

液体活检在转移性乳腺癌诊疗中的应用进展

朱凌霄，肖 春，张建华

作者单位：100088 北京,中国人民解放军火箭军特色医学中心普通外科
作者简介：朱凌霄,医学硕士,住院医师,研究方向:乳腺癌的基础与临床研究。E-mail:13261517419@163.com
通信作者：张建华,医学硕士,主任医师,研究方向:恶性肿瘤的基础与临床研究。E-mail:zj7086@126.com



张建华,主任医师,中国人民解放军火箭军特色医学中心普通外科主任。中国医药教育协会乳腺疾病专业委员会常务委员,北京医学会乳腺疾病专业委员会委员。从事普通外科工作 25 年余,在甲状腺及乳腺疾病、胃肠道肿瘤、腹壁疝、腹膜后肿瘤及外科急腹症诊治方面有丰富经验。于 2008 年率先在我院开设乳腺专病门诊,开展早期乳腺癌保乳、前哨淋巴结活检术,保乳率达 33.6%,40.1% 患者免除腋窝淋巴结清扫。对所有乳腺癌患者实施全程管理,乳腺癌综合治疗达到国内先进水平。甲状腺肿瘤手术的神经损伤及甲状旁腺损伤率低于 1%,达国内领先水平。近年参与课题研究 4 项,发表论文 20 余篇(其中 SCI 3 篇),参与专著编写 2 部。

〔摘要〕 乳腺癌是高度异质性的疾病,而转移性乳腺癌作为其中预后最差的类型,目前标准治疗方式仍是全身治疗。临床上会根据患者的疾病进展情况,制定个体化治疗方案来改善患者的生存质量。液体活检是对体液进行采样和分析的过程,可以对多项肿瘤指标进行连续性监测。该文就液体活检技术在转移性乳腺癌诊疗中的应用进展作一综述。

〔关键词〕 液体活检; 转移性乳腺癌; 研究进展
〔中图分类号〕 R 737.9 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1674-3806(2022)11-1017-06
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.11.04

Recent advances in application of liquid biopsy in diagnosis and treatment of metastatic breast cancer ZHU Ling-xiao, XIAO Chun, ZHANG Jian-hua. Department of General Surgery, PLA Rocket Force Characteristic Medical Center, Beijing 100088, China

〔Abstract〕 Breast cancer is a highly heterogeneous disease, and metastatic breast cancer is the type with the worst prognosis. At present, the standard treatment of metastatic breast cancer is still systemic treatment. Clinically, according to the disease progression of patients, individualized treatment plans are formulated to improve the quality of life of the patients. Liquid biopsy is a process in which body fluids are sampled and analyzed, allowing continuous monitoring of multiple tumor indicators. This paper reviews the recent advances in application of liquid biopsy in diagnosis and treatment of metastatic breast cancer.

〔Key words〕 Liquid biopsy; Metastatic breast cancer; Recent advances

在全世界范围内,乳腺癌作为女性肿瘤中发病人数以及恶性程度较高的疾病之一,其近年来的死亡率逐步下降,但转移性乳腺癌(metastatic breast cancer, MBC)仍是一种无法治愈的疾病。根据 2021 年的最新数据统计,全球范围内的女性恶性肿瘤中乳腺癌发病率高居首位,很大程度上影响女性的身心健康及生

命安全^[1]。随着医疗的发展进步以及社会层面对于乳腺相关疾病的宣教科普,人们对于乳腺癌的认识逐渐深入,早期诊断乳腺癌的患者比例逐年增加,但是仍有相当一部分患者确诊时已经出现局部转移甚至远处转移。有数据显示,MBC 患者的 5 年生存率只有 38%^[2]。液体活检技术有别于传统的穿刺活检技

术,具有创伤小、操作性强以及灵敏度高优点,且可重复操作,在乳腺癌诊疗的整个过程中都可发挥指导作用。本文就液体活检技术在 MBC 诊疗中的应用进展进行综述。

1 液体活检技术概论

液体活检技术是一种侵入性较小的、针对恶性肿瘤的无创诊断检查技术,因为其可以减轻患者在手术或者穿刺活检等侵入性检查中的痛苦而受到了广泛关注^[3]。液体活检主要是通过聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR)、高通量测序、酶联免疫吸附检测以及生物传感器等技术,对于原发性肿瘤在发生发展过程中分泌到人体外周体液中的各种组分进行测定和分析,从而完成对于恶性肿瘤的早期筛查、用药指导、病情进展评估和治疗效果观察等,可贯穿应用于疾病的诊疗全程^[4]。液体活检大致可分为两大类:血液来源的生物标志物和其他来源的有临床诊断价值的生物标志物(例如:唾液、脑脊液、尿液、胸腹腔引流液等)。血液来源的标志物主要是游离 DNA (circulating free DNA, cfDNA),其中包括循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA)、循环肿瘤细胞 (circulating tumor cells, CTCs)、微小 RNA (microRNA, miRNA)、外泌体、长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 以及肿瘤诱导血小板 (tumor-educated platelets, TEPs) 等。液体活检具有动态实时监测微小残留病灶,对肿瘤进行基因分型以指导靶向治疗,以及跟踪肿瘤演变的潜力^[5]。此外,与单次组织活检相比,液体活检可以通过检测原发性和继发性肿瘤释放的肿瘤细胞或物质来反映病灶间和病灶内的异质性,并提供更全面的癌症分子谱。

2 液体活检主要标志物研究进展

2.1 CTCs 外周血 CTCs 于 1869 年首先由 T. R. Ashworth 观察到并正式提出^[6],但它们的重要性在近 20 年才逐渐被理解并进行应用。CTCs 从原发性肿瘤中分离,进入人体的循环系统,最后渗入淋巴结或远处器官。Mohme 等^[7]研究证实,CTCs 在形成转移性病灶之前首先进入循环系统,可能比临床影像学表现及临床体征更敏感,更有助于临床尽早采取干预措施。在脱离原发灶之前,CTCs 改变了自身形态及表面蛋白,具有不同寻常的特性,主要是指经历上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 后获得间充质样表型,失去细胞间相互作用和细胞极性后分泌多种酶以消化细胞外基质并获得迁移能力^[8]。这些迁移的 CTCs 渗透至全身并最终定植到

合适的位置后进行间充质-上皮转化 (mesenchymal-epithelial transition, MET),重新获得上皮特性并完成远处转移^[9]。但是,由于外周血中 CTCs 的含量很少,所以如何针对其进行筛选、富集成为当前技术的核心问题。关于 CTCs 的分离、筛选以及富集方法目前依据三个方面,其一是根据 CTCs 区别于正常细胞的一些物理学特性,如大小、表面电荷、密度以及抗压能力等进行筛选,包括 ISET 系统、Screen Cell 系统、Oncoquick 系统、双向电泳系统以及流体辅助分离技术等;其二是基于 CTCs 的表面免疫相关的生物标志物来进行筛选,如 Cellsearch 系统[首个且唯一经过美国食品和药物管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准进入市场的技术]、Adnatest 系统以及 MACS 系统等;其三是联合前两者的新型微流控芯片技术,能够特异性筛选并捕获 CTCs 后完成高效有序的富集过程^[10]。虽然目前检测方法越来越多,但是能够大范围应用于市场的主流技术仍较少。

2.2 ctDNA 和 cfDNA 除了 CTCs 外,ctDNA 本身亦携带与恶性肿瘤有关的基因信息,近年来在临床上应用越来越广泛。既往研究显示,cfDNA 在恶性肿瘤的临床诊治中发挥了重要作用,ctDNA 只是 cfDNA 中的一小部分,二者的比例称为循环肿瘤分数 (circulating tumor fraction, cTF)。cTF 在肿瘤体积较小且局限时通常很低,但随着肿瘤生长和转移而增高^[11]。不同癌症患者之间的 ctDNA 水平可能有很大差异。这种差异是由于肿瘤类型的差异造成的,有一些癌症(如结直肠癌)与高水平的 ctDNA 相关,也有一些癌症(如神经胶质瘤)与较低水平的 ctDNA 相关^[12]。尽管如此,即使在癌症类型相同的患者中,ctDNA 水平也可能有很大差异。在个体患者中,随着时间的推移,ctDNA 水平与总体肿瘤负荷的波动仍密切相关。考虑到循环中 cfDNA 的半衰期很短(大约 1 h),ctDNA 已被提议作为整体肿瘤负荷的潜在替代物,可用于通过连续抽血监测治疗期间的反应^[13]。一般来说,使用 ctDNA 监测治疗反应和肿瘤负荷变化的最敏感和最有效的方法是识别特定个体肿瘤的基因组改变,并在患者的血液中进行追踪。ctDNA 在外周血中浓度极低,且半衰期很短,因此检测难度较大。目前主要的检测手段包括数字化 PCR (如微滴式数字 PCR、BEAMing 技术等) 以及二代测序技术 (next-generation sequencing, NGS),旨在评估单个 DNA 分子,可以检测 cfDNA 中突变频率为 0.01% 甚至更低的等位基因。值得一提的是,为了避免 NGS 反应中聚合酶发生错误,目前已

经开发了“分子条形码”技术,即每个原始模板中的 DNA 分子都带有个性化的条形码,以帮助区分原始模板分子中存在的真正突变和聚合酶过程中引入的错误反应^[14]。使用这种方法,再加上深度测序覆盖和错误抑制算法,可以进一步优化检测和分析 ctDNA 的方法,并有助于扩大潜在的临床应用。

2.3 外泌体 外泌体是源自细胞的纳米级膜包裹囊泡,通过质膜的连续内陷最终形成多囊泡体,并在各种机制的协同作用下与细胞质膜融合,最终被分泌出去^[15]。由于多囊泡体可以与其他细胞内囊泡和细胞器相互作用,导致外泌体成分的多样性,它们性质非常稳定并能穿梭于体液中^[16]。外泌体中转运的成分包括蛋白质、各种类型的 RNA (miRNA、lncRNA、mRNA) 和各种 DNA。这些生物标志物通过递送信息至受体细胞来影响基质修饰和血管生成的进程^[17]。此外,外泌体通过改变免疫细胞的表型来重新激活机体抑制肿瘤细胞的活性,从而促进肿瘤微环境中的免疫抑制^[18]。与前文所述的 CTCs、ctDNA 不同的是,外泌体还具有自我调节功能,可以通过自分泌或旁分泌机制调节邻近细胞和远处靶细胞,介导机体的生理和病理活动。总而言之,外泌体参与肿瘤发生发展过程中的血管生成、EMT、侵袭转移、免疫逃逸、耐药等方面,具有良好的临床应用前景^[19]。外泌体的分离方法主要取决于其组成成分以及物理性质^[20]。目前用于外泌体分离的常用技术包括超速离心、过滤、聚合物共沉淀、尺寸排除色谱法、磁性相关细胞无接触分选以及微流体过滤等。其中超速离心法广泛用于外泌体的分离,但由于纯度低,难以在临床上应用^[21]。虽然循环外泌体的分析很方便,但外泌体的最终临床应用仍处于初步阶段,需要更多研究来验证。

3 液体活检在 MBC 诊疗中的临床应用及研究进展

3.1 CTCs 在 MBC 诊疗中的应用及研究进展 在早期乳腺癌中,CTCs 可以在大部分患者中被检测到,并且被认为是微小残留癌灶的标志物以及远期 MBC 的潜在发生前兆^[22]。近几十年来,基于 CTCs 能够实时反映肿瘤负荷和转移部位的特性,CTCs 已被确定为 MBC 的一个强有力的预后因素,多项研究表明其具有指导治疗决策的潜力^[23]。除了基于肿瘤细胞的分析之外,还可以在外周血中常规检测循环核酸,例如 DNA 和 RNA 片段^[24]。基于 CTCs 诊断的主要优势之一是能够以非侵入性方式进行连续测量,提供对疾病生物学的实时观察,并可能因此改变治疗方案。由于预测标志物[例如激素和人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2)]

状态以及新的治疗相关靶点可能会在疾病过程中发生变化,因此液体活检有可能成为乳腺癌转移情况下侵入性组织检查的替代方法^[25]。在 Cellsearch 系统中,每 7.5 ml 血液中检测出 5 个 CTCs 作为临界水平以区分 MBC 预后良好和不良的患者,CTCs > 5 个的患者临床无进展生存期(progression-free survival, PFS)以及总生存期(overall survival, OS)均显著降低,而且通过进一步治疗后复查 CTCs 数值仍较高者的生存期更短,说明液体活检在某种程度上灵敏度是高于常规影像学检查的,而且可以更连续地对疾病的发展及预后进行评估^[26]。最近发表了 2 项关于 CTCs 在 MBC 中预后价值的大型分析。一项是 Cristofanilli 等^[27]进行的汇总分析,对来自 18 个中心的近 2 500 例 MBC 患者的血液样本进行了评估,其中 533 例女性患有新发转移性癌症,Cellsearch 系统用于 CTCs 检测结果显示,CTCs 升高的患者往往显示更差的预后(OS: CTC_{high} vs CTC_{low} 为 16 个月 vs 36.3 个月),而且转移部位与乳腺癌分型无明显关联。在患有新发转移性疾病的 MBC 患者中,升高的 CTCs 计数也与较短的 OS 相关(18.7 个月 vs 41.4 个月)。而且 CTCs 是 MBC 多变量分析中最强的 OS 预测因子($HR = 2.71, 95\% CI: 2.35 \sim 3.12$)。另一项是由 Müller 等^[28]建立的 DETECT 研究小组对 1 933 例 MBC 患者的血液样本进行了分析,这项试验是全球最大的基于 CTCs 的治疗干预的研究项目,旨在指导 CTCs 在 MBC 靶向治疗中的临床应用。在 DETECT III 期试验中,HER2 阴性和 HER2 阳性的患者被随机分配接受标准治疗加用或不加用拉帕替尼抗 HER2 治疗;HER2 阴性患者参加 DETECT IVa 期和 IVb 期研究,证实了 CTCs 计数在 MBC 中的高度预后相关性。结果显示 1 个 CTC 和 5 个 CTCs 作为临界值时均与患者中位 OS 显著相关(≥ 1 个 CTCs 患者的中位 OS 15.5 个月 vs CTCs 阴性患者的中位 OS 37.2 个月; ≥ 5 个 CTCs 患者的中位 OS 12.0 个月 vs < 5 个 CTCs 患者的中位 OS 28.6 个月)。还有试验表明 CTCs 可以作为指导雌激素受体(estrogen receptor, ER)阳性乳腺癌患者一线治疗的生物标志物^[29]。在激素受体阳性 MBC 患者中也观察到不同的临床症状,这取决于存在的 CTCs 数量^[30]。此外,即使在乳房手术后 5 年内,在没有活动性疾病证据的患者中 CTCs 水平较高者 5 年内复发及转移风险也较高^[31]。由于大多数患者在全身治疗期间 CTCs 计数均减少,因此对 CTCs 计数水平进行持续性检测有助于识别并筛选出对于当前治疗反应不佳的患者,可以帮助患者规避低效且有副作用可能较大的药物,或者改用其他有效

的治疗方案。SWOG S0500 试验^[32]对此进行了论证。在这项研究中,在开始一线化疗治疗之前,取 595 例 MBC 患者的血样测量了 CTCs 指标并记录,在进行了第 1 个周期治疗后取得了第 2 份血样。持续高 CTCs 计数的患者被随机分配至继续治疗,直至临床进展期(标准组)或切换到另一种化疗方案(对照组)。结果显示 CTCs 数量较低的患者具有更好的临床结果(中位 OS 为 35 个月),但两组 CTCs 数量持续较高的患者的预后相似。因此,一线化疗 1 个周期后 CTCs 未减少的 MBC 患者改用替代化疗方案既没有改善 OS,也没有改善 PFS。但是值得注意的是,在此研究中 CTCs 数量较低的患者预后良好,激素受体阳性和 HER2 阳性患者的中位 OS 超过 3 年。即使是三阴性乳腺癌患者,其中位生存期也接近 2 年^[33]。考虑到患者更有可能从免疫、靶向或试验性治疗中受益,笔者建议在 1 个化疗周期后发现 CTCs 增加的患者,应在疾病进展期间积极考虑参加新型治疗药物的试验,而不是继续进行第 2 周期或者替代的化疗。近期亦有一项研究(CirCe01 试验)旨在评估基于 CTCs 的监测在 MBC 中的临床效用^[34],虽然此研究规避了 SWOG S0500 试验的不足以及局限性,并在这项随机 III 期研究中探索了三线方案,以避免重新选择化疗方案。但是该研究最终亦未能得到理想的结果,可能是因为基于 CTCs 的监测组中的患者没有获得更长的 OS,还有患者对于基于 CTCs 的治疗转换方案的接受度较低以及招募人数不足等。最近的一项研究证明了 CTCs 数据在临床决策中的效用,不仅考虑了 CTCs 的数量,而且还考虑了 CTCs 的表型^[9]。但是关于临床上 MBC 患者如何从 CTCs 监测中获益,仍然需要进一步的研究证实。

3.2 ctDNA 在 MBC 诊疗中的应用及研究进展

2019 年,在中国临床肿瘤学会《乳腺癌诊疗指南》中首次指出 CTCs 和 ctDNA 可以作为循环肿瘤标志物预测早期和晚期乳腺癌预后的价值^[35]。正如前文所述,多项大型研究及后期的荟萃分析均证实了 CTCs 在 MBC 中的预后意义,但是涉及到 ctDNA 在 MBC 中的诊疗价值尚需大量临床数据支持。迄今为止,只有少数研究评估了 ctDNA 在 MBC 中的预后意义。Shaw 等^[36]比较了 112 例 MBC 患者的 CTCs 和 ctDNA 的突变谱,通过检测磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha, PIK3CA)、鼠类肉瘤病毒癌基因(kirsten rat sarcoma viral oncogene, KRAS)、肿瘤蛋白 53 (tumor protein 53, TP53) 和雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1) 基因的突变与升高的 ctDNA

水平,发现二者均与 MBC 明显缩短的 OS 相关,并且 ctDNA 和 CTCs 中的突变谱是一致的。Tan 等^[37]对 10 项试验的荟萃分析仅包括 1 127 例患者,高水平的 cfDNA 和外周血中存在 ctDNA 与乳腺癌患者的不良预后显著相关。而且与高水平的 cfDNA 相比,ctDNA 的检测可以更有效地预测生存结果。按样本来源分类的进一步亚组分析表明,cfDNA 可以作为乳腺癌患者的预测和预后标志物。按肿瘤分期分类的亚组分析表明,cfDNA 适用于乳腺癌患者的早期和转移期。在 Fernandez-Garcia 等^[38]的研究中,对来自 194 例 MBC 患者的血液样本进行了 CTCs 计数、cfDNA 水平和肿瘤标志物癌胚抗原 153 (carcino-embryonic antigen 153, CA153) 的分析。结果显示高水平的 cfDNA 与较短的 OS 显著相关,总体 cfDNA 水平与 CTCs 计数相关。有研究表明 ctDNA 水平实际上可能在治疗开始后的最初几天短暂增加,这可能是由于肿瘤细胞死亡增加导致 ctDNA 脱落增加。然而,在对治疗有反应的患者中,ctDNA 水平通常在 1~2 周后急剧下降^[39]。还有研究证实,ctDNA 水平的最终上升可能出现在影像学进展之前数周至数月,这表明 ctDNA 跟踪可以作为一种潜在的临床工具,用于评估患者发生耐药的可能性,并且可以结合当前临床监测方法,为后续治疗赢取更多的准备时间。2020 年 Pierga 等^[40]报道了前瞻性 UCBG COMET 试验的结果,对 196 例 HER2 阴性 MBC 患者在化疗前和第 1 周期结束后的 ctDNA 水平进行分析,并通过靶向重测序检测了几种体细胞突变,即 TP53、PIK3CA、ESR1 和 HER2。结果显示,血浆中的 TP53 突变会影响 MBC 患者的 PFS 和 OS,而 PIK3CA 和 ESR1 突变对患者的生存预后没有影响。此外,在第 2 周期化疗前可检测到 ctDNA 的患者 OS 显著缩短。总之,越来越多的证据表明 ctDNA 在 MBC 中具有预后影响。然而,由于各试验的设计思路以及验证方法不同,所以目前直接进行各试验之间的比较和汇总还是有一定难度的。

4 小结及展望

近年来,液体活检作为精准医疗的一种新方法,重视基于个人基因组、环境和生活习惯的个体化治疗,尤其是当实体组织活检不足或无法获得时,液体活检可以为恶性肿瘤的诊疗提供强有力的辅助。除了预测作用之外,液体活检可能是全面的肿瘤基因分型、识别紧急耐药机制、监测微小残留病灶、早期检测和癌症拦截的有用工具。随着临床上精准治疗理念的深入,乳腺癌的治疗方案亦逐年优化。对于外科医师来说,围手术期循环肿瘤标志物的变动分

析可以早于常规影像学诊断去指导临床更快速地完善现行的乳腺癌治疗方案,最终帮助患者得到更好的治疗结果^[41]。目前新循环生物标志物的发现和验证仍处于起步阶段,虽然多种生物标志物整合分析可以为临床医师提供更全面的诊疗思路,但是仍需要大量的循证医学研究证据来支持。相信在不久的将来,随着越来越多的相关研究结果的公开,液体活检技术在 MBC 以及其他恶性肿瘤的诊治中定能发挥出更大的作用。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021,71(3):209–249.
- [2] Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries[J]. *Lancet*, 2018,391(10125):1023–1075.
- [3] Poulet G, Massias J, Taly V. Liquid biopsy: general concepts[J]. *Acta Cytol*, 2019,63(6):449–455.
- [4] Vaidyanathan R, Soon RH, Zhang P, et al. Cancer diagnosis: from tumor to liquid biopsy and beyond[J]. *Lab Chip*, 2018,19(1):11–34.
- [5] Alix-Panabières C, Pantel K. Liquid biopsy: from discovery to clinical application[J]. *Cancer Discov*, 2021,11(4):858–873.
- [6] Bonnomet A, Syne L, Brysse A, et al. A dynamic in vivo model of epithelial-to-mesenchymal transitions in circulating tumor cells and metastases of breast cancer[J]. *Oncogene*, 2012,31(33):3741–3753.
- [7] Mohme M, Riethdorf S, Pantel K. Circulating and disseminated tumour cells—mechanisms of immune surveillance and escape[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017,14(3):155–167.
- [8] Shen M, Kang Y. Stresses in the metastatic cascade: molecular mechanisms and therapeutic opportunities[J]. *Genes Dev*, 2020,34(23–24):1577–1598.
- [9] Menyailo ME, Tretyakova MS, Denisov EV. Heterogeneity of circulating tumor cells in breast cancer: identifying metastatic seeds[J]. *Int J Mol Sci*, 2020,21(5):1696.
- [10] Hu X, Zang X, Lv Y. Detection of circulating tumor cells: advances and critical concerns[J]. *Oncol Lett*, 2021,21(5):422.
- [11] Ma G, Wang J, Huang H, et al. Identification of the plasma total cfDNA level before and after chemotherapy as an indicator of the neo-adjuvant chemotherapy response in locally advanced breast cancer[J]. *Cancer Med*, 2020,9(7):2271–2282.
- [12] Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies[J]. *Sci Transl Med*, 2014,6(224):224ra24.
- [13] Tie J, Wang Y, Cohen J, et al. Circulating tumor DNA dynamics and recurrence risk in patients undergoing curative intent resection of colorectal cancer liver metastases: a prospective cohort study[J]. *PLoS Med*, 2021,18(5):e1003620.
- [14] Yuan Z, Wang X, Geng X, et al. Multi-region sequencing reveals genetic correlation between esophageal squamous cell carcinoma and matched cell-free DNA[J]. *Cancer Genet*, 2021,258–259:93–100.
- [15] Kalluri R. The biology and function of exosomes in cancer[J]. *J Clin Invest*, 2016,126(4):1208–1215.
- [16] Liu T, Zhang X, Gao S, et al. Exosomal long noncoding RNA CRNDE-h as a novel serum-based biomarker for diagnosis and prognosis of colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2016,7(51):85551–85563.
- [17] Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, et al. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012,1820(7):940–948.
- [18] Tai YL, Chen KC, Hsieh JT, et al. Exosomes in cancer development and clinical applications[J]. *Cancer Sci*, 2018,109(8):2364–2374.
- [19] Liu J, Ren L, Li S, et al. The biology, function, and applications of exosomes in cancer[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021,11(9):2783–2797.
- [20] Shan Z, Wang H, Zhang Y, et al. The role of tumor-derived exosomes in the abscopal effect and immunotherapy[J]. *Life (Basel)*, 2021,11(5):381.
- [21] Coughlan C, Bruce KD, Burgy O, et al. Exosome isolation by ultracentrifugation and precipitation and techniques for downstream analyses[J]. *Curr Protoc Cell Biol*, 2020,88(1):e110.
- [22] Brus L, Grimm-Glang D, Krawczyk N, et al. Circulating tumor cells in metastatic breast cancer: ready for clinical practice? [J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2022, 43(3): 4–8.
- [23] de Wit S, Manicone M, Rossi E, et al. EpCAM^{high} and EpCAM^{low} circulating tumor cells in metastatic prostate and breast cancer patients [J]. *Oncotarget*, 2018,9(86):35705–35716.
- [24] Banys-Paluchowski M, Fehm TN, Grimm-Glang D, et al. Liquid biopsy in metastatic breast cancer: current role of circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. *Oncol Res Treat*, 2022,45(1–2):4–11.
- [25] Chen Q, Ouyang D, Anwar M, et al. Corrigendum: effectiveness and safety of pyrotinib, and association of biomarker with progression-free survival in patients with HER2-positive metastatic breast cancer: a real-world, multicentre analysis[J]. *Front Oncol*, 2021,11:661128.
- [26] Banys-Paluchowski M, Reinhardt F, Fehm T. Circulating tumor cells in metastatic breast cancer: clinical applications and future possibilities[J]. *Appl Sci*, 2020, 10(9): 3311.
- [27] Cristofanilli M, Pierga JY, Reuben J, et al. The clinical use of circulating tumor cells (CTCs) enumeration for staging of metastatic breast cancer (MBC): international expert consensus paper[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2019,134:39–45.
- [28] Müller V, Banys-Paluchowski M, Friedl TWP, et al. Prognostic relevance of the HER2 status of circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients screened for participation in the DETECT study program[J]. *ESMO Open*, 2021,6(6):100299.
- [29] Bidard FC, Jacot W, Kiavue N, et al. Efficacy of circulating tumor cell count-driven vs clinician-driven first-line therapy choice in hormone receptor-positive, ERBB2-negative metastatic breast cancer;

- the STIC CTC randomized clinical trial[J]. *JAMA Oncol*, 2021,7(1):34-41.
- [30] Miccio L, Cimmino F, Kurelac I, et al. Perspectives on liquid biopsy for label-free detection of “circulating tumor cells” through intelligent lab-on-chips[J]. *View*, 2020,1(3):20200034.
- [31] Sparano J, O'Neill A, Alpaugh K, et al. Association of circulating tumor cells with late recurrence of estrogen receptor-positive breast cancer: a secondary analysis of a randomized clinical trial[J]. *JAMA Oncol*, 2018,4(12):1700-1706.
- [32] Smerage JB, Barlow WE, Hortobagyi GN, et al. Circulating tumor cells and response to chemotherapy in metastatic breast cancer: SWOG S0500[J]. *J Clin Oncol*, 2014,32(31):3483-3489.
- [33] Yan WT, Cui X, Chen Q, et al. Circulating tumor cell status monitors the treatment responses in breast cancer patients: a meta-analysis[J]. *Sci Rep*, 2017,7:43464.
- [34] Cabel L, Berger F, Cottu P, et al. Clinical utility of circulating tumour cell-based monitoring of late-line chemotherapy for metastatic breast cancer: the randomised CirCe01 trial[J]. *Br J Cancer*, 2021,124(7):1207-1213.
- [35] 李健斌,江泽飞.2019年CSCO BC指南更新要点解读[J]. *中国肿瘤外科杂志*,2019,11(3):155-160.
- [36] Shaw JA, Guttery DS, Hills A, et al. Mutation analysis of cell-free DNA and single circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients with high circulating tumor cell counts[J]. *Clin Cancer Res*, 2017,23(1):88-96.
- [37] Tan G, Chu C, Gui X, et al. The prognostic value of circulating cell-free DNA in breast cancer: a meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018,97(13):e0197.
- [38] Fernandez-Garcia D, Hills A, Page K, et al. Plasma cell-free DNA (cfDNA) as a predictive and prognostic marker in patients with metastatic breast cancer[J]. *Breast Cancer Res*, 2019,21(1):149.
- [39] Gerrataana L, Davis AA, Zhang Q, et al. Longitudinal dynamics of circulating tumor cells and circulating tumor DNA for treatment monitoring in metastatic breast cancer[J]. *JCO Precis Oncol*, 2021,5:943-952.
- [40] Pierga JY, Silveira A, Girard E, et al. Predictive and prognostic value of circulating tumor DNA(ctDNA) compared to circulating tumor cells (CTC) in a prospective cohort of metastatic breast cancer patients: the UCBG COMET trial[J]. *Cancer Res*, 2020,80(16):3390.
- [41] 刘斌亮,谢宁,欧阳取长.早期HR阳性/HER2阳性乳腺癌的治疗选择与思考[J]. *中国临床新医学*,2022,15(6):482-487.
- [收稿日期 2022-10-03][本文编辑 吕文娟 余军]

本文引用格式

朱凌霄,肖春,张建华.液体活检在转移性乳腺癌诊疗中的应用进展[J]. *中国临床新医学*,2022,15(11):1017-1022.