



中国癌症防治杂志

Chinese Journal of Oncology Prevention and Treatment

ISSN 1674-5671, CN 45-1366/R

《中国癌症防治杂志》网络首发论文

题目： 肿瘤 DNA 甲基化标志物检测及临床应用专家共识（2024 版）
作者： 丁春明，郭玮，毛瑞芳，鞏伟奇，向廷秀，于津浦，杨政权，张海伟
网络首发日期： 2024-04-19
引用格式： 丁春明，郭玮，毛瑞芳，鞏伟奇，向廷秀，于津浦，杨政权，张海伟. 肿瘤 DNA 甲基化标志物检测及临床应用专家共识（2024 版）[J/OL]. 中国癌症防治杂志. <https://link.cnki.net/urlid/45.1366.R.20240419.0914.002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

肿瘤DNA甲基化标志物检测及临床应用专家共识(2024版)

中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会

【摘要】 随着生物学的发展,DNA甲基化(DNA methylation)标志物在癌症诊断、治疗选择及预后评估中的重要性日益凸显。本专家共识旨在全面梳理DNA甲基化标志物的检测技术、临床应用及其在肿瘤管理中的潜力。此外,本共识将围绕DNA甲基化标志物的定义、临床意义、检测规范、数据处理及其在肿瘤的筛查、辅助诊断、伴随诊断及复发监测中的应用,结合最新研究进展和实际临床经验,提出一系列关于DNA甲基化标志物检测及应用的共识推荐,旨在提升临床医技人员对这一新兴标志物的认识,规范检测流程,促进其在肿瘤诊疗全程中的应用,从而为患者提供更加精准有效的治疗方案。

【关键词】 DNA甲基化;生物标志物;肿瘤早筛早诊;甲基化检测技术

【中图分类号】 R730 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-5671(2024)02-0129-15

DOI: 10.3969/j.issn.1674-5671.2024.02.01

在现代肿瘤治疗领域,肿瘤DNA甲基化标志物作为一种重要的生物标志物,在癌症的早期诊断、治疗选择及预后评估中扮演着越来越关键的角色。为了推动DNA甲基化标志物在肿瘤管理中的应用,提高临床医技人员及科研人员对其重要性的认识,同时规范检测流程,确保检测结果的准确性和可靠性,中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会组织了一批领域内的专家学者,基于最新的研究成果和临床实践经验,共同编写了本专家共识。本共识系统性地介绍了DNA甲基化标志物的基本概念、检测技术、临床应用范围及其在肿瘤筛查、辅助诊断、伴随诊断、复发监测和预后评估中的作用。本专家共识旨在为临床医生、研究人员及检测人员提供一套关于DNA甲基化标志物检测及其临床应用的指导性建议,以促进该领域的标准化发展,最终实现个性化肿瘤诊疗策略的优化,为患者的早筛、早诊以及精准诊疗提供决策依据。根据相关领域的研究进展,本专家共识将及时进行修订,以满足临床应用的需要。

本专家共识已在国际实践指南注册平台上登记,编号为PREPARE-2024CN173。证据收集于PubMed、中国知网、万方和维普等数据库,以及国家药品监督管理局(NMPA)、美国食品药品监督管理局(FDA)、欧盟医疗器械数据库(EUDAMED)等官方公开信息(检索截至2024年3月22日)。所选取的研究包括国内外公开发表的系统性综述、随机对照试验、队列研究以及

病例对照研究等。通过对文献进行综合分析并结合临床经验初步确定了推荐建议。本专家共识的循证医学证据等级参考牛津循证医学中心(OCEBM)的证据等级^[1](表1)。初步推荐建议经过专家投票,投票选项包括同意、不确定和不同意。根据专家投票结果,推荐等级分为强推荐、推荐和未达成共识三个级别,若投票同意率超过90%视为强推荐,70%~90%视为推荐,否则为未达成共识。

表1 循证医学证据等级及定义

证据等级	定义
1级	随机对照研究
2级	队列研究
3级	病例对照研究
4级	病例报道
5级	专家意见或评论

1 DNA甲基化标志物概述

DNA甲基化是一种DNA的共价修饰,具体是指DNA甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)将甲基加到DNA CpG序列中胞嘧啶的5'碳位,形成5-甲基胞嘧啶的过程。成簇的CpG被称为CpG岛(CpG islands, CGIs),主要位于结构基因的启动子和第一外显子区域^[2]。DNA甲基化标志物是癌细胞中的DNA异常甲基化改变,这种异常甲基化贯穿于癌症发生和发展的全过程。与传统的肿瘤标志物相比,DNA甲基化标志物具有更早期、更无创、更精准等优点^[3]。因

此,可以通过非侵入性方式获得的痰液、血浆、血清或尿液等样本进行DNA甲基化标志物检测^[4-6]。一些DNA甲基化异常发生在肿瘤形成的初始阶段,通过检测与肿瘤发展相关的甲基化标志物,可以辅助癌症早期诊断、评估进展风险^[7-8]。DNA甲基化标志物甲基化水平的增加或降低与肿瘤预后密切相关,可用于治疗或根治性手术后评估肿瘤微小残留病灶(MRD)和监测复发^[9]。此外,DNA甲基化标志物还可作为化疗敏感性的标志,某些特定基因的甲基化可能预示着癌症对治疗的反应,可用于判断化疗药物的疗效^[10-11],以更好地指导治疗方案。

2 DNA甲基化标志物的临床检测

2.1 临床样本前处理注意事项

细胞基因组与游离DNA(cell-free DNA, cfDNA)均可用于肿瘤DNA甲基化检测,常采用组织、血液样本,也可采用尿液、浆膜腔积液、灌洗液、粪便、拭子等样本。针对不同样本类型还应注意以下事项:(1)组织样本。组织样本离体后应在低温、水合状态下保存和转运。如不能立即开展后续处理,可选择将组织置于-70℃及以下环境,以长期保存;或者制成石蜡包埋组织(formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE),可于室温保存3~5年。(2)血液样本。采集血浆标本,抗凝剂选用EDTA或枸橼酸,不可使用肝素。检测cfDNA时建议足量采集2×10 mL全血^[12]。溶血、脂血和黄疸标本建议重新采集^[13]。样本运输过程中应避免机械应力致血细胞破裂,气运管道运输可能增加细胞基因组DNA释放^[14]。目前,临床肿瘤DNA甲基化分析常检测的血液组分包括外周血单个核细胞(peripheral blood monocyte, PBMC)、循环游离DNA(circulating

cell-free DNA, ccfDNA)、循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA),但不同组分的生物学特点存在差异(表2)。采用普通抗凝采血管时,采集后至分离不宜超出4~6 h,因为后续白细胞稳定性会下降;如条件限制、延迟分离不可避免,则在4℃下保存不超出24 h^[15]。采用添加防腐剂的采血管时,建议在3 d内进行分离^[16]。转移无细胞血浆时应严格避免混入细胞及细胞碎片,并转移至低DNA吸附管中保存。分离待测组分前不可冷冻保存含有红细胞的全血样本,以免严重溶血。经分离后待测组分可在-70℃及以下长期保存,注意避免反复冻融,而且解冻过程需置于冰上缓慢进行^[17]。(3)新鲜体液及灌洗液样本。如样本含较多血液成分,可进行抗凝处理,避免室温下长时间放置。可通过高速离心及超滤技术富集分离细胞或cfDNA。经分离后,待测组分的处理同血液样本。(4)粪便样本。粪便样本含大量微生物,采集保存过程应遵循所用试剂耗材说明并尽快送检,缩短DNA抽提前非冷冻保存及运输时间。推荐使用含防腐剂保存液,以减少人源性DNA降解。(5)拭子样本。应使用专用采集器,采样后可置于保存液或风干保存。风干拭子室温下保存不超过3 d,后续操作前需加入缓冲液重悬;在保存液中,拭子样本在2~8℃下保存不超过7 d,-20℃下保存不超过30 d。

专家共识:各类样本经采集后,应尽可能减少转运环节与耗时,及早分离检测组分。血液样本应避免溶血,不可使用肝素抗凝。检测游离DNA时,采集量应充足,及早采用两步离心法分离无细胞血浆,分离前不可对含红细胞血样进行冻存。新鲜体液及灌洗液样本如含较多血液成分可进行抗凝处理。粪便样本推荐采用含防腐剂保存液。(推荐等级:强烈推荐)

表2 临床肿瘤DNA甲基化分析常用的血液组分

生物学特点	外周血单个核细胞	循环游离DNA	循环肿瘤DNA
来源	淋巴细胞 单核细胞 循环肿瘤细胞	体内全部细胞	体内肿瘤细胞
成因	/	细胞凋亡、坏死 主动释放	细胞凋亡、坏死 主动释放
DNA代表性	体细胞 肿瘤细胞	体细胞 肿瘤细胞	肿瘤细胞
采集后影响因素	细胞活性下降 细胞裂解	DNA降解 体细胞及微生物基因组污染	DNA降解 体细胞及微生物基因组污染
离体后半衰期	/	2 h	2 h
分离方法	密度梯度离心法	两步离心法	两步离心法 片段大小分离

2.2 DNA甲基化标志物检测技术方法

2.2.1 DNA提取与纯化 宜根据样本类型、检测目的选择DNA提取纯化方法,临床常采用离心柱法和磁珠法。提取纯化应在专门区域内进行,cfDNA与细胞、组织样本应分区处理,以避免基因组污染。推荐使用自动化提取设备,以减少批次间差异。提取后宜尽快检测,长期保存应避免反复冻融(建议 ≤ 3 次)。针对不同检材,抽提前还应注意以下操作事项:(1)组织检材。取材应选取细胞密集区域,避免出血、坏死、自溶部分。肿瘤细胞比例含量 $< 20\%$ 时建议富集。新鲜组织块应经液氮冷冻后研磨或使用设备破碎匀浆。FFPE样本切片厚度以 $8\sim 10\ \mu\text{m}$ 为宜,脱蜡后予酶消化去除蛋白、脂质等物质,消化酶处理条件较新鲜组织浓度高($> 20\ \text{g/L}$)、时间长($3\sim 5\ \text{h}$)。(2)细胞检材。粪便、体液、灌洗液、缓冲液拭子等样本可用于富集脱落细胞,其中粪便样本应以缓冲液或裂解液充分振荡、裂解,离心去除不可溶性沉淀物后再操作。(3)cfDNA检材。抽提过程中选用特定磁珠产品可保留较完整DNA、富集较短DNA片段,高效分离核酸有利于下游甲基化检测。cfDNA经提取纯化后应评估片段分布,以排除基因组DNA污染。

2.2.2 DNA转化 目前DNA转化的主流技术包括基于化学试剂的重亚硫酸盐转化和基于酶法的温和转化,而甲基化敏感的限制性内切酶技术(methylation sensitive restriction endonuclease PCR, MSRE-PCR)无需转化处理。

基于化学试剂的重亚硫酸盐转化技术通过重亚硫酸盐处理DNA,将DNA中未甲基化的胞嘧啶(C)转化为尿嘧啶(U),经过PCR扩增后进一步变成胸腺嘧啶(T)而原本甲基化的C保持不变,通过测序后对DNA序列的分析区分甲基化状态的不同。重亚硫酸盐转化时间短,速度快,转化效率高,但转化过程中剧烈的温度和pH变化会导致DNA降解和断裂,因此此类转化技术更适用于起始量较高的样本。

基于酶法的温和转化技术利用易位双加氧酶2(ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase 2, TET2)和T4-噬菌体- β -葡糖基转移酶(thermo scientific T4-glucosyltransferase, T4-BGT)进行,该技术相对温和,避免了DNA降解和断裂,但试剂储运条件要求高,操作繁琐,反应时间长,转化效率不如化学法稳

定,目前还有待进一步的临床验证。基于易位双加氧酶氧化和硼烷类化合物还原的新型酶法转化技术能将甲基化的C转化为二氢尿嘧啶(dihydro uracil, DHU),通过PCR扩增转化为T^[18],但此类技术转化效率和稳定性尚需进一步优化。

MSRE-PCR技术基于甲基化敏感的限制性内切酶无法切割位点中甲基化修饰序列的原理,无需对序列进行转化。因此,MSRE-PCR需要的起始样本要求低,比对效率高,是未来DNA甲基化检测应用具有发展潜力的方向。MSRE-PCR技术操作简单,DNA损失少,但是酶切效率需要进一步优化,以保证检测的准确性。

2.2.3 DNA甲基化检测平台 目前临床最常用的DNA甲基化检测平台为实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qPCR),下一代测序(next generation sequencing, NGS)和核酸质谱也有一定应用。qPCR平台可同时检测一个或数个DNA甲基化标志物,因操作简单而在临床中广泛应用。qPCR平台对DNA进行转化处理后,用引物和特异性探针对所测核苷酸位点进行检测^[19],具有简便、高效、快速、可重复等优势。数字PCR(digital PCR, dPCR)是新兴的第三代PCR检测技术,通过将每个核酸分子分配到一个独立的空间内,对多个独立单元中的反应体系进行相互独立的扩增,并读取其反应后的荧光强度,以界定阴性和阳性及其比例^[20]。dPCR具有绝对定量、灵敏度高、分辨率好等特点。

NGS可以同时数百个至全基因组的DNA甲基化检测,检测通量高,但技术和操作复杂。DNA甲基化检测的文库构建策略分为“先建库后转化”和“先转化后建库”两种。cfDNA检测主要包括5个步骤:DNA提取、文库构建、测序、生信分析和报告解读。NGS平台应结合客观条件和诊治需要选择不同的基因panel,用于癌症早筛的NGS检测需要进行前瞻性临床试验。目前尚无获批临床使用的基于NGS平台的DNA甲基化检测产品,部分产品在注册评审过程中或以实验室自建检测方法(laboratory developed test, LDT)形式进行检测服务,适用于单癌种、多癌种或泛癌的检测。

核酸质谱平台基于基质辅助激光解吸电离飞行时间(MALDI-TOF)技术,可同时检测数个至数十个

DNA 甲基化标志物,可实现中通量级别的稳定检测^[21],可以获得最大 500 bp 范围之内全部连续的 CpG 位点的甲基化定量水平^[22]。部分检测机构提供 LDT 检测服务,适用于单个或多个肿瘤的检测。检测时需注意避免反应体系中的 Na⁺、K⁺等盐离子残留导致核酸峰的位置漂移,样本和基质的结晶要充分,仪器的质量校准要定期校对,校准准确度在 400 ppm 及以下,分辨率在 400 及以上。

专家共识:抽提纯化所得 DNA 应根据样本类型制定质量合格标准并进行评价,包括浓度、纯度和 DNA 完整性。cfDNA 还应评估片段分布,以排除基因组 DNA 污染。DNA 甲基化检测需要针对不同的标本类型与检测应用选择适宜的转化方法,并关注转化技术的最新进展。qPCR 具有高效、迅速、操作简便等优势;基于 NGS 平台的 DNA 甲基化检测通量高,但操作复杂且成本较高;核酸质谱平台是一个在通量、价格、时间等方面均介于 PCR 和 NGS 技术之间的平台。DNA 甲基化检测平台的选择需要针对标志物数量、临床应用场景及检测条件进行综合评估。(推荐等级:强烈推荐)

3 DNA 甲基化标志物用于肿瘤筛查

3.1 DNA 甲基化标志物在单癌种筛查中的应用

利用外周血进行 cfDNA 甲基化检测是近年来针对肿瘤早期进行无创诊断的重要方式。2008 年已有研究证实结肠癌组织 *SEPTIN9* 基因启动子存在不同程度甲基化,并提出外周血 *SEPTIN9* 甲基化可用于结肠癌(colorectal cancer, CRC)早期筛查^[23]。2024 年,《新英格兰医学杂志》连发两篇关于 CRC 无创筛查的研究成果,其中一款基于血液 cfDNA 基因组变异、DNA 甲基化状态和碎片组模式的 CRC 早期筛查工具 Shield,在 ECLIPSE 研究中诊断 CRC 的敏感性为 83.1% (95%CI:72.2%~90.3%),特异性为 89.6%(95%CI:88.8%~90.3%)^[24]。通过检测 *LASS4*、*LRR4*、*PPP2R5C* 和 *ZDHHC1* 基因甲基化筛查,CRC 的 BLUE-C 研究显示,其检测敏感性为 93.9%(95%CI:87.1%~97.7%);检出晚期癌前病变的敏感性为 43.4%(95%CI:41.3%~45.6%),对非肿瘤性发现或阴性结肠镜检查的特异性为 92.7%(95%CI:92.2%~93.1%)^[25]。国内一项纳入 1 381 例患者的多中心前瞻性研究证实 *RNF180* 和

SEPTIN9 基因甲基化是理想的胃腺癌标志物,对早期胃癌(I 期、II 期)的检测灵敏度远高于 CEA、CA199、CA125 等传统的蛋白肿瘤标志物^[26]。《中国早期胃癌筛查检验技术专家共识》首次提出^[27], *RNF180/Septin9* 基因甲基化检测可用于早期胃癌筛查,联合检测 *RNF180*、*Septin9* 基因甲基化和肿瘤标志物可进一步提升胃癌筛查的灵敏度。通过在肺泡灌洗液中联合 *SHOX2* 和 *RASSF1A* 甲基化检测对肺癌的总体诊断结果均优于单纯的细胞学检查,对肺癌的早筛早诊具有积极的临床意义^[28]。采用外周静脉血进行靶向 DNA 甲基化测序,构建 PulmoSeek 模型用于辅助临床医生建立肺结节良恶性诊断模型,有助于提高早期肺癌的诊断^[29]。国内研究团队通过 cfDNA 的 DNA 甲基化水平构建早期肝癌诊断预测模型,结果发现基于 cfDNA 甲基化的预测模型对早期肝癌的灵敏度和特异度均优于传统血清标志物^[30]。

DNA 甲基化技术也可以应用于宫颈癌筛查的高危分流,能对人乳头瘤病毒(HPV)阳性患者进行初步分流。上海交通大学附属国际和平妇幼保健院团队建立了纳入 3 251 例 hrHPV 阳性女性的前瞻性研究队列,对 HPV 检查的剩余样本进行 *PCDHGB7* 基因甲基化检测,与细胞学检测相比,*PCDHGB7* 甲基化检测减少了 62.2% 的非 16/18 型高危 hrHPV 阳性女性的转诊,显示出更为优越的特异度(92.1% vs 74.9%)^[31]。

专家共识:DNA 甲基化技术为肿瘤早筛提供了一种高效、非侵入性且具有广泛应用潜力的筛查方法,实现了对结肠癌、胃癌、肺癌、肝癌和宫颈癌的早筛早诊(证据等级:2 级;专家推荐等级:推荐)。

3.2 DNA 甲基化标志物在多癌种筛查中的应用

随着癌症筛查技术的不断进步,临床上主要有两种多癌种筛查策略,第一种是以全癌标志物为代表的单一标志物的全癌种筛查,第二种是结合了组织溯源技术的多个肿瘤标志物组合筛查策略。

3.2.1 基于全癌标志物策略的多癌种筛查应用 应用导航定位测序(guide positioning sequencing, GPS)技术,通过对全基因组 DNA 高精度和高覆盖度的甲基化位点进行筛查,于文强团队挖掘了基于 DNA 甲基化位点的全癌标志物,这类 DNA 甲基化标志物可用于多种癌症的筛查,其中通过全基因组 DNA 甲基化数据挖掘的 *HIST1H4F* 基因在 17 种癌症中呈异常高

甲基化^[32]。该团队筛选的全癌标志物 *PCDHGB7* 不仅在TCGA数据库的17种癌症类型中都呈高甲基化,后续还在13种临床肿瘤样本中得到验证^[33]。*SIX6*基因在10种常见癌症类型的678份临床样本表现出普遍的高甲基化,其中,*SIX6*基因高甲基化诊断宫颈癌、子宫内膜癌及尿路上皮癌的ROC曲线下面积(area under the curve, AUC)分别为0.99、0.94及0.93,表明*SIX6*高甲基化是肿瘤进展的早期事件,可以应用于肿瘤的临床早期筛查^[34]。

3.2.2 基于cfDNA的DNA甲基化标志物在多癌种筛查中的应用 基于cfDNA的DNA甲基化标志物由于其非侵入性特性已成为癌症早期诊断有前途的生物标志物。一项针对cfDNA测序技术在肿瘤早筛中应用的研究显示,cfDNA甲基化是预测癌症信号来源的最佳标志物,甲基化分类器具有最高的肿瘤检测灵敏度^[35]。在多癌种早筛研究THUNDER中,对血液中的cfDNA进行靶向甲基化检测,检测结直肠癌、食管癌、肝癌、肺癌、卵巢癌、胰腺癌等6种肿瘤的敏感性为69.1%,特异性为98.9%^[36]。

随着技术的发展,cfDNA甲基化与其他组学信息的整合极大地提高了肿瘤早期筛查的准确性。Van Thien Chi Nguyen研究团队应用cfDNA甲基化组学和片段组学信息,在乳腺癌、结直肠癌、胃癌、肝癌和肺癌等5类肿瘤中进行诊断验证,敏感性为72.4%、特异性为97.0%^[37]。清华大学研究团队通过cfDNA甲基化特征构建SRFD-Bayes诊断模型,在乳腺癌、结肠腺癌、肺鳞癌、肺腺癌、肝细胞癌和前列腺癌等肿瘤中进行验证,该模型对肿瘤定位的平均准确率为76.9%,肿瘤早期检测的敏感性为86.1%,特异性为94.7%^[38]。

专家共识:通过检测一种或几种在多种癌症中普遍存在的DNA甲基化标志物能够快速地对多种癌症进行初步筛查。这种方法适用于大规模的人群筛查,尤其是在资源有限的情况下,可以作为一种经济、有效的筛查手段。此外,结合了组织溯源技术的多个肿瘤标志物组合筛查策略,提供了更为精确的筛查结果,但这种策略的技术要求及成本更高。在选择适合的癌症筛查策略时,医疗专业人员需要综合考虑筛查的目的、目标人群的特点、可用的医疗资源以及患者的具体情况。(证据级别:2级;专家推荐等级:强推荐)

3.3 DNA甲基化标志物在肿瘤筛查中的优势

DNA甲基化标志物在肿瘤筛查中有几大优势:(1)具备肿瘤特异性。在不同的肿瘤阶段,DNA甲基化位置和甲基化水平存在差异,而异常的DNA甲基化是肿瘤的特征之一。(2)发生在肿瘤早期甚至癌前病变阶段。这些DNA甲基化的表观遗传变化大部分发生在肿瘤的早期,并持续存在于肿瘤发展全程,且在全部肿瘤类型中普遍存在。(3)可以液体活检。肿瘤组织中的DNA甲基化片段可以释放到血液和体液中,以ctDNA的形式存在,并可在血液中被稳定地检测。(4)不受干扰。克隆造血导致的突变对检测血液中ctDNA的突变造成很大的影响,而检测ctDNA的甲基化不受影响。因此,在基于血液ctDNA的液体活检中,检测ctDNA甲基化比检测ctDNA突变更准确。

4 DNA甲基化标志物用于肿瘤辅助诊断

4.1 DNA甲基化标志物用于组织病理学检测

病理诊断(包括细胞和组织病理学检查)可能会受标本质量和病理学家诊断水平的影响,新兴的分子诊断方法如DNA甲基化检测具有良好的组织特异性,更加敏感和客观,可以克服形态学诊断的固有缺陷。

4.1.1 DNA甲基化用于辅助病理诊断 国内肺癌研究数据显示^[39],在病理诊断模棱两可的时候,穿刺活检FFPE样本的*SHOX2*和*RASSF1A*甲基化检测的特异性为90.4%,敏感性为89.8%。甲状腺癌也是我国高发癌种,甲状腺穿刺的形态病理诊断也是工作难点,利用甲基化芯片可以有效区分甲状腺良恶性病变,敏感性为94.3%,特异性为82.4%^[40]。*TIMP3*、*RARB2*、*SERPINB5*、*RASSF1*、*TPO*和*TSHR*等6种基因甲基化组合在区分甲状腺乳头状癌和正常甲状腺组织时表现出91%的敏感性和81%的特异性^[41]。乳腺穿刺样本可以通过10个甲基化指标的检测组合进行良恶性区分,AUC值达0.960^[42]。前列腺穿刺可以使用*PITX2*甲基化辅助诊断^[43]。穿刺病理联合甲基化检测作为辅助诊断可以进一步提升诊断效力,减少漏诊。

4.1.2 DNA甲基化用于病理亚分型 不同病理亚分型与患者的治疗方案及预后密切相关,DNA甲基化标志物用于分子分型,也可以作为评估肿瘤侵袭性的方式之一。脑胶质瘤是临床上常见的一类颅脑肿瘤,其构成比在脑肿瘤中高达60%。《2020版美国国立综合

癌症网络脑胶质瘤临床实践指南》指出MGMT基因启动子甲基化是所有高级别脑胶质瘤(Ⅲ级和Ⅳ级)分子诊断的重要部分,其启动子甲基化是脑胶质瘤患者预后的独立预测因子^[44-45]。2019年,NMPA批准石蜡组织切片MGMT基因甲基化诊断试剂盒应用于临床。国外研究团队创建了一个中枢神经系统肿瘤分类器^[46],该分类器中76%的病理形态学和甲基化分级一致,12%的病例根据甲基化图谱获得了修订诊断。

专家共识:肿瘤DNA甲基化检测可以在病理诊断困难的标本中辅助提高诊断准确性(证据级别:3级,推荐等级:强推荐)。肿瘤DNA甲基化标志物能进行更精确的分子分型,指导治疗和预后评估,如MGMT启动子甲基化检测(证据级别:1级;推荐等级:强推荐)。甲基化分类器模型应用在中枢神经系统肿瘤分子分型中将进一步提高其病理诊断的准确性。

4.2 DNA甲基化标志物用于脱落细胞学检测

目前常见的含有肿瘤脱落细胞的标本类型主要有脑脊液、胸腔积液、腹腔积液、尿液、肺泡灌洗液等体液,以及粪便、宫腔表面刷取物、痰液等。

4.2.1 脱落细胞甲基化标志物用于女性生殖道肿瘤的临床诊断 女性生殖道内腔的通畅性让刷取宫颈脱落细胞进行无创分子检测子宫颈癌、子宫内膜癌成为可能。上海交通大学附属国际和平妇幼保健院团队对宫颈脱落细胞学检查的剩余样本进行PCDHGB7基因甲基化检测,PCDHGB7检测≥宫颈高级别鳞状上皮内瘤变的敏感性和特异性分别为82.1%和88.7%,检测宫颈癌的AUC为0.97^[33]。两项中国大型临床研究分别使用PCDHGB7甲基化和PAX1甲基化进行高危型HPV阳性女性的分层管理,诊断的敏感性分别为82.4%和76.9%,特异性分别为91.1%和91.6%^[31,47]。国内外研究与专家建议^[48-50],推荐子宫颈癌DNA甲基化筛检临床路径(图1):(1)HPV阳性高风险或细胞学异常女性的分层管理;(2)宫颈Ⅲ型转化区与潜在腺癌病人风险评估;(3)病变(癌)治疗后监测;(4)退出宫颈癌筛查计划的评估。

40%~50%的子宫内膜癌患者的宫颈脱落细胞可检测到子宫内膜癌细胞,这在使用脱落细胞进行内膜癌甲基化早期诊断具临床可行性^[51]。通过宫颈口脱落细胞检测子宫内膜癌,PCDHGB7甲基化对早期(I期)子宫内膜癌诊断的敏感性为85.71%,特异性为

80.60%^[52],目前基于该基因的检测产品已获得欧盟CE认证。CDO1和CELF4甲基化检测的敏感性和特异性分别为87.5%和90.8%^[53],BHLHE22/CDO1/HAND2的敏感性和特异性分别为87.0%和86.0%^[54]。卫生棉条收集阴道样本与医师采样可达到一致的DNA甲基化检测水平^[55]。国内外研究与专家建议^[56-57],推荐子宫内膜癌DNA甲基化筛检临床路径:(1)影像学联合甲基化筛检;(2)生殖道出血分层管理;(3)子宫内膜癌高风险人群筛查。

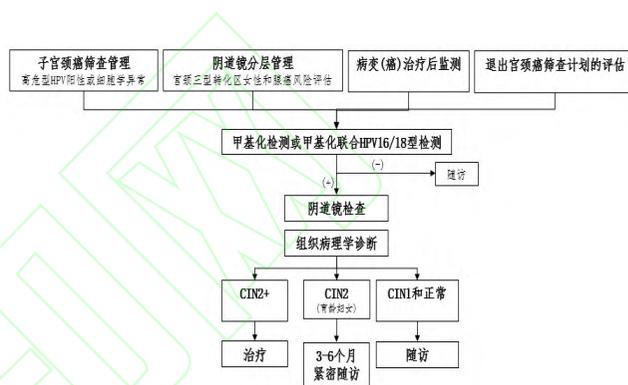


图1 子宫颈癌DNA甲基化检测建议流程图

4.2.2 脱落细胞甲基化标志物用于膀胱癌的辅助诊断 国内目前针对人尿液脱落细胞检测试剂盒有2款被NMPA批准,分别是人类TWIST1基因甲基化检测试剂盒和人类ONECUT2/VIM基因甲基化检测试剂盒^[58],检测敏感性分别为88.2%和91.2%;特异性分别为86.8%和85.7%。一些基于尿液脱落细胞DNA甲基化检测早期膀胱癌的产品被FDA/CE批准上市,如AssureMDx(MDx Health, Irvine, CA, USA)及TAGMe®(Epiprobe, Shanghai, China)。AssureMDx检测膀胱癌敏感性为93%,特异性为86%^[59],TAGMe®检测尿液中SIX6甲基化的状态,其诊断尿路上皮癌的敏感性为86.67%,特异性为90.80%^[34],该产品已获欧盟CE认证,并于2023年获得FDA的“突破性医疗器械认定”。

4.2.3 脱落细胞甲基化标志物用于结直肠癌的临床诊断 2014年,FDA批准全球第一款基于粪便脱落细胞DNA检测的肠癌早筛试剂盒Cologuard,用于结直肠癌高危风险人群筛查^[60]。其包含有免疫法粪便潜血试验、KRAS突变检测、NDRG4和BMP3基因的甲基化检测。国内多款粪便脱落细胞甲基化检测试剂盒也是基于这些指标进一步改善和提高试剂盒的诊

断效能。针对国产试剂盒的研究数据表明,粪便基因甲基化检测对 I、II 期结直肠癌的诊断敏感性可达 95.45%, 特异性为 81.6%, 适合用于其辅助诊断^[61]。粪便基因甲基化检测存在的问题包括患者的依从性差、样本现场获取困难、异质性高以及粪便样本检测科室接受度差等。居家采样结合实验室检测的模式可能更适合粪便样本检测^[62]。

4.2.4 脱落细胞甲基化标志物用于肺癌的辅助诊断 国内相关研究显示,肺泡灌洗液中联合 *SHOX2* 和 *RASSF1A* 甲基化检测对肺癌的总体诊断敏感性和特异性分别为 72.8% 和 87.1%, 敏感性显著高于细胞学检查^[63]。该试剂盒已被 NMPA 批准用于肺癌高风险人群辅助诊断。通过检测肺泡灌洗液样本中的 *HIST1H4F* 甲基化水平诊断肺癌, 其特异性为 96.7%, 敏感性为 87.0%, 其中针对 I~II 期肺癌的敏感性为 82.6%~84.5%^[32]。有团队构建基于胸水脱落细胞的 *PCDHGB7* 甲基化诊断模型, 判断肺癌是否出现胸膜转移的敏感性为 94.21%^[64]。

专家共识:脱落细胞 DNA 甲基化检测是一种新型的、便捷的、无创的辅助癌症早筛早诊工具。脱落细胞甲基化检测辅助宫颈癌、膀胱癌、结直肠癌及肺癌诊断已获 NMPA 批准, 具备临床可行性, 但仍需要在国内更多临床数据验证下完善 DNA 甲基化标志物使用的临床路径(证据等级:2 级;专家推荐等级:强推荐)。

4.3 DNA 甲基化标志物用于血液检测

血液中的 DNA 甲基化标志物可以在癌症发生早期被检测到, 且伴随癌症发展和治疗过程。国内外已经有大量的研究在不同癌种中对血液检测 DNA 甲基化标志物进行探索, 以期能够辅助癌症诊断。

4.3.1 结直肠癌 研究显示外周血中甲基化 *SEPTIN9* 有助于辅助诊断结直肠癌, 敏感性为 80.0%, 特异性为 95.3%, 联合免疫法粪便潜血试验(FIT)可进一步提高结直肠腺瘤的检出率^[65]。此外, 结直肠癌患者血浆样本中 *Septin9*、*SDC2* 及 *BCAT1* 三种基因启动子区域呈高甲基化水平, *Septin9* 联合 *SDC2*、*BCAT1* 具有较好的辅助诊断价值, 敏感性为 82.7%, 特异性为 96.9%, 进一步联合 FIT 和 CEA, 其 AUC 为 0.962^[66]。上述基因检测试剂盒已被 NMPA 批准用于疑似结直肠癌患者的辅助诊断。

4.3.2 胃癌 *SEPTIN9* 与 *RNF180* 基因甲基化在胃癌

患者血浆样本中显著升高, 胃癌检测的敏感性为 61.76%, 特异性为 85.07%^[67]。该基因谱检测试剂盒已被 NMPA 批准用于胃癌家族史或 40 岁以上胃癌高风险人群的检测。*RNF180*、*SEPTIN9* 基因甲基化联合其他肿瘤标志物可进一步提升胃癌诊断敏感性, 一项前瞻性队列研究结果显示 *RNF180*、*SEPTIN9* 联合 CA72-4 检测的总敏感性为 68.6%^[68]。

4.3.3 肺癌 肺癌患者血浆中 *SHOX2* 甲基化水平显著升高, 诊断敏感性为 60%, 特异性为 90%, 相较于肺腺癌, 其诊断小细胞肺癌(80%)和鳞状细胞癌(63%)具有更高的敏感性^[69]。*SHOX2*、*RASSF1A* 及 *PTGER4* 等 3 种基因联合检测表现出良好的区分恶性和良性肺病的性能, 敏感性为 87.0%, 特异性为 98.0%^[70], 上述基因谱检测试剂盒已被 NMPA 批准用于疑似肺癌患者的辅助诊断。

4.3.4 肝癌 国内一项临床研究通过检测肝癌患者血浆 ctDNA 中的 *BMPRI*、*PLAC8*、*ATXN1* 及 *KLF3* 等 10 个基因的甲基化水平, 诊断肝癌的敏感性为 83.3%, 特异性为 90.5%^[30]。目前 *BMPRI* 和 *PLAC8* 基因甲基化试剂盒已被 NMPA 批准用于疑似肝癌患者的辅助诊断。还有研究发现在肝细胞癌患者 ctDNA 中存在大量独立的高甲基化基因位点, 如 *DBX2*、*THY1*、*TGR5*、*MT1M*、*MT1G*、*INK4A*、*VIM*、*FBLN1*、*RGS10*、*ST8SIA6* 和 *RUNX*^[71]。

4.3.5 妇科生殖道肿瘤 相比于现在广泛使用的 CA125, ctDNA 甲基化标志物的优势在于从平均风险人群中识别出早期卵巢癌患者。一项研究使用 *APC*、*RASSF1A*、*CHDH1*、*RUNX3*、*TFP12*、*SRP5* 和 *OPCML* 等 7 种基因的组合甲基化检测卵巢癌, 该组合检测卵巢癌的特异性为 90.57%, 其中检测早期卵巢癌的敏感性为 85.37%, 而 CA125 的敏感性仅为 56.10%, 特异性为 64.15%^[72]。

专家共识:血液 DNA 甲基化标志物检测辅助癌症诊断的证据越来越多, 尤其是 DNA 甲基化标志物在结直肠癌、胃癌、肺癌、肝癌的辅助诊断 PCR 试剂盒已经在国内获批, 但是还需要针对现有的产品不断进行技术优化, 确保 DNA 甲基化检测的可重复性和稳定性(证据等级:2 级;专家推荐等级:强推荐)。DNA 甲基化检测在卵巢癌中同样具有较好的应用前景, 但尚未成熟(证据等级:3 级;专家推荐等级:强推荐)。

4.4 DNA甲基化标志物应用于肿瘤溯源

原发性不明恶性肿瘤(carcinoma of unknown primary, CUP)是一类经病理学诊断为转移性恶性病灶,但是经过常规检查和评估仍不能确定原发部位的异质性肿瘤,占全部肿瘤病例的3%~5%^[73-74]。越来越多的研究证据表明通过对肿瘤甲基化状态的检测,可以实现对肿瘤原发部位的溯源。FERNANDEZ等^[75]通过对1628例肿瘤患者组织标本的甲基化图谱分析,鉴定并识别出24种肿瘤特异性的甲基化改变模式,能用于CUP的肿瘤类型溯源。MORAN等^[76]构建的基于组织DNA甲基化谱的肿瘤类型分类器(EPI-CUP)在7691个肿瘤的验证集中显示出99.6%的特异性和97.7%的敏感性,DNA甲基化谱预测了216例CUP患者中的188例(87%)的原发来源。ZHU等^[77]利用组织特异性单细胞RNA测序数据集构建了一个定义为13种实体组织类型和40种细胞类型的DNA甲基化图谱,结果显示该图谱能够正确地预测不同肿瘤类型的起源细胞。

cfDNA甲基化已被证明是非常有前途的特征性标志物,不仅能检测癌症,还能定位其组织来源^[78]。一项针对cfDNA的测序分析技术在肿瘤早筛中的临床研究,准确预测了75%(95/127)肿瘤样本的组织信号来源^[35]。还有研究开发了组织特异性DNA甲基化标志物,其中肝源性DNA绝对浓度为能更好地区分结直肠癌肝转移患者和无肝转移患者^[79]。STACKPOLE等^[80]开发了基于cfDNA的肿瘤溯源方法并应用于408例结肠癌、肝癌、肺癌和胃癌患者及对照组,在97.9%的特异性下,检测全期和早期癌症的敏感性分别为80.7%和74.5%,溯源全期和早期癌症的准确率分别为89.1%和85.0%。

专家共识:肿瘤溯源是肿瘤临床诊疗的重要工作,可为肿瘤精准治疗提供依据。有别于传统溯源方法,基于组织标本或cfDNA的DNA甲基化检测在肿瘤溯源领域展示出良好的应用前景,但目前尚无获批检测试剂用于临床,后续仍需积累充分的临床验证数据,以建立健全的数据库和优化检测算法,进一步提高溯源技术的灵敏性和特异性(证据等级:3级;专家推荐等级:强推荐)。具体临床实践中仍需结合组织病理进行肿瘤溯源。

5 DNA甲基化标志物在肿瘤伴随诊断中的应用

5.1 DNA甲基化标志物辅助药物的选择

MGMT启动子区域甲基化水平可用于评估脑胶质瘤对替莫唑胺的敏感性,启动子甲基化阳性的患者对替莫唑胺的敏感性高于甲基化阴性的患者^[81]。RASSF10基因甲基化可能是肝癌对多西他赛耐药的标志^[82];QPCT启动子区域的甲基化程度及QPCT的表达水平可以作为预测肾癌对舒尼替尼敏感性的生物学标志物^[83];p16甲基化是预测胃癌对阿贝西利(Abemaciclib)敏感性的潜在标志物^[84];TROP2甲基化可预测乳腺癌对他莫昔芬耐药^[85];ERCC1和MGMT基因甲基化可作为结直肠癌患者对FOLFOX反应的预测标志物^[86];HSP70甲基化通过与BCL2 mRNA结合使其稳定,导致胰腺癌细胞对治疗产生耐药^[87]。

5.2 游离DNA甲基化标志物监测药物反应

随着生物信息学的进步和cfDNA甲基化检测技术的不断成熟,目前已经建立了癌症特异性甲基化模式,使通过检测cfDNA甲基化(血液或其他体液)进行动态监测药物反应成为可能^[88-89]在接受新辅助化疗和/或手术的非小细胞肺癌中,RASSF1A和RARβ2甲基化会下降到健康受试者水平,提示动态检测DNA甲基化水平可以监测其治疗反应。在接受顺铂化疗的肺癌患者中,24h内APC和/或RASSF1A甲基化水平增加与总生存期(overall survival, OS)增加相关^[90]。临床观察发现,对化疗和(或)放疗有反应的晚期肺癌患者在开始治疗后7~10d内血浆中SHOX2甲基化水平下降^[91],且治疗前和治疗后7~10d的高SHOX2甲基化水平与较短的OS相关。在妇科肿瘤中,通过检测cfDNA中MLH1的甲基化水平可预测卵巢癌患者对铂类药物的敏感性^[92];通过检测HOXA9和RAD51C基因的甲基化水平可预测PARPi的治疗效果^[93-94];而检测KANS1L1甲基化水平可预测卵巢癌的免疫治疗疗效^[95]。

专家共识:MGMT基因甲基化水平与脑胶质瘤药物替莫唑胺的敏感性密切相关,该基因的甲基化检测已经成熟应用于临床(证据等级:1级;专家推荐等级:强推荐)。一些基因的DNA甲基化水平与肝癌、胃癌、乳腺癌、肾癌、结直肠癌及胰腺癌的药物敏感性有关,但仍需更多临床试验进一步验证(证据等级:3级;

专家推荐等级:强推荐)。通过检测 cfDNA 的甲基化水平,可以动态监测肺癌和卵巢癌患者对治疗方案的反应,但不同癌种的治疗方式存在差异,且 DNA 甲基化评分标准也不同,在临床应用前需要建立相应质控标准(证据等级:2级;专家推荐等级:强推荐)。

6 DNA 甲基化标志物用于肿瘤预后监测

6.1 DNA 甲基化标志物用于评估肿瘤的微小残余病灶

经手术或治疗后的 MRD 是肿瘤复发的主要原因。DNA 甲基化标志物用于 MRD 分析时不需要获得原发肿瘤特征性的突变信息,其灵敏度不依赖于患者高频突变数量,对 MRD 检测具有很大的潜力^[96]。目前,已有证据证实 DNA 甲基化标志物可应用于 MRD 检测,以此识别术后高复发风险人群,以筛选辅助治疗获益人群,避免复发低风险患者承受过度的治疗。

基于 LUNAR-1 研究结果^[97],利用 ctDNA 突变联合 ctDNA 甲基化对结直肠癌患者进行 MRD 检测及复发监测,与单独 ctDNA 突变相比,整合 ctDNA 甲基化分析的敏感性提高 25%~36%。一项前瞻性 II~III 期临床试验(注册号:NCT00958737)纳入 805 例结直肠癌患者分析了手术前后血浆样本中 ctDNA 甲基化标志物(*WIFI* 和 *NPY*)评估 MRD 与肿瘤复发的关系,发现 ctDNA 阴性组 2 年无病生存率明显高于 ctDNA 阳性组(82% vs 64%)^[98]。另一项 II~III 期回顾性研究纳入 87 例乳腺癌患者,经新辅助化疗后,患者血浆中 ctDNA 基于 *RASSF1A* 启动子的超甲基化(met-ctDNA)水平与残余肿瘤负荷程度显著相关($P=0.008$);同时,术后 1 年 met-ctDNA 阳性患者中(7 例)有 3 例出现肿瘤复发,而 met-ctDNA 阴性患者均未出现^[99]。

专家共识:基于 ctDNA 甲基化标志物的 MRD 分析不需要对肿瘤组织进行测序以获得原发肿瘤的特征性突变信息,并且不受克隆造血导致的突变干扰,可用于结直肠癌和乳腺癌患者术后或其他治疗完全缓解后的 MRD 检测,有望成为肿瘤患者预后风险管理的关键工具(证据等级:2级;专家推荐等级:强推荐)。DNA 甲基化标志物在 MRD 分析上的应用潜力远未完全挖掘,仍需大量的临床数据来支持其扩展至更多癌种,并对现有的技术流程和内容进行深入优化,以进一步提高其临床应用价值。

6.2 DNA 甲基化标志物用于肿瘤复发监测

cfDNA 较短的半衰期使其与肿瘤细胞演进状态密切相关,也使其用于肿瘤复发的动态监测成为可能^[100]。在一项肝癌的大队列临床数据研究中,通过整合全基因组甲基化水平、临床大数据分析和机器学习,建立了含有 8 个甲基化标志物的肝癌预后预测模型,生存曲线显示高风险组生存率均明显低于低风险组,且该预测模型对预后的评估能力优于临床分级^[30]。类似地,基于 ctDNA 甲基化标志物的机器学习算法用于 CRC 患者的预后判断研究发现,治疗后肿瘤残留患者及复发患者的评分较高,此外预后预测模型还能有效预测 CRC 患者的预后和生存期^[101]。还有一项针对 I~III 期 CRC 的多中心、前瞻性队列研究纳入了 299 例患者,分析手术前、手术后、辅助化疗时及化疗结束后血浆中 6 种 ctDNA 甲基化标志物水平,结果发现术后 1 个月 ctDNA 甲基化阳性患者的复发风险是阴性患者的 17.5 倍,而且该甲基化检测提示复发转移早于影像学证据,中位期提前 3.3 个月^[102]。在 CRC 中,cfDNA 甲基化标志物结合血清 CEA 构建评分体系可在临床或影像学发现复发灶之前预测复发,提前的中位天数为 106 d(范围:90~232 d)^[103]。在前列腺癌患者中,多西他赛治疗两个周期后检测不到血清 GSTP1 甲基化的患者生存时间更长,提示血清游离 GSTP1 甲基化可能是一种有潜力的临床试验替代终点和临床决策工具^[104]。

专家共识:DNA 甲基化标志物可用于评估肝癌、结直肠癌及前列腺癌等肿瘤进展及复发的动态监测,优化患者风险分层及治疗措施(证据等级:2级;专家推荐等级:强推荐)。常规复发监测标志物与 DNA 甲基化预测模型相结合可进一步提升预测效能。

7 小结与展望

癌症是全球死亡的主要原因之一,对癌症的“早发现、早诊断、早治疗”可以降低所有类型癌症的死亡率。目前,表观遗传学领域的研究正处于蓬勃发展之中,其中 DNA 甲基化标志物的研究尤为突出,其研究方向包括:(1)深入探讨 DNA 甲基化的调控机制,研究不同甲基化状态下肿瘤的发生、发展以及对治疗的耐药性差异,为后续 DNA 甲基化标志物的开发提供更加扎实的理论依据;(2)在技术层面,致力于开发新型甲基化转化、甲基化检测技术和方法,以提升检测的

特异性和敏感性,并且为临床应用铺平道路;(3)开发组合的生物标志物,将多种DNA甲基化标志物结合与其他类型的生物标志物结合使用,最终构建更可靠的生物标志物模型;(4)利用机器学习和深度学习算法对DNA甲基化数据进行预测分析,构建复杂的算法和模型,从海量的甲基化数据中识别出具有诊断或预后意义的甲基化标志物。本专家共识全面梳理了DNA甲基化标志物的检测技术、临床应用及其在肿瘤

管理中的潜力,提出了一系列具有前瞻性和实践指导意义的共识推荐。未来,期待本共识进一步落地和实践,为患者的健康保驾护航,为医学领域发展贡献更多的智慧和力量。

利益冲突声明:本共识由专家组内部成员讨论得出,讨论过程中,所有参与者均不存在利益冲突,共识专家组成员与生物医药器械企业之间也无利益关系。

编写专家组成员

编写专家组学术顾问

吴开春 空军军医大学西京医院
曾木圣 中山大学附属肿瘤医院
单保恩 河北医科大学第四医院
谢晓冬 沈阳军区总医院

编写专家组组长

于文强 复旦大学
邢金良 空军军医大学基础医学院
聂勇战 空军军医大学西京医院

主要执笔专家(按姓氏拼音排列)

丁春明 复旦大学附属肿瘤医院
郭 玮 复旦大学附属中山医院
毛瑞芳 空军军医大学西京医院
攀伟奇 重庆市中医院
向廷秀 重庆大学附属肿瘤医院
于津浦 天津医科大学肿瘤医院
杨政权 浙江省人民医院
张海伟 重庆大学附属肿瘤医院

编写专家组成员(按姓氏拼音排序)

慈维敏 北京基因组研究所
陈文娟 陕西省肿瘤医院
郝世隽 江苏鹏远生物科技股份有限公司
黄 燕 四川大学华西医院
化 琳 上海奕谱生物科技有限公司

韩晓亮 博尔诚科技有限公司
李 雷 北京协和医院
李文斌 中国医学科学院肿瘤医院
刘禹利 北京起源聚禾生物科技有限公司
卢媛媛 空军军医大学西京医院
刘淑娟 空军军医大学西京医院
李小松 重庆医科大学
刘 洋 空军军医大学唐都医院
马艳侠 陕西中医药大学
申 鹏 南方医科大学南方医院
苏海川 空军军医大学唐都医院
宋文杰 空军军医大学西京医院
王保龙 安徽省立医院
魏 冰 河南省肿瘤医院
杨蓉西 南京医科大学
杨映红 福建医科大学附属协和医院
周 琳 上海长征医院
张 莉 天津市第一中心医院
赵 征 陕西省肿瘤医院
张志伟 北京艾克伦医疗科技有限公司

编写组秘书

李 伟 复旦大学
董亚萍 复旦大学
韩 雷 天津医科大学肿瘤医院
吴洪坤 上海长征医院
虞 倩 复旦大学附属中山医院
袁 睿 重庆市中医院

参 考 文 献

- [1] OCEBM. The Oxford 2011 Levels of Evidence. Oxford Centre for Evidence-Based Medicine [EB/OL]. 2011. <http://www.cebm.net/index.aspx?o=5653>
- [2] MEDVEDEVA Y A, FRIDMAN M V, OPARINA N J, et al. Intergenic, gene terminal, and intragenic CpG islands in the human genome [J]. BMC Genomics, 2010, 11(1):48.
- [3] DUFFY M J, NAPIERALSKI R, MARTENS J W M, et al. Methylated genes as new cancer biomarkers [J]. Eur J Cancer, 2009, 45(3):335-346.
- [4] LISSA D, ROBLES A I. Methylation analyses in liquid biopsy [J]. Transl Lung Cancer Res, 2016, 5(5):492-504.
- [5] 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.
- [6] MARRUGO-RAMÍREZ J, MIR M, SAMITIER J. Blood-Based Cancer Biomarkers in Liquid Biopsy: A Promising Non-Invasive Alternative to Tissue Biopsy [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10):2877.
- [7] PALANCA - BALLESTER C, RODRIGUEZ - CASANOVA A, TORRES S, et al. Cancer Epigenetic Biomarkers in Liquid Biopsy for High Incidence Malignancies [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(12):3016.
- [8] IBRAHIM J, PEETERS M, VAN CAMP G, et al. Methylation biomarkers for early cancer detection and diagnosis: Current and future perspectives [J]. Eur J Cancer, 2023, 178:91-113.
- [9] JIN S, ZHU D, SHAO F, et al. Efficient detection and post-surgical monitoring of colon cancer with a multi-marker DNA methylation liquid biopsy [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2021, 118(5):e2017421118.
- [10] LI F, ZHENG Z, CHEN W, et al. Regulation of cisplatin resistance in bladder cancer by epigenetic mechanisms [J]. Drug Resist Updat, 2023, 68:100938.
- [11] OHNMACHT A J, RAJAMANI A, AVAR G, et al. The pharmacoeconomic landscape of cancer cell lines reveals the epigenetic component of drug sensitivity [J]. Commun Biol, 2023, 6(1):825.
- [12] HEITZER E, VAN DEN BROEK D, DENIS M G, et al. Recommendations for a practical implementation of circulating tumor DNA mutation testing in metastatic non-small-cell lung cancer [J]. ESMO Open, 2022, 7(2):100399.
- [13] MEDDEB R, PISAREVA E, THIERRY A R. Guidelines for the Preanalytical Conditions for Analyzing Circulating Cell-Free DNA [J]. Clin Chem, 2019, 65(5):623-633.
- [14] GEERLINGS M J, HOFSTE L S M, KAMPING E J, et al. Effect of Pneumatic Tube System Transport on Cell-Free DNA [J]. Clin Chem, 2021, 67(2):434-435.
- [15] JUNG M, KLOTZEK S, LEWANDOWSKI M, et al. Changes in concentration of DNA in serum and plasma during storage of blood samples [J]. Clin Chem, 2003, 49(6 Pt 1):1028-1029.
- [16] PARPART-LI S, BARTLETT B, POPOLI M, et al. The Effect of Preservative and Temperature on the Analysis of Circulating Tumor DNA [J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(10):2471-2477.
- [17] VAN GINKEL J H, VAN DEN BROEK D A, VAN KUIK J, et al. Pre-analytical blood sample workup for cell-free DNA analysis using Droplet Digital PCR for future molecular cancer diagnostics [J]. Cancer Med, 2017, 6(10):2297-2307.
- [18] LIU Y, SIEJKA-ZIELIŃSKA P, VELIKOVA G, et al. Bisulfite-free direct detection of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine at base resolution [J]. Nat Biotechnol, 2019, 37(4):424-429.
- [19] KRISTENSEN L S, HANSEN L L. PCR-based methods for detecting single-locus DNA methylation biomarkers in cancer diagnostics, prognostics, and response to treatment [J]. Clin Chem, 2009, 55(8):1471-1483.
- [20] LI X, LIU Y, SHI W, et al. Droplet digital PCR improved the EGFR mutation diagnosis with pleural fluid samples in non-small-cell lung cancer patients [J]. Clin Chim Acta, 2017, 471:177-184.
- [21] 中国核酸质谱应用专家共识协作组. 中国核酸质谱应用专家共识 [J]. 中华医学杂志, 2018, 98(12):895-900.
- [22] EHRICH M, NELSON M R, STANSSENS P, et al. Quantitative high-throughput analysis of DNA methylation patterns by base-specific cleavage and mass spectrometry [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(44):15785-15790.
- [23] LOFTON-DAY C, MODEL F, DEVOS T, et al. DNA methylation biomarkers for blood-based colorectal cancer screening [J]. Clin Chem, 2008, 54(2):414-423.
- [24] CHUNG D C, GRAY D M, SINGH H, et al. A Cell-free DNA Blood-Based Test for Colorectal Cancer Screening [J]. N Engl J Med, 2024, 390(11):973-983.
- [25] IMPERIALE T F, PORTER K, ZELLA J, et al. Next-Generation Multi-target Stool DNA Test for Colorectal Cancer Screening [J]. N Engl J Med, 2024, 390(11):984-993.
- [26] NIE Y, GAO X, CAI X, et al. Combining methylated SEPTIN9 and RNF180 plasma markers for diagnosis and early detection of gastric cancer [J]. Cancer Commun (Lond), 2023, 43(11):1275-1279.
- [27] 中国中西医结合学会检验医学专业委员会. 中国早期胃癌筛查检验技术专家共识 [J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(4):347-359.
- [28] 高静, 来依宁, 卡米拉·库来西江, 等. 支气管肺泡灌洗液中 SHOX2 和 RASSF1A 基因甲基化检测对肺癌的诊断价值 [J]. 中文科技期刊数据库 (全文版) 医药卫生, 2021, 10:144-145.
- [29] LIANG W, CHEN Z, LI C, et al. Accurate diagnosis of pulmonary nodules using a noninvasive DNA methylation test [J]. J Clin Invest, 2021, 131(10):e145973.
- [30] XU R H, WEI W, KRAWCZYK M, et al. Circulating tumour DNA methylation markers for diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. Nat Mater, 2017, 16(11):1155-1161.
- [31] CAO D, YANG Z, DONG S, et al. PCDHGB7 hypermethylation-based Cervical cancer Methylation (CerMe) detection for the triage of high-risk human papillomavirus-positive women: a prospective cohort study [J]. BMC Med, 2024, 22(1):55.
- [32] DONG S, LI W, WANG L, et al. Histone-Related Genes Are Hypermethylated in Lung Cancer and Hypermethylated HIST1H4F Could Serve as a Pan-Cancer Biomarker [J]. Cancer Res, 2019, 79(24):

- 6101-6112.
- [33] DONG S, LU Q, XU P, et al. Hypermethylated PCDHGB7 as a universal cancer only marker and its application in early cervical cancer screening[J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(6): e457.
- [34] DONG S, YANG Z, XU P, et al. Mutually exclusive epigenetic modification on SIX6 with hypermethylation for precancerous stage and metastasis emergence tracing[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 208.
- [35] JAMSHIDI A, LIU M C, KLEIN E A, et al. Evaluation of cell-free DNA approaches for multi-cancer early detection[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(12): 1537-1549.
- [36] GAO Q, LIN Y P, LI B S, et al. Unintrusive multi-cancer detection by circulating cell-free DNA methylation sequencing (THUNDER): development and independent validation studies[J]. *Ann Oncol*, 2023, 34(5): 486-495.
- [37] NGUYEN V T C, NGUYEN T H, DOAN N N T, et al. Multimodal analysis of methylomics and fragmentomics in plasma cell-free DNA for multi-cancer early detection and localization[J]. *eLife*, 2023, 12: RP89083.
- [38] ZHOU X, CHENG Z, DONG M, et al. Tumor fractions deciphered from circulating cell-free DNA methylation for cancer early diagnosis[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 7694.
- [39] SHI J, CHEN X, ZHANG L, et al. Performance Evaluation of SHOX2 and RASSF1A Methylation for the Aid in Diagnosis of Lung Cancer Based on the Analysis of FFPE Specimen[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 565780.
- [40] BARROS-FILHO M C, DOS REIS M B, BELTRAMI C M, et al. DNA Methylation-Based Method to Differentiate Malignant from Benign Thyroid Lesions[J]. *Thyroid*, 2019, 29(9): 1244-1254.
- [41] STEPHEN J K, CHEN K M, MERRITT J, et al. Methylation markers differentiate thyroid cancer from benign nodules[J]. *J Endocrinol Invest*, 2018, 41(2): 163-170.
- [42] DOWNS B M, MERCADO-RODRIGUEZ C, CIMINO-MATHEWS A, et al. DNA Methylation Markers for Breast Cancer Detection in the Developing World[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(21): 6357-6367.
- [43] UHL B, GEVENSLEBEN H, TOLKACH Y, et al. PITX2 DNA Methylation as Biomarker for Individualized Risk Assessment of Prostate Cancer in Core Biopsies[J]. *J Mol Diagn*, 2017, 19(1): 107-114.
- [44] 樊星, 刘幸, 柴睿超, 等. 2020版美国国立综合癌症网络胶质瘤临床实践指南解读[J]. *中华神经外科杂志*, 2021, 37(6): 541-545.
- [45] KESSLER T, SCHRIMPF D, DOERNER L, et al. Prognostic markers of DNA methylation and NGS sequencing in progressive glioblastoma from the EORTC-26101 trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2023, 29(19): 3892-3900.
- [46] CAPPER D, JONES D T W, SILL M, et al. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours[J]. *Nature*, 2018, 555(7697): 469-474.
- [47] CHANG C L, HO S C, SU Y F, et al. DNA methylation marker for the triage of hrHPV positive women in cervical cancer screening: Real-world evidence in Taiwan[J]. *Gynecol Oncol*, 2021, 161(2): 429-435.
- [48] STEENBERGEN R D, SNIJDERS P J, HEIDEMAN D A, et al. Clinical implications of (epi) genetic changes in HPV-induced cervical precancerous lesions[J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(6): 395-405.
- [49] KREMER W W, STEENBERGEN R, HEIDEMAN D, et al. The use of host cell DNA methylation analysis in the detection and management of women with advanced cervical intraepithelial neoplasia: a review[J]. *BJOG*, 2021, 128(3): 504-514.
- [50] 陈飞, 王华庆, 赵方辉. 中国子宫颈癌三级规范化防治蓝皮书[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2023: 90-92.
- [51] FRIAS-GOMEZ J, BENAVENTE Y, PONCE J, et al. Sensitivity of cervico-vaginal cytology in endometrial carcinoma: A systematic review and meta-analysis[J]. *Cancer Cytopathol*, 2020, 128(11): 792-802.
- [52] YUAN J, MAO Z, LU Q, et al. Hypermethylated PCDHGB7 as a Biomarker for Early Detection of Endometrial Cancer in Endometrial Brush Samples and Cervical Scrapings[J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 774215.
- [53] 孔令华, 肖晓萍, 万茹, 等. DNA甲基化检测在绝经后女性子宫内膜癌筛查中的应用价值[J]. *中华医学杂志*, 2023, 103(12): 907-912.
- [54] LIEW P L, HUANG R L, WU T I, et al. Combined genetic mutations and DNA-methylated genes as biomarkers for endometrial cancer detection from cervical scrapings[J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1): 170.
- [55] BAKKUM-GAMEZ J N, WENTZENSEN N, MAURER M J, et al. Detection of endometrial cancer via molecular analysis of DNA collected with vaginal tampons[J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 137(1): 14-22.
- [56] ST LAURENT J, ELIAS K M. Non-invasive DNA methylation-based testing for the diagnosis of endometrial cancer[J]. *Lancet Oncol*, 2023, 24(12): 1291-1292.
- [57] HERZOG C, MAR N F, JONES A, et al. A Simple Cervicovaginal Epigenetic Test for Screening and Rapid Triage of Women With Suspected Endometrial Cancer: Validation in Several Cohort and Case/Control Sets[J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(33): 3828-3838.
- [58] RUAN W, CHEN X, HUANG M, et al. A urine-based DNA methylation assay to facilitate early detection and risk stratification of bladder cancer[J]. *Clin Epigenetics*, 2021, 13(1): 91.
- [59] VAN KESSEL K E, BEUKERS W, LURKIN I, et al. Validation of a DNA Methylation-Mutation Urine Assay to Select Patients with Hematuria for Cystoscopy[J]. *J Urol*, 2017, 197(3): 590-595.
- [60] IMPERIALE T F, RANSOHOFF D F, ITZKOWITZ S H, et al. Multi-target stool DNA testing for colorectal-cancer screening[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(14): 1287-1297.
- [61] XU H, CHEN H, HU J, et al. Feasibility of quantification based on novel evaluation with stool DNA and fecal immunochemical test for colorectal cancer detection[J]. *BMC Gastroenterol*, 2022, 22(1): 384.
- [62] 刘益飞. DNA甲基化检测助力肿瘤早期筛查和诊断[J]. *诊断学理论与实践*, 2023, 22(4): 393-401.
- [63] ZHANG J, HUANG H, YU F, et al. A comprehensive diagnostic scheme of morphological combined molecular methylation under bronchoscopy[J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1133675.
- [64] MAO Z, DONG S, YAN Y, et al. Diagnosis of malignant body fluids via cancer-universal methylation in cell-free DNA[J]. *JCI insight*, 2024, 9(7): e175482.
- [65] 吴东, 杨红, 李玥, 等. 外周血甲基化Septin9基因联合粪便免疫化

- 学试验对专科门诊患者结直肠癌和腺瘤的筛查[J].中华消化杂志,2016,36(2):107-112.
- [66] XU F, YU S, HAN J, et al. Detection of Circulating Tumor DNA Methylation in Diagnosis of Colorectal Cancer[J]. Clin Transl Gastroenterol, 2021, 12(8): e00386.
- [67] 赵路瑶. 外周血SEPT9基因甲基化检测在胃癌诊断中的研究进展[J]. 天津医科大学学报, 2022, 28(2): 218-221.
- [68] XU J, SONG J, WANG T, et al. A combination of methylation and protein markers is capable of detecting gastric cancer detection by combined markers[J]. Epigenomics, 2021, 13(19): 1557-1570.
- [69] KNEIP C, SCHMIDT B, SEEGBARTH A, et al. SHOX2 DNA methylation is a biomarker for the diagnosis of lung cancer in plasma[J]. J Thorac Oncol, 2011, 6(10): 1632-1638.
- [70] WEI B, WU F, XING W, et al. A panel of DNA methylation biomarkers for detection and improving diagnostic efficiency of lung cancer[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 16782.
- [71] WU X, LI J, GASSA A, et al. Circulating tumor DNA as an emerging liquid biopsy biomarker for early diagnosis and therapeutic monitoring in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(9): 1551-1562.
- [72] ZHANG Q, HU G, YANG Q, et al. A multiplex methylation-specific PCR assay for the detection of early-stage ovarian cancer using cell-free serum DNA[J]. Gynecol Oncol, 2013, 130(1): 132-139.
- [73] PAVLIDIS N, BRIASOULIS E, PENTHEROUDAKIS G. Cancers of unknown primary site: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J]. Ann Oncol, 2010, 21 (Suppl 5): v228-v231.
- [74] PAVLIDIS N, PENTHEROUDAKIS G. Cancer of unknown primary site[J]. Lancet, 2012, 379(9824): 1428-1435.
- [75] FERNANDEZ A F, ASSENOV Y, MARTIN-SUBERO J I, et al. A DNA methylation fingerprint of 1628 human samples [J]. Genome Res, 2012, 22(2): 407-419.
- [76] MORAN S, MART NEZ-CARD S A, SAYOLS S, et al. Epigenetic profiling to classify cancer of unknown primary: a multicentre, retrospective analysis[J]. Lancet Oncol, 2016, 17(10): 1386-1395.
- [77] ZHU T, LIU J, BECK S. A pan-tissue DNA methylation atlas enables in silico decomposition of human tissue methylomes at cell-type resolution[J]. Nat Methods, 2022, 19(3): 296-306.
- [78] LIU M C, OXNARD G R, KLEIN E A, et al. Sensitive and specific multi-cancer detection and localization using methylation signatures in cell-free DNA[J]. Ann Oncol, 2020, 31(6): 745-759.
- [79] GAI W, JI L, LAM W K J, et al. Liver- and Colon-Specific DNA Methylation Markers in Plasma for Investigation of Colorectal Cancers with or without Liver Metastases[J]. Clin Chem, 2018, 64(8): 1239-1249.
- [80] STACKPOLE M L, ZENG W, LI S. Cost-effective methylome sequencing of cell-free DNA for accurately detecting and locating cancer[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 5566.
- [81] HEGI M E, DISERENS A C, GORLIA T, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma[J]. N Engl J Med, 2005, 352(10): 997-1003.
- [82] JIN Y, CAO B, ZHANG M, et al. RASSF10 suppresses hepatocellular carcinoma growth by activating P53 signaling and methylation of RASSF10 is a docetaxel resistant marker[J]. Genes Cancer, 2015, 6(5-6): 231-240.
- [83] ZHAO T, BAO Y, GAN X, et al. DNA methylation-regulated QPCT promotes sunitinib resistance by increasing HRAS stability in renal cell carcinoma[J]. Theranostics, 2019, 9(21): 6175-6190.
- [84] BAE H J, KANG S K, KWON W S, et al. p16 methylation is a potential predictive marker for abemaciclib sensitivity in gastric cancer[J]. Biochem Pharmacol, 2021, 183: 114320.
- [85] ZIMMERS S M, BROWNE E P, WILLIAMS K E, et al. TROP2 methylation and expression in tamoxifen-resistant breast cancer[J]. Cancer Cell Int, 2018, 18: 94.
- [86] JAMAI D, GARGOURI R, SELMI B, et al. ERCC1 and MGMT Methylation as a Predictive Marker of Relapse and FOLFOX Response in Colorectal Cancer Patients from South Tunisia [J]. Genes (Basel), 2023, 14(7): 1467.
- [87] WANG L, JIA Z, XIE D, et al. Methylation of HSP70 Orchestrates Its Binding to and Stabilization of BCL2 mRNA and Renders Pancreatic Cancer Cells Resistant to Therapeutics[J]. Cancer Res, 2020, 80(20): 4500-4513.
- [88] 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]. Nat Genet, 2017, 49(4): 635-642.
- [89] TOMASIK B, SKRZYPSKI M, BIENKOWSKI M, et al. Current and future applications of liquid biopsy in non-small-cell lung cancer-a narrative review[J]. Transl Lung Cancer Res, 2023, 12(3): 594-614.
- [90] WANG H, ZHANG B, CHEN D, et al. Real-time monitoring efficiency and toxicity of chemotherapy in patients with advanced lung cancer[J]. Clin Epigenetics, 2015, 7: 119.
- [91] SCHMIDT B, BEYER J, DIETRICH D, et al. Quantification of cell-free mSHOX2 Plasma DNA for therapy monitoring in advanced stage non-small cell (NSCLC) and small-cell lung cancer (SCLC) patients [J]. PLoS One, 2015, 10(2): e0118195.
- [92] FANG F, CARDENAS H, HUANG H, et al. Genomic and Epigenomic Signatures in Ovarian Cancer Associated with Resensitization to Platinum Drugs[J]. Cancer Res, 2018, 78(3): 631-644.
- [93] RUSAN M, ANDERSEN R F, JAKOBSEN A, et al. Circulating HOXA9-methylated tumour DNA: A novel biomarker of response to poly (ADP-ribose) polymerase inhibition in BRCA-mutated epithelial ovarian cancer[J]. Eur J Cancer, 2020, 125: 121-129.
- [94] NESIC K, KONDRASHOVA O, HURLEY R M, et al. Acquired RAD51C Promoter Methylation Loss Causes PARP Inhibitor Resistance in High-Grade Serous Ovarian Carcinoma [J]. Cancer Res, 2021, 81(18): 4709-4722.
- [95] FEJZO M S, CHEN H W, ANDERSON L, et al. Analysis in epithelial ovarian cancer identifies KANSL1 as a biomarker and target gene for immune response and HDAC inhibition [J]. Gynecol Oncol, 2021, 160(2): 539-546.
- [96] SHEN S Y, SINGHANIA R, FEHRINGER G, et al. Sensitive tumour detection and classification using plasma cell-free DNA methylomes[J]. Nature, 2018, 563(7732): 579-583.
- [97] PARIKH A R, VAN SEVENTER E E, SIRAVEGNA G, et al. Minimal

- Residual Disease Detection using a Plasma-only Circulating Tumor DNA Assay in Patients with Colorectal Cancer[J].*Clin Cancer Res*, 2021, 27(20):5586-5594.
- [98] TAIEB J, TALY V, VERNEREY D, et al. LBA30_PR Analysis of circulating tumour DNA (ctDNA) from patients enrolled in the IDEA-FRANCE phase III trial: Prognostic and predictive value for adjuvant treatment duration[J].*Ann Oncol*, 2019, 30(Suppl 5):v867.
- [99] TAKAHASHI H, KAGARA N, TANEI T, et al. Correlation of Methylated Circulating Tumor DNA With Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer Patients[J].*Clin Breast Cancer*, 2017, 17(1):61-69.
- [100] TUAEVA N O, FALZONE L, POROZOV Y B, et al. Translational Application of Circulating DNA in Oncology: Review of the Last Decades Achievements[J].*Cells*, 2019, 8(10):1251.
- [101] LUO H, ZHAO Q, WEI W, et al. Circulating tumor DNA methylation profiles enable early diagnosis, prognosis prediction, and screening for colorectal cancer[J].*Sci Transl Med*, 2020, 12(524):eaax7533.
- [102] MO S, YE L, WANG D, et al. Early Detection of Molecular Residual Disease and Risk Stratification for Stage I to III Colorectal Cancer via Circulating Tumor DNA Methylation[J].*JAMA Oncol*, 2023, 9(6):770-778.
- [103] ZHU M, TAYLOR W R, MAHONEY D W, et al. Plasma Assay of Cell-Free Methylated DNA Markers of Colorectal Cancer: A Tumor-Agnostic Approach to Monitor Recurrence and Response to Anticancer Therapies[J].*Cancers (Basel)*, 2023, 15(24):5778.
- [104] MAHON K L, QU W, LIN H M, et al. Serum Free Methylated Glutathione S-transferase 1 DNA Levels, Survival, and Response to Docetaxel in Metastatic, Castration-resistant Prostate Cancer: Post Hoc Analyses of Data from a Phase 3 Trial[J].*Eur Urol*, 2019, 76(3):306-312.

[收稿 2024-03-19][编辑 罗惠予]

本文引用格式

中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会. 肿瘤DNA甲基化标志物检测及临床应用专家共识(2024版)[J]. 中国癌症防治杂志, 2024, 16(2):129-143.