

非小细胞肺癌伴随诊断的研究进展

赵子慧, 王绪华*

(天津康圣达医学检验实验室有限公司, 天津 300300)

【摘要】非小细胞肺癌是最常见且死亡率最高的肿瘤, 不同的非小细胞肺癌患者的驱动基因不同, 且大多数患者通常发现晚, 预后差。针对不同患者制定个性化治疗方案, 选择适合的靶向药物是非小细胞肺癌的最佳治疗方案。伴随诊断通过整合多种体外诊断技术, 为患者提供精确的靶向用药信息, 避免患者因选择不适合的靶向药物造成不良后果。本文对非小细胞肺癌伴随诊断中的靶向生物标记物、检测技术及伴随诊断的国内外现状进行概述。

【关键词】非小细胞肺癌; 伴随诊断; 生物标记物; 检测技术; 靶向药物

中图分类号: R730.4

文献标志码: A

文章编号: 1004-616X(2021)01-0066-06 doi: 10.3969/j.issn.1004-616x.2021.01.014

国家癌症中心发布的中国2019年最新癌症报告显示, 在中国每10万人口中有57人患有肺癌, 其中每年约有63万人死于肺癌^[1], 并且患病趋势逐年递增。随着国民健康意识的增强和螺旋CT等早期筛查技术的发展和运用, 在新增肺癌患者中, 首次确诊为中晚期肺癌的比例有所下降。但肿瘤的异质性、晚期治疗效果不佳、预后差等因素造成肺癌患者5年相对生存率仅16.1%^[2], 且据统计数据显示, 中国肺癌人口的死亡数高于世界平均水平^[3]。如何有效进行早期诊断和延长肺癌患者的生存率, 一直是中国乃至世界肺癌临床治疗中的主要关注点。

肺癌是中国乃至世界发病率和死亡率最高的恶性肿瘤, 临床上分为小细胞癌和非小细胞癌(non-small cell lung cancer, NSCLC), 其中绝大多数是NSCLC, 占80%~85%^[4]。不同组织亚型、驱动基因导致的NSCLC患者对于同一治疗方式会产生不同的治疗效果和预后。对于多数早期NSCLC患者, 手术切除肿瘤仍是首选的治疗方式。晚期NSCLC患者, 病灶发生转移, 手术无法达到预期的治疗效果。因此对NSCLC进行准确分期、确定亚型、分析分子标记物以及驱动基因, 选择合适的治疗手段和靶向药物是晚期NSCLC合理且更有效的治疗策略。相关数据表明, 接受了靶向药物和免疫治疗的NSCLC患者预后得到改善, 生存期得以延长^[5]。

为确保患者靶向用药安全和治疗效果, 伴随诊断(companion diagnostic, CD)应运而生。伴随诊断是一种体外诊断技术, 可提供安全有效的信息为患者药物和治疗方案的选择提供依据, 并且帮助医护人员确定治疗对患者的获益是否超过潜在的副作用或风险^[6]。伴随诊断的优势概括来讲, 具有以下两点: ①可以帮助医生充分了解患者信息, 制定最佳治疗方案; ②可以帮助患者规避用药风险, 节省大量开支, 降低医疗

成本。本文主要阐述当前NSCLC伴随诊断中的分子标记物和相关的检测手段。

1 分子生物标记物

根据最新版美国国立综合癌症网络(national comprehensive cancer network, NCCN)非小细胞肺癌治疗指南, 将表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)、肉瘤致癌因子-受体酪氨酸激酶(ROS proto-oncogene 1, receptor tyrosine kinase, ROS1)、鼠类肉瘤病毒基因同源体B(v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B, BRAF)、免疫治疗靶点程序性死亡配体(programmed cell death ligand 1, PD-L1)、神经营养因子受体酪氨酸激酶(neurotrophic receptor kinase, NTRK)纳入常规临床分子检测, 并建议检测新的分子靶标间充质-上皮转变(mesenchymal-epithelial transition, MET)、原癌基因(proto-oncogene, RET)、人表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)及肿瘤突变负荷(tumor mutational burden, TMB)以评估不同人群对不同靶向药物的药敏性及预后^[7]。

1.1 临床检测分子标记物

EGFR是一种受体型酪氨酸激酶, 在细胞膜上表达。正常情况下, EGFR胞外端与配体结合形成二聚体, 胞内端与ATP结合后发生磷酸化, 然后激活多种下游信号通路, 如蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)、酪氨酸激酶(Janus kinase, JAK)、细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)等信号通路, 调节细胞生长、分化和发育等多种生理过程。EGFR突变会造成EGFR结构域的活化, 异常激活下游信

收稿日期: 2020-06-12; 修订日期: 2020-10-27

作者信息: 赵子慧, E-mail: zhaozihui@kindstar.com.cn。*通信作者, 王绪华, E-mail: zzh041688@163.com

号通路，促使肿瘤细胞恶性增殖。EGFR 突变常见于肿瘤细胞中，包括 NSCLC^[8-9]，在亚洲 NSCLC 患者中，EGFR 突变约占 50%^[5]，且 EGFR 的突变多发生在 18~21 号外显子上，目前已经检测到的 EGFR 突变约 70 余种^[10]。多种小分子酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors，TKI)通过阻断 EGFR 信号向下游信号通路的传递，用于 NSCLC 的治疗^[11-13]。

ALK 是 NSCLC 的驱动基因之一，有 1%~7% 的 NSCLC 患者中会出现 ALK 重排，目前临床上已经发现有多种异常基因重排，ALK-*EML4* 重排是 NSCLC 中最常见的类型^[14]。临床研究发现 ALK 重排的 NSCLC 患者对 EGFR-TKI 具有耐药性。

BRAF 蛋白是一种丝氨酸/苏氨酸激酶，有 1%~2% 的 NSCLC 患者表现为 *BRAF* 基因突变，*BRAF* V600E 是最常见的突变亚型^[15-16]，临床研究发现同时出现 *BRAF* 突变、*EGFR* 突变、*ALK* 重排和 *ROS1* 重排，在 NSCLC 患者中比较罕见。

ROS1 也是一种受体型酪氨酸激酶。与 EGFR 类似，ROS1 重排后会导致下游信号通路持续激活，促使细胞恶性增殖^[14]。有 1%~2% 的 NSCLC 患者会表现出 ROS1 重排，且多数出现在 EGFR 突变、KRAS 突变和 ALK 重排 3 者皆是阴性的患者中。

KRAS 是 GTPase 活性的 G 蛋白，是 MAP/ERK 途径的一部分。*KRAS* 基因突变驱动的 NSCLC 患者人数仅次于 *EGFR* 基因突变患者，是 NSCLC 的第二大驱动基因，*KRAS* 突变状态也预示着 EGFR-TKI 类药物缺乏疗效。*KRAS* 突变通常不会与 *EGFR*、*ROS1*、*BRAF* 和 *ALK* 基因变异重叠^[5]。因此，*KRAS* 突变检测可

能会识别出无法从进一步的分子检测中受益的患者。靶向治疗目前尚不能用于具有 *KRAS* 突变的患者。

PD-L1 是 NSCLC 的免疫筛查点，肿瘤细胞上表达的 PD-L1 蛋白与 T 细胞上的程序性死亡受体(programmed cell death 1, PD1)结合，阻止 T 细胞对肿瘤细胞的识别^[17-18]。基于以上机制，NSCLC 的免疫疗法是靶向药物通过竞争结合 PD-L1/PD-1 免疫位点，激发或调动机体的免疫系统，增强抗肿瘤免疫力，从而控制和杀伤肿瘤细胞，恢复患者的免疫系统，使其可以被正常激活。

1.2 其他相关分子标志物

随着跨学科研究的推进，新的 NSCLC 驱动基因被发现，成为潜在的分子治疗靶标，如 *ERBB2* 突变、*RET* 基因融合、高水平 MET 扩增肿瘤突变负担(TMB)均是 NSCLC 新的驱动基因。尽管 NCCN 指南建议可将上述标志物作为 NSCLC 晚期患者生物标志物的筛查范围，但这些新的生物标记物目前广泛应用到实际临床检测中仍需要大量的临床试验。

2 生物标志物检测方法

就目前分子标记物的检测方法看，尽管同一分子标志物可以用不同的方法进行检测，但不同检测技术的成本、检测灵敏度不同(表 1)。临床应用可根据 NSCLC 患者的具体情况，选择合适的检测技术。

免疫组化(immunohistochemistry, IHC)检测方法可检测某个

表 1 NCCN 推荐的非小细胞肺癌分子靶标的主要检测方法

方法	检测指标	组织类型	检测周期	优点	缺点	检测成本
免疫组化	ALK	FFPE 样本	2~3 d	可直接判断组织形态	检测所需样本量大，主观因素影响大	低
	ROS1	新鲜组织				
	NTRT					
	PD-L1					
FISH	ALK	FFPE 样本	3~4 d	杂交特异性高，结果易于观察	只能检测明确的位点，检测步骤多，荧光信号容易丢失	较高
	ROS1	新鲜组织				
	NTRT	细胞悬液				
Sanger 测序	EGFR	FFPE 样本	2~3 d	不需要扩增全部基因，只需针对特定突变位置扩增	灵敏度低	低
	BRAF(V600E)	新鲜组织				
NGS 测序	KRAS	FFPE 样本 新鲜组织	10~20 d	灵敏度高，可同时检测不同基因的未知突变	分析时间长	高
	EGFR					
	ALK					
	ROS1					
	BRAF					
qPCR	NTRT	FFPE 样本 新鲜组织	1 d	操作简单，检测周期短	无法检测未知突变	低
	EGFR					
	ALK					
	ROS1					
	BRAF					
PCR-ARMS	NTRT	FFPE 样本、新鲜组织、胸腹水	1 d	灵敏度高	无法检测未知突变	低
	EGFR					
流式细胞术	PD-L1	新鲜组织的细胞悬液	1 d	所需样本量少，可同时检测多个指标，检测时间短	无法检测突变，检测样本需保证活性	较高
生物芯片	EGFR	FFPE 样本	3 h	通量大，操作简单，检测周期短	检测成本相对高，无法检测未知突变	高
	KRAS					
	NRAS					
	BRAF					
	PIK3CA 等					



基因的全蛋白表达,可以检测新鲜肿瘤组织、石蜡组织、胸腹水等不同来源的样本,具有检测灵敏度高,检测周期短且检测成本相对较低等优势^[19-21]。但免疫组化检测是一种半定量检测技术,检测结果受抗体质量影响很大,对抗原表达程度的判断主要通过人眼识别,主观因素影响大。随着其他技术的发展,IHC多用于分子标记物PD-L1的检测。

最新版的美国病理学家联合会(CAP)/国际肺癌研究协会(IASLC)/分子病理学协会(AMP)肺癌治疗指南推荐使用具有高灵敏度和特异性的克隆号为5A4和D5F3的ALK抗体检测^[22-23]。其中NCCN指南建议可采用IHC的方法快速初筛评估ALK重排情况,后续用荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)确认, FDA批准的利用IHC方法检测ALK重排的[D5F3] CDx Assay试剂盒无需后续FISH判断^[7]。PD-L1的检测尚无统一标准,但NCCN推荐使用FDA批准的4个检测试剂 Ventana PD-L1 SP263测定法、Dako 28-8 PharmDx、22C3 PharmDx和 Ventana PD-L1 SP142测定^[7, 21]。

FISH可用于检测ALK重排、*ROS1*基因融合和*NTRT*基因融合。FISH可以检测肺癌新鲜组织、石蜡组织、细胞悬液等多种来源的样本,具有检测周期短、特异性高、结果易于观察的优势^[24]。但缺点是FISH探针的设计需要明确待测基因的检测位点,因此FISH只能定性检测到目的基因重排。并且较多的测试步骤容易使信号丢失,造成假阴性结果^[25-27]。FISH作为检测ALK重排的金标准,是NCCN治疗指南和CAP/IASLC/AMP肺癌治疗指南推荐的检测ALK重排方法之一。NCCN推荐使用FDA批准的雅培公司的Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit评估ALK重排情况^[27]。

一代测序Sanger测序法可以检测*EGFR*突变和*BRAF*突变,是目前临床上检测*EGFR*突变的常用方法之一。Sanger测序法可以检测新鲜组织和石蜡组织切片。尽管Sanger测序可以检测已知突变位点和未知突变,但是检测灵敏度相对较低,通常只有超过20%的突变才可以被检测到^[28-29],但检测成本低、周期短是其最大的优势,被认为是NSCLC中检测*EGFR*突变的“金标准”^[30],也是目前临床上用于检测*EGFR*突变最通用的方法之一。

二代测序(next-generation sequencing, NGS)具有高通量的测序特点,可以同时检测除PD-L1外的所有分子标志物的已知和未知点突变、重排或基因融合^[31],可检测标本遗传变化,筛选新的驱动基因或生物标志物。NGS的灵敏度比Sanger测序高得多^[32-33],并且根据测序深度,原则上可以检测到低至0.1%的等位基因频率^[34]。但是NGS周期长,通常需要10~20个工作日,且成本较高。目前NGS多用于检测多个指标的肿瘤方案,为患者选择个性化治疗方案提供信息。

实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qPCR)可用于检测基因突变,检测样本可以是新鲜组织、血清和石蜡组织等多种来源的核酸^[35],操作简单、检测成本低、周期短、结果可视。与Sanger测试法类似,qPCR只能检测已知突变,但检测时间远低于Sanger测序。利用qPCR方法检测NSCLC的*EGFR*突变、ALK重排、*ROS1*基因融合、*NTRT*基因融合在临床上被广泛应用。

突变扩增系统(amplification refractory mutation system, PCR-ARMS)可检测新鲜组织、血清、胸腹水和保存少于2年的石蜡组织^[36],优势是特异性高、检测时间短、灵敏度远高于Sanger测序法^[37-38]。与qPCR相比,PCR-ARMS检测基因突变只能对已知突变进行检测,无法检测未知突变^[39]。PCR-ARMS也是NCCN指南和最新版CAP/IASLC/AMP指南推荐的检测*EGFR*已知突变的方法之一,在临床上检测上得到广泛应用^[31]。

3 伴随诊断市场现状

最早出现的伴随诊断产品是1998年FDA批准的一种名为赫赛汀的靶向药物产品。尽管目前该领域中已经有相当多的生物医学相关的知名企业包括Dako(安捷伦科技)、Qiagen公司、罗氏、雅培、Ventana医疗、生物梅里埃(bioMerieux)、Myriad Genetics、Resonance Health、及Leica Microsystems等正与制药公司合作开发伴随诊断试剂盒,但事实上伴随诊断市场仍然处于发展阶段,大量产品处于研发时期。美国是目前伴随诊断产品和技术最先进的国家,占伴随诊断市场的30%^[40]。

肿瘤学是伴随诊断市场中创收最高的疾病领域,多种用于各类癌症生物标志物检测的伴随诊断产品被开发,截止到2020年1月,FDA共批准了38个伴随诊断产品,与肿瘤相关的高达36个,涉及包括NSCLC在内的多种肿瘤如乳腺癌、NSCLC、卵巢癌、B细胞慢性淋巴细胞性白血病等多种靶向药物的诊断^[41]。其中用于NSCLC的伴随诊断试剂共9种,涉及15种靶向药物的伴随诊断(表2)。

中国尚无明确的关于伴随诊断的定义或法规条文,国内审批通过的NSCLC伴随诊断产品共3个,ALK基因断裂荧光原位杂交法检测试剂盒(Vysis ALK break apart FISH probe kit)、PD-L1免疫组织化学法检测试剂盒(PD-L1 IHC 22C3 pharmDx)和新一代cobas[®] EGFR突变检测试剂盒(cobas[®] EGFR mutation test v2),以体外诊断试剂的名目归类在3类医疗器械中。目前国内获批上市肿瘤相关的3类医疗器械诊断试剂盒约800种,其中与NSCLC相关的检测试剂盒最多,这意味着NSCLC的伴随诊断在中国有潜在的巨大市场。

4 伴随诊断面临的挑战

目前FDA批准的NSCLC伴随诊断多数只针对单一分子指标,并不能满足患者的实际临床治疗需求。随着临床上NSCLC联合治疗的运用,越来越多的潜在生物靶标被发现,促进了多指标的NSCLC伴随诊断产品的发展,例如Foundation One CDx,利用NGS可以同时检测*EGFR*突变、ALK和*ROS1*重排及*BRAF*突变。NSCLC的临床诊断技术在不断革新,新的伴随诊断产品的发展必将结合不同的技术方法(如多重IHC分析、NGS测序、代谢组学等),整合多种检测结果的信息,为患者更精准的个性化治疗方案提供帮助。然而如何整合这些技术,提供可靠的整合信息,是包括NSCLC在内的所有伴随诊断面临的一大难题。

伴随诊断试剂因为使用不同的诊断技术、试剂和平台,与使用单一技术的检测试剂价格会有所不同。大多数情况下,伴随诊断价格昂贵,且未纳入医保。因此,高昂的价格促使人们

表 2 FDA 批准可用于非小细胞肺癌的伴随诊断产品^[41]

药物名称	产品名称	生产厂商	分子靶标
色瑞替尼(Ceritinib)	[D5F3]CDx Assay	Ventana Medical Systems, Inc	ALK 重排
克唑替尼(Crizotinib)			
埃克替尼(Alectinib)			
克唑替尼(Crizotinib)	Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit	Abbott Molecular Inc.	
阿替利珠单抗(Atezolizumab)	Ventana PD-L1 SP142	Ventana Medical Systems, Inc	PD-L1
帕博丽珠单抗(Pembrolizumab)	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Dako North America, Inc.	
吉非替尼(Gefitinib)	therascreen EGFR RGQ PCR	Qiagen Manchester, Ltd.	EGFR 突变
阿法替尼(Afatinib)			
达克替尼(Dacomitinib)			
厄洛替尼(Erlotinib)	Kitcobas EGFR Mutation Test v2	Roche Molecular Systems, Inc.	
奥西替尼(Osimertinib)			
吉非替尼(Gefitinib)			
厄达替尼(Erdafitinib)	therascreen FGFR RGQ RT-PCR Kit	Qiagen Manchester Ltd	
阿法替尼(Afatinib)	FoundationOne CDx	Foundation Medicine, Inc	NCS 多基因
吉非替尼(Gefitinib)			
厄洛替尼(Erlotinib)			
奥西替尼(Osimertinib)			
色瑞替尼(Ceritinib)			
克唑替尼(Crizotinib)			
埃克替尼(Alectinib)			
达拉非尼(Dabrafenib)			
达拉非尼(Dabrafenib)	Oncomine Dx Target Test	Life Technologies Corporation	
曲美替尼(Trametinib)			
克唑替尼(Crizotinib)			
吉非替尼(Gefitinib)			

选择那些有相等或可接受的灵敏度和特异性的替代检测方法和诊断试剂盒。如 2013 年 FDA 批准上市的检测 *EGFR* 突变的伴随诊断试剂 theascreen EGFR RGQ PCR，其利用 PCR 方法检测 *EGFR* 突变阳性的 NSCLC 患者适宜接受吉非替尼、阿法替尼、达克替尼这 3 种药物治疗。然而实际临床中，NCCN 推荐的检测 *EGFR* 突变的方法包括但不限于 PCR，用于体外诊断检测 *EGFR* 突变的试剂盒多达数十种。高昂价格使得 NSCLC 伴随诊断试剂的临床应用效果并不理想。生物标记物发展与靶向药物的发展不平衡也是伴随诊断难以广泛应用于临床的一个问题。FDA 批准的 PD-L1 伴随诊断体系 Ventana PD-L1 SP142 利用 IHC 方法检测 PD-L1 的表达，PD-L1 阳性的患者适宜接受阿替利珠单抗用于免疫治疗。但是，实际情况是一些 IHC 显示 PD-L1 强阳性的患者并不一定对免疫疗法有反应^[42]，伴随诊断试剂的完善需要靶向药物的研发作支撑。

基于中国的人口基数、NSCLC 的发病率以及国内市场上明确的伴随诊断产品的空白等原因，中国伴随诊断的市场发展潜力巨大，但中国想要发展自己的伴随诊断产品仍然有实际困难。首先，国内没有明确的伴随诊断的定义和相关法规条文，缺乏有效的市场监管体系。其次，伴随诊断产品对灵敏度和特异性的要求很高，而影响伴随诊断检测的结果较多，包括样本来源、处理时间、保存方式、操作人员的熟练程度等均可能影响结果的判定。所以明确定义，制定严格的生产标准，行业准则，规范市场监管体系是国内伴随诊断产品发展首先要解决的问题。

5 总结与展望

NSCLC 作为全球致死率较高的肿瘤，改善预后、提高患者的生存率一直是临床关注的主要问题，而肿瘤异质性是 NSCLC 患者预后较差的主要原因。随着人们医疗意识的提升，检测手段和靶向药物的发展，NSCLC 患者的生存率得到了一定程度的改善。伴随诊断以靶向药物用药安全为出发点，通过多种检测技术整合检测信息，为患者提供较为精确的用药建议，从而达到个性化、精准化医疗的目的。伴随诊断可以帮助医生充分了解患者信息，疾病进展，为患者制定最佳治疗方案，规避用药风险，达到节省开支，降低医疗成本的作用。对于相关企业来讲，开发伴随诊断产品、明确靶向药物的应用特性，有助于新药研发和产品定位，可推动企业扩大市场，带来更多利润。尽管中国伴随诊断市场的开发仍有多种实际困难，但伴随诊断的研发应用可以使多方获益，是诊断市场发展的一大趋势。

参考文献

[1] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.

[2] LI D, LI D, SONG G, et al. Cancer survival in Cixian of China, 2003-2013: a population-based study[J]. Cancer Med, 2018, 7(4): 1537-1545.

[3] 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: a Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[4] ROTOW J, BIVONA T G. Understanding and targeting resistance



- mechanisms in NSCLC[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(11): 637–658.
- [5] OSMANI L, ASKIN F, GABRIELSON E, et al. Current WHO guidelines and the critical role of immunohistochemical markers in the subclassification of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): Moving from targeted therapy to immunotherapy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52 (Sup 1): 103–109.
 - [6] HERSOM M, JØRGENSEN J T. Companion and complementary diagnostics—focus on PD-L1 expression assays for PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer[J]. *Ther Drug Monit*, 2018, 40(1): 9–16.
 - [7] NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK. NCCN clinical practice guidelines in oncology[EB/OL]. (2011-02-11)[2020-05-06]. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf.
 - [8] INAMURA K, NINOMIYA H, ISHIKAWA Y, et al. Is the epidermal growth factor receptor status in lung cancers reflected in clinicopathologic features? [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2010, 134(1): 66–72.
 - [9] DOWELL J E, MINNA J D. Chasing mutations in the epidermal growth factor in lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(8): 830–832.
 - [10] WANG S, WANG Z. EGFR mutations in patients with non-small cell lung cancer from mainland China and their relationships with clinicopathological features: a meta-analysis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(8): 1967–1978.
 - [11] LOONG H H, KWAN S S, MOK T S, et al. Therapeutic strategies in EGFR mutant non-small cell lung cancer[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2018, 19(11): 58.
 - [12] 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.
 - [13] LIN Y X, WANG X, JIN H C. EGFR-TKI resistance in NSCLC patients: mechanisms and strategies[J]. *Am J Cancer Res*, 2014, 4(5): 411–435.
 - [14] ROTOW J, BIVONA T G. Understanding and targeting resistance mechanisms in NSCLC[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(11): 637–658.
 - [15] DAVIES H, BIGNELL G R, COX C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer[J]. *Nature*, 2002, 417(6892): 949–954.
 - [16] PLANCHARD D, BESSE B, GROEN H J M, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAFV600E-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(7): 984–993.
 - [17] SACHER A G, GANDHI L. Biomarkers for the clinical use of PD-1/PD-L1 inhibitors in non-small-cell lung cancer: a review[J]. *JAMA Oncol*, 2016, 2(9): 1217–1222.
 - [18] CHARGIN A, MORGAN R, SUNDRAM U, et al. Quantification of PD-L1 and PD-1 expression on tumor and immune cells in non-small cell lung cancer (NSCLC) using non-enzymatic tissue dissociation and flow cytometry[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, 65(11): 1317–1323.
 - [19] HUNG Y P, SHOLL L M. Diagnostic and predictive immunohistochemistry for non-small cell lung carcinomas[J]. *Adv Anat Pathol*, 2018, 25 (6): 374–386.
 - [20] SHEN Q, WANG X, YU B, et al. Comparing four different ALK antibodies with manual immunohistochemistry (IHC) to screen for ALK-rearranged non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. *Lung Cancer*, 2015, 90(3): 492–498.
 - [21] LANTUEJOL S, DAMOTTE D, HOFMAN V, et al. Programmed death ligand 1 immunohistochemistry in non-small cell lung carcinoma[J]. *J Thorac Dis*, 2019, 11(Sup 1): S89–S101.
 - [22] SAVIC S, DIEBOLD J, ZIMMERMANN A K, et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended[J]. *Lung Cancer*, 2015, 89(2): 104–109.
 - [23] SHEN Q, WANG X, YU B, et al. Comparing four different ALK antibodies with manual immunohistochemistry (IHC) to screen for ALK-rearranged non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. *Lung Cancer*, 2015, 90(3): 492–498.
 - [24] LIM A S, LIM T H. Fluorescence *in situ* hybridization on tissue sections [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1541: 119–125.
 - [25] GOZZETTI A, LE BEAU M M. Fluorescence *in situ* hybridization: Uses and limitations[J]. *Semin Hematol*, 2000, 37(4): 320–333.
 - [26] LEVSKY J M. Fluorescence *in situ* hybridization: past, present and future[J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(14): 2833–2838.
 - [27] TANG Z Y, WANG L, TANG G L, et al. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) for detecting anaplastic lymphoma kinase (ALK) rearrangement in lung cancer: clinically relevant technical aspects[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16): 3939.
 - [28] GAO J, WU H, SHI X, et al. Comparison of next-generation sequencing, quantitative PCR, and Sanger sequencing for mutation profiling of EGFR, KRAS, PIK3CA and BRAF in clinical lung tumors [J]. *Clin Lab*, 2016, 62(4): 689–696.
 - [29] JAMAL-HANJANI M, WILSON G A, MCGRANAHAN N, et al. Tracking the evolution of non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(22): 2109–2121.
 - [30] OSMANI L, ASKIN F, GABRIELSON E, et al. Current WHO guidelines and the critical role of immunohistochemical markers in the subclassification of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): Moving from targeted therapy to immunotherapy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52 (Sup 1): 103–109.
 - [31] VENDRELL J A, TAVIAUX S, BÉGANTON B, et al. Detection of known and novel ALK fusion transcripts in lung cancer patients using next-generation sequencing approaches[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 12510.
 - [32] MU W B, LU H M, CHEN J, et al. Sanger confirmation is required to achieve optimal sensitivity and specificity in next-generation sequencing panel testing[J]. *J Mol Diagn*, 2016, 18(6): 923–932.
 - [33] HAN J Y, KIM S H, LEE Y S, et al. Comparison of targeted next-generation sequencing with conventional sequencing for predicting the responsiveness to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) therapy in never-smokers with lung adenocarcinoma[J]. *Lung Cancer*, 2014, 85(2): 161–167.
 - [34] LANMAN R B, MORTIMER S A, ZILL O A, et al. Analytical and clinical validation of a digital sequencing panel for quantitative, highly accurate evaluation of cell-free circulating tumor DNA[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0140712.
 - [35] 李永文, 刘红雨, 李颖, 等. 实时荧光定量PCR和测序法检测非小细

- 胞肺癌 EGFR 基因突变的比较[J]. 中国肺癌杂志, 2009, 12(12): 1255-1259.
- [36] DUAN H, LU J, LU T, et al. Comparison of EGFR mutation status between plasma and tumor tissue in non-small cell lung cancer using the Scorpion ARMS method and the possible prognostic significance of plasma EGFR mutation status[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10): 13136-13145.
- [37] VALLÉE A, LE LOUPP A G, DENIS M G. Efficiency of the Therascreen® RGQ PCR kit for the detection of EGFR mutations in non-small cell lung carcinomas[J]. Clin Chimica Acta, 2014, 429: 8-11.
- [38] PALMER R H, VERNERSSON E, GRABBE C, et al. Anaplastic lymphoma kinase: signalling in development and disease[J]. Biochem J, 2009, 420(3): 345-361.
- [39] ZHANG X Y, SHEN W X, CHEN C F, et al. Detection of the clarithromycin resistance of *Helicobacter pylori* in gastric mucosa by the amplification refractory mutation system combined with quantitative real-time PCR[J]. Cancer Med, 2019, 8(4): 1633-1640.
- [40] 魏洪泽, 李玉杰. 精准医疗与伴随诊断产业发展研究[J]. 中国生物工程杂志, 2019, 39(2): 13-21.
- [41] U.S. FOOD&DRUG. Company Diagnose[EB/OL]. (2018-12-07) [2020-05-06]. <https://www.fda.gov/medical-devices/vitro-diagnostics/companion-diagnostics>.
- [42] HOFMAN P, BARLESI F. Companion diagnostic tests for treatment of lung cancer patients: what are the current and future challenges?[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2019, 19(5): 429-438.

《癌变·畸变·突变》杂志征稿简则

1 投稿总则

基本情况 《癌变·畸变·突变》杂志国际标准刊号: ISSN 1004-616X, 中国标准连续出版物号: CN 44-1063/R, 大16开, 双月刊, 每期80页, 定价: 每册10元, 全年60元。国内邮局发行代号: 80-285, 国外发行代号: 6364 (BM)。《癌变·畸变·突变》杂志于1989年创刊, 是中国科学技术协会主管, 中国环境诱变剂学会主办, 汕头大学医学院承办的国家级学术期刊, 系中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊, 是目前我国在环境因子致癌、致畸变和致突变这一跨学科领域唯一的一份学术期刊。本刊以报道环境因子致癌、致畸变和致突变领域的新理论、新方法、新技术以及国内外研究动态, 开展学术交流, 促进本学科的繁荣与发展为办刊宗旨, 被国内14家主要的数据库作为收录刊源之一。

栏目设置 设有“专家述评”、“论著”、“肿瘤防治”、“检测研究”、“相关医学基础与临床”、“技术与方法”和“综述”等栏目。

报道内容范围 ①药物、农药、食品添加剂、化妆品、营养保健品、其他化学物质、放射线、以及水体、空气、土壤中存在的环境污染与肿瘤发生、胎儿发育畸形、遗传基因突变的关系; ②癌变机制; ③抗突变物与抗癌物的开发利用; ④环境风险因子评价; ⑤相关医学基础与临床。

2 撰稿要求

撰稿标准 文稿撰写应遵照国家标准GB 7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB/T 3179科学技术期刊编排格式, GB/T 6447文摘编写规则, GB/T 7714-2015文后参考文献著录规则等要求。文稿应具科学性、逻辑性、先进性和实用性, 应论点明确、内容翔实、数据可靠、简明扼要、重点突出、层次分明。

文稿格式及要求

题名 简明确切地反映文稿的特定内容, 起画龙点睛的作用, 不用副标题。一般宜20个字左右。应避免用“的研究”或“的观察”等非特定词。

作者署名 作者是指科研内容的构思, 具体研究工作的执行及撰稿执笔等方面的主要贡献人员, 能够对论文的主要内容负责答辩的人员, 是论文的法定主权人和责任者。作者署名不宜过多, 一般不超过8名。

作者单位 置于作者名后, 包括单位名称、所在城市及邮政编码。多个单位时, 在作者名的右上角编阿拉伯数字序号, 依序刊出作者单位, 一般需给出院系、科室或实验室名称。

基金项目 和**作者信息** 论著的科研工作为基金资助课题者, 应刊出基金名称及编号, 作者信息应给出第一作者和通信作者的姓名、电话及E-mail等。基金项目和作者信息均置首页脚注处。

(下转第76页)

