

胃癌腹腔分子残留病灶的诊断方法

王童博 李峥 赵东兵

国家癌症中心 国家肿瘤临床医学研究中心 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院
胰胃外科,北京 100021

王童博和李峥对本文有同等贡献

通信作者:赵东兵,Email:dbzhao2003@sina.com

【摘要】 腹膜转移是胃癌最常见的转移形式,是主要致死原因之一。部分患者在手术时往往存在腹腔微小转移灶,这会导致胃癌患者术后的复发转移,因此要积极开展胃癌腹膜转移的防治。分子残留病灶是指经过治疗后,传统影像学或其他实验室方法不能发现,但可通过液体活检发现的肿瘤来源分子异常,代表肿瘤持续存在和临床进展的可能。近年来,基于循环肿瘤DNA检测分子残留病灶逐渐成为腹膜转移防治领域的研究热点。本课题组建立了胃癌分子残留病灶分子诊断的新方法,并对该领域研究成果进行了评析。

【关键词】 胃肿瘤; 腹膜转移; 分子残留病灶; 循环肿瘤DNA

基金项目:中国国家重点研发计划基金(2018YFC1312100)

Diagnostic methods for peritoneal molecular residual disease in gastric cancer

Wang Tongbo, Li Zheng, Zhao Dongbing

Department of Pancreatic and Gastric Surgery, National Cancer Center, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China

Wang Tongbo and Li Zheng contributed equally to this article

Corresponding author: Zhao Dongbing, Email: dbzhao2003@sina.com

【Abstract】 Peritoneal metastasis of gastric cancer serving as the most frequent form of metastasis, is one of the leading causes of death. A portion of surgically treated patients often suffer from small peritoneal residual metastasis, which will lead to recurrence and metastasis of gastric cancer patients after surgery. Given these, the prevention and treatment of peritoneal metastasis of gastric cancer deserves more attention. Molecular residual disease (MRD) refers to the molecular abnormalities of tumor origin that cannot be found by traditional imaging or other laboratory methods after treatment, but can be found by liquid biopsy, representing the possibility of tumor persistence or clinical progress. In recent years, the detection of MRD based on ctDNA has gradually become a research hotspot in the prevention and treatment of peritoneal metastasis. Our team established a new method for MRD molecular diagnosis of gastric cancer, and reviewed the research achievements in this field.

【Key words】 Stomach neoplasms; Peritoneal metastasis; Molecular residual disease; Circulating tumor DNA

Fund program: National Key R&D Program of China (2018YFC1312100)

实体肿瘤分子残留病灶(molecular residual disease, MRD)是指经过治疗后,传统影像学或其他

实验室方法不能发现,但通过液体活检发现的肿瘤来源分子异常,代表肿瘤持续存在和临床进展可

DOI: 10.3760/cma.j.cn441530-20230117-00016

收稿日期 2023-01-17 本文编辑 万晓梅

引用本文:王童博,李峥,赵东兵.胃癌腹腔分子残留病灶的诊断方法[J].中华胃肠外科杂志,2023,26(5):419-422. DOI: 10.3760/cma.j.cn441530-20230117-00016.



能^[1]。基于循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)来判断分子层面的残留病灶情况,并提供预后和预测的指导信息,是当前实体肿瘤的研究热点。目前,最成熟的应用领域是非小细胞肺癌,TracerX 研究证实了 ctDNA 作为 MRD 检测的可行性,并评估了 MRD 检测对非小细胞肺癌术后复发的预测价值^[2]。实体瘤患者检出 MRD,代表癌细胞在体内持续存在,癌症复发的风险较高。

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一,胃癌的 MRD 研究处于起步阶段,胃癌腹膜转移是胃癌最常见的转移形式,也是导致患者死亡的主要原因之一。初诊时胃癌患者的腹膜播散率为 14%;40%~60%的进展期胃癌患者,腹膜是术后首先复发的部位^[3]。临床研究表明,病理浆膜侵犯的患者(T3 或 T4 期)施行手术时,腹腔内往往存在肉眼难以发现的微小转移灶^[4]。因此,积极开展胃癌腹膜转移的防治,无疑将有助于进一步提高胃癌整体疗效。

一、胃癌腹膜转移的危险因素和机制

胃癌腹膜种植转移的过程包括血行转移、淋巴转移以及播散转移,血行转移和淋巴转移在不同肿瘤中虽然存在差异,但腹膜播散转移是胃癌具有特征性的现象^[5-6]。

既往对腹膜转移的相关临床病理的风险因素研究较多,具有如下风险因素的胃癌患者发生腹膜转移的风险显著增加:(1)TNM 分期中 T3、T4 期和淋巴结转移阳性;(2)淋巴结外浸润;(3)胃癌 Borrmann 分型为 III、IV 型;(4)Lauren 分型为弥漫型^[7-8]。

但是,腹膜转移的具体机制并未阐明,“种子-土壤”假说提出已有多年,目前依然是最为普遍接受的理论之一^[9]。研究表明,几个连续的过程参与了胃癌的腹膜转移进程:浸润浆膜的胃癌细胞,尤其是弥漫型胃癌细胞,或者手术时从腹腔脱落的肿瘤细胞,形成最初“种子”。癌细胞在腹腔内播种和存活、黏附于腹膜、通过基底膜侵入腹膜下组织种植于“土壤”,增殖并伴随血管新生。事实上,胃癌腹膜转移的实质是细胞迁移、黏附、侵袭及上皮间质转化和血管生成的过程^[9]。

很多分子生物学标志物,包括上皮标志物、肿瘤相关抗原、血管生成中的抗原和上皮间质转化过程中的分子等,都在腹膜转移中有相应的应用研究。使用反转录 PCR 检测腹腔灌洗液癌胚抗原 mRNA 也是一种有意义的探索。但是 mRNA 存在

检测费时、灵敏度不稳定和不易普及等缺点,使其临床应用受限^[10]。

二、腹腔 MRD 的检测和意义

绝大多数液体活检研究都聚焦在外周血里的 ctDNA,而实际上外周血之外的其他体液中也含有 ctDNA,这些 ctDNA 在特定场景中可能有着比血浆 ctDNA 更多的优势。ctDNA 除释放到外周血外,还可以释放到与肿瘤组织直接接触的各类体液中,如尿液、脑脊液、胸水和腹水等^[11]。

胃癌的腹腔环境与癌种植转移的关联研究表明,腹腔中的游离肿瘤细胞,与血液循环途径相比,更直接和丰富,理论上有着更高含量的 ctDNA^[12]。另外,去除了血液中白细胞释放的 DNA 片段的干扰,检测起来也更容易、准确。将非血液来源的体液中 ctDNA 的检测与血浆和组织的检测综合起来,共同制定精准的个体化诊疗方案,可能会给患者带来临床获益。

因此,本课题组应用了一种基于二代测序的超低频突变检测技术“Mutation Capsule”,个体化选取 20 个左右肿瘤特异性突变,对胃癌患者术中留取的腹腔冲洗液中的细胞沉淀进行检测。我们依据选取突变位点的个数、肿瘤组织中的突变频率、腹腔冲洗液中的测序深度、各个突变在腹腔冲洗液中的突变频率等信息,建立了腹腔游离肿瘤细胞比例模型,预测胃癌术后腹膜复发转移的风险。

我们将该方法应用于胃癌患者腹腔冲洗液的检测中,结果显示:其在术后腹膜播散的预测方面表现出较为理想的预测效能,灵敏度为 100%,特异度 84%,阳性预测值 70%,阴性预测值 100%。在本研究的同一人群中,肿瘤细胞比例模型的灵敏度高于临床高危因素(细胞学阳性和病理 T4 期)。此外,结合临床高危因素后,肿瘤细胞比例模型对术后腹膜播散的预测效果得到了进一步的改善,在病理 T4 期患者中应用的灵敏度为 100%,特异度 86%,阳性预测值为 81%。由此可见,肿瘤细胞比例模型能够对病理 T4 期胃癌患者术后腹膜转移风险的评估提供重要帮助^[13]。

总之,对肿瘤细胞比例阳性患者进行早期的临床干预治疗,从降低腹膜播散发生率的角度,来提高胃癌的总生存期,将对局部进展期胃癌患者总体预后水平的提高具有重要的意义。

三、胃癌 MRD 检测的困难和发展方向

1. 胃癌外周血 ctDNA 检测的难点:每例患者的

实体肿瘤类型不一样,是自身所特有的,而且每例患者个体中仅携带非常少量相同的基因突变,这意味着,设计检测用的基因位点组合(panel)难度大,除了二代测序技术相对较大的 panel,目前能做的便是开发个性化的 MRD 检测 panel;实体肿瘤释放到外周血中的 ctDNA 含量一般非常地少,低于 1%,这意味着,实体肿瘤 ctDNA 的检测需要更高的检测灵敏度。

2. 采用 ctDNA 检测 MRD 的技术路线:采用 ctDNA 检测 MRD 目前主要有两条技术路线即 tumor-informed(基于肿瘤组织测序的 ctDNA 个性化定制方案)和 tumor-agnostic(仅基于血浆检测的固定 panel)^[14]。

tumor informed 路线(个性化 panel): 已知的 panel 能够覆盖的位点相对比较有限,除了在单点上增加灵敏度之外,可以通过增加更多有潜力、可监控的阳性位点来增加整个样本的敏感性。通常先采集患者肿瘤组织进行全外显子测序(whole exome sequencing, WES)检测,针对每例患者选取肿瘤特异性的克隆位点进行个性化定制二代测序 panel(或使用多重 PCR 方法),在监测时提取血浆中的 ctDNA 进行超高深度测序。

tumor-agnostic 路线(固定 panel): 用固定 panel 设计覆盖的位点虽然多,但是针对每例患者的有效监控位点数量不及 tumor-informed 路线方法,所以很多采用此策略的检测方法加入表观基因组学特征提高检测灵敏度。鉴于甲基化在肿瘤发生早期已有显著变异、变异位点数目丰富,这些表观基因组“标记”在不同患者之间甚至在不同癌症之间更相似,使其成为新 MRD 检测方法的可能^[15]。

3. 其他检测方法:有研究显示,CDO1 甲基化检测可用于检测腹膜转移,灵敏度和特异度高达 74.2% 和 96.5%^[16]。另有研究通过胃癌腹膜转移灶对照胃原发灶的分子特征,分为两个主要的分子亚型:“间质样”(M 型)和“上皮样”(E 型)。对化疗反应一般的“间质样”(M 型)患者往往高表达免疫检查点 T 细胞免疫球蛋白和 TIM-3,其配体 galectin-9, T 细胞活化的 V 域 Ig 抑制剂(VISTA)和 TGF- β , 为潜在的治疗性免疫靶标^[17]。如 ATTRACTION-2 的全球数据提示,有腹膜转移的患者似乎并不能从免疫治疗中获益;但是日本亚组分析提示,即使患者有腹膜转移,也依然可以从免疫治疗中获益^[18]。因

此,在临床实践中,胃癌腹腔 MRD 患者能否从免疫治疗中获益也具有进一步探究价值。

4. 发展方向:我们认为,胃癌腹膜转移未来最有意义的方向之一,将是探索创建一个基于腹腔游离肿瘤细胞检测的胃癌预后预测+辅助治疗用药指导模型,指导术后辅助化疗的用药选择,并筛选出在胃癌术后辅助化疗、靶向治疗,以及免疫治疗中的获益人群,将胃癌腹膜种植转移的高危人群筛选出来,早期干预,从而提高胃癌的总体预后。在未来,基于“Mutation Capsule”对胃癌术后患者 MRD 进行检测,实现对患者腹膜种植转移风险分层,从而根据结果个体化选择是否采用腹腔内化疗辅助治疗的新型诊疗策略拥有较广泛前景。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Chin RI, Chen K, Usmani A, et al. Detection of solid tumor molecular residual disease (MRD) using circulating tumor DNA (ctDNA) [J]. Mol Diagn Ther, 2019, 23(3): 311-331. DOI: 10.1007/s40291-019-00390-5.
- [2] Abbosh C, Birkbak NJ, Wilson GA, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution [J]. Nature, 2017, 545(7655):446-451. DOI: 10.1038/nature22364.
- [3] Badgwell B, Roy-Chowdhuri S, Chiang YJ, et al. Long-term survival in patients with metastatic gastric and gastroesophageal cancer treated with surgery[J]. J Surg Oncol, 2015, 111(7):875-881. DOI: 10.1002/jso.23907.
- [4] D'Angelica M, Gonen M, Brennan ME, et al. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma[J]. Ann Surg, 2004, 240(5):808-816. DOI: 10.1097/01.sla.0000143245.28656.15.
- [5] 李冬冬, 陈磊, 胡春华, 等. 血清肿瘤标志物联合检测在胃癌腹膜转移诊断中的应用价值分析[J]. 中国普通外科杂志, 2017, 26(10):1291-1296.
- [6] 陈心足, 杨昆, 胡建昆, 等. 胃癌肿瘤干细胞在腹膜种植中的作用机理假说[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2014, 21(6): 772-777. DOI: 10.7507/1007-9424.20140185.
- [7] 丁友成, 朱正纲. 胃癌腹膜转移和复发的临床病理特征[J]. 实用肿瘤学杂志, 2002, 16(4):313-315. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3070.2002.04.035.
- [8] 罗登, 黄华, 路明亮, 等. 胃癌腹膜种植转移的危险因素及预后分析[J]. 中国普通外科杂志, 2012, 21(10):1191-1195.
- [9] Sun F, Feng M, Guan W. Mechanisms of peritoneal dissemination in gastric cancer[J]. Oncol Lett, 2017, 14(6): 6991-6998. DOI: 10.3892/ol.2017.7149.
- [10] Pinzani P, D'Argenio V, Del Re M, et al. Updates on liquid biopsy: current trends and future perspectives for clinical application in solid tumors[J]. Clin Chem Lab Med, 2021, 59(7):1181-1200. DOI: 10.1515/cclm-2020-1685.
- [11] 王红兵. 液体活检在恶性肿瘤中的应用[J]. 实用医院临床杂志, 2022, 19(5):198-202.
- [12] Koldby KM, Mortensen MB, Dettlefsen S, et al. Tumor-specific genetic aberrations in cell-free DNA of gastroesopha-

- geal cancer patients[J]. J Gastroenterol, 2019, 54(2): 108-121. DOI:10.1007/s00535-018-1508-5.
- [13] Zhao D, Yue P, Wang T, et al. Personalized analysis of minimal residual cancer cells in peritoneal lavage fluid predicts peritoneal dissemination of gastric cancer[J]. J Hematol Oncol, 2021, 14(1): 164. DOI: 10.1186/s13045-021-01175-2.
- [14] Gong J, Hendifar A, Gangi A, et al. Clinical applications of minimal residual disease assessments by tumor-informed and tumor-uninformed circulating tumor DNA in colorectal cancer[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(18):4547. DOI: 10.3390/cancers13184547.
- [15] Luo H, Wei W, Ye Z, et al. Liquid biopsy of methylation biomarkers in cell-free DNA[J]. Trends Mol Med, 2021, 27(5):482-500. DOI: 10.1016/j.molmed.2020.12.011.
- [16] Harada H, Soeno T, Nishizawa N, et al. Prospective study to validate the clinical utility of DNA diagnosis of peritoneal fluid cytology test in gastric cancer[J]. Cancer Sci, 2021, 112(4):1644-1654. DOI: 10.1111/cas.14850.
- [17] Wang R, Song S, Harada K, et al. Multiplex profiling of peritoneal metastases from gastric adenocarcinoma identified novel targets and molecular subtypes that predict treatment response[J]. Gut, 2020, 69(1):18-31. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-318070.
- [18] Kato K, Satoh T, Muro K, et al. A subanalysis of Japanese patients in a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial of nivolumab for patients with advanced gastric or gastro-esophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2) [J]. Gastric Cancer, 2019, 22(2): 344-354. DOI: 10.1007/s10120-018-0899-6.

·读者·作者·编者·

在本刊发表的论文中可直接使用的英文缩写名词

AEG(食管胃结合部腺癌)	NOTES(经自然腔道内镜手术)
AJCC(美国癌症联合委员会)	MRI(磁共振成像)
ASA(美国麻醉医师协会)	MDT(多学科综合治疗协作组)
ASCO(美国临床肿瘤协会)	NCCN(美国国立综合癌症网络)
BMI(体质指数)	NIH(美国国立卫生院)
CEA(癌胚抗原)	NK细胞(自然杀伤细胞)
CI(置信区间)	OS(总体生存率)
CSCO(中国临床肿瘤学会)	OR(比值比)
DFS(无病生存率)	PET(正电子发射断层显像术)
DNA(脱氧核糖核酸)	PFS(无进展生存率)
EMR(内镜黏膜切除术)	PPH(吻合器痔上黏膜环切钉合术)
ERAS(加速康复外科)	RCT(随机对照试验)
ESD(内镜黏膜下剥离术)	RNA(核糖核酸)
ESMO(欧洲肿瘤内科学会)	ROC曲线(受试者工作特征曲线)
EUS(内镜超声检查术)	RR(相对危险度)
FDA(美国食品药品监督管理局)	PCR(聚合酶链反应)
GIST(胃肠间质瘤)	taTME(经肛全直肠系膜切除术)
HR(风险比)	TME(全直肠系膜切除术)
ICU(重症监护病房)	TNF(肿瘤坏死因子)
Ig(免疫球蛋白)	UICC(国际抗癌联盟)
IL(白细胞介素)	VEGF(血管内皮生长因子)
ISR(经括约肌间切除术)	WHO(世界卫生组织)
NOSES(经自然腔道取标本手术)	