

# Ventana-IHC 对 ALK+ 非小细胞肺癌 诊断价值的 Meta 分析

田家伟<sup>1</sup>, 陈 阳<sup>1</sup>, 韩淑华<sup>2</sup>

(1.东南大学医学院,江苏 南京 210009;2.东南大学附属中大医院,江苏 南京 210009)

**摘 要:** [目的] 系统评价 Ventana-IHC 对 ALK+非小细胞肺癌(NSCLC)诊断的准确性及临床应用价值。[方法] 检索 PubMed、Embase、Cochrane Library、中国生物医学文献数据库、中国知网、万方数据库和中文科技期刊全文数据库(维普数据库),收集 Ventana-IHC 用于诊断 ALK+ NSCLC 的研究数据。通过 Meta 分析拟合受试者工作特征曲线(summary receiver operating characteristic,SROC),合并诊断效应量,评估其诊断效能。[结果] Meta 分析共纳入 9 项研究,总的病例数为 2041 例。Ventana-IHC 对 ALK+ NSCLC 诊断的合并敏感性和特异性分别为 0.94(95%CI:0.90~0.97)和 1.00(95%CI:0.99~1.00),合并阳性似然比(positive likelihood ratio,PLR)和阴性似然比(negative likelihood ratio,NLR)分别为 75.99(95%CI:42.91~134.56)和 0.10(95%CI:0.04~0.22),合并诊断比值比(diagnostic odds ratio,DOR)为 950.48(95%CI:399.11~2263.54)。SROC 曲线显示,曲线下面积(area under curve,AUC)为 0.9962 (SEAUC 0.0041), $Q^*$ 统计量为 0.9766 ( $SEQ^* 0.0149$ )。[结论] Ventana-IHC 对 ALK+ NSCLC 诊断的敏感度较高,特异性高,在某种程度上可替代 FISH 检测用于对 ALK+ NSCLC 的检测和诊断,具有一定的临床应用价值。

**关键词:** 免疫组织化学;棘皮动物微管相关蛋白 4—间变性淋巴瘤激酶;非小细胞肺癌;

Meta 分析

中图分类号:R734.2 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2017)01-0073-08

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.01.A012

## Diagnostic Value of Ventana-IHC for ALK+ Non-small Cell Lung Cancer: A Meta-analysis

TIAN Jia-wei<sup>1</sup>, CHEN Yang<sup>1</sup>, HAN Shu-hua<sup>2</sup>

(1. Medical College, Southeast University, Nanjing 210009, China; 2. Zhongda Hospital Southeast University, Nanjing 210009, China)

**Abstract:** [Purpose] To evaluate the diagnostic value of Ventana-IHC for ALK+ non-small cell lung cancer (NSCLC) by Meta-analysis. [Methods] All required English and Chinese literatures in Pubmed, Embase, Cochrane Library, Chinese Biological Medical Literature Database, China National Knowledge Infrastructure, Wanfang and VIP database were searched. Then further screening based on the inclusion and exclusion criteria. Meta-analysis of diagnostic test was applied to analyze the sensitivity and specificity of Ventana-IHC for the detection of ALK+ NSCLC. [Results] Nine articles were included in the Meta-analysis, which included 2041 samples. The sensitivity, specificity, positive likelihood ratio(PLR), negative likelihood ratio(NLR) and diagnostic odds ratio (DOR) of Ventana-IHC in the diagnosis of ALK+ NSCLC were 0.94 (95%CI:0.90~0.97), 1.00 (95%CI:0.99~1.00), 75.99 (95%CI:42.91~134.56), 0.10 (95%CI:0.04~0.22), 950.48 (95%CI:399.11~2263.54), respectively. The area under curve (AUC) of summary receiver operating characteristic(SROC) was 0.9962(SEAUC 0.0041). The  $Q^*$  value was 0.9766( $SEQ^* 0.0149$ ). [Conclusion] The specificity and sensitivity of Ventana-IHC were relatively high. In a certain degree, Ventana-IHC could be substituted for FISH to be used in the diagnosis of ALK+NSCLC with clinical practical value.

**Key words:** immunohistochemistry; echinoderm microtubule associated protein-like 4-anaplastic lymphoma kinase; non-small cell lung cancer; Meta-analysis

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)

的驱动基因, 棘皮动物微管相关蛋白 4—间变性淋巴瘤激酶(echinoderm microtubule associated protein-like 4-anaplastic lymphoma kinase, *EML4-ALK*) 融合

收稿日期:2016-02-15;修回日期:2016-04-08

通讯作者:韩淑华, E-mail: hanshuhua0922@126.com

基因,最早于2007年由Soda发现<sup>[1]</sup>。它是由2号染色体短臂的中心粒旁转位,即inv(2)(p21p23),导致EML4(2p21)与ALK(2p23)融合形成,从而催化ALK激酶持续活化,激活下游信号通路,刺激NSCLC细胞的无限增殖。这类ALK阳性(ALK+)的患者在NSCLC占有5%左右的比例,主要集中在一些年轻、少吸烟或不吸烟、病理类型为腺癌的女性NSCLC患者<sup>[2,3]</sup>,且常与表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)和KRAS等突变相排斥<sup>[4]</sup>。

针对EML4-ALK融合基因靶点的小分子抑制剂克唑替尼已在多项临床研究中证实具有较好的治疗效果。I/II期临床研究<sup>[5]</sup>(PROFILE 1001, ClinicalTrials.gov, NCT00585195)就发现克唑替尼有较好的总缓解率(57%,包括1例完全缓解)和无进展生存期(progression free survival,PFS,9.7months,95%CI:7.7~12.8months)。III期临床研究<sup>[6]</sup>(PROFILE 1014 ClinicalTrials.gov, NCT01154140)中,一线方案分别选择克唑替尼与传统化疗相对比,也发现克唑替尼具有明显优势(PFS 10.9 vs. 7.0 months, HR=0.45;95%CI:0.35~0.60;P<0.001)。美国国立综合癌症网络NSCLC临床实践指南<sup>[7]</sup>中明确指出,对于潜在怀疑存在ALK基因融合变异的NSCLC患者,应先行ALK融合基因检测;如果ALK+,治疗上优先选择克唑替尼。

目前针对ALK融合基因的检测方法主要有FISH(fluorescent in situ hybridization,FISH)、免疫组织化学法(immunohistochemistry,IHC)和基于聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR)3种方法。大部分克唑替尼治疗ALK+NSCLC的临床研究均是基于FISH的诊断,因此,FISH仍是确定ALK融合基因的参照标准方法<sup>[8]</sup>。IHC主要包括常规IHC和Ventana-IHC,常规IHC因所用抗体、检测方法和判读标准上均可能存在不同,结果差异较大,而Ventana-IHC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,相比于常规IHC更具优势<sup>[9]</sup>。基于PCR基础上的方法主要包括qRT-PCR、RACE-PCR联合测序和引物特异性的RT-PCR联合测序等。但因实验环境要求高和需要高质量的RNA,检测范围有一定的局限性<sup>[10]</sup>。临床实践中,3种方法各有优缺点,孰为最优还没有共识<sup>[11-15]</sup>。

## 1 资料与方法

### 1.1 文献检索

检索Pubmed、Embase、Cochrane Library、中国生物医学文献数据库、中国知网、万方数据库和中文科技期刊全文数据库(维普数据库),收集2007~2015年6月之间公开发表的关于FISH、IHC和/或PCR对ALK+NSCLC诊断比较的中英文文献。使用的检索词包括non-small cell lung cancer(NSCLC),cancer,tumor,anaplastic lymphoma kinase(ALK),fluorescent in situ hybridization(FISH),immunohistochemistry(IHC),polymerase chain reaction(PCR);非小细胞肺癌、间变淋巴瘤激酶、荧光原位杂交、免疫组织化学、聚合酶链反应。

### 1.2 文献纳入与排除标准

纳入标准:①研究2007~2015年6月之间,针对NSCLC ALK检测的前瞻性或回顾性试验;②研究针对NSCLC手术切除标本、各种途径获得的小活检组织标本或细胞学标本(痰液、胸水)展开的ALK检测;③为了使敏感性或特异性在1的95%CI下限超过0.9,最低样本量必须 $\geq 35$ 例<sup>[16]</sup>;④研究各种针对融合蛋白表达的IHC(包括常规IHC和Ventana-IHC)和各种基于PCR扩增基础上的技术(包括RT-PCR、qRT-PCR和RACE-PCR等)均可被分别视为IHC组和PCR组纳入;⑤研究中至少有FISH、IHC或PCR中任意两项,甚至是3项对同一NSCLC ALK的检测;⑥以FISH结果为金标准;⑦文献提供原始数据,可直接或间接算四格表数据,包括真阳性数(true positive,TP)、假阳性数(false positive,FP)、假阴性数(false negative,FN)和真阴性数(true negative,TN)等。

排除标准:①研究针对NSCLC ALK检测的会议摘要、个案报道和综述,细胞、动物或文献研究;②研究针对其他肿瘤展开的ALK检测;③研究针对其他标本(如循环肿瘤细胞等)展开的ALK检测;④研究中只有FISH、IHC或PCR单一对NSCLC ALK的检测;⑤研究基于其他原理设计的新方法与FISH、IHC或PCR中任意一项对NSCLC ALK的检测对比;⑥文献所感兴趣的信息不全,经联系作者和出版商仍无法获得的;⑦同一研究早期发表的重复文献。

### 1.3 文献筛选和资料提取

由2名评价员独立按照预先制定的纳入和排除标准进行文献筛选,提取信息并进行交叉核对,意见不一致时通过讨论解决。提取的资料包括文献的基本信息、TP、FP、FN和TN等。

### 1.4 纳入文献的质量评价

按照诊断性研究的质量评估 Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2 (QUADAS-2) 评价标准<sup>[17]</sup>进行文献质量评价。包括偏倚风险和临床适用性两个方面的评估,偏倚风险评估内容上由病例选择、待评价试验、金标准、病例流程和进展情况4个部分组成,临床适用性评估内容则由以上除病例流程的其他3个部分组成。根据每部分纳入的相关性标志性问题的回答“是”、“否”或“不清楚”,“是”为满足此条标准,“否”为不满足或部分满足,“不清楚”为从文献中无法得到足够的评价信息。对应风险等级判定为“低”、“高”或“不确定”。

### 1.5 统计学处理

#### 1.5.1 异质性分析

整理所提取的资料,用 Meta-Disc 1.4 软件<sup>[18]</sup>进行分析。采用  $Q$  检验分析纳入研究之间是否存在异质性,以  $P$  估算分析异质性的。如  $P>0.05$ ,且  $I^2\leq 50\%$  时无异质性,采用固定效应模型,反之存在异质性,则采用随机效应模型对准确性指标进行汇总处理。

#### 1.5.2 Meta 分析

对 TP、FP、TN 和 FN 进行整合,根据相应模型(固定/随机效应模型)计算 Ventana-IHC 和 PCR 的合并敏感性、特异性、阳/阴性似然比(positive/negative likelihood ratio, PLR/NLR)、诊断比值比(diagnostic odd ratio, DOR)及 95% CI。采用 Mose's constant 线性模型拟合受试者工作特征曲线(summary receiver operating characteristic, SROC),以 DOR、曲线下面积(aera under curve, AUC)和  $Q^*$  统计量评价 Ventana-IHC 和 PCR

对 ALK+ NSCLC 诊断的准确性。计算 TP 和 FP 的 Spearman 相关系数,分析是否存在阈值效应。以 Meta 回归(REML 法)分析 Ventana-IHC 异质性的可能来源。以从纳入研究中剔除质量相对较差的文献后重新进行 Meta 分析,比较前后合并效应间有无显著性差异进行敏感性分析,评价本次分析的稳定性<sup>[19]</sup>。运用 Stata 14 软件<sup>[20]</sup>,以 DOR 的对数(lnDOR)与有效样本量的开方后的倒数( $1/\sqrt{ESS1/2}$ )进行线性回归,绘制 Deek 漏斗图评价纳入的研究是否存在发表偏倚<sup>[21]</sup>。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 检索结果及纳入文献基本特征和质量评价

通过设定的检索词进行初步检索,共找到 282 篇文献。去掉重复文献 73 篇,阅读文题和摘要排除 125 篇,初步纳入文献 84 篇。进一步阅读全文,排除会议摘要、个案报道和综述等 29 篇,未达到纳入标准的文献 6 篇,非真正意义上的 Ventana-IHC 的文献 40 篇,最终共纳入 9 项研究。文献纳入过程详见图 1(Figure 1)。

本文共纳入 9 项研究,总的检测样本 2041 例。各研究的基本特征详见表 1(Table 1)。图 2(Figure 2)为纳入文献质量评估条形图。偏倚风险评估中,病例选择部分“是”的符合率为 55.56%,3 项研究<sup>[22-24]</sup>都未能避免病例对照研究设计,所纳入病例由已明确 ALK 情况的患者组成,1 项研究<sup>[25]</sup>未能避免不恰当的排除,所纳入病例由 EGFR 和 KRAS 均阴性的

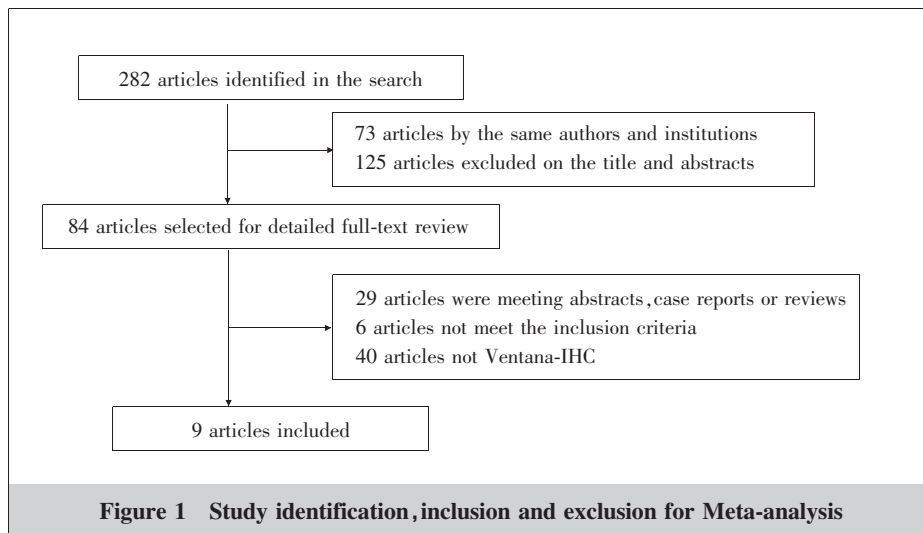
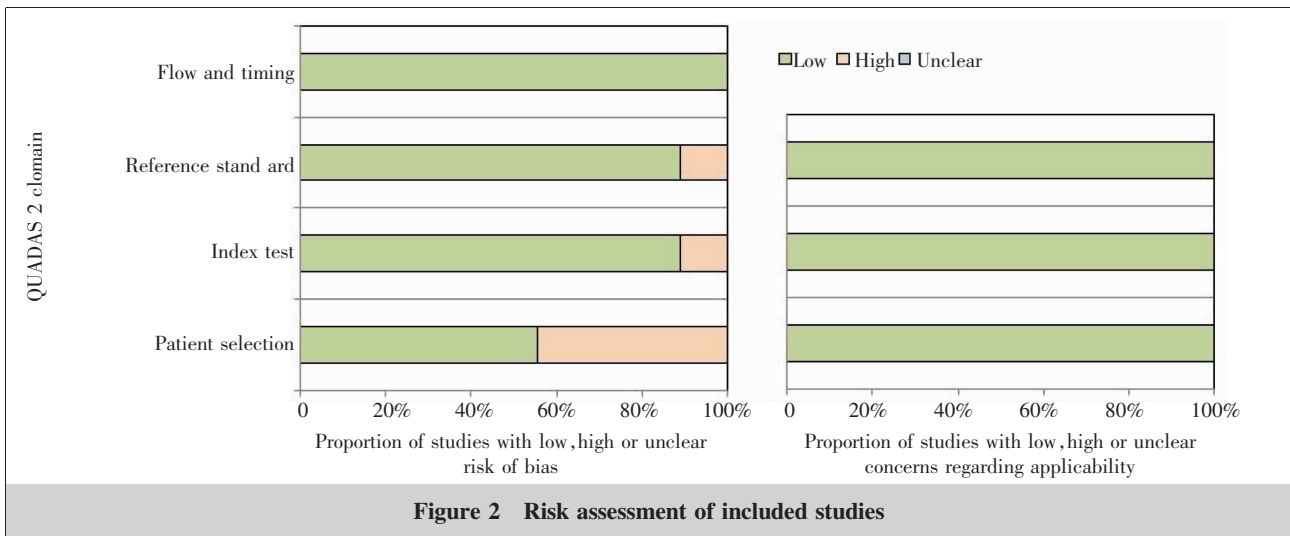


Table 1 General characteristics of included studies

| First author            | Country | Study type    | Blinded design | Consecutive or random | Cases | Ventana-IHC |    |    |     |
|-------------------------|---------|---------------|----------------|-----------------------|-------|-------------|----|----|-----|
|                         |         |               |                |                       |       | TP          | FP | FN | TN  |
| Guo <sup>[27]</sup>     | China   | Retrospective | Yes            | Random                | 404   | 29          | 0  | 0  | 375 |
| Hutarew <sup>[28]</sup> | Austria | Retrospective | Yes            | Random                | 303   | 14          | 0  | 0  | 289 |
| Ilie <sup>[25]</sup>    | France  | Prospective   | Yes            | Consecutive           | 176   | 21          | 2  | 5  | 148 |
| Liang <sup>[29]</sup>   | China   | Retrospective | Yes            | Random                | 65    | 3           | 0  | 2  | 60  |
| Wang <sup>[26]</sup>    | China   | Retrospective | No             | Random                | 58    | 6           | 0  | 0  | 52  |
| Ying <sup>[24]</sup>    | China   | Retrospective | Yes            | Consecutive           | 196   | 63          | 2  | 0  | 131 |
| Ali <sup>[30]</sup>     | Italy   | Retrospective | Yes            | Random                | 523   | 18          | 0  | 2  | 503 |
| Gruber <sup>[22]</sup>  | Germany | Retrospective | Yes            | Consecutive           | 218   | 19          | 0  | 1  | 198 |
| Wynes <sup>[23]</sup>   | America | Retrospective | Yes            | Consecutive           | 98    | 39          | 2  | 4  | 53  |



患者组成;待评价试验部分和金标准部分“是”的符合率均为 88.89%,1 项研究<sup>[26]</sup>待评价试验/金标准的结果判读未使用盲法;病例流程和进展情况部分“是”的符合率均为 100.00%。临床适用性评估中,病例选择、待评价试验和金标准部分“是”的符合率均为 100.00%。

## 2.2 异质性检验

敏感性异质性检验结果: $\chi^2=25.25$  (df=8), $P=0.0014$ , $I^2=68.3\%$ ;特异性异质性检验结果: $\chi^2=21.34$  (df=8), $P=0.0063$ , $I^2=62.5\%$ ;NLR 异质性检验结果:Cochran- $Q=21.91$  (df=8), $P=0.0051$ , $I^2=63.5\%$ ,故均采用随机效应模型合并统计量。PLR 异质性检验结果:Cochran- $Q=11.88$  (df=8), $P=0.1566$ , $I^2=32.7\%$ ;DOR 异质性检验结果:Cochran- $Q=14.95$  (df=8), $P=0.0601$ , $I^2=46.5\%$ ,故均采用固定效应模型合并统计量。

## 2.3 Ventana-IHC 诊断 ALK+ NSCLC 的敏感性、特异性、PLR、NLR 和 DOR

图 3 (Figure 3) 所示为 Ventana-IHC 对 ALK+

NSCLC 诊断敏感性和特异性的森林图,其合并敏感性为 0.94 (95%CI:0.90~0.97),合并特异性为 1.00 (95%CI:0.99~1.00)。此外,Ventana-IHC 对 ALK+ NSCLC 诊断的 PLR、NLR 和 DOR 分别为 75.99 (95%CI:42.91~134.56)、0.10 (95%CI:0.04~0.22)和 950.48(95%CI:399.11~2263.54)。

## 2.4 Ventana-IHC 对 ALK+ NSCLC 诊断的 SROC 曲线

图 4 (Figure 4) 所示为 Ventana-IHC 对 ALK+ NSCLC 诊断的 SROC 曲线,AUC 为 0.9962 (SEAUC 0.0041), $Q^*$ 统计量为 0.9766 (SEQ\* 0.0149)。

## 2.5 研究间异质性的来源分析

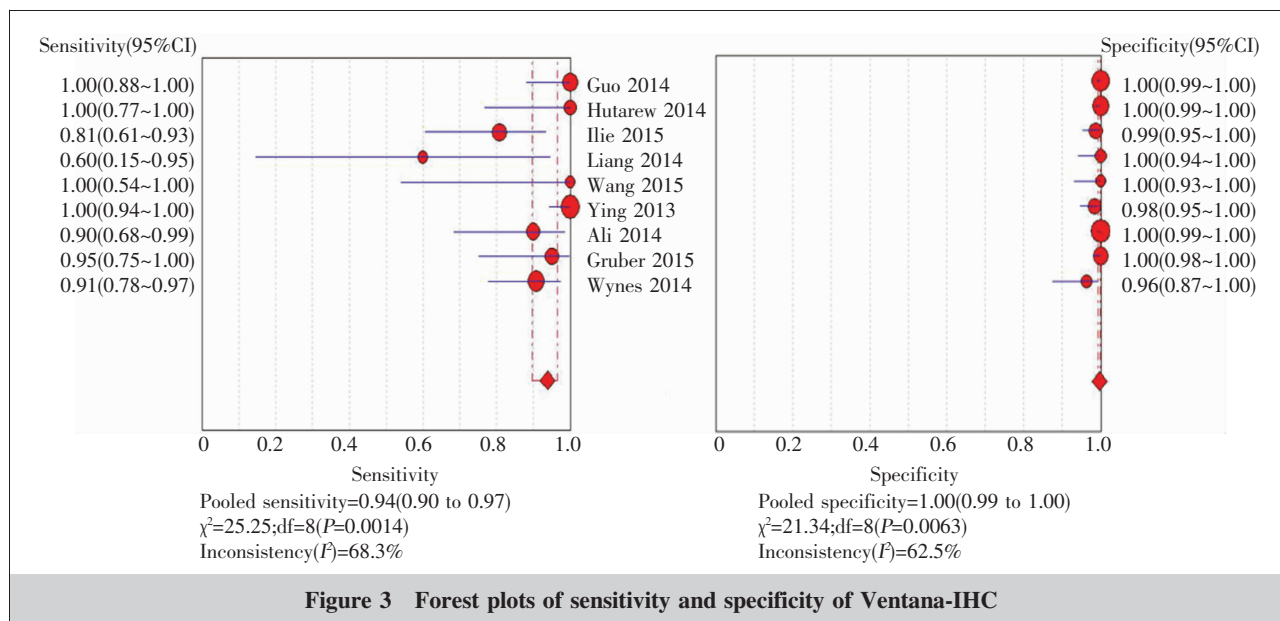
### 2.5.1 是否存在阈值效应

由 Ventana-IHC 的 SROC 曲线可见,各研究对应的点不呈“肩臂”状外观,计算 Ventana-IHC 敏感性对数与(1-特异性)对数的 Spearman 相关系数为-0.050; $P=0.898$ ,提示不存在阈值效应。

### 2.5.2 Meta 回归分析可能来源

以 Meta 回归(REML 法)分析 Ventana-IHC 异质





性的来源,自变量选择:地区(亚洲或非亚洲)、研究设计(前瞻或者回顾性设计)、盲法(盲或非盲)、患者选择(是否随机)、样本量(以 180 为界<sup>[31]</sup>)。Ventana-IHC 的异质性与样本量有关,大样本的研究要比小样本的精确性高 32.68 倍 (PDOR =32.68, 95% CI: 3.15 ~ 339.28,  $P=0.0108$ ) (Table 2)。

### 2.5.3 敏感性分析

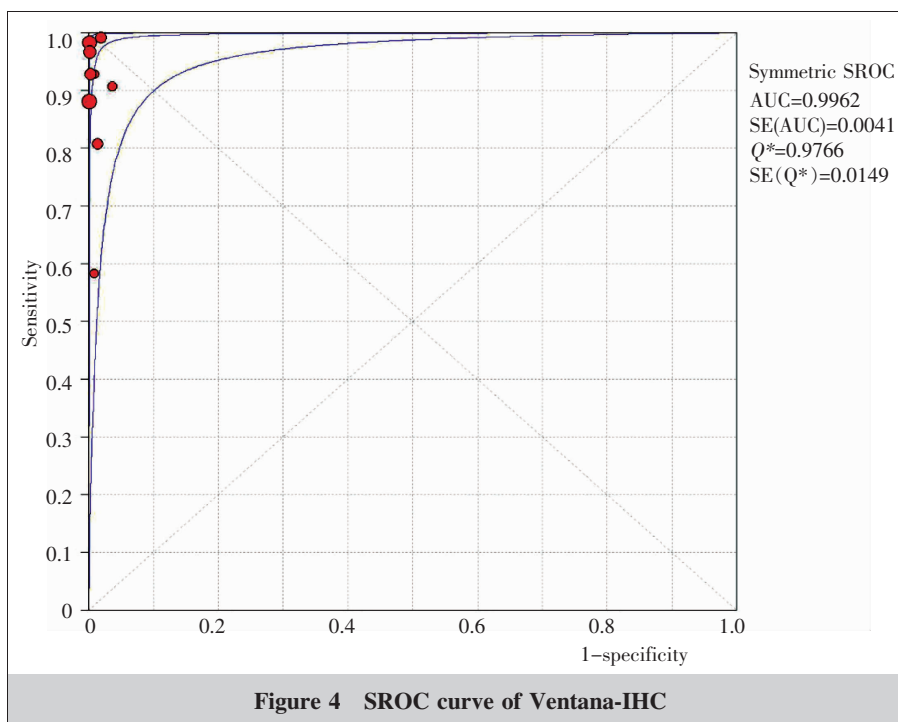
从纳入的 9 项研究中剔除了 Liang 等<sup>[29]</sup>的 1 项后重新进行 Meta 分析,评估其对本次 Meta 分析的影响。表 3 (Table 3)显示的是剔除前后各合并统计量的对比。可见,剔除其前后敏感性、特异性、PLR、NLP 和 DOR 明显不大,提示本次分析结果稳定。

### 2.5.4 发表偏倚

如图 5 (Figure 5) 所示,Deek 漏斗图对称,斜率系数检测  $P=0.445$ ,表明未发现发表偏倚。

## 3 讨论

本次评价对纳入的 9 项研究进行 Meta 分析,通



过合并诊断效应量、拟合 SROC 曲线评价 Ventana-IHC 对 ALK+ NSCLC 的诊断效能,通过分析研究间异质性及其来源查找可能影响研究结果的因素,最后通过敏感性分析和检测发表偏倚评估本次 Meta 分析的可信度。

本次评价结果显示, Ventana-IHC 对 ALK + NSCLC 诊断的合并敏感性为 0.94 (95% CI: 0.90 ~ 0.97), 合并特异性为 1.00 (95% CI: 0.99 ~ 1.00), 显示

Table 2 Possible sources of heterogeneity of Meta-analysis

| Item                  | Ventana-IHC |        |       |              |
|-----------------------|-------------|--------|-------|--------------|
|                       | Coefficient | P      | RDOR  | 95%CI        |
| Country               | 0.424       | 0.8023 | 1.53  | 0.00~913.90  |
| Study type            | -0.292      | 0.8655 | 0.75  | 0.00~116.13  |
| Blinded design        | 1.236       | 0.6074 | 3.44  | 0.01~1637.61 |
| Consecutive or random | -1.072      | 0.4534 | 0.34  | 0.01~10.17   |
| Cases                 | 3.487       | 0.0108 | 32.68 | 3.15~339.28  |

Table 3 The influence of the Liang's trial for the outcome of the Meta-analysis

| Item   | Pooled sensitivity<br>(95%CI) | Pooled specificity<br>(95%CI) | Pooled PLR<br>(95%CI) | Pooled NLR<br>(95%CI) | Pooled DOR<br>(95%CI)  |
|--------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| Before | 0.94(0.90~0.97)               | 1.00(0.99~1.00)               | 75.99(42.91~134.56)   | 0.10(0.04~0.22)       | 950.48(399.11~2263.54) |
| After  | 0.94(0.90~0.97)               | 1.00(0.99~1.00)               | 76.09(42.60~135.91)   | 0.08(0.04~0.17)       | 1043.8(417.45~2609.90) |

其敏感性和特异性均较高,这与 Ventana-ALK 融合蛋白 IHC 诊断试剂盒的开发公司罗氏报道数据相一致<sup>[32]</sup>。

一般认为,PLR>10 或 NLR<0.1,基本可以确定或排除诊断。本研究得出的 Ventana-IHC 对 ALK+ NSCLC 诊断 PLR 为 75.99 (95%CI:42.91~134.56),提示 Ventana-IHC 阳性时在某种程度上可取代 FISH 用以对 ALK+NSCLC 的诊断,具有一定的临床应用价值;但其 NLR 为 0.10 (95%CI:0.04~0.22),提示 Ventana-IHC 阴性时不能排除 ALK+的可能。

DOR 反映诊断试验的结果与疾病的联系程度。取值>1 时,其值越大说明该诊断试验的判别效果较好;取值<1 时,正常人比患者更有可能被诊断试验判为阳性;取值=1 时,表示该诊断试验无法判别正常人与患者。本研究中 Ventana-IHC 对 ALK+ NSCLC 诊断 DOR 为 950.48 (95%CI:399.11~2263.54),提示诊断试验的判断效果好。

本文 SROC 曲线显示,Ventana-IHC 的 AUC 为 0.9962(SEAUC 0.0041), $Q^*$  统计量为 0.9766 (SEQ\* 0.0149),曲线靠近左上角,曲线下面积大,说明 IHC 对 ALK+ NSCLC 诊断的准确度较高。

本文纳入的研究间存在异质性,经 Spearman 相关系数检验,异质性与阈值效应无关,因此我们进一步做 Meta 回归,试图寻找 Ventana-IHC 异质性的可能来源。结果显示,地区(亚洲或非亚洲)、研究设计(前瞻或者回顾性设计)、盲法(盲或非盲)、患者选择(是否随机)均不是,而样本量是造成其异质性的来源。虽然我们已经在文献纳入之初做了样本量的限制,但在 QUDAS-2 的质量评估中,可以看到病例选

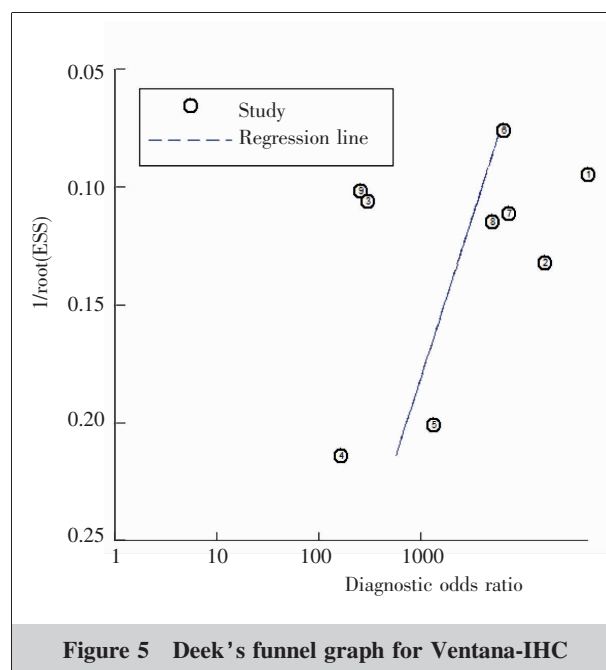


Figure 5 Deek's funnel graph for Ventana-IHC

择部分存在相对的偏倚,3 项研究<sup>[22~24]</sup>所纳入病例由已明确 ALK 情况的患者组成,1 项研究<sup>[26]</sup>所纳入病例由 EGFR 和 KRAS 均阴性的患者组成。另外,ALK+ NSCLC 主要集中在一些年轻、少吸烟或不吸烟、病理类型为腺癌的女性患者,且常与 EGFR 和 KRAS 等突变相排斥;为了判断本研究的稳定性,我们剔除了 Liang 等<sup>[29]</sup>的 1 项后再次进行敏感性分析,结果显示,各合并统计量,合并敏感性、特异性、PLR、NLR 和 DOR 变化均不大,提示本次分析结果稳定可信。

本次 Meta 分析的局限性:①Meta 分析的局限性:检索语种局限于中文和英文,可能会漏检其他语

种的相关研究;②纳入研究的局限性:在研究设计上试图整体评价 IHC 和 PCR 对 ALK+ NSCLC 诊断的准确性,但在后续工作中发现,常规 IHC 相对于 Ventana-IHC,不仅所用抗体 (Ventana D5F3、Cell Signaling Technology D5F3、Novocastra 5A4、Abcam 5A4、Dako ALK1、Thermo Fisher Scientific SP8<sup>[33]</sup>和 Invitrogen ZAL4<sup>[34]</sup>等)众多,检测方法各异,且判读标准也不相同。为了更好地保证各研究的同质性,我们只纳入了真正意义上的 Ventana-IHC,均采用 Roche/Ventana 公司的抗 ALK(D5F3)兔单克隆抗体和 OptiView DAB 免疫组织化学检测试剂盒以及增强扩增试剂盒;Roche/Ventana 公司的 BenchMark XT 全自动切片染色机免疫组化化学染色;二元判读法,肿瘤细胞中存在强的颗粒状胞质染色(任何百分比的阳性肿瘤细胞)即 ALK+,肿瘤细胞内不存在强颗粒状胞质染色即为 ALK-。另外各种基于 PCR 基础上的方法主要是用于 IHC 与 FISH 有争议时的进一步验证,且数据太少不能行 Meta 分析。

综上所述,Ventana-IHC 对 ALK+ NSCLC 诊断的特异性高,敏感性较高,在某种程度上可替代 FISH 用于对 ALK+ NSCLC 的检测和诊断,具有一定的临床应用价值。

## 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 [J]. *Nature*, 2007, 448(7153): 561-566.
- [2] 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]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(26): 4247-4253.
- [3] Wang Y, Wang S, Xu S, et al. Clinicopathologic features of patients with non-small cell lung cancer harboring the EML4-ALK fusion gene: a meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e110617.
- [4] 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 [J]. *Cancer*, 2009, 115(8): 1723-1733.
- [5] Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(18): 1693-1703.
- [6] 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.
- [7] National Comprehensive Cancer Network. NCCN clinical practice guidelines in oncology (NCCN guidelines): non-small cell lung cancer (version 7.2015) [EB/OL]. [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/colon.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf).
- [8] Zhou XY. Application of fluorescence in-situ hybridization in diagnosis of ALK-positive non-small cell lung cancer [J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2013, 42(12): 854-856. [周晓燕. 荧光原位杂交在诊断间变性淋巴瘤激酶阳性非小细胞肺癌中的应用[J]. *中华病理学杂志*, 2013, 42(12): 854-856.]
- [9] Du X, Zhou XY, Lyu N, et al. Application of immunohistochemistry in diagnosis of ALK-positive non-small cell lung cancer [J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2013, 42(12): 858-860. [杜祥, 周晓燕, 吕宁, 等. 免疫组织化学染色在诊断间变性淋巴瘤激酶阳性非小细胞肺癌中的应用[J]. *中华病理学杂志*, 2013, 42(12): 858-860.]
- [10] Zhang J. Application of polymerase chain reaction technique in diagnosis for ALK-positive non-small cell lung cancer [J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2013, 42(12): 856-858. [张杰. 聚合酶链反应技术在非小细胞肺癌 EML4-ALK 融合基因检测中的应用[J]. *中华病理学杂志*, 2013, 42(12): 856-858.]
- [11] Felip E, Concha Á, de Castro J, et al. Biomarker testing in advanced non-small-cell lung cancer: a national consensus of the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology [J]. *Clin Transl Oncol*, 2015, 17(2): 103-112.
- [12] Garrido P, De Castro J, Concha Á, et al. Guidelines for biomarker testing in advanced non-small-cell lung cancer. A national consensus of the Spanish Society of Medical Oncology (SEOM) and the Spanish Society of Pathology (SEAP) [J]. *Clin Transl Oncol*, 2012, 14(5): 338-349.
- [13] Marchetti A, Ardizzoni A, Papotti M, et al. Recommendations for the analysis of ALK gene rearrangements in non-small-cell lung cancer: a consensus of the Italian Association of Medical Oncology and the Italian Society of Pathology and Cytopathology [J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(3): 352-358.
- [14] 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]. *J Mol Diagn*, 2013, 15(4): 415-453.
- [15] Zhang XC, Lu S, Zhang L, et al. Guideline for diagnosis

- and treatment of ALK positive non-small cell lung cancer in China [J]. Chinese Journal of Pathology, 2015, 44(10): 696-703. [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疗指南[J]. 中华病理学杂志, 2015, 44(10): 696-703.]
- [16] Liu XB, Wang SP. Clinical epidemiology and evidence based medicine [M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013. 131-132. [刘续宝, 王素萍. 临床流行病学与循证医学 [M]. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2013. 131-132.]
- [17] Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies [J]. Ann Intern Med, 2011, 155(8): 529-536.
- [18] Zamora J, Abaira V, Muriel A, et al. Meta-DiSc: a software for meta-analysis of test accuracy data [J]. BMC Med Res Methodol, 2006, 6: 31.
- [19] Wang D, Zhai JX, Mou ZY, et al. Discussing on the research of heterogeneity in meta-analysis [J]. Chinese Journal of Evidence-Based Medicine, 2009, 9(10): 1115-1118. [王丹, 翟俊霞, 牟振云, 等. Meta分析中的异质性及其处理方法 [J]. 中国循证医学杂志, 2009, 9: 1115-1118.]
- [20] Zeng XT. The Application of STATA in Meta analysis [M]. Beijing: Military Medical Publishing House, 2013. 85-86. [曾宪涛. 应用STATA做Meta分析 [M]. 北京: 军事医学出版社, 2013. 85-86.]
- [21] Wang JY. Evidence based medicine and clinical practice [M]. 3rd ed. Beijing: China Science Publishing, 2012. 129-130. [王吉耀. 循证医学与临床实践 [M]. 第3版. 北京: 科学出版社, 2012. 129-130.]
- [22] Gruber K, Kohlhaufl M, Friedel G, et al. A novel, highly sensitive ALK antibody 1A4 facilitates effective screening for ALK rearrangements in lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry [J]. J Thorac Oncol, 2015, 10(4): 713-716.
- [23] Wynes MW, Sholl LM, Dietel M, et al. An international interpretation study using the ALK IHC antibody D5F3 and a sensitive detection kit demonstrates high concordance between ALK IHC and ALK FISH and between evaluators [J]. J Thorac Oncol, 2014, 9(5): 631-638.
- [24] Ying J, Guo L, Qiu T, et al. Diagnostic value of a novel fully automated immunochemistry assay for detection of ALK rearrangement in primary lung adenocarcinoma [J]. Ann Oncol, 2013, 24(10): 2589-2593.
- [25] Ilie MI, Bence C, Hofman V, et al. Discrepancies between FISH and immunohistochemistry for assessment of the ALK status are associated with ALK 'borderline'-positive rearrangements or a high copy number: a potential major issue for anti-ALK therapeutic strategies [J]. Ann Oncol, 2015, 26(1): 238-244.
- [26] Wang W, Tang Y, Li J, et al. Detection of ALK rearrangements in malignant pleural effusion cell blocks from patients with advanced non-small cell lung cancer: a comparison of Ventana immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization [J]. Cancer Cytopathol, 2015, 123(2): 117-122.
- [27] Guo L, Liu X, Qiu T, et al. ALK fusion gene assesment by fully automatic immunohistochemistry in non-small cell lung cancer [J]. Chinese Journal of Pathology, 2014, 43(2): 95-98. [郭蕾, 刘秀云, 邱田, 等. 全自动免疫组织化学法检测肺腺癌组织中间变性淋巴瘤激酶融合基因表达情况 [J]. 中华病理学杂志, 2014, 43(2): 95-98.]
- [28] Hutarew G, Hauser-Kronberger C, Strasser F, et al. Immunohistochemistry as a screening tool for ALK rearrangement in NSCLC: evaluation of five different ALK antibody clones and ALK FISH [J]. Histopathology, 2014, 65(3): 398-407.
- [29] Liang XL, Wang MZ, Zhang J, et al. ALK protein expression and gene fusion in bronchoscopic specimens of lung adenocarcinoma [J]. Chinese Journal of Oncology, 2014, 36(7): 501-504. [梁小龙, 王孟昭, 张静, 等. 检测肺腺癌活检标本间变性淋巴瘤激酶蛋白表达和基因融合 [J]. 中华肿瘤杂志, 2014, 36(7): 501-504.]
- [30] Ali G, Proietti A, Pelliccioni S, et al. ALK rearrangement in a large series of consecutive non-small cell lung cancers: comparison between a new immunohistochemical approach and fluorescence in situ hybridization for the screening of patients eligible for crizotinib treatment [J]. Arch Pathol Lab Med, 2014, 138(11): 1449-1458.
- [31] Wu SX, Wang CX. Estimation of sample size in clinical research [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008. 77-78. [吴圣贤, 王成祥. 临床研究样本含量估算 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008. 77-78.]
- [32] Ventana anti-ALK(D5F3) rabbit monoclonal primary antibody protocol [EB/OL]. <http://www.ventana.com>.
- [33] Zhang YG, Jin ML, Li L, et al. Evaluation of ALK rearrangement in Chinese non-small cell lung cancer using FISH, immunohistochemistry, and real-time quantitative RT-PCR on paraffin-embedded tissues [J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64821.
- [34] Wu YC, Chang IC, Wang CL, et al. Comparison of IHC, FISH and RT-PCR methods for detection of ALK rearrangements in 312 non-small cell lung cancer patients in Taiwan [J]. PLoS One, 2013, 8(8): e70839.