

論文

肺癌的 ALK 分子檢驗

曾欽元^{1, 2, 3}

¹ 國泰綜合醫院病理暨檢驗醫學部，台北，台灣

² 輔仁大學醫學系，台北，台灣

³ 社團法人台灣分子醫學會，台北，台灣

前言

ALK 的全名是「回變性淋巴瘤激酶 (anaplastic lymphoma kinase)」，這個基因最早是以致癌基因的面貌於九〇年代被發現。當年研究者在「回變性大細胞淋巴瘤 (anaplastic large-cell lymphoma)」中發現 *NPM-ALK* 融合基因^{1, 2}。

在正常情況下，ALK 只表現於神經系統的細胞膜上，它與神經的發育有關³。在其它組織中如肺臟，ALK 是不表現的。ALK 是一種穿膜的酪氨酸激酶受體 (tyrosine kinase receptor)，它屬於胰島生長因子受體的家族⁴。當 ALK 與其配合基結合後即可活化，其活性經由 KRAS 和 PI3K 途徑傳遞到細胞核，讓細胞得到抗凋亡和細胞增殖的訊息⁵。

ALK 可因其基因的異常而活化，亦即不需配合基的刺激即可有活性。除了少數腫瘤如「神經母細胞瘤 (neuroblastoma)」是因為 *ALK* 基因擴增而活化外⁶，大多數的腫瘤其 ALK 活化是因為染色體重組 (rearrangement) 而造成，例如：「炎性肌纖維母細胞瘤 (inflammatory myofibroblastic

umor)»⁷、「瀰漫性大型 B 細胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma; DLBCL)»⁸、「鱗狀細胞癌 (squamous cell carcinoma)»⁹、「非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer; NSCLC)»¹⁰。

染色體的重組涉及 *ALK* 基因的斷裂。斷裂後，*ALK* 之 3' 的部份和其它基因之 5' 的部份接在一起，形成一個融合的基因⁶。目前已知可和 *ALK* 融合的 5' 端基因如下：*NPM*¹、*TFG* (為 TRK-fused gene 的縮寫)¹¹、*CLTC*¹²、*ATIC*¹³、*CARS*¹⁴、*MSN*¹⁵、*TPM3*¹⁶、*EML4* (為 echinoderm microtubule-associated protein-like 4 的縮寫)¹⁷、*KIF5B* (為 kinesin family member 5B 的縮寫)¹⁸、*KLC1* (為 kinesin light chain 1 的縮寫)¹⁹、*C2orf44*²⁰。其中出現於「非小細胞肺癌」的有四個基因^{10, 18, 19, 21}：*EML4*、*KIF5B*、*KLC1*、*TFG*。而以上這四個基因，最常出現於 *ALK* 陽性之肺癌病人身上的為 *EML4-ALK* 融合基因，至少佔八成以上。

如前所述，*EML4-ALK* 融合蛋白的活性不需依賴配合基的刺激，融合蛋白的激酶區域始終都具有活性，此導致細胞的增殖、移行和存活²²。以老鼠模型來看，若將 *EML4-ALK* 表現

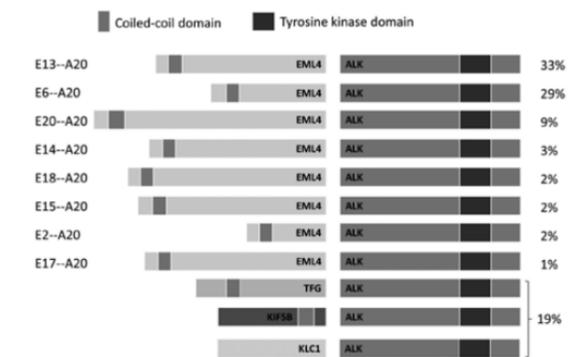
通訊作者：曾欽元 教授
電話：886-2-2690-7965 ext 2518
傳真：886-2-2691-9800
地址：106 台北市仁愛路四段 280 號 病理暨檢驗醫學部
E-mail：jeffbucknell@gmail.com

於肺臟上皮細胞，則可使老鼠出生後長出數百顆的腺癌^{17, 23}。此亦可證明「EML4-ALK 融合基因」為肺癌的驅動突變 (driver mutation)。

檢驗 ALK 融合基因的方法

臨床上，我們可利用三種方法來檢驗肺癌是否有 EML4-ALK 融合基因。較精確的方法是用 PCR 來偵測基因的融合，因為此法可清楚地指出兩基因的確切接點。然而，由於 EML4 有多種斷裂點 (圖一)，因此 PCR 的引子對必須足以多到涵蓋各種可能的接點，如此才不會漏掉可能的融合基因。也因此，PCR 法較常用於研究而少用於臨床檢驗。

目前臨床上，最常用於檢驗 ALK 融合基因的方法是「螢光原位雜交法 (fluorescence in situ hybridization; FISH)」。其原理是在 ALK 的 5' 側以綠色螢光標示，而在 3' 側以紅色螢光標示。由於這兩處很接近，因此在螢光顯微鏡下，正常的細胞呈現緊緊相鄰的紅、綠點。當 ALK 之 3' 的部份和其它基因之 5' 的部份接在一起時紅、綠點兩點就會遠遠分離，甚至只見紅點而已。當細胞的螢光點出現這種狀況時，



圖一、回變性淋巴瘤激酶 (anaplastic lymphoma kinase; ALK) 融合基因的概況。ALK 大多和 echinoderm microtubule-associated protein-like 4(EML4) 基因融合；少數情況下，與 TRK- fused gene(TFG)、kinesin family member 5B (KIF5B)、kinesin light chain I(KLC1) 基因融合。

就是 ALK 陽性了。理論上，當檢體由 NCI-H3122 或 NCI-H2228 腫瘤細胞株製成時，因所有的細胞都有 ALK 融合基因，所以用 FISH 檢驗應呈現 100% 的 ALK 陽性細胞。然而，由於檢驗本身無法避免的機率，我們還是可在這種全然為 ALK 陽性的腫瘤中看到 ALK 陰性的細胞。就是這個現象，讓我們在 FISH 下檢視 ALK 陽性腫瘤時，ALK 陽性細胞的出現率從 22% 到 87% 都有²⁴。基於這個事實，專家們武斷地以 15% 為閾值。亦即，當 ALK 陽性細胞率為 15% 以上時，我們判定該腫瘤為 ALK 陽性²⁵。計算時要數 50 個細胞²⁶，宜有兩名人員分別計數以提高正確性。

由於正常的肺臟組織不表現 ALK，因此肺癌出現 ALK 即代表有 ALK 融合基因。基於這個前提，免疫組織化學染色法 (immunohistochemistry; IHC) 即可用於檢驗細胞是否有 ALK 融合基因。由於正常的 EML4 為細胞質內的蛋白，因此 EML4-ALK 的融合蛋白會出現在細胞質中^{27, 28}。在判讀 ALK 的免疫染色時，要注意染色陽性的細胞是否為腫瘤細胞，因為組織中的正常神經細胞是 ALK 陽性的。此外，也要確定該腫瘤為「非小細胞肺癌」，因為「神經內分泌癌 (neuroendocrine carcinoma)」如「小細胞癌 (small cell carcinoma)」為 ALK 染色陽性但卻沒有 ALK 融合基因。用於 ALK IHC 的抗體已發展多年，所以市售的抗體也有好幾款。然而，有些抗體之敏感性和特異性不佳，所以 IHC 的偽陽性及偽陰性是個大問題。也因如此，有人建議 IHC 為 ALK 陽性者需以 FISH 檢驗確認結果²⁹。不過，現今的抗體品質及偵測方法已大為改善，如果採用此種抗體檢驗套組，是不需要再以 FISH 來確認結果的。當然，前提是 IHC 的品質必須夠

水準才可。就此而言，備製 IHC 檢驗的檢體要遵守一些規定，譬如冷缺血時間 (cold ischemia time; CIT) 要少於 6 小時、固定液宜用 10% 的中性福馬林緩衝液 (10% neutral buffered formalin)、固定時間要超過 6 小時、製做好的玻片要在三個月內使用完畢等。

以上三種方法中，美國 FDA 目前核准用於診斷 ALK 融合基因的「體外診斷醫療器材 (In Vitro Diagnostic Device; IVD)」為 FISH，不過這不表示「實驗室自行研發的檢驗 (laboratory-developed test; LDT)」就無法用於檢驗 ALK 融合基因。其實在藥品及伴同性醫材的臨床試驗中即指出，136 名以「Vysis ALK Break-Apart FISH Probe Kit」診斷的病人，其對 crizotinib 治療的整體療效率 (overall response rate; ORR) 為 50%，有效期達 41.9 週；而 119 名以 LDT 所診斷的病人，其對 crizotinib 治療的 ORR 為 61%，有效期達 48.1 週，顯然品質優良的 LDT 並不比 IVD 差。還有些實例證明，FISH 並非 ALK 檢驗的黃金標準，譬如有些真正有 ALK 融合基因的腫瘤，以 FISH 檢驗時卻為陰性^{30, 31, 32}。以 crizotinib 治療 FISH 假陰性的案例可出現療效³³。假陰性的原因之一是：「臂內倒位 (paracentric inversion)」雖可造成 EML4-ALK 融合，但 ALK 之 3' 和 5' 的部份卻只約略地分開而已^{24, 34}。相反地，有些沒有 ALK 融合基因的腫瘤，以 FISH 檢驗時卻為陽性。可能的原因包括：DNA 被拉扯以致綠色和紅色螢光點假象地分離、細胞核在檢體備製時被切開以致失去綠色螢光點、探針異常雜交、判讀者的失誤。

檢驗的策略

「非小細胞肺癌」發生 ALK 基因重組的機率不高，有研究者報告 ALK 陽性率為 273 例中有 3 例³⁵、594 例中有 7 例³⁶、305 例中有 8 例³⁷、75 例中有 5 例¹⁰，以及 527 例中有 41 例³⁸。由於 FISH 檢驗所費不貲，而且只有 1% 至 8% 的「非小細胞肺癌」有 ALK 的基因重組，因此有不少專家建議，如何挑選病例以增加陽性率。基本上，他們採取三種策略：挑選有特定病史的病人、有特殊病理形態的檢體和採用驅動突變 (driver mutation) 相斥的原理。

就病史而言，我們知道發生 ALK 基因重組多出現在年齡較低者²⁵。更仔細地比較，可見 ALK 陽性和 ALK 陰性族群的平均年齡分別為 52.9±16.1 歲和 64.5±11.5 歲 (p<0.0001)³²。因此，挑選年齡較低者較容易發現 ALK 基因的重組。此外，不抽煙或少抽煙者 (亦即一年抽不超過 10 包或戒煙 1 年以上者) 也有較高的比率出現 ALK 基因重組^{10, 25, 37}。Mayo Clinic 的一項研究中發現，無抽煙史之肺腺癌患者幾乎 10% 為 ALK 陽性³⁰。不過也有研究者發現有無抽煙，對 ALK 的陽性率影響不大，因為他們發現不抽煙者 6.25%(11/176) 為 ALK 陽性，而抽煙者 5.1%(8/157) 為 ALK 陽性，兩者無顯著差異 (p= 0.65)³²。至於性別和人種對 ALK 陽性率的影響則未有定論，不過有研究者認為女性和亞洲人的 ALK 陽性率較高。

就病理而言，專家觀察到發生 ALK 基因重組之「非小細胞肺癌」常出現「戒指環細胞 (signet-ring cell)」或「黏液篩狀 (mucinous cribriform)」形態的腺癌³⁹。因此，有研究指出挑選 10% 以上腫瘤細胞為戒指環細胞形態之肺癌做檢驗時，46% 的病例為 ALK 陽性^{30, 32}。

由於驅動突變彼此之間很少同時出現，因此絕大多數的 *ALK* 陽性病例不會同時出現其它的驅動突變。反過來說，當某「非小細胞肺癌」無已知的驅動突變時，它出現 *ALK* 陽性的機會就增加了。譬如 有研究指出，「非小細胞肺癌」約 3% 為 *ALK* 陽性，但剔除 *EGFR* 突變、*KRAS* 突變、*HER2* 突變和 *TP53* 突變後，則受檢者之 *ALK* 陽性率可上升到 10%³¹。

雖然挑選「有特定病史的病人」及「有特殊病理形態的檢體」可提高 *ALK* 的陽性率，但目前檢驗規範卻不同意如此做，原因是某些病人可能因此而喪失了治療機會。不過專家們認為神經內分泌癌和單純的鱗狀細胞癌可排除，不必做 *ALK* 檢驗 (也不必做 *EGFR* 檢驗) 。其實讓病人失去客製化治療的最大原因是沒做檢驗。取消檢驗 (test cancellation) 的原因主要是檢體不足⁴⁰，這會產生嚴重的問題，所以只有熟悉分子檢驗的病理醫師才有資格取消檢驗。亦即必須熟悉檢體量的需求、檢驗的流程和每項檢驗的敏感性和特異性，才能作此判斷。

一旦收到檢驗要求，*ALK* 檢驗的完成時間應在二星期內 (即 10 個工作天)，檢體傳送時間為一天 (院內) 到三天 (院外)。由於「非小細胞肺癌」的客製化治療常需多項分子檢驗，如果臨床醫師每次開立一項檢驗，等收到報告書後再申請另一項檢驗，那麼完成整套檢驗所耗的時間就相當長了，這是沒必要的拖延。此外，由於肺癌檢體常常很小，通常經不起多項且分次的檢驗耗損，因此經常做到後面的檢驗時，已無足夠檢體可用。

結語

癌症標靶療法不只在藥品的研發上掀起了革命，在醫學檢驗的設計上也揭開了新的一頁，那就是「伴同性體外診斷醫療器材 (in vitro companion diagnostic devices)」的問世。在許實例中，「非小細胞肺癌」的客製化治療，無疑地是熱門的議題，其中許多觀念值得我們學習。

引用文獻

1. Morris SW, Kirstein MN, Valentine MB, Dittmer KG, Shapiro DN, Saltman DL, Look AT. Fusion of a kinase gene, *ALK*, to a nucleolar protein gene, *NPM*, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science* 1994;263:1281-1284.
2. Shiota M, Fujimoto J, Semba T, Satoh H, Yamamoto T, Mori S. Hyperphosphorylation of a novel 80 kDa protein-tyrosine kinase similar to Ltk in a human Ki-1 lymphoma cell line, AMS3. *Oncogene* 1994;9:1567-74.
3. Iwahara T, Fujimoto J, Wen D, Cupples R, Bucay N, Arakawa T, Mori S, Ratzkin B, Yamamoto T. Molecular characterization of *ALK*, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. *Oncogene* 1997;14:439-449.
4. Kutok JL, Aster JC. Molecular biology of anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2002;20:3691-3702.
5. Stoica GE, Kuo A, Aigner A, Sunitha I, Souttou B, Malerczyk C, Caughey DJ, Wen D, Karavanov A, Riegel AT, Wellstein A. Identification of anaplastic lymphoma kinase as a receptor for the growth factor pleiotrophin. *J Biological Chemistry* 2001;276:16772-16779.
6. Mano H. Non-solid oncogenes in solid tumors: *EML4-ALK* fusion genes in lung cancer. *Cancer Sci* 2008;99:2349-2355.
7. Griffin CA, Hawkins AL, Dvorak C, Henkle C, Ellingham T, Perlman EJ. Recurrent involvement of 2p23 in inflammatory myofibroblastic tumors. *Cancer Res* 1999;59:2776-2780.
8. Gascoyne RD, Lamant L, Martin-Subero JI, Lestou VS, Harris NL, Müller-Hermelink HK, Seymour JF, Campbell LJ, Horsman DE, Auvigne I, Espinos E, Siebert R, Delsol G. *ALK*-positive diffuse large B-cell lymphoma is associated with *Clathrin-ALK* rearrangements: report of 6 cases. *Blood* 2003;102:2568-2573.
9. Jazii FR, Najafi Z, Malekzadeh R, Conrads TP, Ziaee AA, Abnet C, Yazdznbod M, Karkhane AA, Salekdeh GH. Identification of squamous cell carcinoma associated proteins by proteomics and loss of beta tropomyosin expression in esophageal cancer. *World J. Gastroenterol* 2006;12:7104-7112.
10. Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, Fujiwara S, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, Bando M, Ohno S, Ishikawa Y, Aburatani H, Niki T, Sohara Y, Sugiyama Y, Mano H. Identification of the transforming *EML4-ALK* fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007;448:561-566.
11. Hernández L, Pinyol M, Hernández S, Beà S, Pulford K, Rosenwald A, Lamant L, Falini B, Ott G, Mason DY, Delsol G, Campo E. *TRK*-fused gene (*TFG*) is a new partner of *ALK* in anaplastic large cell lymphoma producing two structurally different *TFG-ALK* translocations. *Blood* 1999;94:3265-3268.

39. Touriol C, Greenland C, Lamant L, Pulford K, Bernard F, Rousset T, Mason DY, Delsol G. Further demonstration of the diversity of chromosomal changes involving 2p23 in *ALK*-positive lymphoma: 2 cases expressing *ALK* kinase fused to *CLTCL* (clathrin chain polypeptide-like). *Blood* 2000;95:3204-3207.
39. Ma Z, Cools J, Marynen P, Cui X, Siebert R, Gesk S, Schlegelberger B, Peeters B, De Wolf-Peeters C, Wlodarska I, Morris SW. *Inv(2)(p23q35)* in anaplastic large-cell lymphoma induces constitutive anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) tyrosine kinase activation by fusion to *AT1C*, an enzyme involved in purine nucleotide biosynthesis. *Blood* 2000;95:2144-2149.
39. Cools J, Wlodarska I, Somers R, Mentens N, Pedoutour F, Maes B, De Wolf-Peeters C, Pauwels P, Hagemeyer A, Marynen P. Identification of novel fusion partners of *ALK*, the anaplastic lymphoma kinase, in anaplastic large-cell lymphoma and inflammatory myofibroblastic tumor. *Genes Chromosomes Cancer* 2002;34:354-362.
39. Tort F, Campo E, Pohlman B, Hsi E. Heterogeneity of genomic breakpoints in *MSN-ALK* translocations in anaplastic large cell lymphoma. *Hum Pathol* 2004;35:1038-1041.
39. Armstrong F, Lamant L, Hieblot C, Delsol G, Touriol C. *TPM3-ALK* expression induces changes in cytoskeleton organisation and confers higher metastatic capacities than other *ALK* fusion proteins. *Eur J Cancer* 2007;43:640-646.
39. Soda M, Takada S, Takeuchi K, Choi YL, Enomoto M, Ueno T, Haruta H, Hamada T, Yamashita Y, Ishikawa Y, Sugiyama Y, Mano H. A mouse model for *EML4-ALK*-positive lung cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:19893-19897.
39. Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y, Soda M, Hatano S, Inamura K, Takada S, Ueno T, Yamashita Y, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Ishikawa Y, Mano H. *KIF5B-ALK*, a novel fusion oncogene identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for *ALK*-positive lung cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:3143-3149.
39. Togashi Y, Soda M, Sakata S, Sugawara E, Hatano S, Asaka R, Nakajima T, Mano H, Takeuchi K. *KLC1-ALK*: a novel fusion in lung cancer identified using a formalin-fixed paraffin-embedded tissue only. *Plos One* 2012;7:e31323.
39. Lipson D, Capelletti M, Yelensky R, Otto G, Parker A, Jarosz M, Curran JA, Balasubramanian S, Bloom T, Brennan KW, Donahue A, Downing SR, Frampton GM, Garcia L, Juhn F, Mitchell KC, White E, White J, Zwirko Z, Peretz T, Nechushtan H, Soussan-Gutman L, Kim J, Sasaki H, Kim HR, Park SI, Ercan D, Sheehan CE, Ross JS, Cronin MT, Jänne PA, Stephens PJ. Identification of new *ALK* and *RET* gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies. *Nat Med* 2012;18:382-384.
39. Rikova K, Guo A, Zeng Q, Possemato A, Yu J, Haack H, Nardone J, Lee K, Reeves C, Li Y, Hu Y, Tan Z, Stokes M, Sullivan L, Mitchell J, Wetzel R, Macneil J, Ren JM, Yuan J, Bakalarski CE, Villén J, Kornhauser JM, Smith B, Li D, Zhou X, Gygi SP, Gu TL, Polakiewicz RD, Rush J, Comb MJ. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell* 2007;131:1190-1203.
39. Chiarle R, Voena C, Ambrogio C, Piva R, Inghirami G. The anaplastic lymphoma kinase in the pathogenesis of cancer. *Nat Rev Cancer* 2008;8:11-23.
39. Choi YL, Takeuchi K, Soda M, Inamura K, Togashi Y, Hatano S, Enomoto M, Hamada T, Haruta H, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, Ueno T, Takada S, Yamashita Y, Sugiyama Y, Ishikawa Y, Mano H. Identification of novel isoforms of the *EML4-ALK* transforming gene in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2008;68:4971-4976.
39. Camidge DR, Kono SA, Flacco A, Tan AC, Doebele RC, Zhou Q, Crino L, Franklin WA, Varela-Garcia M. Optimizing the detection of lung cancer patients harboring anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) gene rearrangements potentially suitable for *ALK* inhibitor treatment. *Clin Cancer Res* 2010;16:5581-5590.
25. Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, Digumarthy SR, Costa DB, Heist RS, Solomon B, Stubbs H, Admane S, McDermott U, Settleman J, Kobayashi S, Mark EJ, Rodig SJ, Chirieac LR, Kwak EL, Lynch TJ, Iafrate AJ. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor *EML4-ALK*. *J Clin Oncol* 2009;27:4247-4253.
39. Yi ES, Boland JM, Maleszewski JJ, Roden AC, Oliveira AM, Aubry MC, Erickson-Johnson MR, Caron BL, Li Y, Tang H, Stoddard S, Wampfler J, Kulig K, Yang P. Correlation of IHC and FISH for *ALK* gene rearrangement in non-small cell lung carcinoma: IHC score algorithm for FISH. *J Thorac Oncol* 2011;6:459-465.
39. Eudy JD, Ma-Edmonds M, Yao SF, Talmadge CB, Kelley PM, Weston MD, Kimberling WJ, Sumegi J. Isolation of a novel human homologue of the gene coding for echinoderm microtubule-associated protein (EMAP) from the Usher syndrome type 1a locus at 14q32. *Genomics* 1997;43:104-106.
39. Pollmann M, Parwaresch R, Adam-Klages S, Kruse ML, Buck F, Heidebrecht HJ. Human *EML4*, a novel member of the EMAP family, is essential for microtubule formation. *Exp Cell Res* 2006;312:3241-3251.
39. Paik JH, Choi CM, Kim H, Jang SJ, Choe G, Kim DK, Kim HJ, Yoon H, Lee CT, Jheon S, Choe JY, Chung JH. Clinicopathologic implication of *ALK* rearrangement in surgically resected lung cancer: a proposal of diagnostic algorithm for *ALK*-rearranged adenocarcinoma. *Lung Cancer* 2012;76:403-409.
39. Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S, Yeap BY, Shaw A, Barletta JA, Stubbs H, Law K, Lindeman N, Mark E, Janne PA, Lynch T, Johnson BE, Iafrate AJ, Chirieac LR. Unique clinicopathologic features characterize *ALK*-rearranged lung adenocarcinoma in the western population. *Clin Cancer Res* 2009;15:5216-5223.
39. Murakami Y, Mitsudomi T, Yatabe Y. A Screening Method for the *ALK* Fusion Gene in NSCLC. *Front Oncol* 2012;2:24.
39. To KF, Tong JH, Yeung KS, Lung RW, Law PP, Chau SL, Kang W, Tong CY, Chow C, Chan AW, Leung LK, Mok TS. Detection of *ALK* rearrangement by immunohistochemistry in lung adenocarcinoma and the identification of a novel *EML4-ALK* variant. *J Thorac Oncol* 2013;8: 883-891.
39. Peled N, Palmer G, Hirsch FR, Wynes MW, et al. Next-generation sequencing identifies and immunohistochemistry confirms a novel crizotinib-sensitive *ALK* rearrangement in a patient with metastatic non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2012;7:e14-e16.
39. Palmer RH, Vernersson E, Grabbe C, Hallberg B. Anaplastic lymphoma kinase: signalling in development and disease. *Biochem J* 2009;420:345-361.
39. Conklin CM, Craddock KJ, Have C, Laskin J, et al. Immunohistochemistry is a reliable screening tool for identification of *ALK* rearrangement in non-small-cell lung carcinoma and is antibody dependent. *J Thorac Oncol* 2013;8:45-51.
39. Selinger CI, Rogers TM, Russell PA, O'Toole S, et al. Testing for *ALK* rearrangement in lung adenocarcinoma: a multicenter comparison of immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization. *Mod Pathol* 2013;26:1545-53.
39. Koivunen JP, Mermel C, Zejnullahu K, Murphy C, Lifshits E, Holmes AJ, Choi HG, Kim J, Chiang D, Thomas R, Lee J, Richards WG, Sugarbaker DJ, Ducko C, Lindeman N, Marcoux JP, Engelman JA, Gray NS, Lee C, Meyerson M, Jänne PA. *EML4-ALK* fusion gene and efficacy of an *ALK* kinase inhibitor in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:4275-4283.
39. Li Y, Pan Y, Wang R, Sun Y, Hu H, Shen X, Lu Y, Shen L, Zhu X, Chen H. *ALK*-rearranged lung cancer in Chinese: a comprehensive assessment of clinicopathology, IHC, FISH and RT-PCR. *PLoS ONE* 2013;8:e69016.

39. Yoshida A, Tsuta K, Nakamura H, Kohno T, Takahashi F, Asamura H, Sekine I, Fukayama M, Shibata T, Furuta K, Tsuda H. Comprehensive histologic analysis of ALK-rearranged lung carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2011;35:1226-1234.
40. Travis WD, Rekhtman N. Pathological diagnosis and classification of lung cancer in small biopsies and cytology: strategic management of tissue for molecular testing. *Semin Respir Crit Care Med* 2011;32:22-31.



生物醫學