

肿瘤液态活检技术前沿与临床应用

丽珠基因检测科技有限公司 医学部 程海民

2019-9-28 广州

丽珠世界 生命常青

目录

- 一、肿瘤液态活检技术
- 二、肿瘤液态活检之用药指导
- 三、肿瘤液态活检之早癌筛查

2018年，全球预计有1810万癌症新发病例，960万癌症死亡病例。

	癌症新发病例	癌症发病率	癌症死亡病例	癌症死亡率
亚洲	8751000	48.4%	5477000	57.3%
欧洲	4230000	23.4%	1943000	20.3%
美洲	3792000	21%	1371000	14.4%
非洲	1055000	5.8%	693000	7.3%
大洋洲	252000	1.4%	70000	0.7%

2018年全球癌症发病率及死亡率

我国癌症发病数、死亡数均为全球第一！
中国新增癌症380.4万例，死亡病例229.6万例。

	发病率由高到低	死亡率由高到低
癌症种类	肺癌 (11.6%)	肺癌 (18.4%)
	乳腺癌 (11.6%)	结肠直肠癌 (9.2%)
	结肠直肠癌 (10.2%)	胃癌 (8.2%)
	前列腺癌 (7.1%)	肝癌 (8.2%)
	胃癌 (5.7%)	乳腺癌 (6.6%)

全球癌症发病率和死亡率前五的癌症

中国肺癌的发病率最高。此外，男性胃癌、肝癌、结直肠癌、食管癌；女性乳腺癌、结直肠癌、甲状腺癌、胃癌等也较为高发。

关于印发健康中国行动——癌症防治实施方案（2019—2022年）的通知

发布时间：2019-09-23 来源：疾病预防控制局



国卫疾控发〔2019〕57号

各省、自治区、直辖市人民政府，国务院各部委、各直属机构：

为贯彻落实党中央、国务院决策部署，按照《国务院关于实施健康中国行动的意见》要求，实施癌症防治行动，切实维护广大人民群众健康，国家卫生健康委等10部门联合制定了《健康中国行动——癌症防治实施方案（2019—2022年）》。经国务院同意，现印发给你们，请认真贯彻执行。

（二）主要目标。到2022年，癌症防治体系进一步完善，危险因素综合防控取得阶段性进展，癌症筛查、早诊早治和规范诊疗水平显著提升，癌症发病率、死亡率上升趋势得到遏制，总体癌症5年生存率比2015年提高3个百分点，患者疾病负担得到有效控制。

恶性肿瘤诊断方法：恶性肿瘤的病史、体格检查、实验室检查、影像学检查、内窥镜检查、病理形态学检查。



2022年

主要目标



癌症防治体系
进一步完善



危险因素综合防控
取得阶段性进展



癌症筛查、早诊早治和
规范诊疗水平显著提升



癌症发病率、死亡率
上升趋势得到遏制



总体癌症5年生存率比2015年提高3个百分点
患者疾病负担得到有效控制

分子诊断指导下的肿瘤精准治疗已成为临床共识



NATIONAL CANCER INSTITUTE PRECISION MEDICINE IN CANCER TREATMENT

Discovering unique therapies that treat an individual's cancer based on the specific genetic abnormalities of that person's tumor.

2015年初，美国总统奥巴马在国情咨文中提出“精准医疗计划”“精准医疗 (Precision Medicine)”成为覆盖全球的热门话题。

Printed by Lili Dai on 10/28/2016 1:56:00 AM. For personal use only. Not approved for distribution. Copyright © 2016 National Comprehensive Cancer Network, Inc., All Rights Reserved.



National
Comprehensive
Cancer
Network®

NCCN Guidelines Version 7.2019 Non-Small Cell Lung Cancer

[NCCN Guidelines Index](#)
[Table of Contents](#)
[Discussion](#)

SENSITIZING EGFR MUTATION POSITIVE^{hh}

SUBSEQUENT THERAPY^{mm}

Asymptomatic

- Consider definitive local therapy (eg, SABR or surgery) for limited lesions
- Osimertinibⁿⁿ (if T790M+) (category 1) → Progression, see [Subsequent Therapy \(NSCL-20\)](#)
- Continue erlotinib or afatinib or gefitinib or dacomitinib → Progression, see therapy^{ss,tt} for multiple lesions, noted below
- Consider definitive local therapy (eg, SRS) for limited lesions
- Osimertinibⁿⁿ (if T790M+) (category 1) → Progression, see [Subsequent Therapy \(NSCL-20\)](#)
- Continue erlotinib or afatinib or gefitinib or dacomitinib^{rr} → Progression, see therapy^{ss,tt} for multiple lesions, noted below
- See [NCCN Guidelines for CNS Cancers](#)

Symptomatic

Systemic

Isolated lesion

Multiple lesions

- Consider definitive local therapy (eg, SABR or surgery)
- Continue erlotinib or afatinib or gefitinib or dacomitinib → Progression, see therapy^{ss,tt} for multiple lesions, noted below
- See subsequent therapy for multiple lesions, noted below
- T790M+ → Osimertinibⁿⁿ (category 1) (if not previously given) → [See Subsequent Therapy \(NSCL-20\)](#)
- T790M- → See Initial systemic therapy options^{ss,tt} [Adenocarcinoma \(NSCL-28\)](#) or [Squamous Cell Carcinoma \(NSCL-29\)](#)

^{hh}See [Principles of Molecular and Biomarker Analysis \(NSCL-G\)](#).

^{mm}See [Targeted Therapy for Advanced or Metastatic Disease \(NSCL-I\)](#).

ⁿⁿFor performance status 0-4.

^{oo}Beware of flare phenomenon in subset of patients who discontinue EGFR TKI. If disease flare occurs, restart EGFR TKI.

^{pp}Plasma-based testing should be considered at progression on EGFR TKIs for the T790M mutation. If plasma-based testing is negative, tissue-based testing with rebiopsy material is strongly recommended. Practitioners may want to consider scheduling the biopsy concurrently with plasma testing referral.

^{qq}Consider osimertinib (regardless of T790M status) or pulse erlotinib for progressive leptomeningeal disease.

^{rr}In the randomized phase III trial of dacomitinib, patients with brain metastases were not eligible for enrollment. In the setting of brain metastases, consider other options.

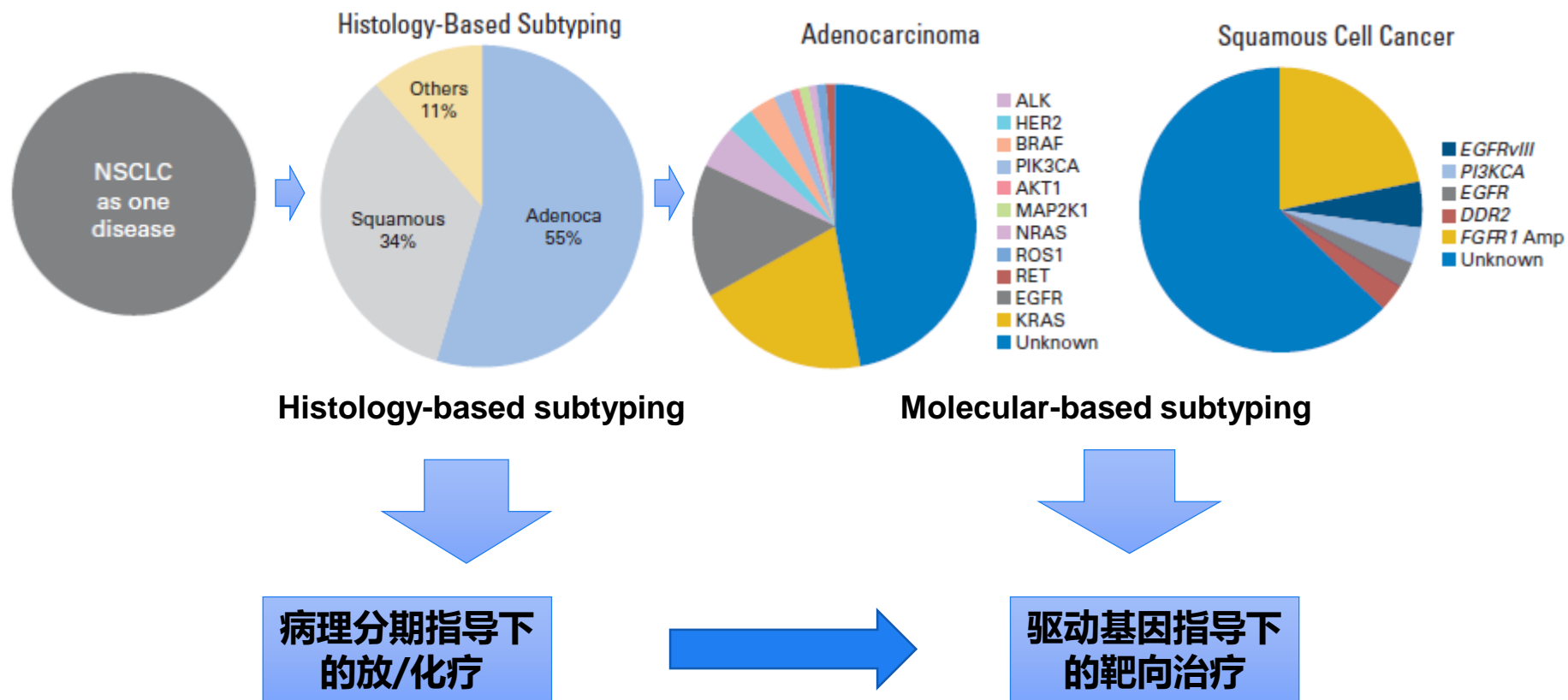
^{ss}Afatinib + cetuximab may be considered in patients with disease progression on EGFR TKI therapy.

^{tt}The data in the second-line setting suggest that PD-1/PD-L1 inhibitor monotherapy is less effective, irrespective of PD-L1 expression, in EGFR+/ALK+ NSCLC.

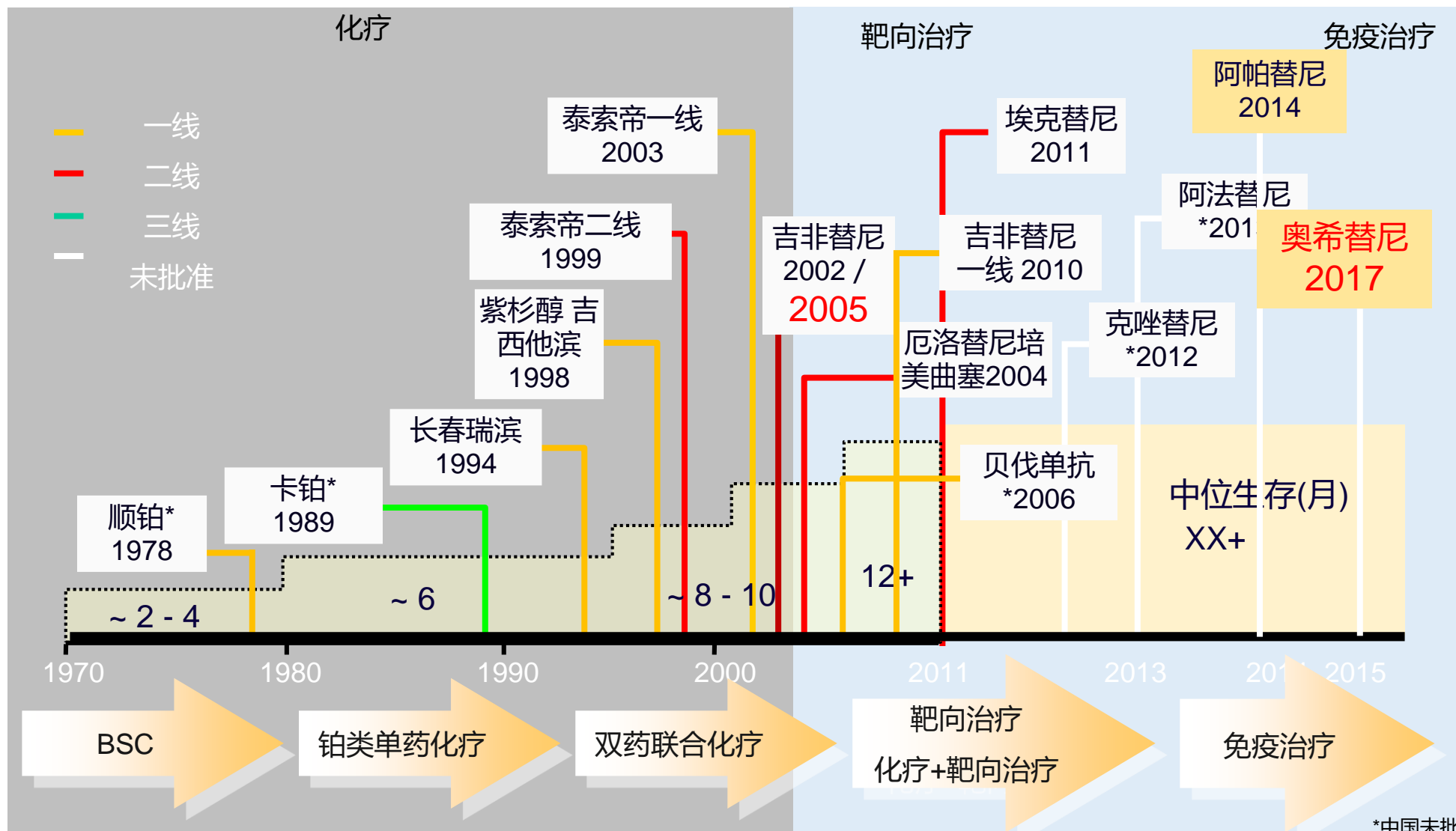
Note: All recommendations are category 2A unless otherwise indicated.

Clinical Trials: NCCN believes that the best management of any patient with cancer is in a clinical trial. Participation in clinical trials is especially encouraged.

十几年间，肺癌治疗经历了翻天覆地的变化



十几年间，肺癌治疗经历了翻天覆地的变化



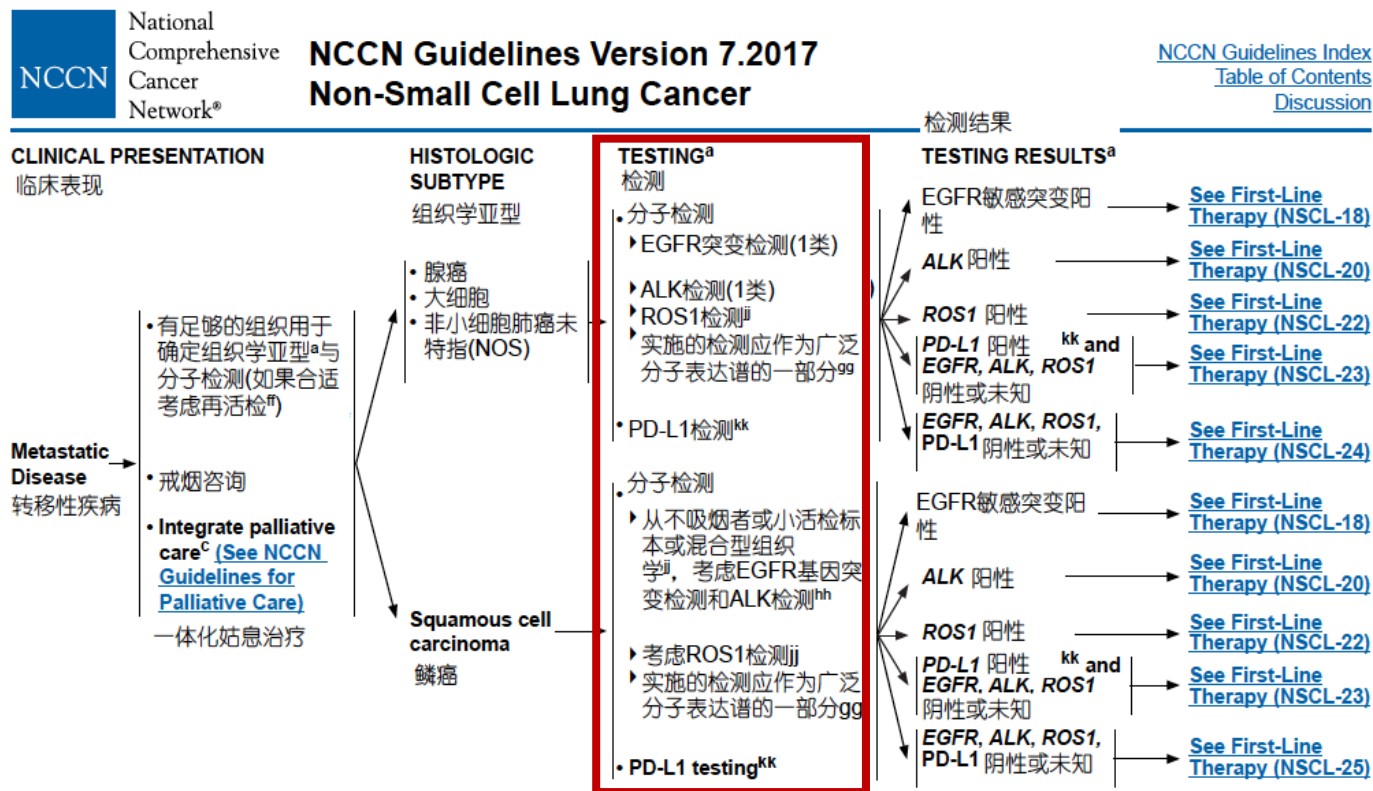
2018-2019年
肺癌的
免疫治
疗如火
如荼。

为什么要做肿瘤液态活检

肿瘤靶向药物治疗
必须进行基因检测

组织是首选标本
很多晚期患者无法获取组织

无法组织检测
用血液基因检测指导用药



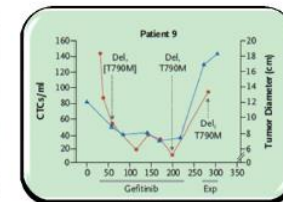
- 无法获取组织
年龄偏大、体力状态差、肿瘤病灶部位不能穿刺
- 反复多次穿刺患者无法承受、穿刺的副作用
- 获取组织不够或质量不足以做基因检测



无创



风险小



可重复多次检测

肿瘤液态活检技术的组成及发展

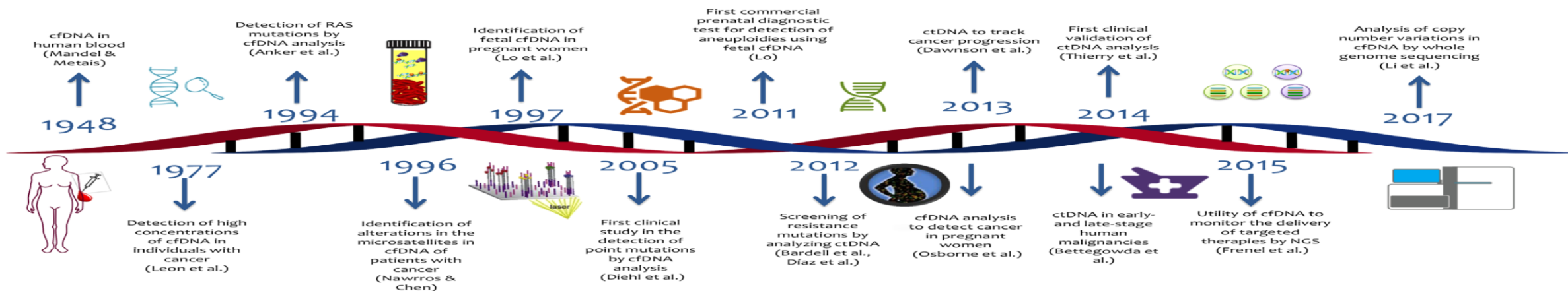
1、CTC捕获技术、ctDNA、miRNA、外泌体提取技术

2、肿瘤液态活检相关检测技术：ARMS-PCR、ddPCR、NGS、FISH、免疫荧光、质谱分析。

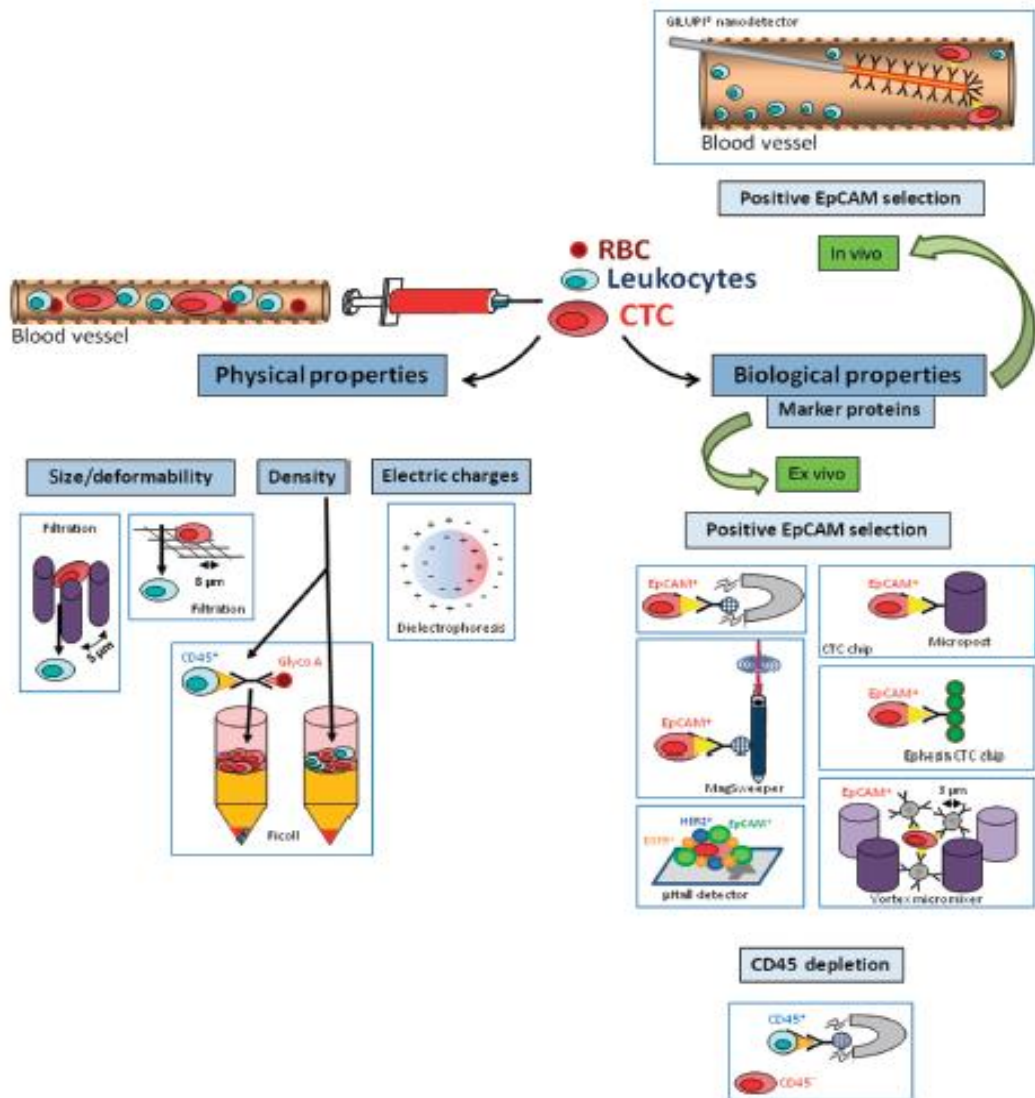
3、肿瘤液态活检的对象：CTC、ctDNA、CAC、miRNA、mRNA、lncRNA、外泌体，临床应用集中在ctDNA，外泌体、CAC的研究近年来正迅速崛起。

4、肿瘤液态活检之cfDNA的发展历程

1948年，在人体血液中发现cfDNA；1977年，在肿瘤患者血液中检测到高浓度的cfDNA；1994年，cfDNA中检测到RAS突变；1996年，在肿瘤患者中cfDNA中鉴定出微卫星改变；1997年，鉴定出孕妇游离cfDNA；2005年，发表了第一个基于cfDNA分析的点突变检测研究；2011年，第一个商业化的胎儿非整倍体检测产品问世；2012年，基于ctDNA的耐药性突变筛查；2013年，利用ctDNA追踪肿瘤进展；2014年，第一个ctDNA分析临床批件；2015年，通过NGS监测靶标cfDNA分布和疗法；2017年，通过全基因组测序分析拷贝数变异。



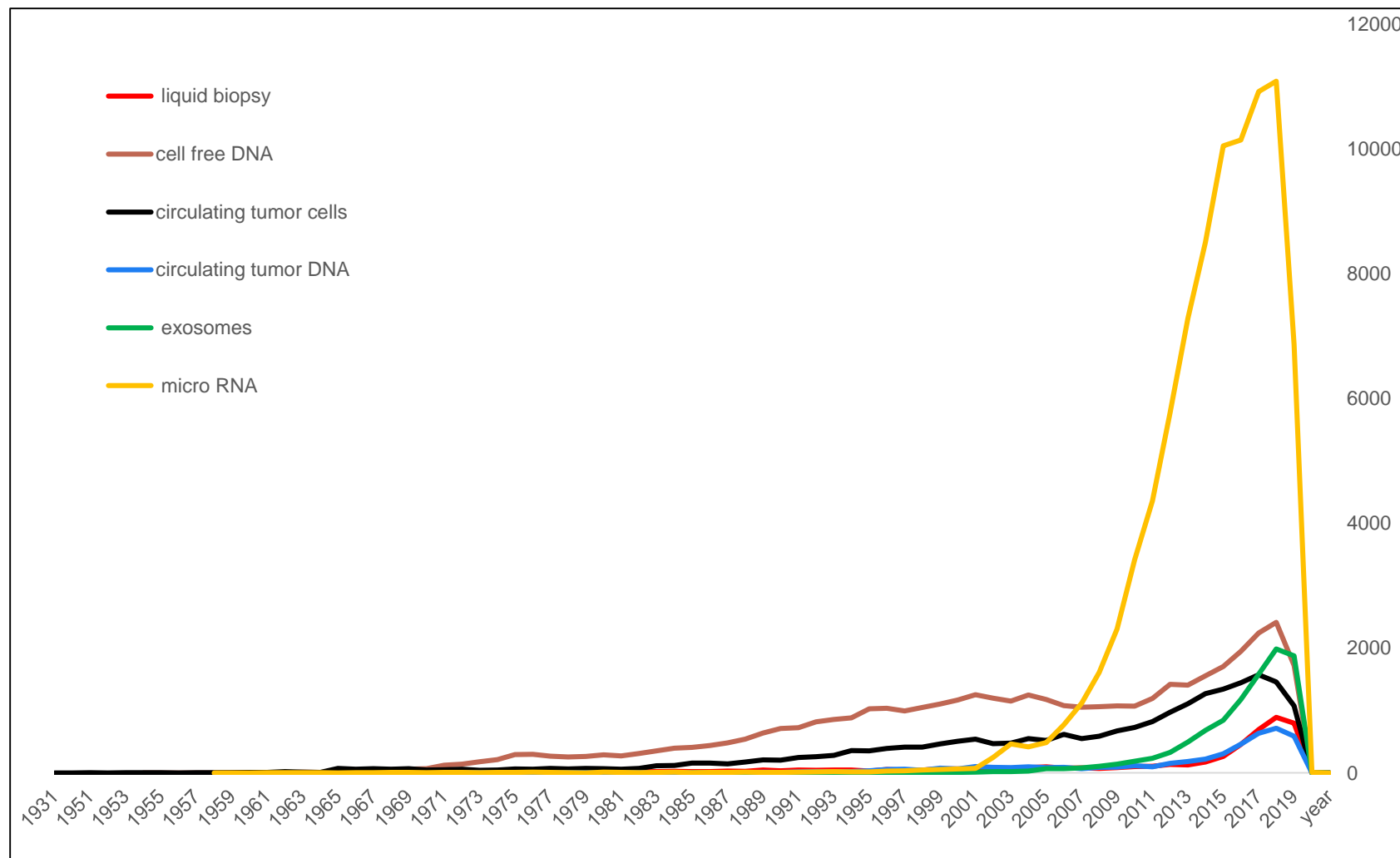
常见循环肿瘤细胞 (CTC) 捕获技术



捕获方法	优点	不足
免疫捕获法 (EpCAM抗体)	纯度高; 适用于EpCAM 阳性CTC;	灵敏度较低, 漏检不表达EpCAM细胞;
阴性富集法 (白细胞去除)	适用于所有肿瘤; 可捕获各种类型的CTC;	纯度低; 操作步骤多, 易造成CTC丢失; 不表达CD45 的非血源性细胞也会被富集;
过滤法 (细胞大小)	操作简便; 适用于多数实体瘤; 可检出间质型CTC、CTM;	纯度低; 残留大体积的非CTC细胞, 假阳性; 容易漏检小体积的CTC;
密度梯度离心	操作简单; 可分离CK 阳性和阴性细胞;	灵敏度低; CTM可能沉入红细胞层而丢失; 不稳定, 受离心速度、时间、温度等影响;

肿瘤液态活检的研究热度

分别以不同液态活检标志物为关键词, 在NCBI进行检索, 发表文章数量



发表刊物数量

年份

肿瘤液态活检的主要应用方向

肿瘤早期筛查



动态检测肿瘤发生发展及疗效



肿瘤复发风险评估



肿瘤液态活检

肿瘤异质性评估



个性化用药、耐药基因突变检测



目录

肿瘤液态活检之用药指导

· 指南与共识 ·

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(liquid biopsy)在肿瘤临床诊断治疗领域的应用日益广泛,是实现“个体化精准医疗”的重要手段。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》,并广泛征求了临床肿瘤专家和医学检验专家的意见。

本应用建议最后经中华医学会检验医学分会和国家卫生健康委员会临床检验中心组织专家进行讨论修改后,由中华医学会检验医学分会、国家卫生健

移以及耐药相关的信息^[6-7]。

在临床实践过程中应该谨慎评估液体活检的分析有效性、临床有效性以及临床实用性^[8]。本专家共识围绕 CTC 和 ctDNA 两种靶标,综合近年来发表的液体活检领域重要研究成果,结合我国肿瘤液体活检的临床实践需求,就相关的临床常用检测技术的实施和质量管理提供常规指导原则。本共识主要分为两大部分:(1)液体活检的临床应用,(2)液体活检的医学检验实践。

第一部分 液体活检的临床应用

临床实践中选择液体活检技术:

共识 1 检测患者 ctDNA 是否含有已知的、单个靶向治疗敏感或耐药型突变时,建议使用 ARMS 方法。

共识 2 检测患者 ctDNA 已知的部分或全部临床药物治疗靶点谱或耐药指示靶点谱,或发现患者基因未知突变、探索临床价值与相关机制时建议使用 NGS 方法。

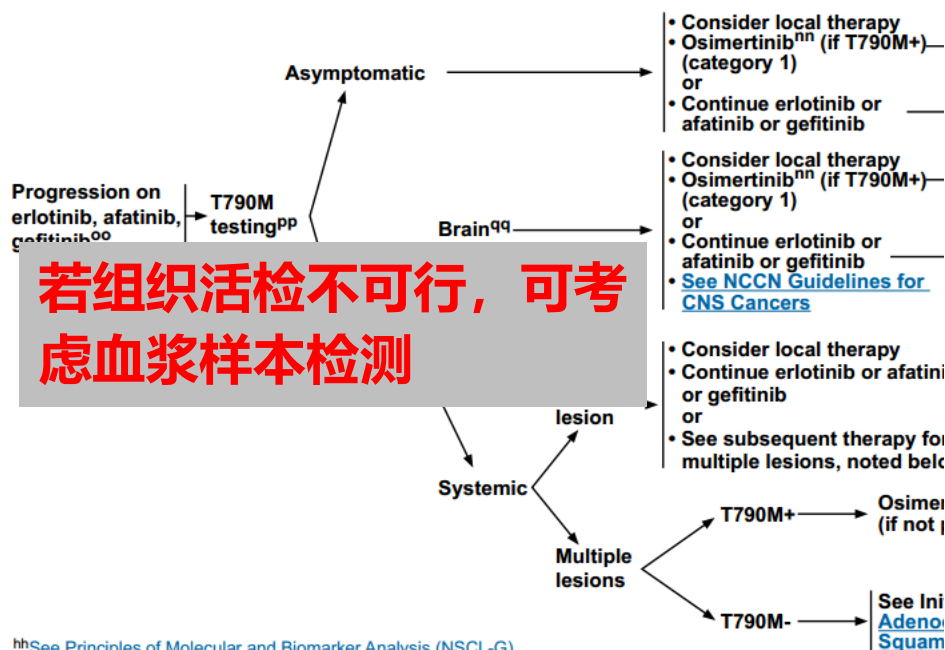
共识 3 临床常规检测 CTC,建议各实验室选择适合自身条件的检测技术,在充分评估其检测性能后,应用于日常工作。

液态活检在NCCN指南中推荐

NCCN Guidelines Version 1.2018 Non-Small Cell Lung Cancer

SENSITIZING EGFR MUTATION POSITIVE⁹⁹

SUBSEQUENT THERAPY^{mm}



^{hh}See Principles of Molecular and Biomarker Analysis (NSCL-G).
^{mm}See Targeted Therapy for Advanced or Metastatic Disease (NSCL-I).
ⁿⁿFor performance status 0-4.

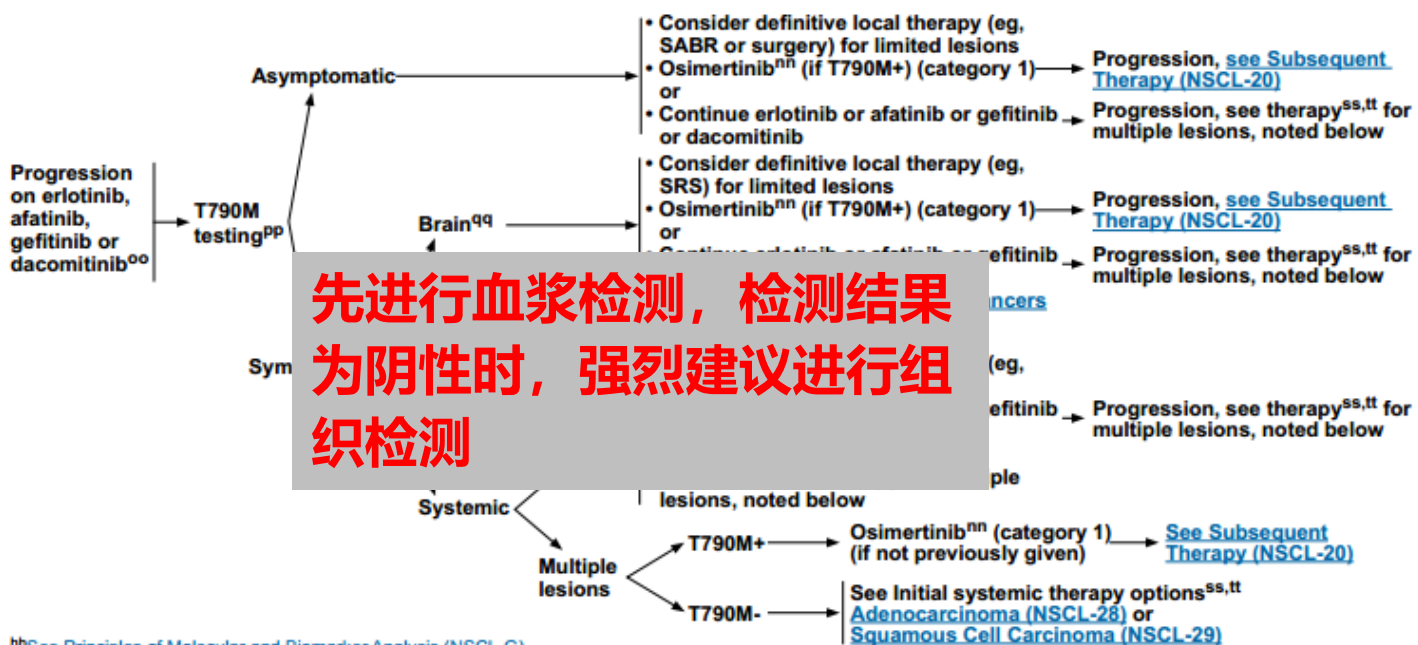
^{oo}Beware of flare phenomenon in a subset of patients who discontinue EGFR TKI. If disease flare occurs, restart EGFR TKI.
^{pp}If tissue biopsy is not feasible, plasma biopsy should be considered. Consider reflex to tissue-based testing, if plasma material is strongly recommended. Practitioners may want to consider scheduling the biopsy concurrently with plasma testing referral.
^{qq}Consider osimertinib (regardless of T790M status) or pulse erlotinib for progressive leptomeningeal disease.
^{rr}In the randomized phase III trial of dacomitinib, patients with brain metastases were not eligible for enrollment. In the setting of brain metastases, consider other options.
^{ss}Afatinib + cetuximab may be considered in patients with disease progression on EGFR TKI therapy.
^{tt}The data in the second-line setting suggest that immunotherapy is less effective, irrespective of PD-L1 expression, in tu

Note: All recommendations are category 2A unless otherwise indicated.
Clinical Trials: NCCN believes that the best management of any patient with cancer is in a clinical trial. Participation in clinical trials is especially encouraged.

NCCN Guidelines Version 7.2019 Non-Small Cell Lung Cancer

SENSITIZING EGFR MUTATION POSITIVE^{hh}

SUBSEQUENT THERAPY^{mm}

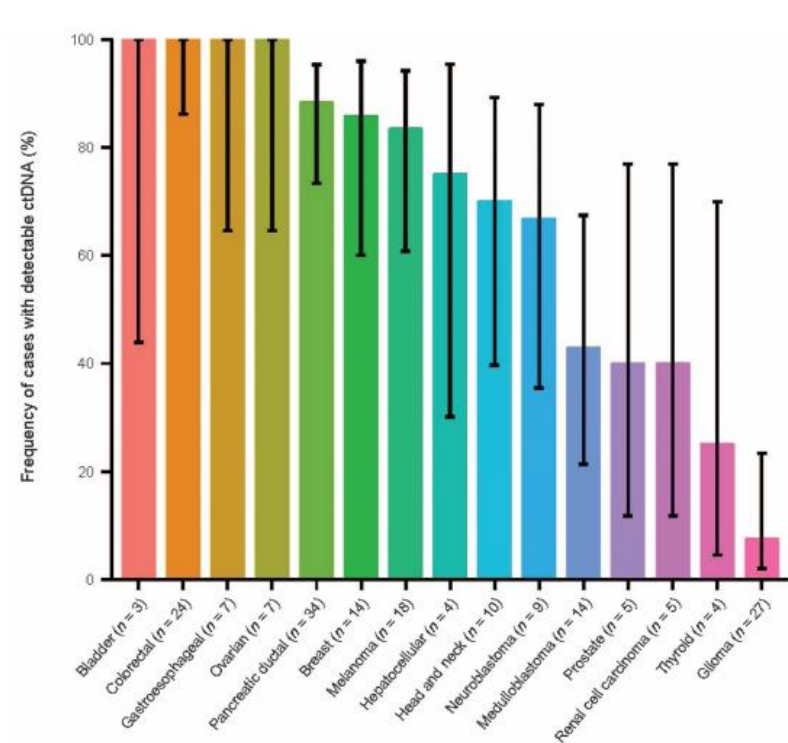


^{hh}See Principles of Molecular and Biomarker Analysis (NSCL-G).
^{mm}See Targeted Therapy for Advanced or Metastatic Disease (NSCL-I).

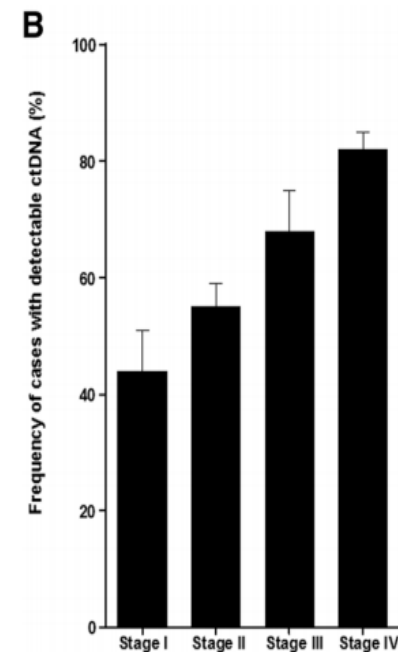
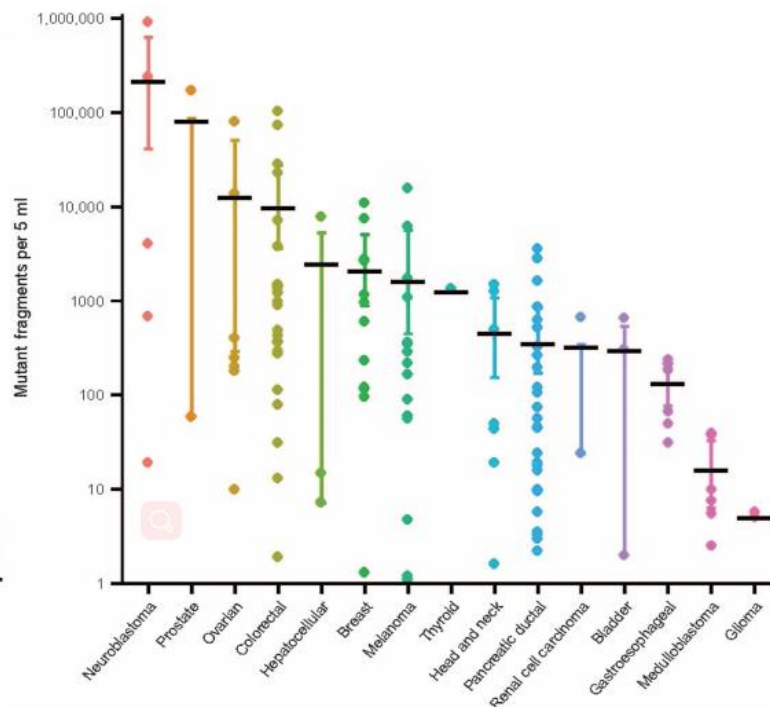
ⁿⁿFor performance status 0-4.
^{oo}Beware of flare phenomenon in subset of patients who discontinue EGFR TKI. If disease flare occurs, restart EGFR TKI.
^{pp}Plasma-based testing should be considered at progression on EGFR TKIs for the T790M mutation. If plasma-based testing is negative, tissue-based testing with rebiopsy material is strongly recommended. Practitioners may want to consider scheduling the biopsy concurrently with plasma testing referral.
^{qq}Consider osimertinib (regardless of T790M status) or pulse erlotinib for progressive leptomeningeal disease.
^{rr}In the randomized phase III trial of dacomitinib, patients with brain metastases were not eligible for enrollment. In the setting of brain metastases, consider other options.
^{ss}Afatinib + cetuximab may be considered in patients with disease progression on EGFR TKI therapy.
^{tt}The data in the second-line setting suggest that PD-1/PD-L1 inhibitor monotherapy is less effective, irrespective of PD-L1 expression, in EGFR+/ALK+ NSCLC.

Note: All recommendations are category 2A unless otherwise indicated.
Clinical Trials: NCCN believes that the best management of any patient with cancer is in a clinical trial. Participation in clinical trials is especially encouraged.

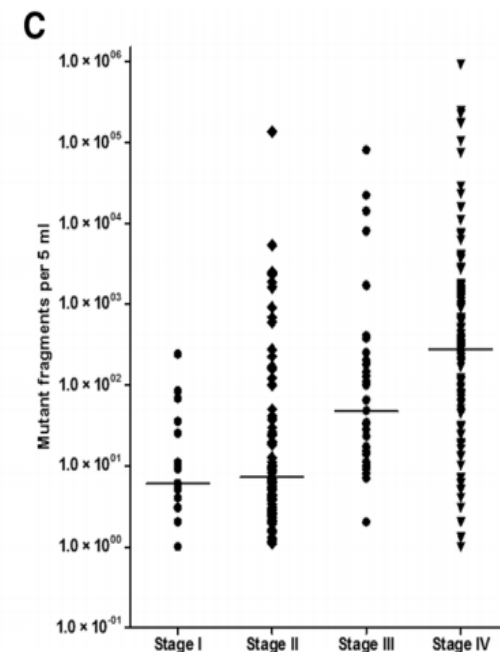
ctDNA检测已经被广泛应用于临床



不同癌种中ctDNA的检出情况



不同肿瘤分期中ctDNA的检出情况



癌症液体活检知名企业Guardant Health，推动癌症筛查与监测向“集中化”战略转变。截止2018年7月，Guardant360样本量已超过70,000份，为5,000多名肿瘤学家、40多家药企和27家美国国家综合癌症网络中心广泛使用。Guardant Health 一项323名非小细胞肺癌患者研究中，发现44%的患者无法从组织样本中获取基因组信息（需要液体活检），接受液体（血浆）活检和测序分析的42名患者中，有36名（85.7%）通过建议的治疗方式实现了完全或部分的康复。

GUARDANT360 COVERS ALTERATIONS IN OVER 70 GENES RELEVANT TO MULTIPLE SOLID TUMORS INCLUDING MSI-HIGH

Point Mutations (SNVs) (73 Genes)						Indels (23 Genes)		Amplifications (18 Genes)		Fusions (6 Genes)
AKT1	ALK	APC	AR	ARAF	ARID1A	ATM	APC	AR	BRAF	ALK
ATM	BRAF	BRCA1	BRCA2	CCND1	CCND2	ARID1A	BRCA1	CCND1	CCND2	FGFR2
CCNE1	CDH1	CDK4	CDK6	CDKN2A	CTNNB1	BRCA2	CDH1	CCNE1	CDK4	FGFR3
DDR2	EGFR	ERBB2 (HER2)	ESR1	EZH2	FBXW7	CDKN2A	EGFR	CDK6	EGFR	NTRK1
FGFR1	FGFR2	FGFR3	GATA3	GNA11	GNAQ	ERBB2	GATA3	ERBB2	FGFR1	RET
GNAS	HNF1A	HRAS	IDH1	IDH2	JAK2	KIT	MET	FGFR2	KIT	ROS1
JAK3	KIT	KRAS	MAP2K1/MEK1	MAP2K2/MEK2	MAPK1/ERK2	MLH1	MTOR	KRAS	MET	
MAPK3/ERK1	MET	MLH1	MPL	MTOR	MYC	NF1	PDGFRA	MYC	PDGFRA	
NF1	NFE2L2	NOTCH1	NPM1	NRAS	NTRK1	PTEN	RB1	PIK3CA	RAF1	
NTRK3	PDGFRA	PIK3CA	PTEN	PTPN11	RAF1	SMAD4	STK11			
RB1	RET	RHEB	RHOA	RIT1	ROS1	TP53	TSC1			
SMAD4	SMO	STK11	TERT [†]	TP53	SC1	VHL				
VHL										

Critical or all exons* completely sequenced and all four major classes of alterations
 NSCLC guideline-recommended genes shown in bold / *Exons selected to maximize detection of known somatic mutations / † Includes TERT promoter region

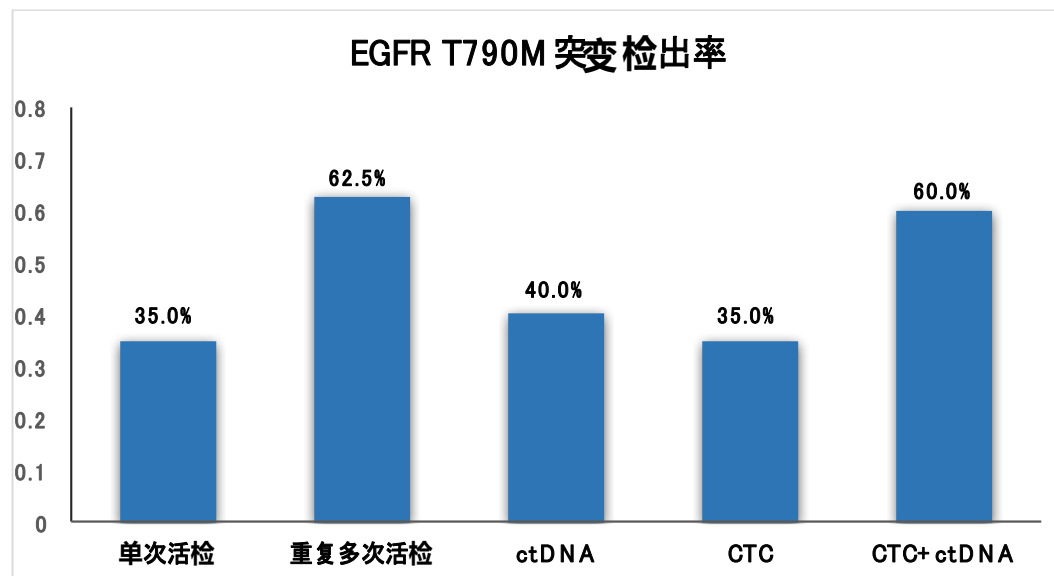
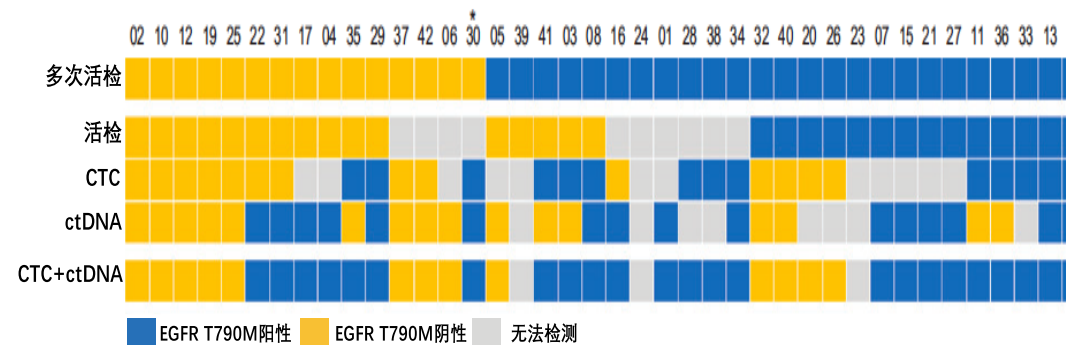
ctDNA的临床用药指导

检测基因	伴随诊断意义		
	药物类型	靶向药物	适应症
ALK	ALK 抑制剂	克唑替尼、塞瑞替尼、来那替尼	非小细胞肺癌
BRAF	BRAF 抑制剂	维莫非尼、达拉非尼	黑色素瘤、非小细胞肺癌、结直肠癌
	MEK 抑制剂	曲美替尼、考比替尼	
<p>特别注意：</p> <p>目前ctDNA检测仅在NSCLC中被FDA批准用于指导EGFR-TKI选择并写入NCCN指南。对于其他药物选择，目前仍处于探索阶段，尤其在检测T790M时，对阴性结果应尽可能通过后续的组织检测进行确认。</p>			
MET	MET 抑制剂	克唑替尼	非小细胞肺癌
NTRK1/2/3	TRK 抑制剂	Larotrectinib	实体瘤
PDGFRA	PDGFR/KIT 抑制剂	伊马替尼、达沙替尼、舒尼替尼、瑞戈非尼	胃肠道间质瘤
RET	多激酶抑制剂	卡博替尼、凡德他尼	非小细胞肺癌
ROS1	ALK/ROS1 抑制剂	克唑替尼、色瑞替尼	非小细胞肺癌
BRAF*	EGFR 单抗	帕尼单抗、西妥昔单抗	结直肠癌
KRAS*	EGFR 单抗	帕尼单抗、西妥昔单抗	结直肠癌
	EGFR 抑制剂	吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、奥希替尼	非小细胞肺癌
NRAS*	EGFR 单抗	帕尼单抗、西妥昔单抗	结直肠癌

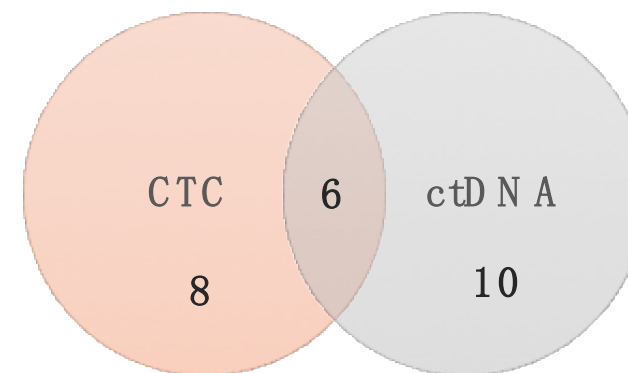
CTC、ctDNA联合检测提高突变检出率

以EGFR T790M为例

- 40例EGFR TKI治疗进展后的晚期NSCLC患者
- 检测活检组织、CTC和ctDNA中的EGFR T790M突变
- **CTC、ctDNA联合检测与多次活检的检出率相当，高于CTC或ctDNA单独检测**



EGFR T790M突变在CTC、ctDNA中的分布



CTC+ctDNA测序：提高基因突变检出率，为临床提供更多的治疗选择



Massimo Cristofanilli, MD FACP
Director, Jefferson Breast Care Center, Kimmel Cancer Center, Thomas Jefferson University & Hospitals
Philadelphia, Pennsylvania



Analysis of tumor template from multiple compartments in a blood sample provides complementary access to peripheral tumor biomarkers

William M. Strauss¹, Chris Carter¹, Jill Simmons¹, Erich Klem¹, Nathan Goodman², Behrad Vahidi¹, Juan Romero^{1,8}, Michael Masterman-Smith¹, Ruth O'Regan³, Keerthi Gogineni⁴, Lee Schwartzberg⁵, Laura K. Austin⁶, Paul W. Dempsey¹, Massimo Cristofanilli⁷

Sample	FFPE	Peripheral Templates	
		CTC	cfDNA
1	ND	ND	ND
2		TP53; E285K	ND
3	ND	ND	ND
4	PIK3CA; E542K	ND	
5	PIK3CA; V344G ERBB2; V777L	ND	PIK3CA; V344G ERBB2; V777L
6	TP53; H193R	ND	TP53; H193R KRAS; G15S
9	ND	ND	ND
10		TP53; Y163D	TP53; Y163D
11	TP53; R175H	ND	TP53; R175H
12	ND	ND	ND
13	PIK3CA; H1047R	ND	ND
14	ND	ND	TP53; M246I
15	ND	ND	ND
16		TP53; E285K	ND
18	PIK3CA; H1047R	PIK3CA; H1047R	PIK3CA; H1047R
19	IDH2; R140Q	ND	ND
20	ND	ND	ND
22		ND	ND
23	TP53; R175H	TP53; R175H	TP53; R175H
25	ND	ND	ND
26	PIK3CA; H1047R APC; Q1447* TP53; G108S	PIK3CA; H1047R	PIK3CA; H1047R
27	ND	TP53; H178P	ND
Signal			

Cell-based analysis is tunable

Verified examples of alterations present in cfDNA and not present in CTCs, and vice versa

CTC + ctDNA = 78% concordance with FFPE

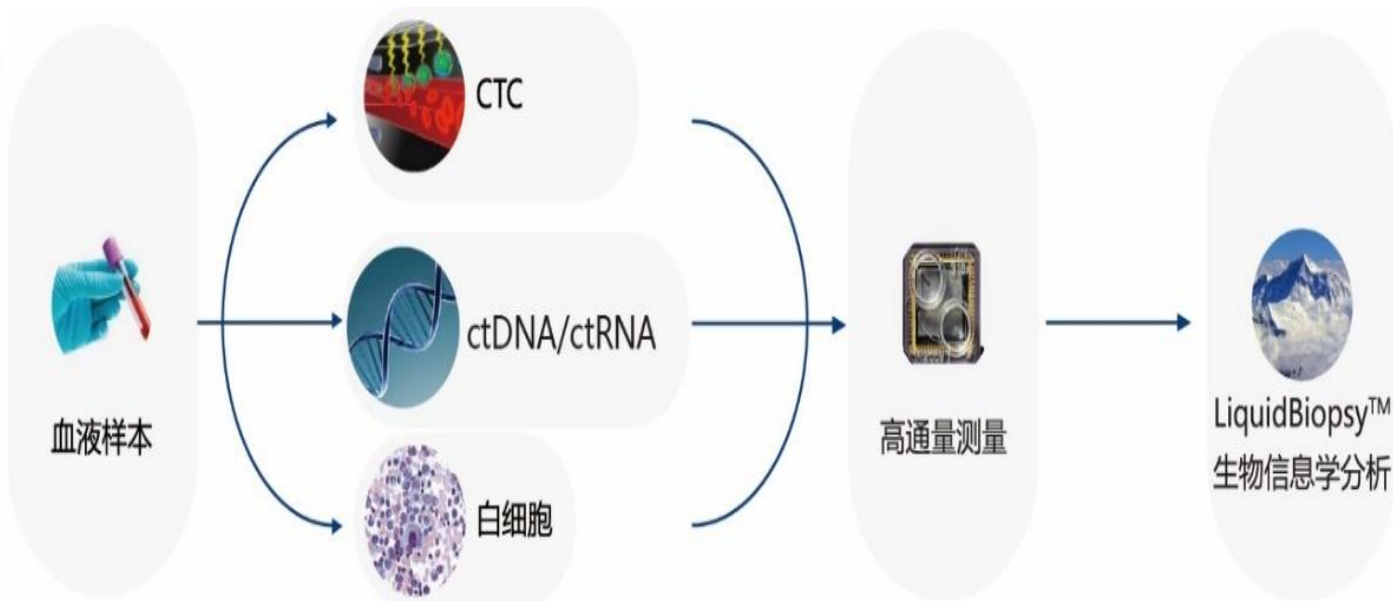
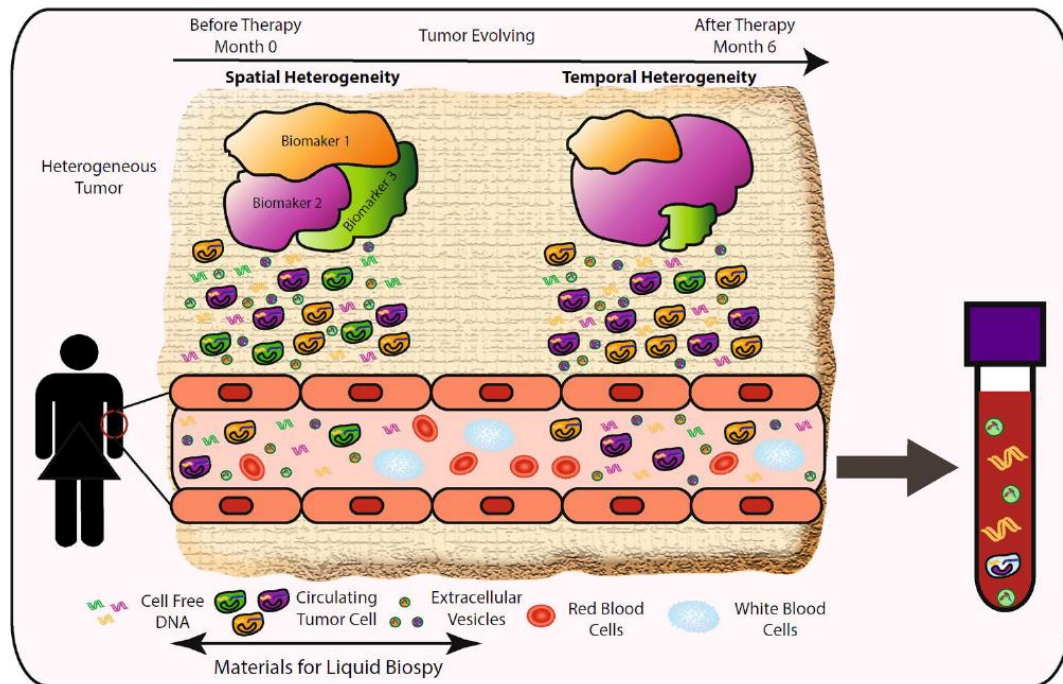
Combined peripheral signal increased from 32%–36% to a combined 50%; similar to FFPE

Additional biomarkers can be evaluated on cells (i.e. protein, RNA)

Preliminary conclusions

- Cell and cell-free analysis yield complementary and overlapping information
- Together, the peripheral templates provide access to relevant biomarkers for research

CTC+ctDNA+白细胞三模板检测



吴一龙教授：同时检测CTC与ctDNA技术上可行，同时检测CTC和ctDNA所得到的信息互补。两种液态活检技术同时检测是未来的发展方向。

案例：CTC、ctDNA联合测序带来靶向治疗机会

Challenge

- 65岁转移性前列腺癌患者。
- 2007年确诊发生淋巴结转移。
- 迅速发生了骨转移。
- 经其他治疗均无效后使用泰素帝治疗。
- 12/17/13, UCLA为病人进行了前列腺癌液态活检的二代测序分析 (Clear ID)。

Solution

- 前列腺癌Clear ID分析——
- 肿瘤细胞和肿瘤DNA测定
- 使用NGS筛查了>2400个突变基因
- 高信息量、互补的检测结果

Solution

GENE NAME	MUTATION		DRUGS APPROVED FOR PROSTATE CANCER	DRUGS APPROVED IN OTHER TUMOR TYPES
	LOCATION WITHIN PROTEIN	ALLELE FREQUENCY		
BRAF	K601E	14.1%	None	Cobimetinib Mekinist Nexavar Stivarga Tafinlar Votrient Zelboraf

- cfDNA和CTC都检测到TP53突变
- CTC检测到BRAF突变，但cfDNA上BRAF未突变**
- 病人开始使用Zelboraf治疗。
- 维持了9个月的无进展生存期。
- cfDNA和ctcDNA测序结果互补

案例：液态活检靶向治疗的获益患者

2014年3月

检测基因	碱基变异	蛋白变异	突变频率(%)	转录本号	COSM ID
<i>EGFR</i>	c.2573T>G	p.L858R	9.10%	NM_005228.3	COSM6224

2016年4月

检测基因	碱基变异	蛋白变异	突变频率(%)		转录本号	COSM ID
			ctDNA	CTC		
<i>EGFR</i>	c.2573T>G	p.L858R	3.21%	4.72%	NM_005228.3	COSM6224
<i>EGFR</i>	c.2369C>T	p.T790M	-	0.91%	NM_003073.3	COSM6240

2017年10月

检测基因	碱基变异	蛋白变异	突变频率(%)		转录本号	COSM ID
			ctDNA	CTC		
<i>EGFR</i>	c.2573T>G	p.L858R	-	-	NM_005228.3	COSM6224
<i>EGFR</i>	c.2369C>T	p.T790M	-	-	NM_003073.3	COSM6240

患者伦**，男，62岁，肺腺癌IV期伴全身转移，2014年3月，第一次组织检测中发现EGFR L858R突变，服用易瑞沙24个月，发生进展耐药。2016年4月，第二次采用三模板基因检测显示CTC存在EGFR T790M突变，解释了耐药进展原因。推荐第三代TKI (AZD9291)，治疗有效。2017年10月因为脑转移病变进展，第三次基因检测（三模板），CTC、ctDNA均未发现突变，建议患者继续使用AZD9291，目前病情持续控制中。。。脑转移应用放射治疗予以控制。

目录

肿瘤液态活检应用之早癌筛查

肿瘤液态活检早癌筛查主流技术





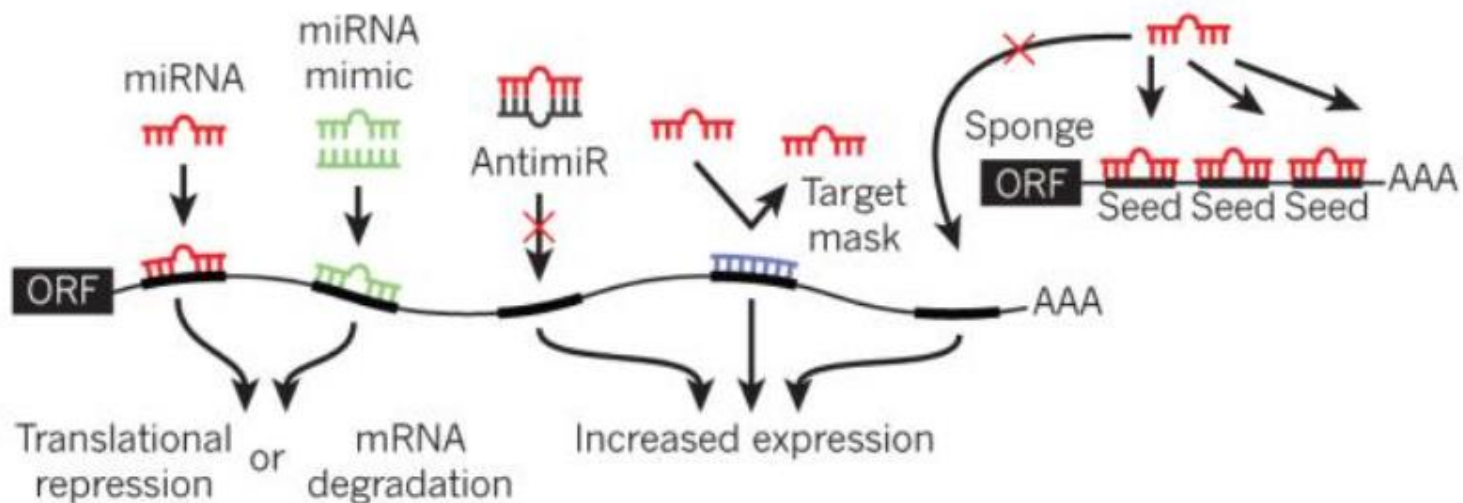
基于qPCR的肺癌甲基化早筛

检测样本为肺泡灌洗液，基因：SHOX2、RASSF1A，灵敏度71.5%-83.2%，特异性87.1%-97.4%。



基于NGS的甲基化早癌筛查

全基因组低甲基化，维持甲基化模式酶的调节失控和正常非甲基化CpG岛的高甲基化是人类肿瘤中普遍存在的现象。据此原理，多个癌种临床试验正在开展，通过高通量测序（NGS）对多个甲基化位点检测，取得了肯定的结果，但仍需长时间的优化验证，尚未有试剂盒获批。



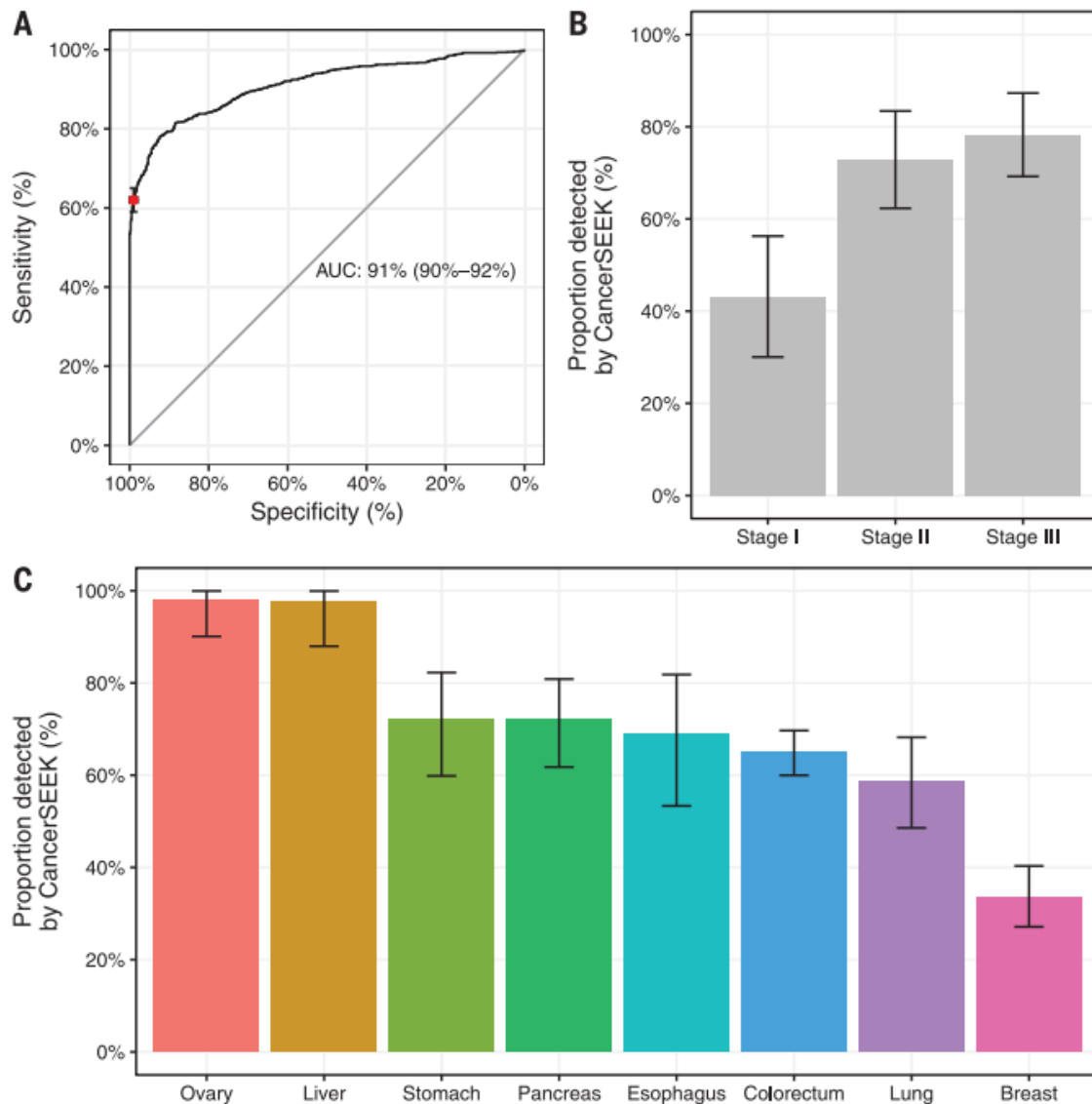
- miRNA是一类长度约为18~24个核苷酸的内源性非编码小分子单链RNA，对约30%人类蛋白的表达具有调节作用，参与调控细胞分化、生长、凋亡、代谢等功能。
- Heegaard 分析非小细胞肺癌患者血液发现，miR-29c 在 NSCLC 患者中高表达，let-7a、miR-146b、miR-155、miR-221 等 7 个 miRNA 表达量则低于正常组。
- 在前列腺肿瘤患者中，miR-106a/miR-130b 和 miR-106a/ miR-223 的比例与前列腺肿瘤发生密切相关，较检测前列腺特异性抗体的灵敏度与特异性更高更强，更容易判断前列腺肿瘤的发生发展状态。

基于蛋白标志物和ctDNA突变

CancerSEEK研究

1005例患者，临床诊断为I~III期的卵巢癌、肝癌、胃癌、胰腺癌、食道癌、结肠直肠癌、肺癌、乳腺癌。对照组：812个健康人
方法学：检测16个基因8种蛋白标志物

中位敏感性达到70%，特异性达99%。



基于细胞层面的膀胱癌早筛

Prospective Validation of the Clinical Usefulness of Reflex Fluorescence In Situ Hybridization Assay in Patients With Atypical Cytology for the Detection of Urothelial Carcinoma of the Bladder

Bruce J. Schlomer, Richard Ho, Arthur Sagalowsky,* Raheela Ashfaq† and Yair Lotan‡



ELSEVIER

DNA-BASED MOLECULAR CYTOLOGY FOR BLADDER CANCER SURVEILLANCE

J. STEPHEN JONES

FISH Assay (UroVysion) FDA Approved as Aid for Initial Bladder Cancer Diagnosis

Use of a Multitarget Fluorescence In Situ Hybridization Assay to Diagnose Bladder Cancer in Patients With Hematuria

Michael F. Sarosdy,* Paul R. Kahn, Mark D. Ziffer,† William R. Love, Jack Barkin, Emmanuel O. Abara, Ken Jansz, Julia A. Bridge, Sonny L. Johansson, Diane L. Persons and Jane S. Gibson‡

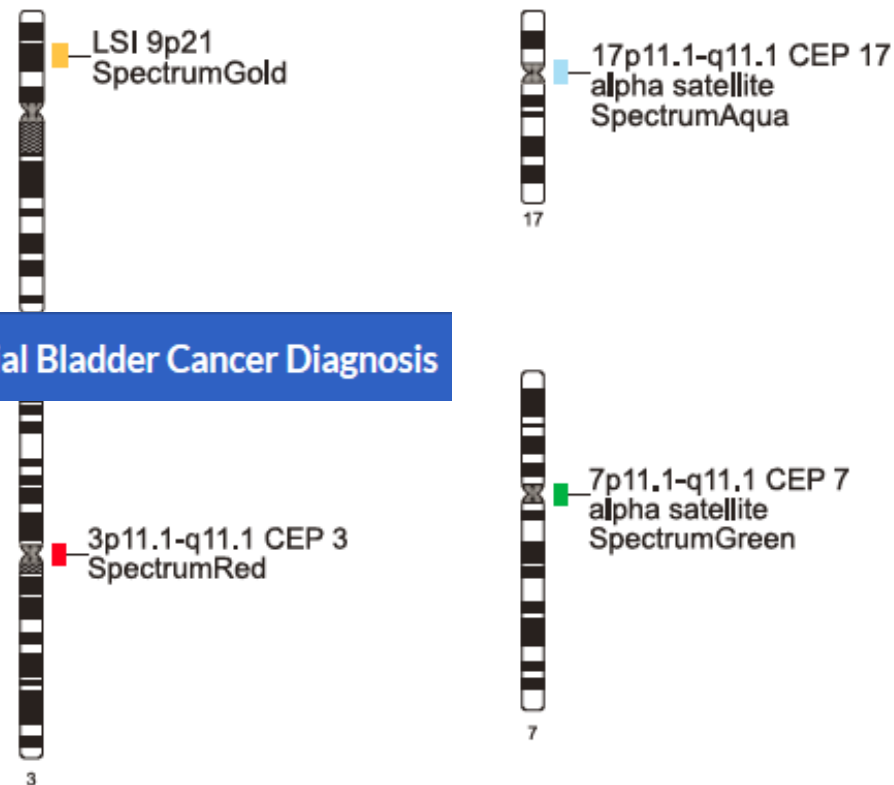
From the South Texas Urology and Urologic Oncology, San Antonio, Texas, Uro-Surg Associates, Plantation, South County Urology, P. A., Delray Beach and Ameripath-Center for Advanced Diagnostics, Orlando, Florida, Urology Resource Centre, Burlington, Toronto Urology Study Group/CMX, Toronto, and Richmond Hill Urology and Prostate Institute, Richmond Hill, Ontario, Canada, University of Nebraska Medical Center, Omaha, Nebraska, and University of Kansas Medical Center, Kansas City, Kansas

Assessing the Value of Reflex Fluorescence In Situ Hybridization Testing in the Diagnosis of Bladder Cancer When Routine Urine Cytological Examination is Equivocal

Benjamin R. Kipp, Kevin C. Halling,* Michael B. Campion, Amy J. Wendel, R. Jeffrey Karnes, Jun Zhang and Thomas J. Sebo†

From the Departments of Laboratory Medicine and Pathology, and Urology (RJK), Mayo Clinic and Foundation, Rochester, Minnesota

The Vysis® UroVysion Bladder Cancer Recurrence Kit



2005年，FDA批准了基于FISH法进行膀胱癌早筛检测的试剂盒，检测敏感度为68.6%，特异性为77.7%。
此检测方法的多篇研究文章发表于权威杂志。

循环异常细胞

Circulating Abnormal Cell

存在于人体血液循环中血源、非血源染色体表达异常的细胞，与人体癌前病变相关，用于肿瘤早期筛查，可更早预警肿瘤的发生。由于染色体异倍体是恶性细胞 (malignant cell) 最常见的典型特征，近年来采用FISH方法检测循环异常细胞 (circulating Abnormal cell, CAC)，成为检测肿瘤的重要技术手段。

诸多研究结果表明循环异常细胞 (CACs) 出现在循环血液中发生于肺癌早期，对早期肺癌的辅助诊断具有重要价值。

Cell

Volume 148, Issues 1–2, 20 January 2012, Pages 349–361

Cell
PRESS

Article

EMT and Dissemination Precede Pancreatic Tumor Formation

Andrew D. Rhim^{1,3,4}, Emily T. Mirek^{1,3,4}, Nicole M. Aiello^{1,3,4}, Anirban Maitra⁵, Jennifer M. Bailey⁵, Florencia McRobert H. Vonderheide⁶

Show more

Cancer Cell
Article

GATA-3 Links Tumor Differentiation and Dissemination in a Luminal Breast Cancer Model

Hossein Kouroos-Mehr,^{1,2} Seth K. Bechis,^{1,2} Euan M. Slorach,¹ Laurie E. Littlepage,¹ Mikala Egeblad,¹ Andrew J. Ewald,¹ Sung-Yun Pai,² J-Cheng Ho,² and Zena Werb^{1,2,*}

¹Department of Anatomy

²The Biomedical Sciences Program, University of California, San Francisco, 513 Parnassus Avenue, San Francisco, CA 94143-0452, USA

³Combined Department of Pediatric Hematology-Oncology, Children's Hospital and Dana-Farber Cancer Institute

⁴Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital

⁵Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

*Correspondence: zena.werb@ucsf.edu

DOI: 10.1016/j.ccr.2012.01.011

JCI The Journal of Clinical Investigation

About Editors Consulting Editors For authors Alerts Advertising/recruitment Subscribe Contact

Current Issue Past Issues By specialty Videos Reviews Collections Clinical Medicine JCI This Month

Research Article Free access | 10.1172/JCI42002

Tumor cells disseminate early, but immunosurveillance limits metastatic outgrowth, in a mouse model of melanoma

Cell
PRESS

Cancer Cell
Article

Systemic Spread Is an Early Step in Breast Cancer

Yves Hüsemann,^{1,10} Jochen B. Geigl,^{1,9,10} Falk Schubert,^{2,7,10} Piero Musiani,² Manfred Meyer,¹ Elke Burghart,¹ Guido Forni,⁴ Roland Ellis,^{2,5} Tanja Fehm,⁶ Gert Riethmüller,⁸ and Christoph A. Klein^{1,*}

¹Department of Pathology, Division of Oncogenetics, University of Regensburg, Regensburg 93053, Germany

²Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg 69120, Germany

³Aging Research Centre, Gabriele d'Annunzio University Foundation, Chieti 66013, Italy

⁴Molecular Biotechnology Center, Department of Clinical and Biological Sciences, University of Torino, Torino 10126, Italy

⁵Department of Bioinformatics and Functional Genomics, Institute of Pharmacy and Molecular Biotechnology, Universität Heidelberg, Heidelberg 69120, Germany

⁶Department of Obstetrics and Gynecology, University of Tübingen, Tübingen 72076, Germany

⁷Cancer Research UK Fission Yeast Functional Genomics Group, Wellcome Trust Sanger Institute, Hinxton, Cambridge CB10 1HH, UK

⁸Institut für Immunologie, Ludwig-Maximilians-Universität München, München 80336, Germany

⁹Present address: Institute of Human Genetics, Medical University of Graz, Graz 8010, Austria.

¹⁰These authors contributed equally to this work.

*Correspondence: christoph.klein@klinik.uni-regensburg.de

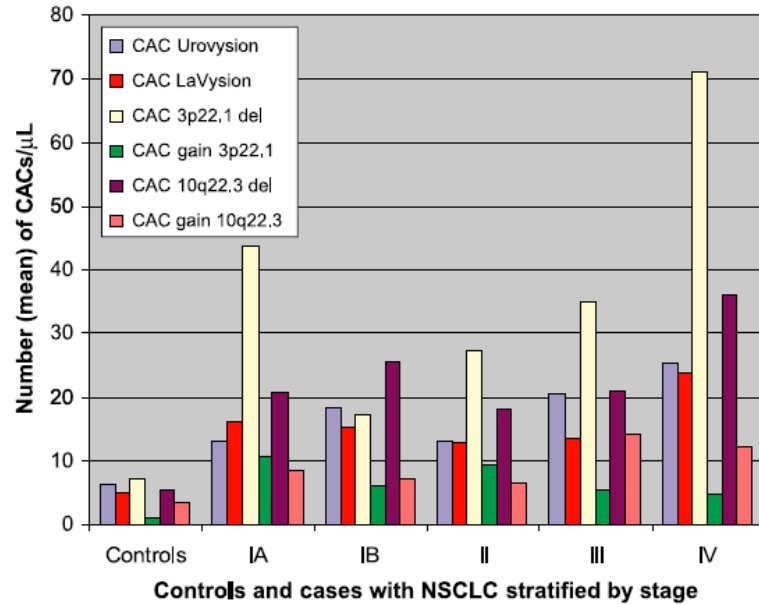
DOI: 10.1016/j.ccr.2007.12.003

Imaging, Diagnosis, Prognosis

Clinical
Cancer
Research

Genetically Abnormal Circulating Cells in Lung Cancer Patients: An Antigen-Independent Fluorescence *In situ* Hybridization–Based Case-Control Study

Ruth L. Katz¹, Weigong He¹, Abha Khanna¹, Ricardo L. Fernandez¹, Tanweer M. Zaidi¹, Matthew Krebs⁷, Nancy P. Caraway¹, Hua-Zhong Zhang¹, Feng Jiang⁸, Margaret R. Spitz², David P. Blowers⁶, Carlos A. Jimenez⁴, Reza J. Mehran³, Stephen G. Swisher³, Jack A. Roth³, Jeffrey S. Morris⁵, Carol J. Etzel², and Randa El-Zein²



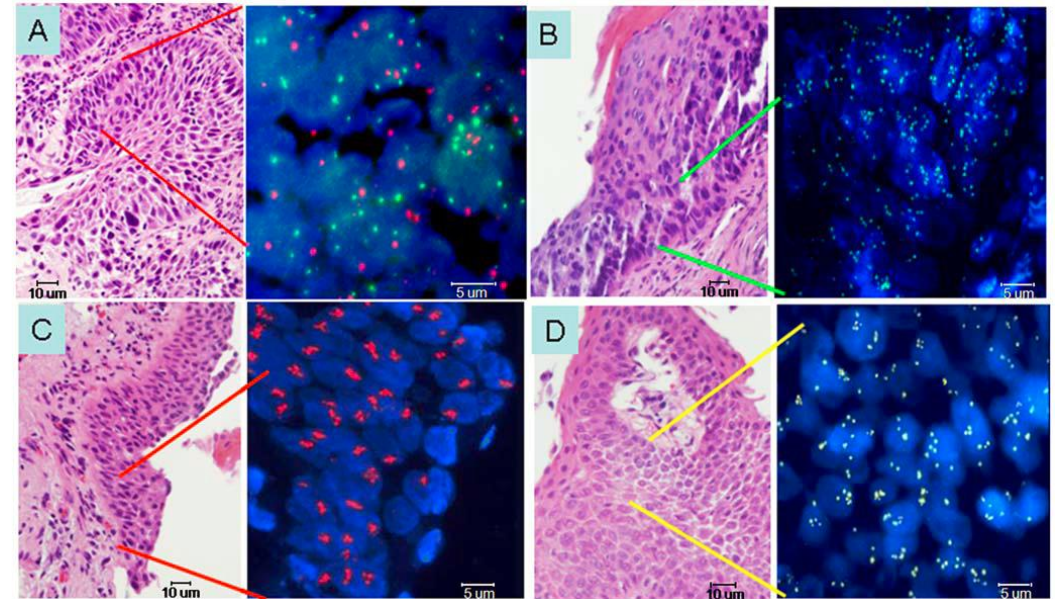
FISH for 3p22.1/CEP3, 10q22.3/CEP10, URO and LAV

OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one

Recurrent Genomic Gains in Preinvasive Lesions as a Biomarker of Risk for Lung Cancer

Pierre P. Massion^{1*}, Yong Zou¹, Hasmet Uner³, Porntip Kiatsimkul², Holly J. Wolf³, Anna E. Baron³, Tim Byers³, Steinn Jonsson⁶, Stephen Lam⁷, Fred R. Hirsch^{2,4}, York E. Miller⁵, Wilbur A. Franklin⁴, Marileila Varella-Garcia²

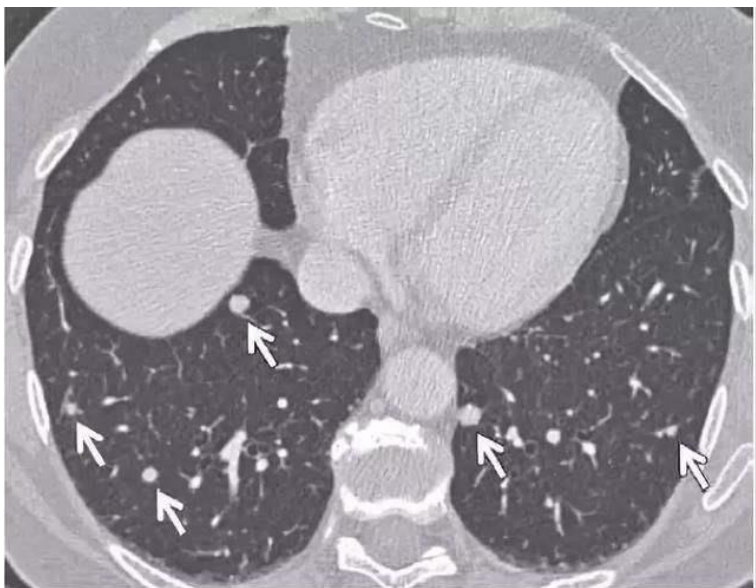


FISH for CEP3, 3q28, 5p15.2, CEP6, 7p12, and 8q24

基于细胞水平、通过FISH检测染色体变异的肺癌早筛方法，已见于多项研究报道

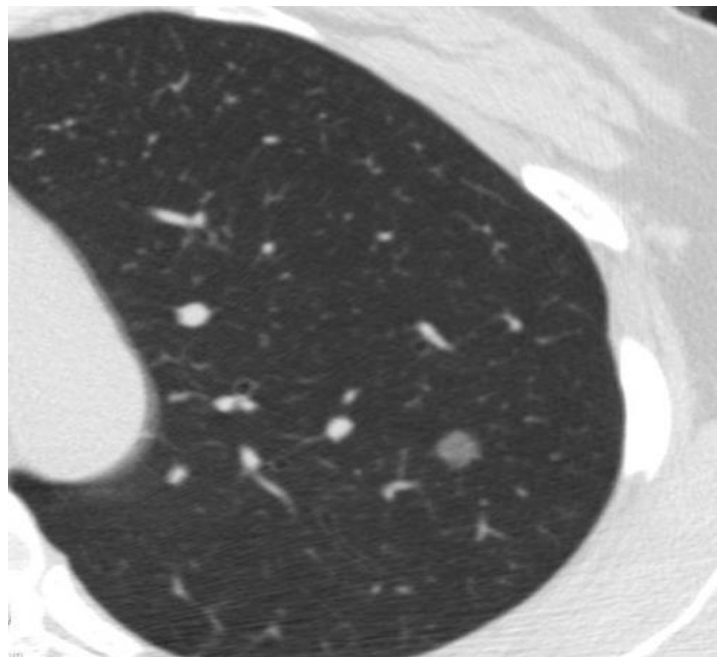
循环异常细胞（CAC）用于肺部结节鉴定

血液检测：肿瘤标志物CA199、CA125、CEA、NSE、SCC、Cyfra21-1等
对肺部结节的良恶性鉴定无确定价值---临床期盼更好的鉴别方法

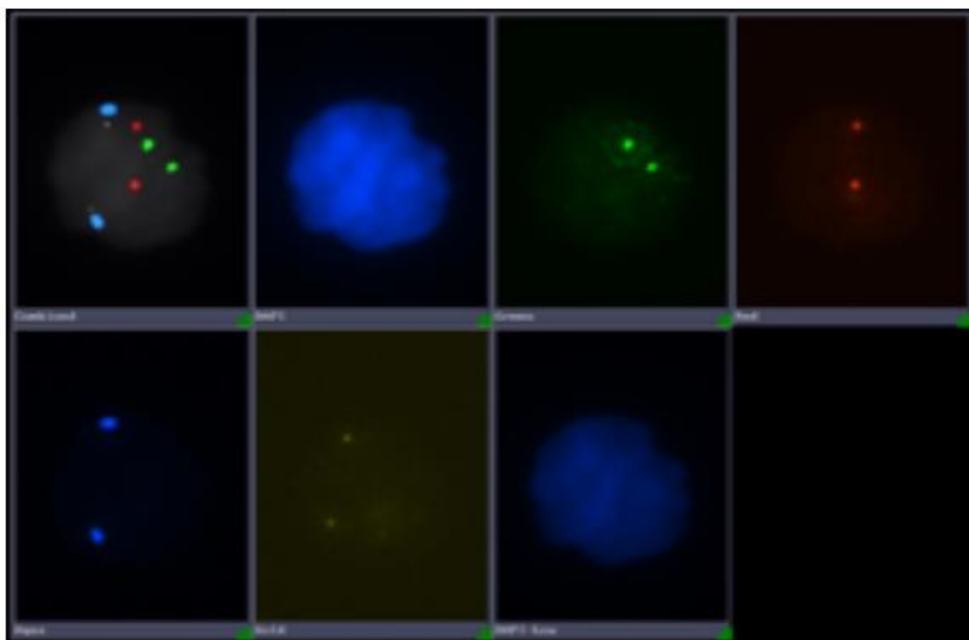


肺部小结节（转移癌）

微信号: JNPR3021

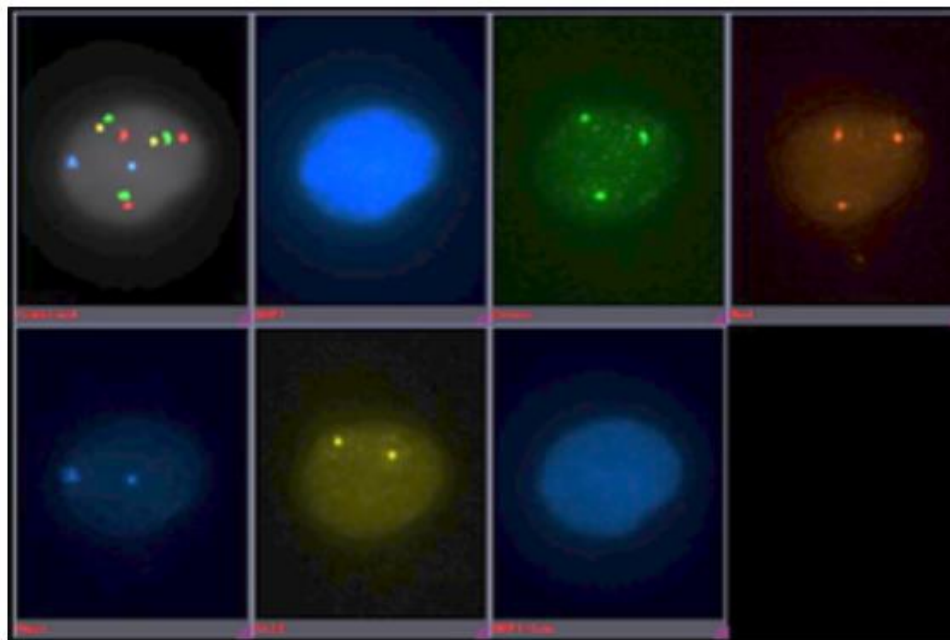


循环异常细胞（CAC）肺部结节良恶性鉴定技术诞生于
美国MD安德森癌症中心



正常细胞示例

正常细胞示例
每个位点都是两个拷贝



异常细胞示例

循环异常细胞示例
绿色、红色信号3个表明3号染色体扩增

- 本实验采用特异性四色FISH探针对肺部结节人群外周血中3、10号染色体拷贝数异常的循环异常细胞进行检测。
- 本检测可以为临床医师提供肺结节良恶性鉴别的辅助信息，与影像学等肺结节检查手段相结合，用于评估受试者肺部结节的恶性风险。

基于循环异常细胞(CAC)层面的肺癌早筛

- 根据Cynvenio和MDA数据，该检测对于肺癌鉴别体现出较高的灵敏度与特异性，并且在不同肺癌分期、不同病理类型具有较高的一致性。

	All Cancers	Lung Cancer Only
Sensitivity (TPR)	91.0%	91.0%
Specificity (TNR)	92.6%	92.6%
	All Cancers	Lung Cancer Only
True positives	122	111
False positives	5	5
True negatives	63	63
False negatives	12	11
Total	202	190

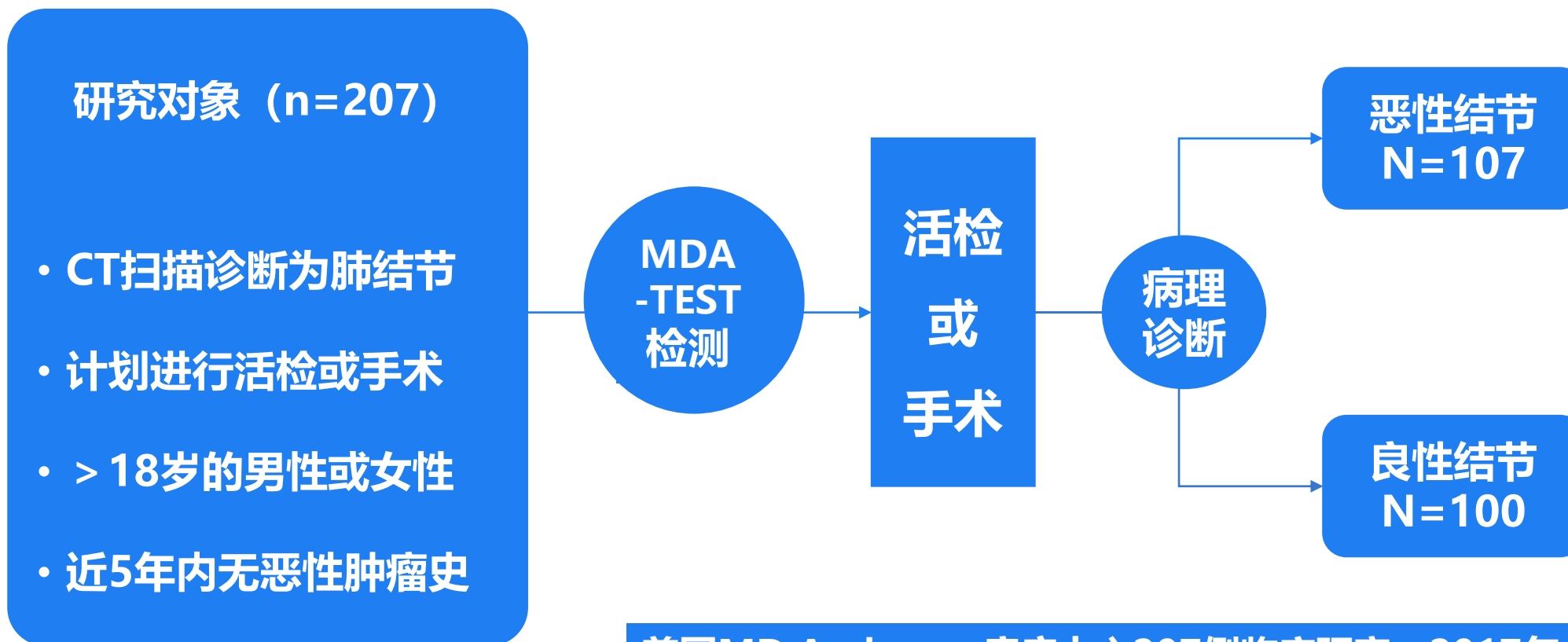
Stage	Cancer Patients (N)	Sensitivity
I	37	94.6%
II	7	100%
III	15	100%
IV	11	100%
Unknown	15	78.9

* Data for sensitivity based are only included for those samples with confirmed stage status at time of blood draw

Histotype	Cancer Patients (N)	Sensitivity
Adeno	71	94.4%
SqCC	25	92%
Neuroendocrine (all subtypes)	12	83.3%
Other/Unknown	9	77.8%

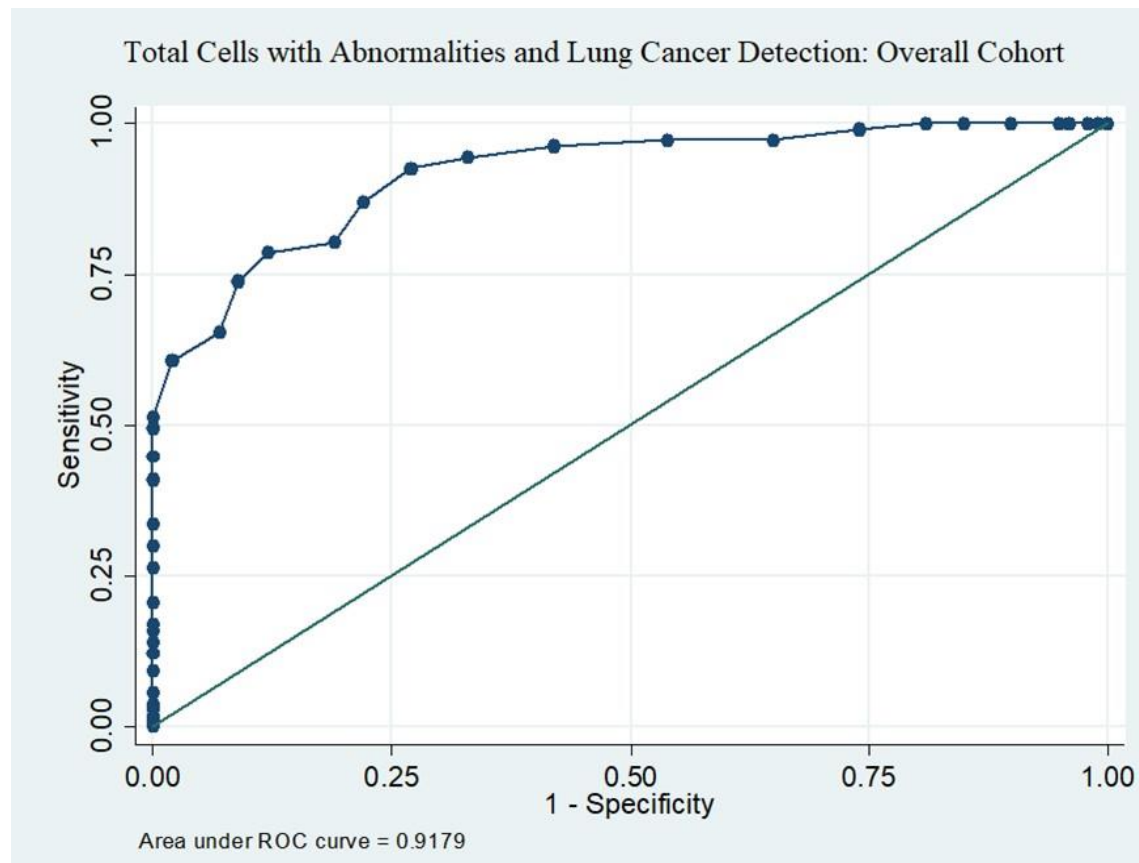
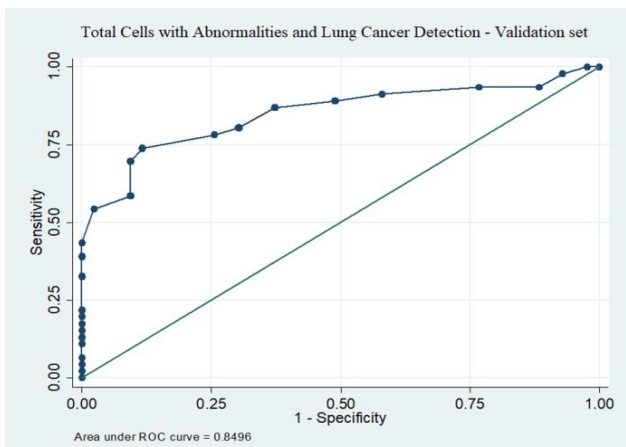
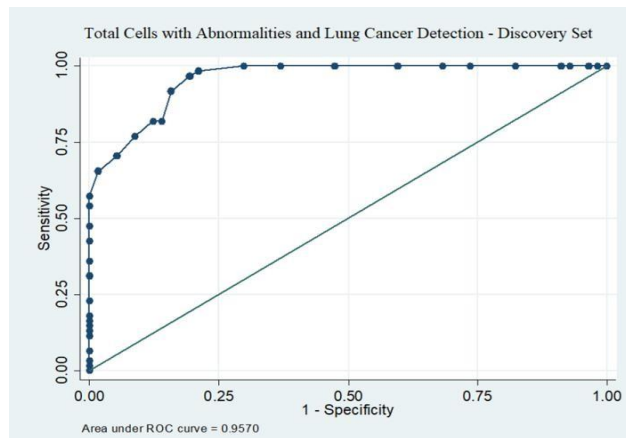
* Data for sensitivity based are only included for those samples with clear designation of histology.

基于循环异常细胞（CAC）层面的肺癌早筛



美国MD Anderson癌症中心207例临床研究，2017年

基于循环异常细胞(CAC)层面的肺癌早筛

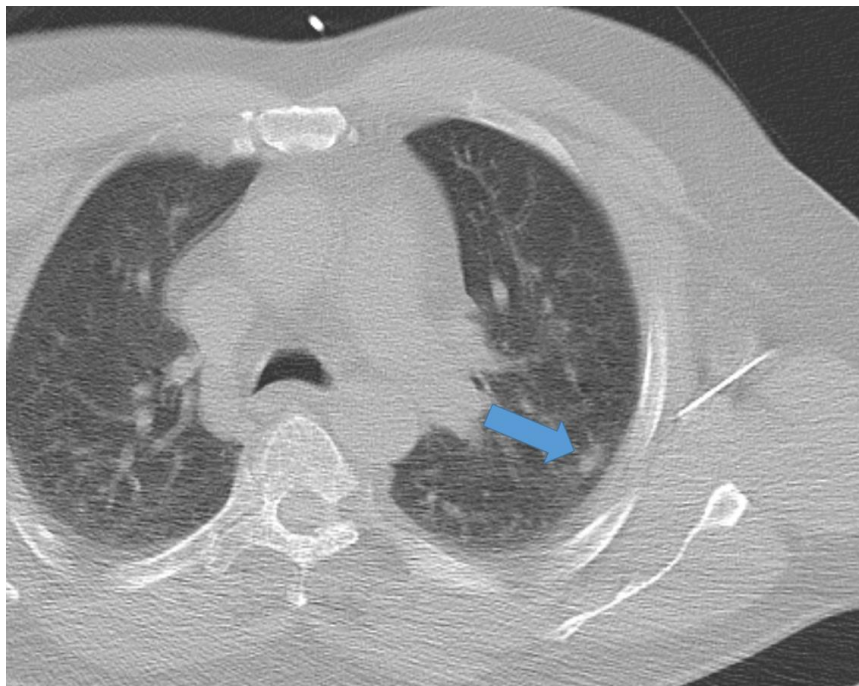


MDA-TEST (CAC)
实验数据与病理结果
分析:

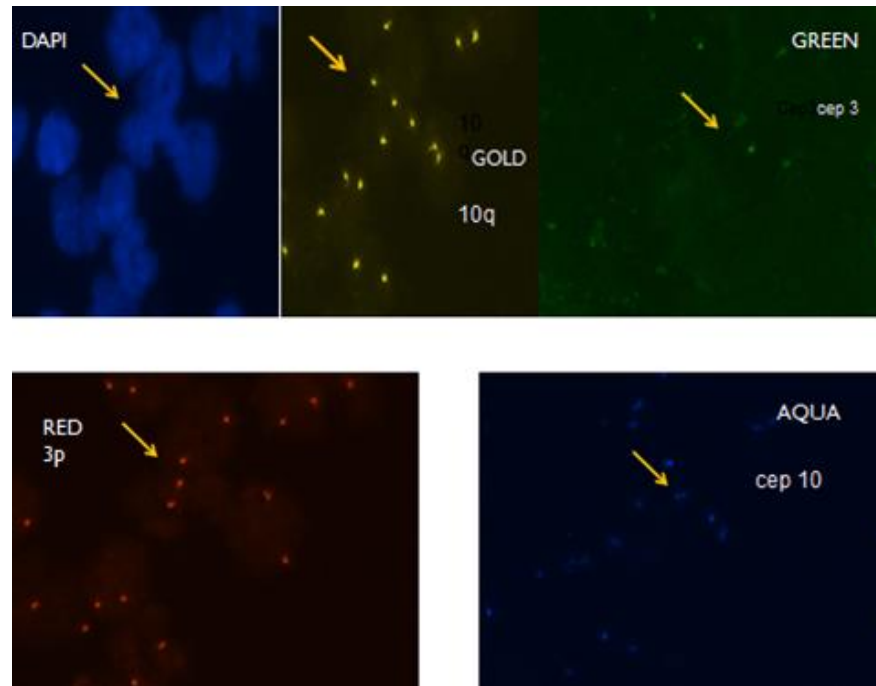
敏感性: 79%

特异性: 88%

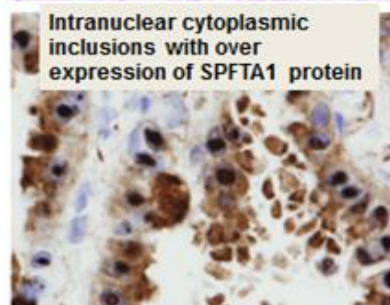
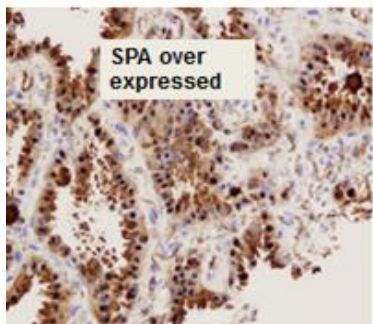
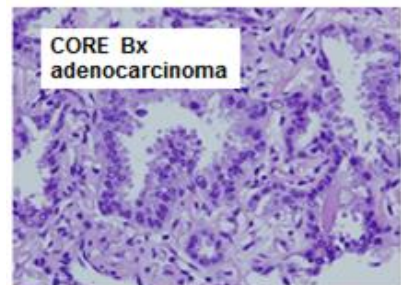
实验结论: 循环异常细胞 (CAC) 可有效鉴别肺部恶性结节



- 男性，68岁，体检：胸部X线和LDCT检查中发现肺部有直径为11mm的结节，医生判断为“低危”，建议6个月内复查；



- 患者一月内采集两次外周血，进行MDA-TEST检测，两次都发现循环异常细胞（CAC）阳性，判定为“高危”。



- 进行穿刺活检，活检病理诊断为肺腺癌。经全面分期检查，未发现有其他病变，诊断为早期肺癌。
- 随后行肺癌根治术，术后未行放化疗。
- 在接下来的12个月内监测血液，检测结果显示随着时间的推移CAC完全消失。
- 治疗三年后，患者目前病情稳定。

肺部结节良恶性鉴定可有效发现早期肺癌，提高患者生存和预后

患者汪某某，女，59岁

影像学检查、肿标化验



项目名称	检验值	正常值	单位
ProGRP	50.72	<69.2	pg/mL
Cyfra21-1	3.20	<3.30	ng/ml
★甲胎蛋白	4.93	<20.00	ng/mL
★癌胚抗原	3.1	<5.0	ng/mL
CA199	1.51	<37.00	U/mL
CA_125	8.51	<35.00	U/mL
神经元特异性烯醇化酶	14.43	<16.30	ng/ml

CT检查:右肺上叶磨玻璃小结节, 较前相仿, 大小约1.0CM, 建议定期复查或进一步检查。(报告日期: 2019年6月4日)

右肺及左肺上叶多发微小结节, 炎症可能, 右肺上叶一结节较前稍增大, 部分结节较前未见显示, 必要时复查; 双肺散在少许慢性/陈旧性炎症。(报告日期: 2019年6月4日)

福建医科大学附属协和医院
CT检查报告单

CT号: CT1270976

姓名: 汪丽珠 性别: 女 年龄: 59岁 检查编号: A01167606CT2019051302
申请科室: 病案号: 病区床号:
检查部位: 肺部 检查设备: CT40 流水号: 0005291439


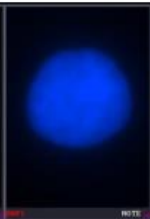










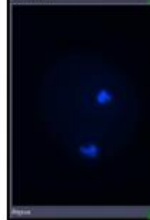
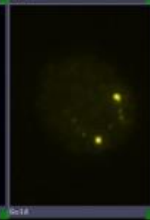


检查技术:
影像学所见:
对比前片2019-02-21: 左肺上叶(S3I21)见一磨玻璃小结节影, 大小约1.0cm*0.6cm, 边缘不规则分叶征, 较前相仿, 右肺(S3I18、29、45)及左肺上叶(S3I15)多发微小结节影, 大者径约0.6cm, 右肺上叶一结节较前稍增大, 原右肺下叶(S3I24、54)小结节未见显示, 双肺见散在少许条索影及斑条影, 气管及支气管通畅, 纵隔内见多发小淋巴结影, 未见胸水征。扫及肝左内叶见一小低密度灶。

影像学诊断:
1. 左肺上叶磨玻璃小结节, MT待排, 较前相仿, 定期复查或进一步检查;
2. 右肺及左肺上叶多发微小结节, 炎症可能, 右肺上叶一结节较前稍增大, 部分结节较前未见显示, 必要时复查;
3. 双肺散在少许慢性/陈旧性炎症;
4. 肝左内叶小囊肿?
以上请结合临床。

报告医生: 郑晓立 / 郑晓立 审核医生: 卢增华 复核医生:
此报告仅供本院医生参考, 不做其它证明用, 报告审核签字后生效。 报告时间: 2019-06-04

病例分享2


患者汪某某，女，59岁

FISH 镜检图							
异常细胞 (CAC) 图例				正常细胞图例			
							
							
<p>描述: 该细胞核内 3 号染色体中的红色探针信号和绿色探针信号均为 3 个; 而 10 号染色体中的黄色探针信号和蓝色探针信号均为 2 个, 显示为循环异常细胞 (CAC)。</p>				<p>描述: 该细胞核内 3 号染色体中的红色探针信号、绿色探针信号, 10 号染色体中的黄色探针信号、蓝色探针信号均为 2 个, 显示为正常细胞。</p>			

丽菲清(CAC)检测发现5个循环异常细胞, 判定为高危 (报告日期: 2019年6月27日)

手术后, 病理诊断结果: (右肺上叶) 微浸润性腺癌, 大小直径0.8CM, 未累及脏层胸膜, 淋巴结未见转移癌 (报告日期: 2019年7月16日)




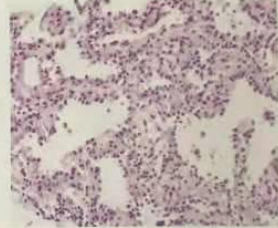


福建医科大学附属协和医院
彩色病理图文报告单

病理号: 2019-29611

姓名: [REDACTED] 性别: 女 年龄: 59岁 收到日期: 2019-07-16 送检单位: 本院
 科室: 胸外一科 (病房) 送检医生: 郑剑滔 病区-床号: 08005 病案号: 1063156

特征图像:

病理诊断:

(左上肺叶) 微浸润性腺癌, 大小直径0.8cm, 浸润灶<5mm, 未累及脏层胸膜。“左上肺支气管切端”未见肿瘤。
 淋巴结未见转移癌, 具体如下: 冰冻送检“第12组淋巴结”0/1, 另送“第4组LN”0/2, “第5组LN”0/2, “第6组LN”0/6, “第7组LN”0/10, “第10组LN”0/2, “第12组LN”0/4。
 免疫组化: 肿瘤细胞TTF-1、CK7、NapsinA阳性, P40阴性。

报告日期: 2019-07-25 诊断医生: 刘晓丽 复诊医生: 李雯

注: 此结果仅针对本次送检样本, 仅供临床医生参考。如有疑问, 请于7个工作日内与病理科联系, 此报告签字有效。

第 1 页 / 共 1 页

- 液态活检技术在肿瘤诊疗中的临床应用渐趋成熟，临床应用方向多样，但仍任重而道远；
- 临床用药指导是目前液态活检的主要应用方向；不同Biomarker的有效结合，可为临床用药指导带来新的机遇；
- 肿瘤早期筛查是液态活检技术最具前景的应用，基于不同的biomarker检测的肿瘤早期筛查方法很多，部分已经获得NMPA批件，正确选择和规范化应用将是临床一大难点。



谢谢聆听!

丽珠世界 生命常青