

· 专家共识 ·

非小细胞肺癌 BRAF V600E 突变免疫组织化学检测中国专家共识

中国抗癌协会肿瘤病理专业委员会肺癌协作组, 分子病理协作组

关键词: 非小细胞肺癌; BRAF V600E; 靶向治疗; 免疫组织化学

中图分类号: R 734.2 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-7399(2024)10-1021-06

doi: 10.13315/j.cnki.cjcep.2024.10.004

我国肺癌的发病率和病死率均位居恶性肿瘤的首位^[1], 其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占85%^[2]。BRAF 是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)/细胞外信号调节激酶(extracellular-signal regulated kinases, ERK)信号通路的关键调节因子^[3]。NSCLC 中 BRAF 基因突变率为 1.5%~5.5%, 其中以 BRAF V600E 突变(I 类突变)为主, 占有所有 BRAF 基因突变的 30%~50%^[3-5]。BRAF 突变 NSCLC 患者预后不良, 且常规的化疗或免疫治疗临床获益有限^[6]。国内外临床研究显示: BRAF 抑制剂(达拉非尼)与丝裂原活化细胞外信号调节激酶(mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase, MEK)抑制剂(曲美替尼)联用, 在初治和经治的 BRAF V600E 突变的晚期 NSCLC 患者中均显示良好的疗效及生存获益^[7-8]。基于此, 该联合疗法已获得中国、美国、欧洲、日本等多个国家和地区的批准, 用于治疗 BRAF V600E 突变的转移性 NSCLC, 并纳入国内外权威指南推荐。

精准靶向治疗依赖 BRAF 基因突变状态的精准检测。目前, 推荐用于 BRAF 基因突变检测的方法包括 RT-PCR、Sanger 测序和二代测序(next-generation sequencing, NGS)。然而, RT-PCR 和 NGS 等分子检测平台在我国存在普及率低、检测费用高、检测周期长等检测困境, 一定程度上限制了其在 BRAF 基因突变检测中的广泛应用。

免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)可以在蛋白水平检测 BRAF V600E 基因突变状态, 相比于 RT-PCR 和 NGS 等分子检测, IHC 具有平台普及率高、检测费用低、检测难度低、检测周期短等优势, 且国内外多项研究结果显示, 使用 IHC(VE1 单克隆抗体)检测 BRAF V600E 突变与 RT-PCR/NGS 等分子检测对比, 其灵敏度、特异性和一致性均较高^[9-14], 因此目前多瘤种指南、专家共识都推荐 IHC 可作为筛选 BRAF 靶向治疗潜在获益人群的补充筛查手段^[15]。

虽然研究表明 BRAF IHC 检测具有较好的灵敏度和特异性, 但在临床实践中开展 BRAF IHC 检测仍存在较多问题, 如试剂选择、染色条件及结果判读等。针对上述问题, 本共识编写专家委员会结合文献进展、国内多中心研究结果、

专家实践经验及委员会成员讨论意见, 最终形成此共识, 以期临床开展 BRAF IHC 检测提供一定的实践指导, 进而帮助临床筛选出更多 BRAF 靶向治疗潜在获益 NSCLC 患者。

1 BRAF 基因突变检测的临床意义

1.1 分子检测作为伴随诊断筛选 BRAF 靶向治疗潜在获益人群

全球注册研究结果显示, 达拉非尼联合曲美替尼一线治疗晚期 BRAF V600E 突变阳性 NSCLC 患者的客观缓解率(overall response rate, ORR)为 64%, 中位无进展生存期(progression-free survival, PFS)为 14.6 个月, 中位总生存期(overall survival, OS)为 24.6 个月^[8]; 二线及后线治疗研究者评估的 ORR 为 68.4%, 中位 PFS 为 10.2 个月, 中位 OS 为 18.2 个月; 5 年随访数据显示: 一线治疗组的 4 年和 5 年生存率分别为 34% 和 22%, 后线治疗组的 4 年和 5 年生存率分别为 26% 和 19%^[16]。基于此研究数据, FDA 批准达拉非尼联合曲美替尼用于治疗 BRAF V600E 突变的转移性 NSCLC, 并批准 FoundationOne CDx 和 Oncomine Dx Target Test 为伴随诊断。中国注册研究中, 达拉非尼联合曲美替尼全线治疗 BRAF V600E 突变阳性 NSCLC 患者的 ORR 为 75%, 中位 PFS 和中位 OS 尚未达到^[17]; 真实世界数据比较达拉非尼联合曲美替尼、化疗及免疫检查点抑制剂一线治疗 BRAF 突变晚期 NSCLC 患者, 达拉非尼联合曲美替尼治疗组的中位 PFS 为 25 个月, 12 个月的 PFS 率为 67%, 24 个月的 PFS 率为 52%^[18]。NMPA 批准达拉非尼联合曲美替尼用于治疗 BRAF V600E 突变的转移性 NSCLC, 未同步批准 BRAF 基因突变伴随诊断产品, 但已有多个包含 BRAF 基因的 NGS 或 RT-PCR 检测产品获得 NMPA 批准。

1.2 IHC 检测可作为补充筛查手段协助筛选 BRAF 靶向治疗潜在获益人群

IHC 是病理诊断常规检测之一, 具有平台普及率高、检测周期短、成本低等优势。目前, 国内外多项研究结果显示, IHC(VE1 单克隆抗体)检测 BRAF V600E 突变与分子检测一致性高^[9-11, 14, 17, 19]。因此, NCCN 皮肤黑色素瘤指南(2023)表示 IHC(VE1 单克隆抗体)可用于大规模初筛以确定 BRAF 突变状态; NCCN 结肠癌指南(2022)指出, IHC 可作为 BRAF V600E 突变检测的可选项用于药物治疗指导; NCCN NSCLC 指南(2023)指出, IHC 检测 BRAF V600E 已有一些研究证据, 但开展前需要经过广泛的实验室验证; 《中国晚期非小细胞肺癌 BRAF 突变诊疗专家共识》指出 IHC 可作为 BRAF 突变检测的补充筛查方法^[15]。

共识 1: 分子检测作为伴随诊断可指导 BRAF V600E 突

变转移性 NSCLC 的靶向治疗方案选择。IHC 检测可作为补充筛查手段协助筛选 BRAF 靶向治疗潜在获益人群。

2 NSCLC BRAF IHC 检测的适用人群

2.1 晚期 NSCLC 患者

BRAF 基因突变主要发生于肺腺癌患者,肺鳞状细胞癌患者也可出现 BRAF 及其他驱动基因突变,患者可能从相应的靶向治疗中获益,目前《非小细胞肺癌 NCCN 肿瘤临床实践指南 2023》^[20]《中国临床肿瘤学会 (CSCO) 非小细胞肺癌诊疗指南 2023》^[21]及《中国晚期非小细胞肺癌 BRAF 突变诊疗专家共识》^[19]中均推荐诊断为晚期 NSCLC 的患者均行 BRAF 基因检测。对于不可切除或晚期 NSCLC 病例,活检组织或细胞学蜡块样本可能是唯一可用于分子检测的样本类型,对于有多基因检测需求的病例建议优先选择多基因 RT-PCR 联检或 NGS;法国一项单中心研究表明,当组织切片中的肿瘤细胞含量有限时,使用 BRAF IHC 检测的灵敏度优于 PCR^[12],因此,对于分子检测受限或肿瘤细胞含量不足以开展 RT-PCR 或 NGS 检测的病例,建议使用 IHC 补充筛查 BRAF V600E 突变状态。此外,如有 PD-L1、ALK 等其他 IHC 检测需求也可同步进行 BRAF IHC 检测;为避免样本浪费同时节约检测时间,建议优化活检样本切片流程,一次性切取能够满足诊断及分子检测需求的白片量。

共识 2:推荐所有诊断为晚期 NSCLC (包含腺癌和鳞状细胞癌) 的患者进行 BRAF 基因检测,优先推荐多基因 RT-PCR 联检或 NGS 检测,对于分子检测受限或肿瘤细胞含量不足以开展 RT-PCR 或 NGS 检测的病例建议使用 IHC 补充筛查 BRAF V600E 突变状态,如有其他 IHC 检测需求也可同步进行 BRAF IHC 检测(图 1)。

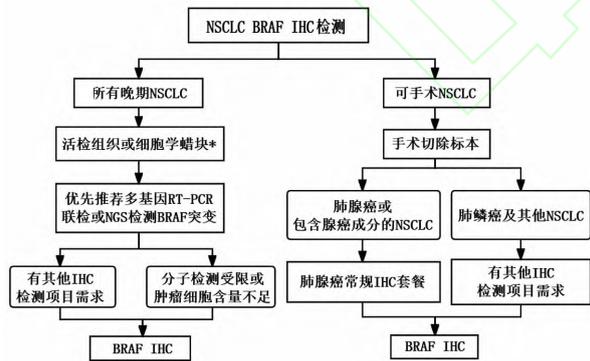


图1 NSCLC BRAF IHC 检测的适用人群和样本类型: * 组织学样本不可获得情况下可尝试细胞学蜡块样本,但使用细胞学蜡块样本进行 BRAF IHC 检测尚缺乏充足的验证数据;NSCLC. 非小细胞肺癌

2.2 可手术的 NSCLC 患者

由于 BRAF V600E 突变与患者预后不良相关,建议手术切除后组织病理确诊为肺腺癌(包含含腺癌成分)的 NSCLC 患者均进行 BRAF IHC 检测,并推荐将 BRAF IHC 加入肺腺癌 IHC 常规套餐,肺鳞状细胞癌及其他 NSCLC 在同时有其他 IHC 检测项目需求时可考虑加做 BRAF IHC 检测。

共识 3:对于手术切除后组织病理确诊为肺腺癌(包括

含腺癌成分)的 NSCLC 病例推荐将 BRAF IHC 加入肺腺癌 IHC 套餐中进行常规检测,肺鳞状细胞癌及其他 NSCLC 病例在同时有其他 IHC 检测项目需求时可考虑加做 BRAF IHC 检测(图 1)。

3 NSCLC BRAF IHC 检测适用的标本类型

临床实践中 BRAF IHC 检测的样本类型包括组织学样本和细胞学蜡块样本。目前,国内外关于 BRAF IHC 检测与分子检测一致性研究大多使用组织学样本(包括活检样本及手术切除样本),结果显示 BRAF IHC (VE1 单克隆抗体)检测与分子检测一致性高,灵敏度为 90.5% ~ 100.0%,特异性为 95.2% ~ 100.0%^[9-14];仅有个别研究使用细胞学蜡块样本:一项研究针对 201 例初诊为 NSCLC 病例的恶性胸腔积液细胞学蜡块样本进行 BRAF IHC (VE1 单克隆抗体)检测,其中 171 例同时进行了 NGS 检测 (NGS 检测 BRAF V600E 阳性病例仅有 7 例),与 NGS 检测结果相比,BRAF IHC 检测的灵敏度、特异性和一致性均为 100%^[14]。但由于针对细胞学蜡块样本进行 BRAF IHC 一致性的研究有限,且现行研究纳入的阳性病例数极少,使用细胞学蜡块样本进行 BRAF IHC 检测的可靠性尚有待开展大样本研究进一步验证。

共识 4:推荐首选组织学样本(活检样本和手术切除样本)进行 BRAF IHC 检测,组织学样本不可获得情况下可尝试细胞学蜡块样本,但使用细胞学蜡块样本进行 BRAF IHC 检测尚缺乏充足的验证数据,在病理报告中需备注说明。

4 BRAF IHC 检测的试剂和平台

4.1 检测试剂

目前国内外尚无 BRAF IHC 伴随诊断抗体获批,已备案抗体中仅 1 个 VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) 获得了 NMPA 医疗器械备案 (I 类);另外有超过 40 个抗体完成了省级备案。目前国内外已经发表的一致性研究中,BRAF IHC 检测主要使用的是 VE1 抗体。针对不同抗体之间的比较目前尚缺乏相关数据。

4.2 检测平台

IHC 检测自动化平台包括 VENTANA BenchMark (ULTRA/GX/ULTRA PLUS)、Dako Autotimer Link48、Leica Bond III/Max 平台。BRAF IHC 检测采用 VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) 抗体联合 OptiView DAB IHC Detection Kit,临床实践中主要使用 VENTANA BenchMark ULTRA 平台检测。

共识 5:推荐使用 VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) 抗体联合 OptiView DAB IHC Detection Kit 进行 BRAF IHC 检测,检测平台为 VENTANA BenchMark 平台。选择其他抗体及检测平台需进一步的研究数据支持。

5 NSCLC BRAF IHC 检测的判读标准

关于 NSCLC BRAF IHC 的判读标准,各研究中 VE1 抗体染色阳性定位均为肿瘤细胞胞质颗粒状着色,但不同研究判读标准中对着色强度和阳性细胞占比的定义有所不同。

5.1 限定阳性细胞占比和着色强度 Hofman 等^[12]的研究中将 VE1 抗体阳性定义为 $\geq 80\%$ 肿瘤细胞胞质强着色 (3+), 任何形式的细胞核着色均为阴性, 结果显示 21 例经 NGS/焦磷酸测序确定为 BRAF V600E 突变的病例 IHC 结果均为阳性。

5.2 限定阳性细胞占比, 不限定阳性着色强度 Sasaki 等^[10]和 Gow 等^[11]将 VE1 抗体阳性结果定义为 $\geq 50\%$ 肿瘤细胞胞质阳性, 不区分着色强度。Sasaki 等^[10]的研究中 5 例分子检测为 BRAF V600E 突变的病例 IHC 结果均为阳性 [2 例表现为 3+ ($\geq 90\%$ 肿瘤细胞胞质阳性), 1 例表现为 2+ ($\geq 90\%$ 肿瘤细胞胞质阳性), 2 例表现为 1+ ($\geq 50\%$ 肿瘤细胞胞质阳性)]; Gow 等^[11]的研究中 29 例 RT-PCR/Sanger 检测为 BRAF V600E 突变的病例中 28 例 IHC 结果判定为阳性, 1 例 (1+) 阳性肿瘤细胞约 10% IHC 结果判读为阴性导致假阴性结果。

5.3 二元判读标准 Garcia 等^[14]、Ilie 等^[9]和 Yuan 等^[22]研究将 VE1 抗体阳性结果定义为肿瘤细胞胞质弥漫颗粒状着色。其中 Garcia 等^[14]在此基础上另将高背景着色、弱和 (或) 灶状胞质着色定义为不确定结果, 结果显示 171 例中存在 6 例不确定结果, 其中 2 例分子检测确定为存在 BRAF V600E 突变, 4 例 BRAF V600E 突变阴性; 2 例分子检测阳性病例 IHC 结果均为胞质弱着色。Yuan 等^[22]采用二元判读标准 (不限定阳性细胞占比和阳性着色强度), 对比“ $\geq 80\%$ 强阳性”及“ $\geq 50\%$ 阳性”两种阳性判读标准, 使用二元判读标准判读准确性更高, 灵敏度和特异性均为 100% (406 例手术切除样本), AUC 值为 1.000 (后两种标准灵敏度分别为 42.4% 和 92.4%; AUC 值分别为 0.712 和 0.962)。

根据上述多项研究结果可见 NSCLC 中使用 VE1 抗体检测的 BRAF V600E 突变病例多为胞质弥漫颗粒状着色, 弱至强着色均可出现, 少数病例尽管着色强度弱或呈局部区域着色, 只要是特异性着色均应视为阳性结果; 对阳性肿瘤细胞占比或者着色强度的限制在一定程度上会导致假阴性结果的存在。因此, 结合国内多中心研究及临床实践, 推荐使用二元法对 BRAF IHC (VE1 单克隆抗体) 检测结果进行评估, 阳性结果定义为: 肿瘤细胞质特异性弥漫颗粒状着色 (图 2); 阴性结果定义为肿瘤细胞胞质无着色、非特异性着色或其他定位不当的着色 (图 3)。

共识 6: 推荐 NSCLC 采用 VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) 抗体进行 BRAF IHC 检测, 结果采用二元法 (阳性/阴性) 判读; 阳性标准: 肿瘤细胞胞质特异性弥漫颗粒状着色, 无论着色强度和 (或) 阳性占比; 肿瘤细胞胞质无着色、背景非特异性着色及任何定位不当 (细胞核阳性或细胞核质均阳性以及黏液着色) 均为阴性结果。

6 IHC 检测 BRAF V600E 突变与分子检测的一致性

6.1 NSCLC 中 BRAF IHC 检测的灵敏度 NSCLC 中 BRAF IHC 检测的灵敏度较高, 文献报道的灵敏度范围为 90.5% ~ 100.0%^[9-14]。Ilie 等^[9]研究结果显示 BRAF IHC (VE1 单克隆抗体) 与 NGS 比较的灵敏度为 90.5% (19/21)。Seto 等^[13]研究结果显示 BRAF IHC (VE1 单克隆抗体) 与 RT-PCR/NGS 比较的灵敏度为 92.9% (13/14)。Gow 等^[11]研究结果显示 BRAF IHC (VE1 单克隆抗体) 与 RT-PCR/Sanger 比较的灵敏度为 96.6% (28/29), 29 例 RT-PCR/Sanger 检测阳性病例, IHC 结果显示 1 例为阴性, 该例

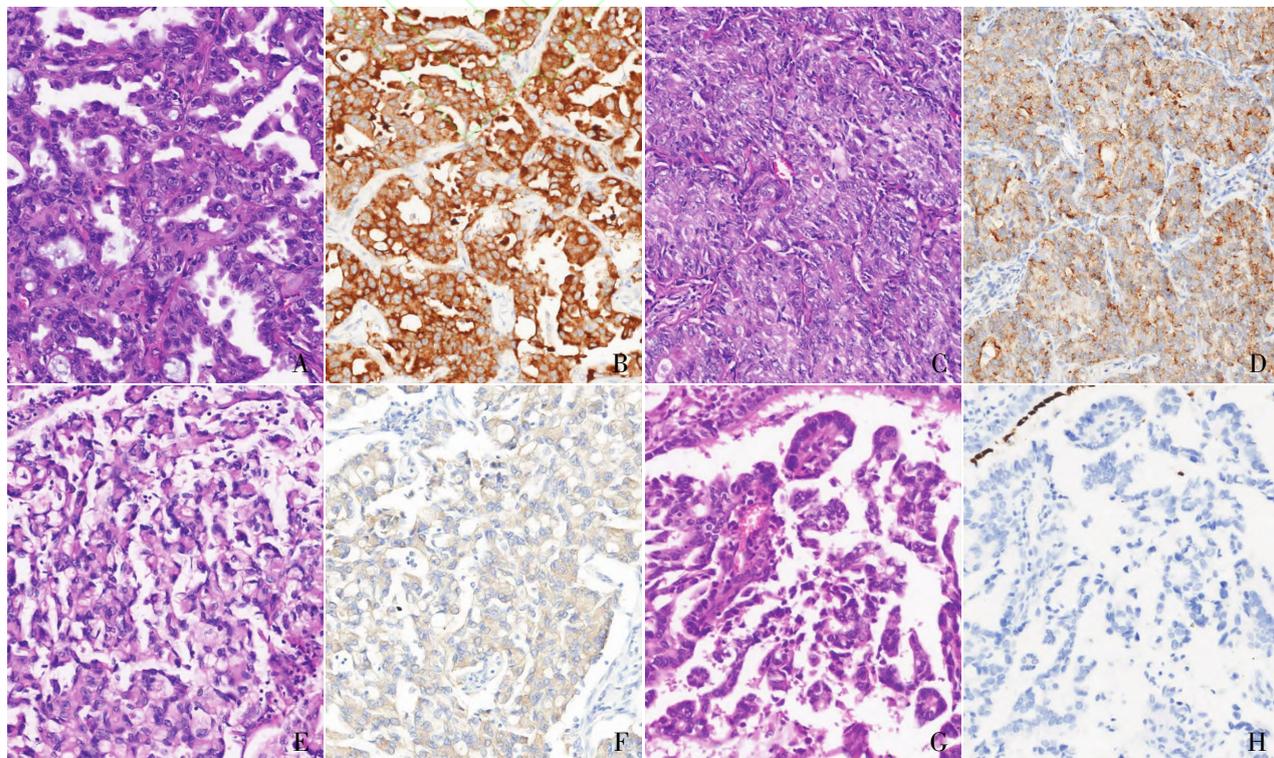


图 2 BRAF V600E (VE1) 阳性和阴性图片: A ~ F. 阳性示例, 着色强度由强至弱; G、H. 阴性示例, 含支气管腔缘纤毛作内对照

为气管镜活检样本,呈 10% 肿瘤细胞弱阳性着色,按该研究判读标准判定为阴性,从而导致 IHC 与分子检测结果不一致。国内多中心研究^[22]报道 BRAF IHC (VE1 单克隆抗体)与 RT-PCR/NGS 比较的灵敏度为 97.2% (137/141),141 例 RT-PCR/NGS 检测阳性病例中,IHC 结果显示 4 例为阴性,均为活检样本;手术样本 IHC 和 RT-PCR/NGS 检测一致率达 100%。国内单中心真实世界数据^[23]报道 BRAF IHC (VE1 单克隆抗体)与 RT-PCR/NGS 比较的灵敏度为 93.5% (29/31),特异性为 99.9% (5 800/5 804)。另外 Garcia 等^[14]、Hofman 等^[12]和 Sasaki 等^[10]研究显示 BRAF IHC (VE1 单克隆抗体)与分子检测一致性为 100%。各研究汇总数据参见表 1。

6.2 NSCLC 中 BRAF IHC 检测的特异性 NSCLC 中 BRAF IHC 检测特异性较高,文献报道的特异性范围为 95.2% ~ 100.0%^[9-14]。VE1 抗体特异性识别 BRAF V600E 突变蛋白,对 BRAF 野生型、BRAF 非 V600E 突变及其他

NSCLC 常见驱动突变极少有交叉反应。各研究汇总数据参见表 1。

7 BRAF IHC 检测的质控要点

7.1 内部质控

7.1.1 检测前 IHC 检测 BRAF V600E 前样本处理要求与其他 IHC 检测项目相同,检测样本需经 10% 中性福尔马林及时固定,手术切除标本固定 24 ~ 48 h (不超过 72 h),活检标本和用于制作细胞学蜡块的细胞学组织固定 6 ~ 24 h;白片制作要求为 3 ~ 4 μm 厚的涂胶白片,尽量现切现染,储存时间延长可能导致假阴性结果。

7.1.2 检测中 使用 VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) 抗体联合 OptiView DAB IHC Detection Kit 进行 IHC 检测,检测平台选用 VENTANA BenchMark (ULTRA/GX/ULTRA PLUS),严格遵照商业化试剂盒说明书要求规范化检测。要求设置阳性对照组织、阴性对照组织及阴性试剂对照,其中

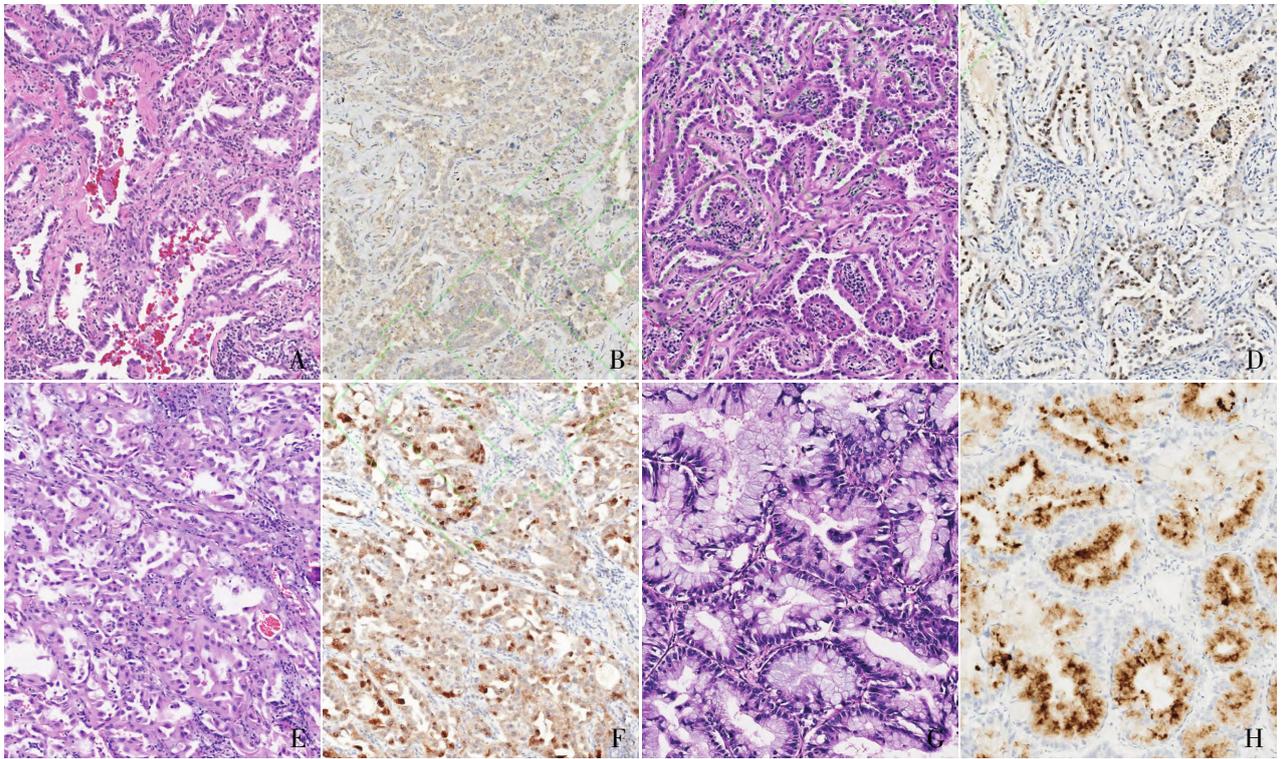


图 3 BRAF V600E(VE1)非特异着色及定位不当着色示例图片:A、B. 背景非特异着色;C、D. 细胞核阳性;E、F. 细胞核质阳性;G、H. 黏液吸附着色

表 1 NSCLC 国内外一致性研究数据和判读标准

文献	样本量	IHC 抗体、检测平台	对比方法	灵敏度	特异性	阳性判读标准
Ilie 等 ^[9]	450	VE1 Ab, VENTANA	NGS	90.5% (19/21)	100% (429/429)	肿瘤细胞胞质弥漫强颗粒状着色
Sasaki 等 ^[10]	26	VE1 Ab, Dako	RT-PCR	100% (5/5)	95.2% (20/21)	≥50% 肿瘤细胞胞质阳性着色
Gow 等 ^[11]	99	VE1 Ab, VENTANA	RT-PCR/Sanger	96.6% (28/29)	98.6% (69/70)	≥50% 肿瘤细胞胞质阳性着色
Hofman 等 ^[12]	618	VE1 Ab, VENTANA	NGS	100% (21/21)	100% (597/597)	≥80% 肿瘤细胞阳性着色,3 +
Seto 等 ^[13]	219	VE1 Ab, VENTANA	NGS	92.9% (13/14)	100% (205/205)	-
Garcia 等 ^[14]	165	VE1 Ab, VENTANA	NGS	100% (7/7)	100% (158/158)	肿瘤细胞胞质弥漫强颗粒状着色
Yuan 等 ^[22]	493	VE1 Ab, VENTANA	RT-PCR/NGS	97.2% (137/141)	100% (352/352)	肿瘤细胞胞质特异性弥漫颗粒状着色
Wang 等 ^[25]	5 835	VE1 Ab, VENTANA	RT-PCR/NGS	93.5% (29/31)	99.9% (5 800/5 804)	-

RT-PCR. 实时荧光定量聚合酶链式反应;NGS. 二代测序;Ab. 抗体

阳性对照组织及阴性对照组织应选用既往检测为 BRAF V600E 阳性及阴性的 NSCLC 蜡块切片制作,建议阳性对照组织及阴性对照组织与待检组织切片捞至同一张玻片上运行。此外,对于肺癌病例,正常支气管腔缘纤毛可作为阳性内对照,其原因是用于生成 VE1 抗体的合成肽与多个轴索动力蛋白重链蛋白(如 DNAH2、DNAH7、DNAH12)的区域之间具有显著的序列同源性,后者为纤毛的主要构成部分^[19];原则上要求每例待检病例均应设置一张阴性试剂对照,使用待检组织连续切片采用阴性试剂质控抗体代替 VE1 一抗进行检测,建立背景可接受的非特异性着色强度基线;临床批量检测的情况下,每一轮检测至少包含一张阴性试剂对照。

7.1.3 检测后 (1) 准确的结果判读:在正式结果评估前,仔细评估阳性对照组织、阴性对照组织及阴性试剂对照是否合格,对照染色合格的情况下,依据二元法判读标准对 IHC 切片进行评估,注意定位不当着色及背景非特异性着色的干扰;(2) 严格的判读培训:既往研究及临床实践过程中突出存在的判读问题表现为对肿瘤细胞胞质弱着色、定位不当着色以及背景非特异性着色的把握,为避免假阴性及假阳性结果的产生,判读医师应在正式参与 BRAF IHC 结果报告前接受严格的判读培训,仔细把握判读要点及可能存在的判读陷阱;(3) 规范化报告:采用二元法判读标准进行结果报告,即阴性或阳性,建议同时对对照组织染色情况进行报告,如 BRAF V600E(VE1):阳性(对照组织染色良好)。如使用非 VENTANA anti-BRAF V600E(VE1)抗体进行检测,在报告中需备注说明。

7.2 外部质控 实验室应定期参加室内质评活动,确保检测流程的规范性和检测结果的准确性。

共识 7: BRAF IHC 检测应严格遵照商业化试剂盒说明书要求规范化检测,设置阳性对照组织、阴性对照组织及阴性试剂对照。建议阳性对照组织及阴性对照组织与待检组织切片捞至同一张玻片上运行,临床批量检测的情况下,每一轮检测至少包含一张阴性试剂对照。BRAF IHC 检测判读医师应在正式参与 BRAF IHC 结果报告前接受严格的判读培训;规范化报告,建议同时对对照组织染色情况进行报告并注明所使用的抗体。

8 BRAF IHC 检测其他注意事项

8.1 影响 BRAF IHC 检测灵敏度的可能因素

8.1.1 样本处理不当 Ilie 等^[9] 研究中,2 例 NGS 确认阳性的患者 IHC 报告为阴性,2 例均表现为 TTF-1 阴性和 CK7 局灶阳性,提示可能是样本处理不当引起的假阴性。建议实验室严格按照内部质控检测前、中、后要求进行标本处理和检测,确保检测结果的准确性。

8.1.2 同时携带抗体识别区域 BRAF 缺失突变 Seto 等^[13] 的研究中 1 例 NGS 检测为阳性的病例 IHC 检测结果显示阴性,进一步分析发现该例同时携带 BRAF V600E 和 K601_W604 缺失突变,VE1 抗体识别多肽序列为 596-606 GLATEKSRWSG, BRAF K601_W604 缺失突变会导致 VE1 抗

体无法识别突变蛋白从而导致假阴性。这种共突变的情况较为罕见,在临床实践中遇到类似病例需综合分子检测结果和免疫组化结果进行结果解释。

8.1.3 BRAF V600E 突变丰度较低 Yuan 等^[22] 的研究中 141 例 RT-PCR/NGS 检测阳性病例中,IHC 检测 4 例为阴性:其中 2 例 NGS 检测结果显示 BRAF V600E 突变丰度较低,分别为 0.41% 和 3.20%,需要使用灵敏度更高的方法确认突变是否存在;此外,较低的突变丰度可能提示携带 BRAF V600E 突变的肿瘤细胞属于亚克隆,此类患者能否从 BRAF 靶向治疗中获益尚缺乏研究数据,建议综合临床治疗信息审慎对待,必要时组织跨学科会诊讨论。

8.1.4 阳性肿瘤细胞占比较低 如前文判读标准部分所述,BRAF IHC 阳性判读标准不区分阳性细胞占比,满足肿瘤细胞胞质特异性弥漫颗粒状着色的均应判读为阳性。

8.2 影响 BRAF IHC 检测特异性的可能因素

8.2.1 目前市场可及的 BRAF IHC 抗体仅能特异性识别 V600E 例如 VE1 抗体,识别的多肽序列是 596-606 GLATEKSRWSG。Seto 等^[13] 研究中针对 BRAF 野生型和 BRAF 非 V600E 突变,IHC(VE1)与 RT-PCR/NGS 比较特异性为 100.0%(205/205,其中 BRAF 野生型 180 例,BRAF 非 V600E 突变 25 例)。

8.2.2 IHC(VE1)与 NSCLC 常见驱动基因突变极少存在交叉反应 Gow 等^[11] 研究中 52 例携带 NSCLC 常见驱动基因突变样本(14 例 EGFR 突变,10 例 ALK 融合,9 例 KRAS 突变,5 例 ROS1 融合,5 例 MET 14 外显子跳跃突变,5 例 HER2 插入突变和 4 例 RET 融合)VE1 特异性良好,仅 1 例 ALK 融合样本 IHC 显示为中等强度的细胞核质着色,为定位不当着色,按本共识判读标准应为 IHC 阴性。

8.2.3 BRAF IHC 检测与分子检测结果不一致处理建议 IHC 检测结果与分子检测结果不一致时,通常情况下以分子检测结果为准,但也需结合具体情况具体分析。Hofman 等^[12] 的研究中,使用 IHC 前瞻性检测 699 例 NSCLC 样本,检出 24 例 BRAF V600E 阳性病例,使用 PCR 法进行验证,结果显示 20 例阳性,4 例阴性。进一步分析发现 4 例 PCR 检测阴性样本肿瘤细胞含量均 < 5%,此时 PCR 的灵敏度较低可能会导致分子检测结果呈现假阴性,因此,这种情况下建议使用灵敏度更高的分子检测方法,如数字 PCR 进行验证;或在评估肿瘤含量 < 5% 时优先采用 IHC 检测;必要时可通过重新取样、检测获得准确的检测结果。

参考文献:

- [1] 郑荣寿,陈茹,韩冰峰,等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2024,46(3):221-231.
- [2] Arbour K C, Riely G J. Systemic therapy for locally advanced and metastatic non-small cell lung cancer: a review[J]. *Jama*, 2019, 322(8):764-774.
- [3] König D, Savic Prince S, Rothschild S I. Targeted therapy in advanced and metastatic non-small cell lung cancer. An update on treatment of the most important actionable oncogenic driver altera-

- tions[J]. *Cancers (Basel)*, 2021,13(4):804.
- [4] Chevallier M, Borgeaud M, Addeo A, *et al.* Oncogenic driver mutations in non-small cell lung cancer: past, present and future[J]. *World J Clin Oncol*, 2021,12(4):217-237.
- [5] Lim G H T, Balbi K J, Poskitt B, *et al.* Prevalence and breakdown of non-small cell lung cancer BRAF driver mutations in a large UK cohort[J]. *Lung Cancer*, 2022,173:71-74.
- [6] Mazieres J, Drilon A, Lusque A, *et al.* Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations; results from the IMMUNOTARGET registry[J]. *Ann Oncol*, 2019,30(8):1321-1328.
- [7] Planchard D, Kim T M, Mazieres J, *et al.* Dabrafenib in patients with BRAF(V600E)-positive advanced non-small-cell lung cancer: a single-arm, multicentre, open-label, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2016,17(5):642-650.
- [8] Planchard D, Smit E F, Groen H J M, *et al.* Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAF(V600E)-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2017,18(10):1307-1316.
- [9] Ilie M, Long E, Hofman V, *et al.* Diagnostic value of immunohistochemistry for the detection of the BRAF V600E mutation in primary lung adenocarcinoma Caucasian patients[J]. *Ann Oncol*, 2013,24(3):742-748.
- [10] Sasaki H, Shimizu S, Tani Y, *et al.* Usefulness of immunohistochemistry for the detection of the BRAF V600E mutation in Japanese lung adenocarcinoma[J]. *Lung Cancer*, 2013,82(1):51-54.
- [11] Gow C H, Hsieh M S, Lin Y T, *et al.* Validation of Immunohistochemistry for the detection of BRAF V600E-mutated lung adenocarcinomas[J]. *Cancers (Basel)*, 2019,11(6):866.
- [12] Hofman V, Benzaquen J, Heeke S, *et al.* Real-world assessment of the BRAF status in non-squamous cell lung carcinoma using VE1 immunohistochemistry: a single laboratory experience (LPCE, Nice, France)[J]. *Lung Cancer*, 2020,145:58-62.
- [13] Seto K, Haneda M, Masago K, *et al.* Negative reactions of BRAF mutation-specific immunohistochemistry to non-V600E mutations of BRAF[J]. *Pathol Int*, 2020,70(5):253-261.
- [14] Garcia A, Rivera Rolon M D M, Barkoh B, *et al.* Assessment of BRAF V600E (VE1) immunochemistry for the detection of BRAF V600E mutation in non-small cell lung carcinoma cytology specimens[J]. *Cancer Cytopathol*, 2023,131(1):50-57.
- [15] 中国抗癌协会肺癌专业委员会. 中国晚期非小细胞肺癌 BRAF 突变诊疗专家共识[J]. *中华肿瘤杂志*, 2023,45(4):279-290.
- [16] Planchard D, Besse B, Groen H J M, *et al.* Phase 2 study of dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF V600E-mutant metastatic NSCLC: updated 5-year survival rates and genomic analysis[J]. *J Thorac Oncol*, 2022,17(1):103-115.
- [17] Fan Y, Jianying Z, Yuanyuan Z, *et al.* EP08.02-052 safety and efficacy of dabrafenib plus trametinib in chinese patients with BRAF V600E-mutation positive metastatic NSCLC[J]. *J Thorac Oncol*, 2022,17(9):S423.
- [18] Jia B, Zhao J, Jin B, *et al.* 36P Prevalence, clinical characteristics, and treatment outcomes of patients with BRAF-mutated advanced NSCLC in China: a real-world multi-center study[J]. *J Thorac Oncol*, 2023,18(4):S61.
- [19] Jones R T, Abedalthagafi M S, Brahmandam M, *et al.* Cross-reactivity of the BRAF VE1 antibody with epitopes in axonemal dyneins leads to staining of cilia[J]. *Mod Pathol*, 2015,28(4):596-606.
- [20] Ettinger D S, Wood D E, Aisner D L, *et al.* NCCN Guidelines? insights: non-small cell lung cancer, version 2.2023[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2023,21(4):340-350.
- [21] 中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会(CSCO)非小细胞肺癌诊疗指南[M]. 北京:人民卫生出版社, 2023:8.
- [22] Yuan P, Wang L, Gao X, *et al.* EP06.03-21 usefulness of immunohistochemistry for the detection of BRAF V600E in lung cancer: a multicenter retrospective study in China[J]. *J Thorac Oncol*, 2023,18(11):S491-S492.
- [23] Wang Y, Li Y. Clinical pathological and molecular characteristics of non-small cell lung cancer with BRAF mutation (abs#1587)[J]. *Mod Pathol*, 2024,32:S1965-S1967.

本共识编写专家组成员(按单位名称汉语拼音顺序排序):安徽医科大学附属第一医院(樊祥山);北京大学肿瘤医院(王子平、杨欣);北京医院/国家老年医学中心(王征);福建医科大学附属肿瘤医院(陈刚、林根、黄榕芳);复旦大学附属肿瘤医院(樊旻、李媛);广东省人民医院(张庆玲);国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院(王志杰、应建明、袁培);国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院山西医院(段建春、郝彦凤);国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院深圳医院(黄文亭);哈尔滨医科大学附属肿瘤医院(孟宏学);河北医科大学第四医院(丁翠敏、刘月平);湖北省肿瘤医院(岳君秋);湖南省肿瘤医院/中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院(鄔麟);南京医科大学第一附属医院(张智弘);山东大学齐鲁医院(高鹏、李际盛、戚美);上海市胸科医院/上海交通大学医学院附属胸科医院(韩昱晨、李子明);首都医科大学附属北京朝阳医院(路军);四川大学华西医院(田攀文);四川省肿瘤医院(刘洋、侯俊);天津医科大学附属肿瘤医院(孙蕾娜);同济大学附属上海市肺科医院(任胜祥、武春燕);西安交通大学附属第一医院(姚煜、张冠军);新疆医科大学第一附属医院(张巍);浙江大学医学院附属第一医院(滕晓东、周建英);郑州大学第一附属医院(李文才、高献争);郑州大学附属肿瘤医院/河南省肿瘤医院(马杰);中国医科大学附属第一医院(李庆昌、王亮);中南大学湘雅医院(胡成平、周建华);中山大学肿瘤防治中心(方文峰)

本版共识执笔人:袁培,李媛,王亮

本版共识通讯作者:应建明(E-mail: jmying@cicams.ac.cn)