

## 두경부암에서 정밀의료

박혜성 · 강진형

가톨릭대학교 서울성모병원 종양내과

### Precision Medicine in Head and Neck Cancer

Hye-sung Park, MS, Jin-Hyoung Kang, MD, PhD

Division of Medical Oncology, Department of Internal Medicine, Seoul St. Mary's Hospital,  
College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

#### = Abstract =

Technological advancement in human genome analysis and ICT (information & communication technologies) brought 'precision medicine' into our clinical practice. Precision medicine is a novel medical approach that provides personalized treatments tailored to each individual by precisely segmenting patient populations, based on robust data including a person's genetic information, disease information, lifestyle information, etc. Precision medicine has a potential to be applied to treating a range of tumors, in addition to non-small cell lung cancer, in which precision oncology has been actively practiced. In this article, we are reviewing precision medicine in head and neck cancer (HNC) with focus on tumor agnostic biomarkers and treatments such as *NTRK*, *MSI-H/dMMR*, *TMB-H* and *BRAF* V600E, all of which were recently approved by U.S. Food and Drug Administration (FDA).

**Key Words :** Head and neck cancer (HNC) · Next generation sequencing (NGS) · Personalized therapy · Precision medicine · Targeted therapy

### 배경

2023년은 DNA 이중나선이 발견된 지 70주년, 인간 게놈 프로젝트가 완료된 지 20주년이 되는 해다. 1990년 10월 시작되어 2003년 4월 완료된 '인간 게놈 프로젝트 (Human Genome Project, HGP)'와 이후 최근까지 이어진 후속 연구를 통해 약 30억개의 인간 DNA 염기서열 대부분이 확보되었고 암을 포함한 수많은 질병 관련 유전자 돌연변이도 밝혀지고 있다.<sup>1)</sup> 유전체 분석 기술이 고도화되며 차세대 염기서열 분석(next generation sequencing,

NGS)과 같은 유전자 검사법과 진단기기가 국내 여러 병원과 연구실에 보급되었고 2017년부터는 암 환자가 50% 본인 부담으로 NGS 검사를 받을 수 있도록 건강보험급여까지 적용되며, 이전보다 빠르고 저렴하게 DNA 염기서열과 돌연변이를 분석할 수 있게 되었다. 인간 게놈 프로젝트의 완성, NGS의 활발한 보급에 빅데이터, 클라우드, 딥러닝 같은 IT 기술의 발전이 더해져 환자 개인에서 생성되는 대용량(high-throughput) 데이터를 통합 분석해 어떤 결론을 도출하거나 제시할 수 있게 되면서 '정밀의료'가 자연스럽게 싹트게 되었고 2015년 미국의 오바마 대통령이 '정밀의료계획(Precision Medicine Initiative, PMI)'을 선포하면서 본격적인 정밀의료 시대를 맞이했다고 할 수 있다.<sup>2)</sup>

정밀의료는 환자 개인의 유전 정보, 질병 정보, 생활 정보 등을 총 망라한 데이터를 토대로 보다 정밀하게 환자를 세분하고 이를 활용해 환자 개개인에게 맞춤형 치료법을 선택하여 제공하는 치료법으로 지금까지 개인

Received: May 15, 2023

Accepted: May 24, 2023

+Corresponding author: Jin-Hyoung Kang, MD, PhD  
The Catholic University of Korea Seoul St. Mary's Hospital,  
222 Banpo-daero, Seocho-gu, Seoul, Korea  
Tel: +82-2-2258-6043  
E-mail: oncologykang@naver.com

간의 차이를 별로 고려하지 않았던, 마치 같은 크기의 옷을 모두에게 입히는 것과 같은(one-size-fits-all) 일률적인 접근법과 차이를 보인다.

정밀의료 치료법이 활발히 도입된 암종으로 폐암을 들 수 있다. 폐암은 오래전부터 비소세포폐암(non-small cell lung cancer, nsccl)과 소세포폐암(small cell lung cancer)의 2가지 유형으로 분류되다가, 비소세포폐암은 현미경 하에서 생검 조직의 병리학적 조건에 따라 선암(adenocarcinoma), 편평상피세포암(squamous cell carcinoma), 대세포암(large cell carcinoma), 그리고 기타암으로 세분하게 되었고, 2004년 상피세포 성장인자 수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR)의 돌연변이가 있는 폐 선암에서 표적치료제 gefitinib과 erlotinib의 효능이 밝혀진 이후로는 EGFR을 비롯 역형성 림프종 인산화효소(anaplastic lymphoma kinase, ALK) 변이, KRAS, BRAF, ROS1, RET, NTRK1, PIK3CA 등 다양한 유전자 변이에 따라 폐선암을 보다 세밀하게 분류하고 그에 적합한 표적치료제를 투여하게 되었다.<sup>3,6)</sup> 뿐만 아니라, 비소세포폐암에 비해 치료 옵션이 매우 제한적이었던 소세포폐암 또한 최근 전사인자(transcription factor)가 소세포폐암의 특징적인 종양이질성(tumor heterogeneity)과 계통적 가소성(lineage plasticity)에 깊이 관여한다는 연구 결과에 따라 소세포폐암을 특정 전사인자 발현에 따라 분류하고 분자유전학적 치료 타겟을 찾는 연구들이 다수 진행되고 있다.<sup>7)</sup>

## 두경부암의 역학과 병인

그렇다면 두경부암은 정밀의료 치료법을 필요로 하는 질환인가? 두경부암은 2020년 기준 전 세계에서 6번째로 많이 발생하는 암으로 매년 90만명이 새롭게 진단받고 46만명이 사망하는 것으로 집계되고 있다.<sup>8)</sup> 우리나라에서는 2020년 기준 전체 암 발생의 2.1%를 입술, 구강 및 인두암(C00-C14)과 후두암(C32)이 차지하고 있으며, 갑상선암(C73)은 전체 암 발생의 11.7%를 차지했다.<sup>9)</sup> 편평상피세포암이 전체 두경부암의 90% 정도를 차지하며 해부학적 발생 부위에 따라 구인두(oropharynx), 하인두(hypopharynx), 비인두(nasopharynx), 구강(oral), 비강(nasal cavity), 후두(larynx), 침샘(salivary gland)의 점막에 위치한 편평상피세포에 발생하는 악성종양으로 나누어진다.<sup>10,11)</sup> 두경부암의 주요 위험인자로는 흡연과 음주, 인유두종 바이러스(human papilloma virus, HPV)와 Epstein-Barr 바이러스(EBV) 감염, 유전자 변이 등이 알려져 있다.<sup>11,12)</sup> 구인두에서 주로 발생하는 HPV 양성 편평상피세포암은 HPV 음성 종양과 비교해 다른 병태생리적 특징과 보다

나은 임상적 결과를 보이며,<sup>13)</sup> 동아시아와 동남아시아 지역에서 호발하는 EBV 양성 상피암은 비인두에 주로 발생한다.<sup>14,15)</sup>

두경부암 중 침샘암은 아직까지도 조직학적 분류가 미완성일 정도로 조직학적으로 복잡하고 이질적인 형태로 발생한다. 이하선(parotid gland)에서 발생하는 암이 전체 침샘암의 60-75%를 차지하며, 다음으로 악하선(submandibular gland), 설하선(sublingual gland), 상부호흡소화관의 작은 침샘 등에서 발생한다.<sup>16)</sup> 2005년 세계보건기구(World Health Organization, WHO)는 악성 침샘암에 대해 24개의 서로 다른 조직학적 분류를 제시했는데, 점액표피양암종(mucoepidermoid carcinoma, MEC), 샘파리세포암종(acinic cell carcinoma, ACC), 샘낭암종(adenoid cystic carcinoma, AdCC), 다형선종유래 선암종(carcinoma ex-pleomorphic adenoma), 선암(adenocarcinoma) 등을 포함한다.<sup>16)</sup> 침샘암의 정확한 발생원인은 알려져 있지 않으나, 방사선, 바이러스(EBV와 HIV), 면역억제, 자외선 노출, 고무 또는 니켈 관련 산업 종사자의 직업적 노출, 이전에 진단된 수모세포종(medulloblastoma), 이전에 진단된 기저세포암, 안드로겐 수용체 발현, 특정 유전자 변이와 같은 다양한 기전이 제시되고 있다. 흡연과 음주가 악성 침샘암을 발생시킬 수 있다는 위험성과 상관관계에 대해서는 상반된 연구 결과가 발표되어 논란의 여지가 있다. 침샘에서 발생하는 원발 편평상피세포암의 가장 주요한 위험인자는 침샘에 대한 방사선 노출로 알려져 있다.<sup>16)</sup> 침샘암이 조직학적으로 다양한 형태로 나타나거나 다양한 발생 가능 원인이 제시되는 것은 침샘을 구성하는 조직과 세포들이 다양하기 때문으로 생각된다.

## 두경부암의 치료

두경부암은 발병 장기의 위치상 숨 쉬고 먹고 마시는 등 생명 유지와 직결된 신체 기능에 직접적인 손상을 초래할 뿐만 아니라 외형 변화까지 동반되어 삶의 질이 크게 저하되기 때문에, 환자들의 육체적, 심리적 고통이 매우 큰 암종이다. 따라서, 암 발생 부위의 조직 기능 보전을 위한 근치적 접근법이 효과적으로 알려져 있다. 국소 또는 국소주변(local or locoregional) 질환의 경우, 수술, 방사선요법, 전신 항암화학요법 등의 치료옵션을 고려할 수 있다. 구강암의 경우에는 흔히 절제술을 시행하지만, 후두암이나 인두암의 경우에는 표준 또는 소분할 방사선치료(hypo-fractionated radiation)가 선택된다. 특히, 후두암의 경우에는 최소침습적 접근법에 따라 조직 통합성(tissue integrity)을 보다 잘 보존하기 위해, 로봇 또는 레

이제 절제술과 재건술을 시행한다. 수술 후 재발 가능성이 높다고 판단되는 두경부암은 재발 위험도를 줄이고 생존 기간을 연장하기 위해 수술 후 방사선요법 또는 화학방사선요법(chemoradiotherapy, CRT)을 시행한다. 이때 항암 화학요법은 고용량의 백금 기반 항암제 단독요법(100 mg/m<sup>2</sup> 3주마다 투여) 또는 저용량(신기능이 저하된 환자의 경우 30-40 mg/m<sup>2</sup> 매주 투여)으로 투여한다. EGFR 항체인 cetuximab은 방사선요법의 효능을 증가시키는 것으로 알려져 있으며, 세포독성항암제의 유도요법(induction chemotherapy) 또는 CRT 후 추가적인 보조항암화학요법이 EBV 양성 비인두암 환자의 생존기간을 증가시키는 것으로 알려져 있다.<sup>11)</sup>

최근 진행성 두경부 편평상피세포암에서는 면역치료가 새로운 표준치료로 제시되고 있다. 2016년 미국식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)은 기존 표준치료 대비 유의한 효능을 보인 PD-1 면역관문억제제인 nivolumab과 pembrolizumab을 각각 CheckMate 141 3상 연구, KEYNOTE-12 1상 연구, KEYNOTE-055 2상 연구, KEYNOTE-040 3상 연구 결과를 근거로 재발 또는 전이 두경부 편평상피세포암의 치료제로 허가하였다.<sup>17,18)</sup> 최근 KEYNOTE-048 3상 연구(NCT02358031)에서는 pembrolizumab과 세포독성항암제의 병용요법이 기존 EXTREME 요법(platinum기반 항암제 + 5-fluorouracil + cetuximab의 3중요법)에 비해 모든 환자에서 보다 나은 항암 효능을 보였으며, 복합양성점수(combined positive score, CPS) > 30%로 PD-L1 발현이 높았던 환자군에서는 pembrolizumab 단독치료 또한 좋은 효능을 나타냈다.<sup>19)</sup>

## 정밀의료와 두경부암

‘정밀의료’는 유전 정보, 임상 정보, 생활 정보 등을 토대로 환자 개개인 맞춤 치료법을 제공함으로써 치료 효과를 미리 예상할 수 있을 뿐 아니라 보다 향상된 효과와 함께 불필요한 부작용은 감소시키며, 더 나아가 질환을 미리 예방할 수 있는 접근법이다. NGS의 보급으로 인간의 유전체, 전사체, 단백체 등 세포 내 분자 수준에서 다수의 오믹스(omics) 데이터를 보다 빠르고 간편하게 검사할 수 있게 되었고, 클라우드 시스템을 통해 방대한 양의 데이터 저장도 가능해졌다. NGS로 찾아낸 유전자 돌연변이와 표적치료제를 매칭하는 암정밀의료 치료법은 서론에서 소개한 대로 EGFR 돌연변이가 있는 비소세포폐암 환자에 EGFR 티로신 키나제 억제제(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)를 투여하는 것을 대표적인 예로 들 수 있다.

2015년 발표된 두경부 편평상피세포암의 종합적인 유

전체 특성을 요약하면 HPV 음성 두경부 편평상피세포암에서는 TP53, PIK3CA, FAT1, NOTCH 변이, CCND1 증폭, CDKN2A 소실이 대표적인 유전자 돌연변이로, HPV 양성 두경부 편평상피세포암에서는 E2F1 증폭, TRAF3 소실, PIK3CA의 높은 변이율이 대표적인 유전자 돌연변이로 알려져 있다.<sup>20,21)</sup> 두경부암에서 발견되는 유전자 변이 가운데 잠재적 타겟이 될 수 있는 유전자로는 EGFR 과 ERBB2 돌연변이와 증폭, HRAS 돌연변이, FGFR 돌연변이와 증폭, PIK3CA 돌연변이와 증폭, CCND1 증폭, 상동 재조합 결손(homologous recombination deficiency, HRD) 등이 있다(Fig. 1). 두경부암의 유전자 돌연변이 지도는 보다 더 밝혀져야 할 부분이 많지만, 특정 유전자 돌연변이가 밝혀지고 이를 표적으로 하는 치료제가 있다면 비소세포폐암과 같은 치료적 접근이 충분히 가능할 것으로 생각한다.

최근 5년간 종양 발생 조직에 상관없이 유전체 변이에 따라 효과를 나타내는 ‘암종 불문 치료제(tumor agnostic treatment)’가 개발되고 규제기관의 허가를 받는 약제들이 점점 증가하고 있다. NTRK 유전자 융합 양성인 성인 및 소아의 고형암 치료제로 허가된 entrectinib과 larotrectinib, MSI-H/dMMR 유전자 변이가 있는 고형암 7개 암종 치료제로 허가된 pembrolizumab, RET 유전자 변이가 있는 폐암과 갑상선암 치료제로 허가된 selpercatinib 등이 대표적인 암종 불문 치료제들이다.

두경부암에서도 이러한 유전자 변이 또는 생체표지자를 표적으로 환자 개인 맞춤형 치료를 제공하기 위한 여러 연구들이 진행 중이다.<sup>11)</sup> UPSTREAM (EORTC-1559-HNCG, NCT03088059)연구는 백금 기반 1차 항암화학요법 후 진행된 재발/전이성 두경부 편평상피세포암 환자를 대상으로 하는 세계 최초의 생체표지자 기반 우산형 임상시험이다. NGS를 통해 EGFR, HER2, TP53, PIK3CA, CCND1, NRAS, KRAS, HRAS, PTEN, FGFR1, FGFR2, FGFR3, cMET 등 13개 발암유전자 또는 암억제 유전자 및 mRNA 발현을 검사하고 면역화학염색(immunohistochemistry, IHC)을 통해 p16과 PTEN을 분석한 후 분자유전학적 결과 및 사전에 정의된 알고리즘에 따라 환자들을 해당 코호트에 배정한다. 지정된 생체표지자가 존재하지 않는 환자들은 면역치료제 코호트에 배정된다.<sup>22)</sup> 바구니형 2상 임상시험인 INSPIRE (NCT02644369)는 두경부암을 포함한 근치 불가능한 국소 진행성 또는 전이성 고형암 환자를 대상으로 액체생검을 통해 검출된 순환 종양 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA)와 pembrolizumab 면역치료제의 항암효능 사이의 상관관계를 연구하고 있다.<sup>23)</sup>

조직 생검으로 얻어진 DNA에 대한 ‘NGS’와 말초 혈액에 존재하는 세포 유리 DNA (cell-free DNA, cfDNA)를

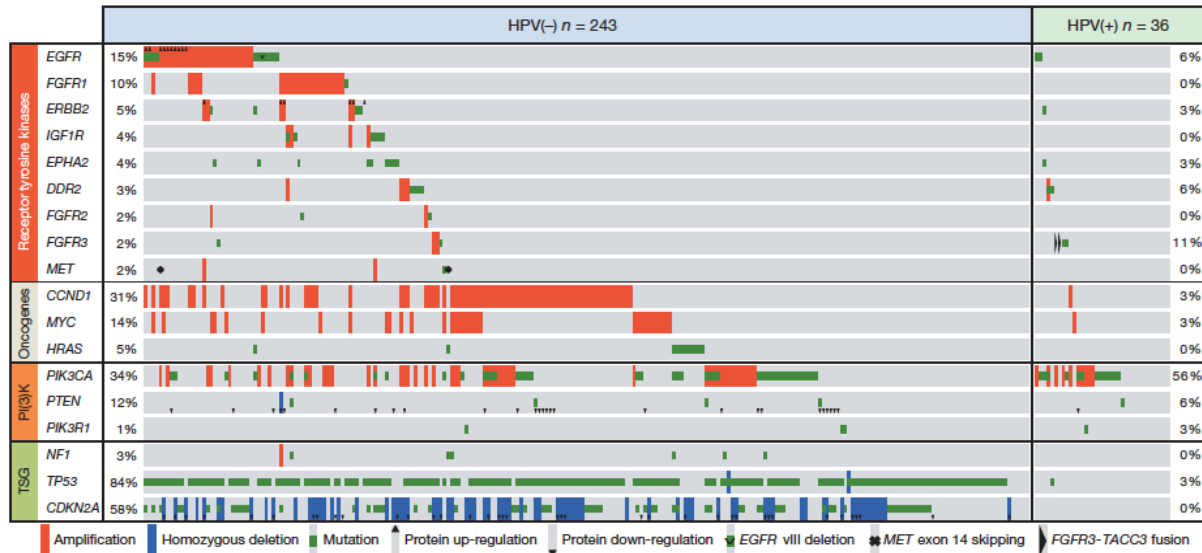


Fig. 1. Potential target gene mutations for head and neck cancer (Cited from The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. Nature. 2015;517:576-582.)

검사하는 ‘액체생검(liquid biopsy)’을 결합해 염기서열 치환, 삽입 및 결실, 복제수 변이, 재배열 등 주요한 4가지 유전자 돌연변이 유형과 종양 돌연변이 부하(tumor mutational burden, TMB), 미세부수체 불안정성(microsatellite instability, MSI), 이형접합성 소실(loss of heterozygosity, LOH), 종양 분획(tumor fraction) 등을 알아내는 것을 ‘통합 유전자 프로파일링(comprehensive genomic profiling)’이라고 하는데,<sup>24,25)</sup> 두경부암을 포함해서 점점 더 많은 암 종과 질환에서 통합 유전자 프로파일링을 통해 환자 개개인에서 유전자 수준의 변이를 찾아내고 이에 맞는 치료법을 제시할 수 있는 때가 멀지 않은 것으로 전망한다. 임상연구에서 고무적인 치료효과가 보고되어 두경부암 환자의 임상진료 현장에서 사용 중이거나 임상시험 형태로 투여가 가능한 암종분류치료제와 표적치료제를 표적 유전자 변이별로 자세히 소개하고자 한다.

### BRAF V600E 변이

정상 세포에서는 세포 밖 성장인자들 즉, 리간드(ligands)가 세포막 수용체와 결합할 때만 RAS, BRAF, MEK, ERK 신호전달 경로가 활성화되는 반면, 종양 세포에서는 수용체와 리간드 사이의 결합과 상관없이 돌연변이가 발생한 BRAF가 지속적으로 활성화를 유도하여 암 세포의 성장과 증식이 일어난다.<sup>26)</sup> Dabrafenib은 야생형 BRAF 및 CRAF 키나제와 V600 변이 BRAF 키나제에 대한 억제제이며, trametinib은 MEK1 및 MEK2 활성화와 키나제 활성의 가역적인 저해제이다. Dabrafenib과 trametinib 병용요법은 RAS/RAF/MEK/ERK 신호전달 경로에서 2개

의 서로 다른 키나제를 타겟한다.

최근 미국 FDA는 진행 속도가 매우 빠르고 치료가 어려운 역형성 갑상선암에서 BRAF 저해제인 dabrafenib과 MEK 저해제인 trametinib의 병용요법을 시판 허가했다.<sup>27)</sup> 현재 이 두가지 표적치료제의 병용요법은 수술로 제거를 할 수 없는 BRAF V600E 변이를 가진 역형성 갑상선암 환자의 새로운 표준치료로 인정되고 있다.<sup>28)</sup>

### 높은 미세부수체 불안정성 (MSI-H)

DNA가 중합효소(polymerase)에 의해 복제될 때 생기는 오류를 고쳐주는 불일치 복구(mismatch repair, MMR)의 결핍은 불일치 복구 유전자(*MLH1*, *PMS2*, *MSH2*, *MSH6*) 변이로 인해 발생하고, 이로 인해 DNA 복제 시 오류 복구에 실패하게 된다. 불일치 복구 결핍(mismatch repair deficiency, dMMR)은 DNA 미세부수체 (짧은 염기서열이 반복적으로 나타나는 DNA 부위)에 특히 두드러지게 나타나, 이를 높은 수준의 미세부수체 불안정성(microsatellite instability high, MSI-H)으로 부른다. MSI-H 또는 dMMR은 2-4%의 암종에서 발생하는데, 대장암, 자궁내막암, 위암에서 흔히 나타나는 것으로 알려져 있다. MMR의 결핍은 유전체(genome) 전반을 통해 관련이 없는 위치에서 새로운 체세포 돌연변이(somatic mutation)를 초래하고, 이러한 돌연변이들은 종양에 존재하는 이질적인 신항원(neoantigen)에 대한 면역반응을 “개시(prime)”할 수 있는 면역원성 단백질을 생산할 수 있다. 이 때문에, MSI-H 종양은 잠재적으로 MSS (microsatellite stable) 종양보다 면역관문억제제에 대해 보다 민감하게 반응한다.<sup>29,30)</sup>

**Table 1.** Clinical trials using pembrolizumab for MSI-H/dMMR tumors (Adapted from Marcus L, et al.<sup>27</sup>).

임상연구	디자인	환자수	MSI-H/dMMR 검사법	Pembrolizumab 치료	이전 치료
KEYNOTE-016	- 연구자 주도 임상 - 전향적, 단일군 - 대장암 및 비 대장암 코호트	28명 (대장암) 30명 (비 대장암)	지역 PCR 또는 면역 화학염색 (IHC)	10 mg/kg 매 2주	- 대장암: 2개 이상 - 비 대장암: 1개 이상
KEYNOTE-164	- 스폰서 주도 임상 - 전향적, 단일군 - 대장암	61명	지역 PCR 또는 IHC	200mg 매 3주	fluoropyrimidine, oxaliplatin, irinotecan±항VEGF/ EGFR 생물학적제제
KEYNOTE-012	- 스폰서 주도 임상 - 다중코호트 임상연구에서 후향적으로 검출된 MSI-H/ dMMR 종양 환자군 - PD-L1 양성 종양	96명 중 6명	중앙 PCR	10 mg/kg 매 2주	1개 이상
KEYNOTE-028	- 스폰서 주도 임상 - 다중코호트 임상연구에서 후향적으로 검출된 MSI-H/ dMMR 종양 환자군 - PD-L1 양성 종양	265명 중 5명	중앙 PCR	10 mg/kg 매 2주	1개 이상
KEYNOTE-158	- 스폰서 주도 임상 - MSI-H/dMMR인 전향적 비 대장암 코호트 - 10개 희귀암 중 1개에서 후향 적으로 검출된 MSI-H 환자	19명 (3명의 후향적 MSI-H 검출 환자 포함)	지역 PCR 또는 IHC (비 대장암 희귀종양 환자는 중앙 PCR)	200mg 매 3주	1개 이상

2017년 5월 23일, 미국FDA는 PD-1 면역관문억제제인 pembrolizumab을 성인 또는 소아에서 수술 불가능하거나 전이성의 MSI-H 또는 dMMR 고형암으로 기존 치료 이후 병이 진행해 대체 치료 옵션이 없는 경우와 fluoropyrimidine, oxaliplatin, irinotecan 치료 후 진행한 수술 불가능하거나 전이성의 MSI-H 또는 dMMR 대장암의 치료제로 허가했다. 이는 FDA가 최초로 종양의 원래 위치와 상관 없이 종양의 생체표지자에 근거한 치료제(tumor agnostic 또는 pan-tumor approved therapy)를 시판 허가한 사례다.<sup>29,31)</sup> 이때의 FDA 허가는 총 5건의 임상시험 결과가 근거가 되었는데 (Table 1),<sup>29)</sup> 이 중 최근 발표된 KEYNOTE-158 임상연구의 장기 추적관찰 결과를 자세히 소개하겠다.

KEYNOTE-158 (NCT02628067)<sup>30)</sup>은 비무작위, 공개, 다중코호트, 임상 2상 연구로 사전에 정의된 10개의 고형암 종 환자를 코호트 A부터 J까지 모집하고, 대장암이 아니면 조직학적 또는 세포학적으로 근치불가능 판정된 진행성 고형암(전이성 and/or 수술 불가능한 고형암에서 1차 표준 치료제 실패 또는 불내성인 경우)에서 MSI-H/dMMR인 환자를 코호트 K (전향적 암종 불문 코호트)에 모집했다. 코호트 K에는 28개 암종 351명의 환자들이 등록했는데, 자궁내막암(22.5%), 위암(14.5%), 소장암(7.4%), 난소암(7.1%), 담도암(6.3%), 췌장암(6.3%), 뇌종양(6.0%)과 갑상선암(1.75%), 침샘암(1.1%), 두경부 편평상피세포암(0.3%), 비인두암(0.3%)을 포함했다. PD-L1 발현율은 코호트 K의 선정 기준은 아니었으나, 9.4%의 환자가 PD-L1 양성 종양을, 9.7%의 환자가 PD-L1 음성 종양을 갖고 있었고, 나머지는 평가할 수 없거나 평가하지 않은 경우에 해당했다.

코호트 K의 환자들을 대상으로 3주마다 pembrolizumab 200mg을 35 주기(~2년) 또는 병이 진행하거나 수용불가능한 이상반응이 나타날 때 까지 투여했다.

이전의 보고에서 코호트 A~J와 코호트 K의 MSI-H/dMMR 환자군을 대상으로 한 pembrolizumab의 객관적 반응률은 34.3%, 무진행생존기간 중앙값은 4.1개월, 전체생존기간 중앙값은 23.5개월로 나타났다. 이번 장기추적 결과는 코호트 K의 MSI-H/dMMR 환자군을 대상으로 한 것으로 객관적 반응률 30.8%, 반응지속기간 중앙값 47.5개월, 무진행생존기간 중앙값 3.5개월, 전체생존기간 중앙값 20.1개월로 나타났다. 치료 관련 이상반응(treatment-related adverse events, TEAEs)는 64.7%의 환자에서 발생했고, 11.1%의 환자에서 3-4등급의 TEAEs가 보고되었다. 이 중 3명의 환자 (0.9%)에서는 5등급 TEAE에 해당하는 심근염, 폐렴, 길랑-바레증후군이 각 1건씩 보고되었다. 이와 같이 pembrolizumab은 비록 소수이나 두경부암을 포함 이전 치료 경험이 많은 진행성 MSI-H/dMMR 종양에서 유의미하고 지속적인 임상적 이득과 장기 안전성 프로파일을 보여주었다.

### 높은 종양 돌연변이 부하(Tumor mutational burden-H, TMB-H)

앞서 기술한 높은 수준의 미세부수체 불안정성(MSI-H) 또는 불일치 복구 결손(dMMR)이 많은 수의 신항원을 발현하는 것과 유사하게, TMB는 어떤 암세포의 체세포 유전자 돌연변이 부담(높은 발현율)을 반영한다. TMB는 암세포가 가진 돌연변이수(mut)를 1 메가베이스(Mb) 당

계량화한 측정값으로, 10 mut/Mb 이상이면 신항원 형성 가능성이 높은 것으로 제시되고 있다. TMB가 낮은 종양에 비해 높은 종양은 면역원성 신항원(immunogenic neoantigens)이 보다 많은 경향이 있으며, 숙주 T 세포에 의한 종양 신항원의 인식은 면역치료제의 반응을 예측하는 중요한 요인 중 하나이다. 이전 치료에 실패하고 대체 치료 옵션이 없는 수술 불가능하거나 전이성의 MSI-H/dMMR 고형암을 대상으로 pembrolizumab이 임상적으로 유의미한 객관적 반응을 근거로 최초의 종양 불문 치료제로 FDA 허가를 받은 이후, *NTRK*이나 TMB와 같은 생체표지자에 대한 종양 불문 치료제 개발이 가속화되었고 특히 TMB는 면역치료제의 반응을 예측하는 생체표지자로서 광범위한 연구가 진행되었다.<sup>31)</sup>

TMB는 여러 다른 방법을 사용해서 결정할 수 있지만, 최적의 접근 방식은 약 30Mb를 포함하는 광범위한 exome 염기서열분석(whole exome sequencing, WES)을 기반으로 계산하는 것이다. 반면, FoundationOne CDx (F1CDX)는 0.8Mb에 의해 유전정보가 제공되는 보다 제한적인 유전자 패널을 기반으로 TMB를 측정하는 검사법으로, TMB에 근거한 적응증을 가진 항암제로 pembrolizumab이 최초의 FDA 허가를 받을 때 근거가 된 KEYNOTE-158 임상연구에서도 TMB 측정 검사법으로 사용되었다. Pembrolizumab을 개발한 미국 제약사 Merck는 2020년 AACR 학술대회에서 24개 암종에 대한 12개 임상연구의 pooled data를 사용하여 WES 분석을 통한 TMB 검사 결과를 발표한 바 있다. 이 발표에서 1772명의 pembrolizumab 투여 환자 중 433명(24%)이 WES 검사에서 TMB 175 mut/exome 이상으로 나왔고 이는 F1CDX 검사 기준으로 10 mut/Mb 이상과 동등한 결과이다. NGS 검사를 통해 계산되는 TMB는 특히 침샘암, 질암, 신경내분비종양과 같은 특정 희귀암에서 중요한 생체표지자로 부각되고 있다.<sup>31,32)</sup>

KEYNOTE-158은 이전 치료 후 진행하여 만족할 만한 대체 치료 옵션이 존재하지 않는 진행성 고형암에 대한 단일치료, 2상 다기관, 다중코호트 연구로 대상환자 중 105명이 TMB-H [FoundationOne CDx에 의해 검출된 10개 이상의 돌연변이/메가베이스(Mb)]에 대한 사전에 지정된 기준을 충족했으며, 14명의 피험자는 TMB-H와 MSI-H 두 가지를 모두 가지고 있었다. 유효성 평가가 가능했던 102명에서 객관적 반응률은 29.4%로 나타났으며, 반응기간 중앙값은 도달하지 못했으나 57%의 환자가 12개월 이상 지속되는 반응을 보였다. 2020년 6월 FDA는 이와 같이 임상적으로 유의미한 연구결과를 근거로 TMB-H 고형암 환자에 사용할 수 있도록 pembrolizumab의 적응증을 추가 승인했다. 또한, 이와 동시에 미국FDA는 FoundationOne

CDx (F1CDX) 검사법에 대해 10 mut/Mb을 기준으로 TMB-H 고형암에 대한 동반 진단(companion diagnostic)으로서 보조적 시판전 허가(supplemental premarket approval, SPMA)를 한 바 있다.<sup>30)</sup>

## NTRK 융합 유전자 변이

신경영양성 티로신 수용체 키나제(neurotrophic tyrosine receptor kinase, NTRK) 유전자 1, 2, 3은 각각 유전정보를 제공하여 NTRK 티로신 수용체 키나제 A, B, C가 만들어진다. NTRK는 정상적으로 신호 전달을 통해 말초신경계와 중추신경계 뉴런(neuron)의 성장, 분화, 생존을 조절한다.<sup>33)</sup> 한편, *NTRK* 유전자가 다른 유전자와 융합되면 구조적으로 활성화된 TRK 융합 단백질을 생성하여 세포의 형질 변형, 증식, 이동, 침습성을 가지게 된다.<sup>34)</sup> *NTRK* 융합 유전자는 강력한 유사분열성 발암 유전자인 *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* 유전자 변이와 상호 배타적(mutually exclusive)으로 발견되며, 이는 *NTRK* 융합 유전자를 가진 고형암에서는 유일한 발암 유전자 변이일 가능성을 시사한다.<sup>33,35)</sup> *NTRK* 융합 유전자 변이는 모든 고형암을 망라해서 0.3% 정도의 낮은 빈도로 뇌교모종(glioma), 침샘암 중 유선유사 분비성 암종(mammary analogue secretory carcinoma, MASC of salivary gland), 분비성 유방암(secretory breast cancer), 담도암(cholangiocarcinoma), 위장관기질종양(gastrointestinal stromal tumor, GIST), 연부조직육종(soft tissue sarcoma), 악성흑색종(malignant melanoma)을 포함한 25개 암종 이상에서 발견되는 것으로 알려져 있다.<sup>36-38)</sup>

*NTRK* 융합 유전자가 발견되는 비소세포폐암(30-50%), 대장암(2.5-23%), 삼중음성 유방암(29%)에서는 중추신경계 전이가 흔하게 발견된다.<sup>39,41)</sup> 다른 전이 부위와 비교할 때 비소세포폐암에서 뇌 전이는 기대 수명감소(25.3주)<sup>39,40)</sup>와 삶의 질 저하<sup>40,41)</sup>와 관련이 있다. 이런 이유로 *NTRK* 융합 유전자 암에서는 중추신경계(central nervous system, CNS)에 효과적인 전신치료법이 필요하며 NTRK를 선택적으로 저해하는 larotrectinib과 entrectinib은 CNS에 잘 침투해서 장기간 남아있게 되어 강력한 CNS 함양 효능을 나타낸다.<sup>42)</sup>

2018년 11월에 larotrectinib이, 2019년 8월에 entrectinib이 *NTRK* 융합 유전자 양성 고형암 치료제로 미국FDA의 신속허가(accelerated approval)를 받았다.<sup>43,44)</sup> Larotrectinib의 허가<sup>43)</sup>는 LOXO-TRK-14001 (NCT02122913), SCOUT (NCT02637687), NAVIGATE (NCT02576431) 3개의 다기관, 공개, 단일군 임상 연구를 근거로 했다. 이 3개의 임상 연구에서 larotrectinib은 *NTRK* 융합 유전자 양성인면서 수술 불가능하거나 전이성 고형암 환자 55명을 대상으로

객관적 반응율 75% (22% 완전 반응, 53% 부분 반응 포함)을 나타냈다. 반응기간 중앙값은 도달하지 못했으나, 6개월 이상 반응이 지속된 환자는 73%, 9개월 이상은 63%, 12개월 이상 반응이 지속된 환자는 39%로 나타났다. Larotrectinib의 안전성은 44명의 소아 환자를 포함한 총 176명의 환자에서 평가되었는데 가장 흔한 이상반응은 피로, 오심, 구토, 어지러움, 기침, AST/ALT 증가, 변비, 설사 등이었다.

Entrectinib의 허가<sup>44)</sup>는 ALKA, STARTRK-1 (NCT02097810), STARTRK-2 (NCT02568267) 3개의 다기관, 단일군 연구를 근거로 이루어졌다. 이 3개의 연구에서 54명의 성인 환자에 대한 entrectinib의 객관적 반응률은 57%로 나타났고, 6개월 이상 반응이 지속된 환자는 68%, 12개월 이상 지속된 환자는 45%로 보고되었다. Entrectinib 투여로 나타난 흔한 이상반응은 피로, 변비, 미각이상(dysgeusia), 부종, 어지러움, 설사, 오심, 감각이상(dysesthesia), 숨참, 근육통, 인지기능장애, 체중 증가, 기침, 구토 등으로 나타났다. Entrectinib의 효능과 안전성을 평가한 위 3개 연구에서 침습 유선 유사 분비성 암, 갑상선암, 두경부암에 대한 객관적 반응률은 각각 84.6%, 62.5%, 60.0%였으며, 반응지속기간 중앙값은 각각 2.8-49.7개월, 5.6-44.2개월, 4.0-32.6개월이었다.<sup>45)</sup>

*NTRK* 융합유전자 변이와 같은 희귀암 환자를 대상으로 진행되는 임상시험의 공통적인 문제는 낮은 등록률,<sup>46)</sup> 표준치료 비교군이 없는 비주작위 배정 설계,<sup>47-49)</sup> 진단의 명확하지 않은 기준<sup>49)</sup>이다. 희귀암에서 분자유전학적 방법에 의한 치료 결정은 고품질 임상시험의 형태로 추가적인 연구를 필요로 한다. 희귀암 임상시험에서 평가될 수 있는 잠재적인 표적의 가능성을 가진 유전적 변이의 다양성을 고려할 때 ‘마스터 프로토콜(master protocol)’ 설계가 이상적인 접근법이다.<sup>50)</sup> 마스터 프로토콜의 하나인 우산형(umbrella) 임상연구는 잠재적 이질성에 대응하는 치료법을 제공하며, 새로운 증거가 등장할 때 마다 치료법을 추가할 수 있는 유연성을 제공한다.<sup>50)</sup>

### H-RAS 유전자 변이

*RAS*는 대표적인 발암 유전자로서 많은 암종에서 세포의 성장과 생존의 핵심 매개체이다. *RAS*의 3가지 동일 단백질(isoenzyme) 가운데 하나인 H-RAS는 두경부 편평상피세포암의 4-8%에서 돌연변이 형태로 발견되며 고형암의 증식과 약물 내성 기전을 유도한다. Farnesyltransferase 단백질은 세포질에서 farnesyl 잔기를 *RAS*에 추가하는 과정을 촉매하는 효소다. Farnesylation은 H-RAS 신호전달을 위한 필수적인 생화학적 과정이며 *RAS* isoform은 far-

nesyltransferase 저해제에 대해 특이적으로 민감하다.<sup>51)</sup>

Tipifamib은 farnesylation과 H-RAS 종양단백(oncoprotein)의 신호전달 활성을 저해하는 표적치료제로 개발되었고, 2021년 2월 미국 FDA의 혁신의약품 지정(Breakthrough Therapy Designation, BTD)을 받은 바 있다. 과거 치료를 받은 경험이 있는 재발, 전이성 두경부 편평상피세포암 환자를 대상으로 tipifamib를 평가하는 2상 임상시험에서 20% 이상의 높은 VAF (variant allele frequency >20%)를 가진 20명 환자에서 객관적 반응율 55%, 무진행생존기간 중앙값 5.6개월, 전체생존기간 중앙값은 14.5개월로 보고되었다.<sup>51)</sup>

## 결론

데이터, IT 기술, 분석기술은 현재 직면한 의료 문제를 해결하고, 의료산업의 개발과 투자를 가속화하며, 환자의 치료 결과를 향상시킬 수 있는 기회를 제공하게 될 것이다.

FDA의 시판허가를 받은 암종 불분 생체표지자(tumor agnostic biomarkers)와 치료제에는 *NTRK*, MSI-H/dMMR, TMB-H 및 *BRAF* V600E가 포함된다. 유전자 염기서열 분석기술의 발전은 분자유전학적으로 결정되는 치료 옵션을 통해 암 치료를 개별화 할 수 있는 기회를 만들고 있다. 두경부암 중 일부에서 발견되는 희귀 유전자 변이 암에서 분자유전학적 치료결정은 보다 발전된 고품질 임상시험에서 추가적인 연구로 진행될 것이다.

## References

- 1) The Human Genome Project Factsheet. *National Human Genome Research Institute*. [cited 2023 May 19] Available from: URL: <https://www.genome.gov/about-genomics/educational-resources/fact-sheets/human-genome-project>.
- 2) The Precision Medicine Initiative. [cited 2023 May 19] Available from: URL: <https://obamawhitehouse.archives.gov/precision-medicine>.
- 3) Brainard J, Farver C. *The diagnosis of non-small cell lung cancer in the molecular era*. *Modern Pathology*. 2019;32:S16-S26.
- 4) Beatrice A, Valentina M, Federico B, Roberto DA, Massimo D, Khawaja Husnain H. *Precision Medicine in Lung Cancer: Challenges and Opportunities in Diagnostic and Therapeutic Purposes*. In: Henry SP, editor. *Lung Cancer*. Rijeka: IntechOpen; 2020. p.7.
- 5) Wang M, Herbst RS, Boshoff C. *Toward personalized treatment approaches for non-small-cell lung cancer*. *Nat Med*. 2021;27:1345-1356.
- 6) Subbiah V, Wirth LJ, Kurzrock R, Pazdur R, Beaver JA, Singh H, et al. *Accelerated approvals hit the target in precision oncology*.

- Nat Med.* 2022;28:1976-1979.
- 7) Rudin CM, Brambilla E, Faivre-Finn C, Sage J. *Small-cell lung cancer.* *Nat Rev Dis Primers.* 2021;7:3.
  - 8) Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. *Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries.* *CA Cancer J Clin.* 2021;71:209-249.
  - 9) Kang MJ, Jung KW, Bang SH, Choi SH, Park EH, Yun EH, et al. *Cancer Statistics in Korea: Incidence, Mortality, Survival, and Prevalence in 2020.* *Cancer Res Treat.* 2023;55:385-399.
  - 10) Chow, QML. *Head and Neck Cancer.* *N Engl J Med.* 2020; 382:60-72.
  - 11) Miserocchi G, Spadazzi C, Calpona S, De Rosa F, Usai A, De Vita A, et al. *Precision Medicine in Head and Neck Cancers: Genomic and Preclinical Approaches.* *J Pers Med.* 2022;12:854.
  - 12) Chow, QML. *Head and Neck Cancer.* *N Engl J Med.* 2020; 382:60-72.
  - 13) Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tân PF, et al. *Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer.* *N Engl J Med.* 2010;363:24-35.
  - 14) Johnson DE, Burtneß B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. *Head and neck squamous cell carcinoma.* *Nat Rev Dis Primers.* 2020;6:92.
  - 15) Chen YP, Chan ATC, Le QT, Blanchard P, Sun Y, Ma J. *Nasopharyngeal carcinoma.* *Lancet.* 2019;394:64-80.
  - 16) Young A, Okuyemi OT. *Malignant Salivary Gland Tumors.* [Updated 2023 Jan 12]. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563022/>*
  - 17) Cramer JD, Burtneß B, Ferris RL. *Immunotherapy for head and neck cancer: Recent advances and future directions.* *Oral Oncol.* 2019;99:104460.
  - 18) Moskovitz J, Moy J, Ferris RL. *Immunotherapy for Head and Neck Squamous Cell Carcinoma.* *Curr Oncol Rep.* 2018;20:22.
  - 19) Burtneß B, Harrington KJ, Greil R, Soulières D, Tahara M, de Castro G Jr, et al. *Pembrolizumab alone or with chemotherapy versus cetuximab with chemotherapy for recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-048): A randomised, open-label, phase 3 study.* *Lancet.* 2019;394:1915-1928.
  - 20) The Cancer Genome Atlas Network. *Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas.* *Nature.* 2015;517:576-582.
  - 21) Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross BE, Sumer SO, Aksoy BA, et al. *The cBio cancer genomics portal: An open platform for exploring multidimensional cancer genomics data.* *Cancer Discov.* 2012;2:401-404.
  - 22) Galot R, Le Tourneau C, Guigay J, Licitra L, Tinhofer I, Kong A, et al. *Personalized biomarker-based treatment strategy for patients with squamous cell carcinoma of the head and neck: EORTC position and approach.* *Ann Oncol.* 2018;29:2313-2327.
  - 23) Clouthier DL, Lien SC, Yang SYC, Nguyen LT, Manem VSK, Gray D, et al. *An interim report on the investigator-initiated phase 2 study of pembrolizumab immunological response evaluation (INSPIRE).* *J Immunother Cancer.* 2019;7:72.
  - 24) Woodhouse R, Li M, Hughes J, Delfosse D, Skoletsky J, Ma P, et al. *Clinical and analytical validation of FoundationOne Liquid CDx, a novel 324-Gene cfDNA-based comprehensive genomic profiling assay for cancers of solid tumor origin.* *PLoS ONE.* 2020;15:e0237802.
  - 25) Choudhury AD, Werner L, Francini E, Wei XX, Ha G, Freeman SS, et al. *Tumor fraction in cell-free DNA as a biomarker in prostate cancer.* *JCI Insight.* 2018;3:e122109.
  - 26) Vultur A, Villanueva J, Herlyn M. *Targeting BRAF in advanced melanoma: A first step toward manageable disease.* *Clin Cancer Res.* 2011;17:1658-1663.
  - 27) US FDA. *Approval.* [cited 2023 May 21] Available from: URL: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-dabrafenib-plus-trametinib-anaplastic-thyroid-cancer-braf-v600e-mutation>.
  - 28) Guthrie, G. *Progress in treating rare cancers.* [cited 2023 May 21] Available from: URL: <https://www.cancer.net/blog/2019-01/progress-treating-rare-cancers-2019-advance-year>.
  - 29) Marcus L, Lemery SJ, Keegan P, Pazdur R. *FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Microsatellite Instability-High Solid Tumors.* *Clin Cancer Res.* 2019;25:3753-3758.
  - 30) Maio M, Ascierto PA, Manzyuk L, Motola-Kuba D, Penel N, Cassier PA, et al. *Pembrolizumab in microsatellite instability high or mismatch repair deficient cancers: updated analysis from the phase II KEYNOTE-158 study.* *Ann Oncol.* 2022;33:929-938.
  - 31) Marcus L, Fashoyin-Aje LA, Donoghue M, Yuan M, Rodriguez L, Gallagher PS, et al. *FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Tumor Mutational Burden-High Solid Tumors.* *Clin Cancer Res.* 2021;27:4685-4689.
  - 32) Mosele F, Remon J, Mateo J, Westphalen CB, Barlesi F, Lolkema MP, et al. *Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group.* *Ann Oncol.* 2020;31:1491-1505.
  - 33) Amatu A, Sartore-Bianchi A, Siena S. *NTRK gene fusions as novel targets of cancer therapy across multiple tumour types.* *ESMO Open.* 2016;1:e000023.
  - 34) Ricciuti B, Brambilla M, Metro G, Baglivo S, Matocci R, Piro M, et al. *Targeting NTRK fusion in non-small cell lung cancer: rationale and clinical evidence.* *Med Oncol.* 2017;34:105.
  - 35) Marchiò C, Scaltriti M, Ladanyi M, Iafrate AJ, Bibeau F, Dietel M, et al. *ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research.* *Ann Oncol.* 2019;30:1417-1427.
  - 36) Vaishnavi A, Le AT, Doebele RC. *TRKking down an old oncogene in a new era of targeted therapy.* *Cancer Discov.* 2015;5:25-34.
  - 37) Zehir A, Benayed R, Shah RH, Syed A, Middha S, Kim HR, et al. *Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients.* *Nat Med.* 2017; 23:703-713.
  - 38) Okamura R, Boichard A, Kato S, Sicklick JK, Bazhenova L,



- Kurzrock R. *Analysis of NTRK Alterations in Pan-Cancer Adult and Pediatric Malignancies: Implications for NTRK-Targeted Therapeutics*. *JCO Precis Oncol*. 2018;2018:PO.18.00183.
- 39) Ali A, Goffin JR, Arnold A, Ellis PM. *Survival of patients with non-small-cell lung cancer after a diagnosis of brain metastases*. *Curr Oncol*. 2013;20:e300-306.
- 40) Roughley A, Damonte E, Taylor-Stokes G, Rider A, Munk VC. *Impact of Brain Metastases on Quality of Life and Estimated Life Expectancy in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer*. *Value Health*. 2014;17:A650.
- 41) Remon J, Besse B. *Brain Metastases in Oncogene-Addicted Non-Small Cell Lung Cancer Patients: Incidence and Treatment*. *Front Oncol*. 2018;8:88.
- 42) Fischer H, Ullah M, de la Cruz CC, Hunsaker T, Senn C, Wirz T, et al. *Entrectinib, a TRK/ROS1 inhibitor with anti-CNS tumor activity: differentiation from other inhibitors in its class due to weak interaction with P-glycoprotein*. *Neuro Oncol*. 2020;22:819-829.
- 43) US FDA. *Approval*. [cited 2023 May 21] Available from: URL: <https://www.fda.gov/drugs/fda-approves-larotrectinib-solid-tumors-ntrk-gene-fusions-0>.
- 44) US FDA. *Approval*. [cited 2023 May 21] Available from: URL: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-entrectinib-ntrk-solid-tumors-and-ros-1-nsclc>.
- 45) Krzakowski MJ, Lu S, Cousin S, Smit EF, Springfeld C, Goto K, et al. *Updated analysis of the efficacy and safety of entrectinib in patients with NTRK fusion-positive solid tumors*. Presented at ASCO 2022 [Poster 91].
- 46) Bochtler T, Krämer A. *Does Cancer of Unknown Primary (CUP) Truly Exist as a Distinct Cancer Entity?* *Front Oncol*. 2019;9:402.
- 47) Cobain EF, Wu YM, Vats P, Chugh R, Worden F, Smith DC, et al. *Assessment of Clinical Benefit of Integrative Genomic Profiling in Advanced Solid Tumors*. *JAMA Oncol*. 2021;7:525-533.
- 48) Adashek JJ, Kato S, Gumas S, Lee S, Okamura R, Sicklick J, et al. *86MO - Personalized molecularly matched therapies for carcinomas of unknown primary is associated with improved outcomes*. Presented at ESMO 2020.
- 49) Conway AM, Mitchell C, Kilgour E, Brady G, Dive C, Cook N. *Molecular characterisation and liquid biomarkers in Carcinoma of Unknown Primary (CUP): taking the 'U' out of 'CUP'*. *Br J Cancer*. 2019;120:141-153.
- 50) FDA Guidance for Industry. *Master Protocols: Efficient Clinical Trial Design Strategies to Expedite Development of Oncology Drugs and Biologics*. [cited 2023 May 21] Available from: URL: <https://www.fda.gov/media/120721/download>.
- 51) Ho AL, Brana I, Haddad R, Bauman J, Bible K, Oosting S, et al. *Tipifarnib in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma with HRAS Mutations*. *J Clin Oncol*. 2021;39:1856-1864.