

## 非小细胞肺癌 EGFR-TKIs 获得性耐药机制研究进展

赵燕, 胡莹莹

广东医科大学基础医学院病理生理学教研室, 广东湛江 524002

**摘要:** 非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是肺癌的主要病理类型, 约占肺癌的 85%, 严重威胁人类健康。表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂 (epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs) 的快速研发与应用使成千上万的 NSCLC 患者受益。然而大部分患者不可避免地会对 EGFR-TKIs 产生获得性耐药, 最终导致疾病进展、复发和死亡。本综述重点关注 NSCLC 患者 EGFR-TKIs 靶向治疗获得性耐药分子机制的研究进展, 以期为 EGFR-TKIs 耐药相关基础研究和临床治疗研究提供参考。

**关键词:** 非小细胞肺癌; 表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂; 获得性耐药; 肿瘤微环境; 铁死亡

**中图分类号:** R320.67

**文献标志码:** A

**文章编号:** 2095-5227(2023)11-1280-06

**DOI:** 10.12435/j.issn.2095-5227.2023.084

**引用本文:** 赵燕, 胡莹莹. 非小细胞肺癌 EGFR-TKIs 获得性耐药机制研究进展 [J]. 解放军医学院学报, 2023, 44 (11): 1280-1285.

### Research advances in mechanism of acquired resistance to EGFR-TKIs in non-small cell lung cancer

ZHAO Yan, HU Yingying

Department of Pathophysiology, School of Basic Medicine, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524002, Guangdong Province, China

Corresponding author: HU Yingying. Email: 13560810253@163.com

**Abstract:** As the main pathological type of lung cancer, non-small cell lung cancer (NSCLC) accounts for 85% of lung cancer, and threatens human health seriously. The rapid development of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs) has benefited thousands of the patients with NSCLC. Unfortunately, acquired resistance to EGFR TKIs is inevitable, eventually resulting in disease progression, recurrence and death. This review focuses on the latest research advances in the mechanism of acquired resistance to EGFR-TKIs in patients with NSCLC.

**Keywords:** non-small cell lung cancer; epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors; acquired resistance; tumor microenvironment; ferroptosis

**Cited as:** Zhao Y, Hu YY. Research advances in mechanism of acquired resistance to EGFR-TKIs in non-small cell lung cancer [J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2023, 44 (11): 1280-1285.

肺癌是世界范围内发病率和死亡率均位居前列的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>, 其中非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是主要病理类型, 约占 85%<sup>[2]</sup>。表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 突变是 NSCLC 中最常见的致癌驱动因子, 约占 NSCLC 患者的 1/3, 也是目前 NSCLC 分子靶向治疗的关键靶点。吉非替尼、厄洛替尼等一代表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂 (epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs), 可逆性结合 EGFR 酪氨酸激酶结构域, 抑制下游信号磷酸化激活; 二代

EGFR-TKIs (阿法替尼、达克替尼) 则与酪氨酸激酶活化区域不可逆性结合, 对信号通路的阻滞作用更强; 三代 EGFR-TKIs (奥希替尼、拉泽替尼) 可同时靶向 EGFR 敏感突变和 EGFR 基因 20 号外显子 T790M 耐药突变。但可惜的是, 大部分患者仍会在 1 年内不可避免地出现获得性耐药。明确 EGFR-TKIs 耐药机制及关键分子, 并针对性开发新的靶向药物和治疗策略, 是突破 EGFR-TKIs 耐药瓶颈的首要前提。

EGFR-TKIs 获得性耐药机制目前明确包括 EGFR 依赖性耐药和 EGFR 非依赖性耐药。EGFR 基因 20 号外显子的 T790M 位点突变是 EGFR 依赖性耐药的常见原因, 也是一/二代 EGFR-TKIs 的主要耐药机制<sup>[3]</sup>。三代 EGFR-TKIs 药物如奥希替尼虽可以同时靶向 T790M 耐药突变和 EGFR 敏感

收稿日期: 2022-09-20

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金项目 (A2021243)

作者简介: 赵燕, 女, 在读硕士。研究方向: 肿瘤耐药机制/中药抗肿瘤机制研究。Email: 18437920263@163.com

通信作者: 胡莹莹, 女, 博士。Email: 13560810253@163.com

突变, 但 M790 突变位点丢失、C797S、L792X、G796S、L718Q 位点突变均可阻碍奥希替尼与靶点结合, 导致奥希替尼 EGFR 依赖性耐药<sup>[4]</sup>。EGFR 非依赖性耐药主要是旁路信号通路激活, 如 MET、HER2、FGFR1、IGF1R 基因扩增等。其中 MET 基因扩增最为常见, 占 EGFR-TKIs 获得性耐药病例的 5%~10%。MET 是一种跨膜受体酪氨酸激酶, 可激活 PI3K/AKT 信号通路, 绕过 EGFR 介导耐药。此外, EGFR 下游信号通路异常激活, 如 KRAS 突变激活 MAPK 信号通路、PI3KCA 突变激活 PI3K/AKT/mTOR 通路、PTEN 缺失活化 PI3K/AKT 信号通路等均为 EGFR 非依赖性耐药的机制<sup>[5]</sup>。除了以上这些比较明确的机制外, 近年来越来越多的研究显示组织学转化、肿瘤干细胞、肿瘤免疫微环境、表观遗传调控、铁死亡也是 NSCLC 产生 EGFR-TKIs 获得性耐药的可能机制。下面重点阐述这五个方面的相关研究进展。

## 1 组织学转化

### 1.1 上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)

EMT 是指细胞从上皮表型向间充质表型转化, 从而赋予肿瘤细胞更强的侵袭能力、耐药性和肿瘤干细胞特性。奥希替尼耐药肺腺癌细胞克隆表现出典型的间充质表型, 如细胞形态改变, 上皮标记物 E-cadherin、CDH1 表达减少, 间充质标记物 Vimentin、ZEB1、ZEB2 表达增加<sup>[6-7]</sup>。在肺癌亲代细胞中敲低 E-cadherin 诱导吉非替尼耐药性, 而在耐药细胞中敲低 Vimentin 则会产生相反的效果<sup>[8]</sup>。EMT 介导耐药独立于 T790M 突变、MET 扩增等其他耐药机制, 且 EMT 具有可逆性, 理解 EMT 介导耐药的分子机制有助于恢复 NSCLC 对 EGFR-TKIs 的敏感性。Raouf 等<sup>[9]</sup>对 EGFR-TKIs 耐药患者活检得到的间充质细胞进行了全基因组 CRISPR 筛选, 确定成纤维生长因子受体 (fibroblast growth factor receptors, FGFR) 信号在 EMT 介导耐药中的主导作用; EGFR-TKIs 联合 FGFR 抑制剂可抑制耐药克隆的生长以及异种移植小鼠 TKIs 获得性耐药。EGFR-TKIs 诱导 NSCLC 细胞分泌转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ ), 细胞长期暴露于 TGF- $\beta$  中可激活 Smad 通路促进 EMT 发生, 从而诱导 EGFR-TKIs 耐药<sup>[10]</sup>。Du 等<sup>[11]</sup>研究也表明, miR-625-3p/AXL 轴通过 TGF- $\beta$ 1/Smad3 信号通路调控 EMT 介导 NSCLC 细胞对吉非替尼耐药。Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路是促进 EMT 的关键分子。SOX9 和 LHX6 通过靶向  $\beta$ -catenin 促进肺癌细胞出现

EMT 表型, 诱导对吉非替尼、厄洛替尼耐药<sup>[12-13]</sup>。此外, Notch 信号通路、Hedgehog 信号通路、IGF1R 信号通路的激活都被证实在 EMT 介导 NSCLC 对 EGFR-TKIs 的耐药中发挥重要作用<sup>[14-16]</sup>。

### 1.2 小细胞肺癌 (small cell lung cancer, SCLC) 转化

Sequist 等<sup>[17]</sup>对 EGFR-TKIs 耐药患者重复活检, 病理结果显示 14%(5/37) 的患者从 NSCLC 转化为 SCLC。Yu 等<sup>[18]</sup>在一项前瞻性研究中发现, 155 例 EGFR-TKIs 耐药的 NSCLC 患者中, 4 例 (3%) 出现了 SCLC 转化。SCLC 转化后的细胞无论是基因表达还是药物敏感性都更接近经典 SCLC 细胞。例如, 与经典的 SCLC 细胞相似, EGFR 突变型 SCLC 转化细胞也缺乏 EGFR 表达, 说明尽管保留了 EGFR 突变, 但 EGFR 蛋白表达抑制, 使得患者较难从 EGFR-TKIs 中获益, 反而对铂类、依托泊苷和紫杉醇治疗有所反应, 这也说明患者 EGFR-TKIs 治疗进展重新活检是必要的。EGFR-TKIs 治疗后发生 SCLC 转化的机制尚不明确。Niederst 等<sup>[19]</sup>研究表明, RB1 的失活和 EGFR 的表达下降是 SCLC 转化的重要特征。Lee 等<sup>[20]</sup>则发现 TP53 和 RB1 均失活的肺腺癌克隆出现 SCLC 转化, 认为这两种基因失活可能成为转化的预测标记物。相似的结论也出现在 Marcoux 等<sup>[21]</sup>的研究中, 但除了 TP53 和 RB1 失活, 该研究还认为 PIK3CA 突变也是 SCLC 转化的可能机制。近年报道显示 Notch 和 ASCL1 信号通路作为 SCLC 神经内分泌分化的主要调控因子, 也在 TP53 和 RB1 失活的 SCLC 转化中发挥重要作用<sup>[22]</sup>。

## 2 肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs)

CSCs 是具有自我更新和分化能力的细胞, 癌症传统治疗往往不能清除 CSCs, 从而导致 CSCs 介导的临床复发。越来越多的数据表明, EGFR-TKIs 初始治疗后, 肿瘤中一小群具有干细胞特性的细胞富集增加, 成为 NSCLC 患者 EGFR-TKI 耐药的重要原因。紧密连接蛋白 Claudin1 诱导 AKT 信号磷酸化激活, 增强 NSCLC 细胞干性特征, 包括增加干性标志物 Oct4、Nanog、Sox2、CD133、ALDH1A1 的表达和肿瘤球的形成, 诱导细胞对吉非替尼耐药<sup>[23]</sup>。ZEB1 在 EGFR 突变型 NSCLC 患者中高表达, 且可提高肺癌细胞中 CD133<sup>+</sup>和 BMI1<sup>+</sup> CSCs 亚群比例, 诱导裸鼠对吉非替尼的耐药<sup>[24]</sup>。P21 激活激酶 2 磷酸化激活  $\beta$ -catenin 并增加  $\beta$ -catenin 的核定位, 导致  $\beta$ -catenin 表达和转录活性增加, 进而增强肺癌细胞的干性特征并诱导奥西替尼耐药<sup>[25]</sup>。Yang 等<sup>[26]</sup>研究发现, 有氧运

动可以改善 EGFR-TKIs 耐药性。因为持续吉非替尼刺激可提高肺腺癌细胞的氧化应激水平,降低抗氧化能力,导致 HIF-1 和 ALDH1 高表达, CSCs 富集,降低吉非替尼反应性。而耐药动物进行有氧运动可以降低活性氧 (reactive oxygen species, ROS),减少 CSCs,恢复细胞对吉非替尼的敏感性。全反式维甲酸 (all-trans-retinoic acid, ATRA) 也可显著抑制吉非替尼耐药肺癌细胞的生长,机制为耐药细胞中 ALDH1<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup> CSCs 增多, ATRA 降低 ALDH 活性和 CD44 表达,抑制 CSCs 诱导耐药,因此 ATRA 联合吉非替尼可能是克服 CSCs 介导 TKIs 耐药的一种治疗策略<sup>[27]</sup>。如果能够明确 EGFR-TKIs 诱导 NSCLC 细胞获得干性特性的分子机制,就可开发针对性靶向药物,改善 EGFR-TKIs 耐药。

### 3 肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME)

近年来,免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICIs) 在 NSCLC 治疗中取得的良好效果让越来越多的研究关注 TME 与 EGFR-TKIs 耐药的关系,探讨 ICIs 对 EGFR-TKIs 耐药患者的有效性。Isomoto 等<sup>[28]</sup>回顾性分析了 138 例非 T790M 突变、EGFR-TKIs 耐药非小细胞肺癌患者的肿瘤微环境,发现 FOXP3<sup>+</sup> Tregs 细胞减少, PD-L1 表达升高, CD8<sup>+</sup> 肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocytes, TILs) 密度升高,为 ICIs 治疗提供了良好的条件。另一项回顾性分析显示 96 例 EGFR 突变 NSCLC 患者在 TKIs 治疗进展后,立即接受 ICIs 治疗的患者相比延后接受 ICIs 治疗的患者表现出更好的总生存获益 [中位总生存期 (median overall survival, mOS): 15.1 个月 vs 8.4 个月]; 而且以 ICIs 为基础的联合治疗优于 ICIs 单药治疗 (mOS: 14.4 个月 vs 7.0 个月); 其中 PD-L1 高表达、EGFR L858R 突变与较好的 PFS 显著相关<sup>[29]</sup>。Deng 等<sup>[30]</sup>临床试验表明 ICIs 联合无铂单药化疗改善了 EGFR-TKIs 耐药 NSCLC 患者的无进展生存期 (progression free survival, PFS) 和总体缓解率 (overall response rate, ORR), 且严重不良事件发生率较低。

然而,有研究显示 EGFR-TKIs 耐药的 NSCLC 患者并不能从 ICIs 治疗中获益,可能与 EGFR 突变肿瘤非炎症性微环境、低免疫原性和免疫抑制成分增加相关<sup>[31-32]</sup>。EGFR 突变肿瘤过度表达免疫抑制因子 TGF- $\beta$ 、IL-10 等,抑制 NK 细胞的活性,抑制效应 CD8<sup>+</sup> T 细胞的招募,促进 Treg 细胞浸润<sup>[33-34]</sup>。且 TKIs 治疗后可显著降低小鼠模型

中 CD3<sup>+</sup> 淋巴细胞 PD-1、CTLA-4 和 TIM-3 表达,同时招募髓系来源免疫抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 至肿瘤部位<sup>[35]</sup>。这些 TME 改变均不利于 ICIs 的治疗。早前 Checkmate057 和 KEYNOTE010 临床研究就表明, EGFR-TKIs 耐药的 NSCLC 患者接受 ICIs 治疗,并没有总生存 (overall survival, OS) 获益<sup>[36-37]</sup>。近年一项纳入 178 例 NSCLC 病例的回顾性研究显示, EGFR-TKIs 耐药后 ICIs 联合化疗组与单纯化疗组的 PFS 无统计学差异,且单独 ICIs 治疗组的 PFS 甚至比单纯化疗组更短<sup>[38]</sup>。此外 WJOG8515L 前瞻性临床试验结果也显示, PD-1 抑制剂 Nivolumab 对 EGFR-TKIs 耐药患者的治疗效果远不如化疗 (中位无进展生存期: 1.7 个月 vs 5.6 个月)<sup>[39]</sup>。

总之, EGFR-TKIs 耐药 ICIs 后是否有效存在争议,如何筛选出可能受益于免疫治疗的耐药患者显得更加关键。Haratani 等<sup>[40]</sup>发现, EGFR-TKIs 耐药的 NSCLC 肿瘤患者如果 T790M 突变阴性,更可能从 Nivolumab 治疗中受益,因为 T790M 突变阴性组较阳性组具有更高的 PD-L1 和肿瘤突变负荷水平。Shi 等<sup>[41]</sup>在吉非替尼耐药肺腺癌患者中确立了一个包含耐药基因 DDIT4、OAS3 和 FSCN1 的独立预后模型。在模型划分的高危患者中,免疫检查点 PD-L1、PD-L2、IDO1、B7H3 表达水平升高,提示该模型在预测 EGFR-TKIs 耐药后免疫治疗方面可能具有一定的价值。然而目前研究仍不足,需要更多基础和临床数据来指导制定一个强有力的筛选标准。

### 4 表观遗传学调控

表观遗传学指影响细胞表型而不影响 DNA 序列的变化,如 DNA 甲基化、组蛋白修饰等。NSCLC 细胞在 EGFR-TKIs 药物的持续压力下,可通过表观遗传修饰改变相关蛋白的表达水平和功能,从而诱导细胞耐药<sup>[42]</sup>。

**4.1 DNA 甲基化与 EGFR-TKIs 耐药** DNA 甲基化是指在 DNA 甲基转移酶的催化下将甲基连接于 DNA,从而影响基因的表达。有研究报道,奥希替尼治疗后疾病进展的 NSCLC 患者血浆游离 DNA (cell free DNA, cfDNA) 中抑癌基因 Wnt 抑制因子-1 (Wnt inhibitory factor-1, WIF-1) 的 DNA 甲基化水平显著升高,提示上述基因可能与奥希替尼耐药性有关<sup>[43]</sup>。Shen 等<sup>[44]</sup>实验也证实,吉非替尼敏感的 NSCLC 患者 cfDNA 中 WIF-1 启动子甲基化水平较低,而 WIF-1 低甲基化的患者 PFS 和 OS 更佳;抑制 WIF-1 甲基化可减弱吉非替尼耐药

细胞的活性,说明 WIF-1 甲基化影响吉非替尼的耐药性。Su 等<sup>[45]</sup>对 79 例晚期肺腺癌患者在接受 EGFR-TKI 治疗前进行了肿瘤全基因组 DNA 甲基化分析,发现 HOXB9 增强子区 DNA 高甲基化患者对 EGFR-TKIs 药物反应性较差,且 HOXB9 甲基化预测 EGFR-TKIs 药物反应的敏感度达 88%。因此该研究认为 HOXB9 甲基化可能是一种生物标志物,有助于区分 TKIs 耐药和敏感患者。鉴于 DNA 甲基化对 EGFR-TKIs 耐药的影响,去甲基化可能成为逆转耐药的治疗策略。Hou 等<sup>[46]</sup>发现 DNA 甲基转移酶抑制剂地西他滨可逆转抑癌基因 RASSF1A 和 GADD45 $\beta$  启动子的甲基化状态,上调两者蛋白水平,部分恢复吉非替尼耐药肺癌细胞对药物的敏感性。目前 DNA 甲基化已经逐渐成为肿瘤诊断或预后的生物标志物。正常细胞与癌细胞的 DNA 甲基化模式有显著差异,检测血液中 cfDNA 甲基化修饰改变已经有望作为癌症早期的筛查指标。而 EGFR 依赖性和非依赖性 TKIs 耐药患者之间, DNA 甲基化也存在不同模式。因此寻找 DNA 甲基化标记物有助于筛选 EGFR-TKIs 治疗受益的 NSCLC 患者,以及针对耐药患者开发新的治疗策略,强化精准医疗。

**4.2 组蛋白乙酰化与 EGFR-TKIs 耐药** 组蛋白是构成核小体的主要成分。组蛋白的氨基末端尾部发生翻译后修饰(如乙酰化),调控相应基因的表达,与肺癌发生发展、耐药等恶性表型密切相关。越来越多研究表明,组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylases inhibitor, HDACi)能够逆转 NSCLC 对 EGFR-TKIs 的获得性耐药。Tanimoto 等<sup>[47]</sup>发现 Vorinostat 能够逆转因促凋亡基因 Bim 缺失导致的奥希替尼耐药。LBH589 与奥希替尼联用可协同降低奥希替尼耐药肺癌细胞(包括 C797S 突变细胞系)的存活率,诱导耐药细胞的凋亡,机制为 LBH589 增强耐药细胞中 Bim 的表达<sup>[48]</sup>。Quisinostat 降低 ZEB1 表达、提高 E-cadherin 表达,恢复肺癌耐药克隆细胞对奥希替尼的敏感性<sup>[9]</sup>。GCIJ-490A 促进 IKK $\alpha$  启动子上组蛋白乙酰化,增强 IKK $\alpha$  的转录从而下调 c-Met 表达,与吉非替尼联用起到协同抗肿瘤作用<sup>[49]</sup>。Cao 等<sup>[50]</sup>发现 SAHA 可提高自噬抑制因子 EZH2 表达,与吉非替尼或奥希替尼联用可提高药物敏感性。以上研究提示 HDACi 有望成为 NSCLC 患者 EGFR-TKIs 耐药治疗的候选药物。

## 5 铁死亡

铁死亡是一种由毒性脂质活性氧积累引起的

非凋亡、依赖铁的细胞死亡形式。谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)、溶质载体家族 7 成员 11(SLC7A11)、核因子 E2 相关因子 2(NRF2) 是铁死亡网络的关键负性调控蛋白<sup>[51]</sup>。吉非替尼和奥希替尼耐药的肺腺癌细胞中 GPX4 的 mRNA 和蛋白表达显著上调;靶击 GPX4 可诱导肺癌细胞出现铁死亡从而克服 EGFR-TKIs 耐药<sup>[52]</sup>。此外,铁死亡诱导剂 Erastin 抑制 EGFR-TKIs 耐药细胞的增殖;联用 HDACi Vorinostat 可显著增强 Erastin 的铁死亡诱导效应,机制在于 Vorinostat 阻断 Erastin 诱导 SLC7A11 代偿性上调<sup>[53]</sup>。醛缩酮还原酶家族 1 成员 B1(AKR1B1)与 STAT3 相互作用,上调 SLC7A11,导致胱氨酸的摄取增加,促进谷胱甘肽从头合成和 ROS 清除,增强肺癌细胞对奥希替尼的耐受性;抑制 AKR1B1 可恢复耐药细胞对药物的敏感性<sup>[54]</sup>。NRF2 是细胞抗氧化应激反应的重要分子,它在 EGFR-TKI 耐药的肺癌细胞中上调 GPX4 和 SOD2 以维持细胞氧化还原状态,避免细胞遭受 ROS 应激损伤,诱导 EGFR-TKIs 耐药,靶击 NRF2-GPX4/SOD2 轴则可恢复耐药细胞对 EGFR-TKIs 的敏感性<sup>[55]</sup>。降低细胞内氧化应激水平,清除 ROS 是肿瘤细胞耐药的重要机制;相反,铁死亡诱导脂质过氧化物和高浓度 ROS 堆积,促进了细胞氧化应激损伤死亡。因此诱导 EGFR-TKIs 耐药细胞铁死亡不失为解决 EGFR-TKIs 耐药的可行策略。

EGFR-TKIs 获得性耐药是 NSCLC 患者临床治疗亟需解决的难题。耐药机制的复杂性决定了解决方案的多样性。如针对 EGFR 依赖性耐药开发四代 EGFR-TKIs (BLU-945 和 BLU-701) 靶向 T790M/C797S 突变。而对于 EGFR 非依赖性耐药采用联合治疗策略,如奥希替尼联用一、二代 EGFR-TKIs 克服 T790M 和 C797S 突变耐药;EGFR-TKIs 联用 MET 抑制剂、HER 抑制剂、抗血管药物等。未来仍需对耐药肿瘤进行更深入的全基因组 DNA、RNA 和蛋白质分析,揭示 EGFR-TKIs 获得性耐药的更多机制,以期针对性开发 EGFR-TKIs 耐药后 EGFR 突变 NSCLC 的有效治疗模式。

**作者贡献** 赵燕:文献总结,文章撰写;胡莹莹:总体构思,监督指导,审读和修订。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突。

## 参考文献

- 1 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality

- worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68 ( 6 ) : 394-424.
- 2 Arrieta O, Lazcano E. Lung cancer. Epidemiology, diagnosis and treatment [J]. *Salud Publica Mex*, 2019, 61 ( 3 ) : 217-218.
- 3 夏媛媛, 张国庆, 胡毅. 非小细胞肺癌患者T790M突变致酪氨酸激酶的耐药机制及用药策略 [J]. *解放军医学院学报*, 2016, 37 ( 8 ) : 897-900.
- 4 Xu J, Wang J, Zhang S. Mechanisms of resistance to irreversible epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors and therapeutic strategies in non-small cell lung cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 ( 52 ) : 90557-90578.
- 5 Nagano T, Tachihara M, Nishimura Y. Mechanism of resistance to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors and a potential treatment strategy [J]. *Cells*, 2018, 7 ( 11 ) : 212.
- 6 Fukuda K, Takeuchi S, Arai S, et al. Glycogen synthase kinase-3 inhibition overcomes epithelial-mesenchymal transition-associated resistance to osimertinib in EGFR-mutant lung cancer [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111 ( 7 ) : 2374-2384.
- 7 Jiang XM, Xu YL, Yuan LW, et al. TGF $\beta$ 2-mediated epithelial-mesenchymal transition and NF- $\kappa$ B pathway activation contribute to osimertinib resistance [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42 ( 3 ) : 451-459.
- 8 Weng CH, Chen LY, Lin YC, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) beyond EGFR mutations per se is a common mechanism for acquired resistance to EGFR TKI [J]. *Oncogene*, 2019, 38 ( 4 ) : 455-468.
- 9 Raouf S, Mulford IJ, Frisco-Cabanos H, et al. Targeting FGFR overcomes EMT-mediated resistance in EGFR mutant non-small cell lung cancer [J]. *Oncogene*, 2019, 38 ( 37 ) : 6399-6413.
- 10 Soucheray M, Capelletti M, Pulido I, et al. Intratumoral heterogeneity in EGFR-mutant NSCLC results in divergent resistance mechanisms in response to EGFR tyrosine kinase inhibition [J]. *Cancer Res*, 2015, 75 ( 20 ) : 4372-4383.
- 11 Du WW, Sun L, Liu T, et al. The miR-625-3p/AXL axis induces non-T790M acquired resistance to EGFR-TKI via activation of the TGF- $\beta$ /Smad pathway and EMT in EGFR-mutant non-small cell lung cancer [J]. *Oncol Rep*, 2020, 44 ( 1 ) : 185-195.
- 12 Tripathi SK, Biswal BK. SOX9 promotes epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor resistance via targeting  $\beta$ -catenin and epithelial to mesenchymal transition in lung cancer [J]. *Life Sci*, 2021, 277: 119608.
- 13 Wang Q, Liao JR, He ZY, et al. LHX6 affects erlotinib resistance and migration of EGFR-mutant non-small-cell lung cancer HCC827 cells through suppressing Wnt/ $\beta$ -catenin signaling [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 10983-10994.
- 14 Li K, Peng ZY, Gao S, et al. M6A associated TSUC7 inhibition contributed to Erlotinib resistance in lung adenocarcinoma through a Notch signaling activation dependent way [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40 ( 1 ) : 325.
- 15 Chen HL, Yang DH, Wang YC, et al. Activation of the Hedgehog pathway mediates resistance to epidermal growth factor receptor inhibitors in non-small cell lung cancer [J]. *J Cancer*, 2022, 13 ( 3 ) : 987-997.
- 16 Guerard M, Robin T, Perron P, et al. Nuclear translocation of IGF1R by intracellular amphiregulin contributes to the resistance of lung tumour cells to EGFR-TKI [J]. *Cancer Lett*, 2018, 420: 146-155.
- 17 Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, et al. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors [J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3 ( 75 ) : 75ra26.
- 18 Yu HA, Arcila ME, Rekhtman N, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19 ( 8 ) : 2240-2247.
- 19 Niederst MJ, Sequist LV, Poirier JT, et al. RB loss in resistant EGFR mutant lung adenocarcinomas that transform to small-cell lung cancer [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6377.
- 20 Lee JK, Lee J, Kim S, et al. Clonal history and genetic predictors of transformation into small-cell carcinomas from lung adenocarcinomas [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35 ( 26 ) : 3065-3074.
- 21 Marcoux N, Gettinger SN, O'Kane G, et al. EGFR-mutant adenocarcinomas that transform to small-cell lung cancer and other neuroendocrine carcinomas: clinical outcomes [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37 ( 4 ) : 278-285.
- 22 Koba H, Kimura H, Yoneda T, et al. NOTCH alteration in EGFR-mutated lung adenocarcinoma leads to histological small-cell carcinoma transformation under EGFR-TKI treatment [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2021, 10 ( 11 ) : 4161-4173.
- 23 Jia ZR, Wang KW, Duan YL, et al. Claudin1 decrease induced by 1, 25-dihydroxy-vitamin D3 potentiates gefitinib resistance therapy through inhibiting AKT activation-mediated cancer stem-like properties in NSCLC cells [J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8 ( 1 ) : 122.
- 24 Nurwidya F, Takahashi F, Winardi W, et al. Zinc-finger E-box-binding homeobox 1 (ZEB1) plays a crucial role in the maintenance of lung cancer stem cells resistant to gefitinib [J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12 ( 10 ) : 1536-1548.
- 25 Yi YM, Li P, Huang YF, et al. P21-activated kinase 2-mediated  $\beta$ -catenin signaling promotes cancer stemness and osimertinib resistance in EGFR-mutant non-small-cell lung cancer [J]. *Oncogene*, 2022, 41 ( 37 ) : 4318-4329.
- 26 Yang H, Liu Y, Kong J. Effect of aerobic exercise on acquired gefitinib resistance in lung adenocarcinoma [J]. *Transl Oncol*, 2021, 14 ( 11 ) : 101204.
- 27 Yao WX, Wang LY, Huang H, et al. All-trans retinoic acid reduces cancer stem cell-like cell-mediated resistance to gefitinib in NSCLC adenocarcinoma cells [J]. *BMC Cancer*, 2020, 20 ( 1 ) : 315.
- 28 Isomoto K, Haratani K, Hayashi H, et al. Impact of EGFR-TKI treatment on the tumor immune microenvironment in EGFR mutation-positive non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26 ( 8 ) : 2037-2046.
- 29 Tian T, Yu M, Li J, et al. Front-line ICI-based combination therapy post-TKI resistance may improve survival in NSCLC patients with EGFR mutation [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 739090.
- 30 Deng HY, Lin XQ, Xie XH, et al. Immune checkpoint inhibitors plus single-agent chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer after resistance to EGFR-TKI [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 700023.
- 31 Sugiyama E, Togashi Y, Takeuchi Y, et al. Blockade of EGFR improves responsiveness to PD-1 blockade in EGFR-mutated non-small cell lung cancer [J]. *Sci Immunol*, 2020, 5 ( 43 ) : eaav3937.
- 32 Dong ZY, Zhang JT, Liu SY, et al. EGFR mutation correlates with uninfamed phenotype and weak immunogenicity, causing impaired response to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6 ( 11 ) : e1356145.
- 33 Li HY, McSharry M, Bullock B, et al. The tumor microenvironment regulates sensitivity of murine lung tumors to PD-1/PD-L1 antibody blockade [J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5 ( 9 ) : 767-777.
- 34 Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor

- progression and metastasis [J]. *Nat Med*, 2013, 19 ( 11 ) : 1423-1437.
- 35 Jia YJ, Li XF, Jiang T, et al. EGFR-targeted therapy alters the tumor microenvironment in EGFR-driven lung tumors: implications for combination therapies [J]. *Int J Cancer*, 2019, 145 ( 5 ) : 1432-1444.
- 36 Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373 ( 17 ) : 1627-1639.
- 37 Herbst RS, Baas P, Kim DW, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2016, 387 ( 10027 ) : 1540-1550.
- 38 Hong LZ, Lewis WE, Nilsson M, et al. Limited benefit from the addition of immunotherapy to chemotherapy in TKI-refractory EGFR-mutant lung adenocarcinoma [J]. *Cancers*, 2022, 14 ( 14 ) : 3473.
- 39 Hayashi H, Sugawara S, Fukuda Y, et al. A randomized phase II study comparing nivolumab with carboplatin-pemetrexed for EGFR-mutated NSCLC with resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors (WJOG8515L) [J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28 ( 5 ) : 893-902.
- 40 Haratani K, Hayashi H, Tanaka T, et al. Tumor immune microenvironment and nivolumab efficacy in EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer based on T790M status after disease progression during EGFR-TKI treatment [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28 ( 7 ) : 1532-1539.
- 41 Shi YL, Xu Y, Xu ZY, et al. TKI resistant-based prognostic immune related gene signature in LUAD, in which FSCN1 contributes to tumor progression [J]. *Cancer Lett*, 2022, 532: 215583.
- 42 Mahfoudhi E, Ricordel C, Lecuyer G, et al. Preclinical models for acquired resistance to third-generation EGFR inhibitors in NSCLC: functional studies and drug combinations used to overcome resistance [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 853501.
- 43 Ntzifa A, Londra D, Rampias T, et al. DNA methylation analysis in plasma cell-free DNA and paired CTCs of NSCLC patients before and after osimertinib treatment [J]. *Cancers*, 2021, 13 ( 23 ) : 5974.
- 44 Shen ZJ, Chen C, Sun JH, et al. The status of WIF1 methylation in cell-free DNA is associated with the insusceptibility for gefitinib in the treatment of lung cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2021, 147 ( 8 ) : 2239-2248.
- 45 Su SF, Liu CH, Cheng CL, et al. Genome-wide epigenetic landscape of lung adenocarcinoma links HOXB9 DNA methylation to intrinsic EGFR-TKI resistance and heterogeneous responses [J]. *JCO Precis Oncol*, 2021, 5: PO.20.00151.
- 46 Hou T, Ma J, Hu C, et al. Decitabine reverses gefitinib resistance in PC9 lung adenocarcinoma cells by demethylation of RASSF1A and GADD45 $\beta$  promoter [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12 ( 11 ) : 4002-4010.
- 47 Tanimoto A, Takeuchi S, Arai S, et al. Histone deacetylase 3 inhibition overcomes BIM deletion polymorphism-mediated osimertinib resistance in EGFR-Mutant lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23 ( 12 ) : 3139-3149.
- 48 Zang HJ, Qian GQ, Zong D, et al. Overcoming acquired resistance of epidermal growth factor receptor-mutant non-small cell lung cancer cells to osimertinib by combining osimertinib with the histone deacetylase inhibitor panobinostat (LBH589) [J]. *Cancer*, 2020, 126 ( 9 ) : 2024-2033.
- 49 He T, Gao Y, Fang Y, et al. The HDAC inhibitor GJCJ-490A suppresses c-Met expression through IKK $\alpha$  and overcomes gefitinib resistance in non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Biol Med*, 2022, 19 ( 8 ) : 1172-1192.
- 50 Cao PJ, Li YW, Shi RF, et al. Combining EGFR-TKI with SAHA overcomes EGFR-TKI-acquired resistance by reducing the protective autophagy in non-small cell lung cancer [J]. *Front Chem*, 2022, 10: 837987.
- 51 温雪, 郝长来. 铁死亡及其调控机制的研究进展 [J]. *承德医学院学报*, 2022, 39 ( 4 ) : 329-332.
- 52 Zhang CF, Wang CM, Yang ZY, et al. Identification of GPX4 as a therapeutic target for lung adenocarcinoma after EGFR-TKI resistance [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2022, 11 ( 5 ) : 786-801.
- 53 Zhang T, Sun B, Zhong C, et al. Targeting histone deacetylase enhances the therapeutic effect of Erastin-induced ferroptosis in EGFR-activating mutant lung adenocarcinoma [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2021, 10 ( 4 ) : 1857-1872.
- 54 Zhang KR, Zhang YF, Lei HM, et al. Targeting AKR1B1 inhibits glutathione de novo synthesis to overcome acquired resistance to EGFR-targeted therapy in lung cancer [J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13 ( 614 ) : eabg6428.
- 55 Ma CS, Lv QM, Zhang KR, et al. NRF2-GPX4/SOD2 axis imparts resistance to EGFR-tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42 ( 4 ) : 613-623.

(责任编辑: 孙菲)