

2013 中国肺癌高峰论坛访谈录

于 琳, 张 华

(广东省人民医院循证医学编辑部、广东省医学科学院、广东省肺癌研究所, 广州 510080)

[关键词] 肺肿瘤; 专家共识

[中图分类号] R734.2

[文献标识码] A

DOI: 10.3969/j.issn.1671-5144.2013.02.002

An Interview at 2013 Chinese Lung Cancer Summit Forum//YU Lin, ZHANG Hua

Key words: lung neoplasms; specialists' consensus

Authors' address: Editorial Department of the Journal of Evidence-Based Medicine, Guangdong General Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangdong Lung Cancer Institute, Guangzhou 510080, China

为了进一步推动中国肺癌研究的发展,中国抗癌协会肺癌专业委员会和中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会于 2013 年 3 月 8-9 日在广州举行了第十届中国肺癌高峰论坛。此次会议的主题是肺癌小分子靶向药物的耐药机制和应对策略。来自全国各地从事肺癌和相关学科研究的 600 多位专家和学术带头人参加了此次会议。

目前,肺癌小分子靶向治疗的模式渐趋成熟,表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)在肺癌的临床应用也越来越普遍。然而,靶向治疗后无可避免出现的耐药现象,成为靶向治疗临床上棘手的问题。本次论坛汇集国内肺癌及相关学科的专家和学术带头人,多学科地讨论肺癌小分子靶向药物的耐药机制和应对策略,与会的不同学科的专家们从各自专业的角度发表了看法、倾听相关学科的意见,就肺癌小分子靶向药物的耐药问题展开了深入的探讨。会议期间本刊编辑部记者专题采访了几位专家。

记者:程教授,今天论坛的专题是肺癌小分子靶向药物的耐药问题,请您先给我们介绍一下与靶向药物耐药有关的因素。

程颖教授(吉林省肿瘤医院):靶向药物耐药与多种因素有关,包括 T790M 突变、C-Met 扩增、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)形成、BIM 基因多态性表达及小细胞肺癌转化等,而且机制之间存在交叉,错综复杂。目前认为, T790M 突变是 TKI 最常见的耐药原因。

记者:请您给我们介绍一下什么是 T790M 突变? T790M 突变可能的耐药机制是怎样的?

程颖教授:关于 T790M 突变, EGFR 野生型外显子 20 中第 790 个氨基酸位点是苏氨酸(T),在基因突变型中苏氨酸的第二个碱基由 C 突变为 T,苏氨酸(T)被蛋氨酸(M)替代,出现了位阻效应,减弱了与 EGFR 的 ATP 口袋中药物的结合力;同时 T790M 突变增加了 EGFR-L858R 突变体与 ATP 的亲合力,从而产生对 TKI 的获得性耐药。

对我们而言, T790M 突变是一个既熟悉又陌生的话题。因为我们都知道用了 TKI 后很多患者会出现耐药,在 TKI 耐药的肿瘤组织中检测到 T790M 突变,认为 T790M 突变与 TKI 获得性耐药有关。但还有很多问题我们不清楚,我们不知道 T790M 突变是在治疗前出现还是在治疗后出现、T790M 突变导致 TKI 耐药的分子机制、在耐药治疗中的预测作用都存在诸多不确定因素,检测方法也存在争议。

EGFR 突变是 2004 年发现的, 2005 年在 N Engl J Med 和 PLoS Med 上分别报道了 T790M 突变患者对 TKI 耐药的病例。2006 年开始,日本、中国、美国陆续报道了 T790M 突变与 TKI 耐药相关性的数据, TKI 耐药患者的 T790M 突变率为 44%~86%,平均突变率为 50%。可见 T790M 突变是 TKI 常见耐药原因之一。

研究也发现, T790M 突变不仅存在于 TKI 治疗后的标本中,也存在于 TKI 治疗前。由此引起了 T790M 突变是“获得性”还是“选择性”的争议。大多数人认为是“获得性”的,即在 TKI 治疗后产生,也有

数据支持 T790M 突变是因为原本就存在 T790M 突变的微小克隆,经 TKI 治疗后,敏感克隆被杀灭,而含有 T790M 突变的耐药克隆得以保留下来,产生耐药。

2005 年报道的两项研究中的 4 例患者,治疗前均无 T790M 突变,治疗后进展的肿瘤中存在突变,推断 T790M 突变与获得性耐药相关。2006 年后的很多研究报道显示,治疗前患者的 T790M 突变率极低,而疾病进展的肿瘤 T790M 突变率高(平均 50%)。这些数据支持 T790M 突变是“获得性”的。

同时有一些研究数据支持 T790M 突变为“选择性”。2006–2012 年有 5 项研究报道患者在治疗前已存在 T790M 突变,阳性率也很高(分别为 4%、38%、6%、79%、25%),支持 T790M 突变为“选择性”模式。

记者:TKI 耐药患者 T790M 突变率比较高,T790M 突变的预测和预后作用如何?

程颖教授:T790M 突变的预测和预后作用也是一个没有定论的问题。

2012 年 2 月在 JCO 杂志上发表了台湾的一项回顾性研究,2000–2008 年间接接受 TKI 治疗的 III B/IV 期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者 73 例,这些患者在治疗前都进行了 T790M 检测,23 例(31.5%)患者 T790M 突变阳性,治疗后的数据显示,T790M 突变阳性患者的无进展生存期为 6.7 个月,T790M 突变阴性患者的无进展生存期为 10.2 个月,TKI 治疗前 T790M 突变阳性患者应用 TKI 缓解时间更短,说明 T790M 突变阳性是一个不好的预后因子。

2011 年美国学者对 65 例 I~III 期腺癌患者进行新辅助或术后辅助 TKI 治疗,22 例患者复发。7 例患者在接受治疗过程中复发,其中 4 例(67%)患者 T790M 突变阳性,这部分患者的疾病复发时间只有 16 个月;15 例患者在完成治疗后复发,T790M 突变阳性率为 0,这部分患者的疾病复发时间为 39 个月。告诉我们 TKI 治疗缓解时间长的患者,T790M 突变率低,认为 T790M 突变阳性是不良预后因子。

2011 年荷兰曾报道一项小样本研究,14 例 IV 期 NSCLC 患者一线 TKI 治疗受益、二线化疗进展,经过再次 TKI 治疗后,2 例患者部分缓解,7 例患者疾病稳定,2 例患者疾病进展。部分缓解的 2 例患者 T790M 突变均阳性,7 例疾病稳定的患者中有 1 例 T790M 突变阳性,2 例疾病进展的患者 T790M 突变均阳性。这项研究的结果推测 TKI 的疗效与 T790M 突变无关。

我们知道,不少病人在耐药出现后停止 EGFR TKI 治疗的 7~21 天(平均 8 天)会出现肿瘤的暴发,有学者汇总 6 项临床研究 61 例患者的数据分析显示,14 例患者在 TKI 停药中位时间 8 天后发生疾病暴发,T790M 突变型患者在疾病暴发患者中占 55%,T790M 突变型患者在未发生疾病暴发中占 59%,结果推断疾病暴发与是否存在 T790M 突变没有相关性,同时认为治疗前有脑或胸膜转移的患者更易引起疾病暴发。

近期日本学者进行了 T790M 突变丰度的疗效预测作用的研究,他们采用的检测方法是比较灵敏的克隆杂交法。38 例术后 EGFR 突变阳性患者予 TKI 治疗,至疾病复发时进行了 T790M 突变检测,结果是高丰度患者 7 例、中丰度患者 23 例、低丰度患者 8 例,三组患者的治疗失败时间分别是 44 个月、7 个月、7 个月,高丰度患者的生存状况明显好于低丰度患者。而用定性的方法将患者分成 T790M 突变阳性和阴性两种状态时,两组患者的治疗失败时间是 9 个月 vs. 7 个月。因此认为 T790M 定性检测不能预测疗效,T790M 突变丰度有预测疗效的作用。

2012 年 Anticancer Res 上的一篇报道支持携带 T790M 突变者预后较好,19 例患者接受 TKI 治疗,8 例患者疾病进展,其中 T790M 突变阳性患者的 5 年生存率为 86.7%,明显高于阴性患者的 13.3%。我们大家熟悉的 EURTAC 研究的结果也告诉我们,T790M 突变阳性患者应用 TKI 治疗的生存状况较好。

从现有的关于 T790M 突变耐药机制和预测预后的研究数据看,各研究间结论不一致的原因主要来自二个方面,一方面是因为这些数据大多来自回顾性研究,另一方面是各项研究的检测方法不一致。

记者:T790M 突变与哪些临床因素相关?

程颖教授:也有学者关注 T790M 突变与疾病分期、肿瘤部位、临床特征的相关性以及不同病灶间 T790M 突变的异质性。目前对于 T790M 突变的临床相关因素的研究结果也不完全一致。2006 年日本学者进行了 T790M 突变与疾病分期、疗效的相关性研究,169 例 I/II 期患者的突变率为 0.59%(1 例),111 例 III/IV 期患者的突变率为 8.1%(9 例)。治疗后疾病进展患者的突变率为 42.9%,治疗后完全缓解患者的突变率为 0%。告诉我们晚期患者的突变率高。美国的一项研究检测 NSCLC 患者的 EGFR 突变状态,经 TKI 治疗复发的患者二次活检组织 T790M 突变情况,发现脑脊液、肾脏、肾

上腺、皮肤等组织中的肿瘤无 T790M 突变。2011 年有研究报道 T790M 突变的发生几率与性别、种族、吸烟状况、EGFR 敏感类型、TKI 类型、治疗时间无关,与取材部位相关,似乎肺与胸膜中更常见。北京大学临床肿瘤学院的王洁教授对 EGFR 的异质性进行了深入的探讨,他们对 99 名 EGFR 突变阳性患者检测了 14 个复发或转移肿瘤的多个病灶,病灶平均数目为 2~3 个,EGFR 突变的一致率为 100%,而 T790M 突变具有更大的异质性(不一致率 43%)。

记者:我们知道很多大型医院都检测 T790M 突变,目前 T790M 突变检测方法有哪些? TKI 耐药患者的治疗策略是怎样的呢?

程颖教授:目前检测 T790M 突变的方法包括:基因扩增后直接测序法(DS)、突变富集 PCR 法、扩增阻碍突变系统(ARMS)法、蝎形探针扩增阻滞突变系统(sARM)法、集落杂交法(CH)和下一代测序法(NGS)等。在众多方法中,直接测序法的敏感性最低,下一代测序法的敏感性和特异性最高。从文献报道的数据看,不同检测方法的敏感度相差很大。克隆杂交法的灵敏度为 0.01%,而 PCR 法的灵敏度为 10%~30%。2008 年美国麻省总医院从 26 例转移性肺癌患者的外周血中分离出肿瘤细胞,用蝎形探针扩增阻滞突变系统法进行检测,治疗前患者的 T790M 突变阳性率为 62.5%。台湾的回顾性研究采用质谱法对患者进行治疗前(31%)和治疗后(83.3%)T790M 突变检测。质谱法比直接测序法的灵敏度更高,并可进行 T790M 丰度评估。目前各家医院采用的检测方法不统一,未来更好的方法应该是下一代测序法,可以对不同的标本进行定性、定量和多基因检测。TKI 耐药的机制非常复杂,有很大的异质性,从而导致临床治疗的复杂性,很多时候耐药并非取决于 T790M 突变是“有”或“无”,而是取决于丰度,低丰度时继续使用 TKI 治疗仍然有效,高丰度时使用 TKI 治疗无效,预后不好。

对于 TKI 耐药的患者,如何根据突变的类型和丰度,在合适的时间、选择合适的人群、进行合适的治疗是目前迫切需要解决的问题。根据目前对 T790M 突变耐药分子机制的理解,可选择的治疗策略包括以下五方面:(1)不可逆 EGFR TKI(阿法替尼、Dacomitinib、Neratinib、XL647), (2)TKI 与 EGFR 抑制剂的联合(阿法替尼联合西妥昔单抗), (3)TKI 与 C-Met 抑制剂联合(小分子的抑制剂、抗体), (4)T790M 特异性 TKI(CO-1686、AP26113、WZ4002), (5)HSP90 抑制剂(AUY922)。

总之,T790M 突变是导致 TKI 耐药的主要因素,但 T790M 突变的确切耐药机制尚不清楚,目前 T790M 突变对预测和预后的作用结论尚不一致。针对 T790M 突变的检测方法种类繁多,如何优化检测方法,提高检测的敏感性和特异性,帮助临床医生选择治疗决策是需要深入探讨的课题之一。现有的临床实践仍然需要根据临床特征进行耐药后的治疗方法选择,随着 T790M 突变耐药分子机制的明确,根据分子发生机制的不同选择治疗将是未来的研究热点。

记者:张教授,C-Met 扩增也是 TKI 耐药的一个因素,请您给我们介绍一下 C-Met 扩增是如何导致 TKI 耐药的?

张力教授(中山大学附属肿瘤医院):C-Met 属于酪氨酸激酶家族成员,它是一个跨膜受体,是一种通过诱导有丝分裂和细胞运动而促进转化和肿瘤形成的多功能生长因子。C-Met 的天然配体是 HGF,C-Met 与 HGF 结合,使受体二聚体化,从而引起下游信号传导通路的激活,这条通路实际上就是 EGFR 信号传导通路。在肿瘤细胞中 C-Met 基因的变化表现为三种形式:①DNA 水平表现为基因拷贝数的增加和基因突变,②mRNA 的过表达,③蛋白的过表达。不同的肿瘤中可能产生不同的变化。C-Met 基因的激活有旁分泌和自分泌二种形式,旁分泌形式指的是肿瘤细胞周围的间质细胞分泌 HGF,从而导致 C-Met 通路的激活;自分泌形式指的是肿瘤细胞分泌 HGF,激活肿瘤细胞自身的 C-Met 受体,引起下游通路的激活。C-Met 通路激活产生的生物学效应与 EGFR 通路是相似的,包括肿瘤细胞增生、抗凋亡和转移。

C-Met 通路是 2007 年发现的,麻省总医院早期的动物实验发现,治疗前肿瘤细胞中存在 C-Met 基因表达,治疗后在耐药肿瘤细胞内出现 C-Met 基因扩增。同年,Science 和 PNAS 上分别发表了回顾性研究的数据,耐药患者的 C-Met 基因扩增率分别为 22%(4/18)和 21%(9/43)。

C-Met 扩增的耐药机制和 T790M 突变引起的耐药机制是互补的,都是通过 PI3K/AKT 通路导致肿瘤细胞的生长和耐药。2007 年,Engelman 等在对 EGFR TKI 发生获得性耐药肺癌细胞系的研究发现,这些细胞同时存在 C-Met 基因扩增和 ErbB3/PI3K/Akt 通路的活化,提示可能是过度表达的 C-Met 活化了该通路。而对耐药的肺癌细胞联合使用 EGFR TKI 和 C-Met 特异性的 TKI 时,可以抑制

肿瘤的生长以及 ErbB3 与 Akt 的磷酸化,表明在耐药的肺癌细胞中 EGFR 和 C-Met 都能够通过 ErbB3 和 Akt 通路促进细胞增殖和抗凋亡,当有 EGFR TKI 存在时细胞便依赖 C-Met 通路促进细胞增殖和抗凋亡,从而表现为获得性耐药。接着使用小分子 RNA 干扰技术抑制 ErbB3 的表达,结果导致 Akt 活性下降和细胞生长抑制,提示 C-Met 活化后的信号传导中,下游 ErbB3 的激活是必须的。认为获得性耐药的肺癌细胞系在 EGFR TKI 存在的情况下,可以通过 C-Met/ErbB3/PI3K/Akt 信号通路继续增殖和抗凋亡,说明 C-Met 信号通路在肺癌患者 EGFR TKI 获得性耐药中发挥了重要作用。

2010 年在 Cancer Cell 上发表了一项探讨 C-Met 扩增是否为“选择性”的研究。这项研究选择了 16 例治疗前后都有肿瘤活检标本的患者,4 例患者治疗后出现 C-Met 扩增耐药,回顾这 4 例患者治疗前的病理切片发现,治疗前的标本中已存在 C-Met 扩增,提示 C-Met 扩增可能来自“选择性”,这个问题我们还需要做进一步的研究。

记者:请您进一步介绍目前克服 C-Met 通路扩增机制的研究情况。

张力教授:从 C-Met 通路的生物学特性我们已经知道,T790M 突变通路和 C-Met 通路是有交叉的,因此在治疗上需要两条通路组合。动物实验的结果已经表明,无论 T790M 突变是否存在,在治疗上都需要抑制两条通路,只有两条通路同时抑制才能克服耐药。目前已有多种抑制 C-Met 激酶活性的方法,通过作用于 C-Met 通路的一个或多个环节达到抑制目的,从 C-Met 通路克服耐药的途径有三种:①单抗与配体结合,抑制 HGF;②单抗直接抑制受体;③小分子 TKI 从细胞内抑制 C-Met 通路,包括多靶点抑制剂克唑替尼和纯 C-Met 抑制剂。

ARQ197(Tivantinib)是一种选择性小分子 C-Met 酪氨酸激酶抑制剂,ARQ197-209 试验是一项针对既往至少接受过一种化疗方案后疾病进展且未接受过 TKI 治疗 NSCLC 患者的研究,Ⅱ期研究的结果发现 ARQ197 联合厄洛替尼治疗较单药厄洛替尼的无进展生存期明显延长(16.1 周 vs. 9.7 周),同时总生存期也延长(36.6 周 vs. 29.4 周),提示 C-Met 抑制剂可以延缓 TKI 耐药的产生,但是 ARQ197(Tivantinib)Ⅲ期研究的结果得出的却是阴性结果,提示小分子抑制剂似乎不能解决问题。

2011 年的 ASCO 大会上报告了一项比较单抗(MetMAb)联合厄洛替尼和厄洛替尼单药二线或三

线治疗 NSCLC 的Ⅱ期临床试验发现,在 C-Met 表达阳性的患者中,MetMAb 联合厄洛替尼组的无进展生存期(2.9 个月 vs. 1.5 个月)和总生存期(12.6 个月 vs. 3.8 个月)均明显长于厄洛替尼单药组,患者获益明显;而在 C-Met 表达阴性患者中,MetMAb 联合厄洛替尼的无进展生存期(1.4 个月 vs. 2.7 个月)和总生存期(5.3 个月 vs. 8.1 个月)均短于厄洛替尼单药,MetMAb 联合厄洛替尼并没有使患者获益。提示 C-Met 抑制剂的使用需要选择合适的人群才能达到最大疗效。有关单抗联合 TKI 的Ⅲ期临床研究正在进行中。

尽管关于 EGFR TKI 耐药机制以及如何克服的各种研究正在迅速发展,但是人们对这类患者的临床治疗策略仍然面临许多困境。如何克服 EGFR TKI 耐药产生的复杂性是迫切需要解决的问题。首先,对 TKI 耐药患者连续重复活检发现,T790M 突变有出现和消失的迹象,即时间异质性,我们不知道 C-Met 基因是否也会有这样的问题。第二,有学者研究发现在 EGFR TKI 获得性耐药的肺癌患者中 C-Met 基因扩增和 T790M 突变可以同时存在也可以单独存在,这说明在肺癌的获得性耐药中 C-Met/ErbB3/PI3K 信号通路和 T790M 突变这两种机制既可以独立起作用也可以相互协同起作用。第三,肺癌发生 EGFR TKI 耐药存在异质性,在同一例继发的 EGFR TKI 耐药的患者体内,多种机制可以并存,多种机制相互交叉,互相促进,最终导致耐药的复杂性。问题的复杂性使我们感觉到彻底解决 C-Met 基因扩增的耐药问题面临的路还很长。

记者:张博士,最近有研究报道,BIM 也是一种耐药基因,请给我们介绍一下 BIM 的结构、功能以及 BIM 与 TKI 的关系。

张绪超博士(广东省人民医院、广东省肺癌研究所):对于大多数人来说,BIM 是一种陌生的新的基因。我们先来看一下 BIM 基因的结构和功能。BIM 全名为 BCL-like 11,为 BCL-2 蛋白家族成员,是活性最强的促凋亡蛋白之一。BCL-2 蛋白家族分为促凋亡和抗凋亡两类功能分子。BIM 含有 BH3 结构域,该结构域含有重要的促凋亡功能。BIM 与 BCL-2 蛋白家族其他抗凋亡成员如 BCL2、BCL2L1/BCL-X(L)和 MCL1 相互作用,相互调节,调节细胞凋亡过程。BIM 基因经转录后形成多种转录本,进而翻译形成多种蛋白异构体,通常一个蛋白异构体中只有 4 号外显子或 3 号外显子编码信息(两者不会共存)。4 号外显子编码含 BH3 结构域

具有促凋亡功能的异构体,而 3 号外显子编码产物不含 BH3 功能域而不具有促凋亡功能。线粒体凋亡蛋白分三个亚家族,分别为含多个 BH 结构域的抗凋亡蛋白(BCL-2、BCL-XL 等)、多个 BH 域促凋亡蛋白(BAX、BAK)和只含一个 BH3 结构域(BH3-only)的促凋亡蛋白(BIM、BID)。BIM 只有一个 α 螺旋 BH3 结构域,能抑制抗凋亡分子、活化 BAK/BAK 促凋亡分子以及置换被 BCL-2 结合的促凋亡分子 BAX/BAK。健康人的正常组织处于促凋亡和抗凋亡的动态平衡状态,而在肿瘤细胞中,这种平衡状态被打乱,促进了抗凋亡从而促使肿瘤细胞生长。

东亚人群中 BIM 基因的 2 号与 3 号外显子之间的 2 号内含子存在缺失多态性。研究发现 2 号内含子序列的部分缺失会导致编码无促凋亡活性的 BIM 增多,且可能导致对 EGFR TKI 或 BCR-ABL 激酶抑制剂伊马替尼的原发耐药或削弱 TKI 的临床疗效。BIM 基因缺失多态性虽然是去年刚发现的,但已有一些相关报道。先前有报道中国患者的 BIM del 多态性携带率为 12.3%,而人类基因组单倍体图(Hap Map)计划中的中国人 BIM del 携带率为 20.5%。国内广东省肺癌研究所吴一龙教授的团队检测了 169 例肺癌患者的 BIM 基因,也发现 24.3%(41/169)的患者存在 BIM del 多态性。相比之下,德国或欧洲人群则未见 BIM del 这种多态性。Ng 研究是一项针对 BIM del 多态性和 TKI 治疗反应相关性的研究,这项研究指出,BIM 缺失多态性是原发性 TKI 耐药的机制之一,该蛋白缺失的 BCR-ABL 阳性的慢性髓系白血病和 EGFR 突变型的肺癌患者对 TKI 的治疗反应显著低于野生型患者。该报道在分子水平验证了 BIM 和 EGFR 突变型 NSCLC 的关系。分析指出,BIM 缺失患者无进展生存期较非缺失患者明显缩短(6.6 个月 vs 11.9 个月, $P=0.0027$);BIM 多态性是潜在的 NSCLC EGFR TKI 疗效预测因子。

在 2012 年的 ESMO 大会上,Rosell 等报道了 EURTAC 研究比较 EGFR 突变 NSCLC 患者接受靶向药物或化疗治疗的疗效。厄洛替尼组和化疗组的无进展生存期分别为 10.4 个月和 5.1 个月 ($P<0.001$),但两组的总生存期差异无统计学意义。对 EML4-ALK、T790M、TP53、BIM mRNA 等分子标志物进行检测,然后行亚组分析,其中厄洛替尼+低/中 BIM 组、厄洛替尼+高 BIM 组、化疗+低/中 BIM 组和化疗+高 BIM 组的无进展生存期分别为 7.2 个月、12.9 个月、5.5 个月和 5.8 个月 ($P=0.0007$)。基

于治疗方法、BIM 表达水平与 T790M 突变(低、中、高危)患者的无进展生存期和总生存期的数据提示,EGFR TKI 疗效受到多种因素的综合影响;分析 BIM mRNA 水平与客观缓解率的关系显示,厄洛替尼+低/中 BIM 组、厄洛替尼+高 BIM 组、化疗+低/中 BIM 组和化疗+高 BIM 组的部分缓解率分别为 30.77%、87.50%、11.11%和 14.29%。可见 BIM 的高表达与靶向药物临床最佳疗效相关。

这两项研究表明,NSCLC 中额外的遗传事件调节了 EGFR 突变下游通路活性,可能与原发性 TKI 耐药或短的无进展生存期相关,推荐常规检测 T790M 突变与 BIM mRNA 表达。由此引发一系列疑问:BIM 在肿瘤中与其他耐药因子的共存及相互作用关系如何?不同人种之间的 BIM del 携带频率是否有差异?测序方法与 qPCR(mRNA exp)预测临床疗效一致性如何?更进一步提示 TKI 疗效不佳或耐药相关分子机制的复杂性,TKI 耐药可能与 EGFR 突变丰度、T790M 突变、BIM 缺失、AXL+上皮间质转化(EMT)及其他分子共存突变相关。

记者:针对 BIM del 多态性引起的 TKI 耐药,临床上有哪些治疗对策?

张绪超博士:针对 BIM del 多态性及凋亡信号通路异常引起的靶向治疗耐药,临床对策主要在以下两方面。一是使用 BIM 模拟物或 BCL-2 抑制剂,包括 ABT-737、Navitoclax/ABT-263 和 AT-101,其中 ABT-263 已进入慢性淋巴细胞性白血病的 I 期临床试验和小细胞肺癌的 I/II 期临床试验,AT-101 则进入 NSCLC 的 II 期临床试验。二是使用组蛋白去乙酰酶(HDAC)抑制剂 Vorinostat,根据 Nakagawa 等的研究报道,蛋白去乙酰酶抑制剂可上调 BIM 蛋白水平,与 EGFR 抑制剂联合应用还可克服耐药。

我们认为,BIM 可能与靶向药物原发性耐药或 TKI 疗效不佳相关;提高 BIM del 患者疗效的潜在对策可能有 BIM 模拟物、BCL-2 抑制剂、蛋白去乙酰酶抑制剂。这些假设还需进一步前瞻性试验研究的验证,多个分子的联合检测可能有助于提高临床 TKI 的疗效预测能力。

记者:刘教授,从文献报道看,非小细胞肺癌患者 TKI 获得性耐药患者中有转化为小细胞肺癌的病例报道,请您介绍一下这方面的情况。

刘晓晴教授(中国人民解放军 307 医院):NSCLC 经 TKI 治疗失败后转化为小细胞肺癌的病例,最早于 2006 年由 Zakowski 首次在新英格兰医学杂志报道了第一例个案。这是一位日本的 45 岁

女性患者,最初的气管镜活检诊断为中高分化腺癌 IV 期,患者接受厄洛替尼治疗 18 个月后疾病出现进展,然后给予全脑放疗联合吉非替尼治疗及丝裂霉素和长春花碱化疗,病情再次进展后肺穿刺活检诊断为小细胞肺癌并 EGFR 19 Exon 缺失。根据病理及基因检测结果,给予吉非替尼联合 VP-16 化疗;患者病情再次进展,第三次左下肺病理活检显示为腺癌并伴有 EGFR 19 Exon 缺失;最后患者疾病再次进展死亡,尸检报告提示为小细胞肺癌,5 个转移器官均显示 EGFR 19 Exon 缺失。紧接着在 2007 年 Lung Cancer 上又报道了 1 例相似的病例。从此,人们开始关注 TKI 获得性耐药后病理组织学转化的问题。

2011 年,Sequist 报告了 37 例 EGFR 突变阳性腺癌患者接受 TKI 治疗耐药后,再次组织活检显示:T790M 突变占 50%,C-Met 基因扩增占 5%,PIK3CA 占 5%,组织学转化为小细胞肺癌 5 例(14%)。与其它 TKI 获得性耐药分子基因改变不同的是,这 14% 患者的表型从 NSCLC 转化成了小细胞肺癌。2011 年一篇综述报道,在获得性耐药的机制和频率中,转化为小细胞肺癌的比例为 6%。说明 TKI 获得性耐药后组织病理学的转化不是偶发现象。

记者:我们该如何解释和说明这些现象?这种组织学转化的本质分子机制是怎样的?

刘晓晴教授:从现有不多的文献中我们归纳出这种转化有两点共同表现:第一,发生表型转化的患者有 3 个特点:①均为不吸烟的女性患者;②同一或不同解剖部位存在同一种突变;③同一或不同解剖部位出现表型变化。第二,发生组织学转化后仍伴有 EGFR 基因突变。我们知道,非腺癌的肺癌患者中 EGFR 基因突变率<5%,主要分布在腺鳞癌、鳞癌和大细胞癌,而小细胞肺癌伴随 EGFR 基因突变是罕见的。但从 2005 年开始,文献陆续报道病理诊断为小细胞肺癌的患者伴随 EGFR 基因突变,或者腺癌转化为小细胞肺癌后存在 EGFR 基因突变,或混合型(腺癌、大细胞癌)小细胞肺癌存在 EGFR 基因突变。小细胞肺癌伴有 EGFR 突变有 5 个特点:①小细胞肺癌患者 EGFR 突变较少见,但个案报道越来越多;②EGFR 突变一般出现在单一小细胞肺癌或混合小细胞肺癌(混合型腺癌多见)患者中;③突变位点主要为 EGFR 19 和 21 位点,且不同细胞组织突变位点一致;④EGFR 突变为不吸烟或轻度吸烟的女性患者;⑤单纯小细胞肺癌

突变的患者多数无 EGFR 表达(荧光原位杂交)。

TKI 获得性耐药后患者的表型从 NSCLC 转化成小细胞肺癌的机制,我们认为与以下三方面有关:(1)细胞异质性。肿瘤异质性普遍存在,这也是肿瘤治疗复杂、容易耐药和复发转移的重要原因所在。既往研究已证明小细胞肺癌存在混合型,所以推测是否在原发腺癌中混杂少量小细胞肺癌成分,在经过多次治疗(克隆选择压力)和疾病发展过程中,小细胞肺癌转化成了优势克隆。目前文献报道的腺癌转化为小细胞肺癌有如下特点:①同一部位组织学形态不同(小细胞肺癌/腺癌);②不同器官组织学形态不同(小细胞肺癌/腺癌);③不同时间段组织学形态不同(腺癌→小细胞肺癌转化)。因此提示我们,临床实践中进行一次、单部位、单点组织的形态和分子学检测是不足的,应该进行多部位、动态、组织形态结合分子生物学检测,以提供更多、更精确的研究和治疗信息。(2)多能干细胞。小细胞肺癌可能和腺癌来源于共同的携带 EGFR 基因突变的多能干细胞;或者至少部分小细胞肺癌来源于携带 EGFR 基因突变和 TTF-1(+)的腺癌。(3)分子机制。Trp53 和 Rb1 是肿瘤抑癌基因,基础研究已证实其缺失或低表达可能诱发肿瘤。Sutherland 的试验结果显示,成年小鼠小细胞肺癌细胞源于肺内不同细胞 Trp53 和 Rb1 失活。我们猜想也许腺癌在治疗过程中出现了类似 Trp53 和 Rb1 缺失,致使腺癌转化成为小细胞肺癌。但遗憾的是,Rb1 缺失假说尚缺少临床证据。

记者:您认为非小细胞肺癌 TKI 耐药、组织学转化为小细胞肺癌后,临床应采取怎样的治疗策略?

刘晓晴教授:Sequist 报告的 5 例转化为小细胞肺癌的患者中,有 4 例患者接受小细胞肺癌标准方案化疗,3 例有效,其中 1 例化疗联合放疗。另外其他多项报告就小细胞肺癌转化的应对策略也推荐,存在 EGFR 基因突变的小细胞肺癌,可以选择 TKI,或 TKI 缓慢进展的前提下局部进展的患者采用 TKI 联合局部治疗,全身多处缓慢进展的,使用 TKI 联合标准的小细胞肺癌化疗方案。总之,尽管患者的病理表型已由 NSCLC 转化成了小细胞肺癌,但伴有 EGFR 基因突变的患者仍要给予 TKI 治疗。

目前关于 NSCLC TKI 耐药后组织学转化为 EGFR 基因突变的研究刚刚起步,从现象来看,出现了表型转化并伴有 EGFR 基因突变。从本质来讲,推测可能是细胞异质性、肿瘤干细胞或发生了某些相关分子事件(P53 和 Rb1)。因多数研究是回

顾性研究或个案报道;纳入观察和研究病例数少;研究中二次活检标本基本上不是来自同一解剖部位;标本取样时间不统一(有的在 TKI 治疗过程中,有的在耐药后);特别是关于分子机制的研究并无直接证据,仅仅是推断和猜想;治疗方法的推荐也限于个案治疗经验和小样本临床实践,证据级别不高。所以 NSCLC TKI 耐药后小细胞肺癌转化的分子机制和治疗策略的研究任务艰巨。

记者:韩教授,请您介绍一下 EGFR & ALK 双基因突变耐药机制的研究情况。

韩宝惠教授(上海交通大学附属胸科医院):EGFR & ALK 双基因突变实际上是一种少见现象,从 2011 年 Kris 教授在 J Clin Oncol 发表的文章及吴一龙教授发表的关于肺癌驱动基因的研究来看,单驱动基因是一个普遍现象占 97%,仅 1%~3% 的患者存在双基因驱动的现象,双基因驱动包括 EGFR & ALK、KRAS & ALK 以及其他不同的组合类型的双驱动基因突变,临床上我们确实发现有的病例在不同的时段发生了 EGFR & ALK 双基因突变,因此这种现象是值得我们关注的。有文献报道 11 例病例 EGFR & ALK 双基因突变,其中 5 例未接受 EGFR TKI 和 ALK 抑制剂的治疗,这些病例的病理类型大多为腺癌,EGFR 突变的类型包括:E746-A750 缺失、L718P、A767-V769 双 ASV、E746-A750 缺失等。

目前认为 ALK 基因耐药的机制包括以下三方面:ALK 看家基因(L1196M)突变、非看家基因(L1152R、C1156Y、G1269A 三个位点)突变、ALK 拷贝数增加。而 EGFR 基因耐药的机制主要是 T790M 看家基因突变。EGFR & ALK 双基因突变的可能机制有两种模式:一种模式是单个肿瘤细胞同时存在的两种不同驱动基因,耐药后增殖;另一种模式是肿瘤的异质性,耐药后其他驱动基因克隆增殖,有文献报道,5%~8% 的 ALK 阳性细胞同时存在 EGFR 突变。至于 EGFR & ALK 双基因突变是原发的还是在靶向治疗或化疗后由单基因转化为双基因的,我们不是很清楚,而且还有很多耐药机制我们还不明确,这些都需要我们做深入的研究。

临床上对 EGFR & ALK 双基因突变的治疗,首先要解决的问题是区分双基因突变是来自原发还是继发耐药。可推荐的治疗策略有三种思路:先用 EGFR TKI,耐药后转换为 ALK 抑制剂;先用 ALK 抑制剂再用 EGFR TKI;EGFR TKI + ALK 抑制剂双重途经。我们寄希望于双途经抑制剂新药的研发。

记者:周教授,目前临床上对肿瘤的疗效评价采用的是什么标准?

周彩存教授(同济大学附属上海市肺科医院):疗效评价标准对于临床实践非常重要,理想的评价标准应该能指导临床实践,并评价不同治疗策略在疗效上的差异。实体瘤疗效评价标准有 WHO 与 RECIST 肿瘤客观疗效评价标准。WHO 肿瘤客观疗效评价标准于 1979 年发布,采用双径测量法评估肿瘤大小。RECIST 肿瘤客观疗效评价标准于 2000 年由美国国立肿瘤研究所、加拿大临床试验组和欧洲癌症研究与治疗组织共同制定,采用单径测量法评估肿瘤大小,我们现在用的 RECIST 标准是经修订的 RECIST 1.1 修订版。这两个标准都是根据肿瘤的大小来评价疗效,将肿瘤的大小与基线或最小时对比,评价出完全缓解、部分缓解或疾病进展,从而决定我们的治疗方法是继续还是停止。RECIST 1.1 评价体系对疾病进展的明确定义是:靶病灶最大径增加 20% 且最大径绝对值增加 5 mm 以上。RECIST 评价标准最大的优势是简单易学、标本细化,不需要太多技术上的培训,因此普遍被很多的临床实践和临床研究所接受。

但是 RECIST 疗效评价标准存在局限性,主要体现在以下几方面:(1)有时经药物治疗后,病灶变成不规则形状或与周围组织分界不清,判断上存在困难。(2)可重复性差,德国的一项研究显示,对于单个病灶,观察者自身偏差为 6%,观察者间偏差为 7%,最长径总和的差异可高达 24%,当然这个问题可通过单个研究者进行评估或中和多个研究者的评估结果来提高评估的可靠性。(3)不能反映耐药的分子改变。(4)靶向药物治疗容易引起肺部病灶发生空洞,会干扰 RECIST 标准评价的准确性。

RECIST 标准以肿瘤大小进行评估,实际上经治疗后肿瘤变大了一点并不代表疗效不好,同样肿瘤缩小了很多也并不代表疗效很好,尤其对靶向药物而言。我们知道,靶向药物的作用机制与化疗药物作用机制不同,靶向药物通过抑制血管生成或肿瘤生长发挥其抗肿瘤作用,而不是诱导肿瘤细胞凋亡或死亡。治疗早期肿瘤大小无明显变化,但肿瘤内部血供减少,肿瘤小结节也减少。此外,肿瘤肿胀、出血、坏死可能表现为肿瘤体积暂时性增大;相反,某些肿瘤体积缩小,但内部已经发生局灶性进展。

RECIST 评价标准中,靶病灶长径较最大时或基线时增加 20% 以上或者出现新的病灶即为疾病进展。分子靶向药物,尤其是针对驱动基因抑制剂,

其疗效相当明显,多数患者可获得高度部分缓解甚至完全缓解。在疾病进展时,肿瘤负荷仍较基线时明显缩小,而且患者一般情况好。此时,停用靶向药物,会导致疾病迅速进展。一些研究提示部分患者仍然能从继续用药中获得临床疗效。PROFILE 1005 的研究设计就是考虑到了这一点,即患者在疾病进展后允许患者继续使用克唑替尼,结果根据 RECIST 标准评价疾病进展后继续使用该药者的总生存期明显优于停用药物者。因此,RECIST 标准评价的疾病进展不一定是分子靶向药物停药的指征,尤其对于疾病缓慢进展或出现 3~5 个以下新病灶的患者而言;而对广泛迅速疾病进展或早期疾病进展(3 个月内)的患者,RECIST 标准评价的疾病进展是停药指征。

RECIST 评价标准中,判断患者是疾病稳定的标准是最长径总和不变或减少 $<30\%$,或最长径总和增加 $<20\%$ 。但实际临床中,这是两种不同的疾病稳定状态。研究显示,最长径总和不变或减少 $<30\%$ 的患者较最长径总和增加 $<20\%$ 的患者的无进展生存期和总生存期明显长($P<0.05$);最长径总和增加 $<20\%$ 的疾病稳定的患者和疾病进展的患者的总生存期没有显著性差异。RECIST 标准评估的疾病稳定患者在治疗方案的制定中应该有所差别。

记者:RECIST 评价标准对于靶向药物的疗效评估存在诸多不足,临床实践中我们如何解决这个问题呢?

周彩存教授:RECIST 评价标准仅从病灶的长径进行疗效评估,不能反映靶向药物目前已知的获得性耐药机制,如何对这一传统公认而带有缺陷的评价标准进行补充是目前研究的热点。

一种方法是引入新的疗效评价指标。血液循环肿瘤细胞在患者 TKI 治疗有效后下降,而在疾病进展时数目上升,并且可用血液循环肿瘤细胞进行 EGFR 检测,可以实时反映患者的状态,但是目前血液循环肿瘤细胞富集和鉴定水平尚待进一步提高,技术尚未成熟。动力增强 CT 通过评估肿瘤的血流对靶向药物疗效进行评估,研究显示,6 周时肿瘤灌注下降大于均值患者的中位生存期更长(7.1 个月 vs. 5.7 个月, $P=0.06$),肿瘤血流的早期改变与客观缓解率和更长的无进展生存期相关。

目前临床中可行的方案是 RECIST 疗效评价标准结合临床症状、PS 评分及分子标志物。ASPIRATION 研究中,患者疾病进展后根据研究者的判断决定是否继续口服药物,疾病缓慢进展(部

分进展/疾病稳定 >6 个月)、无症状微小疾病进展或新脑转移灶(局部控制)的患者继续使用 TKI,而有症状脑外疾病进展、疾病快速进展和/或 PS 恶化、或威胁生命并发症者停用 TKI。吴一龙教授根据 200 多例临床数据分析,提出临床症状评分和 RECIST 标准的综合评估标准,这一评估方法简单易行,对于指导临床实践和将来临床研究均具有重要的指导价值。

总之,RECIST 评价标准是一个比较可靠的疗效评价标准,简单易行,适用于接受放疗的患者,但对靶向药物只是一个部分标准。治疗早期(约 3 个月)根据 RECIST 评价标准评估疾病进展是靶向药物停药的标准;对晚期疾病进展的患者不是靶向药物停药的标准,应该结合临床表现和 PS 评分综合考量;RECIST 评价标准评估缓慢进展和单病灶进展的患者,只要患者的状况好,肿瘤的负荷小于治疗前的水平,不是临床疾病进展,应该继续用靶向药物治疗。

记者:宋教授,在今天的论坛中,吴一龙教授的团队最近在 Lung Cancer 上发表的“TKI 治疗失败的临床模型及处理”引起广泛关注,这个模型对于我们的临床实践有何意义?

宋勇教授(南京军区南京总医院):在临床实践中,对靶向药物治疗失败的患者,根据靶向药物耐药的分子机制来做正确判断、选择、临床决策有一定的困难,需要靶向药物治疗失败的临床模型帮助我们作出选择。“TKI 治疗失败的临床模式及处理”是几个月前吴一龙教授和杨衞记教授发表在 Lung Cancer 上的报道。靶向药物上市 8 年来,耐药问题一直困扰着我们,这篇文献中提出的临床模式及处理原则给了我们很好的引导作用。这项研究评估的变量是疾病控制时间、肿瘤负荷、临床症状三个临床因素,研究对象包括 120 例临床研究的患者和 107 名临床治疗的患者,将这二组患者的临床数据在 Bayes 判别模型中进行分析,基于分析数据将患者 TKI 治疗失败模式分为快速进展、缓慢进展和局部进展三种模式。

快速进展型的标准定义为:TKI 治疗的疾病控制时间 ≥ 3 个月;与前一次疾病评价相比,多个靶病灶快速进展或非靶病灶进展评分 >2 ;症状评分为 2。快速进展型患者的后续治疗方法是继续化疗。

缓慢进展型的标准定义为:TKI 治疗的疾病控制时间 ≥ 6 个月;与前一次疾病评价相比无明显的肿瘤负荷增加,且非靶病灶进展评分 ≤ 2 ;症状评

分 ≤ 1 。缓慢进展型患者的后续治疗方法是继续 TKI 治疗。

局部进展型的标准定义为:TKI 治疗的疾病控制时间 ≥ 3 个月;颅外单病灶进展或颅内局限性病灶进展(在放射照射范围内);症状评分 ≤ 1 。局部进展型患者的后续治疗方法是继续 TKI 治疗加局部治疗。

这个模型的意义在于:第一,它是基于临床因素将患者分为三种模式。目前靶向药物耐药机制尚未明了,这个模型评估的变量是疾病控制时间、肿瘤负荷、临床症状三个临床因素而未考虑基因型,而这三个临床因素对于我们的临床实践是十分重要的,临床可操作性强。第二,与患者的生存预后相关。这个模型对三种 TKI 治疗失败模式患者的中位无进展生存期、中位进展后生存期和总生存期进行了分析。第三,在给出了三种 TKI 治疗失败模式的前提下还明确了三种治疗失败模式不同的临床处理策略。

记者:这个模型是否还存在不足之处?如何完善?对未来的研究您有何建议?

宋勇教授:尽管这个模型的临床可行性和可操作性很强、可以用于判断预后(临床实践、研究设计、患者沟通),而且进一步丰富和完善了 Jackman 获得性耐药定义的内涵。但是这个模型仍存在不足和需要进一步考虑之处。

首先,研究本身存在局限性。这项研究分析的数据是回顾性数据,无对照组,无前瞻性样本评估,证据的级别不高;研究中 17.2%的患者 EGFR 突变状态未知,获得性耐药后接受再次活检的比例低(38.8%),分子表达谱检测数据不充足;耐药后治疗的设计不是随机对照方式得出的;快速进展组和局部进展组接受最佳支持治疗的比例高(52.3%和 30.9%)。

第二,这个模型是将经 TKI 治疗的患者分成三种类型,如果我们能在更早期(治疗前)就发现这三种类型会更有利于我们妥善管理患者。

第三,这个模型是一个纯临床模型,如何与分子机制结合是一个非常重要的问题。而且这篇文献中患者 T790M 的突变率仅 28.4%,与既往文献报道的接近 50%的突变率有差异。

第四,这个模型中的三种处理方式是否涵盖所有耐药类型还需要前瞻性研究验证。如果我们把目前临床普遍采用的联合治疗模式、新型靶向治疗(靶向耐药基因)、剂量变更模式、给药方式变

更模式加入到这个模型中或许会进一步提高临床可操作性。

针对以上不足,我个人建议可以从以下四方面进一步完善:模型精准划分应更符合临床和分子变异,将来修改模型时应将分子变异考虑进去,有利于跟踪患者的后续情况;RECIST 评价标准的局限性将会催生新标准,将来应有一个针对靶向治疗的疗效评价标准;耐药机制是多样性的,但 T790M 是否总是主角需要我们深入研究;耐药后的治疗选择需进一步细化以提高临床可操作性。

未来的研究方向应注重以下三方面:临床模式+分子机制;克服和/或延缓耐药新策略;重视重复活检的重要性,明确耐药的生物学特性,指导临床试验和临床治疗。在转化医学的今天有很多问题需要我们去解决,也是我们共同努力的方向。

记者:陆教授,您认为非小细胞肺癌靶向治疗耐药后是否可以继续使用 TKI?您对获得性耐药患者的治疗策略的看法是怎样的?

陆舜教授(上海交通大学附属胸科医院):在肿瘤化疗时代,根据 RECIST 疗效评价标准认为,肿瘤治疗有进展时只能换药,因为化疗药是存在毒性的,继续用药或再加另一种化疗药会增加毒性,而且会影响患者的生活质量。在靶向药物治疗的今天,我们寄希望于一部分患者耐药后还能继续用药,遗憾的是任何酪氨酸激酶抑制剂单药都无法根治晚期肿瘤。

靶向药物的耐药分原发性和获得性耐药二种情况。原发性耐药指患者使用 TKI 后未曾出现过临床获益,这部分患者继续用药是没有意义的;获得性耐药指患者接受 TKI 单药治疗后曾经出现疗效(肿瘤缓解、进展延迟、症状改善等)而后又恶化。

获得性耐药后继续 TKI 治疗有两种模式:一种是继续用药,方式可以是 TKI(原药或换药)或者 TKI+化疗;另一种是停药后化疗,化疗失败后再用 TKI(原药或换药)。

TKI 治疗后耐药的患者在某一个时间点再给予 TKI 治疗时都可以带来比较好的中位无进展生存期。2012 年 ASCO 大会上学者报告了获得性耐药后再次 EGFR TKI 治疗的经验,24 例(>9.5 年) EGFR 突变患者对吉非替尼(30%)或厄洛替尼(70%)治疗获得性耐药,有效率 4%、疾病稳定 63%,中位无 TKI 治疗的间期为 5 个月(范围 2~46 个月)。结果无 TKI 治疗间期>6 个月和<6 个月两组患者的无进展生存期是 4.4 个月 vs. 1.9 个

月,认为无 TKI 治疗间期越长,获益越大。另一位学者报告了 73 例获得性耐药患者,56 例进展后再次 TKI 治疗患者的总生存期长于 17 例未再次治疗患者(22.6 个月 vs. 10.4 个月)。来自 MSKCC 的经验告诉我们,184 例颅外疾病进展的患者中,18 例接受局部治疗加持续 TKI 治疗,获得了 10 个月的中位无进展生存期,中位总生存期达到 41 个月。说明局部治疗加 TKI 治疗可以使患者获益。尽管这些研究都是回顾性的研究,但都说明如果有用药机会,再次给药都会降低死亡风险比。

我们在制订获得性耐药患者的治疗策略时应考虑以下三个因素:(1)患者是否从先前的 TKI 治疗中获益;(2)患者是否有症状,用药后症状是否能控制和改善;(3)进展和转移的部位。

总之,NSCLC 靶向治疗耐药后可以继续使用 TKI,但不能简单使用。原发性耐药的患者不建议使用。获得性耐药的患者,强烈建议患者再次接受耐药肿瘤活检,争取参加针对耐药靶点机制的相应临床研究。如果无法再次活检,应考虑患者的进展速度和症状。缓慢进展、无症状的患者可以考虑维持 TKI,直到不能耐受或疾病迅速进展;局部症状明显的患者可以考虑加用局部治疗;对于 TKI 进展改用化疗后疾病进展的患者,仍有机会继续接受 TKI 治疗;快速进展的患者,建议改用化疗。

记者:王教授,您对 TKI 耐药的治疗策略的看法是怎样的?

王洁教授(北京大学临床肿瘤学院):目前我们已经知道,TKI 耐药的分子机制是多方面的,T790M 突变和 C-Met 扩增占很大比例。但对已明确的耐药基因各家报道的数据不一致,中国人群在各因素中占多大比例我们不太清楚,耐药基因是在治疗失败后出现的还是肿瘤出现时已经存在尚未定论。从近期越来越多的研究报道看,“选择性”机制有占上风的趋势,有很多专家的观点认为肿瘤的耐药问题从根本讲是肿瘤的异质性,肿瘤出现时,多种克隆是共存的,在选择性压力的作用下出现各种克隆的此消彼涨,耐药基因的不断克隆导致耐药。肿瘤异质性的分子机制可能与克隆进化、肿瘤的微环境、干细胞等有关,也可能是所有的因素共存于肿瘤细胞中。肿瘤异质性的分子机制非常复杂,在治疗过程中表现为动态的变化,从而导致靶向药物治疗失败模式的多样化。

针对吴一龙教授报道的 TKI 治疗失败的临床模型,我们认为三种 TKI 治疗失败模式可能的分子机

制如下:(1)多部位缓慢进展模式可能的分子机制是异质性肿瘤中 EGFR 突变克隆与耐药基因克隆并存,EGFR 突变仍占主导地位,耐药基因亚克隆缓慢增长;治疗策略应该是化疗或化疗+TKI 治疗。(2)快速进展模式可能的分子机制是多种耐药基因克隆快速增长或上皮间质转化、微环境影响等致 EGFR 突变已非驱动基因。治疗策略应该是化疗或新的靶向药物治疗。(3)仅脑或骨单脏器转移进展模式可能的分子机制与不同部位微环境、甲基化的改变有关,在主要病灶 EGFR 突变仍为驱动基因。治疗策略应该是局部治疗+TKI 治疗。因此我个人观点认为,TKI 耐药后应更换化疗或新的靶点药物。

从众多的靶向治疗耐药后再用 TKI 的系列临床研究(回顾性研究为主)来看,尽管各项研究纳入的病例数不同、患者受益的程度不同,但仔细分析发现,这些研究中 60%~70% 患者再次 TKI 治疗前均应用过化疗。告诉我们 TKI 治疗失败后应该首先想到化疗,使在 TKI 压力选择下扩增的耐药基因消失并让 EGFR 突变的细胞克隆重新富集,再次使用 TKI 时再度敏感而受益。再用 TKI 治疗有效的患者往往是初次使用获得客观有效、耐药后尽可能用上化疗的患者,耐药后停用 TKI 的时间越长可能恢复敏感的机会越大。

2011 年麻省理工大学对 37 例重复活检的病例发现,在化疗的作用下,患者的基因发生了动态改变,耐药基因消失。认为化疗可能使在 EGFR TKI 压力选择下扩增的耐药基因消失而致 TKI 再度敏感。我院的研究数据也显示,化疗可能使 EGFR 突变的细胞克隆重新富集,这时再使用 TKI 治疗可以提高疗效。而日本的一项比较 TKI 治疗失败后继续 TKI 和化疗比较的数据显示,继续 TKI 治疗组患者的中位生存时间是 32.3 个月,化疗组患者的中位生存时间是 23 个月。虽然缺乏前瞻性研究的数据,但我们目前认为 TKI 失败后应立即给予化疗,尤其是评分比较好(≤ 2)的患者,化疗可使 EGFR 突变细胞克隆重新富集或 TKI 相关的耐药基因克隆消失或重归沉寂,从而为再次使用 TKI 提供机会。

关于基于新耐药驱动基因的新的靶向药物的研究方兴未艾,目前开展的针对 T790M 突变、C-Met 扩增、ALK-EML4 融合基因的新靶点药物的研究都在进行中。CO-1686 是第三代 EGFR 抑制剂,它非常特异地针对 T790M,值得期待。针对 C-Met 的新靶点药物有小分子抑制剂和单抗。但是如果这些药物找不到靶点,未来必将失败,而且我们找不出失

败的原因,因此我们未来的方向应该是基于单细胞多基因变异检测基础上的个体化治疗。

总之,EGFR 突变型 NSCLC TKI 失败后立即给予化疗是重要治疗方式;新的靶向药物的研发为此类患者带来新的希望;探寻 EGFR 突变型患者 TKI 不同失败模式的分子机制是实现后续个体化治疗的基础;同时我们需要建立无创、实时、动态、定量多基因检测。

记者:杨教授,贵院在肺癌的研究方面做了大量的工作,请您给我们介绍一下手术治疗对 TKI 耐药的晚期非小细胞肺癌的作用。

杨学宁教授(广东省人民医院、广东省肺癌研究所):近年来,已有多位学者报道给予经选择的 TKI 耐药患者包括手术治疗在内的局部治疗,并获得了长期生存。

2013 年 JTO 报道了来自斯隆凯特纪念癌症中心的胸部肿瘤内科的研究数据,这项研究是目前最大宗的 TKI 获得性耐药晚期 NSCLC 接受手术治疗的病例总结,评估了 184 例 TKI 获得性耐药的晚期肺癌患者,其中 18 例患者接受了局部治疗(手术切除、射频消融或放疗)。肺部病灶接受局部治疗 15 例(射频消融 2 例、放疗 2 例、肺叶切除 7 例、楔形切除 1 例、全肺切除 3 例)、淋巴结放疗 1 例和肾上腺切除 2 例。该研究中不包括脑转移灶的局部治疗。局部治疗耐受良好,18 例患者中有 15 例在接受局部治疗后 1 个月内重新开始 TKI 治疗,其余的 3 例则由于局部治疗后无进展证据而未接受治疗。结果显示,接受手术、放疗或射频消融治疗等局部治疗患者的中位总生存期为 41 个月,中位至疾病进展时间为 10 个月,至接受下一个全身治疗的中位时间为 22 个月。接受肺部手术的 11 例患者中,平均至疾病进展时间超过 19.3 个月,9 例患者生存时间超过 2 年。有 1 例术后出现局部复发的患者进一步接受了胸膜外全肺切除术,第二次手术后至疾病进展时间达到 28 个月。这项研究的结论认为:(1)在一部分经过选择的 TKI 获得性耐药患者中(10%),局部治疗可延长无进展间期;(2)局部治疗的开展是安全的,并且毒性很小;(3)单病灶转移疾病的结果最好,并且在局部治疗前应进行完全的疾病程度评估;(4)持续 TKI 治疗很重要,即使在影像学进展后,持续 TKI 可延迟至需要新的全身治疗的时间。

根据吴一龙教授的团队制订的 TKI 治疗失败的临床模式,上述病例符合局部进展组。局部进展

组包括单病灶转移疾病或者单病灶进展的患者。单病灶转移/单病灶进展是指一段肿瘤生物侵袭性较温和的时期,存在于局限性原发灶与广泛性转移之间的过渡阶段,转移瘤数目有限并且转移器官具有特异性。此时肿瘤负荷具有局限性,近似于孤立性远处转移但又有所不同,转移灶或远处转移脏器数目可为多个,并非仅局限于孤立性远处转移,也不局限于肺或者脑部,包括常见的肾上腺、骨、肝和其他部位。

广东省肺癌研究所应用 TKI 治疗晚期 NSCLC 已有超过十年的经验。逐渐积累的经验也发现有部分病例接受手术治疗获得长期生存,提高了生存质量。

对于局部进展组,我们建议对所有患者评价是否能够接受局部治疗。选择手术的病例应经过细致全面的检查,推荐全身 PET 扫描、胸腹部增强 CT 和颅脑增强 MRI。一部分经过治疗前全面疾病评估后选择的 TKI 获得性耐药患者(约 10%)接受局部治疗可延长疾病进展期和总生存期,尤其是对单病灶转移疾病或者单病灶进展的疗效最好。

对于晚期患者,全身治疗是主要的治疗和基础,TKI 耐药局部进展后选择手术治疗应具备以下条件:首先是身体机能状态能耐受手术,第二是病变主要表现为肺部病灶局部进展、肺外病灶稳定,第三是病变能够外科手术切除。

经选择的局部进展 TKI 获得性耐药 NSCLC 手术切除是可行的,积极手术干预可能改善患者预后。但评价为局部进展且为单病灶转移/单病灶进展的病例数量有限,针对此类患者的局部治疗仍缺乏高质量的证据,未来可以考虑开展小规模临床研究,进一步探讨各种局部治疗在局部进展组患者中的价值。

记者:马教授,您是放疗学专家,您认为放疗对 TKI 耐药的患者有应用价值吗?

马胜利教授(杭州市第一人民医院):近期吴一龙教授领衔的团队分析了 TKI 耐药后的临床模式,该研究依据疾病控制持续时间、肿瘤负荷进展情况和临床症状,将 TKI 治疗失败的患者分为快速进展、缓慢进展、局部进展三种临床模式,并建议缓慢进展、局部进展的患者应给予局部治疗。从局部治疗参与的角度考虑,我们也可将 TKI 治疗失败分为颅内转移、胸内转移和其他部位转移三种情况,放疗都有应用的价值。

记者:请您先介绍一下放疗对颅内转移的治疗作用。

马胜林教授:颅内转移是晚期 NSCLC TKI 治疗失败的重要原因之一,2005-2013 年文献报道 TKI 耐药患者颅内转移的发生率为 22%~33%。发生的原因可能与以下几点有关:(1)TKI 治疗使患者生存期延长,致脑转移发生的累积风险增加,而且脑转移也易发生于疾病的晚期阶段;(2)EGFR 突变阳性的肿瘤细胞有可能存在着较高的脑转移潜能;(3)发生脑转移的肿瘤克隆可能有着内在的 TKI 治疗抵抗;(4)血脑屏障有可能致使颅内药物浓度过低。

TKI 对放射治疗有增敏作用,多项 II 期临床研究显示 TKI 联合放疗是 NSCLC 脑转移的有效治疗方式。对于 TKI 治疗颅内失败的患者,在颅外疾病控制稳定的情况下可以继续使用 TKI,同时对颅内病灶给予全脑放疗和/或立体定向放射治疗。Andrew 等对 TKI 治疗颅内转移的患者给予全脑放疗和/或立体定向放射治疗,同时继续使用 TKI,从首次疾病进展到第二次疾病进展的中位时间为 7.1 个月,提示经选择的患者可从积极的局部治疗中获益。或许有人会质疑 TKI 能否通过血脑屏障,有学者用 ^{14}C 标记的厄洛替尼在脑转移灶有较高的浓聚,而且临床资料显示部分脑转移患者接受 TKI 治疗有效,这都说明 TKI 可以透过血脑屏障,当然也有学者质疑这是已经发生的脑转移破坏了血脑屏障的原因。

无症状脑转移是 NSCLC 脑转移独立的预后因素,然而这类患者的治疗策略目前尚存在争议。Kim 等发现早期的放疗干预明显优于单纯化疗,有助于改善患者的预后。CTONG 0803 研究显示对于一线化疗后出现无症状脑转移的腺癌或 EGFR 突变阳性 NSCLC 患者,单药厄洛替尼治疗颅内疾病的中位无进展生存期为 10.1 个月,而 EGFR 突变阳性患者的无进展生存期可达 15.2 个月,提示了 TKI 在该类人群中的应用价值。因此,可以设想,对于 TKI 治疗有效且合并无症状脑转移的患者,早期积极的放疗参与有可能会为患者带来更多的生存获益。

来自于 NSCLC 的 6 项随机临床研究表明脑部预防性放疗能显著降低 NSCLC 患者脑转移发生率(50%),提示脑部预防性放疗在预防脑转移方面的价值;而颅内转移是 TKI 耐药后的主要失败模式。基于此,我们假设 TKI 治疗有效的 NSCLC 患者接受早期的脑部预防性放疗可以降低脑转移的发生率,并计划开展相应的 III 期随机临床研究以探讨脑部预防性放疗是否可以延长颅内无疾病进展时间、

最大化 TKI 治疗效果。

记者:请您再介绍一下放疗对胸内转移的治疗作用。

马胜林教授:TKI 治疗后的胸内转移发生率约为 57%~63%,T790M 突变在其中扮演着重要的角色。Oxnard 等对 93 例 EGFR 敏感型突变肺癌患者出现 TKI 获得性耐药后进行了再次活检,发现 58 例(62%)标本中存在 T790M 突变,这些标本更多见于原发灶(90%)、胸膜以及纵隔、肺门的淋巴结,而且这部分患者预后较好,表现出更为缓慢的临床进展,提示对于病灶比较局限、进展缓慢或有 T790M 突变的患者,在继续使用 TKI 同时给予积极的局部治疗可能会为这部分患者带来额外的临床获益。

关于 TKI 治疗背景下 IV 期肺癌在放疗早期参与的潜在价值,我们认为放疗早期参与可能受益的患者是单个病灶、PS 评分 0~2 分、病灶能被一个合理的照射野包括。潜在益处表现为可以消灭非交叉抵抗的肿瘤克隆(TKI 放疗增敏)、最大化 TKI 治疗获益(延长无进展生存期)。

在靶向治疗出现之前,晚期 NSCLC 的中位生存期不超过 1 年,在这部分人群中应用放射治疗的目的是非根治性的,更多的是作为姑息减症的重要手段,包括胸部原发灶以及转移灶的局部放疗。2004 年 Mehta 等发现在给予有效的化疗后,50%~60%的 IV 期肺癌患者 1 年内表现为疾病稳定或原发病灶进展,PS 评分好的患者 1 年生存率可提高 6%、2 年生存率提高 3%。近年来随着放射治疗技术、放疗设备及影像设备的飞速进步,针对一些复杂病例也可以给予高剂量的姑息放疗,这也给晚期肺癌患者提供了更多的放射治疗机会。2013 年发表在 J Clin Oncol 的 CanCORS 研究是一项针对晚期肺癌患者治疗的现状调查分析(1 574 例患者),结果发现临床医生在给予胸部放射治疗时更趋向于给予更高剂量、更多分割次数的放疗,这也提示在靶向治疗时代,放射治疗在晚期肺癌患者中的应用需给予更多的考虑,而不能简单依据既往的经验或临床指南给予低剂量姑息性的减症放疗。有学者对未经选择的 26 例 IIIA~IV 期晚期患者中应用 TKI 联合放疗中位随访 10.2 个月,局部控制率达 96%;在经选择的晚期患者中应用 TKI 联合放疗,中位无进展生存时间为 16 个月。这些数据提示我们,积极的局部治疗是有价值的。

总之,TKI 耐药后应依据患者疾病临床进展情况、分子病理特征等积极采用相应的局部治疗,放

疗应作为首选。另外,有选择的对 TKI 治疗有效患者实施早期放疗干预,包括预防性脑放疗和原发灶放射治疗。此外,其他的局部治疗手段包括射频消融、粒子植入、物理治疗等也有潜在的应用空间。

在吴一龙教授、秦叔逵教授、周清华教授和蒋国樑教授的主持下,在与会专家的共同参与下,本次论坛就肺癌小分子靶向药物的耐药机制和应对策略达成以下共识:

(1)EGFR 突变型肺癌,建议检测 BIM,以发现原发性耐药患者。(2)对 EGFR TKI 耐药的突变型肺癌,建议重新活检以明确耐药的分子机制,鼓励

患者参加相应的临床试验。(3)对 EGFR TKI 继发耐药的无症状缓慢进展突变型肺癌,建议继续使用 EGFR TKI。(4)表现为孤立进展的 EGFR TKI 继发耐药,建议在继续使用 EGFR TKI 的基础上联合应用局部治疗,局部治疗手段的选择以最小创伤为基本原则。(5)对 EGFR TKI 获益、继发耐药后接受细胞毒药物治疗再次耐药的 EGFR 突变型患者,可考虑再程使用 EGFR TKI,但不推荐立即转换第二种 EGFR TKI。

[收稿日期] 2013-04-15

2013年中国肺癌高峰论坛与会专家

(按姓名拼音顺序排名)

白春学(复旦大学附属中山医院)
常建华(复旦大学附属肿瘤医院)
陈刚(广东省人民医院)
陈明(中山大学附属肿瘤医院)
陈公琰(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院)
陈海泉(复旦大学附属肿瘤医院)
陈克能(北京大学临床肿瘤学院)
陈龙华(南方医科大学南方医院)
陈晓媛(国家食品药品监督管理局药品审评中心)
程颖(吉林省肿瘤医院)
崔同建(福建省立医院)
范云(浙江省肿瘤医院)
冯继锋(江苏省肿瘤医院)
傅小龙(复旦大学附属肿瘤医院)
管忠震(中山大学附属肿瘤医院)
顾春东(大连医科大学附属第一医院)
韩宝惠(上海交通大学附属胸科医院)
侯梅(四川大学华西医院)
胡成平(中南大学附属湘雅医院)
胡艳萍(湖北省肿瘤医院)
蒋国樑(复旦大学附属肿瘤医院)
李伟雄(广东省人民医院)
廖美琳(上海交通大学附属胸科医院)
刘莉(华中科技大学同济医学院附属协和医院)
刘晓晴(中国人民解放军307医院)
陆舜(上海交通大学附属胸科医院)
罗红鹤(中山大学附属第一医院)
马锐(辽宁省肿瘤医院)
马胜林(杭州市第一人民医院)
马智勇(河南省肿瘤医院)
毛伟敏(浙江省肿瘤医院)
乔贵宾(广州军区广州总医院)

秦叔逵(中国人民解放军八一医院)
申屠阳(上海交通大学附属胸科医院)
史美祺(江苏省肿瘤医院)
宋勇(南京军区南京总医院)
宋启斌(武汉大学人民医院)
宋恕平(山东省肿瘤医院)
宋向群(广西医科大学附属肿瘤医院)
王洁(北京大学临床肿瘤学院)
王俊(北京大学人民医院)
王欣(中山大学附属肿瘤医院)
王建军(华中科技大学同济医学院附属协和医院)
王群(复旦大学附属中山医院)
吴一龙(广东省人民医院)
伍钢(华中科技大学同济医学院附属协和医院)
熊建萍(南昌大学第一附属医院)
许林(江苏省肿瘤医院)
许绍发(首都医科大学附属北京胸科医院)
杨衿记(广东省人民医院)
杨学宁(广东省人民医院)
于丁(湖北省肿瘤医院)
于世英(华中科技大学同济医学院附属同济医院)
张贺龙(第四军医大学唐都医院)
张虹(国家食品药品监督管理局药品审评中心)
张力(中山大学附属肿瘤医院)
张绪超(广东省人民医院)
张沂平(浙江省肿瘤医院)
赵琼(杭州市第一人民医院)
钟文昭(广东省人民医院)
周彩存(同济大学附属上海市肺科医院)
周清华(天津医科大学总医院)
朱广迎(北京大学临床肿瘤学院)