

ctDNA 在 B 细胞淋巴瘤中的研究进展*

沈克锋 肖敏*

华中科技大学同济医学院附属同济医院血液内科,湖北武汉 430030

摘要 循环肿瘤 DNA(ctDNA)是肿瘤患者体液循环中一种广泛存在的游离 DNA 片段,相较于肿瘤实体病灶,ctDNA 具有取材方便、安全无创、信息全面等优势。ctDNA 检测可应用于 B 细胞淋巴瘤的治疗前、治疗中和治疗后等各个阶段,在肿瘤辅助诊断、预后分层、靶向治疗、疗效评估、微小残留病灶(MRD)监测及预测复发等方面具有重要指导意义。本文主要就 ctDNA 在 B 细胞淋巴瘤中的相关检测手段、应用进展和前景展望等作一概述。

关键词 循环肿瘤 DNA; 液态活检; 二代测序; B 细胞淋巴瘤; 微小残留病灶

中图分类号 R557+.4 **文献标识码** A **DOI** 10.11768/nkjwzzzz20230504

Research progress of circulating tumor DNA in B-cell lymphoma SHEN Ke-feng, XIAO Min*. Department of Hematology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430030, China
Corresponding author: XIAO Min, E-mail: xiaomin@tjh.tjmu.edu.cn

Abstract Circulating tumor DNA (ctDNA) refers to the cell-free DNA fragments that are widely distributed in the body fluids of tumor patients. Compared with solid tumor lesions, a competitive advantage of ctDNA is its easy accessibility, non-invasive, and comprehensive characteristics. ctDNA detection can be used at all episodes of B-cell lymphoma before, during, and after treatment, and it has important guiding significance in tumor auxiliary diagnosis, prognosis stratification, targeted therapy, efficacy evaluation, minimal residual disease (MRD) monitoring, and prediction of recurrence. In this review, we present an overview of current technical methods, application progress, and perspectives of ctDNA in B-cell lymphoma.

Key words Circulating tumor DNA; Liquid biopsy; Next generation sequencing; B-cell lymphoma; Minimal residual disease

B 细胞淋巴瘤是最常见的淋巴瘤亚类,在中国约占所有淋巴瘤的 66.3%,它是一组分子遗传学变异显著和临床表现多样的肿瘤^[1~3]。传统意义上,B 细胞淋巴瘤的诊断治疗和预后评估依赖于病理活检和影像学检查(如 CT、¹⁸F-FDG PET/CT 等)^[4~6]。但受限于淋巴瘤原发病灶的解剖部位和疾病进展的空间异质性,特殊部位的病理取材困难,病理活检存在一定的失败率或片面性,不能如实反映肿瘤全貌;影像学检查手段也存在诸多不足^[7]。临床实践中,亟需开发一种灵敏度高、特异性强、信息全面的肿瘤标志物去辅助诊断、指导治疗和预后评估等。

细胞游离 DNA (cell-free DNA, cfDNA) 是细胞增殖、凋亡或坏死等生理过程中释放入体液的一种循环双链 DNA 片段,它主要存在于外周血中,但在脑脊液、尿液、胸腹水和唾液中也可检出^[8,9]。循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 特指肿瘤细胞来源的 cfDNA 片段,ctDNA 可用于所有类型的

肿瘤相关基因变异检测,如单核苷酸变异、易位、插入/缺失及拷贝数变异(copy number variation, CNV)等^[10~12]。

本文结合目前文献研究进展和相关临床试验结果,重点阐述 ctDNA 在 B 细胞淋巴瘤中的相关检测手段、应用进展和前景展望等。

ctDNA 概述

cfDNA (包含 ctDNA) 是一种双链 DNA 片段,半衰期短(5 ~ 150 min),长度主要集中于 100 ~ 200 bp,主峰长度约 166 bp,相当于一个核小体及 Linker 蛋白的 DNA 缠绕长度,少部分 cfDNA 长度也可达 1 000 bp 以上^[13,14]。肿瘤细胞来源的 ctDNA 较正常细胞来源的 cfDNA 偏短 20 ~ 40 bp,突变状态 ctDNA 似乎更片段化;有研究表明短片段 cfDNA (90 ~ 150 bp) 富集的建库策略,可提高 ctDNA 占比,增强低频基因突变检出率^[15]。外周血中 cfDNA 浓度,正

* 基金项目:国家自然科学基金(No:82270203)

* 通信作者:肖敏, E-mail: xiaomin@tjh.tjmu.edu.cn, 湖北省武汉市硚口区解放大道 1095 号

常健康人群(0 ~ 100 ng/mL, 中位值 5 ng/mL) 低于淋巴瘤患者(5 ~ >100 ng/mL, 中位值 25 ng/mL), 不同肿瘤类型或临床分期患者 cfDNA 浓度也存在变化, 如惰性淋巴瘤低于侵袭性淋巴瘤、晚期淋巴瘤高于早期, 妊娠、运动、炎症、糖尿病、组织创伤、感染或应激状态时也可导致外周血 cfDNA 浓度升高^[10, 16]。淋巴瘤外周血 ctDNA 在总 cfDNA 中的占比波动巨大, 可低至 0.1% 以下或高达 90% 以上, 与疾病分期、肿瘤负荷、侵袭性、病灶位置(如血脑屏障可阻碍原发中枢淋巴瘤 ctDNA 进入外周血循环) 等均有关系^[17, 18]。

人类单倍体基因组当量(haploid genome equivalents, hGE) 约等于 3.3 pg DNA, 若设定淋巴瘤患者外周血 cfDNA 浓度为中位值 25 ng/mL, 可估算其 cfDNA 当量浓度为 7 500 hGE/mL; 10 mL 外周血约含 4 ~ 6 mL 血清, 约含 30 000 ~ 450 000 hGE, 可满足变异等位基因频率(variant allele frequency, VAF) $\geq 0.01\%$ 突变位点检测所需的 DNA 投入量, 考虑到 50% 患者 cfDNA 浓度可能不足 25 ng/mL, 故送检时外周血建议抽取 10 mL。此外, cfDNA 半衰期极短(<2.5 h), 样本建议用特制的 cfDNA 保存管, 如商业化 Streck 管, 可室温保存标本 7 ~ 14 d, 防止有核细胞释放 DNA、稀释 ctDNA 占比, 和抑制核酸酶介导的 ctDNA 降解^[19]。

ctDNA 检测手段

近年来, 二代测序(next-generation sequencing, NGS)、数字 PCR(digital PCR, dPCR) 等分子生物学检测技术迅猛发展, 对肿瘤分子组学进行大规模高通量基因测序和高灵敏度检测成为现实。液态活检是一种利用 ctDNA 进行分子学检测的技术手段, 相较于传统的手术切除或细针穿刺等病理检测, 它具有取材简便、安全无创、克服肿瘤空间异质性等优势, 可用于肿瘤辅助诊断、预后分层、靶向治疗、动态监测、疗效评估及预测复发等方面^[18, 20, 21]。

目前, 常用的液态活检技术, 见表 1。主要分为 PCR 法和 NGS 法两大类。等位基因特异性寡核苷酸 PCR(allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction, ASO-PCR) 和 dPCR 法灵敏度高, 方便快捷, 主要适用于单个基因变异的筛查或定量监测, 如淋巴瘤浆细胞淋巴瘤/华氏巨球蛋白血症(lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinemia, LPL/WM)、原发性中枢神经系统淋巴瘤(primary central nervous system lymphoma, PCNSL)、MCD 型弥

漫大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) 中 MYD88^{L265P} 突变的检测, 滤泡性淋巴瘤(follicular lymphoma, FL)、EZB 型 DLBCL 中 EZH2Y646N 突变的检测等^[22]。NGS 法是高通量平行测序, 兼具高通量和高灵敏度, 检测内容更全面, 应用范围更广, 可用于淋巴瘤基因分型、微小残留病灶(minimal residual disease, MRD) 监测等。免疫球蛋白重排高通量测序(immunoglobulin high throughput sequencing, Ig-HTS) 是一种专注于检测克隆性 VDJ 重排的 NGS 技术, 例如 Adaptive Biotechnologies 公司 clonoSEQ® 产品已被美国 FDA 批准用于慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)、多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)、B 细胞型急性淋巴细胞白血病(B cell-acute lymphoblastic leukemia, B-ALL) 的 MRD 监测, 最高灵敏度可达 $1/10^6$, 也可用于其它 >80% 的 B 细胞淋巴瘤中^[23, 24]。

癌症个性化突变谱系深度测序(cancer personalized profiling by deep sequencing, CAPP-Seq) 是在常规基因套餐(panel) 设计上, 结合独特的集成数字错误抑制(integrated digital error suppression, iDES) 生信技术(主要包括分子标签和背景噪音抛除), 可将检测的 ctDNA 突变 VAF 值降至 ~0.003%^[25]。双重测序是在二代测序基础上, 对 DNA 双链分子分别进行独立的标记、测序和校对, 可极大提高测序的精确度, 检测灵敏度可达 ~0.0001%^[26]。阶段性变异富集及检测测序(phased variant enrichment and detection sequencing, PhasED-seq) 是在二代测序基础上, 在单个 DNA 分子片段上检测多个体细胞突变, 可提高 ctDNA 突变检测灵敏度至 ~0.0001%^[27]。此外, ctDNA 还可用于全外显子组测序(whole exon sequencing, WES)、全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)、CNV 检测和甲基化检测等^[21]。

在进行液态活检前, 有些因素需要考虑: ①检测灵敏度受限于 cfDNA 投入量, 例如研究表明 Ig-HTS 监测 CLL 患者 MRD 时, 10^{-5} 检测灵敏度约需 cfDNA 投入量为 8 μ g, 10^{-6} 检测灵敏度则需 27 μ g^[28]; ②淋巴瘤患者中 cfDNA 浓度波动大, 为保证足量可供后续分析的 cfDNA 片段, 应用特制的 cfDNA 保存管采集不低于 10 mL 的外周血; ③基因胚系突变或克隆造血相关基因突变会干扰肿瘤来源的体细胞突变检测, 必要时采用胚系 DNA 标本或白细胞来源的 DNA 对照标本进行配对测序, 以剔除相关干扰。

表 1 B 细胞淋巴瘤中液态活检技术一览表

检测技术	灵敏度	应用	概述
PCR 法			
ASO-PCR	~0.001%	① 突变热点筛查(如 MYD88 ^{L265P} 、BRAF ^{V600E});②动态追踪基因突变、重排等,MRD 定量监测。	①方便快捷,灵敏度高,成本较低,可及性较强;②主要针对突变热点的筛查或已知阳性基因变异的监测。
dPCR	~0.001%		
NGS 法			
Ig-HTS	~0.0001%	①检测免疫球蛋白 VDJ 重排;②灵敏度高,可用于>80%的 B 细胞淋巴瘤 MRD 监测。	① Ig-HTS 可解决少数 B 细胞淋巴瘤缺乏 MRD 监测 Marker 的难题;②cfDNA 投入量与检测灵敏度呈正相关。
CAPP-Seq	~0.003%	①检测数百个淋巴瘤特异的基因突变、重排、Ig/TCR 等;②ctDNA 定量,多维度动态监测 MRD,追踪克隆演变等。	①肿瘤基因分型,MRD 监测,多位点追踪;②干湿试验过程复杂,生信分析难度较高,成本不低。
Duplex sequencing	~0.0001%		
PhasED-seq	~0.0001%		
WES/WGS	5%~10%	基因突变、基因重排、CNV 分析等。	检测范围广,但灵敏度低。
CNV 检测	~20%	淋巴瘤 CNV 检测。	灵敏度过低,限制其临床应用。
甲基化检测	~5%	癌症早筛,辅助分层等。	前沿领域,尚未临床推广,分析难度较高。

ctDNA 在 B 细胞淋巴瘤中的应用进展

肿瘤分子分型和辅助诊断 传统意义上,淋巴瘤病理活检诊断是金标准,但部分患者难以进行组织切除/穿刺活检,或取材不佳导致病理诊断不明。近年来,随着肿瘤分子生物学的发展,肿瘤的基因突变图谱或基因表型被阐述得日益明晰,如同人类指纹可鉴定身份一样,许多淋巴瘤特异性的基因突变图谱也可用于辅助诊断等^[2, 3, 29, 30]。

例如,Wright 等^[31]研究表明约 57.4% 的 DL-BCL 可归为 6 个主要分子亚型:BN2 型(~16.1%, Bcl6 重排和 NOTCH2 突变),MCD 型(~13.9%, MYD88^{L265P}、CD79B、PIM1、HLA-B、BTG1 突变),EZB 型(~13.2%, EZH2 突变和 Bcl2 重排),A53 型(~6.6%, TP53 突变/缺失和非整倍体核型),ST2 型(~4.7%, TET2、SGK1、DUSP2、ZFP36L1、ACTG1 突变),N1 型(~2.8%, NOTCH1、IRF2BP2、ID3、BCOR 突变)。每个亚型的分子机制、预后分组、靶向治疗有所不同。

外周血 ctDNA 和新鲜组织/病理白片提取的基因组 DNA(genomic DNA, gDNA)均可用于淋巴瘤分子分型。但 ctDNA 检测(如 CAPP-Seq、Duplex sequencing、PhasED-seq)优势更明显:①ctDNA 和 gDNA 基因突变图谱检测结果有较高的一致性(>85%),但 ctDNA 检测可克服肿瘤空间异质性,突变内容更丰富,更能代表突变图谱全貌,也更易检

出驱动肿瘤耐药或复发的突变亚克隆^[12, 21, 32];②ctDNA取材更方便,安全无创,患者接受度更高,方便连续监测;③ctDNA 检测灵敏度更高,一般情况下 gDNA 靶向二代测序灵敏度仅 2%~5%,如霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma, HL)往往背景细胞丰富、肿瘤细胞稀少,组织 gDNA 二代测序检测极易假阴性,而外周血 ctDNA 二代测序却能精确检出^[32, 33]。

肿瘤负荷定量和预后评估 淋巴瘤肿瘤负荷高低与疾病转归和预后显著相关,反映其水平的指标很多,如国际预后指数(international prognostic index, IPI)、总肿瘤代谢体积(total metabolic tumor volume, TMTV)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)等^[34~36]。最近,多项研究表明 ctDNA 定量水平即 ctDNA 浓度也可作为 B 细胞淋巴瘤肿瘤负荷指标^[21, 22, 32]。外周血 ctDNA 浓度计算公式如下:hGE/mL(每毫升单倍体基因组当量)=外周血 cfDNA 浓度(pg/mL)×外周血肿瘤体细胞突变平均 VAF 值÷3.3,它取决于 ctDNA 在 cfDNA 中占比和 cfDNA 浓度高低,可反映肿瘤负荷水平。

在 DLBCL 中,基线 ctDNA 水平与 IPI 评分、TMTV 及 Ann Arbor 分期等指标具有显著相关性,都可指导治疗和评估预后。例如,Alig 等^[37]采用 CAPP-Seq 法检测 267 例多中心 DLBCL 患者治疗前 ctDNA 水平,证实其与诊断治疗间隔(diagnosis-to-treatment interval, DTI)、TMTV、IPI 和预后等显著相

关;Ann Arbor III/IV 期 ctDNA 水平显著高于 I/II 期,高 IPI 评分组 ctDNA 水平显著高于低 IPI 评分组,ctDNA 水平和 TMTV 呈线性正相关,ctDNA 水平和 DTI 呈线性负相关,低 ctDNA 组无事件生存(event-free survival, EFS)和总生存(overall survival, OS)均优于高 ctDNA 组。Rivas-Delgado 等^[38]研究前瞻性临床试验中 100 例 DLBCL 患者 cfDNA 数据,结果表明:cfDNA 和配对组织 gDNA 样本检出的肿瘤突变图谱高度一致;ctDNA 基线水平与肿瘤负荷相关参数(如 LDH 或 β_2 -M、临床分期、IPI 评分和 TMTV)关联度高;以治疗前 ctDNA 浓度 2.5 log hGE/mL 为阈值,高 ctDNA 基线水平($> 2.5 \log \text{hGE/mL}$)与更低的完全缓解(complete remission, CR)(65% vs 96%, $P < 0.004$)、更短的无进展生存(progression-free survival, PFS)(65% vs 85%, $P = 0.038$)和两年 OS(73% vs 100%, $P = 0.007$)相关。

在 FL、HL、套细胞淋巴瘤(mantle cell lymphoma, MCL)等其它 B 细胞淋巴瘤中,也可发现类似结果^[39~41]。例如, Fernández-Miranda 等^[42]报道 FL 患者中,高基线 ctDNA 水平组患者滤泡淋巴瘤国际预后指数(follicular lymphoma international prognosis index, FLIPI)、肿瘤分级和 LDH 值更高、结外受累更明显;治疗前高 ctDNA 水平组患者 CR 率更低、2 年内疾病进展(progression of disease within 2 years, POD2)率更高。

此外,和 ctDNA 一样,基线 cfDNA 水平同样具有预测价值,Desmots 等^[43]研究 123 例原发 DLBCL 患者基线 cfDNA 水平和远期生存的关系,结果显示初诊高 cfDNA 水平($> 55 \text{ ng/mL}$)是独立的临床不良预后因素,与更短的 OS 相关;高 cfDNA 组患者常规 R-CHOP 方案治疗后总 OS 较差,而挽救性疗法和造血干细胞移植可改善 OS。

疗效评估和预测复发 目前, B 细胞淋巴瘤疗效评估标准多依赖于影像学检查(如 CT、¹⁸F-FDG PET/CT 等),其中以 2014 年 Lugano 会议修订的淋巴瘤疗效评价 5-PS 评分法(Deauville 标准)最为常用^[44]。但影像学评估存在诸多局限性,灵敏度较低和精确度不足,如 PET 多仅用于高代谢淋巴瘤(如 HL、DLBCL、外周 T 细胞淋巴瘤),结节病、感染及炎症反应等良性疾病可能导致 PET 结果假阳性^[45],且有近 15% 的 DLBCL 患者 PET 评估为 CR 后疾病却复发进展,小部分患者 PET 评估为阳性而疾病却未复发^[46]。

淋巴瘤启动治疗后,ctDNA 水平变化剧烈,可作

为疗效评估指标。例如 Kurtz 等^[47]采用 CAPP-Seq 法动态检测 217 例多中心 DLBCL 患者治疗期间的 ctDNA 水平,结果:1 周期治疗后 ctDNA 浓度降低 2 个 log 值的早期分子学反应(early molecular response, EMR)和 2 周期治疗后 ctDNA 浓度降低 2.5 个 log 值的主要分子学反应(major molecular response, MMR)均可评估疗效;与基线 ctDNA 水平、IPI、中期 PET 评估结果相比,EMR 和 MMR 指标可更好的预测 DLBCL 患者一线治疗后的两年 EFS 和 OS。国内李苗苗等^[48]研究 73 例 DLBCL 在治疗前、治疗中和结束一线治疗后的系列 ctDNA 检测数据,也发现 2 周期治疗后 ctDNA 下降明显组患者有更好的 PFS 和 OS。

在其它 B 细胞淋巴瘤中,也可发现类似结果。Spina 等^[32]研究 24 例 ABVD 方案治疗的进展期经典型霍奇金淋巴瘤(classic Hodgkin lymphoma, cHL)患者 ctDNA 连续性监测数据:2 周期 ABVD 方案治疗后 ctDNA 浓度降低 100 倍/2 个 log 值组患者 CR 和治愈情况更佳、累计 PFS 更长。Lakhotia 等^[41]采用 Ig-HTS 法监测 53 例 MCL 患者 ctDNA 数据,中位随访 12.7 年,结果显示 2 周期诱导治疗后 ctDNA 阴性组患者 PFS 和 OS 更长。

ctDNA 和 PET-CT 相比,其特异性强、灵敏度高,更易发现低肿瘤负荷的早期复发病灶,提前预测肿瘤复发。例如, Roschewski 等^[49]采用 Ig-HTS 法检测 126 例 DLBCL 患者的系列 ctDNA 数据,中位随访 11 年,结果:2 周期治疗后的中期评估时,ctDNA 阳性组患者 5 年疾病进展率更高(80.2% vs 41.7%, $P < 0.0001$);在预测肿瘤复发方面,中期 ctDNA 阳性预测值为 62.5% (95% CI: 40.6 ~ 81.2)、阴性预测值为 79.8% (95% CI: 69.6 ~ 87.8);在淋巴瘤达到 CR 结束治疗后的监测随访阶段, Cox 比例风险模型分析显示 ctDNA 阳性组的复发进展风险比为 228 (95% CI: 51 ~ 1022),阳性预测值为 88.2% (95% CI: 63.6 ~ 98.5)、阴性预测值为 97.8% (95% CI: 92.2 ~ 99.7), ctDNA 可提前 3.5 个月(中位值)预测肿瘤临床复发。

MRD 监测和指导治疗 肿瘤 MRD 监测在 B 细胞淋巴瘤治疗前、治疗中和随访阶段,均具有重要指导意义,如治疗启动前的预后分层、评估治疗后的反应深度、监控肿瘤复发迹象、追踪克隆演变、发现耐药突变克隆、指导精准治疗等^[22, 50]。常规检测 MRD 的方法有组织病理学、影像学检查、多色流式细胞术、分子学检测等,其中外周血 ctDNA 检测是 B 细

胞淋巴瘤治疗间期和随访阶段监测 MRD 的强有力工具和最优解。

ctDNA 监测 MRD 有 3 种途径:①dPCR 或 ASO-PCR 法,动态检测淋巴瘤特异的基因突变,如 cHL 中的 XPO1E571K 突变、FL 中的 EZH2Y646N 突变、LPL/WM 中的 MYD88^{L265P} 突变等,其 VAF 值曲线可反映肿瘤 MRD 变化,预测疾病复发等^[51];②Ig-HTS 法,可应用于 >80% 的 B 细胞淋巴瘤中,检测每例 B 细胞淋巴瘤特异的克隆性 VDJ 重排序列信息,实现肿瘤 MRD 监测;③NGS 法(如 CAPP-seq 等),可计算 ctDNA 水平、全景式检测肿瘤相关基因突变、评估克隆演变、寻找耐药突变克隆等,其获取信息更全面丰富。

目前,基于 MRD 检测的淋巴瘤全程管理成为一种发展趋势,可依据中期评估的 MRD 监测结果来调整后续治疗方案(如升阶梯/巩固/延长治疗或者降阶梯/停止治疗等),以实现 B 细胞淋巴瘤个体化的精准治疗^[52~54]。MRD 指导的危险度分层和治疗策略在急性髓系白血病、ALL、CLL 等血液肿瘤管理中已被证明可显著提高疗效、延长生存期、改善预后,但其中 B 细胞淋巴瘤中的应用尚未推广到实践,相关的临床试验正在进行中^[55~57]。

在 CAR-T 细胞治疗中的应用 嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR) T 细胞治疗是一种新兴的免疫疗法,在复发难治性 DLBCL、MCL 等 B 细

胞淋巴瘤中具有良好的疗效和广阔的应用前景^[58,59]。Sworder 等^[60]开发了一种利用外周血 ctDNA 同时检测 CD19CAR-T 治疗患者肿瘤细胞和 CAR-T 效应细胞的方法,可实现 CAR-T 细胞动力学监测、治疗反应评估、复发预测和耐药克隆鉴定等目的。

结 语

近年来,随着分子生物学检测技术的不断发展,ctDNA 在 B 细胞淋巴瘤中的应用价值日益显现。ctDNA 是肿瘤患者体液循环中的一种游离 DNA 片段,广泛存在于外周血、脑脊液及胸腹水中,相较于肿瘤实体病灶,ctDNA 具有取材方便、安全无创、方便连续监测及克服肿瘤空间异质性等优势。ctDNA 检测技术可分为 PCR 法(如 ASO-PCR、dPCR 等)和 NGS 法(如 Ig-HTS、CAPP-Seq 等)两大亚类,可应用于 B 细胞淋巴瘤的治疗前、治疗中和治疗后肿瘤监测等各个阶段,在肿瘤辅助诊断、预后分层、靶向治疗、疗效评估、MRD 监测及预测复发等方面具有重要指导意义,见图 1。随着研究的深入,ctDNA 检测将更多的参与 B 细胞淋巴瘤全程精细化管理,在提高疗效、延长生存期、改善预后等方面将日益发挥重要作用。然而,ctDNA 虽然有其独特的优势,但目前 B 细胞淋巴瘤诊断的金标准仍是病理组织活检,ctDNA 检测尚不能完全代替组织活检和影像学检查。

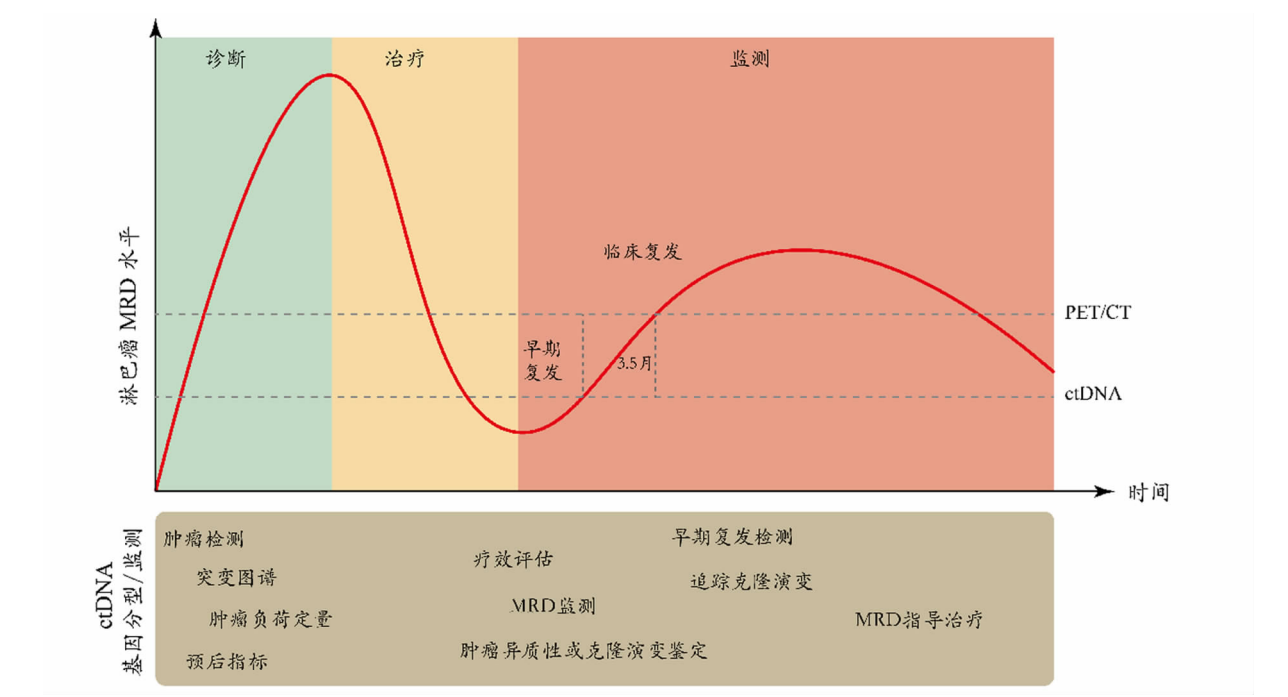


图 1 ctDNA 在 B 细胞淋巴瘤全程管理中的应用示例图

参 考 文 献

- 1 李小秋,李甘地,高子芬,等. 中国淋巴瘤亚型分布:国内多中心性病例 10002 例分析 [J]. 诊断学理论与实践,2012,11(2):111-115.
- 2 Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis [J]. Nat Rev Cancer,2005,5(4):251-262.
- 3 Ma MCJ,Tadros S,Bouska A,et al. Subtype-specific and co-occurring genetic alterations in B-cell non-Hodgkin lymphoma [J]. Haematologica,2022,107(3):690-701.
- 4 O'Malley DP,Auerbach A,Weiss LM. Practical applications in immunohistochemistry:evaluation of diffuse large B-Cell lymphoma and related large B-Cell lymphomas [J]. Arch Pathol Lab Med,2015,139(9):1094-1107.
- 5 Wang HY,Zu Y. Diagnostic algorithm of common mature B-Cell lymphomas by immunohistochemistry [J]. Arch Pathol Lab Med,2017,141(9):1236-1246.
- 6 Cheson BD. PET/CT in lymphoma:current overview and future directions [J]. Semin Nucl Med,2018,48(1):76-81.
- 7 Zanoni L,Bezzi D,Nanni C,et al. PET/CT in non-hodgkin lymphoma: An Update [J]. Semin Nucl Med,2023,53(3):320-351.
- 8 Jahr S,Hentze H,Englisch S,et al. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells [J]. Cancer Res,2001,61(4):1659-1665.
- 9 Chen Z,Fadiel A,Naftolin F,et al. Circulation DNA: biological implications for cancer metastasis and immunology [J]. Med Hypotheses,2005,65(5):956-961.
- 10 Hohaus S,Giachelia M,Massini G,et al. Cell-free circulating DNA in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas [J]. Ann Oncol,2009,20(8):1408-1413.
- 11 Rossi D,Spina V,Bruscaggini A,et al. Liquid biopsy in lymphoma [J]. Haematologica,2019,104(4):648-652.
- 12 Lakhotia R,Roschewski M. Circulating tumour DNA in B-cell lymphomas: current state and future prospects [J]. Br J Haematol,2021,193(5):867-881.
- 13 Cristiano S,Leal A,Phallen J,et al. Genome-wide cell-free DNA fragmentation in patients with cancer [J]. Nature,2019,570(7761):385-389.
- 14 Sanchez C,Roch B,Mazard T,et al. Circulating nuclear DNA structural features origins and complete size profile revealed by fragmentomics [J]. JCI Insight,2021,6(7):e144561.
- 15 Liu Y,Liu Y,Wang Y,et al. Increased detection of circulating tumor DNA by short fragment enrichment [J]. Transl Lung Cancer Res,2021,10(3):1501-1511.
- 16 Hummel EM,Hessas E,Müller S,et al. Cell-free DNA release under psychosocial and physical stress conditions [J]. Transl Psychiatry,2018,8(1):236.
- 17 Schroers-Martin JG,Kurtz DM,Soo J,et al. Determinants of circulating tumor DNA levels across lymphoma histologic subtypes [J]. Blood,2017(suppl 1):4018.
- 18 Roschewski M,Rossi D,Kurtz DM,et al. Circulating tumor DNA in lymphoma: principles and future directions [J]. Blood Cancer Discov,2022,3(1):5-15.
- 19 Warton K,Yuwono NL,Cowley MJ,et al. Evaluation of Streck BCT and PAX gene stabilised blood collection tubes for Cell-Free circulating DNA studies in plasma [J]. Mol Diagn Ther,2017,21(5):563-570.
- 20 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.
- 21 Lauer EM,Mutter J,Scherer F. Circulating tumor DNA in B-cell lymphoma: technical advances,clinical applications and perspectives for translational research [J]. Leukemia,2022,36(9):2151-2164.
- 22 Herrera AF,Armand P. Minimal Residual disease assessment in lymphoma: methods and applications [J]. J Clin Oncol,2017,35(34):3877-3887.
- 23 Logan AC,Gao H,Wang C,et al. High-throughput VDJ sequencing for quantification of minimal residual disease in chronic lymphocytic leukemia and immune reconstitution assessment [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2011,108(52):21194-21199.
- 24 Monter A,Nomdedéu JF. ClonoSEQ assay for the detection of lymphoid malignancies [J]. Expert Rev Mol Diagn,2019,19(7):571-578.
- 25 Scherer F,Kurtz DM,Newman AM,et al. Distinct biological subtypes and patterns of genome evolution in lymphoma revealed by circulating tumor DNA [J]. Sci Transl Med,2016,8(364):364ra155.
- 26 Kennedy SR,Schmitt MW,Fox EJ,et al. Detecting ultralow-frequency mutations by Duplex Sequencing [J]. Nat Protoc,2014,9(11):2586-2606.
- 27 Kurtz DM,Soo J,Co Ting Keh L,et al. Enhanced detection of minimal residual disease by targeted sequencing of phased variants in circulating tumor DNA [J]. Nat Biotechnol,2021,39(12):1537-1547.
- 28 Hengeveld PJ,van der Klift MY,Kolijn PM,et al. Detecting measurable residual disease beyond 10⁻⁴ by an IGHV leader-based NGS approach improves prognostic stratification in CLL [J]. Blood,2023,141(5):519-528.
- 29 Alaggio R,Amador C,Anagnostopoulos I,et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms [J]. Leukemia,2022,36(7):1720-1748.
- 30 张炜,沈克锋,张美兰,等. 中国人群中弥漫性大 B 细胞淋巴瘤基于基因变异的分型及其预后意义 [J]. 内科急危重症杂志,2022,28(3):186-190.
- 31 Wright GW,Huang DW,Phelan JD,et al. A probabilistic classification tool for genetic subtypes of diffuse large B cell lymphoma with therapeutic implications [J]. Cancer Cell,2020,37(4):551-568.
- 32 Spina V,Bruscaggini A,Cuccaro A,et al. Circulating tumor DNA reveals genetics clonal evolution and residual disease in classical Hodgkin lymphoma [J]. Blood,2018,131(22):2413-2425.
- 33 Deveson IW,Gong B,Lai K,et al. Evaluating the analytical validity of circulating tumor DNA sequencing assays for precision oncology [J]. Nat Biotechnol,2021,39(9):1115-1128.
- 34 International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma [J]. N Engl

- J Med,1993,329(14):987-994.
- 35 Meignan M, Coterreau AS, Specht L, et al. Total tumor burden in lymphoma - an evolving strong prognostic parameter [J]. Br J Radiol, 2021,94(1127):20210448.
- 36 Schneider RJ, Seibert K, Passe S, et al. Prognostic significance of serum lactate dehydrogenase in malignant lymphoma [J]. Cancer, 1980, 46(1):139-143.
- 37 Alig S, Macaulay CW, Kurtz DM, et al. Short diagnosis-to-treatment interval is associated with higher circulating tumor DNA levels in diffuse large B-Cell lymphoma [J]. J Clin Oncol, 2021,39(23):2605-2616.
- 38 Rivas-Delgado A, Nadeu F, Enjuanes A, et al. Mutational landscape and tumor burden assessed by cell-free DNA in diffuse large B-Cell lymphoma in a population-based study [J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(2):513-521.
- 39 Sarkozy C, Huet S, Carlton VE, et al. The prognostic value of clonal heterogeneity and quantitative assessment of plasma circulating clonal IG-VDJ sequences at diagnosis in patients with follicular lymphoma [J]. Oncotarget, 2017,8(5):8765-8774.
- 40 Camus V, Viennot M, Lequesne J, et al. Targeted genotyping of circulating tumor DNA for classical Hodgkin lymphoma monitoring: a prospective study [J]. Haematologica, 2021,106(1):154-162.
- 41 Lakhotia R, Melani C, Dunleavy K, et al. Circulating tumor DNA predicts therapeutic outcome in mantle cell lymphoma [J]. Blood Adv, 2022,6(8):2667-2680.
- 42 Fernández-Miranda I, Pedrosa L, Llanos M, et al. Monitoring of circulating tumor DNA predicts response to treatment and early progression in follicular lymphoma: results of a prospective pilot study [J]. Clin Cancer Res, 2023,29(1):209-220.
- 43 Desmots F, Rossille D, Roussel M, et al. The negative influence of baseline cell-free DNA on long-term survival in DLBCL depends on frontline treatment intensity [J]. Clin Cancer Res, 2023,29(12):2280-2290.
- 44 Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, et al. Recommendations for initial evaluation staging and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification [J]. J Clin Oncol, 2014,32(27):3059-3068.
- 45 Barrington SF, Trotman J. The role of PET in the first-line treatment of the most common subtypes of non-Hodgkin lymphoma [J]. Lancet Haematol, 2021,8(1):e80-e93.
- 46 Adams HJ, Nievelstein RA, Kwee TC. Prognostic value of complete remission status at end-of-treatment FDG-PET in R-CHOP-treated diffuse large B-cell lymphoma: systematic review and meta-analysis [J]. Br J Haematol, 2015,170(2):185-191.
- 47 Kurtz DM, Scherer F, Jin MC, et al. Circulating tumor DNA measurements as early outcome predictors in diffuse large B-Cell lymphoma [J]. J Clin Oncol, 2018,36(28):2845-2853.
- 48 Li M, Mi L, Wang C, et al. Clinical implications of circulating tumor DNA in predicting the outcome of diffuse large B cell lymphoma patients receiving first-line therapy [J]. BMC Med, 2022,20(1):369.
- 49 Roschewski M, Dunleavy K, Pittaluga S, et al. Circulating tumour DNA and CT monitoring in patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: a correlative biomarker study [J]. Lancet Oncol, 2015, 16(5):541-549.
- 50 Chase ML, Armand P. Minimal residual disease in non-Hodgkin lymphoma - current applications and future directions [J]. Br J Haematol, 2018,180(2):177-188.
- 51 Camus V, Stamatoullas A, Mareschal S, et al. Detection and prognostic value of recurrent exportin 1 mutations in tumor and cell-free circulating DNA of patients with classical Hodgkin lymphoma [J]. Haematologica, 2016,101(9):1094-1101.
- 52 Huet S, Salles G. Potential of Circulating Tumor DNA for the Management of Patients With Lymphoma [J]. JCO Oncol Pract, 2020, 16(9):561-568.
- 53 Giudice ID, Starza ID, Foà R. Does MRD have a role in the management of iNHL? [J]. Hematol Am Soc Hematol Educ Program, 2021,2021(1):320-330.
- 54 Ladetto M, Tavarozzi R, Pott C. Minimal residual disease in mantle cell lymphoma: methods and clinical significance [J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2020,34(5):887-901.
- 55 Jongen-Lavrencic M, Grob T, Hanekamp D, et al. Molecular minimal residual disease in acute myeloid leukemia [J]. N Engl J Med, 2018, 378(13):1189-1199.
- 56 Wood B, Wu D, Crossley B, et al. Measurable residual disease detection by high-throughput sequencing improves risk stratification for pediatric B-ALL [J]. Blood, 2018,131(12):1350-1359.
- 57 Thompson M, Brander D, Nabhan C, et al. Minimal residual disease in chronic lymphocytic leukemia in the Era of novel agents: a review [J]. JAMA Oncol, 2018,4(3):394-400.
- 58 Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-Cell therapy in refractory large B-Cell lymphoma [J]. N Engl J Med, 2017,377(26):2531-2544.
- 59 Wang M, Munoz J, Goy A, et al. KTE-X19 CAR T-Cell therapy in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma [J]. N Engl J Med, 2020, 382(14):1331-1342.
- 60 Sworder BJ, Kurtz DM, Alig SK, et al. Determinants of resistance to engineered T cell therapies targeting CD19 in large B cell lymphomas [J]. Cancer Cell, 2023,41(1):210-225.

(2023-06-20 收稿)