

液体活检在肿瘤监测管理中的应用

何文婷¹, 翟云兰², 张洪亮¹

(1.新疆维吾尔自治区中医医院肿瘤二科, 新疆 乌鲁木齐 830000;

2.北京吉因加科技有限公司, 北京 102200)

摘要:目前临床在诊疗过程中,无活检组织样本的情况下,常规使用液体活检检测肿瘤敏感靶点以寻找敏感靶向药。而最新研究中液体活检计算的肿瘤突变负荷(bTMB)可以对PD-1/L1抑制剂进行疗效预测;同时越来越多的研究发现液体活检可以通过对肿瘤分子负荷进行检测分析,用于肿瘤的预后评估,微小残留病灶监测,以及肿瘤的克隆进化分析,这使得液体活检有望在肿瘤诊疗过程中辅助临床进行更全面的监测管理,本文就此做一综述。

关键词:液体活检;肿瘤;ctDNA;液体监测

中图分类号:R730.43

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2019.19.010

文章编号:1006-1959(2019)19-0029-03

Application of Liquid Biopsy in Tumor Monitoring and Management

HE Wen-ting¹, ZHAI Yun-lan², ZHANG Hong-liang¹

(1.Department of tumor, Subject Two, Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang, China;

2.Beijing Jiyin Jia Technology Co., Ltd., Beijing 102200, China)

Abstract: At present, in the clinical diagnosis and treatment process, without biopsy tissue samples, routine use of liquid biopsy to detect tumor-sensitive targets to find sensitive targeted drugs. The tumor mutation load (bTMB) calculated by liquid biopsy in the latest study can predict the efficacy of PD-1/L1 inhibitors. At the same time, more and more studies have found that liquid biopsy can be used for tumor analysis by analyzing tumor molecular load. Prognostic assessment, micro-residual lesion monitoring, and clonal evolution analysis of tumors make liquid biopsy promising for more comprehensive monitoring and management during tumor diagnosis and treatment. This article reviews this issue.

Key words: Liquid biopsy; Tumor; ctDNA; Fluid monitoring

2012年,研究者首次发现Nivo单抗可使非小细胞肺癌(NSCLC)患者从中获益,目前免疫治疗已经成为肿瘤治疗最具希望的治疗方式,肿瘤成为慢性病或许成为可能^[1]。受肿瘤自身的特点和目前的临床诊疗限制,70%的肺癌患者在初诊之时已属晚期状态,无法获得足够的组织用于检测^[2]。在治疗过程中,由于肿瘤的时空异质性,需要进行不同部位、不同治疗节点的多次基因信息检测,在临床上需进行更加精准的治疗。目前临床通过影像学和/或肿标进行肿瘤监测/疗效评价,但存在灵敏度和特异性不足的问题,而且单从影像学和肿标的疗效结果只能判断病情进展,却无法得知疾病进展的真正原因。循环游离DNA(cfDNA)是血液中细胞成分之外的小片段DNA,由细胞凋亡或坏死后释放入血,肿瘤所释放的DNA称为循环肿瘤DNA(ctDNA),是cfDNA的一部分,ctDNA的含量占比与肿瘤负荷相关,被形象的比喻为“分子听诊器”,因此基于外周血的液体活检具有检测标本易获取的独特优势,或许能够辅助临床获取一些分子层面的疾病进展原因。除了代替组织样本检测和疗效之外,液体活检ctDNA在肿瘤早筛、疾病分型、治疗决策、疗效监测、肿瘤异质性

分析、耐药分析等方面都有研究应用探索^[3]。目前液体活检肿瘤检测中的应用包括靶点检测,预测靶向药物疗效,计算肿瘤突变负荷(TMB),预测PD-1/L1抑制剂疗效,监测分子肿瘤负荷,克隆进化分析等,本文对液体活检检测肿瘤的应用进行综述。

1 靶点检测

目前针对靶点检测,有多个基因检测的平台并有多重方法可以选择,且各有优势。DHPLC法对晚期NSCLC患者行EGFR基因突变检测,灵敏度3%,该检测方法获得欧盟认证;ARMS检测因检测灵敏度高、仪器设备要求低、操作流程及数据分析简单,且CSCO肺癌诊疗指南作为I类证据推荐采用ARMS方法行EGFR基因突变检测,2014年以后将检测技术更换为灵敏度相对高的ARMS法;微滴数字PCR技术,其灵敏度相对更高,目前仅用于科研;二代测序技术可实现多基因平行检测,检测灵敏度由测序深度决定,既往文献报道当测序深度达 1×10^4 时,其EGFR基因突变检测灵敏度0.2%^[4]。目前,常用的平台为CSCO指南推荐的ARMS检测或数字PCR检测,特别是随着NGS检测技术的兴起和发展,NCCN/CSCO指南建议临床也选择NGS panel检测,其血浆检测检出限低,组织和血浆检测一致性强,一次检测多基因以筛选更多获益患者。

Wang Z等^[5]的研究提示血浆ctDNA检测可精准指导靶向治疗,使用多基因NGS检测发现,除了EGFR突变,同时伴随存在驱动或抑癌基因突变检出,会导致TKI获益时间缩短,提示治疗疗效不佳。

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(编号:2016D01C134)

作者简介:何文婷(1983.6-),女,新疆乌鲁木齐人,硕士,主治医师,主要从事中西医结合肿瘤学方向的研究

通讯作者:张洪亮(1965.5-),男,河南郑州人,硕士,主任医师,主要从事中西医结合肿瘤防治工作,擅长肺癌、乳腺癌、大肠癌等恶性肿瘤的中西医结合诊疗

在治疗过程中,EGFR 敏感突变的存在与否也可以提示治疗的预后。有研究对比了 4 种血浆 ctDNA 检测 T790M 的平台,以 cobas 组织检测作为参照,NGS 血浆 T790M 检测显示出较高的敏感性和一致性^[6,7]。NGS 检测指导精准治疗,疗效分析结果显示,ctDNA 液体活检在靶点检测、预测药物疗效方面具有临床指导价值。

因此液体活检技术的应用里,敏感靶点的检测已经成为临床常用的技术,同时 NGS 检测在所有液态活检技术里具有更多的临床意义,可以做多基因 panel 检测,在寻找敏感靶点的同时,排查耐药突变以及检测伴随突变,对靶向药的疗效可以在分子层面做出一定的疗效预估。

2 计算肿瘤突变负荷

多个癌种的综合研究发现 TMB 跟免疫疗效成正比,TMB 一般以肿瘤非同义突变总数量或每 1Mb 碱基的突变数量来表示。虽然,从突变到产生新抗原的每一步都有较大折损,但理论上:TMB 越高,最后能够被 T 细胞识别的新抗原产生也越多,对 PD-1/PD-L1 抑制剂可能更敏感^[8,9]。对于 TMB<1 Mb 的肿瘤患者几乎不可能产生新抗原,对 PD-1/PD-L1 抑制剂不敏感^[10]。基于肿瘤组织的肿瘤突变负荷(TMB)已被论证与恶性黑色素瘤、非小细胞肺癌、尿路上皮癌等多个实体瘤的免疫检查点抑制剂(ICB)单药疗效正相关。然而,在临床上多数患者并没有足量的肿瘤组织标本做 TMB 检测。此基于血液样本检测 TMB(bTMB),并以此进行疗效预测,有待于展开进一步的探索研究。目前虽然国际上对 TMB cut-off 值的标准还未确定^[1],但是研究者们已经根据各自的 NGS 检测芯片以及检测方法得出了多个 cut-off 值,而这些 cut-off 值无论是 10、16 还是 20,都可以看到显著的中位生存期(PFS)和总生存期(OS)的获益。同时因活检组织经常难以获得,目前也在液体活检获得 TMB 值(bTMB),从研究结果可以看到 bTMB \geq 16 且 PD-L1 表达 $>50\%$ 的患者从 Atezolizumab 的治疗中获益最多。在 bTMB \geq 16 的人群中,PFS HR 为 0.57(95%CI: 0.33~0.99),实验组与对照组中位 PFS 分别为 4.2 个月和 2.9 个月,HR 为 0.57(95%CI: 0.33~0.99),中位 OS 分别为 13.0 个月和 7.4 个月。由于 bTMB \geq 16 组观察到了更优的 PFS 获益,最终选择了 16 为 cut-off 值。进一步扩大患者人群验证也得到同样的结论。在 bTMB \geq 16 人群中,研究显示 PFS 和 OS 获益显著,PFS HR 为 0.65 (95%CI: 0.47~0.92),OS HR 为 0.64 (95%CI: 0.44~0.92),进一步确定了 16 是 bTMB 预测 Atezolizumab 疗效合适的 cut-off 值^[12]。

在 2019 年 NCCN 指南中建议进行 TMB 检测,筛选免疫治疗获益患者。但是,其评估标准尚未达成

共识。Buttner R 等^[13]总结了目标区域检测计算 TMB 值需要参考的一些因素,首先是样本类型,建议优先选用组织样本;检测基因的目标区域应 >0.8 Mb (最好 >1 Mb),以确保 TMB 值的可靠性;对于目标区域检测得到的 TMB 值,另外还需要与 WES 检测得到的 TMB 结果做一致性分析;但是 cut-off 值目前尚无标准,需要与免疫抑制剂临床疗效数据关联进行确定。

3 分子肿瘤负荷监测

已有研究表明,ctDNA 水平与肿瘤分期、肿瘤体积大小、转移灶个数及治疗都有关,可以反映肿瘤负荷,即“分子 CT”^[14]。在肝癌的一项研究中发现,肿瘤大小与 ctDNA 和肿标相比,相关性更强。在肺癌中发现,ctDNA 可以提示肿瘤预后,高 ctDNA 水平与预后差相关,转移性结直肠癌中也是如此,并且比肿标有更高的灵敏性^[15,16]。

Abbosh C 等^[15]的研究选择 40 例肺癌患者和 54 名健康成人的 255 个样本进行研究,在 94%经历复发的可评估患者中,ctDNA 在第一次治疗后血液样本中被检测到,表明 ctDNA 可评估术后微小残留病灶(MRD)。治疗后 ctDNA 检测,在 72%的患者中进行放射学检查,中位数为 5.2 个月,53%的患者携带与酪氨酸激酶抑制剂或免疫检查点阻滞有利反应相关的 ctDNA 突变谱,可从靶向治疗和免疫治疗中获益。活检液体可以准确地检测肺癌患者的 ctDNA MRD,同时为患者提供个性化治疗参考。另有研究显示,女性早期乳腺癌患者在新辅助治疗后手术,监测术后 ctDNA 的有无评估肿瘤复发风险,发现术后 ctDNA 与肿瘤复发风险高度相关,提示术后 ctDNA 可以监测肿瘤复发风险。Raja R 等^[17]的研究显示,93%肺癌患者在监测过程中出现 ctDNA 阳性(2 个以上 SNV)其中 3 例患者,辅助化疗前后,血浆检出 SNV 数目上升,且均在术后一年出现了复发,提示 ctDNA 分析能够反映辅助化疗耐药,且与肿瘤疗效和复发相关。患者术前 50 天进行 PET 检测,未发现脑部病灶;术后血浆中有 ctDNA 检出;术后 54 天,临床确诊脑部转移,无其他病灶。该结果提示 ctDNA 较影像学更灵敏,可能更早提示复发。使用 durvalumab 治疗的肺癌患者研究显示^[18,19],用药后 6 周 ctDNA 水平降低的患者肿瘤体积变小、治疗获益时间长,提示 ctDNA 水平与免疫治疗疗效相关,ctDNA 可监测免疫治疗效果。

4 克隆进化分析

肿瘤的发生、发展往往伴随着新突变的产生和原有突变的积累。从进化角度上来看,越早发生的突变,在系统进化树中的位置就越靠近主干,相反,越晚发生的突变则位于系统进化树的分支。通常情况下,组织活检,检出的是区域性的亚克隆群体。而血浆 ctDNA 中则涵盖了肿瘤组织中不同的克隆 DNA

片段,从而可以反映不同时间节点肿瘤克隆组成的动态变化^[20]。因此,血浆 ctDNA 检测,可用于研究肿瘤克隆进化和耐药克隆的发生、发展。

在不同癌种的不同治疗阶段过程中,可能出现癌种特异和阶段特异的驱动突变,但不同癌种间也存在共同的驱动事件^[21]。Wang Z 等^[6]研究显示,吉非替尼治疗开始后,第 8 周 EGFR 突变消失的患者预后好,说明动态监测 EGFR 突变有助于预测预后;血浆出现获得性 T790M 突变的中位时间为 7.6 月(95%CI:6.0~10.0)。从 T790M 阳性至疾病进展的中位时间为 2.0 月(95%CI:2.0~4.9)。关于临床该何时更改治疗方案,已有 Remon J 等^[22]的研究对比了吉非替尼治疗 EGFR 阳性患者分别在影像学 and ctDNA 提示 PD 时,更换治疗方案比较其获益时间,目前研究还在进行中,结果尚不清楚。

综上所述,液体活检目前主要应用在于:靶点检测、靶向药物疗效预测、TMB、预测 PD-1/L1 抑制剂疗效、评估肿瘤预后、微小残留病灶 MRD 和复发监测分子肿瘤负荷、克隆进化分析等方面。基于目前临床通过影像学、肿标进行肿瘤监测、疗效评价存在灵敏度和特异性不足的问题,液体活检通过其独特优势,在肿瘤的全病程管理中起到协助临床的作用,帮助临床进行精准诊疗。

参考文献:

- [1]Clark JW,Longo DL.Recent progress in systemic treatment for lung cancer[J].Curr Opin Pulm Med,2018,24(4):355-366.
- [2]Herbst RS,Morgensztern D,Boshoff C.The biology and management of non-small cell lung cancer[J].Nature,2018,553(7689):446-454.
- [3]Calabuig Farinas S,Jantus Lewintre E,Herreros Pomares A,et al.Circulating tumor cells versus circulating tumor DNA in lung cancer-which one will win [J].Transl Lung Cancer Res,2016,5(5):466-482.
- [4]Sacher AG,Pawletz C,Dahlberg SE,et al.Pro prospective Validation of Rapid Plasma Genotyping for the Detection of EGFR and KRAS Mutations in Advanced Lung Cancer [J].JAMA Oncol,2016,2(8):1014-1022.
- [5]Wang Z,Cheng Y,An T,et al.Detection of EGFR mutations in plasma circulating tumour DNA as a selection criterion for first-line gefitinib treatment in patients with advanced lung adenocarcinoma (BENEFIT):a phase 2,single-arm,multicentre clinical trial[J].Lancet Respir Med,2018,6(9):681-690.
- [6]Zhang X,Liang Z,Chen Y,et al.JCES 01.25 Detection of EGFR T790M Mutations by Four Testing Platforms in ctDNA from Chinese Patients with Advanced NSCLC [J].Journal of Thoracic Oncology,2017,12(11):S1739.
- [7]Wang Z,Lu B,Liu G,et al.P3.01-106 Real-world data to evaluate the clinical benefit of NGS for directing lung adenocarcinoma treatment [J].Journal of Thoracic Oncology,2018,13(10):S906-S907.
- [8]Yarchoan M,Hopkins A,Jaffee EM.Tumor Mutational Burden

and Response Rate to PD-1 Inhibition[J]. N Engl J Med,2017,377(25):2500-2501.

[9]Sharabi A,Kim SS,Kato S,et al.Exceptional Response to Nivolumab and Stereotactic Body Radiation Therapy(SBRT)in Neuroendocrine Cervical Carcinoma with High Tumor Mutational Burden: Management Considerations from the Center For Personalized Cancer Therapy at UC San Diego Moores Cancer Center[J].The Oncologist,2017,22(6):631-637.

[10]Schumacher TN,Schreiber RD.Neoantigens in cancer immunotherapy[J].Science,2015,348(6230):69-74.

[11]Rizvi NA,Hellmann MD.Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer[J]. Science,2015,348(6230):124-128.

[12]Gandara DR,Paul SM.Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab[J].Nat Med,2018,24(9):1441-1448.

[13]Büttner R,Longshore JW,López-Ríos F,et al.Implementing TMB measurement in clinical practice: considerations on assay requirements[J].ESMO Open,2019(4):e000442.

[14]Lee JH,Long GV,Menzies AM,et al.Association Between Circulating Tumor DNA and Pseudoprogression in Patients With Metastatic Melanoma Treated With Anti-Programmed Cell Death 1 Antibodies[J].JAMA Oncol,2018,4(5):717-721.

[15]Abbosh C,Birkbak NJ,Wilson GA,et al.Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution [J].Nature,2017,545(7655):446-451.

[16]Nong J,Gong Y, Guan Y,et al.Circulating tumor DNA analysis depicts subclonal architecture and genomic evolution of small cell lung cancer[J].Nat Commun,2019,10(1):552.

[17]Raja R,Kuziora M,Brohawn PZ,et al.Early reduction in ctDNA predicts survival in lung and bladder cancer patients treated with durvalumab[J].Clin Cancer Res,2018,24(24):6212-6222.

[18]Goldberg SB,Narayan A,Kole AJ,et al.Early assessment of lung cancer immunotherapy response via circulating tumor DNA[J].Clin Cancer Res,24(8):1872-1880.

[19]Chaudhuri A,Chabon J,Lovejoy AF,et al.Early Detection of Molecular Residual Disease in Localized Lung Cancer by Circulating Tumor DNA Profiling[J].Cancer Discov,2017,7(12):1394-1403.

[20]Swanton C,Govindan R.Clinical Implications of Genomic Discoveries in Lung Cancer [J].N Engl J Med,2016,374(19):1864-1873.

[21]Yong Li,Xudong Chen,Meixiao Zhan,Circulating Tumor DNA as a potential indicator of tumor load during interventional therapy of unresectable hepatocellular carcinoma [J].Journal of Clinical Oncology,2018,36(15-suppl):12036.

[22]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 [J].Clin Lung Cancer,2017,18(5):583-588

收稿日期:2019-5-22;修回日期:2019-8-14

编辑/肖婷婷