safety and efficacy from the Registrational LIBRETTO-001 phase I/II trial. *J Clin Oncol*. 2022;JCO2200393.
31. Griesinger F, Curigliano G, Thomas M, et al. Safety and efficacy of pralsetinib in RET fusion-positive non-small-cell lung cancer including as first-line therapy: update from the ARROW trial. *Ann Oncol*. 2022;33(11):1168-1178.
32. Demetri GD, De Braud F, Drilon A, et al. Updated integrated analysis of the efficacy and safety of entrectinib in patients with NTRK fusion-positive solid tumors. *Clin Cancer Res*. 2022;28:1302-1312.
33. Drilon A, Tan DSW, Lassen UN, et al. Efficacy and safety of larotrectinib in patients with tropomyosin receptor kinase fusion-positive lung cancers. *JCO Precis Oncol*. 2022;6:e2100418.
34. Li BT, Smit EF, Goto Y, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2022;386:241-251.
35. Goto K, Sang-We K, Kubo T, et al. Trastuzumab deruxtecan (T-DXd) in patients (Pts) with HER2-mutant metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC): interim results from the phase 2 DESTINY-Lung02 trial. *Ann Oncol*. 2022;33:S808-S869.
36. Wolf J, Garon EB, Groen HJM, et al. Capmatinib in MET exon 14-mutated, advanced NSCLC: updated results from the GEOMETRY mono-1 study. *J Clin Oncol*. 2021;39:9020.
37. Paik PK, Felip E, Veillon R, et al. Tepotinib in non-small-cell lung cancer with MET exon 14 skipping mutations. *N Engl J Med*. 2020;383:931-943.
38. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Phase 2 study of dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF V600E-mutant metastatic NSCLC: updated 5-year survival rates and genomic analysis. *J Thorac Oncol*. 2022;17:103-115.
39. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, et al. Sotorasib for lung cancers with KRAS p.G12C mutation. *N Engl J Med*. 2021;384:2371-2381.
40. Jänne PA, Riely GJ, Gadgeel SM, et al. Adagrasib in non-small-cell lung cancer harboring a KRASG12C mutation. *N Engl J Med*. 2022;387(2):120-131. doi:10.1056/NEJMoa2204619.



41. Park K, Haura EB, Leighl NB, et al. Amivantamab in EGFR exon 20 insertion-mutated non-small-cell lung cancer progressing on platinum chemotherapy: initial results from the CHRYSALIS phase I study. *J Clin Oncol*. 2021;39:3391-3402.
42. Zhou C, Ramalingam SS, Kim TM, et al. Treatment outcomes and safety of mobocertinib in platinum-pretreated patients with EGFR exon 20 insertion-positive metastatic non-small cell lung cancer: a phase 1/2 open-label nonrandomized clinical trial. *JAMA Oncol*. 2021;7:e214761.
43. Wu YL, Tsuboi M, He J, et al. Osimertinib in resected EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2020;383:1711-1723.
44. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007;448:561-566.
45. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2010;363:1693-1703.
46. Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*. 2013;368:2385-2394.
47. Horn L, Wang Z, Wu G, et al. Ensartinib vs crizotinib for patients with anaplastic lymphoma kinase-positive non-small cell lung cancer: a randomized clinical trial. *JAMA Oncol*. 2021;7:1617-1625.
48. Shaw AT, Yeap BY, Solomon BJ, et al. Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2011;12:1004-1012.
49. Uprety D, Adjei AA. KRAS: From undruggable to a druggable cancer target. *Cancer Treat Rev*. 2020;89:102070.
50. Howlader N, Forjaz G, Mooradian MJ, et al. The effect of advances in lung-cancer treatment on population mortality. *N Engl J Med*. 2020;383:640-649.
51. Kris MG, Johnson BE, Berry LD, et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA*. 2014;311:1998-2006.
52. Barlesi F, Mazieres J, Merlio JP, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet*. 2016;387:1415-1426.
53. Clinical Lung Cancer Genome Project (CLCGP); Network Genomic Medicine (NGM). A genomics-based classification of human lung tumors. *Sci Transl Med*. 2013;5:209ra153.
54. Singal G, Miller PG, Agarwala V, et al. Association of patient characteristics and tumor genomics with clinical outcomes among patients with non-small cell lung cancer using a clinicogenomic database. *JAMA*. 2019;321:1391-1399.
55. Smeltzer MP, Wynes MW, Lantuejoul S, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Global Survey on Molecular Testing in Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2020;15:1434-1448.
56. Mileham KF, Schenkel C, Bruinooge SS, et al. Defining comprehensive biomarker-related testing and treatment practices for advanced non-small-cell lung cancer: results of a survey of U.S. oncologists. *Cancer Med*. 2022;11:530-538.
57. Pennell NA, Arcila ME, Gandara DR, et al. Biomarker testing for patients with advanced non-small cell lung cancer: real-world issues and tough choices. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2019;39:531-542.
58. Rivera MP, Charlot M, Durham DD, et al. Molecular biomarker and programmed death-ligand 1 expression testing in patients with advanced stage non-small cell lung cancer across North Carolina community hospitals. *Chest*. 2021;160:1121-1130.
59. Dalurzo ML, Aviles-Salas A, Soares FA, et al. Testing for EGFR mutations and ALK rearrangements in advanced non-small-cell lung cancer: considerations for countries in emerging markets. *Onco Targets Ther*. 2021;14:4671-4692.
60. Hirsch FR, Zaric B, Rabea A, et al. Biomarker testing for personalized therapy in lung cancer in low- and middle-income countries. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2017;37:403-408.
61. Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, et al. NCCN Guidelines Insights: Non-Small Cell Lung Cancer, version 2.2021. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021;19:254-266.
62. John A, Yang B, Shah R. Clinical impact of adherence to NCCN guidelines for biomarker testing and first-line treatment in advanced non-small cell lung cancer (aNSCLC) using real-world electronic health record data. *Adv Ther*. 2021;38:1552-1566.

63. Huang B, Chen Q, Allison D, et al. Molecular tumor board review and improved overall survival in non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:PO.21.00210.
64. *Position Paper: Disparities and Challenges in Access to Lung Cancer Diagnostics and Treatment across Europe.* Lung Cancer Europe (LuCE); 2020.
65. Harrison S, Judd J, Chin S, et al. Disparities in lung cancer treatment. *Curr Oncol Rep.* 2022;24:241-248.



## 样本采集与分析前考虑因素

# 3

肺癌患者会有多种病情表现，可能会患有涉及不同部位的早期或晚期疾病。无论他们的病情表现如何，最佳治疗方案要求采集组织，做出诊断，许多情况下还需要描述分子特征，指导采取最佳治疗方案。本章回顾了肺科医生、放射科医生、外科医生在组织采集中的互补作用，介绍了影响患者肿瘤最佳病理评估和分子特征描述的预分析变量。

### 肺脏学家的视角

#### Emily Stone 和 Kwun M. Fong

肺科医生只需获取诊断样本，即可确认恶性肿瘤，并区分小细胞肺癌 (SCLC) 和非小细胞肺癌 (NSCLC)，这样的时代早已一去不返。现在的优先方式是最安全的方式，采集足够的诊断组织进行分子特征描述，对于 NSCLC 尤其如此。<sup>1</sup> 每个采样程序都应最大限度地提高采样率，因为尽管液体活检在某些情况下可以发挥效力，但组织确实是组织病理学诊断和辅助分子特征描述的关键。<sup>2-8</sup>

无论是使用单基因检测、小基因组，还是下一代测序 (NGS) 综合基因组图谱，最佳组织采集都是生物标志物分析的关键分析前因素。<sup>9-11</sup> 考虑到全球在生物标志物检测方面面临的障碍，组织采集的最佳实践旨在以最安全、最有效、最经济的方式，为相关组织病理学和分子检测获取足够的组织。<sup>12-14</sup>

这对于肺癌来说可能很有挑战性，特别是对于较小和 / 或难以接触的病变、患有严重肺病等并存病的患者，或者晚期表现不适合手术切除样本的情况，但手术切除样本会比微创支气管镜活检、针吸活检、核心活检提供的组织更多。<sup>15</sup>

**表 3-1. 肺癌组织采集常用的支气管镜方法和采样工具**

肿瘤特征	方式	采样工具
中央或支气管内肿瘤	支气管镜检查	支气管内活检 冷冻活检 刷洗 洗液 / 支气管肺泡灌洗
周围肿瘤	超细支气管镜检查 放射状 EBUS	经支气管活检 经支气管冷冻活检 TBNA 经支气管刷洗 洗液 / (靶向) 支气管肺泡灌洗
纵隔肿瘤或气道附近的外源性肿瘤 / 淋巴结	线性 EBUS	TBNA

缩略词：EBUS = 支气管内超声；TBNA = 经支气管针吸活检术。

### 柔性支气管镜检查

传统的柔性支气管镜检查对于中央病变具有较高的诊断率，而对于较小周围病变的诊断率则较低。最新的技术，包括导航支气管镜检查、支气管内超声 (EBUS)、超细机器人支气管镜检查，与现代采样工具，例如柔性针和核芯针，以及正在改变这一模式的隧道工具，扩大了支气管镜的到达范围。<sup>16-22</sup> 使用支气管镜检查中央病变和经胸检查周围病变的传统方法正在受到挑战，因为这些先进的支气管镜技术提高了中央和周围病变的诊断率，还能在相同的程序中对结节进行采样，引发气胸的风险更低（表 3-1）。<sup>23</sup>

对于支气管内和经支气管方法，建议进行 5 次支气管内 / 经支气管镜钳活检，并考虑另外进行 5 次钳夹活检或 2 次冷冻活检，这样可以最大限度地采集组织，据报告，后者的诊断率更高，但更有可能出现并发症，特别是出血。<sup>11,24</sup>

支气管镜或成像 (EBUS、荧光镜透视检查、锥形束计算机断层扫描 [CT]) 能够发现的病变，也可以使用锥形毛刷进行采样；将样本涂在用于细胞学检查的载玻片上，并在盐水中剧烈摇动，使细胞脱落，通过离心作用形成细胞块。<sup>25</sup> 一项研究表明，刷检在免疫组织化学 (PD-L1, ALK, ROS1) 和 NGS (EGFR, KRAS, BRAF) 方面的效用与活检类似。<sup>26</sup>

利用支气管洗液可以制备细胞学样本和细胞块，尽管任何脱落的肿瘤细胞都会被其他类型的细胞和碎片稀释。洗液可用于检测体细胞突变、异常甲基化和 PD-L1 染色，但相对缺乏针对性，在许多情况下还会受到肿瘤细胞比例较低的限制。支气管肺泡灌洗更具针对性，需要导引鞘通过支气管镜导航到达病变。<sup>27-29</sup>

经支气管针吸活检 (TBNA) 无需 EBUS 即可进行。现代 EBUS 引导的 TBNA 显著提高了中央病变以及纵隔和肺门淋巴结采样的诊断率，放射状 EBUS 也越来越多地应用于周围病变采样。<sup>14,25,30,31</sup> TBNA 样本可以涂在载玻片上，制成适合组织病理学和分子分析的细胞块。<sup>32</sup> 使用较大的 19G TBNA 针可能会获取到“重点样本”，尽管通常采集到的样本由含有组织碎片的血块组成。<sup>33</sup> 谨慎协调多学科管理人员，妥善保存所有珍贵的样本，对于完成最佳诊断和分子分析具有至关重要的意义。<sup>34</sup>

建议开展快速现场评价 (ROSE), 确保 TBNA 和其他 EBUS 样本足以进行分子检测。不过, ROSE 需要手术室内有细胞病理学家 / 技术人员在场, 以便确认样本是否存在肿瘤细胞、采样是否充足 / 采样率高或低。<sup>33,35-37</sup> 如果在不做 ROSE 的情况下进行 EBUS TBNA, 建议至少做 3 次, 最多做 5 次。<sup>11</sup>

### 导航支气管镜检查

技术进步为引导支气管镜到达靶点提供了新的方法。导航系统包括虚拟支气管镜导航 (VBN) 或电磁导航 (EMN), 利用支气管解剖结构的三维漫游图像, 主要用于检查周围肺部病变。<sup>18,19,25,38-40</sup>

### 超细支气管镜检查

与传统支气管镜相比, 超细支气管镜可以到达更远端气道 (第五代对比第四代气道)。1.7 毫米的超大工作通道, 允许使用小型放射状 EBUS 探针和多工具采样, 提高了周围病变的诊断率。<sup>25,41,42</sup>

### 机器人支气管镜检查

另一项创新技术是机器人支气管镜检查, 用于组织采集和潜在治疗。当前有两套市售系统。优点包括导航、保持位置不变、接头优化、可操作性; 不过, 这种方法成本高昂, 可能无法广泛采用。<sup>21,43,44</sup>

### 样本保存和转移

支气管镜样本通常存放在生理盐水或福尔马林中, 以便跨部门转移, 这是一种全球通用的做法。尽管如此, 新的替代方案, 例如非交联固定剂, 可用于克服福尔马林固定对核酸质量的负面影响。<sup>45</sup> 随着越来越多地利用基于 RNA 的检测, RNA 保存试剂可能有助于解决 RNA 降解难题。<sup>46</sup>

### 结论

个性化医疗分子检测非常依赖足够数量和质量的肿瘤组织采集, 但这对于诊断样本大多较小的肺癌来说尤其具有挑战性。对于辅助检测, 尽可能做活检或制备细胞块可能会获得足够的肿瘤细胞。肺科医生需要优化现有技术, 学习新的支气管镜检查技能, 才能确保样本具有组织病理学诊断和分子检测所需的肿瘤细胞质量和数量。<sup>30,47</sup> 在信息丰富的多元社会, 询证指南需要定期更新, 才能满足不断变化的需求。与此同时, 高级支气管镜检查实践也取得了同步进展,<sup>48,49</sup> 使得“事半功半”的检测困境演变为“事倍功倍”的可喜局面。<sup>50</sup>

## 介入放射科医生的视角

### Ritu R. Gill 和 Apoorva Gogna

图像引导经皮经胸穿刺活检 (TTNB) 是肺结节和肿块诊断评估的护理标准, 对良性和恶性病因的诊断具有很高的准确性, 综合敏感性和特异性分别为 0.95 和 0.99。<sup>51,52</sup> CT 是图像引导活检的首选图像引导方法, 可对浅表和深层病变进行安全采样, 通过限制探针穿过肺泡, 最大限度地降低发病率, 同时有助于避免血管、裂隙和大疱。<sup>53</sup> 超声可用于检测无肺界面的病变以及基于胸壁和胸膜的病变。<sup>54,55</sup> 荧光镜透视检查和术中 C 形臂也可用于图像引导活检,<sup>56,57</sup> 但在诊断和分子分析的组织获取中发挥的作用有限。细针穿刺抽吸 (FNA) 和粗针穿刺活检 (CNB) 均可作为诊断和分子特征描述获取样本。<sup>53,58</sup> 使用图像引导活检对肺癌进行诊断和分子分析, 准确度为 75% 至 92%。<sup>52,59-64</sup> 许多肺癌患者不适合接受手术, 因此获取足够的材料用于诊断和分子分析具有重要意义。

### 术前评估

转诊进行图像引导活检的患者来自许多服务部门, 包括胸外科、呼吸内科、肿瘤科和全科诊所, 其中有病变不确定的患者和确诊肺癌的患者。如果要求做肺活检, 放射科医生应检查是否有可用影像, 通常是增强 CT, 计划要采取的治疗方法, 并为患者安排时间进行手术。18 氟 - 氟代脱氧葡萄糖正电子发射计算机断层显像 (18 FDG-PET) CT 有助于确定病变, 尤其是在之前进行过非诊断性活检的情况下, 但手术前无需进行。活检的资格标准包括病变最好大于 1 厘米, 并具有适用图像引导的轨迹。富血管病变或轨迹中存在不可避免的血管结构是图像引导活检的禁忌症 (图 3-1)。中央病变、无法修复的凝血障碍、严重肺动脉高压也是排除活检的标准。

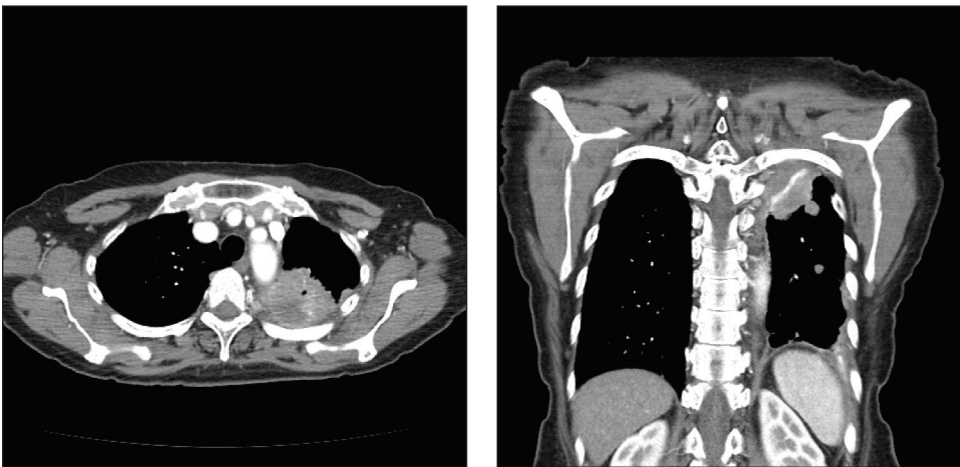


图 3-1. 病变内大血管是活检的相对禁忌症。

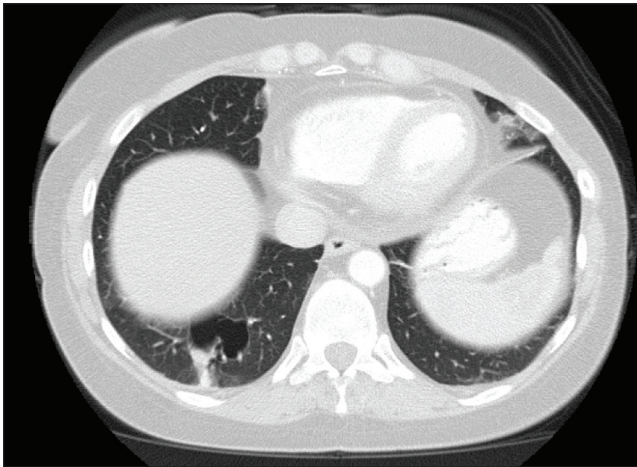


## 活检手术

TTNB 通常为门诊手术，多数患者活检后几个小时即可离开。该手术可以仅在局部麻醉或静脉清醒镇静下进行，但需做适当安排（禁食、术后护理等）。

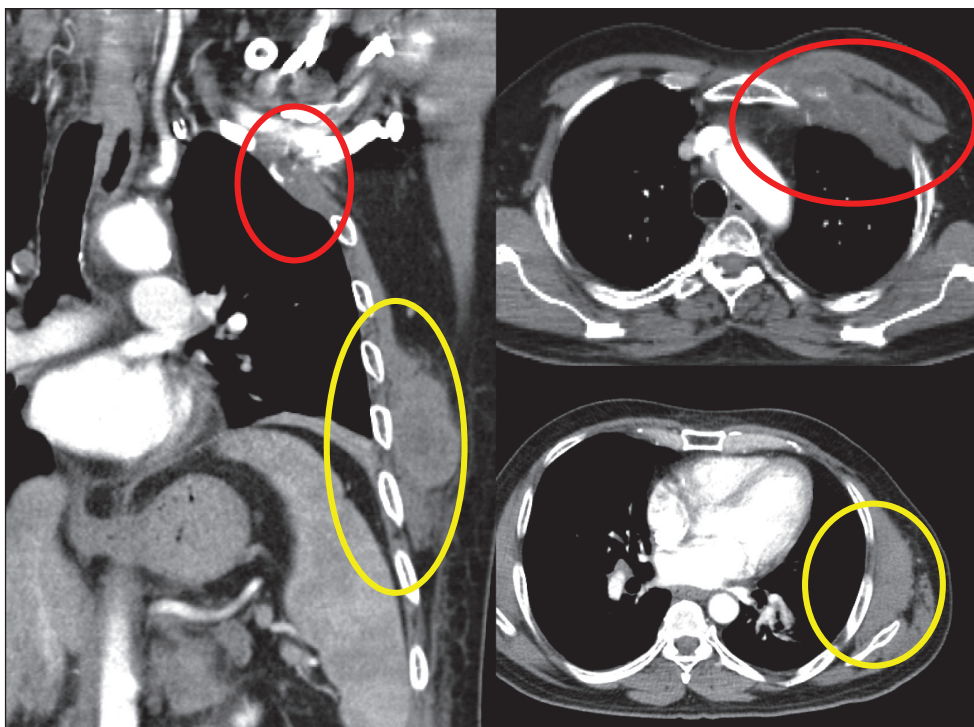
TTNB 标准手术程序包括：根据术前评估将患者置于仰卧位、俯卧位或侧卧位，放置表面标记网格，对相关区域进行局部 CT 扫描，以规划最短的活检路径。静脉清醒镇静 (IVCS) 需根据医生和患者的偏好，使用芬太尼 (fentanyl) 和咪达唑仑 (midazolam)，按照滴定递增剂量注射。选定穿刺部位后，对该部位灭菌，然后进行局部麻醉。将活检针插入目标病变部位，医生间歇控制 CT 透视仪，确认针的位置，然后再获取组织样本。

执行放射科医生根据个体患者和病变因素（图 3-2），以及活检适应症（病理诊断、基因组学、实验方案三者对比），决定是否进行 FNA 和 / 或 CNB、所用 CNB 针的尺寸，以及是否使用同轴导引系统。FNA 样本通常使用 22G 至 24G 15/9 厘米的活检针获取，核芯针样本可使用 18G 或 20G 自动切割活检针获取，该活检针的长度为 6 至 20 厘米，核芯长度为 1 或 2 厘米。执行放射科医生可根据具体情况和医生偏好，选择 CNB 针的尺寸和型号。细胞学家在现场可做快速现场评价，帮助确定样本是否充足。通常，三次及以上细针穿刺即可获得足够的诊断和分子分析组织。与此类似，通常建议至少使用 3 个核心活检样本进行诊断和分子分析，尽管并非所有样本的材料都足够。需要特别考虑骨头病变，具体内容见“从病理学家的视角看组织和细胞学样本”



**图 3-2.** 如果病变较小且靠近主要血管或囊肿（如这些计算机断层扫描 [CT] 图像所示），则细针穿刺抽吸活检比粗针穿刺活检更合适。





**图 3-3.** 左侧胸壁病变（黄色圆圈）比左前肋骨转移（红色圆圈）更适合基因组分析。如有需要，骨转移脱钙会使组织不适合基因评估。

部分所述。除了病理实验室所需的步骤外，还建议对所有软组织成分进行取样，并从骨取样器中收集洗液（图 3-3）。

手术后需立即进行胸部 X 光检查或胸部 CT 检查，评估活检是否引发包括气胸和出血在内的并发症。然后，门诊患者离开前需在观察室等候至少 2 小时，并接受胸部 X 光检查，用于评估迟发性气胸和 / 或出血。住院患者需返回病房进行监测，并在术后 2 小时进行 X 光检查。出现严重并发症的患者，例如气胸需要放置胸管，需住院接受进一步治疗和观察，介入团队认为临床上这样做是适当的。

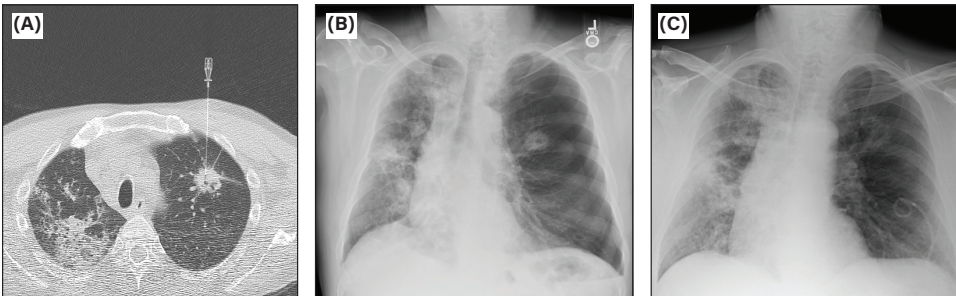
### 活检并发症

TTNB 最常报告的并发症是气胸和出血，气胸率和胸管置入率分别为 12% 至 45%，2% 至 15%<sup>52,64,65</sup>（图 3-4）。肺气肿的程度、较长针道、针外径、停留时间、针穿过裂隙，会使引发气胸的几率增加 3.7 倍。<sup>66</sup> 据报告，TTNB 后肺出血的比率为 8% 到 65% 不等，<sup>67</sup> 出血严重的病例可能需要栓塞或手术干预。也有关于罕见并发症的报告，例如空气栓塞和死亡。<sup>68</sup>

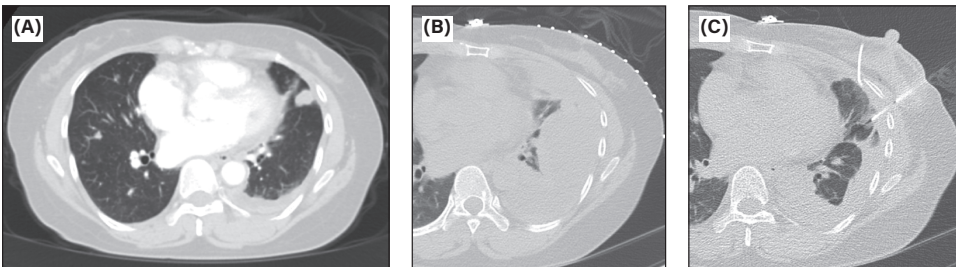
如果活检结果无法用于诊断，则应审查所有样本不足的病例，并再次审查图像，然后考虑重新进行活检（图 3-5）。根据具体情况考虑是否需要采取替代策略，额外成像或其他替代方法（例如经支气管活检）。

### 结论

图像引导活检是一种安全有效的肺癌诊断和分子分析组织采集方法，并发症发生率很低。CT 引导是图像引导活检和患者再次接受活检的主要手段。多学科方法是最佳患者管理的关键，因为有些病变更适合支气管内或经支气管活检，出现这类病变的患者应转诊至介入肺科。为保证报告病理学家获取临床相关信息，拓展管理诊断和分子检测所用组织，还需要有效沟通并标记样本（表 3-2）。



**图 3-4.** (A) 计算机断层扫描 (CT) 引导下的经胸穿刺活检 (B) 活检后并发左侧气胸。(C) 放置猪尾导管治疗气胸。



**图 3-5.** (A) 再次活检的术前左上叶病变。(B) 手术当日，大量胸腔积液掩盖了病变。(C) 引流积液并提交细胞学检查后，还要对病变进行核心活检，确保有足够的材料用于诊断和分子分析。

**表 3-2.** 放射引导样本采集的关键考虑因素

- 经胸穿刺活检 (TTNB) 这种方法安全有效，可获取充足的组织用于基因组分析。
- 按照标准协会的要求制定的协议，详细说明了从图像审查到采集样本、清晰标记、提供给病理学家以及闭环沟通的工作流程，对于提高用于分子分析的手术成功率至关重要。
- 分子分析通常首选核心活检；不过，如果只能进行细针穿刺抽吸 (FNA)，则应尝试 3 次或更多次。
- 如果活检时抽吸出恶性胸腔积液，也应提交分析。

## 胸外科医生的视角

Jessica S. Donington 和 Paul E. Van Schil

### 引言

理想情况下，活检属于微创，一次手术即可确定诊断和分期，同时为分子分析提供足够的组织。但肺部很少成为局部晚期或转移性 NSCLC 的理想活检部位。经皮和内窥镜穿刺活检是 NSCLC 诊断组织最常见的方法，但并非对所有病变都适用。如果要进行胸外科活检，则首选微创手术，而且，大多数情况不适合通过开胸手术采集组织。NSCLC 胸外科活检分为三大类：淋巴结、胸膜、实变穿刺。通过对早期疾病进行解剖切除获取的组织，也可用于分子检测，以指导辅助治疗或疾病进展时采取的治疗。

### 淋巴结活检

通常采取 EBUS 从纵隔或肺门淋巴结采集组织。这种方法由于是微创手术，而且能够到达肺门内的淋巴结，在很大程度上取代了纵隔镜检查。<sup>69</sup> 但仍然有些适应症适合纵隔镜检查，这种方法主要为了诊断淋巴瘤和非诊断性 EBUS 术后检查。通过纵隔镜检查获取的活检样本，比通过 EBUS 获取的样本量大，这样对于分子分析而言几乎不会出现组织不够充足的问题。要与病理学家保持有效沟通，确保需要冰冻切片时，用于分子分析的组织得到了妥善保存。一般而言，纵隔镜检查可以到达 4R、4L 和 7 区的淋巴结，但通常无法到达肺门淋巴结和主肺动脉 (PA) 窗淋巴结。

胸外科医生负责治疗肺部左上叶肿瘤引起的 5 区或 6 区淋巴结疾病。在这个位置做 EBUS 活检，需要将活检针穿过肺动脉，这种方法虽然有报告提到，但尚未得到广泛采用。与此类似，能够到达这些区域的纵隔镜检查，只在 Ginsberg 等人 1987 年描述的扩展手术中出现过，但从未被广泛采用。<sup>70</sup> 要进入 PA 窗，可使用电视胸腔镜手术 (VATS) 或机器人辅助胸腔镜手术 (RATS)，通过前纵隔切开术 (Chamberlain) 或左肺微创手术进入。Chamberlain 手术的优点在于，不需要单肺通气，通常也无需胸管，还可在门诊进行。缺点是切口疼痛且不雅观，胸内可视化程度有限。因此，这种手术在很大程度上被左侧 VATS 或 RATS 方法所取代，用于 PA 窗活检。这类活检通常需要单肺通气，但可以在门诊进行，胸膜内可视化程度高，可对胸膜腔疾病扩散做全面评估。

### 胸膜活检

胸膜转移是 NSCLC 的一种传播模式，通常会造成胸腔积液。细胞学分析可以诊断高达 60% 的恶性积液，但仅靠细胞学很难诊断鳞状细胞癌。<sup>71</sup> 大约 20% 的恶性胸腔积液需要直接观察胸膜腔进行诊断和活检，而 VATS 已大规模取代了封闭式胸膜活检。<sup>72</sup> 建议采用单孔手术，这种手术可在局部或全身麻醉下进行，也不强制隔离肺部。液体引流、壁层胸膜定向活检后要进行表面检查。要保证诊断材料达标，可能需要制作冰冻切片，但不鼓励进行脏层胸膜活检。VATS 胸膜活检诊断准确率高于 90%，而且很少出现并发症。<sup>73</sup> 同时应采取姑息干预措施，胸膜固定术或隧道式胸腔引流管均可，但应首先考虑妥善保存组织，保证分子分析有足够的活检组织。



## 实变穿刺活检

治疗 NSCLC 前，通常需要进行组织确认，除非是临床 IA 期疾病。有些外科医生和患者更希望在解剖切除之前进行病理学确认，这样可能就不需要做治疗前活检，特别是在恶性肿瘤风险高、纵隔疾病风险低，且没有诱导治疗适应症的情况下。外科楔形活检是计划解剖切除的第一步，用冰冻切片确定是否需要继续进行。要与病理科医生保持沟通，确保他们知道切除的样本可能是用来确诊患者疾病的全部可能，还要尽可能避免用冰冻切片对整个病变取样。对于寡转移或寡进行性疾病，也经常进行手术楔形活检，帮助治疗和诊断。

针对 NSCLC 进行的外科肺活检，如果作为较大计划切除手术的一部分或作为独立手术，应尽可能做 VATS 或 RATS，并保留实变细胞，同时确保完全切除病变，避免将病变一切为二。在微创手术中，定位较小、非实性或深层结节可能很有挑战性。结节定位技术分为四类：(1) 术中影像辅助，例如胸腔镜超声；(2) 物理标志物，例如钩线、微线圈和基准点；(3) 使用或不使用近红外 (NIR) 成像的实质细胞染料和“纹样”；<sup>74</sup> (4) 分子靶点。<sup>75</sup> 理想情况下，定位和切除要在单次麻醉下进行。可以在胸外科混合手术室采用这些技术。手术室内设有锥形束 CT 扫描仪、电磁导航、荧光镜透视检查以及 RATS 和 / 或 VATS 设备。<sup>76</sup>

## 结论

获取分子分析所用组织对于 NSCLC 多模式治疗越来越重要。外科医生在获取足够大小的分子分析活检样本时很少遇到重大问题，但需要认识到，在分子肿瘤学时代，适当处理活检样本和保持沟通发挥着重要作用。随着更多新辅助和辅助靶向治疗成为护理标准，这种情况会更加普遍。

## 从病理学家的视角看组织和细胞学样本

### Mary Beth Beasley、Lukas Bubendorf 和 Deepali Jain

无论样本是通过手术、经皮还是内窥镜获得的，分析前变量都有可能影响病理诊断和分子检测的效能。这些因素包括样本体积以及处理和加工因素（表 3-3）。冷缺血时间过长可能会导致 DNA 和 RNA 降解，影响检测结果。最佳冷缺血时间应少于 1 小时，而且要尽快将组织放入福尔马林中。应立即用 10% 中性缓冲福尔马林固定样本，避免使用含汞或酸性固定剂。理想情况下，建议固定时间为 6 至 48 小时，而较大的手术样本，最佳固定时间为 8 至 18 小时。<sup>49,77</sup> 还要记住，组织样本只能固定和加工一次。这些步骤不得影响处理样本需要采取的所有诊断技术，包括标准形态学、免疫组织化学 (IHC) 和测序。虽然世界各地的实验室都将福尔马林固定剂和石蜡包用作保存诊断组织的标准方法，但福尔马林确实可能会改变核苷酸 (C 变为 T, G 变为 A)。此外，固定不足和过度固定都可能降低 DNA 和 RNA 的质量，过度固定还可能会导致 DNA 断裂和序列改变。特别是过度固定，可能导致蛋白质和核酸交联，影响分析。<sup>77</sup> 虽然切除样本不能免受分析前变量的影响（见下文），但大多数分析前变量往往会在更大程度上影响细胞学和小活检样本。

鉴于许多 NSCLC 患者是通过细胞学样本（如 FNA）或小组织活检（如支气管或核心活检）诊断的，而此类样本可能是唯一可用于分子检测的材料，因此，如果需要尽可能多地获取诊断、预后、预测信息，就要妥善管理样本。<sup>78</sup> 目前，多数包含 DNA 和 RNA 测序的 NGS 测试系统，通常需要 100 至 200 纳克的 DNA 或 RNA 才能取得最佳结果，尽管较小的数量（低至 10-20 纳克）可能足以用于使用基于扩增子方法的靶向 NGS 组合，但对基于快速多重逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 的测试平台或单基因分析而言，综合性较差。因此，小活检和细胞学样本的成功率普遍较高；不过谨慎处理依然有助于提高成功几率。<sup>9</sup>

虽然肿瘤细胞的数量很重要，但对于基于 DNA 的组合，一般原则是至少 200 个，更重要的是，样本中必须含有足够比例的肿瘤细胞，这样才能保证提供的 DNA 和 / 或 RNA 数量足够，不会被样本剩余部分有核细胞中的 DNA 和 / 或 RNA 稀释。理想情况下，选择用于基因组分析的组织块或涂片，应具有最高比例的肿瘤有核细胞，

**表 3-3. 可能影响肺癌样本分子检测的预分析变量**

所有样本
冷缺血时间 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 小于 1 小时最佳。</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 固定剂类型               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 优选 10% 中性缓冲福尔马林。</li> <li>- 避免使用酸性或汞基固定剂和刺激性脱钙剂。</li> <li>- 如有必要，可以使用基于乙二胺四乙酸 (EDTA) 的脱钙方案。</li> </ul> </li> <li>• 为了充分固定，建议固定 6 至 48 小时。</li> <li>• 组织块和切片选择               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 选择相对于背景间质和 / 或炎症细胞的最大肿瘤细胞量。</li> <li>- 最佳选择通常是 20% 或更多的肿瘤细胞。</li> <li>- 切片时应采取预防措施，避免潜在交叉污染。</li> <li>- 肿瘤比例可以通过手工刮取、显微切割或取芯来富集。</li> </ul> </li> </ul>
细胞学 / 小活检样本
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 针外径               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 核芯穿刺活检：14G 至 20G</li> <li>- 经胸细针穿刺抽吸 (FNA)：20G 至 25 G</li> <li>- 支气管内超声 (EBUS) 经胸细针穿刺抽吸 (FNA)：19G、21G，或 22G</li> </ul> </li> <li>• 活检 / 穿刺次数               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 目标是尽可能获得最多的组织。</li> <li>- 建议                   <ul style="list-style-type: none"> <li>- 核芯穿刺活检：至少 3 次</li> <li>- EBUS 经支气管针吸活检 (TBNA)：3-5 次</li> <li>- 经胸细针穿刺抽吸：多次，重点是细胞块制备材料</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>• 尽可能开展快速现场评价 (ROSE)</li> <li>• 实验室小样本管理               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 尽可能将核心和支气管活检样本分别放在独立的块内</li> <li>- 优化实验室切割方案，尽量减少组织浪费</li> <li>- 初始诊断阶段的研究仅限于必要步骤（巧妙使用免疫组织化学）</li> </ul> </li> </ul>

最好大于样本中有核细胞总量的 20%。在核酸提取之前对样本进行手工刮取或显微切割，并对高肿瘤细胞结构区域取芯，有助于进一步提高样本中肿瘤细胞与背景有核细胞的比例（肿瘤富集）。<sup>78,79</sup> 尽管已经证明表面积大于 25 mm<sup>2</sup> 的肿瘤可提高分子检测的成功率，<sup>9</sup> 但在小活检样本中很难获取如此大面积的肿瘤样本，即使增加切片的数量也不行。

为了避免因样本不足而导致失败的风险，应在可行的情况下尽可能增加组织样本量，这属于执行活检手术的临床医生的工作。美国病理学家学院关于采集和处理胸部小活检和细胞学样本的指南文件（另见上一节）建议，至少要进行 3 次核心活检，如果可能的话，使用 14G 至 20G 的活检针，在支气管镜活检期间进行多次活检。<sup>49</sup> 同样，对于经胸 FNA，建议使用 20G 至 25G 活检针进行多次穿刺。对于 EBUS TBNA，如果可以，建议使用 19G、21G 或 22G 活检针进行 3 至 5 次穿刺，特别是在无法进行现场评估的情况下。

虽然并不是所有实践场景都可以开展 ROSE，但 ROSE 有助于保证材料充足，并将辅助测试分类。应尝试对所有细胞学样本采集充足的材料来制备细胞块。<sup>49</sup> 用福尔马林固定细胞块材料是分子研究最常见和最广泛使用的细胞学制备方法；然而，如果经过适当验证，可以使用涂片或其他方法，例如液基细胞学检查。<sup>80,81</sup> 尽管上述建议适用于针吸样本，但胸水细胞学样本或不太常见的其他样本（例如支气管肺泡灌洗液 / 支气管洗液或刷洗液）也可以成功用于基因组检测，前提是肿瘤细胞比例足够高。<sup>82,83</sup> 细胞学样本，包括最终固定在福尔马林中的细胞块，最初通常会接触不同量的乙醇或其他固定剂，因此，应严格验证细胞快，才能将其用于辅助研究；不过，只要肿瘤材料足够，大多数细胞学制备就能得出良好结果。

对于核心或支气管活检样本，可使用触摸印记细胞学来评估样本是否充足；不过，由于此过程可能会损害组织样本，用这种方法时要多加小心。<sup>84</sup> 理想情况下，单独的核芯针或支气管活检应分别置于单独的块中，而不是完全放在一个块中提交，分开放置后，其中 1 个块可用于诊断染色，其余块则适当保存，用于分子测试。不过，这种方法要求所有片段都含有肿瘤细胞。

设计组织切片程序，还应尽量减少潜在的组织浪费。实验室必须根据自身能力水平设计最适合自己的方案；不过有多种方法推荐采用，从单张玻片表面切割到一系列预切割多个未染色玻片的策略，通常使用苏木精和伊红 (H&E) 评估使用此类方法提取 DNA 和 RNA 前后的水平。处理和切割样本全程均应采取预防措施，避免交叉污染；每次切割切片提取 DNA/RNA 时，需要使用专用切片机和未使用的新刀片。

此外，虽然利用骨头病变活检可进行诊断，确定肿瘤分期和最容易到达的疾病部位，但必须仔细考虑，尽可能避免使用脱钙剂。<sup>84</sup> 如果无法避免脱钙，则应采用基于乙二胺四乙酸 (EDTA) 的方案。<sup>9</sup> 介入放射科医生对骨转移进行活检时，建议冲洗活检针或采集额外的 FNA 样本，避免因脱钙时间而延误诊断过程，同时为分子检测提供额外材料。

肿瘤体积对于手术切除的样本而言通常不是问题；但是其他问题可能会影响分子检测的结果。冷缺血时间可能会受到以下因素影响：运送到实验室的时间、冰冻切片分析的时间、组织采集（用于生物样本入库和 / 或研究目的）的时间。此外，较大的样本可能会出现不当固定的问题，因为福尔马林很难穿透脏层胸膜。切除样本需要充气或注射福尔马林，或者在某些情况下，浸入福尔马林之前需切片，以确保充分固定。新辅助治疗后，可能需要采取特殊处理手段切除样本，以便对残留肿瘤进行评估。<sup>85</sup> 肿瘤异质性通常不会成为驱动突变基因组分析的问题，但是，如小活检样本一样，应选择相对于背景间质或炎症细胞而言含有肿瘤细胞数量最多的区块做基因检测。<sup>79</sup>

## 结论

病理实验室处理样本的方式对于确定所需分子生物标志物检测的成败发挥着至关重要的作用。预分析变量与组织固定和加工相关，虽然它在决定是否使用显微镜检查上起着关键作用，但可能会损害 DNA、RNA 和抗原 / 表位的完整性。应制定标准化程序，优化诊断过程的所有步骤。重要的是第一次就做好这一点，因为样本只能固定和处理一次，而且这些样本通常非常小，含有的肿瘤细胞很少。应尽可能少地切割石蜡块；建议对空白切片进行反射切割，诊断尽量少用 IHC。显微切割可以提高 DNA 和 RNA 的提取率。细胞学类型的样本，只要经过正确处理并含有足够的肿瘤细胞，就完全适合分子生物标志物检测。虽然手术切除样本通常含有丰富的肿瘤细胞，但应预测并避免冷缺血和固定不良的问题。

## 参考文献

1. Kerr KM. Personalized medicine for lung cancer: new challenges for pathology. *Histopathology*. 2012;60(4):531-546.
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. 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.
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. Skoulidis F, Heymach JV. Co-occurring genomic alterations in non-small-cell lung cancer biology and therapy. *Nat Rev Cancer*. 2019;19(9):495-509.
6. Nicholson AG, Tsao MS, Beasley MB, et al. The 2021 WHO classification of lung tumors: impact of advances since 2015. *J Thorac Oncol*. 2022;17(3):362-387.
7. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358.
8. Hirsch FR, Wynes MW, Gandara DR, Bunn PA Jr. The tissue is the issue: personalized medicine for non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16(20):4909-4911.
9. Mata DA, Harries L, Williams EA, et al. Method of tissue acquisition affects success of comprehensive genomic profiling in lung cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2022. doi:10.5858/arpa.2021-0313-OA.



10. Penault-Llorca F, Kerr KM, Garrido P, et al. Expert opinion on NSCLC small specimen biomarker testing—part 2: analysis, reporting, and quality assessment. *Virchows Arch.* 2022;481(3):351-366.
11. Penault-Llorca F, Kerr KM, Garrido P, et al. Expert opinion on NSCLC small specimen biomarker testing—part 1: tissue collection and management. *Virchows Arch.* 2022;481(3):335-350.
12. Mino-Kenudson M, Le Stang N, Daigneault JB, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer global survey on programmed death-ligand 1 testing for NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2021;16(4):686-696.
13. Smeltzer MP, Wynes MW, Lantuejoul S, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer global survey on molecular testing in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2020;15(9):1434-1448.
14. Dietel M, Bubendorf L, Dingemans AM, et al. Diagnostic procedures for non-small-cell lung cancer (NSCLC): recommendations of the European Expert Group. *Thorax.* 2016;71(2):177-184.
15. Gan Q, Roy-Chowdhuri S. Small but powerful: the promising role of small specimens for biomarker testing. *J Am Soc Cytopathol.* 2020;9(5):450-460.
16. Harzheim D, Sterman D, Shah PL, Eberhardt R, Herth FJ. Bronchoscopic transparenchymal nodule access: feasibility and safety in an endoscopic unit. *Respiration.* 2016;91(4):302-306.
17. Rivera MP, Mehta AC, Wahidi MM. Establishing the diagnosis of lung cancer: diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2013;143(5 suppl):e142S-e65S.
18. Leong S, Ju H, Marshall H, et al. Electromagnetic navigation bronchoscopy: a descriptive analysis. *J Thorac Dis.* 2012;4(2):173-185.
19. Wang Memoli JS, Nietert PJ, Silvestri GA. Meta-analysis of guided bronchoscopy for the evaluation of the pulmonary nodule. *Chest.* 2012;142(2):385-393.
20. Steinfort DP, Vincent J, Heinze S, Antippa P, Irving LB. Comparative effectiveness of radial probe endobronchial ultrasound versus CT-guided needle biopsy for evaluation of peripheral pulmonary lesions: a randomized pragmatic trial. *Respir Med.* 2011;105(11):1704-1711.
21. Fielding DIK, Bashirzadeh F, Son JH, et al. First human use of a new robotic-assisted fiber optic sensing navigation system for small peripheral pulmonary nodules. *Respiration.* 2019;98(2):142-150.
22. Oki M, Saka H. Diagnostic value of ultrathin bronchoscopy in peripheral pulmonary lesions: a narrative review. *J Thorac Dis.* 2020;12(12):7675-7682.
23. Fielding DI, Chia C, Nguyen P, et al. Prospective randomised trial of endobronchial ultrasound-guide sheath versus computed tomography-guided percutaneous core biopsies for peripheral lung lesions. *Intern Med J.* 2012;42(8):894-900.
24. Haentschel M, Boeckeler M, Ehab A, et al. Cryobiopsy increases the EGFR detection rate in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2020;141:56-63.
25. Shinagawa N. A review of existing and new methods of bronchoscopic diagnosis of lung cancer. *Respir Investig.* 2019;57(1):3-8.
26. Botticella MA, De Summa S, Cisternino L, et al. The role of rapid on site evaluation on touch imprint cytology and brushing during conventional bronchoscopy. *Diagn Cytopathol.* 2021;49(7):832-837.
27. Um SW, Kim Y, Lee BB, et al. Genome-wide analysis of DNA methylation in bronchial washings. *Clin Epigenetics.* 2018;10:65.
28. Roncarati R, Lupini L, Miotto E, et al. Molecular testing on bronchial washings for the diagnosis and predictive assessment of lung cancer. *Mol Oncol.* 2020;14(9):2163-2175.
29. Bubendorf L, Conde E, Cappuzzo F, et al. A noninterventional, multinational study to assess PD-L1 expression in cytological and histological lung cancer specimens. *Cancer Cytopathol.* 2020;128(12):928-938.
30. Fielding D, Kurimoto N. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for diagnosis and staging of lung cancer. *Clin Chest Med.* 2018;39(1):111-123.
31. Fox AH, Jett JR, Roy UB, et al. Knowledge and practice patterns among pulmonologists for molecular biomarker testing in advanced non-small cell lung cancer. *Chest.* 2021;160(6):2293-303.
32. Stone E, Leong TL. Contemporary concise review 2021: pulmonary nodules from detection to intervention. *Respirology.* 2022;27(9):776-785.



33. Sung S, Heymann JJ, Crapanzano JP, et al. Lung cancer cytology and small biopsy specimens: diagnosis, predictive biomarker testing, acquisition, triage, and management. *J Am Soc Cytopathol.* 2020;9(5):332-345.
34. Parente P, Carbonelli C, Biancofiore G, et al. Handling and standardization of EBUS needle aspiration in NSCLC patients: the value of the cell block, a monoinstitutional experience. *Thorac Cancer.* 2022;13(17):2480-2488.
35. Jain D, Allen TC, Aisner DL, et al. Rapid on-site evaluation of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspirations for the diagnosis of lung cancer: a perspective from members of the Pulmonary Pathology Society. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(2):253-262.
36. van der Heijden EH, Casal RF, Trisolini R, et al. Guideline for the acquisition and preparation of conventional and endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration specimens for the diagnosis and molecular testing of patients with known or suspected lung cancer. *Respiration.* 2014;88(6):500-517.
37. Fassina A, Corradin M, Zardo D, et al. Role and accuracy of rapid on-site evaluation of CT-guided fine needle aspiration cytology of lung nodules. *Cytopathology.* 2011;22(5):306-312.
38. Asano F, Matsuno Y, Shinagawa N, et al. A virtual bronchoscopic navigation system for pulmonary peripheral lesions. *Chest.* 2006;130(2):559-566.
39. Asano F, Shinagawa N, Ishida T, et al. Virtual bronchoscopic navigation combined with ultrathin bronchoscopy. A randomized clinical trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188(3):327-333.
40. Ishida T, Asano F, Yamazaki K, et al. Virtual bronchoscopic navigation combined with endobronchial ultrasound to diagnose small peripheral pulmonary lesions: a randomised trial. *Thorax.* 2011;66(12):1072-7.
41. Oki M, Saka H, Ando M, et al. Ultrathin bronchoscopy with multimodal devices for peripheral pulmonary lesions. A randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;192(4):468-476.
42. Oki M, Saka H, Asano F, et al. Use of an ultrathin vs thin bronchoscope for peripheral pulmonary lesions: a randomized trial. *Chest.* 2019;156(5):954-964.
43. Rojas-Solano JR, Ugalde-Gamboa L, Machuzak M. Robotic bronchoscopy for diagnosis of suspected lung cancer: a feasibility study. *J Bronchology Interv Pulmonol.* 2018;25(3):168-175.
44. Murgu SD. Robotic assisted-bronchoscopy: technical tips and lessons learned from the initial experience with sampling peripheral lung lesions. *BMC Pulm Med.* 2019;19(1):89.
45. Southwood M, Krenz T, Cant N, et al. Systematic evaluation of PAXgene(R) tissue fixation for the histopathological and molecular study of lung cancer. *J Pathol Clin Res.* 2020;6(1):40-54.
46. Dotson T, Bellinger C, Su J, et al. Feasibility of lung cancer RNA acquisition from a single transbronchial or transthoracic needle pass (FASTT trial). *Lung Cancer.* 2019;127:6-11.
47. Fielding D, Oki M. Technologies for targeting the peripheral pulmonary nodule including robotics. *Respirology.* 2020;25(9):914-923.
48. Gilbert CR, Wahidi MM, Yarmus LB, Roy-Chowdhuri S, Pastis NJ 2nd. Key highlights for the College of American Pathology statement on collection and handling of thoracic small biopsy and cytology specimens for ancillary studies. *Chest.* 2020;158(6):2282-2284.
49. Roy-Chowdhuri S, Dacic S, Ghofrani M, et al. Collection and handling of thoracic small biopsy and cytology specimens for ancillary studies: guideline from the College of American Pathologists in Collaboration with the American College of Chest Physicians, Association for Molecular Pathology, American Society of Cytopathology, American Thoracic Society, Pulmonary Pathology Society, Papanicolaou Society of Cytopathology, Society of Interventional Radiology, and Society of Thoracic Radiology. *Arch Pathol Lab Med.* 2020. doi:10.5858/arpa.2020-0119-CP.
50. Hirsch FR, Kerr KM, Bunn PA Jr, et al. Molecular and immune biomarker testing in squamous-cell lung cancer: effect of current and future therapies and technologies. *Clin Lung Cancer.* 2018;19(4):331-339.
51. Zhang HF, Zeng XT, Xing F, Fan N, Liao MY. The diagnostic accuracy of CT-guided percutaneous core needle biopsy and fine needle aspiration in pulmonary lesions: a meta-analysis. *Clin Radiol.* 2016;71(1):e1-10.
52. Takeshita J, Masago K, Kato R, et al. CT-guided fine-needle aspiration and core needle biopsies of pulmonary lesions: a single-center experience with 750 biopsies in Japan. *AJR Am J Roentgenol.* 2015;204(1):29-34.
53. Lee C, Guichet PL, Abtin F. Percutaneous lung biopsy in the molecular profiling era: a survey of current practices. *J Thorac Imaging.* 2017;32(1):63-67.

54. Diacon AH, Schuurmans MM, Theron J, et al. Safety and yield of ultrasound-assisted transthoracic biopsy performed by pulmonologists. *Respiration*. 2004;71(5):519-522.
55. Koh DM, Burke S, Davies N, Padley SP. Transthoracic US of the chest: clinical uses and applications. *Radiographics*. 2002;22(1):e1.
56. Gill RR, Barlow J, Jaklitsch MT, et al. Image-guided video-assisted thoracoscopic resection (iVATS): translation to clinical practice-real-world experience. *J Surg Oncol*. 2020;121(8):1225-1232.
57. Kang DY, Kim HK, Kim YK, et al. Needlescopy-assisted resection of pulmonary nodule after dual localisation. *Eur Respir J*. 2011;37(1):13-17.
58. Gill RR, Murphy DJ, Kravets S, et al. Success of genomic profiling of non-small cell lung cancer biopsies obtained by trans-thoracic percutaneous needle biopsy. *J Surg Oncol*. 2018;118(7):1170-1177.
59. Cardarella S, Johnson BE. The impact of genomic changes on treatment of lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(7):770-775.
60. Kim L, Tsao MS. Tumour tissue sampling for lung cancer management in the era of personalised therapy: what is good enough for molecular testing? *Eur Respir J*. 2014;44(4):1011-1122.
61. Lizotte PH, Jones RE, Keogh L, et al. Fine needle aspirate flow cytometric phenotyping characterizes immunosuppressive nature of the mesothelioma microenvironment. *Sci Rep*. 2016;6:31745.
62. Loh SE, Wu DD, Venkatesh SK, et al. CT-guided thoracic biopsy: evaluating diagnostic yield and complications. *Ann Acad Med Singap*. 2013;42(6):285-290.
63. Schneider F, Smith MA, Lane MC, et al. Adequacy of core needle biopsy specimens and fine-needle aspirates for molecular testing of lung adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol*. 2015;143(2):193-200; quiz 306.
64. Tian P, Wang Y, Li L, et al. CT-guided transthoracic core needle biopsy for small pulmonary lesions: diagnostic performance and adequacy for molecular testing. *J Thorac Dis*. 2017;9(2):333-343.
65. Heerink WJ, de Bock GH, de Jonge GJ, et al. Complication rates of CT-guided transthoracic lung biopsy: meta-analysis. *Eur Radiol*. 2017;27(1):138-148.
66. Nour-Eldin NE, Alsubhi M, Emam A, et al. Pneumothorax complicating coaxial and non-coaxial CT-guided lung biopsy: comparative analysis of determining risk factors and management of pneumothorax in a retrospective review of 650 patients. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2016;39(2):261-270.
67. Tai R, Dunne RM, Trotman-Dickenson B, et al. Frequency and severity of pulmonary hemorrhage in patients undergoing percutaneous CT-guided transthoracic lung biopsy: single-institution experience of 1175 cases. *Radiology*. 2016;279(1):287-296.
68. Freund MC, Petersen J, Goder KC, et al. Systemic air embolism during percutaneous core needle biopsy of the lung: frequency and risk factors. *BMC Pulm Med*. 2012;12:2.
69. Silvestri GA, Gonzalez AV, Jantz MA, et al. Methods for staging non-small cell lung cancer: diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013;143(5 suppl):e211S-e250S.
70. Ginsberg RJ, Rice TW, Goldberg M, Waters PF, Schmock BJ. Extended cervical mediastinoscopy. A single staging procedure for bronchogenic carcinoma of the left upper lobe. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1987;94(5):673-678.
71. Hooper C, Lee YC, Maskell N, Group BTS Pleural Guideline Group. Investigation of a unilateral pleural effusion in adults: British Thoracic Society Pleural Disease Guideline 2010. *Thorax*. 2010;65(suppl 2):ii4-ii17.
72. Ferrer J, Roldan J, Teixidor J, et al. Predictors of pleural malignancy in patients with pleural effusion undergoing thoracoscopy. *Chest*. 2005;127(3):1017-1022.
73. Menzies R, Charbonneau M. Thoracoscopy for the diagnosis of pleural disease. *Ann Intern Med*. 1991;114(4):271-276.
74. Hachey KJ, Digesu CS, Armstrong KW, et al. A novel technique for tumor localization and targeted lymphatic mapping in early-stage lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017;154(3):1110-1118.
75. Predina JD, Okusanya O, Newton AD, Low P, Singhal S. Standardization and optimization of intraoperative molecular imaging for identifying primary pulmonary adenocarcinomas. *Mol Imaging Biol*. 2018;20(1):131-138.
76. Zhao ZR, Lau RWH, Ng CSH. Hybrid theater and uniportal video-assisted thoracic surgery: the perfect match for lung nodule localization. *Thorac Surg Clin*. 2017;27(4):347-355.

77. Compton CC, Robb JA, Anderson MW, et al. Preanalytics and precision pathology: pathology practices to ensure molecular integrity of cancer patient biospecimens for precision medicine. *Arch Pathol Lab Med.* 2019;143(11):1346-1363.
78. Bubendorf L, Lantuejoul S, de Langen AJ, Thunnissen E. Nonsmall cell lung carcinoma: diagnostic difficulties in small biopsies and cytological specimens: number 2 in the series "Pathology for the clinician," ed. Peter Dorfmueller and Alberto Cavazza. *Eur Respir Rev.* 2017;26(144):170007.
79. Aggarwal C, Bubendorf L, Cooper WA, et al. Molecular testing in stage I-III non-small cell lung cancer: approaches and challenges. *Lung Cancer.* 2021;162:42-53.
80. Baum JE, Zhang P, Hoda RS, et al. Accuracy of next-generation sequencing for the identification of clinically relevant variants in cytology smears in lung adenocarcinoma. *Cancer Cytopathol.* 2017;125(6):398-406.
81. Mohan AA, Vallontheiel AG, Nambiar A, et al. EGFR analysis on scrapings from cytology smears in lung carcinoma, an effective alternative to testing on trucut biopsies. *Diagn Cytopathol.* 2021;49(10):1155-1163.
82. Dalvi SD, Chau K, Sajjan S, et al. Adequacy of pleural fluid cytology for comprehensive molecular analysis of lung adenocarcinoma: experience of a large health-care system. *Cytojournal.* 2022;19:7.
83. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(3):321-346.
84. Vanderlaan PA, Yamaguchi N, Folch E, et al. Success and failure rates of tumor genotyping techniques in routine pathological samples with non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2014;84(1):39-44.
85. Travis WD, Dacic S, Wistuba I, et al. IASLC multidisciplinary recommendations for pathologic assessment of lung cancer resection specimens after neoadjuvant therapy. *J Thorac Oncol.* 2020;15(5):709-740.

# 液体活检：样本采集、检测策略与临床作用

# 4

## 样本制备、处理与检测策略

**Fernando Lopez-Rios、Maria E. Arcila 和 Christian Rolfo**

从广义上讲，液体活检有多种组成部分（循环肿瘤细胞、细胞外囊泡、无细胞核酸、各种代谢物等）。然而，循环肿瘤 DNA (ctDNA) 在临床领域最受关注，也是本章的重点。与其他来源的肿瘤 DNA 相比，ctDNA 的生物特征和技术方面独特且更加复杂，其中有些混杂因素，使其无法在常规临床诊断中广泛实施。

细胞游离 DNA (cfDNA) 是体内和体外细胞释放的 DNA 短片段的总和，来源包括肿瘤细胞和正常细胞。有证据表明，在样本采集、处理和保存过程中，预分析变量可能会对 cfDNA 的总量、基因组 DNA 的污染程度、样本的整体完整性、核酸片段长度产生极大的不利影响。采样管的类型、使用的抗凝剂、稳定介质、运输条件、血浆与血液分离的时间、试管搅拌、离心速度和方案、血浆保存 / 持续时间条件、冻融循环次数、cfDNA 提取、核酸量化方法都会直接影响后续下游分析。<sup>1-7</sup> 影响结果的主要预分析步骤重点见图 4-1。

在血液样本中，分析前需要立即考虑的重点是 ctDNA 的稳定性，并防止来自造血细胞基因组 DNA 的污染，这可能导致无法检测 ctDNA。ctDNA 在体内的半衰期通常约为 2 小时左右。在缺乏主动生理消除系统的情况下，体外半衰期较长，但它的分离可能会受到凝血过程中白细胞 (WBC) 释放的基因组 DNA 污染或储存过程中细胞裂解的影响。市面上有多种稳定的采样管供选择，例如 Streck、PAXgene (BD 生物科学 [BD Biosciences])、Norgen Biotek、罗氏诊断 (Roche Diagnostics)，它们保存和稳定 WBC 的能力各不相同。与乙二胺四乙酸 (EDTA) 采样管相比，这些采样管在抽血和血浆分离之间可满足更多处理要求，还可分批处理不同时间采集的样本。<sup>1-7</sup>



图 4-1. 影响 cfDNA 的分析前因素。缩略词: cfDNA = 细胞游离 DNA ; EDTA = 乙二胺四乙酸。

通常遵循两步离心方案, 第一步为低速离心, 用于分离血浆, 第二步为高速循环, 用于清除剩余的任何细胞物质。<sup>8</sup>

ctDNA 分离的提取方法不同, 所需血浆量也各不相同。<sup>9</sup> 常见的分离方法和市售试剂盒分为两大类: 硅胶膜离心柱法和磁珠分离法。<sup>10</sup> 提取率、完整性和片段大小都受方法影响。据报告, 与硅胶膜离心柱相比, 磁珠系统优先分离较短的 cfDNA 片段<sup>11</sup>。在多项研究中, 基于沉淀的方法提取后的 DNA 完整性更高。<sup>12-14</sup> cfDNA 可能会置于 -20°C 或 -80°C 的环境中保存几个月以备后用。据报告, 3 次冻融循环后, cfDNA 的完整性显著下降。<sup>1,15</sup>

多种 cfDNA 分析方法已在临床实践和研究中得到应用, 包括基于聚合酶链反应 (PCR) 的检测和基于下一代测序 (NGS) 的技术。<sup>16</sup> 基于 PCR 的方法本质上适用于更多的限制性基因分析 (单个靶或多个靶), 但可对靶基因有更高的敏感性。NGS 方法可实现更全面的肿瘤基因分型, 可以识别体细胞突变和拷贝数改变, 确定基因重排。<sup>17</sup> 对指导适当患者管理的生物标志物的需求不断增长, 以及组织可用性有限的挑战, 已导致液体活检在晚期非小细胞肺癌 (NSCLC) 中的潜在应用发生了巨大变化, 如下文“临床应用”部分所述。得益于过去几年技术的重大进步, 这种巨大转变已成为可能, 现在已有多个血浆 NGS 平台投入临床实践, 其实用性得到了可靠的临床数据支持。<sup>18-20</sup> 目前, 两种市面上的 cfDNA 检测已获得美国食品药品监督管理局 (FDA) 的批准, 可用于晚期 NSCLC 的肿瘤基因分型, 最近批准的几种靶向治疗方法具有基于液体活检的配套诊断测试。

在临床实践中解释 cfDNA 结果时, 特别是针对 70 岁以上的患者, 需要考虑潜在未定克隆性造血 (CHIP)。CHIP 指造血干细胞随着年龄的增长而获得的体细胞变



异。例如,经常涉及的基因包括 *ASXL1*、*ATM*、*CBL*、*CHEK2*、*DNMT3A*、*JAK2*、*KMT2D (MLL2)*、*KRAS*、*BRAF*、*NRAS*、*MPL*、*MYD88*、*SF3B1*、*TET2*、*TP53* 和 *U2AF1*。这种干扰源可以通过对患者匹配的外周血单核细胞进行测序来过滤掉,或者通过使用专用的生物信息学算法减轻。<sup>21</sup>

以下“临床应用”部分详细回顾了初治晚期 NSCLC 患者的液体活检检测策略。尽管基于组织的检测仍然是许多癌症患者肿瘤基因分型的黄金标准,但由于 ctDNA 分析的技术和生物特征局限性,如果肿瘤组织不足以进行检测,则可以依次使用 cfDNA 分析,如果肿瘤组织不足以或不肯定是否足以进行基因分型,则可以同时使用 cfDNA 分析。<sup>16,22,23</sup>

此外,前瞻性<sup>24-27</sup>和回顾性<sup>28-30</sup>研究取得了丰硕成果,研究表明,与标准护理组织基因分型相比,血浆 NGS 提供的肿瘤基因分型可能更完整,周转时间更短,对临床相关驱动致癌基因具有相当的敏感性和特异性。根据这些研究成果,最近提出了晚期 NSCLC 的血浆优先方法。这种方法的主要预期局限性是,与单独组织基因分型相比,假设成本增加,尽管最近在加拿大人群中进行的成本效益分析<sup>31</sup>表明,对临床选择的晚期 NSCLC 患者同时进行组织和血浆 NGS 分析,并不会增加系统成本,但会提高患者接受适当靶向治疗的比例。

血浆 NGS 会提高组织结果有限的患者中临床相关生物标志物的检出率,但如果是组织 NGS 结果可用的患者,则不会提高他们临床相关生物标志物的检出率。<sup>27</sup>因此,在不确定用于 NGS 分析的小组织活检是否充分的情况下,可能需要同时采取血浆和组织检测策略,这样会提高获取所有推荐致癌驱动因素全面肿瘤基因型的可能性。此外,近期研究表明,将 cfDNA 分析纳入疑似晚期 NSCLC 患者的初始诊断检查,可以更快取得分子结果,并缩短治疗时间。<sup>32,33</sup>这需要对更多患者群体进行进一步前瞻性研究,以更好地阐明这种方法的临床效用和成本效益。

## 临床应用

### Natasha B. Leighl、Myung-Ju Ahn 和 David R. Gandara

液体活检在 NSCLC 诊断和治疗决策制定中的临床应用得到了持续快速发展。图 4-2 展示了 NSCLC 的护理过程,从筛查和早期诊断到确定早期疾病术后微小残留病变(MRD),再到晚期疾病的基因组和免疫诊断。<sup>16,34</sup>值得注意的是,虽然肿瘤组织分析适用于 IV 期 NSCLC 患者,但液体活检特别适合用于筛查危险个体、确定 MRD 以及治疗反应监测。<sup>22</sup>

### 肺癌筛查和早期检测

早期检测肺癌对于降低发病率和死亡率至关重要,对高危人群而言尤其如此。美国国家肺部筛查试验(NLST)表明,低剂量计算机断层扫描(LDCT)可将高危人群的肺癌特异性死亡率降低 20%。<sup>35</sup>欧洲 NELSON 试验显示,10 年后肺癌死亡率降低了 25%。<sup>36</sup>然而,假阳性率、过度诊断和不必要的侵入性手术仍然是挑战。<sup>37</sup>

液体活检利用循环肿瘤细胞、循环 cfDNA（基因组学或表观基因组学）、循环 micro-RNA、肿瘤源性外泌体、肿瘤诱导的血小板，在肺癌筛查和早期检测中发挥着新的作用（图 4-3）。<sup>38</sup> 表 4-1 总结了这些分析物的优点和局限。<sup>38</sup> 尽管这些生物标志物在肺癌的早期检测方面表现良好，但由于假阴性结果比例很高且未标准化，其临床意义仍然有限。最近，多种血浆 cfDNA 基因分型检测方法获得了 FDA 突破性设备标识（表 4-2）。<sup>39</sup> 在临床实践中实施肺癌筛查或早期诊断之前，需要开发更敏感、更具特异性的检测方法，还要将液体活检与成像相结合，开展更大规模、更稳健的研究。

### NSCLC 微小残留病变

对于肿瘤治疗，尤其是 NSCLC 治疗，最重要的一个问题是更加有效地识别手术切除等明确局部治疗后具有复发高风险的患者。<sup>40</sup> 目前，辅助治疗主要根据疾病分期进行，但这个临床变量并不能准确识别已通过手术得到治愈的患者和需要额外治疗的患者。通过血浆液体活检进行 MRD 确定，如果该方法足够敏感，且具有足够的特异性，则有可能帮助更好地选择需要强化治疗的患者，或者相反，可以筛掉辅助治疗的患者。

目前，治疗 NSCLC 的多种 MRD 检测方法正被评估，其中有些方法仅基于 ctDNA，其他则与表观遗传成分、“已知组织”或“未知组织”相结合。<sup>41,42</sup> 每一种方法都有潜在的优点和缺点（表 4-3）。最近完成的研究表明，无论采用何种方法，在广泛投入临床应用之前，都需要进一步完善 MRD 检测。例如，在辅助阿替利

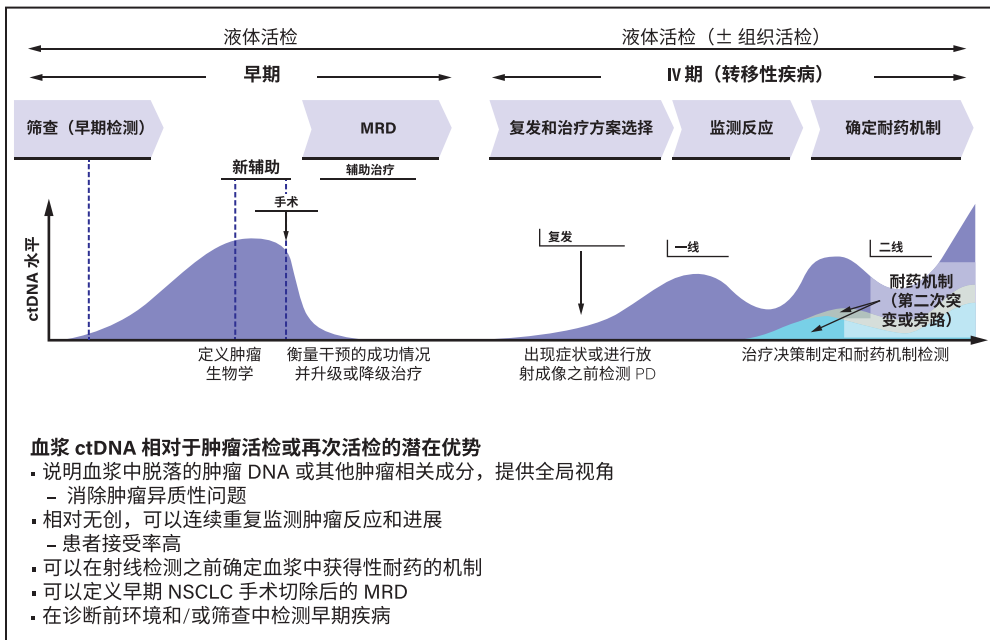
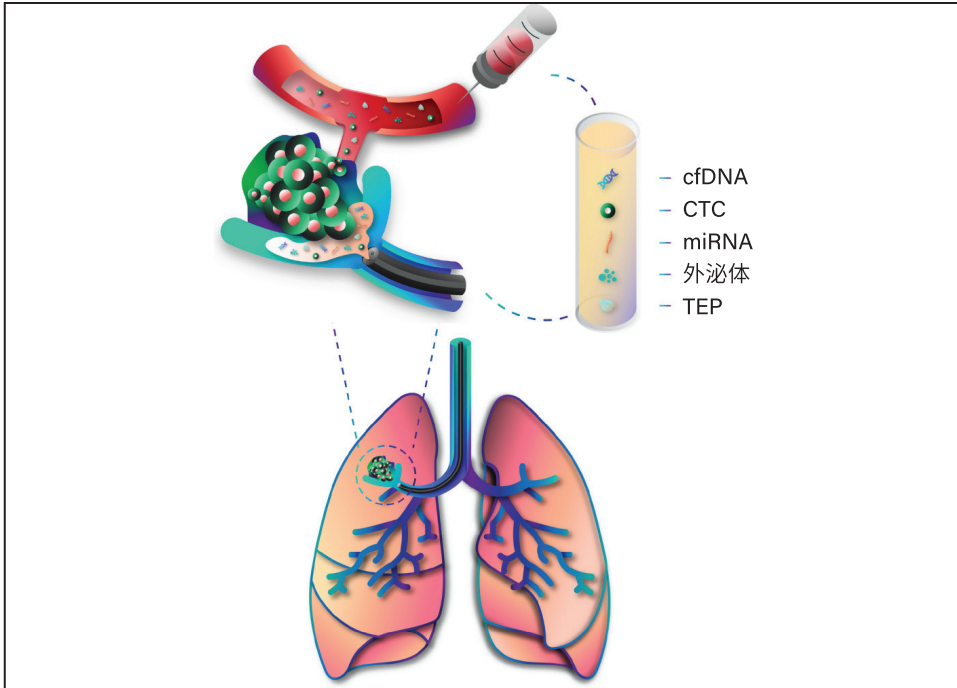


图 4-2. 个体患者整个癌症护理过程进行的液体活检。缩略词: ctDNA = 循环肿瘤 DNA; MRD = 微小残留病变; NSCLC = 非小细胞肺癌; PD = 疾病进展。(改编自 Wan 等<sup>34</sup>)



**图 4-3.** 液体活检组成部分。缩略词：cfDNA = 细胞游离 DNA；CTC = 循环肿瘤细胞；miRNA = micro-RNA；TEP = 肿瘤诱导血小板。（来源：Freitas 等<sup>38</sup>）

单抗的 IMpower-010 试验中，对 MRD 进行的初步回顾性分析结果表明，手术后约 8 周对单个血浆样本进行已知组织检测，不足以改变辅助治疗的全面方法。尽管 MRD 阳性和 MRD 阴性人群的检测结果明显不同，但两组人群均表现出持续复发模式。<sup>43,44</sup> 多项前瞻性试验正在进行，结果备受期待。

### 晚期 NSCLC 的一线治疗选择

为晚期 NSCLC 患者以及越来越多的早期 NSCLC 患者选择最佳治疗方案，需要开展组织病理学和基因组评估。有指南建议对非鳞状 NSCLC 样本进行常规基因组改变和 PD-L1 检测。<sup>45</sup> 在某些情况下，检测也可能有益于其他病理亚型的患者（例如年轻患者、从不吸烟者或轻度吸烟者）。具有靶向肿瘤改变的患者（例如，在 *EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*、*MET*、*RET*、*NTRK1-3* 中）接受晚期疾病一线靶向治疗后，可以获得更好的治疗结果。其他人可能会接受二线靶向药物或新兴疗法（例如，*KRAS* G12C、*EGFR* 外显子 20、*ERBB2*、*NRG1* 改变）。然而，对于晚期肺癌患者而言，可能很难取得足够的组织进行基因组评估。

通常会使用小活检或细胞学样本来诊断患者，这类样本可能不足以进行生物标志物分析。有些情况下，患者无法等待重复活检或延迟得出基因组结果。<sup>46</sup> 建议使用血浆 cfDNA 检测，确保对组织不足或没有组织供基因分型的患者进行完整的基因分型。即使在可以进行组织检测的情况下，这种方法也可作为补充检测策略使用，发挥的作用也越来越大（图 4-4），<sup>16</sup> 使更多患者能够接受靶向治疗。液体



**表 4-1.** 根据液体活检的生物标志物诊断肺癌的优缺点总结

生物标记	优点	缺点
cfDNA	<ul style="list-style-type: none"> <li>在癌症患者体内增多</li> <li>遗传和表观遗传改变反映了原发肿瘤改变</li> <li>肿瘤异质性和动态表示</li> <li>高敏感性检测 (PCR、NGS)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>与胚系循环 DNA 相比明显稀释</li> <li>与肿瘤大小和分期呈正相关</li> <li>在某些良性肿瘤或癌前病变中增加</li> <li>成本高</li> </ul>
CTC	<ul style="list-style-type: none"> <li>可进行形态学分析和肿瘤分子特征描述</li> <li>与预后相关</li> <li>新富集和特征描述技术</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>没有经过验证的检测</li> <li>非小细胞肺癌血流很少</li> <li>上皮向间质转变, 上皮特异性标志物丢失</li> <li>在癌症扩散中的作用仍有待明确</li> </ul>
miRNA	<ul style="list-style-type: none"> <li>早期癌症患者的不同特征</li> <li>在多数体液类型中稳定</li> <li>由多种结构释放 (例如外泌体、TEP)</li> <li>商用试剂盒已上市</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>变异性高, 取决于患者和技术, 需要标准化方法</li> <li>定量和检测方法有待验证</li> <li>对于癌症类型不具特异性</li> </ul>
外泌体	<ul style="list-style-type: none"> <li>含有多种类型的生物标志物, 例如蛋白质和核酸</li> <li>在肺癌患者体内增多</li> <li>在多数体液类型中稳定且可获取</li> <li>商用试剂盒已上市</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>提取方法、检测、特征描述方法具有挑战性, 需要标准化</li> <li>成本高</li> </ul>
TEP	<ul style="list-style-type: none"> <li>癌症患者的血小板 mRNA 图谱不同</li> <li>丰富</li> <li>易于分离</li> <li>从肿瘤细胞中获取反映其基因改变的特定 RNA</li> <li>因寿命短而形成动态 mRNA 库</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>没有经过验证的检测方法, 也非标准化方法</li> <li>可重复性</li> <li>检测技术尚未广泛应用</li> <li>耗时且需要大量计算资源</li> </ul>

缩略词: cfDNA = 细胞游离 DNA; CTC = 循环肿瘤细胞; mRNA = 信使 RNA; miRNA = micro-RNA; NGS = 下一代测序; PCR = 聚合酶链反应; TEP = 肿瘤诱导血小板。

来源: Freitas 等<sup>38</sup>

活检结果与组织高度一致, 得到的治疗结果一致, 周转时间更短, 甚至会节省成本。<sup>24,25,28,30,31</sup> 在诊断途径中尽早做液体活检已被证明可为晚期疾病患者加速启动一线治疗, 这会进一步改善患者的治疗结果。<sup>29,47,48</sup>

### 晚期 NSCLC 的获得性耐药基因组特征

对于具有致癌驱动因素的 NSCLC 患者而言, 分子靶向药物可显著改善他们的临床治疗结果; 不过, 对这些药物的获得性耐药性仍然是一个尚未解决的根本难题。为了确定耐药机制, 开展全面的分子检测具有重要意义, 这有助于指导后续治疗。尽管组织基因分型被认为是分子分析的黄金标准,<sup>45</sup> 但如果疾病复发, 并不是所有情况都适合重复活检。<sup>28</sup> 与组织基因分型相比, 液体活检在无创性、周转时间短、能够发现不同疾病部位产生的异质性变异方面具有明显优势。然而, 液体活检也有局限性, 比如, 如果血液中检测不到 ctDNA, 则存在假阴性结果的风险, 这种方法也无法捕获组织学信息, 例如疾病转化为小细胞肺癌。目前 FDA 批准了多种检测方法, 用于 NSCLC 血浆 cfDNA 基因分型, 包括基于 PCR 的 Cobas EGFR 突变检

**表 4-2.** NSCLC 血浆 cfDNA 基因分型检测作为多癌早期检测测试, 获得突破性设备标识

试剂盒或检测	公司	技术和应用	FDA 状态
多癌早期检测测试	GRAIL	NGS 血液测试分析 ctDNA 甲基化模式, 检测多种癌症类型	FDA 突破性设备标识 (2019 年 5 月)
CancerSEEK	Thrive Earlier Detection	多分析物检测将 1933 个位点 ctDNA 突变多重 PCR 检测与经过验证的蛋白质生物标志物测量相结合, 诊断 8 种常见癌症类型, 包括乳腺癌、卵巢癌、肝癌	FDA 突破性设备标识 (2018 年 8 月)
Ivy-Gene CORE 测试; Ivy-Gene Dx 肝脏测试	莱盟集团 (Laboratory for Advanced Medicine)	分析多个基因靶点的高甲基化 ctDNA, 确认其在 I 期乳腺癌、结肠癌、肝癌和肺癌就已存在	FDA 突破性设备标识 (2019 年 9 月)
CASCADE- 肺癌筛查试验	Delfi Diagnostics	机器学习驱动方法, 分析 cfDNA 断裂模式, 检测是否引发癌症	FDA 突破性设备标识 (2021 年 3 月)

缩略词: cfDNA = 细胞游离 DNA; ctDNA = 循环肿瘤 DNA; FDA = 美国食品药品监督管理局; NGS = 下一代测序; PCR = 聚合酶链反应。

**表 4-3.** 液体活检方法可消除微小残留病变

参数	首次检测组织	已知组织
肿瘤组织样本充足	不需要	实际限制
敏感性	MRD 特异性检测得到改善	低 LOD
特异性	CHIP 需要用过滤算法; 基线 ctDNA 有所改善	特异性肿瘤
新变异	检测	无法评估
耐药变异	检测	无法评估
周转时间	非常短	较长

缩略词: CHIP = 潜能未定克隆性造血; ctDNA = 循环肿瘤 DNA; LOD = 检测限; MRD = 微小残留病变。

来源: Gray 等<sup>39)</sup>

测 (罗氏诊断 [Roche Diagnostics])、基于 NGS 的 Guardant 360 伴随式诊断 (CDx)、FoundationOne 液体 CDx (Foundation Medicine)。

EGFR T790M 突变是第一代或第二代 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 最常见的耐药机制, T790M 检测对于在后续治疗中开始使用奥西替尼至关重要。在一线治疗中使用第一代或第二代 EGFR TKI 的实践中, 在疾病进展期, 可用液体活检代替组织活检, 检测 T790M 驱动的耐药性; 然而, 如果血浆检测呈阴性, 则建议进行组织活检。<sup>49</sup> 根据 FLAURA 试验结果, 推荐在一线治疗中首选奥西替尼; <sup>50</sup> 一线治疗后, 通过液体活检对进展期检测到的奥西替尼异质耐药机制进行特征描述 (图 4-5)。<sup>51,52</sup> 尽管在治疗后针对其他致癌驱动因素, 检测靶向药物的耐药机制不是强制性的, 但利用 cfDNA 综合检测, 可指导后续治疗, 并可能在未来发挥更大的治疗作用。图 4-6 是对 TKI 治疗期间疾病发生进展的患者使用液体活检的流程图, 由国际肺癌研究协会推荐使用。<sup>53</sup>

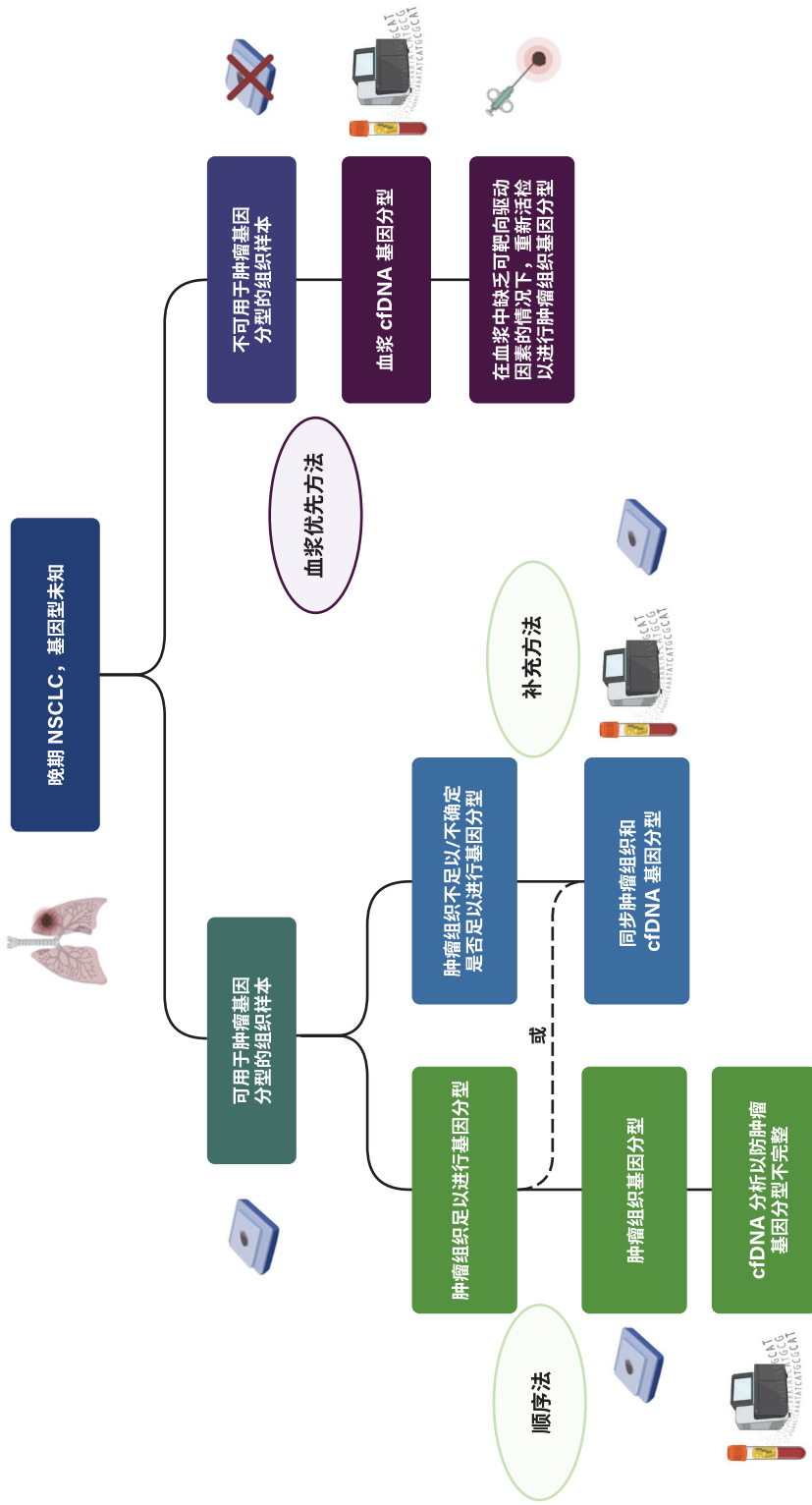


图 4-4. 用于治疗初治晚期非小细胞肺癌 (NSCLC) 的液体活检的诊断算法 (改编自 Rolfo 等<sup>16</sup>, 由意大利墨西拿 Papardo 医院的 Alessandro Russo 提供。)

### 肺癌治疗监测

血浆 ctDNA 水平已成为预后和治疗反应的潜在替代指标。多项研究证实, 开始治疗前, 晚期肺癌患者血浆 ctDNA 缺失是一个良好的预后因素, 不管治疗结果如何, 都可改善预后结果。<sup>54</sup> 血浆 ctDNA 的清除或减少与对 TKI、免疫疗法、化疗的反应有关。<sup>54-59</sup> 在局部晚期疾病中, 如果患者放化疗后体内持续存在 ctDNA, 则该患者复发风险较高, 反之则可能需要接受更强化巩固治疗。<sup>60</sup> 在接受长期检查点抑制剂 (CPI) 治疗的患者中, 如果在患者体内检测到血浆 ctDNA, 则该患者有复发风险, 而如果在患者体内未检测到血浆 ctDNA, 则该患者可停止 CPI 治疗, 并处于无进展生存期。<sup>61</sup> 然而, 液体活检监测是否有助于制定治疗决策 (例如强化或安全降级治疗), 这种临床效用仍有待证实。连续检测出现假阳性或假阴性结果的风险, 仍然是一个重要的技术限制因素。多项研究正在探索 ctDNA 水平监测、EGFR 激酶抑制剂治疗 (NCT02856893, NCT04410796)、免疫疗法和化疗 (NCT04093167、NCT04966676 ; 图 4-7)。目前, 使用液体活检监测指导治疗决策尚未用于常规实践, 尽管如此, 液体活检依然是一个重要的潜在替代方法, 相关研究正在积极开展。

### 检查点免疫疗法预测生物标志物

大量用于 CPI 的生物标志物正在开发, 与离散的生物标志物 (例如, 突变型与野生型基因状态) 对比, 反映了肿瘤 - 间质微环境相互作用的复杂性以及多数这些检测 (例如 PD-L1 和肿瘤突变负荷 [TMB]) 输出的连续性。<sup>16</sup> 其中, 目前与液体活检最为相关的是 TMB。虽然组织评估 TMB 是 FDA 在美国批准的一种泛肿瘤生物标志物, 但它的检测方法、切点定义和其他参数得出的混合结果及变化阻碍了临床应用。回顾性和前瞻性研究对基于血液的检测 (B-TMB) 进行了分析、临床验证和评估。<sup>62,63</sup> 最近报告了 BFAST 3 期队列, 其中随机分配初治晚期 NSCLC 患者和高 B-TMB ( $\geq 16$  mt/Mb) 患者接受阿替利珠单抗或铂类化疗。<sup>64</sup> 虽然无进展生存期的主要终点

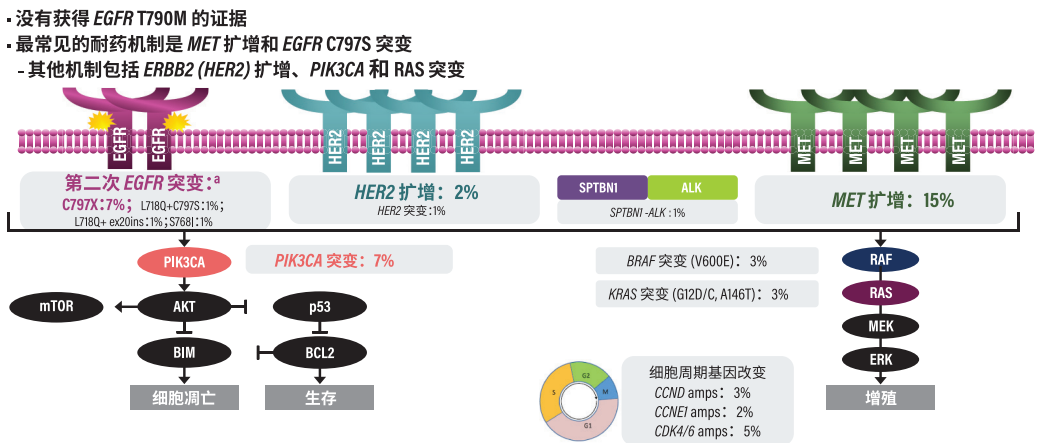
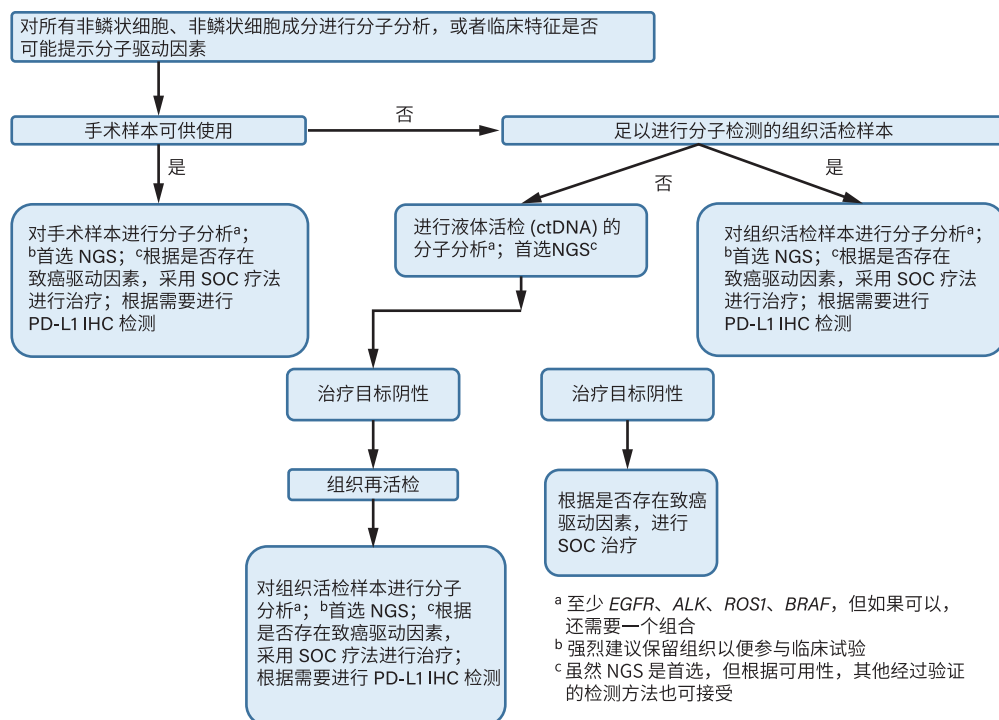


图 4-5. FLAURA 研究中奥西替尼候选人获得性耐药机制 (n = 91)。报告的耐药机制可能与其他机制重叠。(来源: Ramalingam 等<sup>52</sup>。版权所有 © 2018, Elsevier。)



**图 4-6.** TKI 治疗期间患有进展性或复发性 NSCLC 的患者。缩略词：ctDNA = 循环肿瘤 DNA；IHC = 免疫组织化学；NGS = 下一代测序；NSCLC = 非小细胞肺癌；SOC = 护理标准；TKI = 酪氨酸激酶抑制剂。（来源：Rolfo 等<sup>53</sup>）

倾向于阿替利珠单抗，（危险比 [HR]：0.77；0.59-1.00， $p = 0.054$ ），但其中的差异不具统计学意义。值得注意的是，结果对具有鳞状组织学特征的患者有利，但对具有非鳞状组织学特征的患者没有任何好处。因此，目前在常规实践中，B-TMB 并不适用于晚期肺癌患者。虽然正在开发多种其他基于血浆的检测方法，包括利用信使 RNA 或细胞外囊泡测量 PD-L1，但目前这些方法仍处于研究阶段。<sup>65,66</sup>

## 参考文献

- Chan KC, Yeung SW, Lui WB, Rainer TH, Lo YM. Effects of preanalytical factors on the molecular size of cell-free DNA in blood. *Clin Chem*. 2005;51(4):781-784.
- Henao Diaz E, Yachnin J, Grönberg H, Lindberg J. The in vitro stability of circulating tumour DNA. *PLoS One*. 2016;11(12):e0168153.
- Medina Diaz I, Nocon A, Mehnert DH, et al. Performance of Streck cfDNA blood collection tubes for liquid biopsy testing. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166354.
- Norton SE, Luna KK, Lechner JM, Qin J, Fernando MR. A new blood collection device minimizes cellular DNA release during sample storage and shipping when compared to a standard device. *J Clin Lab Anal*. 2013;27(4):305-311.
- Parpart-Li S, Bartlett B, Popoli M, et al. The effect of preservative and temperature on the analysis of circulating tumor DNA. *Clin Cancer Res*. 2017;23(10):2471-2477.
- Toro PV, Erlanger B, Beaver JA, et al. Comparison of cell stabilizing blood collection tubes for circulating plasma tumor DNA. *Clin Biochem*. 2015;48(15):993-998.
- Wong D, Moturi S, Angkachatchai V, et al. Optimizing blood collection, transport and storage conditions for cell free DNA increases access to prenatal testing. *Clin Biochem*. 2013;46(12):1099-1104.

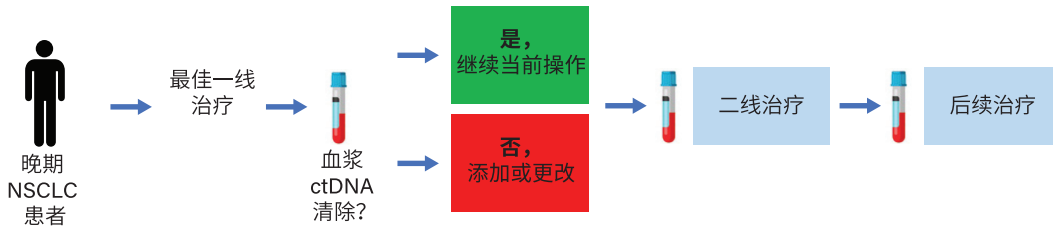


图 4-7. 未来将液体活检监测纳入治疗决策制定。缩略词: ctDNA = 循环肿瘤 DNA; NSCLC = 非小细胞肺癌。

- El Messaoudi S, Rolet F, Mouliere F, Thierry AR. Circulating cell free DNA: preanalytical considerations. *Clin Chim Acta*. 2013;424:222-230.
- Haselmann V, Ahmad-Nejad P, Geilenkeuser WJ, et al. Results of the first external quality assessment scheme (EQA) for isolation and analysis of circulating tumour DNA (ctDNA). *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(2):220-228.
- Lu JL, Liang ZY. Circulating free DNA in the era of precision oncology: pre- and post-analytical concerns. *Chronic Dis Transl Med*. 2016;2(4):223-230.
- Kloten V, Rùchel N, Brùchle NO, et al. Liquid biopsy in colon cancer: comparison of different circulating DNA extraction systems following absolute quantification of *KRAS* mutations using Intplex allele-specific PCR. *Oncotarget*. 2017;8(49):86253-86263.
- Fleischhacker M, Schmidt B, Weickmann S, et al. Methods for isolation of cell-free plasma DNA strongly affect DNA yield. *Clin Chim Acta*. 2011;412(23-24):2085-2088.
- Malentacchi F, Pizzamiglio S, Verderio P, et al. Influence of storage conditions and extraction methods on the quantity and quality of circulating cell-free DNA (ccfDNA): the SPIDIA-DNApl External Quality Assessment experience. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(12):1935-1942.
- Yuan H, Zhu ZZ, Lu Y, et al. A modified extraction method of circulating free DNA for epidermal growth factor receptor mutation analysis. *Yonsei Med J*. 2012;53(1):132-137.
- Lee TH, Montalvo L, Chrebtow V, Busch MP. Quantitation of genomic DNA in plasma and serum samples: higher concentrations of genomic DNA found in serum than in plasma. *Transfusion*. 2001;41(2):276-282.
- Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, et al. Liquid biopsy for advanced NSCLC: a consensus statement from the International Association for the Study of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2021;16(10):1647-1662.
- Russo A, De Miguel Perez D, Gunasekaran M, et al. Liquid biopsy tracking of lung tumor evolutions over time. *Expert Rev Mol Diagn*. 2019;19(12):1099-1108.
- Odegaard JI, Vincent JJ, Mortimer S, et al. Validation of a plasma-based comprehensive cancer genotyping assay utilizing orthogonal tissue- and plasma-based methodologies. *Clin Cancer Res*. 2018;24(15):3539-3549.
- Pritchett MA, Camidge DR, Patel M, et al. Prospective clinical validation of the InVisionFirst-Lung Circulating Tumor DNA assay for molecular profiling of patients with advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol*. 2019;3:PO.18.00299. doi:10.1200/PO.18.00299.
- Schrock AB, Welsh A, Chung JH, et al. Hybrid capture-based genomic profiling of circulating tumor DNA from patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(2):255-264.
- Krebs MG, Malapelle U, André F, et al. Practical considerations for the use of circulating tumor DNA in the treatment of patients with cancer: a narrative review. *JAMA Oncol*. 2022;8(12):1830-1839. doi:10.1001/jamaoncol.2022.4457.
- Aggarwal C, Rolfo CD, Oxnard GR, et al. Strategies for the successful implementation of plasma-based NSCLC genotyping in clinical practice. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18(1):56-62.
- Pascual J, Attard G, Bidard FC, et al. ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol*. 2022;33(8):750-768.
- Leighl NB, Page RD, Raymond VM, et al. Clinical utility of comprehensive cell-free DNA analysis to identify genomic biomarkers in patients with newly diagnosed metastatic non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4691-4700.



25. Page RD, Drusbosky LM, Dada H, et al. Clinical outcomes for plasma-based comprehensive genomic profiling versus standard-of-care tissue testing in advanced non-small cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2022;23(1):72-81.
26. Palmero R, Taus A, Viteri S, et al. Biomarker discovery and outcomes for comprehensive cell-free circulating tumor DNA versus standard-of-care tissue testing in advanced non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol*. 2021;5:93-102.
27. Schwartzberg LS, Li G, Tolba K, et al. Complementary roles for tissue- and blood-based comprehensive genomic profiling for detection of actionable driver alterations in advanced NSCLC. *JTO Clin Res Rep*. 2022;3(9):100386.
28. Aggarwal C, Thompson JC, Black TA, et al. Clinical implications of plasma-based genotyping with the delivery of personalized therapy in metastatic non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol*. 2019;5(2):173-180.
29. Cui W, Milner-Watts C, O'Sullivan H, et al. Up-front cell-free DNA next generation sequencing improves target identification in UK first line advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. *Eur J Cancer*. 2022;171:44-54.
30. Mack PC, Banks KC, Espenschied CR, et al. Spectrum of driver mutations and clinical impact of circulating tumor DNA analysis in non-small cell lung cancer: analysis of over 8000 cases. *Cancer*. 2020;126(14):3219-3228.
31. Ezeife DA, Spackman E, Juergens RA, et al. The economic value of liquid biopsy for genomic profiling in advanced non-small cell lung cancer. *Ther Adv Med Oncol*. 2022;14:17588359221112696.
32. Cui W, Milner-Watts C, McVeigh TP, et al. A pilot of blood-first diagnostic cell free DNA (cfDNA) next generation sequencing (NGS) in patients with suspected advanced lung cancer. *Lung Cancer*. 2022;165:34-42.
33. Garcia-Pardo M, Czarnecka K, Law JH, et al. Plasma-first: accelerating lung cancer diagnosis and molecular profiling through liquid biopsy. *Ther Adv Med Oncol*. 2022;14:17588359221126151.
34. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(4):223-238. doi:10.1038/nrc.2017.7.
35. Aberle DR, Adams AM, Berg CD, et al; National Lung Screening Trial Research Team. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med*. 2011;365:395-409.
36. De Koning HJ, Van Der Aalst CM, De Jong PA, et al. Reduced lung-cancer mortality with volume CT screening in a randomized trial. *N Engl J Med*. 2020;382:503-513.
37. Patz EF Jr, Pinsky P, Gatsonis C, et al. Overdiagnosis in low-dose computed tomography screening for lung cancer [published correction appears in *JAMA Intern Med*. 2014;174(5):828]. *JAMA Intern Med*. 2014;174(2):269-274. doi:10.1001/jamainternmed.2013.12738.
38. Freitas C, Sousa C, Machado F et al. The role of liquid biopsy in early diagnosis of lung cancer. *Front Oncol*. 2021;11:634316.
39. Gray J, Thompson JC, Carpenter EL, et al. Plasma cell-free DNA genotyping: from an emerging concept to a standard-of-care in metastatic non-small cell lung cancer. *Oncologist*. 2021;26:e1812-1821.
40. Malapelle U, Pisapia P, Addeo A, et al. Liquid biopsy from research to clinical practice: focus on non-small cell lung cancer. *Expert Rev Mol Diagn*. 2021;21(11):1165-1178. doi:10.1080/14737159.2021.1985468.
41. Moding EJ, Nabet BY, Alizadeh AA, Diehn M. Detecting liquid remnants of solid tumors: circulating tumor DNA minimal residual disease. *Cancer Discov*. 2021;11(12):2968-2986. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-0634.
42. Pellini B, Chaudhuri AA. Circulating tumor DNA minimal residual disease detection of non-small-cell lung cancer treated with curative intent. *J Clin Oncol*. 2022;40(6):567-575. doi:10.1200/JCO.21.01929.
43. Zhou C, Das Thakur M, Srivastava MK, et al. IMpower010: biomarkers of disease-free survival (DFS) in a phase 3 study of atezolizumab (atezo) vs best supportive care (BSC) after adjuvant chemotherapy in stage IB-III A NSCLC. ESMO Immuno-Oncology Congress 2021, Abstract 2O. *Ann Oncol*. 2021;32(suppl 7):S1373-S1391.
44. Carbone D, Lee J, Kris M, et al. Clinical/biomarker data for neoadjuvant atezolizumab in resectable stage IB-IIIB NSCLC: primary analysis in the LCMC3 study. *J Thorac Oncol*. 2021;16(3 suppl):S115-S116. doi:10.1016/j.jtho.2021.01.294.

45. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142:321-346.
46. Lim C, Tsao MS, Le LW, et al. Biomarker testing and time to treatment decision in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2015;26(7):1415-1421. doi:10.1093/annonc/mdv208.
47. Garcia-Pardo M, Czarnecka K, Law JH, et al. Plasma first: Accelerating lung cancer diagnosis through liquid biopsy. Abstract 3039. *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):3039. doi:10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.3039.
48. Thompson JC, Aggarwal C, Wong J, et al. Plasma genotyping at the time of diagnostic tissue biopsy decreases time-to-treatment in patients with advanced NSCLC: results from a prospective pilot study. *JTO Clin Res Rep*. 2022;3(4):100301. doi:10.1016/j.jtocrr.2022.100301.
49. Oxnard GR, Thress KS, Alden RS, et al. Association between plasma genotyping and outcomes of treatment with osimertinib (AZD9291) in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2016;34:3375-3382.
50. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J et al. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2018;378:113-125.
51. Romero A, Serna-Blasco R, Alfaro C, et al. ctDNA analysis reveals different molecular patterns upon disease progression in patients treated with osimertinib. *Transl Lung Cancer Res*. 2020;9(3):532-540. doi:10.21037/tlcr.2020.04.01.
52. Ramalingam SS, Cheng Y, Zhou C, et al. Mechanisms of acquired resistance to first-line osimertinib: preliminary data from the phase III FLAURA study. *Ann Oncol*. 2018;29:viii740.
53. Rolfo C, Mack PC, Scagliotti GV et al. Liquid biopsy for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): a statement paper from the IASLC. *J Thorac Oncol*. 2018;13:1248-1268.
54. Gray JE, Okamoto I, Sriuranpong V, et al. Tissue and plasma EGFR mutation analysis in the FLAURA trial: osimertinib versus comparator EGFR tyrosine kinase inhibitor as first-line treatment in patients with EGFR-mutated advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25(22):6644-6652. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-1126.
55. Anagnostou V, Forde PM, White JR, et al. Dynamics of tumor and immune responses during immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2019;79(6):1214-1225. doi:10.1158/0008-5472.CAN-18-1127.
56. Horn L, Whisenant JG, Wakelee H, et al. Monitoring therapeutic response and resistance: analysis of circulating tumor DNA in patients with ALK+ lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(11):1901-1911. doi:10.1016/j.jtho.2019.08.003.
57. Iijima Y, Hirotsu Y, Amemiya K, et al. Very early response of circulating tumour-derived DNA in plasma predicts efficacy of nivolumab treatment in patients with non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*. 2017;86:349-357. doi:10.1016/j.ejca.2017.09.004.
58. Song Y, Hu C, Xie Z, et al; on behalf of AME Lung Cancer Collaborative Group. Circulating tumor DNA clearance predicts prognosis across treatment regimen in a large real-world longitudinally monitored advanced non-small cell lung cancer cohort. *Transl Lung Cancer Res*. 2020;9(2):269-279. doi: 10.21037/tlcr.2020.03.17.
59. Zulato E, Attili I, Pavan A, et al. Early assessment of KRAS mutation in cfDNA correlates with risk of progression and death in advanced non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2020;123(1):81-91. doi:10.1038/s41416-020-0833-7.
60. Moding EJ, Liu Y, Nabet BY, et al. Circulating tumor DNA dynamics predict benefit from consolidation immunotherapy in locally advanced non-small cell lung cancer. *Nat Cancer*. 2020;1(2):176-183. doi:10.1038/s43018-019-0011-0.
61. Hellmann MD, Nabet BY, Rizvi H, et al. Circulating tumor DNA analysis to assess risk of progression after long-term response to PD-(L)1 blockade in NSCLC. *Clin Cancer Res*. 2020;26(12):2849-2858. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-3418.



62. Gandara DR, Paul SM, Kowanetz M, et al. Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab. *Nat Med*. 2018;24(9):1441-1448. doi:10.1038/s41591-018-0134-3.
63. Drusbosky L, Bilen MA, Azzi G, et al. Blood-based tumor mutational burden from circulating tumor DNA (ctDNA) across advanced solid malignancies using a commercially available liquid biopsy assay. Abstract. *J Clin Oncol*. 2021;39(15 suppl):3040.
64. Peters S, Dziadziuszko R, Morabito A, et al. Atezolizumab versus chemotherapy in advanced or metastatic NSCLC with high blood-based tumor mutational burden: primary analysis of BFAST cohort C randomized phase 3 trial. *Nat Med*. 2022;28(9):1831-1839. doi:10.1038/s41591-022-01933-w.
65. Raez LE, Danenberg K, Sumarriva D, et al. Using cfRNA as a tool to evaluate clinical treatment outcomes in patients with metastatic lung cancers and other tumors. *Cancer Drug Resist*. 2021;4(4):1061-1071. doi:10.20517/cdr.2021.78.
66. Rodriguez-Martinez A, Simon-Saez I, Perales S, et al. Exchange of cellular components between platelets and tumor cells: impact on tumor cells behavior. *Theranostics*. 2022;12(5):2150-2161. doi:10.7150/thno.64252.

# 生物标志物检测技术

Yasushi Yatabe、Lynette M. Sholl、Sanja Dacic、  
Keith M. Kerr、Erik Thunnissen 和 Anders Skanderup

# 5

生物标志物检测有多种技术，可检测各种基因变异和蛋白质变化。目前有 5 种主要与癌症临床实践相关的基因和蛋白质异常（表 5-1）：

- 1. 单核苷酸变异 (SNV)：**与参考序列相比时，一个核苷酸被另一种核苷酸替换。致病性 SNV 属于错义变异，会导致氨基酸变化，如果存在肿瘤抑制基因，则可能导致致癌功能获得（例如，*EGFR* L858R、*KRAS* G12C、*BRAF* V600E）或功能丧失（例如，*TP53*、*RB1*）。如果突变导致终止密码子（TAA, TAG, TGA），则突变不会产生蛋白质（无义突变）。SNV 并不总会导致氨基酸变化（同义核苷酸变化），而且，这些变化通常是非致病性的，尽管有些同义 SNV 由于转录物剪接改变会诱导功能变化。<sup>1</sup>
- 2. 插入和 / 或缺失 (indel)：**indel 指插入或缺失 1 个或多个核苷酸，可能会改变氨基酸序列，还可能导致读码框移位。indel 可能会引发致癌活性或功能损伤。致癌突变有两个例子，分别是 *EGFR* 外显子 19 框内缺失和 *HER2* 外显子 20 插入，而肿瘤抑制基因中的大多数 indel（例如 *TP53*、*APC*、*RB1*）更常见于框外，导致突变的等位基因功能恶化。
- 3. 基因扩增、拷贝数变异：**基因扩增指特定 DNA 片段拷贝数增加，可能会导致蛋白质过表达。拷贝数变异是一个更通用的术语，指基因拷贝数的增加或减少，例如 *MET* 的 4 个拷贝，可能没有致癌性。
- 4. 基因重排：**当染色体片段断裂并附着到另一条染色体或同一染色体上的不同位点时，就会发生染色体重排（也称为易位）。当片段以相反方向重新附着到同一条染色体上时，就会发生倒位。重排会导致致癌基因融合（例如，*EML4::ALK*、*CD74::ROS1*、*KIF5B::RET*）。

表 5-1. 肺癌临床相关基因改变

基因改变	与肺癌相关的主要基因	检测方法
SNV, indel	EGFR, KRAS, BRAF, HER2	PCR 直接测序、突变特异性 PCR、NGS 扩增子、NGS 杂交捕获、ddPCR
基因扩增	FGFR, MET	FISH、NGS 杂交捕获、ddPCR
基因重排	ALK, ROS1, RET, NTRK, NRG	RT-PCR 直接测序、NGS (基于 DNA 或 RNA)、FISH、IHC (ALK)
蛋白质表达 / 过表达	ALK, PD-L1, HER2	IHC、ELISA、 <sup>a</sup> 质谱法 <sup>a</sup>

缩略词：ddPCR = 微滴式数字聚合酶链反应；ELISA = 酶联免疫吸附测定；FISH = 荧光原位杂交；IHC = 免疫组织化学；indel = 插入和 / 或缺失；NGS = 下一代测序；RT = 逆转录；SNV = 单核苷酸变异。

<sup>a</sup> 不用于常规临床实践。

- 5. 蛋白质表达 / 过表达：**基因扩增和重排可能会转化为异常蛋白质过表达。HER2 过表达可由基因扩增引起。基因重排会导致蛋白质表达改变（例如，ALK 基因融合导致 ALK 激酶结构域表达异常）。蛋白质的异常表达可能是致病性的，但可能与基因改变没有直接关系（例如，肺癌过表达 PD-L1 并不表明 CD274/PD-L1 基因发生变化，少数情况除外）。

为了检测异常，已经开发了用于不同检测的各种方法，从原位检测福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 切片中的蛋白质或基因改变，到同时检测提取的 DNA 或 RNA 中的多个基因改变。每种检测方法在可测试的样本类型、检测到的改变、成本和报告时间（周转时间 [TAT]）方面各有优点和缺点。了解检测方法特性有助于选择最佳检测方法，同时避免出现问题。

## 周转时间

TAT 指从要求检测到收到报告的时间。在临床实践中，TAT 是一个关键因素，与具体检测方法以及其他因素相关，例如实验室之间样本的转移、实验室人员配置、病例分批。各种检测(如下文所述)需要的最佳实验室工作日如下:免疫组织化学 (IHC): 少于 2 个工作日；荧光原位杂交 (FISH)：2 至 3 个工作日；聚合酶链反应 (PCR)/ 逆转录 (RT)-PCR 直接测序：3 至 4 个工作日；基于扩增子的测序：4 到 5 个工作日；基于杂交捕获的下一代测序 (NGS)：5 到 14 个工作日。

在混合 DNA/RNA 分析中，由于定量或定性样本不足，可能无法得出 DNA 或 RNA 结果。（见第 3 章，“样本采集与分析前考虑因素。”）应考虑患者做出治疗决定的总体时间，而不仅仅是实验室检测的名义工作时间。重要的是，如果返回的所有结果都是分析失败，则临床状态将回到最初状态。

## 免疫组织化学

IHC 是一款强大的诊断工具，其方案在检测与病理肿瘤分类和某些可靶向分子改变识别相关的蛋白质方面已经变得十分强大。直接和间接 IHC 简化图示见图 5-1。《IASLC

《诊断免疫组织化学图谱》对基本技术作了说明。该方法本身更为定性,而非定量。<sup>2</sup>不过,谨慎制定方案,验证小范围(2倍)蛋白质的浓度,可实现半定量评估。<sup>3</sup>

### 基本原则

原位产生显微可见颜色的基本程序包含以下步骤:表位修复、一抗孵育、洗去未结合的抗体、与一抗重链结合的标记二抗孵育、洗去未结合的抗体,随后通过信号增强步骤进行可视化。

### 预测分析 IHC 验证

与预测标志物相比,验证方法在诊断方面略有不同。出于诊断目的,在美国通常需要至少 20 个样本的验证集,其中包含明确的阳性和阴性对照。<sup>5</sup>检测阈值在预测标志物检测中发挥着至关重要的作用。并非所有 PD-L1 检测都相同,<sup>6,7</sup>因此,分析和间接临床验证似乎是最好的近似方法。<sup>7</sup>

### 荧光显微镜

通过荧光标记(免疫荧光),可获得比用吸收衬底更高的敏感性。这表明,可能需要荧光显微镜来检测具有较低表位浓度的信号。<sup>3</sup>要将荧光图像可视化,需要 2 个滤光片。第一个滤光片位于光到达组织切片之前,允许波长相对较短的光通过,阻挡波长较长的光。在这一部分,光到达荧光染料,激发染料的较长波长。第二个滤光片阻挡较短波长的光,并允许较长波长的光通过。可以用相机系统代替眼睛捕获数字图像。使用多个荧光团时,穿过滤光片的波长可能会变短(使用带通滤光片),其中一个荧光团的较短波长被激发,而其余荧光团在激发后发射实质上更长的波长。虽然免疫荧光是一种高度敏感的蛋白质检测技术,但目前尚未用于肺癌的常规临床实践。

### 突变特异性 IHC

获得性致病性 *EGFR* 突变会导致三维蛋白质结构发生变化,因此,该突变可能呈现特有且不同于野生型蛋白质的表位。此外,有些 *EGFR* 突变还会频繁发生,特别是外显子 21 的 L858R 和外显子 19 的缺失。根据这一点,开发了 *EGFR* 突变特异性抗体。<sup>9-13</sup>这类抗体可能适用于样本量有限、不足以进行基于 DNA 的检测的情况。阳性 IHC 反应可能与该突变有关。然而,这些抗体可能会对 *EGFR* 外显子 20 插入突变产生交叉反应,而后者对第一代 *EGFR* 酪氨酸激酶抑制剂(TKI)不敏感,外显子 19 缺失的检出率可能会有所不同。一项研究发现,外显子 20 插入(A769 插入 ASV 和 D770 插入 SVD)对抗体呈阳性,<sup>10</sup>除缺失 5 个氨基酸(ELREA)外,可能无法检测到外显子 19 缺失。<sup>11</sup>重点是,阴性染色并不排除临床上存在可操作的 *EGFR* 突变。

针对 BRAF V600E 突变的突变特异性抗体已经开发出来,<sup>14,15</sup>具有高度敏感性。与 *EGFR* 突变特异性抗体相比,BRAF V600E 突变特异性 IHC 对非 V600E 突变没有交叉反应。<sup>16</sup>

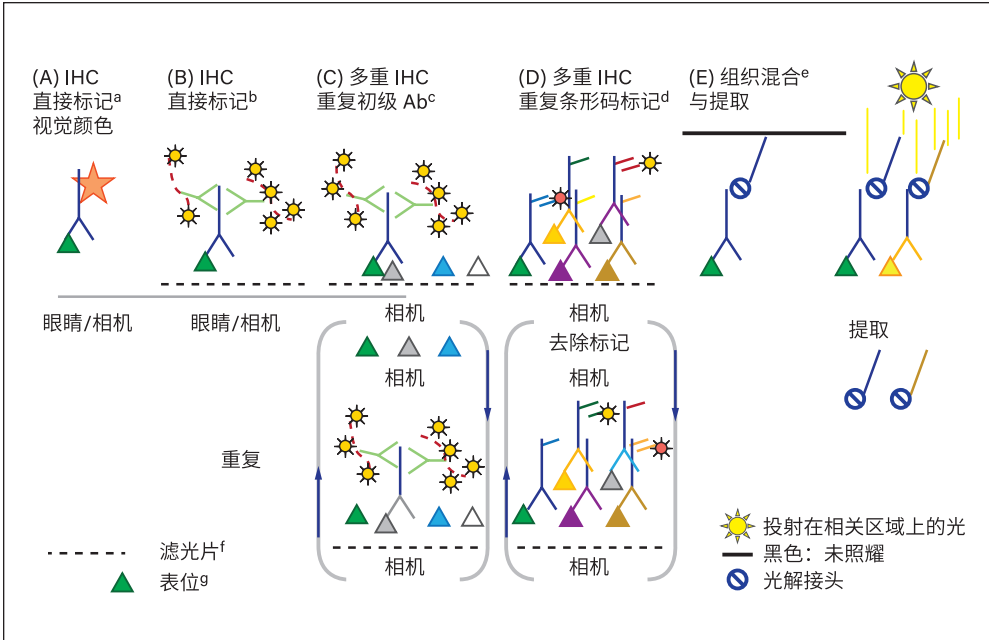


图 5-1. 使用空间组织蛋白分析的不同技术简化图示。

<sup>a</sup> 视觉信号吸收颜色或荧光标记所需的高表位浓度。荧光标记需要的表位浓度比色原稍低。

<sup>b</sup> 信号增强途径:(1) 结合几种二抗(例如,小鼠抗兔[mouse anti-rabbit];山羊抗人[goat anti-human]等);(2) 用酶标记几种二抗,产生不溶性色原(例如,棕色二氨基联苯胺);(3) 使用链霉亲和素-生物素(SAB)复合物进行初始扩增,然后使用聚合物(比SAB复合物多5-20倍)。

<sup>c</sup> 第一轮捕获图像、间接荧光标记并捕获数字图像之后,需要灭活/去除染料,随后捕获背景/自发荧光的数字图像。可以使用不同的一抗在同一切片上重复该过程。标记后,去除图像中一抗孵育前的图像(具有自发荧光)。单个或多个标记可能会在同一部分上投影(叠加)。

<sup>d</sup> 每个一抗都有独特的条形码(DNA)。一次孵育多个一抗。带有荧光团和条形码互补链的标记一次最多可与3个荧光团结合(示意图中为2个不同的荧光团)。成像、去除荧光团标记并捕获图像后,可以孵育下一组(通常最多3个)独特的互补标记(每个标记具有不同的荧光团)。该过程可以重复。所有标志物均可单独检查,或按照在切片上叠加的任何组合进行检查。

<sup>e</sup> 具有独特的寡核苷酸标签和具有高亲和力的光解接头标记抗体在组织切片的表位上结合,可以在相关区域选择性地接收光,导致释放光解寡核苷酸,然后将其提取并用于读出,例如,下一代测序、流式细胞术,或质谱法。读出内容可以以数字方式在组织切片的数字图像上叠加。<sup>4</sup>

<sup>f</sup> 有两个滤光片:光通过组织/细胞之前有1个滤光片,在组织和眼睛/相机之间有1个滤光片。第一个滤光片阻挡较长波长的光,第二个滤光片阻挡较短波长的光。只有具有发射波长的光才会通过第二个滤光片。

<sup>g</sup> 表位在图示中为三角形。在体内,表位的基本特征是一个三维(3D)结构,其中抗体的可变结构域以高亲和力和力立体结合。不同的表位具有不同的3D结构。

在所有的数字方法中,需要确定相关区域(也可能是一个细胞)。需要对区域/对象进行分割。为此,电荷耦合器件(CCD)相机中的像素数量需要与显微镜物镜的分辨率相匹配。为降低分割错误率,需要使用高质量的CCD相机。

突变特异性抗体的高敏感性表明，这种 IHC 方法可用作这些抗体各自特定突变的筛查工具。不过，在 IHC 阴性病例中，可能同一基因既有其他突变，也有可操作突变。此外，可能需要通过分子检测进行确认。

### IHC 用于检测或筛选基因重排

使用野生型抗体（例如 ALK 蛋白）进行的预测性 IHC 检测对于 ALK 变化具有高度敏感性和特异性，因为 ALK 蛋白在正常肺组织中不表达。<sup>17-19</sup> 相比之下，ROS1 和 NTRK 的 IHC 特异性较低，因此需要采用正交技术（例如 FISH 或 NGS）证明存在重排。<sup>20,21</sup> 虽然 ROS1 IHC 的敏感性很高，适合筛查，但 NTRK IHC 的敏感性约为 80%，<sup>22,23</sup> 说明可能只能检测到多数 NTRK 融合，而非全部。

### 荧光原位杂交

已经将 FISH 检测开发用于检测一系列基因组改变，包括整个染色体或特定染色体区域的扩增、重排 / 易位、获得和丧失。FISH 使用多种基础探针，包括染色体计数探针 (CEP) 和基因 / 位点特异性识别 (LSI) 探针。CEP 通常用于区分多体和真正的基因扩增，因为它可以反映染色体数量。

### 重排检测

检测染色体重排的 FISH 探针有两种类型：融合型和断裂型（图 5-2）。融合探针组由针对 2 个不同位点的差异标记探针组成，其中，2 个融合基因的位置通常不会靠得很近。如果两个探针在细胞中的位置很近，则可能会出现假阳性信号。因此，每个实验室都应测试阴性对照病例，并为包含融合模式的细胞核百分比设定界限标准。分离探针由 2 个差异标记探针组成，与同一基因杂交，但对位于易位断裂点对侧的区域具有特异性。这种断裂策略尤其适用于检测涉及所谓混杂基因（即 ALK）的易位，其中，这些混杂基因可能会与多个配对基因融合。通常通过确定 2 个信号之间的距离，以及显示分离信号的细胞核的最小百分比（对于 ALK 而言是 15%）来诊断是否存在基因易位。<sup>24</sup>

### 基因扩增检测

基因扩增检测采用专门针对相关靶基因的探针，通常与用于相应着丝粒的差异标记探针组合使用。在扩增情况下可观察到多个靶基因信号，通过计算靶基因信号与着丝粒信号的比率，可以区分整个染色体的低扩增水平和多体性。

### FISH 分析样本

使用任何 FISH 方案成功分析组织或细胞学样本，都需要适当固定样本，对于存档石蜡块而言，还需要适当的储存条件。<sup>25,26</sup> 在强酸溶液中处理的组织不适合 FISH 检测，而使用乙二胺四乙酸 (EDTA) 或甲酸轻度脱钙，通常不会影响测试性能。应遵循美



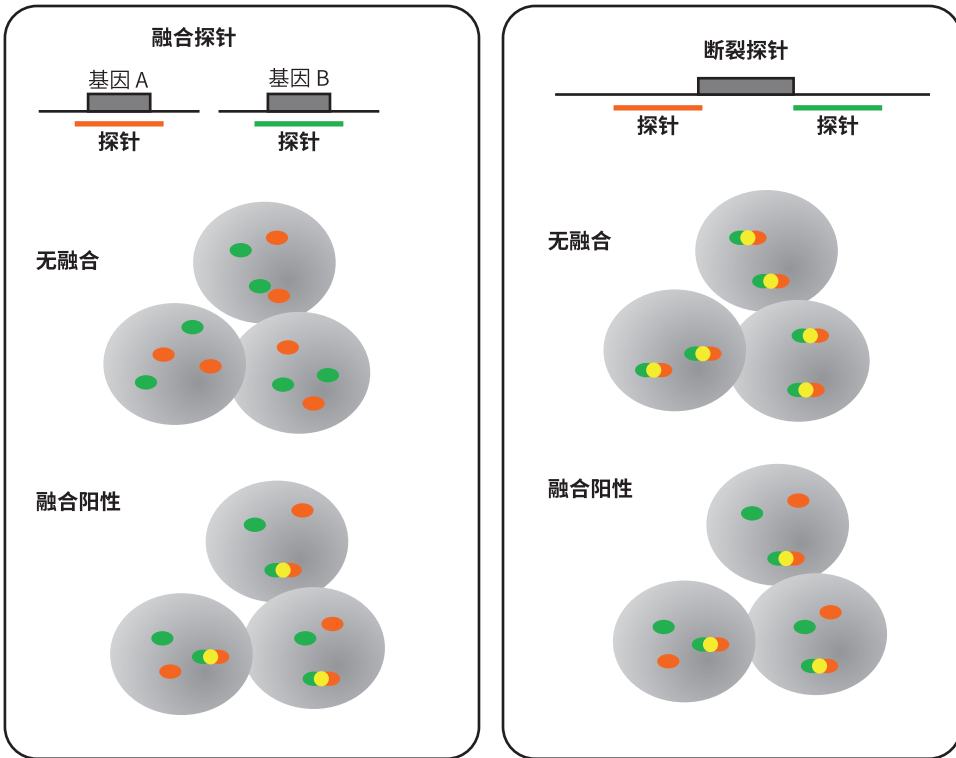


图 5-2. 使用融合和分离探针进行易位检测的荧光原位杂交。

国病理学家学院 (CAP)、分子病理学协会 (AMP)、国际肺癌研究协会 (IASLC) 等机构在病理学实践指南中列明的分析前步骤建议。<sup>27,28</sup> TAT 可由不同的 FISH 方案确定。总之，简单且自动化的方案优于手动方案。一般而言，基本步骤与 IHC 类似，即检测为期 2 天，第一天需要大约 3 至 4 小时，第二天需要 30 分钟。根据实验室工作流程，可能还需要一天的时间解读检测结果。

### FISH 检测方法选择

尽管美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的 FISH 检测目前已上市，但有些实验室可能会选择开发“自制”探针，这样做通常更具成本效益。克隆载体，例如细菌人工染色体，非常适合自制 FISH 探针。利用 PCR 筛查相关 DNA 序列或进行中期 FISH 检测，均可验证克隆是否正确。无论是否使用 FDA 批准的商用检测方法，都应详细描述临床检测所用的探针组特征，临界值应表明正常对照和已知异常患者样本和 / 或细胞系的可重复性能，以使结果准确、精确。<sup>27</sup> 自制探针的特异性和敏感性应与市售同类产品相当。选择使用实验室开发的探针的实验室，还应注意克隆、DNA 标记酶和其他试剂的批次差异性。<sup>27</sup>

## PCR、RT-PCR 和 ddPCR

### 聚合酶链反应

PCR 是一种扩增 DNA 的方法，常用于检测 SNV/indel 型突变。由于用于直接分析的活检组织中残留的 DNA 量极少，必须通过 PCR 扩增组织 DNA。此外，致癌突变（例如 *EGFR* 中的突变）发生在 2 个等位基因中的其中 1 个中，临床样本始终含有非肿瘤组织混合物；因此，已经开发出多种检测突变等位基因的方法，并将其作为临床可行的检测方法。以下检测方法常用于 *EGFR* 突变检测，并已获得批准。

### 等位基因特异性实时 PCR 检测

等位基因特异性实时 PCR 检测是一种关键检测方法，探针可补充突变序列，并利用特定技术识别突变等位基因。Therascreen (Qiagen) 公司使用 Scorpion 探针，<sup>29</sup> 根据与 Cobas 系统（罗氏诊断 [Roche Diagnostics]）中互补序列杂交时的 5'-3' 核酸外切酶活性，通过报告染料和淬灭剂标记探针的移位和切割检测突变。Amoy 诊断公司 (AmoyDx) 使用 TaqMan 探针，检测系统类似于使用 Taq 聚合酶的 Cobas。在这些系统中，可以根据提高的荧光水平检测突变信号。

### 单碱基引物延伸检测

在单碱基引物延伸检测中，目标区域（包括突变位点）通过 PCR 扩增。探针邻近突变位点被退火，然后使用可区分的双脱氧核苷酸进行单碱基延伸。掺入碱基的突变型和野生型等位基因的差异，可以利用荧光染料 (SNaPshot [赛默飞世尔科技公司, ThermoFisher Scientific]) 或质谱法 (MassArray [Agena Bioscience]) 检测。（图 5-3）。

### 逆转录聚合酶链反应

RT-PCR 常用于检测融合基因，因为融合基因内含子序列较长，难以通过 DNA PCR 检测。为了涵盖各种融合模式，通常使用多个引物组进行多重 PCR 检测。例如，已经开发了 6 个引物组用于多重 PCR 检测，可覆盖不同的 *EML4-ALK* 融合。<sup>30</sup>

### 微滴式数字聚合酶链反应

利用液滴数字 PCR (ddPCR)，样本 DNA 会被有限稀释到小体积区室中。最佳情况是每个区室仅包含单个靶分子。区室中 PCR 阳性扩增表明存在靶分子。根据微反应单元中存在或不存在目标分子的分布情况，利用泊松分布（数字 PCR）估计目标分子的拷贝数 / 密度。<sup>31</sup> 要创建微反应单元，可使用水油乳液液滴技术，对于 ddPCR 而言通量高、经济高效。ddPCR 具有敏感性高、定量准确的优势，因此是液体活检循环肿瘤 DNA 分析的首选技术（图 5-4）。

## 下一代测序

### 基本原则

NGS 是一种高通量的并行测序方法，可对肿瘤分子景观进行特征描述。

### 靶向全基因组测序 / 全外显子组测序

虽然全基因组测序 (WGS)/ 全外显子组测序 (WES) 经常用于大型肿瘤队列，发现新的疾病驱动因素和生物标志物并描述其特征，<sup>34</sup> 但靶向 NGS 测序更常用于临床实践。

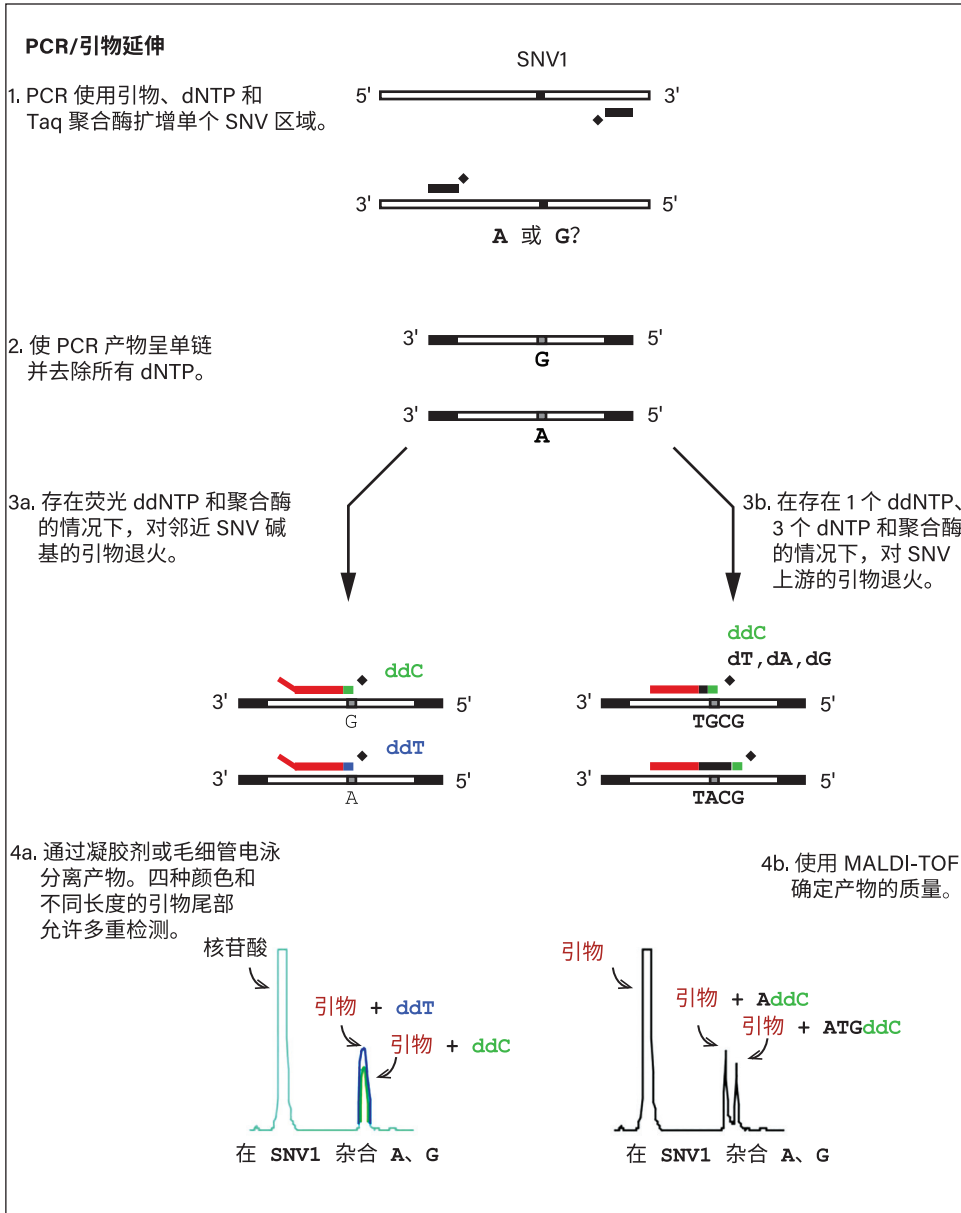


图 5-3. 单核苷酸延伸检测通用方案。<sup>31</sup> 缩略词: dNTP = 脱氧核苷三磷酸; ddNTP = 双脱氧核苷三磷酸; MALDI-TOF = 基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间 [质谱]; PCR = 聚合酶链反应; SNV = 单核苷酸变异。

边合成边测序原理是该技术的核心。<sup>35</sup> 简而言之, 将从肿瘤样本中分离出的 DNA 片段附着到阵列上, 然后通过顺序合成反向互补片段 (读数) 进行并行测序。NGS 仪器可以以大规模并行的方式执行此过程, 1 天内可对多达 100 亿次读数进行测序。

### 测序技术

有 2 个主要平台, 基于不同的并行测序原理 (图 5-5)。在 Ion Torrent PGM 系统 (赛默飞世尔科技公司 [ThermoFisher Scientific]) 中, 具有特定接头序列的 DNA 片段被稀释为片段的单个分子, 并进行乳液 PCR, 产生在磁珠表面连接的扩增产物 (图 5-5A)。然后, 将磁珠置于质子感应孔中, 随着测序的进行, 从接头位点按顺序掺入一种脱氧核苷三磷酸 (dNTP), 同时释放质子。根据掺入的核苷酸, 将释放的质子数差异转换为核苷酸序列。使用这种半导体测序仪, 每次运行生成的数据会稍微少一些, 但随着读数变长 (约 400 bp), 运行时间会缩短。

相比之下, Illumina HiSeq 系统采用不同的方法, 分为 2 步: 桥接 PCR, 随后边合成边测序 (图 5-5B)。将 2 个不同的接头序列末端连接后, 变性的目标 DNA 与预先固定在流动池上的 5' 端和 3' 端接头序列杂交 (形成桥)。在此状态下, DNA 聚合酶进行 DNA 延伸反应, 使 DNA 变性, 产生 2 个单链 DNA 片段。随后, 通过重复桥接、延伸和变性反应, 可局部扩增大量单链 DNA 片段, 并将其作为簇固定在流动池上 (桥接 PCR)。测序时, DNA 聚合酶对 3' 端封闭荧光 dNTP 进行单碱基延伸。然后, 激光束激发结合到碱基上的荧光染料, 并将发射记录为照片。拍摄四张照片 (A、C、G、T), 确定单个簇中 4 个不同的碱基。重复这个过程, 直到整个长度都被测序。

将 NGS 应用于肿瘤样本, 需做出一个关键决定, 即选择测序的目标区域。典型的靶向 NGS 检测侧重 100 至 500 个与癌症相关的基因。相反, 对所有人类基因或整个基因组进行测序的检测通常称为 WES 和 WGS。<sup>36</sup> 靶向检测和广泛 (WES/WGS) 检测之间存在明显的差异。靶向检测在检测选定基因中的突变时, 通常更具有深度, 敏感性也更高。相比之下, WES/WGS 测序深度较低, 但更可能发现新的生物标志物突变和结构变异。这些检测方法应用广泛, 通常还需要更多测序数据, 计算要求更高, TAT 更长, 导致成本比靶向检测更高。<sup>37</sup>

### 扩增子与杂交捕获

进行靶向测序时, 另一个关键决策点是选择和富集相关基因中 DNA 片段所用的技术。扩增子测序和杂交捕获是两种常用技术 (图 5-6),<sup>36</sup> 多数平台都支持这两种技术 (例如, AmpliSeq Focus Panel 和 TruSight Oncology 500, 分别是 Illumina 平台的扩增子和捕获富集技术)。

杂交捕获使用互补 DNA 探针, 结合并捕获所选基因的 DNA 片段。扩增子测序使用引物 and 多重 PCR 扩增, 从相关基因中选择并富集 DNA 片段。扩增子测序具有潜在优势, 因为它可以使用较少量的输入 DNA; 然而, 这种方法仍然有在 PCR 扩增数据中引入等位基因特异性偏差的风险。此外, 扩增子测序对可测序的基因 / 区域

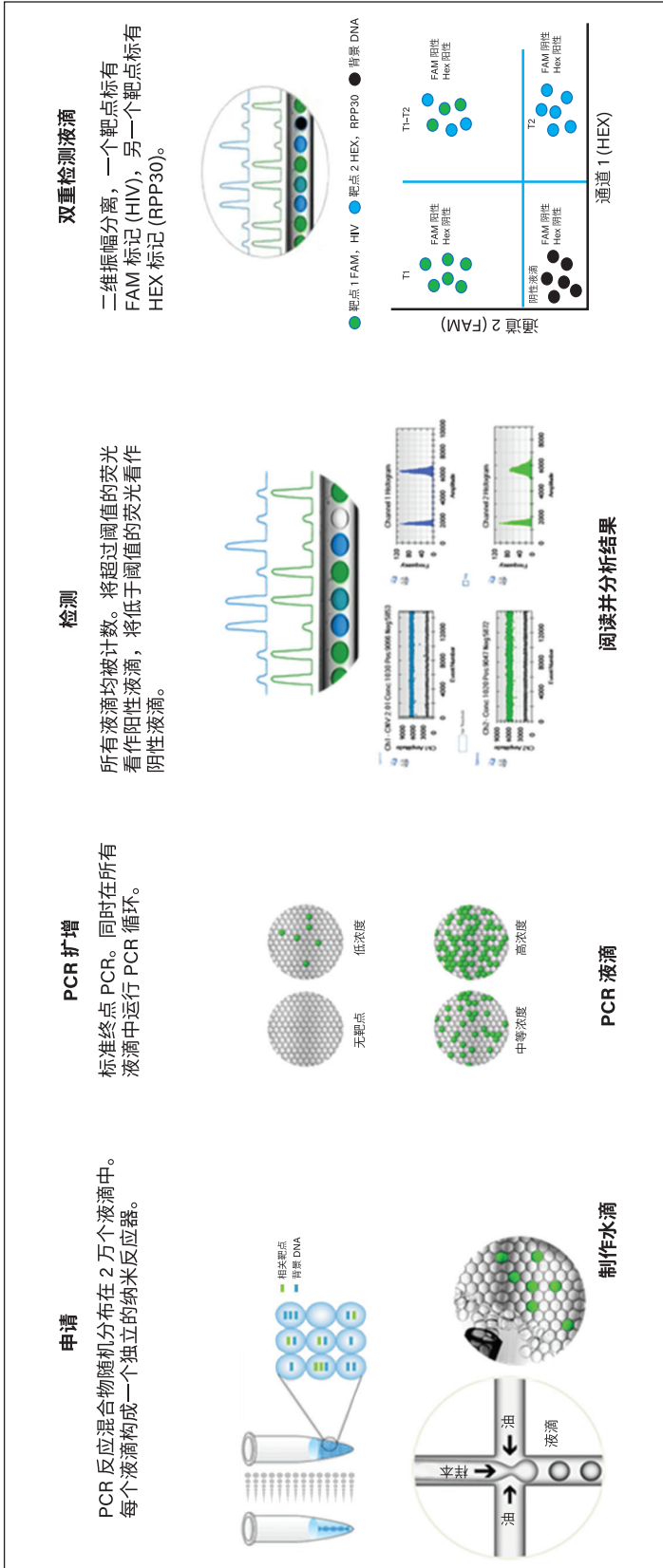


图 5-4. 使用 Bio-Rad ddPCR 系统进行微滴式数字聚合酶链式反应 (ddPCR) 检测的工作流程。33

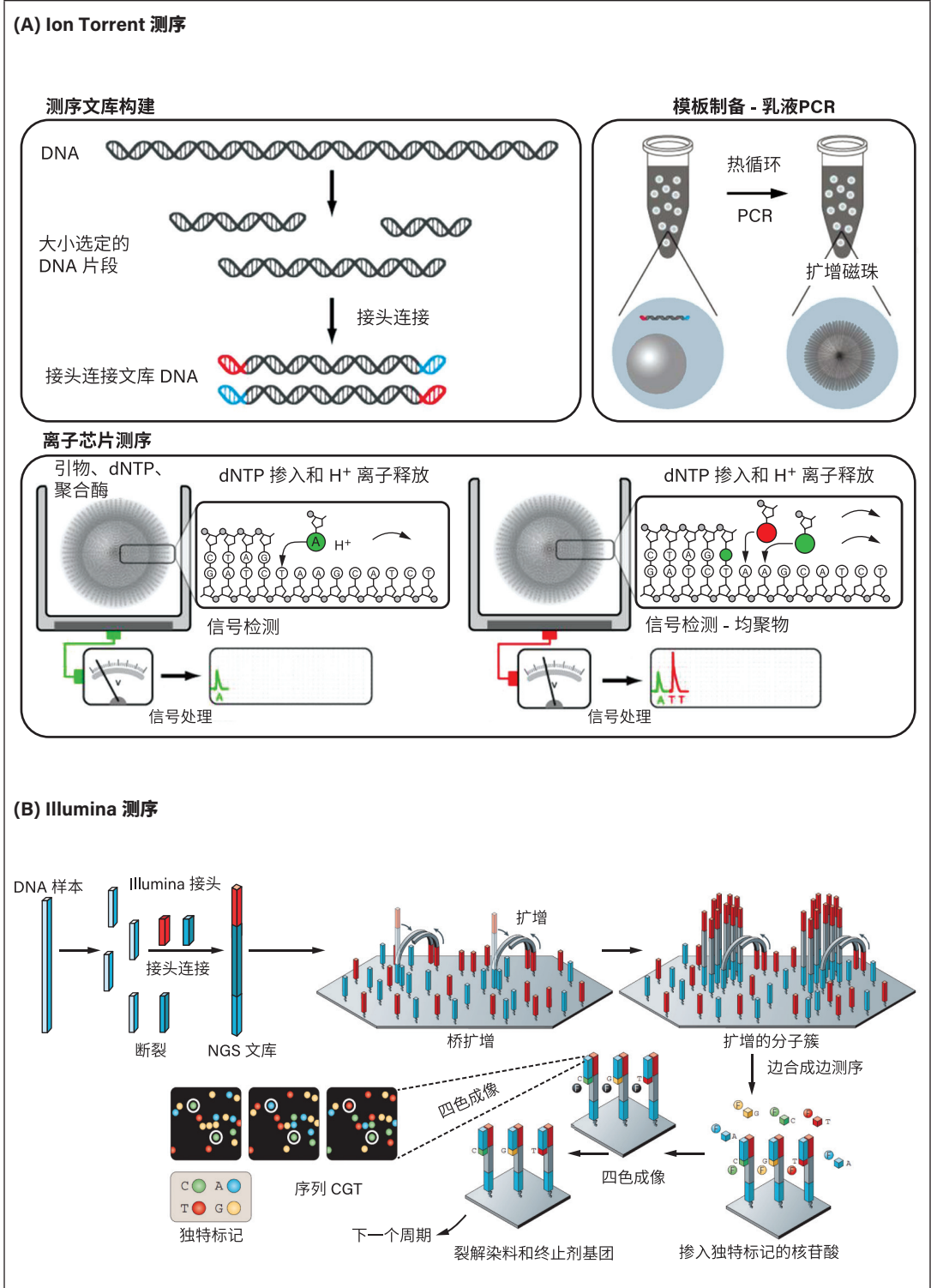


图 5-5. (A) 赛默飞世尔科技公司 (ThermoFisher Scientific) Ion Torrent 和 (B) Illumina 系统测序平台。<sup>38</sup> 缩略词：dNTP = 脱氧核苷三磷酸；NGS = 下一代测序；PCR = 聚合酶链反应。



的数量有限制，通常将其限制为小基因组或热点区域。相反，杂交捕获则没有这样的限制，并且可以扩展到整个外显子组。<sup>37</sup> 而且，基于探针的 DNA 片段选择与杂交捕获也更适合检测融合蛋白。<sup>36</sup>

### 肿瘤细胞含量

样本的肿瘤细胞含量（也称为**肿瘤细胞结构**或**肿瘤纯度**），是进行 NGS 的关键考虑因素。由于基质细胞和免疫细胞等非肿瘤组织的混合，有些肿瘤样本的肿瘤细胞数量和比例可能较低。非肿瘤细胞的 DNA 会稀释突变信号，并对 NGS 检测体细胞突变的过程产生负面影响，导致检测肿瘤细胞含量低的样本中的突变和拷贝数变异时的敏感性降低。<sup>36</sup> 进行更深入的测序可以部分缓解这个问题；然而，在可行的情况下，优先考虑肿瘤细胞含量高的样本进行 NGS 分析可能是一种更具成本效益的策略。<sup>37</sup> 作为标准值，多数 NGS 组的设计针对的都是 20% 或更多的肿瘤细胞含量。

### 肿瘤突变负荷估计

肿瘤突变负荷 (TMB) 已成为免疫检查点抑制反应的生物标志物，<sup>40</sup> 可以使用与识别可靶向基因改变相同的检测方法进行评估。TMB 指目标基因组序列中每兆碱基的体细胞突变数量。NGS 可对大量基因的体细胞突变进行平行且无偏见的检测，从而定量估计样本中的 TMB。然而，如果 NGS 基因组合太小，则可能无法得出可靠的 TMB 估计结果。<sup>40</sup> 此外，由于肿瘤细胞含量可能会影响 NGS 检测的突变检测敏感性，应将肿瘤细胞结构视为 TMB 估计的潜在混杂变量。<sup>41</sup>

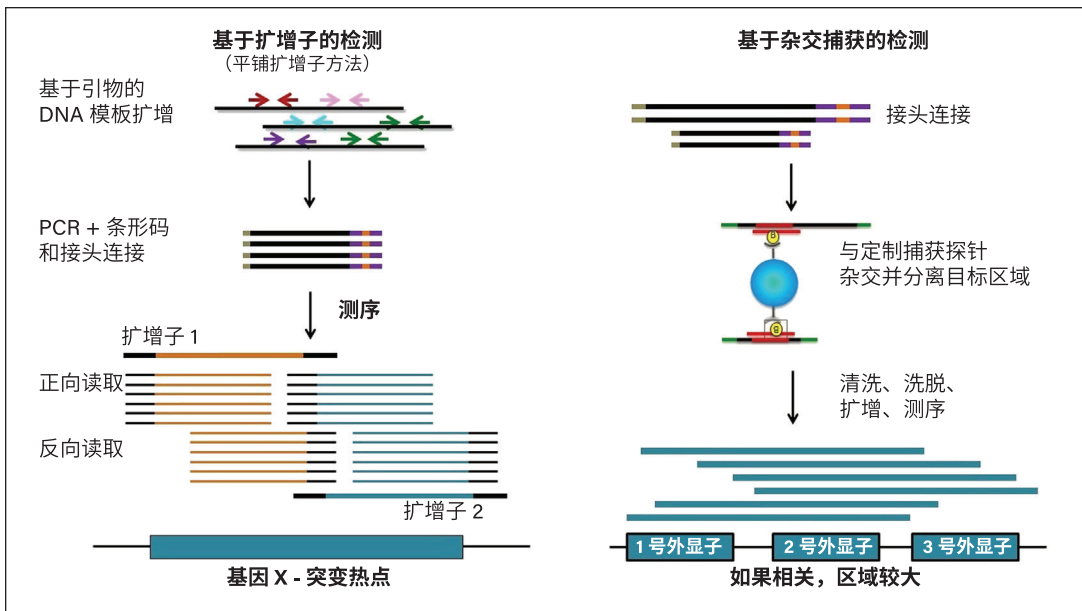


图 5-6. 比较基于扩增子的检测与基于杂交捕获的检测。缩略词：PCR = 聚合酶链反应。

(来源：Jennings 等，2017 年。<sup>39</sup>)

## 市售检测组合

表 5-2 列出了当前常用的市售检测组合。各个组合的特征如下。

### 靶向核苷酸 (基于 DNA、基于 RNA 或两者)

由于 DNA 比 RNA 更稳定, 因此基于 DNA 的组合比基于 RNA 的组合出现得早。不过, DNA 组合有些局限性。<sup>42</sup> 基于 DNA 的分析, 可能无法检测到具有大的和 / 或重复内含子或缺失特定基因的重排, 例如 *NTRK*。因此, 可以利用其他方法, 例如 DNA/RNA 混合组合或顺序组合检测 (如果在 DNA 组合中获得阴性结果, 则进行 RNA 组合测序)。

### 富集方法 (杂交捕获与扩增子)

扩增子测序可能有益于小活检组织或快速 TAT, 而使用杂交捕获测序的全面基因组分析, 可以评估某些临床试验的进一步改变。

### 基因覆盖度

根据目标组合的性质, 即使纳入重大改变后, 组合的基因覆盖度也不相同。此外, 由于生物信息学工具的选择, 较大 indel (即使是 12 bp 或以上) 的检测性能在不同组合之间也有所不同。

### 所需 DNA/RNA 输入

不同的检测方法, 需要不同的 DNA/RNA 输入。即使使用建议大小的组织, 提取 DNA/RNA 的比率也可能有所不同, 这可能与组织固定、块和未染色切片的保存等因素有关。脱钙样本、固定不当的组织、老化块 ( $\geq 5$  年) 的提取率可能尤其低于标准 FFPE 样本。

## 结论

本章概述了目前可用于临床检测肺癌分子生物标志物的各种技术, 介绍了这些技术的优点、缺点, 以及对各种基因改变和蛋白质变化的识别能力。没有一种技术适用于所有生物标志物, 随着该领域的快速发展, 了解当前的技术以及新兴技术, 对于为肺癌患者提供高效、最佳的临床护理具有重要意义。

## 参考文献

1. Supek F, Miñana B, Valcárcel J, Gabaldón T, Lehner B. Synonymous mutations frequently act as driver mutations in human cancers. *Cell*. 2014;156(6):1324-1335. doi:10.1016/j.cell.2014.01.051.
2. Yatabe Y, Borczuk AC, Cooper WA, et al, eds. *IASLC Atlas of Diagnostic Immunohistochemistry*. International Association for the Study of Lung Cancer;2020.

表 5-2. 当前可用的 NGS 测试组合示例。

组合名称	组织活检			液体活检					
	DNA		RNA	二者		DNA			
	FoundationOne CDx (Foundation Medicine)	TruSight Tumor 26 assay (Illumina)	Archer FusionPlex Lung (Invitae)	Oncomine Dx Target Test (赛默飞世尔科技公司 [ThermoFisher Scientific])	TruSight Oncology Comprehensive (Illumina)	FoundationOne Liquid (Foundation Medicine)	Archer LiquidPlex (Invitae)	Guardant 360 (Guardant Health)	PlasmaSELECT (Personal Genome Diagnostics)
读取内容	肿瘤 DNA	肿瘤 DNA	肿瘤 RNA	肿瘤 DNA 或 RNA	肿瘤 DNA 或 RNA	循环肿瘤 DNA	循环游离 DNA	循环游离 DNA	循环肿瘤 DNA
富集	杂交捕获	扩增子	杂交捕获	扩增子	杂交捕获	杂交捕获	杂交捕获	杂交捕获	杂交捕获
所需样本	FFPE 组织； 50-1000 ng DNA	FFPE 组织； 30-300 ng	FFPE 组织； 10 ng RNA	FFPE 组织； 10 ng DNA, 10 ng RNA	FFPE 组织； $\geq 2.0$ $\text{mm}^3$ 或 40 ng DNA, 40 ng RNA	2 × 8.5 mL 血液样本	5-10 ng DNA	10 mL 血液 样本, 5-30 ng DNA	2 × 10 mL 血液 样本
基因数量	324 个基因与 36 个融合体	26 个基因	17 个基因与 16 个融合体	23 个基因与 21 个 融合体	523 个基因与 55 个融合体	70 个基因	28 个基因	73 个基因	64 个基因
周转时间	<2 周	2-3 天	2 天	3 天	~1 周	<2 周	2-3 天	7 天	未报告

缩略词：FFPE = 福尔马林固定石蜡包埋；NGS = 下一代测序。

3. Prinsen CF, Klaassen CH, Thunnissen FB. Microarray as a model for quantitative visualization chemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2003;11(2):168-173. doi:10.1097/00129039-200306000-00014.
4. Merritt CR, Ong GT, Church SE, et al. Multiplex digital spatial profiling of proteins and RNA in fixed tissue. *Nat Biotechnol*. 2020;38:586-599.
5. Fitzgibbons PL, Bradley LA, Fatheree LA, et al. Principles of analytic validation of immunohistochemical assays: Guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(11):1432-1443. doi:10.5858/arpa.2013-0610-CP.
6. Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, et al. PD-L1 immunohistochemistry comparability study in real-life clinical samples: results of blueprint phase 2 project. *J Thorac Oncol*. 2018;13(9):1302-1311. doi:10.1016/j.jtho.2018.05.013.
7. Dodson A, Parry S, Lissenberg-Witte B, et al. External quality assessment demonstrates that PD-L1 22C3 and SP263 assays are systematically different. *J Pathol Clin Res*. 2020;6(2):138-145. doi:10.1002/cjp2.153.
8. Thunnissen E. How to validate predictive immunohistochemistry testing in pathology? A practical approach exploiting the heterogeneity of programmed death ligand-1 present in non-small cell lung cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(1):11-12. doi:10.5858/arpa.2018-0410-ED.
9. Kawahara A, Yamamoto C, Nakashima K, et al. Molecular diagnosis of activating EGFR mutations in non-small cell lung cancer using mutation-specific antibodies for immunohistochemical analysis. *Clin Cancer Res*. 2010;16(12):3163-3170. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-3239.
10. Kitamura A, Hosoda W, Sasaki E, Mitsudomi T, Yatabe Y. Immunohistochemical detection of EGFR mutation using mutation-specific antibodies in lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16(13):3349-3355. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-0129.
11. Simonetti S, Molina MA, Queralt C, et al. Detection of EGFR mutations with mutation-specific antibodies in stage IV non-small-cell lung cancer. *J Transl Med*. 2010;8:135. doi:10.1186/1479-5876-8-135.
12. Brevet M, Arcila M, Ladanyi M. Assessment of EGFR mutation status in lung adenocarcinoma by immunohistochemistry using antibodies specific to the two major forms of mutant EGFR. *J Mol Diagn*. 2010;12(2):169-176. doi:10.2353/jmolx.2010.090140.
13. Jiang G, Fan C, Zhang X, et al. Ascertain an appropriate diagnostic algorithm using EGFR mutation-specific antibodies to detect EGFR status in non-small-cell lung cancer. *PLoS One*. 2013;8(3):e59183. doi:10.1371/journal.pone.0059183.
14. Sasaki H, Shimizu S, Tani Y, et al. Usefulness of immunohistochemistry for the detection of the BRAF V600E mutation in Japanese lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2013;82(1):51-54. doi:10.1016/j.lungcan.2013.06.014.
15. Ilie M, Long E, Hofman V, et al. Diagnostic value of immunohistochemistry for the detection of the BRAFV600E mutation in primary lung adenocarcinoma Caucasian patients. *Ann Oncol*. 2013;24(3):742-748.
16. Seto K, Haneda M, Masago K, et al. Negative reactions of BRAF mutation-specific immunohistochemistry to non-V600E mutations of BRAF. *Pathol Int*. 2020;70(5):253-261. doi:10.1111/pin.12903.
17. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology [published correction appears in *J Thorac Oncol*. 2013;8(10):1343]. *J Thorac Oncol*. 2013;8(7):823-859. doi:10.1097/JTO.0b013e318290868f.
18. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):321-346. doi:10.5858/arpa.2017-0388-CP.
19. Cutz JC, Craddock KJ, Torlakovic E, et al. Canadian anaplastic lymphoma kinase study: a model for multicenter standardization and optimization of ALK testing in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2014;9(9):1255-1263. doi:10.1097/JTO.0000000000000239.

20. Thunnissen E, Allen TC, Adam J, et al. Immunohistochemistry of pulmonary biomarkers: a perspective from members of the Pulmonary Pathology Society. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):408-419. doi:10.5858/arpa.2017-0106-SA.
21. Penault-Llorca F, Rudzinski ER, Sepulveda AR. Testing algorithm for identification of patients with TRK fusion cancer. *J Clin Pathol*. 2019;72(7):460-467. doi:10.1136/jclinpath-2018-205679.
22. Gatalica Z, Xiu J, Swensen J, Vranic S. Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions. *Mod Pathol*. 2019;32(1):147-153. doi:10.1038/s41379-018-0118-3.
23. Hsiao SJ, Zehir A, Sireci AN, Aisner DL. Detection of tumor NTRK gene fusions to identify patients who may benefit from tyrosine kinase (TRK) inhibitor therapy. *J Mol Diagn*. 2019;21(4):553-571. doi:10.1016/j.jmoldx.2019.03.008.
24. Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S, et al. Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the Western population [published correction appears in *Clin Cancer Res*. 2009;15(22):7110]. *Clin Cancer Res*. 2009;15(16):5216-5223. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-0802.
25. Cook JR. Paraffin section interphase fluorescence in situ hybridization in the diagnosis and classification of non-Hodgkin lymphomas. *Diagn Mol Pathol*. 2004;13(4):197-206. doi:10.1097/01.pdm.0000135286.05198.89.
26. Hunt JL. Molecular pathology in anatomic pathology practice: a review of basic principles. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(2):248-260. doi:10.5858/2008-132-248-MPIAPP.
27. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358. doi:10.1016/j.jtho.2017.12.001.
28. Roy-Chowdhuri S, Dacic S, Ghofrani M, et al. Collection and handling of thoracic small biopsy and cytology specimens for ancillary studies: guideline from the College of American Pathologists in collaboration with the American College of Chest Physicians, Association for Molecular Pathology, American Society of Cytopathology, American Thoracic Society, Pulmonary Pathology Society, Papanicolaou Society of Cytopathology, Society of Interventional Radiology, and Society of Thoracic Radiology. *Arch Pathol Lab Med*. 2020;10.5858/arpa.2020-0119-CP. doi:10.5858/arpa.2020-0119-CP.
29. Whitcombe D, Theaker J, Guy SP, Brown T, Little S. Detection of PCR products using self-probing amplicons and fluorescence. *Nat Biotechnol*. 1999;17(8):804-807. doi:10.1038/11751.
30. Takeuchi K, Choi YL, Soda M, et al. Multiplex reverse transcription-PCR screening for EML4-ALK fusion transcripts. *Clin Cancer Res*. 2008;14(20):6618-6624. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1018.
31. Vogelstein B, Kinzler KW. Digital PCR. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(16):9236-9241. doi:10.1073/pnas.96.16.9236.
32. Kirk BW, Feinsod M, Favis R, Kliman RM, Barany F. Single nucleotide polymorphism seeking long term association with complex disease. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(15):3295-3311. doi:10.1093/nar/gkf466.
33. Chung HK, Hattler JB, Narola J, et al. Development of droplet digital PCR-based assays to quantify HIV proviral and integrated DNA in brain tissues from viremic individuals with encephalitis and virally suppressed aviremic individuals. *Microbiol Spectr*. 2022;10(1):e0085321. doi:10.1128/spectrum.00853-21.
34. Garraway LA, Lander ES. Lessons from the cancer genome. *Cell*. 2013;153(1):17-37. doi:10.1016/j.cell.2013.03.002.
35. Shendure J, Balasubramanian S, Church GM, et al. DNA sequencing at 40: past, present and future [published correction appears in *Nature*. 2019;568(7752):E11]. *Nature*. 2017;550(7676):345-353. doi:10.1038/nature24286.
36. Gagan J, Van Allen EM. Next-generation sequencing to guide cancer therapy. *Genome Med*. 2015;7(1):80. doi:10.1186/s13073-015-0203-x.
37. Berger MF, Mardis ER. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(6):353-365. doi:10.1038/s41571-018-0002-6.

38. Anandhakumar C, Kizaki S, Bando T, Pandian GN, Sugiyama H. Advancing small-molecule-based chemical biology with next-generation sequencing technologies. *Chembiochem*. 2015;16(1):20-38. doi:10.1002/cbic.201402556.
39. Jennings LJ, Arcila ME, Corless C, et al. Guidelines for validation of next-generation sequencing-based oncology panels: a joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *J Mol Diagn*. 2017;19(3):341-365.
40. Budczies J, Allgäuer M, Litchfield K, et al. Optimizing panel-based tumor mutational burden (TMB) measurement. *Ann Oncol*. 2019;30(9):1496-1506. doi:10.1093/annonc/mdz205.
41. Anagnostou V, Niknafs N, Marrone K, et al. Multimodal genomic features predict outcome of immune checkpoint blockade in non-small-cell lung cancer. *Nat Cancer*. 2020;1(1):99-111. doi:10.1038/s43018-019-0008-8.
42. Benayed R, Offin M, Mullaney K, et al. High yield of RNA sequencing for targetable kinase fusions in lung adenocarcinomas with no mitogenic driver alteration detected by DNA sequencing and low tumor mutation burden. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4712-4722. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0225.





# 全球视野下分子检测的指南与实践

# 6

Deepali Jain、Wendy A. Cooper、Lizza E. Hendriks、Fred R. Hirsch、Mehdi Karkouri、Keith M. Kerr、Dongmei Lin、Ming-Sound Tsao 和 Yasushi Yatabe

过去的十五年里，肺癌，尤其是非小细胞肺癌 (NSCLC) 的治疗越来越多地被纳入靶向治疗。<sup>1,2</sup> 肺癌诊断过程中或诊断后进行的分子检测，已成为识别预测性生物标志物的重要工具，可帮助患者选择个性化治疗。<sup>3,4</sup> 大多数生物标志物是利用聚合酶链反应 (PCR) 或测序方法等现代分子技术检测的，可以快速得出准确结果。此外，强烈鼓励在符合特定国家和地方标准（例如美国临床实验室改进法案修正案）的实验室中，开展支持患者管理所需的基因检测。此外，不同国际组织（美国病理学家学院 [CAP]、国际肺癌研究协会 [IASLC]、分子病理学协会 [AMP]、美国临床肿瘤学会 [ASCO]、欧洲肿瘤内科学会 [ESMO]、美国国家综合癌症网络 [NCCN]）发布的多个指南，为肺癌患者的检测和治疗方案选择、样本要求以及分子检测方法和平台提供了详细的建议。<sup>3,5-7</sup> 本章旨在概述上述及其他相关指南在全球范围内的实施情况。

## 指南制定与指南

过去，临床决策很大程度上依赖于主治医师的经验和技能。1991 年，加拿大 Guyatt 提出了循证医学 (EBM) 的概念，<sup>8</sup> 这一概念在优质医疗保健需求的社会意识不断增强下，被传播到各个临床领域。当前实践指南基于医学研究院 (IOM) 2011 年的一份报告，《我们可以信任的临床实践指南》，<sup>9</sup> 该指南就源自 EBM 概念。本报告提出了实践指南的定义以及指南制定的一些方法。推荐意见分级评估、制定和评价 (GRADE) 是世界上使用最广泛的系统。<sup>10</sup> 根据 2008 年至 2013 年与美国医疗保健研究和质量局 (AHRQ) 签订的一项合同，开发了决策支持指南 (GLIDES) 系统。<sup>11</sup> 两个系统都通过系统审查来确定证据水平。最近的 CAP/IASLC/AMP 分子检测指南就是基于该系统制定的。<sup>12</sup>

## CAP/IASLC/AMP、ASCO 和 NCCN

某些指南，例如 CAP/IASLC/AMP 分子检测小组制定的指南，已将重点放在实验室社区，并授权病理学家和 / 或分子诊断学家指导使用资源密集型分子检测方法，确保为可用的靶向治疗方案选择出适当的检测方法。2013 年 CAP/IASLC/AMP 指南的初始版本发布，成为美国和国际社会制定相关指南的典范。<sup>13</sup> 该指南的初始版本及其 2018 年的更新版本得到了 ASCO 的认可，成为 NCCN 指南的重要参考。<sup>5,6,14</sup> 这些文件中的检测方法与提供的治疗建议存在偏差，原因在于它们是在过去十年靶向治疗的快速审批阶段制定的。CAP/IASLC/AMP 指南目前正在修订，预计将于 2024 年发布更新版本。

## 欧洲肿瘤内科学会

ESMO 定期发布肺癌患者管理指南，<sup>7</sup> 为检测欧洲药品管理局 (EMA) 批准治疗方案的各种靶点提供建议。<sup>7</sup>

EMA 的批准规则宽松，但不保证每个国家都能获得批准的药物。各国至少会在国家公共卫生系统中批准药物，在不同程度上为检测提供便利。因此，相关靶向治疗的可用性是推动检测的主要决定因素；这就催生了无数反映当地实践差异的国家甚至区域准则。各国建议的测试靶点并不一致；不过，所有指南都建议检测 *EGFR*、*ALK*、*ROS1* 和 PD-L1，建议最多的是 *BRAF* 和 *NTRK*，但许多指南还未提及 *KRAS*、*MET*、*RET*、*ERBB2 (HER2)* 检测。<sup>15</sup> 能否实施检测取决于是否可以使用实验室设施以及检测费用的报销安排。<sup>15</sup> 尽管下一代测序 (NGS) 作为建议已经纳入 ESMO 和许多国家指南中，但 NGS 的普及还远远不够。<sup>16</sup> 欧盟采取的一系列举措旨在解决这个问题。根据 2023 年 ESMO 关于致癌成瘾转移性 NSCLC 的指南，推荐检测的生物标志物包括：*EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*、*RET*、*MET*（外显子 14 跳跃和扩增）、*NTRK*、*ERBB2 (HER2)* 突变、*EGFR* 外显子 20 插入突变、*KRAS* G12C 突变。<sup>7</sup> 表 6-1 列示了美国和欧洲发布的指南。

## 区域特定生物标志物检测实践

生物标志物的选择因国家 / 地区的具体需求和资源可用性而异。对许多国家来说，由于操作和后勤方面的限制，实施生物标志物检测方法进行分子筛查以确定预测性生物标志物具有挑战性。<sup>15,17,18</sup> 因此，多数国家在检测肺癌分子中，都遵循本地区的生物标志物检测实践，这些地区不仅包括低收入或中等收入国家，还包括一些发达国家。每个国家在分子检测的成本、检测基础设施的可用性、技术和解释专业知识的获取、有关健康保险和报销的政府政策以及地方部门检测批准的要求方面都有不同的限制。有些国家尽管可以进行分子检测，但患者仍无法获得靶向治疗或由于经济条件限制，无法获得靶向治疗。<sup>15,19,20</sup> 图 6-1 是不同国家的生物标志物检测实践情况。尽管多数国家都可检测 *EGFR*、*ALK*、*ROS1* 和 PD-L1，但也有少数国家只检测 *EGFR* 或只检测 *EGFR* 和 *ALK*。以下是一些国家特定示例。

表 6-1. 美国和欧洲指南概述

指南	群体类型	靶点	检测方法 <sup>a</sup>
CAP/IASLC/ AMP 2018	新确诊患者	EGFR	PCR/NGS
		ALK	IHC ± FISH
		ROS1	IHC (筛查) 和 FISH/PCR/NGS
		RET、MET、ERBB2 (HER2)、KRAS 和 BRAF	部分 NGS 多重组合；初始或 EGFR、ALK、ROS1 检测呈阴性时
	靶向治疗复发患者	EGFR T790M (cfDNA/ 组织 DNA)	5% 分析敏感性 (基于 PCR/NGS)
ESMO 2023 <sup>b</sup>	新确诊患者	EGFR	任何经过验证的、涵盖外显子 18-21 突变的方法 (首选 DNA NGS)
		ALK	RNA NGS；IHC ± 分子确认 (NGS, FISH)
		ROS1	RNA NGS；IHC 筛查, 必要的分子确认 (NGS, FISH)
		RET、MET、NTRK、ERBB2 (HER2)、KRAS 和 BRAF	DNA/RNA NGS 组合检测
		PD-L1	IHC
		EGFR T790M、MET (适当) (cfDNA/ 组织 DNA)	PCR/NGS/ISH
	靶向治疗复发患者	EGFR (类别 1)	广泛的分子分析 (NGS) <sup>c</sup>
NCCN 2022	新确诊患者	ALK (类别 1)	广泛的分子分析 (NGS)
		KRAS、ROS1、BRAF、NTRK1/2/3、MET 外显子 14 跳跃和 RET	
		PD-L1	
	靶向治疗复发患者	EGFR T790M 和其他基因组耐药突变 (cfDNA/ 组织 DNA)	广泛的分子分析 (NGS)

缩略词：AMP = 分子病理学协会；ASCO = 美国临床肿瘤学会；CAP = 美国病理学家学院；cfDNA = 细胞游离 DNA；ESMO = 欧洲肿瘤内科学会；FISH = 荧光原位杂交；IASLC = 国际肺癌研究协会；IHC = 免疫组织化学；ISH = 原位杂交；NCCN = 美国国家综合癌症网络；NGS = 下一代测序；PCR = 聚合酶链反应。

<sup>a</sup> 多重测序组合优先于单基因测试。除了纳入 BRAF 突变，ASCO 还为这些指南作了背书。

<sup>b</sup> ESMO 2023 指南。<sup>7</sup>

<sup>c</sup> 还旨在检测新的生物标志物，例如高水平 MET 扩增和 ERBB2 (HER2) 突变。

## 北美洲

### 美国

在美国，NCCN 指南广泛用于指导治疗决策，并作为支付人（主要是私人保险公司）费用支付的基准。<sup>6</sup> 这些指南包括专家根据当前的临床证据给出的意见，深受监管机构（美国食品药品监督管理局 [FDA]）药物批准的影响。为反映新的批准事项，NCCN 指南每年可以更新多次，因此往往能反映最新的检测方法和治疗环境概况。相比之下，系统性指南，例如 CAP/IASLC/AMP 指南，要对同行评审、已发表证据<sup>12</sup> 进行严格且耗时的审查，同时出于实际原因，所以每隔几年才更新一次。

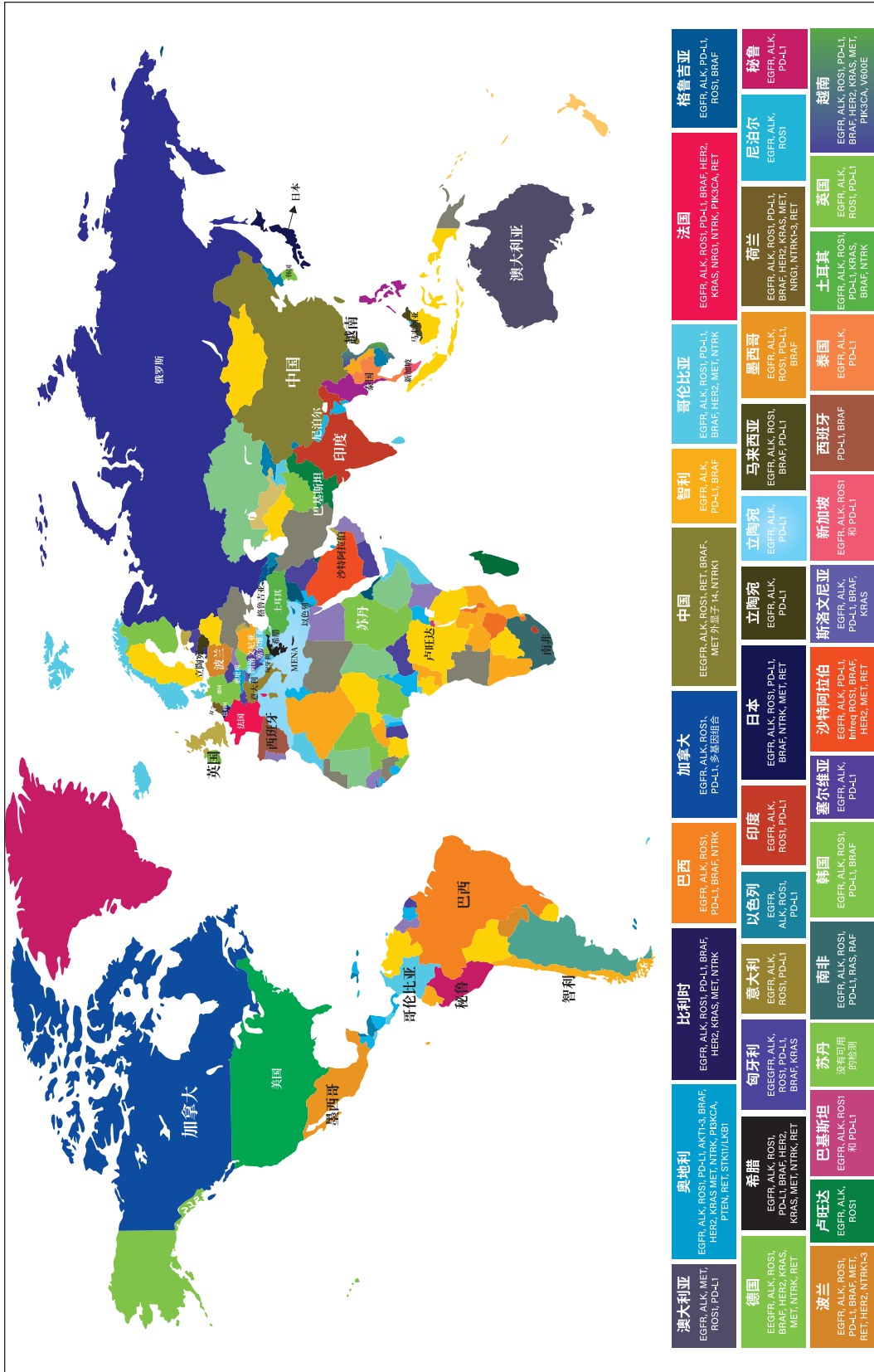


图 6-1. 不同国家检测的预测生物标志物 (按世界地图标注)。缩略词: MENA: 中东和北非。(数据来源:《胸部肿瘤学杂志》系列。<sup>21)</sup>

尽管现有指南的作用和价值有目共睹，但对其建议的遵守情况仍然不佳。根据 2018 年至 2020 年社区肿瘤学实践中收集的真实数据进行的一项调查显示，尽管对 91% 的转移性非鳞状 NSCLC 患者做了至少 1 项单基因分析，但只有 49% 的患者做了 5 项及以上以治疗为目的的相关基因评估，而做 NGS 检测的患者只有 39%。<sup>22</sup> 审查广泛的、与环境无关的医疗保健数据库还发现，美国 NSCLC 患者在 NGS 检测方面存在显著的种族差异，大约 55% 的白人患者在其护理过程的任何阶段都接受了 NGS 检测，而黑人患者的这一比例约为 44%。<sup>23</sup> 鉴于基于组织的检测存在样本不足和周转时间过长等公认的挑战，细胞游离 DNA (cfDNA) 分析（液体活检）已在美国的临床实践中站稳了脚跟。虽然美国缺乏 cfDNA 的专项检测指南，但 CAP/IASLC/AMP 指南的更新版本中指出，cfDNA 检测指南对于缺乏足够肿瘤组织进行生物标志物检测的患者，或在靶向治疗复发后需要进行分子特征描述的患者颇具实用性。<sup>12</sup> IASLC 于 2021 年发布了相关建议，<sup>24</sup> 尽管这些建议是基于专家意见，而不是基于对文献的系统回顾。（见第 4 章。）

## 加拿大

在加拿大，医疗保健系统几乎完全由政府出资，因此癌症患者常规分子检测的范围由医疗保健部门确定。省政府对医疗保健拥有管辖权，因此，患者可用的检测类型和系统可能因省而异。检测主要在分子诊断实验室进行，大部分实验室设立在各大医院的检验内科或病理科内。一般来说，在考虑给加拿大卫生部批准的新药提供公共资金时，大多数省级癌症护理机构都会开始考虑给生物标志物检测提供资金。此类审议考虑的主要问题包括，拟议的测试和测试方法 / 检测方法的成本效益，以及它们对相关癌症患者护理的影响。<sup>25-28</sup> 虽然提供资金通常遵循国际公认的指南（例如 CAP/IASLC/AMP、ASCO、ESMO），但加拿大医学肿瘤学、病理学和分子病理学领域的关键意见领袖团体定期达成的共识或评论出版物，可能会根据加拿大具体国情提供建议。<sup>29-35</sup> 目前在加拿大，建议对肺癌进行所有可靶向改变的分子检测，包括使用第一代和 / 或第二代 EGFR 激酶抑制剂后，病情有进展的 EGFR 突变 NSCLC 患者的 EGFR、ALK、ROS1、BRAF V600E、NTRK、KRAS G12C 和 EGFR T790M 突变。<sup>35</sup> 随着加拿大批准相应的靶向药物，新的标志物将被纳入其中。还建议将血浆样本中循环 EGFR T790M 突变检测（液体活检）作为替代（首选）或补充方法。虽然检测方法的选择是由实验室根据多学科输入内容决定的，但实验室必须遵循可接受的指南，在临床实施之前验证每个检测方法。这一点至关重要，加拿大与美国在此方面不同，其卫生部通常将特定药物批准与“经过验证的检测方法”联系起来，而不是特定的伴随式诊断检测方法。这种方法促使加拿大开展了多项多中心研究，以优化和标准化肺部生物标志物测试，例如 EGFR、ALK、ROS1 和 PD-L1。<sup>36-39</sup>

## 欧洲

根据 2019 年的一项调查，<sup>40</sup> 欧洲医生了解 NSCLC 生物标志物检测的（国际）国家指南。各国选择检测有着类似的标准：对所有转移性 NSCLC 患者进行 PD-L1 检测，



并对非鳞状 NSCLC 或鳞状细胞组织学但无吸烟史的患者进行致癌驱动因素分子检测。整个欧洲的分子检测状况参差不齐。在大约三分之二的欧洲国家，“反射测试”（病理学家驱动）很常见；而其他国家是根据需要进行检测。检测通常在患者家里或地区实验室进行。在大约四分之三的欧洲国家，NGS 是一种常见的检测方法；而其他国家则使用实时 PCR。<sup>15,40</sup>

欧洲国家的医疗保健系统和卫生经济体系非常多样，所有这些都影响肿瘤分子分析的开展。<sup>41,42</sup> 所有欧洲国家都可以做 *EGFR*、*ALK* 和 *PD-L1* 检测，但报销方法各不相同，有的由国家或私人健康保险公司全额报销，或制药公司提供资金，有的则不提供资金，甚至不检测某些生物标志物。<sup>40</sup> 法国等国家有政府支持的结构化计划，可在数量有限的中心实现集中的系统分子检测。<sup>43</sup>

随着时间的推移检测率有所增加，但并非所有患者了解检测标准后，就都有机会接受检测，即使是在允许检测的国家，也不是所有符合检测标准的肿瘤患者都会接受检测。<sup>15,44-47</sup> 重要的是，患者对其生物标志物的检测结果知晓率很低，因为欧洲的一项调查所示，23% 知道自己的肿瘤已接受检测的患者并不知道检测结果。<sup>48</sup>

## 亚太地区

亚太地区高度多样化，其中包括日本等可以报销 NGS 检测的国家，也包括印度尼西亚等肿瘤医疗服务不完善的国家。亚洲对配套诊断的重视程度较低，NGS 的成本和报销很大程度上由各个国家决定。考虑到当地药物的批准往往比 FDA/EMA 的审批滞后长达 2 年，所以许多国家采用了务实的方法，把获得新型疗法作为生物标志物检测的前提。即使在中国香港、中国台湾、新加坡也是如此。

## 澳大利亚

在澳大利亚，*EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*MET* 改变检测、*PD-L1* 免疫组织化学 (IHC) 检测都是常规项目，由政府报销。尽管较大的中心可进行 NGS 组合检测，但这项检测并不是普遍可用的。对于 *ALK* 和 *ROS1*，需要进行 IHC 筛查，并通过荧光原位杂交 (FISH) 检测确认重排以获取靶向药物。*RET* 和 *NTRK1-3* 等不太常见的融合基因检测并不普遍。目前，使用液体活检进行分子检测在澳大利亚并不常见，并且不由政府出资。<sup>49</sup>

## 中国

中国大陆批准的治疗靶点包括 *EGFR* 和 *BRAF* 突变，*ALK*、*ROS1*、*RET*、*NTRK* 融合基因，以及 *MET* 外显子 14 跳跃突变。因此，中国指南建议必须对上述基因进行检测。针对 *KRAS* 和 *ERBB2 (HER2)* 基因突变、*MET* 基因扩增，以及其他基因的药物仍在临床试验中，这些靶点被推荐作为扩大检测的组成部分。<sup>50,51</sup>

基于 PCR 的方法和 NGS 是推荐的突变检测方法，而基因融合则通过 FISH、等位基因阻碍突变系统 (ARMS) 聚合酶链反应 (PCR)、NGS (基于 RNA) 和 IHC 检测。建议将 *ALK* IHC (D5F3) 作为伴随式诊断检测，而将 *ROS1* 和神经营养性酪氨酸受体

激酶 (NTRK/pan-TRK) IHC 作为筛查检测。<sup>50,52,53</sup> 通常对 IB 期或以上非鳞状组织学的 NSCLC 手术样本进行分子检测。对于晚期 NSCLC, 首选组织活检。如果没有组织样本, 也可以考虑液体活检。此外, PD-L1 检测同样重要, 应同时进行。<sup>54,55</sup>

## 印度

印度的指南建议根据肿瘤医师的判断按顺序或同时检测。<sup>56</sup> 目前, 多数针对新基因靶点 (*BRAF*、*MET*、*RET*、*HER2* 和 *KRAS*) 的治疗方案在印度都不可用。因此, 这些基因并未纳入所有晚期 NSCLC 患者的常规分子检测中, 但可能会在一线治疗进展或产生耐药性的患者中进行检测。专家小组建议将 *EGFR*、*ALK*、*ROS1* 基因和 PD-L1 蛋白作为分子检测的一线生物标志物。<sup>56</sup>

根据肿瘤医生的判断和患者的经济能力, 建议进行单基因检测和 NGS。ARMS-PCR、数字 PCR 和 NGS 是检测 NSCLC *EGFR* 突变的首选方法。建议对 *ALK* 重排和 PD-L1 表达进行 IHC 检测, 而对 *ROS1* 重排进行 IHC 筛查, 然后通过 FISH 进行确认。

由于奥西替尼在一线治疗中的可用性有限, 患者经常在复发时通过液体活检进行 *EGFR* T790M 突变检测。然而, 如果液体活检结果呈阴性, 则建议他们进行肿瘤活检。

## 日本

日本的生物标志物检测受政府医疗保健政策的监管, 大多数预测性生物标志物检测均由健康保险承保。晚期肺癌患者通常在诊断后进行集中多重检测, 并对一些标准治疗后有病情进展的患者进行全面的基因组分析检测。<sup>57,58</sup> 在治疗指南方面, 日本肺癌协会 (JLCS) 发布肺癌治疗指南, 该指南由 GRADE 系统制定, 每年更新; 国际文献中已有部分总结。<sup>59</sup> 对于个体预测生物标志物, JLCS 生物标志物委员会在 *EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*、*MET*、*KRAS* 和多重检测的指导下促进分子检测的适当实施。*ALK*、<sup>60</sup>*MET*、<sup>61</sup> 多重检测<sup>58</sup> 指南均有英文版。

## 非洲和中东

非洲和中东地区既有高收入国家, 也有中低收入国家, 因此该地区 NSCLC 患者的生物标志物检测存在差异。与中东高收入国家不同, 撒哈拉以南非洲国家肺癌生物标志物检测的可用性非常有限。<sup>62,63</sup> 当地也缺乏检测专业知识。有的国家甚至可能都没有检测点, 或者检测点位于市中心, 导致检测周转时间延长。有些国家将检测业务外包给欧洲实验室进行分子检测。在大多数情况下, 患者承担检测费用。在南非等国家, 患者能否获得生物标志物检测和靶向治疗的机会, 部分取决于患者能否获得私营或公立的医疗保健服务。<sup>64</sup> 这也适用于诊断工具, 因为组织病理学实验室检测可能无法在全国范围内提供, 其他情况下的常规技术 (例如免疫组织化学) 可能也很难用到。<sup>65</sup> 这意味着在某些国家, 甚至都无法使用免疫组织化学对 NSCLC 进行基本组织学分型, 更不用说分子检测了。<sup>19</sup> 此外, 获得靶向治疗的机会非常有限,

大多数公共卫生系统通常不承担治疗费用。这一重大差距导致 NSCLC 患者护理遭到延迟，并阻碍了为这些患者提供最佳护理做出的努力。

## 结论

肺癌标准生物标志物检测指南的全球实施，取决于特定国家 / 地区的当地和区域因素，包括资源和基础设施是否可用、经济承受能力、政府或私营机构的报销政策、检测方法的获取以及药物审批机制。尽管各国对具体检测的建议并不一致，但 *EGFR*、*ALK*、*ROS1* 和 PD-L1 检测已得到广泛实施。随着新型靶向疗法的可用性提高，我们预计更多生物标志物检测类别会加入进来，向多重检测转变。

## 参考文献

- Alexander M, Kim SY, Cheng H. Update 2020: management of non-small cell lung cancer. *Lung*. 2020;198(6):897-907.
- Morgensztern D, Campo MJ, Dahlberg SE, et al. Molecularly targeted therapies in non-small-cell lung cancer annual update 2014. *J Thorac Oncol*. 2015;10(1 suppl 1):S1-63.
- Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):321-346.
- Nooreldeen R, Bach H. Current and future development in lung cancer diagnosis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16):8661.
- Kalemkerian GP, Narula N, Kennedy EB, et al. Molecular testing guideline for the selection of patients with lung cancer for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2018;36(9):911-919.
- Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, et al. Non-small cell lung cancer, version 3.2022, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Cancer Netw*. 2022;20(5):497-530.
- Hendriks LE, Kerr K, Menis J, et al. Oncogene-addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO clinical practice guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2023. [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(22\)04781-0/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(22)04781-0/fulltext).
- Guyatt GH. Evidence-based medicine. *ACP J Club*. 1991;114(2):A16.
- Institute of Medicine. *Clinical Practice Guidelines We Can Trust*. National Academies Press; 2011.
- Welcome to the GRADE Working Group. GRADE. 2004-2002. Updated January 21, 2021. <https://www.gradeworkinggroup.org/>.
- GuideLines Into DEcision Support (GLIDES). Yale School of Medicine. Updated January 21, 2021. <https://medicine.yale.edu/cmi/glides/>.
- Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358.
- Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2013;8(7):823-859.
- Leighl NB, Rekhtman N, Biermann WA, et al. Molecular testing for selection of patients with lung cancer for epidermal growth factor receptor and anaplastic lymphoma kinase tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology guideline. *J Clin Oncol*. 2014;32(32):3673-3679.

15. Kerr KM, Bibeau F, Thunnissen E, et al. The evolving landscape of biomarker testing for non-small cell lung cancer in Europe. *Lung Cancer Amst Neth.* 2021;154:161-175.
16. Horgan D, Curigliano G, Rieß O, et al. Identifying the steps required to effectively implement next-generation sequencing in oncology at a national level in Europe. *J Pers Med.* 2022;12(1):72.
17. Barta JA, Powell CA, Wisnivesky JP. Global epidemiology of lung cancer. *Ann Glob Health.* 2019;85(1):8.
18. Smeltzer MP, Wynes MW, Lantuejoul S, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer global survey on molecular testing in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2020;15(9):1434-1448.
19. Elhassan MMA, Mohamedani AA, Mohamed SAH, et al. Lung cancer in Sudan. *J Thorac Oncol.* 2022;17(4):489-498.
20. Sheikh HS, Munawar K, Sheikh F, Qamar MFU. Lung cancer in Pakistan. *J Thorac Oncol.* 2022;17(5):602-607.
21. Lung cancer worldwide. Editorial series. *J Thorac Oncol.* 2019-2022.
22. Robert NJ, Espirito JL, Chen L, et al. Biomarker testing and tissue journey among patients with metastatic non-small cell lung cancer receiving first-line therapy in the US Oncology Network. *Lung Cancer Amst Neth.* 2022;166:197-204.
23. Bruno DS, Hess LM, Li X, Su EW, Patel M. Disparities in biomarker testing and clinical trial enrollment among patients with lung, breast, or colorectal cancers in the United States. *JCO Precis Oncol.* 2022;6:e2100427.
24. Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, et al. Liquid biopsy for advanced NSCLC: a consensus statement from the International Association for the Study of Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2021;16(10):1647-1662.
25. Djalalov S, Beca J, Hoch JS, et al. Cost effectiveness of EML4-ALK fusion testing and first-line crizotinib treatment for patients with advanced ALK-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2014;32(10):1012-1019.
26. Ontario Health (Quality). Cell-free circulating tumour DNA blood testing to detect EGFR T790M mutation in people with advanced non-small cell lung cancer: a health technology assessment. *Ont Health Technol Assess Ser.* 2020;20(5):1-176.
27. Makarem M, Ezeife DA, Smith AC, et al. Reflex ROS1 IHC screening with FISH confirmation for advanced non-small cell lung cancer—a cost-efficient strategy in a public healthcare system. *Curr Oncol Tor Ont.* 2021;28(5):3268-3279.
28. Ezeife DA, Spackman E, Juergens RA, et al. The economic value of liquid biopsy for genomic profiling in advanced non-small cell lung cancer. *Ther Adv Med Oncol.* 2022;14:17588359221112696.
29. Ellis PM, Blais N, Soulieres D, et al. A systematic review and Canadian consensus recommendations on the use of biomarkers in the treatment of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2011;6(8):1379-1391.
30. Melosky B, Blais N, Cheema P, et al. Standardizing biomarker testing for Canadian patients with advanced lung cancer. *Curr Oncol Tor Ont.* 2018;25(1):73-82.
31. Stockley T, Souza CA, Cheema PK, et al. Evidence-based best practices for EGFR T790M testing in lung cancer in Canada. *Curr Oncol Tor Ont.* 2018;25(2):163-169.
32. Melosky B, Cheema P, Agulnik J, et al. Canadian perspectives: update on inhibition of ALK-positive tumours in advanced non-small-cell lung cancer. *Curr Oncol Tor Ont.* 2018 Oct;25(5):317-328.
33. Cheema PK, Gomes M, Banerji S, et al. Consensus recommendations for optimizing biomarker testing to identify and treat advanced EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. *Curr Oncol Tor Ont.* 2020;27(6):321-329.
34. Bebb DG, Banerji S, Blais N, et al. Canadian consensus for biomarker testing and treatment of TRK fusion cancer in adults. *Curr Oncol Tor Ont.* 2021;28(1):523-548.
35. Ionescu DN, Stockley TL, Banerji S, et al. Consensus recommendations to optimize testing for new targetable alterations in non-small cell lung cancer. *Curr Oncol Tor Ont.* 2022;29(7):4981-4997.
36. Cutz JC, Craddock KJ, Torlakovic E, et al. Canadian anaplastic lymphoma kinase study: a model for multicenter standardization and optimization of ALK testing in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2014;9(9):1255-1263.
37. Torlakovic E, Albadine R, Bigras G, et al. Canadian multicenter project on standardization of programmed death-ligand 1 immunohistochemistry 22C3 laboratory-developed tests for pembrolizumab therapy in NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2020;15(8):1328-1337.



38. Cheung CC, Smith AC, Albadine R, et al. Canadian ROS proto-oncogene 1 study (CROS) for multi-institutional implementation of ROS1 testing in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth.* 2021;160:127-135.
39. Leighl NB, Kamel-Reid S, Cheema PK, et al. Multicenter validation study to implement plasma epidermal growth factor receptor T790M testing in clinical laboratories. *JCO Precis Oncol.* 2020;4:520-533.
40. Thunnissen E, Weynand B, Udovicic-Gagula D, et al. Lung cancer biomarker testing: perspective from Europe. *Transl Lung Cancer Res.* 2020;9(3):887-897.
41. Horgan D, Ciliberto G, Conte P, et al. Bringing greater accuracy to Europe's healthcare systems: the unexploited potential of biomarker testing in oncology. *Biomed Hub.* 2020;5(3):182-223.
42. Horgan D, Ciliberto G, Conte P, et al. Bringing onco-innovation to Europe's healthcare systems: the potential of biomarker testing, real world evidence, tumour agnostic therapies to empower personalised medicine. *Cancers.* 2021;13(3):583.
43. Hofman P, Rouleau E, Sabourin JC, et al. Predictive molecular pathology in non-small cell lung cancer in France: the past, the present and the perspectives. *Cancer Cytopathol.* 2020;128(9):601-610.
44. Griesinger F, Eberhardt W, Nusch A, et al. Biomarker testing in non-small cell lung cancer in routine care: analysis of the first 3,717 patients in the German prospective, observational, nation-wide CRISP registry (AIO-TRK-0315). *Lung Cancer Amst Neth.* 2021;152:174-184.
45. Salas C, Martín-López J, Martínez-Pozo A, et al. Real-world biomarker testing rate and positivity rate in NSCLC in Spain: Prospective Central Lung Cancer Biomarker Testing Registry (LungPath) from the Spanish Society of Pathology (SEAP). *J Clin Pathol.* 2022;75(3):193-200.
46. Provencio M, Cobo M, Rodriguez-Abreu D, et al. Determination of essential biomarkers in lung cancer: a real-world data study in Spain with demographic, clinical, epidemiological and pathological characteristics. *BMC Cancer.* 2022;22(1):732.
47. Steeghs EMP, Groen HJM, Schuurin E, et al. Mutation-tailored treatment selection in non-small cell lung cancer patients in daily clinical practice. *Lung Cancer Amst Neth.* 2022;167:87-97.
48. Tufman A, Redmond K, Giannopoulou A, et al. Patient perception of burden of disease and treatment preferences in non-small cell lung cancer: results from a European survey. *Lung Cancer Amst Neth.* 2022;168:59-66.
49. John T, Cooper WA, Wright G, et al. Lung cancer in Australia. *J Thorac Oncol.* 2020;15(12):1809-1814.
50. Chinese Society of Pathology, Pathology Quality Control Center; Chinese Medical Association Chinese Society of Oncology; China Anti-Cancer Association Chinese Society of Lung Cancer; Chinese Thoracic Oncology Group. Guidelines on clinical practice of molecular tests in non-small cell lung cancer in China. Article in Chinese. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2021;50(4):323-332.
51. Hong DS, DuBois SG, Kummar S, et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. *Lancet Oncol.* 2020;21(4):531-540.
52. Davies KD, Lomboy A, Lawrence CA, et al. DNA-based versus RNA-based detection of MET exon 14 skipping events in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(4):737-741.
53. Wu YL, Tsuboi M, He J, et al. Osimertinib in resected EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2020;383(18):1711-1723.
54. Chinese Anti-Cancer Association, Lung Cancer Study Group of Committee of Oncopathology; Chinese Society of Lung Cancer; Expert Group on PD-L1 Testing Consensus. Chinese expert consensus on standards of PD-L1 immunohistochemistry testing for non-small cell lung cancer. Article in Chinese. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* 2020;23(9):733-740.
55. Felip E, Altorki N, Zhou C, et al. Adjuvant atezolizumab after adjuvant chemotherapy in resected stage IB-IIIa non-small-cell lung cancer (IMpower010): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 trial. *Lancet.* 2021;398(10308):1344-1357.
56. Prabhaskar K, Advani SH, Batra U, et al. Biomarkers in non-small cell lung cancers: Indian consensus guidelines for molecular testing. *Adv Ther.* 2019;36(4):766-785.
57. Motoi N, Yatabe Y. Lung cancer biomarker tests: the history and perspective in Japan. *Transl Lung Cancer Res.* 2020;9(3):879-886.
58. Yatabe Y, Sunami K, Goto K, et al. Multiplex gene-panel testing for lung cancer patients. *Pathol Int.* 2020;70(12):921-931.

59. Ninomiya K, Teraoka S, Zenke Y, et al. Japanese Lung Cancer Society guidelines for stage IV NSCLC with EGFR mutations. *JTO Clin Res Rep*. 2021;2(1):100107.
60. Mitsudomi T, Yatabe Y, Akita H, et al.; Biomarker Committee, the Japan Lung Cancer Society. *Guidance for ALK Gene Testing in Lung Cancer Patients*. Version 1.2. Japan Lung Cancer Society;2011. <https://www.haigan.gr.jp/uploads/files/photos/641.pdf>.
61. Yatabe Y, Goto K, Matsumoto S, et al. METex14 skipping testing guidance for lung cancer patients: the guidance from the Biomarker Committee, the Japan Lung Cancer Society. *Haigan*. 2021;61(5):361-370. <https://doi.org/10.2482/haigan.61.361>.
62. Slavik T, Asselah F, Fakhruddin N, et al. Diagnosis and predictive molecular analysis of non-small-cell lung cancer in the Africa-Middle East region: challenges and strategies for improvement. *Clin Lung Cancer*. 2014;15(6):398-404.
63. Niyibizi BA, Muhizi E, Ndoli DA, et al. Lung cancer in Rwanda. *J Thorac Oncol*. 2022;17(9):1074-1077.
64. van Eeden R, Tunmer M, Geldenhuys A, Nayler S, Rapoport BL. Lung cancer in South Africa. *J Thorac Oncol*. 2020;15(1):22-28.
65. Patel K, Strother RM, Ndiangui F, et al. Development of immunohistochemistry services for cancer care in western Kenya: implications for low- and middle-income countries. *Afr J Lab Med*. 2016;5(1):187.





# 表皮生长因子受体

Helena Yu、Fernando Lopez-Rios、Dong-Wan Kim、  
Julia K. Rotow 和 Jordi Remon

# 7

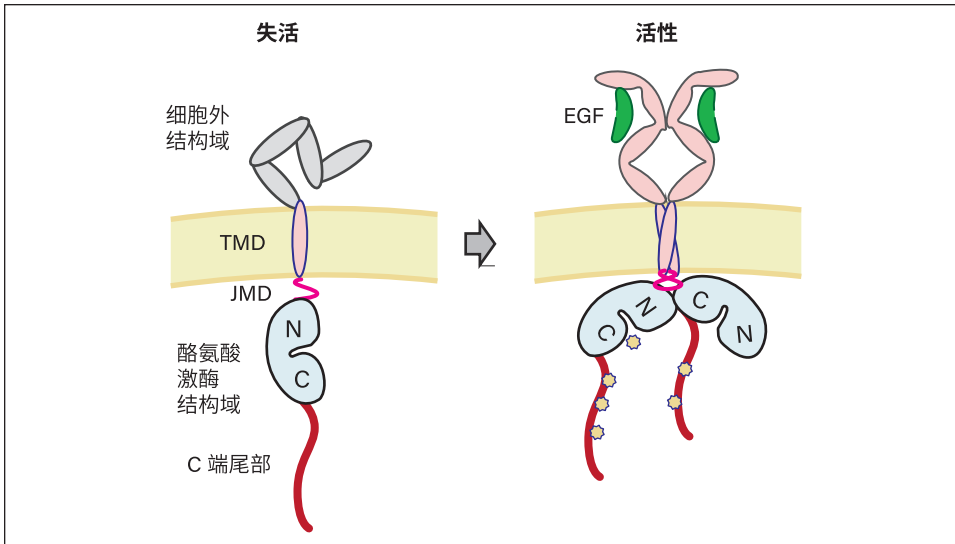
## 基因结构和功能

表皮生长因子受体 (EGFR/ErbB1) 以及 ErbB2 (HER2)、ErbB3 (HER3) 和 ErbB4 (HER4) 均为 *ERBB* 受体家族的成员。这些受体家族成员在配体结合后发出同源二聚体和异源二聚体信号，但 HER2 除外，它会在缺乏已知配体的情况下参与二聚体化。<sup>1</sup>EGFR 蛋白是一种跨膜受体酪氨酸激酶，包含细胞外结构域 (ECD)、跨膜结构域 (TMD)、近膜结构域 (JMD)、酪氨酸激酶结构域 (TKD) 和 C 末端尾部。<sup>2</sup>

在与包括表皮生长因子 (EGF)、转化生长因子  $\alpha$  (TGF $\alpha$ )、双调蛋白 (AREG) 等<sup>2</sup> 各种配体结合后，ECD 中的构象变化允许受体二聚体化。<sup>3</sup> 这种二聚体化会诱导 TKD 的 C 端小叶和 N 端小叶之间发生不对称交互作用，导致受体酪氨酸激酶和 C 末端尾部的磷酸化位点发生自磷酸化。经证明，JMD 可以通过近膜锁定机制来稳定这种交互作用(图 7-1)。<sup>4,5</sup> 在 TKD 内，这种磷酸化会引起  $\alpha$ C 螺旋定位的构象变化，从而导致激活环定位发生构象变化，而激活环定位会采用允许底物结合的开放构象。<sup>6</sup> 在 C 末端尾部，磷酸化对接位点与下游信号传导的其他介体相结合。EGFR 的激活最终会促进多个下游信号通路的激活，包括丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、磷脂酰肌醇 3- 激酶 (PI3K)/AKT 和 Janus 激酶 (JAK)/ 信号转导和转录激活因子 (STAT) 通路，促进细胞生长和存活。<sup>7</sup>

## 流行病学、临床和组织学特征

*EGFR* 突变的全球发病率各不相同，欧洲人群中肺腺癌发病率约为 12%，北美人群中约为 15%，而亚洲人群中约为 49%。<sup>8</sup> 女性患者、无吸烟史患者和年轻患者中的发病率最高。<sup>9</sup> 检测对所有腺癌患者来说都非常重要，因为在所有肺癌患者群体中都可以



**图 7-1.** EGFR 蛋白质结构处于非活性构象和活性构象。配体 EGF 的结合诱导构象变化，从而允许蛋白质二聚体化。酪氨酸激酶结构域之间的交互作用允许激酶催化激活以及下游信号转导介质在 C 端末端尾部的对接。缩略词：EGF = 表皮生长因子；C = C 端小叶；JMD = 近膜结构域；N = N 端小叶；TMD = 跨膜结构域。（改编自 Jura 等，<sup>4</sup>）

检测到 *EGFR* 激活突变。例如，在 1 个病例系列中，虽然有 52% 的无吸烟史患者存在 *EGFR* 激活突变，但在 21% 有吸烟史的患者和 6% 持续吸烟的患者中，也发现了 *EGFR* 突变。<sup>10</sup> 同样，虽然 *EGFR* 突变在具有鳞状组织学的非小细胞肺癌 (NSCLC) 中并不常见，但其仍会被检测出来，特别是在具有其他典型人口学特征（例如，从不吸烟者）或混合型腺鳞病组织学的患者中，不过发病率较低。<sup>11</sup>

目前，对 *EGFR* 突变进行分子流行病学解释时应非常慎重，因为频率是由不同的检测策略决定的，而这需要考虑 *EGFR* 突变的地理异质性。例如，在高发地区使用实时聚合酶链反应 (PCR) 可能更为明智，虽然这种方式会遗漏一些不太常见的复合突变。<sup>12</sup> 相反，使用下一代测序 (NGS) 可能会改变我们对罕见突变频率的理解。<sup>13</sup>

## 检测策略

所有参与肺癌生物标志物检测的人员都需要了解不同 *EGFR* 突变检测技术的性能指标（表 7-1）。<sup>14,15</sup> 下一节讨论了可用于 *EGFR* 突变检测的几种技术类型。最初发现 *EGFR* 突变时，主要使用直接（或桑格）测序和快速 PCR 方法。<sup>16,17</sup> 在过去 20 年中，人们最先研发了商业实时 PCR 检测方法，随后在临床中开始应用 NGS 检测组合。<sup>18-20</sup> 因此，它们成为两种最常用的 *EGFR* 突变检测技术。此外，美国食品药品监督管理局 (FDA) 还批准了几种实时 PCR 检测方法和 NGS 检测组合。大多数国家和国际指南会建议进行全面的生物标志物检测。因此，越来越多的人采用基于 NGS 的 *EGFR* 检测。<sup>21,22</sup>

分析灵敏度（通常简称灵敏度）是检测限，指给定样品中能够检测到的肿瘤细胞的最小百分比。诊断灵敏度与检测的全面性或给定检测中可检测到的基因所描述的

表 7-1. EGFR 突变检测方法

技术	分析灵敏度	诊断灵敏度	变异体的精确注释	报告的等位基因频率	输入 DNA	成本	检测周转时间
PCR 和直接测序	最低	优秀	是	否	高	最低	3-4 天
PCR 和焦磷酸测序	可变的	中等	有时	否	高	低	3-4 天
实时 PCR	高	中等	有时	否	低	低	几小时至 1-2 个工作日
数字 PCR	最高	低	是	否	最低	低	几小时至 1-2 个工作日
基于扩增子的靶向 NGS	可变的 (高)	可变的 (高)	是	是	低	中等	1-2 至 10 个工作日
杂交捕获的靶向 NGS	可变的 (高)	可变的 (高)	是	是	高	中等	15-20 天
全外显子 NGS	可变的	优秀	是	是	高	高	数周
全基因组 NGS	可变的	优秀	是	是	高	最高	数周

缩略词：NGS = 下一代测序；PCR = 聚合酶链反应。

改编自 Pao 等<sup>14</sup>；Pennell 等。<sup>15</sup>

所有突变的百分比有关。<sup>15</sup> 因此，其中一些检测方法无法区分变体（即，结果显示为“检测到突变”与“未检测到突变”，或“19 号外显子缺失，如未另行指定”），只有 NGS 检测组合才可以提供可靠的等位基因比例估值。成功率通常与样本中存在的 DNA 量有关，因为与基于扩增子的 NGS 检测或实时 PCR 检测相比，杂交捕获的 NGS 检测组合需要更多的输入 DNA。最后，值得强调的是，极速实时 PCR 试剂盒以及全自动 NGS 工作流程所需的操作时间最少，可在 1 至 2 天内报告结果。<sup>23-25</sup>

## EGFR 改变类型及临床意义

为了更好地了解 NSCLC 患者 EGFR 突变的检测策略和临床意义，有必要将其分为以下 5 类。

### 1. 常见突变

最常见的激活 EGFR 突变是 19 号外显子框内缺失（氨基酸残基 747-750）和 21 号外显子的 L858R 点突变，占有 EGFR 突变的 80% 至 85%。<sup>21</sup> 存在这些突变的 NSCLC 患者对 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 反应良好，并且 EGFR TKI 是目前晚期 / 转移性疾病一线治疗的护理标准。与一线铂化疗相比，第一代 EGFR TKI（包括吉非替尼和厄洛替尼）以及第二代 EGFR TKI（如阿法替尼或达可替尼）显示出明显的统计学优势，患者的无进展生存期 (PFS) 更长。<sup>26-30</sup> 在一项 2 期试验中，与吉非替尼相比，使用阿法替尼的患者有更长的 PFS，但总生存期 (OS) 率没有差异。<sup>31,32</sup> 同样，在一项 3 期试验中，与吉非替尼相比，另一种第二代 EGFR TKI 达可替尼明显改善了 PFS，但 OS 没有明显改善 ( $p$  值需要达到 0.025，而实际  $p$  值达到了 0.04)。然而，与阿法替尼试验相反，达可替尼试验中不允许有脑转移瘤患者。<sup>33-35</sup> 此外，与吉非

替尼相比，尽管第二代 EGFR TKI 的效果更好，但其相关毒性发生率更高，包括皮疹和腹泻。<sup>31,33</sup>

奥西替尼是第三代 EGFR TKI，最初是针对在 1 期 AURA 和 3 期 AURA3 研究中第一代或第二代 EGFR TKI 失败后出现获得性耐药性 T790M 突变的患者而研发的。<sup>36-38</sup> 奥西替尼在 AURA 研究中的初治患者队列中展现出了令人鼓舞的疗效，<sup>39</sup> 因此 FLAURA 研究也对其在一线治疗中的使用情况进行了评估。在这项研究中，患有晚期 / 转移性 EGFR 19 号外显子缺失和 21 号外显子 L858R 点突变的初治患者被随机分配至奥西替尼组、厄洛替尼或吉非替尼组。研究表明，奥西替尼显著改善了主要终点 PFS，并且后续的 OS 分析也展示了奥西替尼的优势。<sup>40,41</sup> 此外，与第一代 EGFR TKI 相比，奥西替尼改善了中枢神经系统 (CNS) 活性。<sup>42</sup> 目前，奥西替尼是晚期 / 转移性疾病一线治疗的首选治疗方案。然而，在 EGFR 突变晚期 NSCLC 患者的一线治疗中，第三代 EGFR TKI 阿美替尼<sup>43</sup>、伏美替尼<sup>44</sup> 和拉泽替尼<sup>45</sup> 的 PFS 率比吉非替尼更长。此外，在一线治疗中，MARIPOSA 试验 (NCT04487080) 对拉泽替尼联合埃万妥单抗（一种 EGFR-MET 双特异性单克隆抗体）组合进行了评估；FLAURA2 试验 (NCT04035486) 评估了在奥西替尼基础上加入铂化疗的益处；ECOG-ACRIN 5182 3 期研究 (NCT04181060) 则评估了奥西替尼联合或不联合贝伐珠单抗疗法。近期，一项辅助临床试验显示，与安慰剂相比，奥西替尼在手术切除的 IB 至 IIIA 期 EGFR 突变阳性 NSCLC 患者中，明显改善了患者的无病生存期。<sup>46</sup>

## 2. 罕见 (或非典型) 突变

罕见或非典型突变包括除 19 号外显子缺失、L858R 和 T790M 突变之外的所有突变。最常见的有 18 号外显子 G719X 突变（占有 EGFR 突变的 0.9%-4.8%）、21 号外显子 L861X 突变（占有 EGFR 突变的 0.5%-3.5%）和 20 号外显子 S768I 突变（占有 EGFR 突变的 0.5%-2.5%）。<sup>47</sup> 这些突变非常罕见，并且未包含在一些较为有限的检测组合中，因此可能需要通过 NGS 来识别它们；寻找这些罕见突变非常重要，因为它们可能对 EGFR TKI 很敏感。这些非典型 EGFR 突变对吉非替尼或厄洛替尼有临床反应；然而，其总缓解率 (ORR) 和 PFS 率要低于常见 EGFR 突变。<sup>48,49</sup> 阿法替尼对 G719X、L861Q 和 S768I 突变具有活性，并已获得 FDA 批准。<sup>50,51</sup> 在一项单臂 2 期研究<sup>52</sup> 以及一项现实生活回顾性研究<sup>53</sup> 中，奥西替尼对罕见突变也显示出具有临床意义的活性。

EGFR 中不太常见但具有临床意义的改变包括激酶结构域复制 (KDD) 和致癌 EGFR 融合。EGFR-KDD 患者对 EGFR TKI 具有临床反应，缓解持续时间各异。<sup>54-56</sup> KDD 是在 ERBB 家族成员中发现的一种罕见激活基因组改变。EGFR-KDD 则是由 EGFR TKD (18-25 号外显子) 串联框内复制引起的。此类突变发生在 NSCLC 病例中的比例高达 1.4%，并且在其他实体肿瘤中也有发现，最常见的是神经胶质瘤和胃肠道 (GI) 恶性肿瘤。EGFR-KDD 会产生一种蛋白质，可以在无需 EGF 配体结合的情况下形成组成性活性分子内 TKD 二聚体。<sup>57</sup> 致癌 EGFR 融合是另一种罕见的驱动

改变，在 NSCLC 病例中所占比例为 0.5% 至 0.13%。这些病例所报告的 *EGFR* 融合配对有所不同，其中最常见的是 *EGFR-RAD51* 融合。<sup>58</sup> 这些融合能够驱动二聚体化和致癌信号传导，并可能影响 *EGFR* 蛋白降解。<sup>59</sup> 几个病例系列已证明 *EGFR* TKI 疗法对激活 *EGFR* 融合具有活性。<sup>59,60</sup>

历史证明，*EGFR* 扩增和过表达已成为 *EGFR* 靶向治疗反应的生物标志物。虽然 *EGFR* 过表达未能作为 *EGFR* TKI 疗法活性的可靠生物标志物，<sup>61</sup> 在 *EGFR* TKI 疗法获得性耐药性 (AR) 时获取 *EGFR* 扩增或过表达，以管理经典可操作的 *EGFR* 驱动突变，仍然是一个备受关注的临床研究领域。<sup>62,63</sup>

### 3. *EGFR* 20 号外显子插入

*EGFR* 20 号外显子插入是非典型突变中最常见的一种（占有所有 *EGFR* 突变的 0.8%-4.2%）。<sup>12,13,47</sup> 从生物学和临床的角度来看，它们现在是可操作的，但非常具有异质性，因此需要通过 NGS 来检测 20 号外显子插入的完整范围，并提供变异体的精确注释。<sup>21</sup> *EGFR* 20 号外显子插入患者对传统的 *EGFR* TKI 反应不佳，FQEA 亚型除外。<sup>50,64</sup> 波齐替尼是一种不可逆的 *EGFR* TKI，对 *EGFR* 20 号外显子插入患者显示出临床活性，但其毒性发生率较高（如皮疹和腹泻），会导致频繁的剂量中断和减少，进而致使 PFS 持续时间相对较短。<sup>65,66</sup> 最近，在铂类难治性 NSCLC 中，一种新型 *EGFR* TKI 莫博替尼<sup>67</sup> 和埃万妥单抗<sup>68</sup> 与历史对照相比，可改善 ORR 和 PFS 率。因此，FDA 已加速批准莫博替尼和埃万妥单抗用于治疗患有转移性 NSCLC 和 *EGFR* 20 号外显子插入突变、在铂化疗期间或之后出现疾病进展的患者。舒沃替尼、CLN081 和伏美替尼等其他药物也正在该人群中进行试验，初步取得了可喜的成果。<sup>69-71</sup>

### 4. 复合突变

复合突变也被称为双重突变、复杂突变或多发突变，因为根据定义，这些突变是同一标本中的多个非依赖性 *EGFR* 突变，占有所有 *EGFR* 突变的 4% 至 26%。复合突变包括以下任何组合类型：常见突变和常见突变 (10%-20%)、常见突变和罕见突变 (30%-50%)、2 个罕见突变 (25%-40%)，还存在常见或罕见突变和从新开始的 T790M 突变这一情况 (10%-50%)。<sup>72</sup>

### 5. 耐药性突变

在最初接受第一代和第二代 *EGFR* TKI 治疗的 *EGFR* 突变肺癌患者中，50% 至 60% 的病例可能会发生 20 号外显子的 AR *EGFR* T790M 突变，致使患者在这种情况下对奥西替尼疗效敏感。<sup>37</sup>

对于那些最初在一线接受奥西替尼治疗的患者而言，奥西替尼的 AR 机制异质且复杂。<sup>73</sup> 该机制可分为 3 个主要类别（图 7-2）：靶点耐药 (10%-20%)、通过激活旁路致癌通路产生的非靶点耐药 (30%-60%) 和组织学转化 (5%-15%)。这些机制的表征可能会为后续治疗的选择或将患者纳入临床试验提供可操作性见解。因此，建议在疾病



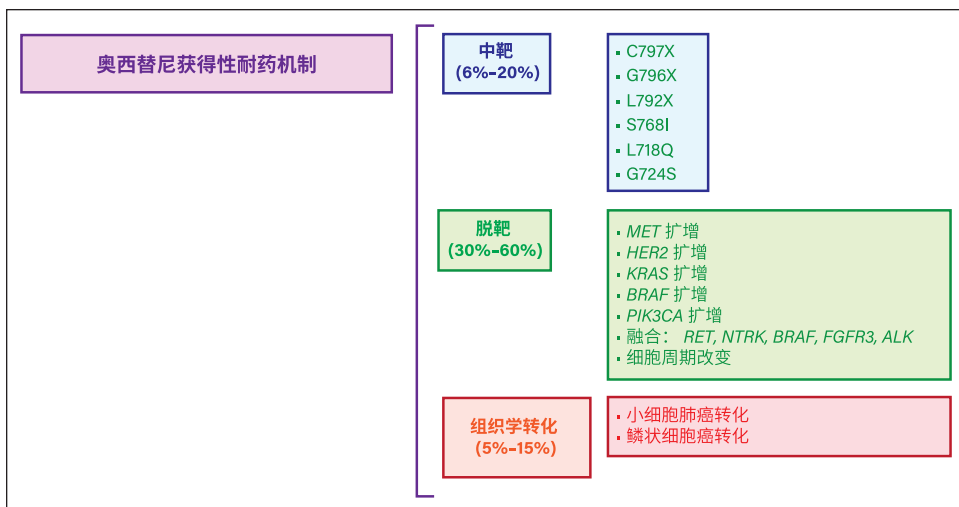


图 7-2. 奥西替尼获得性耐药性机制

进展时重新活检（液体活检或组织活检，或两者均进行）。<sup>21</sup> 值得注意的是，液体活检不会捕获组织学转化这种 AR 机制。然而，在多达一半的患者中，奥西替尼的 AR 机制仍然未知，这可能与次优 TKI 血浆浓度有关。<sup>74</sup> 在最近的一项前瞻性 2 期队列（ELIOS 研究）中，只有 39% 的患者在奥西替尼治疗进展时进行了配对组织活检。在该研究中，15% 的病例报告了靶点耐药，17% 的病例发生了旁路机制。这些数据凸显了取得进展后组织活检所面临的挑战，强调了对更全面的无创检测方法的需求。<sup>75</sup>

### 奥西替尼治疗靶点耐药

奥西替尼通过不可逆地结合 20 号外显子 C797 残基来选择性阻断突变 EGFR。该位点的突变是最常见的 AR EGFR 依赖性机制，通常是丝氨酸的替代物导致了 C797S 突变。临床环境中 C797X 的发生率因奥西替尼的治疗线而异（一线治疗为 7%，二线治疗为 15%-22%）。<sup>76-78</sup> 在二线治疗中，为克服 T790M 阳性和顺式获得性 C797X 突变的奥西替尼耐药 NSCLC 病例（等位基因相同，占此类病例的 66%），研究人员已研发了第四代 EGFR TKI，如 EAI045、JBJ-04-1252、BBT-176 和 BLU-945，并报告了临床前活性。<sup>79-81</sup> 在 1 期 SYMPHONY 研究（NCT04862780）中，BLU-945 联合奥西替尼在 11 名 EGFR/T790M/C797S 阳性奥西替尼耐药 NSCLC 患者中报告了剂量依赖性临床活性。同样，在获得性 C797X 突变和反式 T790M 突变（不同等位基因，占此类病例的 34%）患者的二线治疗中，临床前数据和一些病例报告支持第一代或第二代 EGFR TKI 联合奥西替尼的组合法。<sup>73,82</sup> 最后，在奥西替尼失败后，在没有 T790M 突变共存的 C797X 突变肿瘤一线治疗中使用第一代或第二代 EGFR TKI 可能是一种治疗方案。<sup>73</sup> 在这种情况下，临床前模型表明 OBX02-011 和 BLU-701 可能是一种有前景的新型 EGFR TKI，可克服 NSCLC 中 C797S 介导的耐药性。<sup>83</sup> 事实上，据报道，BLU-701 是一种可以渗透入脑的药物 ( $K_{p_{uu}} > 0.9$ )。<sup>83</sup> 然而，上述所有策略的临床证据仍然有限，包含或不含免疫检查点抑制剂和贝伐珠单抗的铂化疗是

标准的二线治疗方案。<sup>83,84</sup> 然而，在 CheckMate 722 试验的结果公布后，化疗加免疫疗法在这种情况下的作用仍然存在争议，因为与单独化疗相比，该试验并没有报告采用这种策略所达到的 PFS 和 OS。<sup>86</sup> 近期，抗体药物偶联 (ADC) 药物，例如抗 HER3 patritumab deruxtecyan<sup>87</sup> 和抗滋养层细胞表面抗原 2 (TROP2) datopotamab deruxtecan,<sup>88</sup> 证明了包含已知和未知 EGFR TKI 耐药机制的临床活性，表明当生物标志物驱动的方法不可行或缺乏特定 AR 机制的情况下，这些药物可作为潜在的诊断性治疗策略。

### 非靶点耐药性

*MET* 扩增是最常见的奥西替尼 AR 非靶点耐药机制（一线和二线奥西替尼分别为 15% 和 20%，均是在液体活检中检测到的，而这种检测方法可能会低估真实的发生率）。<sup>76,77</sup> 值得注意的是，不同的诊断工具和不同临床试验中使用的 *MET* 扩增定义不一致，这导致临床实践中对 *MET* 抑制剂的使用有些混乱。目前，使用最广的 *MET* 扩增定义是存在 5 个及以上 *MET* 基因拷贝数或 *MET/CEP7* 比率达到 2 及以上。<sup>89</sup> *MET* 扩增耐药会触发 ERBB3 的 EGFR 非依赖性磷酸化和下游 PI3K/AKT 通路激活，即使存在 EGFR 抑制剂，也能提供旁路途径。<sup>90</sup>

传统上，临床上已经通过在 EGFR TKI 中添加 *MET* TKI 来解决这种 AR 机制，并且该组合疗法的疗效已在多项 1 期和 2 期临床试验<sup>91-94</sup> 以及最近的 INSIGHT2 和 SAVANNAH 试验中得到证实。<sup>95,96</sup> 事实上，初步数据表明，与标准化疗相比，这种个性化策略改善了结果<sup>89</sup>；然而，这一点必须在正在进行的随机 3 期临床试验中得到证实：包括 GEOMETRY-E (NCT04816214)、SAFFRON (NCT05261399) 和 MARIPOSA-2 (NCT04988295)。同样，埃万妥单抗联合拉泽替尼疗法也报告了奥西替尼复发 NSCLC 的临床活性。不管患者之前接受过何种化疗，该疗法的益处都是相似的，并且在 EGFR/*MET* 耐药患者中均出现反应，无论他们是否已确定存在耐药性。但对于免疫组织化学 (IHC) 评分呈阳性 (EGFR + *MET* 评分  $\geq 400$ ) 的患者，该疗法的结果令人非常感兴趣。<sup>63,97</sup> 最后，对于奥西替尼复发 NSCLC，奥西替尼和 telisotuzuamb（一种 ADC 抗 *MET*）联合用药在 *MET* 过表达肿瘤（3+ 强度下  $\geq 25\%$  的肿瘤细胞）中显示出活性。<sup>98</sup> 尽管 *MET* 表达是一种简单的生物标志物，但不同肿瘤区域之间通过 IHC 进行的患者分类可能存在高达 40% 的差异。<sup>99</sup>

根据已确定的耐药模式，研究人员也已通过其他旁路耐药机制对奥西替尼与特定 TKI 的疗效进行了探索，例如 *RET* 融合<sup>100,101</sup> 和 *BRAF V600E* 突变<sup>102,103</sup>，尽管相关证据仍然有限。ORCHARD 试验 (NCT03944772) 前瞻性地评估了与奥西替尼不同组合方法一同使用时，生物标志物驱动策略在进展中的作用。值得注意的是，patritumab deruxtecyan<sup>87</sup> 报告了各种 EGFR TKI AR 机制（包括旁路机制）的功效。最后，针对 T790M 阴性肿瘤的其他潜在诊断性治疗方案是奥西替尼联合耐昔妥珠单抗（一种抗 EGFR 单克隆抗体）<sup>104</sup> 或司美替尼（MAPK 激酶 / 细胞外信号调节激酶 [MEK/ERK] 抑制剂）的组合疗法。<sup>105</sup>

## 组织学转化

AR 的组织学转化机制与不良临床结果相关。存在基线 *TP53* 或 *Rb* 突变和超突变 APOBEC 特征的肿瘤，以及获得性 *TERT* 扩增的肿瘤，其小细胞肺癌 (SCLC) 的转化风险更高。<sup>106,107,108</sup> SCLC 转化肿瘤保留 *EGFR* 突变，<sup>109</sup> 这表明这些不是非依赖性新发癌症。尽管铂依托泊苷化疗是标准治疗方法，但其疗效有限。<sup>110</sup> 据报道，无论是在几线治疗，奥西替尼复发肿瘤发生鳞状细胞癌转化的比例为 15%。<sup>62</sup> 发生鳞状转化的肿瘤表现出相当大的基因组复杂性，目前尚不清楚联合或不联合免疫检查点抑制剂的化疗是否应为最佳治疗方法。

## 液体活检的作用

在日常实践中，由于进展性疾病的位置或大小不同，并非所有开始使用第一代、第二代或第三代 EGFR TKI 治疗的患者都适合在进展期进行新的组织活检，因为组织活检可能会导致治疗启动延迟。此外，肿瘤异质性是一个众所周知的问题，该问题导致转移部位的单一组织活检无法代表肿瘤进展期整个基因组的现状。<sup>111-113</sup> 因此，液体活检已被确立为适用于基线期以及 AR 期的良好基因组分析工具。目前，大多数一线奥西替尼的 AR 机制都是基于液体活检评估进行报告的。<sup>76</sup> (另见第 4 章。)

## 参考文献

1. Du Z, Lovly CM. Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer. *Mol Cancer*. 2018;17(1):58. doi:10.1186/s12943-018-0782-4.
2. Purba ER, Saita EI, Maruyama IN. Activation of the EGF receptor by ligand binding and oncogenic mutations: the "rotation model." *Cells*. 2017;6(2):13. doi:10.3390/cells6020013.
3. Burgess AW, Cho HS, Eigenbrot C, et al. An open-and-shut case? recent insights into the activation of EGF/ErbB receptors. *Mol Cell*. 2003;12(3):541-552. doi:10.1016/s1097-2765(03)00350-2.
4. Jura N, Endres NF, Engel K, et al. Mechanism for activation of the EGF receptor catalytic domain by the juxtamembrane segment [published correction appears in *Cell*. 2009;138(3):604]. *Cell*. 2009;137(7):1293-1307. doi:10.1016/j.cell.2009.04.025.
5. Red Brewer M, Choi SH, Alvarado D, et al. The juxtamembrane region of the EGF receptor functions as an activation domain. *Mol Cell*. 2009;34(6):641-651. doi:10.1016/j.molcel.2009.04.034.
6. Zhang X, Gureasko J, Shen K, Cole PA, Kuriyan J. An allosteric mechanism for activation of the kinase domain of epidermal growth factor receptor. *Cell*. 2006;125(6):1137-1149. doi:10.1016/j.cell.2006.05.013.
7. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001;2(2):127-137. doi:10.1038/35052073.
8. Melosky B, Kambartel K, Häntschel M, et al. Worldwide prevalence of epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Mol Diagn Ther*. 2022;26(1):7-18. doi:10.1007/s40291-021-00563-1.
9. Zhang YL, Yuan JQ, Wang KE, et al. The prevalence of EGFR mutation in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2016;7(48):78985-78993. doi:10.18632/oncotarget.12587.
10. D'Angelo SP, Pietanza MC, Johnson ML, et al. Incidence of EGFR exon 19 deletions and L858R in tumor specimens from men and cigarette smokers with lung adenocarcinomas. *J Clin Oncol*. 2011;29(15):2066-2070. doi:10.1200/JCO.2010.32.6181.
11. Ho HL, Kao HL, Yeh YC, Chou TY. The importance of EGFR mutation testing in squamous cell carcinoma or non-small cell carcinoma favor squamous cell carcinoma diagnosed from small lung biopsies. *Diagn Pathol*. 2019;14(1):59. doi:10.1186/s13000-019-0840-2.

12. Lin HM, Yin Y, Crossland V, Wu Y, Ou SI. EGFR testing patterns and detection of EGFR exon 20 insertions in the United States. *JTO Clin Res Rep*. 2022;3(3):100285. doi:10.1016/j.jtocrr.2022.100285.
13. Passaro A, Mok T, Peters S, Popat S, Ahn MJ, de Marinis F. Recent advances on the role of EGFR tyrosine kinase inhibitors in the management of NSCLC with uncommon, non exon 20 insertions, EGFR mutations. *J Thorac Oncol*. 2021;16(5):764-773. doi:10.1016/j.jtho.2020.12.002.
14. 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. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-1387.
15. Pennell NA, Arcila ME, Gandara DR, West H. Biomarker testing for patients with advanced non-small cell lung cancer: real-world issues and tough choices. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2019;39:531-542. doi:10.1200/EDBK\_237863.
16. Pan Q, Pao W, Ladanyi M. Rapid polymerase chain reaction-based detection of epidermal growth factor receptor gene mutations in lung adenocarcinomas. *J Mol Diagn*. 2005;7(3):396-403. doi:10.1016/S1525-1578(10)60569-7.
17. Conde E, Angulo B, Tang M, et al. Molecular context of the EGFR mutations: evidence for the activation of mTOR/S6K signaling. *Clin Cancer Res*. 2006;12(3 pt 1):710-717. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-1362.
18. Angulo B, Conde E, Suárez-Gauthier A, et al. A comparison of EGFR mutation testing methods in lung carcinoma: direct sequencing, real-time PCR and immunohistochemistry. *PLoS One*. 2012;7(8):e43842. doi:10.1371/journal.pone.0043842.
19. Lopez-Rios F, Angulo B, Gomez B, et al. Comparison of molecular testing methods for the detection of EGFR mutations in formalin-fixed paraffin-embedded tissue specimens of non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol*. 2013;66(5):381-385. doi:10.1136/jclinpath-2012-201240.
20. Cheng DT, Mitchell TN, Zehir A, et al. Memorial Sloan Kettering-Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets (MSK-IMPACT): a hybridization capture-based next-generation sequencing clinical assay for solid tumor molecular oncology. *J Mol Diagn*. 2015;17(3):251-264. doi:10.1016/j.jmoldx.2014.12.006.
21. Passaro A, Leighl N, Blackhall F, et al. ESMO expert consensus statements on the management of EGFR mutant non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2022;33(5):466-487. doi:10.1016/j.annonc.2022.02.003.
22. Hess LM, Krein PM, Haldane D, Han Y, Sireci AN. Biomarker testing for patients with advanced/metastatic nonsquamous NSCLC in the United States of America, 2015 to 2021. *JTO Clin Res Rep*. 2022;3(6):100336. doi:10.1016/j.jtocrr.2022.100336.
23. Momeni-Boroujeni A, Salazar P, Zheng T, et al. Rapid EGFR mutation detection using the Idylla platform: single-institution experience of 1200 cases analyzed by an in-house developed pipeline and comparison with concurrent next-generation sequencing results. *J Mol Diagn*. 2021;23(3):310-322. doi:10.1016/j.jmoldx.2020.11.009.
24. Bormann Chung C, Lee J, Barritault M, et al. Evaluating targeted next-generation sequencing assays and reference materials for NTRK fusion detection. *J Mol Diagn*. 2022;24(1):18-32. doi:10.1016/j.jmoldx.2021.09.008.
25. Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients [published correction appears in *Nat Med*. 2017 Aug 4;23 (8):1004]. *Nat Med*. 2017;23(6):703-713. doi:10.1038/nm.4333.
26. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009;361(10):947-957. doi:10.1056/NEJMoa0810699.
27. 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. doi:10.1056/NEJMoa0909530.
28. 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. doi:10.1016/S1470-2045(11)70184-X.
29. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, 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. doi:10.1016/S1470-2045(11)70393-X.



30. Yang JCH, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol.* 2015;16(2):141-151. doi:10.1016/S1470-2045(14)71173-8.
31. Park K, Tan EH, O'Byrne K, et al. Afatinib versus gefitinib as first-line treatment of patients with EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (LUX-Lung 7): a phase 2B, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(5):577-589. doi:10.1016/S1470-2045(16)30033-X.
32. Paz-Ares L, Tan EH, O'Byrne K, et al. Afatinib versus gefitinib in patients with EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer: overall survival data from the phase IIb LUX-Lung 7 trial. *Ann Oncol.* 2017;28(2):270-277. doi:10.1093/annonc/mdw611.
33. Wu YL, Cheng Y, Zhou X, et al. Dacomitinib versus gefitinib as first-line treatment for patients with EGFR-mutation-positive non-small-cell lung cancer (ARCHER 1050): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(11):1454-1466. doi:10.1016/S1470-2045(17)30608-3.
34. Mok TS, Cheng Y, Zhou X, et al. Improvement in overall survival in a randomized study that compared dacomitinib with gefitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer and EGFR-activating mutations. *J Clin Oncol.* 2018;36(22):2244-2250. doi:10.1200/JCO.2018.78.7994.
35. Mok TS, Cheng Y, Zhou X, et al. Updated overall survival in a randomized study comparing dacomitinib with gefitinib as first-line treatment in patients with advanced non-small-cell lung cancer and EGFR-activating mutations. *Drugs.* 2021;81(2):257-266. doi:10.1007/s40265-020-01441-6.
36. Jänne PA, Yang JCH, Kim DW, et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2015;372(18):1689-1699. doi:10.1056/NEJMoa1411817.
37. Mok TS, Wu YL, Ahn MJ, et al. Osimertinib or platinum-pemetrexed in EGFR T790M-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2017;376(7):629-640. doi:10.1056/NEJMoa1612674.
38. Papadimitrakopoulou VA, Mok TS, Han JY, et al. Osimertinib versus platinum-pemetrexed for patients with EGFR T790M advanced NSCLC and progression on a prior EGFR-tyrosine kinase inhibitor: AURA3 overall survival analysis. *Ann Oncol.* 2020;31(11):1536-1544. doi:10.1016/j.annonc.2020.08.2100.
39. Ramalingam SS, Yang JCH, Lee CK, et al. Osimertinib as first-line treatment of EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(9):841-849. doi:10.1200/JCO.2017.74.7576.
40. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2018;378(2):113-125. doi:10.1056/NEJMoa1713137.
41. Ramalingam SS, Vansteenkiste J, Planchard D, et al. Overall survival with osimertinib in untreated, EGFR-mutated advanced NSCLC. *N Engl J Med.* 2020;382(1):41-50. doi:10.1056/NEJMoa1913662.
42. Reungwetwattana T, Nakagawa K, Cho BC, et al. CNS response to osimertinib versus standard epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in patients with untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;JCO2018783118. doi:10.1200/JCO.2018.78.3118.
43. Lu S, Dong X, Jian H, et al. AENEAS: a randomized phase III trial of aumolertinib versus gefitinib as first-line therapy for locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer with EGFR exon 19 deletion or L858R mutations. *J Clin Oncol.* 2022;40(27):3162-3171. doi:10.1200/JCO.21.02641.
44. Shi Y, Chen G, Wang X, et al. Furmonertinib (AST2818) versus gefitinib as first-line therapy for Chinese patients with locally advanced or metastatic EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (FURLONG): a multicentre, double-blind, randomised phase 3 study. *Lancet Respir Med.* 2022;10(11):1019-1028. doi:10.1016/S2213-2600(22)00168-0.
45. Cho BC, Ahn M-J, Kang JH, et al. LBA7: a randomized, double-blind, multinational phase III study to assess the efficacy and safety of lazertinib versus gefitinib in the first-line treatment of patients with EGFR mutation (EGFRm), advanced NSCLC (LASER301; NCT04248829). *Ann Oncol.* 2022;33:S1560. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.10.349>.
46. Wu YL, Tsuboi M, He J, et al. Osimertinib in resected EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2020;383(18):1711-1723. doi:10.1056/NEJMoa2027071.
47. John T, Taylor A, Wang H, et al. Uncommon EGFR mutations in non-small-cell lung cancer: a systematic literature review of prevalence and clinical outcomes. *Cancer Epidemiol.* 2022;76:102080. doi:10.1016/j.canep.2021.102080.

48. Keam B, Kim DW, Park JH, et al. Rare and complex mutations of epidermal growth factor receptor, and efficacy of tyrosine kinase inhibitor in patients with non-small cell lung cancer. *Int J Clin Oncol*. 2014;19(4):594-600. doi:10.1007/s10147-013-0602-1.
49. Janning M, Süptitz J, Albers-Leischner C, et al. Treatment outcome of atypical EGFR mutations in the German National Network Genomic Medicine Lung Cancer (nNGM). *Ann Oncol*. 2022;33(6):602-615. doi:10.1016/j.annonc.2022.02.225.
50. Yang JCH, Sequist LV, Geater SL, et al. Clinical activity of afatinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring uncommon EGFR mutations: a combined post-hoc analysis of LUX-Lung 2, LUX-Lung 3, and LUX-Lung 6. *Lancet Oncol*. 2015;16(7):830-838. doi:10.1016/S1470-2045(15)00026-1.
51. Yang JC, Schuler M, Popat S, et al. Afatinib for the treatment of NSCLC harboring uncommon EGFR mutations: a database of 693 cases. *J Thorac Oncol*. 2020;15(5):803-815. doi:10.1016/j.jtho.2019.12.126.
52. Cho JH, Lim SH, An HJ, et al. Osimertinib for patients with non-small-cell lung cancer harboring uncommon EGFR mutations: a multicenter, open-label, phase II trial (KCSG-LU15-09). *J Clin Oncol*. 2020;38(5):488-495. doi:10.1200/JCO.19.00931.
53. Bar J, Peled N, Schokrpur S, et al. Uncommon EGFR mutations: international case series on efficacy of osimertinib in real-life practice in first line setting (UNICORN). *J Thorac Oncol*. 2022;S1556-0864(22)01854-8. doi:10.1016/j.jtho.2022.10.004.
54. Gallant JN, Sheehan JH, Shaver TM, et al. EGFR kinase domain duplication (EGFR-KDD) is a novel oncogenic driver in lung cancer that is clinically responsive to afatinib. *Cancer Discov*. 2015;5(11):1155-1163. doi:10.1158/2159-8290.CD-15-0654.
55. Wang J, Li X, Xue X, et al. Clinical outcomes of EGFR kinase domain duplication to targeted therapies in NSCLC. *Int J Cancer*. 2019;144(11):2677-2682. doi:10.1002/ijc.31895.
56. Lee C, Kim M, Kim DW, et al. Acquired resistance mechanism of EGFR kinase domain duplication to EGFR TKIs in non-small cell lung cancer. *Cancer Res Treat*. 2022;54(1):140-149. doi:10.4143/crt.2021.385.
57. Naidoo J, Sima CS, Rodriguez K, et al. Epidermal growth factor receptor exon 20 insertions in advanced lung adenocarcinomas: clinical outcomes and response to erlotinib. *Cancer*. 2015;121(18):3212-3220. doi:10.1002/cncr.29493.
58. Robichaux JP, Elamin YY, Tan Z, et al. Mechanisms and clinical activity of an EGFR and HER2 exon 20-selective kinase inhibitor in non-small cell lung cancer. *Nat Med*. 2018;24(5):638-646. doi:10.1038/s41591-018-0007-9.
59. Prelaj A, Bottiglieri A, Proto C, et al. Pozitotinib for EGFR and HER2 exon 20 insertion mutation in advanced NSCLC: results from the expanded access program. *Eur J Cancer*. 2021;149:235-248. doi:10.1016/j.ejca.2021.02.038.
60. Zhou C, Ramalingam SS, Kim TM, et al. Treatment outcomes and safety of mobocertinib in platinum-pretreated patients with EGFR exon 20 insertion-positive metastatic non-small cell lung cancer: a phase 1/2 open-label nonrandomized clinical trial. *JAMA Oncol*. 2021;7(12):e214761. doi:10.1001/jamaoncol.2021.4761.
61. Park K, Haura EB, Leighl NB, et al. Amivantamab in EGFR exon 20 insertion-mutated non-small-cell lung cancer progressing on platinum chemotherapy: initial results from the CHRYSALIS phase I study. *J Clin Oncol*. 2021;39(30):3391-3402. doi:10.1200/JCO.21.00662.
62. Wang M, Yang JCH, Mitchell PL, et al. Sunvozertinib, a selective EGFR inhibitor for previously treated non-small cell lung cancer with EGFR exon 20 insertion mutations. *Cancer Discov*. 2022;12(7):1676-1689. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-1615.
63. Yu HA, Tan DSW, Smit EF, et al. Phase (Ph) 1/2a study of CLN-081 in patients (pts) with NSCLC with EGFR exon 20 insertion mutations (Ins20). *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):9007. doi:10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.9007.
64. Lin Y, Hu Z, Zhang Y, et al. Preliminary clinical investigations of high-dose furmonertinib in NSCLC with EGFR exon 20 insertions (20ins). *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):e21029. doi:10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.e21029.
65. Attili I, Passaro A, Pisapia P, Malapelle U, de Marinis F. Uncommon EGFR compound mutations in non-small cell lung cancer (NSCLC): a systematic review of available evidence. *Curr Oncol*. 2022;29(1):255-266. doi:10.3390/curroncol29010024.



66. Passaro A, Jänne PA, Mok T, Peters S. Overcoming therapy resistance in EGFR-mutant lung cancer. *Nat Cancer*. 2021;2(4):377-391. doi:10.1038/s43018-021-00195-8.
67. Du Z, Brown BP, Kim S, et al. Structure-function analysis of oncogenic EGFR kinase domain duplication reveals insights into activation and a potential approach for therapeutic targeting. *Nat Commun*. 2021;12(1):1382. doi:10.1038/s41467-021-21613-6.
68. Raez LE, Pinto JA, Schrock AB, Ali SM. EGFR-RAD51 fusion: a targetable partnership originated from the tumor evolution? *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):e33-e34. doi:10.1016/j.jtho.2017.10.005.
69. Konduri K, Gallant JN, Chae YK, et al. EGFR fusions as novel therapeutic targets in lung cancer. *Cancer Discov*. 2016;6(6):601-611. doi:10.1158/2159-8290.CD-16-0075.
70. Copia Sperandio R, Luiza Teixeira Tostes F, Vidal Campregher P, et al. EGFR-RAD51 fusion in lung adenocarcinoma with systemic and intracranial response to osimertinib: a case report and review of the literature. *Lung Cancer*. 2022;166:94-97. doi:10.1016/j.lungcan.2022.02.006.
71. Fukuoka M, Wu YL, Thongprasert S, et al. Biomarker analyses and final overall survival results from a phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib versus carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer in Asia (IPASS). *J Clin Oncol*. 2011;29(21):2866-2874. doi:10.1200/JCO.2010.33.4235.
72. Schoenfeld AJ, Chan JM, Kubota D, et al. Tumor analyses reveal squamous transformation and off-target alterations as early resistance mechanisms to first-line osimertinib in EGFR-mutant lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2020;26(11):2654-2663. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-3563.
73. Bauml J, Cho BC, Park K, et al. Amivantamab in combination with lazertinib for the treatment of osimertinib-relapsed, chemotherapy-naïve EGFR mutant (EGFRm) non-small cell lung cancer (NSCLC) and potential biomarkers for response. *J Clin Oncol*. 2021;39(15 suppl):9006. doi:10.1200/JCO.2021.39.15\_suppl.9006.
74. Geraud A, Mezquita L, Auclin E, et al. Chronic plasma exposure to kinase inhibitors in patients with oncogene-addicted non-small cell lung cancer. *Cancers (Basel)*. 2020;12(12):E3758. doi:10.3390/cancers12123758.
75. Piotrowska Z, Ahn MJ, Pang YK, et al. LBA53 ELIOS: a multicentre, molecular profiling study of patients (pts) with epidermal growth factor receptor-mutated (EGFRm) advanced NSCLC treated with first-line (1L) osimertinib. *Ann Oncol*. 2022;33:S1420-S1421. doi:10.1016/j.annonc.2022.08.055.
76. Ramalingam SS, Cheng Y, Zhou C, et al. Mechanisms of acquired resistance to first-line osimertinib: preliminary data from the phase III FLAURA study. *Ann Oncol*. 2018;29:viii740. doi:10.1093/annonc/mdy424.063.
77. Papadimitrakopoulou VA, Wu YL, Han JY, et al. Analysis of resistance mechanisms to osimertinib in patients with EGFR T790M advanced NSCLC from the AURA3 study. *Ann Oncol*. 2018;29:viii741. doi:10.1093/annonc/mdy424.064.
78. Oxnard GR, Hu Y, Mileham KF, et al. Assessment of resistance mechanisms and clinical implications in patients with EGFR T790M-positive lung cancer and acquired resistance to osimertinib. *JAMA Oncol*. 2018;4(11):1527-1534. doi:10.1001/jamaoncol.2018.2969.
79. Wang S, Song Y, Liu D. EAI045: the fourth-generation EGFR inhibitor overcoming T790M and C797S resistance. *Cancer Lett*. 2017;385:51-54. doi:10.1016/j.canlet.2016.11.008.
80. To C, Jang J, Chen T, et al. Single and dual targeting of mutant EGFR with an allosteric inhibitor. *Cancer Discov*. 2019;9(7):926-943. doi:10.1158/2159-8290.CD-18-0903.
81. Schalm SS, Dineen T, Lim SM, et al. BLU-945, a highly potent and selective 4th generation EGFR TKI for the treatment of EGFR T790M/C797S resistant NSCLC. *Ann Oncol*. 2020;31:S1391. doi:10.1016/j.annonc.2020.10.378.
82. Niederst MJ, Hu H, Mulvey HE, et al. the allelic context of the C797S mutation acquired upon treatment with third-generation EGFR inhibitors impacts sensitivity to subsequent treatment strategies. *Clin Cancer Res*. 2015;21(17):3924-3933. doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-0560.
83. Conti C, Campbell J, Woessner R, et al. Abstract 1262: BLU-701 is a highly potent, brain-penetrant and WT-sparing next-generation EGFR TKI for the treatment of sensitizing (ex19del, L858R) and C797S resistance mutations in metastatic NSCLC. *Cancer Res*. 2021;81(13 suppl):1262-1262. doi:10.1158/1538-7445.AM2021-1262.

84. Nogami N, Barlesi F, Socinski MA, et al. IMpower150 final exploratory analyses for atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in key NSCLC patient subgroups with EGFR mutations or metastases in the liver or brain. *J Thorac Oncol.* 2022;17(2):309-323. doi:10.1016/j.jtho.2021.09.014.
85. Lu S, Wu L, Jian H, et al. ORIENT-31: phase III study of sintilimab with or without IBI305 plus chemotherapy in patients with EGFR mutated nonsquamous NSCLC who progressed after EGFR-TKI therapy. *Ann Oncol.* 2022;33(1):112-113. doi:10.1016/j.jannonc.2021.10.007.
86. Mok TSK, Nakagawa K, Park K, et al. LBA8: nivolumab (NIVO) + chemotherapy (chemo) vs chemo in patients (pts) with EGFR-mutated metastatic non-small cell lung cancer (mNSCLC) with disease progression after EGFR tyrosine kinase inhibitors (TKIs) in CheckMate 722. *Ann Oncol.* 2022;33:S1561-2. <https://doi.org/10.1016/j.jannonc.2022.10.350>.
87. Jänne PA, Baik C, Su WC, et al. Efficacy and safety of patritumab deruxtecan (HER3-DXd) in EGFR inhibitor-resistant, EGFR-mutated non-small cell lung cancer. *Cancer Discov.* 2022;12(1):74-89. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-0715.
88. Garon EB, Johnson ML, Lisberg AE, et al. Efficacy of datopotamab deruxtecan (Dato-DXd) in patients (pts) with advanced/metastatic (adv/met) non-small cell lung cancer (NSCLC) and actionable genomic alterations (AGAs): preliminary results from the phase I TROPION-PanTumor01 study. *Ann Oncol.* 2021;32:S1326-S1327. doi:10.1016/j.jannonc.2021.08.2128.
89. Wu YL, Cheng Y, Zhou J, et al. Tepotinib plus gefitinib in patients with EGFR-mutant non-small-cell lung cancer with MET overexpression or MET amplification and acquired resistance to previous EGFR inhibitor (INSIGHT study): an open-label, phase 1b/2, multicentre, randomised trial. *Lancet Respir Med.* 2020;8(11):1132-1143. doi:10.1016/S2213-2600(20)30154-5.
90. Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science.* 2007;316(5827):1039-1043. doi:10.1126/science.1141478.
91. Wu YL, Zhang L, Kim DW, et al. Phase Ib/II study of capmatinib (INC280) plus gefitinib after failure of epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitor therapy in patients with EGFR-mutated, MET factor-dysregulated non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(31):3101-3109. doi:10.1200/JCO.2018.77.7326.
92. Yang JJ, Fang J, Shu YQ, et al. A phase Ib study of the highly selective MET-TKI savolitinib plus gefitinib in patients with EGFR-mutated, MET-amplified advanced non-small-cell lung cancer. *Invest New Drugs.* 2021;39(2):477-487. doi:10.1007/s10637-020-01010-4.
93. Sequist LV, Han JY, Ahn MJ, et al. Osimertinib plus savolitinib in patients with EGFR mutation-positive, MET-amplified, non-small-cell lung cancer after progression on EGFR tyrosine kinase inhibitors: interim results from a multicentre, open-label, phase 1b study. *Lancet Oncol.* 2020;21(3):373-386. doi:10.1016/S1470-2045(19)30785-5.
94. Yu HA, Ambrose H, Baik C, et al. ORCHARD osimertinib + savolitinib interim analysis: a biomarker-directed phase II platform study in patients (pts) with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) whose disease has progressed on first-line (1L) osimertinib. *Ann Oncol.* 2021;32:S978-S979. doi:10.1016/j.jannonc.2021.08.1844.
95. Ahn M, De Marinis F, Bonanno L, et al. EP08.02-140: MET biomarker-based preliminary efficacy analysis in SAVANNAH: savolitinib+osimertinib in EGFRm NSCLC post-osimertinib. *J Thorac Oncol.* 2022;17:S469-70. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2022.07.823>.
96. Mazieres J, Kim TM, Lim BK, et al. LBA52 Tepotinib + osimertinib for EGFRm NSCLC with MET amplification (METamp) after progression on first-line (1L) osimertinib: initial results from the INSIGHT 2 study. *Ann Oncol.* 2022;33:S1419-S1420. doi:10.1016/j.jannonc.2022.08.054.
97. Shu CA, Goto K, Ohe Y, et al. Amivantamab and lazertinib in patients with EGFR-mutant non-small cell lung (NSCLC) after progression on osimertinib and platinum-based chemotherapy: updated results from CHRYSALIS-2. *J Clin Oncol.* 2022;40(16 suppl):9006. doi:10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.9006.

98. Goldman JW, Horinouchi H, Cho BC, et al. Phase 1/1b study of telisotuzumab vedotin (Teliso-V) + osimertinib (Osi), after failure on prior Osi, in patients with advanced, c-Met overexpressing, EGFR-mutated non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):9013. doi:10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.9013.
99. Casadevall D, Gimeno J, Clavé S, et al. MET expression and copy number heterogeneity in nonsquamous non-small cell lung cancer (nsNSCLC). *Oncotarget*. 2015;6(18):16215-16226. doi:10.18632/oncotarget.3976.
100. Piotrowska Z, Isozaki H, Lennerz JK, et al. Landscape of acquired resistance to osimertinib in EGFR-mutant NSCLC and clinical validation of combined EGFR and RET inhibition with osimertinib and BLU-667 for acquired RET fusion. *Cancer Discov*. 2018;8(12):1529-1539. doi:10.1158/2159-8290.CD-18-1022.
101. Rotow J, Patel J, Hanley M, et al. Combination osimertinib plus seliperatinib for EGFR-mutant non-small cell lung cancer (NSCLC) with acquired RET fusions. *J Thorac Oncol*. 2021;16(3):S230. doi:10.1016/j.jtho.2021.01.150.
102. Meng P, Koopman B, Kok K, et al. Combined osimertinib, dabrafenib and trametinib treatment for advanced non-small-cell lung cancer patients with an osimertinib-induced BRAF V600E mutation. *Lung Cancer*. 2020;146:358-361. doi:10.1016/j.lungcan.2020.05.036.
103. Valet O, Swalduz A, Boussageon M, et al. Response to the combination of osimertinib, dabrafenib, and trametinib in leptomeningitis from EGFR-mutant NSCLC with acquired BRAF V600E mutation: a case report. *JTO Clin Res Rep*. 2021;2(6):100192. doi:10.1016/j.jtocrr.2021.100192.
104. Riess JW, Krailo MD, Padda SK, et al. Osimertinib plus necitumumab in EGFR-mutant NSCLC: final results from an ETCTN California Cancer Consortium phase I study. *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):9014. doi:10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.9014.
105. Yang JCH, Ohe Y, Chiu CH, et al. Osimertinib plus selumetinib in EGFR-mutated, non-small cell lung cancer after progression on EGFR-TKIs: a phase 1b, open-label, multicenter trial (TATTON Part B). *Clin Cancer Res*. 2022;clincanres.4329.2022-1-26 08:36:37.517. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-4329.
106. Lee JK, Lee J, Kim S, et al. Clonal history and genetic predictors of transformation into small-cell carcinomas from lung adenocarcinomas. *J Clin Oncol*. 2017;35(26):3065-3074. doi:10.1200/JCO.2016.71.9096.
107. Offin M, Chan JM, Tenet M, et al. Concurrent RB1 and TP53 alterations define a subset of EGFR-mutant lung cancers at risk for histologic transformation and inferior clinical outcomes. *J Thorac Oncol*. 2019;14(10):1784-1793. doi:10.1016/j.jtho.2019.06.002.
108. McLeer A, Foll M, Brevet M, et al. Detection of acquired TERT amplification in addition to predisposing p53 and Rb pathways alterations in EGFR-mutant lung adenocarcinomas transformed into small-cell lung cancers. *Lung Cancer*. 2022;167:98-106. doi:10.1016/j.lungcan.2022.01.008.
109. Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, et al. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci Transl Med*. 2011;3(75):75ra26. doi:10.1126/scitranslmed.3002003.
110. Marcoux N, Gettinger SN, O'Kane G, et al. EGFR-mutant adenocarcinomas that transform to small-cell lung cancer and other neuroendocrine carcinomas: clinical outcomes. *J Clin Oncol*. 2019;37(4):278-285. doi:10.1200/JCO.18.01585.
111. Lim C, Sung M, Shepherd FA, et al. Patients with advanced non-small cell lung cancer: are research biopsies a barrier to participation in clinical trials? *J Thorac Oncol*. 2016;11(1):79-84. doi:10.1016/j.jtho.2015.09.006.
112. Piotrowska Z, Niederst MJ, Mino-Kenudson M, et al. Variation in mechanisms of acquired resistance among EGFR-mutant NSCLC patients with more than 1 postresistant biopsy: metastatic non-small cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2014;90(5):S6-S7. doi:10.1016/j.ijrobp.2014.08.032.
113. Hata A, Katakami N, Yoshioka H, et al. Spatiotemporal T790M heterogeneity in individual patients with EGFR-mutant non-small-cell lung cancer after acquired resistance to EGFR-TKI. *J Thorac Oncol*. 2015;10(11):1553-1559. doi:10.1097/JTO.0000000000000647.

# 间变性淋巴瘤激酶

Wendy A. Cooper、Malinda Itchins 和 Yasushi Yatabe

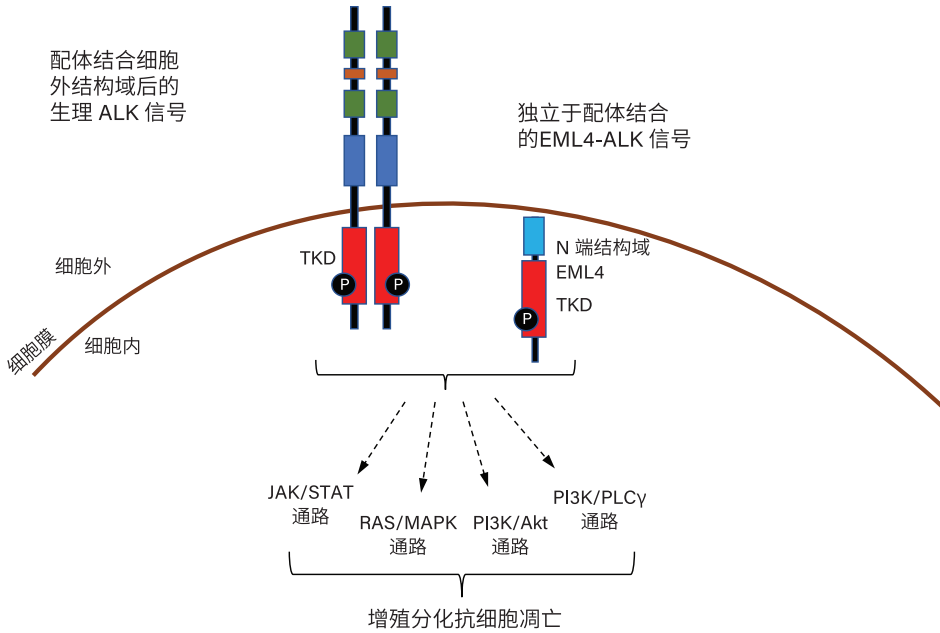
## 8

### ALK 基因结构和功能

间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 基因位于染色体 2 (2p23) 的短臂上, 编码一个属于胰岛素受体超家族的受体酪氨酸激酶。<sup>1,2</sup> 它编码一个 1620 氨基酸蛋白, 该蛋白可形成一个单链跨膜受体, 包含胞外配体结合结构域、跨膜区和胞内激酶催化结构域 (图 8-1)。<sup>1,2</sup> 该蛋白与白细胞酪氨酸激酶胞内结构域以及 c-ROS 和胰岛素样生长因子 1 受体激酶具有高度同源性。<sup>1,2</sup> 结合配体后, ALK 受体会发生同源二聚化、激酶结构域中的酪氨酸磷酸化, 并随后激活多个下游信号通路, 包括磷脂酰肌醇 3- 激酶 (PI3K)/Akt、PI3K/ 磷脂酶 C $\gamma$ 、Janus 激酶 / 信号转导和转录激活因子 (JAK/STAT) 以及 RAS/ 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK), 在细胞生长、分化和存活中发挥作用。<sup>3-5</sup> 目前, 研究人员已提出将多效生长因子和中期因子作为 ALK 的生理配体, 尽管还存在一些不确定因素, 无法证实这些发现。<sup>4-8</sup> 通过 ALK 的哺乳动物信号传导会参与神经系统的发育和细胞存活。<sup>1,2,9</sup> 蛋白质的表达发生在神经系统发育过程中, 并在出生后减少, 但在成人的某些神经中可见。<sup>1,2,9</sup>

### 改变的类型及其在肿瘤形成中的作用

与其他受体酪氨酸激酶一样, ALK 的致癌潜力是由激活基因变异引起的, 包括重排、突变或扩增。它最初是在间变性大细胞淋巴瘤中描述的, 并被发现与核磷蛋白 (*NPM1::ALK*) 形成致癌融合基因, 而这是由染色体 2 和 5 (2;5)(p23;q35) 之间的易位引起的。<sup>1,2</sup> 随后, 致癌激活易位在多种恶性肿瘤中描述, 包括非小细胞肺癌 (NSCLC)、炎性肌纤维母细胞瘤, 并较少描述于黑色素瘤、间皮瘤和多种癌中, 包括结直肠癌和乳腺癌。<sup>4,10,11</sup>



**图 8-1.** 配体与细胞外结构域结合后的生理 ALK 信号传导（左）和无配体结合的组成性 EML4-ALK 信号传导（右）。缩略词：JAK = Janus 激酶；MAPK = 丝裂原活化蛋白激酶；PI3K = 磷脂酰肌醇 3- 激酶；PLC $\gamma$  = 磷脂酶 C- $\gamma$ ；STAT = 信号转导和转录激活因子；TKD = 酪氨酸激酶结构域。

在肺腺癌的一个亚群中，可能会发生 *ALK* 相关的致癌易位，最常见的原因是染色体 2 的小倒位融合 *ALK* 3 $\Rightarrow$  端，其中包含细胞质激酶结构域（20-29 号外显子）和棘皮动物微管相关蛋白样 4 (*EML4*) 的 N 末端末端，编码对微管形成至关重要的 120 kDa 蛋白 (Inv[2] [p21;p23])。<sup>12-14</sup> 迄今为止，至少已有 13 个 *EML4::ALK* 融合变体被描述，所有这些都包含编码胞内酪氨酸激酶结构域 (TKD) 的 *ALK* 的相同部分，以及包含卷曲螺旋结构域的 *EML4* 的不同长度（表 8-1）。<sup>13,15-19</sup>

**表 8-1.** 最常见的 *EML4::ALK* 变体融合

变体	<i>EML4::ALK</i> 融合类型	频率 (%)
1	E13;A20	55
2	E20;A20	10
3a/b	E6a/b;A20	30
4	E14;ins11del49A20	3
5a/b	E2:A20 (5a), E2ins117A20 (5b)	1
6	E3;ins69A20	1
7	E14;del12A20	<1
8a/b	E17;ins30A20 (8a), E17ins30;ins65A20 (8b)	<1

改编自 Choi 等和 Li 等。<sup>18,19</sup>



在 NSCLC 中，约 95% 的 *ALK* 融合配对为 *EML4*。迄今为止，除 *EML4* 外，还已识别出至少 90 种不同的新配对。由于下一代测序 (NGS) 的使用日益广泛，新配对的识别速度也随之加快。<sup>12</sup> 融合配对最常位于染色体 2 的短臂上，但也可能位于其他染色体上，包括 *KIF5B*、*TFG*、*KLC1*、*PTPN3*、*HIP1*、*STRN*、*TPR*、*DCTN1*、*SQSTM1*、*NPM1*、*BCL11A* 和 *BIRC6*。<sup>10-12,15,20</sup> 致癌融合基因编码异常癌蛋白，由于大部分具有组成性激酶活性，导致其致癌特性，包括不受控制的增殖和存活。<sup>3,15</sup> 异常融合基因通常会导致 *ALK* 蛋白过表达。在包括 NSCLC 在内的多种肿瘤中也描述了 *ALK* 基因拷贝数增加。<sup>10</sup> 除了文献中的罕见病例报告外，*ALK* 易位与其他致癌改变是相互排斥的。在 *ALK* 酪氨酸激酶抑制剂 (ALKi) 治疗后的 NSCLC 中，可能会发生继发性获得性点突变，这也是一种获得性耐药机制。<sup>10</sup>

### 流行病学、临床和组织学特征

*ALK* 重排肺腺癌占肺腺癌的 4% 至 5%，亚洲和非亚洲人群的发病率相似。<sup>13,21</sup> *ALK* 融合更常见于从不吸烟者或轻度吸烟者，其发病率为 12%，但与 *EGFR* 突变相比，它们在女性中的发病率不太高。<sup>22</sup> *ALK* 重排肺癌患者的中位年龄比其他 NSCLC 患者年轻约 10 岁，并且晚期疾病患者的比例更高。<sup>21</sup> 肺癌中的 *ALK* 重排与腺癌组织学密切相关，特别是与腺泡型和 / 或实体生长模式，或与印戒细胞癌的细胞特征密切相关。<sup>21</sup>

### 检测策略

免疫组织化学 (IHC)、荧光原位杂交 (FISH)、逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 或 NGS 检测可用于识别 *ALK* 重排 NSCLC。

### 荧光原位杂交

FISH 是第一个用于检测 NSCLC 中 *ALK* 融合的伴随式诊断检测。无论融合配对如何，均采用分离探针而不是双融合信号探针来检测重排 (图 8-2)。在最常见的 *EML4::ALK* 融合中，由于染色体 2 上的小倒位，经常可以在附近观察到分裂的 FISH 信号。在 FISH 检测中，阳性细胞由分离信号来定义。分离信号至少为最大信号直径的两倍，或至少 15% 的细胞丢失 5 $\beta$  信号，计数至少为 50 个细胞 (图 8-3)，即定义为阳性。

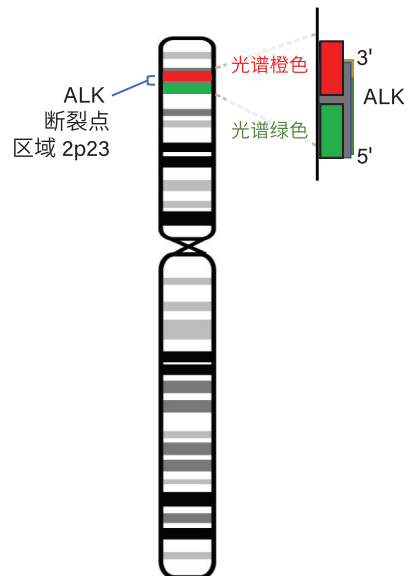
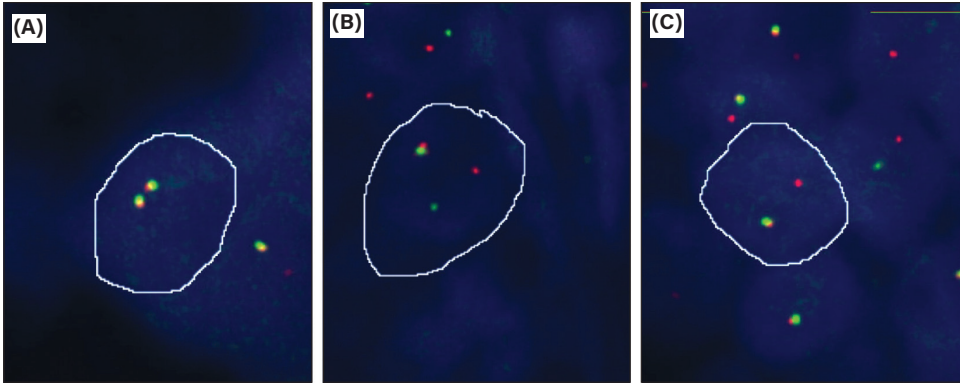


图 8-2. *ALK* 荧光原位杂交 (FISH) 分离探针设计示意图，其中橙色标记探针与 *ALK* 3' 端结合，绿色标记探针与 *ALK* 5' 端结合，每个探针均位于断点两侧。

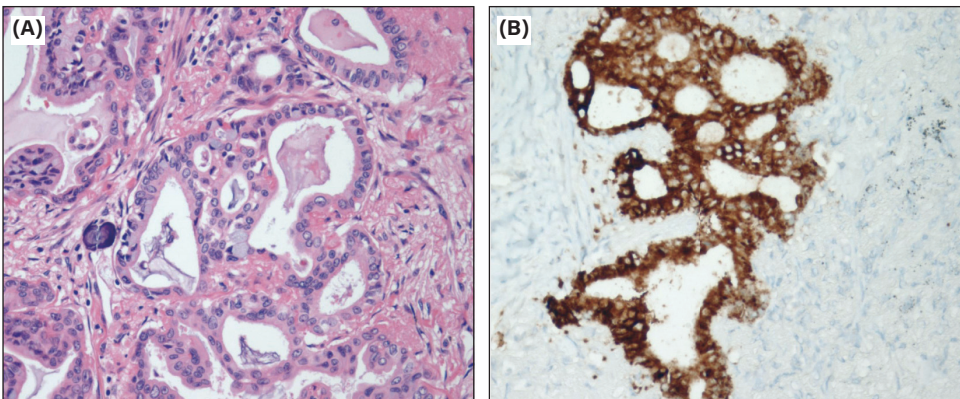




**图 8-3.** 使用分离探针的 *ALK* 荧光原位杂交 (FISH)。(A) 两个融合信号表明细胞未发生 *ALK* 重排。(B) 一对正常的融合信号和分离的红色 3p 和绿色 5p 信号表明细胞发生 *ALK* 重排, 无论融合配对如何。(C) 一对正常的融合信号和带有 *ALK* 激酶结构域的单个红色 3p 信号也表明细胞对 *ALK* 重排呈阳性。

### 免疫组织化学

使用高灵敏度克隆 (例如 D5F3 或 5A4) 的 *ALK* IHC 可以用作 NSCLC 中功能性 *ALK* 重排的一种可靠替代物 (图 8-4)。<sup>23</sup> 早期研究发现, 融合 *ALK* 蛋白的表达在 NSCLC 中低于在淋巴瘤中的表达, 而 NSCLC 中的 *ALK* IHC 需要使用涉及更灵敏检测方法的高亲和力克隆。*ALK* IHC 检测现已成为一种临床标准工具, 商业 IHC 检测 (例如 Ventana *ALK* D5F3) 已在一些国家被批准作为选择抗 *ALK* 抑制剂阿来替尼的配套诊断。解释 *ALK* IHC 时可能存在一些陷阱, 包括由于细胞质胞内粘蛋白导致的假阴性解释, 以及尽管缺乏 *ALK* 融合但某些神经内分泌癌中的阳性染色。<sup>24</sup> 虽然使用适当克隆的 *ALK* IHC 对 *ALK* 重排高度敏感, 但有大量报告显示 FISH 和 IHC 之间不一致的结果, 并且有一些数据表明 *ALK* IHC 阳性 /FISH 阴性病例对治疗的反应较差, 即使在 NGS 证实的融合事件背景下也是如此。<sup>25,26</sup> 这种差异的基础和对临床结果明显不利的影响尚不清楚。



**图 8-4.** (A) *ALK* 阳性腺癌, 具有筛状结构和一些印戒细胞。(B) *ALK* (D5F3 克隆) 的免疫组织化学显示细胞质染色呈阳性, 很可能表明发生 *ALK* 重排。

## 逆转录聚合酶链反应

最初不建议将 RT-PCR 用于 *ALK* 融合的常规临床识别，因为从福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 组织中难以获得高质量 RNA，并且由于存在多种融合模式 / 配对基因，会导致出现假阴性的风险。<sup>27</sup> 然而，在使用标准化预分析方法和改进的提取技术处理的常规 FFPE 样本中，RNA 可能会得到相对较好的保存，并且几种使用溶解曲线的 RT-PCR 检测现已上市。RT-PCR 的主要局限性在于其无法识别未包含在检测设计中的新型融合。此外，基于 RNA 的 NGS 检测具有更高的临床灵敏度，也证实了使用 FFPE 衍生的 RNA 可以可靠地检测 *ALK* 融合。

## 下一代测序检测

NGS 可使用 FFPE 的 DNA 或 RNA 分析检测来检测 *ALK* 融合，并能够检测已知变异（基于扩增子的检测）或已知和未知的融合变异。NGS 检测的优点是可以识别融合配对 / 变异体，并且能够同时检测除 *ALK* 之外的其他基因的改变。NGS 检测在识别 *ALK* 重排 NSCLC 方面的局限性包括：

- 需要相对大量的组织：鉴于核酸要求相对较高，小活检或少量细胞学样本可能不适合进行杂交捕获的 NGS 检测。基于扩增子的热点组合和锚定多重 PCR (AMP)/NGS 具有 DNA/RNA 要求较低的优势。AMP/NGS 是靶向 NGS 的一种形式，无需事先了解融合配对即可检测致癌融合。
- 基于 DNA 的 NGS 检测中的假阴性：与 RNA 上的融合模式相比，DNA 中的基因组断点更加多样化。因此，基于 DNA 的 NGS 检测可能会漏掉一些 *ALK* 融合，并且可能需要通过 RNA 测序来识别。<sup>28</sup>
- 肿瘤细胞含量低的标本，其灵敏度欠佳：由于 NGS 基于相关的等位基因频率，因此在肿瘤细胞比例较低的标本中检测融合可能比较困难，尽管这并不是 *ALK* 评估所独有的问题。分子条形码和深度测序可帮助克服这一挑战。

## 临床意义

*ALK* 重排 NSCLC 对 *ALKi* 疗法极其敏感。2014 年，具有里程碑意义的 3 期临床试验证据首次支持 *ALKi* 克唑替尼作为优于含铂双药化疗的护理标准，具有显著的无进展生存期 (PFS) 和耐受性优势，随后又证实其总生存期 (OS) 也优于含铂双药化疗，在使用一线克唑替尼治疗的患者中，有 57% 的患者可存活 4 年。<sup>29,30</sup>

随着经验更加丰富，据报告，70% 接受克唑替尼治疗的患者出现了中枢神经系统 (CNS) 进展<sup>31</sup>；本质上，*ALK* 重排 NSCLC 具有转移至大脑的倾向，大约 25% 的患者在诊断时患有 CNS 疾病。<sup>29</sup>

因此，研发下一代 *ALKi* 疗法是为了让其首先在克唑替尼无法克服耐药机制时发挥作用，具有高度的脑渗透性，并对 *ALK* 提供更大的“靶点”亲和力。<sup>32-37</sup>

随着克唑替尼治疗后的安全性和有效性得到证明，第二代 *ALKi* 疗法，包括色瑞替尼、阿来替尼、布加替尼和恩沙替尼，迅速进入一线 3 期研究。所有试验均表现

出优于其比较组（即在试验设计时将色瑞替尼和克唑替尼化疗仍然作为标护理标准）的优势。<sup>38-41</sup> 由于与替代的第二代 ALKi 疗法相比，色瑞替尼的中位生存期较低，且耐受性较差，因此色瑞替尼在 ALK 经验性治疗范例中的地位已经有所削弱。不过，阿来替尼、布加替尼和恩沙替尼的交叉试验比较得出了相当的 PFS，表明阿来替尼和布加替尼对 CNS 的疗效要优于恩沙替尼。迄今为止，阿来替尼的中位 PFS 最长为 35 个月（研究者评估值），并且具有成熟的第 3 期 OS 率数据，其中 63% 的患者可存活 5 年，所有患者的中位 OS 率预计将超过 8 年。<sup>42</sup>

ALKi 疗法的毒性特征具有一些一致的类别效应和 ALKi 疗法特有的潜在不良反应，在毒性不可接受的情况下，这可能会对临床中选择替代 ALKi 产生影响。

在已接受过 1 至多条先前 ALKi 治疗线的患者中，使用高活性和脑渗透性 ALKi 洛拉替尼的第三代单臂 1 期和 2 期数据现已展示出了疗效。<sup>36,43</sup> 洛拉替尼在常见突变对前一代 ALKi 疗法产生耐药性的情况下有效。<sup>44</sup> 洛拉替尼（对比克唑替尼）的一线 3 期研究现已提供中期阳性数据，但尚未得到中位 PFS 数据；然而，具有里程碑意义的数据表明，64% 的患者在 3 年内无进展，50% 的患者有基线 CNS 转移。这些是迄今为止最引人注目的但并不成熟的一线生存数据。<sup>45,46</sup>

2022 年，第四代 ALKi 疗法已进入早期阶段研究，证明 ALK 复合耐药突变具有临床前活性，包括对先前 ALKi 疗法具有泛耐药性的突变。<sup>47,48</sup> 针对新型联合疗法的前瞻性临床试验正在进行中，包括 ALKi 疗法联合另一种疗法（通常是靶向治疗），研究该策略是否可以预防或克服耐药性的出现、提高生存率并保持耐受性。

目前还没有可以在常规临床实践中常规指导特定 ALKi 选择的其他分子生物标志物。基线脑转移的存在或为了保护大脑的意图可能会帮助选择最佳的 ALKi 疗法。但大多数人将依据药物可用性和有限的测序数据，根据经验来接受每次治疗。

## 耐药机制

尽管 ALKi 在晚期疾病中具有卓越的疗效和耐受性，但耐药性仍然不可避免。其背后的机制可以部分解释为这些疗法具有比细胞毒性更大的细胞抑制特性，从而引起克隆选择现象。

耐药机制首先是用克唑替尼描述的，大致分为原发性和获得性（继发性）耐药，以及“获得性”到“ALK 依赖性”或“ALK 非依赖性”机制。<sup>49,50</sup> 原发性耐药很少见，可能是由假阳性基因分型或分子或组织学不同表型引起。在继发性耐药中，可能很少发生小细胞、鳞状或神经内分泌等组织学转化，但这在对抗 ALK 更有效的新一代 ALKi 疗法中可能更常见。<sup>51,52</sup>

ALK 依赖性机制通常涉及 ALK 耐药突变的出现，这种突变经常发生在 TKD 的胞内药物结合口袋中。在使用第一代和第二代 ALKi 疗法治疗的患者中，有 25% 至 50% 以上的病例已描述了这些情况，并且可能涉及在相同肿瘤细胞或不同肿瘤细胞克隆中进化的一个或多个突变。<sup>53</sup> 确定耐药机制时，需要利用广泛的分子基因



测序组合进行组织和 / 或液体活检, 尽可能全面地捕获临床相关的非 *ALK* 基因和 *ALK* 激酶结构域。

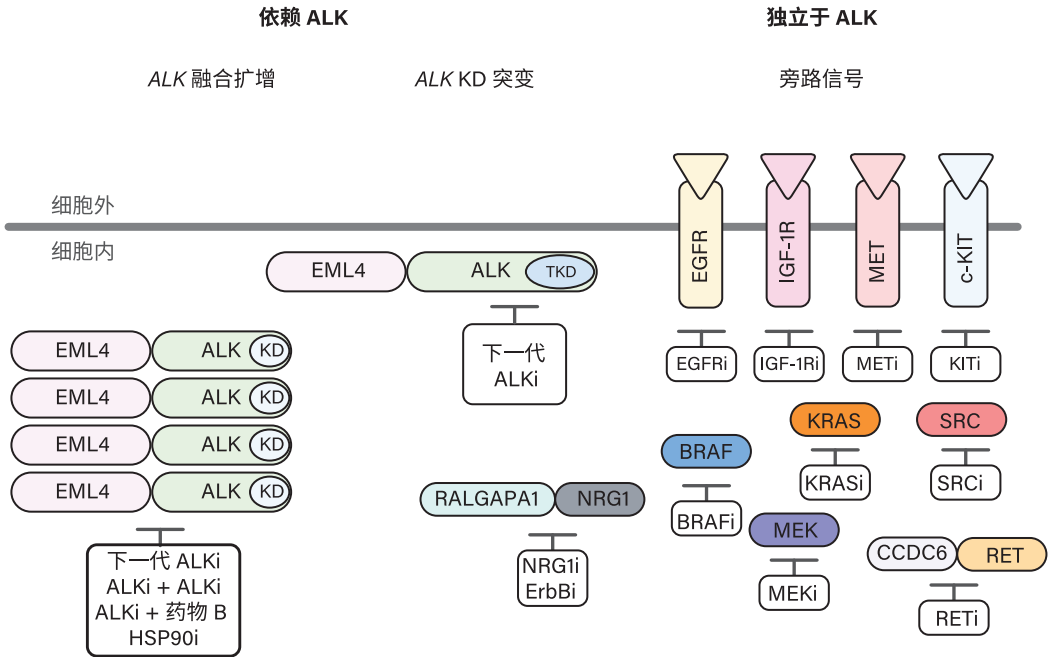
对于克唑替尼, 最常见的 TKD 是门控开关 L1196M 突变, 直接阻断药物结合, 而对于第二代 *ALKi* 疗法, 最常见的是溶剂前沿 G1202R 突变, 它通过空间位阻排斥药物结合。<sup>44</sup> 目前共描述了超过 50 种 *ALK* 耐药突变, 临床前和临床数据也正在确定在一系列新兴耐药突变存在的情况下, *ALKi* 疗法的敏感性。鉴于其独特的分子结构和特性, 这些突变在 *ALKi* 暴露之间通常有所不同。当发生多个 TKD 突变时, 这些突变更有可能对早期 *ALKi* 疗法产生耐药性; 如果同时发生 G1202R 突变, 也可能对洛拉替尼产生耐药性。<sup>54</sup>

由于不同的癌蛋白稳定性和基因脆弱性, 个体 *ALK* 融合变体可能会进一步增强 *ALKi* 的持久功效, 并产生独特的耐药性。有临床前和临床报告表明, 特定的融合变体可以预测 *ALKi* 的性能, 其中最常见的是 *EML4::ALK* 变体 1 表明第一代和第二代抑制剂具有优异的 PFS; 然而, 与变体 1 相比, *EML4::ALK* 变体 3 与洛拉替尼展现出了更为优越的结果。<sup>55-59</sup> 有趣的是, 所携带的变体也可能导致不同的耐药表现, 变体 3 具有更多 *ALK* 依赖性, 而变体 1 具有更多的 *ALK* 非依赖性。<sup>57</sup> 除了 *ALK* 耐药突变之外, *ALK* 依赖性耐药的另一种机制可能是 *ALK* 基因拷贝数增加和 *ALK* 癌蛋白表达增强; 这些特征没有经过常规检测, 也没有建立用于定义临床相关基因拷贝或蛋白质水平增益的最佳技术和阈值。

*ALK* 非依赖性耐药机制 (旁路通路介导机制的激活) 可能单独发生, 或更常见的是, 与 *ALK* 依赖性耐药变异同时发生。这一点可以在超过 50% 的接受下一代 *ALKi* 治疗的患者中得到证实 (图 8-5)。非依赖性耐药的频率随着接受的治疗方案和新一代 *ALKi* 暴露的增加而增加。非依赖性耐药机制包括继发于 *KRAS*、*ERBB2*、*BRAF*、*EGFR*、*MET*、*MEK*、*KIT* 等改变的异常通路激活。<sup>49,50,60-63</sup> *ALK* 重排背景下的某些非 *ALK* 共突变预测对 *ALKi* 单一疗法的反应减弱, 最确定的是 *TP53* 突变。<sup>58</sup> 在非依赖性耐药的情况下, 最佳治疗策略仍有待确定。临床前数据和少数病例报告描述了有效的靶向联合疗法; 然而, 在实践中使用这些联合策略可能会受到限制。<sup>63,65-67</sup> 研究人员正在进行临床试验, 探索适用于所有人的联合治疗策略, 而不是以生物标志物为依据的个性化方式。ClinicalTrials.gov 上列出的此类试验包括使用血管内皮生长因子 (VEGF)、*SHP2* 或 *MAPK* 抑制剂进行 *ALKi* 疗法、第二次 *ALKi* 疗法或联合化疗或放疗。

## 参考文献

- Iwahara T, Fujimoto J, Wen D, et al. Molecular characterization of *ALK*, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. *Oncogene*. 1997;14(4):439-449.
- Morris SW, Naeve C, Mathew P, et al. *ALK*, the chromosome 2 gene locus altered by the t(2;5) in non-Hodgkin's lymphoma, encodes a novel neural receptor tyrosine kinase that is highly related to leukocyte tyrosine kinase (LTK) [published correction appears in *Oncogene* 1997 Dec 4;15(23):2883]. *Oncogene*. 1997;14(18):2175-2188.



**图 8-5.** ALK 抑制剂耐药机制。耐药机制可能是 ALK 依赖性的，也可能是 ALK 非依赖性的，并且患者内部和患者之间存在异质性。缩略词：HSP = 热休克蛋白；i = 抑制剂；KD = 激酶结构域；TKD = 酪氨酸激酶结构域。（改编自 Lovly。<sup>64</sup>）

- Lee CC, Jia Y, Li N, et al. Crystal structure of the ALK (anaplastic lymphoma kinase) catalytic domain. *Biochem J.* 2010;430(3):425-437.
- Palmer RH, Vernersson E, Grabbe C, Hallberg B. Anaplastic lymphoma kinase: signalling in development and disease. *Biochem J.* 2009;420(3):345-361.
- Stoica GE, Kuo A, Aigner A, et al. Identification of anaplastic lymphoma kinase as a receptor for the growth factor pleiotrophin. *J Biol Chem.* 2001;276(20):16772-16779.
- Guan J, Umapathy G, Yamazaki Y, et al. FAM150A and FAM150B are activating ligands for anaplastic lymphoma kinase. *Elife.* 2015;4:e09811.
- Perez-Pinera P, Zhang W, Chang Y, Vega JA, Deuel TF. Anaplastic lymphoma kinase is activated through the pleiotrophin/receptor protein-tyrosine phosphatase beta/zeta signaling pathway: an alternative mechanism of receptor tyrosine kinase activation. *J Biol Chem.* 2007;282(39):28683-28690.
- Stoica GE, Kuo A, Powers C, et al. Midkine binds to anaplastic lymphoma kinase (ALK) and acts as a growth factor for different cell types. *J Biol Chem.* 2002;277(39):35990-35998.
- Vernersson E, Khoo NK, Henriksson ML, et al. Characterization of the expression of the ALK receptor tyrosine kinase in mice. *Gene Expr Patterns.* 2006;6(5):448-461.
- Du X, Shao Y, Qin HF, Tai YH, Gao HJ. ALK-rearrangement in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Thorac Cancer.* 2018;9(4):423-430.
- Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. [published correction appears in *N Engl J Med.* 2011 Feb 10;364(6):588]. *N Engl J Med.* 2010;363(18):1693-1703.
- Ou SI, Zhu VW, Nagasaka M. Catalog of 5' fusion partners in ALK-positive NSCLC circa 2020. *JTO Clin Res Rep.* 2020;1(1):100015.
- Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature.* 2007;448(7153):561-566.
- Solomon B, Varella-Garcia M, Camidge DR. ALK gene rearrangements: a new therapeutic target in a molecularly defined subset of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2009;4(12):1450-1454.
- Della Corte CM, Viscardi G, Di Liello R, et al. Role and targeting of anaplastic lymphoma kinase in cancer. *Mol Cancer.* 2018;17(1):30.

16. Heuckmann JM, Balke-Want H, Malchers F, et al. Differential protein stability and ALK inhibitor sensitivity of EML4-ALK fusion variants. *Clin Cancer Res*. 2012;18(17):4682-4690.
17. Takeuchi K, Choi YL, Soda M, et al. Multiplex reverse transcription-PCR screening for EML4-ALK fusion transcripts. *Clin Cancer Res*. 2008;14(20):6618-6624.
18. Choi YL, Takeuchi K, Soda M, et al. Identification of novel isoforms of the EML4-ALK transforming gene in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2008;68(13):4971-4976.
19. Li T, Maus MK, Desai SJ, et al. Large-scale screening and molecular characterization of EML4-ALK fusion variants in archival non-small-cell lung cancer tumor specimens using quantitative reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Thorac Oncol*. 2014;9(1):18-25.
20. Kang J, Deng QM, Peng KC, et al. Clinicopathological features and resistance mechanisms in HIP1-ALK-rearranged lung cancer: a multicenter study. *Genes Chromosomes Cancer*. 2022;61(4):177-186.
21. Fan L, Feng Y, Wan H, Shi G, Niu W. Clinicopathological and demographical characteristics of non-small cell lung cancer patients with ALK rearrangements: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(6):e100866.
22. Paik PK, Johnson ML, D'Angelo SP, et al. Driver mutations determine survival in smokers and never-smokers with stage IIIB/IV lung adenocarcinomas. *Cancer*. 2012;118(23):5840-5847.
23. Selinger CI, Rogers TM, Russell PA, et al. Testing for ALK rearrangement in lung adenocarcinoma: a multicenter comparison of immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization. *Mod Pathol*. 2013;26(12):1545-1553.
24. Akhoundova D, Haberecker M, Fritsch R, et al. Targeting ALK in neuroendocrine tumors of the lung. *Front Oncol*. 2022;12:911294.
25. Blackhall FH, Peters S, Bubendorf L, et al. Prevalence and clinical outcomes for patients with ALK-positive resected stage I to III adenocarcinoma: results from the European Thoracic Oncology Platform Lungscape project. *J Clin Oncol*. 2014;32(25):2780-2787.
26. Mok T, Peters S, Camidge DR, et al. Outcomes according to ALK status determined by central immunohistochemistry or fluorescence in situ hybridization in patients with ALK-positive NSCLC enrolled in the phase 3 ALEX study. *J Thorac Oncol*. 2021;16(2):259-268.
27. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology [published correction appears in *J Thorac Oncol*. 2013 Oct;8(10):1343]. *J Thorac Oncol*. 2013;8(7):823-859.
28. Benayed R, Offin M, Mullaney K, et al. High yield of RNA sequencing for targetable kinase fusions in lung adenocarcinomas with no mitogenic driver alteration detected by DNA sequencing and low tumor mutation burden. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4712-4722.
29. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer [published correction appears in *N Engl J Med*. 2015 Oct 15;373(16):1582]. *N Engl J Med*. 2014;371(23):2167-2177.
30. Solomon BJ, Kim DW, Wu YL, et al. Final overall survival analysis from a study comparing first-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-mutation-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36(22):2251-2258.
31. Costa DB, Shaw AT, Ou SH, et al. Clinical experience with crizotinib in patients with advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer and brain metastases. *J Clin Oncol*. 2015;33(17):1881-1888.
32. Shaw AT, Kim TM, Crinò L, et al. Ceritinib versus chemotherapy in patients with ALK-rearranged non-small-cell lung cancer previously given chemotherapy and crizotinib (ASCEND-5): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(7):874-886.
33. Novello S, Mazières J, Oh IJ, et al. Alectinib versus chemotherapy in crizotinib-pretreated anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive non-small-cell lung cancer: results from the phase III ALUR study. *Ann Oncol*. 2018;29(6):1409-1416.
34. Gettinger SN, Bazhenova LA, Langer CJ, et al. Activity and safety of brigatinib in ALK-rearranged non-small-cell lung cancer and other malignancies: a single-arm, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(12):1683-1696.



35. Popat S, Liu G, Lu S, et al. Brigatinib vs alectinib in crizotinib-resistant advanced anaplastic lymphoma kinase-positive non-small-cell lung cancer (ALTA-3). *Future Oncol.* 2021;17(32):4237-4247.
36. Solomon BJ, Besse B, Bauer TM, et al. Lorlatinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: results from a global phase 2 study [published correction appears in *Lancet Oncol.* 2019 Jan;20(1):e10]. *Lancet Oncol.* 2018;19(12):1654-1667.
37. Horn L, Infante JR, Reckamp KL, et al. Ensartinib (X-396) in ALK-positive non-small cell lung cancer: results from a first-in-human phase I/II, multicenter study. *Clin Cancer Res.* 2018;24(12):2771-2779.
38. Soria JC, Tan DSW, Chiari R, et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet.* 2017;389(10072):917-929.
39. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus crizotinib in untreated ALK-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2017;377(9):829-838.
40. Camidge DR, Kim HR, Ahn MJ, et al. Brigatinib versus crizotinib in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(21):2027-2039.
41. Horn L, Wang Z, Wu G, et al. Ensartinib vs crizotinib for patients with anaplastic lymphoma kinase-positive non-small cell lung cancer: a randomized clinical trial. *JAMA Oncol.* 2021;7(11):1617-1625.
42. Mok T, Camidge DR, Gadgeel SM, et al. Updated overall survival and final progression-free survival data for patients with treatment-naive advanced ALK-positive non-small-cell lung cancer in the ALEX study. *Ann Oncol.* 2020;31(8):1056-1064.
43. Shaw AT, Felip E, Bauer TM, et al. Lorlatinib in non-small-cell lung cancer with ALK or ROS1 rearrangement: an international, multicentre, open-label, single-arm first-in-man phase I trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(12):1590-1599.
44. Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, et al. Molecular mechanisms of resistance to first- and second-generation ALK inhibitors in ALK-rearranged lung cancer. *Cancer Discov.* 2016;6(10):1118-1133.
45. Shaw AT, Bauer TM, de Marinis F, et al. First-line lorlatinib or crizotinib in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2020;383(21):2018-2029.
46. Solomon B, Bauer T, Mok T, et al. Updated efficacy and safety from the phase 3 CROWN study of first-line lorlatinib vs crizotinib in advanced anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive non-small cell lung cancer (NSCLC) [AACR conference abstract CT223]. *Cancer Res.* 2022;82(12 suppl):CT223.
47. Murray BW, Zhai D, Deng W, et al. TPX-0131, a potent CNS-penetrant, next-generation inhibitor of wild-type ALK and ALK-resistant mutations. *Mol Cancer Ther.* 2021;20(9):1499-1507.
48. Pelish HE, Tangpeerachaikul A, Kohl NE, et al. NUV-655 (NVL-655) is a selective, brain-penetrant ALK inhibitor with antitumor activity against the lorlatinib-resistant G1202R/L1196M compound mutation. Abstract 1468. *Cancer Res.* 2021;81(13 suppl):1468.
49. Katayama R, Shaw AT, Khan TM, et al. Mechanisms of acquired crizotinib resistance in ALK-rearranged lung cancers. *Sci Transl Med.* 2012;4(120):120ra17.
50. Doebele RC, Pilling AB, Aisner DL, et al. Mechanisms of resistance to crizotinib in patients with ALK gene rearranged non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2012;18(5):1472-1482.
51. Balla A, Khan F, Hampel KJ, Aisner DL, Sidiropoulos N. Small-cell transformation of ALK-rearranged non-small-cell adenocarcinoma of the lung. *Cold Spring Harb Mol Case Stud.* 2018;4(2):a002394.
52. Fares AF, Lok BH, Zhang T, et al. ALK-rearranged lung adenocarcinoma transformation into high-grade large cell neuroendocrine carcinoma: clinical and molecular description of two cases. *Lung Cancer.* 2020;146:350-354.
53. Gainor J. Next generation ALK inhibitors and mechanisms of resistance to therapy. *Ann Oncol.* 2015;26(suppl 2):ii14.
54. Yoda S, Lin JJ, Lawrence MS, et al. Sequential ALK inhibitors can select for lorlatinib-resistant compound ALK mutations in ALK-positive lung cancer. *Cancer Discov.* 2018;8(6):714-729.
55. Ruano-Ravina A, Provencio-Pulla M. Differential crizotinib response duration among ALK fusion variants in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *Transl Cancer Res.* 2017;S54-S56.
56. Camidge DR, Dziadziuszko R, Peters S, et al. Updated efficacy and safety data and impact of the EML4-ALK fusion variant on the efficacy of alectinib in untreated ALK-positive advanced non-small cell lung cancer in the global phase III ALEX study [published correction appears in *J Thorac Oncol.* 2019 Nov;14(11):2023]. *J Thorac Oncol.* 2019;14(7):1233-1243.

57. Lin JJ, Zhu VW, Yoda S, et al. Impact of EML4-ALK variant on resistance mechanisms and clinical outcomes in ALK-positive lung cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36(12):1199-1206.
58. Camidge R, Niu H, Kim HY, et al. Correlation of baseline molecular and clinical variables with ALK inhibitor efficacy in ALTA-1L. *J Clin Oncol*. 2020;38(15 suppl):9517-9517.
59. Childress MA, Himmelberg SM, Chen H, et al., ALK fusion partners impact response to ALK inhibition: differential effects on sensitivity, cellular phenotypes, and biochemical properties. *Mol Cancer Res*. 2018;16(11):1724-1736.
60. Crystal AS, Shaw AT, Sequist LV, et al. Patient-derived models of acquired resistance can identify effective drug combinations for cancer. *Science*. 2014;346(6216):1480-1486.
61. Lovly CM, Shaw AT. Molecular pathways: resistance to kinase inhibitors and implications for therapeutic strategies. *Clin Cancer Res*. 2014;20(9):2249-2256.
62. Friboulet L, Li N, Katayama R, et al. The ALK inhibitor ceritinib overcomes crizotinib resistance in non-small cell lung cancer. *Cancer Discov*. 2014;4(6):662-673.
63. Dagogo-Jack I, Yoda S, Lennerz JK, et al. MET alterations are a recurring and actionable resistance mechanism in ALK-positive lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2020;26(11):2535-2545.
64. Lovly CM. Combating acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors in lung cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2015;e165-e173. doi:10.14694/EdBook\_AM.2015.35.e165.
65. Miyawaki M, Yasuda H, Tani T, et al. Overcoming EGFR bypass signal-induced acquired resistance to ALK tyrosine kinase inhibitors in ALK-translocated lung cancer. *Mol Cancer Res*. 2017;15(1):106-114.
66. Tanizaki J, Okamoto I, Okabe T, et al. Activation of HER family signaling as a mechanism of acquired resistance to ALK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;18(22):6219-6226.
67. Tanizaki J, Okamoto I, Takezawa K, et al. Combined effect of ALK and MEK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small-cell lung cancer cells. *Br J Cancer*. 2012;106(4):763-767.



# ROS 原癌基因 1

Sylvie Lantuejoul、Luis E. Raez、Yuchen Han 和 Sai-Hong Ou

## 9

### 基因结构和功能

ROS 原癌基因 1 (ROS1) 是一种受体酪氨酸激酶 (RTK)，属于胰岛素受体家族，在进化上与 ALK 家族接近。ROS1 基因位于染色体 6 (6q22.1 区域)，编码具有独特特征的跨膜受体蛋白。胞外 N 端结构域跨越 1 号至 32 号外显子，这使其成为所有人类 RTK 家族中最大的胞外结构域之一。ROS1 的 C 端部分编码一个激酶结构域 (KD) 和一个单跨膜 (TM) 结构域 (图 9-1)。人们对野生型 ROS1 蛋白的生理作用知之甚少，目前尚未在人体中发现其配体。<sup>1,2</sup>

### 改变的类型及其在肿瘤形成中的作用

致癌 ROS1 基因重排发生在 32、34、35 或 36 号外显子或 31 或 33 号内含子的 5' 端。<sup>3,4</sup> 与融合基因配体 N 端末端的胞浆内 KD 相比，ROS1 融合中不包括胞外螺旋 - 螺旋结构域。已确定的主要配对基因有 CD74 (38%-54%)、EZR (13%-24%)、SDC4 (9%-13%)、SLC34A2 (5%-10%)、TPM3 (3%-15%) 和 FIG 或 GOPC (2%-3%)，迄今为止还报告了多达 28 个其他配对，但各自占比不到 1%。<sup>5</sup> ROS1 融合蛋白是一种具有致癌特性的激活激酶，可以通过磷酸化，激活不同的信号传导通路，例如雷帕霉素激酶 (mTOR)

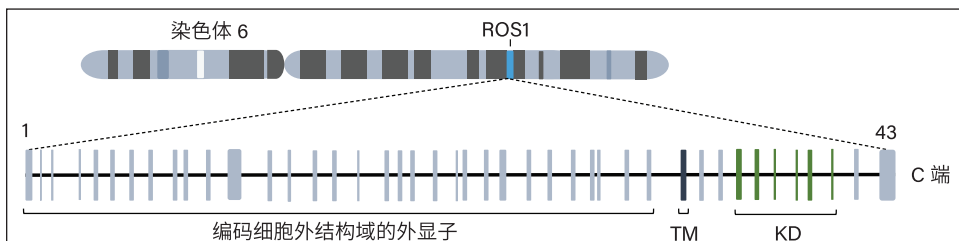


图 9-1. 染色体 6 上 ROS1 基因示意图。缩略词：KD = 激酶结构域；TM = 跨膜。

通路的磷脂酰肌醇 3- 激酶 (PI3K)/AKT 机制靶点, 参与细胞分化、增殖、生长和存活。致癌 *ROS1* 融合可发生在非小细胞肺癌 (NSCLC) 以外的多种癌症中, 包括胶质母细胞瘤、胆管癌和炎性肌纤维母细胞瘤。在 NSCLC 中尚未报告激活 *ROS1* 基因突变或扩增, 并且伴随致癌共突变发生的 *ROS1* 重排极为罕见, 主要以 *EGFR* 或 *KRAS* 突变为代表。<sup>6</sup>

### 流行病学、临床和组织学特征

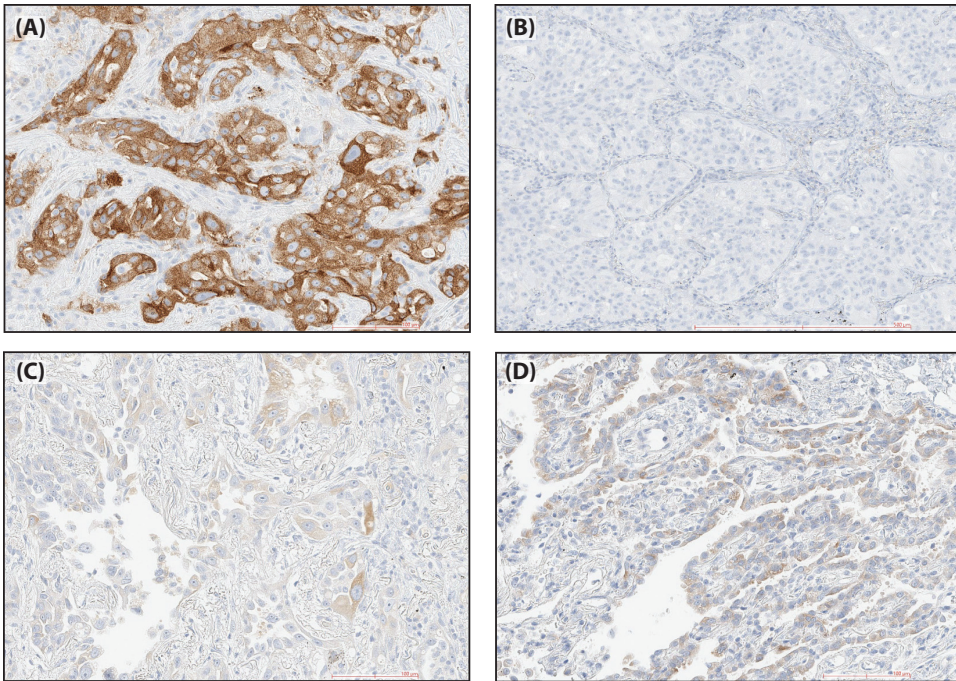
*ROS1* 融合在肺癌中非常罕见, 频率范围为 0.9% 至 2.9%。这些融合在年轻患者、女性和从不吸烟者中更为普遍。<sup>7,8</sup> 它们通常在晚期甲状腺转录因子 1 (TTF1) 阳性腺癌患者中诊断出来<sup>1,9</sup>, 并且很少见于鳞状细胞癌或大细胞癌。<sup>10</sup> *ROS1* 重排肿瘤通常具有坚固的结构, 且通常具有筛型特征、富含沙瘤体的基质和印戒肿瘤细胞。<sup>10</sup> 患者发生血栓栓塞性事件和弥散性血管内凝血的风险可能增加。<sup>11,12</sup>

### 检测策略

荧光原位杂交 (FISH) 是 *ROS1* 融合检测的黄金标准, 大多数实验室使用双色分离探针 (例如 *ROS1* 双色分离探针 [CytoCell]、ZytoLight SPEC *ROS1* 双色分离探针 [ZytoVision/Zytomed] 或 Vysis *ROS1* 分离 FISH 探针 [Abbott])。其原理是用一种荧光染料标记融合断点的 3 $\alpha$  (着丝粒) 部分, 用另一种荧光染料标记 5 $\alpha$  (端粒) 部分。两种 *ROS1* 重排模式被认为具有诊断意义。一种是经典的分离模式, 具有 1 个融合信号 (原生 *ROS1*) 和 2 个分离的 3' 和 5' 信号。另一种称为非典型模式, 有孤立的 3 $\alpha$  (绿色) 信号, 带有 1 个融合信号 (原生 *ROS1*), 没有 5 $\alpha$  信号。<sup>2,13,14</sup> 必须分析至少 50 个肿瘤细胞 (最好是 100 个), 阳性阈值为阳性细胞占比 15% 以上。5 到 25 个阳性细胞计数代表信息不明确, 需要由另一位观察者进行第二次分析。

由于 *ROS1* 重排比较罕见, 而且 FISH 非常耗时且并非在所有病理实验室都能实施, 因此可将免疫组织化学 (IHC) 作为一种筛选技术。<sup>15</sup> 现在有三种商业化的抗 *ROS1* 抗体可供使用: 克隆 D4D6 (Cell Signaling Technology)、用于临床研究; 克隆 SP384 (罗氏组织诊断, 原 Ventana); 和克隆 1A1 (Origene)。与 FISH 和下一代测序 (NGS) 相比, 它们都具有较高的灵敏度 (90%-100%), 但特异性较低, 范围为 70% 至 90%, 且需要使用 FISH 或其他分子技术来确认 IHC 阳性肿瘤的 *ROS1* 重排。<sup>2</sup> 强烈建议使用阳性外部对照, 例如 *ROS1* 重排肿瘤样本或细胞系, 并参与外部质量控制计划。虽然目前没有普遍接受的评分系统, 但弥漫性强胞浆染色比斑片状染色更能表明 *ROS1* 重排肿瘤。<sup>16</sup> 虽然染色通常是细胞质、颗粒状的, 但某些变体 (*CD74* 和 *EZR*) 中报告了高尔基体或膜染色。<sup>14</sup> 值得注意的是, 正常 II 型肺细胞和巨噬细胞以及三分之一的 *EGFR*、*ALK*、或 *MET* 驱动的 NSCLC<sup>13,17</sup> 经常被染色 (图 9-2)。需要确认 IHC 阳性肿瘤中的 *ROS1* 融合, 这可以通过 FISH 或分子技术进行。后者包括多重逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 和 NGS。<sup>15</sup> 设计用于检测内含子区域重排的混合 DNA-RNA NGS 或基于 RNA 的 NGS 受到了青睐。<sup>18</sup> 有趣的是, 全面的基因





**图 9-2.** (A) 具有 *CD74::ROS1* 融合的肺腺癌中的 ROS1 免疫组织化学 (IHC) (克隆 D4D6) ; 强烈且弥散的胞浆染色。(B) 具有 21 号外显子 p.L858R *EGFR* 基因突变的肺腺癌中的 ROS1 IHC (克隆 D4D6) ; 没有染色。(C) 具有 21 号外显子 p.L858R *EGFR* 基因突变的肺腺癌中的 ROS1 IHC (克隆 D4D6) ; 微弱和局灶性的胞浆染色。(D) 具有 *KIF5B::RET* 融合的肺腺癌中的 ROS1 IHC (克隆 D4D6) ; 微弱和局灶性的胞浆染色。

组分析技术现在能够检测任何高达 92% 的循环肿瘤 DNA (ctDNA) 样本中的融合以及 13 种 *ROS1* 融合中的 10 种。<sup>19</sup>

### 临床意义：NSCLC 患者 *ROS1* 肿瘤的治疗

克唑替尼和恩曲替尼是美国食品药品监督管理局 (FDA) 和欧洲药品管理局 (EMA) 批准用于治疗 *ROS1* 重排 NSCLC 的两种药物，<sup>20-23</sup> 尽管已经研发出来了其他药物 (表 9-1)。

克唑替尼对 *ALK* 和 *ROS1* 重排肿瘤具有活性，并根据转移性 *ROS1* 重排 NSCLC 的 PROFILE 1001 试验获得了批准，其总缓解率 (ORR) 为 72%，疾病控制率 (DCR) 为 90%，中位缓解持续时间 (DOR) 为 24.7 个月，中位无进展生存期 (PFS) 和总生存期 (OS) 分别为 19.3 个月和 51.4 个月。<sup>24</sup> 3 期 AcSé 试验发现 ORR 为 47.2%，中位 PFS 和 OS 分别为 5.5 个月和 17.2 个月。<sup>25</sup> EUCROSS 和 METROS 研究显示 ORR 分别为 70% 和 65%，中位 PFS 为 20 个月和 22.8 个月。<sup>26,27</sup> 最常见的 1 级和 2 级副作用是视力障碍 (82%)、腹泻 (44%) 和恶心 (40%)。由于克唑替尼的中枢神经系统 (CNS) 渗透性较低，高达 47% 的患者发生脑转移，而在 *ROS1* 重排 NSCLC 患者中，在诊断时患有脑转移的患者比例高达 36%。<sup>9,28</sup>

色瑞替尼对 *ALK* 和 *ROS1* 重排肿瘤<sup>29</sup> 具有活性。在一项 2 期研究中，32 例 *ROS1* 重排 NSCLC (大多数在一线 [1L] 治疗中) 实现了 62% 的 ORR 和 9.3 个月的



表 9-1. ROS1 抑制剂 (已批准和研发中)

TKI	阶段 (临床研究)	患者数量	ORR (%)	mPFS (月)	mOS (月)
克唑替尼	1 和 2 (Profile 1001)	53	72	19	51
	1 和 2 (AcSé)	36	47	6	17
	2 (EUCROSS)	34	70	20	NR
	2 (METROS)	26	65	23	NR
色瑞替尼	2	32	62	19	24
恩曲替尼	2 (STARTRK 1/2, ALKA 372)	172	69	18	NR
洛拉替尼	1 和 2	69	62 <sup>a</sup>	21	NA
			35 <sup>b</sup>	9	NA
卡博替尼	2	6	33	NA	NA
他雷替尼	2	40	90 <sup>c</sup>	NA	NA
			47 <sup>d</sup>	NA	NA
瑞波替尼	2	55	86	30.9	NA
恩沙替尼	2	59	27	NA	NA
TQ-B3101	2	111	78	15	NA

缩略词：mOS = 中位总生存期；mPFS = 中位无进展生存期；NA = 不适用；NR = 未报告；ORR = 总缓解率；TKI = 酪氨酸激酶抑制剂。

<sup>a</sup> 一线治疗。

<sup>b</sup> 二线治疗及以上。

<sup>c</sup> 克唑替尼初治。

<sup>d</sup> 克唑替尼耐药。

中位 PFS<sup>30</sup>；8 名脑转移患者的 ORR 为 63%。其毒性特征是可以接受的，3 级不良事件发生率为 37%。

恩曲替尼可靶向 NSCLC 中的 *ROS1*、*ALK* 和 *NTRK* 融合。<sup>23</sup> 2 期研究 STARTRK-2 证实了恩曲替尼对 172 名 *ROS1* 重排 NSCLC 患者的疗效，<sup>31,32</sup> 其 ORR 为 69%，中位 PFS 为 17.7 个月，中位 1 年 OS 为 81%。由于恩曲替尼具有 CNS 渗透性，脑转移患者的 ORR 为 79.2%。最常见的不良事件是味觉障碍 (41.4%)、疲劳 (27.9%)、眩晕 (25.4%) 和便秘 (23.7%)。

洛拉替尼具有抗 *ALK* 和 *ROS1* 活性，1L 患者的 ORR 为 62%，中位 PFS 为 21 个月，脑部 ORR 为 64%。<sup>33-35</sup> 在已接受克唑替尼治疗的患者中，ORR、中位 PFS 和脑内 ORR 分别为 35%、8.5 个月和 50%。最常见的 3 级或 4 级不良事件分别发生在 43% 和 6% 的患者中，包括高胆固醇血症 (65%)、高甘油三酯血症 (42%)、周围水肿 (39%) 和周围神经病变 (35%)。

瑞波替尼可靶向 *ROS1*、*NTRK* 或 *ALK*，并具有 CNS 活性。临床前模型显示出针对脑转移、初治肿瘤、色瑞替尼耐药肿瘤和 1G2032R 耐药突变肿瘤的抗肿瘤活性。<sup>36</sup> 临床 1 期和 2 期试验正在进行中。

恩沙替尼 (X-396) 是一种酪氨酸激酶抑制剂 (TKI)，已证实对 *ALK* 有效，<sup>37</sup> 并且一项 *ROS1* 阳性 NSCLC 的 2 期试验显示其疗效较差，ORR 为 27%，但四分之三的患者具有 CNS 活性。<sup>38</sup>

## 耐药机制

靶点耐药机制包括获得性 *ROS1* 突变,<sup>39-45</sup> 其中最常见的是 G2032R, 其次是 D2033N, 两者都是溶剂前沿突变。需要注意的是, L2086F 正在成为一种重要的耐药突变, 因为它对所有 I 型 *ROS1* TKI (克唑替尼、洛拉替尼、他雷替尼) 产生耐药性。<sup>43-45</sup> 其他较罕见的获得性耐药突变包括门控开关突变 L2026M、G2032K、S1986F/Y、L2000V 和 F2004V。<sup>39-45</sup>

洛拉替尼对 K1991E 或 S1986F 耐药突变有效, 但对 G2032R 突变的疗效有限<sup>33,46</sup>, 尤其是在恩曲替尼失败后。<sup>47</sup> 克唑替尼和洛拉替尼的序贯使用导致了 G2032R/L2086F 复合突变, 但幸运的是, 卡博替尼有望克服这些复合突变,<sup>44,48</sup> 它选择性地靶向 MET、VEGFR2、RET、*ROS1* 和 AXL, 具有良好的脑渗透性。尽管存在 D2033N 或 G2032R 等耐药突变, 但卡博替尼可用于克服对克唑替尼、色瑞替尼和恩曲替尼的耐药性。<sup>30,49,50</sup> 另一种 *ROS1* 抑制剂布加替尼已证明对多种克唑替尼耐药机制具有抗肿瘤活性,<sup>51</sup> 包括 L2026M 突变, 但不针对 G2032R 突变。<sup>51-53</sup> 他雷替尼是一种 *ROS1* 和 NTRK 抑制剂, 可靶向耐药 *ROS1* 重排 NSCLC,<sup>48</sup> 具有针对 G2032R、L1951R、S1986F 和 L2026M 突变的体外活性, 但针对 D2033N 突变的活性较低。

非靶点耐药机制涉及 *MET* 扩增、*KRAS* 突变和小细胞肺转化。<sup>46,54,55</sup> 最后, 与所有 RTK 融合阳性 NSCLC 一样, CNS 的进展始终是一种耐药机制。<sup>56</sup> 在这种情况下, 应该选择 *ROS1* TKI 作为治疗方案, 其赋予 CNS 活性的同时克服 *ROS1* 重排 NSCLC 中许多预测的获得性 *ROS1* 突变。

近期, 2022 年欧洲肺癌大会 (ELCC) 期间发布了靶向 ALK、*ROS1* 和 MET 的新型小分子 RTK 抑制剂 TQ-B3101。根据数据显示, 在 111 名 *ROS1* 重排 NSCLC 患者中, TQ-B3101 可以实现 ORR 为 78.4%, DCR 为 87.4%。中位 PFS 为 15.6 个月, 中位 DOR 为 20.3。尚未得到 TQ-B3101 的中位 OS 数据, 但其 12 个月和 24 个月 OS 率分别为 98.1% 和 88.1%。尚未发布有关耐药性的数据。<sup>57</sup>

## 参考文献

1. Drilon A, Jenkins C, Iyer S, et al. *ROS1*-dependent cancers: biology, diagnostics and therapeutics. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18(1):35-55.
2. Bubendorf L, Büttner R, Al-Dayel F, et al. Testing for *ROS1* in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch*. 2016;469(5):489-503.
3. Davies KD, Doebele RC. Molecular pathways: *ROS1* fusion proteins in cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(15):4040-4045.
4. Cui M, Han Y, Li P, et al. Molecular and clinicopathological characteristics of *ROS1*-rearranged non-small-cell lung cancers identified by next-generation sequencing. *Mol Oncol*. 2020;14(11):2787-2795.
5. Gendarme S, Bylicki O, Chouaid C, Guisier F. *ROS-1* fusions in non-small-cell lung cancer: evidence to date. *Curr Oncol*. 2022;29(2):641-658.
6. Lambros L, Guibourg B, Uguen A. *ROS1*-rearranged non-small cell lung cancers with concomitant oncogenic driver alterations: about some rare therapeutic dilemmas. *Clin Lung Cancer*. 2018;19(1):e73-74.
7. Zhang Q, Wu C, Ding W, et al. Prevalence of *ROS1* fusion in Chinese patients with non-small cell lung cancer. *Thorac Cancer*. 2019;10(1):47-53.
8. Cai W, Li X, Su C, et al. *ROS1* fusions in Chinese patients with non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2013;24(7):1822-1827.

9. Patil T, Smith DE, Bunn PA, et al. The incidence of brain metastases in stage IV ROS1-rearranged non-small cell lung cancer and rate of central nervous system progression on crizotinib. *J Thorac Oncol.* 2018;13(11):1717-1726.
10. Park E, Choi YL, Ahn MJ, Han J. Histopathologic characteristics of advanced-stage ROS1-rearranged non-small cell lung cancers. *Pathol Res Pract.* 2019;215(7):152441.
11. Zhu VW, Zhao JJ, Gao Y, et al. Thromboembolism in ALK+ and ROS1+ NSCLC patients: a systematic review and meta-analysis. *Lung Cancer.* 2021;157:147-155.
12. Woodford R, Lu M, Beydoun N, et al. Disseminated intravascular coagulation complicating diagnosis of ROS1-mutant non-small cell lung cancer: a case report and literature review. *Thorac Cancer.* 2021;12(17):2400-2403.
13. Mescam-Mancini L, Lantuéjoul S, Moro-Sibilot D, et al. On the relevance of a testing algorithm for the detection of ROS1-rearranged lung adenocarcinomas. *Lung Cancer.* 2014;83(2):168-173.
14. Yoshida A, Tsuta K, Wakai S, et al. Immunohistochemical detection of ROS1 is useful for identifying ROS1 rearrangements in lung cancers. *Mod Pathol.* 2014;27(5):711-720.
15. Kalemkerian GP, Narula N, Kennedy EB, et al. Molecular testing guideline for the selection of patients with lung cancer for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology Endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol.* 2018;36(9):911-919.
16. Fielder T, Butler J, Tierney G, et al. ROS1 rearrangements in lung adenocarcinomas are defined by diffuse strong immunohistochemical expression of ROS1. *Pathology.* 2022;54(4):399-403.
17. Mitiushkina NV, Romanko AA, Preobrazhenskaya EV, et al. Comprehensive evaluation of the test for 5'-/3'-end mRNA unbalanced expression as a screening tool for ALK and ROS1 fusions in lung cancer. *Cancer Med.* 2022;11(17):3226-3237.
18. Paz-Ares L, Gonds A, Saldana D, et al. Genomic testing among patients with newly diagnosed advanced non-small cell lung cancer in the United States: a contemporary clinical practice patterns study. *Lung Cancer.* 2022;167:41-48.
19. Lee JK, Hazar-Rethinam M, Decker B, et al. The pan-tumor landscape of targetable kinase fusions in circulating tumor DNA. *Clin Cancer Res.* 2022;28(4):728-737.
20. FDA approves entrectinib for NTRK solid tumors and ROS-1 NSCLC [news release]. US Food and Drug Administration, August 16, 2019. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-entrectinib-ntrk-solid-tumors-and-ros-1-nsclc>.
21. FDA approves crizotinib capsules [news release]. US Food and Drug Administration, March 11, 2016. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-crizotinib-capsules>.
22. Meeting highlights from the Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) October 19-22, 2015. European Medicines Agency, October 23, 2015. <https://www.ema.europa.eu/en/news/meeting-highlights-committee-medicinal-products-human-use-chmp-19-22-october-2015>.
23. Fan Y, Drilon A, Chiu C-H, et al. Entrectinib in patients with ROS1 fusion-positive (ROS1-fp) NSCLC: updated efficacy and safety analysis. *J Thorac Oncol.* 2022;17(9 suppl):S89-S90.
24. Shaw AT, Ou SHI, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2014;371(21):1963-1971.
25. Moro-Sibilot D, Cozic N, Pérol M, et al. Crizotinib in c-MET- or ROS1-positive NSCLC: results of the AcSé phase II trial. *Ann Oncol.* 2019;30(12):1985-1991.
26. Michels S, Massutí B, Schildhaus HU, et al. Safety and efficacy of crizotinib in patients with advanced or metastatic ROS1-rearranged lung cancer (EUCROSS): a European phase II clinical trial. *J Thorac Oncol.* 2019;14(7):1266-1276.
27. Chiari R, Ricciuti B, Landi L, et al. ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer is associated with a high rate of venous thromboembolism: analysis from a phase II, prospective, multicenter, two-arms trial (METROS). *Clin Lung Cancer.* 2020;21(1):15-20.
28. Wu YL, Yang JCH, Kim DW, et al. Phase II study of crizotinib in east Asian patients with ROS1-positive advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(14):1405-1411.

29. Shaw AT, Kim TM, Crinò L, et al. Ceritinib versus chemotherapy in patients with ALK-rearranged non-small-cell lung cancer previously given chemotherapy and crizotinib (ASCEND-5): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(7):874-886.
30. Drilon A, Somwar R, Wagner JP, et al. A novel crizotinib-resistant solvent-front mutation responsive to cabozantinib therapy in a patient with ROS1-rearranged lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2016;22(10):2351-2358.
31. Drilon A, Siena S, Dziadziuszko R, et al. Entrectinib in ROS1 fusion-positive non-small-cell lung cancer: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol.* 2020;21(2):261-270.
32. Dziadziuszko R, Krebs MG, De Braud F, et al. Updated integrated analysis of the efficacy and safety of entrectinib in locally advanced or metastatic ROS1 fusion-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2021;39(11):1253-1263.
33. Shaw AT, Felip E, Bauer TM, et al. Lorlatinib in non-small-cell lung cancer with ALK or ROS1 rearrangement: an international, multicentre, open-label, single-arm first-in-man phase 1 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(12):1590-1599.
34. Shaw AT, Solomon BJ, Chiari R, et al. Lorlatinib in advanced ROS1-positive non-small-cell lung cancer: a multicentre, open-label, single-arm, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20(12):1691-1701.
35. Solomon BJ, Besse B, Bauer TM, et al. Lorlatinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: results from a global phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2018;19(12):1654-1667.
36. Yun MR, Kim DH, Kim SY, et al. Repotrectinib exhibits potent antitumor activity in treatment-naïve and solvent-front-mutant ROS1-rearranged non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(13):3287-3295.
37. Horn L, Infante JR, Reckamp KL, et al. Ensartinib (X-396) in ALK-positive non-small cell lung cancer: results from a first-in-human phase I/II, multicenter study. *Clin Cancer Res.* 2018;24(12):2771-2779.
38. Ai X, Wang Q, Cheng Y, et al. Safety but limited efficacy of ensartinib in ROS1-positive NSCLC: a single-arm, multicenter phase 2 study. *J Thorac Oncol.* 2021;16(11):1959-1963.
39. Awad MM, Katayama R, McTigue M, et al. Acquired resistance to crizotinib from a mutation in CD74-ROS1. *N Engl J Med.* 2013;368(25):2395-2401.
40. Gainor JF, Tseng D, Yoda S, et al. Patterns of metastatic spread and mechanisms of resistance to crizotinib in ROS1-positive non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol.* 2017;2017:PO.17.00063.
41. Dagogo-Jack I, Rooney M, Nagy RJ, et al. Molecular analysis of plasma from patients with ROS1-positive NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2019;14(5):816-824.
42. Dimou A, Ou SHI, Doebele RC. Dramatic response to lorlatinib in a patient with CD74-ROS1-positive lung adenocarcinoma with acquired F2004V mutation. *JCO Precis Oncol.* 2019;3:PO.19.00013.
43. Zhang Y, Huang Z, Zeng L, et al. Disease progression patterns and molecular resistance mechanisms to crizotinib of lung adenocarcinoma harboring ROS1 rearrangements. *NPJ Precis Oncol.* 2022;6(1):20.
44. Lin JJ, Choudhury NJ, Yoda S, et al. Spectrum of mechanisms of resistance to crizotinib and lorlatinib in ROS1 fusion-positive lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2021;27(10):2899-2909.
45. Papadopoulos KP, Borazanci E, Shaw AT, et al. U.S. Phase I first-in-human study of taletrectinib (DS-6051b/AB-106), a ROS1/TRK inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2020;26(18):4785-4794.
46. Wu X, Wang Y, Wan S, Zhang J. Investigation on the binding mechanism of lorlatinib with the c-ros oncogene 1 (ROS1) receptor tyrosine kinase via molecular dynamics simulation and binding free energy calculations. *J Biomol Struct Dyn.* 2018;36(12):3106-3113.
47. Facchinetti F, Levy A, Ammari S, et al. Meningeal “Lazarus response” to lorlatinib in a ROS1-positive NSCLC patient progressing to entrectinib. *Cancer Manag Res.* 2021;13:2805-2810.
48. Li W, Yang N, Ma H-W, et al. The efficacy and safety of taletrectinib in patients with TKI-naïve or crizotinib-pretreated ROS1-positive non-small cell lung cancer (NSCLC) [abstract 8572]. *J Clin Oncol.* 2022;40(suppl 16):8572. doi:10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.8572.
49. Sun TY, Niu X, Chakraborty A, Neal JW, Wakelee HA. Lengthy progression-free survival and intracranial activity of cabozantinib in patients with crizotinib and ceritinib-resistant ROS1-positive non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(2):e21-24.
50. Katayama R, Kobayashi Y, Friboulet L, et al. Cabozantinib overcomes crizotinib resistance in ROS1 fusion-positive cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21(1):166-174.

51. Zhang S, Anjum R, Squillace R, et al. The potent ALK inhibitor brigatinib (AP26113) overcomes mechanisms of resistance to first- and second-generation ALK inhibitors in preclinical models. *Clin Cancer Res.* 2016;22(22):5527-5538.
52. Hegde A, Hong DS, Behrang A, et al. Activity of brigatinib in crizotinib and ceritinib-resistant ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol.* 2019;3:PO.18.000267.
53. Camidge DR, Kim DW, Tiseo M, et al. Exploratory analysis of brigatinib activity in patients with anaplastic lymphoma kinase-positive non-small-cell lung cancer and brain metastases in two clinical trials. *J Clin Oncol.* 2018;36(26):2693-2701.
54. McCoach CE, Le AT, Gowan K, et al. Resistance mechanisms to targeted therapies in ROS1+ and ALK+ non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2018;24(14):3334-3347.
55. Lin JJ, Langenbucher A, Gupta P, et al. Small cell transformation of ROS1 fusion-positive lung cancer resistant to ROS1 inhibition. *NPJ Precis Oncol.* 2020;4:21.
56. Ou SHI, Zhu VW. CNS metastasis in ROS1+ NSCLC: an urgent call to action, to understand, and to overcome. *Lung Cancer.* 2019;130:201-207.
57. Lu S, Pan H, Wu L, et al. The efficacy and safety of TQ-B3101 monotherapy in the first-line treatment in patients with ROS1-positive non-small cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2022;33(suppl 2):S27-S70. doi:10.1016/annonc/annonc856.

# 鼠类肉瘤病毒癌基因同源物 B

Paul Hofman、Anja C. Roden、Jin-Haeng Chung 和 David Planchard

# 10

## 基因结构、信号传导和功能

鼠类肉瘤病毒癌基因同源物 B (*BRAF*) 基因编码 BRAF 激酶，该激酶是 RAF 丝氨酸 / 苏氨酸激酶家族的成员，是 RTK-RAS-RAF-MEK-ERK 生长因子信号通路 (RAS/MAPK 信号传导) 的组成部分。<sup>1</sup> BRAF 激酶是 EGFR 激活后胞内信号传导的重要步骤。BRAF 是一种 95 kDa 丝氨酸 / 苏氨酸激酶蛋白，编码于染色体 7 (7q) 的长臂上。从全球范围内来看，BRAF 在调节细胞增殖、分裂和死亡方面发挥着核心作用。在正常组织中，一旦信号移动到级联中的下一个点，BRAF 激酶通常会通过负反馈而表达沉默。*BRAF* 突变导致 RAS-RAF-MEK-ERK 通路激活，致使细胞生长和增殖失控。

## 改变的类型及其在肿瘤形成中的作用

### 突变

在各种肿瘤和癌细胞系中已发现近 300 种不同的 *BRAF* 突变，包括黑色素瘤、结直肠癌、甲状腺乳头状癌和非小细胞肺癌 (NSCLC)。大多数突变发生在密码子 V600 附近的激活环中，或在残基 464-469 的磷酸结合环中。这些 *BRAF* 突变共分为 3 类<sup>2</sup>，其类别根据以下关键方面进行报告：(1) 激酶活性；(2) 二聚体化状态；以及 (3) RAS 依赖性。

I 类 *BRAF* 突变被认为是 RAS 非依赖性的，因为即使在单体状态下，它们也具有高激酶活性。15 号外显子的密码子 600 点突变 (*BRAF* V600) 就属于此类，其导致缬氨酸被其他氨基酸所取代，如谷氨酸 (V600E)、赖氨酸 (V600K)、天冬氨酸 (V600D)、蛋氨酸 (V600M)、亮氨酸 (V600L) 和精氨酸 (V600R)。I 类突变体会促进丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 通路的组成性激活，导致 BRAF 激酶强烈激活。这些类型的突变通常对 BRAF 和 MAPK 激酶 (MEK) 抑制剂高度敏感。



II 类 *BRAF* 突变的特点是中间激酶活性，允许 RAS 不依赖，但需要同源二聚体形成才能完全激活。II 类突变体，包括 *K601*、*L597*、*G464* 和 *G469* 突变，位于激活片段或 P 环中，并以 RAS 非依赖性二聚体形式发出信号。

III 类 *BRAF* 突变的激酶活性受损，因此需要 RAS 激活和野生型 CRAF 异源二聚体形成才能发挥全部功能。这些 III 类突变体出现在 P 环、催化环或 DFG 基序中，并且会导致 *BRAF* 激酶活性受损。II 类和 III 类突变是非 V600 突变。NSCLC 中大约 50% 的 *BRAF* 突变是非 V600 突变。

### ***BRAF* 突变 NSCLC 中的并发突变**

高达 90% 的 *BRAF* 突变 NSCLC 患者可能会同时发现基因改变。*TP53*、*STK11*、*KRAS*、*NF1* 和一些酪氨酸激酶受体是组织样本和细胞游离 DNA (cfDNA) 中最常见的共同改变基因。*SMAD4* 和 *PIK3CA* 的改变与 *BRAF* V600E 相关，而 *KEAP1*、*NF1*、*MET*、*RICTOR*、*KRAS*、*MYC*、*STK11* 和 *TP53* 的改变更常发生在非 V600E *BRAF* 突变中。

### **缺失**

*BRAF* 缺失突变可发生在实体瘤中，也可能作为 *BRAF* 抑制剂和 MEK 抑制剂的一种耐药机制。缺失突变发生在 *BRAF* 激酶结构域中的  $\alpha$ C 螺旋附近，通过抑制  $\alpha$ C 螺旋的活性构象来增强激酶活性。

### **融合**

在包括 NSCLC 在内的不同癌症类型中，至少发现了 18 种不同的 5' 融合配对。NSCLC 中最常见的融合配对是 *AGK*。*BRAF* 融合在 NSCLC 中的发生率低于 1%，并且所有具有 *BRAF* 融合的 NSCLC 均为腺癌。<sup>3</sup> 大多数 *BRAF* 融合模式在 *BRAF* 激酶结构域中与断点同处框内。激活 *BRAF* 融合是通过截断 N 端 CR1 自抑制结构域而发生的，这导致 *BRAF* 通路的组成性激活，类似于 II 类 *BRAF* 突变体。

### **扩增**

对 MEK1/2 抑制剂 (MEKi) 的获得性耐药是通过 *BRAF* V600E 或 *KRAS* 扩增来恢复 ERK1/2 信号传导而产生的。停药后，*BRAF* V600E 扩增和 MEKi 耐药可逆。具有 *BRAF* V600E 扩增的细胞对 MEKi 成瘾，以维持 ERK1/2 信号传导的精确水平，该水平是维持体内细胞增殖和存活以及肿瘤生长的最佳水平。*BRAF* V600E 扩增在停药后产生选择性劣势，这验证了可通过间歇给药预防耐药性。

### **流行病学、临床和组织学特征**

*BRAF* 突变存在于 8% 的人类癌症中，主要是毛细胞白血病 (100%)、黑色素瘤 (40%-50%)、甲状腺癌 (10%-70%，取决于组织学亚型)、结直肠癌 (10%) 和 NSCLC (3%-8%)。

有 3.7% 的男性 NSCLC 患者和 4% 的女性 NSCLC 患者检测到 *BRAF* 突变。<sup>4,5</sup> *BRAF* 突变与吸烟史相关，约 4.7% 的有吸烟史者或当前吸烟者以及 3% 的从不吸烟

者检测到 *BRAF* 突变。腺癌是最常见的组织学模式，因为在约 4% 的腺癌和 0.6% 的非腺癌中可检测到 *BRAF* 突变。<sup>4,5</sup> 此外，在约 4% 的 I 期或 II 期疾病患者和 7.6% 的 III 期或 IV 期癌症患者中检测到 *BRAF* 突变。*BRAF* V600E 突变占 NSCLC 中所有 *BRAF* 突变的 54%，女性患者（71%，而男性 *BRAF* 突变病例为 38%）及 III 期或 IV 期疾病患者的患病率较高（57%，而 I-II 期 *BRAF* 突变病例为 48%）。从全球范围来看，*BRAF* 突变更多见于女性患者，但非 V600E 突变似乎在男性患者中发生的频率更高。<sup>5</sup> 大多数 *BRAF* 突变 NSCLC 患者目前吸烟或有既往吸烟史，但其患病率存在差异：20% 至 30% 存在 V600E 突变的患者从不吸烟，但几乎所有存在非 V600E 改变的患者都是重度吸烟者。<sup>5</sup>

*BRAF* 突变 NSCLC 有影响中枢神经系统的倾向。值得注意的是，与 II 类和 III 类改变患者相比，I 类改变患者诊断时脑转移的发生率明显较低。*BRAF* 突变在 NSCLC 中的预后意义尚不清楚。在早期阶段，与野生型突变患者相比，因 *BRAF* V600E 突变 NSCLC 切除的患者表现出较短的无病生存和总生存 (OS) 率，但在将所有 *BRAF* 突变患者（包括 V600E 和非 V600E）与野生型人群进行比较时，并没有出现这种差异。在发生转移的情况下，*BRAF* 突变肿瘤患者和野生型肿瘤患者之间的无进展生存期和 OS 没有差异。但据报告，与非 V600E 突变肿瘤患者相比，*BRAF* V600E 突变肿瘤患者在铂化疗后的临床效果较差。

## 检测策略

### 免疫组织化学

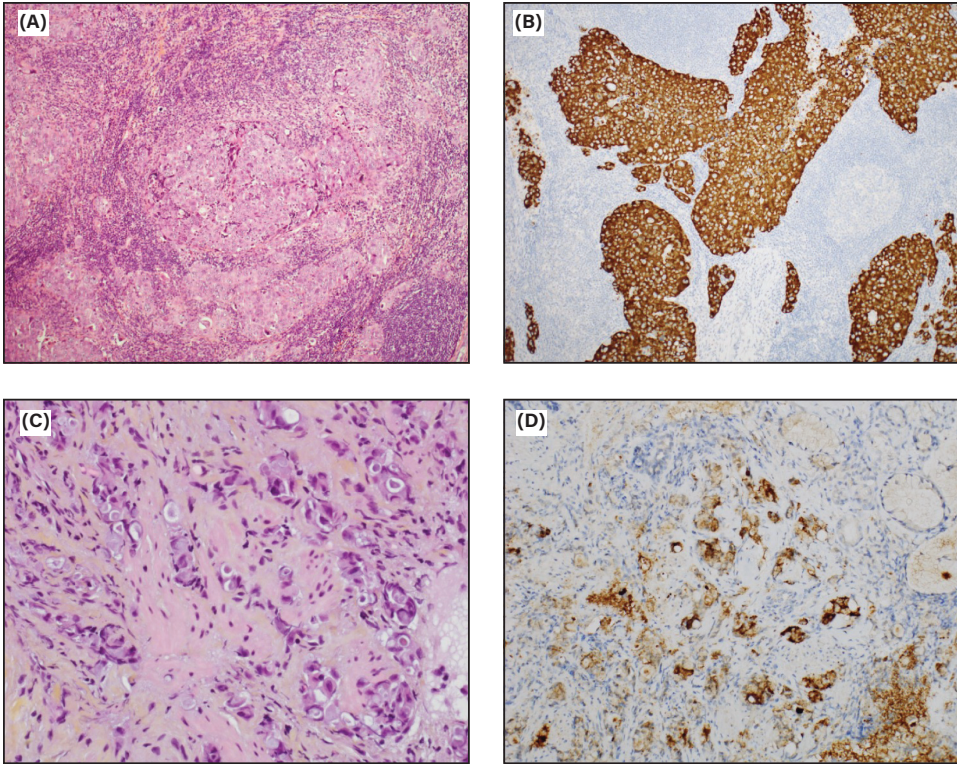
用于突变 *BRAF* 蛋白免疫组织化学 (IHC) 的抗体是克隆 VE1 (图 10-1)。<sup>6</sup> IHC 的目的是识别质变（即蛋白是否存在）。该检测的局限性在于它只能测试 *BRAF* V600E 突变，而不能检测非 V600E 突变。<sup>7-9</sup> 虽然数据有限，但 VE1 克隆有可能对 p.V600E 突变腺癌的 90% 至 100% 进行染色。<sup>10</sup> 目前，对于使用 *BRAF* p.V600E IHC 检测 NSCLC，尚未达成标准建议或共识。

### 分子检测

*BRAF* 突变可通过 DNA 测序技术来识别，例如等位基因特异性聚合酶链反应 (PCR) 或下一代测序 (NGS)。这两种方法在组织标本中具有相当的灵敏度、特异性和一致性；然而，由于 NGS 能够同时识别多种致癌改变，因此被广泛认为是首选检测方法。

### 聚合酶链反应

最常用的检测是逆转录 (RT)-PCR。目前，Cobas 4800 *BRAF* V600 突变检测（罗氏诊断）和 THxID-*BRAF* 试剂盒 (Biomérieux) 是美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的伴随式诊断检测。其他实验室研发的检测也已用于检测 *BRAF* 突变状态，并且根据当地的批准，通过其他方法进行的确认检测可能需要也可能不需要用于报销目的。与基因测序方法相比，RT-PCR 的主要优点是周转时间更快、具有可重复性、特异性、



**图 10-1. (A 和 B)** 实体腺癌 (肺肿瘤切除术, x40)。(A) 苏木精和伊红 (H&E)。(B) 免疫过氧化物酶 (抗 BRAF V600E; VE1 克隆)。(C 和 D) 浸润性粘液腺癌 (支气管活检)。(C) H&E。(D) 免疫过氧化物酶 (抗 BRAF V600E; VE1 克隆)。

敏感性, 但成本更低。然而, 其中一些方法仅针对位于 15 号外显子的 *BRAF* V600E 突变。因此, 它们可能无法检测 NSCLC 中也常见的 11 号外显子突变。

### 下一代测序

具有多种基因组组合的 NGS 应被用于评估 11 号外显子和 15 号外显子中可能发生的 *BRAF* V600E 突变和非 V600E 突变。<sup>11</sup> 此外, 随着更多新颖的罕见驱动基因的发现, 与单基因方法相比, 对多基因检测的需求逐渐增加。NGS 的优点包括:

- 需要相对较少的肿瘤组织
- 可对多种生物标志物进行检测
- 包括用于临床试验登记的新兴生物标志物
- 可以检测与 *BRAF* 突变一起发生的共突变

一般来说, 它也比序贯检测更经济。然而, 由于数据量巨大, 解读 NGS 报告可能很复杂, 而且 NGS 也并非普遍可用。NGS 的周转时间比 RT-PCR 和 IHC 检测的周转时间长。



## 使用液体活检进行 *BRAF* 检测

可以通过微滴式数字 PCR 或 RT-PCR 检测 cfDNA 中的 *BRAF* V600E 突变。<sup>12</sup> 还可以使用 NGS 在循环游离 DNA 中检测 *BRAF* V600E 和非 V600E 突变。目前没有相关数据，未能说明在无法获得组织样本的情况下，cfDNA 是否可以作为识别 *BRAF* 突变的替代分析物。使用 PCR 或 NGS 技术时，将血浆与福尔马林固定石蜡包埋的肿瘤样本进行匹配，可达到 *BRAF* 突变的高一致性。<sup>13</sup>

## 临床意义

对 *BRAF* 突变 NSCLC 患者的治疗主要分为 2 种，一种是针对 *BRAF* V600 突变病例，另一种针对 *BRAF* 非 V600 突变病例。目前批准的靶向药物是围绕 *BRAF* V600E 的结构专门设计的，同时在临床试验中继续探索针对 II/III 类 *BRAF* 非 V600E 突变的新治疗策略。

## 靶向治疗

由于 *BRAF* 突变的识别和 MAPK 通路在 NSCLC 中的影响，研究人员研发了几种高效的选择性腺苷三磷酸 (ATP) 竞争性 MAPK 抑制剂，专门用于结合 *BRAF* 活性构象的 ATP 结合口袋，尤其是 *BRAF* V600E，包括维莫非尼或达拉非尼。<sup>14</sup> 然而，尽管它们具有有效的抗肿瘤活性，但最终会产生对 *BRAF* 抑制剂的耐药性，这主要是由下游 MEK/REK 通路的重新激活导致的。添加 MEK1/2 抑制剂（例如曲美替尼）可显著改善治疗结果（总缓解率 [ORR] 和中位无进展生存期 [mPFS] 分别为 33% 和 5.4 个月，而达拉非尼或达拉非尼加曲美替尼分别为 68% 和 10.2 个月，用于既往接受过治疗的 *BRAF* V600E 突变转移性 NSCLC 患者）。<sup>15,16</sup> 迄今为止，FDA 和欧洲药品管理局 (EMA) 已批准针对 *BRAF* V600E 突变 NSCLC 的双靶向治疗（达拉非尼和曲美替尼），这也是美国国家综合癌症网络 (NCCN) 和欧洲肿瘤内科学会 (ESMO) 指南所推荐的。<sup>17-21</sup>

## 免疫治疗

关于免疫检查点抑制剂 (ICIs) 对 *BRAF* 突变人群益处的数据非常少。相关回顾性研究的结果也普遍令人失望。国际 IMMUNOTARGET 研究显示 *BRAF* 突变疾病患者的预后较差，ORR 为 24%，mPFS 为 3.1 个月。<sup>22</sup> 在另一项回顾性研究中，I 类改变肿瘤对 ICI 的 ORR 为 9%，II/III 类的为 26%，两组的中位治疗时间均为 1.9 个月。<sup>23</sup> 有必要进行前瞻性临床试验，以确定对这些患者而言，将 ICI 与 *BRAF* 靶向治疗联合使用为最佳，或是不联合使用为最佳。<sup>23</sup> 相关结果可强化靶向治疗在 *BRAF* 突变 V600E NSCLC 患者中的强大地位。

## 化疗

该人群的化疗结果鲜为人知。目前没有明确的证据表明 *BRAF* 状态会影响接受化疗患者的 PFS 或 OS。<sup>24</sup>

## 耐药机制

与 NSCLC 的其他靶向治疗一样, 对 BRAF 通路抑制剂的耐药性不可避免, 从而导致疾病进展。<sup>2,25,26</sup> 目前, 对 NSCLC 治疗中 BRAF 抑制剂的潜在耐药机制仍知之甚少。通过 MAPK 通路重新激活细胞外信号调节激酶 (ERK) 信号传导是涉及 BRAF 抑制剂继发性耐药的主要机制, 该机制可能发生在 BRAF 激酶的上游或下游。涉及的耐药机制还包括参与 MAPK 信号通路的其他基因二次突变, 导致 ERK 信号传导的 BRAF 非依赖性重新激活, 例如 *NRAS/KRAS* 或 *MEK1/2* 突变或 *BRAF* 剪接变体, 以及增加 *BRAF* V600E 同源二聚体水平的基因扩增。*BRAF* 基因的获得性突变很少被描述为一种耐药机制。旁路激活是靶向治疗继发性耐药的主要原因。磷酸酯酶和张力蛋白同源物 (*PTEN*) 功能缺失改变可能导致 *BRAF* V600E 肿瘤对达拉非尼和曲美替尼联合疗法产生耐药性。

## 参考文献

1. Poulikakos PI, Sullivan RJ, Yaeger R. Molecular pathways and mechanisms of BRAF in cancer therapy. *Clin Cancer Res*. 2022;28(21):4618-4628. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-2138.
2. Riudavets M, Cascetta P, Planchard D. Targeting BRAF-mutant non-small cell lung cancer: current status and future directions. *Lung Cancer*. 2022;169:102-114. doi:10.1016/j.lungcan.2022.05.014.
3. Kazdal D, Hofman V, Christopoulos P, et al. Fusion-positive non-small cell lung carcinoma: biological principles, clinical practice, and diagnostic implications. *Genes Chromosomes Cancer*. 2022;61(5):244-260. doi:10.1002/gcc.23022.
4. Chen D, Zhang LQ, Huang JF, et al. BRAF mutations in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(6):e101354. doi:10.1371/journal.pone.0101354.
5. Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol*. 2011;29(26):3574-3579. doi:10.1200/JCO.2011.35.9638.
6. Ritterhouse LL, Barletta JA. BRAF V600E mutation-specific antibody: a review. *Semin Diagn Pathol*. 2015;32(5):400-408. doi:10.1053/j.semmp.2015.02.010.
7. Ilie M, Long E, Hofman V, et al. Diagnostic value of immunohistochemistry for the detection of the BRAFV600E mutation in primary lung adenocarcinoma Caucasian patients. *Ann Oncol*. 2013;24(3):742-748. doi:10.1093/annonc/mds534.
8. Hofman V, Benzaquen J, Heeke S, et al. Real-world assessment of the BRAF status in non-squamous cell lung carcinoma using VE1 immunohistochemistry: a single laboratory experience (LPCE, Nice, France). *Lung Cancer*. 2020;145:58-62. doi:10.1016/j.lungcan.2020.04.024.
9. Sasaki H, Shimizu S, Tani Y, et al. Usefulness of immunohistochemistry for the detection of the BRAF V600E mutation in Japanese lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2013;82(1):51-54. doi:10.1016/j.lungcan.2013.06.014.
10. Gow CH, Hsieh MS, Lin YT, Liu YN, Shih JY. Validation of immunohistochemistry for the detection of BRAF V600E-mutated lung adenocarcinomas. *Cancers (Basel)*. 2019;11(6):866. doi:10.3390/cancers11060866.
11. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol*. 2020;31(11):1491-1505. doi:10.1016/j.annonc.2020.07.014.
12. Iaccarino A, Pisapia P, Pepe F, et al. Liquid biopsy for BRAF mutations testing in non-small cell lung cancer: a retrospective study. *J Clin Pathol*. 2022;75(1):58-60. doi:10.1136/jclinpath-2020-207107.
13. Leighl NB, Page RD, Raymond VM, et al. Clinical utility of comprehensive cell-free DNA analysis to identify genomic biomarkers in patients with newly diagnosed metastatic non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4691-4700. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0624.

14. Tabbò F, Pisano C, Mazieres J, et al; BOLERO Consortium. How far we have come targeting BRAF-mutant non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancer Treat Rev.* 2022;103:102335. doi:10.1016/j.ctrv.2021.102335.
15. Planchard D, Kim TM, Mazieres J, et al. Dabrafenib in patients with BRAF(V600E)-positive advanced non-small-cell lung cancer: a single-arm, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016A;17(5):642-50. doi:10.1016/S1470-2045(16)00077-2.
16. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAF(V600E)-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(7):984-993. doi:10.1016/S1470-2045(16)30146-2.
17. Johnson BE, Baik CS, Mazieres J, et al. Clinical outcomes with dabrafenib plus trametinib in a clinical trial versus real-world standard of care in patients with BRAF-mutated advanced NSCLC. *JTO Clin Res Rep.* 2022;3(5):100324. doi:10.1016/j.jtocr.2022.100324.
18. Leonetti A, Facchinetti F, Rossi G, et al. BRAF in non-small cell lung cancer (NSCLC): pickaxing another brick in the wall. *Cancer Treat Rev.* 2018;66:82-94. doi:10.1016/j.ctrv.2018.04.006.
19. Planchard D, Smit EF, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAFV600E-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2017; 18(10):1307-1316. doi:10.1016/S1470-2045(17) 30679-4.
20. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Phase 2 study of dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF V600E-mutant metastatic NSCLC: updated 5-year survival rates and genomic analysis. *J Thorac Oncol.* 2022;17(1):103-115. doi:10.1016/j.jtho.2021.08.011.
21. Yan N, Guo S, Zhang H, et al. BRAF-mutated non-small cell lung cancer: current treatment status and future perspective. *Front Oncol.* 2022;12:863043. doi:10.3389/fonc.2022.863043.
22. Mazieres J, Drilon A, Lusque A, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol.* 2019;30(8):1321-1328. doi:10.1093/annonc/mdz167.
23. Murciano-Goroff YR, Pak T, Mondaca S, et al. Immune biomarkers and response to checkpoint inhibition of BRAFV600 and BRAF non-V600 altered lung cancers. *Br J Cancer.* 2022;126(6):889-898. doi:10.1038/s41416-021-01679-1.
24. Couraud S, Barlesi F, Fontaine-Deraluelle C, et al; Biomarkers France Contributors. Clinical outcomes of non-small-cell lung cancer patients with BRAF mutations: results from the French Cooperative Thoracic Intergroup biomarkers France study. *Eur J Cancer.* 2019;116:86-97. doi:10.1016/j.ejca.2019.04.016.
25. Facchinetti F, Lacroix L, Mezquita L, et al. Molecular mechanisms of resistance to BRAF and MEK inhibitors in BRAFV600E non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer.* 2020;132:211-223. doi:10.1016/j.ejca.2020.03.025.
26. Ortiz-Cuaran S, Mezquita L, Swalduz A, et al. Circulating tumor DNA genomics reveal potential mechanisms of resistance to BRAF-targeted therapies in patients with BRAF-mutant metastatic non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(23):6242-6253. doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-1037.





# 神经营养性酪氨酸受体激酶

Lukas Bubendorf、Alexander Drilon 和 Mari Mino-Kenudson

# 11

## 基因结构和功能

神经营养性原肌球蛋白受体激酶 (*NTRK*) 基因，即位于 1q21-22 的 *NTRK1*、位于 9q22.1 的 *NTRK2*，以及位于 15q25 的 *NTRK3*，分别为 TRKA、TRKB、TRKC 的基因编码。这些蛋白质属于受体酪氨酸激酶 (RTK) 家族。与其他 RTK 一样，TRK（以下称为 TRKA、TRKB 和 TRKC）由胞外配体结合域、跨膜域和胞内激酶结构域。神经营养素配体结合与 TRK 激活会产生受体同源二聚化和下游信号传导，包括丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、磷脂酰肌醇 3- 激酶 (PI3K)，和 / 或蛋白激酶 C (PKC) 通路。<sup>1,2</sup> TRK 受体参与中枢神经系统发育，包括细胞增殖、迁移、分化和凋亡。在成人组织中，TRK 表达仅限于神经组织和睾丸。<sup>3</sup>

## 改变的类型及其在肿瘤形成中的作用

激活 *NTRK* 融合会导致 TRK 蛋白的组成型过表达，以及对 TRK 抑制剂的高度预测反应。在这种致癌基因融合中，*NTRK* C 端酪氨酸激酶结构域与配对基因的 5' 区域融合，嵌合蛋白以不依赖配体的方式导致下游通路的组成型激活。致癌 *NTRK* 融合会导致免疫组织化学 (IHC) 检测到的强 TRK 蛋白过表达。<sup>4,5</sup> 迄今为止，已在各种肿瘤类型中描述了 80 多种 *NTRK* 融合配对。具体配对因肿瘤类型而异。特别要注意的是，*ETV6-NTRK3* 普遍存在于 90% 的分泌性乳腺癌和唾液腺分泌性癌（以前称为乳腺样分泌性癌）中，融合可作为其诊断和预测性标志物。在肺癌中，至少已识别了 16 种 *NTRK1*、*NTRK2* 或 *NTRK3* 融合配对。<sup>2,4,6-9</sup>

## 流行病学、临床和组织学特征

*NTRK* 融合极为罕见，仅在 0.1% 至 0.3% 的非小细胞肺癌 (NSCLC) 中发现过。<sup>10</sup> 虽然关于尽 3 种 *NTRK* 基因融合分布的数据仍然很少，但融合可能涉及 3 种基因中的任何一个。*NTRK1* 和 *NTRK3* 的融合似乎比与 *NTRK2* 的融合更常见。<sup>4</sup> *NTRK* 融合会在缺少典型驱动突变的癌症中富集。<sup>7,11</sup> 虽然 *NTRK* 融合多见于肺腺癌中，但其也会发生在鳞状细胞癌和神经内分泌癌等其他组织学中。<sup>12</sup> 尽管 *NTRK* 融合还被认为与 NSCLC 中其他新发驱动因素相互排斥，但可作为酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 疗法（例如第三代 EGFR TKI）的耐药机制。<sup>13</sup> *NTRK* 融合主要发生在中年非吸烟者或从不吸烟者身上，也可能发生在任何 NSCLC 患者身上。<sup>12</sup>

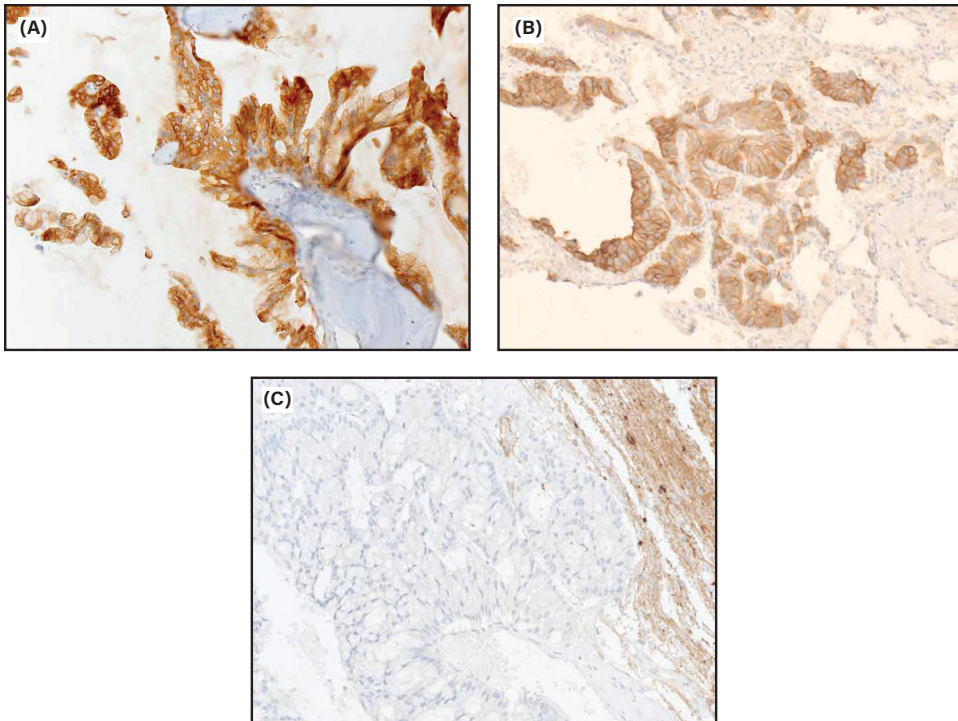
## 检测策略

检测 *NTRK* 基因融合有几种方法。每种技术都有优缺点，测定方法的选择取决于资源和临床环境。<sup>14</sup> 一般来说，在 *NTRK* 融合不常见的肿瘤（如 NSCLC）中进行 *NTRK* 检测时，推荐采用全面的分子分析（使用适当的下一代测序 [NGS] 组合进行基于核酸的测序）。<sup>14</sup> 基于 RNA 的 NGS 比基于 DNA 的 NGS 更可取，因为后者无法覆盖较大的 *NTRK3* 内含子区域，会导致敏感度降低。此外，由于基因融合过表达，低纯度对于基于 RNA 的 NGS 不是问题。相反，不稳定的 RNA 质量可能是个问题，尤其是陈旧的存档材料中的 RNA。还可以使用其他基于 RNA 的方法，例如组织切片上的多重数字颜色编码条形码技术 (nCounter [NanoString])。<sup>15,16</sup> 逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 主要用于检测富集此类改变的肿瘤类型中的典型 *ETV6-NTRK3* 融合。<sup>17</sup>

荧光原位杂交 (FISH) 是一种成熟的检测基因融合的方法。对于 *NTRK*，需要对 *NTRK1*、*NTRK2*、*NTRK3* 进行单独检测。FISH 主要用于高患病率情况下的验证性分析（即用于极有可能含 *NTRK* 基因融合的肿瘤），但它不是用于 NSCLC 的首选。

IHC 检测到的 Pan-TRK 蛋白表达可以替代 *NTRK* 融合，因为野生型 TRK 在许多非肿瘤组织中表达不高。市面上的 pan-TRK 克隆有 EPR17341 (Abcam) 和 A7H6R (Cell Signaling Technology)。还可以用 Ventana 体外诊断 (IVD) pan-TRK 检测（罗氏组织诊断）。IHC 成本低、周转时间短，易于纳入诊断实验室的工作流程。此外，IHC 仅需要组织切片或细胞学标本中有相对少量的肿瘤细胞。<sup>18</sup> IHC 检测的 TRK 表达可以显示不同的强度和亚细胞定位（细胞质、细胞核或膜），这可能取决于 5' 融合基因配对。<sup>14</sup> IHC 可作为筛查低患病率肿瘤类型的有效工具，特别是当 NGS 不可用或不是常规操作时（图 11-1）。

很少有关于 TRK IHC 染色方案、敏感度和特异性的研究发表。目前报告的 TRK IHC 对 *NTRK1* 或 *NTRK2* 融合的敏感度分别为 96% 和 100%，但对 *NTRK3* 融合的敏感度只有 55% 到 79%。<sup>4,8</sup> 虽然在一项研究中，TRK IHC 在 NSCLC 中的特异性为 100% (24/24)，但其他研究报告称，大约 1.8% (11/617) 的病例在缺少 *NTRK* 融合的情况下进行 TRK 染色，对应的阳性预测估值为 10%。<sup>15</sup> 在缺少 *NTRK* 融合的情况下，TRK 表达的发病率和严重性需要进一步研究。有意思的是，根据 cBioPortal, 3% 至 4%



**图 11-1.** 使用泛 pan-TRK 抗体 17341 (Ventana [罗氏组织诊断]) 的免疫组织化学 (IHC) 示例。(A) 经过强胞浆 TRK 染色的肺腺癌骨转移。确认 *CLIP1-NTRK1* 融合 (通过 Archer FusionPlex Custom kit [Diagnóstica Longwood] 进行的基于 RNA 的下一代测序 [NGS]) (B) 有明显膜 TRK 染色的肺腺癌。尽管使用了一些方法 (Archer 和 Oncomine [赛默飞世尔科技, ThermoFisher Scientific] 全面的基于 RNA 的 NGS, 以及针对 *NTRK1*、*NTRK2* 和 *NTRK3* 使用 3 个 FISH 探针的荧光原位杂交 [FISH]), 但仍未确认 *NTRK* 融合。(C) Pan-TRK IHC 阴性肺腺癌脑转移; 相邻的神经元脑组织作为阳性内染色对照。

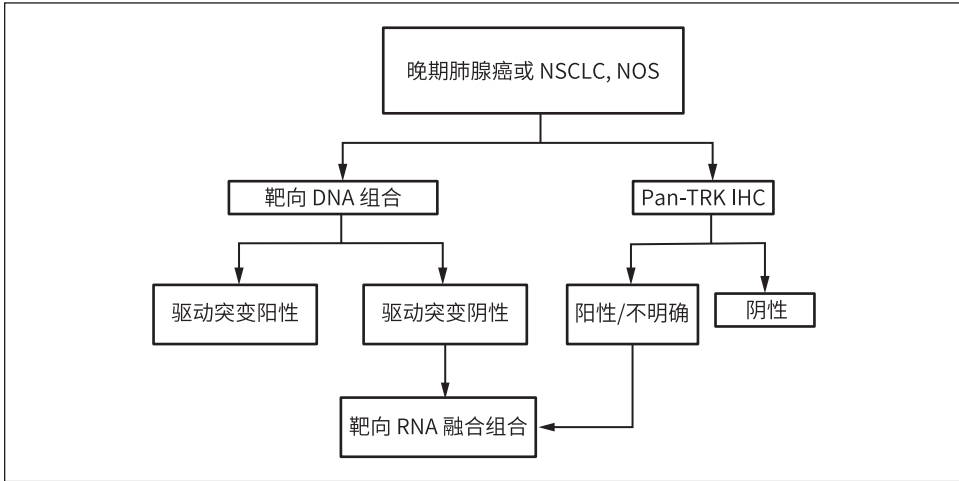
的 NSCLC 存在 *NTRK1* 基因扩增。<sup>19</sup> 这种扩增是否可以解释 NSCLC 中的 TRK 表达仍有待研究。值得注意的是, 有报告称有 *NTRK* 扩增的食管癌对 TRK 抑制剂拉罗替尼有部分反应。<sup>20</sup>

大多数研究都使用了比背景高出至少 1% 的肿瘤细胞染色作为临界值。<sup>5</sup> 然而, 目前对于如何通过 IHC 最恰当地定义 TRK 阳性尚未达成共识。因此, 通过 IHC 检测到的任何表达都需要通过正交测试 (最好是基于核酸) 确认。<sup>4</sup>

图 11-2 列出了建议采用的非鳞状 NSCLC 诊断检测算法。本算法符合欧洲肿瘤内科学会 (ESMO) 的建议<sup>14</sup> 和指南建议的致癌突变或重排等预测性改变的普遍分子检测。在大多数晚期肺鳞状细胞癌中, 普遍分子检测尚未形成标准。然而, 应根据临床特征 (年轻患者和从不吸烟者或轻度吸烟者) 考虑包括 *NTRK* 在内的分子检测。

## 临床意义

TRK 抑制剂在 *NTRK* 融合阳性癌症患者中具有高度活性。许多患者的病情很快得到缓解, 病情得到持久控制。不管患者年龄或肿瘤类型如何, 所有 *NTRK* 融合阳性癌症中拉罗替尼的总缓解率 (ORR) 为 75%。<sup>22</sup> 在 *NTRK* 融合阳性肺癌中, ORR 为



**图 11-2.** 肺腺癌或没有特别说明的 NSCLC *NTRK* 基因融合拟议诊断检测算法。根据当地的实践环境和额外费用的报销范围，可以选用基于 DNA 和 RNA 的 NGS 双检作为序贯检测的替代方案。缩略词：IHC = 免疫组织化学；NGS = 下一代测序；NSCLC, NOS = 没有特别说明的非小细胞肺癌。（改编自 Koehne de González 等。<sup>21</sup>）

83%，尚未达到缓解持续时间 (DOR) 和中位无进展生存期 (PFS)。中位总生存期约为 41 个月。在 *NTRK* 融合阳性实体瘤患者中，TRK 和 TROS1 抑制剂恩曲替尼的 ORR 为 57%。<sup>23</sup> 在 *NTRK* 融合阳性肺癌患者中，ORR 为 69%，尚未达到中位 DOR，中位 PFS 是 15 个月，中位总生存期 (OS) 为 15 个月。

这些研究的重大意义是促使美国食品药品监督管理局 (FDA) 和欧洲药品管理局 (EMA) 批准了第一代 TRK 抑制剂拉罗替尼和恩曲替尼，用于治疗不同年龄段的晚期 *NTRK* 融合阳性实体瘤患者，无论其肿瘤组织学如何。事实上，目前全世界有多达 40 个国家批准或授权使用 TRK 抑制剂治疗 *NTRK* 融合阳性癌症。

## 耐药机制

虽然对 TRK 抑制剂有快速且持久的缓解，但遗憾的是大多数患者都会产生耐药性。已知的耐药机制不是中靶就是脱靶。中靶耐药机制涉及 *NTRK1/2/3* 突变，这些突变会导致不同区域的氨基酸替换：溶剂前沿、门控开关或以 TRK 激酶结构域 3 个连续氨基酸（天冬氨酸 [D]、苯基丙氨酸 [F] 和甘氨酸 [G]）为特征的 DFG 基序。<sup>24</sup> 这种中靶突变可以通过下一代 TRK 抑制剂（例如赛利替尼、瑞波替尼、他雷替尼）来靶向。<sup>2</sup> 脱靶机制与获得性 MAPK 通路突变或扩增有关，例如 *KRAS G12D*、*BRAF V600E* 或 *MEK* 突变，或 *MET* 扩增。<sup>2,25,26</sup> 有关 NSCLC 脱靶机制范围的数据仍有待说明，但已通过概念验证说明联合靶向治疗（例如 TRK 抑制剂与针对旁路耐药性的第二种小分子）在选定脱靶耐药患者中具有活性。<sup>26</sup>



## 参考文献

- Cocco E, Scaltriti M, Drilon A. NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(12):731-747.
- Qin H, Patel MR. The challenge and opportunity of NTRK inhibitors in non-small cell lung cancer. *Int J Mol Sci*. 2022;23(6).
- Kheder ES, Hong DS. Emerging targeted therapy for tumors with NTRK fusion proteins. *Clin Cancer Res*. 2018;24(23):5807-5814.
- Solomon JP, Linkov I, Rosado A, et al. NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. *Mod Pathol*. 2020;33(1):38-46.
- Hechtman JF, Benayed R, Hyman DM, et al. Pan-TRK immunohistochemistry is an efficient and reliable screen for the detection of NTRK fusions. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(11):1547-1551.
- Zhang L, Liu H, Tian Y, Wang H, Yang X. A novel NCOR2-NTRK1 fusion detected in a patient of lung adenocarcinoma and response to larotrectinib: a case report. *BMC Pulm Med*. 2021;21(1):125.
- Vaishnavi A, Capelletti M, Le AT, et al. Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer. *Nat Med*. 2013;19(11):1469-1472.
- Gatalica Z, Xiu J, Swensen J, Vranic S. Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions. *Mod Pathol*. 2019;32(1):147-153.
- Farago AF, Le LP, Zheng Z, et al. Durable clinical response to entrectinib in NTRK1-rearranged non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2015;10(12):1670-1664.
- Forsythe A, Zhang W, Phillip Strauss U, et al. A systematic review and meta-analysis of neurotrophic tyrosine receptor kinase gene fusion frequencies in solid tumors. *Ther Adv Med Oncol*. 2020;12:1758835920975613.
- Rosen EY, Goldman DA, Hechtman JF, et al. TRK fusions are enriched in cancers with uncommon histologies and the absence of canonical driver mutations. *Clin Cancer Res*. 2020;26(7):1624-1632.
- Farago AF, Taylor MS, Doebele RC, et al. Clinicopathologic features of non-small-cell lung cancer harboring an NTRK gene fusion. *JCO Precis Oncol*. 2018;2018:PO.18.00037.
- Xia H, Xue X, Ding H, et al. Evidence of NTRK1 fusion as resistance mechanism to EGFR TKI in EGFR+ NSCLC: results from a large-scale survey of NTRK1 fusions in Chinese patients with lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2020;21(3):247-254.
- Marchio C, Scaltriti M, Ladanyi M, et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research. *Ann Oncol*. 2019;30(9):1417-1427.
- Elfving H, Brostrom E, Moens LNJ, et al. Evaluation of NTRK immunohistochemistry as a screening method for NTRK gene fusion detection in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2021;151:53-59.
- Ali G, Bruno R, Savino M, et al. Analysis of fusion genes by NanoString system: a role in lung cytology? *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(4):480-489.
- Skalova A, Vanecek T, Simpson RH, et al. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands: molecular analysis of 25 ETV6 gene rearranged tumors with lack of detection of classical ETV6-NTRK3 fusion transcript by standard RT-PCR: report of 4 cases harboring ETV6-X gene fusion. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(1):3-13.
- Matter MS, Chijioke O, Savic S, Bubendorf L. Narrative review of molecular pathways of kinase fusions and diagnostic approaches for their detection in non-small cell lung carcinomas. *Transl Lung Cancer Res*. 2020;9(6):2645-2655.
- Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov*. 2012;2(5):401-404.
- Hempel D, Wieland T, Solfrank B, et al. Antitumor activity of larotrectinib in esophageal carcinoma with NTRK gene amplification. *Oncologist*. 2020;25(6):e881-e886.
- Koehne de González A, Mansukhani MM, Fernandes H, Hsiao SJ. Pan-tumor screening for NTRK gene fusions using pan-TRK immunohistochemistry and RNA NGS fusion panel testing. *Cancer Genet*. 2022;262-263:47-52.
- Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. *N Engl J Med*. 2018;378(8):731-739.
- Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol*. 2020;21(2):271-282.
- Russo M, Misale S, Wei G, et al. Acquired resistance to the TRK inhibitor entrectinib in colorectal cancer. *Cancer Discov*. 2016;6(1):36-44.



25. Drilon A, Nagasubramanian R, Blake JF, et al. A next-generation TRK kinase inhibitor overcomes acquired resistance to prior TRK kinase inhibition in patients with TRK fusion-positive solid tumors. *Cancer Discov.* 2017;7(9):963-972.
26. Cocco E, Schram AM, Kulick A, et al. Resistance to TRK inhibition mediated by convergent MAPK pathway activation. *Nat Med.* 2019;25(9):1422-1427.

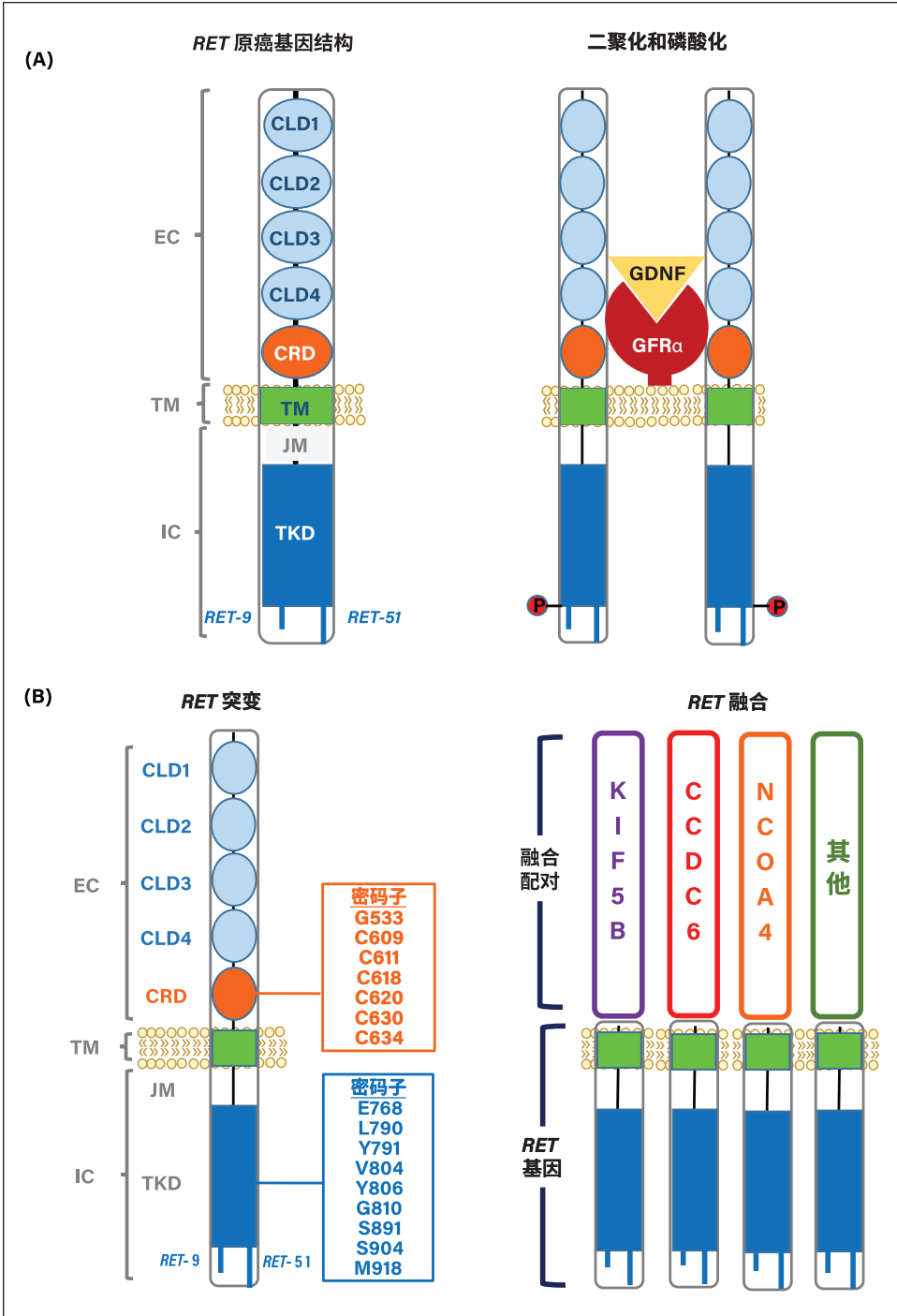
## 基因结构和功能

染色体 10q11.21 上的转染重排 (*RET*) 基因最初是通过人类淋巴瘤 DNA 进行 NIH3T3 成纤维细胞系转染测定而确认的。其产物是一种膜受体，由细胞外结构域（包含 4 个钙粘蛋白重复、1 个钙结合位点和 1 个半胱氨酸富集位点）、跨膜结构域和胞内结构域构成（图 12-1）。后者包含近膜部分、酪氨酸激酶，以及两个经选择性剪接产生的 *RET* 尾部 (*RET-9* 和 *Ret-51*)，确定了两种蛋白质亚型。*RET* 配体包括与 GFR $\alpha$  辅助受体结合的胶质细胞系源性神经营养因子 (GDNF) 家族，以及与 GDNF 家族  $\alpha$  样 (GFRAL) 辅助受体结合的 GDF15，与 *RET* 细胞外结构域形成三元复合物，触发 *RET* 二聚化，以及酪氨酸磷酸化和活化。下游信号转导涉及 RAS/MAPK、PI3K/AKT/mTOR 以及 JAK/STAT 通路。从生理学层面来说，*RET* 在肾脏和肠神经系统发育中起重要作用。<sup>1,2</sup>

## 改变的类型及其在肿瘤形成中的作用

根据一项针对 4800 多种癌症的大型研究显示<sup>3</sup>，存在 *RET* 基因突变、融合和扩增的肿瘤比例分别为 39%、31% 和 25%。*RET* 生殖系突变引发遗传性疾病和肿瘤，包括多发性内分泌肿瘤 (MEN) 2A 与 2B 型。体细胞的突变、融合等改变出现在恶性肿瘤中。<sup>4</sup>

导致 *RET* 异常激活的 *RET* 功能增益突变多见于散发性或遗传性甲状腺髓样癌 (MTC)，在其他癌症中少有发生。这些突变会影响家族性 MTC 和 MEN2A 病例中细胞外结构域的半胱氨酸富集部分；在 MEN2B 以及散发病例中，会对酪氨酸激酶结构域造成影响。



**图 12-1. (A) RET 致癌基因结构和配体 - 受体相互作用。 (B) 基因改变包括突变和不同配对的基因重排。** 缩略词：CLD = 钙粘蛋白样结构域；CRD = 半胱氨酸富集区；EC = 胞外部分；GDNF = 胶质细胞源性神经生长因子；GFR $\alpha$  = GDNF 辅助受体  $\alpha$ 1；IC = 胞内部分；JM = 近膜区；P = 磷酸化位点；TKD = 酪氨酸激酶结构域；TM = 跨膜部分。(改编自 Ferrara et al 和 Radonic 等。<sup>1,5</sup>)

*RET* 融合多见于染色体内重排，染色体间重排鲜有涉及，使得 3' 端 *RET* 激酶结构域编码区与不同基因配对的 5' 端区域融合<sup>4</sup>，产生组成型激活嵌合融合癌蛋白。除结直肠腺癌、唾液腺癌、卵巢腺癌等其他肿瘤外，*RET* 融合也在乳头状甲状腺癌和非小细胞肺癌 (NSCLC) 中提及过。*KIF5B* (72%)、*CCDC6* (23%)、*NCOA4* (2%)、*EPHA5* (1%) 和 *PICALM* (1%) 是肺癌中最为常见的 *RET* 融合配对。<sup>6</sup> 相比之下，*CCDC6* 和 *NCOA4* 在乳头状甲状腺癌中是更为常见的上游配对基因。<sup>7-10</sup>

*RET* 扩增在胰腺癌和乳腺癌（以及其他癌症）中鲜有报道，即使 *RET* 未出现融合的情况，也会有高但异质性的蛋白表达。<sup>11</sup>

## 流行病学、临床和组织学特征

已确认 1% 至 2% 的肺腺癌会发生 *RET* 融合。<sup>6</sup> *RET* 融合阳性肺癌患者趋于年轻化 ( $\leq 60$  岁)，性别分布相对平均。虽然现在和以前的吸烟者的发病率已有报道，但是大多数患者并无吸烟史。<sup>12</sup> 在出现 *RET* 融合的肺腺癌患者中，未发现其与治疗性辐射暴露相关。<sup>13</sup>

## 检测策略

检测 *RET* 融合的筛查方法尚未标准化。免疫组织化学 (IHC)、逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR)、荧光原位杂交 (FISH)，以及基于 DNA/RNA 的下一代测序 (NGS) 都已用于检测 *RET* 基因融合。值得注意的是，相较于 ALK IHC, *RET* IHC 的敏感度 (55%-65%) 较低，特异性 (40%-85%) 不一。<sup>11,13,14</sup> IHC 的敏感度也会因融合配对的不同而异。<sup>11</sup> 因此在肺腺癌患者中，目前不建议使用 IHC 方法筛查 *RET* 融合或突变。<sup>15</sup>

通常来说，*RET* FISH 敏感度很高 (100%)，但在罕见的 *NCOA4-RET* 融合方面敏感度较低 (66.7%)。<sup>11</sup> 据报道，*RET* FISH 特异性在 55% 到 100% 不等。<sup>13,14</sup> 由于肺癌中的 *RET* 融合可能涉及多种配对基因，因此首选分离探针而非融合探针。*RET* FISH 检测和评分指南与其他融合基因检测指南类似。如果超过 15% 的肿瘤细胞显示分离信号或单一 3' 末端信号，检验结果则为阳性。

RT-PCR 虽然具有特异性，但仅限于检测已知的融合。基于 NGS 的检测具有识别包括新型融合配对在内的 *RET* 融合的优势，还可以对其他可操作靶点进行多重检测。<sup>16</sup> 基于 DNA 的 NGS 在识别复杂的 *RET* 融合时存在局限性，但是在这方面，基于 RNA 的 NGS 可以产生更大价值。基于 NGS 的细胞游离 DNA (cfDNA) 也能检测出 *RET* 融合，若结果为阳性，说明存在 *RET* 融合现象。<sup>17,18</sup>

## 非小细胞肺癌 (NSCLC) 中 *RET* 融合的治疗靶向

在 *RET* 融合阳性 NSCLC 中，靶向 *RET* 的最初研究集中在重新利用具有抗 *RET* 活性的多激酶抑制剂（如凡德他尼、卡博替尼、仑伐替尼）。<sup>19-24</sup> 虽然报告有不同疗效，但反应普遍一般。此外，耐受性还受限于与血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR2) 等多激酶抑制剂相关的毒性。

塞尔帕替尼（以前称为 LOXO-292）和普拉替尼（以前称为 BLU-667）是口服酪氨酸激酶抑制剂 (TKI)，用于行之有效、有选择性地靶向致癌 *RET* 的融合与突变。基于药物选择性一致，塞尔帕替尼和普拉替尼在一期和二期试验中呈现出良好的安全性。<sup>25,26</sup> 在 LIBRETTO-001 注册一期与二期临床试验中，塞尔帕替尼在治疗晚期 *RET* 融合阳性 NSCLC 方面疗效显著，初治患者和预先接受铂类化疗患者的总缓解率 (ORR) 分别为 85% 和 64%。<sup>25</sup> 在 ARROW 注册一期与二期临床试验中，普拉替尼在此类患者中同样疗效显著，ORR 分别为 70% 和 61%。<sup>26</sup> 值得注意的是，两种药物都显示出抗脑转移活性。基于上述结果，塞尔帕替尼和普拉替尼获得美国食品药品监督管理局无治疗线限制的加速审批，用于治疗晚期 *RET* 融合阳性的 NSCLC。这两种药物还获得欧洲药品管理局有条件的授权，即塞尔帕替尼用于免疫治疗或铂类化疗预处理的适应症，普拉替尼用于应对无治疗线限制的适应症。

### 选择性 *RET* 抑制剂的耐药机制

尽管 *RET* TKI 治疗效果显著，但其耐药性仍是一大难题。目前已经发现了中靶与脱靶耐药机制。最早报道的耐药机制是 *RET* G810 溶剂前沿突变，会对 TKI 结合产生空间干扰，已在 7% 至 11% 的进展期活检中发现。<sup>27-30</sup> *RET* 铰链区的 Y806C/N 突变也会对塞尔帕替尼和普拉替尼产生耐药性。<sup>30,31</sup> 已在普拉替尼耐药样本中发现顶部区域 L730V/I 突变，但预计对塞尔帕替尼仍对保持敏感。<sup>28,32</sup> 新型 *RET* 抑制剂正在临床研发中，可能有助于解决中靶耐药难题（比如 LOXO-260 [NCT05241834]、TAS0953/HM06 [NCT04683250]、TPX-0046 [NCT04161391]）。

塞尔帕替尼和普拉替尼的脱靶耐药机制也在研发中。迄今为止，与中靶耐药机制相比，脱靶耐药机制似乎占据主导地位（分别为 10%-17% 和 83%-90%）。<sup>28-30</sup> 在服用塞尔帕替尼和普拉替尼后有进展的患者中反复发现 *MET* 扩增。<sup>28-30,33</sup> 病例报告显示，*RET* 和 *MET* 的双重抑制或许是一种可行的治疗方案。<sup>33</sup> 此外，还发现了 *KRAS* 扩增或突变、*BRAF* V600E 突变、*FGFR1* 扩增，以及 *NTRK3* 融合。<sup>28-30,34</sup> 然而，一大部分病例 (40%-80%) 对 *RET* 选择性 TKI 的耐药机制仍不明确，这表明需要进一步研究来阐明 *RET* TKI 耐药癌症的生物学特征以及最佳治疗策略。

### 参考文献

1. Ferrara R, Auger N, Auclin E, Besse B. Clinical and translational implications of *RET* rearrangements in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2018;13(1):27-45.
2. Salvatore D, Santoro M, Schlumberger M. The importance of the *RET* gene in thyroid cancer and therapeutic implications. *Nat Rev Endocrinol.* 2021;17(5):296-306.
3. Kato S, Subbiah V, Marchlik E, et al. *RET* aberrations in diverse cancers: next-generation sequencing of 4,871 patients. *Clin Cancer Res.* 2017;23(8):1988-1997.
4. Shi M, Wang W, Zhang J, et al. Identification of *RET* fusions in a Chinese multicancer retrospective analysis by next-generation sequencing. *Cancer Sci.* 2022;113(1):308-318.

5. Radonic T, Geurts-Giele WRR, Samsom KG, et al. RET fluorescence in situ hybridization analysis is a sensitive but highly unspecific screening method for RET fusions in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2021;16(5):798-806. doi:10.1016/j.jtho.2021.01.1619.
6. Gautschi O, Milia J, Filleron T, et al. Targeting RET in patients with RET-rearranged lung cancers: results from the global, multicenter RET registry. *J Clin Oncol*. 2017;35(13):1403-1410.
7. Li F, Feng Y, Fang R, et al. Identification of RET gene fusion by exon array analyses in "pan-negative" lung cancer from never smokers. *Cell Res*. 2012;22(5):928-931.
8. Cai W, Su C, Li X, et al. KIF5B-RET fusions in Chinese patients with non-small cell lung cancer. *Cancer*. 2013;119(8):1486-1494.
9. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nat Med*. 2012;18(3):378-381.
10. Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nat Med*. 2012;18(3):375-377.
11. Yang SR, Aypar U, Rosen EY, et al. A performance comparison of commonly used assays to detect RET fusions. *Clin Cancer Res*. 2021;27(5):1316-1328.
12. Michels S, Scheel AH, Scheffler M, et al. Clinicopathological characteristics of RET rearranged lung cancer in European patients. *J Thorac Oncol*. 2016;11(1):122-127.
13. Wang R, Hu H, Pan Y, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(35):4352-4359.
14. Tsuta K, Kohno T, Yoshida A, et al. RET-rearranged non-small-cell lung carcinoma: a clinicopathological and molecular analysis. *Br J Cancer*. 2014;110(6):1571-1578.
15. Belli C, Penault-Llorca F, Ladanyi M, et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect RET fusions and mutations in daily practice and clinical research. *Ann Oncol*. 2021;32(3):337-350.
16. Feng J, Li Y, Wei B, et al. Clinicopathologic characteristics and diagnostic methods of RET rearrangement in Chinese non-small cell lung cancer patients. *Transl Lung Cancer Res*. 2022;11(4):617-631.
17. Mack PC, Banks KC, Espenschied CR, et al. Spectrum of driver mutations and clinical impact of circulating tumor DNA analysis in non-small cell lung cancer: analysis of over 8000 cases. *Cancer*. 2020;126(14):3219-3228.
18. Rich TA, Reckamp KL, Chae YK, et al. Analysis of cell-free DNA from 32,989 advanced cancers reveals novel co-occurring activating RET alterations and oncogenic signaling pathway aberrations. *Clin Cancer Res*. 2019;25(19):5832-5842.
19. Drilon A, Hu ZI, Lai GGY, Tan DSW. Targeting RET-driven cancers: lessons from evolving pre-clinical and clinical landscapes. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(3):150.
20. Drilon A, Rekhtman N, Arcila M, et al. Cabozantinib in patients with advanced RET-rearranged non-small-cell lung cancer: an open-label, single-centre, phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(12):1653-1660.
21. Lee SH, Lee JK, Ahn MJ, et al. Vandetanib in pretreated patients with advanced non-small cell lung cancer-harboring RET rearrangement: a phase II clinical trial. *Ann Oncol*. 2017;28(2):292-297.
22. Yoh K, Seto T, Satouchi M, et al. Vandetanib in patients with previously treated RET-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (LURET): an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Respir Med*. 2017;5(1):42-50.
23. Hida T, Velcheti V, Reckamp KL, et al. A phase 2 study of lenvatinib in patients with RET fusion-positive lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2019;138:124-130.
24. Horiike A, Takeuchi K, Uenami T, et al. Sorafenib treatment for patients with RET fusion-positive non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2016;93:43-46.
25. Drilon A, Oxnard GR, Tan DSW, et al. Efficacy of selpercatinib in RET fusion-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(9):813-824.
26. Gainor JF, Curigliano G, Kim DW, et al. Pralsetinib for RET fusion-positive non-small-cell lung cancer (ARROW): a multi-cohort, open-label, phase 1/2 study. *Lancet Oncol*. 2021;22(7):959-969.
27. Solomon BJ, Tan L, Lin JJ, et al. RET solvent front mutations mediate acquired resistance to selective RET inhibition in RET-driven malignancies. *J Thorac Oncol*. 2020;15(4):541-549.
28. Gainor JF, Curigliano G, Kim DW, et al. OA05.02 Analysis of resistance mechanisms to pralsetinib in patients with RET fusion-positive non-small cell lung cancer (NSCLC) from the ARROW study. *J Thorac Oncol*. 2021;16(S1):S31-S32.
29. Lin JJ, Liu SV, McCoach CE, et al. Mechanisms of resistance to selective RET tyrosine kinase inhibitors in RET fusion-positive non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2020;31(12):1725-1733.



30. Rosen EY, Won HH, Zheng Y, et al. The evolution of RET inhibitor resistance in RET-driven lung and thyroid cancers. *Nat Commun.* 2022;13(1):1450.
31. Subbiah V, Shen T, Terzyan SS, et al. Structural basis of acquired resistance to selpercatinib and pralsetinib mediated by non-gatekeeper RET mutations. *Ann Oncol.* 2021;32(2):261-268.
32. Shen T, Hu X, Liu X, et al. The L730V/I RET roof mutations display different activities toward pralsetinib and selpercatinib. *NPJ Precis Oncol.* 2021;5(1):48.
33. Rosen EY, Johnson ML, Clifford SE, et al. Overcoming MET-dependent resistance to selective RET inhibition in patients with RET fusion-positive lung cancer by combining selpercatinib with crizotinib. *Clin Cancer Res.* 2021;27(1):34-42.
34. Subbiah V, Shen T, Tetzlaff M, et al. Patient-driven discovery and post-clinical validation of NTRK3 fusion as an acquired resistance mechanism to selpercatinib in RET fusion-positive lung cancer. *Ann Oncol.* 2021;32(6):817-819.

# 原癌基因受体酪氨酸激酶

# 13

Lynette M. Sholl、Ibiayi Dagogo-Jack、Soo-Ryum Yang 和 Yi-Long Wu

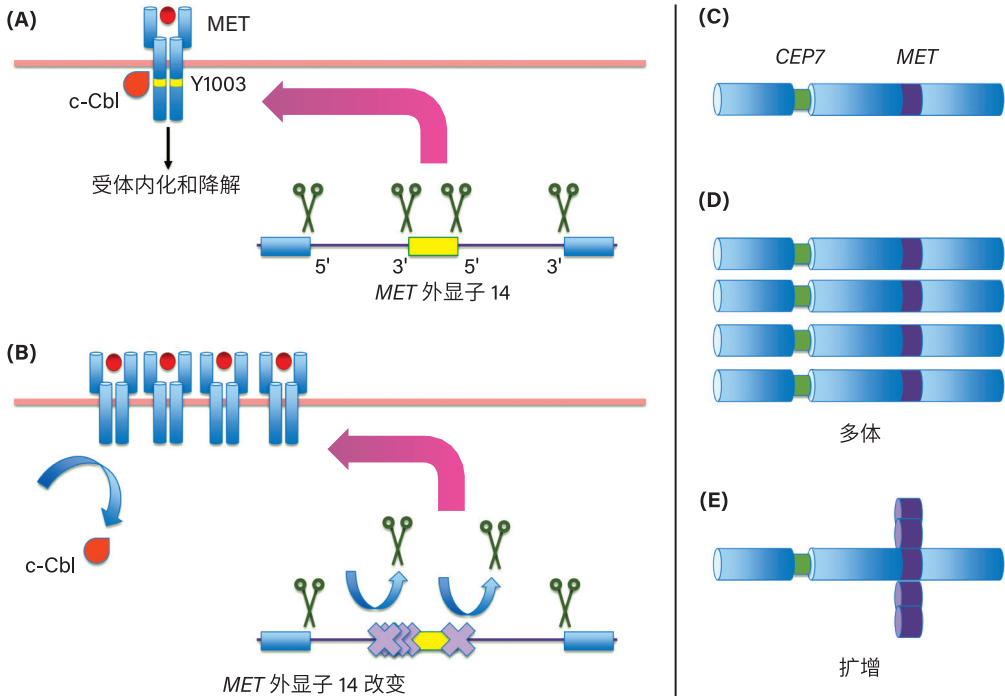
## 基因结构和功能

MET 原癌基因受体酪氨酸激酶 (MET), 也称肝细胞生长因子受体, 编码 MET 蛋白, 是一种主要在内皮和上皮细胞表达的生长因子受体, 在发育、再生和体内平衡中发挥着重要作用。MET 失调是肺癌等多种癌症类型癌变的明确驱动因素。<sup>1,2</sup>MET 及其配体肝细胞生长因子 (HGF) 最初是从骨肉瘤细胞系诱导的致癌融合克隆而来, 随后因其在形态发生 (在肝脏、肾脏和肺中等管状分支)、运动和侵入 (癌症) 以及有丝分裂发生 (包括肝细胞再生) 中的作用而为人所知。<sup>3-7</sup>

MET 是一种单程跨膜受体蛋白, 由以下结构域定义: 胞外配体结合 (Sema) 结构域、丛蛋白 - 信号素 - 整合素 (PSI) 结构域、免疫球蛋白样丛蛋白转录因子结构域, 以及跨膜、细胞内近膜和酪氨酸激酶结构域。<sup>7</sup> 在其配体结合后, HGF、MET 发生同源二聚化, 导致酪氨酸 1234/1235 (激酶结构域) 和 1349/1356 (对接结构域) 磷酸化, 随后激活下游丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 和 PI3K-mTOR- AKT 通路。<sup>8</sup> 重要的是, 细胞表面 MET 蛋白表达的调节是由 E3 泛素连接酶 Cbl 介导的, 与受体近膜结构域中的磷酸化 Y1003 结合。<sup>9</sup> Cbl 介导的泛素化触发受体内吞作用<sup>10</sup> (图 13-1); 有趣的是, MET 转运到内体区室似乎是激活全方位下游信号所必需的, 包括通过细胞外信号调节激酶 -1、-2 (ERK1/2) 以及信号转导和转录激活因子 3 (STAT3)。<sup>11</sup>

## 改变的类型及其在肿瘤形成中的作用

肺癌中 MET 通路失调通过基因突变、扩增、蛋白质过表达和融合等多种分子机制发生。<sup>13</sup> 在 MET 中已经描述了癌变的几种突变机制, 包括乳头状肾细胞癌中的激酶结构域热点 F1200I、Y1230X 和 M1250T, 以及几种肿瘤类型中潜在的细胞外 Sema 结构域。<sup>14,15</sup> 然而, 非小细胞肺癌 (NSCLC) 的主要机制是在外显子 14 侧翼



**图 13-1. MET 基因激活的常见模式示意图。** (A) 配体结合后，Met 表面表达一般通过 Cbl 与 Met 近膜结构域密码子 1003 处的磷酸化酪氨酸结合而下调，导致内化和降解。(B) MET 外显子 14 跳跃突变优先影响外显子 14 侧翼的剪接区域，导致含有 Y1003 的近膜区域缺失并阻止与 Cbl 相互作用。此外，(C) MET 的相对拷贝数可能会增加，这是由 7 号染色体 (D) 经过一轮或多轮重复导致多体性引起的，或 (E) 由 MET 局部扩增引起的。后者与 Met 激活和致癌依赖性有着更高的相关性。(改编自 Drilon 等。<sup>12)</sup>

的剪接位点及其周围引入多种错义和缺失 - 插入突变，导致“外显子 14 跳跃”和在 Y1003 处包含 Cbl 结合位点<sup>16</sup>的调控近膜结构域缺失 (图 13-2)。通过表面结合 MET 受体的持续致癌信号传导与细胞侵入和转移增加有关。<sup>16,17</sup>

MET 扩增主要分为 2 个亚型：新发扩增和获得性扩增。新发 MET 扩增发生在 1% 至 5% 的 NSCLC 中，与不良预后相关。<sup>18,19</sup> 值得注意的是，不同研究中 MET 扩增的发生率有所不同，具体取决于所使用的临界值和诊断测定方法。在部分病例中，外显子 14 跳跃突变伴随突变等位基因的选择性扩增，可能会增强致癌基因成癌状态。<sup>20-22</sup>

新发性野生型 MET 扩增很少被视作唯一的致癌驱动因素。比较常见的是 MET 扩增在 EGFR 和 KRAS 等内共存丝裂驱动改变。<sup>24</sup> 表皮生长因子受体 (EGFR) 突变的 NSCLC 患者使用第一代、第二代和第三代 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 治疗并取得进展后，其中 5% 至 20% 的患者体内可发现获得性 MET 扩增，<sup>25-27</sup> 现在已将这种扩增看做是对 ALK、RET、ROS1 靶向治疗产生的获得性耐药的复发机制。<sup>28</sup>

涉及 MET 的基因间融合很少见，但已识别了多种融合配对基因。这种融合主要在 NSCLC 以外的神经胶质瘤、乳头状肾细胞癌和甲状腺癌等肿瘤中有描述。<sup>29</sup> NSCLC 中 MET 融合的确切频率尚不清楚；最佳估算值表明，0.5% 的致癌基因阴性肺癌会出现这种融合。<sup>30</sup> MET 基因内的断裂点似乎在内含子 14 中富集，融合产物并



置含卷曲螺旋结构域的 5' 配对基因, 促进完整的 Met 激酶结构域的同源二聚化。<sup>29,30</sup> *MET* 融合对 Met 靶向治疗的预测作用基本在病例报告和小型系列研究中得到了证明, 但只表明这些治疗策略有起效。<sup>31</sup>

*MET* 过表达在 NSCLC 中很常见, 可在大约 20% 至 48% 的患者中通过免疫组织化学 (IHC) 检测到。<sup>32-35</sup> 然而, *MET* 过表达与 *MET* 改变或扩增之间的相关性很弱, 只有 *MET* 外显子 14 跳跃突变阳性肿瘤的亚群呈现出显著的 *MET* 蛋白表达 (图 13-3A-D)。此外, 可以在其他致癌驱动改变中观察到高水平表达<sup>21,36,37</sup> (图 13-4A、B)。

### 流行病学、临床和组织学特征

*MET* 外显子 14 跳跃突变发生在白人 NSCLC 患者中的比例为 3% 至 4%, 而在中国, 这一比例仅为 0.9%。<sup>38-40</sup> 其他人群的系统测序有限, 无法估算 *MET* 外显子 14 突变的可靠频率。大规模测序工作发现, 德系犹太人血统患者中可能富集 *MET* 突变和扩增。<sup>41</sup> *MET* 外显子 14 跳跃突变多见于肺腺癌相关的报告, 但在肺鳞状细胞癌中也有报道表明其可能在有轻度或无吸烟史的患者中富集。<sup>42,43</sup> 一些研究发现 5% 至 32% 的病例明显有肺肉瘤样癌富集。<sup>21,44,45</sup> 与患有其他致癌基因驱动肿瘤的患者相比, 存在 *MET* 外显子 14 跳跃突变 (>70) 的患者中位年龄较大。<sup>21,23</sup> 大多数研究表明 *MET* 突变的发生与吸烟状况无关。<sup>23,41</sup> *MET* 外显子 14 跳跃突变通常与其他致癌基因驱动突变相互排斥; 然而, 有报告称大约 4% 的病例存在 *KRAS* G12X 共突变。<sup>21,23,38,46</sup>

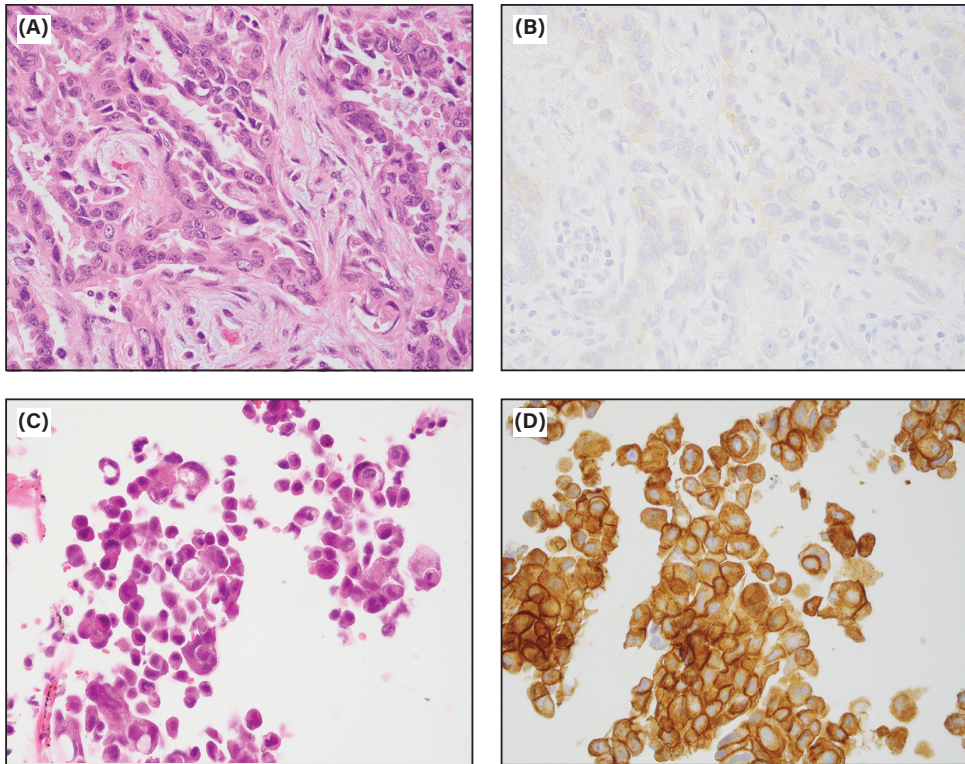
### 检测策略

有多种方法可以激活 *MET* 改变, 对可操作的 *MET* 生物标志物进行全面评估需要采用综合诊断方法。重点是要考虑每种测定方法的适用性和局限性, 采用的检测策略能确保广泛覆盖不同类别的 *MET* 改变, 包括扩增、突变、替代性转录本和融合 (表 13-1)。

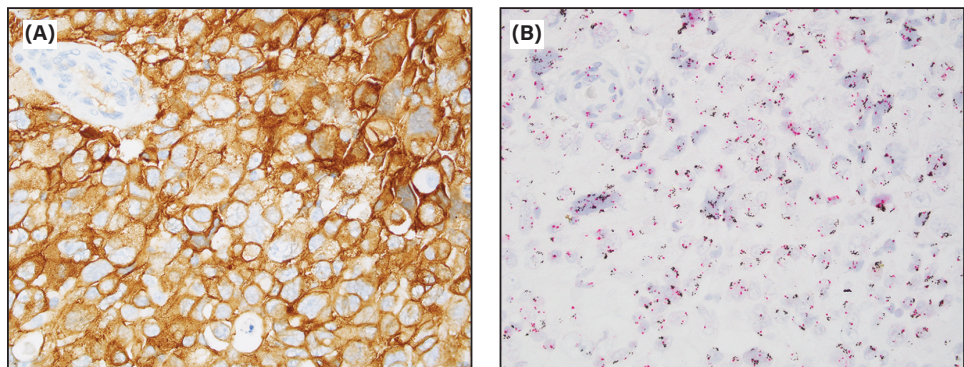
临床检测致病性 *MET* 改变的重要诊断概念和检测策略如图 13-5 所示。因将 DNA 下一代测序 (NGS) 作为 NSCLC 的标准诊断检测方法不断增多, 且这种方法能够检测多种类型的 *MET* 改变, 我们提出了一种潜在的诊断工作流程, 即使用 DNA NGS 作为 *MET* 分析的初始筛查检测方法。

评估 *MET* 突变时, 在肿瘤纯度足够的情况下, 高水平扩增和扩增缺乏即为可靠结果, 无需进一步检测。然而, 在肿瘤纯度较低的情况下出现临界扩增或缺乏扩增时, 使用荧光原位杂交 (FISH) 进一步检测会使分析更精确, 有助于确认 NGS 结果。对于 *MET* 外显子 14 跳跃和 *MET* 融合, 规范变体检测可为临床管理提供足够信息。然而, 阴性结果和意义不明的变体应通过 RNA 检测进一步评估。也可以采用 DNA 和 RNA 并行分析检测方法, 避免遵循序贯检测策略。针对融合检测的 RNA 测定方法优化后可以检测出 DNA NGS 缺失的隐匿融合, 确认不明致病性变体的功能。





**图 13-3.** 具有 MET 外显子 14 跳跃改变和高度不同的 MET 蛋白表达水平的两个肺腺癌示例（免疫组织化学克隆 SP44 [Spring Bioscience]）。(A) 以腺泡为主的肺腺癌切片几乎看不到 (B) 总 MET 蛋白质表达水平。(C) 肺核心活检显示分离的低分化肺腺癌簇，具有微乳头状特征，以及 (D) 强烈的弥漫性 MET 蛋白表达。



**图 13-4.** 具有 KRAS 突变的肺腺癌，通过显色原位杂交显示出强烈的弥漫性 MET 蛋白表达和信号簇（均质染色区）形式的 MET 扩增（黑色信号 = MET；红色信号 = CEN 7）。

*MET* 外显子 14 跳跃由供体 / 受体剪接位点的致病性突变和大量基因组缺失介导，生成缺少外显子 14 的替代性 *MET* 转录本。在大多数情况下，如果外显子 14 侧翼的剪接位点和内含子区域有足够的覆盖范围，那么这些改变可以通过 DNA NGS 检测到。<sup>47</sup> 鉴于深层内含子区域存在隐秘的剪接改变突变，可能需要完全覆盖内含



表 13-1. 检测 MET 生物标志物的临床检测方法

检测方法	扩增	外显子 14 跳跃	基因融合	过表达
基于组织的检测	DNA-NGS FISH	DNA-NGS RNA-NGS RT-PCR	DNA-NGS RNA-NGS FISH RT-PCR	IHC
基于液体 / 血浆的检测 <sup>a</sup>	ctDNA-NGS	ctDNA-NGS	ctDNA-NGS	不适用

缩略词：ctDNA = 循环肿瘤 DNA；FISH = 荧光原位杂交；IHC = 免疫组织化学；N/A = 不适用；NGS = 下一代测序；RT-PCR = 逆转录聚合酶链反应。

<sup>a</sup> 虽然使用 ctDNA 的液体活检方法可检测 MET 扩增、外显子 14 跳跃和融合，但拷贝数分析和融合检测的灵敏度有限，需要在组织上确认阴性结果。

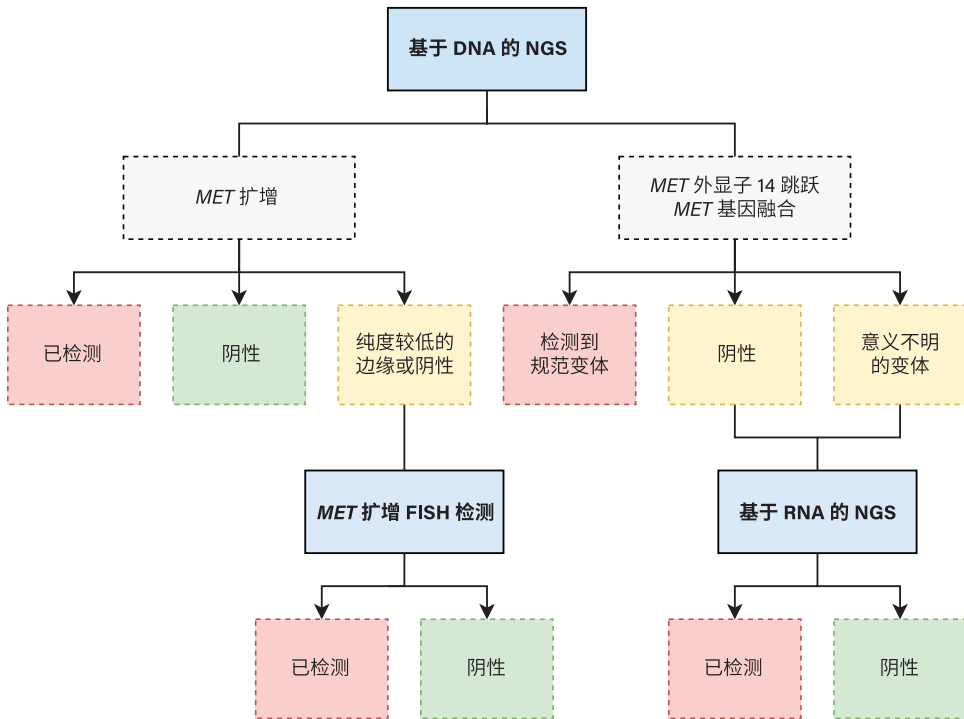


图 13-5. 检测 MET 生物标志物的潜在检测策略。缩略词：FISH = 荧光原位杂交；NGS = 下一代测序。

子 13 和 14 (外显子 14 除外) 才能达到最佳敏感度。<sup>38,48</sup> 不过，这样可能具有挑战性，因为内含子尺寸较大且存在重复序列，这两个因素都会影响 DNA 测序的准确性。再加上其他原因，测序偏差和等位基因脱扣等技术问题使基于杂交捕获的 NGS 优于基于扩增子的 NGS。<sup>49,50</sup> 然而，即使使用基于杂交捕获的 NGS，DNA 测序也会漏掉外显子 14 跳跃改变，也会检测新的非规范变体，但尚不清楚这些变体对剪接的影响。<sup>51</sup>

相比之下，RNA 测序和逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 可规避此类与 DNA 水平分析相关的挑战，并直接评估改变剪接的致癌附带物，从而使该检测方法更灵敏、更实用<sup>52</sup> (图 13-6)。因此，RNA 检测对于确认 DNA NGS 得出的阴性结果以及进一步评估非规范内含子突变很重要。然而，已观察到低水平假阳性外显子 14 跳跃事件<sup>53,54</sup>。因此，对于突变阴性病例，可能需要在 RNA 水平上纳入经验证的外显子 14 跳跃检测较低阈值，以确保特异性并将这些发现与 DNA 测序数据相关联。

通常使用 FISH 评估 *MET* 基因扩增。人们提出了不同的评分系统，包括 *MET* 基因拷贝数 (GCN) 与 *MET/CEP7* 比值，后者能够区分 7 号染色体的扩增和多体性。<sup>55,56</sup> 尽管没有标准的 *MET* 扩增阈值指导治疗，但研究表明，以 4:6 或更高的 *MET/CEP7* 比值和 / 或 10 及以上 GCN 定义的高水平 *MET* 扩增，可预测新发和获得性耐药情况下对 *MET* 抑制的反应情况。<sup>57-59</sup>

最近，DNA NGS 越来越多地用于筛查 *MET* 扩增。<sup>60,61</sup> 与 FISH 类似，对于 *MET* 扩增的方法和临界值尚未达成共识。相对于 FISH，NGS 的优势包括能够 (1) 对整个肿瘤切片进行更全面的拷贝数评估，从而克服潜在的异质性；(2) 对 *MET* 和其他可操作基因的其他改变进行多重分析。然而，可靠的拷贝数检测对肿瘤的纯度有要求 (~20% 肿瘤纯度)，但会限制基于 NGS 的拷贝数分析。<sup>62</sup> 额外进行 FISH 检测可能对肿瘤含量低或 NGS 结果临界的阴性病例有利，因为这种检测方法可在单细胞水平进行更细致的分析 (图 13-7A、B)。

可以使用多种基于 DNA 和 RNA 的方法检测 *MET* 基因融合。分离 FISH 是一种快速且廉价的方法，可识别有关 *MET* 的基因重排。但是这种技术检测不出融合配对、断裂点或激酶结构域的位置，而这对于确认致病性很重要。或者可采用 DNA NGS 检测预计会形成致病融合的结构变异 (SV)。与其他基因融合一样，*MET* 融合的基因

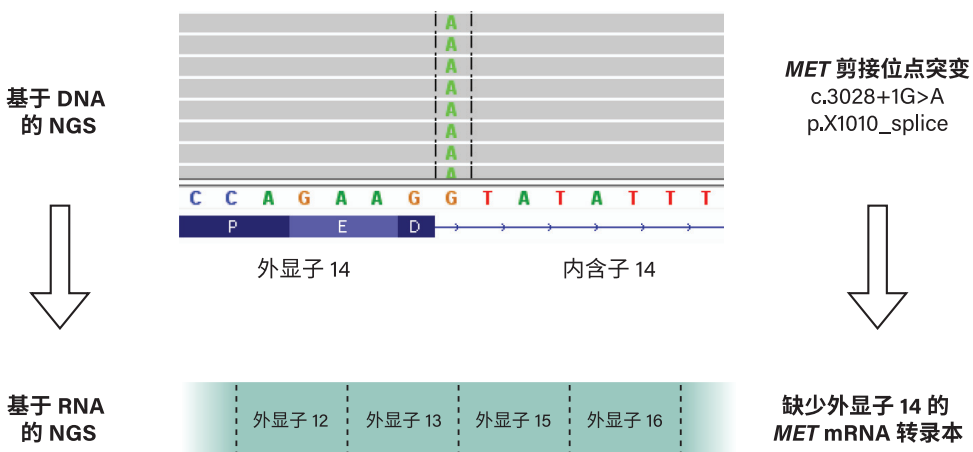
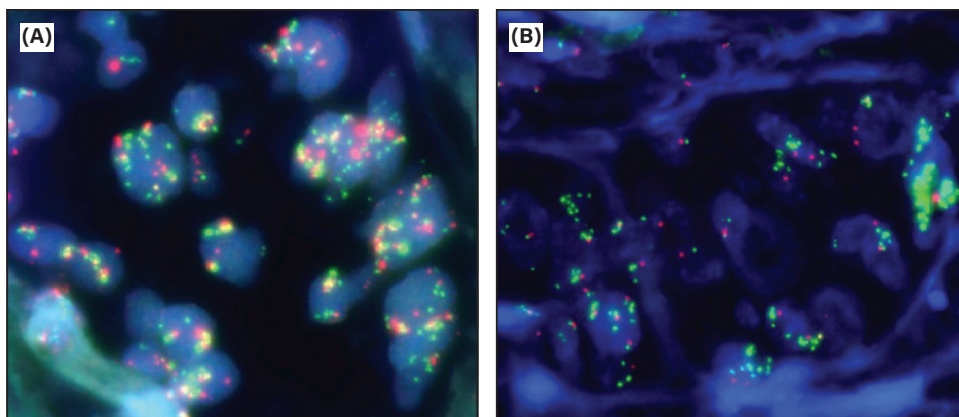


图 13-6. 基于 DNA 和 RNA 的下一代测序 (NGS) 分别检测 RNA 转录水平的剪接位点突变和外显子跳跃事件。RNA 测序策略直接证明剪接异常，而 DNA 水平突变的影响只能根据剪接区域内的位置来推断。



**图 13-7. (A)** *MET* (绿色) 和 *CEP7* (红色) 信号增加表明 7 号染色体具有多体性。**(B)** *MET* 扩增的异质性。与具有不同水平 *MET* 获得与扩增的肿瘤细胞相比，最右边的肿瘤细胞显示出高水平的 *MET* 拷贝数。

组断裂点大多发生在内含子中，因此限制了 DNA 测序的灵敏度。<sup>30,63</sup> 此外，对于意义不确定的新型或复杂融合来说，特异性可能是一个问题。一般来说，这些限制可以通过直接评估致癌融合转录本的 RNA 方法来解决。RT-PCR 通常需要了解融合配对和断裂点，而 RNA NGS 没有这些要求，并且可以检测到与新配对基因和断裂点的融合。

多项研究表明，IHC 检测出的 *MET* 蛋白过表达并不能很好地替代 *MET* 扩增和 *MET* 外显子 14 跳跃。<sup>34,37,64</sup> 但是新数据表明，*MET* 过表达也许能够在存在 *MET* 外显子 14 跳跃改变的患者中预测对 *MET* 靶向治疗的敏感性。<sup>65</sup> 虽然 *MET* IHC 目前还无法作为替代生物标志物，但在未来随着相关数据的不断完善，*MET* 表达对于治疗具有激活 *MET* 改变的患者会有着越来越重要的意义。

## 临床意义

根据结合机制，将 *MET* TKI 分为两组。<sup>50</sup> I 型 *Met* 抑制剂（例如克唑替尼、卡马替尼、特泊替尼、赛沃替尼）以活性构象靶向 *MET*。在 I 型 TKI 中，克唑替尼的独特之处在于其依赖与 G1163 残基的相互作用，因此被命名为 Ia 型抑制剂，以区别于其余的 I 型抑制剂，即 Ib 型药物。与 I 型 *MET* 抑制剂相反，II 型抑制剂（例如卡博替尼、梅沙替尼、格来替尼 [glesatinib]）以非活性构象结合 *MET*。

目前，评估 *MET* 抑制剂治疗 *MET* 改变 NSCLC 的前瞻性临床研究主要探讨了 I 型抑制剂的疗效。这些研究单独评估了对存在 *MET* 扩增或 *MET* 外显子 14 跳跃改变的 NSCLC 患者的疗效。值得注意的是，在缺乏 *MET* 扩增标准化定义的情况下，不同的临床研究定义这种基因事件的标准有所不同。在有外显子 14 跳跃改变的肿瘤亚群中，I 型 *MET* 抑制剂的疗效（包括颅内活性）特别振奋人心。

例如，在 1 期和 2 期 GEOMETRY mono-1 研究中，41% 的既往治疗患者在卡马替尼诱导下出现客观缓解，中位无进展生存期 (PFS) 为 5.4 个月。<sup>57</sup> 未接受过治疗的 NSCLC 患者接受卡马替尼治疗后，总缓解率 (ORR) 和中位 PFS 分别为 68% 和 12.4

个月。<sup>57</sup> 在 2 期 VISION 研究中, 观察到接受特泊替尼治疗后的 ORR 为 46%, 中位 PFS 为 8.5 个月, 且既往不同治疗线的疗效相当。<sup>66</sup> 基于这两项研究结果, 卡马替尼和特泊替尼获得了全球监管部门的批准, 用于治疗存在 *MET* 外显子 14 跳跃的 NSCLC。在 PROFILE 1001 研究中, 多激酶 Ia 型 *MET* TKI 克唑替尼在 *MET* 外显子 14 阳性 (ORR 32%) 或 *MET* 扩增 NSCLC (ORR 28.9%) 患者队列中也表现出了良好活性。<sup>59,67</sup> 在 PROFILE 1001 和 GEOMETRY mono-1 研究中, 对于 *MET* 扩增水平较高的肿瘤, *MET* TKI 活性最高。<sup>57</sup> 例如, 随着 *MET* GCN 拷贝数临界值从 6 - 9 延长到 10 及以上, 用卡马替尼治疗后的 ORR 从 12% 提高至 40%, 中位 PFS 从 2.7 个月延长至 4.1 个月。<sup>57</sup>

除了 *MET* TKI 之外, 也用 *MET* 抗体和抗体药物偶联物在有 *MET* 改变的 NSCLC (包括存在 *MET* 过表达的 NSCLC) 中做了临床检测。从历史上看, 抗 *MET* 抗体的功效有限。<sup>68,69</sup> 然而, 正在进行的研究表明, 研究性 *MET* 抗体药物偶联物和具有 *MET* 活性的双特异性抗体在有 *MET* 过表达或 *MET* 外显子 14 突变的 NSCLC 患者中显示出早期的可喜结果。<sup>70</sup>

## 耐药机制

如前文所述, 根据结合机制, 将 *MET* TKI 分为几个组。获批的 2 种 *MET* TKI (卡马替尼和特泊替尼) 以活性构象结合受体, 其构象依赖于与受体铰链区和激酶活化环中 Y1230 残基的相互作用。D1228 和 K1110 残基形成的盐桥促进结合, 稳定活化环。从对 I 型抑制剂 (包括卡马替尼和克唑替尼) 产生耐药性的患者采集的临床样本中发现了与 D1228 和 Y1230 相关的复发突变, 预计这些突变会破坏盐桥的稳定性或改变 Y1230 的位置。<sup>71-73</sup> 由于这些突变对 I 型抑制剂产生交叉耐药性, 导致现有 I 型 *MET* TKI 序贯治疗的效果有限。<sup>65,74</sup>

相比之下, 临床前研究和病例报告表明, II 型 *MET* TKI (例如卡博替尼、美沙替尼、格来替尼 [glesatinib] 和福瑞替尼) 不依赖于与活化环的相互作用, 因此依然对 *MET* D1228 和 Y1230 突变有效。<sup>72,75,76</sup> 除了这些较为常见的突变, 在克唑替尼耐药样本中还发现了 *MET* G1163R。<sup>77</sup> 溶剂前沿 G1163 残基对于克唑替尼的结合至关重要, 但对于其他 *MET* TKI 的结合则不那么重要。

除了获得性靶改变外, *MET* 非依赖性耐药机制还会导致对 *MET* 选择性抑制剂产生获得性耐药和固有耐药。<sup>66</sup> 到目前为止已有的旁路机制包括 MAPK 通路再激活和 *EGFR/ERBB2/ERBB3* 扩增。<sup>46,65,77,78</sup> 在治疗前就已经出现 *MET* 外显子 14 跳跃的小部分 NSCLC 亚群中识别 *KRAS* G12X 突变, 凸显了 *KRAS* 激活作为 *MET* 靶向治疗原发性耐药的重要性。<sup>46</sup> *KRAS* 突变和扩增约占 *MET* 靶向治疗继发性耐药机制的三分之一。<sup>72</sup> 观察存在 *MET* 外显子 14 跳跃的患者发现, 对克唑替尼治疗产生进展后, 出现 *KRAS* 和 *EGFR* 扩增; 有趣的是, 在这种情况下开展 FISH 研究发现, 扩增事件发生在独立的细胞群中, 表明不同耐药细胞群之间存在旁分泌信号传

导作用。<sup>79</sup> 在 KRAS 通路激活的情况下, MET 抑制似乎通过磷脂酰肌醇 3- 激酶 (PI3K) 驱动优先的信号传导; PI3K 通路突变 (包括 PIK3CA 以及磷酸酯酶和张力蛋白同源物 [PTEN]) 也代表了 MET 靶向治疗获得性耐药的常见机制。<sup>80</sup> MET 与 EGFR 或 PI3K 抑制剂联合治疗的作用正在研究中。<sup>80,81</sup>

## 参考文献

1. Maroun CR, Rowlands T. The Met receptor tyrosine kinase: a key player in oncogenesis and drug resistance. *Pharmacol Ther.* 2014;142(3):316-338.
2. Graveel CR, Tolbert D, Vande Woude GF. MET: a critical player in tumorigenesis and therapeutic target. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5(7).
3. Peschard P, Park M. From Tpr-Met to Met, tumorigenesis and tubes. *Oncogene.* 2007;26(9):1276-1285.
4. Boccaccio C, Ando M, Tamagnone L, et al. Induction of epithelial tubules by growth factor HGF depends on the STAT pathway. *Nature.* 1998;391(6664):285-288.
5. Ohmichi H, Koshimizu U, Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor (HGF) acts as a mesenchyme-derived morphogenic factor during fetal lung development. *Development.* 1998;125(7):1315-1324.
6. Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor: molecular structure, roles in liver regeneration, and other biological functions. *Crit Rev Oncog.* 1992;3(1-2):27-54.
7. Matsumoto K, Umitsu M, De Silva DM, Roy A, Bottaro DP. Hepatocyte growth factor/MET in cancer progression and biomarker discovery. *Cancer Sci.* 2017;108(3):296-307.
8. Recondo G, Che J, Janne PA, Awad MM. Targeting MET dysregulation in cancer. *Cancer Discov.* 2020;10(7):922-934.
9. Peschard P, Ishiyama N, Lin T, Lipkowitz S, Park M. A conserved DpYR motif in the juxtamembrane domain of the Met receptor family forms an atypical c-Cbl/Cbl-b tyrosine kinase binding domain binding site required for suppression of oncogenic activation. *J Biol Chem.* 2004;279(28):29565-29571.
10. Petrelli A, Gilestro GF, Lanzardo S, et al. The endophilin-CIN85-Cbl complex mediates ligand-dependent downregulation of c-Met. *Nature.* 2002;416(6877):187-190.
11. Barrow-McGee R, Kermorgant S. Met endosomal signalling: in the right place, at the right time. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;49:69-74.
12. Drilon A, Cappuzzo F, Ou S-HI, Camidge R. Targeting MET in lung cancer: will expectations finally be MET? *J Thorac Oncol.* 2016;12(1):15-26. doi:10.1016/j.jtho.2016.10.014.
13. Organ SL, Tsao MS. An overview of the c-MET signaling pathway. *Ther Adv Med Oncol.* 2011;3(1 suppl):S7-S19.
14. Sattler M, Reddy MM, Hasina R, Gangadhar T, Salgia R. The role of the c-Met pathway in lung cancer and the potential for targeted therapy. *Ther Adv Med Oncol.* 2011;3(4):171-184.
15. Lin J, Lyu Y, Li L, et al. Crizotinib inhibits activation of MET pathway caused by MET extracellular SEMA domain duplication. *Lung Cancer.* 2020;147:64-70.
16. Kong-Beltran M, Seshagiri S, Zha J, et al. Somatic mutations lead to an oncogenic deletion of met in lung cancer. *Cancer Res.* 2006;66(1):283-289.
17. Wang F, Liu Y, Qiu W, et al. Functional analysis of MET Exon 14 skipping alteration in cancer invasion and metastatic dissemination. *Cancer Res.* 2022;82(7):1365-1379.
18. Schildhaus HU, Schultheis AM, Ruschoff J, et al. MET amplification status in therapy-naive adeno- and squamous cell carcinomas of the lung. *Clin Cancer Res.* 2015;21(4):907-915.
19. Go H, Jeon YK, Park HJ, et al. High MET gene copy number leads to shorter survival in patients with non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2010;5(3):305-313.
20. Awad MM, Oxnard GR, Jackman DM, et al. MET exon 14 mutations in non-small-cell lung cancer are associated with advanced age and stage-dependent MET genomic amplification and c-Met overexpression. *J Clin Oncol.* 2016;34(7):721-730.
21. Lee JK, Madison R, Classon A, et al. Characterization of non-small-cell lung cancers with MET exon 14 skipping alterations detected in tissue or liquid: clinicogenomics and real-world treatment patterns. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:PO.21.00122.
22. Bittoni M, Yang JC, Shih JY, et al. Real-world insights into patients with advanced NSCLC and MET alterations. *Lung Cancer.* 2021;159:96-106.



23. AACR Project Genie: data. American Association for Cancer Research (AACR); 2022. Updated July 22, 2022. <https://www.aacr.org/professionals/research/aacr-project-genie/aacr-project-genie-data/>.
24. Aisner DL, Sholl LM, Berry LD, et al. The impact of smoking and TP53 mutations in lung adenocarcinoma patients with targetable mutations—the Lung Cancer Mutation Consortium (LCMC2). *Clin Cancer Res*. 2018;24(5):1038-1047.
25. Yu HA, Arcila ME, Rekhman N, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin Cancer Res*. 2013;19(8):2240-2247.
26. Oxnard GR, Hu Y, Mileham KF, et al. Assessment of resistance mechanisms and clinical implications in patients with EGFR T790M-positive lung cancer and acquired resistance to osimertinib. *JAMA Oncol*. 2018;4(11):1527-1534.
27. Schoenfeld AJ, Chan JM, Rizvi H, et al. Tissue-based molecular and histological landscape of acquired resistance to osimertinib given initially or at relapse in patients with EGFR-mutant lung cancers. *J Clin Oncol*. 2019;37(15 suppl):9028-9028.
28. Coleman N, Hong L, Zhang J, et al. Beyond epidermal growth factor receptor: MET amplification as a general resistance driver to targeted therapy in oncogene-driven non-small-cell lung cancer. *ESMO Open*. 2021;6(6):100319.
29. Stransky N, Cerami E, Schalm S, Kim JL, Lengauer C. The landscape of kinase fusions in cancer. *Nat Commun*. 2014;5:4846.
30. Plenker D, Bertrand M, de Langen AJ, et al. Structural alterations of MET trigger response to MET kinase inhibition in lung adenocarcinoma patients. *Clin Cancer Res*. 2018;24(6):1337-1343.
31. Liu LF, Deng JY, Lizaso A, Lin J, Sun S. Effective response to crizotinib of concurrent KIF5B-MET and MET-CDR2-rearranged non-small cell lung cancer: a case report. *World J Clin Cases*. 2022;10(8):2529-2536.
32. Li A, Gao HF, Wu YL. Targeting the MET pathway for potential treatment of NSCLC. *Expert Opin Ther Targets*. 2015;19(5):663-674.
33. Park S, Koh J, Kim DW, et al. MET amplification, protein expression, and mutations in pulmonary adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2015;90(3):381-387.
34. Mignard X, Ruppert AM, Antoine M, et al. c-MET overexpression as a poor predictor of MET amplifications or exon 14 mutations in lung sarcomatoid carcinomas. *J Thorac Oncol*. 2018;13(12):1962-1967.
35. Li A, Niu FY, Han JF, et al. Predictive and prognostic value of de novo MET expression in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2015;90(3):375-380.
36. Baldacci S, Figeac M, Antoine M, et al. High MET overexpression does not predict the presence of MET exon 14 splice mutations in NSCLC: results from the IFCT PREDICT.amm study. *J Thorac Oncol*. 2020;15(1):120-124.
37. Guo R, Berry LD, Aisner DL, et al. MET IHC is a poor screen for MET amplification or MET exon 14 mutations in lung adenocarcinomas: data from a tri-institutional cohort of the Lung Cancer Mutation Consortium. *J Thorac Oncol*. 2019.
38. Schrock AB, Frampton GM, Suh J, et al. Characterization of 298 patients with lung cancer harboring MET exon 14 skipping alterations. *J Thorac Oncol*. 2016;11(9):1493-1502.
39. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-550.
40. Liu SY, Gou LY, Li AN, et al. The unique characteristics of MET exon 14 mutation in Chinese patients with NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2016;11(9):1503-1510.
41. Adib E, Nassar AH, Abou Alaiwi S, et al. Variation in targetable genomic alterations in non-small cell lung cancer by genetic ancestry, sex, smoking history, and histology. *Genome Med*. 2022;14(1):39.
42. Sands JM, Nguyen T, Shivdasani P, et al. Next-generation sequencing informs diagnosis and identifies unexpected therapeutic targets in lung squamous cell carcinomas. *Lung Cancer*. 2020;140:35-41.
43. Lam VK, Tran HT, Banks KC, et al. Targeted tissue and cell-free tumor DNA sequencing of advanced lung squamous-cell carcinoma reveals clinically significant prevalence of actionable alterations. *Clin Lung Cancer*. 2019;20(1):30-36. e33.
44. Liu X, Jia Y, Stoopler MB, et al. Next-generation sequencing of pulmonary sarcomatoid carcinoma reveals high frequency of actionable MET gene mutations. *J Clin Oncol*. 2016;34(8):794-802.



45. Fujino T, Suda K, Sakai K, et al. Intra-tumor and inter-tumor heterogeneity in MET Exon 14 skipping mutations and co-mutations in pulmonary pleomorphic carcinomas. *Clin Lung Cancer*. 2022;23(3):e185-e195.
46. Suzawa K, Offin M, Lu D, et al. Activation of KRAS mediates resistance to targeted therapy in MET exon 14-mutant non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25(4):1248-1260.
47. Pruis MA, Geurts-Giele WRR, von der Thüsen JH, et al. Highly accurate DNA-based detection and treatment results of MET exon 14 skipping mutations in lung cancer. *Lung Cancer*. 2020;140:46-54.
48. Frampton GM, Ali SM, Rosenzweig M, et al. Activation of MET via diverse exon 14 splicing alterations occurs in multiple tumor types and confers clinical sensitivity to MET inhibitors. *Cancer Discov*. 2015;5(8):850-859.
49. Poirot B, Doucet L, Benhenda S, et al. MET exon 14 alterations and new resistance mutations to tyrosine kinase inhibitors: risk of inadequate detection with current amplicon-based NGS panels. *J Thorac Oncol*. 2017;12(10):1582-1587.
50. Guo R, Luo J, Chang J, et al. MET-dependent solid tumours—molecular diagnosis and targeted therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2020;17(9):569-587.
51. Benayed R, Offin M, Mullaney K, et al. High yield of RNA sequencing for targetable kinase fusions in lung adenocarcinomas with no mitogenic driver alteration detected by DNA sequencing and low tumor mutation burden. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4712-4722.
52. Davies KD, Lomboy A, Lawrence CA, et al. DNA-based versus RNA-based detection of MET exon 14 skipping events in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(4):737-741.
53. Nosi V, Luca A, Milan M, et al. MET exon 14 skipping: a case study for the detection of genetic variants in cancer driver genes by deep learning. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8).
54. Manthei DM, Kleyman-Smith Y, Brown NA, Betz BL. Improved detection of MET exon 14 skipping mutations in lung adenocarcinoma with combined DNA/RNA testing and refined analysis methods [abstract ST009]. *J Mol Diagn*. 2019;19(30391-5):S1525-S1578.
55. Noonan SA, Berry L, Lu X, et al. Identifying the appropriate FISH criteria for defining MET copy number-driven lung adenocarcinoma through oncogene overlap analysis. *J Thorac Oncol*. 2016;11(8):1293-1304.
56. Cappuzzo F, Marchetti A, Skokan M, et al. Increased MET gene copy number negatively affects survival of surgically resected non-small-cell lung cancer patients. *J Clin Oncol*. 2009;27(10):1667-1674.
57. Wolf J, Seto T, Han JY, et al. Capmatinib in MET exon 14-mutated or MET-amplified non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(10):944-957.
58. Wu YL, Zhang L, Kim DW, et al. Phase Ib/II study of capmatinib (INC280) plus gefitinib after failure of epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitor therapy in patients with EGFR-mutated, MET factor-dysregulated non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36(31):3101-3109.
59. Camidge DR, Otterson GA, Clark JW, et al. Crizotinib in patients with MET-amplified NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2021;16(6):1017-1029.
60. Peng LX, Jie GL, Li AN, et al. MET amplification identified by next-generation sequencing and its clinical relevance for MET inhibitors. *Exp Hematol Oncol*. 2021;10(1):52.
61. Schmitt C, Schulz AA, Winkelmann R, Smith K, Wild PJ, Demes M. Comparison of MET gene amplification analysis by next-generation sequencing and fluorescence in situ hybridization. *Oncotarget*. 2021;12(22):2273-2282.
62. Solomon JP, Yang SR, Choudhury NJ, et al. Bioinformatically-expanded next-generation sequencing analysis optimizes identification of therapeutically relevant MET copy number alterations in >50,000 tumors. *Clin Cancer Res*. 2022.
63. Pan Y, Zhang Y, Ye T, et al. Detection of novel NRG1, EGFR, and MET fusions in lung adenocarcinomas in the Chinese population. *J Thorac Oncol*. 2019;14(11):2003-2008.
64. Bubendorf L, Dafni U, Schobel M, et al. Prevalence and clinical association of MET gene overexpression and amplification in patients with NSCLC: results from the European Thoracic Oncology Platform (ETOP) Lungscape project. *Lung Cancer*. 2017;111:143-149.
65. Guo R, Offin M, Brannon AR, et al. MET exon 14-altered lung cancers and MET inhibitor resistance. *Clin Cancer Res*. 2021;27(3):799-806.
66. Paik PK, Felip E, Veillon R, et al. Tepotinib in non-small-cell lung cancer with MET exon 14 skipping mutations. *N Engl J Med*. 2020;383(10):931-943.

67. Drilon A, Clark JW, Weiss J, et al. Antitumor activity of crizotinib in lung cancers harboring a MET exon 14 alteration. *Nat Med*. 2020;26(1):47-51.
68. Wakelee H, Zvirbulis Z, De Braud F, et al. Efficacy and safety of onartuzumab in combination with first-line bevacizumab- or pemetrexed-based chemotherapy regimens in advanced non-squamous non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2017;18(1):50-59.
69. Hirsch FR, Govindan R, Zvirbulis Z, et al. Efficacy and safety results from a phase II, placebo-controlled study of onartuzumab plus first-line platinum-doublet chemotherapy for advanced squamous cell non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2017;18(1):43-49.
70. Camidge DR, Bar J, Horinouchi H, et al. Telisotuzumab vedotin (Teliso-V) monotherapy in patients (pts) with previously treated c-Met-overexpressing (OE) advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):9016-9016.
71. Villaruz LC, Socinski MA, Abberbock S, et al. Clinicopathologic features and outcomes of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations in the Lung Cancer Mutation Consortium. *Cancer*. 2015;121(3):448-456.
72. Recondo G, Bahcall M, Spurr LF, et al. Molecular mechanisms of acquired resistance to MET tyrosine kinase inhibitors in patients with MET exon 14-mutant NSCLC. *Clin Cancer Res*. 2020;26(11):2615-2625.
73. Heist RS, Sequist LV, Borger D, et al. Acquired resistance to crizotinib in NSCLC with MET exon 14 skipping. *J Thorac Oncol*. 2016;11(8):1242-1245.
74. Rotow JK, Gui P, Wu W, et al. Co-occurring alterations in the RAS-MAPK pathway limit response to MET inhibitor treatment in MET exon 14 skipping mutation-positive lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2020;26(2):439-449.
75. Fujino T, Suda K, Koga T, et al. Foretinib can overcome common on-target resistance mutations after capmatinib/tepotinib treatment in NSCLCs with MET exon 14 skipping mutation. *J Hematol Oncol*. 2022;15(1):79.
76. Bahcall M, Sim T, Paweletz CP, et al. Acquired METD1228V mutation and resistance to MET inhibition in lung cancer. *Cancer Discov*. 2016;6(12):1334-1341.
77. Dagogo-Jack I, Moonsamy P, Gainor JF, et al. A phase 2 study of capmatinib in patients with MET-altered lung cancer previously treated with a MET inhibitor. *J Thorac Oncol*. 2021;16(5):850-859.
78. Yoda S, Lin JJ, Lawrence MS, et al. Sequential ALK inhibitors can select for lorlatinib-resistant compound ALK mutations in ALK-positive lung cancer. *Cancer Discov*. 2018;8(6):714-729.
79. Bahcall M, Awad MM, Sholl LM, et al. Amplification of wild-type KRAS imparts resistance to crizotinib in MET exon 14 mutant non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2018;24(23):5963-5976.
80. Jamme P, Fernandes M, Copin MC, et al. Alterations in the PI3K pathway drive resistance to MET inhibitors in NSCLC harboring MET exon 14 skipping mutations. *J Thorac Oncol*. 2020;15(5):741-751.
81. Krebs M, Spira AI, Cho BC, et al. Amivantamab in patients with NSCLC with MET exon 14 skipping mutation: updated results from the CHRYSALIS study. *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):9008-9008.



# Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因

Ignacio Wistuba、Philippe Joubert 和 Laura Mezquita

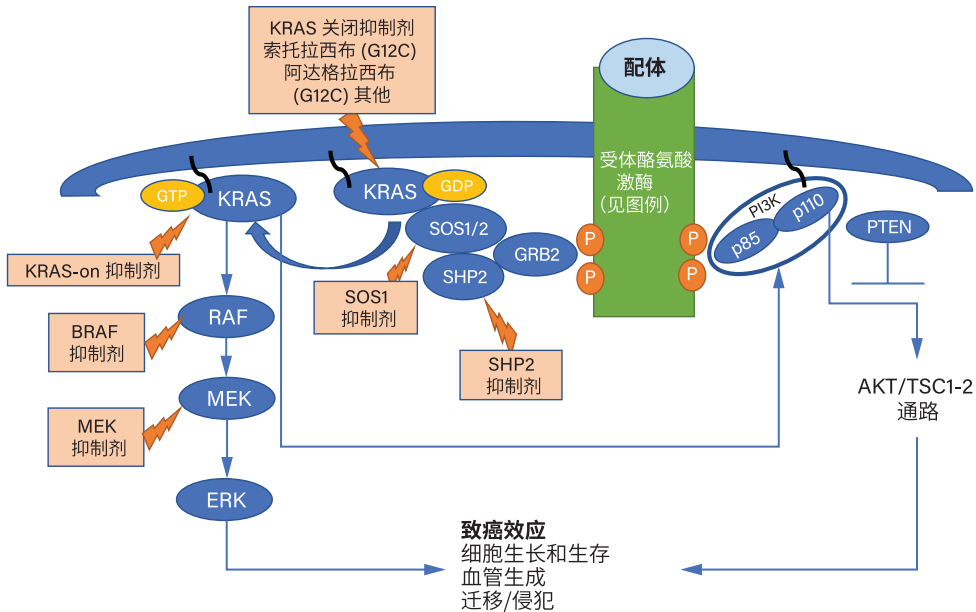
# 14

## 基因结构和功能

RAS（大鼠肉瘤病毒癌基因同源物）编码膜结合蛋白，最初由 Harvey<sup>1</sup> 和 Kristen<sup>2</sup> 描述为参与细胞增殖、分化和存活的逆转录病毒癌基因。<sup>3</sup>RAS 属于一类称为小乌苷三磷酸酶 (GTPase) 的蛋白质，在所有哺乳动物细胞中表达。<sup>4,5</sup>RAS 基因家族由 3 个成员 (*HRAS*、*NRAS* 和 *KRAS*) 组成，为相应的亚型编码。<sup>5</sup> 然而，值得注意的是，*KRAS*（Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因）亚型约占癌症中所有 RAS 突变的 75% 至 80%，其次是 *NRAS* (12%)，然后是不合常规的 *HRAS* (3%)。<sup>6,7</sup> RAS 蛋白由 3 个主要元素组成：

1. G 结构域在 RAS 亚型之间高度保守，包含 switch 1 和 2 个环，负责鸟苷三磷酸 (GTP)- 鸟苷二磷酸 (GDP) 交换。
2. C 端结构域称为超变区，在 RAS 亚型之间具有显著差异。
3. C 端 CaaX 盒驱动翻译后修饰。<sup>8-11</sup>

RAS 蛋白充当分子开关，在活性 GTP 结合状态和非活性 GDP 结合状态之间循环。<sup>8,12</sup> 鸟嘌呤核苷酸交换因子 (GEF) 促进 RAS 蛋白转化为活性形式，而 GTP 酶激活蛋白 (GAP) 通过激活 RAS-GTP 酶和 GTP 水解，在维持 RAS 处于非活性状态方面发挥作用。<sup>8,12</sup> 当 *KRAS* 突变时，RAS 蛋白被锁定为 GTP 结合的活性形式，进而组成性激活下游信号通路，例如 RAF-MEK-ERK 和 PI3K-AKT-mTOR 通路，形成恶性表型<sup>8,12</sup> (图 14-1)。



**图 14-1.** 细胞膜结合 KRAS 蛋白及其与其他蛋白和信号通路的某些关系图示。(备注：膜受体酪氨酸激酶 [RTK] 的通用表示仅用于说明目的。)有许多配体和 RTK，包括 EGFR/HER 家族，可形成同源二聚体和异源二聚体（见相关章节）。野生型 KRAS 可能被激活为其鸟苷三磷酸 (GTP) 结合状态，从而促进通过 RAF/MEK/ERK 和 PI3K/AKT/TSC1-2 的下游信号传导。这种激活由鸟嘌呤核苷酸交换因子 (GEF) 介导，其中一个主要因子是 SOS1，以及相关蛋白，例如 GRB2 和 SHP2。KRAS 突变会降低 GTP 水解，减轻与鸟苷三磷酸酶 (GTP 酶) 激活蛋白 (GAP) 的相互作用 (图中未显示)。这些变化会保持 KRAS 蛋白处于激活状态，驱动肿瘤发生。治疗中正在利用该复杂通路中的几个点 (见正文)。在这种情况下，临床上最先进的索托拉西布和阿达格拉西布等药物，它们的作用是将 KRAS 维持在 GDP 结合的非活性状态。<sup>3,13</sup> 缩略词：PTEN = 磷酸酯酶和张力蛋白同源物。(改编自 Punekar 等<sup>13</sup>)

## 改变的类型和肿瘤发生的作用 (突变、融合、扩增、蛋白质表达)

*KRAS* 是癌症中最常发生突变的癌基因。<sup>14</sup> 同样，*KRAS* 激活突变是早期和晚期肺腺癌中最常见的致癌驱动因素，发生在大约 25% 至 32% 的肿瘤中。<sup>15,16</sup> 大多数 *KRAS* 点突变发生在外显子 2 和 3 处，主要影响密码子 G12、G13 和 Q61。<sup>6</sup> 在肺癌中，G12C (即从氨基酸甘氨酸到半胱氨酸的突变) 最常见 (41%)，而 G12V 和 G12D 分别占 *KRAS* 突变的 21% 和 17%<sup>17</sup> (图 14-2)。 *KRAS* 突变的生物学和临床意义因肺癌的突变亚型而异。例如，G12C 和 G12D 分别对结合 RATGDS-Ral-FLIP 和 PI3K-AKT-mTOR 通路具有显著亲和力。<sup>18</sup> 此外，*KRAS* G12C 突变显示出比 *KRAS* G12D 突变更高程度的细胞外信号调节激酶 1 和 2 (ERK1/2) 磷酸化。<sup>19</sup>

与肺腺癌中其他可操作的驱动突变一样，*KRAS* 突变通常不会与其他致癌基因驱动因素共存，包括 *EGFR*、*ALK* 和 *ROS* 驱动的肿瘤。尽管 *KRAS* 和 *EGFR* 突变在肺癌中通常以相互排斥的方式发生，<sup>17,20</sup> 但传闻报告表明肺癌患者体内同时发生了 *KRAS* 和 *EGFR* 突变。<sup>21-23</sup> *ALK* 易位肺癌中描述的 *KRAS* 突变主要与 *ALK* 酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 的耐药机制相关。<sup>24</sup> *KRAS* G12C 和其他 *KRAS* 突变更频繁地与 *MET* 扩增在局部<sup>25</sup> 和转移性<sup>26</sup> 初治非小细胞肺癌 (NSCLC) 中同时发生。与没有 *KRAS* G12C<sup>3,26</sup> 的肿瘤相比，*ERBB2* 扩增 ( $P = 0.002$ ) 和 *ERBB4* 突变 ( $P = 0.025$ ) 在 *KRAS* G12C 突变的肿瘤中更常见。

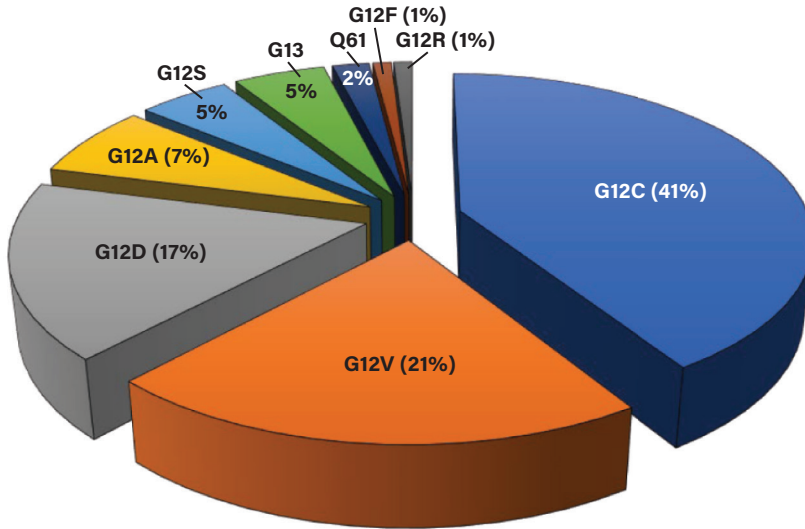


图 14-2. 肺腺癌中最常见的 *KRAS* 突变发生率

已有报告发现在 NSCLC 中存在 *KRAS* 拷贝数改变，包括等位基因失衡和拷贝数增加。<sup>27,28</sup> *KRAS* 扩增也被证明是表皮生长因子受体 (EGFR) TKI 耐药的一种机制。<sup>28</sup> *KRAS* 基因伴随突变很常见，可在大约 3.4% 的 *KRAS* 突变肿瘤和 8% 的 *KRAS* G12C 突变肿瘤中观察到。与 *KRAS* G12C 相关的最常见共存突变是 *KRAS* G12F 和 G12V。<sup>29</sup> 在本研究中，存在共存突变导致对特定 G12C 抑制剂的耐药性提高。在大约一半具有 *KRAS* 突变的肿瘤中，尤其是在吸烟者的肿瘤中，还会发现其他几种突变，即所谓的共突变，可能具有生物学意义。<sup>3,26</sup>

目前的数据表明，同时发生的基因改变会显著影响生物进化、临床结果和治疗反应。<sup>15,30-34</sup> 大规模测序研究已经对肺腺癌中主要的 *KRAS* 共突变展开普查。<sup>15</sup> *TP53* (~40%)、*STK11* (即，丝氨酸 / 苏氨酸激酶 11；20%) 和 *KEAP1* (即 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1；13%-24%) 同时发生的突变最常见。<sup>26,30</sup> 这 3 个亚群与不同的生物学特性和治疗灵敏度相关，<sup>15</sup> 并且可以通过固有的 RAS 信号通路以及肿瘤微环境发挥作用。特别是，*KRAS/TP53*- 突变的 NSCLC 显示炎症标志物和免疫检查点效应分子水平升高，而 *KRAS/KEAP1* 则显示较低水平的免疫标志物，包括程序性死亡配体 1 (PD-L1)。<sup>15</sup>

除了通过下游效应物促进肿瘤发生外，还发现突变的 *KRAS* 细胞与肿瘤微环境相互作用。在结直肠癌中，*KRAS* 突变可以介导主要组织相容性 1 类分子表达的下调，作用是干扰肿瘤抗原启动和面向 T 细胞的呈递。<sup>3,35</sup>

同样，*KRAS* 突变与 NSCLC 中较高水平的 PD-L1 表达相关，从而导致 T 细胞耗尽。<sup>36,37</sup> 值得注意的是，有报告称 *KRAS* G12C 患者的 PD-L1 肿瘤比例评分 (TPS) 为 50% 或更高，范围为 34% 至 41%，而 *KRAS* 野生型肿瘤患者的这一比例为 20% 至 26%。<sup>38,39</sup> 在具有 *KRAS* 突变的 NSCLC 细胞系中，发现 PD-L1 的异位表达受到 *KRAS* 下游 MAPK 和 STAT3 通路的调节。<sup>3,40</sup>



## 流行病学、临床和组织学特征

*KRAS* 突变分布通常具有癌症类型特异性，在全球范围内各种癌症类型中的频率相对稳定，但 NSCLC（特别是腺癌组织学）除外。<sup>7</sup> 在全球观测的 NSCLC 中，*KRAS* 患病率存在地域差异，其中欧洲发病率最高，其次是北美、东亚地区和印度发病率最低。<sup>6,7</sup> 这与 *EGFR* 的患病率形成鲜明对比，表明遗传或环境的影响，目前越来越多的研究正在进行中。<sup>7</sup> 同样，有报告称 *KRAS* G12C 突变在黑人 and 白人患者中比在亚裔患者中更常发生 ( $P < 0.001$ )，而在 NSCLC 中，*KRAS* 突变在腺癌组织学中发生得更频繁 (32%)，<sup>6,25,41</sup> 在开展严格病理学评估时，很少在鳞状细胞癌中发现这种突变 ( $\leq 1\%$ )。<sup>39,42,43</sup>

在腺癌中，浸润粘液腺癌中 *KRAS* 突变的发生频率较高 (61%-71%)。<sup>44,45</sup> NSCLC 中的 *KRAS* 突变通常与吸烟史有关 (即，从不吸烟者为 7%，以前和现在吸烟者分别为 32% 和 37%<sup>46</sup>)，NSCLC 中变异类型在吸烟者和从不吸烟者之间的分布情况各不相同。<sup>39</sup> *KRAS* G12C 常见于吸烟人群 (占 *KRAS* 突变的 41%)，与特征 4 (与吸烟相关的特征) 相关，而特征 4 与 C>A 过渡相关。<sup>47</sup> 而且，与其他 *KRAS* 突变<sup>25,42</sup> 和 *KRAS* 野生型相比，*KRAS* G12C 突变似乎在女性 (即，43%;  $P = 0.007$ ) 和年轻患者 (即中位年龄为 63 岁;  $P = 0.0092$ ) 中更频繁发生。G12D 突变最常发生在从不吸烟者中，占 *KRAS* 突变的 56%。<sup>41</sup> 尽管有些结果互相矛盾，<sup>38,45,46</sup> 但 NSCLC 中的 *KRAS* 突变似乎与预后较差有关。<sup>47-49</sup> 据报告，G12C 突变的 NSCLC 患者的预后比发生其他 *KRAS* 突变或 *KRAS* 野生型患者的预后差。<sup>25</sup> 此外，*KRAS* G12C 阳性患者在诊断时的转移率高于 *KRAS* 野生型患者 (即，94% 对比 88%)。<sup>38</sup>

## 检测策略

可直接从肿瘤组织、细胞样本 (细胞学) 中提取的 DNA 以及从血液和其他液体 (即胸腔积液、脑脊液) 中提取的细胞游离 DNA (cfDNA) 中检测肺癌中的 *KRAS* 突变，包括 G12C 变异。*KRAS* 点突变存在于密码子 (12、13 和 61) 的热点中，使用基于聚合酶链反应 (PCR) 和下一代测序 (NGS) 方法检测的基因组合可以轻松覆盖这些热点。<sup>48-51</sup> 使用足够的核酸输入 (10-100 ng DNA 和 5%-15% 的肿瘤含量)，大多数商业平台，无论是基于 PCR 还是 NGS，都具有出色的整体准确性和高水准或一致性，尽管与非 NGS 检测相比，NGS 的性能似乎略微优越一些。<sup>52-57</sup> 根据多个指南的建议，NGS 组合是肿瘤组织诊断的首选方法。当组织样本耗尽、无法对肿瘤进行活检，或者肿瘤或 DNA 的采样率不足以进行适当的分子检测时，cfDNA 可以用作替代方法。<sup>51</sup> 分子分析可用于识别 *KRAS* 靶向治疗方法 (例如 *KRAS* G12C 抑制剂) 中出现的基因组相关耐药机制。

## 临床意义

尽管进行了彻底的临床前和临床研究，但长期以来，人们一直认为 *KRAS* 突变是不可成药的靶点。不过最近已经研发出了几种共价 *KRAS* G12C 抑制剂，包括 AMG510 (索托拉西布) 和 MRTX849 (阿达格拉西布)，用于治疗 *KRAS* G12C 突变肿瘤。<sup>58-60</sup> 当 *KRAS* G12C 处于非活性 GDP 状态时，这些靶向 G12C 的药物通过与胱氨

酸 12 和 switch-2 结合口袋区域的共价结合发挥作用。<sup>61</sup> 多项研究表明, KRAS G12C 抑制剂通过降低 KRAS 对核苷酸交换因子的敏感性, 捕获处于非活性 GDP 结合状态的 KRAS,<sup>62,63</sup> 而且需要完整的 GTP 酶活性才能抑制功效。<sup>62,63</sup> 值得注意的是, CodeBreaK100 临床试验显示, 索托拉西布对携带 KRAS G12C 突变的晚期 NSCLC 患者具有有益效果,<sup>64</sup> 2021 年 5 月, 美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准索托拉西布用于治疗已至少接受过一次系统治疗的 KRAS G12C 阳性 NSCLC 患者。

相反, KRAS G12C 抑制剂无法保证持久缓解, 接受索托拉西布治疗的 NSCLC 患者, 其中位无进展生存期 (PFS) 为 6.8 个月。<sup>64</sup> 在 3 期 CodeBreaK 200 试验中, 对于之前接受铂类化疗和检查点抑制剂后病情出现进展的 KRAS G12C 突变 NSCLC 患者, 与多西他赛相比, 索托拉西布可延长 PFS (危险比 [HR], 0.66; 95% CI, 0.51-0.86;  $P = 0.002$ ), 总缓解率更高 (ORR; 28.1% 对比 13.2%), 安全性也更好。<sup>65</sup> 然而, 尽管该研究没有延长 OS, 且允许存在交叉现象 (影响 34% 的患者), 但并没有观察到两组之间的总生存期 (OS) 存在差异。

阿达格拉西布是进入临床试验的第二种不可逆的选择性 KRAS G12C 抑制剂, 具有临床疗效 (ORR, 42.9%; PFS, 6.5 个月), 在单臂临床试验中没有出现新的安全信号,<sup>66</sup> FDA 因此于 2022 年 12 月批准该药用于治疗 KRAS G12C 突变的局部晚期或转移性 NSCLC (经 FDA 批准的测试确定), 适用于之前至少接受过一次系统治疗的患者; 该药物经过优化, 具有较长的半衰期和广泛的组织分布。<sup>67,68</sup> 目前正在进行多项研究, 评估这些 KRAS G12C 抑制剂相对于 3 期研究采用的常规治疗以及其他早期临床试验的疗效, 寻求与其他疗法 (例如免疫疗法、化疗等) 组合的协同效果。有趣的是, 研究表明, 在携带 KRAS 突变 (包括 G12C 变异) 的患者中, *STK11* 和 *KEAP1* 突变会使免疫检查点抑制<sup>69</sup> 和化疗<sup>70</sup> 的临床结果更差。<sup>70</sup>

## 耐药机制

与使用 EGFR 和 ALK 抑制治疗 NSCLC 得到的 ORR 相比, 使用索托拉西布或阿达格拉西布得到的 ORR 明显较低,<sup>71,72</sup> 表明对 KRAS G12C 抑制剂存在固有耐药机制。尽管仍在研究中, 但已发现两种抑制剂的几种固有耐药机制, 包括 RAS 信号通路 (如 RAS-MAPK) 的适应性反馈重新激活。<sup>73</sup> 关于获得性耐药机制, 使用实验室模型和 / 或检测接受治疗患者的肿瘤标本都表明存在 3 种主要机制:

1. 中靶机制, 通过检测其他 KRAS 激活突变 (即, 索托拉西布、G13D、R68M 和 A59S; 阿达格拉西布、Q99L、Y96D 和 R68S0)<sup>24,74-76</sup>
2. 旁路机制, 包括通过 MET (含基因扩增) 和肝细胞生长因子 (HGF)、<sup>77</sup> 胰岛素样生长因子受体 -1 (IGFR-1)、成纤维细胞生长因子受体 1 (FGFR-1) 相关机制对受体酪氨酸激酶和 RAS 下游信号通路的激活。<sup>68</sup>
3. 谱系可塑性和上皮 - 间质转化特征获得, 分别包括从腺癌到鳞状细胞癌组织学变化、<sup>76</sup> E- 钙粘蛋白下调和波形蛋白上调的初步报告<sup>68</sup>。

## 参考文献

- Harvey JJ. An unidentified virus which causes the rapid production of tumours in mice. *Nature*. 1964;204:1104-1105.
- Kirsten WH, Mayer LA. Morphologic responses to a murine erythroblastosis virus. *J Natl Cancer Inst*. 1967;39(2):311-335.
- Désage A-L, Léonce C, Swalduz A, Ortiz-Cuaran S. Targeting KRAS mutant in non-small cell lung cancer: novel insights into therapeutic strategies. *Front Oncol*. 2022;12:796832. doi:10.3389/fonc.2022.796832.
- Simanshu DK, Nissley DV, McCormick F. RAS proteins and their regulators in human disease. *Cell*. 2017;170(1):17-33.
- Malumbres M, Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(6):459-465.
- Prior IA, Hood FE, Hartley JL. The frequency of Ras mutations in cancer. *Cancer Res*. 2020;80(14):2969-2974.
- Timar J, Kashofer K. Molecular epidemiology and diagnostics of KRAS mutations in human cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2020;39(4):1029-1038.
- Vigil D, Cherfils J, Rossman KL, Der CJ. Ras superfamily GEFs and GAPs: validated and tractable targets for cancer therapy? *Nat Rev Cancer*. 2010;10(12):842-857.
- Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*. 2000;103(2):211-225.
- Gale NW, Kaplan S, Lowenstein EJ, Schlessinger J, Bar-Sagi D. Grb2 mediates the EGF-dependent activation of guanine nucleotide exchange on Ras. *Nature*. 1993;363(6424):88-92.
- Vetter IR, Wittinghofer A. The guanine nucleotide-binding switch in three dimensions. *Science*. 2001;294(5545):1299-1304.
- Cherfils J, Zeghouf M. Regulation of small GTPases by GEFs, GAPs, and GDIs. *Physiol Rev*. 2013;93(1):269-309.
- Punekar SR, Velcheti V, Neel BG, Wong KK. The current state of the art and future trends in RAS-targeted cancer therapies. *Nat Rev Clin Oncol*. 2022;19(10):637-655. doi:10.1038/s41571-022-00671-9.
- Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(1):11-22.
- Skoulidis F, Byers LA, Diao L, et al. Co-occurring genomic alterations define major subsets of KRAS-mutant lung adenocarcinoma with distinct biology, immune profiles, and therapeutic vulnerabilities. *Cancer Discov*. 2015;5(8):860-877.
- Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-550.
- Soh J, Toyooka S, Matsuo K, et al. Ethnicity affects EGFR and KRAS gene alterations of lung adenocarcinoma. *Oncol Lett*. 2015;10(3):1775-1782.
- Ihle NT, Byers LA, Kim ES, et al. Effect of KRAS oncogene substitutions on protein behavior: implications for signaling and clinical outcome. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(3):228-239.
- Li S, Liu S, Deng J, et al. Assessing therapeutic efficacy of MEK inhibition in a KRAS(G12C)-driven mouse model of lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2018;24(19):4854-4864.
- Pao W, Miller VA. Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell lung cancer: current knowledge and future directions. *J Clin Oncol*. 2005;23(11):2556-2568.
- Gainor JF, Varghese AM, Ou SH, et al. ALK rearrangements are mutually exclusive with mutations in EGFR or KRAS: an analysis of 1,683 patients with non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(15):4273-4281.
- Choughule A, Sharma R, Trivedi V, et al. Coexistence of KRAS mutation with mutant but not wild-type EGFR predicts response to tyrosine-kinase inhibitors in human lung cancer. *Br J Cancer*. 2014;111(11):2203-2204.
- Ortiz-Cuaran S, Scheffler M, Plenker D, et al. Heterogeneous mechanisms of primary and acquired resistance to third-generation EGFR inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2016;22(19):4837-4847.
- Camidge DR, Doebele RC. Treating ALK-positive lung cancer—early successes and future challenges. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012;9(5):268-277.
- Finn SP, Addeo A, Dafni U, et al. Prognostic impact of KRAS G12C mutation in patients with NSCLC: results from the European Thoracic Oncology Platform Lungscape Project. *J Thorac Oncol*. 2021;16(6):990-1002.

26. Scheffler M, Ihle MA, Hein R, et al. K-ras mutation subtypes in NSCLC and associated co-occurring mutations in other oncogenic pathways. *J Thorac Oncol.* 2019;14(4):606-616.
27. Soh J, Okumura N, Lockwood WW, et al. Oncogene mutations, copy number gains and mutant allele specific imbalance (MASI) frequently occur together in tumor cells. *PLoS One.* 2009;4(10):e7464.
28. Nakatani K, Yamaoka T, Ohba M, et al. KRAS and EGFR amplifications mediate resistance to rociletinib and osimertinib in acquired afatinib-resistant NSCLC harboring exon 19 deletion/T790M in EGFR. *Mol Cancer Ther.* 2019;18(1):112-126.
29. Vlacova T, Chakraborty A, Sherwood J, et al. Concomitant KRAS mutations attenuate sensitivity of non-small cell lung cancer cells to KRAS G12C inhibition. *Sci Rep.* 2022;12(1):2699.
30. Arbour KC, Jordan E, Kim HR, et al. Effects of co-occurring genomic alterations on outcomes in patients with KRAS-mutant non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2018;24(2):334-340.
31. Kitajima S, Ivanova E, Guo S, et al. Suppression of STING associated with LKB1 loss in KRAS-driven lung cancer. *Cancer Discov.* 2019;9(1):34-45.
32. Romero R, Sayin VI, Davidson SM, et al. Keap1 loss promotes Kras-driven lung cancer and results in dependence on glutaminolysis. *Nat Med.* 2017;23(11):1362-1368.
33. Wang X, Min S, Liu H, et al. Nf1 loss promotes Kras-driven lung adenocarcinoma and results in Psat1-mediated glutamate dependence. *EMBO Mol Med.* 2019;11(6).
34. Skoulidis F, Goldberg ME, Greenawalt DM, et al. *STK11/LKB1* mutations and PD-1 inhibitor resistance in KRAS-mutant lung adenocarcinoma. *Cancer Discov.* 2018 Jul;8(7):822-835. doi:10.1158/2159-8290.
35. Miura Y, Sunaga N. Role of immunotherapy for oncogene-driven non-small cell lung cancer. *Cancers (Basel).* 2018;10(8):245.
36. Chen N, Fang W, Lin Z, et al. KRAS mutation-induced upregulation of PD-L1 mediates immune escape in human lung adenocarcinoma. *Cancer Immunol Immunother.* 2017;66(9):1175-1187.
37. Li D, Zhu X, Wang H, Li N. Association between PD-L1 expression and driven gene status in NSCLC: a meta-analysis. *Eur J Surg Oncol.* 2017;43(7):1372-1379.
38. Sebastian M, Eberhardt WEE, Hoffknecht P, et al. KRAS G12C-mutated advanced non-small cell lung cancer: a real-world cohort from the German prospective, observational, nation-wide CRISP registry (AIO-TRK-0315). *Lung Cancer.* 2021;154:51-61.
39. Judd J, Abdel Karim N, Khan H, et al. Characterization of KRAS mutation subtypes in non-small cell lung cancer. *Mol Cancer Ther.* 2021;20(12):2577-2584.
40. Sumimoto H, Takano A, Teramoto K, Daigo Y. RAS-mitogen-activated protein kinase signal is required for enhanced PD-L1 expression in human lung cancers. *PLoS One.* 2016;11(11):e0166626.
41. Dogan S, Shen R, Ang DC, et al. Molecular epidemiology of EGFR and KRAS mutations in 3,026 lung adenocarcinomas: higher susceptibility of women to smoking-related KRAS-mutant cancers. *Clin Cancer Res.* 2012;18(22):6169-6177.
42. Acker F, Stratmann J, Aspacher L, et al. KRAS mutations in squamous cell carcinomas of the lung. *Front Oncol.* 2021;11:788084.
43. Rekhtman N, Paik PK, Arcila ME, et al. Clarifying the spectrum of driver oncogene mutations in biomarker-verified squamous carcinoma of lung: lack of EGFR/KRAS and presence of PIK3CA/AKT1 mutations. *Clin Cancer Res.* 2012;18(4):1167-1176.
44. Hwang DH, Sholl LM, Rojas-Rudilla V, et al. KRAS and NKX2-1 mutations in invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. *J Thorac Oncol.* 2016;11(4):496-503.
45. Kadota K, Yeh YC, D'Angelo SP, et al. Associations between mutations and histologic patterns of mucin in lung adenocarcinoma: invasive mucinous pattern and extracellular mucin are associated with KRAS mutation. *Am J Surg Pathol.* 2014;38(8):1118-1127.
46. Wood K, Hensing T, Malik R, Salgia R. Prognostic and predictive value in KRAS in non-small-cell lung cancer: a review. *JAMA Oncol.* 2016;2(6):805-812.
47. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature.* 2013;500(7463):415-421.



48. Kalemkerian GP, Narula N, Kennedy EB, et al. Molecular testing guideline for the selection of patients with lung cancer for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2018;36(9):911-919.
49. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2013;8(7):823-859.
50. Singh N, Temin S, Baker S Jr, et al. Therapy for stage IV non-small-cell lung cancer without driver alterations: ASCO living guideline. *J Clin Oncol*. 2022;40(28):3323-3343.
51. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn*. 2018;20(2):129-159.
52. Gao J, Wu H, Wang L, et al. Validation of targeted next-generation sequencing for RAS mutation detection in FFPE colorectal cancer tissues: comparison with Sanger sequencing and ARMS-scorpion real-time PCR. *BMJ Open*. 2016;6(1):e009532.
53. Gao J, Wu H, Shi X, et al. Comparison of next-generation sequencing, quantitative PCR, and Sanger sequencing for mutation profiling of EGFR, KRAS, PIK3CA and BRAF in clinical lung tumors. *Clin Lab*. 2016;62(4):689-696.
54. Cainap C, Balacescu O, Cainap SS, Pop LA. Next generation sequencing technology in lung cancer diagnosis. *Biology (Basel)*. 2021;10(9):864.
55. Hinrichs JW, van Blokland WT, Moons MJ, et al. Comparison of next-generation sequencing and mutation-specific platforms in clinical practice. *Am J Clin Pathol*. 2015;143(4):573-578.
56. Merker JD, Devereaux K, Iafrate AJ, et al. Proficiency testing of standardized samples shows very high interlaboratory agreement for clinical next-generation sequencing-based oncology assays. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(4):463-471.
57. Surrey LF, Oakley FD, Merker JD, et al. Next-generation sequencing (NGS) methods show superior or equivalent performance to non-NGS methods on BRAF, EGFR, and KRAS proficiency testing samples. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(8):980-984.
58. Canon J, Rex K, Saiki AY, et al. The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity. *Nature*. 2019;575(7781):217-223.
59. Hallin J, Engstrom LD, Hargis L, et al. The KRAS(G12C) inhibitor MRTX849 provides insight toward therapeutic susceptibility of KRAS-mutant cancers in mouse models and patients. *Cancer Discov*. 2020;10(1):54-71.
60. Janes MR, Zhang J, Li LS, et al. Targeting KRAS mutant cancers with a covalent G12C-specific inhibitor. *Cell*. 2018;172(3):578-589e17.
61. Santos E, Martin-Zanca D, Reddy EP, et al. Malignant activation of a K-ras oncogene in lung carcinoma but not in normal tissue of the same patient. *Science*. 1984;223(4637):661-664.
62. Lito P, Solomon M, Li LS, Hansen R, Rosen N. Allele-specific inhibitors inactivate mutant KRAS G12C by a trapping mechanism. *Science*. 2016;351(6273):604-608.
63. Patricelli MP, Janes MR, Li LS, et al. Selective inhibition of oncogenic KRAS output with small molecules targeting the inactive state. *Cancer Discov*. 2016;6(3):316-329.
64. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, et al. Sotorasib for lung cancers with KRAS p.G12C mutation. *N Engl J Med*. 2021;384(25):2371-2381.
65. Johnson M, De Langen J, Waterhouse D, et al., editors. Sotorasib versus docetaxel for previously treated non-small cell lung cancer with KRAS G12C mutation: CodeBreaK 200 phase III study [abstract LBA10]. *Ann Oncol*. 2022;33(suppl 7):S808-S869..
66. Janne PA, Riely GJ, Gadgeel SM, et al. Adagrasib in non-small-cell lung cancer harboring a KRAS(G12C) mutation. *N Engl J Med*. 2022;387(2):120-131.
67. Konen JM, Rodriguez BL, Padhye A, et al. Dual inhibition of MEK and AXL targets tumor cell heterogeneity and prevents resistant outgrowth mediated by the epithelial-to-mesenchymal transition in NSCLC. *Cancer Res*. 2021;81(5):1398-1412.
68. Adachi Y, Ito K, Hayashi Y, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is a cause of both intrinsic and acquired resistance to KRAS G12C inhibitor in KRAS G12C-mutant non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2020;26(22):5962-5973.

69. Ricciuti B, Arbour KC, Lin JJ, et al. Diminished efficacy of programmed death-(ligand)1 inhibition in STK11- and KEAP1-mutant lung adenocarcinoma is affected by KRAS mutation status. *J Thorac Oncol.* 2022;17(3):399-410.
70. Cooper AJ, Muzikansky A, Lennerz J, et al. Clinicopathologic characteristics and outcomes for patients with KRAS G12D-mutant NSCLC. *JTO Clin Res Rep.* 2022;3(9):100390.
71. Soria JC, Ramalingam SS. Osimertinib in EGFR mutation-positive advanced NSCLC. *N Engl J Med.* 2018;378(13):1262-1263.
72. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus crizotinib in untreated ALK-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2017;377(9):829-838.
73. Ryan MB, Fece de la Cruz F, Phat S, et al. Vertical pathway inhibition overcomes adaptive feedback resistance to KRAS(G12C) inhibition. *Clin Cancer Res.* 2020;26(7):1633-43.
74. Koga T, Suda K, Fujino T, et al. KRAS secondary mutations that confer acquired resistance to KRAS G12C inhibitors, sotorasib and adagrasib, and overcoming strategies: insights from in vitro experiments. *J Thorac Oncol.* 2021;16(8):1321-1332.
75. Tanaka N, Lin JJ, Li C, et al. Clinical acquired resistance to KRAS(G12C) inhibition through a novel KRAS switch-II pocket mutation and polyclonal alterations converging on RAS-MAPK reactivation. *Cancer Discov.* 2021;11(8):1913-1922.
76. Awad MM, Liu S, Rybkin II, et al. Acquired resistance to KRAS<sup>G12C</sup> inhibition in cancer. *N Engl J Med.* 2021;384(25):2382-2393.
77. Suzuki S, Yonesaka K, Teramura T, et al. KRAS inhibitor resistance in MET-amplified KRAS (G12C) non-small cell lung cancer induced by RAS- and non-RAS-mediated cell signaling mechanisms. *Clin Cancer Res.* 2021;27(20):5697-5707.





# 人类表皮生长因子受体 2

Maria E. Arcila、Federico Cappuzzo、Sabina Berezowska 和 Yasushi Goto

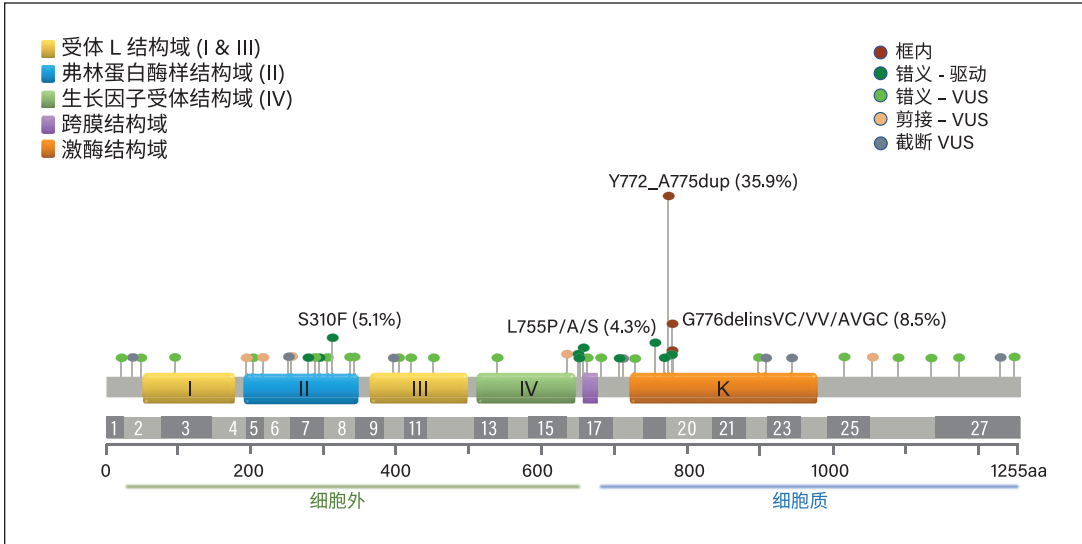
# 15

## 基因结构和功能

人类表皮生长因子受体 2 (HER2/ERBB2) 是 ERBB 家族的受体酪氨酸激酶，参与控制细胞生长、存活、分化和迁移。<sup>1,2</sup> 该蛋白由 17 号染色体 (17q11.2-q12) 长臂上的 *ERBB2* 基因 (*v-erb-b2* 禽类成红细胞白血病病毒癌基因同源物 2) 编码，与其家族的所有其他成员在催化胞内结构域和胞外推定配体结合区具有广泛的结构同源性。(图 15-1 和 15-2)。然而与其他成员相比，HER2 没有确定的直接配体，而是为所有其他 ERBB 家族受体优先选择的二聚化配对发挥作用。<sup>3-5</sup> 配体与 EGFR (HER1)、HER3 和 HER4 细胞外结构域结合，形成具有催化活性的同源二聚体和异源二聚体，进而激活多个促进细胞增殖信号传导的下游通路。除了已经发现的更强大的异源二聚化能力外，HER2 也不易内化和降解，使活化激酶活性和信号转导持续时间更长。

## 改变的类型及其在癌变中的作用

*HER2* 基因通过蛋白质过表达、基因扩增和突变而失调已在非小细胞肺癌 (NSCLC) 中得到充分描述。<sup>6-8</sup> 与其他实体瘤相比，NSCLC 中 HER2 的生物学特征似乎更加复杂，有些改变的作用尚不明确。致癌的 *HER2* 改变的常见后果是受体过度激活，导致细胞增殖失控。突变主要发生在外显子 20 内的胞内结构域，其中最常见的变异是 A775\_G776insYVMA。在胞内、跨膜和细胞外结构域发现了其他几种突变，(图 15-1；表 15-1)，<sup>9,10</sup> 虽然发生频率较低且许多突变被划分为意义不明的变异。



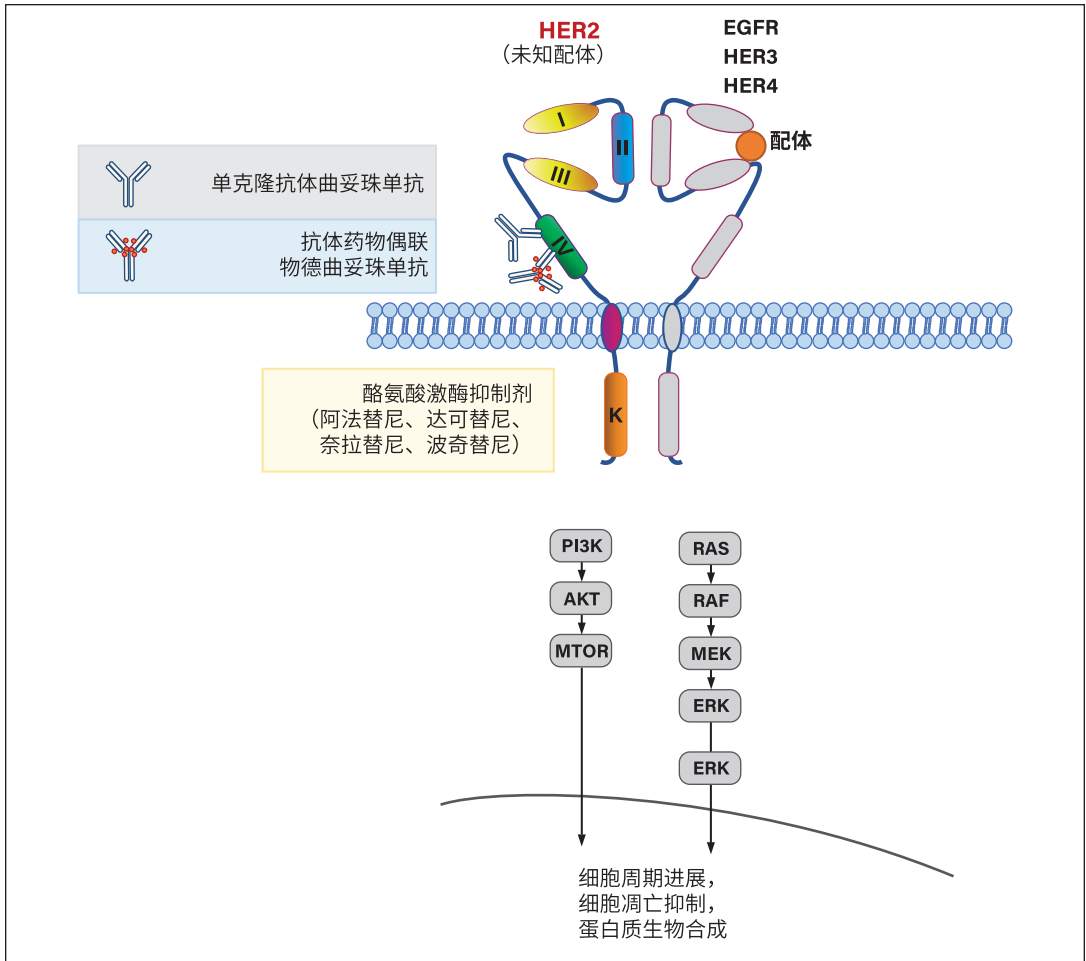
**图 15-1.** 示意图描绘了 *HER2* (*ERBB2*) 的结构、结构域分布以及非小细胞肺癌 (NSCLC) 中最常见的体细胞改变的患病率。同时列示了编码蛋白质的细胞外、跨膜和细胞质成分的结构域。*HER2* 蛋白大小为 185 kDa, 由 1255 个氨基酸 (aa) 组成, 由 27 个外显子编码。胞外配体结合结构域 (aa 1-652)、跨膜结构域 (aa 653-675) 和胞内结构域 (aa 676-1255) 与同一家族的成员具有明显的结构同源性。非鳞状 NSCLC 中最常见的 *HER2* 突变的发生率和位置来自 cBioPortal 的公开数据。<sup>11</sup> 最常见的突变是外显子 20 中的插入; Y772\_A775 重复 (也称为 A775\_G776insYVMA) 最常见, 其次是密码子 G776 处的插入。外显子 8、17 和 19 中错义突变的发生频率在 2% 到 5% 之间。这些区域之外的罕见突变主要被归类为意义不明的变异 (VUS)。

## 流行病学、临床和组织学特征

在不同的研究中, *HER2* 扩增和过表达的发生率差异很大。已在 2% 至 22% 的 NSCLC 病例中证实存在扩增, 而有报告称过表达存在于 2.4% 至 38% 的病例中。<sup>12-15</sup> 这种差异可能受评估方法、国家或地区以及临床和病理环境的影响, 需要进一步研究。与其他恶性肿瘤相比, 最显著的是乳腺癌和胃/胃食管连接部 (GEJ) 癌, 其中基因扩增和细胞膜上的蛋白质过表达高度相关, 而在肺癌中这种相关性很弱。虽然有些研究记录了显著的相关性,<sup>16-18</sup> 但另一些报告则认为它们之间为不相关事件。<sup>15,19,20</sup> 同样, 有几项研究发现 *HER2* 突变和扩增为负相关,<sup>15,21</sup> 只有一小部分报告显示突变和扩增同时发生。<sup>22-24</sup> 总体而言, 这种不一致性表明每种改变可能代表着不同的临床病理亚群。

在大约 2% 至 3% 的初治 NSCLC 病例中, *HER2* 扩增会被识别为新发改变,<sup>15</sup> 或者在高达 13% 的患者中识别为对第一代 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 的耐药机制。<sup>25</sup> 总体而言, 在新发情况中, 没有在携带 *HER2* 扩增或 *HER2* 表达的患者中发现明显的临床病理特征,<sup>16,19,22,26</sup> 而在出现耐药性时观察到的特征是由原始致敏驱动因素驱动的。

在不到 2% 的 NSCLC 中检测到了 *HER2* 突变, 这种突变主要与腺癌组织学、不吸烟或无吸烟史以及女性相关。*HER2* 突变肿瘤患者通常会发生脑转移, 比例高达 47%。<sup>27</sup> 这种突变与其他驱动分子改变相互排斥, 通常与 *HER2* 扩



**图 15-2.** 人类表皮生长因子受体 2 (HER2) 结构、信号传导和治疗靶点。HER2 通过与同一家族的其他受体形成同源二聚体或异源二聚体而被激活。二聚化导致胞内结构域中特定酪氨酸残基磷酸化，进而激活 Ras/Raf/ 丝裂原活化蛋白激酶、磷脂酰肌醇 3- 激酶 /Akt 和其他通路。已有多种靶向策略可抑制 HER2：(1) 与单个细胞外结构域结合的单位点单克隆抗体，例如曲妥珠单抗（与结构域 IV 结合）；(2) 抗体药物偶联物，例如德曲妥珠单抗；(3) 小分子抑制剂，例如阿法替尼、达可替尼、来那替尼 (neratinib)、波奇替尼 (poziotinib)，旨在与 HER2 的细胞内酪氨酸激酶结构域结合。

**表 15-1.** HER2 (ERBB2) 常见突变清单

位置	类型	突变
外显子 8	SNV	p.S310F
外显子 19	SNV Indel	p.D769H, p.D769N, p.D769Y, p.I767M/F, p.L755A/M/P/S/W p.L755_E757delinsS, p.L755_T759delLRENT
外显子 20	SNV  Indel	p.I767M、 p.G776C、 p.G776S、 p.G776V、 p.V777L、 p.V777M p.T798I p.A775_G776insV, p.A775_G776insYVMA (p.Y772_A775dup), p.A775_G776insTVMA (p.Y772_V773VMAT), p.G776_V777insL, p.G776_V777insVC, p.G776_V777insVGC (p.G778_S779CVG), p.G776>LC, p.G776delinsVC (p.G776>VC), p.G778dup (p.V777_G778insG), p.G778_P780dup (p.P780_Y781GSP, V777_G778insGSP), p.G778_S779insCPG (p.V777_G778insGCP), p.G778_S779insLPS, p.S779_P780insVGS, p.V777_G778insCG

缩略词：indel = 插入和 / 或缺失；SNV = 单核苷酸变异。

增或过表达无关。<sup>21,28,29</sup> 与其他致癌基因成癌性肿瘤相比,同时存在 *HER2* 突变和 PD-L1 表达 (肿瘤比例评分 [TPS]  $\geq 1\%$ ) 的患者比例较低,表现出高水平表达 (TPS  $\geq 50\%$ ) 的患者不超过 20%。<sup>30</sup> 与 *HER2* 扩增相比, *HER2* 突变或 *HER2* 过表达与靶向治疗的获得性耐药有关。

## 检测策略

评估 *HER2* 改变的方法因改变类型而异,包括各种基于聚合酶链反应 (PCR) 的测序技术 (下一代测序 [NGS] 和非 NGS)、免疫组织化学 (IHC) 和荧光原位杂交 (FISH)。<sup>25,31-35</sup> 表 15-2 列示了这些方法以及当前建议的 IHC 和 FISH 解释标准。<sup>36</sup> 肿瘤组织是 *HER2* 检测的首选模板。但是当组织不可用或数量太有限时,可以使用细胞游离 DNA,<sup>35-37</sup> 如果有足够的循环肿瘤 DNA (ctDNA),则可以检测突变和扩增,但不能评估 *HER2* 表达。

表 15-2. 检测 *HER2* (*ERBB2*) 改变的方法与临床意义概览

基因改变	突变	扩增	过表达
<b>说明</b>	点突变 插入	<i>HER2</i> ( <i>ERBB2</i> ) 基因拷贝数异常高	肿瘤细胞表面蛋白受体表达异常高
<b>检测方法</b>	测序： • 桑格测序 • NGS (首选) 其他： • 片段分析 • ARMS-PCR • dPCR	FISH：NSCLC 相关临床研究中首选和推荐的检测方法 FISH 的 <i>HER2</i> 扩增标准 <sup>a</sup> • <i>HER2</i> 与 <i>CEP17</i> 的比率 $>2.0$ 或 <i>HER2</i> 信号连接成簇： <i>HER2</i> 扩增阳性 • <i>HER2</i> 与 <i>CEP17</i> 的比率 $<2.0$ ： <i>HER2</i> 拷贝数 $\geq 6.0$ ： <i>HER2</i> 扩增阳性 • <i>HER2</i> 拷贝数 $<4.0$ ： <i>HER2</i> 扩增阴性 • <i>HER2</i> 拷贝数 $\geq 4.0$ 但 $<6.0$ ：扩增状态无法确定 其他方法：qPCR、NGS • 目前在临床实践中，NGS 是检测 NSCLC 中 <i>HER2</i> 扩增的常用方法 • 还未制定解释标准	IHC 是标准方法，可以像乳腺癌一样进行评分；不过 <i>HER2</i> IHC 目前尚未应用于 NSCLC 临床实践
<b>临床意义</b>	致癌驱动因素，与其他驱动因素相互排斥 德曲妥珠单抗，经 FDA 批准，用于 <i>HER2</i> ( <i>ERBB2</i> ) 突变晚期 NSCLC 的二线治疗	致癌驱动因素：新发或继发作为耐药机制 治疗影响正在研究中	与乳腺癌不同，扩增和表达是独立的，目前评估 NSCLC 中 <i>HER2</i> 表达没有临床意义

缩略词：ARMS-PCR = 扩增阻碍突变系统 - 聚合酶链反应；CEP17 = 17 号染色体着丝粒；dPCR = 数字聚合酶链反应；FDA = 美国食品药品监督管理局；FISH = 荧光原位杂交；*HER2* = 人类表皮生长因子受体 2；IHC = 免疫组织化学；NGS = 下一代测序；NSCLC = 非小细胞肺癌；qPCR = 定量聚合酶链反应。

<sup>a</sup> 未针对 NSCLC 严格设置 *HER2* FISH 临界值。乳腺癌标准已调整。

## 临床意义

总之, *HER2* 突变的预后影响仍然存在争议, 因为目前可用数据不足且相互矛盾。在一些研究中发现了消极的预后影响趋势,<sup>29,38</sup> 另有一些研究则认为与未选择的 NSCLC 人群相比, 突变病例可能出现了惰性结果。<sup>28</sup> 最近一项研究报告发现, 当分层为亚群时, 特异性突变可能会影响预后, 相较于不太常见的 *HER2* 改变, 与 A775\_G776insYVMA 相关的生存期更短。<sup>39</sup> 总体而言, *HER2* 突变肿瘤似乎对培美曲塞不太敏感,<sup>40</sup> 但是培美曲塞通常对其他致癌基因成癌的 NSCLC 有效。关于免疫治疗敏感性的现有数据 (主要是回顾性数据) 也表明 *HER2* 突变肿瘤对检查点抑制剂的敏感性较低, 在发生 *EGFR* 突变或 *ALK* 重排的 NSCLC 中也发现类似结论。<sup>41,42</sup>

几种靶向疗法已在 *HER2* 突变的肿瘤患者中显示出活性。有三种主要治疗策略: TKI, 单克隆抗体和抗体药物偶联物 (ADC; 图 15-2)。阿法替尼、达可替尼、来那替尼 (neratinib) 和波奇替尼 (poziotinib) 等 *HER2* TKI 显示出适度的活性, 但毒性一致。<sup>13,43,44</sup> 在单克隆抗体 (例如曲妥珠单抗) 与化疗相结合的试验中发现了更可喜的结果, 但仅在回顾性研究中才表现出显著活性。<sup>31,45</sup> 新近发现德曲妥珠单抗 (一种 *HER2* ADC) 在已接受过治疗的 *HER2* 突变 NSCLC 患者中有持久的抗癌活性,<sup>32</sup> 成为美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的第一种用于治疗 *HER2* 突变 NSCLC 的药物。无论 *HER2* IHC 表达或扩增状态如何, 在大多数患者中均观察到了疗效。<sup>46,47</sup>

值得注意的是, 靶向治疗方案对特异性突变类型的疗效不同, 正在积极研究这一内容, 但很大程度上还不明确。以往研究发现, 有 *HER2* 突变 A775\_G776insYVMA 的肿瘤对 *HER2* 靶向 TKI 治疗的缓解最差。<sup>48,49</sup> 相比之下, 最近有报告称, 与在单中心真实世界回顾性队列中使用基于曲妥珠单抗的疗法时发生的罕见改变相比, 这种突变的总生存期更长, 缓解更好。<sup>39</sup>

## 耐药机制

从历史上看, 治疗后病情发生进展的患者中有 13% 检测到了 *HER2* 扩增, 这一直被认为是 *EGFR* TKI 的一种旁路耐药机制。<sup>25</sup> 目前, 由于研究结果存在争议, 扩增导致的耐药程度仍然不明确, 有些研究报告认为在 *HER2* 扩增肿瘤中, 对 *EGFR* TKI 的反应情况甚至更好。<sup>50</sup>

在采取靶向疗法治疗新发 *HER2* 改变的 NSCLC 中, 目前有关继发耐药机制的证据仍不足。一项体外研究调查了 *HER2* 抑制剂波奇替尼 (poziotinib) 的获得性耐药, 在这种药物的共价结合位点发现次级 *HER2* 突变 C805S 是一种获得性耐药的潜在机制, 而 HSP90 抑制剂则是一种可能的治疗策略。<sup>51</sup>

除少数突变外, 大多数 *HER2* 外显子 20 插入对现有泛 *HER* TKI 均表现出原发性耐药。虽然耐药机制在很大程度上仍不明确, 但结构和分子动力学分析表明, 影响激酶结构域的插入构象现状对 TKI 的亲合力和敏感度有不同的影响。<sup>49</sup> 例如, 与其他突变相比, A775\_G776insYVMA 突变会导致高构象刚性, 使腺苷三磷酸 (ATP) 结合位点更难接近小分子 TKI。



## 参考文献

1. Moasser MM. The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene*. 2007;26(45):6469-6487. doi:10.1038/sj.onc.1210477
2. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, Toyoshima K, Yamamoto T. The product of the human *c-erbB-2* gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science*. 1986;232(4758):1644-1646. doi:10.1126/science.3012781
3. Pinkas-Kramarski R, Soussan L, Waterman H, et al. Diversification of Neu differentiation factor and epidermal growth factor signaling by combinatorial receptor interactions. *Embo J*. 1996;15(10):2452-2467.
4. Tzahar E, Waterman H, Chen X, et al. A hierarchical network of interreceptor interactions determines signal transduction by Neu differentiation factor/neuregulin and epidermal growth factor. *Mol Cell Biol*. 1996;16(10):5276-5287. doi:10.1128/mcb.16.10.5276
5. Klapper LN, Glathe S, Vaisman N, et al. The ErbB-2/HER2 oncoprotein of human carcinomas may function solely as a shared coreceptor for multiple stroma-derived growth factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(9):4995-5000. doi:10.1073/pnas.96.9.4995
6. Shimamura T, Ji H, Minami Y, et al. Non-small-cell lung cancer and Ba/F3 transformed cells harboring the ERBB2 G776insV\_G/C mutation are sensitive to the dual-specific epidermal growth factor receptor and ERBB2 inhibitor HKI-272. *Cancer Res*. 2006;66(13):6487-6491. doi:10.1158/0008-5472.Can-06-0971
7. Perera SA, Li D, Shimamura T, et al. HER2YVMA drives rapid development of adenocarcinoma lung tumors in mice that are sensitive to BIBW2992 and rapamycin combination therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(2):474-479. doi:10.1073/pnas.0808930106
8. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-550. doi:10.1038/nature13385
9. Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal*. 2013;6(269):pl1. doi:10.1126/scisignal.2004088
10. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov*. 2012;2(5):401-404. doi:10.1158/2159-8290.Cd-12-0095
11. Most common *HER2* mutations in non-squamous NSCLC, prevalence and location data. cBioPortal for Cancer Genomics;2022. <https://www.cbioportal.org/>.
12. Cappuzzo F, Gregorc V, Rossi E, et al. Gefitinib in pretreated non-small-cell lung cancer (NSCLC): analysis of efficacy and correlation with HER2 and epidermal growth factor receptor expression in locally advanced or metastatic NSCLC. *J Clin Oncol*. 2003;21(14):2658-2663. doi:10.1200/jco.2003.01.039
13. Hyman DM, Piha-Paul SA, Won H, et al. HER kinase inhibition in patients with HER2- and HER3-mutant cancers. *Nature*. 2018;554(7691):189-194. doi:10.1038/nature25475
14. Kim EK, Kim KA, Lee CY, Shim HS. The frequency and clinical impact of HER2 alterations in lung adenocarcinoma. *PLoS One*. 2017;12(2):e0171280. doi:10.1371/journal.pone.0171280
15. Li BT, Ross DS, Aisner DL, et al. HER2 amplification and HER2 mutation are distinct molecular targets in lung cancers. *J Thorac Oncol*. 2016;11(3):414-419. doi:10.1016/j.jtho.2015.10.025
16. Heinmöller P, Gross C, Beyser K, et al. HER2 status in non-small cell lung cancer: results from patient screening for enrollment to a phase II study of herceptin. *Clin Cancer Res*. 2003;9(14):5238-5243.
17. Cox G, Vyberg M, Melgaard B, et al. Herceptest: HER2 expression and gene amplification in non-small cell lung cancer. *Int J Cancer*. 2001;92(4):480-483. doi:10.1002/ijc.1214
18. Tan D, Deeb G, Wang J, et al. HER-2/neu protein expression and gene alteration in stage I-IIIa non-small-cell lung cancer: a study of 140 cases using a combination of high throughput tissue microarray, immunohistochemistry, and fluorescent in situ hybridization. *Diagn Mol Pathol*. 2003;12(4):201-211. doi:10.1097/00019606-200312000-00004

19. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Franklin WA, et al. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and protein expression in non-small cell lung carcinomas. *Br J Cancer*. 2002;86(9):1449-1456. doi:10.1038/sj.bjc.6600286
20. Nakamura H, Saji H, Ogata A, et al. Correlation between encoded protein overexpression and copy number of the HER2 gene with survival in non-small cell lung cancer. *Int J Cancer*. 2003;103(1):61-66. doi:10.1002/ijc.10795
21. Arcila ME, Chaff JE, Nafa K, et al. Prevalence, clinicopathologic associations, and molecular spectrum of ERBB2 (HER2) tyrosine kinase mutations in lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res*. 2012;18(18):4910-4918. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-0912
22. Yoshizawa A, Sumiyoshi S, Sonobe M, et al. HER2 status in lung adenocarcinoma: a comparison of immunohistochemistry, fluorescence in situ hybridization (FISH), dual-ISH, and gene mutations. *Lung Cancer*. 2014;85(3):373-378. doi:10.1016/j.lungcan.2014.06.007
23. Suzuki M, Shiraishi K, Yoshida A, et al. HER2 gene mutations in non-small cell lung carcinomas: concurrence with Her2 gene amplification and Her2 protein expression and phosphorylation. *Lung Cancer*. 2015;87(1):14-22. doi:10.1016/j.lungcan.2014.10.014
24. Meert AP, Martin B, Verdebout JM, et al. Is there a relationship between c-erbB-1 and c-erbB-2 amplification and protein overexpression in NSCLC? *Lung Cancer*. 2005;47(3):325-336. doi:10.1016/j.lungcan.2004.07.047
25. Yu HA, Arcila ME, Rekhman N, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin Cancer Res*. 2013;19(8):2240-2247. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-2246
26. Pellegrini C, Falleni M, Marchetti A, et al. HER-2/Neu alterations in non-small cell lung cancer: a comprehensive evaluation by real time reverse transcription-PCR, fluorescence in situ hybridization, and immunohistochemistry. *Clin Cancer Res*. 2003;9(10, pt 1):3645-3652.
27. Offin M, Feldman D, Ni A, et al. Frequency and outcomes of brain metastases in patients with HER2-mutant lung cancers. *Cancer*. 2019;125(24):4380-4387. doi:10.1002/cncr.32461
28. Mazières J, Peters S, Lepage B, et al. Lung cancer that harbors an HER2 mutation: Epidemiologic characteristics and therapeutic perspectives. *J Clin Oncol*. 2013;31(16):1997-2003. doi:10.1200/JCO.2012.45.6095
29. Pillai RN, Behera M, Berry LD, et al. HER2 mutations in lung adenocarcinomas: a report from the Lung Cancer Mutation Consortium. *Cancer*. 2017;123(21):4099-4105. doi:10.1002/cncr.30869
30. Negrao MV, Skoulidis F, Montesin M, et al. Oncogene-specific differences in tumor mutational burden, PD-L1 expression, and outcomes from immunotherapy in non-small cell lung cancer. *J Immunother Cancer*. 2021;9(8):e002891. doi:10.1136/jitc-2021-002891
31. Mazieres J, Barlesi F, Filleron T, et al. Lung cancer patients with HER2 mutations treated with chemotherapy and HER2-targeted drugs: results from the European EUHER2 cohort. *Ann Oncol*. 2016;27(2):281-286. doi:10.1093/annonc/mdv573
32. Li BT, Smit EF, Goto Y, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2022;386(3):241-251. doi:10.1056/NEJMoa2112431
33. Ignatius Ou SH, Madison R, Robichaux JP, et al. Characterization of 648 non-small cell lung cancer (NSCLC) cases with 28 unique HER2 exon 20 insertions [abstract]. *J Clin Oncol*. 2019;37(15 suppl):9063. doi:10.1200/JCO.2019.37.15\_suppl.9063
34. Yang S, Wang Y, Zhao C, et al. Exon 20 YVMA insertion is associated with high incidence of brain metastasis and inferior outcome of chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients with HER2 kinase domain mutations. *Transl Lung Cancer Res*. 2021;10(2):753-765. doi:10.21037/tlcr-20-559
35. Lee J, Franovic A, Shiotsu Y, et al. Detection of ERBB2 (HER2) gene amplification events in cell-free DNA and response to anti-HER2 agents in a large Asian cancer patient cohort. *Front Oncol*. 2019;9:212. doi:10.3389/fonc.2019.00212
36. Ren S, Wang J, Ying J, et al. Consensus for HER2 alterations testing in non-small-cell lung cancer. *ESMO Open*. 2022;7(1):100395. doi:10.1016/j.esmoop.2022.100395

37. Li BT, Janku F, Jung B, et al. Ultra-deep next-generation sequencing of plasma cell-free DNA in patients with advanced lung cancers: results from the Actionable Genome Consortium. *Ann Oncol*. 2019;30(4):597-603. doi:10.1093/annonc/mdz046.
38. Jebbink M, de Langen AJ, Boelens MC, Monkhorst K, Smit EF. The force of HER2—a druggable target in NSCLC? *Cancer Treat Rev*. 2020;86:101996. doi:10.1016/j.ctrv.2020.101996.
39. Waliyany S, Wakelee H, Ramchandran K, et al. Characterization of ERBB2 (HER2) alterations in metastatic non-small cell lung cancer and comparison of outcomes of different trastuzumab-based regimens. *Clin Lung Cancer*. 2022;23(6):498-509. doi:10.1016/j.clcc.2022.05.015.
40. Wang Y, Zhang S, Wu F, et al. Outcomes of pemetrexed-based chemotherapies in HER2-mutant lung cancers. *BMC Cancer*. 2018;18(1):326. doi:10.1186/s12885-018-4277-x.
41. Guisier F, Dubos-Arvis C, Vinas F, et al. Efficacy and safety of Anti-PD-1 immunotherapy in patients with advanced NSCLC with BRAF, HER2, or MET mutations or RET translocation: GFPC 01-2018. *J Thorac Oncol*. 2020;15(4):628-636. doi:10.1016/j.jtho.2019.12.129.
42. Mazieres J, Drilon A, Lusque A, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol*. 2019;30(8):1321-1328. doi:10.1093/annonc/mdz167.
43. Dziadziuszko R, Smit EF, Dafni U, et al. Afatinib in NSCLC with HER2 mutations: results of the prospective, open-label phase II NICHE trial of European Thoracic Oncology Platform (ETOP). *J Thorac Oncol*. 2019;14(6):1086-1094. doi:10.1016/j.jtho.2019.02.017.
44. Elamin YY, Robichaux JP, Carter BW, et al. Poziotinib for patients with HER2 exon 20 mutant non-small-cell lung cancer: results from a phase II trial. *J Clin Oncol*. 2022;40(7):702-709. doi:10.1200/JCO.21.01113.
45. Cappuzzo F, Bemis L, Varella-Garcia M. HER2 mutation and response to trastuzumab therapy in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2006;354(24):2619-2621. doi:10.1056/NEJMc060020.
46. Li BT, Smit EF, Goto Y, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2022;386(3):241-251. doi:10.1056/NEJMoa2112431.
47. Smit EF, Felip E, Uprety D, et al. Trastuzumab deruxtecan in patients (pts) with HER2-overexpressing (HER2-OE) metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC): results from the DESTINY-Lung01 trial. *Ann Oncol*. 2022; 33(suppl 7):S448-S554. doi:10.1016/annonc/annonc1064.
48. Robichaux JP, Elamin YY, Tan Z, et al. Mechanisms and clinical activity of an EGFR and HER2 exon 20-selective kinase inhibitor in non-small cell lung cancer. *Nat Med*. 2018;24(5):638-646. doi:10.1038/s41591-018-0007-9.
49. Zhao S, Fang W, Pan H, et al. Conformational landscapes of HER2 exon 20 insertions explain their sensitivity to kinase inhibitors in lung adenocarcinoma. Article. *J Thorac Oncol*. 2020;15(6):962-972. doi:10.1016/j.jtho.2020.01.020.
50. Zhao J, Xia Y. Targeting HER2 alterations in non-small-cell lung cancer: a comprehensive review. *JCO Precis Oncol*. 2020;4:411-425. doi:10.1200/PO.19.00333.
51. Koga T, Kobayashi Y, Tomizawa K, et al. Activity of a novel HER2 inhibitor, poziotinib, for HER2 exon 20 mutations in lung cancer and mechanism of acquired resistance: an in vitro study. *Lung Cancer*. 2018;126:72-79. doi:10.1016/j.lungcan.2018.10.019.51.

# 神经调节蛋白 -1

Natasha Rekhtman、Stephen V. Liu 和 Jason C. Chang

# 16

## 基因结构和功能

神经调节蛋白 -1 (*NRG1*) 基因位于 8 号染色体上，长度约为 1.4 Mb，是最大的人类基因之一。<sup>1</sup> 该基因包含较大的内含子区域，仅 0.3% 的基因编码蛋白质（神经调节蛋白 -1），是神经调节蛋白家族中与 ErbB 受体家族相互作用的 4 种蛋白质中的一种。<sup>1</sup> 由于选择性剪接，*NRG1* 蛋白可产生至少 31 种亚型；不过，所有亚型都共享一个表皮生长因子 (EGF) 样结构域，使得它们能够结合并激活 ErbB3 (HER3)，以及不太常见的 ErbB4 (HER4)。<sup>2-4</sup> 配体结合后，ErbB3 受体与 ErbB2 (HER2) 形成同源二聚体或异源二聚体，导致 PIK3-AKT 和 MAPK 通路激活。<sup>5,6</sup> 各种 *NRG1* 亚型在胚胎发生过程中至关重要，在胶质细胞、神经元和心肌细胞的增殖、分化和存活中发挥着核心作用。<sup>1</sup>

## 改变的类型及其在肿瘤形成中的作用

涉及 *NRG1* 的驱动因素改变以融合的形式发生。*NRG1* 融合涉及多种配对基因，其中 *CD74* 是最常见的，约占病例的 30%。<sup>7-9</sup> *NRG1* 成分促成 EGF 样结构域，充当 ErbB3 的配体，而配对基因通常促成跨膜结构域，将嵌合蛋白束缚在细胞膜上。<sup>7</sup> 该嵌合蛋白保留了 EGF 样结构域，使其能够与同一细胞或相邻细胞上的 ErbB3 相互作用，激活下游通路。<sup>7</sup>

## 流行病学、临床和组织学特征

*NRG1* 融合在多种肿瘤类型中发生频率较低，在实体瘤中的总体发生率为 0.2%。<sup>9</sup> 在非小细胞肺癌 (NSCLC) 中，*NRG1* 融合的发生率为 0.3%。<sup>9</sup> *NRG1* 融合主要发生在轻度吸烟者或从不吸烟者以及具有浸润性粘液腺癌 (IMA) 组织型（以前称为粘液

表 16-1. 检测策略

检测类型	优点	缺点
FISH <sup>10</sup>	多数实验室的现有技术 周转时间短 (2-3 天)	单基因检测 动手操作时间长 需要专业解读 未提供融合配对的信息
靶向 DNA NGS <sup>7,9</sup>	多基因检测可提供其他驱动因素的信息	低覆盖范围 / 无覆盖范围导致对 <i>NRG1</i> 融合 的敏感性降低
靶向 RNA NGS <sup>7,9</sup>	敏感性最高 多基因检测可提供其他驱动因素的信息	要求 RNA 质量达标 (久存样本是次优选项, 因为 RNA 已降解)

缩略词: FISH = 荧光原位杂交; NGS = 下一代测序。

型细支气管肺泡癌) 的肿瘤中。<sup>8,11-13</sup> 在 IMA 中, *NRG1* 融合的发生频率为 7%, 与 *KRAS* 突变和其他致癌驱动因素相互排斥。在 *KRAS* 野生型 IMA 中, *NRG1* 融合的发生频率为 17% 到 25%。<sup>11,13</sup>

在 IMA 中, 与携带 *KRAS* 突变的 IMA 相比, *NRG1* 融合与更具侵袭性的组织学和临床特征相关, 远处转移率更高, 生存期更短。<sup>13</sup>

尽管很罕见, 但 *NRG1* 融合还发生在各种其他类型的实体瘤中, 包括胰腺腺癌、胆囊癌、肾细胞癌、卵巢癌、乳腺癌、膀胱癌和肉瘤; *NRG1* 融合在这些肿瘤中的发生率为 0.1% 到 0.5%。<sup>9</sup> 与肺腺癌类似, 发生在胰腺癌中的 *NRG1* 融合与 *KRAS* 突变相互排斥, 因此在 *KRAS* 野生型肿瘤中高度富集。<sup>14</sup>

表 16-1 列出了 *NRG1* 肿瘤的检测策略。

## 临床意义

NSCLC 中发生的 *NRG1* 融合与标准治疗的不良结果有关。在 eNRGy1 全球多中心注册处 (Global Multicenter Registry) 的 100 多例 *NRG1* 融合阳性 NSCLC 中, 含铂双药化疗的缓解率仅为 13%, 中位无进展生存期 (PFS) 为 5.8 个月。<sup>12</sup> 化疗和免疫疗法的中位 PFS 更短, 仅为 3.3 个月。然而, 针对 *NRG1* 融合蛋白触发的 HER2/HER3 通路有不少新兴治疗方案。阿法替尼是一种泛 -ErbB 激酶抑制剂, 在回顾性 eNRGy1 记录试验中效果明显, 缓解率 (RR) 为 25%。<sup>12</sup> 多个病例报告和系列证明了阿法替尼对 *NRG1* 融合阳性肿瘤的缓解情况,<sup>15-17</sup> 前瞻性研究正在进行中。HER2-HER3 双特异性抗体泽妥珠单抗在 *NRG1* 融合阳性肿瘤中显示出缓解 NSCLC 和胰腺癌等早期疗效。<sup>18</sup> 正在进行的 2 期 eNRGy 试验报告初始 RR 为 34% (n = 79), 中位缓解持续时间为 9.1 个月。<sup>18</sup> 正在 *NRG1* 融合阳性肿瘤中进行 HER3 单克隆抗体瑟瑞妥单抗 (seribantumab) 的研究, 据报告其 RR 为 33% (n = 12)。<sup>19</sup> 泽妥珠单抗和瑟瑞妥单抗 (seribantumab) 均已获得美国食品药品监督管理局快速推进资格。

## 耐药机制

关于所有前述研究药物的获得性或固有耐药, 相关信息还较少, 可对此展开积极研究。



## 参考文献

1. Falls DL. Neuregulins: functions, forms, and signaling strategies. *Exp Cell Res*. 2003;284(1):14-30.
2. Meyer D, Yamaai T, Garratt A, et al. Isoform-specific expression and function of neuregulin. *Development*. 1997;124(18):3575-3586.
3. Steinhorsdottir V, Stefansson H, Ghosh S, et al. Multiple novel transcription initiation sites for NRG1. *Gene*. 2004;342(1):97-105.
4. Tan W, Wang Y, Gold B, et al. Molecular cloning of a brain-specific, developmentally regulated neuregulin 1 (NRG1) isoform and identification of a functional promoter variant associated with schizophrenia. *J Biol Chem*. 2007;282(33):24343-24351.
5. Kim HG, Lee CK, Cho SM, et al. Neuregulin 1 up-regulates the expression of nicotinic acetylcholine receptors through the ErbB2/ErbB3-PI3K-MAPK signaling cascade in adult autonomic ganglion neurons. *J Neurochem*. 2013;124(4):502-513.
6. Tzahar E, Levkowitz G, Karunagaran D, et al. ErbB-3 and ErbB-4 function as the respective low and high affinity receptors of all Neu differentiation factor/heregulin isoforms. *J Biol Chem*. 1994;269(40):25226-25233.
7. Drilon A, Somwar R, Mangatt BP, et al. Response to ERBB3-directed targeted therapy in NRG1-rearranged cancers. *Cancer Discov*. 2018;8(6):686-695.
8. Fernandez-Cuesta L, Plenker D, Osada H, et al. CD74-NRG1 fusions in lung adenocarcinoma. *Cancer Discov*. 2014;4(4):415-422.
9. Jonna S, Feldman RA, Swensen J, et al. Detection of NRG1 gene fusions in solid tumors. *Clin Cancer Res*. 2019;25(16):4966-4972.
10. Duruisseau M, McLeer-Florin A, Antoine M, et al. NRG1 fusion in a French cohort of invasive mucinous lung adenocarcinoma. *Cancer Med*. 2016;5(12):3579-3585.
11. Chang JC, Offin M, Falcon C, et al. Comprehensive molecular and clinicopathologic analysis of 200 pulmonary invasive mucinous adenocarcinomas identifies distinct characteristics of molecular subtypes. *Clin Cancer Res*. 2021;27(14):4066-4076.
12. Drilon A, Duruisseau M, Han JY, et al. Clinicopathologic features and response to therapy of NRG1 fusion-driven lung cancers: the eNRGy1 Global Multicenter Registry. *J Clin Oncol*. 2021;39(25):2791-2802.
13. Nakaoku T, Tsuta K, Ichikawa H, et al. Druggable oncogene fusions in invasive mucinous lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2014;20(12):3087-3093.
14. Jones MR, Williamson LM, Topham JT, et al. NRG1 gene fusions are recurrent, clinically actionable gene rearrangements in KRAS wild-type pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4674-4681.
15. Cadranel J, Liu SV, Duruisseau M, et al. Therapeutic potential of afatinib in NRG1 fusion-driven solid tumors: a case series. *Oncologist*. 2021;26(1):7-16.
16. Cheema PK, Doherty M, Tsao MS. A case of invasive mucinous pulmonary adenocarcinoma with a CD74-NRG1 fusion protein targeted with afatinib. *J Thorac Oncol*. 2017;12(12):e200-e202.
17. Wu X, Zhang D, Shi M, et al. Successful targeting of the NRG1 fusion reveals durable response to afatinib in lung adenocarcinoma: a case report. *Ann Transl Med*. 2021;9(19):1507.
18. Schram AM, Goto K, Kim D-W, et al. Efficacy and safety of zenocutuzumab, a HER2 x HER3 bispecific antibody, across advanced NRG1 fusion (NRG1+) cancers. *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):105.
19. Carrizosa DR, Burkard ME, Elamin YY, et al. CRESTONE: initial efficacy and safety of seribantumab in solid tumors harboring NRG1 fusions. *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):3006.





# 新靶点和新技术

Kurt A. Schalper 和 David M. Hwang

# 17

治疗肺癌患者有多种新兴策略，可通过多种方式利用分子肿瘤特征，包括：

- 利用肿瘤相对于非肿瘤细胞中蛋白质的差异表达，使用抗体药物偶联物 (ADC) 指导和局部富集细胞毒性药物
- 利用小分子靶向癌细胞中具有致癌作用或参与关键代谢过程的突变蛋白（例如 KRAS [非 G12C]、PIK3CA、STK11、KEAP1）
- 采用调节共刺激 T 细胞受体或调节酶的免疫刺激疗法，使用具有良好治疗指数的改良促炎细胞因子和靶向肿瘤特异性新抗原的疫苗，或利用改良嵌合抗原受体 (CAR) T 细胞选择性识别和消除表达特异性表面蛋白的肿瘤细胞

应用这些策略发现，ADC 在包括肺癌在内的多种肿瘤类型中具有显著的临床活性，从而带来了对新型生物标志物检测和诊断方法的潜在需求。此外，新型分子分析平台可同时处理大量改变且灵敏度高，可实现单细胞分辨率并 / 或保留空间背景，当前这些平台正在扩大工具库，以探索研发用于患者选择和监测的新型生物标志物。

## 抗体药物偶联物

ADC 包括 3 种基本成分：(1) 人源单克隆抗体，靶向在肿瘤细胞中过表达但在正常细胞中表达有限或缺乏的抗原，(2) 细胞毒性药物有效载荷，以及 (3) 将细胞毒性药物连接到抗体的共价接头<sup>1-4</sup> (图 17-1)。目前，在肺癌临床研发中，ADC 的靶点包括在肿瘤细胞中表达的多种蛋白，如 HER2、HER3、MET、TROP2、CEACAM5、DLL3、间皮素、EGFR 和 PTK7。根据作用机制，ADC 的细胞毒性有效载荷成分大致分为 3 类：微管抑制剂（例如 DM1，emtansine 的药物有效载荷）、拓扑异构酶抑制剂（例如 DXd，deruxtecan 的药物有效载荷）、DNA 裂解剂（例如，

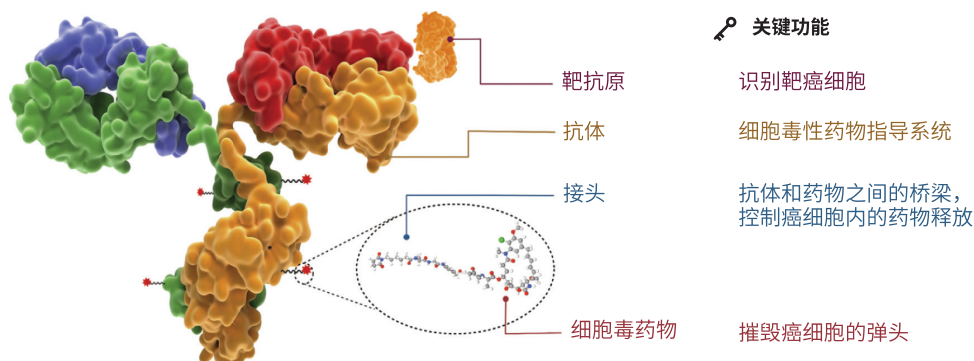


图 17-1. 抗体药物偶联物的结构和特征 (来源: Fu 等<sup>3</sup>)

卡奇霉素、奥佐米星)。<sup>2,4</sup> 越来越多的 ADC 正在积极研究中，用于治疗非小细胞肺癌 (NSCLC) 和小细胞肺癌 (SCLC)，<sup>4</sup> (图 17-2)，其中包括：

- 人类表皮生长因子受体 2 (HER2 或 ERBB2) 靶向的 ADC：已对恩美曲妥珠单抗和德曲妥珠单抗在 HER2 蛋白过表达<sup>5-7</sup> 和 / 或 HER2 突变<sup>5,8,9</sup> 肿瘤中的效果进行了研究，结果表明，二者在 HER2 突变肿瘤（存在或不存在明显的 HER2 蛋白过表达）中的活性较高。<sup>8,9</sup> 2022 年 8 月，美国食品药品监督管理局 (FDA) 加速批准德曲妥珠单抗用于治疗之前接受过系统治疗且存在已激活 HER2 (ERBB2) 突变（经 FDA 批准的测试检测到）的不可切除或转移性 NSCLC 成年患者。<sup>10</sup> FDA 针对该适应症批准的伴随式诊断是基于组织检测的 Oncomine Dx Target Test (赛默飞世尔科技公司 [ThermoFisher Scientific]) 和基于血浆检测的 Guardant360 CDx (Guardant Health)。
- 人类表皮生长因子受体 3 (HER3 或 ERBB3) 靶向的 ADC：虽然 HER3 在多种癌症类型中表现出异常表达，但在已经对 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 产生耐药性的 EGFR 突变肺癌中，HER3 作为 ADC 靶点一直受到关注。<sup>11</sup> 德帕瑞妥单抗是一种 HER3 靶向 ADC，在一系列 HER3 蛋白表达的已知和未知 EGFR TKI 耐药机制的肿瘤中显示出活性。<sup>12</sup> 2021 年 12 月，德帕瑞妥单抗获得 FDA 突破性疗法标识，用于治疗在第三代 TKI 和铂类治疗期间或之后出现疾病进展的转移性或局部晚期 EGFR 突变 NSCLC 患者。<sup>13</sup>
- 肝细胞生长因子受体 (MET) 靶向 ADC：本图谱其他章节已经讨论了 NSCLC 中的各种 MET 致癌驱动改变（见第 13 章）。利用免疫组织化学 (IHC) 评估发现，替索单抗维多丁单一疗法在 MET 过表达肿瘤患者中表现出良好的抗肿瘤活性，<sup>14</sup> 有关这种疗法在多种情况下的效果正在积极研究中，包括在表现出 MET 过表达的 EGFR 突变 NSCLC 中。<sup>15</sup> 2022 年 1 月，替索单抗维多丁获得 FDA 突破性疗法标识，用于治疗具有高 MET 水平的晚期 / 转移性 EGFR 野生型、非鳞状 NSCLC 且在铂类治疗期间或之后出现疾病进展的患者。<sup>16</sup>

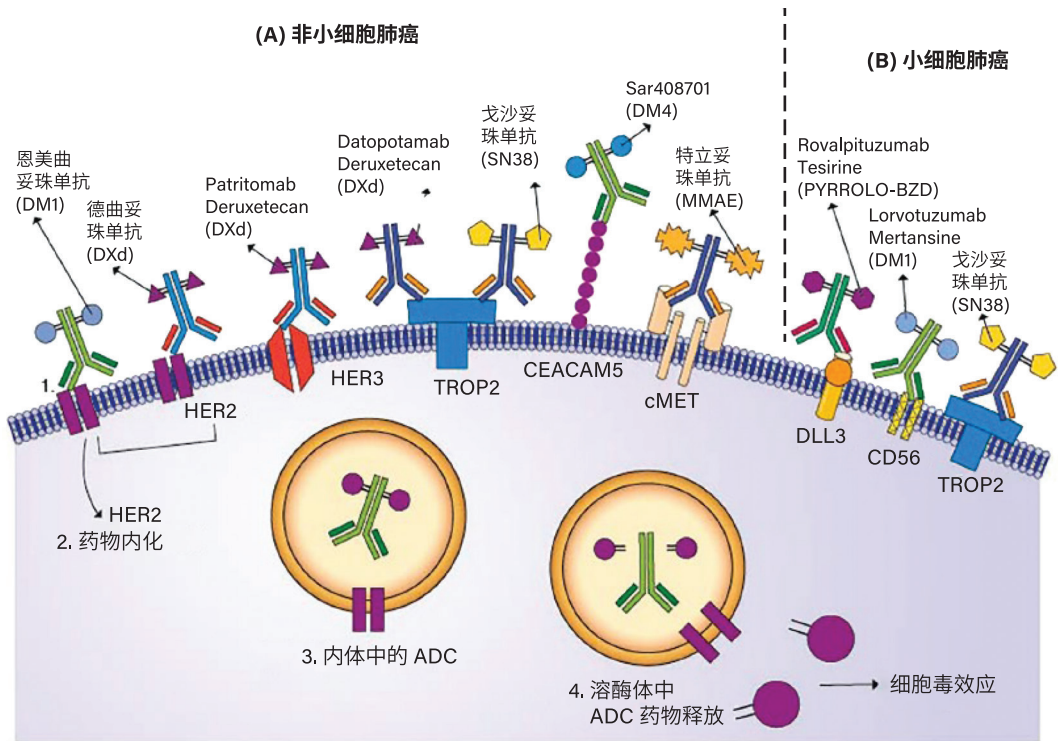


图 17-2. 各种抗体药物偶联物 (ADC) 在非小细胞和小细胞肺癌中的作用机制正在研究中 (来源: Desai 等<sup>4</sup> © 2021 Elsevier B.V. 保留所有权利。)

- 滋养层细胞表面抗原 2 (TROP2) 靶向 ADC: TROP2 是一种在包括肺癌在内的许多肿瘤中过表达的跨膜糖蛋白。德达博妥单抗是一种 TROP2 靶向 ADC, 在 NSCLC 中存在<sup>17</sup> 或不存在<sup>18</sup> 可操作的基因组改变情况下的效果正在研究中。戈沙妥珠单抗是另一种 TROP2 靶向 ADC, 多项临床试验正在研究其对 NSCLC 的效果,<sup>4</sup> 篮式试验已经证明其对 SCLC 患者表现出活性。<sup>19</sup>
- 癌胚抗原相关细胞粘附分子 5 (CEACAM5 或 CD66e) 靶向 ADC: CEACAM5 是一种在有些肺癌中表达增加的糖蛋白。SAR408701 (瑞沃特赛妥单抗) 具有良好的抗肿瘤活性, CEACAM5 阳性非鳞状 NSCLC 的 3 期试验正在对其效果进行评估。<sup>20</sup>
- NOTCH 配体 Delta 样蛋白 3 (DLL3) 靶向 ADC: DLL3 在大多数 SCLC 中高度表达。特司林 - 洛伐妥珠单抗在一项 2 期试验的三线环境中显示对 DLL3 表达的 SCLC 具有适度活性,<sup>21</sup> 但其总生存率比二线环境中的拓扑替康差。<sup>22</sup> 特司林 - 洛伐妥珠单抗和其他 DLL3 靶向 ADC 在各种 SCLC 治疗环境中的表现正在研究中。<sup>4</sup>

## 致癌突变靶向新药

目前正在开展多项有效靶向肺癌中常见致癌突变的工作, 例如 *KRAS* 非 G12C 和 *PIK3CA* 变异 (见第 14 章)。这些治疗策略包括使用小分子抑制剂直接靶向突变蛋白

或调节下游激活信号，例如 MEK、AKT、mTOR、SOS1 和 SHP2，得到的效果各不相同。<sup>23-25</sup> 其他针对肺癌中经常发生共突变并与细胞内代谢改变和预后较差相关基因（例如 *STK11* 和 *KEAP1*）的研究正在进行中。<sup>23,24,26</sup> 目前这些疗法正在研究中，尚未获得临床使用的监管批准。

### 新型免疫刺激疗法

尽管已经提出了无数治疗实体瘤患者的新免疫治疗策略，但目前还在评估靶向 1 种或多种共刺激 T 细胞 / 自然杀伤 (NK) 细胞受体或免疫抑制酶（例如 LAG3、TIM3、TIGIT、NKG2A 和 CD73）的单克隆抗体在 NSCLC 患者中的效果。<sup>27-32</sup> 目前正在不同的治疗环境中测试这些疗法，尚未获得临床使用的监管批准。

### 具有诊断潜力的分子分析新技术

随着治疗方式和靶点不断增多，新型分子分析工具也得到了快速发展，这些工具可用于检测此类治疗靶点的表达 / 位置或识别具有生物标志物潜力的其他标志物。已经取得以下进展：(1) 提高检测方法同时囊括多种标志物的多重检测能力，(2) 增强标志物识别的灵敏度，以提高检测 / 定量的限度，(3) 使用可保留空间背景并 / 或实现单细胞分辨率的高维分子分析工具，以及 (4) 利用人工智能探索肿瘤形态，以预测突变或基因融合事件。在系统提取信息并整合高维数据的计算方法上取得的显著进展通常可用来对结果进行解释。

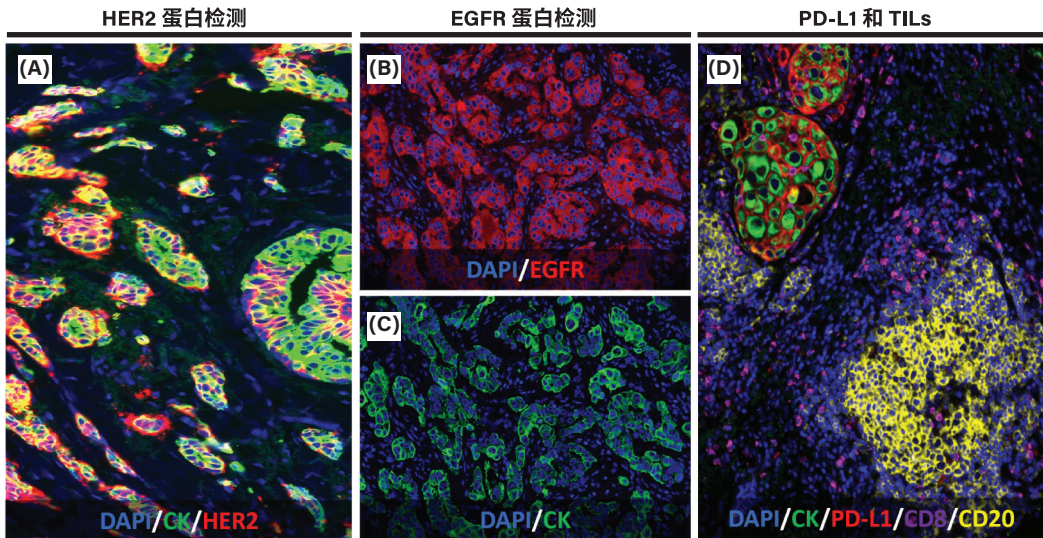
### 肿瘤样本的定量和空间分子分析

传统上用于对固定组织学切片中的分子标志物进行原位分析并保留形态学背景的方法包括显色 IHC 和 DNA 片段或信使 RNA (mRNA) 转录本的原位杂交 (ISH 或荧光 ISH [FISH])。随着数字病理学的广泛应用，人工智能等计算工具的使用也在增加，其可通过组织分割步骤量化 IHC/ISH/FISH 染色，同时对单个细胞进行计数，并测量用户定义组织区室中的信号强度。这些分析的优点在于可定量输出，具有客观性，相对于基于半定量的病理信号评分可重复性更高。针对 HER2 和 PD-L1 等治疗靶点，已经探索了 IHC 染色玻片信号评估的自动化。<sup>33-37</sup> 此类方法的主要局限性包括实施有难度、难以实现一致快速的组织 / 细胞分割，以及连续评分和监管框架的最佳报告存在不确定性。

多重免疫荧光 (mIF) 已越来越多地用于转化研究和生物标志物识别。该方法在概念上类似于 IHC，使用与荧光团连接的抗体来检测组织切片中的蛋白质或核酸。然而，与 IHC 不同的是，mIF 是一种发射信号生成方法，可提高其灵敏度和动态范围。<sup>38,39</sup> 此外，mIF 信号通常使用包含特定荧光滤光片的多光谱显微镜进行评估，可客观分离信号通道并独立测量同一检测 / 组合中包含的多个标志物。

多项研究分析了通过同时染色其他标志物确定的特定细胞群或肿瘤组织区室中 HER2、PD-L1 和 EGFR 等治疗靶点的表达<sup>40-42</sup>。(图 17-3)。还可以识别具有生物标志物潜力的特定细胞群，例如肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL)。<sup>43,44</sup> 目前 mIF 系统性临床应





**图 17-3.** 使用多重免疫荧光对人类 NSCLC 中的治疗靶点和肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL) 进行局部分析。(A) HER2 蛋白 (红色) 在细胞角蛋白阳性肿瘤细胞 (CK, 绿色) 中的表达和共定位。细胞核用 DAPI 染色。(B) 恶性肺腺癌细胞中 EGFR 蛋白 (红色) 的膜 / 核周型染色。(C) 用细胞角蛋白 (绿色) 和 DAPI (蓝色) 染色后的肿瘤和视野 (与 B 组相同)。(D) 同时用 DAPI (蓝色), 细胞角蛋白 (绿色)、PD-L1 (红色)、CD8 (品红色) 和 CD20+ TILs (黄色) 染色的低分化肺癌。

用面临的挑战包括：确定具有超越临床单重 IHC 检测的明确生物标志物价值的检测方法、在临床实验室实施稳健的自动化染色方案、信号评分和报告标准化，以及确立支持临床应用的监管框架。

组织样本空间分子成像还取得了其他进展，包括使用高复合方法，利用抗体或 RNA 探针的金属标记，同时测量大量蛋白质和 / 或 mRNA 转录本，然后进行高能组织消融<sup>45-47</sup> (图 17-4)，使用或不使用微流体的循环染色方案，<sup>48-50</sup> 以及使用分子条形码方法来提高多重检测能力并最大限度地减少染色过程中的分子干扰。<sup>51-57</sup> 这些方法可同时检测众多标志物，包括数十到数百种蛋白质和多达数千种 mRNA 的转录本 (图 17-5)。尽管这类方法中的大多数目前仅用于研究环境，但预计将逐步融入类似的临床环境中。这类方法能够同时以空间分辨率检测蛋白质和核酸，为确定肿瘤细胞中的治疗靶点和可操作的分子改变、测量其他细胞群和肿瘤微环境特征提供了新的可能。采用这些高维方法面临的挑战包括成本高昂、处理量有限、难以验证 / 标准化，以及通常需要专业人员和资源进行复杂的数据分析。

## 结论

新型治疗靶点层出不穷，对应的新方法也不断涌现。虽然下一代测序和 IHC 等现有技术足以满足某些需求，但新兴的多重方法仍有可能提供新的数据，从而为更好地选择某些药物提供信息。尽管日益复杂的技术与精密的数据分析工具相结合会发现目前还无法定义的生物标志物，但必须始终牢记，只有及时、实惠的临床应用才能带来实际影响。





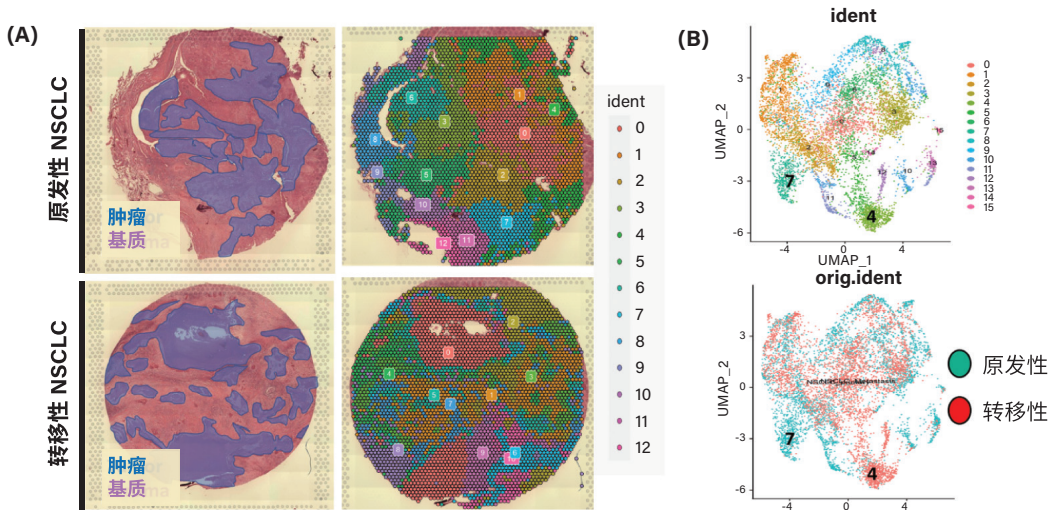


图 17-5. 配对原发性和转移性 NSCLC 的空间转录组分析。(A) 使用苏木精和伊红染色 (左) 研究固定肺癌切片的形态学背景, 并使用 Visium 平台进行全转录组分析 (右)。(B) 无监督分析确定了个体多维空间转录组簇, 其中一些在原发性 (绿色) 和转移性 (红色) 病变中的表现具有差异。在每个空间簇中识别了特定的 mRNA 转录本和通路, 指出了它们的细胞类型身份和生物学意义。

## 参考文献

- Pettinato MC. Introduction to antibody-drug conjugates. *Antibodies (Basel)*. 2021;10(4):42.
- Tong JTW, Harris PWR, Brimble MA, Kavianinia I. An insight into FDA approved antibody-drug conjugates for cancer therapy. *Molecules*. 2021;26:5847.
- Fu Z, Li S, Han S, Shi C, Zhang Y. Antibody drug conjugate: the “biological missile” for targeted cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7:93.
- Desai A, Abdayem P, Adjei AA, Planchard D. Antibody-drug conjugates: a promising novel therapeutic approach in lung cancer. *Lung Cancer*. 2022;163:96-106.
- Hotta K, Aoe K, Kozuki T, et al. A phase II study of trastuzumab emtansine in HER2-positive non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2018;13: 273-279.
- Peters S, Stahel R, Bubendorf L, et al. Trastuzumab emtansine (T-DM1) in patients with previously treated HER2-overexpressing metastatic non-small cell lung cancer: efficacy, safety, and biomarkers. *Clin Cancer Res*. 2019;25:64-72.
- Nakagawa K, Nagasaka M, Felip E, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-overexpressing metastatic non-small cell lung cancer: interim results of DESTINY-Lung01. *J Thorac Oncol*. 2021;16(3S):S109-110.
- Li BT, Shen R, Buonocore D, et al. Ado-trastuzumab emtansine for patients with HER2-mutant lung cancers: results from a phase II basket trial. *J Clin Oncol*. 2018;36:2532-2537.
- Li BT, Smit EF, Goto Y, et al; DESTINY-Lung01 Trial Investigators. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2022;386:241-251.
- FDA grants accelerated approval to fam-trastuzumab deruxtecan-nxki for HER2-mutant non-small cell lung cancer. US Food and Drug Administration; August 16, 2022. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-fam-trastuzumab-deruxtecan-nxki-her2-mutant-non-small-cell-lung>.
- Mishra R, Patel H, Alanazi S, Yuan L, Garrett JT. HER3 signaling and targeted therapy in cancer. *Oncol Rev*. 2018;12:355.
- Jänne PA, Baik C, Su WC, et al. Efficacy and safety of patritumab deruxtecan (HER3-DXd) in EGFR inhibitor-resistant, EGFR-mutated non-small cell lung cancer. *Cancer Discov*. 2022;12:74-89.

13. Tucker N. Patritumab deruxtecan granted FDA breakthrough therapy designation for metastatic or locally advanced EGFR+ NSCLC. Targeted Oncology; December 28, 2021. <https://www.targetedonc.com/view/patritumab-deruxtecan-granted-fda-breakthrough-therapy-designation-for-metastatic-or-locally-advanced-egfr-nsclc>.
14. Strickler JH, Weekes CD, Nemunaitis J, et al. First-in-human phase I, dose-escalation and -expansion study of telisotuzumab vedotin, an antibody-drug conjugate targeting c-Met, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol*. 2018;36:3298-3306.
15. Camidge DR, Barlesi F, Goldman JW, et al. Phase Ib study of telisotuzumab vedotin in combination with erlotinib in patients with c-Met protein-expressing non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2022;JCO2200739. doi:10.1200/JCO.22.00739.
16. Tucker N. FDA grants breakthrough therapy designation to telisotuzumab vedotin for advanced EGFR wild type nsqNSCLC. Targeted Oncology; January 5, 2022. <https://www.targetedonc.com/view/fda-grants-breakthrough-therapy-designation-to-telisotuzumab-vedotin-for-advanced-egfr-wild-type-nsqnsclc>.
17. Study of DS-1062a in advanced or metastatic non-small cell lung cancer with actionable genomic alterations (TROPION-Lung05). ClinicalTrials.gov identifier: NCT04484142. Updated December 1, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04484142>.
18. Study of DS-1062a versus docetaxel in previously treated advanced or metastatic non-small cell lung cancer with or without actionable genomic alterations (TROPION-LUNG01). ClinicalTrials.gov identifier NCT04656652. Updated November 14, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04656652>.
19. Bardia A, Messersmith WA, Kio EA, et al. Sacituzumab govitecan, a Trop-2-directed antibody-drug conjugate, for patients with epithelial cancer: final safety and efficacy results from the phase I/II IMM-132-01 basket trial. *Ann Oncol*. 2021;32:746-756.
20. SAR408701 versus docetaxel in previously treated, carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 5 (CEACAM5) positive metastatic non-squamous non-small cell lung cancer patients (CARMEN-LC03). ClinicalTrials.gov identifier: NCT04154956. Updated December 13, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04154956>.
21. Morgensztern D, Besse B, Greillier L, et al. Efficacy and safety of rovalpituzumab tesirine in third-line and beyond patients with DLL3-expressing, relapsed/refractory small-cell lung cancer: results from the phase II TRINITY study. *Clin Cancer Res*. 2019;25:6958-6966.
22. Blackhall F, Jao K, Greillier L, et al. Efficacy and safety of rovalpituzumab tesirine compared with topotecan as second-line therapy in DLL3-high SCLC: results from the phase 3 TAHOE study. *J Thorac Oncol*. 2021;16:1547-1558.
23. Jacobs F, Cani M, Malapelle U, et al. Targeting KRAS in NSCLC: old failures and new options for “non-G12c” patients. *Cancers (Basel)*. 2021;13:6332.
24. Cucurull M, Notario L, Sanchez-Céspedes M, et al. Targeting KRAS in lung cancer beyond KRAS G12C inhibitors: the immune regulatory role of KRAS and novel therapeutic strategies. *Front Oncol*. 2022;11:793121.
25. Tan AC. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Thorac Cancer*. 2020;11(3):511-518.
26. Reck M, Carbone DP, Garassino M, Barlesi F. Targeting KRAS in non-small-cell lung cancer: recent progress and new approaches. *Ann Oncol*. 2021;32:1101-1110.
27. Mamdani H, Matosevic S, Khalid AB, Durm G, Jalal SI. Immunotherapy in lung cancer: current landscape and future directions. *Front Immunol*. 2022;13:823618.
28. Huo JL, Wang YT, Fu WJ, Lu N, Liu ZS. The promising immune checkpoint LAG-3 in cancer immunotherapy: from basic research to clinical application. *Front Immunol*. 2022;13:956090.
29. Acharya N, Sabatos-Peyton C, Anderson AC. Tim-3 finds its place in the cancer immunotherapy landscape. *J Immunother Cancer*. 2020;8:e000911.
30. Chauvin JM, Zarour HM. TIGIT in cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer*. 2020;8:e000957.
31. van Hall T, André P, Horowitz A, et al. Monalizumab: inhibiting the novel immune checkpoint NKG2A. *J Immunother Cancer*. 2019;7:263.
32. Herbst RS, Majem M, Barlesi F, et al. COAST: an open-label, phase II, multidrug platform study of durvalumab alone or in combination with oleclumab or monalizumab in patients with unresectable, stage III non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2022;40:3383-3393.



33. Lara H, Li Z, Abels E, et al. Quantitative image analysis for tissue biomarker use: a white paper from the Digital Pathology Association. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2021;29:479-493.
34. Han Z, Lan J, Wang T, et al. A deep learning quantification algorithm for HER2 scoring of gastric cancer. *Front Neurosci*. 2022;16:877229.
35. Bankhead P, Fernández JA, McArt DG, et al. Integrated tumor identification and automated scoring minimizes pathologist involvement and provides new insights to key biomarkers in breast cancer. *Lab Invest*. 2018;98:15-26.
36. Cheng G, Zhang F, Xing Y, et al. Artificial intelligence-assisted score analysis for predicting the expression of the immunotherapy biomarker PD-L1 in lung cancer. *Front Immunol*. 2022;13:893198.
37. Widmaier M, Wiestler T, Walker J, et al. Comparison of continuous measures across diagnostic PD-L1 assays in non-small cell lung cancer using automated image analysis. *Mod Pathol*. 2020;33:380-390.
38. Rimm DL. What brown cannot do for you. *Nat Biotechnol*. 2006;24:914-916.
39. Carvajal-Hausdorf DE, Schalper KA, Neumeister VM, Rimm DL. Quantitative measurement of cancer tissue biomarkers in the lab and in the clinic. *Lab Invest*. 2015;95:385-396.
40. Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Lab Invest*. 2014;94:107-116.
41. McLaughlin J, Han G, Schalper KA, et al. Quantitative assessment of the heterogeneity of PD-L1 expression in non-small-cell lung cancer. *JAMA Oncol*. 2016;2:46-54.
42. Dimou A, Agarwal S, Anagnostou V, et al. Standardization of epidermal growth factor receptor (EGFR) measurement by quantitative immunofluorescence and impact on antibody-based mutation detection in non-small cell lung cancer. *Am J Pathol*. 2011;179:580-589.
43. Schalper KA, Brown J, Carvajal-Hausdorf D, et al. Objective measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2015;107:dju435.
44. Lopez de Rodas M, Nagineni V, Ravi A, Datar IJ, et al. Role of tumor infiltrating lymphocytes and spatial immune heterogeneity in sensitivity to PD-1 axis blockers in non-small cell lung cancer. *J Immunother Cancer*. 2022;10:e004440.
45. Giesen C, Wang HA, Schapiro D, et al. Highly multiplexed imaging of tumor tissues with subcellular resolution by mass cytometry. *Nat Methods*. 2014;11:417-422.
46. Angelo M, Bendall SC, Finck R, et al. Multiplexed ion beam imaging of human breast tumors. *Nat Med*. 2014;20:436-442.
47. Schulz D, Zanotelli VRT, Fischer JR, et al. Simultaneous multiplexed imaging of mRNA and proteins with subcellular resolution in breast cancer tissue samples by mass cytometry. *Cell Syst*. 2018;6:531.
48. Gerdes MJ, Sevinsky CJ, Sood A, et al. Highly multiplexed single-cell analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded cancer tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110:11982-11987.
49. Lin JR, Izar B, Wang S, et al. Highly multiplexed immunofluorescence imaging of human tissues and tumors using t-CyCIF and conventional optical microscopes. *Elife*. 2018;7:e31657.
50. Migliozi D, Pelz B, Dupouy DG, et al. Microfluidics-assisted multiplexed biomarker detection for in situ mapping of immune cells in tumor sections. *Microsyst Nanoeng*. 2019;5:59.
51. Vasaturo A, Galon J. Multiplexed immunohistochemistry for immune cell phenotyping, quantification and spatial distribution in situ. *Methods Enzymol*. 2020;635:51-66.
52. Van TM, Blank CU. A user's perspective on GeoMx™ digital spatial profiling. *Immunooncol Technol*. 2019;1:11-18.
53. Gupta S, Zugazagoitia J, Martinez-Morilla S, Fuhrman K, Rimm DL. Digital quantitative assessment of PD-L1 using digital spatial profiling. *Lab Invest*. 2020;100:1311-1317.
54. Ståhl PL, Salmén F, Vickovic S, et al. Visualization and analysis of gene expression in tissue sections by spatial transcriptomics. *Science*. 2016;353:78-82.
55. Rodrigues SG, Stickels RR, Goeva A, et al. Slide-seq: a scalable technology for measuring genome-wide expression at high spatial resolution. *Science*. 2019;363:1463-1467.
56. Liu Y, Yang M, Deng Y, et al. High-spatial-resolution multi-omics sequencing via deterministic barcoding in tissue. *Cell*. 2020;183:1665-1681.e18.
57. Taube JM, Akturk G, Angelo M, et al; Society for Immunotherapy of Cancer (SITC) Pathology Task Force. The Society for Immunotherapy of Cancer statement on best practices for multiplex immunohistochemistry (IHC) and immunofluorescence (IF) staining and validation. *J Immunother Cancer*. 2020;8:e000155.



# 分子检测结果和多学科分子肿瘤委员会的职责

# 18

Paul Hofman、Chien-Feng Li、Andrew G. Nicholson 和 Shani Shilo

胸部肿瘤学的分子检测正迅速变得日益复杂，需要良好统筹才能妥善用于诊断或治疗。

## 分子检测结果报告

分子报告应列出基因名称、具体位点、外显子或检测的热点、分析易位产生融合基因时发生的基因内含子序列，以及如果相关，还应列出用于评估肿瘤突变负荷的基因组空间和用于评估微卫星不稳定性的测试微卫星类型。<sup>1</sup> 必须始终提供对结果的解释服务。根据潜在临床实用性制定的用于对分子改变进行分级的三个量表，将分子靶点划分为不同的临床可操作性级别：

1. 分子病理学协会 (AMP)、美国医学遗传学与基因组学学会 (ACMG)、美国临床肿瘤学会和美国病理学家学院关于报告癌症基因变异的联合共识建议
2. 欧洲肿瘤内科学会分子靶点临床可操作性量表
3. 区分 4 级可操作性和 3 级耐药性的 OncoKB<sup>1-3</sup>

这种分级有助于解释治疗决策的通用标准发展趋于一致。<sup>4</sup> 所有分子发现都需要根据最新证据进行分类，以区分良性改变、中性改变和致病性改变，即使是已确认或可能发生的改变也要区分。为此，可以使用不同的在线数据库，包括 ClinVar、My Cancer Genome、Cosmic 或 OncoKB。<sup>2,5-7</sup> 其中，OncoKB 是第一个获得美国食品药品监督管理局批准的体细胞突变档案库。<sup>8</sup> 但值得注意的是，尤其是在较大的组合测试中，可能会识别出某些具有潜在医学意义的基因组改变，但这些改变可能与测试的主要目的（次要发现）无关。ACMG 推荐了一份次要基因发现 (SF) 列表，应根据表型、外显率和可操作性在临床基因组测序中进行报告。<sup>9-12</sup> 根据更新的



ACMG SF v3.1 列表，应报告与癌症表型、心血管表型、先天性代谢缺陷表型和杂项表型（例如遗传性 TTR 淀粉样变性）相关的某些基因。<sup>12</sup> 因此，对于已确诊的次要发现的受试者，应转诊进行进一步评估并处理增加的疾病风险。<sup>13</sup>

### 多学科分子肿瘤委员会和肿瘤生物标志物结果解释

多学科肿瘤委员会，也称为多学科团队 (MDT)，召开会议决定利用循证组织方法评估患者，以进行更有效的肿瘤学实践。不同的专家加入不同的肿瘤委员会。通常，临床肿瘤学家、病理科医生、胸外科医生、放射科医生、放射肿瘤学家、肺科医生和护士等加入胸部肿瘤学的 MDT。这些成员也应该加入分子肿瘤委员会 (MTB)，但应与基因病理学家、分子科学家、信息科学生物学家和肿瘤学药剂师等其他专家一起工作。最后，由于可以通过临床试验获取药物，研究 / 临床试验协调员也可以加入 MTB。由此，这些委员会成为促进不同专业人士之间辩论、讨论和整体沟通的强大工具，是精准胸部肿瘤学发展的主要促进因素。

MTB 会议通常决定早期或晚期肺癌患者的护理标准 (SOC) 治疗方案，<sup>14</sup> 因此，MTB 被认为是通过减轻个人弱势、加强团队优势、增强体系力量来提高胸部肿瘤护理质量的有价值工具。此外，MTB 成员根据患者的基因分析讨论并确定所有潜在的治疗策略。<sup>15-18</sup> 因此，如果晚期肺癌患者需要参加临床试验，可以咨询 MTB。<sup>16,19</sup> MTB 始终根据多学科讨论提供建议，包括考虑肺癌的特定分子改变以及与患者有关的所有特征（例如，体能状态和合并症）。

MTB 成员讨论下一代测序 (NGS) 以及任何其他相关分子检测的结果，其中可能包括逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测、阵列比较基因组杂交，甚至全外显子组测序。MTB 通常对接疑难病例患者，给出的建议应按照以下参数明确记录：

- 驱动突变 / 拷贝数 / 结构变异，包括融合基因
- 可成药的分子改变
- 微卫星不稳定性
- 肿瘤突变负荷
- 表明耐药性的改变
- 组织切片中蛋白质的表达，尤其是 PD-L1
- MTB 的结论和建议
- 潜在的临床试验

需要根据检测到的变异致病性讨论治疗方案。变异的致病性由其致病能力决定。<sup>20</sup> 对于肺癌来说，如果已知变异会导致恶化，那么该变异就是致病性的。在这种情况下，要根据 2015 年 ACMG/AMP 指南的改编版本对致病性进行分类。该指南提出了 5 层分类方案（致病性、可能致病性、未知或不确定临床意义的变异 [VUS]、可能良性、良性）。<sup>21</sup> 然而，到目前为止，对于如何解释致病性尚未达成真正的（国际）国家共识。此外，寻找并报告不同的致病胚系变异也很重要，因为其中一些变异可能与治疗相关性有关。<sup>22</sup>

有些平台可以使用基于云的创新虚拟 MTB 技术，包括用于精准肿瘤学驱动癌症护理的知识库和协作环境。<sup>23</sup> MTB 还可以充当教学或大学医院的重要教育工具，在这类环境中，需要通过介绍具有挑战性的病例来提供咨询。<sup>24</sup>

### 多学科分子肿瘤委员会以及肺癌患者的护理质量和结果

对于某些患者，例如具有非常罕见或复杂分子改变的患者、携带改变但未批准在临床实践中使用靶向药物的肿瘤患者、患有致癌基因成瘾的肿瘤但对可用的分子药物无反应的患者，或患有罕见胸部肿瘤但缺乏公认的治疗方法的患者，MTB 在诊断和肿瘤进展方面都发挥着至关重要的作用。因此，在生成结果时管理检测和 MTB 的周转时间非常重要。为了保证在有利的时间范围内开始靶向治疗，周转时间必须要适当。根据国际指南，晚期非鳞状非小细胞肺癌最佳初始治疗所需的生物标志物检测必须在 10 个工作日内完成。<sup>25</sup>

当肿瘤进展时，MTB 有必要进一步讨论患者的情况。可能也有必要开展额外的分子检测或需要较大的基因组合；因此，需要在治疗的紧迫性和所需的延迟之间取得平衡，以便收集数据并就下一步的治疗方案制定明智的决策。

此外，MTB 充分发挥作用，可促进胸部肿瘤学的最佳实践，不仅对在学术中心接受治疗的患者有益，还会为更广大的肿瘤学界带来助益。因此，创建虚拟全球 MTB 有益于胸部肿瘤学的发展。<sup>26</sup> 与只能选择单个医生的患者相比，接受 MTB 治疗方案的患者能够更好地匹配不同的基因组改变。<sup>15,27</sup> 此类患者（与仅能接受医生选择的治疗方案的患者相比）的无进展生存率和总生存率会显著延长。<sup>15,27</sup>

### 胸部肿瘤学多学科肿瘤委员会面临的挑战

尽管建议根据 MTB 的讨论结果安排肺癌患者护理，但仍然存在一些挑战。并非所有的肺癌护理服务都由 MTB 管理。这种情况可能是因为资源不够，甚至在某些情况下，人们不愿意对治疗展开讨论。与这种讨论更相关的是，是否可以运行 MTB，以及运行的 MTB 如何与胸部 MDT 互动。对于有些服务，可以设法将分子数据讨论整合，由主 MDT 负责，其他服务则可组织单独的会议。在后一种情况中，MTB 可能是讨论胸部肿瘤的专门 MTB，也可能是考虑一系列肿瘤病例（包括肺癌）的一般 MTB。

还需要考虑分子检测和 MDT/MTB 病例评估之间重要的临床周转时间问题。许多患者由于潜在肺癌的进展而面临病情迅速恶化的风险，因此，即使是短暂延迟也会造成不利后果。然而，由于根据生物标志物确定的治疗方案越来越多，其中有些方案由于毒性增强而不相容，需要时间才能提供所有需要的信息，导致等待时间延长。疾病复发可能会使情况处理起来更加困难，因为重复活检、重复 NGS 分析和考虑临床试验（通常需要强制重复活检）会有延迟。关于临床试验，复杂的纳入标准、冗长的筛查程序，以及强制进行中央实验室分析也可能使延误时间更长，尤其是因为许多临床试验，特别是行业赞助的试验，需要集中的实验室检测来确认生物标志物，而不接受在认可的当地实验室进行的分析。

尽管在患者的分子数据支持下，可以使用广泛批准的药物、接受临床试验或标签外治疗，有些治疗方案在其他地方可以获取，但在有些卫生系统获取可能就会受到限制。利用任何适当的分子分析进行的试验从来都不会有普遍获取的机会。与进行检测或开展适当的讨论相比，获取药物可能是生物标志物驱动治疗的更大障碍。MTB 可以开发和使用数字工具，帮助整合临床和基因组图谱并搜索可用的临床试验，未来此类开发可以使用人工智能来改进决策。在资源允许的情况下，MTB 应效仿 I-PREDICT 试验的成功做法，吸纳能够促进药物获取的人员。<sup>28</sup>

目前，尚无分子检测报告和 MTB 操作报告的国际指南，导致各国和机构之间存在巨大差异。<sup>29</sup> 因此，需要加大工作力度，为分子改变在可操作性、治疗适应症以及后续结果数据的有效记录方面的呈现和解释确立适当标准。

最后，由于 MTB 提供的建议可能超出指南中治疗方案的界限，因此对 MTB 的运行、建议及建议实施进行审查、评估和审计很重要。可以建立病例审查和结果登记册，这样可以提高 MTB 的教育价值，并有助于评估具有罕见可操作变异的肺癌患者队列的反应模式。最终，MTB 建议不仅可以使个体患者受益，通过研究还会使后代肺癌患者受益。

## 参考文献

1. Li MM, Datto M, Duncavage EJ, et al. Standards and guidelines for the interpretation and reporting of sequence variants in cancer: a joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn.* 2017;19(1):4-23. doi:10.1016/j.jmoldx.2016.10.002.
2. Chakravarty D, Gao J, Phillips SM, et al. OncoKB: a precision oncology knowledge base. *JCO Precis Oncol.* 2017;2017:PO.17.00011. doi:10.1200/PO.17.00011.
3. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol.* 2020;31(11):1491-1505. doi:10.1016/j.annonc.2020.07.014.
4. Li X, Warner JL. A review of precision oncology knowledgebases for determining the clinical actionability of genetic variants. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:48. doi:10.3389/fcell.2020.00048.
5. Holt ME, Mittendorf KE, LeNoue-Newton M, et al. My cancer genome: coevolution of precision oncology and a molecular oncology knowledge base. *JCO Clin Cancer Inform.* 2021;5:995-1004. doi:10.1200/CCI.21.00084.
6. Landrum MJ, Chitipiralla S, Brown GR, et al. ClinVar: improvements to accessing data. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(D1):D835-D844. doi:10.1093/nar/gkz972.
7. Tate JG, Bamford S, Jubb HC, et al. COSMIC: the catalogue of somatic mutations in cancer. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D941-D947. doi:10.1093/nar/gky1015.
8. FDA recognizes Memorial Sloan-Kettering database of molecular tumor marker information. US Food and Drug Administration. November 10, 2021. www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-recognizes-memorial-sloan-kettering-database-molecular-tumor-marker-information.
9. Green RC, Berg JS, Grody WW, et al; American College of Medical Genetics and Genomics. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med.* 2013;15(7):565-574. doi:10.1038/gim.2013.73.
10. Kalia SS, Adelman K, Bale SJ, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2017;19(2):249-255. doi:10.1038/gim.2016.

11. Miller DT, Lee K, Gordon AS, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2021 update: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2021;23(8):1391-1398. doi:10.1038/s41436-021-01171-4.
12. Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, et al. ACMG SF v3.1 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2022;24(7):1407-1414. doi:10.1016/j.gim.2022.04.006.
13. Katz AE, Nussbaum RL, Solomon BD, et al. Management of secondary genomic findings. *Am J Hum Genet.* 2020;107(1):3-14. doi:10.1016/j.ajhg.2020.05.002.
14. Tan AC, Tan DSW. Targeted therapies for lung cancer patients with oncogenic driver molecular alterations. *J Clin Oncol.* 2022;40(6):611-625. doi:10.1200/JCO.21.01626.
15. Larson KL, Huang B, Weiss HL, et al. Clinical outcomes of molecular tumor boards: a systematic review. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:PO.20.00495. doi:10.1200/PO.20.00495.
16. Rolfo C, Manca P, Salgado R, et al. Multidisciplinary molecular tumour board: a tool to improve clinical practice and selection accrual for clinical trials in patients with cancer. *ESMO Open.* 2018;3(5):e000398. doi:10.1136/esmoopen-2018-000398.
17. Trédan O, Wang Q, Pissaloux D, et al; ProfiLER investigators. Molecular screening program to select molecular-based recommended therapies for metastatic cancer patients: analysis from the ProfiLER trial. *Ann Oncol.* 2019;30(5):757-765. doi:10.1093/annonc/mdz080.
18. Tuxen IV, Rohrberg KS, Oestrup O, et al. Copenhagen Prospective Personalized Oncology (CoPPO)—clinical utility of using molecular profiling to select patients to phase I trials. *Clin Cancer Res.* 2019 Feb 15;25(4):1239-1247. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-1780.
19. Basse C, Morel C, Alt M, et al. Relevance of a molecular tumour board (MTB) for patients' enrollment in clinical trials: experience of the Institut Curie. *ESMO Open.* 2018;3(3):e000339. doi:10.1136/esmoopen-2018-000339.
20. Andrivon D. Nomenclature for pathogenicity and virulence: the need for precision. *Phytopathology.* 1993;83:889-839.
21. Richards S, Aziz N, Bale S, et al; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-424. doi:10.1038/gim.2015.30.
22. Cobain EF, Wu YM, Vats P, et al. Assessment of clinical benefit of integrative genomic profiling in advanced solid tumors. *JAMA Oncol.* 2021;7(4):525-533. doi:10.1001/jamaoncol.2020.7987.
23. Pishvaian MJ, Blais EM, Bender RJ, et al. A virtual molecular tumor board to improve efficiency and scalability of delivering precision oncology to physicians and their patients. *JAMIA Open.* 2019;2(4):505-515. doi:10.1093/jamiaopen/ooz045.
24. Harada S, Arend R, Dai Q, et al. Implementation and utilization of the molecular tumor board to guide precision medicine. *Oncotarget.* 2017;8(34):57845-57854. doi:10.18632/oncotarget.18471.
25. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(3):321-346. doi:10.5858/arpa.2017-0388-CP.
26. Jain NM, Schmalz L, Cann C, et al. Framework for implementing and tracking a molecular tumor board at a National Cancer Institute-designated comprehensive cancer center. *Oncologist.* 2021;26(11):e1962-e1970. doi:10.1002/onco.13936.
27. Kato S, Kim KH, Lim HJ, et al. Real-world data from a molecular tumor board demonstrates improved outcomes with a precision N-of-One strategy. *Nat Commun.* 2020;11(1):4965. doi:10.1038/s41467-020-18613-3.
28. Sicklick JK, Kato S, Okamura R, et al. Molecular profiling of cancer patients enables personalized combination therapy: the I-PREDICT study. *Nat Med.* 2019;25(5):744-750. doi:10.1038/s41591-019-0407-5.
29. Koopman B, Groen HJM, Ligtenberg MJL, et al. Multicenter comparison of molecular tumor boards in The Netherlands: definition, composition, methods, and targeted therapy recommendations. *Oncologist.* 2021;26(8):e1347-e1358. doi:10.1002/onco.13580.





# 分子生物标志物检测算法

# 19

Ming-Sound Tsao、Fernando Lopez-Rios、Erik Thunnissen、  
Jhanelle E. Gray、Yasushi Yatabe、Teh-Ying Chou、  
Justin F. Gainor 和 Ivy Elkins

批准用于治疗肺癌患者的新生物标志物引导疗法日渐增多，肺癌的分子检测算法也不断发展。本章重点介绍肿瘤组织活检或切除标本的检测算法，关于液体活检的算法在第 4 章中已提及。

基于免疫组织化学的预测性蛋白质生物标志物检测也作为分子检测的一部分在本章中进行介绍。能够达到预期目的潜在算法有很多。本章探讨了一些可能性，也介绍了一些满足当地需求的其他版本的开发原则。读者可参阅相关章节，详细了解与特定基因相关的检测问题。

## 肺癌诊断中的分子检测算法

只有确诊癌症后再进行预测性生物标志物检测来指导疗法；这种检测不能用作确诊之用。大多数肺癌的分子检测都在活检标本上进行，因为 60%-70% 的肺癌患者在临床诊断时都已到晚期 (IIIB-IV)。在整个过程当中，无论检测的范围广泛与否，都应遵循 3 个主要原则：

1. 速度——周转时间至关重要，因为肺癌晚期患者的情况可能会迅速恶化。
2. 准确度——对于癌症诊断和正确的分子分析来说都至关重要。
3. 合适的检测方法——涵盖所有可用药物靶点的完整基因图谱。

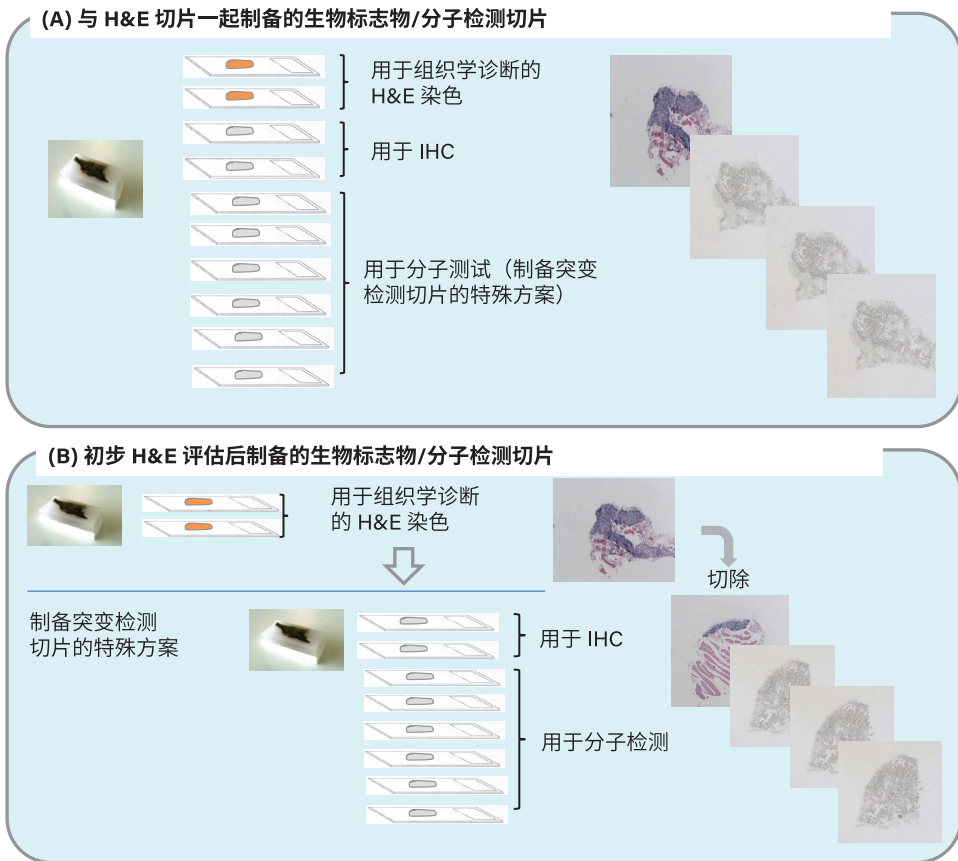
在这种情况下，病理科医生必须了解国际肺癌研究协会 (IASLC) 多学科专家在 2011 年提出的病理学最佳实践中的建议，即“不仅要组织标本用于诊断，还应最大限度增加可用于分子研究的组织数量。”<sup>1</sup> 这一原则随后应用在世界卫生组织 (WHO) 第四、五版两肺癌和胸腔癌症分类中。<sup>2,3</sup> 根据这一原则，在以前的

IASLC 图谱<sup>4,5</sup>中采用了福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 肿瘤活检块的初始切片算法 (图 19-1)。

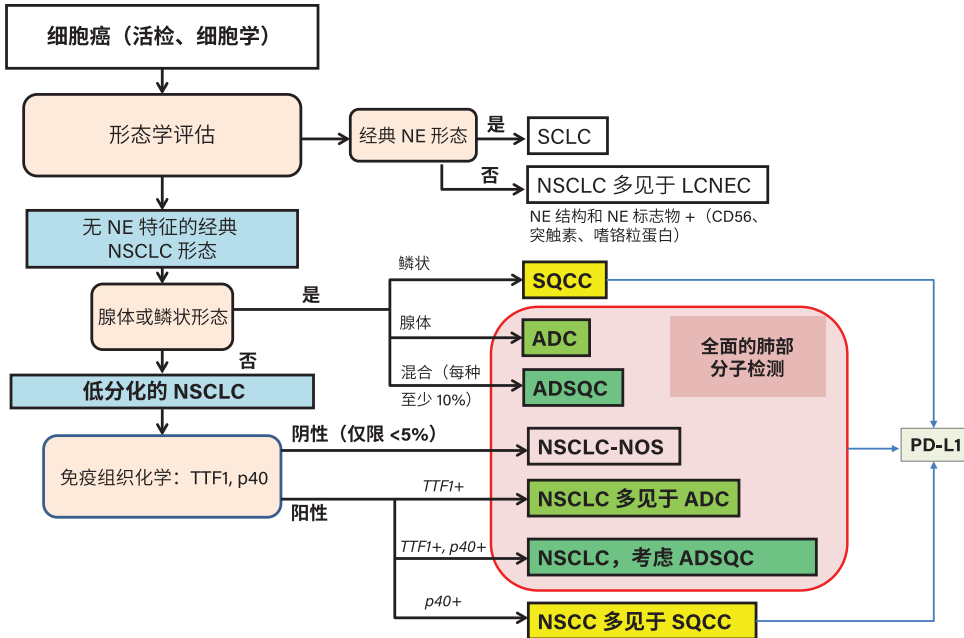
同时, 这一原则鼓励对肺癌病理进行最小组别的诊断标记物分类, 但仅在需要时进行, 因为使用 TTF1 和 p40 能够减少非小细胞肺癌的数量, 即没有特别说明 (NSCLC-NOS) 的病例数量降到 5% 至 10% 以下 (图 19-2)。<sup>6</sup> 按照这种思路, 现已公布肺癌诊断免疫组织化学的最佳实践建议。<sup>7</sup>

## 非小细胞肺癌晚期的分子检测

最常用的检测算法以当前的美国国家综合癌症网络 (NCCN)、欧洲肿瘤内科学会 (ESMO) 以及美国病理学家学院 (CAP) / IASLC / 分子病理学协会 (AMP) 指南为基础, 主要针对 NSCLC 晚期患者 (见第 6 章)。图 19-3 展示了检测工作流程中 2 个选项。选项 A 使用更为全面的下一代测序 (NGS) 组测定作为分子分析的主要技术, 选项 B 使用结合了单一分析物聚合酶链反应 (PCR) 测定和免疫组织化学 / 荧光原位杂交



**图 19-1.** 充分利用组织进行诊断和分子生物标志物检测的策略待制备的未染色切片的数量由机构 / 部门的最佳组织使用策略来决定, 以减少组织样本损失, 缩减周转时间。许多实验室在专用切片机上切割 DNA/RNA 提取切片, 防止交叉感染。缩略词: H&E = 苏木精和伊红; IHC = 免疫组织化学 (来源: Tsao 等。<sup>8</sup>)

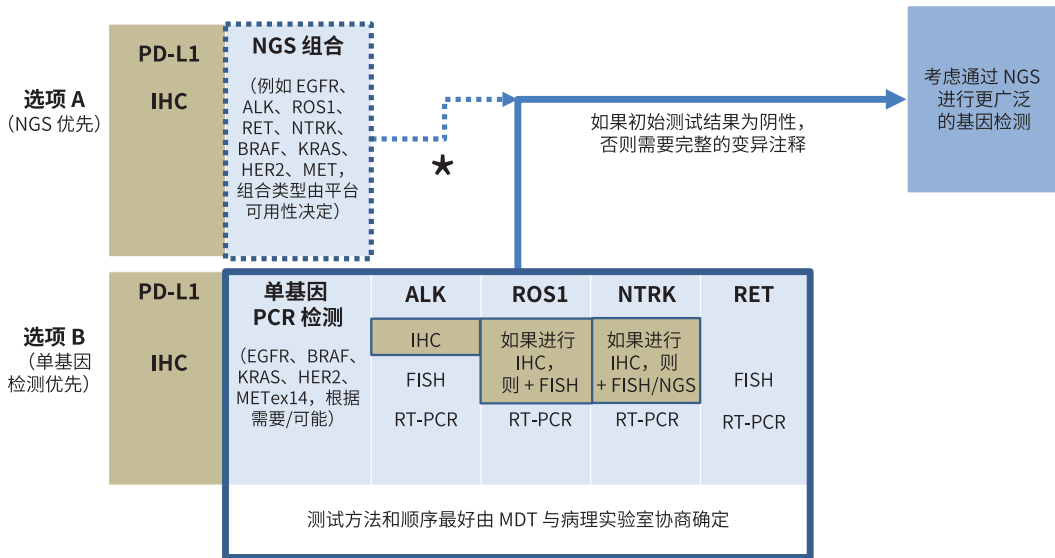


**图 19-2.** 指导肺癌预测性分子检测的诊断算法。所有的非鳞状 NSCLC 应进行全面的分子检测。在一些情况下，进行分子检测时应考虑 SQCC 和 LCNEC（例如，非吸烟者或者从不吸烟者的 SQCC）。缩略词：ADC = 腺癌；ADSQC = 腺鳞状癌；LCNEC = 大细胞神经内分泌癌；NE = 神经内分泌；NOS = 没有特别说明；NSCLC = 非小细胞肺癌；SCLC = 小细胞肺癌；SQCC = 鳞状细胞癌。（改编自 Travis 等以及 WHO 肿瘤分类编辑委员会。<sup>2,3)</sup>

(IHC/FISH) (ALK、ROS1、RET 和 NTRK) 测定。选项 A 中的 NGS 组合和选项 B 中的单个标记物测定的选择主要受到多个局部因素影响，包括可用的资金机制、组织数量、各种检测技术/分析平台和专业知识、有特定改变（如 *EGFR* 突变）的当地人群患病率、已获批的标记物选择疗法的数量以及所需的周转时间。通常来说，（根据美国临床肿瘤学会 [ASCO]、ESMO 和 NCCN 的建议）需要检测的分子标志物数量很大，比起单一分析物检测的组合，选项 A（NGS 优先）效率更高，成本更低。<sup>9-11</sup>

### 未知阶段的反射性和/或 NSCLC 早期的分子检测

通常在诊断时，按照常规进行反射性预测性生物标志物检测（见第 6 章）。在这种情况下，对于要求进行生物标志物检测的病理科医生来说，临床分期的信息可能会不完整或处于未知状态；因此，这种算法可能与分期无关，但是或许适用于可能需要手术切除的 NSCLC 早期 (I-IIIa) 患者（图 19-4）。反射检测的优点在于能够让生物标志物检测结果快速用于治疗决策<sup>12,13</sup>，并且能够在疾病的早期阶段，识别出可采用新辅助免疫疗法或辅助靶向疗法来进行治疗的患者。尽管如此，整个多学科团队都应该知晓围手术期中预测性生物标志物检测所带来的挑战。<sup>14</sup>



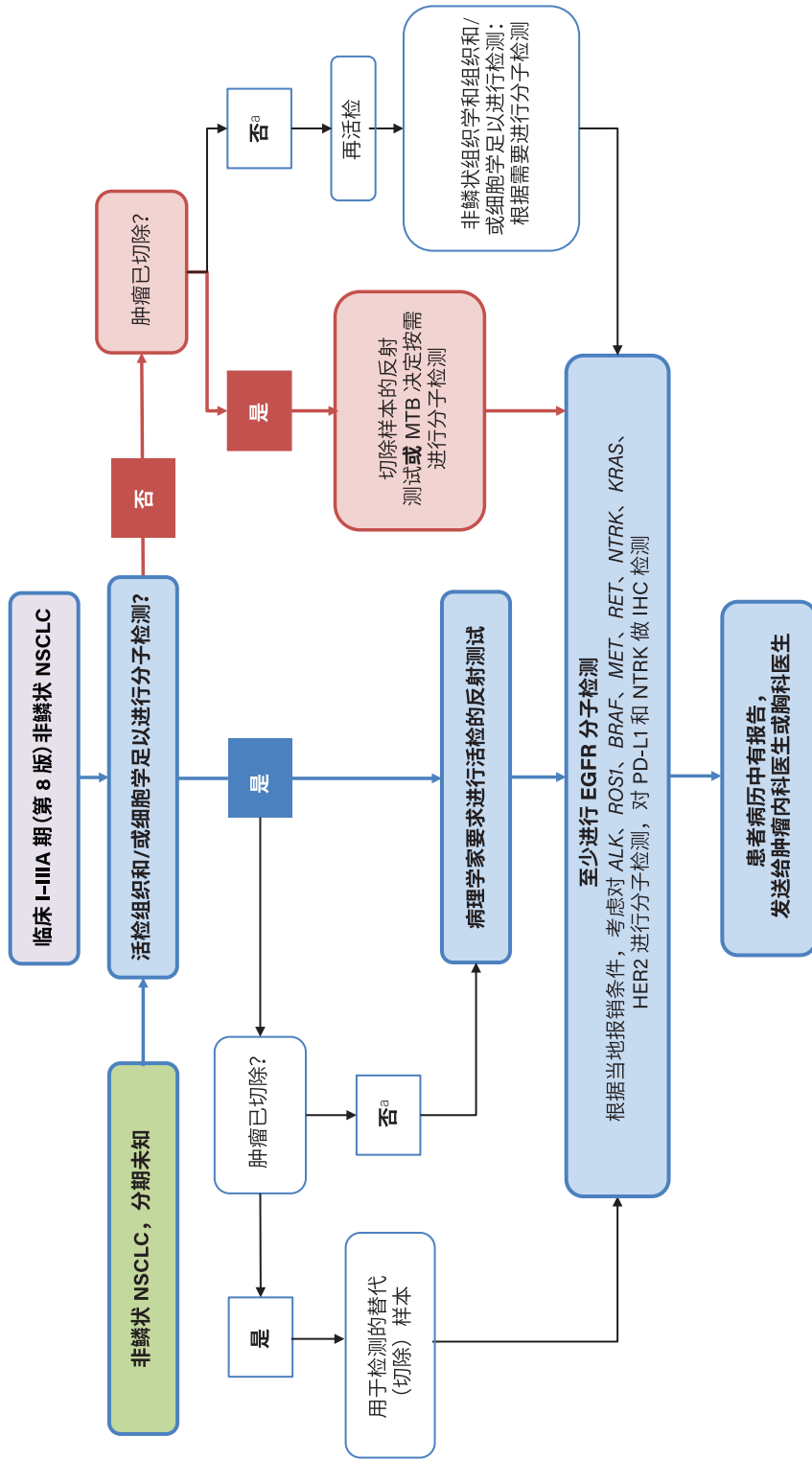
**图 19-3.** NSCLC 晚期患者的检测工作流程。(选项 A) 进行前期的 NGS 和 PD-L1 IHC。第一批 NGS 组中的确切基因可能会有所不同, 取决于可用的平台 / 组以及 DNA 和 RNA 方法。(见第 5 章)。(选项 B) 进行单一分析物检测。单一基因检测、测定选择以及检测顺序的确切基因取决于当地资源、识别突变的可能性(当地的患病率, 如 *EGFR* [见本文])以及 MDT 偏好。样本中的肿瘤细胞含量也是最佳方法的决定因素。杂交捕获 NGS 的敏感度低至肿瘤含量的 20%。敏感靶向测定, 例如液滴数字 PCR、实时 PCR 以及一些基于扩增子的 NGS, 敏感度都低至 5%。(\*) 在可能的情况下, 如果第一个 NGS 组不包括临床试验已有治疗中的其他基因 / 突变, 可以考虑第二个更大的 NGS 组。缩略词: FISH = 荧光原位杂交; IHC = 免疫组织化学; MDT = 多学科团队; NGS = 下一代测序; PCR = 聚合酶链反应; RT-PCR = 逆转录聚合酶链反应。

### 特殊情况下及 EGFR 突变高发国家的分子检测

通常, 这些指南(如 NCCN、ESMO、CAP/IASLC/AMP、ASCO)是根据现有的最新临床数据来制定的, 适用于卫生系统资源丰富的国家, 但是通过 NGS 进行全面的分子检测在很多情况下(图 19-5A)都不可行或不适用。在这些情况下, 可以采用替代简化算法或更为实用的检测算法(图 19-5A)。在 *EGFR* 致敏突变高发的地方(如东亚国家), 优先考虑 *EGFR* 和 PD-L1 检测算法的成本更低<sup>15,16</sup>(图 19-5B、C)。但是只能在遵循多学科的一致决定时才能采用这些替代检测算法。另一种新兴的、节省成本的实践方法以成瘾性致癌驱动因素的相互排他性为基础, 首先使用 DNA-NGS 组合, 只有当无法识别驱动突变时, 才会对融合基因(以及可能会出现 MET 外显子 14 跳跃突变)进行 RNA-NGS。但是任何检测测序都意味着会延迟确定后续步骤中的靶点。

### 结论

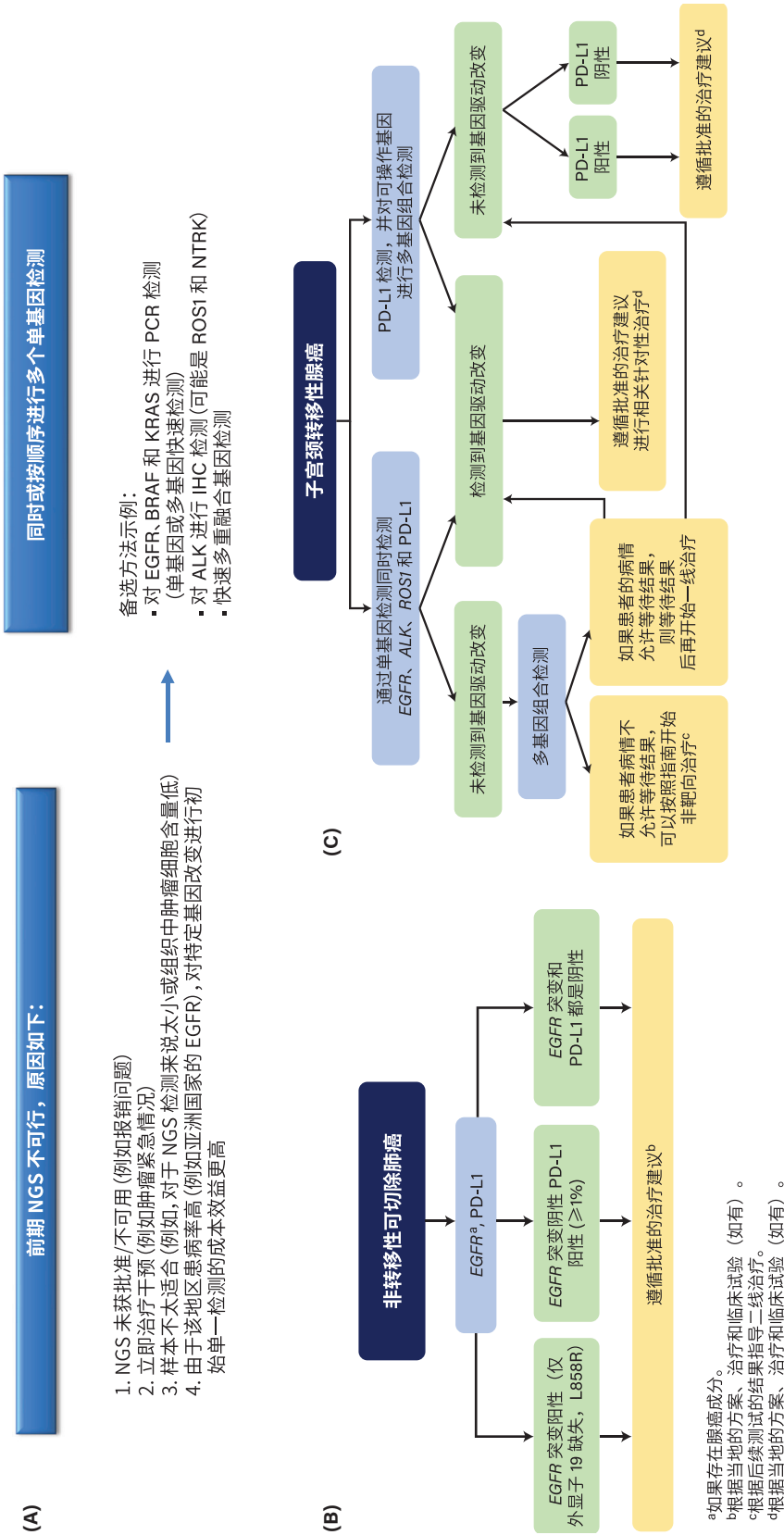
为了让肺癌患者获得精准肿瘤学的最佳收益, 预测性生物标志物检测必不可少。虽然通过 IHC 对 *EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*RET*、*NTRK*、*BRAF*、*KRAS*、*MET*、*HER2* 和 PD-L1 使用 NGS 进行全面分子检测是可取的, 但许多情况会影响到这种完整检测算法的实用性。包括组织的可用性、资金、可用的平台、专业技术, 尤其是生物标志物驱动治疗药物的可用性。通常建议采用任何检测算法时都要基于考虑这些因素的多学科投入。



<sup>a</sup> 患者不适合手术 (无法切除肿瘤或患者的病情无法做手术) 或拒绝手术

**图 19-4.** 在初始活检时肿瘤临床阶段未知或临床分期表明处于可切除的早期 (I-IIIa 期) NSCLC 时使用的测试算法。缩略词: IHC = 免疫组织化学; MTB = 多学科肿瘤组; NSCLC = 非小细胞肺癌。(改编自 Aggarwal 等。<sup>17</sup>)





**图 19-5. 替代检测算法侧重于最大限度地提高受影响患者可用的生物标志物驱动疗法的检测量。** 缩略词：IHC = 免疫组织化学；NGS = 下一代测序；PCR = 聚合酶链反应。(改编自 Mitsudomi 等。<sup>15</sup>)

## 参考文献

1. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2011;6(2):244-285. doi:10.1097/JTO.0b013e318206a221.
2. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart.* 4th ed. International Agency for Research on Cancer; 2015.
3. WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Thoracic Tumours.* WHO Classification of Tumours. Vol. 5. 5th ed. International Agency for Research on Cancer; 2021.
4. Nicholson AG, Kerr K, Wistuba I, Yatabe Y. Sample acquisition, processing, and general diagnostic procedures. In: Tsao MS, Hirsch FR, Yatabe Y, eds. *IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer.* 2nd ed. International Association for the Study of Lung Cancer; 2016.
5. Tsao MS, Kerr KM, Dacic S, Yatabe Y, Hirsch FR, eds. *IASLC Atlas of PD-L1 Immunohistochemistry Testing in Lung Cancer.* International Association for the Study of Lung Cancer; 2017.
6. Loo PS, Thomas SC, Nicolson MC, Fyfe MN, Kerr KM. Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchial biopsy specimens. *J Thorac Oncol.* 2010;5(4):442-447. doi:10.1097/JTO.0b013e3181d40fac.
7. Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(3):377-407. doi:10.1016/j.jtho.2018.12.005.
8. Tsao MS, Nicholson AG, Hirsch FR. Implementation of PD-L1 testing for personalized therapy for lung cancer. In: Tsao MS, Kerr KM, Dacic S, Yatabe Y, Hirsch FR, eds. *IASLC Atlas of PD-L1 Immunohistochemistry Testing in Lung Cancer.* International Association for the Study of Lung Cancer; 2017.
9. Pennell NA, Mutebi A, Zhou ZY, et al. Economic impact of next-generation sequencing versus single-gene testing to detect genomic alterations in metastatic non-small-cell lung cancer using a decision analytic model. *JCO Precis Oncol.* 2019;3:1-9. doi:10.1200/PO.18.00356.
10. Vanderpoel J, Stevens AL, Emond B, et al. Total cost of testing for genomic alterations associated with next-generation sequencing versus polymerase chain reaction testing strategies among patients with metastatic non-small cell lung cancer. *J Med Econ.* 2022;25(1):457-468. doi:10.1080/13696998.2022.2053403.
11. Tan AC, Lai GGY, Tan GS, et al. Utility of incorporating next-generation sequencing (NGS) in an Asian non-small cell lung cancer (NSCLC) population: incremental yield of actionable alterations and cost-effectiveness analysis. *Lung Cancer.* 2020;139:207-215. doi:10.1016/j.lungcan.2019.11.022.
12. Lim C, Tsao MS, Le LW, et al. Biomarker testing and time to treatment decision in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2015;26(7):1415-1421. doi:10.1093/annonc/mdv208.
13. Cheema PK, Menjak IB, Winterton-Perks Z, et al. Impact of reflex EGFR/ALK testing on time to treatment of patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer. *J Oncol Pract.* 2017;13(2):e130-e138. doi:10.1200/JOP.2016.014019.
14. Conde E, Hernandez S, Lopez-Rios F. Rethinking the role of biomarkers for operable non-small cell lung carcinoma: an effective collaboration with artificial intelligence algorithms. *Mod Pathol.* 2022;35(12):1754-1756. doi:10.1038/s41379-022-01167-8.
15. Mitsudomi T, Tan D, Yang JC, et al. Expert consensus recommendations on biomarker testing in metastatic and nonmetastatic NSCLC in Asia. *J Thorac Oncol.* 2022;S1556-0864(22)01905-0. doi:10.1016/j.jtho.2022.10.021.
16. Yang SC, Yeh YC, Chen YL, Chiu CH. Economic analysis of exclusionary EGFR test versus up-front NGS for lung adenocarcinoma in high EGFR mutation prevalence areas. *J Natl Compr Canc Netw.* 2022;20(7):774-782.e4. doi:10.6004/jnccn.2021.7120.
17. Aggarwal C, Bubendorf L, Cooper WA, et al. Molecular testing in stage I-III non-small cell lung cancer: approaches and challenges. *Lung Cancer.* 2021;162:42-53. doi:10.1016/j.lungcan.2021.09.003.



## 总结与未来展望

# 20

Ming-Sound Tsao、James Chih-Hsin Yang、Lynette M. Sholl、  
Wendy A. Cooper、Daniel SW Tan 和 Keith M. Kerr

在精准肿瘤学中，分子检测是推动实施生物标志物驱动的靶向治疗的引擎。在仅仅十年间，我们已经从必须检测肺癌中的单一标志物 (*EGFR*) 发展到可以检测至少 10 种标志物 (*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *KRAS*, *RET*, *NTRK*, *MET*, *HER2*, *PD-L1*)。幸运的是，分子检测技术也取得了长足进展。虽然之前国际肺癌研究协会 (IASLC) 肺癌预测性生物标志物检测图谱单独介绍了 1 或 2 个标志物 (*ALK*, *ALK/ROS1*, *EGFR*, *PD-L1*)，但发布单个标志物图谱已经没有实际意义。本特别版本旨在明确靶向治疗肺癌的分子检测最新技术和科学原理。

显然，生物标志物检测复杂多样，涉及许多在样本采集和处理、检测技术、检测开发、实施和临床应用方面具有专业知识的利益相关方。至关重要的是，检测策略必须根据患者实际情况制定，使患者易于获取，并从结果中受益。因此，各章节设定目的明确，由多学科作者团队负责完成。本图谱有些章节和之前一个或多个 IASLC 图谱的某些章节相同，因为这些章节的内容是分子生物标志物检测最佳实践的基本要求，其中包括样本采集和分析前样本处理、报告和检测结果解释的问题，以及分析质量保证的要求。

在本版图谱中，我们在检测技术章节中加入了下一代测序，这是目前最先进的分析方法，可对癌症中发生大量基因组畸变进行多重检测。随着临床肿瘤学日益复杂，有多种类别相似或不同代际的药物可供使用，针对每个容易处理的基因，我们都介绍了最先进的治疗方法，为所描述的生物标志物检测提供了背景。我们还在检测指南和算法章节从全球视角介绍了分子生物标志物检测的复杂性，尽管为适应本出版物的性质已经作了简化处理。

毫无疑问，随着我们对肺癌分子病理学、纳米技术、计算和信息学的不断了解，分子检测的范围、深度和广度将继续扩展。这种扩展已经开始，而且进展迅速，可能会呈指数级增长。谨在此简要讨论一下未来的挑战和潜力。

## 肿瘤组织基因组检测的未来

虽然液体活检目前是治疗进展时期识别靶向治疗潜在耐药机制的首选方法，但人们正在努力将这种方法提升为初始诊断的基线检测。<sup>1-3</sup>后者在一定程度上仍然受到检测灵敏度的限制，特别是在融合和基因拷贝数方面，<sup>4</sup>可以通过其他技术进步来解除这种限制，例如使用血浆无细胞或外泌体衍生 RNA 来检测基因融合。<sup>5,6</sup>

虽然液体活检似乎可以取代肿瘤组织检测或使肿瘤组织检测变得多余，但组织和血液检测更有可能作为互补方法并行发展。<sup>7</sup>肿瘤诊断、亚型分型和免疫组织化学学生物标志物是基本要求。目前，液体活检在某些基因组改变方面存在敏感性和特异性问题，无法进行明确的肿瘤诊断和分类。只有在成本和资金不成问题的情况下，才能够实施平行组织和液体检测；然而，这可能会成为全球大多数患者的主要障碍，需要深入审议以开发未来使用的检测算法，包括克服吸收派生数据和理解其含义的挑战。

## 微小残留病变检测、监测治疗效果和疾病进展

目前，人们工作的重点是应用液体活检来检测微小残留病变 (MRD)，并利用 MRD 监测疾病进展，预测患者可能出现的结果，并尽可能改变治疗过程（见第 4 章“临床应用”部分）。这种方法的非侵袭性加速了对其临床应用的评估。<sup>8</sup>为了将液体活检用于 MRD 检测，需要解决的基本问题包括此类技术的灵敏度和特异性。虽然目前工作的重点主要是检测基因组 DNA，但正在对使用甲基化 DNA/RNA 和环状 RNA 进行更广泛的研究。<sup>9-11</sup>

## 肺癌早期检测

当前用于早期肺癌检测的最先进技术使用低剂量螺旋计算机断层扫描 (CT)，但其成本高昂、通量低、特异性不佳。应用放射组学和人工智能来提高 CT 筛查的性能是一个重要的研究方向。<sup>12</sup>联合具有高灵敏度和特异性的补充检测（例如血液中的（表观）基因组标志物或呼吸中的挥发性有机化合物）可以大大增强实施基于人群的早期检测计划的能力。<sup>13,14</sup>循环肿瘤 DNA 作为肺癌早期检测方法正在广泛研究中，但其灵敏度和特异性对于早期肿瘤检测而言并不理想。<sup>15</sup>与 MRD 检测类似，涉及甲基化 DNA 和环状 RNA 的新标志物也正在研究中。<sup>16,17</sup>

## 机器学习与人工智能

随着基因组检测日益全面，要求的生物信息学日益复杂耗时，人工智能和机器学习技术可能会越来越多地用于临床基因组诊断，可能涉及基因组分析的各个步骤，例如变异调用和分类、基因组注释和基因型 - 表型预测。<sup>18</sup>



## 其他肺癌类型和胸部癌症的检测

除特殊情况外，目前基因组分析实践主要集中在非鳞状细胞癌、非小细胞肺癌，但预测性生物标志物检测对鳞状细胞癌、小细胞癌和其他胸部恶性肿瘤（如间皮瘤和胸腺肿瘤）的影响尚未完全明确。当新的治疗脆弱性出现进而发现相应的疗法时，例如涉及肿瘤代谢、氧化应激反应通路以及肿瘤微环境中细胞和非细胞成分的脆弱性和疗法，这类影响很可能就会明确。<sup>19-21</sup>

## 结论

在本《IASLC 肺癌靶向治疗分子检测图谱》中，我们概述了目前与肺癌靶向治疗相关的各个基因以及影响其评估的因素，例如样本采集、检测技术、检测方法、算法以及分子检测的全球变化。我们提供了临床分子检测的最新情况，对各类肺癌医护人员及其患者而言都具有价值，有望为肺癌临床护理的进一步发展奠定基础。

## 参考文献

- Choudhury Y, Tan MH, Shi JL, et al. Complementing tissue testing with plasma mutation profiling improves therapeutic decision-making for patients with lung cancer. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:758464. doi:10.3389/fmed.2022.758464.
- Park S, Olsen S, Ku BM, et al. High concordance of actionable genomic alterations identified between circulating tumor DNA-based and tissue-based next-generation sequencing testing in advanced non-small cell lung cancer: the Korean Lung Liquid Versus Invasive Biopsy Program. *Cancer*. 2021;127(16):3019-3028. doi:10.1002/cncr.33571.
- Li BT, Janku F, Jung B, et al. Ultra-deep next-generation sequencing of plasma cell-free DNA in patients with advanced lung cancers: results from the Actionable Genome Consortium. *Ann Oncol*. 2019;30(4):597-603. doi:10.1093/annonc/mdz046.
- Song P, Wu LR, Yan YH, et al. Limitations and opportunities of technologies for the analysis of cell-free DNA in cancer diagnostics. *Nat Biomed Eng*. 2022;6(3):232-245. doi:10.1038/s41551-021-00837-3.
- Kok VC, Yu CC. Cancer-derived exosomes: their role in cancer biology and biomarker development. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:8019-8036. doi:10.2147/IJN.S272378.
- Larson MH, Pan W, Kim HJ, et al. Author correction: a comprehensive characterization of the cell-free transcriptome reveals tissue- and subtype-specific biomarkers for cancer detection. *Nat Commun*. 2022;13(1):2553. doi:10.1038/s41467-022-30329-0.
- Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, et al. Liquid biopsy for advanced NSCLC: a consensus statement from the International Association for the Study of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2021;16(10):1647-1662. doi:10.1016/j.jtho.2021.06.017.
- Chae YK, Oh MS. Detection of minimal residual disease using ctDNA in lung cancer: current evidence and future directions. *J Thorac Oncol*. 2019;14(1):16-24. doi:10.1016/j.jtho.2018.09.022.
- Constância V, Nunes SP, Henrique R, Jerónimo C. DNA methylation-based testing in liquid biopsies as detection and prognostic biomarkers for the four major cancer types. *Cells*. 2020;9(3):624. doi:10.3390/cells9030624.
- Yin H, Hong H, Yin P, et al. Increased levels of N6-methyladenosine in peripheral blood RNA: a perspective diagnostic biomarker and therapeutic target for non-small cell lung cancer. *Clin Chem Lab Med*. 2022;61(3):473-484. doi:10.1515/cclm-2022-1033.
- Kristensen LS, Jakobsen T, Hager H, Kjems J. The emerging roles of circRNAs in cancer and oncology. *Nat Rev Clin Oncol*. 2022;19(3):188-206. doi:10.1038/s41571-021-00585-y.
- Binczyk F, Prazuch W, Bozek P, Polanska J. Radiomics and artificial intelligence in lung cancer screening. *Transl Lung Cancer Res*. 2021;10(2):1186-1199. doi:10.21037/tlcr-20-708.

13. Seijo LM, Peled N, Ajona D, et al. Biomarkers in lung cancer screening: achievements, promises, and challenges. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):343-357. doi:10.1016/j.jtho.2018.11.023.
14. Scheepers MHMC, Al-Difaie Z, Brandts L, et al. Diagnostic performance of electronic noses in cancer diagnoses using exhaled breath: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2022;5(6):e2219372. doi:10.1001/jamanetworkopen.2022.19372.
15. Abbosh C, Birkbak NJ, Swanton C. Early stage NSCLC—challenges to implementing ctDNA-based screening and MRD detection. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(9):577-586. doi:10.1038/s41571-018-0058-3.
16. Shen SY, Singhania R, Fehringer G, et al. Sensitive tumour detection and classification using plasma cell-free DNA methylomes. *Nature*. 2018;563(7732):579-583. doi:10.1038/s41586-018-0703-0.
17. Pedraz-Valdunciel C, Giannoukakos S, Giménez-Capitán A, et al. Multiplex analysis of CircRNAs from plasma extracellular vesicle-enriched samples for the detection of early-stage non-small cell lung cancer. *Pharmaceutics*. 2022;14(10):2034. doi:10.3390/pharmaceutics14102034.
18. Dias R, Torkamani A. Artificial intelligence in clinical and genomic diagnostics. *Genome Med*. 2019;11(1):70. doi:10.1186/s13073-019-0689-8.
19. Lau SCM, Pan Y, Velcheti V, Wong KK. Squamous cell lung cancer: current landscape and future therapeutic options. *Cancer Cell*. 2022;40(11):1279-1293. doi:10.1016/j.ccell.2022.09.018.
20. Hellyer JA, Padda SK, Diehn M, Wakelee HA. Clinical implications of KEAP1-NFE2L2 mutations in NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2021;16(3):395-403. doi:10.1016/j.jtho.2020.11.015.
21. Suzuki J, Tsuboi M, Ishii G. Cancer-associated fibroblasts and the tumor microenvironment in non-small cell lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2022;22(2):169-182. doi:10.1080/14737140.2022.2019018.

信息披露：Ahn 博士没有信息可披露。Bazhenova 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用和资助：ORIC Pharmaceuticals, Turning Point Therapeutics、Neuvogen、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、杨森制药 (Janssen)、默克 (Merck)、万春医药 (BeyondSpring)、再生元制药公司 (Regeneron)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、诺华 (Novartis)、基因泰克 (Genentech)、赛诺菲 (Sanofi)、Novocure、InterVenn Biosciences、Elevation Oncology、拜耳 (Bayer)。Beasley 博士没有信息可披露。Berezowska 博士报告披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助和其他支持：罗氏诊断 (Roche)、巴塞利亚药业 (Basilea Pharmaceutica)、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、礼来 (Eli Lilly)。Bubendorf 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用和资助：阿斯利康 (AstraZeneca)、拜耳 (Bayer)、礼来 (Eli Lilly)、默克 (Merck)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、安进 (Amgen)、武田 (Takeda)、罗氏诊断 (Roche)、诺华 (Novartis)、Systems Oncology、杨森制药 (Janssen)、赛默飞世尔科技 (Thermo Fisher Scientific)。Cappuzzo 博士披露了以下利益冲突：罗氏诊断 (Roche)、阿斯利康 (AstraZeneca)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、辉瑞 (Pfizer)、武田 (Takeda)、礼来 (Lilly)、拜耳 (Bayer)、安进 (Amgen)、赛诺菲 (Sanofi)、PharmaMar、Novocure、Mirati Therapeutics、Galecto、OSE Pharma、默沙东 (MSD) 顾问委员会成员费用或讲座费用。Chang 博士没有相关披露。Chou 博士没有信息可披露。Chung 博士没有信息可披露。Cooper 博士披露其曾加入艾伯维 (AbbVie)、安进 (Amgen)、阿斯利康 (AstraZeneca)、拜耳 (Bayer) 和默克 (Merck) 的顾问委员会，但没有获得任何经济补偿。Dacic 博士披露其在提交的著作范围以外获得了阿斯利康 (AstraZeneca)、基因泰克 (Genentech)、默克 (Merck)、艾伯维 (AbbVie)、杨森制药 (Janssen) 和武田 (Takeda) 提供的个人费用。Dagogo-Jack 博士没有信息可披露。Donington 博士没有相关披露。Drilon 博士披露其在本研究期间获得了美国国立卫生研究院 / 美国国家癌症研究所的资助，在提交的著作范围以外获得了以下机构平台提供的个人费用：Ignitya/ 基因泰克 (Genentech)/ 罗氏诊断 (Roche)、Loxo/ 拜耳 (Bayer)/ 礼来 (Lilly)、武田 (Takeda)/ 阿诺雅德 (Ariad)/ Millenium、Turning Point Therapeutics、阿斯利康 (AstraZeneca)、辉瑞 (Pfizer)、蓝图医药 (Blueprint Medicines)、赫尔森 (Helsinn)、百济神州 (BeiGene)、BerGenBio、Hengrui Therapeutics、伊克力西斯 (Exelixis)、Tyra Biosciences、Verastem、MORE Health、艾伯维 (AbbVie)、14ner Elevation Oncology、Remedica Ltd.、ArcherDx、MonoPTeros Therapeutics、诺华 (Novartis)、默克雪兰诺 (EMD Serono)、Melendi、Liberum、Repare RX、Nuvalent、Merus、Axis Pharma、Chugai Pharmaceutical、EPG Health、Harborside Nexus、RV MORE、Ology、ToucheIME、杨森制药 (Janssen)、安进 (Amgen)、Entos Pharmaceuticals、Treeline Bio、Medscape (个人费用和继续医学教育奖学金)、OncLive、PeerVoice、Physicians Education Resources、Targeted Oncology、Research to Practice、Axis、Peerview Institute、Paradigm Medical Communications、WebMD、MJH Life Sciences、Med Learning、Imedx、Answers in CME、Clinical Care Options、EPG Health、JNCC/Harborside、Liberum、Remedica Ltd.、北京志健金瑞生物医药科技有限公司 (Applied Pharmaceutical Science Inc.)、Prelude、AICME、i3 Health；相关研究受以下企业资助：辉瑞 (Pfizer)、伊克力西斯 (Exelixis)、葛兰素史克 (GlaxoSmithKline)、梯瓦制药 (Teva)、Taiho Oncology、PharmaMar；参与 Foundation Medicine 的研究；威科集团 (Wolters Kluwer) 提供的版税；受以下企业提供的其他支持：默克 (Merck)、彪马生物 (Puma)、Merus、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)。Elkins 女士披露其获得了以下企业提供的个人费用：阿斯利康 (AstraZeneca)、拜耳 (Bayer)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、蓝图医药 (Blueprint Medicines)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、杨森制药 (Janssen)、默克 (Merck)、Mirati Therapeutics。Fong 博士披露其在提交的著作范围以外获得了竞争性研究资金 (Competitive Research Grants) 的资助；担任 UpToDate 和 Cochrane Clinical Answers 审稿人；奥林巴斯为研究目的提供支气管镜借用支持，无需资金；取得 MeVis Veolity 软件许可，用于国际肺部筛查试验 (ILSTI) 的计算机辅助诊断研究。Gainor 博士披露其在提交著作后获得了以下企业提供的个人费用和其他支持：百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、默克 (Merck)、基因泰克 (Genentech)/ 罗氏诊断 (Roche)、阿斯利康 (AstraZeneca)、蓝图医药 (Blueprint Medicines)、Loxo/ 礼来 (Lilly)、Jounce Therapeutics、Mirati Therapeutics、Silverback Therapeutics、赛诺菲 (Sanofi)、GlydeBio、莫德纳 (Moderna)、武田 (Takeda)、再生元制药公司 (Regeneron)、Curie Therapeutics、Merus；直系亲属 (配偶) 是 Ironwood Pharmaceuticals 的员工并持有股权。Gandara 博士没有相关披露。Gill 博士没有相关披露。Gogna 博士披露其在提交的著作范围以外获得了安进 (Amgen) 和 Sirtex Medical 提供的个人费用。Goto 博士披露其在工作范围以外获得了以下企业的资助：阿斯利康 (AstraZeneca)、辉瑞 (Pfizer)、艾伯维 (AbbVie)、礼来 (Eli Lilly)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、小野制药 (ONO)、诺华 (Novartis)、Kyorin、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)；获得了以下企业提供的酬金：礼来 (Lilly)、Chugai Pharmaceutical、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、小野制药 (ONO)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、辉瑞 (Pfizer)、默沙东 (MSD)、诺华 (Novartis)、默克 (Merck)、赛默飞世尔科技 (Thermo Fisher Scientific)；加入以下企业的顾问委员会：阿斯利康 (AstraZeneca)、Chugai Pharmaceutical、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、礼来 (Eli Lilly)、Taiho Oncology、辉瑞 (Pfizer)、诺华 (Novartis)、Guardant Health、因美纳 (Illumina)、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、默沙东 (MSD)。Gray 博士没有相关披露。Han 博士没有信息可披露。Hendriks 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用、资助和其他支持：Benecke、Medtalks、VJ Oncology、阿斯利康 (AstraZeneca)、杨森制药 (Janssen)、安进 (Amgen)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、礼来 (Lilly)、默克 (Merck)、默沙东 (MSD)、诺华 (Novartis)、辉瑞 (Pfizer)、罗氏诊断 (Roche)、武田 (Takeda)、艾伯维 (AbbVie)、蓝图医药 (Blueprint Medicines)、吉利德 (Gilead Sciences)、葛兰素史克 (GlaxoSmithKline)、默克雪兰诺 (Merck Serono)、Mirati Therapeutics。Hesketh 博士没有信息可披露。Hirsch 博士没有相关利益冲突。Hofman 博士没有信息可披露。Hwang 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用和资助：默克 (Merck)、葛兰素史克 (GlaxoSmithKline)、辉瑞 (Pfizer)、阿斯利康 (AstraZeneca)、诺华 (Novartis)、礼来 (Eli Lilly)、罗氏诊断 (Roche)、安进 (Amgen)、默克雪兰诺 (EMD Serono)、拜耳 (Bayer)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)。Itchins 博士披露其在在工作范围之外获得了默克 (Merck) 和罗氏诊断 (Roche) 提供的个人费用；获得了以下企业提供的酬金：辉瑞 (Pfizer)、阿斯利康 (AstraZeneca)、武田 (Takeda)、诺华 (Novartis)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、默沙东 (MSD)、拜耳 (Bayer)；加入了以下企业的顾问委员会：辉瑞 (Pfizer)、武田 (Takeda)、拜耳 (Bayer)、默沙东 (MSD)、安进 (Amgen)、默克 (Merck)、罗氏诊断 (Roche)、百济神州 (BeiGene)。Jain 博士没有信息可披露。Joubert 博士没有信息可披露。Karkouri 博士没有信息可披露。Kerr 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用：默沙东 (MSD)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、罗氏诊断 (Roche)、阿斯利康 (AstraZeneca)。Kim 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用和资助：Alpha Biopharma、安进 (Amgen)、阿斯利康 (AstraZeneca)、BridgeBio、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、Chong Kun Dang、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、葛兰素史克 (GlaxoSmithKline)、Han Mi、杨森制药 (Janssen)、默克 (Merck)、Merus、Mirati Therapeutics、默沙东 (MSD)、诺华 (Novartis)、小野制药 (ONO Pharmaceutical)、辉瑞 (Pfizer)、罗氏诊断 (Roche)、武田 (Takeda)、Turning Point Therapeutics、Xcovery、Yuhan、Innopharma、Lantuejoul 博士披露其获得了以下企业提供的个人费用：艾伯维 (AbbVie)、默沙东 (MSD)、杨森制药 (Janssen)、礼来 (Lilly)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、阿斯利康 (AstraZeneca)、Oncologica。Leighl 博士没有相关披露。Li 博士没有信息可披露。Lin 博士没有信息可披露。J. Lin 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用和其他支持：辉瑞 (Pfizer)、诺华 (Novartis)、Hengrui Therapeutics、Turning Point Therapeutics、Neon Therapeutics、Relay Therapeutics、基因泰克 (Genentech)/ 罗氏诊断 (Roche)、Linnæus Therapeutics、Nuvalent、C4 Therapeutics、Mirati Therapeutics、再生元制药公司 (Regeneron)、蓝图医药 (Blueprint Medicines)。Liu 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用和资助：安进 (Amgen)、阿斯利康 (AstraZeneca)、拜耳 (Bayer)、百济神州 (BeiGene)、蓝图医药 (Blueprint Medicines)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、Catalyst Pharmaceuticals、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、卫材 (Eisai)、Elevation Oncology、基因泰克 (Genentech)/ 罗氏诊断 (Roche)、吉利德 (Gilead Sciences)、Guardant Health、杨森制药 (Janssen)、爵士制药 (Jazz Pharmaceuticals)、礼来 (Lilly)、默克 (Merck)/ 默沙东 (MSD)、诺华 (Novartis)、再生元制药公司 (Regeneron)、赛诺菲 (Sanofi)、武田 (Takeda)、Turning Point Therapeutics、阿尔凯默斯 (Alkermes)、Merus、Nuvalent、辉瑞 (Pfizer)、RAPT、Candel Therapeutics。Lopez-Rios 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助和个人费用：赛默飞世尔科技 (Thermo Fisher Scientific)、罗氏诊断 (Roche)、礼来 (Lilly)、辉瑞 (Pfizer)、武田 (Takeda)、杨森制药 (Janssen)、默沙东 (MSD)、阿斯利康 (AstraZeneca)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、拜耳 (Bayer)。Mezquita 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助、个人费用、非金融支持，以及其他形式的研究资助/资金：百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、安进 (Amgen)、



Stilla、Inivata、阿斯利康 (AstraZeneca)；咨询：罗氏诊断 (Roche) 和武田 (Takeda)；教育活动：百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb) 和武田 (Takeda)；基础医学：杨森制药 (Janssen)；差旅 / 住宿 / 费用：罗氏诊断 (Roche)、武田 (Takeda)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、杨森制药 (Janssen)、Mino-Kenudson 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用：阿斯利康 (AstraZeneca)、赛诺菲 (Sanofi)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、杨森制药 (Janssen)、爱思唯尔 (Elsevier)。Nicholson 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下机构平台提供的个人费用和资助：默克 (Merck)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、辉瑞 (Pfizer)、诺华 (Novartis)、阿斯利康 (AstraZeneca)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、罗氏诊断 (Roche)、艾伯维 (AbbVie)、Oncoligica、UpToDate、欧洲肿瘤内科学会、Liberum、Takeda UK、赛诺菲 (Sanofi)。Ou 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用和其他支持：Turning Point Therapeutics、Elevation Oncology、辉瑞 (Pfizer)、强生 (Johnson & Johnson) / 杨森制药 (Janssen)、礼来 (Lilly)、百济神州 (BeiGene)、Papotti 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用：礼来 (Eli Lilly)、罗氏诊断 (Roche)、阿斯利康 (AstraZeneca)、辉瑞 (Pfizer)。Planchard 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用：阿斯利康 (AstraZeneca)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、新基 (Celgene)、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、礼来 (Eli Lilly)、默克 (Merck)、诺华 (Novartis)、辉瑞 (Pfizer)、prIME Oncology、Peer CME、罗氏诊断 (Roche)、三星 (Samsung)、艾伯维 (AbbVie)、杨森制药 (Janssen)、葛兰素史克 (GlaxoSmithKline)；参与以下企业的临床研究 (作为主要研究者或合作研究者)：阿斯利康 (AstraZeneca)、艾伯维 (AbbVie)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、葛兰素史克 (GlaxoSmithKline)、礼来 (Eli Lilly)、默克 (Merck)、诺华 (Novartis)、辉瑞 (Pfizer)、罗氏诊断 (Roche)、MedImmune、赛诺菲·安万特 (Sanofi-Aventis)、Taiho Oncology、Novocure、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、杨森制药 (Janssen)。Raez 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助：百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、阿斯利康 (AstraZeneca)、基因泰克 (Genentech)、默克 (Merck)、安进 (Amgen)、Guardant Health、Natera、NantHealth。Rekhtman 博士没有相关披露。Remon 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用和其他支持：默沙东 (MSD)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、辉瑞 (Pfizer)、OSE Immunotherapeutics、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、阿斯利康 (AstraZeneca)、罗氏诊断 (Roche)、武田 (Takeda)、杨森制药 (Janssen)。Roden 博士披露其在提交的著作范围以外获得了 UpToDate 和病理学学习中心 (Pathology Learning Center) 提供的个人费用。Rolfo 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下机构平台提供的个人费用：勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、LUNGEvity、安进 (Amgen)、MedSTAR、杨森制药科学事务部 (Janssen Scientific Affairs)、MH UVE EVENTS、Guardant Health、Diverse Hub、再生元制药公司 (Regeneron)、通用动力信息技术公司 (General Dynamics Information Technology, GDIT)、拜耳 (Bayer)、默克雪兰诺 (EMD Serono)、阿斯利康 (AstraZeneca)、CEA、罗氏诊断 (Roche)、COR2ED、BostonGene、赛诺菲健赞 (Sanofi-Genzyme)、Intellisphere、Physicians Education Resource、第一三共株式会社欧洲子公司 (Daiichi Sankyo Europe GmbH)、OncLive、Mirati Therapeutics、卫材 (Eisai)、Boston Pharmaceuticals、诺华 (Novartis)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、livanta、ArcherDx。Rotow 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用和资助：阿斯利康 (AstraZeneca)、辉瑞 (Pfizer)、艾伯维 (AbbVie)、Gristone Oncology、礼来 (Eli Lilly)、武田 (Takeda)、赛诺菲健赞 (Sanofi-Genzyme)、基因泰克 (Genentech)、Guardant Health、杨森制药 (Janssen)、BioAtla、RedCloud、蓝图医药 (Blueprint Medicines)、双环肽平台技术公司 (Bicycle Therapeutics)。Schalper 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助：Navigate Biopharma、Tesaro/葛兰素史克 (GlaxoSmithKline)、莫德纳公司 (Moderna Inc.)、武田 (Takeda)、Surface Oncology、皮尔法伯 (Pierre-Fabre Research Institute)、默克 (Merck)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、阿斯利康 (AstraZeneca)、Ribon Therapeutics、礼来 (Eli Lilly)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、罗氏诊断 (Roche)、Akoya Biosciences；获得以下机构平台提供的个人费用：Clínica Alemana Santiago、沙塔克实验室 (Shattuck Labs)、阿斯利康 (AstraZeneca)、默克雪兰诺 (EMD Serono)、武田 (Takeda)、Torque/Repertoire Therapeutics、Agenus、Genmab、昂阔医药 (OnCusp)、Parthenon Therapeutics、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、罗氏诊断 (Roche)、CDR-Life、Sensei Therapeutics、Molecular Templates、默克 (Merck)；获得以下机构平台联合提供的个人费用：武田 (Takeda)、Fluidigm、默克 (Merck)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、PeerView、Forefront。Sequist 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助和个人费用：阿斯利康 (AstraZeneca)、基因泰克 (Genentech)、诺华 (Novartis)、Delfi Diagnostics、杨森制药 (Janssen)、杨森制药 (Janssen)、辉瑞 (Pfizer)。Shilo 女士没有信息可披露。Sholl 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助、个人费用和其他支持：基因泰克 (Genentech)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、阿斯利康 (AstraZeneca)、礼来 (Lilly)、GV20 Therapeutics。Skanderup 博士没有信息可披露。Solomon 博士没有信息可披露。Stone 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的酬金：阿斯利康 (AstraZeneca)、默沙东 (MSD)、Limbic、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)；获得阿斯利康 (AstraZeneca) 和 Pinnacle Healthcare 提供的个人费用。Tan 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助和个人费用：诺华 (Novartis)、拜耳 (Bayer)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、阿斯利康 (AstraZeneca)、礼来 (Eli Lilly)、Loxo、默克 (Merck)、辉瑞 (Pfizer)、罗氏诊断 (Roche)、武田 (Takeda)、葛兰素史克 (GlaxoSmithKline)、Merrimack。Thunnissen 博士没有信息可披露。Tsoo 博士没有信息可披露。Van Schil 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助和个人费用：百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、默沙东 (MSD)、阿斯利康 (AstraZeneca)、杨森制药 (Janssen)、罗氏诊断 (Roche)；国际肺癌研究协会 (IASLC) 候任主席和比利时心胸外科协会 (BACTS) 财务主管。Wakelee 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用、资助和非金融支持：阿斯利康 (AstraZeneca)、蓝图医药 (Blueprint Medicines)、Mirati Therapeutics、基因泰克 (Genentech)/ 罗氏诊断 (Roche)、默克 (Merck)、艾森生物 (ACEA Biosciences)、Arrys Therapeutics、阿斯利康 (AstraZeneca)/MedImmune、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、Clovis Oncology、诺华 (Novartis)、Seagen、Xcovery、赫尔森 (Helsinn)。Wistuba 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助和个人费用：基因泰克 (Genentech)/ 罗氏诊断 (Roche)、拜耳 (Bayer)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、阿斯利康 (AstraZeneca)、辉瑞 (Pfizer)、HTG Molecular Diagnostics、Asuragen、默克 (Merck)、葛兰素史克 (GlaxoSmithKline)、Guardant Health、Flame Biosciences、诺华 (Novartis)、赛诺菲 (Sanofi)、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、安进 (Amgen)、Oncocyte、默沙东 (MSD)、Platform Health、Adaptive Biotechnologies、Adaptimmune、默克雪兰诺 (EMD Serono)、武田 (Takeda)、Karus、强生 (Johnson & Johnson)、4D Pharma、Iovance、Akoya Biosciences、杨森制药 (Janssen)、再生元制药公司 (Regeneron)、Merus。Wu 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助、个人费用和其他支持：阿斯利康 (AstraZeneca)、百济神州 (BeiGene)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、Hengrui Therapeutics、罗氏诊断 (Roche)、诺华 (Novartis)、武田 (Takeda)、礼来 (Eli Lilly)、默沙东 (MSD)、辉瑞 (Pfizer)、赛诺菲 (Sanofi)。J. Yang 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的个人费用和其他支持：安进 (Amgen)、阿斯利康 (AstraZeneca)、拜耳 (Bayer)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、百时美施贵宝 (Bristol Myers Squibb)、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、礼来 (Eli Lilly)、德国默克 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany)、默沙东 (Merck Sharp & Dohme)、诺华 (Novartis)、小野制药 (ONO Pharmaceutical)、辉瑞 (Pfizer)、基因泰克 (Genentech)/ 罗氏诊断 (Roche)、武田 (Takeda Oncology)、Yuhan Pharmaceuticals、强生 (Johnson & Johnson)、Puma Technology、吉利德 (Gilead Sciences)、葛兰素史克 (GlaxoSmithKline)。S-R. Yang 博士披露其在提交的著作范围以外获得了 PRIME Education, LLC 提供的个人费用；与以下企业就相关研究签订合同：ArcherDx、Chugai Pharmaceutical、赛默飞世尔科技 (Thermo Fisher Scientific)、NEC、柯尼卡美能达 (Konica Minolta)；加入艾伯维 (AbbVie) 的顾问委员会并获得酬金；为以下企业做讲座并获得酬金：拜耳 (Bayer)、礼来 (Eli Lilly)、辉瑞 (Pfizer)、安捷伦 Dako (Agilent Dako)、ArcherDx、希森美康 (Sysmex)、勃林格殷格翰 (Boehringer Ingelheim)、Yansen-Pharma、罗氏诊断 (Roche)/Ventana；加入以下企业的顾问委员会，为其做讲座，并获得酬金：安进 (Amgen)、小野制药 (ONO Pharmaceutical)、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、默克制药 (Merck biopharma)、默沙东 (MSD)、诺华 (Novartis)、阿斯利康 (AstraZeneca)、Chugai Pharmaceutical、赛默飞世尔科技 (Thermo Fisher Scientific)、武田 (Takeda)。Yu 博士披露其在提交的著作范围以外获得了以下企业提供的资助和个人费用：阿斯利康 (AstraZeneca)、第一三共株式会社 (Daiichi Sankyo)、Cullinan Oncology、诺华 (Novartis)、Black Diamond、蓝图医药 (Blueprint Medicines)、杨森制药 (Janssen)、辉瑞 (Pfizer)、Erasca、Taiho Oncology、艾伯维 (AbbVie)。