引用本文:张金伟,白晓鸣,马骏.基于循环肿瘤DNA的分子残留病灶检测及其在非小细胞肺癌术后中的应用价值[J].安徽医药,2023,27(11):2307-2312.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.11.042.**

◇专论◇

基于循环肿瘤DNA的分子残留病灶检测及其在非小细胞肺癌术后中的应用价值

张金伟[1],白晓鸣[2],马骏[2]

作者单位:[1]山西医科大学第五临床医学院,山西 太原 030001;

[2]山西省人民医院胸外科,山西 太原 030001

通信作者:白晓鸣,男,教授,硕士生导师,研究方向为胸外科疾病的临床与基础研究,Email:13803437795@163.com

基金项目:山西省基础研究计划项目(自由探索类)(20210302124383)

摘要: 肺癌仍是我国乃至全世界发病率、病死率较高的恶性肿瘤之一,其中主要以非小细胞肺癌(NSCLC)为主。目前以手术为主的综合治疗仍是早中期及局部晚期的NSCLC的标准治疗方法,但仍有很多ⅠA~ⅢA期病人在根治性治疗后复发。因此临床上对精准的根治性手术治疗后的监测手段和辅助治疗的评估方法有强烈的需求,以达到根除分子残留病灶(MRD)。随着检测技术的进步,循环肿瘤DNA(ctDNA)作为提示MRD的分子指标逐步走向临床。最新共识提出在将围手术期NSCLC病人外周血中可稳定检测出的ctDNA作为MRD的检测指标。MRD的应用使得对NSCLC根治术后进行疾病监测、以判断预后和更早地发现肿瘤复发成为可能。在早中期及局部晚期的NSCLC病人术后辅助治疗研究中,不同的研究结果表明术后辅助治疗的疗效及判断是否需要行术后辅助治疗的标准存在争议。MRD可以作为一个更精准的预测指标,有望对术后辅助治疗进行指导,并为精准的个体化辅助治疗方案的制定提供依据,从而使病人能在疾病治疗中获益。

关键词: 癌,非小细胞肺; 循环肿瘤DNA; 分子残留病灶检测; 根治术; 围手术期治疗

ctDNA-based MRD detection and its application value in non-small cell lung cancer after surgery

ZHANG Jinwei[1],BAI Xiaoming[2],MA Jun[2]

Author Affiliations:[1]*The Fifth Clinical Medical College of Shanxi Medical University,Taiyuan,Shanxi* 030001,*China;*

[2]*Department of Thoracic Surgery, Shanxi Provincial People's Hospital,Taiyuan,Shanxi* 030001, *China*

Abstract: Lung cancer remains one of the malignant tumours with high incidence and mortality in China and worldwide, with non-small cell lung cancer (NSCLC) being the main type of cancer. Surgery-based combination therapy is still the standard treatment for early to mid-stage and locally advanced NSCLC, but there are still many patients with stage ⅠA-ⅢA recurrence after radical treatment. There is therefore a strong clinical demand for accurate monitoring tools and adjuvant treatment assessment methods after radical surgical treatment to achieve eradication of molecular residual disease (MRD). With the advances in detection technology, circulating tumor DNA (ctDNA) is increasingly being used as a molecular indicator of MRD. The latest consensus proposes the use of stably detectable ctDNA in peripheral blood of patients with perioperative NSCLC as a test for MRD. The use of MRD has made it possible to monitor disease after radical NSCLC surgery for prognosis and earlier detection of tumour recurrence. In studies of post-operative adjuvant therapy in early to mid-stage and locally advanced NSCLC patients, the efficacy of post-operative adjuvant therapy and the criteria for determining the need for post-operative adjuvant therapy have been controversial in different studies. MRD can be used as a more accurate predictor that is expected to guide postoperative adjuvant therapy and provide a basis for precise individualized adjuvant treatment planning so that patients can benefit from the treatment of their disease.

Key words: Carcinoma,non-small-cell lung; CtDNA; MRD detection; Radical resection; Adjuvant therapy

肺癌是全球癌症死亡的主要原因,2020年有近180万人死于肺癌[1]。而肺癌病人中,大约有85%的病例是腺癌和鳞状细胞癌为主要亚型的非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)[2]。因此非小细胞肺癌的诊治对提高肺癌病人的长期预后及生存质量至关重要。在当前NSCLC的治疗手段中,手术仍是早中期NSCLC(Ⅰ~Ⅲ期)的主要治疗方法[3]。然而,尽管对Ⅰ~Ⅲ期NSCLC病人采取了

多模式综合治疗的根治性治疗方法,但经此根治性治疗后的病人仍有较高的复发率[4-5]。一是因为目前NSCLC根治性治疗后,病人可能存在影像学未发现的分子残留病灶(molecular residual disease,MRD),从而导致复发和预后差[6]。二是当前NSCLC根治术后是使用影像学宏观地监测肿瘤的复发,但对肿瘤复发及转移的识别灵敏度不高(诊断肿瘤复发较晚)以及缺乏评估治疗效果的有效手段;导致病人在肿瘤治疗过程中,存在干预过晚、治疗不足或治疗过度等情况,从而导致预后较差[7]。因而如何及时有效的发现存在肿瘤复发或转移可能的病人、如何对肿瘤病人进行精准的个体化治疗并有效的评估其疗效,已成为现在NSCLC治疗的迫切需求。随着基于循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA,ctDNA)的MRD检测的液体活检的临床应用,能更好地判断疾病预后、评估治疗效果及警示复发风险。现除了应用于肺癌的疾病监测以外,ctDNA已被证明可以识别结直肠癌、乳腺癌、黑色素瘤等实体肿瘤术后高复发风险的病人[8-11]。目前血浆来源的ctDNA已被正式批准用于NSCLC病人临床的样本检测[12]。这也有望解决如何更好地识别有复发风险的和可以从辅助治疗中受益的病人,从而避免对已成功治愈的病人进行过度治疗等一系列问题。在此背景之下,本文从ctDNA与MRD的概述、ctDNA对于术后NSCLC病人预后和复发分析及其监测策略、ctDNA在NSCLC病人围手术期辅助治疗的应用进行综述。

1 ctDNA与MRD的概述

1.1 ctDNA与MRD ctDNA即肿瘤循环DNA,是血液中肿瘤衍生的片段化DNA,ctDNA存在于血浆或血清中,其直接来自肿瘤或循环肿瘤细胞,主要由单链或双链DNA以及单链与双链DNA的混合物组成[13]。1948年,Mandel和Métais[14]报道了健康个体血液中循环无细胞DNA(circulating cell-free DNA,cfDNA)的存在。但直到1994年在癌症病人的血液中检测到突变的RAS基因片段,cfDNA的临床潜力才得到了认可[15]。cfDNA指的是血流或其他体液中被包裹的(来自循环小泡的)和未被包裹的游离DNA;而来源于肿瘤细胞的cfDNA部分即为ctDNA[16]。ctDNA中常包含突变、缺失、插入、重排、拷贝数异常以及甲基化等相关基因突变信息[17]。

微小残留病灶(minimal residual disease,MRD)通常称为分子残留病灶或微小残留病灶。目前可以用于肿瘤检测的分子标记物有很多,如循环肿瘤细胞(circulating tumor cell,CTC)、ctDNA、非编码RNA(miRNA、lncRNA、piRNA等)、外泌体和循环蛋白标志物(CA125、CEA)等。但ctDNA作为MRD的指标最常见[18]。在2021年第18届中国肺癌高峰论坛上对肺癌MRD达成了专家共识:肺癌MRD指的是治疗后,包括正电子发射体层显像/CT(positron emission tomography/CT,PET/CT)在内的传统影像学或实验室方法不能发现,但通过液体活检发现的肿瘤来源分子异常,代表着肺癌的持续存在和临床进展可能。肺癌分子残留病灶:在外周血可稳定检测出丰度≥0.02%的ctDNA,包括肺癌驱动基因或其他的Ⅰ类/Ⅱ类基因变异[19]。也就是说此类病人在根治性治疗存在MRD,有较高复发及转移的风险。

1.2 基于ctDNA的MRD检测的主要方法及其优缺点 大多数的cfDNA来自于正常细胞,而肿瘤病人外周血中的ctDNA占比较小。如何对微量的ctDNA进行准确的检测与定量,是基于ctDNA进行MRD检测必须要解决的难题[20-22]。目前基因测序有靶向和非靶向两个主要方向。其中靶向检测基于候选基因的策略,需要肿瘤基因组的预定义序列信息,可以检测已知的驱动基因突变(EGFR、KRAS、BRAF)[23]。另外,还能检测到肿瘤进展前几周血液中出现的预定义耐药克隆(T790M),并在治疗过程中动态监测其变化[24]。最早的靶向检测方法是基于聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)的分析,如二代的突变扩增阻滞系统(amplification refractory mutation system,ARMS)、实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR,qPCR)和三代的微滴数字PCR(droplet digital PCR,DdPCR)。虽然基于PCR的方法检测具有理想的灵敏度和高特异性(0.01%~0.001%),但受限于仅能检测单一的已知突变[25]。因而当前基于PCR的测定方法仅能靶向预定基因中的一到三个变异位点,不能跨多个基因进行多重检测,也不能检测类似基因融合等复杂的基因组突变。而基于二代测序面板(next generation sequencing panel,NGS-panel)高通量测序的靶向检测方法能很好地解决这一问题[26]。NGS包括安全测序系统(Safe-SeqS)、癌症个体化深度测序(CAPP-Seq)和标记扩增深度测序(TAmSeq)等。其可以同时检测多种类型的突变,包括拷贝数变异(CNVs)、单核苷酸变异(SNVs)、插入/缺失或基因融合。NGS的广泛使用使得血浆中ctDNA的更广泛突变基因分析及检测实体肿瘤中的MRD成为可能[27-29]。然而,当所分析的基因组区域(覆盖范围)越大,在基因组特定区域获得的平均读数(深度)就越低,这是一个需要考虑的重要问题。因为深度越低,就越难以可靠地确定突变基因[30]。考虑到覆盖基因组的深度和数量之间的权衡,加上ctDNA的比例和数量

非常低,使用靶向预定基因的热点或外显子的引物/探针组行检测似乎是最合理的方法。Paweletz等[31]设计了一种基于杂交捕获的测序方法,使用单引物扩增进行标本检测以减少假阳性。基于扩增子的NGS通过特定基因的外显子的PCR扩增来增加想要检测的预定基因序列。并且该方法还适用于对低ctDNA含量的基因分型检测[32]。

非靶向检测也是基于NGS技术的检测方法,旨在通过全外显子组测序(whole exome sequencing,WES)或全基因组测序(whole exome sequencing,WGS)提供突变和拷贝数变异的外显子组或全基因组分析。此方法不需要原发性肿瘤基因组的预定义基因组区域,能识别肿瘤治疗期间发生的新基因突变。非靶向检测的主要优点是能够同时研究多种癌症特异性变异。目前的检测方法在识别复发方面的灵敏度和特异性分别为82%~100%和70%~100%[33]。WES检测范围包括人类已知较多基因的编码区序列,尽管可检测序列占整个基因组的比例很小,但却包含了多数的基因变异[34]。另外,WES可以同时检测预期的致癌驱动因子或耐药机制,并具有发现和探索新的耐药分子机制的能力。但缺点是大多数临床相关的基因融合发生在非编码区,WES无法检测到这一类基因突变。相较之下,WGS检测范围更为全面,是对整个基因组进行检测,除了能检测编码区,还能检测到非编码区以及调控区的结构变异。但WGS的全面性检测为其应用带来了显而易见的挑战。因为对整个基因组检测,会检测到很多内含子和基因间区域内变异,而此区域内变异的功能在很大程度上是未知的,因此这些被检测的未知数据的分析解读是一个难题。其次,在保证检测数据深度和质量的条件下,WGS的检测成本会显著高于WES的检测成本。

2 ctDNA对于术后NSCLC病人预后和复发分析及其检测策略

2.1 围术期ctDNA阳性与更差的DFS、OS及高复发风险有关 NSCLC病人围手术期ctDNA阳性,与更差的预后及肿瘤复发有关。Yue等[35]在回顾性研究中发现术前ctDNA阳性病人的无复发生存率(relapse free survival,RFS)低于ctDNA阴性的病人(P=0.030);术后ctDNA阳性的病人复发风险较高(P=0.010);其中术后3个月ctDNA阳性的病人RFS显著性降低(P<0.01)。Li等[36]的前瞻性研究中发现术前检测ctDNA阳性的病人,与较低的RFS(P=0.022)和OS(P=0.026)有关;同样,术后ctDNA阳性也与较短的RFS(P=0.012)有关。而术后连续性监测ctDNA阳性的病人RFS(P<0.01)及OS(P=0.010)较阴性病人显著降低。也就是说术前及术后ctDNA阳性的病人具有更差的RFS。但有人认为术前及术后的ctDNA阳性对病情的评估价值不同。Ohara等[37]认为术前ctDNA阳性与疾病预后相关,但不是复发的简单预测因子;而术后的病人ctDNA术后复发风险高。可能是因为术前ctDNA阳性与肿瘤大小相关[38],并且与淋巴结受累相关[39]。也就是说术前ctDNA阳性病人疾病分期比阴性病人更晚,从而预后更差。而术后ctDNA阳性表明存在MRD可能,与肿瘤的复发相关[40]。相反的是,Isaksson等[41]研究报道认为术前ctDNA阳性也是病人复发的预测因子。导致以上研究结果差异的原因尚不明确。但可以肯定的是,无论术前ctDNA阳性是否是肿瘤复发的预测因子,其阳性一定与更差的预后相关。而术后ctDNA阳性说明存在MRD,肿瘤的复发与转移的风险高,也会导致预后不佳。换而言之,围术期ctDNA阳性与病人较差的预后相关。

2.2 术后什么时候开始检测ctDNA MRD是对根治性手术或治疗后的病情进行评估,因此术后ctDNA的检测对判断是否存在MRD至关重要。然而,在NSCLC术后病人中,血浆中清除ctDNA的机制尚不清楚。而手术如何影响ctDNA的释放和清除也不明确,也不能确定检测阳性是因为术后MRD的存在还是由于ctDNA尚未完全消失(因为检测时间可能在ctDNA半衰期内)[42]。因此关于ctDNA在临床实际应用中的术后监测和合适的时间,尚未建立统一标准[26]。Ohara等[37]证实根治性肿瘤切除术后ctDNA水平迅速下降。Gale等[44]的研究结果认为对残留疾病的分析在术后1~3 d检测阳性与疾病复发无关,ctDNA检测应该推迟在术后3 d之后。与此相同的是,Chen等[39]在前瞻性研究(NCT02965391)发现术后第1天ctDNA阳性病人与阴性病人的RFS及OS差异无统计学意义,阳性病人与阴性病人的RFS差异无统计学意义。而术后第3天及术后1个月ctDNA阳性病人与阴性病人的RFS及OS差异有统计学意义。因此他们的研究结果表明R0切除术后3 d作为基线检测较为合理。同时这些研究表明,可以通过术后3 d可检测到的ctDNA情况对NSCLC术后病人复发风险进行准确的分层,并对生存预后进行预测。除此以外,术后ctDNA分析将有助于制定术后随访计划和确定术后辅助治疗的适应证;但是仍需要更多的队列前瞻性研究来验证使用其预测复发的可行性和经济效益。

2.3 ctDNA与影像学的关系 影像学中,CT扫描能比X线更早地检测到NSCLC病人术后的疾病进展,但两组病人的总体生存率差异无统计学意

义[44]。这提示影像学对肿瘤复发及转移的诊断监测很难在时间上进一步提前。Abbosh等[45]报道了82%的病人在临床复发时或之前检测到ctDNA。说明基于ctDNA检测具有广泛的应用条件及重要的价值。很多研究证明基于ctDNA可以较影像学更早地发现肿瘤的复发与转移;尽管提前的中位数时间不一致,但能肯定ctDNA在术后随访中的有用性[35-37,40]。值得注意的是,尽管ctDNA术后动态随访的价值优于CT扫描。但无法取代影像学检查;仍需根据具体情况与影像学联合应用。如果病人没有出现肿瘤相关症状复发且ctDNA阴性,可以单行ctDNA检测,而不需要影像学检查。若病人出现了新的肿瘤相关症状,不管是否存在ctDNA阳性,都应该进行CT扫描,因为可能由于ctDNA假阴性而忽略掉肿瘤复发。如果CT证实了疾病的进展,提示应该调整治疗方案或尽早采取干预措施。然而,最具挑战性且仍未解决的情况是如何处理临床稳定的病人检测到ctDNA或ctDNA由阴性转为阳性。一项关于单纯ctDNA阳性病人的试验(APPLE-EORTC)正在开展,未来有望给出答案[46]。

3 ctDNA在NSCLC病人围手术期辅助治疗的应用

对于可切除的非小细胞肺癌(NSCLC)病人,根治性手术是美国国家综合癌症网络(NCCN)指南推荐的标准治疗。然而,相当大比例的病人最终在切除后出现复发并死亡[4]。一些研究表明将在可切除手术病人行新辅助或辅助放化疗、免疫治疗等治疗统称为围手术期治疗,并发现其可以改善临床结果,使OS提高5%[47]。因此,即使是早期NSCLC,以手术为主的综合治疗的根治性治疗方法才有益提高病人的长期生存。

Yue等[35]在回顾性研究中分析了ⅠB~ⅢA期行NAT+手术治疗的NSCLC病人;其中NAT包括免疫治疗+化疗、双重免疫治疗以及单纯化疗。主要病理缓解(major pathological response,MPR)率免疫+化疗组为58.33%,双免组为25.00%,化疗组为16.67%。NAT期间的ctDNA动态与MPR高度一致,显示出100%的灵敏度和83.33%的特异度,总体准确率为91.67%。说明术前ctDNA动态变化可预测接受新辅助免疫治疗和/或化疗的非小细胞肺癌病人的治疗疗效。

关于术后辅助化疗(adjuvant chemotherapy,ACT),有荟萃分析表明其对早期NSCLC病人完全切除后的5年生存率、总生存率和无瘤生存率的益处微乎其微[48]。相反,NSCLC病人在ACT治疗后通常会出现几种Ⅲ级和Ⅳ级的毒副作用,如中性粒细胞减少、贫血、乏力、恶心、呕吐和与治疗相关的死亡[49]。而通过ctDNA检测能识别合适的病人进行辅助化疗,以减少过度治疗带来的无效毒性。Kuang等[50]对于术后ctDNA阳性的病人研究中,与化疗后ctDNA转为阴性的病人相比,化疗后ctDNA阳性病人的RFS较差(*HR*=8.68,*P*=0.022)。化疗后ctDNA阴性与化疗后ctDNA阳性病人相比远期疗效更好(*HR*=4.76,*P*=0.047)。同样的,Qiu等[51]的研究中证明在接受ACT治疗的病人中,ACT术后ctDNA阳性与较差的RFS显著相关(*P*<0.05),而术后ctDNA阳性的非ACT病人均在一年内复发。同时在根据是否接受ACT治疗或术后是否有可检测到的ctDNA对所有Ⅱ~Ⅲ期临床高危病人进行分层中,ctDNA阳性病人的复发风险显著高于阴性组(无论是否行ACT治疗)。相比之下,接受ACT治疗的ctDNA阳性病人的RFS高于未接受ACT治疗的ctDNA阳性病人(*P*<0.05)。另外,一项大规模前瞻性队列研究发现基于ctDNA的MRD状态比包括TNM分期在内的所有研究的临床病理变量更能预测复发;与未接受辅助治疗的病人相比,辅助治疗能改善MRD阳性病人的RFS(*HR*=0.3,*P*=0.008);但没有改善MRD阴性病人的RFS(*HR*=3.1,*P*<0.001)[52]。说明ctDNA状态因能准确识别适合辅助治疗的病人以及评估术后辅助化疗的疗效,从而指导术后辅助治疗。也就是说ctDNA阳性病人应该积极行术后化疗,而ctDNA阴性病人则不应行化疗等辅助治疗。然而,Abbosh等[53]报道了3例在术后30 d内检测到ctDNA并接受辅助化疗的病人在化疗后ctDNA水平增加,并且均在1年内出现疾病复发。这也提示随访期间的ctDNA检测对识别疾病复发具有较高的敏感性,同时保持适度的特异性。换句话说,ctDNA动态检测可能会告诉我们术后辅助治疗中耐药性的问题。正如免疫抑制剂治疗的应用中,ctDNA对于识别正在接受第一代和第二代TKI治疗的病人中EGFR外显子p.T790M的耐药点突变至关重要[54]。若ctDNA结果为p.T790M阳性的病人应进行第三代TKIs治疗(如osimertinib),而ctDNA结果为该突变阴性的病人应进行组织活检,以排除假阴性结果的发生[55]。当然,ctDNA对于ACT治疗的耐药性仍需进一步研究。综上,术前ctDNA动态监测预测新辅助治疗的效果;而术后ctDNA状态可以对是否需要行术后辅助治疗的病人进行区分并评估疗效。即ctDNA阳性病人更有可能从ACT等辅助治疗中受益,而阴性病人复发率低。提示对于ctDNA阳性的病人应该行术后辅助治疗,ctDNA阴性病人似乎只需随访检测,无需辅助治疗。另外,ctDNA有望能通

过对耐药性的检测指导术后辅助治疗的用药。

总的来说,基于ctDNA的MRD动态检测,能很好地反映NSCLC病人的预后。术前及术后ctDNA阳性的病人显然与更差的DFS、OS有关,并且复发率更高。术后对ctDNA的连续性检测不仅能识别更多的复发病人,还能比影像学更早地发现肿瘤复发,给及时调整治疗方案提供了宝贵的时间。当然,围手术期各时间段的ctDNA阳性意义不尽相同;目前看来,术前及术后3 d的ctDNA阳性具有评估预后价值。另外,MRD除了通过对ctDNA检测阳性与否来评估术后辅助治疗的疗效以及维持治疗的用药时间,还有望通过耐药性的基因分析指导辅助治疗用药,从而对NSCLC术后病人辅助治疗进行精准的指导,为提高病人的存活率和改善预后作出贡献。然而,缺乏多中心、前瞻性、多数据的随机对照研究来对以上结论进行论证是MRD应用于临床存在的一个挑战。而另一个主要挑战在于ctDNA检测方法学上。一方面,ctDNA的检测技术仍需不断完善,以解决当前存在的灵敏度受限和病人覆盖率不足的问题。另一方面,现各类方法学在MRD中的优劣对比还需进一步探索和细分,例如肿瘤基因变异数量可能影响MRD监控效能,而驱动变异与非驱动变异的肿瘤,在肿瘤突变负荷(tumor mutational burden,TMB)和整体肿瘤基因变异方面均有极大的差异,携带驱动变异的病人整体肿瘤基因变异一般远远少于并不携带驱动变异的病人,对于这两类人的MRD检测技术如何选择需进一步论证。尽管在提高检测准确性方面存在挑战,但现在肺癌的分类和治疗越来越依赖于分子和基因检测,而通过获取肿瘤组织的方式不具有可重复性。并且随着以ctDNA为主的MRD的检测技术不断研究和完善,MRD结果的精确、高效得到保障,并结合其安全、易重复性特点,基于ctDNA的MRD检测在肺癌治疗中有巨大潜力,将来在临床上有广泛的应用前景。

参考文献

[1] FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I, et al. Cancer statistics for the year 2020: an overview[J]. Int J Cancer, 2021,2021:33588.

[2] RECK M, RABE KF. Precision diagnosis and treatment for advanced non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2017, 377(9):849-861.

[3] ETTINGER DS, WOOD DE, AISNER DL, et al. NCCN guidelines insights: non-small cell lung cancer, version 2.2021[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2021, 19(3):254-266.

[4] SUGIMURA H, NICHOLS FC, YANG P, et al. Survival after recurrent nonsmall-cell lung cancer after complete pulmonary resection[J]. Ann Thorac Surg, 2007, 83(2):409-417.

[5] FAIVRE-FINN C, VICENTE D, KURATA T, et al. Four-year survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage Ⅲ NSCLC-an update from the PACIFIC trial[J]. J Thorac Oncol, 2021, 16(5):860-867.

[6] MRD may predict relapse in NSCLC[J]. Cancer Discov, 2020, 10(7):OF7. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-ND2020-010.

[7] LI RY, LIANG ZY. Circulating tumor DNA in lung cancer: real-time monitoring of disease evolution and treatment response[J]. Chin Med J (Engl), 2020, 133(20):2476-2485.

[8] TIE J, COHEN JD, WANG Y, et al. Circulating tumor DNA analyses as markers of recurrence risk and benefit of adjuvant therapy for stage Ⅲ colon cancer[J]. JAMA Oncol, 2019, 5:1710-1717.

[9] WANG Y, YANG L, BAO H, et al. Utility of ctDNA in predicting response to neoadjuvant chemoradiotherapy and prognosis assessment in locally advanced rectal cancer: a prospective cohort study[J/OL]. PLoS Med, 2021, 18(8): e1003741. DOI: 10.1371/journal.pmed.1003741.

[10] GARCIA-MURILLAS I, CHOPRA N, COMINO-MENDEZ I, et al. Assessment of molecular relapse detection in early-stage breast cancer[J]. JAMA Oncol, 2019, 5:1473-1478.

[11] LEE RJ, GREMEL G, MARSHALL A, et al. Circulating tumor DNA predicts survival in patients with resected high-risk stage Ⅱ/Ⅲ melanoma[J]. Ann Oncol, 2018, 29:490-496.

[12] PISAPIA P, PEPE F, SMERAGLIO R, et al. Cell free DNA analysis by SiRe® next generation sequencing panel in non small cell lung cancer patients: focus on basal setting[J]. J Thorac Dis, 2017, 9(Suppl 13):S1383-S1390.

[13] KAZEMIFARD N, SADEGHI A, VARAMINIAN B, et al. Circulating tumor DNA applications in monitoring the treatment of metastatic colorectal cancer patients[J]. Gastroenterol Hepatol Bed Bench, 2019, 12(Suppl1):S14-S21.

[14] MANDEL P, MEATIS P. Nuclear Acids In Human Blood Plasma[J]. C R Seances Soc Biol Fil, 1948, 142(3/4): 241-243.

[15] SORENSON GD, PRIBISH DM, VALONE FH, et al. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1994, 3(1):67-71.

[16] FLEISCHHACKER M, SCHMIDT B. Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer: a survey[J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1775(1): 181-232.

[17] AMATU A, SCHIRRIPA M, TOSI F, et al. High circulating methylated DNA is a negative predictive and prognostic marker in metastatic colorectal cancer patients treated with regorafenib[J]. Front Oncol, 2019, 29:622.

[18] CHAE YK, OH MS. Detection of minimal residual disease using ctDNA in lung cancer: Current evidence and future directions[J]. J Thorac Oncol, 2019, 14(1):16-24.

[19] NEWMAN AM, BRATMAN SV, TO J, et al. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage[J]. Nat Med, 2014, 20(5):548-554.

[20] CHENG ML, PECTASIDES RIRINI, HANNA GJ, et al. Circulating tumor DNA in advanced solid tumors: clinica relevance and future directions[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(2):176-190.

[21] BETTEGOWDA C, SAUSEN M, LEARY RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies[J]. Sci Transl Med, 2014, 6(224): 224ra24. DOI: 10.1126/scitranslmed.3007094.

[22] DIEHL F, LI M, DRESSMAN D, et al. Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(45):16368-16373.

[23] GUIBERT N,PRADINES A,FARELLA M,et al.Monitoring KRAS mutations in circulating DNA and tumor cells using digital droplet PCR during treatment of KRAS-mutated lung adenocarcinoma[J]. Lung Cancer,2016,100:1-4.

[24] OXNARD GR, THRESS KS, ALDEN RS, et al. Association between plasma genotyping and outcomes of treatment with osimertinib (AZD9291) in advanced non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol,2016,34:3375-3382.

[25] OXNARD GR, PAWELETZ CP, 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: 1698-1705.

[26] ABBOSH C, BIRKBAK NJ, SWANTON C. Early stage NSCLC -challenges to implementing ctDNA-based screening and MRD detection[J].Nat Rev Clin Oncol,2018,15:577-586.

[27] FRISONE D, FRIEDLAENDER A, MALAPELLE U, et al. A BRAF new world [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2020, 152: 103008. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2020.103008.

[28] FRIEDLAENDER A, DRILON A, WEISS GJ, et al. KRAS as a druggable target in NSCLC: Rising like a phoenix after decades of development failures[J]. Cancer Treat Rev, 2020, 85: 101978. DOI: 10.1016/j.ctrv.2020.101978.

[29] FRIEDLAENDER A, BANNA G, PATEL S, et al. Diagnosis and treatment of ALK aberrations in metastatic NSCLC[J]. Curr Treat Options Oncol,2019,20(10):79.

[30] GAGAN J, VAN ALLEN EM. Next-generation sequencing to guide cancer therapy[J]. Genome Med,2015,7(1):80.

[31] PAWELETZ CP, SACHER AG, RAYMOND CK,et al. Bias-corrected targeted next-generation sequencing for rapid, multiplexed detection of actionable alterations in cell-free DNA from advanced lung cancer patients[J].Clin Cancer Res,2016,22(4):915-922.

[32] REMON J,CARAMELLA C,JOVELET C, et al.Osimertinib benefit in EGFR-mutant NSCLC patients with T790M-mutation detected by circulating tumour DNA[J].Ann Oncol,2017,28(4):784-790.

[33] PELLINI B, CHAUDHURI AA. Circulating tumor dna minimal residual disease detection of non-small-cell lung cancer treated with curative intent[J]. J Clin Oncol,2022,40(6):567-575.

[34] MURTAZA M, DAWSON SJ, TSUI DW,et al. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA[J]. Nature,2013,497(7447):108-112.

[35] YUE D, LIU W, CHEN C,et al. Circulating tumor DNA predicts neoadjuvant immunotherapy efficacy and recurrence-free survival in surgical non-small cell lung cancer patients[J]. Transl Lung Cancer Res,2022,11(2):263-276.

[36] LI N, WANG BX, LI J, et al. Perioperative circulating tumor DNA as a potential prognostic marker for operable stage I to IIIA non-small cell lung cancer[J].Cancer,2022,128(4):708-718.

[37] OHARA S, SUDA K, SAKAI K, et al. Prognostic implications of preoperative versus postoperative circulating tumor DNA in surgically resected lung cancer patients: a pilot study[J]. Transl Lung Cancer Res, 2020,9(5):1915-1923.

[38] JAMAL-HANJANI M, WILSON GA, MCGRANAHAN N, et al. Tracking the evolution of non-small-cell lung cancer[J].N Engl J Med,2017,376:2109-2121.

[39] CHEN K, ZHAO H, SHI Y, et al. Perioperative dynamic changes in circulating tumor DNA in patients with lung cancer (DYNAMIC)[J]. Clin Cancer Res,2019,25(23):7058-7067.

[40] PENG M, HUANG Q, YIN W, et al.Circulating tumor dna as a prognostic biomarker in localized non-small cell lung cancer[J]. Front Oncol,2020,10:561598.DOI: 10.3389/fonc.2020.561598.

[41] ISAKSSON S, GEORGE AM, JÖNSSON M, et al. Pre-operative plasma cell-free circulating tumor DNA and serum protein tumor markers as predictors of lung adenocarcinoma recurrence[J]. Acta Oncol,2019,58:1079-1086.

[42] 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.

[43] GALE D,HEIDER K,RUIZ-VALDEPENAS A,et al.Residual ctDNA after treatment predicts early relapse in patients with early-stage non-small cell lung cancer[J].Ann Oncol,2022,33(5):500-510.

[44] ABERLE DR, ADAMS AM, BERG CD, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening [J]. N Engl J Med, 2011,365(5):395 - 409.

[45] ABBOSH C, FRANKELL AM, HARRISON T, et al. Tracking early lung cancer metastatic dissemination in TRACERx using ctDNA[J].Nature,2023,616(7957):553-562. .

[46] REMON J, MENIS J, HASAN B, et al. The APPLE trial: feasibility and activity of AZD9291 (osimertinib) treatment on positive plasma T790M in EGFR-mutant NSCLC patients. EORTC 1613[J]. Clin Lung Cancer,2017,18(5):583-588.

[47] SONG WA, ZHOU NK, WANG W, et al. Survival benefit of neoadjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer: an updated meta-analysis of 13 randomized control trials[J].J Thorac Oncol, 2010,5:510-516.

[48] BRADBURY P, SIVAJOHANATHAN D, CHAN A, et al.Postoperative adjuvant systemic therapy in completely resected non-small-cell lung cancer: a systematic review[J/OL].Lung Cancer, 2017,18(3):259-273.e8. DOI: 10.1016/j.cllc.2016.07.002.

[49] ÁACORTÉS, URQUIZU LC, CUBERO JH.Adjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer: state-of-the-art. Transl [J]. Transl Lung Cancer Res, 2015, 4(2): 191-197. DOI: 10.3978/j.issn.2218-6751.2014.06.01.

[50] KUANG PP, LI N, LIU Z, et al. Circulating tumor DNA analyses as a potential marker of recurrence and effectiveness of adjuvant chemotherapy for resected non-small-cell lung cancer[J]. Front Oncol,2020,10:595650.DOI: 10.3389/fonc.2020.595650.

[51] 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.

[52] XIA L, MEI JD, KANG R, et al. Perioperative ctDNA-based molecular residual disease detection for non-small cell lung cancer: a prospective multicenter cohort study (LUNGCA-1)[J]. Clin Cancer Res,2022,28(15):3308-3317.DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-21-3044.

[53] ABBOSH C, BIRKBAK NJ, WILSON GA, alet: Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution[J]. Nature,2017,545(7655):446-451.

[54] SACHER AG, KOMATSUBARA KM, OXNARD GR.Application of plasma genotyping technolo-gies in non-small cell lung cancer: a practi-cal review[J]. J Thorac Oncol,2017,12(9):1344-1356.

[55] NORMANNO N, MAIELLO MR, CHICCHINELLI N, et al.Targeting the EGFR T790M mutation in non-small-cell lung cancer [J]. Expert Opin Ther Targets,2017,21(2):159-165.

(收稿日期:2023-04-27,修回日期:2023-06-12)