

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2015.02.026

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2015.02.026

非小细胞肺癌中RET融合基因的研究进展

方霆 综述 李代强 审校

(中南大学湘雅二医院病理科, 长沙 410011)

[摘要] 存在于1%~2%的非小细胞肺癌患者中的RET融合基因具有鲜明的临床病理学特征, 且RET抑制剂对其治疗有效, 提示RET融合基因已成为该类患者个体化分子靶向治疗的新靶点。本文将对RET融合基因的特点及其在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者中的表达和治疗的研究进展进行阐述。

[关键词] RET融合基因; 非小细胞肺癌; 靶向治疗

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

FANG Ting, LI Daiqiang

(Department of Pathology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

Abstract *RET* fusion gene with an identifiable clinicopathological characteristics, is present in 1% to 2% of non-small cell lung cancer patients, and its treatment is effective by *RET* inhibitor, suggesting that *RET* fusion gene is a new target for individualized treatment to the patients of NSCLC. This article reviews the characteristics of *RET* fusion gene and expression patterns in patients, and treatment of NSCLC

Keywords *RET* fusion gene; non-small cell lung cancer; targeted therapy

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是最常见的肺癌类型, 数量占肺癌患者总量的85%^[1]。表皮生长因子受体(EGFR)和间变性淋巴瘤激酶(ALK)的酪氨酸激酶抑制剂在EGFR突变和ALK基因重组的患者中取得骄人成绩, 开创了靶向治疗非小细胞肺癌的新时代, 治疗方式从基于铂系的联合化疗转变为根据分子分型量身定制的治疗^[2]。当前研究注重于确定非小细胞肺癌的分子亚型, 重点一直放在寻找新的癌驱动基因, 因为这些基因是癌细胞存活和生长的中心环节^[3]。RET

融合基因是近几年国内外研究的热点, 现对其研究进展作一些介绍。

1 RET 基因结构与功能以及与肿瘤的关系

RET(rearranged during transfection)原癌基因最初是在1985年, 通过NIH3T3细胞与人类淋巴瘤DNA的转染被证实^[4]。RET原癌基因定位于染色体10q11.2, 其DNA全长为60 kb, 含有外显子21个, 编码由1 100个氨基酸组成的RET蛋白: 这种RET

收稿日期 (Date of reception): 2014-11-09

通信作者 (Corresponding author): 李代强, Email: lidqx@163.com

蛋白是一种酪氨酸激酶受体, 含有一个由半胱氨酸组成的细胞外区、一个跨膜区、一个具有催化酪氨酸激酶作用的细胞内区^[5]。RET参与细胞增殖、神经传导、细胞迁移和细胞分化, 通过配体/复合受体/RET多蛋白复合物的信号, 激活各种下游途径, 如RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT和STAT通路, 诱导细胞增生^[6]。

随着研究的逐步进展, 现已发现多种疾病的发生与RET基因突变有密切联系, 包括甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)^[7]、甲状腺髓样癌(medullary thyroid carcinoma, MTC)^[8]、多发性内分泌腺瘤病2型(multiple endocrine neoplasia type II, MEN2)^[9]、先天性巨结肠^[10]、肺癌^[11]等。目前只有KIF5B-RET、CCDC6-RET、TRIM33-RET、NCOA4-RET这四种RET融合基因在非小细胞肺癌中被报道, 而KIF5B-RET是非小细胞肺癌中最常见的RET融合基因^[12]。KIF5B-RET是KIF5B(kinesin family member 5B)基因和RET基因的染色体倒置(p11; q11)形成的一种融合基因, 通过全基因组和转录组测序, 第一次在非吸烟韩国人的腺癌中被证实; KIF5B-RET在肺癌的比例很低, 在非吸烟者和腺癌患者中更常见, 并与其它突变, 如EGFR、KRAS、BRAF、ErbB2、EML4-ALK相排斥^[13]。KIF5B-RET融合蛋白包含马达结构域和KIF5B的卷曲螺旋结构域, 通过卷曲螺旋结构域的二聚化作用, 该融合蛋白的RET酪氨酸激酶活性可异常活化, 从而促进肺肿瘤发生^[14]。在Qian等的研究中^[15], KIF5B-RET融合激酶被证实在体外和体内都具有显著的致癌活性, STAT3的信号转导途径可能是肿瘤发生的主要下游介质。有证据显示KIF5B-RET可调节STAT3的持续活化。KIF5B-RET融合激酶可以结合STAT3, 直接磷酸化和激活STAT3-Tyr705; 它也可以通过JAK/STAT3依赖性途径, 介导激活STAT3-Tyr705, 并通过RAS/RAF/MEK/ERK1途径触发Ser727的磷酸化。

2 RET融合基因的检测方法

目前常见的RET融合基因检测方法有: 免疫组织化学(IHC)、荧光原位杂交(FISH)、逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)、cDNA末端快速扩增技术(RACE)、DNA测序技术。Sasaki等研究^[16]显示RT-PCR法和FISH法的结果具有一致性。他们还用两种RET-C端的抗体, 通过免疫组化调查RET的

表达情况, 然而并未与FISH基因检测的结果很好的匹配。此研究结果提示FISH可能是检测肺癌中RET基因状态的重要方法之一, 而用IHC诊断RET基因重排可能并不理想。IHC^[17]是一个标准、实用的病理检测方法, 比FISH简便、易于推广。所以寻找敏感而相对特异的RET基因表达蛋白的抗体是当前研究重点之一。

由于分子靶向治疗的NSCLC患者的数量增加, 人们越来越需要高通量的多基因分型检测, 以评估相应的遗传异常。能同时筛选ALK、ROS1、RET等多种基因的研究与诊断平台, 是迫切需要开发的技术。在Okamoto等的研究中^[18]扩展了MassARRAY技术, 开发出多重筛选板(LungFusion板), 能同时对从FFPE组织活检标本的ALK、ROS1、RET融合基因分离出的RNA进行评估。通过对晚期NSCLC患者240例福尔马林固定石蜡包埋(formalin-fixed and paraffin-embedded, FFPE)临床样本的检测, 确认了LungFusion板强大的检测能力, 揭示了ALK、ROS1、RET基因融合发生率分别为2.5%、2.1%、0.4%, 也证实了这三种融合基因是相互排斥的。此次研究是晚期NSCLC患者参加的III期临床试验的首次多基因分型分析, 这对未来评估特殊基因改变和预测生物标记物的临床作用是重要的。

3 NSCLC中RET融合基因的表达及临床病理特点

RET重排^[11]在肺腺癌或肺腺鳞癌患者的发生率约为1%~2%, 虽然其它的RET融合已被报道, 但KIF5B-RET是非小细胞肺癌主要的RET融合方式。RET融合阳性的非小细胞肺癌患者往往年轻、不吸烟, 与ALK和ROS1阳性患者有类似的特征。

Wang等^[17]采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)、实时定量PCR、免疫组化(IHC)和荧光原位杂交(FISH)检测936例手术切除的非小细胞肺癌患者的RET融合基因。其中633例肺腺癌同时检测了EGFR、KRAS、HER2、BRAF、ALK的突变状况。结果936例非小细胞肺癌病例中, RET融合基因在13例患者中被发现(633例肺腺癌病人中有11例, 24例腺鳞癌病人中有2例)。这13例患者有9例为KIF5B-RET、3例为CCDC6-RET、1例出现了一种新的NCOA4-RET融合。有RET融合基因的肺腺癌患者肿瘤分化程度更低、更年轻、具有实体亚型(63.6%)、肿瘤更小(≤ 3 cm)、有N2病变(54.4%)、

中位无复发生存期为20.9个月。Cai等^[12]使用多重实时聚合酶链反应法在392例NSCLC患者中筛选KIF5B-RET融合, 然后再使用直接测序法验证所有阳性病例, 并对KIF5B-RET融合和临床病理特征之间的关系进行了分析。总共有6例(1.5%)被确定有KIF5B-RET融合, 其中4例腺癌、1例恶性神经内分泌瘤、1例鳞状细胞癌。所有KIF5B-RET融合阳性患者都不吸烟。在年龄、性别、吸烟状况、病理分期、组织学类型方面, 与KIF5B-RET融合发生之间无明显统计学差异。无KIF5B-RET融合的患者有更好的预后。病期、年龄被确定为更好的生存的独立预后因素。Tsuta等^[19]调查了1 874例恶性肿瘤病人, 包括1 620例腺癌、203例鳞状细胞癌、8例大细胞癌、43例肉瘤样癌。用荧光原位杂交(FISH)和逆转录PCR(RT-PCR)方法检测RET基因重排。所有22例(1.2%)RET重排病例均为腺癌。22例患者中有19例为KIF5B-RET融合基因, 3例为CCDC6-RET融合基因。RET重排在年轻患者中比较常见($P=0.038$), 而且往往发生在无吸烟史的患者($P=0.051$)。此外, RET重排与性别、职业史(尤其是放射性暴露)、肿瘤大小、淋巴结状态、肿瘤分期、患者生存期都没有关系。在22个RET重排腺癌的病例中有12人局灶性出现细胞胞质粘蛋白(54.5%); 有15例观察到RET免疫组化阳性(71.4%), 与RET重排显著相关联($P<0.001$)。Yokota等^[20]独立调查了371手术治疗的非小细胞肺癌患者的KIF5B-RET融合基因状态(270例腺癌和101例鳞癌), 使用RT-PCR法和直接测序法进行检测。在270例腺癌中发现3例KIF5B-RET融合基因(1.1%)。这3例患者都为女性、无吸烟史、混合型腺癌。被检测出的RET融合基因与其它突变相互排斥(如EGFR、KRAS、BRAF、CerbB2、EML4-ALK)。在鳞状细胞癌中未检测到KIF5B-RET融合。KIF5B-RET融合阳性患者的临床病理背景与EML4-ALK融合阳性患者的相似。

4 RET 抑制剂

Cabozantinib^[21]是一种受体酪氨酸激酶抑制剂, 具有抗c-MET、VEGFR2、FLT3、c-KIT、RET作用, 能降低肿瘤侵袭和转移潜能。Sloan-Kettering癌症中心用cabozantinib对三位RET融合阳性的进展期NSCLC患者进行二期临床试验(NCT01639508), Drilon等^[22]对研究结果进行了报道。这三位患者的治疗剂量为60 mg/d, 连续治疗

4周为一个周期, 直至病情进展或发生不能耐受的不良反应。第一位患者是无吸烟史的41岁白人女性, 用cabozantinib治疗12周后, CT结果显示肺和胸膜的可测量病灶缩小66%, 病情部分缓解(RECIST 1.1评价标准)。该患者已持续治疗20周, 病情无进展。第二位患者是无吸烟史的75岁非裔美国女性。最初采用化疗和放疗, 但病情仍然进展, 改用cabozantinib治疗。由于不良反应, 剂量逐渐减为20 mg/d。至第4周, 患者咳嗽和呼吸困难的症状有改善, 病情部分缓解。第三位患者是无吸烟史的68岁白人女性, 由于化疗无法控制病情而改用cabozantinib治疗。由于不良反应, 剂量减至40 mg/d。治疗4周后, 病情趋于稳定。该患者持续治疗, 病情稳定期已接近31周。

Vandetanib^[23]是一种口服的小分子受体酪氨酸激酶抑制剂, 能抑制血管内皮生长因子受体(VEGFR)、表皮生长因子受体(EGFR)、RET。Falchook等^[24]对一名确定有CCDC6-RET融合的肺癌患者使用vandetanib治疗的情况进行了报道。患者是一名无吸烟史的36岁亚裔女性, 由于病情不断进展而采用vandetanib治疗, 剂量为300 mg/d。治疗6周后的第一次CT扫描显示, 病人左锁骨附近的大肿块明显缩小; 治疗11周后, 再次CT扫描结果显示左锁骨的大肿块缩小了76%, 证明治疗有效; 到第17周, 病人左锁骨附近的大肿块由4.4 cm缩小至1.0 cm, 病人肺部的多个小结节大部分完全消失(RECIST 1.1评价标准)。此次病例报道提示vandetanib可能对存在RET融合的NSCLC患者有效。使用vandetanib治疗RET融合阳性的NSCLC患者的二期研究正在进行, 将进一步研究vandetanib对这位患者的作用(NCT01823068)。

Lenvatinib是一种针对VEGFR1-3、FGFR1-4、RET、KIT、PDGFR-4的多靶点酪氨酸激酶抑制剂^[25]。在Okamoto等^[26]进行的细胞试验中, lenvatinib能抑制KIF5B-RET、CCDC6-RET、NCOA4-RET的自动磷酸化; 也抑制CCDC6-RET肺癌细胞系的生长; 还能抑制RET基因融合转化的NIH3T3细胞的致瘤性。这个试验表明lenvatinib可以通过抑制致瘤的RET基因融合信号, 对RET基因融合的肿瘤模型发挥抗肿瘤作用。Libor等^[27]用lenvatinib对135位二线治疗失败的NSCLC患者进行试验(NCT01529112)。结果Lenvatinib组与安慰剂组疾病控制率(DCR)分别为42.7%、19.6%; 客观缓解率(ORR)分别为10.1%、2.2%; 总生存期(OS)分别为38.4、24.1周; 无进展生存期(PFS)分别为

20.9、7.9周。这次试验显示lenvatinib也许可以作为三线药物用于治疗NSCLC患者,但由于未对患者的RET融合基因状况进行筛选,因此lenvatinib对RET融合基因阳性的NSCLC患者的作用尚需进一步研究。

Kodama等研究^[28]证实alectinib通过抑制RET磷酸化来抑制RET激酶活性和RET融合阳性细胞的生长,在由RET融合驱动的小鼠肿瘤模型中表现出抗肿瘤活性。Alectinib对RET看门突变(RET V804L和V804M)也显示出激酶抑制作用,并阻断由KIF5B-RET (V804L和V804M)驱动的细胞生长。但alectinib对于RET融合阳性非小细胞肺癌患者的作用,尚需进一步临床研究。

5 结语

分子靶向治疗的发展是肿瘤学重要的和革命性的变化,彻底改变了非小细胞肺癌的一线治疗,并引起了以基因型为导向的临床试验模式的转变。了解非小细胞肺癌的分子驱动,可以帮助选择最佳的治疗方案,但一个共同的和不可避免的主题是治疗的耐药性问题。此外,这些靶向药物在基因型未经选择的患者中作用不显著,强调在临床试验的早期阶段必须设计不同的试验方法。随着新一代测序技术发现更多的基因改变和潜在的药物靶点,应建立药物靶点和治疗的相关性分析,明确何种患者可以从靶向治疗中获得最大的益处。所有这些努力将最大限度的提高治疗成功率,同时尽量减少药物不良反应和无效治疗的风险。

参考文献

1. Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
2. Cardarella S, Johnson BE. The impact of genomic changes on treatment of lung cancer[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(7): 770-775.
3. Gainor JF, Shaw AT. Novel targets in non-small cell lung cancer: ROS1 and RET fusions[J]. *Oncologist*, 2013, 18(7): 865-875.
4. Takahashi M, Ritz J, Cooper GM. Activation of a novel human transforming gene, ret, by DNA rearrangement[J]. *Cell*, 1985, 42(2): 581-588.
5. Frank-Raue K, Rondot S, Raue F. Molecular genetics and phenomics of RET mutations: Impact on prognosis of MTC[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 322(1-2): 2-7.
6. Houvras Y. Completing the Arc: targeted inhibition of RET in medullary thyroid cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(2): 200-202.
7. Grieco M, Santoro M, Berlingieri MT, et al. PTC is a novel rearranged form of the ret proto-oncogene and is frequently detected in vivo in human thyroid papillary carcinomas[J]. *Cell*, 1990, 60(4): 557-563.
8. American Thyroid Association Guidelines Task Force, Kloos RT, Eng C, et al. Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association[J]. *Thyroid*, 2009, 19(6): 565-612.
9. de Groot JW, Links TP, Plukker JT, et al. RET as a diagnostic and therapeutic target in sporadic and hereditary endocrine tumors[J]. *Endocr Rev*, 2006, 27(5): 535-560.
10. Bolk S, Pelet A, Hofstra RM, et al. A human model for multigenic inheritance: phenotypic expression in Hirschsprung disease requires both the RET gene and a new 9q31 locus[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(1): 268-273.
11. Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma[J]. *Nat Med*, 2012, 18(3): 375-377.
12. Cai W, Su C, Li X, et al. KIF5B-RET fusions in Chinese patients with non-small cell lung cancer[J]. *Cancer*, 2013, 119(8): 1486-1494.
13. Ju YS, Lee WC, Shin JY, et al. A transforming KIF5B and RET gene fusion in lung adenocarcinoma revealed from whole-genome and transcriptome sequencing[J]. *Genome Res*, 2012, 22(3): 436-445.
14. Wong DW, Leung EL, Wong SK, et al. A novel KIF5B-ALK variant in nonsmall cell lung cancer[J]. *Cancer*, 2011, 117(12): 2709-2718.
15. Qian Y, Chai S, Liang Z, et al. KIF5B-RET fusion kinase promotes cell growth by multilevel activation of STAT3 in lung cancer[J]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 176.
16. Sasaki H, Shimizu S, Tani Y, et al. RET expression and detection of KIF5B/RET gene rearrangements in Japanese lung cancer[J]. *Cancer Med*, 2012, 1(1): 68-75.
17. Wang R, Hu H, Pan Y, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(35): 4352-4359.
18. Okamoto I, Sakai K, Morita S, et al. Multiplex genomic profiling of non-small cell lung cancers from the LETS phase III trial of first-line S-1/carboplatin versus paclitaxel/carboplatin: results of a West Japan Oncology Group study[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(8): 2293-2304.
19. Tsuta K, Kohno T, Yoshida A, et al. RET-rearranged non-small-cell lung carcinoma: a clinicopathological and molecular analysis[J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(6): 1571-1578.
20. Yokota K, Sasaki H, Okuda K, et al. KIF5B/RET fusion gene in surgically-treated adenocarcinoma of the lung[J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(4): 1187-1192.
21. Grüllich C. Cabozantinib: a MET, RET, and VEGFR2 tyrosine kinase inhibitor[J]. *Recent Results Cancer Res*, 2014, 201: 207-214.

22. Drilon A, Wang L, Hasanovic A, et al. Response to Cabozantinib in patients with RET fusion-positive lung adenocarcinomas[J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(6): 630-635.
23. Lipson D, Capelletti M, Yelensky R, et al. Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies[J]. *Nat Med*, 2012, 18(3): 382-384.
24. Falchook GS, Ordóñez NG, Bastida CC, et al. Effect of the RET Inhibitor Vandetanib in a Patient With RET Fusion-Positive Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2014. [Epub ahead of print].
25. Schlumberger M, Jarzab B, Cabanillas ME, et al. A phase II trial of the multitargeted kinase inhibitor lenvatinib (E7080) in advanced medullary thyroid cancer (MTC)[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30: abstr 5591.
26. Okamoto K, Kodama K, Takase K, et al. Antitumor activities of the targeted multi-tyrosine kinase inhibitor lenvatinib (E7080) against RET gene fusion-driven tumor models[J]. *Cancer Lett*, 2013, 340(1): 97-103.
27. Havel L, Lee JS, Lee KH, et al. E7080 (lenvatinib) in addition to best supportive care (BSC) versus BSC alone in third-line or greater nonsquamous, non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32: abstr 8043.
28. Kodama T, Tsukaguchi T, Satoh Y, et al. Alectinib shows potent antitumor activity against RET-rearranged non-small cell lung cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(12): 2910-2918.

本文引用: 方霆, 李代强. 非小细胞肺癌中 RET 融合基因的研究进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2015, 35(2): 284-288. doi:10.3978/j.issn.2095-6959.2015.02.026

Cite this article as: FANG Ting, LI Daiqiang. Research progress of RET fusion gene in non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2015, 35(2): 284-288. doi:10.3978/j.issn.2095-6959.2015.02.026