



UiT Norges arktiske universitet

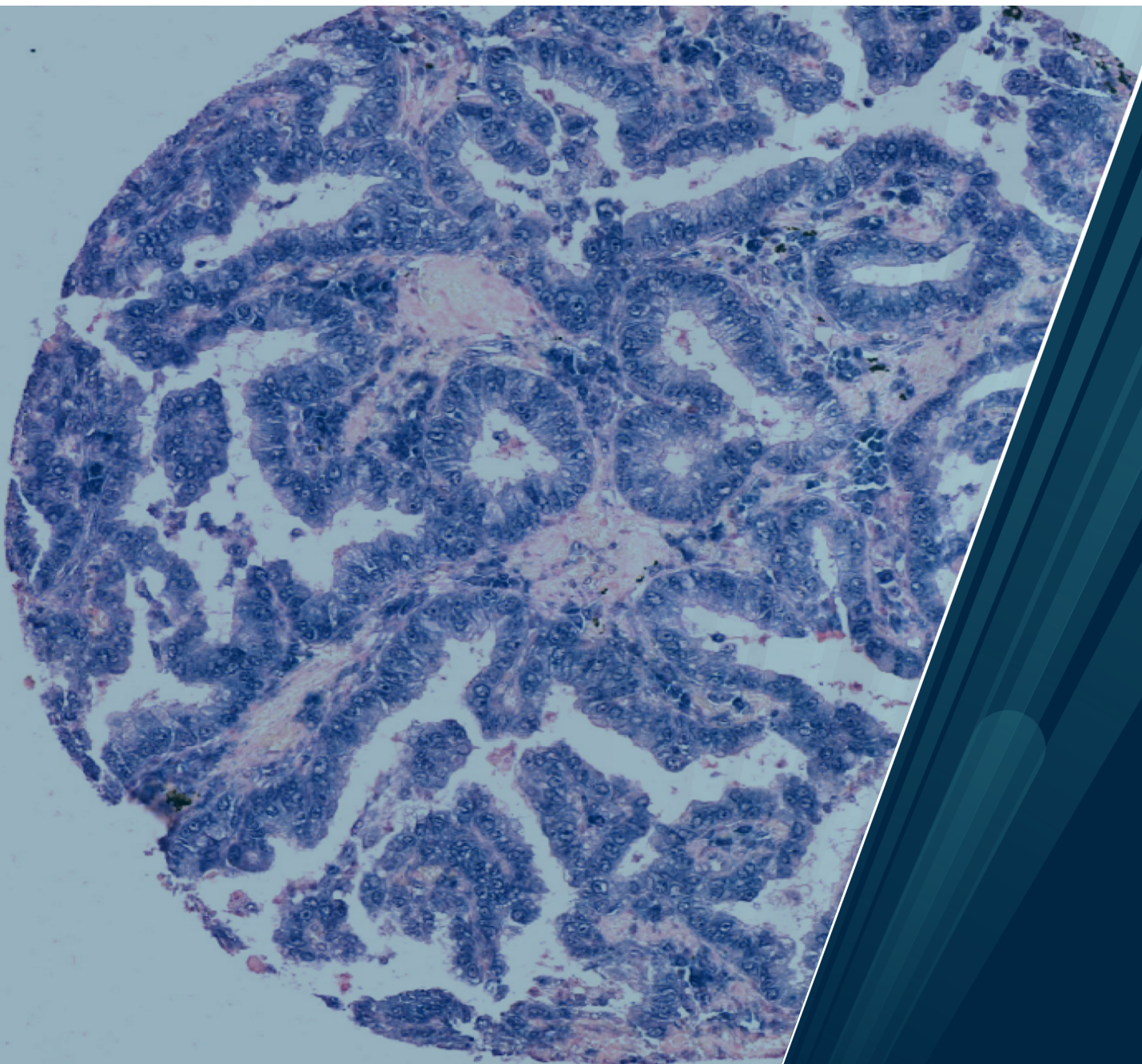
Det helsevitenskapelige fakultet

## **Kartlegging av mutasjoner i ikke-småcellet lungekreft ved UNN Tromsø**

En deskriptiv oversikt over mutasjonsfunn i ikke-småcellet lungekreftsvulster undersøkt ved UNN Tromsø 2017-2020

Dagny Førde

Masteroppgave i medisin, MED-3950, Våren 2022



# Innholdsfortegnelse

1	Lungekreft.....	1
1.1	Epidemiologi.....	1
1.2	Histologi.....	2
1.3	Diagnostikk og stadieinndeling.....	6
1.3.1	Symptombilde.....	6
1.3.2	Diagnostikk.....	8
1.3.2.1	Bildediagnostikk.....	8
1.3.2.2	Vevsdiagnostikk.....	8
1.3.2.3	Molekylærpatologiske undersøkelser.....	9
1.3.2.4	Laboratorietester.....	10
1.3.2.5	Funksjonsstatus.....	11
1.3.2.6	Screening.....	11
1.3.3	Stadieinndeling ved NSCLC.....	12
1.3.3.1	T-status.....	12
1.3.3.2	N-status.....	13
1.3.3.3	M-Status.....	14
1.4	Behandling av lungekreft.....	16
1.4.1	Kurativ behandling.....	16
1.4.2	Behandling av avansert NSCLC.....	17
1.4.2.1	Immunterapi.....	17
1.4.2.2	Målrettet behandling.....	18
1.5	Genetiske endringer og mutasjoner.....	19
1.6	Genetiske endringer i NSCLC.....	21
1.6.1.1	KRAS.....	22
1.6.1.2	NRAS.....	24

1.6.1.3	EGFR .....	24
1.6.1.4	BRAF .....	25
1.6.2	Translokasjoner.....	28
1.6.2.1	ALK .....	28
1.6.2.2	ROS.....	29
1.7	Forskningsproblemstilling .....	30
2	Materiale og metode .....	30
2.1	Pasienter.....	30
2.2	Etiske og personvernmessige hensyn.....	32
2.3	Genetiske analyser .....	32
2.4	Statistikk .....	33
3	Resultater .....	33
3.1	Pasienter.....	33
3.2	Genetiske funn .....	35
3.2.1	Overordnet .....	35
3.2.2	<i>EGFR</i> .....	37
3.2.2.1	Fordeling av mutasjoner .....	37
3.2.3	<i>ALK</i> .....	38
3.2.4	<i>BRAF</i> .....	38
3.2.5	<i>KRAS</i> .....	38
3.2.5.1	Oversikt av type <i>KRAS</i> -mutasjoner .....	39
3.2.5.2	<i>NRAS</i> .....	41
3.3	Kliniske karakteristika og mutasjonsdistribusjon .....	42
3.3.1	Mutasjonsdistribusjon og røyking.....	42
3.3.2	Mutasjonsdistribusjon undersøkt ved kjønn og alder .....	43
3.3.3	Mutasjonsdistribusjon og stadieinndeling.....	43
4	Diskusjon og konklusjon.....	44

4.1.1	Hovedfunn i oppgaven.....	44
4.1.2	Sterke og svake sider .....	44
4.1.3	Fortolkning av resultatene.....	45
4.1.4	Konklusjon og implikasjon.....	46
	Referanseliste.....	47
	Vedlegg.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>

## Tabelliste

Tabell 1: Frekvenstabell for symptomer ved lungekreft (Beckles et.al) (24).....	7
Tabell 2: sensitivitet og spesifisitet for vevsdiagnostiske undersøkelser ved lungekreft (Collins L, G. Et.al) (25).....	9
Tabell 3: ECOG tabell (7).....	11
Tabell 4: T-status ved NSCLC (gjengitt fra iascl.org; 8th edition Lung Cancer TNM Staging) (44).....	13
Tabell 5: N-status ved NSCLC (gjengitt fra iascl.org; 8th edition Lung Cancer TNM Staging) (44) .....	13
Tabell 6: M-status ved NSCLC (gjengitt fra iascl.org; 8th edition Lung Cancer TNM Staging) (44) .....	14
Tabell 7: Stadium basert på T, N, M. (gjengitt fra iascl.org; 8th edition Lung Cancer TNM Staging) (44) .....	15
Tabell 8: Mutasjonsfrekvens (Pikor.L,A et.al) (67).....	22
Tabell 9: Et utvalg KRAS-mutasjoner og deres aminosyreendring.....	23
Tabell 10: Frekvenstabell for inkluderte og ekskluderte pasienter.....	31
Tabell 11: Frekvenstabell for ekskluderte pasienter .....	31
Tabell 12: Genanalyser ved Trusight 15.....	33
Tabell 13: PS-status ved diagnosetidspunkt .....	34
Tabell 14: Oversikt over stadieinndeling .....	35
Tabell 15: Oversikt over hovedklasser for stadieinndeling .....	35
Tabell 16: Oversikt over mutasjoner i pasientkohorten.....	36
Tabell 17: Tabell over type EGFR-mutasjoner.....	38
Tabell 18: KRAS-mutasjonsdistribusjon .....	38



Tabell 19: Undertyper av KRAS-mutasjoner .....	40
Tabell 20: Frekvenstabell for aldersgruppene over og under 65 år .....	43
Tabell 21: Frekvenstabell for klinisk stadium ved lokal sykdom vs fjerne metastaser .....	44

## Figurliste

Figur 1: Histologi ved småcellet lungekreft (Travis, W.D.) .....	3
Figur 2: Histologi ved typer adenokarsinom; a) lepidisk, b) mikropapillært, c) solid (Mairinger, T.) .....	4
Figur 3: Histologi ved plateepitelkarsinom med keratinisering (oncolex) .....	5
Figur 5: Flytskjema for bruk av IHC og molekylære markører (Handlingsprogram Helsedir.) .....	10
Figur 6: Kaplan-meierkurve over totaloverlevelse ved ulike PS (Kawagucki, T. Et.al.) .....	11
Figur 7: Forskjellige typer mutasjoner (Lodish; molecular cell biology 4th.edition).....	20
Figur 8: Illustrasjon av signalveier og frekvens av ulike onkogene mutasjoner (Baik, C.S. et.al) .....	27
Figur 9: Mutasjonsdistribusjon i vår pasientpopulasjon* .....	37
Figur 10: Oversikt over antall EGFR-mutasjoner.....	37
Figur 11: KRAS-mutasjonsdistribusjon.....	39
Figur 12: Fordeling av subtyper ved KRAS-mutasjoner .....	41

## Forord

Denne oppgaven ville ikke vært mulig å gjennomføre uten mye god veiledning fra hovedveileder Sigve Andersen og biveileder Thomas Berg. En stor takk og honnør til Sissel Wahl som har kartlagt mutasjonsdistribusjon og overlevelse nasjonalt, vi er kry over å ha fått bidratt med nordnorske data. I tillegg en stor takk til min firbente venn Milli som ikke gjør annet enn å eksistere; et eksempel til etterfølgelse.

## Sammendrag

I Norge er lungekreft nest hyppigste kreftsykdom for begge kjønn, og kreftformen som tar flest liv. 85% av lungekrefttilfellene er NSCLC. I behandlingen av NSCLC inngår kirurgi, kjemoterapi, stråling, immunterapi og i økende grad bruk av målrettet behandling mot mutasjoner i kreftcellene. I denne oppgaven har vi samlet inn mutasjonsdata i genene *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* og *ALK* fra NSCLC pasienter hos UNN Tromsø fra mars 2017 til juli 2019. Hovedformålet med oppgaven var å kartlegge og beskrive mutasjoner hos NSCLC pasienter, og videre bidra i en nasjonal kartlegging som diskuterer omfanget av pasienter som kan ha nytte av nylig utviklede målrettede behandlinger for spesifikke mutasjoner i *KRAS*-genet. Over halvparten av pasientene hadde mutasjon i et av genene (51%) undersøkt. Kun to pasienter hadde komutasjon. 8.1% av pasientene hadde aktiv mutasjon i *EGFR*, 1% hadde rearrangering i *ALK*-genet og 3.4% med *BRAF*-mutasjon. Hele 37,8% av pasientene hadde *KRAS*-mutasjon, og 1.7% med *NRAS*-mutasjon. Vi fant signifikant forskjell mellom positiv røykeanamnese og *KRAS*-mutasjon ( $p=0.002$ ), og motsatt ved negativ røykeanamnese og *EGFR*-mutasjon ( $p=0.000$ ). 30% av pasientene med *KRAS*-mutasjon hadde subtypen G12C-mutasjon. Denne er av særlig interesse da behandlingsformer for *KRAS* G12C er under utvikling og har vist lovende respons i kliniske studier. Denne oppgaven viser at det finnes et stort pasientgrunnlag i Nord-Norge som kan ha nytte av den nye terapien som utvikles.

# Forkortelser

- ADC: adenocarcinom; adenokarsinom
- ALAT: alanin aminotransferase
- ALK: anaplastisk lymphoma kinase; ALK-tyrosinkinase
- ALL: akutt lymfoblastisk leukemi
- ALP: alkalisk fosfatase
- ATP: adenosin trifosfat, energimolekyl
- BRAF: serine/threonine-protein kinase B-raf
- CEA: carcinoembryonic antigen; carcinogent embryoalt antigen, tumormarkør
- CRP: C-reaktivt protein
- CT: computer tomografi
- cTNM: klinisk TNM-stadium
- EBUS: endobronchial ultrasound; endobronkial ultralydundersøkelse
- ECOG: eastern cooperative oncology group, klassifikasjon for funksjonsvurdering
- EGFR: epidermal growth factor, epidermal vekstfaktor reseptor
- FISH: fluorescens in-situ hybridization, in-situ hybridisering
- GTP: Guanosin trifosfat, energimolekyl
- Hb: hemoglobin
- Hdir: Helsedirektoratet
- HER2: human epidermal growth factor receptor 2; human epidermal vekstfaktorreseptor-2
- HPV: humant papillomavirus
- IHK: immunhistokjemi
- JAK/STAT: signaleringsvei med janus kinase (JAKs) og transkripsjonsproteiner (STATS)
- KML: kronisk myelogen leukemi
- KOLS: kronisk obstruktiv lungesykdom
- KRAS: Kirsten Rat sarcoma
- Lkc: leukocytter
- MAPK-ERK: signaleringsvei med «mitogen activated protein kinase»/«extracellulær signal-regulert kinase
- MR: magnetisk resonansavbildning
- NGS: next generation sequencing; dypsekvensering
- NRAS: Neuroblastoma-Ras
- NSCC-NOS: non-small cell lung cancer not otherwise specified; histologisk subtype ikke sikker definert
- NSCLC: non-small cell lung cancer; ikke-småcellet lungekreft
- PCR: polymerase chain reaction; polymerasekjedereaksjon
- PD-1: programmed death receptor-1
- PD-L1: programmed cell death ligand-1
- PET-CT: PET koblet til CT
- PET: positron emisjons-tomografi
- PI3-AKT: signaleringsvei med nøkkelprotein «phosphoinositide 3-kinase» og «protein kinase B) og AKT
- PS: performance status, funksjonsstatus
- pTNM: patologisk definert TNM-stadium
- RAS: GTP-ase, (rat sarcoma virus)
- ROS1: protonokogen, reseptor tyrosin kinase (c-ros oncogene 1)
- Rtg: røntgen
- rTNM: TNM-klassifisering ved residiv
- SCC: squamous cell carcinoma; plateepitelkarsinom
- SCLC: small cell lung cancer
- SIADH: syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone; syndrom med upassende utskillelse av antidiuretisk hormon

- siRNA: silencing RNA
- TNM: klassifiseringssystem basert på svulst (T), lymfeknute (N) og fjernspredning (M)
- TP53: tumor protein p53
- UICC: The Union for International Cancer control, den internasjonale kreftorganisasjonen
- UNN: universitetssykehuset Nord-Norge
- WHO: world health organization; verdens helseorganisasjon
- Wt: wild type, normalt allel

# 1 Lungekreft

Lungekreft er den ledende årsaken for kreftrelatert morbiditet og sykkelighet i verden, og så mye som en fjerdedel av alle kreftrelaterte dødsfall skyldes lungekreft (1). I tillegg affiserer lungekreft yngre pasienter og er ansvarlig for like mange tapte livsår som colorectal, bryst- og prostatakreft sammenlagt (2). Kreften har lite symptomer i tidligere stadier og oppdages typisk ved avanserte stadier som bidrar til kreftens letalitet (3). Lungekreft omfatter alle kreftformer i lunger og bronkier der majoriteten er bronkial. Man skiller mellom hovedgruppene småcellet lungekreft (SCLC) og ikke-småcellet lungekreft (NSCLC) der sistnevnte representerer omtrent 85% av alle lungekreftpasienter (4). I denne oppgaven vil hovedfokuset ligge på gruppen med NSCLC da det er disse man analyserer mutasjonsstatus for. Overlevelsesraten for NSCLC fortsetter å være lav, spesielt ved metastaser. Det er derfor nødvendig med ytterligere forskning på nye behandlingsmuligheter for å kunne forbedre utfallet for pasienter med NSCLC. Blant nyere behandlingsmuligheter er det nå målrettet behandling med spesifikke målmutasjoner som karakteriserer visse undergrupper av NSCLC (5). Disse vil bli omfattende gjennomgått senere i oppgaven.

## 1.1 Epidemiologi

Lungekreft er på verdensbasis den vanligste kreftformen, og den vanligste kreftrelaterte dødsårsaken med estimerte 1.6 millioner dødsfall årlig (3). I Norge er lungekreft nest hyppigste kreftsykdom for begge kjønn. Lungekreft utgjør ca 10% av alle nye krefttilfeller i Norge, og i 2017 lå insidensen på 3214 nye tilfeller, med totalt 2138 personer som døde samme år. Tidligere har insidensen av lungekreft vært dominert av menn, og på 50-tallet var fordelingen av lungekreft mellom menn og kvinner omtrent 4,3:1. På 2000-tallet lå dette forholdet på 1,7:1, hvor kvinners aldersjusterte insidens fortsetter å øke med omtrent 5% per år, mens den avtar hos menn (6). Likesom de fleste former for kreft øker risikoen for lungekreft med alderen, og opptrer sjeldent før fylte 50 år. For kvinner i Norge var 18% av alle nydiagnostiserte i 2007 over 80 år, og for menn var 19% over 80 år samme år (6). Lungekreft er kreftformen som tar flest liv i Norge (7), og femårs-overlevelse har ligget på rundt 10% de siste førti årene (8), men har økt i senere år (9). Overlevelse for menn har vært lavere enn kvinner i hele tidsperioden (8).

Den største risikofaktoren for lungekreft er røyking og tilskrives opp til 80% av lungekrefttilfeller i USA (5), hvor i Norden regner en med at røyking forklarer 80-90% av

tilfellene (6). Likevel er det kun omtrent 15% av røykere ender opp med å utvikle lungekreft som henter om en viss genetisk disposisjon (3, 10). Røyking tilskrives alle typer lungekreft men er sterkest assosiert med de histologiske undergruppene SCLC og plateepitelkarsinom (SCC). Undergruppen adenokarsinom (ADC) er derimot den vanligste typen lungekreft blant ikke-røykere (11).

Andre risikofaktorer for lungekreft er radoneksposisjon, stråling, asbestose, luftforurensning, tungmetaller og industrielle karsinogener (7). En studie utført av kreftregisteret viste at omtrent 20% av alle lungekrefttilfellene i Norge kan tilskrives yrkesmessig eksposisjon selv etter korrigering for røykevaner (12).

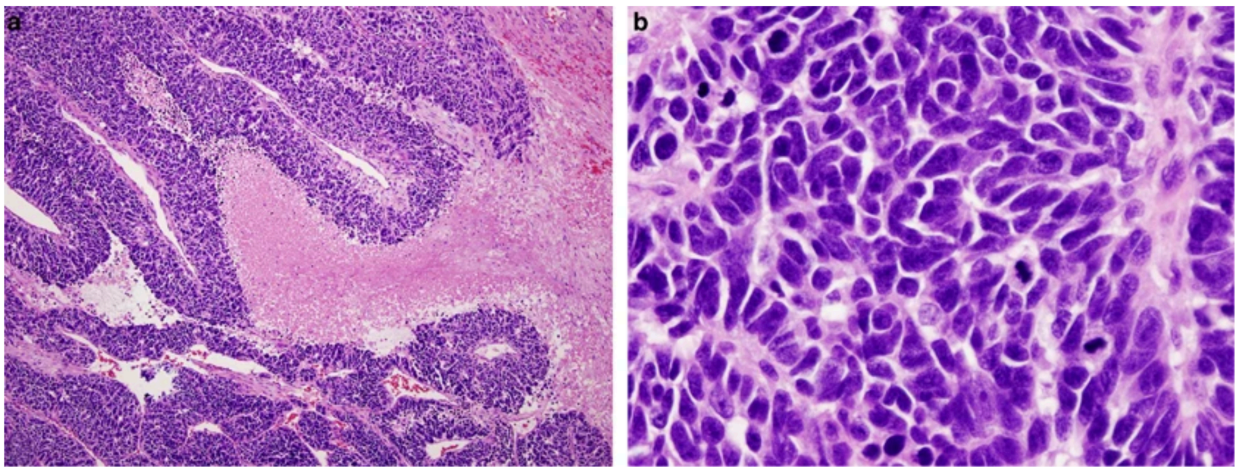
I Norge er tallene for stadiefordeling på diagnosetidspunkt oppgitt som «lokalisert», «regional» eller «metastatisk», med en viss usikkerhet og med relativt store forskjeller i stadiefordelingen blant de ulike histologiske subtypene. Oppdagelsen av lungekreft ved lokalisert stadium har endret seg siden midten av 90-tallet fra rundt 30% ned til 15% etter år 2000, og andelen pasienter med spredning på diagnosetidspunkt er 30-40% som også synes å ha en viss nedgang siden tusenårskiftet. I tillegg har 30% av opererte pasienter fått oppdaget lungekreft tilfeldig (7). De beskrevne endringer over tid er hovedsakelig en konsekvens av forbedret diagnostikk.

## **1.2 Histologi**

Lungekreft deles inn i SCLC og NSCLC. Denne inndelingen er i utgangspunktet basert på størrelsen og morfologien på tumorcellene. I Norge utgjorde SCLC omtrent 20% av alle lungekrefttilfeller i 2016 (7). SCLC er av nevroendokrint opphav og har karakteristiske små tumorceller med fint kromatin uten fremtredende nukleus og lite cytoplasma (13). SCLC er klinisk svært aggressiv med hyppig celledeling der opp til 60-65% av pasienter har metastatisk sykdom på diagnosetidspunktet (14). I figur 1 kan man se eksempel på histologisnitt med SCLC. Svulsten består av drag av maligne celler med omfattende nekrose.



Tumorcellene er små med lite cytoplasma, fint granulært kjernechromatin (hyperkromate), hyppige mitoser med beskjedne eller totalt fraværende nukleoler (15).

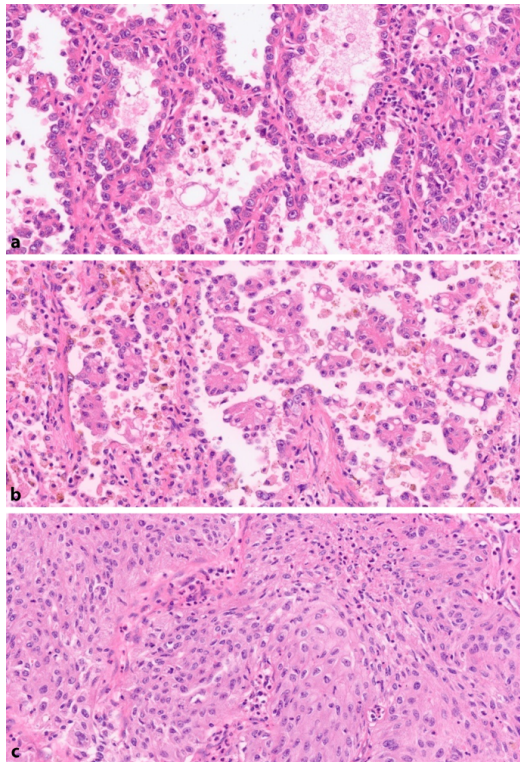


Figur 1: Histologi ved småcellet lungekreft (Travis, W.D.)

NSCLC er et paraplybegrep som befatter en utseendemessig svært heterogen gruppe av lungekreft og deles videre inn i flere histologiske undergrupper. De vanligste undergruppene er plateepitelkarsinom (SCC), storcellekarsinom og adenokarsinom (ADC), der ADC er hyppigst (16). Tidligere dominerte subtypen SCC blant pasienter med lungekreft. Både i Norge og andre vestlige land har dette endret seg til å være ADC og er nå den vanligste subtypen hos begge kjønn med omtrent halvparten av lungekrefttilfeller i 2016. ADC utvikles oftest perifert i lungene (7).

Det finnes mangfoldige undergrupper ADC og i WHO sin klassifisering fra 2015 skiller det mellom 21 forskjellige typer ADC ved inkludering av immunhistokjemiske og molekylærpatologiske subtyper (17). ADC utgår fra bronkiale kjertler og produserer (ofte) mucus (18). I tillegg dannes ulike vekstmønstre hvor det er fem hovedtyper invasive mønstre en skiller mellom; lepidisk, acinært, papillært, mikropapillært og solid (19). De ulike vekstmønstre kan dominere hver for seg eller være spredt innenfor samme tumor (13).

Lepidisk vekstmønster er et vanlig vekstmønster og består av proliferasjon av type II pneumocytter og Clara-celler langs alveoleveggene, hvor den alveolære arkitekturen kan gjenfinnes. Acinært vekstmønster består av kjerteldannelse hvis morfologi er runde/ovale maligne kjertler som invaderer en fibrøs stroma der alveolær arkitektur er tapt. Papillært ADC består av maligne kuboidale/sylinderformede kjertelceller som vokser på overflaten av fibrovaskulære kjerner. Mikropapillært ADC vokser i små papillære klynger uten fibrovaskulære kjerner og uten tilhørighet til alveolære vegger. Cellene er ofte små og

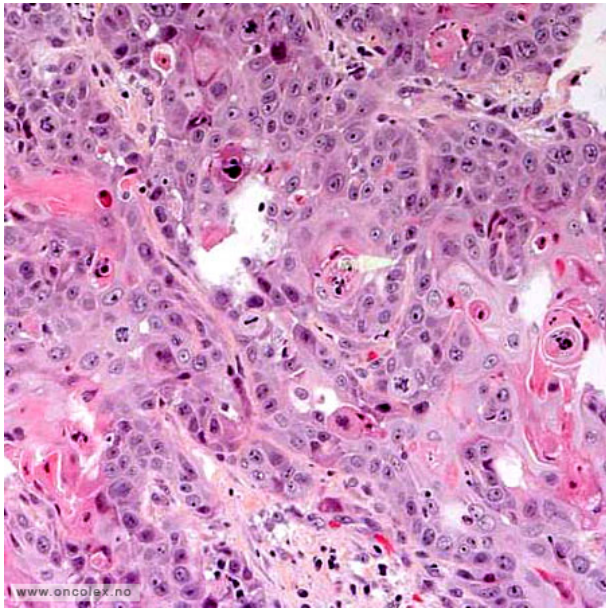


Figur 2: Histologi ved typer adenokarsinom; a) lepidisk, b) mikropapillært, c) solid (Mairinger, T.)

kuboidale. Solid vekstmønster opptrer som drag av tumorceller med tydelig cytoplasma og inneholder mucin. Hverken acinært, papillært eller lepidisk vekstmønster gjenfinnes ved solidvekstmønster (20). I figur 2 finnes eksempler på lepidisk, mikropapillært og solid vekstmønster.

Vekstmønstrene har ulike prognoser hvor de mest differensierte (lepidisk) og moderat differensierte (acinært og papillært) har bedre prognose enn tumorene som er lite differensierte (mikropapillært og solid) (21, 22). Det er derfor et poeng ved å undersøke for det dominerende vekstmønsteret innenfor tumoren på diagnosetidspunktet. Tall fra 2012 oppgir at acinært vekstmønster diagnostiseres hyppigst, fulgt av solid vekstmønster fra noen kilder og papillært fra andre (19).

SCC er den nest største undergruppen og utgjør ca. 25% av NSCLC. SCC vokser oftest sentralt i relasjon til store bronkiegrener (7). De maligne cellene utvikles fra forstadier i det respiratoriske epitelet, via plateepitelmetaplasi, dysplasi i metaplastisk plateepitel og karsinom in situ. SCC deles også inn i undergrupper og siden 2015 har disse vært delt inn i keratiniserende, ikke-keratiniserende og basaloide, I motsetning til ADC har subtypeene ingen prognostisk verdi (17). SCC kjennetegnes som maligne epiteliale celler med keratinisering



og/eller «intracellulær bridging» i et solid vekstmønster (13). Tumorcellene har vanligvis hyperkromate kjerner og moderat med cytoplasma. Keratiniseringen kan sees som individuelle perler eller større områder av keratiniserende tumorceller (23). I figur 3 ses eksempel på keratiniserende SCC med keratinperler og i bilde b) intracellulær bridging. Flere mer sjeldne histopatologiske undergrupper finnes også. Disse krever kirurgisk resektat for å stilles.

Figur 3: Histologi ved plateepitelkarsinom med keratinisering (Oncolex)

Hvis histopatologisk morfologi og immunhistokjemi har trekk fra både SCC og ADC stilles diagnosen adenokvæmøst karsinom (ASC). Diagnosen storcellekarsinom er en eksklusjonsdiagnose hvor tumorcellene er store og det ikke finnes tydelig SCC, ADC eller nevroendokrin morfologi, eller IHC-farging som tyder på at det er en av disse tre (17). Sarkomatoid karsinom er svulster med epiteliale og sarkomliknende celler. Disse likner varianter av høygradig malignt sarkom. I tillegg finnes gruppen NSCC-NOS (ikke-småcellet karsinom – ikke nærmere klassifiserbart) hvor det morfologisk og immunhistokjemisk ikke finnes hverken ADC, SCC, SCLC eller nevroendokrin differensiering (7).

## 1.3 Diagnostikk og stadieinndeling

### 1.3.1 Symptombilde

Diagnostikk ved lungekreft er vanskelig tidlig i sykdomsforløpet. Dette skyldes få og uspesifikke symptomer der sykdomsbilde kan ligne på andre lungesykdommer, som f.eks kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS). Lungene er et relativt stunt organ, og ingen symptomer er patognomoniske for lungekreft. Grunnet luft og lite tetthet i lungen med spredt somatosensorisk innervasjon tillates tumores å vokse seg store i volum før symptomer og andre funn manifisterer seg. Initialt symptombilde ved diagnosetidspunkt varierer enormt, og i tabell 1 ligger en oversikt over variasjonsbredden på symptomer demonstrert av Beckles. Et.al. (24). Ifølge handlingsprogrammet til Hdir bør lungekreft mistenkes og utredes om ett eller flere av følgende punkter er tilstede; 1) patologisk bildefunn, 2) symptomer i lunge/luftveier forårsaket av tumors lokalisasjon, 3) symptomer fra metastaser torakalt eller ekstratorakalt og 4) paraneoplastiske fenomener. I tillegg vil positiv røykeanamnese og alder over 40 øke risiko og styrke mistanken (7).

Symptomer forårsaket av primærtumor omfatter hoste, smerter eller ubehag i brystet, dyspné og hemoptyse (25). Hos omtrent halvparten av pasienter med lungekreft vil nyoppstått hoste være tilstede og vekke mistanke om malignitet særlig hos røykere og tidligere-røykere (3). Dyspne oppstår i opptil 60% av pasientene enten direkte via malignitet i luftveiene eller indirekte ved parenchymal eller pleural påvirkning (3, 25). Hemoptyse er et relativt vanlig symptom og opptrer hos omtrent en fjerdedel men opptrer sjeldent massivt (3). Symptombilde Horners syndrom kan også vekke mistanke på lungekreft, og skyldes skade/kompresjon på den sympatiske grensestrengen i plexus brachialis som påvirker de sympatiske nervefibrene i øyet og fører til miose, ptose og anhidrose (24). Dette skyldes typisk Pancoastsvulster (superior pulmonary sulcus tumor) som ligger i lungens apex (25, 26).

Symptomer fra metastaser intrathorakalt innebærer enten direkte ekstensjon av primærtumor eller lymfatisk spredning, og opptil 40% av pasienter presenterer med symptomer fra intrathorakale metastaser (25). Symptomene innbefatter blant annet vena cava superior syndrom, dysfagi og smerter i skulder og/eller armer grunnet påvirkning av lokale strukturer (3). Superior vena cava syndrom skyldes obstruksjon/avklemming av superior vena cava som hindrer venøs tilbakeflow til høyre atrium og fører til venøs stuvning. Dette presenteres typisk med dyspne, ødem i overekstremitet og ansikt såvel som dilaterte vener i thorax, skulder og armer (27). Heshet grunnet press på nervus recurrens oppstår hos 2-18% av pasienter og er



vanligere blant venstresidige tumores på grunn av arkitekturen nerven har rundt arcus aorta (24).

Nesten en tredjedel av pasienter presenterer med symptomer og tegn på ekstrathorakal vekst (24). Ekstrathorakale manifestasjoner oppstår der metastaser fra lungekreft oppstår hyppig; skjelett, binyrer, lever, lymfeknuter og ryggmarg. Ekstrathorakale metastaser vil typisk kunne presenteres som ikke-spesifikke generelle symptomer på malignitet slik som fatigue, vekttap, nattesvette og anorexi (25). Beinmetastaser kan oppstå omtrent hvor som helst, men opptrer hyppigst langs det axiale skjelettet og lange rørknokler. Beinmetastaser er typisk smertefulle, men presenteres også ved frakturer eller forhøyet alkalisk fosfatase (ALP) (24). 10% av pasienter opptrer med hjernemetastaser som kan føre til symptomer som kvalme, hodepine, kramper, forvirring eller personlighetsforstyrrelser (28), men de kan også være asymptomatiske avhengig av størrelse og lokalisasjon (3).

Tabell 1: Frekvenstabell for symptomer ved lungekreft (Beckles et.al) (24)

Symptomer	Frekvensbredde %
Hoste	8-75
Vekttap	0-68%
Dyspné	3-60%
Brystsmerter	20-49%
Hemoptyse	6-35%
Beinsmerte	6-25%
Clubbing	0-20%
Feber	0-20%
Superior vena cava syndrom	0-4%
Dysfagi	0-2%

Paraneoplastiske symptomer defineres som symptomer på malignitet som ikke kan forklares av hverken den fysiske plasseringen eller størrelsen på primærtumor eller metastaser.

Paraneoplastiske symptomer er vanligst assosiert med lungekreft, og er rapportert i omtrent 10% av tilfellene (29). Fenomenene kan oppstå i omtrent alle organsystem men symptomer knyttet til det endokrine system er de vanligste. Hyppigst er hyperkalsemi, SIADH og

ektopisk Cushings syndrom. Fra andre organsystem finner en neoplastiske fenomener som clubbing, hyperkoagulopati, glomerulære sykdommer, rheumatologiske syndromer og nevrologiske symptomer som Lambert-Eaton syndrom, limbisk encefalitt og perifer nevropati. De ulike paraneoplastiske presentasjonene varierer ved SCLC og NSCLC og de ulike histologiske subtypene knyttet til dem. I tillegg øker presentasjonen av paraneoplastiske fenomener ved hvor avansert kreften har rukket å bli (30).

### **1.3.2 Diagnostikk**

Det er flere ulike verktøy for å komme frem til endelig diagnose ved lungekreft. Ifølge handlingsprogrammet til Hdir skal utredningen av lungekreft finne ut hvorvidt pasienten har lungekreft, videre stille histopatologisk og molekylærpatologisk diagnose, avgjøre TNM-klassifisering og vurdere behandlingsbegrensende komorbiditet. Tidlig i utredningen er anamnesen viktig for å få frem yrkesanamnese og hvorvidt yrkesrelatert kreftsykdom kan mistenkes, i tillegg til detaljert røykeanamnese hvor antall pakkeår (antall år røkt tobakkspakker med 20 sigaretter) etableres. Den kliniske undersøkelsen kan avdekke lymfadenopati og eventuelle metastaser i hud og skjelett (7).

#### **1.3.2.1 Bildediagnostikk**

Flere ulike bildediagnostiske verktøy er sentrale i utredningen av lungekreft. Røntgen thorax er ofte primærundersøkelse (eller tilfeldig tatt) og kan gi mistanke om malignitet. Røntgen har dog både lav sensitivitet og spesifisitet ved lungekreft (7), og ved kjent eller mistanke om lungekreft skal CT av thorax og øvre abdomen med kontrast tas (7, 31). CT thorax skal gjennomføres før andre undersøkelser for cytologisk eller histologisk diagnostikk. Ved kurativ intensjon skal PET-CT tas så tidlig som mulig i forløpet for å utelukke metastaser. MR thorax kan være aktuelt ved Pancoast tumor, og MR-thorax/columna/bekken tas ved mistanke om affeksjon i disse strukturer. I avanserte stadier, slik som III og IV og ved suspekke CNS-symptomer, skal MR caput vurderes (7).

#### **1.3.2.2 Vevsdiagnostikk**

Vevsdiagnostiske undersøkelser er fundamentale i utredningen for å kunne avgjøre behandlingsvalg og danner grunnlaget for individuell behandling. Materiale fra biopsi og/eller cytologi og/eller kirurgisk resektat brukes for å klassifisere tumor histopatologisk. De ulike vevsdiagnostiske undersøkelsene avhenger av tumors lokalisasjon og hvilke metoder som gir høy sannsynlighet for representativt materiale. All nødvendig bildediagnostikk skal utføres før invasive tester. Rekkefølgen for biopsi skal vurderes etter mest avgjørende lesjon, som vil



si rekkefølgen M (metastase) -> N (lymfeknute) -> T (primærtumor). Ved diagnostikk av primærtumor som er endoskopisk tilgjengelig, det vil si primært sentrale tumores brukes bronkoskopi med bronkial eller transbronkial biopsi (EBUS). Ved perifer lungetumor egner CT eller ultralydveiledet transthorakal biopsi seg best. Sputumcytologi har lav sensitivitet ved perifere lungetumores, men ved lokalisasjon sentralt i bronkialtreet øker sensitiviteten. Metoden anbefales ikke rutinemessig, men hvis pasient med sentral tumor ikke ønsker eller ikke kan gjennomføre bronkoskopi kan metoden være aktuell (7). I tabell 2 presenteres en oversikt over sensitivitet og spesifisitet for ulike vevsdiagnostiske undersøkelser (25).

Tabell 2: sensitivitet og spesifisitet for vevsdiagnostiske undersøkelser ved lungekreft (Collins L, G. Et.al) (25)

Vevsdiagnostisk undersøkelse	Sensitivitet %	Spesifisitet %
<b>Sputumcytologi</b>	Sentrale tumores: 71% Perifere tumores: <50%	99%
<b>Thoracentese (pleuravæskeanalyse)</b>	80%	>90%
<b>Fleksibel bronkoskopi med eller uten transbronkial nålbiopsi</b>	Sentrale tumores: 88% Perifere tumores: 60-70%	90%
<b>Transthorakal nålbiopsi</b>	Perifere tumores: 90%	97%

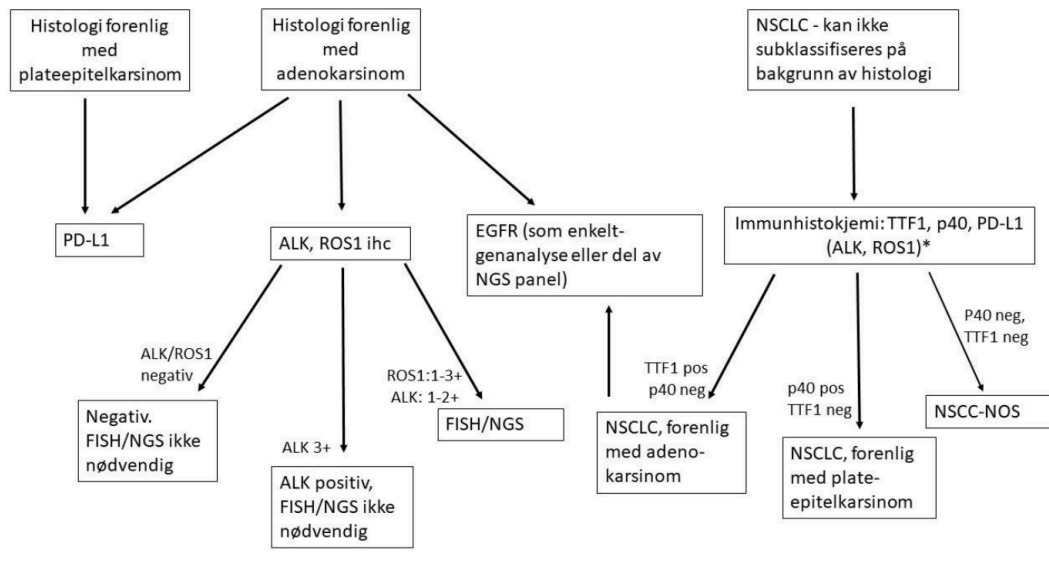
### 1.3.2.3 Molekylærpatologiske undersøkelser

Molekylærpatologiske undersøkelser er viktige i utredningen for NSCLC grunnet muligheten til å bruke målrettet behandling mot eventuelle aktive genetiske forandringer. På grunn av den dårlige prognosen vil bruk av målrettet behandling, der det er mulig, signifikant øke overlevelse og livskvalitet (32). Det er anbefalt at man undersøker *ALK*, *EGFR*, *ROS1* og *BRAF* i alle pasienter med avansert NSCLC. Ved tilgang til NGS kan ytterligere diagnostikk av *ERBB2*, *MET*, *KRAS* og *RET* også inkluderes (32). Ulike metoder anvendes ved analyser av de nevnte molekylærpatologiske markører, og er begrenset til adekvat og tilstrekkelig mengde vevsprøve. De vanligste metodene for å undersøke rearrangering i *ALK*-genet er ved bruk av FISH og IHC. Noen pasienter som er *ALK*-positive ved IHC, er negative ved FISH og derfor bør *ALK*-rearrangering bekreftes ved bruk FISH (33). Testing av *ROS1* og *cMET* kan gjøres parallelt med *ALK* ved immunhistokjemi (34). Mutasjon i *EGFR* kan analyseres ved hjelp av direkte sekvensering, real-time PCR og immunhistokjemi, hvor de ulike

metodene har egne styrker og svakheter knyttet til dem (35, 36). NGS-teknologi tillater sekvensering av hele genomet samtidig, og er blitt den foretrukne metoden for undersøkelse brorparten av mutasjoner ved NSCLC (7). Utdypende detaljer vedrørende metodikk og NGS-undersøkelse gjennomført i Tromsø gjennomgås senere under materiale og metode.

I alle NSCLC-tilfeller skal man rutinemessig undersøke PD-L1 uttrykk immunhistokjemisk. Andelen neoplastiske celler med positivt PD-L1 uttrykk skal minimum inndeles i: <1%, 1-49%, 50-74% og 75-100% (7). Verdien benyttes videre til å avgjøre om pasienten har nytte av immunterapeutisk behandling (37).

Handlingsprogrammet til Hdir fastslår at den molekylærpatologiske svarrapporten skal det inneholde morfologisk diagnose, andel (%) neoplastiske celler i området benyttet for molekylærpatologisk undersøkelse, hvilke(n) molekylærpatologiske metode/kit/plattform og hvilke genområder som er undersøkt. Figur 4 illustrerer handlingsgang ved hjelp av et flytskjema for bruk av IHK og molekylære markører ved NSCLC (7).



Figur 4: Flytskjema for bruk av IHK og molekylære markører (7)

### 1.3.2.4 Laborrietester

Det anbefales at man ved utredning av lungekreft tar laborietester som hjelp til å vurdere om det foreligger metastaserende sykdom og/eller paraneoplastiske syndromer. Orienterende blodprøver som Hb, lkc, trombocytter, CRP, elektrolytter, kalsium, ALP, albumin, ALAT,

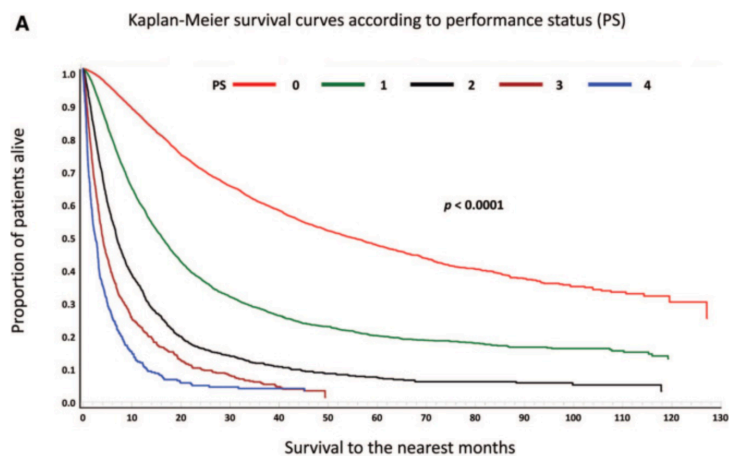
total bilirubin og kreatinin skal inngå i utredningen av lungekreft. Tumormarkører slik som CEA er tumorassosierte, men ikke tumorspesifikke. Tumormarkører har lav sensitivitet og skiller dårlig mellom histologiske undergrupper og anbefales ikke brukt i primær utredning av lungekreft, men kan spille en senere rolle i monitorering av behandlingsrespons (7, 38).

### 1.3.2.5 Funksjonsstatus

Den siste vurderingen i utredningen av pasienten er funksjonsnivå. Det er helt sentralt å diskutere hvorvidt pasientens funksjonsnivå og lungestatus tillater de ulike behandlingsoalternativene ved diagnosetidspunktet. Standardiserte klassifikasjonssystem som WHO's Performance Status (PS) og ECOG-klassifikasjonen er mye brukt, og inndelingene er relativt like (7). PS er en uavhengig prognostisk prediktor for totaloverlevelse ved NSCLC, illustrert ved Kaplan-Meierplottet i figur 5 som viser konsekvensene høy tallverdi i PS har å si for overlevelse ved NSCLC (39).

GRAD	ECOG
0	I stand til å utføre enhver normal aktivitet uten begrensning
1	Ikke i stand til fysisk krevende aktivitet, men oppegående og i stand til å utføre lett arbeid
2	Oppegående og i stand til all egenpleie, men ikke i stand til noe arbeid; oppe og i bevegelse mer enn 50% av våken tid
3	Bare i stand til begrenset egenpleie; bundet til seng eller stol mer enn 50% av våken tid
4	Helt hjelpetrengende; klarer ikke noen egenpleie; helt bundet til seng eller stol
5	Død

Tabell 3: ECOG tabell (7)



Figur 5: Kaplan-meierkurve over totaloverlevelse ved ulike PS (Kawagucki, T. Et.al.) (39)

### 1.3.2.6 Screening

Screening ved lungekreft gjennomføres ikke i Norge og er sjeldent på verdensbasis. Tidligere har det blitt gjort omfattende undersøkelser hvorvidt ikke-invasive metoder kan brukes som screening for lungekreft. Undersøkelse av sputum eller røntgen thorax viste liten evidens for at et screeningsprogram er å anbefale (40). I 2011 viste en undersøkelse ved bruk av lavdose spiral CT (Low Dose Computed Tomography, LDCT) som screeningsmetode hos risikogrupper lovende resultater for å redusere mortaliteten ved lungekreft. Dette ble vist ved en nedgang i mortalitet med 6.7% sammenlignet med bruk av røntgen (41). Dette ble så bekreftet nylig (februar 2020) i NELSON-studien som igjen viste nedgang i mortalitet i

screening-gruppen (42). Kjente problemstillinger og utfordringer lik som ved alle typer screening oppstår også her; falske positive funn, funn av ikke-behandlingstrengende benigne eller små noduli, unødvendig strålingseksponering, økt behov for radiologer og deres kompetanse i tillegg til økonomiske prioriteringer (3). Balansen mellom nytte og skade er utfordrende ved alle typer screeningprogram, men på bakgrunn av NELSON-studien anbefaler nå både Norsk forening for thoraxradiologi og Norsk lungekreftgruppe igangsetting av implementeringsstudier for screeningsprogram i Norge (7).

### **1.3.3 Stadieinndeling ved NSCLC**

TNM-klassifisering er et vesentlig verktøy for å beskrive utbredelsen av kreftsykdommen ved diagnosetidspunkt. TNM-klassifiseringen fastslås av UICC, og i 2018 ble den 8. reviderte utgaven av TNM-klassifikasjon for NSCLC anvendt. TNM-klassifisering kan gjøres bildediagnostisk, helst ved CT (7), hvor det kliniske stadium angis. Klinisk TNM-stadium anføres med prefiks: cTNM. Patologisk TNM: pTNM, som gir mer presis informasjon om tumorstørrelse og spredning, men krever kirurgisk resektat og er dermed ofte utelukket ved avanserte stadier. I tillegg benyttes rTNM ved residiv (43). De ulike verdiene i TNM brukes for å bestemme et overordnet stadium som benyttes i valg av behandling. Ved tvil om TNM eller stadieinndeling så skal laveste stadium velges (7). I tabell 7 ligger en oversikt over stadium definert ved TNM (44).

#### **1.3.3.1 T-status**

T-status angir størrelse og utbredelse av primærtumor. T-Stadiene går fra T1 til T4 som angir økende størrelse og/eller invasjon av nærliggende, mediastinale eller perifere strukturer. Grovt beskrevet foreligger T1 tumor ved størrelse  $\leq 3$  cm, og T4  $> 7$  cm eller ved direkte invasjon av ulike omliggende strukturer (45). Det finnes også T-betegnelser der størrelsen ikke er enkelt lar seg evaluere. Tx betyr at størrelsen ikke kan vurderes, T0 betyr at primærsvulst ikke foreligger og Tis betyr at tumor er carcinom in situ. Sistnevnte krever histologisk undersøkelse og inkluderes derfor kun i pTNM (7, 46).

Tabell 4: T-status ved NSCLC (gjengitt fra iascl.org; 8th edition Lung Cancer TNM Staging) (44)

T – status	
<b>T0</b>	Ingen primærtumor
	Tis Carcinoma in situ (ADC eller SCC)
<b>T1</b>	Tumor ≤ 3 cm
	T1a Overfladisk tumor i sentrale luftveier eller tumor <1 cm
	T1b Tumor >1 men ≤ 2 cm
	T1c Tumor >2 men ≤ 3 cm
<b>T2</b>	Tumor >3 cm men ≤ 5cm eller tumor med følgende egenskaper: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Involverer hovedbronkus uavhengig av distanse til carina, men uten å invadere carina</li> <li>- Invaderer viscerale pleura</li> <li>- Assosiert med atelektase eller obstruktiv pneumonitt utvidet til hilusregion</li> </ul>
	T2a Tumor >3cm men ≤4 cm
	T2b Tumor >4 cm men ≤5 cm
	<b>T3</b>
<b>T4</b>	Tumor >7 cm eller
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tumor invaderer mediastinum, diafragma, hjerte, store blodkar, n.recurrens, carina, trachea, øsofagus, vertebrae eller</li> <li>- Tumor nodul(i) i ipsilateral lobulus</li> </ul>

### 1.3.3.2 N-status

N-status markerer tilstedeværelse av spredning i regionale lymfeknuter (43). Prinsippet for N-status er den samme for T-status men med vesentlige ulikheter. Nx forteller at regionale lymfeknuter ikke kan vurderes og N0 betyr at det ikke foreligger lymfeknutespredning. Videre vil N-status ha økende verdi avhengig av hvor lymfeknutemetastasen er funnet og antall lymfeknuter med påvist metastase (45). Ved kirurgisk reseksjon anbefales det at minst seks lymfeknuter fjernes for undersøkelse, slik at man får representative knuter fra de relevante nærliggende lymfeknutestasjoner (45).

Tabell 5: N-status ved NSCLC (gjengitt fra iascl.org; 8th edition Lung Cancer TNM Staging) (44)

N-stadium	
<b>N0</b>	Ingen lymfeknutemetastase foreligger
<b>N1</b>	Metastase i ipsilaterale peribronkiale eller hilære lymfeknuter
<b>N2</b>	Metastase i ipsilateral mediastinal/subcarinale lymfeknuter
<b>N3</b>	Metastase i kontralateral mediastinal/hilær, eller supraclaviculære lymfeknuter

### 1.3.3.3 M-Status

M-status forteller om det eksisterer fjernmetastaser. Dette inkluderer spredning til lymfeknuter som ligger utenfor regionalt dreneringsområde (43). Ved funn av fjernmetastaser vil pasienten automatisk få avansert stadium, uavhengig av størrelse på primærtumor og lymfeknutespredning (45). Mx brukes der fjernmetastaser ikke kan bedømmes, M0 der fjernmetastaser ikke er konstatert og M1 der fjernmetastaser er påvist (43). M1a omfatter spredning til kontralateral lobus, eller ved pleural eller perikardiell spredning. Ved forekomst av ekstrathorakale fjernmetastaser vil stadium M1b foreligge ved én ekstrathorakal spredning i ett enkelt organ, og stadium M1c bestemmes ved multiple ekstrathorakale metastaser i ett eller flere organer (45).

Tabell 6: M-status ved NSCLC (gjengitt fra [iasclc.org](http://iasclc.org); 8th edition Lung Cancer TNM Staging) (44)

M –	
<b>M0</b>	Ingen fjernmetastase foreligger
<b>M1</b>	Fjernmetastase foreligger
M1a	Fjernspredning til lungene på kontralateral side av primærtumor; pleurale eller perikardielle noduli eller malign pleural eller perikardiell effusjon
M1b	En enkel ekstrathorakal metastase i ett enkelt organ
M1c	Multiple ekstrathorakale metastaser i en eller flere organer



Tabell 7: Stadium basert på T, N, M. (gjengitt fra iasclc.org; 8th edition Lung Cancer TNM Staging) (44)

Stadium	T	N	M
<b>Okkult carcinom</b>	Tx	N0	M0
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>IA1</b>	T1a	N0	M0
<b>IA2</b>	T1b	N0	M0
<b>IA3</b>	T1c	N0	M0
<b>IB</b>	T2a	N0	M0
<b>IIA</b>	T2b	N0	M0
<b>IIB</b>	T1a	N1	M0
	T1b	N1	M0
	T1c	N1	M0
	T2a	N1	M0
	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>IIIA</b>	T1a	N2	M0
	T1b	N2	M0
	T1c	N2	M0
	T2a	N2	M0
	T2b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
<b>IIIB</b>	T1a	N3	M0
	T1b	N3	M0
	T1c	N3	M0
	T2a	N3	M0
	T2b	N3	M0
	T3	N2	M0
	T4	N2	M0
<b>IIIC</b>	T3	N3	M0
	T4	N3	M0
<b>IVA</b>	-	-	M1a
	-	-	M1b
<b>IVB</b>	-	-	M1c

## 1.4 Behandling av lungekreft

Behandling av lungekreft avgjøres basert på stadium, histologisk vevstype, molekulære markører og pasientens funksjonsstatus og/ eller annen komorbiditet. Røykeslutt bør være en del av behandlingen ved alle former og stadier for lungekreft, både fordi det kan forbedre behandlingens utfall og pasientens funksjonsstatus (47), i tillegg kan røyking interagere med systemisk behandling (48), f.eks demonstrert ved erlotinib der røyking reduserer medikamentets biotilgjengelighet (49). I denne oppgaven vil behandling av NSCLC kun være av interesse, og behandling relatert til SCLC vil ikke gjennomgås.

### 1.4.1 Kurativ behandling

Pasienter som vurderes for kurativ behandling skal vurderes i et tverrfaglig møte hvor lungelege, onkolog, radiolog, nukleærmedisiner, patolog og thoraxkirurg er tilstede (7). Både kirurgi og stråleterapi er alternativer for kurativ behandling i stadium I-III. Kirurgi er foretrukket kurativ behandling i tidlige stadier (50). Hos pasienter som ikke ønsker eller er inoperable vil stråleterapi være et alternativ (7, 51). Kjemoterapi i monoterapi er ikke alene kurativt men kan sammen med kirurgi og/eller strålebehandling øke muligheten for overlevelse (52, 53).

Ved stadium I er kirurgisk behandling i monoterapi anbefalt, og ved stadium II anbefales kombinert kirurgi med adjuvant kjemoterapi hos pasienter under 70. Ved både stadium I og II vil stråleterapi være et alternativ for pasienter som av annen grunn er inoperabel, der stadium II suppleres med kjemoterapi (7, 54).

Ved stadium III sykdom møter man andre problemstillinger grunnet en mer heterogen gruppe pasienter, knyttet til forskjellig T- og N-stadium, der best tilpasset behandling vil vurderes ut ifra dette. Her vil også ECOG-status, lungefunksjon og andre prognostiske faktorer bestemme om kurativ behandling er indisert (7). Ved stadium IIIA sykdom er det hovedsakelig tre behandlingsalternativ; 1) konkomitant kjemoterapi (under strålebehandling), 2) sekvensiell kjemoradioterapi og 3) kirurgi hos utvalgte pasienter og da gjerne i kombinasjon med annen onkologisk behandling (54). Ved stadium IIIB vil kirurgi ikke lenger være aktuelt men kan tilbys kurativ behandling i form av sekvensiell kjemoradioterapi, eller konkomitant kjemoradioterapi der sistnevnte anbefales på bakgrunn av sterkest dokumentasjon (7).

## 1.4.2 Behandling av avansert NSCLC

Til tross for at antall pasienter med NSCLC som får kurativt behandlingsopplegg øker, vil de fleste pasienter være diagnostisert i et stadium der kurativ behandling ikke er mulig.

Overlevelsen ved avansert sykdom fortsetter å være svært lav og ettårsoverlevelsen ligger på omkring 30% (55, 56). Målsetningen ved behandling for avansert NSCLC vil være å få til et behandlingsopplegg som virker livsforlengende, symptomforebyggende og symptomlindrende (7). Palliativ tumorrettet behandling er indisert ved stadium III-sykdom med redusert allmenntilstand eller annen negativ prognostisk faktor, og stadium IV sykdom hvor ekstrathorakale fjernmetastaser foreligger (54).

Systemisk behandling skal tilbys alle pasienter med avansert kreft (48), der systemisk behandling innebærer immunterapi, målrettet behandling eller konvensjonell kjemoterapi. Ved avansert kreftsykdom vil histologisk subtype og molekylær patologi så vel som alder, funksjonsstatus, komorbiditet og pasientens ønske være determinerende for behandling (48). Kort oppsummert vil pasienter med ADC uten aktiverende mutasjon (med målrettet behandlingsalternativ) vurderes for kombinasjonsbehandling med immunterapi og kjemoterapi i første linje. Pasienter med ADC med påvist mutasjon tilbys målrettet behandling som første linje. Pasienter med SCC anbefales kjemoterapi i førstelinje, unntatt tilfeller hvor >50% av tumorcellene uttrykker PD-L1 der immunterapi foreslås i første linje (57).

### 1.4.2.1 Immunterapi

Immunterapi er et nytt paradigme i kreftbehandlingen som tillegges stort håp. Prinsippet ved dagens implementerte immunterapi (immunsjekkpunktblokkade) er å gi medikamenter (kunstig fremstilte antistoffer) som kan svekke eller oppheve de inhibitoriske signalene fra tumorceller til immunceller, vanligst T-celler. Tumorceller uttrykker ofte signaler som slår ned aktiviteten til immuncellen, og utnytter mekanismer som i normalt tilstand er der for å hindre autoimmunitet og kontrollere immunrespons. Det finnes flere ulike inhibitoriske signaler der den viktigste i terapien er interaksjonen mellom PD-L1 på tumorceller og PD-1 på T-celler (32). I Norge tilbys immunterapi i førstelinje enten i kombinasjon med kjemoterapi eller i monoterapi ved PD-L1 uttrykk >50% uten ALK-, ROS1-og/eller EGFR-mutasjoner. I tillegg brukes immunterapi i behandlingen av pasienter med progresjon avhengig av funksjonsstatus og PD-L1 uttrykk (7).

### 1.4.2.2 Målrettet behandling

Målrettet behandling i avansert NSCLC har hatt enorm fremgang de seneste årene, hvor forskjellige mutasjoner er oppdaget og med tiden har ulike behandlingsalternativer for inhibisjon av svulster med slike mutasjoner dukket opp. Behandlingsmuligheter finnes i dag for mutasjoner i *EGFR* og *BRAF*, og translokasjoner som involverer *ALK* og *ROS1*. Disse mutasjonene gjennomgås ytterligere senere, men kort fortalt vil mutasjoner i reseptor eller proteinkinaser kunne stimulere signalveier som fører til ukontrollert vekst, proliferasjon og overlevelse. Ved målrettet behandling vil man kunne inhibere disse signalveiene enten via små molekylinhibitorer (-nib, eksempel erlotinib) eller via monoklonale antistoffer mot reseptorer (-mab, eksempel nivolumab) (58). Idag får man målrettet behandling i første linje hvis pasienten innehar aktiverende mutasjon, frem til progresjon (7). Empirisk kjemoterapi er fortsatt gullstandard for avansert NSCLC uten aktiverende mutasjon (58). Til tross for gode kliniske resultater har målrettet behandling fortsatt store utfordringer knyttet til resistens. I tillegg finnes det ikke behandlingsalternativer for visse mutasjoner, f.eks for *KRAS* som er et svært hyppig mutert gen i NSCLC. Slik behandling har i fremtiden potensiale til å enda kunne forbedre overlevelsen og behandlingsrespons for pasienter med NSCLC. Fremtidens målrettede behandling må derfor både ha tilstrekkelig med inhibitorer eller kombinasjoner av inhibitorer for viktige driver-mutasjoner og kunne ha alternativer hvis og når resistensutvikling oppstår (58).

## 1.5 Genetiske endringer og mutasjoner

Mutasjoner defineres som enhver forandring i DNAs baserekkefølge. Disse kan oppstå ved eksponering fra omgivelsene; ioniserende stråling, UV-stråling eller kjemiske karsinogener. Spesielt oppstår mutasjoner spontant via feil i DNA-replikasjon, mitose og meiose, gjennom iboende begrensninger til DNA-reparasjonsmaskineriet i cellene våre (59). Mutasjon deles videre inn i kromosommutasjoner, regionale mutasjoner og genmutasjoner, og spiller en viktig rolle både i evolusjon og genetisk mangfold (60). Det er forskjell på mutasjoner i kjønnsceller, og i somatiske celler. Det er kun mutasjoner som oppstår i kjønnsceller som har potensiale til å videreføres til neste generasjon. Mutasjoner som oppstår i somatiske celler vil kun påvirke bærer (61).

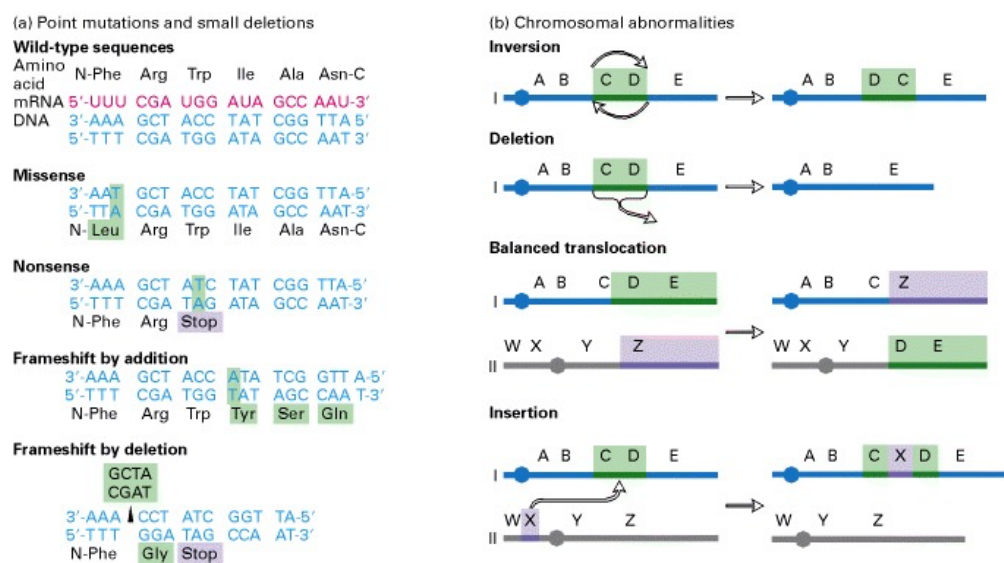
De største mutasjonene er kromosommutasjoner som fører til numeriske kromosomavvik som kan føre til polyploidi, overtallig kromosomsett (triploidi 69, tetraploidi 92), eller aneuploidi, avvikende kromosomtall (trisomi 47, monosomi 45). Disse mutasjonene er ikke videre relevante for oppgaven og vil ikke omtales nærmere.

Regionale mutasjoner er strukturelle avvik som inkluderer store delesjoner, insersjoner, translokasjoner, inversjoner og amplifikasjoner i større segmenter av DNAet. Store delesjoner og amplifikasjoner kan dannes ved ulik overkrysning mellom homologe kromosomer. Disse kromosomale mutasjonene kan også opptre mellom ikke-homologe kromosomer, kalt resiprok translokasjon, hvor det skjer et gjensidig bytte av kromosomalt materiale. I tillegg kan det oppstå kromosomale inversjoner som reverserer orienteringen av kromosomsegmentet. Ofte vil disse abnormalitetene oppstå ved feil i reparasjonsmekanismen for dobbeltrådig DNA-skader (62). Transversjoner gjennomgås ytterligere senere i oppgaven.

Gen-mutasjoner er små endringer i aminosyresekvensen som affiserer et gen i ett eller flere nukleotider, som direkte eller indirekte endrer på mengde protein eller på regulering av genet. Der mutasjonen påvirker ett enkelt basepar kalles mutasjonen en punktmutasjon.

Undergrupper av punktmutasjoner fører til varierende effekt på aminosyresekvensen og dermed det resulterende protein. Disse kan føre til forskjellige typer punktmutasjoner ved insersjon, delesjon eller substitusjon av nukleotider. Insersjoner legger til en eller flere nukleotider i DNA, og delesjoner gjør det motsatte. Substitusjonsmutasjoner bytter om på nukleotider. Disse mutasjonene kategoriseres ut ifra effekten mutasjonen har på det endelige proteinet. En «*missense*» mutasjon fører til en ombytting av en aminosyre med en annen som

skaper et annet protein enn det tiltenkte. En «nonsense» mutasjon vil endre et aminosyrekodon til et stopp-kodon som fører til prematur terminering av translasjonen og et forkortet genprodukt (trunkert protein). «Frameshift» mutasjoner endrer rekkefølgen på leserammen, altså hvilken rekkefølge triplettene leses av, og kan introdusere flere avvikende aminosyrer i den endelige aminosyresekvensen til proteinet. I tillegg finnes «splice site» mutasjoner hvor insersjon i den kodende delen av genet endrer «splicing» av mRNA hvor exoner kan utebli fra det modne mRNA, eventuelt at introner inkluderes (62). Ved å sekvensere genmaterialet og sammenlikne med den genetiske koden kan man predikere konsekvensen av mutasjonen.



Figur 6: Forskjellige typer mutasjoner (Lodish; molecular cell biology 4th.edition) (62)

En stor del av grunnlaget for dagens forståelse av kreft og dens kompleksitet kommer av oppdagelsen av mutasjoner (63). De fleste ervervede mutasjoner vil ikke oppstå i viktige gener, og derfor ikke føre til merkbare endringer i organismen. Dog vil akkumuleringen av somatiske mutasjoner gjennom et helt livsløp bidra til kreftutvikling (61, 64). Kreft skiller seg derfor fra andre genetiske sykdommer fordi mutasjonene hovedsakelig er somatiske (61). Mennesker er diploide organismer, som betyr at vi bærer to sett kopier av hvert kromosom. Det vil si at man bærer to sett av det samme gen, som kalles allel. Allelene kan være like, homozygote, eller ulike, heterozygote. Det gjør at hvis en mutasjon oppstår i et proteinkodende gen avhenger det om mutasjonen er recessiv eller dominant for å uttrykkes. Er det recessivt vil det kreve mutasjonsvariant i begge allel for å uttrykkes. Recessive mutasjoner vil ofte føre til inaktivering av gitt gen, og føre til «tap av funksjon». Dominante mutasjoner har derimot en tendens til å føre til økt/amplifisert, eller en helt ny funksjon (62). Et



gjennombrudd for kreftforskningen var oppdagelsen av *onkogener* med ny eller forsterket funksjon, såvel som mutasjoner som førte til tap av funksjon i viktige *tumor-suppressor gener* (63, 65). De to genklassene onkogen og tumor-suppressor gen er nøye beskrevet i sammenheng med kreftutvikling. Et onkogen er et kreftinduserende gen med økt eller ny funksjon i cellen. Onkogener kan være tilført fra virus, virale onkogener slik som f.eks HPV, eller det kan være cellulære onkogener som aktiveres ved somatiske mutasjoner i et proto-onkogen. Tumor-suppressor gener har motsatt funksjon og koder gjerne for proteiner som hemmer vekst og deling. Hvis det oppstår mutasjoner i tumor-suppressor gener mister cellen noen av sine beskyttelsesmekanismer. Et eksempel på dette er transkripsjonsfaktoren *TP53*. Dette er en transkripsjonsfaktor med mange forskjellige funksjoner og er viktig for å bevare genetisk stabilitet. *TP53* vil aktiveres som en respons på DNA-skade og cellulært stress og føre til arrest i cellyklus slik at skaden kan repareres. Hvis skaden ikke kan repareres må cellen gjennomføre apoptose. Mutasjoner som fører til defekt *TP53* gjør cellen mer motstandsdyktig mot apoptose og kan i større grad overleve og dele seg videre med DNA-skader og har dermed potensiale for videre ugagn (61). Onkogenene vil i større grad ha økt eller ny funksjon, og vil derfor oftere være potensielle angrepspunkt i kreftbehandling sammenlignet med tumor-supressorer. Det er intuitivt lettere å slå noe ut, enn å gjenskape noe som har forsvunnet.

## 1.6 Hyppig muterte genetiske endringer i NSCLC

Som tidligere nevnt klassifiseres lungetumores både med henblikk på TNM-klassifisering og deres molekulære profil som kan brukes i målrettet behandling (66). Flere genetiske mutasjoner er oppdaget og karakterisert ved NSCLC. Blant de mest vanlige genetiske endringene i NSCLC gjelder genene *KRAS*, *EGFR*, *BRAF*, *ALK* og *ROS1*. Forskjeller i distribusjon av mutasjoner i NSCLC tilskrives både histologisk subtype, cellelinjer, miljøfaktorer, arv og andre ukjente faktorer (67). Disse mutasjonene beskrives ofte som drivermutasjoner og opptrer som oftest alene, men komutasjoner kan opptre (66, 68). I tabell 8 finnes et utvalg av de genetiske forandringene funnet i NSCLC, og distribusjon av dem stratifisert ved ADC eller SCC (67). Den fulle oversikten over mutasjoner finnes i artikkelen skrevet av Pikor et al (67).

Det er i tillegg vist en tydelig forskjell i den genetiske profilen mellom ikke-røykere og røykere ved NSCLC. Røykere har høyere mutasjonsfrekvens og domineres av mutasjoner i *KRAS* og *TP53*. Ikke-røykere domineres av aktiverende mutasjon i *EGFR*, *ROS1* og *ALK*

translokasjoner (5). Disse forskjellene i aktiverende mutasjoner kan vitne om at kreften oppstår ved forskjellige molekylære mekanismer (69).

Tabell 8: Mutasjonsfrekvens (Pikor.L,A et.al) (67)

Gen	Lokalisasjon	Frekvens		Genetisk forandring
		%ADC	%SCC	
<b>EGFR</b>	7p12	10-15	<5	Delesjon ekson 19, L858R (Leu858Arg)*
<b>KRAS</b>	12p12.1	21	6	Mutasjon i kodon 12, 13 og 61
<b>HER2</b>	17q12	<5	Sjelden	Insertsjon i ekson 20
<b>ALK</b>	2p23	4-6	Sjelden	Fusjon av EML4 eller KIF5b
<b>ROS</b>	6q22	1-2	n/a	Fusjon av multiple gener
<b>BRAF</b>	7q34	2	1-3	G465V og L596R
<b>MET</b>	7q31	<5	<5	Mutasjon ekson 14

\*andre mekanismer ved EGFR-aktiverende mutasjon finnes

### 1.6.1.1 KRAS

KRAS er et medlem av genfamilien *RAS* som koder for membranbundne GTP-aser. Det er tre *RAS*-gener som koder for fire proteiner; HRAS, KRAS4a, KRAS4b og NRAS (70). Normalt finnes RAS i to forskjellige former i cellemembranen; inaktiv når bundet til GDP og aktiv når bundet til GTP. RAS-proteiner fungerer som cellulære brytere, og ved aktivering fra ekstracellulært stimuli aktiveres forskjellige signalveier innad i cellen. Disse signalveiene er viktige i reguleringen av helt fundamentale cellulære prosesser slik som proteinsyntese, proliferasjon, overlevelse og differensiering (71). Signalveien «mitogen activated protein kinase»/ «extracellular signal-regulated kinase» (MAPK/ERK), er en av de mest sentrale og deregulerte i humane kreftformer (72). Signalveien er derfor nøye undersøkt i kreftssammenheng på grunn av dens rolle i cellens vekst, proliferasjon, overlevelse og differensiering. Ved mutert form av RAS, vil det føre til en kontinuerlig aktivering hvor GTP «alltid» er bundet til tross for fravær av ekstracellulær signalering. Dermed står signalveiene

som driver proliferasjon vedvarende på, og bidrar til kreftutvikling. I tillegg til proliferasjon fører mutert RAS til undertrykking av apoptose, deregulert metabolisme, endret mikromiljø som tillater blant annet angiogenese og unnvikelse av immunforsvaret (73).

I alle humane kreftformer er det beskrevet at opptil 30% har en form for mutasjon i noen av *RAS*-genene (74), og er den hyppigste muterte familien av onkogener i kreft (75). Genet ligger på kromosom 12, og mutasjonene oppstår i kodon 12, 13 og 61 og konverterer genene til aktive onkogener (76). *KRAS*-mutasjoner deles videre inn i hvilken aminosyre som har endret seg, via missense-mutasjon som oftest på exon 2, ved kodon 12. Den mest vanlige er G12C fulgt av G12V, G12D og G12A. De resterende *KRAS*-mutasjonene ligger på kodon 13 og noen på ekson 3 ved kodon 61 (77, 78). I tabell 9 er et utvalg av disse lagt ved. Til tross for at de ulike variantene av *RAS* likner, så er *KRAS* mutasjoner oftest observert i kreft. Dette gjelder særlig pancreas-, lunge- og colorectal kreft (79).

Tabell 9: Et utvalg *KRAS*-mutasjoner og deres aminosyreendring

Forkortelse	Aminosyre	<i>KRAS</i> -mutasjoner finnes i omtrent 20-25% av
<i>G12C</i>	Gly12Cys	lungeadenokarsinomer fra lunge i vestlige land.
<i>G12V</i>	Gly12Val	Pasienter med lungekreft med <i>KRAS</i> -mutasjoner har hatt
<i>G12D</i>	Gly12Asp	dårligere overlevelse enn de som ikke har mutert <i>KRAS</i>
<i>G12A</i>	Gly12Ala	(80). Utviklingen av <i>KRAS</i> -mutert lungekreft er høyest
<i>G12R</i>	Gly12Arg	assosiert med positiv røykeanamnese, men <i>KRAS</i> -
<i>G12F</i>	Gly12Phe	mutasjoner kan også oppstå i opptil 15% av aldri-røykere
<i>G12S</i>	Gly12Ser	med lungekreft (81). På grunn av heterogeniteten i
<i>G13C</i>	Gly13Cys	<i>KRAS</i> -mutasjoner er det funnet ulike kliniske
<i>G13D</i>	Gly13Asp	karakteristika for de ulike undergruppene av <i>KRAS</i> -
		mutasjoner. Spesielt pasienter med mutert <i>KRAS</i> G12C
		og G12V synes å ha dårligere prognose sammenlignet

med både andre *KRAS*-mutasjoner eller pasienter med ingen mutasjon (82-84), men motstridende data har også blitt funnet (85, 86).

På grunn av den høye frekvensen av mutasjoner i NSCLC er *KRAS* et attraktivt mål til å inhibere i behandling. Dette har siden RAS-revolusjonen på 80-tallet vist seg å være utfordrende. Først ble direkte hemmere forsøkt, men på grunn av at RAS er et lite molekyl med få bindingssteder og lav affinitet for GTP (ATP binder proteinkinaser med mikromolar affinitet, mens GTP binder RAS-proteiner med picomolar affinitet), ble det vanskelig å

utvikle effektive hemmere. Andre potensielle metoder for å hemme RAS har vært ved å angripe membran-assosiasjonen ved å hemme farnesyltransferase. Farnesyltransferase-inhibitorer (FTIs) kom så langt til fase III uten å vise noe særlig klinisk effekt. Dette ble begrunnet ved at FTIs hovedsaklig angriper *NRAS* ikke *KRAS* som er den hyppigst muterte formen for RAS. Andre innfallsvinkler har vært å angripe effektor-signalerings nedstrøms, men dette viste seg igjen utfordrende på grunn av kompleksiteten i kreftceller, kreftens mikromiljø og tilpasningsevne ved hjelp av kryss-signalerings (75). I dag utvikles og prøves nye spesifikke behandlingsalternativer ved *KRAS-G12C*, og to inhibitorer er kommet i fase II kliniske studier med lovende resultater (87, 88). I tillegg undersøkes det for ulike behandlingsalternativer for pasienter med *KRAS*-mutasjon som kan optimalisere personlig tilpasset behandling, blant annet ved hjelp av andre spesifikke inhibitorer eller ved bruk av immunterapi (77, 89).

#### **1.6.1.2 NRAS**

*NRAS* er i likhet med *KRAS* et av de fire proteinene for GTP-aser som de tre RAS-genene koder for. *NRAS*-mutasjoner er ikke like hyppig mutert som *KRAS* i NSCLC og tall fra 0.6-2% i NSCLC er rapportert i ulike studier (90-92). I likhet med *KRAS*-mutert NSCLC har positiv røykeanamnese vært signifikant assosiert med *NRAS*-mutasjon. I tillegg opptrer *NRAS*-mutasjon som oftest alene uten komutasjoner i drivere som *EGFR*, *KRAS* og *ALK* (90).

#### **1.6.1.3 EGFR**

Epidermal growth factor (*EGFR*) er en type transmembran reseptor som tilhører reseptorfamilien HER. De er av typen tyrosin-kinase reseptorer. Spesifikke ekstracellulære ligander binder *EGFR*-reseptoren, fører til en konformasjonsendring som slår på kinaseaktiviteten til tyrosin-kinasen og fører til en autofosforylering intracellulært (93). Dette fører til aktivering av forskjellige signalveier ved hjelp av ulike proteiner som assosieres med reseptoren, og fører til en signaleringskaskade nedstrøms. Signalveiene er essensielle for cellen, og er involvert i vekst og proliferasjon (94). To store signaleringsruter for *EGFR*-reseptoren er blant annet RAS-RAF-signalveien og AKT-signalveien. Spesifikke mutasjoner i tyrosin-kinase domenenene kan føre til konformasjonsendringer som slår reseptoren på vedvarende, slik at disse signalveiene også uavbrutt står på. Det er flere mutasjoner som har blitt beskrevet men de vanligste er en delesjonmutasjon i ekson 19, og punktmutasjon i ekson 21 som endrer tyrosin-domene i reseptoren (95). Konstant *EGFR*-signalerings fører til dysregulering av store cellulære prosesser slik som proliferasjon, angiogenese, hemming av

apoptose og regulering av genuttrykk. I tillegg har stimulering av EGFR-signaleringsveier ført til økt cellemotilitet, adhesjon og metastase som bidrar til malignitetsutvikling (93).

Økt ekspresjon av *EGFR* er dokumentert i majoriteten av solide tumorer inkludert bryst-, hode- og hals-, nyre- eggstokk-, colon-, og ikke minst NSCLC (93). En stor andel av (rundt 10%) pasienter med NSCLC har *EGFR*-mutasjoner. Så mye som 45% har mutasjon i ekson 19, og 40% i ekson 21 (96), men tall varierer betraktelig avhengig av metoden brukt for å detektere mutasjonen (97). Frekvensen av aktiverende mutasjon i *EGFR* i Norge er funnet tidligere rundt 7,5% (98). Pasienter som innehar *EGFR*-mutasjon har et par kliniske fellestrekk. Det er vanligere hos kvinner, aldri-røykere og pasienter med ADC. I tillegg er mutasjon funnet mer vanlig hos yngre pasienter og pasienter med asiatiske opprinnelse (99).

Etter oppdagelsen av *EGFR* og dens sammenheng med kreft ble det utviklet behandlingsmuligheter for å angripe *EGFR* målrettet. Dette har blitt en av kreftens store suksesshistorier innen målrettet behandling av kreft. Tyrosin-kinase inhibitorer (TKIs) ble utviklet på starten av 2000-tallet ved å angripe det intracelulære tyrosin-kinase domene (100). Dette resulterte i medisinene gefitinib og erlotinib, som i starten viste dårlig effekt sammenlignet med tradisjonell kjemoterapi når de ble testet på alle pasienter med NSCLC. I løpet av den kliniske utviklingen av medisinene ble drivende mutasjoner oppdaget i tyrosin-kinase domene, hhv mellom ekson 18 og 21, og medisinene hadde klinisk effekt på pasientene som innehadde aktiv mutasjon (101). Dette ble et gjennombrudd i målrettet behandling og biomarkør-dreven forskning for å utvikle ytterligere behandlingsmuligheter (100). Senere er det kommet nye mer effektive medikamenter mot *EGFR*-mutert NSCLC, og i dag er første- og andregenerasjons TKIs førstelinjebehandling for pasienter med aktiverende mutasjoner i *EGFR* i NSCLC (102).

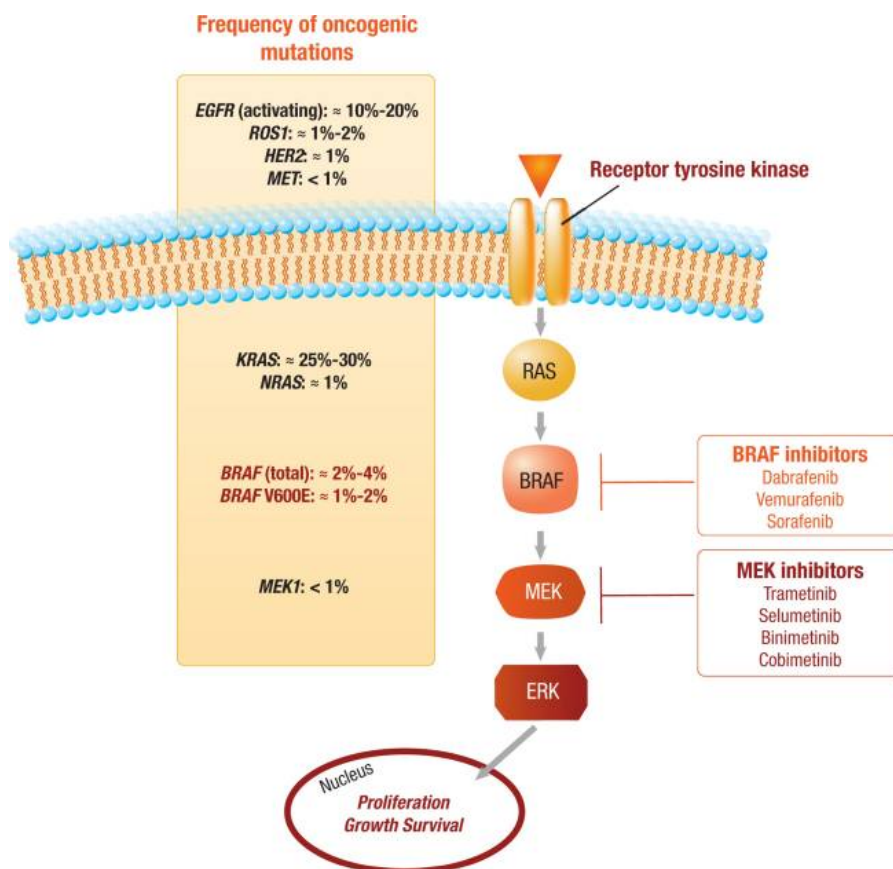
#### **1.6.1.4 BRAF**

RAF er en gruppe serin/treonin proteinkinaser som spiller en viktig rolle i MAPK/ERK signalveien. MAPK/ERK signalveien inneholder flere ledd hvor proteiner med kinasedomene (RAF, MEK, ERK) overfører signal fra membranreseptorer som fører til endring i proteinaktivitet og genekspressjon i cellekjernen (103). RAS og RAF henger nøye sammen, og i likhet med mutert RAS-signaleringsveier vil mutert RAF også aktivere MAPK/ERK signalveien som fører til abnormal proliferasjon, differensiering og apoptose (72). Signalveien illustrert i figur 6.

Det finnes tre forskjellige RAF-isoformer, ARAF, BRAF og CRAF som har ulik evne til å aktivere MEK(104). *BRAF* er ofte funnet mutert i humane kreftformer, hyppigst melanom (50%), papillært thyroideacarcinom (30-70%) og colorectal cancer (5-20%) (105). Mutasjoner i *BRAF* kan deles inn i V600E og ikke-V600E (103), hvor V600E er vanligst. *BRAF* V600E er en punktmutasjon i ekson 15 som substituerer valin med glutamat ved kodon 600, derav navngitt V600E. Mutasjonen fører til at BRAF-proteinet øker sin kinase-aktivitet (106), og muliggjør videre signaloverføring uavhengig av RAS-mediert aktivering. Resultatet blir et vedvarende hyperaktivt protein som aktiverer ERK, bypasser RAS og ignorerer negativ feedback (103).

*BRAF* mutasjoner finnes i 2-4% av NSCLC-tilfellene, og V600E står for opp til 2% av disse (107). Det betyr at i motsetning til andre BRAF-dominerte cancere hvor V600E står for rundt 90% (103), så finner en 50/50 fordeling av V600E-mutasjoner og ikke-V600E mutasjoner ved NSCLC (108, 109). Majoriteten av *BRAF*-mutasjoner finner en i ADC med hovedsaklig mikropapillært vekstmønster, og de fleste pasienter som innehar *BRAF*-mutasjon er tidligere eller nåværende røykere (108). Pasienter med V600E mutasjoner er signifikant assosiert med kortere sykdomsfri og totaloverlevelse (108), men om dette skyldes *BRAF*-mutasjon eller aggressivt histologisk vekstmønster, slik som mikropapillært vekstmønster, gjenstår å se (103, 110).

*BRAF*-mutasjoner er generelt gjensidige ekskluderende med andre mutasjoner som EGFR og ALK, og ble derfor en sterk kandidat som mål for behandling (107, 111). Dette førte til utviklingen av svært potente og selektive *BRAF*-hemmere som vemurafenib og dabrafenib (103). I likhet med andre selektive hemmere, utvikler majoriteten av pasienter etterhvert resistens ved kun et angrepspunkt. En måte å motarbeide resistensutviklingen på er ved å legge til en selektiv MEK-hemmer som fører til en signifikant klinisk forsinkelse av resistens, uten vesentlig toksisitet (103, 112). I Norge er dabrafenib godkjent i kombinasjon med MEK-hemmer trametinib i behandlingen av avansert NSCLC med V600E-mutasjon (7).



Figur 7: Illustrasjon av signalveier og frekvens av ulike onkogene mutasjoner (Baik, C.S. et.al) (105)

## 1.6.2 Translokasjoner

Translokasjoner og amplifikasjoner er subtyper av strukturelle mutasjoner. Når det skjer en uvanlig rearrangering av kromosomer kalles det en translokasjon. Det er to typer translokasjoner; resiprok og robertsonian translokasjon. Ved resiprok translokasjon skjer det et gjensidig bytte av kromosomalt materiale mellom to ikke-homologe kromosomer. Dette oppstår når to fragmenter brytes av og bytter plass. Ved balansert resiprok translokasjon vil det ikke foreligge tap av genetisk materiale (113). I tillegg vil det vanligvis brytes av i ikke-kodende regioner (kun 2% av genmateriale er kodende) og dette vil dermed ikke ha effekt på organismen. Translokasjoner kan være harmløse men også ha store konsekvenser avhengig av hvordan endringen påvirker genets posisjon og dets forhold til regulatoriske sekvenser. I tillegg kan det oppstå fusjon av gener – fusjonsgen – som resultat av at to vanligvis separate gener kobles sammen (113). Det er flere sykdommer som er tilknyttet translokasjoner i DNA, der den mest kjente er dannelsen av Philadelphia-kromosomet. Translokasjonen oppstår mellom kromosom 9 og 22, som er knyttet til kreftformen KML, men også ALL (114, 115). Robertsonian translokasjon oppstår når et kromosom sammenføres med et annet. Kromosomet fuserer i sentromer-område med tap av den korte armen på kromosomet. Den mest kjente er Robertsonian translokasjon mellom den korte armen på kromosom 21 og den lange på kromosom 14, som forårsaker Down Syndrom (113).

### 1.6.2.1 ALK

*ALK*-genet koder for en transmembran tyrosin-kinase-reseptor og finnes på den korte armen på kromosom 2 (2p23). Genet ble først oppdaget i storcellet anaplastisk lymfom der man fant en 2:5 translokasjon og har derfor fått navnet «anaplastic lymphona kinase» (116). Reseptoren tilhører storfamilien for insulin-reseptorer (117). Genet uttrykkes normalt embryonalt i utvikling av nervesystemet men avtar postnatalt. I voksne mennesker kan man gjenfinne små mengder av ALK-proteinet i hjernen (118). Reseptoren fungerer som andre tyrosinkinaser; ved binding av ligand vil ALK-reseptoren dimerisere, endre konformasjon og autoaktivere sitt kinasedomene. Fosforylerte domener fungerer som bindingssteder for andre cellulære proteiner, som aktiverer flere signalveier nedstrøms, blant dem MAPK-ERK og PI3-AKT-veien (119).

*ALK*-genet har onkogenet potensiale når kinaseaktiviteten øker eller står vedvarende på. Den vanligste mekanismen for ALK-aktivering skjer via translokasjon. Translokasjonen med et annet partnergen skaper et fusjonsgen. Fusjonsproteinet som dannes fører til vedvarende aktivering av ALK-kinasen, og økt kinaseaktivitet. Fusjonsgenet som dannes overuttrykkes i



kreft og det onkogene potensiale for ALK-proteinene bestemmes av korresponderende fusjonspartner (120). Rearrangering i *ALK*-genet opptrer i 4-5% av NSCLC (121), og er demonstrert som en drivende mutasjon i utviklingen av krefttypen. Visse kliniske trekk har fremkommet i *ALK*-positive NSCLC-pasienter; rearrangeringen er vanligst i yngre pasienter (median rundt 50 år) og i aldri-røykere med adenokarsinom. Det er funnet liten forskjell i insidens mellom menn og kvinner (117, 122, 123).

I tråd med utviklingen av moderne kreftbehandling ble målrettet behandling mot *ALK*-rearrangering satt på agendaen siden oppdagelsen. Prekliniske studier viste at kreften var avhengig av vedvarende ALK-signalering for proliferasjon og overlevelse (124). Ved å inhibere tyrosin-kinasen kan man undertrykke signalveiene og føre cellen i apoptose (122). Den første godkjente behandlingen for å angripe ALK var TKI-en crizotinib til bruk i avansert *ALK*-positiv NSCLC (120). Crizotinib er en ikke-spesifikk TKI og omfavner ikke kun hemming ALK, men også MET og ROS1. Crizotinib har vist responsrate på opp til 60% og hemming av sykdomsprogresjon i *ALK*-positiv NSCLC (125), men ytterligere utvikling av hemmere behøves grunnet resistensutvikling i løpet av 1-2 år med behandling også her (117, 126).

#### **1.6.2.2 ROS**

*ROS1*-genet koder for en tyrosin-kinase reseptor kalt «proto-oncogene tyrosine-protein kinase ROS». Reseptorkinasen er strukturelt lik ALK-proteinet, men dens faktiske rolle i normal utvikling og fysiologi er ikke blitt identifisert (127). Det ble først identifisert kreftrelaterte translokasjoner med *ROS1*-genet i glioblastom (128), og har siden blitt funnet uttrykt i flere varierende kreftformer, spesielt i NSCLC (129). Som ved *ALK* er det fusjonsproduktet av varierende translokasjoner med andre gener som er rapportert med onkogen potensiale. Blant annet ved oppregulering av signalveiene PI3/AKT, JAK/STAT og MAPK/ERK (127, 130).

*ROS1*-rearrangering er blitt funnet i omtrent 1%-2 av NSCLC (127, 131), og ble derfor undersøkt for bruk i målrettet behandling. NSCLC pasienter som innehar ROS1-mutasjon likner klinisk på dem med *ALK*-mutasjon; yngre, aldri-røykere med ADC. Ved bruk av kinaseinhibitorer mot *ROS1* ble det demonstrert redusert proliferasjon og siRNA mot ROS1 viste å inducere apoptose i kreftcellelinjer (127, 132). Tyrosin-kinase inhibatoren crizotinib har vist lovende resultater på *ROS1*-pasienter med lengre tid før resistens utvikles sammenliknet med *ALK*-positiv NSCLC, og responsrate på 72% (129, 132). Idag er

crizotinib godkjent behandling i Norge for *ROS1*-positive pasienter i førstelinje inntil progresjon påvises (7).

## 1.7 Forskningsproblemstilling

Hovedformålet med oppgaven var å kartlegge og beskrive mutasjoner hos NSCLC pasienter undersøkt med NGS ved UNN Tromsø, og sammenligne disse dataene med internasjonale publiserte data.

Det sekundære målet var at kartleggingen inngikk i en pågående nasjonal kartlegging som også inkluderer overlevelsedata, som nå er publisert i internasjonalt fagfelleverdert tidsskrift (133). Den nasjonale kartleggingen diskuterer omfanget av pasienter som kan ha nytte av nylig utviklede målrettede behandlinger og den prognostiske verdien av spesifikke mutasjoner i ved *RAS*-genet i NSCLC nasjonalt.

## 2 Materiale og metode

Materialet omfatter NSCLC pasienter diagnostisert i Tromsø etter innføring av Trusight 15 panelet (mars 2017) for mutasjonsundersøkelser. Dataene vi samlet er mutasjonsdata i genene *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *ALK* og det er kun somatiske mutasjoner som er av interesse for denne oppgaven. I tillegg vil samling av kliniske data slik som alder, kjønn, røykestatus, øvrig behandling av NSCLC, endepunkter (tid til død, residiv fra diagnose) og metastaseutbredelse registreres for å kunne si noe om assosiert overlevelse. Pasientpopulasjonen identifiseres på grunnlag av utførte relevante mutasjonsanalyser ved patologisk seksjon.

### 2.1 Pasienter

Det ble gjennomgått mutasjonsanalyser og oppfølgingsdata fra 320 pasienter hos UNN Tromsø fra mars 2017 til juli 2019. Dato for diagnose dato ble satt ved første diagnostiske biopsi/cytologi. Deltakerne ble så identifisert ut ifra hvorvidt det var gjennomgått molekylærpatologiske undersøkelser på deres NSCLC.

Inklusjonskriteriene oppsummert var derfor:

- Bekreftet NSCLC
- Gjennomgått Trusight 15-panel

Pasienter ble ekskludert hvis én eller flere av følgende faktorer var tilstede:

- Synkrone primære lungecancere ved diagnosetidspunkt

- Annen type cancer <5 år siden diagnosetidspunkt
- Repetert analyse
- Annet:
  - o Manglende informasjon
  - o Foreldet prøve
  - o Ikke NSCLC
  - o Ikke sikker lungekreft

Pasienter med to svulster i lungene der det var histologisk eller bildediagnostisk bekreftet to ulike primærtumorer, og behandlet deretter, ble ekskludert. Dette ble gjort grunnet primærtumorenes potensielle ulikhet, både undergruppe lungekreft, histopatologisk variasjon og unike vekstmønstre. Pasienter med andre tumores/metastaser fra primærtumor i lungene ble inkludert.

Det ble besluttet at alle med en tidligere kreftdiagnose under 5 år siden diagnosetidspunktet på lungekreft ble ekskludert. Dette grunnet blant annet kreftbehandlingens karakter med stråleterapi og kjemoterapi, som har potensiale til å påvirke den normale mutasjonsraten.

På bakgrunn av at pasientene ble identifisert ut ifra hvorvidt det forelå molekylærpatologisk analyse, viste deg seg i etterkant at det befant seg mange unike analyser som kom fra samme pasient. Uavhengig om disse analysene var fra samme prøve, eller en senere/etter diagnosetidspunkt ble disse ekskludert i gruppen under «repertert analyse».

*Tabell 10: Frekvenstabell for inkluderte og ekskluderte pasienter*

	<b>Frekvens</b>
Inkludert	235
Ekskludert	85
<b>Totalt</b>	<b>320</b>

*Tabell 11: Frekvenstabell for ekskluderte pasienter*

<b>Ekskluderte pasienter</b>	<b>Frekvens</b>
2x primær lungecancer	15
Annen cancer <5 år siden	39
Repetert analyse	27
Annet	4
<b>Totalt</b>	<b>85</b>

## 2.2 Etiske og personvernmessige hensyn

Da det skulle samles inn persondata og for å avklare om dette var forskning eller kvalitetsprosjekt ble det sendt en søknad for framleggingsvurdering lokalt. Imidlertid ønsket REK Nord at vi brukte REK vedtaket for det overordnede prosjektet i regi av st.Olav med referanse REKMidt/82144 hvor prosjektet ble godkjent. I tillegg ble det sendt melding til PVO hvor PVO anbefalte prosjektet (prosjektnummer 02398), anbefalingsreferanse 2020/1552. Samtykke ble ikke innhentet da oppgaven dreide seg om en oppsummering av allerede innsamlede data.

## 2.3 Genetiske analyser

Den genetiske profilen for pasienter med NSCLC gjøres ved UNN Tromsø ved hjelp av NGS-analysen Trusight 15 og undersøker 15 av de vanligste genetiske mutasjonene i NSCLC. I tabell 12 kan man se en oversikt over disse. I tillegg screenes det for mutasjon i *ALK* som eventuelt bekreftes ved hjelp av fluoriserende in situ-hybridisering (FISH). Måltrettet behandling mot mutasjoner i *EGFR*, *ALK* og *ROS1* er allerede tilstede i klinikken (134), mens det stadig forskes på og utvikles behandlingsalternativer som angriper *KRAS* (135). Det er derfor interessant å undersøke distribusjonen av disse mutasjonene i den nordnorske og norske befolkning og se hvor mange som kan ha nytte av denne type terapi i behandlingen av sin lungekreft. Next generation sequencing (NGS) er en ny sekvenseringsmetode for DNA som har revolusjonert forskning på genomet. Teknikken kalles også parallell-sekvensering eller dyp sekvensering og gjør det mulig å sekvensere hele det humane genomet innen en dag (136). Tidligere teknikker var tregere og mer kostbare slik at genanalyser i forskning og i klinikken baserte seg hovedsakelig på enkeltgener assosiert med sykdom (f.eks Cystisk fibrose eller Huntingtons) eller på virus eller bakterier med små og repetetive genom (137). Den nye teknologien med NGS tillater massiv sekvensering samtidig og åpner opp for bruk av andre genanalyser i klinikken slik som undersøkelse for sykdomsrisiko, behandlingsrespons og prenatal testing. Genombasert forskning ble billigere og mer effektivt slik at undersøkelser av sjeldne genvarianter og de-novo mutasjoner kunne undersøkes i befolkningen i stor skala. Denne teknologien muliggjorde også undersøkelser på individets normale genom og sammenligne det med kreftens genom. Dermed kunne en få en omfattende beskrivelse av de somatiske endringene som har skjedd i kreftceller i overgangen fra normale celler. Dette gjorde dermed dagens moderne kreftforskning mulig, blant annet ved å identifisere inter- og intraheterogeniteten i kreft som vi i dag kjenner så godt til (137).

Tabell 12: Genanalyser ved Trusight 15-panel

<i>AKT1</i>	<i>GNAI1</i>	<i>NRAS</i>
<i>BRAF</i>	<i>GNAQ</i>	<i>PDGFRA</i>
<i>EGFR</i>	<i>KIT</i>	<i>PIK3CA</i>
<i>ERBB2</i>	<i>KRAS</i>	<i>RET</i>
<i>FOXL2</i>	<i>MET</i>	<i>TP53</i>

## 2.4 Statistikk

For å undersøke om det finnes en assosiasjon mellom type mutasjon og ulike kliniske karakteristika bruker vi kjikvadrat-fordeling for å se etter signifikante forskjeller mellom våre kategoridata og Cramers V ble brukt for å undersøke grad av assosiasjon mellom nominale variabler.

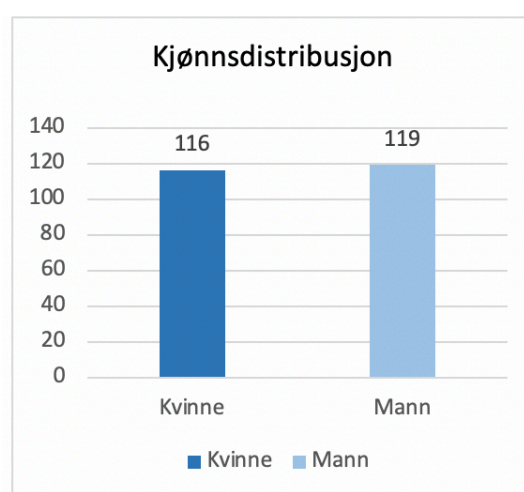
## 3 Resultater

### 3.1 Pasienter

I pasientkohorten var det totalt inkludert 235 pasienter. Kjønnsdistribusjonen var 49.4% kvinner og 50.6% menn. Pasientenes gjennomsnittsalder ved diagnose var 68 år (median 69, modus 72), hvor yngste pasient var 40 år gammel og eldste 85 år gammel. Vedrørende røykehistorie var 8% aldri røykere, 46% tidligere røykere og 45% nåværende røykere (tabell 14). Kategorien «tidligere røyker» ble brukt for pasienter som ikke hadde røykt på >1 år.

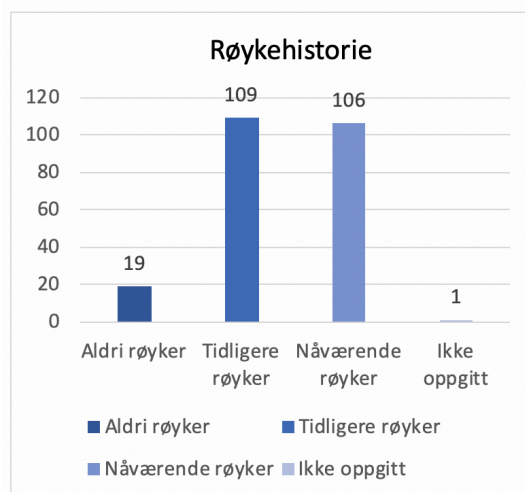
Tabell 13: Kjønnsdistribusjon

	Frekvens	Prosent, %
<b>Kvinne</b>	116	49.4
<b>Mann</b>	119	50.6
<b>Totalt</b>	235	100



Tabell 14: Røykehistorie

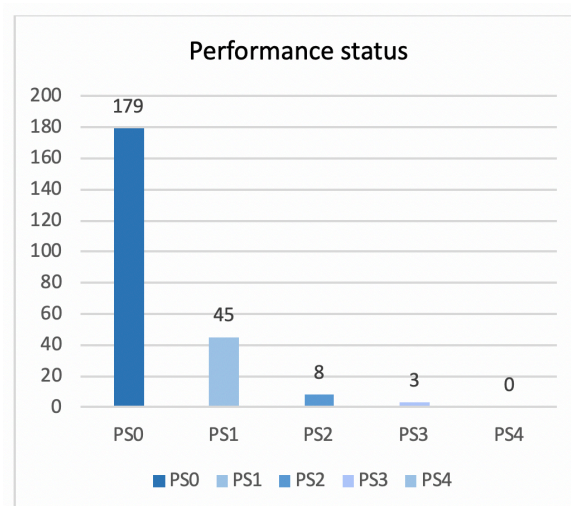
	Frekvens	Prosent, %
Aldri røyker	19	8.1
Tidligere røyker	109	46.4
Nåværende røyker	106	45.1
Ikke oppgitt	1	.4
<b>Totalt</b>	<b>235</b>	<b>100</b>



PS-status på pasienter ved diagnosetidspunkt var distribuert slik:

Tabell 13: PS-status ved diagnosetidspunkt

PS-grad	Frekvens	Prosent, %
<b>0 – aktiv</b>	179	76.2
<b>1 – begrenset i aktivitet</b>	45	19.1
<b>2 – Selvhjulpen ved personlig pleie</b>	8	3.4
<b>3 – begrenset kapasitet til å utføre personlig pleie</b>	3	1.3
<b>4 – helt ute av stand til å stelle seg selv</b>	0	0
<b>Totalt</b>	<b>235</b>	<b>100</b>



Her ligger hele 76% av pasientene i kategori 0, og ingen pasienter er plassert i kategori 4.

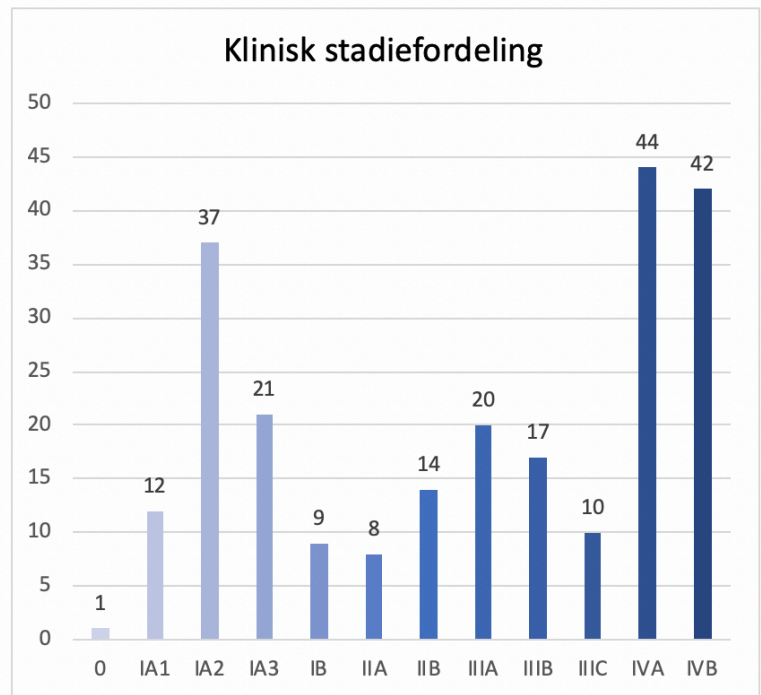
Dataene for «performance status» er basert på ECOG-status der disse dataene foreligger. Der ECOG-status eller PS-status ikke er oppgitt i pasientjournal, har tallene blitt basert på hvorvidt pasienten kommer gående til undersøkelse, hvorvidt pasienten trenger offentlig hjelp eller bruker hjelpemidler hjemme. Det er altså en viss personlig tolkning med i bildet, og her ligger det dermed en viss usikkerhet i den faktiske PS-statusen.

Oversikt over klinisk stadielinndeling er lagt ved i tabell 14 og 15. Her fordeler pasientene seg relativt jevnt i de øvre og nedre sjiktene. Pasientene med stadium I utgjør 33.8% (ikke inkludert Tis). Ved de mest avanserte stadiumene IVA og IVB, er henholdsvis 44 og 42

pasienter diagnostisert. Tilsammen utgjør pasientene med avansert stadium med fjernmetastaser 36.8% av pasientene.

Tabell 14: Oversikt over stadieinndeling

Klinisk stadium	Frekvens	Prosent, %
0*	1	0.4
IA1	12	5.1
IA2	37	15.7
IA3	21	8.9
IB	9	3.8
IIA	8	3.4
IIB	14	6.0
IIIA	20	8.5
IIIB	17	7.2
IIIC	10	4.3
IVA	44	18.7
IVB	42	17.9
<b>Totalt</b>	<b>235</b>	<b>100</b>



\*pasient fikk histologisk diagnostisert Carcinoma in situ (Tis), og fikk klinisk stadium 0

Tabell 15: Oversikt over hovedklasser for stadieinndeling

Klinisk stadium	Frekvens	Prosent, %
<b>Stadium I</b>	79	33.8
<b>Stadium II</b>	22	9.4%
<b>Stadium III</b>	47	20.1
<b>Stadium IV</b>	86	36.8

## 3.2 Genetiske funn

### 3.2.1 Overordnet

Mutasjonene undersøkt og som gjennomgås her er for genene *EGFR*, *ALK*, *BRAF*, *KRAS* og *NRAS*. Av de 235 pasientene var det 120 som hadde mutasjon i noen av de undersøkte genene. Det betyr at over halvparten av pasientene hadde mutasjon i et av genene (51%).

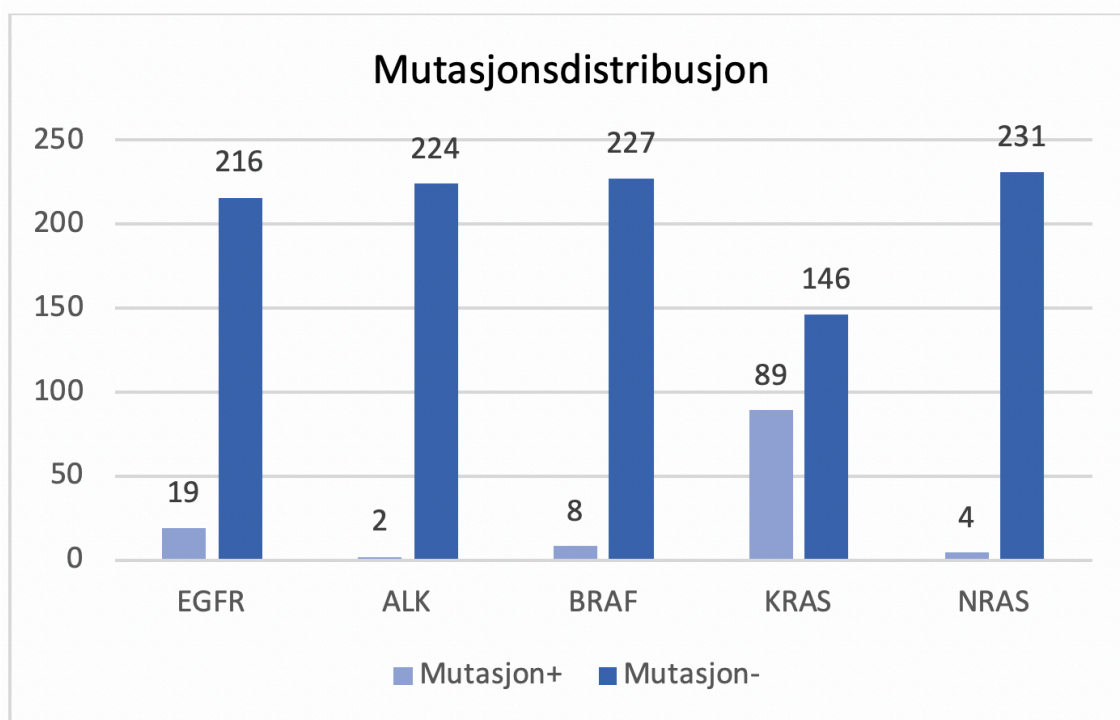
8.1% av pasientene hadde aktiv mutasjon i *EGFR*. Av pasientene som var undersøkt for rearrangering i *ALK*-genet hadde i underkant av 1% av pasientene mutasjon (9 pasienter var ikke undersøkt). Videre var det 3.4% med *BRAF*-mutasjon. Hele 37,8% av pasientene hadde *KRAS*-mutasjon, og 1.7% med *NRAS*-mutasjon. Nedenfor ligger tabelloversikt over mutasjonsdistribusjonen blant pasientene med og uten mutasjon. Hver enkelt mutasjon vil gjennomgås ytterligere, og sammenlignes med tall fra tabellen til Pikor et. al (67) sin oversikt over hyppigheten til de ulike mutasjonene. Av komutasjoner var det to av pasientene som hadde mutasjon i flere gen, én pasient med samtidig *ALK*-rearrangering og *NRAS*-mutasjon, og en annen pasient hadde både *KRAS*-mutasjon og *BRAF*-mutasjon. I tillegg hadde fem av pasientene med *EGFR*-mutasjon dobbeltmutasjon i gen for *EGFR*.

Tabell 16: Oversikt over mutasjoner i pasientkohorten

	Antall pasienter med aktiverende mutasjon	Antall pasienter uten aktiverende	Prosent,%	Prosent, % pikor et. Al (66)
<b>EGFR</b>	19	216	8.1	10-15%
<b>ALK</b>	2	224*	0.9	4-6%
<b>BRAF</b>	8	227	3.4	1-3%
<b>KRAS</b>	89	146	37.8	21%
<b>NRAS</b>	4	231	1.7	-

\*9 pasienter var ikke undersøkt for *ALK*-rearrangering





Figur 8: Mutasjonsdistribusjon i vår pasientpopulasjon\*

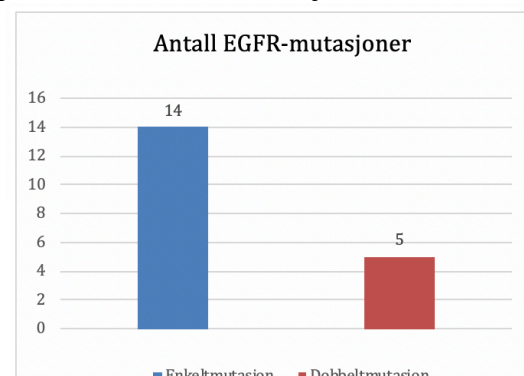
\*to pasienter hadde komutasjoner og er derfor inkludert i begge søylene der mutasjonene foreligger

### 3.2.2 EGFR

Totalt 19 pasienter inkludert hadde aktiv mutasjon i *EGFR*. Dette utgjør 8.1% som vist i tabell 16. Av disse var det varierende type *EGFR*-mutasjon tilstede. Fem pasienter hadde to aktiverende mutasjoner i *EGFR*, der en av pasientene hadde ulik *EGFR*-mutasjon i primærtumor og i en metastase. Dette er en lavere mutasjonsrate enn funnet i internasjonal litteratur hvor man finner *EGFR*-mutasjon i opptil 10-15 % av ADC tumores.

#### 3.2.2.1 Fordeling av mutasjoner

Av de 19 pasientene med aktiverende mutasjon i *EGFR*-genet ble det registrert 15 unike mutasjoner. Fjorten pasienter hadde én mutasjon registrert, fem pasienter hadde to mutasjoner som tilsvarer 24 *EGFR*-mutasjoner til sammen fordelt på 19 pasienter. En av pasientene registrert med dobbeltmutasjon hadde en type mutasjon i primærtumor og en annen type i en metastase. Den hyppigste mutasjonen i vårt pasientsett var *EGFR*-mutasjonen Leu858Arg. Denne mutasjonen ble funnet hos 7 pasienter som utgjør omtrent 37% av pasientene med *EGFR*-



Figur 9: Oversikt over antall *EGFR*-mutasjoner

mutasjon i NSCLC (40-45%)(138). Den nest hyppigste mutasjonen i vårt datasett var *Glu746\_Ala750del* som ble funnet hos 4 pasienter. 11 ulike mutasjoner var kun registrert på en enkelt pasient, enten som enkeltmutasjon eller i kombinasjon med en annen mutasjon i *EGFR*-genet.

Tabell 17: Tabell over type *EGFR*-mutasjoner

Type mutasjon	Antall mutasjoner	Prosent (per pasient)
Leu858Arg	7	36.8%
Glu746_Ala750del	4	15.7%
Ser768_Asp770dup	2	10.5%
Andre enkeltmutasjoner	11	5.2%

### 3.2.3 *ALK*

Ved undersøkelse av *ALK*-genet var det i underkant av 1% som var positive for *ALK*-rearrangering i vårt materiale (tabell 16). Internasjonal litteratur rapporterer om en frekvens på 4-6% hyppighet. Det ble funnet én pasient med både translokasjon i *ALK*-genet og samtidig *NRAS*-mutasjon. I tillegg var 9 pasienter ikke undersøkt for *ALK*-genet.

### 3.2.4 *BRAF*

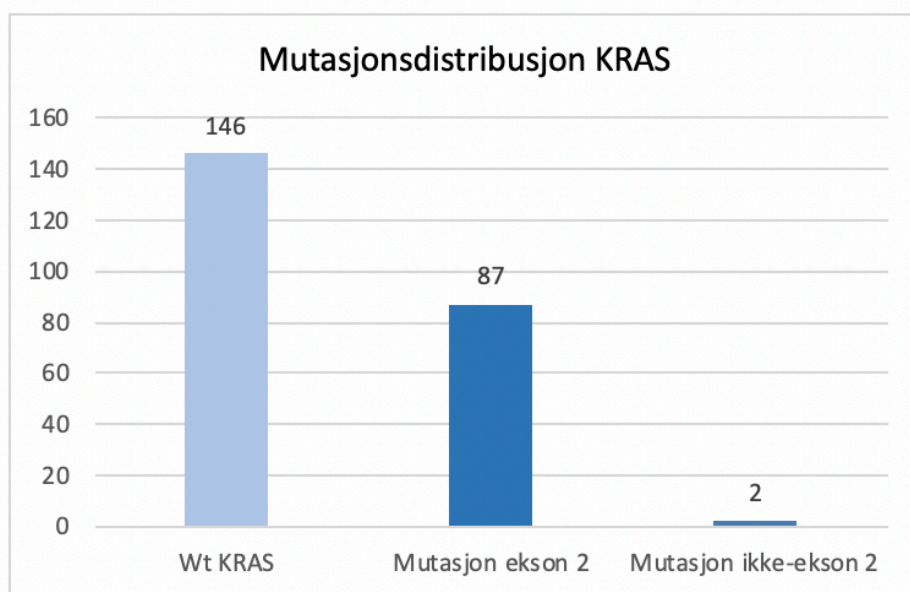
Totalt 8 pasienter var positive for *BRAF*-mutasjon. Dette tilsvarer en mutasjonsrate på 3.4% (tabell 16). Dette resultatet er i tråd med annen litteratur (67), om ikke litt høyere, hvor *BRAF* er rapportert i 1-3% av tilfellene i NSCLC. En av pasientene med registrert *BRAF*-mutasjon hadde også *KRAS*-mutasjon.

### 3.2.5 *KRAS*

Tabell 18: *KRAS*-mutasjonsdistribusjon

	Frekvens	Prosent, %
Wt <i>KRAS</i>	146	62.1
mutasjon ekson 2	87	37
Mutasjon ikke-ekson 2	2	0.9

I vårt datasett har 89 pasienter *KRAS*-mutasjon. 87 av disse har mutasjon i ekson 2, og de resterende 2 pasienter har mutasjon i ekson 61. Dette tilsvarer en mutasjonsrate på 37.8%. Dette er høyere enn tidligere rapportert litteratur, hvor Pikor et.al opplyser om en mutasjonsrate på 21% (67) og annen litteratur nevnt tidligere mellom 20-25% (80).



Figur 10: *KRAS*-mutasjonsdistribusjon

### 3.2.5.1 Oversikt av type *KRAS*-mutasjoner

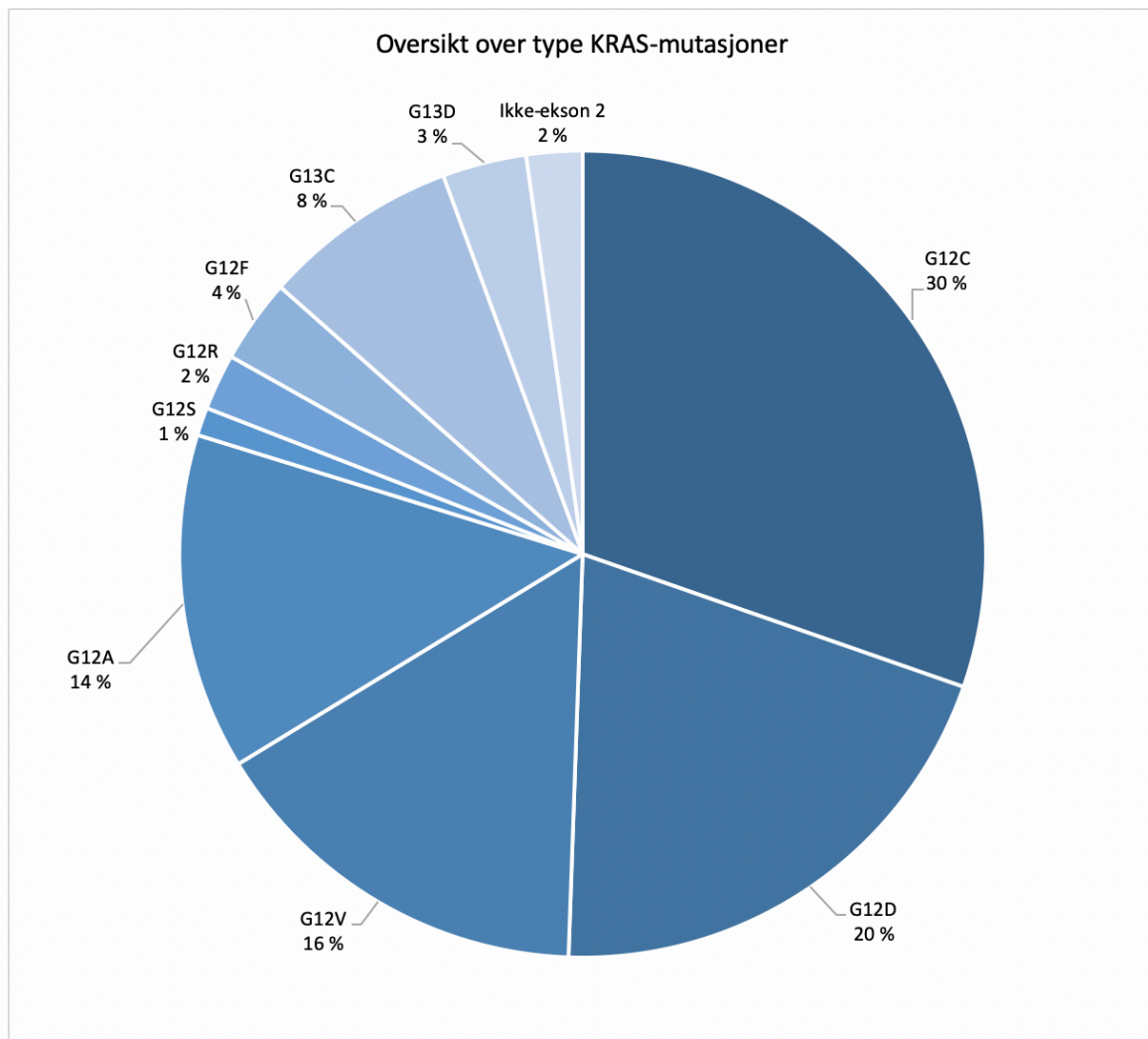
Totalt registrerte vi 11 forskjellige typer *KRAS*-mutasjoner i vårt datasett. Syv av disse lå på kodon 12, to på kodon 13 på ekson 2 og to på kodon 61 på ekson 3. Den mest vanlige mutasjonen var Gly12Cys (G12C). Vi registrerte 27 G12C-mutasjoner, som utgjør en prosentandel på 30% av de med *KRAS*-mutasjon. Dette er litt lavere enn tidligere publisert litteratur som rapporterer G12C i 40% av *KRAS*-mutasjoner (80). Den vanligste mutasjonsmekanismen til G12C var via en missense mutasjon (c.34G>T) som fører til en substitusjon av glycin til cystein. Den nest vanligste mutasjon i vårt datasett var *KRAS* Gly12Asp (G12D) med en prosentandel på 20% av *KRAS*-mutasjoner, annen litteratur rapporterer G12D i 17-18% av *KRAS*-mutasjoner. Her også en missense-mutasjon som fører til en substitusjon av glycin til aspartat. 16% av pasientene med *KRAS*-mutasjon hadde G12V, hvor glycin substitueres med valin, og er derfor den tredje vanligste *KRAS*-mutasjonen i vårt datasett. Dette er litt under det som tidligere litteratur rapporterer med en frekvens på 18-20%,

og utgjør derfor den nest vanligste *KRAS*-mutasjonen etter G12C globalt (80). *KRAS* Gly12Ala (G12A) er den fjerde hyppigste muterte formen for *KRAS*, som stemmer overens med hyppigheten funnet ellers. Forskjellen i vårt datasett er dermed at G12D har opptrådd hyppigere enn G12V.

De mer sjeldne variantene av *KRAS*-mutasjoner er rapportert i utallige forskjellige frekvenser og er vanskeligere å sammenligne konkrete tall med. Den vanligste mutasjonen i vårt datasett på kodon 13, ekson 2, var Gly13Cys (G13C), med en frekvens på nesten 8% av de med *KRAS*-mutasjon. Pasientene som hadde mutasjon på kodon 61 på ekson 3 utgjorde 2% av dem med *KRAS*-mutasjon. Under er det lagt oversikt over hvilke typer mutasjoner som opptrer i vårt datasett.

Tabell 19: Undertyper av *KRAS*-mutasjoner

Type <i>KRAS</i> -mutasjon	Forkortelse	Frekvens	Prosent av <i>KRAS</i> -mutasjon, %
Gly12Cys	G12C	27	30.3
Gly12Asp	G12D	18	20.2
Gly12Val	G12V	14	15.8
Gly12Ala	G12A	12	13.5
Gly12Ser	G12S	1	1.1
Gly12Arg	G12R	2	2.2
Gly12Phe	G12F	3	3.4
Gly13Cys	G13C	7	7.8
Gly13Asp	G13D	3	3.4
Ikke-ekson 2	-	2	2.2



Figur 11: Fordeling av subtyper ved KRAS-mutasjoner

### 3.2.5.2 NRAS

Mutasjon i *NRAS* ble registrert hos 4 pasienter i vårt datasett som tilsvarer 1.7% (tabell 16). Dette er i det øvre sjiktet av frekvensen *NRAS*-mutasjoner som er rapportert (0.6-2%) (90). I tillegg hadde én av pasientene med *NRAS*-mutasjon samtidig rearrangering i *ALK*-genet.

### 3.3 Kliniske karakteristika og mutasjonsdistribusjon

Slik som tidligere nevnt har man i litteraturen funnet relativt sterke forskjeller mellom ulike kliniske karakteristika og hvilke mutasjonsprofil pasientene innehar. Her har vi sett på ulike faktorer som røykeanamnese, kjønn, alder og stadieinndeling for å se om det foreligger forskjeller i mutasjonsdistribusjon hos ulike subgrupper i vår pasientpopulasjon.

#### 3.3.1 Mutasjonsdistribusjon og røyking

Tidligere har man observert en tydelig forskjell i hvilke mutasjoner som opptrer hos aldri røykere, og tidligere røykere og nåværende røykere. Denne forskjellen går ut på at røykere har hyppigere mutasjonsrate i bl.a *KRAS*, *BRAF* og *TP53*, og ikke-røykere har hyppigere mutasjon i bl.a *EGFR*, *ALK*- og *ROS1* translokasjoner (5).

Ved bruk av kjiqvadrattest har vi sett om det er et forhold mellom de mutasjonsfrekvensene vi har observert og sammenlignet dem med forventet observerte frekvenser gitt at det var tilfeldig fordeling mellom gruppene. Her ser vi en signifikant forskjell mellom positiv røykeanamnese og *KRAS*-mutasjon ( $p=0.002$ ), og motsatt ved negativ røykeanamnese og *EGFR*-mutasjon ( $p=0.000$ ). Ved *KRAS*-mutasjon og positiv røykeanamnese finner vi en lav grad av assosiasjon (Cramers  $V=0.231$ ), som sier oss at det finnes en assosiasjon men den er ikke så stor. Assosiasjonen mellom *EGFR* og negativ røykeanamnese er derimot større (Cramers  $V = 0.485$ ) hvor assosiasjonen kan sies å være moderat. Ved undersøkelse av røykeanamnese og de andre mutasjonene *BRAF*, *NRAS* og *ALK* finner vi ingen assosiasjon (*BRAF*  $p=0.07$ , *NRAS*  $p=0.465$ , *ALK*  $p = 0.915$ ).

Tabell 21: Kjiqvadratfordeling mellom *KRAS*-mutasjon og røykeanamnese

	Aldri røyker	Tidligere røyker	Røyker	Totalt
<b>Wt</b>	19	65	62	146
Forventet verdi	11.9	68.0	66.1	146
<b>KRAS-mutasjon</b>	0	45	44	88
Forventet verdi	7.1	41	39.9	88
<b>Totalt</b>	19	109	106	234

Pearson chi-square signifikant  $p= 0.002$  og Cramers  $V = 0.231$

Tabell 23: Kjikvadratfordeling mellom EGFR-mutasjon og røykeanamnese

	Aldri røyker	Tidligere røyker	Røyker	Totalt
<b>Wt</b>	9	104	102	215
Forventet verdi	17.5	100.1	97.4	215
<b>EGFR</b>	10	5	4	19
Forventet verdi	1.5	8.9	8.6	19
<b>Totalt</b>	19	109	106	234

Pearson chi-square signifikant  $p=0.000$  og Cramers  $V=0.485$

### 3.3.2 Mutasjonsdistribusjon undersøkt ved kjønn og alder

Ved undersøkelse av kjønn og de ulike mutasjonene finner vi ingen eller lite sammenheng. *EGFR* har tidligere blitt rapportert hyppigere mutert hos kvinner (99), og vi kan se samme trend i vårt datamateriale, men ingen signifikant assosiasjon ( $p=0.083$ ). Ved mutasjonene *KRAS*, *NRAS* og *ALK* ser vi ingen sammenheng med kjønn ( $p=0.409$ ,  $p=0.979$ ,  $p=0.170$ ).

I tillegg ble det undersøkt om mutasjonsdistribusjonen var assosiert med alder på diagnosetidspunkt. Her ble det forsøkt å gruppere pasientene inn i mange kategoriinndelinger for alder og se om det fantes noen assosiasjon ved noen av dem. Ved samtlige undergrupper av alder fantes det ingen signifikante assosiasjoner mellom alder på diagnosetidspunkt og mutasjonsfrekvens. For å illustrere har det blitt lagt ved en tabell for aldersgruppene over og under 65 år ved diagnosetidspunkt, hvor det ei fantes en assosiasjon når undersøkt for *EGFR* og *KRAS* som er hyppigst mutert i vårt datasett (*KRAS*  $p=0.468$ , *EGFR*  $p=0.570$ ).

Tabell 20: Frekvenstabell for aldersgruppene over og under 65 år

Aldersgruppe	Frekvens	Prosent	P-verdi (kjikvadrat)
40-64	73	31.1	KRAS $p=0.468$ EGFR $p=0.570$
65-85	159	68.9	

### 3.3.3 Mutasjonsdistribusjon og stadieinndeling

I tillegg ble det undersøkt om det var en assosiasjon mellom mutasjonsstatus og hvilket TNM-stadium pasienten hadde ved diagnosetidspunkt. Ingen assosiasjon ble funnet hverken mellom hovedgruppene stadium I,II, III og IV, eller når gruppene var fordelt mellom lokal sykdom (stadium I,II,III) og sykdom med fjernmetastaser (stadium IV), hvor signifikansverdien ved *KRAS* lå på  $p=0.188$  og *EGFR*  $p=0.614$ .



Tabell 21: Frekvenstabell for klinisk stadium ved lokal sykdom vs fjermetastaser

Klinisk stadium	Frekvens	Prosent	P-verdi (kjiqvadrat)
I,II,III	148	63	KRAS p=0.188 EGFR p=0.614
IV	86	36.6	

## 4 Diskusjon og konklusjon

### 4.1.1 Hovedfunn i oppgaven

Vårt datamateriale består av 235 inkluderte pasienter diagnostisert med NSCLC ved UNN Tromsø fra mars 2017 til juli 2019. Vi fant at kjønnsfordelingen var jevn. Pasientene var eldre og aldersfordelingen varierte fra 40 år til 85 år ved diagnosetidspunkt, hvor gjennomsnittsalder var 68 år (median 69, modus 72). Pasientenes røykehistorikk lå på 8% aldri-røykere, 46% tidligere røykere og 45% nåværende røykere. PS-status var svært forskjøvet mot god funksjon, hvor hele 76% lå i kategorien 0 tilsvarende at pasientene er i stand til å utføre enhver normal aktivitet uten begrensning. Stadieinndeling ved diagnosetidspunkt hadde relativt mange pasienter på ytterkantene, med flest pasienter i stadium I og IV (hhv. 33.8% og 36.8%).

Over halvparten av pasientene inkludert hadde mutasjon i et eller flere gener undersøkt (51%). Den hyppigste mutasjonen var i *KRAS* hvor hele 37.7% av pasientpopulasjonen hadde aktiv mutasjon. Den vanligste undergruppen av *KRAS*-mutasjon var G12C som sto for 30% av *KRAS*-mutasjoner. Nest vanligste mutasjon var i *EGFR*-genet som 8.1% av pasientene hadde, der 26% av pasientene med *EGFR*-mutasjon hadde registrert dobbeltmutasjon. Det var færre mutasjoner registrert i *BRAF*, *NRAS* og *ALK* med hhv 3.4%, 1.7% og 0.9% av pasientene. Det var to pasienter som hadde komutasjoner, en pasient med registrert *ALK*-rearrangering og *NRAS* mutasjon, og en annen med både mutasjon i *KRAS* og *BRAF*.

Vi fant en lav grad av assosiasjon mellom *KRAS* og positiv røykeanamnese ( $p=0.002$ ), og en moderat grad av assosiasjon mellom negativ røykeanamnese og *EGFR*-mutasjon ( $p=0.000$ ). Vi fant ingen assosiasjon mellom mutasjonsdistribusjon og kjønn, alder eller stadieinndeling.

### 4.1.2 Sterke og svake sider

Opgavens styrke ligger i pasientpopulasjonens antall og sikkerheten knyttet til metoden for å finne mutasjonsstatus. Vi startet med 320 pasienter og ekskluderte 85 av disse basert på ulike relevante eksklusjonskriterier. Ved hjelp av 235 pasienter registrerte vi nok mutasjoner til å



kunne med en viss grad av sikkerhet si noe om mutasjonsdistribusjonen hos NSCLC-pasienter ved UNN Tromsø (kanskje med unntak av *ALK* som kun hadde 2 registrerte rearrangeringer). Mutasjonene ble fanget opp ved hjelp av NGS, som er en svært sikker metode for mutasjonsanalyser. Pasientpopulasjonen vår befinner seg i Nord-Norge, og vi kan derfor kun si noe om pasienter i dette geografiske området. Oppgaven kunne vært ytterligere styrket ved å ha en større pasientpopulasjon og undersøke mutasjonsdistribusjon i hele Norge.

Av områder som kunne vært forbedret er det verdt å nevne performance status. Der ligger det en usikkerhet grunnet den subjektive vurderingen gjort ved datainnsamling. Dette var fordi det ikke alltid forelå ECOG-status eller annen form for PS-status i journal. Hvis det skulle utføres på nytt ville det med fordel blitt laget en mer systematisk kriterieinndeling for de ulike PS-gradene ved å på forhånd kategorisere funksjonsstatus, hjelpemidler eller offentlig hjelp inn i ett system. I denne oppgaven ble det gjort mer basert på skjønn og hva som kunne deduseres ut i fra ulike journalnotater.

I denne oppgaven har man kun sett på mutasjoner i sammenheng med pasientens kliniske data ved diagnosetidspunkt. Dette gjør at vi ikke kan utføre overlevelsesanalyser og si noe om hvorvidt det finnes en forskjell i overlevelse og mutasjonsstatus. Oppgaven hadde blitt styrket om disse dataene forelå og om man derfor kunne kommentert hvorvidt utvikling av ulike behandlingsalternativer burde prioriteres. Selv om det å vise prognostisk verdi peker på effekt av legemidler rettet mot den aktuelle mutasjonen (prediktiv verdi).

### **4.1.3 Fortolkning av resultatene**

Mutasjonsdistribusjonen i vårt datasett devierer litt med andre tall i litteraturen. Her sammenlignes tallene fra vår oppgave i hovedsak med tallene fra oversiktsartikkelen til Pikor et.al (67). Av tallene som viker mest har vi funnet en relativ lav frekvens av *EGFR*-mutasjoner, vår 8.1% mot internasjonalt 10-15% i AD. Det er ikke lett å si hva dette skyldes, men kanskje er røykestatus en del av forklaringen. *EGFR*-positiv NSCLC er assosiert med negativ røykeanamnese, og i vårt datasett er kun 8% av pasientene aldri-røykere. *ALK*-rearrangering i vårt datasett ble registrert hos 0.9% av pasientene. I annen litteratur er det rapportert hos 4-6% (67) og 4-5% (121) av NSCLC og våre data har derfor en betydelig lavere frekvens. *ALK*-rearrangering er også assosiert med negativ røykeanamnese (123), og våre lave frekvenser kan på samme måte som *EGFR*, muligens forklares av den lave andelen av aldri-røykere.

*KRAS* mutasjon er på den andre siden betraktelig høyere enn hva andre har funnet. Her har vi funnet 37.8% *KRAS*-positive pasienter sammenlignet med andre review-artikler (hhv 21% (67) og 20-25% (80)). Dette kan muligens også forklares delvis ved røykeanamnese da *KRAS*-mutert NSCLC er assosiert med positiv røykeanamnese, en assosiasjon vi også fant. Det kan også forklares av ukjente markører eller konfunderende faktorer vi ikke er bevisst på. I den nasjonale kartleggingen publisert av Wahl et al., 2021 ble *KRAS*-mutasjon oppdaget hos 38% av pasientene og G12C-mutasjon sto for 17% av mutasjonene (133) som er noe lavere enn i våre data alene.

Av de resterende mutasjonene *BRAF* og *NRAS* har vi funnet relativ lik mutasjonsfrekvens som tidligere litteratur. *BRAF* frekvensen er rapportert i 1-3% i ADC hos pikor.et.al (67) og 2-4% hos Baik et.al (107), hvor vi fant et frekvens på 3.4%. *NRAS*-mutasjon ble registrert i 1.7% av pasientene våre. Denne mutasjonsformen er rapportert i alt fra 0.6-2% av NSCLC-tilfeller (90-92) og våre resultater ligger derfor i øvre sjikt. Da både *BRAF*-mutert og *NRAS*-mutert NSCLC er assosiert med positiv røykeanamnese (90, 108) kan dette bidra til forklaringen av den høye frekvensen, selv om vi ikke fant denne assosiasjonen i vårt datasett.

#### **4.1.4 Implikasjon og konklusjon**

Vi har i denne oppgaven funnet mutasjonsdistribusjonen i noen av de vanligste onkogenene hos pasienter diagnostisert ved UNN Tromsø. De viktigste implikasjonene som våre funn gir oss er å kunne vurdere hvor mange som kan ha bruk for nye behandlingsformer for målrettet behandling. I dag finnes det målrettet behandling for EGFR, BRAF og translokasjonene ALK og ROS1. Disse pasientene får i dag tilbud om målrettet terapi. Dette er likevel av de mutasjonsformene som har lavest frekvens. Av det hyppigst muterte genet, *KRAS* mangler fremdeles godkjent målrettet terapi. Det er likevel knyttet stor spenning til legemidler som har vist god effekt i kliniske studier ved G12C *KRAS*-mutasjon. Trenden med økt tilgjengelighet av målrettet behandling og individuelt tilpasset kreftterapi fortsetter og kommer trolig til å bli en enda viktigere i fremtiden. Med våre data kan vi med sikkerhet si at det finnes et stort pasientgrunnlag som vil ha nytte av tilbud om målrettet behandling, særlig for *KRAS*-mutert NSCLC. Av undergrupper *KRAS*-mutasjon vil det være viktigst å se på muligheten for *KRAS* G12C som er under utvikling, da dette er den hyppigste muterte formen for *KRAS*. Da lungekreft fortsatt er kreftformen som tar flest liv i Norge er det viktig å utforske og videreutvikle nye behandlingsmuligheter for pasienter med NSCLC slik at overlevelsesraten kan forbedres.

## Referanseliste

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2019;69(1):7-34.
2. Brustugun OT, Møller B, Helland A. Years of life lost as a measure of cancer burden on a national level. *British journal of cancer*. 2014;111(5):1014-20.
3. Nasim F, Sabath BF, Eapen GA. Lung Cancer. *Med Clin North Am*. 2019;103(3):463-73.
4. Goldstraw P, Ball D, Jett JR, Le Chevalier T, Lim E, Nicholson AG, et al. Non-small-cell lung cancer. *Lancet*. 2011;378(9804):1727-40.
5. Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature*. 2018;553(7689):446-54.
6. Krefregisteret. Cancer in Norway 2017. 2018. Available from: [www.krefregisteret.no](http://www.krefregisteret.no).
7. Helsedirektoratet. Nasjonalt handlingsprogram med retningslinjer for diagnostikk, behandling og oppfølging av lungekreft, mesoteliom og thymom. 2020. Available from: [www.helsedirektoratet.no](http://www.helsedirektoratet.no).
8. Sagerup CM, Småstuen M, Johannesen TB, Helland Å, Brustugun OT. Sex-specific trends in lung cancer incidence and survival: a population study of 40,118 cases. *Thorax*. 2011;66(4):301-7.
9. Brustugun OT, Grønberg BH, Fjellbirkeland L, Helbekkmo N, Aanerud M, Grimrud TK, et al. Substantial nation-wide improvement in lung cancer relative survival in Norway from 2000 to 2016. *Lung Cancer*. 2018;122:138-45.
10. Spitz MR, Wei Q, Dong Q, Amos CI, Wu X. Genetic susceptibility to lung cancer: the role of DNA damage and repair. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003;12(8):689-98.
11. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med*. 2008;359(13):1367-80.
12. Haldorsen T, Andersen A, Boffetta P. Smoking-adjusted incidence of lung cancer by occupation among Norwegian men. *Cancer Causes Control*. 2004;15(2):139-47.
13. Mairinger T. [Histology, cytology and molecular diagnostics of lung cancer]. *Pathologe*. 2019;40(6):649-61.
14. Bernhardt EB, Jalal SI. Small Cell Lung Cancer. *Cancer Treat Res*. 2016;170:301-22.
15. Travis WD. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. *Mod Pathol*. 2012;25 Suppl 1:S18-30.
16. Chalela R, Curull V, Enríquez C, Pijuan L, Bellosillo B, Gea J. Lung adenocarcinoma: from molecular basis to genome-guided therapy and immunotherapy. *J Thorac Dis*. 2017;9(7):2142-58.
17. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *Journal of Thoracic Oncology*. 2015;10(9):1243-60.
18. Myers DJ, Wallen JM. Cancer, Lung Adenocarcinoma. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.

19. Thunnissen E. Pulmonary adenocarcinoma histology. *Transl Lung Cancer Res.* 2012;1(4):276-9.
20. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2011;6(2):244-85.
21. Sun S, Schiller JH, Gazdar AF. Lung cancer in never smokers--a different disease. *Nat Rev Cancer.* 2007;7(10):778-90.
22. Russell PA, Wainer Z, Wright GM, Daniels M, Conron M, Williams RA. Does lung adenocarcinoma subtype predict patient survival?: A clinicopathologic study based on the new International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification. *J Thorac Oncol.* 2011;6(9):1496-504.
23. Zheng M. Classification and Pathology of Lung Cancer. *Surgical Oncology Clinics.* 2016;25(3):447-68.
24. Beckles MA, Spiro SG, Colice GL, Rudd RM. Initial evaluation of the patient with lung cancer: symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes. *Chest.* 2003;123(1 Suppl):97s-104s.
25. Collins LG, Haines C, Perkel R, Enck RE. Lung cancer: diagnosis and management. *Am Fam Physician.* 2007;75(1):56-63.
26. Paulson DL. Carcinomas in the superior pulmonary sulcus. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1975;70(6):1095-104.
27. Wudel LJ, Jr., Nesbitt JC. Superior vena cava syndrome. *Curr Treat Options Oncol.* 2001;2(1):77-91.
28. Merchut MP. Brain metastases from undiagnosed systemic neoplasms. *Arch Intern Med.* 1989;149(5):1076-80.
29. Hauber HP. [Paraneoplastic syndromes in lung cancer]. *Pneumologie.* 2011;65(6):347-58.
30. Anwar A, Jafri F, Ashraf S, Jafri MAS, Fanucchi M. Paraneoplastic syndromes in lung cancer and their management. *Ann Transl Med.* 2019;7(15):359-.
31. Silvestri GA, Gonzalez AV, Jantz MA, Margolis ML, Gould MK, Tanoue LT, et al. Methods for staging non-small cell lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2013;143(5 Suppl):e211S-e50S.
32. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, Arcila ME, Beasley MB, Bernicker EH, et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(3):321-46.
33. Jonna S, Subramaniam DS. Molecular diagnostics and targeted therapies in non-small cell lung cancer (NSCLC): an update. *Discov Med.* 2019;27(148):167-70.
34. Dietel M, Bubendorf L, Dingemans AM, Doooms C, Elmberger G, García RC, et al. Diagnostic procedures for non-small-cell lung cancer (NSCLC): recommendations of the European Expert Group. *Thorax.* 2016;71(2):177-84.
35. Angulo B, Conde E, Suárez-Gauthier A, Plaza C, Martínez R, Redondo P, et al. A comparison of EGFR mutation testing methods in lung carcinoma: direct sequencing, real-time PCR and immunohistochemistry. *PLoS One.* 2012;7(8):e43842.
36. Ellison G, Zhu G, Moulis A, Dearden S, Speake G, McCormack R. EGFR mutation testing in lung cancer: a review of available methods and their use for analysis of tumour tissue and cytology samples. *J Clin Pathol.* 2013;66(2):79-89.

37. Brody R, Zhang Y, Ballas M, Siddiqui MK, Gupta P, Barker C, et al. PD-L1 expression in advanced NSCLC: Insights into risk stratification and treatment selection from a systematic literature review. *Lung Cancer*. 2017;112:200-15.
38. Schneider J. Tumor markers in detection of lung cancer. *Adv Clin Chem*. 2006;42:1-41.
39. Kawaguchi T, Takada M, Kubo A, Matsumura A, Fukai S, Tamura A, et al. Performance status and smoking status are independent favorable prognostic factors for survival in non-small cell lung cancer: a comprehensive analysis of 26,957 patients with NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2010;5(5):620-30.
40. Manser R, Lethaby A, Irving LB, Stone C, Byrnes G, Abramson MJ, et al. Screening for lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;2013(6):Cd001991.
41. Aberle DR, Adams AM, Berg CD, Black WC, Clapp JD, Fagerstrom RM, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med*. 2011;365(5):395-409.
42. de Koning HJ, van der Aalst CM, de Jong PA, Scholten ET, Nackaerts K, Heuvelmans MA, et al. Reduced Lung-Cancer Mortality with Volume CT Screening in a Randomized Trial. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(6):503-13.
43. Klepp O. TNM-klassifisering Store medisinske leksikon 2019 [updated 12.november 2019 7.mai 2020]. Available from: <https://sml.snl.no/TNM-klassifisering>.
44. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta R, Asamura H, Eberhardt WE, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2016;11(1):39-51.
45. Detterbeck FC, Boffa DJ, Kim AW, Tanoue LT. The Eighth Edition Lung Cancer Stage Classification. *Chest*. 2017;151(1):193-203.
46. Lim W, Ridge CA, Nicholson AG, Mirsadraee S. The 8(th) lung cancer TNM classification and clinical staging system: review of the changes and clinical implications. *Quant Imaging Med Surg*. 2018;8(7):709-18.
47. Baser S, Shannon VR, Eapen GA, Jimenez CA, Onn A, Lin E, et al. Smoking cessation after diagnosis of lung cancer is associated with a beneficial effect on performance status. *Chest*. 2006;130(6):1784-90.
48. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2018;29(Suppl 4):iv192-iv237.
49. Hughes AN, O'Brien ME, Petty WJ, Chick JB, Rankin E, Woll PJ, et al. Overcoming CYP1A1/1A2 mediated induction of metabolism by escalating erlotinib dose in current smokers. *J Clin Oncol*. 2009;27(8):1220-6.
50. Rosen JE, Keshava HB, Yao X, Kim AW, Detterbeck FC, Boffa DJ. The Natural History of Operable Non-Small Cell Lung Cancer in the National Cancer Database. *Ann Thorac Surg*. 2016;101(5):1850-5.
51. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, Senan S, Waller DA, Vansteenkiste J, et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2017;28(suppl\_4):iv1-iv21.
52. Nagasaka M, Gadgeel SM. Role of chemotherapy and targeted therapy in early-stage non-small cell lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2018;18(1):63-70.
53. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group. *Bmj*. 1995;311(7010):899-909.
54. Barlindhaug SF, Gerdt R, Melbye H. Lungekreft: Norsk Elektronisk Legehåndbok; [updated 23 april 2019 8.mai 2020]. Available from:

<https://legehandboka.no/handboken/kliniske-kapitler/lunger/tilstander-og-sykdommer/svulster/lungekreft/>.

55. von Plessen C, Bergman B, Andresen O, Bremnes RM, Sundstrom S, Gilleryd M, et al. Palliative chemotherapy beyond three courses conveys no survival or consistent quality-of-life benefits in advanced non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2006;95(8):966-73.
56. Grønberg BH, Bremnes RM, Fløtten O, Amundsen T, Brunsvig PF, Hjelde HH, et al. Phase III study by the Norwegian lung cancer study group: pemetrexed plus carboplatin compared with gemcitabine plus carboplatin as first-line chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(19):3217-24.
57. Besse B, Adjei A, Baas P, Meldgaard P, Nicolson M, Paz-Ares L, et al. 2nd ESMO Consensus Conference on Lung Cancer: non-small-cell lung cancer first-line/second and further lines of treatment in advanced disease. *Ann Oncol*. 2014;25(8):1475-84.
58. Chan BA, Hughes BG. Targeted therapy for non-small cell lung cancer: current standards and the promise of the future. *Transl Lung Cancer Res*. 2015;4(1):36-54.
59. Bertram JS. The molecular biology of cancer. *Mol Aspects Med*. 2000;21(6):167-223.
60. Mackay TFC. Mutations and quantitative genetic variation: lessons from *Drosophila*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2010;365(1544):1229-39.
61. Alberts B. *Essential cell biology*. Fourth edition. ed. New York, NY: Garland Science; 2013. 1 volume (various pagings) p.
62. Lodish HF. *Molecular cell biology*. 4th ed. New York: W.H. Freeman; 2000. xxxvi, 1084, G-17, I-36 p. p.
63. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70.
64. Martincorena I, Campbell PJ. Somatic mutation in cancer and normal cells. *Science*. 2015;349(6255):1483-9.
65. Weinberg RA. How cancer arises. *Sci Am*. 1996;275(3):62-70.
66. Calvayrac O, Pradines A, Pons E, Mazieres J, Guibert N. Molecular biomarkers for lung adenocarcinoma. *Eur Respir J*. 2017;49(4).
67. Pikor LA, Ramnarine VR, Lam S, Lam WL. Genetic alterations defining NSCLC subtypes and their therapeutic implications. *Lung Cancer*. 2013;82(2):179-89.
68. Gainor JF, Varghese AM, Ou SH, Kabraji S, Awad MM, Katayama R, et al. ALK rearrangements are mutually exclusive with mutations in EGFR or KRAS: an analysis of 1,683 patients with non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(15):4273-81.
69. Sun S, Schiller JH, Gazdar AF. Lung cancer in never smokers — a different disease. *Nature Reviews Cancer*. 2007;7(10):778-90.
70. Vasan N, Boyer JL, Herbst RS. A RAS renaissance: emerging targeted therapies for KRAS-mutated non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2014;20(15):3921-30.
71. Adjei AA. Blocking oncogenic Ras signaling for cancer therapy. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93(14):1062-74.
72. Santarpia L, Lippman SM, El-Naggar AK. Targeting the MAPK–RAS–RAF signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2012;16(1):103-19.
73. Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(11):761-74.
74. Fernández-Medarde A, Santos E. Ras in cancer and developmental diseases. *Genes & cancer*. 2011;2(3):344-58.
75. Cox AD, Fesik SW, Kimmelman AC, Luo J, Der CJ. Drugging the undruggable RAS: Mission possible? *Nat Rev Drug Discov*. 2014;13(11):828-51.
76. Bos JL. ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res*. 1989;49(17):4682-9.
77. Garrido P, Olmedo ME, Gómez A, Paz Ares L, López-Ríos F, Rosa-Rosa JM, et al. Treating KRAS-mutant NSCLC: latest evidence and clinical consequences. *Ther Adv Med Oncol*. 2017;9(9):589-97.

78. Westcott PMK, To MD. The genetics and biology of KRAS in lung cancer. *Chin J Cancer*. 2013;32(2):63-70.
79. Prior IA, Lewis PD, Mattos C. A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. *Cancer research*. 2012;72(10):2457-67.
80. Ferrer I, Zugazagoitia J, Herbertz S, John W, Paz-Ares L, Schmid-Bindert G. KRAS-Mutant non-small cell lung cancer: From biology to therapy. *Lung Cancer*. 2018;124:53-64.
81. Riely GJ, Kris MG, Rosenbaum D, Marks J, Li A, Chitale DA, et al. Frequency and distinctive spectrum of KRAS mutations in never smokers with lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2008;14(18):5731-4.
82. Ihle NT, Byers LA, Kim ES, Saintigny P, Lee JJ, Blumenschein GR, et al. Effect of KRAS oncogene substitutions on protein behavior: implications for signaling and clinical outcome. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(3):228-39.
83. Nadal E, Chen G, Prensner JR, Shiratsuchi H, Sam C, Zhao L, et al. KRAS-G12C mutation is associated with poor outcome in surgically resected lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2014;9(10):1513-22.
84. Renaud S, Seitlinger J, Falcoz PE, Schaeffer M, Voegeli AC, Legrain M, et al. Specific KRAS amino acid substitutions and EGFR mutations predict site-specific recurrence and metastasis following non-small-cell lung cancer surgery. *Br J Cancer*. 2016;115(3):346-53.
85. Izar B, Zhou H, Heist RS, Azzoli CG, Muzikansky A, Scribner EE, et al. The prognostic impact of KRAS, its codon and amino acid specific mutations, on survival in resected stage I lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2014;9(9):1363-9.
86. Shepherd FA, Domerg C, Hainaut P, Jänne PA, Pignon JP, Graziano S, et al. Pooled analysis of the prognostic and predictive effects of KRAS mutation status and KRAS mutation subtype in early-stage resected non-small-cell lung cancer in four trials of adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2013;31(17):2173-81.
87. Seton-Rogers S. KRAS-G12C in the crosshairs. *Nature Reviews Cancer*. 2020;20(1):3-.
88. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, Price TJ, Falchook GS, Wolf J, et al. Sotorasib for Lung Cancers with KRAS p.G12C Mutation. *N Engl J Med*. 2021;384(25):2371-81.
89. Friedlaender A, Drilon A, Weiss GJ, Banna GL, Addeo A. KRAS as a druggable target in NSCLC: Rising like a phoenix after decades of development failures. *Cancer Treat Rev*. 2020;85:101978.
90. Ohashi K, Sequist LV, Arcila ME, Lovly CM, Chen X, Rudin CM, et al. Characteristics of lung cancers harboring NRAS mutations. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2013;19(9):2584-91.
91. Dang A-TH, Tran V-U, Tran T-T, Thi Pham H-A, Le D-T, Nguyen L, et al. Actionable Mutation Profiles of Non-Small Cell Lung Cancer patients from Vietnamese population. *Scientific Reports*. 2020;10(1):2707.
92. Jing C, Mao X, Wang Z, Sun K, Ma R, Wu J, et al. Next-generation sequencing-based detection of EGFR, KRAS, BRAF, NRAS, PIK3CA, Her-2 and TP53 mutations in patients with non-small cell lung cancer. *Mol Med Rep*. 2018;18(2):2191-7.
93. Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2004;59(2 Suppl):21-6.
94. Passaro A, Guerini-Rocco E, Pochesci A, Vacirca D, Spitaleri G, Catania CM, et al. Targeting EGFR T790M mutation in NSCLC: From biology to evaluation and treatment. *Pharmacol Res*. 2017;117:406-15.
95. Grigoriu B, Berghmans T, Meert AP. Management of EGFR mutated nonsmall cell lung carcinoma patients. *Eur Respir J*. 2015;45(4):1132-41.

96. Zhang Y-L, Yuan J-Q, Wang K-F, Fu X-H, Han X-R, Threapleton D, et al. The prevalence of EGFR mutation in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2016;7(48):78985-93.
97. Ricciardi GR, Russo A, Franchina T, Ferraro G, Zanghi M, Picone A, et al. NSCLC and HER2: between lights and shadows. *J Thorac Oncol*. 2014;9(12):1750-62.
98. Helland Å, Skaug HM, Kleinberg L, Iversen ML, Rud AK, Fleischer T, et al. EGFR gene alterations in a Norwegian cohort of lung cancer patients selected for surgery. *J Thorac Oncol*. 2011;6(5):947-50.
99. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004;304(5676):1497-500.
100. Lee DH. Treatments for EGFR-mutant non-small cell lung cancer (NSCLC): The road to a success, paved with failures. *Pharmacol Ther*. 2017;174:1-21.
101. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, 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(21):2129-39.
102. Diaz-Serrano A, Gella P, Jimenez E, Zugazagoitia J, Paz-Ares Rodriguez L. Targeting EGFR in Lung Cancer: Current Standards and Developments. *Drugs*. 2018;78(9):893-911.
103. Leonetti A, Facchinetti F, Rossi G, Minari R, Conti A, Friboulet L, et al. BRAF in non-small cell lung cancer (NSCLC): Pickaxing another brick in the wall. *Cancer Treat Rev*. 2018;66:82-94.
104. Papin C, Denouel-Galy A, Laugier D, Calothy G, Eychène A. Modulation of kinase activity and oncogenic properties by alternative splicing reveals a novel regulatory mechanism for B-Raf. *J Biol Chem*. 1998;273(38):24939-47.
105. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002;417(6892):949-54.
106. Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell*. 2004;116(6):855-67.
107. Baik CS, Myall NJ, Wakelee HA. Targeting BRAF-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer: From Molecular Profiling to Rationally Designed Therapy. *Oncologist*. 2017;22(7):786-96.
108. Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, Grazia Sciarrotta M, Guetti L, Chella A, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol*. 2011;29(26):3574-9.
109. Tissot C, Couraud S, Tanguy R, Bringuier PP, Girard N, Souquet PJ. Clinical characteristics and outcome of patients with lung cancer harboring BRAF mutations. *Lung Cancer*. 2016;91:23-8.
110. Warth A, Penzel R, Lindenmaier H, Brandt R, Stenzinger A, Herpel E, et al. EGFR, KRAS, BRAF and ALK gene alterations in lung adenocarcinomas: patient outcome, interplay with morphology and immunophenotype. *Eur Respir J*. 2014;43(3):872-83.
111. Barlesi F, Mazieres J, Merlio JP, Debieuvre D, Mosser J, Lena H, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet*. 2016;387(10026):1415-26.
112. Chan XY, Singh A, Osman N, Piva TJ. Role Played by Signalling Pathways in Overcoming BRAF Inhibitor Resistance in Melanoma. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7).
113. Hartwell L. Genetics: from genes to genomes. 4th ed., International ed. / Leland H. Hartwell ... [et al.]. ed. New York: McGraw-Hill; 2011.



114. de Klein A, van Kessel AG, Grosveld G, Bartram CR, Hagemeijer A, Bootsma D, et al. A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia. *Nature*. 1982;300(5894):765-7.
115. Kurzrock R, Gutterman JU, Talpaz M. The molecular genetics of Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med*. 1988;319(15):990-8.
116. Morris SW, Kirstein MN, Valentine MB, Dittmer KG, Shapiro DN, Saltman DL, et al. Fusion of a kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science (New York, NY)*. 1994;263(5151):1281-4.
117. Du X, Shao Y, Qin HF, Tai YH, Gao HJ. ALK-rearrangement in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Thorac Cancer*. 2018;9(4):423-30.
118. Iwahara T, Fujimoto J, Wen D, Cupples R, Bucay N, Arakawa T, et al. Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. *Oncogene*. 1997;14(4):439-49.
119. Palmer RH, Vernersson E, Grabbe C, Hallberg B. Anaplastic lymphoma kinase: signalling in development and disease. *Biochem J*. 2009;420(3):345-61.
120. Hallberg B, Palmer RH. Mechanistic insight into ALK receptor tyrosine kinase in human cancer biology. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(10):685-700.
121. Devarakonda S, Morgensztern D, Govindan R. Genomic alterations in lung adenocarcinoma. *Lancet Oncol*. 2015;16(7):e342-51.
122. Shaw AT, Engelman JA. ALK in lung cancer: past, present, and future. *J Clin Oncol*. 2013;31(8):1105-11.
123. Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, Digumarthy SR, Costa DB, Heist RS, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol*. 2009;27(26):4247-53.
124. McDermott U, Iafrate AJ, Gray NS, Shioda T, Classon M, Maheswaran S, et al. Genomic alterations of anaplastic lymphoma kinase may sensitize tumors to anaplastic lymphoma kinase inhibitors. *Cancer Res*. 2008;68(9):3389-95.
125. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(18):1693-703.
126. Golding B, Luu A, Jones R, Vitoria-Petit AM. The function and therapeutic targeting of anaplastic lymphoma kinase (ALK) in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Mol Cancer*. 2018;17(1):52.
127. Davies KD, Le AT, Theodoro MF, Skokan MC, Aisner DL, Berge EM, et al. Identifying and targeting ROS1 gene fusions in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;18(17):4570-9.
128. Birchmeier C, Sharma S, Wigler M. Expression and rearrangement of the ROS1 gene in human glioblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(24):9270-4.
129. Shaw AT, Ou S-HI, Bang Y-J, Camidge DR, Solomon BJ, Salgia R, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *The New England journal of medicine*. 2014;371(21):1963-71.
130. Gu TL, Deng X, Huang F, Tucker M, Crosby K, Rimkunas V, et al. Survey of tyrosine kinase signaling reveals ROS kinase fusions in human cholangiocarcinoma. *PLoS One*. 2011;6(1):e15640.
131. Gainor JF, Shaw AT. Novel targets in non-small cell lung cancer: ROS1 and RET fusions. *Oncologist*. 2013;18(7):865-75.
132. Bergethon K, Shaw AT, Ou S-HI, Katayama R, Lovly CM, McDonald NT, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2012;30(8):863-70.

133. Wahl SGF, Dai HY, Emdal EF, Berg T, Halvorsen TO, Ottestad AL, et al. The Prognostic Effect of KRAS Mutations in Non-Small Cell Lung Carcinoma Revisited: A Norwegian Multicentre Study. *Cancers (Basel)*. 2021;13(17).
134. Kumarakulasinghe NB, van Zanwijk N, Soo RA. Molecular targeted therapy in the treatment of advanced stage non-small cell lung cancer (NSCLC). *Respirology*. 2015;20(3):370-8.
135. Ricciuti B, Leonardi GC, Metro G, Grignani F, Paglialunga L, Bellezza G, et al. Targeting the KRAS variant for treatment of non-small cell lung cancer: potential therapeutic applications. *Expert Rev Respir Med*. 2016;10(1):53-68.
136. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2013;98(6):236-8.
137. Koboldt DC, Steinberg KM, Larson DE, Wilson RK, Mardis ER. The next-generation sequencing revolution and its impact on genomics. *Cell*. 2013;155(1):27-38.
138. Leduc C, Merlio JP, Besse B, Blons H, Debieuvre D, Bringuier PP, et al. Clinical and molecular characteristics of non-small-cell lung cancer (NSCLC) harboring EGFR mutation: results of the nationwide French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT) program. *Ann Oncol*. 2017;28(11):2715-24.

