

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.01.005

· 专家论坛(专题) ·

基因变异检测技术在恶性肿瘤精准医疗中的应用

张乐吟¹, 孙磊涛¹, 沈敏鹤²(1. 浙江中医药大学 第一临床医学院, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江省中医院 肿瘤科, 浙江 杭州 310006)

[摘要] 恶性肿瘤是严重威胁人类健康和社会发展的重大疾病, 寻找科学的方法对其进行诊断、治疗和评估已成为近年来全球最重要的公共卫生问题之一。随着医疗行业的不断发展, 传统的肿瘤筛查、防治和预后评估手段在近几年发展迅速。但是考虑到肿瘤异质性和患者个体化的特征, 精准化的疾病筛查、诊断、治疗等医疗模式将成为未来医疗发展的趋势。肿瘤领域的基因变异检测是精准医疗中重要的组成部分, 其应用可涉及早期筛查、复发监测、靶向用药指导、疗效及预后评价等众多环节, 但在临床运用中仍存在诸多局限, 有待更深入的研究来推动肿瘤精准医疗的发展。本文就近年来基因变异检测技术在恶性肿瘤精准医疗中的发展历程以及应用进展作一介绍。

[关键词] 恶性肿瘤; 基因变异检测; 基因测序; 精准医疗; 临床应用

[中图分类号] R730.4; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)01-0022-07

Application of gene variation detection technology in precision medicine of malignant cancers

ZHANG Leyin¹, SUN Leitao¹, SHEN Minhe² (1. First School of Clinical Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China; 2. Department of Oncology, Zhejiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310006, Zhejiang, China)

[Abstract] Malignant cancer is a kind of fatal disease with severe threat to human health and social development, and seeking a scientific method for the proper diagnosis, treatment and assessment has become one of the most important public health problems in recent years. With the constant development in healthcare industry, traditional methods of tumor screening, prevention and prognosis assessment have made a rapid progress. However, owing to the characteristics of tumor heterogeneity and patient individuation, precision medicine mode in disease screening, diagnosis and treatment will become a general trend in future medical development. As an important part in precision medicine, gene variation detection in the field of tumors involves several aspects, including early screening, recurrence monitoring, guidance on use of targeted drugs and assessment of efficacy and prognosis etc; However, there are still many limitations in its clinical practice. Therefore, further research is needed to promote the development of tumor precision medicine. In this paper, the development history of gene variation detection and its application progress in precision medicine of malignant tumors are comprehensively discussed.

[Key words] malignant cancer; gene variation detection; gene sequencing; precision medicine; clinical application

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(1): 22-28. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.01.005]



沈敏鹤, 主任中医师、博士生导师, 长期从事中西医结合防治恶性肿瘤的临床和基础研究。国家中医药管理局“十二五”中医药重点学科“中医‘治未病’”学科带头人、“吴良村名老中医药专家传承工作室”负责人, 省中医药肿瘤科技创新平台中医肿瘤负责人, 教育厅中医人才创新实验区负责人。主持国家公益性行业科研专项、国家“十一五”

科技支撑计划、国家自然科学基金等多项研究课题, 发表学术论文100余篇, 参编著作2部, 获国家专利4项, 获国家科学技术进步奖、省中医药科学技术奖等共7项。

2017年WHO公布的数据^[1]显示, 全球每年因恶性肿瘤病死人数占死亡总人数的1/6, 同时有1 400多万

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81573902); 浙江省中医药科学研究基金(No. 2015ZZ013)。Subject supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81573902), and the Chinese Traditional Chinese Medicine Scientific Research Foundation of Zhejiang Province(No. 2015ZZ013)

[作者简介] 张乐吟(1995-), 女, 硕士生, 主要从事中西医结合防治恶性肿瘤的研究, E-mail: zhangleyin828@163.com

[通信作者] 沈敏鹤(SHEN Minhe, corresponding author), E-mail: shenminhe@aliyun.com

新发癌症病例。而2018年全国最新癌症报告统计^[2]发现,2014年中国约有380.4万新发癌症病例,这意味着在中国每分钟会有7人被确诊为癌症,全年病死人数约229.6万。尽管传统的肿瘤筛查、防治和预后评估方法在近几年发展迅速,但仍急需发展新的诊断和治疗手段以解决肿瘤的异质性和患者的个体化所带来的局限性。近年来,随着基因变异检测技术的快速发展,精准医疗在恶性肿瘤领域的应用取得了重大突破。通过对患者的个体化基因检测,能够对恶性肿瘤的早期发现、诊断分期、治疗方案制定、病程监控、耐药检测和预后评估等起到重要的指向作用。本文将重点介绍基因变异检测技术的发展历程以及在恶性肿瘤精准医疗中应用的最新进展,讨论该技术的局限性,并提出未来的研究和发展方向。

1 基因变异检测推动肿瘤精准医疗的发展

个体遗传信息是对疾病进行精确诊断、治疗和疗效评估的密码,而精准医疗正是以这种信息为基础,结合基因测序技术、生物信息与大数据发展而形成的新型医疗模式。

恶性肿瘤是在环境、遗传因素的交互作用下,抑

癌基因和原癌基因突变的累积导致的结果,因此基因表达有着显著性差异。基因测序技术实际上就是通过测定基因中4种碱基的排列顺序从而确定基因差异性的表达。自英国生化学家桑格(SANGER)在1977年发明双脱氧核糖核酸链末终止法以来^[3-4],基因测序技术已经历40多年的发展历程。1985年后,利用荧光成像对序列信息进行采集并分析的四色荧光法在基因测序领域中占据主导地位;21世纪以来,平行分析单个DNA分子的克隆扩增法正成为基因测序中的主流;而近年来,随着多元化技术发展和高通量测序技术的日臻成熟^[5],基因测序技术不断取得新的突破。

第二代基因测序技术凭借其在成本和通量上的优势已全面取代一代测序技术。与桑格法相比,第二代基因测序技术在降低测序成本的同时还大幅提高了测序速度,并保障了高准确性,可一次性对芯片上所有的DNA片段进行测序,弥补了传统方法在基因测序规模和效率中的瓶颈,成为了目前使用最广泛的基因测序技术。第三代基因测序技术虽然无需进行PCR扩增,且在测序通量和速度方面较第二代测序技术有了明显进步,但因较高的测序错误率限制其大规模商业化的应用(表1)。

表1 三代基因测序技术的优劣势比较

基因测序技术	优势	劣势
第一代	1. 测序读长较长 2. 测序准确率高	1. 测序通量低 2. 测序成本高 3. 存在系统偏向性
第二代	1. 测序通量高 2. 测序成本低 3. 测序速度快 4. 测序准确率高	1. 测序读长较短 2. 存在系统偏向性
第三代	1. 单分子测序,不存在系统偏向性 2. 测序读长较长 3. 测序速度快 4. 测序成本低 5. 测序通量高	1. 测序准确率低 2. 测序技术尚未成熟

随着基因测序技术不断取得新的突破,实现了对人类基因组突变位点的检测和分析,对于恶性肿瘤的认识可深入至核酸分子水平,为肿瘤诊断、治疗和预后评估提供了可靠的微观证据支持。以基因测序技术作为基础,分析基因变异检测的结果,能够获得患者个性化的遗传信息,这为恶性肿瘤的临床诊断、治疗和预后评估提供了针对性的指导。可以说,基因测序技术通过对恶性肿瘤变异基因的个体化分析,促进了恶性肿瘤的精准医疗的发展进程,满足了

个性化的医疗需求。

近年来,有许多基于精准医疗的治疗策略,如靶向治疗、免疫检查点抑制剂治疗取得了较大进展,但其疗效在不同患者和肿瘤间存在差异。目前无论是二代还是三代基因测序技术,所用检测对象都是从大量细胞中获取的混合DNA样本,但由于肿瘤异质性的存在,即便是相同表型的细胞其遗传信息仍可能存在差异,因此在群体细胞水平层面上进行研究时,只能得到全基因组序列的平均信息,或某些高丰度

的细胞信息,而单个细胞的特异性信息常常被忽略,并不能获得全面的肿瘤免疫图谱。单细胞基因组检测的出现基本解决了上述问题,与传统的全基因组测序相比,单细胞检测技术在测量精确性和低丰度基因或非编码基因的检测方面都具有显著优势。目前众多学者在单细胞水平上对基因组进行检测,已获得了包括肝癌^[6]、脑胶质瘤^[7]、乳腺癌^[8]、肺癌^[9]等多种类型肿瘤在内的基因组图谱,揭示了每个肿瘤细胞的突变规律,为更多抗肿瘤潜在靶点和肿瘤标志物的发现提供数据支持。

2 基因变异检测为肿瘤精准医疗提供肿瘤遗传信息数据支持

数据信息是精准医疗中不可或缺的一部分,个性化解读突变的肿瘤基因需要大样本的数据支持。基因检测技术的快速发展,使其逐步向临床应用阶段转化,但在此过程中产生的大量数据需通过计算、分析、解读后,才能表达出遗传信息。面对如此庞大的信息,人工智能可充分发挥其“深度学习”的优势,从图像、文本、声音等多种形式的信息样本中获取原始数据,再与生物信息学分析结合,通过序列比对、基因识别、基因重组、蛋白质结构预测、基因表达等多个步骤,在基因组水平上提取有效突变信息,然后转换成包括表观基因组、蛋白质组、转录组等在内的生物学数据,并通过可视化和云计算技术,在兼顾处理碎片化数据和确保数据安全性的前提下对其进行分类、储存和分析,最终为疾病的诊断和治疗提供理论指导。

早在2014年,国际癌症基因组联盟就公布了超过1万个与癌症相关的基因数据,目前又正在对约2.5万个肿瘤样本进行检测,以期建立一个包含50种肿瘤类型在内的基因突变数据库。2016年,*Nature*发布了乳腺癌全基因组检测的研究数据^[10-11],其中包含了与乳腺癌相关的5个新基因和13个新突变标记,并证实了乳腺癌患者的基因表达具有高度特异性。随后,一项发表在*Nat Med*上的大样本前瞻性临床检测研究^[12],共纳入超过1万例晚期肿瘤患者的临床资料,通过比较他们正常组织和实体肿瘤组织中的基因序列、肿瘤指标及病理活检等数据,建立了肿瘤体细胞突变数据库。该数据库不仅对确定新的肿瘤标志物具有参考价值,而且在临床上还有助于发现可行性突变。这些基因信息是大数据时代快速发展的产物,随着基因检测及计算机技术的不断进步,将有更多兼具专业性、广谱性的数据库提供基因层面的支持。

但是,数据的指数式增长也对信息储存和分析

技术提出了更高的要求,数据利用率低、解读分析难度大、安全保障性低是基因检测技术在大规模推广和商业性转化前亟待解决的问题。可以说目前基因数据的发展仍停留在初步探索阶段,远没有达到可以规范化使用的阶段。

3 精准肿瘤医疗中基因变异检测的临床应用

由于个体化差异的存在,即使被确诊为同一肿瘤类型及分期的不同患者,他们的临床表现和治疗方案各不相同。随着基因检测技术的快速发展,通过检测相关的突变基因能实现对高危人群的早期筛查,指导免疫治疗,实时监控肿瘤患者的靶向用药及耐药情况,并评估预后和复发风险^[13-14]。

3.1 基因变异检测在肿瘤筛查诊断中的优势

早期发现可使癌症治愈率提高至40%^[15]。目前,患者确诊时往往已发展至中晚期,已错失了最佳治疗时机。因此实现肿瘤早期诊断是提高治愈率、降低病死率的有效途径。

尽管组织活检是目前临床上获取肿瘤信息的主要手段,但肿瘤的异质性和取样的局限性使检测结果并不完全准确^[16],仅用瘤体组织确定的基因突变存在65%的假阳性^[17]。因此寻找兼具高度敏感性和特异性的肿瘤标志物来替代组织活检具有重要意义。循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)是肿瘤细胞在坏死、凋亡后释放到体液中的一种游离DNA,可以实时反映肿瘤信息。这种方式只需获取少量患者的血液样本,避免了穿刺过程中患者可能出现的不适和潜在的转移风险。SWANTON团队^[18]检测了I、II期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者血液中的ctDNA,发现至少有2种与肿瘤发生发展相关的基因存在突变,提示ctDNA可监测早期肿瘤的发生。但并不是所有的肿瘤细胞都会在坏死、凋亡后向外周循环系统释放DNA,而且不同类型肿瘤的检出率也存在差异。随后有研究发现,检测包括被降解的正常细胞和肿瘤细胞中的循环游离DNA(circulating free DNA, cfDNA)能够提高检出率。一项综合了2006—2013年有关EGFR突变的Meta分析^[19]发现,cfDNA能够检测出EGFR的突变(PLR: 10.307, 95%CI: 6.167~17.227; DOR: 29.582, 95%CI: 4.582~60.012),特异性达93.5%(95%CI: 0.888~0.963),而敏感性只有67.4%(95%CI: 0.517~0.800)。虽然敏感性不够理想,但在肿瘤筛查试验中高度特异性更为重要^[20]。随后*Science*公布了一项筛查体细胞基因突变的技术,该技术在特异性高达99%的同时敏感性也达到了69%~98%^[21]。另外,血小板作为肿瘤发生发展中局部组织和机体全身的反

应者,因暴露在肿瘤微环境的“教育”之下而发生应答。有研究^[22]发现,这种受肿瘤“教育”血小板(tumors “educate” platelet, TEP)所吸附的肿瘤RNA也可作为筛查性的生物标志物,有助于辨别实体瘤类型及所携带的突变基因。通过筛查血液样本中的TEP检测出早期和晚期癌症,准确率分别达到81%和88%,在与患者的信息进行个性化匹配后准确性更是高达91%^[23]。

由此可见,基因变异检测是肿瘤早筛的有效手段,弥补了组织活检在侵入性、操作性、反复性和实时性等方面的不足,可以把癌症的警示线从肿瘤早期阶段推前至细胞癌变阶段,为肿瘤预防提供基因水平的指导。但不稳定的敏感性和特异性还是限制了基因变异检测在肿瘤筛查和诊断中的临床应用。

3.2 基因变异检测是肿瘤精准靶向治疗的前提

靶向治疗是建立在分子水平上,针对已明确的致癌位点特异性杀死肿瘤细胞的方法。与非选择性的化疗相比,靶向治疗能够直接对肿瘤细胞发挥作用,最大限度地减轻对正常细胞的损害。但是靶向治疗的有效率取决于靶区定位的精确程度,这与基因突变的检测密切相关。

早在2015年,中国食品药品监督管理局(CFDA)批准的IRESSA说明书中就建议使用药物前先进行EGFR突变检测。研究^[24]发现,在NSCLC患者中EGFR基因的突变率高达10%~50%,而TKI的靶向药物对EGFR突变患者的治疗效果更好,能够显著延长患者的无病生存期(PFS)^[25]。可是KRAS突变的NSCLC患者会对TKI产生耐药,导致疾病进展时间(14.4 vs 11.4个月, $P>0.05$)和总生存时间(40.2 vs 35.0个月, $P>0.05$)的差异均无统计学意义^[26]。另外,约有20%的晚期前列腺癌患者存在BRCA1/2基因的突变,该突变类型的患者可选择PARP抑制剂治疗^[27]。研究人员还在前列腺癌患者中发现了包括PI3K、RAF等以往从未检出但存在于其他类型肿瘤中的新突变,可被现有药物靶向。

综上所述,靶向治疗的效果取决于患者的分子遗传学信息,不同的基因表型对药物的敏感性有差异,精确评估患者的基因序列变异在靶向治疗中具有重要意义,因此基因变异检测是实施靶向治疗的前提。但与肿瘤基因存在的大量潜在突变相比,现有药物能够靶向的基因突变只占其中一小部分,大部分患者并不能从靶向药物中获益,这也是目前基因变异检测在靶向治疗临床应用中的巨大瓶颈。

3.3 基因变异检测预判靶向耐药的價值

尽管靶向药物的安全性和有效性已得到证实,但几乎所有在初期获益的患者都会因获得性耐药导

致肿瘤再次进展^[28-29]。GEOFF等^[30]发现,在影像学进展前16周内可在接受靶向治疗的NSCLC患者中检测到EGFR-T790M关联基因KRAS、BRAF发生突变,其敏感性和特异性分别达到80%~94%和100%。随后一项研究^[31]又分析了23例晚期NSCLC患者在接受厄洛替尼治疗期间的EGFR突变水平,结果提示在疾病出现临床进展前15~344 d内有9例患者(39%)能够检测到EGFR-T790M突变。类似诸多研究都说明肿瘤来源的DNA能准确且早期反映患者对靶向治疗的耐药情况。另外,有研究证实耐药基因的突变水平与耐药强度有关。一项前瞻性研究^[32]发现,与只有T790M或还有其他耐药基因发生突变的患者相比,没有基因突变的耐药患者中位生存期更长(807 vs 509 d; $HR=0.240$; $95\%CI:0.104\sim0.553$, $P<0.01$)。

换句话说,基因变异检测应贯穿靶向治疗的始终,连续检测耐药相关突变基因的改变能有效监测肿瘤细胞的耐药情况,以便及时制定出个性化的治疗方案。但目前基因检测项目在临床上仍属自费范围,若要严密监控靶向药物的耐药情况势必要进行多次基因检测,这时成本因素就成了不可忽视的问题,直接阻碍了基因变异检测在临床上的普及。

3.4 基因变异检测对肿瘤免疫治疗的指导作用

检测肿瘤细胞的突变基因不仅能够指导靶点选择,还有助于寻找调控免疫应答的分子机制,增强免疫识别和抑制免疫逃避。

近来有研究发现,PD-L1^[33]、肿瘤突变负载^[34]和微卫星不稳定性MSI/MMR^[35]与免疫检查点抑制剂在抗肿瘤治疗中的应答率密切相关。但目前免疫治疗在临床上的实际获益率仅有20%左右,这主要是因为缺少能准确指导用药的生物标志物。有一项研究^[36]将接受PD-1抑制剂治疗后产生抗性的子宫内膜癌患者作为研究对象,对他们进行全基因组以及转录组检测,发现其免疫治疗前后的肿瘤组织中存在PTEN基因缺失,结合体外实验推断PTEN的缺失与肿瘤细胞对PD-1抑制剂产生的抗性有关,其主要机制可能是因为T细胞无法正常识别肿瘤细胞。另外,EGFR/ALK^[37]、EGFR-T790M^[38]等基因突变也与免疫治疗的疗效呈负相关,这可能与影响PD-L1的表达水平和T细胞的浸润程度有关。因此,基因突变会导致免疫治疗效果产生诸多不确定的变化,而对特定基因进行检测能够有效预测免疫治疗的疗效。

另外,通过对肿瘤细胞进行全基因组检测寻找新抗原,并以此来刺激机体产生免疫应答从而研制出的肿瘤疫苗,正受到广泛关注。自2014年始,众多研究团队采用高通量的基因检测技术不断找到新抗原^[39-40],并将其应用于黑色素瘤^[41]患者,取得了不错

的疗效。随后,有学者^[42]采用全基因变异检测技术从结肠癌患者的肺部转移灶中分离出靶向KRAS G12D突变的肿瘤浸润淋巴细胞,将其扩增并回输至患者体内,发现部分患者的肺部病灶明显消退。目前,肿瘤疫苗的疗效在早期临床试验中已得到初步证实,但还需要更多的随机、对照、多中心试验来证明这些疫苗的疗效不仅只局限于免疫原性最强的黑色素瘤。

3.5 基因变异检测评估肿瘤复发转移的潜力

复发、转移是恶性肿瘤长期治疗效果不佳的关键原因,CEA是目前指南推荐用于监测复发的重要指标,但事实上其灵敏度和特异性并不理想。近年来有多项研究证实通过肿瘤源性DNA的血液测试能有效评估癌症复发情况。

2013年,DAWSON等^[43]监测了27例转移性乳腺癌患者在治疗期间PIK3CA和P53突变基因的变化水平,发现在26例患者(96%)的组织样本中能够检测到突变的ctDNA,相比之下仅有21例患者(78%)的CA153出现升高(>32.4 U/ml),结果说明ctDNA的敏感性显著高于CA153(85% vs 59%)。随后GARCIA-MURILLAS等^[44]从55例早期乳腺癌患者中获取血液样本,与ctDNA检测结果阴性的患者相比,阳性患者的复发风险是前者的12倍(95%CI: 3.36~43.07, $P < 0.01$),中位复发时间是出现症状前的7.9个月。另外,在YOUNG等^[45]研究的28例复发患者中,甲基化BCAT1/IKZF1和CEA阳性率分别为67.9%(95%CI: 48%~84%)和32.1%(95%CI: 16%~52%),前者的复发风险比(14.4; 95%CI: 5.4~38.7 vs 6.9; 95%CI: 2.3~21.1)、对局部(75% vs 50%)和远处(66.7% vs 29.2%)复发转移的检测敏感度均显著高于后者。

近年来诸多研究都证实了ctDNA能够在乳腺癌患者的肿瘤标志物升高及影像学改变之前发生改变,这有助于患者在肿瘤复发前进行有效的预防和治疗,以此延长无进展生存时间,但ctDNA是否在其他类型的肿瘤中也有此应用价值仍有待深入研究。

3.6 基因变异检测在疗效和预后评估中的前景

基因变异检测能够提供患者体内肿瘤负荷的动态信息,为疗效和预后的评估提供依据。ROSCHEWSKI等^[46]回顾性分析了弥漫大B细胞淋巴瘤患者血液样本中的ctDNA水平,结果显示可检测到和未检测到ctDNA的患者5年疾病进展率分别为41.7%(95%CI: 22.2~60.1)与80.2%(95%CI: 69.6~87.3),但对总生存(OS)的影响差异无统计学意义($P > 0.05$),这可能与样本量过小有关。与后者相比,ctDNA阳性患者的临床疾病进展风险比为228(95%CI: 51~1 022, $P < 0.01$)。随后一篇大样本系统综述^[47]分析发现,在

4 052例实体瘤患者中ctDNA的检出与预后较差的患者OS显著相关($HR: 2.70, 95\%CI: 2.02 \sim 3.61$),患者1年和3年的生存期分析也得到相似的结果($OR: 4.83, 95\%CI: 3.20 \sim 7.28, P < 0.01$)。另外一项关于胰腺癌的前瞻性研究^[48]也证实了ctDNA的存在与较短的PFS(4.6 vs 17.6个月, $P < 0.05$)和OS(19.3 vs 32.2个月, $P < 0.05$)密切相关。

以上诸多研究均证实,ctDNA可作为肿瘤预后判断的可靠指标。与肿瘤标志物及影像学相比,ctDNA能弥补敏感性低以及实时反应性不理想的缺点。但也有关于ctDNA在疗效预后评估中得到阴性结论的报道,这可能与样本数量过小有关,因此有待更多大规模多中心前瞻性研究来进一步证实这一观点。

4 结 语

近年来随着综合治疗在肿瘤领域的快速发展,加之肿瘤异质性和患者个体化的特征,传统诊断和治疗手段的局限性日益突出。强调个性化和差异化的精准医疗将成为未来医疗发展的趋势。基因变异检测作为精准医疗的应用前提,正逐步突破基础研究,转化进入临床,可应用于肿瘤诊疗的各个阶段。首先,从肿瘤诊断方面来看,基因变异检测可以弥补组织活检存在的不足,筛查出处于可逆的亚临床期肿瘤高危人群而实现早期诊断和复发评估,为肿瘤预防提供基因水平的指导。但是目前基因变异检测的特异性和敏感性仍不稳定,其诊断价值有待进一步提高;其次,从肿瘤治疗方面来看,基因变异检测的应用现阶段主要聚焦于靶向治疗,而现有药物能够靶向的变异基因只占其中较小的一部分,大部分希望使用靶向药物的肿瘤患者并不能从基因变异检测中获益,同时靶向治疗的获得性耐药也限制了基因变异检测在临床上的用武之地;最后,从肿瘤预后方面来看,基因变异检测可为患者提供更多更有效的独立预后信息,为疗效的评价和预后的评估提供参考依据,从而提出更高效、更有针对性的治疗方案,然而尚未有大样本的临床试验对此进行研究,还需要更多大规模多中心的前瞻性研究来证实这一观点。

综上所述,肿瘤领域的基因变异检测是精准医疗中重要的组成部分,其未来应用可涉及早期筛查与复发监测、个性化靶向用药指导、疗效及预后评价等众多环节,但其在临床运用中仍然存在诸多局限,有待更深入的研究来推动肿瘤精准医疗的发展,并将其广泛运用到更多的临床医学实践中去。

[参 考 文 献]

- [1] WORLD HEALTH ORGANIZATION. World health statistics 2017: monitoring health for the SDGs[R/OL]. Geneva, 2017[2018-07-15]. <http://nianjian.xiaze.com/international/2017/world-health-statistics>

- tics-2017.html.
- [2] CHEN W, SUN K, ZHENG R, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2014[J]. *Chin J Cancer Res*, 2018, 30(1): 1-12. DOI: 10.21147/j.issn.1000-9604.2018.01.01.
- [3] MAXAM A M, GILBERT W. A new method for sequencing DNA. 1977[J]. *Biotechnology*, 1992, 24: 99-103.
- [4] SANGER F, NICKLEN S, COULSON A R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1977, 74(12): 5463-5467.
- [5] DEKKER J, BELMONT A S, GUTTMAN M, et al. The 4D nucleome project[J]. *Nature*, 2017, 549(7671): 219-226. DOI: 10.1038/nature23884.
- [6] ZHENG C, ZHENG L, YOO J K, et al. Landscape of infiltrating T cells in liver cancer revealed by single-cell sequencing[J/OL]. *Cell*, 2017, 169(7): 1342-1356[2018-07-15]. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/00928674>. DOI:10.1016/j.cell.2017.05.035.
- [7] KLUGHAMMER J, KIESEL B, ROETZER T, et al. The DNA methylation landscape of glioblastoma disease progression shows extensive heterogeneity in time and space[J]. *Nat Med*, 2018, 24(10): 1611-1624. DOI:10.1038/s41591-018-0156-x.
- [8] CASASENT A K, SCHALCK A, GAO R, et al. Multiclonal invasion in breast tumors identified by topographic single cell sequencing[J/OL]. *Cell*, 2018, 172(1/2): 205-217[2018-07-15]. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/00928674>. DOI: 10.1016/j.cell.2017.12.007.
- [9] LAMBRECHTS D, WAUTERS E, BOECKX B, et al. Phenotype molding of stromal cells in the lung tumor microenvironment[J]. *Nat Med*, 2018, 24(8): 1277-1289. DOI:10.1038/s41591-018-0096-5.
- [10] MORGANELLA S, ALEXANDROV L B, GLODZIK D, et al. The topography of mutational processes in breast cancer genomes[J/OL]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11383[2018-07-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5001788/>. DOI: 10.1038/ncomms11383.
- [11] NIK-ZAINAL S, DAVIES H, STAAF J, et al. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences[J]. *Nature*, 2016, 534(7605): 47-54. DOI:10.1038/nature17676.
- [12] ZEHIR A, BENAYED R, SHAH R H, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients[J]. *Nat Med*, 2017, 23(6): 703-713. DOI:10.1038/nm0817-1004c.
- [13] ALIX-PANABIÈRES C, PANTEL K. Clinical applications of circulating tumor cells and circulating tumor DNA as liquid biopsy[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(5): 479-491. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-1483.
- [14] 毛凯晟, 阎海. 精准医学与膀胱癌的个体化诊疗[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(1): 17-22. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.01.003.
- [15] WORLD HEALTH ORGANIZATION. World health statistics 2005 [R/OL]. Geneva, 2005[2018-07-15]. <https://max.book118.com/html/2018/0213/152941637.shtm>.
- [16] VOGELSTEIN B, PAPADOPOULOS N, VELCULESCU V E, et al. Cancer genome landscapes[J]. *Science*, 2013, 339(6127): 1546-1558. DOI:10.1126/science.1235122.
- [17] ONES S, ANAGNOSTOU V, LYTLE K, et al. Personalized genomic analyses for cancer mutation discovery and interpretation[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(283): 283ra253[2018-07-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4442685/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa7161.
- [18] JAMAL-HANJANI M, WILSON G A, HORSWELL S, et al. Detection of ubiquitous and heterogeneous mutations in cell-free DNA from patients with early-stage non-small-cell lung cancer[J]. *Ann Oncol*, 2016, 27(5): 862-867. DOI:10.1093/annonc/mdw037.
- [19] XIONG Y, SHANG B, XU S, et al. Protective effect of Bu-zhong-yi-qi decoction, the water extract of Chinese traditional herbal medicine, on 5-fluorouracil-induced renal injury in mice[J]. *Ren Fail*, 2016, 38(8): 1240-1248. DOI:10.1080/0886022X.2016.1209380.
- [20] BRAWLEY O W, KRAMER B S. Cancer screening in theory and in practice[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(2): 293-300. DOI: 10.1200/JCO.2005.06.107.
- [21] COHEN J D, LI L, WANG Y, et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test[J]. *Science*, 2018, 359(6378): 926-930. DOI:10.1126/science.aar3247.
- [22] BEST M G, SOL N, KOOI I, et al. RNA-seq of tumor-educated platelets enables blood-based pan-cancer, multiclass, and molecular pathway cancer diagnostics[J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(5): 666-676. DOI:10.1016/j.ccell.2015.09.018.
- [23] BEST M G, SOL N, IN 'T VELD S, et al. Swarm intelligence-enhanced detection of non-small-cell lung cancer using tumor-educated platelets[J/OL]. *Cancer Cell*, 2017, 32(2): 238-252[2018-07-15]. [https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108\(17\)30296-9](https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108(17)30296-9). DOI:10.1016/j.ccell.2017.07.004.
- [24] HIRSCH F R, BUNN P A Jr. EGFR testing in lung cancer is ready for prime time[J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(5): 432-433. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70110-X.
- [25] DEMPKE W C. Targeted therapy for NSCLC-A double-edged Sword? [J/OL]. *Anticancer Res*, 2015, 35(5): 2503-2512[2018-07-15]. <http://ar.iiarjournals.org/content/35/5/2503.long>.
- [26] DEL RE M, TISEO M, BORDI P, et al. Contribution of KRAS mutations and c.2369C >T (p.T790M) EGFR to acquired resistance to EGFR-TKIs in EGFR mutant NSCLC: a study on circulating tumor DNA [J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(8): 13611-13619[2018-07-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5355124/>. DOI: 10.18632/oncotarget.6957.
- [27] ROBINSON D, VAN ALLEN E M, WU Y M, et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer[J]. *Cell*, 2015, 161(5): 1215-1228. DOI:10.1016/j.cell.2015.06.053.
- [28] PAEZ J G, JANNE P A, LEE J C, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy[J]. *Science*, 2004, 304(5676): 1497-1500. DOI:10.1126/science.1099314.
- [29] ROSELL R, CARCERENY E, GERVAIS R, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(3): 239-246. DOI:10.1016/S1470-2045(11)70393-X.
- [30] OXNARD G R, PAWELETZ C P, KUANG Y, et al. Noninvasive detection of response and resistance in EGFR-mutant lung cancer using quantitative next-generation genotyping of cell-free plasma DNA[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(6): 1698-1705. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2482.

- [31] SORENSEN B S, WU L, WEI W, et al. Monitoring of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-sensitizing and resistance mutations in the plasma DNA of patients with advanced non-small cell lung cancer during treatment with erlotinib[J]. *Cancer*, 2014, 120(24): 3896-3901. DOI:10.1002/cncr.28964.
- [32] UCHIDA J, IMAMURA F, KUKITA Y, et al. Dynamics of circulating tumor DNA represented by the activating and resistant mutations in epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor treatment[J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(3): 353-358. DOI: 10.1111/cas.12860.
- [33] GARON E B, RIZVI N A, HUI R, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(21): 2018-2028. DOI:10.1056/NEJMoa1501824.
- [34] NATHANSON T, AHUJA A, RUBINSTEYN A, et al. Somatic mutations and neoepitope homology in melanomas treated with CTLA-4 blockade[J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(1): 84-91. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-16-0019.
- [35] LE D T, DURHAM J N, SMITH K N, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade[J]. *Science*, 2017, 357(6349): 409-413. DOI: 10.1126/science.aan6733.
- [36] GEORGE S, MIAO D, DEMETRI G D, et al. Loss of PTEN is associated with resistance to anti-PD-1 checkpoint blockade therapy in metastatic uterine leiomyosarcoma[J]. *Immunity*, 2017, 46(2): 197-204. DOI:10.1016/j.immuni.2017.02.001.
- [37] GAINOR J F, SHAW A T, SEQUIST L V, et al. EGFR mutations and ALK rearrangements are associated with low response rates to PD-1 pathway blockade in non-small cell lung cancer: a retrospective analysis[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(18): 4585-4593. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-3101.
- [38] HARATANI K, HAYASHI H, TANAKA T, et al. Tumor immune microenvironment and nivolumab efficacy in EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer based on T790M status after disease progression during EGFR-TKI treatment[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(7): 1532-1539. DOI:10.1093/annonc/mdx183.
- [39] SCHUMACHER T N, SCHREIBER R D. Neoantigens in cancer immunotherapy[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 69-74. DOI:10.1126/science.aaa4971.
- [40] SCHUMACHER T, BUNSE L, PUSCH S, et al. A vaccine targeting mutant IDH1 induces antitumor immunity[J]. *Nature*, 2014, 512(7514): 324-327. DOI:10.1038/nature13387.
- [41] COHEN C J, GARTNER J J, HOROVITZ-FRIED M, et al. Isolation of neoantigen-specific T cells from tumor and peripheral lymphocytes[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(10): 3981-3991. DOI:10.1172/JCI82416.
- [42] TRAN E, ROBBINS P F, LU Y C, et al. T-cell transfer therapy targeting mutant KRAS in cancer[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(23): 2255-2262. DOI:10.1056/NEJMoa1609279.
- [43] DAWSON S J, TSUI D W, MURTAZA M, et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(13): 1199-1209. DOI:10.1056/NEJMoa1213261.
- [44] GARCIA-MURILLAS I, SCHIAVON G, WEIGELT B, et al. Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(302): 302ra133[2018-07-15]. <http://stem.sciencemag.org/content/7/302ra/33.short>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aab0021.
- [45] YOUNG G P, PEDERSEN S K, MANSFIELD S, et al. A cross-sectional study comparing a blood test for methylated BCAT1 and IKZF1 tumor-derived DNA with CEA for detection of recurrent colorectal cancer[J]. *Cancer Med*, 2016, 5(10): 2763-2772. DOI: 10.1002/cam4.868.
- [46] 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. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)70106-3.
- [47] OCANA A, DIEZ-GONZALEZ L, GARCIA-OLMO D C, et al. Circulating DNA and survival in solid tumors[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2016, 25(2): 399-406. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0893.
- [48] PIETRASZ D, PECUCHET N, GARLAN F, et al. Plasma circulating tumor DNA in pancreatic cancer patients is a prognostic marker [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(1): 116-123. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0806.

[收稿日期] 2018-12-13

[修回日期] 2018-12-28

[本文编辑] 党瑞山