

Současný stav a vyhlídky cílené léčby nemalobuněčného plicního karcinomu (NSCLC)

Martin Svatoň

Klinika pneumologie a ftizeologie, FN a LF UK Plzeň

Cílená chemoterapeutika a cílená biologická léčba přinesly zásadní posun v terapii NSCLC. Dosahují vyššího účinku ve srovnání s klasickou chemoterapií při menších nežádoucích účincích. Navíc se již ukazují cesty jak překonat vzniklou rezistenci na tyto léky. Mezi ně patří především cílené preparáty nových generací. Článek se věnuje jednak již používaným molekulám, které cílí na senzitivní *EGFR* mutace, *ALK* a *ROS* translokace či inhibují angiogenezi, a rovněž se snaží zachytit trendy blízké budoucnosti na tomto poli. Nové imunoterapeutické preparáty jsou rozebírány v jiném článku tohoto vydání.

Klíčová slova: cílená terapie, *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *VEGF*.

Current status and prospects of targeted therapies non-small cell lung cancer

Targeted chemotherapeutics and targeted biological therapy brought a significant shift in the treatment of NSCLC. These medicaments achieve higher efficiency in comparison with conventional chemotherapy with minor adverse effects. Moreover new molecules demonstrate possibility to overcome resistance caused by first generation drugs. The paper described molecules already in clinical use (that target sensitive *EGFR* mutation, *ALK* and *ROS1* translocations and angiogenesis inhibitors) as well as trends in the near future in this field. New immunotherapeutic drugs are discussed in another article of this issue.

Key words: targeted therapy, *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *VEGF*.

Úvod

Plicní karcinom zaujímá celosvětově stále první příčku v nádorové úmrtnosti (1). Standardní chemoterapie platinovým doubletem dosáhla plateau své účinnosti (2). Bez dalšího vývoje nových skupin léčiv, zaměřujících se cíleně na určité znaky nemalobuněčného plicního karcinomu (NSCLC), by proto jen stěží došlo ke zlepšení vyhlídek pacientů. Zohlednění histologie u NSCLC při terapii přineslo mírný posun při léčbě pemetrexedem (3). Od té doby je již definitivně pohlíženo na adenokarcinom a epidermoidní karcinom jako na dvě odlišné choroby (3). Nové *EGFR* (epidermal growth factor receptor) tyrosin kinázové inhibitory (TKI) zprvu při neselektivním podávání nepřinesly další benefit oproti zavedeným režimům v první linii léčby (4). Další výzkum ale brzy prokázal prediktivní význam *EGFR* sen-

zitivních mutací, což odstartovalo prudký vývoj léčiv cílících na konkrétní molekulární aberace tumorů (5). Mezi dalšími si již našli pevné místo TKI cílící na translokaci genu *ALK* (anaplastic lymphoma kinase) a *ROS1* (proto-oncogene tyrosine kinase c-ROS 1).

EGFR

Senzitivní *EGFR* mutace se ukázaly být významným prediktivním markerem účinnosti léčby pomocí *EGFR*-TKI (6, 7). V současné době jsou jediným klinicky používaným biomarkerem užívaným v klinické praxi pro první linii léčby těmito preparáty (8). Celosvětově se uvádí výskyt *EGFR* mutací u zhruba 20 % pacientů (9). Jejich četnost je ale vyšší u asijské populace, žen, nekuřáček a především adenokarcinomu (10). Nicméně je známo, že *EGFR*-TKI jsou účinné

i u části nemocných bez těchto mutací ve vyšších liniích terapie, kde se však používají de facto necíleně (11). Proto se další text o *EGFR*-TKI bude věnovat pouze léčbě v první linii.

1. generace *EGFR*-TKIs

Z této skupiny léků se v klinické praxi používají v první linii léčby u pokročilého NSCLC dvě reverzibilní *EGFR*-TKI – gefitinib a erlotinib.

Gefitinib

První studií fáze III, která jasně dokumentovala prediktivní potenciál *EGFR* senzitivních mutací ve vztahu k léčbě *EGFR*-TKIs byla asijská studie IPASS, na základě které *EGFR*-TKIs vstoupily do první linie léčby u takto selektovaných nemocných (12). Studie porovnávala účinnost gefitinibu (v dávce 250 mg/den p.o.) s kombinací

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

MUDr. Martin Svatoň, svatonm@fnplzeň.cz

Klinika pneumologie a ftizeologie, FN a LF UK Plzeň, dr. E. Beneše 13, 305 99 Plzeň

Cit. zkr: Onkologie 2016; 10(1): 15–18

Článek přijat redakcí: 20. 11. 2015

Článek přijat k publikaci: 4. 12. 2015

paclitaxel-karboplatina u pacientů s pokročilými NSCLC. Primárním cílem byla doba do progresse onemocnění (PFS). V celkové skupině neselektovaných nemocných byl PFS srovnatelný. Pokud se však provedlo rozdělení podle *EGFR* statutu, ukázalo se, že nemocní bez *EGFR* senzitivních mutací profitovali více z chemoterapie a naopak ti s *EGFR* mutacemi signifikantně z podávání gefitinibu. Objektivní odpověď na léčbu (ORR) byla u mutované skupiny též významně vyšší ve prospěch gefitinibu (71,2 % vs. 47,3 %). Mezi nejčastější nežádoucí účinky gefitinibu patřil rash a průjem. Co se týče celkového přežití (OS) výsledky nepřinesly zlepšení tohoto parametru ve srovnání s chemoterapií, což je však dávano do souvislosti se značným cross-overem mezi oběma větvemi studie (10).

Erlotinib

Druhým lékem, který prokázal svoji účinnost u pacientů s pokročilým NSCLC nesoucími *EGFR* mutace byl erlotinib. Z pohledu Evropy je zásadní především studie fáze III EURTAC, která porovnávala účinnost erlotinibu (v dávce 150 mg/den p.o.) ve srovnání s platinovým doubletem (= cisplatinou, popř. karboplatinou + docetaxel/gemcitabin) u nepředléčených nemocných s pokročilými NSCLC jednak u pouze bělošské populace a jednak pouze u pacientů s *EGFR* senzitivními mutacemi (13). Primárním cílem byl rovněž PFS. Studie splnila svůj cíl, kdy PFS bylo při léčbě erlotinibem signifikantně prodlouženo (9,7 vs. 5,2 měsíce). Hlavními nežádoucími účinky byl opět výskyt rash a průjmů. Prodloužení OS ani v této studii (opět nejspíše v důsledku cross-overu) nebylo dosaženo (10).

2. generace EGFR-TKIs

Vzhledem ke vzniku rezistence na léčbu EGFR-TKI mj. v důsledku rezistentních *EGFR* mutací (např. T790M) a neověření jejich účinku na tzv. vzácné *EGFR* mutace (IPASS i EURTAC byly prováděny jen u pacientů s tzv. častými *EGFR* mutacemi – tedy bodové mutaci na exonu 21 L858R a delecí na exonu 19 – tvořícími téměř 90 % spektra *EGFR* mutací) byly hledány cesty, jak tyto výsledky zlepšit (8, 14). Byly proto vyvíjeny ireverzibilní EGFR-TKI účinné i na další receptory z rodiny ErbB, z nichž se do klinické praxe prosadil afatinib (15). Dacomitinib je prozatím zkoumán pouze v rámci klinických studií (16).

Afatinib

Afatinib je první perorální, vysoce selektivní, ireverzibilní blokátor ErbB rodiny. Tohoto dosahuje díky kovalentní vazbě na tyrozinkinázovou doménu receptorů ErbB 1, 2 a 4. Receptor ErbB3 nemá tyrozinkinázovou doménu, a proto nemůže být afatinibem blokován přímou cestou. Blokace je zde dosažena díky vazbě na ostatní molekuly ErbB rodiny a tím pádem znemožněním tvorby heterodimerů s ErbB3 (15). Jeho účinnost u pacientů s pokročilým NSCLC se senzitivními *EGFR* mutacemi prokázali studie LUX-LUNG 3 a LUX-LUNG 6 (17, 18). Studie LUX-LUNG 3 u evropské i neevropské populace porovnávala afatinib (40mg/den s případnou redukcí dávky při nežádoucích účincích) s neúčinnějším platinovým doubletem (cisplatinou-pemetrexed) v první linii u 345 nemocných s pokročilým NSCLC s *EGFR* mutacemi. Primárním cílem byl opět PFS, který byl při léčbě afatinibem signifikantně zlepšen – celkově o 4,4 měsíce (11,1 vs. 6,7 měsíce) a u skupiny s častými mutacemi dokonce o 6,7 měsíce (13,6 vs. 6,9 měsíce). Rovněž byl signifikantně zlepšen ORR a kvalita života nemocných (QoL). Studie LUX-LUNG 6 pak dosáhla obdobných výsledků na čistě asijské populaci, kdy byl afatinib srovnáván s chemoterapeutickou kombinací gemcitabin – cisplatinou. V obou studiích mezi nejčastější nežádoucí účinky spojené s afatinibem patřil průjem, rash, stomatitidy a paronychia. OS nebyl v celkovém souboru zlepšen, ale následná metaanalýza vzniklá spojením obou zmíněných studií prokázala jako první práce prodloužení přežití u EGFR-TKIs – zde konkrétně pro subpopulaci pacientů s *EGFR* mutacemi s delecí 19 (19). To může poukazovat na odlišný mechanismus účinku mezi dvěma tzv. častými mutacemi.

3. generace EGFR-TKIs

Přes své úspěchy, a možnou aktivitu pacientů s některými tzv. vzácnými *EGFR* mutacemi (20), nenaplnil afatinib svá očekávání ve vztahu k *EGFR* mutaci T790M, která je nejčastější příčinou rezistence na EGFR-TKI (21). Proto se dále hledaly molekuly, které by s vysokou efektivitou cílily právě na tuto mutaci. Naplnění očekávání nejspíše přinesly EGFR-TKI 3. generace, kdy mezi vývojem nejpokročilejší preparáty patří molekuly AZD9291 a rociletinib (22). Nicméně i na tyto preparáty jsou již potvrzené mechanismy rezistence, v budoucnu lze tudíž očekávat další generaci EGFR-TKI cílící tomuto problému (23, 24).

AZD9291 (25)

AZD9291 je p.o. podávaný ireverzibilní EGFR-TKI citlivý vůči *EGFR* senzitivním mutacím i rezistentní mutaci T790M, naopak citlivost vůči *EGFR*-wt buňkám se zdá být menší. To může přinést menší nežádoucí účinky, mezi které patří očekávaný průjem a rash a dále se uvádí zvracení. V klinické studii AURA fáze I s navyšováním klinické dávky u pacientů s pokročilým NSCLC po selhání EGFR-TKI v první linii bylo dosaženo pro celkovou skupinu ORR 51 %. ORR byl výrazně vyšší pro nemocné s rezistentní mutací T790M v porovnání s pacienty, u kterých nebyla tato mutace prokázána (61 % vs. 21 %). Stejný rozdíl byl pozorován i v PFS, kdy pro pacienty s mutací T790M dosáhl 9,6 měsíce, naopak pro nemocné bez této mutace pak jen 2,8 měsíce. Další studie probíhají, nicméně na základě výše zmíněné studie je otázkou, zda bude vhodným lékem i pro první linii (16).

Rociletinib (26)

Rociletinib (CO-1686) je rovněž ireverzibilní perorální EGFR-TKI citlivý vůči mutaci T790M. V klinické studii fáze I/II u pacientů s pokročilým NSCLC po selhání EGFR-TKI v první linii bylo dosaženo ORR 59 % pro pacienty s mutací T790M. Naopak u nemocných bez této mutace byl ORR podobně jako u AZD9291 nižší (29 %). Nejtypičtější nežádoucí účinek byla na rozdíl od předchozích EGFR-TKI hyperglykémie, dále se objevila nauzea, slabost či průjem.

ALK

Pouze několik let po zavedení EGFR-TKI do běžné praxe byl vyvíjen lék – crizotinib – pro další řídicí onkogen *ALK*, který u části pacientů vytváří fúzní gen s genem *EML4* (echinoderm microtubule-associated protein-like 4) (27). U NSCLC se objevuje translokace genu *ALK* u zhruba 5 % nemocných (28). Její častější výskyt je též spjatý s mladšími ženami, nekuřáckým statutem a adenokarcinomy (27). Zlatým standardem diagnostiky je fluorescenční in situ hybridizace (FISH) (27). Translokace *ALK* se obvykle nevyskytuje s jinými řídicími mutacemi, ale jsou doloženy i případy, kdy byla provázena *EGFR* mutací (29). Omezeními crizotinibu se ukázal opět vznik rezistence po určité době terapie a dále nízký průnik do CNS, kdy jedním z možností jejího překonání je podávání preparátu vyšší generace (27). Dosud však není jasné, v ja-

kém pořadí je optimální tyto preparáty podávat – zda začít rovnou novějšími léky nebo podávat nejprve crizotinib a až poté jimi navázat. Někteří autoři nevylučují ani možnost začít např. ceritinibem a naopak až poté zvolit crizotinib (27, 30).

Crizotinib

Crizotinib (v ČR bohužel hrazený až ve 2. linii léčby) představuje dalšího zástupce cílených léčiv ze skupiny TKI, který je účinný i na některé další onkogeny – např. *ROS1* (31). Na základě studií fáze III (PROFILE 1014 a 1007) prokázal účinnost v dávce 250 mg 2x denně u pacientů s fúzním genem *EML4-ALK* jak v první, tak ve druhé linii léčby (32, 33). U druhé linie léčby bylo dosaženo PFS 7,7 měsíce, v první linii pak 10,9 měsíce, v obou případech signifikantně více než u porovnávané chemoterapie (32, 33). Obvykle je pacienty dobře snášen, k nejčastějším nežádoucím účinkům patří poruchy vízu, gastrointestinální obtíže, elevace jaterních enzymů a periferní otoky (34). Při terapii je dále třeba dávat pozor na možný vznik pneumonitidy a prodloužení QTc intervalu. Vzhledem k metabolizování pomocí cytochromu CYP3A je třeba před nasazením pozorně zkontrolovat možné interakce s dalšími léčivy (34).

Ceritinib

Stejně jako u jiných cílených léčiv, tak i na crizotinib si tumor obvykle postupně vytvoří rezistenci. Jsou popsány dvě hlavní skupiny příčin – tzv. ALK dominantní (ALK mutace, ALK amplifikace, metastázy do CNS) a ALK nedominantní cesta (mutace či amplifikace jiných řídicích genů popřípadě přeměna v sarkomatoidní typ tumoru) (35). Právě na první skupinu cílí tzv. ALK inhibitory 2. generace, jejichž snahou je jednak zlepšení průniku do CNS a pak i účinnost proti některým známým rezistentním mutacím (27, 36, 37, 38). Mezi tyto léky patří i ceritinib (39). Jeho účinnost u pacientů předléčených crizotinibem prokázala klinická studie fáze I/II (28). Jako optimální dávka bylo stanoveno podání 750 mg ceritinibu jednou denně, kdy PFS činilo 7 měsíců. Hlavní nežádoucí účinky měl lék na zažívací trakt. Na základě této studie byl lék časně schválen k užívání u pacientů po předchozí léčbě crizotinibem (40). Nadále probíhají studie vyšších fází, které zkoumají mj. i jeho účinnost v první linii léčby (39).

Další molekuly

V současné době je vyvíjena další řada molekul, kdy v užívání je prozatím (v Japonsku) alectinib, který prokázal dobrou účinnost na mozkové metastázy a efekt i po předléčení crizotinibem (41). Ve studii fáze I/II s *ALK* neléčenými pacienty bylo jako optimální dávkování určeno 300 mg dvakrát denně, ORR dosáhla 93,5 %. Další studie u nemocných předléčených crizotinibem prokázala ORR 58,3 %. Mezi častějšími nežádoucími účinky dominovalo nechutenství, zácpa a elevace AST/bilirubinu (41).

ROS1

Gen *ROS1* není v normální plicní tkáni exprimován (42). Jeho ligand není dosud znám, nicméně jeho nitro-buněčné dráhy dokládají jeho onkogenní efekt (43, 44). Trvalá aktivita *ROS1* pak může být navozena jeho translokací, které byly prokázány i u některých pacientů s NSCLC (43). V současné době je známo minimálně 6 fúzních partnerů tohoto genu, přičemž kódovaný rozsah *ROS1* domény zůstává stále stejný (45). Výskyt tohoto onkogenu je uváděn u NSCLC přibližně u 1 % populace, některé práce popisují i vyšší výskyt (46, 47, 48). Jejich zastoupení je vyšší u pacientů s adenokarcinomem, nekuřáků/lehkých kuřáků a žen (48). Zlatým standardem diagnostiky je, stejně jako u translokace genu *ALK*, opět metoda FISH, která na rozdíl od PCR (polymerázová řetězová reakce) dokáže spolehlivě detekovat různé fúzní partnery genu *ROS1* (46, 47, 48, 49). Imunohistochemické vyšetření je pro možnou falešnou negativitu vhodnější spíše jako screeningové vyšetření (46, 47, 48, 49). Vzhledem k podobnosti s molekulou ALK byla na základě preklinických nadějných výsledků realizována studie fáze I s crizotinibem s jeho zvyklým dávkováním 250 mg 2x denně. Výsledkem bylo dosažení velmi slibného ORR dosahujícího 72 % (50). Na základě tohoto obdržel od FDA, podobně jako ceritinib, status průlomového léčiva s možným klinickým využitím. Na naší klinice již evidujeme jednu úspěšně léčenou pacientku.

Inhibitory angiogeneze

U mnoha nádorů, včetně NSCLC, byl prokázán významný vliv proangiogenních cest na šíření, progresi a metastazování nádorů (51). Preklinický výzkum vytyčil jako zásadní molekuly podporující angiogenezi především vascular endothelial growth factor (VEGF), platelet-derived growth factor (PDGF) and fibroblast growth factor (FGF) (51). Proto vznikly snahy vyvinout preparáty, které

by tuto funkci mohly blokovat. Byla zkoušena řada molekul jednak na bázi protilátek z kategorie biologické léčby, tak i cílených chemoterapeutik blokujících zmíněné tyrozinkinázy, avšak do současné reálné klinické praxe pronikly doposud jen 3 léky v kombinaci s klasickými chemoterapeutickými režimy (52, 53, 54, 55). Trvajícím nedostatkem těchto léků je nadále absence prediktivních markerů pro jejich použití (54).

Bevacizumab (56)

Bevacizumab představuje rekombinantní monoklonální humanizovanou protilátku proti VEGF, která je schválena k léčbě pokročilého nemalobuněčného plicního nedlaždicového NSCLC v kombinaci s platinovým doubletem v první linii léčby. Svoji účinnost ukázal v několika klinických studiích. Studie fáze III ECOG 4599 porovnávala terapii paclitaxel + karboplatina +/- bevacizumab (15 mg/kg) u neskvamózního pokročilého NSCLC (pacienti s dlaždicobuněčným typem tumorů byli na základě předchozích studií pro zvýšené riziko krvácení vyloučeni). Výsledkem přidání bevacizumabu bylo signifikantní zlepšení ORR (35 % vs. 15 %), PFS (6,4 vs. 4,5 měsíce) i OS (12,3 vs. 10,3 měsíce). Další studie fáze III AVALI porovnávala účinnost režimů cisplatina + gemcitabin +/- bevacizumab (15 mg/kg nebo 7,5 mg/kg) opět u neskvamózního pokročilého NSCLC. Studie prokázala signifikantní benefit stran PFS, OS tentokrát signifikantně zvýšeno nebylo. To mohlo být způsobeno jednak odlišným chemoterapeutickým režimem (u dalších molekul bylo též dosaženo pozitivních výsledků také s taxany) nebo následnou léčbou vyšších linií. Pro riziko hemoptýzy není tato léčba doporučována u pacientů s předchozí anamnézou hemoptýzy v anamnéze a tumorů v blízkosti větších cév. Podezření na riziko podávání pacientům s metastázami do mozku se naopak pozdějšími pracemi nepotvrdilo. Mezi nejčastější nežádoucí účinky léku patří, mimo zmíněné hemoptýzy, výskyt arteriální hypertenze a proteinurie. Bevacizumab se ukázal v klinických studiích vhodný i pro pokračovací terapii do progresu (po skončení podávání spolu s první linií chemoterapie) – v tomto ohledu se zdá být nejvíce účinné jeho podávání spolu s pemetrexedem.

Ramucirumab – TKI cílící na angiogenezi (55, 57)

Ramucirumab představuje humánní monoklonální protilátku cílící na extracelulární do-

ménu receptoru VEGFR-2. Klinická studie fáze III REVEL porovnávala jeho účinnost v druhé linii léčby, kde byl podáván docetaxel (75 mg/m² á 3 týdny) s/či bez tohoto preparátu. Bylo prokázáno signifikantní prodloužení PFS (10,5 vs. 9,1 měsíce) i OS (4,5 vs. 3 měsíce) po přidání ramucirumabu pro skvamózní i neskvamózní NSCLC. Nejčastějšími nežádoucími účinky gradu ≥ 3 byla neutropenie (resp. febrilní neutropenie) a únava (obojí vyšší ve větvi s ramucirumabem).

Nintedanib (53)

Nintedanib představuje TKI, který cílí jednak na VEGFR a dále na PDGFR a FGFR. V klinických studiích LUME-lung 1 a 2 bylo zkoumáno zvýšení účinnosti druhé linie léčby po jeho přidání k docetaxelu resp. pemetrexedu. Ve studii LUME-lung 1 byl podáván docetaxel v dávce 75 mg/m² (á 3 týdny) s/či bez nintedanibu v dávce 200 mg 2x denně. Bylo dosaženo signifikantního nárůstu v PFS (3,4 vs. 2,7 měsíce) a pro předem definovanou skupinu adenokarcinomů v OS (12,6 vs. 10,3 měsíce). Mezi nejčastější nežádoucí účinky patřilo zvracení, průjem a zvýšení jaterních en-

zymů. Celkový počet nežádoucích účinků byl srovnatelný v obou ramenech. Studie LUME-lung 2, kde byl podáván pemetrexed s/či bez nintedanibu, byla po subanalýze naznačující nedosažení primárního cíle (PFS) předčasně ukončena. Nakonec se však ukázalo, že bylo dosaženo významného zvýšení PFS. Hodnoty OS byly obdobné, to ovšem mohlo být ovlivněno předčasným ukončením studie bez vyhodnocení potřebného počtu pacientů.

Výhled do blízké budoucnosti (58, 59, 60)

V různé fázi klinického vývoje či testování se v současné době nachází řada molekul proti různým cílům. Z cílů na povrchu buňky jsou to především *HER2* mutace (human epidermal growth factor receptor), *RET* translokace (rearranged during transfection) a *MET* (mesenchymal-epidermal transition) receptor. Z intracelulárních cílů se výzkum zaměřuje zejména na cestu *RAS*–*RAF*–*MEK* a dále na cestu *PTEN*–*AKT*–*mTOR* a mutace genu *BRAF* (B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase), *FGFR* (fibroblast growth

factor receptor) či *DDR2* (discoidin domain-containing receptor 2). Z molekul zaměřujících na cíle v buněčném jádře stojí za zmínku přinejmenším nadějná látka ze skupiny inhibitorů chaperonu HSP90 (heat shockprotein90).

Závěr

Díky moderním preparátům z řad cílené léčby se podařilo překonat plateau v době přežití nemocných navozené klasickou chemoterapií. Navíc cílené léky obvykle vykazují mnohem méně závažných nežádoucích účinků a jsou tak nemocnými dobře tolerovány. U části nemocných se navíc daří překonávat rezistenci navozenou medikamenty prvních generací. Tato léčba však nadále nedokáže pokrýt celé spektrum pacientů, u některých molekul pak chybí jasný prediktivní marker. Vývoj se tedy bude ubírat nejspíše rozšířením nabídky možných cílů a dále upřesňováním pole působnosti jednotlivých léků. Rovněž je zajímavou otázkou, zda se ukáže výhodné kombinovat zástupce různých skupin, kde jedny z prvních úspěchů ukázal erlotinib v kombinaci s bevacizumabem (61).

LITERATURA

1. Benesova L, Minarik M, Jancarikova D, et al. Multiplicity of EGFR and KRAS mutations in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients treated with tyrosinekinase inhibitors. *Anticancer Res* 2010; 30(5): 1667–1671.
2. Reungwetwattana T, Weroha SJ, Molina JR. Oncogenic pathways, molecularly targeted therapies, and highlighted clinical trials in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Clin Lung Cancer* 2012; 13(4): 252–266.
3. Roberts PJ, Stinchcombe TE. KRAS mutation: should we test for it, and does it matter?. *J Clin Oncol* 2013; 31(8): 1112–1121.
4. Mao C, Qiu LX, Liao RY, et al. KRAS mutations and resistance to EGFR-TKIs treatment in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis of 22 studies. *Lung Cancer* 2010; 69(3): 272–278.
5. Roberts PJ, Stinchcombe TE, Der CJ, Socinski MA. Personalized medicine in non-small-cell lung cancer: is KRAS a useful marker in selecting patients for epidermal growth factor receptor-targeted therapy?. *J Clin Oncol* 2010; 28(31): 4769–4777.
6. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004; 350: 2129–2139.
7. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: Correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304: 1497–1500.
8. Peters S, Adjei AA, Gridelli C, et al. Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2012; 23(Suppl 7): vii56–vii64.
9. Yu Y, He J. Molecular classification of non-small-cell lung cancer: diagnosis, individualized treatment, and prognosis. *Front Med* 2013 – Epub.
10. Savas P, Hughes B, Solomon B. Targeted therapy in lung cancer: IPASS and beyond, keeping abreast of the explosion of targeted therapies for lung cancer. *J Thorac Dis* 2013; 5(Suppl 5): S579–S592.

11. Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, et al. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2005; 353(2): 123–132.
12. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2009; 361(10): 947–957.
13. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR-mutation-positive non-small-cell lung cancer (EORTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13(3): 239–246.
14. Svaton M, Pesek M, Chudacek Z, Vosmiková H. Current two EGFR mutations in lung adenocarcinoma – case report. *Klin Onkol* 2015; 28(2): 134–137.
15. Solca F, Dahl G, Zoephel A, et al. Target binding properties and cellular activity of afatinib (BIBW 2992), an irreversible ErbB family blocker. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 343(2): 342–350.
16. Liao BC, Lin CC, Yang JC. Second and third-generation epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in advanced nonsmall cell lung cancer. *Curr Opin Oncol* 2015; 27(2): 94–101.
17. Sequist LV, Yang JC, Yamamoto N, et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol* 2013; 31(27): 3327–3334.
18. Wu YL, Zhou C, Hu CP, et al. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(2): 213–222.
19. Yang JC, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol* 2015; 16(2): 141–151.

20. Chen X, Zhu Q, Zhu L et al. Clinical perspective of afatinib in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2013; 81(2): 155–161.
21. 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. *Clin Cancer Res* 2013; 19(8): 2240–2247.
22. Xu M, Xie Y, Ni S, Liu H. The latest therapeutic strategies after resistance to first generation epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors (EGFR TKIs) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). *Ann Transl Med* 2015; 3(7): 96.
23. Eberlein CA, Stetson D, Markovets AA, et al. Acquired Resistance to the Mutant-Selective EGFR Inhibitor AZD9291 Is Associated with Increased Dependence on RAS Signaling in Preclinical Models. *Cancer Res* 2015; 75(12): 2489–2500.
24. Ercan D, Choi HG, Yun CH, et al. EGFR Mutations and Resistance to Irreversible Pyrimidine-Based EGFR Inhibitors. *Clin Cancer Res* 2015; 21(17): 3913–3923.
25. Esposito A, Bardelli A, Criscitiello C, et al. Monitoring tumor-derived cell-free DNA in patients with solid tumors: clinical perspectives and research opportunities. *Cancer Treat Rev*; 40(5): 648–655.
26. Sequist LV, Soria JC, Goldman JW, et al. Rocicetinib in EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015; 372(18): 1700–1709.
27. Awad MM, Shaw AT. ALK inhibitors in non-small cell lung cancer: crizotinib and beyond. *Clin Adv Hematol Oncol* 2014; 12(7): 429–439.
28. Shaw AT, Kim DW, Mehra R, et al. Ceritinib in ALK-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2014; 370(13): 1189–1197.29. Won JK, Keam B, Koh J, et al. Concomitant ALK translocation and EGFR mutation in lung cancer: a comparison of direct sequencing and sensitive assays and the impact on responsiveness to tyrosine kinase inhibitor. *Ann Oncol* 2015; 26(2): 348–354.

30. Thomas RK. Overcoming drug resistance in ALK-rearranged lung cancer. *N Engl J Med* 2014; 370(13): 1250–1251.
31. Rothschild SI, Gautschi O. Crizotinib in the treatment of non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2013; 14(5): 473–480.
32. Gridelli C, Peters S, Sgambato A, et al. ALK inhibitors in the treatment of advanced NSCLC. *Cancer Treat Rev* 2014; 40(2): 300–306.
33. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2014; 371(23): 2167–2177.
34. Curran MP. Crizotinib: in locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer. *Drugs* 2012; 72(1): 99–107.
35. Toyokawa G, Seto T. ALK inhibitors: what is the best way to treat patients with ALK+ non-small-cell lung cancer? *Clin Lung Cancer* 2014; 15(5): 313–319.
36. Nguyen KS, Neal JW, Wakelee H. Review of the current targeted therapies for non-small-cell lung cancer. *World J Clin Oncol* 2014; 10, 5(4): 576–587.
37. Gainor JF, Sherman CA, Willoughby K, et al. Alectinib salvages CNS relapses in ALK-positive lung cancer patients previously treated with crizotinib and ceritinib. *J Thorac Oncol* 2015; 10(2): 232–236.
38. Ramshankar V, Yegnaswamy S, Arvind K. Molecular docking studies shows tivozanib and lapatinib as potential inhibitors of EML4-ALK translocation mediated fusion protein in non small cell lung cancer. *Bioinformation* 2014; 10(10): 658–663.
39. Li S, Qi X, Huang Y et al. Ceritinib (LDK378): A Potent Alternative to Crizotinib for ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer* 2014; pii: S1525-7304(14)00228-9.
40. Chabner BA. Approval after phase I: ceritinib runs the three-minute mile. *Oncologist* 2014; 19(6): 577–578.
41. Liao BC, Lin CC, Shih JY, Yang JC. Treating patients with ALK-positive non-small cell lung cancer: latest evidence and management strategy. *Ther Adv Med Oncol* 2015; 7(5): 274–290.
42. Davies KD, Doebele RC. Molecular pathways: ROS1 fusion proteins in cancer. *Clin Cancer Res* 2013; 19(15): 4040–5.
43. El-Deeb IM, Yoo KH, Lee SH. ROS receptor tyrosine kinase: a new potential target for anticancer drugs. *Med Res Rev* 2011; 31(5): 794–818.
44. Acquaviva J, Wong R, Charest A. The multifaceted roles of the receptor tyrosine kinase ROS in development and cancer. *Biochim Biophys* 2009; Acta 1795(1): 37–52.
45. Chin LP, Soo RA, Soong R, Ou SH. Targeting ROS1 with anaplastic lymphoma kinase inhibitors: a promising therapeutic strategy for a newly defined molecular subset of non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2012; 7(11): 1625–1630.
46. Bergethon K, Shaw AT, Ou SH et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol* 2012; 30(8): 863–870.
47. Mescam-Mancini L, Lantuéjoul S, Moro-Sibilot D, et al. On the relevance of a testing algorithm for the detection of ROS1-rearranged lung adenocarcinomas. *Lung Cancer* 2014; 83(2): 168–173.
48. Warth A, Muley T, Dienemann H et al. ROS1 expression and translocations in non-small-cell lung cancer: clinicopathological analysis of 1478 cases. *Histopathology* 2014; 65(2): 187–194.
49. Choi CM. Overview of ALK and ROS1 Rearranged Lung Cancer. *Tuberc Respir Dis* 2013; 75(6): 236–237.
50. Shaw AT, Ou SH, Bang YJ et al. Crizotinib in ROS1-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2014; 371(21): 1963–1971.
51. Crinò L, Metro G. Therapeutic options targeting angiogenesis in nonsmall cell lung cancer. *Eur Respir Rev* 2014; 23(131): 79–91.
52. Pallis AG, Syrigos KN. Targeting tumor neovasculature in non-small-cell lung cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013; 86(2): 130–142.
53. Rashdan S, Hanna N. Nintedanib for the treatment of non-small-cell lung cancer. *Expert Opin Pharmacother* 2014; 15(5): 729–739.
54. Lammers PE, Horn L. Targeting angiogenesis in advanced non-small cell lung cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2013; 11(10): 1235–1247.
55. Garon EB, Ciuleanu TE, Arrieta O, et al. Ramucirumab plus docetaxel versus placebo plus docetaxel for second-line treatment of stage IV non-small-cell lung cancer after disease progression on platinum-based therapy (REVEL): a multicentre, double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet* 2014; 384(9944): 665–673.
56. Schmid-Bindert G. Update on antiangiogenic treatment of advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Target Oncol* 2013; 8(1): 15–26.
57. Das M, Wakelee H. Angiogenesis and lung cancer: ramucirumab prolongs survival in 2nd-line metastatic NSCLC. *Transl Lung Cancer Res* 2014; 3(6): 397–399.
58. Stinchcombe TE. Novel agents in development for advanced non-small cell lung cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2014; 6(5): 240–253.
59. Shames DS, Wistuba II. The evolving genomic classification of lung cancer. *J Pathol* 2014; 232(2): 121–133.
60. Zer A, Leighl N. Promising Targets and Current Clinical Trials in Metastatic Non-Squamous NSCLC. *Front Oncol* 2014; 4: 329.
61. Seto T, Kato T, Nishio M et al. Erlotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (JO25567): an open-label, randomised, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2014; 15(11): 1236–1244.