

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.01.012

· 综述 ·

循环肿瘤DNA在恶性黑色素瘤中的临床应用研究进展

Research progress on clinical application of circulating tumor DNA in malignant melanoma

赵梦珂¹综述; 邹征云^{1,2}审阅(1. 南京医科大学鼓楼临床医学院 肿瘤中心, 江苏 南京 211166; 2. 南京大学医学院附属鼓楼医院 肿瘤中心, 江苏 南京 210008)

[摘要] 恶性黑色素瘤(MM)是一种高侵袭性、高致死率的恶性肿瘤。液体活检由于具有样本易获得和创伤性低等优势,在恶性肿瘤诊断和监测中的重要性日益凸显,循环肿瘤DNA(ctDNA)检测正是其中一项新兴起的检测手段。ctDNA在MM诊断和治疗中的临床应用范围十分广泛,包括早期筛查MM人群、帮助检测MM的可驱动基因、监测和评判肿瘤的复发与转移、预测患者对靶向和免疫治疗的反应等。多项研究表明,无论是肿瘤术后辅助治疗还是晚期治疗的肿瘤患者,ctDNA能更好地反映肿瘤的异质性,提供预后相关信息,更早判断疾病的复发与转移,能准确评估对治疗的反应并确定耐药机制等。虽然目前尚未出现基于ctDNA的MM诊治共识,相关研究结论仍需要在前瞻性临床试验中继续验证,但是ctDNA检测为MM患者的临床管理提供了新的选择,不久或将用于进一步完善MM的诊断和治疗。

[关键词] 恶性黑色素瘤(MM); 循环肿瘤DNA(ctDNA); 液体活检; 预后

[中图分类号] R739.41; R730.43; R730.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)01-0081-06

恶性黑色素瘤(malignant melanoma, MM)是一种高侵袭性和高致死率的恶性肿瘤,通常与确诊时分期较晚和黑色素细胞的高度转移性相关^[1]。MM不同于其他实体瘤有特异性较高的血清学监测指标,且传统的肿瘤组织活检并不适合连续疾病监测,因此引入液体活检这一微创且高灵敏度的检测方法^[2]。循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)通常来自原发性肿瘤、转移性肿瘤和循环肿瘤细胞,在肿瘤细胞凋亡和坏死过程中被释放,肿瘤负荷、位置和组织学类型都会影响其释放^[3],相较于单个部位的肿瘤组织,ctDNA能综合肿瘤内和肿瘤间的异质性以及多个肿瘤部位,更好地反映肿瘤全貌^[4],能持续监控肿瘤的进程,更能帮助确定免疫治疗在内的各种癌症治疗策略的耐药机制。因此,ctDNA是一个高效的诊断或监测工具。本文主要论述近年来ctDNA在MM中临床应用的研究进展及潜在价值。

1 ctDNA对MM的早期筛查

高加索人群的MM好发于皮肤,通常与慢性日光损伤相关。中国MM好发于肢端及黏膜,肢端MM的发病基础通常是先天或后天形成的黑斑,又或者与迁延不愈的外伤相关,有患者从黑斑形成到确诊MM可长达数十年,而加拿大蒙特利尔麦吉尔健康中心研究所痣队列的数据表明,ctDNA可能预示着病变向MM的转化,尤其是对于葡萄膜黑色素瘤(uveal melanoma, UM)患者,利用ctDNA监测眼内痣对于患者的随访至关重要^[5]。对于高危人群,在早期监测到

疾病进展(PD)能有效改善其预后,ctDNA有望动态监测疾病的变化。但是由于研究结果^[6]显示,目前原发性UM中的ctDNA检出率仅在2%~9%,因此,原发性UM中ctDNA的可检测性仍有争议,需进一步研究。同时,选择合适的方法对ctDNA进行检测也是至关重要,表1罗列出了目前主要的几种ctDNA检测手段及各自的优缺点^[7-17]。

2 ctDNA辅助检测MM的可驱动基因

MM的致病特征包括与生长因子的自给自足、对生长抑制剂不敏感、逃避细胞凋亡、无限的复制潜力、持续的血管生成、组织侵袭和转移等特征相关的非典型黑色素细胞的生长和扩增。这些MM致病事件可以通过激活癌基因或通过分子机制(如点突变、缺失和易位)或表观遗传机制(如miRNA表达和启动子甲基化)使抑癌基因失活来触发,基因组的分析提示多种复杂细胞信号通路(包括MAPK、PI3K/PTEN/AKT和MITF等)参与MM的发病^[18]。检测相关通路中的基因突变,对患者选择合适的靶向治疗药物有重要的指导意义,这意味着不仅是原发肿瘤组织的基因测序,在治疗过程中动态监测ctDNA,尤其是靶向治疗有关的突变ctDNA检测,可以推动治疗方案

[基金项目] 国家自然科学基金项目(No.81872484, No.82073365); 江苏省社会发展面上项目(No.BE2019605)

[作者简介] 赵梦珂(1997—),女,硕士,住院医师,主要从事恶性黑色素瘤的基础与临床研究, E-mail:njyxzm@163.com

[通信作者] 邹征云, Email: zouzhenyuan001@163.com

的选择与调整。一项真实世界研究纳入了影像学可测量病灶的转移性MM患者,进行血浆ctDNA突变结果及组织突变结果与总体肿瘤负荷相关性的比较,其中1例原发肿瘤组织检测提示BRAF野生型的患者被确认有循环BRAF V600E突变,这意味着患者可以选择达拉非尼(BRAF抑制剂)、曲美替尼(MEK

抑制剂)进行靶向治疗;随后对该患者恶性胸腔积液转移性肿瘤细胞进行的二代测序也提示为BRAF V600E突变,证实了ctDNA检测结果^[19]。这一现象或许与肿瘤异质性有关,但也提示ctDNA是检测关键突变和表观遗传变化的一项很有前景的生物标志物,对检测临床可驱动基因具有潜在意义。

表1 ctDNA主要的检测手段及其优缺点

检测方法	检测覆盖	优点	缺点	相关文献
微滴式数字PCR(ddPCR)	特定的已知突变	灵敏度高,绝对量化	检测通量低,对仪器要求高	[7-8]
乳液微滴数字分析技术(BEAMing)	特定的已知突变	灵敏度高	成本高,操作复杂	[9]
扩增阻滞突变系统PCR(ARMS-PCR)	特定的已知突变	操作简单,仪器要求低,灵敏度高	误报率高	[10]
靶向二代测序				
标记扩增深度测序技术(TAm-Seq)	已知和未知的突变	灵敏度高,价格适中	覆盖率较低	[11-12]
癌症个体化深度测序分析(CAPP-Seq)	已知和未知的突变	灵敏度高,价格适中	覆盖率较低	[13-14]
靶向错误校正测序(TEC-Seq)	已知和未知的突变	灵敏度高,价格适中	覆盖率较低	[15-16]
二代基因测序(NGS)	已知和未知的突变	高通量、高自动化程度	更贵,更费时间	[17]

3 ctDNA监测和早期判断MM的复发与转移

MM的生物学行为极差,较易发生区域淋巴结转移及远处转移,因此在肿瘤复发的早期阶段尽早发现,有助于及时调整治疗策略。一项关于ctDNA突变对MM患者预后价值的荟萃分析结果^[20]显示,基线和治疗后可检出ctDNA与较差的无进展生存期(PFS)及总生存期(OS)相关,而基线循环BRAF V600突变的患者OS会显著下降,而在PFS中未看到显著差异。总之,ctDNA突变或BRAF V600 ctDNA突变的存在或升高与MM患者的较差预后显著相关。BOERLIN等^[21]的研究结果支持非指定时间点的ctDNA作为转移性MM预后生物标志物的潜力。因此,ctDNA在MM复发转移的早期诊断方面展现出其独特优势,相关的部分临床研究正在进行中(表2)。

3.1 ctDNA阳性患者术后辅助治疗复发风险升高

TANG等^[8]针对中国人群进行了一项研究,该研究纳入58例肿瘤组织检出BRAF V600E阳性MM患者,以健康人群ctDNA中BRAF V600E的最高浓度(0.097~0.133拷贝/mL)建立标准,将患者分为未检出组和突变组,而其中18例接受手术及术后治疗的患者,两组患者的无病生存期(DFS)分别是26.4个月和9.1个月($P<0.01$),这意味着更低水平的循环BRAF V600的患者往往在肿瘤复发前有更长的DFS。TAN等^[22]研究发现,同为III期、基线水平上ctDNA阳性的患者较阴性患者的无远处转移生存期(distant metastasis-free survival, DMFS)也显著下降($HR=2.9$, $95\% CI=1.3\sim 5.7$, $P<0.01$),中位DMFS分别为7.4个

月和10.8个月。中国临床肿瘤学会(CSCO)指南提出, I B- II A期MM患者术后辅助治疗的必要性目前尚不明确,而ctDNA有望帮助临床医生对患者进行危险分层,判断患者是否需要采取术后辅助治疗,对于选择观察及定期随访的患者,也能帮助动态监测疾病的变化。而在早期MM患者眼中,定期血液测试能预先警示潜在复发,调动他们自身的护理积极性,以减少患者的焦虑^[23]。

3.2 ctDNA阳性的进展期患者PFS更短

MARCZYNSKI等^[24]分析了19例III期和IV期的MM患者的体细胞突变结果,17例患者中检测出BRAF、NRAS或TERT突变,其中外周血ctDNA阳性的7例患者中位DFS为50 d,与ctDNA阴性的10例患者的146 d差异比较有统计学意义($P<0.01$),且前者PD的风险显著增加($HR=6.38$, $95\% CI=1.26\sim 32.10$, $P<0.05$)。有研究^[25]将ctDNA作为连续性变量进行评估,在COMBI-d(NCT01584648)临床试验中,以64拷贝/mL的外周血中ctDNA作为临界值区分高风险及低风险的生存结局(PFS: $HR=1.74$, $95\% CI=1.09\sim 1.18$, $P<0.01$; OS: $HR=2.23$, $95\% CI=1.73\sim 2.87$, $P<0.01$),这一结论在COMBI-MB(NCT02039947)研究中也得到了验证(PFS: $HR=3.20$, $95\% CI=1.39\sim 7.34$, $P<0.01$; OS: $HR=2.94$, $95\% CI=1.18\sim 7.32$, $P<0.05$)。

3.3 ctDNA阳性比影像学更早提示疾病的复发与转移

在UM兔子动物模型中,临床上检测到眼内肿瘤的时间均晚于血浆检测到肿瘤ctDNA的时间,这表明与临床影像学相比,ctDNA是肿瘤形成的早期生物标志物^[17]。

表2 ctDNA与MM相关的临床研究

数量	NCT	研究内容	研究对象	研究单位/地点	目前状态
1	02875652	脉络膜MM中的ctDNA	脉络膜MM	法国巴黎居里研究所	已完成
2	05060003	阿替利珠单抗对比联合替瑞利尤单抗治疗 ctDNA阳性的II期MM患者	II期MM	美国加利福尼亚州杜阿尔特市等	未招募
3	03808441	ctDNA引导转变(CAcTUS)	MM	英国曼彻斯特克里斯蒂	招募中
4	05079113	利用ctDNA分析改善高危MM中癌症复发的 早期检测	III期MM、IV期皮肤MM	美国俄亥俄州凯斯综合癌症中心 克利夫兰癌症研究所	招募中
5	02849145	评估肝转移葡萄膜MM患者ctDNA剂量对 完全切除的影响	葡萄膜MM	法国巴黎居里研究所	已完成
6	04901988	ctDNA指导切除术后II B/II C期MM患者 的治疗	II期MM	英国大曼彻斯特克里斯蒂国民保 健基金会信托基金	招募中
7	03416933	BRAF突变晚期MM的治疗药物监测	皮肤MM	法国勒克莱尔中心等	已启动, 未招募
8	01334008	转移性脉络膜MM中ctDNA的研究	脉络膜MM	法国巴黎居里研究所	已完成
9	04866680	MM个性化ctDNA随访	MM	法国洛林癌症研究所	招募中
10	02251314	使用外显子组序列分析和循环肿瘤评估 BRAF突变MM的肿瘤异质性	MM	加拿大多伦多玛格丽特公主癌症 中心	已完成
11	02724488	免疫检查点抑制剂等免疫疗法	头颈部肿瘤、MM	加拿大玛格丽特公主医院	已启动, 未招募
12	02862743	晚期MM血液样本的分子特征	转移性MM	法国兰斯公立医院	未知
13	03754179	达拉非尼/曲美替尼既往接受过治疗的 BRAF V600阳性的晚期MM	MM	比利时布拉班特布鲁塞尔自由大 学	招募中
14	04761783	ctDNA指导免疫治疗	结直肠癌、MM、NSCLC	美国加利福尼亚州圣卡洛斯	招募中
15	04424719	葡萄膜MM患者的随访	葡萄膜MM	法国巴黎居里研究所	招募中
16	05196087	基于非侵入式人工智能平台监控程序	乳腺癌、头颈部肿瘤、MM	加拿大多伦多玛格丽特公主癌症 中心	未招募
17	04354064	循环肿瘤DNA(ctDNA)用于实体瘤早期治 疗反应评估	健康志愿者、前列腺癌、 头颈部肿瘤、MM等	美国密苏里州华盛顿大学医学院 圣路易斯	招募中
18	03517332	外周血循环肿瘤DNA的暴露	结直肠癌、胰腺癌、MM	美国亚利桑那大学癌症中心	未知
19	04490564	新型分子诊断测定法检测转移性MM患者 外周血和原发性肿瘤组织中标志物	头颈部鳞状细胞癌、 NSCLC、MM	希腊雅典索蒂亚胸病医院等	招募中
20	02965716	溶瘤病毒联合帕博利珠单抗治疗III-IV期 MM患者	晚期MM、复发型MM、 III期皮肤型MM等	美国南阿拉巴马大学米切尔癌症 研究所莫比尔等	已启动, 未招募
21	02775851	帕博利珠单抗治疗能或不能通过手术切除 的促纤维增生性MM患者	促纤维增生性MM	美国阿拉斯加费尔班克斯纪念医 院	已启动, 未招募
22	05059444	用液体活检评估观察残留癌	泌尿系肿瘤、皮肤MM等	美国加利福尼亚州红木城	招募中
23	02171286	肿瘤探针试点研究	结直肠癌、晚期NSCLC、 晚期MM等	加拿大不列颠哥伦比亚BC癌症中 心等	已完成
24	02858921	达拉非尼、曲美替尼和/或帕博利珠单抗新 辅助治疗BARF突变III期MM患者	MM	澳大利亚新南威尔士州悉尼韦斯 特米德医院等	已启动, 未招募
25	04207086	新辅助帕博利珠单抗和伦伐替尼治疗可切 除III期MM的II期研究	III期MM	澳大利亚新南威尔士州MM研究所	已启动, 未招募
26	01979523	曲美替尼联合或不联合GSK2141795治疗 转移性葡萄膜MM患者	复发性葡萄膜MM、IV期 葡萄膜MM	美国佐治亚州埃默里大学医院及 癌症研究所等	已完成
27	04720768	康奈非尼、比美替尼和帕博西尼治疗 BRAF突变的转移性MM	转移性MM	澳大利亚维多利亚州墨尔本彼得 麦卡勒姆癌症中心	招募中
28	02644369	帕博利珠单抗在晚期实体瘤患者中的作用 研究	头颈部鳞状细胞癌、三阴 性乳腺癌、MM等	加拿大多伦多玛格丽特公主癌症 中心	已启动, 未招募
29	03702309	液体活检评估和癌症中心储存库发展	乳腺癌、肺癌、MM等	加拿大多伦多玛格丽特公主癌症 中心	招募中
30	03415126	ASN007在晚期实体瘤患者中的研究	结肠癌、转移性MM等	美国佛罗里达州癌症中心等	已完成

引自 <https://clinicaltrials.gov>

2021年 *JAMA* 上发表的1篇研究^[26]显示,1例葡萄膜MM患者术后局部复发时外周血 ctDNA 及腹部MRI均未检测到异常,3个月后再次外周血 ctDNA 检测时发现与原发性二代测序相同的 GNAQ 和 EIF1AX 突变,经胸部CT与腹部MRI检查,再经活检确认了肺和肝的转移病灶。ROWE等^[19]的一项研究纳入 BRAF 或 NRAS 阳性的患者,结果显示,无论是接受了手术及术后辅助治疗的患者,还是接受全身治疗的晚期MM患者,ctDNA 均在影像学进展之前就揭示了肿瘤活动的证据,有效地缩短了PFS。在IV期患者中,BRAF V600E的ctDNA水平升高比影像学评估到疾病进展平均提前了110 d^[27]。但是,仅有脑转移的MM患者,其ctDNA不一定会升高,该现象也许与血脑屏障相关,此时可依靠常规的影像学技术(如PET-CT及MRI检查)进行监测,其扫描成像可以揭示肿瘤内、转移性和不同患者间的异质性^[28]。临床上,ctDNA与影像学检查两者可作为病情监测的互补。

3.4 ctDNA可用于鉴别影像学上的假性进展和真性进展

假性进展是免疫检查点抑制剂治疗过程中最受关注的非常规型反应,是一种在治疗过程中以肿瘤初始增大和延迟消退为特征的现象,最常见于非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)和MM^[29]。利用ctDNA的表达鉴别MM患者免疫治疗后是否为假性进展是一个新兴的方向。一项研究纳入了125例接受抗PD-1单抗治疗或抗PD-1单抗联合伊匹单抗(抗CTLA-4单抗)治疗的晚期MM患者,其中29例患者在治疗12周第1次评估病情时有PD,结果表明,ctDNA检测从真性进展中预测假性进展的敏感性为90%(95% CI=68%~99%)、特异性为100%(95% CI=66%~100%)。这一结果表明,在治疗的12周内,ctDNA表达可以准确地识别假性进展和真性进展,帮助预防潜在有效治疗的过早终止^[30]。

4 ctDNA可预测MM对治疗的反应

4.1 靶向治疗

MM缺乏监测疾病和预测疗效相关的外周血标志物,而ctDNA有可能弥补这一缺陷,因此近年来有很多将其作为潜在生物标志物的研究。有临床研究^[27]对比基线和BRAF靶向抑制剂一线治疗后的检测结果发现,治疗后BRAF V600E的ctDNA含量显著下降。而上述提及的一项研究^[25]就这种ctDNA的连续性改变和接受BRAF或MEK抑制剂单药或联合治疗患者预后的相关性进行探讨,研究结果表明,可检测的ctDNA和乳酸脱氢酶、基线转移灶数量以及

病灶直径的中位数相关。靶向治疗4周后,外周血未检出ctDNA的患者PFS和OS均有延长,尤其体现在伴乳酸脱氢酶升高的患者,但是随着时间的推移也会产生获得性耐药。对于孤立性颅内转移的患者,ctDNA不能作为有效的监测工具,但仍可用于评估早期靶向治疗的额外反应,包括帮助判断有严重不良反应的患者是否继续治疗,或者在靶向治疗期间最初下降(如在最初有反应而后来进展的患者)后ctDNA浓度的增加可能作为PD的指标,因此有助于更早地监测治疗失败^[31]。

4.2 免疫治疗

既往有研究结果^[32-33]表明,一线治疗开始时的ctDNA水平是OS和DFS的独立预后因素,早期、定量、动态的ctDNA监测有助于诊断抗PD-1单抗免疫治疗原发耐药的转移性MM。此外,对于双免疫治疗(抗PD-1联合抗CTLA-4)的患者,治疗开始后3周ctDNA可用于评估早期免疫治疗的疗效^[34]。MARSVELA等^[35]研究发现,仅在一线免疫检查点抑制剂(抗PD-1单抗或抗PD-1单抗联合抗CTLA-4单抗)治疗中能看到低ctDNA表达预示着更长的PFS($HR=0.20, 95\% CI=0.07\sim 0.53, P<0.01$),二线治疗未有类似结论;并且,先前曾使用过BRAF或MEK抑制剂治疗的人群,其ctDNA也失去了对PFS的预测效果。一项II期临床研究表明^[36],可溶性双特异性T细胞受体(gp100×CD3)tebentafusp在先前治疗过的转移性UM患者中具有良好的临床活性和可接受的安全性,且初步证实ctDNA作为tebentafusp临床获益的早期指标。

因此,ctDNA对疾病的治疗反应具有优秀的预测效能,无论是免疫或靶向治疗,治疗期间持续检测的血浆ctDNA水平提示MM患者预后不佳^[37]。在治疗过程中把握监测时机、动态监测ctDNA浓度,或许能帮助临床医生及时调整治疗策略。

5 结 语

本文论述了ctDNA检测在MM临床应用方面的研究进展,从疾病早期筛查到帮助检测靶向基因突变,为处于疾病不同阶段的MM患者的预后评估提供了重要线索;ctDNA提前于影像学捕捉到MM的进展可能,更准确地识别适应靶向或免疫治疗的MM患者等,系统性地参与了MM患者的诊疗过程。目前已有多种方法可以检测ctDNA,但考虑到肿瘤异质性导致的ctDNA检测与组织测序结果的差异性,仍需要不断提高ctDNA检测和临床分析的灵敏度。未来的诊疗中,筛查高危患者并结合影像学检查和临床分析,利用ctDNA的表达评估早期患者的用药

和停药时机、晚期患者的停药或更换治疗方案时机都非常具有前景,可以最大限度地降低成本、提高肿瘤免疫治疗方案的疗效及安全性。但液体活检在MM复发早期诊断和监测治疗反应方面的各种潜在应用必须在前瞻性临床试验中得到验证,且证明疾病复发的早期检测能帮助调整治疗策略,从而降低MM患者的病死率是非常必要的。尽管ctDNA分析的临床实践仍有许多问题需要解决,但毋庸置疑这项技术为MM患者的临床管理提供了新的思路,可能成为诊断和治疗的重大革命性进展。随着时间进展而波动的ctDNA能帮助整合临床和生物信息,对MM患者进行风险分层而选择合适的治疗计划,开展精准医疗的临床实施,优化临床诊疗策略。

[参考文献]

- [1] DESAI A, UGORJI R, KHACHEMOUNE A. Acral melanoma foot lesions. Part 1: epidemiology, aetiology, and molecular pathology [J]. *Clin Exp Dermatol*, 2017, 42(8): 845-848. DOI: 10.1111/ced.13243.
- [2] POULET G, MASSIAS J, TALY V. Liquid biopsy: general concepts [J]. *Acta Cytol*, 2019, 63(6): 449-455. DOI:10.1159/000499337.
- [3] SACCO A, FORGIONE L, CAROTENUTO M, *et al.* Circulating tumor DNA testing opens new perspectives in melanoma management[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(10): 2914[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7601606/>. DOI:10.3390/cancers12102914.
- [4] LAWRENCE M S, STOJANOV P, POLAK P, *et al.* Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes[J/OL]. *Nature*, 2013, 499(7457): 214-218[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3919509/>. DOI:10.1038/nature12213.
- [5] BUSTAMANTE P, TSERING T, COBLENTZ J, *et al.* Circulating tumor DNA tracking through driver mutations as a liquid biopsy-based biomarker for uveal melanoma[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 196[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8207750/>. DOI:10.1186/s13046-021-01984-w.
- [6] BEASLEY A B, CHEN F K, ISAACS T W, *et al.* Future perspectives of uveal melanoma blood based biomarkers[J]. *Br J Cancer*, 2022, 126(11): 1511-1528. DOI: 10.1038/s41416-022-01723-8.
- [7] VALPIONE S, CAMPANA L. Detection of circulating tumor DNA (ctDNA) by digital droplet polymerase chain reaction (dd-PCR) in liquid biopsies[J]. *Methods Enzymol*, 2019, 629: 1-15. DOI: 10.1016/bs.mic.2019.08.002.
- [8] TANG H, KONG Y, SI L, *et al.* Clinical significance of BRAF^{V600E} mutation in circulating tumor DNA in Chinese patients with melanoma[J/OL]. *Oncol Lett*, 2018, 15(2): 1839-1844[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5777120/>. DOI: 10.3892/ol.2017.7529.
- [9] O'LEARY B, HREBIEN S, BEANEY M, *et al.* Comparison of BEAMing and droplet digital PCR for circulating tumor DNA analysis[J]. *Clin Chem*, 2019, 65(11): 1405-1413. DOI: 10.1373/clinchem.2019.305805.
- [10] HUNG M S, LUNG J H, LIN Y C, *et al.* Comparative analysis of two methods for the detection of EGFR mutations in plasma circulating tumor DNA from lung adenocarcinoma patients[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(6): 803[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6627967/>. DOI:10.3390/cancers11060803.
- [11] FORSHEW T, MURTAZA M, PARKINSON C, *et al.* Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA[J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(136): 136ra68. DOI:10.1126/scitranslmed.3003726.
- [12] WANG Y H, SONG Z, HU X Y, *et al.* Circulating tumor DNA analysis for tumor diagnosis[J]. *Talanta*, 2021, 228: 122220. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.122220.
- [13] SHAH A T, AZAD T D, BREESE M R, *et al.* A comprehensive circulating tumor DNA assay for detection of translocation and copy-number changes in pediatric sarcomas[J/OL]. *Mol Cancer Ther*, 2021, 20(10): 2016-2025[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9307079/>. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-20-0987.
- [14] KANEKO A, KANEMARU H, KAJIHARA I, *et al.* Liquid biopsy-based analysis by ddPCR and CAPP-Seq in melanoma patients[J]. *J Dermatol Sci*, 2021, 102(3): 158-166. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2021.04.006.
- [15] PHALLEN J, SAUSEN M, ADLEFF V, *et al.* Direct detection of early-stage cancers using circulating tumor DNA[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(403): eaan2415[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6714979/>. DOI:10.1126/scitranslmed.aan2415.
- [16] SERRANO C, LEAL A, KUANG Y N, *et al.* Phase I study of rapid alternation of sunitinib and regorafenib for the treatment of tyrosine kinase inhibitor refractory gastrointestinal stromal tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(24): 7287-7293. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-2150.
- [17] AFFOLTER K E, HELLMIG S, NIX D A, *et al.* Detection of circulating tumor DNA without a tumor-informed search using next-generation sequencing is a prognostic biomarker in pancreatic ductal adenocarcinoma[J/OL]. *Neoplasia*, 2021, 23(9): 859-869[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8322473/>. DOI: 10.1016/j.neo.2021.06.005.
- [18] LUGOVIĆ-MIHIĆ L, ČESIĆ D, VUKOVIĆ P, *et al.* Melanoma development: current knowledge on melanoma pathogenesis[J]. *Acta Dermatovenerol Croat*, 2019, 27(3): 163-168.
- [19] ROWE S P, LUBER B, MAKELL M, *et al.* From validity to clinical utility: the influence of circulating tumor DNA on melanoma patient management in a real-world setting[J/OL]. *Mol Oncol*, 2018, 12(10): 1661-1672[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6165998/>. DOI:10.1002/1878-0261.12373.
- [20] ZHENG Y, SUN H Y, CONG L L, *et al.* Prognostic value of ctDNA mutation in melanoma: a meta-analysis[J/OL]. *J Oncol*, 2021, 2021: 6660571[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8116156/>. DOI:10.1155/2021/6660571.
- [21] BOERLIN A, BELLINI E, TURKO P, *et al.* The prognostic value of a single, randomly timed circulating tumor DNA measurement in patients with metastatic melanoma[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(17): 4158[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9455041/>. DOI:10.3390/cancers14174158.

- [22] TAN L, SANDHU S, LEE R J, *et al.* Prediction and monitoring of relapse in stage III melanoma using circulating tumor DNA[J/OL]. *Ann Oncol*, 2019, 30(5): 804-814[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6551451/>. DOI:10.1093/annonc/mdz048.
- [23] WOOF V G, LEE R J, LORIGAN P, *et al.* Circulating tumour DNA monitoring and early treatment for relapse: views from patients with early-stage melanoma[J/OL]. *Br J Cancer*, 2022, 126(10): 1450-1456[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8927744/>. DOI:10.1038/s41416-022-01766-x.
- [24] MARCZYNSKI G T, LAUS A C, DOS REIS M B, *et al.* Circulating tumor DNA (ctDNA) detection is associated with shorter progression-free survival in advanced melanoma patients[J/OL]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 18682[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7596487/>. DOI:10.1038/s41598-020-75792-1.
- [25] SYEDA M M, WIGGINS J M, CORLESS B C, *et al.* Circulating tumour DNA in patients with advanced melanoma treated with dabrafenib or dabrafenib plus trametinib: a clinical validation study [J/OL]. *Lancet Oncol*, 2021, 22(3): 370-380[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8034833/>. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30726-9.
- [26] FRANCIS J H, CANESTRARO J, BRANNON A R, *et al.* Association of plasma circulating tumor DNA with diagnosis of metastatic uveal melanoma[J]. *JAMA Ophthalmol*, 2021, 139(11): 1244-1245. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2021.3708.
- [27] HASELMANN V, GEBHARDT C, BRECHTEL I, *et al.* Liquid profiling of circulating tumor DNA in plasma of melanoma patients for companion diagnostics and monitoring of BRAF inhibitor therapy[J]. *Clin Chem*, 2018, 64(5): 830-842. DOI:10.1373/clinchem.2017.281543.
- [28] GILL A B, RUNDO L, WAN J C M, *et al.* Correlating radiomic features of heterogeneity on CT with circulating tumor DNA in metastatic melanoma[J]. *Cancers*, 2020, 12(12): 3493. DOI: 10.3390/cancers12123493.
- [29] CHIOU V L, BUROTTO M. Pseudoprogression and immune-related response in solid tumors[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(31): 3541-3543[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4622096/>. DOI:10.1200/JCO.2015.61.6870.
- [30] LEE J H, LONG G V, MENZIES A M, *et al.* Association between circulating tumor DNA and pseudoprogression in patients with metastatic melanoma treated with anti-programmed cell death 1 antibodies[J/OL]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(5): 717-721[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5885201/>. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.5332.
- [31] FORSCHNER A. Circulating tumour DNA in patients with melanoma receiving targeted therapy[J]. *Lancet Oncol*, 2021, 22(3): 291-293. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30758-0.
- [32] HERBRETEAU G, VALLÉE A, KNOL A C, *et al.* Quantitative monitoring of circulating tumor DNA predicts response of cutaneous metastatic melanoma to anti-PD1 immunotherapy[J/OL]. *Oncotarget*, 2018, 9(38): 25265-25276[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5982743/>. DOI:10.18632/oncotarget.25404.
- [33] HERBRETEAU G, VALLÉE A, KNOL A C, *et al.* Circulating tumor DNA early kinetics predict response of metastatic melanoma to anti-PD1 immunotherapy: validation study[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(8): 1826[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8069589/>. DOI:10.3390/cancers13081826.
- [34] FORSCHNER A, BATTKE F, HADASCHIK D, *et al.* Tumor mutation burden and circulating tumor DNA in combined CTLA-4 and PD-1 antibody therapy in metastatic melanoma - results of a prospective biomarker study[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 180[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6625062/>. DOI:10.1186/s40425-019-0659-0.
- [35] MARSAVELA G, LEE J, CALAPRE L, *et al.* Circulating tumor DNA predicts outcome from first-, but not second-line treatment and identifies melanoma patients who may benefit from combination immunotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(22): 5926-5933. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-20-2251.
- [36] CARVAJAL R D, BUTLER M O, SHOUSHARI A N, *et al.* Clinical and molecular response to tebentafusp in previously treated patients with metastatic uveal melanoma: a phase 2 trial[J/OL]. *Nat Med*, 2022, 28(11): 2364-2373[2022-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9671803/>. DOI: 10.1038/s41591-022-02015-7.
- [37] MATTILA K E, MÄKELÄ S, KYTÖLÄ S, *et al.* Circulating tumor DNA is a prognostic biomarker in metastatic melanoma patients treated with chemoimmunotherapy and BRAF inhibitor[J]. *Acta Oncol*, 2022, 61(10): 1263-1267. DOI:10.1080/0284186X.2022.2137693.

[收稿日期] 2022-09-10

[修回日期] 2022-12-29

[本文编辑] 党瑞山