

## · 标准与规范 ·

中国间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 阳性非小细胞肺癌  
诊断专家共识 (2013 版)

张绪超 陆舜 张力 王长利 程颖 李甘地 Tony Mok 黄诚

刘晓晴 王洁 王孟昭 张沂平 周建英 周晓燕 林冬梅

杨衿记 李慧 陈海泉 钟文昭 吴一龙

代表中国临床肿瘤学会肿瘤生物标志物专家委员会

随着分子医学进展和靶向药物的不断涌现,晚期非小细胞肺癌 (NSCLC) 的治疗已进入个体化治疗的时代。目前临床应用的个体化靶向治疗主要针对表皮生长因子受体 (EGFR) 基因突变性和间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 融合基因阳性肺癌,这两种基因变异型肺癌均具有明确的分子靶点、靶点检测技术及上市的靶向药物,临床疗效得到明显提高。其他基因变异型肺癌的靶向药物和伴随分子诊断 (companion diagnostics) 技术正在快速研发中。肺癌中 ALK 基因变异主要为 ALK 基因发生重排,与其他基因融合。其中,棘皮动物微管相关蛋白样 4 (EML4)-ALK 融合基因是其主要类型,约占所有 NSCLC 的 5% 左右<sup>[1-3]</sup>。肺癌中与 ALK 基因融合的其他基因还包括 TFG、KIF5B 等。

针对 ALK 基因靶点的小分子抑制剂克唑替尼 (Crizotinib) 是一种 ATP 竞争性酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitor, TKI), 可特异性靶向抑制 ALK, 也可抑制 c-MET 和 ROS1 等信号通路。临床试验显示对于 ALK 阳性的晚期 NSCLC 患者,克唑替尼的疗效显著优于传统化疗,二线单药治疗患者的中位无进展生存期 (PFS) 为 7.7 个月,有效率达到 65.3%<sup>[4]</sup>。基于其良好的疗效和耐受性,2013 年初,国家食品药品监督管理局 (CFDA) 已批准克唑替尼用于治疗局部晚期或转移性 ALK 阳性的 NSCLC 患者。

基因融合 (gene fusion) 指来源于两个不同基因的 DNA 片段物理上的融合连接形成新的功能活化基因,又称基因重排 (gene rearrangement)。最常见的 ALK 基因重排的融合变

异为 2 号染色体短臂倒位 [inv (2) (p21p23)], 形成 EML4-ALK 融合基因,编码含 EML4 的氨基末端和 ALK 的胞内酪氨酸激酶域的融合蛋白生成。目前针对 ALK 融合基因检测常用的方法主要有 3 种:荧光原位杂交 (fluorescent in situ hybridization, FISH)、基于聚合酶链反应 (PCR) 扩增基础上的技术 [cDNA 末端快速扩增 PCR (RACE-PCR) 或逆转录 (RT)-PCR 联合测序技术、即时荧光定量 RT-PCR 反应 (real-time quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction, qRT-PCR) 等] 和针对融合蛋白表达的免疫组织化学法 (IHC)。上述 3 种方法各有其优缺点。FISH 虽然是临床试验验证的标准方法,但价格昂贵,操作规范要求较高,且只能判断 ALK 基因是否断裂,而无法区分与其发生融合的基因是什么;RT-PCR 对标本取材要求较高,需专用的试剂盒进行检测;IHC 简便易行,但阳性标准不统一。ALK 阳性的 NSCLC 虽然仅占全部 NSCLC 的 5%,但是每年新发病例数在中国仍接近 35 000 例<sup>[5]</sup>。因此,如何准确诊断 ALK 阳性的 NSCLC 便成了临床上的当务之急。2013 年 3 月 29 日,中国临床肿瘤学会 (Chinese Society of Clinical Oncology, CSCO) 肿瘤生物标志物专家委员会组织相关领域专家在福建省厦门市讨论了适合中国实际情况的 ALK 融合基因检测流程,并就我国 ALK 阳性 NSCLC 的诊断标准达成了专家共识。

## 一、ALK 阳性 NSCLC 的定义

ALK 阳性 NSCLC 是指包括针对 ALK 融合基因的 FISH 技术和基于 PCR 扩增技术、或针对 ALK 融合蛋白的 IHC 特定方法检测阳性的肺癌,是 NSCLC 的一个分子亚型,常见于腺癌,该类患者通常可从 ALK 抑制剂治疗中获益。

随着肿瘤分子生物学的进展,临床上对 NSCLC 的认识正不断深入。2007 年 Soda 等<sup>[1]</sup> 和 Rikova 等<sup>[6]</sup> 两个小组分别发现肺癌中存在 EML4-ALK 融合基因变异现象。2009 年 Shaw 等<sup>[3]</sup> 将 ALK 基因重排阳性的肺癌列为 NSCLC 的一个特定的分子亚型。根据专家的讨论,从检测方法学角度考虑到 ALK 融合基因阳性肺癌不仅是基因序列层面的改变即序列重排,ALK 融合蛋白也是该类疾病中的重要变异,因此将此类疾病统称为 ALK 阳性 NSCLC。

## 二、ALK 基因变异状态相关检测适宜人群 (ALK 阳性肺

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2013.06.012

作者单位:510080 广州,广东省肺癌研究所 广东省人民医院 广东省医学科学院 (张绪超、杨衿记、钟文昭、吴一龙);上海交通大学附属胸科医院 (陆舜);中山大学附属肿瘤医院 (张力)、天津医科大学附属肿瘤医院 (王长利);吉林省肿瘤医院 (程颖、李慧);四川大学华西医院 (李甘地);香港中文大学医学院 (Tony Mok);福建省肿瘤医院 (黄诚);解放军 307 医院 (刘晓晴)、北京大学肿瘤医院 (王洁)、中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院 (王孟昭);浙江省肿瘤医院 (张沂平);浙江大学医学院附属第一医院 (周建英);复旦大学附属肿瘤医院 (周晓燕、陈海泉);中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院 (林冬梅)

通信作者:吴一龙, E-mail: syylwu@live.cn

癌的临床病理特征)

晚期 NSCLC 患者使用 ALK-TKI 治疗前必须检测是否存在 ALK 基因融合变异。可优先在与 ALK 阳性 NSCLC 相关的病理组织学特点集中的患者中进行 ALK 分子检测,但单纯依靠临床特征与病理分型选择适宜人群并不能完全包括所有的 ALK 阳性 NSCLC 患者,对于潜在怀疑存在 ALK 基因融合变异的患者均可进行 ALK 融合基因检测。

研究显示年轻、不吸烟的肺腺癌患者的 EML4-ALK 融合基因表达率较高<sup>[3]</sup>,且在表皮生长因子受体(EGFR)、KRAS、HER2 或 TP53 等基因未发生突变的 NSCLC 患者中,ALK 融合基因阳性的比例达 25%<sup>[7]</sup>,我国 EGFR、KRAS 均为野生型的腺癌中 ALK 融合基因阳性比例高达 30%~42%<sup>[8-9]</sup>。病理形态学研究提示在含印戒细胞的黏液型或实性腺癌中,ALK 融合基因的发生率高于其他类型的肺腺癌(46.2%比 8.0%)<sup>[10]</sup>。

在上述患者中开展 ALK 检测会提高检出率,有助于临床实际工作的开展。但 ALK 阳性肺癌并非只存在于肺腺癌、含印戒细胞的肺癌中,研究显示在肺鳞癌、腺鳞癌、EGFR 基因突变型或 KRAS 基因突变型肺癌中也可存在 ALK 融合变异<sup>[11]</sup>。晚期肺癌患者也可能受到临床取材小样本的局限性,即活检组织标本有时无法保证肺腺癌的准确诊断,因此对于潜在怀疑存在 ALK 基因融合变异的患者均可进行 ALK 基因状态检测。

### 三、ALK 融合基因的检测方法

ALK FISH、Ventana IHC 或基于 PCR 扩增基础上的技术均可作为 ALK 阳性肺癌的诊断技术,检测实验室应该根据组织标本类型选择合适的检测技术,标本的质量控制应由有经验的病理医师负责。当怀疑一种技术的可靠性时(如 FISH 的肿瘤细胞融合率接近 15% 时),可以考虑采用另一种技术加以验证。

现将目前常用的 ALK 基因变异或融合蛋白检测方法分述如下。

#### (一) FISH

大部分克唑替尼治疗 ALK 阳性 NSCLC 的临床试验均是基于 FISH 的诊断,因此,FISH 检测目前仍是确定 ALK 融合基因的参照标准方法<sup>[12-13]</sup>。美国食品药品监督管理局(FDA)已批准的 FISH 分离探针试剂盒(Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit; Abbott Molecular, Inc.)可用于检测 ALK 融合基因的表达。该试剂盒设计的两种探针分别标记 ALK 基因第 20 号外显子断裂点的两端,300 kb 的 3' 端和 442 kb 的 5' 端分别标记为橘红色和绿色。在无 ALK 基因断裂的肿瘤细胞中,橘红色和绿色重叠为黄色或者相互粘合(两个信号之间的间隔小于两个信号的直径);而在 ALK 基因发生断裂重排的肿瘤细胞中,橘红色和绿色信号相互分离(间隔 $\geq 2$ 个信号直径)。标本 FISH 阳性结果的判定标准为至少观察 50 个肿瘤细胞,如果 50 个肺癌细胞中至少有 25 个存在分离信号( $>50\%$ )则直接判断为 ALK FISH 阳性;如果计数的 50 个细胞中分离信号细胞为 5~25 个(即分离

率在 10%~50% 之间),则需重复计数 50 个肿瘤细胞,累加 100 个细胞中超过 15 个存在分离信号( $\geq 15\%$ )则为 ALK FISH 阳性标本。详细的 FISH 阳性判读标准可参见 FISH 分离探针试剂盒(Abbott Molecular, Inc)说明书<sup>[14]</sup>。

ALK FISH 技术适用的组织样本类型:4% 中性甲醛固定后石蜡包埋标本,防脱玻片切片厚度 3~5  $\mu\text{m}$ 。

原位杂交技术检测 ALK 变异也存在不足之处。首先,FISH 检测对于操作和判读技术要求较高,诊断医师必须经过严格的 FISH 操作和结果判读培训。只有经 FISH 操作经验丰富的医师判定的结果才具有可靠性。其次,晚期 NSCLC 患者通常只能提供 2 mm 左右的小活检组织,有时很难保证存在 50 个以上的肺癌细胞进行阳性判读。FISH 检测结果要求 $\geq 15\%$ 的判断阈值(cut off)也存在商榷之处,研究结果显示少数 ALK 融合基因 FISH 检测阴性、ALK 融合蛋白 IHC 检测阳性的患者能从靶向药物明显获益<sup>[15]</sup>。最后,目前 FISH 检测的成本昂贵,且不能明确 ALK 融合基因的具体融合变体。因此,虽然 FISH 检测仍是诊断的重要手段,但现阶段尚无法适用于中国 ALK 阳性 NSCLC 患者的大规模筛查和诊断。

#### (二) IHC

1. 常规 IHC 技术:由于 FISH 检测在中国存在经济适用性和技术操作普及的困难与不足,已有较多学者不断探索其他的分子诊断检测方法。IHC 因其具有简便易行、价格便宜、操作方法成熟等特点,成为潜在有效的筛查方法。早期的 ALK 融合蛋白的 IHC 抗体敏感性较低(ALK1, Dako 公司),因此不适宜用于 ALK 融合蛋白的检测<sup>[16]</sup>。随着技术的改进,具有高度亲和力的 D5F3 (Cell Signaling 公司)和 5A4 (Abcam 公司)抗体检测 ALK 融合蛋白的敏感性和特异性分别达到了 100% 和 95%~99%<sup>[16-18]</sup>,为其临床应用提供了充分的实验依据。现有数据也证实 ALK 融合蛋白 IHC 检测阳性与克唑替尼临床疗效之间存在相关性<sup>[19]</sup>。总结已报道的数据后发现(表 1),常规(指非自动化仪器辅助的手工操作)IHC 检测的强阳性与 FISH 检测阳性之间存在高度的一致性。IHC 3+ 到 0 分的患者 FISH 阳性率分别为 97.4%、62.5%、14.3% 和 0。采用 IHC 法需注意以下两点:(1) 由于

表 1 ALK 融合蛋白免疫组织化学(IHC)检测与融合基因荧光原位杂交(FISH)检测研究数据对照

文献来源	病例数	FISH	IHC 3+	IHC 2+	IHC 1+	IHC 0
Yi 等 <sup>[20]</sup>	101	阳性	8	1	1	0
		阴性	0	2	20	69
Paik 等 <sup>[21]</sup>	640	阳性	22	6	0	0
		阴性	0	10	16	586
Park 等 <sup>[17]</sup>	262	阳性	9	11	5	0
		阴性	0	2	1	234
Han 等 <sup>[22]</sup>	119	阳性	37	7	1	0
		阴性	2	1	5	66
总计	1122	阳性	76	25	7	0
		阴性	2	15	42	955

ALK 的蛋白表达与神经外胚层的分化有关,故其可能在小细胞肺癌和正常人的脑组织中存在表达<sup>[23]</sup>。因此,不建议在小细胞肺癌中使用 ALK 融合蛋白的 IHC 检测。(2)常规 IHC 的阳性标准判定尚未统一。推荐常规方法 IHC 的判读如下:IHC 3+ : >5% 的肿瘤细胞呈现颗粒状细胞质强着色; IHC 2+ : >5% 的肿瘤细胞呈现中度细胞质着色; IHC 1+ : >5% 的肿瘤细胞呈现微弱或模糊的细胞质着色或 ≤5% 的肿瘤细胞有任何程度的着色; IHC 0: 肿瘤细胞无着色。

2. Ventana IHC: 由罗氏公司开发的 Ventana ALK 融合蛋白 IHC 诊断试剂盒已经在欧洲获批用于诊断 ALK 阳性 NSCLC。由于其在自动化仪器上操作,可使检测流程和结果判读都得以标准化。该技术平台方法使用了基于非内源性半抗原、信号扩增多聚体和辣根过氧化物酶(HRP)系统的染色信号放大技术。在不影响检测特异性的前提下,提高了 ALK 融合蛋白 IHC 检测的敏感性。结果判读时采用二分类系统,即仅为阳性和阴性两种,阳性结果即可诊断为 ALK 阳性 NSCLC。数据表明其与 FISH 结果的吻合率达到 98.8%,结果判读的可重复性为 99.7%<sup>[24]</sup>,应用前景好,期待其在中国正式获批后可应用于临床诊断。

常规或 Ventana IHC 技术适用的临床标本类型:4% 中性甲醛固定后石蜡包埋标本,防脱玻片切片厚度 3~5 μm。

由于常规 IHC 的上述特点,考虑到临床实践中的可操作性及患者可接受性,我们推荐在条件缺乏的地区可采用常规 IHC 法进行 ALK 融合基因阳性 NSCLC 患者的筛查,且经常规 IHC 检出为阳性的患者必须接受 FISH、序列特异性的 PCR 技术或 Ventana IHC 其中任意一种技术的进一步确诊。

(三) 基于 PCR 扩增基础上的方法

1. qRT-PCR: RT-PCR 法检测 ALK 融合基因的特点在于快速、简便易行、能同时明确 ALK 基因已知的融合变体的类型。RT-PCR 对 RNA 提取的质量要求较高,国内部分实验室未具备严格的质量控制条件。此外,在 NSCLC 中已陆续发现了 20 多种不同的 ALK 基因融合变体,不能排除仍有未知融合变体的存在。因此,无法检测未知的融合型是其最大的

不足之处。这些因素限制了 RT-PCR 在 ALK 融合基因诊断中的应用。目前已有经 CFDA 批准用于临床检测的商业化试剂盒,其可通过多重引物 RT-PCR 法,仅需 100~500 ng 肿瘤组织的 RNA,即可检测出 EML4-ALK 融合基因的阳性信号。该试剂盒可检测 7 种不同的 EML4-ALK 融合基因型,基本涵盖了常见的 EML4-ALK 融合基因型。该方法适用于甲醛固定石蜡包埋肿瘤组织样本和各类新鲜组织或细胞学标本。

2. RACE-PCR 联合测序方法: Zhang 等<sup>[8]</sup> 采用 RACE-PCR 联合测序(sequencing)技术成功检测分析了 ALK 基因的融合变异。该方法采用 cDNA 末端快速扩增技术结合两轮 PCR 技术来富集扩增 ALK 基因的融合变体,敏感性高,且不限于检测 EML4 基因与 ALK 基因的融合,还可以检测到其他基因与 ALK 基因的融合,联合 PCR 产物的直接测序步骤能够明确融合是来自 EML4-ALK 融合基因多种变体中的具体哪一种。这具有覆盖未知变体的临床意义。已知不同 EML4-ALK 融合基因变体的酪氨酸激酶活性程度有明显差异,因而可能对临床用药剂量有一定的指导价值。该方法主要适用于各类新鲜组织或细胞学标本。

3. 引物特异性的 RT-PCR 联合测序方法: 引物特异性 RT-PCR 是确认 NSCLC 存在 ALK 融合基因的另一快速诊断方法。技术优势在于其检测突变转录本的高敏感性,如发现扩增产物则意味着 ALK 融合基因。该技术也存在一些不足。首先,RT-PCR 分析必须基于单管多重技术(multiplex),由于 EML4-ALK 融合基因至少存在 11 种变体和非 EML4 基因的其他融合配对者,所以任何基于 PCR 的检测策略必须配对所有已知 ALK 融合基因的明确引物,否则对于潜在的非 EML4 基因的配对者与 ALK 基因融合就无法检测出来,而且对于潜在的 EML4 基因第 21 号外显子与 ALK 基因融合的转录变体长度达 1284 bp,也可能难于检测。第二,肺癌患者甲醛固定石蜡包埋组织提取的 RNA 很容易降解,与新鲜冷冻组织相比,采用 RT-PCR 操作石蜡包埋标本 RNA 的难度较大。第三,存在出现非特异性扩增的风险而出现假阳

表 2 免疫组织化学(IHC)、荧光原位杂交(FISH)和序列特异性的 RT-PCR 检测方法的比较

项目	FISH	IHC	(q)RT-PCR
灵敏度(%) <sup>[25]</sup>	10~15	5~10	1~5
检测费用	高	低	高
可检测的融合型	所有融合型,但不能区分	所有融合型,但不能区分	已知或未知的融合型 <sup>a</sup>
操作要求	高,需经过培训且有经验的医师判读结果	简便,几乎所有病理科医师均可诊断	简便,但需特定的试剂盒及仪器
所需组织量	厚度 3~5 μm 石蜡切片	厚度 3~5 μm 石蜡切片	100~500 ng RNA
优点	特异性高	操作简便、价格便宜	操作简便、敏感性高
不足之处	操作要求高、价格昂贵、尚不适用于 ALK 融合阳性患者的筛查	判定标准主观 <sup>b</sup> 、无法直接检测融合基因	qRT-PCR 和引物特异性 RT-PCR 无法检测未知的融合型、对 RNA 质量要求高

注:灵敏度:ALK 基因变异的肿瘤细胞比例;<sup>a</sup>:目前 CFDA 已批准的 qRT-PCR 试剂盒可检测至少 7 种融合型,一般 RT-PCR 技术可检测少数融合型,RACE-PCR 联合测序能检测任何融合型变体;<sup>b</sup>:基于 Ventana 自动化平台和试剂盒的 IHC 采用信号放大技术使得判读较常规 IHC 更加客观

性,需要较高的实验室环境,防止交叉污染出现。在常规临床诊断实验室可能难于开展。

开展基于 PCR 扩增基础上的方法检测 ALK 基因融合变异的实验室环境要求应该能够保证检测质量,PCR 实验室需要符合中国卫生和计划生育委员会临床检测中心的临床检测 PCR 室资格认证条件。各检测实验室应做好室内质量控制,并积极参与外部质量控制评价项目。为谨慎起见,通过 PCR 方法确定 ALK 基因融合变异阳性应该满足以下条件:PCR 产物经测序后序列比对确认存在 ALK 融合序列、或基于融合变异序列特异性荧光探针的即时定量 PCR 检测结果阳性。单纯 RT-PCR 产物经电泳后的条带观察不推荐作为 ALK 融合基因诊断依据。

上述多种技术都可以选择,各有优缺点,存在一定的互补性。应结合临床可获得的各类生物材料样本(手术或穿刺活检组织、胸腔积液细胞学和痰液细胞学等),有效利用各种检测分析技术,以获得最佳检测效果。

四、ALK 阳性 NSCLC 的诊断流程

鉴于 ALK 基因重排或融合的分子诊断各种方法均有优缺点(表 2),且我国适用于 ALK 变异检测的肺癌患者人数众多,需要在临床建立一套行之有效的分子诊断流程。IHC 因其具有方便、易行、价格低的优势,适合于 ALK 阳性 NSCLC 的筛查。FISH 和 RT-PCR 扩增联合测序技术,则由于结果判读客观,且 qRT-PCR 已获 CFDA 批准用于临床检测,适合于最终的确诊。

专家组推荐 ALK 基因状态检测的总体原则:应综合肺癌获取的各类生物材料的特征、分子检测方法的特点、实验室自身条件,进行多学科大协作,合理采取有效检测方法和流程,以保证 ALK 阳性肺癌的检出率和准确率。

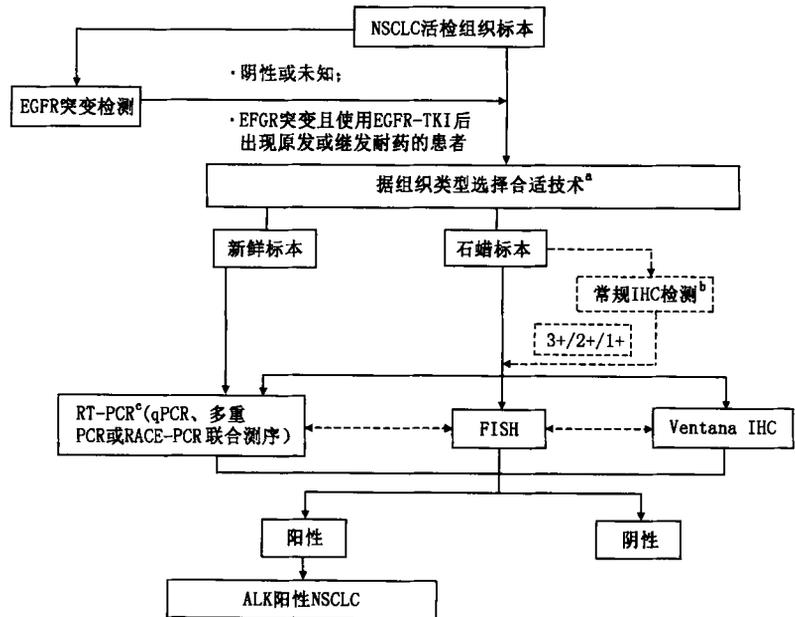
适合 ALK 融合基因诊断的肿瘤样本,包括各种组织样本和细胞学标本。标本需由有经验的病理医师确定肿瘤基本类型并负责质量控制。组织标本获取手段包括手术切除、支气管镜检、经皮肺穿刺、淋巴结活检、手术活检等。对于恶性胸腔积液、心包积液、痰液或支气管灌洗液、细胞学穿刺和外周血循环肿瘤细胞等样本,在细胞数量充足条件下可制备细胞学样本蜡块(cell block),检测方法可采用 FISH 或 IHC,如果是新鲜细胞标本可考虑采用特异性 PCR 方法。考虑到细胞学样本细胞数量少等特点,细胞学标本的检测结果解释需格外谨慎。

综合考虑上述讨论因素:各类检测

技术的优缺点、各组织类型的技术适用性特点、ALK 融合基因表达的临床病理学富集特点,初步拟出以下用于临床实践的检测流程图(图 1)。专家组建议基于我国肺癌患者众多,可考虑非排他性地优先检测部分潜在 ALK 融合基因阳性率较高的临床病理学特征集中的肺癌患者(如黏液型或含印戒细胞腺癌患者、EGFR 基因状态为野生型的腺癌)。对于适合检测的肿瘤标本可直接选择 FISH 或序列特异性的 RT-PCR 方法或 Ventana IHC 进行分子检测诊断。对于 EGFR 基因状态未知,或 EGFR 基因突变患者在 EGFR-TKI 治疗后原发或继发耐药的患者,由于存在 EGFR 基因突变和 ALK 基因变异双阳性的可能<sup>[26]</sup>,因此也建议行 ALK 融合基因的检测。ALK 阳性 NSCLC 的具体诊断流程见图 1。

五、小结

基于 EGFR 基因突变和 ALK 基因融合变异等分子标志物的肺癌分子靶向个体化治疗模式已经在临床建立和应用。吉非替尼、厄洛替尼和克唑替尼等 EGFR 或 ALK 抑制剂已



注:(1)<sup>a</sup>:建议优先在以下临床病理特征集中的患者标本中进行筛选,这些临床病理特征包括黏液型腺癌、含印戒细胞成分、不吸烟、年龄<60岁,但这些特征并非排他性的,即对其他疑有 ALK 融合变异患者均可进行检测;(2)<sup>b</sup>:对于部分无条件行 Ventana 免疫组织化学(IHC)检测的医疗机构或中心,常规 ALK IHC 可作为替代的筛选方法,但阳性标本需以荧光原位杂交(FISH)、Ventana IHC 或序列特异性的 PCR 技术进一步确诊;序列特异性的 PCR 技术包括基于荧光探针的即时定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)、cDNA 末端快速扩增 PCR(RACE-PCR)或逆转录(RT)-PCR 联合测序技术;(3) ALK 抗体使用推荐:常规 IHC 建议使用 Cell Signaling 公司的 D5F3 克隆号抗体或 Abcam 或 Novocastra 公司的 5A4 克隆号抗体;Ventana IHC 使用专用抗体试剂盒(D5F3);(4) 流程图中 FISH、RT-PCR、Ventana IHC 技术之间的虚线表示:单一技术检测结果判断不确定(equivocal)时 3 种方法之间可相互验证结果;(5)<sup>c</sup>:序列特异性的 PCR 技术诊断 ALK 融合基因条件:PCR 产物经测序后序列比对确认或基于特异性荧光探针的即时定量 PCR 检测融合变异,单纯 RT-PCR 产物经电泳后的条带观察不推荐作为 ALK 融合基因诊断依据;(6) 请参考 2013 年度美国病理学家学会(CAP)、国际肺癌研究协会(IASLC)、分子病理学学会(AMP)联合发布的《肺癌患者使用靶向药物的分子检测指南》<sup>[27]</sup>

图 1 中国间变性淋巴瘤激酶(ALK)阳性非小细胞肺癌(NSCLC)患者的诊断流程图

经应用于临床,在我国正在向更多的肺癌患者推广应用。NSCLC 的分子靶向治疗将越来越依赖于分子靶点变异的分子诊断。临床实践中分子检测的标准化和检测流程的建立对于“提高临床实践能力”起关键作用。ALK 基因融合变异作为晚期肺癌中第二个明确应用的分子分型,其诊断方法和流程仍需进一步结合临床数据进行优化。本文根据目前 ALK 融合基因检测各种方法的优缺点、临床样本的特点和实验室的条件,提出合理的检测流程、推荐应用方法和注意事项。希望各诊疗中心能客观准确地筛查 ALK 基因融合变异患者,合理开展基于明确分子诊断的靶向治疗,真正造福广大肺癌患者。

本次“中国 ALK 阳性 NSCLC 诊断的专家共识”是在 CSCO 肿瘤生物标志物专家委员会的倡导下,从临床诊断的角度出发,结合我国肺癌患者众多的现状,综合最新的研究数据和 CFDA 批准的药物和伴随诊断方法,供临床实践参考。本专家共识将根据实际情况定期更新,期望能为未来进一步优化 ALK 阳性肺癌患者的诊断和治疗提供指导。

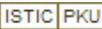
### 参 考 文 献

- [1] Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*, 2007, 448(7153):561-566.
- [2] Wong DW, Leung EL, So KK, et al. The EML4 - ALK fusion gene is involved in various histologic types of lung cancers from nonsmokers with wild-type EGFR and KRAS. *Cancer*, 2009, 115(8):1723-1733.
- [3] Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol*, 2009, 27(26):4247-4253.
- [4] Shaw AT. Phase 3 randomized study of crizotinib versus pemetrexed or docetaxel chemotherapy in advanced, ALK-positive NSCLC (PROFILE 1007). 35th ESMO, 2012, abstract LBA1.
- [5] 全国肿瘤防治研究办公室/全国肿瘤登记中心/卫生部疾病预防控制局. 2009 全国肿瘤登记年报. 北京:军事医学科学出版社. 2010.
- [6] Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell*, 2007, 131(6):1190-1203.
- [7] Mitsudomi T, Suda K, Tomizawa K, et al. Clinico-pathologic features of lung cancer with EML4-ALK translocation. *J Clin Oncol*, 2010(suppl):abstr 10598.
- [8] Zhang X, Zhang S, Yang X, et al. Fusion of EML4 and ALK is associated with development of lung adenocarcinomas lacking EGFR and KRAS mutations and is correlated with ALK expression. *Mol Cancer*, 2010, 9:188.
- [9] Wu SG, Kuo YW, Chang YL, et al. EML4-ALK translocation predicts better outcome in lung adenocarcinoma patients with wild-type EGFR. *J Thorac Oncol*, 2012, 7(1):98-104.
- [10] Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S, et al. Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the western population. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(16):5216-5223.
- [11] Camidge DR, Kono SA, Flacco A, et al. Optimizing the detection of lung cancer patients harboring anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene rearrangements potentially suitable for ALK inhibitor treatment. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(22):5581-5590.
- [12] Martelli MP, Sozzi G, Hernandez L, et al. EML4-ALK rearrangement in non-small cell lung cancer and non-tumor lung tissues. *Am J Pathol*, 2009, 174(2):661-670.
- [13] Boland JM, Erdogan S, Vasmatzis G, et al. Anaplastic lymphoma kinase immunoreactivity correlated with ALK gene rearrangement and transcriptional up-regulation in non-small cell lung carcinomas. *Hum Pathol*, 2009, 40(8):1152-1158.
- [14] Vysis ALK break apart FISH probe kit protocol. [2013-03-30]. [http://www.abbottmolecular.com/static/cms\\_workspace/pdfs/US/Vysis\\_ALK\\_FISH\\_Probe\\_Kit\\_PI.pdf](http://www.abbottmolecular.com/static/cms_workspace/pdfs/US/Vysis_ALK_FISH_Probe_Kit_PI.pdf)
- [15] Sun JM, Choi YL, Won JK, et al. A dramatic response to crizotinib in a non-small-cell lung cancer patient with IHC-positive and FISH-Negative ALK. *J Thorac Oncol*, 2012, 7(12):e36-e38.
- [16] Mino-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, et al. A novel, highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(5):1561-1571.
- [17] Park HS, Lee JK, Kim DW, et al. Immunohistochemical screening for anaplastic lymphoma kinase (ALK) rearrangement in advanced non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer*, 2012, 77(2):288-292.
- [18] McLeer-Florin A, Moro-Sibilot D, Melis A, et al. Dual IHC and FISH testing for ALK gene rearrangement in lung adenocarcinomas in a routine practice: a French study. *J Thorac Oncol*, 2012, 7(2):348-354.
- [19] Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Eng J Med*, 2010, 363(18):1693-1703.
- [20] Yi ES, Boland JM, Maleszewski JJ, et al. Correlation of IHC and FISH for ALK gene rearrangement in non-small cell lung carcinoma: IHC score algorithm for FISH. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(3):459-465.
- [21] Paik JH, Choe G, Kim H, et al. Screening of anaplastic lymphoma kinase rearrangement by immunohistochemistry in non-small cell lung cancer: correlation with fluorescence in situ hybridization. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(3):466-472.
- [22] Han X, Ma L, Liu Y, et al. Assessment of alk rearrangement in advanced non-small cell lung cancer using fluorescence in situ hybridization & immunohistochemistry. 35th ESMO, 2012, abstract 1196P.
- [23] Iwahara T, Fujimoto J, Wen D, et al. Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. *Oncogene*, 1997, 14(4):439-449.
- [24] VENTANA anti-ALK(D5F3) rabbit monoclonal primary antibody protocol. [2013-03-30]. <http://www.ventana.com>
- [25] Tuononen K, Sarhadi VK, Wirtanen A, et al. Targeted resequencing reveals ALK fusion in non-small cell lung carcinomas detected by FISH, immunohistochemistry, and Real-Time RT-PCR: a comparison of four methods. *Biomed Res Int*, 2013, In press.
- [26] Lee JK, Kim TM, Koh Y, et al. Differential sensitivities to tyrosine kinase inhibitors in NSCLC harboring EGFR mutation and ALK translocation. *Lung Cancer*, 2012, 77(2):460-463.
- [27] Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*, 2013, In press.

(收稿日期:2013-04-23)

(本文编辑:齐文安)

# 中国间变性淋巴瘤激酶(ALK)阳性非小细胞肺癌诊断专家共识(2013版)

作者: [张绪超](#), [陆舜](#), [张力](#), [王长利](#), [程颖](#), [李甘地](#), [Tony Mok](#), [黄诚](#), [刘晓晴](#)  
作者单位: [张绪超\(广东省肺癌研究所广东省人民医院广东省医学科学院, 广州, 510080\)](#), [陆舜\(上海交通大学附属胸科医院\)](#), [张力\(中山大学附属肿瘤医院\)](#), [王长利\(天津医科大学附属肿瘤医院\)](#), [程颖\(吉林省肿瘤医院\)](#), [李甘地\(四川大学华西医院\)](#), [Tony Mok\(香港中文大学医学院\)](#), [黄诚\(福建省肿瘤医院\)](#), [刘晓晴\(解放军307医院\)](#)  
刊名: [中华病理学杂志](#)   
英文刊名: [Chinese Journal of Pathology](#)  
年, 卷(期): 2013, 42(6)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zhblx201306012.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zhblx201306012.aspx)