

中国肺癌的驱动基因研究进展

钱晓燕, 石远凯, 韩晓红

中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院肿瘤研究所内科; 抗肿瘤分子靶向药物临床研究北京市重点实验室, 北京 100021

摘要 肺癌是中国发病率及死亡率最高的恶性肿瘤。肿瘤细胞在驱动基因的作用下持续生长, 并对该驱动基因的抑制剂具有高敏感性。近年来, 针对驱动基因的检测技术不断发展, 相应的驱动基因靶向药物也层出不穷。本文主要从中国肺癌的驱动基因、驱动基因的检测及针对驱动基因的靶向治疗3个方面进行综述, 并展望中国肺癌驱动基因的应用前景。

关键词 肺癌; 驱动基因; 靶向治疗

中图分类号 R734.2

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.26.005

Recent Advances in the Study of Driver Genes for Chinese Lung Cancer

QIAN Xiaoyan, SHI Yuankai, HAN Xiaohong

Department of Medical Oncology, Beijing Key Laboratory of Clinical Study on Anticancer Molecular Targeted Drugs, Cancer Institute & Hospital, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China

Abstract Lung cancer is the leading morbidity and mortality malignant tumor in China. Cancer cells keep growing under the action of driver genes and are sensitive to driver gene inhibitors. Recent years have witnessed continuous developments of driver gene detection technology and driver gene-targeted drugs. This review focus on the driver genes in lung cancer, detection of driver genes and targeted therapy of driver genes, giving a glimpse of the application prospect of driver genes for Chinese patients with lung cancer.

Keywords lung cancer; driver genes; targeted therapy

目前, 肺癌是中国发病率及死亡率最高的恶性肿瘤。2014年发布的中国肿瘤发病率和死亡率的统计数据显示, 2010年肺癌发病率为46.08/10万, 占有恶性肿瘤的19.59%; 死亡率为37/10万, 占有恶性肿瘤的24.87%^[1]。根据生物学特性, 肺癌可分为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC), 前者占肺癌发病的15%~25%, 后者占肺癌发病的80%~85%。其中非小细胞肺癌又可分为腺癌、鳞癌和大细胞癌。

驱动癌基因(driver oncogenes)概念于2002年由Weinstein首先提出, 他指出肿瘤细胞的生成及维持其恶性生物学表型依赖于某个或某些活化癌基因, 也称为癌基因成瘾或癌基因依赖(oncogene addiction)^[2]。驱动癌基因编码的蛋白通常在细胞内复杂的信号调控网络中发挥重要的作用。与正常细

胞相比, 癌细胞内驱动基因编码的蛋白异常表达, 信号传导模式发生了显著的变化, 导致细胞持续生长、浸润和转移。研究表明, 驱动癌基因的失活可导致癌细胞凋亡, 即癌细胞对驱动基因的抑制剂具有高敏感性^[3]。驱动癌基因的发现为肿瘤的分子靶向治疗提供了有力的理论依据。目前针对肺癌驱动癌基因的靶向治疗已成为除手术、放疗及化疗外重要的治疗手段。本文从肺癌的主要驱动基因、驱动基因的检测及针对驱动基因的靶向治疗3个方面进行综述。

1 肺癌驱动基因

1.1 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)

EGFR是一种酪氨酸激酶受体, 分为细胞外配体结合区、

收稿日期: 2014-08-12; 修回日期: 2014-08-18

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2011AA02A110); 国家重大新药创制科技重大专项(2012ZX09303012); 国家自然科学基金项目(81372384); 北京市自然科学基金项目(7141010), 北京市科委重大项目(D141100000214003)

作者简介: 钱晓燕, 硕士研究生, 研究方向为肿瘤分子标志物, 电子信箱: qianxiaoyan2012@163.com; 韩晓红(通信作者), 研究员, 研究方向为抗肿瘤药物疗效评价及预后相关的分子标志物, 电子信箱: hanxh@cicams.ac.cn; xiaohonghan@hotmail.com

引用格式: 钱晓燕, 石远凯, 韩晓红. 中国肺癌的驱动基因研究进展[J]. 科技导报, 2014, 32(26): 42-46.

跨膜区和细胞内酪氨酸激酶活性区,其与胞外配体特异性结合后,形成二聚体,使酪氨酸激酶区活化,引发下游的RAS-RAF-MEK-ERK-MAPK、PI3K-AKT等信号通路,促进细胞生长和分化^[4,5]。EGFR突变主要集中在18~21号外显子上,其中外显子19 Del与外显子21 L858R突变约占突变的90%,又称热点突变或经典突变^[6]。外显子18 G719X、外显子19 Del及外显子21 L858R、L861Q为EGFR酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKI)的敏感性突变,而外显子20 T790M、S768I及插入突变与EGFR-TKI获得性耐药有关^[7]。EGFR基因突变存在显著的种族差异。在西方人群中,仅有17%的晚期肺癌患者EGFR突变阳性^[8]。亚洲大型临床研究PIONEER结果^[9]显示,在未经选择的741例中国大陆晚期肺癌患者中,EGFR突变率高达50.2%,其中女性、不吸烟患者EGFR突变率更高。

1.2 间变淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)

ALK基因定位于2号染色体短臂,可编码胰岛素受体超家族中的一个1620个氨基酸的受体酪氨酸激酶。2007年Soda等^[9]首次报道了NSCLC中染色体2p的倒位,造成棘皮动物微管相关蛋白4(echinoderm microtubule associated protein like 4, EML4)编码蛋白N-末端部分与ALK细胞内酪氨酸激酶区形成融合基因EML4-ALK,从而导致酪氨酸激酶异常表达,进而引起细胞的恶性转化。目前已发现的ALK融合方式有10余种,EML4-ALK是最重要的融合形式,其余KIF5B-ALK等融合形式所占比较低。国内研究报道,中国NSCLC患者ALK的阳性率为3%~11%,年轻、不吸烟或少吸烟的肺癌患者ALK融合基因表达率较高^[11-13]。Mitsudomi等^[14]的研究显示,若患者EGFR、鼠Kitten肉瘤病毒致癌基因同源物(v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog, KRAS)、人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 4r-2, HER2)和TP53基因突变均阴性的情况下,ALK融合的阳性率可达25%。另外有研究表明,在印戒细胞癌中,ALK的发生率可达42%,大部分存在ALK融合基因的NSCLC均为含黏液成分的腺癌^[15]。

1.3 c-ros原癌基因1受体酪氨酸激酶(c-ros oncogene 1, receptor tyrosine kinase, ROS1)

ROS1是胰岛素受体家族成员之一,位于6号染色体q12区,编码具有酪氨酸激酶活性的嵌合蛋白。2007年Rikova等^[16]首次在41株细胞株中检测到其中1株细胞存在SLC34A2-ROS1融合,还在150例肺癌组织中检测到1例存在CD74-ROS1融合。到目前为止,在肺癌及其细胞株中已发现9种不同的ROS1融合基因。ROS1基因重排与ALK基因重排具有相似的临床病理特征,研究发现年轻者较年长者的ROS1融合基因阳性率高;不吸烟者较吸烟者的阳性率高;女性比男性阳性率高^[17]。Li等^[18]采用逆转录聚合酶链反应(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测202例中国非吸烟肺癌患者ROS1融合基因,阳性率为1%,EGFR、KRAS、HER2、ALK四阴性患者中ROS1阳性率为8.3%。Cai等^[19]采用RT-PCR筛选了392例中国人NSCLC患者的FF-

PE标本,发现ROS1基因重排率为2.0%(8/392),同时对8例ROS1重排阳性者进行了临床病例分析,发现ROS1重排阳性的患者较ROS1重排阴性的患者预后差。

1.4 KRAS

KRAS是EGFR下游RAS-RAF-MEK-ERK-MAPK通路的一个因子,KRAS基因突变主要集中在12、13和61密码子,其中90%的突变发生在12密码子。欧美国家肺癌患者中KRAS突变频率约为25%,中国肺癌人群中KRAS基因突变率较低,约为2%~10%^[20,21]。KRAS基因突变者是EGFR-TKI原发性耐药的原因之一,但并不影响化疗的疗效^[22]。Mitsudomi等^[23]的研究显示,KRAS突变是肺癌患者独立的预后因素,突变患者的预后较KRAS野生型差。

1.5 鼠类肉瘤病毒癌基因同源物B1(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF)

位于染色体7q34的BRAF基因编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是RAF家族成员之一,也是EGFR下游RAS-RAF-MEK-ERK-MAPK通路的一个因子,位于KRAS下游。BRAF突变最常见的类型为V600E突变。BRAF突变常见于黑色素瘤患者,在肺癌中发生率较低,腺癌和鳞癌中相当,约为2%~3%^[24]。

1.6 MET基因受体酪氨酸激酶(MET proto-oncogene, receptor tyrosine kinase, MET)

原癌基因MET具有酪氨酸激酶活性,编码肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)受体。MET编码的酪氨酸激酶受体与HGF结合后发生自身磷酸化,激活PI3K/AKT及MET/ERK等信号通路,促进肿瘤细胞的生长、侵袭和转移^[25]。Ma等^[26]通过对肺癌组织进行免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检测发现,67%的腺癌和57%的鳞癌存在c-MET蛋白的过度表达。大量研究^[27,28]证实,c-MET扩增是EGFR-TKI获得性耐药的原因之一。Bean等^[28]通过高通量基因组扫描在20.9%的EGFR-TKI耐药患者中检测到c-Met基因扩增,而在未接受EGFR-TKI治疗的NSCLC患者仅有3.2%存在c-Met基因扩增($P=0.007$)。

1.7 成纤维生长因子受体1(fibroblast growth factor receptor 1, FGFR1)

FGFR1是一种酪氨酸跨膜激酶受体,为FGFR家族成员(包括FGFR1、FGFR2、FGFR3和FGFR4)之一。2010年Weiss等^[29]首次发现染色体8p12片段存在FGFR1扩增,并在155例肺鳞癌标本中检测FGFR1扩增率为22%,同时发现FGFR1扩增在肺鳞癌和肺腺癌之间有显著差异($P=0.03$)。Zhang等^[30]在中国NSCLC标本中检测FGFR1扩增率,肺鳞癌中为12.5%(6/48),肺腺癌中为7%(5/76)。Peifer等^[31]通过对99例SCLC进行检测发现FGFR1扩增率为6%。

1.8 10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)

PTEN基因定位于人类染色体10q23.3,全长200 kb。作为第1个被发现的具有脂质磷酸酶和蛋白磷酸酶活性的双特

异性抑癌基因, PTEN在细胞的生长发育、凋亡、迁移、信号传递等方面起着重要的调控作用^[32]。PTEN失活可导致PI3K/AKT信号传导通路异常高表达, 从而促进癌症的发生。PTEN基因失活可表现为突变、缺失、甲基化、PTEN mRNA或蛋白低表达、失表达、甚至不表达等。Yokomizo等^[33]发现18%的SCLC细胞株和10%的原发SCLC有PTEN基因的突变和缺失。张红蕊等^[34]研究发现, PTEN蛋白表达与NSCLC TNM分期相关, 在I期~II期比III期~IV期阳性表达率明显增高($P < 0.05$)。PTEN有可能成为判断肺癌分化程度及患者预后的指标。

1.9 磷酸肌醇3激酶催化亚基 α 异构体(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha, PI3KCA)

PI3KCA基因编码PI3K的催化亚单位p110 α , 最常见的突变和扩增区域集中在外显子9和20。Xu等^[35]采用SurePlex[®]-xTAG70plex平台对未经筛选的861例中国NSCLC患者进行检测, PI3KCA突变率为3.7%, 鳞癌较腺癌常见。PI3KCA基因的扩增远较突变常见, 鳞癌可达33.1%, 腺癌为6.2%, 小细胞癌为4.7%^[36]。

1.10 盘状结构域受体2(discoidin domain receptor 2, DDR2)

DDR2基因位于1q23.3, 编码一种调节肿瘤细胞黏附、增殖和迁移的受体酪氨酸激酶。DDR2基因突变在肺鳞癌中较常见。西方人群中肺鳞癌患者DDR2基因突变频率约为3.8%^[37]。Miao等^[38]采用直接测序法检测86例中国肺鳞癌标本DDR2的突变率为4.6%(4/86)。

1.11 其他

其他的驱动癌基因尚有HER2突变、血小板源性生长因子受体 α 多肽(platelet-derived growth factor receptor alpha, PDGFRA)扩增、 β 连环蛋白(catenin (cadherin-associated protein), beta 1, CTNNB1)突变、RET(ret proto-oncogene)融合等。

2 肺癌驱动基因的检测方法

驱动基因检测平台的规范化及检测流程的标准化对明确肺癌患者的靶向治疗优势人群具有重要的指导意义。

对EGFR、KRAS等基因突变的检测方法有很多, 包括直接测序法、扩增阻遏突变系统(amplification refractory mutation system, ARMS)、聚合酶链式反应-单链构象多态性分析、高分辨率溶解度曲线法、变性高效液相色谱法、质谱法等, 目前临床最常用的是直接测序法和ARMS两种方法。直接测序法可同时检测已知和未知突变类型, 但操作复杂、检测流程长且敏感度只有20%~25%。ARMS法操作简单、快速且灵敏度高, 目前已有多种市售基因突变检测试剂盒, 但这类试剂盒只能检测已知突变类型。对于EGFR基因突变, 中国已制定了相应的诊疗规范:《中国非小细胞肺癌患者表皮生长因子受体基因突变检测专家共识》^[39]和《中国表皮生长因子受体基因突变和间变淋巴瘤激酶融合基因阳性非小细胞肺癌诊

断治疗指南(2014版)》^[40], 推荐使用直接测序法和ARMS法对病理诊断为肺腺癌、含有腺癌成分、具有腺癌分化的NSCLC患者以及小活检标本诊断的或不吸烟的鳞癌患者进行EGFR基因检测。

对ALK、ROS1等基因融合的检测主要有荧光原位杂交(Fluorescence In Situ Hybridization, FISH)、IHC、和RT-PCR等。其中, FISH是融合基因检测的经典方法, 美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已批准FISH用于ALK融合基因的检测。Ventana ALK IHC(D5F3)技术是在常规IHC基础上开发的一种高效、经济的检测技术, 与FISH检测结果具有较高的一致性, 已被国家食品药品监督管理总局(China Food and Drug Administration, CFDA)批准用于ALK融合基因的检测。RT-PCR敏感性高, 并能明确具体的融合基因类型, 但对标本的质量要求较高且在检测未知融合基因类型上存在缺陷。《中国表皮生长因子受体基因突变和间变淋巴瘤激酶融合基因阳性非小细胞肺癌诊断治疗指南(2014版)》^[40]推荐使用分离探针标记的FISH技术、经权威机构批准的RT-PCR及IHC技术平台用于检测ALK融合基因, 其他IHC检测平台可成为ALK融合基因的初筛手段, 建议以FISH或RT-PCR方法进行确认。

对FGFR1等基因扩增的检测主要有IHC、FISH、比色原位杂交(chromogenic in situ hybridization, CISH)等。

近年来高通量二代测序技术发展迅速, 其具有更高通量、更为快速、更为准确、使用的DNA样本量更少等优点。以Ion Torrent为例, 1次可同时检测50个基因, 13500多个位点; 24 h之内可完成6~8轮实验, 达Sanger测序方法每天测序通量的数千倍以上; 敏感度为5%, 通过对H⁺的检测, 明显改善碱基判读准确性; 50个基因的检测仅需10 ngDNA样本(Qubit定量)即可完成。Marchetti等^[41]分别使用二代测序技术和传统Sanger测序对116例NSCLC的DNA样本进行检测, 二者均显示共有106例标本EGFR外显子19缺失, 但其中有6例标本的缺失起点或终点未被Sanger测序检测出且无法合理解读, 有7例标本缺失的序列Sanger测序定义困难但可被二代测序定义。Liu等^[42]通过使用高通量二代测序技术对31例NSCLC患者肿瘤组织和相匹配的正常组织样本检测, 共发现52个明显的突变基因, 包括先前已知的肺癌相关基因, 如TP53、KRAS、EGFR等, 以及一些新的突变基因如CSMD3、LRRC7、SLC7A13等, 并通过一系列体内外功能验证实验, 认为新基因CSMD3突变在肺癌的发生发展中具有重要的作用。

3 针对肺癌驱动基因的靶向治疗

近年来, 与肿瘤发生、发展相关的驱动基因的靶向药物, 成为肺癌的研究热点。以驱动基因为治疗靶点, 可以特异性地杀伤肿瘤细胞, 而不损伤正常细胞。

EGFR-TKIs是肺癌靶向治疗中研究最多、证据最充分的分子靶向治疗药物, 已成功应用于晚期肺腺癌治疗的各个阶段。目前, 中国已批准上市的EGFR-TKIs主要有3种: 吉非

替尼(Gefitinib)、厄洛替尼(Erlotinib)和埃克替尼(Icotinib)。其中,埃克替尼是中国具有完全自主知识产权的小分子靶向抗癌创新药,是继吉非替尼和厄洛替尼之后全球上市的第3个EGFR-TKI类药物。ICOGEN试验^[43]是将埃克替尼和吉非替尼进行头对头比较的随机、双盲、平行对照的大型III期临床试验,结果显示,埃克替尼组患者的疗效与吉非替尼组相当——无进展生存期(progress free survival, PFS)(4.6个月 vs 3.4个月, $P=0.13$)、总生存(overall survival, OS)(14个月 vs 15.6个月, $P=0.79$),毒性反应更少。

克唑替尼(Crizotinib)为MET/ALK双重抑制剂,能够明显延长ALK阳性患者的总生存期。2012年欧洲内科肿瘤年会(European society for medical oncology, ESMO)及2014年美国国家综合癌症网(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南均推荐,ALK融合基因检测阳性的晚期NSCLC患者可接受克唑替尼治疗。目前,克唑替尼已在全球包括中国在内的多个国家和地区获批上市。2014年4月29日,另一个ALK激酶抑制剂Ceritinib(LDK378)被FDA誉为“突破性疗法”,获批用于ALK阳性、经克唑替尼治疗无效或不能耐受的转移性NSCLC患者的治疗。

研究证实,ROS1基因重排的NSCLC患者对克唑替尼同样有效。在已完成的I期临床研究中,13例ROS1基因重排的NSCLC患者接受克唑替尼治疗的总有效率可达54%(7/13)^[44]。

BRAF激酶抑制剂Dabrafenib已于2013年5月被FDA批准用于BRAF V600E突变的晚期黑色素瘤患者的治疗,研究表明其在肺癌中同样有效。2013年ASCO汇报了NSCLC中Dabrafenib的II期临床研究中,20例BRAF V600E突变阳性的NSCLC患者接受Dabrafenib的有效率为40%^[45]。

此外,尚有许多针对肺癌驱动基因的新型靶向药物处在临床研究中:EGFR突变(PF299804、Afatinib(BIBW2992))、ALK融合(AP26113、AF802)、FGFR1扩增(FP1039(HGS1036)、BGJ398、Ponatinib(AP24534))、DDR2突变(Dasatinib)、PI3KCA突变(BKM120、PX-866、GDC-0941、SAR245408)等。

4 展望

随着肺癌驱动基因研究的不断深入,人们对肺癌的发生、发展有了更深入的认识。但目前仍有相当多的驱动基因未被发现,被发现的驱动基因尚有部分机制未明。研究发现,80%的中国晚期肺腺癌患者具有明确的肺癌驱动基因,并且97%的驱动基因具有排他性。因此,单靶点的检测手段已不能满足临床需要,需要将敏感性好、特异度高并且稳定的能同时检测基因突变、融合、扩增等的新平台逐步应用于临床。目前,鳞癌虽有部分驱动基因已明确,但相应的分子靶向药物尚未上市,小细胞肺癌中有效的靶点尚未找到,靶向治疗面临巨大的挑战。此外,部分肺腺癌患者接受靶向药物治疗后会出现耐药问题,具体的耐药机制尚未完全明确,耐药后标本的再获取亦存在困难,耐药后的治疗方案也不十分理想。但相信随着技术的不断进步以及转化研究的不断深

入,这些问题会迎刃而解,肺癌的诊断及治疗将真正进入基因靶向时代。

参考文献(References)

- [1] Chen W, Zheng R, Zhang S, et al. Annual report on status of cancer in China, 2010[J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2014, 26(1): 48-58.
- [2] Weinstein I B. Addiction to oncogenes—the Achilles heel of cancer[J]. Science, 2002, 297(5578): 63-64.
- [3] Sharma S V, Gajowniczek P, Way I P, et al. A common signaling cascade may underlie "addiction" to the Src, BCR-ABL, and EGF receptor oncogenes[J]. Cancer Cell, 2006, 10(5): 425-435.
- [4] Imer D, Funk J O, Blaukat A. EGFR kinase domain mutations—functional impact and relevance for lung cancer therapy[J]. Oncogene, 2007, 26(39): 5693-5701.
- [5] Dutta P R, Maity A. Cellular responses to EGFR inhibitors and their relevance to cancer therapy[J]. Cancer Letters, 2007, 254(2): 165-177.
- [6] Chan S K, Gullick W J, Hill M E. Mutations of the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer—search and destroy[J]. European Journal of Cancer, 2006, 42(1): 17-23.
- [7] Yatabe Y. EGFR mutations and the terminal respiratory unit[J]. Cancer and Metastasis Reviews, 2010, 29(1): 23-36.
- [8] Kris M G, Johnson B E, Kwiatkowski D J, et al. Identification of driver mutations in tumor specimens from 1000 patients with lung adenocarcinoma: The NCI's Lung Cancer Mutation Consortium (LCMC)[J]. Journal of Clinical Oncology, 2011, 29(S18): CRA7506.
- [9] Shi Y, Au J S K, Thongprasert S, et al. A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of Adenocarcinoma Histology (PIONEER)[J]. Journal of Thoracic Oncology, 2014, 9(2): 154-162.
- [10] Soda M, Choi Y L, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer[J]. Nature, 2007, 448(7153): 561-566.
- [11] Wong D W S, Leung E L H, So K K T, et al. The EML4-ALK fusion gene is involved in various histologic types of lung cancers from non-smokers with wild-type EGFR and KRAS[J]. Cancer, 2009, 115(8): 1723-1733.
- [12] Zhang X, Zhang S, Yang X, et al. Fusion of EML4 and ALK is associated with development of lung adenocarcinomas lacking EGFR and KRAS mutations and is correlated with ALK expression[J]. Molecular Cancer, 2010, 9(1): 188-199.
- [13] Li H, Pan Y, Li Y, et al. Frequency of well-identified oncogenic driver mutations in lung adenocarcinoma of smokers varies with histological subtypes and graduated smoking dose[J]. Lung Cancer, 2013, 79(1): 8-13.
- [14] Mitsudomi T, Suda K, Tomizawa K, et al. Clinico-pathologic features of lung cancer with EML4-ALK translocation[C]//ASCO Annual Meeting Proceedings. 2010, 28(S15): 10598.
- [15] Rodig S J, Mino-Kenudson M, Dacic S, et al. Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the western population[J]. Clinical Cancer Research, 2009, 15(16): 5216-5223.
- [16] Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer[J]. Cell, 2007, 131(6): 1190-1203.
- [17] Bergethon K, Shaw A T, Ou S H I, et al. ROS1 rearrangements define

- a unique molecular class of lung cancers[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2012, 30(8): 863-870.
- [18] Li C, Fang R, Sun Y, et al. Spectrum of oncogenic driver mutations in lung adenocarcinomas from East Asian never smokers[J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e28204.
- [19] Cai W, Li X, Su C, et al. ROS1 fusions in Chinese patients with non-small-cell lung cancer[J]. *Annals of Oncology*, 2013, 24(7): 1822-1827.
- [20] Gao B, Sun Y, Zhang J, et al. Spectrum of LKB1, EGFR, and KRAS mutations in Chinese lung adenocarcinomas[J]. *Journal of Thoracic Oncology: Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 2010, 5(8): 1130.
- [21] 邱田, 凌云, 陈钊, 等. 荧光 PCR-优化寡核苷酸探针法与 Sanger 测序法检测肺癌, 结直肠癌患者 KRAS 基因突变的对比分析[J]. *中华病理学杂志*, 2012, 41(9): 599-602.
- Qiu Tian, Ling Yun, Chen Zhao, et al. Comparison of real-time PCR-optimized oligonucleotide probe method and Sanger sequencing for detection of KRAS mutations in colorectal and lung carcinomas[J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2012, 41(9): 599-602.
- [22] Eberhard D A, Johnson B E, Amler L C, et al. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2005, 23(25): 5900-5909.
- [23] Mitsudomi T, Steinberg S M, Oie H K, et al. Ras gene mutations in non-small cell lung cancers are associated with shortened survival irrespective of treatment intent[J]. *Cancer Research*, 1991, 51(18): 4999-5002.
- [24] Davies H, Bignell G R, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer[J]. *Nature*, 2002, 417(6892): 949-954.
- [25] Paumelle R, Tulasne D, Kherouche Z, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor activates the ETS1 transcription factor by a RAS-RAF-MEK-ERK signaling pathway[J]. *Oncogene*, 2002, 21(15): 2309-2319.
- [26] Ma P C, 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[J]. *Cancer Research*, 2005, 65(4): 1479-1488.
- [27] Engelman J A, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling[J]. *Science*, 2007, 316(5827): 1039-1043.
- [28] Bean J, Brennan C, Shih J Y, et al. MET amplification occurs with or without T790M mutations in EGFR mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib or erlotinib[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(52): 20932-20937.
- [29] Weiss J, Sos M L, Seidel D, et al. Frequent and focal FGFR1 amplification associates with therapeutically tractable FGFR1 dependency in squamous cell lung cancer[J]. *Science Translational Medicine*, 2010, 2(62): 62ra93-62ra93.
- [30] Zhang J, Zhang L, Su X, et al. Translating the therapeutic potential of AZD4547 in FGFR1-amplified non-small cell lung cancer through the use of patient-derived tumor xenograft models[J]. *Clinical Cancer Research*, 2012, 18(24): 6658-6667.
- [31] Peifer M, Fernández-Cuesta L, Sos M L, et al. Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small-cell lung cancer[J]. *Nature Genetics*, 2012, 44(10): 1104-1110.
- [32] Steck P A, Pershouse M A, Jasser S A, et al. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23. 3 that is mutated in multiple advanced cancers[J]. *Nature Genetics*, 1997, 15(4): 356-362.
- [33] Yokomizo A, Tindall D J, Drabkin H, et al. PTEN/MMAC1 mutations identified in small cell, but not in non-small cell lung cancers[J]. *Oncogene*, 1998, 17(4): 475-479.
- [34] 张红蕊, 王晓红, 白淑平. PTEN 和 MDM2 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(6): 1128-1131.
- Zhang Hongrui, Wang Xiaohong, Bai Shuping. The expression and clinical significance of PTEN and MDM2 in non-small cell lung cancer[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2011, 11(6): 1128-1131.
- [35] Sequist L V, Heist R S, Shaw A T, et al. Implementing multiplexed genotyping of non-small-cell lung cancers into routine clinical practice [J]. *Annals of Oncology*, 2011; 22(12): 2616-2624.
- [36] Yamamoto H, Shigematsu H, Nomura M, et al. PIK3CA mutations and copy number gains in human lung cancers[J]. *Cancer Research*, 2008, 68(17): 6913-6921.
- [37] Hammerman P S, Sos M L, Ramos A H, et al. Mutations in the DDR2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer[J]. *Cancer Discovery*, 2011, 1(1): 78-89.
- [38] Miao L, Wang Y, Zhu S, et al. Identification of novel driver mutations of the discoidin domain receptor 2 (DDR2) gene in squamous cell lung cancer of Chinese patients[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(1): 369.
- [39] 梁智勇. 中国非小细胞肺癌患者表皮生长因子受体基因突变检测专家共识[J]. *中华病理学杂志*, 2011, 40(10): 700-702.
- Liang Zhiyong. Expert consensus on epidermal growth factor receptor gene mutation detection in non-small cell lung cancer patients in China[J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2011, 40(10): 700-702.
- [40] 中国医师协会肿瘤医师分会, 中国抗癌协会肿瘤临床化疗专业委员会. 中国表皮生长因子受体基因突变和间变淋巴瘤激酶融合基因阳性非小细胞肺癌诊断治疗指南(2014版)[J]. *中华肿瘤杂志*, 2014, 36(7): 555-557.
- Cancer Doctors Branch of Chinese Medical Doctor Association, the Chinese Anti-Cancer Association Professional Committee of tumor chemotherapy. Guidelines about diagnosis and treatment on non-small cell lung cancer with epidermal growth factor receptor mutations and lymphoma kinase gene fusion positive in China (Version 2014)[J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2014, 36(7): 555-557.
- [41] Marchetti A, Del Gramastro M, Filice G, et al. Complex mutations & subpopulations of deletions at exon 19 of EGFR in NSCLC revealed by next generation sequencing: Potential clinical implications[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e42164.
- [42] Liu P, Morrison C, Wang L, et al. Identification of somatic mutations in non-small cell lung carcinomas using whole-exome sequencing[J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(7): 1270-1276.
- [43] Shi Y, Zhang L, Liu X, et al. Icotinib versus gefitinib in previously treated advanced non-small-cell lung cancer (ICOGEN): A randomised, double-blind phase 3 non-inferiority trial[J]. *The Lancet Oncology*, 2013, 14(10): 953-961.
- [44] Shaw A T, Camidge D R, Engelman J A, et al. Clinical activity of crizotinib in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) harboring ROS1 gene rearrangement[C]//ASCO Meeting Abstracts, 2012, 30(S15): 7508.
- [45] Planchard D, Mazieres J, Riely G I, et al. Interim results of phase II study BR113928 of dabrafenib in BRAF V600E mutation-positive non-small cell lung cancer(NSCLC)patients[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2013, 31(S1): CRA7502.

(责任编辑 吴晓丽)