

DOI : 10.12151/JMCM.2024.01-11



二代测序技术在消化系统肿瘤临床应用的中国专家共识

中国抗癌协会肿瘤精准治疗专业委员会

【摘要】 消化系统肿瘤是发病率和致死率均较高的一类实体肿瘤。随着精准医疗在消化系统肿瘤领域的不断深入,以及相关分子标志物研究的不断积累,临床对于消化系统肿瘤的基因检测和应用提出了更高的要求。二代测序(next-generation sequencing, NGS)技术大大提高了检测通量,降低了单个样本单个位点的测序成本,在消化系统肿瘤中的应用越来越广泛。然而,NGS检测提供了大量的肿瘤基因组信息,如何在异常复杂的消化系统肿瘤中正确应用是巨大的挑战。为提高消化系统肿瘤中NGS技术临床应用的规范性,中国抗癌协会肿瘤精准治疗专业委员会结合国内外研究成果,形成了《二代测序技术在消化系统肿瘤临床应用的中国专家共识》。本共识旨在为NGS技术指导临床消化系统肿瘤精准诊疗提供理论基础与规范,并对消化系统肿瘤的临床诊疗提供有效帮助。

【关键词】 消化系统肿瘤;二代测序;精准医疗;分子标志物;基因检测

Chinese expert consensus on next generation sequencing for gastrointestinal cancers

Society of Cancer Precision Medicine of the Chinese Anti-Cancer Association

Corresponding author: Shen Lin, E-mail: linshenpku@163.com

【Abstract】 Gastrointestinal cancers are a group of solid tumors with high incidence and mortality rates. With the growing understanding of precision medicine and the continuous generation of clinical evidence, molecular marker testing is required for the diagnosis and treatment of gastrointestinal cancers. Next-generation sequencing (NGS) technology has significantly evolved to provide increased data output and efficiencies, and has been more and more widely used in gastrointestinal cancers. In order to improve the standardization of the clinical application of NGS technology in gastrointestinal cancers, an expert panel organized by the Society of Cancer Precision Medicine of the Chinese Anti-Cancer Association has formulated the *Chinese expert consensus on next generation sequencing for gastrointestinal cancers* based on current evidence and clinical studies. This expert consensus aims to provide guidance for Chinese clinicians on NGS technology in gastrointestinal cancers.

【Keywords】 Gastrointestinal cancers; Next-generation sequencing; Precision medicine; Molecular marker; Genetic testing

消化系统肿瘤主要包含食管癌、胃癌、结直肠癌、肝癌、胆道肿瘤、胰腺癌、胃肠道间质瘤等,其中结直肠癌、胃癌和肝癌位列中国五大高发瘤种^[1],多个瘤种在中国的发病率几乎超过了全球总发病率的一半。近年来,得益于精准医疗的发展,消化系统肿瘤的诊疗手段得到了极大丰富,患者的预后大幅改善。精准医疗是以个体化医疗为基础,随着基因组测序技术的快速发展应运而生。二代测序(next-generation sequencing, NGS)技术的发展进一步促进了肿瘤驱动基因变异研究和相关药物的研发,将越来越多的靶向药物和免疫药物引入了肿瘤治疗的临床实践,进而改变了大部分

肿瘤的诊疗格局,其中就包括消化系统肿瘤。以结直肠癌为例,美国国家综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)和中国临床肿瘤学会(Chinese Society of Clinical Oncology, CSCO)等国内外指南均推荐了APC、MMR基因等胚系基因的检测用于结直肠癌患者的遗传筛查,推荐KRAS、NRAS、BRAF基因和微卫星高度不稳定性(microsatellite instability-high, MSI-H)等标志物用于指导晚期结直肠癌患者的靶向治疗和免疫治疗。然而,当前临床应用较为广泛的传统基因检测方法因覆盖的基因数量和位点有限,存在漏检的可能性;此外多种标志物分别检测也会面临样本不

足的困境，难以充分满足目前的临床需求。因此，NGS技术在实体肿瘤中的临床应用越来越广泛，也推出了诸多的专家共识，如《临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识》^[2]、《二代测序技术在肿瘤精准医学诊断中的应用专家共识》^[3]、《二代测序技术在NSCLC中的临床应用中国专家共识(2020版)》^[4]等。消化系统肿瘤具有其自身特殊性及其复杂性，如胃癌的高度异质性，可能会涉及多个基因、多个信号通路的变异，这对于NGS检测产品的基因选择和检测结果的解读均提出了更大的挑战。因此，亟需推出指导消化系统肿瘤NGS临床应用的共识，以规范使用NGS和切实帮助消化系统肿瘤患者，解决目前面临的种种困惑。基于此，本文综合了国内消化系统肿瘤领域内临床实践经验和国内外研究成果，邀请资深专家共同讨论并撰写共识，旨在为我国消化系统肿瘤临床诊疗规范使用NGS技术提供指导。

1 消化系统肿瘤精准治疗相关标志物

1.1 消化系统肿瘤精准治疗国内外已获批标志物

1.1.1 MSI-H MSI是指某个微卫星位点发生重复单元的插入或缺失的现象，常常由于错配修复基因功能失常所造成。目前，美国食品药品监督管理局（Food and Drug Administration, FDA）已经批准帕博利珠单抗用于错配修复蛋白缺失（deficient mismatch repair, dMMR）/MSI-H实体瘤患者。NCCN、CSCO等发布的指南也均将免疫检查点抑制剂作为dMMR/MSI-H实体瘤患者的标准治疗方案，同时也推荐实体瘤患者进行MSI-H的检测。此外，MSI-H与II、III期结直肠癌预后好相关，且是II期结直肠癌不能从氟尿嘧啶辅助治疗中获益的生物标志物，也可以作为林奇综合征的初筛手段。

虽然免疫治疗在MSI-H实体瘤患者中的疗效获益已被证实，但是仍有一半左右的患者对免疫治疗无应答。这种现象可以归因于临床研究入组的患者MSI-H状态判断存在偏差和存在潜在的耐药机制^[5]。多项研究对MSI-H胃肠肿瘤患者疗效相关分子标志物进行了探索，结果显示，*PTEN*突变、低肿瘤突变负荷（tumor mutation burden, TMB）等是MSI-H胃肠肿瘤免疫治疗潜在的负向标志物^[6-8]。Wang等^[9]研究显示，由*AKT1*、*CDHI*组成的免疫治疗预测模型能够很好地提示MSI-H胃肠肿瘤免疫治

疗疗效，*AKT1*或*CDHI*突变的MSI-H患者对免疫治疗原发耐药。

越来越多的研究证明经验证的NGS panel可以准确检测MSI状态。2022年2月，美国FDA批准了一款NGS产品——FICDx作为帕博利珠单抗在MSI-H泛实体瘤中免疫治疗的伴随诊断方法。NGS检测更适用于需要同时检测包括MSI状态在内的多种生物标志物的消化道肿瘤。此外，NGS检测出的基因变异能够进一步判断MSI-H状态，因为错配修复机制缺陷会导致MSI-H患者的基因变异呈现更多的移码突变，这一特征显著区别于主要变异形式为单碱基变异的TMB高（TMB-high, TMB-H）的患者。基于外周血循环肿瘤DNA（circulating tumor DNA, ctDNA）的MSI检测方法为肿瘤组织取样困难或不足的晚期肿瘤患者提供了替代方案。一项基于外周血ctDNA的NGS检测MSI方法检测了100个微卫星位点，与组织聚合酶链反应（polymerase chain reaction, PCR）检测MSI方法相比，其敏感度和特异度分别为82.5%和96.2%^[10]。临床疗效验证队列显示，基于该方法检测的bMSI-H胃肠肿瘤患者相较于微卫星稳定患者有更高的客观缓解率（objective response rate, ORR）（38.1% : 6.9%, $P = 0.005$ ），更优的中位无进展生存（median progression-free survival, mPFS）时间（ $HR = 0.431$, $P = 0.005$ ）和中位总生存（median overall survival, mOS）时间（ $HR = 0.489$, $P = 0.034$ ）。因此，针对肿瘤组织样本稀缺或肿瘤组织不符合检测需求的晚期消化系统肿瘤患者，可以进行基于外周血ctDNA的NGS检测。

共识一：MSI是包括消化系统肿瘤在内的泛瘤种常规检测标志物，NGS技术可以同时检测MMR基因变异、MSI状态和相关耐药机制，因而是优势更明显的检测方法（推荐等级：I级推荐）。

1.1.2 TMB TMB是衡量肿瘤基因组可编码区域的体细胞编码突变总数的指标^[11]。TMB是免疫治疗响应的潜在生物标志物。基于KEYNOTE-158的II期临床数据^[12]，TMB-H（ $TMB \geq 10$ 个突变/MB）泛实体瘤患者ORR（29%）显著高于非TMB-H泛实体瘤患者（6%），美国FDA已批准帕博利珠单抗用于治疗TMB-H（ ≥ 10 个突变/MB）患者（既往治疗后疾病进展且无令人满意替代治疗方案的不

可手术或转移性的成人和儿童实体瘤)。NCCN和CSCO指南均推荐晚期消化系统肿瘤患者进行TMB检测,以寻求更精准治疗方式。

全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)是TMB检测的金标准,经过技术和临床验证的panel也可以对TMB进行准确的评估^[13-14]。目前TMB作为肿瘤免疫治疗生物标志物还存在一些问题需要解决,如TMB评估受样本质量(尤其是部分肿瘤组织难以获取)和数量、检测基因组大小、生物信息分析方法等多种因素影响。在组织不可及的情况下,经过临床验证的血液TMB检测可以替代组织TMB检测。

共识二: TMB是包括消化系统肿瘤在内的泛瘤种常规检测标志物,需采用NGS检测(推荐等级: II级推荐)。

1.1.3 神经营养受体酪氨酸激酶(neurotrophic tropomyosin receptor kinase, NTRK)融合 NTRK基因包含NTRK1、NTRK2和NTRK3,分别负责编码原肌球蛋白受体激酶(tropomyosin receptor kinase, TRK)家族受体蛋白TRKA、TRKB和TRKC的合成。TRK在神经系统的发育中起着重要的作用。神经营养因子与TRK结合后可诱导受体二聚体化、磷酸化并激活下游PI3K、RAS/MAPK/ERK和磷脂酶C γ (phospholipase C γ , PLC- γ)的信号级联通路^[15]。

目前美国FDA已经批准了NTRK融合抑制剂拉罗替尼和恩曲替尼用于治疗携带NTRK基因融合且无已知获得性耐药突变的实体瘤患者。2018年2月, *New England Journal of Medicine*报道了拉罗替尼在NTRK融合的实体瘤的疗效,在55例NTRK融合的患者中ORR高达75%^[16]。在NTRK融合阳性实体瘤患者中,恩曲替尼的ORR为57%,脑转移患者的ORR为50%^[17]。2022年4月13日,中国国家药品监督管理局(National Medical Products Administration, NMPA)批准了拉罗替尼用于治疗NTRK融合的实体瘤患者。NCCN指南和CSCO指南均推荐实体瘤患者要进行NTRK融合的检测以指导治疗方式选择。

NTRK融合在实体瘤中发生率较低,为0.18%~0.30%^[18-19]。18岁以下实体瘤患者中NTRK融合比例较高,达到1.34%;成人实体瘤患者中NTRK融合比例在唾液腺癌(2.62%)、甲状腺癌(1.60%)、

软组织肉瘤(1.51%)、骨肉瘤(1.00%)中较高;消化系统肿瘤中NTRK融合比例分别为结直肠癌0.22%、胃癌0.16%、胃肠道间质瘤0.55%、肝癌0.06%、胆道肿瘤0.20%、胰腺癌0.17%、食管癌0.24%、小肠癌0.14%^[18]。另外,在结直肠癌中,NTRK融合与特定的分子特征相关。一项纳入2 314例结直肠癌患者研究显示,NTRK融合仅发生在RAS/BRAF野生型的患者,8例NTRK融合阳性结直肠癌患者中7例是dMMR/MSI-H^[20]。另有一项大规模研究报道显示NTRK融合在结直肠癌中与驱动基因(包括KRAS、NRAS、BRAF、HER2、MET等)变异互斥[优势比(odds ratio, OR)为0.207, $P = 1.39 \times 10^{-7}$]^[18]。国内一项大型研究纳入了经NGS检测的67 883例中国泛实体瘤患者数据,报道了中国实体瘤患者NTRK1/2/3融合的分布与基因组特征,结果显示,中国实体瘤患者中NTRK融合比例为0.18%,NTRK融合与其他驱动存在互斥现象,而在MSI-H结直肠癌患者中富集;同时,该研究也显示ctDNA能够准确地检测NTRK融合,并且有效指导NTRK抑制剂的用药^[21]。

有研究提示,NTRK阳性患者使用NTRK抑制剂后可能产生继发性耐药位点。NTRK抑制剂耐药可以分为两种机制:一是NTRK基因自身发生变异导致耐药,此类耐药位点包括NTRK1 G595R、NTRK1 G667S、NTRK1 F589L、NTRK1 A608D、NTRK3 G623R、NTRK3 G696A、NTRK3 F617L等^[16,22];二是其他通路的激活导致NTRK抑制剂耐药,包括MET扩增、KRAS突变、BRAF突变等^[23-24]。

NTRK融合检测方法包括荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)、免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)、基于DNA或RNA的NGS检测。IHC检测NTRK融合敏感度为75%~100%,特异度为93%~100%^[25-27],其中检测NTRK3敏感度仅55%^[25]。IHC因检测成本低、周期短,可作为NTRK融合发生率高的瘤种首选的原肌球蛋白受体激酶(tropomyosin receptor kinase, TRK)蛋白表达阳性人群的筛选方法,如果TRK蛋白表达阳性,则进一步利用NGS方法确定融合形式和断点^[28]。FISH是一种检测高发生率已知融合基因和确认潜在融合基因的可靠技术,但由于FISH每次只能检测1种基因的融合变异,考虑到经济和时间成本,

一般不推荐对*NTRK*融合进行筛查。有研究表明，DNA-based NGS检测敏感度和特异度分别为83.3%和99.9%；RNA-based NGS和IHC相比，敏感度和特异度分别为87.9%和81.1%，且相比DNA-based NGS能够检出更多的融合变异^[19]。另外，靶向多基因的NGS panel可以同时检测*NTRK*的已知和未知融合形式，以及其他耐药基因变异情况。对于样本量有限或者需要同时检测整体基因变异情况，则推荐DNA-based或RNA-based NGS方法进行*NTRK*融合筛选，如*NTRK*基因融合阳性，则进一步利用IHC验证TRK蛋白表达情况^[28]。

共识三：*NTRK*融合需作为消化系统肿瘤常规检测标志物（推荐等级：I级推荐）。*NTRK*融合发生率低，且*NTRK*抑制剂存在*NTRK*自身变异及旁路激活等耐药机制，基于DNA和RNA的NGS检测是临床常规筛查*NTRK*融合最可行的方法（推荐等级：II级推荐）。

1.1.4 人表皮生长因子受体2（human epidermal growth factor receptor-2, HER-2） HER-2又称ERBB2，是表皮生长因子受体家族中的一员，编码一种具有酪氨酸激酶活性的跨膜糖蛋白。HER-2与其他家族成员组成二聚体，与配体发生结合，胞内的酪氨酸激酶活性被激活，从而启动下游信号通路^[29]。HER-2主要参与细胞增殖相关的RAS/RAF/MEK/ERK通路和PI3K/AKT/mTOR通路，这两条信号通路与多种癌症的发生发展密切相关^[29-30]。

国内外指南推荐经病理诊断证实为胃腺癌的患者需要进行HER-2检测。HER-2阳性胃癌是一类独特的疾病亚型，需采取不同于HER-2阴性胃癌的诊疗策略。多中心随机对照III期临床研究（ToGA研究）表明HER-2阳性晚期胃癌患者可从曲妥珠单抗治疗中获益，因此曲妥珠单抗可作为HER-2阳性胃癌标准治疗方案^[31]。近期一项随机II期临床试验（DESTINY-Gastric01）表明，HER-2阳性胃或胃食管结合部腺癌患者后线接受德曲妥珠单抗（trastuzumab deruxtecan, T-DXd）或化疗，mOS时间分别为12.5个月和8.9个月（ $HR = 0.60$ ），ORR分别为42.0%和12.5%，mPFS时间分别为5.6个月和3.5个月（ $HR = 0.47$ ）^[32]。基于此研究，2021年1月16日T-DXd正式获得美国FDA批准用于HER-2阳性胃癌患者治疗。维

迪西妥单抗（RC48）是中国自主研发的抗体偶联药物，治疗既往经 $\geq$ 二线化疗的晚期HER-2阳性胃或胃食管结合部腺癌患者，ORR达到24.8%，疾病控制率（disease control rate, DCR）达到41.7%，mPFS时间为4.1个月，mOS时间为7.9个月^[33]。因此，NMPA批准维迪西妥单抗用于至少接受过2种系统化疗的HER-2过表达局部晚期或转移性胃癌（包括胃食管结合部腺癌）患者的治疗。

2021年5月5日，美国FDA加速批准帕博利珠单抗联合曲妥珠单抗和铂类+氟尿嘧啶类化疗药物用于HER-2阳性局部晚期不可切除或转移性胃或胃食管结合部腺癌患者的一线治疗。同时，这也是美国FDA批准的首个程序性细胞死亡蛋白1（programmed cell death protein 1, PD-1）疗法联合抗HER-2疗法和化学疗法用于HER-2阳性胃或胃食管结合部腺癌患者的一线免疫疗法。

结直肠癌中HER-2扩增/过表达的发生率接近5%，有研究提示HER-2扩增/过表达是结直肠癌抗表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor, EGFR）治疗的耐药标志物^[34-36]。在一项纳入98例*RAS/BRAF*野生型转移性结直肠癌患者研究中，接受抗EGFR抑制剂治疗，携带HER-2扩增患者较未携带HER-2扩增患者mPFS时间显著更短（2.8个月：8.1个月， $HR = 7.05$ ，95%CI为3.4 ~ 14.9， $P < 0.001$ ）^[36]。基于MyPathway研究^[37]、HERACLES研究^[38]和DESTINY-CRC01研究^[39]，美国NCCN指南推荐HER-2扩增/过表达且*RAS/BRAF*野生型结直肠癌患者接受曲妥珠单抗或T-DXd联合帕妥珠单抗或拉帕替尼治疗。此外，有多项研究提示结直肠癌HER-2扩增或激活突变*S310F*、*L755S*、*V777L*、*V842I*和*L866*与抗EGFR治疗耐药相关^[40-44]。

研究表明约19%胆囊癌、17%肝外胆管癌和5%的肝内胆管癌存在HER-2过表达^[45]。一项胆道肿瘤接受抗HER-2治疗的小型队列研究显示，HER-2基因扩增或者过表达的胆囊癌患者能从抗HER-2治疗中获益^[46]。MyPathway研究共纳入39例HER-2扩增或过表达经治转移性胆管癌患者，接受曲妥珠单抗联合帕妥珠单抗治疗后ORR为23%^[47]。SUMMIT研究中9例HER-2突变的胆管癌患者接受奈拉替尼靶向治疗，结果显示ORR为22.2%，DCR

为88.9%^[48]。在2019年对胰腺癌患者进行的一项“了解您的肿瘤”(Know Your Tumor, KYT)临床研究中, 1例接受过四线治疗的HER-2阳性患者接受FOLFOX联合曲妥珠单抗, 结果显示mPFS时间达到4个月以上^[49]。2023年美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)公布了DESTINY-PanTumor02(一项全球性、多中心、多队列、开放标签II期研究)的中期分析结果(包括主要终点), 其中胆道肿瘤和胰腺癌分别入组了41例和25例后线治疗的患者, 研究者评估的ORR分别为22%和4%^[50]。

共识四: 胃癌患者需检测HER-2扩增或表达(推荐等级: I级推荐), HER-2扩增或表达是结直肠癌、胆道肿瘤、胰腺癌潜在的治疗靶点(推荐等级: II级推荐)。HER-2扩增或激活突变与结直肠癌抗EGFR治疗耐药相关(推荐等级: III级推荐)。推荐消化系统肿瘤常规检测HER-2, NGS可以作为HER-2扩增的临床常规检测手段(推荐等级: II级推荐)。在组织样本不可及的情况下, NGS也可以作为外周血ctDNA中HER-2扩增的检测手段(推荐等级: III级推荐)。

1.1.5 RAS KRAS和NRAS基因编码2种GTPase超家族成员的蛋白质, RAS/RAF/MEK/ERK的MAPK信号通路位于EGFR下游, 参与EGFR信号转导。携带任何已知的KRAS或NRAS基因2、3、4号外显子突变的患者均不能从西妥昔单抗或panitumumab治疗中获益^[51-54]。PRIME研究预设的亚组分析结果显示, 相比于单独接受FOLFOX治疗, 携带KRAS/NRAS突变的结直肠癌患者接受帕尼单抗联合FOLFOX的mPFS($HR = 1.31, 95\%CI$ 为1.07 ~ 1.60, $P = 0.008$)和mOS($HR = 1.21, 95\%CI$ 为1.01 ~ 1.45, $P = 0.04$)均更差^[52]。FIRE-3研究结果显示, 携带KRAS/NRAS突变型结直肠癌患者FOLFIRI联合西妥昔单抗治疗mPFS时间显著短于FOLFIRI联合贝伐珠单抗治疗(6.1个月: 12.2个月, $P = 0.004$); 而KRAS/NRAS野生型结直肠癌患者接受两种治疗方式的mPFS时间无明显差异(10.4个月: 10.2个月, $P = 0.54$)^[55]。NCCN指南、CSCO指南均推荐RAS/BRAF野生型患者接受西妥昔单抗治疗。

KRAS G12C突变(在第12个密码子处有甘氨酸至半胱氨酸替代物的单点突变)在转移性结直

肠癌中发生率为3% ~ 4%, 与高侵袭性和较差的预后相关^[56]。针对KRAS G12C的靶向治疗在肺癌中已取得了成功, sotorasib被美国FDA批准用于携带KRAS G12C的非小细胞肺癌患者的治疗。肠癌中靶向KRAS G12C的治疗也取得了进展, sotorasib单药治疗携带KRAS G12C的晚期结直肠癌患者ORR为9.7%^[57], adagrasib单药治疗携带KRAS G12C的晚期结直肠癌患者ORR为22%, 而adagrasib联合西妥昔单抗的ORR达到43%^[58]。

抗EGFR再挑战治疗策略对初始RAS野生型晚期结直肠癌患者个体化治疗具有重要价值。CRICKET研究结果显示, 28例RAS/BRAF野生型转移性结直肠癌患者RAS野生型(接受西妥昔单抗联合伊立替康再挑战治疗后再挑战基线ctDNA检测)的mPFS显著长于RAS突变型患者(mPFS时间为4.0个月: 1.9个月, $HR = 0.44, 95\%CI$ 为0.18 ~ 0.98, $P = 0.03$)^[59]。2021年ASCO公布了第1项基于ctDNA检测结果指导抗EGFR再挑战治疗的干预性临床研究——CHRONOS研究结果, 接受ctDNA检测的52例患者中36例(69%)ctDNA显示RAS/BRAF/EGFR野生型, 给予panitumumab再挑战治疗后研究达到主要终点, ORR为30%^[60]。该研究总结了ctDNA指导下的相比临床经验性的再挑战治疗的3个优势: 一是根据肿瘤的实际分子状态选择患者, 与时间间隔无关; 二是避免约30%的携带耐药突变的患者接受可能无效的治疗; 三是提高ORR。晚期结直肠癌患者可依靠NGS液体活检进行全程管理, 指导用药方案, 监测耐药情况。

除了肠癌, 在其他消化系统肿瘤中, RAS基因检测也有着重要的临床意义。> 95%的胰腺癌患者都携带KRAS突变, 靶向KRAS的临床试验在胰腺癌个例中有较积极的临床数据。在KRAS抑制剂sotorasib治疗携带KRAS G12C突变的晚期胰腺癌的I、II期试验中, 纳入了38例经治的晚期胰腺癌患者, ORR达到21%, mPFS时间为4个月, mOS时间为6.9个月^[61]。KRAS野生型胰腺癌患者中, 靶向其他致癌突变(ALK融合、BRAF突变、NTRK融合和NRG1融合等)的药物疗效显著提高^[62]。这些基因变异已有靶向抑制剂上市, 胰腺癌患者接受基因检测, 根据检测结果探索最佳治疗方案。在肝内胆管癌中, TP53突变、KRAS突变和CDKN2A缺失与较差的预后相关^[63-64];

而且 $TP53$ 和 $KRAS$ 共突变患者,相较于携带单突变的肝内胆管癌患者术后生存更差^[64]。

在肝癌中,两项II期研究评估了refametinib单药和联合索拉非尼治疗对 RAS 突变的不可切除或转移性肝癌患者的疗效。其中一项研究通过NGS进行ctDNA检测筛选 RAS 突变患者,结果显示4.4%的患者携带 RAS 突变;refametinib联合索拉非尼的ORR为6.3%,DCR为43.8%,mPFS时间为1.5个月,mOS时间达到12.7个月^[65]。另一项研究显示 RAS 突变肝癌患者接受refametinib联合索拉非尼治疗ORR为75%,而 RAS 野生型肝癌患者的ORR仅为1.5%^[66]。

共识五:结直肠癌患者应常规检测 $KRAS$ 、 $NRAS$ 基因变异(推荐等级:I级推荐)。 RAS 变异属于 KIT 和 $PDGFRA$ 野生型胃肠道间质瘤的潜在耐药生物标志物。 $KRAS$ $G12C$ 突变是结直肠癌、胰腺癌临床治疗的生物标志物。推荐消化系统肿瘤常规检测 RAS 突变,NGS可以作为 RAS 突变的临床常规检测手段(推荐等级:II级推荐)。

1.1.6 BRAF $BRAF$ 基因编码一种蛋白激酶,该蛋白激酶是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路中的调节蛋白。当缬氨酸600位点(V600)发生突变时,该蛋白激酶具有结构性活性,这将导致通过MAPK通路的持续信号传递。携带 $BRAF$ $V600E$ 患者基本不可能单独从西妥昔单抗或panitumumab治疗中获益,除非同时接受 $BRAF$ 抑制剂治疗^[53,67-68]。另外, $BRAF$ 基因突变是结直肠癌患者预后差的预测标志物。CRYSTAL试验的更新分析结果显示,携带 $BRAF$ 基因突变的转移性结直肠癌相比于 $BRAF$ 基因野生型患者预后更差^[69]。AGITG MAX试验结果显示,携带 $BRAF$ 基因突变的转移性结直肠癌相比于 $BRAF$ 基因野生型患者,mOS时间更差($HR = 0.49$, 95%CI为0.33 ~ 0.73, $P = 0.001$)^[70]。另有一项基于21项研究的Meta分析结果显示, $BRAF$ 突变与特定的高风险临床病理因素同时存在的可能性较高,如近端肿瘤部位($OR = 5.22$, 95%CI为3.80 ~ 7.17, $P < 0.001$)、 T_4 期($OR = 1.76$, 95%CI为1.16 ~ 2.66, $P = 0.007$)和低分化($OR = 3.82$, 95%CI为2.71 ~ 5.36, $P < 0.001$)^[71]。所有转移性结直肠癌患者均应进行 $BRAF$ 突变单独检测或作为NGS panel的一部分进

行检测。结直肠癌原发灶和转移灶 $BRAF$ 基因突变检出情况相近,因此原发灶和转移灶均可进行检测^[72]。

$BRAF$ 基因突变率在胆道肿瘤为5% ~ 7%,在肝内胆管癌中更高^[73]。 $BRAF$ $V600E$ 突变的肝内胆管癌患者在切除时肿瘤分期更高,mOS更差^[74]。 $BRAF$ $V600E$ 在胆道肿瘤的靶向治疗推荐主要基于II期少见肿瘤研究(rare oncology agnostic research, ROAR)篮式试验。达拉非尼和曲美替尼的联合治疗在 $BRAF$ $V600E$ 突变的胆道肿瘤患者中ORR为51%,mPFS时间为9个月,mOS时间为14个月^[75]。

$BRAF$ 突变和融合仅存在于1% ~ 3%的胰腺癌中, $V600E$ 突变是 $BRAF$ 突变类型中最常见的一类突变,约占90%^[76-77]。有研究表明, $BRAF$ 突变/融合的胰腺癌患者可以从相关联的抑制剂中获益。1例一线联合化疗失败的胰腺癌患者,经检测携带 $BRAF$ $V600E$ 突变,接受维莫非尼和cobimetinib靶向治疗,影像学评估达到部分缓解并维持6个月以上,原发肿瘤、肝转移灶和淋巴结的体积均缩小^[77]。在另一项临床研究中,1例胰腺癌 $BRAF$ 缺失突变患者对曲美替尼的治疗达到部分缓解^[78]。

共识六:结直肠癌患者应常规检测 $BRAF$ 基因变异(推荐等级:I级推荐)。 $BRAF$ 变异属于 KIT 和 $PDGFRA$ 野生型胃肠道间质瘤的潜在耐药生物标志物。 $BRAF$ 突变是胆道肿瘤、胰腺癌临床治疗潜在的生物标志物。推荐消化系统肿瘤常规检测 $BRAF$ 突变,NGS可以作为 $BRAF$ 突变的临床常规检测手段(推荐等级:II级推荐)。

1.1.7 成纤维生长因子受体2 (recombinant fibroblast growth factor receptor-2, FGFR-2) $FGFR2$ 是一种酪氨酸激酶受体,属于成纤维细胞生长因子受体家族,其二聚化可激活细胞增殖、分化、迁徙和凋亡。研究表明13% ~ 16%的肝内胆管癌患者会出现 $FGFR2$ 融合^[79]。2020年4月美国FDA加速批准佩米替尼用于经治晚期或不可切除的 $FGFR2$ 易位胆管癌治疗的患者。2022年4月佩米替尼也正式获批在中国上市。 $FGFR2$ 融合的胆管癌患者在接受佩米替尼治疗后ORR为37%,mOS时间为17.5个月^[80]。2021年5月美国FDA加速批准infigratinib用于既往接受过治疗的、不可切除的局部晚期或转移性 $FGFR2$ 融合成人胆管癌患者,其II期临床研究结果显示

108例携带*FGFR2*融合的胆管癌患者接受infigratinib治疗的ORR为23.1%，mPFS时间为7.3个月^[81]。futibatinib（TAS-120）在2021年4月已获得美国FDA突破性药物资格，用于治疗携带*FGFR2*基因重排/融合、经治的局部晚期或转移性胆管癌患者。在II期FOENIX-CCA2研究中，103例伴有*FGFR2*重排/融合的胆管癌患者ORR为41.7%，mPFS时间为9.0个月，mOS时间为21.7个月^[82-83]。此外，酪氨酸激酶抑制剂derazantinib和erdafitinib在其早期胆道肿瘤临床研究中也显现出明显的抗肿瘤活性^[84-85]。

虽然FGFR抑制剂已经在胆管癌治疗中展现出了良好的疗效，但是治疗后耐药经常发生，NGS检测可以为耐药后治疗选择提供更多参考。多个案例报道显示infigratinib获得性耐药的原因是*FGFR2*激酶结构域在进展过程中出现多个复发性点突变^[86]。此外，2例infigratinib治疗进展患者肿瘤测序显示*FGFR2*激酶结构域发生了*E565A*和*L617M*突变，导致infigratinib的获得性耐药。这些变异对其他FGFR抑制剂（AZD4547、erdafitinib、dovitinib、ponatinib和TAS120）的耐药性在体外实验中均得到验证，联合使用FGFR和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin, mTOR）抑制剂可克服这类获得性耐药^[87]。另有报道表明携*FGFR2 H167_N173*缺失突变的肝内胆管癌患者接受FGFR抑制剂Debio-1347治疗后持续性部分缓解11个月后耐药。NGS检测发现*FGFR2 L617F*激酶区突变后，患者接受二次FGFR抑制剂治疗获得的总缓解时间>28个月^[88]。同样，TAS-120在4例对BGJ398或Debio1347产生耐药性的*FGFR2*融合阳性肝内胆管癌患者中也显示出疗效，这4例患者耐药后NGS检测出*FGFR2*突变^[89]。

有研究发现接近5%~10%胃癌患者携带*FGFR2*扩增^[90]。全球、随机、双盲安慰剂对照II期临床试验（FIGHT研究）显示，*FGFR2b*抑制剂bemarituzumab联合mFOLFOX6对比安慰剂联合mFOLFOX6一线治疗*FGFR2b*（*FGFR2*亚型）过表达（*FGFR2b* IHC 2+/3+或ctDNA *FGFR2*扩增）的晚期胃或胃食管结合部腺癌，mOS时间显著延长（19.2个月：13.5个月，HR=0.60，95%CI为0.38~0.94）^[91]。

共识七：***FGFR2*融合是胆道肿瘤临床治疗的生物标志物（推荐等级：I级推荐）。*FGFR2*扩增**

是胃癌潜在治疗靶点。推荐消化系统肿瘤常规检测***FGFR2*变异，NGS可以作为*FGFR2*变异的临床常规检测手段（推荐等级：II级推荐）。**

1.1.8 异柠檬酸脱氢酶1（isocitrate dehydrogenase 1, IDH1）IDH是细胞葡萄糖代谢中必不可少的酶，其突变会影响细胞增殖和血管生成。*IDH*突变在胆管癌中突变频率为16%~36%，其中在肝内胆管癌中更高，在肝门部和远端的胆管癌及胆囊癌中较少见^[92]。ClarIDHy研究结果显示艾伏尼布能显著改善*IDH1*基因突变的胆管癌患者的PFS和OS^[93]，因此2021年8月美国FDA批准艾伏尼布用于既往接受过治疗且携带*IDH1*基因突变的成人局部晚期或转移性胆管癌患者。

共识八：***IDH1*突变是胆道肿瘤临床治疗的生物标志物，NGS可以作为*IDH1*变异的临床常规检测手段（推荐等级：II级推荐）。**

1.1.9 KIT/PDGFRα *KIT*基因编码的蛋白是一种跨膜的III型酪氨酸激酶受体，其配体为干细胞因子（stem cell factor, SCF）。正常状态下，SCF配体结合KIT后诱导其二聚并激活下游信号通路，如JAK-STAT3、PI3K-AKT-mTOR和RAS-MAPK等。2002年，美国FDA批准伊马替尼成为第1个用于不可手术和转移胃肠道间质瘤的一线治疗药物。伊马替尼是靶向KIT/PDGFRα的酪氨酸激酶抑制剂，mPFS时间为18~20个月^[94-96]。*KIT*变异存在于70%~85%胃肠道间质瘤中，且突变发生在第11外显子（90%）或第9外显子（8%），较少发生在第13外显子（1%）或第17外显子（1%）。与其他基因突变类型相比，KIT外显子11突变对伊马替尼治疗最敏感，预后较好。对于复发转移/不可切除或拟行术前治疗的KIT第11号外显子原发突变胃肠道间质瘤患者，推荐伊马替尼400 mg/d；对于复发转移/不可切除的KIT第9号外显子原发突变胃肠道间质瘤患者，推荐伊马替尼600 mg/d。大多数患者经伊马替尼治疗会因激酶结构域的继发突变而导致耐药。继发突变集中在KIT激酶结构域的两个区域，一种是ATP结合袋，由13号和14号外显子编码，其突变直接干扰药物结合；另一种是激活环，由17号和18号外显子编码，其突变可以稳定KIT的活性构象^[97-98]。

*PDGFRα*编码的蛋白为血小板衍生生长因子受

体 α 。5%~10%胃肠道间质瘤存在PDGFRA活化变异,对伊马替尼原发耐药。2020年1月,阿伐替尼获美国FDA批准用于不可切除或转移性PDGFRA外显子18突变(包括D842V突变)胃肠道间质瘤患者。阿伐替尼是一种口服的、强效选择性的KIT和PDGFR α 抑制剂。基于NAVIGATOR研究,在PDGFRA D842V突变的亚组中88%获得ORR^[99-100]。

除了KIT或PDGFRA基因外,SDHx(SDHA、SDHB、SDHC、SDHD)、NF1、BRAF、RAS、PIK3CA和FGFR1等基因,是KIT和PDGFRA野生型胃肠道间质瘤的潜在驱动基因,且与伊马替尼潜在耐药机制相关^[101-107]。对于KIT和PDGFRA基因,常规Sanger检测方法由于敏感度不高,存在一定的漏检风险。有研究报道,在26例既往经Sanger测序和IHC鉴定KIT/PDGFR/SDH/RAS均为野生型胃肠道间质瘤患者中,NGS再次检测发现约20%的患者携带KIT致病突变,其中4例为“低频”突变(丰度为12%~16%),1例为KIT剪切点突变^[108]。相比组织基因检测,血液活检可以克服肿瘤的异质性并检测出单个组织样本中未发现的其他突变基因^[109]。因此NGS可能更适合胃肠道间质瘤的临床常规检测,液体基因检测是组织检测的有效补充。

共识九:KIT突变、PDGFRA突变是胃肠道间质瘤的常规检测标志物,NF1、SDHx、BRAF、RAS、PIK3CA、FGFR1等变异属于KIT和PDGFRA野生型胃肠道间质瘤的潜在耐药生物标志物,一代测序检测KIT和PDGFRA突变的敏感度不足,推荐NGS作为胃肠道间质瘤临床常规检测手段(推荐等级:II级推荐)。

1.2 消化系统肿瘤精准治疗潜在标志物

1.2.1 MET MET基因编码的蛋白属于肝细胞生长因子受体家族。有研究表明2%~3%胃癌患者携带MET扩增^[110-111]。2019年韩国VIKTORY研究中的MET扩增亚组表明,赛沃替尼单药治疗MET扩增胃癌患者的ORR为50%,MET拷贝数高者的疗效更佳^[112]。一项根据基因型进行精准治疗的中国真实世界研究结果显示,11例MET扩增胃癌患者接受克唑替尼或赛沃替尼治疗,ORR为27%,mOS时间为3.7个月^[113]。此外,一项开放标签、多中心、Ia/Ib期研究评估了赛沃替尼在实体瘤患者中的

安全性和有效性,在胃癌中仅在MET扩增的患者中观察到响应,ORR为35.7%,DCR为64.3%^[114]。2023年美国癌症研究协会(American Association for Cancer Research, AACR)上首次公布了赛沃替尼单药治疗中国MET扩增的局部晚期或转移性胃癌或胃食管结合部腺癌的II期临床研究结果,共入组20例患者的ORR为45%,其中16例高水平MET扩增患者ORR达到50%,4例低水平MET扩增患者仅观察到1例部分缓解^[115]。

在胃癌患者中,MET基因扩增是HGF/MET通路的异常激活的主要原因^[116]。HGF/MET通路的异常激活会抑制细胞凋亡,促进癌细胞增殖、血管形成和转移。Meta分析表明细胞间质上皮转移因子(cellular-mesenchymal epithelial transition factor, c-Met)高表达患者的OS更差($HR = 2.112$, 95%CI为1.622~2.748)^[117]。一项来自中国的回顾性研究纳入232例晚期胃癌患者,8.3%的患者存在MET基因扩增,9.6%的患者存在c-Met蛋白过表达^[118]。MET基因扩增与蛋白质过度表达之间存在显著的相关性($r = 0.378$, $P < 0.001$)。MET基因扩增也与身体状况差($P < 0.001$)和肿瘤分化程度低相关($P = 0.0015$)。相比不携带MET基因扩增的患者,携带MET基因扩增的患者mOS时间(5.7个月:15.5个月)和mPFS时间(3.6个月:6.9个月)均更短。

共识十:MET扩增是胃癌潜在治疗靶点(推荐等级:II级推荐)。MET扩增是胃癌预后不良的生物标志物(推荐等级:III级推荐)。

1.2.2 EGFR EGFR基因所编码的蛋白是表皮生长因子受体,属于ErbB受体家族的一种。约5%的胃食管腺癌患者携带EGFR扩增^[110,119]。前期临床研究表明,相比伊立替康单药,伊立替康联合EGFR抑制剂尼妥珠单抗并不能延长患者二线治疗的mPFS时间和mOS时间。然而,回顾性分析显示,EGFR过表达(IHC2+、3+)胃癌亚组更可能从尼妥珠单抗治疗中生存获益^[120]。目前已有小样本的临床队列表明EGFR扩增的胃食管癌腺癌患者能够从EGFR抑制剂中获益,ORR为57%^[119]。

另有研究报道,EGFR表达阳性的肝癌患者口服仑伐替尼无效后,联合应用EGFR抑制剂吉非替尼有潜力打破肿瘤耐药性,有效抑制肝癌进展,

ORR高达33.3%^[121]。有报道显示结直肠癌EGFR扩增或胞外结构域突变、PDGFRA突变、FGFR1扩增均与抗EGFR治疗耐药相关^[122-124]。

EGFR扩增发生在约16%的食管鳞癌患者中,并且与EGFR过表达显著相关,是食管鳞癌患者的潜在治疗靶点^[125]。一项II期临床研究显示厄洛替尼联合放化疗对食管鳞癌患者安全有效,ORR达到85.6%^[126]。在另外一项III期临床研究中,与单独放化疗组相比,厄洛替尼联合放化疗显著延长了局晚期食管鳞癌患者的mOS时间(39.4个月:27.4个月)^[127]。以上两项研究均表明EGFR过表达与厄洛替尼的疗效显著相关。埃克替尼单药治疗EGFR过表达或扩增的晚期食管鳞癌患者的ORR达到16.7%^[128]。而埃克替尼联合放疗在食管鳞癌患者中也展示出较好的疗效,与放疗组相比,埃克替尼联合放疗显著改善了食管鳞癌患者的mOS时间(24个月:16.3个月)^[129]。

共识十一:EGFR扩增或胞外结构域突变与结直肠癌抗EGFR治疗耐药相关(推荐等级:III级推荐)。EGFR扩增是胃癌、食管鳞癌潜在治疗靶点(推荐等级:III级推荐)。

1.2.3 ALK/NRG1/ROS1等基因融合 NRG1融合存在于0.5%~1.5%的胰腺癌中。2020年7月美国FDA授予zenocutuzumab罕见药地位,用于NRG1融合的胰腺癌患者治疗。2021年ASCO发表的一项研究中,10例NRG1阳性胰腺癌患者接受zenocutuzumab治疗,ORR达到40%,且所有糖类抗原19-9(carbohydrate antigen, 19-9)异常的患者经治疗CA19-9的下降均>50%^[130]。2019年关于阿法替尼的一项实体瘤研究中2例NRG1融合胰腺癌患者中1例接受治疗后达到部分缓解^[131]。一项晚期胰腺导管腺癌研究中,经测序3例携带NRG1融合的患者中2例接受了阿法替尼治疗均表现出应答^[132]。NRG1融合还可能是转移性胰腺癌年轻患者特异的分子特征,17例50岁以下胰腺导管癌患者中4例KRAS野生型,其中3例患者含NRG1融合,2例接受靶向治疗后获得临床改善和肝转移缓解^[133]。

ALK融合在胰腺癌中发生率较低,但多项研究证明了其靶向治疗在胰腺癌中的有效性,如2017年的一项研究通过对3170例胰腺癌患者进行基因测序,5例携带ALK融合基因患者中4例接受相应靶向治疗

并3例达到疾病稳定^[134]。胰腺癌KYT项目中,1例携带ALK融合经治患者,接受克唑替尼联合放化疗后mPFS时间>24个月^[49]。案例报道也提示2例携带ALK融合的胰腺癌患者能从ALK抑制剂治疗中获益^[135]。

ROS1融合在胰腺癌中的临床证据来源于泛实体瘤研究中的胰腺癌案例。在恩曲替尼获批NTRK融合实体瘤适应证基于的STARTRK-2研究中,1例携带SCL4-ROS1融合突变的胰腺癌患者接受恩曲替尼后达到部分缓解^[17]。胰腺癌KYT项目中,1例接受过四线治疗的ROS1融合患者brigatinib治疗后PFS时间>4个月^[49]。

RET融合阳性在胰腺癌中比例并不高,但一项关于其靶向药LOXO-292的泛瘤种研究已初步证明靶向RET融合的治疗在胰腺癌中具有潜在治疗价值。有研究报道49例携带RET融合的患者中可评估患者ORR达到77%,2例胰腺癌患者分别接受了不足2个月和4个月的治疗但肿瘤均有不同程度的退缩,初步显示LOXO-292对携带RET融合的胰腺癌患者具有抗肿瘤活性^[136]。

共识十二:NRG1融合、ALK融合、ROS1融合、RET融合是胰腺癌临床治疗的潜在生物标志物(推荐等级:III级推荐)。基于DNA和RNA的NGS同步检测可提高融合变异的检测效率和准确性(推荐等级:III级推荐)。

1.2.4 EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV) EBV型胃癌属于一种独特分子亚型,预后良好,该类疾病患者也属于潜在从免疫治疗获益的一类人群。韩国小样本研究表明,EBV阳性且程序性细胞死亡配体1(programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1)阳性的胃或胃食管结合部腺癌患者在标准治疗失败后接受帕博利珠单抗治疗,ORR达到100%^[137]。一项小样本研究显示,4例EBV阳性胃癌患者经特瑞普利单抗治疗,ORR为25%^[138]。另一项来自中国的回顾性研究,通过NGS方法检测95例接受免疫治疗的晚期胃癌患者的EBV状态,结果显示在错配修复正常(mismatch repair proficient, pMMR)患者中EBV阳性组的ORR显著高于EBV阴性组($P=0.008$),mPF时间、mOS时间也显著延长,多因素分析显示EBV状态是接受免疫治疗胃癌患者PFS的独立预测因素^[139]。

共识十三：EBV阳性是胃癌免疫治疗潜在的疗效预测标志物（推荐等级：III级推荐）。

1.2.5 免疫负向基因 *FGF3/4/19*和*CCND1*位于染色体11q13，在多种实体瘤中常发生共扩增，约50%的食管鳞癌患者均携带11q13扩增^[125]。11q13扩增的食管鳞癌患者预后较差^[140]，也有研究报道提示11q13扩增与实体瘤免疫治疗疗效负相关，甚至与免疫治疗超进展相关^[141-143]。有案例报道发现食管鳞癌接受免疫治疗后发生超进展^[144-145]，其中1个案例提示*EGFR*激酶区串联重复可能与食管鳞癌免疫治疗超进展相关^[144]。

免疫联合抗血管治疗已批准为晚期肝细胞癌的一线疗法，但大部分患者仍不能获益。有研究表明肝细胞癌患者携带*MDM4*扩增或*FGF3/4/19*扩增接受免疫联合抗血管治疗进展的可能性更大^[146]；且有报道证明包含*CCND1*、*FGF3*、*FGF4*和*FGF19*等基因的11q13区域的扩增与肝癌免疫治疗的超进展有关^[147]。除以上基因外，*JAK1/2*、*B2M*基因突变、*MDM2*基因扩增等也可能与肿瘤免疫治疗疗效呈负相关。

共识十四：消化系统肿瘤需要关注免疫治疗负向标志物（推荐等级：III级推荐）。

1.2.6 人类白细胞抗原（human leukocyte antigen, HLA）分型 HLA是存在于抗原呈递细胞表面负责抗原呈递的蛋白分子。HLA位于基因组6号染色体6p21上长度约3 M的区域内。因序列上高度可变，导致*HLA*等位基因数量异常庞大。每种*HLA*等位基因可表现出对同一新生抗原不同的亲和呈递能力。一项研究对使用了免疫检查点抑制剂治疗的1 535例晚期癌症患者的*HLA-I*基因进行分型，结果显示，相对于至少1个*HLA*基因座纯合的患者，*HLA-I*基因座全部杂合的患者接受免疫治疗后的总生存期显著更长。另外，HLA杂合性缺失是免疫治疗逃逸和耐药的重要机制^[147]。

除以上标志物外，NGS在消化系统肿瘤个体化药物治疗中的应用也取得了长足的进步。基于患者自身的肿瘤基因组变异信息，建立以肿瘤突变蛋白产生的新抗原为基础的个体化免疫治疗模式是未来免疫治疗的重要发展方向。结合NGS技术，细胞免疫治疗、个体化新抗原纳米疫苗等新型治疗技术有望在消化系统肿瘤治疗中取得突破。

1.3 消化系统肿瘤精准治疗相关信号通路

1.3.1 DDR信号通路（BRCA、HRR、POLE/POLD1）2021年美国FDA正式批准奥拉帕利用于携带*BRCA1/2*胚系突变的胰腺癌患者一线含铂化疗后的维持治疗。一项多中心、随机对照的开放性研究（POLO研究）显示，奥拉帕利作为*BRCA1/2*胚系突变的转移性胰腺癌一线含铂化疗后的维持治疗相比安慰剂能显著改善mPFS时间（7.4个月：3.8个月）^[148]。rucaparib的2项临床研究中将靶向治疗范围扩大到*BRCA1/2*体细胞突变和*PALB2*胚系突变的胰腺癌患者，rucaparib作为携带这些突变的铂敏感晚期胰腺癌患者的维持治疗6个月的PFS率为59.5%，mPFS时间为13.1个月，mOS时间达到23.5个月^[149]。rucaparib用于局部晚期/转移性胰腺癌患者后线治疗ORR为16%^[150]。一项Meta分析显示携带*BRCA1/2*胚系突变的胰腺癌患者对铂类化疗更敏感，相对比非铂类化疗接受铂类化疗患者的OS更长（23.7个月：12.2个月）^[151]。除*BRCA1/BRCA2/PALB2*基因，其他同源重组修复（homologous recombination repair, HRR）基因变异与晚期胰腺癌的预后和治疗疗效也相关，*HRR*变异的患者具有更长的mOS时间，接受含铂化疗受益更大^[152-154]。一项大型研究通过对1 080例中国胰腺癌患者进行NGS并描绘了中国人胰腺癌DDR的突变特征图谱，结果发现31.4%的胰腺癌患者携带了DDR信号通路突变^[155]。

一项纳入了18例*BRCA1/2*突变的肝内胆管癌回顾性病例研究中，13例接受铂类治疗，4例接受了PARP抑制剂治疗，I、II期患者的mOS时间为40.3个月，III/IV期患者的mOS时间为25个月^[156]。*BRCA1/2*突变携带者与MSI-H/dMMR和更高的TMB相关，PARP抑制剂与免疫检查点抑制剂联合治疗也可考虑用于晚期胆管癌的临床试验^[157]。

*POLE/POLD1*基因突变可作为泛瘤种免疫治疗疗效预测标志物。接受免疫治疗的泛瘤种（包括结直肠癌）患者中，携带*POLE/POLD1*非同义突变的患者mOS时间显著优于*POLE/POLD1*野生型患者（34个月：18个月， $P = 0.004$ ）^[158]。另一项研究纳入来自多中心的晚期*POLE*突变的实体瘤患者（结直肠癌、子宫内膜癌为主），评估纳武利尤单抗的临床疗效。该研究通过蛋白结构预测和分子实验分

析将核酸外切酶结构域的变异划分为位于DNA结合位点、催化位点和区分以上位点与核酸外切酶活性无关的中性位点,分析发现DNA结合位点或催化位点变异的患者对免疫治疗更敏感,ORR达到50%,而中性位点变异的患者ORR仅有14%,同时DNA结合位点或催化位点变异的患者也展现出更优的PFS和OS^[159]。

共识十五:BRCA1/2突变是胰腺癌临床治疗的生物标志物,是胆道肿瘤临床治疗潜在的生物标志物(推荐等级:II级推荐)。结直肠癌患者应常规检测POLE、POLD1等基因变异(推荐等级:II级推荐)。

1.3.2 PI3K-mTOR信号通路 PIK3CA基因是一种原癌基因,其激活突变和扩增可能预示其对PI3K或其下游信号通路抑制剂敏感。研究显示约7%胃癌患者携带PIK3CA基因变异^[160]。一项III期临床试验(GRANITE-1研究)探讨了依维莫司对比安慰剂二线或三线治疗晚期胃癌的疗效,主要研究终点mOS时间在两组中无显著差异(5.4个月:4.3个月, $P=0.124$),但依维莫司组mPFS时间明显延长(1.7个月:1.4个月, $P<0.0001$)^[161]。未对入组患者进行分子标志物的筛选可能是主要研究终点未达到的原因之一。目前已有PIK3CA突变的胃癌患者从依维莫司治疗中获益的相关病例报道^[162]。

有研究显示PIK3CA突变的结直肠癌患者服用阿司匹林能提高OS率,其潜在机制可能是通过PI3K/AKT/Raptor信号通路调节的^[163-164]。PI3K/PTEN/AKT信号通路、HER-2扩增或激活突变、MET扩增、NFI突变等EGFR旁路激活变异均是结直肠癌抗EGFR治疗耐药生物标志物^[56,165-166]。在接受西妥昔单抗治疗的KRAS野生型结直肠癌患者中,PIK3CA外显子20突变与较差的预后相关^[167]。

索拉非尼是肝细胞癌最常用的临床药物,携带PI3K/mTOR信号通路突变的肝细胞癌患者可能对索拉非尼产生原发性耐药,PI3K/mTOR突变对比未突变患者接受索拉非尼治疗的mOS时间分别为10.4、17.9个月^[168]。

研究发现1例晚期食管鳞癌患者尼妥珠单抗耐药后经NGS检测到PIK3CA突变和RICTOR扩增,提示PI3K/AKT/mTOR通路激活可能与尼妥珠单抗耐

药相关^[169]。TP53和PIK3CA是食管鳞癌高频变异基因,研究提示与食管鳞癌预后较好具有相关性。一项研究发现85.7%的食管鳞癌患者发生TP53突变,携带TP53变异的患者mPFS和mOS时间显著延长,提示TP53基因变异与食管鳞癌患者良好的预后相关^[170]。而另一项研究发现TP53热点突变p.R213*是食管鳞癌患者的独立不良预后因子^[171]。一项纳入96例手术切除的食管鳞癌研究显示PIK3CA变异频率为12.5%,在非淋巴结转移中变异频率高于淋巴结转移。PIK3CA突变患者的OS时间明显延长,提示PIK3CA基因变异可能是食管鳞癌患者的有利预后因子^[172]。另一项研究同样发现,与野生型相比,PIK3CA突变的患者OS和无病生存(disease-free survival, DFS)时间均显著延长,提示PIK3CA基因变异可能是食管鳞癌患者的有利预后因子^[173]。

共识十六:PI3K-mTOR信号通路与结直肠癌抗EGFR治疗耐药相关(推荐等级:III级推荐)。PIK3CA变异是胃癌潜在治疗靶点(推荐等级:II级推荐)。PI3K-mTOR信号通路基因变异与胃癌的酪氨酸激酶抑制剂耐药相关(推荐等级:III级推荐)。

1.3.3 WNT信号通路 WNT/CTNNB1突变是肝细胞癌患者免疫治疗的负向标志物。一项研究显示,10例携带WNT/CTNNB1突变的肝细胞癌患者经PD-1抑制剂治疗均进展,且预后较野生型患者更差,其mOS时间分别为9.1、15.2个月($P<0.0001$)^[168]。这可能与WNT/CTNNB1突变的肝细胞癌患者具有更差的免疫浸润程度有关。研究证明,WNT/CTNNB1突变的肝癌通常是“免疫排斥型”,肿瘤特征表现为免疫细胞浸润程度低的“冷肿瘤”^[174-175]。

1.3.4 其他信号通路 多项研究显示,在接受抗HER-2治疗的胃癌患者中,肿瘤亚克隆缺乏HER-2变异、HER-2 16号外显子缺失、RTK-RAS通路变异、PI3K通路变异可能与曲妥珠单抗的原发或获得性耐药相关^[176-178]。在HER-2拷贝数的动态监测过程中发现抗HER-2原发耐药的患者,治疗过程中ctDNA HER-2拷贝数呈增加趋势,继发耐药患者ctDNA HER-2拷贝数呈下降趋势^[178]。在免疫联合抗HER-2治疗中,RTK-RAS通路基因变异与免疫联合抗HER-2治疗生存时间缩短相关^[179]。其他受体酪氨酸激酶抑制剂在胃癌中的研究也报道了RTK-RAS通路基因变

异与靶向耐药相关。RTK相关信号通路（包括MET扩增）基因变异属于FGFR2抑制剂的潜在原发或获得性耐药机制^[180-181]。KRAS、NRAS突变、PTEN缺失、MYC扩增、HER-2扩增和GNAS突变属于抗EGFR治疗潜在耐药机制^[119]。MET突变或高拷贝数MET扩增、FGFR2扩增以及其他下游和旁路信号通路基因的变异是MET抑制剂的潜在耐药标志物^[182-183]。以上结果表明RTK-RAS、PI3K等信号通路基因变异与胃癌酪氨酸激酶抑制剂治疗耐药相关。

2014年来自癌症基因组图谱（The Cancer Genome Atlas, TCGA）的研究人员在Nature上发表的胃癌分型研究，295例来自全球的胃癌病例，最终将胃癌分为EBV阳性、MSI、基因组稳定和染色体不稳定型^[184]。①EBV型：占比8.8%，主要见于胃底和胃体；PIK3CA高频突变（80%），CDKN2A高甲基化（p16失活）致使CDKN2A抑癌功能下降，免疫细胞信号较强PD-L1/2高表达。此类型患者属于从PI3K抑制剂、细胞周期蛋白依赖性激酶4/6（cyclin-dependent kinase 4 and 6, CDK4/6）抑制剂、免疫治疗获益的潜在人群。②MSI型：占比为22%，好发于胃窦或幽门，DNA超甲基化，包括PIK3CA、ERBB3、HER-2等在内的高突变率，缺乏基因扩增，治疗策略可以是免疫治疗、甲基化抑制剂、靶向基因突变抑制剂如PI3K抑制剂等。③基因组稳定型：约占20%，大多数属于弥漫性胃癌，携带CDH1突变（37%）、RHOA突变或RHOA家族GTP酶活化蛋白基因融合（CLDN18-ARHGAP）（30%），CDH1和RHOA是潜在靶点。④染色体不稳定型：约占50%，胃食管交界处和贲门多发，多属肠型，携带TP53突变或RTK-RAS通路的激活，可能从靶向RTK-RAS通路的抑制剂治疗中获益。TCGA分型可以准确区分出MSI-H和EBV感染型，为根据分子标志物进行精准治疗提供了依据。随着NGS的应用，包含CDH1、RHOA和RTK-RAS信号通路多基因的检测有助于辅助胃癌TCGA分型，从而为胃癌的精准治疗提供依据。

2 液体活检在消化系统肿瘤精准治疗中的应用

2.1 液体活检伴随诊断

肿瘤组织样本的基因检测在临床实际应用中仍存在诸多限制，包括取样操作的有创性、组织样本有限或耗竭、组织样本质量不符合基因检测的要求、

肿瘤内部异质性、无法针对所有病灶取样、可能因肿瘤位置特殊而无法取样、无法动态监测肿瘤变化等。

近年来，液体活检技术的发展为肿瘤患者提供了一种非侵入性取材的检测路径，其中血液ctDNA检测技术最为成熟，国外已有FoundationOne Liquid CDx、Guardant 360 CDx等产品被美国FDA批准用于肿瘤的伴随诊断。相较于组织，ctDNA同样可以检测基因的点突变、插入缺失、拷贝数变化、融合等多种变异形式，也可以进行血液MSI、TMB的检测。因此，经临床验证的ctDNA检测可以替代组织作为消化系统肿瘤靶向、免疫治疗伴随诊断方式。

共识十七：在肿瘤组织不可及或检测失败的情况下，可以采用经过严格的技术和临床验证的液体活检NGS产品作为补充（推荐等级：II级推荐）。

2.2 液体活检动态监测

2.2.1 早期肿瘤液体活检动态监测 早期肿瘤术后血液ctDNA状态及动态监测对于术后预后风险预测、辅助治疗方案选择的意义已经得到大量研究的证实，尤其是对于I~III期结直肠癌。一项前瞻性多中心研究纳入130例I~III期结直肠癌患者，术后经NGS动态检测ctDNA状态。该研究结果显示，术后ctDNA阳性患者相比术后ctDNA阴性患者、辅助治疗后ctDNA阳性患者相比辅助治疗后ctDNA阴性患者、术后动态ctDNA阳性患者相比术后动态ctDNA阴性患者，均有显著更差的无复发生存（ $HR = 7.2, P < 0.001$ ； $HR = 17.5, P < 0.001$ ； $HR = 43.5, P < 0.001$ ）^[185]。另一项前瞻性研究纳入150例局部晚期结肠癌患者，术后经NGS动态检测ctDNA状态。该研究结果显示，术后ctDNA阳性患者相比术后ctDNA阴性患者、术后动态ctDNA阳性患者相比术后动态ctDNA阴性患者，均有显著更差的DFS（ $HR = 17.56, P = 0.001$ ； $HR = 11.33, P < 0.001$ ）^[186]。近期，国内一项临床研究报道了针对中国结直肠癌突变特征设计的结直肠癌最小残余性疾病技术预测早期结直肠癌术后复发风险的性能，敏感度为49.6%，特异度为94.7%，结合临床特征建模后敏感度提升至97.5%^[187]。目前，有多项大型前瞻性干预性研究正在探索术后血液ctDNA对于早期结直肠癌辅助治疗方案的指导意义。DYNAMIC研究结果显示术后ctDNA状态可以

指导 II 期结肠癌患者的辅助化疗选择^[188]。

共识十八：早期结直肠癌可以通过术后液体活检NGS产品来帮助判断预后以及辅助治疗决策（推荐等级：II级推荐）。

2.2.2 晚期肿瘤液体活检动态监测 晚期肿瘤系统性治疗期间的ctDNA动态变化可能反映治疗的疗效，可以辅助判断治疗应答。ctDNA的动态变化主要体现在等位基因频率（variant allele frequency, VAF）治疗前后的变化，用来预测晚期肿瘤治疗应答以及患者生存。一项研究分析了来自3个 I、II 期度伐利尤单抗临床试验的16种晚期实体瘤治疗前和治疗中的ctDNA VAF的变化与度伐利尤单抗治疗疗效的关系，结果提示治疗前ctDNA水平与患者预后相关^[189]。治疗前后ctDNA VAF水平变化与度伐利尤单抗治疗应答和长期预后均相关，尤其是对于初次评价疗效为疾病稳定的患者，ctDNA动态变化可以提前判断患者对治疗的应答情况。另一项研究发现，在61例接受帕博利珠单抗治疗的转移性胃癌患者中，治疗后第6周ctDNA水平能够预测患者疗效和PFS时间，ctDNA水平降低提示患者预后较好^[137]。国内一项研究发现新辅助治疗第1个周期前后的ctDNA动态变化与肠癌肝转移新辅助治疗疗效显著相关，提示ctDNA动态变化可以及时反映新辅助治疗疗效^[190]。ctDNA动态监测在晚期消化系统肿瘤中的临床应用仍有待于大型前瞻性研究进行验证。

共识十九：晚期肿瘤患者接受系统性治疗期间，可通过液体活检NGS动态监测来判断临床治疗应答以及辅助临床治疗决策（推荐等级：III级推荐）。晚期结直肠癌患者可依靠NGS液体活检进行全程管理（推荐等级：III级推荐）。

3 消化系统肿瘤的遗传筛查

消化系统肿瘤中有一部分是遗传性消化系统肿瘤，是指肿瘤患者携带致病性胚系变异，而且能够遗传给后代。胚系突变是指个体先天带来的遗传信息，也就是来自父亲或母亲，从个体一出生就携带的突变信息，可以遗传给后代。区别于胚系变异，体细胞突变是指后天由于各种原因造成的、非遗传带来的突变，是肿瘤细胞样本独有的突变，不能遗传给后代。消化系统肿瘤常见的相关遗传性肿瘤综合征有林奇综合征、家族性腺瘤性息肉病、遗传性弥漫性胃癌综合征、Peutz-Jeghers综合征、Li-Fraumeni综合征、Cowden综合征、遗传性乳腺癌卵巢癌综合征等。对于具有家族史、发病年轻等特征的消化系统肿瘤患者，推荐进行遗传筛查，尤其是结直肠癌、胃癌、胃肠道间质瘤、胰腺癌患者。遗传性消化系统肿瘤相关的胚系变异基因较多（表1），NGS是较为合适的筛查手段。

共识二十：推荐发病年龄较轻或有家族史的结直肠癌、胰腺癌、胃癌、胃肠道间质瘤患者进行胚系检测并接受遗传咨询（推荐等级：I级推荐）。

表1 遗传性消化系统肿瘤相关的胚系变异基因

遗传综合征	相关风险消化系统肿瘤	基因	遗传模式
林奇综合征	结直肠癌、胃癌、胰腺癌	MLH1、MSH2、MSH6、PMS2、EPCAM	常染色体显性遗传
家族性腺瘤性息肉病	结直肠癌、胃癌	APC	常染色体显性遗传
幼年性息肉病综合征	结直肠癌、胃癌	SMAD4、BMPRI1	常染色体显性遗传
黑斑息肉综合征	结直肠癌、胃癌、胰腺癌	STK11	常染色体显性遗传
遗传性弥漫性胃癌	胃癌	CDH1	常染色体显性遗传
共济失调毛细血管扩张症	结直肠癌、胃癌、胰腺癌	ATM	常染色体隐性遗传
布卢姆综合征	结直肠癌、胃癌	BLM/RECQL3	常染色体隐性遗传
遗传性乳腺癌和卵巢癌综合征	胰腺癌、结直肠癌、胃癌	BRCA1、BRCA2、PALB2	常染色体显性遗传
Li-Fraumeni综合征	结直肠癌、胃癌、胰腺癌	TP53	常染色体显性遗传
千皮病综合征	结直肠癌、胃癌	XPA、ERCC3/XPB、XPC、ERCC2/XPD、DDB2/XPE、ERCC4/XPF、ERCC5/XPG	常染色体隐性遗传
Cowden综合征	结直肠癌、胃癌	PTEN	常染色体显性遗传
MUTYH相关息肉症	结直肠癌	MUTYH	常染色体显性遗传
家族性胰腺炎	胰腺癌	PRSS1、SPINK1、CTRF	常染色体显性遗传
黑色素瘤-胰腺癌综合征	胰腺癌	CDKN2A	常染色体显性遗传
I型神经纤维瘤病	胃肠道间质瘤	NF1	常染色体显性遗传
其他	结直肠癌	CHEK2	常染色体显性遗传

NGS是进行遗传筛查、确定胚系变异的有效手段（推荐等级：II级推荐）。

4 二代测序检测技术要求

从事NGS检测的实验室需要经过严格的质量体系认证，满足国家和当地的质量体系要求，包括中国合格评定国家认可委员会（China National Accreditation Service for Conformity Assessment, CNAS）和美国实验室认可协会的ISO15189认可资质等。国外权威机构的资质认证，如美国临床检验改进修正计划、美国病理学会（College of American Pathologists, CAP），也可作为实验室检测能力和质量体系达到国际认可的标准。

实验室日常进行NGS检测应进行室内质量控制，从样本接收到出具检测报告的整个流程需要建立完善的质控体系并形成标准操作规程。NGS检测包括多个质控环节，每个环节均有可能影响检测结果的准确性，包括样本质控、核酸提取质量、文库构建和数据质控等，质控结果需要体现在检测报告中。除了实验室的室内质量控制以外，NGS临床检测实验室还应该参加国内（国家卫生健康委临床检测中心和各省市临床检测中心）和国际（CAP和欧洲分子基因诊断质量联盟）的室间质评等。

为了保证NGS检测作为辅助诊断的准确性和可重复性，产品上市前必须经过严谨的性能验证。在性能验证之前，需要建立完整的验证计划，确定阳性判断值、敏感度、特异度、检测下限、精密度和可报告范围等性能指标。

产品性能验证需要纳入的样本包括标准DNA或RNA样本、标准细胞系和临床样本等。DNA、RNA标准品和标准细胞系可以用来评估不同变异类型的检测准确性和可重复性，以及每种变异类型的检测下限。临床样本的选择应根据具体的临床应用而定，包括肿瘤组织、血浆、白细胞、骨髓、胸腹水、脑脊液等。NGS基因检测覆盖几种主要的变异类型：单核苷酸变异（single nucleotide variation, SNV）、小片段插入/缺失（insertion/deletion, Indel）、基因融合、大片段重排（large rearrangement, LGR）以及拷贝数变异（copy number alteration, CNA）。常用来验证SNV和Indel的方法包括Sanger测序、等位基因特异度PCR等。基因融合一般与FISH或者IHC

检测进行头对头验证。LGR的验证方法一般采用多重连接探针扩增技术和多重扩增定量技术。常用的CNA验证方法包括定量PCR、FISH和基于阵列的比较染色体基因杂交等。另外，CNA的检测需要基于肿瘤细胞含量和测序深度，对检测到的序列（reads）进行标准化，从而获得实际的CNA状态和拷贝数量。通过对单核苷酸多态性位点等位基因频率的分析，可以作为分析CNA的有用指标。

TMB和微卫星状态是肿瘤免疫治疗的重要预测指标，也可以通过NGS靶向测序进行评估。目前认为，计算TMB的金标准是WES，而覆盖编码区域的有效数据量 > 0.8 Mb的NGS靶向测序，也可以用来计算TMB^[184]。NGS靶向测序也已经被广泛用于肿瘤免疫治疗中TMB的计算及疗效预测。NGS靶向测序在应用于临床之前，需要与WES进行头对头验证，评估NGS靶向测序跟WES评估肿瘤TMB的一致性。通常要求NGS靶向测序跟WES评估TMB的相关性达到0.9以上，才能准确反映肿瘤的TMB水平，并有效预测免疫治疗的疗效。

MSI-H已经在多个瘤种中被证明是免疫治疗获益的预测指标。为评估肿瘤的微卫星状态，NGS靶向测序需要设计针对微卫星位点的探针，并通过标准品进行算法开发、临界值和检测下限的确认。微卫星位点的选择通常需要考虑以下几个因素：微卫星位点的位置、长度、探针覆盖程度，以及每个位点与样本总体的微卫星状态的相关性。微卫星位点的数量通常从数十个到数百个不等。最后，覆盖足够MSI位点的NGS靶向测序需要与PCR检测进行一致性验证和性能评估。通常要求NGS靶向测序评估肿瘤组织微卫星状态的敏感度 $> 90\%$ ，特异度 $> 95\%$ 。有条件的实验室，在接受免疫治疗的临床队列中，应对TMB和微卫星状态的疗效预测效力进行进一步的临床验证。

共识二十一：NGS检测实验室应获得国内外权威认证，其开展的检测项目应进行性能验证及临床评价，并参加国内外权威机构发起的室间质评（推荐等级：II级推荐）。

5 NGS检测报告呈现

检测报告是医生和患者接受NGS检测结果的唯一凭据，并为临床治疗决策提供信息，需要客观展

示NGS检测结果及相关信息,具备严谨性和可读性。报告需要展示患者基本信息(年龄、性别、病理诊断、临床分期、既往治疗史等)、样本信息、检测范围、检测结果、变异解读、根据检测结果推荐的治疗方式和证据等级、质控项目和质控结果以及检测的局限性等。如果有必要的话,针对不同的瘤种可以进行个性化的报告展示,根据该瘤种的临床诊疗规范和生物标志物的证据等级,有针对性组织报告内容的呈现。以结直肠癌为例,*RAS*突变和微卫星特征对临床治疗决策影响较大,即使是阴性结果也应该展示在报告中,帮助医生和患者快速获取关键信息。

对基因变异的解读和药物治疗推荐,应遵循一定的规范。体细胞变异解读和药物推荐等级,可以依据美国分子病理学协会(Association for Molecular Pathology, AMP)、ASCO、CAP标准和指南^[191]、欧洲分子靶点临床可行性量表^[192]和MSKCC-OncoKB数据库(<https://www.oncokb.org/>),结合国内和国外药物获批的情况进行综合判定。胚系变异的致病性判定可以参考美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)、AMP指南和共识,将胚系变异分为5个等级:致病性变异、可能致病变异、临床意义不明、可能良性变异和良性变异^[193-195]。

共识二十二: NGS检测报告应呈现基于AMP、ASCO、CAP、ACMG等分级系统的变异等级、基于循证医学证据等级的药物推荐以及质控信息(推荐等级: II级推荐)。

6 二代测序检测结果解读

NGS可以同时检测多个基因及其突变、扩增、融合等多种变异形式,并能检测MSI、TMB等生物标志物,适用于需检测多靶点的瘤种。NGS通常会检测到多个基因变异和多种标志物,所以如何解读NGS报告对准确制订治疗方案至关重要。

当医生拿到一份NGS检测报告时,首先,需要核对送检信息,包括患者信息、样本信息和检测内容。其次,需要审阅质控信息,以确定报告结果是否可靠,质控信息包括整体质控结果、肿瘤细胞含量、核酸总量以及测序质量评估等。测序质量评估指标包括平均测序深度、文库多样性、插入片段

长度、序列回帖比率、碱基质量值 ≥ 30 的碱基比和配对样本单核苷酸多态性一致性等。对于有白细胞或癌旁对照的检测报告需解读肿瘤遗传风险,通过是否携带胚系致病性变异、结合家族史等信息判断肿瘤遗传风险,并根据风险高低来确定是否需要遗传咨询。最后,需要对NGS报告的用药信息进行详细分析,以确定最佳的治疗方案。当检测到一个可用药标志物时,根据瘤种获批适应证的情况以及伴随变异,选择适应证内用药或者联合用药或者其他治疗方案。例如:晚期结直肠癌患者检测到MSI-H,同时无潜在的免疫治疗负相关标志物,则推荐使用免疫检查点抑制剂治疗;当未检出可用药标志物时,则考虑入组临床试验的可能性、分子分型及预后相关的标志物。消化系统肿瘤NGS报告解读详细流程参见图1。

对于该共识未提及的基因变异,以及临床意义未明的突变基因或者变异位点,需结合最新的临床证据进行临床解读,谨慎指导治疗决策。对于新发现的具有潜在临床价值的基因或者位点,鼓励临床专家开展相应的探索性研究以验证临床意义,为消化系统肿瘤精准治疗提供更多的医学证据。

7 二代测序检测目前存在的问题

7.1 融合变异的形式

融合变异包括经典融合形式和非经典融合形式。经典融合形式是指保留完整的激酶结构域,融合方向为5'-3',有明确生物学意义的融合,如EML4-ALK、ETV6-NTRK3等。非经典融合包括倒置融合、激酶结构域不完整、5'-5'或3'-3'融合形式等,所产生的融合蛋白往往不具有明确的生物学意义。只有经典的融合形式才能对相应的靶向治疗产生响应。越来越多临床证据证明非经典突变虽然自身没有功能,但通常预示着经典变异的存在。非经典融合发生时,需要进行RNA或者蛋白层面的进一步确认。

基于DNA的NGS检测融合有多种优势,包括可以检测新发融合、明确融合断点、同时检测多种融合形式、与融合伴随发生的其他耐药等多种变异形式等。但由于融合断点位置通常发生在内含子区域,且融合断点具有多样性,所以基于DNA的NGS检测融合方法存在不可避免的局限性,包括:

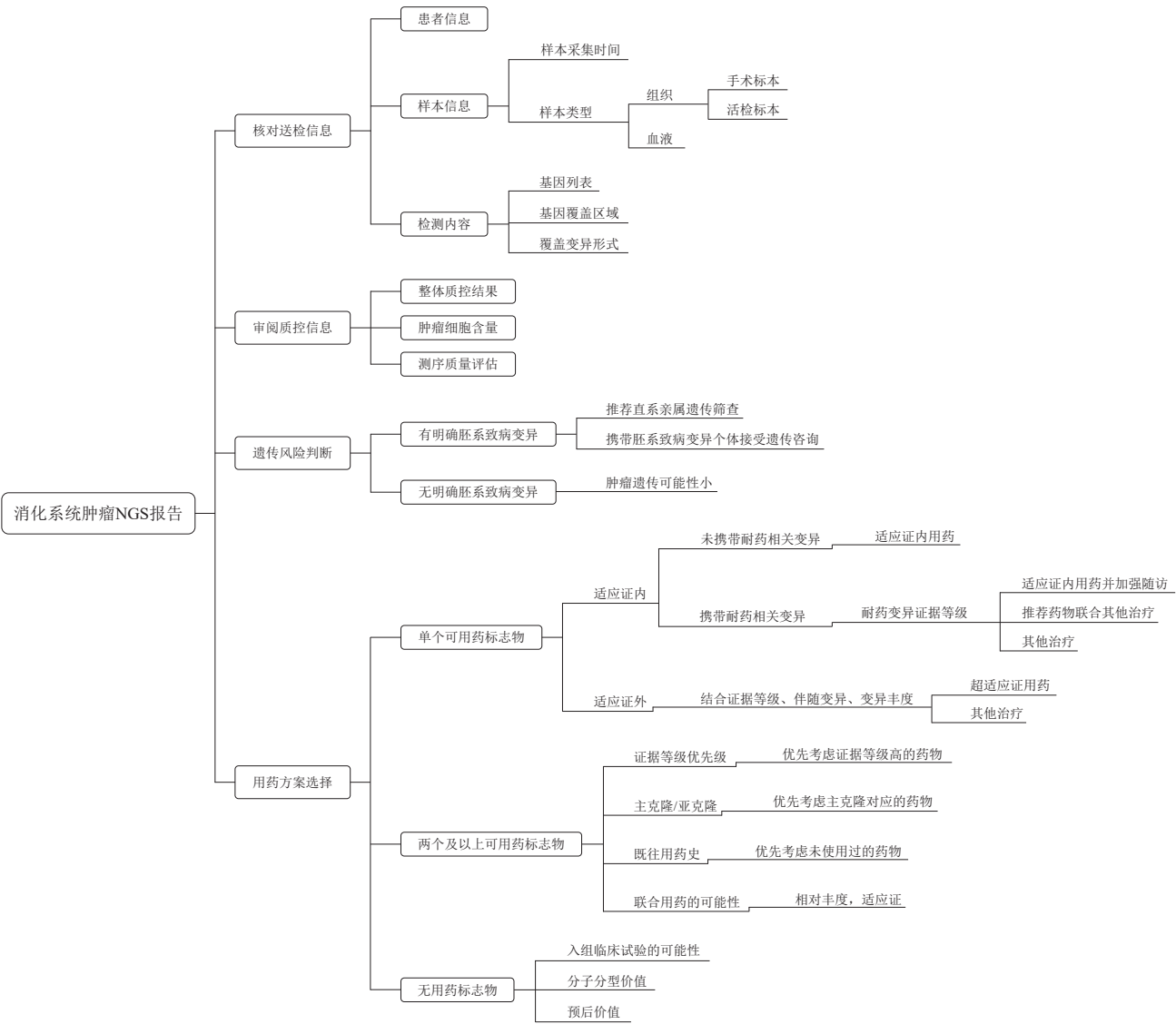


图1 NGS报告解读流程

注：NGS为二代测序。

基于DNA的NGS检测融合需要全面覆盖冗长且含有大量重复序列的内含区域；内含子区域GC含量变化较大，使得DNA探针难以均匀有效地捕获目标区域片段；不同内含子具有相似的重复序列不利于序列对比，降低融合检测准确性；转录及转录后加工过程会降低融合基因的检出。基于RNA的NGS检测融合可以避免内含子测序的挑战，在融合检测方面更优越。但基于RNA的NGS检测融合不能精确提供断点信息，且不能检测编码蛋白缺失的蛋白。DNA + RNA NGS联合检测可以提高融合检测的准确性，精准指导靶向治疗方案的选择。

7.2 拷贝数变异的定义与阈值

拷贝数变异（copy number variation, CNV）是

基因组上部分区域的扩增或缺失。NGS可通过对区域的覆盖度（测序深度）来估算CNV。一般情况下，扩增变异的相对拷贝数 > 2 ，缺失变异的相对拷贝数 < 2 ，但这一标准不适用于因基因组紊乱而产生非整倍样本。局部CNV或大范围CNV的判断准确性与NGS检测panel在目标染色体上设置的探针数量、密度有关，也与基因的CNV信号强弱有关。

7.3 多个驱动基因同时存在的决策考虑

多个驱动基因同时存在的情况，需要综合患者的具体肿瘤类型、既往治疗史、不同基因变异相对丰度、既往分子检测结果等信息，准确判断不同驱动基因变异之间的逻辑关系，如原发性或获得性、主克隆或亚克隆、敏感克隆或耐药克隆、协同模

式或互斥模式等,进而判断后续治疗决策。例如:未经治疗的晚期结直肠癌患者同时检测到MSI-H和NTRK1融合时,则优先考虑免疫检查点抑制剂,进展后可考虑NTRK抑制剂的治疗;若晚期胃癌患者同时检测到HER-2扩增和MSI-H,则优先推荐抗HER-2治疗联合免疫治疗。

7.4 组织血液检测结果不一致的可能原因与决策考虑

组织血液检测结果不一致的可能原因:肿瘤标本异质性、样本采集时间差异性、治疗间隔差异、不同技术平台操作流程的差异、胚系突变的污染、ctDNA释放至血液及清除情况有差异。利用肿瘤组织标本进行基因检测是“金标准”,但血液检测结果可以作为重要的互补,特别在肿瘤标本不可及的情况下。对于组织血液检测结果不一致的情况,需要根据具体情况进行分析。在只有单发病灶且组织和血液样本采集时间相近的情况下,由于血液检测技术的局限性,治疗决策更倾向参考组织检测的结果。当有多个病灶时,组织检测可能会受到肿瘤空间异质性的影响导致检测结果不全面,而血液可以较为全面地反映患者体内多个病灶总体的变异情况,所以需要综合考虑组织和血液的检测结果。当组织采样时间点与当前治疗阶段时间间隔较长,建议根据最新的血液检测结果进行治疗决策的制定。

7.5 低频变异的定义和用药指导

基因突变丰度可能与肿瘤靶向治疗疗效相关。在治疗过程中也会出现耐药亚克隆,即1%~5%或者更低的低频变异。低频(亚克隆)变异提示有治疗耐药的潜在可能性,同时也与肿瘤遗传异质性和肿瘤复发相关。应在用药过程中注意追踪这些低频变异的变化,及时调整治疗方案。

8 总结

鉴于消化系统肿瘤的临床复杂性和时空异质性,NGS在消化系统肿瘤的应用不应仅局限于已经非常明确的靶向或者免疫治疗的生物标志物检测,而应从诊断、预后、疗效预测、耐药机制探索等多方面为临床决策提供参考信息和决策支持。此外,临床需要高度重视NGS检测流程的质量控制和检测产品的技术与临床验证,并应扩展传统的肿瘤多学科讨论模式,强化肿瘤临床医生与分子生物学及生

物信息学专家的合作,以便整合临床信息和NGS结果,实现对患者的精准诊疗和全程管理。

致谢:感谢陈世清、赵晓忱、闫政清、谷雅君、陈慧、童双、张大东、张宪、蔡尚立在数据和资料收集过程中提供的帮助。

参考文献

- [1] ZHENG R, ZHANG S, ZENG H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016[J]. Chin J Cancer Res, 2022, 2(1):1-9.
- [2] 《临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识》编写组. 临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识[J]. 中华病理学杂志, 2017, 46(3):145-148.
- [3] 中国临床肿瘤学会肿瘤标志物专家委员会, 中国肿瘤驱动基因分析联盟. 二代测序技术在肿瘤精准医学诊断中的应用专家共识[J]. 中华医学杂志, 2018, 98(26):1-8.
- [4] 中国临床肿瘤学会非小细胞肺癌专家委员会. 二代测序技术在NSCLC中的临床应用中国专家共识(2020版)[J]. 中国肺癌杂志, 2020, 23(9):741-761.
- [5] AMODIO V, MAURI G, REILLY N M, et al. Mechanisms of Immune Escape and Resistance to Checkpoint Inhibitor Therapies in Mismatch Repair Deficient Metastatic Colorectal Cancers[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(11):2638.
- [6] CHIDA K, KAWAZOE A, KAWAZU M, et al. A Low Tumor Mutational Burden and PTEN Mutations Are Predictors of a Negative Response to PD-1 Blockade in MSI-H/dMMR Gastrointestinal Tumors[J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(13):3714-3724.
- [7] KWON M, AN M, KLEMPNER S J, et al. Determinants of Response and Intrinsic Resistance to PD-1 Blockade in Microsatellite Instability-High Gastric Cancer[J]. Cancer Discov, 2021, 11(9):2168-2185.
- [8] SCHROCK A B, OUYANG C, SANDHU J, et al. Tumor mutational burden is predictive of response to immune checkpoint inhibitors in MSI-high metastatic colorectal cancer[J]. Ann Oncol, 2019, 30(7):1096-1103.
- [9] WANG Z, ZHANG Q, QI C, et al. Combination of AKT1 and CDH1 mutations predicts primary resistance to immunotherapy in dMMR/MSI-H gastrointestinal cancer[J]. J Immunother Cancer, 2022, 10(6):e004703.
- [10] WANG Z, ZHAO X, GAO C, et al. Plasma-based microsatellite instability detection strategy to guide immune checkpoint blockade treatment[J]. J Immunother Cancer, 2020, 8(2):e001297.
- [11] FANCELLO L, GANDINI S, PELICCI P G, et al. Tumor mutational burden quantification from targeted gene panels: Major advancements and challenges[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1):183.
- [12] MARABELLE A, FAKIH M, LOPEZ J, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: Prospective biomarker analysis of the multicohort, open-

- label, phase 2 KEYNOTE-158 study[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(10):1353-1365.
- [13] ZHUANG W, MA J, CHEN X, et al. The tumor mutational burden of Chinese advanced cancer patients estimated by a 381-cancer-gene Panel[J]. *J Cancer*, 2018, 9(13):2302-2307.
- [14] CHALMERS Z R, CONNELLY C F, FABRIZIO D, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden[J]. *Genome Med*, 2017, 9(1):34.
- [15] COCCO E, SCALTRITI M, DRILON A. NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(12):731-747.
- [16] DRILON A, LAETSCH T W, KUMMAR S, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(8):731-739.
- [17] DOEBELE RC, DRILON A, PAZ-ARES L, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(2):271-282.
- [18] WESTPHALEN C B, KREBS M G, LE TOURNEAU C, et al. Genomic context of NTRK1/2/3 fusion-positive tumours from a large real-world population[J]. *NPJ Precis Oncol*, 2021, 5(1):69.
- [19] SOLOMON J P, LINKOV I, ROSADO A, et al. NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls[J]. *Mod Pathol*, 2020, 33(1):38-46.
- [20] COCCO E, BENHAMIDA J, MIDDHA S, et al. Colorectal Carcinomas Containing Hypermethylated Mlh1 Promoter and Wild-Type BRAF/KRAS are Enriched for Targetable Kinase Fusions[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(6):1047-1053.
- [21] QI C, ZHOU T, BAI Y, et al. China special issue on gastrointestinal tumors-NTRK fusion in a large real-world population and clinical utility of circulating tumor DNA genotyping to guide TRK inhibitor treatment[J]. *Int J Cancer*, 2023, 153(11):1916-1927.
- [22] SOMWAR R, HOFMANN N E, SMITH B, et al. NTRK kinase domain mutations in cancer variably impact sensitivity to type I and type II inhibitors[J]. *Commun Biol*, 2020, 3(1):776.
- [23] COCCO E, SCHRAM A M, KULICK A, et al. Resistance to TRK inhibition mediated by convergent MAPK pathway activation[J]. *Nat Med*, 2019, 25(9):1422-1427.
- [24] DRILON A. TRK inhibitors in TRK fusion-positive cancers[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(Suppl 8):23-30.
- [25] GATALICA Z, XIU J, SWENSEN J, et al. Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions[J]. *Mod Pathol*, 2019, 32(1):147-153.
- [26] CHIANG S, COTZIA P, HYMAN D M, et al. NTRK fusions define a novel uterine sarcoma subtype with features of fibrosarcoma[J]. *Am J Surg Pathol*, 2018, 42(6):791-798.
- [27] HECHTMAN J F, BENAYED R, HYMAN D M, et al. Pan-Trk Immunohistochemistry is an Efficient and Reliable Screen for the Detection of NTRK Fusions[J]. *Am J Surg Pathol*, 2017, 41(11):1547-1551.
- [28] MARCHIÒ C, SCALTRITI M, LADANYI M, et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(9):1417-1427.
- [29] DU Z, LOVLY C M. Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):58.
- [30] OH D Y, BANG Y J. HER2-targeted therapies-a role beyond breast cancer[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(1):33-48.
- [31] BANG Y J, VAN CUTSEM E, FEYEREISLOVA A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2010, 376(9742):687-697.
- [32] SHITARA K, BANG Y J, IWASA S, et al. Trastuzumab deruxtecan in previously treated HER2-positive gastric cancer[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(25):2419-2430.
- [33] PENG Z, LIU T, WEI J, et al. Efficacy and safety of a novel anti-HER2 therapeutic antibody RC48 in patients with HER2-overexpressing, locally advanced or metastatic gastric or gastroesophageal junction cancer: a single-arm phase II study[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2021, 41(11):1173-1182.
- [34] SARTORE-BIANCHI A, AMATU A, PORCU L, et al. HER2 positivity predicts unresponsiveness to EGFR-targeted treatment in metastatic colorectal cancer[J]. *Oncologist*, 2019, 24(10):1395-1402.
- [35] MARTIN V, LANDI L, MOLINARI F, et al. HER2 gene copy number status may influence clinical efficacy to anti-EGFR monoclonal antibodies in metastatic colorectal cancer patients[J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(3):668-675.
- [36] RAGHAV K, LOREE J M, MORRIS J S, et al. Validation of HER2 amplification as a predictive biomarker for anti-epidermal growth factor receptor antibody therapy in metastatic colorectal cancer[J]. *JCO Precis Oncol*, 2019, 3:1-13.
- [37] MERIC-BERNSTAM F, HURWITZ H, RAGHAV K P S, et al. Pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer (MyPathway): an updated report from a multicentre, open-label, phase 2a, multiple basket study[J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(4):518-530.
- [38] SARTORE-BIANCHI A, TRUSOLINO L, MARTINO C, et al. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(6):738-746.
- [39] SIENA S, DI BARTOLOMEO M, RAGHAV K, et al. Trastuzumab deruxtecan (DS-8201) in patients with HER2-expressing metastatic colorectal cancer (DESTINY-CRC01): a multicentre, open-label, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2021, 22(6):779-789.
- [40] BERTOTTI A, MIGLIARDI G, GALIMI F, et al. A molecularly annotated platform of patient-derived xenografts ("xenopatients") identifies HER2 as an effective therapeutic target in cetuximab-resistant colorectal cancer[J]. *Cancer Discov*, 2011, 1(6):508-523.

- [41] CIARDIELLO F, NORMANNO N. HER2 signaling and resistance to the anti-EGFR monoclonal antibody cetuximab: A further step toward personalized medicine for patients with colorectal cancer[J]. *Cancer Discov*, 2011, 1(6):472-474.
- [42] KAVURI SM, JAIN N, GALIMI F, et al. HER2 activating mutations are targets for colorectal cancer treatment[J]. *Cancer Discov*, 2015, 5(8):832-841.
- [43] JACOBS S A, LEE J J, GEORGE T J, et al. Neratinib-plus-cetuximab in quadruple-WT (KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA) metastatic colorectal cancer resistant to cetuximab or panitumumab: NSABP FC-7, a phase I b study[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(6):1612-1622.
- [44] PIETRANTONIO F, VERNIERI C, SIRAVEGNA G, et al. Heterogeneity of acquired resistance to Anti-EGFR monoclonal antibodies in patients with metastatic colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(10):2414-2422.
- [45] GALDY S, LAMARCA A, MCNAMARA M G, et al. HER2/HER3 pathway in biliary tract malignancies; systematic review and meta-analysis: a potential therapeutic target?[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2017, 36(1):141-157.
- [46] JAVLE M, CHURI C, KANG H C, et al. HER2/neu-directed therapy for biliary tract cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8:58.
- [47] JAVLE M, BORAD M J, AZAD N S, et al. Pertuzumab and trastuzumab for HER2-positive, metastatic biliary tract cancer (MyPathway): a multicentre, open-label, phase 2a, multiple basket study[J]. *Lancet Oncol*, 2021, 22(9):1290-1300.
- [48] HYMAN D M, PIHA-PAUL S A, WON H, et al. HER kinase inhibition in patients with HER2- and HER3-mutant cancers[J]. *Nature*, 2018, 554(7691):189-194.
- [49] PISHVAIAN M J, BLAIS E M, BRODY J R, et al. Overall survival in patients with pancreatic cancer receiving matched therapies following molecular profiling: a retrospective analysis of the Know Your Tumor registry trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(4):508-518.
- [50] MERIC-BERNSTAM F, MAKKER V, OAKNIN A, et al. Efficacy and safety of trastuzumab deruxtecan (T-DXd) in patients (pts) with HER2-expressing solid tumors: DESTINY-PanTumor02 (DP-02) interim results[J]. *J Clin Oncol*, 2023, 41(Suppl 17):LBA3000-LBA.
- [51] LIÈVRE A, BACHET J B, BOIGE V, et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(3):374-379.
- [52] AMADO R G, WOLF M, PEETERS M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(10):1626-1634.
- [53] DOUILLARD J Y, OLINER K S, SIENA S, et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(11):1023-1034.
- [54] QIN S, LI J, WANG L, et al. Efficacy and tolerability of first-line cetuximab plus leucovorin, fluorouracil, and oxaliplatin (FOLFOX-4) versus FOLFOX-4 in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer: the open-label, randomized, phase III TAILOR trial[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(30):3031-3039.
- [55] HEINEMANN V, VON WEIKERSTHAL L F, DECKER T, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): A randomised, open-label, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(10):1065-1075.
- [56] CIARDIELLO F, CIARDIELLO D, MARTINI G, et al. Clinical management of metastatic colorectal cancer in the era of precision medicine[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(4):372-401.
- [57] FAKIH MG, KOPETZ S, KUBOKI Y, et al. Sotorasib for previously treated colorectal cancers with KRAS^{G12C} mutation (CodeBreak100): a prespecified analysis of a single-arm, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2022, 23(1):115-124.
- [58] WEISS J, YAEGER R D, JOHNSON M L, et al. LBA6 KRYSTAL-1: adagrasib (MRTX849) as monotherapy or combined with cetuximab (Cetux) in patients (Pts) with colorectal cancer (CRC) harboring a KRASG12C mutation[J]. *Ann Oncol*, 2021, 32:S1294.
- [59] CREMOLINI C, ROSSINI D, DELL'AQUILA E, et al. Rechallenge for Patients with RAS and BRAF Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer with Acquired Resistance to First-Line Cetuximab and Irinotecan: A Phase 2 Single-Arm Clinical Trial[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(3):343-350.
- [60] SARTORE-BIANCHI A, PIETRANTONIO F, LONARDI S, et al. Phase II study of anti-EGFR rechallenge therapy with panitumumab driven by circulating tumor DNA molecular selection in metastatic colorectal cancer: The CHRONOS trial[J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(Suppl 15):3506.
- [61] STRICKLER J H, SATAKE H, HOLLEBECQUE A, et al. First data for sotorasib in patients with pancreatic cancer with KRAS p.G12C mutation: a phase I / II study evaluating efficacy and safety[J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(Suppl 36):360490.
- [62] FUSCO M J, SAEED-VAFA D, CARBALLIDO E M, et al. Identification of targetable gene fusions and structural rearrangements to foster precision medicine in KRAS wild-type pancreatic cancer[J]. *JCO Precis Oncol*, 2021, 5:PO.20.00265.
- [63] BOERNER T, DRILL E, PAK L M, et al. Genetic determinants of outcome in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Hepatology*, 2021, 74(3):1429-1444.
- [64] DONG L, LU D, CHEN R, et al. Proteogenomic characterization identifies clinically relevant subgroups of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(1):70-87.e15.
- [65] LIM H Y, MERLE P, WEISS K H, et al. Phase II studies with refametinib or refametinib plus sorafenib in patients with RAS-mutated hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(19):4650-4661.
- [66] LIM H Y, HEO J, CHOI H J, et al. A phase II study of the efficacy and safety of the combination therapy of the MEK inhibitor refametinib (BAY 86-9766) plus sorafenib for Asian patients with unresectable hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(23):5976-5985.
- [67] BOKEMEYER C, VAN CUTSEM E, ROUGIER P, et al. Addition of cetuximab to chemotherapy as first-line treatment for KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: pooled analysis of the CRYSTAL and OPUS randomised clinical

- trials[J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(10):1466-1475.
- [68] PIETRANTONIO F, PETRELLI F, COINU A, et al. Predictive role of BRAF mutations in patients with advanced colorectal cancer receiving cetuximab and panitumumab: a meta-analysis[J]. *Eur J Cancer*, 2015, 51(5):587-594.
- [69] VAN CUTSEM E, KOHNE C H, LANG I, et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(15):2011-2019.
- [70] PRICE T J, HARDINGHAM J E, LEE C K, et al. Impact of KRAS and BRAF gene mutation status on outcomes from the phase III AGITG MAX trial of capecitabine alone or in combination with bevacizumab and mitomycin in advanced colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(19):2675-2682.
- [71] CLANCY C, BURKE J P, KALADY M F, et al. BRAF mutation is associated with distinct clinicopathological characteristics in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Colorectal Dis*, 2013, 15(12):e711-718.
- [72] ETIENNE-GRIMALDI M C, FORMENTO J L, FRANCOUAL M, et al. K-Ras mutations and treatment outcome in colorectal cancer patients receiving exclusive fluoropyrimidine therapy[J]. *Clin Cancer*, 2008, 14(15):4830-4835.
- [73] AHN D H, BEKAI-SABAB T. Biliary cancer: Intrahepatic cholangiocarcinoma vs. extrahepatic cholangiocarcinoma vs. gallbladder cancers: classification and therapeutic implications[J]. *J Gastrointest Oncol*, 2017, 8(2):293-301.
- [74] ROBERTSON S, HYDER O, DODSON R, et al. The frequency of KRAS and BRAF mutations in intrahepatic cholangiocarcinomas and their correlation with clinical outcome[J]. *Hum Pathol*, 2013, 44(12):2768-2773.
- [75] SUBBIAH V, LASSEN U, ELEZ E, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF^{V600E}-mutated biliary tract cancer (ROAR): a phase 2, open-label, single-arm, multicentre basket trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(9):1234-1243.
- [76] WITKIEWICZ A K, MCMILLAN E A, BALAJI U, et al. Whole-exome sequencing of pancreatic cancer defines genetic diversity and therapeutic targets[J]. *Nat Commun*, 2015, 6:6744.
- [77] SEGHERS A K, CUYLE P J, VAN CUTSEM E. Molecular targeting of a BRAF mutation in pancreatic ductal adenocarcinoma: case report and literature review[J]. *Target Oncol*, 2020, 15(3):407-410.
- [78] AGUIRRE A J, NOWAK J A, CAMARDA N D, et al. Real-time genomic characterization of advanced pancreatic cancer to enable precision medicine[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(9):1096-1111.
- [79] KAM A E, MASOOD A, SHROFF R T. Current and emerging therapies for advanced biliary tract cancers[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2021, 6(11):956-969.
- [80] ABOU-ALFA G K, SAHAI V, HOLLEBECQUE A, et al. Pemigatinib for previously treated, locally advanced or metastatic cholangiocarcinoma: a multicentre, open-label, phase 2 study[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(5):671-84.
- [81] JAVLE M, ROYCHOWDHURY S, KELLEY R K, et al. Infigratinib (BGJ398) in previously treated patients with advanced or metastatic cholangiocarcinoma with FGFR2 fusions or rearrangements: mature results from a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 study[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2021, 6(10):803-815.
- [82] GOYAL L, MERIC-BERNSTAM F, HOLLEBECQUE A, et al. FOENIX-CCA2: a phase II, open-label, multicenter study of futibatinib in patients (pts) with intrahepatic cholangiocarcinoma (iCCA) harboring FGFR2 gene fusions or other rearrangements[J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(Suppl 15):108.
- [83] GOYAL L, MERIC-BERNSTAM F, HOLLEBECQUE A, et al. Abstract CT010: primary results of phase 2 FOENIX-CCA2: The irreversible FGFR1-4 inhibitor futibatinib in intrahepatic cholangiocarcinoma (iCCA) with FGFR2 fusions/rearrangements[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(Suppl 13):CT010-CT.
- [84] MAZZAFERRO V, EL-RAYES B F, DROZ DIT BUSSET M, et al. Derazantinib (ARQ 087) in advanced or inoperable FGFR2 gene fusion-positive intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2019, 120(2):165-171.
- [85] BAHLEDA R, ITALIANO A, HIERRO C, et al. Multicenter phase I study of erdafitinib (JNJ-42756493), oral pan-fibroblast growth factor receptor inhibitor, in patients with advanced or refractory solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(16):4888-4897.
- [86] GOYAL L, SAHA S K, LIU L Y, et al. Polyclonal secondary FGFR2 mutations drive acquired resistance to FGFR inhibition in patients with FGFR2 fusion-positive cholangiocarcinoma[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(3):252-263.
- [87] KROOK M A, LENYO A A O, WILBERDING M, et al. Efficacy of FGFR inhibitors and combination therapies for acquired resistance in FGFR2-fusion cholangiocarcinoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(3):847-857.
- [88] LI Y Y, CLEARY J M, RAGHAVAN S, et al. Abstract 1097: FGFR2 in-frame indels: a novel targetable alteration in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(Suppl 16):1097.
- [89] GOYAL L, SHI L, LIU L Y, et al. TAS-120 overcomes resistance to ATP-competitive FGFR inhibitors in patients with FGFR2 fusion-positive intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(8):1064-1079.
- [90] VAN CUTSEM E, BANG Y J, MANSOOR W, et al. A randomized, open-label study of the efficacy and safety of AZD4547 monotherapy versus paclitaxel for the treatment of advanced gastric adenocarcinoma with FGFR2 polysomy or gene amplification[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(6):1316-1324.
- [91] CATENACCI D V T, KANG Y K, SAEED A, et al. FIGHT: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II study of bemarituzumab (bema) combined with modified FOLFOX6 in 1L FGFR2b+ advanced gastric/gastroesophageal junction adenocarcinoma (GC)[J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(Suppl 15):4010.
- [92] RIZZO A, RICCI A D, BRANDI G. IDH inhibitors in advanced cholangiocarcinoma: Another arrow in the quiver?[J]. *Cancer Treat Res Commun*, 2021, 27:100356.
- [93] ABOU-ALFA G K, MACARULLA T, JAVLE M M, et al.

- Ivosidenib in IDH1-mutant, chemotherapy-refractory cholangiocarcinoma (ClarIDHy): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(6):796-807.
- [94] KELLY C M, GUTIERREZ SAINZ L, CHI P. The management of metastatic GIST: Current standard and investigational therapeutics[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1):2.
- [95] DEMETRI G D, VON MEHREN M, BLANKE C D, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors[J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(7):472-480.
- [96] BLANKE C D, RANKIN C, DEMETRI G D, et al. Phase III randomized, intergroup trial assessing imatinib mesylate at two dose levels in patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing the kit receptor tyrosine kinase: S0033[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(4):626-632.
- [97] CORLESS C L, BARNETT C M, HEINRICH M C. Gastrointestinal stromal tumours: Origin and molecular oncology[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(12):865-878.
- [98] SERRANO C, MARIÑO-ENRÍQUEZ A, TAO D L, et al. Complementary activity of tyrosine kinase inhibitors against secondary kit mutations in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumours[J]. *Br J Cancer*, 2019, 120(6):612-620.
- [99] HEINRICH M C, JONES R L, VON MEHREN M, et al. Avapritinib in advanced PDGFRA D842V-mutant gastrointestinal stromal tumour (NAVIGATOR): a multicentre, open-label, phase 1 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(7):935-946.
- [100] DHILLON S. Avapritinib: first approval[J]. *Drugs*, 2020, 80(4):433-439.
- [101] LI J, YE Y, WANG J, et al. Chinese consensus guidelines for diagnosis and management of gastrointestinal stromal tumor[J]. *Chin J Cancer Res*, 2017, 29(4):281-293.
- [102] LASOTA J, FELISIAK-GOLABEK A, WASAG B, et al. Frequency and clinicopathologic profile of PIK3CA mutant GISTs: molecular genetic study of 529 cases[J]. *Mod Pathol*, 2016, 29(3):275-282.
- [103] SHI E, CHMIELECKI J, TANG C M, et al. FGFR1 and NTRK3 actionable alterations in "Wild-Type" gastrointestinal stromal tumors[J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1):339.
- [104] MIRANDA C, NUCIFORA M, MOLINARI F, et al. KRAS and BRAF mutations predict primary resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(6):1769-1776.
- [105] MEI L, SMITH S C, FABER A C, et al. Gastrointestinal stromal tumors: The GIST of precision medicine[J]. *Trends Cancer*, 2018, 4(1):74-91.
- [106] LI F, HUYNH H, LI X, et al. FGFR-mediated reactivation of MAPK signaling attenuates antitumor effects of imatinib in gastrointestinal stromal tumors[J]. *Cancer Discov*, 2015, 5(4):438-451.
- [107] KO T K, LEE E, NG C C, et al. Circulating Tumor DNA Mutations in Progressive Gastrointestinal Stromal Tumors Identify Biomarkers of Treatment Resistance and Uncover Potential Therapeutic Strategies[J]. *Front Oncol*, 2022, 12:840843.
- [108] ASTOLFI A, INDIO V, NANNINI M, et al. Targeted deep sequencing uncovers cryptic KIT mutations in KIT/PDGFR α /SDH/RAS-P wild-type GIST[J]. *Front Oncol*, 2020, 10:504.
- [109] ZHOU Y, ZHANG X, WU X, et al. A prospective multicenter phase II study on the efficacy and safety of dasatinib in the treatment of metastatic gastrointestinal stromal tumors failed by imatinib and sunitinib and analysis of NGS in peripheral blood[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(17):6225-6233.
- [110] CASSIER P A, PEYRAMAURE C, ATTIGNON V, et al. Precision medicine for patients with gastro-oesophageal cancer: a subset analysis of the ProfILER program[J]. *Transl Oncol*, 2022, 15(1):101266.
- [111] LENNERZ J K, KWAK E L, ACKERMAN A, et al. MET amplification identifies a small and aggressive subgroup of esophagogastric adenocarcinoma with evidence of responsiveness to crizotinib[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(36):4803-4810.
- [112] LEE J, KIM S T, KIM K, et al. Tumor genomic profiling guides patients with metastatic gastric cancer to targeted treatment: The VIKTORY umbrella trial[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(10):1388-1405.
- [113] LIU Q, YANG J, WU N, et al. Matched therapies for advanced gastric cancer based on genotype: a real-world study in China[J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(Suppl 15):e16098.
- [114] XIE F, LIU L, YANG H, et al. The impact of reproductive factors on the risk of breast cancer by ER/PR and HER2: a multicenter case-control study in Northern and Eastern China[J]. *Oncologist*, 2022, 27(1):e1-e8.
- [115] PENG Z, WANG H, LIU B, et al. Abstract CT152: a multicenter phase II study of savolitinib in patients with MET-amplified gastroesophageal junction adenocarcinomas or gastric cancer[J]. *Cancer Res*, 2023, 83(Suppl 8):CT152-CT.
- [116] GRAZIANO F, GALLUCCIO N, LORENZINI P, et al. Genetic activation of the MET pathway and prognosis of patients with high-risk, radically resected gastric cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(36):4789-4795.
- [117] YU S, YU Y, ZHAO N, et al. C-Met as a prognostic marker in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e79137.
- [118] AN X, WANG F, SHAO Q, et al. MET amplification is not rare and predicts unfavorable clinical outcomes in patients with recurrent/metastatic gastric cancer after chemotherapy[J]. *Cancer*, 2014, 120(5):675-682.
- [119] MARON S B, ALPERT L, KWAK H A, et al. Targeted therapies for targeted populations: anti-EGFR treatment for EGFR-amplified gastroesophageal adenocarcinoma[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(6):696-713.
- [120] SATOH T, LEE K H, RHA S Y, et al. Randomized phase II trial of nimotuzumab plus irinotecan versus irinotecan alone as second-line therapy for patients with advanced gastric cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2015, 18(4):824-832.
- [121] JIN H, SHI Y, LV Y, et al. EGFR activation limits the response of liver cancer to lenvatinib[J]. *Nature*, 2021, 595(7869):730-734.
- [122] MARTINI G, CIARDIELLO D, VITIELLO P P, et al.

- Resistance to anti-epidermal growth factor receptor in metastatic colorectal cancer: what does still need to be addressed?[J]. *Cancer Treat Rev*, 2020, 86:102023.
- [123] LAURENT-PUIG P, CAYRE A, MANCEAU G, et al. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(35):5924-5930.
- [124] SFORZA V, MARTINELLI E, CIARDIELLO F, et al. Mechanisms of resistance to anti-epidermal growth factor receptor inhibitors in metastatic colorectal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(28):6345-6361.
- [125] ZHANG X, WANG Y, MENG L. Comparative genomic analysis of esophageal squamous cell carcinoma and adenocarcinoma: New opportunities towards molecularly targeted therapy[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(3):1054-1067.
- [126] ZHAO C, LIN L, LIU J, et al. A phase II study of concurrent chemoradiotherapy and erlotinib for inoperable esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(35):57310-57316.
- [127] XIE C, JING Z, LUO H, et al. Chemoradiotherapy with extended nodal irradiation and/or erlotinib in locally advanced oesophageal squamous cell cancer: Long-term update of a randomised phase 3 trial[J]. *Br J Cancer*, 2020, 123(11):1616-1624.
- [128] HUANG J, FAN Q, LU P, et al. Icotinib in patients with pretreated advanced esophageal squamous cell carcinoma with EGFR overexpression or EGFR gene amplification: a single-arm, multicenter phase 2 study[J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(6):910-917.
- [129] LUO H, JIANG W, MA L, et al. Icotinib with concurrent radiotherapy vs radiotherapy alone in older adults with unresectable esophageal squamous cell carcinoma: a phase II randomized clinical trial[J]. *JAMA Netw Open*, 2020, 3(10):e2019440.
- [130] SCHRAM A M, O'REILLY E M, O'KANE G M, et al. Efficacy and safety of zenocutuzumab in advanced pancreas cancer and other solid tumors harboring NRG1 fusions[J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(Suppl 15):3003.
- [131] LASKIN J J, CADRANEL J, RENOUEF D J, et al. Afatinib as a novel potential treatment option for NRG1 fusion-positive tumors[J]. *J Glob Oncol*, 2019, 5(Suppl):110.
- [132] JONES M R, WILLIAMSON L M, TOPHAM J T, et al. NRG1 gene fusions are recurrent, clinically actionable gene rearrangements in KRAS wild-type pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(15):4674-4681.
- [133] HEINING C, HORAK P, UHRIG S, et al. NRG1 fusions in KRAS wild-type pancreatic cancer[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(9): 1087-1095.
- [134] SINGHI A D, ALI S M, LACY J, et al. Identification of targetable ALK rearrangements in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2017, 15(5):555-562.
- [135] OU K, LIU X, LI W, et al. ALK rearrangement-positive pancreatic cancer with brain metastasis has remarkable response to ALK inhibitors: a case report[J]. *Front Oncol*, 2021, 11:724815.
- [136] DRILON A E, SUBBIAH V, OXNARD G R, et al. A phase 1 study of LOXO-292, a potent and highly selective RET inhibitor, in patients with RET-altered cancers[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(Suppl 15):102.
- [137] KIM S T, CRISTESCU R, BASS A J, et al. Comprehensive molecular characterization of clinical responses to PD-1 inhibition in metastatic gastric cancer[J]. *Nat Med*, 2018, 24(9):1449-1458.
- [138] WANG F, WEI X L, WANG F H, et al. Safety, efficacy and tumor mutational burden as a biomarker of overall survival benefit in chemo-refractory gastric cancer treated with toripalimab, a PD-1 antibody in phase I b/II clinical trial NCT02915432[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(9):1479-1486.
- [139] BAI Y, XIE T, WANG Z, et al. Efficacy and predictive biomarkers of immunotherapy in Epstein-Barr virus-associated gastric cancer[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(3):e004080.
- [140] CUI Y, CHEN H, XI R, et al. Whole-genome sequencing of 508 patients identifies key molecular features associated with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cell Res*, 2020, 30(10):902-913.
- [141] DOU S, ZHANG L, WANG C, et al. EGFR mutation and 11q13 amplification are potential predictive biomarkers for immunotherapy in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:813732.
- [142] KATO S, GOODMAN A, WALAVALKAR V, et al. Hyperprogressors after Immunotherapy: Analysis of genomic Alterations Associated with Accelerated Growth Rate[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(15):4242-4250.
- [143] SINGAVIA K, MENON S, KILARI D, et al. 1140PDPredictive biomarkers for hyper-progression (HP) in response to immune checkpoint inhibitors (ICI) –analysis of somatic alterations (SAs)[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(Suppl 5):405.
- [144] WANG W, WU M, LIU M, et al. Hyperprogression to camrelizumab in a patient with esophageal squamous cell carcinoma harboring EGFR kinase domain duplication[J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1):e000793.
- [145] SUN D, LIU D, LIU Q, et al. Nivolumab induced hyperprogressive disease in advanced esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*, 2020, 21(12):1097-1104.
- [146] CHENG J, LI Y, WANG X, et al. Response stratification in the first-line combined immunotherapy of hepatocellular carcinoma at genomic, transcriptional and immune repertoire levels[J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2021, 8:1281-1295.
- [147] TANG X, FAN L, CHEN G, et al. Abstract 4349: higher level of tumor mutational burden and 11q13 amplification in Chinese hepatocellular carcinoma patients[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(Suppl 13):4349.
- [148] GOLAN T, HAMMEL P, RENI M, et al. Maintenance olaparib for germline BRCA-mutated metastatic pancreatic cancer[J]. *New Engl J Med*, 2019, 381(4): 317-327.
- [149] REISS K A, MICK R, O'HARA M H, et al. Phase II Study of Maintenance Rucaparib in Patients with Platinum-Sensitive

- Advanced Pancreatic Cancer and a Pathogenic Germline or Somatic Variant in *BRCA1*, *BRCA2*, or *PALB2*[J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(22):2497-2505.
- [150] SHROFF R T, HENDIFAR A, MCWILLIAMS R R, et al. Rucaparib monotherapy in patients with pancreatic cancer and a known deleterious BRCA mutation[J]. *JCO Precis Oncol*, 2018, 2018:PO.17.00316.
- [151] REBELATTO T F, FALAVIGNA M, POZZARI M, et al. Should platinum-based chemotherapy be preferred for germline BRCA1 and 2-mutated pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) patients? A systematic review and meta-analysis[J]. *Cancer Treat Rev*, 2019, 80:101895.
- [152] YADAV S, KASI P M, BAMLET W R, et al. Effect of germline mutations in homologous recombination repair genes on overall survival of patients with pancreatic adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(24):6505-6512.
- [153] PARK W, CHEN J, CHOU J F, et al. Genomic methods identify homologous recombination deficiency in pancreas adenocarcinoma and optimize treatment selection[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(13):3239-3247.
- [154] PISHVAIAN M J, WANG H, HE A R, et al. A phase I/II study of veliparib (ABT-888) in combination with 5-fluorouracil and oxaliplatin in patients with metastatic pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(19):5092-5101.
- [155] ZHANG X, MAO T, ZHANG B, et al. Characterization of DNA damage response deficiency in pancreatic cancer patients from China[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42(1):70-74.
- [156] GOLAN T, RAITSES-GUREVICH M, KELLEY R K, et al. Overall survival and clinical characteristics of BRCA-associated cholangiocarcinoma: a multicenter retrospective study[J]. *Oncologist*, 2017, 22(7):804-810.
- [157] SPIZZO G, PUCCINI A, XIU J, et al. Molecular profile of BRCA-mutated biliary tract cancers[J]. *ESMO Open*, 2020, 5(3):e000682.
- [158] WANG F, ZHAO Q, WANG Y N, et al. Evaluation of POLE and POLD1 mutations as biomarkers for immunotherapy outcomes across multiple cancer types[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(10):1504-1506.
- [159] ROUSSEAU B, BIECHE I, PASMANT E, et al. PD-1 blockade in solid tumors with defects in polymerase epsilon[J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(6):1435-1448.
- [160] MOSELE F, REMON J, MATEO J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group[J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(11):1491-1505.
- [161] OHTSU A, AJANI J A, BAI Y X, et al. Everolimus for previously treated advanced gastric cancer: results of the randomized, double-blind, phase III GRANITE-1 study[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(31):3935-3943.
- [162] PARK J H, RYU M H, PARK Y S, et al. Successful control of heavily pretreated metastatic gastric cancer with the mTOR inhibitor everolimus (RAD001) in a patient with PIK3CA mutation and pS6 overexpression[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15:119.
- [163] LIAO X, LOCHHEAD P, NISHIHARA R, et al. Aspirin use, tumor PIK3CA mutation, and colorectal-cancer survival[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(17):1596-1606.
- [164] CHEN Z, WANG C, DONG H, et al. Aspirin has a better effect on PIK3CA mutant colorectal cancer cells by PI3K/Akt/Raptor pathway[J]. *Mol Med*, 2020, 26(1):14.
- [165] ZHOU J, JI Q, LI Q. Resistance to anti-EGFR therapies in metastatic colorectal cancer: underlying mechanisms and reversal strategies[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1):328.
- [166] WOOLSTON A, KHAN K, SPAIN G, et al. Genomic and transcriptomic determinants of therapy resistance and immune landscape evolution during Anti-EGFR treatment in colorectal cancer[J]. *Cancer Cell*, 2019, 36(1):35-50.
- [167] DE ROOCK W, CLAES B, BERNASCONI D, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(8):753-762.
- [168] HARDING J J, NANDAKUMAR S, ARMENIA J, et al. Prospective genotyping of hepatocellular carcinoma: Clinical implications of next-generation sequencing for matching patients to targeted and immune therapies[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(7):2116-2126.
- [169] WENG G, ZHAO W, YIN Y, et al. Genomic alterations of whole exome sequencing in esophageal squamous cell carcinoma before and after radiotherapy[J]. *J Thorac Dis*, 2020, 12(10):5945-5957.
- [170] SU D, HUANG M, JIN J, et al. The prognostic role of a novel TP53 mutation classifier in resectable esophageal squamous-cell carcinoma[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(Suppl 15):e14749.
- [171] LI X C, WANG M Y, YANG M, et al. A mutational signature associated with alcohol consumption and prognostically significantly mutated driver genes in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(4):938-944.
- [172] HOU J, JIANG D, ZHANG J, et al. Frequency, characterization, and prognostic analysis of PIK3CA gene mutations in Chinese esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Hum Pathol*, 2014, 45(2):352-358.
- [173] SHIGAKI H, BABA Y, WATANABE M, et al. PIK3CA mutation is associated with a favorable prognosis among patients with curatively resected esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(9):2451-2459.
- [174] LLOVET J M, MONTAL R, SIA D, et al. Molecular therapies and precision medicine for hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(10):599-616.
- [175] SIA D, JIAO Y, MARTINEZ-QUETGLAS I, et al. Identification of an immune-specific class of hepatocellular carcinoma, based on molecular features[J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(3):812-826.
- [176] JANJIGIAN Y Y, SANCHEZ-VEGA F, JONSSON P, et al. Genetic predictors of response to systemic therapy in esophagogastric cancer[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(1):49-58.
- [177] SANCHEZ-VEGA F, HECHTMAN J F, CASTEL P, et al. EGFR and MET amplifications determine response to HER2

- inhibition in ERBB2-amplified esophagogastric cancer[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(2):199-209.
- [178] WANG D S, LIU Z X, LU Y X, et al. Liquid biopsies to track trastuzumab resistance in metastatic HER2-positive gastric cancer[J]. *Gut*, 2019, 68(7):1152-1161.
- [179] JANJIGIAN Y Y, MARON S B, CHATILA W K, et al. First-line pembrolizumab and trastuzumab in HER2-positive oesophageal, gastric, or gastro-oesophageal junction cancer: an open-label, single-arm, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(6):821-831.
- [180] JOGO T, NAKAMURA Y, SHITARA K, et al. Circulating tumor DNA analysis detects FGFR2 amplification and concurrent genomic alterations associated with FGFR inhibitor efficacy in advanced gastric cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(20):5619-5627.
- [181] CHANG J, WANG S, ZHANG Z, et al. Multiple receptor tyrosine kinase activation attenuates therapeutic efficacy of the fibroblast growth factor receptor 2 inhibitor AZD4547 in FGFR2 amplified gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(4):2009-2022.
- [182] FRIGAULT M M, MARKOVETS A, NUTTALL B, et al. Mechanisms of acquired resistance to savolitinib, a selective MET inhibitor in MET-amplified gastric cancer[J]. *JCO Precis Oncol*, 2020, 4: PO.19.00386.
- [183] DU J, WU X, TONG X, et al. Circulating tumor DNA profiling by next generation sequencing reveals heterogeneity of crizotinib resistance mechanisms in a gastric cancer patient with MET amplification[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(16):26281-26287.
- [184] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma[J]. *Nature*, 2014, 513(7517):202-209.
- [185] REINERT T, HENRIKSEN T V, CHRISTENSEN E, et al. Analysis of plasma cell-free DNA by ultradeep sequencing in patients with stages I to III colorectal cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(8):1124-1131.
- [186] TARAZONA N, GIMENO-VALIENTE F, GAMBARDELLA V, et al. Targeted next-generation sequencing of circulating-tumor DNA for tracking minimal residual disease in localized colon cancer[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(11):1804-1812.
- [187] GAO Z, HUANG D, CHEN H, et al. Development and validation of postoperative circulating tumor DNA combined with clinicopathological risk factors for recurrence prediction in patients with stage I -III colorectal cancer[J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1):63.
- [188] TIE J A O, COHEN J D, LAHOUEL K A O, et al. Circulating tumor DNA analysis guiding adjuvant therapy in stage II colon cancer[J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(24):2261-2272.
- [189] ZHANG Q, LUO J, WU S, et al. Prognostic and predictive impact of circulating tumor DNA in patients with advanced cancers treated with immune checkpoint blockade[J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(12):1842-1853.
- [190] WANG X Y, ZHANG R, HAN J H, et al. Early circulating tumor DNA dynamics predict neoadjuvant therapy response and recurrence in colorectal liver metastases: a prospective study[J]. *Ann Surg Oncol*, 2023, 30(8):5252-5263.
- [191] LI M M, DATTO M, DUNCAVAGE E J, et al. Standards and guidelines for the interpretation and reporting of sequence variants in cancer: a Joint Consensus Recommendation of the association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists[J]. *J Mol Diagn*, 2017, 19(1):4-23.
- [192] MATEO J, CHAKRAVARTY D, DIENSTMANN R, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets (ESCAT)[J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(9): 1895-1902.
- [193] RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. *Genet Med*, 2015, 17(5):405-424.
- [194] BRANDT T, SACK L M, ARJONA D, et al. Adapting ACMG/AMP sequence variant classification guidelines for single-gene copy number variants[J]. *Genet Med*, 2020, 22(2):336-344.
- [195] MOSKOVITZ B, LIN R, NASSAR S, et al. Effect of diclofenac sodium (Voltaren) on spermatogenesis of infertile oligospermic patients[J]. *Eur Urol*, 1988, 14(5):395-397.

收稿日期：2023-11-17

引用本文：中国抗癌协会肿瘤精准治疗专业委员会．二代测序技术在消化系统肿瘤临床应用的中国专家共识[J/CD]．肿瘤综合治疗电子杂志，2024，10（1）：69-92．