

中国非小细胞肺癌 ALK 检测临床实践专家共识



扫一扫下载指南原文

中国非小细胞肺癌 ALK 检测模式真实世界多中心研究专家组;中华医学会病理学分会分子病理学组

执笔人:张静(国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院病理科 100021);王志杰(国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院肿瘤内科 100021)

通信作者:应建明,国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院病理科 100021, Email: jmying@cicams.ac.cn;王洁,国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院肿瘤内科 100021, Email: zlhuxi@163.com;梁智勇,中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院病理科 100730, Email: liangzhiyong1220@yahoo.com

基金项目:北京市卫生与健康科技成果与适宜技术推广项目(2018-TG-58);中国癌症基金会项目(中国非小细胞肺癌 ALK 检测模式真实世界多中心研究);中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2017-I2M-2-003)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2019.12.001

Expert consensus on clinical practice of ALK fusion detection in non-small cell lung cancer in China

Experts from the RATICAL study (ALK testing in Chinese advanced non-small cell lung cancer patients: a national-wide multicenter prospective real world data study); Molecular Pathology Committee of Chinese Society of Pathology

Corresponding authors: Ying Jianming, Email: jmying@cicams.ac.cn; Wang Jie, Email: zlhuxi@163.com; Liang Zhiyong, Email: liangzhiyong1220@yahoo.com

【摘要】 伴有间变性淋巴瘤激酶(ALK)基因融合的肺癌是非小细胞肺癌一个重要的临床亚型。ALK 抑制剂对伴有 ALK 基因融合的晚期非小细胞肺癌患者显示出显著的临床获益。选择准确、快速、恰当的 ALK 检测方法,筛选出适用 ALK 抑制剂的目标人群具有重要临床意义。近年来 ALK 抑制剂的研发和临床应用取得了极大的进展,获得性耐药机制逐渐阐明,同时,新的 ALK 检测伴随诊断平台进入临床应用。尽管大量的比对研究已经证实各检测平台间存在较高的符合率,但检测实践过程中,新的问题不断出现。针对不同检测人群、检测标本,选择恰当的检测方法,并制定、优化及遵守规范化检测流程才能获得准确的检测结果,使患者得到最大程度的获益。随着临床实践数据的不断积累、更多的关于 ALK 检测质控以及多中心研究的开展,为我们提供了大量的资料,并取得了共识。参与本专家共识讨论的专家均具有丰富的理论和临床实践检测经验,保证了该共识的实践指导价值。

间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)基因融合在我国非小细胞肺癌中的发生率约 5.6%^[1],其中腺癌的发生率为 6.6%~9.6%^[2-3]。近年来 ALK 抑制剂的研发和临床应用取得了较大的突破,包括一代[如克唑替尼(Crizotinib)]、二代[如阿来替尼(Alectinib)、塞瑞替尼(Ceritinib)、Brigatinib]乃至三代 ALK 抑制剂

(Lorlatinib),可明显提高 ALK 阳性晚期非小细胞肺癌患者的客观缓解率并延长无进展生存时间(progression-free survival, PFS)。选择准确、快速、恰当的 ALK 检测方法,筛选出适用 ALK 抑制剂的目标人群具有重要临床意义。另外,随着越来越多的 ALK 基因罕见融合亚型的发现,以及 ALK 抑制剂获得性耐药机制的阐明,临床对 ALK 基因检测

的内涵提出了更多的需求。

ALK 基因易位导致 ALK 融合基因的表达(下文中提及的 ALK 阳性是指 ALK 基因易位或 ALK 融合基因表达),这一分子生物学基础决定了检测 ALK 基因融合可以在多个分子水平上进行,包括荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)在 DNA 水平上检测 ALK 基因易位;即时荧光定量聚合酶链反应(real time polymerase chain reaction, RT-PCR)检测 ALK 融合 mRNA;免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检测 ALK 融合蛋白表达,以及二代测序(next-generation sequencing, NGS)技术检测 DNA 水平上的易位序列或 mRNA 水平上的融合序列。我国是目前全球 ALK 检测伴随诊断平台应用最多的国家。大量的比对研究已经证实了各检测平台间存在较高的符合率,但检测实践过程中仍存在较多问题,如各检测平台结果不一致病例的处理,ALK 检测结果判读中不典型病例的解决路径推荐等。针对不同检测人群、检测标本,选择恰当的检测方法,并制定、优化及遵守规范化检测流程才能获得准确的检测结果,使患者得到最大程度的获益,中国病理及临床专家制定了 ALK 检测专家共识(2013 年)^[4],对规范化 ALK 基因融合检测起到了重要作用。但临床实践数据的不断积累、检测问题的不断发现、新检测技术平台的应用,以及更多的关于 ALK 检测质控以及多中心研究的开展,促进了本共识的达成并提供了大量的资料。参与本共识的临床、外科病理、分子病理专家均具有丰富的理论和临床实践检测经验,希望本共识能为我国的 ALK 检测提供切实的实践指导。

一、ALK 检测的临床意义

1. 伴有 ALK 基因融合的不可手术晚期非小细胞肺癌患者接受 ALK 抑制剂治疗,客观缓解率和 PFS 显著优于含铂化疗,并改善患者的生活质量。反之,ALK 基因融合阴性患者并不能从 ALK 抑制剂治疗中获益。ALK 抑制剂针对 ALK 融合基因及蛋白表达研发,多个多中心随机对照Ⅲ期临床研究证实其客观缓解率高,患者中位 PFS 得到明显延长^[5-6],这使得 ALK 成为非小细胞肺癌中除了表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)外的第 2 个推荐检测位点,也奠定了 ALK 抑制剂作为一线药物治疗 ALK 阳性非小细胞肺癌的基础地位。对于初治 ALK 阳性晚期非小细胞肺癌患者,ALK 抑制剂疗效显著优于传统化疗方案,同时 ALK 抑制剂相关不良反应较轻微,主要为腹泻、

恶心、呕吐等 1~2 级消化道不良反应以及视觉障碍等,显著改善了患者的生活质量。

2. 伴有 ALK 基因融合的非小细胞肺癌手术患者与预后差相关,无复发生存时间(recurrence-free survival, RFS)较短。研究表明,手术切除的非小细胞肺癌患者,ALK 阳性患者比 EGFR 突变患者的 RFS 更短,提示 ALK 阳性患者术后应采取更积极的随访计划或进行辅助治疗^[7]。

二、ALK 检测的适用人群

1. 所有经病理学诊断为肺浸润性腺癌(包括含腺癌成分)患者均需进行 ALK 检测。在我国,未经选择的非小细胞肺癌中 ALK 阳性病例约占 5.6%^[1],其中肺腺癌阳性率约 6.6%~9.6%^[2-3],晚期患者阳性率高于早期患者。对于晚期非小细胞肺癌患者,ALK 基因检测能够有效筛选 ALK 抑制剂获益人群。对于手术切除患者,ALK 阳性非小细胞肺癌患者的预后较差。因此,本共识强烈推荐经病理学诊断为肺浸润性腺癌(包括含腺癌成分)的患者,不管其分期,均需进行 ALK 基因检测。

2. 经活检组织病理学诊断为非腺癌的晚期非小细胞肺癌患者推荐进行 ALK 检测。ALK 基因融合可在肺鳞状细胞癌中检出^[8],有多个个案报道在鳞状细胞癌患者中检测出棘皮动物微管相关类蛋白 4(echinoderm microtubule-associated protein-like 4, EML4)-ALK 基因融合,且可在接受 ALK 抑制剂治疗中获益^[9];同时针对我国 1 134 例晚期(Ⅲb~Ⅳ期)非小细胞肺癌研究数据显示,在鳞状细胞癌中 ALK 基因融合发生率可达 3.7%^[10]。除此之外,部分由活检诊断为鳞状细胞癌的患者,经术后病理证实存在肺腺癌成分^[11],因此我们推荐经活检组织病理学诊断为非腺癌的晚期非小细胞肺癌患者可以进行 ALK 检测,以期筛选出 ALK 阳性患者获得更佳治疗方案的选择。

三、ALK 靶向药物

1. 一代 ALK 抑制剂克唑替尼和二代 ALK 抑制剂阿来替尼均可用于晚期 ALK 阳性非小细胞肺癌患者的一线治疗,阿来替尼优先。目前,国家药品监督管理局(National Medical Products Administration, NMPA)批准上市的 ALK 抑制剂包括克唑替尼、阿来替尼和塞瑞替尼。PROFILE 1014 研究证实克唑替尼作为晚期 ALK 阳性非小细胞肺癌患者的一线治疗明显优于标准含铂化疗,因此推荐克唑替尼作为一线治疗方案^[5]。基于 ALEX、J-ALEX 和 ALESIA 研究的结果,阿来替尼作

为晚期 ALK 阳性非小细胞肺癌患者的一线治疗优于克唑替尼,因此作为一线的优先推荐治疗方案^[12-13]。

2. 二代 ALK 抑制剂阿来替尼和塞瑞替尼均用于晚期 ALK 阳性非小细胞肺癌患者经克唑替尼治疗耐药后的二线治疗。ASCEND 系列研究证实了塞瑞替尼在未经治疗或经克唑替尼治疗失败的 ALK 阳性非小细胞肺癌患者中的疗效均优于含铂化疗^[14],但目前 NMPA 尚未批准塞瑞替尼的一线适应证,仅批准塞瑞替尼用于克唑替尼耐药后的二线治疗。其他的二代 ALK 抑制剂如 Brigatinib 等以及三代 ALK 抑制剂 Lorlatinib 等,亦显示出作为一线治疗,或经一代/二代 ALK 抑制剂耐药后的后线治疗中具有应用前景的治疗效果。

四、ALK 检测基因异常类型

初治患者进行 ALK 基因异常检测时,必须检测是否存在基因易位/融合/表达,可进行 ALK 融合变体亚型检测及易位丰度检测。目前至少发现了 20 多种 EML4-ALK 融合变体亚型,其中,最常见的是 EML4 的变体 1[v1:外显子 13 与 ALK 的外显子 20 融合(E13;A20)]和变体 3v3a/b[外显子 6a/b 与 ALK 的外显子 20 融合(E6a/b;A20)],这两种变体类型约占总体的 60%^[1]。所有的变体都保留了 ALK 的整个酪氨酸激酶结构域和 EML4 的 N 末端卷曲螺旋区域,这对于 ALK 的二聚化和组成型激活是必不可少的。ALK 除最常见与 EML4 融合外,也可以与 TFG、KLC1、SOCS5、H1P1、TPR、BIRC6 等基因融合^[15]。研究显示,不同的变异亚型可能与抗 ALK 治疗的 PFS 时间相关,但限于研究人群的局限性,以及不同药物的作用机制存在差异,不同研究的结果存在差异^[16-17],因此,这些复杂的 ALK 变异类型及其临床意义尚待我们进一步研究。而突变丰度与疗效的关系研究也处于探索阶段。ALK 激酶区的突变极少见于初治 ALK 易位患者,主要出现于 ALK 抑制剂治疗耐药后患者。目前临床实践主要依据患者有无 ALK 基因易位/融合/表达来决定是否使用 ALK 抑制剂。因此目前我们强烈推荐初治患者进行 ALK 基因异常检测时,必须检测是否存在基因易位/融合/表达,可进行 ALK 融合变体亚型检测及易位丰度检测。针对 ALK 抑制剂耐药患者,需要考虑 ALK 获得性耐药突变的相关检测。

五、ALK 检测方法及判读标准

1. Ventana-D5F3 IHC、FISH、RT-PCR、NGS 均可

用于 ALK 基因融合检测,判读标准参照试剂盒说明书。

2. 检测结果报告格式应规范化。目前,我国 NMPA 批准了 4 个技术平台的 ALK 基因检测伴随诊断试剂,包括 ALK Ventana-D5F3 IHC、FISH、RT-PCR、NGS 检测平台。研究结果显示,这 4 个技术平台检测试剂均具有较高的灵敏度及特异度。专家组强烈推荐这 4 种方法均可用于 ALK 基因融合检测,依据临床具体情况及实验室条件进行检测方法的选择,并通过必要的性能验证或性能确认,确立检测分析前、分析中和分析后全流程的标准操作程序。判读标准参考试剂盒说明书。各检测平台结果报告应设置规范化的格式。

3. 非 Ventana D5F3 抗体 IHC 检测仅用于初筛。由于快速、经济、操作简单,IHC 检测方法在各病理实验室广泛开展。目前有 4 种 ALK 抗体克隆,包括 ALK1、5A4、D5F3 以及 1A4。由于 ALK1 灵敏度较低(67%),而 1A4 的特异度较低(70%),均不推荐应用于临床;ALK 5A4 及 D5F3 均具有较高的灵敏度及特异度(95%~100%)^[18],但检测实践过程中 ALK 5A4 IHC 灵敏度及特异度依据阳性强度或 H 评分界定值不同而不同,因此专家共识建议非 Ventana D5F3 抗体 IHC 检测仅用于 ALK 检测结果初筛。为规范化 ALK IHC 初筛检测,我国病理专家编写了《常规免疫组织化学初筛 ALK 阳性非小细胞肺癌专家共识》^[19]。

4. 对于非腺癌患者,在进行 ALK Ventana-D5F3 IHC 结果判读时,应谨慎,必要时加备注。ALK Ventana-D5F3 IHC 检测试剂及判读标准是针对肺腺癌样本设计的。在临床实践中,有些低分化癌、伴神经内分泌分化、鳞状细胞癌等会有异质性或者棋盘状的假阳性着色,属于真实信号,但是 ALK 融合蛋白阴性(尤其注意活检标本),因此对于非腺癌患者,在进行 ALK Ventana-D5F3 IHC 结果判读时需要格外谨慎,必要时可加备注进一步说明或建议使用其他技术平台进行验证。

5. 在进行 ALK Ventana-D5F3 IHC 检测结果判读时,对于检测结果不能确定的患者,应建议使用其他技术平台进行复检。ALK Ventana-D5F3 IHC 检测方法是目前最快速、经济的方法,且二元结果判读标准简单。然而,在临床实践中要警惕 ALK Ventana IHC 结果判读中存在的一些陷阱,避免假阳性或假阴性。首先,富含胞内黏液的实体型肺腺癌中易出现 ALK 融合基因,一方面由于胞内黏液

非特异性吸附,易被误判为假阳性的可能,另一方面,由于黏液挤压细胞胞质,真实阳性信号易被忽视,而被错判为阴性,因此我们在判读富含黏液分泌的病例时,要格外留意阳性信号的部位及真假;其次,假阳性着色可出现于:肺泡内巨噬细胞、神经纤维及神经节细胞、呼吸道上皮细胞、坏死组织碎片及细胞外黏液吸附,在判读时要加以区分。在全国多中心研究质控数据分析中也发现了很多染色不典型、结果判读不确定的病例,针对此类情况,需再次强调标本规范化处理、室内质控、室间质评的重要性。判读时要注意以下几个要点,尤其是信号较浅、信号分布不均的情况:(1)整体染色情况(间质背景是否干净);(2)关注亚器官定位,信号位于胞质或者胞质和胞膜(细胞核不应着色);(3)染色相对均匀(ALK 异质性少见),胞质内的着色也相对均匀(信号点大小较为均匀);(4)注意腔缘效应以及黏液、坏死等导致的非特异性着色。总之,在进行 Ventana-D5F3 IHC 检测结果判读时,对于结果不能确定的患者,专家共识建议使用其他技术平台进行复检^[3]。

6. 在进行 FISH 结果判读时,对于分离信号肿瘤细胞比例在临界值附近的病例,判读应谨慎,必要时加备注,并建议使用其他技术平台进行复检。

7. 在进行 FISH 结果判读时,对于存在不典型信号时,如单绿信号(5'端荧光信号)或伴扩增等,应定义为不典型病例,并建议使用其他技术平台进行复检。FISH 检测 ALK 基因易位是经典的检测方法。但由于 EML4-ALK 易位是倒置易位,有些病例荧光分离信号距离较近,且断裂点附近不稳定,会产生染色体崩塌导致距离更近,加上立体空间位置,可造成假阴性判读结果。另外,在试剂盒判读标准中,ALK 单绿信号(5'端荧光信号)被判为阴性,但有研究显示,部分此类病例经其他技术平台证实存在 ALK 基因融合表达,且显示出对 ALK 抑制剂治疗有效^[20]。故本专家共识推荐,对于 FISH 信号不典型病例,应推荐其他技术平台进行复检。

8. 在进行 RT-PCR 结果判读时,对于 Ct 值在阈值范围附近的病例,判读应谨慎,必要时加备注,并建议使用其他技术平台进行复检。基于 RT-PCR 检测 ALK 融合基因表达方法的灵敏度和特异度均较高,但因为 RT-PCR 只能检测已知 ALK 融合基因类型,所以存在假阴性可能。同时,因涉及基于 mRNA 的 PCR 扩增,其对于检测环境和标本质量都有比较高的要求,因此应强化内、外部质控,避免污

染。对于 Ct 值在阈值范围附近的患者,在进行结果判读时需要谨慎对待,需结合标本质量、肿瘤细胞含量、质控情况等综合分析。必要时加备注,并建议使用其他技术平台进行复检。

9. 在进行 NGS 检测 ALK 结果判读时,应充分掌握 NGS 检测平台及试剂的特点和局限性,结合标本情况、检测质控及测序数据等进行综合判读。对于质控不合格或结果不典型病例,报告时应加备注,并建议使用其他技术平台进行复检。NGS 在基因检测中的地位越来越高,除了点突变,也可以检测基因易位,同时可以和其他基因如 EGFR、K-RAS、CMET 等几个乃至几百个基因一起检测。根据建库平台不同,其检测的基因分子类型不同。一般情况下,ALK 基因融合通过捕获平台在 DNA 水平或扩增子平台在 RNA 水平上进行检测。基于捕获平台检测结果的灵敏度和特异度均很高,而且能够检测到包括已知和未知位点在内的所有 ALK 易位,但是其准确性可能会受捕获探针的覆盖度、标本 DNA 质量,以及生物信息学分析等关键因素影响。另外,极少数情况下,在 DNA 水平上检测到的基因易位可能并不会引起融合蛋白的表达。在 RNA 水平上采用扩增子的测序方式具有很高的检测灵敏度和特异度,而且极少的 RNA 投入量就能够在转录水平检测到 ALK 融合基因表达。但是,其检测范围一般仅局限于特定的常见位点,罕见融合可能会漏检。另外,与 RT-PCR 相似,其对于检测环境和标本质量都有比较高的要求。鉴于这两种常用的 NGS 方法均存在一些不足,近年来出现了使用捕获平台同时在 DNA 和 RNA 水平上进行测序的方法,可以在一定程度上提高 ALK 融合检测的准确性和灵敏度,但是,该方法成本较高,RNA 的投入量也比扩增子平台更多。NGS 检测流程复杂,影响因素繁多。在进行 ALK 结果判读时,应充分掌握 NGS 检测平台及试剂的特点和局限性,并结合标本情况、检测质控及测序数据等进行综合判读。

六、ALK 检测的标本类型

检测标本优先使用肿瘤组织标本。肿瘤组织标本不满足要求时,推荐使用细胞学标本。对于少数客观条件上不能获得组织或细胞学标本的晚期肺癌患者,可尝试血液/脑脊液检测。

多种样本均可用于 ALK 基因融合检测。考虑到检测平台对肿瘤细胞比例及肿瘤细胞量的需求,我们首先推荐选择手术切除或活检获取的石蜡包

理的肿瘤组织标本进行 ALK 检测;如果手术样本保存时间过长(3 年以上)、未经过规范化前处理的标本可影响检测结果。晚期肺癌患者无法获取肿瘤组织标本时,细胞学样本包括细胞学穿刺标本或胸水细胞块等经病理学评估肿瘤细胞量满足需要的,推荐用于 ALK 检测。对于少数晚期非小细胞肺癌患者无法获得组织学或细胞学样本的,专家共识建议尝试使用血液/脑脊液进行 ALK 检测^[21]。

七、ALK 检测策略优化

1. 优先应用 Ventana-D5F3 IHC 进行 ALK 检测。ALK Ventana-D5F3 IHC 快速、经济、操作简单,且具有较高的灵敏度(100%)及特异度(98%)^[18]。同时,对于 ALK Ventana-D5F3 IHC 阳性但 FISH 阴性的患者,接受 ALK 抑制剂治疗疗效显著^[15,20,22]。同时无论是石蜡包埋组织样本或细胞块样本,还是原发灶或转移灶样本中,ALK Ventana-D5F3 的 IHC 与 FISH 均表现出较高的一致性(94%~100%)^[18]。除上述优点之外,由于石蜡包埋组织样本中蛋白质相对稳定,ALK Ventana-D5F3 IHC 可以检测较长时间的样本,且所需的组织样本量较小。因此专家组强烈推荐优先应用 Ventana-D5F3 IHC 进行 ALK 检测。同时,为了降低样本耗损、加快检测流程,专家组推荐可以将肺癌鉴别诊断免疫组织化学标志物与 ALK Ventana-D5F3 IHC 等同时进行检测。

2. 当和其他基因(如 EGFR、ROS1 等)一起检测时,可以联合 FISH 和 RT-PCR,或进行 RT-PCR 或 NGS 多基因检测。当标本量有限,如晚期非小细胞肺癌活检样本,且临床需要同时了解其他基因(如 EGFR、KRAS、ROS1 等)变异情况时,为了节约样本及检测时间,专家组推荐可以联合 FISH 和 RT-PCR 进行多基因同时检测,或进行 RT-PCR 或 NGS 检测,实现多个基因组合检测^[23]。

3. 当怀疑检测标本有质量问题时,优先应用 FISH 检测。ALK 各检测平台各有优缺点,当我们遇到例如 ALK Ventana-D5F3 IHC 染色结果不均匀或者染色结果较浅等提示标本处理不当或者保存时间过长等质量问题时,专家组推荐优先应用 FISH 检测。FISH 检测依然是 ALK 基因易位检测的经典方法,其检测结果直观稳定,通过直接在显微镜下观察细胞核染色质形态及分离信号。

4. 临床病理特征可用于优先检测项目及方法的选择。ALK 阳性非小细胞肺癌患者具有一定的临床病理特征,ALK 基因融合更常见于年轻(中位年龄 55 岁)、非吸烟、富含胞内黏液的实体型肺腺

癌患者中,男女患者比例相近,且常与其他驱动基因突变如 EGFR、KRAS、ROS1 等互斥^[2,24]。我们可以依据患者临床病理特征进行优先检测项目及检测方法的选择,例如具备上述临床病理特征的患者我们可以优先进行 ALK Ventana-D5F3 IHC 检测。

八、ALK 检测临床实践中存在的问题及解决策略

1. 所有病例包括本单位检测或外送检测的肿瘤组织或细胞学标本应由病理医师进行肿瘤细胞含量的评估。ALK IHC、FISH、RT-PCR、NGS 各检测平台对肿瘤细胞含量均有一定的要求,如 FISH 检测判读标准要求至少判读 100 个肿瘤细胞,而以 PCR 为基础的 RT-PCR 技术和 NGS 技术,不仅需要一定的细胞量,同时需满足一定的肿瘤细胞比例(需对照产品的最低检测限等参数)。对于扩增子为基础的 NGS 技术一般需要 5~10 ng 核酸(大约 1 000 个肿瘤细胞),以杂交捕获为基础的 NGS 技术需要 50~200 ng 核酸,只有满足要求才能保证检测结果的准确性,因此所有病例包括本单位检测或外送检测的肿瘤组织或细胞学标本均应先由病理医师进行肿瘤细胞比例及含量的评估。

2. 当存在 IHC、FISH、RT-PCR、NGS 检测结果不一致时,临床医师应与检测医师或相关人员沟通,确保检测结果均无异议时,才可进行 ALK 抑制剂的治疗。

3. 当需要外送独立实验室检测时,临床医师应对外送检测的独立实验室进行质量评价。本共识首先推荐在有能力的医院病理科实验室进行 ALK 基因融合检测。当需要外送独立实验室进行检测时,临床医师应对送检的独立实验室进行质量评估,以确保检测结果的准确性。

4. 临床医师与组织病理医师及分子检测人员应及时就 ALK 基因检测进行必要的沟通,包括 ALK 基因检测前、ALK 基因检测后及服用 ALK 抑制剂耐药后再次检测时。在临床实践过程中我们偶尔会遇到病理特征、临床特征及用药疗效与分子检测结果不一致的病例,此时须强调临床医师、组织病理医师及分子检测人员之间及时相互沟通,包括 ALK 基因检测前、ALK 基因检测后及服用 ALK 抑制剂耐药后再次检测时,在沟通过程中可以及时发现检测问题及特殊病例,为今后检测经验及实践数据的积累提供更多资料。

九、ALK 检测的室内外质控

1. 检测实验室应在临床应用前建立及优化 ALK

检测规范化操作流程,并进行必要的性能验证。

2. 检测实验室应定期参加 ALK 检测室间质评活动,每年至少 2 次。

3. 检测实验室均应设置阴、阳性对照。

4. 检测实验室应制定专人负责 ALK 基因检测的质量控制,定期组织人员比对、培训及数据总结和分析。

在临床操作中,行之有效的质量控制系统对于病理诊断与评估的可信度来说至关重要。检测实验室应在临床应用前建立及优化 ALK 检测规范化操作流程,并进行必要的性能验证[包括但不限于阴阳性符合率、最低检测限(如适用)等]。质量控制主要包括室内质控与室间质评。室内质控除了常规性的设立阳性及阴性对照,还包括不同检测方法比对、不同检测人员比对、新试剂性能验证及定期抽检等,以及定期进行人员培训及数据总结和分析。室内质控的主要目的是确保实验步骤的准确性和控制实验室每次检测结果的可靠性、有效性。检测实验室应定期参加 ALK 检测室间质评活动,每年至少 2 次。室间质评可以通过参加国内权威机构举办的室间质评活动来完成,也可通过与其他实验室(如已获资格认可的实验室、使用相同检测方法的实验室等)比对的方式确定检测结果的可信度。

十、ALK 抑制剂耐药机制检测

1. 对于 ALK 抑制剂耐药的患者,基因检测内容应由临床医师和分子病理检测医师共同讨论决定。

2. 耐药患者进行基因检测时,建议优先应用 NGS 检测,检测内容包括获得性突变和融合突变类型等。

ALK 抑制剂耐药可分为原发性和继发性耐药,主要包括 EML4-ALK 融合亚型的影响、ALK 激酶区突变、ALK 基因扩增,以及基因旁路的激活、组织亚型或谱系改变等^[25]。对于 ALK 抑制剂耐药的患者,专家组建议基因检测内容应由临床医师和分子病理检测医师共同讨论决定。如果患者在接受 ALK 抑制剂一线治疗后出现耐药,建议患者再取活检进行组织学诊断和基因检测,优先进行 NGS 基因检测,分析具体基因变异类型,包括获得性突变和融合突变类型等,用于指导选择最恰当的二线治疗药物。本共识要点总结见表 1。

免责声明 本文中公布的临床实践专家共识内容由专家组成员依据现有医学证据及实践经验共同讨论形成,以帮助相关人员进行 ALK 基因检测或临床决策。其中的内容可能

不够全面或不够充分。医学知识发展迅速,在本共识产生到发表期间均可能出现新的证据,而这些可能并没有体现在本共识中。另外,因检测流程复杂、实验室条件差异以及患者之间存在个体差异等影响检测决策或结果,因此,本共识中内容的采用应结合检测条件、政策许可以及专业人员的独立专业判断。对本共识内容的使用是自愿的。专家组成员明确否认对文中所提及的任何产品具有商业性目的。专家组对因使用本共识内容而造成的或与之相关的任何人身伤害或财产损失,或任何错误或遗漏不承担任何责任。

《中国非小细胞肺癌 ALK 检测模式真实世界研究》项目组专家(按单位名称汉语拼音字母顺序排列):北京医院病理科 国家老年医学中心(王征);福建医科大学附属肿瘤医院病理科(陈刚);复旦大学附属中山医院病理科(纪元);复旦大学附属肿瘤医院病理科 复旦大学上海医学院肿瘤学系(李媛);广东省人民医院 广东省医学科学院病理科(刘艳辉);国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院 北京协和医学院 肿瘤医院病理科(应建明);哈尔滨医科大学附属肿瘤医院病理科(耿敬姝);河北医科大学第四医院病理科(刘月平);华南肿瘤学国家重点实验室 肿瘤医学协同创新中心 中山大学肿瘤防治中心病理科(云径平);华中科技大学同济医学院附属协和医院病理科(聂秀);空军军医大学西京医院病理科(王哲);陆军军医大学西南医院病理科(阎晓初);南京医科大学第一附属医院病理科(张智弘);南京医科大学附属肿瘤医院 江苏省肿瘤医院病理科(张静渊);青岛大学附属医院病理科(李玉军);山东省肿瘤防治研究院病理科(穆殿斌);山西省肿瘤医院病理科(郝彦凤);上海市胸科医院 上海交通大学附属胸科医院病理科(韩昱晨);首都医科大学附属北京胸科医院 北京市结核病胸部肿瘤研究所病理科(车南颖);四川大学华西医院病理科(蒋莉莉);苏州大学附属第一医院病理科(郭凌川);天津医科大学附属肿瘤医院病理科(孙蕾娜);同济大学附属上海市肺科医院病理科(武春燕);浙江大学医学院附属第一医院病理科(滕晓东);郑州大学第一附属医院病理科(李文才);郑州大学附属肿瘤医院临床病理中心(夏庆欣);中国科学院大学附属肿瘤医院病理科(吴伟);中国医科大学附属第一医院病理科(邱雪杉);中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院病理科(李霁);中南大学湘雅二医院病理科(李代强);中南大学湘雅医院病理科(周建华)

肿瘤临床专家顾问组成员(按单位名称汉语拼音字母顺序排列):广东省人民医院 广东省医学科学院肿瘤中心(周清);国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院 北京协和医学院 肿瘤医院肿瘤内科(王洁);吉林省肿瘤医院肿瘤内科(程颖);解放军总医院第一医学中心肿瘤内科(焦顺昌);同济大学附属上海市肺科医院肿瘤科(周彩存);上海市胸科医院 上海交通大学附属胸科医院肿瘤内科(陆舜);中山大学肿瘤医院肿瘤内科(张力)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

表1 中国非小细胞肺癌 ALK 检测临床实践专家共识要点

序号	专家共识推荐要点	推荐级别
1. ALK 检测的临床意义		
1.1	伴有 ALK 基因融合的不可手术晚期非小细胞肺癌患者接受 ALK 抑制剂治疗, 客观缓解率和无进展生存时间显著优于含铂化疗, 并改善患者的生活质量。反之, ALK 基因融合阴性患者并不能从 ALK 抑制剂治疗中获益	强烈推荐
1.2	伴有 ALK 基因融合的非小细胞肺癌手术患者与预后差相关, 无复发生存时间较短	推荐
2. ALK 检测的适用人群		
2.1	所有经病理学诊断为肺浸润性腺癌(包括含腺癌成分)患者均需进行 ALK 基因融合检测	强烈推荐
2.2	经活检组织病理学证实为非腺癌的晚期非小细胞肺癌患者推荐进行 ALK 基因融合检测	推荐
3. ALK 靶向药物		
3.1	二代 ALK 抑制剂阿来替尼(Alectinib)优先用于晚期 ALK 融合基因阳性非小细胞肺癌患者的一线治疗	强烈推荐
3.2	一代 ALK 抑制剂克唑替尼(Crizotinib)用于晚期 ALK 融合基因阳性非小细胞肺癌患者的一线治疗	强烈推荐
3.3	二代 ALK 抑制剂阿来替尼用于晚期 ALK 融合基因阳性非小细胞肺癌患者经克唑替尼治疗耐药后的二线治疗	强烈推荐
3.4	二代 ALK 抑制剂塞瑞替尼(Ceritinib)用于晚期 ALK 融合基因阳性非小细胞肺癌患者经克唑替尼耐药后的二线治疗	强烈推荐
4. ALK 检测基因异常类型	初治患者进行 ALK 基因异常检测时, 必须检测是否存在基因易位/融合/表达, 可进行 ALK 融合变体亚型检测及易位丰度检测等	强烈推荐
5. ALK 检测方法 & 判读标准		
5.1	Ventana-D5F3 IHC、FISH、RT-PCR、NGS 均可用于 ALK 基因融合检测, 判读标准参照国家相关部分批准的试剂盒说明书	强烈推荐
5.2	检测结果报告格式规范化	强烈推荐
5.3	非 Ventana-D5F3 抗体进行免疫组织化学检测仅用于初筛	专家共识意见
5.4	非腺癌标本进行 Ventana-D5F3 IHC 结果判读时应谨慎, 必要时加备注	推荐
5.5	在进行 Ventana-D5F3 IHC 检测结果判读时, 对于结果不能确定的患者, 应建议使用其他技术平台进行复检	专家共识意见
5.6	在进行 FISH 结果判读时, 对于分离信号肿瘤细胞比例在临界值附近的病例, 判读应谨慎, 必要时加备注, 并建议使用其他技术平台进行复检	推荐
5.7	在进行 FISH 结果判读时, 对于存在不典型信号时, 如单绿信号(5'端荧光信号)或伴扩增等, 应定义为不典型病例, 并建议使用其他技术平台进行复检	推荐
5.8	在进行 RT-PCR 结果判读时, 对于 Ct 值在阈值范围附近的病例, 判读应谨慎, 必要时加备注, 并建议使用其他技术平台进行复检	推荐
5.9	在进行 NGS 检测 ALK 结果判读时, 应充分掌握 NGS 检测平台及试剂的特点和局限性, 结合标本情况、检测质控及测序数据等进行综合判读。对于质控不合格或结果不典型病例, 报告时应加备注, 并建议使用其他技术平台进行复检	推荐
6. ALK 检测的标本类型		
6.1	检测标本优先使用肿瘤组织标本	强烈推荐
6.2	肿瘤组织标本不满足要求时, 推荐使用细胞学标本	推荐
6.3	对于少数客观上不能获得组织或细胞学标本的晚期肺癌患者, 可尝试血液/脑脊液检测	专家共识意见
7. ALK 检测策略优化		
7.1	优先应用 Ventana-D5F3 IHC 进行 ALK 检测	强烈推荐
7.2	当和其他基因(如 EGFR、ROS1 等)一起检测时, 可以联合 FISH 和 RT-PCR, 或进行 RT-PCR 或 NGS 多基因检测	推荐
7.3	当怀疑检测标本有质量问题时, 优先应用 FISH 检测	推荐
7.4	临床病理特征可用于优先检测项目及方法的选择	推荐
8. ALK 检测临床实践中存在的问题及解决策略		
8.1	所有病例包括本单位检测或外送检测的肿瘤组织或细胞学标本应由病理医师进行肿瘤细胞含量的评估	强烈推荐
8.2	当存在 IHC、FISH、RT-PCR、NGS 检测结果不一致时, 临床医师应与检测医师或相关人员沟通, 确保检测结果均无异议时, 可进行 ALK 抑制剂的治疗	推荐
8.3	临床医师应对外送检测的独立实验室进行质量评价	推荐
8.4	临床医师与组织病理医师及分子检测人员应及时就 ALK 基因检测进行必要的沟通, 包括 ALK 基因检测前、ALK 基因检测后及服用 ALK 抑制剂耐药后再次检测时	专家共识意见
9. ALK 检测的室内质控		
9.1	检测实验室应在临床应用前建立及优化 ALK 检测规范化操作流程, 并进行必要的性能验证	强烈推荐
9.2	检测实验室应定期参加 ALK 检测室间质评活动, 每年至少 2 次	强烈推荐
9.3	检测实验室均应设置阴阳性对照	强烈推荐
9.4	检测实验室应制定专人负责 ALK 基因检测的质量控制, 定期组织人员比对、培训及数据总结和分析	强烈推荐
10. ALK 抑制剂耐药机制检测		
10.1	对于 ALK 抑制剂耐药的患者, 基因检测内容应由临床医师和分子病理检测医师共同讨论决定	专家共识意见
10.2	耐药患者进行基因检测时, 建议优先应用 NGS 检测, 检测内容包括获得性突变和融合突变类型等	专家共识意见

注: 基于文献报道及专家组的实践经验, 本共识中涉及的推荐分级按以下基本原则: (1) 强烈推荐: 基于高或中等级别证据, 可信度高; (2) 推荐: 基于中等级别或低级别证据, 但具有一些局限性, 专家组同意推荐; (3) 专家共识意见: 基于低级别证据或缺乏证据, 但专家组同意意见

参 考 文 献

- [1] Gou LY, Wu YL. Prevalence of driver mutations in non-small-cell lung cancers in the People's Republic of China [J]. *Lung Cancer (Auckl)*, 2014, 5: 1-9. DOI: 10.2147/LCTT.S40817.
- [2] Yang L, Ling Y, Guo L, et al. Detection of ALK translocation in non-small cell lung carcinoma (NSCLC) and its clinicopathological significance using the Ventana immunohistochemical staining method: a single-center large-scale investigation of 1,504 Chinese Han patients[J]. *Chin J Cancer Res*, 2016, 28(5): 495-502. DOI: 10.21147/j.issn.1000-9604.2016.05.04.
- [3] Ying J, Li L, Li W, et al. ALK testing in Chinese advanced NSCLC patients: a national-wide multicenter prospective real-world data study (The RATIONAL Study) [C]. *World Conference on Lung Cancer(WCLC)*, 2019: P1.09.
- [4] 张绪超, 陆舜, 张力, 等. 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)[J]. *中华病理学杂志*, 2013, 42(6): 402-406. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2013.06.012.
- [5] Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(23): 2167-2177. DOI: 10.1056/NEJMoa1408440.
- [6] Nishio M, Kim DW, Wu YL, et al. Crizotinib versus chemotherapy in Asian patients with ALK-positive advanced non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res Treat*, 2018, 50(3): 691-700. DOI: 10.4143/crt.2017.280.
- [7] Chaft JE, Dagogo-Jack I, Santini FC, et al. Clinical outcomes of patients with resected, early-stage ALK-positive lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2018, 122: 67-71. DOI: 10.1016/j.lungcan.2018.05.020.
- [8] Calìò A, Nottegar A, Gilioli E, et al. ALK/EML4 fusion gene may be found in pure squamous carcinoma of the lung[J]. *J Thorac Oncol*, 2014, 9(5): 729-732. DOI: 10.1097/JTO.000000000000109.
- [9] Vergne F, Quéré G, Andrieu-Key S, et al. ALK-rearranged squamous cell lung carcinoma responding to crizotinib: a missing link in the field of non-small cell lung cancer?[J]. *Lung Cancer*, 2016, 91: 67-69. DOI: 10.1016/j.lungcan.2015.11.010.
- [10] Liang H, Song X, Zhang Y, et al. Real-world data on EGFR/ALK gene status and first-line targeted therapy rate in newly diagnosed advanced non-small cell lung cancer patients in Northern China: a prospective observational study[J]. *Thorac Cancer*, 2019, 10(7): 1521-1532. DOI: 10.1111/1759-7714.13090.
- [11] Dragnev KH, Gehr G, Memoli VA, et al. ALK-rearranged adenocarcinoma lung cancer presenting as squamous cell carcinoma: a potential challenge to histologic type triaging of NSCLC biopsies for molecular studies[J]. *Clin Lung Cancer*, 2014, 15(3): e37-e40. DOI: 10.1016/j.clc.2014.01.003.
- [12] Hida T, Nokihara H, Kondo M, et al. Alectinib versus crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer (J-ALEX): an open-label, randomised phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2017, 390(10089): 29-39. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30565-2.
- [13] Zhou C, Kim SW, Reungwetwattana T, et al. Alectinib versus crizotinib in untreated Asian patients with anaplastic lymphoma kinase-positive non-small-cell lung cancer (ALESIA): a randomised phase 3 study[J]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7(5): 437-446. DOI: 10.1016/S2213-2600(19)30053-0.
- [14] Soria JC, Tan D, Chiari R, et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study[J]. *Lancet*, 2017, 389(10072): 917-929. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30123-X.
- [15] Li W, Zhang J, Guo L, et al. Combinational analysis of FISH and immunohistochemistry reveals rare genomic events in ALK fusion patterns in NSCLC that responds to crizotinib treatment[J]. *J Thorac Oncol*, 2017, 12(1): 94-101. DOI: 10.1016/j.jtho.2016.08.145.
- [16] Lin JJ, Zhu VW, Yoda S, et al. Impact of EML4-ALK variant on resistance mechanisms and clinical outcomes in ALK-positive lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(12): 1199-1206. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.2294.
- [17] Li Y, Zhang T, Zhang J, et al. Response to crizotinib in advanced ALK-rearranged non-small cell lung cancers with different ALK-fusion variants[J]. *Lung Cancer*, 2018, 118: 128-133. DOI: 10.1016/j.lungcan.2018.01.026.
- [18] Conklin CM, Craddock KJ, Have C, et al. Immunohistochemistry is a reliable screening tool for identification of ALK rearrangement in non-small-cell lung carcinoma and is antibody dependent[J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(1): 45-51. DOI: 10.1097/JTO.0b013e318274a83e.
- [19] 《常规免疫组织化学初筛 ALK 阳性非小细胞肺癌专家共识》专家组. 常规免疫组织化学初筛 ALK 阳性非小细胞肺癌专家共识[J]. *中华病理学杂志*, 2015, 44(7): 476-479. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2015.07.012.
- [20] Ren S, Hirsch FR, Varela-Garcia M, et al. Atypical negative ALK break-apart FISH harboring a crizotinib-responsive ALK rearrangement in non-small-cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2014, 9(3): e21-23. DOI: 10.1097/JTO.00000000000000013.
- [21] Bordi P, Tiseo M, Rofi E, et al. Detection of ALK and KRAS mutations in circulating tumor DNA of patients with advanced ALK-positive NSCLC with disease progression during crizotinib treatment[J]. *Clin Lung Cancer*, 2017, 18(6): 692-697. DOI: 10.1016/j.clc.2017.04.013.
- [22] van der Wekken AJ, Pelgrim R, 't Hart N, et al. Dichotomous ALK-IHC is a better predictor for ALK inhibition outcome than traditional ALK-FISH in advanced non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(15): 4251-4258. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1631.
- [23] Presley CJ, Tang D, Soulos PR, et al. Association of broad-based genomic sequencing with survival among patients with advanced non-small cell lung cancer in the community oncology setting[J]. *JAMA*, 2018, 320(5): 469-477. DOI: 10.1001/jama.2018.9824.
- [24] Gainor JF, Varghese AM, Ou SH, 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[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(15): 4273-4281. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0318.
- [25] 宋鹏, 张力, 尚聪. ALK 融合基因阳性非小细胞肺癌的研究进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2018, 21(9): 703-711. DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2018.09.10.

(收稿日期: 2019-08-03)

(本文编辑: 常秀青)