

· 甲状腺疾病诊疗 · 综述 ·

DOI: 10.12464/j.issn.0253-9802.2024-0470

甲状腺癌靶向药物的耐药机制

文昕云, 吴珏堃✉

(中山大学附属第三医院甲状腺乳腺外科, 广东 广州 510630)

【摘要】 对于分化良好以及早期甲状腺癌, 通过手术、促甲状腺激素抑制治疗和放射性碘治疗等常规治疗方案, 通常可以显著延长患者的总体生存期和无进展生存期, 其预后可接近正常人群。对于无法手术切除或对放射性碘治疗无反应的晚期或未分化甲状腺癌, 则通常需要全身治疗。传统的细胞毒性全身化学治疗或外照射放射治疗对这些患者的疗效甚微。近十年来, 甲状腺癌的靶向治疗经历了快速发展期, 尽管这些治疗方案取得了可喜的成果, 但许多晚期甲状腺癌患者最终会因获得性耐药性而病情恶化。文章总结了甲状腺癌靶向药物的相关耐药机制以及克服耐药性的手段, 以期为未来靶向治疗的临床实践提供参考, 并指导后续研究方向。

【关键词】 甲状腺癌; 靶向治疗; 耐药; 丝裂原活化蛋白激酶; 鼠类肉瘤病毒癌基因同源物 B1

Mechanisms of drug resistance to targeted drugs in thyroid cancer

WEN Xinyun, WU Juekun✉

(Department of Thyroid and Breast Surgery, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Corresponding author: WU Juekun, E-mail: wujuekun@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 For well-differentiated and early-stage thyroid cancer, conventional treatment options such as surgery, thyroid-stimulating hormone suppression therapy, and radioactive iodine therapy can usually significantly extend patients' overall survival and progression-free survival, with prognosis approaching that of the general population. In contrast, for advanced or undifferentiated thyroid cancer that cannot be surgically resected or is unresponsive to radioactive iodine treatment, systemic therapy is typically required. Traditional cytotoxic chemotherapy or external radiation therapy has limited efficacy in these patients. Over the past decade, targeted therapies for thyroid cancer have undergone rapid development. Despite these treatments yielding promising results, many patients with advanced thyroid cancer ultimately experience disease progression due to acquired resistance. In this paper, we summarize the mechanisms of resistance to targeted drugs in thyroid cancer and explore strategies to overcome resistance, aiming to provide reference for future clinical practice in targeted therapy and guide directions for subsequent research.

【Key words】 Thyroid cancer; Targeted therapy; Resistance; Mitogen-activated protein kinase (MAPK); V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF)

甲状腺癌 (thyroid cancer, TC) 是一种起源于甲状腺滤泡上皮或滤泡旁上皮细胞的恶性肿瘤。根据 2021 年全球疾病负担研究 (Global Burden of Disease Study 2021) 数据, 2021 年全球 TC 的估计发病人数为 249 538 例, 死亡人数为 44 799 例; 在中国, 估计发病人数为 48 105 例, 死亡人数为 7 692 例。总体来看, 全球和中国 TC 的发病率均呈上升趋势。然而, 随着诊断和治疗水平的不断提高, 病死率则呈现下降趋势^[1]。

根据肿瘤的起源及分化差异, TC 可分为甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC)、甲状腺滤泡状癌 (follicular thyroid carcinoma, FTC)、甲状腺髓样癌 (medullary thyroid carcinoma, MTC)、甲状腺低分化癌 (poorly differentiated thyroid carcinoma, PDTC) 以及甲状腺未分化癌 (anaplastic thyroid cancer, ATC)。前两者被称为分化型甲状腺癌 (differentiated thyroid carcinoma, DTC), 通过采用常规疗法如手术、促甲状腺激素抑制治疗和放射

收稿日期: 2024-11-14

基金项目: 广东省自然科学基金 (2018A030313671); 广东省援疆科技特派员项目 (KTPYJ2022006)

作者简介: 文昕云, 硕士研究生, 研究方向: 甲状腺癌、乳腺癌, E-mail: wenxy58@mail2.sysu.edu.cn; 吴珏堃, 通信作者, 副主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 乳腺癌的综合治疗、异位甲状腺诊治、干细胞治疗对术后损伤神经修复, E-mail: wujuekun@mail.sysu.edu.cn

性核素碘 (radioactive iodine, RAI) 治疗, 通常可以延长早期或分化良好的 TC (如 PTC 和 FTC) 患者的总体生存期 (overall survival, OS) 和无进展生存期 (progression free survival, PFS), 患者的预期寿命可接近正常人群。然而, 对于无法手术切除或对 RAI 无反应的晚期 TC 或 ATC 患者, 则通常需要全身治疗, 而传统的细胞毒性全身化学治疗 (化疗) 或外照射放射治疗 (放疗) 对这些患者的效果甚微。

近十年来, TC 的靶向治疗经历了快速发展。靶向药物通过抑制导致癌症发生的异常激活信号通路来抑制肿瘤增殖, 然而, 这一抑制作用在 TC 中似乎并不持久。主要原因是受抑制的信号通路以及其他平行信号通路在这些靶向药物的作用下发生了异常激活。本文综述了 TC 靶向治疗中耐药性机制的研究进展, 并探讨了当前克服耐药性的策略, 以供临床治疗 TC 提供参考。

1 靶向药物介绍

1.1 多靶点激酶抑制剂

对于局部复发或转移的进展性放射性碘难治性 DTC (radioiodine-refractory DTC, RR-DTC) 患者, 多靶点激酶抑制剂已成为首选的治疗方案, DTC 不仅涉及血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 及其受体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR) 的高表达, 其他促进肿瘤血管生成和肿瘤发生的分子, 如成纤维生长因子受体 (fibroblast growth factor receptor, FGFR)、血小板衍生生长因子受体 (platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)、快速加速纤维肉瘤 (rapidly accelerated fibrosarcoma, RAF) 激酶、激酶插入域受体 (kinase insert domain receptor, KIT)、转染期间重排 (rearranged during transfection, RET) 激酶等, 也在此过程中起到关键作用。因此, 靶向这些分子的药物能够有效抑制肿瘤的增殖和转移。

目前美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 已批准用于 RR-DTC 的 3 种多靶点激酶抑制剂, 包括仑伐替尼 (lenvatinib)、索拉非尼 (sorafenib) 和卡博替尼 (cabozantinib), 见表 1。其中, 仑伐替尼被认为是首选药物。一项 III 期临床研究 (NCT01321554) 显示, 仑伐替尼在 RR-DTC 患者中的应答率达到 64.8%, 提高了中

位 PFS 至 18.3 个月, 而安慰剂组的 PFS 仅为 3.6 个月^[2]。然而, 仑伐替尼的不良反应较为显著, 超过 40% 的患者出现治疗相关不良反应, 如高血压、腹泻、恶心及疲劳等, 并且有 6 例患者的死亡被认为与药物有关。相比之下, 索拉非尼在 RR-DTC 中的应答率较低, 仅为 12.2%, 但同样在 PFS 方面显示出改善作用, 达到了 10.8 个月, 优于安慰剂组的 5.8 个月 (NCT00984282)^[3]。卡博替尼则主要用于仑伐替尼或索拉非尼治疗失败后的患者, 临床试验数据 (NCT03690388) 显示, 卡博替尼组的中位 PFS 为 11.0 个月, 高于安慰剂组的 1.9 个月, 且应答率为 11.0%^[4,5]。这表明, 卡博替尼在 VEGFR 靶向治疗失败后仍具有显著的临床疗效。

对于不可切除的局部晚期或转移性 MTC, 目前 FDA 批准使用的多靶点激酶抑制剂为凡德他尼 (vandetanib) 和卡博替尼 (cabozantinib), 见表 1。凡德他尼通过 III 期临床研究 (NCT00410761) 验证了其在治疗进展性 MTC 中的疗效^[6]。该研究显示, 凡德他尼能够显著延长患者的中位 PFS (30.5 个月 *vs.* 19.3 个月)。然而, 凡德他尼的使用受到其不良反应, 特别是心脏毒性的限制。在 2012 年, FDA 批准卡博替尼用于治疗进展性、转移性 MTC 患者, 一项 III 期临床研究 (NCT00704730) 的数据显示, 卡博替尼改善了中位 PFS (11.2 个月 *vs.* 4.0 个月), 且与安慰剂组相比, 卡博替尼组的应答率和疾病控制率均有所提高^[7]。

1.2 选择性 BRAF 和 MEK 抑制剂

TC 的发生与丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和磷脂酰肌醇 3 激酶 / 蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K / serine/threonine protein kinase, AKT) 信号通路密切相关^[8]。MAPK 通路的主要分子包括大鼠肉瘤 (rat sarcoma, RAS) 蛋白、快速加速纤维肉瘤 (rapidly accelerated fibrosarcoma, RAF) 激酶、丝裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase, MEK) 和细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)。其中, RAF 激酶是由 3 种丝氨酸 / 苏氨酸特异性蛋白激酶 (ARAF、BRAF、CRAF) 组成的家族。细胞外生长因子与多种受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase, RTK) 结合后, 通过 MAPK 通路进行信号传导。2002 年研究首次发现 BRAF 在黑色素瘤中的突变, 证明其是致癌基因, 能够激活 MAPK 通路, 促进癌细胞增殖^[9]。此后, BRAF 突变也被发

现在多种肿瘤类型中,包括 TC、卵巢癌、结直肠癌等^[9]。

达拉非尼(dabrafenib)是一种竞争性 ATP 抑制剂,专门针对 BRAF V600E 突变和 CRAF,而曲美替尼(trametinib)则是一种 MEK 抑制剂。两者联合已获得 FDA 批准,用于治疗 BRAF V600E 突变的 ATC。达拉非尼通过特异性结合 BRAF V600E 突变后的激酶结构域,抑制其磷酸化活性,从而阻断 MAPK 通路的下游信号传导。曲美替尼则选择性抑制 MEK1 和 MEK2,进一步阻止信号从 RAF 传导至 ERK,见表 1。联合使用这两种药物不仅能够抑制 MAPK 通路,还能避免通过其他受体或下游通路(如 PI3K/AKT)激活所致的耐药性。一项 II 期开放标签临床试验(NCT02034110)评估了 16 例 BRAF V600E 突变的晚期 ATC 患者使用达拉非尼和曲美替尼联合治疗的疗效和安全性^[10-11]。结果显示,总体应答率为 69%^[10]。更新后的分析包括 36 例患者,结果显示总体应答率为 56%,中位 PFS 为 6.7 个月,中位 OS 为 14.5 个月,12 个月 OS 和 PFS 的估计值分别为 43.2% 和 51.7%。常见的不良事件包括疲劳、发热和恶心。该联合治疗在 BRAF V600E 突变的 ATC 患者中表现出显著的临床疗效,并且耐受性良好,为这一罕见疾病提供了有效的治疗选择。尽管 FDA 并未批准该联合治疗用于 BRAF V600E 突变的 DTC,但在 NCCN 指南中,若 DTC 患者在使用仑伐替尼或索拉非尼治疗后出现疾病进展,并且确定有 BRAF V600E 突变,仍推荐达拉非尼与曲美替尼的联合疗法作为治疗选择。

1.3 选择性 TRK 抑制剂

神经营养受体酪氨酸激酶(neurotrophic receptor tyrosine kinase, NTRK)基因包括 NTRK1、NTRK2 和 NTRK3,分别编码肌球蛋白受体激酶(tropomyosin receptor kinase, TRK)家族成员 TRKA、TRKB 和 TRKC。NTRK 基因在多种肿瘤中常发生染色体重排,导致 TRK 蛋白与其他蛋白质的融合。这种融合生成的嵌合蛋白具有去配体依赖性的持续激活功能,从而驱动肿瘤的发生和进展^[12]。FDA 自 2018 年起批准了 3 种 TRK 抑制剂:拉罗替尼(larotrectinib)、恩曲替尼(entrectinib)和瑞普替尼(repotrectinib),用于治疗所有 NTRK 基因融合阳性的实体瘤,见表 1。在一项联合分析中(NCT02122913、NCT02637687、

NCT02576431),拉罗替尼在治疗 NTRK 基因融合阳性肿瘤患者中的疗效得到了验证^[13]。该研究涵盖了不同类型的肿瘤患者,其中包括 5 例 TC 患者。结果显示,5 例 TC 患者均对治疗产生应答,其中包括 1 例完全缓解和 4 例部分缓解。这一数据表明,拉罗替尼在 NTRK 融合阳性的 TC 患者中具有显著的抗肿瘤活性,并且该药物的耐受性良好,93% 的不良事件为 1 级或 2 级,且无超过 5% 的患者出现 3 级或 4 级的治疗相关不良事件。对于恩曲替尼,另一项联合分析(EudraCT 2012-000148-88、NCT02097810、NCT02568267)对 54 例 NTRK 基因融合阳性实体瘤患者进行了评估,其中 9% 的患者为 TC 患者^[14]。结果显示,恩曲替尼在总人群中的应答率为 57.4%,证明了其在 NTRK 融合阳性实体瘤中的有效性。瑞普替尼则在一项 I / II 期临床研究中(NCT03093116)被评估,研究对象为 88 例 NTRK 基因融合阳性晚期实体瘤患者,其中 48 例曾接受过 TRK 抑制剂治疗,40 例为初治患者^[15]。分析结果表明,瑞普替尼在初治患者中的应答率为 58%,而在既往接受过 TRK 抑制剂治疗患者中的应答率为 50%。这一结果表明,瑞普替尼对于 NTRK 融合阳性肿瘤患者,尤其是 TRK 抑制剂经治患者,仍具有显著的临床活性。

1.4 选择性 RET 抑制剂

RET 基因编码的跨膜受体酪氨酸激酶通过两种主要机制导致持续的异常激活:一是半胱氨酸富集区或激酶结构域的突变,二是通过基因重排,RET 基因与上游合作基因融合。这些改变导致 RET 激酶的持续激活,实现配体非依赖性的信号传导,进而促进肿瘤的发生和进展。FDA 已批准选择性 RET 抑制剂普拉替尼(pralsetinib)和塞尔帕替尼(selpercatinib)用于治疗 RET 改变的 TC 患者,见表 1。普拉替尼在 ARROW 研究中(NCT03037385)显示出显著疗效,尤其是在 RET 融合阳性 TC 患者中^[16-17]。在该研究的 9 例 TC 患者的分析中,普拉替尼的应答率达 89%^[16]。在最新的分析中,包括 22 例 RET 融合阳性 TC 患者,其应答率为 90.9%,中位 PFS 为 25.4 个月^[17]。另一项 LIBRETTO-001 研究(NCT03157128)评估了塞尔帕替尼在 19 例先前接受过治疗的 RET 融合阳性 TC 患者中的疗效,结果显示应答率为 79%,12 个月无进展生存率的估计值为 64%^[18],验证了塞尔帕替尼在此类患者中的疗效。

表 1 FDA 批准的甲状腺癌靶向治疗药物汇总
Table 1 Summary of FDA-approved targeted drugs for thyroid cancer

靶向药物	靶点	适应证	代表性临床研究	FDA 批准时间
仑伐替尼	VEGFR1-3, FGFR1-4, PDGFR α , RET, KIT	局部复发或转移的进展性 RR-DTC	NCT01321554 ^[2]	2015 年
索拉非尼	VEGFR 1-3, PDGFR β , RAF, RET, KIT, FLT3		NCT00984282 ^[3]	2013 年
卡博替尼	VEGFR 1-3, AXL, FLT-3, KIT, MER, MET, RET, ROS1, TIE-2, TRKB, TYRO3	局部复发或转移的进展性 RR-DTC、不可切除的局部晚期或转移性 MTC	NCT03690388 ^[4] (RR-DTC) NCT00704730 ^[7] (MTC)	2021 年 (RR-DTC) 2012 年 (MTC)
凡德他尼	VEGFR2-3, EGFR, RET, BRK, TIE-2, EPH, SRC	不可切除的局部晚期或转移性 MTC	NCT00410761 ^[6]	2011 年
达拉非尼	BRAFV600E, CRAF	联合用于 BRAF V600E 突变阳性局部晚期或转移性 ATC	NCT02034110 ^[10-11]	2018 年
曲美替尼	MEK1-2		NCT02034110 ^[10-11]	2018 年
拉罗替尼	NTRK1-3	NTRK 融合基因阳性 TC	NCT02122913 ^[13] NCT02637687 ^[13] NCT02576431 ^[13]	2018 年
恩曲替尼			EudraCT 2012-000148-88 ^[14] NCT02097810 ^[14] NCT02568267 ^[14] NCT03093116 ^[15]	2019 年
瑞普替尼			NCT03093116 ^[15]	2020 年
普拉替尼	RET	RET 突变或融合阳性 TC	NCT03037385 ^[16-17]	2020 年
塞尔帕替尼			NCT03157128 ^[18]	2020 年

2 靶向药物耐药机制

2.1 生长因子受体以及配体的上调

多项研究已证实，TC 细胞通过在其表面过度表达生长因子受体来适应激酶抑制剂的治疗，进而促进耐药性的发生。Montero-Conde 等^[19]证明，BRAF 突变的 PTC 细胞系通过过度表达表皮生长因子受体家族（epidermal growth factor receptor family, ERBB）中的成员，重新激活 MAPK 通路，从而获得对维莫非尼（BRAF 抑制剂）的耐药性。这种耐药机制并非局限于单一受体，而是多个受体的协同作用。例如，使用 BRAF 抑制剂和 MEK 抑制剂后，TC 细胞中的人表皮生长因子受体 2（human epidermal growth factor receptor 2, HER2）以及 HER3 表达上调，且磷酸化水平升高，研究表明，这一变化的机制与 MAPK 通路抑制剂增强 HER3 启动子的活性、减少细胞转录抑制因子 1（C-terminal binding protein 1, CTBP1）和 CTBP2 对 HER3 启动子的抑制作用密切相关，从而增加 HER3 的转录水平。此外，转录组学分析进一步揭示，表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor, EGFR）、Eph 受体 B2（Eph receptor B2, EPHB2）和 PDGFR β 等受体也有类似的表达上调^[19]，提示这些受体在耐药机制中可能发挥重要作用。

除基因表达调控外，获得性染色体多倍体也是导致耐药性的潜在因素。研究发现，在 1 例接受达拉非尼治疗的 BRAF 突变的 PTC 患者的转移性肿瘤中发现了 7 号染色体的三倍体，导致位于该染色体上的 EGFR、间质表皮转化因子（mesenchymal to epithelial transition factor, MET）基因的拷贝数扩增和过表达，从而引发了耐药性^[20]。

由膜受体过度表达引发的耐药机制表明，相应的配体必须以足够的量存在于细胞微环境中，才能有效激活这些受体。通过肿瘤细胞的自分泌、肿瘤基质的旁分泌或全身性分泌，RTK 配体水平往往会相应增加。研究发现，TC 细胞通过自分泌神经调节因子 1（neuregulin 1, NRG1）导致 HER2 和 HER3 的持续活化，从而促进耐药性的发展^[19]。类似地，在小鼠模型上，MET 基因的扩增不仅导致了 BRAFV600E 突变 ATC 的快速复发，还伴随着其配体肝细胞生长因子（hepatocyte growth factor, HGF）的上调，进一步促进了耐药性的产生^[21]。

这些研究表明，肿瘤细胞通过调节受体及其配体的表达，能够适应药物压力并逃避治疗，从而推动耐药性的发生。

2.2 负反馈受抑及“悖论性激活”

正常的 MAPK 信号通路在激活后会通过多种

机制启动负反馈,抑制上游激酶的活性。例如,高水平的 ERK 的激活可以负反馈抑制 RTK 以及 RAS 等上游信号的传导^[22]。BRAFV600E 蛋白以单体形式发挥作用,而大多数非典型 BRAF 突变蛋白(如 BRAFV600K、BRAFL597V)则以二聚体形式发挥作用。BRAFV600E 突变导致的持续激活不仅提升了信号的强度,还可能通过下游效应(如增强抑制性蛋白的表达)来改变负反馈调控的敏感性,从而使其在不断激活的情况下仍能逃逸负反馈调控。

第一代 BRAF 抑制剂的作用机制主要通过抑制 BRAF 单体及下游 ERK 信号传导来实现,但这一抑制作用也会减少 ERK 信号依赖的负反馈作用,进而使得配体依赖性信号传导重新激活,这会导致 RAS 进一步激活,RAS-GTP 水平升高,进而推动 RAF 蛋白形成二聚体,并激活下游的 MEK/ERK 信号通路,最终促进癌细胞的增殖,从而诱发耐药性^[23-24]。这一现象表明,BRAF 抑制剂虽然有效地抑制了 BRAFV600E 突变的单体形式,但却不能有效抑制二聚体形式的 RAF 蛋白,尤其是在 RAS 激活的情况下,二聚体的形成仍然可以恢复 ERK 信号的传导。

此外,许多非典型 BRAF 突变体、BRAF 剪接形式和 BRAF 融合体也会以二聚体形式存在,这使得它们对第一代 BRAF 抑制剂的耐受性增加,从而导致 ERK 活性的恢复^[25]。在这种情况下,ERK 信号对 RAF 抑制剂耐受,但对 MEK 抑制剂仍然敏感,通过联合抑制 RAF 和 MEK,可增强对 MAPK 通路的抑制作用,从而提高抗肿瘤活性。维莫非尼和达拉非尼已被证明能诱导 RAF 蛋白二聚化,并促进 BRAF 野生型细胞中 MAPK 通路的悖论性激活^[26-28]。综上所述,第一代 BRAF 抑制剂的耐药性主要源于 BRAF 蛋白的持续激活和 RAF 蛋白二聚体的形成。在 BRAFV600E 突变和其他非典型 BRAF 突变中,BRAF 蛋白的单体与二聚体状态之间的转换是关键的耐药机制。

2.3 癌基因的二次突变

RAS 和 BRAF 基因突变一直被认为是相互排斥的,包括在 TC 和黑色素瘤中^[29],但其他报告发现在极少数情况下,主要是在疾病晚期,会同时出现突变。这些双重事件被归因于肿瘤的异质性以及药物治疗的选择性压力导致特定肿瘤细胞克隆的出现,从而推动耐药性的形成。在 TC 中,BRAF 抑制剂的获得性耐药通常归因于 NRAS 或

KRAS 基因的二次突变。

Danysh 等^[30]通过使 TC 细胞长期暴露于维莫非尼,建立耐药细胞系,发现在这些耐药细胞中出现了 KRASG12D 的激活突变。类似地,Owen 等^[31]报道了在一例接受达拉非尼/曲美替尼联合治疗的 PTC 患者病情进展时,活组织检查(活检)发现了获得性 KRASG12V 突变。Cabanillas 等^[32]报道了 4 例接受选择性 BRAF 抑制剂治疗的 TC 患者在病情进展时出现 RAS 突变。患者 1 和 3 出现了 KRASG12V 突变外,还有 2 例患者分别出现了 NRASQ61K 突变和 NRASG13D 突变。

这些 RAS 突变使得 PI3K/AKT、MAPK 通路出现继发性激活,从而减弱 BRAF 抑制剂的效果。作为 RAF 家族的最初成员,CRAF 的突变在 TC 并不如 BRAF 那样常见,但活化的 KRAS 或 KRAS 突变会利用 CRAF 作为替代下游接收器,维持 RAS/MEK/ERK 或者 PI3K/AKT 的信号传导^[33],并且,肿瘤细胞中由 CRAF 激活的 MEK 对 MEK 抑制剂的敏感性低于由 BRAF V600E 激活的 MEK^[34]。由于 RAS 蛋白的结构特性(如表面较少有可以结合小分子的部位),长期以来难以开发出有效的小分子抑制剂直接靶向该蛋白。

小型 GTP 酶 RAC1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1, RAC1) 属于 Rho 家族的 GTP 酶。它通过与其典型靶标 PAK1、PAK2 和 PAK3 (p21-activated kinases, PAK) 相互作用,调控细胞运动、细胞骨架的重组和细胞增殖。RAC1P29S 与 RAC1P34R 突变是原发性和耐药性黑色素瘤中已知的驱动突变^[35-36]。在 1 例接受达拉非尼治疗后进展的 PTC 患者中,Rozita 等^[20]在表现出 ATC 表型的转移性病变中检测到了 RAC1P34R 突变。进一步研究显示,RAC1 基因突变会导致细胞形态的变化、F-actin 的重组(主要集中在细胞皮层)以及细胞黏附特性的变化。这些变化除了有助于肿瘤细胞的浸润和迁移之外,还能驱动细胞增殖并引发对 BRAF 抑制剂的耐药性。

除了上述基因突变外,磷酸酯酶与张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)、神经纤维瘤 1 型(neurofibromin 1, NF1)、神经纤维瘤 2 型(neurofibromin 2, NF2)、肿瘤蛋白 53 (tumor protein p53, TP53) 和细胞周期依赖性激酶抑制因子 2A (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, CDKN2A) 等基因也经常可能出现可能赋予耐药性的二次突变^[37]。总之,BRAF 抑制剂的耐药性是一个多

因素共同作用的复杂过程,涉及RAS家族突变、CRAF替代激活、RAC1突变及多个抑制因子的失活。理解这些耐药机制将为我们提供新的治疗策略,尤其是针对RAS和RAC1等关键分子的小分子抑制剂的开发,联合抑制BRAF/MEK通路的策略,以及更精准的个性化治疗方案。

2.4 其他平行信号通路的激活

BRAF和MEK抑制剂的一个明显缺点是仅阻断MAPK通路。然而,MAPK通路的抑制往往伴随其他平行信号通路的继发性激活,这可能是导致耐药性发生的关键因素。

例如,当TC细胞发生KRASG12D激活突变时,可以在这些细胞中观察到活化的AKT,这表明PI3K/AKT通路出现了继发性激活^[30]。PI3K/AKT通路的重新激活可导致血管细胞黏附分子1(vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1)的上调,从而降低对维莫非尼的敏感性,此外,VCAM-1还能促进TC细胞在体外的迁移和侵袭^[38]。源酪氨酸激酶Src是细胞内的一种非受体酪氨酸激酶,作为TC细胞系中的PI3K/AKT通路调节剂,也可能会促进对MAPK靶向药物的耐药性。有研究表明,PI3K通路的激活与达沙替尼(dasatinib)的内在耐药性有关,在MAPK和PI3K通路均受抑制的细胞系中,联合抑制Src和MAPK通路可以克服达沙替尼的内在耐药性^[39]。

此外,“海刺猬”(Sonic hedgehog, Shh)信号通路在多种癌症中被发现异常激活,包括胰腺癌、胶质母细胞瘤和TC等^[40]。Shh信号通路及其下游转录因子铬结合蛋白1(B lymphoma Mo-MLV insertion region 1, BMI1)和干细胞维持因子2(SRY-related HMG-box gene 2, SOX2)通过上调干性相关基因的表达,在肿瘤干细胞的自我更新中发挥关键作用,而肿瘤干细胞在耐药性中起着重要的推动作用^[41]。Gli1是该信号通路的转录因子,维莫非尼通过上调HER3的表达,继发性激活PI3K和MAPK信号通路^[19],而这2条通路可以通过激活Gli1交叉激活Shh信号通路^[42]。

除了上述信号通路外,JAK/STAT信号通路的激活也会影响药物疗效并导致耐药性,因为它同样可促进TC干细胞的形成^[43],帮助肿瘤逃避治疗压力。已有研究表明,BRAF抑制剂和JAK/STAT通路抑制剂联合使用可控制BRAF V600E TC细胞的生长^[43]。此外,维莫非尼通过刺激白介素-6(interleukin-6, IL-6)分泌,激活信号转导

和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)和细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)。与维莫非尼单药相比,STAT3或IL-6信号转导和BRAF的双重阻断改善了对细胞周期进展的抑制效果^[44]。

氧化应激是TC的一个危险因素或病理因素^[45]。红细胞衍生核因子2样因子2(nuclear factor erythroid-derived 2-like 2, NFE2L2)又称Nrf2,是一种转录因子,参与调节多种抗氧化和解毒酶的表达^[46]。Nrf2已被认为是TC细胞对激酶抑制剂产生抗性的介导因子^[47-48]。Keap1/Nrf2信号传导介导一般氧化还原并在恶性肿瘤中发挥双重作用,既能防止正常细胞的细胞转化,又能促进恶性细胞的侵袭性和耐药性。研究显示,下调Nrf2提高了人甲状腺癌细胞对仑伐替尼的敏感性^[49-50]。

综上所述,BRAF和MEK抑制剂的耐药性机制不仅限于MAPK通路的逃逸,还涉及其他平行信号通路的继发性激活。这些通路包括PI3K/AKT、Shh、JAK/STAT及Keap1/Nrf2等,均在肿瘤细胞的耐药性中发挥重要作用。通过理解这些平行信号通路的作用机制,未来可能为治疗BRAF抑制剂耐药的TC患者提供新的治疗策略,尤其是通过联合抑制这些通路,可能有助于克服耐药性并提高治疗效果。

2.5 其他相关机制

肿瘤微环境同样参与了耐药的形成。研究发现,晚期BRAFV600E PTC样本中的周细胞(pericyte)可以调节血小板反应蛋白-1(thrombospondin-1, TSP-1)的水平,而TSP-1在血管生成和肿瘤转移中发挥作用,在肿瘤微环境中富集,TSP-1可以导致ERK1/2、AKT和SMAD家族转录因子3(SMAD family member 3, SMAD3)的磷酸化,显著激活并增强MAPK和PI3K/AKT通路的信号传导,促进耐药性发展^[51]。

此外,癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)与包括TC在内的多种癌症的肿瘤去分化和侵袭密切相关^[52]。既往研究发现,CAF可以通过上调赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)^[53]和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)^[54]以及激活YAP通路来增强血管化和细胞外基质降解,从而增加TC细胞的迁移和侵袭能力^[55]。CAF还可以通过分泌多种信号分子(如IL-6^[56]、TGF- β ^[57]和HGF^[58])促进上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),而

EMT 与肿瘤的侵袭性和耐药性密切相关^[59]。这是因为 EMT 诱导的细胞通常具有癌症干细胞 (cancer stem cell, CSC) 特性, 能够自我更新^[60]。与 PTC 相比, ATC 中 CSC 的比例更高, 这可能是其对药物治疗的耐药原因之一^[61]。Khan 等^[62]对暴露于仑伐替尼的 ATC 进行了 72 d 的长期培养, 证明了仑伐替尼耐药细胞向间充质形态发生了显著变化。

ATP 结合盒转运蛋白 (ATP-binding cassette transporter, ABC) 是一组蛋白质, 可以通过跨膜转运将药物分子从血浆中泵出, 从而使细胞产生多药耐药性 (multidrug resistance, MDR)。主要研究的 ABC 类型包括多药耐药蛋白 1 (MDR1 或 P-糖蛋白, 由 ABCB1 编码)、多药耐药相关蛋白 1 (MRP1, 由 ABCC1 编码) 和乳腺癌耐药蛋白 (BCRP, 由 ABCG2 编码), 在用维莫非尼治疗的 TC 细胞中, ABCG2 水平升高被发现与耐药性相关^[38]。

凋亡 (apoptosis) 是直接杀死癌细胞的重要机制, 凋亡信号通路的异常下调会降低肿瘤细胞的自我清除能力, 从而增加药物耐受性^[63-65]。BRAF 抑制剂通过抑制下游 ERK1/2 信号激活类凋亡程序导致细胞死亡。研究显示, 使用维莫非尼处理 BRAF V600E 突变的 TC 细胞后, 尽管 ERK1/2 的活化水平逐渐降低, 但抗凋亡蛋白, 如 B 细胞淋巴瘤 -2 (B-cell lymphoma 2, BCL-2)、B 细胞淋巴瘤 -XL (B-cell lymphoma extra-large, BCL-XL) 的表达出现了上调^[66]。BCL-2 同源 3 结构域 (BCL-2 homology 3 domain, BH3) 蛋白 BIM 可以与促凋亡蛋白 BAX 和 BAK 相互作用, 促进细胞凋亡, 而升高的 BCL-2 会与 BIM 相互作用, 从而阻止细胞凋亡。

线粒体外膜通透化 (mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP) 是细胞内在性凋亡途径的关键事件, MOMP 的发生会导致线粒体外膜上形成通道, 使得线粒体内的促凋亡因子释放到细胞质中, 激活胱天蛋白酶 (Caspase), 从而引发细胞凋亡^[67]。最近的研究发现, 不完全线粒体外膜通透化 (Minority MOMP), 即只有一小部分线粒体外膜被破坏, 导致亚致死水平的 Caspase 激活^[68]。由于这些细胞没有完全进入凋亡状态, 最终可能导致癌细胞逃避死亡并促进恶性进展或耐药性。进一步的研究揭示, 抗凋亡蛋白 Mcl-1 在维持 Minority MOMP 的平衡中起到了重要作用。在这些天然耐药的 PTC 细胞中, 抑制 Mcl-1 可以有效

地诱导细胞死亡, 从而克服 BRAF 抑制剂的耐药性^[69]。

自噬 (autophagy) 是指功能失调的细胞成分, 如受损的蛋白质或老化的细胞器, 通过自噬空泡直接招募至溶酶体进行降解, 使细胞稳态在生理状态下达到平衡的过程。然而, 自噬在肿瘤细胞中的作用比在正常细胞中更为复杂, 对 TC 细胞具有双重作用。一方面, 自噬可以通过清除损伤细胞和减少氧化应激来抑制肿瘤发展, 促进细胞稳态和存活, 但过度自噬可以通过清除靶向治疗和电离辐射损伤的大分子或细胞器来保护肿瘤细胞免于凋亡, 从而促进细胞存活和增殖^[70]。用维莫非尼处理 DTC 细胞后, 可观察到高水平的自噬, 阻断它可以极大地缓解耐药性^[71]。与单独使用仑伐替尼或自噬抑制剂相比, 联合用药可增强来伐替尼的细胞毒性和抗血管生成能力^[72]。

在代谢方面, BRAF V600E 突变 TC 细胞的线粒体呼吸主要依赖于脂肪酸氧化 (fatty acid oxidation, FAO), 而脂肪酸在线粒体的可利用性通过自噬进行调节。当自噬或脂肪酸氧化受到抑制后, TC 细胞会通过增加糖酵解来弥补氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation, OXPHOS) 的不足, 这对于细胞生存是至关重要的, 维莫非尼已被证明可以在几种情况下下调糖酵解^[73-74]。因此, FAO 的增加与维莫非尼耐药有关, 特别是当 TC 细胞依赖于脂肪酸氧化时, 这些细胞对维莫非尼的反应较差。通过半乳糖的培养基来强迫 TC 细胞增加 OXPHOS, 显示 OXPHOS 的增强使 TC 细胞对 BRAFV600E 抑制剂更有抗性^[75]。

最后, 环境污染物也可能影响靶向治疗疗效, 有研究显示, 十溴二苯醚 (BDE209) 可以通过激活 EGFR 通路和加剧 MAPK 通路活性, 减弱了达拉非尼对 BRAFV600E 突变型 PTC 的治疗效果^[76]。

甲状腺癌靶向药物耐药相关机制见图 1。

3 耐药性的应对策略

尽管 DTC 的预后良好, 但大多数晚期 / 转移性 DTC 和 ATC 患者的治疗仍然是一项挑战。在过去的十年中, 随着对 TC 特异性分子驱动因素认识的加深, 针对晚期 TC 的靶向疗法得到了开发和 FDA 批准。虽然这些治疗方案取得了可喜的成果, 但许多晚期 TC 患者最终会因获得性耐药性而病情恶化。在 BRAF V600 突变型 ATC 的转基因小

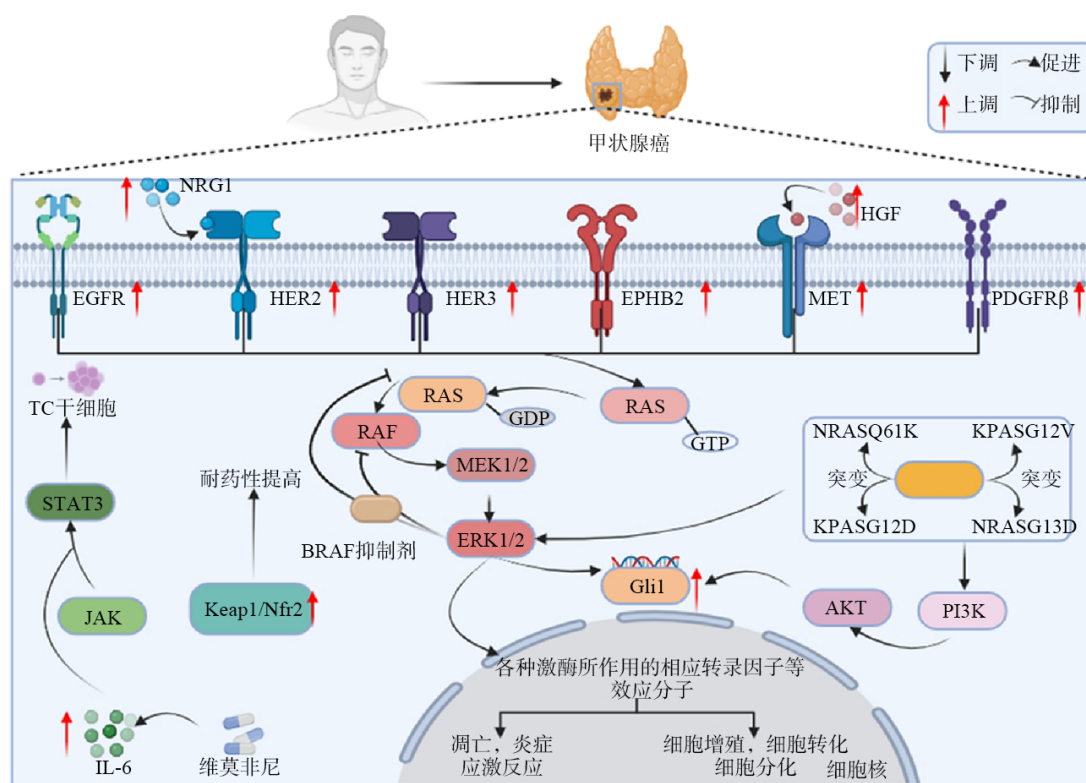


图 1 甲状腺癌靶向药物耐药相关机制

Figure 1 Mechanisms of targeted drug resistance in thyroid cancer

鼠模型中, 与单药 BRAF 抑制剂相比, 联合抑制 BRAF 和 MEK 可增强抗肿瘤活性^[77], 这表明双重抑制能够更彻底地阻断 MAPK 通路, 降低癌细胞通过 RAS 或其他上游节点“逃逸”的概率, 改善治疗反应, 延缓或防止 MAPK 通路重新激活。此外, BRAF 抑制剂的单药治疗易破坏通路的负反馈机制, 可能导致 RAS 激活, 从而激活补偿性生存信号, 而联合 MEK 抑制可以缓解这一负反馈激活问题, 避免旁路激活。同时, 双重抑制降低了单一治疗中耐药突变的发生概率, 减少了替代通路 (如 PI3K/AKT) 的激活。

除了使用 MEK 抑制剂, 针对上调的生长因子受体、配体或者突变的基因以及异常激活的其他平行信号通路进行联合抑制也是克服耐药性的一种方法^[43-44]。TC 细胞中 ERK 的反弹性激活伴随着 HER3 信号的上调。HER 激酶抑制剂拉帕替尼能防止 MAPK 反弹, 并使 BRAF 突变的 TC 细胞对 RAF 或 MEK 激酶抑制剂敏感^[19, 78]。MET 扩增是复发性 ATC 中重要的耐药机制。通过抑制 MET 信号通路, 尤其是在 MET 扩增的肿瘤中, 可以有效抑制癌细胞的生长和存活^[21]。EGFR 和 BRAF 双重

阻断可克服 BRAF 突变 TC 细胞对维莫非尼的耐药性^[79]。

新的泛 RAF 二聚体抑制剂直接与 RAF 的二聚体结构域结合, 抑制 BRAFV600E 突变肿瘤中的 RAF 二聚体化^[80]。这些抑制剂可以同时靶向活性状态下的 RAF 二聚体和单体, 从而有效阻断癌细胞中的 ERK 信号传导。尽管泛 RAF 抑制剂在体外试验中表现良好, 但在患者中的应用受到了一些限制, 主要是因为它们对野生型 RAF 缺乏选择性, 这可能导致正常细胞中的 RAF 信号的抑制, 进而引发毒性反应。此外, RAS 突变或扩增、BRAFV600E 扩增、BRAF 剪接变体或其他结构变化 (如基因内缺失) 会导致患者对这些药物产生耐药性^[81]。因此, 尽管泛 RAF 二聚体抑制剂在体外显示出良好的效果, 但它们在临床上的应用受限于缺乏对野生型 RAF 的选择性以及耐药性的产生, 特别是由 RAS 突变或 BRAF 基因结构变化引起的耐药。

此外, 联合使用免疫治疗刺激患者的免疫系统来识别和攻击癌细胞, 可能克服耐药性的问题, 尤其是在 ATC 患者中^[82]。FDA 于 2020 年基于 II 期

KEYNOTE-158 试验的结果^[83], 批准将抗程序性死亡受体 1 (programmed cell death protein 1, PD-1) 抗体帕博利珠单抗 (pembrolizumab) 用于 TC 的治疗, 后续的临床试验也证实了其对局部晚期或转移性 ATC 的疗效^[84-85]。除 T 细胞外, 与甲状腺肿瘤发生有关的多种免疫成分也为 TC 的治疗提供了新的潜在方法, 如基于自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞的免疫疗法、树突状细胞 (dendritic cell, DC) 疫苗和 M2 型肿瘤相关巨噬细胞 (M2 tumor-associated macrophage, M2 TAM) 阻断等^[86]。结合免疫检查点抑制疗法或其他基于免疫治疗方法的联合疗法很有前景, 但是, 为了更好地评估反应率和确定长期疗效, 有必要进行更大规模的、有组织的临床试验。

4 结语与展望

尽管大多数 DTC 患者对手术和 RAI 等常规治疗策略反应良好, 但仍有 5%~10% 的患者会出现远处转移性疾病, 而这类患者通常对 RAI 反应不佳^[87]。此外, ATC 因其生长迅速、转移性强、突变负荷相对较高, 导致其在诊断和治疗中面临独特的挑战。针对这些患者, 靶向治疗起到了至关重要的作用, 尽管靶向药物能够显著改善患者的生存期, 但耐药的出现往往限制了治疗效果, 成为制约治疗成功的一个关键因素。靶向药物耐药性是一个复杂的多因素过程, 涉及多个分子机制, 包括生长因子受体及其配体的上调、负反馈机制的逃逸、癌基因的二次突变、平行信号通路的激活、肿瘤微环境及代谢的改变等。因此, 深入理解这些耐药机制至关重要, 这有助于克服现有治疗的局限性。并为新型靶向药物的开发和临床应用提供理论依据。

与此同时, 免疫检查点抑制剂 (如 PD-1/PD-L1 抑制剂) 的应用为 TC 治疗带来了新的希望, 尤其是对于 ATC 等难治性肿瘤, 免疫治疗的潜力得到了初步验证, 将免疫治疗与靶向治疗结合的策略可能进一步提高治疗效果。然而, 如何优化联合治疗的方案, 规避可能的免疫相关不良反应, 仍需在临床实践中进一步验证。

随着基因组学和免疫学的快速发展, 精准医学为 TC 治疗提供了新的机遇, 最新的 NCCN 指南强调, 应对晚期 DTC 或 ATC 患者进行基因组分析, 以识别潜在的靶向治疗机会和免疫治疗的适

应性。这不仅需要在临床上广泛应用现有的基因检测技术, 也需要开发新的高效、低成本的检测手段, 以便提高精准治疗的普及率。通过对患者肿瘤的基因组分析, 可以识别潜在的靶向药物和免疫治疗的敏感性, 为个性化治疗提供科学依据。精准医学还能够帮助根据具体的基因突变特征定制个性化治疗方案, 从而最大限度地提高治疗效果。未来的研究应继续推进精准医学的临床应用, 结合分子分型和肿瘤免疫微环境的分析, 开发新的预测性生物标志物, 并优化治疗方案^[88]。这将为个性化的靶向治疗策略提供支持, 进一步提升 TC 患者的治疗效果。

总体而言, 靶向治疗、免疫治疗以及精准医学正在逐步改变 TC 的治疗格局。随着临床指南的不断更新和新药的出现, 患者的生存期得到了显著延长。然而, 靶向治疗的耐药性问题和免疫治疗的不良反应仍然是亟待解决的难题。未来的研究应更加聚焦于揭示靶向治疗耐药机制, 优化免疫治疗与靶向治疗的联合策略, 并推动精准医学的广泛应用。通过这些努力, 未来的 TC 治疗将更加个性化、精准化, 给患者带来更大的生存希望。

利益冲突声明: 本研究未受到企业、公司等第三方资助, 不存在潜在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] COLLABORATORS G 2 R F. Global burden and strength of evidence for 88 risk factors in 204 countries and 811 subnational locations, 1990-2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021[J]. Lancet, 2024, 403 (10440): 2162-2203. DOI: 10.1016/S0140-6736 (24) 00933-4.
- [2] SCHLUMBERGER M, TAHARA M, WIRTH L J, et al. Lenvatinib versus placebo in radioiodine-refractory thyroid cancer[J]. N Engl J Med, 2015, 372 (7): 621-630. DOI: 10.1056/NEJMoa1406470.
- [3] BROSE M S, NUTTING C M, JARZAB B, et al. Sorafenib in radioactive iodine-refractory, locally advanced or metastatic differentiated thyroid cancer: a randomised, double-blind, phase 3 trial[J]. Lancet, 2014, 384 (9940): 319-328. DOI: 10.1016/S0140-6736 (14) 60421-9.
- [4] BROSE M S, ROBINSON B, SHERMAN S I, et al. Cabozantinib for radioiodine-refractory differentiated thyroid cancer (COSMIC-311): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. Lancet Oncol, 2021, 22 (8): 1126-1138. DOI: 10.1016/S1470-2045 (21) 00332-6.
- [5] BROSE M S, ROBINSON B G, SHERMAN S I, et al.

- Cabozantinib for previously treated radioiodine-refractory differentiated thyroid cancer: updated results from the phase 3 COSMIC-311 trial[J]. *Cancer*, 2022, 128 (24): 4203-4212. DOI: 10.1002/cncr.34493.
- [6] WELLS S A Jr, ROBINSON B G, GAGEL R F, et al. Vandetanib in patients with locally advanced or metastatic medullary thyroid cancer: a randomized, double-blind phase III trial[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30 (2): 134-141. DOI: 10.1200/JCO.2011.35.5040.
- [7] ELISEI R, SCHLUMBERGER M J, MÜLLER S P, et al. Cabozantinib in progressive medullary thyroid cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31 (29): 3639-3646. DOI: 10.1200/JCO.2012.48.4659.
- [8] HU J, YUAN I J, MIRSHAHIDI S, et al. Thyroid carcinoma: phenotypic features, underlying biology and potential relevance for targeting therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (4): 1950. DOI: 10.3390/ijms22041950.
- [9] DAVIES H, BIGNELL G R, COX C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer[J]. *Nature*, 2002, 417 (6892): 949-954. DOI: 10.1038/nature00766.
- [10] SUBBIAH V, KREITMAN R J, WAINBERG Z A, et al. Dabrafenib and trametinib treatment in patients with locally advanced or metastatic BRAF V600-mutant anaplastic thyroid cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36 (1): 7-13. DOI: 10.1200/JCO.2017.73.6785.
- [11] SUBBIAH V, KREITMAN R J, WAINBERG Z A, et al. Dabrafenib plus trametinib in BRAFV600E-mutated rare cancers: the phase 2 ROAR trial[J]. *Nat Med*, 2023, 29 (5): 1103-1112. DOI: 10.1038/s41591-023-02321-8.
- [12] RUSSELL J P, POWELL D J, CUNNANE M, et al. The TRK-T1 fusion protein induces neoplastic transformation of thyroid epithelium[J]. *Oncogene*, 2000, 19 (50): 5729-5735. DOI: 10.1038/sj.onc.1203922.
- [13] DRILON A, LAETSCH T W, KUMMAR S, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378 (8): 731-739. DOI: 10.1056/NEJMoa1714448.
- [14] DOEBELE R C, DRILON A, PAZ-ARES L, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21 (2): 271-282. DOI: 10.1016/S1470-2045 (19) 30691-6.
- [15] SOLOMON B J, DRILON A, LIN J J, et al. 1372P Repotrectinib in patients (pts) with NTRK fusion-positive (NTRK+) advanced solid tumors, including NSCLC: Update from the phase I/II TRIDENT-1 trial[J]. *Ann Oncol*, 2023, 34 : S787-S788. DOI: 10.1016/j.annonc.2023.09.2405.
- [16] SUBBIAH V, HU M I, WIRTH L J, et al. Pralsetinib for patients with advanced or metastatic RET-altered thyroid cancer (ARROW): a multi-cohort, open-label, registrational, phase 1/2 study[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2021, 9 (8): 491-501. DOI: 10.1016/S2213-8587 (21) 00120-0.
- [17] SUBBIAH V, HU M I, MANSFIELD A S, et al. Pralsetinib in patients with advanced/metastatic rearranged during transfection (RET) -altered thyroid cancer: updated efficacy and safety data from the ARROW study[J]. *Thyroid*, 2024, 34 (1): 26-40. DOI: 10.1089/thy.2023.0363.
- [18] WIRTH L J, SHERMAN E, ROBINSON B, et al. Efficacy of selipercatinib in RET-altered thyroid cancers[J]. *N Engl J Med*, 2020, 383 (9): 825-835. DOI: 10.1056/NEJMoa2005651.
- [19] MONTERO-CONDE C, RUIZ-LLORENTE S, DOMINGUEZ J M, et al. Relief of feedback inhibition of HER3 transcription by RAF and MEK inhibitors attenuates their antitumor effects in BRAF-mutant thyroid carcinomas[J]. *Cancer Discov*, 2013, 3 (5): 520-533. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0531.
- [20] BAGHERI-YARMAND R, BUSAIDY N L, MCBEATH E, et al. RAC1 alterations induce acquired dabrafenib resistance in association with anaplastic transformation in a papillary thyroid cancer patient[J]. *Cancers*, 2021, 13 (19): 4950. DOI: 10.3390/cancers13194950.
- [21] KNAUF J A, LUCKETT K A, CHEN K Y, et al. Hgf/Met activation mediates resistance to BRAF inhibition in murine anaplastic thyroid cancers[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128 (9): 4086-4097. DOI: 10.1172/JCI120966.
- [22] LITO P, PRATILAS C A, JOSEPH E W, et al. Relief of profound feedback inhibition of mitogenic signaling by RAF inhibitors attenuates their activity in BRAFV600E melanomas[J]. *Cancer Cell*, 2012, 22 (5): 668-682. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.10.009.
- [23] CHEN S H, ZHANG Y, VAN HORN R D, et al. Oncogenic BRAF deletions that function as homodimers and are sensitive to inhibition by RAF dimer inhibitor LY3009120[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6 (3): 300-315. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-0896.
- [24] WEI W J, SUN Z K, SHEN C T, et al. Obatoclax and LY3009120 efficiently overcome vemurafenib resistance in differentiated thyroid cancer[J]. *Theranostics*, 2017, 7 (4): 987-1001. DOI: 10.7150/thno.17322.
- [25] BONALDI E, GARGIULI C, DE CECCO L, et al. BRAF inhibitors induce feedback activation of RAS pathway in thyroid cancer cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (11): 5744. DOI: 10.3390/ijms22115744.
- [26] HEIDORN S J, MILAGRE C, WHITTAKER S, et al. Kinase-dead BRAF and oncogenic RAS cooperate to drive tumor progression through CRAF[J]. *Cell*, 2010, 140 (2): 209-221. DOI: 10.1016/j.cell.2009.12.040.
- [27] POULIKAKOS P I, ZHANG C, BOLLAG G, et al. RAF inhibitors transactivate RAF dimers and ERK signalling in cells with wild-type BRAF[J]. *Nature*, 2010, 464 (7287): 427-430. DOI: 10.1038/nature08902.
- [28] HATZIVASSILIOU G, SONG K, YEN I, et al. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth[J]. *Nature*, 2010, 464 (7287): 431-435. DOI: 10.1038/nature08833.
- [29] CISOWSKI J, BERGO M O. What makes oncogenes mutually exclusive?[J]. *Small GTPases*, 2017, 8 (3): 187-192. DOI: 10.1080/21541248.2016.1212689.

- [30] DANYSH B P, RIEGER E Y, SINHA D K, et al. Long-term vemurafenib treatment drives inhibitor resistance through a spontaneous KRAS G12D mutation in a BRAF V600E papillary thyroid carcinoma model [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (21): 30907-30923. DOI: 10.18632/oncotarget.9023.
- [31] OWEN D H, KONDA B, SIPOS J, et al. KRAS G12V mutation in acquired resistance to combined BRAF and MEK inhibition in papillary thyroid cancer [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2019, 17 (5): 409-413. DOI: 10.6004/jncn.2019.7292.
- [32] CABANILLAS M E, DADU R, IYER P, et al. Acquired secondary RAS mutation in BRAFV600E-mutated thyroid cancer patients treated with BRAF inhibitors [J]. *Thyroid*, 2020, 30 (9): 1288-1296. DOI: 10.1089/thy.2019.0514.
- [33] BLASCO R B, FRANCOZ S, SANTAMARÍA D, et al. C-Raf, but not B-Raf, is essential for development of K-Ras oncogene-driven non-small cell lung carcinoma [J]. *Cancer Cell*, 2011, 19 (5): 652-663. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.04.002.
- [34] LITO P, SABOROWSKI A, YUE J, et al. Disruption of CRAF-mediated MEK activation is required for effective MEK inhibition in KRAS mutant tumors [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25 (5): 697-710. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.03.011.
- [35] WATSON I R, LI L, CABECEIRAS P K, et al. The RAC1 P29S hotspot mutation in melanoma confers resistance to pharmacological inhibition of RAF [J]. *Cancer Res*, 2014, 74 (17): 4845-4852. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1232-T.
- [36] CANNON A C, URIBE-ALVAREZ C, CHERNOFF J. RAC1 as a therapeutic target in malignant melanoma [J]. *Trends Cancer*, 2020, 6 (6): 478-488. DOI: 10.1016/j.trecan.2020.02.021.
- [37] HOFMANN M C, KUNNIMALAIYAAN M, WANG J R, et al. Molecular mechanisms of resistance to kinase inhibitors and redifferentiation in thyroid cancers [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2022, 29 (11): R173-R190. DOI: 10.1530/ERC-22-0129.
- [38] CHEN S, SU X, JIANG X, et al. VCAM-1 upregulation contributes to insensitivity of vemurafenib in BRAF-mutant thyroid cancer [J]. *Transl Oncol*, 2020, 13 (2): 441-451. DOI: 10.1016/j.tranon.2019.10.007.
- [39] BEADNELL T C, NASSAR K W, ROSE M M, et al. Src-mediated regulation of the PI3K pathway in advanced papillary and anaplastic thyroid cancer [J]. *Oncogenesis*, 2018, 7 (2): 23. DOI: 10.1038/s41389-017-0015-5.
- [40] HEIDEN K B, WILLIAMSON A J, DOSCAS M E, et al. The sonic hedgehog signaling pathway maintains the cancer stem cell self-renewal of anaplastic thyroid cancer by inducing snail expression [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99 (11): E2178-E2187. DOI: 10.1210/jc.2014-1844.
- [41] NICULESCU V F. Cancer genes and cancer stem cells in tumorigenesis: Evolutionary deep homology and controversies [J]. *Genes Dis*, 2022, 9 (5): 1234-1247. DOI: 10.1016/j.gendis.2022.03.010.
- [42] LU Y, ZHAO Y, LIU P, et al. Vemurafenib activates the sonic hedgehog pathway and promotes thyroid cancer stem cell self-renewal [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2023, 30 (11): e220392. DOI: 10.1530/ERC-22-0392.
- [43] LIMBERG J, EGAN C E, GRAY K D, et al. Activation of the JAK/STAT pathway leads to BRAF inhibitor resistance in BRAFV600E positive thyroid carcinoma [J]. *Mol Cancer Res*, 2023, 21 (5): 397-410. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-21-0832.
- [44] NOTARANGELO T, SISINNI L, TRINO S, et al. IL6/STAT3 axis mediates resistance to BRAF inhibitors in thyroid carcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2018, 433: 147-155. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.06.038.
- [45] WANG D, FENG J F, ZENG P, et al. Total oxidant/antioxidant status in sera of patients with thyroid cancers [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2011, 18 (6): 773-782. DOI: 10.1530/ERC-11-0230.
- [46] KANG K A, HYUN J W. Oxidative stress, Nrf2, and epigenetic modification contribute to anticancer drug resistance [J]. *Toxicol Res*, 2017, 33 (1): 1-5. DOI: 10.5487/TR.2017.33.1.001.
- [47] ZONG Z H, DU Z X, LI N, et al. Implication of Nrf2 and ATF4 in differential induction of CHOP by proteasome inhibition in thyroid cancer cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1823 (8): 1395-1404. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2012.06.001.
- [48] DU Z X, YAN Y, ZHANG H Y, et al. Proteasome inhibition induces a p38 MAPK pathway-dependent antiapoptotic program via Nrf2 in thyroid cancer cells [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96 (5): E763-E771. DOI: 10.1210/jc.2010-2642.
- [49] GONG Z, XUE L, WEI M, et al. The knockdown of Nrf2 suppressed tumor growth and increased the sensitivity to lenvatinib in anaplastic thyroid cancer [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 3900330. DOI: 10.1155/2021/3900330.
- [50] RENAUD C O, ZIROS P G, CHARTOUMPEKIS D V, et al. Keap1/Nrf2 signaling: a new player in thyroid pathophysiology and thyroid cancer [J]. *Front Endocrinol*, 2019, 10: 510. DOI: 10.3389/fendo.2019.00510.
- [51] PRETE A, LO A S, SADOW P M, et al. Pericytes elicit resistance to vemurafenib and sorafenib therapy in thyroid carcinoma via the TSP-1/TGFβ1 axis [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24 (23): 6078-6097. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0693.
- [52] WEN S, QU N, MA B, et al. Cancer-associated fibroblasts positively correlate with dedifferentiation and aggressiveness of thyroid cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 1205-1217. DOI: 10.2147/OTT.S294725.
- [53] MINNA E, BRICH S, TODOERTI K, et al. Cancer associated fibroblasts and senescent thyroid cells in the invasive front of thyroid carcinoma [J]. *Cancers*, 2020, 12 (1): 112. DOI: 10.3390/cancers12010112.
- [54] GUAN H, GUO Y, LIU L, et al. INAVA promotes aggressiveness of papillary thyroid cancer by upregulating MMP9 expression [J]. *Cell Biosci*, 2018, 8: 26. DOI: 10.1186/s13578-018-0224-4.
- [55] TANG J, TIAN Z, LIAO X, et al. SOX13/TRIM11/YAP axis promotes the proliferation, migration and chemoresistance of anaplastic thyroid cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17 (2): 417-429. DOI: 10.7150/ijbs.54194.
- [56] FOZZATTI L, ALAMINO V A, PARK S, et al. Interplay of

- fibroblasts with anaplastic tumor cells promotes follicular thyroid cancer progression [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1): 8028. DOI: 10.1038/s41598-019-44361-6.
- [57] ZOU M, BAITAI E Y, BINESSA H A, et al. *Cyp24a1* attenuation limits progression of *Braf*^{V600E}-induced papillary thyroid cancer cells and sensitizes them to *BRAF*^{V600E} inhibitor PLX4720 [J]. *Cancer Res*, 2017, 77 (8): 2161-2172. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2066.
- [58] GAO W, HAN J. Overexpression of *INC5* inhibits HGF-induced proliferation, invasion and EMT in thyroid cancer cells via regulation of the c-Met/PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 98: 265-270. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.12.045.
- [59] LEE Y S, KIM S M, KIM B W, et al. Anti-cancer effects of HNHA and lenvatinib by the suppression of EMT-mediated drug resistance in cancer stem cells [J]. *Neoplasia*, 2018, 20 (2): 197-206. DOI: 10.1016/j.neo.2017.12.003.
- [60] LAN L, LUO Y, CUI D, et al. Epithelial-mesenchymal transition triggers cancer stem cell generation in human thyroid cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2013, 43 (1): 113-120. DOI: 10.3892/ijo.2013.1913.
- [61] ZHANG Y, XING Z, LIU T, et al. Targeted therapy and drug resistance in thyroid cancer [J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 238: 114500. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114500.
- [62] KHAN H Y, GE J, NAGASAKA M, et al. Targeting XPO1 and PAK4 in 8505C anaplastic thyroid cancer cells; putative implications for overcoming lenvatinib therapy resistance [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21 (1): 237. DOI: 10.3390/ijms21010237.
- [63] SONG X, SHEN L, TONG J, et al. *Mcl-1* inhibition overcomes intrinsic and acquired regorafenib resistance in colorectal cancer [J]. *Theranostics*, 2020, 10 (18): 8098-8110. DOI: 10.7150/thno.45363.
- [64] NECHIPORUK T, KURTZ S E, NIKOLOVA O, et al. The TP53 apoptotic network is a primary mediator of resistance to *BCL2* inhibition in AML cells [J]. *Cancer Discov*, 2019, 9 (7): 910-925. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-19-0125.
- [65] KURPPA K J, LIU Y, TO C, et al. Treatment-induced tumor dormancy through YAP-mediated transcriptional reprogramming of the apoptotic pathway [J]. *Cancer Cell*, 2020, 37 (1): 104-122.e12. DOI: 10.1016/j.ccell.2019.12.006.
- [66] JEONG J H, OH J M, JEONG S Y, et al. Combination treatment with the *BRAF*^{V600E} inhibitor vemurafenib and the BH3 mimetic navitoclax for *BRAF*-mutant thyroid carcinoma [J]. *Thyroid*, 2019, 29 (4): 540-548. DOI: 10.1089/thy.2018.0511.
- [67] KALKAVAN H, GREEN D R. MOMP, cell suicide as a *BCL-2* family business [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25 (1): 46-55. DOI: 10.1038/cdd.2017.179.
- [68] ICHIM G, LOPEZ J, AHMED S U, et al. Limited mitochondrial permeabilization causes DNA damage and genomic instability in the absence of cell death [J]. *Mol Cell*, 2015, 57 (5): 860-872. DOI: 10.1016/j.molcel.2015.01.018.
- [69] CAVALLA M R, YO J C, GALLANT K C, et al. *Mcl-1* mediates intrinsic resistance to *RAF* inhibitors in mutant *BRAF* papillary thyroid carcinoma [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10 (1): 175. DOI: 10.1038/s41420-024-01945-0.
- [70] WANG W, LIU J, FENG W, et al. Targeting mitochondria with Au-Ag@Polydopamine nanoparticles for papillary thyroid cancer therapy [J]. *Biomater Sci*, 2019, 7 (3): 1052-1063. DOI: 10.1039/C8BM01414K.
- [71] WANG W, KANG H, ZHAO Y, et al. Targeting autophagy sensitizes *BRAF*-mutant thyroid cancer to vemurafenib [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102 (2): 634-643. DOI: 10.1210/je.2016-1999.
- [72] XUE L, GONG Z, VLANTIS A C, et al. Autophagy regulates anti-angiogenic property of lenvatinib in thyroid cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2023, 13 (4): 1457-1470.
- [73] DELGADO-GONI T, MINOTIS M F, WANTUCH S, et al. The *BRAF* inhibitor vemurafenib activates mitochondrial metabolism and inhibits hyperpolarized pyruvate-lactate exchange in *BRAF*-mutant human melanoma cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15 (12): 2987-2999. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0068.
- [74] PARMENTER T J, KLEINSCHMIDT M, KINROSS K M, et al. Response of *BRAF*-mutant melanoma to *BRAF* inhibition is mediated by a network of transcriptional regulators of glycolysis [J]. *Cancer Discov*, 2014, 4 (4): 423-433. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0440.
- [75] DÍAZ-GAGO S, VICENTE-GUTIÉRREZ J, RUIZ-RODRÍGUEZ J M, et al. Autophagy sustains mitochondrial respiration and determines resistance to *BRAF*^{V600E} inhibition in thyroid carcinoma cells [J]. *Autophagy*, 2024, 20 (6): 1383-1397. DOI: 10.1080/15548627.2024.2312790.
- [76] WANG X, CUI X, WANG Y, et al. Decabromodiphenyl ether exposure reduces dabrafenib sensitivity of papillary thyroid carcinoma harboring *BRAF*^{V600E} mutation through the *EGFR*-*CRAF*-*MAPK* pathway: an *in vitro* study [J]. *Toxicology*, 2024, 504: 153807. DOI: 10.1016/j.tox.2024.153807.
- [77] MCFADDEN D G, VERNON A, SANTIAGO P M, et al. *p53* constrains progression to anaplastic thyroid carcinoma in a *Braf*-mutant mouse model of papillary thyroid cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111 (16): E1600-E1609. DOI: 10.1073/pnas.1404357111.
- [78] CHENG L, JIN Y, LIU M, et al. *HER* inhibitor promotes *BRAF*/*MEK* inhibitor-induced redifferentiation in papillary thyroid cancer harboring *BRAF*^{V600E} [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (12): 19843-19854. DOI: 10.18632/oncotarget.15773.
- [79] NOTARANGELO T, SISINNI L, CONDELLI V, et al. Dual *EGFR* and *BRAF* blockade overcomes resistance to vemurafenib in *BRAF* mutated thyroid carcinoma cells [J]. *Cancer Cell Int*, 2017, 17: 86. DOI: 10.1186/s12935-017-0457-z.
- [80] KOUMAKI K, KONTOGIANNI G, KOSMIDOU V, et al. *BRAF* paradox breakers PLX8394, PLX7904 are more effective against *BRAF*^{V600E} CRC cells compared with the *BRAF* inhibitor PLX4720 and shown by detailed pathway analysis [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021, 1867 (4): 166061. DOI: 10.1016/j.bbdis.2020.166061.
- [81] BAHAR M E, KIM H J, KIM D R. Targeting the *RAS*/*RAF*/

- MAPK pathway for cancer therapy: from mechanism to clinical studies[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8 (1): 455. DOI: 10.1038/s41392-023-01705-z.
- [82] IYER P C, DADU R, GULE-MONROE M, et al. Salvage pembrolizumab added to kinase inhibitor therapy for the treatment of anaplastic thyroid carcinoma[J]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6 (1): 68. DOI: 10.1186/s40425-018-0378-y.
- [83] MARABELLE A, FAKIH M, LOPEZ J, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21 (10): 1353-1365. DOI: 10.1016/S1470-2045 (20) 30445-9.
- [84] DIERKS C, SEUFERT J, AUMANN K, et al. Combination of lenvatinib and pembrolizumab is an effective treatment option for anaplastic and poorly differentiated thyroid carcinoma[J]. *Thyroid*, 2021, 31 (7): 1076-1085. DOI: 10.1089/thy.2020.0322.
- [85] HAMIDI S, IYER P C, DADU R, et al. Checkpoint inhibition in addition to dabrafenib/trametinib for BRAF^{V600E}-mutated anaplastic thyroid carcinoma[J]. *Thyroid*, 2024, 34 (3): 336-346. DOI: 10.1089/thy.2023.0573.
- [86] FRENCH J D. Immunotherapy for advanced thyroid cancers—rationale, current advances and future strategies[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2020, 16: 629-641. DOI: 10.1038/s41574-020-0398-9.
- [87] HAMIDI S, HOFMANN M C, IYER P C, et al. Review article: new treatments for advanced differentiated thyroid cancers and potential mechanisms of drug resistance[J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 1176731. DOI: 10.3389/fendo.2023.1176731.
- [88] 刘俊, 叶静, 王科, 等. 肿瘤相关因子 TSHR 与甲状腺乳头状癌的相关性[J]. *西南医科大学学报*, 2022, 45 (5): 416-420. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2022.05.010.
- LIU J, YE J, WANG K, et al. Correlation between TSHR and papillary thyroid carcinoma[J]. *J Southwest Med Univ*, 2022, 45 (5): 416-420. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2022.05.010.
- (责任编辑: 林燕薇)

