

## · 医学快讯 ·

## 超敏感的方法测定循环肿瘤 DNA 让更多患者受益

循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 作为无创的肿瘤标志物具有良好的发展前景,但目前对其的应用仍面临一些问题,如敏感性不足、适用范围有限等。Newman 等于 2014 年 4 月 6 日在《Nature Medicine》上发表题为《An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage》的论著,称其开发的一种高敏感度 ctDNA 定量检测方法 (cancer personalized profiling by deep sequencing, CAPP-Seq) 有助于解决上述困难,并报道了 CAPP-Seq 技术在非小细胞肺癌 (non-small-cell lung cancer, NSCLC) 中的应用。

### 1 CAPP-Seq 筛选体系

CAPP-Seq 是微量 DNA 处理技术和多阶段生物信息学方法的结合体。研究者首先在 Catalogue of Somatic Mutation in Cancer (COSMIC) 和其他数据库中选择潜在启动基因中包含频发突变的外显子区,再通过迭代算法对 The Cancer Genome Atlas (TCGA) 数据库中 407 名患者全外显子组测序数据进行突变筛选。在尽量减小筛选体系中突变总数量的情况下使每个病例所携带的 (体系内包含的) 突变数量最大化,然后再纳入 ALK、ROS1 和 RET 等基因中频发融合断点旁边的外显子和内含子区域。至此一共纳入了 139 个频发突变基因的 521 个外显子和 13 个内含子,长度约 125 kb。

### 2 方法优化和性能评估

研究者对肿瘤细胞系、原发肿瘤、外周血淋巴细胞以及患者和正常对照的血浆等共 90 份标本的选定区域进行了约 10000× 的测序,并对方法的检出限和测序准确率等方面进行了评估,还对筛选体系进行了适当优化,并指出检测到 4 个以上单碱基突变可以作为判定肿瘤的界值。

### 3 体细胞突变检测与肿瘤负荷定量分析

研究者对 17 例 NSCLC 患者的肿瘤标本进行 CAPP-

Seq 检测,发现之前在 CAPP-Seq 筛选体系中鉴定出的突变在这批标本中均能找到。研究者又基于筛选体系开发 ctDNA 检测指数 (ctDNA detection index),并绘制受试者工作特征曲线 (ROC) 曲线评估该方法用于肿瘤预测的敏感度和特异性,并对 13 例患者的 35 份血浆标本以及 5 例正常对照血浆标本进行分析,发现该方法的灵敏度和特异性分别高达 85% 和 96%。而对于 II ~ IV 期的肿瘤患者,敏感性更是高达 100%。

### 4 血浆 ctDNA 与肿瘤负荷的关系

对血浆 ctDNA 进行检测发现,治疗前血浆中 ctDNA 水平与 CT 和 PET 等影像学检查所见的肿瘤体积显著相关 ( $r^2=0.89, P=0.0002$ )。在治疗过程中,ctDNA 水平同样与肿瘤体积高度相关。II、III 期患者在放射治疗过程中可能因为炎症或纤维化而使得影像学检查无法正确判断肿瘤体积,而研究者给出的个案表明,ctDNA 水平与临床预后之间的相关性似乎优于影像学检查。

### 5 非侵入性肿瘤筛查与基因分型

研究者进一步用 CAPP-Seq 分析 ctDNA 是否能用于肿瘤筛查和非侵入性的基因分型。通过分析血浆中 ctDNA 的突变类型与肿瘤组织基因型的相关性,研究者发现该方法检测 EGFR 和 KRAS (kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog) 中频率高于 0.1% 的突变时,检出率为 100%,特异性为 99%,提示 CAPP-Seq 可能用于局部晚期或转移性 NSCLC 患者的非侵入性肿瘤基因分型。

研究者认为,CAPP-Seq 的优点在于高灵敏度和高特异性,可以不加调整地应用于几乎所有的 NSCLC 患者,而且可以推广到其他肿瘤类型,因此具有良好的应用前景。

(阎文婷 摘译 姜军 审校)

(收稿日期:2014-05-26)

(本文编辑:罗承丽)

阎文婷. 超敏感的方法测定循环肿瘤 DNA 让更多患者受益[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版,2014,8(3):224.