

# 肿瘤标志物研究进展

白日兰, 梁婷婷, 崔久嵬\*

吉林大学第一医院肿瘤中心, 长春 130021

**摘要** 随着精准医疗的发展, 肿瘤标志物越来越得到关注。综述了近期肿瘤标志物的突破性进展: 肿瘤标志物研究内容逐步扩展, 涉及基于肿瘤基因组和染色体变异、液体活检、表观遗传学和代谢组学等多方面的肿瘤标志物; 肿瘤标志物相关检测技术飞速发展, 包括液体活检、高通量基因测序、单细胞精准检测及其他新型技术等; 并且随着这些新型高科技的不断发展, 实现了从单一检测到多因素联合检测的突破; 在临床实践中, 肿瘤标志物检测已在肿瘤早期筛查和诊断、指导肿瘤治疗并预测疗效、预测肿瘤复发转移和预后方面发挥重要作用, 对于提高肿瘤诊治质量、充分实现精准医学具有重要意义。

**关键词** 肿瘤; 肿瘤标志物; 液体活检; 高通量测序; 临床应用

肿瘤是当前威胁人类健康最严重的疾病之一, 寻找早期诊断、指导治疗、评估疗效与预后的高敏感度和特异的肿瘤标志物是攻克恶性肿瘤、解决临床诊治难题关键之一。近年来, 肿瘤标志物的研究内涵逐步扩展<sup>[1-4]</sup>, 实现了从传统蛋白质肿瘤标志物到肿瘤细胞或基因组标志物的延伸; 相应检测技术飞速发展<sup>[5-6]</sup>, 实现了从静态检测到动态监测, 从普通测序技术到高通量测序、单细胞测序乃至人工智能技术的变革。因此, 肿瘤标志物越来越得到研究者的关注和热议。逐步拓展对肿瘤标志物的深入认识, 可为揭示肿瘤疾病演变、临床诊治相关理论以及肿瘤发生、进展的分子机制和特点提供更多证据, 更是推动精准医学发展, 提高肿瘤诊治医疗

质量和患者生存质量的重要举措。

## 1 肿瘤标志物研究内涵逐步扩展

传统肿瘤标志物包括癌胚蛋白、肿瘤抗原、酶类标志物、糖类抗原等<sup>[7]</sup>。近年来, 随着组学研究包括基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学等的发展, 以及高通量测序、液体活检等高新技术的不断开发, 肿瘤标志物的研究内涵逐步扩展, 为研究肿瘤疾病演变、揭示疾病发病机制及特点等提供了更多证据。

### 1.1 基于肿瘤基因组和染色体变异的肿瘤标志物

基于肿瘤基因组和染色体变异的肿瘤标志物

收稿日期: 2020-07-13; 修回日期: 2020-12-23

基金项目: 吉林省发展和改革委员会省级产业创新专项资金项目(2017C022); 吉林省科技厅重点实验室建设项目(20170622011JC)

作者简介: 白日兰, 硕士研究生, 研究方向为肿瘤综合治疗, 电子信箱: bairilan@foxmail.com; 崔久嵬(通信作者), 教授, 研究方向为肿瘤综合诊治的基础和临床, 电子信箱: cuijw@jlu.edu.cn

引用格式: 白日兰, 梁婷婷, 崔久嵬. 肿瘤标志物研究进展[J]. 科技导报, 2021, 39(7): 28-37; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2021.07.003

与肿瘤的发生发展密切相关,部分已成为肿瘤的常见易患基因、诊断基因/染色体以及预后和治疗疗效监测的预测性标志物。其中,最常见的是细胞DNA修复途径的改变,包括碱基切除修复、DNA双链断裂修复、核苷酸切除修复等,参与DNA损伤修复的相关基因至少130种,其变异可显著增加肿瘤发病风险,成为潜在的肿瘤标志物。例如,错配切除修复基因1/2、X射线交叉补体1、着色性干皮病A/C型等的变异可增加肺癌易患风险<sup>[8]</sup>,可能成为肺癌的诊断标志物;抑癌基因可抑制细胞生长并具有潜在抑癌作用,常见的P53、细胞周期蛋白D1、鼠双微体2(murine double minute 2,MDM2)基因等的变异,可影响肿瘤细胞凋亡、DNA损伤信号传递和DNA修复,以及染色体稳定性和纺锤体双极性,增加肿瘤发病风险<sup>[9]</sup>;一些肿瘤驱动基因突变,在肿瘤发生过程中起着关键作用,如表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR) T790M突变、调定点激酶纯合突变、酪氨酸激酶受体2G660D突变、周期素依赖性激酶抑制因子2A基因突变等<sup>[9]</sup>;此外,白介素(interleukin, IL)及其相关基因、肿瘤坏死因子、环氧合酶2、端粒长度等,可通过调节免疫系统和细胞应激等影响肿瘤的发生发展。IL-8/6和吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)在有明显炎症状态的肿瘤微环境中升高;染色体5p15.33区有2个已知基因,人端粒酶逆转录酶和唇腭裂跨膜蛋白1<sup>[10]</sup>,前者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<sup>[11]</sup>,影响肿瘤的发生,是潜在的肿瘤标志物。

除基因外,染色体易位、缺失等变异是恶性肿瘤重要的分子遗传学改变之一,其可异常激活原癌基因,并在变异后使相邻的基因融合,形成新的融合基因并表达相关产物,进而导致细胞恶性生物学行为,特异的染色体变异或变异基因产物可作为肿瘤标志物,用于肿瘤诊断、预测预后。例如,染色体易位t(11;22)(p13;q12)可形成EWS-wt1融合基因、t(11;14)(q13;q32)易位后cyclinD1表达上调、t(4;14)易位可导致IgH-SET融合转录子形成,均与肿瘤的发生密切相关<sup>[12]</sup>;1号染色体长臂的杂合

性缺失(loss of heterozygosity, LOH)在多种肿瘤中都较为常见<sup>[13]</sup>;3号染色体基因LOH是非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)发生中常见且早期分子生物学改变,对检测肺癌的无创诊断具有较好临床意义<sup>[14]</sup>。

## 1.2 基于液体活检的肿瘤标志物

随着液体活检技术的飞速发展,肿瘤标志物的检测已从静态检测转变为动态监测,研究内容也逐步丰富<sup>[1-2]</sup>。液体活检通过简单的血液采样即可分析肿瘤相关标志物,并重复、动态监测肿瘤演变过程。其检测内容包括从原发肿瘤和转移部位释放到循环血中的循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)、循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)、细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)和循环肿瘤RNA等<sup>[4]</sup>。

1) 循环肿瘤DNA。分析ctDNA突变有助于了解肿瘤相关遗传改变和反映肿瘤负荷,其检测不仅可在单基因中开展,如NSCLC中EGFR突变检测<sup>[15]</sup>,还可进行多基因分析,如血液肿瘤突变负荷(blood tumor mutation burden, bTMB)、微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)等的检测,显示出较组织学检测更为快速、便捷、动态的特点。此外,对ctDNA甲基化异常模式分析也可成为早期诊断并预测肿瘤发生发展的重要标志物<sup>[16]</sup>。

2) 循环肿瘤细胞。CTCs检测可获取基于单细胞基因组、转录组学和/或蛋白质组学分析的定性信息<sup>[17]</sup>,也可通过细胞计数为临床提供肿瘤定量信息。近期研究发现:CTCs可在血液中成簇聚集并发生低甲基化,进而调控肿瘤转移潜能,利用药物可将CTCs细胞簇解离成单细胞而阻止肿瘤转移<sup>[18]</sup>。

3) 细胞外囊泡。EVs是细胞分泌的携带各种核酸和蛋白质的一种脂质囊泡,可通过其获取肿瘤相关信息<sup>[19-20]</sup>。EVs中多种DNA不仅可在靶细胞中发挥一定作用,还能反映肿瘤突变状况,如线粒体DNA等;检测分析肿瘤细胞分泌的富含程序性死亡配体1(programmed death ligand 1, PD-L1)的外泌体有助于深入探究肿瘤免疫逃逸机制,并研发靶向解除免疫抑制的治疗方法<sup>[21]</sup>;EVs中微小RNA

(microRNA, miRNA)和长链非编码RNA在促进肿瘤转移、生长及耐药等方面具有重要功能,也具有作为肿瘤诊断标志物的潜力;此外,对从临床各种样本中获得的外泌体进行一系列蛋白质组学分析发现,外泌体中磷脂酰肌醇蛋白聚糖1<sup>[22]</sup>等的水平可作为一种潜在的非侵入性肿瘤诊断和筛查的生物学标志物,并有望成为分子治疗靶标。

### 1.3 基于表观遗传学和代谢组学的肿瘤标志物

除基因突变外,表观遗传学改变被认为是肿瘤发生和发展的另一重要促成因素,包括DNA甲基化、组蛋白乙酰化、去乙酰化和甲基化及miRNA改变等。甲基化检测在临床实践可辅助诊断肿瘤,是良好的肿瘤诊断和治疗标志物。例如,腺瘤性结肠息肉病基因高甲基化平均水平在肿瘤中为4.75,正常人仅有1.57<sup>[23]</sup>;最新研究开发了一种全基因组DNA甲基化和基因组变异的导向定位测序方法,揭示了异常DNA甲基化与早期肿瘤发生和转移的相关机制<sup>[24]</sup>;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,例如,联合检测*RASSF1*、*DAPK1*、*BVES*、*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%<sup>[25]</sup>。此外,组蛋白尾部赖氨酸残基的乙酰化和去乙酰化代表了控制基因表达的大量表观遗传调控机制中的一个至关重要的机制<sup>[26]</sup>。组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)介导的组蛋白乙酰化,例如CREB结合蛋白、p300和pCAF与易接近的染色质和转录激活相关;不同组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)的去乙酰化负责抑制基因转录。组蛋白乙酰化和去乙酰化水平受到HAT和HDAC拮抗活性的严格控制,因而任一种不平衡的酶激活可促进细胞恶变和肿瘤进展<sup>[27]</sup>。

针对代谢组学在肿瘤中的研究,可使小分子代谢物成为有吸引力的肿瘤标志物,为肿瘤早期诊断及筛查提供有力手段。如细胞色素P450、氮-乙酰基转移酶、髓过氧化物酶、谷胱甘肽转硫酶等调节代谢的酶的变异与肺癌的发病密切相关<sup>[28-30]</sup>;卵巢癌研究中证实,异常脂类代谢物溶血磷脂酸和溶血磷脂可能成为用于卵巢癌诊疗的代谢组学肿瘤标

志物<sup>[31]</sup>;基于代谢组学的前列腺癌尿液、血液和组织样本中肿瘤标志物的探索发现,肌氨酸、精氨酸和支链氨基酸、1-硬脂酰甘油、N-乙酰基-3-甲基组氨酸等多种代谢标志物与前列腺癌发病及预后相关<sup>[32]</sup>;此外,研究者通过分步变量选择方法和基于多因素的回归分析建立了由2-羟基丁酸盐、门冬氨酸、犬尿氨酸、胱胺组成的结直肠癌(colorectal cancer, CRC)预测模型,该模型用于检测早期CRC的灵敏度为82.8%<sup>[33]</sup>。

### 1.4 其他新型肿瘤标志物

近期研究发现CTC-中性粒细胞结合细胞可作为一种新型肿瘤标志物,结果显示血浆中存在CTC-中性粒细胞的患者的无进展生存期(progression-free survival, PFS)显著缩短。随后通过分析不同类型CTCs基因表达谱,发现CTC-中性粒细胞中与细胞周期和DNA复制通路正向调节相关的40余个基因均显著上调<sup>[34]</sup>。此外,肠道微生物可通过炎性刺激、调控免疫细胞募集与活化等多种机制影响恶性肿瘤的发生发展,是近年来肿瘤标志物研究的拓展领域<sup>[35]</sup>。

## 2 肿瘤标志物检测技术飞速发展

肿瘤标志物检测技术的飞速发展推动了其研究进程和临床应用。近几年,新兴了多种检测技术,包括液体活检相关技术、高通量测序技术、单细胞测序及人工智能技术等。

### 2.1 液体活检技术

ctDNA检测手段中,突变阻滞扩增系统(amplification refractory mutation system, ARMS)是唯一被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于临床检测的一种经济快速的方法,但其敏感性仅约50%<sup>[36-38]</sup>。微滴式数字PCR(droplet digital PCR, ddPCR)和第二代测序技术(next-generation sequencing, NGS)在检测准确性上显著提高,但操作过程复杂且价格昂贵,在临床实践中并未广泛应用<sup>[39]</sup>。最近,SuperARMS法<sup>[40]</sup>作为一种改良ARMS技术,已被中国FDA批准用于检测晚期NSCLC中*EGFR*突变状态,在保留其原有技术

优势的同时进一步提高了检测灵敏度,筛选适合靶向药物的患者。

临床实践中富集和检测 CTCs 的技术方法主要有 2 大类:一类为利用 CTCs 物理特性将其与血细胞分离的方法,如膜滤过分离法、双向电泳法、新开发的 FMSA (flexible micro spring array) 及富集 CTC 簇的技术 Cluster-Chip 等;另一类方法在蛋白质分子水平上利用 CTCs 表面特有分子而开发(如基于抗原抗体反应),如流式细胞术、细胞搜索系统 (cell search system)、生物芯片等技术。目前唯一经美国 FDA 批准广泛应用于临床的 CTCs 检测技术是细胞搜索系统,其定义 CTCs 为血液中检测到的上皮细胞黏附分子+/细胞角蛋白+/DAPI+/CD45+ 细胞<sup>[17]</sup>。

## 2.2 高通量基因测序技术

近几年,基因测序技术已逐步进入高通量测序阶段。全基因组测序<sup>[5]</sup>(whole genome sequencing, WGS)针对整个基因组进行高通量测序,其测序结果水平较高,提供信息较为全面;而全外显子组测序<sup>[5]</sup>(whole exome sequencing, WES)仅对编码 DNA (占基因组 2%) 进行测序,能够以更快速、经济的方式确保 100 倍覆盖范围,为发现体细胞突变提供了有效方法。目前,肿瘤基因组合 (gene panel) 已应用于临床实践,如 FoundationOne CDx 和 MSK-IMPACT 癌症基因检测分析平台。基因甲基化的检测技术有 450 K 甲基化芯片、全基因组甲基化测序等。最近发现的 cEMeDin-seq 技术是一种游离甲基化 DNA 免疫沉淀高通量测序技术,可在不使用亚硫酸盐处理情形下对血浆游离 DNA 进行全基因组甲基化分析,从而在肿瘤最早阶段检测并对其分类<sup>[41]</sup>。第三代单分子测序技术无需 PCR 扩增,弥补了第二代测序技术读长较短的劣势,可避免产生测序偏差并在测序时间和成本上表现更佳<sup>[6]</sup>。RNA 测序 (RNA sequencing, RNA-seq) 是 NGS 的一种相对较新的应用,可量化基因表达,检测基因融合、插入缺失,以及新转录物,分析小型非编码 RNA 等<sup>[42-43]</sup>。

## 2.3 单细胞精准检测技术

单细胞测序技术针对单个细胞基因组、转录组、表观组进行高通量测序分析,可准确分析肿瘤

克隆演化<sup>[44]</sup>。一项研究通过单细胞转录组学分析技术鉴定了肿瘤相关巨噬细胞亚群,发现了一群 LAMP3 阳性树突细胞及其调节多种淋巴细胞亚型的潜能,首次绘制了肝癌中单个免疫细胞的动态图谱,解析了肿瘤免疫微环境<sup>[45]</sup>。Slide-seq 技术是一种可在组织切片上进行单细胞精度转录组测序的技术,以单细胞水平的分辨率获得空间解析的基因表达数据,并绘制细胞三维组织图谱,揭示组织细胞类型<sup>[46]</sup>。

## 2.4 其他新型技术

近期研究发现了一种可用于实时监测蛋白质相互作用的新型单分子纳米传感器,可确定每一种蛋白质特性、类别及白蛋白间相互作用,在蛋白质相互作用分析及肿瘤早期诊断生物标志物筛选等方面有望发挥重要作用。多色荧光共振能量转移 (multicolour förster resonance energy transfer, mFRET) 技术是一种可检测血液样本中成百上千种蛋白质的新技术,它基于 FRET 模型和微珠条形码技术,可产生多达 500 种颜色微珠,对样本中多种标志物进行检测<sup>[47]</sup>。基于人工智能、大数据平台建设的肿瘤数据库的建立不仅是国家信息大数据采集的来源,还可推动肿瘤规范化诊治水平的建立,实现对病理学方面同质化、标准化诊断的提升。研究人员基于人工智能 (artificial intelligence, AI) 的全切片图像诊断,利用 4 万余份真实病理数据,开发了世界首个临床应用级病理诊断 AI 系统,诊断正确率超 98%,可减少医生 75% 工作量,是肿瘤病理学诊断方式的巨大突破<sup>[48]</sup>。Abelson 等<sup>[49]</sup>利用人工智能技术 (血液检测和机器学习技术) 可早发现急性髓性白血病高风险人群并进行监测,同时寻找降低患病几率的方案,有望提前 5 年预测白血病的发病。

## 3 从单一肿瘤标志物检测到多种肿瘤标志物的联合检测

多种肿瘤标志物的联合检测可有效实现检测作用互补并提高肿瘤检出率,在肿瘤早期筛查和辅助诊断中有重要意义。Krug 等<sup>[50]</sup>使用 BEAMing

(ddPCR)法对比基于外泌体中RNA(exosome RNA, exoRNA)联合ctDNA检测的新型exoNA法检测外周血EGFR基因,结果显示,对比组织检测,exoNA法检测EGFR突变、EGFR T790M突变的灵敏度分别为98%和90%,而另一方法仅为82%和84%。表明多维度生物标志物联合检测的优势。前文提到的将CTCs聚类与表观遗传学检测DNA甲基化的特定变化联系起来,并利用药物将CTCs细胞簇解离成单细胞而阻止肿瘤转移的观点也是多维度标志物联合检测的实例<sup>[18]</sup>。

多项预测生物标志物联合检测可为肿瘤免疫治疗提供更多信息。IMpower 150研究<sup>[51]</sup>显示,肿瘤及淋巴细胞的效应T细胞基因表达谱(Teff, PD-L1+CXCL9+IFN $\gamma$ )是有效的疗效预测标志物,高Teff患者总生存期(overall survival, OS)优于低Teff患者。最近一项II期试验对基因表达谱、拷贝数变异、Lauren分类、EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)/TP53状态和综合基因组分析与免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)治疗疗效相关性进行了研究(NCT02589496),有望更好地了解其预测价值。Ascierto等<sup>[52]</sup>对治疗后1~5年复发乳腺癌患者和7年以上无复发者进行了研究,筛选了超过299个免疫相关基因,发现5个基因(*IGK*[*IGKC*], *GP1*, *STAT1*, *IGLL5*和 *OCLN*)在无复发生存患者中高度过表达。此外,研究基于10个基因标记开发结合多个免疫变量的干扰素(interferon, IFN)- $\gamma$ 评分,然后在62例黑色素瘤患者验证集中扩展至28个基因标记,包括编码IFN- $\gamma$ 、颗粒酶A和B、穿孔素1、IDO1和其他免疫相关基因。2种基因评分均显示与最佳总缓解率和PFS显著相关。基于受试者工作曲线优化的IFN- $\gamma$ 评分临界值可使应答者阳性预测值达59%,非应答者阴性预测值达90%<sup>[53]</sup>。

## 4 肿瘤标志物检测与肿瘤诊治临床实践相结合

### 4.1 肿瘤标志物检测有助于肿瘤早期筛查和诊断

目前,肿瘤早期筛查和诊断仍存在困难,有效的筛查试验是实现肿瘤早诊早治、及时干预和治疗

的关键一步。早筛试验应满足高灵敏度、特异性和成本效益。DNA甲基化可反映基因启动子区高甲基化特征,临床上对早期肿瘤、原位癌或癌前病变进行检测DNA甲基化,可为早期诊断提供重要帮助;联合肿瘤标志物和组织特异性甲基化模式可有效检测并定位肿瘤,提高肺癌检测灵敏度和特异性<sup>[25,54]</sup>。此外,多个基因甲基化标志物的联合检测可使肺癌诊断敏感性和特异性提高分别达70%和90%以上<sup>[25]</sup>。Cohen等<sup>[55]</sup>提出了一种联合检测ctDNA突变谱和常见血液肿瘤生物标志物的CancerSEEK方法,用于筛查8种常见肿瘤,中位敏感性为70%,特异性 $\geq 99\%$ 。

### 4.2 肿瘤标志物检测指导肿瘤治疗并预测疗效

基于肿瘤标志物的表达水平可指导肿瘤治疗并预测治疗疗效。例如,ICIs被批准用作PD-L1+、MSI-High/错配修复缺陷(mismatch repair deficiency, dMMR)难治性转移性胃食管癌的三线治疗,并进入疗效评估的临床实践。II期BENEFIT研究<sup>[56]</sup>提出动态监测ctDNA变化可预测肿瘤治疗疗效,结果显示一线吉非替尼治疗8周时,ctDNA EGFR突变消失者PFS显著更长,合并T790M及其他基因突变者PFS更短。研究证实检测基线和治疗12周ctDNA谱可准确区分免疫治疗假性进展(敏感度为90%,特异性为100%)与真正进展,而采用乳酸脱氢酶变化谱识别假性进展的敏感度和特异性均较低,并且ctDNA增加和减少的患者的1年生存率有显著差别(82%和39%)<sup>[57]</sup>。此外,基于液体活检的单细胞代谢表型分析可预测肺癌靶向治疗或化疗疗效。研究使用单细胞芯片上的代谢细胞计数法和荧光代谢探针,显示出32例肺腺癌患者的胸腔积液中稀有弥散性肿瘤细胞的代谢表型,即通过代谢功能对CTCs做特异性确认,揭示了肿瘤细胞广泛的代谢异质性;还发现两种代谢表型的细胞数比值可预测患者的治疗反应、生理表现和存活率<sup>[41]</sup>。

### 4.3 肿瘤标志物检测预测肿瘤患者复发转移和预后

研究证实III期非转移性CRC患者术后随访期间使用Safe-SeqS技术连续监测ctDNA水平,可在常规影像学检测之前发现疾病复发,且其敏感性优

于癌胚抗原<sup>[58]</sup>。外泌体液体活检术——无创液体活检测试 ExoDx Prostate IntelliScore (EPI) 已获 FDA 突破性医疗器械认定用于检测前列腺癌, 并评估其预后信息。此外, 肿瘤标志物检测也与治疗相关不良反应相关。例如, 一项研究评估了晚期 NSCLC 患者使用 ICI 治疗时, 自身免疫标记物如类风湿因子、抗核抗体、抗甲状腺球蛋白等的存在与

临床获益和发生免疫相关不良反应 (immune-related adverse events, irAEs) 的相关性<sup>[59]</sup>。结果显示, 自身抗体可作为预测 ICIs 疗效和 irAEs 的标志物, 还可帮助确定 NSCLC 患者风险收益比, 从而在最大程度提高治疗益处的同时将 irAEs 降至最低, 为预测免疫治疗不良反应提供新方向。

肿瘤标志物研究进展概况如表 1 所示。

表 1 肿瘤标志物研究进展

内容	具体应用/举例	文献
基于基因组和染色体变异的肿瘤标志物	DNA 修复途径突变: 错配切除修复基因 1/2、X 射线交叉补体 1、着色性干皮病 A/C 型等的突变 抑癌基因突变: P53、细胞周期蛋白 D1、MDM2 等的突变 基因组突变 肿瘤驱动基因突变: EGFR-T790M、调定点激酶、酪氨酸激酶受体 2G660D、周期素依赖性激酶抑制因子 2A 基因等的突变 调节免疫系统和细胞应激等途径突变: 白介素及其相关基因、肿瘤坏死因子、环氧合酶 2、端粒长度等的突变	[8-11]
	染色体变异 t(11;22)(p13;q12) 易位: EWS-wT1 融合基因 t(11;14)(q13;q32) 易位: cyclinD1 表达上调 t(4;14) 易位: IgH-SET 融合转录子 1 号染色体长臂的杂合性缺失 3 号染色体基因杂合性缺失	[12-14]
肿瘤标志物检测内容	ctDNA 单基因分析: 肺癌 EGFR 等 多基因分析: bTMB、MSI 等 ctDNA 甲基化异常模式分析	[15-16]
	基于液体活检的肿瘤标志物 CTCs 定性分析: 单细胞基因组、转录组学和/或蛋白质组学分析 定量分析: CTC 细胞计数	[17-18]
基于表观遗传学和代谢组学的肿瘤标志物	EVs EVs-DNA EVs-PD-L1 表达检测 EVs-miRNA 和长链非编码 RNA EVs-蛋白质组学: 外泌体中磷脂酰肌醇蛋白聚糖 1	[19-22]
	表观遗传学 DNA 甲基化 (单基因/联合多基因) 组蛋白乙酰化 (组蛋白乙酰转移酶) 和去乙酰化 (组蛋白去乙酰化酶)	[23-25]
其他新型肿瘤标志物	代谢组学 肺癌: 细胞色素 P450、氮-乙酰基转移酶、髓过氧化物酶、谷胱甘肽转硫酶等 卵巢癌: 异常脂类代谢物溶血磷脂酸和溶血磷脂 前列腺癌: 肌氨酸、精氨酸和支链氨基酸、1-硬脂酰甘油、N-乙酰基-3-甲基组氨酸 结直肠癌: 2-羟基丁酸盐、门冬氨酸、犬尿氨酸、胱胺	[28-33]
	CTC-中性粒细胞结合细胞 肠道微生物	[34-35]

表1 肿瘤标志物研究进展(续)

内容	具体应用/举例	文献
肿瘤标志物检测技术	液体活检技术 ctDNA 检测: ARMS、ddPCR、NGS、SuperARMS CTCs 富集和检测: 如膜滤过分离法、双向电泳法、新开发的 FMSA 及富集 CTC 簇的技术 Cluster-Chip 等 流式细胞术、细胞搜索系统、生物芯片等	[17, 36-40]
	高通量基因测序技术 基于整个基因组的 NGS: 全基因组测序、全外显子组测序 基于肿瘤基因组组合: FoundationOne CDx 和 MSK-IMPACT 癌症基因检测分析平台 基因甲基化的检测技术: 全基因组甲基化测序、450 K 甲基化芯片、cEMeDin-seq 第三代单分子测序 RNA 测序(RNA-seq)	[5, 41-43]
	单细胞精准检测技术 单细胞转录组学分析技术 Slide-seq 技术	[36, 44-45]
	其他新型技术 新型单分子纳米传感器 多色荧光共振能量转移技术 基于人工智能诊断/检测技术	[47-49]
	早期筛查和诊断 DNA 甲基化、多个基因甲基化标志物	[25, 54-55]
肿瘤标志物检测临床应用	指导治疗并预测疗效 PD-L1+、MSI-High/dMMR: ICIs 批准用于难治性转移性食管癌的三线治疗 ctDNA 变化: 肺癌靶向治疗 单细胞代谢表型分析: 预测肺癌靶向治疗或化疗疗效	[41, 56-57]
	预测复发转移和预后 Safe-SeqS 技术连续监测 ctDNA 水平: 监测 III 期非转移性结肠直肠癌患者术后复发 无创液体活检检测 ExoDx Prostate IntelliScore(EPI): 前列腺癌预后	[58]

注: ctDNA, circulating tumor DNA, 循环肿瘤 DNA; CTCs, circulating tumor cells, 循环肿瘤细胞; EVs, extracellular vesicles, 细胞外囊泡; PD-L1, programmed death ligand 1, 程序性死亡配体 1; IL, interleukin, 白介素; dMMR, mismatch repair deficiency, 错配修复缺陷; IDO, indoleamine 2,3-dioxygenase, 吲哚胺 2,3-双加氧化酶; ARMS, amplification refractory mutation system, 突变阻滞扩增系统; ddPCR, droplet digital PCR, 微滴式数字 PCR; NGS, next-generation sequencing, 第二代测序技术; bTMB, blood tumor mutation burden, 血液肿瘤突变负荷; MSI, microsatellite instability, 微卫星不稳定性; RNA-seq, RNA sequencing, RNA 测序; ICIs, immune checkpoint inhibitors, 免疫检查点抑制剂; EGFR, epidermal growth factor receptor, 表皮生长因子受体; MDM2, murine double minute 2, 鼠双微体 2。

## 5 结论

肿瘤标志物的发展依赖于对肿瘤发生发展过程中生物学特征的了解,而相应高新检测技术的研发和进步有助于绘制肿瘤分子图谱,识别关键致癌驱动突变,并设计专门针对分子靶标的治疗方法,以获得临床效益。但目前肿瘤标志物的研究仍存在诸多挑战:(1) 肿瘤标志物作为反映肿瘤信息和特点的标志,检测灵敏度和准确度有待优化。有研究显示,部分中性粒细胞也可表达与肿瘤有交叉重

叠部分的 ctDNA,目前手段针对 ctDNA 的检测尚无法区分突变来自于中性粒细胞本身亦或肿瘤。未来或可将中性粒细胞作为对照研究以进一步探索,为识别、诊断肿瘤提供更精准的信息。(2) 肿瘤标志物检测技术及平台有待优化,如不同 NGS 检测平台间结果不一致;单细胞测序技术的成本较高、且对检测细胞和实验室等级要求较高;ctDNA 分析缺乏标准化方案。(3) 基于肿瘤大数据的发展,通过大样本数据积累,借助 AI 技术、云计算的发展,有望加快肿瘤标志物研究进程。(4) 肿瘤标志物的

研发应以应用于肿瘤临床实践,帮助临床医生早期诊断、指导治疗、评估疗效与预后为目标,以制定个体化精准诊疗方案,提高肿瘤诊治医疗质量和患者生存质量,充分实现精准医学时代的要求。

### 参考文献(References)

- [1] Rubis G D, Krishnan S R, Bebawy M. Liquid biopsies in cancer diagnosis, monitoring, and prognosis[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2019, 40(3): 172-186.
- [2] Mader S, Pantel K. Liquid biopsy: Current status and future perspectives[J]. *Oncology Research and Treatment*, 2017, 40(7-8): 404-408.
- [3] Cabel L, Proudhon C, Romano E, et al. Clinical potential of circulating tumour DNA in patients receiving anticancer immunotherapy[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2018, 15(10): 639-650.
- [4] Rubis G D, Krishnan S R, Bebawy M. Circulating tumor DNA-current state of play and future perspectives[J]. *Pharmacological Research*, 2018, 136: 35-44.
- [5] Paolillo C, Londin E, Fortina P. Next generation sequencing in cancer: Opportunities and challenges for precision cancer medicine[J]. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 2016, 245: 84-91.
- [6] Arboleda V A, Xian R R. An overview of DNA analytical methods[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2019, 1897: 385-402.
- [7] Duffy M J, O'Byrne K. Tissue and blood biomarkers in lung cancer: A review[J]. *Advances in Clinical Chemistry*, 2018, 86: 1-21.
- [8] Li W, Zhang M, Huang C, et al. Genetic variants of DNA repair pathway genes on lung cancer risk[J]. *Pathology Research and Practice*, 2019, 215(10): 152548.
- [9] 白日兰, 刘一凝, 崔久崑. 肺癌的遗传咨询与精准诊疗策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(8): 835-842.
- [10] 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]. *Gene*, 2020, 731: 144357.
- [11] 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]. *Molecular Carcinogenesis*, 2019, 58(6): 913-921.
- [12] 景丽, 郑杰. 染色体易位与恶性肿瘤[J]. *中华病理学杂志*, 2011(2): 138-140.
- [13] 李洁. 食管鳞癌中1号染色体长臂杂合性缺失的研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2004.
- [14] 王晓玫, 彭全洲, 单军, 等. 3p杂合性缺失与非小细胞肺癌的相关性[J]. *广东医学*, 2007, 28(7): 1060-1062.
- [15] Postel M, Roosen A, Laurent-Puig P, et al. Droplet-based digital PCR and next generation sequencing for monitoring circulating tumor DNA: A cancer diagnostic perspective[J]. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2018, 18(1): 7-17.
- [16] Guo S, Diep D, Plongthongkum N, et al. Identification of methylation haplotype blocks aids in deconvolution of heterogeneous tissue samples and tumor tissue-of-origin mapping from plasma DNA[J]. *Nature Genetics*, 2017, 49(4): 635-642.
- [17] Andree K C, van Dalum G, Terstappen L W. Challenges in circulating tumor cell detection by the CellSearch system[J]. *Molecular Oncology*, 2016, 10(3): 395-407.
- [18] Gkoutela S, Castro-Giner F, Szczerba B M, et al. Circulating tumor cell clustering shapes DNA methylation to enable metastasis seeding[J]. *Cell*, 2019, 176(1-2): 98-112.e114.
- [19] Shao H, Im H. New technologies for analysis of extracellular vesicles[J]. *Chemical Reviews*, 2018, 118(4): 1917-1950.
- [20] Gholizadeh S, Shehata D M, Zarghooni M, et al. Microfluidic approaches for isolation, detection, and characterization of extracellular vesicles: Current status and future directions[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 91: 588-605.
- [21] Chen G, Huang A C, Zhang W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response[J]. *Nature*, 2018, 560(7718): 382-386.
- [22] Melo S A, Luecke L B, Kahlert C, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2015, 523(7559): 177-182.
- [23] 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.
- [24] 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]. *Genome Research*, 2019, 29(2): 270-280.

- [25] 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]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prevention*, 2008, 17(3): 645–654.
- [26] Lomberk G, Mathison A J, Grzenda A, et al. The sunset of somatic genetics and the dawn of epigenetics: A new frontier in pancreatic cancer research[J]. *Current Opinion in Gastroenterology*, 2008, 24(5): 597–602.
- [27] Schneider G, Krämer O H, Schmid R M, et al. Acetylation as a transcriptional control mechanism—HDACs and HATs in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 2011, 42(2): 85–92.
- [28] Li M, Li A, He R, et al. Gene polymorphism of cytochrome P450 significantly affects lung cancer susceptibility[J]. *Cancer Medicine*, 2019, 8(10): 4892–4905.
- [29] Haiges D, Kurz P, Laaff H, et al. Malignant PEComa[J]. *Journal of Cutaneous Pathology*, 2018, 45(1): 84–89.
- [30] 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]. *Supportive Care in Cancer*, 2016, 24(9): 3883–3887.
- [31] Yagi T, Shoaib M, Kuschner C, et al. Challenges and inconsistencies in using lysophosphatidic acid as a biomarker for ovarian cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(4): 520.
- [32] Ferro M, Buonerba C, Terracciano D, et al. Biomarkers in localized prostate cancer[J]. *Future Oncology*, 2016, 12(3): 399–411.
- [33] Nishiumi S, Kobayashi T, Ikeda A, et al. A novel serum metabolomics-based diagnostic approach for colorectal cancer[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40459.
- [34] Szczerba B M, Castro-Giner F, Vetter M, et al. Neutrophils escort circulating tumour cells to enable cell cycle progression[J]. *Nature*, 2019, 566(7745): 553–557.
- [35] Routy B, Le Chatelier E. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors[J]. *Science*, 2018, 359(6371): 91–97.
- [36] Xu H, Baidoo A A H, Su S, et al. A comparison of EGFR mutation status in tissue and plasma cell-free DNA detected by ADx-ARMS in advanced lung adenocarcinoma patients[J]. *Translational Lung Cancer Research*, 2019, 8(2): 135–143.
- [37] Li X, Ren R, Ren S, et al. Peripheral blood for epidermal growth factor receptor mutation detection in non-small cell lung cancer patients[J]. *Translational Oncology*, 2014, 7(3): 341–348.
- [38] 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]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(6): 803.
- [39] Buermans H P, den Dunnen J T. Next generation sequencing technology: Advances and applications[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1842(10): 1932–1941.
- [40] Li Y, Xu H, Su S, et al. Clinical validation of a highly sensitive assay to detect EGFR mutations in plasma cell-free DNA from patients with advanced lung adenocarcinoma[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0183331.
- [41] Li Z, Wang Z, Tang Y, et al. Liquid biopsy-based single-cell metabolic phenotyping of lung cancer patients for informative diagnostics[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 3856.
- [42] Goldstein L D, Cao Y, Pau G, et al. Prediction and quantification of splice events from RNA-Seq data[J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0156132.
- [43] Steijger T, Abril J F, Engstrom P G, et al. Assessment of transcript reconstruction methods for RNA-seq[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(12): 1177–1184.
- [44] Wiedmeier J E, Noel P, Lin W, et al. Single-cell sequencing in precision medicine[J]. *Cancer Treatment and Research*, 2019, 178: 237–252.
- [45] Zhang Q, He Y, Luo N, et al. Landscape and dynamics of single immune cells in hepatocellular carcinoma[J]. *Cell*, 2019, 179(4): 829–845.
- [46] Rodrigues S G, Stickels R R. Slide-seq: A scalable technology for measuring genome-wide expression at high spatial resolution[J]. *Science*, 2019, 363(6434): 1463–1467.
- [47] Dagher M, Kleinman M, Ng A, et al. Ensemble multicolour FRET model enables barcoding at extreme FRET levels[J]. *Nature Nanotechnology*, 2018, 13(10): 925–932.
- [48] Campanella G, Hanna M G, Geneslaw L, et al. Clinical-grade computational pathology using weakly supervised deep learning on whole slide images[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(8): 1301–1309.
- [49] Abelson S, Collord G, Ng S W K, et al. Prediction of acute myeloid leukaemia risk in healthy individuals[J]. *Nature*, 2018, 559(7714): 400–404.
- [50] Krug A K, Enderle D, Karlovich C, et al. Improved EGFR mutation detection using combined exosomal RNA and circulating tumor DNA in NSCLC patient plasma[J]. *Annals of Oncology*, 2018, 29(3): 700–706.

- [51] Reck M, Mok T S K, Nishio M, et al. Atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in non-small-cell lung cancer (IMpower150): Key subgroup analyses of patients with EGFR mutations or baseline liver metastases in a randomised, open-label phase 3 trial[J]. *Lancet Respiratory Medicine*, 2019, 7(5): 387–401.
- [52] Ascierto M L, Kmiecik M, Idowu M O, et al. A signature of immune function genes associated with recurrence-free survival in breast cancer patients[J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2012, 131(3): 871–880.
- [53] Ribas A, Robert C, Hodi F S, et al. Association of response to programmed death receptor 1 (PD-1) blockade with pembrolizumab (MK-3475) with an interferon-inflammatory immune gene signature[J]. *Polymer International*, 2015, 33(2): 141–147.
- [54] 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]. *Journal of Cancer*, 2017, 8(17): 3585–3591.
- [55] Cohen J D, Li L. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test[J]. *Science*, 2018, 359(6378): 926–930.
- [56] Wang Z, Cheng Y, An T, et al. Detection of EGFR mutations in plasma circulating tumour DNA as a selection criterion for first-line gefitinib treatment in patients with advanced lung adenocarcinoma (BENEFIT): A phase 2, single-arm, multicentre clinical trial[J]. *Lancet Respiratory Medicine*, 2018, 6(9): 681–690.
- [57] 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]. *JAMA Oncology*, 2018, 4(5): 717–721.
- [58] Wang Y, Li L, Cohen J D, et al. Prognostic potential of circulating tumor DNA measurement in postoperative surveillance of nonmetastatic colorectal cancer[J]. *JAMA Oncology*, 2019, 5(8): 1118–1123.
- [59] Toi Y, Sugawara S, Sugisaka J, et al. Profiling preexisting antibodies in patients treated with anti-PD-1 therapy for advanced non-small cell lung cancer[J]. *JAMA Oncology*, 2019, 5(3): 376–383.

## Advances in tumor markers

BAI Rilan, LIANG Tingting, CUI Jiuwei\*

Cancer Center, The First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China

**Abstract** With the development of precision medicine, tumor markers have been paid more and more attention by researchers, and their understanding has gradually made a breakthrough. The research content of tumor markers has been gradually expanded to tumor markers based on tumor genome and chromosomal variations, liquid biopsy, epigenetics and metabolomics; moreover, tumor marker-related detection technologies have developed rapidly, including liquid biopsy, high-throughput gene sequencing, single-cell sequencing and other new technologies; furthermore, with the continuous development of these new high-technologies, tumor marker detection has achieved a breakthrough from single detection to multi-factor combined detection; finally, in clinical practice, tumor marker detection has played an important role in early tumor screening and diagnosis, guiding tumor treatment and predicting efficacy as well as predicting tumor recurrence, metastasis and prognosis, which is of great significance to improve the quality of cancer diagnosis and treatment, and fully realize precision medicine.

**Keywords** neoplasm; tumor markers; liquid biopsy; high-throughput sequencing; clinical application ●



(责任编辑 傅雪)