

KIF5B-RET 融合基因在非小细胞肺癌中的研究进展

乔洪源¹, 欧阳学农², 余宗阳²

(1. 福建医科大学福总临床医学院, 福建 福州 350025;

2. 南京军区福州总医院, 福建 福州 350025)

摘要: KIF5B-RET 融合基因存在于部分非小细胞肺癌 (NSCLC) 中, 是除 EGFR、k-ras、EML4-ALK 驱动基因之外另一个重要的酪氨酸激酶抑制剂作用靶点。该融合基因在不吸烟或少量吸烟、腺癌、无 EGFR 及 k-ras 突变、无 EML4-ALK 融合基因的 NSCLC 患者中发生率较高, 并且对 RET 抑制剂 (如凡德他尼) 有较好的治疗反应。全文就 KIF5B-RET 融合基因的基本结构、功能、检测及其在 NSCLC 中的研究进展进行综述。

关键词: 融合基因; 癌, 非小细胞肺; 靶向治疗; KIF5B; RET

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2013)10-0750-04

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2013.10.B002

Research Progress on KIF5B-RET Fusion Gene in Non-small Cell Lung Cancer

QIAO Hong-yuan¹, OUYANG Xue-nong², YU Zong-yang²

(1. Clinical Institute of Fuzhou, General Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350025, China; 2. Fuzhou General Hospital of Nanjing Command, Fuzhou 350025, China)

Abstract: KIF5B-RET fusion gene presents in some non-small cell lung cancer (NSCLC), which is another important molecular target of tyrosine kinase inhibitors in addition to EGFR, k-ras and EML4-ALK driving genes. This fusion gene has a higher morbidity rate in NSCLC patients with no or light smoking history, with adenocarcinoma, without EGFR and k-ras mutations and without EML4-ALK fusion gene. They have shown good response to RET inhibitors, such as vandetanib. In this paper, basic structure, function, detection and research advance of KIF5B-RET fusion gene are reviewed.

Subject words: fusion gene; carcinoma, non-small cell lung; targeted therapy; KIF5B; RET

目前, 肺癌是肿瘤相关死亡率较高的恶性肿瘤之一, 其中约 80% 为非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC)^[1]。绝大多数患者确诊时已为晚期, 无手术机会, 放化疗是其主要治疗手段, 尽管技术不断提高, 但其预后仍然很差, 5 年生存率徘徊在 15% 左右^[2]。近年来, 分子靶向治疗以其特异性强而不良反应小的特点已成为肿瘤治疗领域中的研究热点。在 NSCLC 中, 以吉非替尼为代表的表皮生长因子酪氨酸激酶抑制剂 (EGFR-TKI) 引领其靶向治疗的新趋势^[3]。

吸烟是肺癌的一个主要致病因素, 在西方国家

有 85%~90% 的肺癌患者是由吸烟造成的^[4]。但是, 世界上仍有约 25% 的肺癌患者不具有吸烟史, 研究表明不具有吸烟史而发生肺癌绝大多数是由相关驱动基因造成的^[5]。在过去的十年里, 随着肿瘤分子生物学的飞跃发展, 与 NSCLC 相关的一系列驱动基因被发现, 主要包括 EGFR、k-ras 和 EML4-ALK, 这 3 种驱动基因常常被称为肺癌靶向治疗的 3 个靶标^[6]。但是, 仍有超过 40% 的 NSCLC 患者未发现其驱动基因^[7]。KIF5B-RET 融合基因于 2011 年在 1 例 NSCLC 患者的肝脏转移灶中被首次发现^[8], 并被业界认为可能成为 NSCLC 另一个重要的酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 作用靶点。现就 KIF5B-RET 融合基因在 NSCLC 中的研究进展作如下综述。

通讯作者: 欧阳学农, 主任医师, 硕士生导师, 博士; 南京军区福州总医院肿瘤科, 福建省福州市西二环北路 156 号 (350025); E-mail: oyxn@public.fz.fj.cn

收稿日期: 2013-04-01; **修回日期:** 2013-05-17

1 *RET* 和 *KIF5B* 的结构和功能

RET 基因位于 10 号染色体 q11.2 区,其来源于转染过程中两个不相连 DNA 序列的重组^[9]。其表达产物 *RET* 蛋白为酪氨酸激酶受体,是由 1 114 个氨基酸组成的蛋白聚合体,该蛋白聚合体包含 3 种亚型,其中较大的亚型在 C-末端含有 51 个氨基酸残基,其余两种依次含有 43 个和 9 个氨基酸残基。整个蛋白聚合体包括 3 个结构区,即胞外与配体结合的结构区,胞内具有酪氨酸蛋白激酶活性的结构区以及连接这两个区域的富含半胱氨酸的跨膜部分。胞内结构区可以使受体胞浆部分发生自身磷酸化。胞外结构区含有一个钙黏蛋白区,钙黏蛋白是一种钙离子依赖黏附蛋白,它与钙离子的结合,对于维持配体结合区与配体结合后的构象稳定有重要意义。*RET* 基因在胚胎时期对胃肠神经系统和肾脏的发育起至关重要的作用^[10],其在正常肺组织中的表达水平非常低^[11]。

KIF5B 基因位于 10 号染色体 p11.22 区,其表达产物 *KIF5B* 蛋白为驱动蛋白家族一员,由 9 634 个氨基酸组成,主要包括 4 个结构域,即在 ATP 结合和催化水解过程中起重要作用的马达结构域,包括超螺旋部分的二聚化结构域,连接马达结构域和二聚化结构域的颈链以及两条重链和轻链共同构成的尾部。*KIF5B* 蛋白在胞内运输、有丝分裂、细胞形成等方面起着重要作用^[12]。

KIF5B-RET 融合基因编码的 *KIF5B-RET* 融合蛋白是一种嵌合的酪氨酸激酶,由 *KIF5B* 蛋白 N 末端 638 个氨基酸残基以及 *RET* 蛋白 C 末端的 402 个氨基酸残基组成,包括 *RET* 基因编码的具有酪氨酸蛋白激酶活性的结构区以及 *KIF5B* 基因编码的超螺旋结构域及马达结构域。*KIF5B-RET* 融合蛋白的超螺旋结构域能发生同源二聚化,激活胞内酪氨酸激酶蛋白,开启致癌信号通路,主要通过 Ras-Raf-MAPK 途径及 PI3K-Akt 途径调节细胞的生长和分化^[13]。

2 *KIF5B-RET* 融合基因的检测

目前常用的 *KIF5B-RET* 融合基因的检测方法主要有免疫组织化学法(immunohistochemistry,IHC)、逆转录聚合酶链反应法(reverse transcription poly-

merase chain reaction,RT-PCR)、荧光原位杂交方法(fluorescence in situ hybridization,FISH)。IHC 主要通过检测 *RET* 蛋白的表达来确定有无融合,该方法操作简单,但敏感性较低,且不能确定具体 *RET* 融合基因类型。RT-PCR 检测主要针对 *RET*,其敏感性高并且诊断迅速,但对 RNA 要求较高且受多种因素的影响。Sasaki 等^[14]利用 RT-PCR 对 157 例 NSCLC 患者的 *RET* 进行检测,发现 *RET* mRNA 在癌组织(6.359 ± 15.268)和癌旁正常组织(8.205 ± 28.931)间的表达水平不具有显著性差异($P=0.6332$),但癌组织与癌旁正常组织之比(tumor/normal,T/N)在 *KIF5B-RET* 融合基因阳性的患者(161.763 ± 123.488)与野生型患者(5.901 ± 17.148)间具有显著性差异($P=0.044$),提示 *RET* mRNA 的 T/N 对判断 *KIF5B-RET* 融合基因阳性具有一定的指导意义。FISH 是通过将放射性或非放射性的外源核酸与组织、细胞或染色体上待测 DNA 或 RNA 互补配对,结合成特定的核酸杂交分子,经特殊的检测手段将待测核酸在组织、细胞或染色体上的位置显示出来,其特异性及敏感性均较高,但价格昂贵。

3 肿瘤中的 *RET* 融合基因

RET 融合基因最初由 Alberti 等^[15]在甲状腺乳头状癌中发现,研究发现其主要是由 *RET* 基因重排造成的。Roque 等^[16]对 94 例分化性甲状腺癌患者的核型进行分析发现,37 例(39.3%)有 10 号染色体重排。Alberti 等^[15]研究发现多内分泌腺瘤病(multiple endocrine neoplasia,MEN)主要也是由 *RET* 基因突变所致,主要包括 MEN 2A 和 MEN 2B 两种类型。另外,在前列腺癌、胰腺癌及黑色素瘤中也观察到了 *RET* 融合基因的存在^[17-19]。Portella 等^[20]研究表明 *RET* 融合基因不仅仅只在甲状腺上皮细胞表达。然而迄今为止,*RET* 融合基因在肺癌中的研究仍未得到足够重视。Takeuchi 等^[21]通过对 1 529 例肺癌标本进行检测,发现存在 14 例 *RET* 基因重排,提示其可能是下一个肺癌靶向治疗的靶标。

4 *KIF5B-RET* 在 NSCLC 组织中的表达

目前关于 *KIF5B-RET* 融合基因的临床研究主

要在美国和日本开展,中国学者陈海泉等也进行了类似的研究。在肺癌中,*KIF5B-RET*融合基因主要存在于腺癌患者中,其发生比例约为1%~2%^[6]。Kohno等^[22]对234例肺鳞状细胞癌、17例肺大细胞癌及20例肺小细胞癌的检测,均未发现*KIF5B-RET*融合基因的存在。Yokota等^[23]在101例肺鳞状细胞癌中均未检测出*KIF-RET*融合基因,而检测出含有该融合基因的3例患者均为肺腺癌。Cai等^[24]在392例NSCLC患者中检测出有6例存在*KIF5B-RET*融合基因,其中4例为腺癌,1例为鳞状细胞癌,1例为神经内分泌癌。Wang等^[25]研究发现936例NSCLC患者中有13例存在*RET*融合基因,分别为9例*KIF5B-RET*,3例*CCDC6-RET*,1例*NCOA4-RET*融合基因,其中11例为肺腺癌(84.6%,11/13),2例为腺鳞癌(15.4%,2/13),其最终研究结果显示我国NSCLC患者中转染重排(*RET*)融合基因的阳性率为1.4%,肺腺癌患者中*RET*融合基因的阳性率为1.7%。这些研究结果均提示*KIF5B-RET*融合基因在肺腺癌患者中多见。

5 *KIF5B-RET*与吸烟的相关性

*KIF5B-RET*融合基因最初是在一个不具有吸烟史的肺癌患者的肝脏转移灶中发现的。现在越来越多的数据表明*KIF5B-RET*融合基因存在于不吸烟或少量吸烟的肺癌患者中。Kohno等^[22]研究发现在*KIF5B-RET*融合基因阳性的肺腺癌患者中不吸烟者比例为85.7%(6/7)。Wang等^[25]对我国936例接受肺脏切除手术的NSCLC患者的*RET*融合基因状态进行检测,发现*RET*融合基因阳性的肺腺癌患者中不吸烟者的比例为81.8%(9/11),而在*KIF5B-RET*融合基因阳性的肺腺癌患者中不吸烟者的比例为63.6%(7/11)。这些研究结果均提示*KIF5B-RET*融合基因在不吸烟或少量吸烟患者中多见。

6 *KIF5B-RET*与*EGFR*、*k-ras*、*EML4-ALK*的相关性

多数研究结果显示*KIF5B-RET*融合基因阳性的患者*EGFR*、*k-ras*、*ALK*检测均为野生型。Ju等^[8]

在5例*EGFR*、*k-ras*、*ALK*均为野生型的肺腺癌患者中检测出1例存在*KIF5B-RET*融合基因,在15例*EGFR*及*ALK*野生型、*k-ras*基因状况未知的20例肺腺癌患者中,也检测出了1例含有*KIF5B-RET*融合基因。Lipson等^[26]研究发现在*EGFR*、*k-ras*、*ERBB2*、*BRAF*、*ALK*、*ROS1*均为野生型的NSCLC患者中,*RET*基因的融合频率高达6.3%(10/159)。这些结果为临床对肺癌患者分子靶标检测的选择提供了更好的依据,有利于临床医生更好地采用个体化治疗策略。

7 *KIF5B-RET*与性别、年龄的相关性

既往关于*EGFR*、*EML4-ALK*的研究,均显示出其与年龄和性别具有一定的相关性。但是关于*KIF5B-RET*与性别及年龄的相关性的研究,目前尚未得出统一结论。Wang等^[25]研究发现*RET*融合基因阳性的肺腺癌患者相对年轻(≤ 60 岁者占72.7%)。Kohno等^[22]研究发现7例*KIF5B-RET*融合基因阳性的肺腺癌患者中,男性占57.1%(4/7),女性占42.9%(3/7)。Yokota等^[23]检测出的3例含有*KIF5B-RET*融合基因的肺腺癌患者均为女性。

8 针对*KIF5B-RET*融合基因的靶向治疗

虽然还没有研发出针对*KIF5B-RET*融合基因的特异性靶向药物,但是一些能够抑制*RET*蛋白活性的TKI在甲状腺癌中已广泛开展临床试验,美国FDA批准凡德他尼用于治疗遗传性甲状腺髓样癌。Kohno等^[22]研究表明凡德他尼可以抑制含*KIF5B-RET*融合基因的NIH3T3肺癌细胞的生长。Lipson等^[26]研究发现转染表达*KIF5B-RET*融合基因的Ba/F3细胞显示出了*RET*的高表达和磷酸化活化,而体外研究发现多靶点药物舒尼替尼、索拉非尼和凡德他尼均能有效抑制该细胞的增殖,而吉非替尼未发现该作用。Lee等^[27]设计了ZEPHYR研究(Study44),将符合条件的924例患者随机分组(2:1)接受凡德他尼(300mg/d)或安慰剂治疗,其研究结果显示中位总生存期分别为8.5个月和7.8个月,凡德他尼组总生存率并不优于安慰剂组(风险比为0.59, $P=0.527$),

凡德他尼组无进展生存率(风险比为 0.63, $P < 0.001$)和客观缓解率优于安慰剂组(2.6%和 0.7%, $P = 0.028$)。另外一种 RET 抑制剂(cabozantinib)正在接受 II 期临床试验(NCT01639508),其报道的初始数据显示首先入组的 3 例存在 RET 融合基因的患者中,有 1 例存在 KIF5B-RET 融合基因,其疾病稳定期(SD)接近 31 周^[28]。

9 结 语

关于肺癌驱动基因方面的研究是近年来 NSCLC 靶向治疗研究的热点,针对 EGFR 突变、EML4-ALK 融合基因为靶点的 TKI 治疗,开辟了 NSCLC 治疗的新思路^[29]。但仍有 40%以上的 NSCLC 驱动基因未明^[7]。KIF5B-RET 融合基因的发现,为肺癌领域研究注入了新的活力。但是,真正类似目前 EGFR 突变、ALK 融合基因的诊断及其治疗模式的建立,还需要大量的临床前研究和高水平临床证据的支持。可以预测,在不久的将来,全球将在 KIF5B-RET 融合基因的诊断技术及药物临床试验方面开展积极探索。

参考文献:

- [1] Siegel R, Ward E, Brawley O, et al. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(4): 212-236.
- [2] Li HY, Zhou CC. Clinical significance of epidermal growth factor receptor gene mutations in non-small cell lung cancer [J]. Journal of Chinese Oncology, 2009, 15(8): 702-705. [李和颜, 周彩存. 非小细胞肺癌表皮生长因子受体基因突变的临床意义[J]. 肿瘤学杂志, 2009, 15(8): 702-705.]
- [3] Vergnenègre A, Borget I, Chouaid C. Update on the treatment of non-small-cell lung cancer: focus on the cost-effectiveness of new agents [J]. Clinicoecon Outcomes Res, 2013, 5: 137-141.
- [4] Toh CK, Gao F, Lim WT, et al. Never-smokers with lung cancer: epidemiologic evidence of a distinct disease entity [J]. J Clin Oncol, 2006, 24(15): 2245-2251.
- [5] Lee YJ, Kim JH, Kim SK, et al. Lung cancer in never smokers: change of a mindset in the molecular era [J]. Lung Cancer, 2011, 72(1): 9-15.
- [6] Johnson JL, Pillai S, Chellappan SP. Genetic and biochemical alterations in non-small cell lung cancer [J]. Biochem Res Int, 2012, 940405.
- [7] Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer [J]. Lancet Oncol, 2011, 12(2): 175-180.
- [8] Ju YS, Lee WC, Shin JY, et al. A transforming KIF5B and RET gene fusion in lung adenocarcinoma revealed from whole-genome and transcriptome sequencing [J]. Genome Res, 2012, 22(3): 436-445.
- [9] Takahashi M, Ritz J, Cooper GM. Activation of a novel human transforming gene, ret, by DNA rearrangement [J]. Cell, 1985, 42(2): 581-588.
- [10] Durbec P, Marcos-Gutierrez CV, Kilkenny C, et al. GDNF signalling through the Ret receptor tyrosine kinase [J]. Nature, 1996, 381(6585): 789-793.
- [11] Su AI, Cooke MP, Ching KA, et al. Large-scale analysis of the human and mouse transcriptomes [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(7): 4465-4470.
- [12] Rath O, Kozielski F. Kinesins and cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(8): 527-539.
- [13] Besset V, Scott RP, Ibanez CF. Signaling complexes and protein-protein interactions involved in the activation of the Ras and phosphatidylinositol 3-kinase pathways by the c-Ret receptor tyrosine kinase [J]. J Biol Chem, 2000, 275(50): 39159-39166.
- [14] Sasaki H, Shimizu S, Tani Y, et al. RET expression and detection of KIF5B/RET gene rearrangements in Japanese lung cancer [J]. Cancer Med, 2012, 1(1): 68-75.
- [15] Alberti L, Carniti C, Miranda C, et al. RET and NTRK1 proto-oncogenes in human diseases [J]. J Cell Physiol, 2003, 195(2): 168-186.
- [16] Roque L, Nunes VM, Ribeiro C, et al. Karyotypic characterization of papillary thyroid carcinomas [J]. Cancer, 2001, 92(10): 2529-2538.
- [17] Dawson DM, Lawrence EG, MacLennan GT, et al. Altered expression of RET proto-oncogene product in prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 1998, 90(7): 519-523.
- [18] Zeng Q, Cheng Y, Zhu Q, et al. The relationship between overexpression of glial cell-derived neurotrophic factor and its RET receptor with progression and prognosis of human pancreatic cancer [J]. J Int Med Res, 2008, 36(4): 656-664.
- [19] Ohshima Y, Yajima I, Takeda K, et al. c-RET molecule in malignant melanoma from oncogenic RET-carrying transgenic mice and human cell lines [J]. PLoS One, 2010, 5(4): e10279.
- [20] Portella G, Salvatore D, Botti G, et al. Development of mammary and cutaneous gland tumors in transgenic mice carrying the RET/PTC1 oncogene [J]. Oncogene, 1996, 13(9): 2021-2026.
- [21] Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer [J]. Nat Med, 2012, 18(3): 378-381.
- [22] Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma [J]. Nat Med, 2012, 18(3): 375-377.
- [23] Yokota K, Sasaki H, Okuda K, et al. KIF5B/RET fusion gene in surgically-treated adenocarcinoma of the lung [J]. Oncol Rep, 2012, 28(4): 1187-1192.
- [24] Cai W, Su C, Li X, et al. KIF5B-RET fusions in Chinese patients with non-small cell lung cancer [J]. Cancer, 2013, 119(8): 1486-1494.
- [25] Wang R, Hu H, Pan Y, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer [J]. J Clin Oncol, 2012, 30(35): 4352-4359.
- [26] Lipson D, Capelletti M, Yelensky R, et al. Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies [J]. Nat Med, 2012, 18(3): 382-384.
- [27] Lee JS, Hirsh V, Park K, et al. Vandetanib versus placebo in patients with advanced non-small-cell lung cancer after prior therapy with an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor: a randomized, double-blind phase III trial (ZEPHYR) [J]. J Clin Oncol, 2012, 30(10): 1114-1121.
- [28] Drilon A, Wang L, Hasanovic A, et al. Response to cabozantinib in patients with RET fusion-positive lung adenocarcinomas [J]. Cancer Discov, 2013. [Epub ahead of print]
- [29] Antonicelli A, Cafarotti S, Indini A, et al. EGFR-targeted therapy for non-small cell lung cancer: focus on EGFR oncogenic mutation [J]. Int J Med Sci, 2013, 10(3): 320-330.