

## EML4-ALK 融合基因在非小细胞肺癌中的研究进展\*

孙梦雪<sup>1</sup> 王岷<sup>2\*\*</sup> 苗青<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山东中医药大学, 济南 250014; <sup>2</sup>山东中医药大学第二附属医院呼吸与危重症医学科, 济南 250001

**[摘要]** 肺癌是全球发病率及病死率较高的恶性肿瘤, 85%的肺癌属于非小细胞肺癌 (NSCLC)。随着分子生物学技术和靶向治疗药物的发展, NSCLC 迈进了精准治疗时代。棘皮动物微管相关蛋白样 4 (EML4) -间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 融合基因是 NSCLC 个体化治疗的靶点之一, ALK 抑制剂对其具有显著的治疗效果, 然而, 克服药物的耐药性一直是一个不容忽视的挑战, 寻找新的治疗靶点以及联合用药对于后续治疗方案的调整和整体预后评估具有重要意义。针对 EML4-ALK 基因融合患者的治疗, 在应用靶向药物的同时, 还应该持续监测肿瘤的发展进程, 根据病情及时调整治疗方案, 使得患者能够长期获益。本文围绕 EML4-ALK 融合基因详细论述其在临床病理特征、靶向药物研究、耐药机理及潜在新靶点等方面的研究新进展。

**[关键词]** 非小细胞肺癌; EML4-ALK 融合基因; 临床病理特征; 耐药机制; 治疗靶点

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2025.05.017

### Research progress on the EML4-ALK fusion gene in non-small cell lung cancer: molecular mechanisms and targeted therapies

Sun Mengxue<sup>1</sup>, Wang Min<sup>2\*\*</sup>, Miao Qing<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014; <sup>2</sup>Department of Respiratory and Critical Care, the Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001

\*\* Corresponding author: Wang Min, email: 13012996221@163.com

**[Abstract]** Lung cancer is a malignant neoplasm characterized by a high incidence and fatality rate globally. Non-small cell lung cancer (NSCLC) constitutes 85% of lung cancer cases. The advancement of molecular biotechnology and tailored therapeutics has ushered NSCLC treatment into the era of precision medicine. The echinoderm microtubule associated protein like 4 (EML4) -anaplastic lymphoma kinase (ALK) fusion gene is a target for personalized therapy in NSCLC. ALK inhibitors exhibit substantial therapeutic efficacy. Nonetheless, surmounting drug resistance has consistently posed a significant barrier that warrants attention. Identifying novel therapeutic targets and employing combination medication therapies are crucial for refining subsequent treatment strategies and assessing overall prognosis. In the management of patients with EML4-ALK gene fusion, it is imperative to regularly monitor tumor progression while administering targeted therapies, and to timely modify the therapy regimen based on the patient's state to ensure long-term benefits. This article elaborates on recent advancements in research concerning the EML4-ALK fusion gene, focusing on its clinical pathological attributes targeted pharmacological investigations, mechanisms of treatment resistance, and prospective novel targets.

**[Key words]** Non-small cell lung cancer; EML4-ALK fusion gene; Clinicopathological characteristics; Drug resistance mechanism; Therapeutic targets

肺癌的全球死亡率一直居于首位, 也是我国恶性肿瘤发病和死亡的首要原因<sup>[1]</sup>。肺癌主要包括小细胞肺癌和非小细胞肺癌 (Non-small cell lung carcinoma, NSCLC), NSCLC 占肺癌总数的 85%, 是最主要的类型<sup>[2]</sup>。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) 和大鼠肉瘤病毒 (Rat sarcoma virus, Ras) 基因是 NSCLC 的 3 种主要的驱动癌基因<sup>[3]</sup>。ALK 基因可以联合其

他基因生成 ALK 融合蛋白, 驱动肿瘤细胞异常生长, 在 NSCLC 的发生发展中有着重要作用。伴有 ALK 融合基因的肺癌患者的治疗后生存率高于其他基因突变的肺癌患者, 并且治疗药物的选择性更为广泛, 因此该类基因突变又被称为“钻石突变”。目前肺癌中已鉴定出 90 余种不同的 ALK 基因融合伴侣, 最常见的是棘皮动物微管相关蛋白样 4 (Echinoderm microtubule associated protein like 4, EML4) 基因, 占 ALK 阳性 NSCLC 病例的 85%

收稿日期: 2025-01-07 修回日期: 2025-02-24 录用日期: 2025-02-24

\* 山东省医药卫生科技项目 (202302081053); 山东省教育厅 2022 年山东省研究生优质教育教学资源项目 (SDYKC2022042); 山东省中医药管理局科技发展计划 (2017-118); 山东省卫生计生委科技发展计划 (2017WS600)

\*\* 通信作者: 王 岷, 电子邮箱 13012996221@163.com

以上<sup>[4]</sup>。EML4-ALK 融合蛋白拥有强大的细胞增殖、凋亡以及转移等生物活性, 在细胞信号通路中发挥重要作用。

临床常用的 EML4-ALK 基因检测法主要有逆转录聚合酶链反应 (Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)、免疫组织化学 (Immunohistochemistry, IHC)、荧光原位杂交 (Fluorescence in situ hybridization, FISH) 以及二代测序 (Next-generation sequencing, NGS)。蛋白激酶是治疗肺癌的重要靶点, 随着酪氨酸激酶抑制剂 (Tyrosine kinase inhibitors, TKIs) 的上市, 以酪氨酸激酶为靶点的抗肿瘤治疗成为当下的研究热点。迄今为止, 已研发出多种 ALK-TKIs 用以治疗晚期 ALK 融合突变的 NSCLC 患者, 包括克唑替尼、色瑞替尼、阿来替尼、布加替尼和洛拉替尼等, 肺癌进入靶向治疗的新时代。许多患者确诊肺癌后及时进行基因检测, 较早明确癌症类型以指导靶向用药, 并在后续治疗中持续动态检测, 根据病情发展调整用药, 体现了肺癌治疗的个体化和精准化。但是在实际的临床治疗中, 由于药物耐药等各种原因, 不同类型 NSCLC 患者在接受靶向药物治疗时表现出了疗效上的差异, 并非所有患者都能达到预期的治疗目标。

### 1 EML4-ALK 融合基因

肺癌具有高度复杂的融合事件谱, EML4-ALK 融合突变是其中之一。ALK 于 1994 年在间变性大细胞淋巴瘤 (Anaplastic large cell lymphoma, ALCL) 中被发现, 该基因位于 2 号染色体短臂上, 其表达产物是一种受体酪氨酸激酶 (Receptor tyrosine kinase, RTK)<sup>[5]</sup>。主要在神经元组织中表达, 可以激活丝裂原活化蛋白激酶 (Mitogen activated protein kinase, MAPK)、Janus 激酶 (Janus kinase, JAK) /信号转导与转录激活因子 (Signal transducer and activator of transcription, STAT) 和磷脂酰肌醇 3-激酶 (Phosphoinositide 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (Protein kinase B, AKT) 等多种信号转导通路, 参与驱动包括 NSCLC、ALCL 和炎性纤维母细胞瘤以及神经母细胞瘤等在内的不同类型癌症。ALK 融合频率在 NSCLC 患者中超过 3.0%, 但是在非 NSCLC 患者中仅为 0.2%。EML 蛋白能够与微管结合并参与细胞分裂、信号传导等重要过程。作为 EML 家族中的一员, EML4 与有丝分裂期间的染色体聚集相关, 其主要由 4 部分组成: EML 蛋白中的串联非典型螺旋体 (Tandem atypical propeller in EML proteins, TAPE)、EML 蛋白疏水基序 (Hydrophobic motif in EML proteins, HELP)、三聚体结构域 (Trimerization domain, TD) 和非结构化碱性区域<sup>[6]</sup>。其中, TD 在 ALK 自磷酸化和激活中的作用至关重要。

EML4-ALK 融合蛋白于 2007 年首次在 1 例老年男性肺腺癌患者手术切除的肿瘤组织中被发

现<sup>[7]</sup>。该融合蛋白不需要外源性配体即可直接形成 ALK 二聚体的激活形式, 继而激活其下游的 Ras/细胞外信号调节激酶 (Extracellular signal-regulated kinase, ERK)、STAT3、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (Mammalian target of rapamycin protein, mTOR) 等信号通路促进细胞异常增殖、分化及抗凋亡, 最终导致 NSCLC 的发生, 见图 1。其中, Ras/ERK 信号通路参与细胞增殖, mTOR 和 STAT3 通路则与细胞存活和凋亡有关<sup>[8]</sup>。EML4-ALK 融合基因的变体由不同的断点产生, ALK 基因断裂点主要发生在外显子 20 处, 少数位于外显子 19 处, EML4 的断裂点则有所不同<sup>[9]</sup>。由此产生了不同类型的 EML4-ALK 融合蛋白。目前发现的 EML4-ALK 融合基因变体的类型包含 V1、V2、V3、V4、V5a 在内共有 17 余种, 最常见的是 V1 和 V3, 分别约占 EML4-ALK 变体的 37% 和 42%<sup>[10]</sup>。推测与蛋白质稳定性、药物敏感性和不同的 ALK 耐药性突变的差异有关。根据是否包含 EML4 的 TAPE 结构域, EML4-ALK 突变基因可进一步分为长变体 (V1, V2, V4) 和短变体 (V3, V5), 见图 2。

由于两者之间蛋白质稳定性的差异对 ALK 抑制剂产生不同的反应, 长变体患者的预后优于短变体患者, 并表现出更长时间的中位无进展生存期 (Progression-free survival, PFS)<sup>[11]</sup>。

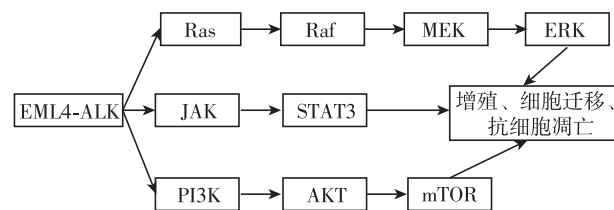
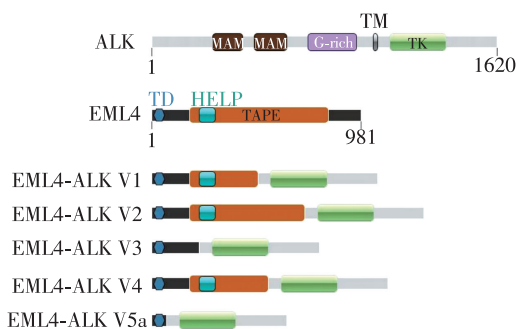


图 1 EML4-ALK 融合基因相关信号转导通路  
Fig. 1 Signaling pathways associated with the EML4-ALK fusion gene



注: MAM: 黏附相关结构域; G-rich: 甘氨酸富集区; TM: 跨膜结构域; TK: 酪氨酸激酶结构域; TD: 三聚体结构域; EML4-ALK V1: 突变体 1 (E13; A20); V2: 突变体 2 (E20; A20); V3: 突变体 3 (E6; A20); V4: 突变体 4 (E15del60; del71a20); V5a: 突变体 5a (E2; A20)

图 2 EML4-ALK 融合基因的 5 种常见类型  
Fig. 2 Five common variants of EML4-ALK fusion gene

## 2 NSCLC 中 EML4-ALK 的临床病理特征

EML4-ALK 融合基因突变拥有特定的人群分布特征, 与性别、吸烟状况和组织学等方面密切相关。真实世界研究发现, 中国 30 个医疗中心的 23 689 例晚期 NSCLC 患者中, ALK 基因的突变率为 6.7%, 其中女性、从不吸烟者和腺癌患者的 ALK 基因突变率较高<sup>[12]</sup>。虽然长期吸烟是肺癌最重要的致癌因素, 然而, 在大多数从不吸烟或已经戒烟的人群中更常见到 EML4-ALK 基因改变, 并且病理组织分型几乎都是腺癌<sup>[13]</sup>。NSCLC 患者 EML4-ALK 突变发生率与性别相关, 女性患者比男性患者更容易检测到该突变。腺癌、鳞癌、大细胞癌等多种癌症类型里均可见到 EML4-ALK 融合基因的表达, 但在肺腺癌中突变的发生率最高<sup>[14]</sup>。携带 EML4-ALK 融合基因的肺腺癌在影像学上表现出特定的病理学特征, 胸部 CT 提示 EML4-ALK 融合基因在纯实性结节和富含黏蛋白的肺腺癌患者中突变率较高<sup>[15]</sup>。EML4-ALK 易位主要见于浸润性腺癌<sup>[16]</sup>。与 EGFR 等其他肿瘤驱动因素不同, EML4-ALK 融合常见于 NSCLC 晚期, 在 IV 期 NSCLC 的发现率为 19%, 在早期仅为 2%~7%<sup>[17]</sup>。EML4-ALK 阳性 NSCLC 患者具有独特的流行病学以及临床特征, EML4-ALK 融合蛋白与 NSCLC 患者的组织类型和临床分期相关, 更容易发生在肺腺癌和晚期 NSCLC 患者中, 尤其是女性、不吸烟或少量吸烟的肺腺癌患者。根据该类肺癌的临床病理特征进行分子靶向药物的选择, 对于患者个体化方案的制定、病情发展及预后的评估具有重要意义。

## 3 EML4-ALK 靶向药物治疗进展

肺癌靶向药物可识别肿瘤特定基因, 精准打击癌细胞, 减少对正常细胞的损伤, 不良反应发生率远低于传统化疗药物。存在 EML4-ALK 突变的肺癌表现出癌基因依赖性, EML4-ALK 蛋白的激酶结构域是致癌的重要组成部分。利用蛋白酪氨酸激酶靶向抑制剂可有效延长 NSCLC 患者的 PFS 和总生存率, 成为晚期 EML4-ALK 阳性 NSCLC 患者的标准一线疗法<sup>[18]</sup>。迄今为止, 已有 5 种 ALK-TKIs 获得美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 的批准, 可用于晚期 ALK 阳性 NSCLC 患者的治疗<sup>[19]</sup>, 见表 1。第一代 ALK-TKIs 克唑替尼是一种小分子、多靶点抑制剂, 使用该药物治疗后的中位疾病进展时间大概为 10 个月。但克唑替尼难以穿透血脑屏障, 无法有效控制脑转移。脑转移是 ALK 阳性 NSCLC 患者常见的并发症之一, 约 30% 的 ALK 阳性 NSCLC 患者初次诊断就出现中枢神经系统 (Central nervous system, CNS) 转移, 约 58% 的患者未来 3 年内会出现 CNS 转移<sup>[20]</sup>。第二代 ALK-TKIs 包括阿来替尼、色瑞替尼和布加替尼, 这些药物增强了血脑屏障通透性, 能够更好地治疗脑转移。目前, 第二代 ALK-TKIs 已基本取代克唑替尼成为晚期 ALK 阳性患者的首选初始药物。第三代 ALK-TKIs 洛拉替尼拥有高效力、选择性和 CNS 渗透性等更多优势。一项在 296 例晚期 ALK 阳性

NSCLC 患者中对比应用洛拉替尼与克唑替尼的 III 期临床研究表明, 与克唑替尼治疗相比, 洛拉替尼作为 ALK 阳性 NSCLC 患者的一线用药具有持久的益处, 能够延长 3 年中位 PFS、减缓疾病进展并降低死亡风险<sup>[21]</sup>。从经济上讲, 克唑替尼对于肿瘤患者的压力最小, 但对于治疗脑转移而言, 主要推荐 ALK 阳性患者使用阿来替尼、洛拉替尼和布加替尼, 克唑替尼则降级为次要选择。恩沙替尼也是一种第二代抑制剂, 目前尚未获得 FDA 批准。

近年来, 越来越多新型 ALK 抑制剂开始投入使用或处于试验阶段, 见表 1。伊鲁阿克 (WS-0593) 是一种新型 TKI, 可以抑制 ALK 的酪氨酸自磷酸化, 该药物经中华人民共和国国家药品监督管理局批准成为第七种 ALK-TKIs<sup>[22]</sup>。Zotizalkib (TPX-0131) 和洛普替尼 (TPX-0005) 是两种微小而紧凑的大环化合物, 两者的分子量低于目前 FDA 批准的 ALK-TKIs, 但因两者能够克服多种洛拉替尼耐药突变而被归类为第四代 ALK-TKIs<sup>[23]</sup>。XMU-MP-5 是一种新型选择性 ALK-TKIs, 表现出针对 EML4-ALK Ba/F3 细胞的活性。在 EML4-ALK Ba/F3 中, XMU-MP-5 与下游分子 (pSTAT3、pERK 和 pAKT) 共同抑制 ALK 磷酸化, 成为攻克临床相关继发性 ALK 突变的新疗法<sup>[24]</sup>。

表 1 用于治疗 NSCLC 的 ALK-TKIs

Tab. 1 ALK-TKIs for the treatment of NSCLC

ALK-TKIs (商品名)	药物靶点	有无 CNS 渗透性
克唑替尼	ALK, c-MET, ROS1	无
阿来替尼	ALK, RET	有
色瑞替尼	ALK, IGF-1, ROS1, INSR	有
布加替尼	ALK, EGFR, FLT3, ROS1	有
恩沙替尼	ALK, ROS1, MET, AXL	有
洛拉替尼	ALK, ROS1	有
伊鲁阿克	ALK, ROS1	有
Zotizalkib	ALK, ROS1, EGFR	有
洛普替尼	ALK, ROS1, TRK	有
XMU-MP-5	ALK	有

注: CNS: 中枢神经系统; c-MET: 间质上皮转化因子; ROS1: c-ros 原癌基因 1; RET: Ret 原癌基因; IGF-1: 胰岛素样生长因子; INSR: 胰岛素受体; FLT3: Fms 样酪氨酸激酶 3; MET: 间质上皮转化因子; AXL: 活化 X 连锁基因; TRK: 神经生长因子受体酪氨酸激酶; Zotizalkib: 第四代 ALK-TKIs, 克服多种洛拉替尼耐药突变; XMU-MP-5: 一种新型选择性 ALK-TKIs, 抑制 EML4-ALK 突变的 Ba/F3 细胞

## 4 EML4-ALK 的药物耐药

基因组不稳定性是癌症的标志之一。这种不稳定性致使肿瘤发生突变, 以此逃避治疗干预或免疫系统对癌细胞的破坏, 进而产生药物的继发性耐药。耐药性是困扰当前靶向治疗的重要因素, 是 TKIs 治疗中不可避免的挑战。接受 ALK-TKIs 治

疗的患者约有 1/3 会因二次突变而产生耐药性并导致疾病进展。1 例被诊断为 EML4-ALK 腺癌的 56 岁女性患者在应用阿来替尼一线治疗 2 个月后发现病情恶化, 胸腔积液 NGS 检测发现在原有突变基础上出现两种新的突变, 其中, 位于外显子 14 的 E803Q 是一种新型二次突变, 似乎对大多数第二代 ALK-TKIs 具有耐药性<sup>[25]</sup>。EML4-ALK 融合基因的耐药途径主要包含靶向耐药和脱靶耐药两种。靶向耐药可能源于 ALK 的融合扩增或二次突变, 这些突变可以增强激酶活性或者降低抑制剂的结合力, 进而降低 ALK-TKIs 的敏感性; 脱靶耐药则是触发信号旁路如 EGFR、Kit 酪氨酸激酶 (Kit tyrosine kinase, KIT)、Src 酪氨酸激酶 (Src tyrosine kinase, SRC)、间质上皮转化因子 (Mesenchymal-epithelial transition factor, MET) 等, 重新激活了下游效应器从而导致肿瘤细胞增殖和存活<sup>[26]</sup>。EML4-ALK 融合突变基因主要通过持续的 Ras/ERK 信号传导来驱动癌症并产生耐药。光遗传学和活细胞成像发现, 含有 EML4-ALK 融合突变基因的细胞质蛋白缩合物通过隔离包括生长因子受体结合蛋白 2 (Growth factor receptor-bound protein 2, GRB2) 和非 7 激酶同源物 1 (Son of sevenless homolog 1, SOS1) 在内的 RTK 接头蛋白来抑制癌信号传导, 同时也会释放隔离的接头蛋白, 使 RTK 信号传导再次敏感, 重新激活 ERK 信号传导, 使癌细胞得以存活并产生对靶向治疗的耐受机制<sup>[27]</sup>。

由于 EML4-ALK 不同变体之间存在蛋白稳定性和激酶活性的差异, EML4-ALK 阳性 NSCLC 患者表现出对 ALK-TKIs 的不同敏感性和疗效持续时间。相比于非 V1 患者, 接受克唑替尼治疗后的 V1 患者拥有更好的疗效及缓解率<sup>[5]</sup>。推测这与非 V1 患者过早产生耐药突变有关。获得性 ALK 耐药突变更可能发生在 EML4-ALK V3 患者当中<sup>[28]</sup>。不同变体之间的耐药差异导致部分接受靶向治疗的 EML4-ALK 患者难以达到理想治疗效果。目前临床上多采用 ALK-TKIs 序贯疗法应对药物耐药, 但是序贯 ALK-TKIs 治疗后很可能产生复合突变, 即出现新的具有 ALK 耐药突变的 EML4-ALK 变异体, 这为 EML4-ALK 阳性患者的治疗带来新的问题。一项对 12 例 EML4-ALK 阳性患者的检测中发现了 10 种可能导致耐药性的变异, 其中 3 个突变体 (L1196P、C1237Y 和 L1196M/G1202R) 表现出了泛抑制剂抗性, 一般在多线 TKIs 治疗后出现<sup>[29]</sup>。这预示着 ALK-TKIs 的序贯治疗策略可能会失去作用。对于 ALK 阳性 NSCLC 患者而言, 停用抑制剂以后大概还能维持至少 6 个月的持续肿瘤控制时间, 但在临床上并不推荐停用 ALK-TKIs 并等待疗效消退后再开始后续治疗, 及时更换新的治疗药物或者在 ALK-TKIs 的基础上联合新药才是更好的应对策略。

## 5 EML4-ALK 的治疗新思路

### 5.1 联合治疗

经历一代代 ALK 靶向制剂的治疗, 多数患者

最终走向药物耐药结局。除了研发新的 TKIs 以外, 需要寻找更多方式应对 ALK 抑制剂的耐药性。在 ALK-TKIs 单药治疗耐药的情况下, 多种抗癌药物联合应用或许会让突变型 NSCLC 的治疗走得更远。

**5.1.1 ALK-TKIs 与 SRC 抑制剂联合疗法** SRC 是一种在癌症中经常被激活的蛋白质。ALK 和 SRC 抑制剂通过共靶向扰乱 EML4-ALK 阳性 NSCLC 细胞的 (磷酸化) 蛋白质组学特征和抑制 mTOR 通路的活性来诱导细胞死亡<sup>[30]</sup>。靶向 SRC 信号传导对于治疗 ALK-TKIs 获得性耐药的 NSCLC 具有重要意义, ALK 和 SRC 抑制剂的联合疗法可能是 EML4-ALK 患者更有效的一线治疗策略。

**5.1.2 MET 与整合素  $\beta$ 1 共靶向治疗** 癌症相关成纤维细胞 (Cancer-associated fibroblast, CAF) 调节肿瘤细胞对 ALK-TKIs 的药物敏感性, 涉及多个并发信号通路。肝细胞生长因子 (Hepatocyte growth factor, HGF) -MET 信号传导会引起 CAF 介导的旁分泌耐药, 而 CAF 共培养能激活肺癌细胞中的整合素  $\beta$ 1, 同时靶向 MET 和整合素  $\beta$ 1 可以抑制 CAF-肿瘤细胞间的恶性“串扰”, 克服 CAF 介导的 EML4-ALK 驱动癌细胞对 ALK-TKIs 的耐药性, 更有利于耐药性 NSCLC 的治疗<sup>[31]</sup>。

**5.1.3 ALK-TKIs 与 JAK1/2 抑制剂联合疗法** 液-液相分离是蛋白质、核酸等物质在细胞内通过分子相互作用形成动态、无膜细胞器的过程。EML4-ALK 蛋白可通过液-液相分离形成无膜细胞质颗粒, 异常激活下游信号通路并促进耐药<sup>[32]</sup>。部分人类 EML4-ALK 肺腺癌拥有鳞状细胞肺癌的生物标志物或者特征, 并具有向鳞状细胞肺癌转化的趋势, 该类人群对 ALK-TKIs 表现出一定的耐药性, EML4-ALK 相分离通过激活 JAK-STAT 信号通路显著促进其向鳞状细胞肺癌转变, 进而产生药物耐药<sup>[33]</sup>。由此可见, EML4-ALK 突变型 NSCLC 在调控腺癌到鳞状细胞肺癌转移方面的可塑性很强, 在 ALK-TKIs 的基础上联合 JAK1/2 抑制剂可以有效克服该类耐药突变。

**5.1.4 ALK-TKIs 联合免疫疗法** 免疫疗法作为癌症治疗的前沿领域, 在 NSCLC 中显示出显著的抗癌活性, 靶向治疗和免疫治疗联用可以减少早期疾病的复发<sup>[34]</sup>。免疫检查点阻断疗法在晚期 NSCLC 治疗方面应用多年, 但是在 EML4-ALK 驱动的 NSCLC 中的作用尚处在研究阶段。目前涌现出许多基于免疫治疗的新型抗癌疗法, 例如溶瘤病毒免疫疗法、自体肿瘤浸润淋巴细胞疗法以及现有免疫疗法与 mRNA 疫苗联合疗法等<sup>[35]</sup>。将 ALK-TKIs 联合免疫疗法应用于 EML4-ALK 阳性 NSCLC 的治疗成为另一种克服耐药性的潜在策略。大量研究结果强调, 在 ALK-TKIs 单药治疗产生耐药性的情况下, 寻求 EML4-ALK 的联合治疗或许就是获得最佳临床疗效的长期答案。

## 5.2 寻找治疗新靶点

**5.2.1 热休克蛋白 90** 热休克蛋白 90 (Heat shock protein 90, Hsp90) 是一种 ATP 依赖性分子伴侣, 参与维持蛋白稳态, 同时也是细胞恶性转化和进展的必备条件。由于 EML4-ALK 的 TAPE 结构域需要 Hsp90 来实现结构稳定, EML4-ALK 融合蛋白表现出对 Hsp90 的强烈依赖性, Hsp90 抑制剂能够破坏 TAPE 结构域的稳态, 促进 EML4-ALK 融合蛋白降解, 使肿瘤细胞丧失活力<sup>[36]</sup>。Hsp90 被视为促进癌细胞死亡的潜在治疗靶点, 针对含有 TAPE 结构域的 EML4-ALK 变体, Hsp90 抑制剂可以表现出强大的抗癌活性。

**5.2.2 EGFR 家族** EGFR 又称人表皮生长因子受体 (Human epidermal growth factor receptor, Her), 包含 4 种: 红白血病病毒癌基因同源物 (Erythroblastic leukemia viral oncogene homolog, ErbB) 1/Her1、ErbB2/Her2、ErbB3/Her3 和 ErbB4/Her4, 均为酪氨酸激酶受体。其中, Her3 的酪氨酸激酶结构域活性较低, Her3 突变或过表达会抑制癌细胞凋亡并加速其增殖以及逃避免疫系统。Her3 过表达可以作为 ALK 阳性 NSCLC 患者不良预后的潜在标志, 尤其是 EML4-ALK V1、V2 患者<sup>[37]</sup>。AKT 蛋白属于 PI3K/AKT 通路的一部分, ErbB 和 AKT 蛋白在 EML4-ALK 阳性 NSCLC 细胞系中经 ALK-TKIs 治疗会发生信号上调, ALK 和 ErbB 受体或 AKT 的双重抑制会破坏 Ras/MAPK 和 PI3K/AKT 致癌通路, 并增强 EML4-ALK 阳性 NSCLC 癌细胞的凋亡<sup>[38]</sup>。AKT 和 ErbB 受体可能是防止 NSCLC 对 ALK-TKIs 治疗产生适应性耐药的潜在靶点。

**5.2.3 驱动蛋白 Eg5** EML4-ALK V3 与永久有丝分裂基因 A (Never in mitosis gene A, NIMA) 相关激酶 9 (NIMA-related kinase 9, NEK9) 和 NEK7 激酶一起在分裂间期微管上组装成复合物, 导致 NEK7 的激活及其下游靶标的磷酸化, 致使细胞长度增加和迁移增强<sup>[39]</sup>。这是 V3 对 ALK-TKIs 具有更高耐药性的关键所在。驱动蛋白 Eg5 是 EML4-ALK V3-NEK9-NEK7 复合物及其下游信号通路的靶点之一, 驱动蛋白 Eg5 磷酸化会驱动细胞形成间充质样形态, 呈现出细长状态。间充质样形态的发展会促进癌细胞发生转移, 是癌症的标志之一<sup>[40]</sup>。靶向驱动蛋白 Eg5 对于 EML4-ALK V3 驱动的 NSCLC 具有潜在治疗价值。

## 5.3 寻找新型检测技术

随着新靶点的发现及 EML4-ALK 融合突变检测的发展, 有必要探索一些新的检测方法来指导精准治疗。FISH、RT-PCR 和 IHC 都是目前公认的 ALK 基因突变检测方法。相比于组织活检, 液体活检更加具有异质性, 是一种监测突变的替代技术。原发性及继发性肿瘤会脱落部分细胞并释放到外周血液循环当中, 形成循环肿瘤细胞 (Circulating tumor cells, CTCs), 以其为靶点的 CTCs 检测技术属于液体活检技术之

一<sup>[41]</sup>。通过分析 CTCs、细胞游离 DNA (Cell-free DNA, cfDNA) 以及循环肿瘤 DNA 等, 能够检测到外周静脉血中诱发 ALK-TKIs 耐药的基因组改变, 动态监测病情并指导肿瘤治疗, 并能预测可能出现的耐药性<sup>[42]</sup>。这一发现为 EML4-ALK 阳性 NSCLC 患者提供了新的诊断及监测方式。

包括 CTCs 检测技术在内的各类液体活检类新兴技术为肺癌患者与精准医疗之间架构起一座重要的桥梁。当机体对 ALK 抑制剂产生耐药后, 会加快软脑膜转移 (Leptomeningeal metastasis, LM) 的进展。LM 是 NSCLC 的一种难治性并发症, 在 ALK 阳性 NSCLC 中的发生率约为 10.3%, 应用 NGS 进行脑脊液 cfDNA 检测可以进一步了解 LM 耐药机制, 并监测鞘内注射培美曲塞治疗 LM 的疗效<sup>[43]</sup>。这为并发 LM 的 EML4-ALK 患者的治疗提供了更多选择。一项可追溯性研究中建立了一种基于逆转录数字 PCR 定量检测 EML4-ALK V1 和 V3 融合变异及 NSCLC 中参考基因 (ALK-ref) 的潜在参考测量程序, 发现其表现出良好的特异性和高度灵敏性, 能够检测低拷贝数的稀有靶标, 这一检测方法进一步提升了融合基因检测的准确性和全面性<sup>[44]</sup>。

## 6 展望

EML4-ALK 融合基因是近年来在 NSCLC 中发现的重要肿瘤驱动基因之一。EML4-ALK 阳性患者的病理特质倾向于腺癌组织学、轻度或者不吸烟以及偏于女性的性别差异。目前的检测技术虽然存在各自的缺点, 但能够满足当前临床诊断和治疗的需要, 多数 EML4-ALK 阳性 NSCLC 患者从中获益。但是, 药物耐药与肿瘤复发严重阻碍着癌症的持续性治疗, 如何合理运用 ALK-TKIs 获取最佳疗效以及耐药后采取何种处理策略是一个不容忽视的难题。长远来看, 使用 ALK-TKIs 作为 EML4-ALK 阳性 NSCLC 患者的单一治疗具有一定的局限性, 迫切需要一些新的、更有效的 NSCLC 治疗方法, 例如寻找其他治疗靶点或多种方案联合治疗。随着测序技术和靶向研究不断发展, 临床上可以根据患者需求选择准确、快速、合适的 ALK 检测方法, 依据人群差异制定靶向治疗方案, 积极运用单药或者多药联合治疗, 合理规避药物耐药机制, 以期达到 EML4-ALK 阳性 NSCLC 患者的预期效果。

## 参考文献

- [1] Bozorgmehr F, Müller A, Rawluk J, et al. Immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer-when should we dare to stop treatment? [J]. *Lung Cancer*, 2023, 184:107340.
- [2] Li X, Wang Z, Chen C, et al. A small-molecule degrader selectively inhibits the growth of ALK-rearranged lung cancer with ceritinib resistance [J]. *iScience*, 2024, 27 (2):109015.
- [3] Xu J, Tian L, Qi W, et al. Advancements in NSCLC: from pathophysiological insights to targeted treatments [J]. *Am J Clin Oncol*, 2024, 47(6):291-303.

- [4] Chuang T P, Lai W Y, Gabre J L, et al. ALK fusion NSCLC oncogenes promote survival and inhibit NK cell responses via SERPINB4 expression[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2023,120(8):e2216479120.
- [5] Xiang Y, Zhang S, Fang X, et al. Therapeutic advances of rare ALK fusions in non-small cell lung cancer[J]. *Curr Oncol*, 2022,29(10):7816-7831.
- [6] Cheon S Y, Kwon S. Molecular anatomy of the EML4-ALK fusion protein for the development of novel anticancer drugs[J]. *Int J Mol Sci*, 2023,24(6):5821.
- [7] 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.
- [8] Lei Y, Lei Y, Shi X, et al. EML4-ALK fusion gene in non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Lett*, 2022,24(2):277.
- [9] Elshatlawy M, Sampson J, Clarke K, et al. EML4-ALK biology and drug resistance in non-small cell lung cancer; a new phase of discoveries[J]. *Mol Oncol*, 2023,17(6):950-963.
- [10] Parikh K, Dimou A, Leventakos K, et al. Impact of EML4-ALK variants and co-occurring TP53 mutations on duration of first-line ALK tyrosine kinase inhibitor treatment and overall survival in ALK fusion-positive NSCLC: real-world outcomes from the guardant INFORM database[J]. *J Thorac Oncol*, 2024,19(11):1539-1549.
- [11] Fu Y, Liu Q, Wang X, et al. Clinical difference on the variants and co-mutation in a Chinese cohort with ALK-positive advanced non-small cell lung cancer[J]. *Clin Transl Oncol*, 2024,26(10):2513-2521.
- [12] Li L, Li W, Wu C, et al. Real-world data on ALK rearrangement test in Chinese advanced non-small cell lung cancer (RATICAL): a nationwide multicenter retrospective study[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2024,44(9):992-1004.
- [13] Maione P, Palma V, Pucillo G, et al. Targeting ALK receptors in non-small cell lung cancer: what is the road ahead? [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2024,28(8):659-668.
- [14] Liu Q, Huang Q, Yu Z, et al. Clinical characteristics of non-small cell lung cancer patients with EGFR mutations and ALK&ROS1 fusions[J]. *Clin Respir J*, 2022,16(3):216-225.
- [15] Shi J, Gu W, Zhao Y, et al. Clinicopathological and prognostic significance of EML4-ALK rearrangement in patients with surgically resected lung adenocarcinoma: a propensity score matching study[J]. *Cancer Manag Res*, 2020,12:589-598.
- [16] Cai Y, Chen T, Zhang S, et al. Correlation exploration among CT imaging, pathology and genotype of pulmonary ground-glass opacity[J]. *J Cell Mol Med*, 2023,27(14):2021-2031.
- [17] Chen M F, Chaft J E. Early-stage anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive lung cancer: a narrative review[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2023,12(2):337-345.
- [18] Tan A C, Tan D. Targeted therapies for lung cancer patients with oncogenic driver molecular alterations[J]. *J Clin Oncol*, 2022,40(6):611-625.
- [19] Schneider J L, Lin J J, Shaw A T. ALK-positive lung cancer: a moving target[J]. *Nat Cancer*, 2023,4(3):330-343.
- [20] Yang C, Zeng R, Zha Y, et al. Case report: clinical complete response in advanced ALK-positive lung squamous cell carcinoma: a case study of successful anti-PD-1 immunotherapy post ALK-TKIs failure[J]. *Front Immunol*, 2024,15:1360671.
- [21] Solomon B J, Bauer T M, Mok T, 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.
- [22] Li M S, Ou S I. Iruplinkib (WX-0593), the seventh ALK tyrosine kinase inhibitor approved in the People's Republic of China with more to come[J]. *J Thorac Oncol*, 2024,19(6):855-857.
- [23] Balasundaram A, Doss G. 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*, 2023,10:1306046.
- [24] Lu Y, Fan Z, Zhu S J, et al. A new ALK inhibitor overcomes resistance to first- and second-generation inhibitors in NSCLC[J]. *EMBO Mol Med*, 2022,14(1):e14296.
- [25] Cheng X, Liu J, Hu Q, et al. A novel secondary ALK gene mutation which resistant to second-generation TKIs: a case report and literature review [J]. *Front Oncol*, 2024,14:1430350.
- [26] Jang C, Sabari J. Combinatorial therapy is a safe and durable treatment option in ALK-rearranged non-small cell lung cancer with an acquired MET exon 14 skipping mutation mediated resistance to alectinib; a case report[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2023,12(12):2558-2564.
- [27] Gonzalez-Martinez D, Roth L, Mumford T R, et al. Oncogenic EML4-ALK assemblies suppress growth factor perception and modulate drug tolerance[J]. *Nat Commun*, 2024,15(1):9473.
- [28] Nakazawa M, Harada G, Ghanem P, et al. Impact of tumor-intrinsic molecular features on survival and acquired tyrosine kinase inhibitor resistance in ALK-positive NSCLC [J]. *Cancer Res Commun*, 2024,4(3):786-795.
- [29] Villa M, Malighetti F, Sala E, et al. New pan-ALK inhibitor-resistant EML4: ALK mutations detected by liquid biopsy in lung cancer patients [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2024,8(1):29.
- [30] Diaz-Jimenez A, Ramos M, Helm B, et al. Concurrent inhibition of ALK and SRC kinases disrupts the ALK lung tumor cell proteome [J]. *Drug Resist Updat*, 2024,74:101081.
- [31] Hu Q Q, Rensing Rix L L, Desai B, et al. Cancer-asso-

- ciated fibroblasts confer ALK inhibitor resistance in EML4-ALK -driven lung cancer via concurrent integrin and MET signaling[J]. *bioRxiv*, doi:10.1101/2024.08.27.609975.
- [32] Qin Z, Sun H, Yue M, et al. Phase separation of EML4-ALK in firing downstream signaling and promoting lung tumorigenesis[J]. *Cell Discov*, 2021,7(1):33.
- [33] Qin Z, Yue M, Tang S, et al. EML4-ALK fusions drive lung adeno-to-squamous transition through JAK-STAT activation[J]. *J Exp Med*, 2024,221(3):e20232028.
- [34] 杨燕,陈丹,朱红革. 非小细胞肺癌中免疫检查点及免疫治疗中细胞亚群的异质性[J]. *国际老年医学杂志*, 2024,45(6):653-661.  
Yang Y, Chen D, Zhu H G, Study on the Heterogeneity of cell subpopulations in immunotherapy and immune checkpoints in non-small cell lung cancer[J]. *Int J Geriatr*,2024,45(6):653-661.
- [35] Desai A, Lovly C M. Strategies to overcome resistance to ALK inhibitors in non-small cell lung cancer; a narrative review [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2023, 12 (3): 615-628.
- [36] Marrugal Á, Ferrer I, Quintanal-Villalonga Á, et al. Inhibition of HSP90 in driver oncogene-defined lung adenocarcinoma cell lines; key proteins underpinning therapeutic efficacy[J]. *Int J Mol Sci*, 2023,24(18):13830.
- [37] Kim M, Ju H M, Song J Y, et al. HER3 overexpression; a predictive marker for poor prognosis in advanced ALK-positive non-small cell lung cancer treated with ALK inhibitors [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2024,13(2):321-333.
- [38] Sampson J, Ju H M, Zhang N, et al. Targeting ERBB3 and AKT to overcome adaptive resistance in EML4-ALK-driven non-small cell lung cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2024,15(12):912.
- [39] Papageorgiou S, Pashley S L, O'Regan L, et al. Microtubule association of EML4-ALK V3 is key for the elongated cell morphology and enhanced migration observed in V3 Cells[J]. *Cells*, 2024,13(23):1954.
- [40] Pashley S L, Papageorgiou S, O'Regan L, et al. The mesenchymal morphology of cells expressing the EML4-ALK V3 oncogene is dependent on phosphorylation of Eg5 by NEK7[J]. *J Biol Chem*, 2024,300(5):107144.
- [41] Kong S T, 杨永鹏,张进芳,等. 液体活检实时精准诊断老年肿瘤的临床应用价值[J]. *国际老年医学杂志*, 2020,41(1):50-56.  
Kong S T, Yang Y P, Zhang J F, et al. Application of liquid biopsy in real-time accurate diagnosis of tumor in the elderly[J]. *Int J Geriatr*, 2020,41(1):50-56.
- [42] Arndt A, Neumann C, Riecke A, et al. Molecular tumor board; molecularly adjusted therapy upon identification and functional validation of a novel ALK resistance mutation in a case of lung adenocarcinoma [J]. *Oncologist*, 2025,30(1):oyae143.
- [43] Liang S K, Liao W Y, Shih J Y, et al. Clinical utility and predictive value of cerebrospinal fluid cell-free DNA profiling in non-small cell lung cancer patients with leptomeningeal metastasis[J]. *Neoplasia*, 2025,60:101113.
- [44] Yang Y, Zhang Y, Zhou S, et al. Establishment of potential reference measurement procedure and reference materials for EML4-ALK fusion variants measurement [J]. *Sci Rep*, 2024,14(1):24543.

## 片语健康

### 降糖的骨骼肌

运动时骨骼肌的主要能量来自血糖，主要是葡萄糖。骨骼肌是利用血糖的最大人体器官，因此也是维持正常血糖水平的主要器官。胰岛素的刺激和机械牵拉调控骨骼肌利用/处理葡萄糖<sup>[1]</sup>。

通过运动牵拉骨骼肌是预防/治疗 2 型糖尿病的“基石”疗法。运动促进葡萄糖的输送、跨膜和代谢（糖酵解和糖氧化），可使骨骼肌利用/处理葡萄糖的效率提高 50 倍<sup>[2]</sup>。

在约 250 万年的进化长途，人类的骨骼肌牵拉是基本生存之道。获取猎物要牵拉、逃逸扑杀要牵拉、耕作收获要牵拉……持续了近 250 万年的牵拉使人类获得了近乎完美的骨骼肌及工作基因。在人的骨骼肌细胞中，超过 1 000 个磷酸化位点受牵拉调节，这表明骨骼肌利用/处理葡萄糖的调节非常复杂，蕴藏着进化的完美和神秘<sup>[2]</sup>。

100 多年来，人类聪明反被聪明误，骨骼肌的牵拉时间越来越少（久坐少动），结果处理不好血糖了。

#### 参考文献

- [1] Draicchio F, Behrends V, Tillin N A, et al. Involvement of the extracellular matrix and integrin signalling proteins in skeletal muscle glucose uptake[J]. *J Physiol*, 2022,600(20):4393-4408.
- [2] Sylow L, Kleinert M, Richter E A, et al. Exercise-stimulated glucose uptake-regulation and implications for glycaemic control [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2017,13(3):133-148.

(作者:于永利)