
基因检测与科学合理用药

——王春政博士关于肿瘤精准医疗的专题讲座记录

谨以此文献给广大肿瘤患者。

愿本文能给予患者一些诊疗方面的启迪，帮助肿瘤患者更加及时、精准地治疗、减少不必要的经济支出、在诊疗过程中少走弯路。

主讲人：华大基因 王春政博士

讲座时间：2016年5月30日

音频剪辑与文字整理：Nefelibata

讲座地点：“探索的心肿瘤免疫探讨”QQ群

(讲座录音可在群内免费下载 群号：457189526)



目 录

基本概念篇

什么是肿瘤	3
为什么有的基因检测会出现“没有基因突变”的结果	3
癌细胞与正常体细胞的相异之处	3
与肿瘤发生、发展相关的基因较多	4
肿瘤为什么要用二代基因测序做很多个基因	6
复杂的信号通路	6

肿瘤高度异质性和进化

肿瘤的异质性	9
用组织做基因检测是不是最好的	9
EGFR 基因获得性耐药的分子机制	10
通过肿标趋势辅助判断耐药	11
AZD9291 的常见耐药机制	12
ALK 耐药突变与耐药性	13

抽血做基因检测的可行性

为什么可以抽血做肿瘤基因突变检测	14
为什么患者抽血做基因检测前最好不要放化疗	15
肿瘤在空间的异质性	15
使用多种生物标本测 T790M 突变的一致性	16
Oseq™-Drug 个体化诊疗基因检测（本节有广告之嫌，敏感者请跳过）	17

肿瘤的遗传性探讨

肿瘤会遗传吗	18
遗传性肿瘤和散发性肿瘤的关系	18
遗传性肿瘤基因检测	19

化疗中的基因检测

化疗用药指导	21
基因检测对选择化疗用药的指导意义	22
药敏试验	23

• 什么是肿瘤

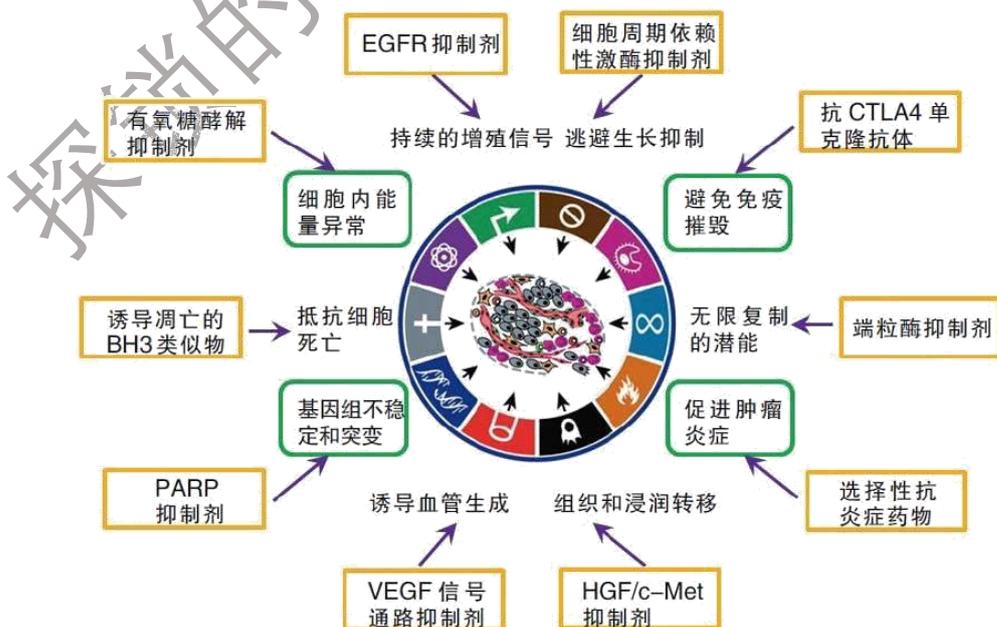
肿瘤是一类病，无论肺癌、肠癌、肝癌等任何癌种，其特点是人体体细胞正常的基因发生了一些突变，突变导致了人体细胞的生长、复制、分裂失控。正常细胞的分裂、停止有很好的逻辑性关系；而发生了基因突变的肿瘤细胞，生长就失控了，它们疯狂地、不受控制地分裂、增殖，就像一辆一直踏着油门的汽车一样，乱冲乱撞。所以给肿瘤下一个非常清晰的定义：肿瘤是一类基因突变导致的体细胞恶性增殖的疾病。

• 为什么有的基因检测会出现“没有基因突变”的结果

没有基因突变是不会产生肿瘤的。没有找到基因突变的可能：1.检测的基因个数过少。比如 EGFR 在肺腺癌中约有 50%的突变频率，如果只做了 EGFR 这一个基因检测，那么有一半的概率是漏检的。检测的基因数越多，漏检的概率越低。2.取样组织不准确。比如取到了癌旁，没有取到癌组织，也会导致检测不到基因突变。3.抽外周血做基因检测时：外周血中存在很多种基因片段，肿瘤的基因片段可能存在比较少，故而导致检测结果的假阴性。后面会讲到用外周血做基因检测并非完美，在使用时务必谨慎。

• 癌细胞与正常体细胞的相异之处

如图，共 10 个方面：(Cell, Volume 144, Issue 5, 646-674, 4 March 2011)



下面选择部分特点简要讲解：

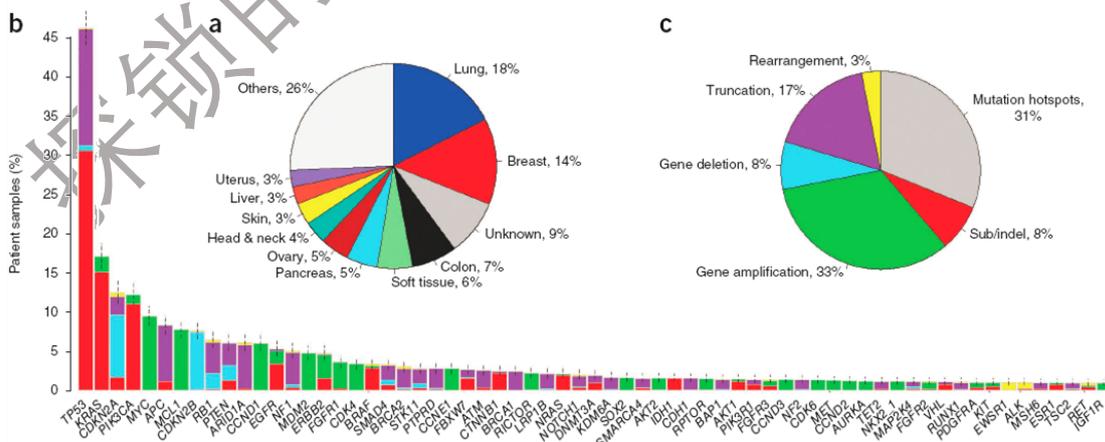
1.免疫系统无法较好地识别癌细胞，或根本无法识别。一般来说，人体都会产生若干癌细胞，通常会被免疫系统识别，进而杀灭。导致人体产生症状的肿瘤，基本上是癌细胞在发生突变、又和免疫系统的焦灼、争斗中占据了上风，存活下来的癌细胞。所以肿瘤一般有避免免疫摧毁的潜力。

2.癌细胞具有诱导血管生成的能力。探锁的心有一篇帖子是讲，一般转移灶在较小时，可能没有诱导血管生成的能力，如果手术切除了原发灶，人体会产生大量的促血管生成因子，这时转移灶有可能“趁火打劫”，诱导附近的血管生成，转移灶有可能会失控。

3.癌细胞具有基因组的不稳定性。癌细胞每分裂一次，其基因会随机产生很多突变，而且癌细胞会把随机产生基因突变的能力作为其生存优势。因为癌细胞其实自己也不知道它究竟会有一些什么样的变化能够更好地耐药、或者说能够在药物的选择压力下存活下来、或者说能够避免免疫系统的攻击，所以它倾向于随机地产生大量的基因突变。包括 T790M 突变和 C797S 突变都是随机产生的，这个突变导致了癌细胞具有一定的生存优势，表现得好像是肿瘤看起来很聪明似的，产生了基因突变，耐药了。其实耐药的癌细胞是千百万种癌细胞筛选下来的。

4.肿瘤具有细胞能量代谢异常的特点。之所以能用 PET/CT 可以检测到肿瘤，是因为癌细胞相比正常细胞消耗大量的葡萄糖，代谢、分裂活力旺盛。

● 与肿瘤发生、发展相关的基因较多



Garrett M Frampton et al, *Nature Biotechnology* 31, 1023–1031 (2013)

人体有三万多个基因，与肿瘤相关的基因约有 500~600 个，但这些基因并非

全部有相应的药物。目前与驱动肿瘤增殖的、且有相应药物的基因只有几十个。其他基因可能涉及到耐药、信号通路一些靶点，所以有时会测五百个、四百个、二百个、几十个基因。个人感觉，测几十个基因目前是效价比最高的产品，因为它基本覆盖了目前所有有药可控的基因。对于只检测十几个基因、八九个基因的产品，对于肺腺癌是较为适宜的，但对于肺鳞癌来说就显得覆盖率比价低了，尤其是肺鳞癌基因突变很少是 EGFR、K-ras 这些，它更多的是 FTK11、FGFR1、DDR2 这些基因，所以就要用尽可能多地覆盖到肺鳞癌基因突变。

曾给乔布斯做过基因检测的美国 Fundition-1 公司（也是最早开展二代基因测序的公司）为美国的肿瘤患者做基因检测，测二、三百个基因，他们发表在 Nature 一个子刊上的文章提出癌症患者的基因突变频率是有高有低的。由图可见，欧美裔肺腺癌患者的 EGFR 基因突变频率比较低，只有百分之十几；而亚洲裔患者的 EGFR 基因突变频率会高一些，约 50%。除了 EGFR，其他基因的突变频率都是相当低的，不论人种差异，比如 BRAC1、BRAC2、PIK3CA 等，这些基因突变频率百分比都是个位数。所以很多时候，患者恰好是这个“罕见”的基因突变，如果测的基因范围较小，就会导致漏检，且若患者做完检测已经没有了组织样本，就会延误了患者本应享受的、合理的治疗。所以对于患者来说，在有组织样本的情况下，最好一次性做几十个、甚至数百个基因检测，其实并不是太贵，有些医院做两个基因就五六千块钱，与其如此，倒不如添点钱做几十个、数百个基因，把所有可能突变的基因都尽可能覆盖，看看究竟是什么基因突变导致的肿瘤。如果突变的基因有药可治，可以服用对应的靶向药物；如果突变的基因位点恰好目前没有靶向药，那就安心化疗，不用去做一些无谓的尝试（盲试易瑞沙、特罗凯……），既耽误时间、又浪费钱，没有必要。

不要去和别人比较——其他有些患者盲试有效了，那么我也会有效？这是不一定的，因为他们可能有一定的漏检率（蒙对了，就是 EGFR 突变）。如果是 c-Met、Her2 等等其他的基因突变导致的肿瘤，试易瑞沙、特罗凯就不管用。所以，肺腺癌的患者可以盲试一个月特罗凯，如果无效，那么就马上停止盲试，接下来可以做个基因检测，或者再盲试克唑替尼（针对 ALK、ROS1 基因融合的靶向药物），不建议再盲试其他药。不要和其他患者比，因为每一个肿瘤患者都是独一无二的。

如果经皮穿刺或者纤维支气管镜取到了一点非常珍贵的肿瘤样本，就把这些样本做一个基因检测。这是最好的处理办法。但千万不要只测一两个基因，虽然

部分医生常说“反正中国目前上市的药物只针对这两个基因”。其实除了这两个基因，针对 c-Met、Her2 等基因的几十种药物都可以找得到。所以在诊疗方面上，不要全听医生的。有些医生可能基于自己的某些原因、或是过于保守，他所推荐的方案并不是最恰当的，所以患者（或家属）在诊疗上一定要有主见。如果已经有一份组织样本，那就务必要珍惜、谨慎地去做一个相对全面的基因检测。

● 肿瘤为什么要用二代基因测序做很多个基因

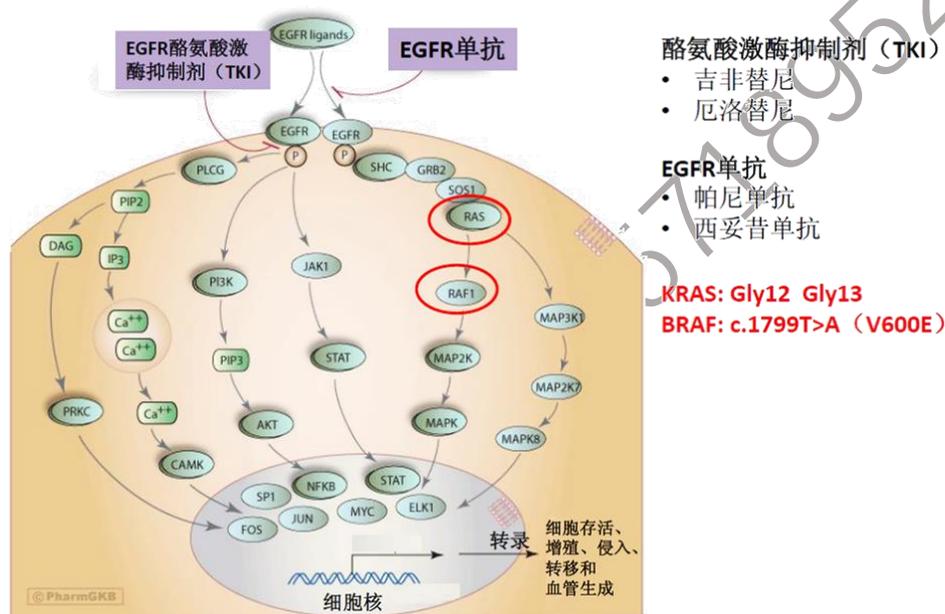
驱动肿瘤增殖的信号通路是很复杂的，很多时候还涉及到旁路的激活、下游耐药基因的激活等等，这些基因突变都会导致肿瘤持续增殖。有位患者说：我测了 EGFR，它是突变的，也测了 K-ras，它是不突变的，这种情况下，为什么我用易瑞沙会无效？在给患者重新做了基因检测后，发现该患者 Her2 位点突变，表示患者对 EGFR 靶点耐药。所以，如果可以同时做几十个、数百个基因，把所有的靶向药敏感的基因突变和耐药的基因突变都进行检测，这样就会减少用药失误，避免用药失误这段时间的肿瘤失控。肿瘤其实跟人在赛跑，如果盲试了一两个月无效的靶向药，肿瘤不等人，它完全有可能会趁机大幅增殖、严重的甚至可能在这段时间发生转移，最终导致失控。故基因检测应全面、系统、不留死角。为什么有的患者可以靠易瑞沙控制多年、有的患者很快耐药，就是因为我们对肿瘤分子机制认识不全面，用药的思路、时机欠考虑。

● 复杂的信号通路

EGFR，表皮生长因子受体（HER）家族成员之一，在非小细胞肺腺癌的基因突变率达 50% 左右，尤其是非吸烟的女性患者，很多是这个基因突变导致的肿瘤。有几种药物可以针对这个靶点，比如易瑞沙、特罗凯、凯美纳。尤其是特罗凯，有入脑的效果，常被认为是这三个药中血药浓度、抑制效果最好的。由于易瑞沙相对较小的副作用，也受部分患者所青睐，但是其入脑效果较特罗凯差。部分易瑞沙耐药的患者，再用特罗凯，依然可以控制肿瘤。曾有临床试验表明，特罗凯的 PFS 和 OS 优于易瑞沙。如果有条件的话，患者最好首先选用特罗凯，而不是易瑞沙耐药、出现脑转再用特罗凯。如果一直用的是特罗凯，脑转可能就不会发生，因为药物持续抑制；若已发生脑转、出现症状再用特罗凯，就有些“亡羊补牢”的意味了。

EGFR 是一个镶嵌在细胞膜上的蛋白，其中，19 号外显因子缺失和是 21 号外显因子 L858R 点突变的情况占 EGFR 突变的 90% 以上的情况，是常见的突变。它们如果发生了激活突变，可以用特罗凯、易瑞沙、凯美纳这些药物去控制。但是在 EGFR 下游，也存在着 K-ras、Braf、PIK3CA 这些基因，如果这些基因发生了激活突变，就会导致其上游的 EGFR 靶点耐药，就不能再用特罗凯、易瑞沙、凯美纳这些药物去覆盖 EGFR 了，而应使用 K-ras 或者 Braf 下游的 MEK 相应的司美替尼、6244、曲美替尼这些药物去阻断。

EGFR 信号通路

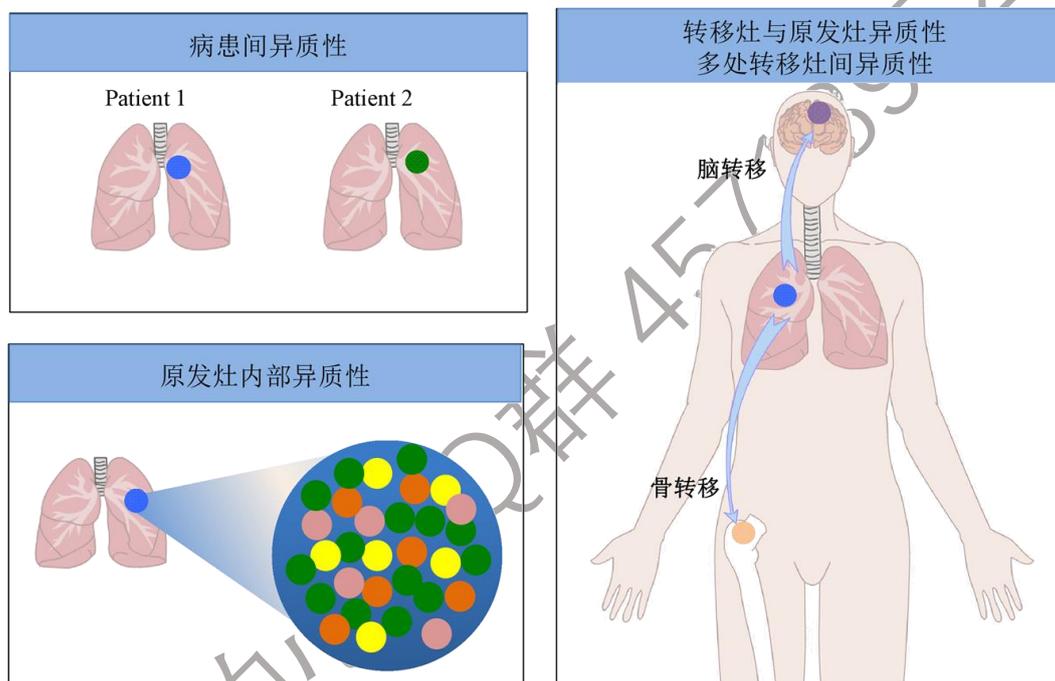


EGFR 有两种突变类型：1.数量突变：EGFR 蛋白并未发生 19 号外显因子缺失突变，也没有发生 21 号外显因子 L858R 突变，只是数量上发生了改变——比如，原来细胞上只有一份 EGFR，现在变成了 10 份或者 20 份。数量突变在肠癌中较为常见，常用药为帕尼单抗和西妥昔单抗。这些药可以结合 EGFR 上游的细胞外的受体，导致 EGFR 内吞，起到控制肿瘤增殖的作用。但是对于肠癌患者来说，EGFR 下游的 K-ras 如果也发生了激活突变，那么西妥昔单抗、爱比妥单抗都无效，应使用贝伐单抗这一针对 VEGF 靶点的、非 EGFR 信号通路的药物去控制。对于肠癌患者，K-ras、Braf 这些基因在肠癌中基本处于中心位置，这两个是否基因突变直接决定了药物选择——是选择爱必妥，还是选择贝伐联合化疗去控制疾病。

对于通过免疫组化/FISH 发现 EGFR 过表达（比如三个加号）的肺癌患者，目前的临床试验结果不支持用西妥昔单抗或者帕尼单抗进行治疗。另有实验数据

药或者印度药，有很多患者吃了三年、五年的。对于肿瘤这种疾病来说，靠靶向药控制三、五年，那么随着科学技术高速发展，五年以后可能就会有更先进的方法来继续控制疾病。有些人一定要得到一个答案——肿瘤能不能“治好”？有没有什么仙丹妙药？答案是没有任何的药物可以保证治愈，只能是尽可能拖延生存时间，以后会有更多的、更先进的方法，人类可以像控制高血压、糖尿病等慢性病一样控制住肿瘤。现在大家要做的就是——拖到五年以上！

• 肿瘤的异质性



肿瘤是一个非常具有异质性的疾病，每一个患者的肿瘤都是独一无二的，天下没有两个完全一样的癌症患者。以上图为例进行解释说明：同样是肺部的病灶，转移到脑的病灶和转移到骨的病灶也是不一样的，不同的病灶基因突变存在差异（不是完全不同）；对于同一个病灶，观察可见同一个部位有很多种癌细胞群，每种癌细胞的基因突变也存在差异，且在它们不断分裂、增殖的过程中，基因突变会倾向于更复杂的突变。这就解释了，为什么不管用什么药物，肿瘤总是会“耐药”。——肿瘤是由千万种癌细胞亚克隆组成的细胞群，这种细胞群可以使得在药物的选择压力下总有一些癌细胞能有“有幸”携带了某个耐药基因，“幸存”下来，它们又不断繁殖，又会产生新的基因突变。

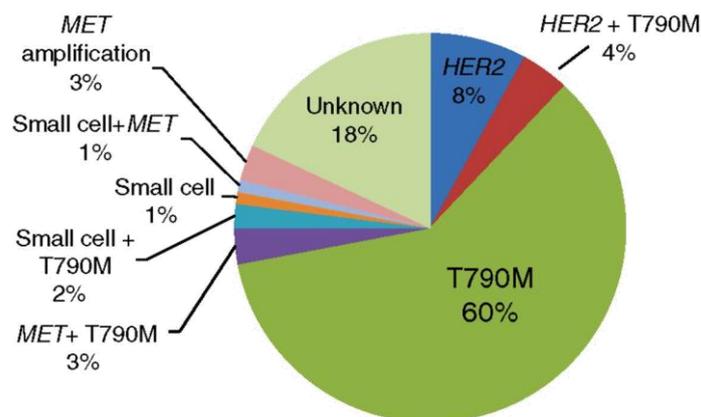
• 用组织做基因检测是不是最好的

并非如此。肿瘤有异质性，而且就算是同一个病灶，取不同的位点所得的癌细胞都不能代表全身其他部位的癌细胞，这就是取样偏差的问题。这个问题是暂时无法解决的。但是用组织做基因检测的可取之处在于取到的组织如果可以确定是癌组织（不是取到了癌旁），那么在测序仪中是一定能测出基因突变的。但是取样偏差是用组织做基因检测的短板。曾有一患者取纵膈上部分癌组织做基因检测，测得 EGFR 基因突变频率较高，用特罗凯控制了全身病灶，唯独肝上的转移灶持续疯长。这就是异质性的问题，可能是肝上病灶产生了更新的基因突变，导致该病灶耐药。

如何解决上述问题？最好的办法是抽血。因为肿瘤无论转移到任何部位，都会需要接触血管，如果没有血管供养，肿瘤是长不大的、一定会凋亡的。不管肿瘤长在什么部位，总是会有死亡的癌细胞，死亡时 DNA 片段就会进入血液，所以抽血可以检测全身多个病灶的基因突变。所以，从这个方面来说，抽血检测优于取组织检测，解决了肿瘤的异质性问题。抽血检测的缺点是，肿瘤细胞裂解释放的 DNA 进入血液的同时，人体正常细胞也会有正常死亡、裂解、释放 DNA 进入血液，肿瘤细胞裂解释放的 DNA 只占了 1%~10%，二代基因测序检测的灵敏度是 1%~2%。所以二代基因测序做外周血的检测大部分测得的基因突变频率都是在个位数，不是特别高。当然有些患者可能比较特别，他的基因突变达到了 40%~50%，但这毕竟只是少数。大部分患者都是在 1%~2%，还有些是全阴性的，就是采血时肿瘤细胞裂解释放的 DNA 片段比较少。大家可以权衡二者利弊，决定是用组织做基因检测，还是用外周血做。

• EGFR 基因获得性耐药的分子机制

有些患者用的 ALK 或者 EGFR 第一代抑制剂发生了耐药。EGFR 第一代抑制剂发生耐药有很大的概率是 T790M 突变，这是患者可以先用 ARMS PCR 或者数字 PCR 测 T790M 突变，或者测 ALK 的守门基因(gatekeeper gene)突变。ARMS PCR 或者数字 PCR 这两种检测手段的灵敏度都会比二代测序的灵敏度高，价格也低，约 2000~3000 元。所以并非任何时候都要用二代基因测序的。包括在肺癌峰会上，吴一龙在专家共识中提出如果患者想知道某一个基因的某一个位点是否突变，就用 ARMS PCR 或者数字 PCR，这样灵敏度高、且经济实惠。若患者不知道是哪个基因突变导致的耐药，只能用二代测序进行筛选。



大家知道，大部分患者用易瑞沙、特罗凯有效的时间都在一年左右，之后便产生了耐药。耐药可能是多种基因突变导致的，其中可能性较大的是 T790M 突变，由图可见，占比 60%左右。换言之，易瑞沙、特罗凯耐药后可能有 60%左右的原因是 T790M 发生了突变，所以很多患者第一代药物耐药以后就直接用 AZD9291，是有效的。但是这个概率只有 60%，并非 100%。如图，还有一部分患者是 c-Met 扩增导致的耐药，这部分总和约有 5%。另外还有一部分是 Her2 突变，约占 12%。

如果 AZD9291 盲试无效，这时不建议继续盲试，最好使用耐药后新长出的癌组织或者抽血做基因检测。如果不检测，也可以试试卡博替尼（for c-Met），或者试试 2992……但是要注意的是，每盲试一次，治疗时间就相当于延误了一个月。更有甚者，部分患者盲试了好几个月，自己都不知道是否有效。如此，风险剧增！所以，对于肿瘤这种疾病，一定要非常谨慎，如履薄冰。该果断做检测时，就不要犹豫，用相应的靶向药控制其发展。否则，一旦失控，使用任何措施都为时已晚。

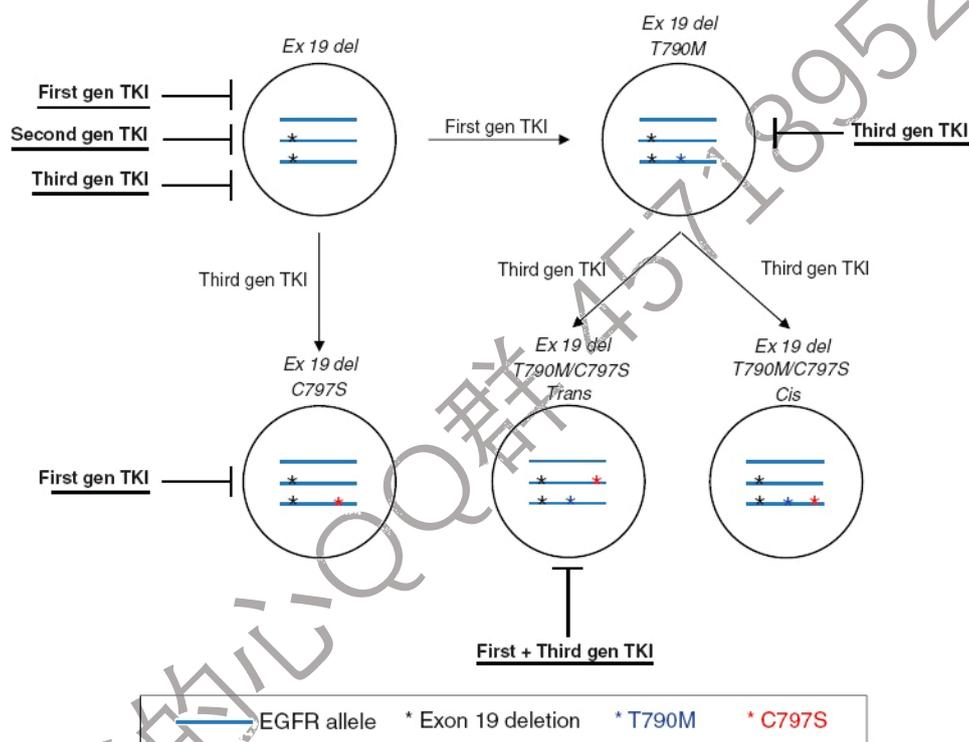
另外，还有少部分情况是耐药后转为小细胞肺癌（1%），还有小细胞 + c-Met（1%）。部分患者第一代或者第三代药物耐药后，更换任何靶向药物均无效，此时应高度怀疑转成鳞癌或者小细胞癌的可能，最好取耐药后新长出的癌组织做病理，用病理印证这种怀疑，或者推翻这种怀疑，之后根据结果及时调整治疗方案。不只是基因检测重要，病理检测、免疫组化都是“指路灯”。

● 通过肿标趋势辅助判断耐药

已检测到敏感肿瘤标志物的患者，可以通过定期测肿瘤标志物的方法来评价靶向药疗效及耐药与否。比如患者对 CEA、CA125 两个肿标敏感，每月测一次，

记录数值，在服用靶向药期间，数值一直较为稳定，一旦某次结果陡然上升，则要考虑耐药的发生，应及时进行影像学检测或基因突变检测，针对新的突变及时调整药物。如果肿标持续上升，在盲试某一种药物后，开始有下降的趋势，则该药有效的可能性大。（肿标的**走势**比肿标**是否在参考范围内**更有检测意义。——编者按）如果没有敏感的肿标，那么最合适的方法是每天记录体感日志进行监控（比如疼痛、胸闷等）。

• AZD9291 的常见耐药机制



现在大大小小有上千家基因检测公司，部分公司把精力更多地放在了与科室主任、主治医师的关系疏通上，而不是放在检测技术和解读报告上。很多基因检测公司对于 AZD9291 耐药后的 C797S 突变都没能合理解读。

AZD9291 耐药后，很大概率是 C797S 突变。是否适用下一代药物，取决于突变位点。如果 C797S 和 T790M 在同一条染色体上（顺式构型），目前没有任何 TKI 适用，应考虑化疗，试图通过化疗对这部分突变进行打压，再重回靶向之路。如果是 C797S 和 T790M 不在同一条染色体上（反式构型），可以一代、三代药物联合使用控制肿瘤。所以，一旦检测到 C797S 突变，一定要与检测公司确认清楚，到底是顺式构型还是反式构型。不能给出这个结论的、或者试图搪塞的，是不靠谱的公司。

另有部分患者 AZD9291 耐药的原因可能是 T790M 突变丢失（因为癌细胞倾向于大量随机突变）。

• ALK 耐药突变与耐药性

ALK 靶点的突变频率相对不高，约 5%。ALK 融合突变的对应药物是克唑替尼。ALK 的检测一般有免疫组化、FISH、二代测序、PCR 等方法。FISH 通常被认为是检测 ALK 融合突变的金标准。FISH 做 ALK 基因检测的原理是将 ALK 基因两端分别用红色荧光探针和绿色荧光探针标记，如果 ALK 基因没有发生基因融合（即，ALK 基因没有断裂），那么红色荧光和绿色荧光比较靠近，显微镜下看到的是黄色荧光信号（红+绿）；如果 ALK 基因发生了基因融合（即，ALK 基因断裂，与其它基因融合），无论融合的位点，在显微镜下都会看到红色荧光和绿色荧光分开。如果在显微镜下数了若干个细胞，发现这种断裂的基因占比较大，则判断 ALK 基因融合阳性。所以 FISH 是金标准。二代测序也可以测 ALK 融合突变与否，一般是测位点。

	克唑替尼	色瑞替尼	艾乐替尼	PF-06463922
G1123S		耐药	敏感	
I1151Tins	耐药	耐药	耐药	敏感
L1152P/R	耐药	耐药	敏感	敏感
C1156Y/T	耐药	耐药	敏感	敏感
I1171T/N	耐药	敏感	耐药	敏感
F1174L/C	耐药	耐药	敏感	敏感
V1180L	耐药	敏感	耐药	敏感
L1196M	耐药	敏感	敏感	敏感
G1202R	耐药	耐药	耐药	敏感
S1206Y	耐药	敏感	敏感	敏感
G1269A/S	耐药	敏感	敏感	敏感

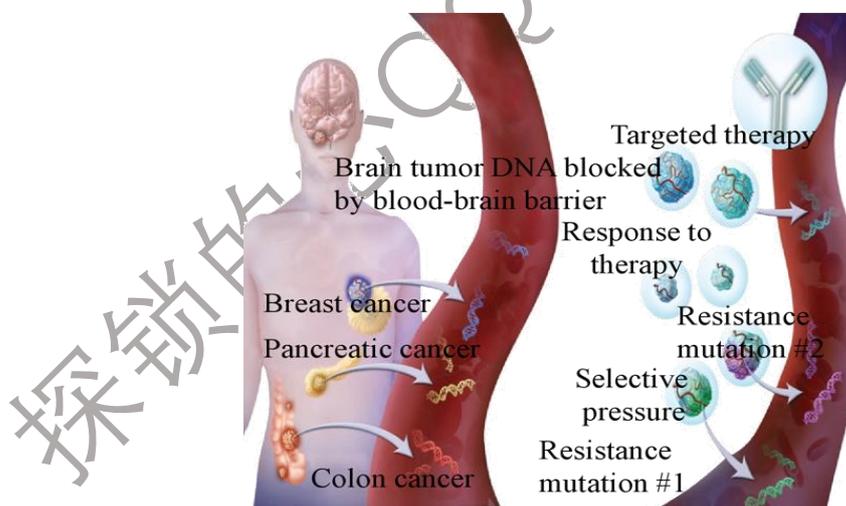
对于克唑替尼耐药后的 ALK 基因融合患者，可以选用二代 ALK 基因抑制剂，如色瑞替尼、艾乐替尼、3922。究竟哪一个位点应选用哪种二代抑制剂，可

以参考上方表格，不同的位点选用不同药物，有些适合用色瑞替尼、有些适合用艾乐替尼，但是基本全都适合用 PF-06463922(简称 3922)。3922 是第三代 ALK 抑制剂，但是考虑此药具有一定的神经毒性，建议放在最后使用。克唑替尼耐药后，应使用 ARMS PCR 检测守门基因突变究竟是什么（所谓的“守门基因突变”是指耐药位点还是产生在 ALK 基因上）。

最近新英格兰杂志发现 L1198F 位点一旦产生，就会导致患者对 3922 耐药。此时可以再用回一代的克唑替尼。

ALK 基因融合突变被认为是“钻石突变”，如果操作合理，把每一个药物最大化利用，生存期还是很可观的。但是针对 ALK 靶点的药物都价格不菲。以克唑替尼为例，目前的正版药赠药政策为 53500 元/月，第一年购买 4 个月，赠送 8 个月；第二年购买 2 个月，终生赠药，直至疾病进展（即发生耐药）。色瑞替尼、艾乐替尼不仅价格更贵，而且中国目前没有正版药。只有 AP26113（简称 AP）和 3922 有原料药。所以，如果发生耐药，最经济的办法是做一个基因检测（PCR 足矣），两、三千元的检测费用远低于五、六万一个月的盲试费用。

- 为什么可以抽血做肿瘤的基因突变检测



肿瘤内部癌细胞之间会相互竞争养分，竞争不利的细胞便会凋亡，加之免疫系统在一定程度上对其进行攻击，还有一些其他因素，所以肿瘤在人体内生长时会不停地有细胞凋亡。肿瘤细胞凋亡后裂解释放的 DNA 片段进入血液，所以抽血可以检测全身肿瘤的基因突变。这些 DNA 就叫做循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA)，大小通常为 160-180 bp 的 DNA 片段。它们的半衰期可能

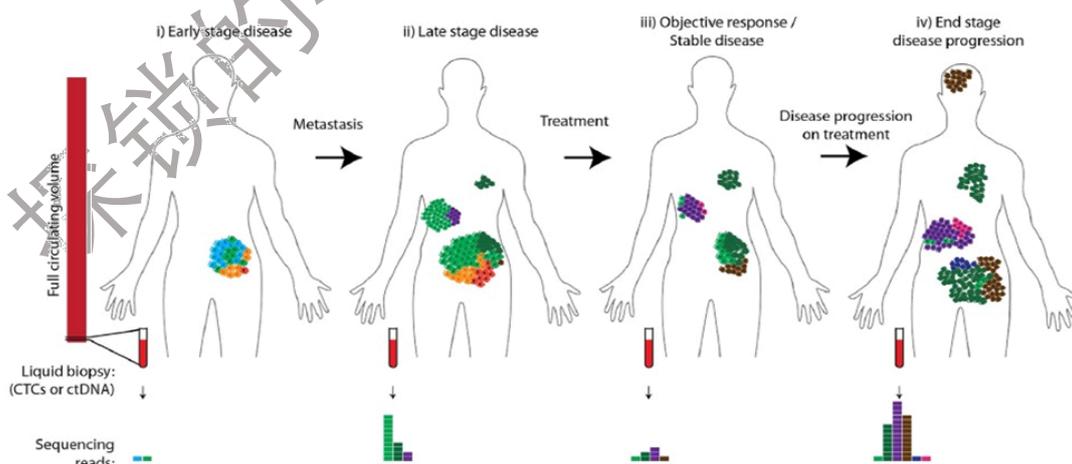
只有几个小时，所以循环肿瘤 DNA 是不断产生、同时也不断降解的动态过程。故，循环肿瘤 DNA 更能反映患者“**现在**”的基因突变情况（注意：现在），如果可以测到，指导意义是比较大的。且这种采样方式较穿刺痛苦小，不会导致气胸等并发症。抽出的血在进口的 Streck 采血管中可以常温保存 72~96 小时不溶血，在这段时间内可以把采血管邮寄到实验室。在极端气候下，应保证血样在运输过程中的环境温度：冬天太冷时，建议使用气泡袋包裹 Streck 管，与保温袋一同放入泡沫盒；夏天太热时，需与保冷袋一同运输。超过 50℃ 易导致细胞破裂，一旦 Streck 管中的白细胞发生了破裂、溶血，白细胞的 DNA 大量进入血样，会对检测产生较大干扰，直接影响检测结果。

• 为什么患者抽血做基因检测前最好不要放化疗

放化疗会杀死大量的细胞，包括癌细胞和正常细胞，这些细胞裂解释放大量的 DNA 片段，会对检测产生较大干扰，检测出突变的概率很小。所以建议放化疗后至少三周，方可采血做基因检测，以避免正常细胞凋亡所释放的 DNA 对检测的干扰。

靶向药主要杀死癌细胞，杀死的正常细胞极少，所以对于靶向药，则不需要停药这么长时间，停 2~3 天再做检测，或者不停药也可以做检测。

• 肿瘤在空间的异质性



- 原发肿瘤具有多个亚克隆，活检取样会导致抽样偏差；
- 转移到其他身体部位的肿瘤继续进化，紫色亚克隆出现；
- 对药物敏感的肿瘤亚克隆消失，但留存的肿瘤亚克隆继续进化，并转移至脑部；
- 在不同身体部位，不同时间点取样均会导致抽样偏差，通过循环肿瘤 DNA (ctDNA) 可解决这一问题；

如图，以肠癌为例：原发灶在肠，转移到肝，又转移到肺，又转移到脑。这些病灶的突变情况不是完全相同的，欲穿刺取样做基因检测，该取何部位？——无论取哪个部位，总会有一些漏检，会存在“以偏概全”的问题。抽血检测可以解决这一问题。肿瘤无论转移到任何部位，都会需要接触血管，如果没有血管供养，肿瘤是长不大的、一定会凋亡的。不管肿瘤长在什么部位，总是会有死亡的癌细胞，死亡时 DNA 片段就会进入血液，所以抽血可以检测全身多个病灶的基因突变。这是有文献报道的。

有患者使用一年前、两年的组织样本做基因检测，显然，这样的检测结果不能代表肿瘤现在的基因突变情况。如果想测，可以抽血，或者重新取现在的癌组织（但要考虑取样部位是否存在“以偏概全”的问题）。

• 使用多种生物标本测 T790M 突变的一致性



sundaresan TK et al., Clin Cancer Res. 2016 Mar 1;22(5):1103-1110

一些临床试验研究，对患者耐药后同时进行如下采样：1.重新取耐药后新长出的肿瘤组织病灶；2.抽外周血检测血浆中的游离 DNA 片段；3.捕获血液循环中完整的循环肿瘤细胞(CTC)，通过多重 PCR 去测循环肿瘤细胞的 T790M 基因。用上述三种样本同时去检测 T790M，结果表明它们的一致性较好。组织与 CTC 中 T790M 检测一致率达 74%，与 ctDNA 的一致率为 61%。

可以发现，有的患者在组织中检测出了 T790M 突变，但在血浆中未能测出；

有的患者在组织中未检测出 T790M 突变，但在血浆中测出了突变。组织存在取样偏差的问题（可能“以偏概全”），外周血的短板是肿瘤细胞浓度较低（可能导致假阴性）。还有很多患者存在这样的疑问：抽外周血检测到底靠不靠谱？它只是一种已经被证实了的、有科学依据的检测手段，没有一种样本的检出率是 100%。所以这三种样本是互相补充，不见得孰优孰劣，应合理选用。

基于我个人的经验，对于刚发现肿瘤的、处于早期的患者，恰好穿刺取到了组织，做病例确认为癌组织的，适合使用组织样本做基因检测；对于晚期的、多发耐药的患者、难以取组织的，使用外周血做基因检测较为适宜。

- Oseq™-Drug 个性化诊疗基因检测（本节有广告之嫌，敏感者可跳过）

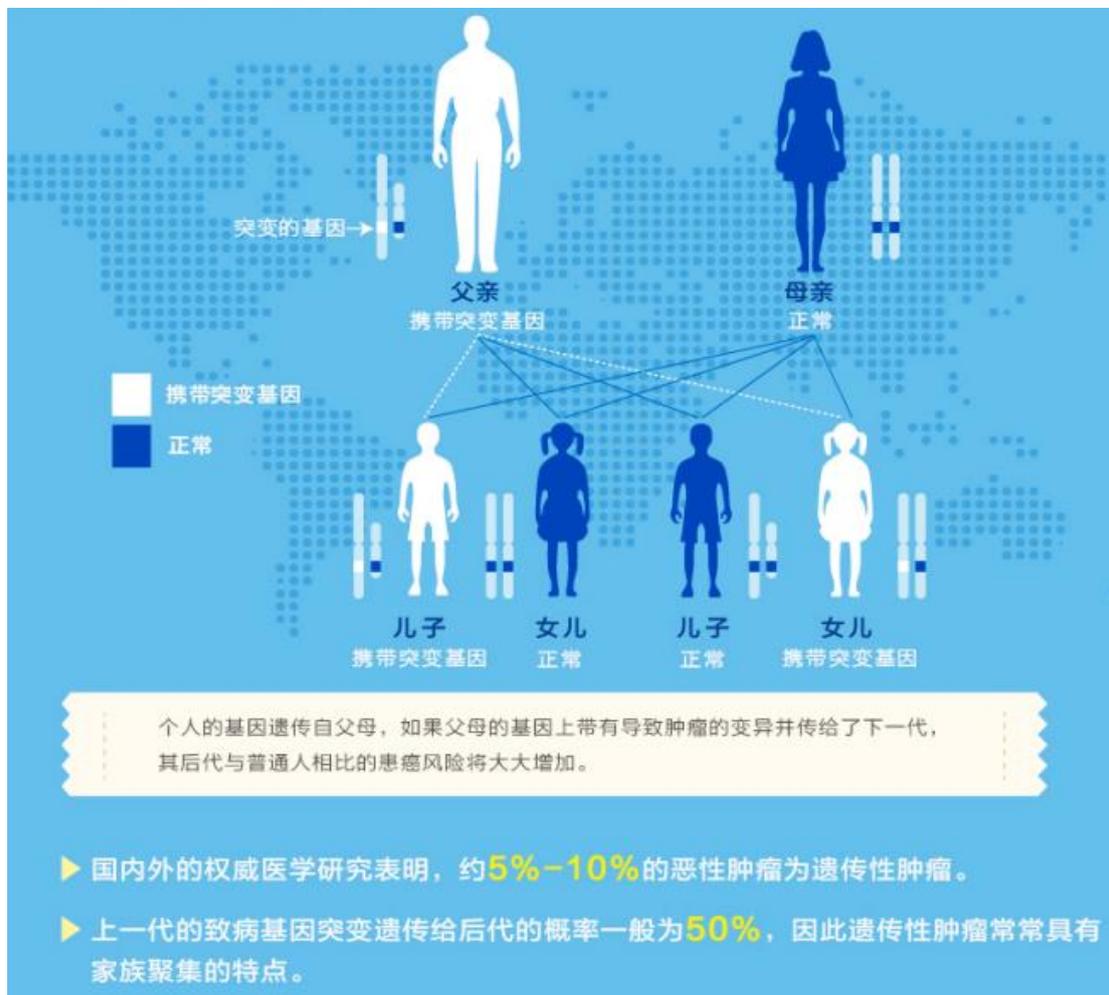


这是华大公司的一款产品，测 206 个基因的全部外显子区域，解读 95 种靶向药物。价格为 9800 元，如果之后再测，价格为 8800 元，相当于其他公司同等质量检测六折的价钱。有些公司是检测了 56 个基因，但是检测其他基因的热点会存在漏检。在制定该产品的价格时，我一再要求公司为患者降价。

我觉得该产品目前测的基因过多，如果只测三、四十个基因，把价格再降低一半，未来是有可能实现的。因为华大基因有自己的测序仪，可以在成本和很多通量上最大优化，价格降低至三、四千元就可以了，不可能低至几百元。因为基因检测的价格不止包括设备和试剂的价格，还包括人工的价格，比如提 DNA、

上机测序、解析报告、提供咨询，这些都需要有专业资质的人来完成，不是每一个普通人都可以提供这些服务的。

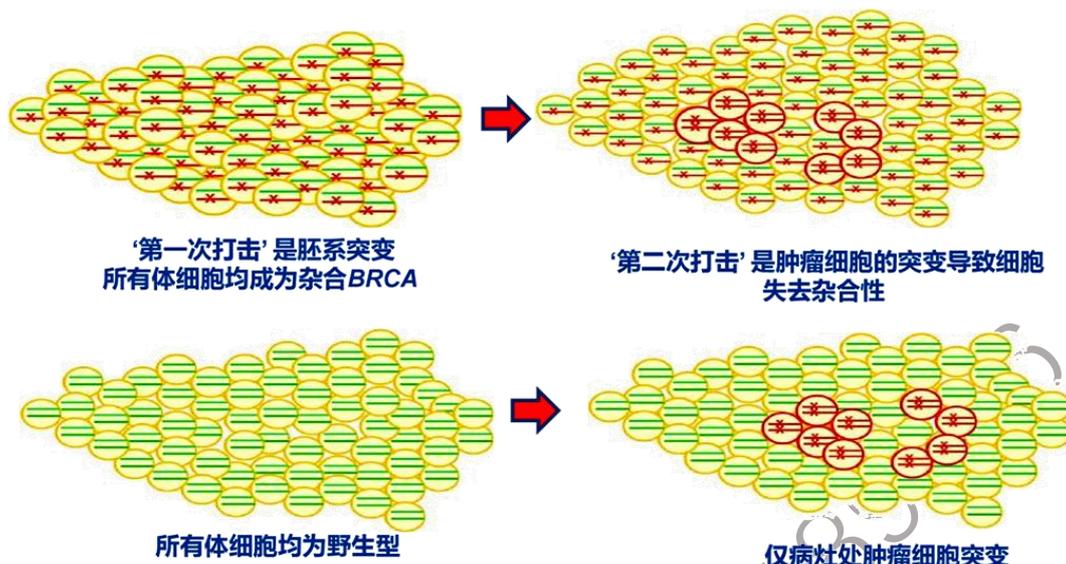
● 肿瘤会遗传吗



答案是肯定的。有一部分肿瘤会遗传，有一部分肿瘤不会遗传。开篇时讲过，肿瘤是基因突变导致的，如果没有基因突变是不会导致肿瘤的。比如，BRCA1 和 BRCA2 是两个很有名的抑癌基因，若这两个基因突变，就会大大增加该突变基因携带者患乳腺癌、卵巢癌的风险，且携带者有 50% 的概率将该易感基因传递给后代。目前已有的研究表明，5%~10% 的恶性肿瘤是遗传性肿瘤。换言之，100 个肿瘤患者中有 5 到 10 人的肿瘤是遗传性的，从父母那里遗传了肿瘤易感基因，该基因也有一定概率继续遗传给后代。

● 遗传性肿瘤和散发性肿瘤的关系

与生俱来（胚系突变）VS 与时俱进（体细胞突变）



由图可见，与生俱来的胚系突变（从父母那里遗传了一个带突变的基因拷贝）的基因携带者的全身所有的癌细胞都携带这个基因突变。人是二倍体生物，该携带者有可能会幸运，一生都不发病；如果携带者运气不好，或者是被致癌因素诱导，另一个基因拷贝也发生了突变，肿瘤就倾向于发生。对于正常人（非携带者）而言，这两个基因先天都是正常的，如果后天诱癌因素导致一个基因突变，一条路被堵住了，另一条路还是正常的，而且一般也不会倒霉到在同一个基因上连续发生两次突变。所以相对正常人，携带遗传肿瘤易感基因的群体，患癌风险大大增高。（可理解为，正常人的细胞需被打击两次才会患癌，而携带者被打击一次即会患癌）

之所以安吉丽娜朱莉未发病时切除了乳腺和卵巢，就是因为她携带了这个易感基因。如果不切除，这一生在某些细胞上发生了基因突变，就会真的发生乳腺癌。

• 遗传性肿瘤基因检测

检测肿瘤的遗传性，都是测人体的正常细胞（非癌细胞）的基因是否存在突变、是否存在敏感的肿瘤易感基因位点，而不是测癌细胞。检测时会取被测者的唾液或者取外周血，检测细胞中是否存在基因的突变位点、（若存在，）该突变位点是不是恰好导致该基因失活、（若导致，）该失活的基因是不是一个对肿瘤发生发展比较重要的基因，若是，则被测者携带肿瘤易感基因，患癌风险较非携带者

高。但是,对于携带者而言,并没有万全之策能将其患癌风险降至正常人的水平,但可能通过服用某些药物、日常饮食调控、保持健康生活方式、定期体检等手段尽可能避免肿瘤的产生。

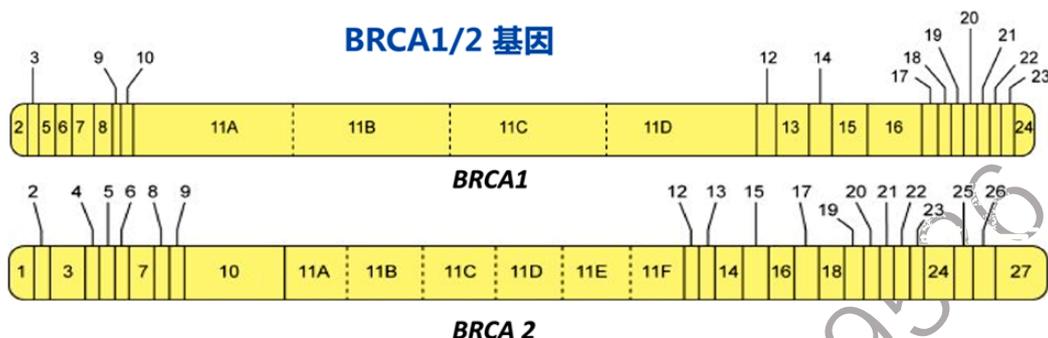


目前遗传性肿瘤基因检测可以针对女性的 16 种、男性的 15 种遗传性肿瘤进行检测。不是所有的肿瘤都有易感基因(也可能是目前还没有发现),比如肺癌。肺癌有家族聚集性,比如一家有多个家庭成员患肺癌,但是目前已有研究暂时还未指出某个基因的突变和肺癌的患病风险有强相关性。这样就不适合给这些受检者提供指导,将缺乏科学依据的、或者与肿瘤很牵强的基因作为诊断依据去断定受检者的患癌风险,是非常不负责任的行为,也会给受检者造成很大的心理压力(须知压力过大也是诱癌因素之一)。所以,不是检测的越多越好,而是应该恰到好处——所检测的每一个基因都应有权威数据支持的、出具的每一份报告都是负责任的。

大家经常在微信朋友圈可以看到“99 元基因检测”、“399 元检测几十种癌症的患癌风险”诸如此类的广告, **这些全部不靠谱!** 从成本限制上考虑,欲判断某基因是否突变,须检测该基因的所有位点,才能给患者出具一份负责任的报告。只选几个位点进行检测,说服力不够,也是不负责任的。比如 BRCA1 和 BRCA2,如果只是以芯片的方式检测几个热点,可以做到 99 元、199 元为患者出具一份报告,同时还能盈利。但是这是不负责任的。负责任的做法是把 BRCA1 和 BRCA2 两个基因的全部位点全部测通,看每一个位点,而且这两个基因还非常大,一般做几个热点是不能覆盖的,这两个基因要用非常高的深度,用二代基因测序才能

测通，然后看是否有易感突变位点，才能给患者出具一份有意义的报告。再次提醒，千万不要相信“几十块钱、几百块钱做肿瘤易感基因筛查”的广告宣传。

遗传性乳腺癌/卵巢癌基因



BRCA1——定位于17q21，约100 kb，含有24个外显子，其中第1、4号外显子不编码氨基酸，另外22个转录出7.6 kb mRNA，最终可编码含1863个氨基酸的蛋白质。而第11号外显子较大，长3.4 kb。已报道其突变位点多于1785个

BRCA2——定位在13q12-13，有27个外显子，仅编码区就有11.4K。其中11号外显子几乎含编码序列的一半，完整的BRCA2编码3418个氨基酸的蛋白质。已报道其突变位点多于2011个

检测热点基因突变易导致漏检

参考数据库：<http://research.nhgri.nih.gov/bic/>

• 化疗用药指导

化疗药物的作用机制是干扰 DNA 的合成或复制，干扰转录过程或微管聚合。比如吉西他滨、5-FU 可以抑制核苷酸的合成，核苷酸是合成 DNA 的原料。伊立替康、环磷酰胺是干扰 DNA 的复制。癌细胞通常具有比普通细胞分裂更快的特点，所需的合成 DNA 的原料的比正常细胞多，通过抑制 DNA 的合成或复制达到杀死癌细胞的目的。这一机理使得同一种化疗药适用于多种癌症，比如伊立替康可以用于肺癌，也可以用于肠癌。但正是由于这一机理，化疗药也会对正常细胞造成损伤，比如白细胞、毛囊细胞，因为这些细胞也具有分裂快的特点，所以化疗后常见白细胞低、掉发等副作用。

现已证明，至少有 10 种肿瘤单用化疗有获得治愈的可能，如绒毛膜上皮癌、急性淋巴细胞白血病、睾丸精原细胞瘤、部分恶性淋巴瘤等；约有 20 余种肿瘤单用化疗可以得到缓解，化疗与其他治疗方法相配合，大大提高了恶性肿瘤的治疗效果。

常规化疗药物优缺点简要归纳如下。不足：会“敌我不分”——消灭癌细胞的

同时也会损伤正常的细胞；毒副作用大；个体疗效差异大。优点：应用广泛；价格较便宜，易获取。

● 基因检测对选择化疗用药的指导意义

一些医生在临床上发现，同样的化疗药物，在有些患者身上副作用很小，对患者的生活质量基本没有影响；而在另一些患者身上造成了严重的副作用，上吐下泻，痛苦不堪。目前也有一些研究通过对照实验——比如选 50 名副作用显著的患者和 50 名副作用轻微的患者，观测这两组群体的基因突变差异，也摸索到了其中的一些规律。化疗用药做基因检测，测的是人体正常细胞的多态性，不是测的癌细胞的基因突变，因为影响化疗药物代谢、副作用、疗效主要与人体正常细胞基因的多态性有关，有些人的基因可能某一个位点的酶活性较强，可以及时把化疗药物代谢出去，所以显得副作用小；有部分患者的基因可能蛋白功能比较弱，可能导致化疗药物代谢缓慢，所以显得副作用大。在针对化疗用药做基因检测时，一般是抽外周血，测人体白细胞，而非癌细胞的基因突变。临床专家对于做基因检测指导化疗用药的做法并不推荐，在《专家共识》中的信用级别为 2B（基于低水平证据，专家组无统一认识，但争议不大），不太认可。

只有在用伊立替康时，做基因检测的意义才比较大。UGT1A1 是伊立替康代谢过程中的关键酶，UGT1A1 的启动子区有 6 个 TA 重复（TATATATATATA），如果患者是 7 个（即 TATATATATATATA），则需将伊立替康的剂量减量 50%。从下表可以看出伊立替康基因型与毒副反应发生率的关系。

组别	分布频率	4 级中性粒细胞减少症出现率	伊立替康药物调整（参考）
所有患者	-	9.5%	-
患者基因型为 7/7	9.2%	50%	减量一半/密切观察
患者基因型为 6/7	38.5%	12.5%	正常剂量/密切观察
患者基因型为 6/6	46.2%	0	正常剂量

通过 UGT1A1 基因检测可指导伊立替康的临床使用剂量。伊立替康之外的化疗药物做基因检测的意义不大，临床信用级别也不高，总而言之，不推荐对化疗药物做基因检测指导。

• 药敏试验

所谓的药敏试验是指把癌细胞放在培养皿中，加入化疗药物，观测癌细胞的生存情况。需要注意的是，将癌细胞从人体内取出，已经使其脱离了正常生存的环境；又将癌细胞泡在化疗药物中，看其死活，这曲解了正常环境下（人体中）药物与癌细胞的博弈关系，没有太大的指导意义。

所以，对于化疗用药，现在大部分正规的医院都不再做所谓的药敏试验和化疗用药指导基因检测，多数都是根据 NCCN 指南推荐的药物进行用药，评价疗效后如果证明无效，就换药。

（完）

欢迎关注王博负责的两个公众微信
获取更多基因检测与靶向用药知识



【相似病友帮】

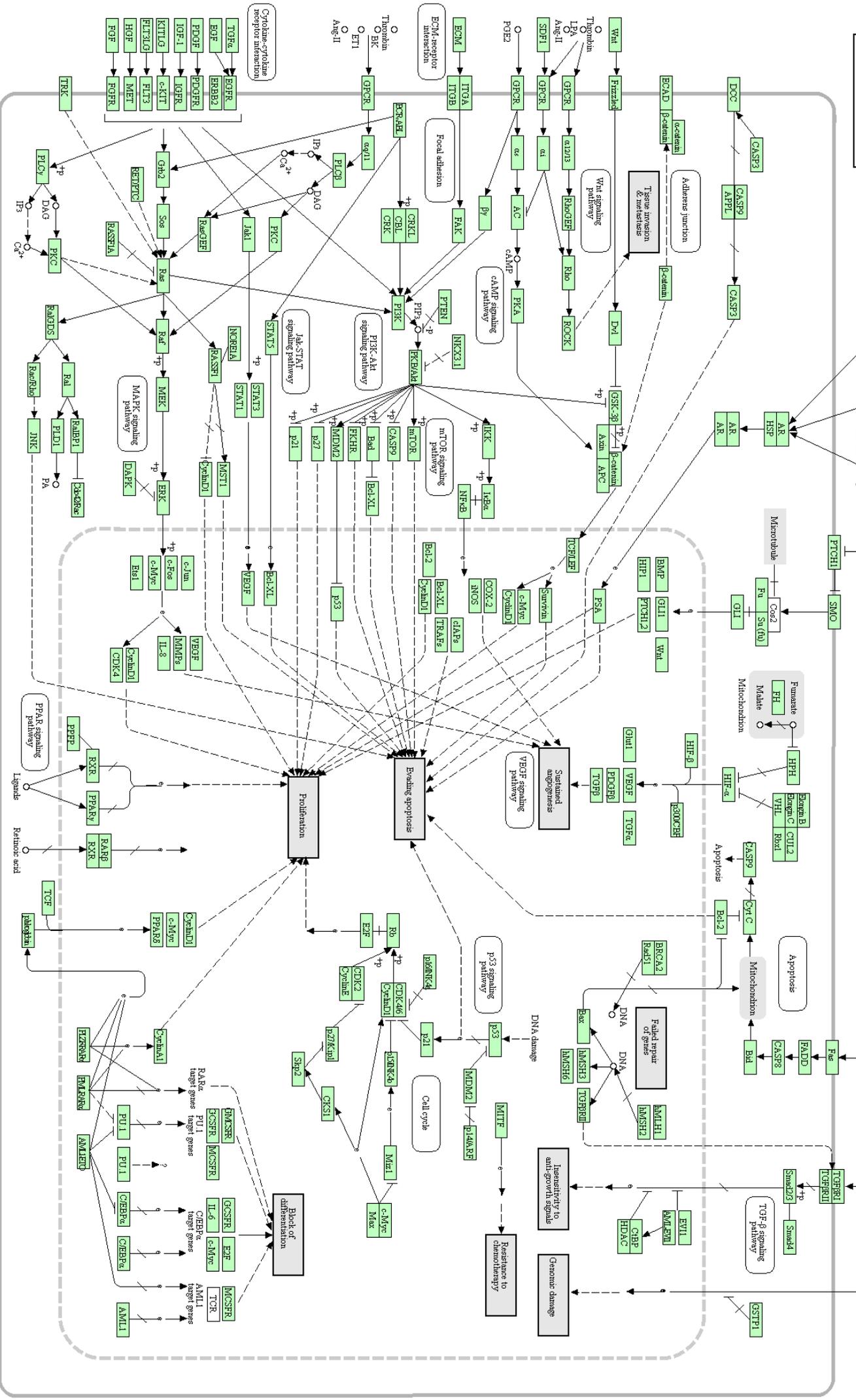


【癌友圈】

欢迎关注探索的心微信公众号 随时学习探锁的心肿瘤免疫治疗思路



PATHWAYS IN CANCER



- Colorectal cancer
- Pancreatic cancer
- Glioma
- Thyroid cancer
- Acute myeloid leukemia
- Chronic myeloid leukemia
- Basal cell carcinoma
- Melanoma
- Renal cell carcinoma
- Bladder cancer
- Pituitary cancer
- Endometrial cancer
- Small cell lung cancer
- Non-small cell lung cancer