doi:10.11659/jjssx.10E022124

·临床研究·

基于ctDNA的分子残留病灶检测对非小细胞肺癌根治术后生存的预测效能

晨正宇[1],周 薇[2],熊 婧[3],李 强[3],赵巧丹[3],梁 栋[3],艾 成[3] (1.重庆医科大学第一临床学院/重庆医科大学附属第一医院全科医学科/胸外科,重庆 400016;2.重庆医科大学基础医学院,重庆 400016;3.重庆医科大学附属璧山医院胸心外科,重庆 402760)

[摘 要] **目的** 探讨基于循环肿瘤DNA(ctDNA)的分子残留病灶(MRD)检测对非小细胞肺癌(NSCLC)患者根治术后近远期生存的预测效能。**方法** 选取重庆医科大学附属第一医院胸外科行根治术治疗的114例NSCLC患者为研究对象,于术后1周采集患者静脉血,采用液态活检和二代测序技术检测ctDNA MRD。统计患者术后MRD阳性率,并分析其与临床病理特征的关系。记录患者术后1年、5年生存情况,采用*Kaplan-Meier*生存曲线比较MRD阳性和阴性患者的近远期生存率,采用*Cox*回归模型分析NSCLC根治术后近远期生存的影响因素,分析MRD检测对NSCLC根治术后近远期生存的预测效能。**结果** NSCLC患者术后MRD阳性率为36.84%,低/未分化、肿瘤直径>3 cm、纵隔淋巴结转移、TNM分期ⅢA期的NSCLC患者MRD阳性率分别高于高/中分化、肿瘤直径≤3 cm、无纵隔淋巴结转移、TNM分期Ⅰ~Ⅱ期患者(P<0.05)。NSCLC患者术后1年、5年生存率分别为83.33%、52.63%,MRD阳性患者近远期生存率均低于MRD阴性患者(P<0.001)。低/未分化、肿瘤直径>3 cm、TNM分期ⅢA期、术后MRD阳性均是影响NSCLC根治术后患者近远期生存的危险因素(P<0.05),而纵隔淋巴结转移是影响NSCLC根治术后患者远期生存的危险因素(P<0.05)。术后MRD预测NSCLC患者根治术后近期生存的灵敏度、特异度、准确度分别为73.68%、89.47%、76.32%,预测远期生存的灵敏度、特异度、准确度分别为95.00%、72.22%、84.21%。**结论** NSCLC患者MRD阳性率与肿瘤分化程度、TNM分期、肿瘤大小等有关,是影响NSCLC根治术后近远期生存的危险因素,且对近远期生存预测具有重要价值。

[关键词] 非小细胞肺癌;循环肿瘤DNA;分子残留病灶;根治术;生存
[中图分类号] R734.2 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-10-24

Predictive efficacy of minimal residual disease detection based on ctDNA on survival of non-small cell lung cancer after radical surgery

CHEN Zheng-yu[1],ZHOU Wei[2],XIONG Jing[3],LI Qiang[3],ZHAO Qiao-dan[3],LIANG Dong[3],AI Cheng[3] (1.First Clinical College,Chongqing Medical University/Department of General Medicine/Department of Thoracic Surgery,First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University,Chongqing 400016,China;2.Basic Medical College,Chongqing Medical University,Chongqing 400016,China;3.Department of Thoracocardiac Surgery,Bishan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University,Chongqing 402760,China)

Abstract: Objective To investigate the predictive efficacy of minimal residual disease (MRD) detection based on circulating tumor

[基金项目] 重庆市璧山区科技项目(BSKJ20210031)
[通信作者] 梁 栋,E-mail:354540166@qq.com;艾 成,E-mail:nbpfh58@163.com

[11] Knaapen M,van Amstel P,van Amstel T,et al. Outcomes after appendectomy in children with acute appendicitis treated at a tertiary paediatric centre:results from a retrospective cohort study[J]. Langenbecks Arch Surg,2021,406(1):163-169. doi:10.1007/s00423-020-01976-y.
[12] Koppatz H, Harju J, Sirén J, et al. Three-dimensional versus two-dimensional high-definition laparoscopy in cholecystectomy: a prospective randomized controlled study[J]. Surg Endosc, 2019, 33(11):3725-3731. doi:10.1007/s00464-019-06666-5.
[13] Bhattacharjee HK, Chaliyadan S, Mishra AK, et al. Comparison of two-dimensional high-definition, ultra high-definition and three-dimensional endovision systems: an ex-vivo randomised study[J]. Surg Endosc, 2021,35(9):5328-5337. doi:10.1007/s00464-020-07980-z.
[14] Kanaji S, Watanabe R, Mascagni P, et al. Three-dimensional imaging improved the laparoscopic performance of inexperienced operators: a prospective trial[J]. Surg Endosc, 2020, 34(11): 5083-5091. doi: 10.1007/s00464-019-07308-6.
[15] Botteri E, Ortenzi M, Alemanno G, et al. Laparoscopic appendectomy performed by junior aurgeons:impact of 3D visualization on surgical outcome. Randomized multicentre clinical trial(LAPSUS TRIAL)[J]. Surg Endosc,2021,35(2):710-717. doi:10.1007/s00464-020-07436-4.
[16] Li J, Xi H, Guo X, et al. Surgical outcomes and learning curve analysis of robotic gastrectomy for gastric cancer:multidimensional analysis compared with three-dimensional high-definition laparoscopic gastrectomy[J]. Int J Oncol,2019,55(3):733-744. doi:10.3892/ijo.2019.4851.
[17] 周小兵,李冰心,陈爱军,等. 3D腹腔镜手术治疗小儿阑尾周围脓肿[J]. 临床小儿外科杂志, 2020, 19(5): 437-440. doi: 10.3969/j.issn.1671-6353.2020.05.012.
[18] 吴开李,王连臣,符国宏. 腹腔镜手术对穿孔性阑尾炎患者术后切口感染和免疫功能的影响[J]. 湖南师范大学学报(医学版),2020,17(2):102-106. doi:10.3969/j.issn.1673-016X.2020.02.031.
[19] 仲富瑞,程宦立,张 浩,等. 三维与二维腹腔镜胆囊切除术治疗胆囊良性疾病疗效与安全性比较的Meta分析[J]. 中国普通外科杂志,2020,29(8):936-944. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.08.004.

(编辑:龙小芬)

DNA (ctDNA) on the short-term and long-term survivals of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) after radical surgery. **Methods** A total of 114 patients with NSCLC who underwent radical surgery in the Department of Thoracic Surgery of First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University were included, and the venous blood samples of patients 1 week after surgery were collected, and ctDNA MRD was detected by liquid biopsy and second-generation sequencing technology. The positive rate of MRD after surgery was counted, and its relationship with clinicopathological features was analyzed. The 1-year and 5-year survivals of patients after surgery was recorded. The short-term and long-term survival rates of MRD positive patients and negative patients were compared by *Kaplan-Meier* survival curve. The influencing factors of short-term and long-term survivals after NSCLC radical surgery were analyzed by *Cox* regression model, and the predictive efficacy of MRD detection on short-term and long-term survivals after NSCLC radical surgery was analyzed. **Results** The positive rate of MRD in NSCLC patients after surgery was 36.84%. The positive rate of MRD in NSCLC patients with low/undifferentiated tumor, tumor diameter>3 cm, mediastinal lymph node metastasis and TNM stage of ⅢA was higher than that in patients with high/moderate differentiation tumor, tumor diameter≤3 cm, non-metastasis of mediastinal lymph node and TNM stage of Ⅰ/Ⅱ (P<0.05). The 1-year and 5-year survival rates of NSCLC patients were 83.33% and 52.63%, respectively, and the short-term and long-term survival rates in the MRD positive patients were lower than those in the MRD negative patients (P<0.001). Low/undifferentiated tumor, tumor diameter>3 cm, TNM stage of ⅢA and postoperative MRD positive were all risk factors affecting the short-term and long-term survivals after NSCLC radical surgery (P<0.05); besides, mediastinal lymph node metastases affected the long-term survival after NSCLC radical surgery (P<0.05). The sensitivity, specificity and accuracy of postoperative MRD in predicting the short-term survival of NSCLC patients after radical surgery were 73.68%, 89.47% and 76.32% respectively, and the sensitivity, specificity and accuracy of postoperative MRD in predicting the long-term survival were 95.00%, 72.22% and 84.21% respectively. **Conclusion** The positive of MRD in NSCLC patients is related to the degree of tumor differentiation, TNM stage, tumor size, which is a risk factor that affects the short-term and long-term survival after NSCLC radical surgery, and has an important value for the prediction of short-term and long-term survivals.

Keywords: non-small cell lung cancer; circulating tumor DNA; minimal residual disease; radical surgery; survival

肺癌在全球所有恶性肿瘤中发病率仅次于乳腺癌，其中非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer，NSCLC）在肺癌中占比高达80%[1]。肺癌根治术是外科治疗NSCLC的重要手段，但仅部分患者治愈或长期生存获益。既往研究显示，ⅠA~ⅢB期肺癌患者根治术后3年及5年生存率仅为54%和46%，说明根治术后肺癌患者的生存率仍较低[2]。术后复发和转移是NSCLC患者手术治疗失败和死亡的主要原因，研究显示，部分患者即使辅助放化疗，其术后2年复发率高达36%且复发患者病死率达83%[3]。目前，NSCLC术后常通过影像学检查、肿瘤标志物检测来监测肿瘤复发和转移，肿瘤标志物水平升高虽可早期发现肿瘤复发，但特异度不高，仍需结合影像学检查进一步明确，但当影像学检查发现复发病灶时患者肿瘤负荷已明显升高，治疗困难，患者病死率极高，因此具有一定局限性[4]。在影像学检查发现NSCLC复发前，找到能够有效预测肿瘤复发的标志物对指导临床早期治疗、提高患者生存率具有重要意义。分子残留病灶（minimal residual disease，MRD）概念来源于血液系统肿瘤，指治疗后传统实验室和影像学检查不能发现的癌来源分子异常。循环肿瘤DNA（circulating tumor DNA，ctDNA）是游离于血液中的肿瘤细胞DNA片段，可以跟踪肿瘤负荷状态，目前常以ctDNA作为MRD的检测指标，具有评估肿瘤治疗效果及预后的价值[5]。近年来研究发现，MRD与结肠癌、乳腺癌等实体瘤术后复发密切相关[6-7]，但其在肺癌中的作用有待进一步研究。故本研究基于ctDNA检测评估NSCLC患者根治术后MRD，并分析其对患者近远期生存的预测价值，以期为NSCLC临床早期预测、治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2016年7月至2017年6月在重庆医科大学附属第一医院胸外科行肺癌根治术治疗的114例NSCLC患者作为研究对象。纳入标准：原发性NSCLC，且经病理检查证实；年龄>18岁；接受肺癌根治术治疗。排除标准：合并心、脑、肝、肾等重要器官疾病；合并其他恶性肿瘤；合并急性感染、免疫或血液性疾病；术前已发生远处转移；术前接受放化疗、免疫治疗等；术后病理检查示手术标本切缘阳性。本研究已通过重庆医科大学附属第一医院伦理委员会批准（201605-002），所有患者均对本研究知情同意。

1.2 方法

1.2.1 基于ctDNA的MRD检测 血样采集及处理：术后1周采集患者肘静脉血10 mL，并于2 h内4 ℃下3 000 r/min离心10 min，将上层血浆分装到离心管

中,再次以3 000 r/min离心10 min,去除血细胞成分,将上层血浆保存到冻存管中备检。ctDNA的提取及检测:采用QIAsymphony DSP循环DNA试剂盒(德国Qiagen公司,批号:1103177)从血浆中提取游离DNA,采用NanoDrop 2000超微量分光光度计(美国Thermo Fisher Scientific)和PicoGreendsDNA定量检测试剂盒(美国Life Technologies公司,批号:2475382)检验游离DNA的质量和数量。文库构建及测序:采用NEBNext® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina®试剂盒构建文库,根据说明书在DNA片段中添加带有f'f唯一标识符的测序接头,采用IlluminaHiseq 3000平台对DNA进行测序,每个样本平均测序量为15 GB。生物信息学分析:采用GATK软件对测序所得reads信息与人类参考基因组hg19比对进行突变分析和注释,将突变丰度≥0.02%的DNA设定为ctDNA突变阳性检出标准,即检出MRD[8]。依据检测结果将患者分为MRD阳性组和MRD阴性组。

1.2.2 资料收集 收集NSCLC患者的基本信息(年龄、性别、吸烟史等)、病理资料(病理类型、分化程度、病理分期、肿瘤直径、纵隔淋巴结转移等)和治疗情况(手术方式、术后化疗)。

1.2.3 随访术后 采用电话或门诊复查定期对患者进行随访,术后前3年每3~6个月随访1次,之后每6~12个月随访1次,以2022年6月1日或患者死亡作为随访终点,统计患者近期(术后1年)、远期(术后5年)生存率。

1.3 统计学分析

采用SPSS 26.0统计学软件进行数据处理,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本t检验;计数资料以率(%)表示,组间比较采用χ^2检验。绘制MRD阳性和阴性患者的*Kaplan-Meier*生存曲线,近远期生存率比较采用*Log-rank*检验;采用单因素和多因素*Cox*回归模型分析NSCLC患者术后近远期生存的影响因素。以患者术后随访结局为金标准,采用四格表法分析MRD检测对患者近远期生存的预测价值。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC不同临床病理特征患者MRD阳性率

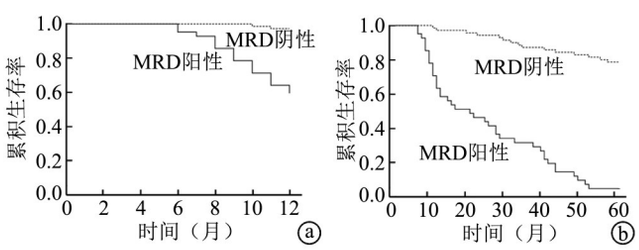
114例NSCLC患者中有42例(36.84%)MRD阳性。低/未分化、肿瘤直径>3 cm、纵隔淋巴结转移、TNM分期ⅢA期的NSCLC患者MRD阳性率分别高于高/中分化、肿瘤直径≤3 cm、无纵隔淋巴结转移、TNM分期Ⅰ~Ⅱ期患者,差异有统计学意义(P<0.05),见表1。

表1 NSCLC不同临床病理特征患者MRD阳性率比较[例(%)]

临床病理特征		n	MRD阳性	χ^2	P
性别	男	69	29(42.03)	2.021	0.155
	女	45	13(28.89)		
年龄	≤65岁	67	26(38.81)	0.269	0.604
	>65岁	47	16(34.04)		
病理类型	腺癌	74	29(39.19)	0.503	0.778
	鳞癌	31	10(32.26)		
	其他	9	3(33.33)		
分化程度	高/中分化	79	18(22.78)	21.852	<0.001
	低/未分化	35	24(68.57)		
肿瘤直径	≤3 cm	71	20(28.17)	6.085	0.014
	>3 cm	43	22(51.16)		
纵隔淋巴结转移	无	91	29(31.87)	4.796	0.029
	有	23	13(56.52)		
TNM分期	Ⅰ~Ⅱ期	89	28(31.46)	5.051	0.025
	ⅢA期	25	14(56.00)		

2.2 MRD阳性和阴性患者近远期生存情况

114例患者术后1年生存率为83.33%(95/114),5年生存率为52.63%(60/114);其中术后1年MRD阳性患者中25例存活、17例死亡,术后5年3例存活、39例死亡。*Kaplan-Meier*生存曲线显示,MRD阳性患者近远期生存率均低于MRD阴性患者(*Log-rank* χ^2=28.987、83.630,P<0.001),见图1。



a:术后近期生存曲线;b:术后远期生存曲线

图1 MRD阳性和阴性患者术后远期*Kaplan-Meier*生存曲线

2.3 NSCLC根治术后近远期生存的影响因素分析

将患者性别(女=0,男=1)、年龄(≤65岁=0,>65岁=1)、吸烟史(无=0,有=1)、病理类型(腺癌=0,鳞癌=1,其他=2)、分化程度(高/中分化=0,低/未分化=1)、肿瘤直径(≤3 cm=0,>3 cm=1)、纵隔淋巴结转移(无=0、有=1)、TNM分期(Ⅰ~Ⅱ期=0,ⅢA期=1)、手术方式(开放式=0、胸腔镜=1)、化疗周期(≤2个周期=0,>2个周期=1)、术后MRD阳性(否=0,是=1)作为自变量,将患者近远期生存情况(生存=0,死亡=1)作为因变量进行单因素分析,将单因素分析中差异有统计学意义的变

量纳入*Cox*模型中进行多因素逐步回归分析，结果显示：低/未分化、肿瘤直径>3 cm、TNM分期ⅢA期、术后MRD阳性均是影响NSCLC根治术后患者近远期生存的危险因素（$P<0.05$），纵隔淋巴结转移是影响NSCLC根治术后远期生存的危险因素（$P<0.05$），见表2。

表2 影响NSCLC根治术后近远期生存的单因素和多因素分析

变量	近期生存				远期生存			
	单因素分析		多因素分析		单因素分析		多因素分析	
	P	*HR*(95%*CI*)	*P*	*HR*(95%*CI*)	*P*	*HR*(95%*CI*)	*P*	*HR*(95%*CI*)
性别	0.850	0.941(0.755~1.239)			0.727	0.986(0.821~1.424)		
年龄	0.473	1.025(0.819~1.348)			0.215	1.192(0.933~1.57)		
吸烟史	0.068	1.293(0.955~1.874)			0.012	1.695(1.186~2.763)	0.164	1.138(0.905~1.761)
病理类型	0.562	0.875(0.635~1.218)			0.007	1.521(1.194~2.082)	0.223	0.940(0.734~1.482)
分化程度	<0.001	2.997(2.048~4.347)	0.002	1.812(1.267~2.953)	<0.001	4.803(2.951~6.760)	<0.001	2.561(1.624~4.375)
肿瘤直径	0.015	3.043(2.246~5.783)	0.010	1.522(1.045~2.439)	<0.001	4.175(2.503~6.185)	0.001	2.190(1.387~3.125)
纵隔淋巴结转移	0.022	2.006(1.456~3.254)	0.184	1.423(0.954~2.428)	<0.001	3.543(2.166~5.537)	0.007	2.316(1.654~3.441)
TNM分期	<0.001	3.218(2.478~4.605)	0.005	1.669(1.137~2.586)	<0.001	5.932(4.216~7.858)	<0.001	3.055(2.142~5.279)
手术方式	0.826	0.884(0.629~1.056)			0.746	0.978(0.810~1.142)		
化疗周期	0.094	1.525(1.047~2.369)			0.279	1.174(0.895~1.725)		
术后MRD阳性	<0.001	5.239(3.421~8.069)	<0.001	3.048(2.227~5.682)	<0.001	7.230(4.915~10.382)	<0.001	4.519(3.106~6675)

2.4 MRD对NSCLC根治术后近远期生存的预测价值

以NSCLC患者根治术后随访生存结局作为金标准，探讨术后MRD检测结果作为预测指标的价值，结果显示术后MRD预测患者术后近期生存的灵敏度、特异度、准确度分别为73.68%(70/95)、89.47%(17/19)、76.32%(87/114)，预测远期生存的灵敏度、特异度、准确度分别为95.00%(57/60)、72.22%(39/54)、84.21%(96/114)。

3 讨论

在全球范围内，我国是肺癌发病例数最多的国家，随着手术、放化疗等肿瘤治疗技术不断发展，肺癌病死率有所下降[9]，但NSCLC患者近远期生存率仍不高，本研究中NSCLC患者术后1年、5年生存率仅为83.33%、52.63%。近年来液态活检技术在恶性肿瘤中的应用备受关注，国内外已有研究证实血液中ctDNA在肿瘤诊疗、MRD和预后评估中具有巨大潜力[10-12]。因此，基于ctDNA对NSCLC患者进行MRD检测来预测其术后生存情况具有重要意义。

既往相关研究报道，胃癌Ⅰ~Ⅱ期、Ⅲ期患者ctDNA阳性率分别为21%、68%，胰腺癌转移患者ctDNA阳性率为78.3%，宫颈癌患者ctDNA阳性率为33.3%，且在胃癌、宫颈癌不同病理分期、肿瘤直径、浸润程度中存在差异[13-15]，提示不同类型恶性肿瘤ctDNA阳性率也有差异。目前普遍认为ctDNA主要来源于肿瘤原发灶、转移灶、循环肿瘤细胞等，含有拷贝数变异、缺失、重排、甲基化等肿瘤基因突变信息，多因肿瘤细胞破裂或凋亡时释放入血，且取材方便、检测无创、半衰期不到2 h，能够实时反映肿瘤负荷和突变信息，监测治疗后MRD变化情况[16]。因此，本研究基于ctDNA检测MRD，结果显示NSCLC患者根治术后MRD阳性率为36.84%，且低/未分化、肿瘤直径>3 cm、纵隔淋巴结转移、TNM分期ⅢA期的NSCLC患者MRD阳性率分别高于高/中分化、肿瘤直径≤3 cm、无纵隔淋巴结转移、TNM分期Ⅰ/Ⅱ期患者，提示MRD阳性率与NSCLC分化程度、大小、分期、淋巴结转移等有关。考虑可能为低/未分化肿瘤恶性程度高，不仅生长速度快，还容易发生侵袭、转移，即使通过手术切除局部病灶，机体残留癌细胞的可能较大，导致ctDNA含量较高；肿瘤大小与肿瘤浸润、肿瘤分期相关，并且肿瘤的生长依赖血管生成，随着肿瘤增大，新生血管增多，进入血液循环的肿瘤细胞增多[17]；有淋巴结转移的患者手术难以清扫所有转移的淋巴结，残留的转移淋巴结亦会通过体液循环散播，导致ctDNA含量增加；TNM分期综合肿瘤大小、浸润深度、侵犯范围等评估肿瘤进展程度，分期越晚越有可能存在浸润和转移，术后肿瘤细胞残留可能性越大，故MRD阳性率也越高。

本研究采用*Kaplan-Meier*生存曲线比较MRD阳性和阴性患者的近远期生存率发现，MRD阳性患者近远期生存率均显著低于MRD阴性患者；经*Cox*回归分析发现，术后MRD阳性、低/未分化、肿瘤直径>3 cm、TNM分期ⅢA期等均是影响患者近远期生存的危险因素。术后MRD阳性提示NSCLC患者术后仍有肿瘤细胞残留，这些肿瘤细胞携带有原始肿瘤细胞的突变基因，仍有可能导致肿瘤复发和进展。Tie等[18]研究显

示,结肠癌术后ctDNA检测示MRD阳性是影响无复发生存期的独立危险因素(*HR*=3.8),本研究结果与之相符,证实MRD与肿瘤患者生存率密切相关,是肿瘤预后的标志物。Chaudhuri等[19]通过检测治疗后ctDNA识别MRD评价肺癌患者预后发现,72%的患者在CT检查出肿瘤直径增大前行ctDNA检查即检测到MRD,MRD阳性患者3年内均发生疾病进展,MRD阳性患者无进展生存率和总生存率均明显低于阴性患者,说明基于ctDNA的MRD检测是早期识别肺癌治疗后进展的重要方法,可能对术后生存具有预测价值。故本研究进一步分析术后MRD预测NSCLC患者根治术后近远期生存的价值,发现其预测近、远期生存的灵敏度、特异度、准确度均较高,表明术后MRD检测对NSCLC术后生存具有重要预测价值。

综上,术后基于ctDNA检测MRD阳性是影响NSCLC患者根治术后近远期生存的危险因素,有助于术后早期预测患者近远期生存率。但本研究中ctDNA检测费用较高且操作复杂,开展大样本量研究较为困难;NSCLC根治术后常需辅助治疗清除残留病灶,ctDNA检测结果可能会发生变化,故在术后可连续监测ctDNA评估MRD,以指导临床早期调整治疗方案,尽可能改善患者预后。

[参考文献]

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. doi: 10.3322/caac.21660.

[2] Weckler BC, Baldes N, Schirren J. Survival following multimodality treatment including surgery for stage ⅠA-ⅢB small-cell lung cancer [J]. Thorac Cardiovasc Surg, 2019, 67(4): 291-298. doi: 10.1055/s-0038-1667145.

[3] Evison M, Barrett E, Cheng A, et al. Predicting the risk of disease recurrence and death following curative-intent radiotherapy for non-small cell lung cancer: the development and validation of two scoring systems from a large multicentre UK cohort[J]. Clin Oncol (R CollRadiol), 2021, 33(3): 145-154. doi: 10.1016/j.clon.2020.09.001.

[4] Li J, Dong W, Liu LN, et al. Liquid biopsy for ALK-positive early non-small-cell lung cancer predicts disease relapse [J]. Future Oncol, 2021, 17(1): 81-90. doi: 10.2217/fon-2020-0554.

[5] Benetton M, Merli P, Walter C, et al. Molecular measurable residual disease assessment before hematopoietic stem cell transplantation in pediatric acute myeloid leukemia patients: a retrospective study by the I-BFM study group [J]. Biomedicines, 2022, 10(7): 1530. doi: 10.3390/biomedicines10071530.

[6] Xie H, Kim RD. The application of circulating tumor DNA in the screening, surveillance, and treatment monitoring of colorectal cancer [J]. Ann Surg Oncol, 2021, 28(3): 1845-1858. doi: 10.1245/s10434-020-09002-7.

[7] Magbanua MJM, Swigart LB, Wu HT, et al. Circulating tumor DNA in neoadjuvant-treated breast cancer reflects response and survival [J]. Ann Oncol, 2021, 32(2): 229-239. doi: 10.1016/j.annonc.2020.11.007.

[8] 吴一龙,陆 舜,程 颖,等. 非小细胞肺癌分子残留病灶专家共识[J]. 循证医学, 2021, 21(3): 129-135. doi: 10.12019/j.issn.1671-5144.2021.03.001.

[9] 赵 健,刘利群,艾飞玲,等. 中国2013—2018年≥30岁居民肺癌死亡率变化轨迹分析[J]. 中国公共卫生, 2021, 37(10): 1495-1500. doi: 10.11847/zgggws1132799.

[10] 朱李茹,华 影,唐晓磊. 自组装发光定量系统检测胆囊癌患者血清循环游离DNA的水平变化及意义[J]. 山东医药, 2021, 26(1): 25-28. doi: 10.3969/j.issn.1002-266X.2021.01.006.

[11] Bratman SV, Yang SYC, Iafolla MAJ, et al. Personalized circulating tumor DNA analysis as a predictive biomarker in solid tumor patients treated with pembrolizumab[J]. Nat Cancer, 2020, 1(9): 873-881. doi: 10.1038/s43018-020-0096-5.

[12] Parikh AR, Van Seventer EE, Siravegna G, et al. Minimal residual disease detection using a plasma-only circulating tumor DNA assay in patients with colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(20): 5586-5594. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-21-0410.

[13] Yang J, Gong Y, Lam VK, et al. Deep sequencing of circulating tumor DNA detects molecular residual disease and predicts recurrence in gastric cancer[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(5): 346. doi: 10.1038/s41419-020-2531-z.

[14] Hata T, Mizuma M, Iseki M, et al. Circulating tumor DNA as a predictive marker for occult metastases in pancreatic cancer patients with radiographically non-metastatic disease[J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2021, 28(8): 648-658. doi: 10.1002/jhbp.993.

[15] 郭 丽,高 伟,袁秋月,等. 血浆循环肿瘤DNA与宫颈癌临床病理特征的相关性分析[J]. 医学分子生物学杂志, 2021, 18(5): 349-353. doi: 10.3870/j.issn.1672-8009.2021.05.005.

[16] Chin RI, Chen K, Usmani A, et al. Detection of solid tumor molecular residual disease (MRD) using circulating tumor DNA (ctDNA)[J]. Mol Diagn Ther, 2019, 23(3): 311-331. doi: 10.1007/s40291-019-00390-5.

[17] Eisinger S, Sarhan D, Boura VF, et al. Targeting a scavenger receptor on tumor-associated macrophages activates tumor cell killing by natural killer cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(50): 32005-32016. doi: 10.1073/pnas.2015343117.

[18] Tie J, Cohen JD, Wang Y, et al. Circulating tumor DNA analyses as markers of recurrence risk and benefit of adjuvant therapy for stage Ⅲ colon cancer [J]. JAMA Oncol, 2019, 5(12): 1710-1717. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.3616.

[19] Chaudhuri AA, Chabon JJ, Lovejoy AF, et al. Early detection of molecular residual disease in localized lung cancer by circulating tumor DNA profiling[J]. Cancer Discov, 2017, 7(12): 1394-1403. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-0716.

(编辑:龙小芬)