

· 述 评 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.06.001

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240306.1618.012\(2024-03-06\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240306.1618.012(2024-03-06))

液体活检 MRD 在肺癌中的应用及探讨*

郑杰,何勇[△]

(陆军特色医学中心呼吸与危重症医学科,重庆 400042)

[摘要] 近年来,液体活检技术取得实质性进展,尤其是循环肿瘤 DNA(ctDNA)在指导癌症患者个性化治疗和全程管理中发挥了重要作用。随着检测技术灵敏度、精准度的提高,微小残留病灶(MRD)检测为癌症患者的复发预测、病情监控及精准治疗提供了新的可能。该文关注了液体活检 MRD 在早期、局部晚期和晚期肺癌患者中的临床应用与研究进展,并讨论了肺癌 MRD 检测的前景与挑战。

[关键词] 肺癌;液体活检;微小残留病灶;免疫治疗;靶向治疗

[中图分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)06-0801-04

Application and exploration of liquid biopsy MRD in lung cancer*

ZHENG Jie, HE Yong[△]

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Army Special Medical Center, Chongqing 400042, China)

[Abstract] Recent years have seen significant advancements in liquid biopsy techniques, especially in the use of circulating tumor DNA (ctDNA), guiding personalized treatment and comprehensive management of cancer patients. Improvements in detection techniques, specifically in sensitivity and precision, have opened up new possibilities for monitoring minimal residual disease (MRD), predicting relapse and refining treatment strategies. This paper will focus on the clinical application and research advancements of MRD in liquid biopsies for early, locally advanced, and advanced lung cancer patients, while also looking towards future prospects and potential challenges in lung cancer MRD detection.

[Key words] lung cancer; liquid biopsy; minimal residual disease; immunotherapy; targeted therapy

液体活检技术近年来发展迅速,其无创、实时、克服肿瘤异质性等特点使该技术在肿瘤筛查、诊断和疗效判断中得到了广泛应用^[1]。液体活检标本可来源于血液、胸腹腔积液、脑脊液、唾液、尿液等^[2]。检测技术包括循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)、循环游离细胞 DNA(cell free DNA, cfDNA)、循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)、循环游离细胞 RNA(cell free RNA, cfRNA)、外泌体等^[3]。由于检测技术的成熟度及检测成本的可行性,目前 ctDNA 的检测在临床上应用最广泛,尤其在肺癌领域,ctDNA 检测对指导患者的精准治疗和全程管理发挥了重要的作用^[4]。

通过 ctDNA 不仅可以检测基因的多种变异形式,包括相关基因的点突变、插入/缺失、重排及融合、拷贝数变异;还可实现多基因平行检测,发现和肿瘤相关的已知或未知基因^[5]。随着近年来液体活检技

术灵敏度不断提高,ctDNA 成为检测微小残留病灶(minimal residual disease, MRD)的重要手段,ctDNA-MRD 的检测要求除了须覆盖 I 类突变基因和 II 类突变基因外,同时须稳定检出丰度低于 0.02% 的 ctDNA。目前,ctDNA-MRD 对 MRD 的精准反应使其在肺癌筛查诊断、预后判断、疗效监测和发现耐药机制等各方面得到广泛应用。对于组织标本获取困难的早期肺癌患者,ctDNA 可作为经济、无创的筛查标志物^[6];对于接受根治性治疗的早期或局部晚期肺癌患者,ctDNA 动态监测可及早检出 MRD,预测复发风险^[7];对于晚期肺癌患者,接受靶向治疗和免疫治疗过程中进行 MRD 监测可指导疗效评估和发现耐药机制^[5,7]。目前 ctDNA 应用场景被不断拓展,肺癌 MRD 检测受到极大的关注。

1 MRD 的定义、特征与检测

MRD 是指经局部和/或系统性治疗后,机体内残

* 基金项目:重庆市技术创新与应用发展专项乡村振兴项目(estc2021jscx-cxzxX0015)。△ 通信作者:何勇(1972-),陆军特色医学中心呼吸与危重症医学科主任,教授、主任医师,博士研究生导师,中华医学会呼吸医师分会肺癌工作委员会委员、重庆市医学会呼吸专业委员会副主任委员,全国优秀中青年呼吸医师、重庆市市科学学术带头人、重庆市优秀呼吸医师,担任《重庆医学》《柳叶刀·呼吸病学》《JCO(中文版)》等杂志编委,获得国家自然科学基金课题 6 项,在 *Clinic Cancer Research*、*Journal of Thoracic Oncology* 等杂志发表多篇 SCI 论文。E-mail:heyong8998@126.com。

留少量肿瘤细胞不能被常规的影像学或其他实验室方法发现,但能通过液体活检发现癌来源的分子异常,可能代表着实体瘤的持续存在和临床进展。MRD 在临床中除指“分子残留病灶(molecular residual disease, MRD)”外,还表示“可测量残留病灶(measurable residue disease, MRD)”。在没有疾病影像学证据的情况下,MRD 提示了在手术切除(或其他根治性治疗)后肿瘤的存在,是评估肿瘤是否“清零”的新标准^[8]。

一些常见临床因素可能对 MRD 检测产生影响,如肿瘤类型、疾病程度、个体肿瘤生物学,肿瘤转移的位置等。不容易脱落的肿瘤如脑肿瘤、甲状腺癌和肾细胞癌,其血液中的 ctDNA 较少,会增加 MRD 检测难度。此外,一些其他因素,如外科手术、化疗、患者体重、妊娠、感染可增加 cfDNA 总量,导致 ctDNA 检测结果出现假阴性^[9]。研究表明,提高测序的广度有利于提升 MRD 检测准确性,因此 MRD 检测方法除了应用下一代测序(next generation sequencing, NGS),还整合了全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)或全外显子测序(whole exome sequencing, WES)^[10]。多项研究表明 MRD 动态监测对晚期甚至早期肺癌患者的疗效预测、复发风险预测、耐药监测及治疗延续都具有重要指导作用^[11-12]。

2 MRD 在早期肺癌中的应用

2.1 MRD 指导辅助治疗

多种实体瘤研究显示,ctDNA 阴性患者预后明显优于 ctDNA 阳性患者^[13]。采集早期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者在根治性放射治疗前后系列血浆进行检测,结果显示根治性放射治疗后 ctDNA 阳性的 NSCLC 患者无复发生存(relapse-free survival, RFS)时间较差,且 ctDNA 动态监测比单点检测能更准确反映预后并识别通过辅助治疗获益的患者^[14]。此外,研究发现 NSCLC 新辅助治疗期间的 ctDNA 清除与更高的病理完全缓解(pathologic complete response, pCR)率和更长的无事件生存(event-free survival, EFS)时间相关^[15]。与此同时,MRD 在预测肺癌复发风险中表现出较高的灵敏度和特异度。研究报道 NSCLC 根治性治疗后,MRD 阳性较阴性患者复发风险明显升高。接受根治性治疗患者在首次治疗后,ctDNA 检测阳性的复发风险是阴性的 43 倍^[9]。LUNGCA-1 研究入组 I~III 期可切除的 NSCLC 患者 330 例(67%为 I 期患者),分别在术前、术后 3 d 和术后 1 个月检测 MRD,结果发现术前 MRD 阳性患者 RFS 时间明显短于 MRD 阴性患者,术后 MRD 阳性是患者术后复发的明显预测指标,且术后 MRD 阳性患者接受辅助治疗可明显延长 RFS 时间^[14]。

2.2 MRD 与肺癌复发风险评估

最新研究表明,肺癌患者 MRD 监测可比影像学更早发现疾病复发^[16]。在不同的肿瘤中,MRD 预测较影像学提前的时间分别为鼻咽癌 6.0 个月、乳腺癌 7.9~11.0 个月、肺癌 70 d 至 5.2 个月、结直肠癌

167 d 至 10.0 个月^[17]。另一项研究通过监测经根治性手术治疗后的 40 例 I~III 期肺癌患者的 255 份 ctDNA 标本和 54 例健康成年人的 ctDNA 标本,发现在 94%的可评估的复发患者中,ctDNA 在第 1 次治疗后的标本中被检测阳性;72%的患者通过监测 MRD 发现 MRD,比影像学检查时间平均提前约 5.2 个月。更重要的,在 MRD 阳性患者中进一步分析发现,更多的患者可能获益于表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI)或免疫抑制剂辅助治疗^[9]。因此患者进行术后 MRD 动态监测利于及时发现可疑复发情况并及早采取相应治疗措施,对提高患者预后至关重要。

3 MRD 在中晚期肺癌中的应用

3.1 MRD 与肺癌免疫治疗预测及免疫巩固治疗

免疫治疗始终是近年来肿瘤治疗领域的研究热点,然而不同患者免疫治疗效果相差很大。ctDNA-MRD 对免疫治疗疗效预测有巨大的应用潜力。本课题组的超深度 ctDNA 检测揭示了接受免疫治疗的 NSCLC 患者的克隆演变^[18]。近期,《自然医学》(*Nature Medicine*)发表的一项 II 期试验结果,表明 ctDNA 分子学缓解与影像学缓解具有一致性,分子学缓解水平与患者生存结局相关,基于 ctDNA 的分子学缓解水平可用于识别单药免疫治疗不太可能获益的转移性 NSCLC 患者^[19]。另一项研究提示,同步放化疗后 ctDNA 阴性的患者可能不会从免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)巩固治疗中获益,且反而更有可能出现免疫相关的副作用;而同步放化疗后 ctDNA 检测阳性者,接受 ICIs 治疗的 RFS 时间明显长于未接受治疗的患者;在 ICIs 治疗早期 ctDNA 升高患者的中位 RFS 时间仅为 5.1 个月,相反 ctDNA 降低的患者中位 RFS 时间长达 21.9 个月。因此,ctDNA-MRD 监测可帮助识别最有潜力从 ICIs 巩固治疗中获益的患者^[20]。

3.2 MRD 指导定义肺癌潜在治愈人群

对于早期和局部晚期肺癌,MRD 可以帮助定义潜在的治愈人群。最新研究表明,对于不可手术的局部晚期 NSCLC 患者,如果在放疗中和放疗后均检测不到 ctDNA,那么该部分患者无论是使用还是不使用巩固 ICIs,都有很好的预后;在治疗过程中 ctDNA 监测持续阴性的患者,可能预示着实现临床治愈,其占比高达 20.1%^[7]。另一项肺癌 MRD 超大队列研究共纳入 261 例 I~III 期可手术肺癌患者,通过对 913 份外周血标本分析发现,术后单个节点检测 MRD 阴性患者的预后明显优于阳性患者,动态监测可以进一步提升预测准确性,阴性预测值(negative predictive value, NPV)和阳性预测值(positive predictive value, PPV)分别达到 96.8%、89.1%。且 MRD 检测持续阴性的人群在随访期内一直未复发,这可能成功定义了潜在治愈人群。另一项研究报道,术后辅助治疗节点前 MRD 检测阳性的患者,辅助治疗能够明显改善其无病生存时间,但对于 MRD 阴性的人群,辅助治疗

无获益。这提示 MRD 阴性人群的肿瘤负荷极低接近治愈,辅助治疗有可能是非必需的^[21]。这些研究都提示 MRD 可以帮助定义潜在治愈人群,使部分肺癌患者免于过度治疗。研究还发现对于复发风险比较高的 II~III 期患者,MRD 转阳或复发的高峰约出现在术后 18 个月。因此提示 MRD 至少应该监测至术后这一时间段,如 MRD 持续阴性的患者则可能代表接近治愈的人群^[21]。事实上对于早期肺癌,术后低频(每年随访<2 次)随访即是可行的^[22]。

4 肺癌 MRD 的展望与挑战

未来对于肺癌 MRD 应用的展望主要聚焦于 5 个方面:(1)MRD 个性化检测在未来可能成为主流。最新研究表明 MRD 个性化检测优势不容忽视,个性化定制 MRD 的灵敏度明显高于两种固定化 MRD 检测,并对潜在治愈的定义具有更高可信度。基于个性化定制 MRD 提出了新的 TNMB 预后分层工具,即在临床 TNM 分期基础上结合术后 1 个月 MRD 监测结果,实现了更精准的预后分层^[23]。此外,NGS 大 Panel 检测相继获批,基于大 Panel 的 MRD 检测方案的主要优点在于能够针对每个患者的具体情况,提供更精准、更个性化的检测报告,可能会对癌症的早期发现、治疗和预后评估产生重要影响。未来,随着 NGS 大 Panel 技术的继续完善和应用,有理由相信,个体化治疗将会成为一种趋势。基于大 Panel 的 MRD 个性化方案值得期待。(2)MRD 检测帮助实现药物假期。对晚期 NSCLC 患者而言,药物假期可减少药物副作用及患者经济负担并降低耐药发生;但药物假期也有潜在的风险,如肿瘤恶化,甚至药物再治疗无效。因此,实现药物假期其实困难重重。精准的 MRD 监测让药物假期的实现成为可能。研究表明经系统治疗后的肺癌患者,影像学上无可见病灶且 MRD 阴性的患者可进入药物假期,而非必须采用连续性用药模式^[24]。本课题组研究发现,在晚期 NSCLC 患者中基于 ctDNA 与 cfDNA 联合 CEA 的预测方法对 EGFR-TKI 疗效进行了更精准的分层,同时有助于药物假期中疗效的便捷监测^[25]。PACIFIC 研究提示,针对不可手术的局部晚期 NSCLC 患者,经过根治性放化疗后,通过 MRD 监测予以指导度伐利尤单抗维持治疗,既可以预测 ICI 巩固治疗获益人群,又可以实现药物假期^[26]。(3)“Longitudinal MRD 阴性”是否可定义“治愈人群”?患者在连续的随访检测中一直保持 MRD 阴性,被称为 Longitudinal MRD 阴性。这通常被看作是治疗效果良好的标志,但是否可以完全定义为“治愈人群”,值得深入研讨。NPV 成为这一场景中最关键的指标,高 NPV 意味着当 MRD 测试结果为阴性时,患者真正没有疾病的可能性非常高。然而,这个值的计算主要基于检测的灵敏度和特异度,灵敏度是 MRD 检测的最大瓶颈,克隆性造血的存在、检测过程中的技术噪音及为了提高灵敏度增加追踪变异的数量带来的多变异信号整合的问题,给检测的灵敏度、特异度带来了挑战。实现 Longitudinal MRD

阴性对治愈的定义,对检测技术进一步探索和临床实践十分必要^[17,27]。(4)“non-shedders”在 MRD 检测中的获益情况。TRACEx 研究首次揭示了存在“shedders”(术前血 ctDNA 阳性的患者)和“non-shedders”(术前血 ctDNA 阴性的患者)两类人群,结果显示,高敏感性方法检测的 MRD 对“non-shedders”也有良好预后价值^[21]。这一发现为临床决策提供较好的证据,即使对于手术前血液 ctDNA 检测阴性的患者,MRD 检测在患者预后评估中仍然有重要作用。(5)基于 MRD 检测开展前瞻性、干预性研究,MRD 检测作为临床研究替代终点,可以缩短药物疗效评价时间,推动临床研究进展。MRD 可以更早地提供治疗反应信息,传统的临床试验通常需要长时间才能收集到足够的终点事件(如生存率或疾病进展),这限制了新药研发的速度。使用 MRD 作为替代终点,可以缩短药物疗效评价的时间,更早地获取结果,从而加速临床研究进展^[17,28]。

综上所述,MRD 在早期、局部晚期、晚期肺癌患者的预后预测、复发监测、全程治疗方案的制订及药物临床研究的开展都发挥着突出的作用,可以预见通过 MRD 全面指导肺癌患者全程管理的未来已来!MRD 检测必将在未来指导肺癌患者的临床实践!

参考文献

- [1] NIKANJAM M, KATO S, KURZROCK R. Liquid biopsy: current technology and clinical applications [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 131.
- [2] TIVEY A, CHURCH M, ROTHWELL D, et al. Circulating tumour DNA-looking beyond the blood [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(9): 600-612.
- [3] YU D, LI Y, WANG M, et al. Exosomes as a new frontier of cancer liquid biopsy [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 56.
- [4] LI W, LIU J B, HOU L K, et al. Liquid biopsy in lung cancer: significance in diagnostics, prediction, and treatment monitoring [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 25.
- [5] PELLINI B, CHAUDHURI A A. Circulating tumor DNA minimal residual disease detection of non-small-cell lung cancer treated with curative intent [J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(6): 567-575.
- [6] WAN J C M, MASSIE C, GARCIA-CORBAC-HO J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(4): 223-238.
- [7] PAN Y, ZHANG J T, GAO X, et al. Dynamic circulating tumor DNA during chemoradiotherapy predicts clinical outcomes for locally advanced non-small cell lung cancer patients [J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(10): 1763-1773.

- [8] PIERCE E, MAUTNER B, MORT J, et al. MRD in all: optimization and innovations[J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2022, 17(4): 69-81.
- [9] 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.
- [10] LI S, ZENG W, NI X, et al. cfTrack: a method of exome-wide mutation analysis of cell-free DNA to simultaneously monitor the full spectrum of cancer treatment outcomes including MRD, recurrence, and evolution[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(9): 1841-1853.
- [11] KU B M, KIM Y J, PARK D, et al. Role of circulating tumor DNA profiling in patients with non-small cell lung cancer treated with EGFR inhibitor[J]. *Oncology*, 2022, 100(4): 228-237.
- [12] KENMOTSU H, SUGAWARA S, WATANABE Y, et al. Adjuvant atezolizumab in Japanese patients with resected stage I B—III A non-small cell lung cancer (IMpower010)[J]. *Cancer Sci*, 2022, 113(12): 4327-4338.
- [13] CHABON J J, HAMILTON E G, KURTZ D M, et al. Integrating genomic features for non-invasive early lung cancer detection[J]. *Nature*, 2020, 580(7802): 245-251.
- [14] XIA L, MEI J, KANG R, et al. Perioperative ctDNA-based molecular residual disease detection for non-small cell lung cancer: a prospective multicenter cohort study (LUNGCA-1)[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(15): 3308-3317.
- [15] FORDE P M, SPICER J, LU S, et al. Neoadjuvant nivolumab plus chemotherapy in resectable lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(21): 1973-1985.
- [16] SHEN H, JIN Y, ZHAO H, et al. Potential clinical utility of liquid biopsy in early-stage non-small cell lung cancer[J]. *BMC Med*, 2022, 20(1): 480.
- [17] COAKLEY M, GARCIA-MURILLAS I, TURNER N C. Molecular residual disease and adjuvant trial design in solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(20): 6026-6034.
- [18] LI L, WANG Y, SHI W, et al. Serial ultra-deep sequencing of circulating tumor DNA reveals the clonal evolution in non-small cell lung cancer patients treated with anti-PD1 immunotherapy[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(18): 7669-7678.
- [19] ANAGNOSTOU V, HO C, NICHOLAS G, et al. CtDNA response after pembrolizumab in non-small cell lung cancer: phase 2 adaptive trial results[J]. *Nat Med*, 2023, 29(10): 2559-2569.
- [20] MODING E J, LIU Y, NABET B Y, et al. Circulating tumor DNA dynamics predict benefit from consolidation immunotherapy in locally advanced non-small cell lung cancer [J]. *Nat Cancer*, 2020, 1(2): 176-183.
- [21] ZHANG J T, LIU S Y, GAO W, et al. Longitudinal undetectable molecular residual disease defines potentially cured population in localized non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(7): 1690-1701.
- [22] HEIDEN B T, EATON D B, CHANG S H, et al. Association between imaging surveillance frequency and outcomes following surgical treatment of early-stage lung cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2023, 115(3): 303-310.
- [23] CHEN K, YANG F, SHEN H, et al. Individualized tumor-informed circulating tumor DNA analysis for postoperative monitoring of non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(10): 1749-1762.
- [24] WU Y L, JOHN T, GROHE C, et al. Postoperative chemotherapy use and outcomes from ADAURA: osimertinib as adjuvant therapy for resected EGFR-mutated NSCLC [J]. *J Thorac Oncol*, 2022, 17(3): 423-433.
- [25] ZHENG J, WANG Y, HU C, et al. Predictive value of early kinetics of ctDNA combined with cfDNA and serum CEA for EGFR-TKI treatment in advanced non-small cell lung cancer [J]. *Thorac Cancer*, 2022, 13(22): 3162-3173.
- [26] SPIGEL D R, FAIVRE-FINN C, GRAY J E, et al. Five-year survival outcomes from the PACIFIC trial: durvalumab after chemoradiotherapy in stage III non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(12): 1301-1311.
- [27] ULRICH B, PRADINES A, MAZIÈRES J, et al. Detection of tumor recurrence via circulating tumor DNA profiling in patients with localized lung cancer: clinical considerations and challenges [J]. *Cancers*, 2021, 13(15): 3759.
- [28] XIA J, ZHANG J, XIONG Y, et al. Circulating tumor DNA minimal residual disease in clinical practice of non-small cell lung cancer [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2023, 23(10): 913-924.