

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.04.022

液体活检在肺癌诊疗中的研究进展*

李如清,王平综述,傅雨绮,黄新恩[△]审校

(南京医科大学附属肿瘤医院/江苏省肿瘤医院/江苏省肿瘤防治研究所,南京 210009)

[摘要] 在我国,肺癌已成为危害生命健康的常见恶性肿瘤。随着分子生物检测技术的发展及精准化、个体化治疗要求的提高,液体活检因具有传统组织活检所不具备的微创、重复、实时动态监测等优点,正逐渐引起人们的关注。该文旨在描述液体活检的检测对象(如循环肿瘤细胞、循环肿瘤 DNA、外泌体、长链非编码 RNA 等)在肺癌诊疗中的应用前景及面临的挑战。

[关键词] 液体活检;肺癌;循环肿瘤细胞;循环肿瘤 DNA;外泌体;长链非编码 RNA

[中图分类号] R734 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)04-0594-06

Research progress of liquid biopsy in lung cancer diagnosis and treatment*

LI Ruqing, WANG Ping, FU Yuqi, HUANG Xinen[△]

(Nanjing Medical University Affiliated Cancer Hospital/Jiangsu Cancer Hospital/Jiangsu Cancer Research Institute, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

[Abstract] In China, lung cancer has become a common malignant tumor endangering life and health. With the development of molecular biological detection technology and the improvement of precise and individualized treatment requirements, liquid biopsy is gradually attracting people's attention because of the advantages of minimally invasiveness, repetition, and real-time dynamic monitoring of traditional tissue biopsy does not have. This article aims to describe the detection objects of liquid biopsy (such as circulatory tumor cells, circulatory tumors DNA, exosome, long chain non-encoding RNA, etc.) in the application prospects and challenges of lung cancer diagnosis and treatment.

[Key words] liquid biopsy; lung cancer; circulatory tumor cells; circulatory tumor DNA; exosome; long chain non-encoding RNA

最新数据表明,肺癌全球发病率为 11.4%,致死率为 18.0%,已成为恶性肿瘤致死的首要原因^[1]。目前,早期发现和诊断肺癌主要依靠传统肿瘤标志物、低剂量计算机断层扫描(CT)扫描和组织活检。然而,传统肿瘤标志物、影像学在诊断准确性和敏感性方面欠佳^[2]。而组织活检虽然是肺癌诊断的“金标准”,但是仍具有缺点,如活检取样的可及性、活检组织不足、存在活检并发症、肿瘤异质性导致的生物标志物检测结果不可靠等^[3]。因此,需要寻找一种可靠的方法来辅助筛查和诊断早期肺癌。近年来,液体活检逐渐兴起。本文综述了液体活检主要检测对象,及其在肺癌筛查和早期诊断、预测治疗敏感性和耐药性、评价治疗效果、预测预后和在肿瘤残余病灶中的潜在临床应用价值,以及临床常规实施前仍需克服的障碍。

1 液体活检

液体活检是指通过分子生物学的方法,对外周血或其他体液中的多种癌症来源成分进行检测分析,从而获取肿瘤相关信息。液体活检的检测对象主要是循环肿瘤细胞(CTCs)、循环肿瘤 DNA(ctDNA)、循环游离 DNA(cfDNA)、长链非编码 RNA(lncRNA)、外泌体等。液体活检的主要缺点是样本中生物标志物数量少^[4]。因此,需要高敏感度的检测技术。当前,液体活检的检测技术主要为聚合酶链反应(PCR)、数字 PCR(dPCR)和子代测序(NGS)。PCR 针对一个预定义基因中的 1~3 个位点,无法跨多个基因进行复合,也无法检测更复杂的基因组改变,如融合基因。dPCR 是一种可以在单分子水平上识别和量化不同突变的新方法,已经开发了不同的平台类型,包括固体、珠状、乳化、扩增和磁性 PCR 等。而

* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(82102717);江苏省第四期 333 高层次人才培养工程(2011-III-2642);南京医科大学 2020 年教育研究课题(SLYB2021-03)。 作者简介:李如清(1997—),在读硕士研究生,主要从事肿瘤内科研究。 [△] 通信作者, E-mail: huangxin-en006@163.com。

NGS 是一种高通量测序方法,可以同时检测基因组的可变区域和体细胞突变,包括单核苷酸变异、拷贝数变异、基因融合等^[4-5]。随着检测技术的逐渐成熟,液体活检正在被用于肺癌的各个阶段,包括筛查及早期诊断肿瘤、预测治疗敏感度和耐药性、评价治疗效果、预测预后、监测残余病灶等^[6]。

2 液体活检主要检测对象

2.1 CTCs

CTCs 是指原发灶或转移灶脱落进入外周血的肿瘤细胞,这些肿瘤细胞可能经历了上皮间质转化,有更强的侵袭性,易发生远处转移。CTCs 富集和分析方法基于其物理和生物学特性,如大小、密度、极性、电荷、上皮细胞黏附分子和细胞角蛋白的表达、白细胞特异标志物 CD45 的表达等^[7]。目前富集和分析 CTCs 的方法包括 CellSearch、基于形态学富集的膜过滤技术 (ISET) 和上皮细胞免疫斑点技术 (EPISPOT) 等^[8]。国家药品监督管理局已审批通过首个专门针对非小细胞肺癌 (NSCLC) CTCs 检测的试剂盒:叶酸阳性富集试剂盒。有学者认为,CTCs 的表型特征可用于基因表达谱的分析,例如研究肿瘤异质性或识别特定的靶基因改变,以及评估治疗相关标志物 (免疫治疗的程序性细胞死亡配体 1)^[9]。CTCs 检测在肺癌患者的诊治及预后等方面发挥着重要作用,进一步研究其特征和性质具有重要价值。

2.2 ctDNA

ctDNA 是指人体血液循环系统中具有肿瘤相关特征 (包括单核苷酸突变、拷贝数异常和甲基化等)、来自肿瘤基因组的 DNA 片段。目前,dPCR 技术及突变阻滞扩增系统 PCR (ARMS-PCR) 技术可用于检测已知突变的 ctDNA,而标记扩增深度测序 (TAm-Seq) 技术和癌症个体化深度测序分析 (CAPPSeq) 技术可用于检测突变位点未知的 ctDNA^[10]。尽管可以通过多种不同的液体活检对象获得癌症相关基因信息,但 ctDNA 是目前唯一被正式批准用于 NSCLC 患者临床的样本来源,用于 EGFR 突变检测^[4,11]。ctDNA 有望在众多临床应用中发挥作用,包括早期癌症筛查、对癌症进行基因分型、检测微小残留病灶、监测治疗反应和分析耐药性等^[12]。ctDNA 作为一种高效益、高敏感度的工具,具有潜在临床应用价值。

2.3 外泌体

外泌体是一种直径为 50~150 nm 的膜结合颗粒,可以从血浆、尿液、支气管肺泡灌洗液、腹腔积液等多种体液中检测到。外泌体表面表达多种蛋白质,并包含核酸和脂质在内的多种生物活性物质。这些物质参与了外泌体的抗原提呈、膜转运和融合等过程。外泌体具有良好的稳定性、生物相容性、生物屏障通透性、长血循环能力、低毒性、低免疫原性等优点,可以促进细胞增殖和转移,影响血管生成,在肺癌

发生过程中调节抗肿瘤免疫反应,调节肺癌治疗中的耐药性,被认为是肺癌液体活检的重要组成部分。此外,通过工程化外泌体输送治疗药物是肺癌精确和个性化治疗的一种新方法^[13-14]。

2.4 lncRNA

lncRNA 是长度 >200 个核苷酸且不具有蛋白质编码功能的转录产物。根据 lncRNA 编码序列与蛋白质编码基因的相对位置,可分为以下 5 类:正义 lncRNA、反义 lncRNA、双向 lncRNA、内含子 lncRNA、基因间 lncRNA。lncRNA 具有以下特点:(1)具有信使 RNA 相似结构,经过剪切也具有启动子和多聚腺苷酸尾的结构;(2)具有较强的组织和细胞特异性,较低的序列保守性;(3)组织分化过程中具有明显的时空表达特性;(4)在肿瘤与其他疾病中有特征性表达方式^[15]。lncRNA 可以在转录、转录后和翻译水平起作用,可能参与多种生物学过程,例如 DNA 损伤修复、细胞存活、细胞信号转导、细胞生长和分化等^[16]。由于 lncRNA 的这些特性,其被认为与癌症的关系紧密。

3 液体活检在肺癌诊疗中的临床应用

3.1 早期筛查和诊断

JIANG 等^[16]分析了 61 例肺癌组患者和 57 例健康对照组全血中 lncRNA XLOC-009167 的相对表达水平,发现肺癌组 lncRNA XLOC-009167 表达高于健康对照组 ($P < 0.0001$);与健康对照组比较,肺癌组 lncRNA XLOC-009167 的曲线下面积 (AUC) 为 0.7398 (敏感度为 78.7%,特异度为 61.8%),传统生物标志物细胞角蛋白 19 片段抗原 (CYFR21-1)、癌胚抗原 72-4 (CA72-4) 和特异性神经元烯醇酶 (NSE) 的 AUC 分别为 0.5187 (敏感度为 32.0%,特异度为 86.6%)、0.5056 (敏感度为 76.0%,特异度为 40.0%)、0.5707 (敏感度为 66.0%,特异度为 56.6%)。结合 3 种传统肿瘤标志物采用 logistic 回归模型建立的联合诊断模型,AUC 为 0.5519 (敏感度为 44.4%,特异度为 55.3%),说明 lncRNA XLOC-009167 的诊断性能明显优于联合诊断模型和单个传统生物标志物。研究人员还发现,lncRNA XLOC-009167 的相对表达量在不同培养时间轴、不同温度下比较均无差异,具有较强的稳定性。因此,lncRNA XLOC-009167 可能成为一种新的肺癌诊断标志物。MARQUETTE 等^[17]利用 ISET 检测 614 例慢性阻塞性肺气肿患者血液标本中的 CTCs,发现 CTCs 检测对肺癌的敏感度为 26.3%,其中 19 例参与者在 T0 时被诊断为肺癌,表明 CTCs 检测可以先于影像学发现早期肺癌的存在。PENG 等^[18]对 192 例可手术的肺部占位性疾病患者行组织活检与血浆 ctDNA 检测,发现血浆 ctDNA 检测肺癌的敏感度为 69%,特异度为 96%。而当 ctDNA 与传统肿瘤标志

物联合检测时,敏感度和特异度分别提高到 80% 和 99%,其中 64% 的癌症患者处于 I 期,敏感度为 63%。这些研究证实了检测 ctDNA 有助于筛查和诊断早期肺癌。外泌体的各种生物成分(如 miRNA、蛋白质等)在肺癌中存在异常表达,具有作为肺癌诊断标志物的潜力。研究人员发现,从 NSCLC 患者血浆中分离的外泌体平均蛋白水平明显高于健康对照组 $[(11.1 \pm 3.8) \text{mg/mL vs. } (8.2 \pm 2.0) \text{mg/mL}, P < 0.001]$,NSCLC 患者外泌体-T、外泌体-G 的中位水平明显高于健康对照组 $[(27.2 \pm 21.1) \text{pg/mL vs. } (14.9 \pm 5.4) \text{pg/mL}, (1.5 \pm 0.7) \text{ng/mL vs. } (0.9 \pm 0.3) \text{ng/mL}; P < 0.01]$,说明外泌体可以用于肺癌的早期诊断^[19]。作者推测,液体活检与传统肿瘤标志物、影像学等检查联合将提高肺癌早期诊断的敏感度和特异度。

3.2 预测治疗敏感度和耐药性

有研究人员从小细胞肺癌(SCLC)患者化疗前采集的 7.5mL 血液分离出 CTCs,并对单个细胞的 DNA 进行 NGS,生成全基因组拷贝数图谱,对全基因组拷贝数改变(CNA)数据的生物信息学分析开发出分类器,该分类器包含 2 281 个聚集在 16 个 CNA 图谱内的位点,能正确预测约 83% 患者的化疗敏感度临床结果。可见,CTCs 可用于治疗前化疗敏感度的预测^[20]。当前,免疫检查点抑制剂已成为多种癌症的标准疗法。在一项前瞻性研究中,包括 NSCLC 在内的癌症患者在抗 PD-1 免疫治疗 8 周后,检测到 ctDNA 与明显缩短的中位生存期(PFS)和总生存期(OS)相关($P < 0.004$),这为免疫治疗开始前评估 ctDNA 提供了理论依据^[21]。MOHRMANN 等^[22]发现,41 例肺癌患者肿瘤组织中存在 BRAF、KRAS、EGFR 突变,通过 NGS,同样可在 95% 的血浆外泌体 NA 样本中检测到,且外泌体 NA 的 NGS 检测存在任何肿瘤已有的突变。这说明可以利用外泌体 NA 检测肺癌中的常见突变,为靶向治疗提供指导。癌症治疗时面临的主要挑战是耐药性。研究人员发现,在 NSCLC 患者中,携带 T790M 突变的 EGFR-TKI 耐药细胞 H1975 可以通过释放外泌体 miRNA-522-3p,激活 PI3K/AKT 途径,将耐药特性传递给 EGFR-TKI 敏感细胞 PC9,促进其对吉非替尼等的耐药^[23]。HUANG 等^[24]发现 FP 方案治疗 NSCLC 患者的组织和细胞中 lncRNA AFAP1-AS1 过表达,通过竞争性抑制靶点 miR-139-5P,上调 miR-139-5P 靶点 RRM2,激活 EGFR/AKT 通路,以增强 NSCLC 细胞增殖和化疗耐药。因此,了解 lncRNA、外泌体等在肺癌药物治疗过程中在产生耐药方面发挥的作用,有助于辅助肺癌的治疗。

3.3 评价疗效

ABBOSH 等^[25]发现,在 14 例确诊的 NSCLC 复

发患者中,有 13 例(93%)在临床复发前或临床复发时通过 ctDNA 检测到 ≥ 2 个核苷酸变异,在影像学诊断肿瘤复发前 7 d 检测出 NSCLC 复发。最近,研究人员使用 Clariom D 人类芯片技术,在 NSCLC 患者的样本中,发现 3 种 lncRNAs(SCARNA7、MALAT1 和 NONHSAT017369)与 EGFR 突变明显相关(阳性预测值和阴性预测值均大于 80%)。32 例 EGFR-TKI 治疗后影像学评估达到部分缓解(PR)和疾病稳定(SD)的患者中,27 例显示血浆 MALAT1 水平下降($P < 0.05$),23 例显示 SCARNA7 水平降低($P < 0.05$),疾病进展(PD)患者中没有观察到类似的趋势。研究表明,检测 EGFR-TKI 治疗前、后血浆中 SCARNA7 和 MALAT1 的水平变化,对 EGFR-TKI 的疗效有较高的预测价值^[26]。有研究人员收集了 5 例 PR 和 4 例 PD 患者,发现在晚期 NSCLC 中共 120 个外泌体 miRNA 与健康个体存在差异($P < 0.05$),肺癌组 miRNA320 家族中 3 个 miRNA(miRNA-320b、miRNA-320c、miRNA-320d)上调。此外,通过比较 PR 组治疗前、后 miRNA 谱变化,找到 311 个差异表达 miRNA(111 个上调和 200 个下调),尤其是下调的 miR-25b-5p($P < 0.05$)。因此,miR-320 家族和 miR-25b-5p 可作为免疫治疗疗效的预测标志物^[27],提示液体活检可以用于肺癌疗效的评价。

3.4 预测预后

一项回顾性生存分析纳入了 347 例 I ~ III A 期 NSCLC 患者,发现术前 CTCs 水平是 NSCLC 患者的独立预后因素($HR = 5.489, P < 0.001$)。以术前 CTCs 水平为基础,基于多变量 COX 回归模型的 nomogram 数据一致性指数为 0.82,显示 CTCs 在 NSCLC 复发转移的预测方面具有较高价值^[28]。郑志刚等^[29]发现,lncRNA MEG3 在 92 例 SCLC 组织中的表达 (2.071 ± 0.97) 明显低于 40 例癌旁组织 (4.082 ± 0.860) 和 50 例正常肺组织 (4.209 ± 0.820) ,差异有统计学意义($P < 0.001$);lncRNA MEG3 低表达者较高表达者差异有统计学意义(中位 PFS 8 个月 vs. 21 个月,中位 OS 32 个月 vs. 21 个月, $P < 0.001$)。由此,lncRNA MEG3 可作为潜在的 CLC 预后评估标志物。MOHRMANN 等^[22]还发现,低外泌体 NA 突变等位基因频率(MAF)患者有更长的中位 PFS(11.8 个月 vs. 5.9 个月, $P = 0.006$)和治疗失败时间(7.4 个月 vs. 2.3 个月, $P = 0.009$),与 PR 和 SD 达 6 个月相关($P = 0.006$),这些数据说明低外泌体 NA 是延长生存的独立预后因素。与癌旁组织比较,NSCLC 癌组织中 miR217 表达降低,E2F3 mRNA 表达升高($P < 0.005$);miR217 高表达、E2F3 mRNA 低表达的患者术后 5 年 OS 均高于 miR217 低表达、E2F3 mRNA 高表达患者($P < 0.005$)。E2F3 mRNA 高表达($HR = 1.440, 95\% CI = 1.129 \sim$

2.503) 是 NSCLC 患者预后不良独立危险因素, miR217 高表达 ($HR = 0.715, 95\% CI = 0.425 \sim 0.902$) 是独立保护因素 ($P < 0.005$)^[30]。由此认为, 临床可以通过液体活检来预测患者的预后。

3.5 在微小残留病灶(MRD)中的作用

癌症患者接受治疗后, 即使影像学上显示病灶彻底清除, 仍可能有极少量未被检测到的残存的肿瘤病灶。MRD 的激活促进了肿瘤复发与转移。目前, 针对 MRD 的检测主要依靠液体活检。WALDECK 等^[31]利用 NGS 检测术后 12 周采集的 16 份血浆样本, 发现 4 例 ctDNA 阳性患者均(100%)经历了后期疾病复发, 12 例阴性患者中有 9 例(67%)在随访期间无疾病复发。MRD 检测能够对 NSCLC 复发风险进行有效分层, 并对患者术后 12~15 个月的复发状态进行准确预测^[32]。MRD 阴性与有利的 PFS ($HR = 0.094, 95\% CI$ 为 $0.01 \sim 0.061, P = 0.013$) 和 OS 明显相关 ($HR = 0.03, 95\% CI$ 为 $0.002 \sim 0.311, P = 0.004$)^[32]。2016 年 SACHER 等^[33]发现导致 NSCLC 产生的两种关键基因: EGFR 和 KRAS。通过 MRD 对 EGFR 或 KRAS 突变进行监测, 能够指导 EGFR 靶向治疗的停用时机, 以避免新突变的产生, 进而影响靶向治疗的效果。研究人员检测 40 例肺癌患者 MRD, 发现 53% 的患者具有与酪氨酸激酶抑制剂或免疫检查点抑制剂良好反应相关的 ctDNA 突变谱^[34]。同时, 辅助治疗期间的 ctDNA 监测可能有助于临床了解药物反应和耐药性机制, 为疾病快速进展之前的基于基因组治疗提供机会^[34-35]。越来越多的证据表明, ctDNA 可以作为 MRD 检测的生物标志物, 进行准确的风险评估和辅助治疗。有研究人员利用生物传感器将目标分析物检测转化为可量化的数字信号, 可以检测到肺癌 MRD 中较低水平的 ctDNA 和 CTCs。MRD 诊断的广泛应用可以降低成本, 扩大检测的可用性^[36]。

3.6 胸腔积液液体活检

目前液体活检最常用的是血清样本, 但是胸腔积液也可以作为液体活检的样本, 它同血清样本一样具有获取方便、可动态观察等优点。研究发现, 胸腔积液上清液中的总 cfDNA 浓度中位值显著高于血浆 (278.1 ng/mL vs. $20.4 \text{ ng/mL}, P < 0.05$), 且其中检出驱动基因突变的敏感性更高 (93% vs. 62%)^[37]。此外, 胸腔积液液体活检能协助鉴别胸腔积液的性质, 指导肺癌患者的治疗和评估预后^[38]。这说明胸腔积液样本用于液体活检也是未来值得探索的一个方向。

4 小结与展望

综上所述, 液体活检与传统组织活检相比, 具有便捷、微创、可重复、可动态观察等优势。虽然影像学、传统肿瘤标志物、组织活检仍是肺癌诊疗中的常

用方法, 但是液体活检有望作为其辅助手段, 在肺癌的筛查和早期诊断、指导治疗、评估疗效和预测预后等多领域产生临床应用价值。在临床工作中, 医生可以通过将液体活检与影像学检查、传统肿瘤标志物、组织活检等相结合, 根据实时基因信息, 为患者提供更精准化和个性化的医疗。

不可否认的是, 液体活检在临床广泛应用前仍面临不少问题。(1)检测技术尚不成熟。虽然通过富集、扩增等手段可提高液体活检的敏感度, 但是存在信息不完整、基因错配等现象。因此, 在应用液体活检时应针对敏感度、特异度、稳定性等进行技术改进, 同时对检测流程进行标准化, 对关键节点进行质量控制。(2)缺乏临床验证。目前, 液体活检缺乏大数据的人群调查和一致性评价研究, 迫切需要更多的多中心、大型、前瞻性长期研究。(3)缺乏行业标准和市场监管。液体活检是一种新技术, 急需制定规范的行业标准及执行严格的市场监管。(4)检测成本较高: 液体活检成本较高, 且尚未纳入医保范围, 需要政府、医疗单位、检测公司等多方协调和投入^[39]。相信随着上述问题的解决, 液体活检在临床工作中将会有更广阔的应用前景。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, 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.
- [2] YE Q, LING S, ZHENG S, et al. Liquid biopsy in hepatocellular carcinoma: circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 114.
- [3] BROZOS-VAZQUEZ E M, DIAZ-PENA R, GARCIA-GONZALEZ J, et al. Immunotherapy in nonsmall-cell lung cancer: current status and future prospects for liquid biopsy[J]. Cancer Immunol Immunother, 2021, 70(5): 1177-1188.
- [4] PISAPIA P, MALAPELLE U, TRONCONE G. Liquid biopsy and lung cancer[J]. Acta Cytol, 2019, 63(6): 489-496.
- [5] GUIBERT N, PRADINES A, FAVRE G, et al. Current and future applications of liquid biopsy in nonsmall cell lung cancer from early to advanced stages[J]. Eur Respir Rev, 2020, 29(155): 190052.
- [6] ROSSI G, IGNATIADIS M. Promises and pitfalls of using liquid biopsy for precision medicine[J]. Cancer Res, 2019, 79(11): 2798-2804.

- [7] THIELE J A, BETHEL K, KRALICKOVA M, et al. Circulating tumor cells: fluid surrogates of solid tumors[J]. *Annu Rev Pathol*, 2017, 12: 419-447.
- [8] BATHI S, MITRA A, ROOD S, et al. CTC analysis: an update on technological progress[J]. *Transl Res*, 2019, 212: 14-25.
- [9] GUIBERT N, DELAUNAY M, LUSQUE A, et al. PD-L1 expression in circulating tumor cells of advanced non-small cell lung cancer patients treated with nivolumab[J]. *Lung Cancer*, 2018, 120: 108-112.
- [10] 张敏, 陈骏. 液体活检在非小细胞肺癌中的临床应用进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2021, 24(10): 723-728.
- [11] IGNATIADIS M, SLEDGE G W, JEFFREY S S. Liquid biopsy enters the clinic-implementation issues and future challenges[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(5): 297-312.
- [12] SIRAVEGNA G, MUSSOLIN B, VENESIO T, et al. How liquid biopsies can change clinical practice in oncology[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(10): 1580-1590.
- [13] LI M Y, LIU L Z, DONG M. Progress on pivotal role and application of exosome in lung cancer carcinogenesis, diagnosis, therapy and prognosis[J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 22.
- [14] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [15] BRIDGES MC, DAULAGALA A C, KOURTIDIS A. LNCcation: lncRNA localization and function[J]. *J Cell Biol*, 2021, 220(2): e202009045.
- [16] JIANG N, MENG X, MI H, et al. Circulating lncRNA XLOC-009167 serves as a diagnostic biomarker to predict lung cancer[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 486: 26-33.
- [17] MARQUETTE C H, BOUTROS J, BENZAQUEN J, et al. Circulating tumour cells as a potential biomarker for lung cancer screening: a prospective cohort study[J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8(7): 709-716.
- [18] PENG M, XIE Y, LI X, et al. Resectable lung lesions malignancy assessment and cancer detection by ultra-deep sequencing of targeted gene mutations in plasma cell-free DNA[J]. *J Med Genet*, 2019, 56(10): 647-653.
- [19] GAO J, QIU X, LI X, et al. Expression profiles and clinical value of plasma exosomal Tim-3 and Galectin-9 in non-small cell lung cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(3): 409-415.
- [20] KILLOCK D. Lung cancer: Liquid biopsy of SCLC chemosensitivity[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(1): 2.
- [21] CABEL L, RIVA F, SERVOIS V, et al. Circulating tumor DNA changes for early monitoring of anti-PD1 immunotherapy: a proof-of-concept study[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(8): 1996-2001.
- [22] MOHRMANN L, HUANG H J, HONG D S, et al. Liquid biopsies using plasma exosomal nucleic acids and plasma cell-free DNA compared with clinical outcomes of patients with advanced cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(1): 181-188.
- [23] LIU X, JIANG T, LI X, et al. Exosomes transmit T790M mutation induced resistance in EGFR-mutant NSCLC by activating PI3K/AKT signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(2): 1529-1540.
- [24] HUANG N, GUO W, REN K, et al. LncRNA AFAP1-AS1 suppresses miR-139-5p and promotes cell proliferation and chemotherapy resistance of non-small cell lung cancer by competitively upregulating RRM2[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1103.
- [25] ABBOSH C, BIRKBAK N J, WILSON G A, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution[J]. *Nature*, 2017, 545(7655): 446-451.
- [26] LV P, YANG S, LIU W, et al. Circulating plasma lncRNAs as novel markers of EGFR mutation status and monitors of epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor therapy[J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(1): 29-40.
- [27] 彭晓潇. 外泌体 PD-L1 表达及 miRNA 谱预测非小细胞肺癌免疫治疗疗效的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- [28] LI Z, XU K, TARTARONE A, et al. Circulating tumor cells can predict the prognosis of patients with non-small cell lung cancer after resection: a retrospective study[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2021, 10(2): 995-1006.
- [29] 郑志刚, 韩军, 廖继红. 小细胞肺癌组织中 lncRNA MEG3 的表达及其与预后关系的研究[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2017, 22(1): 17-21
- [30] 赵威, 周传江. 非小细胞肺癌组织中 miR-217、

E2F3 的表达变化及其与预后的关系[J]. 山东医药, 2022, 62(4): 55-58.

- [31] WALDECK S, MITSCHKE J, WIESEMANN S, et al. Early assessment of circulating tumor DNA after curative-intent resection predicts tumor recurrence in early-stage and locally advanced non-small-cell lung cancer[J]. *Mol Oncol*, 2022, 16(2): 527-537.
- [32] QIU B, GUO W, ZHANG F, et al. Dynamic recurrence risk and adjuvant chemotherapy benefit prediction by ctDNA in resected NSCLC[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 6770.
- [33] SACHER A G, ALDEN R S, OXNARD G R. Early intervention in lung cancers with rapid plasma genotyping for EGFR and KRAS mutations-reply[J]. *JAMA Oncol*, 2016, 2(8): 1096-1097.
- [34] CHAUDHURI A A, CHABON J J, LOVEJOY A F, 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.
- [35] PENG Y, MEI W, MA K, et al. Circulating tumor DNA and minimal residual disease(MRD) in solid tumors: current horizons and future perspectives [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 763790.
- [36] SARDARABADI P, KOJABAD A A, JAFARI D, et al. Liquid biopsy-based biosensors for MRD detection and treatment monitoring in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *Bio-sensors*, 2021, 11(10): 394.
- [37] TONG L, DING N, TONG X, et al. Tumor-derived DNA from pleural effusion supernatant as a promising alternative to tumor tissue in genomic profiling of advanced lung cancer [J]. *Theranostics*, 2019, 9(19): 5532-5541.
- [38] 曾灏, 田攀文, 李为民. 液体活检在肺癌伴恶性胸腔积液诊疗中的研究进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2021, 24(9): 653-659.
- [39] 李海霞, 涂建成, 任丽等. 液体活检在临床肿瘤诊疗中的应用及挑战[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(20): 2433-2438.
- (收稿日期: 2022-04-04 修回日期: 2023-01-05)
-
- (上接第 593 页)
- [17] 沈丽佳, 顾维娣, 章瑶, 等. 基于死亡教育的本科护生实习期经历患者死亡体验的质性研究[J]. *护理与康复*, 2022, 21(1): 12-16.
- [18] 农炳金, 张志勇, 秦桂秀. 广西医学生临终关怀态度现状及其影响因素分析[J]. *中国健康教育*, 2018, 34(1): 19-23.
- [19] 徐英华, 高巧丽, 王荣芽, 等. 临床护士死亡态度对其临终关怀态度影响的研究[J]. *护理管理杂志*, 2021, 21(11): 795-800.
- [20] 付洋, 马俊玲, 刘雪婷, 等. 医养结合背景下医学生临终关怀与死亡态度现状及其相关性研究[J]. *中国医学伦理学*, 2021, 34(11): 1509-1513.
- [21] 张婷婷, 蔡菊敏, 吴晓东, 等. 医护人员临终关怀的认知及态度调查研究[J]. *宁夏医学杂志*, 2021, 43(5): 408-410.
- [22] 张艳, 李月娥. ICU 护士临终关怀态度现状及其影响因素[J]. *医学信息*, 2020, 33(8): 150-152.
- [23] 葛伟婷, 罗月, 俞晴, 等. ICU 护士临终关怀知行研究进展[J]. *护理研究*, 2021, 35(13): 2352-2355.
- [24] RANSE K, YATES P, COYER F. Factors associated with critical care nurses' engagement in end-of-life care practices[J]. *Aust Crit Care*, 2014, 27(1): 59.
- [25] LIU C, XIAO-HONG L, XIAO P, et al. Nurses' knowledge, attitudes, and willingness to practice hospice care: an analysis of influencing factors[J]. *PLoS One*, 2022, 17(2): e0259647.
- [26] Tamara Vesel and Christiana Beveridge. From fear to confidence: changing providers' attitudes about pediatric palliative and hospice care [J]. *J Pain Symptom Manag*, 2018, 56(2): 205-212.
- [27] 孙文婧, 康曦丹, 周萌. 长春市护理本科生安宁疗护知识水平及态度的调查[J]. *卫生职业教育*, 2022, 40(3): 129-132.
- (收稿日期: 2022-03-31 修回日期: 2022-10-30)