

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190777

表皮生长因子受体突变非小细胞肺癌耐药机制的研究进展

施纯子^{1,2}, 黄 钢^{2,3*}

1. 上海中医药大学研究生院, 上海 201203

2. 上海健康医学院, 上海 201318

3. 上海中医药大学, 上海 201203

[摘要] 目前,肺癌的发病率及病死率仍居全球各类癌症的首位。肺癌确诊时常为中晚期,放化疗疗效不理想,术后复发与转移率较高。靶向治疗,如表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)的应用,显著提高了伴 EGFR 突变的中晚期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者的临床疗效。但由于耐药的发生,NSCLC 患者预后仍然欠佳。本文对 EGFR 突变的 NSCLC 患者对 TKIs 耐药机制的研究进展作一综述,以期临床探索新的解决策略提供依据。

[关键词] 非小细胞肺癌;表皮生长因子;酪氨酸激酶抑制剂;突变;耐药

[中图分类号] R 734.2 **[文献标志码]** A

Research progress of drug resistance mechanism for non-small cell lung cancer patients with epidermal growth factor receptor mutations

SHI Chun-zi^{1,2}, HUANG Gang^{2,3*}

1. Graduate School of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201318, China

3. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

[Abstract] At present, the morbidity and mortality of lung cancer still rank first among all kinds of cancers in the world. Lung cancer diagnosis is often in the intermediate and terminal stage, and its radiotherapy and chemotherapy are not effective, with high postoperative recurrence and metastasis rate. Targeted therapies, such as epidermal growth factor receptor (EGFR)-tyrosine kinase inhibitors (TKIs), have significantly improved clinical outcomes of patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) complicated with EGFR mutation. However, the prognosis is still poor due to the occurrence of drug resistance. This article reviews the research progress of TKIs resistance mechanism in NSCLC patients with EGFR mutation, so as to provide reference for clinical exploration of new treatment strategies.

[Key Words] non-small cell lung cancer; epidermal growth factor receptor; tyrosine kinase inhibitor; mutation; drug resistance

美国癌症学会《2018 年全球癌症统计数据》报告,2018 年新发肺癌近 210 万,死亡 176 万,新发病率、病死率分别为 11.6%和 18.4%^[1]。肺癌发病率和死亡率均居全球各类癌症首位。

按组织学特征,肺癌现可分为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)及非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)两类。其中 NSCLC 占 80%,主要为腺鳞癌及大细胞癌^[2]。Ⅲ/

Ⅳ期 NSCLC 患者的 5 年生存率远低于其他癌症,为 15%~19%,晚期伴转移患者生存率仅为 4%^[3]。

早期肺癌临床表现缺乏特异性,检查和诊断多依赖高分辨率 CT 及患者定期随访。因此,NSCLC 的早期诊断率不高。针对Ⅲ/Ⅳ期 NSCLC 患者,临床多采用放化疗联合治疗,但放化疗引起的不良反应较多,且部分患者对治疗敏感性较差,导致患者生存质量及预后较差。

[收稿日期] 2019-05-19

[接受日期] 2019-06-15

[基金项目] 国家自然科学基金(81830052,81530053),上海分子影像重点实验室(18DZ 2260400). Supported by National Natural Science Foundation of China(81830052,81530053)and Shanghai Key Laboratory of Molecular Imaging (18DZ 2260400).

[作者简介] 施纯子,硕士生,住院医师. E-mail:SCZ891202@163.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-65881152, E-mail: huanggang@sumhs.edu.cn

NSCLC 患者表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)突变的发现,及其酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)靶向治疗方法的问世,使经验细胞毒性化疗转变为分子靶向癌症治疗的模式。

尽管早期 EGFR-TKIs 的应用改善了该类肺癌患者的生存率及预后,但耐药现象的存在及癌症进展限制了多数患者的获益。肺腺癌伴 EGFR 突变的患者中,有 5%~10% 对 EGFR-TKIs 发生了原发性耐药;同时,对 EGFR-TKIs 敏感的患者在治疗 8~16 个月后,出现继发性耐药^[4-6]。因此,近 10 年,EGFR-TKIs 的耐药机制及解决方法成为研究热点^[7]。

1 EGFR-TKIs 作用原理及发展史

EGFR 属酪氨酸激酶 I 型受体家族,其基因定位于人第 7 号染色体的短臂,常在多种上皮细胞肿瘤中表达。EGFR-TKIs 作用机制主要为选择性结合 EGFR 细胞内酪氨酸激酶域的三磷酸腺苷(ATP)结合位点,阻断 EGFR 分子内酪氨酸自身磷酸化,进而抑制 EGFR 下游信号通路,影响肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移,肿瘤内新生血管生成及组织表型转化^[8]。EGFR 下游通路包括 RAS/RAF/MAPK、PI3K/AKT 和 JAK/STAT 通路^[9]。

第 1 代 EGFR-TKIs(吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼)可竞争性阻断 ATP 与酪氨酸激酶结构域结合,抑制酪氨酸激酶的活化,进而阻断 EGFR 信号通路,发挥抗肿瘤作用。EGFR 敏感突变(如 19 号外显子缺失及第 858 个氨基酸突变(亮氨酸突变为精氨酸, L858R) 的 NSCLC 患者,接受第 1 代 EGFR-TKIs 治疗后,疗效明显改善,无进展生存期(PFS)从 5 个月延长至 9 个月。

然而,第 1 代药物与酪氨酸激酶结构域的结合是可逆的。针对该缺点,第 2 代 EGFR-TKIs(阿法替尼、达克替尼)进行了改进,其能与 EGFR 共价结合,不可逆地中断信号传导,从而带来持续且广谱的抗肿瘤活性。尽管第 1、2 代 EGFR-TKIs 均使患者中位缓解时间延长,但仍有超过 60% 的患者对其发生耐药。第 3 代 EGFR-TKIs(奥西替尼、洛昔替尼)不仅能不可逆地与酪氨酸激酶结合,且具有高度选择性,可有效对抗 EGFR-TKIs 继发性耐药。

2 原发性耐药机制

原发性耐药是指伴有 EGFR 突变的 NSCLC 患

者在接受 EGFR-TKIs 治疗后的 90 d 内无客观反应且病情进展。原发性耐药机制主要概括为以下几方面。

2.1 BIM 基因多态性缺失 BIM 基因是 B 细胞淋巴瘤-2(BCL-2)蛋白家族成员之一,具有促凋亡作用。东亚人群中 BIM 基因多态性缺失可导致活性 BIM 蛋白表达下调或无活性 BIM 增多,使 EGFR-TKIs 无法通过 BIM 蛋白介导而引起肿瘤细胞凋亡^[10-11]。Ng 等^[12]发现,EGFR 突变 NSCLC 患者中,BIM 表达水平与 EGFR-TKIs 疗效呈正相关,BIM 多态性缺失是 TKIs 原发性耐药的分子机制之一。

2.2 体细胞单核苷酸突变 Zhong 等^[13]用新一代测序技术(NGS)分析 11 例 EGFR-TKIs 原发性耐药患者的基因情况后首次发现,单核苷酸突变模式与其原发耐药相关联,其中原发耐药组 DNA 点突变频率(51.3%)高于敏感组(43.6%),主要突变为胸腺嘧啶替代胞嘧啶、腺嘌呤替代鸟嘌呤,提示碱基的环外氨基自发脱落导致的单核苷酸转换是 EGFR-TKIs 原发性耐药的潜在机制。

2.3 EGFR 基因的共存突变 EGFR-TKIs 对携带常见敏感突变的(如 L858R 突变)NSCLC 患者疗效较理想。基因测序发现,EGFR 敏感突变与耐药突变共存也是引发耐药的机制之一。耐药突变包括 EGFR L858M(外显子 21)、L11F(外显子 1)、G719A(外显子 18)和 T790M(外显子 20)突变^[13]。以往,T790M 突变被认为是继发性耐药的主要原因,现发现其也与原发性耐药相关。此外,EGFR 突变还可与 KRAS 突变共存(小于 1%),或与 ALK 重排共存(小于 2%)^[14-15]。这些耐药突变可以阻滞 EGFR-TKIs 与 EGFR 靶部位结合^[16-17]。

2.4 下游信号通路异常启动及旁路途径代偿性激活 当上游 EGFR 通路激活受阻时,肿瘤细胞可利用 EGFR 下游信号通路分子代偿性激活其他信号通路或通过信号通路间的交互作用而维持 EGFR 下游通路的持续激活,促使肿瘤细胞生长、侵袭和转移。

2.4.1 MET 扩增 C-MET 原癌基因编码的蛋白质产物 MET 是肝细胞生长因子的特异性受体(HGFR),具有酪氨酸激酶活性,与多种癌基因产物和调节蛋白相关。HGF 与 HGFR 结合可诱导多种细胞的多效性生物学效应,包括有丝分裂活性、原动力活性、形态活性和抗凋亡活性^[18]。C-MET 原

癌基因扩增,使 MET 的配体 HGF 可以持续磷酸化 MET,恢复 PI3K/AKT 信号通路,诱导 EGFR 突变的肺腺癌细胞对吉非替尼产生耐药性^[19-20]。这一机制可能与吉非替尼的原发和继发性耐药均有关^[21-22]。

2.4.2 PTEN 缺失 PTEN 是一种抑癌基因,蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP)基因家族成员。PTEN 通过去磷酸化 PI-(3,4,5)-三磷酸参与细胞调控,介导 AKT 的活化,从而负调控 PI3K/AKT/mTOR 通路,导致 G1 期阻滞,促进肿瘤细胞凋亡。研究^[23]表明,EGFR 突变的细胞中 PTEN 表达下调或缺失时,下游通路 PI3K/AKT 被异常激活,过表达的 AKT 使肿瘤细胞可以抵抗凋亡进程。由 PTEN 丢失引起的 PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制可能是 EGFR 敏感突变 NSCLC 患者对 EGFR-TKIs 继发性耐药的机制之一^[24-25]。

2.5 TP53 突变 TP53 基因又称为 p53 基因,是公认的抑癌基因,其重要作用之一是调控细胞分裂和增殖。研究^[26]显示,50%~60%的晚期 EGFR 突变肺癌患者发生 TP53 突变。TP53 功能的缺失使肿瘤的侵袭性增加且对 EGFR-TKIs 敏感性降低,也是原发性耐药机制之一^[27]。此外,突变 TP53 还能通过激活转录因子 EGR-1,促进 Cathepsin L 入核并过表达,继而促进肿瘤细胞的上皮间质转化,调节肿瘤细胞的侵袭迁移能力^[28]。

2.6 神经纤维蛋白 1(NF1)表达的降低 de Bruin 等^[29]通过对人类肺癌细胞系全基因组 siRNA 和对小鼠 EGFR 突变型肺腺癌的分析,发现厄洛替尼耐药性与 NF1 表达降低有关。NF1 是由 NF1 基因编码的 RAS GTP 酶激活蛋白。当 NF1 水平降低时,厄洛替尼对 RAS/RAF/MEK/ERK 信号抑制减弱;MEK 抑制剂可使治疗 NF1 表达降低的肺腺癌患者对厄洛替尼的敏感性恢复。该结果表明,低水平的 NF1 表达与肺腺癌患者对 EGFR-TKIs 的原发性和继发性耐药均有关。

2.7 其他潜在的突变相关机制 Zhong 等^[13]通过对原发性耐药患者进行基因测序发现,耐药患者存在以下独特的高频率突变。(1)泛素 E3 连接酶环指 43 (RNF43)失活突变;RNF43 具有 E3 泛素化连接酶活性,通过对 Wnt 膜受体的清除能力发挥负向调控效应。RNF43 的失活突变使 Wnt 通路异常过度激活,促进肿瘤的发生。研究^[30-31]证实,在胰腺囊性肿瘤、结直肠癌、子宫内膜癌等多种肿瘤中

存在高频 RNF43 失活突变。(2)MYC 扩增:MYC 是一种调控基因,在细胞周期进程、凋亡、转化等过程中发挥重要作用。测序结果^[13]显示,原发性耐药患者基因的 MYC 扩增率(13.6 倍)明显高于对 EGFR-TKIs 药物敏感的患者(2.9~4.8 倍)。MYC 扩增可能是肺腺癌患者无病生存率和总体生存率的独立不良预后因素,且 MYC 抑制剂最近已被用于临床前研究^[32-33]。这两种突变可能与 EGFR-TKIs 原发耐药相关,但机制仍需进一步研究证实。

2.8 组织学改变 上皮间质转化(EMT)主要参与胚胎发育过程中的细胞分化,是一种重要的生理现象。EMT 主要表现为上皮细胞极性特征的改变,涉及细胞间连接和细胞器分布状态等,可使肿瘤细胞具备转移及侵袭能力,加剧肿瘤的病程进展^[14]。CRIPTO1 也称为 TDGF1(生长因子 1)是一种糖基磷脂酰肌醇(GPI)相关细胞膜固定点蛋白,属于 EGF-CFC 家族,能通过激活 ZEB1 和 SRC 减弱肺癌患者对 EGFR-TKIs 的敏感性,促进 EMT 的发生^[34]。

3 继发性耐药机制

继发性耐药:(1)继发性耐药患者曾接受过单一 EGFR-TKIs 抑制剂的治疗;(2)EGFR-TKIs 治疗伴 EGFR 突变肿瘤的敏感性与客观临床疗效相关,患者从治疗中获益,得到部分缓解(PR)或完全缓解(CR),或明显且持久的(≥ 6 个月)临床疗效;(3)疾病系统性进展;(4)在 EGFR-TKIs 治疗和新疗法之间未进行其他系统治疗^[7]。

3.1 EGFR 继发突变 NSCLC 患者中最常见的 EGFR-TKIs 继发性耐药机制为第 20 号外显子的 T790M 突变,约占继发性耐药患者的 50%^[35-36]。其耐药的可能机制:(1)在 790 位点,蛋氨酸(M)替代苏氨酸(T),使 EGFR 与 ATP 结合力降低^[37]。蛋氨酸虽然形成空间位阻,但不影响 ATP 和酪氨酸激酶的结合,使酪氨酸激酶磷酸化状态得以维持。(2)T790M 突变增加了 EGFR 与 ATP 结合的亲和力,使 EGFR-TKIs 与 EGFR 结合被 ATP 竞争性结合取代。

EGFR-C797S 突变是第 3 代 EGFR-TKIs 主要的耐药机制。奥希替尼与半胱氨酸 C797 在 ATP 结合位点形成共价键,而 C797S 突变影响共价键的形成,导致 EGFR-TKIs 失效,此时 EGFR 下游通路

仍处于激活状态^[38]。

此外,D761Y(19 号外显子)、T854A(21 号外显子)^[39]和 L747S(19 号外显子)突变^[40]近年来也被证实与 EGFR-TKIs 继发性耐药有关。

3.2 下游信号通路激活及旁路途径异常激活 除 MET 扩增、PTEN 缺失、NF1 表达的降低外, NSCLC 也可能通过下述 EGFR 下游信号蛋白基因突变或异常激活对 EGFR-TKIs 产生继发性耐药。

3.2.1 胰岛素样生长因子-1 受体(IGF-1R)介导的 EGFR 下游通路异常激活 IGF-1R 作为一种跨膜蛋白,对肿瘤细胞增殖、基因转换等都起重要作用,其激活可异常激活 RAS/RAF/MAPK 及 PI3K/AKT 信号转导通路。NSCLC 患者中普遍存在 EGFR 基因的过表达,同时伴随 IGF-1R 的高表达。IGF-1R 过表达可维持 PI3K/AKT 信号通路激活,从而介导患者对 EGFR-TKIs 的耐药。研究^[41-42]发现,EGFR-TKIs 治疗的肿瘤细胞中 IGF 结合蛋白(IGFBPs)表达缺失,使 IGF-1R 活性增加,进而介导了 EGFR-TKIs 的耐药性。研究^[43]发现,IGF-1R 基因在整体肺癌患者中突变频率较低,却在鳞癌和腺癌患者中呈高表达状态。而在肺腺癌患者中,IGF-1R 过表达者生存期较表达者明显缩短^[44]。

3.2.2 AXL 过表达或异常激活 AXL 属于 RTK 的 Tyro/ AXL /Mer (TAM)家族。生长抑制特异性蛋白 6 (GAS6)是 AXL 的配体。AXL 激活后通过多种下游途径促进细胞迁移、聚集和生长。AXL 在获得对厄洛替尼耐药的 EGFR 突变型 NSCLC 异种移植瘤模型中过表达^[45]。Lee 等^[46]发现,AXL 表达上调可异常激活 AKT、MAPK 或 NF- κ B 信号通路,促进厄洛替尼的耐药发生,还可能与 EMT 相关。

3.2.3 白介素 6(IL-6)过度分泌 IL-6 在多种慢性炎症疾病中发挥重要作用,参与肿瘤生长和转移、扩散的调控。IL-6R/JAK1/STAT3 通路的激活可诱导伴 T790M 突变的 NSCLC 患者对第 2 代及 3 代 EGFR-TKIs 产生耐药性^[47]。此外,旁分泌或自分泌刺激 TGF- β 轴也会增加 IL-6 的分泌,促进 EGFR-TKIs 耐药的发生^[48]。

3.2.4 CRK 样基因(CRKL)扩增 CRKL 是一种适配蛋白,受到细胞内外因子(如生长因子、细胞因子或 BCR-ABL 融合蛋白)刺激后,参与信号转导。CRKL 可激活 SOS1/RAS/RAF/ERK 和 SRC/C3G/RAP1 通路。EGFR 突变的肺癌细胞中,

CRKL 扩增后通过激活 ERK 和 AKT 信号蛋白诱导细胞对吉非替尼的耐药^[49]。

3.2.5 PIK3CA 突变 PIK3CA 是 PI3K 催化亚基的编码基因,在多种肿瘤中发生突变或扩增。研究^[50-51]表明,PIK3CA 突变常与 EGFR 或 K-RAS 突变共存,介导 EGFR-TKIs 耐药,但其作用机制仍需进一步探究。

3.2.6 HER2 扩增 HER2 在 EGFR-TKIs 敏感的 EGFR 突变细胞中经厄洛替尼处理后呈磷酸化形式。利用小干扰 RNA(siRNA)下调 HER2 表达后,EGFR 突变细胞株的生长受到进一步抑制。HER2 过表达或敲除分别使伴 EGFR 突变的细胞系模型表现出耐药性和敏感性。基因组拷贝数分析^[52]表明,HER2 在小鼠和人类肿瘤中均有扩增,其通过与激活的 EGFR 结合,激活下游信号,调控细胞增殖和迁移。HER2 可能是 EGFR-TKIs 耐药细胞的耐药介质^[39]。

3.3 血管生成途径分子表达异常 肿瘤异常生长和转移是其重要特征,而新生血管生成是该特征实现的重要途径。血管功能受损和组织缺氧可导致肿瘤转移及耐药性增加^[35]。

EGFR 信号的激活可以增加血管内皮生长因子(VEGF)的表达。VEGF 家族及其受体是血管生成和血管通透性的重要调控因子^[53]。肿瘤细胞中血管内皮生长因子受体 1(VEGFR-1)过表达导致肿瘤细胞存活和侵袭性增加^[54]。VEGF 可能抑制肿瘤对 EGFR-TKIs 敏感性,降低其抗肿瘤作用。Bianco 等^[55]发现,VEGF/VEGFR 系统通过 EGFR 独立机制激活下游信号通路,与 EGFR-TKIs 的耐药性相关。

成纤维细胞生长因子(FGF)及其受体(FGFRs)也参与肿瘤组织血管的形成。FGFR2 和 FGFR3 能介导 FGF2 和 FGF7 刺激的细胞外调节蛋白激酶 ERK 活化,降低细胞对 EGFR-TKIs 的敏感性^[56]。FGFR 激活是肺癌细胞对阿法替尼耐药的一种逃逸机制^[57]。

4 组织学改变

4.1 EMT EMT 不仅与原发耐药有关,还与体外对 EGFR-TKIs 的继发性耐药有关^[58-59]。VEGFR-1 通过诱导 EMT,在癌症进展中发挥作用^[53]。VEGFR-1 的激活导致 EMT 相关转录因子的表达增加。IL-8^[8]、Notch-1^[60]、SOX9^[61]等因子

与 EMT 相关。

4.2 NSCLC 转化为 SCLC 尽管 NSCLC 和 SCLC 病理学特征和基因组不同,但其可能具有共同的细胞来源。对 EGFR-TKIs 耐药的患者中存在 NSCLC 转化为 SCLC 的现象^[13]。RB1 的失活在 SCLC 的发生发展中起重要作用,RB1 的突变或丢失在人类 SCLC 肿瘤中被发现^[62]。

综上所述,肺癌是全球人群健康的主要威胁之一,也是医学研究领域需要攻克的堡垒。随着基因测序技术的成熟、多层组学整合及生物信息学的发展,肺癌的治疗手段得到了很大发展。除常规的手术、放疗、化疗外,分子靶向治疗、基因治疗和免疫治疗为其提供了新思路。然而,耐药的产生限制了药物的疗效及患者的预后。因此,肺癌耐药机制及逆转耐药的研究对于临床治疗具有重大意义。耐药机制的突破将使肺癌的治疗更高效,增加患者获益。

参考文献

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[2] MEZA R, MEERNIK C, JEON J, et al. Lung cancer incidence trends by gender, race and histology in the United States, 1973-2010[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0121323.

[3] BLANDIN KNIGHT S, CROSBIE P A, BALATA H, et al. Progress and prospects of early detection in lung cancer[J]. Open Biology, 2017, 7(9). pii: 170070.

[4] 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[J]. Lancet Oncol, 2012, 13(3): 239-246.

[5] MITSUDOMI T, MORITA S, YATABE Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial[J]. Lancet Oncol, 2010, 11(2): 121-128.

[6] MOK T S, WU Y L, THONGPRASERT S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma[J]. N Engl J Med, 2009, 36(1): 947-957.

[7] LEE D H. Treatments for EGFR-mutant non-small cell lung cancer (NSCLC): The road to a success, paved with failures [J]. Pharmacol Ther, 2017, 174: 1-21.

[8] IDBAIH A, AIMARD J, BOISSELIER B, et al. Epidermal growth factor receptor extracellular domain mutations in

primary glioblastoma [J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2009, 35(2): 208-213.

[9] PALENA C., HAMILTON D H, FERNANDO R I. Influence of IL-8 on the epithelial-mesenchymal transition and the tumor microenvironment[J]. Future Oncol, 2012, 8(6): 713-722.

[10] MA J Y, YAN H J, GU W. Association between BIM deletion polymorphism and clinical outcome of EGFR-mutated NSCLC patient with EGFR-TKI therapy: A meta-analysis [J]. J Cancer Res Ther, 2015, 11(2): 397-402.

[11] COSTA C, MOLINA M A, DROZDOWSKYJ A, et al. The impact of EGFR T790M mutations and BIM mRNA expression on outcome in patients with EGFR-mutant NSCLC treated with erlotinib or chemotherapy in the randomized phase III EURTAC trial[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(7): 2001-2010.

[12] NG K P, HILLMER A M, CHUAH C T, et al. A common BIM deletion polymorphism mediates intrinsic resistance and inferior responses to tyrosine kinase inhibitors in cancer[J]. Nat Med, 2012, 18(4): 521-528.

[13] ZHONG J, LI L, WANG Z, et al. Potential resistance mechanisms revealed by targeted sequencing from lung adenocarcinoma patients with primary resistance to epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors (TKIs)[J]. J Thorac Oncol, 2017, 12(12): 1766-1778.

[14] RIELY G J, POLITI K A, MILLER V A, et al. Update on epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(24): 7232-7241.

[15] WANG Z, ZHANG X, BAI H, et al. EML4-ALK Rearrangement and its clinical significance in Chinese Patients with advanced non-small cell lung cancer [J]. Oncology, 2012, 83(5): 248-256.

[16] GREULICH H, CHEN T H, FENG W, et al. Oncogenic transformation by inhibitor-sensitive and -resistant EGFR mutants[J]. PLoS Med, 2005, 2(11): e313.

[17] IWAMA E, TAKAYAMA K, HARADA T, et al. Highly sensitive and quantitative evaluation of the EGFR T790M mutation by nanofluidic digital PCR[J]. Oncotarget, 2015, 6(24): 20466-20473.

[18] MATSUMOTO K, NAKAMURA T. Hepatocyte growth factor and the Met system as a mediator of tumor-stromal interactions[J]. Int J Cancer, 2006, 119(3): 477-483.

[19] WANG W, LI Q, TAKEUCHI S, et al. Met kinase inhibitor E7050 reverses three different mechanisms of hepatocyte growth factor-induced tyrosine kinase inhibitor resistance in EGFR mutant lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(6): 1663-1671.

[20] YAMADA T, MATSUMOTO K, WANG W, et al. Hepatocyte growth factor reduces susceptibility to an irreversible epidermal growth factor receptor inhibitor in EGFR-T790M mutant lung cancer [J]. Clin Cancer Res,

- 2009, 16(1): 174-183.
- [21] YANO S, WANG W, LI Q, et al. Hepatocyte growth factor induces gefitinib resistance of lung adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor-activating mutations[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(22): 9479-9487.
- [22] MUELLER K L, MADDEN J M, ZORATTI G L, et al. Fibroblast-secreted hepatocyte growth factor mediates epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor resistance in triple-negative breast cancers through paracrine activation of Met[J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(4): R104.
- [23] SHARMA S V, LEE D Y, LI B, et al. A chromatin-mediated reversible drug-tolerant state in cancer cell subpopulations[J]. *Cell*, 2010, 141(1): 69-80.
- [24] SOS M L, KOKER M, WEIR B A, et al. PTEN loss contributes to erlotinib resistance in EGFR-mutant lung cancer by activation of Akt and EGFR[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(8): 3256-3261.
- [25] KIM E J, JEONG J H, BAE S, et al. mTOR inhibitors radiosensitize PTEN-deficient non-small-cell lung cancer cells harboring an EGFR activating mutation by inducing autophagy[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(6): 1248-1256.
- [26] YU H A, SUZAWA K, JORDAN E, et al. Concurrent alterations in EGFR-mutant lung cancers associated with resistance to EGFR kinase inhibitors and characterization of MTOR as a mediator of resistance[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(13): 3108-3118.
- [27] VANDERLAAN P A, RANGACHARI D, MOCKUS S M, et al. Mutations in TP53, PIK3CA, PTEN and other genes in EGFR mutated lung cancers; Correlation with clinical outcomes[J]. *Lung Cancer*, 2017, 106: 17-21.
- [28] 王文娟. 突变 p53 诱导转录因子 Egr-1 调控 Cathepsin L 在肺癌上皮间质转化中的作用[D]. 苏州大学, 2016.
- [29] DE BRUIN E C, COWELL C, WARNE P H, et al. Reduced NF1 expression confers resistance to EGFR inhibition in lung cancer[J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(5): 606-619.
- [30] JIANG X, HAO H X, GROWNEY J D, et al. Inactivating mutations of RNF43 confer Wnt dependency in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(31): 12649-12654.
- [31] GIANNAKIS M, HODIS E, JASMINE MU X, et al. RNF43 is frequently mutated in colorectal and endometrial cancers[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(12): 1264-1266.
- [32] IWAKAWA R., KOHNO T, KATO M, et al. MYC amplification as a prognostic marker of early-stage lung adenocarcinoma identified by whole genome copy number analysis[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(6): 1481-1489.
- [33] SEO A N, YANG J M, KIM H, et al. Clinicopathologic and prognostic significance of c-MYC copy number gain in lung adenocarcinomas [J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(11): 2688-2699.
- [34] PARK K S, RAFFELD M, MOON Y W, et al. CRIPTOI expression in EGFR-mutant NSCLC elicits intrinsic EGFR-inhibitor resistance [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(7): 3003-3015.
- [35] BALLAS M S, CHACHOUA A. Rationale for targeting VEGF, FGF, and PDGF for the treatment of NSCLC[J]. *Onco Targets Ther*, 2011, 4: 43-58.
- [36] SUDA K, ONOZATO R, YATABE Y, et al. EGFR T790M mutation a double role in lung cancer cell survival? [J]. *J Thorac Oncol*, 2009, 4(1): 1-4.
- [37] BELL D W, GORE I, OKIMOTO R A, et al. Inherited susceptibility to lung cancer may be associated with the T790M drug resistance mutation in EGFR[J]. *Nat Genet*, 2005, 37(12): 1315-1316.
- [38] MINARI R, BORDI P, TISEO M. Third-generation epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in T790M-positive non-small cell lung cancer: review on emerged mechanisms of resistance[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2016, 5(6): 695-708.
- [39] TAKEZAWA K, PIRAZZOLI V, ARCILA M E, et al. HER2 amplification: a potential mechanism of acquired resistance to EGFR inhibition in EGFR-mutant lung cancers that lack the second-site EGFR T790M mutation[J]. *Cancer Discov*, 2012, 2(10): 922-933.
- [40] COSTA D B, SCHUMER S T, TENEN D G, et al. Differential responses to erlotinib in epidermal growth factor receptor (EGFR)-mutated lung cancers with acquired resistance to gefitinib carrying the L747S or T790M secondary mutations [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(7): 1181-1184.
- [41] GUIX M, FABER A C, WANG S E, et al. Acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in cancer cells is mediated by loss of IGF-binding proteins [J]. *The J Clin Invest*, 2008, 118(7): 2609-2619.
- [42] PELED N, WYNES M W, IKEDA N, et al. Insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) as a biomarker for resistance to the tyrosine kinase inhibitor gefitinib in non-small cell lung cancer[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2013, 36(4): 277-288.
- [43] TSUTA K, MIMAE T, NITTA H, et al. Insulin-like growth factor-1 receptor protein expression and gene copy number alterations in non-small cell lung carcinomas [J]. *Hum Pathol*, 2013, 44(6): 975-982.
- [44] KIM J S, KIM E S, LIU D, et al. Prognostic implications of tumoral expression of insulin like growth factors 1 and 2 in patients with non-small-cell lung cancer [J]. *Clin Lung Cancer*, 2014, 15(3): 213-221.
- [45] ZHANG Z, LEE J C, LIN L, et al. Activation of the AXL kinase causes resistance to EGFR-targeted therapy in lung cancer[J]. *Nat Genet*, 2012, 44(8): 852-860.
- [46] LEE Y, LEE M, KIM S. Gas6 induces cancer cell migration

- and epithelial - mesenchymal transition through upregulation of MAPK and Slug[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 434(1): 8-14.
- [47] KIM S M, KWON O J, HONG Y K, et al. Activation of IL-6R/JAK1/STAT3 signaling induces de novo resistance to irreversible EGFR inhibitors in non-small cell lung cancer with T790M resistance mutation[J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(10): 2254-2264.
- [48] YAO Z, FENOGLIO S, GAO D C, et al. TGF-beta IL-6 axis mediates selective and adaptive mechanisms of resistance to molecular targeted therapy in lung cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(35): 15535-15540.
- [49] CHEUNG H W, DU J, BOEHM J S, et al. Amplification of CRKL induces transformation and epidermal growth factor receptor inhibitor resistance in human non-small cell lung cancers[J]. *Cancer Discov*, 2011, 1(7): 608-625.
- [50] WHYTE D B, HOLBECK S L. Correlation of PIK3Ca mutations with gene expression and drug sensitivity in NCI-60 cell lines[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340(2): 469-475.
- [51] WANG L, HU H, PAN Y, et al. PIK3CA mutations frequently coexist with EGFR/KRAS mutations in non-small cell lung cancer and suggest poor prognosis in EGFR/KRAS wildtype subgroup[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88291.
- [52] LANDI L, CAPPUZZO F. HER2 and lung cancer[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2013, 13(10): 1219-1228.
- [53] BIANCO R, ROSA R, DAMIANO V, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-1 contributes to resistance to anti-epidermal growth factor receptor drugs in human cancer cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(16): 5069-5080.
- [54] Yin T, Wang G, He S, et al. Malignant pleural effusion and ascites induce epithelial-mesenchymal transition and cancer stem-like cell properties via the vascular endothelial growth factor (VEGF)/phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt/mechanistic target of rapamycin (mTOR) pathway[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(52): 26750-26761.
- [55] BIANCO R, ROSA R, DAMIANO V, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-1 contributes to resistance to anti-epidermal growth factor receptor drugs in human cancer cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(16): 5069-5080.
- [56] WARE K E, MARSHALL M E, HEASLEY L R, et al. Rapidly acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in NSCLC cell lines through de-repression of FGFR2 and FGFR3 expression[J]. *PLoS One*, 2010, 5(11): e14117.
- [57] AZUMA K, KAWAHARA A, SONODA K, et al. FGFR1 activation is an escape mechanism in human lung cancer cells resistant to afatinib, a pan-EGFR family kinase inhibitor[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(15): 5908-5919.
- [58] 王洪波,陈晓光. EGFR 抑制剂耐药机制研究的新进展[J]. *国际药学研究杂志*, 2007, 34(5): 347-350, 355.
- [59] RHO J K, CHOI Y J, LEE J K, et al. Epithelial to mesenchymal transition derived from repeated exposure to gefitinib determines the sensitivity to EGFR inhibitors in A549, a non-small cell lung cancer cell line[J]. *Lung cancer*, 2009, 63(2): 219-226.
- [60] XIE M, HE C S, WEI S H, et al. Notch-1 contributes to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor acquired resistance in non-small cell lung cancer in vitro and in vivo[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(16): 3559-3572.
- [61] CAPACCIONE K M, HONG X, MORGAN K M, et al. Sox9 mediates Notch1-induced mesenchymal features in lung adenocarcinoma[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(1): 3636-3650.
- [62] MEUWISSEN R, LINN S C, LINNOILA R I. Induction of small cell lung cancer by somatic inactivation of both Trp53 and Rb1 in a conditional mouse model[J]. *Cancer Cell*, 2003, 4(1): 181-189.

[本文编辑] 姬静芳