

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2015.06.053

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2015.06.053

ROS1融合基因在非小细胞肺癌中的研究进展

王晶晶 综述 许春伟, 张博 审校

(军事医学科学院附属医院病理科, 北京 100071)

[摘要] 非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的分子靶向治疗是目前的研究热点, 继EGFR、ALK基因等靶点之后不断有新的肿瘤标志物被发现。ROS1基因重排作为一种新发现的NSCLC亚型, 其发生率约占NSCLC的1%~2%, 优势人群通常为年轻、不吸烟的肺腺癌患者, 这些临床特征与ALK重排的NSCLC患者类似。本文将NSCLC中发现的ROS1融合基因的研究进展及其在NSCLC中的临床、功能和结构特征进行阐述。

[关键词] 非小细胞肺癌; ROS1基因; 靶向治疗

Research progress of ROS1 fusion gene in non-small cell lung cancer

WANG Jingjing, XU Chunwei, ZHANG Bo

(Department of Pathology, Affiliated Hospital of Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

Abstract Molecular target therapy has become a hot research direction of non-small cell lung cancer (NSCLC) treatment. New tumor markers are continually found after EGFR and ALK genes. ROS1 rearrangement defines a new molecular subset of NSCLC with the prevalence of ROS1 rearrangements around 1%~2%. NSCLC patients with ROS1 rearrangement arise in young never-smokers with adenocarcinoma that are similar to those observed in patients with ALK-rearranged NSCLC. The article reviews research progress of ROS1 fusion gene and clinical/functional/structural characteristics of this fusion gene in NSCLC patients.

Keywords non-small cell lung cancer(NSCLC); ROS1 gene; target therapy

肺癌是世界上癌症病死率最高的肿瘤, 其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占80%^[1]。非小细胞肺癌包括鳞癌、腺癌、大细胞癌, 与小细胞癌相比, 其癌细胞生长分裂较慢, 扩散转移相对较晚。大多数患者确诊时往往处于晚期阶段, 临床治疗方法多以姑息治疗为主。对

于晚期NSCLC患者, 常规化疗对改善其预后的效果十分有限, 患者中位生存时间不足1年^[2]。近年来, 随着肺癌分子生物学机制研究的不断深入, 针对基因的靶向治疗占据着越来越重要的地位^[3]。比如针对表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR) 激酶抑制剂厄洛

收稿日期 (Date of reception): 2015-04-12

通信作者 (Corresponding author): 许春伟, Email: xuchunweibbb@163.com; 张博, Email: zenwo@qq.com

基金项目 (Foundation item): 军事医学科学院附属医院创新科研基金(ZH-2014-10)。This work was supported by Affiliated Hospital of Academy of Military Medical Sciences Innovation Research Foundation (ZH-2014-10), P. R. China.

替尼(erlotinib)和吉非替尼(gefitinib)以及针对由基因易位产生的促癌基因棘皮动物微管相关样蛋白4(echinoderm microtubule associated protein like 4, EML4)-间变淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)激酶抑制剂克唑替尼(crizotinib)^[4-6]。还有一部分NSCLC患者无EGFR基因突变和ALK-EML4融合基因,且化疗疗效已达到一个瓶颈。使得近来越来越多的肺癌相关驱动基因被发现(如ROS1、RET、KRAS、HER2、BRAF、PI3KCA、MEK1/2、MET等),终将NSCLC个体化治疗铺就蓝图^[7]。

ROS1(c-ros oncogene 1, receptor tyrosine kinase)属于酪氨酸激酶胰岛素受体基因,在多种肿瘤细胞系中高表达。其基因重排最初是1987年在神经胶质细胞瘤中被发现^[8-9]。2007年Rikova等^[10]利用磷酸化蛋白质组学技术证实ROS1重排是NSCLC发生、发展中的驱动基因。现有的研究^[11-13]表明,ROS1在NSCLC中突变率约为1%~2%,因此可以作为一种潜在的靶向治疗分子。本文主要介绍ROS1融合基因在NSCLC中的研究进展及其在NSCLC中的临床、功能和结构特征进行阐述。

1 ROS1 结构和生物学特性

ROS1是1982年在UR2(曼彻斯特大学肿瘤病毒2)鸟肉瘤病毒中发现的一种具有独特致癌作用的病毒原癌基因^[14-15]。位于6q22染色体,含7368 bp和43外显子,编码2 347个氨基酸,分子量为259 kDa,与v-erbB、v-fms、neu和trk原癌基因相似。基本结构由胞外N-末端配体结合区(氨基酸1-1861)、跨膜区(氨基酸1862-1882)及胞内C-末端464个氨基酸构成的酪氨酸激酶活性区(氨基酸1883-2347)组成^[16]。在致病机理方面已证实,ROS1受体酪氨酸激酶参与激活多条下游信号转导通路,包括RAS-MAPK/ERK、PI3K/AKT/mTOR、JAK/STAT3以及PLC γ /IP3和SH2/VAV3途径,调控肿瘤细胞的生长、增殖、分化及细胞周期。此外,ROS1激酶结合细胞骨架蛋白和细胞-细胞相互作用蛋白,直接或间接介导细胞骨架蛋白磷酸化,参与正常细胞的转化过程^[17]。ROS1基因最显著的特征在于细胞外区域由6个重复序列组成,与纤维连接蛋白具有高度同源性,而纤维连接蛋白是一种细胞外基质和血浆蛋白,在细胞黏附中伴有重要作用^[18],它可以直接翻译黏附分子参与细胞内的信号通路。到目前为止,在NSCLC

患者中已发现9种不同的ROS1融合基因型,包括最早发现于神经胶质母细胞瘤中的FIG-ROS1以及CD74-ROS1、SLC34A2-ROS1、TPM3-ROS1、SDC4-ROS1、EZR-ROS1、LRIG3-ROS1、KDEL2-ROS1和CCDC6-ROS1^[9-10,19-23]。与ROS1发生融合的最常见基因是CD74-ROS1,约占30%,其次是EZR-ROS1。在NSCLC中SLC34A2-ROS1和CD74-ROS1为最常见的两种。SLC34A2-ROS1和CD74-ROS1均是跨膜蛋白,其中SLC34A2-ROS1融合亚型是由SLC34A2的外显子4和ROS1的外显子32或外显子34断裂融合而成,CD74-ROS1是由CD74的外显子6和ROS1的外显子32或外显子34断裂融合形成的。

2 ROS1 融合基因在 NSCLC 中的临床特征

ROS1染色体重排是非小细胞肺癌(NSCLC)的一个新亚型,是一种独特的受体酪氨酸激酶,在进化上与ALK密切相关。ROS1的临床特征与ALK易位患者的临床特征非常相似,但其更倾向于在年轻、从未吸烟或轻度吸烟的不同分级的腺癌患者中多见。此外,ROS1融合基因阳性的NSCLC患者也可同时伴有EGFR和/或K-Ras基因突变及ALK-EML4融合基因。近期的氨基酸序列分析^[24]显示,在酪氨酸激酶区ROS1基因与ALK基因有49%的同源性,而在ATP结合区二者同源性高达77%,这可能是ALK抑制剂可作为ROS1抑制剂的基础。Bergethon^[12]等将ALK-EML4抑制剂克唑替尼(TAE68)用于干扰ROS1融合基因阳性和ALK-EML4融合基因阳性的肺癌细胞,发现克唑替尼可抑制HCC78细胞(ROS1融合基因阳性)的生长,两者的生长抑制曲线相似,并且对转染CD74-ROS1的293细胞株有抑制作用,提示ROS1融合基因阳性患者对ALK-EML4抑制剂克唑替尼(TAE68)高度敏感,克唑替尼将成为ROS1融合基因阳性晚期NSCLC患者的标准治疗药物。另外,克唑替尼已用于ROS1阳性的进展期非小细胞肺癌患者的I期临床试验,初步结果^[25]显示13例阳性患者在第8周时客观缓解率和疾病控制率分别为54%和85%。麻省总医院分析在案治疗的浸润性NSCLC患者的总生存率(overall survival, OS)在ROS1重排阳性(663 d)和阴性患者(607 d)之间未见差别,但统计结果显示,ROS1重排阴性患者的预后较好。国内上海同济大学周彩存课题组对小样本8例ROS1重排阳性者进行了临床病例分析发现在中国人群中同样证实了ROS1重排阴性患者的预后较好的观点。

3 ROS1 融合基因的检测

明确NSCLC的分子亚型对指导临床有效治疗是非常重要的。在肺癌组织中ROS1基因重排所占比例较低,因此,成功筛选病例是使用ROS1抑制剂进行个体化治疗成功的关键。目前,常用于检测肺癌融合基因方法有多种,主要包括实时定量逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)、荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)和免疫组织化学技术(immunohistochemistry technique, IHC)。

RT-PCR技术简单快速准确,可以明确基因融合型,适用于微量组织标本,因而RT-PCR技术在筛选和确认肺癌基因重组中具有独特的优势。但RT-PCR对组织中DNA质量要求较高,结果常常出现假阳性。

荧光原位杂交(FISH)是目前检测肿瘤组织中染色体重排最有效的诊断技术之一。已获得FDA批准,被作为临床实验中检测ALK融合基因的金标准,该技术也是ROS1融合基因临床检测的常用方法。FISH断裂探针为正常ALK或ROS1基因的5'-和3'-端不同标记有绿色和红色荧光的探针。当存在基因重排时,绿色和红色信号因重组融合伙伴的置换而“断裂”显现为分离较远的单色信号。作为一种常规的筛选方法,FISH检测成本相对较高,需要专用设备,试剂昂贵,处理时间较长,检测结果难以判读、主观性强等不足,在实际应用上还存在一些限制。

免疫组织化学技术(IHC)是用探针标记的抗体定位组织样本中特异性抗原。该技术已广泛应用于临床,而且成本低、简便快速、准确。新近采用高敏感高特异的单克隆抗体所进行的IHC染色方法检测ALK、ROS1基因重排,结果发现与断裂FISH技术相比,准确度可达到100%,特异性高达99%^[19,26]。但IHC染色不能区分ROS1野生型和重排型。

4 ROS1 基因融合与 NSCLC 的靶向治疗

随着对NSCLC的深入研究,个体化治疗已成为当今的主流。由于ROS1与ALK的酪氨酸激酶区域约有49%的同源性,一些ALK抑制剂也被用于检测对ROS1驱动的肿瘤细胞和组织的抑制作用。尽管只有约2%NSCLC病例伴有ROS1重排,某研究^[12]显示,对一个厄洛替尼治疗无效的ROS1阳性病例(无EGFR突变和ALK重排),克唑替尼治疗12周后

患者完全缓解。该研究结果在临床上进一步确认了ROS1重排的NSCLC对ALK抑制剂克唑替尼的敏感性,证实ALK抑制剂可能是ROS1重排的NSCLC患者的一种非常有效的治疗药物。也有研究最近^[27]发现AZD1480在体外可抑制ROS1激酶活性。再有El-Deeb等^[28]发现两个吡唑类ROS1选择性抑制剂(KIST301072和KIST301080)显示出对ROS1具有良好的抑制效果(IC50分别为199 nM和209 nM)。目前ROS1基因融合在NSCLC中的研究还处于初级阶段,其下游的信号通路转导和相关分子机制尚不明确,还有待于更深一步研究。

5 结语和展望

随着对分子靶标研究的不断深入,越来越多以分子分型为基础的分子靶向药物已应用于晚期NSCLC治疗中,ROS1作为NSCLC中的一个新分子亚型,虽然罕见,对其下游通路也尚不清楚,但已成为一个对EGFR、ALK检测阴性患者的有效治疗靶点,对于指导临床用药、治疗方案选择,筛选靶向药物受益人群都极有益处。随着研究发现ROS1基因与ALK基因有49%的同源性,克唑替尼已成为ROS1融合基因阳性晚期NSCLC患者的有效治疗药物。但在以后的工作中更加精细ROS1融合变异的最佳检测方法、完善ROS1重排阳性肿瘤的治疗群、鉴定ROS1融合蛋白下游信号通路、发现ROS1-TKI抑制剂出现抵抗的机理以及研发新的特异性ROS1酪氨酸激酶抑制剂等还需要大量研究及临床验证。相信通过分子生物学以及基因相关技术的不断进步,ROS1重排的相关靶向治疗,将会更好的造福于NSCLC患者。

参考文献

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(1): 10-29.
2. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2002, 346(2): 92-98.
3. 薛国亮, 楚慧丽, 王俊, 等. ROS1基因重排与非小细胞肺癌[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2014, 21(1): 120-122.
XUE Guoliang, CHU Huili, WANG Jun, et al. ROS1 rearrangement defines and non-small-cell lung cancer[J]. *Chin J Clin Oncol Rehabil*, 2014, 21(1): 120-122.
4. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-

- paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(10): 947-957.
5. 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 (EORTC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(3): 239-246.
 6. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(18): 1693-1703.
 7. Oxnard GR, Binder A, Jänne PA. New targetable oncogenes in non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(8): 1097-1104.
 8. Birchmeier C, Sharma S, Wigler M. Expression and rearrangement of the ROS1 gene in human glioblastoma cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987, 84(24): 9270-9274.
 9. Charest A, Lane K, McMahon K, et al. Fusion of FIG to the receptor tyrosine kinase ROS in a glioblastoma with an interstitial del(6)(q21q21)[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2003, 37(1): 58-71.
 10. 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.
 11. Rimkunas V, Crosby K, Kelly M, et al. Frequencies of ALK and ROS in NSCLC FFPE tumor samples utilizing a highly specific immunohistochemistry-based assay and FISH analysis[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(15S): Abstract 10536.
 12. Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(8): 863-870.
 13. 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.
 14. Shibuya M, Hanafusa H, Balduzzi PC. Cellular sequences related to three new onc genes of avian sarcoma virus (fps, yes, and ros) and their expression in normal and transformed cells[J]. *J Virol*, 1982, 42(1): 143-152.
 15. Feldman RA, Wang LH, Hanafusa H, et al. Avian sarcoma virus UR2 encodes a transforming protein which is associated with a unique protein kinase activity[J]. *J Virol*, 1982, 42(1): 228-236.
 16. Nagarajan L, Louie E, Tsujimoto Y, et al. The human c-ros gene (ROS) is located at chromosome region 6q16---6q22[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986, 83(17): 6568-6572.
 17. Zong CS, Chan JL, Yang SK, et al. Mutations of Ros differentially effecting signal transduction pathways leading to cell growth versus transformation[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(3): 1500-1506.
 18. Ruoslahti E. Fibronectin and its receptors[J]. *Annu Rev Biochem*, 1988, 57: 375-413.
 19. Seo JS, Ju YS, Lee WC, et al. The transcriptional landscape and mutational profile of lung adenocarcinoma[J]. *Genome Res*, 2012, 22(11): 2109-2119.
 20. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer[J]. *Nat Med*, 2012, 18(3): 378-381.
 21. Rimkunas VM, Crosby KE, Li D, et al. Analysis of receptor tyrosine kinase ROS1-positive tumors in non-small cell lung cancer: identification of a FIG-ROS1 fusion[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(16): 4449-4457.
 22. Govindan R, Ding L, Griffith M, et al. Genomic landscape of non-small cell lung cancer in smokers and never-smokers[J]. *Cell*, 2012, 150(6): 1121-1134.
 23. Chin LP, Soo RA, Soong R, et al. Targeting ROS1 with anaplastic lymphoma kinase inhibitors: a promising therapeutic strategy for a newly defined molecular subset of non-small-cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2012, 7(11): 1625-1630.
 24. Ou SH, Tan J, Yen Y, et al. ROS1 as a 'druggable' receptor tyrosine kinase: lessons learned from inhibiting the ALK pathway[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2012, 12(4): 447-56.
 25. Shaw AT, Camidge DR, Engelman JA, et al. Clinical activity of crizotinib in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) harboring ROS1 gene rearrangement[J]. *J Clin Oncol* 30, 2012, suppl:abstr 7508.
 26. Mino-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, et al. A novel, highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(5): 1561-1571.
 27. Drew L, Shen M, Patterson T, et al. AZD1480 is a potent inhibitor of ROS1 and induces regression in ROS1 fusion containing cancer models[J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48 (Suppl6): 123.
 28. El-Deeb IM, Yoo KH, Lee SH. ROS receptor tyrosine kinase: a new potential target for anticancer drugs[J]. *Med Res Rev*, 2011, 31(5): 794-818.

本文引用: 王晶晶, 许春伟, 张博. ROS1 融合基因在非小细胞肺癌中的研究进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2015, 35(6): 1144-1147. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2015.06.053

Cite this article as: WANG Jingjing, XU Chunwei, ZHANG Bo. Research progress of ROS1 fusion gene in non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2015, 35(6): 1144-1147. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2015.06.053