



# HHS 公共访问

作者手稿

Cell 作者手稿; 可在PMC 2016年5月21日。

最后编辑出版的版本为:

Cell.2015年5月21日; 161 (5): 1215-1228.doi:10.1016/j.cell.2015.05.001.

## 晚期前列腺癌的临床基因组学整合研究

作者和所属机构的完整名单见文末。

### 摘要

为了开发转移性、耐阉割前列腺癌 (mCRPC) 的精准医学框架, 我们建立了一个多机构的临床测序基础设施, 对来自150个mCRPC受影响个体队列的骨或软组织肿瘤活检进行前瞻性的全外显子组和转录组测序。与原发性前列腺癌相比, *AR*、*ETS*基因、*TP53*和*PTEN*的畸变频繁发生 (40-60%的病例), 其中*TP53*和*AR*的改变在mCRPC中富集。我们发现*PIK3CA/B*、*R-spondin*、*BRAF/RAF1*、*APC*、 $\beta$ -catenin和*ZBTB16/PLZF*的新型基因组改变。*BRCA2*、*BRCA1*和*ATM*的畸变频率 (总体19.3%) 大大高于原发性前列腺癌。89%的受影响个体存在临床可操作的畸变, 包括62.7%的*AR*畸变, 65%的其他癌症相关基因畸变, 8%的受影响个体存在可操作的致病性种系改变。这项队列研究提供了证据, 证明mCRPC的临床测序是可行的, 可以影响大量受影响个体的治疗决策。

### 关键词

精准肿瘤学; 全外显子组测序; 转录组测序; 前列腺癌基因组学。

**CORRESPONDING AUTHORS:** Arul M. Chinnaiyan, M.D., Ph.D., University of Michigan, 1400 E. Medical Center Dr. 5316 CCC, Ann Arbor, MI 48109-5940, USA; arul@umich.edu, Charles L. Sawyers, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 1275 York Avenue, New York, New York 10021, USA; sawyersc@mskcc.org。

<sup>43</sup>Co-第一作者  
<sup>44</sup>Co-高级作者

\* 共同通讯员

补充资料

补充信息包括扩展实验协议、四张图和八个表。所有数据均可在SU2C-PCF IDT cBio门户网站和通过dbGAP获得。

### 作者的贡献

Y-M.W.、N.S.、R.J.L.、J-

M.M.、R.M.、M.E.T.、C.C.P.、G.A.、H.B.和W.M.A.做出了同等贡献。D.R.R.、E.M.V.A.和R.J.L.协调整体测序和生物信息学分析。Y.W.、D.R.R.、E.M.V.A.、R.J.L.、W.M.A.和J.V.协调数字和表格。N.S.开发了SU2C-PCF IDT cBio门户网站。R.J.L.协调了拷贝数分析。J-

M.M.协调中心病理审查, L.P.K.协调UM病理分析。C.C.P.协调超基因突变分析和临床种系解读, R.M.、M.E.T.、G.A.、H.B.、M.H.、H.I.S.和E.H.协调各自具体部位的临床登记。R.B.、S.P.和H.D.进行了AR剪接变异分析。J.V.管理临床数据门户。X.C.、J.S.、P.F.、S.M.和C.S.参与项目管理。R.M.、S.A.T.、V.R.、A.G.、M.L.、S.B.、R.L.、M.B.、B.R.和L.D.T.参与了病理审查。C.B.、P.V.、J.G.、M.G.、F.D.、O.E.、A.S.和K.E.参与了生物信息学分析。K.A.C.、D.C.S.、F.Y.F.、H.S.、D.R.R.、S.S.、M.M.、R.F.、Z.Z.、N.T.、G.G.、J.D.、J.M.、D.N.、S.T.T.、E.Y.C.、E.M.、H.C.、F.C.、M.S.和K.J.P.为临床贡献者。E

.M.  
V.A  
、  
D.R  
.R.  
、 C  
.L.S  
.和  
A.  
M.  
C.  
撰  
写  
稿  
件  
,  
所  
有  
作  
者  
审  
阅  
。P  
.K.  
、 J.  
S.B.  
、  
M.  
A.R  
、  
P.S.  
N.  
和L  
.A.  
G.  
是S  
U2  
C-  
PC  
F梦  
之  
队  
负  
责  
人  
, C  
.L.S  
.和  
A.  
M.  
C.  
是  
梦  
之  
队  
联  
合  
负  
责  
人。

## 引言

前列腺癌是最常见的成人恶性肿瘤之一，估计每年有22万美国男性被诊断出前列腺癌（ACS，2015）。一些男性会发展为转移性前列腺癌，并接受原发性雄激素剥夺治疗（ADT）。然而，几乎所有患有转移性前列腺癌的男性都会对原发性ADT产生耐药性，这种状态被称为转移性阉割耐药前列腺癌（mCRPC）。已出现多种“第二代”ADT治疗方法，如醋酸阿比特龙（de Bono等，2011；Ryan等，2013）和恩杂鲁胺（Beer等，2014；Scher等，2012），用于mCRPC受影响的个体；然而，几乎所有受影响的个体也会对这些药物产生耐药性。在美国，估计每年有3万名男性死于前列腺癌。

多项研究已经发现原发性前列腺癌中反复出现的体细胞突变、拷贝数改变和致癌结构DNA重排（chromoplexy）（Baca等，2013；Barbieri等，2012；Berger等，2011；Cooper等，2015；Pflueger等，2011；Taylor等，2010；Tomlins等，2007；Wang等，2011）。这些包括*SPOP*、*FOXA1*和*TP53*的点突变；涉及*MYC*、*RBI*、*PTEN*和*CHD1*的拷贝数改变；以及E26转化特异性（ETS）融合，以及其他生物相关基因。虽然某些原发性前列腺癌改变或标志具有预后的临床意义（Hieronymus等，2014；Lalonde等，2014），但原发性前列腺癌基因组事件的治疗影响尚未实现。

转移性前列腺癌的基因组学研究显示了AR（Taplin等，1995）和雄激素信号通路中的额外改变（Beltran等，2013；Grasso等，2012；Gundem等，2015；Hong等，2015），尽管这些研究主要是使用尸检样本或临床前模型进行的，队列规模有限。由于在获得足够的肿瘤组织，特别是来自骨活检的挑战，来自活体mCRPC受影响个体的新鲜活检样本的前瞻性基因组表征受到限制（Mehra等，2011；Van Allen等，2014a），骨活检是转移性疾病的最常见部位。因此，mCRPC疾病中基因组改变的景观仍未完全确定。此外，原发性前列腺癌中可操作的基因组改变的频率较低，这限制了将mCRPC纳入队列中，在这些队列中，精准癌症医学方法已被试行，以指导治疗或临床试验注册。

我们对从活体患儿身上获得的mCRPC肿瘤进行了系统的、多机构的研究，以确定该队列中体质基因组改变的景观，剖析原发性前列腺癌和mCRPC之间的基因组差异，并从生物学和临床角度发现这些发现的潜在相关性。

## 结果

### 临床、活检和病理参数。

一个由8个学术医疗中心临床站点组成的国际联盟建立，以捕获新鲜的临床mCRPC受影响的个体样本，作为标准护理方法的一部分，或通过前瞻性临床试验的队列（图1 A，B）。标准

mCRPC的治疗方法包括醋酸阿比特龙或恩杂鲁胺。本研究中包含的临床试验主要集中在涉及醋酸阿比特龙或恩杂鲁胺、聚ADP核糖聚合酶(PARP)抑制剂或曙光激酶抑制剂的联合策略上。在这里，我们报告了从进入队列研究时获得的mCRPC活检样本中进行基因组学分析的结果。未来的报告将包括纵向临床数据，如治疗反应。联合体利用两个测序和分析中心，一个集中的数字病理审查中心和一个集中的数据可视化门户（Cerami等，2012；Gao等，2013；Robinson等，2011；Thorvaldsdottir等，2013）。对来自两个原始测序点的测序数据进行交叉验证，显示出足够动力的遗传位点的变异调用具有可比性(Van Allen等人，编写中)。

在此，我们描述了150名患有转移性疾病的受影响个体，其临床综合测序结果完整（全外显子组、匹配的种系和转录组数据）（图1C），并在补充表S1中进行了总结。一百八十九名患儿被纳入研究，经过病理审查和评估肿瘤内容后，对175例进行了测序。其中，150例活检的肿瘤含量大于20%，根据突变等位基因变异分数和齐性移位，通过计算分析定义。经测序的活检样本来自淋巴结（42%）、骨（28.7%）、肝脏（12.7%）和其他软组织（16.7%）。基线临床资料见补充表S2。大多数病例(96.4%)表现出典型的高级别前列腺癌特征，2.9%的病例表现出神经内分泌分化。1例（0.7%）表现为小细胞神经内分泌特征（Epstein等，2014）（图1D）。

### mCRPC 改变的情况

图2中说明了38个统计学或临床意义的基因小组的体质畸变。肿瘤外显子的平均靶点覆盖率为160X，匹配的正常外显子为100X。虽然mCRPC的平均突变率为4.4个突变/Mb，但有4例表现出近50个/Mb的突变率，其中有3例可能是由于错配修复基因*MLH1*和*MSH2*的改变所致，后面将讨论。

还观察到8q的拷贝数频繁增加，以及8p、13q、16q和18q的拷贝数减少。每例已鉴定的生物学相关遗传畸变的平均数为7.8（图2）。所有已鉴定的突变均见于补充表S3。拷贝数改变的景观显示了预期的反复扩增峰（频繁的AR、8q增益）和缺失峰（*CHD1*、*PTEN*、*RBI*、*TP53*）（图3A）。在包含*CCND1*和*PIK3CA*和*PIK3CB*的区域中观察到额外的频繁局灶性扩增。在chr11q23中观察到一个新的重复性局灶性同源缺失事件，包括转录抑制因子*ZBTB16*。

为了鉴定基因融合，对来自150个肿瘤RNA的215个转录组文库进行分析，并鉴定出4122个至少有4个读数跨越融合接头的嵌合体。这些融合接头来自2247个独特的基因对，平均每个肿瘤有15个基因融合（补充表S4）。在已鉴定的嵌合融合转录物中，在84例（56%）中观察到反复出现的ETS融合（Tomlins等，2005），其中大部分融合到*ERG*，也有新的融合到*FLI1*、*ETV4*和*ETV5*的情况

图3B)。此外,在8个病例中看到了潜在的临床可操作的融合(涉及*BRAF*、*RAF1*、*PIK3CA/B*或*RSPO2*) (图S1,后续将介绍)。

为了将mCRPC突变景观置于原发性前列腺癌体细胞基因组学的背景下,我们进行了选择性富集分析,将该队列中观察到的体细胞点突变和短插入/删除与440个原发性前列腺癌外显子组(Barbieri等人,2012)的体细胞全外显子组突变数据中观察到的突变进行比较(TCGA临时数据,2015)(图3C,补充表S5)。聚焦于先前与癌症有关的基因( $n = 550$ ),体细胞*TP53*突变是选择性突变最多的( $q < 0.001$ ; Benjamini-Hochberg),其次是AR、*KMT2D*、*APC*、*BRCA2*和*GNAS* ( $q < 0.1$ ; Benjamini-Hochberg; 补充表S6)。AR和*GNAS*均在mCRPC中专门突变。与mCRPC相比,我们没有发现原发性前列腺癌中的基因选择性突变。

我们在几乎所有病例中都发现了癌症相关基因(即已知的抑癌基因或肿瘤抑制因子;补充表S7)的既定生物学"驱动"畸变(图3D)。虽然99%的mCPRC病例藏有潜在的驱动力单核苷酸变异(SNV)或indel,但其他类别的驱动力畸变也非常普遍。这些包括60%的驱动基因融合,50%的驱动基因同源性缺失,54%的驱动基因扩增。虽然几乎所有的mCRPC病例中都存在信息性突变,但63%的AR中藏有畸变,这是阉割抗性疾病中的预期发现,但其频率高于先前的报道(图3E)。有趣的是,即使不考虑AR,65%的病例也藏有推定的临床可操作性改变(定义为预测对治疗的反应或耐药性,具有跨肿瘤类型的诊断或预后效用)(Supp.表S8)(Roychowdhury等,2011; Van Allen等,2014c)。非AR相关的临床可操作性改变包括PI3K通路(49%)、DNA修复通路(19%)、RAF激酶(3%)、CDK抑制剂(7%)和WNT通路(5%)的异常。除了体质改变外,在8%的mCRPC受影响的个体中还出现了临床上可操作的致病性种系变异,这可能强调了对前列腺癌受影响个体进行遗传咨询的必要性。

### mCRPC 的基因组畸变途径。

利用生物学和统计学框架(Lawrence等,2014; Lawrence等,2013)对体细胞点突变、短插入/缺失、拷贝数改变、融合转录、重点种系变异分析进行综合分析,发现了mCRPC的离散分子亚型(图2)。这些亚型根据改变聚类和现有的生物通路知识进行分类,牵涉到AR信号通路、磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸3-激酶(PI3K)、WNT、DNA修复、细胞周期和染色质修饰基因组等。mCRPC中最常出现异常的基因包括AR(62.7%)、ETS家族(56.7%)、*TP53*(53.3%)和*PTEN*(40.7%)(图2)。

### AR 信号通路

总共有107/150(71.3%)例藏有AR通路畸变,其中大部分是通过扩增和突变直接影响AR的改变(图4A)。

图4B总结了AR信号转导中改变的关键基因，包括AR本身、作为先锋转录因子的*FOXA1*、作为AR的负调控因子的*NCOR1/2*、作为推定雄激素受体转录调控因子的*SPOP*(Geng等, 2013)，以及作为AR诱导性靶基因的*ZBTB16*也可能负调控AR。在先前报道的赋予AR拮抗剂如氟他胺(T878A)和比卡鲁胺(W742C)以及糖皮质激素(L702H)的激动性的残基上，观察到AR的反复热点突变。这些受影响的个体中，有些但并非全部都有记录在案的既往暴露，可以解释这些突变的富集。额外的临床数据收集正在进行中（图4C）。在我们的队列中看到了以前没有描述过的罕见AR突变，尽管这些突变的功能意义不明确。此外，一个受影响的个体（病例89）藏有两个推测的功能性AR突变（T878A和Q903H），这可能进一步提示CRPC环境中出现的肿瘤内异质性（Carreira等, 2014）。从RNA-seq数据中分析AR剪接变异，表明在这些mCRPC肿瘤病例中观察到剪接变异的分布（图4D）。对TCGA前列腺数据集的分析显示，这些变异中的许多变异也在原发性前列腺癌和良性前列腺组织中以不同水平存在。AR-V7已被牵连到醋酸阿比特龙和恩杂鲁胺耐药（Antonarakis等, 2014），在大多数阿比特龙/恩杂鲁胺前期病例中观察到，但相对于全长AR的比例非常低。对治疗反应的影响目前尚不清楚。

除了AR突变本身，我们还观察到AR通路成员的改变（图4A）。这些包括*NCOR1*、*NCOR2*和*FOXA1*的已知改变，这些改变之前已经在原发性前列腺癌和mCRPC中报道过（Barbieri等人, 2012；Grasso等人, 2012）。在这个队列中，*FOXA1*的截断和错义突变在Forkhead DNA结合域的末端附近形成一个簇（图S2）。

在8例（5%）中看到雄激素调节基因*ZBTB16*（也称为PLZF）的复发性同源性缺失（图4E），以前在临床mCRPC活检中没有报道。对该队列中看到的最小删除区域的分析，将chr11q23区域的候选基因缩小到了*ZBTB16*（图S3）。*ZBTB16*此前已被牵涉到前列腺癌肿瘤发生和临床前模型中的雄激素抵抗（Cao等, 2013；Kikugawa等, 2006），*ZBTB16*的丢失会上调MAPK信号通路（Hsieh等, 2015）。

### 新的 PI3K 通路发现

PI3K通路也普遍发生改变，73/150(49%)的mCRPC受影响个体发生了体质改变(图5A)。这包括*PTEN*的双链丢失，以及*PIK3CA*的热点突变、扩增和激活融合，*AKT1*的p.E17K激活突变（图S2）。值得注意的是，与其余队列相比，*PIK3CA*扩增导致过度表达（图S3）。

有趣的是，在这个队列中首次观察到PI3K催化亚基的另一个成员*PIK3CB*的突变，其位置与*PIK3CA*的规范激活突变相当（图5B）。*PIK3CB*突变出现在*PTEN*缺失的病例中，这与之前的一份报告证明一些*PTEN*缺失的癌症依赖于*PIK3CB*，而不是*PIK3CA*的报告一致（Wee等, 2008）。此外，。



两个受影响的个体怀有涉及PIK3CA/B的融合，这些事件导致该基因相对于队列中的其他肿瘤过度表达（图5C-D）。

### 新的 Wnt 途径发现

27/150(18%)的病例藏有Wnt信号通路的改变(图6A)。如前所述（Voeller等，1998），*CTNNB1*中出现了热点激活突变（图6B）。值得注意的是，还观察到APC的反复改变，这在临床mCRPC受影响的个体中以前没有描述过。这促使我们对Wnt信号基因进行更广泛的检查（图6B）。通过综合分析，我们发现了*RNF43*和*ZNRF3*的改变，这两个基因最近在结直肠癌、子宫内膜癌和肾上腺皮质癌中有所描述（Assie等，2014；Giannakis等，2014），并且与APC的改变相互排斥（图6A）。此外，我们还发现了涉及*RSPO2*的R-spondin融合，正如之前在结直肠癌中观察到的那样（Seshagiri等人，2012），在这些病例中与*RSPO2*过度表达相关（图6C）。*RSPO2*是前列腺癌器质性方法的一个关键因素（Gao等，2014）。具有*RNF43*、*ZNRF3*或*RSPO2*畸变的受影响个体（总体占受影响个体的6%）被预测对豪猪抑制剂有反应（Liu等，2013）。

### 细胞周期途径

我们观察到21%的病例中*RB1*丢失（图S4）。扩大与mCRPC相关的细胞周期基因的范围，我们注意到9%的病例中涉及*CCND1*的局灶性扩增，以及*CDKN2A/B*、*CDKN1B*和*CDK4*中较少见（<5%）的事件（图S4）。细胞周期紊乱，如通过*CCND1*扩增或*CDKN2A/B*丢失，可能导致其他肿瘤类型对CDK4抑制剂的反应增强（Finn等人，2015），临床前mCRPC模型预测前列腺癌类似活性（Comstock等人，2013）。

### DNA 修复途径

对*BRCA2*的体质性和病理性种系改变进行综合分析，发现19/150(12.7%)例有*BRCA2*丢失，其中约90%表现为双侧丢失(图7A)。这常见的是体位点突变和杂合性丢失，以及同源性缺失的结果。我们联盟中的一项临床试验正在评估未选择的mCRPC受影响个体的聚（ADP-核糖）聚合酶（PARP）抑制。重要的是，该试验中多个经历了临床获益的受影响个体蕴藏着双分子*BRCA2*丢失，为临床可操作性提供了进一步的证据（Mateo等，2014）。8名受影响个体（5.3%）怀有致病性种系*BRCA2*突变（图7B），随后发生体细胞事件，导致双分子损失，揭示了相对于原发性前列腺癌惊人的高频率。

因此，我们将关注点扩大到其他DNA修复/重组基因，并确定了至少34/150（22.7%）例的改变。其中包括*ATM*的复发性双链丢失（图7B），包括多个具有种系致病性改变的病例。在对PARP抑制取得临床反应的受影响个体中也观察到*ATM*突变（Mateo等，2014）。此外，我们还注意到*BRCA1*、*CDK12*、*FANCA*的事件。

*RAD51B*和*RAD51C*。如果*BRCA2*、*BRCA1*和*ATM*的畸变都赋予了PARP抑制剂更强的敏感性，那么29/150（19.3%）的mCRPC受影响个体将被预测从这种疗法中获益。有趣的是，4个mCRPC肿瘤中有3个表现出超突变，并藏有错配修复途径基因*MLH1*或*MSH2*的改变（图2，7C），印证了最近的一份报告，该报告确定了超突变前列腺癌中*MSH2*和*MSH6*错配修复基因的结构改变（Pritchard等，2014）。

## 讨论情况

为了有效地实施精准癌症医学，预测性生物标志物的前瞻性鉴定应利用来自最当代肿瘤评估的信息进行，这些信息反映了受影响个体先前的治疗和治疗机会。在mCRPC中，由于难以获得mCRPC受影响个体的临床样本，以及缺乏潜在可操作改变的全面基因组数据，精准癌症医学活动受到了限制。通过证明mCRPC中前瞻性基因组学的可行性，并在一个集中的转移性临床队列中定义突变景观，该报告可能为多个基因组驱动的临床试验以及对mCRPC关键介质的生物学研究提供信息。在本研究分析的几乎所有的mCRPC中，我们发现了生物学信息的改变；几乎所有的mCRPC都藏有至少一个驱动基因SNV/indel，大约一半的mCRPC藏有驱动基因融合、扩增或同源性缺失。值得注意的是，在近90%的mCRPC患者中，我们发现了一个潜在的可操作的体细胞或种系事件。

该队列中AR通路改变的频率很高，这强烈地暗示着绝大多数mCRPC受影响的个体仍然依赖于AR信号传导来维持生存。较新的“第二代”AR导向疗法（如醋酸阿比特龙、恩杂鲁胺）可能会选择对AR信号转导无动于衷的独特表型，对这类病例的前瞻性表征将具有特别的意义。我们推测，具有获得性AR突变的受影响个体，包括本队列中发现的新型AR突变，将蕴藏着对这些第二代ADT疗法的差异性反应。随着这个队列中AR突变的受影响个体数量的增加，我们随后将能够将特定的AR突变与临床表型联系起来，以确定哪些突变赋予了对后续AR导向治疗的选择性反应或抵抗。

此外，这些数据确定了CRPC人群中值得临床研究的多种治疗途径。排除AR畸变，65%的mCRPC具有潜在的可操作的畸变，这可能提示了一种研究性药物或批准的疗法。例如，关注PI3K通路，PIK3CB特异性抑制剂可能在该基因突变、扩增和/或融合的受影响个体中具有实用性（Schwartz等，2015）；多个对PIK3CB特异性素抑制取得持久（>1年）反应的受影响个体蕴藏着*PIK3CB*的活化突变或扩增（de Bono等，2015）。3%的mCRPC受影响个体的RAF激酶融合将提示使用泛RAF抑制剂或MEK抑制剂（Palanisamy等，2010）。此外，豪猪抑制剂（Liu等，2013）和R-spondin抗体的出现可能值得在蕴藏Wnt通路改变或特异性R-的mCRPC肿瘤中进行研究。

Cell作者手稿；可在PMC 2016年5月21日。



脊柱素融合，分别。这些观察结果需要在临床试验中进行前瞻性评估。

此外，在近20%的受影响个体中观察到*BRCA2*、*BRCA1*或*ATM*的双链失活。此前在其他癌症类型中的工作表明，这些受影响的个体可能会从PARP抑制剂（Fong等，2009；Kaufman等，2015；Weston等，2010）或基于铂类的化疗中获益，之前的报道也暗示原发性前列腺癌中存在种系*BRCA2*改变，生存结果不佳（Castro等，2013）。鉴于该队列中致病性种系*BRCA2*突变的发生率与随后的体细胞事件（5%），以及mCRPC中体细胞*BRCA2*改变的富集（13%），mCRPC受影响个体的种系基因检测值得临床考虑。

对来自积极接受治疗的受影响个体的mCRPC活检样本进行分子表征的能力也将使人们能够集中研究对次级ADT疗法的抗性，包括神经内分泌类表型。这将需要从匹配的受影响个体中对治疗前和耐药肿瘤进行反复采样，鉴于mCRPC的异质性，可能需要从受影响个体中进行多区域活检（如果可行的话）（Carreira等，2014；Gundem等，2015）。为此，在一些受影响的个体中，我们观察到同一活检中出现了多个*AR*突变，这可能表明这些mCRPC肿瘤样本中的克隆异质性。在这个队列中发现的其他基因组改变（如*ZBTB16*）值得在前列腺癌模型系统中进行探索，包括类器官培养（Gao等，2014）。

大体上，我们的努力证明了将为原发性恶性肿瘤开发的综合基因组学原则（例如，TCGA）应用于临床相关的转移性肿瘤队列的效用。我们的努力也可能会催化多机构的努力，从受影响的个体队列的转移性，治疗的肿瘤在其他临床背景下，因为我们的结果证明了多个新的发现在这个晚期疾病阶段内，没有观察到原发性肿瘤剖析。此外，这项研究为本研究中未采取的mCRPC中的表观遗传学和其他剖析工作奠定了基础，这可能会使生物发现并在mCRPC中具有直接的治疗相关性（Asangani等，2014）。总的来说，我们的努力证明了对来自个别mCRPC受影响个体的前瞻性活检进行全面和综合基因组学的可行性，以使这个庞大的受影响个体人群中的精准癌症医学活动得以进行。

## 方法

### 受影响的个人入学率

有mCRPC临床证据的受影响个体，如果正在考虑使用醋酸阿比特龙或恩杂鲁胺作为标准护理，或作为临床试验的一部分，则被考虑纳入。通过图像引导活检可以获得转移性疾病的受影响个体有资格纳入。所有受影响的个体都提供了书面知情同意书，以获得新鲜的肿瘤活检，并对肿瘤和种系样本进行全面的分子剖析。

## 活检和病理审查

在放射线引导下获得软组织或骨转移的活检片。使用为区分通常腺癌和神经内分泌前列腺癌而建立的模式对活检片的数字图像进行集中复查（Epstein等，2014）。所有图像均由泌尿生殖系统肿瘤病理学家（M.R., J.M.M., L.P.K., S.A.T., R.M., V.R., A.G., M.L., M.B.）复查。

## 测序和分析

使用Qiagen

DNeasy血液和组织试剂盒从颊拭子、水衣或全血中分离出正常DNA。通过病理复查确定的每个病例中肿瘤含量最高的冷冻针活检，提取核酸。使用AllPrep

DNA/RNA/miRNA试剂盒(QIAGEN)在Tissuelyser

II(Qiagen)上进行破坏，从同一样品中纯化肿瘤基因组DNA和总RNA。在Agilent 2100 Bioanalyzer上使用RNA Nano试剂（Agilent Technologies）验证RNA的完整性。

整个外显子组捕获文库的构建是从100ng到1微克的DNA从肿瘤和正常组织的样品剪切，末端修复，和磷酸化和结扎到条码测序适配器后。结扎后的DNA大小选择长度在200-350 bp之间，并使用SureSelect Exome

v4饵料（Agilent）进行杂交捕获。使用Broad研究所和密歇根大学的管道进行Exome序列数据处理和分析。使用Illumina测序读取的肿瘤和正常样本以及Picard流水线，生成了与hg19人类基因组构建对齐的BAM文件。体细胞突变分析按照之前描述的方式进行（Cibulskis等人，2013年；Van

Allen等人，2014c），并使用集成基因组学浏览器（IGV）进行审查（Robinson等人，2011年）。

对每个基因的拷贝数畸变进行量化，并报告为每个肿瘤样本和匹配的正常样本之间的分段归一化对数2-

转化外显子覆盖率（Lonigro等人，2011）。为了考虑整个基因组中覆盖率和GC含量之间观察到的关联，在分割分析之前，使用lowess归一化来校正每个外显子覆盖率。计算每个目标区域的平均GC百分比，并使用R（2.13.1版）中的lowess函数，以平滑参数f=0.05，将lowess曲线拟合到目标外显子组的log2-

覆盖比与平均GC含量的散点图上。使用循环二元分割算法(Olshen等人，2004)对所得拷贝比进行分割。

使用MutSig(Lawrence等人，2013)对反复突变的基因进行统计分析。与原发性前列腺癌相比，对mCRPC中观察到的突变进行选择富集分析(Van

Allen等人，2014b)，将CRPC或原发性前列腺癌中观察到的频率受影响的个体正常化突变列表，并使用等位基因分数截止0.1或更大和一组生物相关的癌症基因( $n = 550$ 个基因)进行双面Fisher's Exact Test(Futreal等人，2004)。使用Benjamini-Hochberg方法进行多重假设检验校正。

使用200-1000 ng的总RNA制备转录组文库。根据TruSeq RNA协议(Illumina)进行PolyA+ RNA分离、cDNA合成、末端修复、A-碱基添加和Illumina索引适配器的结扎。在3%Nusieve 3:1(Lonza)凝胶上对250-300bp cDNA片段进行大小选择,使用QIAEX II试剂(Qiagen)回收,并使用Phusion DNA聚合酶(New England Biolabs)进行PCR扩增。总转录组文库按上述方法制备,省略聚A选择步骤,并使用Agilent SureSelect Human All Exon V4试剂和协议捕获。库质量在Agilent 2100 Bioanalyzer上测量产品大小和浓度。用Illumina HiSeq 2500对配对端文库进行测序,(2×100核苷酸读长),序列覆盖率为50M配对读数和100M总读数。

使用RNA-Seq拼接读取映射器Tophat2(Kim和Salzberg, 2011)(Tophat 2.0.4)将成对的转录组测序读数与人类参考基因组(GRCh37/hg19)对齐,打开"--融合搜索"选项以检测潜在的基因融合转录。使用'Tophat-Post-Fusion'模块过滤出潜在的假阳性融合候选者。此外,对融合候选者进行手动检查,以确定是否有注释和结扎假象。使用Cufflinks(Trapnell等人, 2012)计算基因表达量,作为每百万片段映射的外显子的每千碱基片段(FPKM; 基因表达量的标准化测量)。

## 补充材料

补充材料请参考PubMed Central的网络版。

## 作者

Robinson Dan<sup>1,2,43</sup>, Eliezer M. Van Allen<sup>3,4,43</sup>, Yi-Mi Wu<sup>1,2</sup>, Nikolaus Schultz<sup>5,40</sup>, Robert J. Lonigro<sup>1</sup>, Juan-Miguel Mosquera<sup>6,7,8,38</sup>, Bruce Montgomery<sup>9,10</sup>, Mary-Ellen Taplin<sup>3</sup>, Colin C Pritchard<sup>26</sup>, Gerhard Attard<sup>26</sup>, Lonigro<sup>1</sup>, Juan-Miguel Mosquera<sup>6,7,8,38</sup>, Bruce Montgomery<sup>9,10</sup>, Mary-Ellen Taplin<sup>3</sup>, Colin C Pritchard<sup>26</sup>, Gerhard Attard<sup>11,12</sup>, Himisha Beltran<sup>7,8,13,38</sup>, Wassim M. Abida<sup>14,20</sup>, Robert K. Bradley<sup>9</sup>, Jake Vinson<sup>15</sup>, Xuhong Cao<sup>1,42</sup>, Pankaj Vats<sup>1</sup>, Lakshmi P. Kunju<sup>1,2,17</sup>, Maha Hussain<sup>16,17,18</sup>, Felix Y. Feng<sup>1,17,19</sup>, Scott A. Tomlins<sup>1,2,17,18</sup>, Kathleen A. Cooney<sup>16,17,18</sup>, David C. Smith<sup>16,17,18</sup>, Christine Brennan<sup>1</sup>, Javed Siddiqui<sup>1</sup>, Rohit Mehra<sup>1,2</sup>, Yu Chen<sup>13,14,20</sup>, Dana E. Rathkopf<sup>13,20</sup>, Michael J. Morris<sup>13,20</sup>, Stephen B. Solomon<sup>21</sup>, Jeremy C. Durack<sup>21</sup>, Victor E. Reuter<sup>22</sup>, Anuradha Gopalan<sup>22</sup>, Jianjiong Gao<sup>40</sup>, Massimo Loda<sup>3,4,23,39</sup>, Rosina T. Lis<sup>3,23</sup>, Michaela Bow. Lis<sup>3,23</sup>, Michaela Bowden<sup>3,23,39</sup>, Stephen P. Balk<sup>24</sup>, Glenn Gaviola<sup>25</sup>, Carrie Sougne<sup>4</sup>, Manaswi Gupta<sup>4</sup>, Evan Y. Yu<sup>10</sup>, Elahe A. Mostaghel<sup>9,10</sup>, Heather H. Cheng<sup>9,10</sup>, Hyojeong Mulcahy<sup>27</sup>, Lawrence D. True<sup>28</sup>, Stephen R. Plymate<sup>10</sup>, Heidi Dvinge<sup>9</sup>, Roberta Ferraldeschi<sup>11,12</sup>, Penny Flohr<sup>11,12</sup>, Susana Miranda<sup>11,12</sup>, Zafeiris Zafeiriou<sup>11,12</sup>, Nina Tunariu<sup>11,12</sup>, Joaquin Mateo<sup>11,12</sup>, Raquel Perez Lopez<sup>11,12</sup>, Francesca Demicheli<sup>7,29</sup>, Brian D. Robinson<sup>6,7,8,38</sup>, Marc A. Schiffman<sup>7,31,38</sup>, David M. Nanus<sup>7,8,13,38</sup>, Scott T. Tagawa<sup>7,8,13,38</sup>, Alexandros Sigaras<sup>7,30,32</sup>, Kenneth W. Eng<sup>7,30,32</sup>, Olivier Elemento<sup>30</sup>, Andrea Sboner<sup>6,7,30,38</sup>, Elisabeth I. Heath<sup>33,34</sup>, Howard I. Scher<sup>13,20</sup>, Kenneth J. Pienta<sup>35</sup>, Philip Kantoff<sup>3,44</sup>, Johann S.

C  
e  
l  
l  
.  
作者手稿  
；可在  
P  
M  
C  
  
2  
0  
1  
6  
年  
5  
月  
2  
1  
日  
。

de Bono<sup>11,12,44</sup>, Mark A. Rubin<sup>6,7,8,38,44</sup>, Peter S. Nelson<sup>10,36,37,38,44</sup>, Levi A. Garraway<sup>3,4,44</sup>, Charles L. Sawyers<sup>14,41,44,\*</sup>, and Arul M. Chinnaiyan<sup>1,2,17,18,42,44,\*</sup>.

## 隶属机构

<sup>1</sup> 密歇根大学医学院密歇根转化病理学中心, 密歇根大学医学院, 安阿伯, 密歇根州 48109。

<sup>2</sup> 密歇根大学医学院病理学系, 密歇根州安阿伯。  
48109

马萨诸塞州波士顿 Dana-Farber 癌症研究所医学肿瘤学三部  
02215

<sup>4</sup> Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology and Harvard, Cambridge, MA 02142。

<sup>5</sup> Department of Epidemiology and Biostatistics, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY 10065。

<sup>6</sup> Department of Pathology and Laboratory Medicine, Weill Medical College of Cornell University, New York, NY 10021。

<sup>7</sup> 精密医学研究所, 康奈尔大学威尔医学院, 纽约州纽约市, 10021。

<sup>8</sup> 纽约长老会医院, 纽约州纽约市, 10021。

<sup>9</sup> Computational Biology Program, Public Health Sciences Division and Basic Science Division, Fred Hutchinson Cancer Center, Seattle, WA 98109。

<sup>10</sup> Department of Medicine and VAPSHCS, University of Washington, Seattle, WA. 98109

<sup>11</sup> Cancer Biomarkers Team, Division of Clinical Studies, The Institute of Cancer Research, Sutton, Surrey, SM2 5NG, UK。

<sup>12</sup> Prostate Cancer Targeted Therapy Group and Drug Development Unit, The Royal Marsden NHS Foundation Trust, Sutton, Surrey, SM2 5NG, UK。

<sup>13</sup> Department of Medicine, Weill Medical College of Cornell University, New York, NY 10021。

<sup>14</sup> Human Oncology and Pathogenesis Oncology Program, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY 10065。

<sup>15</sup> Prostate Cancer Clinical Trials Consortium, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY 10065。

<sup>16</sup> Department of Internal Medicine, Division of Hematology Oncology, University of Michigan Medical School, Ann Arbor, MI 48109。

<sup>17</sup> 综合癌症中心, 密歇根大学医学院, 安阿伯, 密歇根州 48109。

18Department of Urology, University of Michigan Medical School, Ann Arbor, MI. 48109

19Department of Radiation Oncology, University of Michigan Medical School, Ann Arbor, MI 48109。

20 纽约 纪念斯隆-凯特琳癌症中心 Sidney Kimmel 前列腺和泌尿系癌症中心医学部泌尿系肿瘤学服务, 纽约州纽约市 10065。

21 介入放射学, 放射服务部, 纪念斯隆-凯特琳癌症中心, 纽约州纽约市 10065。

22Department of Pathology, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY 10065。

23 分子肿瘤病理学中心, Dana-Farber 癌症研究所, 波士顿, 马萨诸塞州 02215。

24Division of Hematology-Oncology, Department of Medicine, Beth Israel Deaconess Cancer Center, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, MA 02215。

25Department of Musculoskeletal Radiology, Brigham and Women's Hospital, Boston, MA 02115。

26Department of Laboratory Medicine, University of Washington, Seattle, WA 98109。

27Department of Radiology, University of Washington, Seattle, WA 98109。

28 华盛顿大学医学中心病理学系, 西雅图, 华盛顿州。 98109

29 意大利特伦托大学综合生物学中心 CIBIO 计算肿瘤学实验室。

30 康奈尔大学威尔医学院生理学和生物物理学系计算生物医学研究所, 纽约州纽约市, 10021。

31Division of Interventional Radiology, Department of Radiology, New York-Presbyterian Hospital/Weill Cornell Medical Center, New York, NY 10021。

32Department of Physiology & Biophysics, Weill Medical College of Cornell University, New York, NY 10021。

33 密歇根州底特律韦恩州立大学医学院肿瘤学系。 48201

34Molecular Therapeutics Program, Barbara Ann Karmanos Cancer Institute, Detroit, MI 48201。

35James Buchanan Brady Urological Institute and Department of Urology, Johns Hopkins School of Medicine, Baltimore, MD 21205。



36Division of Human Biology, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA 98109。

37Division of Clinical Research, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA 98109。

38Meyer 癌症, 威尔康奈尔医学院, 纽约州纽约市, 10021。

39Department of Pathology, Brigham & Women's Hospital, Boston, MA 02115, USA。

40Marie-Josée and Henry R. Kravis Center for Molecular Oncology, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY 10065, USA。

41Howard Hughes Medical Institute, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY 10065。

42Howard Hughes Medical Institute, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109。

## 鸣谢

我们感谢参与本研究的受影响个人, 以更好地了解精准医学方法对晚期前列腺癌的可行性和实用性。我们各自机构中帮助本研究个人按机构列出。密歇根大学: Karen Giles, Lynda Hodges, Erica Rabban, Ning Yu, Fengyun Su, Rui Wang, Brendan Veeneman, Moshe Talpaz.MSKCC: Brett Carver, Kristen Curtis, Julie Filipenko.DFCI/Broad:张振伟 Daniele Depalo Joseph Kramkowski.华盛顿大学: Jina Taub, Hepen Curtis, Julie Filipenko. Jina Taub, Hiep Nguyen, Colm Morrissey, Robert Vessella.ICR/Royal Marsden:Suzanne Carreira, Ines Figueiredo, and Daniel Nava Rodrigues.

## 资金来源

这项工作得到了Stand Up To Cancer-前列腺癌基金会前列腺梦之队转化癌症研究资助的支持。Stand Up To Cancer是娱乐产业基金会的一个项目, 由美国癌症研究协会管理(SU2C-AACR-DT0712)。该项目还得到了NIH奖项的支持。临床测序探索研究(CSER)UM1HG006508(A.M.C.), 早期检测研究网络资助U01 CA111275(A.M.C.), 前列腺SPOR资助P50 CA186786(A.M.C.), P50 CA092629(H.S., C.L.S., Y.C.)和P50 CA097186(P.S.N. B.M., E.M., L.T.), P01 CA163227(P.S.N., S.P., R.B., H.D.), R01 CA116337(M.A.R., H.B. F.D.), R01 CA155169(C.L.S.), R01 CA092629, P50 CA092629(H.S., C.L.S., Y.C.)和R01 CA155169(C.L.S.) DoD奖。W81XWH-09-1-0147(PCCTC), DOD PC121341(H.B.)。Starr癌症联盟(N.S., M.R., C.S., Y.C., L.A.G.) A.M.C.是A.Alfred Taubman学者, 美国癌症协会教授。H.B.是由Damon Runyon癌症研究基金会CI-67-13支持。C.P.得到PCF青年研究员奖和国防部PC131820的支持。E.M.V.由NIH 1K08CA188615支持。E.M.V., N.S.和F.Y.F.得到前列腺癌基金会青年研究员奖的支持。RM和ICR团队得到了Movember基金会和英国前列腺癌基金会、PCF、英国癌症研究中心和英国卫生部的ECMC网络以及BRC资助资金的支持。

## 参考文献

ACS.癌症事实与数据2015.2015

Antonarakis ES, Lu C, Wang H, Luber B, Nakazawa M, Roeser JC, Chen Y, Mohammad TA, Chen Y, Fedor HL, et al.AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer.The New England journal of medicine.2014; 371:1028–1038.[PubMed: 25184630]

Asangani IA, Dommeti VL, Wang X, Malik R, Cieslik M, Yang R, Escara-Wilke J, Wilder-Romans K, Dhanireddy S, Engelke C, et al. Therapeutic targeting of BET bromodomain proteins in castration-resistant prostate cancer.Nature.2014; 510:278–282.[PubMed: 24759320]

Assie G, Letouze E, Fassnacht M, Jouinot A, Luscap W, Barreau O, Omeiri H, Rodriguez S, Perlemoine K, Rene-Corail F, et al. Integrated genomic characterization of adrenocortical carcinoma.Nature genetics.2014; 46:607–612.[PubMed: 24747642]

- Baca SC, Prandi D, Lawrence MS, Mosquera JM, Romanel A, Drier Y, Park K, Kitabayashi N, Macdonald TY, Ghandi M, et al. Punctuated evolution of prostate cancer genomes. *Cell*.2013; 153:666–677.[PubMed: 23622249]
- Barbieri CE, Baca SC, Lawrence MS, Demichelis F, Blattner M, Theurillat JP, White TA, Stojanov P, Van Allen E, Stransky N, et al. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nature genetics*.2012; 44:685–689.[PubMed: 22610119]
- Beer TM, Armstrong AJ, Rathkopf DE, Loriot Y, Sternberg CN, Higano CS, Iversen P, Bhattacharya S, Carles J, Chowdhury S, et al. Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *The New England journal of medicine*.2014; 371:424–433.[PubMed: 24881730]
- Beltran H, Yelensky R, Frampton GM, Park K, Downing SR, MacDonald TY, Jarosz M, Lipson D, Tagawa ST, Nanus DM, et al. Targeted next-generation sequencing of advanced prostate cancer identifies potential therapeutic targets and disease heterogeneity. *European urology*.2013; 63:920–926.[PubMed: 22981675]
- Berger MF, Lawrence MS, Demichelis F, Drier Y, Cibulskis K, Sivachenko AY, Sboner A, Esgueva R, Pflueger D, Sougnez C, et al. The genomic complexity of primary human prostate cancer. *自然》杂志*. 2011; 470:214–220.[PubMed: 21307934]
- Cao J, Zhu S, Zhou W, Li J, Liu C, Xuan H, Yan J, Zheng L, Zhou L, Yu J, et al. PLZF mediates the PTEN/AKT/FOXO3a signaling in suppression of prostate tumorigenesis. *PloS one*.2013; 8:e77922.[PubMed: 24339862]
- Carreira S, Romanel A, Goodall J, Grist E, Ferraldeschi R, Miranda S, Prandi D, Lorente D, Frenel JS, Pezaro C, et al. Tumor clone dynamics in lethal prostate cancer. *Science translational medicine*.2014; 6:254ra125.
- Castro E, Goh C, Olmos D, Saunders E, Leongamornlert D, Tymrakiewicz M, Mahmud N, Dadaev T, Govindasami K, Guy M, et al. Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of American Society of Clinical Oncology*. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*.2013; 31:1748–1757. [PubMed: 23569316]
- Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross BE, Sumer SO, Aksoy BA, Jacobsen A, Byrne CJ, Heuer ML, Larsson E, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *癌症发现*. 2012; 2:401–404.[PubMed: 22588877]
- 癌症基因组学门户：探索多维癌症基因组学数据的开放平台。
- Cibulskis K, Lawrence MS, Carter SL, Sivachenko A, Jaffe D, Sougnez C, Gabriel S, Meyerson M, Lander ES, Getz G. Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples. *自然生物技术*. 2013
- Comstock CE, Augello MA, Goodwin JF, de Leeuw R, Schiewer MJ, Ostrander WF Jr, Burkhart RA, McClendon AK, McCue PA, Trabulsi EJ, et al. Targeting cell cycle and hormone receptor pathways in cancer. *Oncogene*.2013; 32:5481–5491.[PubMed: 23708653]
- Cooper CS, Eeles R, Wedge DC, Van Loo P, Gundem G, Alexandrov LB, Kremeyer B, Butler A, Lynch AG, Camacho N, et al. Analysis of the genetic phylogeny of multifocal prostate cancer identifies multiple independent clonal expansions in neoplastic and morphologically normal prostate tissue. *Nature genetics*.2015; 47:367–372.[PubMed: 25730763]。
- de Bono, JS.; Arkenau, HT.; Mateo, J.; Infante, J.; Burris, H.; Bang, Y.; Eder, JP.; Sharma, S.; Chung, CH.; Decordova, S., et al. 提交的论文。第106届美国癌症研究协会年会。费城（PA）。 *Cancer Res*; 2015. Exploratory genetic analysis of tumors from a phase-I/II dose escalation study of GSK2636771 in patients (pts) with PTEN deficient advanced tumors.
- de Bono JS, Logothetis CJ, Molina A, Fizazi K, North S, Chu L, Chi KN, Jones RJ, Goodman OB Jr, Saad F, et al. Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *The New England journal of medicine*.2011; 364:1995–2005.[PubMed: 21612468]
- Epstein JI, Amin MB, Beltran H, Lotan TL, Mosquera JM, Reuter VE, Robinson BD, Troncso P, Rubin MA. 前列腺癌与神经内分泌分化的拟议形态学分类。 *The American journal of surgical pathology*.2014; 38:756–767.[PubMed: 24705311]

F

i  
n  
n

R  
S

,  
C  
r  
o  
w  
n

J  
P  
,  
L  
a  
n  
g

I  
,  
B  
o  
e  
r

K  
,  
B  
o  
n  
d  
a  
r  
e  
n  
k  
o

I  
M  
,  
K  
u  
l  
y  
k

S  
O  
,  
E  
t  
t  
l

J  
,  
P  
a  
t  
e  
l

R, Pinter T, Schmidt M, et al. The cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus.

*Cell*.作者手稿; 可在PMC 2016年5月21日。

letrozole alone as first-line treatment of oestrogen receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (PALOMA-1/TRIO-18): a randomised phase 2 study. *The lancet oncology*.2015; 16:25–35.[PubMed: 25524798]

Fong PC, Boss DS, Yap TA, Tutt A, Wu P, Mergui-Roelvink M, Mortimer P, Swaisland H, Lau A, O'Connor MJ, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. *The New England journal of medicine*.2009; 361:123–134.[PubMed: 19553641]

Futreal PA, Coin L, Marshall M, Down T, Hubbard T, Wooster R, Rahman N, Stratton MR. 人类癌症基因普查。 *Nature reviews Cancer*.2004; 4:177–183.

Gao D, Vela I, Sboner A, Iaquinta PJ, Karthaus WR, Gopalan A, Dowling C, Wanjala JN, Undvall EA, Arora VK, et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer. *Cell*.2014; 159:176–187.[PubMed: 25201530]

Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, Dresdner G, Gross B, Sumer SO, Sun Y, Jacobsen A, Sinha R, Larsson E, et al. Integrated analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Science signaling*.2013; 6:p11.[PubMed: 23550210]

Geng C, He B, Xu L, Barbieri CE, Eedunuri VK, Chew SA, Zimmermann M, Bond R, Shou J, Li C, et al. Prostate cancer-associated mutations in speckle-type POZ protein (SPOP) regulate steroid receptor coactivator 3 protein turnover. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.2013; 110:6997–7002.[PubMed: 23559371]

Giannakis M, Hodis E, Jasmine Mu X, Yamauchi M, Rosenbluh J, Cibulskis K, Saksena G, Lawrence MS, Qian ZR, Nishihara R, et al. RNF43 is frequently mutated in colorectal and endometrial cancers. *Nature genetics*.2014; 46:1264–1266.[PubMed: 25344691]

Grasso CS, Wu YM, Robinson DR, Cao X, Dhanasekaran SM, Khan AP, Quist MJ, Jing X, Lonigro RJ, Brenner JC, et al. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *《自然》杂志*, 2012年; 487:239–243。2012; 487:239–243.[PubMed: 22722839]

Gundem G, Van Loo P, Kremeyer B, Alexandrov LB, Tubio JM, Papaemmanuil E, Brewer DS, Kallio HM, Hognas G, Annala M, et al. The evolutionary history of lethal metastatic prostate cancer. *Nature*.2015

Hieronymus H, Schultz N, Gopalan A, Carver BS, Chang MT, Xiao Y, Heguy A, Huberman K, Bernstein M, Assel M, et al. Copy number alteration burden predicts prostate cancer relapse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.2014; 111:11139–11144.[PubMed: 25024180]

Hong MK, Macintyre G, Wedge DC, Van Loo P, Patel K, Lunke S, Alexandrov LB, Sloggett C, Cmero M, Marass F, et al. Tracking the origins and drivers of subclonal metastatic expansion in prostate cancer. *Nature communications*.2015; 6:6605.

Hsieh CL, Botta G, Gao S, Li T, Van Allen EM, Treacy DJ, Cai C, He HH, Sweeney CJ, Brown M, et al. PLZF, a Tumor Suppressor Genetically Lost in Metastatic Castration Resistant Prostate Cancer, is a Mediator of Resistance to Androgen Deprivation Therapy. *Cancer research*.2015

Kaufman B, Shapira-Frommer R, Schmutzler RK, Audeh MW, Friedlander M, Balmana J, Mitchell G, Fried G, Stemmer SM, Hubert A, et al. Olaparib Monotherapy in Patients With Advanced Cancer and a Germline BRCA1/2 Mutation. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*.2015; 33:244–250.[PubMed: 25366685]

Kikugawa T, Kinugasa Y, Shiraishi K, Nanba D, Nakashiro K, Tanji N, Yokoyama M, Higashiyama S. PLZF regulates Pbx1 transcription and Pbx1-HoxC8 complex leads to androgen-independent prostate cancer proliferation. *The Prostate*.2006; 66:1092–1099.[PubMed: 16637071]

Kim D, Salzberg SL. TopHat-Fusion: an algorithm for discovery of novel fusion transcripts. *Genome 生物学*. 2011; 12:R72.[PubMed: 21835007]

Lalonde E, Ishkanian AS, Sykes J, Fraser M, Ross-Adams H, Erho N, Dunning MJ, Halim S, Lamb AD, Moon NC, et al. Tumour genomic and microenvironmental heterogeneity for integrated prediction of 5-year biochemical recurrence of prostate cancer: a retrospective cohort study. *The lancet oncology*.2014; 15:1521–1532.[PubMed: 25456371]

Lawrence MS, Stojanov P, Mermel CH, Robinson JT, Garraway LA, Golub TR, Meyerson M, Gabriel SB, Lander ES, Getz G. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature*.2014

- Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, Kryukov GV, Cibulskis K, Sivachenko A, Carter SL, Stewart C, Mermel CH, Roberts SA, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *自然》杂志*. 2013; 499:214–218.[PubMed: 23770567]
- Liu J, Pan S, Hsieh MH, Ng N, Sun F, Wang T, Kasibhatla S, Schuller AG, Li AG, Cheng D, et al. Targeting Wnt-driven cancer through the inhibition of Porcupine by LGK974. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013; 110:20224–20229.[PubMed: 24277854]
- Lonigro RJ, Grasso CS, Robinson DR, Jing X, Wu YM, Cao X, Quist MJ, Tomlins SA, Pienta KJ, Chinnaiyan AM. 使用靶向外显子组捕获测序检测癌症中的体细胞拷贝数改变. *Neoplasia*. 2011; 13:1019–1025.[PubMed: 22131877]
- Mateo J, Hall E, Sandhu S, Omlin A, Miranda S, Carreira S, Goodall J, Gillman A, Mossop H, Ralph C, et al. Antitumour activity of the PARP inhibitor olaparib in unselected sporadic castration-resistant prostate cancer (CRPC) in the TOPARP trial. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2014; 25:1–41.
- Mehra R, Kumar-Sinha C, Shankar S, Lonigro RJ, Jing X, Philips NE, Siddiqui J, Han B, Cao X, Smith DC, et al. Characterization of bone metastases from rapid autopsies of prostate cancer patients. 2011; 17:3924–3932.[PubMed: 21555375]
- Olshen AB, Venkatraman ES, Lucito R, Wigler M. Circular binary segmentation for the analysis of array-based DNA copy number data. *生物统计学*. 2004; 5:557–572.[PubMed: 15475419]
- Palanisamy N, Ateeq B, Kalyana-Sundaram S, Pflueger D, Ramnarayanan K, Shankar S, Han B, Cao Q, Cao X, Suleman K, et al. Rearrangements of the RAF kinase pathway in prostate cancer, gastric cancer and melanoma. *Nature medicine*. 2010; 16:793–798.
- Pflueger D, Terry S, Sboner A, Habegger L, Esgueva R, Lin PC, Svensson MA, Kitabayashi N, Moss BJ, MacDonald TY, et al. Discovery of non-ETS gene fusions in human prostate cancer using next-generation RNA sequencing. *Genome research*. 2011; 21:56–67.[PubMed: 21036922]
- Pritchard CC, Morrissey C, Kumar A, Zhang X, Smith C, Coleman I, Salipante SJ, Milbank J, Yu M, Grady WM, et al. Complex MSH2 and MSH6 mutations in hypermutated microsatellite unstable advanced prostate cancer. *Nature communications*. 2014; 5:4988.
- Robinson JT, Thorvaldsdottir H, Winckler W, Guttman M, Lander ES, Getz G, Mesirov JP. Integrative genomics viewer. *自然生物技术*. 2011; 29:24–26.
- Roychowdhury S, Iyer MK, Robinson DR, Lonigro RJ, Wu YM, Cao X, Kalyana-Sundaram S, Sam L, Balbin OA, Quist MJ, et al. Personalized oncology through integrative high-throughput sequencing: a pilot study. *Science translational medicine*. 2011; 3:111ra121.
- Ryan CJ, Smith MR, de Bono JS, Molina A, Logothetis CJ, de Souza P, Fizazi K, Mainwaring P, Piulats JM, Ng S, et al. Abiraterone in metastatic prostate cancer without previous chemotherapy. *The New England journal of medicine*. 2013; 368:138–148.[PubMed: 23228172]
- Scher HI, Fizazi K, Saad F, Taplin ME, Sternberg CN, Miller K, de Wit R, Mulders P, Chi KN, Shore ND, et al. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *The New England journal of medicine*. 2012; 367:1187–1197.[PubMed: 22894553]
- Schwartz S, Wongvipat J, Trigwell CB, Hancox U, Carver BS, Rodrik-Outmezguine V, Will M, Yellen P, de Stanchina E, Baselga J, et al. Feedback suppression of PI3Kalpha signaling in PTEN-mutated tumors is relieved by selective inhibition of PI3Kbeta. *Cancer cell*. 2015; 27:109–122.[PubMed: 25544636]
- Seshagiri S, Stawiski EW, Durinck S, Modrusan Z, Storm EE, Conboy CB, Chaudhuri S, Guan Y, Janakiraman V, Jaiswal BS, et al. Recurrent R-spondin fusions in colon cancer. *自然》杂志*. 2012; 488:660–664.[PubMed: 22895193]
- Taplin ME, Bubley GJ, Shuster TD, Frantz ME, Spooner AE, Ogata GK, Keer HN, Balk SP. 转移性雄激素独立前列腺癌中雄激素受体基因的突变. *The New England journal of medicine*. 1995; 332:1393–1398.[PubMed: 7723794]
- Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, Gopalan A, Xiao Y, Carver BS, Arora VK, Kaushik P, Cerami E, Reva B, et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *癌细胞*. 2010; 18:11–22.[PubMed: 20579941]

*C  
e  
l  
l*  
· 作者手稿；可在 P  
M  
C  
2  
0  
1  
6  
年  
5  
月  
2  
1  
日  
。



- Thorvaldsdottir H, Robinson JT, Mesirov JP. Integrative Genomics Viewer (IGV):  
高性能基因组学数据可视化和探索. *Briefings in bioinformatics*. 2013; 14:178–192. [PubMed:  
22517427]
- Tomlins SA, Laxman B, Dhanasekaran SM, Helgeson BE, Cao X, Morris DS, Menon A, Jing X,  
Cao Q, Han B, et al. Distinct classes of chromosomal rearrangements create oncogenic ETS gene  
fusions in prostate cancer. *Nature*. 2007; 448:595–599. [PubMed: 17671502]
- Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, Varambally S, Cao X,  
Tchinda J, Kuefer R, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in  
prostate cancer. *Science*. 2005; 310:644–648. [PubMed: 16254181]
- Trapnell C, Roberts A, Goff L, Pertea G, Kim D, Kelley DR, Pimentel H, Salzberg SL, Rinn JL,  
Pachter L. Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments  
with TopHat and Cufflinks. *Nature protocols*. 2012; 7:562–578.
- Van Allen EM, Foye A, Wagle N, Kim W, Carter SL, McKenna A, Simko JP, Garraway LA, Febbo  
PG. Successful whole-exome sequencing from a prostate cancer bone metastasis biopsy. *Prostate  
cancer and prostatic diseases*. 2014a; 17:23–27. [PubMed: 24366412]
- Van Allen EM, Mouw KW, Kim P, Iyer G, Wagle N, Al-Ahmadie H, Zhu C, Ostrovskaya I, Kryukov  
GV, O'Connor KW, et al. Somatic ERCC2 mutations correlate with cisplatin sensitivity in muscle-  
invasive urothelial carcinoma. *Cancer discovery*. 2014b
- Van Allen EM, Wagle N, Stojanov P, Perrin DL, Cibulskis K, Marlow S, Jane-Valbuena J, Friedrich  
DC, Kryukov G, Carter SL, et al. Whole-exome sequencing and clinical interpretation of  
formalin-fixed, paraffin-embedded tumor samples to guide precision cancer medicine. *Nature  
medicine*. 2014c; 20:682–688.
- Voeller HJ, Truica CI, Gelmann EP.  $\beta$ -  
catenin 突变在人类前列腺癌中的应用. *癌症研究*. 1998; 58:2520–2523. [PubMed:  
9635571]
- Wang XS, Shankar S, Dhanasekaran SM, Ateeq B, Sasaki AT, Jing X, Robinson D, Cao Q,  
Prensner JR, Yocum AK, et al. Characterization of KRAS rearrangements in metastatic prostate  
cancer. *癌症发现*. 2011; 1:35–43. [PubMed: 22140652]
- Wee S, Wiederschain D, Maira SM, Loo A, Miller C, deBeaumont R, Stegmeier F, Yao YM, Lengauer  
C. PTEN-deficient cancers depend on PIK3CB. *Proceedings of the National Academy of Sciences  
of the United States of America*. 2008; 105:13057–13062. [PubMed: 18755892]
- Weston VJ, Oldreive CE, Skowronska A, Oscier DG, Pratt G, Dyer MJ, Smith G, Powell JE, Rudzki.  
Z, Kearns P, et al. The PARP inhibitor olaparib induces significant killing of ATM-deficient  
lymphoid tumor cells in vitro and in vivo. *Blood*. 2010; 116:4578–4587. [PubMed: 20739657]

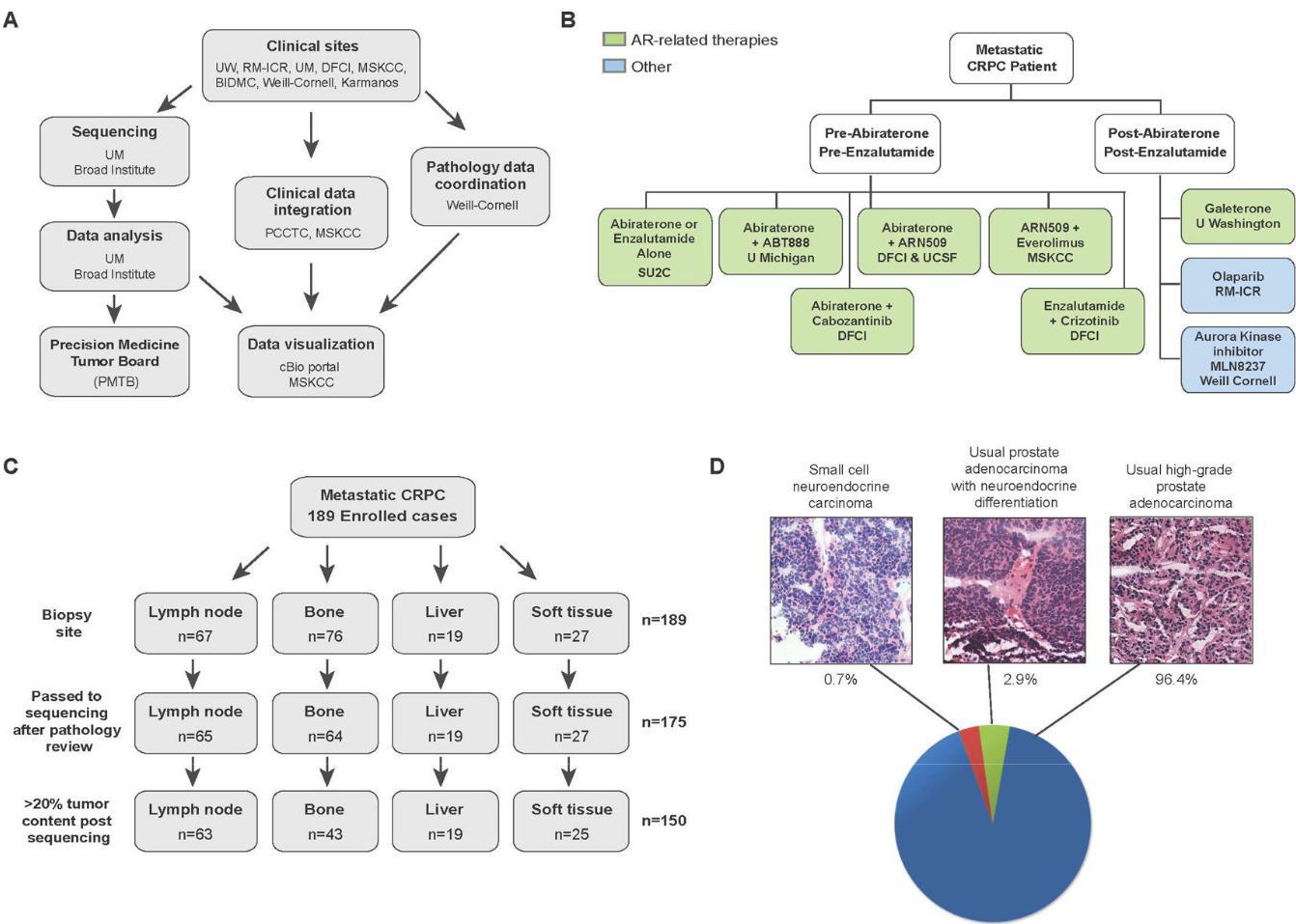


图1.SU2C-PCF IDT多机构临床测序mCRPC项目概述SU2C-PCF IDT多机构临床测序mCRPC项目概况。

**A**，多机构临床测序项目工作流程示意图。**B**，SU2C-PCF mCRPC项目的相关临床试验。**C**，用于临床测序的样本的活检部位。**D**，队列的组织病理学。mCRPC的形态学分析的代表图像与我们队列中的患病率一起显示。

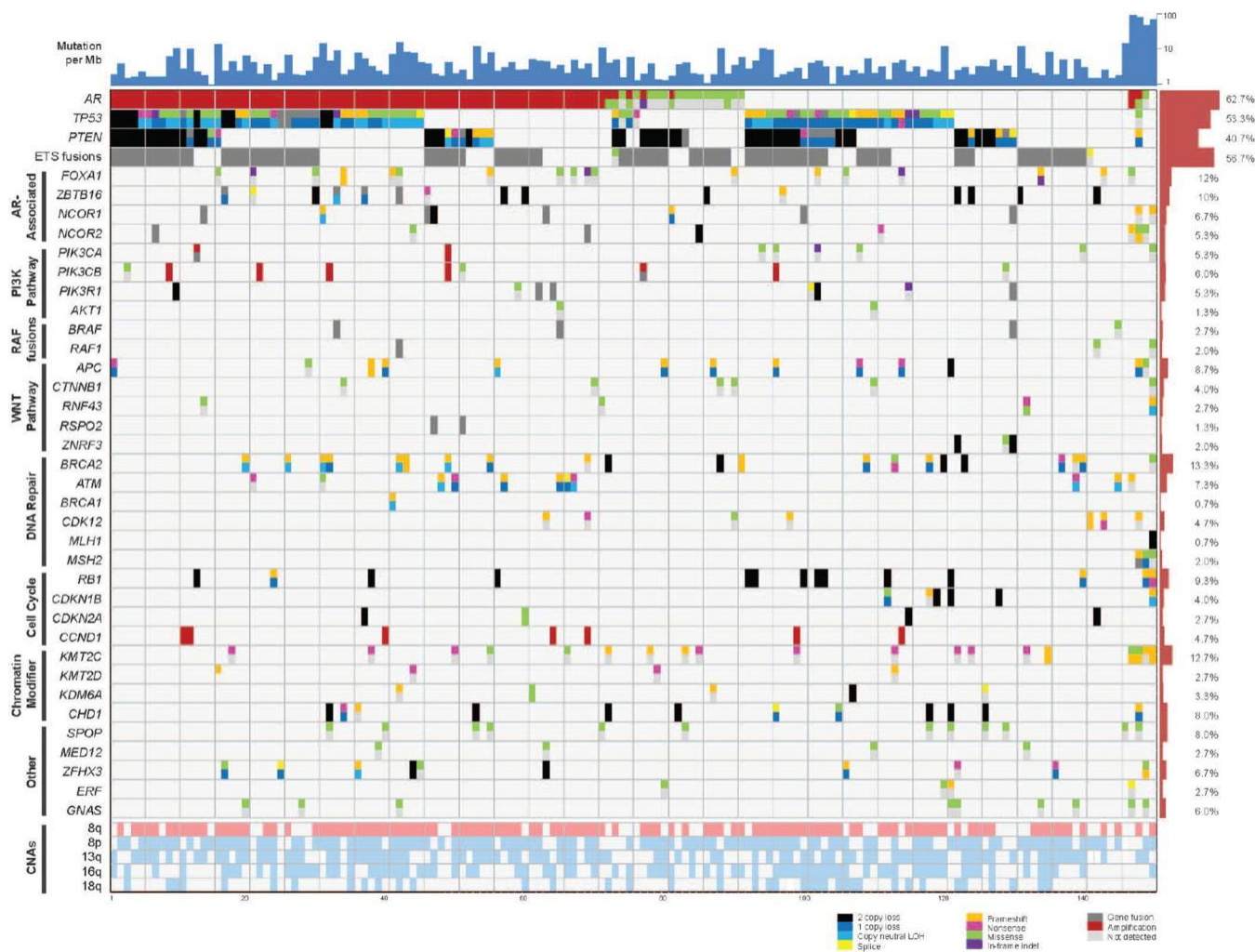


图2.通过对临床获得的活检样本进行DNA和RNA测序获得的转移性CRPC的体细胞和种系畸变的综合景观分析。

列代表单个患者，行代表特定基因分组的路径。每Mb的突变显示在上层直方图中，而队列中畸变的发生率在右侧直方图中。mCRPC常见的拷贝数变异(CNVs)在下部矩阵中显示，粉红色代表增益，浅蓝色代表损失。代表畸变的颜色图例包括扩增、2个拷贝丢失、1个拷贝丢失、拷贝中性丧失杂合性 (LOH)、接合位点突变、框移突变、错义突变、框内缺失和基因融合。基因畸变较多的病例用分色表示。

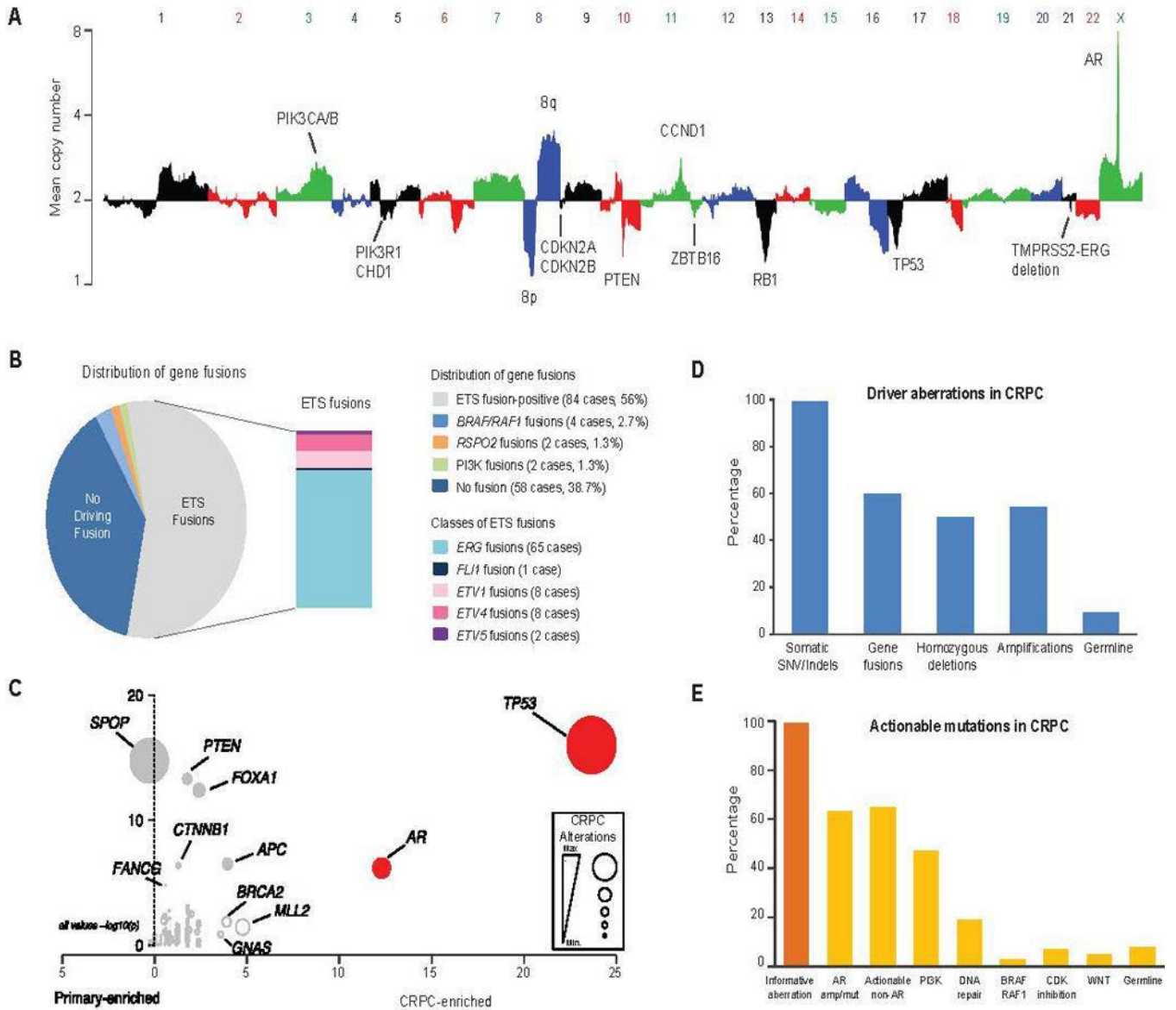


图3.mCRPC中出现的基因组畸变类别mCRPC中出现的基因组畸变类别。

#### A、SU2C-PCF

mCRPC队列的拷贝数景观。个别染色体由交替的颜色表示，关键的异常基因被指示

。B，mCRPC的基因融合景观。饼状图代表所有已发现的驱动融合，框图代表特定的ETS融合。

C，相对于激素幼稚的原发性前列腺癌，mCRPC中富集的突变。原发性前列腺癌数据来源于已发表的研究（Barbieri等人，2012）（TCGA，2015年临时）。

CRPC富集水平由x轴表示，MutSig

CRPC显著性分析由y轴提供。直径与具有特定畸变的病例数成正比。感兴趣的基因

被突出显示。D，在mCRPC中确定的驱动畸变的类别。E，在mCRPC中发现的临床可操作突变的类别。



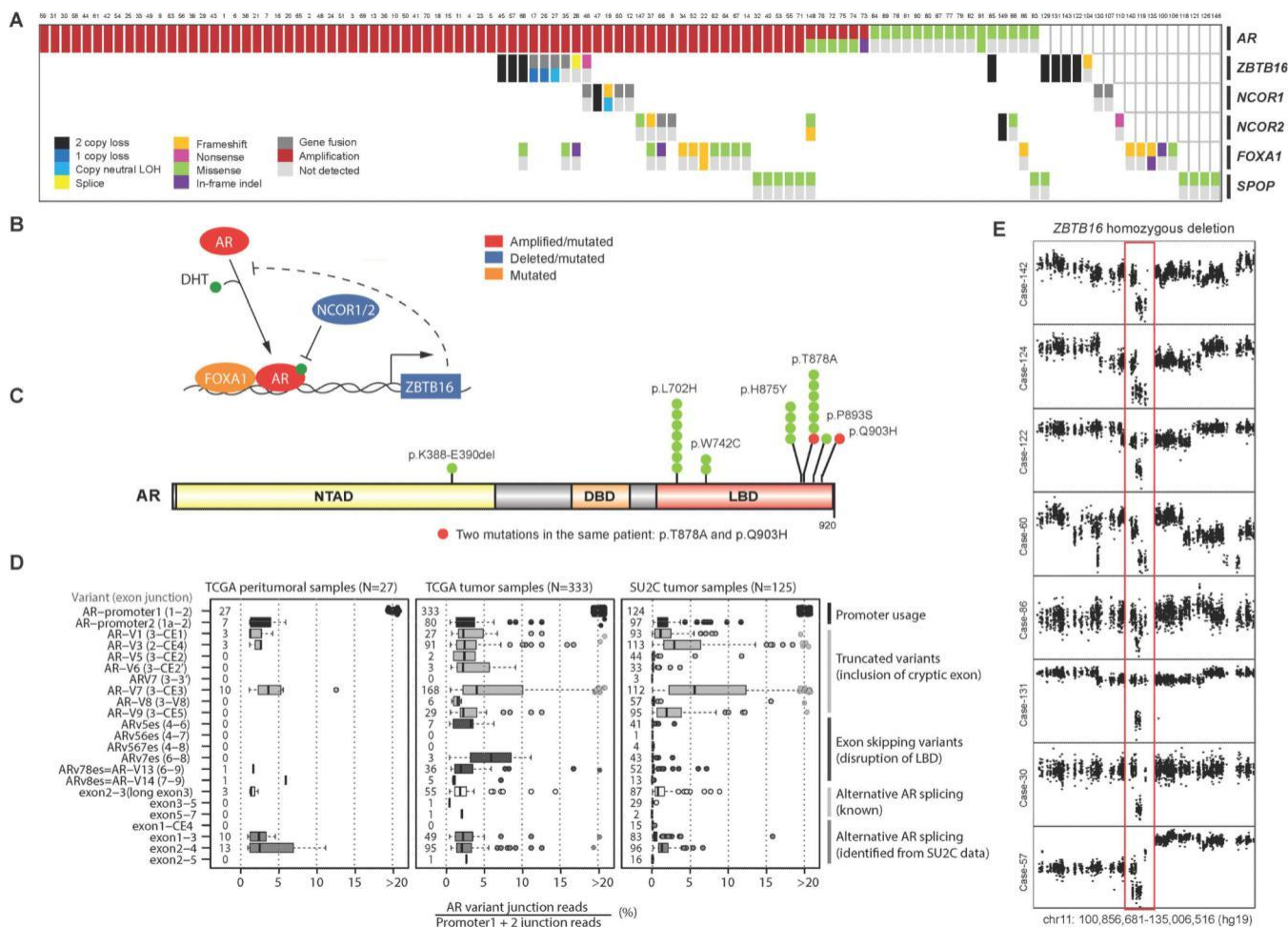


图4.在mCRPC中发现AR通路的畸变在mCRPC中发现的AR通路的畸变。

**A**、AR途径有畸变的病例。病例编号同图2。**B**，发现mCRPC的AR通路中的关键基因发生改变。DHT，双氢睾酮。**C**，AR中发现的点突变。氨基酸的改变是表示的。NTAD，N端激活。DBD，DNA结合。LBD，配体结合。**D**，AR在mCRPC中的拼接景观。特定的拼接变体由提供的外显子边界和结点读水平表示。SU2C，这个mCRPC队列。PRAD肿瘤，TCGA的原发性前列腺癌。PRAD正常，来自TCGA的良性前列腺腺。**E**，ZBTB16的同源性缺失。拷贝数图，x轴代表染色体位置，y轴指拷贝数水平。红色轮廓表示ZBTB16同源性缺失的区域。

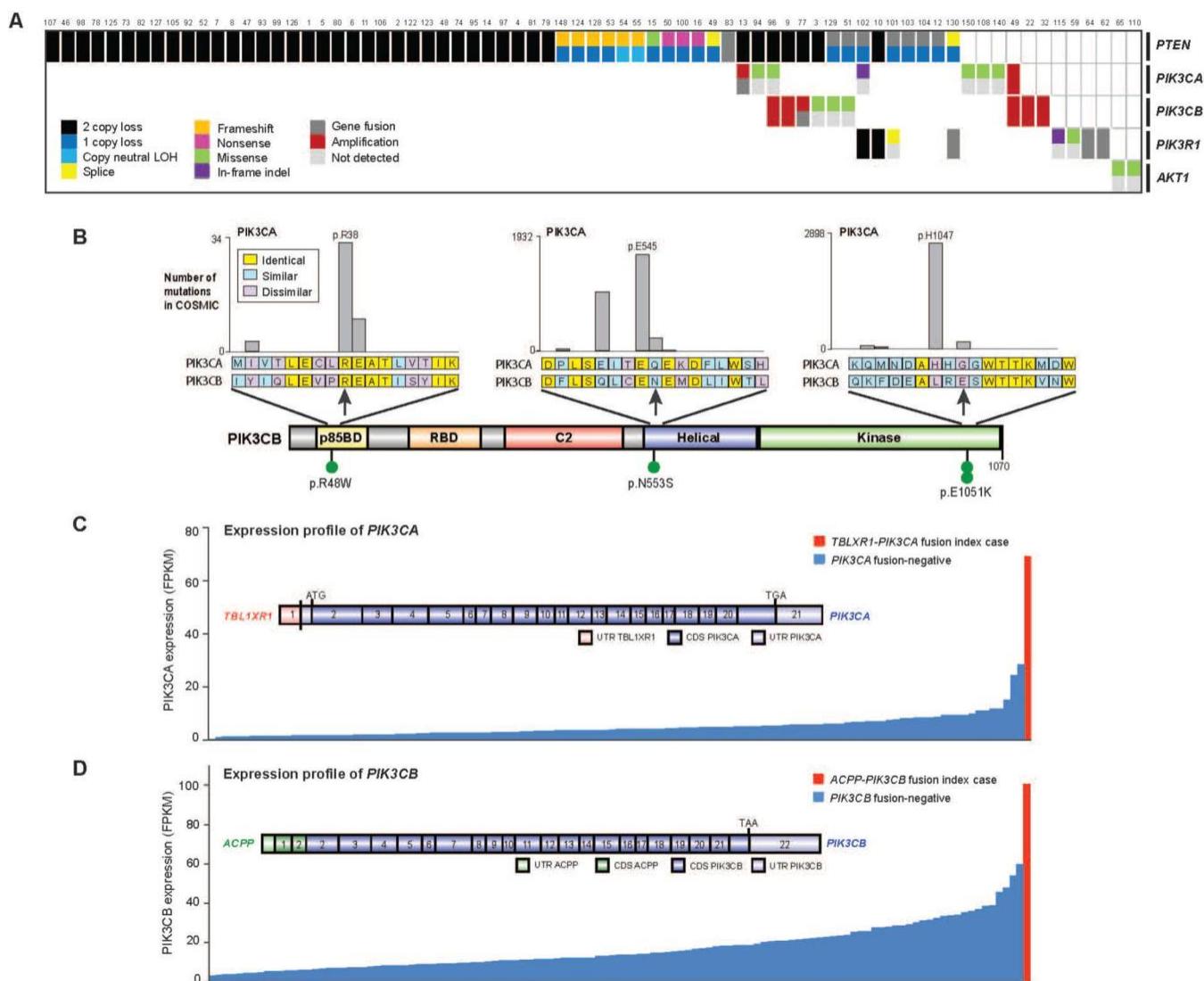


图5.在mCRPC中发现的PI(3)K通路的畸变在mCRPC中发现的PI(3)K通路的畸变。

**A**、PIK3通路有畸变的病例。病例编号同图2。**B**，PIK3CB中发现的点突变。氨基酸的改变表示。类似的，在PIK3CA中反复出现的COSMIC突变被显示为扩展视图。**C**，携带TBL1XR1-PIK3CA基因融合的CRPC病例中PK3CA的异常表达。基因融合的结构见插图。UTR，非翻译区。CDS，编码序列。**D**。除PIK3CB和ACPP-PIK3CB基因融合外，其他同C。



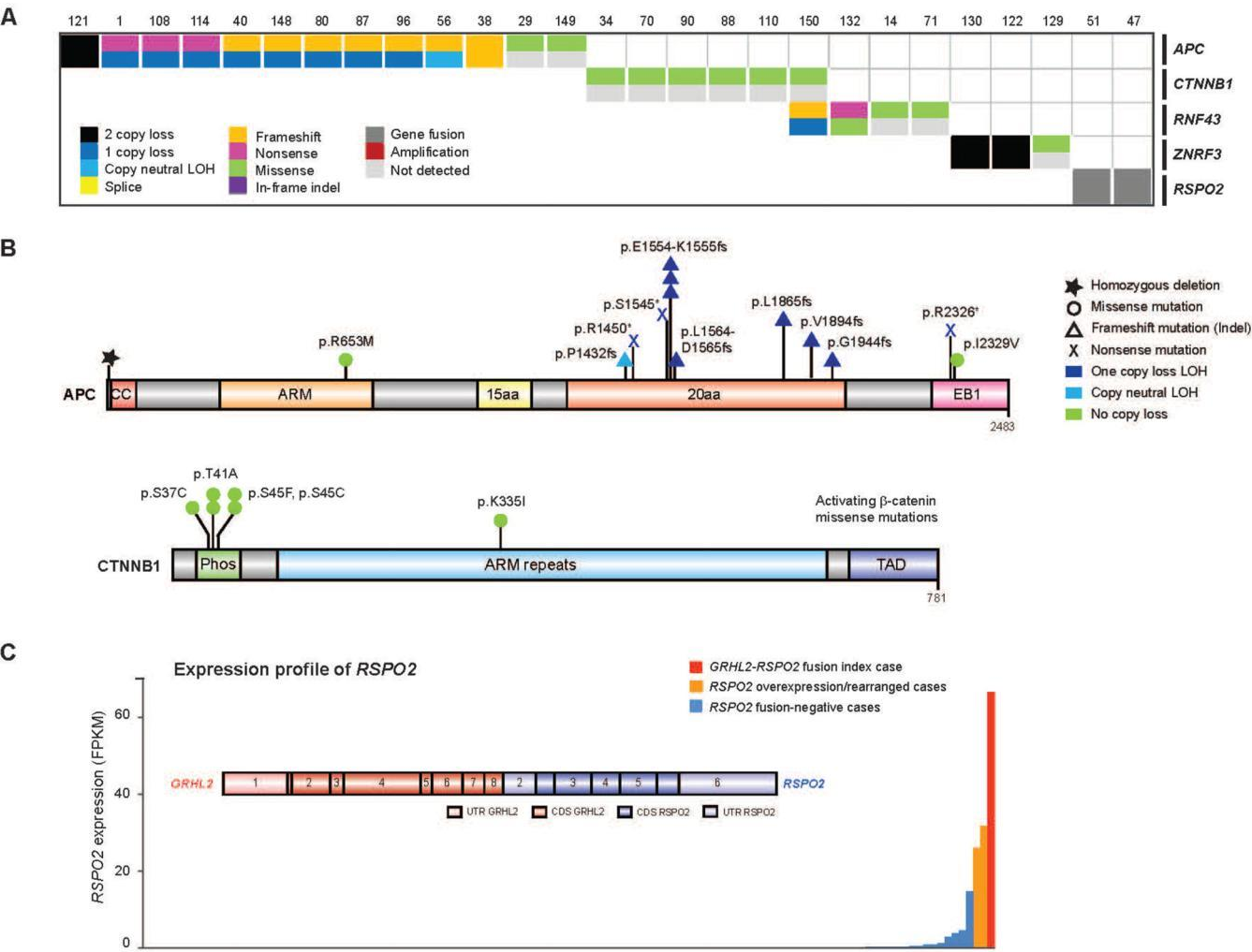


图6.在mCRPC中发现的WNT通路的畸变在mCRPC中发现的WNT通路的畸变。  
A、WNT通路有畸变的病例。病例编号同图2。B，在APC和CTNNB1中发现的畸变。  
氨基酸的改变表示。ARM，犳狢重复。Phos，磷酸化域。TAD，反式激活域。EB1，  
末端结合蛋白-1域。CC，盘绕线圈。C，RSPO2在CRPC和GRHL2-  
RSPO2基因融合的离群表达。我们整个CRPC队列的RNA-  
seq表达。基因融合的结构是插图。UTR，非翻译区。CDS，编码序列。

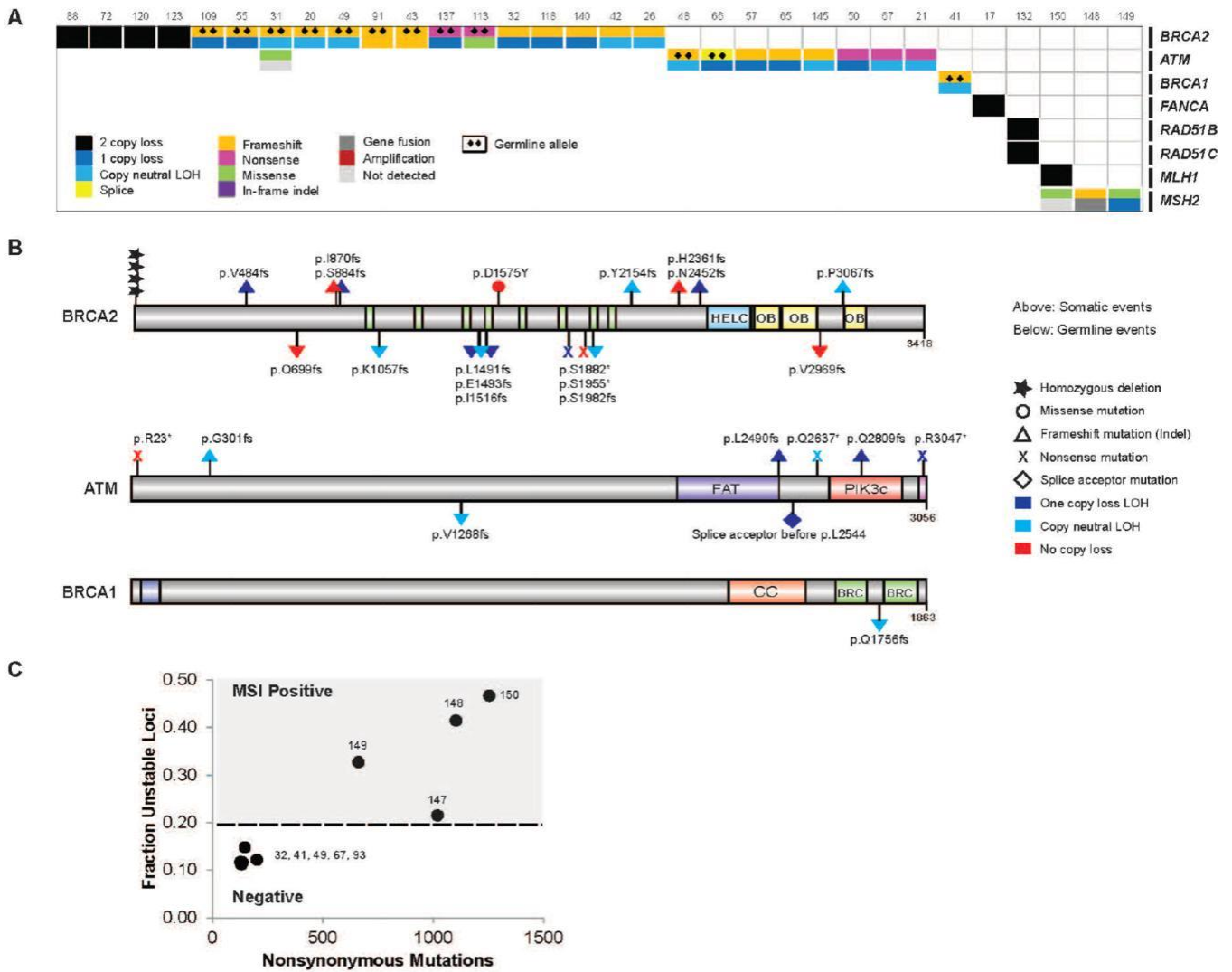


图7.在mCRPC中发现的DNA修复途径的畸变在mCRPC中发现的DNA修复通路的畸变。  
**A**、DNA修复途径出现畸变的病例。病例编号同图2。**B**、在BRCA2、ATM和BR  
CA1中发现的畸变。氨基酸的改变表示。HELC, 螺旋域。OB, 寡核苷酸结合褶  
皱。FAT, FRAP-ATM-  
TRRAP域。PIK3c, PI3激酶域。CC, 盘绕线圈。BRC, Brca重复。**C**、代表性低  
突变CRPC病例和非低突变病例的微卫星不稳定性分析。