

• 综 述 •

液体活检技术在胰腺癌早期筛查和诊断中的应用*

赵宇婷¹, 杨宇晨¹ 综述, 蔡智慧^{2△} 审校

1. 内蒙古医科大学内蒙古临床医学院, 内蒙古呼和浩特 010110; 2. 内蒙古自治区人民医院
肿瘤内科, 内蒙古呼和浩特 010017

摘 要:胰腺癌是一种临床表现隐匿、发展迅速且预后极差的消化系统肿瘤, 其早期诊断和手术治疗可提高患者生存率、明显改善预后。迄今为止仍未找到一种对早期胰腺癌有足够灵敏度、特异度的肿瘤标志物来进行肿瘤筛查。近年来, 越来越多的胰腺癌相关肿瘤标志物被发现和研究, 液体活检已在一系列应用中显示出潜在的实用性, 具有无创、无损、实时、多次的优点, 在肿瘤诊治等多方面具有广泛的前景。本文就液体活检中循环肿瘤细胞、循环肿瘤 DNA 在胰腺癌筛查、早期诊断方面进行探讨总结, 为胰腺癌临床早发现、早治疗提供参考。

关键词:胰腺癌; 早期筛查; 液体活检; 循环肿瘤 DNA; 循环肿瘤细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.24.022 **中图法分类号:**R735.9

文章编号:1673-4130(2023)24-3054-05 **文献标志码:**A

Application of liquid biopsy technology in early screening and diagnosis of pancreatic cancer*

ZHAO Yuting¹, YANG Yuchen¹, CAI Zhihui^{2△}

1. Inner Mongolia Clinical Medical College, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010110, China; 2. Department of Medical Oncology, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia 010017, China

Abstract: Pancreatic cancer is a kind of digestive system tumor with insidious clinical manifestations, rapid development and very poor prognosis, and its early diagnosis and surgical treatment can significantly improve the survival rate and prognosis of patients. So far, no tumor marker with sufficient sensitivity and specificity for early pancreatic cancer has been found for tumor screening. In recent years, more and more pancreatic cancer-related tumor markers have been discovered and studied. Liquid biopsy has shown potential utility in a range of applications, with the advantages of non-invasive, non-destructive, real-time, multiple, and has broad prospects in many aspects of tumor diagnosis and treatment. This article discusses and summarizes the screening and early diagnosis of circulating tumor cells and circulating tumor DNA in liquid biopsy, so as to provide reference for early detection and early treatment of pancreatic cancer.

Key words: pancreatic cancer; early screening; liquid biopsy; circulating tumor DNA; circulating tumor cells

近年来, 胰腺癌发病率在国内外都呈现上升趋势, 胰腺癌虽然不是高发癌种, 但却是导致死亡的第 7 大癌种。胰腺癌的 5 年生存率约为 10%, 据有关数据显示, 胰腺癌占我国肿瘤发病率的第 9 位, 死亡率占第 6 位^[1], 其中, 约 90% 为起源于腺管上皮的导管腺癌(PDAC), PDAC 的 5 年生存率不足 1%。有研究表明, 胰腺癌存在早期诊断率、手术切除率和药物有效率低的“三低”特征, 胰腺癌起病隐匿, 早期症状不典型, 常表现为消化不良、腹泻、上腹部不适或腰背部疼痛等症状, 易与其他消化系统疾病混淆而不能及时

诊治^[2]。不过有研究表明, 从胰腺癌发生病变到进展为转移性胰腺癌要近 21 年的时间^[3], 这为胰腺癌早期筛查提供了较长的时间窗。

胰腺癌早期诊断的关键在于尽早确诊小胰腺癌, 但迄今尚无统一的诊断标准, 美国癌症分期委员会将肿瘤最大径≤2 cm 且无区域淋巴结及远处转移的早期肿瘤称为小胰腺癌, TNM 分期为 I A 期^[4]。另外, 还有学者将最大径≤1 cm 的胰腺癌定义为微小胰腺癌, 术后 5 年生存率可达到 67%^[5]。临床上胰腺癌早期诊断的目的就是发现早期胰腺癌或小胰腺癌, 以便

* 基金项目: 内蒙古自治区卫生健康科技计划项目(202202031); 内蒙古自治区人民医院院内基金项目(2022YN07)。

△ 通信作者, E-mail: czh444czh@126.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20231205.1708.002.html>(2023-12-06)

早期手术治疗改善预后。若胰腺癌已非早期或最大径 $>2\text{ cm}$,则其生存率明显降低^[6]。有数据显示,0 期(原位)患者的 5 年生存率为 85.8%,I A 期患者的 5 年生存率为 68.7%^[7],而发展到中、晚期,失去了最佳治疗时机,5 年生存率仅为 10%^[8],生存时间差异明显。因此及早筛查并诊治胰腺癌至关重要。

1 常规胰腺癌筛查手段

在胰腺癌传统检测方法中,计算机断层扫描(CT)、血管造影联合胸部和盆腔 CT 可用于评估血管解剖结构和疾病分期,是诊断时的常规治疗方法;磁共振成像和胰胆管造影可以用于判断胰腺病变是否有转移,并识别 CT 成像中可能表现不良的癌症;内镜超声检查可以更直接地显示胰腺肿块,明确细胞学或组织学诊断,确定肿瘤血管受累程度,评估区域淋巴结,并评估肿块完全切除的可能性,在内镜超声引导下对肿瘤进行细针穿刺活检,可以获得组织学诊断并为分子检测提供材料;糖类抗原(CA)199 是胰腺癌公认的生物标志物,可用于监测治疗反应^[9]。

然而,传统检测方法都存在一定缺陷,而无法作为可靠的早期筛查方法。如 CT 伴随着碘造影剂的肾毒性风险、辐射暴露风险,且在获得实质增强方面也存在个体差异而无法保证可靠性;内镜超声在某些国家或地区可用性较低,操作员技术差异较大,且无法检测到远处转移;磁共振成像因昂贵且禁忌使用某些金属植入物^[10],且磁共振由于灵敏度(80%)和特异度低(75%)^[11],可与其他疾病包括梗阻性黄疸、急性胆管炎和慢性胰腺炎混淆,易出现假阴性结果^[12],所以目前磁共振可能并不能作为早期胰腺癌常规筛查的手段。总之,胰腺癌总体发病率较低,筛查成本高,在无症状人群中用上述方法进行筛查可能会带来过度诊断和假阳性的风险,因此需要更有效地富集高危人群使其在后续的监测中获益是胰腺癌筛查的关键,所以将液体活检作为早期筛查胰腺癌的方法引起了广泛讨论。

2 液体活检的应用优势

液体活检是一种基于血液、脑脊液、尿液、痰液、腹水和理论上任何其他体液采样的微创手术,正在成为用于早期癌症诊断、治疗、预后预测和随访的生物标志物^[13]。作为非侵入性工具,液体活检可以从体液中获取肿瘤相关的重要信息,大多数重要信息都是从循环肿瘤 DNA(ctDNA)、循环肿瘤细胞(CTC)及细胞外囊泡的分析中收集的^[14]。1994 年首次报道了用等位基因特异性引物的 PCR 在胰腺癌患者的循环游离 DNA(cfDNA)中检测到突变序列^[15],由此提出,液体活检可应用于胰腺癌的临床应用中。在癌症早期筛查领域,液体活检相较传统检测方法有诸多优点。与传统的组织活检不同,液体活检是非侵入性操作,易于重复,并且可以方便地了解肿瘤负荷和治疗反

应。此外,液体活检可以给出原发肿瘤的分子快照,从而最大限度地减少由采样偏重和肿瘤内异质性引起的活检结果偏倚^[16]。因此在实体肿瘤早期筛查、监测疾病进展等方面均有巨大前景。

2.1 CTC 的特性及相关应用 CTC 是血液中存在恶性细胞,被认为是转移的“种子”。CTC 从原发肿瘤脱落,通过血管系统到达第二个部位,若环境适宜,这些细胞便定居并增殖,从而形成转移性肿瘤^[17]。因此推测 CTC 可能成为癌症转移的可靠生物标志物。目前 CTC 已被研究证实其可作为乳腺癌、前列腺癌和结直肠癌的预后生物标志物^[17]。但其在胰腺癌中的作用尚未得到广泛探讨。2004 年 CellSearch 系统计数首次检测到 CTC 的存在,美国食品药品监督管理局评估了此系统对胰腺癌的诊断,结果准确度在 11%~78.5%,检出率差异很大^[18];随着新的功能测试模型的开发,更多用于体内检测和捕获 CTC 的设备为 CTC 研究开辟了新的途径,这可能会克服传统 7.5 mL 血液管(CellSearch 系统)中 CTC 计数低的限制,从而提高检出率^[19]。

早期 CTC 检测可识别胰腺癌转移风险增加的患者,可为手术或局部进展 PDAC 患者提供定制辅助治疗的机会。考虑到转移阶段通常发生在癌症进展的晚期,所以普遍认为在 PDAC 的癌前和早期阶段不会检测到 CTC。但有研究发现,循环胰腺上皮细胞(CEC)仅在胰腺囊性病变和胰腺导管腺癌患者中发现,在体检健康者、PDAC 患者和囊性病变患者中的 CEC 计数存在明显差异^[20]。另一项研究也表明,CEC 有可能对不同级别的导管内乳头状黏液性肿瘤(IPMN)和其他良性囊肿进行区别^[17]。在 PDAC 的癌前阶段可以检测到 CEC,因此提高了 CTC 作为早期诊断标志物的可能性。LEE 等^[12]使用 GEDI 芯片,分别在 3 个不同的受试组:PDAC 组、胰腺癌癌前囊性病变(IPMN 或黏液性囊性肿瘤)组及无癌组,分别检测 CTC,结果显示,胰腺癌癌前囊性病变组、PDAC 组和无癌组的 CTC 检出率分别为 40%、73%和 0%。但由于 PDAC 早期循环细胞数量较少且提取技术尚未完全成熟,CTC 用于胰腺癌早期筛查仍需要更多的验证性研究。

除了早期筛查,近年来发现了 CTC 与胰腺癌在其他方面的相关性:(1)与预后相关,相对未检测到 CTC 的患者,检测到至少一种 CTC 的患者无进展生存时间更短;(2)CTC 可能在评估晚期 PDAC 患者的治疗反应方面具有积极作用,经检测 PDAC 患者化疗后的 CTC 计数大幅减少^[21];(3)判断肿瘤复发,CTC 有上皮细胞和间充质细胞两种表型,且可表达波形蛋白,而波形蛋白是间充质细胞的一种标志物,与胰腺导管腺癌外科治疗后的高复发率有关^[22];(4)监测化疗效果进而指导临床治疗,CTC 计数在疾病晚期增

加,所以如果检测到 PDAC 患者血液中 CTC 计数增加,即使影像学检查未检测到转移,也应考虑全身化疗而不是前期手术^[23]。例如目前已有学者考虑采用分子生物标志物来预测咪喹替尼针对结直肠癌的疗效,未来应该设计并实施利用分子生物标志物预测免疫靶向治疗在胰腺癌疗效中的试验^[24],并以此来指导、调整临床用药。

2.2 ctDNA 在胰腺癌中的应用 在体液环境中,可检测到一类游离的 DNA 片段,被称为 cfDNA,cfDNA 起源于肿瘤微环境的肿瘤和非肿瘤细胞^[25],ctDNA 是特异性来源于原发性或转移性肿瘤 cfDNA 的一部分,虽然 ctDNA 在 cfDNA 中具有较大的波动比例^[26],但由于健康人群中大部分 cfDNA 的长度在 70~200 bp,而肿瘤患者的 ctDNA 长度可能为 200 bp 甚至超过 1 000 bp^[27],这就可以对其进行定量定性分析,从而用于肿瘤监测。肿瘤 DNA 从原发肿瘤、CTC、微转移或明显转移到癌症患者的血液中释放,与肿瘤相关的基因缺陷模式(如点突变、重排、扩增、微卫星改变、表观遗传修饰等)就可以在血清和血浆中检测到,从而应用于临床肿瘤诊治过程。

相较 CTC 而言,ctDNA 具有较高的特异性,ctDNA 的特异性远高于 CTC。原因可能是:(1)ctDNA 通常在大量肿瘤细胞死后检测,此时肿瘤负荷已经很高;(2)PDAC 中的基因突变通常是特异性的^[28]。

2.2.1 ctDNA 在胰腺癌早期筛查中的应用 作为液体活检的一种手段,ctDNA 技术一般分为两种:基因突变检测和甲基化检测。

有研究记录了已知胰腺癌驱动基因的高突变频率,如鼠类肉瘤病毒癌基因(KRAS)、肿瘤抑制蛋白基因(TP53)、信号通路通用调节因子 4(SMAD4)和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制基因(CDKN2A),其中 KRAS 突变被用于诊断监测中^[29]。在一项研究中,与肿瘤组织序列相比,在 26 例胰腺癌患者的 ctDNA 标本中评估了 54 个基因的突变,此项研究结果是 KRAS、TP53、腺瘤性息肉病基因(APC)、F 框/WD-40 域蛋白 7(FBXW7)和 SMAD4 这 5 个基因的 ctDNA 突变应该能够准确诊断 PDAC^[30]。KRAS 是一种相对分子质量为 21×10^3 的小 GTP 酶,可激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外信号调节激酶(ERK)信号传导通路,从而控制与增殖、分化、迁移和存活相关的细胞过程^[31]。1994 年首次报道了用等位基因特异性引物的 PCR 在胰腺癌患者的血浆 cfDNA 中检测到突变的 KRAS 序列,对于每个胰腺癌患者,在血浆中发现的 KRAS 突变与在患者肿瘤中发现的一致,从而可以确认血浆中的突变 DNA 片段来自肿瘤,研究表明,cfDNA 的突变是癌症的高度特异性标志物^[15]。有数据显示在 14.8% 的体检健康者中也检测到了突变 KRAS^[32],该结果表明单独检测血浆

KRAS 突变并不能作为诊断胰腺癌的可靠标志物。有研究报道联合检测 KRAS 突变和 CA199 对胰腺癌的诊断灵敏度达 91%,故与其他血清标志物联合检测,诊断灵敏度可明显提高^[33]。

肿瘤在早期阶段其坏死和凋亡率较低,并且没有足够的 ctDNA 释放到循环中,所以灵敏度比较低^[28]。近年来研究显示,cfDNA 在癌变早期检测甲基化等表观遗传学改变方面具有很大的潜能。肿瘤发生早期 DNA 已经出现了甲基化的趋势或局部甲基化的改变,因此可以通过液体活检检测 ctDNA 的水平和甲基化特征来实现肿瘤的早期诊断及分期^[34]。有研究通过评估 cfDNA 中两个基因[血小板反应蛋白基序 1(ADAMTS1)、锌指蛋白 basonuclin-1(BNC1)]的甲基化状态,结果发现其灵敏度为 0.95,特异度为 0.92,这种基于血液的微创生物标志物组合可以用作在选定的高危人群中进行诊断和筛查的有前途的工具^[35]。除此之外,在另外一项初步研究中,结合 cfDNA 中 5-甲基胞嘧啶(5mC)和 5-羟甲基胞嘧啶(5hmC)变化的模型实现了 0.94 的灵敏度和 0.95 的特异度,诊断 PDAC 的曲线下面积(AUC)为 0.99,结果显示结合 5mC 和 5hmC 标记的特征模型优于两个单独的模型,特别是对 PDAC 的预测灵敏度有所提高,并且利用 5hmC 模型计算的加权诊断评分还可以区分 I 期患者和 II~IV 期患者^[36]。一项针对靶向 cfDNA 甲基化的分析中,纳入了不同阶段的 PDAC 患者,发现 I 期的灵敏度为 0.63,II 期为 0.83,III 期为 0.75,IV 期为 1.00,cfDNA 甲基化可能对监测风险群体非常有用^[7]。使用新开发的称为珠子甲基化(MOB)的高度可靠的技术,EISSA 等^[35]发现 A 崩解素和金属蛋白酶与 ADAMTS1、BNC1 的甲基化及二者联合对胰腺癌诊断的灵敏度分别为 87.2%、64.1%和 97.4%。对于 I/II 期胰腺癌,二者联合检测表现出 94.8% 的灵敏度和 91.6% 的特异度。

2019 年美国翰斯·霍普金斯大学医学院开发了一种称为 DELFI(早期拦截片段 DNA)的方法,通过片段模式的全基因组分析来检测 cfDNA 中的异常^[37]。该研究专注于 cfDNA 的片段大小,发现与非癌症 cfDNA 相比,癌症衍生的 cfDNA 片段长度的变化更大。利用机器学习模型,结合全基因组片段特征,可以将早期癌症检测灵敏度提高到 99%,特异度达到 98%。DELF 方法与基于突变的 cfDNA 分析结合使用时,其灵敏度可以达到 91%,特异度为 98%。这为利用 cfDNA 分析人类早期癌症筛查和监测提供了新的策略。液体活检 ctDNA 主要代表死亡肿瘤细胞的基因组,但癌症的进展和治疗过程中的耐药性却是由活的肿瘤细胞驱动,因此,选择合适的 ctDNA 筛选时间点至关重要。目前的研究指出,如果在肿瘤活检之前进行液体活检,ctDNA 检测可能会消

除组织活检的需要,但如果 ctDNA 分析为阴性,组织活检仍可能提供有价值的基因组信息^[27]。

2.2.2 ctDNA 在胰腺癌其他方面的应用 (1)ctDNA 与肿瘤预后。有研究表明,血浆中 ctDNA 水平与肿瘤大小和分期相关,较高水平的 ctDNA 可能是胰腺癌患者生存率较差的独立危险因素^[15]。ctDNA 可监测肿瘤复发,在进行手术或治疗后,即使没有任何其他临床疾病证据的情况下,检测到 ctDNA 也可能表明存在最小残留病灶,故 ctDNA 的存在还可以识别可能具有较高复发风险的患者^[27]。(2)ctDNA 用于疗效评估。ctDNA 可监测转移性胰腺癌的化疗应答,当治疗失败时,血浆中可检测到耐药胰腺癌细胞的 DNA 片段^[38],且在一项关于总 cfDNA 水平的动态变化与化疗后的肿瘤负荷关系的研究中,提供了治疗前 ctDNA 水平与 PDAC 肿瘤负荷相关的证据,并且显示连续 cfDNA 分析是监测癌症对化疗反应的可靠工具^[39]。

2.3 细胞外囊泡 PDAC 中细胞外囊泡水平的诊断和预后评估价值已在研究中得到证实。即使在早期 PDAC 患者血清中,PDAC 衍生细胞外囊泡中富集的磷脂肌醇蛋白聚糖-1 也有较高的灵敏度和特异度^[18]。同样,细胞外囊泡中特征微小 RNA 的表达水平可用于 PDAC 的早期诊断^[40]。

3 展 望

多维度评估基因组状态或将成为肿瘤早筛技术趋势。从上述研究不难看出,基于液体活检技术所衍生出来的早筛对象不只局限于循环 DNA 层面甲基化标志物,已有发展为多维度指标联合评估的趋势。虽然国内外已有部分研究肿瘤早筛的数据,但多为处于单一检测维度或体细胞突变联合甲基化分析的方法,且大多处于起步阶段,正在进行检测技术的优化、标本的累积或前瞻性临床试验的验证。胰腺癌早筛空间广阔,对于液体活检技术而言,其样本前处理、提取方法和检测灵敏度上还存在一些问题,当前最重要的是找到合适的目标分析物,提高早筛的灵敏度和特异度。为了进一步提升早期胰腺癌的检测能力,更好地筛选中国胰腺癌高危人群,目前部分研究正在纳入基因组拷贝数变异、cfDNA 片段组学等分析,并且基于多维度生物标志物的大型胰腺癌早筛研究也陆续在开展中。随着众多学者对胰腺癌液体活检更深入的研究,液体活检正在得到越来越多的认可。此外,随着创新性检测技术的发展和检测成本的降低,今后液体活检有望普及,为胰腺癌的筛查和早期诊断提供更多的临床帮助。

参考文献

[1] 中华医学会消化内镜学分会胰腺疾病协作组. 中国胰腺癌高危人群早期筛查和监测共识意见(2021,南京)[J].

中华胰腺病杂志,2022,22(1):1-13.
 [2] 杨欢,王晓坤,范金虎. 中国胰腺癌流行病学、危险因素及筛查现状[J]. 肿瘤防治研究,2021,48(10):909-915.
 [3] YACHIDA S, JONES S, BOZIC I, et al. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2010, 467(7319):1114-1117.
 [4] KAMARAJAH S K, BURNS W R, FRANKEL T L, et al. Validation of the American Joint Commission on Cancer (AJCC) 8th edition staging system for patients with pancreatic adenocarcinoma: a surveillance, epidemiology and end results (SEER) analysis[J]. *Ann Surg Oncol*, 2017, 24(7):2023-2030.
 [5] 武利萍,韩大正,杨文义,等. EUS-FNA 在胰腺肿瘤中的诊断价值[J]. 安徽医学,2021,42(3):248-253.
 [6] 李晓君,赖韶钦,谭俊青. 胰腺癌肿瘤标志物对胰腺癌早期诊断的研究进展[J]. 按摩与康复医学,2018,9(3):12-14.
 [7] TONINI V, ZANNI M. Early diagnosis of pancreatic cancer: what strategies to avoid a foretold catastrophe[J]. *World J Gastroenterol*, 2022, 28(31):4235-4248.
 [8] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1):7-30.
 [9] PARK W, CHAWLA A, O'REILLY E M. Pancreatic cancer: a review[J]. *JAMA*, 2021, 326(9):851-862.
 [10] ZHANG L, SANAGAPALLI S, STOITA A. Challenges in diagnosis of pancreatic cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(19):2047-2060.
 [11] YANG J, XU R, WANG C, et al. Early screening and diagnosis strategies of pancreatic cancer: a comprehensive review[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2021, 41(12):1257-1274.
 [12] LEE J S, PARK S S, LEE Y K, et al. Liquid biopsy in pancreatic ductal adenocarcinoma: current status of circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(8):1623-1650.
 [13] ESLAMI S Z, CORTES-HERNANDEZ L E, CAYRE-FOURCQ L, et al. The different facets of liquid biopsy: a kaleidoscopic view[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2020, 10(6):a037333.
 [14] GOTZE J, NITSCHKE C, UZUNOGLU F G, et al. Tumor-stroma interaction in PDAC as a new approach for liquid biopsy and its potential clinical implications [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10:918795.
 [15] 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.
 [16] PENG Y, MEI W, MA K, et al. Circulating tumor DNA and minimal residual disease (MRD) in solid tumors: current horizons and future perspectives[J]. *Front Oncol*, 2021, 11:763790.
 [17] YEO D, BASTIAN A, STRAUSS H, et al. Exploring the clinical utility of pancreatic cancer circulating tumor cells

[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3):1671.

[18] HOU J, LI X, XIE K P. Coupled liquid biopsy and bioinformatics for pancreatic cancer early detection and precision prognostication[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1):34.

[19] ALIX-PANABIÈRES C, PANTEL K. Liquid biopsy: from discovery to clinical application[J]. Cancer Discov, 2021, 11(4):858-873.

[20] QI Z H, XU H X, ZHANG S R, et al. The significance of liquid biopsy in pancreatic cancer[J]. J Cancer, 2018, 9(18):3417-26.

[21] GALL T M H, BELETE S, KHANDERIA E, et al. Circulating tumor cells and cell-free dna in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Am J Pathol, 2019, 189(1):71-81.

[22] 车旭, 黄小准, 陈建霖, 等. 美国约翰·霍普金斯医学院进展期胰腺癌治疗经验及研究趋势[J]. 中国实用外科杂志, 2017, 37(7):755-760.

[23] NAGAI M, SHO M, AKAHORI T, et al. Application of liquid biopsy for surgical management of pancreatic cancer[J]. Ann Gastroenterol Surg, 2020, 4(3):216-223.

[24] 赵传华. 消化道肿瘤靶向及免疫治疗的潜在预测标志物的探索研究[D]. 北京:军事科学院, 2022.

[25] 王红兵. 液体活检在恶性肿瘤中的应用[J]. 实用医院临床杂志, 2022, 19(5):198-202.

[26] CORCORAN R B, CHABNER B A. Application of cell-free DNA analysis to cancer treatment[J]. N Engl Med, 379(18):1754-1765.

[27] YE Q, LING S, ZHENG S, et al. Liquid biopsy in hepatocellular carcinoma: circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1):114.

[28] ZHU Y, ZHANG H, CHEN N, et al. Diagnostic value of various liquid biopsy methods for pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(3):e18581.

[29] AL-SHAHERI F N, ALHAMDANI M S S, BAUER A S, et al. Blood biomarkers for differential diagnosis and early detection of pancreatic cancer [J]. Cancer Treat Rev, 2021, 96:102193.

[30] ZILL O A, GREENE C, SEBISANOVIC D, et al. Cell-

free DNA next-generation sequencing in pancreatobiliary carcinomas[J]. Cancer Discov, 2015, 5(10):1040-1048.

[31] KENNER B, CHARIS T, KELSEN D, et al. Artificial intelligence and early detection of pancreatic cancer: 2020 summative review[J]. Pancreas, 2021, 50(3):251-279.

[32] ALLENSON K, CASTILLO J, SAN LUCAS F A, et al. High prevalence of mutant KRAS in circulating exosome-derived DNA from early-stage pancreatic cancer patients [J]. Ann Oncol, 2017, 28(4):741-747.

[33] 周国锋, 刘霄宇, 陈颐, 等. 循环游离 DNA 在胰腺癌中的临床应用进展[J]. 复旦学报(医学版), 2018, 45(1):113-118.

[34] 李斯特, 徐文博. 高通量测序技术在循环肿瘤 DNA 检测中的应用[J]. 实验与检验医学, 2021, 39(2):255-258.

[35] EISSA M A L, LERNER L, ABDELFATAH E, et al. Promoter methylation of ADAMTS1 and BNC1 as potential biomarkers for early detection of pancreatic cancer in blood[J]. Clin Epigenetics, 2019, 11(1):59.

[36] CAO F, WEI A, HU X, et al. Integrated epigenetic biomarkers in circulating cell-free DNA as a robust classifier for pancreatic cancer[J]. Clin Epigenetics, 2020, 12(1):112.

[37] 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.

[38] 贾艳会, 杜双双, 刘树业. 循环肿瘤 DNA 在胰腺癌诊治研究进展[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(7):948-952.

[39] WEI T, ZHANG Q, LI X, et al. Monitoring tumor burden in response to FOLFIRINOX chemotherapy via profiling circulating cell-free DNA in pancreatic cancer [J]. Mol Cancer Ther, 2019, 18(1):196-203.

[40] LAI X, WANG M, MCELYEA S D, et al. A microRNA signature in circulating exosomes is superior to exosomal glypican-1 levels for diagnosing pancreatic cancer [J]. Cancer Lett, 2017, 393:86-93.

(收稿日期:2023-05-12 修回日期:2023-09-26)

(上接第 3053 页)

[9] 周琰, 潘柏申. 维生素 D 检测标准化进程[J]. 检验医学, 2016, 31(1):71-75.

[10] WISE S A, CAMARA J E, SEMPOS C T, et al. Vitamin D Standardization Program (VDSP) intralaboratory study for the assessment of 25-hydroxyvitamin D assay variability and bias[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2021, 212:105917.

[11] 赵蓓蓓, 程雅婷, 董衡, 等. 25 羟基维生素 D 检测方法的可靠性分析[J]. 临床儿科杂志, 2017, 35(12):957-960.

[12] 徐必文, 谢梅, 蒋华科, 等. 全自动生化法检测 25-羟基维生素 D 的方法学评估研究[J]. 中国处方药, 2023, 21(2):28-30.

[13] 邢晏, 冯长焕, 杜利君. 电化学发光技术检测血清 25 羟基维生素 D 的性能验证及分析[J]. 宜宾学院学报, 2019, 19(6):121-124.

[14] 禹松林, 韩建华, 张江涛, 等. 同位素稀释超高效液相色谱串联质谱法快速测定血清 25-羟维生素 D2 和 25-羟维生素 D3 临床方法的建立[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(8):617-622.

[15] 龚美亮, 王科宇, 陈瑞, 等. 一种免疫分析系统与液相色谱-串联质谱检测 25-羟维生素 D 的一致性评价[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(7):621-626.

(收稿日期:2023-06-10 修回日期:2023-10-20)