

Stanovení optimálního vyšetřovacího algoritmu pro efektivní vyhledávání nemalobuněčných karcinomů plic s přestavbou genu *ALK*

– zavedení metodiky a praktické zkušenosti z rutinního vyšetřování

Tomáš Rozkoš¹, Aleš Ryška¹, Markéta Nová¹, Helena Hornychová¹,
Lukáš Krbal¹, Radoslav Matěj^{2,3}, Jan Laco¹

¹Fingerlandův ústav patologie, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

²Oddělení patologie a molekulární medicíny; Centrum pro výzkum, diagnostiku a léčbu neurodegenerativních onemocnění a Národní referenční laboratoř TSE-CJN, Thomayerova nemocnice, Praha

³Ústav patologie, Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

SOUHRN

Cílem retrospektivní části studie bylo a) nalezení optimálního klonu imunohistochemické (IHC) protilátky proti ALK proteinu, který bude mít dostatečnou senzitivitu a specifitu, aby jej bylo možné použít jako screeningové metody při výběru případů nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) pro následné testování přestavby genu *ALK* metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) a b) zjištění diagnostické výtěžnosti „malých“ biopsií, tj. endobronchiálních, transbronchiálních a transtorakálních biopsií a cytobloků pro vyšetření přestavby genu *ALK*. Takto zjištěná optimální IHC metodika detekce exprese ALK proteinu (klon D5F3, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA) byla následně ověřena v prospektivním rutinním vyšetřování pacientů s NSCLC. ALK status byl korelován s morfoloogickým vzhledem tumorů a s vybranými klinickými údaji.

V retrospektivní části studie bylo metodami IHC a FISH vyšetřeno 170 případů EGFR-nemutovaných NSCLC. V prospektivní části studie bylo IHC vyšetřeno 557 případů a FISH 76 případů NSCLC. Celkem bylo v retrospektivním souboru nalezeno 8/154 (5,2 %) případů s přestavbou genu *ALK*, při prospektivním vyšetřování pak 24/557 (4,3 %). Senzitivita a specifita zvolené IHC screeningové metody byly v retrospektivní části 100 % a 99 %, v prospektivní části pak 100 % a 80 %. Diagnostická výtěžnost „malých“ biopsií se v retrospektivní části pohybovala v závislosti na zvolené IHC variantě v rozmezí 74 – 80 %, v prospektivní části činila 88 %. U žádného prospektivně vyšetřovaného případu s pozitivní přestavbou genu *ALK* nebyla detekována mutace *EGFR*. Vysoká diagnostická výtěžnost vypovídá o možnosti testování ALK stavu i u „malých“ biopsií. Prevalence 5,2 % v retrospektivní části (*EGFR* nemutovaných případů) a 4,3 % v prospektivní části (bez znalosti *EGFR* mutace), morfoloogický vzhled tumorů (solidní a acinární typ, mucinózní či alespoň parciální hlenotvorba (extra- a/nebo intracelulární)), stejně tak jako i nižší průměrný věk a zastoupení pohlaví u pacientů s ALK pozitivními nádory v našem prospektivním souboru (57,5 let vs. 65,2 let, 8 mužů a 16 žen vs. 336 mužů a 197 žen) jsou v souladu s celosvětovými údaji.

Klíčová slova: nemalobuněčný karcinom plic – NSCLC – ALK – imunohistochemie – FISH

Identification of an optimal algorithm for effective diagnostics of non-small cell lung cancer with *ALK* gene rearrangement – implementation of the method and practical experiences with routine diagnostics

SUMMARY

The aim of the retrospective part of the study was a) to select an optimal clone of immunohistochemical (IHC) antibody against the ALK protein with specificity and sensitivity high enough to use this antibody as a screening method for selecting non-small cell lung cancer (NSCLC) cases for fluorescence in situ hybridization (FISH) testing of *ALK* gene rearrangement and b) to determine the diagnostic yield of “small” biopsies i.e. endobronchial, transbronchial and transthoracic biopsies and cytoblocks for *ALK* gene rearrangement testing. The best IHC method of ALK protein detection (clone D5F3, dilution 1:100, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA) was then verified in prospective routine testing of patients with NSCLC. ALK status was correlated with tumor morphology and clinical data.

In the retrospective part of the study, 170 EGFR-nonmutated cases of NSCLC were IHC and FISH tested. In the prospective part, 557 cases of NSCLC were tested by IHC and 76 by FISH. There were 8/154 (5.2%) cases with *ALK* gene rearrangement detected in the retrospective part and 24/557(4.3 %) in the prospective part. Sensitivity and specificity of the best IHC method were 100 % and 99 % in the retrospective part and 100 % and 80 % in the prospective part. The diagnostic yield of “small” biopsies was between 74 – 80 % retrospectively, depending on IHC variant, and 88 % prospectively. No case with *ALK* gene rearrangement detected prospectively had *EGFR* mutation. A high diagnostic yield confirms that ALK status testing can be used in this type of specimen. A prevalence of 5.2 % in the retrospective part (*EGFR*-nonmutated cases) and 4.3 % in the prospective part (without known *EGFR* mutation status), tumor morphology (solid and acinar type, mucinous type or at least partial mucin production (extra- and/or intracellular) as well as lower average age and male/female ratio of patients with ALK positive tumors in the prospective part (57.5 y vs. 65.2 y, 8 men and 16 women vs. 336 men and 197 women) are consistent with global data.

Keywords: Non-small cell lung cancer – NSCLC – ALK – Immunohistochemistry – FISH

Cesk Patol 2017; 53(2): 89–96