

Clinicopathologic Implications of ALK Gene Copy Number Gain in Non-small Cell Lung Cancer

Purpose: The anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene is a potential molecular target in non-small cell lung carcinoma (NSCLC). The clinicopathologic implication of a change in the ALK gene copy number (GCN) is unclear. **Materials and Methods:** A total of 434 primary NSCLC samples were analyzed by fluorescence in situ hybridization (FISH) for ALK GCN. **Results:** Ninety-six cases (22.1%) showed ALK GCN gain with amplification in 16 (3.7%) cases. The cases with ALK GCN gain consisted of 47 adenocarcinomas (49.0%), 41 squamous cell carcinomas (42.7%), 5 adenosquamous carcinomas (5.2%) and 3 other NSCLCs (3.1%). ALK gene amplification was identified in 7 adenocarcinomas (43.7%) and 9 squamous cell carcinomas (56.3%). There was no significant difference between ALK GCN gain/amplification and histologic subtypes. Univariate survival analysis revealed that patients with ALK GCN gain/amplification showed shorter progression-free survival durations and decreased overall survival rates ($p < 0.001$). However, multivariate analysis proved that ALK GCN gain/amplification is not an independent prognostic factor for progression-free survival or overall survival. **Conclusion:** ALK GCN gain is frequently identified in NSCLCs and the incidence is similar among histologic subtypes. Although ALK GCN gain/amplification is not an independent prognostic marker, it is associated with tumor progression in NSCLC. (J Lung Cancer 2011;10(2):87-93)

Key Words: ALK, Copy number gain, Gene amplification, Non-small cell lung carcinoma

Seol-Bong Yoo, M.D.^{1,2}
Hyojin Kim, M.D.¹
Xianhua Xu, M.D., Ph.D.^{1,2}
Ping-Li Sun, M.D.^{2,3}
Yan Jin, M.D.²
Jin Ho Paik, M.D., Ph.D.²,
Sanghoon Jheon, M.D., Ph.D.³,
Choon-Taek Lee, M.D., Ph.D.⁴ and
Jin-Haeng Chung, M.D., Ph.D.^{1,2}

¹Department of Pathology, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Departments of ²Pathology, ³Thoracic and Cardiovascular Surgery, and ⁴Internal Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea

Received: November 10, 2011
Revised: November 21, 2011
Accepted: November 29, 2011

Address for correspondence
Jin-Haeng Chung, M.D., Ph.D.
Department of Pathology, Seoul National University Bundang Hospital, 300, Gumi-dong, Bundang-gu, Seongnam 463-707, Korea
Tel: 82-31-787-7713
Fax: 82-31-787-4012
E-mail: chungjh@snu.ac.kr

This work was supported by the Korea Healthcare Technology R&D project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (A111405) and the Basic Science Research Program of the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (2010-0022451).

서론

폐암은 전세계적으로 주요한 암 사망 원인이며 침습성과 전이성이 높은 악성 종양으로, 한국뿐 아니라 전세계적으로 사망률이 매우 높으며, 5년 생존율도 15% 미만이다(1). 또한 전체 폐암종의 75%를 차지하는 비소세포폐암(non-

small cell lung cancer, NSCLC)은 조기에 근치적 절제를 하여도 재발률이 높고, 진단 당시 이미 진행된 상태로 전이를 동반하는 경우가 흔하다. 수술이 불가능한 진행된 병기의 비소세포폐암은 platinum 제제에 기반한 항암치료를 시행하는 것이 통상적 치료방법이지만, 다른 종양에 비해서 예후가 좋지 않으며 동일 병기의 환자에게 동일한 치료를 하여도 서로 다른 임상 경과를 보이는 경우가 많다(2,3). 최근

분자생물학기법이 발전하면서, 발암관련 특히 예후예측이나 화학요법 및 방사선치료 여부를 결정하는데 도움이 될 만한 분자생물학적 인자들에 관한 많은 연구가 진행 중이다. 특히 종양유전자의 변이를 동반하는 폐암환자가 새로운 표적치료제의 대상이 되고 있으며, 조직학적으로는 비흡연자에서 흔히 발생하는 샘암종에서 다양한 유전자변이가 발암과정에 중요한 역할을 하는 것이 알려졌다(4). 대표적인 예가 anaplastic lymphoma kinase (ALK) 유전자의 전위를 갖는 샘암종인데, 최근 소분자 타이로신 인산화효소 억제제의 하나인 크리조티닙(PF-02341066)으로 치료하였을 때 종양의 크기가 줄어들고 현저한 치료효과를 보여 큰 주목을 끌고 있다(5,6). ALK는 수용체 타이로신 인산화효소로써, 역형성 대체로 림프종에서 5번 염색체에 위치한 nucleophosmin 유전자위치로 전위를 하여 [t(2;5)(p23;q35)] nucleophosmin-ALK 융합단백질을 형성함으로써 발암에 관여하는 것이 처음으로 밝혀졌다(4). 현재까지 림프종 이외에 신경모세포암, 염증성 근섬유모세포종, 비소세포폐암에서 ALK 유전자 전위, 돌연 변이 등이 밝혀져 있으나(7,8), ALK 유전자 개체 수 증가의 빈도나 임상적, 병리학적 특성은 잘 알려져 있지 않다. 폐암에서는 주로 샘암종, 비흡연자, 젊은 연령층에서 ALK 유전자 전위가 호발하는 것으로 알려져 있으며 기존에 샘암종의 강력한 발암유전자로 알려진 EGFR이나 KRAS 유전자변이를 동반하지 않는 것이 특징이다(9-11). EGFR 유전자의 경우 변이 이외에도 유전자증폭, 유전자 개체 수 증가 등이 표적치료제 반응물과 연관이 있으며, EGFR 유전자변이가 있는 종양에서 유전자 개체 수 증가를 흔히 동반함이 알려져 있으나, ALK 유전자 개체 수 증가의 임상적 병리학적 의의에 대해서는 거의 알려져 있지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 원발성 비소세포폐암에서 ALK 유전자 개체 수 증가 및 증폭의 빈도를 조사하고, 조직학적 유형 및 성별, 연령, 흡연력, 생존기간 등 임상적, 병리학적 인자와의 상관관계를 알아보고자 한다.

대상 및 방법

1) 연구 대상

2003년 6월부터 2008년 5월까지 분당서울대병원에서 수술적으로 절제된 비소세포폐암조직 434예를 대상으로 하였다. 조직학적 유형은 샘암종 236예, 편평상피세포암종 166예, 선원평암 12예, 기타 비소세포암종 20예였다. 평균 연령은 64세(범위, 21~84세)였으며, 남자 299명, 여자 135명이었다. 임상병기는 7th TNM 분류에 따라 결정하였다.

2) 형광제자리부합화 검사(fluorescence in situ hybridization, FISH)

FISH는 포르말린 고정 파라핀 포매조직에 ALK break-apart probe kit (Vysis LSI ALK dual-color, break-apart rearrangement probe; Abbott Molecular, Abbott Park, IL, USA)를 이용하여 시행하였다. 각 검사단계를 간략하게 정리하면 다음과 같다. 즉 3 μ M 두께의 조직절편의 파라핀을 제거한 후, 탈수, 함수과정을 거쳤다. 조직절편은 0.01 M citrate buffer에 담근 채로 전자레인지에서 5분간 가열하고 80°C에서 30분간 전처리 시약(Abbott Molecular)에 반응시킨 후 37°C에서 40분간 Protease처리하였다. 그 후 ALK 유전자 양측에 결합하는 ALK break-apart probe kit (Abbott Molecular)를 적용시킨 뒤 커버슬립을 덮고 75°C에서 5분간 변성시킨 다음 37°C에서 16시간 유지하여 부합반응을 시켰다. 또 커버슬립을 제거하고 세척한 후 말렸으며, 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)로 핵막염색을 한 다음 관독할 때까지 슬라이드는 영하 20°C에서 보관하였다. 그리고 결과 관독을 위해 형광현미경 1,000배 시야에서 DAPI/Spectrum Green/Orange에 대한 단 필터와 삼중 필터를 이용해 각 증례당 폐암세포 50~100개에서 형광신호를 세었다(12,13). ALK 유전자 개체 수 변화는 개체 수 증가(copy number gain)와 증폭(amplification)으로 구분하였으며, Salido 등(14)이 보고한 기준을 따랐다. 개체 수 증가는 종양세포의 10% 이상에서 3~5개의 융합시그널을 보이는 경우 개체 수 증가로 진단하였고, 10% 이상의 종양세포에서 6개 이상의 융합시그널이 관찰되는 경우 증폭으로 진단하였다.

3) 결과 판독

검사결과 판독은 다른 검사결과를 모르는 상태에서 두 명의 병리 의사가 각각 판독하였다. 이때 FISH는 적어도 50개의 폐암세포를 관찰하였고, 종양의 불균질성(tumor heterogeneity)이 있다고 판단되면 100개까지 관찰하였다.

두 병리의사의 FISH 판독 결과가 서로 다른 증례에 대해서는 두 사람이 다안현미경(multi-head microscope)을 통해 함께 관찰하면서 합의를 이루었다.

4) 통계분석

이러한 모든 자료의 분석은 SPSS version 18 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하였으며, 형광제자리부합화에 의한 ALK 결과 그리고 종양반응이나 기타 임상병리학적 지표들 사이의 상관관계는 Pearson chi-square test로 검정하였고, 유의 수준은 0.05 이하로 하였다. 또한

Kaplan-Meier분석과 Cox regression model을 이용하여 이들 인자들이 독립적인 예후인자로써 가치가 있는지를 분석하였다.

결 과

1) 성별, 조직학적 차이와 ALK 유전자 개체 수 증가 및 증폭의 관계

본 연구에 포함된 총 434명의 환자들의 특성은 Table 1에 요약하였다. 환자의 연령 분포는 21세에서 84세까지로 평균 64세였으며, 남녀 각각 299, 135명이었고 비흡연자가 159명, 흡연력을 가진 환자가 275명이었다. 또한 전체 환자 중에서 T1, T2가 311명, T3, T4가 122명이었으며, N0는 238명, N1-3는 192명이었다. 병기별로는 I, II기가 274명, III, IV기가 155명이었다. 종양의 조직학적 유형에 따라 분류하면 샘암종 236예, 편평세포암종 166예, 선편평암 12예, 기타 비소세포암종이 20예였다(Table 1).

기술한 총 434예 중 112예(25.8%)에서 ALK 유전자 개체 수 증가(96예, 22.1%) 및 증폭(16예, 3.7%)이 관찰되었고, 322예(74.2%)는 음성이었다(Fig. 1, Table 1). ALK 유전자 개

체 수 증가 및 증폭을 임상병리학적 지표로 살펴봤을 때, 고령의 환자(36.8% vs. 21.4%; $p=0.001$), 종양의 크기가 큰 경우(43.3% vs. 13.4%; $p<0.001$), 림프절 전이가 있는 경우(56.8% vs. 1.3%; $p<0.001$), 높은 병리학적 병기(69.0% vs. 1.8%; $p<0.001$)에서 개체 수 증가 및 증폭이 자주 관찰되었으나 성별, 조직학적 소견, 흡연력 등에서는 차이가 없었다(Table 2).

2) 생존분석과 ALK 유전자 개체 수 증가 및 증폭의 관계

전체 폐암환자들의 중앙 생존기간은 41개월이었는데, 무진행 생존율(Progression free survival, PFS)을 분석해 보았을 때, ALK 개체 수 증가 및 증폭을 보이는 환자의 중앙 생존기간이 개체 수 증가를 보이지 않는 환자에 비해 짧았고, 통계학적으로 의미가 있었다(13개월; 95% confidence interval [CI], 9~17; $p<0.001$) (Fig. 2A). 그 밖에 종양의 크기가 작은 경우($p=0.043$), 병기가 낮은 경우($p<0.001$) 무진행 생존율은 높았으나, 흡연력($p=0.492$), 연령($p=0.322$), 성별($p=0.354$)에서 무진행 생존율의 차이는 보이지 않았다. 또한 전체 생존기간(overall survival, OS)을 분석했을 때, 유전자 개체 수 증가 및 증폭을 보이는 환자의 중앙 생존기간이 짧았

Table 1. Clinicopathologic Characteristics in ALK Gene Status

		Number (%)	ALK gene			
			Wild type	Copy number gain	Amplification	p-value*
Sex	Total	434 (100)	322 (74.2)	96 (22.1)	16 (3.7)	0.865
	Male	299 (68.9)	221 (73.9)	66 (22.1)	12 (4.0)	
	Female	135 (31.1)	101 (74.8)	30 (22.2)	4 (3.0)	
Age, yr	< 64	309 (71.2)	243 (78.6)	61 (19.7)	5 (1.6)	<0.001
	≥ 64	125 (28.8)	79 (63.2)	35 (28.0)	11 (8.8)	
Tumor size, mm	< 34	254 (58.5)	220 (86.6)	32 (12.6)	2 (0.8)	<0.001
	≥ 34	180 (41.5)	102 (56.7)	64 (35.6)	14 (7.8)	
Histology	ADC	236 (54.4)	182 (77.1)	47 (19.9)	7 (3.0)	0.251
	SCC	166 (38.2)	116 (69.9)	41 (24.7)	9 (5.4)	
	ASC	12 (2.8)	7 (58.3)	5 (41.7)	0 (0.0)	
	Others	20 (4.6)	17 (85.0)	3 (15.0)	0 (0.0)	
Smoking status	Non-smoker	159 (36.6)	124 (78.0)	32 (20.1)	3 (1.9)	0.208
	Smoker	275 (63.4)	198 (72.0)	64 (23.3)	13 (4.7)	
T stage	T1, T2	311 (71.7)	230 (74.0)	80 (25.7)	1 (0.3)	<0.001
	T3, T4	122 (28.1)	92 (75.4)	16 (13.1)	14 (11.5)	
	NA	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	
N stage	N0	238 (54.8)	235 (98.7)	1 (0.4)	2 (0.8)	<0.001
	N1-3	192 (44.2)	83 (43.2)	95 (49.5)	14 (7.3)	
	NA	4 (1.0)	4 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
pStage	I, II	274 (63.1)	269 (98.2)	3 (1.1)	2 (0.7)	<0.001
	III, IV	155 (35.7)	48 (31.0)	93 (60.0)	14 (9.0)	
	NA	5 (1.2)	5 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	

*Pearson Chi-Square values.

ADC: adenocarcinoma, SCC: squamous cell carcinoma, ASC: adenosquamous carcinoma, NA: not applicable.

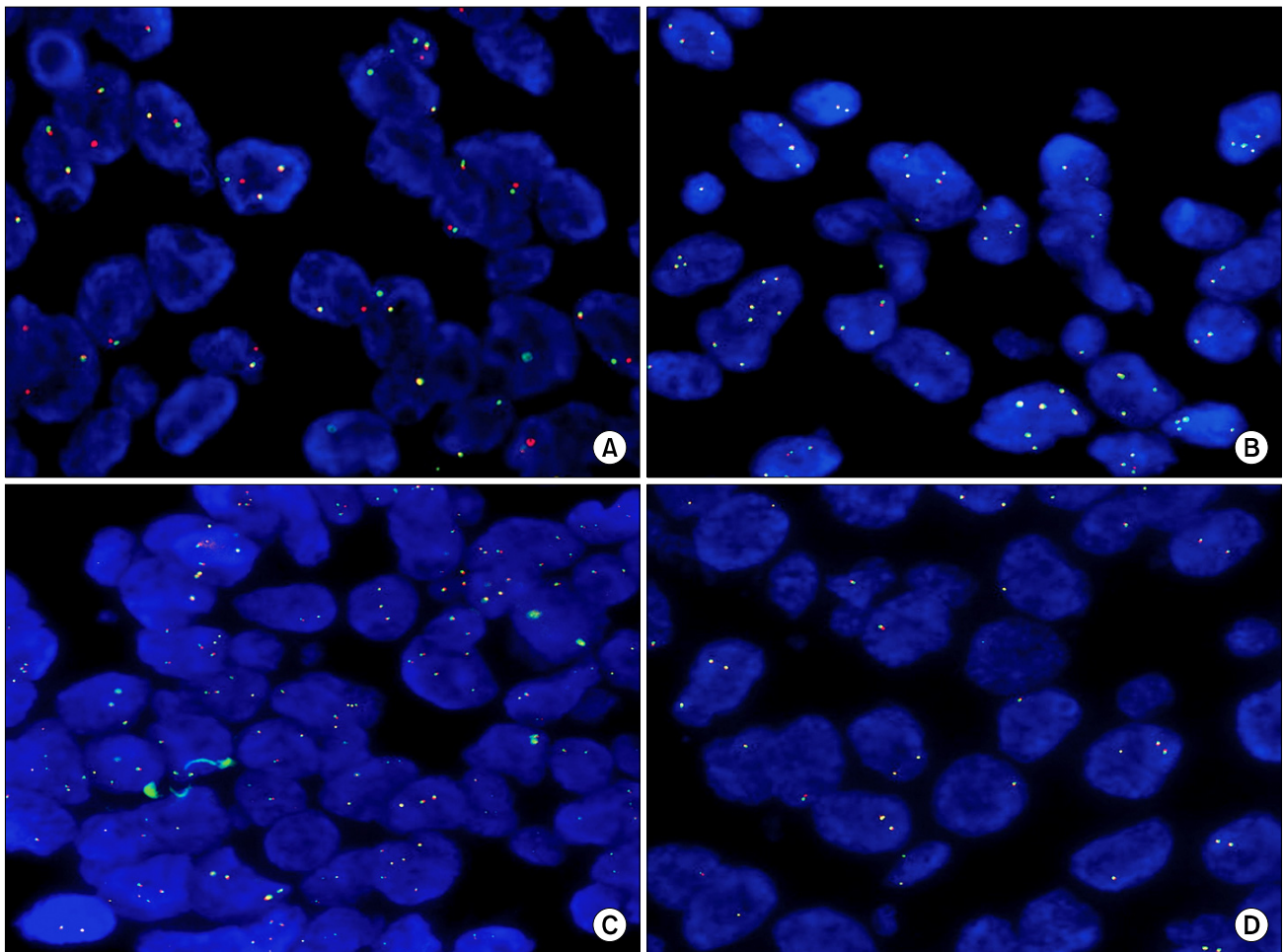


Fig. 1. *ALK* gene status by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) ($\times 1,000$). (A) *ALK* gene rearrangement (break-apart pattern). (B) *ALK* gene copy number gain. (C) *ALK* gene amplification. (D) *ALK* wild type.

다(43개월; 95% CI, 33~53; $p < 0.001$) (Fig. 2B). 종양의 크기가 작은 경우($p=0.018$), 병기가 낮은 경우($p < 0.001$)의 전체 생존율은 높았으나, 흡연력($p=0.402$), 연령($p=0.326$), 성별($p=0.441$)에서 전체생존율의 차이는 보이지 않았다.

단변량분석에서 의미 있는 인자들을 대상으로 Cox regression model의 분석을 실시한 결과, 병리학적 병기(PFS, $p=0.018$; OS, $p < 0.001$)와 종괴 병기(PFS, $p=0.005$; OS, $p=0.005$)가 환자의 생존과 의미 있는 상관관계를 보였으나 종양의 크기(PFS, $p=0.791$; OS, $p=0.781$)와 *ALK* 유전자 개체 수 증가 및 증폭(PFS, $p=0.067$; OS, $p=0.379$)은 유의하지 않았다(Tables 3, 4).

고안 및 결론

폐암에서 *ALK* 유전자 변화는 최근 크리조티닙과 같은 타

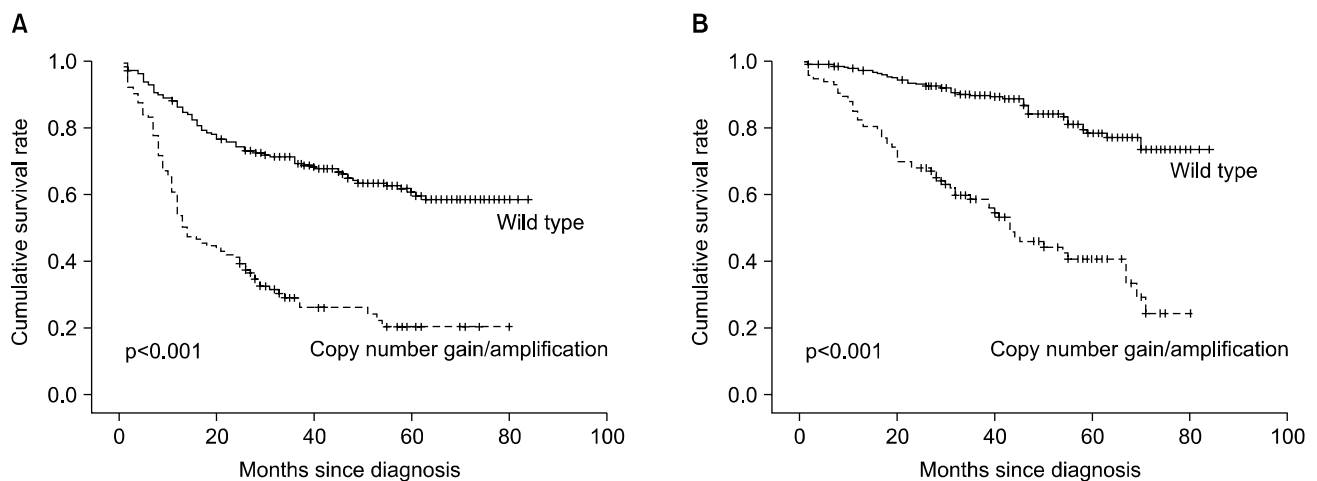
이로신 인산화 효소억제제가 미국식품의약청(The United States Food and Drug Administration, FDA)의 승인을 받아 상용화되면서 큰 주목을 받고 있다. 현재 여러 나라에서 *ALK*를 표적으로 하는 크리조티닙 임상시험이 진행되고 있으며, FISH 검사를 시행하여 15% 이상의 종양세포에서 분리된 시그널을 보이거나 단일 적색 시그널을 보이는 환자를 대상으로 하고 있다. 폐암조직에서 *ALK* 유전자 전위 이외에도 *ALK* 유전자 개체 수 증가 혹은 증폭 등의 소견이 관찰되고 있음에도 불구하고, 이러한 소견이 폐암의 종양진행 과정에서 어떠한 역할을 하는지, *ALK* 억제제에 대한 반응성 여부 등에 대하여 거의 알려져 있지 않다. 따라서, 폐암에서 *ALK* 유전자의 다양한 변화 및 그 의의에 대하여 보다 광범위한 기반연구가 필요하다. 본 연구결과, *ALK* 유전자 개체 수 증가 및 증폭의 변화는 25.8%로 나타나, *ALK* 유전자 전위에 비하여 (4%) 비교적 흔히 비소세포폐암에서 발

Table 2. Clinicopathologic Characteristics in ALK Gene Status

		Number (%)	ALK gene		
			Wild type	Copy number gain/amplification	p-value*
Sex	Total	434 (100)	322 (74.2)	112 (25.8)	0.842
	Male	299 (68.9)	221 (73.9)	78 (26.1)	
	Female	135 (31.1)	101 (74.8)	34 (25.2)	
Age, yr	< 64	309 (71.2)	243 (78.6)	66 (21.4)	0.001
	≥ 64	125 (28.8)	79 (63.2)	46 (36.8)	
Tumor size, mm	< 34	254 (58.5)	220 (86.6)	34 (13.4)	< 0.001
	≥ 34	180 (41.5)	102 (56.7)	78 (43.3)	
Histology	ADC	236 (54.4)	182 (77.1)	54 (22.9)	0.141
	SCC	166 (38.2)	116 (69.9)	50 (30.1)	
	ASC	12 (2.8)	7 (58.3)	5 (41.7)	
Smoking status	Others	20 (4.6)	17 (85.0)	3 (15.0)	0.17
	Non-smoker	159 (36.6)	124 (78.0)	35 (22.0)	
	Smoker	275 (63.4)	198 (72.0)	77 (28.0)	
T stage	T1, T2	311 (71.7)	230 (74.0)	81 (26.0)	0.226
	T3, T4	122 (28.1)	92 (75.4)	30 (24.6)	
	NA	1 (0.2)	0 (0.0)	1 (100.0)	
N stage	N0	238 (54.8)	235 (98.7)	3 (1.3)	< 0.001
	N1-3	192 (44.2)	83 (43.2)	109 (56.8)	
	NA	4 (1.0)	4 (100.0)	0 (0.0)	
pStage	I, II	274 (63.1)	269 (98.2)	5 (1.8)	< 0.001
	III, IV	155 (35.7)	48 (31.0)	107 (69.0)	
	NA	5 (1.2)	5 (100.0)	0 (0.0)	

*Pearson Chi-Square values.

ADC: adenocarcinoma, SCC: squamous cell carcinoma, ASC: adenosquamous carcinoma, NA: not applicable.

**Fig. 2.** ALK gene copy number gain/amplification showed significantly shorter progression-free survival (A) and overall-survival (B).

견되었다(12,13). ALK 유전자 개체 수 증가 및 증폭은 중앙이 진행할수록 자주 나타나는 소견을 보였으며, 조직학적 유형, 성별, 흡연력 등과는 상관관계가 없었다. 전체 폐암환자들의 무진행 생존율을 분석해 보았을 때, ALK 개체 수 증가 및 증폭을 보이는 환자의 중앙 생존기간이 개체 수

증가를 보이지 않는 환자에 비해 짧았고 통계학적으로 의미가 있었으나(13개월; 95% CI, 9~17; $p < 0.001$) (Fig. 2A), 다변량분석에서는 통계적 의미가 없었다. 또한 전체 생존기간을 분석했을 때, 유전자 개체 수 증가 및 증폭을 보이는 환자의 중앙 생존기간이 짧았으나(43개월; 95% CI, 33~53;

Table 3. Multivariate Analysis of Progression-free Survival

		p-value	HR	95% CI
T stage	1~2 vs. 3~4	0.005	2.242	1.283~3.916
pstage	I~II vs. III~IV	0.018	0.528	0.311~0.898
Tumor size, mm	<34 vs. ≥34	0.791	0.954	0.672~1.353
ALK gene	Wild type vs. copy number gain/amplification	0.067	0.598	0.345~1.037

HR: hazard ratio, CI: confidence interval.

Table 4. Multivariate Analysis of Overall Survival

		p-value	HR	95% CI
T stage	1~2 vs. 3~4	0.005	3.624	1.470~8.936
pstage	I~II vs. III~IV	<0.001	0.275	0.134~0.563
Tumor size (mm)	<34 vs. ≥34	0.781	0.94	0.605~1.459
ALK gene	Wild type vs. copy number gain/amplification	0.379	0.726	0.355~1.482

HR: hazard ratio, CI: confidence interval.

$p < 0.001$), 역시 다변량분석에서 통계적 의의는 없었다. 비록 유전자 개체 수 증가 및 증폭의 소견이 다변량 분석에서 의미 있는 예후지표는 아니었으나, *ALK* 유전자 개체 수 변화가 진행된 병기의 폐암에서 더 자주 나타난다는 것은 종양의 진행과 더불어 유전자의 안정성이 낮아지는 것을 시사한다. 현재까지 폐암에서 *ALK* 유전자 개체 수 변화 및 증폭을 조사한 연구는 거의 없으며, 107명의 스페인 폐암환자를 대상으로 한 연구결과가 유일하다(14). Salido 등(14)은 107명의 폐 샘암종을 대상으로 한 연구에서 *ALK* 유전자 개체 수 증가 및 증폭이 비교적 흔히 관찰되는 소견이며(60%), *EGFR* 유전자 개체 수 증가 및 증폭과 연관성을 가진다고 보고하였다. 따라서, *ALK* 유전자 증폭을 보이는 환자의 경우 *ALK* 억제제뿐만 아니라 *EGFR* 억제제에 대한 반응을 조사해 볼 필요가 있다고 제안하였으나, *EGFR* 돌연변이와는 상관성이 없었으므로 설득력이 높지 않아 보인다. 이들의 연구결과는 본 연구의 결과(25.8%)와 부분적으로 일치하는 소견이나 *ALK* 유전자 개체 수 증가가 매우 높은 소견을 보여 연구대상 환자가 서양인이란 점에서 인종간의 차이점이 있는지 의문을 갖게 한다. 또한, *ALK* 유전자 개체 수 증가 및 증폭이 *EGFR* 유전자 개체 수 증가 및 증폭과 어떤 상관관계가 있는지 우리나라 폐암환자의 조직을 이용하여 비교, 분석해 볼 필요가 있다고 생각된다. 결론적으로, 본 연구에서 한국인 비소세포폐암환자의 조직에서 *ALK* 유전자 개체 수 증가 및 증폭은 비교적 흔히 관찰되었으며(25.8%), 고령의 환자(36.8% vs. 21.4%; $p=0.001$), 종양의 크기가 큰 경우(43.3% vs. 13.4%; $p < 0.001$), 림프절 전이가 있는 경우(56.8% vs. 1.3%; $p < 0.001$), 높은 병리학적 병기(69.0% vs. 1.8%; $p < 0.001$)에서 자주 관찰되었다. 성별,

흡연력, 조직학적 유형과는 연관성이 없었다. 단변량 분석에서 *ALK* 유전자 개체 수 증가 및 증폭은 무진행 생존율 및 전체 생존기간의 단축과 상관관계가 있었으나, 다변량 분석에서 통계학적 의의는 없었다. 이는 *ALK* 유전자 개체 수 증가 및 증폭이 종양의 진행과 더불어 유전자의 불안정성에 의한 변화로 추정된다.

REFERENCES

1. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010;60:277-300.
2. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2002;346:92-98.
3. Scagliotti GV, De Marinis F, Rinaldi M, et al. Phase III randomized trial comparing three platinum-based doublets in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:4285-4291.
4. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-*ALK* fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007;448:561-566.
5. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2010;363:1693-1703.
6. Ou SH, Bazhenova L, Camidge DR, et al. Rapid and dramatic radiographic and clinical response to an *ALK* inhibitor (crizotinib, PF02341066) in an *ALK* translocation-positive patient with non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2010;5:2044-2046.
7. Cools J, Wlodarska I, Somers R, et al. Identification of novel fusion partners of *ALK*, the anaplastic lymphoma kinase, in anaplastic large-cell lymphoma and inflammatory myofibroblastic tumor. *Genes Chromosomes Cancer* 2002;34:354-362.

8. Chen Y, Takita J, Choi YL, et al. Oncogenic mutations of ALK kinase in neuroblastoma. *Nature* 2008;455:971-974.
9. 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. *Cancer* 2009;115:1723-1733.
10. 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 Clin Oncol* 2009;27:4247-4253.
11. Camidge DR, Kono SA, Flacco A, et al. Optimizing the detection of lung cancer patients harboring anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene rearrangements potentially suitable for ALK inhibitor treatment. *Clin Cancer Res* 2010; 16:5581-5590.
12. Paik JH, Choe G, Kim H, et al. Screening of anaplastic lymphoma kinase rearrangement by immunohistochemistry in non-small cell lung cancer: correlation with fluorescence in situ hybridization. *J Thorac Oncol* 2011;6:466-472.
13. Kim H, Yoo SB, Choe JY, et al. Detection of ALK gene rearrangement in non-small cell lung cancer: a comparison of fluorescence in situ hybridization and chromogenic in situ hybridization with correlation of ALK protein expression. *J Thorac Oncol* 2011;6:1359-1366.
14. Salido M, Pijuan L, Martínez-Avilés L, et al. Increased ALK gene copy number and amplification are frequent in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011;6:21-27.