

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.12.016

ctDNA 检测晚期 NSCLC 患者 EGFR 基因突变的 Meta 分析

康雪丽¹, 王 怡², 李升锦^{1△}

(1. 重庆医科大学附属第二医院呼吸科, 重庆 400010; 2. 四川省第四人民医院呼吸内科, 成都 610016)

摘 要:目的 探讨循环肿瘤 DNA(ctDNA)在晚期非小细胞肺癌(NSCLC)患者表皮生长因子受体(EGFR)突变检测中的应用价值。方法 检索 PubMed、Embase、Medline、万方数据库、中国知网数据库、中国生物医学文献数据库、维普数据库,纳入报道了 ctDNA 检测晚期 NSCLC 患者 EGFR 突变灵敏度与特异度的文献;采用合并灵敏度、特异度、似然比点状图、集成受试者工作特征(SROC)曲线及曲线下面积(AUC)评估 ctDNA 诊断价值。结果 共纳入 28 篇文献,包括 3 644 例晚期 NSCLC 患者,合并后的灵敏度、特异度分别为 64.0%(95%CI:0.59~0.70)、98.0%(95%CI:0.95~0.99)。SROC 曲线下面积为 0.85(95%CI:0.82~0.88),表明 ctDNA 有较高的诊断价值。结论 对于晚期 NSCLC 患者 EGFR 突变的检测,ctDNA 是一个高特异性及高诊断价值的生物标志物,ctDNA 基因检测将是晚期 NSCLC 患者个体化靶向治疗的重要组成部分。

关键词:循环肿瘤 DNA; 晚期非小细胞肺癌; 表皮生长因子受体; Meta 分析; 诊断价值

中图分类号:R734.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)12-1681-07

Meta-analysis of ctDNA for the detection of EGFR mutation in patients with advanced non-small lung cancer

KANG Xueli¹, WANG Yi², LI Shengjin^{1△}

(1. Department of Respiratory Medicine, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China; 2. Department of Respiratory Medicine, Sichuan Provincial Fourth People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610016, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of circulating tumor DNA (ctDNA) for the detection of epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation in patients with advanced non-small lung cancer (NSCLC). **Methods** PubMed, Embase, Medline, CNKI, Wangfang Database, CBMdisc and VIP Database were retrieved to identify eligible studies which reported the sensitivity and specificity of ctDNA for detection of EGFR mutation status in advanced NSCLC. Overall diagnostic performance of the test was evaluated by pooled sensitivity, specificity, likelihood ratio scatter gram, SROC and AUC. **Results** Twenty eight eligible studies involving 3 644 participants were included. Pooled sensitivity, specificity was 64.0%(95%CI:0.59-0.70), 98.0%(95%CI:0.95-0.99). The AUC diagnostic value was 0.85(95%CI:0.82-0.88), indicating the high diagnostic performance of ctDNA. **Conclusion** CtDNA is a highly specific and effective biomarker for the detection of EGFR mutation in advanced patients with NSCLC, and ctDNA will be a key part of personalized cancer therapy of advanced NSCLC.

Key words: circulating tumor DNA; advanced non-small lung cancer; epidermal growth factor receptor; Meta-analysis; diagnostic value

近年来,肺癌治疗的突破性进展为基于基因突变状态的个体化靶向治疗。对于非小细胞肺癌(NSCLC)患者,表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)如吉非替尼、厄洛替尼已应用于临床多年。EGFR-TKI 的疗效与表皮生长因子受体(EGFR)基因敏感突变密切相关,基因检测提示 21 外显子(L858R)突变或 19 外显子缺失肺癌患者对 EGFR-TKI 的客观缓解率(ORR)较高^[1],而 20 外显子(T790M)突变时提示 EGFR-TKI 耐药^[2]。据报道,EGFR-TKI 治疗后 EGFR 突变状态会发生改变,BAI 等^[3]研究表明 EGFR-

TKI 治疗可导致 EGFR 突变由阳性转换为阴性,EGFR 基因突变患者应用 EGFR-TKI 后最终会产生耐药突变^[4]。因此,EGFR 突变的检测是 EGFR-TKI 治疗选择的先决条件,同时监测 EGFR 突变的动态变化有助于耐药突变的早期发现,从而指导耐药突变的治疗。

目前组织活检依然是 EGFR 基因检测的“金标准”^[5]。组织标本主要通过肺穿刺、超声支气管镜引导下经支气管针吸活检术(EBUS-TBNA)或肺癌切除术获得,均为侵入性操作,重复进行困难,不能降低并

发病发生风险^[6]。更为重要的是,组织活检仅反映部分肿瘤遗传特性,无法克服肿瘤时间与空间异质性,从而导致选择偏倚^[7]。

循环肿瘤 DNA(ctDNA)由核酸小片段组成,是从原发灶和转移灶坏死及凋亡的肿瘤细胞中释放出来,从而重新构建实体肿瘤基因组^[8]。与肿瘤组织相比,ctDNA 为检测肿瘤基因和分子突变水平的生物标志物^[9]。与组织活检相比,液体活检有创伤小或无创伤、可重复、实时监测、克服异质性、患者易接受等优点^[10]。ctDNA 活检在肿瘤患者 EGFR 基因突变筛查的临床可行性更高,可显著推动肿瘤患者个体化靶向治疗。有临床研究发现,检测 ctDNA 可以预测肿瘤治疗效果,如对术后化疗的抗性,在某些情况下可比传统临床方法更早发现复发,有望简化对癌症发生和演变的检测^[11]。

有部分临床试验发现,ctDNA 检测晚期 NSCLC 患者 EGFR 突变的准确性,与组织活检的一致性为 66%~100%^[12]。且目前的研究在 ctDNA 基因检测技术、肿瘤 TNM 分期、血液标本收集时间等方面存在不一致性。本研究通过 Meta 分析探讨 ctDNA 在晚期 NSCLC 患者 EGFR 基因检测中的诊断价值,通过 Meta 回归寻找异质性来源。

1 资料与方法

1.1 检索策略 检索 PubMed、Embase、Medline、万方数据库、中国知网数据库、中国生物医学文献数据库、维普数据库中近 10 年的相关文献。英文检索词:non-small cell lung cancer, NSCLC, epidermal growth factor receptor, EGFR, tissue, blood, plasma, serum, sensitivity, specificity; 中文检索词:非小细胞肺癌、表皮生长因子受体、组织、血液、血清、血浆、灵敏度、特异度。为防止漏检,补充检索已获得文献所附参考文献。

1.2 纳入与排除标准

1.2.1 纳入标准 (1)研究对象:晚期 NSCLC 患者,经组织学或细胞学病理检验确诊;(2)研究类型:应用 NSCLC 患者的组织及血液制品检测 EGFR 基因突变的诊断性研究;(3)研究“金标准”:以组织基因检测结果作为“金标准”;(4)研究数据提取:可完整提取四格表数据。

1.2.2 排除标准 (1)文献类型:综述、案例报道、会议摘要等;(2)研究对象:纳入早期或分期不明确肺癌患者,所研究组织与外周血不匹配;(3)研究数据提取:不能提取完整四格表数据;(4)研究“金标准”:未以组织基因检测结果作为“金标准”;(5)研究样本:对于研究样本重复的多个文献,取其中质量最佳者。

1.3 质量评估与数据提取 采用诊断性试验质量评价(QUADAS-2)工具对纳入文献进行质量评价。摘录资料包括第一作者、国家、发表日期、样本量、分期、

血液类型、外周血检测方法以及完整四格表数据。数据提取及质量评价均由 2 名研究者分别独立完成并交叉核对,当意见不统一时通过讨论决定,若仍不能统一意见则向专家请教后决定。

1.4 统计学处理 采用 Stata 软件对数据进行分析。采用 I^2 检验分析所纳入研究的异质性,若 $I^2 > 50\%$ 则认为存在异质性,应用随机效应模型合并效应值;若 $I^2 \leq 50\%$ 则认为无异质性,应用固定效应模型合并效应值,效应值包括灵敏度、特异度;绘制森林图反映效应量的值及 95% 可信区间(CI);绘制似然比点状图评估诊断性试验确诊及排除疾病的能力;使用漏斗图评估偏倚风险;同时制作集成受试者工作特征曲线(SROC 曲线)并计算曲线下面积(AUC),AUC 越接近 1,表明诊断准确性越高。以发表时间、研究人种、疾病分期、标本种类、样本数量、ctDNA 各种检测方法为自变量进行回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 检索结果 从数据库中检索到相关文献 341 篇,剔除重复文献后剩余 293 篇文献;通过阅读题目和摘要排除不符合纳入标准的文献,共排除文献 228 篇;对剩余 65 篇文献进行仔细地全文阅读,根据纳入及排除标准仔细筛查文献,共排除文献 37 篇,其中纳入人群包含早期肺癌患者文献 5 篇,纳入人群肺癌分期不明确 4 篇,综述 1 篇,会议摘要 8 篇,纳入样本重复 1 篇,不能获得四格表数据 18 篇。最后符合标准的文献 28 篇,包括 3 644 例患者。文献筛选流程图 1。

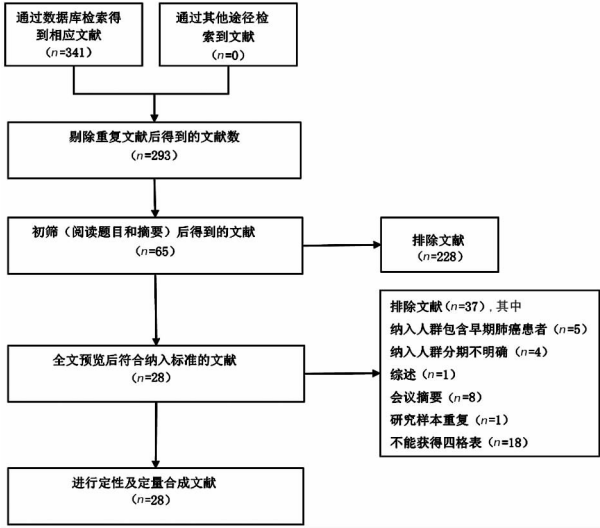


图 1 文献检索流程图

2.2 纳入研究基本特征 纳入的 28 篇文献均在 10 年内发表,其中 8 篇为中文文献,20 篇为英文文献;4 项针对白种人的研究,24 项针对黄种人的临床研究;2 项纳入仅为 IV 期 NSCLC 人群,25 项研究包含 III 期患者,1 项研究为进展期;6 项研究标本为血清,22 项研究标本为血浆;1 项研究应用突变富集聚合酶链式反

应(ME-PCR)和变性高效液相色谱分析(DHPLC)两项技术对外周血行基因检测,其余 27 项均只应用 1 项技术检测外周血基因,检测技术包括微滴式数字聚合酶链反应(ddPCR)、ME-PCR、环化单分子扩增和

重测序技术(cSMART)、蝎形扩增耐受突变系统(ARMS)、液相芯片技术(liquidchip)、二代测序(NGS)cSMART、DHPLC、荧光 PCR 法、直接测序法等。纳入研究基本特征见表 1。

表 1 纳入研究基本特征

作者	发表时间	国家	分期	血液类型	ctDNA 检测方法	样本量(<i>n</i>)	TP(<i>n</i>)	FP(<i>n</i>)	FN(<i>n</i>)	TN(<i>n</i>)
SACHER 等 ^[13]	2016 年	美国	ⅢB~Ⅳ	血浆	ddPCR	174	41	0	9	124
JIANG 等 ^[14]	2011 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血清	ME-PCR	58	14	0	4	40
SHI 等 ^[15]	2018 年	中国	Ⅲ~Ⅳ	血浆	cSMART	55	27	5	11	12
QUE 等 ^[16]	2016 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血浆	ME-PCR 和 DHPLC	104	33	6	7	58
苏飞等 ^[17]	2018 年	中国	Ⅲ~Ⅳ	血浆	ARMS	98	58	0	21	19
XU 等 ^[18]	2012 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血清	ARMS	34	3	4	4	23
ZHU 等 ^[19]	2015 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血浆	ddPCR	86	18	1	4	63
DUAN 等 ^[20]	2015 年	中国	Ⅳ	血浆	ARMS	80	19	0	15	46
KIMURA 等 ^[21]	2007 年	日本	进展期	血清	ARMS	42	6	1	2	33
ZHANG 等 ^[22]	2013 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血浆	liquidchip	86	23	0	16	47
杜俊等 ^[23]	2018 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血浆	NGS cSMART	100	19	0	5	76
DOUILLARD 等 ^[24]	2014 年	13 个国家(白人)	Ⅲ~Ⅳ	血浆	ARMS	652	69	1	36	546
BREVET 等 ^[12]	2011 年	美国	Ⅲ~Ⅳ	血浆	ME-PCR	31	5	2	9	15
MA 等 ^[25]	2016 年	中国	Ⅲ~Ⅳ	血浆	ARMS	219	54	4	36	125
VAZQUEZ 等 ^[26]	2016 年	西班牙加利西亚	ⅢB~Ⅳ	血清	ARMS	174	13	1	12	148
YUNG 等 ^[27]	2009 年	中国	Ⅲ~Ⅳ	血浆	ddPCR	35	15	0	4	16
LI 等 ^[28]	2014 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血浆	ARMS	121	27	3	29	62
LIU 等 ^[29]	2013 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血浆	ARMS	86	27	0	13	46
ZHANG 等 ^[30]	2017 年	中国	Ⅲ~Ⅳ	血浆	ARMS	116	34	2	10	70
ZHAO 等 ^[31]	2013 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血浆	ME-PCR	60	14	2	11	33
ZHANG 等 ^[32]	2017 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血浆	ddPCR	215	57	4	36	118
HUANG 等 ^[33]	2012 年	中国	Ⅲ~Ⅳ	血浆	DHPLC	744	184	79	85	396
冯卫能等 ^[34]	2017 年	中国	Ⅳ	血浆	荧光 PCR	70	25	1	18	26
冷再君等 ^[35]	2015 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血浆	ARMS	29	7	4	9	9
白桦等 ^[36]	2008 年	中国	Ⅲ~Ⅳ	血浆	DHPLC	230	63	16	14	137
邹敏等 ^[37]	2013 年	中国	Ⅲ~Ⅳ	血清	直接测序	56	4	0	12	40
陈建华等 ^[38]	2016 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血浆	ARMS	65	10	2	13	40
陈祥娜 ^[39]	2014 年	中国	ⅢB~Ⅳ	血清	ARMS	54	7	1	10	36

注:TP 为真阳性;FP 为假阳性;FN 为假阴性;TN 为真阴性

2.3 纳入研究质量评价 应用 QUADAS-2 工具对纳入的文献行质量评价,28 篇文献在“病例选择”“待评价试验”“金标准”3 个领域偏倚风险均较低;17 篇文献在“病例流程与进展”领域偏倚风险较低;8 篇文献的“病例流程和进展”偏倚风险较高;3 篇文献在“病例流程和进展”方面的偏倚风险不清楚;28 篇文献在“病例选择”“待评价试验”及“金标准”3 个领域的临床适用性均较高。

2.4 Meta 分析结果

2.4.1 异质性分析 应用 I^2 检验分别检测灵敏度、

特异度等效应量的异质性,其 I^2 值分别为 68.0% (95% CI : 55.48%~80.51%)、88.6% (95% CI : 85.25%~91.95%),故各研究之间存在异质性。

2.4.2 效应量统计分析结果 应用随机效应模型合并效应量,结果显示,灵敏度为 64.0% (95% CI : 0.59~0.70)、特异度为 98.0% (95% CI : 0.95~0.99)。绘制似然比点状图,代表各个研究的圆圈仅分布在右上和右下象限,以右上象限为主。绘制 SROC 曲线,AUC 为 0.85(95% CI : 0.82~0.88)。绘制漏斗图,基本对称($P=0.9$),提示不存在发表偏倚。

2.4.3 Meta 回归分析 对于发表时间, Yes 指近 4 年内(2015—2018 年)发表的研究, No 指发表时间在 5 年及 5 年以上(2014 年及以前); 对于研究人种, Yes 指研究人群为黄种人, No 指研究对象为白种人; 对于疾病分期, Yes 指 TNM 分期为Ⅳ期的研究, No 指 TNM 分期包含Ⅲ期或分期不明确的研究; 对于标本种类, Yes 指研究标本为血浆, No 指研究标本为血清; 对于样本数量, Yes 指研究样本量 ≥ 100 , No 是指样本量 < 100 ; 对于 ARMS, Yes 是指外周血基因检测方法为 ARMS 的研究, No 是指外周血基因检测方法为非 ARMS 的研究; 对于 ddPCR, Yes 是指外周血基因检测方法为 ddPCR 的研究, No 是指外周血基因检测方法为非 ddPCR 的研究; 对于 DHPLC, Yes 是指外周血基因检测方法为 DHPLC 的研究, No 是指外周血基因检测方法为非 DHPLC 的研究; 对于 ME-PCR, Yes 是指外周血基因检测方法为 ME-PCR 的研究, No 是指外周血基因检测方法为非 ME-PCR 的研究。

分别以灵敏度、特异度作为因变量行 Meta 回归分析, 结果显示, ARMS 是导致灵敏度异质性的因素($P=0.00$), 所有检测方法为 ARMS 的研究合并灵敏度为 57.0%(95%CI: 0.49~0.65), 所有检测方法

为非 ARMS 的研究合并灵敏度为 70.0%(95%CI: 0.64~0.76)。研究人种、疾病分期、DHPLC 为导致特异度异质性的因素, 以研究人种为自变量时, 人群为黄种人的所有纳入研究合并特异度为 97.0%(95%CI: 0.95~0.99), 人群为白种人的所有纳入研究合并特异度为 99.0%(95%CI: 0.98~1.00); 以疾病分期为自变量时, 以 TNM 分期为Ⅳ期的 NSCLC 患者为研究对象的所有研究合并特异度为 99.0%(95%CI: 0.97~1.00), 以非Ⅳ期晚期 NSCLC 患者为研究对象的所有研究合并特异度为 98.0%(95%CI: 0.96~0.99); 以 DHPLC 为自变量时, 用 DHPLC 方法检测外周血基因突变的所有研究合并特异度为 89.0%(95%CI: 0.73~1.00), 用非 DHPLC 方法检测外周血基因突变的所有研究合并特异度为 98.0%(95%CI: 0.97~0.99)。见表 2。

进行 Meta 回归综合分析, 结果显示, 标本种类、ARMS、ddPCR、DHPLC 均为导致 Meta 分析异质性的因素。以标本种类为自变量时, $P=0.10$, $I^2=56\%$; 以 ARMS 为自变量时, $P=0.04$, $I^2=68\%$; 以 ddPCR 为自变量时, $P=0.05$, $I^2=67\%$; 以 DHPLC 为自变量时, $P=0.00$, $I^2=85\%$ 。

表 2 纳入研究灵敏度与特异度 Meta 回归分析

指标参数	类别	文献数(<i>n</i>)	灵敏度[% (95%CI)]	<i>P</i> 1	特异度[% (95%CI)]	<i>P</i> 2
发表时间	Yes	15	68.0(0.61~0.75)	0.28	98.0(0.96~1.00)	0.13
	No	13	61.0(0.52~0.69)		98.0(0.95~1.00)	
研究人种	Yes	24	65.0(0.59~0.71)	0.39	97.0(0.95~0.99)	0.04
	No	4	63.0(0.48~0.77)		99.0(0.98~1.00)	
疾病分期	Yes	2	57.0(0.37~0.78)	0.26	99.0(0.97~1.00)	0.01
	No	26	65.0(0.60~0.71)		98.0(0.96~0.99)	
标本种类	Yes	22	67.0(0.61~0.72)	0.62	97.0(0.95~0.99)	0.24
	No	6	52.0(0.37~0.66)		99.0(0.96~1.00)	
样本数量	Yes	11	70.0(0.63~0.77)	0.37	98.0(0.96~1.00)	0.17
	No	17	60.0(0.52~0.67)		98.0(0.95~1.00)	
ARMS	Yes	12	57.0(0.49~0.65)	0.00	98.0(0.96~1.00)	0.28
	No	16	70.0(0.64~0.76)		97.0(0.95~1.00)	
ddPCR	Yes	5	76.0(0.66~0.86)	0.64	99.0(0.97~1.00)	0.46
	No	23	62.0(0.56~0.68)		97.0(0.95~0.99)	
DHPLC	Yes	3	77.0(0.67~0.87)	0.74	89.0(0.73~1.00)	0.01
	No	25	62.0(0.57~0.67)		98.0(0.97~0.99)	
ME-PCR	Yes	4	66.0(0.51~0.81)	0.36	96.0(0.89~1.00)	0.33
	No	24	64.0(0.58~0.70)		98.0(0.96~0.99)	

注: *P*1 为合并研究的灵敏度 *P* 值; *P*2 为合并研究的特异度 *P* 值

3 讨 论

本研究共纳入 3 644 例患者, 合并灵敏度为

64.0%, 合并特异度为 98.0%, 提示平均误诊率为 2.0%, 平均漏诊率为 36.0%。说明当外周血 EGFR

基因检测为阳性时,可指导 EGFR-TKI 的临床应用。外周血基因检测灵敏度欠佳,考虑与 ctDNA 突变丰度较低有关。有研究显示,EGFR 突变丰度为 20%~30% 才能由直接测序发现,ARMS 的检测下限是 1% 的突变^[40],且 YANG 等^[41]发现 ddPCR 可检测到 0.04% 突变,故 ctDNA 检测灵敏度受 EGFR 突变丰度限制。

似然比可反映试验结果诊断价值,阳性似然比越大,诊断试验证实疾病的能力越强,阴性似然比越小,诊断性试验排除疾病能力越强。一般认为,当阳性似然比大于 10 时,该诊断试验可确诊疾病,当阴性似然比小于 0.1 时,该诊断试验可排除疾病。本研究似然比点状图仅分布在右上和右下象限,以右上象限为主,说明外周血 EGFR 基因检测确诊疾病的价值较高,排除疾病能力较差。AUC 是评价诊断准确性的另一指标,AUC 越接近 1,表明诊断准确性越高。本研究 AUC 为 0.85,进一步说明 ctDNA 基因检测有较高的准确性。

I^2 检验结果提示,纳入文献之间存在异质性,应用 Meta 回归分析异质性来源,结果提示 ARMS 是灵敏度异质性来源($P=0.00$),所有应用 ARMS 行外周血基因检测的研究合并灵敏度为 57.0%,而未应用 ARMS 的所有研究合并灵敏度为 70.0%,原因可能为 ARMS 对 EGFR 突变丰度要求较高,致其检测灵敏度相对较低。特异度异质性来源为研究人种($P=0.04$)、疾病分期($P=0.01$)、DHPLC($P=0.01$)。研究对象为黄种人的所有研究合并特异度为 97.0%,研究对象为白种人的所有研究合并特异度为 99.0%,异质性原因可能是两者纳入研究对象数量不等,仅纳入以白种人为研究对象文献 4 篇,共包含 1 031 例 NSCLC 患者,抽样误差较大。研究对象 TNM 分期仅为 IV 期的所有研究合并特异度结果为 99.0%,以非 IV 期晚期 NSCLC 患者为研究对象的所有研究合并特异度为 98.0%,TNM 分期为 IV 期的 NSCLC 患者的实体肿瘤基数较高,其释放入血的 ctDNA 丰度更高,故研究对象 TNM 分期仅为 IV 期的研究合并特异度相对较高。所有应用 DHPLC 行外周血基因检测的纳入研究合并特异度为 89.0%,而未应用 DHPLC 的所有纳入研究合并特异度为 98.0%,分析原因,首先考虑 DHPLC 检测技术特异度较低;再者仅纳入 3 篇应用 DHPLC 技术检测外周血基因表型的研究,样本量相对较少,抽样误差较大;最后由于肿瘤组织存在时间和空间异质性,而 ctDNA 活检更能反映肿瘤全貌,导致纳入的以 DHPLC 为检测技术的研究出现较多假阳性,致其特异度相对较低^[42-43]。

Meta 回归综合分析提示标本种类、ARMS、ddPCR、DHPLC 均为异质性来源。标本种类为异质性来源,提示分别以血清或血浆为研究标本时可导致

异质性。据研究显示,血清形成过程中使野生型核酸混杂在突变核酸中,同时部分肿瘤核酸和纤维蛋白等血液蛋白一起沉淀,导致血清中 ctDNA 丰度较血浆有所下降,进而导致各研究之间的异质性^[44]。ARMS、ddPCR、DHPLC 均为外周血基因检测方法,纳入研究的检测方法、检测仪器、检测试剂及操作者水平不同均可影响基因检测结果,从而导致不同研究之间存在异质性。

综上所述,对于晚期 NSCLC 患者 EGFR 突变的检测,ctDNA 是一个高特异性及高诊断价值的生物标志物。随着基因检测技术的进步,ctDNA 基因检测将是 NSCLC 患者个体化靶向治疗的重要组成部分。

参考文献

- [1] YANG J C, WU Y L, CHAN V, et al. Epidermal growth factor receptor mutation analysis in previously unanalyzed histology samples and cytology samples from the phase III Iressa Pan-ASia Study (IPASS)[J]. Lung Cancer, 2014, 83(2):174-181.
- [2] PAO W, MILLER V A, POLITI K A, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain[J]. PLoS Med, 2005, 2(3):e17.
- [3] BAI H, WANG Z, CHEN K, et al. Influence of chemotherapy on EGFR mutation status among patients with non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(25):3077-3083.
- [4] JANNE P A. Challenges of detecting EGFR T790M in gefitinib/erlotinib-resistant tumours[J]. Lung Cancer, 2008, 60(Suppl 2):S3-S9.
- [5] SEQUIST L V, HEIST R S, SHAW A T, et al. Implementing multiplexed genotyping of non-small-cell lung cancers into routine clinical practice[J]. Ann Oncol, 2011, 22(12):2616-2624.
- [6] OVERMAN M J, MODAK J, KOPETZ S, et al. Use of research biopsies in clinical trials; are risks and benefits adequately discussed? [J]. J Clin Oncol, 2013, 31(1):17-22.
- [7] GERLINGER M, ROWAN A J, HORSWELL S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing[J]. N Engl J Med, 2012, 366(10):883-892.
- [8] WAN J, MASSIE C, GARCIA-CORBACHO J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(4):223-238.
- [9] POLIVKA J J, PESTA M, JANKU F. Testing for oncogenic molecular aberrations in cell-free DNA-based liquid biopsies in the clinic: are we there yet? [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2015, 15(12):1631-1644.
- [10] ROLFO C, CASTIGLIA M, HONG D, et al. Liquid biopsies in lung cancer: the new ambrosia of researchers[J].

- Biochim Biophys Acta, 2014, 1846(2):539-546.
- [11] ABBOSH C, BIRKBAK N J, WILSON G A, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution[J]. *Nature*, 2017, 545(7655):446-451.
- [12] BREVET M, JOHNSON M L, AZZOLI C G, et al. Detection of EGFR mutations in plasma DNA from lung cancer patients by mass spectrometry genotyping is predictive of tumor EGFR status and response to EGFR inhibitors[J]. *Lung Cancer*, 2011, 73(1):96-102.
- [13] SACHER A G, PAWELETZ C, DAHLBERG S E, et al. Prospective Validation of Rapid Plasma Genotyping for the Detection of EGFR and KRAS Mutations in Advanced Lung Cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2016, 2(8):1014-1022.
- [14] JIANG B, LIU F, YANG L, et al. Serum detection of epidermal growth factor receptor gene mutations using mutant-enriched sequencing in Chinese patients with advanced non-small cell lung cancer[J]. *J Int Med Res*, 2011, 39(4):1392-1401.
- [15] SHI C, ZHENG Y, LI Y, et al. Association between clinical characteristics and the diagnostic accuracy of circulating single-molecule amplification and resequencing technology on detection epidermal growth factor receptor mutation status in plasma of lung adenocarcinoma[J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(2):1-8.
- [16] QUE D, XIAO H, ZHAO B, et al. EGFR mutation status in plasma and tumor tissues in non-small cell lung cancer serves as a predictor of response to EGFR-TKI treatment[J]. *Cancer Biol Ther*, 2016, 17(3):320-327.
- [17] 苏飞, 郑可, 付祎云, 等. 不同治疗对肺癌患者血液循环游离 DNA 检测 EGFR 基因突变的影响及预后分析[J]. *中国肺癌杂志*, 2018, 21(5):389-396.
- [18] XU F, WU J, XUE C, et al. Comparison of different methods for detecting epidermal growth factor receptor mutations in peripheral blood and tumor tissue of non-small cell lung cancer as a predictor of response to gefitinib[J]. *Onco Targets Ther*, 2012, 5:439-447.
- [19] ZHU G, YE X, DONG Z, et al. Highly Sensitive Droplet Digital PCR Method for Detection of EGFR-Activating Mutations in Plasma Cell-Free DNA from Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer[J]. *J Mol Diagn*, 2015, 17(3):265-272.
- [20] DUAN H, LU J, LU T, et al. Comparison of EGFR mutation status between plasma and tumor tissue in non-small cell lung cancer using the Scorpion ARMS method and the possible prognostic significance of plasma EGFR mutation status[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(10):13136-13145.
- [21] KIMURA H, SUMINOE M, KASAHARA K, et al. Evaluation of epidermal growth factor receptor mutation status in serum DNA as a predictor of response to gefitinib (IRESSA)[J]. *Br J Cancer*, 2007, 97(6):778-784.
- [22] ZHANG H, LIU D, LI S, et al. Comparison of EGFR signaling pathway somatic DNA mutations derived from peripheral blood and corresponding tumor tissue of patients with advanced non-small-cell lung cancer using liquidchip technology[J]. *J Mol Diagn*, 2013, 5(6):819-826.
- [23] 杜俊, 王征, 杨丽, 等. 肺腺癌患者血浆和肿瘤标本中表皮生长因子受体基因 T790M 位点突变检测一致性研究[J]. *中华肿瘤杂志*, 2018, 40(1):35-39.
- [24] DOUILLARD J Y, OSTOROS G, COBO M, et al. First-line gefitinib in Caucasian EGFR mutation-positive NSCLC patients: a phase-IV, open-label, single-arm study[J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(1):55-62.
- [25] MA M, SHI C, QIAN J, et al. Comparison of plasma and tissue samples in epidermal growth factor receptor mutation by ARMS in advanced non-small cell lung cancer[J]. *Gene*, 2016, 591(1):58-64.
- [26] VAZQUEZ S, CASAL J, AFONSO A F, et al. EGFR testing and clinical management of advanced NSCLC: a Galician Lung Cancer Group study (GGCP 048-10)[J]. *Cancer Manag Res*, 2016, 8:11-20.
- [27] YUNG T K, CHAN K C, MOK T S, et al. Single-molecule detection of epidermal growth factor receptor mutations in plasma by microfluidics digital PCR in non-small cell lung cancer patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(6):2076-2084.
- [28] 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]. *Transl Oncol*, 2014, 7(3):341-348.
- [29] LIU X, LU Y, ZHU G, et al. The diagnostic accuracy of pleural effusion and plasma samples versus tumour tissue for detection of EGFR mutation in patients with advanced non-small cell lung cancer: Comparison of methodologies[J]. *J Clin Pathol*, 2013, 66(12):1065-1069.
- [30] ZHANG X, CHANG N, YANG G, et al. A comparison of ARMS-Plus and droplet digital PCR for detecting EGFR activating mutations in plasma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(67):112014-112023.
- [31] ZHAO X, HAN R B, ZHAO J, et al. Comparison of epidermal growth factor receptor mutation statuses in tissue and plasma in stage I-IV non-small cell lung cancer patients[J]. *Respiration*, 2013, 85(2):119-125.
- [32] ZHANG Y, XU Y, ZHONG W, et al. Total DNA input is a crucial determinant of the sensitivity of plasma cell-free DNA EGFR mutation detection using droplet digital PCR[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(4):5861-5873.
- [33] HUANG Z, WANG Z, BAI H, et al. The detection of EGFR mutation status in plasma is reproducible and can dynamically predict the efficacy of EGFR-TKI[J]. *Thorac Cancer*, 2012, 3(4):334-340.
- [34] 冯卫能, 张华, 陈泽程, 等. 血浆 EGFR 基因突变检测在晚期非小细胞肺癌患者 EGFR-TKI 疗效评估中的价值[J]. *山东医药*, 2017, 57(13):17-19.
- [35] 冷再君, 徐傲, 徐修才, 等. 多途径标本(下转第 1691 页)

进动脉粥样硬化发展。此外,本研究发现,APN、SAA 及 Fib 与 Gensini 积分具有一定相关性($P<0.05$); Hcy、CRP 及 sCD40L 与 Gensini 积分呈正相关($P<0.05$)。表明 Hcy、CRP、APN、SAA、sCD40L 及 Fib 水平与冠心病进展过程密切相关,若能尽早进行干预,有助于延缓动脉粥样硬化,提高患者预后效果。

综上所述,可应用 Hcy、CRP、APN、SAA 对冠状动脉病变程度进行评估,这些指标具有较高的临床应用价值。

参考文献

[1] 吕赛,周玉杰,刘巍.高尿酸血症、代谢综合征与冠心病的研究进展[J].心肺血管病杂志,2018,37(1):76-78.

[2] 章祎,王湛,蔡梦娇.血清同型半胱氨酸和超敏 C 反应蛋白与冠心病、高血压疾病发展的相关性[J].广东医学,2016,37(13):1989-1990.

[3] HE X M, CHEN L, LUO J B, et al. Effects of rhBNP after PCI on non-invasive hemodynamic in acute myocardial infarction patients with left heart failure[J]. Asian Pac J Trop Med, 2016, 9(8): 791-795.

[4] WONG M C, ZHANG D X, WANG H H. Rapid emergence of atherosclerosis in Asia: a systematic review of coronary atherosclerotic heart disease epidemiology and implications for prevention and control strategies[J]. Curr Opin Lipidol, 2015, 26(4): 257-269.

[5] YANG R H, LIU Y F, WANG X J, et al. Correlation between high density lipoprotein and monocyte subpopulations among stable coronary atherosclerotic heart disease patients[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(9): 16969.

[6] 中国成人血脂异常防治指南修订联合委员会.中国成人血脂异常防治指南(2016 年修订版)[J].中国循环杂志,

2016, 31(10): 937-950.

[7] 赵振燕,吴永健.2013 欧洲心脏病学会(ESC)糖尿病、糖尿病前期及心血管疾病诊疗指南概述[J].中国循环杂志,2013,28(8):572-575.

[8] 张琦,牛文彦,李晓亮,等.急性脑梗死患者血浆 Hcy、eNOS、sTM、hs-CRP、vWF 的变化及意义[J].山东医药,2015,18(1):17-19.

[9] MIGLIONICO M, MANGIACAPRA F, NUSCA A, et al. Efficacy and Safety of Paclitaxel Coated Balloon for the Treatment of In-Stent Restenosis in High-Risk Patients[J]. Am J Cardiol, 2015, 116(11): 1690-1694.

[10] HAN X, LIU L, NIU J, et al. Serum VEGF predicts worse clinical outcome of patients with coronary heart disease after percutaneous coronary intervention therapy[J]. Med Sci Monit, 2015(21): 3247-3251.

[11] 程诚,王鑫.冠心病合并 2 型糖尿病患者 PCI 术后支架内再狭窄危险因素分析[J].中国循证心血管医学杂志,2018,10(2):196-198.

[12] 罗庆慧,苏国海.冠心病患者血清 vaspin 与脂联素的水平变化及意义[J].山东医药,2018,58(13):69-71.

[13] 谢翔,宋长来,吴雪琴,等.SAA 遗传多态性与冠心病临床预后的关联研究[J].新疆医科大学学报,2018,41(1):1-5.

[14] 刘佳,高洁,马晓娟,等.血栓前状态及血小板聚集率与冠心病危险因素的相关性分析[J].中西医结合心脑血管病杂志,2018,16(5):513-516.

[15] LIU K, HUA BT, GUO T, et al. The assessment of the long-term effects of elective CRT-D of coronary heart disease after PCI[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(6): 1313-1317.

(收稿日期:2018-10-10 修回日期:2019-02-02)

(上接第 1686 页)

检测 aNSCLC 患者 EGFR 基因突变[J].安徽医科大学学报,2014,49(9):1320-1324.

[36] 白桦,赵军,王书航,等.变性高效液相色谱法检测非小细胞肺癌患者外周血及肿瘤组织表皮生长因子受体突变[J].中华结核和呼吸杂志,2008,31(12):891-896.

[37] 邹敏,周韶璋,于起涛,等.非小细胞肺癌患者肿瘤组织和血清表皮生长因子受体第 19、21 外显子的检测及其临床特征的分析[J].中国病理生理杂志,2013,29(5):839-844.

[38] 陈建华,喻珣.晚期非小细胞肺癌组织与血浆 EGFR 基因表达差异及临床意义[J].医学临床研究,2016,33(8):1463-1465.

[39] 陈祥娜.晚期非小细胞肺癌靶向治疗中循环 DNA 检测 EGFR 基因突变应用价值[J].中外医疗,2014,33(32):53-54.

[40] ELLISON G, DONALD E, MCWALTER G, et al. A comparison of ARMS and DNA sequencing for mutation analysis in clinical biopsy samples[J]. J Exp Clin Cancer

Res, 2010, 29: 132.

[41] YANG X, ZHUO M, YE X, et al. Quantification of mutant alleles in circulating tumor DNA can predict survival in lung cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(15): 20810-20824.

[42] XIE F, ZHANG Y, MAO X, et al. Comparison of genetic profiles among primary lung tumor, metastatic lymph nodes and circulating tumor DNA in treatment-naive advanced non-squamous non-small cell lung cancer patients[J]. Lung Cancer, 2018, 87(121): 54-60.

[43] CAI X, JANKU F, ZHAN Q, et al. Accessing Genetic Information with Liquid Biopsies[J]. Trends Genet, 2015, 31(10): 564-575.

[44] VALLEE A, MARCQ M, BIZIEUX A, et al. Plasma is a better source of tumor-derived circulating cell-free DNA than serum for the detection of EGFR alterations in lung tumor patients[J]. Lung Cancer, 2013, 82(2): 373-374.

(收稿日期:2018-12-16 修回日期:2019-02-08)