

肺癌分子检测的新“航标”——CAP/IASLC/AMP 肺癌分子检测指南解读

中山大学肿瘤防治中心邵建永

随着非小细胞肺癌（NSCLC）分子生物学研究的不断深入，基于分子标志物的个体化治疗已从实验室走到了临床，并在晚期 NSCLC 患者靶向治疗上取得了显著进展。作为基因检测工作者，如何实现准确的靶向基因分子检测，为临床医生制定安全、可靠、有效的方案，规范化检测，则成为亟待解决的问题。世界各国的检测机构例如日本、欧盟都分别建立了各自的检测标准，从 2011 年以来，我国陆续颁发了由国家卫生计生委病理质控评价中心（PQCC）制定的《[中国 NSCLC 患者表皮生长因子受体（EGFR）基因突变检测专家共识](#)》、中国临床肿瘤学会（CSCO）肿瘤生物标志物专家委员会制定的《[中国间变性淋巴瘤激酶（ALK）阳性 NSCLC 诊断专家共识（2013 版）](#)》、中国医师学会肿瘤医师分会和中国抗癌协会肿瘤临床化疗专业委员会联合制定的《[中国 EGFR 敏感基因突变和 ALK 融合基因阳性 NSCLC 诊断治疗指南（2014 版）](#)》等系列共识。

2013 年 4 月 3 日，美国病理医师学会（CAP）/国际肺癌研究学会（IASLC）/美国分子病理医师学会（AMP）发布《[肺癌患者 EGFR/ALK-酪氨酸激酶抑制剂（TKI）治疗分子检测指南](#)》（以下简称《指南》）；2014 年 10 月 13 日，美国临床肿瘤学会（ASCO）专家小组将《指南》正式签署，该《指南》针对 5 大方面问题提出了 37 条建议，标志着针对 EGFR 突变及 ALK 融合基因阳性肺癌全球化检测规范正式形成。我们在此将《指南》进行分析解读，以便与国内同行交流。

指南原文下载：<http://guide.medlive.cn/guideline/4285>

EGFR/ALK 检测人群及检测时机

因为敏感性及特异性不高，临床病理特征（例如性别、年龄、吸烟史及种族）都不作为进行肺癌 EGFR 检测或靶向治疗的筛选标准。但包括我国在内的亚洲地区，肺鳞状细胞癌依然有约 10%~15% 的 EGFR 突变率，基于大的人口基数，其数量也非常可观。因此在我国 2011 年 PQCC 制定的 EGFR 突变检测共识中指出：“为使患者尽可能从最有效治疗中获益，所有病理亚型的 NSCLC 患者，条件许可时都应进行肿瘤组织 EGFR 基因检测”。关于送检标本选择，除《指南》中提到内容外，对于 EGFR-TKI

继发性耐药出现的转移或复发病灶，为了进一步的药物临床研究，则需要考虑重新取材检测。

对于检测时机以及 EGFR/ALK 检测能否形成常规（或称“reflex testing”），需要临床与实验室的良好合作和沟通。在我国，很多大型医院已经开始对肺癌可手术切除患者实行常规 EGFR 及 ALK 检测，以获得全面治疗的靶点信息。

如何进行 EGFR 检测

标本选择高质量的检测样本是获得准确检测结果的前提条件。进行检测的标本处理是完成检测的第 1 步骤（见《指南》中标本处理推荐），国内医院大多采用 10% 中性福尔马林固定的石蜡组织标本，但其属于困难样本范畴；尽管随着核酸提取方法及试剂的进步，核酸获得率及质量得到大幅改善，但在进行冰冻切片的评估基础上，我们认为新鲜组织标本仍是最佳选择，因此对于临床检测合作良好的医院，建议直接送检新鲜组织检测。在日常工作中，会收到骨转移的咬取活检组织，因为受到酸性脱钙溶液的影响，DNA 破坏严重，EGFR/ALK 检测成功率很低，需要对临床医生说明情况；骨髓活检组织用于基因突变检测时要绝对避免使用脱钙剂处理。

《指南》没有明确指出，最少需要多少肿瘤细胞可继续后续检测，结合其他共识，建议无论哪种类型标本，尽量保证包含至少 200 个肿瘤细胞（这不是绝对下限），活检和穿刺组织切片 10 张及以上。需要注意的是，由于小标本检测可能由于有正常细胞混杂，或是由于标本细胞数量少及聚合酶链式反应（PCR）扩增等其他原因产生假阴性，所以是否对小标本取舍或重新取材，分子病理医生应考虑可能出现的所有问题，与临床医生及患者全面沟通，做出正确判断及处理。

检测方法《指南》不推荐具体使用某种方法，但必需都进行严格的验证及质控。在我国，EGFR 检测主要有基于实时定量 PCR（RT-PCR）基础上的方法[突变扩增阻滞系统（ARMS）]、飞行质谱技术、Sanger 直接测序法。检测试剂须使用经国家食品药品监督管理局（CFDA）批准的检测试剂盒或是经实验室内部严格验证的自配试剂，这些方法及试剂各有优势和劣势，对于哪种方法更具优势，国际或国内学界均未达成共识。

另外，该《指南》不推荐以免疫组化（IHC）检测 EGFR 总蛋白及 EGFR 拷贝数[例如荧光原位杂交（FISH）或显色原位杂交（CISH）法]的检测结果作为 EGFR-TKI 用药的参考。而 EGFR T790M 作为继发性耐药突变，其检测灵敏度至少应达到 5%，以精准检测。不少实验室已经开始使用包括深度测序或数字 PCR 等高敏感技术，对血液标本进行 T790M 耐药位点的实时监控。相对罕见的 EGFR 其他继发性耐药位点及其他机制如 MET、人表皮生长因子受体 2（HER2）基因扩增等，则没有被常规推荐检测。

对于 KRAS 基因突变检测，不再被推荐作为 EGFR-TKI 治疗的唯一决定因素；因为与 EGFR 突变相斥，KRAS 分析在西方可先作为 EGFR 检测的筛查，但在亚洲人群不建议。

检测周期对于 NSCLC 患者的治疗策略，EGFR 基因突变检测所需要的时间是一个关键因素。我们认为，所有专业化分子检测实验室，都应积极通过内部程序优化，确立适用高效的分子检测平台，以更好应对临床需求。我国国内，在分子检测医生及临床医生的完美配合下，从接收标本到发出报告，常规的最快速度已达到 2 个工作日，以便及时解决临床可能面临的各种紧急需要。

如何进行 ALK 检测

ALK 的检测人群应当与 EGFR 检测的推荐人群及肿瘤类型一致，在方法选择上，《指南》认为作为伴随诊断出现的双标记 ALK 分离探针 FISH 检测是筛选 ALK-TKI 用药的“金标准”。在 CSCO 提出的中国 ALK 检测共识中，提出按照送检标本类型、临床实践中的可操作性和患者可接受性，来选择以上列举的检测方法。但需要注意的是，所有指南在指出不同方法初筛作用的同时，均强调 FISH 的验证及确定作用。

报告模板

EGFR/ALK 基因检测报告首要原则应包括诊断结果（包括明确的诊断及专业的书写）及对结果的诠释，且能够被肿瘤科医生或其他非病理专业的医生理解。其他内容应涵盖患者及标本基本信息、病理质控情况、DNA 质量、检测方法、仪器、相关临床意义，以及在检测过程中出现的状况及不确定结果和因素，以供临床医生全面参考。其他基因是否应常规检测对肺癌患者的分子检测，该《指南》推荐 EGFR 突变

检测为首选，其次为 ALK 融合基因检测。但在临床实践工作中，在患者有意愿行 ALK 抑制剂治疗的情况下，建议对 EGFR 及 ALK 进行同时检测，减少多次切片对标本的浪费。

2014 年美国国立综合癌症网络(NCCN)指南提出针对晚期 NSCLC 靶向药物除 EGFR、ALK 之外的 MET、ROS1、RET、BRAF、HER2 共 5 个明确的分子靶点，虽然非常具有临床实践意义，但在该《指南》中未作常规检测要求。

但随着对肺腺癌、鳞状细胞癌、小细胞癌甚至大细胞癌的基因突变谱的深入研究，新的分子标志物层出不穷，相应的靶向药物已问世或正在临床研究中，对这些没有进入指南的分子标志物，甚至更广泛的分子标志物检测及相应靶向药物的使用，在一定程度上，可以使部分患者受益，也可以作为科学研究和临床实践的有益补充。

实验室认证及质量控制

在我国从事 EGFR 基因突变的检测机构无论是医院内设置的一级科室，还是第三方检测机构，均须有国家卫生计生委临床检验中心认证的临床核酸扩增实验室，技术人员持 PCR 培训合格证上岗，且参加临床检验中心及 PQCC 每年 1~2 次的室间质评，以保证检测结果的可靠性。对于实体瘤的 FISH 检测，现在尚无相关准入制度，大部分医院由病理科医生执行，有关部门及医疗机构也正在进行这方面的制度建立。

总结

2014 年接近尾声之际，国内外针对分子标志物的检测指南密集出台，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及形成个体化医学的诊疗模式起关键作用；建设分子靶点标准化检测平台，包括尽快建立国家检测标准和监察体系，设立国家标准实验室和区域实验室等，是一项意义重大的紧迫任务。

（来源：中国医学论坛报）