

• 专家面对面 •

液体活检在临床肿瘤诊疗中的应用及挑战

李海霞¹, 涂建成², 任丽³, 李冬⁴, 肖飞⁵

(1. 北京大学第一医院检验科, 北京 100034; 2. 武汉大学中南医院/第二临床学院, 湖北武汉 430071;

3. 天津医科大学肿瘤医院检验科, 天津 300060; 4. 同济大学附属同济医院检验科,

上海 200065; 5. 北京医院检验科, 北京 100730)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.20.001

中图法分类号: R446.9

文章编号: 1673-4130(2019)20-2433-06

文献标识码: A



李海霞

李海霞:精准医疗和个体化治疗基于生物标志物的发展而产生,近年来,液体活检技术已经逐步进入肿瘤临床诊断治疗领域,并被认为是能够用于获取肿瘤发展和进展信息。液体活检是一种以人体血液、尿液、脑脊液、胸腹水等体液作为检测标本来获取肿瘤相关信息的新兴诊断技术,主

要以循环肿瘤细胞(CTC)、循环肿瘤 DNA(ctDNA)、外泌体的检测为代表,通过评估以上标志物,能够早期诊断癌症、进行基因组/免疫谱分析、评估微小残留疾病等,为临床提供合适的治疗方法,监测治疗的有效性。相对于传统的肿瘤检测方法,液体活检检测灵敏度高,采样简单、无侵入性,并可在不同时间点重复进行以实现疾病的动态评估,作为一种新兴的技术在临床诊疗中具有多种优势。然而,以精准医学的要求与目标来看,液体活检的分析效度和临床有效性仍需确认,同时也缺乏行业标准和市场监管,仍然存在很多不足之处。2018 年 10 月,中华医学会检验医学分会与国家卫生健康委员会临床检验中心共同制定了《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》^[1],为科学规范应用液体活检技术提供了指南。随着相关研究及临床数据的积累,未来液体活检将在临床应用拓展及新检测靶标的发掘等方面成为对抗肿瘤的一大“利器”。本期主持人邀请了国内从事肿瘤诊疗与液体活检的多位专家,一起来探讨液体活检目前在临床应用中的优势与不足,以及未来液

体活检技术为临床诊疗带来的突破和面临的技术挑战。

1 李海霞:目前液体活检主要应用的领域是肿瘤早期诊断、靶向药物伴随诊断以及肿瘤治疗的实时疗效检测,其作为一种新兴的技术,与传统的肿瘤检测方法相比,有哪些优势,以及临床应用前景如何?



涂建成

涂建成:传统的肿瘤检测方法包括影像学检查、肿瘤血清标志物检测和组织活检。三者 in 肿瘤的诊疗过程中持续发挥着巨大的作用,但遗憾的是也有不可忽视的缺陷。例如,部分影像学检查有放射性,不宜频繁检测,并且影像学检查无法获得肿瘤的生物学信息,仍然需要通过组织活检或手术来进一步确认。

肿瘤血清标志物的特异性和灵敏度仍然不够,同时,血清肿瘤标志物检测与影像学一样无法获得肿瘤的生物学信息。传统的组织活检是长期以来的“金标准”,但它的局限性包括:肿瘤异质性导致的检测不准确性;患者情况决定的采样困难;侵入性的活检手段会带来肿瘤转移的风险。液体活检则在很大程度上弥补了以上传统检测方法的不足。首先,采取外周血检测的手段保证了其技术方法的安全、无创、快捷和多次取样的可能性。其次,无论是 ctDNA、外泌体、miRNA 还是 CTC 检测都能够获得比较全面的肿瘤细胞生物学信息,从而为临床患者早期筛查、疗效评价和复发监测提供有效的实验室证据。更重要的是,CTC

作者简介:李海霞,女,副研究员,主要从事临床生物化学与分子生物学诊断与研究。

作者简介:涂建成,男,教授,主要从事肝癌发病的分子机理及个性化诊疗的研究。

作者简介:任丽,女,主任技师,主要从事肿瘤微环境免疫学、免疫血液学的基础及临床应用研究。

作者简介:李冬,男,教授,主要从事临床分子生物学检验、肿瘤标志物筛查以及肿瘤发病机理研究。

作者简介:肖飞,男,研究员,主要从事基因诊断学方面的研究。

本文引用格式:李海霞,涂建成,任丽,等. 液体活检在肿瘤诊疗中的临床应用及未来的挑战[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(20):2433-2438.

作为完整的细胞在外周血被发现和捕获,可以直接作为肿瘤存在的证据,而下游的体外培养、药敏试验和分析又能够指导临床的干预,是有前景的肿瘤体外诊断技术。因此,体液活检具有无侵入性、可频繁检测、多维度评价及反应快速等显著的优势,能够更全面、更便捷地进行肿瘤检测,并实现动态监测和早期筛查。



任丽

任丽:与传统的组织活检相比,液体活检的主要优势如下。(1)采样简单、成本低廉:传统活检样本需要在麻醉手术条件下直视采集或者依靠影像学定位穿刺采集,而液体活检只需要简单采集体液,对患者相对安全、不良反应小、经济负担轻;(2)灵敏度高:研究表明,液体活检的诊断往往早于影像学检测,以 ctDNA 技术为代表,液体活检提供了早于传统活检的检测手段,为“早诊断、早治疗”的医疗导向开辟新的路径;(3)结果更具代表性:异质性是肿瘤的特点,传统手术活检往往是单点取材,所以无法获取疾病的全面信息,而液体活检由于是检测肿瘤不同部位脱落/释放的分子,会包含更具代表性的信息,因而对疾病的评估更加准确;(4)实现疾病动态评估:由于采用非侵入的采样方式,可以对疾病在诊疗过程中进行实时检测,获取疾病精准信息,为临床医生治疗方案的调整、预后判断提供客观证据。另外,与血液肿瘤标志物检测等传统肿瘤检测方法相比,以 ctDNA 基因检测为代表的液体活检也具有灵敏度高、特异性强等优势。



李冬

李冬:液体活检指采用高通量测序、PCR、微流控芯片等手段对肿瘤患者体液标本中的细胞、核酸和蛋白质进行检测,获取肿瘤相关信息,主要包括 CTC、ctDNA、外泌体以及血小板等^[2-3]。目前液体活检主要应用领域是肿瘤的标本检测,以提示肿瘤发展进程及耐药性等信息,指导个体化精准治疗,其有望成为补充或替代传统组织学活检的新兴检测技术。

液体活检相比于传统的肿瘤检测方法其优势在于:液体活检具有无创性、便捷性、依从性好、无滞后性、来源广、可多次取样、能动态反映肿瘤基因表达谱变化等优点,打破了癌症诊断和治疗过程中传统侵入

式组织活检技术所固有的局限性,能够较好克服肿瘤异质性,更全面、更精准地提高肿瘤患者的早期检出率,实现肿瘤的早期筛查、动态监测、疗效评价及预后判断,具有很好的临床应用前景^[4]。



肖飞

肖飞:与传统肿瘤检测方法相比,液体活检最主要的优势在于样本获取较为简单。传统的肿瘤诊断需要手术或穿刺样本,经过病理学诊断后才进行基因检测;但很多情况下,患者的病情可能不适合手术或者穿刺取样,或者治疗后肿瘤发生了新的变异和类型改变,原有的组织不适用于再次检测;另外,在疗效评估和连续治疗监测方面,由于在治疗过程中很难进行连续的组织活检,对肿瘤的动态监测也较难实现。上述情况下,从血液和其他体液提取 CTC 或循环游离 DNA(cfDNA)进行液体活检,用于诊断、治疗和监测,就显现出巨大的优势。

2 李海霞:目前,液体活检在临床上得到了越来越多的关注和研究。为科学规范液体活检技术在临床检验中的应用,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共同制定了《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》,请结合此共识谈谈液体活检在肿瘤的诊断、治疗监测和预后进展方面有哪些应用?

涂建成:上述专家共识以 ctDNA 和 CTC 为代表,提出了液体活检技术在肿瘤早期辅助诊断、指导临床用药、靶向药物伴随诊断、实时疗效监测、肿瘤进展与不良预后早期预警和耐药机制探索 5 个方面的应用。

但是在应用前景方面,目前能够得到中国医疗器械三类试剂注册并应用于肿瘤患者的临床产品寥寥无几,液体活检目前仍处于产品转化的关键阶段,专家共识也同样认同这一点。液体活检能够在肿瘤早期诊断中给临床多一些选择的余地,未来如果能够取代或者部分取代有创的组织活检,那它的应用前景是值得期待的。

肿瘤的临床用药、靶向药物筛选和实时疗效监测属于“精准医疗”或者说“个性化诊疗”的一部分。肿瘤的异质性导致“精准治疗”不够精准,异质性也限制了靶向药物的治疗效果。因此,实时、无创、又具有代表性的循环肿瘤标志物检测(外泌体、miRNA、ctDNA 和 CTC 等)在该方面应该有更广泛的应用。

免疫治疗是近十年肿瘤治疗的一个重要发展方向,如 PD1 和 PDL1 单抗在治疗脑胶质瘤中的应用;近期肿瘤新抗原(Neo-Antigen)疫苗在黑色素瘤治疗中的研究也进展迅速。如何筛选出合适的受试者,如何对

治疗中的患者进行疗效评价以及在研究中寻找出更合适的标志物是液体活检行业面临的新的强大挑战。

任丽:液体活检的首要应用是个体化诊断和用药指导。例如 ctDNA 可以来自坏死肿瘤细胞、脱落肿瘤细胞以及肿瘤细胞分泌的外泌体等,通过对 ctDNA 基因测序获得肿瘤特异性基因突变信息,能够辅助临床医生进行鉴别诊断并对靶向用药作出个体化的推荐。目前 ctDNA 的检测平台主要包括二代基因测序和数字化 PCR,目标基因多以 EGFR^[5-6]、BRAF^[7] 等有靶向药的热门基因为主,用于肺癌、结直肠癌、乳腺癌等常见肿瘤。最新进展表明,基于液体活检的基因测序还能对肿瘤突变负荷(TMB)^[8]、微卫星不稳定性(MSI)^[9]等指标做出评估,用以指导基于 PD-1/PD-L1 的肿瘤免疫治疗。

液体活检的另一个重要应用是在肿瘤进展期监视靶向药耐药的发生。例如在液体活检的基因测序结果中,若发现 EGFR 基因的 T790M 突变,预示着使用厄洛替尼、吉非替尼的患者出现了靶向药耐药,需要改用奥希替尼等靶向药进行治疗。这类临床应用体现出液体活检相较于常规手术活检的强大优势^[10-12]。

最后,从预后判断角度而言,以 CTC 为代表的液体活检技术,也是乳腺癌、胃癌、非小细胞肺癌等病种预后评估的独立判断因素^[13-15]。

李冬:液体活检能够提高诊断疾病及预测患者预后和治疗反应的能力,在肿瘤精准医学中扮演着以下重要角色。(1)肿瘤早期辅助诊断,液体活检在肿瘤临床诊断、预后和治疗领域的应用日益广泛,患者外周血中 CTC、ctDNA 和外泌体等标志物变化早于传统影像学检查,目前已应用于早期恶性肿瘤辅助诊断具有重要临床应用价值^[16-18],并且 CTC 与肿瘤的临床分期关系密切^[19]。(2)指导临床用药,液体活检还可通过检测肿瘤相应改变的基因信息,选择合适的靶向药物用于后续治疗,指导临床用药,如通过检测 EGFR T790M 用于指导 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂治疗非小细胞肺癌;另外,对分离出的 CTC 进行体外培养,有利于药物敏感机制研究,开发相应的靶向药物。(3)实时监测疗效,相比传统的影像学肿瘤标志物,液体活检在反映疗效方面具有更好的特异度与灵敏度,可准确反映机体治疗后个体肿瘤负荷变化,及时提示临床采取有效的治疗策略^[20-24]。(4)肿瘤进展与不良预后早期预警,液体活检除了用于更早预警转移性恶性肿瘤患者的疾病进展和不良预后,还与肿瘤患者的生存期密切相关,对患者预后具有重要预测价值。(5)耐药机制探索,液体活检可通过高灵敏度方法追踪肿瘤获得性耐药基因的变化,有助于揭示耐药新机制,发现新的治疗靶点^[25-26];并可用基因图谱揭示耐药的具体机制,从而逆转耐药^[27]。

肖飞:通过 CTC 的捕获和纯化,还可以利用

FISH 和免疫染色技术,对肿瘤的染色体和免疫标志物进行分析;而定量检测 cfDNA,可以对肿瘤负荷、疗效以及新的突变进行实时监测;单细胞测序的发展,则有可能通过 CTC 对肿瘤的异质性和进化关系进行准确和定量的分析。

3 李海霞:液体活检面世的时间较短,该技术仍然存在很多不足之处。现有的液体活检检测还有哪些问题需要解决?请各位专家从临床、技术、经济等角度简要进行分析。

涂建成:新的技术出现多需要一定时间积累数据和研究才能填充实验室检测项目与临床的鸿沟,也需更多前瞻性循证医学证据来支撑。目前液体活检缺乏大数据量的人群调查,缺乏某一类病种不同疾病分期和指标变化的研究,缺少机制研究,缺乏与现有的血清学标志物、影像学检查及病理结果的一致性评价研究。此外,从技术层面角度来讲,用于液体活检的实验室新技术主要包括免疫捕获、二代测序、微流控等。这一部分技术本身存在一定局限性,在应用到液体活检的具体项目时,应针对灵敏度、靶标的特异性、稳定性、检测误差等进行改进;完善液体活检急需的下游技术,如单细胞测序技术及培养鉴定等技术的发展来推进其在临床的应用,如何实现高通量和自动化也是需要完善的技术。从经济角度层面来讲,由于专利技术保护、抗体、深度测序和分析等导致了液体活检技术的高价格,也限制了液体活检在临床上的开展,期待未来随着成本降低、试剂耗材国产化等逐步解决这个经济问题。

任丽:当前液体活检领域主要存在三方面不足。(1)检测技术尚不成熟:液体活检依赖于从肿瘤组织中释放或脱落的细胞、外泌体、核酸、蛋白等物质,从组织外的体液中进行检测,低丰度的本质是其先天不足。而低丰度带来的灵敏度低是液体活检临床应用的瓶颈,在临床上往往出现假阴性案例。虽然通过富集、扩增等手段,ddPCR、NGS 提高了检测的灵敏度,但随之带来信息不完整、基因错配和假阳性等现象。因而,对采样、运输、提取、上机、数据分析等各个流程的标准化操作及关键节点的质量管控,加大开发液体活检新技术的力度,是液体活检临床工作的重中之重。(2)缺乏行业标准和市场监管:各检测单位并未执行统一的液体活检标准,即便对同一疾病的检测,也由于基因位点的设计、测序深度、生信分析代码等项目的选择不同造成结果差异。同时,由于液体活检是新生技术,市场和行业监管相对较松,检测质量参差不齐。因而,标准化的试剂盒、规范化的数据分析流程、专业的遗传咨询解读,以及全流程整体解决方案是液体活检在临床广泛应用的必要保障。(3)市场容量与检测成本分离:液体活检的市场容量足以降低目前居高不下的检测成本,但由于公众的认知程度低,医生往往无法与患者对检测意义、检测报告形式、

检测与治疗方案相关性等方面达成共识,加之液体活检并未纳入标准临床指南及保险机构的承保范围,使得液体活检的普及率低、检测成本仍维持在较高水平。因而,政府部门对医保、医疗单位、检测单位、试剂生产厂商、医生、患者进行多方宣传协调,才能真正去除阻碍、推动液体活检的临床应用。

李冬:液体活检技术仍有许多不足之处,到目前为止,临床上仅有 ctDNA 在非小细胞肺癌中的检测被官方批准,用于指导 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂靶向治疗的选择^[28-32]。现有的液体活检检测主要存在以下几个问题需要解决:(1)根据 CTC 大小来分离 CTC 的技术有一定局限,因为它们忽略了进行性疾病中较小的 CTC;同样,基于密度的分离也很困难,因为非常小的 CTC 在低密度分离介质中可能会丢失;基于可变形性的分离技术也受到了阻碍,因为在某些癌症类型中,CTC 可能与其他血细胞相似;另外,如何对捕捉到的 CTC 进行体外培养和增殖,以及对其进行基因型或表型的检测也是个难题^[33-34]。(2)ctDNA 含量少,占 cfDNA<0.01%,而肿瘤患者 cfDNA 高于健康者而导致 ctDNA 稀释,cfDNA 半衰期较短,以上情况均导致 ctDNA 突变检测灵敏度低。(3)外泌体不同分离技术差异大,缺乏标准化操作,虽然目前有多种商品化外泌体分离试剂盒,但都仅用于科学研究,远不能达到临床检测要求;另外,如何分离肿瘤特异性外泌体问题目前还没解决。(4)相关专业人才匮乏,液体活检不管是检测细胞、核酸还是蛋白,最终都需要对数据进行深度分析处理以及解读,现阶段国内生物信息挖掘平台和人才大多储备于商业性的基因组服务企业,液体活检作为临床常规检测项目开展需要多学科的协同发展,进一步降低检测费用。

肖飞:液体活检目前存在的最大问题是结果解读,很多测序发现的基因突变本身就缺乏功能注释,无法进行临床解读,未来需要进一步的功能学研究平台,用传统的分子生物学技术进行功能解读。另外,由于肿瘤的特性不同,CTC 和 ctDNA 出现的时间和数量均不稳定,很多阴性结果不能体现体内的肿瘤负荷与真实突变情况。与病理组织比较,液体活检由于是脱落的细胞或 DNA,不能体现整个肿瘤组织的异质性。以上问题的存在,也给液体活检在临床的应用带来风险,尤其是阴性结果的情况下,并不能真实代表体内没有肿瘤细胞或者不存在相应的基因突变。

4 李海霞:相比传统的检测方法,液体活检技术的流程更为复杂,对质量控制要求更为严苛。2018 年发布的《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》中,对操作液体活检的实验室进行了总体要求。从实验室的角度来讲,立足于准确和临床有效性方面,将有哪些新的要求和挑战?

涂建成:液体活检技术,具有更高的技术门槛,在质量控制方面也更为严苛。在共识中,主要包括实验

室环境要求、实验室安全要求、人员资质要求和规范文件要求四大方面。实验室严格执行这些要求,一方面能有效完成液体活检,另一方面也将有利于该技术在临床应用上的有效推广。新的挑战是检验医师及所有交叉学科面临的挑战,知识和技术交叉融合,需要检验医技与临床部门密切配合,还需要与病理和影像部门协作。

任丽:液体活检技术的使用,从实验室管理角度,除严格执行医学实验室所必须遵循的建设要求和质量管理体系以外,还需要对液体活检所提出的新要求和挑战作出应答,主要包括以下几个方面。(1)样本前处理:由于体液中 ctDNA 等被检分子含量低,导致操作流程精细、流程复杂、人工操作多,获得合格被检分子的难度大增。因此,体液标本选择时应综合考虑肿瘤来源、肿瘤部位、播散途径以及不同体液标本的特征,以期提高检验效率。同时,标本前处理过程中应始终遵循快速、稳定的原则,针对不同标本采用不同方案进行处理,尽可能保证待测分子的稳定性和浓度,确保检测质量。在人员配置上应衡量技师专业水平,严格进行技术培训,施行专业上岗证制度。(2)上机分析:同样,由于初始样品含量低的原因,上机分析时容易出现假阴性或由于检测环境污染而造成假阳性。因而在进行液体活检的实验室,要严格执行空气流向、清洁排污等环境标准,上机分析中严格设立标准对照品,根据检测特点设立检测设备的灵敏度、特异性、阳性预期值、检测下限以及抗干扰能力等指标,并增加日常自检频率。(3)下机数据分析与结果解读:不同于常规临床检验项目,液体活检的下机数据由于其复杂性及个体化差异,分析往往需要人工参与完成,甚至对重点数据进行手工验证。而对结果的临床解读工作又需要考虑患者基础状态、疾病类型与分期、治疗方案、肿瘤转移情况,因此开展液体活检项目的实验室根据需求配备具有临床检验、临床肿瘤学、遗传学、分子生物学、及生物信息分析学科背景的多类跨学科的人员。报告签发需由经培训合格的实验室医师和临床医生共同完成。

李冬:由于液体活检是一项新技术,刚刚迈入临床应用之际,对实验室提出了新的要求和挑战:(1)技术检测灵敏度要求高,液体活检可检测的多种分析物中,CTC 的丰度较低,ctDNA 在不同患者中的水平可能相差很大,外泌体分离较困难;对于肿瘤早期筛查而言,对检测技术的灵敏度要求极高;另外,液体活检并不适用于所有类型的肿瘤,例如,血脑屏障会阻碍 ctDNA 和 CTC 进入血液,胶质母细胞瘤释放到外周血中的 ctDNA 和 CTC 极低,并不适合液体活检^[35]。(2)液体活检缺乏检测标准,将液体活检研究成果转化为临床应用面临的关键障碍是缺乏检测标准;从 Panel 设计中基因位点的选择、实验过程中的质控标准建立、生物信息学分析流程的标准化到变异解读中

数据库的选择,不同实验室之间并未形成统一的标准,检测结果可比性不强,难以成为常规临床检测;标准化的试剂盒、规范化的数据分析流程、专业的遗传咨询解读,以及全流程整体解决方案是液体活检在临床广泛应用的前提条件^[36]。(3)缺乏临床有效性和实用性,液体活检检测方法在正式进入临床使用前,临床实验室应当遵循相关的 EP 文件进行全面的性能确立与临床应用评估,目前由于缺乏统一的检测标准操作程序和指导,使得各实验室间对性能验证的要素和判断标准存在差异,不同液体活检检测方法间结果的一致性仍需进行大量的比对和实验验证。

肖飞:实验室空间上,必要的分区、空气流向、人流和人流通道的分离,都已经成为实验室的硬性要求。在实验室设备和管理方面,“自动化、规范化、标准化”是对液体活检的实验室要求。由于核酸提取过程复杂,实验室最好使用自动化核酸提取设备,减少对人员操作的依赖。后续的建库测序等工作也很繁琐,需要规范化和标准化。还有一个经常被忽略的问题,就是高通量测序的数据量很大,实验室还需要更高配置的服务器。

5 李海霞:随着新技术的不断涌现和发展,未来关于液体活检的临床应用,您有怎样的展望?

涂建成:随着相关医学的研究及临床数据的积累,伴随着检测技术的不断完善和优化,并与相关其他标志物检测结合,期待液体活检在未来多种肿瘤的早期筛查、诊断和鉴别诊断、疗效(用药和手术)评价及预后判断作为重要证据进入相关指南/共识中。1869 年 Ashworth 提出 CTC 的概念,到现在各种 ctDNA、CTC 和外泌体等技术的研发和临床应用,液体活检作为一种更好的检测技术势必会得到更多的临床关注和应用。未来十年,相信随着更多新技术的开发,以及临床数据和临床实践的积累,液体活检将成为一项常规检测技术写进临床诊疗指南。

任丽:液体活检技术正以前所未有的速度向前发展。上述几位专家提到的共识中也从现有技术新的临床应用拓展、新的检测靶标发掘、新检测技术开发与转化应用 3 个方面对液体活检的未来发展方向进行了展望。其中,优化现有并开发新的样本采集、富集、提取技术将从灵敏度和特异性两方面切实提高液体活检的检测质量,开发单细胞测序、富集与质谱联用等新的液体活检技术将极大提高液体活检检测内容丰富度,而规范检测流程、加强行业监管、降低检测成本无疑是将液体活检在临床普及的最终途径。

李冬:随着精准医疗纳入国家“十三五”规划,液体活检相关研究定会乘着国家精准医疗战略的东风,实现长远发展。(1)新的检测技术开发、转化与临床应用,包括二代测序、单细胞测序、质谱技术、微流控芯片及多普勒光谱等尖端技术正逐步进入临床实验室,依赖这些技术将切实提高液体活检的质量,进一

步推动液体活检在临床上的应用。(2)联合诊断,从本质上来说,CTC、ctDNA 和外泌体这三者的用处不同,临床诊断时必须综合起来,比如 CTC 能提高诊断的精确性,ctDNA 侧重于对靶向用药和耐药性预警的指导,而外泌体则包含蛋白、DNA、各种 RNA、代谢产物和脂质等各种物质可以提供全面综合的信息,应充分结合 ctDNA 的高灵敏度及 CTC 的高特异性,将液体活检的多种成分综合检测分析。(3)人工智能将助力液体活检,现在的基因测序技术走在了临床认证的前面,测序技术检测 CTC、ctDNA 和外泌体核酸不再是难事,但其价值尚未完全发挥出来,且医生还不能够 100%地将结果和临床疾病联系起来。未来结合人工智能、临床大数据、机器智能学习分析检测结果也将会是液体活检领域的重要发展趋势。

肖飞:短期内,除了肿瘤领域以外,器官移植也将通过 cfDNA 实现移植后实时监测。未来,测序仪器的发展,将获得非扩增的长片段测序结果,一次性获得各种突变的真实原始比例,另外同时获得高重复序列的真实信息,以及包括各种核酸修饰情况的表观遗传学信息,再加上完善的数据库,更有助于判断细胞和 cfDNA 的来源。这些都给液体活检未来发展带来了无限的想象空间。

参考文献

- [1] 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.
- [2] DAGOGO-JACK I, SHAW A T. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2018,15(2):81-94.
- [3] CARTER L, ROTHWELL D G, MESQUITA B, et al. Molecular analysis of circulating tumor cells identifies distinct copy-number profiles in patients with chemosensitive and chemorefractory small-cell lung cancer[J]. Nat Med, 2017,23(1):114-119.
- [4] ABBOSH C, BIRKBAK N J, WILSON G A, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution[J]. Nature, 2017,545(7655):446-451.
- [5] DA CUNHA SANTOS G, SHEPHERD F A, TSAO M S. EGFR mutations and lung cancer[J]. Annu Rev Pathol, 2011,6:49-69.
- [6] SUDA K, ONONZATO R, YATABE Y, et al. EGFR T790M mutation: a double role in lung cancer cell survival[J]. J Thorac Oncol, 2009,4(1):1-4.
- [7] PLANCHARD D S E, GROEN H J M, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAF (V600E)-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial[J]. Lancet Oncol, 2016,17(7):984-993.
- [8] CHALMERS Z R, CONNELLY C F, FABRIZIO D, et al.

- Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden[J]. *Genome Med*, 2017,9(1):34.
- [9] OLIVEIRA A F, BRETES L, FURTADO I. Review of PD-1/PD-L1 inhibitors in metastatic dMMR/MSI-H colorectal cancer[J]. *Front Oncol*, 2019,9:396.
 - [10] SORIA J C, OHE Y, VANSTEENKISTE J, et al. Osime-tinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(2): 113-125.
 - [11] CROSS A, ASHTON S E, GHIORGHU S, et al. AZD9291, an irreversible EGFR TKI, overcomes T790M-mediated resistance to EGFR inhibitors in lung cancer[J]. *Cancer Discov*, 2014,4(9):1046-1061.
 - [12] WANG S, CANG S, LIU D. Third-generation inhibitors targeting EGFR T790M mutation in advanced non-small cell lung cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2016,9:34.
 - [13] RIETHDORF S, MÜLLER V, LOIBL S, et al. Prognostic impact of circulating tumor cells for breast cancer patients treated in the neoadjuvant "Geparquattro" trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2017,23(18):5384-5393.
 - [14] LEE M W, KIM G H, JEON H K, et al. Clinical application of circulating tumor cells in gastric cancer[J]. *Gut Liver*, 2019,13(4):394-401.
 - [15] CHINNIAH C, AGUARIN L, CHENG P, et al. Early detection of recurrence in patients with locally advanced non-small cell lung cancer via circulating tumor cell analysis[J]. *Clin Lung Cancer*, 2019,20(5):384-390.
 - [16] HÜSEMANN Y, GEIGL J B, SCHUBERT F, et al. Systemic spread is an early step in breast cancer[J]. *Cancer Cell*, 2008,13(1):58-68.
 - [17] MURLIDHAR V, REDDY R M, FOULADDEL S, et al. Poor prognosis indicated by venous circulating tumor cell clusters in early-stage lung cancers[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(18):5194-5206.
 - [18] GUO W, SUN Y F, SHEN M N, et al. Circulating tumor cells with stem-like phenotypes for diagnosis, prognosis, and therapeutic response evaluation in hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2018,24(9):2203-2213.
 - [19] BÖLKE E, ORTH K, GERBER P A, et al. Gene expression of circulating tumour cells and its correlation with tumour stage in breast cancer patients[J]. *Eur J Med Res*, 2009,14(8):359-363.
 - [20] GIROTTI M R, GREMEL G, LEE R, et al. Application of sequencing, liquid biopsies, and patient-derived xenografts for personalized medicine in melanoma[J]. *Cancer Discov*, 2016,6(3):286-299.
 - [21] HABER D A, VELCULESCU V E. Blood-based analyses of cancer: circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. *Cancer Discov*, 2014,4(6):650-661.
 - [22] BARDELLI A, PANTEL K. Liquid biopsies, what we do not know (yet)[J]. *Cancer Cell*, 2017,31(2):172-179.
 - [23] MIYAMOTO D T, LEE R J, KALINICH M et al. An RNA-based digital circulating tumor cell signature is predictive of drug response and early dissemination in prostate cancer[J]. *Cancer Discov*, 2018,8(3):288-303.
 - [24] LIU M C, SHIELDS P G, WARREN R D, et al. Circulating tumor cells: a useful predictor of treatment efficacy in metastatic breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2009,27(31):5153-5159.
 - [25] SIRAVEGNA G, MUSSOLIN B, BUSCARINO M, et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients[J]. *Nat Med*, 2015,21(7):795-801.
 - [26] RUSSO M, SIRAVEGNA G, BLASZKOWSKY L S, et al. Tumor heterogeneity and lesion-specific response to targeted therapy in colorectal cancer[J]. *Cancer Discov*, 2016,6(2):147-153.
 - [27] PAILLER E, OULHEN M, BORGET I, et al. Circulating tumor cells with aberrant alk copy number predict progression-free survival during crizotinib treatment in alk-rearranged non-small cell lung cancer patients[J]. *Cancer Res*, 2017,77(9):2222-2230.
 - [28] 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):1383-1390.
 - [29] MALAPELLE U, PISAPIA P, ROCCO D, et al. Next generation sequencing techniques in liquid biopsy: focus on non-small cell lung cancer patients[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2016,5(5):505-510.
 - [30] MALAPELLE U, MAYO DE-LAS-CASAS C, ROCCO D, et al. Development of a gene panel for next-generation sequencing of clinically relevant mutations in cell-free DNA from cancer patients[J]. *Br J Cancer*, 2017, 116(6):802-810.
 - [31] PANTEL K, SPEICHER M R. The biology of circulating tumor cells[J]. *Oncogene*, 2016,35(10):1216-1224.
 - [32] ROLFO C, GIALLOMBARDO M, RECLUSA P, et al. Exosomes in lung cancer liquid biopsies: Two sides of the same coin[J]. *Lung Cancer*, 2017(104):134-135.
 - [33] DE RUBIS G, RAJEEV KRISHNAN S, BEBAWY M. Liquid biopsies in cancer diagnosis, monitoring, and prognosis[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2019,40(3):172-186.
 - [34] PAGE K, SHAW J A, GUTTERY D S. The liquid biopsy: towards standardisation in preparation for prime time[J]. *Lancet Oncol*, 2019,20(6):758-760.
 - [35] HEITZER E, HAQUE I S, ROBERTS C E S, et al. Current and future perspectives of liquid biopsies in genomics-driven oncology[J]. *Nat Rev Genet*, 2019,20(2):71-88.
 - [36] WAN J C M, 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.