

出國報告（出國類別：開會）

參加「2018 年美國及加拿大病理學會病理 學會年會」心得報告

服務機關：臺北榮民總醫院 病理檢驗部

姓名職稱：葉奕成主治醫師

派赴國家：加拿大

出國期間：107 年 3 月 19 日至 107 年 3 月 23 日

報告日期：107 年 4 月 12 日

摘要（含關鍵字）

美國及加拿大病理學會年會是病理學界的年度盛會，本次有幸參加美國及加拿大病理學會年會，除了發表壁報論文之外，也參與許多胸腔病理與分子病理的專題研討會。由於今年年初美國病理學會、分子病理協會以及國際肺癌研究協會聯合發表了新版肺癌分子病理檢驗的指引，因此會中有不少相關的討論。此外，關於腫瘤免疫學及免疫治療的相關生物標記，本次會議也舉辦專題研討會，邀請學者專家一同討論這個領域近來的進展。

關鍵字：胸腔病理、分子病理

目次

| | | |
|------------|-------|-----|
| 一、 目的 | ----- | 4 |
| 二、 過程 | ----- | 4/5 |
| 三、 心得與建議事項 | ----- | 5-9 |
| 四、 附錄 | ----- | 10 |

一、目的

美國及加拿大病理學會年會(Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology)是病理學界的年度盛會，今年已邁入第 107 屆，歷史可謂相當悠久。每年都有數千名來自世界各地的病理醫師與學者共聚一堂，除發表最新的研究成果之外，也會針對各個不同的課題舉辦專題研討會及教育性課程。

本次參加美國及加拿大病理學會年會，我除了發表壁報論文之外，也參加了胸腔病理與分子病理的專題研討會，吸收新知，以應用於臨床病理診斷及研究。

二、過程

今年的美國及加拿大病理學會年會在加拿大的溫哥華會議中心舉辦，在正式的年會開始前幾天，依往例都會有各個病理次專科學會的 companion society meeting，今年也不例外，有數十個次專科學會分別在會前舉辦 companion society meeting。我參加的是由分子病理協會(Association for Molecular Pathology)舉辦的研討會，主題是「Disruptive Technologies in Surgical and Molecular Pathology」，一共包括三個講題：(1) Image Analysis and Biomarker Evaluation: Linking Digital Pathology and Molecular Diagnostics，(2) High-Throughput Cancer Genomics as a Disruptive Technology，(3) Synergism Between Liquid Biopsy Testing and Pathology in Oncology Patients，內容從數位病理影像分析、次世代定序，到液體活檢的應用，內容非常精彩。

正式的年會每天會議從早上 7 點開始，一直到晚上 9 點至 10 點才結束，內容豐富充實。由於同一個時段有多個演講同時進行，因此只能選擇其中自己最有興趣的主題參加。我的臨床業務與研究興趣是胸腔病理及分子病理，因此主要都是參加這兩個領域的研討會。

胸腔病理方面，我報名參加了「Shedding Light on the “Gray Zones” of Neoplastic

Lung Pathology」的研討會，這是特別針對目前胸腔病理診斷的困難點以及有爭議之灰色地帶為主題的研討會，邀請 Brigham and Women's Hospital 與 University of Pittsburgh 的胸腔病理專家，討論的主題包括 Lung adenocarcinoma histologic growth pattern、stromal invasion、multiple lung tumors staging、neuroendocrine tumor classification 等目前仍爭論未定的熱門議題。

分子病理方面，我報名參加了幾個與次世代定序相關的研討會，包括「Clinical Application of Next Generation Sequencing」、「Molecular Diagnostic and Genomic Applications in Cancer」、「Clinical Realities of Next-Generation Sequencing」三個專題研討會。這些專題研討會雖然都需另外自行付費報名，但是內容精彩，講題從次世代定序的原理到各種不同癌症的臨床應用，還有許多實際案例的分享，收穫非常豐碩。

三、心得及建議事項

在胸腔病理與分子病理方面，正好在今年年初美國病理學會(College of American Pathologists)、分子病理協會(Association for Molecular Pathology)以及國際肺癌研究協會(International Association for the Study of Lung Cancer)聯合發表了新版肺癌分子病理檢驗的指引(Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors)，因此本次會議有不少關於這個指引的討論。

新版肺癌分子病理檢驗的指引針對上一版(2013 年版)的指引內容所提出的修訂項目主要有三點：

- (1) 細胞學檢體於分子病理檢驗的應用：2013 年版建議使用 cell block 做為優先使用於分子檢驗的細胞學檢體，但由於近幾年的研究顯示，smear 及 liquid based cytology specimen 用於分子檢驗的表現其實並不遜於 cell block 檢體，甚至有研究發現以 smear 及 liquid based cytology specimen 做為次世代定序的檢體，所定

序出的資料品質比 cell block 更好。因此 2018 年版的指引建議，不論是 cell block、smear 或 liquid based cytology specimen，只要經過適當的實驗室驗證程序，都可使用於分子檢驗。

(2) **檢測靈敏度的要求**：在 2013 年版指引公佈的時期，許多的實驗室仍還在使用 Sanger sequencing 來做為分子檢測基因突變的主要方法。受限於 Sanger sequencing 本身的檢測靈敏度，檢測的組織中腫瘤細胞所佔的比例必須在 50% 以上，才較不會出現偽陰性的情形，因此 2013 年版對於檢測靈敏度的要求建議是必須能夠偵測腫瘤細胞比例 50% 以上的檢體內之基因突變。然而由於臨床肺癌病人的組織檢體經常都只含有少量的腫瘤細胞，比例往往不足 50%，再加上近幾年來一些高靈敏度的檢測方式(例如 PCR-based method 及次世代定序)的普及化，大部份的實驗室已有能力偵測腫瘤細胞比例較低的檢體。因此，2018 年版的指引對檢測的靈敏度的要求已修訂為必須能夠偵測腫瘤細胞比例 20% 以上的檢體內之基因突變。

(3) **免疫染色於 EGFR 基因突變檢測的角色**：EGFR 基因突變是亞洲人肺腺癌最常見的基因突變，EGFR 基因突變檢測是臨床醫師決定是否讓病人使用 EGFR tyrosine kinase inhibitors 最主要的依據準則。除了使用基因定序來檢測突變之外，另一種檢測的方式是使用 EGFR mutation specific antibody 來做免疫染色。然而，免疫染色雖然具有很不錯的 specificity，但是 sensitivity 卻不盡理想。因此，2018 年版的指引並不建議常規使用免疫染色做為 EGFR 基因突變的檢測方法。

除了上述三點修訂之外，新版的指引更進一步提出了 5 個新建議：

(1) **新的檢測基因**：除了目前已在檢測的 EGFR 及 ALK 之外，2018 年版建議將 ROS1 加入晚期肺癌病人的例行性基因檢驗項目之內。此外，新版的指引也建議，如果機構有提供肺癌的次世代定序基因檢測 panel，可考慮將以下這些基因加入次世代定序基因檢測 panel 當中：BRAF、RET、HER2、KRAS、MET。

(2) **檢測的方式**：關於 ALK 的檢測，近年來的文獻顯示使用 Fluorescent in situ

hybridization (FISH)和高敏感度的免疫染色的結果一致性非常高，而且兩者都可以準確地預測病人對 ALK tyrosine kinase inhibitors 的療效反應，因此 2018 版的指引建議 FISH 及高敏感度的免疫染色對於 ALK 基因檢測具有同等的地位。此外，關於次世代定序技術的應用，由於對臨床治療有影響的肺癌基因突變種類日益增多，再考慮到病人組織檢體有限，以及檢驗時效性等因素，使用次世代定序的多基因檢測 panel 已成為較傳統的單基因檢驗更為 cost effective 的檢驗方法。因此新版的指引建議，在 EGFR、ALK 及 ROS1 之外的肺癌基因突變檢測，使用次世代定序的多基因檢測 panel 是較單基因檢驗更合適的方法。

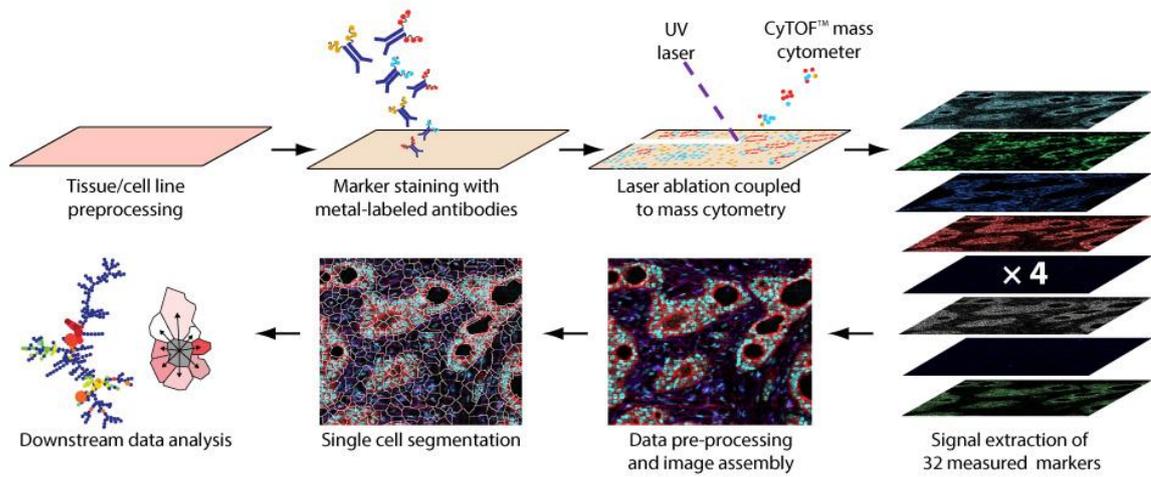
- (3) **檢測的對象**：由於與 tyrosine kinase inhibitors 相關的基因突變，絕大多數都出現在肺腺癌(adenocarcinoma)的病患，因此 2013 年版的指引僅建議檢測腫瘤帶有 adenocarcinoma 成份的病患。但是臨床實際上有些病患雖然切片結果並不是 adenocarcinoma，但是仍有可能帶有 tyrosine kinase inhibitors 相關的基因突變，尤其是年輕、不抽菸的族群。因此 2018 年版指引建議，這一類的病患也應考慮進行基因突變檢測。
- (4) **治療後復發的檢測**：Tyrosine kinase inhibitors 的治療反應率雖然高，但是病患在治療一段時間之後，腫瘤往往都會出現抗藥性。以 EGFR tyrosine kinase inhibitors 來說，最常見的抗藥性機轉是腫瘤出現新的 EGFR T790M 突變。由於目前已發展出第三代的 EGFR tyrosine kinase inhibitor，即使對於出現 T790M 突變的腫瘤仍然很有效，因此 2018 年的指引建議，對於使用 EGFR tyrosine kinase inhibitor 治療後出現抗藥性的腫瘤，應進行 T790M 基因突變的檢測，以決定是否使用第三代 EGFR tyrosine kinase inhibitor 治療。此外，由於 T790M 基因突變有可能只出現於腫瘤的一小部份腫瘤細胞，因此檢測靈敏度必須提高至足以檢測腫瘤細胞比例僅有 5%的檢體內之 T790M 基因突變。
- (5) **Circulating cell-free DNA 的角色**：近年來使用 circulating cell-free DNA 來進行 EGFR 基因突變檢測的技術已日趨成熟，研究結果顯示使用 circulating cell-free DNA 進行 EGFR 基因突變檢測雖然 sensitivity 不是很理想(約 60-70%)，但是

specificity 相當高(通常>95%)，因此 2018 年的指引建議，在組織檢體不足或不適合進行 EGFR 基因突變檢測時，可使用 circulating cell-free DNA 來進行 EGFR 基因突變檢測。然而，若是 circulating cell-free DNA 的檢測結果為陰性，仍然建議應取得合適的組織檢體來做進一步的確認。

新版肺癌分子病理檢驗指引設立了新的標準，也充份反應了肺癌分子病理檢驗的現況。然而與會專家們也提到，這個領域的進展非常迅速，指引所提供的只是目前建議的標準做法，仍需持續不斷地更新。本院的肺癌分子病理檢驗項目除了次世代定序的多基因檢測 panel 是以與麗寶生醫實驗室以產學合作方式進行之外，指引內提及的其他項目本院分子病理科已有提供檢測。今年病理檢驗部將建置次世代定序分析平台，建置完成後將開發多基因檢測 panel，除了肺癌分子病理檢驗指引所提到的基因之外，也會評估納入其他新興的重要基因如 NTRK fusion 等檢測。

此外，新版肺癌分子病理檢驗指引僅針對 tyrosine kinase inhibitor 相關的檢測提出建議，對於另一個重要的新興療法－免疫治療並沒有著墨。能夠預測免疫治療療效的生物標記目前仍還在持續發展中，除了 PD-L1 expression、Microsatellite instability / Mismatch repair (MMR) deficiency、Tumor mutation burden 等較多研究證據支持的項目之外，尚有許多其他可能的影響因素包括 tumor infiltrating lymphocytes、immune response related gene signature、T cell receptor clonality、Microbiome 等等，十分複雜。本次美國及加拿大病理學會年會也特別舉辦了一場 Tumor immunology 的研討會，邀請學者專家一同討論這個領域近來的進展。本院目前已有提供 PD-L1 expression 及 Mismatch repair (MMR) deficiency 的檢驗，未來待次世代定序分析平台建置完成後，應能利用此平台來開發 Tumor mutation burden 的檢測，以及進行其他項目的相關研究。研討會中讓我印象特別深刻的是來自於耶魯大學 Translational Immuno-oncology 實驗室 Dr. Kurt Schalper 的演講。他的實驗室應用 Imaging Mass Cytometry 的技術，能夠在一張蠟塊組織切片上，以高解析度同時呈現出數十種不同 marker 的表現與分佈情形 (如下圖，摘自 Giesen et al.,

Nature Methods, 2014 Apr;11(4):417-22) , 這應是能用於分析 tumor microenvironment 及 tumor immunology 的有力工具 , 值得持續關注。



四、附錄

本次參加美國及加拿大病理學會年會發表之壁報論文

Micropapillary Adenocarcinoma of Lung Is Associated With p53 Overexpression and EGFR Mutation

Yi-Chen Yeh, Hsiang-Ling Ho and Teh-Ying Chou
Department of Pathology and Laboratory Medicine, Taipei Veterans General Hospital, Taiwan

Disclosure statement: Nothing to disclose

Background

- > Micropapillary adenocarcinoma of lung had been recognized as an indicator of poor prognosis, but little is known about the molecular alterations associated with micropapillary histology.
- > In this study, we investigated the association between micropapillary histology and molecular alterations including
 - (1) p53 overexpression
 - (2) Epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutation
 - (3) Anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene rearrangements.

Materials and methods

- > Totally 207 patients with lung adenocarcinoma who underwent surgical resection in Taipei Veterans General Hospital were included in this study.
- > Immunohistochemical stain for p53 was performed on tissue microarrays constructed with one 3-mm cores of tumor tissue for each case.
- > Correlations between p53 overexpression with patient characteristics, histologic subtype, EGFR mutation, ALK rearrangement were analyzed.

Results

- (1) p53 overexpression was associated with histologic subtype
 - > There were more lepidic predominant and papillary predominant tumors in p53-Low group (lepidic: 25.7%, papillary: 22.1%) than in p53-High group (lepidic: 5.3%, papillary: 7.4%).
 - > On the contrary, acinar, micropapillary and solid predominant tumors were more frequent in p53-High group (acinar: 47.9%, micropapillary: 17.0%, solid: 22.3%) than p53-Low group (acinar: 34.5%, micropapillary: 5.3%, solid: 12.4%).
- (2) Micropapillary histology was associated with EGFR mutation
 - > Micropapillary predominant tumors were more prevalent in EGFR-mutated tumors than EGFR-WT tumors (14.0% vs. 3.8%)
 - > Solid predominant tumors were more prevalent in EGFR-WT tumors than EGFR-mutated tumors (25.6% vs. 12.0%)

Conclusion

- > Micropapillary predominant adenocarcinomas tend to show p53 protein overexpression, and more commonly harbor EGFR mutation than other histologic subtypes.

Table 1. Clinicopathologic features of patients stratified by p53 status

| | Total | p53-Low | p53-High | p53-Low vs. p53-High |
|---------------------------|------------|-----------|-----------|----------------------|
| | No. (%) | No. (%) | No. (%) | (P value) |
| Number | 207 (100) | 113 (100) | 94 (100) | |
| Age(y) | 65.4±10.9 | 66.0±11.1 | 64.7±10.6 | P = 0.38 |
| Median | 67 | 68 | 65.5 | |
| Range | 36-88 | 36-83 | 41-88 | |
| Sex | | | | |
| Female | 88 (42.5) | 47 (41.6) | 41 (43.6) | P = 0.77 |
| Male | 119 (57.5) | 66 (58.4) | 53 (56.4) | |
| Smoking | | | | |
| Never | 94 (55.3) | 52 (61.2) | 42 (71.2) | P = 0.22 |
| Smoker | 50 (34.7) | 33 (38.8) | 17 (28.8) | |
| Stage | | | | |
| I | 120 (58.8) | 71 (63.4) | 49 (53.3) | P = 0.14 |
| II-III-IV | 84 (41.2) | 41 (36.6) | 43 (46.7) | |
| Histologic subtype | | | | |
| Lepidic | 34 (16.4) | 29 (25.7) | 5 (5.3) | P < 0.001 |
| Acinar | 84 (40.6) | 39 (34.5) | 45 (47.9) | |
| Papillary | 32 (15.5) | 25 (22.1) | 7 (7.4) | |
| Micropapillary | 22 (10.6) | 6 (5.3) | 16 (17.0) | |
| Solid | 35 (16.9) | 14 (12.4) | 21 (22.3) | |
| EGFR | | | | |
| Wild type | 78 (43.8) | 43 (43.4) | 35 (44.3) | P = 0.91 |
| Mutated | 100 (56.2) | 56 (56.6) | 44 (55.7) | |
| ALK fusion | | | | |
| Negative | 169 (94.9) | 93 (93.9) | 76 (96.2) | P = 0.49 |
| Positive | 9 (5.1) | 6 (6.1) | 3 (3.8) | |

Table 2. Clinicopathologic features of patients stratified by EGFR mutation status

| | Total | EGFR-WT | EGFR-mutated | EGFR-WT vs. EGFR-mutated |
|---------------------------|------------|-----------|--------------|--------------------------|
| | No. (%) | No. (%) | No. (%) | (P value) |
| Number | 178 (100) | 78 (100) | 100 (100) | |
| Age(y) | 65.8±10.5 | 67.5±10.4 | 64.5±10.5 | P = 0.055 |
| Median | 68 | 71 | 65 | |
| Range | 36-88 | 36-88 | 41-82 | |
| Sex | | | | |
| Female | 75 (42.1) | 23 (29.5) | 52 (52.0) | P = 0.003 |
| Male | 103 (57.9) | 55 (70.5) | 48 (48.0) | |
| Smoking | | | | |
| Never | 83 (55.4) | 31 (55.4) | 52 (73.2) | P = 0.035 |
| Smoker | 44 (34.6) | 25 (44.6) | 19 (26.8) | |
| Stage | | | | |
| I | 101 (57.1) | 49 (62.8) | 52 (52.5) | P = 0.170 |
| II-III-IV | 76 (42.9) | 29 (37.2) | 47 (47.5) | |
| Histologic subtype | | | | |
| Lepidic | 28 (15.7) | 12 (15.4) | 16 (16.0) | P = 0.030 |
| Acinar | 72 (40.4) | 28 (35.9) | 44 (44.0) | |
| Papillary | 29 (16.3) | 15 (19.2) | 14 (14.0) | |
| Micropapillary | 17 (9.6) | 3 (3.8) | 14 (14.0) | |
| Solid | 32 (18.0) | 20 (25.6) | 12 (12.0) | |

*Contact e-mail address for Yi-Chen Yeh: yyeh12@vghtpe.gov.tw