

## 2017年NGS在肺癌中的应用及最新进展

# 12月 Newsletter

**Genecast**  
臻和

臻和（北京）科技有限公司  
医学事务部编

## 目录

### 导读

2005年，NGS这一概念被第一次提出，经过12年的飞速发展，目前NGS技术已经广泛应用于各种常规临床检测。目前在肿瘤方向的NGS检测，主要应用于遗传性肿瘤综合征筛查和体细胞突变分析，而体细胞突变分析领域的应用最为广泛。

2017年2月，国家癌症中心发表的文章报道，肺癌仍为我国癌症发病率、死亡率第一位。目前，通过NGS检测肺癌患者血液中的ctDNA，可以早期、敏感、全面、实时监测肿瘤诊疗，覆盖肺癌的诊疗全程，辅助肿瘤分型诊断，评估疗效监测耐药，预测复发等。

### 1

#### NGS技术

- DNA测序技术的演化和爆发性增长
- NGS技术的应用
- 检测基因变异的方法——二代测序脱颖而出
- NGS检测ctDNA的技术流程
- NSCLC血浆中ctDNA的EGFR突变——四种检测平台对比

### 2

#### 肺癌的发病率与死亡率

- 2017年，美国与中国肺癌的死亡率与发病率均较高

### 3

#### NGS液体活检贯穿肺癌精准治疗“全程”

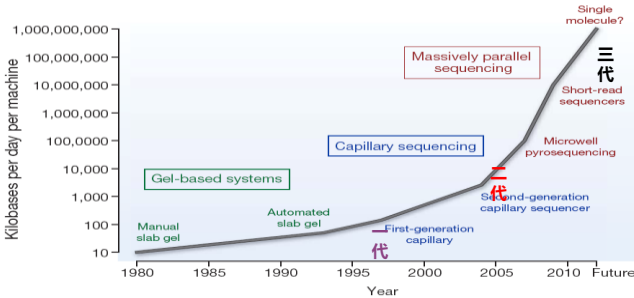
- 原发灶多点取材分析肺癌分子分型演进
- ctDNA分析揭示早期肺癌演进
- ctDNA与癌症早筛
- 肺癌的用药指导
- 肺癌治疗的疗效预测
- 肺癌的复发监控
- 肺癌的预后评估





# 1.NGS技术

## 1.1 DNA测序技术的演化和爆发性增长



- 自DNA双螺旋结构解析开始，人们在探究健康与疾病基因组复杂性与差异性上付出巨大努力，测序通量限制和高昂成本成为人们深入分析基因组的首要障碍。
- 2005年推出高通量测序技术初步解决了这个问题，由此产生一个新名词：**下一代测序**。(Next Generation Sequencing, **NGS**)

## 1.2 DNA测序技术的检测成本迅速降低

单人全基因组测序成本 (美金) :

人类基因组计划	\$ 30亿
2004:	\$3000万
2008:	\$10万
2010:	\$1万
2011:	\$4,000
<b>2014:</b>	<b>\$1,000</b>
<b>20XX:??</b>	<b>\$100</b>



- 在过去十多年里，测序技术不断进化，测序成本迅速下降，超过了摩尔定律，呈指数下降。2014年，人类基因组测序成本已经下降至1000美元/人，随着技术的发展，未来测序个人全基因组的成本会持续下降，也许某一天的测序成本会达到100美元/人，或者更低。

## 1.3 NGS的应用及基因检测公司发展迅速

- 无创产前DNA检测(NIPT)
- 胚胎植入前遗传学诊断/筛查 (PGD/PGS)
- 遗传病
- 肿瘤
- .....

<p>2008年，华大基因尝试用NGS检测胎儿游离DNA</p> <p>2010年，基于NGS的无创产前筛查开始进入临床</p> <p>2014年，国家卫计委和CFDA联合发布“叫停”文件</p> <p>2015年，国家卫计委下发NGS临床应用试点通知，8家医检所及108家产前诊断机构获得试点资质</p> <p>2016年，NIPT试点取消</p> <p>2017年7月华大上市，2017年8月贝瑞和康上市</p> <p>目前，NIPT已经有2家上市公司，国家卫计委及CFDA已经有规范的政策文件，部分地区市场定价且可以医保报销，NIPT行业及市场占有率基本稳定。</p>	<p>1991年，FISH应用于PGD/PGS</p> <p>2005年，荧光定量PCR对地中海贫血进行PGD检测</p> <p>2011年，CGH对平衡易位携带者PGD助孕治疗</p> <p>2013年，NGS应用于人类胚胎细胞非整倍体筛查的临床前研究</p> <p>目前，PGD/PGS在临床上应用面临着很多困难及争议，没有足够的证据证明PGS能有效改善植入率和活产率，存在活检操作难、费用高等客观问题，及伦理主观问题</p>	<p>2009年，NGS用于罕见遗传病分子病因学研究和诊断</p> <p>目前，全世界遗传性疾病有4000余种，NGS成为鉴定罕见病新致病基因最重要的研究工具，但基因诊断在数据共享、数据分析、专业的遗传咨询等方面都存在瓶颈</p>	<p>2008年，首次报道NGS在急性髓细胞性白血病中的应用，NGS被广泛应用于肿瘤领域</p> <p>2014年，NGS技术应用于血浆ctDNA检测，具有惊人的高敏感性和高特异性</p> <p>2017年11月，FDA批准首个肿瘤多癌种多基因检测平台MSK-IMPACT</p> <p>2017年12月，FDA式批准了首个NGS体外诊断 (IVD) 上市</p> <p>目前，NGS在肿瘤方向应用的进展迅速，近几年肿瘤方向的基因检测公司如雨后春笋约200家公司，市场份额还在不断扩大，各种法规政策也在不断的完善过程中，未来的发展空间很大，前景广阔</p>
---	---	---	--



NGS技术很火，  
NGS检测成本迅速降低，  
NGS检测公司发展迅速，  
NGS在肿瘤方向的应用价值高，前景广！！！！



臻和 (北京) 科技有限公司  
北京市海淀区花园北路35号  
健康智谷903-908

## 1.4检测基因变异的方法：二代测序脱颖而出

<p><b>NGS</b></p>		<p>NGS的原理是边合成边测序 (SBS)，通过捕捉新合成的末端的标记来确定DNA的序列，现有的技术平台主要包括Illumina, life, 罗氏, 华大等。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•能检测未知变异</li> <li>•高通量</li> <li>•高灵敏度</li> </ul>
<p><b>一代测序</b></p>		<p>sanger法测序或双脱氧末端终止法测序，Sanger 测序是DNA 测序技术的金标准，可以分辨出碱基置换、颠换、缺失和插入4种变异形式。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•结果准确</li> <li>•直观</li> </ul>
<p><b>基因芯片</b></p>		<p>原理：即通过与一组已知序列的核酸探针杂交进行核酸序列测定的方法，未形成主流技术，生物芯片的形式非常多。 基因芯片可以实现两大类的检测：RNA水平的大规模基因表达谱的研究和检测DNA的结构及组成。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•数据易读性强</li> <li>•可短期得到大量样本数据</li> <li>•性价比高</li> </ul>
<p><b>ARMS-PCR</b></p>		<p>突变扩增系统(amplification refractory mutation system, ARMS)又称等位基因特异性扩增法，是Newton等首先建立用检测已知突变的方法。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•简便快速</li> <li>•特异性好</li> <li>•技术普及度高</li> <li>•法规支持</li> </ul>
<p><b>ddPCR</b></p>		<p>又称微滴式数字PCR，是Bio-Rad公司在传统定量PCR的基础上推出的一种全新的核酸分子定量技术。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•简便快速</li> <li>•特异性好</li> <li>•可以定量</li> </ul>

全面筛查覆盖肿瘤基因

只检测已知的单个突变



1. NGS技术对比其他技术灵敏度高，特异性强，通量大；
2. NGS可以全面筛查覆盖肿瘤的相关基因，而其他技术只可以检测已知的单个突变。



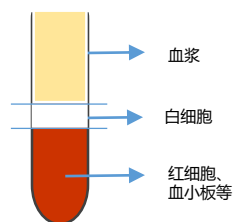
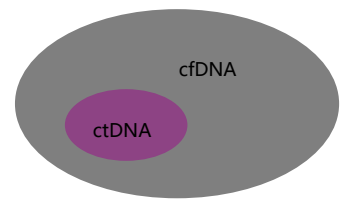
## 1.5 NGS检测ctDNA的技术流程

<h3>01 cfDNA的分离提取</h3>		<ol style="list-style-type: none"> <li>1.主要分为两步：用试剂盒进行cfDNA提取、cfDNA的质量检测</li> <li>2.若样本为外周血，则需离心后取上清提取cfDNA</li> </ol>
<h3>02 DNA文库制备</h3>		<ol style="list-style-type: none"> <li>1.将基因组DNA打断成200bp片段</li> <li>2.末端修复</li> <li>3.在“3'端”加A</li> <li>4.加接头</li> <li>5.PCR扩增</li> </ol>
<h3>03 杂交</h3>		<p>变性后文库与探针同目标区域结合</p>
<h3>04 磁珠法捕获</h3>		<ol style="list-style-type: none"> <li>1.液态捕获探针设计原理：</li> <li>2.叠瓦式的探针设计；</li> <li>3.解决低覆盖率、覆盖均一性差的问题</li> </ol>
<h3>05 扩增及产物纯化</h3>		<ol style="list-style-type: none"> <li>1.增加目的DNA片段的浓度，并纯化</li> </ol>
<h3>06 上机测序</h3>		<ol style="list-style-type: none"> <li>1.Flow Cell内部固定有P5、P7两种寡核苷酸序列</li> <li>2.DNA模板杂交合成链</li> <li>3.双链DNA变性</li> <li>4.桥式PCR扩增</li> </ol>
<h3>07 生物信息分析</h3>		<ul style="list-style-type: none"> <li>原始测序深度 = 1G/100k</li> <li>比对率 = matched reads/all reads</li> <li>探针效率 = targeted reads/matched reads</li> <li>覆盖度 = 98k/100k</li> <li>Dup率 = dup reads/targeted reads</li> <li>平均有效深度 = rmdup targeted reads*75/100k</li> </ul>

### cfDNA、ctDNA、CTC的那些事

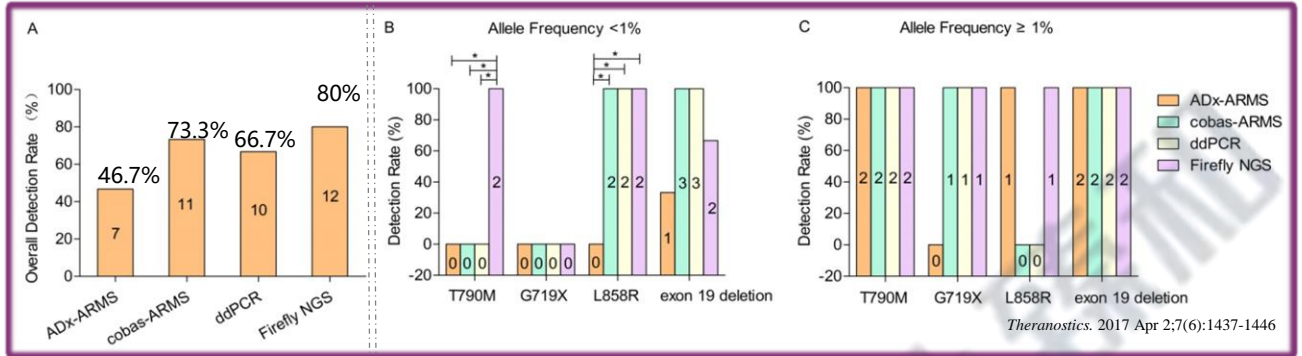
1. cfDNA：血液中游离DNA ( Cell free DNA )，包括正常细胞、肿瘤细胞、胞内分泌物及外源微生物细胞破裂释放的DNA片段，包括ctDNA，长度为167bp的片段量最多；
2. ctDNA：循环肿瘤DNA ( Circulating tumor DNA )，主要是死亡的肿瘤细胞破裂后所释放出来的、片段化的基因组DNA，片段150-200bp；
3. CTC：循环肿瘤细胞 ( circulating tumor cells )，从实体瘤中脱离出来并进入外周血的肿瘤细胞。

进行DNA提取时，很难从血浆中分离出ctDNA，外周血离心后，提取cfDNA和白细胞， $ctDNA \approx cfDNA - 白细胞$  (胚系突变)



## 1.6 NSCLC血浆中ctDNA的EGFR突变：四种检测平台对比

本文2017年4月发表在 *Theranostics* 上，IF: 8.7119，四种平台检测ctDNA的EGFR突变的最新的研究数据，其中NGS检测敏感性最高。



在四种平台中，NGS检测的敏感性最高：80%

1. 四种平台，只要有一个检测出EGFR突变即算作阳性；
2. 在20个NSCLC患者中发现15个EGFR突变；
3. NGS检测出EGFR突变有12个，所以检测敏感性=12/15，为80%。

	ADx-ARMS	cobas-ARMS	ddPCR	NGS
低等位基因检出率 (<1%)	14.3%	71.4%	71.4%	85.7%
高等位基因检出率 (>1%)	83.3%	83.3%	83.3%	100%

1. 图B是基因突变频率<1%的检测结果；
2. 突变频率<1%的EGFR阳性突变有7个；
3. 图B中NGS检测出EGFR阳性有6个，检出率=6/7，为85.7%。

1. 图C是基因突变频率≥1%的检测结果；
2. 突变频率≥1%的EGFR阳性突变有6个；
3. 图C中NGS检测出EGFR阳性有6个，检出率=6/6，为100%。

## 2. 肺癌的发病率与死亡率

### 2.1 中外肺癌发病率与死亡率对比

- 2017年1月，*CA Cancer J Clin* 发表的“cancer Statistics, 2017”，IF: 187.04，每年美国癌症协会估计美国当年将出现新的癌症病例和死亡病例，并编撰最新的癌症发病率、死亡率和生存数据。
- 2017年2月，由国家癌症中心赫捷院士、陈万青教授等人撰写，发表在 *Chin J Cancer Res* 上，IF: 3.0，对2013年中国恶性肿瘤发病率和死亡率的数据进行统计。

- 2017年美国预计新发癌症1,688,780例，癌症死亡数600,920例，其中肺及支气管癌发病率第二，死亡率第一位。
- 2013年中国恶性肿瘤发病率和死亡率的数据表明，肺癌仍为我国癌症发病率、死亡率第一位。



2017年，中国的肺癌死亡率与美国肺&支气管癌死亡率均排第一位。

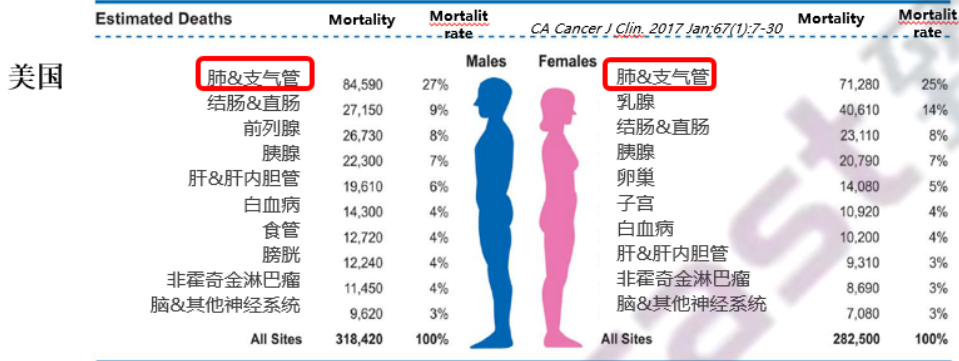
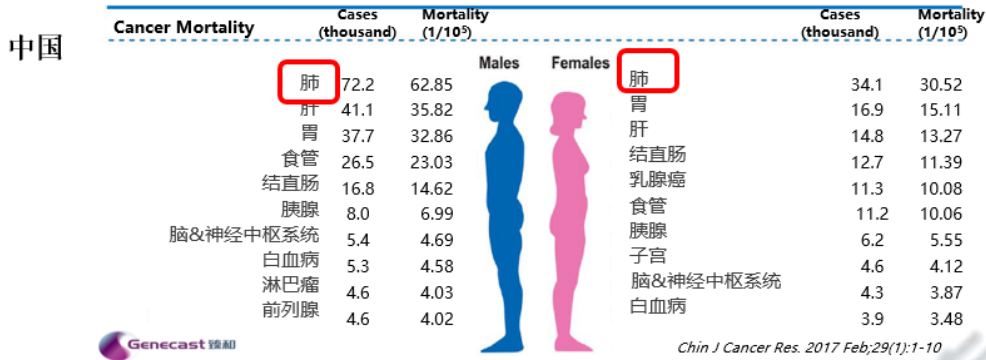


FIGURE 1. Ten Leading Cancer Types for the Estimated New Cancer Cases and Deaths by Sex, United States, 2017. Estimates are rounded to the nearest 10 and cases exclude basal cell and squamous cell skin cancers and in situ carcinoma except urinary bladder.

2017年，美国的肺&支气管癌发病率排第二位，中国肺癌发病率排第一位。

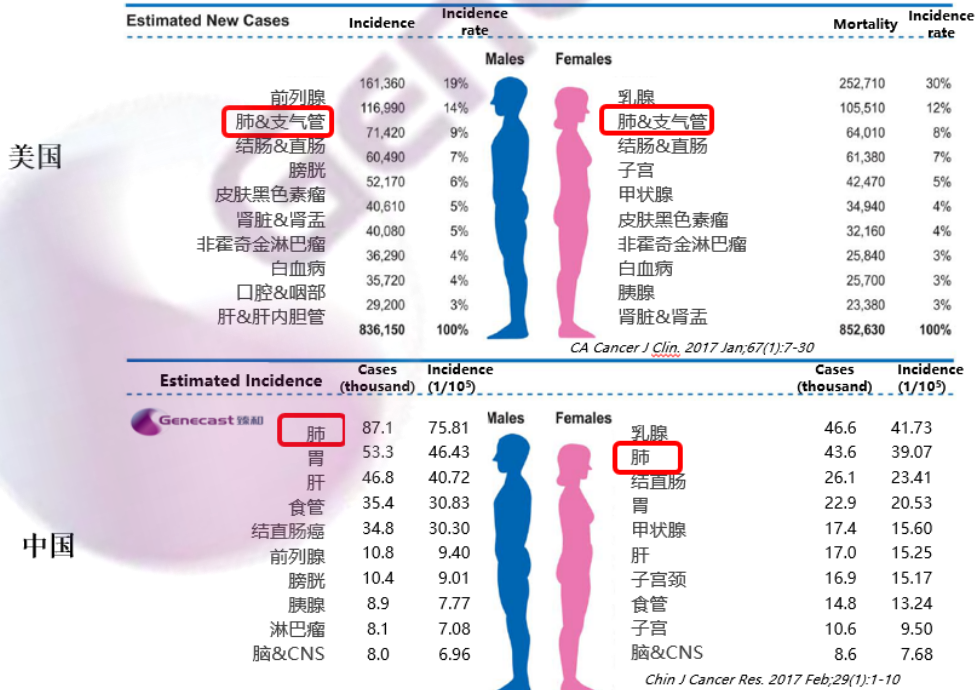


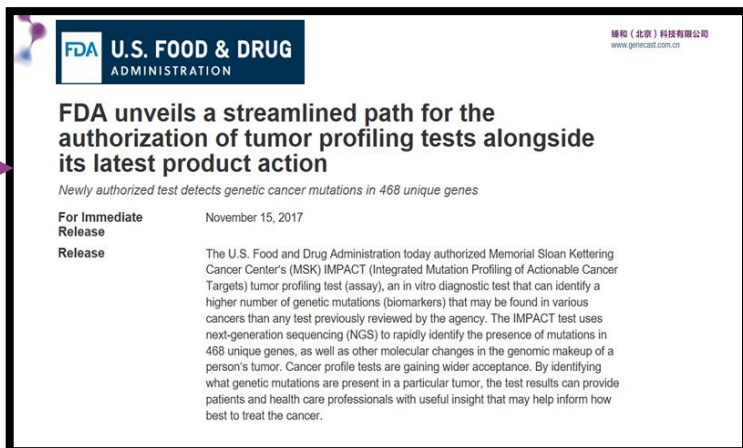
FIGURE 1. Ten Leading Cancer Types for the Estimated New Cancer Cases and Deaths by Sex, United States, 2017. Estimates are rounded to the nearest 10 and cases exclude basal cell and squamous cell skin cancers and in situ carcinoma except urinary bladder.



### 3.FDA对NGS检测的最新审批

## FDA批准首个多癌种多基因(468基因)二代测序检测平台——MSK-IMPACT。

2017.11.16



- 北京时间2017年11月16日，FDA正式批准美国最好的癌症中心之一——纪念斯隆凯特琳癌症研究中心（Memorial Sloan Kettering Cancer Center，简称MSK）二代测序468基因检测产品MSK-IMPACT用于肿瘤基因检测分析。
- FDA授权的MSK-IMPACT™为学术和商业实验室开发的测试授权开创了先例，相信在此影响下，国家会有更明确的产业政策来引导精准检测行业，为中国癌症精准诊疗服务提供更多助力及保障。

## FDA批准首个NGS体外诊断（IVD）上市——FoundationOne CDx（F1CDx）。

2017.12.1



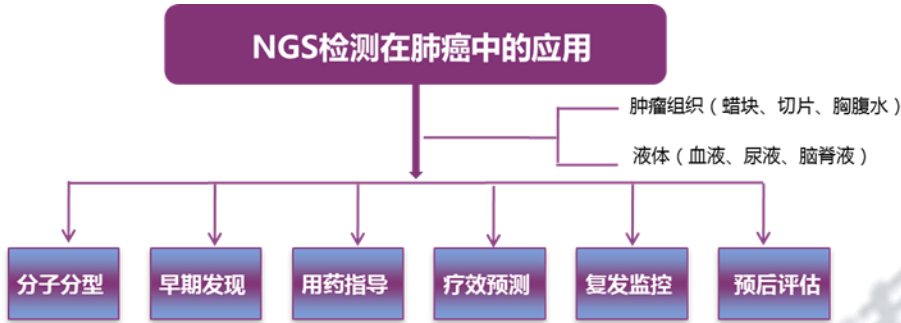
- 2017年12月1日，FDA批准了首个NGS体外诊断（IVD）测试FoundationOne CDx（F1CDx）的上市申请。
- F1CDx是第一个NGS技术应用在肿瘤方向的产品，覆盖324个基因与TMB，MSI免疫标志物，能对任何实体瘤进行诊断。
- 与FDA批准的其他诊断技术或药物相比，F1CDx具备无可比拟的覆盖度，该产品能够为临床医师提供一种更为广泛的检测方法，能够在更大程度上帮助癌症患者进行临床诊断和治疗。

1. F1CDx与MSK的检测相比，F1CDx是NGS领域第一个突破性的多基因多癌症伴随诊断，MSK只是一个检测平台；
2. F1CDx获批的最大意义——迈出了肿瘤基因检测从实验室走向临床的一大步；
3. 相信肿瘤基因检测在临床上的应用越来越广，也相信中国很快会提出适合自己国情的政策，来引导基因检测行业的发展。



## 4. NGS液体活检贯穿肺癌精准治疗“全程”

NGS检测贯穿肺癌精准治疗全程，用于分子分型、早期发现、用药指导、疗效预测、复发监控与预后评估等。



### 4.1 原发灶多点取材NGS分析肺癌分子分型演进

- 本文2017年6月发表在 *N Engl J Med*, **IF:72.406**，这是英国TRACERx肺癌研究计划的第一个成果，4月分别发表在 *N Engl J Med*和 *Nature*；
- NSCLC（肺腺癌和肺鳞癌）的克隆进化，基因组变异与癌症患者生存史的时间近似，肺癌患者在术后多点取材检测，帮助我们更好发现广泛存在的肿瘤异质性，对肺癌分子分型的演进有较好的揭示，从而在后续的治疗过程中提供指导。

NSCLC腺癌“进化”的早期：

- 诸如EGFR、MET、BRAF和TP53之类基因的突变/扩增往往发生在克隆水平；
- 这些基因往往与NSCLC的形成有关，属于驱动基因。

异质性：

- 同一肿瘤不同部位不同时间可以存在有很多不同的基因型或者亚型的细胞；
- 分为空间异质性、时间异质性、解剖异质性、结构异质性、基因异质性和功能异质性等。

NSCLC“进化”的晚期：

- 75%的肿瘤出现了亚克隆水平的各种变异，而且这些变异还位于肿瘤的不同区域；
- 是造成肿瘤内部异质性的原因。

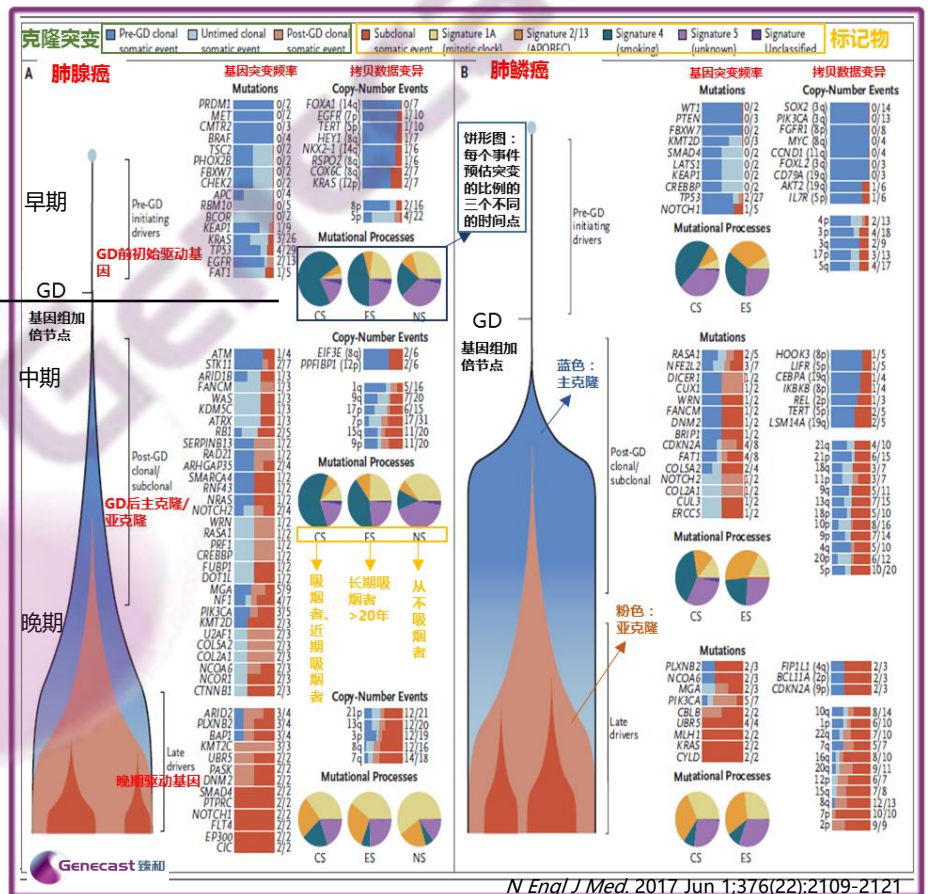


图4.1 肺腺癌与肺鳞癌的肿瘤进化图

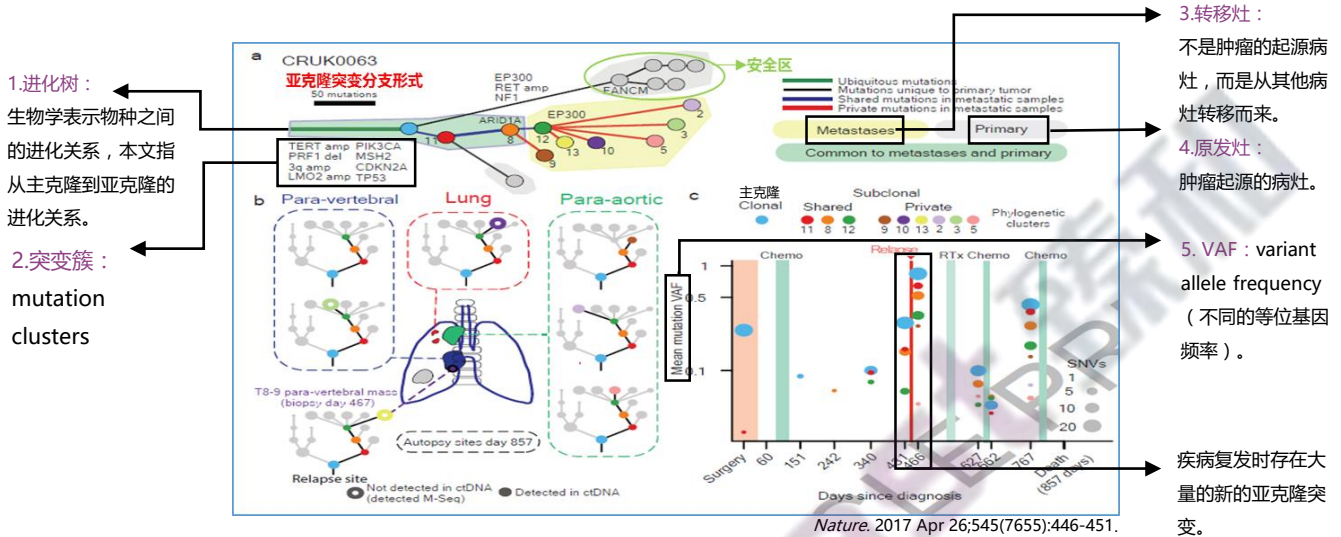
本文通过原发灶多点取材测序，根据突变在细胞中的分布情况，应用phylogenetic分析绘制出肿瘤亚克隆的进化图谱





## 4.2 ctDNA分析揭示早期肺癌演进

- 本文2017年4月发表于*Nature*上, **IF: 40.137**, ctDNA可以用于监测克隆进化, 反应化疗耐药及追踪肿瘤复发;
- 通过靶向测序panels得到的突变信息, 能描述出肿瘤原发灶和转移灶的克隆和亚克隆;
- ctDNA可以用于动态的监测早期肺癌克隆演进, 反应化疗耐药及早期追踪肿瘤复发等。



图a. 多区域测定转移灶和原发灶, 进化树分支长度与每个亚克隆的突变数成比例;

图b. 转移灶的进化树, 彩色结点代表在每个位置检测转移灶的ctDNA发现的突变簇, 代表在不同的部位, 亚克隆突变簇不同, 肿瘤具有异质性;

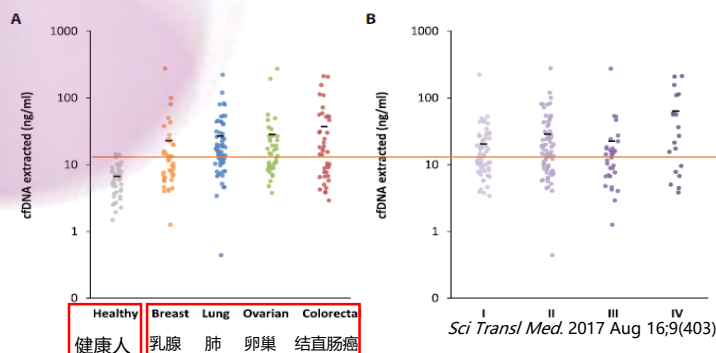
图c. 通过NGS检测患者从手术后到死亡阶段的ctDNA, 其中手术后只检测到主克隆突变, 复发时检测到主克隆和大量的新的亚克隆突变簇, 后经过化疗, 在死亡前期检测到主克隆和大量亚克隆突变簇。



## 4.3 ctDNA分析揭示早期肺癌演进

- 本文2017年8月发表在*Sci Transl Med.*, **IF:16.795**, 通过ctDNA直接检测早期癌症患者, 可能有助于癌症患者的筛查和管理;
- 研究报道了一种可用于早期肿瘤ctDNA突变检测的高敏感方法, 提示常见癌种ctDNA用于早期诊断的潜在可能性。

- 健康人群中未检出肿瘤特异性基因突变;
- 以健康人作为对照, 乳腺癌、肺癌、卵巢癌、结直肠癌患者都检测到了肿瘤特异性突变。



- 早期肿瘤ctDNA中就能够检出肿瘤特异性基因突变;
- 检测肿瘤特异性基因突变与癌症的临床分期呈正比。



## 研究最多的基因 TOP 10

- ◆ **1—TP53** 8479  
最早发现的肿瘤抑制基因之一，约一半的癌症都与P53突变；
- ◆ **2—TNF** 5314  
肿瘤坏死因子，一种能够直接杀伤肿瘤细胞而对正常细胞无明显毒性的细胞因子；
- ◆ **3—EGFR** 4583  
表皮生长因子受体，许多实体肿瘤存在EGFR高表达或异常表达；
- ◆ **4—VEGFA** 4059  
血管内皮细胞生长因子A，由多数肿瘤细胞、伤口中角质细胞和巨噬细胞产生，促进血管生成；
- ◆ **5—APOE** 3977  
载脂蛋白E，参与脂蛋白的转化与代谢过程；
- ◆ **6—IL6** 3930  
白介素-6，在免疫反应中发挥重要作用；
- ◆ **7—TGFB1** 3715  
转化生长因子β1，控制细胞再生和分化；
- ◆ **8—MTHFR** 3256  
亚甲基四氢叶酸还原酶，是叶酸代谢中的一个重要酶；
- ◆ **9—ESR1** 2864  
雌激素受体1，多与乳腺癌、卵巢癌和子宫内膜癌有关；
- ◆ **10—AKT1** 2791  
编码一种信号蛋白，负责磷酸化激活其他蛋白质；

### 4.4 NGS检测指导肺癌用药

Printed by Jingxia Liu on 11/26/2017 9:38:36 PM. For personal use only. Not approved for distribution. Copyright © 2017 National Comprehensive Cancer Network, Inc., All Rights Reserved.

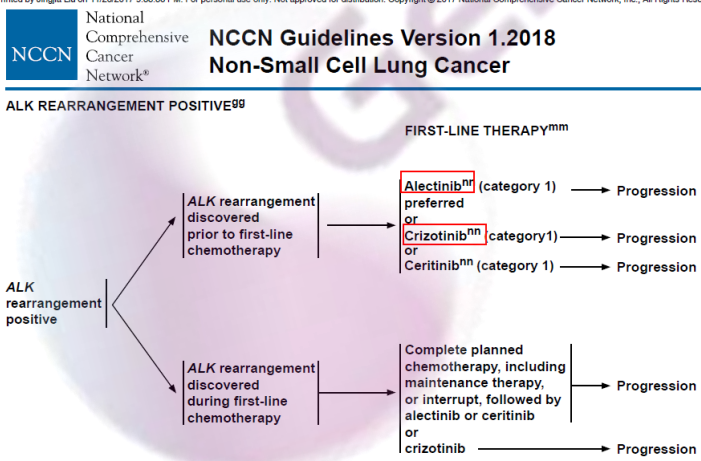


图4.4 NCCN指南2018年V1版

### 对于FDA、CDFA、NCCN你知道多少？

- **FDA**：食品药品监督管理局 ( Food and Drug Administration )，由医生、微生物学家、药理学家等各种专业人士组成的专门从事食品与药品管理的最高执法机关。( 药品上市审批、基因panel审批等)。
- **CFDA**：中国食品药品监督管理局 ( Chinese Food and Drug Administration )。
- **NCCN**：美国国立综合癌症网络 ( National Comprehensive Cancer Network )，美国21家顶尖肿瘤中心组成的非营利性学术组织，每年发布各种恶性肿瘤临床实践指南，肺癌NCCN指南今年已更新到第九版，指导医生诊疗的教科书。

- 指南推荐艾乐替尼作为治疗ALK阳性的NSCLC一线治疗，并优于克唑替尼和色瑞替尼。



本文2017年8月在 *N Engl J Med* 发表, **IF:72.406**, 下图从两种药物的PFS、分组、累计发病率及OS方面进行对比, 结果显示, 对于未经过治疗的ALK阳性突变的NSCLC患者艾乐替尼效果优于克唑替尼。

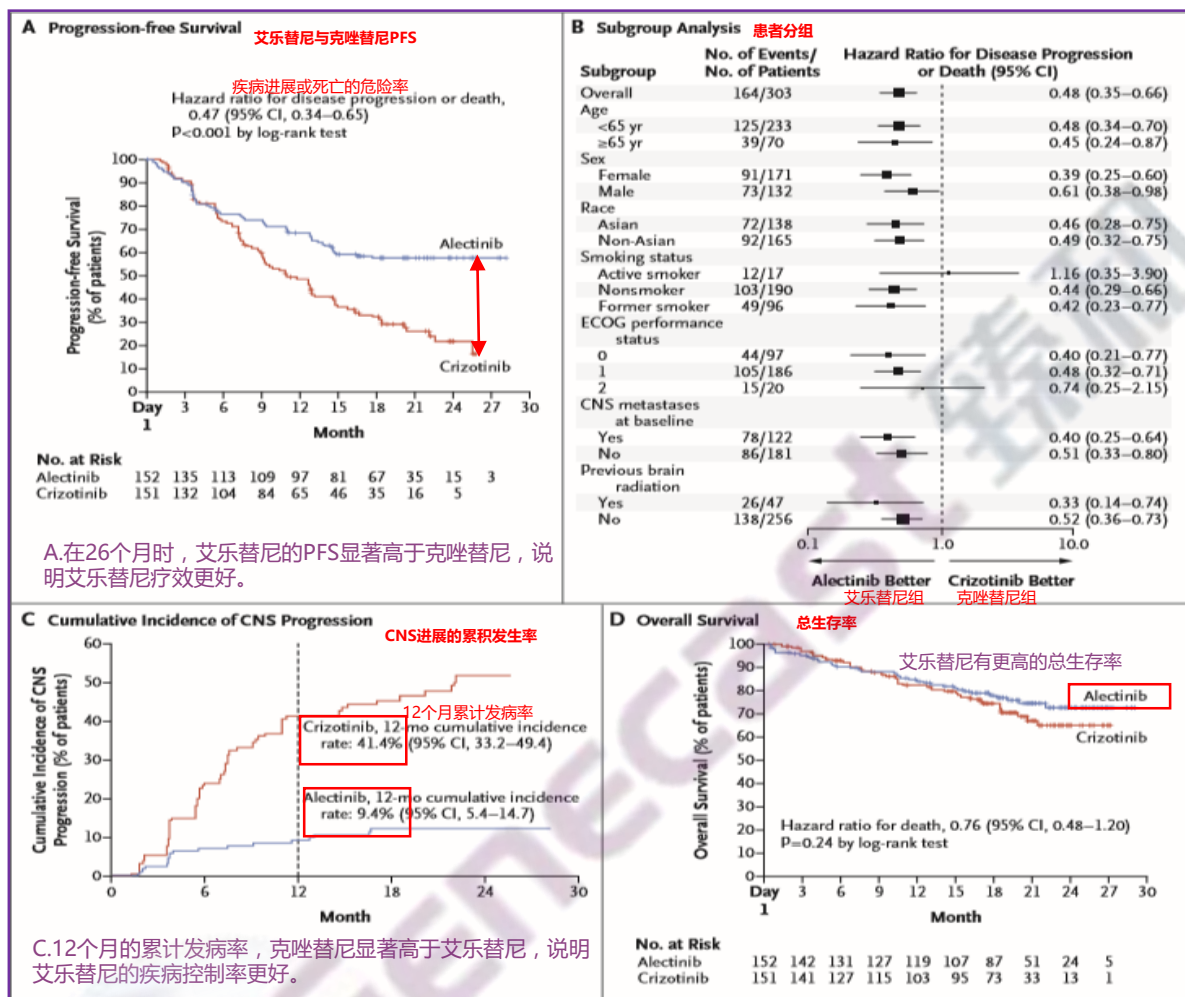


图4.5 肺癌药物在意向人群中的治疗效果

*N Engl J Med.* 2017 Aug 31;377(9):829-838

## 常用的抗癌药疗效评价指标

- **OS** : 总生存期 ( overall survival ) 指从随机化分组至患者死亡的间隔时间 ;
- **PFS** : 无进展生存期 ( progression-free survival ) 从随机化到病人出现肿瘤进展或死亡的时间 ;
- **ORR** : 客观缓解率 ( Objective Response Rate ) 肿瘤缩小达到一定量并且保持一定时间的病人的比例, 包括CR+PR的病例 ;
- **DCR** : 疾病控制率 ( DCR , Disease Control Rate)是指肿瘤缩小或稳定且保持一定时间的病人的比例(主要针对实体瘤) ;
- **DCR 疾病控制率包括 :**
  - **CR** : 完全缓解 ( complete response ) 所有靶病灶消失, 无新病灶出现, 且肿瘤标志物正常, 至少维持4周 ;
  - **PR** : 部分缓解 ( partial response ) 靶病灶最大径之和减少≥30%, 至少维持4周 ;
  - **PD** : 疾病进展 ( progression disease ) 靶病灶最大径之和至少增加≥20%, 或出现新病灶 ;
  - **SD** : 疾病稳定 (stable disease) 靶病灶最大径之和缩小未达PR, 或增大未达PD ;



## 4.5 NGS检测指导肺癌治疗疗效预测

- 本文2017年7月发表在 *Theranostics* 上, IF: 8.7199, cfDNA的分子突变负荷可以准确预测晚期NSCLC患者接受标准一线化疗的疗效, 并且对于基线携带TP53突变的患者, MMB的动态变化可以用于监测疾病进展情况。

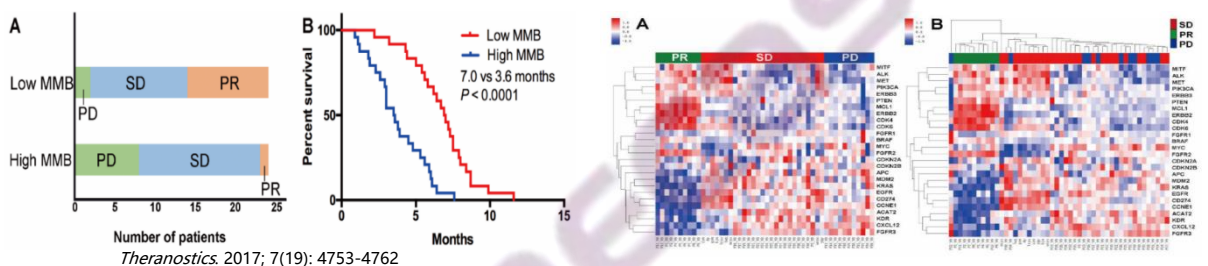
2017; 7(19): 4753-4762. doi: 10.7150/thno.2161

Research Paper

# Mutational Landscape of cfDNA Identifies Distinct Molecular Features Associated With Therapeutic Response to First-Line Platinum-Based Doublet Chemotherapy in Patients with Advanced NSCLC

Tao Jiang<sup>1\*</sup>, Xuefei Li<sup>2\*</sup>, Jianfei Wang<sup>3\*</sup>, Chunxia Su<sup>1</sup>, Wenbo Han<sup>3</sup>, Chao Zhao<sup>2</sup>, Fengying Wu<sup>1</sup>, Guanghui Gao<sup>1</sup>, Wei Li<sup>1</sup>, Xiaoxia Chen<sup>1</sup>, Jiayu Li<sup>1</sup>, Fei Zhou<sup>1</sup>, Jing Zhao<sup>4</sup>, Weijing Cai<sup>3</sup>, Henghui Zhang<sup>3</sup>, Bo Du<sup>3</sup>, Jun Zhang<sup>4,5</sup>, Shengxiang Ren<sup>1,5</sup>, **臻和!!**, Hui Yu<sup>5</sup>, Fred R. Hirsch<sup>5</sup>

1. Department of Medical Oncology, Shanghai Pulmonary Hospital, Thoracic Cancer Institute, Tongji University School of Medicine, Shanghai, P.R. China;
2. Department of Lung Cancer and Immunology, Shanghai Pulmonary Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai, P.R. China;
3. Beijing Genecast Biotechnology Co., Beijing, P.R. China;
4. Division of Hematology, Oncology and Blood, Marrow Transplantation, Department of Internal Medicine, Holden Comprehensive Cancer Center, University of Iowa Carver College of Medicine, Iowa City, IA, USA;



*Theranostics*. 2017; 7(19): 4753-4762

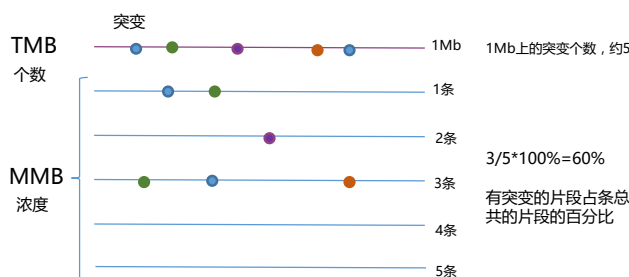
具有较低MMB患者的PFS显著长于高MMB患者, 差异具有显著的统计学意义 (7.0 vs 3.6月, P < 0.0001)

分析发现, PR患者的基因拷贝数模式与SD或PD患者存在显著差异, 层次聚类分析证实了该结果

- 本研究首次证实cfDNA基因组突变特征 (MMB, 基因拷贝数改变模式) 可以准确预测NSCLC患者接受标准一线化疗的疗效, TP53 MMB的动态变化可以动态监测一线化疗疗效的变化;
- 这些结果提示我们, NGS结合液体活检在晚期NSCLC一线化疗中具有重要的疗效监测价值。

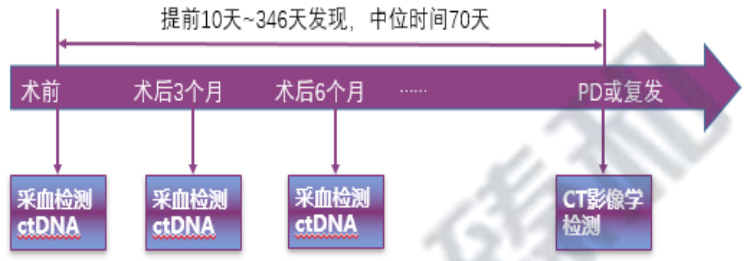
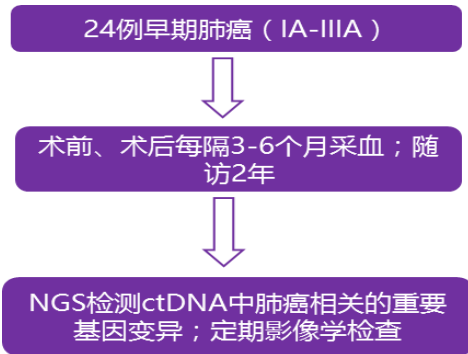
## MMB与TMB有啥区别呢?

- **MMB**: Molecular Mutational Burden (分子突变负荷), 用来描述血浆中携带肿瘤相关突变的核酸分子占总核酸分子的比例, 是个浓度值。
- **TMB**: Tumor mutation burden (肿瘤突变负荷), 是指单位基因组长度内发现的肿瘤相关突变的个数。



## 4.6 肺癌的复发监控

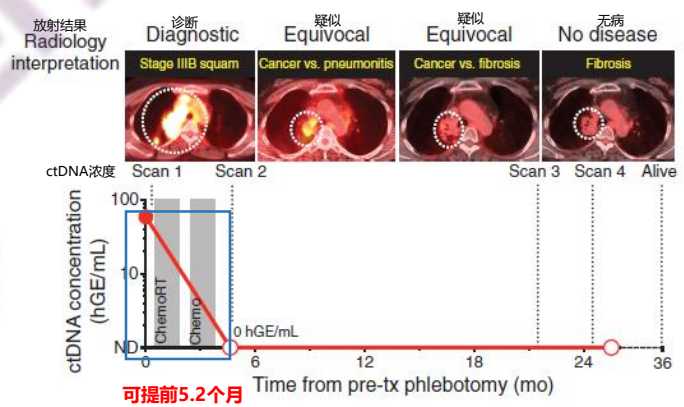
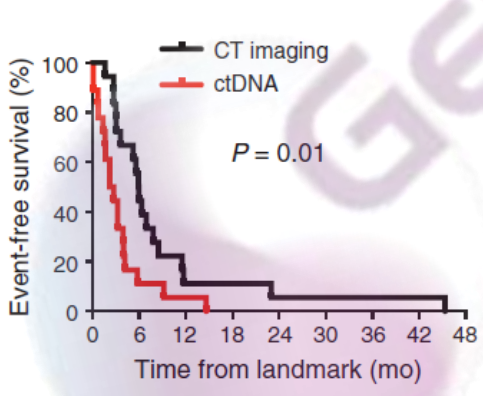
- 本文是2017年4月发表在*nature*上的TRACERx研究，IF: 40.137，ctDNA检测可以早期提示肿瘤的复发，灵敏度高且能评价辅助化疗的疗效。



分别在术前、术后3个月、术后6个月、.....采血进行ctDNA检测，对比于传统的CT，可以提前70天（中位时间）发现疾病进展或复发

- ctDNA监控
  - 可以早期的提示患者术后复发，前100例患者的方案和结果如上所述；
  - 可以发现肿瘤复发的时间要早于CT，提前的中位时间是70天；
  - 灵敏度高且能评价辅助化疗的疗效。

- 本文是2017年2月发表在*Cancer Discov*上，IF: 20.011，ctDNA监测可以提前5.2个月发现肿瘤复发。



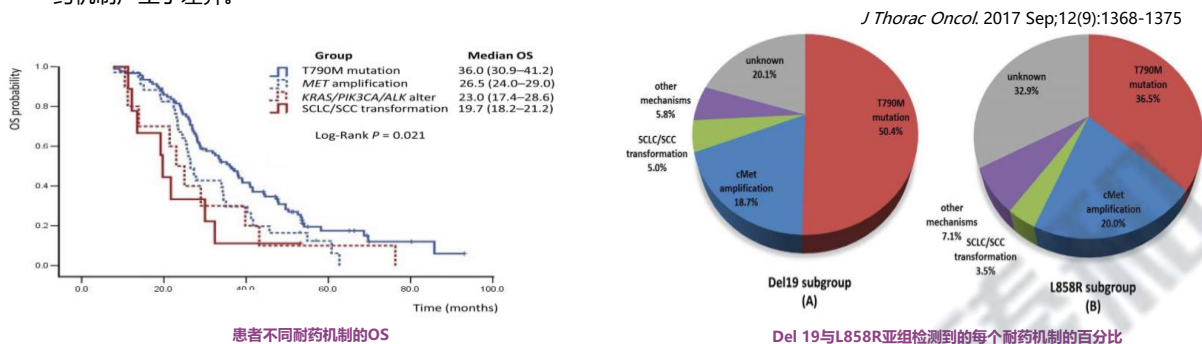
Cancer Discov 2017 12 ;7(12)

- 定期接受ctDNA监测的患者，在接受根治性治疗后，第一次检测到ctDNA的时间，比CT明确提示肿瘤复发，平均提前了5.2个月；
- ctDNA中相应基因检测，还可以用来区别到底是疾病复发还是正常术后改变。



## 4.6 肺癌的预后评估

- 本文2017年9月发表在 *J Thorac Oncol* 上, IF: 6.5949, 19 Exon del比L858R突变对EGFR酪氨酸激酶抑制剂的耐药机制产生了差异。



- 19-del 缺失组的 T790M 突变 ( 50.4% ) 显著比L858R突变组 ( 36.5% ) 高；
- T790M 突变的患者中观察到明显的OS益处, 中位OS 36.0个月；
- 检测NSCLC EGFR -Exon19-del 和 L858R 这两种突变, 对EGFR-TKI的抵抗机制的差异；
- **结果报道：**EGFR T790M 高比例突变对于 Exon19 缺失比 L858R突变的患者有更好存活率, 预后更好。

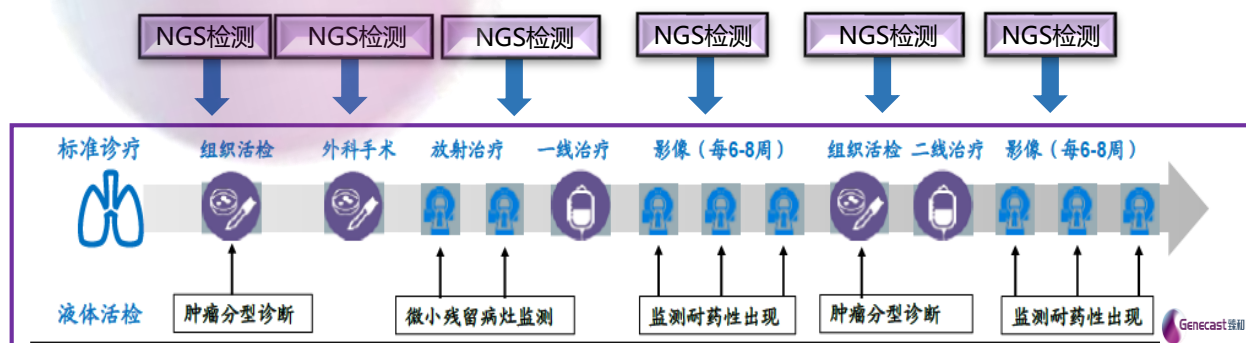
## ★ 肺癌中的常见突变有哪些？

- 1.EGFR-Exon19 del :** EGFR基因的19号外显子缺失突变, 对一代和二代EGFR-TKI敏感, 也是驱动肿瘤发生的根本原因；
- 2.EGFR-L858R :** EGFR基因20号外显子第858个氨基酸由亮氨酸变成精氨酸, 对一代和二代EGFR-TKI敏感；
- 3.EGFR-T790M :** EGFR基因的20外显子点突变, 对一代EGFR-TKI耐药, 对三代靶向药物泰瑞沙敏感；
- 4.EGFR-C797S :** EGFR基因的797位氨基酸的一个置换突变, 该突变对三代靶向药物泰瑞沙耐药；

- 5.BRAF-V600E :** BRAF基因的第600位氨基酸的突变, 该突变导致下游通路激活, 是对EGFR靶点靶向药物的一个耐药突变；
- 6.MET扩增 :** MET基因的扩增突变, 该基因的突变也是EGFR靶点靶向药物的耐药突变。可用药物：克唑替尼、XL184和INC280；
- 7.ERBB2扩增 :** ERBB2也称之为Her2, 该基因的扩增, 也是对EGFR靶向药物的一个耐药基因突变。

## ▶ 4.7 NGS检测在肺癌中的应用的小结

早期、敏感、全面、实时、动态 辅助肿瘤诊断及治疗选择



# 臻于至善 | 和合致远



## 臻和（北京）科技有限公司

- 臻和科技以二代测序技术和生物信息学为核心，从事无创为主的肿瘤个性化精准诊疗和伴随诊断。
- 人才团队涵盖临床医学、生物信息学及分子生物学，在精准医疗及高通量测序行业深入多年。
- 公司集研发、生产、医学检验于一体，致力于通过技术创新和合作共享，提供安全、精准、全覆盖的个体化健康指导。
- 目前臻和科技拥有2个研发中心、2家医学检验所、1家生产基地、1个肿瘤专科门诊。

## 本期参考文献

1. Xu T, Kang X, You X, et al. Cross-Platform Comparison of Four Leading Technologies for Detecting EGFR Mutations in Circulating Tumor DNA from Non-Small Cell Lung Carcinoma Patient Plasma. *Theranostics*. 2017 Apr 2;7(6):1437-1446.
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A, et al. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017 Jan;67(1):7-30.
3. Chen W, Zheng R, Zhang S. Cancer incidence and mortality in China in 2013: an analysis based on urbanization level. *Chin J Cancer Res*. 2017 Feb;29(1):1-10.
4. Jamal-Hanjani M, Wilson GA, McGranahan N, et al. Tracking the Evolution of Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017 Jun 1;376(22):2109-2121.
5. Abbosh C, Birkbak NJ, Wilson GA, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution. *Nature*. 2017 Apr 26;545(7655):446-451.
6. Phallen J, Sausen M, Adleff V, et al. Direct detection of early-stage cancers using circulating tumor DNA. *Sci Transl Med*. 2017 Aug 16;9(403).
7. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017 Aug 31;377(9):829-838.
8. Tao Jiang, Xuefei Li, Jianfei Wang, et al. Mutational Landscape of cfDNA Identifies Distinct Molecular Features Associated With Therapeutic Response to First-Line Platinum-Based Doublet Chemotherapy in Patients with Advanced NSCLC. *Theranostics*. 2017; 7(19): 4753-4762.
9. Ke EE, Zhou Q, Zhang QY, et al. A Higher Proportion of the EGFR T790M Mutation May Contribute to the Better Survival of Patients with Exon 19 Deletions Compared with Those with L858R. *J Thorac Oncol*. 2017 Sep;12(9):1368-1375.
10. Aadel A. Chaudhuri, Jacob J. Chabon, et al. Disease in Localized Lung Cancer by Circulating Tumor DNA Profiling. *Cancer Discov*. 2017 Dec; 7(12).



一定要关注我们哦，下期内容更精彩

