



■ 黃墨帆、繆佳錚、周裕珽

癌症分子的 診斷進展

利用最新的分子診斷方式偵測相關標的，
可以選擇針對病人的最佳治療方式，
使病人有較好的存活結果。
在分子診斷技術不斷創新與改進下，
勢必能改善以往癌症治療的習慣，
幫助病人獲得最精確有效的診斷與處方。



腫瘤標記成為輔助影像醫學偵測腫瘤是否存在，以及幫助醫師形成正確治療決策的好幫手。

腫瘤標記概念的起始

發展腫瘤標記的概念，可以追溯到第一位成功利用化療治療腫瘤的華裔醫師李敏求。1955年，李敏求以氨甲蝶呤（methotrexate）治療絨毛膜癌病患時，發現病患的X光影像中絨毛膜腫瘤似乎消失了，尿液中卻仍存在著超過標準量的絨毛膜激素。據此，李敏求認為即使病患體內的腫瘤已經全部消失，仍有一些肉眼看不到的癌細胞殘留在組織中伺機復發。因此，他相信腫瘤消失的病人應該還要持續化療，直到尿液中的腫瘤標記（絨毛膜激素）降至正常值後，才能確保癌症治療的成功。

這種概念的療程現在稱為預防性輔助化療，李敏求引進的「殘留疾病」的觀念，也成為現代癌症治療與研究的基礎，開啟了腫瘤標記應用於腫瘤追蹤治療的濫觴。如今，有賴李敏求的治療試驗，不需任何手術，絨毛膜癌都能以化療治癒。腫瘤標記也因此成為輔助影像醫學偵測腫瘤是否存在，以及幫助醫師形成正確治療決策的好幫手。

腫瘤標記的應用

隨著科技的演進，陸續發展出許多癌症的生物標記。目前癌症相關的生物標記有以下幾點應用：診斷—協助診斷癌症的種類；篩檢—早期發現癌症病患；預後—判別癌症病程與病人存活狀況；追蹤—追蹤腫瘤復發或轉移，也可追蹤治療的效果；預測—預測病患適用的藥物與劑量及治療方式。



癌症生物標記的應用

雖然以傳統方式利用血液中的蛋白質分子（例如 CEA 用於大腸癌及肺癌、PSA 用於前列腺癌）做為追蹤治療狀況的標的有顯著的進展，但是個人或環境造成的健康行為與生理狀態的差異，例如抽菸行為、發炎反應與腫瘤中癌細胞的異質性，都會造成蛋白質分子標記的不準確性。因此尋找新一代癌症生物標記，以提供更多用藥或治療的決策，就成為生物標記開發的重點。

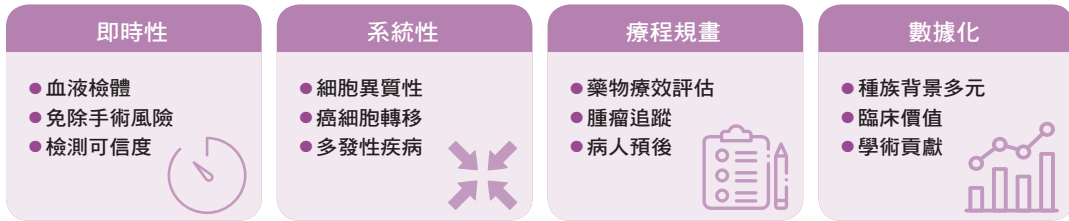
近年來液態切片技術的發展受到很大的關注，因為它具有許多傳統組織切片及血液中蛋白質分子標記所沒有的優勢，對於了解腫瘤細胞的緣起、發展、演變和在不同病人體內環境所造成影響的病理學，都有很大的助益。

肺癌的生物標記與標靶治療

在進入液態切片的主題前，先以肺癌為例，簡介肺癌的生物標記研究因標靶藥物的

尋找新一代癌症生物標記，以提供更多用藥或治療的決策，是生物標記開發的重點。

液態切片的優勢



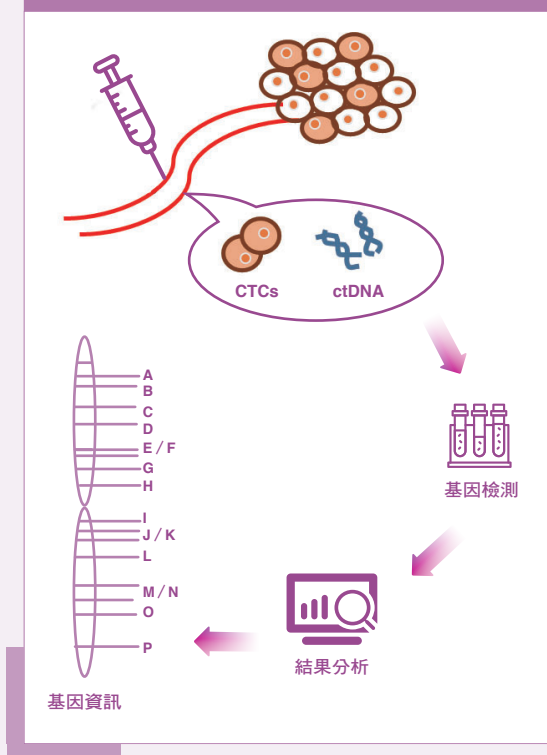
興起而開啟的進展。2003年，以人類上皮生長因子受器（Epidermal growth factor receptor, EGFR）開發作為標靶，以治療非小細胞肺癌病患的藥物—艾瑞莎（Iressa / Gefitinib）上市。2004年，研究人員發現一群非小細胞肺癌病人的上皮生長因子受器帶有突變，且這標靶藥物也能有效作用於這類患者，便以上皮生長因子受器突變作為用藥有效的生物標記。

偵測肺癌病人上皮生長因子受器突變的分子診斷方式，因此顯得非常重要，並形成基因突變能預測標靶藥物是否有效的精準醫療的概念及伴隨式診斷的興起。2009年歐盟正式通過把上皮生長因子受器突變作為艾瑞莎藥物用藥的指標。

伴隨式診斷

伴隨式診斷是指能夠提供對應藥物或生物相關產品使用時的有效性與安全性的醫療檢測儀器，通常是以體外檢測的方式或實驗室發展檢測進行。如 Qiagen 開發的 Scorpion 及 Roche 開發的 Cobas，都是近年來以 amplified refractory mutation system (ARMS) – PCR 系統發展出的伴隨式診斷。它可利用分子診斷技術偵測癌症患者的腫瘤檢體是否帶有人類上皮生長因子受器特定突變，給予上皮生長因子受器酪胺酸激酶抑制劑藥物正確的用藥，並會追蹤監控相關突變的產生，即時給予精準的治療方式。

液態切片提供基因檢測資訊



液態切片

隨著精準醫療概念的快速發展，近年來許多生物醫學家都致力於發展一種能取代傳統腫瘤組織切片的非侵入式新方法，稱作「液態切片」。液態切片是指從病人取得血液或尿液等液態檢體，便能得知腫瘤細胞資訊的檢測技術。

隨著精準醫療概念的快速發展，近年來許多生物醫學家都致力於發展一種能取代傳統腫瘤組織切片的非侵入式新方法。

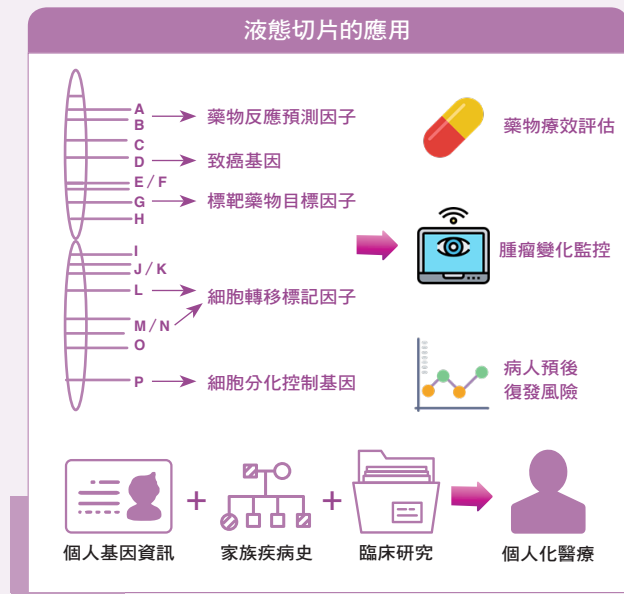
液態切片的優勢在於取得腫瘤細胞的管道與傳統方式不同，傳統上病人必須接受切除手術移除整個病理部位，再經由適當的處理以製作切片。但液態切片只要抽取病人血液，再經過離心處理分離，就可以獲得腫瘤細胞掉落在血液循環中的核酸片段或循環腫瘤細胞。若分析這些檢體，便可以獲取與腫瘤細胞相關的基因資訊（如基因序列及突變狀態）。進一步再結合針對特定致癌基因的用藥成果，就可幫助臨床醫師做出最有效的治療決策。

液態切片的優勢

由於檢體取得便利，液態切片相較於傳統切片更能提供系統性且即時性的基因資訊，也不會受限於腫瘤切除後時效性的問題（因腫瘤細胞離開人體後，會隨著與外界環境接觸的時間增加，許多生理作用與位於體內時會有很大不同，以致難以提供與腫瘤位於體內時的正確基因資訊），大大提高了活體檢測的可信度與精確度。

如果病人復發時，傳統切片方式必須再次開刀才能取得檢體，風險也相對提高，再者癌症已轉移的末期病人也不適用侵入性診斷。但使用液態切片檢測的病患則不需經歷腫瘤切除手術的風險，能適用於所有病患，採樣後也幾乎不需要痊癒時間，對病人恢復大有助益。

此外，癌細胞擴散和轉移的特性一直都是阻礙癌症治療的主要原因。但當癌細胞開始轉移至另一個器官時，大多須經由體內循環系統的幫助（血液循環或淋巴循環），這時液態切片的特性也能幫助醫生及早發現新的病灶、潛伏狀態的癌細胞，以及監測癌症的進程。同時，對於臨床病人檢體數據的蒐集也有很大的助益，如能



獲得大量不同種族、地區和生活背景病人的基因訊息，對於癌症基因數據庫在學術研究方面和臨床醫學研究的參考價值也有提升的作用。

液態切片的應用

液態切片的應用不僅能預測腫瘤藥物的反應、療效及抗藥性，也可監控腫瘤大小、病人預後、復發風險等，因此開發準確的早期診斷血液試劑也是研究人員努力的目標。目前市面上已經有乳癌、肺癌、肝癌和大腸癌的檢測商品，在一些實驗室中也已經發展出能快速篩檢多種癌症的技術。

液態切片的種種優勢都證明了其在癌症治療上擁有無窮的發展潛力，同時在大數據科學蓬勃發展的現今，應該能建立個人基因資料庫，建構一個類似基因身分證的模式系統。這資料庫可依據個人的基因資訊、過往病史療程、家族疾病史，同時參考臨床研究的數據，擬定最適合個體的治療方針，使個人化醫療更落實於每個人的生活中。



使用液態切片檢測的病患不需經歷腫瘤切除手術的風險，採樣後也幾乎不需要痊癒時間，對病人恢復大有助益。

循環腫瘤去氧核糖核酸

ctDNA（循環腫瘤去氧核糖核酸，circulating tumor DNA）的來源主要是腫瘤細胞壞死或凋亡時，細胞破裂後造成細胞核內的核酸散布到血液中，或是由腫瘤細胞的外泌體分泌至細胞外部而流散於血液中。

ctDNA 片段長度約為 120 ~ 180 組鹼基對，以單股或雙股形式的混合物存在。因其具有高度特異性，可使我們準確知道腫瘤細胞基因突變的位置。再加上其半衰期短的特性，更能同步反映出腫瘤目前的狀態，也能降低腫瘤細胞異質性對檢測結果產生的影響（因為腫瘤細胞群內各個細胞可能有不同的細胞生理特性，傳統組織切片只從整個腫瘤細胞切除部分進行組織切片分析，無法理解整個腫瘤的基因資訊，也不利於做出綜合性的治療判斷）。

但血液中有許多會影響 ctDNA 穩定性的蛋白質，因此要偵測到小片段的 ctDNA 相當不容易。究竟散布在癌症病患血液中的 ctDNA 有多少比率能被偵測到？又 ctDNA 的基因資訊是否可作為治療參考的依據？

2014 年的研究顯示：在 14 種可轉移性癌症中，證實了從癌症一期到四期的血液中都可偵測到一定比率的 ctDNA，並根據時期的演進可偵測比率漸增，有高達 80% 的晚期腫瘤細胞可檢測出 ctDNA。2018 年，美國臨床腫瘤協會年度會議也提出，ctDNA 的基因檢測後配合特定標靶藥物的使用，確實能夠提高病人的治療效果，與只有檢測腫瘤細胞基因組的病人相比，檢測 ctDNA 確能有效提升病人的整體存活率。因此，結合 ctDNA 檢測與藥物選用來幫助治療判斷，無疑是未來液態切片應用的一大亮點。

美國食品藥物管理局在 2016 年批准了羅氏大藥廠的液態診斷試劑 Cobas EGFR Mutation Test v2，它是一種對應於非小細胞肺癌抗癌藥物 Tarceva 的非侵入性伴隨式診斷試劑，就是一個融合了液態切片與藥物的成功案例。這試劑可經由偵測病人血液中的 ctDNA，得到關於非小細胞肺癌上皮細胞的表皮生長因子受體突變資訊，並找出使用 Tarceva 治療能得到最大療效的病人。

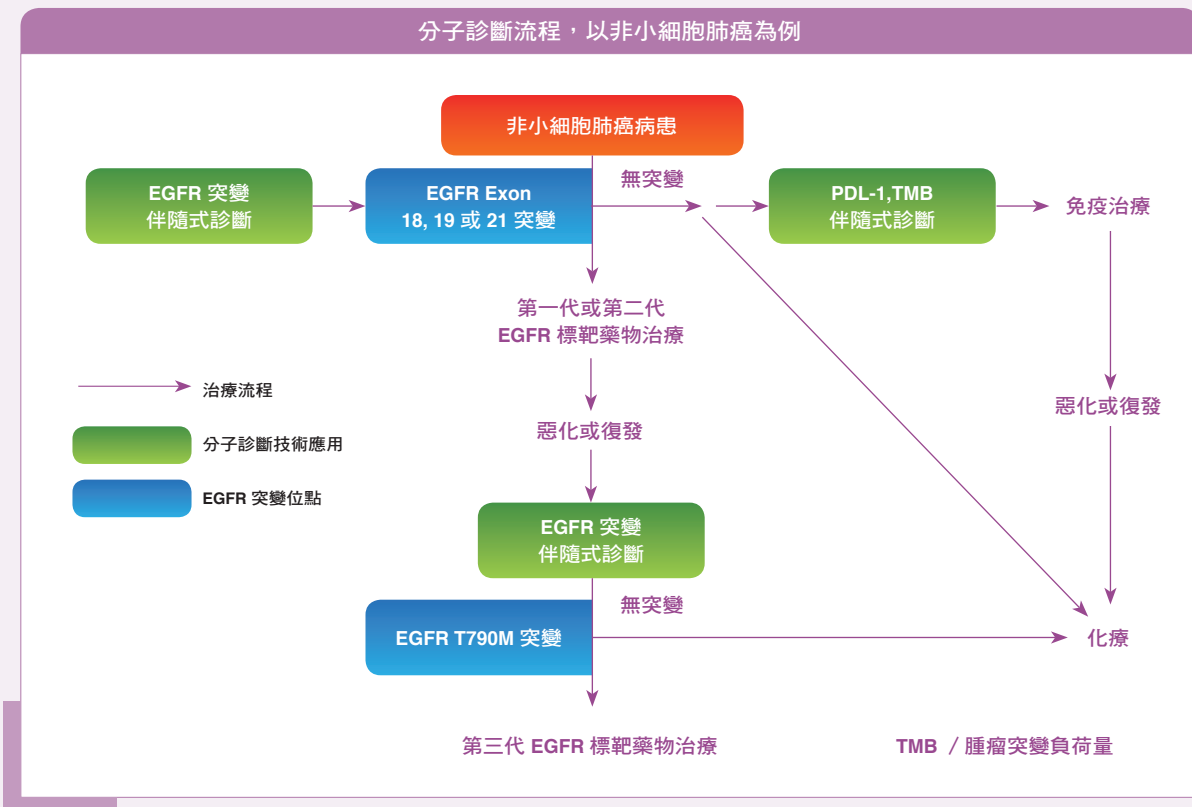
循環腫瘤細胞

循環腫瘤細胞（circulating tumor cell, CTC）是腫瘤細胞剝落後進入循環系統，並游離於周邊血管中的各類腫瘤細胞的統稱。CTC 之所以成為液態切片中的重要標的之一，是因為正常人的血液中並不具有 CTC，而且只要從病人血管中抽取約 10 毫升的血液，便能獲取 CTC 作為檢測標的。因此，CTC 種類辨別、數量變化趨勢等的檢測及監控技術，就成為腫瘤診斷和治療中熱門的領域。臨床研究也證實，在 7.5 毫升的血液中檢測到 CTC 數目 > 5 顆的病人，會比 < 5 顆的病人有較差的預後。

2004 年，美國食品藥物管理局批准了 Veridex 公司開發的 CellSearch CTC 檢測技術在乳癌、前列腺癌或大腸癌的應用，這被視為最早檢測 CTC 的產品。2013 年美國把 CTC 檢測納入醫療保險的舉動，更顯示出 CTC 的應用價值持續受到注目。但目前 CTC 檢測還有幾項技術瓶頸尚待突破。

低靈敏度— 10 毫升的血液中就有多達數百億的紅血球和白血球細胞，卻只有 1 ~ 10 顆左右的 CTC，數量相對非常稀少，因此要能準確篩選出 CTC 有一定難度。

診斷的不確定性— CTC 與 ctDNA 最大的不同是 CTC 能提供腫瘤基因以外的



資訊，但目前依然沒有確切證據能證明，從腫瘤掉落的部分細胞帶來的訊息是否足以代表整體腫瘤基因組資訊。

以上困境都需要更多的研究基礎、臨床證據及技術改善，才能讓 CTC 檢測技術可以有效適用到每一種腫瘤。

免疫治療與分子診斷

近年發展如火如荼的免疫治療是以抑制免疫檢查點的方式，活化自身免疫系統去攻擊癌細胞。主要有 6 種免疫檢查點抑制藥物已通過美國食品藥物管理局認證通過上市，分別是針對細胞程式死亡受體-1 與受質 (program cell death protein-1, PD1; program cell death receptor ligand-1, PDL1)，以及細胞毒殺 T 淋巴細胞關聯蛋白質 4 (cytotoxic T-lymphocyte protein 4, CTLA4)，包含：

PD1 抑制劑— Keytruda® / Pembrolizumab、Opdivo®/ Nivolumab；

PDL-1 抑制劑— Tecentriq® / Atezolizumab、Bavencio® / Avelumab、Imfinzi® / Durvalumab；

CTLA-4 抑制劑— Yervoy® / Ipilimumab。

利用傳統檢體染色免疫組織染色偵測 PDL-1 作為免疫治療應用的生物標記，並無法適當預測免疫療法的成效。研究發現只有 20 ~ 30% 肺癌病人對免疫治療有反應，因此 PDL-1 或許並非唯一能預測免疫治療反應的生物標記。

Foundation Medicine 與 Genentech 進一步於 2016 年時提出腫瘤突變負荷量 (tumor mutation burden, TMB) 的概念。腫瘤突變負荷量是指癌症是由一系列的體細胞發生突變而產生，突變進而產生腫瘤新生抗原，這些表面呈現的抗原能夠刺激免疫系統，使 T 細胞聚集腫瘤微環境周邊，藉以增加免疫療法的效果，



因此提出間接使用腫瘤突變負荷量做為免疫療法的預測性生物指標的概念。

從使用次世代定序的方式定序傳統檢體中腫瘤突變負荷量的研究發現，帶有較高的腫瘤突變負荷量的癌症病患對於免疫療法的療效較高，特別是針對 PD-1 / PDL-1 的抑制。現階段除了 Foundation Medicine 基因體分析公司的 FoundationOne CDx 次世代定序方法檢測腫瘤突變負荷量之外，還有紀念斯隆·凱特琳癌症研究中心開發的 MSK-IMPACT，同樣是基於次世代定序的基因檢測平台，兩者都是針對免疫療法的伴隨式診斷。

另一項與突變相關的生物標記，是美國食品藥物管理局於 2017 年通過的免疫治療 PD1 抑制劑 Keytruda® (pembrolizumab)，它是腫瘤微衛星不穩定性與 DNA 錯誤配對修復系統缺失的伴隨式診斷生物標記。

當腫瘤的修復 DNA 錯誤配對系統缺失時，會造成基因突變的機率增加，並影響 DNA 微衛星片段（是基因體上簡單的重複序列，可用來定義基因突變率的生物標記）的不穩定。美國食品藥物管理局首次通過以特定生物標記物為標準的藥物，而非如以往般以不同適應症判斷標準的藥物。這藥物於免疫治療最重要的突破，在於針對廣泛性癌症種類都具有治療可能，且具有特定生物標記物作為治療指引方針。

有越來越多的公司提供精準醫療的服務，台灣分子診斷產業也正蓬勃發展中。隨著診斷方式與治療方式的演進，可以看到在面對非小細胞肺癌治療時的流程也改變了。

人類上皮生長因子受器突變在亞洲肺腺癌患者的比率約 40 ~ 50% 左右，現在末期非小細胞肺癌患者的醫療流程，首先可以利用人類上皮生長因子受器突變伴隨式診斷，判斷是否適用第一代或第二代標靶藥物治療。若患者不具突變，則可考慮免疫治療或化療。

若不幸人類上皮生長因子受器標靶治療使用後癌症產生抗藥又復發了，則可利用人類上皮生長因子受器 EGFR-T790M 的伴隨式診斷，判斷是否使用第三代標靶藥物治療。除了人類上皮生長因子受器 EGFR-T790M 突變外，另有少數患者可能攜帶有 ALK、ROS1、BRAF 等特定的突變，也有相對應的標靶治療。利用最新的分子診斷方式偵測相關標的，可以選擇針對病人的最佳治療方式，使病人有較好的存活結果。在分子診斷技術不斷創新與改進下，勢必能改善以往癌症治療的習慣，幫助病人享受到最精確有效的診斷與處方。

致謝

感謝教育部生醫產業與新農業跨領域人才培育計畫（智慧創新高值醫材領域）支持清華大學開設精準醫療相關課程，這文稿是分子診斷課程的部分摘要。

黃墨帆、繆佳錚、周裕珽
清華大學生物科技研究所

深度閱讀資料

戴至平，癌症化療研發的先驅者：李敏求，科學月刊九月號，585 期。