

晚期非小细胞肺癌免疫治疗中ctDNA的动态监测的现状与未来

葛倩¹, 赵征^{2*}, 李索尼², 张志芸³

¹西安医学院研究生院, 陕西 西安

²陕西省肿瘤医院内科, 陕西 西安

³陕西中医药大学研究生院, 陕西 咸阳

收稿日期: 2023年5月28日; 录用日期: 2023年6月23日; 发布日期: 2023年6月30日

摘要

非小细胞肺癌仍然是全球对人类危害最大的疾病之一, 免疫治疗自问世就给晚期非小细胞肺癌患者带来了前所未有的益处。免疫治疗虽然在大跨步的飞速发展, 但是仍然有一部分人无法获益, 一种可靠且易于重复检测的判断疗效方法则显得尤为重要。ctDNA检测作为一种非侵入性检查, 具有易于重复操作、特异性较强的优势, 在不同类型肿瘤中的价值被普遍认可。ctDNA的动态监测也对免疫治疗过程中疗效的评估以及预后的发展发挥着十分重要的作用。与此同时, ctDNA在监测过程中的检测时间点、量化标准、各个检测方法的共识有待也进一步商榷。

关键词

晚期非小细胞肺癌, 免疫治疗, ctDNA, 动态监测

Status and Future of ctDNA Dynamic Monitoring in Immunotherapy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer

Qian Ge¹, Zheng Zhao^{2*}, Suoni Li², Zhiyun Zhang³

¹Graduate School of Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi

²Department of Internal Medicine, Shaanxi Provincial Cancer Hospital, Xi'an Shaanxi

³Graduate School of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang Shaanxi

Received: May 28th, 2023; accepted: Jun. 23rd, 2023; published: Jun. 30th, 2023

*通讯作者。

文章引用: 葛倩, 赵征, 李索尼, 张志芸. 晚期非小细胞肺癌免疫治疗中 ctDNA 的动态监测的现状与未来[J]. 临床医学进展, 2023, 13(6): 10554-10559. DOI: 10.12677/acm.2023.1361476

Abstract

Non-small cell lung cancer remains one of the most dangerous diseases in the world. Immunotherapy has brought unprecedented benefits to patients with advanced non-small cell lung cancer since its introduction. Despite the rapid development of immunotherapy in great strides, there are still some people who cannot benefit from it. Therefore, a reliable and easy to repeat detection method to judge the efficacy is particularly important. ctDNA testing is a non-invasive, easy to perform and reproducible method, which is widely recognized for its value in different types of tumors. Dynamic monitoring of ctDNA is also very important for evaluating the efficacy and predicting the prognosis during immunotherapy. At the same time, the detection time point of ctDNA in the longitudinal process, the quantitative standard and the consensus of each detection method need to be further discussed.

Keywords

Advanced Non-Small Cell Lung Cancer, Immunotherapy, ctDNA, Dynamic Monitoring

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺癌(lung cancer)是 50 岁及以上男性和女性癌症死亡的主要原因,造成的死亡人数远远超过乳腺癌,前列腺癌和结直肠癌的总和。据 2023 年的癌症统计估计,到 2023 年美国将有 609,820 人死于癌症,相当于每天有 1670 人死亡,男性肺癌、前列腺癌和结直肠癌以及女性肺癌、乳腺癌和结直肠癌死亡人数最多[1]。肺癌分为非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC),非小细胞肺癌占大多数[2]。NSCLC 对人类健康造成极大威胁,成为人类健康道路上的亟需解决的问题。免疫治疗在 NSCLC 中呈现出了显著的优势。但是免疫治疗也有其自身局限性,所以迫切需要一种标志性且特异性的生物活性物质来反映治疗期间的肿瘤发展情况,而 ctDNA 作为液体活检的代表则表现出了巨大的潜力[3] [4] [5]。本文就晚期 NSCLC 免疫治疗中的 ctDNA 动态监测作一综述,说明晚期非小细胞肺癌免疫治疗中 ctDNA 的动态监测的重要预后价值,并且提出 ctDNA 未来发展的一些需要进一步研究的问题。

2. 晚期 NSCLC 免疫治疗

目前晚期非小细胞肺癌(NSCLC)传统的治疗手段主要包括手术、化疗、靶向治疗、中医治疗等,而近些年免疫治疗的问世,无疑是给 NSCLC 患者带来了一种全新的选择。免疫治疗通过免疫检查点抑制剂(ICIs)发挥作用,包括调节细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (CTLA-4)的抗体,程序性细胞死亡蛋白 1 (PD-1)和程序性死亡受体 - 配体 1 (PD-L1),也是目前被大部分基础及临床学者所看好的一种治疗方案。同其他治疗方法(放疗、化疗、靶向治疗等)不同,ICIs 通过激活或者恢复由肿瘤介导的耗尽的宿主抗肿瘤免疫应答,通过自身免疫系统杀伤和破坏肿瘤细胞,达到自身精准对抗异常细胞的效果。纳武利尤单抗(Nabulumab)是一种人抗 PD-1 单克隆抗体,是首个用于晚期 NSCLC 二线治疗的 PD-1/PD-L 阻断剂。2016 年 10 月 24 日,美国食品药品监督管理局(FDA)批准了帕博利珠单抗(Pembrolizumab)用于治疗转移性非小细胞肺癌(mNSCLC)患者,首次批准用于肺癌一线治疗的检查点抑制剂[6]。目前,用于 NSCLC 的免疫抑

制剂有纳武利尤单抗(Nabulumab)、帕博利珠单抗(Pembrolizumab)、阿替利珠单抗(Atezolizumab)、阿维尤单抗(Avimab)、杜伐利尤单抗(Duvaliumab)、西米普利单抗(Simiprilimab)等[7]。非小细胞肺癌的免疫治疗逐渐从二线走向一线,并且免疫治疗的联合疗法(联合化疗、放疗、抗血管生成药、靶向药物、双免疫疗法)的许多相关实验研究也在进行中[7]。免疫治疗对于非小细胞肺癌的单药治疗和联合治疗都有重要意义,但是许多患者在免疫治疗期间可能出现原发性或者获得性耐药、无明显获益等问题,而此时迫切需要一种易于检测并且较为准确预测预后的检测方法指导决策,精准筛选适合免疫治疗的人群,已达到最大获益效果。

3. 循环肿瘤 DNA (ctDNA)

1948年, Mandel 等人首次健康个体中描述了细胞游离 DNA [8]。1977年, Leon 等人发现了肿瘤患者的循环肿瘤 DNA 有所升高。由此,循环肿瘤 DNA (ctDNA)开启了肿瘤标志物的新纪元。循环肿瘤 DNA (ctDNA),是指血液中可能存在的肿瘤细胞坏死后分泌的少部分的 DNA 片段,通过一些不同的技术在体液中检测,其具有不同的特征,例如 ctDNA 水平,突变, bTMB, bMSI 等。ctDNA 的半衰期很短,在 15 分钟到几个小时之间,在转移性疾病患者中, ctDNA 的水平一般更高[9]。通过液体活检,可显示原发性和继发性肿瘤部位的 ctDNA 总和,不仅可以量化 ctDNA 的数量,还可以识别表观遗传变化[10] [11]。不同肿瘤的 ctDNA 具有不同的表型及其特异性,已被证实为较好的肿瘤标志物。ctDNA 的检测是通过液体活检,克服了组织活检的侵入性的弊端,减少肿瘤患者的痛苦。对于肿瘤患者,尤其是晚期患者具有重要的意义。

2020年, Peter Vu 等人通过对 418 名未接受免疫治疗的患者血浆来源的 ctDNA 进行下一代测序技术(NGS)检测,证实 ctDNA 具有很高的预后价值[12]。ctDNA 作为一种液体活检的肿瘤标志物,在套细胞淋巴瘤[13]、胃癌[14] [15] [16] [17]、结直肠癌[18] [19] [20]、乳腺癌[21] [22] [23]等诸多恶性肿瘤中均具有较为重要的作用。2018年, Sarah B. Goldberg 等人通过对 28 例接受免疫检查点抑制剂治疗的晚期 NSCLC 患者的 ctDNA 水平纵向变化与放射学肿瘤大小的变化以及生存结局进行比较,发现 ctDNA 反应的时间明显早于放射学检测到肿瘤变化的时间,表明 ctDNA 监测可以提供治疗效果的早期测量,并且还发现了检测出的 ctDNA 降低的患者更有可能获得更长的治疗益处,以及更好的无进展和总生存期[24]。2022年, Henrik Horndalsveen 等人的一项临床试验,通过对晚期 NSCLC 患者 ctDNA 的检测,证实了大多数患者的 ctDNA 与通过放射学所反映的肿瘤的变化具有一致性[9]。ctDNA 对于晚期 NSCLC 患者的治疗具有划时代的意义。

4. 免疫治疗中 ctDNA 的价值

免疫治疗作为肿瘤治疗的热点及最有前景的疗法之一,被越来越多的基础学者及临床医生研究,所呈现出的疗效也愈见显著。而 ctDNA 作为液体活检的代表,对于免疫治疗中获益人群的筛选及预测预后等值得进一步研究。2014年, Evan J Lipson, Victor E Velculescu 等人通过对 12 名转移性黑色素瘤患者进行免疫治疗,并且在治疗期间以大约 2~4 周的间隔收集一次血液,并将 ctDNA 水平与放射学所反映的肿瘤变化和临床结局进行比较,首次证明 ctDNA 的变化可以预测免疫检查点阻断药物的抗肿瘤疗效[25]。2017年,有学者提出 ctDNA 在非小细胞肺癌免疫治疗中具有一定的意义[26]。2018年, Li Li, Jun Zhang 等人提出了, ctDNA 作为有效肿瘤生物标志物的测定将有助于个体化免疫治疗取得突破[27]。同年, Paulo G Bergerot, Andrew W Hahn 研究表明,肿瘤突变负荷(TMB)可预测对免疫检查点抑制剂的反应,而超突变的 ctDNA 可以作为 TMB 和免疫治疗反应的替代生物标志物[28]。ctDNA 的预测作用及重要意义已经在大部分肿瘤类型中被证实,同样在免疫治疗中的作用也被给予了肯定,并且仍有大量的学者继续研究

其更深层次的疗效。

5. ctDNA 的动态监测的划时代意义

免疫治疗虽然展现了很大的优势，但是表现出了一定的局限性，免疫治疗的获益人群有限[29] [30] 筛选获益人群进行精准治疗尤为重要，所以在治疗前和治疗期间找到一个重要的疗效预测标志物则成为免疫治疗大范围推广的关键。ctDNA 作为非侵入性血液活检的重要标志物，在免疫治疗中进行动态监测来预测预后、筛选获益人群无疑是一种较好的选择。一项回顾性研究，对 206 名晚期肿瘤患者的共 260 个疗程的 ctDNA 进行动态监测，指出 ctDNA 是一种有前景的治疗反应预测标志物，并且发现了即使在治疗的中期，ctDNA 的改变也可以表明治疗的有效性[31]。曾有学者研究转移性非小细胞肺癌(NSCLC)的免疫治疗中 ctDNA 的作用，用于监测接受 ICI 治疗的患者的无进展生存期(PFS) 和 总生存期(OS) [32]。

6. 关于晚期 NSCLC 免疫治疗中关于 ctDNA 动态监测的讨论

晚期 NSCLC 患者基本已经完成了手术或者失去了手术的时机，而精准有限的后续治疗对晚期 NSCLC 患者尤为重要，免疫治疗无疑是一种选择。随着 ctDNA 的深入研究，免疫治疗的局限性有望解决。ctDNA 的半衰期很短，在 15 分钟到几个小时之间，正是因为这一特点，才使得治疗过程中不同时期的检测显得尤其具有代表性。ctDNA 在不同肿瘤中的作用和价值得到了充分的肯定，并且在预测肿瘤预后方面具有很好的表现。目前晚期 NSCLC 患者治疗后的疾病进展及治疗后的疗效检测大部分依靠影像学检查，但是有时免疫细胞的浸润可能会时影像学出现假性进展，从而影响疗效的判断，而 ctDNA 的检测较为准确，所呈现出的预测效果也较影像学提前，也曾被证实在长期获益的预测方面意义重大[24]。ctDNA 作为一种非侵入液体活检的方法，相比于组织活检、影像学检查等方法，具有可重复性、无创、准确等显著优势。免疫治疗期间，动态监测 ctDNA 来筛选获益人群、预测疗效等显示出了十分重要的意义。动态监测显示了晚期 NSCLC 免疫治疗后肿瘤反应情况的纵向变化，能更好的反映肿瘤对于治疗的反应，以及对比前后结果来预测未来发展趋势。晚期 NSCLC 的免疫治疗，有望通过 ctDNA 的动态监测实现更加精准有效的个性化治疗。

在 ctDNA 不断呈现出预后价值的同时，也面临了不可忽视的挑战。正常细胞和肿瘤细胞均可以脱落 cfDNA，而 ctDNA 则是肿瘤细胞脱落的 cfDNA 中的一小部分，仅占 cfDNA 的 0.01%~0.5% [33]，检测是有一定难度的。ctDNA 的检测方法目前有：液滴数字聚合酶链反应(ddPCR)，磁珠，乳液，扩增和磁性(BEAMing)，标记扩增子深度测序(TAm-Seq)，通过深度测序(CAPP-Seq)进行癌症个性化分析，全基因组亚硫酸氢盐测序(WGBS-Seq)，全外显子组测序(WES)和全基因组测序(WGS) [34]。ctDNA 的检测较昂贵，并且需要持续进行，需制定标准化的测量手段及计量标准。ctDNA 为了适应临床工作的需要，也应当考虑适当的灵敏程度、靶标范围，最大样品通量和年度总支出[35]。同时，也有关于在食管癌治疗期间 ctDNA 假阳性的报道[36]。

7. 结论

在晚期的 NSCLC 患者的免疫治疗中，ctDNA 的动态监测对于精准治疗具有重要的指导意义。通过不同时期纵向对比 ctDNA，了解免疫治疗的治疗情况以及预后，有助于治疗决策，达到精准治疗的目的。目前，尿液 ctDNA 也被提出作为一种真正无创的液体活检对于病人的重大意义[37] [38]。尿液、胸腔积液、腹腔积液等的 ctDNA 的价值有待研究，有望得到喜人的结果。ctDNA 各方面的不同特征所能表现出的其他方面的潜力也值得进一步深挖。ctDNA 的在晚期 NSCLC 免疫治疗的 ctDNA 动态纵向监测中，检测时间点的划分、ctDNA 数量的测量标准、疗效评估的进一步准则、不同检测方法的标准化等都需要进一步的达成共识。相信在未来，会有更多相关 ctDNA 的研究，这些问题也有望进一步规范 and 解决。

基金项目

CSCO 临床肿瘤学研究基金项目，编号：Y-2019Roche。

参考文献

- [1] Siegel, R.L., Miller, K.D., Wagle, N.S. and Jemal, A. (2023) Cancer Statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **73**, 17-48. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>
- [2] He, T., Cao, J., Xu, J., Lv, W. and Hu, J. (2020) Minimally Invasive Therapies for Early Stage Non-Small Cell Lung Cancer. *Chinese Journal of Lung Cancer*, **23**, 479-486.
- [3] Lin, C., Liu, X., Zheng, B., Ke, R. and Tzeng, C.M. (2021) Liquid Biopsy, ctDNA Diagnosis through NGS. *Life (Basel)*, **11**, Article No. 890. <https://doi.org/10.3390/life11090890>
- [4] Chae, Y.K. and Oh, M.S. (2019) Detection of Minimal Residual Disease Using ctDNA in Lung Cancer: Current Evidence and Future Directions. *Journal of Thoracic Oncology*, **14**, 16-24. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.09.022>
- [5] Papadopoulos, N. (2020) Pathophysiology of ctDNA Release into the Circulation and Its Characteristics: What Is Important for Clinical Applications. *Recent Results in Cancer Research*, **215**, 163-180. https://doi.org/10.1007/978-3-030-26439-0_9
- [6] Pai-Scherf, L., Blumenthal, G.M., Li, H., et al. (2017) FDA Approval Summary: Pembrolizumab for Treatment of Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer: First-Line Therapy and Beyond. *Oncologist*, **22**, 1392-1399. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2017-0078>
- [7] Tang, S., Qin, C., Hu, H., et al. (2022) Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer: Progress, Challenges, and Prospects. *Cells (Basel)*, **11**, Article No. 320. <https://doi.org/10.3390/cells11030320>
- [8] Mandel, P. and Metais, P. (1948) Nuclear Acids in Human Blood Plasma. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de Ses Filiales*, **142**, 241-243.
- [9] Horndalsveen, H., Alver, T.N., Dalsgaard, A.M., et al. (2023) Atezolizumab and Stereotactic Body Radiotherapy in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Safety, Clinical Activity and ctDNA Responses—The ComIT-1 Trial. *Molecular Oncology*, **17**, 487-498. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13330>
- [10] Pessoa, L.S., Heringer, M. and Ferrer, V.P. (2020) ctDNA as a Cancer Biomarker: A Broad Overview. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **155**, Article ID: 103109. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.103109>
- [11] Wu, N., Zhang, Z., Zhou, X., et al. (2020) Mutational Landscape and Genetic Signatures of Cell-Free DNA in Tumour-Induced Osteomalacia. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **24**, 4931-4943. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14991>
- [12] Vu, P., Khagi, Y., Riviere, P., Goodman, A. and Kurzrock, R. (2020) Total Number of Alterations in Liquid Biopsies Is an Independent Predictor of Survival in Patients with Advanced Cancers. *JCO Precision Oncology*, **4**. <https://doi.org/10.1200/PO.19.00204>
- [13] Lakhotia, R., Melani, C., Dunleavy, K., et al. (2022) Circulating Tumor DNA Predicts Therapeutic Outcome in Mantle Cell Lymphoma. *Blood Advances*, **6**, 2667-2680. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021006397>
- [14] Slagter, A.E., Vollebergh, M.A., Caspers, I.A., et al. (2022) Prognostic Value of Tumor Markers and ctDNA in Patients with Resectable Gastric Cancer Receiving Perioperative Treatment: Results from the CRITICS Trial. *Gastric Cancer*, **25**, 401-410. <https://doi.org/10.1007/s10120-021-01258-6>
- [15] Mencil, J., Slater, S., Cartwright, E. and Starling, N. (2022) The Role of ctDNA in Gastric Cancer. *Cancers*, **14**, Article No. 5105. <https://doi.org/10.3390/cancers14205105>
- [16] Zhang, Z., Wu, H., Chong, W., Shang, L., Jing, C. and Li, L. (2022) Liquid Biopsy in Gastric Cancer: Predictive and Prognostic Biomarkers. *Cell Death & Disease*, **13**, Article No. 903. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05350-2>
- [17] Hamakawa, T., Kukita, Y., Kurokawa, Y., et al. (2015) Monitoring Gastric Cancer Progression with Circulating Tumor DNA. *British Journal of Cancer*, **112**, 352-356. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.609>
- [18] Masfarre, L., Vidal, J., Fernandez-Rodriguez, C. and Montagut, C. (2021) ctDNA to Guide Adjuvant Therapy in Localized Colorectal Cancer (CRC). *Cancers*, **13**, Article No. 2869. <https://doi.org/10.3390/cancers13122869>
- [19] Osumi, H., Shinozaki, E., Yamaguchi, K. and Zembutsu, H. (2019) Clinical Utility of Circulating Tumor DNA for Colorectal Cancer. *Cancer Science*, **110**, 1148-1155. <https://doi.org/10.1111/cas.13972>
- [20] Chakrabarti, S., Kasi, A.K., Parikh, A.R. and Mahipal, A. (2022) Finding Waldo: The Evolving Paradigm of Circulating Tumor DNA (ctDNA)-Guided Minimal Residual Disease (MRD) Assessment in Colorectal Cancer (CRC). *Cancers*, **14**, Article No. 3078. <https://doi.org/10.3390/cancers14133078>
- [21] Sant, M., Bernat-Peguera, A., Felip, E. and Margeli, M. (2022) Role of ctDNA in Breast Cancer. *Cancers*, **14**, Article

- No. 310. <https://doi.org/10.3390/cancers14020310>
- [22] Tzanikou, E. and Lianidou, E. (2020) The Potential of ctDNA Analysis in Breast Cancer. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, **57**, 54-72. <https://doi.org/10.1080/10408363.2019.1670615>
- [23] Ma, F., Guan, Y., Yi, Z., *et al.* (2020) Assessing Tumor Heterogeneity Using ctDNA to Predict and Monitor Therapeutic Response in Metastatic Breast Cancer. *International Journal of Cancer*, **146**, 1359-1368. <https://doi.org/10.1002/ijc.32536>
- [24] Goldberg, S.B., Narayan, A., Kole, A.J., *et al.* (2018) Early Assessment of Lung Cancer Immunotherapy Response via Circulating Tumor DNA. *Clinical Cancer Research*, **24**, 1872-1880. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1341>
- [25] Lipson, E.J., Velculescu, V.E., Pritchard, T.S., *et al.* (2014) Circulating Tumor DNA Analysis as a Real-Time Method for Monitoring Tumor Burden in Melanoma Patients Undergoing Treatment with Immune Checkpoint Blockade. *The Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **2**, Article No. 42. <https://doi.org/10.1186/s40425-014-0042-0>
- [26] Singh, A.P., Cheng, H., Guo, X., Levy, B. and Halmos, B. (2017) Circulating Tumor DNA in Non-Small-Cell Lung Cancer: A Primer for the Clinician. *JCO Precision Oncology*, **1**, 1-13. <https://doi.org/10.1200/PO.17.00054>
- [27] Li, L., Zhang, J., Jiang, X. and Li, Q. (2018) Promising Clinical Application of ctDNA in Evaluating Immunotherapy Efficacy. *American Journal of Cancer Research*, **8**, 1947-1956.
- [28] Bergerot, P.G., Hahn, A.W., Bergerot, C.D., Jones, J. and Pal, S.K. (2018) The Role of Circulating Tumor DNA in Renal Cell Carcinoma. *Current Treatment Options in Oncology*, **19**, Article No. 10. <https://doi.org/10.1007/s11864-018-0530-4>
- [29] Garon, E.B., Rizvi, N.A., Hui, R., *et al.* (2015) Pembrolizumab for the Treatment of Non-Small-Cell Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine*, **372**, 2018-2028. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1501824>
- [30] Robert, C., Long, G.V., Brady, B., *et al.* (2015) Nivolumab in Previously Untreated Melanoma without BRAF Mutation. *The New England Journal of Medicine*, **372**, 320-330. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1412082>
- [31] Gouda, M.A., Huang, H.J., Piha-Paul, S.A., *et al.* (2022) Longitudinal Monitoring of Circulating Tumor DNA to Predict Treatment Outcomes in Advanced Cancers. *JCO Precision Oncology*, **6**, e2100512. <https://doi.org/10.1200/PO.21.00512>
- [32] van der Leest, P., Hiddinga, B., Miedema, A., *et al.* (2021) Circulating Tumor DNA as a Biomarker for Monitoring Early Treatment Responses of Patients with Advanced Lung Adenocarcinoma Receiving Immune Checkpoint Inhibitors. *Molecular Oncology*, **15**, 2910-2922. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13090>
- [33] Bardelli, A. and Pantel, K. (2017) Liquid Biopsies, What We Do Not Know (Yet). *Cancer Cell*, **31**, 172-179. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.01.002>
- [34] Nikanjam, M., Kato, S. and Kurzrock, R. (2022) Liquid Biopsy: Current Technology and Clinical Applications. *Journal of Hematology Oncology*, **15**, Article No. 131. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01351-y>
- [35] Zhou, H., Zhu, L., Song, J., *et al.* (2022) Liquid Biopsy at the Frontier of Detection, Prognosis and Progression Monitoring in Colorectal Cancer. *Molecular Cancer*, **21**, Article No. 86. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01556-2>
- [36] Spoor, J., Eyck, B.M., Atmodimedjo, P.N., *et al.* (2021) Liquid Biopsy in Esophageal Cancer: A Case Report of False-Positive Circulating Tumor DNA Detection Due to Clonal Hematopoiesis. *Annals of Translational Medicine*, **9**, Article No. 1264. <https://doi.org/10.21037/atm-21-525>
- [37] Salfer, B., Li, F., Wong, D. and Zhang, L. (2022) Urinary Cell-Free DNA in Liquid Biopsy and Cancer Management. *Clinical Chemistry*, **68**, 1493-1501. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvac122>
- [38] Yu, H., Han, L., Yuan, J. and Sun, Y. (2020) Circulating Tumor Cell Free DNA from Plasma and Urine in the Clinical Management of Colorectal Cancer. *Cancer Biomarkers*, **27**, 29-37. <https://doi.org/10.3233/CBM-182344>