

病理人的责任与机遇

——肺癌治疗步入精准和基因时代

北京中杉金桥生物技术有限公司 研发部摘录

肺癌是全球癌症中的头号杀手，而中国的每年新增肺癌病例已占全球的 36%，肺癌死亡人数占全球的 38%。目前，肺癌的分子靶向性药物已成为全球科研的热点。前几天，FDA 仅用了短短四个工作日就批准了施贵宝公司的 PD-1 抑制剂 Opdivo，用于鳞状非小细胞肺癌的治疗。

为此，特将近年来热门的肺癌靶点以及对应的靶向药物介绍如下，并重点介绍 PD-1/PD-L1 免疫疗法：

1、表皮生长因子受体 (EGFR) 基因突变。EGFR 突变一般通过测序予以确定，FISH 可检测出 EGFR 基因扩增。依据变异性质的不同，可用的酪氨酸激酶抑制剂 (EGFR-TKIs) 包括特罗凯 (埃罗替尼)、易瑞沙 (吉非替尼)、阿法替尼 (Gilotrifis)，第三代不可逆转 EGFR-TKIs 例如 Rociletinib。还有 Avitinib, Dasatinib, WZ-4002, Dacomitinib 和 AZD-9291 在临床试验中。

2、原癌基因 K-ras 突变。25%-35% 的非小细胞肺癌患者都会出现 K-ras 突变，且该突变与吸烟史有关。目前尚无获批药物用于 K-ras 突变。

3、EML4-ALK 重组。5% 左右的非小细胞肺癌出现 ALK(间变性淋巴瘤激酶) 基因和 EML4 基因的融合。(FISH 方法可以检测 ALK 基因融合。目前可用的靶向性疗法包括克唑替尼 (Xalkori) 和色瑞替尼 (Zykadia)。第二代 ALK-TKIs 包括 alectinib、LDK-378 和 AP-26113，仍处于不同的临床试验阶段。

4、BRAF 基因突变。目前对 BRAF 基因进行直接测序。两种针对 BRAF 的抑制剂维罗非尼 (Zelboraf) 和达拉菲尼 (Tafinlar) 已获得 FDA 批准，用于治疗转移性黑色素瘤，但治疗 BRAF 突变的肺癌患者仍在进行临床试验。

5、MET 扩增。MET 扩增可导致对 EGFR-TKIs 的获得性耐药性。FISH 可以检测 MET 扩增，FDA 已批准卡博替尼 (Cabozatinib) 用于靶向性治疗某些癌症中出现的 MET 扩增。但该药物治疗非小细胞肺癌的临床数据仍未公布。

6、针对新生血管生成。安维汀 (贝伐单抗) 是一种针对血管内皮生长因子 -A (VEGF-A) 的单抗，是肺癌的治疗方法之一。

7、生物免疫疗法。抑制免疫检测点通路是目前癌症免疫治疗中最受关注的治疗方法之一，程序性细胞死亡 -1 (PD-1) / 程序性细胞死亡配体 1 (PD-L1) 途径主要用于维持机体的免疫平衡。PD-1 是调节 T 细胞聚集和表达效能的重要因子，当与 PD-L1 结合可导致 T 细胞对于肿瘤细胞的免疫效应减弱，异常的信号激活可导致 T 细胞功能耗竭。研究发现，特异性阻断 PD-1 或 PD-L1 在 20-25% 的非小细胞肺癌、黑色素瘤、肾细胞癌中产生客观反应，在多位肿瘤患者中取得持久疗效 (大于 1 年)。

美国国家综合癌症网络 (NCCN) 于 3 月 9 日发布了 2015 年第 5 版非小细胞肺癌临床实践指南，2015 年第 5 版较第 4 版唯一更新内容是增加免疫靶向治疗 PD-1 抑制剂 Nivolumab (Opdivo) 作为晚期鳞癌一线治疗后进展的可选方案。

Nivolumab 是一种人源性抗 PD-1 的 IgG4 单克隆抗体，通过阻止 PD-1/PD-L1 途径，进而改善体内 T 细胞免疫功能，可以有效的提高免疫系统对于肿瘤的杀伤作用。美国 (FDA) 12 月 22 日加速批准 Nivolumab (Opdivo) 用于治疗无法手术切除或已经出现转移且对其他药物无应答的晚期黑色素瘤患者

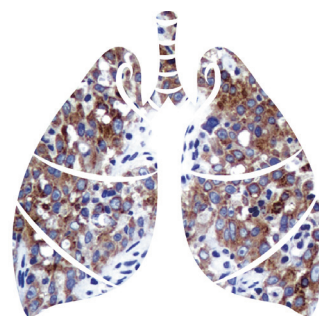
CTLA-4 抑制剂易普利姆玛 (Yervoy)，是针对细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 -4 (CTLA-4) 蛋白的抗体，2011 年 FDA 批准用于治疗转移性黑色素瘤。PD-1 抑制剂 Keytruda (pembrolizumab)，以及 PD-L1 抑制剂 MPDL-3280A (获 FDA 突破性疗法认定) 和 MED14736，均在不同的临床试验期。靶向诊断的生物标记也处于开发中；希望可以通过免疫组织化学法确定 PD-L1 表达，并用于使用 PD-1 抑制剂的配套诊断，以指导临床用药。

本文摘自《肿瘤资讯》《生物技术快讯》《中华医学杂志》

为了方便您了解产品信息，特将我公司现货产品列出：

ZM-0381 PD-1

ZA-0629 PD-L1



内部资料

中国原发性肺癌诊疗规范（2015年版）

本文摘自《中华肿瘤杂志》2015年1月第37卷第1期

【编者按】

中国原发性肺癌诊疗规范（2015年版）已经推出，为了方便病理专业人员学习，特节选文章中的病理部分，以飨读者。

一、概述

（一）前言

原发性肺癌（以下简称肺癌）是我国最常见的恶性肿瘤之一。全国肿瘤登记中心2014年发布的数据显示，2010年，我国新发肺癌病例60.59万（男性41.63万，女性18.96万），居恶性肿瘤首位（男性首位，女性第2位），占恶性肿瘤新发病例的19.59%（男性23.03%，女性14.75%）。

……

二、病理诊断评估

（一）肺癌的标本固定标准

使用4%甲醛固定液，避免使用含有重金属的固定液，固定液量应为所固定标本体积 ≥ 10 倍，常温固定。标本从离体到固定时间不宜超过30 min。活检标本直接放入固定液，肺叶或全肺切除标本可从支气管注入足量固定液，也可插入探针沿着支气管壁及肿瘤切开肺组织固定。固定时间：支气管镜活检标本为6-24 h；手术切除标本为12-48 h。

细胞学标本（痰液、胸水）固定应采用95%乙醇固定液，时间不宜少于15 min，或采用非妇科液基细胞学固定液（固定时间和方法可按说明书进行操作）；当需制成脱落细胞蜡块时，则可用95%乙醇固定，时间 ≥ 2 h。

（二）标本大体描述及取材要求

活检标本核对无误后将送检组织全部取材。

1. 局部肺切除标本：

（1）去除外科缝合线或金属钉。

（2）记录标本的大小以及胸膜表面的

情况。

（3）垂直切缘切取肺实质组织块，描述肿块的大小、切面情况（伴有无出血、坏死、空洞形成）及其与胸膜和肺实质的关系，以及肿块边缘与切缘的距离。

（4）根据病变的部位和大小切取肿瘤、肿瘤与胸膜、肿瘤与肺实质切缘等部位，当肿瘤 <3 cm时需将瘤体全部取材。

（5）切取非肿瘤部位肺组织。

2. 肺叶切除标本：

（1）检查肺的五大基本结构：气道、肺实质、胸膜、血管和淋巴结。测量大小，以肺门给标本定位。

（2）取支气管切缘、血管切缘及肿瘤与胸膜最近处，或与其他肺叶的粘连处。

（3）查找肺门淋巴结。

（4）按照肿瘤的部位和状态，可有2种选择：一是沿着支气管壁及肿瘤切开肺组织（可借助于插入气管内的探针）的标本，打开支气管及其分支，以便最好地暴露病变与各级支气管及周围肺组织的结构关系。二是对主支气管内注入甲醛的标本，每隔0.5-1.0 cm切开，切面应为额平面，垂直于肺门。

（5）描述肿瘤大小、切面情况（伴有无出血、坏死、空洞形成）、在肺叶和肺段内的位置以及与支气管的关系、病变范围（局灶或转移）和远端或局部继发性改变。取材块数依据具体病变大小（ <3 cm的肿瘤应全部取材）、具体部位、是否有伴随病变而定（与临床分期相关），应包含肿瘤与胸膜、肿瘤与叶或段支气管（以标本而不同）、肿瘤与周围肺或继发病变、肿瘤与肺断端或支气管断端等；跨叶标本取材还应包括肿瘤与所跨叶的关系部分。临床送检N2或其他部位淋巴结应全部计数取材。

推荐取材组织块体积不大于2.5

导读 肺癌专刊

- 中国原发性肺癌诊疗规范（2015年版）
- 2015第4版NCCN非小细胞肺癌临床指南中病理学评估的内容
- 新抗体简介
- 病理人的责任与机遇
——肺癌治疗步入精准和基因时代

cm \times 1.5 cm \times 0.3 cm。

（三）取材后标本处理原则和保留时限

取材剩余组织保存在标准固定液中，并始终保持充分的固定液量和甲醛浓度，以备在病理诊断报告签发后接到临床反馈信息时复查大体标本或补充取材。剩余标本处理的时限建议在病理诊断报告签发1个月后，未接到临床反馈信息，未发生因外院会诊意见分歧而要求复审等情形后，由医院自行处理。

（四）组织病理诊断

小活检组织标本肺癌病理诊断主要解决有无肿瘤及肿瘤类型，对于形态学不典型的病例或晚期不能手术的患者病理诊断需结合免疫组化染色尽可能进行亚型分类，尽量避免使用非特殊类型（NSCLC-NOS）的诊断。

手术切除大标本肺癌组织学类型应根据国际最新病理分类标准（2011年国际多学科肺腺癌分类或即将更新的WHO肺癌分类标准版本）。

原位腺癌、微小浸润性腺癌和大细胞癌不能在小活检标本、术中冰冻病理诊断中完成，需手术切除标本肿瘤全部或充分取材后方可诊断。

（五）病理报告内容

临床信息包括姓名、性别、年龄、病历号、送检科室、病变部位、活检方式或手术方式、相关肿瘤史和治疗史。大体描述内容包括标本类型、肿瘤大小、

与支气管(不同类型标本)或胸膜的关系、其他伴随病变或多发病变、切缘。

诊断内容包括肿瘤部位、组织学亚型、累及范围(支气管、胸膜、脉管、神经、伴随病变类型、肺内播散灶、淋巴结转移情况等)、切缘及必要的特殊染色、免疫组化结果或分子病理检测结果。包含的信息应满足临床分期的需要,并给出pTNM分期。

(六)免疫组化、特殊染色和分子病理检测 腺癌与鳞状细胞癌鉴别

的免疫组化标记物宜选用TTF-1、Napsin-A、p63、P40和CK5/6;神经内分泌肿瘤标记物宜选用CD56、Syn、CgA、Ki-67和TTF-1,在具有神经内分泌形态学特征基础上,至少有一种神经内分泌标记物明确阳性,阳性细胞数应>10%肿瘤细胞量才可诊断神经内分泌肿瘤;细胞内黏液物质的鉴别宜进行黏卡、AB-PAS特殊染色;可疑累及胸膜时应进行弹力纤维特殊染色确认。

对于晚期NSCLC、腺癌或含腺癌

成分的其他类型肺癌,应在诊断的同时常规进行表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)基因突变和间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)融合基因等检测,检测前应有送检标本的质控(包括亚型确认及样本量确认)。检测标本类型包括活检组织、细胞学标本和细胞蜡块,检测方法推荐使用获国家食品药品监督管理总局批准的检测方法或试剂。

2015第4版NCCN非小细胞肺癌临床指南中病理学评估的内容

北京协和医院 卢朝晖教授

【译者按】

最近微信圈中疯传《中国肺癌诊疗指南》,拜读之后,发现别的地方写得很详细,唯独在最重要的病理诊断方面一笔带过。为此,笔者专门将最新版的NCCN非小细胞肺癌临床实践指南中,关于病理学评估部分翻译为中文,以供广大病理医师、肿瘤内科及胸外科肿瘤医师参考。

病理学评估的目的:确定肺癌的组织学类型,并确定所有AJCC推荐的与分期有关的参数,包括肿瘤大小、浸润的范围(胸膜和支气管),手术切缘是否足够,是否有淋巴结转移。此外,检测肿瘤的特异性分子异常非常重要,它可以预测对多种靶向治疗药物的敏感性或耐药性。这类药物主要是酪氨酸激酶抑制剂,参见本节肺癌的分子诊断学相关内容。

世界卫生组织肿瘤分类系统历来是肺肿瘤的分类的基础,包括组织学类型、临床特征、分期以及肺癌的分子、遗传学和流行病学等方面。

病理诊断报告应包括肺癌的组织学类型,依据为世界卫生组织的肺肿瘤分类,以及最近出版的关于腺癌的诊断共识,切除标本和小活检推荐使用不同的分型及诊断术语。强烈反对使用细支气管肺泡癌(BAC)的术语。

“非小细胞肺癌(NSCLC)”作为一般性术语,不能单独用作病理诊断名词。对于小活检中腺癌/鳞癌特征不明确的低分化癌,进行免疫组织化学染色后,下列术语是可以接受的:“非小细胞肺癌,倾向于鳞状细胞癌”,“非小细胞肺癌,

倾向于腺癌”。强烈建议所有的倾向于腺癌的非小细胞癌进行分子突变检测(如表皮生长因子受体[EGFR])。

福尔马林固定、石蜡包埋的肿瘤组织标本可以满足大多数分子病理检测的要求。

对于小活检标本,强烈建议尽可能少做免疫组化,从而留出珍贵的肿瘤组织进行分子生物学检测,对于晚期肿瘤病人这一点尤其重要。一个鳞状细胞癌标志物(如P63或P40)和一个腺癌标志物的组合(TTF-1或napsin A)足以解决大多数诊断问题。

腺癌的分类

原位腺癌(AIS;原BAC):≤3厘米结节,贴壁生长,包括粘液性、非粘液性或混合性粘液/非粘液性几种类型。

微浸润腺癌(MIA):≤3厘米的结节内有≤5毫米的浸润性癌成分,其他部分贴壁生长,包括粘液性、非粘液性或混合性粘液/非粘液性几种类型。

浸润性腺癌,指出主要的生长模式:贴壁生长中>5毫米浸润性成分、腺泡状、乳头状、微乳头或伴有粘液的实性腺癌。

浸润性腺癌亚型:黏液腺癌、胶样癌、胎儿型和肠型腺癌。

免疫组化染色

总的来说,手术切除标本与术前小活检标本在组织学诊断及免疫组化方面一致性较好,但仍建议在对小活检及其他材料有限标本进行组织学分型时谨慎从事,尤其当免疫组化标记不明确时。

免疫组化染色有以下几方面的帮助:鉴别原发性肺腺癌、鳞癌、大细胞癌、转移癌和恶性间皮瘤,确定是否有神经

内分泌分化。

原发性肺腺癌:

推荐应用适当的免疫组化抗体组合以排除其他部位癌转移到肺。TTF-1是Nkx2基因家族中的一个包含同源结构域的核转录蛋白,可表达于胚胎性及成熟的肺及甲状腺组织。TTF-1在原发性肺腺癌(非粘液性)组织中的表达率为70%-100%,除了肺转移性甲状腺癌TTF-1阳性,几乎所有转移到肺的腺癌均TTF-1阴性。

Napsin A:表达于正常II型肺泡和在近端和远端肾小管的天冬氨酸蛋白酶,肺腺癌中表达率>80%,可作为TTF-1的替换标记。

TTF-1(或Napsin A)和P63(或P40)组合,对于鉴别先前诊断为“非小细胞肺癌,非特指”的病例为腺癌或鳞状细胞癌非常有帮助。

神经内分泌分化:CD56、嗜铬粒蛋白(CgA)和突触素(Syn)用于鉴别神经内分泌肿瘤。

恶性间皮瘤与肺腺癌:上皮型恶性间皮瘤与肺腺癌的鉴别使用以下抗体组合,包括2种间皮瘤阳性(但腺癌阴性)和2种腺癌阳性(但间皮瘤阴性),共4种抗体标记:

间皮瘤相对敏感、特异的标记包括:WT-1、Calretinin、D2-40、HMBE-1及CK5/6;

腺癌免疫组化标记包括:CEA、B72.3、Ber-EP4、MOC31、CD15、Claudin-4及TTF-1。

肺癌的分子诊断

EGFR和KRAS

EGFR 通常存在于上皮细胞的表面，常在各种人类恶性肿瘤中过度表达。EGFR 活化突变在肺癌患者的治疗方案选择中是非常重要的指标。

EGFR 突变，尤其是 19 号外显子缺失、21 号外显子 (L858R, L861)、18 号外显子 (G719X, G719) 和 20 号外显子 (S768I) 突变，与 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂敏感性高度相关。

20 号外显子插入突变表明肿瘤对酪氨酸激酶抑制剂有耐药性。约小于 1% 的病人可检测到 EGFR 与 KRAS 突变同时存在。

KRAS 突变与内源性 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药相关，因此，KRAS 基因测序能够选择适合 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂治疗的病人。KRAS 检测能够确定哪些病人不会在进一步的分子诊断中受益。

西方的肺腺癌病人中，约 10% 存在

EGFR 突变，但在亚洲人中 EGFR 突变率可高达 50%，EGFR 突变好发于女性、不吸烟及非粘液性腺癌病人。KRAS 突变则更好发于非亚洲人、吸烟及粘液性腺癌的患者。最常见的 EGFR 突变是外显子 21 (L858R) 在氨基酸 858 位的精氨酸取代亮氨酸，以及 19 号外显子框架缺失突变。这些突变在非粘液性肺腺癌伴贴壁生长 (原 BAC 型) 和肺腺癌伴乳头状 (和或微乳头) 生长的病人中更为常见。

KRAS 突变与 EGFR TKIs 治疗的原发性耐药有关。获得性耐药与 EGFR 激酶结构域内的第二位点突变 (如 T790M)、替代激酶 (例如 MET) 扩增、组织学的非小细胞肺癌转变为肺小细胞癌和上皮-间质转化 (EMT) 相关。

ALK

间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 基因重排指 ALK 和各种伙伴基因、包括与棘皮

动物微管相关蛋白样 4 (EML4) 之间的融合。ALK 融合在一组非小细胞肺癌病人中检测到，而这组病人应用 ALK 抑制剂可取得非常显著的疗效。Crizotinib 和 Ceritinib 是由 FDA 批准用于治疗有 ALK 基因重排 (即 ALK 阳性) 的转移性非小细胞肺癌的口服药物。

ALK 阳性非小细胞肺癌病人与 EGFR 突变病人具有很多相同的临床特征 (女性非吸烟、非粘液性腺癌)，但是，对大多数病人来说，ALK 重排与 EGFR 突变似乎是相互排斥的。虽然对其他方法 (如 PCR 和免疫组化) 也进行过评估，但目前标准的 ALK 阳性 NSCLC 的检测方法是荧光原位杂交 (FISH)。能够检测 ALK 蛋白的适当抗体及检测方法适合快速初筛 ALK 重排肺腺癌病人，这些病人应随后由 FISH 检测证实。

新抗体简介

北京中杉金桥生物技术有限公司 研发部

MASH1：神经内分泌瘤的特异标记物

WHO2010 的新分类中明确区分了分化良好的神经内分泌肿瘤 (NET) 和分化不良的高级别恶性肿瘤神经内分泌癌 (NEC)。目前常用的神经内分泌标记物如 CgA 和 CD56 不能区分这两类肿瘤。

MASH1 (Mammalian achaete-scute complex homolog-1) 是一种折叠-松解-折叠转录因子，对于神经内分泌细胞的分化至关重要。一项专门的研究报道：MASH1 可以在高比例的小细胞肺癌 (SCLC) 和大细胞神经内分泌癌中表达。应用福尔马林固定石蜡包埋的组织芯片，包括正常组织 (n=33)、各种肿瘤组织 (n=75) 和肺癌 (n=250)，进行 MASH1 的免疫组化染色，对小细胞肺癌同时加染 CgA 和 CD56。结果显示，在正常组织中，MASH1 表达于胸腺 C 细胞和胸腺神经内分泌细胞，胞核阳性，其它的正常组织均为阴性反应，包括星形细胞和胃肠道嗜铬细胞。肺癌中，MASH1 在 91 例鳞癌和 87 例肺腺癌中各有一例阳性反应；在小细胞肺癌中，MASH1、CgA 和 CD56 的阳性染色分别为 19/23、18/23 和 21/23。在其他的肿瘤中，MASH1 表达于甲状腺髓样癌 (但不表达于甲状腺乳头状癌和滤泡癌)、胸腺癌和少数星形细胞瘤/胶质瘤及胰腺癌，其余均为阴性表达。

结论：尽管不具备器官特异性，MASH1 对于肺的神经内分泌癌，仍具有高度的特异性，可作为鉴别神经内分泌癌和神经内分泌肿瘤的有力标记物。

EGFR L858R (克隆号：EP344)：检测 L858R 突变的特异性抗体

自从 Lynch 等和 Paez 等发现肺癌细胞中 EGFR 酪氨酸激酶编码区基因突变以来，研究证明，具有 EGFR 基因第 21 号外显子 L858R 错义突变的肺癌患者使用酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼，进行分子靶向治疗的有效率高达 80% 以上，而对于缺乏 EGFR 突变的患者则基本无效。目前常用 EGFR 突变检测方法包括：直接测序法、PCR-RFLP/AS-PCR、dHPLC/HRMA、实时荧光定量 PCR，这些检测方法和组织形态没有关系，且操作复杂，成本较高。

美国 EPI 公司研发生产了 EGFR L858R 兔单抗 (克隆号：EP344)，并与 EGFR L858R 兔单抗 SP125 和 43B2 进行比较。在 16 种人体正常组织的芯片实验中，应用 EP344、SP125 和 43B2 三种抗体均为阴性反应；在 16 种人肿瘤组织的芯片中，16 例肺腺癌中的 3 例和 21 例肺鳞癌中的 2 例，三种抗体均呈阳性反应，EP344 在其余的肿瘤中均为阴性反应，而 SP125 和 43B2 在 EGFR 野生型的乳腺癌中有阳性表达。进一步的研究表明，在一组包含 13 例 EGFR L858R 突变的肺癌中，EP344、SP125 和 43B2 与突变检出的符合率分别为 92.3%、77% 和 23%。

结论：EGFR L858R 兔单抗 (克隆 EP344) 是一种用于 FFPE 的检测 EGFR L858R 突变的特异和敏感的抗体，可以指导肺癌患者用药，是检测 EGFR L858R 突变的首选。

欢迎垂询!