

· 综述 ·

液体活检在肿瘤诊疗全程管理中的现状及展望

李少平¹, 王迪², 杨若巍², 杨珊珊², 余蕾¹

1. 南京大学医学院附属鼓楼医院健康管理中心, 江苏 南京 210008; 2. 南京世和基因生物技术股份有限公司, 江苏 南京 210032

摘要:有效的检测方法能够在早期发现恶性肿瘤迹象,提高患者生存率。液体活检,作为一项新兴的无创技术,通过检测体液中的生物标志物,为恶性肿瘤提供全方位的信息,从而指导更加精准的治疗。液体活检的主要检测指标包括循环肿瘤 DNA、循环肿瘤细胞、微小 RNA 和外泌体等。通过使用不同的技术手段检测这些生物标志物,可以为不同发展阶段的肿瘤提供治疗方向,延长患者的生存期,提高生活质量。相较于传统组织检测,液体活检作为一种非侵入式的手段,具有无创性,克服肿瘤异质性及可以实时监测肿瘤情况等优势。随着技术的不断发展,液体活检在早期、中期和晚期恶性肿瘤治疗中都具有重要的临床指导价值,包括指导肿瘤治疗、研究抗药性机制、预测患者预后、监测复发以及协助早期筛查和诊断。本文将综述当前液体活检技术的发展状况,深入分析液体活检所使用的生物标志物,探讨其在肿瘤诊疗全程管理中的研究进展。

关键词: 肿瘤; 液体活检; 全程管理; 外泌体; 循环肿瘤细胞; 微小残留病灶; 甲基化; 片段组学; 微小 RNA

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2024)06-0959-06

Current status and perspectives liquid biopsy in the whole-process management of tumor diagnosis and treatment

LI Shaoping*, WANG Di, YANG Ruowei, YANG Shanshan, YU Lei

* Health Management Center, Drum Tower Hospital Affiliated to Nanjing University Medical School, Nanjing, Jiangsu 210008, China

Corresponding authors: YANG Shanshan, E-mail: shanshan.yang@geneseeq.com; YU Lei, E-mail: grace_yl@foxmail.com

Abstract: Effective detection methods play a pivotal role in early identification of cancer signal, thereby enhancing patient survival rates. Liquid biopsy, as a burgeoning non-invasive technology, provides comprehensive tumor information through body fluid analysis, thus guiding precise cancer treatment. Key biomarkers in liquid biopsy encompass circulating tumor DNA, circulating tumor cells, micro-RNA, exosomes, etc. Leveraging diverse techniques for distinct biomarker detection offers tailored guidance for tumor treatments across different stages, prolongs patient survival, and improves life quality. In contrast to tissue biopsies, liquid biopsy boasts non-invasiveness, surmounts tumor heterogeneity and enables real-time dynamic monitoring. With continual technological evolution, liquid biopsy has demonstrated pivotal clinical guidance in early, intermediate, and advanced-stage cancers, encompassing treatment guidance, drug resistance mechanism exploration, patient prognosis prediction, recurrence monitoring, and facilitating early tumor screening. This article conducts an in-depth analysis of liquid biopsy technology and biomarkers while summarizing and discussing its research advancements in the comprehensive management of tumor diagnosis and treatment.

Keywords: Tumor; Liquid biopsy; Whole-process management; Extracellular vesicles; Circulating tumor cells; Minor residual disease; Methylation; Fragment omics; Micro-RNA

Fund Program: Nanjing Health Science and Technology Development Major Project (ZDX21001)

根据 2022 年 2 月中国国家癌症中心 (National Cancer Center, NCC) 发布的最新恶性肿瘤登记年度报告^[1], 2016 年我国新发恶性肿瘤病例约达 406.4 万, 死亡病例为 241.35 万, 平均每天有超过 1.1 万人被确诊。随着恶性肿瘤发病率的逐年上升, 早期识别肿瘤患者, 提高治疗效果并延长患者生存期变得极为迫切。由此引出一个新的概念——精准医学

(precision medicine, PM), 即基于患者个人遗传信息进行精确诊断和预后预测, 以及匹配最佳治疗方案。传统的检测手段通常需要基于手术或穿刺采集组织样本, 然而这些方法存在侵入性, 患者依从性差, 难以多次采样。此外, 肿瘤通常具有异质性, 某个部位的肿瘤组织可能无法全面反映患者的整体情况, 尤其是对于一些包膜包裹的肿瘤 (例如胃肠道间质

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2024.06.030

基金项目: 南京市卫生科技发展重大项目 (ZDX21001)

通信作者: 杨珊珊, E-mail: shanshan.yang@geneseeq.com; 余蕾, E-mail: grace_yl@foxmail.com

出版日期: 2024-06-20

瘤),采集组织样本可能加速其转移的风险。

肿瘤细胞在生长、坏死和凋亡的过程中会释放一些信号物质到体液中(包括血液、尿液、粪便等),通过检测这些信号物质可以获得与肿瘤相关的信息,有助于指导患者的预后判断、精准治疗以及复发监控。液体活检的主要样本来源是血液,但其他体液如尿液、唾液、胸腔积液和脑脊液中也包含着与肿瘤相关的遗传信息。液体活检的优势在于无创、便捷,可以实时动态监测肿瘤情况,同时也能够全面评估患者体内的肿瘤负荷。目前,液体活检已被广泛应用于肿瘤临床实践中。特别值得关注的是,液体活检在围术期有助于评估微小残留病灶(minimal residual disease, MRD),这一领域引起了广泛的关注,并且已经证实了其在肿瘤管理各个阶段的应用潜力(图1)。因此,本文将深入分析液体活检技术和标志物,并总结探讨了液体活检技术在肿瘤诊疗全程管理中的研究进展。

1 液体活检技术及其标志物特征

液体活检的对象涵盖了从肿瘤患者血液中分离循环肿瘤

细胞(circulating tumor cell, CTC)、循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)和外泌体等(图2),不同的生物标志物在肿瘤发生发展的不同阶段都具有其特定的应用价值。

1.1 CTC CTC是指从肿瘤组织中释放并进入血液循环的肿瘤细胞,因此可提供关于肿瘤异质性和药物敏感性的全面遗传信息。既往研究证实CTC在肿瘤疗效预测及预后中的重要价值。亦有研究在早期肿瘤中发现CTC,表明CTC计数还可用于肿瘤早期诊断^[2],且目前CTC已被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准为特定上皮性肿瘤的诊断标志物^[3]。

常用的CTC检测技术有荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)、逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)、免疫荧光(immunofluorescence, IF)、二代测序(next generation sequencing, NGS)和基于微流体等技术手段^[4]。

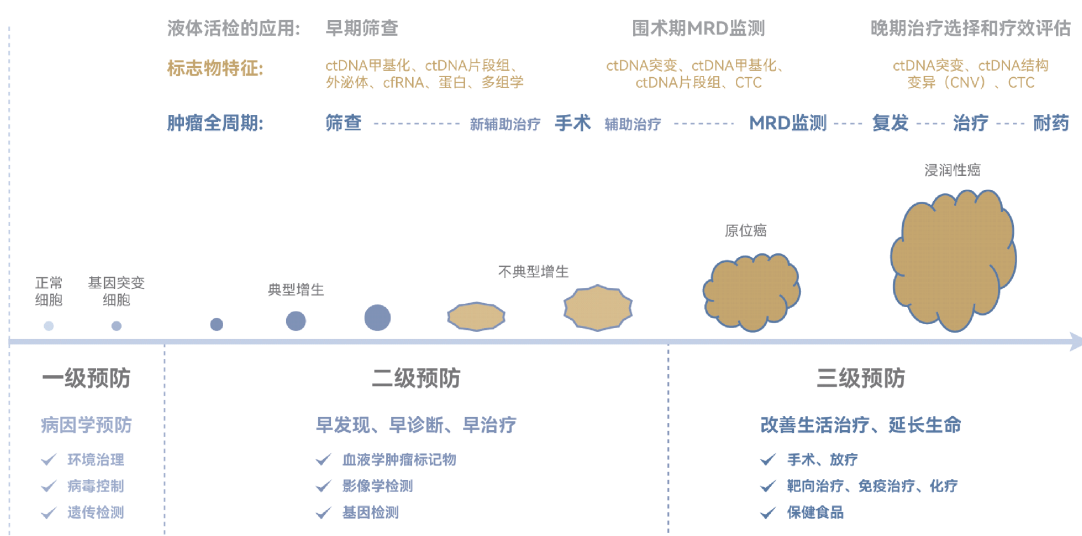


图1 液体活检在肿瘤发生发展中的应用

Fig. 1 Application of liquid biopsy in tumor development and progression

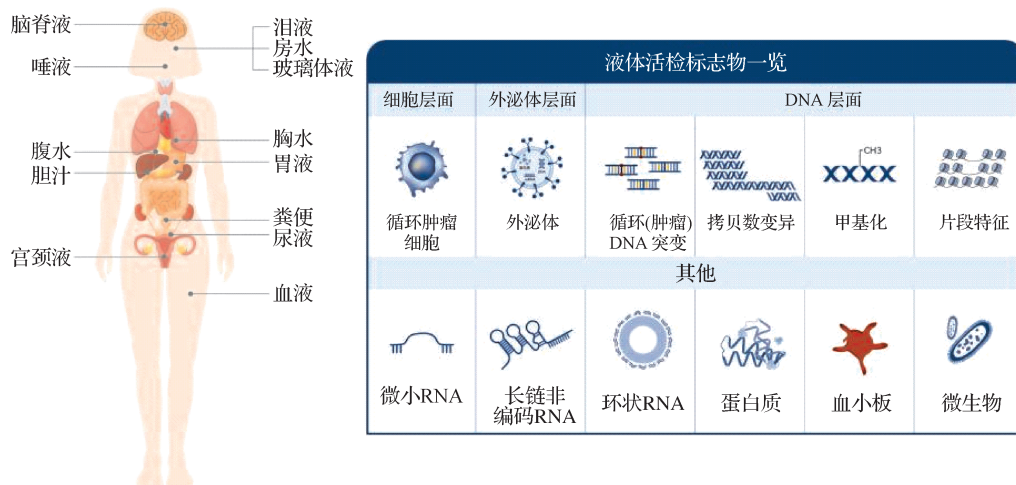


图2 液体活检媒介及标志物一览

Fig. 2 Overview of liquid biopsy media and markers

1.2 ctDNA 循环游离 DNA (circulating free DNA, cfDNA) 是血液中未被包裹的 DNA, 能通过细胞凋亡或坏死被释放到血液中^[5]。而在恶性肿瘤患者中, cfDNA 可以是肿瘤来源的 DNA, 称为 ctDNA。ctDNA 是由凋亡或坏死的肿瘤细胞释放入血的核酸片段^[6], 携带包括基因突变、结构变异如拷贝数改变 (copy number alteration, CNA)、甲基化和片段化等来源于肿瘤细胞相关的遗传学特征。

1.2.1 突变特征 ctDNA 突变主要包括点突变、插入缺失、融合等类型, 是目前肿瘤检测行业应用最为成熟的特征。针对晚期肿瘤可指导疗效预测、耐药转归及复发监控, 针对围术期肿瘤又以 MRD 展现出预后评估及辅助治疗指导等价值^[7]。扩增受阻突变体系 (amplification refractory mutation system, ARMS) 法是临床应用较为普及的突变检测技术, 主要针对已知位点的突变同时具有成本低廉等优势; 数字 PCR 灵敏度更高, 和基于质谱等核酸检测方法也可用于已知突变的检测, 但因缺乏高等级循证医学证据支持, 目前仍难以进入临床实践^[8]; NGS 技术检测无论通量还是灵敏度都相对较高, 对于低丰度及罕见变异的发现具有无可比拟的优势, 也更加适用于需要一次性全面发现敏感及耐药突变的晚期肿瘤患者。

1.2.2 CNA 特征 基因组拷贝数异常通常会导致基因表达改变, 影响基因发挥正常功能。如拷贝数增加会引起 *ERBB2*、*MET* 等原癌基因的过表达, 拷贝数缺失会导致 *TP53*、*RB1*、*BRCA1* 等抑癌基因的失活, 进而导致细胞癌变, 故 CNA 特征无论在肿瘤早期筛查还是晚期疗效评估和监控上都展现出指导价值。目前, 基于液体活检的肿瘤 CNA 检测方法包括芯片法、多重连接依赖式探针扩增 (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) 及 NGS 等方法。NGS 技术无论在基因组覆盖度、囊括指标的多样性还是可检测变异类型等方面都显示出更出色的检测性能。

1.2.3 甲基化特征 DNA 甲基化异常是驱动肿瘤发生发展的重要表观遗传修饰之一, 它往往在肿瘤病程早期发生, 其特点是总体甲基化水平的降低与局部甲基化水平的升高。DNA 甲基化检测技术包括测序、PCR、高效液相色谱 (HPLC) 及高效毛细管电泳法 (HPCE) 等方法。全基因组 DNA 甲基化测序 (whole genome bisulfite sequencing, WGBS) 是甲基化研究的常用方法之一, 可最大限度获取完整全基因组甲基化信息, 具有精准的单碱基分辨率^[9], 对肿瘤表观遗传学的探索具有重要应用价值。

1.2.4 片段化特征 片段化特征主要包括: 核小体印记 (nucleosome footprint)、片段大小 (fragment length) 以及片段末端序列特征 (motif) 等^[10-11]。近年来, 研究发现恶性肿瘤患者 cfDNA 峰值分布较短, 尤其对于乳腺癌、肺癌等高 ctDNA 水平的恶性肿瘤患者的 cfDNA 片段则更短^[12]; 此外, 核小体定位变化也伴随基因表达模式的转变, 在转录调控、DNA 复制和修复等多种细胞过程及肿瘤发生发展中起着重要作用, 故肿瘤具有特有的核小体印记评分; 此外, 核小体定位会因细胞类型而异, 因此其也包含组织起源信息^[10]; 最后, 末端基序被定义为血浆 DNA 末端的几个核苷酸, 癌与非癌具有不同偏好的末端切割模式^[13]。目前片段组学检测主要依托 NGS 技术, 通过

低深度测序即可实现对上述指标的一次性检测。

1.3 外泌体 外泌体是一种膜性囊泡, 通过细胞内吞泡膜内陷形成多泡内涵体后, 再与细胞膜融合并释放到细胞外基质中^[14], 与 ctDNA 和 CTC 并称为液体活检三大媒介。研究发现, 外泌体广泛而稳定地存在于血液、脑脊液、尿液、唾液和浆膜腔积液等各种体液中, 且不同细胞分泌的外泌体功能也不尽相同^[15]。近年来, 外泌体内的多种生物活性物质, 如蛋白质、RNA、DNA、脂质等被多次报道与肿瘤的发生发展相关, 这为肿瘤的早期筛查、辅助诊断、预后及治疗提供丰富的标志物来源。作为一种很有前景的恶性肿瘤诊断生物标志物, 外泌体在肿瘤液体活检中备受关注, 但其临床局限性也受到外泌体丰富度、分离仪器和纯度的影响^[16-17]。

2 液体活检在肿瘤全程管理的应用

从应用场景来看, 液体活检在晚期肿瘤患者的药物疗效预测和耐药转归中应用最为成熟, 主要基于 ctDNA 变异层面; 针对围术期肿瘤的价值则集中于预后判断及复发监测, MRD 的评估在其中尤被关注; 在肿瘤早期筛查辅助诊断层面, 无论是甲基化、突变、片段组学等标志物的单独或联合评估, 都成为了当前研究热点。

2.1 晚期肿瘤精准治疗 目前, 晚期肿瘤的靶向和免疫用药指导主要基于液体活检中 ctDNA 的突变和 CNA 特征。2020 年, FDA 先后批准了两款基于 NGS 技术检测 ctDNA 突变的肿瘤液体活检伴随诊断产品: Guardant360[®] CDx (Guardant Health) 和 FoundationOne[®] Liquid CDx (Foundation Medicine)^[18]。虽然国内尚未批准任何癌种的液体活检 NGS-based 伴随诊断产品, 但多个专家共识和指南, 包括《液体活检在临床肿瘤诊疗应用和医学检验实践中的专家共识》等, 都推荐肿瘤患者可以选择液体活检 NGS 检测, 因为它可以一次性确定具有临床意义的基因变异, 指导临床靶向治疗和耐药情况的监测^[8, 19-20]。对于免疫治疗方面, FDA 基于 Keynote-158 研究^[21] 的结果批准了免疫治疗药物帕博利珠单抗 (pembrolizumab) 用于治疗组织肿瘤突变负荷 (tumor mutational burden, TMB) ≥ 10 的所有实体肿瘤患者。血液 TMB 检测不仅适用于无法提供组织样本的患者, 还可以避免原发性和转移性病灶之间的肿瘤空间异质性。Fang 等^[22] 的研究验证了血液 TMB 可用于筛选免疫治疗高获益人群, 而 Willis 等^[23] 则基于液体活检进行了泛癌微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MSI) 检测, 研究显示 cfDNA MSI 评估具有高特异性和敏感性。此外有研究报道了在肿瘤患者的 CTCs 和血浆/血清中可以检测 PD-L1 状态^[24]。总的来说, 科学家正在积极探索液体活检在免疫治疗疗效预测中的潜力, 未来会加速在临床实践中的应用。

2.2 围术期肿瘤 MRD 监测 肿瘤患者在治疗中/后体内残存的恶性肿瘤细胞称为 MRD, 是肿瘤根治术后复发的主要原因之一。液体活检可用于围术期 MRD 监测, 其应用包括复发风险监测, 预测预后, 指导 (新) 辅助治疗及围术期疗效评估等^[25]。例如, TRACERX 研究^[26] 利用个体化多重 PCR 监测非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者术后

MRD,发现在14例术后复发患者中有13名被检测出MRD阳性,灵敏度达94%,比影像学检测提前70天。CALIBRATE-NSCLC研究^[27]在中国人群中采用ATG-seq技术对患者ctDNA进行动态监测,发现术后MRD阳性率为21%,术后MRD阳性患者复发风险显著高于术后MRD阴性患者。此外,辅助治疗的生存数据表明,术后MRD阳性患者可以从辅助治疗中受益。MRD还可以指导早期肿瘤的辅助治疗方案,例如在2022年ASCO-GI会议公布迄今为止全球最大的结肠癌CIRCULATE-Japan系列研究中GALAXY研究^[28]显示,术后MRD阳性的患者接受辅助化疗后的无病生存率明显高于未接受辅助化疗的患者。DYNAMIC研究^[29]同样证实,早期肠癌术后第4周和第7周MRD阴性患者在不进行辅助治疗时的无病生存率不亚于MRD阳性患者,提出MRD监测可以使近一半的患者免于接受辅助化疗。

除了突变层面,CNA、甲基化和片段组学等多个方面的数据也可以联合应用。例如,MRDetect应用全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)结合突变和CNA特征进行NSCLC MRD监测,并开发了ctDNA定量算法,能够准确检测低至 10^{-5} 的ctDNA^[30]。Parikh等^[31]采用了突变和甲基化的联合方法,提高了MRD的灵敏度。M-CALIBRATE-RC-nCRT研究^[32]则采用片段组学技术进行早期肠癌新辅助MRD研究,研究显示片段特征中的motif联合影像可以有效区分病理完全患者,验证集曲线下面积(AUC)为0.96。总的来说,MRD的临床应用越来越广泛,但评估标准和干预方法仍需要更多的研究和统一。

2.3 液体活检在早期肿瘤筛查中的应用 在早期肿瘤筛查方面,肿瘤早期筛查是指通过快速便捷的方法从尚未出现症状的人群中筛选出患有早期肿瘤或癌前病变的人群^[33]。目前,临床急需具有更高灵敏性、特异性和便捷操作的筛查技术。此外,筛查的目标和对象也逐渐从单一组学向多组学、从单一癌种向泛癌种转变。下文将重点介绍基于NGS技术的早期筛查中备受关注的标志物及相关重要研究。

2.3.1 甲基化层面 甲基化位点相比ctDNA突变具有数量级的优势,并且其改变在肿瘤早期广泛存在,因此成为目前早期筛查研究中最广泛研究的标志物。例如,Luo等^[34]基于9个ctDNA甲基化标志物成功建立了结直肠癌筛查模型,其在高危人群中具有高达89.7%的灵敏度。Grail公司启动了一项大型前瞻性多中心临床试验,名为“循环游离基因组图谱研究”(Circulating Cell-free Genome Atlas, CCGA),计划纳入超过15000名受试者(其中70%为恶性肿瘤患者,30%为非恶性肿瘤患者),并追踪5年。最新数据显示,基于ctDNA的靶向甲基化液体活检分析建立的早筛模型具有高达99.5%的特异性,51.5%的灵敏度^[9],进一步证实液体活检甲基化技术在恶性肿瘤早筛中的可行性。

2.3.2 片段组学 Cristiano等^[12]首次报告了在恶性肿瘤和健康人群之间的cfDNA片段化特征差异,通过1-2X WGS检测评估cfDNA片段化特征,包括整个基因组的片段大小和覆盖率、染色体臂的拷贝数或线粒体拷贝数,并构建了DELFI早筛模型。该模型在7种恶性肿瘤类型中的检测灵敏度为57%至

99%以上,特异度为98%。这项研究基于低深度WGS,通过机器学习模型将CNA特征与片段组学特征整合在一起,提高了早筛性能。

2.3.3 外泌体与miRNA层面 Liu等^[35]发现,miR-216B优于常规肿瘤标志物,能够区分NSCLC患者和正常人群,其灵敏度和特异度分别为86.7%和75.0%。此外,一项胰腺癌筛查研究鉴定出包括EGFR、EpCAM、MUC1等在内的循环外泌体蛋白标志物图谱,其筛查灵敏度和特异度分别为86.4%和81.0%^[36]。

2.3.4 多组学层面 恶性肿瘤的发生涉及基因、表观遗传、转录组、微生物、蛋白质和代谢等多个不同层次和维度的过程。多组学特征整合分析能够多维度、全面地捕捉恶性肿瘤早期信号,提高灵敏度。例如,2014年,美国FDA批准了全球第一个通过粪便隐血和基因多靶点联合检测(FIT-DNA)的结直肠癌筛查产品ColoGuard^[37]。该产品基于三种类型的生物标志物:NDRC4和BMP3基因的甲基化、KRAS基因的点突变以及大便隐血中的血红蛋白。该筛查产品对结直肠癌和进展期腺癌的筛查灵敏度分别达到92.3%和42.4%。在泛癌种筛查方面,Cohen等^[38]发表的CancerSEEK研究采用血浆ctDNA中的18个基因连同质谱分析8种血浆蛋白标志物,建立了cfDNA+蛋白的双重预测模型,其检测灵敏度可达70%,组织来源预测的平均准确性为83%。在2020年初,Thrive Earlier Detection公司发布了DETECT-A研究的结果,这是世界上第一个真实世界的恶性肿瘤早筛血液检测研究^[39]。该研究采用16个肿瘤相关基因进行血浆cfDNA检测,同时使用质谱分析8种血浆蛋白标志物,建立了cfDNA+蛋白的双重预测模型。该预测模型的准确性AUC值可达到91%,在特异度为95%时的检测灵敏度约为70%。国内研究也取得了多组学早筛方面的突破: Bao等^[40]于2022年发表了国内首个基于cfDNA的大样本泛癌种早筛研究DECIPHER-Multi,该研究采用了基于WGS的多组学液体活检技术,包括肺癌、肝癌、结直肠癌等数千例样本的分析,并建立了预测模型。该模型能够高度准确地区分多种恶性肿瘤和健康人群,AUC值高达0.983,总体肿瘤组织溯源准确率为93.1%。即使在深度低至1×时,仍然保持了稳定的预测性能,具有临床应用的可行性。

3 液体活检局限性和未来展望

随着越来越多的液体活检标志物不断被发现,技术方法不断成熟,其临床应用场景也逐步扩大至肿瘤诊疗的全流程。然而,目前液体活检技术仍然面临一系列现实问题:(1)“假阴性”问题:由于所分析的ctDNA水平较低、技术灵敏度不足或肿瘤无法释放足够的ctDNA(所谓的“非脱落”现象),导致可能出现假阴性结果。采用多组学技术或引入人工智能机器学习等方法可能会提高检测性能。(2)全流程评估标准不足:液体活检技术路径非常复杂,包括分离、提取、测序、分析和解释等多个环节,不同方法的选择可能导致不同的检测结果,最终可能会影响结果的可解释性。技术的多样性也导致了行业标准的混乱,需要实现从操作流程到结果分析和解释的全流程标准化和规范化。(3)价格问题:液体活检产品的

价格范围广泛,从单一基因的几百元到多基因上万元不等。想要一次性实现多个指标的综合判断通常价格昂贵,对于一般民众而言难以承受。然而,技术的不断更新和迭代已经降低了部分检测的费用,一些地区也已将肿瘤基因检测纳入医保报销系统。因此,继续降低检测成本并改进医保报销制度将有助于扩大液体活检在中国肿瘤领域的应用。

展望未来,根据不同癌种的不同应用场景选择特定的液体活检方法,伴随着技术的不断升级和性能的提升,液体活检将为肿瘤临床诊疗提供更多潜在的应用价值。

利益冲突 无

参考文献

- [1] Zheng RS, Zhang SW, Zeng HM, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016[J]. J Natl Cancer Cent, 2022, 2(1): 1-9.
- [2] Röcken M. Early tumor dissemination, but late metastasis: insights into tumor dormancy[J]. J Clin Invest, 2010, 120(6): 1800-1803.
- [3] 李一林,陈杨,李艳艳,等.循环肿瘤细胞检测在常见恶性肿瘤精准医学中的应用和展望[J].诊断学理论与实践,2023,22(4): 332-340.
Li YL, Chen Y, Li YY, et al. Clinical application of circulating tumor cells in gastric cancer: advances and prospects[J]. J Diagn Concepts Pract, 2023, 22(4): 332-340.
- [4] Ye QW, Ling SB, Zheng SS, et al. Liquid biopsy in hepatocellular carcinoma: circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 114.
- [5] Alunni-Fabbroni M, Rönsch K, Huber T, et al. Circulating DNA as prognostic biomarker in patients with advanced hepatocellular carcinoma: a translational exploratory study from the SORAMIC trial[J]. J Transl Med, 2019, 17(1): 328.
- [6] Kumaki Y, Olsen S, Suenaga M, et al. Comprehensive genomic profiling of circulating cell-free DNA distinguishes focal *MET* amplification from aneuploidy in diverse advanced cancers[J]. Curr Oncol, 2021, 28(5): 3717-3728.
- [7] 蔡若雪,周国仁.循环肿瘤 DNA 在非小细胞肺癌个体化治疗中的作用[J].中国临床研究,2024,37(1):12-14,19.
Cai RX, Zhou GR. Effect of circulating tumor DNA on individualized treatment of non-small cell lung cancer[J]. Chin J Clin Res, 2024, 37(1): 12-14, 19.
- [8] 中华医学会检验医学分会,国家卫生健康委员会临床检验中心.液体活检在临床肿瘤诊疗应用和医学检验实践中的专家共识[J].中华检验医学杂志,2018,41(10):724-733.
Chinese Society of Laboratory Medicine, National Health Council Clinical Examination Center. Expert consensus on the application of liquid biopsy in clinical diagnosis, treatment and medical examination practice [J]. Chin J Lab Med, 2018, 41(10): 724-733.
- [9] Klein EA, Richards D, Cohn A, et al. Clinical validation of a targeted methylation-based multi-cancer early detection test using an independent validation set[J]. Ann Oncol, 2021, 32(9): 1167-1177.
- [10] Snyder MW, Kircher M, Hill AJ, et al. Cell-free DNA comprises an *in vivo* nucleosome footprint that informs its tissues-of-origin [J]. Cell, 2016, 164(1/2): 57-68.
- [11] Zhang XY, Wang Z, Tang W, et al. Ultrasensitive and affordable assay for early detection of primary liver cancer using plasma cell-free DNA fragmentomics[J]. Hepatology, 2022, 76(2): 317-329.
- [12] 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.
- [13] Jiang PY, Sun K, Peng WL, et al. Plasma DNA end-motif profiling as a fragmentomic marker in cancer, pregnancy, and transplantation [J]. Cancer Discov, 2020, 10(5): 664-673.
- [14] Yu SR, Cao HX, Shen B, et al. Tumor-derived exosomes in cancer progression and treatment failure[J]. Oncotarget, 2015, 6(35): 37151-37168.
- [15] De Toro J, Herschlik L, Waldner C, et al. Emerging roles of exosomes in normal and pathological conditions: new insights for diagnosis and therapeutic applications[J]. Front Immunol, 2015, 6: 203.
- [16] Wu JP, Xie Q, Liu YJ, et al. A small vimentin-binding molecule blocks cancer exosome release and reduces cancer cell mobility[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 627394.
- [17] FDA approves first liquid biopsy next-generation sequencing companion diagnostic test [EB/OL]. (2020-11-08) [2023-10-18]. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-liquid-biopsy-next-generation-sequencing-companion-diagnostic-test.html>
- [18] 中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会.ctDNA 高通量测序临床实践专家共识(2022年版)[J].中国恶性肿瘤防治杂志,2022,14(3):240-252.
Tumor marker committee of Chinese anti-cancer association. Expert consensus on clinical practice of ctDNA next generation sequencing (2022 edition) [J]. Chinese Journal of Oncology Prevention and Treatment, 2022, 14(3): 240-252.
- [19] 李晋歌,董熠,余舒阳,等.《2023CSCO 非小细胞肺癌诊疗指南》罕见靶点诊疗更新[J].肿瘤防治研究,2023,50(12):1232-1236.
Li YG, Dong Y, Yu SY, et al. Diagnostic and therapeutic strategy updates of rare oncogenic mutations in Chinese Society of Clinical Oncology Guidelines on diagnosis and treatment of non-small cell lung cancer (2023 edition) [J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2023, 50(12): 1232-1236.
- [20] Marabelle A, Fakih MG, Lopez J, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with select advanced solid tumours treated with pembrolizumab in KEYNOTE-158[J]. Ann Oncol, 2019, 30: v477-v478.
- [21] Fang WF, Ma YX, Yin JC, et al. Combinatorial assessment of ctDNA release and mutational burden predicts anti-PD(L)₁ therapy outcome in nonsmall-cell lung cancer[J]. Clin Transl Med, 2020, 10(1): 331-336.
- [22] Willis J, Lefterova MI, Artyomenko A, et al. Validation of microsatellite instability detection using a comprehensive plasma-based genotyping panel[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(23): 7035-7045.
- [23] Guibert N, Delaunay M, Lusque A, et al. PD-L1 expression in circulating tumor cells of advanced non-small cell lung cancer patients

- treated with nivolumab[J]. *Lung Cancer*, 2018, 120: 108–112.
- [24] 赵韵琳, 黄诗, 柯舒慧, 等. 液体活检在直肠癌新辅助治疗中的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2023, 20(30): 55–58.
- Zhao YL, Huang S, Ke SH, et al. Research progress of liquid biopsy in the neoadjuvant treatment of rectal cancer[J]. *China Med Her*, 2023, 20(30): 55–58.
- [25] Abbosh C, Birkbak NJ, Wilson GA, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution[J]. *Nature*, 2017, 545(7655): 446–451.
- [26] Qiu B, Guo W, Zhang F, et al. Dynamic recurrence risk and adjuvant chemotherapy benefit prediction by ctDNA in resected NSCLC[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 6770.
- [27] Kotaka M, Shirasu H, Watanabe J, et al. Association of circulating tumor DNA dynamics with clinical outcomes in the adjuvant setting for patients with colorectal cancer from an observational GALAXY study in CIRCULATE-Japan[J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(4 suppl): 9.
- [28] Tie J, Cohen JD, Lahouel K, et al. Circulating tumor DNA analysis guiding adjuvant therapy in stage II colon cancer[J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(24): 2261–2272.
- [29] Zviran A, Schulman RC, Shah M, et al. Genome-wide cell-free DNA mutational integration enables ultra-sensitive cancer monitoring[J]. *Nat Med*, 2020, 26(7): 1114–1124.
- [30] Parikh AR, Van Seventer EE, Siravegna G, et al. Minimal Residual Disease Detection using a Plasma-only Circulating Tumor DNA Assay in Patients with Colorectal Cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(20): 5586–5594.
- [31] Wang YQ, Fan XJ, Bao H, et al. Utility of circulating free DNA fragmentomics in the prediction of pathological response after neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer[J]. *Clin Chem*, 2023, 69(1): 88–99.
- [32] Widschwendter M, Jones A, Evans I, et al. Epigenome-based cancer risk prediction: rationale, opportunities and challenges[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(5): 292–309.
- [33] 杜逸玮, 贾军梅, 王兴. 液体活检与肿瘤标志物诊断早期肝细胞癌的研究进展[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2023, 37(7): 689–693.
- Du YW, Jia JM, Wang X. Liquid biopsy and tumor markers in early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *J Chin Pract Diagn Ther*, 2023, 37(7): 689–693.
- [34] Luo HY, Zhao Q, Wei W, et al. Circulating tumor DNA methylation profiles enable early diagnosis, prognosis prediction, and screening for colorectal cancer[J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(524): eaax7533.
- [35] Liu WQ, Liu J, Zhang QQ, et al. Downregulation of serum exosomal miR-216b predicts unfavorable prognosis in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2020, 27(1): 113–120.
- [36] Yang KS, Im H, Hong S, et al. Multiparametric plasma EV profiling facilitates diagnosis of pancreatic malignancy[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(391): eaal3226.
- [37] Karim MA. Cologuard test: A Possible Alternate To Colonoscopy? [J]. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 2017, 29(1): 176.
- [38] Cohen JD, Li L, Wang YX, et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test[J]. *Science*, 2018, 359(6378): 926–930.
- [39] Lennon AM, Buchanan AH, Kinde I, et al. Feasibility of blood testing combined with PET-CT to screen for cancer and guide intervention[J]. *Science*, 2020, 369(6499): eabb9601.
- [40] Bao H, Wang Z, Ma X, et al. An ultra-sensitive assay using cell-free DNA fragmentomics for multi-cancer early detection[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 129.

收稿日期: 2023-10-18 编辑: 叶小舟

(上接第 958 页)

- [26] Lian JC, Liang YF, Zhang HL, et al. The role of polyamine metabolism in remodeling immune responses and blocking therapy within the tumor immune microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 912279.
- [27] Latour YL, Gobert AP, Wilson KT. The role of polyamines in the regulation of macrophage polarization and function[J]. *Amino Acids*, 2020, 52(2): 151–160.
- [28] Levin AM, Bates DL, Ring AM, et al. Exploiting a natural conformational switch to engineer an interleukin-2 ‘superkine’[J]. *Nature*, 2012, 484(7395): 529–533.
- [29] Mamont PS, Duchesne MC, Grove J, et al. Anti-proliferative properties of DL- α -difluoromethyl ornithine in cultured cells. A consequence of the irreversible inhibition of ornithine decarboxylase[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1978, 81(1): 58–66.
- [30] Kooma DL T, Geerts D, Lange I, et al. DFMO/eflornithine inhibits migration and invasion downstream of MYCN and involves p27Kip1 activity in neuroblastoma[J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(4): 1219–1228.
- [31] Alexander ET, Minton A, Peters MC, et al. A novel polyamine blockade therapy activates an anti-tumor immune response[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(48): 84140–84152.
- [32] Gitto SB, Pandey V, Oyer JL, et al. Difluoromethylornithine combined with a polyamine transport inhibitor is effective against gemcitabine resistant pancreatic cancer[J]. *Mol Pharm*, 2018, 15(2): 369–376.
- [33] Islam A, Shaikat Z, Hussain R, et al. One-carbon and polyamine metabolism as cancer therapy targets[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(12): 1902.
- [34] Sun LD, Yang JL, Qin Y, et al. Discovery and antitumor evaluation of novel inhibitors of spermine oxidase[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2019, 34(1): 1140–1151.
- [35] Holbert CE, Foley JR, Murray Stewart T, et al. Expanded potential of the polyamine analogue SBP-101 (diethyl dihydroxyhomospemine) as a modulator of polyamine metabolism and cancer therapeutic[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(12): 6798.

收稿日期: 2023-09-06 编辑: 王娜娜