



南方医科大学
Southern Medical University



南方醫院
NANFANG HOSPITAL

肝癌筛查路线图

南方医科大学南方医院 · 侯金林 教授

2019.9.28 · 广州



南方医科大学

Southern Medical University



南方醫院

NANFANG HOSPITAL

发现一例早癌
拯救一条生命
幸福一个家庭

消除病毒性肝炎对公共健康的威胁

世界卫生组织

- 2016年5月，发布了《2016-2021年全球卫生部门病毒性肝炎战略》

2015年

(基线)

新发病例600万-1000万/年

死亡病例140万/年

2030年

(具体目标)

发病率减少90%

死亡率减少65%



中国

- 2017年11月，中国政府出台了《中国病毒性肝炎防治规划》

— 全面实施病毒性肝炎各项防治措施



全球四大肝病学会签署消除病毒性肝炎联合声明



世界卫生组织



2016年 巴塞罗那

HEPATOLOGY



HEPATOLOGY, VOL. 64, NO. 4, 2016

Editorial

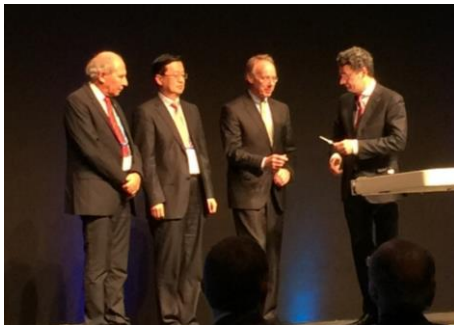


Joint society statement for the elimination of viral hepatitis

Javier Brahm¹, Laurent Castera², Jinlin Hou³, Keith Lindor⁴

¹Latin American Association for the Study of the Liver; ²European Association of the Study of the Liver; ³Asian Pacific Association for the Study of the Liver; ⁴American Association for the Study of Liver Disease


Barcelona, Thursday April 14th 2016




Prof. Keith Lindor
American Association for the Study of Liver Disease


Prof. Jinlin Hou
Asian Pacific Association for the Study of the Liver




Dr. Laurent Castera
European Association of the Study of the Liver


Dr. Javier Brahm
Latin American Association for the Study of the Liver

深远意义

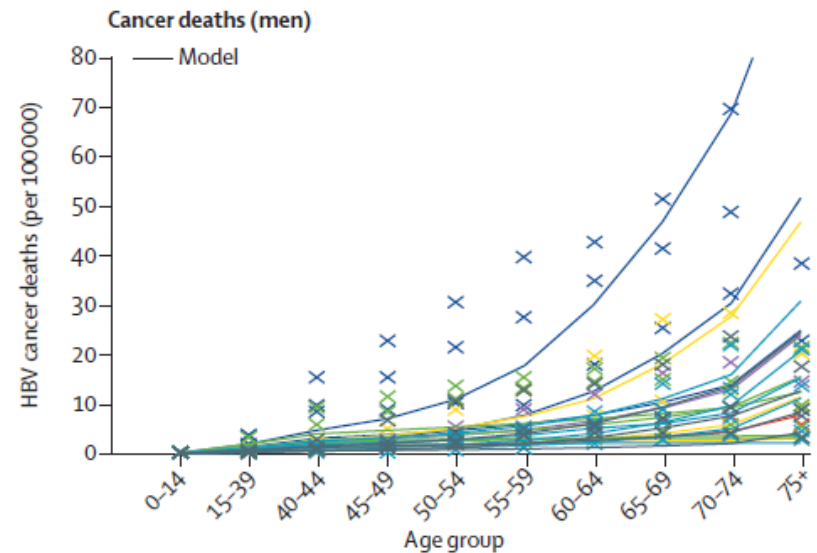
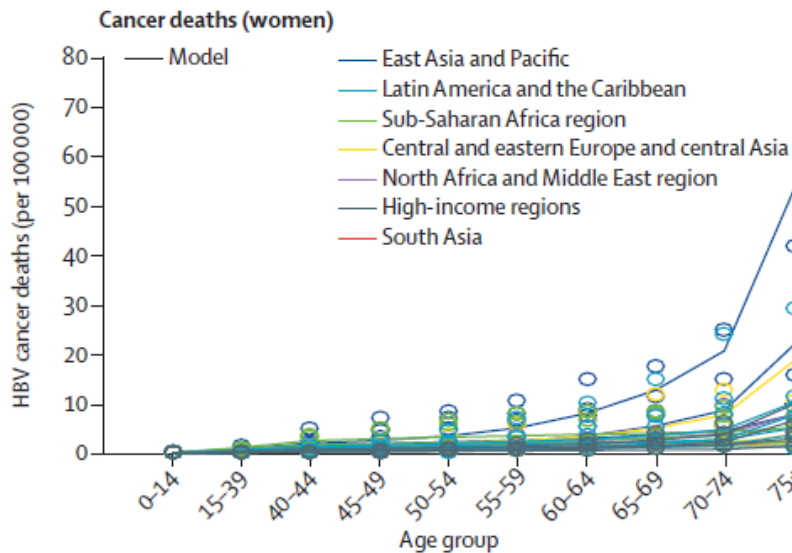
- 号召各国政府部门行动起来，消除病毒性肝炎
- 筛查是最重要的环节

Brahm J, et al. Hepatology. 2016

Brahm J, et al. J Hepatol. 2016

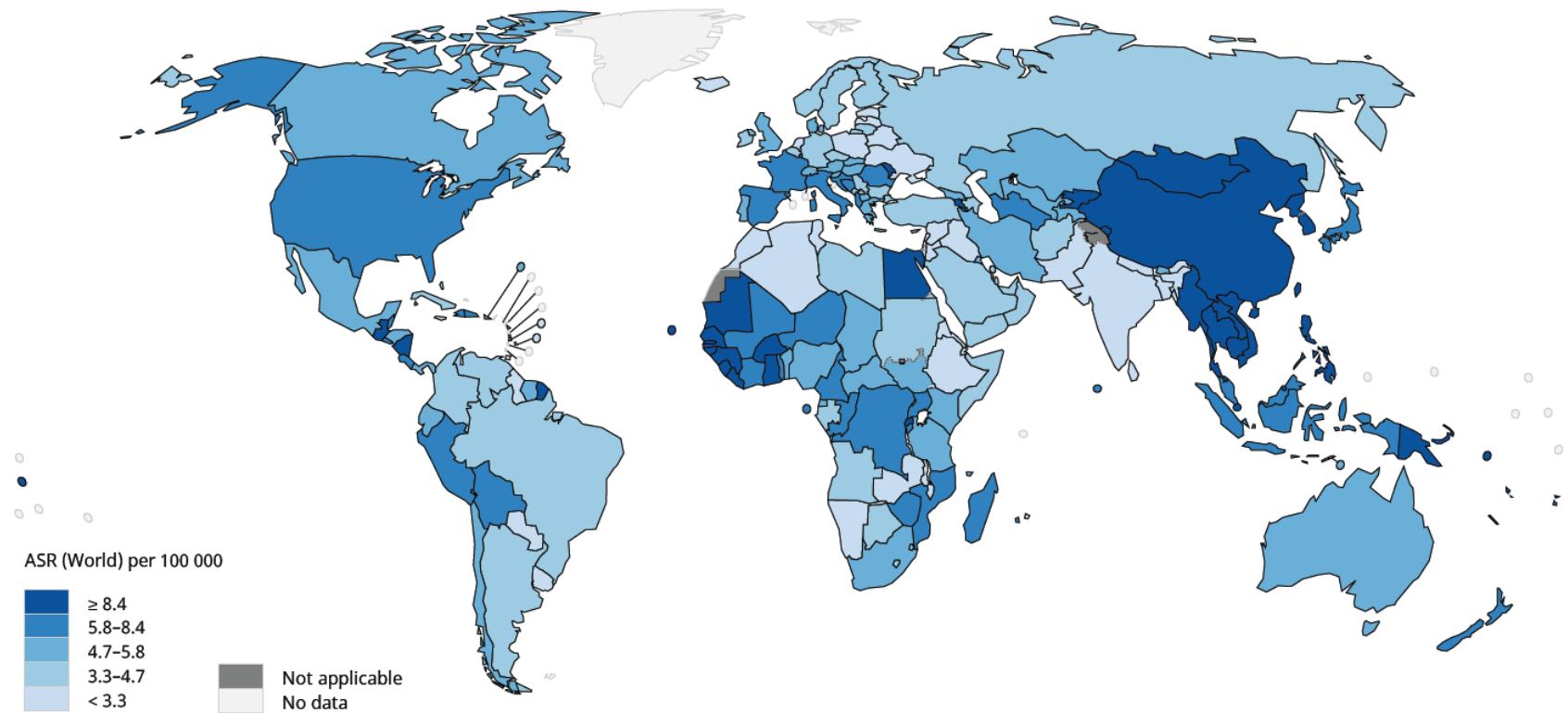
肝癌已成为导致病毒性肝炎患者死亡的最常见原因

- 在HBV 和 HCV 抗病毒治疗时代，非HCC相关肝病进展导致的死亡逐年递减；
- 随着HBV和HCV感染患者生存时间的延长，肝癌发生风险逐年增加
- 肝癌导致的死亡亦逐年增加



中国仍是全球肝癌发病率最高的国家之一

Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2018, liver, both sexes, all ages



数据来源: GLOBOCAN 2018, World Health Organization

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一

- 肝细胞癌（HCC）是全球癌症相关死亡的第四大病因。
- 2017年中国肿瘤登记年报：肝癌发生率居男性癌症第3位，肝癌导致的死亡率排第2/3位

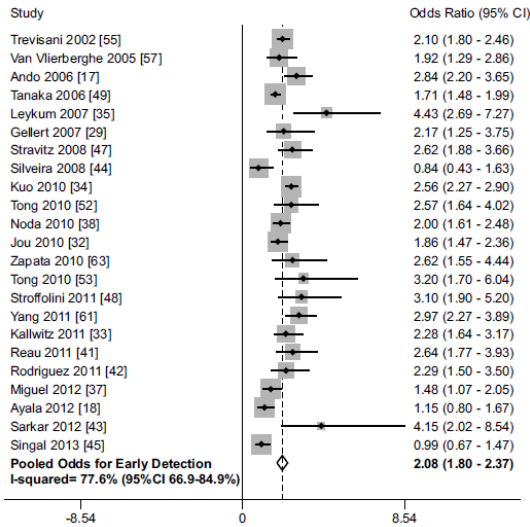


数据来源：2017年中国肿瘤登记年报

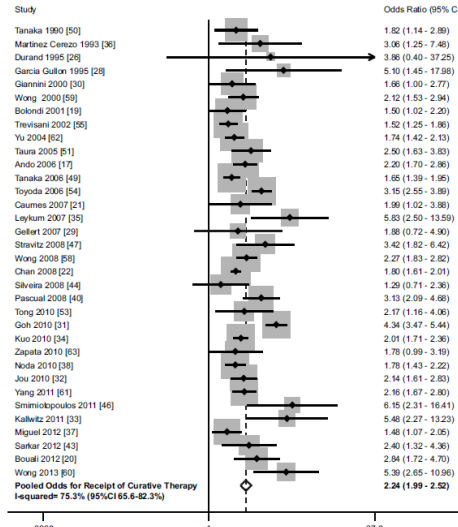
肝癌筛查可显著提升肝癌早诊率以及长期生存率

● Meta分析, 纳入47项研究, 15158患者

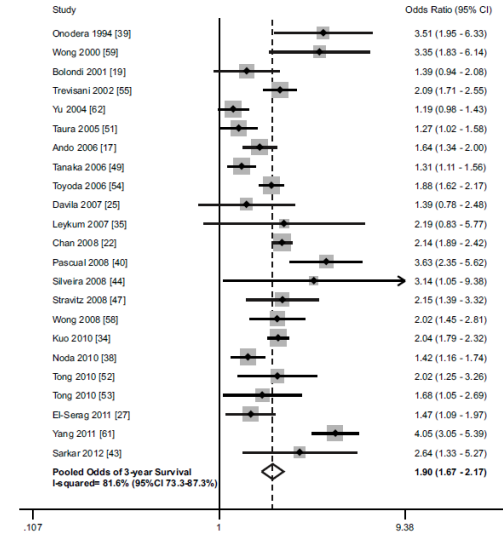
— 早期肿瘤检出率 (OR=2.08)



— 治愈率 (OR=2.24)



— 生存率 (OR=1.90)



Singal AG, et al. PLoS Med 2014.

国际/国内指南推荐的HCC筛查方案及推荐对象

- 肝癌筛查方案：肝脏超声联合AFP，每年2次
- 筛查对象：肝癌高风险人群

– EASL

Table 3. Recommendations for HCC surveillance: Categories of adult patients in whom surveillance is recommended.

- Cirrhotic patients, Child-Pugh stage A and B (**evidence strong**)
- Cirrhotic patients, Child-Pugh stage C awaiting liver transplantation (**evidence low; recommendation strong**)
- Non-cirrhotic HBV patients at intermediate or high risk (according to PAGE-B¹ classes for Caucasian subjects, 1 score point) (**evidence low; recommendation strong**)
- Non-cirrhotic F3 patients, regardless of aetiology, based on an individual risk assessment (**evidence weak**)

¹Patients at low HCC risk left untreated for HBV and surveillance must be reassessed at least yearly to verify PAGE-B (Platelet, Age, Gender, hepatitis B) score is based on: 0, 30–39 = 2, 40–49 = 4, 50–59 = 6, 60–69 = 8, ≥70 = 10. Platelet count (≥200,000/μl) = 0, 100,000–199,999/μl = 1, 200,000–299,999/μl = 2, ≥300,000/μl = 3. Sum of ≤9 is considered at low risk of HCC (almost 0% at 10–17 at intermediate risk (3% incidence HCC at five years) 114

– APASL

Table 3 Groups where HCC surveillance is recommended	HCC risk (per year)
Cirrhotic hepatitis patients	
HBV	3–5%
HCV	2–7%
NASH	2–4%
Genetic hemochromatosis	Unknown, but probably >1.5%
Primary biliary cirrhosis	2–3%
Alpha 1 antitrypsin (A1AT) deficiency	Unknown, but probably >1.5%
Autoimmune hepatitis	
Other etiologies	Unknown
Chronic HBV carriers	
Noncirrhotic (HBsAg positive)	
Asian females >50 years	0.3–0.6%
Asian males >40 years	0.4–0.6%
Africans aged >20 years	NA
History of HCC in the family	NA

– 中国

二、筛查和诊断

(一) 高危人群的监测筛查

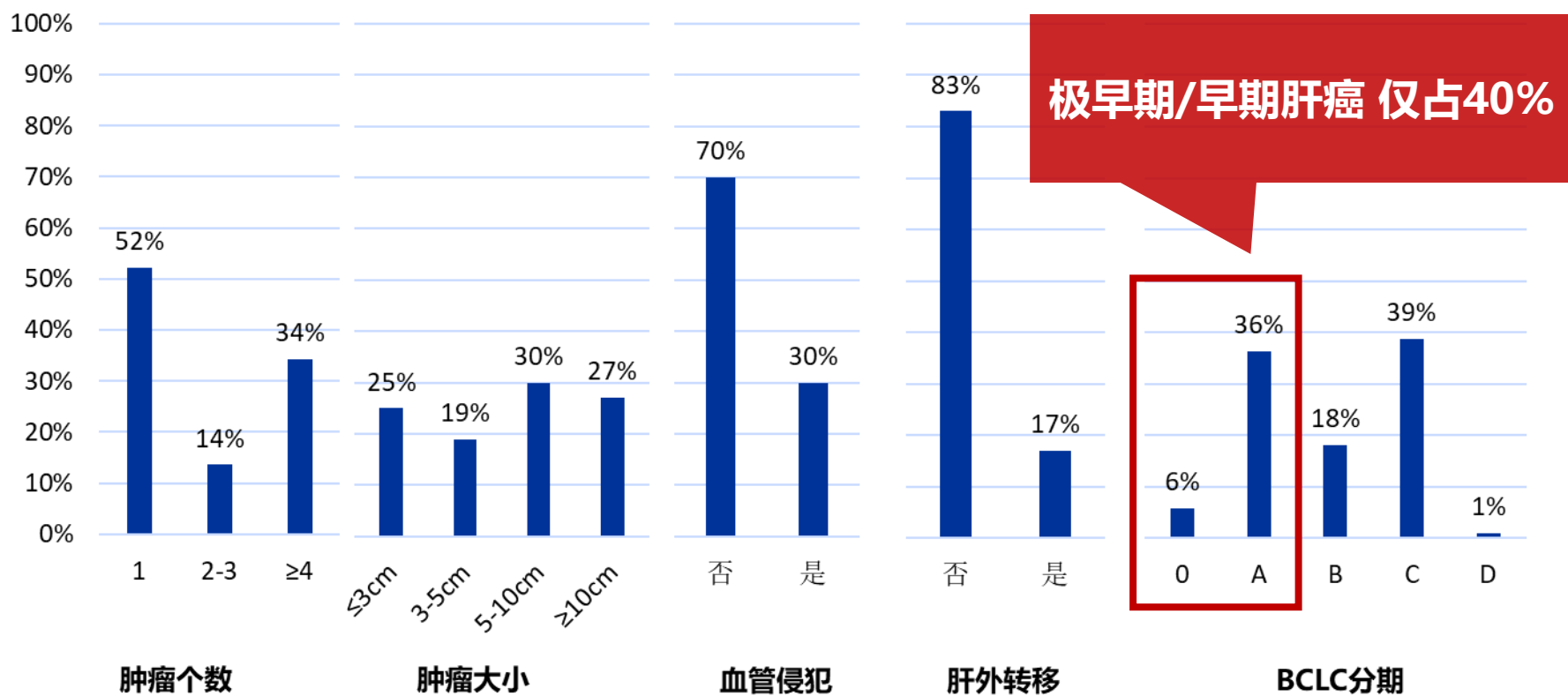
对肝癌高危人群的筛查，有助于早期发现、早期诊断、早期治疗，是提高肝癌疗效的关键。在我国，肝癌的高危人群主要包括：感染乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 和 (或) 丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV)、长期酗酒、非酒精性脂肪性肝炎、食用被黄曲霉毒素污染食物、各种原因引起的肝硬化以及有肝癌家族史等的人群，尤其是年龄 40 岁以上的男性风险更大。血清甲胎蛋白 (alpha-fetoprotein, AFP) 和肝脏超声检查 (ultrasonography, US) 是早期筛查的主要手段，建议高危人群每隔 6 个月进行至少一次检查^[3]。

EASL. Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. J Hepatol 2018;69:182–236. Omata M, et al. Asia-Pacific clinical practice guidelines on the management of hepatocellular carcinoma: a 2017 update. Hepatol Int 2017; 11:317–370. 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范 (2017年版). 中华肝脏病杂志 2017.

临床实践中肝癌‘筛查’现状

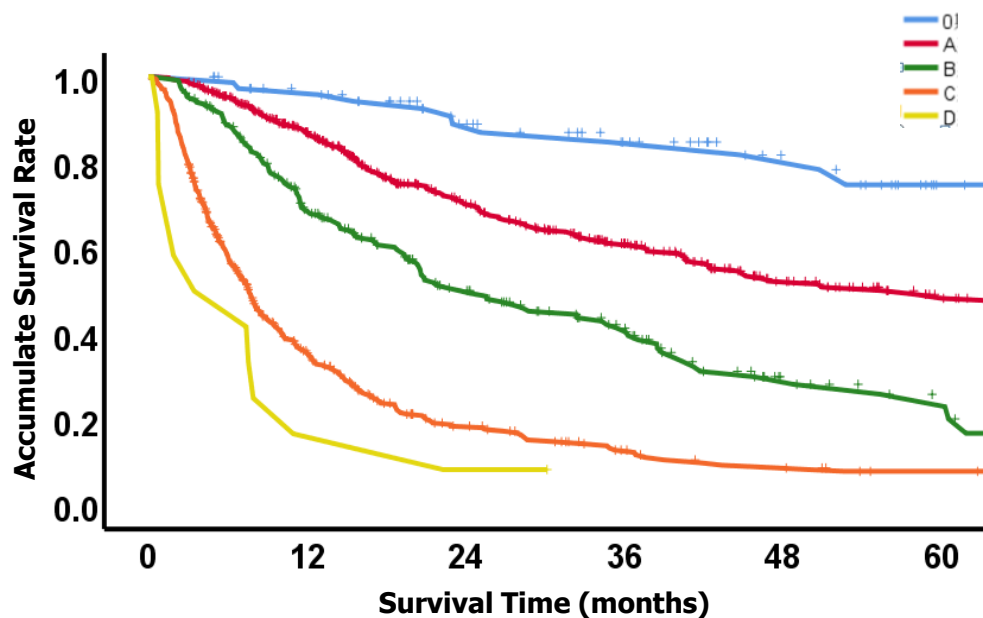
临床实践中肝癌早筛早诊的现状仍不甚乐观

南方医院临床实践中1302例肝细胞癌特征



临床实践中肝癌患者生存率亦不甚乐观

南方医院临床实践中1302例不同BCLC分期肝癌患者的累积生存率

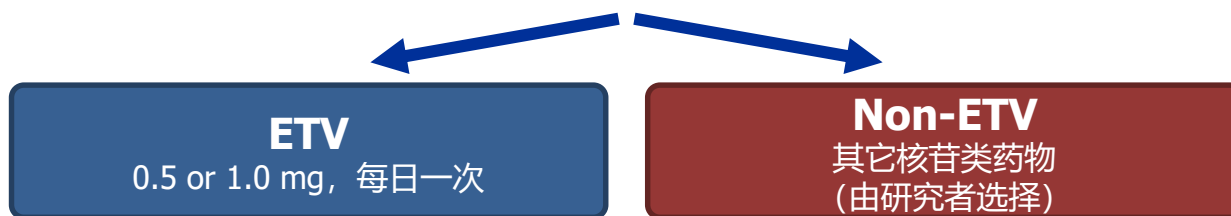


**BCLC B期以上患者
5年生存率不到20%**

依据指南推荐开展肝癌早筛工作

REALM: 全球最大的乙肝前瞻性、观察性研究

入组目标: 12,500成年患者
1:1随机、按照国家、既往HBV核苷类药物治疗史



- 累计入组时间3年, 最长随访10年
- 每年四次评估临床结局事件和治疗相关SAEs
- DMC每年审核一次数据

关键入组标准

- 男性或女性成年乙肝患者
- HBeAg+/- NUC初治或经治
- 肝硬化或非肝硬化

关键排除标准

- 当前治疗方案已实现病毒控制
- 既往接受过ETV治疗
- 恶性肿瘤或发育不良肝脏结节的病史 (非黑色素瘤皮肤癌除外)

COEs, clinical outcome events; DMC, Data Monitoring Committee; SAEs, serious adverse events.

^a COEs reviewed by Events Adjudication Committee (EAC) for diagnostic consistency.

REALM研究10年随访期间临床终点事件发生情况

发生终点事件病例, n (%)	ETV N = 6216	Non-ETV N = 6162
EAC 审查的死亡病例	240 (3.9)	264 (4.3)
认定为死亡的病例	238/240 (99)	264/264 (100)
EAC审查的HCC	290 (4.7)	316 (5.1)
认定为 HCC	241/290 (83) ^a	263/316 (83) ^a
EAC审查的非-HCC恶性肿瘤	109 (1.8)	91 (1.5)
认定为非-HCC恶性肿瘤	95/109 (87) ^b	81/91 (89) ^b
EAC审查的非HCC 乙肝疾病进展	202 (3.2)	202 (3.3)
认定的非HCC 乙肝疾病进展	137/202 (68) ^c	146/202 (72) ^c

^a Most common reason for event not adjudicated as reported was lack of charter criteria satisfied.

^b Most common reason for event not adjudicated as reported was alternate diagnosis.

^c Most common reasons for event not adjudicated as reported were lack of charter criteria satisfied or event was considered pre-existing.

COE, 临床终点事件; EAC,临床事件裁定委员会; ETV, 恩替卡韦; HCC, 肝细胞癌.

全国乙肝长期队列研究计划 (Search-B研究)

10175例慢乙肝患者

临床实践

- 2014年5月启动
- 全国15家中心
- 入组6636例患者

REALM研究

- 2016年5月启动
- 全国49家中心
- 入组3539例患者

全国乙肝长期队列研究计划（Search-B研究）

10175例慢乙肝患者

临床实践

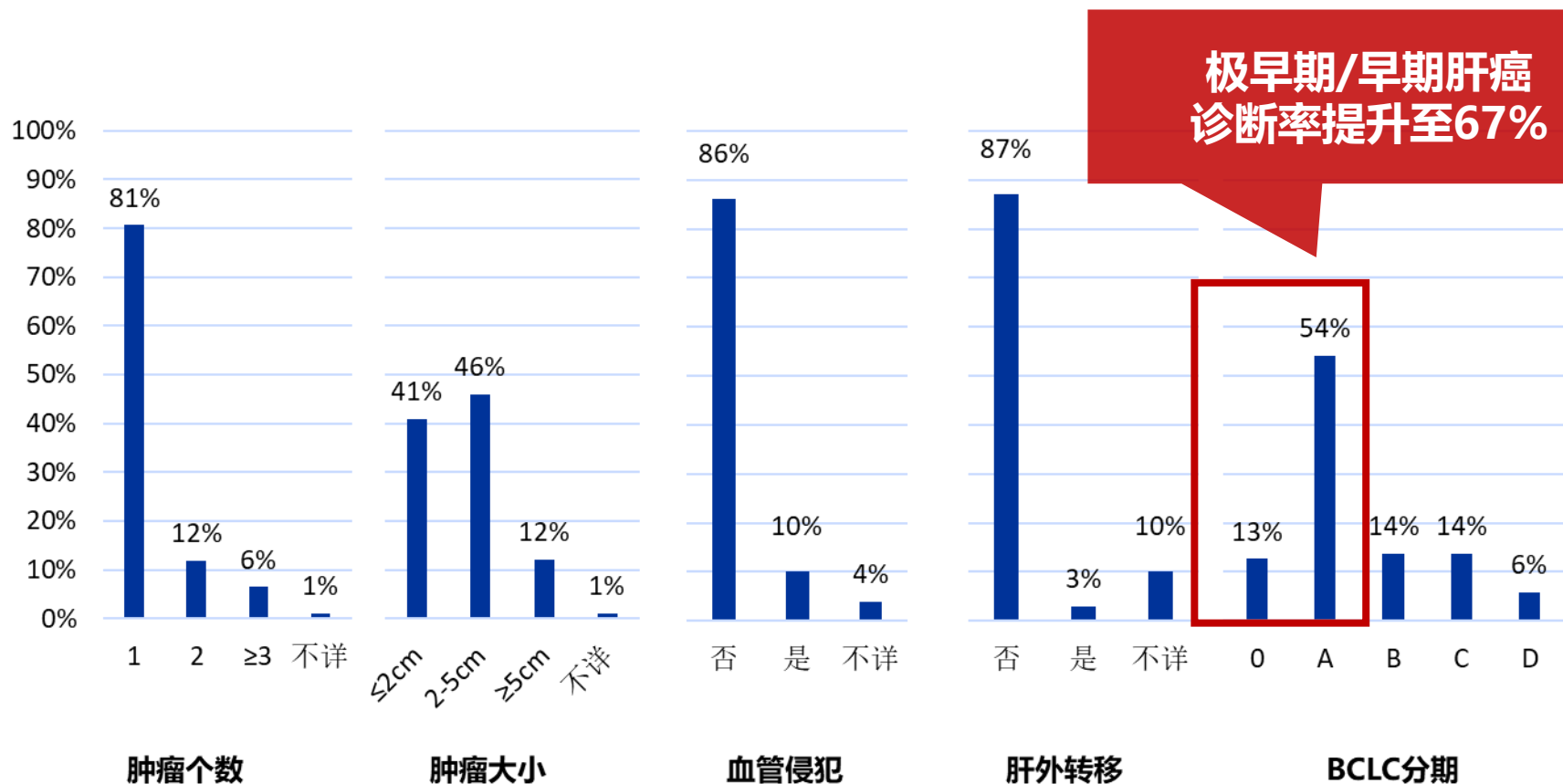
- 2014年5月启动
- 全国15家中心
- 入组6636例患者

REALM研究

- 2016年5月启动
- 全国49家中心
- 入组3539例患者

- 所有入组患者，按照乙肝防治指南，每年随访两次，进行超声+AFP检查
- 迄今为止，共观察到**166例**肝癌发生

南方医院Search-B研究中 93例肝细胞癌特征



肝癌早筛早诊——尚未满足的临床需求

- 在**现实**临床事件中，肝癌早诊率仍不甚满意，仍需进一步推广高危人群的肝癌定期筛查工作；
- 按照**理想**的国际指南推荐肝癌筛查方案，早期/极早期肝癌的检出率达60%；**但**仍有进一步提升空间。
- **梦想**：探索肝癌极早期预警标志物，构建转癌风险预测模型，实现100%肝癌早诊

针对临床问题，牵头开展八项随机对照研究

国家科技重大专项资助4项，新药注册2项

总计56家国内单位，240家国外单位，入组15207例受试者

EXCEL研究	5年	全国 11家	256例 初治患者
EFFORT研究	7年	全国 25家	606例 初治患者
EXPLORE研究	5年	全国 15家	366例 初治患者
DRAGON研究	5年	全国 16家	361例 难治患者
YMDD研究	2年	全国 11家	235例 耐药患者
REALM研究	10年	全球 290家	12536例 患者
TDFI临床研究	5年	全国 22家	512例 初治患者
TAFI临床研究	8年	全国 26家	335例 初治患者

• 初治患者：

- 提出可显著提升疗效/降低耐药的路线图治疗策略

• 难治性/耐药患者：

- 提出可显著提升疗效的挽救新策略

• 原研新药：

- 推动原研新药在我国上市

发表SCI论文 (影响因子5分以上) 90篇

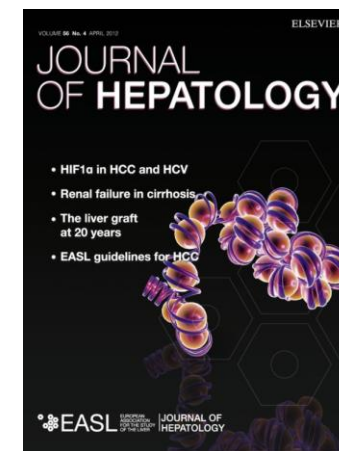
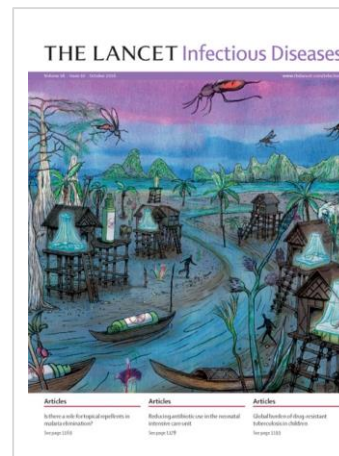
总影响因子910.519, 平均单篇影响因子10.11

代表期刊

Lancet Infect Dis (IF 19.864)	1 篇
Gastroenterology (IF18.392)	2 篇
Gut (IF 16.658)	2 篇
Hepatology (IF 13.246)	7 篇
J Hepatol (IF 12.486)	9 篇

引用情况

SCI杂志引用	852 次
单篇最高引用	65 次
单篇平均引用	9.5 次



建立了人群队列和生物样本库

涵盖“肝炎-肝硬化-肝癌”连续疾病谱的肝脏病队列11,000余例

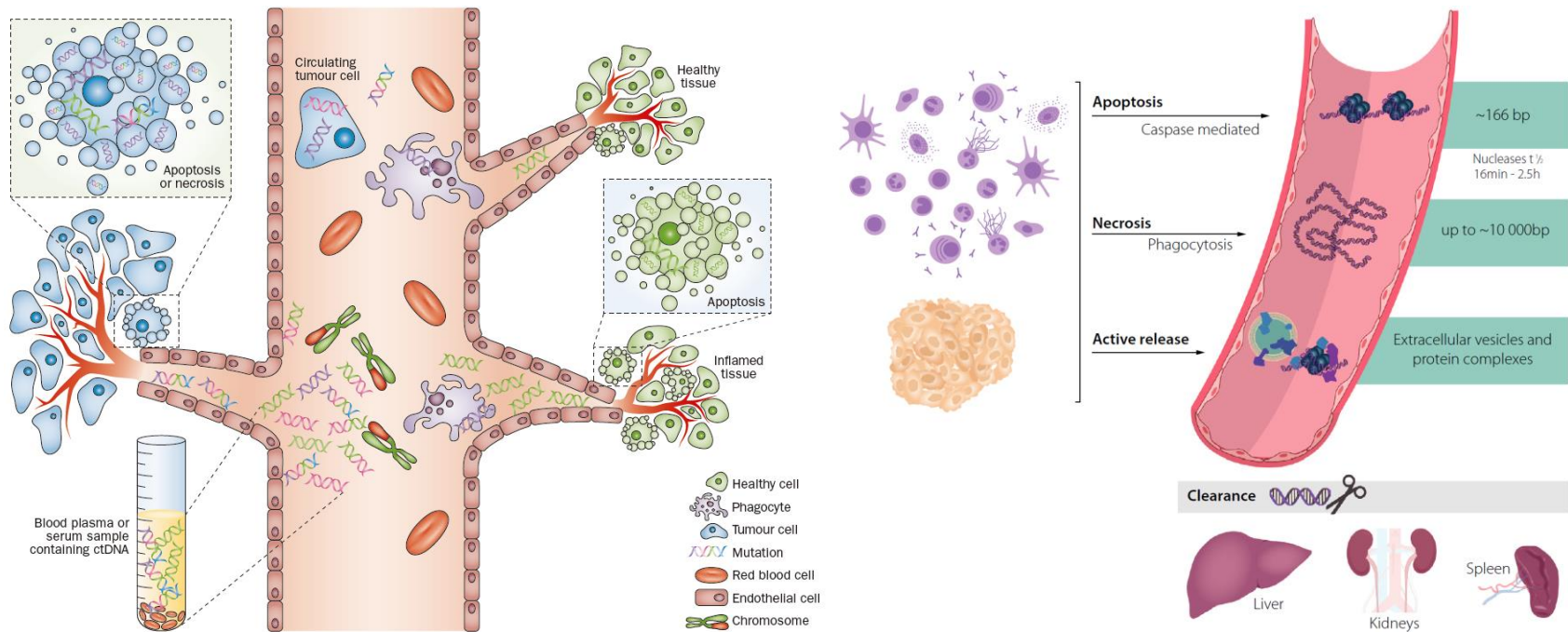
随访从1998年启，患者平均随访时程10-15年；

保存大量珍贵样本，包括组织8606份、血细胞1.4万份、核酸2.9万份、全血3.9万份、血浆12.7万份、血清38.3万份；



血浆游离DNA在肿瘤临床检测中广泛应用

- 肿瘤与正常组织细胞会不断释放DNA片段进入血液，构成血浆游离DNA（cfDNA）
- 其中肿瘤释放的循环肿瘤DNA（ctDNA）在众多维度上均带有肿瘤组织DNA特征
- 针对ctDNA的检测可实时反映体细胞基因组状态，目前已应用于中晚期肿瘤临床管理

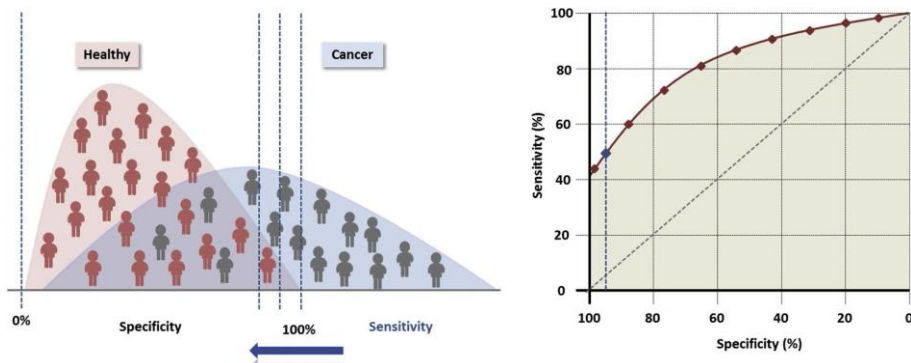


E. Crowley, *et al.*, Nat Rev Clin Oncology, 2013
G. Barbany, *et al.*, J Intern Med., 2019

血浆游离DNA在肿瘤早筛早诊研究中崭露头角

早筛早诊

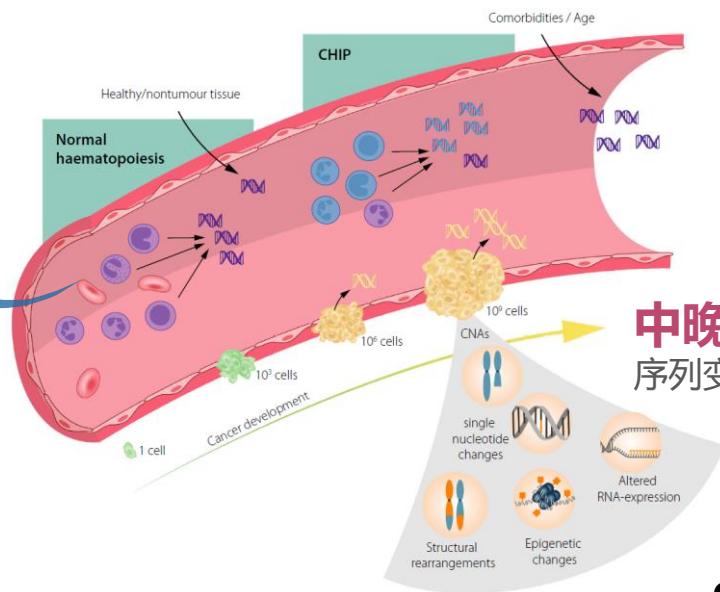
序列变异
表观变异
片段特征
.....



早筛早诊关注多维度组学特征，将早期/极早期/高危患者从人群中筛选出来

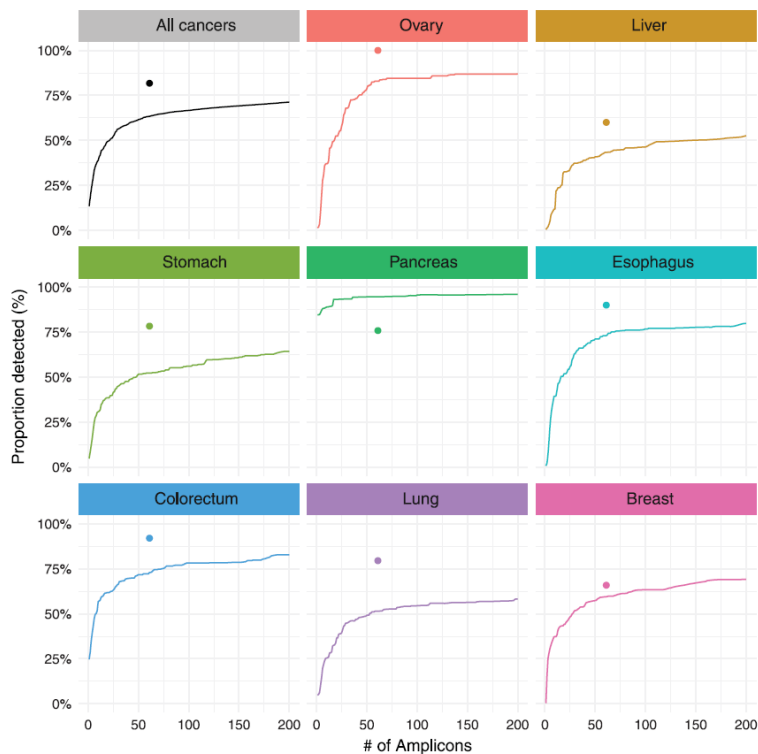
中晚期肿瘤诊断通常关注特定序列变异特征，从而指导对患者的临床治疗

中晚期肿瘤诊断 序列变异 (伴随诊断)



G. Barbany, *et al.*, J Intern Med., 2019
AJ. Bronkhorst, *et al.*, Biomol Detect Quantif, 2019

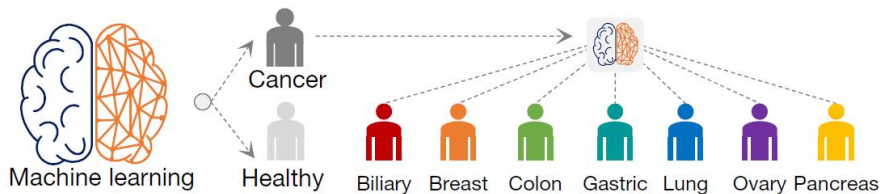
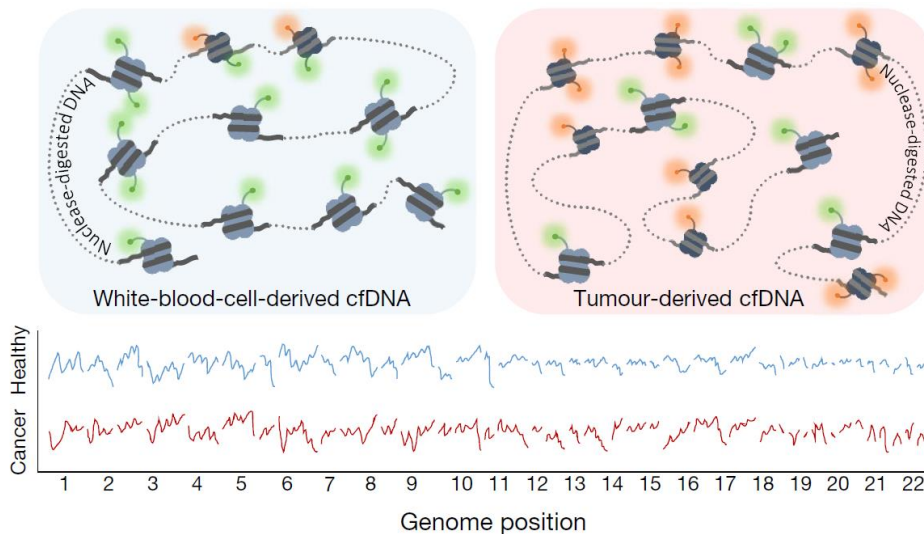
以ctDNA序列变异特征为指标的肿瘤早筛早诊



当仅用体细胞突变作为分类指标时，部分癌种检测灵敏度有限 (JD. Cohen, *et al.*, Science, 2018.)

游离DNA低深度WGS能提取到更多广泛存在的分类特征，例如ctDNA片段化模式等。

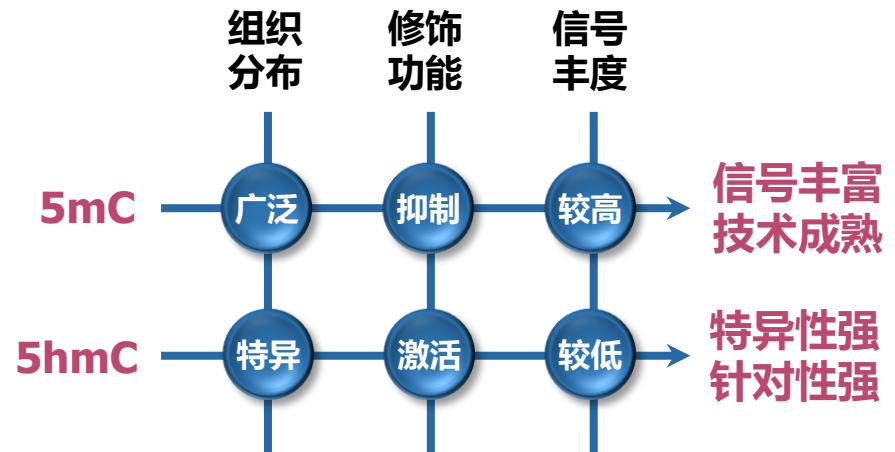
受限于肿瘤体细胞变异的随机性，单纯以变异为主的指标常常遇到**灵敏度和组织特异性不足**等问题



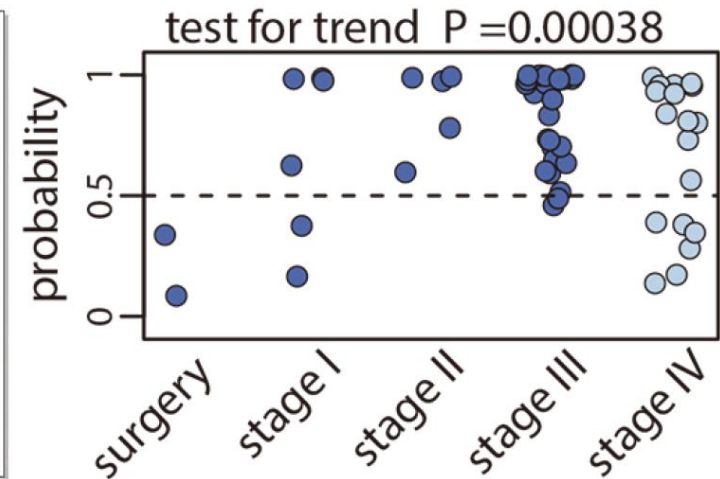
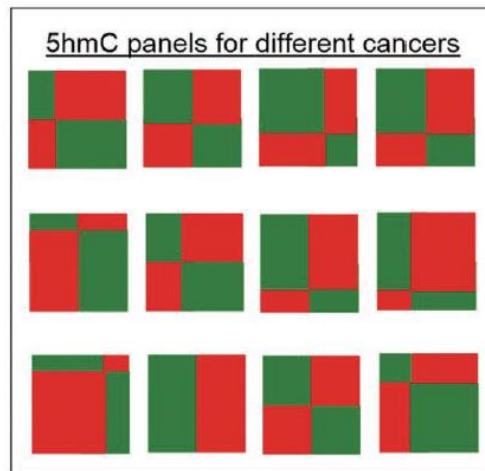
S. Cristiano, *et al.*, Nature, 2019

以ctDNA表观修饰特征为指标的肿瘤早筛早诊

- 表观修饰与基因表达调控相关，因此具有较强的组织特异性
- 研究表明表观修饰改变通常发生于肿瘤发展早期阶段
- 与序列变异相比，表观修饰变化特征性更强
- 主要关注甲基化与羟甲基化修饰两种修饰类型（5mC和5hmC）



N. Plongthongkum *et al.*, Nat Rev Genet., 2014



5hmC指标在泛癌种分析中的组织溯源和结直肠癌-健康人分类中的表现 (W. Li, *et al.*, Cell Res, 2017.)

全国多中心前瞻性肝癌极早期预警 标志物筛查项目（PreCar研究）



组长单位：国家肝癌科学中心/上海东方肝胆医院，南方医科大学南方医院

牵头人：王红阳 院士 侯金林 教授

承担单位：和瑞基因



PreCar研究的阶段性方案设计



1. 临床前实验室研究

- 开发实验方法
- 建立数据处理与质控流程
- 确立潜在分类标志物



2. 回顾性研究

- 肿瘤/非肿瘤人群队列
- 多组学/多指标分析探索
- 分类特征初步评估



3. 前瞻性队列

- 前瞻性肝癌风险人群建立
- 队列样本多时点跟踪随访取样检测
- 随访数据优化转癌风险预测模型



4. 早筛模型/癌症控制

- 转癌风险表型解析
- 转癌预警模型构建
- 肝癌极早期筛查诊断

临床前实验研究



1. 临床前实验室研究

- 开发实验方法
- 建立数据处理与质控流程
- 确立潜在分类标志物



2. 回顾性研究

- 肿瘤/非肿瘤人群队列
- 多组学/多指标分析探索
- 分类特征初步评估



3. 前瞻性队列

- 前瞻性肝癌风险人群建立
- 队列样本多时点跟踪随访取样检测
- 随访数据优化转癌风险预测模型



4. 早筛模型/癌症控制

- 转癌风险表型解析
- 转癌预警模型构建
- 肝癌极早期筛查诊断

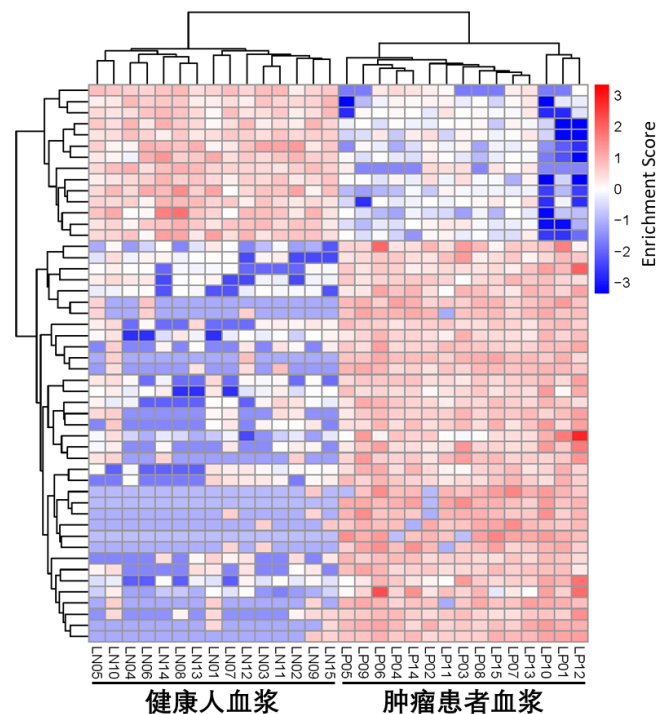
cfDNA 5hmC信号检测

R^2	S1-R1	S1-R2	S2-R1	S2-R2	S3-R1	S3-R2
S1-R1	1	0.732	0.71	0.709	0.732	0.722
S1-R2	0.732	1	0.705	0.707	0.729	0.718
S2-R1	0.71	0.705	1	0.708	0.717	0.707
S2-R2	0.709	0.707	0.708	1	0.715	0.704
S3-R1	0.732	0.729	0.717	0.715	1	0.734
S3-R2	0.722	0.718	0.707	0.704	0.734	1

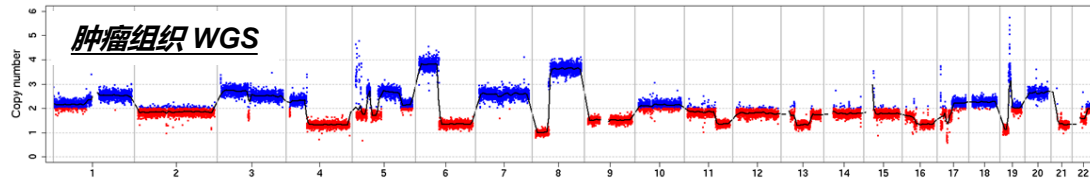
样本技术重复的富集信号显示出良好的重复性

- 血浆样本(S1/S2/S3), 技术重复(-R1/-R2)
- 5-30 ng cfDNA (2 mL 血浆)

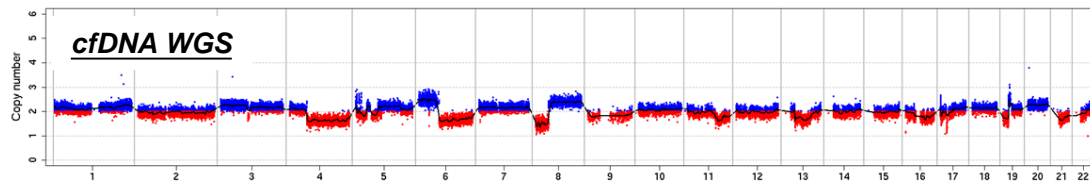
健康人与患者的富集指数显示出明显的差异



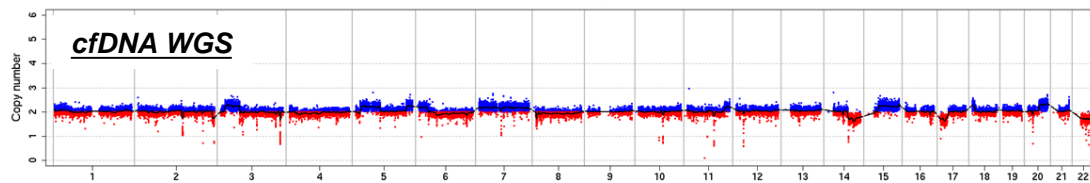
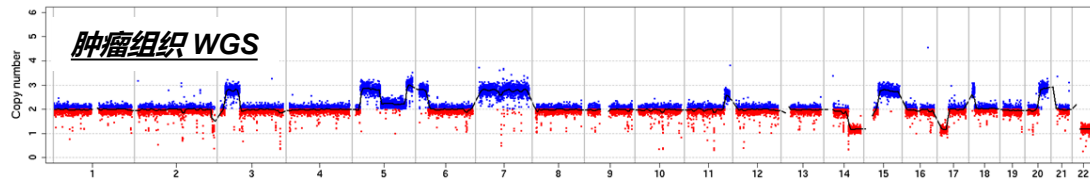
cfDNA全基因组测序



- 肿瘤组织中的CNV信号在血浆中可检测

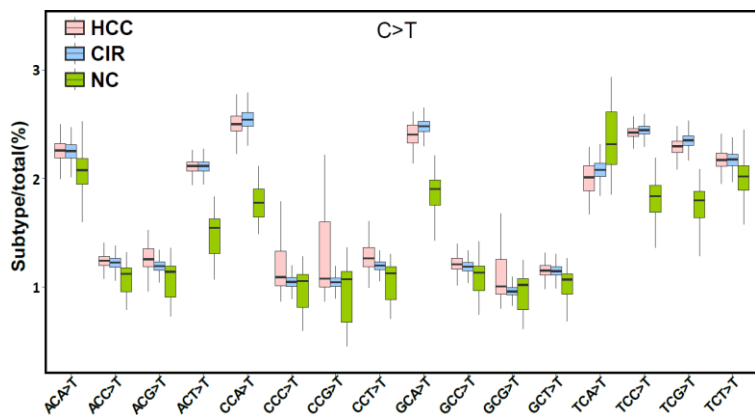


- 信号在低至平均1×基因组覆盖深度下仍可稳定检出

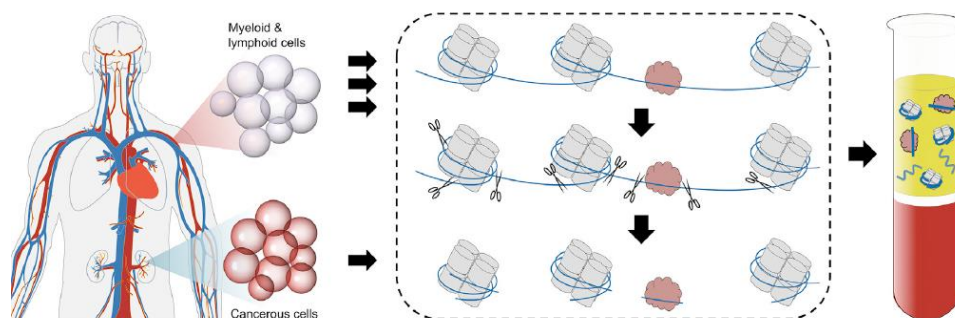


cfDNA全基因组测序数据中的信号挖掘

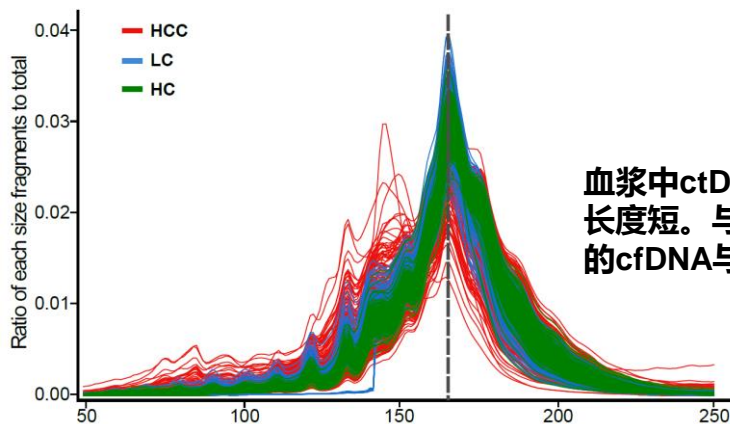
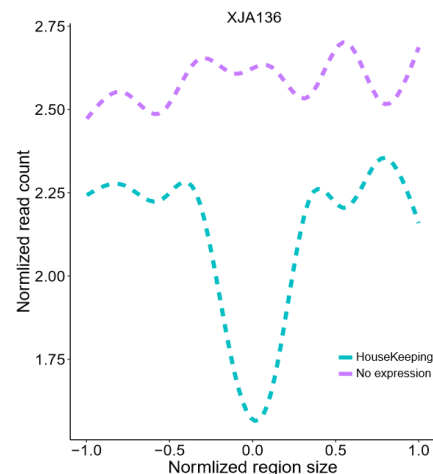
- 除拷贝数变异信号外，我们利用cfDNA全基因组测序数据能够挖掘到肿瘤患者特有的其它特征信号，例如单碱基替换特征，核小体分布，DNA片段化特征。



肝癌基因组特有体细胞突变特征在HCC患者血浆中富集



在血浆WGS数据中，可以清晰的看到活跃表达基因启动子区覆盖深度较沉默基因启动子区显著降低。



血浆中ctDNA的片段长度比正常的cfDNA片段长度短。与非肿瘤个体相比，肿瘤患者短片段的cfDNA与长片段比例不稳定。

在肝癌-非肿瘤对照个体中的回顾性分析



1. 临床前实验室研究

- 开发实验方法
- 建立数据处理与质控流程
- 确立潜在分类标志物



2. 回顾性研究

- 肿瘤/非肿瘤人群队列
- 多组学/多指标分析探索
- 分类特征初步评估



3. 前瞻性队列

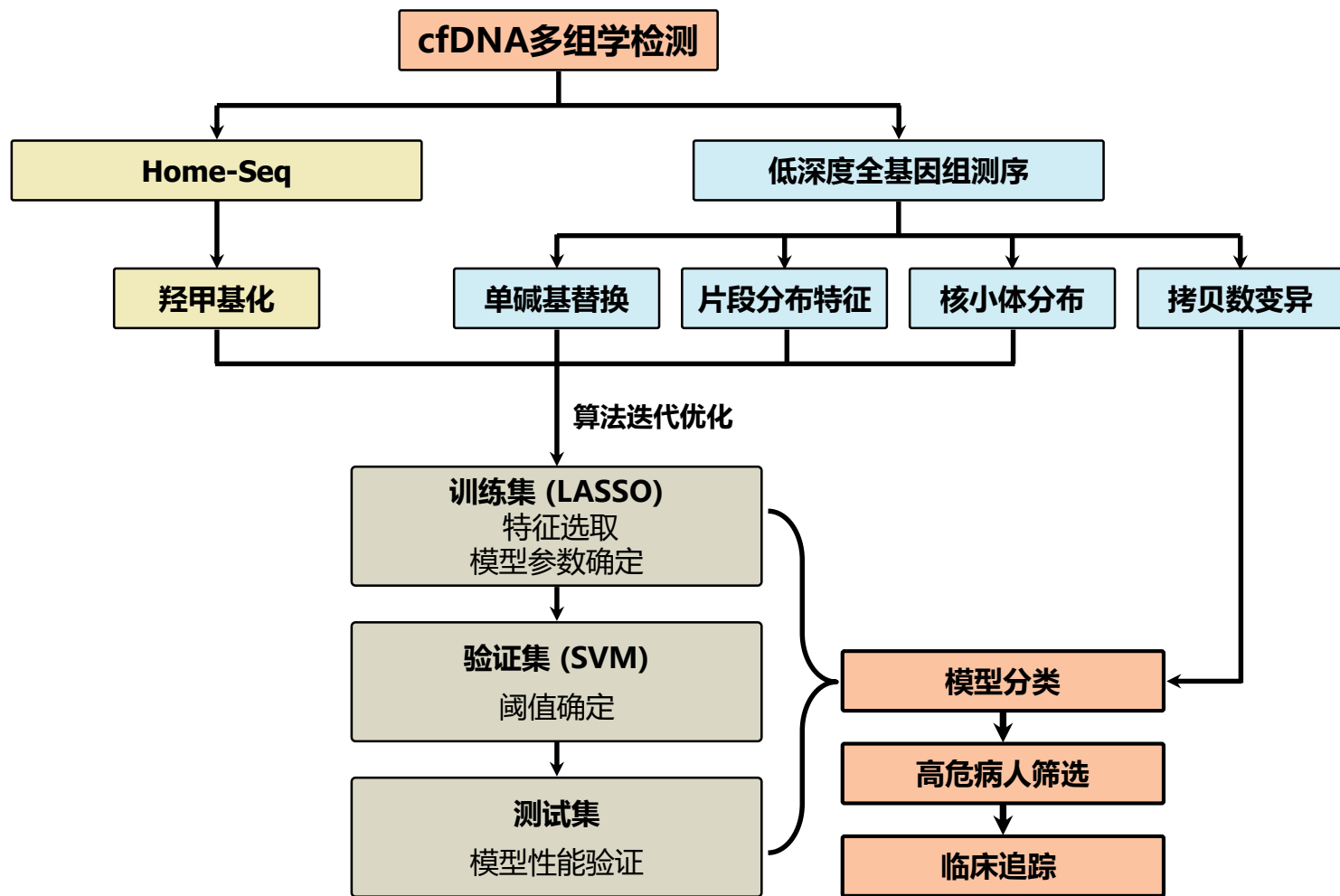
- 前瞻性肝癌风险人群建立
- 队列样本多时点跟踪随访取样检测
- 随访数据优化转癌风险预测模型



4. 早筛模型/癌症控制

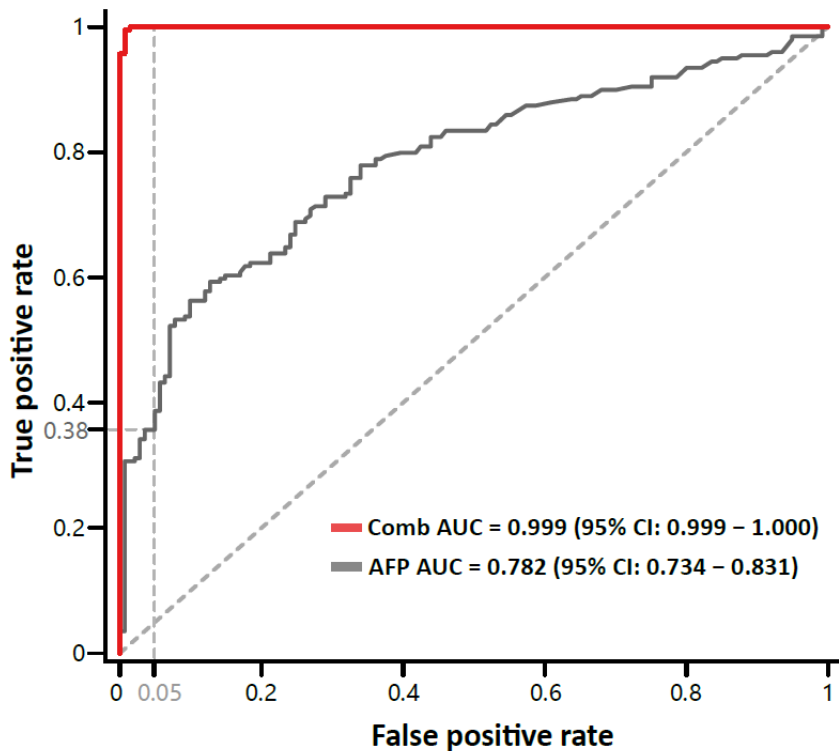
- 转癌风险表型解析
- 转癌预警模型构建
- 肝癌极早期筛查诊断

cfDNA多组学整合分析策略



cfDNA多组学整合分析策略

前期研究所构建多组学分类器模型，能够对HCC与健康人血浆做到准确分类（独立验证集中**AUC达0.999**），与传统的血清学标志物AFP表现相比，性能提升显著



验证集 (定义阈值)		
实际 \ 预测	肝癌	健康人
肝癌	48	0
健康人	0	50
灵敏度/特异性	100.00%	100.00%

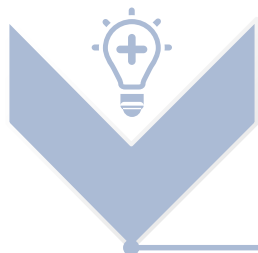
测试集 (模型性能验证)		
实际 \ 预测	肝癌	健康人
肝癌	208	2
健康人	0	139
灵敏度/特异性	100.00%	98.58%

前瞻性队列研究



1. 临床前实验室研究

- 开发实验方法
- 建立数据处理与质控流程
- 确立潜在分类标志物



2. 回顾性研究

- 肿瘤/非肿瘤人群队列
- 多组学/多指标分析探索
- 分类特征初步评估



3. 前瞻性队列

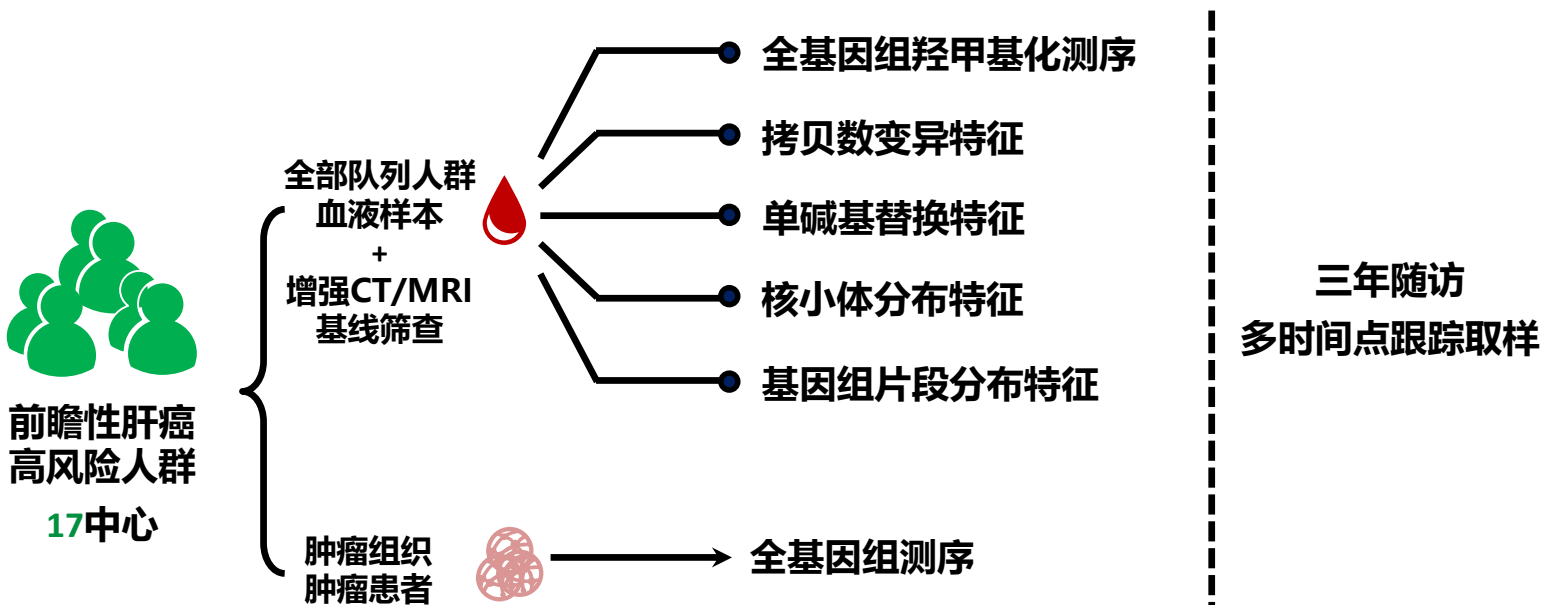
- 前瞻性肝癌风险人群建立
- 队列样本多时点跟踪随访取样检测
- 随访数据优化转癌风险预测模型



4. 早筛模型/癌症控制

- 转癌风险表型解析
- 转癌预警模型构建
- 肝癌极早期筛查诊断

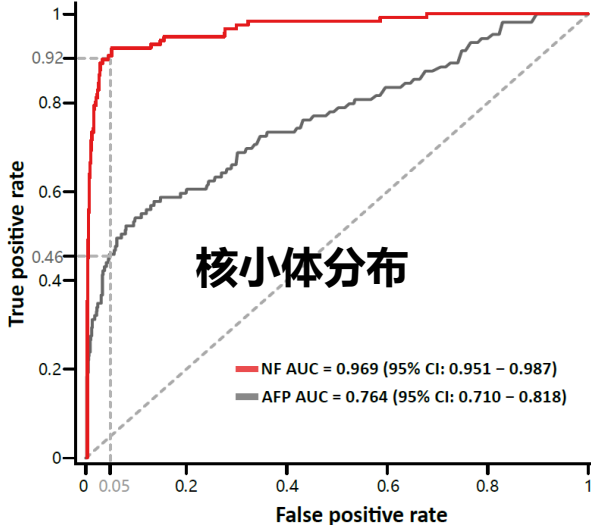
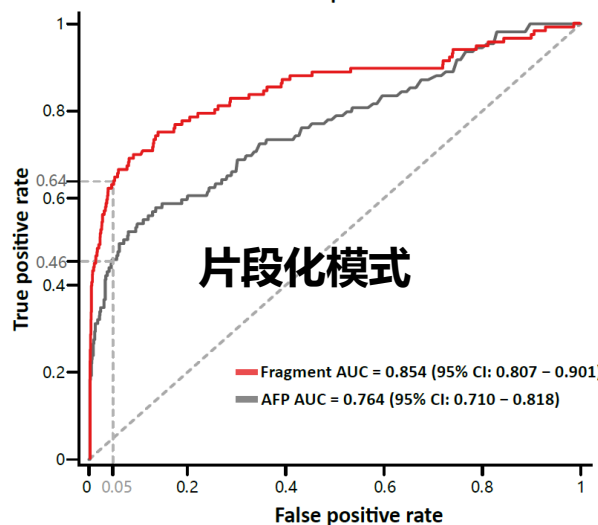
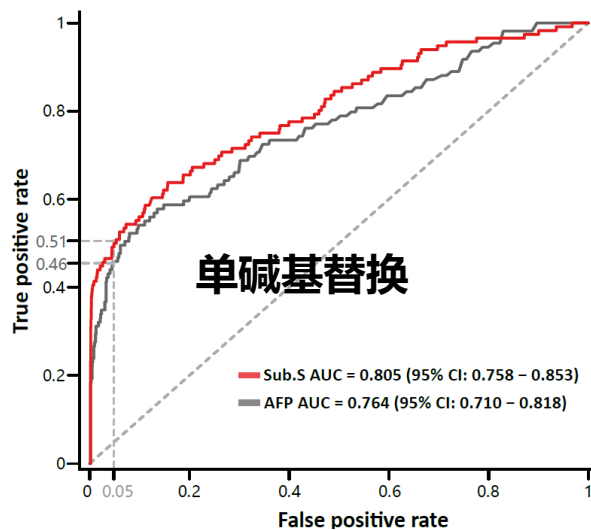
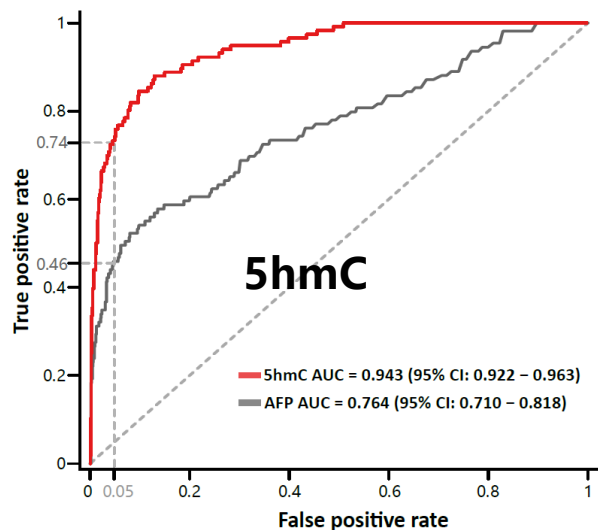
前瞻性队列设计与样本入组情况



截至2019年8月，PRECAR先导与正式队列入组情况

类别	检测类型		多组学
	Home-Seq	WGS	
肝癌患者	541	536	516
健康对照	452	493	451
肝硬化患者	3042	3058	2939

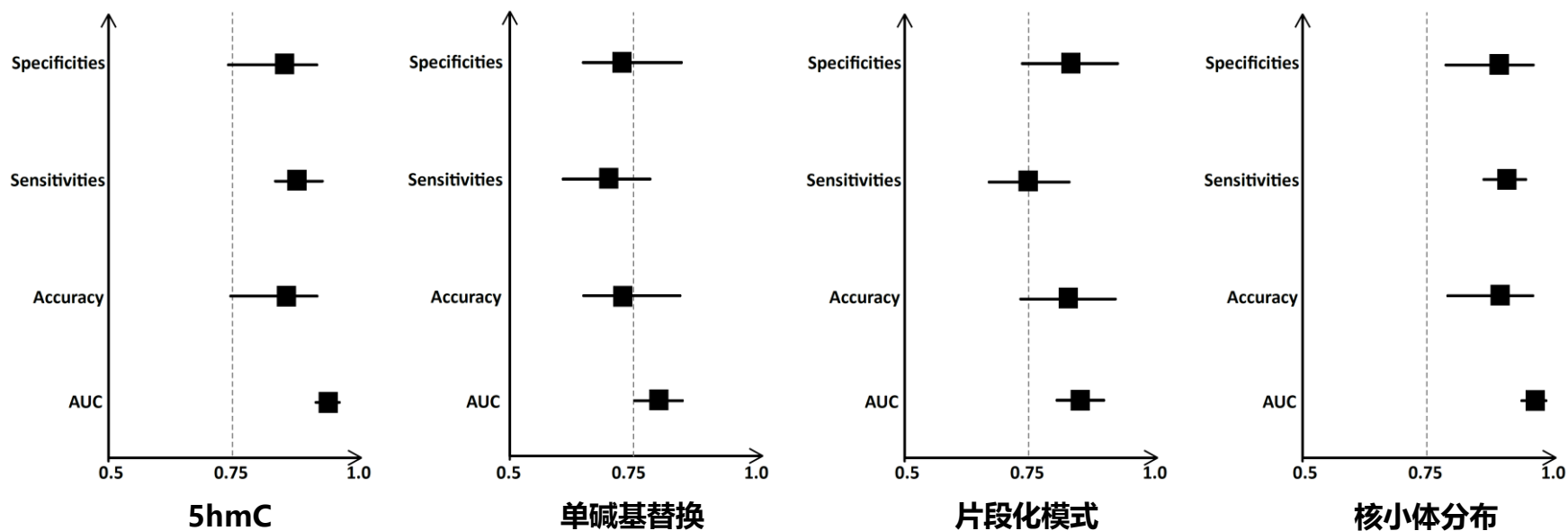
肝硬化队列样本各单指标模型预测性能



- 各指标对分类均有贡献
- 与AFP相比均有提升

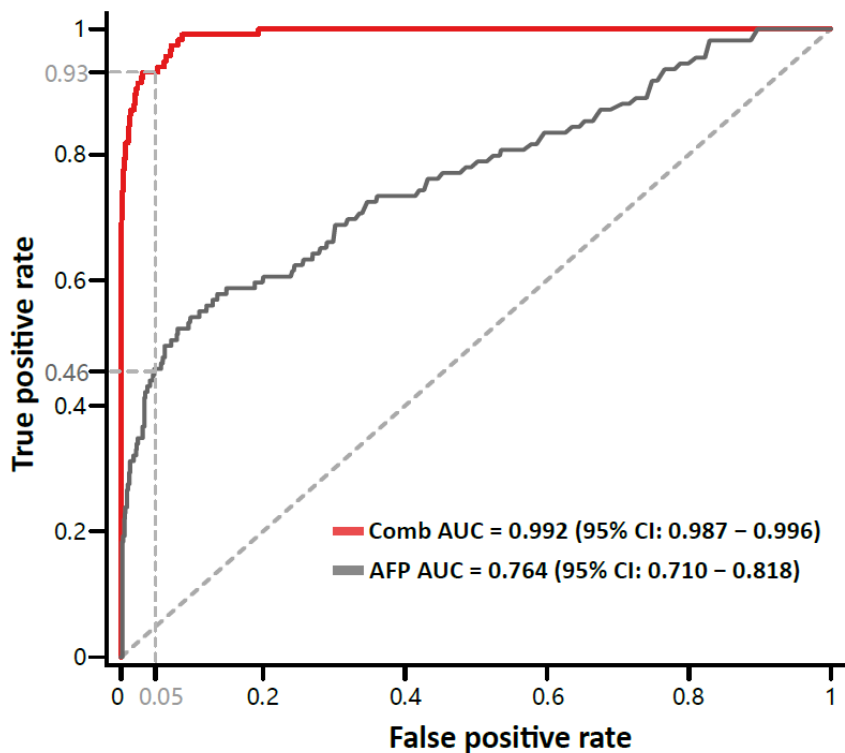
肝硬化队列样本各单指标模型预测性能

各组学特征在不同维度上表现不同，通过整合分析将这些指标构建成为一个多组学分类器将会提高整体分类性能，实现在肝硬化群体中识别高转癌风险个体



肝硬化队列样本多组学整合模型预测性能

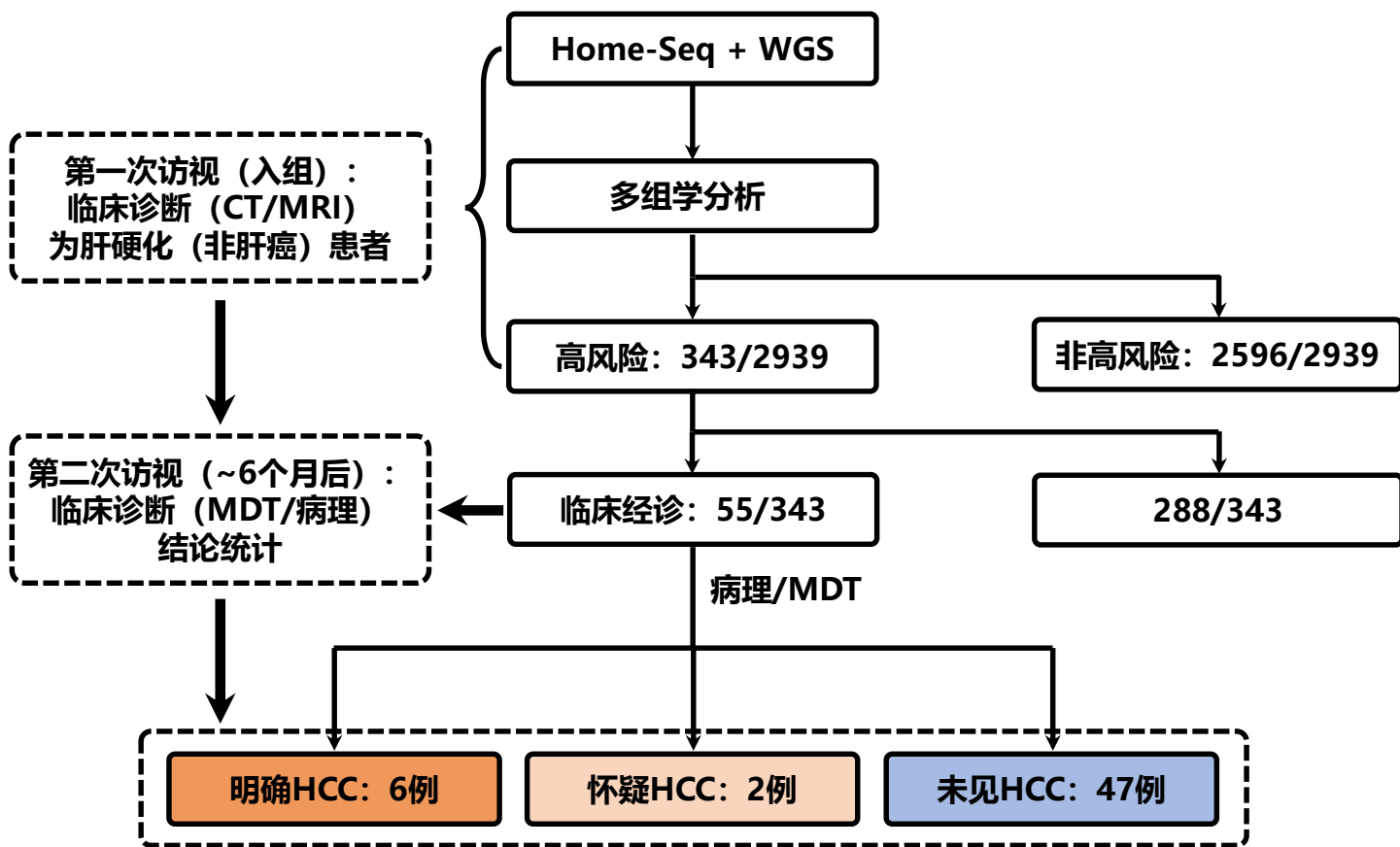
整合多种组学、多维度指标构建的分类器性能优良，回归分析验证其性能达到 **AUC=0.992**，**灵敏度和特异性分别达到93.10%和96.04%**，相比与传统血清标志物和单组学指标优势明显



验证集 (定义阈值)		
实际 \ 预测	肝癌	肝硬化
肝癌	94	6
肝硬化	6	161
灵敏度/ 特异性	94.00%	96.41%

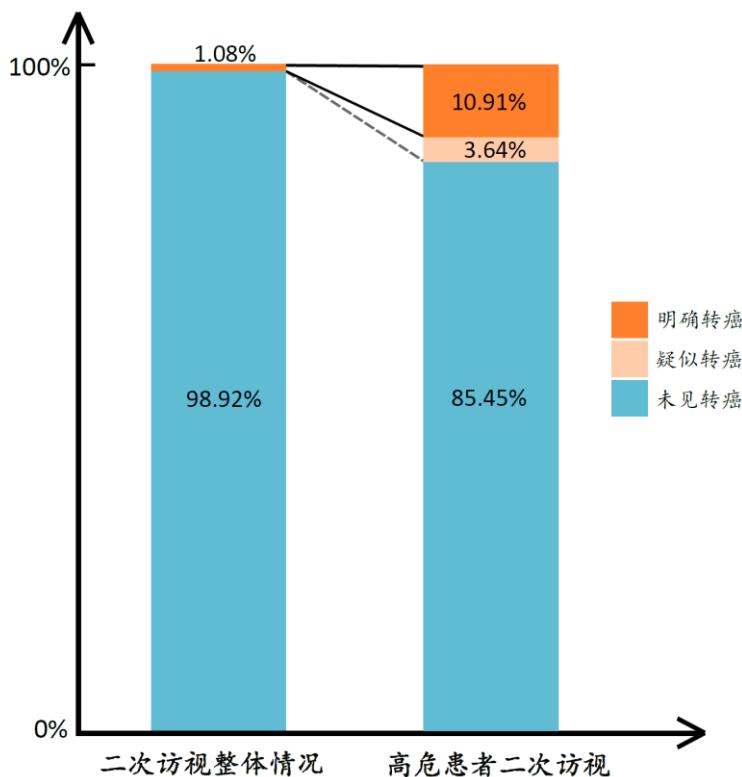
测试集 (模型性能验证)		
实际 \ 预测	肝癌	肝硬化
肝癌	108	94
肝硬化	8	2279
灵敏度/ 特异性	93.10%	96.04%

第一次访视高风险样本确定与6个月后随访情况



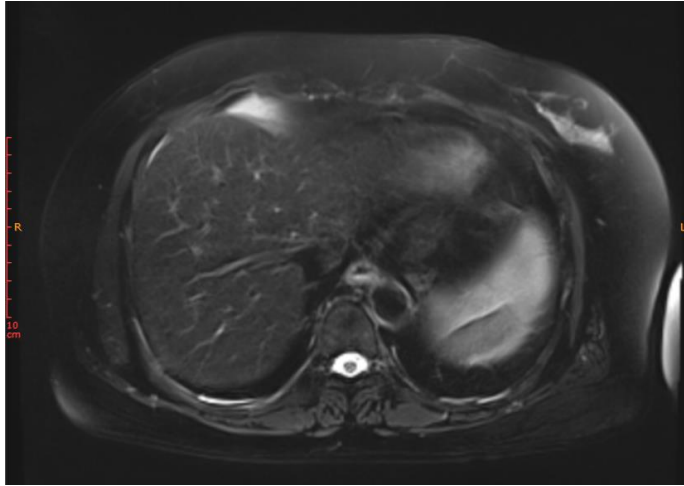
首次入组时，模型预测为高转癌风险的肝硬化患者，在第二次访视时的临床诊断情况，其中55名高风险患者经临床诊断明确肝细胞癌6例，疑似肝细胞癌2例。

第一次访视高风险样本确定与6个月后随访情况



在前瞻队列，经预测为高风险的肝硬化患者群体中，半年内发现癌变的比例是指南推荐筛查方案人群转癌比例的**10-14倍**，即模型**有效地预测了高转癌风险**。

转癌病例分享



2018-10-25 (首次入组)

患者女, 57岁, 乙肝肝硬化代偿期

AFP: 3.4ng/mL; DCP: 37mAU/mL

B超: 符合肝硬化表现伴脂肪肝

MRI: 肝硬化, 脂肪肝

cfDNA多组学整合判断结论: 转癌高风险



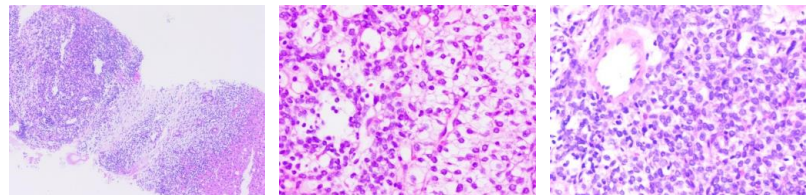
2019-05-11 (随访)

AFP: 3.4ng/mL; DCP: 30mAU/mL

B超: 肝内声像符合肝硬化表现伴脂肪肝; 低回声结节

MRI: 左肝结节 (0.93×0.72cm), 较符合MT声像改变

病理诊断结果: 肝细胞癌 (GPC-3+, Arg-1+)



早筛模型的确立与临床应用



1. 临床前实验室研究

- 开发实验方法
- 建立数据处理与质控流程
- 确立潜在分类标志物



2. 回顾性研究

- 肿瘤/非肿瘤人群队列
- 多组学/多指标分析探索
- 分类特征初步评估



3. 前瞻性队列

- 前瞻性肝癌风险人群建立
- 队列样本多时点跟踪随访取样检测
- 随访数据优化转癌风险预测模型



4. 早筛模型/癌症控制

- 转癌风险表型解析
- 转癌预警模型构建
- 肝癌极早期筛查诊断

肝癌筛查 — 从梦想到现实

开发多组学检测实验技术，稳定检测肝癌患者cfDNA特征性信号

多指标分析分类模型构建，精准区分肿瘤与非肿瘤血浆

对转癌高风险患者进行有效区分与预判，在肿瘤极早期有效干预

实现肝癌
早筛早诊

肝癌预警模型建立
临床管理模式更新

致谢



PreCar项目团队

- 上海东方肝胆外科医院
- 广州南方医科大学南方医院
- 福建医科大学孟超肝胆医院
- 宁波市第二医院
- 新疆医科大学附属第一医院
- 山东大学第二医院
- 赤峰市医院
- 吉林大学第一医院
- 重庆西南医院
- 上海公共卫生中心
- 徐州第一人民医院
- 苏北人民医院
- 武汉市中心医院
- 徐州市传染病医院
- 佛山市第一人民医院
- 上海华山医院
- 福建和瑞基因科技有限公司



南方医科大学
Southern Medical University



南方醫院
NANFANG HOSPITAL

感谢聆听
277-488-109
欢迎批评指正