

非小细胞肺癌第三代 ALK 抑制剂洛拉替尼的耐药机制及其相关研究进展

田红霞, 张绪超

(广东省肺癌研究所, 广东省肺癌转化医学重点实验室, 基础医学研究中心, 南方医科大学附属广东省人民医院(广东省医学科学院), 广州 510080)

[摘要] 间变淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, *ALK*)融合基因是非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者除表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, *EGFR*)基因之外最常见的驱动基因。*ALK*融合基因阳性的NSCLC患者能从ALK酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)靶向治疗中明显获益,但是患者最终会发生TKI耐药。探索ALK靶向治疗的耐药机制一直是研究重点。关于第一代和第二代ALK TKIs的耐药机制已有较多报道,第三代ALK TKI洛拉替尼的耐药机制亟待阐述。本文将主要从依赖ALK基因(即 on-target resistance)和非依赖ALK基因(即 off-target resistance)两方面阐述第三代ALK TKI洛拉替尼的耐药机制,重点总结了经序贯洛拉替尼治疗发生复合突变后对其他TKIs的敏感性以及旁路活化途径,一线洛拉替尼治疗潜在的耐药机制以及第四代ALK TKIs的研究进展,洛拉替尼治疗中液体活检动态监测的意义。

[关键词] 非小细胞肺癌; 靶向治疗; *ALK* 基因; 耐药; 酪氨酸激酶抑制剂; 洛拉替尼

[中图分类号] R734.2 **[文献标志码]** A **DOI:**10.12019/j.issn.1671-5144.202404009

Research Progress of the Drug Resistance Mechanism of the Third-Generation ALK Inhibitor Lorlatinib in NSCLC

TIAN Hong-xia, ZHANG Xu-chao

(Guangdong Lung Cancer Institute, Guangdong Provincial Key Laboratory of Translational Medicine in Lung Cancer, Medical Research Institute, Guangdong Provincial People's Hospital (Guangdong Academy of Medical Sciences), Southern Medical University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: The fusion gene of anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) is the most common driver gene in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients, apart from the epidermal growth factor receptor (*EGFR*) gene. NSCLC patients with positive *ALK* fusion genes can significantly benefit from targeted treatment with ALK tyrosine kinase inhibitors (TKIs), but ultimately develop TKI resistance. Exploring the resistance mechanism of ALK targeted therapy has always been a research focus. The resistance mechanisms of the first- and second-generation ALK TKIs have been reported multiple times, while the resistance mechanisms of the third-generation ALK TKIs lorlatinib still need further elaboration. This article will mainly focus on the resistance mechanism of third-generation ALK TKI lorlatinib from two aspects: ALK dependent mechanism (on-target resistance) and ALK independent mechanism (off-target resistance), including summarized the sensitivity of compound mutations to other TKIs after sequential treatment with lorlatinib and bypass activation pathway; the potential resistance mechanism of first-line treatment with lorlatinib; the research progress of the

[基金项目] 广东省医学科研基金(A2023010);国家自然科学基金(82173202,32270965);广东省肺癌转化医学重点实验室(2017B030314120)。

[作者简介] 田红霞(1983-),女,湖南常德人,副主任技师,医学硕士,主要研究方向为肺癌靶向治疗。

[通讯作者] 张绪超, E-mail: zhuchao3000@126.com。

fourth generation ALK TKIs, as well as the significance of dynamic monitoring liquid biopsy in the treatment of lorlatinib.

Key words: non-small cell lung cancer; targeted therapy; *ALK* gene; drug resistance; tyrosine kinase inhibitors; lorlatinib

肺癌是全球范围内导致癌症相关死亡的主要原因。基于患者肿瘤分子特征的精准医学治疗明显改善了非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者的预后。2007年,日本学者 Soda 等通过 cDNA 文库筛选在肺癌中发现棘皮动物微管样蛋白 4-间变淋巴瘤激酶(echinoderm microtubule associated protein like 4-anaplastic lymphoma kinase, *EML4-ALK*)融合基因^[1]。约 5% NSCLC 患者中发现了 *ALK* 融合基因重排,常见于无吸烟史、年轻、女性腺癌患者^[2]。截至目前为止,已发现的 *ALK* 融合方式有 90 多种,其中以 V1(*EML4* 的 13 外显子断裂)和 V3 变体(*EML4* 的 6 外显子断裂)最常见^[2-3]。

EML4-ALK 融合基因激活细胞膜内的酪氨酸激酶结构域,活化下游信号通路,导致肺癌的发生与发展。2011年,美国食品和药物监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准了首个 *ALK* 酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)克唑替尼(crizotinib)用于治疗晚期 *ALK* 阳性 NSCLC 患者,标志着 *ALK* 抑制剂治疗肺癌时代的开始。第一代 *ALK* TKI 克唑替尼在 *ALK* 重排 NSCLC 患者中已显示出显著的疗效,明显改善患者生存^[4]。根据关键的随机 III 期临床试验 ALEX、ALESIA、ALTA-1L 研究结果显示,与克唑替尼相比,接受第二代 *ALK* TKIs 阿来替尼(alectinib)、布格替尼(brigatinib)治疗的患者无进展生存期(progression free survival, PFS)显著延长,现已成为晚期 NSCLC 患者的标准一线治疗^[5-6]。2018年,第三代 *ALK* TKI 洛拉替尼(lorlatinib)治疗晚期既往至少接受过一种 *ALK* TKIs 的 NSCLC 患者的临床研究报道,患者的客观缓解率(objective response rate, ORR)达 47%(93/198),颅内有效率达 63%(51/81)^[7]。在美国(2018年11月2日)和欧洲医疗机构(2019年2月28日)批准洛拉替尼用于使用至少其他一种 *ALK* TKIs 进展的 *ALK* 阳性 NSCLC 患者的治疗。2020年 CROWN 研究结果显示,洛拉替尼 12 个月无进展生存率(78% vs. 39%)和 ORR(76% vs. 58%)显著优于克唑替尼^[8]。2021年3月美国 FDA 批准

洛拉替尼用于一线治疗 *ALK* 阳性转移性肺癌患者。目前多种 *ALK* TKIs(第一代克唑替尼;第二代塞瑞替尼、阿来替尼、布格替尼和恩沙替尼;第三代洛拉替尼等)已在不同国家获批用于 *ALK* 阳性晚期转移性 NSCLC 的一线治疗。

在这三代 *ALK* TKIs 的序贯治疗下,患者已经达到长期生存慢病状态,*ALK* 突变因此获得了“钻石突变”的美誉。但是,针对 *ALK* 融合基因的靶向治疗最终都会发展耐药。不同的 *ALK* TKIs 靶向药物与酪氨酸激酶结构域有着不同的结合模式,多项研究已报道第一代和第二代 *ALK* TKIs 的耐药机制及应对策略^[9,10-11]。洛拉替尼是目前临床治疗 *ALK* 阳性 NSCLC 中最具选择性的 *ALK* TKIs,其耐药机制仍需进一步阐述^[12]。本文将通过依赖 *ALK* 基因导致的耐药(即 on-target resistance: 涉及靶激酶区域的改变,即使 TKIs 存在也会发生酪氨酸激酶持续活化与信号转导)或非依赖 *ALK* 基因导致的耐药(即 off-target resistance: 在 *ALK* 靶标下游信号通路上调后,导致一个或多个旁路信号通路激活或表型转化)来概述第三代 *ALK* 抑制剂洛拉替尼序贯或一线治疗后可能的耐药机制,重点总结了发生 *ALK* 耐药复合突变后的应对策略。

1 依赖 *ALK* 基因导致的耐药机制(即 on-target resistance)

1.1 经 *ALK* TKIs 序贯治疗洛拉替尼的耐药机制

第二代 *ALK* TKIs 治疗后约 50%~60% 的患者会继发 *ALK* 激酶结构域突变,且每种二代抑制剂都有其独特的 *ALK* 耐药突变谱,如 G1202R 是塞瑞替尼、阿来替尼和布格替尼最常见的 *ALK* 耐药突变位点,但 I1171N/T/S 仅出现在 10%~15% 的阿来替尼耐药患者样本中,且未出现在塞瑞替尼和布格替尼耐药^[9]。洛拉替尼是第三代可逆、腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)竞争、大环的 *ALK* 和 c-ros 原癌基因(c-ros oncogene 1, ROS1)的 TKI,与第一/二代抑制剂相比,具有穿透中枢神经系统(central nervous system, CNS)和克服 *ALK* 酪

氨酸激酶结构域已知继发耐药突变的优势^[13]。洛拉替尼能克服第一代/第二代 ALK TKIs 治疗后继发的所有点突变(包含顽固性溶剂前沿突变 G1202R), 但经治疗后也会发生耐药, 其机制主要为 ALK 复合突变^[10, 14-15]。ALK TKIs 出现继发耐药突变很大程度上取决于 ALK TKIs 的特定结构, ALK 复合突变的发生形式也取决于 ALK TKIs 的序贯方式^[14-15]。在序贯使用 ALK TKIs 经洛拉替尼治疗耐药的患者中, 约 28%~35% 的肿瘤组织样本中 ALK 激酶结构域可逐步积累获得两个或多个突变(也称为复合突变), 其中大多数涉及 G1202R 或 I1171N 位点, 这些复合突变主要通过空间干扰药物结合而降低效力^[14-18]。基于血浆样本检测发现洛拉替尼比第二代抑制剂更易发生复合突变(48% vs. 23%)^[19]。研究报告 ALK 耐药突变的数量可能会影响洛拉替尼的疗效, 与单一突变相比, 复合耐药突变的患者 ORR 明显较差(56% vs. 75%)和中位缓解持续时间(duration of overall response, DOR)更短(6.1 m vs. 24.4 m)^[18]。本文总结了已报道过的 ALK 耐药复合突变, 尤其是 G1202R、I1171T/N/S、L1198F/H 复合突变以及 L1256F 单点突变及其复合突变等常见耐药位点, 为 ALK 突变患者耐药后续治疗提供依据。

1.1.1 G1202R 复合突变

由于溶剂前沿 G1202R 突变是第二代 ALK TKIs 后最常见的获得性耐药突变, 含 G1202R 复合突变是序贯第三代洛拉替尼耐药后患者最常见的耐药复合突变^[9, 17-19]。G1202R 由于精氨酸取代引起空间和构象效应, 增加了洛拉替尼吡唑环附近的位阻, 导致配体结合的部分不稳定和 P-loop 构象的改变从而导致洛拉替尼的效力下降^[14]。临床上洛拉替尼可以充分抑制 ALK G1202R 点突变, 但 G1202R 复合突变仍是序贯使用洛拉替尼耐药的主要机制^[14]。在 ALK TKIs 治疗耐药后包括 G1202R 复合突变的血浆样本中, ALK 共突变分别为: L1196M 为 37%(27/73)、F1174C/V/L 为 32%(23/73)和 I1171N/T 为 21%(15/73)^[17]。Okada 等报道了洛拉替尼复合耐药机制的体外研究, 探索了对洛拉替尼耐药的 ALK G1202R 复合突变对已有 ALK 抑制剂的敏感性, 发现除了下述提及的 G1202R+L1198F 复合突变对一代克唑替尼敏感外; G1202R+G1269A 复合突变在体外对布格替尼具有中度敏感性, 但是, 临床上 G1202R 是布格替尼主要的耐药机制(50%), 因此布格替尼可能无法克服患者的

G1202R+G1269A 复合突变。另外, 复合突变 G1202R+L1196M, G1202R+F1174C 和 G1202R+F1174L 对所有的 ALK TKIs 耐药^[20]。

G1202R+L1196M 复合突变是最常见的顽固耐药复合突变^[14, 17, 19], 既降低洛拉替尼的结合亲和力, 又增强 ALK 激酶的活性, 从而显著降低洛拉替尼的效力而导致耐药^[14, 17]。Okada 等发现, AG-957 和 adaphostin 最初作为 BCR-ABL 抑制剂开发, 可抑制含有 G1202R+L1196M[半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)87 nM] 的细胞的活力^[20]。另有研究报道, 治疗 FMS 样酪氨酸激酶-3(FMS-like tyrosine kinase-3, FLT3)阳性急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)的 TKI 抑制剂吉瑞替尼(gilteritinib)可以通过与 ATP 竞争激酶域的方式抑制肿瘤生长, 与 ALK TKIs 比较, 吉瑞替尼对 G1202R+L1196M 顽固突变具有最低的 IC₅₀(117 nM); 但是, 与 I1171T/N/S 复合突变比较, 吉瑞替尼对 G1202R+L1196M、D1203N+F1245V、D1203N+L1196M 的抑制效果要弱些^[21]。目前已报道的 ALK 靶向治疗 G1202R 复合突变对 TKIs 的敏感性见表 1。

1.1.2 I1171T/N/S 复合突变

在 ALK TKIs 治疗耐药后包括 I1171N/T/S 复合突变的血浆样本中, ALK 共突变分别为: G1202R 为 42%(15/36)、L1196M 为 31%(11/36)和 V1180L 为 25%(9/36)、E1210K 为 19%(7/36)和 D1203N 为 19%(7/36)^[17]。序贯洛拉替尼耐药后发生的 I1171N(+L1198F; +L1196M; +G1269A; +L1256F)复合突变可恢复对第一代克唑替尼或第二代塞瑞替尼和布格替尼的敏感性^[20, 23]。另外, 吉瑞替尼对 I1171T/N/S 单突变及其复合突变均有显著的抑制效果, 且与其他 ALK 抑制剂比较具有最低的 IC₅₀; 与 G1202R 突变比较, 携带 I1171T/N/S 复合突变细胞对吉瑞替尼更敏感, 尤其对洛拉替尼治疗常见的 I1171N+F1174I 复合难治性耐药突变, 吉瑞替尼可以逆转耐药^[21]。对于 I1171T/N/S 复合突变导致的耐药, FLT3 抑制剂吉瑞替尼可能是更好的选择。目前已报道的 ALK 靶向治疗 I1171N/S/T 复合突变对 TKIs 的敏感性见表 2。

1.1.3 L1198F/H 复合突变

ALK TKIs 靶向治疗耐药后 5% 的 NSCLC 患者发生 ALK L1198F 突变, 其中一半为 L1198F+G1202R 复合突变^[17]。序贯 ALK TKIs 洛拉替尼治疗耐药后发生的 L1198F(+C1156Y; +L1196M; +G1202R;

表 1 ALK 靶向治疗 G1202R 复合突变对 TKIs 的敏感性

Tab.1 Sensitivity of G1202R complex mutations to TKIs in ALK targeted therapy

IC50±SD; nM	1 st Gen ALK TKI	2 nd Gen ALK TKIs			3 rd Gen ALK TKI	FLT3 TKI	Reference
	Crizotinib	Ceritinib	Alectinib	Brigatinib	Lorlatinib	Gilteritinib	
V1 G1202R/L+L1198F	P-sensitivity 74.7±17.2	Resistant 632.1±267.2	Resistant 492.0±132.4	Resistant 1 799.3±772.1	Resistant 401.0±125.4	Sensitive 32±21*	*Yoda, 2018 ^[14] Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
V3 G1202R/L+L1198F	P-sensitivity 125.6±1.9	Resistant 1 355.7±142.0	Resistant 826.1± 270.9	Resistant 3 359.3± 1 596.6	Resistant 1 160.0± 263.8		*Yoda, 2018 ^[14] Okada, 2019 ^[20]
V1 G1202R+L1196M	Resistant 849.5±73.3	Resistant 398.3±53.4	Resistant 1 148.5±183.9	Resistant 524.9±181.6	Resistant 1 115.9±269.2	P-sensitivity 117±4.1*	*Yoda, 2018 ^[14] Shiba-Ishii, 2022 ^[17] Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
V3 G1202R+L1196M	Resistant 629.0±120.5	Resistant 328.8±24.4	Resistant 1 178.5±257.4	Resistant 726.0±325.0	Resistant 1 261.7±103.9		*Yoda, 2018 ^[14] Okada, 2019 ^[20]
G1202R+F1174C	Resistant 370±43	Resistant 420±90	Resistant 1 400±310	Resistant 220±18	Resistant 280±23	Unknown	*Okada, 2019 ^[20]
G1202R+F1174L	Resistant 490±89	Resistant 590±120	Resistant 2 300±150	Resistant 200±25	P-sensitivity 190±41	Unknown	Recondo, 2020 ^[15] *Okada, 2019 ^[20]
G1202R+G1269A	Resistant 390±10	P-sensitivity 120±30	Resistant 960±190	P-sensitivity 75±25	Resistant 700±210	Unknown	Shiba-Ishii, 2022 ^[17] *Okada, 2019 ^[20]
G1202R+S1206Y	Resistant 571	Resistant 726	Resistant 1 715	Resistant 618	Resistant 666	Unknown	Recondo, 2020 ^[15] *Shiba-Ishii, 2022 ^[17] Zhu, 2020 ^[22]
G1202R+C1156Y	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Shiba-Ishii, 2022 ^[17]
G1202R+S1206Y+ G1269A	Resistant 1 283	Resistant 438	Resistant 5 607	Resistant 747	Resistant 1 965	Unknown	Shiba-Ishii, 2022 ^[17]
G1202R+L1204V+ G1269A	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]

注: *表示IC50数据的来源。IC50 ≤ 50 nm表示敏感, 50 < IC50 < 200 nm表示可能敏感, IC50 ≥ 200 nm表示耐药。P-sensitivity, 可能敏感。
Note: *indicates the source of IC50 data. IC50 ≤ 50 nm implies sensitive, 50 < IC50 < 200 nm implies possible-sensitivity and IC50 ≥ 200 nm implies resistant. P-sensitivity, possible sensitive.

+I1171N)复合突变恢复对第一代克唑替尼的敏感性^[14, 17, 20, 24]。值得一提的是, 与 I1171N 或 G1202R 点突变比较, 携带 L1198F+I1171N、L1198F+G1202R 复合突变细胞对克唑替尼更敏感^[20]。ALK L1198F 突变后亮氨酸被较大的苯丙氨酸取代, 使 ATP 结合位点构象变化后, 导致洛拉替尼远离 ALK 激酶域结合位点; 而苯丙氨酸不影响克唑替尼结合, 反而亲和力更强, 可补偿在复合突变中由 C1156Y 等引起的激酶活性增加, 从而对克唑替尼再次敏感^[24-25]。另外, 吉瑞替尼可克服 NSCLC 序贯 ALK TKIs 治疗后的 L1198F 耐药复合突变, 且与已有 ALK 抑制剂比较具有更低的 IC50; 与 G1202R 或 I1171N 突变比较, 携带 L1198F+G1202R、L1198F+I1171N 复合突变细胞对吉瑞替尼更敏感,

可能 L1198F 突变通过增加范德华力和静电相互作用增强了对吉瑞替尼的结合亲和力; 吉瑞替尼还能抑制 L1198H+I1171N 复合突变, 该突变仅对克唑替尼和布格替尼部分敏感^[21]。目前已报道的 ALK 靶向治疗 L1198F/H 复合突变对 TKIs 的敏感性见表 3。

1.1.4 L1256F 单点突变及其复合突变

不同的 ALK TKIs 治疗后的继发耐药谱存在差异, 对于既往接受克唑替尼治疗的患者, 最常见的 ALK 继发耐药位点分别为 G1269A、F1174X 和 L1196M 等; 而既往接受二代 TKIs 耐药后点突变的发生率高达 50%, 其中主要的继发突变为 G1202R/del、I1171T/N/S 等^[18]。洛拉替尼对几乎所有已发现的 ALK 耐药单突变有良好治疗效果, 包括已知的高耐药性

表 2 ALK 靶向治疗 I1171N/S/T 复合突变对 TKIs 的敏感性
Tab.2 Sensitivity of I1171N/S/T complex mutations to TKIs in ALK targeted therapy

IC50±SD; nM	1 st Gen ALK TKI	2 nd Gen ALK TKIs			3 rd Gen ALK TKI	FLT3 TKI	Reference
	Crizotinib	Ceritinib	Alectinib	Brigatinib	Lorlatinib	Gilteritinib	
I1171N+L1198F	Sensitive 18±2.8	P-sensitivity 125±27	Resistant 860±167	P-sensitivity 59±23	Resistant 419±99	Sensitive 1.6±0.16	Shiba-Ishii, 2022 ^[17] Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
I1171N+L1198H	P-sensitivity 100±18	Resistant 799±163	Resistant 218±54	P-sensitivity 111±28	Resistant 358±63	Sensitive 6.9±0.24	Recondo, 2020 ^[15] Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
I1171N+L1196M	Resistant 299±63	Sensitive 12±0.76	Resistant 229±110	Sensitive 23±10	Resistant 355±116	Sensitive 14±0.79	Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
I1171N+L1256F	Resistant 398±30	P-sensitivity 182±26	Sensitive 37±11	Sensitive 18±4.4	Resistant 5 012±1 857	Sensitive 0.41±0.09	Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
I1171N+F1174I	Resistant 343±101	P-sensitivity 167±20	Resistant 1 188±303	P-sensitivity 120±44	Resistant 338±41	Sensitive 24±4.4	Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
I1171N+F1174L	P-sensitivity 73±11	Sensitive 32±7.9	Resistant 320±124	Sensitive 18±8.0	Sensitive 37±14	Sensitive 3.2±0.24	Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
I1171N+G1269A	Resistant 607 ± 49	Sensitive 14±2.8	Resistant 880±232	Sensitive 6.4±1.2	Resistant 625±85	Sensitive 11±3.2	Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
I1171S+G1269A	Resistant 543±75	Sensitive 14±1.7	Resistant 617±192	Sensitive 5.1±1.8	Resistant 855±90	Sensitive 13±2.3	*Mizuta, 2021 ^[21] Takahashi, 2020 ^[23]
I1171N+D1203N	Resistant 712	P-sensitivity 125	Resistant 1 201	P-sensitivity 139	Resistant 478	Unknown	Yoda, 2018 ^[14] Lin, 2021 ^[16] *Shiba-Ishii, 2022 ^[17]
I1171N+C1156Y	Unknown	Resistant	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Gainor, 2016 ^[9]
I1171T+C1156Y	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]
I1171S+L1196M	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]
I1171N/S/T+G1202R	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Shiba-Ishii, 2022 ^[17]
I1171N/S/T+V1180L	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Shiba-Ishii, 2022 ^[17]

注: *表示IC50数据的来源。IC50 ≤ 50 nm表示敏感, 50 < IC50 < 200 nm表示可能敏感, IC50 ≥ 200 nm表示耐药。P-sensitivity, 可能敏感。
Note: *indicates the source of IC50 data. IC50 ≤ 50 nm implies sensitive, 50 < IC50 < 200 nm implies possible-sensitivity and IC50 ≥ 200 nm implies resistant. P-sensitivity, possible sensitive.

突变 G1202R、I1171N 和 F1174L 等^[9, 13, 18]。但是, 另一研究通过分子动力学模拟计算结合自由能和 Ba/F3 和 H3122 细胞株模型实验发现, 新型 L1256F 突变与洛拉替尼的氟苯环结构形成空间位阻, 相互作用的范德华力明显减弱, 导致洛拉替尼对 L1256F 突变高度耐药, 表达 *EML4-ALK-L1256F* 的 NIH3T3 细胞在小鼠体内可致癌, 证明了 L1256F 单突变是洛拉替尼的耐药机制, 但尚未在患者体内发现这种单突变^[20]。I1171N+L1256F 突变比 L1256F 单突变对洛拉替尼具有更高的耐药性和更高的致癌性^[14, 20]。对洛拉替尼耐药的 L1256F 点突变及其复合突变对阿来替尼敏感, 因为 L1256 残基上亮氨酸被苯丙氨酸取代没有显著影响阿来替尼的结合亲和力^[20]。另

外, *ALK* L1256F 单突变或复合突变不仅对阿来替尼和布格替尼敏感, 对吉瑞替尼更加敏感^[21]。目前已报道的 *ALK* 靶向治疗 L1256F 点突变及其复合突变对 TKIs 的敏感性见表 4。

1.1.5 其他 *ALK* 耐药复合突变

洛拉替尼对 *ALK* 双突变 D1203N+E1210K、D1203N+F1245V、C1156Y+G1269A 敏感, 对 D1203N+F1174C 可能敏感^[9, 15, 21]。D1203N+F1245V 对阿来替尼和布格替尼也敏感^[15, 21]。C1156Y+G1269A 对布格替尼也敏感^[14-15]。L1196M+V1185L 被报道对塞瑞替尼敏感^[20]。在 N-乙基-N-亚硝基脲(N-ethyl-N-nitrosourea, ENU) 诱变筛选细胞实验中发现部分复合突变对洛拉替尼耐药, 但未对其他 *ALK*

表 3 ALK 靶向治疗 L1198F/H 复合突变对 TKIs 的敏感性

Tab.3 Sensitivity of L1198F/H complex mutations to TKIs in ALK targeted therapy

IC50±SD; nM	1 st Gen ALK TKI	2 nd Gen ALK TKIs			3 rd Gen ALK TKI	FLT3 TKI	Reference
	Crizotinib	Ceritinib	Alectinib	Brigatinib	Lorlatinib	Gilteritinib	
L1198F+C1156Y	Sensitive 20	Resistant 453	P-sensitivity 135	Sensitive 28	P-sensitivity 123	Unknown	*Shiba-Ishii, 2022 ^[17] Shaw, 2016 ^[24]
V1 L1198F+ L1196M	Sensitive 45.6±7.1	Resistant 509.9±73.4	P-sensitivity 136.1±14.2	P-sensitivity 120.9±18.2	P-sensitivity 172.4±45.5	Unknown	*Yoda, 2018 ^[14]
V3 L1198F+L1196M	Sensitive 46.8±9.3	Resistant 286.8±19.3	P-sensitivity 143.7±40.2	P-sensitivity 111.8±47.1	P-sensitivity 170.1±17.7		*Yoda, 2018 ^[14]
L1198F+I1171N	Sensitive 18±2.8	P-sensitivity 125±27	Resistant 860±167	P-sensitivity 59±23	Resistant 419±99	Sensitive 1.6±0.16	Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
L1198H+I1171N	P-sensitivity 100±18	Resistant 799±163	Resistant 218±54	P-sensitivity 111±28	Resistant 358±63	Sensitive 6.9±0.24	*Mizuta, 2021 ^[21]
V1 L1198F+G1202R/L	P-sensitivity 74.7±17.2	Resistant 632.1±267.2	Resistant 492.0±132.4	Resistant 1 799.3±772.1	Resistant 401.0±125.4	Sensitive 32±21	*Yoda, 2018 ^[14] Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
V3 L1198F+G1202R/L	P-sensitivity 125.6±1.9	Resistant 1 355.7±142.0	Resistant 826.1±270.9	Resistant 3 359.3±1 596.6	Resistant 1 160.0±263.8		*Yoda, 2018 ^[14] Okada, 2019 ^[20]

注: *表示IC50数据的来源。IC50 ≤ 50 nm表示敏感, 50 < IC50 < 200 nm表示可能敏感, IC50 ≥ 200 nm表示耐药。P-sensitivity, 可能敏感。
Note: *indicates the source of IC50 data. IC50 ≤ 50 nm implies sensitive, 50 < IC50 < 200 nm implies possible-sensitivity and IC50 ≥ 200 nm implies resistant. P-sensitivity, possible sensitive.

表 4 ALK 靶向治疗 L1256F 点突变及其复合突变对 TKIs 的敏感性

Tab.4 Sensitivity of L1256F point mutations and complex mutations to TKIs in ALK targeted therapy

IC50±SD; nM	1 st Gen ALK TKI	2 nd Gen ALK TKIs			3 rd Gen ALK TKI	FLT3 TKI	Reference
	Crizotinib	Ceritinib	Alectinib	Brigatinib	Lorlatinib	Gilteritinib	
L1256F	Resistant 422±115	P-sensitivity 185±25	Sensitive 2.6±0.36	Sensitive 16±4.4	Resistant 8 801±6 443	Sensitive 0.34±0.07	Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
I1171N+L1256F	Resistant 398±30	P-sensitivity 182±26	Sensitive 37±11	Sensitive 18±4.4	Resistant 5 012±1 857	Sensitive 0.41±0.09	Okada, 2019 ^[20] *Mizuta, 2021 ^[21]
C1156Y+S1256F	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]
L1196M+L1256F	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]

注: *表示IC50数据的来源。IC50 ≤ 50 nm表示敏感, 50 < IC50 < 200 nm表示可能敏感, IC50 ≥ 200 nm表示耐药。P-sensitivity, 可能敏感。
Note: *indicates the source of IC50 data. IC50 ≤ 50 nm implies sensitive, 50 < IC50 < 200 nm implies possible-sensitivity and IC50 ≥ 200 nm implies resistant. P-sensitivity, possible sensitive.

TKIs 的敏感性进行探索^[14]。已报道的 ALK 靶向治疗其他复合突变对 TKIs 的敏感性见表 5。

1.2 洛拉替尼用于一线治疗可能的耐药机制

目前, 绝大多数洛拉替尼耐药机制研究都是基于其用于二线及以上后线治疗, 经多种 ALK TKIs 序贯治疗后, ALK 继发耐药突变可累积为复合突变。值得注意的是, 二代和三代 ALK TKIs 都是“单突变活性”的 ALK TKIs, 如果将洛拉替尼用作一线治疗, 这些复合突变则不能代表洛拉替尼用作一线治疗的耐药机制。基于 2020 年发布的 CROWN 研究初

始结果, 洛拉替尼已在多国批准 ALK 阳性 NSCLC 患者一线适应证。后续公布了 CROWN 研究经中位随访 36.7 个月后, 洛拉替尼一线治疗 ALK 融合晚期 NSCLC 患者三年的 PFS 率为 63.5%^[26-27]。2024 年在美国临床肿瘤学会 (American Society of Clinical Oncology, ASCO) 会议上报道, 经中位随访 60.2 个月后, 一线洛拉替尼五年 PFS 率达到 60%, 92% 的患者无颅内进展, 具有稳定的安全性和耐受性^[28-29]。晚期实体瘤领域迎来史无前例的无进展生存获益, 但目前一线洛拉替尼治疗的耐药机制还少

表5 ALK靶向治疗其他复合突变对TKIs的敏感性
Tab.5 Sensitivity of other complex mutations to TKIs in ALK targeted therapy

IC50±SD; nM	1 st Gen ALK TKI	2 nd Gen ALK TKIs			3 rd Gen ALK TKI	FLT3 TKI	Reference
	Crizotinib	Ceritinib	Alectinib	Brigatinib	Lorlatinib	Gilteritinib	
D1203N+F1174C	Resistant 338.8	Resistant 237.8	P-sensitivity 75.1	P-sensitivity 123.4	P-sensitivity 69.8	Unknown	*Gainor, 2016 ^[9]
D1203N+E1210K	P-sensitivity 153.0	P-sensitivity 97.9	P-sensitivity 82.8	P-sensitivity 136.0	Sensitive 26.6	Unknown	*Gainor, 2016 ^[9]
D1203N+L1196M	Resistant 304±15	Resistant 140±13	Resistant 202±34	P-sensitivity 101±0.64	Resistant 266±52	P-sensitivity 109±21	Recondo, 2020 ^[15] *Mizuta, 2021 ^[21]
D1203N+F1245V	Resistant 170±95	P-sensitivity 87±38	Sensitive 46±31	Sensitive 39±2.1	Sensitive 30±9.5	P-sensitivity 64±5.9	Recondo, 2020 ^[15] *Mizuta, 2021 ^[21]
C1156Y+G1269A	Resistant	Resistant	Resistant	Sensitive	Sensitive 53	Unknown	Yoda, 2018 ^[14] *Recondo, 2020 ^[15] Shiba-Ishii, 2022 ^[17]
C1156Y+D1203	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]
C1156Y+L1196M	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]
C1156Y+F1174V/I/C	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]
L1196M+I1179V	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]
L1196M++F1174V/L/C	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	*Yoda, 2018 ^[14]
L1196M+G1269A	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]
L1196M+V1185L	Resistant 335±33.5	Sensitive 36.3±0.64	P-sensitivity 181±12.7	Unknown	Unknown	Unknown	*Okada, 2019 ^[20]
F1174C+G1269A	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]
E1210K+S1206C	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Unknown	Gainor, 2016 ^[9]
E1210K+D1203N+G1269A	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Resistant	Unknown	Yoda, 2018 ^[14]

注: *表示IC50数据的来源。IC50 ≤ 50 nm表示敏感, 50 < IC50 < 200 nm表示可能敏感, IC50 ≥ 200 nm表示耐药。P-sensitivity, 可能敏感。
Note: *indicates the source of IC50 data. IC50 ≤ 50 nm implies sensitive, 50 < IC50 < 200 nm implies possible-sensitivity and IC50 ≥ 200 nm implies resistant. P-sensitivity, possible sensitive.

有报道。来自临床前研究的数据表明, 一线洛拉替尼继发 *ALK* 突变的发生率将大大低于后线治疗时观察到的 25%~30%^[14]。该临床前研究为了确定一线洛拉替尼耐药的 *ALK* 突变谱, 建立表达 *EML4-ALK* 的 Ba/F3 细胞模型进行 ENU 诱变筛选, 对比克唑替尼与洛拉替尼产生耐药的 *ALK* 突变, 在高浓度 (300~600 nM) 的克唑替尼组可产生大量的耐药克隆, 但同浓度洛拉替尼组未发生任何耐药克隆, 这浓度与大多数患者接受标准剂量洛拉替尼治疗患者的血浆暴露量相当 (非结合药物水平 369 nm)。值得注意的是, 洛拉替尼在 100 nM 出现了少量克隆, 主要是 I1171N 或较不常见的 L1196M 突变, 这些突变已报道在临床药物浓度下可被完全抑制^[14]。结合此研究数据, 高浓度的洛拉替尼几乎能抑制所

有的 *ALK* 继发单突变 (L1256F 除外), 也表明在临床上 *ALK* 单突变基本不会导致洛拉替尼耐药。但是, 通过细胞模型实验发现 L1256F 单突变或复合突变可能成为一线洛拉替尼耐药的机制, 阿来替尼、布格替尼、吉瑞替尼可能克服耐药^[20-21]。但目前 L1256F 单突变尚未见临床报道。CROWN 临床研究最新报道, 经循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 检测, 发现一线克唑替尼治疗后有继发 *ALK* 突变 (10/89), 但一线洛拉替尼治疗后则未发现继发 *ALK* 单突变或复合突变 (0/31), 而是存在多种旁路活化机制 (将在非依赖 *ALK* 基因导致的耐药机制部分阐述)^[28]。

通过使用已携带单 *ALK* 耐药突变的细胞系进行细胞实验, 在洛拉替尼作用后发现了许多不同的

ALK 复合突变,对洛拉替尼具有不同程度的耐药性。然而,通过使用不含耐药突变的 *EML4-ALK* 细胞系进行诱变筛选,即使在洛拉替尼高浓度药物作用下,也未发现任何能够赋予对耐药性的单 ALK 激酶结构域突变^[14]。因此,一线使用洛拉替尼可能防止 ALK 发生单突变而导致耐药。同时,由于 ALK 复合突变倾向累积出现在序贯 ALK TKIs 治疗的患者中,故一线使用洛拉替尼将是规避这些复合耐药突变的重要策略或显著延迟靶向耐药^[14,17]。2023 年 Shaw AT 教授等再次指出,高效且中枢穿透力强的洛拉替尼作为一线治疗可最大程度的缩小与缓解肿瘤,减少第一/二代抑制剂治疗时发生的肿瘤异质性,从而延缓靶向耐药发生^[30]。但是,无论哪代药物何时治疗,均可能最终促使依赖 ALK 耐药机制的发生,尚待更多的临床患者数据进行阐述。

在 2022 年 ASCO 会议上报道了 CROWN 临床试验一线洛拉替尼和克唑替尼治疗耐药进展后的二线治疗。在 33 例接受洛拉替尼治疗后疾病进展的患者中,36.3% 患者进一步接受阿来替尼治疗,27.2% 接受阿来替尼以外的 ALK 抑制剂治疗,36.3% 接受化疗联合或不联合免疫治疗或抗血管生成药物治疗作为首选治疗选择,结果显示,一线洛拉替尼治疗耐药后进一步 ALK TKIs 治疗患者的二线客观缓解率(ORR2)为 28.6%[95% 可信区间(confidence interval, CI)11.3~53.3],明显高于一线克唑替尼治疗耐药后进一步 ALK TKIs 治疗患者 ORR2 的 15.6%(95%CI 9.0~24.5)^[26]。与一线克唑替尼组的后线治疗相比,一线洛拉替尼组耐药后二线治疗的无进展生存期(PFS2)显著较优[(hazard ratio, HR)=0.45;95%CI 0.30~0.67],一线洛拉替尼治疗患者的三年 PFS2 率为 74.0%,提示洛拉替尼较长的 PFS1 对于改善治疗总持续时间至关重要,进一步支持洛拉替尼用于一线治疗^[28]。在 CROWN 研究一线洛拉替尼治疗患者中,无论是基于血浆 ctDNA 还是肿瘤组织分析基因状态,TP53 突变者较无突变者的 PFS 均明显缩短(HR=0.53;95%CI 0.27~1.04)^[28,31,32];基于血浆分析 ALK 融合变体类型对疗效的影响,发现 V3 变体(E6;A20)较 V1 变体(E13;A20)PFS 更短(33.3 m vs. 未达到)^[31,32],但基于肿瘤组织检测分析,显示各个融合变体类型的 PFS 无显著差异^[28,32]。广东省人民医院吴一龙教授正牵头开展一项以患者为中心的开放标签、多中心的 II 期临床试验:一线洛拉替尼治疗局部晚期或转

移性 ALK 阳性 NSCLC 患者(中国临床试验注册中心的注册号:ChiCTR2300077474),探索洛拉替尼的一线耐药机制是该临床研究主要目的之一。

1.3 原发耐药

虽然洛拉替尼具有广泛抑制 ALK 耐药突变的作用,但也可能发生原发耐药,尤其是在经其他 ALK TKIs 治疗后选择压力下产生了多种难治性耐药机制的情况下^[33]。在序贯第一/二代 ALK 抑制剂后洛拉替尼治疗的患者中,27% 的患者发生了原发耐药^[34]。研究报道,克唑替尼耐药后发生原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Yes1(proto-oncogene tyrosine-protein kinase Yes1, *YES1*)和骨髓细胞瘤病毒癌基因同源物(myelocytomatosis viral oncogene homolog, *MYC*)扩增、以及上皮-间充质转化(epithelial to mesenchymal, EMT)可能是序贯洛拉替尼治疗原发耐药的机制^[35-37]。在 CROWN 研究中,一线洛拉替尼治疗组约 10% 的患者发生了原发耐药^[8]。

2 非依赖 ALK 基因导致的耐药机制(即 off-target resistance)

随着第三代 ALK TKI 洛拉替尼在一线治疗中得到更广泛的应用,ALK 非依赖的耐药机制预计将会增加^[14]。在基线有 ALK 突变的病例中,在洛拉替尼治疗耐药后不再发现 ALK 突变,提示对洛拉替尼治疗发生了获得性 ALK 非依赖耐药^[17]。2024 年 ASCO 会议上 CROWN 研究最新报道,一线洛拉替尼治疗后耐药主要为旁路活化机制,与人丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)(29%)、PI3K/MTOR/PTEN(10%)、RTK(6%)等信号通路异常,细胞周期异常(13%),以及其他基因异常(35%)相关^[28]。在洛拉替尼治疗 ALK 阳性复发性或难治性神经母细胞瘤耐药后,动态监测进展期发现 27% 的患者发生了非依赖 ALK 基因的旁路活化,主要在 RAS-MAPK 信号通路^[38]。洛拉替尼的高效靶点抑制最终可能会通过 ALK 非依赖途径导致耐药,耐药一旦建立可能难以克服,防止 ALK 依赖和 ALK 非依赖耐药的发生具有重要意义。联合治疗策略是 ALK 阳性患者全程管理中不可或缺的法宝,洛拉替尼与其他靶向治疗联合,如间质表皮转化因子(mesenchymal-epithelial transition factor, MET)抑制剂(靶向 MET 驱动的耐药)、MEK 抑制剂(靶向 RAS-MAPK 通路再激活)或含 Src 同源 2 结构域蛋白酪氨酸磷酸酶(SH2 domain-containing

protein-tyrosine phosphatase-2, SHP2)抑制剂(靶向RTK信号驱动的耐药)都在探索中。

2.1 MET 基因变异导致耐药

MET 基因变异也是 NSCLC 患者洛拉替尼治疗的获得性耐药机制。在经 ALK TKIs 治疗肺癌患者耐药后,15% 的肿瘤样本检测到 MET 扩增,其中洛拉替尼耐药为 22%(5/23),阿来替尼耐药为 12%(6/52),克唑替尼耐药未发现 MET 扩增,反应了洛拉替尼的高效靶点抑制会增加旁路活化^[39]。在细胞模型实验中证实,洛拉替尼联合应用 MET 抑制剂卡马替尼、赛沃替尼可双重抑制 ALK 融合和 MET 扩增下游信号通路活化导致的耐药^[39]。序贯洛拉替尼治疗耐药 MET 扩增患者,再次克唑替尼(具有双重抑制 ALK 和 MET 酪氨酸激酶的活性)或联合洛拉替尼和克唑替尼治疗明显有效(考虑叠加的副作用,洛拉替尼减量)^[39-40]。一例 ROS1 重排肺癌患者接受 ROS1 抑制剂序贯治疗后,继发 MET 扩增导致耐药。随后洛拉替尼联合 MET 抑制剂卡马替尼治疗获得显著缓解,且副作用可耐受^[41]。一项在 MET 扩增的 ALK 阳性 NSCLC 患者中联合洛拉替尼和克唑替尼治疗的临床试验正在进行中(NCT04292119),目前进展未知(2021年3月10日更新发布)。

除了 MET 扩增外, MET 突变和 MET 融合也与洛拉替尼耐药相关。在 18 例患者洛拉替尼后线治疗复发患者中,经二代测序(next-generation sequencing, NGS)检测发现有 2 例分别由 B-Raf 原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(b-raf proto oncogene serine/threonine protein kinase, BRAF) V600E 和 MET D1246N 突变导致旁路活化耐药^[16]。研究报道了 3%(2/73)序贯洛拉替尼治疗患者发生了 ST7-MET 融合(或共存 MET 扩增),细胞模型证实为耐药机制^[39]。

2.2 EGFR 基因扩增激活信号通路导致耐药

Redaelli 等人报道, H3122(V1) 和 H2228(V3) 衍生的洛拉替尼耐药细胞在体外显示了 EGFR 信号的激活。用厄洛替尼治疗 H3122 衍生的洛拉替尼耐药细胞,细胞恢复对洛拉替尼的敏感性。此外,前期若洛拉替尼联合厄洛替尼处理,可以防止 H3122 细胞耐药克隆的出现。另一方面, H2228 衍生的洛拉替尼耐药细胞对洛拉替尼和 EGFR TKIs 联合治疗具有耐药性,但是,使用 MEK 抑制剂曲美替尼联合洛拉替尼和厄洛替尼的治疗显示出显著的生长抑制作用^[42]。在 EGFR 通路活化导致肺癌患者

ALK TKIs 耐药后建立的细胞株中, FLT3 抑制剂吉瑞替尼和 EGFR 抑制剂阿法替尼的联合治疗表现出高的敏感性,有望为临床提供新的治疗策略^[21]。

2.3 其他基因突变导致耐药

研究报道,抑癌基因 TP53 突变、成神经细胞瘤 RAS 病毒癌基因同源物(neuroblastoma RAS viral oncogene homolog, NRAS)突变、MAPK 突变、神经纤维瘤蛋白 2(neurofibromatosis type 2, NF2)功能缺失等与洛拉替尼耐药相关,具体如下:

在 20 例序贯 ALK TKIs 洛拉替尼治疗后耐药基因谱的分析中,除了发现 ALK 继发耐药突变外,还检测到有 10 例患者存在 TP53 突变(10/20)^[14]。基于 CROWN、ALEX、ALTA-1L 研究数据分析,在一线洛拉替尼治疗中,与 TP53 突变相比, TP53 野生型患者 PFS 明显更长(HR = 0.53; 95%CI 0.27~1.04);在一线阿来替尼(HR = 2.42; 95%CI 1.26~4.32; P = 0.002 7)和一线布格替尼(HR = 1.76; 95%CI 0.81~3.84; P = 0.154)治疗患者中, TP53 突变也与 PFS 较短相关^[31]。在另一项对 216 例 ALK 重排 NSCLC 的 III B/IV 期患者进行的回顾性研究中,共存 TP53 突变频率为 23.8%, TP53 突变患者的 PFS 和总生存期(overall survival, OS)在各治疗亚组均低于 TP53 野生型患者^[43]。

在序贯洛拉替尼治疗后缺乏 ALK 继发突变的样本中,发现 MAP3K1 突变和 NRAS G12D 突变是非依赖 ALK 耐药的潜在驱动因素。值得注意的是,在患者配对的洛拉替尼治疗前样本中没有被检测到 NRAS G12D 突变,因此, G12D 突变很可能是获得性的,从而介导了对洛拉替尼的非依赖 ALK 信号通路耐药^[14]。一例复发难治转移性的 ALK F1174L 突变的神经母细胞瘤。经洛拉替尼治疗后发生耐药,其获得性耐药机制可能是细胞周期依赖性激酶 4(cyclin dependent kinase 4, CDK4)和成纤维细胞生长因子受体 1(fibroblast growth factor receptor 1, FGFR1)的扩增和 NRAS Q61K 突变^[44]。

NF2 基因编码 merlin 蛋白,这是一种重要的肿瘤抑制因子,通过抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)参与调控 PI3K-AKT-mTOR 通路^[45]。基于对患者来源的细胞系分析, NF2 功能缺失突变可能是引起洛拉替尼耐药的旁路机制, mTOR 抑制剂与洛拉替尼联合使用可以克服 NF2 功能丧失介导的对洛拉替尼耐药^[15]。

2.4 组织学转化导致耐药

肿瘤发生组织学类型转化后将失去对原致癌驱动基因的依赖,从而导致靶向治疗耐药^[46]。肺癌发生 EMT 后,上皮基因(如 E-cadherin、ZO-1、occludin)表达水平降低,间质基因(如 N-cadherin、波形蛋白、纤维连接蛋白)表达水平升高^[47]。通过数字 PCR 和显微切割免疫组化等方法分析一例克唑替尼耐药后共存 ALK L1196M 突变与 EMT 的患者样本,发现 ALK 突变主要发生在上皮肿瘤细胞,间充质表型为 ALK 抑制剂的独立耐药机制,细胞实验证明 EMT 与 miR-200c 表达减少和 e-钙粘蛋白转录抑制因子锌指 E 盒结合同源盒 1(zinc-finger E box-binding homeobox1, ZEB1)表达增加有关,并导致对阿来替尼、塞瑞替尼和洛拉替尼的耐药,组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)抑制剂奎西诺司他(quisinostat)可克服 EMT 耐药^[36]。另一研究也在细胞实验中证明,EMT 抑制剂水飞蓟宾(silibinin)可通过抑制转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF β)/SMAD 信号通路,从而克服 EMT 对布加替尼和洛拉替尼的耐药^[37]。非受体酪氨酸激酶 Src 家族激活也在不同癌症类型的 EMT 中起着关键作用^[48-49], 研究报道 EMT 可介导 NSCLC 中 ALK 阳性患者对洛拉替尼的耐药^[15, 50], 患者来源的肿瘤细胞模型结果显示,Src 激酶抑制剂塞卡替尼(saracatinib)和洛拉替尼联合治疗可克服耐药^[15]。

ALK TKIs 靶向治疗耐药导致转化为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)是一种较少见的现象,SCLC 转化与起源于神经内分泌(neuroendocrine, NE)分化的上皮细胞有关^[17, 51-53]。在序贯 ALK TKIs 经第三代洛拉替尼治疗的患者中,约 4%(2/47)的患者发生组织学转化,分别从腺癌转化为 SCLC(诊断初期有 NE 分化)和鳞癌^[17]。在一例 ALK 阳性经阿来替尼治疗后转化 SCLC(诊断初期有 NE 分化)和获得 V1180L 突变的耐药患者,随后洛拉替尼治疗缓解,提示洛拉替尼在 ALK 阳性并发生组织学转化的 SCLC 患者中具有潜在疗效^[53]。这也表明对于具有复杂耐药机制的患者如并发 SCLC 转化和继发性 ALK 突变共存,不仅要考虑 SCLC 转化的可能性,还应及时重新活检以明确分子特征。也有研究报道,在序贯洛拉替尼治疗后耐药的 20 例患者中没有发现 SCLC 转化^[14]。另外,研究报道存在视网膜母细胞瘤基因(retinoblastomal, RB1)和 TP53 缺失的患者有 NE 或 SCLC 转化的趋势,在

有 RB1 和 TP53 缺失的 EGFR 突变肺腺癌中,SCLC 转化的风险较无突变者高 43 倍^[54-55];在 ALK 融合 NSCLC 患者中,发现多个经洛拉替尼治疗后发生 SCLC 转化病例中也检测到 RB1 和 TP53 缺失^[56-58]。目前,NSCLC 中 TP53 和 RB1 突变作为 SCLC 转化的驱动因素的意义及其作为预测生物标志物的潜在用途仍有待进一步验证。研究报道,与第一代 ALK TKIs 比较,二代抑制剂似乎更容易发生 NSCLC 向 SCLC 转化,这一现象可能归因于在治疗过程中,肿瘤细胞经历了更高的选择压力,迫使肿瘤细胞发生组织学转化^[59],因此,推测第三代洛拉替尼耐药可能面临更多的组织学转化压力。

ALK 阳性 NSCLC 转化 SCLC 后,靶向治疗和化疗的疗效往往有限,最终会导致疾病快速进展,对临床治疗提出了挑战。目前尚无针对 ALK 融合相关 SCLC 转化的标准治疗策略。化疗是最常见的治疗选择,依托泊苷联合含铂化疗是 SCLC 的一线治疗方法,广泛应用于转化性 SCLC。此外,考虑到转化性 SCLC 中预存 ALK 突变,TKIs 常与化疗联合使用或作为化疗后的维持治疗。近期,研究报道了一例 ALK 阳性肺腺癌患者序贯洛拉替尼治疗后发生 SCLC 转化和获得 ALK I1171T 突变耐药,联合使用替莫唑胺和洛拉替尼治疗效果好且未见明显不良反应,提示发生 SCLC 转化后联合使用靶向治疗与 SCLC 治疗是一种有效的治疗方案^[58]。

3 新一代 ALK TKIs 药物研究进展

部分复合突变如 G1202R+L1196M, G1202R+F1174C 和 G1202R+F1174L 对目前所有的 ALK TKIs 耐药,亟需新一代靶向药物上市解救。第四代 ALK 抑制剂 TPX-0131 和 NVL-655 旨在克服序贯治疗后耐药和脑转移,具有显著的抑制单一和复合突变活性和更强的 CNS 渗透力^[60-61]。TPX-0131 是一个紧凑的大环结构,在溶剂前沿残基附近设置一个酰胺基团,能够避免与 G1202R 形成空间冲突(与洛拉替尼的 N-甲基吡啶环相反)。细胞实验证实 TPX-0131 的效力是洛拉替尼的 100 倍,能抑制 G1202R+L1196M、G1202R+G1269A、G1202R+L1198F 等复合突变^[61-62]。NUV-655 主要作用靶点是 G1202R 及其复合突变,脑渗透性强且可避免神经毒性。FORGE-1 研究(NCT04849273)是一项旨在经治 ALK 阳性晚期或转移性 NSCLC 患者评估 TPX-0131 的 I/II 期临床试验,该试验于 2021 年

4月开始招募入组患者,遗憾的是,2023年5月临床试验官网(<https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04849273>)发布,由于风险/收益的不利变化终止该临床试验。ALKOVE-1研究(NCT05384626)是一项在ALK阳性晚期NSCLC患者评估NVL-655疗效与安全性的I/II期临床试验,截止到2023年8月公布的数据显示ORR可达44%(18/41),未见明显的CNS不良反应^[63-64]。

TPX-0005(reporetectinib, 瑞普替尼)是新一代超强广谱神经生长酪氨酸受体激酶(neurotrophin receptor kinase, NTRK)/ROS1/ALK酪氨酸激酶抑制剂,低分子量环状结构,紧凑而刚性的三维结构能够精确有效地深入激酶的ATP结合位点,并避免各种临床耐药突变引起的空间干扰^[65-67]。瑞普替尼可以有效针对获得性G1202R、L1196M、F1174C/L/V、I1171N等耐药突变,发挥强大的抗肿瘤作用,可能克服洛拉替尼治疗后的耐药^[65, 68-69]。研究还预测了瑞普替尼的耐药性突变是G1202R(+L1196M; +F1174C/L/I; +E1129V/K; +C1156Y)等,且瑞普替尼的耐药突变对FLT3抑制剂吉瑞替尼不敏感^[69]。2024年美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南基于TRIDENT-1临床试验结果,已纳入瑞普替尼用于ROS1阳性NSCLC的一线 and 后续治疗^[70-71]。

在一组结构不同的洛拉替尼类似物克服ALK复合突变耐药性的研究中,与洛拉替尼比较,洛拉替尼类似物对G1202R或I1171N/S/T复合突变的效力在体外和体内均提高了>10倍,同时观察到在洛拉替尼耐药后含L1198F、I1171N/S、G1202R的复合突变对不同的洛拉替尼类似物敏感性不同,表明对不同的ALK复合突变需要精准研发不同的靶向药物^[17]。综上,有必要对临床中出现的复合ALK突变进行全面的梳理,从而进行针对性最有希望的靶向药物研发。

4 液体活检监测耐药突变

NSCLC患者一代或二代ALK TKIs靶向治疗耐药后是否存在特异性的ALK继发耐药突变,对后续洛拉替尼序贯治疗的疗效是否存在影响,这在不同的ALK TKIs是不同的^[9]。研究报道,对于仅一代克唑替尼治疗耐药的患者,ALK有无继发突变与对洛拉替尼的疗效无影响(ORR, 73% vs. 74%),这可能与克唑替尼对ALK融合的作用效力相对较低

相关,大部分患者耐药后的肿瘤仍然由ALK信号通路驱动,从而继续对新一代ALK TKIs敏感^[18]。但有研究报道,序贯二代ALK TKIs治疗耐药后,再用洛拉替尼治疗的疗效与是否存在ALK继发耐药突变相关^[72]。在序贯ALK TKIs治疗耐药的患者中,基于肿瘤组织检测ALK基因突变,发现有继发突变者的洛拉替尼治疗ORR(69% vs. 27%)、PFS(11.0 m vs. 5.4 m)和DOR(24.4 m vs. 4.3 m)均明显优于无继发ALK突变的患者^[18]。另一项研究也报道,与洛拉替尼治疗前没有ALK耐药突变的患者相比,肿瘤中存在ALK突变患者的疾病进展时间(time to progression, TTP)和到死亡时间(time to death, TTD)均显著较长(TTP: 7.8 m vs. 2.8 m; TTD: 13.5 m vs. 4.1 m)^[17]。因此,临床上需要根据第二代ALK抑制剂在疾病进展后的耐药机制,精准选择后线ALK抑制剂治疗或其他治疗方式。虽然序贯洛拉替尼的疗效与治疗前是否存在ALK继发突变相关,但目前洛拉替尼仍然是一代和二代ALK TKIs治疗失败后的选择^[73]。

靶向治疗耐药后重复活检和分子分型对于识别难治性和敏感性复合突变等耐药机制,以及选择最有效的治疗策略至关重要^[74]。但是,临床上对NSCLC患者进行多部位或多次活检是不可行的,基于血浆、胸腔积液以及脑脊液等基因分型液体活检是分析驱动基因阳性靶向治疗耐药的一种有效策略^[35, 75-76]。在接受序贯ALK TKIs治疗的患者中,血浆ctDNA基因分型能可靠地检测ALK TKIs耐药患者的激酶结构域突变^[18-19, 77-78]。通过血液动态监测早期NSCLC患者ctDNA发现微小残留病变(minimal residual disease, MRD)的超高阴性预测值(96.8%)定义了潜在治愈人群;动态监测ctDNA-MRD还可预测局部晚期NSCLC放化疗疗效^[79-80]。此外,肿瘤还会出现异质性和多克隆耐药性,不同的耐药克隆具有不同的ALK耐药复合突变^[77]。由于血浆含有来自多个转移部位的肿瘤来源DNA的混合物,血浆基因分型可能比单一疾病部位的活检更全面反映肿瘤真实基因状态。一项研究比较了血浆和肿瘤样本中的ALK突变频率无差异(67% vs. 63%);序贯洛拉替尼治疗后,与组织比较,血浆基因分型敏感性虽为90%,但因为肿瘤内的异质性,血浆可以额外检测到单个肿瘤位点中不含的ALK突变,比肿瘤组织样本也更容易检出ALK耐药复合突变(48% vs. 28%)^[19]。一线洛拉替尼或克唑替尼

治疗的晚期 ALK 阳性的 NSCLC 患者中(CROWN 研究)中,早期 ctDNA 监测等位基因变异频率(variant allele Frequency, VAF)的动态变化,可以监测与预测洛拉替尼的疗效^[81]。此外,循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)或外泌体(exosomes)等液体活检均可监测靶向治疗耐药^[82-83],但目前洛拉替尼的报道还不多。因此,基于 NGS 的液体活检动态分析可以评估肿瘤的异质性,可以监测治疗中正在进化的耐药克隆以便评估复发风险,为疾病进展前尽早转换治疗方案提供机会。

5 结 语

随着新一代靶向药物以及联合局部治疗、化疗、抗血管生成治疗、抗体药物偶联物(antibody-drug conjugate, ADC)等方案的优化,延缓或克服了 ALK 阳性 NSCLC 患者靶向治疗发生的耐药,患者的生活质量和生存状况均得到显著获益。本文主要通过阐述第三代 ALK 抑制剂洛拉替尼耐药机制的复杂性,为临床选择合适的后线精准治疗策略提供了依据,同时也需要更多的研究来进一步阐明洛拉替尼可能的耐药机制。另外,亟需加强对新一代 ALK TKIs 耐药后治疗药物的研发,以期 ALK 阳性 NSCLC 患者提供新的治疗选择。

[参 考 文 献]

- [1] 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. doi: 10.1038/nature05945.
- [2] TIAN H X, ZHANG X C, YANG J J, et al. Clinical characteristics and sequence complexity of anaplastic lymphoma kinase gene fusions in Chinese lung cancer patients[J]. *Lung Cancer*, 2017, 114: 90–95. doi: 10.1016/j.lungcan.2017.11.001.
- [3] OU S H I, ZHU V W, NAGASAKA M. Catalog of 5' fusion partners in ALK-positive NSCLC circa 2020[J]. *JTO Clin Res Rep*, 2020, 1(1): 100015. doi: 10.1016/j.jto.2020.100015.
- [4] SHAW A T, KIM D W, NAKAGAWA K, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(25): 2385–2394. doi: 10.1056/NEJMoa1214886.
- [5] PETERS S, CAMIDGE D R, SHAW A T, et al. Alectinib versus crizotinib in untreated ALK-positive non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(9): 829–838. doi: 10.1056/NEJMoa1704795.
- [6] CAMIDGE D R, KIM H R, AHN M J, et al. Brigatinib versus crizotinib in ALK-positive non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(21): 2027–2039. doi: 10.1056/NEJMoa1810171.
- [7] SOLOMON B J, BESSE B, BAUER T M, et al. Lorlatinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: results from a global phase 2 study[J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(12): 1654–1667. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30649-1.
- [8] SHAW A T, BAUER T M, DE MARINIS F, et al. First-line lorlatinib or crizotinib in advanced ALK-positive lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(21): 2018–2029. doi: 10.1056/NEJMoa2027187.
- [9] GAINOR J F, DARDAEI L, YODA S, et al. Molecular mechanisms of resistance to first- and second-generation ALK inhibitors in ALK-rearranged lung cancer[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(10): 1118–1133. doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-0596.
- [10] HARATAKE N, TOYOKAWA G, SETO T, et al. The mechanisms of resistance to second- and third-generation ALK inhibitors and strategies to overcome such resistance[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2021, 21(9): 975–988. doi: 10.1080/14737140.2021.1940964.
- [11] PAN Y, DENG C, QIU Z H, et al. The resistance mechanisms and treatment strategies for ALK-rearranged non-small cell lung cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 713530. doi: 10.3389/fonc.2021.713530.
- [12] COOPER A J, SEQUIST L V, LIN J J. Third-generation EGFR and ALK inhibitors: mechanisms of resistance and management[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(8): 499–514. doi: 10.1038/s41571-022-00639-9.
- [13] JOHNSON T W, RICHARDSON P F, BAILEY S, et al. Discovery of (10*R*)-7-amino-12-fluoro-2, 10, 16-trimethyl-15-oxo-10, 15, 16, 17-tetrahydro-2*H*-8, 4-(metheno)pyrazolo[4, 3-*h*]2, 5, 11]-benzoxadiazacyclotetradecine-3-carbonitrile (PF-06463922), a macrocyclic inhibitor of anaplastic lymphoma kinase (ALK) and c-ros oncogene 1 (ROS1) with preclinical brain exposure and broad-spectrum potency against ALK-resistant mutations[J]. *J Med Chem*, 2014, 57(11): 4720–4744. doi: 10.1021/jm500261q.
- [14] YODA S, LIN J J, LAWRENCE M S, et al. Sequential ALK inhibitors can select for lorlatinib-resistant compound ALK mutations in ALK-positive lung cancer[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(6): 714–729. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-1256.
- [15] RECONDO G, MEZQUITA L, FACCHINETTI F, et al. Diverse resistance mechanisms to the third-generation ALK inhibitor lorlatinib in ALK-rearranged lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(1): 242–255. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1104.
- [16] LIN Y T, CHIANG C L, HUNG J Y, et al. Resistance profiles of anaplastic lymphoma kinase tyrosine kinase inhibitors in advanced non-small-cell lung cancer: a multicenter study using targeted next-generation sequencing[J]. *Eur J Cancer*, 2021, 156: 1–11. doi: 10.1016/j.ejca.2021.06.043.
- [17] SHIBA-ISHII A, JOHNSON T W, DAGOGO-JACK I, et al. Analysis of lorlatinib analogs reveals a roadmap for targeting diverse compound resistance mutations in ALK-positive lung cancer[J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(6): 710–722. doi: 10.1038/

- s43018-022-00399-6.
- [18] SHAW A T, SOLOMON B J, BESSE B, et al. *ALK* resistance mutations and efficacy of lorlatinib in advanced anaplastic lymphoma kinase-positive non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(16): 1370–1379. doi: 10.1200/JCO.18.02236.
- [19] DAGOGO-JACK I, ROONEY M, LIN J J, et al. Treatment with next-generation *ALK* inhibitors fuels plasma *ALK* mutation diversity[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(22): 6662–6670. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1436.
- [20] OKADA K, ARAKI M, SAKASHITA T, et al. Prediction of *ALK* mutations mediating *ALK*-TKIs resistance and drug repurposing to overcome the resistance[J]. *eBioMedicine*, 2019, 41: 105–119. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.01.019.
- [21] MIZUTA H, OKADA K, ARAKI M, et al. Gilteritinib overcomes lorlatinib resistance in *ALK*-rearranged cancer[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1261. doi: 10.1038/s41467-021-21396-w.
- [22] ZHU V W, NAGASAKA M, MADISON R, et al. A novel sequentially evolved *EML4-ALK* variant 3 G1202R/S1206Y double mutation in *Cis* confers resistance to lorlatinib: a brief report and literature review[J]. *JTO Clin Res Rep*, 2021, 2(1): 100116. doi: 10.1016/j.jtocrr.2020.100116.
- [23] TAKAHASHI K, SETO Y, OKADA K, et al. Overcoming resistance by *ALK* compound mutation (I1171S + G1269A) after sequential treatment of multiple *ALK* inhibitors in non-small cell lung cancer[J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(3): 581–587. doi: 10.1111/1759-7714.13299.
- [24] SHAW A T, FRIBOULET L, LESHCHINER I, et al. Resensitization to crizotinib by the lorlatinib *ALK* resistance mutation L1198F[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(1): 54–61. doi: 10.1056/NEJMoa1508887.
- [25] LI J, SUN R, WU Y H, et al. L1198F mutation resensitizes crizotinib to *ALK* by altering the conformation of inhibitor and ATP binding sites[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 482. doi: 10.3390/ijms18030482.
- [26] SOLOMON B J, BAUER T M, FELIP E, et al. Progression-free survival with subsequent anticancer therapies from a phase 3 trial of lorlatinib in treatment-naïve patients (pts) with *ALK*+ advanced non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(16S): Abstr9069. doi: 10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.906.
- [27] SOLOMON B J, BAUER T M, MOK T S K, et al. Efficacy and safety of first-line lorlatinib versus crizotinib in patients with advanced, *ALK*-positive non-small-cell lung cancer: updated analysis of data from the phase 3, randomised, open-label CROWN study[J]. *Lancet Respir Med*, 2023, 11(4): 354–366. doi: 10.1016/S2213-2600(22)00437-4.
- [28] SOLOMON B J, LIU G, FELIP E, et al. Lorlatinib vs crizotinib in treatment-naïve patients with advanced *ALK*+ non-small cell lung cancer: 5-year progression-free survival and safety from the CROWN study[J]. *J Clin Oncol*, 2024, 42(17S): AbstrLBA8503. doi: 10.1200/JCO.2024.42.17_suppl.LBA8503.
- [29] SOLOMON B J, LIU G, FELIP E, et al. Lorlatinib versus crizotinib in patients with advanced *ALK*-positive non-small cell lung cancer: 5-year outcomes from the phase III CROWN study[J]. *J Clin Oncol*, 2024;JCO2400581. doi: 10.1200/JCO.24.0058.
- [30] SCHNEIDER J L, LIN J J, SHAW A T. *ALK*-positive lung cancer: a moving target[J]. *Nat Cancer*, 2023, 4(3): 330–343. doi: 10.1038/s43018-023-00515-0.
- [31] OU S H I, LEE A T M, NAGASAKA M. From preclinical efficacy to 2022 (36.7 months median follow-up) updated CROWN trial, lorlatinib is the preferred 1st-line treatment of advanced *ALK*+ NSCLC[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2023, 187: 104019. doi: 10.1016/j.critrevonc.2023.104019.
- [32] BEARZ A, MARTINI J F, JASSEM J, et al. Efficacy of lorlatinib in treatment-naïve patients with *ALK*-positive advanced NSCLC in relation to *EML4*: *ALK* variant type and *ALK* with or without *TP53* mutations[J]. *J Thorac Oncol*, 2023, 18(11): 1581–1593. doi: 10.1016/j.jtho.2023.07.023.
- [33] GEMELLI M, ALBINI A, CATALANO G, et al. Navigating resistance to *ALK* inhibitors in the lorlatinib era: a comprehensive perspective on NSCLC[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2024, 24(6): 347–361. doi: 10.1080/14737140.2024.2344648.
- [34] SHAW A T, FELIP E, BAUER T M, et al. Lorlatinib in non-small-cell lung cancer with *ALK* or *ROS1* rearrangement: an international, multicentre, open-label, single-arm first-in-man phase 1 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(12): 1590–1599. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30680-0.
- [35] MINARI R, VALENTINI S, MADEDDU D, et al. *YES1* and *MYC* amplifications as synergistic resistance mechanisms to different generation *ALK* tyrosine kinase inhibitors in advanced NSCLC: brief report of clinical and preclinical proofs[J]. *JTO Clin Res Rep*, 2022, 3(2): 100278. doi: 10.1016/J.JTOCRR.2022.100278.
- [36] FUKUDA K, TAKEUCHI S, ARAI S, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is a mechanism of *ALK* inhibitor resistance in lung cancer independent of *ALK* mutation status[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(7): 1658–1670. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-2052.
- [37] VERDURA S, ENCINAR J A, TEIXIDOR E, et al. Silibinin overcomes EMT-driven lung cancer resistance to new-generation *ALK* inhibitors[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(24): 6101. doi: 10.3390/cancers14246101.
- [38] BERKO E R, WITEK G M, MATKAR S, et al. Circulating tumor DNA reveals mechanisms of lorlatinib resistance in patients with relapsed/refractory *ALK*-driven neuroblastoma[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 2601. doi: 10.1038/s41467-023-38195-0.
- [39] DAGOGO-JACK I, YODA S, LENNERZ J K, et al. *MET* alterations are a recurring and actionable resistance mechanism in *ALK*-positive lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(11): 2535–2545. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3906.
- [40] SAKAKIBARA-KONISHI J, KITAI H, IKEZAWA Y, et al. Response to crizotinib re-administration after progression on lorlatinib in a patient with *ALK*-rearranged non-small-cell lung cancer[J]. *Clin Lung Cancer*, 2019, 20(5): e555–e559. doi: 10.

- 1016/j.clcc.2019.06.021.
- [41] SCHNEIDER J L, SHAVERDASHVILI K, MINO-KENUDSON M, et al. Lorlatinib and capmatinib in a *ROS1*-rearranged NSCLC with *MET*-driven resistance: tumor response and evolution[J]. *npj Precis Oncol*, 2023, 7(1): 116. doi: 10.1038/s41698-023-00464-y.
- [42] REDAELLI S, CECCON M, ZAPPA M, et al. Lorlatinib treatment elicits multiple on- and off-target mechanisms of resistance in ALK-driven cancer[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(24): 6866–6880. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1867.
- [43] KRON A, ALIDOUSTY C, SCHEFFLER M, et al. Impact of *TP53* mutation status on systemic treatment outcome in ALK-rearranged non-small-cell lung cancer[J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(10): 2068–2075. doi: 10.1093/annonc/ndy333.
- [44] LIU T T, MERGUERIAN M D, ROWE S P, et al. Exceptional response to the ALK and ROS1 inhibitor lorlatinib and subsequent mechanism of resistance in relapsed ALK F1174L-mutated neuroblastoma[J]. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*, 2021, 7(4): a006064. doi: 10.1101/mcs.a006064.
- [45] PETRILLI A M, FERNÁNDEZ-VALLE C. Role of Merlin/NF2 inactivation in tumor biology[J]. *Oncogene*, 2016, 35(5): 537–548. doi: 10.1038/onc.2015.125.
- [46] QUINTANAL-VILLALONGA Á, CHAN J M, YU H A, et al. Lineage plasticity in cancer: a shared pathway of therapeutic resistance[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(6): 360–371. doi: 10.1038/s41571-020-0340-z.
- [47] LAMOUILLE S, XU J, DERYNCK R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3): 178–196. doi: 10.1038/nrm3758.
- [48] AVIZIENYTE E, FRAME M C. Src and FAK signalling controls adhesion fate and the epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2005, 17(5): 542–547. doi: 10.1016/j.ceb.2005.08.007.
- [49] PATEL A, SABBINENI H, CLARKE A, et al. Novel roles of Src in cancer cell epithelial-to-mesenchymal transition, vascular permeability, microinvasion and metastasis[J]. *Life Sci*, 2016, 157: 52–61. doi: 10.1016/j.lfs.2016.05.036.
- [50] URBANSKA E M, SØRENSEN J B, MELCHIOR L C, et al. Changing ALK-TKI-resistance mechanisms in rebiopsies of ALK-rearranged NSCLC: ALK- and BRAF-mutations followed by epithelial-mesenchymal transition[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8): 2847. doi: 10.3390/ijms21082847.
- [51] HUANG J, ZHANG S L, ZHOU C Z, et al. Genomic and transcriptomic analysis of neuroendocrine transformation in ALK-rearranged lung adenocarcinoma after treatments with sequential ALK inhibitors: a brief report[J]. *JTO Clin Res Rep*, 2022, 3(6): 100338. doi: 10.1016/J.JTOCRR.2022.100338.
- [52] COLEMAN N, WOTHERSPOON A, YOUSAF N, et al. Transformation to neuroendocrine carcinoma as a resistance mechanism to lorlatinib[J]. *Lung Cancer*, 2019, 134: 117–120. doi: 10.1016/j.lungcan.2019.05.025.
- [53] XU L L, CHEN M X, YE W, et al. Transformation of NSCLC to SCLC harboring EML4-ALK fusion with V1180L mutation after alectinib resistance and response to lorlatinib: a case report and literature review[J]. *Lung Cancer*, 2023, 186: 107415. doi: 10.1016/j.lungcan.2023.107415.
- [54] NIEDERST M J, SEQUIST L V, POIRIER J T, et al. RB loss in resistant *EGFR* mutant lung adenocarcinomas that transform to small-cell lung cancer[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6377. doi: 10.1038/ncomms7377.
- [55] OFFIN M, CHAN J M, TENET M, et al. Concurrent *RBI* and *TP53* alterations define a subset of *EGFR*-mutant lung cancers at risk for histologic transformation and inferior clinical outcomes[J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(10): 1784–1793. doi: 10.1016/j.jtho.2019.06.002.
- [56] OU S H I, LEE T K, YOUNG L, et al. Dual occurrence of ALK G1202R solvent front mutation and small cell lung cancer transformation as resistance mechanisms to second generation ALK inhibitors without prior exposure to crizotinib. Pitfall of solely relying on liquid re-biopsy?[J]. *Lung Cancer*, 2017, 106: 110–114. doi: 10.1016/j.lungcan.2017.02.005.
- [57] HOBEIKA C, RACHED G, EID R, et al. ALK-rearranged adenocarcinoma transformed to small-cell lung cancer: a new entity with specific prognosis and treatment?[J]. *Per Med*, 2018, 15(2): 111–115. doi: 10.2217/pme-2017-0069.
- [58] MAJEED U, LI S D, SEGOBIN K, et al. First report of management of sequential small cell transformation and ALK I1171T mutation as resistance mechanisms in a patient with ALK-EML4 fused non-small cell lung adenocarcinoma with a novel combination of temozolomide and lorlatinib: a case report[J]. *JTO Clin Res Rep*, 2023, 4(7): 100536. doi: 10.1016/J.JTOCRR.2023.100536.
- [59] ROSEN J M, JORDAN C T. The increasing complexity of the cancer stem cell paradigm[J]. *Science*, 2009, 324(5935): 1670–1673. doi: 10.1126/science.1171837.
- [60] OU S H I, NAGASAKA M, BRAZEL D, et al. Will the clinical development of 4th-generation "double mutant active" ALK TKIs (TPX-0131 and NVL-655) change the future treatment paradigm of ALK+ NSCLC?[J]. *Transl Oncol*, 2021, 14(11): 101191. doi: 10.1016/J.TRANON.2021.101191.
- [61] CUI J J, ROGERS E, ZHAI D Y, et al. TPX-0131: a next generation macrocyclic ALK inhibitor that overcomes ALK resistant mutations refractory to current approved ALK inhibitors[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(16S): Abstr5226. doi: 10.1158/1538-7445.AM2020-5226.
- [62] MURRAY B W, ZHAI D Y, DENG W, et al. TPX-0131, a potent CNS-penetrant, next-generation inhibitor of wild-type ALK and ALK-resistant mutations[J]. *Mol Cancer Ther*, 2021, 20(9): 1499–1507. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-21-0221.
- [63] LIN J J, JOHNSON M L, FELIP E, et al. Safety and preliminary activity of the selective ALK inhibitor NVL-655 in patients with ALK fusion-positive solid tumors[C]//Proceedings of the 35th AACR-NCI-EORTC symposium. Boston: Nuvalent, Inc., 2023: Abstr35177.
- [64] Nuvalent, Inc. Nuvalent reports preliminary phase 1 clinical data from ALKOVE-1 trial that support best-in-class potential of NVL-655 for patients with ALK-positive NSCLC[EB/OL]. (2023-10-13)[2024-04-07]. <https://investors.nuvalent.com/20>

- 23-10-13-Nuvalent-Reports-Preliminary-Phase-I-Clinical-Data-from-ALKOVE-1-Trial-that-Support-Best-In-Class-Potential-of-NVL-655-for-Patients-with-ALK-Positive-NSCLC.
- [65] DRILON A, OU S H I, CHO B C, et al. Repotrectinib (TPX-0005) is a next-generation ROS1/TRK/ALK inhibitor that potently inhibits ROS1/TRK/ALK solvent-front mutations[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(10): 1227–1236. doi: [10.1158/2159-8290.CD-18-0484](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0484).
- [66] YUN M R, KIM D H, KIM S Y, et al. Repotrectinib exhibits potent antitumor activity in treatment-naïve and solvent-front-mutant ROS1-rearranged non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(13): 3287–3295. doi: [10.1158/1078-0432.CCR-19-2777](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-2777).
- [67] MURRAY B W, ROGERS E, ZHAI D Y, et al. Molecular characteristics of repotrectinib that enable potent inhibition of TRK fusion proteins and resistant mutations[J]. *Mol Cancer Ther*, 2021, 20(12): 2446–2456. doi: [10.1158/1535-7163.MCT-21-0632](https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-21-0632).
- [68] BALASUNDARAM A, DOSS G P C. A computational examination of the therapeutic advantages of fourth-generation ALK inhibitors TPX-0131 and repotrectinib over third-generation lorlatinib for NSCLC with ALK F1174C/L/V mutations[J]. *Front Mol Biosci*, 2024, 10: 1306046. doi: [10.3389/fmolb.2023.1306046](https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1306046).
- [69] DOI Y, TAGAYA H, NOGE A, et al. Prediction of resistance mutations against upcoming anaplastic lymphoma kinase inhibitors[J]. *Target Oncol*, 2022, 17(6): 695–707. doi: [10.1007/s11523-022-00919-5](https://doi.org/10.1007/s11523-022-00919-5).
- [70] DRILON A, CAMIDGE D R, LIN J J, et al. Repotrectinib in ROS1 fusion-positive non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2024, 390(2): 118–131. doi: [10.1056/NEJMoa2302299](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2302299).
- [71] RIELY G J, WOOD D E, ETTINGER D S, et al. Non-small cell lung cancer, version 4.2024, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2024, 22(4): 249–274. doi: [10.6004/jnccn.2204.0023](https://doi.org/10.6004/jnccn.2204.0023).
- [72] DAGOGO-JACK I, BRANNON A R, FERRIS L A, et al. Tracking the evolution of resistance to ALK tyrosine kinase inhibitors through longitudinal analysis of circulating tumor DNA[J]. *JCO Precis Oncol*, 2018, 2: 1–14. doi: [10.1200/PO.17.00160](https://doi.org/10.1200/PO.17.00160).
- [73] Chinese Society of Clinical Oncology Guidelines Working Committee. Guidelines of Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO) non-small cell lung cancer[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2023. [中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会 (CSCO) 非小细胞肺癌诊疗指南 2023[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2023.]
- [74] HENDRIKS L E, KERR K M, MENIS J, et al. Oncogene-addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO clinical practice guideline for diagnosis, treatment and follow-up[J]. *Ann Oncol*, 2023, 34(4): 339–357. doi: [10.1016/j.annonc.2022.12.009](https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.12.009).
- [75] AGGARWAL C, THOMPSON J C, BLACK T A, et al. Clinical implications of plasma-based genotyping with the delivery of personalized therapy in metastatic non-small cell lung cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(2): 173–180. doi: [10.1001/jamaoncol.2018.4305](https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.4305).
- [76] ZHENG M M, LI Y S, JIANG B Y, et al. Clinical utility of cerebrospinal fluid cell-free DNA as liquid biopsy for leptomeningeal metastases in ALK-rearranged NSCLC[J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(5): 924–932. doi: [10.1016/j.jtho.2019.01.007](https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.01.007).
- [77] MCCOACH C E, BLAKELY C M, BANKS K C, et al. Clinical utility of cell-free DNA for the detection of ALK fusions and genomic mechanisms of ALK inhibitor resistance in non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(12): 2758–2770. doi: [10.1158/1078-0432.CCR-17-2588](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-2588).
- [78] HUA G, ZHANG X, ZHANG M, et al. Real-world circulating tumor DNA analysis depicts resistance mechanism and clonal evolution in ALK inhibitor-treated lung adenocarcinoma patients[J]. *ESMO Open*, 2022, 7(1): 100337. doi: [10.1016/j.esmoop.2021.100337](https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2021.100337).
- [79] ZHANG J T, LIU S Y, GAO W, et al. Longitudinal undetectable molecular residual disease defines potentially cured population in localized non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(7): 1690–1701. doi: [10.1158/2159-8290.CD-21-1486](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1486).
- [80] PAN Y, ZHANG J T, GAO X, et al. Dynamic circulating tumor DNA during chemoradiotherapy predicts clinical outcomes for locally advanced non-small cell lung cancer patients[J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(10): 1763–1773. doi: [10.1016/j.ccell.2023.09.007](https://doi.org/10.1016/j.ccell.2023.09.007).
- [81] SOO R A, MARTINI J F, VAN DER WEKKEN A J, et al. Early circulating tumor DNA dynamics and efficacy of lorlatinib in patients with treatment-naïve, advanced, ALK-positive NSCLC[J]. *J Thorac Oncol*, 2023, 18(11): 1568–1580. doi: [10.1016/j.jtho.2023.05.021](https://doi.org/10.1016/j.jtho.2023.05.021).
- [82] JIANG B Y, LI Y S, GUO W B, et al. Detection of driver and resistance mutations in leptomeningeal metastases of NSCLC by next-generation sequencing of cerebrospinal fluid circulating tumor cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(18): 5480–5488. doi: [10.1158/1078-0432.CCR-17-0047](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0047).
- [83] PENG X X, YU R Y, WU X, et al. Correlation of plasma exosomal microRNAs with the efficacy of immunotherapy in EGFR/ALK wild-type advanced non-small cell lung cancer[J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1): e000376. doi: [10.1136/jitc-2019-000376](https://doi.org/10.1136/jitc-2019-000376).

[收稿日期] 2024-04-07