

液体活检应用于癌症早筛逐渐成为临床现实

华中科技大学同济医学院附属同济医院 陈丽婷* 周剑峰, 武汉 430030

关键词 液体活检; 癌症早筛; 肿瘤循环 DNA; 基因突变

中图分类号 R730.4 **文献标识码** A **DOI** 10.11768/nkjwzzzz20180202

癌症的早期诊断具有重要意义。在充分有效且副作用极低的药物被开发之前, 肿瘤的早期发现仍然是降低死亡率的最有效方法。早期原位癌症在发生转移之前, 可以通过手术切除。一旦发生远端转移, 则很难凭借手术根治^[1]。从癌细胞产生到发生转移之前的窗口期, 是检测和诊断癌症的黄金时期。即便是初期转移的癌症患者, 其预后也比晚期转移的患者要好^[2]。

液体活检 (liquid biopsy) 是指从无创或微创方式获得的血液或其他体液样本中, 分析肿瘤相关物质 (例如细胞、核酸等) 的方法^[3,4]。与传统的组织活检相比, 液体活检具备诸多优势: 首先, 常规组织活检对患者创伤大, 取样困难, 取样窗口期有限, 液体活检可以成为替代品。其次, 组织活检只能反映出所取样品中的信息, 而液体活检可以反应出肿瘤的基因组全貌^[5]。最重要的是, 与依靠症状和影像进行诊断相比, 液体活检对癌细胞的检出更加敏感和特异。2012 年一项针对结肠癌的研究表明, 5000 万个恶性肿瘤细胞即可向血液中释放可以检测到浓度的循环肿瘤 DNA (ctDNA), 而相同体积的肿瘤远低于目前临床上采用的影像学检测的范围^[6]。

2017 年 6 月,《科学美国人》与世界经济论坛联合发布了 2017 年全球十大新兴技术。其中, 榜单之首为“无创技术诊断癌症”。这里的“无创技术”指的就是非侵入式的, 以外周血等体液为检测对象的液体活检。

国际癌症研究机构 IARC (International Agency for Research on Cancer, IARC) 曾进行过一次癌症早筛的前瞻性研究。研究者们利用液体活检的方法筛查了 1098 名健康志愿者, 其中 13 名志愿者的血浆游离 DNA (cfDNA) 中存在 KRAS 的突变。在 25 个月以内, 这 13 例中的 6 例得了癌症^[7]。该研究表明, cfDNA 中存在某些癌症相关基因突变的人群, 为癌症高危人群, 应提高癌症筛查频率, 以及采用更敏

感的筛查方式。这项 2006 年的研究阐明了液体活检应用于癌症早期筛查的可能性。

特定癌种的早筛

被誉为“无创产前检查 (NIPT) 教父”的华人科学家卢煜明从上世纪末开始, 也一直在关注癌症的无创诊断领域。早在 1999 年, 卢煜明就建立了血浆游离的 EB 病毒 DNA 监测鼻咽癌的方法。每个鼻咽癌肿瘤细胞带有 50 个拷贝的 Epstein-Barr 病毒基因组。他发现 cell-free EBV DNA 是鼻咽癌的独立预后因素, 并可用于监测疾病复发^[8]。

2017 年 8 月, 卢煜明领导的团队在《新英格兰医学杂志》上发表文章, 他们对 20 349 例志愿者进行外周血血浆 cell-free EBV DNA 初筛, 阳性志愿者 4 周后复筛。共有 309 例连续 2 次检测结果均为阳性, 其中 300 例接受了鼻咽镜和 MRI 检查, 有 34 例 (11%) 被确诊为鼻咽癌, 这在癌症早筛的相关研究中属于较高比例。其中 I 期和 II 期患者占比 71%, 而传统方法筛出的 I ~ II 期患者仅有 20%, 大大地提高了鼻咽癌早期的检出比例^[9]。这项研究是液体活检应用于癌症早期筛查的一个重要证据。

除鼻咽癌之外, 其他类型的癌症也有早筛标志。血浆中 GNAQ 和 GNA11 两个基因的突变存在于 83% 的膜黑色素瘤 (uveal melanoma) 患者, 而与其他癌症很少关联, 可作为膜黑色素瘤早筛的标志之一^[10]。20% ~ 25% 的乳腺癌患者有 HER2 基因的扩增或者过表达, 因此外周血血浆 cfDNA 中的 HER2 基因扩增可作为乳腺癌早期筛查或者转移的标志之一^[11]。但由于这些基因的突变或者扩增在相应肿瘤中不是百分之百发生, 所以进行筛查时会出现假阴性, 还需要结合其他检查。

多种实体肿瘤的早筛

BRAF、EGFR、HER2、KRAS、P53、PIK3CA 等基因的突变常不具有癌症种类的特异性, 即各类癌症患者皆可能发生这些基因的突变^[12,13]。因此, 当液

* 通信作者: 陈丽婷, E-mail: ltchen@tjh.tjmu.edu.cn

体活检查出以上癌症相关的基因突变时,需要确定癌变发生的位置。一些研究者们正尝试用不同方法解决这个难题。

2018 年 1 月美国约翰霍普金斯大学的研究者们开发了一种名为 CancerSEEK 的无创检测方法,通过检测外周血浆游离 DNA 中包括 TP53、NRAS、KRAS、PTEN 等 16 个基因共计 2001 个基因组位点,以及血浆中 8 种蛋白质,筛查卵巢癌、肝癌、胃癌、胰腺癌、食管癌、结肠癌、肺癌、乳腺癌。以 CancerSEEK 对 1 005 名癌症患者进行检测,敏感度为 I 期 43%、II 期 73%、III 期 78%。其中卵巢癌检测敏感度最高,达到 98%;而乳腺癌检测敏感度最低,只有 33%。812 名健康对照者中,只有 7 人假阳性,因此该方法的特异性超过 99%。而最令人振奋的是,此项研究提供的方法能得到 63% 的患者肿瘤位置的准确信息,83% 的患者能将肿瘤位置范围缩小为 2 个^[14]。

除此之外,表观遗传学也被应用于明确肿瘤发生的位置。美国加州大学圣地亚哥分校的 Kun Zhang 教授团队首创利用组织特异性 CpG 甲基化模式信号来定位癌变组织。该团队发现人体中的每个组织都有其独特的甲基化形式,通过筛查血浆中 cfDNA 的 CpG 甲基化单倍型(CpG methylation haplotypes)标签可以实现对癌变组织的定位。该方法对肺癌和结肠癌的敏感度和特异性均超过 90%^[15]。

目前,实体瘤的传统检测方法主要包括:胃镜、结肠镜、乳房 X 光检查、宫颈细胞学检查等,均只能检测一种癌症,且具有侵入性,不适合普通人群筛查。以血液为对象同时进行多种癌症的早期筛查,有巨大的应用前景。尤其是定位肿瘤发生的位置,对癌症早期筛查是重要突破^[3,16]。这些研究也有不足之处,例如:研究者选取的对照组多为健康人群,在实际应用时,筛查的对象如果有一些基础疾病,包括炎症或者代谢相关的疾病,则假阳性率可能会增加。这些难题仍需要相关领域的研究者们继续克服^[14]。

血液肿瘤转化的筛查

滤泡性淋巴瘤是最常见的一种惰性淋巴瘤,每年有 2%~3% 的患者会转化成恶性淋巴瘤。发生转化的患者生存期更短,预后更差。并且,更早转化的患者比相对较晚转化的患者生存期更短,预后更差。因此,发现和预测滤泡性淋巴瘤的转化,及时改

变治疗方案,对患者具有重要意义^[17]。

斯坦福大学的研究组曾报道了 1 例滤泡性淋巴瘤发生转化的患者。该患者在初诊时,通过组织活检确诊为滤泡性淋巴瘤,9 个月之后发生转化成为恶性的弥漫大 B 细胞淋巴瘤。研究者对初诊和转化后的组织活检标本进行二代测序,发现 2 个标本的突变基因模式很不一致。而对初诊和转化后的血浆 ctDNA 进行二代测序,其突变基因则高度一致,且与转化后的组织活检标本非常吻合。这说明,该患者在初诊时淋巴瘤的转化已经发生,并已经可以从 ctDNA 中体现。但由于肿瘤组织的异质性,组织活检不能反映基因组全貌,所以在所取样本中发现转化^[18]。这项研究表明,液体活检可以成为一个很好的滤泡性淋巴瘤转化的预测方法。

综上所述,液体活检技术近年来取得了重大突破,它不仅在癌症的诊断、预后以及用药指导等方面具有重大优势,与此同时,它应用于癌症早筛领域也具有可能性和突破性。液体活检应用于癌症早筛正逐渐成为临床现实。

参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.
- 2 Bozic I, Reiter JG, Allen B, et al. Evolutionary dynamics of cancer in response to targeted combination therapy[J]. Elife, 2013, 2: e00747.
- 3 Siravegna G, Marsoni S, Siena S, et al. Integrating liquid biopsies into the management of cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2017, 14(9): 531-548.
- 4 陈丽婷, 周剑峰. 液体活检在肿瘤临床精准诊断和预后判断中的应用[J]. 内科急危重症杂志, 2017, 23(2): 99-101.
- 5 Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(4): 223-238.
- 6 Diaz LA Jr, Williams RT, Wu J, et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers[J]. Nature, 2012, 486(7404): 537-540.
- 7 Gormally E, Vineis P, Matullo G, et al. TP53 and KRAS2 mutations in plasma DNA of healthy subjects and subsequent cancer occurrence: a prospective study[J]. Cancer Res, 2006, 66(13): 6871-6876.
- 8 Lo YM, Chan LY, Lo KW, et al. Quantitative analysis of cell-free Epstein-Barr virus DNA in plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Res, 1999, 59(6): 1188-1191.
- 9 Chan KCA, Woo JKS, King A, et al. Analysis of Plasma Epstein-Barr Virus DNA to Screen for Nasopharyngeal Cancer[J]. N Engl J Med, 2017, 377(6): 513-522.
- 10 Metz CH, Scheulen M, Bornfeld N, et al. Ultradeep sequencing detects GNAQ and GNA11 mutations in cell-free DNA from plasma of patients with uveal melanoma[J]. Cancer Med, 2013, 2(2): 208-215.

- 11 Page K, Hava N, Ward B, et al. Detection of HER2 amplification in circulating free DNA in patients with breast cancer[J]. Br J Cancer, 2011, 104(8):1342-1348.
- 12 Cree IA, Uttley L, Buckley Woods H, et al. The evidence base for circulating tumour DNA blood-based biomarkers for the early detection of cancer: a systematic mapping review[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 697.
- 13 Diaz LA, Jr, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA[J]. J Clin Oncol, 2014, 32(6):579-586.
- 14 Cohen JD, Li L, Wang Y, et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test[J]. Science, 2018 Jan 18. pii: eaar3247. doi: 10.1126/science.aar3247.
- 15 Guo S, Diep D, Plongthongkum N, et al. Identification of methylation haplotype blocks aids in deconvolution of heterogeneous tissue samples and tumor tissue-of-origin mapping from plasma DNA[J]. Nat Genet, 2017, 49(4):635-642.
- 16 Haber DA, Velculescu VE. Blood-based analyses of cancer: circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. Cancer Discov, 2014, 4(6):650-661.
- 17 Kridel R, Sehn LH, Gascoyne RD. Can histologic transformation of follicular lymphoma be predicted and prevented[J]. Blood, 2013, 121(3):258-266.
- 18 Scherer F, Kurtz DM, Newman AM. Distinct biological subtypes and patterns of genome evolution in lymphoma revealed by circulating tumor DNA[J]. Sci Transl Med, 2016, 8(364):364ra155.

(2018-02-10 收稿)

医学名词规范使用的注意事项

1. 严格运用全国科学技术名词审定委员会审定公布的名词, 不应一义多词或一词多义。
2. 未经审定公布的词语, 可选用中国医学科学院医学情报研究所最新版《中文医学主题词表(CMeSH)》、《医学主题词注释字顺表》及中医古籍出版社的《中国中医药学主题词表》中的主题词。
3. 尚无统一译名的名词术语, 于文内第 1 次出现时注明原词或注释。
4. 中西药名以最新版《中华人民共和国药典》和中国药典委员会编写的《中国药品通用名称》为准, 不得使用商品名。
5. 中药药典未收录者附注拉丁文。
6. 冠以外国人名体的征、病名等人名后不加“氏”或“s”, 如帕金森病; 若为单字名, 则保留“氏”字, 如福氏杆菌、尼氏染色(Nissl's staining)。
7. 名词术语一般应用全称, 若全称较长且反复使用, 可用缩略语或简称, 第 1 次出现时写出全称, 并加括号写出简称, 后文用简称。已通用的中文简称可用于文题, 但在文内仍应写出全称, 并注明简称。
8. 中国地名以最新公布的行政区划名称为准, 外国地名的译名以新华社公开使用的译名为准。
9. 复合名词用半字线连接, 如下丘脑-垂体-肾上腺轴。
10. 英文名词除专有名词(国名、地名、姓氏、协作组、公司、会议等)首字母大写外, 其余均小写。德文名词首字母大写。

本刊编辑部