

血清肿瘤标志物在肺癌诊断中的应用和挑战

张颖聪 综述, 王佳谊 审校

上海交通大学医学院附属胸科医院检验科, 上海 200030

摘要:肺癌具有高发病率和高病死率。肿瘤标志物是指由肿瘤组织或宿主与肿瘤相互作用所产生的一类活性物质,能够提示肿瘤的存在与生长变化。肿瘤标志物在肺癌早期筛查、辅助诊断、疗效监测、预后判断等方面具有重要的临床价值。同时,肿瘤标志物的临床应用也存在诸多不足。该文概述了肿瘤标志物在肺癌诊断中的应用现状、面临的挑战及今后的发展趋势。

关键词:肺癌; 肿瘤标志物; 检测; 技术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.23.001

文章编号:1673-4130(2024)23-2817-06

中图法分类号:R446.1

文献标志码:A

Application and challenge of serum tumor markers in the diagnosis of lung cancer

ZHANG Yingcong, WANG Jiayi

Department of Clinical Laboratory, Shanghai Chest Hospital,
Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China

Abstract: Lung cancer has high morbidity and mortality. Tumor markers are a class of active substances produced by tumor tissue or by host-tumor interactions, which can indicate the existence and growth of tumor. Tumor markers have important clinical value for early screening, auxiliary diagnosis, efficacy monitoring and prognosis determination of lung cancer. Meanwhile, there are also many shortcomings in the clinical application of tumor markers. This review shows the current status, challenges and future development trends of the application of tumor markers in lung cancer diagnosis.

Key words: lung cancer; tumor markers; detection; technology



王佳谊

肺癌,又称原发性支气管肺癌,是气管、支气管黏膜或腺体起源的最常见的肺部恶性肿瘤。随着老龄化趋势的加重,肺癌发病率不断升高,成为全球范围内发病率和病死率最高的恶性肿瘤之一^[1]。由于肺癌早期缺乏特异性临床症状,中晚期肺癌患者的病死率较高。因此,提高肺癌的

早期诊断率是降低肺癌病死率、改善肺癌预后的关键。低剂量螺旋 CT 作为目前公认的肺癌筛查方法,能够清晰显示较大的病灶组织,但在检出恶性肿瘤微

小病灶方面存在不足^[2]。传统的肺癌检测方法如 X 光胸片、痰细胞检测、支气管镜、病理组织活检等方法对于肿瘤早期检测的效果十分有限,具有操作过程复杂、侵入性强、检测指标单一、易出现假阴性等缺点。

肺癌的发生发展往往伴随着肿瘤标志物水平的升高。肿瘤标志物是指肿瘤细胞产生的或宿主对肿瘤的刺激反应产生的物质,能够反映肿瘤发生、发展,并监测肿瘤的治疗反应。肺癌标志物存在于血清、细胞、尿液、体液或组织中,相比于影像学检测方法,具有标本易获取、操作便捷、非侵入性、价格低廉、易于动态监测等优点。肿瘤标志物在肺癌早期筛查、辅助诊断、鉴别诊断与分期、治疗疗效监测、预后判断等多方面发挥了重要的临床应用价值^[3-5]。

专家简介:王佳谊,上海交通大学医学院附属胸科医院检验科/输血科主任,上海市胸部肿瘤研究所基础医学研究中心主任,研究员,博士生导师,上海交通大学医学院协同创新团队负责人。获国家优青、上海市优秀学术带头人、上海市启明星、上海市卫生系统优秀青年、上海交通大学医学院“双百人”、上海市卫生系统银蛇奖二等奖。担任中华医学会检验医学分会青年学组副组长,中国医师协会检验医师分会委员、中国抗癌协会青年理事、中华医学会检验医学分会青年教师科创联盟主席团成员、上海市医学会检验医学分会委员、上海市医师学会检验医师分会委员,《中华检验医学杂志》编委、《中国细胞生物学报》编委、Antioxidant & Redox Signaling editor。主持承担国家、省部级等科研项目 21 项。研究方向为肿瘤检验体系的构建和完善。第一/通信作者发表 SCI 论文 70 余篇(其中 IF>10, 18 篇),发表期刊包括 Nat Sustain, Mol Cell, Hepatology, Nucleic Acids Res, Nat Commun, Adv Funct Mater, ACS Nano, Adv Sci, Chem Eng J, Small, Small Method, Mol Ther, Redox Biol, Cancer Commun, Cell Rep, Oncogene, Diabetes, eLife 等,获授权发明专利 5 项,转化 1 项。任 Hepatology, Nucleic Acids Res, EMBO J 等期刊审稿人。

1 合理应用肿瘤标志物,提高诊断效能

1.1 现有肺癌标志物及其不足 目前,现有的肺癌标志物主要包括常规血清学标志物、肺癌自身抗体、液体活检标志物等^[6]。肺癌常规血清学标志物包括癌胚抗原(CEA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、鳞状细胞癌抗原(SCC-Ag)、细胞角蛋白片段 19(CYFRA21-1)、胃泌素释放肽前体(ProGRP)等。肺癌自身抗体包括 MAGEA1、GAGE7、GBU4-5、SOX2、p53、PGP9.5、CAGE 等^[7-8]。肺癌液体活检标志物主要包括循环肿瘤细胞(CTC)、循环肿瘤 DNA(ctDNA)和外泌体等^[9-11]。

尽管常用的肺癌标志物种类繁多,但肺癌仍缺乏

特异性生物标志物。同时,不同类型标志物具有不同的优缺点,见表 1。现有的肺癌标志物如 CEA 在乳腺癌、胃癌、肝癌、大肠癌、胰腺癌等多种肿瘤中均可出现高表达^[12-13]。在肺癌发生发展的不同阶段,其产生的标志物水平也各不相同。由于肿瘤异质性,肺癌在不同个体产生的标志物存在差异,同一个肺癌病灶的不同部位产生的标志物也存在差异^[14-16]。同时,肿瘤标志物检测也会出现假阳性和假阴性结果。此外,部分肿瘤标志物检测灵敏度较低,对肺癌的类型、分化、是否转移等性质难以准确鉴别。因此,虽然现有标志物有助于肺癌早期诊断,但尚不能依靠单一标志物的结果诊断肺癌。

表 1 不同类型标志物的比较

标志物	检测时间	检测成本	半衰期	诊断效能
常规血清学标志物	短	较低	长	CYFRA21-1、SCC-Ag 对非小细胞肺癌(NSCLC)有较高的灵敏度和特异度,NSE 和 Pro-GRP 对肺小细胞癌(SCLC)有较高的灵敏度和特异度
肺癌自身抗体	短	较低	长	单独自身抗体分子检测灵敏度和特异度均偏低,采用自身抗体谱可提高诊断灵敏度和特异度
液体活检标志物	长	高	短	检测灵敏度和特异度均较低

1.2 标志物联合检测提高诊断效能 由于单一标志物对肺癌的诊断尤其早期诊断价值有限,通过一定方式筛选有效的生物标志物进行联合检测是重要的临床实践方向之一^[17]。目前,国内专家普遍建议进行多项标志物联合使用,以提高肺癌诊断灵敏度^[18]。对联合检测的指标进行科学分析、严格筛选,在此前提下合理选择几项灵敏度、特异度高的关键肿瘤标志物进行联合检测,可避免医疗资源的浪费,减轻患者的经济负担。不同肿瘤标志物的检测有其本身优缺点,因此需要从多维度比较多种标志物的优缺点,并进行有效整合,以使检测效能最大化。高锦等^[19]发现血清 CYFRA21-1、NSE 与 CEA 联合检测诊断肺癌的曲线下面积(AUC)为 0.749,大于 3 种标志物单项检测诊断肺癌的 AUC,表明 CYFRA21-1 联合 NSE、CEA 检测能够显著提高肺癌检出率。SU 等^[20]鉴定出 3 种痰液微小 RNA(miR)标志物(miR21、miR31 和 miR210)和 2 种痰液核仁小 RNA(snoRNA)标志物(snoRD 66 和 snoRD 78),发现 miRNA 与 snoRNA 的联合检测比单一非编码 RNA(ncRNA)标志物的检测具有更高的灵敏度和特异度,为肺癌早期检测提供了一种新的非侵入性方法。

同时,肿瘤标志物和医学影像学的联合诊断模型在肺癌早期诊断中具有广阔应用潜力^[21]。肿瘤标志物作为一种无放射性辐射、经济快速、无创、可重复性好的检查手段,对临床影像学判断肺癌有无进展及术后复发风险具有重要的辅助诊断价值。相比于单一

肿瘤标志物检测,肿瘤标志物与临床影像学的联合诊断在肺癌早期诊断具有更好的前景,能够提高肺癌诊断准确率,减少有创诊断。MU 等^[22]发现,18F-FDG PET/CT 成像联合肿瘤标志物检测对 NSCLC 治疗后复发或转移的诊断准确率明显高于单项检查,有助于降低漏诊或误诊的可能性。

此外,肺癌常规血清学标志物与新型液体活检标志物的联合检测对于指导肺癌个体化治疗至关重要。液体活检标志物是分析肺癌患者基因分型的有效工具,在一定程度上能够弥补常规血清学标志物的局限性。利用不同液体活检标志物本身具有的优势,将其与常规血清学标志物联合应用可能是监测靶向治疗效果的首选方法^[23],见表 2。LI 等^[24]将 CTC 与血清肿瘤标志物检测相结合,发现该组合能使诊断肺癌的灵敏度提高到 82.93%,对早期肺癌患者(I~II 期)的诊断灵敏度由 63.93%提高到 78.69%,表明 CTC 与血清肿瘤标志物联合应用对肺癌的临床诊断具有潜在的效果。ZHENG 等^[25]将 CTC 与 CEA 联合应用于 NSCLC 诊断,其灵敏度为 77.8%,特异度为 90%,同时,二者的联合诊断对上叶亚实性结节和≥8 mm 的结节诊断效能更高。随着肿瘤标志物的持续发现,未来需对多指标联合检测策略进行持续深入探索,以提高肿瘤诊断的准确性和灵敏度。

2 持续发掘更优肿瘤标志物,构建适应临床实践的
血清标志物谱

随着肿瘤标志物研究领域的逐步扩展,标志物类

型已涉及核酸、蛋白、代谢物、细胞等多种类型^[26-28]。尽管肺癌标志物已被广泛应用于临床,但由于肿瘤异质性与生物学多样性,至今尚无能独立完成肺癌早期筛查及区分肺癌类型的单一标志物^[29]。虽然目前已有的标志物有助于肺癌的诊断和预后观察,但标志物的诊断参考区间及评价治疗效果和预后复发的具体标准等问题尚未明晰。因此,未来需从分子、蛋白、细胞等多水平拓展肿瘤标志物的研究范围,发掘关键肿瘤标志物,以提高肺癌诊断的灵敏度和特异度^[30-32]。

表 2 不同液体活检标志物的比较

方法	CTC	ctDNA	外泌体
蛋白质组学分析	✓	×	✓
RNA 表达分析	✓	×	✓
甲基化模式评估	✓	✓	✓
体外细胞形态功能性研究	✓	×	×
反映时间和空间上的肿瘤异质性	×	✓	×
与其他标记共定位	✓	×	×
临床应用	预后分析、 复发监测等	个性化 用药指导	早期 筛查等

在全基因组层面上开展多中心、大样本、反复验证的基因与疾病的关联研究,对肿瘤标志物的开发有极大的帮助。HUNG 等^[33]进行了一项全基因组关联研究,分析了来自 6 个中欧国家的 1 989 例肺癌病例和 2 625 例对照中的 317 139 个单核苷酸多态性,并在 15q25 染色体区域发现了一个与肺癌密切相关的位点。THORGEIRSSON 等^[34]以欧洲人群为研究对象,确定了 15q24 染色体上烟碱乙酰胆碱受体基因簇中的序列变异与吸烟量和尼古丁依赖之间的相关性,该变异也会增加肺癌和外周动脉疾病的风险。WANG 等^[35]通过对 1 952 例病例和 1 438 例对照中的 511 919 个单核苷酸多态性基因型进行肺癌全基因组关联研究,发现 5p15. 33 和 6p21. 33 变异影响肺癌风险。从个体、群体的遗传背景中发现肺癌的易感基因,能够使肺癌从早期诊断向肿瘤预防逐步推进,对于提高肺癌早期诊断率、降低肺癌病死率、延长生存期具有重要意义。随着基因诊断技术地不断进步,更多的易感位点将被发现,这将为肺癌的诊断提供更精准、更及时、更全面的数据。

挖掘关键肿瘤标志物,建立肺癌最优血清标志物谱,对于实现肺癌早期筛查、疗效评估及预后判断具有重要意义。在个体化精准医疗时代,构建肿瘤大数据整合平台,对已有的大量数据进行深度挖掘并依托大数据进行收集、分析、预测,将多种标志物组合成一套完整的诊断体系,是肿瘤诊断未来的发展方

向^[36-37]。通过多组学寻找肺癌患者与健康个体间具有代表性差异的特定代谢标志物,可能为提高肺癌检出率提供重要的见解。不同肿瘤标志物间存在一定的互补性,基于不同肿瘤标志物构建肺癌诊断模型对提高肺癌检出率有重要意义。SHESTAKOVA 等^[38]通过比较 NSCLC 患者和非癌症个体的代谢组学特征,发现色氨酸代谢、三羧酸循环、尿素循环和脂质代谢相关的代谢物水平发生了显著变化,并据此开发了一个实时诊断模型,有望成为诊断 NSCLC 的潜在工具。SHEN 等^[39]使用空间代谢组学技术对接受化疗治疗和未接受化疗治疗的 NSCLC 患者进行研究,并结合机器学习算法,开发了准确性优于常规临床病理学特征(如 MPR 和 TNM 分期)的诊断模型,为评估 NSCLC 组织病理学反应提供了有效方法。但诊断模型的构建也需进行大规模前瞻性研究,以验证模型在人群中的诊断效能。

新型肿瘤标志物若想要实现临床转化,必须克服临床意义、动态观察、检测技术及标准化操作规程等方面的诸多限制^[40-42]。关键肿瘤标志物需具备易于量化和动态监测、兼顾高灵敏度及特异度等特点。同时,标志物的检测需规范样本分析前质控,考虑潜在影响标志物的因素如肺癌类型、标志物半衰期及影响该标志物检测的非肿瘤性因素,建立标准化操作程序,以提高检测结果的准确性和稳定性。标志物的检测成本也是开发及筛选肿瘤标志物时面临的一项挑战。相对于血清蛋白类肿瘤标志物的检测,目前针对基因检测使用的测序法成本仍然较高,如果未来能够降低测序法成本,将会推动精准医学不断发展,有望缩短肺癌诊断周期。

3 综合提升标志物检测性能,不断研发检测新技术

3.1 现有常规检测方法及不足 目前,肺癌相关标志物的检测灵敏度和特异度仍有待提升,这对肺癌的明确诊断提出了挑战。因此,开发新技术检测标志物成为研究热点。传统标志物检测方法中,放射免疫法具有灵敏度高、特异度高、易于标记、易于商品化等优势,但存在放射性污染和一定的危害,目前逐渐被化学发光法取代。化学发光法是目前较为成熟的标志物检测技术,具有无放射性、灵敏度高、自动化程度高和线性范围宽等优点,但同时也具有设备庞大、操作复杂等缺点。酶联免疫吸附试验作为目前被广泛使用的方法,具有灵敏度、特异度高等优势,但手工操作烦琐,且耗时较长,对操作人员也有一定要求。分子生物学方法如聚合酶链反应(PCR)、荧光原位杂交等对于核酸类标志物的检测具有灵敏度、特异度、通量高等特点,但检测周期长,检测成本高^[43-44]。因此,亟须开发更有效的标志物检测方法对肺癌进行明确诊断。

3.2 研发检测新技术,提升检测能力 生物医学、生物化学、生物物理学、分析化学等多学科的交叉融合,为开发肺癌标志物检测新方法提供了有效支持。目前,生物传感器具有检测速度快、灵敏度高、成本低廉等优点,正向检测自动化、小型化、集成化的方向发展,有望实现标志物的床旁检测^[45-47]。SHLOMI 等^[48]基于纳米金和单壁碳纳米管材料构建了一种传感器阵列,用于检测呼出气中的挥发性有机化合物。该传感器阵列区分携带表皮生长因子受体(EGFR)基因突变的肺癌患者和携带野生型 EGFR 基因患者的准确率为 83%。同时,该检测方法有利于区分早期肺癌患者与良性肺结节患者。微流控技术具有集成小型化、自动化、高通量、检测试剂小、所需样本量少等优点,极大缩短了检测时间,提高了检测效率,有望成为未来标志物定量检测的重要手段^[49]。WANG 等^[50]通过将微流控阵列与多功能磁性上转换纳米粒子相结合,开发了一种同时捕获和检测 CTC 的新方法。拉曼光谱技术具有检测快速、无须标记、无损检测、灵敏度高、受水的干扰小、精确的光谱宽度等独特的技术优势,为肺癌精准诊断提供了一种新手段^[51-52]。

近年来,基因检测技术的发展为标志物检测提供了更多可能性。测序法作为检测基因突变的“金标准”,具有准确性高、检测通量高等优势,能够对肿瘤的突变情况提供更加全面、完整的数据,为个体化治疗提供更为精准地指导^[53-55]。然而,测序法成本高昂,检测速度慢,产生的数据量多,使其难以大规模推广使用。质谱法具有高灵敏度、高分辨率、高准确性、所需样本少等优点,是小分子肿瘤标志物检测的发展方向,同时也为寻找新的肺癌分子标志物提供了一种有效途径。一旦质谱法被广泛用于临床检测,将有效弥补免疫学方法的不足,为肺癌诊断提供有力的技术手段^[56-58]。然而,质谱法所需的设备和仪器价格较高,对仪器操作人员的要求较高,且样本处理及检测方法标准化尚未统一,限制了其大规模推广应用。数字 PCR 是一种继逆转录 PCR 后发展起来的核酸绝对定量分析技术,能够检测低拷贝样品和实现核酸的绝对定量,具有高灵敏度和特异性^[59]。ZHAO 等^[60]构建了多重数字甲基化特异性 PCR 平台,该平台能够同时分析 4 种甲基化生物标志物,可用于检测 NSCLC 的液体活检标志物。数字 PCR 适用于对 ctDNA 或者其他低浓度样本的低频突变检测,但该方法同时具有操作复杂、检测成本高、检测时间长等不足,且只能检测已知突变。

4 总结与展望

肺癌的早期诊断对提高患者的生存率具有重要

意义。血清肿瘤标志物在肺癌的诊断中具有重要临床价值。然而,不同肿瘤标志物有其本身优缺点,单一标志物对肺癌的诊断价值有限。标志物的有效联合能够提高肺癌诊断的准确率。一方面,联合多项标志物建立诊断模型,从多维度比较各种标志物的优缺点,寻找一个更加准确、可信赖的肺癌标志物组合,能够提高肺癌的诊断效能。另一方面,将标志物与影像学交叉联合分析能够表现出更好的准确性,在肺癌诊断中展现出良好的应用前景。此外,尽管部分标志物对于肺癌的诊断效能已得到公认,但肺癌仍缺乏关键诊断标志物。因此,寻找更关键的肺癌标志物也是当前医学领域亟待解决的重要问题。除了标志物的研究与筛选,新检测方法的研发也是当前值得关注的方向。一种理想的检测方法应该具备灵敏度高、重复性好、操作简便、可推广等特点。在研发检测方法,重视检测方法的有效性时,也需兼顾检测方法的便捷性、无创性和检测成本。随着肿瘤分子分型日趋细化和新的药物不断涌现,个体化治疗需求日益增加,在未来期待能开发更多的关键标志物和更佳的检测技术,以改善肺癌的临床诊治现状。

参考文献

[1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA, 2024, 74(3): 229-263.

[2] BHALLA S, YI S, GERBER D E. Emerging strategies in lung cancer screening: blood and beyond[J]. Clin Chem, 2024, 70(1): 60-67.

[3] BUROTTA M, THOMAS A, SUBRAMANIAM D, et al. Biomarkers in early-stage non-small-cell lung cancer: current concepts and future directions[J]. J Thorac Oncol, 2014, 9(11): 1609-1617.

[4] BHANDARI N R, HESS L M, HE D, et al. Biomarker testing, treatment, and outcomes in patients with advanced/metastatic non-small cell lung cancer using a real-world database[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2023, 21(9): 934-944.

[5] MAZZONE P J, SEARS C R, ARENBERG D A, et al. Evaluating molecular biomarkers for the early detection of lung cancer: when is a biomarker ready for clinical use? An official American Thoracic Society policy statement [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 196(7): e15-e29.

[6] THAI A A, SOLOMON B J, SEQUIST L V, et al. Lung cancer[J]. Lancet, 2021, 398(10299): 535-554.

[7] LASTWIKA K J, KARGL J, ZHANG Y, et al. Tumor-derived autoantibodies identify malignant pulmonary nodules[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 199(10): 1257-1266.

- [8] WANG J, SHIVAKUMAR S, BARKER K, et al. Comparative study of autoantibody responses between lung adenocarcinoma and benign pulmonary nodules [J]. J Thorac Oncol, 2016, 11(3): 334-345.
- [9] CHEN K, YANG F, SHEN H, et al. Individualized tumor-informed circulating tumor DNA analysis for postoperative monitoring of non-small cell lung cancer [J]. Cancer Cell, 2023, 41(10): 1749-1762.
- [10] LI W, LIU J B, HOU L K, et al. Liquid biopsy in lung cancer: significance in diagnostics, prediction, and treatment monitoring [J]. Molecular Cancer, 2022, 21(1): 25-38.
- [11] CHEN K, HE Y, WANG W, et al. Development of new techniques and clinical applications of liquid biopsy in lung cancer management [J]. Sci Bull (Beijing), 2024, 69(10): 1556-1568.
- [12] GULHATI P, YIN J, PEDERSON L, et al. Threshold change in CEA as a predictor of non-progression to first-line systemic therapy in metastatic colorectal cancer patients with elevated CEA [J]. J Natl Cancer Inst, 2020, 112(11): 1127-1136.
- [13] SEFRIQUI D, BEAUSSIRE L, GILLIBERT A, et al. CEA, CA19-9, circulating DNA and circulating tumour cell kinetics in patients treated for metastatic colorectal cancer (mCRC) [J]. Br J Cancer, 2021, 125(5): 725-733.
- [14] AL BAKIR M, HUEBNER A, MARTÍNEZ-RUIZ C, et al. The evolution of non-small cell lung cancer metastases in TRACERx [J]. Nature, 2023, 616(7957): 534-542.
- [15] ABBOSH C, FRANKELL A M, HARRISON T, et al. Tracking early lung cancer metastatic dissemination in TRACERx using ctDNA [J]. Nature, 2023, 616(7957): 553-562.
- [16] MARTÍNEZ-RUIZ C, BLACK J R M, PUTTICK C, et al. Genomic-transcriptomic evolution in lung cancer and metastasis [J]. Nature, 2023, 616(7957): 543-552.
- [17] MA S, WANG W, XIA B, et al. Multiplexed serum biomarkers for the detection of lung cancer [J]. EBioMedicine, 2016, 11: 210-218.
- [18] 中华医学会肿瘤学分会, 中华医学会杂志社. 中华医学会肺癌临床诊疗指南(2021 版) [J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(6): 591-621.
- [19] 高锦, 夏红灯, 曹盼, 等. 血清细胞角蛋白 19 片段联合神经特异性烯醇化酶、癌胚抗原检测在肺癌辅助诊断中的价值 [J]. 中华实验外科杂志, 2022, 39(10): 2002-2004.
- [20] SU Y, GUARNERA M A, FANG H, et al. Small non-coding RNA biomarkers in sputum for lung cancer diagnosis [J]. Molecular Cancer, 2016, 15(1): 36-41.
- [21] SEIJO L M, PELED N, AJONA D, et al. Biomarkers in lung cancer screening: achievements, promises, and challenges [J]. J Thorac Oncol, 2019, 14(3): 343-357.
- [22] MU Y, GUI J, LANG Z, et al. Information feedback of 18F-FDG PET/CT computer imaging combined with tumor markers on recurrence and metastasis of non-small cell lung cancer [J]. J Infect Public Health, 2020, 13(9): 1336-1341.
- [23] TRAN H T, HEEKE S, SUJIT S, et al. Circulating tumor DNA and radiological tumor volume identify patients at risk for relapse with resected, early-stage non-small-cell lung cancer [J]. Ann Oncol, 2024, 35(2): 183-189.
- [24] LI Y, TIAN X, GAO L, et al. Clinical significance of circulating tumor cells and tumor markers in the diagnosis of lung cancer [J]. Cancer Med, 2019, 8(8): 3782-3792.
- [25] ZHENG J, YE X, LIU Y, et al. The combination of CTCs and CEA can help guide the management of patients with SPNs suspected of being lung cancer [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 106.
- [26] BILLATOS E, VICK J L, LENBURG M E, et al. The airway transcriptome as a biomarker for early lung cancer detection [J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(13): 2984-2992.
- [27] KHORRAMI M, PRASANNA P, GUPTA A, et al. Changes in CT radiomic features associated with lymphocyte distribution predict overall survival and response to immunotherapy in non-small cell lung cancer [J]. Cancer Immunol Res, 2020, 8(1): 108-119.
- [28] ASSAF Z J F, ZOU W, FINE A D, et al. A longitudinal circulating tumor DNA-based model associated with survival in metastatic non-small-cell lung cancer [J]. Nat Med, 2023, 29(4): 859-868.
- [29] NEAL J W, GAINOR J F, SHAW A T. Developing biomarker-specific end points in lung cancer clinical trials [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2015, 12(3): 135-146.
- [30] VARGAS A J, HARRIS C C. Biomarker development in the precision medicine era: lung cancer as a case study [J]. Nat Rev Cancer, 2016, 16(8): 525-537.
- [31] DURUISSEAU M, ESTELLER M. Lung cancer epigenetics: from knowledge to applications [J]. Semin Cancer Biol, 2018, 51: 116-128.
- [32] LIU W, XU J, PI Z, et al. Untangling the web of intratumor microbiota in lung cancer [J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2023, 1878(6): 189025.
- [33] HUNG R J, MCKAY J D, GABORIEAU V, et al. A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25 [J]. Nature, 2008, 452(7187): 633-637.
- [34] THORGEIRSSON T E, GELLER F, SULEM P, et al. A variant associated with nicotine dependence, lung cancer and peripheral arterial disease [J]. Nature, 2008, 452(7187): 638-642.
- [35] WANG Y, BRODERICK P, WEBB E, et al. Common 5p15. 33 and 6p21. 33 variants influence lung cancer risk [J]. Nat Genet, 2008, 40(12): 1407-1409.
- [36] ZHANG L, ZHU B, ZENG Y, et al. Clinical lipidomics in

understanding of lung cancer: opportunity and challenge [J]. *Cancer Lett*, 2020, 470: 75-83.

[37] DAVIES M P A, SATO T, ASHOOR H, et al. Plasma protein biomarkers for early prediction of lung cancer [J]. *EBioMedicine*, 2023, 93: 104686.

[38] SHESTAKOVA K M, MOSKALEVA N E, BOLDIN A A, et al. Targeted metabolomic profiling as a tool for diagnostics of patients with non-small-cell lung cancer [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 11072.

[39] SHEN J, SUN N, ZENS P, et al. Spatial metabolomics for evaluating response to neoadjuvant therapy in non-small cell lung cancer patients [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42(6): 517-535.

[40] FOX A H, NISHINO M, OSAROGIAGBON R U, et al. Acquiring tissue for advanced lung cancer diagnosis and comprehensive biomarker testing: a national lung cancer roundtable best-practice guide [J]. *CA*, 2023, 73(4): 358-375.

[41] LE-RADEMACHER J, DAHLBERG S, LEE J J, et al. Biomarker clinical trials in lung cancer: design, logistics, challenges, and practical considerations [J]. *J Thorac Oncol*, 2018, 13(11): 1625-1637.

[42] LAROSE T L, MEHEUS F, BRENNAN P, et al. Assessment of biomarker testing for lung cancer screening eligibility [J]. *JAMA Network Open*, 2020, 3(3): e200409.

[43] GAO F, PFEIFER E, FARAH H, et al. Microdroplet digital PCR: detection and quantitation of biomarkers in archived tissue and serial plasma samples in patients with lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10(1): 212-217.

[44] LUK P P, SELINGER C I, MAHAR A, et al. Biomarkers for ALK and ROS1 in lung cancer: immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2018, 142(8): 922-928.

[45] ARYA S K, BHANSALI S. Lung cancer and its early detection using biomarker-based biosensors [J]. *Chem Rev*, 2011, 111(11): 6783-6809.

[46] KIRKPATRICK J D, WARREN A D, SOLEIMANY A P, et al. Urinary detection of lung cancer in mice via non-invasive pulmonary protease profiling [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(537): 262-275.

[47] LIN L P, TAN M T T. Biosensors for the detection of lung cancer biomarkers: a review on biomarkers, transducing techniques and recent graphene-based implementations [J]. *Biosens Bioelectron*, 2023, 237: 115492.

[48] SHLOMI D, ABUD M, LIRAN O, et al. Detection of lung cancer and EGFR mutation by electronic nose system [J]. *J Thorac Oncol*, 2017, 12(10): 1544-1551.

[49] YAO Y, WANG X, GUAN J, et al. Metabolomic differentiation of benign vs malignant pulmonary nodules with high specificity via high-resolution mass spectrometry analysis of patient sera [J]. *Nat Comm*, 2023, 14(1): 2339.

[50] WANG C, YE M, CHENG L, et al. Simultaneous isolation and detection of circulating tumor cells with a microfluidic silicon-nanowire-array integrated with magnetic upconversion nanoprobe [J]. *Biomaterials*, 2015, 54: 55-62.

[51] QIAO X, SU B, LIU C, et al. Selective surface enhanced raman scattering for quantitative detection of lung cancer biomarkers in Superparticle@MOF Structure [J]. *Adv Mater*, 2018, 30(5): 2275-2289.

[52] SHIN H, OH S, HONG S, et al. Early-stage lung cancer diagnosis by deep learning-based spectroscopic analysis of circulating exosomes [J]. *ACS Nano*, 2020, 14(5): 5435-5444.

[53] WANG G, QIU M, XING X, et al. Lung cancer scRNA-seq and lipidomics reveal aberrant lipid metabolism for early-stage diagnosis [J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(630): eabk2756.

[54] MAYNARD A, MCCOACH C E, ROTOW J K, et al. Therapy-induced evolution of human lung cancer revealed by single-cell RNA sequencing [J]. *Cell*, 2020, 182(5): 1232-1251.

[55] ZHANG L, ZHANG Y, WANG C, et al. Integrated single-cell RNA sequencing analysis reveals distinct cellular and transcriptional modules associated with survival in lung cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 21-42.

[56] BENSUSSAN A V, LIN J, GUO C, et al. Distinguishing non-small cell lung cancer subtypes in fine needle aspiration biopsies by desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging [J]. *Clin Chem*, 2020, 66(11): 1424-1433.

[57] RUPRECHT B, DI BERNARDO J, WANG Z, et al. A mass spectrometry-based proteome map of drug action in lung cancer cell lines [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(10): 1111-1119.

[58] MENG S, LI Q, ZHOU Z, et al. Assessment of an exhaled breath test using high-pressure photon ionization time-of-flight mass spectrometry to detect lung cancer [J]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4(3): e213486.

[59] IWAMA E, SAKAI K, AZUMA K, et al. Monitoring of somatic mutations in circulating cell-free DNA by digital PCR and next-generation sequencing during afatinib treatment in patients with lung adenocarcinoma positive for EGFR activating mutations [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(1): 136-141.

[60] ZHAO Y, O'KEEFE C M, HSIEH K, et al. Multiplex digital methylation-specific PCR for noninvasive screening of lung cancer [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(16): e2206518.