

肝胆肿瘤分子诊断临床应用专家共识

欧美同学会医师协会肝胆分会, 中国研究型医院学会分子诊断专委会, 中国临床肿瘤学会肝癌专委会, 中国预防医学学会肝胆胰疾病预防与控制专业委员会, 亚太肝病诊疗技术联盟肝癌专委会

【摘要】 为规范肝胆系统原发性恶性肿瘤相关分子标志物在临床诊断、疗效评估及预后预测等方面的应用, 本共识分别从外周血及组织学水平, 针对近年来研究结果较为明确的肝胆肿瘤相关蛋白质、基因表达层面的分子标志物, 在诊断、治疗、分子分型方面的研究进展及临床应用指导意义等做了详尽的总结, 提出了专家指导意见。同时对肝胆肿瘤相关血清学、组织病理学、二代测序等实验室检测的标准、结果判读、报告内容及全过程质量管理等也提出了规范化的建议; 旨在为一线临床工作人员普及肝胆肿瘤分子诊疗最新知识的基础上, 提供科学、合理选择个体化精准诊疗方案的可行依据。

【关键词】 肝胆肿瘤; 分子标志物; 临床诊断; 疗效评估; 靶向治疗; 免疫治疗; 专家共识

【中国图书资料分类号】 R735.8 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1007-8134(2020)02-0101-09

DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2020.02.002

Consensus for clinical application of molecular diagnosis on hepatobiliary carcinoma

Society for Hepatobiliary, Medical Society of Western Returned Scholars Association;
Society for Molecular Diagnosis, Chinese Research Hospital Association, SMD/CRHA;
Expert Committee for Liver Cancer, Chinese Society of Clinical Oncology;

Professional Committee for the Prevention and Control of Hepatobiliary and Pancreatic Diseases, Chinese Preventive Medicine Association;
Expert Committee for Liver Cancer, Asia Pacific Alliance of Liver Diseases

Corresponding author, LU Yin-ying, E-mail: luyinying1973@163.com

【Abstract】 In hepatobiliary carcinoma, serologic and histologic biomarkers including proteins and genes have been recommended and categorized for cancer diagnosis, targeted therapy and immunotherapy regimen selection, as well as prognostic prediction at different levels. To standardize the application of molecular biomarkers in clinical diagnosis, therapeutic evaluation, and prognosis prediction of primary hepatobiliary carcinoma, the specialist committee has summarized the current well studies biomarkers with clinical significance in both serum and tumor tissue as well as provided professional agreements on their potential utilization in this consensus. Moreover, we have made recommendations on standards for laboratory detection, technical operation, data analysis, result interpretation, clinical report, and the whole-process quality management in serological, histopathological detection and next-generation sequencing. According to these, the committee aims to offer clinical staffs with scientific and practical references and guidance to achieve better personalized treatment decisions from these up-to-date knowledges of molecular diagnosis on hepatobiliary carcinoma.

【Key words】 hepatobiliary carcinoma; biomarker; clinical diagnosis; effect evaluation; targeted therapy; immunotherapy; expert consensus

分子生物学诊断技术已广泛应用于包括肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)、胆管细胞癌 (cholangiocarcinoma, CCA)、混合癌 (HCC-CCA) 在内的原发性肝癌 (primary liver cancer, PLC) 及胆管癌、胆囊癌等原发于胆系的恶性肿瘤的临床诊断、疗效评估、预后判断等各个方面。鉴于现有的包括酶联免疫吸附 (ELISA)、免疫组化、基因芯片、基因测序在内的诸多实验手段易受标本采集、保存、核酸提取、测序深度、试剂和仪器质量、结果分析判读等许多因素的影响, 国内外相关学会已相继出台部分共识及指南, 以推动分子生物学前沿成果在临床中的应用。为了完善和规范肝胆肿瘤相关分子生物学诊疗技术及临床实践应用的各个环节, 进一步提升其临床效能的发

挥, 我们在系统总结临床及转化医学研究进展的基础上, 结合我国实际, 经过多次讨论形成了本共识。本共识旨在为肝胆肿瘤分子诊断提供规范及建议, 并为推广分子生物学诊断技术的临床标准化应用奠定基础。

一、诊断相关的主要分子标志物

1 临床应用的血清学分子标志物

(1) 甲胎蛋白、甲胎蛋白异质体 (AFP-L3)

血清甲胎蛋白及其异质体 AFP-L3 是临床上应用最广泛和特异性最强的 HCC 标志物, 国内常用于 HCC 患者的普查、早期诊断、术后监测和随访。化学发光免疫、ELISA 和电化学发光法是其临床常用的检测方式。对于甲胎蛋白 ≥ 400 ng/ml 超过 1 个月, 排除妊娠、生殖腺胚胎瘤和活动性肝病的患者, 应高度考虑 HCC, 其诊断特异性高达 99%, 而敏感性仅为 17%^[1]。对于甲胎蛋白阴性的患者, 要定期检测和动态观察, 并要借助影像学

【基金项目】 精准医学国家重点专项计划 (2017YFC0908401); “十三五”国家科技 (传染病) 重大专项课题 (2018ZX10723204-007-002, 2018ZX10302205-001)

【通信作者】 陆荫英, E-mail: luyinying1973@163.com

检查或穿刺活检等手段来明确诊断。AFP-L3在临床常用亲和吸附离心管法检测。研究显示,在甲胎蛋白不升高的情况下,有34.3%的HCC患者,在确诊1年前即出现AFP-L3升高。当以10%为AFP-L3的临界值时,其对早期HCC的检测敏感性为22%~33%,特异性为93%~94%。对于甲胎蛋白阴性($<20\text{ ng/ml}$) HCC患者,AFP-L3的检测敏感性为12%~21%,特异性为97%~98%^[2]。2005年,美国食品药品监督管理局(FDA)批准将AFP-L3监测应用于HCC预警,并把AFP-L3 $\geq 10\%$ 作为诊断HCC的高特异性指标。

(2) 脱- γ -羧基凝血酶原(DCP)

DCP是一种不正常的凝血酶原分子。在HCC中,由于癌细胞不能正常合成凝血酶原前体,同时凝血酶原前体羧化不足,从而生成大量的DCP。目前广泛采用ELISA试剂盒来检测DCP,亦可采用电化学发光免疫法检测DCP。研究发现,DCP $\geq 40\text{ mAU/ml}$ 诊断早期HCC的敏感性和特异性分别为74%和86%。日本指南建议将DCP联合甲胎蛋白、AFP-L3作为HCC早期诊断和筛查的标志物^[3]。

(3) 糖类抗原19-9

糖类抗原19-9蛋白是一种临床常用的肿瘤标志物,在正常的胆管、胰腺、胃和结肠上皮细胞中均有表达。上述部位的疾病均能引起糖类抗原19-9表达升高。其常用检测方法为微粒子酶免法(MEIA)和ELISA。糖类抗原19-9 $\geq 37\text{ kU/L}$ 时,联合影像学诊断CCA的敏感性为77.4%,特异性为84.7%;糖类抗原19-9 $\geq 100\text{ kU/L}$ 提示CCA患者预后不良^[4];出现梗阻性黄疸症状时,糖类抗原19-9诊断特异性降低。胆道引流减黄后,患者糖类抗原19-9仍维持高值,提示CCA可能性大^[5]。糖类抗原19-9 $\geq 20\text{ kU/L}$ 诊断胆囊癌的敏感性为50%,特异性为92.7%^[4]。

(4) 癌胚抗原

癌胚抗原是一种参与细胞黏附的细胞表面糖蛋白,是结直肠癌的诊断标志,也是肺癌的预后标志物,在健康成人血液中难以检测到。因其易受吸烟等因素影响,故无法作为CCA的独立诊断或预后标志物。临床常用放射免疫检测或ELISA方法对血清癌胚抗原进行定量。癌胚抗原 $\geq 5\text{ ng/ml}$ 时,诊断CCA的敏感性为33%,特异性为85%;癌胚抗原 $\geq 4\text{ ng/ml}$ 时,诊断胆囊癌的敏感性为79.4%,特异性为79.2%^[4]。目前倾向推荐肿瘤标志物糖类抗原19-9联合癌胚抗原和糖类抗原

125 $\geq 35\text{ kU/L}$)。

2 临床应用的病理组织学分子标志物

HCC的组织学分子标志物主要包括肝细胞抗原(HepPar)-1、磷脂酰肌醇聚糖(GPC-3)、精氨酸酶-1、甲胎蛋白、低分子角蛋白(CK)8和CK18,其中HepPar-1、精氨酸酶-1、GPC-3和甲胎蛋白特异性较好,而CK7、CK19是正常小叶间胆管的标志物,因此可作为CCA的标志物。在少数HCC中,CK19和CK7也可表达,而表达时则提示患者预后不良。在HCC的早期诊断方面,联合应用GPC-3、热休克蛋白-70和谷氨酰胺合成酶具有重要诊断价值,这3个免疫标志物中2项阳性则考虑为HCC。CCA的主要组织学诊断标志物包括CK7、CK19、热休克蛋白70、黏蛋白-1。基于抗原-抗体免疫反应的免疫病理检测,并密切结合形态学,已成为PLC病理诊断与鉴别诊断的常规手段。

3 处于探索阶段的血清学分子标志物

(1) 高尔基蛋白(GP)73

GP73是上皮细胞特异性的跨膜蛋白,在正常肝脏汇管区周围的胆管上皮细胞低表达,在大部分的正常肝细胞中不表达,在肝组织病变时表达上调。HCC患者外周血GP73水平更是明显升高。临床上常用ELISA方法检测GP73。当血清GP73 $\geq 10\text{ U/ml}$ (相对值)时,诊断HCC的敏感性为69%,特异性为75%^[6]。需要注意的是,GP73并不是一个HCC特异性标志物,它在肾细胞癌、前列腺癌中都有表达。同时,血清GP73升高不显著时,需与肝硬化相鉴别。

(2) 磷脂酰肌醇蛋白聚糖(GPC)-3

GPC-3是一种细胞膜表面蛋白聚糖,参与多种细胞生物学过程,可用ELISA或放射免疫法检测。在乙型肝炎和丙型肝炎患者血清中,GPC-3 $\geq 300\text{ ng/ml}$ 诊断HCC的敏感性为53%,特异性为77%。在患者HCC组织中,免疫组化检测GPC-3阳性时,诊断HCC的敏感性为97.7%,特异性为91.3%^[7]。

(3) 循环肿瘤细胞DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)突变

ctDNA是肿瘤细胞释放到外周血中的游离DNA。应用ctDNA的特征性突变结合血清蛋白标志物检查,可以诊断出卵巢、肝脏、胃、胰腺、食道、结肠、肺或乳腺等8种常见肿瘤^[8],检出阳性率的中位值为70%,其中HCC的阳性检出率达到96.1%。在不依赖临床信息的情况下,上述方法可以鉴定出44% HCC患者,联合临床信息检出率

可达到63%。另一项联合了ctDNA检查的HCC高频突变与血清中甲胎蛋白、DCP水平检测开发的“HCC筛查系统”，可以从HBsAg阳性的无症状慢性乙型肝炎人群中筛查出HCC患者，其诊断敏感性85%，特异性93%，并有助于提前发现潜在的HCC患者，其诊断敏感性100%，特异性94%^[9]。

(4) ctDNA 甲基化

DNA甲基化的改变与肿瘤发生、发展密切相关，且这种改变被认为发生在遗传学改变之前。外周血ctDNA的甲基化检测，是近年肿瘤另一种无创早期诊断方法。研究显示，对组织和外周血样本差异性甲基化位点结合临床特征所构建的诊断模型，对于鉴别HCC的敏感性达84.8%，特异性为93.1%，同时有助于预测肿瘤的分期、疗效和复发^[10-11]。在2019年欧洲肿瘤内科学年会上公布的一项大样本多中心临床试验显示，用HCC等20余种肿瘤及健康志愿者外周血甲基化测序后构建的肿瘤早筛预测模型，肿瘤诊断的总体特异性为99.4%，敏感性为54.7%。

(5) 端粒酶逆转录酶 (TERT)

TERT基因启动子区突变在大多数肿瘤中都存在。在胆囊癌中TERT启动子突变频率为9.1%；在肝外胆管癌(extrahepatic cholangiocarcinoma, ECC)中出现的频率约为6.7%；在HCC中出现的频率约为0.5%~57.2%；TERT启动子区变异在低级别和高级别肝脏增生性结节中经常出现，被认为是HCC发生的早期分子事件，可作为潜在的辅助临床诊断标志物^[12]。

(6) 微小RNA

微小RNA是由21~25个核苷酸构成的非编码小分子RNA，具有组织特异性、肿瘤特异性、可由外泌体途径分泌入血及稳定性强等特点，已被发现在HCC诊断和协同诊断中具有重要作用。血浆中检测到的微小RNA，包括微小RNA-122、192、21、223、26a、27a、801等，可鉴别诊断HCC，其曲线下面积为0.84~0.94^[13]。同时微小RNA-26a在HCC组织中低表达的患者，可以在肝癌切除术后干扰素辅助治疗中显著获益^[14]。

4 专家推荐意见

(1) 建议使用血清学甲胎蛋白、AFP-L3以及DCP联合检测，结合患者影像学表现，作为临床HCC筛查、诊断的标志物。

(2) 建议结合组织形态学，病理组织检测HepPar-1、精氨酸酶-1、GPC-3和甲胎蛋白，作为HCC诊断的免疫标志物；联合应用GPC-3、热休克蛋白-70和谷氨酰胺合成酶作为早期HCC

临床病理诊断(3项免疫标志物中2项阳性)的免疫标志物；CK7、CK19和黏蛋白-1作为CCA临床病理诊断的免疫标志物。

(3) 建议使用血清学糖类抗原19-9、125及癌胚抗原联合检测，结合影像学特点作为CCA临床诊断的标志物。

(4) 建议使用血清学糖类抗原19-9检测，结合影像学特点作为胆囊癌临床诊断的标志物。

(5) ctDNA、微小RNA等血清学标志物，由于检测成本较高，且缺乏大规模临床试验结果论证，缺乏组织和肿瘤特异性特征，建议可作为肝胆肿瘤患者诊断及筛查的参考指标。

(6) 建议肝胆肿瘤根治性治疗术后，参考使用上述血清学标志物结合影像学检查进行动态监测。

二、治疗相关的标志物

1 靶向治疗相关的分子标志物

(1) 血管内皮生长因子(VEGF) A

VEGFA基因属于PDGF/VEGF生长因子家族。它编码一种肝素结合蛋白，并能诱导血管内皮细胞的增殖和迁移，是生理和病理状态下血管生成所必需。该基因在许多肿瘤中表达上调，其表达与肿瘤分期及进展相关。基于荧光原位杂交结果估计，HCC患者中VEGFA扩增率为7%~11%，高VEGF血浆水平与较差的生存期相关^[15]。一项回顾性临床研究提示，携带VEGFA基因扩增的晚期HCC患者，对索拉非尼治疗有较好的反应性^[16]。

(2) RAS 基因

一项II期临床研究结果显示，接受索拉非尼与MEK抑制剂Refametinib(BAY 86-9766)联合治疗不可切除的东亚HCC患者，4例(5%)血浆中出现KRAS突变的患者有3位确定为部分缓解(PR)，响应持续时间分别为128、335和382d，提示携带RAS突变的HCC患者与RAS野生型患者相比，对索拉非尼与Refametinib联合治疗有更好的临床反应性^[17]。

(3) MET 基因

在多种恶性肿瘤中，MET基因的突变或者扩增，会持续激活c-MET信号，使细胞增殖失控并促进肿瘤转移。MET突变在HCC中的发生频率约为1.89%；在CCA中的突变频率约为1.44%。研究发现，HCC患者的肿瘤组织中c-MET表达水平较高，并与索拉非尼的耐药相关；高表达c-MET的HCC细胞中，卡博替尼能够高效抑制MET活性，抑制血管生成、细胞增殖、细胞迁移和侵袭，促进细胞凋亡^[18]。

(4) TP53 基因

TP53 是恶性肿瘤中最常见的突变基因, 在超过 50% 的肿瘤中检测到该基因的突变, 同时, 其突变被认为与多种肿瘤患者的不良预后相关。晚期 HCC 患者肿瘤组织中可检测到 TP53 (35%) 和 WNT/ β -catenin 信号通路突变 (45%), 并且表现为相互独立的分子亚型^[19]。TP53 在早期复发与无早期复发患者存在差异 ($P=0.057$)。WNK2、RUNX1T1、CTNNB1、TSC1 与 HCC 患者根治性切除术后早期肿瘤复发相关^[20]。目前国内外尚无批准靶向 TP53 基因的抗肿瘤药物, 但 WEE1 抑制剂 AZD1775 在 TP53 突变的实体瘤患者中正在展开临床试验^[21]。

(5) 纤维母细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 19

FGF19 基因编码的蛋白是 FGF 家族成员, 参与人体胚胎发育、细胞生长、形态发生、组织修复、肿瘤生长和侵袭等多种生物学过程。5%~14% 的 HCC 中存在 FGF19、CCND1 (染色体 11q13 中的增加) 异常, 且其高表达水平和患者不良预后相关^[22]。CCND1 与 FGF19 共享基因组基因座, 常在癌症中扩增。2019 年, 美国临床肿瘤学会会议报道, 高选择性的共价 FGFR4 抑制剂 (H3B-6527) 对于 HCC 治疗耐受性良好, 可使 FGF19 信号传导发生变异的 HCC-CCA 患者获益 (NCT02834780)。

(6) 异柠檬酸脱氢酶 1/2 (IDH1/IDH2)

IDH 基因突变见于胶质瘤、急性髓细胞性白血病、肝内胆管癌 (intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC) 的多种癌症。IDH1/IDH2 突变在 ICC 中的出现频率约为 10%~23%^[23], IDH1 R132 位点的点突变较为常见。IDH 基因突变与 ICC 患者预后显著相关, 发生 IDH1/IDH2 基因突变的患者 3 年存活率为 33%, 而 IDH1/IDH2 野生型患者 3 年存活率为 81% ($P=0.003$)^[24]。2019 欧洲肿瘤内科学会报道, IDH 抑制剂 Ivosidenib 治疗 CCA 的 III 期临床试验结果显示, 与安慰剂相比, Ivosidenib 显著改善晚期 IDH1 突变的 CCA 患者的无进展生存期 (PFS, $P<0.001$), 总生存期 (OS) 也有获益。

(7) PI3K/mTOR 信号通路

PI3K/mTOR 信号通路相关的基因有 PIK3CA、PTEN、STK11、TSC1、TSC2、MTOR 等, 是肝胆肿瘤中最重要的信号通路之一。在 HCC 中, PIK3CA 突变频率约为 4%, PTEN 缺失突变频率约为 7%。文献报道 PIK3CA 基因变异出现的频率约为 4.0%~7.5%^[25]。临床研究提示, PI3K、Akt

和 mTOR 抑制剂可以作为 PIK3CA 突变的肿瘤患者潜在的治疗靶点 (NCT00962611, NCT02449538 等)。多种 PI3K 抑制剂, 包括 Buparlisib、Taselisib 和 Apatolisib 等正在 PIK3CA 激活变异、PTEN 突变的肝胆系统肿瘤中开展临床试验。依维莫司一线治疗进展期胆道肿瘤的 II 期临床试验结果显示, 其 12 周疾病控制率 (DCR) 为 48%, 治疗耐受性良好。依维莫司作为一线单一疗法在晚期胆道肿瘤中表现出了较好的临床效果^[26]。另外, 有研究认为, PTEN 缺失可能与 PD-1/PD-L1 抑制剂耐药相关, 但尚需进一步的临床验证^[27]。

(8) 同源重组修复缺陷 (homologous recombination deficiency, HRD)

HR 是 DNA 损伤修复的机制之一。当某个或多个同源重组修复基因发生变异时, 可能导致 HRD。HR 通路涉及的基因包括 BRCA1/2, PALB2, ATM, ATR, CHEK1/2, BARD1, BRIP1, MRE11A, RAD51 基因家族和 FANC 基因家族等。根据 2018 美国癌症研究协会一项实体肿瘤 HRD 与肿瘤突变负荷 (tumor mutation burden, TMB) 相关性研究 (No.1369) 结果, HRD 在 HCC 和 CCA 中的发生频率分别为 28.7% 和 20.8%, 靶向抑制 PARP 已成为 BRCA1/2 或 PALB2 基因缺陷肿瘤的潜在治疗策略。携带 BRCA1/2 突变的患者 (7 例 ICC, 1 例 HCC), 在多种治疗失败后用 PARP 抑制剂奥拉帕尼治疗, 3 例患者部分缓解 (PR), 2 例患者病情稳定 (SD) 达 3~5 个月^[28]。

(9) 纤维母细胞生长因子受体 (fibroblast growth factor receptor, FGFR)

FGFR 家族受体成员 FGFR1-3 编码成纤维细胞生长因子受体 1-3, FGF/FGFR 激活突变、扩增或基因融合会导致 FGFR 持续激活, 促进多种肿瘤进展。11% 的 ICC 和 3% 的胆囊癌可检测到 FGFR1-3 基因变异^[29]。在 11%~45% 的 CCA 中检测到 FGFR2 基因融合, 常见形式主要有 FGFR2-ZMYM4、FGFR2-BICC1 融合等^[30]。FDA 已批准如厄达替尼、仑伐替尼、瑞戈非尼、普纳替尼、培唑帕尼等多种 FGFR 的激酶抑制剂用于肿瘤的临床治疗。晚期/转移性或手术无法切除 CCA 患者的二线治疗临床试验 (FIGHT-202) 显示, FGFR2 基因易位的 CCA 患者 Pemigatinib (INCB54828) 临床治疗效果显著, 客观缓解率 (ORR) 达 40%, 其中 40% PR, 45% SD; DCR 为 85%, 中位无进展生存期 (mPFS) 为 9.2 个月, 中位总生存期为 15.8 个月

(NCT02924376)。另一FGFR抑制剂BGJ398在FGFR变异(48例FGFR2融合、8例突变和3例基因扩增)的晚期CCA患者中开展的II期二线临床试验(NCT02150967)显示, ORR为14.8%(在FGFR2融合患者中为18.8%), DCR为75.4%(在FGFR2融合患者中为83.3%), mPFS 5.8个月^[31]。普纳替尼、瑞戈非尼在胆道肿瘤的临床试验也在进行中。

(10) ERBB2 基因

ERBB2(又名HER2/neu)基因, 属于人类表皮生长因子受体家族(human epithelial factor receptor, HER)。该家族包括4个成员: EGFR、HER2、HER3以及HER4, 均编码跨膜受体酪氨酸激酶, 参与生长因子介导的致癌信号级联放大传递。HER2基因突变在CCA中发生频率约为3.9%, 在胆囊癌中约为11.0%^[32]。研究显示, HER2在胆囊上皮中的持续表达能够导致腺癌的发生。胆囊癌中, 12.8%患者存在HER2蛋白过表达, 而且过表达的患者5年OS相对较差。回顾性研究发现, HER2基因扩增或过表达的胆囊癌患者(8例)使用曲妥珠单抗、帕妥珠单抗和拉帕替尼治疗, 3例为SD, 4例为PR, 1例为CR^[33]。1例HER2过表达的转移性胆囊癌患者使用曲妥珠单抗治疗后, 其病情缓解持续时间为4个月^[34]; 1例携带HER2扩增的转移性CCA患者经曲妥珠单抗联合紫杉醇治疗后, 临床疗效显著^[35]。

(11) BRAF 基因

BRAF为编码RAF蛋白激酶的家族成员之一, 主要参与MAP激酶级联反应, 该信号激活能够促进细胞增殖、生存、迁移和分化。据报道, 胆道肿瘤中BRAF突变频率的差异很大: 胆囊癌的变异频率为0%~33%, CCA的变异频率为0%~22%^[36]。最常见的BRAF基因变异是V600E突变, 位于BRAF基因激酶激活域。V600E突变的BRAF激酶活性大约是非突变型的500倍, 可持续激活下游MEK/ERK信号通路。FDA批准达拉非尼、维莫非尼和Encorafenib, 以及MEK抑制剂曲美替尼、卡博替尼和Binimetinib等BRAF抑制剂单药或联合治疗多种携带BRAF V600位点突变的肿瘤。BRAF V600E突变还与BRAF抑制剂(维莫非尼、达拉非尼等)敏感性增强有关^[37]。达拉非尼联合曲美替尼治疗BRAF V600E突变的CCA患者, ORR达41%, 且安全可耐受(NCT02034110)。

2 免疫治疗相关的分子标志物

(1) 程序性细胞死亡配体-1(programmed cell death ligand, PD-L1)

PD-L1常见于表达在肿瘤细胞、巨噬细胞和树突状细胞表面, 具有诱导免疫逃逸的功能; 体内也存在细胞外的游离型PD-L1, 分为可溶性PD-L1分子(sPD-L1)和外泌体型PD-L1。sPD-L1被证实与多种肿瘤患者预后不良相关。血清外泌体型PD-L1升高能激活肿瘤的免疫逃逸, 导致PD-1/PD-L1单抗疗效不佳^[38]。大量临床试验表明, 组织中PD-L1表达阳性是免疫检查点抑制剂疗效评估和患者预后的重要分子标志物, 但对于PD-L1检测阳性标准, 不同癌种的不同抗体有不同的判断标准。目前, 研究数据表明对该结果存在争议, 而肝胆肿瘤中尚无明确结论。

(2) TMB

TMB是指肿瘤基因组中平均1 Mb范围内所包含的体细胞蛋白编码区点突变、插入缺失等基因变异数量。高TMB与多种因素相关, 如DNA聚合酶POLE和POLD1的DNA“校对”结构域的突变、错配修复缺陷(mismatch repair deficient, dMMR)和微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)等。高TMB与免疫检查点抑制剂治疗肿瘤较好的临床响应相关^[39], 这种获益可能与高TMB患者肿瘤细胞新抗原增加有关。晚期HCC患者TMB中位值约为4个突变/Mb, 95%的患者TMB<10个突变/Mb, 6.89%样本TMB≥10个突变/Mb。PD-1抑制剂治疗HCC的研究报道1例(5.8%)患者(TMB=15个突变/Mb, MSI低)对纳武利尤单抗保持完全应答状态持续超过2年^[40]。另有个案报道也显示免疫联合治疗对PD-L1(+)/TMB-H的ICC患者疗效明显^[41]。

(3) MSI及碱基错配修复(mismatch repair, MMR)

MMR相关基因(MLH1、MSH2、MSH6、PMS2)的功能失活可导致MSI-H, 表现为碱基插入或缺失产生的基因组中简单重复序列(微卫星)长度的改变。一项晚期HCC基因组测序研究报道, 仅发现0.2%的患者MSI-H。NCCN指南中推荐, 对于不可切除和转移性CCA患者, 推荐增加分子检测, 包括MMR检测, 并推荐帕博利珠单抗用于MSI-H/dMMR的ICC、ECC和胆囊癌患者^[42]。

(4) 特定的基因变异

特定基因的突变可能影响肿瘤细胞逃避免疫监视的能力。在不同肿瘤中免疫相关的特定的基因变异, 如STK11/LKB1、POLE的激活突变、B2M的杂合性缺失等, 可预测免疫治疗应答率。Wnt/CTNNB1突变是HCC免疫排斥亚型的特征^[43], 具有Wnt-β-catenin通路突变的HCC患者对免疫检查点抑制治疗耐药, 其中位生存期较差

(突变患者为 9.1 个月, 未突变患者 15.2 个月)。

3 专家推荐意见

(1) 整体来说, 对于肝胆肿瘤, 无论靶向治疗(索拉非尼、仑伐替尼、瑞戈非尼等)还是免疫治疗(PD-1 单抗、PD-L1 单抗、CTLA-4 单抗等), 均无明确的标志物能够预测患者疗效和预后。临床实践中, 不推荐在靶向治疗或/和免疫治疗前常规行基因筛查检测。

(2) HCC 靶向治疗(索拉非尼、仑伐替尼、瑞戈非尼等)前, 不推荐常规进行基因筛查预测疗效, 但可结合临床实际情况或临床试验, 对患者进行 RAS、MET、HRD、VEGFA 等基因检测, 为 HCC 耐药后治疗以及联合治疗提供参考依据。

(3) 临床中可结合实际情况或临床试验, 尝试对 CCA/胆囊癌患者进行 FGFR、ERBB2、BRAF、IDH、HRD、PI3K/mTOR、FGF19 等基因检测, 探索患者个体化靶向治疗的新方案。

(4) 肝胆肿瘤免疫治疗前(PD-1 单抗、PD-L1 单抗、CTLA-4 单抗)不建议通过常规基因筛查选择免疫治疗优选人群。但可结合临床实际情况或者临床试验, 对患者进行组织学或血清学 PD-L1、TMB、MSI 等检测, 探索免疫治疗有效的分子诊断标志物。

(5) 所有标志物的检测, 仅为肝胆肿瘤靶向和/或免疫治疗提供临床参考。由于肝胆肿瘤基因异质性、个体差异性、免疫微环境等多种影响因素存在, 即使是由具有分子生物学背景、临床经验丰富的资深医师指导治疗, 亦无法保证所有患者的临床获益。迫切需要开展多中心、大规模临床实验, 以明确肝胆肿瘤靶向和/或免疫治疗过程中的有效分子标志物。

三、肿瘤标志物的检测质控

1 血清肿瘤标志物

国家卫生行业标准《常用血清肿瘤标志物检测的临床应用和质量管理》规范了各种标志物的应用以及质控、报告的注意事项等各个方面, 应注意患者进行血液样本采集时的生理变化、疾病情况、不良嗜好以及用药情况等。血液样本应避免溶血、样本污染。采集后应及时处理, 根据需要选择储存条件, 避免反复冻融。肿瘤标志物检测的方法很多, 肿瘤标志物的连续检测、判断疗效或复发监测时应使用同一检测系统进行, 以保证测定结果的可比性。实验室要求详见: 临床实验室室间质量评价要求(GB/T20470)、室间质量评价结果应用指南(WS/T414)、临床实验室对商

品定量试剂盒分析性能验证(WS/T420)及临床检验定量测定项目精密度与正确度性能验证(WS/T492)等。

2 病理免疫组化

(1) 病理申请单上应包含患者的基本信息、采集标本的部位、方法(穿刺、活检、手术等), 尽可能将肿瘤标本在离体 30 min 以内完整送达病理科进行切块固定。

(2) 注意使用试剂的保存(避免反复冻融、污染等), 建立组织处理、免疫组化切片、抗原修复、染色操作等的标准化流程。

(3) 严格按照相关分级标准进行结果判定, 最大限度规避因主观因素造成的结果差异^[44]。

(4) 病理报告建议除常规病理结果、免疫组化结果、典型图片外, 建议包含与肝脏恶性肿瘤潜在药物靶点检测、生物学行为评估以及预后判断等相关的分子病理学结果。

3 二代测序(next generation sequencing, NGS)实验过程及检测报告的要求

(1) 实验过程的要求

① NGS 需建立并遵循流程质量管理体系文件, 便于查询及追溯。

② NGS 实验室需制定防污染措施及控制。实验室操作应符合《实验室生物安全通用要求》(GB19489-2008)^[45], 进行定期通风及紫外照射处理。实验操作过程中, 要严格执行各区功能划分、擦拭实验用品等避免交叉污染。

③ NGS 分析过程样本质量要求^[46]。A. 接收样本类型可选用福尔马林固定、石蜡包埋(FFPE)样本、新鲜组织、各种体液上清液、体液离心细胞块、石蜡包埋标本和血浆/血液标本等。B. 样本接收后需由病理专业人员对其进行检查, 以进一步明确样本取样来源及肿瘤含量占比。C. 核酸提取: 需使用经过验收合格的试剂对检测类型进行抽提。实验耗材应一次性使用, 避免污染。抽提好的 DNA 需经过凝胶电泳、定量等鉴定其结果是否满足后续测序。D. 构建文库: 将提取合格的 DNA 进行文库构建, 对其进行目的基因的抓取, 得到的文库进行质检查其峰形及总量的占比。E. 测序上机: 添加质控样品作为参照, 选取合适的测序平台及芯片对样本进行测序。

(2) 检测报告的要求

① 阳性变异判读。明确阳性变异位点, 包括点突变、插入缺失、拷贝数变化及结构变异等。尤其是对于串联重复序列的插入缺失突变; 构建自己实验室内部的假阳性数据库, 有效剔除假阳

性；规范命名，命名建议遵循人类基因组变异学会命名规则。

② 变异分类。筛选临床相关变异：A. 明确变异分类的标准，包括已知报道变异、新发变异等。

B. 依照临床证据对变异的肿瘤相关性（治疗、诊断、预后）分析，证据等级评定。

③ 对临床意义明确变异进行详细解释。A. 结合证据等级进行用药推荐（国内外相应规范、专家共识等），变异功能注释做到客观、准确、严谨。B. 报告的基本内容板块可以参考《临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识》中的结果解释及报告^[46]。C. 复核是否有文字错误。

④ 其他。对于动态监测的患者，需结合既往NGS检测结果比较分析。

四、小 结

结合 HCC 患者基因表达、突变水平，推荐将 HCC 分为增殖型和非增殖型。增殖型 HCC 一般具有乙型肝炎病毒感染的背景，且甲胎蛋白很高，肿瘤进展更快、恶性程度更高，患者预后更差。非增殖型 HCC 一般是由于丙肝病毒感染或酒精性肝病所致，患者预后相对较好^[47]。另一方面，联合患者体内 TMB 与 T 细胞炎症基因（PD-L1、CTLA-4 等）水平，可将肝胆肿瘤免疫微环境分为 4 型，其中以高 TMB、高炎症细胞浸润为特征的 1 型微环境肿瘤，对于免疫治疗效果最佳，而以低 TMB、缺乏炎症细胞浸润——“免疫荒漠”为特征的 2 型微环境肿瘤，对于免疫治疗疗效最差^[48]。此外，肝胆肿瘤免疫治疗中，我们还应关注肿瘤免疫治疗中超进展的情况（hyperprogressive disease, HPD）。数据显示，肿瘤免疫治疗中 HPD 发生率在 10% 左右^[49-50]，MDM2、MDM4、EGFR 及 11q13 区间（包含 CCND1、FGF19、FGF3、FGF4）基因扩增可能与肿瘤免疫治疗 HPD 相关^[51]，肝胆肿瘤免疫治疗 HPD 发生率、预测标志物等还需要进一步研究观察。

本共识编撰指导专家（按姓氏拼音排名）：蔡建强（中国医学科学院肿瘤医院），卢实春（解放军总医院第一医学中心），秦叔逵（解放军东部战区总医院），赵景民（解放军总医院第五医学中心），张宁（北京大学），Xinwei Wang（美国国立卫生研究院/国家肿瘤研究所），Lewis Roberts（梅奥诊所）

参与共识讨论的专家（按姓氏拼音排名）：安文林（北京化工大学），白凡（北京大学），毕新宇（中国医学科学院肿瘤医院），常东（复旦大

学附属浦东医院），陈刚（山西太原市第三人民医院），成军（首都医科大学附属地坛医院），崔久崑（吉林大学第一医院肿瘤中心），陈敏山（广州中山大学肿瘤防治中心），陈志翱（复旦大学肿瘤研究所），杜映荣（云南省昆明市第三人民医院），古瑾（清华大学自动化系），洪智贤（解放军总医院第五医学中心），英卫东（中国科学技术大学附属第一医院），贾晓东（解放军总医院第五医学中心），匡铭（广州中山大学附属第一医院），李海洋（贵州医科大学附属医院），刘连新（中国科技大学附属医院），鲁志（清华大学生科院），罗莉（贵州省贵航贵阳医院），郎韧（北京朝阳医院），刘秀峰（解放军东部战区总医院），梁跃东（贵州省贵阳市公共卫生救治中心），刘振文（解放军总医院第五医学中心），潘杰（北京协和医院），浦立勇（南京医科大学第一附属医院），彭涛（广西医科大学附属医院），钱红纲（北京大学肿瘤医院），孙斌（首都医科大学附属佑安医院），宋天强（天津医科大学肿瘤医院），苏昕（北京化工大学），谭晓东（中国医大盛京医院），王华（安徽医科大学附属医院），王鲁（复旦大学肿瘤医院），王立明（大连医科大学附属二院），王楠娅（吉林大学第一医院肿瘤中心），王琼（江阴市人民医院肿瘤科），吴向未（新疆石河子大学医学院），汪小我（清华大学自动化系），夏锋（陆军军医大学西南医院），薛瑞栋（北大医院），杨松（首都医科大学附属地坛医院），尹洪芳（北京清华长庚医院），虞朝辉（浙江大学医学院附属第一医院），云径平（广州中山大学肿瘤防治中心），周光德（解放军总医院第五医学中心），张佳林（中国医科大学附属第一医院），赵明（广州中山大学肿瘤医院），张宁（解放军总医院第五医学中心），赵攀（解放军总医院第五医学中心），张强（淄博市第四人民医院肿瘤科），左石（贵州医科大学附属医院），赵雪珂（贵州医科大学附属医院），智绪亭（山东大学齐鲁医院），曾义岚（四川省成都市公共卫生临床医疗中心），赵一鸣（复旦大学附属肿瘤医院），曾珍（解放军总医院第五医学中心），朱震宇（解放军总医院第五医学中心）

执笔专家：陆荫英（解放军总医院第五医学中心），赵海涛（北京协和医院），程家敏（解放军总医院第五医学中心），姬峻芳（浙江大学生命科学院）

【参考文献】

[1] Trevisani F, D'Intino PE, Morselli-Labate AM, et al. Serum

- α -fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: influence of HBsAg and anti-HCV status [J]. *J Hepatol*, 2001, 34(4):570–575. DOI: 10.1016/s0168-8278(00)00053-2.
- [2] Yi X, Yu S, Bao Y. Alpha-fetoprotein-L3 in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 425(21):212–220. DOI: 10.1016/j.cca.2013.08.005.
- [3] Kokudo N, Hasegawa K, Akahane M, *et al.* Evidence-based clinical practice guidelines for hepatocellular carcinoma: the Japan society of hepatology 2013 update (3rd JSH-HCC Guidelines) [J]. *Hepatol Res*, 2015, 45(2):123–127. DOI: 10.1111/hepr.12464.
- [4] Koh WJ, Greer BE, Abu-Rustum NR, *et al.* Vulvar cancer, version 1.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2017, 15(1):92–120. DOI: 10.6004/jccn.2017.0008.
- [5] 中国抗癌协会. 肝门部胆管癌规范化诊治专家共识 (2015) [J]. *中华肝胆外科杂志*, 2015, 21(8):505–511.
- [6] Marrero JA, Romano PR, Nikolaeva O, *et al.* GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2005, 43(6):1007–1012. DOI: 10.1016/j.jhep.2005.05.028.
- [7] Geramizadeh B, Seirfar N. Diagnostic value of arginase-1 and glypican-3 in differential diagnosis of hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma and metastatic carcinoma of liver [J]. *Hepat Mon*, 2015, 15(7):e30336. DOI: 10.5812/hepatmon30336v2.
- [8] Cohen JD, Li L, Wang Y, *et al.* Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test [J]. *Science*, 2018, 359(6378):926–939. DOI: 10.1126/science.aar3247.
- [9] Qu C, Wang Y, Wang P, *et al.* Detection of early-stage hepatocellular carcinoma in asymptomatic HBsAg-seropositive individuals by liquid biopsy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(13):6308–6312. DOI: 10.1073/pnas.1819799116.
- [10] Xu RH, Wei W, Krawczyk M, *et al.* Circulating tumour DNA methylation markers for diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Mater*, 2017, 16:1155–1161. DOI: 10.1038/nmat4997.
- [11] Cheng JM, Wei DK, Ji Y, *et al.* Integrative analysis of DNA methylation and gene expression reveals hepatocellular carcinoma-specific diagnostic biomarkers [J]. *Genome Med*, 10(1):42–48. DOI: 10.1186/s13073-018-0548-z.
- [12] Qu Y, Shi L, Wang D, *et al.* Low frequency of TERT promoter mutations in a large cohort of gallbladder and gastric cancers [J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(12):2993–2994. DOI: 10.1002/ijc.28633.
- [13] Zhou J, Yu L, Gao X, *et al.* Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(36):4781–4788. DOI: 10.1200/JCO.2011.38.2697.
- [14] Ji J, Shi J, Budhu A, *et al.* MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(15):1437–1447. DOI: 10.1056/NEJMoa0901282.
- [15] Zucman-Rossi J, Villanueva A, Nault JC, *et al.* Genetic landscape and biomarkers of hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(5):1226–1239. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.05.061.
- [16] Horwitz E, Stein I, Ben-Neriah Y, *et al.* Animal model studies indicate a candidate biomarker for sorafenib treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cell Oncol*, 2015, 2(1):e968028. DOI: 10.4161/23723548.2014.968028.
- [17] Lim HY, Heo J, Choi HJ, *et al.* A phase II study of the efficacy and safety of the combination therapy of the MEK inhibitor refametinib (BAY 86-9766) plus sorafenib for Asian patients with unresectable hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(23):5976–5985. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3445.
- [18] Xiang Q, Chen W, Ren M, *et al.* Cabozantinib suppresses tumor growth and metastasis in hepatocellular carcinoma by a dual blockade of VEGFR2 and MET [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(11):2959–2970. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2620.
- [19] Harding JJ, Nandakumar S, Armenia J, *et al.* Prospective genotyping of hepatocellular carcinoma: clinical implications of next generation sequencing for matching patients to targeted and immune therapies [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(7):2116–2126. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2293.
- [20] SL Zhou, ZJ Zhou, ZQ Hu, *et al.* Genomic sequencing identifies WNK2 as a driver in hepatocellular carcinoma and a Risk Factor for Early Recurrence [J]. *J Hepatol*, 2019, 71(6):1152–1163. DOI: 10.1016/j.jhep.2019.07.014.
- [21] Leijen S, Van Geel RM, Pavlick AC, *et al.* Phase I study evaluating WEE1 inhibitor AZD1775 as monotherapy and in combination with gemcitabine, cisplatin, or carboplatin in patients with advanced solid tumors [J]. *J Clinical*, 2016, 34(36):4371–4380. DOI: 10.1200/JCO.2016.67.5991.
- [22] The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive and integrative genomic characterization of hepatocellular carcinoma [J]. *Cell*, 2017, 169(7):1327–1341. DOI: 10.1016/j.cell.2017.05.046.
- [23] Razumilava N, Gores GJ. Cholangiocarcinoma [J]. *Lancet*, 2014, 383(9935):2168–2179. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61903-0.
- [24] Jiao Y, Pawlik TM, Anders RA, *et al.* Exome sequencing identifies frequent inactivating mutations in BAP1, ARID1A and PBRM1 in intrahepatic cholangiocarcinomas [J]. *Nat Genet*, 2013, 45(12):1470–1473. DOI: 10.1038/ng.2813.
- [25] Wardell CP, Fujita M, Yamada T, *et al.* Genomic characterization of biliary tract cancers identifies driver genes and predisposing mutations [J]. *J Hepatol*, 2018, 68(5):959–969. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.01.009.
- [26] Lau DK, Tay RY, Yeung YH, *et al.* Phase II study of everolimus (RAD001) monotherapy as first-line treatment in advanced biliary tract cancer with biomarker exploration: the RADiChol Study [J]. *Brit J Cancer*, 2018, 118(7):966–971. DOI: 10.1038/s41416-018-0021-1.
- [27] George S, Miao D, Demetri GD, *et al.* Loss of PTEN is associated with resistance to anti-PD-1 checkpoint blockade therapy in metastatic uterine leiomyosarcoma [J]. *Immunity*, 2017, 46(2):197–204. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.02.001.
- [28] Lin J, Shi J, Guo H, *et al.* Alterations in DNA damage repair genes in primary liver cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(15):4701–4711. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0127.
- [29] Javle M, Bekaii-Saab T, Jain A, *et al.* Biliary cancer: utility of next-generation sequencing for clinical management [J]. *Cancer*, 2016, 122(24):3838–3847. DOI: 10.1002/cncr.30254.
- [30] Saha SK, Zhu AX, CS Fuchs, *et al.* Forty-Year trends in cholangiocarcinoma incidence in the U.S.: intrahepatic disease on the rise [J]. *Oncologist*, 2016, 21(5):594–599. DOI: 10.1634/theoncologist.2015-0446.
- [31] M Javle, M Lowery, RT Shroff, *et al.* Phase II study of BGJ398 in patients with FGFR-altered advanced cholangiocarcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(3):276–282. DOI: 10.1200/JCO.2017.75.5009.
- [32] AACR Project GENIE Consortium. AACR Project GENIE: powering precision medicine through an international consortium [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(8):818–831. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-0151.
- [33] Javle M, Churi C, Kang HC, *et al.* HER2/neu-directed therapy for biliary tract cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8:58. DOI: 10.1186/s13045-015-0155-z.
- [34] Sorscher S. Marked radiographic response of a HER-2-overexpressing biliary cancer to trastuzumab [J]. *Cancer Manag Res*, 2013, 9:1–3. DOI: 10.2147/CMAR.S55091.

(下转第118页)

- 2018, 57(12):867–884.
- [6] World Health Organization. WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children [R]. Geneva: WHO, 2007.
- [7] 中国肥胖问题工作组数据汇总分析协作组. 我国成人体重指数和腰围对相关疾病危险因素异常的预测价值: 适宜体重指数和腰围切点的研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2002, 23(1):5–10.
- [8] Mao W, Sun Q, Fan J, *et al.* AST to platelet ratio index predicts mortality in hospitalized patients with hepatitis B-related decompensated cirrhosis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(9):e2946.
- [9] World Health Organization. Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection [R]. Geneva: WHO, 2015.
- [10] Xie J, Han Y, Qiu Z, *et al.* Prevalence of hepatitis B and C viruses in HIV-positive patients in China: a cross-sectional study [J]. *J Int AIDS Soc*, 2016, 19(1):20659.
- [11] 阳帆, 路滢, 张仁利, 等. 深圳市居民乙型肝炎病毒感染现状及基因型分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(15):2605–2607.
- [12] Rusine J, Ondoa P, Asiimwe-Kateera B, *et al.* High seroprevalence of HBV and HCV infection in HIV infected adults in Kigali, Rwanda [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e63303.
- [13] Demosthenes JP, Sachithanandham J, Fletcher GJ, *et al.* Characteristics of treatment-naïve HBV-infected individuals with HIV-1 coinfection: a cross-sectional study from South India [J]. *Indian J Med Microbiol*, 2019, 37(2):219–224.
- [14] Pappoe F, Hagan CKO, Obiri-Yeboah D, *et al.* Sero-prevalence of hepatitis B and C viral infections in Ghanaian HIV positive cohort: a consideration for their health care [J]. *BMC Infect Dis*, 19(380):1–8.
- [15] Akindigh TM, Joseph AO, Robert CO, *et al.* Seroprevalence of hepatitis B virus co-infection among HIV-1-positive patients in North-Central Nigeria: the urgent need for surveillance [J]. *Afr J Lab Med*, 2019, 8(1). DOI: 10.4102/ajlm.v8i1.622.
- [16] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南 (2019年版) [J]. 中华传染病杂志, 2019, 37(12):711–736.
- [17] Kröger T, Pickering L, Marcuse EK, *et al.* General best practice guidelines for immunization. Best practices guidance of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)[EB/OL]. [2020-03-11]. <http://www.cdc.gov/vaccines/hcp/acip-recs/generalrecs/downloads/general-recs.pdf>.
- [18] Geretti AM, Brook G, Cameron C, *et al.* British HIV association guidelines for immunization of HIV-infected adults 2008 [J]. *HIV Med*, 2010, 9(10):795–848.
- [19] Odile L, Diane VD, Rosenberg AR, *et al.* Safety and immunogenicity of 4 intramuscular double doses and 4 intradermal low doses vs standard hepatitis B vaccine regimen in adults with HIV-1 a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2011, 305(14):1432–1440.

(2020-03-10 收稿 2020-04-02 修回)
(本文编辑 赵雅琳)

(上接第 108 页)

- [35] Law LY. Dramatic response to trastuzumab and paclitaxel in a patient with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic cholangiocarcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(27):271–273. DOI: 10.1200/JCO.2012.42.3061.
- [36] Goepfert B, Frauenschuh L, Renner M, *et al.* BRAF V600E-specific immunohistochemistry reveals low mutation rates in biliary tract cancer and restriction to intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Mod Pathol*, 2014, 27(7):1028–1034. DOI: 10.1038/modpathol.2013.206.
- [37] Flaherty KT, Infante JR, Daud A, *et al.* Combined BRAF and MEK inhibition in melanoma with BRAF V600 mutations [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(18):1694–1703. DOI: 10.1056/NEJMoa1210093.
- [38] Gang C, Huang AC, Wei Z, *et al.* Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response [J]. *Nature*, 2018, 560(7718):382–386. DOI: 10.1038/s41586-018-0392-8.
- [39] Le DT, Uram JN, Wang H, *et al.* PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26):2509–2520. DOI: 10.1056/NEJMoa1500596.
- [40] Ang C, Klemperer SJ, Ali SM, *et al.* Prevalence of established and emerging biomarkers of immune checkpoint inhibitor response in advanced hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2019, 10(40):4018–4025. DOI: 10.18632/oncotarget.26998.
- [41] Mou H, Yu L, Liao Q, *et al.* Successful response to the combination of immunotherapy and chemotherapy in cholangiocarcinoma with high tumour mutational burden and PD-L1 expression: a case report [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1):1105. DOI: 10.1186/s12885-018-5021-2.
- [42] Havel JJ, Chowell D, Chan TA. The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(3):133–150. DOI: 10.1038/s41568-019-0116-x.
- [43] Pinyol R, Sia D, Llovet JM. Immune exclusion-Wnt/CTNNB1 class predicts resistance to immunotherapies in HCC [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(7):2021–2023. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3778.
- [44] 谭卫峰, 刘庆猛, 何平生. 免疫组化质量控制的标准化 [J]. 卫生政策与管理, 2013, 51(31):134–139.
- [45] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB19489-2008 实验室生物安全通用要求 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [46] 《临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识》编写组. 临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识 [J]. 中华病理学杂志, 2017, 46(3):145–148.
- [47] Villanueva A. Hepatocellular carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(15):1450–1462. DOI: 10.1056/NEJMra1713263.
- [48] O'Donnell JS, Teng MWL, Smyth MJ. Cancer immunoediting and resistance to T cell-based immunotherapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(3):151–167. DOI: 10.1038/s41571-018-0142-8.
- [49] Champiat S, Dercle L, Ammari S, *et al.* Hyperprogressive disease is a new pattern of progression in cancer patients treated by anti-PD-1/PD-L1 [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(8):1920–1928. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1741.
- [50] Ferrara R, Mezquita L, Texier M, *et al.* Hyperprogressive disease in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with PD-1/PD-L1 inhibitors or with single-agent chemotherapy [J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(11):1543–1552. DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.3676.
- [51] Kato S, Goodman A, Walavalkar V, *et al.* Hyper-progressors after immunotherapy: analysis of genomic alterations associated with accelerated growth rate [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(15):4242–4250. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-3133.

编后语 编辑部对所刊载内容未作编辑加工