

燃石朗清[®]组织版 检测报告

本报告由燃石医学——中国首个获得美国 CLIA 认证的
ctDNA 和肿瘤组织二代测序 (NGS) 临床检测实验室出具

报告编号 B42033282074862201232 日期 2023/06/04 AM



防伪查询通道

检测概览

基本信息

检测内容

结果小结

检测结果
详细解读

1. 基因变异及解读

所检出的基因变异根据临床意义进行分级解读

2. 肺癌 NCCN 指南涵盖的基因结果汇总

NCCN 指南非小细胞肺癌推荐基因检测结果一览

3. 免疫治疗相关 BIOMARKER 检测结果汇总

与免疫治疗疗效密切相关的 Biomarker 包括 MSI 检测结果与临床意义

4. 药物代谢相关酶类 SNP 小结

与部分药物毒性或疗效可能相关的药物代谢酶类 SNP 分型结果及临床意义

5. BCL2L11 (BIM) 基因 2 号内含子胚系缺失多态性

BCL2L11 (BIM) 基因 2 号内含子缺失多态性结果及临床意义解读

6. 基因拷贝数分布图

基于 NGS 方法学计算的所检测基因的拷贝数分布图

附录

附录 1: 样本主要质控

附录 2: 检测方法与局限性

附录 3: 基因列表

附录 4: NCCN 指南非小细胞肺癌推荐基因的临床意义

附录 5: 参考文献

基本信息

姓名	高军	燃石样本 ID	RS23050196FLD	申请单号	A00421129
性别	女	样本类型	胸水	送检日期	2023/05/27
年龄	54	取样手段	-	到位日期	2023/05/28 PM
患者 ID	1101051968****05	取材部位	-	报告日期	2023/06/04 AM
诊断信息*	非小细胞肺癌	就诊医院	-		
临床信息*	未提供				

*注：本报告中的诊断信息及临床信息来自受检者送检时提供的信息，而非来自检测结果。本检测报告不对以上信息的准确性负责。

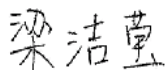
检测内容

燃石朗清®组织版精选 168 个与实体瘤发病机理及靶向治疗密切相关的基因，利用探针杂交和高通量测序法检测 168 个基因的重要外显子区域，及 8 个基因的热点内含子区域。全面精准地检测其中与实体瘤相关的基因突变、拷贝数变异重排（融合）等变异，并评估微卫星不稳定（MSI）状态。详细技术说明及基因参见附录。

结果小结

检测类型	检测结果
基因变异	共 7 个基因变异，其中具有明确或潜在临床意义的变异有 4 个
具有临床意义的变异	EGFR 基因：p.E746_S752delinsV TP53 基因：p.P190L CDKN2A 基因：拷贝数缺失 NTRK1 基因：拷贝数扩增
微卫星不稳定性（MSI）	微卫星稳定型（MSS）
样品总体质量评估	合格

检测人员：


梁洁莹

审核人员：


黄明洁

1. 基因变异及解读

具有明确临床意义的变异解读（I类变异）

变异结果	丰度	变异解读	靶向药物 (敏感性, 证据等级)
EGFR 基因 19 号外显子 p.E746_S752delinsV 框内缺失突 变 c.2237_2255delinsT p.Glu746_Ser752delinsVal	59.41%	EGFR 基因的第 746 位至第 752 位氨基酸缺 失并插入缬氨酸等 1 个氨基酸。EGFR 19del 约占 EGFR 敏感突变的 50%, 为明确驱动变 异, 对当前 1-3 代 EGFR-TKI 均敏感。	吉非替尼 (敏感, A 级) 厄洛替尼 (敏感, A 级) 埃克替尼 (敏感, A 级) 阿法替尼 (敏感, A 级) 达可替尼 (敏感, A 级) 奥希替尼 (敏感, A 级) 阿美替尼 (敏感, A 级) 伏美替尼 (敏感, A 级)

具有潜在临床意义的变异解读（II类变异）

变异结果	丰度	变异解读	靶向药物 (敏感性, 证据等级)
TP53 基因 6 号外显子 p.P190L 错义突变 c.569C>T p.Pro190Leu	89.00%	TP53 基因的第 190 位氨基酸由脯氨酸突变成亮氨酸。TP53 突变可能与非小细胞肺癌不良预后相关 (证据等级: C)。	Adavosertib+奥拉帕利 (敏感, C 级) 三氧化二砷 (敏感, C 级)
CDKN2A 基因 拷贝数缺失 染色体位置:9p21.3	CN:0.2	CDKN2A 基因拷贝数缺失 (deletion), 可能导致 CDKN2A 基因表达下调。携带 CDKN2A 双等位基因缺失的肿瘤可能对 CDK4/6 抑制剂敏感。	瑞柏西利 (敏感, C 级) 阿贝西利 (敏感, C 级) 尼拉帕利+卡铂 (敏感, C 级) 奥拉帕利+Ceralasertib (敏感, C 级) 哌柏西利 (敏感, D 级)
NTRK1 基因 拷贝数扩增 染色体位置:1q23.1	CN:4.6	NTRK1 基因拷贝数扩增 (amplification), 可能导致 NTRK1 基因表达上调。NTRK1 拷贝数扩增可能导致蛋白功能获得, 可能对 NTRK 抑制剂敏感。	拉罗替尼 (敏感, C 级) 洛普替尼 (敏感, C 级) VMD-928 (敏感, C 级)

基因介绍

EGFR

EGFR 位于 7p11.2, 编码表皮生长因子受体 (Epidermal Growth Factor Receptor), 又名 ERBB1/HER1, 为跨膜酪氨酸受体激酶的一种。

EGFR 突变是 NSCLC 中一个最主要的驱动基因变异亚型。该基因的激活性突变可以促进细胞的异常增殖、分化以及血管增生, 并能抑制肿瘤细胞的凋亡。TCGA 及 COSMIC 数据显示, EGFR 突变占西方 NSCLC 的 10-20%。这一比例在东亚、女性、无吸烟史的肺癌患者中尤其高。PIONEER 研究显示, 中国肺癌患者 EGFR 突变率~50%。EGFR 热点突变集中于激酶结构域 18~21 号外显子。携带 EGFR 敏感突变 (最常见为 19del、L858R) 的晚期 NSCLC

对一~三代 EGFR-TKI 敏感。基于 ADAURA 研究结果，奥希替尼获批成为携带 EGFR 突变的 IB-IIIa 期非小细胞肺癌（NSCLC）患者的术后辅助治疗。

对一/二代 TKI 获得性耐药的 EGFR 敏感突变患者，约 50% 耐药机制为获得性 T790M 突变，该类患者对第三代 TKI 如奥希替尼、阿美替尼、伏美替尼敏感。

绝大多数 EGFR 20ins（除特殊亚型 A763_Y764insFQEA 等）对传统一~三代 TKI 耐药。FDA 已批准 EGFR/MET 双特异性抗体 Amivantamab（JNJ-61186372）、EGFR/HER2 小分子抑制剂 Mobocertinib（TAK-788）治疗携带 EGFR 20ins 的经治 NSCLC 成人患者。Amivantamab、Mobocertinib 亦被 NMPA 药品审评中心指定为突破性治疗产品。Amivantamab 治疗 EGFR/MET 变异（包括三代 TKI 耐药相关 EGFR 突变、EGFR 20ins）NSCLC 患者的临床试验正在开展[NCT0260977]/[CTR20190589]（中国）。此外，Amivantamab 联合卡铂/培美曲塞治疗 EGFR 20ins 的转移性 NSCLC 的 III 期临床试验[NCT04538664]/[CTR20202633]（中国）、Amivantamab 联合三代 EGFR-TKI 拉泽替尼（Lazertinib）治疗 EGFR 突变（包含 EGFR 经典/罕见突变及 ex20ins）的转移性 NSCLC 的临床试验[NCT04077463]/[CTR20202097]正在国内外开展。

携带 EGFR 敏感突变的晚期初治 NSCLC 患者，伴随 EGFR 扩增可能为预后不良因素[2016ASCO#9053]。在接受一代 EGFR-TKI 治疗的 EGFR 突变型 NSCLC 患者中，获得性 EGFR 扩增（伴或不伴 T790M）为可能耐药机制[2014ASCO#8053]。野生型 EGFR 等位基因扩增亦可导致三代 EGFR-TKI 耐药，临床前数据提示，西妥昔单抗（或阿法替尼）联合三代 TKI 或可克服由此产生的耐药[PMID: 28202511]。研究发现携带 EGFR 19 外显子 delE746_A750 缺失突变的 NSCLC 患者在靶向治疗后比携带 19 外显子 delS752_I759 缺失突变或 21 号外显子 L858R 突变的患者更易出现获得性 EGFR T790M 耐药突变[PMID: 28747773]。

此外，部分晚期初治 NSCLC 患者即携带野生型 EGFR 扩增，IPASS 亚组分析证实，此类患者对 EGFR-TKI 耐药。但 EGFR 扩增型肺癌患者可能对抗 EGFR 抗体（如西妥昔单抗、Necitumumab）联合化疗敏感[PMID: 27760595, 29158193, 29169877]。

EGFR 罕见功能获得性变异还包括 EGFR 融合（EGFR N 末端与不同伴侣如 RAD51 融合）、EGFR 激酶结构域重复（KDD）等。多个案例报道显示，携带 EGFR 完整激酶区的融合变异可能对 EGFR-TKI 如厄洛替尼敏感[PMID: 27102076, 29290255, 31345345] [PMID: 32903808]。临床前数据提示，EGFR 融合可能对阿法替尼、奥希替尼敏感[PMID: 27102076]。EGFR-KDD 亦可能对吉非替尼、阿法替尼、奥希替尼等 EGFR-TKI 敏感[PMID: 26286086, 26398831, 31393596]。

EGFRvIII（variant III）突变即 EGFR Exon 2-7 缺失突变，胞外结构域（ECD）267 个氨基酸缺失。该突变具有组成型活性，不能结合已知配体。在中国早期 NSCLC 的一项队列研究中，研究者发现队列二中 EGFRvIII 突变的整体检出率为 7%（8/114），其中肺鳞癌为 11.1%（6/54），肺腺癌为 3.6%（2/55），队列二 31 例肺鳞癌中检出 6 例 EGFRvIII 突变（16.1%），携带 EGFRvIII 突变的肺鳞癌患者 OS 有延长的趋势[PMID: 26273378]。

小样本数据显示，EGFR 基因变异可能与免疫检查点抑制剂疗效不佳（至治疗失败 <2 个月）及爆发性进展（hyper-progression, HP）相关[PMID: 28351930]；后续研究进一步提示，实体瘤中 EGFR 扩增可能与免疫检查点抑制剂治疗 HP 相关[2017ESMO#1140PD]。

TP53

TP53 位于 17p13.1，是一个重要的抑癌基因，编码 p53 蛋白，属于最早发现的抑癌基因之一。其主要功能是保持基因组稳定性，促进 DNA 损伤修复或促进受损细胞凋亡，避免突变发生。TP53 是细胞凋亡门控基因且在 G1/2 过渡中发挥关键负调控作用。p53 蛋白包括一个 N 端反转录激活域、一个中心 DNA 结合域、一个寡聚域和一个 C 端调控域[PMID: 22713868]。

TCGA 数据显示，TP53 在肺腺癌和肺鳞癌中的突变频率分别约为 50% 和 80%。数据显示，TP53 非断裂性突变（non-disruptive mutation）是晚期 NSCLC、包括 EGFR 突变型 NSCLC 患者的不良预后因子[PMID: 24696321]，也是 EGFR 突变患者接受 TKI 治疗的不良疗效预测因子[2015 WCLC MINI05.03]。尽管 TP53 突变频率极高，但针对性治疗稀缺，原因之一就是 TP53 突变背景下 TP53 生物学行为的了解不足。TP53 突变发生在整个基因编码序列，导致的后果从 TP53 缺失到功能获得性的致癌突变。目前潜在治疗策略包括：细胞周期抑制剂如 Weel 抑制剂 Adavosertib（AZD1775）、Chk1 抑制剂、HSP90 抑制剂等。

KRAS/TP53 双突变型肺腺癌具有更高水平的肿瘤突变负荷（TMB）、炎症标志物及免疫检查点效应分子[PMID:

26069186, 26477306]。回顾性小样本研究提示, 携带 TP53 突变 (且 STK11 及 EGFR 野生型)、特别是 KRAS/TP53 双突变的 NSCLC 患者对免疫检查点抑制剂治疗效果优于野生型患者[PMID: 28039262, 29764856]。

CDKN2A

CDKN2A 即细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 2A (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A), 是一个重要的抑癌基因, 其编码蛋白参与调控 2 条关键的细胞周期调节通路: p53 通路及 RB1 通路。通过使用共享编码区和选择性阅读框, 该基因编码两种主要蛋白, p16 (INK4A) 和 p14 (ARF); 前者为细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 抑制因子, 通过 CDK4/6 抑制 Rb 蛋白磷酸化、诱导 G1 细胞周期停滞; 后者结合 p53 稳定蛋白 MDM2, 与 TP53 的稳定性相关。CDKN2A 突变或缺失导致负调节作用减弱而促进细胞 G1/S 期过渡, 促进细胞增殖。

TCGA 数据库显示, CDKN2A 缺失最常见于多形性胶质母细胞瘤 (变异频率~60%), 其次为食管癌、膀胱癌及肺鳞癌等 (~30-40%)。其突变常见于胰腺癌、头颈部癌及肺鳞癌等 (~15-25%)。作为 CDK4/6 的固有负调节因子, CDKN2A (p16) 缺失可导致 CDK4/6-cyclin-Rb 信号通路异常激活。体外研究及个案报道提示, CDKN2A 缺失的肿瘤可能对 CDK4/6 抑制剂敏感[PMID: 19874578, 26715889], 相关临床研究正在进行中[NCT02693535]。评估 Abemaciclib 单药在铂类联合西妥昔单抗 (或其他抗 EGFR) 治疗失败后, 携带 CDKN2A 的纯合型缺失和/或 CCND1 扩增和/或 CDK6 扩增的局部晚期/转移性头颈癌患者疗效的临床试验也正在进行中[NCT03356223]。此外, CDKN2A 功能缺失性突变或可导致同源重组修复缺陷 (HRD), 携带 CDKN2A 胚系或体系突变的肿瘤患者或可入组参加一项 Niraparib/卡铂联合治疗的 I 期临床研究[NCT03209401]。

NTRK1

NTRK1 基因编码原肌球蛋白受体激酶 (Tropomyosin receptor kinase A, TrkA), 又名高亲和力神经生长因子受体 (high affinity nerve growth factor receptor)、神经营养酪氨酸激酶受体 1 型 (neurotrophic tyrosine kinase receptor type 1), 或 TRK1-转化酪氨酸激酶蛋白 (TRK1-transforming tyrosine kinase protein), 属于神经营养酪氨酸激酶受体 (neurotrophic tyrosine kinase receptor, NTKR) 家族。TrkA 蛋白定位于细胞表面, 接受来自神经营养素 (neurotrophin) 或其他细胞的生长信号, 发生自磷酸化并磷酸化激活下游 MAPK 等信号通路, 介导细胞分化, 并可能在指定感觉神经元亚型中发挥作用。该基因突变与先天性无痛无汗症 (congenital insensitivity to pain with anhidrosis)、自残行为 (self-mutilating behavior)、精神发育迟滞及多种肿瘤相关。

NTRK 包括 NTRK1 融合可见于多种实体瘤, 其特点为: 在常见肿瘤中低频发生, 在某些罕见肿瘤中高频发生。整体而言, 儿童肿瘤中 NTRK 融合发生率高于成人肿瘤患者[PMID: 34036219]。NTRK 融合是目前较明确的 tissue-agnostic 治疗靶点之一。FDA 已批准 TRK 抑制剂 Larotrectinib、Entrectinib 用于治疗携带 NTRK 基因融合的成人和儿童局部晚期或转移性实体瘤患者。TrkA 最初从结肠肿瘤中被克隆; 该亚型结肠肿瘤源于易位导致的 TrkA 激酶结构域激活。部分甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC) 中发现 NTRK1 基因 3' 端序列与不同活化基因 (如 TPM3、TPR 和 TFG) 的 5' 端序列融合, 其编码的融合蛋白显示酪氨酸激酶的固有活性, 导致体外/体内肿瘤转化。在肺癌中, 当 NTRK1 与其他基因融合 (如 MRRIP-NTRK1 及 CD74-NTRK1) 时, 可导致结构性 TrkA 激酶活性的改变, 从而发挥癌基因的作用: TrkA 可在没有外部信号激发的情况下, 通过自身过度活化促进细胞生长增殖。

使用 TrkA 激酶活性抑制剂, 可有效抑制表达 NTRK1 融合基因的细胞中 TrkA 的自主磷酸化过程及细胞生长。携带 NTRK1 融合的肿瘤可能对克唑替尼或 NTRK 抑制剂如 larotrectinib (LOXO-101)、entrectinib (RXDX-101) 敏感。有研究回顾性使用 NGS 筛查了来自 MGH 和 MSKCC 的共 4872 例 NSCLC 患者, 最终鉴定出 11 个 NTRK 融合, 检出率 0.23%, 其中 NTRK1、NTRK2 和 NTRK3 融合的检出率分别为 0.12%、0.02% 和 0.08%。11 个病例的组织学特征: 其中 9 例为腺癌, 1 例为鳞状细胞癌, 1 例为神经内分泌癌。11 例患者中, 8 例接受了至少一种 TRK 酪氨酸激酶抑制剂治疗, 10 例接受了含铂双药化疗。1 例患者未接受任何治疗。10 例转移性肿瘤患者的中位 OS 为 40.8 个月[PMID: 30215037]。有研究综合分析了三项 Larotrectinib 临床试验 (NCT02122913、NCT02637687 和 NCT02576431) 的数据, 对于携带 NTRK 融合的 55 例实体瘤患者 (17 个肿瘤类型), 根据独立评估, Larotrectinib 治疗总体缓解率为 75%; 根据研究者评估, Larotrectinib 治疗总缓解率为 80%, 证实 Larotrectinib 对 NTRK 融合的晚期实体瘤具有明显且持久的抗肿瘤活性[PMID: 29466156]。另一项关于 Larotrectinib 在成人实体瘤患者中应用的多中心、I 期剂量递增研究显示, Larotrectinib 耐受性良好, 在所有含有 NTRK 基因 (NTRK1、NTRK2 和 NTRK3) 融合的肿瘤患者中均表现出活性, 客观缓解率达 100% (8/8) [PMID: 30624546]。

最新的研究综合分析了三项对使用恩曲替尼（Entrectinib）治疗晚期或转移性 NTRK 融合阳性实体肿瘤的 1-2 期临床试验（ALKA-372-001, STARTRK-1 和 STARTRK-2），结果显示 54 位成人晚期实体瘤（10 个肿瘤类型）患者客观缓解率为 57%，其中 7% 为完全缓解，50% 为部分缓解，中位缓解时间为 10 个月。表明恩曲替尼对 NTRK 融合阳性实体肿瘤患者具有明显的疗效[PMID: 31838007]。

有研究通过对七千多名血液系统恶性肿瘤患者（包括急性淋巴细胞白血病，急性髓细胞性白血病，组织细胞增生症，多发性骨髓瘤和树突状细胞瘤）进行 NTRK 融合进行检测，结果显示 NTRK 融合发生率仅为 0.1% (8/7311)，其中，携带 NTRK1 融合的是 2 例组织细胞增生症（LMNA-NTRK1, TFG-NTRK1），1 例树突状细胞瘤（TPR-NTRK1），并且研究提示 NTRK 融合对 TRK 抑制剂 larotrectinib 治疗有效[PMID: 29920189]。

而 NTRK1 solvent-front 突变 G595R 可导致 entrectinib、larotrectinib 的获得性耐药，但对第二代 TRK 抑制剂 LOXO-195 可能敏感[2017 ASCO#LBA2501]。临床前研究表明，NTRK1 融合阳性肿瘤细胞中，NTRK1 G667C 突变是 Entrectinib 继发耐药突变，Foretinib 可克服该继发突变[PMID: 29463555]。

临床意义尚不明确的变异列表（III类变异）

基因	变异类型	外显子	cDNA 改变	氨基酸改变	丰度
APC	错义突变	10	c.1170C>G	p.Ile390Met	18.29%
FGFR2	错义突变	3	c.151G>A	p.Val51Met	65.47%
POM121L12	错义突变	1	c.661A>C	p.Ser221Arg	12.28%

- 注：**
1. 基因变异所对应的靶向药物敏感性来源于燃石内部数据库 OncoDB，同时参考 NCCN 指南、OncoKB [PMID: 28890946] 等公共数据库内容。该数据仅供临床医生参考。随着数据库不断完善以及临床数据的更新，变异分级可能发生变化。
 2. 变异与药物敏感性的证据级别根据 AMP/ASCO/CAP 相关指南[PMID: 27993330] 共分为 ABCD 四个等级：A 级（FDA 批准，或来自于专业临床指南），B 级（较大规模的临床研究证实，且取得临床专家共识），C 级（在其他癌种中的 A 级证据、或者已作为临床筛选的筛选入组标准、或者有多项小型研究支持），D 级（临床前研究、或者是病例报道支持）。变异按照临床意义的重要性分为四个等级：I 类变异（具有 A 级或 B 级证据），II 类变异（具有 C 级或 D 级证据），III 类变异（尚无相关临床证据），IV 类变异（已知无临床意义变异，报告未列出）。

2. 肺癌 NCCN 指南涵盖的基因结果汇总

基因	变异类型	变异结果	丰度	临床意义
ALK	重排/点突变/插入/缺失/拷贝数变异	未检出		
BRAF	点突变/插入/缺失	未检出		
EGFR	框内缺失突变	p.E746_S752delinsV	59.41%	重要（I类）
ERBB2	点突变/插入/缺失/拷贝数变异	未检出		
KRAS	点突变/插入/缺失/拷贝数变异	未检出		
MET	点突变/插入/缺失/拷贝数变异	未检出		
RET	重排/点突变/插入/缺失	未检出		
ROS1	重排/点突变/插入/缺失	未检出		

- 注：** 1. 上表仅列出了非小细胞肺癌 NCCN 指南推荐基因的变异。以上基因变异的解读以及其他基因的结果详见「1. 基因变异及解读」部分。
2. ALK 基因检测涵盖但不限于断点位于 ALK 基因 19 号内含子和 20 号外显子的 ALK 基因重排 (EML4-ALK, KIF5B-ALK 等), L1196M, L1198F, C1156Y, F1174L, G1202R, S1206Y, G1269A, I1171T, T1151dup 等突变以及拷贝数扩增。
3. BRAF 基因检测涵盖但不限于 V600E, G466A/E/V, G469A/V, G464V, Y472C, N581S, D594G, L597V/S, K601E 等突变。
4. EGFR 基因检测涵盖但不限于 exon19del, L858R, T790M, exon20ins, G719X, E709K, S768I, L861Q, L792H, G796R, C797S 等突变以及拷贝数扩增。
5. ERBB2 基因检测涵盖但不限于 exon20ins, G309A/E, S310Y/F, E321G, V659E, L755S, D769H/Y, V777L, V842I 等突变以及拷贝数扩增。
6. KRAS 基因检测涵盖但不限于 G12X, G13X, Q61X, A146X 等突变以及拷贝数扩增。
7. MET 基因检测涵盖但不限于会引起 MET 基因 14 号外显子跳读的点突变、插入/缺失等变异类型以及拷贝数扩增。
8. RET 基因检测涵盖但不限于断点位于 RET 基因 10, 11 号内含子的 RET 基因重排 (KIF5B-RET, CCDC6-RET 等)。
9. ROS1 基因检测涵盖但不限于断点位于 ROS1 基因 31 (非重复区域), 33, 34, 35 号内含子的 ROS1 基因重排 (CD74-ROS1, SLC34A2-ROS1, EZR-ROS1 等), 以及 G2032R, L2026M, L2155S 等突变。

3. 免疫治疗相关 BIOMARKER 检测结果汇总

微卫星不稳定性 (MSI)

● 检测结果

微卫星稳定型 (MSS)

● MSI 介绍

微卫星不稳定性 (MSI: microsatellite instability) 是指 DNA 序列中简单重复序列的碱基长度和 (或) 重复次数的增加或减少, 产生遗传不稳定性。本检测利用 NGS 结合自主研发算法[PMID: 29277635]通过对微卫星位点 (MS) 长度分布的评估以判断 MSI 状态。

● 临床意义

针对微卫星稳定型 (MSS) 实体瘤暂无相应免疫治疗药物推荐。

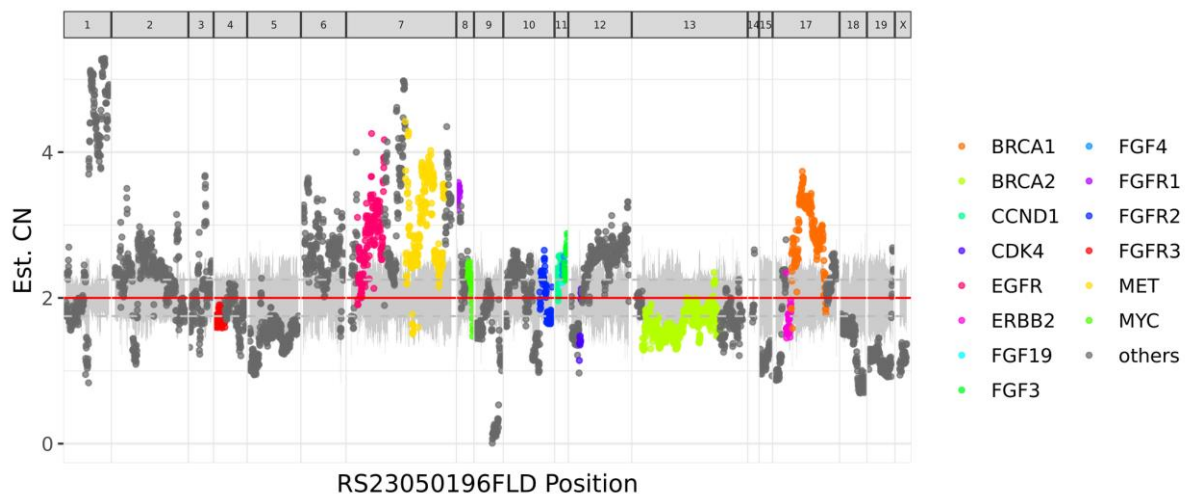
4. 药物代谢相关酶类 SNP 小结

SNP	基因型	变异/野生型	临床意义
CYP2D6*10 rs1065852	A/A	纯合突变型	有数据显示，携带 CYP2D6*10 纯合型突变的乳腺癌患者，使用他莫昔芬辅助治疗的复发风险有可能高于野生型患者。但由于证据欠充分，未被国际指南推荐作为他莫昔芬辅助治疗前的常规检测。
DPYD*13 rs55886062	A/A	野生型	DPD 缺乏与氟尿嘧啶（5-FU、卡培他滨或替加氟）毒性增加相关。DPYD 野生型患者 DPD 表达正常。
DPYD*2846A>T rs67376798	T/T	野生型	DPD 缺乏与氟尿嘧啶（5-FU、卡培他滨或替加氟）毒性增加相关。DPYD 野生型患者 DPD 表达正常。
DPYD*2A rs3918290	C/C	野生型	DPD 缺乏与氟尿嘧啶（5-FU、卡培他滨或替加氟）毒性增加相关。DPYD 野生型患者 DPD 表达正常。
UGT1A1*28 rs8175347	(TA) ₆ /(TA) ₆	野生型	UGT1A1 特定多态性与伊立替康毒性增加相关，UGT1A1 (TA) ₆ /(TA) ₆ 型患者出现伊立替康相关毒性的可能性相对较低。2021 CSCO 结直肠癌指南指出：UGT1A1 (TA) ₆ /(TA) ₆ 型或 UGT1A1 (TA) ₆ /(TA) ₇ 型患者推荐伊立替康的剂量分别为 80 mg/m ² /周和 65 mg/m ² /周。
UGT1A1*6 rs4148323	A/A	纯合突变型	相较于野生型，UGT1A1*28 和 *6 为纯合变异型或双杂合变异型患者出现伊立替康相关毒性风险较高，应降低伊立替康初始用药剂量。

5. BCL2L11（BIM）基因 2 号内含子胚系缺失多态性

位点	变异/野生型	临床意义
BCL2L11 基因 2 号内含子 c.394+1479_394+ 4381del	野生型	部分研究显示，BCL2L11（BIM）基因 2 号内含子的胚系多态性缺失可能与酪氨酸激酶抑制剂疗效不佳相关[PMID: 22426421]；该样本为 BIM 野生型，无相应影响。

6. 基因拷贝数分布图



注： 上图展示为所有基因的拷贝数分布。每个点表示基因的一个捕获区间，彩色高亮点为重点关注拷贝数变异的基因。横轴表示基因所在的染色体位置，纵轴表示基于 NGS 方法学计算得到的拷贝数（红色横线表示正常基因的拷贝数）。NGS 检测得到的拷贝数可能

会被所检测 DNA 样本中含有的正常细胞 DNA 所稀释，因此并不代表每个细胞内所含有的基因拷贝数。

附录 1：样本主要质控

	质量参数	数值	质控标准
病理评估	恶性肿瘤细胞占比(%) ¹	不适用	不适用
DNA 质量评估	DNA 总量(ng) ²	1395	≥ 30
	DNA 片段降解程度 ³	不适用	不适用
	预文库总量(ng) ⁴	5473	≥ 300
测序质量评估	平均测序深度 ⁵	3280	≥ 500
	独特序列测序深度 ⁶	1808	≥ 250
	覆盖均一性 ⁷	94%	≥ 90%
	序列回贴比率 ⁸	100%	≥ 90%
	碱基质量 Q30 占比 ⁹	94%	≥ 80%
	配对样本纯合子一致性 ¹⁰	不适用	不适用
总体质量评估 ¹¹	合格		

- 注：**
1. 恶性肿瘤细胞占比：经燃石医学检验所 HE 染色评估，该样本中恶性肿瘤细胞占比。如样本不满足燃石医学病理评估所需条件，则跳过此项。cfDNA 样本不做此项评估。
 2. DNA 总量：送检样本提取的 DNA 总量。
 3. DNA 片段降解程度：通过对 DNA 片段降解程度进行评估。A-D 表示片段降解程度依次升高。如样本无需降解程度评估，则跳过此项。cfDNA 样本不做此项评估。
 4. 预文库总量：在文库构建时，将原始核酸加接头后经扩增纯化得到的含有全部基因序列的中间产物的总量。
 5. 平均测序深度：目标基因每个碱基被测到的平均次数。
 6. 独特序列测序深度：去重后，目标基因测序深度的中位值。
 7. 覆盖均一性：大于平均深度的 20% 的碱基位点占目标区域碱基位点总数的比例。
 8. 序列回贴比率：成功比对回到参考基因组的序列数目占比。
 9. 碱基质量 Q30 占比：测序数据中碱基质量在 Q30 以上（即错误率在千分之一以下）的占比。
 10. 配对样本纯合子一致性：利用 SNP 分型评估配对样本之间的一致性。如果低于 90% 则提示样本存在他人来源 DNA 污染或者与配对样本并非来自同一人。
 11. 总体质量评估：结合以上参数进行综合评估，采取短板效应，分为合格、警戒（风险预警）和不合格三个等级。**质量警戒或不合格都可能影响此次检测的准确性和敏感性。**

附录 2：检测方法与局限性

检测方法

本次检测是采用目标区域探针捕获技术和基于 Illumina 测序平台的二代高通量测序技术（NGS）对样本进行检测。该技术由燃石医学独立开发、分析和验证。燃石医学检验所已依据 CLIA'88 及国内外相关技术指导准则完成技术平台验证，并通过卫健委临床检验中心肿瘤诊断和治疗高通量测序检测室间质评。

本检测可以覆盖目标基因捕获外显子及 ± 20 bp 范围内的单核苷酸变异（SNV），短片段插入或缺失变异（INDEL），基因拷贝数变异（CNV），以及断点发生在产品捕获范围内的基因重排（rearrangement/fusion）。

局限性说明

1. 本检测仅为临床诊断及治疗决策提供参考和辅助。临床诊断及治疗决策应由临床医生结合受检者的全临床信息进行综合判断。
2. 本检测的分析和解读基于已发表的文献和公开的数据库，随着科学研究的发展和数据库的更新，变异解读可能发生变更。
3. 本检测适用于发现指定基因 DNA 水平的变异，不涉及 DNA 甲基化、RNA 水平或蛋白质水平的检测。
4. 如未检出指定基因的变异（即阴性结果）不能排除存在低于检测下限的变异的可能性。
5. 肿瘤是一种复杂的系统性疾病，评定是否为恶性肿瘤需要由临床医生综合多种检查结果进行判定。本检测不能用于确认或排除恶性肿瘤的存在。
6. 肿瘤发展或治疗过程中可能出现获得性基因变异，从而使癌症的突变谱发生变化，同时肿瘤也可能存在肿瘤间和肿瘤内的异质性。本检测报告结果仅对送检样品负责。
7. 本检测不能排除由于染色体多倍体导致的 CNV。CNV 的检测敏感性受到组织样本中肿瘤细胞占比的影响。当组织中肿瘤细胞占比 $<20\%$ 时，CNV 的检测敏感性受限。
8. MSI 的检测敏感性受到组织样本中肿瘤细胞占比的影响。当组织中肿瘤细胞占比 $<20\%$ 或 $\text{maxAF}<10\%$ 时，MSI 的检测敏感性受限。
9. 本检测仅包括肿瘤组织样本，未包括对照样本。变异结果中不排除存在罕见胚系突变来源的可能性。

附录 3：基因列表

AKT1 NM_001014432.1	ALK NM_004304.4	APC NM_000038.5	AR NM_000044.3	ARID1A NM_006015.4
ATM NM_000051.3	ATR NM_001184.3	B2M NM_004048.2	BARD1 NM_000465.3	BCL2L11 NM_138621.4
BCOR NM_001123383.1	BLM NM_000057.3	BRAF NM_004333.4	BRCA1 NM_007294.3	BRCA2 NM_000059.3
BRINP3 NM_199051.2	BRIP1 NM_032043.2	CARD11 NM_032415.5	CASP8 NM_001228.4	CBL NM_005188.3
CCND1 NM_053056.2	CCNE1 NM_001238.3	CD274 NM_014143.3	CD74 NM_001025159.2	CDH18 NM_001291956.1
CDK4 NM_000075.3	CDK6 NM_001145306.1	CDKN1A NM_001291549.1	CDKN1B NM_004064.4	CDKN2A NM_000077.4
CHEK1 NM_001274.5	CHEK2 NM_007194.3	CREBBP NM_004380.2	CSMD3 NM_198123.1	CTNNB1 NM_001904.3
CYP2D6 NM_000106.5	DIS3 NM_014953.4	DNMT3A NM_022552.4	DPYD NM_000110.3	EGFR NM_005228.3
EMSY NM_001300942.1	EP300 NM_001429.3	EPHA3 NM_005233.5	EPHA5 NM_001281765.2	EPHA7 NM_004440.3
EPHB1 NM_004441.4	ERBB2 NM_004448.3	ERBB3 NM_001982.3	ERBB4 NM_005235.2	ESR1 NM_000125.3
FANCA NM_000135.2	FANCI NM_001113378.1	FAT3 NM_001008781.2	FBXW7 NM_033632.3	FGF19 NM_005117.2
FGF3 NM_005247.2	FGF4 NM_002007.2	FGFR1 NM_023110.2	FGFR2 NM_000141.4	FGFR3 NM_000142.4
FLT1 NM_002019.4	FLT3 NM_004119.2	FLT4 NM_182925.4	GATA2 NM_001145661.1	GATA3 NM_001002295.1
GRIN2A NM_000833.4	H3C2 NM_003537.3	H3F3C NM_001013699.2	HGF NM_000601.5	HIST1H1C NM_005319.3
HIST1H3G NM_003534.2	HRAS NM_005343.3	IDH1 NM_005896.3	IDH2 NM_002168.3	IGF2 NM_000612.5
IKZF1 NM_006060.5	IL7R NM_002185.3	INHBA NM_002192.3	JAK1 NM_001320923.1	JAK2 NM_004972.3
KDM5A NM_001042603.2	KDM6A NM_001291415.1	KDR NM_002253.2	KEAP1 NM_012289.3	KIT NM_000222.2
KMT2D NM_003482.3	KRAS NM_033360.3	LRP1B NM_018557.2	MAP2K1 NM_002755.3	MAP3K13 NM_001242314.1
MAX NM_002382.4	MCL1 NM_021960.4	MEN1 NM_000244.3	MET NM_000245.3	MLH1 NM_000249.3
MRE11 NM_005591.3	MSH2 NM_000251.2	MSH6 NM_000179.2	MTOR NM_004958.3	MUTYH NM_001128425.1
MYC NM_002467.4	MYCN NM_001293228.1	NAV3 NM_001024383.1	NBN NM_002485.4	NF1 NM_000267.3
NFE2L2 NM_006164.4	NOTCH1 NM_017617.4	NRAS NM_002524.4	NRG1 NM_001322205.1	NTRK1 NM_001007792.1
NTRK2 NM_006180.4	NTRK3 NM_001012338.2	PAK5 NM_020341.3	PALB2 NM_024675.3	PARP1 NM_001618.3
PDGFRA NM_006206.4	PDGFRB NM_002609.3	PIK3C2G NM_001288772.1	PIK3C3 NM_002647.3	PIK3CA NM_006218.3
PIK3CG NM_001282426.1	PIK3R1 NM_181523.2	PMS2 NM_000535.6	POLD1 NM_001256849.1	POLE NM_006231.3
POM121L12 NM_182595.3	PPP2R1A NM_014225.5	PRKDC NM_006904.6	PTEN NM_000314.6	PTPRD NM_002839.3
PTPRT NM_133170.3	RAD50 NM_005732.3	RAD51B NM_133509.3	RAD51C NM_058216.2	RAD51D NM_002878.3
RAD54L NM_003579.3	RAF1 NM_002880.3	RARA NM_000964.3	RB1 NM_000321.2	RBM10 NM_001204468.1
RET NM_020975.4	RNF43 NM_017763.5	ROS1 NM_002944.2	RUNX1 NM_001754.4	SETD2 NM_014159.6
SMAD4 NM_005359.5	SMARCA4 NM_001128849.1	SOX2 NM_003106.3	SOX9 NM_000346.3	SPOP NM_001007226.1
SPTA1 NM_003126.2	SRC NM_198291.2	STAG2 NM_001042749.2	STK11 NM_000455.4	TBX3 NM_016569.3
TERT NM_198253.2	TGFBR2 NM_001024847.2	TP53 NM_000546.5	TP63 NM_003722.4	TRIM58 NM_015431.3
TRPC5 NM_012471.2	U2AF1 NM_001025203.1	UGT1A1 NM_000463.2	VEGFA NM_001025366.2	VEGFB NM_003377.4
VEGFC NM_005429.4	VHL NM_000551.3	YES1 NM_005433.3		

注：基因名后面的 NM 编号为分析注释时所采用的转录本编号（RefSeq）。

同时检测融合的基因（9 个）

ALK	FGFR1	FGFR2	FGFR3	NRG1	NTRK1
NTRK3	RET	ROS1			

附录 4：NCCN 指南非小细胞肺癌推荐基因的临床医学意义

检测基因	临床医学意义
ALK	携带 ALK 重排（融合）的 NSCLC 对 ALK 抑制剂敏感，携带某些 ALK 激酶区获得性突变（如 L1196M、G1269A、G1202R、T1151dup、L1152R、C1156Y、F1174L 等）或 ALK 扩增的 NSCLC 可能对 1 代 ALK 抑制剂克唑替尼耐药，但可能对 2/3 代 ALK 抑制剂敏感；携带 ALK 复合突变（如 G1202R/L1196M、G1202R/G1269A）的 NSCLC 可能对 3 代 ALK 抑制剂劳拉替尼耐药。
BRAF	携带 BRAF V600E 突变的 NSCLC 对 BRAF 抑制剂及 MEK 抑制剂联合治疗敏感。携带 BRAF G466V、G469A、Y472C 等非 V600 突变的 NSCLC 可能对当前选择性 BRAF 抑制剂不敏感。
EGFR	携带 EGFR 常见敏感突变 19del、L858R 或少见敏感突变如 L861X、G719X、S768I 的 NSCLC 对 1/2 代 EGFR-TKI 敏感，其中 2 代 TKI 对少见敏感突变的优势较为明显。EGFR T790M 突变对 1/2 代 EGFR-TKI 耐药，但对 3 代 EGFR-TKI 敏感。除 A763_Y764insFQEA 以外的多数 EGFR 20ins 突变对既往 1-3 代 TKI 均效果欠佳，对新药 Amivantamab、Mobocertinib 等敏感。携带 EGFR 扩增的肺鳞癌可能对抗 EGFR 抗体联合化疗（vs 单纯化疗）更加敏感。EGFR 变异可能与免疫检查点抑制剂疗效不佳及爆发进展相关。
ERBB2	携带 ERBB2 活化突变如 20ins、S310X 的 NSCLC 对 T-DXd、T-DM1 等抗 ERBB2 治疗敏感。携带 ERBB2 扩增的 NSCLC 可能对抗 ERBB2 治疗敏感。ERBB2 活化变异可作为 1、3 代 EGFR-TKI 的耐药机制。
KRAS	KRAS 突变是 NSCLC 患者的不良预后因子，也是 EGFR-TKI 等靶向治疗的耐药机制。针对 KRAS G12C 突变的特异性抑制剂 Sotorasib（AMG 510）已获得 FDA 批准用于 KRAS G12C 的晚期 NSCLC，其他多个特异性 KRAS 抑制剂（包括针对 G12D）或 pan-KRAS 抑制剂也在研发中。
MET	携带 MET 14 号外显子跳读突变（可变剪切突变）的晚期 NSCLC 对 MET 抑制剂如克唑替尼、赛沃替尼、卡马替尼、特泊替尼等敏感。携带 MET 拷贝数高水平扩增的 NSCLC 可能对 MET 抑制剂敏感。MET 激酶区获得性耐药突变（如 D1228V、Y1230C）可导致 I 型 MET 抑制剂如克唑替尼、赛沃替尼耐药，可考虑换用 II 型 MET 抑制剂如卡博替尼治疗。MET 扩增是 EGFR-TKI 的重要耐药机制，对于此类耐药可考虑采取 MET 抑制剂与 EGFR 抑制剂联合治疗策略。
RET	携带 RET 重排（融合）的晚期 NSCLC 对选择性 RET 抑制剂如 Selpercatinib、普拉替尼敏感，亦可能对非选择性 TKI 卡博替尼等敏感。
ROS1	携带 ROS1 重排（融合）的 NSCLC 对 ROS1 抑制剂如克唑替尼、塞瑞替尼、劳拉替尼等敏感。携带 ROS1 G2032R 等激酶区获得性突变的 NSCLC 可能对克唑替尼耐药。

附录 5：参考文献

1. 美国国家综合癌症网络（NCCN）肿瘤临床实践指南。
2. Nukaga S et al. (2017) Amplification of EGFR Wild-Type Alleles in Non-Small Cell Lung Cancer Cells Cancer Res. [PMID: 28202511]
3. Zou, B et al. (2019) Deciphering mechanisms of acquired T790M mutation after EGFR inhibitors for NSCLC by computational simulations. Sci Rep [PMID: 28747773]
4. Luo Y et al. (2017) [Nimotuzumab Combined with Chemotherapy as Second- or Later-line in the Treatment of Advanced Lung Squamous Cell Carcinoma]. Zhongguo Fei Ai Za Zhi [PMID: 27760595]
5. Genova C et al. (2018) EGFR Gene Copy Number by FISH May Predict Outcome of Necitumumab in Squamous Lung C

- arcinomas: Analysis from the SQUIRE Study. J Thorac Oncol [PMID: 29158193]
6. Herbst RS et al. (2018) Cetuximab plus carboplatin and paclitaxel with or without bevacizumab versus carboplatin and paclitaxel with or without bevacizumab in advanced NSCLC (SWOG S0819): a randomised, phase 3 study. Lancet Oncol. [PMID: 29169877]
 7. Konduri K et al. (2017) EGFR Fusions as Novel Therapeutic Targets in Lung Cancer. Cancer Discov [PMID: 27102076]
 8. Zhu, YC et al. (2018) EGFR-RAD51 fusion variant in lung adenocarcinoma and response to erlotinib: A case report. Lung Cancer [PMID: 29290255]
 9. Zhu, YC et al. (2019) Identification of a Novel Icotinib-Sensitive EGFR-SEPTIN14 Fusion Variant in Lung Adenocarcinoma by Next-Generation Sequencing. J Thorac Oncol [PMID: 31345345]
 10. Xu, H et al. (2020) KIF5B-EGFR Fusion: A Novel EGFR Mutation in Lung Adenocarcinoma. Onco Targets Ther [PMID: 32903808]
 11. Gallant JN et al. (2016) EGFR Kinase Domain Duplication (EGFR-KDD) Is a Novel Oncogenic Driver in Lung Cancer That Is Clinically Responsive to Afatinib. Cancer Discov [PMID: 26286086]
 12. Baik, CS et al. (2016) Durable Response to Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy in a Lung Cancer Patient Harboring Epidermal Growth Factor Receptor Tandem Kinase Domain Duplication. J Thorac Oncol [PMID: 26398831]
 13. Jin, R et al. (2020) Osimertinib confers potent binding affinity to EGFR kinase domain duplication. Int. J. Cancer [PMID: 31393596]
 14. Duan, J et al. (2015) Epidermal growth factor receptor variant III mutation in Chinese patients with squamous cell cancer of the lung. Thorac Cancer [PMID: 26273378]
 15. Kato S et al. (2018) Hyperprogressors after Immunotherapy: Analysis of Genomic Alterations Associated Clin. Cancer Res. [PMID: 28351930]
 16. Freed-Pastor, WA et al. (2012) Mutant p53: one name, many proteins. Genes Dev. [PMID: 22713868]
 17. Molina-Vila MA et al. (2015) Nondisruptive p53 mutations are associated with shorter survival in patients with Clin. Cancer Res. [PMID: 24696321]
 18. Skoulidis F et al. (2016) Co-occurring genomic alterations define major subsets of KRAS-mutant lung Cancer Discov [PMID: 26069186]
 19. Schabath MB et al. (2017) Differential association of STK11 and TP53 with KRAS mutation-associated gene Oncogene [PMID: 26477306]
 20. Dong ZY et al. (2018) Potential Predictive Value of TP53 and KRAS Mutation Status for Response to PD-1 Clin. Cancer Res. [PMID: 28039262]
 21. Biton, J et al. (2019) TP53, STK11, and EGFR Mutations Predict Tumor Immune Profile and the Response to Anti-PD-1 in Lung Adenocarcinoma. Clin. Cancer Res. [PMID: 29764856]
 22. Finn RS et al. (2010) PD 0332991, a selective cyclin D kinase 4/6 inhibitor, preferentially inhibits Breast Cancer Res. [PMID: 19874578]
 23. Gao J et al. (2015) Does CDKN2A loss predict palbociclib benefit? Curr Oncol [PMID: 26715889]
 24. Farago, AF et al. (2018) Clinicopathologic Features of Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring an JCO Precis Oncol [PMID: 30215037]
 25. Drilon, A et al. (2018) Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. N. Engl. J. Med. [PMID: 29466156]
 26. Hong, DS et al. (2020) Larotrectinib in adult patients with solid tumours: a multi-centre, open-label, phase I dose-escalation study. Ann. Oncol. [PMID: 30624546]

-
27. Doebele, RC et al. (2020) Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. Lancet Oncol. [PMID: 31838007]
 28. Chakravarty D et al. (2018) OncoKB: A Precision Oncology Knowledge Base. JCO Precis Oncol [PMID: 28890946]
 29. Li MM et al. (2017) 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 Mol Diagn [PMID: 27993330]
 30. Ng KP et al. (2012) A common BIM deletion polymorphism mediates intrinsic resistance and inferior responses to tyrosine kinase inhibitors in cancer. Nat. Med. [PMID: 22426421]