

## 循环肿瘤 DNA 在乳腺癌诊疗中的应用

胡家树 武宸仰 房林

**【摘要】** 乳腺癌在中国的发病率和病死率呈现上升趋势,延长乳腺癌患者生存期,提高患者的生存质量面临着挑战。循环肿瘤 DNA(ctDNA)存在于癌症患者的血液循环中,便于获得,可以通过扩增子测序、肿瘤个性化分析深度测序、数码测序等技术对患者的 ctDNA 进行基因分析。ctDNA 分析结果对乳腺癌的早期诊断、药物监测及个体化治疗方案制定等方面都有一定帮助,是值得深入研究的肿瘤治疗新方向。

**【关键词】** 乳腺肿瘤; 肿瘤细胞,循环; DNA

**【中图分类号】** R737.9 **【文献标志码】** A

目前,中国的癌症病情具有发病死亡人数多、影响因素复杂、发展趋势不乐观等特点。近年来,随着中国老龄化进程的加快以及环境污染、个人不健康生活方式等因素的持续影响,中国癌症总体发病率和病死率呈现上升趋势<sup>[1]</sup>。其中乳腺癌是女性癌症发病之首<sup>[2]</sup>。随着手术、化疗、内分泌治疗及靶向治疗等多种治疗手段的综合应用,乳腺癌患者的生存期明显延长,如何进一步提高乳腺癌患者的生存质量和生存期面临着更大的挑战。循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)能为患者的早期诊断、用药、监测病情提供信息。笔者对近年来国内外有关 ctDNA 及其在乳腺癌诊疗中的应用研究作一综述。

### 一、ctDNA 简介

ctDNA 是指肿瘤细胞体细胞 DNA 经脱落或者当细胞凋亡后释放进入循环系统,在人体血液循环系统中不断流动的携带一定特征(包括突变、缺少、插入、重排、拷贝数异常、甲基化等)的肿瘤基因组 DNA 片段<sup>[3]</sup>。学者们对于 ctDNA 的释放机制还没有完全掌握,通过研究,推测其来源主要有:(1)来自于坏死的肿瘤细胞;(2)来自于凋亡的肿瘤细胞;(3)循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC);(4)来自于肿瘤细胞分泌的外泌体<sup>[4]</sup>。由于 DNA 的特异性,不同的癌细胞克隆群落就有自己独一无二的 ctDNA,因此对肿瘤患者进行 ctDNA 的检测是一种更为精确合理的检验方法。通过提取患者血浆中 ctDNA 获取肿瘤的全部片段,而不是对肿瘤的某一特殊部位进行活组织检查,可以体现出患者疾病的大致轮廓,从而评估患者当前肿瘤的所有突变和克隆情况<sup>[5]</sup>。2015 年,WHO 指出:组织人群进行乳腺 X 线摄影筛查可以降低 20% 的乳腺癌病死率<sup>[6]</sup>。但在肿瘤发生的早期,患者没有明显体征,即使进行乳腺 X 线摄影筛查,也不能发现极早期的乳腺癌,也因此会错失最佳的治疗时期和行保留乳房

手术的可能性。此外,肿瘤血清蛋白标志物的监测也是现有的一种早期发现肿瘤的重要方法,但由于其敏感度高而特异度不足的原因,也不能成为肿瘤早期诊断的金标准,例如甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP),它不是恶性肿瘤组织特有,还会存在于良性肿瘤及胚胎组织中。因此,目前缺乏早期诊断肿瘤的最佳手段。ctDNA 来源于肿瘤细胞,携带着不同肿瘤遗传信息的基因片段。其是通过肿瘤特异性突变和基因组拷贝数变异而非肿瘤细胞 DNA 区分,还可以通过异常的 DNA 甲基化与之进行区分。在肿瘤中 DNA 序列和甲基化的改变是一致的。特殊启动子区域的异常甲基化与癌症有非常一致的特点,然而,基因变异一般发生在更加广泛的区域。这种一致性使得 ctDNA 适合于广泛的临床检测设计<sup>[7]</sup>。对血液中的 ctDNA 进行筛查可能成为今后各种肿瘤早期诊断的低创伤、高特异的有效手段。

### 二、ctDNA 的检测方法

ctDNA 的检测可以称作“液体活组织检查”,是指运用敏感的血液学检测方法在血细胞中检测并分析潜在的肿瘤细胞。许多肿瘤患者血液中可测得 ctDNA 含有与实体肿瘤细胞相同的分子畸变,并且通过血液取样可以克服肿瘤异质性和可获得性等问题<sup>[8]</sup>。另外,组织处理过程中(如酸性脱钙骨切片),固定和储存可能会损伤 DNA,影响之后的基因突变检测。文献报道,在 34 例患者中,有 7 例肿瘤患者没有获得足够的实体活组织检查材料,成功率为 76%,形成鲜明对比的是,液体活组织检查只需要快速抽血,且与固体活组织检查的一致性高达 97%<sup>[9]</sup>。但由于 DNA 酶活性,ctDNA 在血液中的稳定性较差,肿瘤细胞几乎在产生的同时就开始消亡<sup>[10]</sup>。通常而言,外周血每毫升血浆中含有 17 ng 的 DNA<sup>[4]</sup>。最大的挑战是 ctDNA 的检测。ctDNA 平均是由 170 对碱基组成的小碎片,只能代表游离循环 DNA(cell-free circulating DNA, cfDNA)的 0.01%<sup>[8]</sup>。在晚期胰腺癌、膀胱癌、大肠癌、胃癌、乳腺癌、恶性黑色素瘤、肝癌和头颈部肿瘤患者中的 ctDNA 检出率均大于 75%,但在原发性脑癌、肾癌、前列腺癌或甲状腺癌患者中 ctDNA 的检出率小于 50%;而在早期结直肠癌、胃食管癌、胰腺癌和乳腺癌患者中 ctDNA 的检出率

分别为73%、57%、48%和50%<sup>[10]</sup>。

### 1. 扩增子测序技术

扩增子测序技术属于第二代测序技术(next-generation sequencing, NGS),其基本原理是边合成边测序。用不同颜色的荧光标记4种不同的脱氧核糖核苷三磷酸(deoxy-ribonucleotide triphosphate, dNTP),当DNA聚合酶合成互补链时,每添加一种dNTP就会释放出不同的荧光,根据捕捉的荧光信号并经过特定的计算机软件处理,从而获得待测DNA的序列信息。针对各种来源的DNA,通过多重PCR技术,把ctDNA携带的特殊的基因突变区段扩增出来,进行高通量测序和分析。用NGS检测ctDNA可以同时检测出多个体细胞突变。虽然早期NGS的ctDNA检测方法在多数临床应用的有效度较低,但是,最近研制出的NGS检测方法保证了超高敏感度的ctDNA的检测<sup>[11]</sup>。用扩增子测序技术对10例HER-2阳性晚期乳腺癌患者的外周血进行肿瘤相关基因突变检测,与全基因组/全显子组测序相比,在同样数据量的情况下可以达到非常高的测序精度。10例患者血细胞及血浆DNA样品目标区域基因检测覆盖度均达到100%<sup>[12]</sup>。

### 2. 肿瘤个性化分析深度测序(cancer personalized profiling by deep sequencing, CAPP-Seq)

CAPP-Seq是新的第二代测序技术,是一种更为经济、敏感的检测方法<sup>[13]</sup>。为了更敏感的检测ctDNA,一种基于捕获技术的NGS出现了,就是CAPP-Seq。CAPP-Seq可以用于特定肿瘤类型的绝大多数患者,并且可以探测所有主要类型的突变,包括单核苷酸多样性、插入和缺失、重排和拷贝数的改变。基于捕获技术的NGS方法在测序之前通过杂交靶向基因成反义寡核苷酸来丰富基因组。这种方法是可扩展的,以至于大部分基因都是可以检测的。因此,CAPP-Seq对患者进行肿瘤多基因突变检测,它增加了检测的敏感度,更便于对患者的肿瘤异质性评估。这些特性使得CAPP-Seq成为一个有效的工具,在临床使用时,能有效地分析不同患者ctDNA<sup>[14]</sup>。对非小细胞性肺癌患者使用CAPP-Seq检测,能检测出活组织检查无法检测的表皮生长因子激酶的结构域,检测出的突变在不同的水平有92%的敏感度和大于99.99%的特异度<sup>[15]</sup>。用NGS分析ctDNA是一种检测和监测不同患者ctDNA强有力的手段。Sohwaederle等<sup>[16]</sup>从171例不同肿瘤患者外周血中获得血液样本分析其ctDNA(54个基因和EGFR、HER-2及MET这3个基因的基因拷贝数),其中99例(58%)患者至少检测出一个基因改变,65%的不同类型癌症与27%的胶质母细胞瘤可通过ctDNA的异常被检出。

### 3. 数码测序

数码测序是一种新兴的ctDNA高质量测序方法。这种方法在一块综合板上使用最简单的血样检测,可以同时测超过50个与肿瘤相关的基因。数码测序近乎完美的分析特异度(>99.99%)能够覆盖大部分基因,且排除了传统测序手法分析突变等位基因片段会出现的假阳性概率。数码测序采用一个预备的数字文库,文库由分别标记的ctDNA分子组成,通过测序后得到的生物信息消除了可能的假阳性。这种

方法在所有54个基因和EGFR、HER-2及MET的扩增拷贝数中都可以检测单一核苷酸的多样性。患者通过这种血液检测,可以避免因初次病理组织检查得到无效结果而再次进行活组织检查。该方法还可以让那些经过肿瘤治疗仍然进展或者复发的患者避免反复进行侵入性病理活组织检查,从而减轻了患者痛苦<sup>[17]</sup>。而且,液体活组织检查的特异度为99.2%,在检测同一个癌基因的情况下,液体活组织检查与肿瘤组织活组织检查敏感度的一致性有95%相近<sup>[10]</sup>。血浆样品中的突变水平反映了肿瘤细胞的克隆等级。同一例转移性乳腺癌患者的活组织检查和血浆样本的比较可以显示出,ctDNA能够提供多病灶的克隆演变实时信息<sup>[18]</sup>。根据目前的研究,ctDNA在IV期癌症患者中的敏感度接近100%<sup>[19]</sup>。并且,在乳腺癌患者的ctDNA、糖链抗原15-3和CTC的检测中,ctDNA的敏感度最高,与其余两者的敏感度相差27%<sup>[12]</sup>。另外,健康群体、乳腺良性病变患者与乳腺癌患者之间血清ctDNA含量的测定比较中,健康群体与乳腺良性病变患者分别与乳腺癌患者的血清ctDNA含量比较,差异都有统计学意义,而健康群体与乳腺良性病变患者之间血清ctDNA含量比较差异无统计学意义<sup>[20]</sup>。

### 三、乳腺癌 ctDNA 的临床应用

ctDNA的检测在临床的应用可以有助于乳腺癌的早期诊断,还可为个体化治疗制定出最有效的方案,并进行诊疗监测。

#### 1. 早期诊断

早期乳腺癌一般不具备典型的症状和体征,不会被患者察觉并重视。患者发觉肿块于医院就诊配合影像学检查后才可确诊,往往延误了乳腺癌的早期诊断和治疗。由于ctDNA来源于肿瘤细胞,理论上体内只要有肿瘤细胞存在,随着肿瘤细胞的坏死或裂解,就会有ctDNA产生,临床上对血液中ctDNA进行检测会比影像学检查更早发现恶性肿瘤的存在。通常情况下,乳腺癌在确诊时已被定义为全身性疾病,这也意味着肿瘤的不治愈性。有研究表明,乳腺癌每个肿瘤细胞基因含有几个到几百的重排和突变。ctDNA可通过乳腺癌患者血液检查出含有特异度的肿瘤染色体重排<sup>[21]</sup>。对于仅有局限性肿瘤的患者,其血液中有丰富ctDNA,可以明确有癌症发生的可能,就可以考虑使用辅助治疗。因为对于血液化验检测方法敏感度的提高,在肿瘤的早期筛查可以使用ctDNA作为一项标准,特别是在高风险的个体可以进行重复监测<sup>[22]</sup>。而且ctDNA的半衰期很短,约2h左右<sup>[7]</sup>,可在短时间内动态评估癌症的情况,更加有利于对乳腺癌进行早期诊断。ctDNA敏感度高,特异度高,半衰期短。这3点足以证明,ctDNA的检测为乳腺癌的早期发现、早期诊断提供了新的思路。一项最新研究表明应用ctDNA检测早期乳腺癌的可能性,在乳腺癌中,磷脂酰肌醇激酶催化亚单位A(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha, PIK3CA)是一个常见的突变,通过对血液中该突变的检测,可以在手术前发现肿瘤,在手术前的血液样本中呈现出93%的一致性<sup>[8]</sup>。检测PIK3CA野生型肿瘤样本的血浆中没有PIK3CA突变。最新检测方法高水

平的敏感度(93.3%)和特异度(100%)使得采用 ctDNA 诊断早期乳腺癌变得可能<sup>[8]</sup>。

## 2. 个体化治疗方案

过去10年,对于乳腺癌患者的治疗有了明显的发展,这是由于进一步对肿瘤分子生物学和不同患者特征的了解促进了这些最新进展。要对过去千篇一律的治疗模式做出改变,如今新的医疗模式应该注重更加精准的治疗。最近几年,对于乳腺癌患者的检测和治疗也已越来越多地集中在个体患者和肿瘤特征之上<sup>[23]</sup>。通过 ctDNA 监控,为提高癌症患者生存率和生活质量打开一个新思路,还可对癌症的发生和/或复发进行早期识别,并可分出预后较好和较差的群体<sup>[24]</sup>。ctDNA 在评估微小残留瘤中的作用也被 Schiavon 等<sup>[25]</sup>分析,在其前瞻性队列研究中,检测 55 例早期乳腺癌患者血液中 ctDNA,可以在术后确定是否还有微小残留瘤,并分析出是否有复发转移可能,对 ctDNA 分析结果不同的患者给予不同的治疗方案,可以改变术后单一的治疗模式。ctDNA 是以每个患者肿瘤的基因信息为基础,以此去设计适合不同患者的治疗方案,可以选择最恰当的药物和用药剂量。现在基因检测技术的飞速发展和成本的下降,使通过 ctDNA 制定肿瘤个体化治疗方案成为可能,并且 ctDNA 在肿瘤个体化治疗中也是有作用的<sup>[13]</sup>。Schiavon 等<sup>[25]</sup>做了一项研究,在 171 例晚期乳腺癌患者中通过检测 ctDNA 分析 ER $\alpha$  突变。该研究发现,ER $\alpha$  突变与患者更短的无进展生存期有关,有该突变的患者还可能发生肿瘤转移。学者们可以通过分析 ctDNA 检测出有 ER $\alpha$  突变的乳腺癌患者,设计好有针对性的个体化治疗方案,并能提前预估部分患者可能存在较差的预后,预先给这些患者设计更为合适的治疗方案,从而给这些患者带来更好的治疗结果。

## 3. 诊疗监测

ctDNA 不仅可以预示机体肿瘤细胞的存在,对乳腺癌患者 ctDNA 进行动态监测还能够对患者的治疗(包括手术治疗、化疗、放射治疗、靶向治疗等)疗效提供预示作用。有研究表明,体细胞突变的分子模式会改变肿瘤对治疗的反应,还会影响肿瘤的进展,尽管如何用来实行和监测治疗的方法还不清晰,但如果对血清中肿瘤基因进行详细分析成为可能,ctDNA 就可以提供患者在治疗过程中的直观数据,可以对早期疗效和总体疗效反应进行评估<sup>[26]</sup>。研究表明,ctDNA 是转移性乳腺癌和非转移性乳腺癌患者中的一个特异的高度敏感的肿瘤标志物,通过对这种核酸的分子分析,研究者们已经把重点放在特定的基因上,通过此分析,可能预先了解到转移性乳腺癌进行化疗出现耐药的概率<sup>[11]</sup>。对 ctDNA 定量评价可以有效地对不同的肿瘤治疗进行肿瘤负荷监测。对 ctDNA 的检测可以有效监控正在进行手术或者化疗患者的肿瘤动态。通过手术,可以从原发肿瘤组织中获得一小片段的肿瘤特异性突变,然后就可以用这些特异性突变去探测 ctDNA 中的突变。这种手术干预后对肿瘤负荷的监测是一种有利且节约成本的方法<sup>[27]</sup>。虽然相同肿瘤类型患者 ctDNA 的绝对水平不一致,但是个体患者相关的 ctDNA 的相对水平被证实与肿瘤负荷和治疗反应相关<sup>[22]</sup>。ctDNA 是对

肿瘤诊疗过程一个可信的肿瘤标志物。手术后血液中 ctDNA 的数量普遍下降,但在多数的病例中并未下降到无法检测的水平<sup>[19]</sup>。对血液中仍残存 ctDNA 的患者配合系统的化疗,可以更好地治疗乳腺癌。血液中 ctDNA 的半衰期约为 2 h,血浆或血清水平可以非常快速提供患者肿瘤状态的变化。因此,化疗期间可以通过 ctDNA 的变化调整为合适的化疗方案。此外,手术切除肿瘤后,患者血液中肿瘤 DNA 的持续存在很有可能反映了患者体内仍有残留的肿瘤组织,还可能与患者较差的预后有关<sup>[7]</sup>。另一方面,靶向治疗已经成为各种癌症治疗方式中的热点,对 ctDNA 进行分析也很有希望对靶向治疗反应进行监测,可以提供耐药的早期预警和基因基础性耐药的潜在信息<sup>[28]</sup>。临床上,对于 HER-2 阳性乳腺癌患者常进行抗 HER-2 治疗,通常为曲妥珠单抗克隆抗体靶向治疗,多数(66%~68%)初次用药治疗有效的患者在用药 1 年内就会产生对曲妥珠单抗克隆抗体的耐药,而现在临床上还没有预测耐药出现的检测手段<sup>[29]</sup>。检测乳腺癌患者血液 ctDNA 中耐药基因的表达是当前曲妥珠单抗克隆抗体耐药检测手段的新思路。另有研究证实,有 PI3K 基因突变的乳腺癌患者抗 HER-2 治疗疗效较差,其完全缓解率为 19%,而没有该基因突变的患者可以达到 33%<sup>[23]</sup>。因此,通过 ctDNA 对 PI3K 基因的检测也可以在临床上作为预后和预测病情发展的参照。

## 四、结语

ctDNA 存在于肿瘤患者外周血中,获取便利,对患者创伤性小。相比复杂、昂贵、创伤较大的病理活组织检查而言,ctDNA 便于反复采集,高敏感度、高特异度使得 ctDNA 在癌症诊疗过程中具有很高的价值。ctDNA 对于乳腺癌的早期诊断、药物监测、个体化治疗方案制定等方面都有较高的价值,是非常值得深入研究并推广到临床中使用的新一代乳腺癌检测技术。

但是,ctDNA 仍然存在较多的问题需要学者们去探索。将 ctDNA 检测出基因突变直接用于临床上指导治疗尚无充足数据支持。虽然现在各种基因检测技术发展和完善非常迅速,但至今还没有一个可以作为基准的定量测量标准和统一的检测分析方法。如何制定出一套标准化检测 ctDNA 的方法是在未来将其应用于临床的关键。理论上,ctDNA 对乳腺癌的诊治是具有明确的临床指导意义的,值得通过大量的基础实验和临床试验对 ctDNA 进行研究,期待 ctDNA 在未来成为乳腺癌精准治疗的重要手段。

## 参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,中华人民共和国国家发展和改革委员会,中华人民共和国教育部,等.《中国癌症防治三年行动计划(2015-2017年)》制订[J].中国肿瘤临床与康复,2016,23(2):177.
- [2] Ward EM, DeSantis CE, Lin CC, et al. Cancer statistics: breast cancer in situ[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(6):481-495.
- [3] Jen J, Wu L, Sidransky D. An overview on the isolation and analysis of circulating tumor DNA in plasma and serum[J]. Ann N Y Acad Sci,

- 2000, 906: 8-12.
- [4] Perkins G, Yap TA, Pope L, et al. Multi-purpose utility of circulating plasma DNA testing in patients with advanced cancers[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e47020.
- [5] Leary RJ, Sausen M, Kinde I, et al. Detection of chromosomal alterations in the circulation of cancer patients with whole-genome sequencing [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(162): 162ra154.
- [6] World Health Organization. Breast cancer: prevention and control[EB/OL]. [2016-04-02]. <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index3.html>.
- [7] Warton K, Mahon KL, Samimi G. Methylated circulating tumor DNA in blood: power in cancer prognosis and response[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2016, 23(3): R157-171.
- [8] Saliou A, Bidard FC, Lantz O, et al. Circulating tumor DNA for triple-negative breast cancer diagnosis and treatment decisions[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2016, 16(1): 39-50.
- [9] Diaz LA Jr, Williams RT, Wu J, et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers [J]. *Nature*, 2012, 486(7404): 537-540.
- [10] Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(224): 224ra24.
- [11] Forte VA, Barrak DK, Elhodaky M, et al. The potential for liquid biopsies in the precision medical treatment of breast cancer[J]. *Cancer Biol Med*, 2016, 13(1): 19-40.
- [12] Dawson SJ, Tsui DW, Murtaza M, et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(13): 1199-1209.
- [13] Newman AM, Bratman SV, To J, et al. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage[J]. *Nat Med*, 2014, 20(5): 552-554.
- [14] Bratman SV, Newman AM, Alizadeh AA, et al. Potential clinical utility of ultrasensitive circulating tumor DNA detection with CAPP-Seq[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2015, 15(6): 715-719.
- [15] Newman AM, Lovejoy AF, Klass DM, et al. Integrated digital error suppression for improved detection of circulating tumor DNA[J]. *Nat Biotechnol*, 2016, 34(5): 547-555.
- [16] Schwaederle M, Husain H, Fanta PT, et al. Detection rate of actionable mutations in diverse cancers using a biopsy-free (blood) circulating tumor cell DNA assay [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(9): 9707-9717.
- [17] Lanman RB, Mortimer SA, Zill OA, et al. Analytical and clinical validation of a digital sequencing panel for quantitative, highly accurate evaluation of cell-free circulating tumor DNA [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0140712.
- [18] Murtaza M, Dawson SJ, Pogrebnik K, et al. Multifocal clonal evolution characterized using circulating tumor DNA in a case of metastatic breast cancer[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8760.
- [19] Diehl F, Schmidt K, Choti MA, et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics[J]. *Nat Med*, 2008, 14(9): 985-990.
- [20] 李京华, 徐波, 李红艳, 等. 循环肿瘤 DNA 定量方法的建立及其临床应用的初步研究[J]. *中华老年医学杂志*, 2010, 29(1): 38-41.
- [21] Olsson E, Winter C, George A, et al. Serial monitoring of circulating tumor DNA in patients with primary breast cancer for detection of occult metastatic disease[J]. *EMBO Mol Med*, 2015, 7(8): 1034-1047.
- [22] Haber DA, Velculescu VE. Blood-based analyses of cancer: circulating tumor cells and circulating tumor DNA [J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(6): 650-661.
- [23] Maass N, Schütz F, Fasching PA, et al. Breast cancer update 2014 - focus on the patient and the tumour[J]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2015, 75(2): 170-182.
- [24] Pereira E, Camacho-Vanegas O, Anand S, et al. Personalized circulating tumor DNA biomarkers dynamically predict treatment response and survival in gynecologic cancers [J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0145754.
- [25] Schiavon G, Hrebien S, Garcia-Murillas I, et al. Analysis of ESR1 mutation in circulating tumor DNA demonstrates evolution during therapy for metastatic breast cancer [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(313): 313ra182.
- [26] Fasching PA, Brucker SY, Fehm TN, et al. Biomarkers in patients with metastatic breast cancer and the PRAEGNANT study network [J]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2015, 75(1): 41-50.
- [27] Sato KA, Hachiya T, Iwaya T, et al. Individualized mutation detection in circulating tumor DNA for monitoring colorectal tumor burden using a cancer-associated gene sequencing panel [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146275.
- [28] Huang Z, Gu B. Circulating tumor DNA: a resuscitative gold mine? [J]. *Ann Transl Med*, 2015, 3(17): 253.
- [29] Stern HM. Improving treatment of HER-2-positive cancers: opportunities and challenges [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(127): 127rv2.

(收稿日期:2016-04-06)

(本文编辑:宗贝歌)

胡家树, 武宸仰, 房林. 循环肿瘤 DNA 在乳腺癌诊疗中的应用[J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2017, 11(1): 39-42.