

# ctDNA 检测在非小细胞肺癌临床诊疗应用中的最新研究进展

梁佐<sup>1</sup>, 仝志强<sup>2</sup>, 岳振华<sup>1</sup>, 白晓鸣<sup>2</sup>

(1. 山西医科大学第五临床医学院, 太原 030012; 2. 山西省人民医院, 太原 030012)

**摘要:** 非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是一种高度致死性的恶性肿瘤, 给人类健康带来严重威胁。传统的肿瘤诊疗方法存在许多局限性, 而液体活检技术中的循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 检测由于其无创便捷、全面灵敏的特点, 在 NSCLC 的个体化治疗和监测中引起了广泛关注。本文将综述近年来 ctDNA 检测在 NSCLC 临床诊疗应用中的最新研究进展, 包括其在早期筛查、疾病诊断、肿瘤突变监测、治疗效果评估以及预后评估等方面的应用。

**关键词:** 非小细胞肺癌; 液态活检; 循环肿瘤 DNA

中图分类号: R734.2; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2024) 02-192-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.02.035

## Latest Research Progress in ctDNA Detection for Clinical Diagnosis and Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer

LIANG Zuo<sup>1</sup>, TONG Zhiqiang<sup>2</sup>, YUE Zhenhua<sup>1</sup>, BAI Xiaoming<sup>2</sup> (1. the Fifth Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, China; 2. Shanxi Provincial People's Hospital, Taiyuan 030012, China)

**Abstract:** Non-small cell lung cancer (NSCLC) is a highly lethal malignant tumor that poses a serious threat to human health. Traditional methods for tumor diagnosis and treatment have many limitations. However, circulating tumor DNA (ctDNA) detection, a kind of liquid biopsy technology, has gained widespread attention in the field of NSCLC personalized therapy and monitoring due to its non-invasive, convenient, and comprehensive sensitivity. This article will review the latest research progress of ctDNA detection in the clinical diagnosis and treatment of NSCLC in recent years, including its applications in early screening, disease diagnosis, tumor mutation monitoring, treatment efficacy evaluation, and prognosis assessment.

**Keywords:** non-small cell lung cancer; liquid biops; circulating tumor DNA

近年来, 中国的肺癌发病率和死亡率持续上升。根据国际癌症研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 2020 年的全球癌症统计数据报告, 中国在 2020 年估计有 82 万例新诊断的肺癌患者和 71.5 万例与肺癌相关的死亡病例<sup>[1-2]</sup>。肺癌的发病率和死亡率在性别、年龄和地区之间存在明显差异<sup>[3-4]</sup>。对于 I 期和 II 期的非小细胞肺癌 (non small cell lung cancer, NSCLC) 患者, 术后的 5 年生存率分别为 60% ~ 80% 和 40% ~ 50%<sup>[5]</sup>, 因此, 早期发现、早期诊断和早期手术对于肺癌患者来说至关重要<sup>[6]</sup>。然而, 经过多学科综合治疗后, 部分患者可能会出现远期复发或转移, 这可能与微小残余病灶 (minimal residual disease, MRD) 有关<sup>[7]</sup>。循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 检测是目前最常用的微小残余病灶检测方法。世界卫生组织将肺癌分为小细胞肺癌 (SCLC) 和非小细胞肺癌 (NSCLC), 其中 NSCLC 是最常见的类

型, 约占肺癌的 80%~85%。许多研究表明, ctDNA 检测在 NSCLC 的早期诊断、用药指导、疗效评估、预后判定、早期复发监测、分子异质性评估、肿瘤动力学监测以及遗传因素识别等方面具有重要的指导意义。本文对 ctDNA 的来源、检测技术以及在 NSCLC 临床诊疗中的研究进展进行了综述和分析, 为未来进一步研究 ctDNA 以及其在 NSCLC 诊疗中的应用提供参考。

### 1 ctDNA 与 MRD 概述

MRD 指的是在影像学或实验室检测方法无法检测到的肿瘤病灶。其与肿瘤复发和患者预后不良密切相关, 因此监测 NSCLC 中的 MRD 显得尤为重要。根据 2021 年第 18 届中国肺癌高峰论坛上专家的共识, 肺癌 MRD 指的是经过治疗后, 无法通过传统影像学 (如正电子发射体层显像 /CT, PET/CT) 或实验室方法检测到, 但通过液体活检能够发现的肿瘤来源分子异常, 代表着肺癌的持续存在和

**作者简介:** 梁佐 (1998-), 男, 硕士研究生在读, 研究方向: 胸心外科临床与基础研究, E-mail: 13803437795@163.com。

**通讯作者:** 白晓鸣 (1964-), 男, 硕士研究生, 主任医师, 研究方向: 胸外科肺癌, 食管癌及纵隔疾病诊治, E-mail: 13803437795@163.com。

临床进展可能。肺癌分子残留病灶指的是在外周血中检测到丰度 $\geq 0.02\%$ 的 ctDNA, 包括肺癌驱动基因或其他的 I 类/II 类基因变异。经过治疗后仍能检测到丰度 $\geq 0.02\%$ 的 ctDNA, 表示存在 MRD<sup>[8]</sup>。

目前, 对于 MRD 的检测主要依靠液体活检方法。液体活检是指从各种生物液体中获取肿瘤来源的分析物, 常见的包括循环肿瘤细胞 (circulating tumor cell, CTC), ctDNA, 外泌体、外周血循环 RNA 以及循环肿瘤血管内皮细胞 (CTECs)。此外, 还可以利用尿液、唾液、腹腔积液和脑脊液等其他临床样本进行液体活检<sup>[9]</sup>。高灵敏度的无细胞游离 DNA (cfDNA) 技术的发展推动了液体活检在肿瘤学领域的应用。其中, CTC 和 ctDNA 等分子可以用于分析评估患者的肿瘤情况。目前, 以 ctDNA 作为 MRD 的标准已经非常普遍<sup>[10]</sup>。基于 ctDNA 的 MRD 监测可以识别出根治性手术后存在高风险疾病进展的患者, 并且能够评估疾病的进展情况和治疗的效果。在介绍了 ctDNA 技术之后, 我们将重点关注其在非 NSCLC 诊断、风险评估以及癌症治疗监测中的应用。

## 2 ctDNA 的检测方法

目前, ctDNA 分析主要采用聚合酶链式反应 (PCR) 和测序技术。基于 PCR 的分析方法包括: ①液滴数字聚合酶链式反应 (droplet digital PCR, ddPCR) 法。该方法具有高灵敏度和结果量化能力, 是 ctDNA 分析中的标准参考方法之一; ②高分辨率检测方法, 包括基于小珠 (Bead)、乳浊液 (Emulsion)、扩增 (Amplification) 和磁性 (Magnetic) 的 BEAMing。此方法能够检测到罕见突变达到 0.01% 的水平。另外, 基于测序的技术包括: ①标记扩增深度测序 (TAm-Seq) 法和深度测序肿瘤个体化建档法 (CAPP-Seq), 可以对多个靶点进行测序; ②全外显子组测序法 (WES)、全基因组测序法 (WGS) 和全基因组甲基化测序 (WGBS-Seq) 等方法, 可以测序非靶标变体。

ddPCR 是在传统的 PCR 扩增前对样品进行微滴化处理的方法。它将含有核酸分子的反应体系分为许多微滴, 每个微滴中可能含有或不含有待检核酸靶分子。经过 PCR 扩增后, 逐个对每个微滴进行检测, 根据荧光信号的有无判读微滴的结果, 从而得出靶分子的起始拷贝数或浓度。ddPCR 可以检测低至 0.01~1.0% 的基因组物质, 有助于发现罕见突变和目标序列拷贝数变异<sup>[11-12]</sup>。

BEAMing 是一种敏感度较高且相对廉价的筛选已知突变的方法。它结合了磁珠法乳浊液扩增和流式技术, 可以检测低至 0.01% 的基因组物质改变, 并且与组织检测结果一致<sup>[12]</sup>。然而, BEAMing 技

术在 ctDNA 检测方面存在一些缺陷, 如通量较低, 不能检测未知突变。

CAPP-Seq 利用群体基因组序列和个体患者样本来识别 ctDNA 和 cfDNA 的改变。它使用 DNA 寡核苷酸对定义明确的肿瘤变化进行统计评估, 以检测患者特异性变化。同时, 它可以识别同一类型癌症患者的多个突变, 并评估肿瘤的异质性。过去的研究表明, CAPP-Seq 能够在医学影像学改变之前检测到患者存在的肿瘤负担。它可以识别许多主要的突变类型, 但不能识别融合事件<sup>[13]</sup>。

TAm-Seq 是一种新一代的高通量测序技术, 具有高通量、较低的测序时间和成本等特点。该方法通过设计特异引物对目标区域进行预扩增, 产生覆盖整个区域的扩增子, 然后通过选择性扩增带突变的扩增子区, 并使用单端测序得到最终结果。TAm-Seq 可以检测低至 2% 的 DNA 水平, 但需要事先对所需序列进行表征<sup>[14]</sup>。

全外显子组测序可以提供所有目前已知的肿瘤突变信息, 从而可以识别潜在的原癌基因和抑癌基因。然而, 由于它包括所有外显子组的改变, 所以其灵敏度可能低于其他方法<sup>[15-16]</sup>。

全基因组测序评估整个肿瘤基因组, 以确定其中特征性和有害的改变, 以及目前意义不明的变异。它具有对所有肿瘤突变进行全面评估的巨大潜力, 但受到质量保证、伦理问题、时间和成本的限制。

WGBS-Seq 是 DNA 甲基化分析的金标准。它可以提供单个胞嘧啶的测量, 具有较高的准确性。然而, 由于 DNA 可能存在不同程度的降解, 因此这种方法的敏感度并不理想, 虽然可以发现部分甲基化的结构<sup>[17-18]</sup>。

## 3 ctDNA 在肺癌诊疗中的应用

### 3.1 NSCLC 的辅助诊断

3.1.1 早期诊断: 低剂量螺旋 CT 检查被广泛应用于早期肺癌的筛查。尽管存在较高的假阳性率, 但研究表明该检查仍然在促进早期肺癌的发现方面起着重要作用, 可将肺癌患者的死亡率降低 7%<sup>[19]</sup>。相比影像学检查, ctDNA 技术能够检测到无法通过影像学手段发现的微小病灶, 但由于成本较高, 推广应用仍面临一定困难。此外, 针对肺癌高危人群的 ctDNA 检查在技术上也具有一定的难度, 因为 NSCLC 患者所含的变异片段相对较少, 从而导致其敏感度较低。根据一项涵盖 410 例早期恶性肿瘤病人 (其中包括 5 例 NSCLC) 的调查显示, 通过 ddPCR 技术在早期恶性肿瘤病人中的 ctDNA 检出率仅为 47%, 尽管敏感度较低, 但它仍代表了 ctDNA 研究的重大突破<sup>[20]</sup>。另外, 一项针对 58 例早期 NSCLC 病人的 ctDNA 监测研究显示, 在

包含 50 组与癌症相关的基因突变的检测中, 其敏感度和特异度分别为 53.8% 和 47.3%。此研究还表明, 与血清肿瘤标志物 CA125, CEA, CA19-9, CYFRA21-1, NSE 相比, 对于常见的基因突变如 EGFR, TP53, KRAS 和 PIK 等的检测, 在 NSCLC 早期进展的预测价值 (PPV) 上更具优势<sup>[21]</sup>。综上所述, ctDNA 在早期 NSCLC 鉴别方面具有较高的敏感度和特异度, 随着技术的不断进步, ctDNA 检测技术对于早期肺癌筛查的作用将进一步增强。

3.1.2 降低诊断风险: 在一项荷兰的前瞻性研究中, DE KOCK 等<sup>[22]</sup> 人对比分析了 5 例 NSCLC 患者的胸腔积液和血浆样本。他们发现胸腔积液中可以检测到 ctDNA, 且相比血浆中的 ctDNA, 胸腔积液中的 DNA 产量更高。此外, 在监测治疗期间, 两种不同来源样本的 ctDNA 表现出差异, 甚至胸腔积液中的差异更大, 这可能是因为胸腔积液中受损细胞的数量更高。目前, 肺癌脑膜转移的诊断金标准是脑脊液细胞学检查。然而, 该检查的阳性率却低于 60%<sup>[23]</sup>。LI 等<sup>[24]</sup> 人通过监测 NSCLC 脑转移患者脑脊液中的 ctDNA 发现, 由于血脑屏障的存在, 脑脊液中富含来自脑肿瘤的 ctDNA, 并且脑脊液中的 ctDNA 水平随着脑肿瘤负荷的变化而波动。此外, 脑脊液中的 ctDNA 基因丰度升高或出现新的耐药基因突变的时间比外周血更早。因此, 利用脑转移瘤的表型特征进行 ctDNA 检测可以降低晚期 NSCLC 已发生远处转移患者的不必要的诊断风险。然而, 由于技术限制和高昂的成本, 目前在肺癌诊疗中应用血浆之外的液体活检的研究还很少见。因此, 只有通过推动技术创新和适当降低成本, 才能加快精准医疗在肺癌诊疗中的应用进程。

3.2 追踪早期肺癌的演变 Nature 上刊登的来自 TRACERx 联盟成员的一系列文章显示, ctDNA 可用于检测和分析经过治疗后早期肺癌患者体内残留的肿瘤细胞。该研究利用 ctDNA 动态监测了 197 例患者的 1 069 个血浆样本中的 200 个突变, 以追踪早期肺癌的转移和复发情况<sup>[25]</sup>。研究强调了在解读肿瘤转移和演化时间模式时, 对原发灶和转移灶的取样至关重要。研究发现, 在原发肿瘤最后一次克隆清除后, 大约 75% 的转移瘤才会出现分化, 而大多数原发肿瘤的克隆突变和驱动突变一直存在于转移瘤中<sup>[26-28]</sup>。此外, 由于肿瘤取样的不足或使用基于区域而非基于克隆的系统发育重建, 对于其分化时间和传播模式的解释可能存在误差。模拟结果显示, 对于早期分化的病例, 当原发肿瘤直径小于 8mm 时, 转移克隆很可能已经出现, 这可能限制计算机断层扫描在这些肿瘤早期复发监测中的应用。研究还发现, 早期分化与原发肿瘤手术切除时

的患者的吸烟状态有显著相关性, 这表明吸烟可能为转移分化后的持续克隆清除提供助力, 使得癌细胞不断适应体内环境。同时, 铂类化疗也被发现是一种强效诱变剂, 对肿瘤的演化有促进作用。研究观察到转移瘤主要呈单克隆传播, 但这可能是由于取样数量的限制。单克隆传播表明肿瘤转移能力可能是一次性获得的, 或者可能反映了转移瘤内持续选择或基因漂移的存在。相反, 多克隆扩散表明肿瘤在进化的早期阶段已经获得了转移能力。因此, 多克隆扩散与非小细胞肺癌的远处转移存在一定的相关性。这种扩散模式可能使转移瘤更快地适应胸腔外环境, 并导致对治疗产生不同的反应, 这可能是导致疾病预后差异的一个机制<sup>[29]</sup>。综上所述, 基于 ctDNA 检测的 TRACERx 研究为我们理解早期非 NSCLC 的时空演变提供了重要的数据支持。

3.3 预测靶向药物治疗反应 靶向治疗是当前 NSCLC 患者首选的非手术治疗方案。然而, 随着时间推移, 从敏感突变的识别到疾病进展, 靶向治疗的持续时间越来越长。在这个过程中, 定期复查和药物副作用增加了医疗成本, 也浪费了医疗资源, 同时降低了患者的生活质量。因此, 对于这类患者来说, 选择适当的监测方法至关重要。与目前临床上使用的影像学检查和血清肿瘤标志物检测相比, ctDNA 检测具有更高的时效性和精确性, 并且伴有较小的创伤。通过及时调整治疗方案, ctDNA 检测可以改善预后, 延长患者的生存时间。因此, 采用 ctDNA 检测作为监测方法, 对于这类患者具有重要意义。

在 KALLERGI 等<sup>[30]</sup> 人进行的一项前瞻性研究中涉及 47 例接受奥西替尼治疗的 NSCLC 患者。研究结果显示, 奥西替尼治疗早期 CTC 和 ctDNA 的减少与更好的治疗效果相关, 这意味着液体活检监测可能成为评估治疗效果的有价值工具。此外, 研究还发现奥西替尼对 T790M 突变阳性肿瘤细胞具有已知的作用。在首次检测到 ctDNA 时, 有 10 例患者检测到 T790M 突变, 但只有 1 例患者在第一个疗程后和治疗结束时仍然携带这种突变。入组的 4 例患者在接受奥西替尼治疗三年以上未出现疾病进展, 并且这 4 例患者在第一个疗程后再次检测不到 ctDNA。这些发现进一步证实了 ctDNA 的临床可行性。

另外, ZHENG 等<sup>[31]</sup> 人对 51 例接受表皮生长因子受体 - 酪氨酸酶抑制剂 (EGFR-TKI) 治疗的 NSCLC 患者进行定期随访, 并发现 ctDNA 早期动力学改变是进展生存期 (PFS) 的独立预后因素。与未检测到 ctDNA 的患者相比, EGFR-TKI 治疗后检测到 ctDNA 的患者的疾病进展或死亡风

险增加了4.6倍或2.4倍。此外，EGFR-TKI治疗后，ctDNA水平早期下降的患者的疾病进展风险是ctDNA水平早期增加的患者的2.7倍。最近的研究<sup>[32]</sup>表明，在患者接受靶向治疗后几个小时内，EGFR突变ctDNA的浓度会发生变化。在入组的24例患者中，有50%的患者（12例）在治疗开始后的48h显示血浆ctDNA浓度显著降低（降低25%以上），所有这些患者在治疗4周和8~12周后都呈现出疾病控制。其余12例患者显示EGFR突变ctDNA含量稳定（ $n=5$ ）或升高（ $n=7$ ）。在12例ctDNA水平升高或稳定的患者中，有10例在4周时达到了客观反应，但只有5例在8~12周时仍然呈现疾病控制（与ctDNA下降组相比， $P=0.032$ ）。此外，48h时循环EGFR突变拷贝数的下降与更长的无进展生存期相关（14.7个月 vs 8.5个月， $P=0.013$ ）。因此，在EGFR靶向治疗开始后的48h血浆ctDNA浓度的变化可以用来预测TKI的临床反应。

**3.4 术后转移复发的早期监测** 术后转移和复发被认为是影响NSCLC患者长期生存预后的关键因素。然而，目前基于影像学的诊断存在较大滞后，这不利于早期检测。最近的研究表明，MRD与肿瘤的转移和复发密切相关<sup>[33]</sup>，并且，ctDNA阳性通常意味着肿瘤复发和转移的风险更高<sup>[34]</sup>。因此，ctDNA可能成为早期检测NSCLC术后转移的潜在生物标志物，并可能为早期临床干预提供新的机会。GUO等<sup>[35]</sup>人的研究表明，在174例EGFR突变的I~III期NSCLC患者中，术前组织和血浆中EGFR阳性的患者的远处转移概率高于组织EGFR阳性和血浆EGFR阴性的患者（81.5% vs 25.2%）。此外，ctDNA-EGFR突变阳性患者的总体5年生存率为18.5%，而ctDNA-EGFR突变阴性患者的总体5年生存率为76.9%。ctDNA-EGFR突变阳性患者的中位生存时间（OS）和无疾病生存时间（DFS）分别为 $29.00 \pm 2.55$ 个月和 $19.00 \pm 2.50$ 个月，

显著低于ctDNA-EGFR突变阴性亚组（ $P<0.001$ ）。这些结果表明，术前血浆样本中发现的EGFR突变可能意味着较高的ctDNA负荷，并且可能反映了NSCLC高危因素，包括肿瘤负荷高、分化差、病理类型高和肿瘤倍增时间短。因此，这些患者发生术后ctDNA阳性和MRD的可能性更高。另外一项针对248例肺腺癌患者的研究显示，高级别实变型和筛状生长型肺腺癌与术前ctDNA检测阳性和肿瘤坏死存在相关性，这可能表示这些肿瘤具有染色体不稳定性及近期亚克隆扩增，从而增加了血行转移的风险<sup>[36]</sup>。相反，高级别微乳头状瘤模式与肺泡间隙扩散（STAS）阴性以及较高的亚克隆多样性相关，这可能是肿瘤非血行转移的分子基础。结合STAS和术前ctDNA检测，可以更好地预测肿瘤复发的可能性和转移部位。3p和3q染色体的缺失主要出现在中低分级的肿瘤中，可能与肿瘤进化限制有关。相反，3q区段的增益和SMARCA4区段的改变与纯实体瘤相关，这可能与肺鳞癌的发生有关。对未分化肿瘤进行分子图谱分析可能有助于改善肺癌的分类<sup>[37-40]</sup>。基于以上研究结果可以推断，肿瘤的生长模式可以从高级别向低级别转变，这可能与表观遗传和肿瘤微环境因素有关<sup>[41]</sup>。此外，淋巴结转移样本可能受到空间限制的影响，导致与原发肿瘤生长模式的差异。STAS和术前ctDNA的阳性检测与肺腺癌患者的不良预后相关<sup>[33, 42]</sup>。STAS阳性可能反映了肿瘤非血行转移的风险增加，而术前ctDNA的阳性检测可能反映了肿瘤血行转移的风险增加。同时具有STAS阳性和术前ctDNA阳性的患者预后较差。综上所述，通过ctDNA检测可以显示肺腺癌患者不同的分子亚型和预后特征，从而更好地预测肺腺癌的复发和预后。未来的研究应深入探究ctDNA与这些影响因素之间的关系，以进一步支持NSCLC转移的早期检测、有针对性的术后管理和个体化治疗。

表 1 ctDNA 在肺癌诊疗中的应用

作者	检测方法	结论
SCHMIEGEL W, et al. <sup>[20]</sup>	BEAMing	早期恶性肿瘤病人中的 ctDNA 检出率为 47%
HINDSON B J, et al. <sup>[21]</sup>	ddPCR	ctDNA 对于早期鉴别 NSCLC 有较高的敏感度和特异度
DE KOCK R, et al. <sup>[22]</sup>	ddPCR	NSCLC 患者的胸腔积液 ctDNA 产量比血浆中更高
LI M, et al. <sup>[24]</sup>	NGS	脑脊液 ctDNA 基因丰度升高或出现新突变耐药基因更早于外周血
AL BAKIR M, et al. <sup>[25]</sup>	WES	强调了在解释肿瘤转移分化的时间和模式时，对原发灶和转移灶取样的重要性
ABBOSH C, et al. <sup>[29]</sup>	WES	多克隆扩散与非小细胞肺癌远处转移存在一定相关性
KALLERGI G, et al. <sup>[30]</sup>	Q-PCR	奥西替尼治疗早期 CTC 和 ctDNA 的减少提示更好的预后
KARASAKI T, et al. <sup>[36]</sup>	WES	肺腺癌高级别实变型和筛状生长型与术前 ctDNA 检测阳性和肿瘤坏死存在相关性

#### 4 未来与展望

目前, ctDNA 检测在临床应用中仍然面临许多困难。一方面, 虽然 ctDNA 检测技术在不断进步和发展, 但是不同方法的准确度、灵敏度和特异度都需要进一步优化和完善, 并且缺乏统一的操作和量化标准。同时, 这些技术的高昂成本也制约了 ctDNA 检测技术的推广和普及。另一方面, 目前仍缺乏大样本量的前瞻性试验数据支持 ctDNA 在多个方面的应用, 而且大多数肺癌 ctDNA 临床试验侧重探讨其阳性意义和对预后评估的价值, 对阴性结果的研究却不多见。此外, MRD 本身也存在许多有待解决的问题, 例如 ctDNA 检测的采血时间、结果的假阴性、假阳性、遗传胚系检测以及检测标准判定等。总的来说, ctDNA 检测在肺癌诊疗中仍有很大的潜力需要进一步挖掘。通过对 ctDNA 的分析研究, NSCLC 患者的管理方式正在不断改变, 精准医疗为不同患者的个性化治疗方案制定提供了更多选择, 从而提高患者生存率。2023 年中华医学会肺癌临床诊疗指南指出, 若组织标本不可及时, NSCLC 患者可考虑利用 ctDNA 进行分子病理学检测 (2B 类推荐证据)。同时, 对于 EGFR-TKI 耐药患者的继发耐药基因检测, 如果无法获取足够的组织样本, 也可以用 ctDNA 检测 EGFR T790M (2A 类推荐证据)。我们相信, 在技术进步和研究深入的推动下, ctDNA 检测在精准医疗中将发挥越来越重要的作用。

#### 参考文献:

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA-A Cancer Journal for Clinicians*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] CAO Wei, CHEN Hongda, YU Yiwen, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020[J]. *Chinese Medical Journal*, 2021, 134(7): 783-791.
- [3] ZHANG Siwei, SUN Kexin, ZHENG Rongshou, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2015[J]. *Journal of the National Cancer Center*, 2021, 1(1): 2-11.
- [4] GAO Shugeng, LI Ning, WANG Shuhang, et al. Lung cancer in people's republic of China[J]. *Journal of Thoracic Oncology*, 2020, 15(10): 1567-1576.
- [5] AGARWAL M, BRAHMANDAY G, CHMIELEWSKI G W, et al. Age, tumor size, type of surgery, and gender predict survival in early stage (stage I and II) non-small cell lung cancer after surgical resection[J]. *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 2010, 68(3): 398-402.
- [6] FIELD J K, DUFFY S W, BALDWIN D R, et al. The UK lung cancer screening trial: a pilot randomised controlled trial of low-dose computed tomography screening for the early detection of lung cancer[J]. *Health Technology Assessment (Winchester, England)*, 2016, 20(40): 1-146.
- [7] PANTEL K, ALIX-PANABIÈRES C. Tumour microenvironment: informing on minimal residual disease in solid tumours[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2017, 14(6): 325-326.
- [8] NEWMAN A M, BRATMAN S V, TO J, et al. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage[J]. *Nature Medicine*, 2014, 20(5): 548-554.
- [9] LI Zhongbin, CHEN Dandan, HE Qingjuan, et al. The LAC score indicates significant fibrosis in patients with chronic drug-induced liver injury: a large biopsy-based study[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 734090.
- [10] CHAE Y K, OH M S. Detection of minimal residual disease using ctDNA in lung cancer: current evidence and future directions[J]. *Journal of Thoracic Oncology*, 2019, 14(1): 16-24.
- [11] KOJABAD A A, FARZANEHPOUR M, GALEH H E G, et al. Droplet digital PCR of viral DNA/RNA, current progress, challenges, and future perspectives[J]. *Journal of Medical Virology*, 2021, 93(7): 4182-4197.
- [12] PALACÍN-ALIANA I, GARCÍA-ROMERO N, ASENSI-PUIG A, et al. Clinical utility of liquid biopsy-based actionable mutations detected via ddPCR[J]. *Biomedicine*, 2021, 9(8): 906.
- [13] NIKANJAM M, KATO S, KURZROCK R. Liquid biopsy: current technology and clinical applications[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2022, 15(1): 131.
- [14] FORSHEW T, MURTAZA M, PARKINSON C, et al. Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA[J]. *Science Translational Medicine*, 2012, 4(136): 136ra68.
- [15] ZHAO Yongmei, FANG Litai, SHEN T W, et al. Whole genome and exome sequencing reference datasets from a multi-center and cross-platform benchmark study[J]. *Scientific Data*, 2021, 8(1): 296.
- [16] XIAO Wenming, REN Luyao, CHEN Zhong, et al. Toward best practice in cancer mutation detection with whole-genome and whole-exome sequencing[J]. *Nature Biotechnology*, 2021, 39(9): 1141-1150.
- [17] WARDENAAR R, LIU Haiyin, COLOT V, et al. Evaluation of MeDIP-chip in the context of whole-genome bisulfite sequencing (WGBS-seq) in Arabidopsis[J]. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2013, 1067: 203-224.
- [18] HON G C, HAWKINS R D, CABALLERO O L, et al. Global DNA hypomethylation coupled to repressive chromatin domain formation and gene silencing in breast cancer[J]. *Genome Research*, 2012, 22(2): 246-258.
- [19] KLEIN-SCORY S, WAHNER I, MASLOVA M, et al. Evolution of RAS mutational status in liquid biopsies during first-line chemotherapy for metastatic colorectal

- cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2020, 10: 1115.
- [20] SCHMIEGEL W, SCOTT R J, DOOLEY S, et al. Blood-based detection of RAS mutations to guide anti-EGFR therapy in colorectal cancer patients: concordance of results from circulating tumor DNA and tissue-based RAS testing[J]. *Molecular Oncology*, 2017, 11(2): 208-219.
- [21] HINDSON B J, NESS K D, MASQUELIER D A, et al. High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(22): 8604-8610.
- [22] DE KOCK R, KNOOPS C, BASELMANS M, et al. Sensitive cell-free tumor DNA analysis in supernatant pleural effusions supports therapy selection and disease monitoring of lung cancer patients[J]. *Cancer Treatment and Research Communications*, 2021, 29: 100449.
- [23] GLASS J P, MELAMED M, CHERNIK N L, et al. Malignant cells in cerebrospinal fluid (CSF): the meaning of a positive CSF cytology[J]. *Neurology*, 1979, 29(10): 1369-1375.
- [24] LI M, HOU X, ZHENG L, et al. Utilizing phenotypic characteristics of metastatic brain tumors to improve the probability of detecting circulating tumor DNA from cerebrospinal fluid in non-small-cell lung cancer patients: development and validation of a prediction model in a prospective cohort study[J]. *ESMO Open*, 2022, 7(1): 100305.
- [25] 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.
- [26] BROWN D, SMEETS D, SZÉKELY B, et al. Phylogenetic analysis of metastatic progression in breast cancer using somatic mutations and copy number aberrations[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 14944.
- [27] FALTAS B M, PRANDI D, TAGAWA S T, et al. Clonal evolution of chemotherapy-resistant urothelial carcinoma[J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(12): 1490-1499.
- [28] HU Zheng, DING Jie, MA Zhicheng, et al. Quantitative evidence for early metastatic seeding in colorectal cancer[J]. *Nature Genetics*, 2019, 51(7): 1113-1122.
- [29] 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.
- [30] KALLERGI G, KONTOPODIS E, NTZIFA A, et al. Effect of osimertinib on CTCs and ctDNA in EGFR mutant non-small cell lung cancer patients: the prognostic relevance of liquid biopsy[J]. *Cancers*, 2022, 14(6): 1574.
- [31] ZHENG Jie, WANG Yubo, HU Chen, et al. Predictive value of early kinetics of ctDNA combined with cfDNA and serum CEA for EGFR-TKI treatment in advanced non-small cell lung cancer[J]. *Thoracic Cancer*, 2022, 13(22): 3162-3173.
- [32] MOISEYENKO F V, KULIGINA E S, ZHABINA A S, et al. Changes in the concentration of EGFR-mutated plasma DNA in the first hours of targeted therapy allow the prediction of tumor response in patients with EGFR-driven lung cancer[J]. *International Journal of Clinical Oncology*, 2022, 27(5): 850-862.
- [33] CHABON J J, HAMILTON E G, KURTZ D M, et al. Integrating genomic features for non-invasive early lung cancer detection[J]. *Nature*, 2020, 580(7802): 245-251.
- [34] 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.
- [35] GUO Kai, SHAO Changjian, HAN Lu, et al. Detection of epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations from preoperative circulating tumor DNA (ctDNA) as a prognostic predictor for stage I-III non-small cell lung cancer (NSCLC) patients with baseline tissue EGFR mutations[J]. *Translational Lung Cancer Research*, 2021, 10(7): 3213-3225.
- [36] KARASAKI T, MOORE D A, VEERIAH S, et al. Evolutionary characterization of lung adenocarcinoma morphology in TRACERx[J]. *Nature Medicine*, 2023, 29(4): 833-845.
- [37] REKHTMAN N, MONTECALVO J, CHANG J C, et al. SMARCA4-deficient thoracic sarcomatoid tumors represent primarily smoking-related undifferentiated carcinomas rather than primary thoracic sarcomas[J]. *Journal of Thoracic Oncology*, 2020, 15(2): 231-247.
- [38] SCHOENFELD A J, BANDLAMUDI C, LAVERY J A, et al. The genomic landscape of SMARCA4 alterations and associations with outcomes in patients with lung cancer[J]. *Clinical Cancer Research*, 2020, 26(21): 5701-5708.
- [39] CONCEPCION C P, MA Sai, LAFAVE L M, et al. Smarca4 inactivation promotes lineage-specific transformation and early metastatic features in the lung[J]. *Cancer Discovery*, 2022, 12(2): 562-585.
- [40] KADOTA K, SUZUKI K, KACHALA S S, et al. A grading system combining architectural features and mitotic count predicts recurrence in stage I lung adenocarcinoma[J]. *Modern Pathology*, 2012, 25(8): 1117-1127.
- [41] MOORE D A, SERENO M, DAS M, et al. In situ growth in early lung adenocarcinoma may represent precursor growth or invasive clone outgrowth—a clinically relevant distinction[J]. *Modern Pathology*, 2019, 32(8): 1095-1105.
- [42] TERADA Y, TAKAHASHI T, MORITA S, et al. Spread through air spaces is an Independent predictor of recurrence in stage III (N2) lung adenocarcinoma[J]. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 2019, 29(3): 442-448.

收稿日期: 2023-08-26

修回日期: 2023-10-20