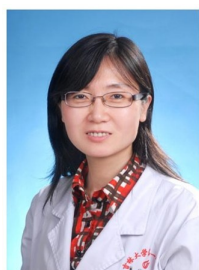


DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.08.001

· 专家论坛 ·

## 肺癌的遗传咨询与精准诊疗策略

白日兰, 刘一凝, 崔久嵬(吉林大学第一医院 肿瘤中心, 吉林 长春 130021)



**崔久嵬** 教授、主任医师、博士生导师, 现任吉林大学第一医院肿瘤中心肿瘤科主任; 兼任中国研究型医院生物治疗学专业委员会副主任委员、肺癌生物治疗学组组长, 中国医药质量管理协会细胞治疗质量控制与研究专业委员会常委, 中华医学生物免疫学会常务委员, 中国抗癌协会营养与支持委员会肿瘤免疫营养学组组长, 中国临床肿瘤学会(CSCO)理事, 中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会委员, 中国医药生物技术协会医药生物技术临床应用专业委员会委员等。主持和参加国家科技部重大慢性疾病项目1项, 国家自然科学基金重点项目1项, 国家自然科学基金4项, 国家卫生部临床重点项目3项, 教育部科学技术研究重大项目1项。在 *Blood*, *Leukemia*, *Mol Cell Proteomics*, *Clin Cancer Res* 等国际期刊上发表SCI收录文章80余篇, 主编学术著作4部, 主译学术著作2部。

**[摘要]** 环境因素是诱发肺癌的一个重要危险因素, 吸烟者患肺癌的风险是非吸烟者的20倍。然而, 仅有不到20%的吸烟者患肺癌。近年来, 多项研究表明遗传多态性在肺癌发病风险差异中发挥重要作用, 主要涉及基因单核苷酸多态性和低频高外显突变, 对其深入探究可筛选肺癌易感基因和遗传高危人群, 提供遗传咨询, 并为临床精准诊疗提供依据。本文主要从肺癌遗传易感性及高危人群筛查、早期肺癌诊断及晚期肺癌精准诊疗三方面内容进行概述。

**[关键词]** 肺癌; 遗传易感性; 单核苷酸多态性; 遗传咨询; 精准治疗

**[中图分类号]** R734.2; R730.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)08-0835-08

## Genetic counseling and precise diagnosis and treatment strategies for lung cancer

BAI Rilan, LIU Yining, CUI Jiwei (Cancer Center, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin, China)

**[Abstract]** Environmental factors are important risk factor for lung cancer. Smokers are 20 times more likely to develop lung cancer than non-smokers. However, less than 20% of smokers develop lung cancer. In recent years, many studies have shown genetic polymorphism plays an important role in the development of lung cancer, mainly involving single nucleotide polymorphisms and rare high-exogenous mutations. The in-depth research of the gene polymorphism will be beneficial to the screen of susceptible genes in lung cancer and genetically high-risk population, providing genetic counseling and evidence for clinically precise diagnosis and treatment. This article mainly summarizes the contents regarding genetic susceptibility of lung cancer and high-risk population screening, early diagnosis of lung cancer as well as precise medication of advanced lung cancer.

**[Key words]** lung neoplasms; genetic susceptibility; single nucleotide polymorphism; genetic counseling; precision medicine

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(8): 835-842. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.08.001]

肺癌位居全球恶性肿瘤发病率和病死率之首, 据2018年全球癌症统计分析报告<sup>[1]</sup>显示, 全球肺癌男、女发病率分别为1.5/10万和14.6/10万(年龄标化率), 病死率为27.1/10万和11.2/10万(年龄标化率)。在中国, 肺癌每年新发病例约73.3万, 病死达59.1万例<sup>[2]</sup>。环境是诱发肺癌的一个重要危险因素, 尤其是接触烟草等潜在致癌物质, 吸烟者患肺癌风险是非吸烟者的20倍<sup>[3]</sup>。然而, 吸烟者中仅有不到20%发生肺癌。研究<sup>[4]</sup>显示, 遗传因素在肺癌发生中同样发挥重要作用, 12%~21%的肺癌可归因于遗传因素。肺癌易感性差异来源于遗传多态性, 主要涉及基因单核苷酸多态性(single nucleotide poly-

**[基金项目]** 吉林省财政厅嵌合抗原受体(CAR)免疫细胞技术研发项目资助(No. 2018SCZWSZX-010); 吉林省科技厅科技发展计划资助项目(No. 20190303146SF); 吉林省发展和改革委员会省级产业创新专项资金项目(No. 2017C022); 吉林省科技厅重点实验室建设项目资助(No. 20170622011JC)。Project supported by the Project of Chimeric Antigen Receptor (CAR) Immune Cell Technology Research and Development from the Department of Finance of Jilin Province (No. 2018SCZWSZX-010), the Science and Technology Development Project of Department of Science and Technology of Jilin Province (No. 20190303146SF), the Special Project of Development and Reform Commission in Jilin Province (No. 2017C022), and the Key Laboratory Construction Project of Department of Science and Technology of Jilin Province (No. 20170622011JC)

**[作者简介]** 白日兰(1993-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤综合治疗的基础和临床研究工作, E-mail: bairilan@foxmail.com

**[通信作者]** 崔久嵬(CUI Jiwei, corresponding author), E-mail: cui-jw@jlu.edu.cn

morphisms, SNPs)造成的高频低外显突变和关键基因突变引起的低频高外显突变,对其深入开发和探究可筛选肺癌易感基因和遗传高危人群,提供遗传咨询,并为临床精准诊疗提供依据。

## 1 肺癌遗传易感性

### 1.1 肺癌遗传易感性及全基因组关联研究

肺癌的遗传易感性突变可分为高频低外显突变和低频高外显突变。前者由SNPs决定,指在基因组水平上由单个核苷酸变异所引起的DNA序列的多态性,最少一种等位基因在群体中的变异频率 $>1\%$ ,约每500~1 000个碱基就会出现一个<sup>[5]</sup>。其变异与疾病危险因子、诱发因子、影响因子等有关,但并不是疾病的关键基因变异。后者属罕见关键基因突变,其等位基因在群体中变异频率 $<1\%$ ,与家族遗传性肿瘤的发生密切相关。

近年来,随着基因组技术的进步和人类对自身基因组认识的深入,全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)应运而生,并成为探索肿瘤遗传易感性的重要工具。GWAS利用高通量基因型检测平台在全基因组范围内同时研究几十万甚至上百万个SNPs,在较大样本量的研究对象中筛选与疾病或性状显著相关的SNPs位点,并利用一个或多个独立人群进行验证,最终确定与疾病遗传易感性相关的SNPs位点<sup>[6]</sup>。不同种族的GWAS研究已发现大量与肺癌易感性有关的SNPs位点,目前已鉴别出20多个易感区域和40多个易感位点<sup>[7-9]</sup>。一项结合OncoArray基因分型平台数据和以往已发表的肺癌数据进行的大规模GWAS整合研究<sup>[8]</sup>发现了18个显著的肺癌遗传易感位点,其中10个为新发现位点,并在1 425例正常肺组织样品中进行eQTL(gene expression quantitative trait locus)分析,发现了3个候选基因:核糖核酸酶T2(ribonuclease T2, RNASET2)、SECISBP2L(SECIS binding protein 2 like)和神经调节蛋白1(neuregulin-1, NRG1)。GWAS揭示了肿瘤的遗传易感位点,可将研究结果应用于肺癌的风险预测,早期预测肺癌发生和治疗疗效,促进肺癌的预防和治疗,实现在肺癌遗传谱指导下的个体化精准医疗。除GWAS外,近年来基于功能通路的系统性或荟萃分析、针对非编码基因或染色质互作区域的SNPs研究也为理解肺癌发展中的功能变异提供了新的视角,为肺癌相关SNPs研究做出进一步补充<sup>[9-10]</sup>,成为肺癌遗传易感性研究的新方向。

### 1.2 肺癌遗传易感性与单核苷酸多态性

肺癌基因SNPs与其遗传易感性密切相关,这些SNPs大多位于具有重要调节功能的基因上,通过控

制香烟等潜在致癌物的代谢和解毒、DNA加合物的修复、致癌物诱导的突变、免疫系统和细胞应激等来影响肺癌的发生发展。其基因变异发生频率较高,但单个基因仅对肺癌遗传易感性风险影响相对较小。

1.2.1 代谢酶基因多态性 肺癌代谢酶基因多态性包括细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)、氮-乙酰基转移酶(N-acetyltransferase, NAT)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)和谷胱甘肽转硫酶(glutathione S-transferase, GST)等酶基因的多态性,这些酶可参与烟草等多种潜在致癌物的代谢与解毒,而代谢酶基因多态性可导致其功能缺失,使环境致癌物进入体内后发生代谢障碍从而增加肺癌的发病风险。一项研究<sup>[11]</sup>对CYP450的6个SNPs进行分型,系统评估病例对照研究中候选基因与肺癌发生风险的相关性,最终发现CYP2D6 rs1065852、CYP20A1 rs2043449、CYP24A1 rs2762934、CYP24A1 rs6068816与肺癌易感性密切相关,并显示具有CYP450基因多态性者肺癌易感性较正常人提高1.0~1.83倍。GST属于II相代谢酶,可水解、灭活化学致癌物代谢中产生的亲电子疏水化合物,其基因多态性位点包括GSTM1、GSTP1、和GSTT1。一项对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)和其他肺部良性病患者GSTM1基因多态性进行的调查分析<sup>[12]</sup>显示,NSCLC组GSTM1缺陷型检出率为61.97%,显著高于肺良性疾病组的36.62%( $P<0.05$ ),且患病风险为表达者的2.095倍;烟碱型乙酰胆碱受体(nicotine acetylcholine receptor)基因CHRNA3/5和CHRNA4编码尼古丁乙酰胆碱受体,位于染色体15q24-25区,其代谢通路的激活依赖尼古丁及其代谢产物的活性,其SNPs与吸烟相关肺癌发生相关。一项研究<sup>[13]</sup>探讨了15号染色体SNPs与家族聚集性肺癌发病风险的关系,结果显示,有肺癌家族史并携带双拷贝染色体15q24-25.1区高危程度等位基因rs8034191(OR=7.20)和/或rs1051730(OR=5.67)的被研究者,其肺癌发病危险度为对照组5倍以上,表明染色体15q24-25.1区SNPs与家族聚集性肺癌的高危险度有关。

1.2.2 DNA修复基因改变 DNA修复途径包括碱基切除修复、DNA双链断裂修复和核苷酸切除修复等,参与DNA修复的基因至少有130种,其中与肺癌遗传易感性有关的常见基因有错配切除修复基因(excision repair cross-complementing, ERCC)1/2、着色性干皮病(xeroderma pigmentosa, XP)A/C型和X射线交叉补体1(X-ray repair cross-complementing gene 1, XRCC1)等<sup>[14]</sup>。ERCC1是参与核苷酸切除修复的引导酶,用以切除受损的DNA链。ERCC2

是DNA解旋酶,与核苷酸切除修复和基因转录有关,存在Asp312Asn和Lys751Gln两个多态位点。研究<sup>[15]</sup>显示,Asp312Asn的Asn/Asn多态性可增加非吸烟人群肺癌发病风险,降低重度吸烟人群肺癌发病风险,而Asp/Asp野生型可增加轻度吸烟人群肺癌发病风险。

**1.2.3 抑癌基因突变** 抑癌基因可抑制细胞生长并具有潜在抑癌作用,常见抑癌基因突变包括p53、MDM2、细胞周期蛋白D1(Cyclin-D1,CCND1)和TP53结合蛋白1(TP53-binding protein 1,TP53BP1)等的变异。p53基因中存在一个多态位点G12139CAr972Pro,可能降低细胞的转化活性、诱导细胞凋亡<sup>[16]</sup>。国际肺癌联盟(International Lung Cancer Consortium,ILCCO)分析<sup>[17]</sup>表明,Pro/Pro纯合基因可使肺癌发病风险增加1.2倍。TP53BP1参与DNA损伤信号传递及DNA修复,还能加强TP53介导的基因的转录活性,其基因多态可中止细胞分裂的G期到M期,通过检测点的无效控制增加肺癌发病风险。与此一致地,研究<sup>[18]</sup>发现,TP53BP1在细胞减数分裂过程中的染色体稳定性和纺锤体双极性中起着至关重要的作用。此外,ILCCO研究<sup>[17]</sup>发现rs560191多态可降低肺癌发病风险,在鳞状细胞癌中尤为明显。

**1.2.4 其他与肺癌易感性相关的因素** 除以上外,其他因素也会影响肺癌易感性,包括白细胞介素及其相关基因、肿瘤坏死因子、环氧化酶2、端粒长度等,可通过其他基因的SNPs,如调节免疫系统和细胞应激等方面基因,影响肺癌的发生发展。染色体5p15.33区有两个已知基因:人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase,TERT)和唇腭裂穿膜蛋白1(cleft lip and palate transmembrane 1 like,CLPTM1L)<sup>[19]</sup>。TERT可通过影响端粒酶活性和端粒长度,参与细胞凋亡、DNA损伤修复和基因表达调控等过程,影响肿瘤发病风险<sup>[20]</sup>。

### 1.3 肺癌遗传易感性与低频高外显突变

低频高外显突变属关键基因突变,其等位基因在群体中变异频率<1%,主要包括一些与肺癌发生密切相关的家族性遗传性肺癌基因突变,如表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)T790M突变、酪氨酸激酶受体2(V-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2,ERBB2)G660D突变、调定点激酶(check-point kinase 2,CHEK2)纯合突变、细胞周期依赖性激酶抑制基2A(cyclindependent kinase inhibitors 2A,CDKN2A)突变等。此类基因与肺癌发生的机制主要为“二次打击”学说<sup>[21]</sup>,指一些细胞的恶性转化需两次或两次以上的突变,第一次突变发生在

生殖细胞或由父母遗传而来,第二次突变则发生在体细胞,该学说对一些遗传性肿瘤早年发病、双侧多发、家族聚集等现象作出了合理解释<sup>[21]</sup>。研究<sup>[21]</sup>也证实,73%的肺癌胚系突变携带者中包含二次EGFR激活突变,如T790M突变大多合并另一敏感突变,表现为T790M-L858R,T790M-19外显子缺失或T790M-G719A等多种杂合性双突变,进一步证实该学说在低频高外显突变致病中的合理性。

EGFR基因突变多与腺癌、女性、东亚族裔及低或无烟草接触史有关。一项研究<sup>[22]</sup>对12 833例中国肺癌患者进行了回顾性分析,鉴定出8种EGFR杂合种系突变和一种ERBB2种系突变(0.12%),这些突变均位于EGFR/HER2的激酶结构域内或邻近区域。该研究显示,EGFR种系突变具有更多的多样性,并表明中国肺癌患者可能携带独特的种系突变模式。EGFR突变肺癌患者中存在1%~4%的T790M种系突变,对7 500名受试者进行的研究<sup>[22]</sup>显示,其在一般人群中的流行率<1%。EGFR T790M种系突变可引起独特的遗传性肺癌综合征,与家族性肺癌发病有关,是重要的肺癌易感基因,携带EGFR T790M种系突变的非吸烟者,肺癌发生率高达31%。

抑癌基因CDKN2A(P16基因)定位于染色体9p21,编码p16INK4A和p14ARF基因,可通过调节细胞周期抑制肿瘤发展。家族性黑色素瘤中5%~20%会发生CDKN2A的种系突变。研究<sup>[23]</sup>显示,与非携带者比,肺癌中p.Arg 112dup携带者预期相对危险度(relative risk,RR)为15.6,其一级亲属RR为9,二级亲属为2.8。可见,低频高外显基因突变对于肺癌遗传易感性的影响远大于高频低外显基因变异,对其的发现及深入研究对肺癌患者遗传咨询具有重要意义。

### 1.4 基于肺癌遗传易感性的高危人群筛查

在“肺结节诊治中国专家共识(2018年版)”基础上,中国肺癌专家共同制定了肺癌筛查与管理共识。建议将中国肺癌高危人群定义为年龄≥40岁且具有以下任一危险因素者:(1)吸烟≥400年支(或20包年),或曾经吸烟≥400年支(或20包年),戒烟时间<15年;(2)有环境或高危职业暴露史(如石棉、铍、铀、氡等接触者);(3)合并COPD、弥漫性肺纤维化或既往有肺结核病史者;(4)既往罹患恶性肿瘤或有肺癌家族史者,尤其一级亲属家族史。此外,还需考虑被动吸烟、烹饪油烟及空气污染等因素。对于有家族性肺癌易感基因突变的患者,建议直系亲属进行相关基因检测,并根据肺癌遗传风险指导肺癌筛查,降低直系亲属的肺癌病死风险;对于其他高危人群,建议构建肺癌风险预测模型,为其筛查和精准预防提供重要参考依据。

尽管单个基因 SNPs 对肿瘤发生的预测效应较弱,但联合多个易感基因 SNPs 可提高对肿瘤发病风险的预测效力。在肺癌的风险预测模型研究中,传统的风险预测模型主要基于流行病学调查数据(如年龄、吸烟状态和职业暴露等),在信息收集过程中很难避免偏倚。相比而言,遗传易感位点稳定存在,检测方便且可重复率高,是用于风险预测的可靠信息,联合遗传易感位点可在不同程度上提高肺癌风险预测模型的预测效能。朱猛<sup>[24]</sup>等人结合肺癌最主要的环境危险因素及 GWAS 发现的肺癌易感基因 SNPs,构建了三种风险预测模型(吸烟模型、遗传效应模型和联合模型),并根据受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC)、曲线下面积(area under the curve, AUC)等指标评价模型的预测效能。结果显示,基于 14 个中国人群肺癌易感位点和吸烟情况所构建的联合模型对肺癌发病风险的预测效能显著高于传统模型,提示遗传易感位点可增加风险预测模型的预测效果。

有研究<sup>[25]</sup>比较了 6 种新的模型构建方法,发现逐步加权遗传得分(stepwise weighted GRS, sGRS)和混合效应模型(linear mixed models, LMMs)效果最为明显, sGRS-LMMs 联合的方法可将肺癌风险预测模型 AUC 在训练集提高到 0.989,在验证集中也达到了 0.735,显著提高了肺癌的预测能力和准确度。研究显示,仅利用传统因素(如吸烟)的预测准确度(AUC)为 0.687,结合 sGRS 方法寻找的 SNPs 位点集(57 个)将 AUC 提高到 0.831,结合 sGRS-LMM 方法的全部遗传易感位点(57 万个)可将 AUC 进一步提高到 0.847。但三种预测模型还有较大的提高空间,如可从增大样本量、改进预测方法等角度实施。研究人员利用中国人群最大的肺癌 GWAS 数据库,通过等位基因频率、连锁不平衡及关联分析<sup>[26]</sup>,筛选出 19 个独立易感位点,最终建立了中国人群肺癌多基因遗传风险评分 PRS-19。研究<sup>[26]</sup>显示,随着遗传评分的增加,肺癌发病风险显著增加,并呈现明显的剂量-反应关系。当以 <5%、5%~95%、>95% 定义低、中、高遗传风险人群时,发现 3 个人群肺癌发病风险存在明显差异,高风险人群肺癌发病率是低风险人群的 2.37 倍(95% CI:1.64~3.44)。

肺癌发病风险受环境危险因素暴露水平波动影响,研究者需对其进行动态连续监测并开展前瞻性队列研究,构建动态风险预测模型。就基于 GWAS 的预测研究而言,并不应局限于常见变异位点效应的简单累加,考虑位点间或基因间交互作用、基因-环境交互作用亦会提高预测准确度。肿瘤风险预测模型的完善和应用,有利于评估人群的发病风险,实现

肿瘤的前期预防和早诊早治。

## 2 肺癌的早期诊断

临床上,20%~30% 胸部低剂量 CT (low-dose computed tomography, LDCT)发现的肺结节中,仅 3.8% 为恶性。直径 5~10 mm 的肺结节恶性率为 6%~28%。对于直径 >8 mm 的肺结节可通过病理活检技术以明确,但对于直径 <8 mm 或难以获取病理组织者,早期诊断存在困难。因此,定期 LDCT 随访虽可作为高危人群肺癌筛查可靠的基础检查手段,但还应积极探索灵敏度和特异性较高,且具有成本效益的早期诊断新方法,如以循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)、循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)为代表的液体活检的监测或 DNA 甲基化的检测等。对高危患者的筛查、早期诊断、及时干预及治疗尤为重要。

### 2.1 DNA 甲基化在肺癌早期诊断中的应用

DNA 甲基化是真核生物中一种相对保守、研究较为清楚的表观遗传修饰机制之一,对基因表达具有重要影响。高甲基化使 DNA 转录受抑制,使经典抑癌基因、细胞周期调控基因和 DNA 错配修复基因不表达或低表达而致癌<sup>[27]</sup>,对早期肺癌、原位癌或癌前病变中 DNA 甲基化进行检测,可为早期诊断提供重要帮助。目前,检测与肺癌相关高甲基化特异基因包括细胞因子信号转导抑制因子(suppressor of cytokine signaling, SOCS)、错配修复基因(mutl-homologue, MLH)、分泌型卷曲相关蛋白(secreted frizzled-related proteins, SFRP)、矮身高同源框(short stature homeobox, SHOX2)。甲基化检测方法主要有甲基化特异性 PCR(MS-PCR)、亚硫酸盐处理及测序、PCR 荧光变性曲线分析、荧光定量法和甲基化芯片等。甲基化荧光定量 PCR 是一种荧光实时定量甲基化特异性 PCR 技术,通过引物和探针设计,可同时检测多个目的基因的甲基化情况。甲基化芯片可将所有已知甲基化位点集成于一张芯片,可同时检测整个肿瘤甲基化变化,更好地筛选有诊断价值的新型 DNA 甲基化标志物。肺癌甲基化检测标本可为肺癌组织和支气管肺泡灌洗液,研究<sup>[28]</sup>发现,在肺癌患者的支气管肺泡灌洗液中,SHOX2 与 RAS 相关区域家族 1A(RAS association domain family 1A, RASSF1A)存在异常的甲基化,特异性为 97.4%。

目前应用最广泛的肺癌特异性基因甲基化检测试剂盒为人 SHOX2、RASSF1A 基因甲基化 DNA 检测试剂盒<sup>[29]</sup>。研究<sup>[30]</sup>显示,相比于肺腺癌,SHOX2 基因甲基化检测对于小细胞肺癌和肺鳞癌具有更高的特异性,RASSF1A 的表达下调对肺腺癌的发展和预后至关

重要。甲基化检测在临床实践可辅助诊断肺癌,尤其是早期肺癌,并可辅助肺部小结节的良恶性鉴别。例如,研究者<sup>[31]</sup>使用PCR技术对NSCLC患者和正常人APC基因高甲基化进行了检测,结果表明,95%肿瘤样本可检测到APC基因高甲基化,同时NSCLC患者远离病灶的正常肺组织也可检测到APC基因高甲基化(88%),而正常人肺组织中APC基因高甲基化仅占20%;APC基因高甲基化平均水平在肿瘤中为4.75,正常人仅有1.57( $P<0.001$ )。此外,最近有研究<sup>[27]</sup>开发了一种新的可用于精确检测全基因组DNA甲基化和基因组变异的方法——导向定位测序(guide positioning sequencing, GPS),其对胞嘧啶检测覆盖率可达96%,对GC富集和重复区域覆盖率可达无偏倚程度,准确性和效率均比全基因组亚硫酸氢盐测序(whole-genome bisulfite sequencing, WGBS)更高。基于此,该研究还揭示了异常DNA甲基化与早期肿瘤发生和转移的新机制。

另外,甲基化检测还可作为细胞学检测的补充,有效提高肺癌检测灵敏度和特异性。临床上,建议受检者同时进行肺泡灌洗液细胞学和基因甲基化检测:若细胞学和甲基化检测均为阳性,则患肿瘤可能性很大,建议及时行病理学检测确诊;若细胞学和甲基化检测均未检出,建议加强随访和监控;若细胞学检测结果为阳性,而甲基化检测为阴性,建议及时进行病理确诊或进一步手术;若检测甲基化的两个基因任一为阳性,而细胞学结果为阴性,则建议结合影像学表征或其他检测结果决定是否手术或病理确诊,并密切随访3~6个月。一项基于大规模临床数据分析和深度学习的研究<sup>[32]</sup>提出了用于肝癌早期筛查、风险评估和预后监测的甲基化模型,包括综合诊断模型(cd-score)和综合预后模型(cp-score),并验证了其在肿瘤监测方面的潜在作用。此外,联合检测多个基因甲基化标志物有助于提高肺癌诊断敏感性和特异性,分别达71.5%~83.2%和90%~97.4%<sup>[33]</sup>。研究<sup>[33]</sup>显示,高水平甲基化(甲基化率 $\geq 4\%$ )在肺癌组织中占63%,癌旁组织中为6%,联合检测RASSF1、DAPK1、BES、CDH13、MGMT、KCNH5、RAR $\beta$ 和CDH1等基因的甲基化情况,肺癌组织阳性率可达80%。

## 2.2 液体活检技术在肺癌早期诊断中的应用

除DNA甲基化表达情况外,以ctDNA为代表的液体活检技术的出现,在肺癌患者的早期诊断方面也显现出重要价值。定性分析ctDNA突变、扩增及缺失等信息可识别与肿瘤相关的遗传改变;定量分析ctDNA突变等位基因可反映肿瘤负荷,监测血液微小肿瘤病灶,进行早期个体化诊断和治疗<sup>[34-35]</sup>。然而,血液中来源于白细胞的突变,即克隆性造血相关突

变的增多会影响ctDNA检测特异性。一项研究<sup>[36]</sup>通过超深度测序发现,ctDNA突变中超过50%的突变来源于白细胞突变,可能由肿瘤治疗(如放疗、化疗)的诱导引起。最近,COHEN等<sup>[37]</sup>提出将16种肿瘤相关基因的ctDNA分析与8种蛋白质生物标志物(如CA-125, CEA, CA19-9, 催乳素等)的评估联合检测的CancerSEEK方法,以进行早期肿瘤筛查。结果显示, CancerSEEK法可用于筛查八种常见肿瘤,检测5种肿瘤类型(卵巢癌、肝癌、胃癌、胰腺癌和食管癌)的灵敏度范围为69%~98%,中位敏感性为70%,特异性 $\geq 99\%$ <sup>[37]</sup>。但该试验存在一些局限性,实验组由临床检测到的肿瘤患者组成,对照组仅包含健康个体。因此,其检测的敏感性和假阳性率有待进一步研究验证,未来需要开展更多大规模前瞻性临床试验。CTCs可反映肿瘤组织特点,帮助开展病理诊断、分子测序和无创动态疾病监测等。中国一项多中心大规模临床试验<sup>[38]</sup>结果表明,使用叶酸受体靶向PCR的CTCs检测技术检测肺癌的灵敏度和特异性分别为82.5%和72.2%,特别是在I期肺癌灵敏度达到86.8%。该技术是目前国内唯一、也是首个经中国国家食品药品监督管理局批准应用于临床肺癌CTCs检测的试剂盒。此外,CTCs检测联合影像学检查也可显著提高肺结节诊断的特异性,但仍需大样本多中心临床研究以证实。

## 3 晚期肺癌的精准诊疗策略

已确诊的晚期肺癌患者应进行组织活检和基因检测,以此选择适合的治疗药物。对于驱动基因阳性的肺癌患者可选用特定靶向治疗药物<sup>[39]</sup>。EGFR和ALK突变是最常见的驱动基因阳性类型,目前其治疗手段不断丰富,包括酪氨酸激酶抑制剂单药或联合化疗或抗血管生成治疗等,而一线治疗方案的选择已成为目前研究的热点和难点。美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)NSCLC指南专家组建议进行广泛的分子检测,识别罕见的驱动突变,进行有效的靶向药物治疗或可酌情建议患者入组现有临床试验<sup>[39]</sup>。其推荐EGFR非经典突变肺癌可考虑阿法替尼(afatinib)、波齐替尼(poziotinib)或新型药物TAK-788,HER2基因突变者选用曲妥珠单抗抗体-药物偶联物(ado-trastuzumab emtansine),MET或ROS1突变者可选用克唑替尼,RET基因融合/突变可选凡德他尼(vandetanib)、卡博替尼(cabozantinib),BRAF突变可选达拉菲尼(dabrafenib)联合威罗菲尼(vemurafenib)等。

对于驱动基因阴性的患者,传统化疗方案中位无

进展生存期与总生存期分别为5~6个月和11~12个月,患者的远期疗效亟待提高。近几年,以免疫检查点抑制剂为代表的免疫治疗开启了肿瘤治疗的新时代,目前已有多种药物获批上市,使肺癌免疫治疗模式实现了从二线治疗到一线单药或联合治疗的突破性进展<sup>[40-41]</sup>。鉴于免疫治疗费用昂贵、仅可使部分患者获益,且宿主细胞突变或肿瘤相关突变均可能影响免疫治疗疗效,因此对其基因突变的检测也至关重要,如肿瘤基因突变负荷、错配修复缺陷/微卫星不稳定性高、插入/缺失突变、体细胞拷贝数改变、DNA甲基化畸变等<sup>[42-43]</sup>。此外,最新研究<sup>[43]</sup>显示,携带有肿瘤特定基因突变的患者,如KRAS、TP53、STK11、KEAP1 [Keynote-042 study(NCT02220894)]和肿瘤特异性遗传内源性逆转录病毒(endogenous retroviruses, ERVs)的异常表达等,也可能从免疫检查点抑制剂治疗中获益。因此,对肺癌患者的基因突变检测可为临床免疫治疗的有效实施提供宝贵的参考价值。

#### 4 总结

近几年,多项研究表明遗传多态性在肺癌发病风险差异中发挥重要作用,肺癌遗传易感性突变分为高频低外显突变(SNPs决定)和低频高外显突变(关键基因突变决定),影响个体肺癌的发病风险。SNPs可通过影响香烟等致癌物的代谢和解毒、DNA损伤修复、致癌物诱导的突变或调节免疫系统和细胞应激等参与肺癌的发生发展,而高外显基因突变多为致病的关键基因变异,其致病多涉及二次突变学说。基于对肺癌遗传易感性研究的深入探索,可对高危人群进行遗传指导:对家族性肺癌易感基因突变者,建议其直系亲属进行相关家族性肺癌易感基因检测,并根据肺癌遗传风险指导肺癌高危人群筛查,降低直系亲属的肺癌死亡风险;而对于其他高危人群,可通过构建肺癌风险预测模型,为其筛查和精准预防提供重要参考。肺癌的早期诊断存在困难,DNA高甲基化是多数早期肺癌、原位癌或癌前病变的特征,通过检测DNA甲基化或联合多基因甲基化检测,同时辅以细胞学检查,可为肺癌早期诊断提供重要帮助。对于已确诊的晚期肺癌患者,已开发多种靶向治疗、免疫治疗等治疗手段,建议遵循多维考量、精准优化的原则,为患者制定量体裁身的个体化精准诊疗策略。

#### [参考文献]

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J/OL]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30207593/>. DOI: 10.3322/caac.21492.
- [2] BETTONVILLE M, D'ARIA S, WEATHERLY K, et al. Long-term antigen exposure irreversibly modifies metabolic requirements for T cell function[J/OL]. *Elife*, 2018, 7: e30938[2020-06-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6025959/>. DOI: 10.7554/eLife.30938.
- [3] VAZ M, HWANG S Y, KAGIAMPAKIS I, et al. Chronic cigarette smoke-induced epigenomic changes precede sensitization of bronchial epithelial cells to single-step transformation by KRAS mutations[J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(3): 360-376. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5596892/>. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.08.006.
- [4] DAI J, SHEN W, WEN W, et al. Estimation of heritability for nine common cancers using data from genome-wide association studies in Chinese population[J/OL]. *Int J Cancer*, 2017, 140(2): 329-336 [2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27668986/>. DOI: 10.1002/ijc.30447.
- [5] KOBERLE B, KOCH B, FISCHER B M, et al. Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes and putative cancer risk[J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(10): 2369-2388[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27334373/>. DOI: 10.1007/s00204-016-1771-2.
- [6] BYUN J, SCHWARTZ A G, LUSK C, et al. Genome-wide association study of familial lung cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2018, 39(9): 1135-1140. DOI:10.1093/carcin/bgy080.
- [7] BOSSE Y, AMOS C I. A decade of GWAS results in lung cancer [J/OL]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2018, 27(4): 363-379 [2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28615365/>. DOI: 10.1158/1055-9965.
- [8] MCKAY J D, HUNG R J, HAN Y, et al. Large-scale association analysis identifies new lung cancer susceptibility loci and heterogeneity in genetic susceptibility across histological subtypes[J/OL]. *Nat Genet*, 2017, 49(7): 1126-1132[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28604730/>. DOI: 10.1038/ng.3892.
- [9] JI P, DING D, QIN N, et al. Systematic analyses of genetic variants in chromatin interaction regions identified four novel lung cancer susceptibility loci[J/OL]. *J Cancer*, 2020, 11(5):1075-1081[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31956354/>. DOI: 10.7150/jca.35127.
- [10] HUANG X, ZHANG W Y, SHAO Z W. Association between long non-coding RNA polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(4): BSR20180365[2020-06-17]. <https://portlandpress.com/bioscirep/article/38/4/BSR20180365/57877/Association-between-long-non-coding-RNA>. DOI:10.1042/bsr20180365.
- [11] LI M, LI A, HE R, et al. Gene polymorphism of cytochrome P450 significantly affects lung cancer susceptibility[J/OL]. *Cancer Med*, 2019, 8(10): 4892-4905[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31264381/>. DOI: 10.1002/cam4.2367.
- [12] ABBOTT J, TELENI L, MCKAVANAGH D, et al. Patient-generated subjective global assessment short form (PG-SGA SF) is a valid screening tool in chemotherapy outpatients[J/OL]. *Support Care Cancer*, 2016, 24(9): 3883-3887[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27095352/>. DOI: 10.1007/s00520-016-3196-0.
- [13] 张峰, 严江伟, 王杨, 等. 家族聚集性肺癌的遗传易感性[J]. *循证医学*

- 学, 2009, 9(4): 213-216. DOI:10.3969/j.issn.1671-5144.2009.04.020.
- [14] LI W, ZHANG M, HUANG C, et al. Genetic variants of DNA repair pathway genes on lung cancer risk[J/OL]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(10): 152548[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31337555/>. DOI: 10.1016/j.prp.2019.152548.
- [15] FENG Z, NI Y, DONG W, et al. Association of ERCC2/XPD polymorphisms and interaction with tobacco smoking in lung cancer susceptibility: a systemic review and meta-analysis[J/OL]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(1): 57-69[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21614524/>. DOI: 10.1007/s11033-011-0710-9.
- [16] WANG S, LAN X, TAN S, et al. P53 codon 72 Arg/Pro polymorphism and lung cancer risk in Asians: an updated meta-analysis[J/OL]. *Tumour Biol*, 2013, 34(5): 2511-2520[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23812725/>. DOI: 10.1007/s13277-013-0678-2.
- [17] TRUONG T, SAUTER W, MCKAY J D, et al. International lung cancer consortium: coordinated association study of 10 potential lung cancer susceptibility variants[J/OL]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(4): 625-633[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20106900/>. DOI: 10.1093/carcin/bgq001.
- [18] JIN Z L, SUK N, KIM N H. TP53BP1 regulates chromosome alignment and spindle bipolarity in mouse oocytes[J/OL]. *Mol Reprod Dev*, 2019, 86(9): 1126-1137[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31267601/>. DOI: 10.1002/mrd.23228.
- [19] JI Z, LI Y, XIANG C, et al. TERT-rs33963617 and CLPTM1L-rs77518573 reduce the risk of non-small cell lung cancer in Chinese population[J/OL]. *Gene*, 2020, 731: 144357[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31935503/>. DOI: 10.1016/j.gene.2020.144357.
- [20] LI Y, XIANG C, SHEN N, et al. Functional polymorphisms on chromosome 5p15.33 disturb telomere biology and confer the risk of non-small cell lung cancer in Chinese population[J/OL]. *Mol Carcinog*, 2019, 58(6): 913-921[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30680798/>. DOI: 10.1002/mc.22980.
- [21] GAZDAR A, ROBINSON L, OLIVER D, et al. Hereditary lung cancer syndrome targets never smokers with germline EGFR gene T790M mutations[J]. *J Thorac Oncol*, 2014, 9(4): 456-463. DOI: 10.1097/JTO.000000000000130.
- [22] LU S, YU Y, LI Z, et al. EGFR and ERBB2 germline mutations in chinese lung cancer patients and their roles in genetic susceptibility to cancer[J/OL]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(4): 732-736[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30610926/>. DOI: 10.1016/j.jtho.2018.12.006.
- [23] HELGADOTTIR H, HOIOM V, JONSSON G, et al. High risk of tobacco-related cancers in CDKN2A mutation-positive melanoma families[J/OL]. *J Med Genet*, 2014, 51(8): 545-552[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24935963/>. DOI: 10.1136/jmedgenet-2014-102320.
- [24] 朱猛, 程阳, 戴俊程, 等. 基于全基因组关联研究的中国人肺癌风险预测模型[J]. *中华流行病学杂志*, 2015, 36(10): 1047-1052. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.10.002.
- [25] 段巍巍, 张秋伊, 陈海. 基于肺癌全基因组关联研究数据的疾病风险预测[C]. 中国统计教育学会. 2015年(第四届)全国大学生统计建模大赛论文. 中国统计教育学会: 中国统计教育学会, 2015: 1280-1299.
- [26] DAI J, LV J, ZHU M, et al. Identification of risk loci and a polygenic risk score for lung cancer: a large-scale prospective cohort study in Chinese populations[J/OL]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7(10): 881-891[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31326317/>. DOI: 10.1016/S2213-2600(19)30144-4.
- [27] LI J, LI Y, LI W, et al. Guide positioning sequencing identifies aberrant DNA methylation patterns that alter cell identity and tumor-immune surveillance networks[J/OL]. *Genome Res*, 2019, 29(2): 270-280[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30670627/>. DOI: 10.1101/gr.240606.118.
- [28] ZHANG C, YU W, WANG L, et al. DNA methylation analysis of the SHOX2 and RASSF1A panel in bronchoalveolar lavage fluid for lung cancer diagnosis[J/OL]. *J Cancer*, 2017, 8(17): 3585-3591[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29151944/>. DOI: 10.7150/jca.21368.
- [29] LI N, ZENG Y, HUANG J. Signaling pathways and clinical application of RASSF1A and SHOX2 in lung cancer[J/OL]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(6): 1379-1393[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32266538/>. DOI: 10.1007/s00432-020-03188-9.
- [30] DENG Q F, SU B, JI X X, et al. Predictive value of unmethylated RASSF1A on disease progression in non-small cell lung cancer patients receiving pemetrexed-based chemotherapy[J]. *Cancer Biomarkers*, 2020, 27(3): 313-323. DOI:10.3233/CBM-190258.
- [31] BRABENDER J, USADEL H, DANENBERG K D, et al. Adenomatous polyposis coli gene promoter hypermethylation in non-small cell lung cancer is associated with survival[J]. *Oncogene*, 2001, 20(27): 3528-3532. DOI:10.1038/sj.onc.1204455.
- [32] XU R H, WEI W, KRAWCZYK M, et al. Circulating tumour DNA methylation markers for diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Nat Mater*, 2017, 16(11): 1155-1161[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29035356/>. DOI: 10.1038/nmat4997.
- [33] FENG Q, HAWES S E, STERN J E, et al. DNA methylation in tumor and matched normal tissues from non-small cell lung cancer patients[J/OL]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008, 17(3): 645-654[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18349282/>. DOI: 10.1158/1055-9965.
- [34] VIDAL J, TAUS A, MONTAGUT C. Dynamic treatment stratification using ctDNA[J]. *Recent Results Cancer Res*, 2020, 215: 263-273. DOI:10.1007/978-3-030-26439-0\_14.
- [35] VAIDYANATHAN R, SOON R H, ZHANG P, et al. Cancer diagnosis: from tumor to liquid biopsy and beyond[J]. *Lab Chip*, 2018, 19(1): 11-34. DOI:10.1039/c8lc00684a.
- [36] RAZAVI P, LI B T, BROWN D N, et al. High-intensity sequencing reveals the sources of plasma circulating cell-free DNA variants[J]. *Nat Med*, 2019, 25(12): 1928. DOI:10.1038/s41591-019-0652-7.
- [37] COHEN J D, LI L. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test[J/OL]. *Science*, 2018, 359(6378): 926-930[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29348365/>. DOI: 10.1126/science.aar3247.
- [38] 连欢欢, 丁志丹, 袁东风, 等. 应用FR靶向PCR法检测 CTC 在肺癌诊断中的临床价值: 初步研究[J]. *中国肺癌杂志*, 2016, 19(12): 813-820. DOI:10.3779/j.issn.1009-3419.2016.12.03.
- [39] ETTINGER D S, WOOD D E, AGGARWAL C, et al. NCCN guidelines insights: non-small cell lung cancer, version 1.2020[J]. *J Natl*

- Compr Cancer Netw, 2019, 17(12): 1464-1472. DOI: 10.6004/jnccn.2019.0059.
- [40] CHEN Y M. First-line combination immunotherapy for metastatic non-small cell lung cancer[J]. J Chin Med Assoc, 2020, 83(5): 433-441. DOI:10.1097/JCMA.0000000000000287.
- [41] LIM S M, HONG M H. Immunotherapy for non-small cell lung cancer: current landscape and future perspectives[J/OL]. Immune Netw, 2020, 20(1): e10[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32158598/>. DOI: 10.4110/in.2020.20.e10.
- [42] ALBORELLI I, LEONARDS K. Tumor mutational burden assessed by targeted NGS predicts clinical benefit from immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer[J/OL]. 2020, 250(1): 19-29 [2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31471895/>. DOI: 10.1002/path.5344.
- [43] BODOR J N, BOUMBER Y, BORGHAEI H. Biomarkers for immune checkpoint inhibition in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J/OL]. Cancer, 2020, 126(2): 260-270[2020-06-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31691957/>. DOI: 10.1002/cncr.32468.
- [收稿日期] 2020-02-20 [修回日期] 2020-08-12  
[本文编辑] 黄静怡,沈志超