

Aktualizacja danych dotyczących skuteczności odwracalnych inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR u chorych na NDRP z mutacjami aktywującymi genu *EGFR* z uwzględnieniem częstych i rzadkich mutacji

Paweł Krawczyk¹, Katarzyna Kałakucka²

Mutacje w genie *EGFR* stwierdza się u około 10% chorych na NDRP (niedrobnokomórkowy rak płuca) rasy kaukaskiej i u około 30–40% chorych pochodzących ze wschodniej Azji. Najczęściej diagnozowaną mutacją genu *EGFR* u chorych na NDRP jest delecja w eksonie 19 (45–50% wszystkich mutacji) oraz substytucja L858R w eksonie 21 (40–45% wszystkich mutacji). Około 10–15% stanowią rzadkie mutacje w genie *EGFR*, w tym przede wszystkim insercja w eksonie 20, substytucje G719X i E709X w eksonie 18, substytucja L861Q w eksonie 21, substytucja T790M i S768I w eksonie 20. Mutacje te doprowadzają do zmiany jednego lub kilku aminokwasów w białku kinazy tyrozynowej EGFR. Poziom aktywacji kinazy tyrozynowej oraz konformacja jej cząsteczki, a także skuteczność inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR (IKT EGFR) zależą od rodzaju mutacji. Stosowanie IKT EGFR u chorych z częstymi mutacjami genu *EGFR* (delecje w eksonie 19 i substytucja L858R) jest wskazane w I linii leczenia, a jeśli nie było takiej możliwości, to w II rzucie terapii. Nieznacznie słabszy efekt terapii IKT EGFR u chorych z substytucją L858R niż u chorych z delecjami w eksonie 19 genu *EGFR* nie upoważnia do rezygnacji z tego leczenia u chorych z mutacją L858R. Wydaje się, że leczenie za pomocą IKT EGFR u chorych z substytucją G719X, L861Q oraz ze współistnieniem rzadkich (w tym T790M) i częstych mutacji jest dobrą opcją terapeutyczną. W pozostałych przypadkach dane kliniczne o roli rzadkich mutacji w powstawaniu pierwotnej oporności na IKT EGFR są zbyt skąpe. Wydaje się, że chorzy z niektórymi wariantami insercji w eksonie 20 oraz substytucją S768I mają niewielką szansę na odpowiedź na terapię IKT EGFR, dlatego też postępowanie z chorymi z unikalnymi mutacjami w genie *EGFR* powinno być w najwyższej mierze zindywidualizowane.

Update of data on efficacy of reversible the EGFR tyrosine kinase inhibitors in patients with non-small cell lung cancer and common or rare activating mutations in *EGFR* gene

Mutations in epidermal growth factor receptor (*EGFR*) gene are detected in approximately 10% of non-small cell lung cancer (NSCLC) patients of Caucasian origin and in 30–40% patients of eastern Asian origin. The most commonly found *EGFR* mutations in NSCLC include deletions in exon 19 (45–50% of all identified mutations) and L858R substitution in exon 21 (40–45% of all mutations). Rare mutations constitute approx. 10–15% of all known *EGFR* mutations, and include insertion in exon 20, G719X and E709X substitutions in exon 18, L861Q point mutation in exon 21 as well as T790M and S768I substitutions in exon 20. These mutations lead to changes of one or several aminoacids in EGFR tyrosine kinase (TK) protein domain. The types of mutations affects the level of tyrosine kinase activity and its conformation and also the efficacy of EGFR TK inhibitors (EGFR TKIs). Administration of EGFR TKIs in patients with tumours carrying common *EGFR* mutations (deletions in exon 19 and L858R substitution) is indicated as first-line treatment or, if that was not possible, as a second line therapy. The effect of EGFR TKIs therapy in tumours carrying L858R mutation is slightly worse than in cases with deletions in exon 19 of *EGFR* gene, which however should not exclude this line of therapy in patients with the former mutation. EGFR TKIs seem to be a good therapeutic option in tumours where G719X or L861Q substitution was identified as well as in patients with coexisting rare mutations

¹Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

²Instytut Genetyki i Immunologii GENIM Sp. z o.o. w Lublinie

(included T790M) and common ones. In other cases, available clinical data on the role of rare mutations in development of primary resistance to EGFR TKIs are too scarce. Patients carrying some insertion variants in exon 20 or S768I point mutation seem to have a lesser chance to respond to EGFR TKIs therapy. Therefore, management of patients with private mutations of *EGFR* gene should be subject to utmost individualisation.

NOWOTWORY Journal of Oncology 2014; 64, 6: 504–510

Słowa kluczowe: niedrobnokomórkowy rak płuca, inhibitory kinazy tyrozynowej, *EGFR*, mutacje aktywujące
Key words: non-small cell lung cancer, tyrosine kinase inhibitors, *EGFR* gene, activating mutations

Wprowadzenie

Mutacje somatyczne w genie *EGFR* (*epidermal growth factor receptor*) w komórkach niedrobnokomórkowego raka płuca zostały opisane w roku 2004, a ich obecność natychmiast powiązano z wrażliwością tych komórek na działanie inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR (IKT EGFR) — erlotynibu i gefitynibu. Zidentyfikowano mutacje punktowe (substytucje) oraz niewielkie (od kilku do kilkunastu nukleotydów) delecje lub insercje w eksonach od 18 do 21 genu *EGFR*. Eksony te kodują wewnątrzkomórkową domenę kinazy tyrozynowej receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu, a występujące w nich mutacje są odpowiedzialne za nadmierną aktywność tej kinazy (mutacje aktywujące). Opisano także większe delecje genu *EGFR* (*EGFRvII*, *EGFRvIII*), wiążące się z utratą części zewnątrz błonowej receptora i najczęściej z obniżeniem jego aktywności [1–5].

Większość mutacji w eksonach 18–21 genu *EGFR* stanowią mutacje niesynonimiczne (mutacje zmiany sensu), które doprowadzają do zmiany jednego lub kilku aminokwasów w białku kinazy tyrozynowej. Zmiana ta dotyczy centrum katalitycznego enzymu i niesie ze sobą poważne skutki, polegające na stałej aktywacji kinazy tyrozynowej i szlaków przekazywania wewnątrzkomórkowego, odpowiedzialnych za nadmierną proliferację i zahamowanie apoptozy komórek nowotworowych. Poziom aktywacji kinazy tyrozynowej oraz konformacja jej cząsteczki zależą od rodzaju mutacji. Substytucje są zazwyczaj związane z mniejszymi zmianami w strukturze i aktywności enzymu niż delecje czy insercje, które mogą doprowadzić do zmiany „ramki odczytu” i w konsekwencji zmienić skład aminokwasowy w większym fragmencie białka. W związku z tym można się spodziewać, że efekt działania IKT EGFR u chorych na NDRP będzie zależał od rodzaju mutacji w genie *EGFR* [1–5].

Mutacje w genie *EGFR* stwierdza się u około 10% chorych na NDRP rasy kaukaskiej i u około 30–40% chorych pochodzących ze wschodniej Azji. Mutacje te występują znacznie częściej u osób niepalących lub byłych palaczy oraz u chorych na raka gruczołowego. Najczęściej diagnozowaną mutacją genu *EGFR* u chorych na NDRP jest delecja w eksonie 19 (45–50% wszystkich mutacji) oraz substytucja L858R w eksonie 21 (40–45% wszystkich mutacji). Około 10–15% stanowią rzadkie mutacje w genie *EGFR*, w tym

przede wszystkim insercje w eksonie 20 (ok. 40% rzadkich mutacji), substytucje G719X i E709X w eksonie 18 (ok. 30% rzadkich mutacji), substytucja L861Q w eksonie 21, substytucja T790M w eksonie 20 oraz substytucja S768I w eksonie 20. Ponadto do rzadkich mutacji zalicza się delecje inne niż 15 nukleotydów w eksonie 19 genu *EGFR*. U nielicznych chorych (ale aż u 50–70% chorych z rzadkimi mutacjami) dwie różne mutacje w genie *EGFR* mogą współistnieć ze sobą [1–7].

Najlepiej poznano aktywność IKT EGFR (erlotynib, gefitynib, afatynib) w I linii leczenia u chorych na miejscowo zaawansowanego i przerzutowego NDRP z częstymi mutacjami w genie *EGFR*. W licznych badaniach klinicznych wykazano, że odsetek odpowiedzi (*response ratio* — RR) na tego rodzaju terapię wynosi około 70%, a czas wolny od progresji choroby (*progression free survival* — PFS) przekracza 9–10 miesięcy. Nie udało się natomiast wykazać wydłużenia czasu życia (*overall survival* — OS) chorych leczonych odwracalnymi IKT EGFR (erlotynib, gefitynib), gdyż z uwagi na predyspozycje genetyczne większość z nich po niepowodzeniu chemioterapii otrzymało IKT EGFR (*cross-over*) [8, 9]. We wczesnych badaniach klinicznych nad zastosowaniem IKT EGFR w II linii leczenia w przeważającej mierze brali udział chorzy bez mutacji w genie *EGFR* lub niebadani na obecność tej mutacji. Na podstawie analiz retrospektywnych można jednak przyjąć, że efektywność IKT EGFR u chorych z aktywującymi mutacjami w genie *EGFR* jest niezależna od linii leczenia, a chorzy z dzikim typem genu *EGFR* nie odnoszą znamiennych korzyści z tego typu terapii [10, 11].

Odwracalne (erlotynib i gefitynib) i nieodwracalne (afatynib) IKT EGFR są nieco bardziej skuteczne u chorych z delecją w eksonie 19 niż u chorych z substytucją L858R [8, 9]. Trudno jednoznacznie sprecyzować przyczyny tego zjawiska. Po początkowo skutecznym leczeniu IKT EGFR u niemal wszystkich chorych dochodzi do progresji choroby, której przyczyną jest najczęściej pojawienie się klonów komórek nowotworowych z substytucją T790M w eksonie 20 genu *EGFR* opornych na działanie IKT EGFR [12]. Mutacja T790M po leczeniu IKT EGFR znacznie częściej jest wykrywana u chorych pierwotnie posiadających substytucję L858R niż delecje w eksonie 19. Wykazano także ograniczoną skuteczność odwracalnych IKT EGFR u chorych z innymi mutacjami

w eksonie 20 i 18 genu *EGFR*, które często współlistnieją z substytucją L858R. Ponadto struktura kinazy tyrozynowej *EGFR* jest w mniejszym stopniu zmieniona u chorych z mutacją L858R niż z delecjami w eksonie 19 genu *EGFR* [7, 12].

W ostatnich miesiącach udowodniono, że nieodwracalny IKT *EGFR* — afatynib, w porównaniu z chemioterapią I linii, istotnie wydłużał zarówno PFS, jak i czas życia chorych z delecją w eksonie 19 (pomimo *crossover*). Natomiast u chorych z substytucją L858R istotnemu wydłużeniu ulegał jedynie PFS, a czas życia wydłużał się znamienne nieistotnie. Co więcej, pojawiły się doniesienia o skuteczności afatynibu w monoterapii lub w połączeniu z cetuksymabem (przeciwciałem anti-*EGFR*) u chorych z mutacją T790M oraz z innymi rzadkimi mutacjami w genie *EGFR*. Wyniki te skłaniają do przeprowadzenia pogłębionej analizy skuteczności odwracalnych IKT *EGFR* u chorych z różnymi mutacjami w genie *EGFR* [13–15].

Skuteczność odwracalnych IKT *EGFR* u chorych z różnymi delecjami w eksonie 19 oraz substytucją L858R w eksonie 21 genu *EGFR*

W badaniu EURTAC, w którym potwierdzono skuteczność erlotynibu w I linii leczenia chorych na NDRP rasy kaukaskiej z mutacjami w genie *EGFR*, wykazano, że większą korzyść z terapii IKT *EGFR* w porównaniu z chemioterapią odnosili chorzy z delecjami w eksonie 19 (HR = 0,33) niż chorzy z substytucją L858R (HR = 0,55). Mimo że różnica ta nie była istotna statystycznie ($p = 0,075$), chorzy z delecjami w eksonie 19 leczeni erlotynibem osiągnęli medianę PFS wynoszącą 11 miesięcy, podczas gdy w grupie chorych z substytucją L858R mediana ta wynosiła tylko 8,4 miesiąca [9]. Niemal identyczną różnicę w medianie PFS pomiędzy chorymi leczonymi erlotynibem z delecjami w eksonie 19 i substytucją L858R w eksonie 21 (11,1 miesiąca vs 8,3 miesiąca) zanotowano w badaniu ENSURE, przeprowadzonym na Dalekim Wschodzie [16]. W badaniu OPTIMAL chiński chorzy z delecjami w eksonie 19 wykazywali odpowiedź na leczenie erlotynibem w 52% przypadków i żyli bez progresji choroby przez 15,3 miesiąca, natomiast chorzy z substytucją L858R odpowiadali na leczenie w 48% przypadków, a mediana PFS wynosiła u nich 12,5 miesiąca [17, 18].

Gefitynib nie wykazywał takiej różnicy w efektywności u chorych z substytucją L858R i delecjami w eksonie 19. Jedynie w badaniu IPASS mediana PFS po leczeniu gefitynibem u chorych z delecjami w eksonie 19 wynosiła 11 miesięcy, a z substytucją L858R — 9,2 miesiąca (różnica nie była istotna statystycznie) [8]. W badaniach NEJ002 oraz WJTOG różnice mediany PFS pomiędzy chorymi z delecjami w eksonie 19 i z substytucją L858R były minimalne i wynosiły odpowiednio: 11,5 vs 10,8 miesiąca (w badaniu NEJ001) oraz 9 vs 9,6 miesiąca (w badaniu WJTOG) [19, 20].

W retrospektywnej pracy Costy i wsp. wykazano ponadto, że chorzy z badania EURTAC z najczęstszą delecją

15 nukleotydów w kodonach 746–750 eksonu 19 genu *EGFR* odnosili mniejszą korzyść z terapii erlotynibem niż chorzy z rzadkimi delecjami w tym eksonie (delecje 9, 12 lub 18 nukleotydów). Chorzy z najczęstszą delecją w eksonie 19 rzadziej niż chorzy z rzadkimi delecjami odpowiadali na terapię (53,6% vs 68,7%) oraz mieli krótszą medianę PFS [21]. W innej pracy dotyczącej badania EURTAC wykazano, że 80% chorych z wysypką w stopniu umiarkowanym lub ciężkim (według *common toxicity criteria* — CTC) związaną z leczeniem erlotynibem miało delecję w eksonie 19, a tylko 20% — substytucję L858R ($p = 0,039$) [22].

Niestety, z badania EURTAC, NEJ002 i WJTOG wykluczono (ze względów metodologicznych) chorych z innymi rzadkimi mutacjami w genie *EGFR* [9, 19, 20].

Skuteczność odwracalnych IKT *EGFR* u chorych z rzadkimi mutacjami w genie *EGFR*

Badanie efektywności odwracalnych IKT *EGFR* u chorych z rzadkimi mutacjami w genie *EGFR* nigdy nie było celem dużego badania klinicznego. Wynikało to z faktu bardzo ograniczonej liczby chorych, do których takie badanie byłoby adresowane, oraz z wyboru metod biologii molekularnej wykorzystywanej do diagnostyki genu *EGFR*. W kwalifikacji chorych do leczenia erlotynibem w badaniu EURTAC posłużono się metodą *real-time* PCR oraz sondami molekularnymi, które umożliwiały wykrycie jedynie najczęstszych mutacji w genie *EGFR*. W nadaniu NEJ002 wykorzystano opracowane na potrzeby tego badania metody PCR z analizą długości fragmentów amplifikowanego DNA oraz specjalnie skonstruowane sondy molekularne (*Cycleave PCR*). W badaniu WJTOG metodą diagnostyczną był PNA (*peptide nucleic acid*) PCR *Clamp*. W badaniach NEJ002 i WJTOG, podobnie jak w badaniu EURTAC, wykrywano jedynie najczęstsze mutacje w genie *EGFR*, natomiast sekwencjonowanie bezpośrednie metodą Sangera, wykorzystane np. w badaniu OPTIMAL, mogło nie wykazywać wystarczającej czułości do wykrycia rzadkich mutacji. Co więcej, należy zachować ostrożność przy interpretacji wyników sekwencjonowania DNA, w których pojawiają się dane dotyczące występowania nieznanymi dotąd mutacji. Sekwencjonowanie jest wprowadzanie metodą umożliwiającą wykrycie wszystkich mutacji w eksonach 18–21 genu *EGFR*, ale wykazanie obecności nowej mutacji może być artefaktem (proces utrwalania tkanki nowotworowej może uszkadzać DNA) i wymaga potwierdzenia innymi technikami. Ocena skuteczności IKT *EGFR* u chorych z rzadkimi mutacjami jest dodatkowo skomplikowana z uwagi na ich częste współwystępowanie u jednego chorego (zwłaszcza z częstą mutacją L858R) lub pojawianie się rzadkich mutacji genu *EGFR* dopiero w momencie progresji po początkowo skutecznej terapii IKT *EGFR* (selekcja opornych na IKT *EGFR* klonów komórkowych). W związku z tym informacje dotyczące skuteczności odwracalnych IKT *EGFR* u chorych z rzadkimi mutacjami genu *EGFR* pochodzą

z retrospektywnych badań lub opisów przypadków i często trudno traktować leczenie gefitynibem i erlotynibem jako różne metody leczenia (autorzy łączą grupy chorych leczonych obydwooma lekami w jedną grupę z uwagi na ich niską liczebność) [23].

Wu i wsp., wśród 627 chorych rasy azjatyckiej z mutacjami w genie *EGFR*, dotychczas nieleczonych IKT *EGFR*, opisali 103 chorych (16,4%) z rzadkimi mutacjami w tym genie. Wśród 25 chorych z insercją lub duplikacją w eksonie 20 genu *EGFR* jedenastu otrzymało IKT *EGFR*, ale żaden z nich nie odniósł korzyści ze stosowania tej terapii. W grupie pozostałych 78 chorych erlotynibem było leczonych 11 pacjentów, a gefitynibem — 51 (38 chorych w I linii terapii). Odpowiedź na leczenie uzyskano u 48,4% chorych, przy czym wśród 15 chorych z substytucją G719X na terapię odpowiedziało 53,3% chorych, a wśród kolejnych 15 pacjentów z mutacją L861Q — 60% chorych. Mediany PFS w tych grupach chorych wynosiły odpowiednio: 5, 8,1 oraz 6 miesięcy, a mediana czasu życia przekroczyła 15 miesięcy. Zaznaczyć należy, że mutacje te często współwystępowały ze sobą lub z częstymi mutacjami w genie *EGFR* albo też z innymi rzadkimi mutacjami w tym genie (około 70% chorych). Chorzy z mutacjami E709X oraz S768I rzadko odnosili korzyść z leczenia IKT *EGFR* (RR — 20%), a mediana PFS u tych ośmiu pacjentów wynosiła zaledwie 1,6 miesiąca. Autorzy konkludują, że wyniki leczenia w grupie chorych z rzadkimi mutacjami w genie *EGFR* (zwłaszcza G719X i L861Q) były tylko nieco gorsze niż u chorych z częstymi mutacjami w genie *EGFR* (RR — 74,1%, mediana PFS — 8,5 miesiąca, mediana OS — 19,6 miesiąca) [24]. Na uwagę zasługuje fakt, że aktywujące mutacje G719X i L861Q są obecnie rutynowo badane w celu kwalifikacji do leczenia IKT *EGFR* w większości laboratoriów genetycznych przy wykorzystaniu czułych (1–10% komórek nowotworowych w badanych materiałach) testów *real-time* PCR, posiadających certyfikat CE-IVD.

Podobne wyniki do wyżej zacytowanych uzyskali Mitsudomi i wsp., którzy odnotowali 5 odpowiedzi na terapię IKT *EGFR* w grupie 9 chorych z mutacją G719X (55,6%) [25]. Kobayashi i wsp. stwierdzili, że chorzy z mutacją G719X i L861Q odnoszą korzyść z terapii erlotynibem stosowanym w I linii leczenia. W grupie 79 chorych z mutacjami w genie *EGFR* autorzy opisali 11 chorych (14%) ze współwystępowaniem różnych mutacji tego genu. Trzech chorych z mutacją G719X i jej współwystępowaniem z substytucjami S768I i E709A oraz jeden chory ze współwystępowaniem mutacji L861Q i E709A odpowiedziało na terapię erlotynibem, a czas trwania odpowiedzi wahał się od 5 do 8 miesięcy. Odpowiedź na leczenie zanotowano także u chorego ze współwystępowaniem rzadkiej delecji w eksonie 19 i substytucji R776S (20 miesięcy) oraz u dwóch chorych ze współwystępowaniem mutacji L858R i L747V oraz R776H. Natomiast, chora ze współwystępowaniem mutacji L858R i A871G nie odniosła korzyści z leczenia erlotynibem [26]. Inne badanie dotyczące

chorych rasy azjatyckiej z mutacjami w genie *EGFR* zostało wykonane przez Keama i wsp. W grupie 306 chorych z mutacjami w genie *EGFR* autorzy zdiagnozowali 32 chorych z rzadkimi mutacjami tego genu, w tym między innymi: 1,2% chorych z mutacją G719A, 1,2% chorych z substytucją L816Q oraz 7,3% chorych, u których współwystępowały różne mutacje genu *EGFR* (między innymi E709G, insercje w eksonie 20 czy S768I). Gefitynib w różnych liniach leczenia otrzymało 28 chorych z rzadkimi mutacjami, a erlotynib — 4 takich chorych. 68,8% chorych, u których częste mutacje współwystępowały z rzadkimi, odpowiedziało na leczenie IKT *EGFR*, a mediana PFS wynosiła u nich 8,1 miesiąca, natomiast odpowiedź na leczenie u chorych ze współwystępowaniem rzadkich mutacji nie była częsta i wynosiła 25%, przy czasie życia bez progresji poniżej 2 miesięcy. Odsetek odpowiedzi u chorych z najczęstszymi rzadkimi mutacjami G719A i L861Q wynosił odpowiednio 33,3% oraz 50% (w sumie 8 chorych) [27].

Największe badanie dotyczące częstości występowania rzadkich mutacji w genie *EGFR* i skuteczności IKT *EGFR* u chorych rasy kaukaskiej przeprowadziła grupa naukowców z French National Cancer Institute. W grupie 1047 chorych z mutacjami w genie *EGFR* (10% badanej populacji) Beau-Faller i wsp. zdiagnozowali 41 chorych (10% chorych z mutacjami) posiadających mutację w eksonie 18 (głównie G719X i E709X, 4% chorych z mutacjami), 49 pacjentów z mutacjami w eksonie 20 (głównie insercje, 5%) oraz 12 chorych ze współwystępowaniem różnych mutacji w genie *EGFR* (1%). 22 mutacje zostały opisane po raz pierwszy. Większość chorych z mutacjami w eksonie 18 paliła papierosy, natomiast chorzy z insercjami w eksonie 20 byli najczęściej niepalącymi. Większość chorych otrzymywała erlotynib w II linii terapii. Odpowiedź na leczenie wystąpiła u 15% chorych, a progresja — u 53% pacjentów z rzadkimi mutacjami w genie *EGFR*. Odpowiedź na leczenie u chorych z pojedynczą mutacją w eksonie 18 lub 20 była rzadsza niż u chorych ze współwystępowaniem dwóch mutacji, zwłaszcza z udziałem jednej częstej mutacji (4,5% vs 57%). Wśród chorych z insercją w eksonie 20 najczęściej dochodziło do szybkiej progresji choroby, ale pomimo opisywanej w literaturze pierwotnej oporności na IKT *EGFR* związanej z obecnością tej mutacji, u 24,4% chorych udało się uzyskać kontrolę choroby, a u dwóch chorych nawet odpowiedź na terapię. Różnice w efektywności IKT *EGFR* u chorych z insercjami w eksonie 20 zależą prawdopodobnie od wariantu tych insercji, których opisano aż 18, natomiast substytucje w obrębie eksonu 20 wiązały się najczęściej z pierwotną opornością na terapię IKT *EGFR*. 45,5% chorych z substytucją G719X lub współistnieniem tej substytucji z mutacją G709A w eksonie 18 wykazywało kontrolę choroby. Chociaż substytucja S768I opisywana jest jako związana z opornością na IKT *EGFR*, dwóch chorych ze współistnieniem tej substytucji z mutacją G719X i L858R wykazywało odpowiednio remisję

i kontrolę choroby w trakcie leczenia erlotynibem. W 3 przypadkach współwystępowanie mutacji S768X z innymi mutacjami wiązało się z progresją choroby. Najdłuższą medianę czasu życia zanotowano u chorych z mutacjami w eksonie 18 (22 miesiące) w porównaniu z 9,5 miesiąca u chorych z mutacjami w eksonie 20 i 14 miesiącami u chorych ze współistnieniem dwóch mutacji [7].

W znacznie mniejszym badaniu Kerner i wsp. w grupie 474 chorych rasy kaukaskiej zdiagnozowali 38 chorych (10,8%) z mutacjami w genie *EGFR*, w tym 6 chorych z rzadkimi mutacjami tego genu (15,8% chorych z mutacjami w genie *EGFR*). Chorzy z mutacjami L833F i A840T w genie *EGFR* współwystępującymi z mutacją w genie *KRAS* oraz K708N, V769M i D770GY tylko w genie *EGFR* nie odnieśli korzyści z leczenia erlotynibem lub gefitynibem, stosowanych w II lub kolejnych liniach leczenia. Częściowa odpowiedź na leczenie erlotynibem wystąpiła jedynie u chorego ze współwystępowaniem substytucji G719C i mutacji D770GY genu *EGFR* (15 miesięcy PFS) [28].

Wśród unikalnych mutacji związanych z niską wrażliwością komórek nowotworowych na IKT EGFR i wtórną opornością na terapię tymi lekami, Costa i wsp. oraz Wu i wsp. wymieniają substytucje L747S, L747P i A871E, współwystępujące z mutacją L858R oraz V769M współwystępującą z delecją w eksonie 19. Chorzy z tego rodzaju mutacjami nie odpowiedzieli na leczenie IKT EGFR, natomiast u jednego chorego, z mutacjami L747S i L858R, udało się uzyskać odpowiedź na leczenie erlotynibem po niepowodzeniu terapii gefitynibem [24, 29].

Kancha i wsp. w eksperymencie *in vitro* stwierdzili, że linie komórek nowotworowych z mutacjami G719S lub L861Q są nieznacznie mniej wrażliwe na działanie erlotynibu niż linie komórek z częstymi mutacjami w genie *EGFR*, natomiast linie komórek nowotworowych z mutacjami D761Y i T854A współwystępującymi z mutacją L858R (komórki te pojawiają się po terapii IKT EGFR, a ich obecność wiąże się z wtórną opornością na takie leczenie) oraz S768I i V769M są wprowadzane na drogę apoptozy dopiero przez bardzo wysokie dawki IKT EGFR. Natomiast linie komórkowe ze współwystępowaniem mutacji L858R i E709X, L858R i L838V, G719S i S768I oraz G719C i E709A są tak samo wrażliwe na IKT EGFR, jak linie komórkowe tylko z mutacją L858R lub G719X [12, 30].

Pierwotna i wtórna oporność na odwracalne IKT EGFR związana z obecnością mutacji T790M w eksonie 20 genu *EGFR*

Substytucja T790M genu *EGFR* jest związana z niską wrażliwością komórek nowotworowych na działanie odwracalnych IKT EGFR i przypuszcza się, że jej obecność jest odpowiedzialna za większość progresji obserwowanych w trakcie terapii tymi lekami. Pierwotnie, przed leczeniem IKT EGFR mutację tę wykrywa się u 1–5% chorych na NDRP.

Natomiast u chorych progresujących po początkowo skutecznej terapii IKT EGFR, obecność tej mutacji stwierdza się u 50–80% chorych. Coraz więcej faktów przemawia jednak za tym, że mutacja T790M jest obecna pierwotnie w niewielkim odsetku komórek nowotworowych, a terapia inhibitorami kinazy tyrozynowej EGFR selekcjonuje klony komórkowe zawierające tę mutację, eliminując klony z częstymi mutacjami w genie *EGFR*. Jak wynika z powyższego opisu, mutacja T790M nie jest wykrywana jako pojedyncza nieprawidłowość genu *EGFR*, ale współistnieje z innymi mutacjami tego genu, najczęściej L858R. W warunkach *in vitro* komórki ze współwystępowaniem mutacji T790M i L858R są wprowadzane na drogę apoptozy przez erlotynib lub gefitynib o stężeniu wielokrotnie większym niż w przypadku komórek z wyłączną mutacją L858R [15].

Istnieje kilka badań dowodzących, że brak możliwości wykrycia mutacji T790M wiąże się ze zbyt małą czułością metod biologii molekularnej. Oh i wsp., metodą PNA PCR *Clamp*, wykryli mutację T790M u 8,2% chorych na NDRP, Maheswaran i wsp., metodą SARMS (*scorpion amplification refractory mutation system*) *real-time* PCR — u 38% chorych nieleczonych IKT EGFR, Inukai i wsp., metodą ME-PCR (*mutant enriched* PCR) — u 3,2% pacjentów, a Su i wsp., metodą MALDI-TOF MS (*matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry*) — u 27,8% chorych nieleczonych IKT EGFR [31–34]. Nasze badanie, z wykorzystaniem specyficznych sond molekularnych i techniki *real-time* PCR, pozwoliło na wykrycie pierwotnej mutacji T790M u 3,5% polskich chorych na NDRP [35].

Maheswaran i wsp. zastosowali monoterapię erlotynibem lub gefitynibem u 16 chorych z częstymi mutacjami w genie *EGFR* oraz u 10 pacjentów ze współistnieniem częstych mutacji i substytucji T790M. Autorzy zaobserwowali krótszy czas do progresji w grupie z mutacją T790M niż w grupie bez tej mutacji (7,7 vs 16,5 miesiąca). Podobne wyniki uzyskali Su i wsp., którzy leczyli IKT EGFR 73 chorych, w tym 33 chorych z częstymi mutacjami genu *EGFR*, 23 chorych ze współistnieniem częstych mutacji tego genu i pierwotnej substytucji T790M oraz 17 chorych z dzikim typem genu *EGFR*. Mediana PFS u chorych z mutacją T790M była krótsza niż u chorych ze zdiagnozowaną jedną częstą mutacją, ale dłuższa niż u chorych bez mutacji w genie *EGFR* (odpowiednio: 6,7; 10,2 oraz 1,6 miesiąca) [32]. Yu i wsp. wykryli mutację T790M u 20 pacjentów spośród 2774 azjatyckich chorych na NDRP (0,7%), wykorzystując rutynowe testy diagnostyczne. Mutacja ta występowała wspólnie z substytucją L858R (16 chorych) lub delecją w eksonie 19 (4 chorych). 13 chorych z mutacją T790M otrzymało terapię erlotynibem, ale tylko u jednego z nich zaobserwowano remisję, a u kolejnych 4 — stabilizację choroby. Pacjent otrzymujący erlotynib w I linii leczenia pozostawał w remisji przez 5 miesięcy, jednak mediana PFS dla całej grupy leczonej tym lekiem wynosiła zaledwie 1,5 miesiąca [36].

W badaniu OPTIMAL znalazł się tylko jeden chory z mutacją T790M leczony w I linii erlotynibem, ale zanotowano u niego natychmiastową progresję choroby [17].

Istnieją także doniesienia o wysokiej skuteczności leczenia IKT EGFR u chorych ze współistnieniem częstych mutacji genu *EGFR* oraz substytucji T790M. W badaniu Keama i wsp. 80% chorych (4 pacjentów) odpowiedziało na tego rodzaju terapię, a mediana PFS wynosiła 8 miesięcy [27]. We francuskim badaniu Beau-Faller i wsp. był tylko jeden chory ze współistnieniem substytucji L858R i T790M, z dobrą odpowiedzią na leczenie erlotynibem [7]. Należy zauważyć, że IKT EGFR wykazują aktywność u większości chorych nawet po zanotowaniu u nich progresji. Leczenie po progresji stwierdzanej według kryteriów RECIST (*Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*) opóźnia wystąpienie dramatycznego wzrostu guza i konieczność zastosowania chemioterapii, natomiast zaniechanie terapii IKT EGFR u chorych z mutacjami w genie *EGFR*, progresujących pomimo tego leczenia, skutkuje bardzo szybką progresją i rozsiewem nowotworowym (*disease flare*) [37, 38]. Co więcej, powrót do leczenia IKT EGFR u chorych, u których doszło do progresji po początkowo skutecznym leczeniu inhibitorami i następnie otrzymujących chemioterapię lub leczenie cytotoredukcyjne (radioterapia, zabieg operacyjny), okazuje się dla wielu pacjentów najlepszą opcją terapeutyczną [39]. W Polsce terapię IKT EGFR są finansowane ze środków publicznych jedynie u chorych, którzy wcześniej nie otrzymywali tego rodzaju leczenia bez względu na status genu *EGFR*.

Podsumowanie

Według obowiązującego w Polsce programu lekowego refundacja leczenia erlotynibem dla chorych na gruczolowego raka płuca jest możliwa po stwierdzeniu mutacji aktywującej genu *EGFR* w komórkach raka. Wszystkie omawiane mutacje są mutacjami aktywującymi, gdyż powodują nadmierną aktywność kinazy tyrozynowej EGFR. Przedstawione dane wskazują, że stosowanie IKT EGFR u chorych z częstymi mutacjami genu *EGFR* (delecje w eksonie 19 i substytucja L858R) jest wskazane w I linii leczenia, a jeśli nie było takiej możliwości, to w II rzucie leczenia. Nieznacznie słabszy efekt leczenia IKT EGFR u chorych z substytucją L858R niż u chorych z delecjami w eksonie 19 genu *EGFR* nie upoważnia do rezygnacji z leczenia IKT EGFR u chorych z mutacją L858R. Natomiast przy kwalifikacji chorych z rzadkimi mutacjami genu *EGFR* do terapii odwracalnymi IKT EGFR wskazana jest ostrożność. Wydaje się, że leczenie I linii za pomocą odwracalnych IKT EGFR u chorych z substytucją G719X, L861Q oraz ze współistnieniem rzadkich (w tym T790M) i częstych mutacji genu *EGFR* jest dobrą opcją terapeutyczną. W pozostałych przypadkach dane kliniczne o roli rzadkich mutacji w powstawaniu pierwotnej oporności na IKT EGFR są zbyt skąpe, żeby odważyć się na wyrokowanie zasad postępowania u takich chorych. Wydaje się, że

chory z niektórymi wariantami insercji w eksonie 20 oraz substytucją S768I mają niewielką szansę na odpowiedź na terapię odwracalnymi IKT EGFR. Inne rzadkie mutacje są najczęściej niewykrywane w rutynowej diagnostyce molekularnej, gdyż większość laboratoriów posługuje się testami z certyfikatem CE-IVD, zawierającymi sondy molekularne specyficzne do mutacji występujących z częstością większą niż 1% poznanych mutacji w genie *EGFR*. W dobie coraz szerszego wykorzystania technik *next-generation sequencing* należy się jednak spodziewać coraz częstszego wykrywania unikalnych lub nawet nieznanymi mutacji w genie *EGFR*. W takich przypadkach postępowanie z chorymi powinno być w najwyższej mierze zindywidualizowane, a rodzaj leczenia powinien być dostosowany do aktualnej wiedzy, w tym do dostępności do leków będących przedmiotem doświadczeń w badaniach klinicznych.

Konflikt interesu:

Paweł Krawczyk

Boehringer Ingelheim, AstraZeneca, Eli Lilly — komitet doradczy

Abbott, Roche, Eli Lilly, AstraZeneca, Boehringer Ingelheim, BMS, MSD — wykład

Katarzyna Kałakucka — brak konfliktu interesu

Prof. dr hab. n. med. Paweł Krawczyk

Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii

Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

ul. Jaczewskiego 8, 20-954 Lublin

e-mail: krapa@poczta.onet.pl

Przyjęto do druku: 22 października 2014 r.

Piśmiennictwo

1. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R i wsp. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004; 350: 2129–2139.
2. Paez JG, Jänne PA, Lee JC i wsp. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304: 1497–1500.
3. Pao W, Miller V, Zakowski M i wsp. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from 'never smokers' and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 13306–13311.
4. Pao W, Miller VA. Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell lung cancer: current knowledge and future directions. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2556–2568.
5. Sharma SV, Bell DW, Settleman J i wsp. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 169–181.
6. Rosell R, Moran T, Queralt C i wsp. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 958–967.
7. Beau-Faller M, Prim N, Ruppert AM i wsp. Rare EGFR exon 18 and exon 20 mutations in non-small-cell lung cancer on 10117 patients: a multicenter observational study by the French ERMETIC-IFCT network. *Ann Oncol* 2014; 25: 126–131.
8. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S i wsp. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2009; 361: 947–957.
9. Rosell R, Carcereny E, Gervais R i wsp. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13: 239–246.
10. Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T i wsp. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2005; 353: 123–132.
11. Douillard JY, Shepherd FA, Hirsh V i wsp. Molecular predictors of outcome with gefitinib and docetaxel in previously treated non-small cell

- lung cancer: data from the randomized phase III INTEREST trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 744–752.
12. Krawczyk P, Mlak R, Powrózek T i wsp. Mechanisms of resistance to reversible inhibitors of EGFR tyrosine kinase in non-small cell lung cancer. *Contemp Oncol* 2012; 16: 401–406.
 13. Sequist LV, Yang JCH, Yamamoto N i wsp. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol* 2013; 31: 3327–3334.
 14. Yang JCH, Sequist LV, Schuler MH i wsp. Overall survival (OS) in patients (pts) with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) harboring common (Del19/L858R) epidermal growth factor receptor mutations (EGFR mut): Pooled analysis of two large open-label phase III studies (LUX-Lung 3 [LL3] and LUX-Lung 6 [LL6]) comparing afatinib with chemotherapy (CT). *J Clin Oncol* 2014; 32:5: abstr 8004.
 15. Nicos M, Krawczyk P, Milanowski J. Detection of T790M substitution in EGFR gene in treatment detection in non-small cell lung cancer patients. *Onkol Pol* 2013; 16: 131–136.
 16. Wu YL, Liam CK, Zhou C i wsp. First-line erlotinib versus cisplatin/gemcitabine (GP) in patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (NSCLC): interim analyses from the phase 3, open-label, ENSURE study. *J Thorac Oncol* 2013; 8 (suppl. 2): abstr. P1.11-021.
 17. Wu YL, Zhou C, Chen G i wsp. First biomarker analyses from phase III, randomised, open-label, first-line study of erlotinib versus carboplatin (CBDCA) plus gemcitabine (GEM) in Chinese patients (pts) with advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC) with EGFR activating mutations (OPTIMAL, CTONG 0802). *Annals Oncol* 2010; 21 (suppl. 8): abstr. VIII6.
 18. Zhou C, Wu YL, Liu X i wsp. Preliminary overall survival (OS) results from OPTIMAL (CTONG0802), a phase III trial of erlotinib versus carboplatin (CBDCA) plus gemcitabine (GEM) as a first-line treatment for Chinese patients with EGFR mutation-positive advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2012; 30 (suppl): abstr. 7520.
 19. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K i wsp. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med* 2010; 362: 2380–2388.
 20. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y i wsp. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2010; 11: 121–128.
 21. Costa F, Tarin M, Queral C i wsp. Differential progression free survival (PFS) to erlotinib according to EGFR exon 19 deletion type in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients (p) in the EURTAC study. *J Clin Oncol* 2012; 30 (suppl): abstr. 7540.
 22. Buges C, Marti M, Rosell R i wsp. Skin toxicity associated with outcome to erlotinib in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients (p) with EGFR mutations in EURTAC study. *J Clin Oncol* 2012; 30 (suppl): abstr. 7542.
 23. Sebastian M, Schmittl A, Reck M. First-line treatment of EGFR-mutated non-small cell lung cancer: critical review on study methodology. *Eur Respir Rev* 2014; 23: 92–105.
 24. Wu JY, Yu CJ, Chang YC i wsp. Effectiveness of tyrosine kinase inhibitors on “uncommon” epidermal growth factor receptor mutations of unknown clinical significance in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3812–3821.
 25. Mitsudomi T, Yatabe Y. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene and related genes as determinants of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors sensitivity in lung cancer. *Cancer Sci* 2007; 98: 1817–1824.
 26. Kobayashi S, Canepa HM, Bailey AS i wsp. Compound EGFR mutations and response to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *J Thorac Oncol* 2013; 8: 45–51.
 27. Keam B, Kim DW, Park JH i wsp. Rare and complex mutations of epidermal growth factor receptor and efficacy of tyrosine kinase inhibitor in patients with non-small cell lung cancer. *Int J Clin Oncol* 2014; 19: 594–600.
 28. Kerner GS, Schuurings E, Sietsman J i wsp. Common and rare EGFR and KRAS mutations in a Dutch non-small cell lung cancer population and their clinical outcome. *PLoS One* 2013; 8: e70346.
 29. Costa DB, Schurer ST, Tenen TG i wsp. Differential response to erlotinib in epidermal growth factor receptor (EGFR)-mutated lung cancers with acquired resistance to gefitinib carrying the L747S or T790M secondary mutations. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1182–1184.
 30. Kancha RK, von Bubnoff N, Peschel C i wsp. Functional analysis of epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations and potential implications for EGFR targeted therapy. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 460–467.
 31. Oh JE, An CH, Yoo NJ i wsp. Detection of low-level EGFR T790M mutation in lung cancer tissues. *APMIS* 2011; 119: 403–411.
 32. Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S i wsp. Detection of mutations in EGFR in circulating lung cancer cells. *N Engl J Med* 2008; 359: 366–377.
 33. Inukai M, Toyooka S, Ito S i wsp. Presence of epidermal growth factor receptor gene T790M mutation as a minor clone in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 7854–7858.
 34. Su KY, Chen HY, Li KC i wsp. Pretreatment epidermal growth factor receptor (EGFR) T790M mutation predicts shorter EGFR tyrosine kinase inhibitor response duration in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30: 433–440.
 35. Powrózek T, Krawczyk P, Jarosz B i wsp. The application of real-time PCR technique to detect rare cell clones with primary T790M substitution of EGFR gene in metastases of non-small cell lung cancer to central nervous system in chemotherapy naive patients. *Pathol Oncol Res* 2014; 20: 945–951.
 36. Yu HA, Arcila ME, Hellmann MD i wsp. Poor response to erlotinib in patients with tumors containing baseline EGFR T790M mutations found by routine clinical molecular testing. *Annals Oncol* 2014; 25: 423–428.
 37. Park K, Tsai CM, Ahn M i wsp. ASPIRATION: Phase II study of continued erlotinib beyond RECIST progression in Asian patients (pts) with epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation-positive non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2012; 30 (suppl): abstr TPS7614.
 38. Faehling M, Eckert R, Kamp T i wsp. EGFR-tyrosine kinase inhibitor treatment beyond progression in long-term Caucasian responders to erlotinib in advanced non-small cell lung cancer: a case-control study of overall survival. *Lung Cancer* 2013; 80: 306–312.
 39. Weickhardt AJ, Scheier B, Burke JM i wsp. Local ablative therapy of oligoprogressive disease prolongs disease control by tyrosine kinase inhibitors in oncogene-addicted non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2012; 7: 1807–1814.