

胆道恶性肿瘤精准检测与分子诊断专家共识

中国临床肿瘤学会(CSCO)胆道肿瘤专家委员会

中图分类号:R735.5 文献标识码:A 文章编号:1009-0460(2024)08-0797-08

胆道恶性肿瘤(biliary tract carcinoma, BTC)在消化道肿瘤中仅占3%^[1],但侵袭性强、死亡率高、预后差。BTC全球发病率呈上升趋势,亚洲国家最为常见。超过70%的BTC患者发病时已达晚期,失去根治性手术治疗的机会,需要进行系统治疗^[2]。目前,化疗联合免疫治疗是晚期BTC治疗的一线推荐方案^[3-4]。然而,BTC是一类高度分子异质性的肿瘤。不同部位的BTC,主要包括胆囊癌(gallbladder cancer, GBC)、肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)和肝外胆管癌(extrahepatic cholangiocarcinoma, ECC),拥有完全不同的分子病理学特征。近年来,精准治疗的理念不断推广,NGS检测技术不断提高,BTC的分型经历了由传统临床和病理分型到分子分型的不断演进,相同病理形态但不同分子分型的BTC对药物的反应不同,个体化的靶向和免疫治疗可以显著改善患者的临床预后^[5]。为进一步推动基因检测指导下BTC的精准治疗,中国临床肿瘤学会(CSCO)胆道肿瘤专家委员会组织专家集体撰写BTC精准检测与分子诊断专家共识,以供临床医师参考。

本共识依据GRADE系统进行证据质量评估及推荐强度分级,证据等级分为高、中、低三级,推荐强度分为强烈推荐和一般推荐两级。

1 BTC精准治疗相关标志物

1.1 BTC免疫治疗标志物

1.1.1 高度微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI-H)/DNA错配修复缺陷(deficiency mismatch repair, DMMR)

共识1:MSI-H/dMMR是预测包括BTC在内的实体瘤免疫治疗疗效最重要的生物标志物之一,推荐BTC患者尽早进行MMR检测,推荐不可切除MSI-H患者开始免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)的使用。

(证据级别:高,推荐等级:强烈)

共识2:MSI的检测可以通过PCR或经验证的NGS panel来完成。PCR是MSI检测的金标准,NGS次之。推荐在具备CNAS/CLIA/CAP等认证的实验室中进行,且需经过技术与临床双重验证。

(证据级别:高,推荐等级:强烈)

MSI-H/dMMR是错配修复基因发生遗传突变、体细胞突变或基因启动子区甲基化异常所导致的错配修复蛋白功能障碍,造成DNA复制过程中碱基错配的累积,引起微卫星位点发生重复单元的插入或缺失的现象。在KEYNOTE-158研究中,包括22例BTC患者在内的233例经标准治疗失败的MSI-H/dMMR型非结直肠癌的实体瘤患者,使用帕博利珠单抗治疗后客观缓解率(objective response rate, ORR)为34.3%,中位无进展生存时间(progression-free survival, PFS)为4.1个月,中位总生存时间(overall survival, OS)为23.5个月。亚组分析显示,BTC患者的ORR为40.9%,中位PFS和OS分别为4.2个月和24.3个月^[6]。

有3种方法可以用于检测MSI或MMR,分别为免疫组化法(Immunohistochemistry, IHC)、多重荧光PCR毛细管电泳法和NGS。IHC检测MMR蛋白(MLH1、MSH2、MSH6和PMS2)是否缺失来判断dMMR或错配修复功能正常(proficient mismatch repair, pMMR),任一或多个蛋白缺失即为dMMR。IHC易于推广,操作简单,成本低廉,结果直接,可以作为首选方法。但IHC结果受主观因素影响,质控参差导致准确性较差。多重荧光PCR毛细管电泳法直接检测微卫星位点(5~7个),是临床公认的MSI检测“金标准”。NGS与PCR不同在于NGS一次性可检测几十到上千个微卫星位点,可提高检测灵敏度,并且NGS无需正常细胞检测结果作为对照,也无需人工判读,临床应用具有优势。国内一项研究显示,NGS检测到的MSI结果与PCR结果一致性高达99%,与IHC检测的MMR结果一致性达93.9%^[7]。

因此,本共识推荐 BTC 患者尽早进行 MMR IHC 检测,对于 dMMR 考虑 PCR/NGS MSI 复测。对于明确为 MSI-H/dMMR 的晚期 BTC 患者,推荐尽早接受 ICI 治疗。推荐 MSI 检测 NGS 只能在具备 CNAS/CLIA/CAP 认证的实验室中进行(参考肠癌指南),且需经过双重验证。当 PCR 和 NGS 结果不一致时可以参考肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)数值^[7]。

1.1.2 TMB

共识 3: TMB 是预测多种实体瘤免疫治疗疗效的生物标志物之一,推荐无法切除或转移性 BTC 患者进行 TMB 检测以指导 ICI 的使用。

(证据级别:中,推荐等级:一般)

共识 4: TMB 检测的金标准是 WES,经过技术、临床双重验证的 NGS panel 也被认可,但 cut-off 值尚未统一。建议参考值 ≥ 10 mut/MB。

(证据级别:中,推荐等级:一般)

TMB 是衡量肿瘤基因组可编码区体细胞突变总数的指标。肿瘤较高的突变率可能导致免疫原性突变蛋白或新抗原的产生,从而对 ICI 治疗更为敏感。在 KEYNOTE-158 研究中,805 例可评估 TMB 的患者中有 102 例存在 TMB-H 状态(定义为 TMB ≥ 10 mut/MB),接受帕博利珠单抗治疗后的 ORR 为 29%,而非 TMB-H 患者的 ORR 仅有 6%。然而,KEYNOTE-158 研究 TMB 队列中的 63 例 BTC 患者中无 1 例为 TMB-H,限制了该项推荐的证据级别^[8-9]。另有文献显示,NGS 检测 MSI 结果有争议时,TMB-H 可作为辅助判定指标。

因此,本共识推荐无法切除或转移性 BTC 患者进行 TMB 检测,对于明确为 TMB-H 的 BTC 患者,可考虑 ICI 治疗,但支持这一建议的数据较为有限。

1.1.3 程序性死亡配体 1(programmed death ligand 1, PD-L1)

共识 5: PD-L1 是预测多种实体瘤免疫治疗疗效的生物标志物之一, BTC 患者可考虑进行 PD-L1 检测。临床不以 PD-L1 表达作为免疫治疗选择依据。

(证据级别:低,推荐等级:一般)

共识 6: PD-L1 需通过 IHC 检测。临床采用 CPS, TPS 或 TAP, 尚无统一标准。

(证据级别:中,推荐等级:一般)

PD-L1 是程序性死亡受体 1(programmed death 1, PD-1)的配体。在大多数实体瘤中,PD-L1 阳性的肿瘤患者更有可能从 ICI 治疗中获益。在 BTC 中,如以 CPS $\geq 1\%$ 定义为阳性,则 PD-L1 阳性率约

为 45%~65%。在帕博利珠单抗和纳武利尤单抗的 II 期研究中,PD-L1 阳性的 BTC 患者 ORR 或 PFS 有更好的趋势,但研究数据较为有限^[10-11]。

因此,本共识推荐 BTC 患者可考虑 PD-L1 检测,作为选择 ICI 治疗的参考指标,但支持这一建议的数据有限。

1.2 BTC 精准靶向治疗标志物

1.2.1 成纤维生长因子受体 2(fibroblast growth factor receptor 2, FGFR2)

共识 7: FGFR2 融合/重排是 ICC 的重要生物标志物,推荐 ICC 尽早常规检测 FGFR2 变异,晚期 GBC 和 ECC 可考虑检测,融合突变患者应尽早使用 FGFR 抑制剂(FGFR inhibitor, FGFRi)。推荐 FGFR 其他突变的患者二线及以后使用 FGFRi。

(证据级别:高,推荐等级:强烈)

共识 8: FGFR 检测方法包括 FISH、RT-PCR、DNA-NGS、RNA-NGS 等, RNA-NGS 检测融合/重排的有效性最高,而 DNA-NGS 能同时检出其他类型变异,有必要两者联合检测。

(证据级别:高,推荐等级:强烈)

FGFR 通路参与肿瘤细胞的增殖、分化、侵袭和转移,在多种肿瘤中均发现 FGFR 基因扩增、染色体易位、重排、点突变以及融合等异常表达^[12]。在 ICC 患者中,FGFR2 融合/重排发生率达 13%~17%^[13-14]。佩米替尼于 2022 年 4 月获我国国家药品监督管理局(National Medical Products Administration, NMPA)批准,用于二线治疗 FGFR2 融合或重排的晚期转移性或不可手术切除的胆管癌成人患者。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已批准多种 FGFRi,包括佩米替尼、Erdafitinib 和 Futibatinib,用于治疗携带 FGFR2 融合/重排的 BTC 患者。这些药物表现出良好的抗肿瘤活性,如佩米替尼治疗后 ORR 为 35.5%,中位 OS 为 21.1 个月^[15]; Futibatinib 治疗后 ORR 为 41.7%,中位 PFS 为 9.0 个月,中位 OS 达到 21.7 个月^[16]; Erdafitinib 治疗后 ORR 为 50%,中位 PFS 为 5.6 个月。亚组分析显示,对于 FGFR 突变或融合的亚洲患者,中位 PFS 达到 12.35 个月^[17]。佩米替尼和 Futibatinib 一线治疗的 III 期临床研究 FIGHT-302 和 FOENIX-CCA3 正在进行。此外,Derazantinib 和 Debio-1347 在 BTC 早期临床研究中也显现出较好的疗效^[18-19]。

FGFRi 治疗后耐药经常发生,多个案例报道显示, Infigratinib 获得性耐药的原因为 FGFR2 激酶结构域出现多个复发性点突变,联合使用 FGFR 和 mTOR

抑制剂可克服这类获得性耐药^[20]。有研究认为 Futi-batinib 对 Tp53 共突变的疗效更佳,此外,针对 FGFR2 p.H167_N173 缺失突变的 ICC 患者接受二次 FGFRi 治疗也展现出了良好的效果,总缓解时间超过 28 个月^[21]。2023 年 ASCO-GI 报道的一项 II 期临床研究显示,新型 FGFRi Tinengotinib 可以克服既往 FGFRi 治疗后所出现的获得性突变^[22]。

对于融合/重排不推荐 IHC 检测。可选方法包括 FISH、RT-PCR、DNA-NGS 和 RNA-NGS。其中 FISH 被认为是“金标准”。但 FISH 无法确定伴侣基因,且人为因素要求较高,对非典型结果(如单色、伴有信号扩增等)常需要借助其他方法验证。RT-PCR 操作简单快速,但只能检测已知序列,可能存在假阴性。NGS 方法具有高通量的特点,可识别融合伴侣基因及融合断点,检测未知类型。根据核酸类型可进一步分为 DNA-NGS 和 RNA-NGS,由于融合基因的融合断点常发生在 DNA 内含子区域,受内含子自身特点影响,单从 DNA 层面检测融合基因可能造成个别假阴性,而 RNA 则不受此限制。一项针对 ICC FGFR2 融合/重排的研究表明,在 DNA-NGS 基础上加测 RNA-NGS,可提高 FGFR2 融合/重排的检出率^[23]。另外,有研究报道,极少数情况下,DNA 水平上检测到的基因融合/重排可能不会引起融合基因的表达,故 DNA-NGS 通常辅以 RNA-NGS 加以验证。

因此,根据现有 FGFRi 疗效数据,专家推荐 ICC 尽早检测,阳性患者尽早接受 FGFRi 治疗。检测方法首选 NGS 检测,尤其是 RNA-NGS。此外,进展后建议再活检,二次检测还可能帮助寻找耐药突变。

1.2.2 异柠檬酸脱氢酶 1 (isocitrate dehydrogenase 1, IDH1)

共识 9: IDH1 突变是 ICC 的重要生物标志物,推荐不可切除/转移性 ICC 患者尽早常规检测 IDH1 突变。晚期 GBC/ECC 可考虑检测。阳性患者推荐二线使用 IDH1 抑制剂治疗。

(证据级别:中,推荐等级:强烈)

共识 10: 建议可采用一代 Sanger/PCR 检测; NGS 也可以作为 IDH1 变异的检测手段。

(证据级别:中,推荐等级:一般)

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 家族包括 IDH1、IDH2 和 IDH3 三种异柠檬酸脱氢酶同工酶。肿瘤细胞中 IDH 主要突变位点为 IDH1^{Arg132} (R132)、IDH2^{Arg172} (R172) 或 IDH2^{Arg140} (R140)。IDH1 和 IDH2 突变是相互排斥的,很少同时发生,

目前尚未发现 IDH3 突变^[24]。IDH 抑制剂通过作用于肿瘤细胞中的 IDH 突变位点,使体内致癌代谢物 R-2-羟戊二酸(2-HG)减少,从而诱导组蛋白去甲基化,达到抑制肿瘤发展的效果。IDH 抑制剂根据作用靶点分为 IDH1 抑制剂、IDH2 抑制剂和 IDH1/IDH2 抑制剂三种^[25]。IDH1 突变在 BTC 中的突变频率为 16%~36%,其中在 ICC 中更高,在肝门部和远端胆管癌及 GBC 中较少见^[24]。ClarIDHy 研究显示,IDH1 抑制剂艾伏尼布 (Ivosidenib) 能显著改善 IDH1 基因突变的胆管癌患者的 PFS^[26]。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 基因突变的局部晚期或转移性胆管癌成人患者^[27]。艾伏尼布组的 ORR 和疾病控制率分别为 2.4% 和 50.8%^[26],更多患者表现为疾病稳定而不是肿瘤缩小。有研究报道了 2 例 IDH1^{R132} 突变转移性胆管癌患者,接受艾伏尼布治疗后出现疾病进展。1 例患者发生了继发性 IDH2 突变,另 1 例患者则出现了继发性 IDH1^{D279N} 突变。这些突变对艾伏尼布的结合以及 2-HG 的产生有显著影响,但仍保留了产生 2-HG 并促进肿瘤细胞恶性转化的能力。研究表明,艾伏尼布治疗 IDH1 突变的胆管癌,发生耐药后肿瘤依然依赖 2-HG,序贯使用其他 IDH 抑制剂可作为克服获得性耐药的策略^[28]。

ctDNA 分析也是检测 IDH 突变的一种潜在可行方法,基线 ctDNA 变异等位基因频率低的患者与高的患者相比,治疗中位时间更长(3.6 个月 vs. 1.5 个月, $P=0.008$),ctDNA 的动态变化可以与临床病程和克隆进化相对应,辅助反映疗效与耐药^[29]。

1.2.3 人表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)

共识 11: HER-2 高表达是 BTC 的重要生物标志物,尤其在 GBC/ECC 中。推荐 BTC 患者常规 IHC 检测 HER-2, GBC/ECC 更优先推荐。HER-2 阳性患者可以考虑在一线治疗中加入抗 HER-2 治疗。

(证据级别:中,推荐等级:强烈)

共识 12: HER-2 检测尚未统一标准,常规推荐 IHC 参考胃癌/乳腺癌标准检测 HER-2 蛋白高表达,HER-2++ 建议 FISH 或 NGS。

(证据级别:中,推荐等级:一般)

HER-2/ERBB2 是表皮生长因子受体家族中的一员,参与包括 BTC 在内的多种癌症的发生、发展。HER-2 过表达存在于近 20% 的 GBC 以及超过 10% 的 ECC 中,ICC 较为少见。在曲妥珠单抗联合化疗、来那替尼 (Neratinib) 单药治疗、拉帕替尼联合化疗和探索性 HER-2 靶向药物研究中,均有胆管癌患

者发生响应。MyPathway 研究入组了 39 例 HER-2 阳性 BTC 患者,基于 IHC (HER-2 +++染色),或者荧光原位杂交或显色原位杂交 (HER-2:CEP17 >2.0 或 HER-2 拷贝数 >6.0),或 NGS (HER-2 拷贝数增益),其中 33 例 HER-2 扩增患者为 NGS 检测 (合并/未合并 FISH 检测),使用帕妥珠单抗联合曲妥珠单抗,39 例患者中有 9 例病情缓解,ORR 为 23%。SUMMIT 研究入组了 9 例 HER-2 突变的胆管癌患者,使用来那替尼治疗后,ORR 为 22.2%。另外,HERB 研究是一项 II 期、单臂多中心研究,入组了 22 例 HER-2 阳性 BTC 患者,使用 DS-8201 后,有 8 例病情缓解,ORR 为 36.4%。

1.2.4 鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B (V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B, BRAF)

共识 13: BRAF^{V600E} 突变为 BTC 的治疗靶点,推荐阳性患者尽早应用联合抗 BRAF 治疗。

(证据级别:中,推荐等级:强烈)

共识 14: 建议常规采用一代 Sanger、PCR 检测 BRAF^{V600E},或在具备 CNAS 等认证的机构行 NGS 检测。

(证据级别:高,推荐等级:强烈)

BRAF 作为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 介导的丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 途径中的重要参与者,影响细胞增殖、分化等。BRAF 基因 V600E 突变导致 BRAF 组成型激活和异常的 MAPK 信号传导,发生于 3%~7% 的胆管癌,以 ICC 多见^[30]。II 期单臂多中心 ROAR 篮式研究纳入 43 例 BRAF^{V600E} 突变既往接受过治疗的晚期胆管癌患者,BRAF 抑制剂达拉菲尼 (Dabrafenib) 和丝裂原活化蛋白激酶 (MEK) 抑制剂曲美替尼 (Trametinib) 联合治疗的 ORR 为 51%,中位 PFS 为 9 个月,中位 OS 达 14 个月^[31]。另一项 II 期 TAPUR 篮式研究旨在评价维莫非尼 (Vemurafenib) 联合考比替尼 (Cobimetinib) 在 BRAF^{V600E/d/k/R} 突变晚期实体瘤患者中的治疗效果,其中纳入的 2 例 BTC 患者均获得部分缓解^[32]。

1.2.5 Ras

共识 15: Ras 通路的成药靶点目前仅有靶向 K-Ras G12C 的药物获批,推荐二线作为治疗选择之一。

(证据级别:中,推荐等级:一般)

共识 16: 建议有条件的 BTC 患者行 K-Ras G12C 变异检测,可采用 PCR 或 NGS 方法。

(证据级别:中,推荐等级:一般)

Ras 家族基因包括 H-Ras、K-Ras 和 N-Ras,是实体恶性肿瘤关键的驱动基因。在 15%~25% 胆管癌中可见 K-Ras 激活突变。目前仅 K-Ras G12C 有美国 FDA 批准的抑制剂——索托拉西布 (Sotorasib) 和阿达格拉西布 (Adagrasib),但此类型突变在胆管癌中仅占 1%^[33]。I/II 期 KRYSTAL-1 试验主要评价 K-Ras G12C 抑制剂阿达格拉西布的安全性和抗肿瘤活性,共纳入 42 例患者,其中包括 8 例晚期胆管癌患者。在胆管癌患者中,阿达格拉西布的 ORR 为 50%,肿瘤控制率为 100%^[34]。另一种 K-Ras G12C 突变的口服抑制剂索托拉西布在晚期胆管癌治疗中尚未有临床数据支持。推荐晚期胆管癌患者检测 Ras 突变,鼓励突变患者加入相关临床试验。

1.2.6 DNA 损伤修复基因 (DNA damage repair, DDR) 信号通路

共识 17: BTC 患者如果存在 DDR 变异,特别是同源重组修复缺陷 (homologous recombination deficiency, HRD),可能预示对铂类化合物和聚腺苷二磷酸核糖聚合酶抑制剂 (poly ADP-ribose polymerase inhibitor, PARPi) 更加敏感。推荐 BRCA1/2 致病突变患者首选含铂方案化疗,并将 PARPi 作为非化疗选择之一。

(证据级别:低,推荐等级:一般)

共识 18: 推荐 BTC 患者检测 HR 通路基因变异,HRD Score 具有潜在应用价值,但目前证据有限。

(证据级别:低,推荐等级:一般)

约 25% 的 BTC 患者存在某种形式的 DDR 缺失^[35],除 Tp53 外的常见 DDR 相关基因包括 BRCA1/2、PARP、ATM、ATR、BAP1、ARID1A、RAD51、MLH1、PALB2、PTEN、FANC、NBN、EMSY 和 MRE11 等^[36],其中 ATM (5%) 和 BRCA1/2 (4.8%) 相对常见^[37]。BTC 中,BRCA1/2 突变率约为 1%~7%^[38],而 BRCA2 突变更常见于 GBC^[39]。

一项纳入 1292 例样本的分析中,3.6% 存在 BRCA 突变 (BRCA1: 0.6%, BRCA2: 3%),BRCA 体系突变高于胚系突变,且 BRCA 突变与 MSI-H/dMMR 和高 TMB 有关^[40]。小样本 (18 例存在 BRCA1/2 突变) 回顾性分析发现,5 例为胚系突变,13 例为体系突变,13 例接受铂类治疗,4 例接受 PARPi 治疗,I/II 期患者的中位 OS 为 40.3 个月,III/IV 期患者为 25 个月^[41]。同其他类型肿瘤相似的是,存在 BRCA1/2 突变的胆管癌也会对铂类药物化疗更敏感^[42]。存在 BRCA1/2 突变的胆管癌仅在散发的病例报道中观察到 PARPi 存在获益。目前

已开展了几项前瞻性研究探索 PARPi 在 BRCA1/2 突变的胆管癌中的治疗作用,以及 PARPi 与 ICI 联合治疗用于晚期胆管癌的临床试验^[43]。

1.2.7 其他罕见基因

共识 19: NTRK/NRG1/RET 融合突变,属于 BTC 罕见突变,突变频率低于 <1%,但临床靶向药物治疗疗效肯定,推荐阳性患者尽早选择相应靶向药物治疗。

(证据级别:中,推荐等级:强烈)

共识 20: 检测方法包括 IHC、FISH、RT-PCR、NGS 等,推荐首选 NGS,可以一次性检测多个罕见突变,必要时 RNA-NGS 与 DNA-NGS 联合检测。

(证据级别:中,推荐等级:强烈)

神经生长酪氨酸受体激酶基因 (neurotrophic tyrosine receptor kinase, NTRK) 融合 NTRK1、NTRK2、NTRK3 对应编码 TRKA、TRKB、TRKC,其中之一发生融合突变在 BTC 中的频率 <1%^[33]。即便如此,考虑到此突变与致癌信号强相关,抑制该靶点可使患者明确获益,有必要在临床实践中进行相应的分子水平检测。拉罗替尼是一种口服 TRK A/B/C 的抑制剂,在 NTRK 融合突变的 17 个瘤种“篮子”试验中显示出良好的效果^[44]。此项 I/II 期研究纳入了 55 例患者,ORR 为 76%,其中包括 2 例 BTC 患者。主要毒性为 1~2 级转氨酶升高和头晕。恩曲替尼是另一种口服 TRK A/B/C 抑制剂,同样在 54 例实体瘤的“篮子”试验中获得 57% 的 ORR,其中包括 7% 的 CR,获益患者中也有 1 例 BTC 患者^[45]。两种抑制剂均得到美国 FDA 和 (European Medicines Agency, EMA) 的批准,用于 NTRK 融合阳性的实体瘤,美国国立综合癌症网络 (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) 指南和 CSCO 指南亦作了相应推荐。

RET 融合 原癌基因 RET 编码跨膜酪氨酸激酶受体,在神经系统和肾脏的胚胎发育中起生理作用。RET 融合多见于非小细胞肺癌和甲状腺癌,在 BTC 中的发生率约为 1%^[46]。目前,两种口服选择性 RET 抑制剂在实体肿瘤中显示出良好的初步结果。I/II 期 ARROW (NCT03037385) 试验入组了 29 例 RET 融合阳性的实体瘤患者,Pralsetinib (BLU-667) 作为抑制剂之一,ORR 为 57%,并且 91% 的患者都观察到肿瘤退缩,这其中包括 2/3 例 BTC^[47]。Selpercatinib (LOXO-292) 是另一种 RET 抑制剂,在 45 例实体瘤的“篮子”试验中(包括 2 例 BTC),ORR 为 43.9%,其中包括 1 例 BTC^[48]。2022 年 9 月,美国 FDA 加速批准 Selpercatinib 用于局部晚期或转移

性 RET 融合阳性实体瘤的适应证。

NRG1 融合 原癌基因 NRG1 融合相对罕见,在实体瘤中的发生率约为 0.2%,可以导致 ERBB2/ERBB3 信号通路异常刺激,是潜在的治疗靶点^[49]。2020 年 7 月,美国 FDA 授予 Zenorcutuzumab 孤儿药地位,用于 NRG1 融合的胰腺癌的治疗^[50]。NRG1 融合在 BTC 中的检出率为 0.52%,相关抑制剂的临床应用期待研究报道。

2 液体活检在 BTC 精准治疗中的应用

共识 21: 液体活检与组织活检突变谱对 BTC 晚期患者高频突变具有较高的一致性,在组织活检困难或不足时,可考虑在具备 CNAS/CLIA/CAP 等认证的机构行 NGS 液体活检,包括 ctDNA/cfDNA 等。

(证据级别:中,推荐等级:一般)

液体活检以人体循环中的细胞和遗传物质为检测对象,主要包括循环肿瘤细胞 (CTC)、循环肿瘤 DNA (ctDNA)、游离 DNA (cfDNA)、microRNA 和外泌体等。虽然 2016 年就有 CTC 预测 BTC 预后的报道^[51],但由于血浆中富集困难,实际临床应用并不理想。近年来,基于 ctDNA 和 cfDNA 技术的 BTC 液体活检技术显示出巨大潜力,在 BTC 的预后评估、治疗选择和疗效监测等方面发挥作用。

首先,在 BTC 液体活检与组织活检中基因变异显示出较高的一致性。Ettrich 等^[52] 检测 24 例胆管癌患者的 ctDNA,发现血浆和组织的总体符合率为 74%,ICC 符合率更高 (92%)。Kinugasa 等^[53] 检测 30 例 GBC 患者肿瘤组织和胆汁中 ctDNA 的 49 个癌基因,87.5% 患者胆汁与组织基因变异相同,提示胆汁 ctDNA 是潜在的检测对象。Chen 等^[54] 检测 154 例 BTC 患者 ctDNA 中的 150 个基因,发现组织与血浆 ctDNA 中的基因变异差异不大。Okamura 等^[55] 检测 121 例 BTC 患者血 ctDNA、原发灶组织和转移灶组织 DNA。结果发现,ctDNA 与转移灶 DNA 中基因突变一致率显著高于 ctDNA 与原发灶 DNA。同样认为血 ctDNA 检测可以作为 BTC 特征性基因变异检测的指标。

其次,液体活检检测到的基因变异可评估预后和药物疗效。一项回顾性研究纳入了 187 例肝胆肿瘤患者,发现血 cfDNA 中拷贝数变异 (copy number variation, CNV) 与肿瘤预后呈负相关,并可用于 ICI 的疗效预测。基于外周血游离 DNA,构建了预测 ICI 联合靶向治疗疗效的模型,结果显示,肝胆肿瘤患者外周血 cfDNA 拷贝数变异评分低的患者能够从 ICI 联合靶向治疗中显著获益,表现为 OS 和

PFS 均显著延长。这项研究有意思的发现是,在 CNV 评分高的肝胆肿瘤患者中,高达 88% 患者对免疫治疗未达到持久临床获益^[36]。这项结果提示,对 CNV 评分高的肝胆肿瘤患者,选择其他治疗方式更合理。在临床实践中,筛选对免疫治疗应答和获益的患者,与鉴别对免疫治疗无应答的患者,对提升整体患者的治疗获益都有重要的意义。这项研究对肝胆肿瘤免疫治疗获益的患者筛选及分层提供了有效的分子标志物指标。Reduzzi 等^[56]收集 21 例晚期 BTC 患者的 41 份血液样本,改进的单细胞鉴定方法提高了 CTC 的检测灵敏度,结果显示,CTC 检测阳性与整体预后和治疗效果呈负相关,即使在治疗期间,发现 CTC 增多与肿瘤进展相关。另外,Goyal 等^[57]发现存在 FGFR2 基因融合的 ICC 患者出现耐药,与检测到 FGFR2 基因突变相关,而这些耐药性突变同样可以通过 ctDNA 进行检测。

由于 ctDNA 检测可能无法可靠地识别基因融合或重排,对于拷贝数变化也有一定的局限性,这主要取决于所使用 NGS panel 的设计和融合的伴侣基因。基于组织的检测仍然是许多肿瘤患者的首选检测方法,当需要快速出具检测结果或者当组织活检不可能或不合适时,ctDNA 检测可以常规使用^[58-59]。

综上所述,BTC 是高度致死性肿瘤,诊断主要依靠病理诊断,但该肿瘤尤其是 ECC 组织活检困难。液体活检具有无创等优点,被认为是指导临床治疗的有前景工具。

3 BTC 精准检测样本取材的特殊性

目前,BTC 确诊仍然依靠病理诊断,精准检测的前提依然是肿瘤组织样本,取材是病理诊断中非常重要的环节,应当认真对待。

活检标本主要包括胆汁脱落细胞、胆道镜活检、细针穿刺(FNA)、体外 B 超或 CT 引导下经皮穿刺和术中活检等。采样后需及时固定,取材时应尽可能富集细胞或组织。有条件且细胞较多时,可制作细胞蜡块,有利于进一步免疫组化或分子病理检查。

外科手术切除的标本,应按不同的胆系肿瘤区分对待。ICC 大体分型分为肿块型、管周浸润型和混合型;对肿块型 ICC 按 7 点取材法取材^[58],并观察是否存在血管侵犯,淋巴结检出枚数尽可能大于 6 枚^[59]。对非肿块型 ICC、肝门部胆管癌或远端胆管癌,需预判肿瘤位置,沿标本大胆管剖开,并沿胆管长径切取肿瘤及胆管周围脂肪或肝组织,特别注

意测量胆管切缘与病变的最近距离。注意记录和取材胆管受累的部位及周围关系,注意观察和取材周围临近大血管的关系^[60]。对于 GBC 取材时应区分肿瘤是否累及胆囊壁肝床面。只有病理标本取材仔细、全面、到位,方能形成规范格式化病理报告,为临床医师对患者的随访和治疗提供参考和依据。

4 结 语

BTC 的药物治疗已经进入全面免疫的新时代。但是 BTC 的异质性强,生物学行为复杂,驱动基因和分子机制复杂,现有临床研究数据有局限,临床治疗效果与临床研究数据不完全一致,加之疾病恶性程度高,患者生存期短,导致临床实践中药物选择既要遵循指南规范,也亟需个体化选择。本共识旨在为 BTC 的临床实践提供原则性专家指导,提供指南规范之外的合理化诊疗共识,以期最大限度改善患者预后。

参考文献

- [1] Rizvi S, Gores GJ. Pathogenesis, diagnosis, and management of cholangiocarcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(6): 1215-1229.
- [2] Banales JM, Marin JJG, Lamarca A, et al. Cholangiocarcinoma 2020: the next horizon in mechanisms and management[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(9): 557-588.
- [3] Oh DY, He AR, Qin SK, et al. Durvalumab plus gemcitabine and cisplatin in advanced biliary tract cancer[J/OL]. *NEJM Evidence*, 2022 [2023-03-10]. <https://evidence.nejm.org/doi/full/10.1056/EVIDoa2200015>.
- [4] Kelley RK, Ueno M, Yoo PC, et al. Pembrolizumab in combination with gemcitabine and cisplatin compared with gemcitabine and cisplatin alone for patients with advanced biliary tract cancer (KEYNOTE-966): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2023, 401(10391): 1853-1865.
- [5] Lamarca A, Barriuso J, Mcnamara MG, et al. Molecular targeted therapies: Ready for "prime time" in biliary tract cancer[J]. *J Hepatol*, 2020, 73(1): 170-185.
- [6] Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, et al. Efficacy of pembrolizumab in patients with noncolorectal high microsatellite instability/mismatch repair-deficient cancer: Results from the phase II KEYNOTE-158 study[J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(1): 1-10.
- [7] Xiao J, Li W, Huang Y, et al. A next-generation sequencing-based strategy combining microsatellite instability and tumor mutation burden for comprehensive molecular diagnosis of advanced colorectal cancer[J/OL]. *BMC Cancer*, 2021 [2023-03-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7962287/>.
- [8] Rizzo A, Ricci AD, Brandi G. PD-L1, TMB, MSI, and other

- predictors of response to immune checkpoint inhibitors in biliary tract cancer[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2021[2023-04-10].<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7867133/>.
- [9] 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.
- [10] Piha-Paul SA, Oh DY, Ueno M, et al. Efficacy and safety of pembrolizumab for the treatment of advanced biliary cancer: Results from the KEYNOTE-158 and KEYNOTE-028 studies[J]. *Int J Cancer*, 2020,147(8): 2190-2198.
- [11] Kim RD, Chung V, Alese OB, et al. A phase 2 multi-institutional study of nivolumab for patients with advanced refractory biliary tract cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2020,6(6): 1-8.
- [12] Katoh M. Fibroblast growth factor receptors as treatment targets in clinical oncology[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019,16(2): 105-122.
- [13] Nakamura H, Arai Y, Totoki Y, et al. Genomic spectra of biliary tract cancer[J]. *Nature Genetics*, 2015,47(9): 1003-1010.
- [14] Jusakul A, Cutcutache I, Yong CH, et al. Whole-genome and epigenomic landscapes of etiologically distinct subtypes of cholangiocarcinoma[J]. *Cancer Discov*, 2017,7(10): 1116-1135.
- [15] Abou-Alfa GK, 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): 671-684.
- [16] Goyal L, Meric-Bernstam F, Hollebecque A, et al. Futibatinib for FGFR2-rearranged intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2023,388(3): 228-239.
- [17] Perera TPS, Jovcheva E, Mevellec L, et al. Discovery and pharmacological characterization of JNJ-42756493 (Erdafitinib), a functionally selective small-molecule FGFR family inhibitor[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017,16(6): 1010-1020.
- [18] Mazzaferro V, El-Rayes BF, 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.
- [19] Voss MH, Hierro C, Heist RS, et al. A phase I, open-label, multicenter, dose-escalation study of the oral selective FGFR inhibitor debio 1347 in patients with advanced solid tumors harboring FGFR gene alterations[J]. *Clin Cancer Res*, 2019,25(9):2699-2707.
- [20] Li Y, Qiu X, Wang X, et al. FGFR-inhibitor-mediated dismissal of SWI/SNF complexes from YAP-dependent enhancers induces adaptive therapeutic resistance[J]. *Nat Cell Biol*, 2021,23(11): 1187-1198.
- [21] Cleary JM, Raghavan S, Wu Q, et al. FGFR2 extracellular domain in-frame deletions are therapeutically targetable genomic alterations that function as oncogenic drivers in cholangiocarcinoma[J]. *Cancer Discov*, 2021,11(10): 2488-2505.
- [22] Milind M, Javle CF, Daneng Li, et al. phase II study of FGFR1-3 inhibitor tinengotinib as monotherapy in patients with advanced or metastatic cholangiocarcinoma; Interim analysis[J]. *J Clin Oncol*, 2023,41(4 suppl): a539.
- [23] Yin L, Han Z, Feng M, et al. Chimeric transcripts observed in non-canonical FGFR2 fusions with partner genes' breakpoint located in intergenic region in intrahepatic cholangiocarcinoma[J/OL]. *Cancer Genet*, 2022[2023-04-10].<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35749865/>.
- [24] Wu MJ, Shi L, Merritt J, et al. Biology of IDH mutant cholangiocarcinoma[J]. *Hepatology*, 2022,75(5):1322-1337.
- [25] Pirozzi CJ, Yan H. The implications of IDH mutations for cancer development and therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021,18(10): 645-661.
- [26] Zhu AX, Macarulla T, Javle MM, et al. Final overall survival efficacy results of ivosidenib for patients with advanced cholangiocarcinoma with IDH1 mutation: The phase 3 randomized clinical ClarIDHy trial[J]. *JAMA Oncol*, 2021,7(11): 1669-1677.
- [27] Casak SJ, Pradhan S, Fashoyin-Aje LA, et al. FDA approval summary: Ivosidenib for the treatment of patients with advanced unresectable or metastatic, chemotherapy refractory cholangiocarcinoma with an IDH1 mutation[J]. *Clin Cancer Res*, 2022,28(13): 2733-2737.
- [28] Cleary JM, Rouaisnel B, Daina A, et al. Secondary IDH1 resistance mutations and oncogenic IDH2 mutations cause acquired resistance to ivosidenib in cholangiocarcinoma[J]. *NPJ Precis Oncol*, 2022,6(1): 61.
- [29] Lapin M, Huang HJ, Chagani S, et al. Monitoring of dynamic changes and clonal evolution in circulating tumor DNA from patients with IDH-mutated cholangiocarcinoma treated with isocitrate dehydrogenase inhibitors[J/OL]. *JCO Precis Oncol*, 2022[2023-04-20].<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35171660/>.
- [30] Valle JW, Lamarca A, Goyal L, et al. New horizons for precision medicine in biliary tract cancers[J]. *Cancer Discov*, 2017,7(9): 943-962.
- [31] Subbiah V, Lassen U, Élez 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.
- [32] Klute KA, Rothe M, Garrett-Mayer E, et al. Cobimetinib plus vemurafenib in patients with colorectal cancer with BRAF mutations: Results from the targeted agent and profiling utilization registry (TAPUR) study[J/OL]. *JCO Precis Oncol*, 2022[2023-05-02].<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36409971/>.
- [33] Roth GS, Neuzillet C, Sarabi M, et al. Cholangiocarcinoma: what are the options in all comers and how has the advent of molecular profiling opened the way to personalised medicine? [J/OL]. *Eur J Cancer*, 2023[2023-04-15].<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36463640/>.
- [34] Bekaii-Saab TS, Yaeger R, Spira AI, et al. Adagrasib in advanced solid tumors harboring a KRAS(G12C) mutation[J]. *J Clin Oncol*, 2023,41(25):4097-4106.
- [35] Lamarca A, Barriuso J, McNamara MG, et al. Biliary tract cancer: State of the art and potential role of DNA damage repair[J/OL]. *Cancer Treat Rev*, 2018[2023-04-30].<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30218788/>.
- [36] Gönül Geyik Ö, Anichini G, Ulukaya E, et al. DNA damage re-

- response inhibitors in cholangiocarcinoma: Current progress and perspectives[J]. *Cells*, 2022,11(9):1463.
- [37] Lin J, Shi J, Guo H, et al. Alterations in DNA damage repair genes in primary liver Cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(15): 4701-4711.
- [38] Rizzo A, Frega G, Ricci AD, et al. Anti-EGFR monoclonal antibodies in advanced biliary tract cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. *In Vivo*, 2020,34(2):479-488.
- [39] Jain A, Kwong LN, Javle M. Genomic profiling of biliary tract cancers and implications for clinical practice[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2016,17(11): 58.
- [40] Spizzo G, Puccini A, Xiu J, et al. Molecular profile of BRCA-mutated biliary tract cancers[J/OL]. *ESMO Open*, 2020[2023-04-25].<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32576609/>.
- [41] Golan T, Raitses - Gurevich M, Kelley RK, et al. Overall survival and clinical characteristics of BRCA-associated cholangiocarcinoma: A multicenter retrospective study[J]. *Oncologist*, 2017, 22(7): 804-810.
- [42] Chae H, Kim D, Yoo C, et al. Therapeutic relevance of targeted sequencing in management of patients with advanced biliary tract cancer: DNA damage repair gene mutations as a predictive biomarker[J/OL]. *Eur J Cancer*, 2019[2023-05-06].<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31476489/>.
- [43] Yin C, Kulasekaran M, Roy T, et al. Homologous recombination repair in biliary tract cancers: A prime target for PARP inhibition? [J].*Cancers (Basel)*, 2022,14(10): 2561.
- [44] Drilon A, Laetsch TW, 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.
- [45] 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.
- [46] Thein KZ, Velcheti V, Mooers BHM, et al. Precision therapy for RET-altered cancers with RET inhibitors[J]. *Trends Cancer*, 2021,7(12): 1074-1088.
- [47] Subbiah V, Cassier PA, Siena S, et al. Pan-cancer efficacy of pralsetinib in patients with RET fusion-positive solid tumors from the phase 1/2 ARROW trial[J]. *Nat Med*, 2022,28(8): 1640-1645.
- [48] Wirth LJ, Sherman E, Robinson B, et al. Efficacy of selipratinib in RET-altered thyroid cancers[J]. *N Engl J Med*, 2020,383(9): 825-835.
- [49] Zhang C, Mei W, Zeng C. Oncogenic neuregulin 1 gene (NRG1) fusions in cancer: A potential new therapeutic opportunities[J/OL]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2022[2023-03-10].<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35247506/>.
- [50] Jonna S, Feldman RA, Swensen J, et al. Detection of NRG1 gene fusions in solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(16): 4966-4972.
- [51] Tiwari PK. Epigenetic biomarkers in gallbladder cancer [J]. *Trends Cancer*, 2020,6(7): 540-543.
- [52] Etrich TJ, Schwerdel D, Dolnik A, et al. Genotyping of circulating tumor DNA in cholangiocarcinoma reveals diagnostic and prognostic information[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 13261.
- [53] Kinugasa H, Nouse K, Ako S, et al. Liquid biopsy of bile for the molecular diagnosis of gallbladder cancer[J]. *Cancer Biol Ther*, 2018,19(10): 934-938.
- [54] Chen C, Wang T, Yang M, et al. Genomic profiling of blood-derived circulating tumor DNA from patients with advanced biliary tract cancer[J/OL]. *Pathol Oncol Res*, 2021[2023-01-15].<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34720757/>.
- [55] Okamura R, Kurzrock R, Mallory RJ, et al. Comprehensive genomic landscape and precision therapeutic approach in biliary tract cancers[J]. *Int J Cancer*, 2021,148(3): 702-712.
- [56] Reduzzi C, Vismara M, Silvestri M, et al. A novel circulating tumor cell subpopulation for treatment monitoring and molecular characterization in biliary tract cancer[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(12): 3495-3503.
- [57] Goyal L, Shi L, Liu LY, 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.
- [58] 中国抗癌协会肝癌专业委员会,中华医学会肝病学会分会肝癌学组,中国抗癌协会病理专业委员会. 原发性肝癌规范化病理诊断指南(2015 年版)[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2015, 21(3): 145-151.
- [59] 陈 骏,毛 谅,何 健,等. 第 8 版《美国癌症联合会肿瘤分期手册》肝内胆管细胞癌 TNM 分期解读[J]. *中华消化外科杂志*, 2017,16(4):330-335.
- [60] 《肝内胆管癌病理诊断专家共识(2022 版)》编写专家委员会.肝内胆管癌病理诊断专家共识(2022 版)[J]. *中华病理学杂志*, 2022, 51(9): 820-828.

收稿日期:2023-12-22