



复旦大学附属
中山医院
ZHONGSHAN HOSPITAL

肝癌的精准诊疗

孙惠川 周俭 樊嘉

复旦大学肝癌研究所

复旦大学附属中山医院肝肿瘤外科

肝癌仍是最大挑战之一

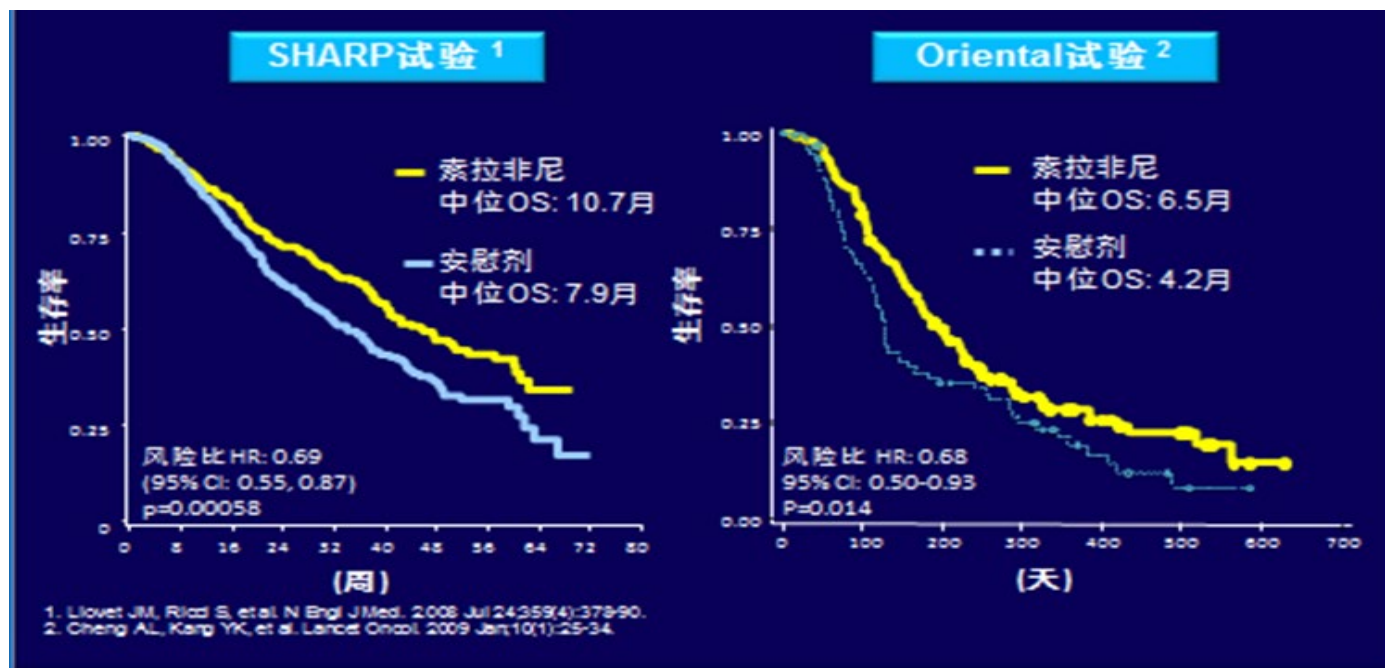
CA Cancer J Clin. 2016

- 中国新发肝细胞癌（简称肝癌）占全球**55%**
- 发病率第**四**，死亡率第**三**
- 五年生存率**7-10%**
- 仅有**30%**患者有手术切除机会
- 术后5年转移/复发率**60-70%**
- 治疗结果及预后差异巨大

**早诊早治、抗转移复发
是提高患者总体生存关键**

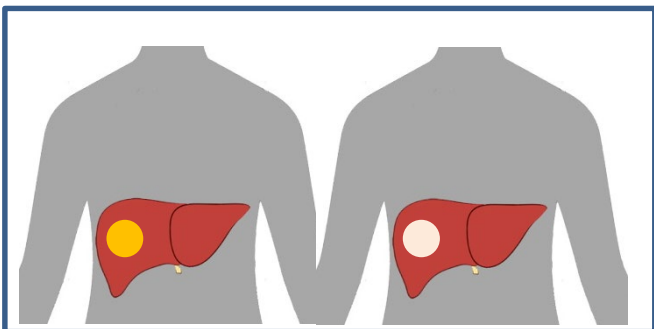
现有抗肝癌药物疗效差

- 肝癌对现有的化疗药物不敏感
- 索拉非尼提高生存<3月，晚期中位生存6.5-10.7月
- 瑞格菲尼提高OS 2-3月 (10.6 vs 7.8月)



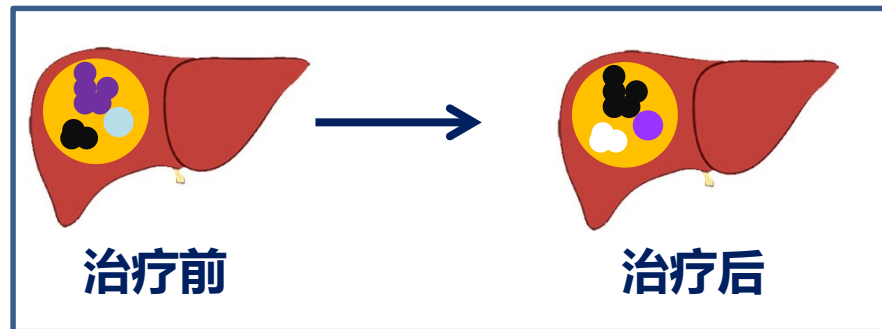
寻找敏感抗肝癌药物是提高疗效的关键

肝癌具有高度肿瘤异质性



个体间异质性

肿瘤内异质性

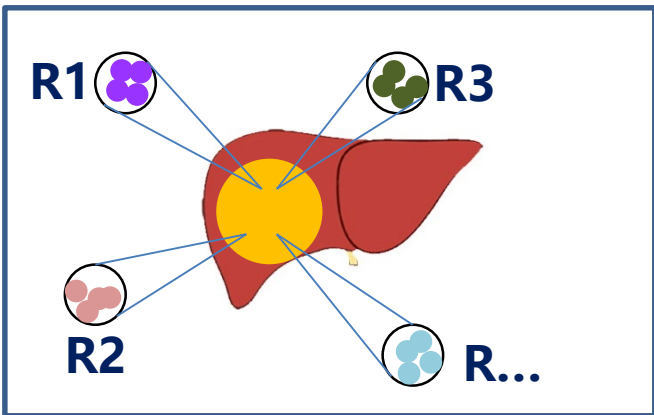


治疗前

治疗后

肝癌
异质性

时间异质性

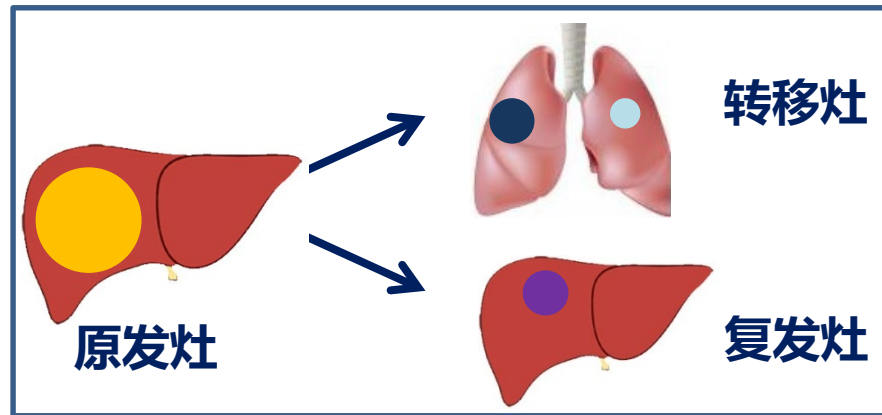


R1

R3

R2

R...



原发灶

转移灶

复发灶

肿瘤异质性是导致肝癌治疗失败重要原因

精准医学是肝癌临床诊治的延伸

复旦大学肝癌研究所40余年研究历程

肝癌早
诊早治

70年代

国家科技进步
一等奖

不能切除肝癌降
期后切除

80年代

国家科技进步
三等奖

转移复发临床与
基础研究

90年代

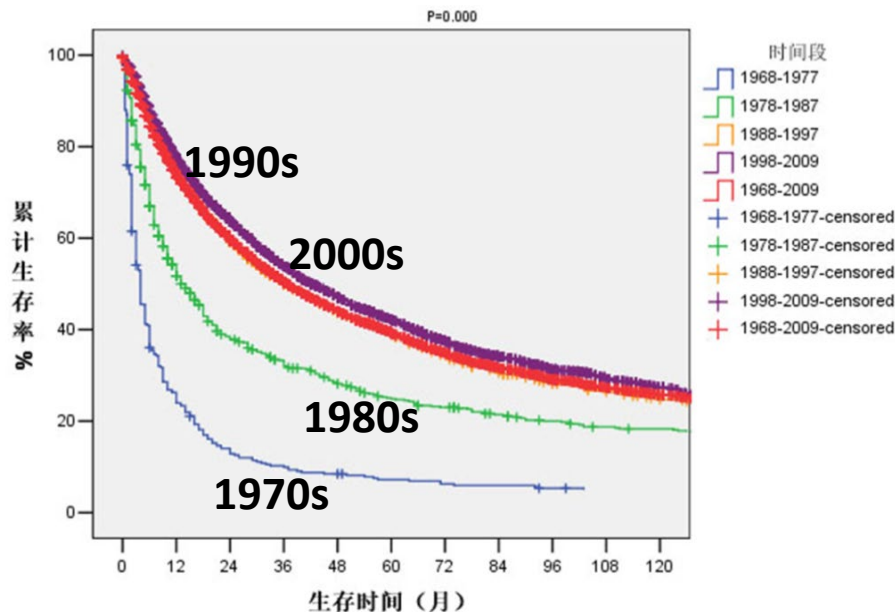
2000年后

国家科
技进步
一等奖

国家科
技进步
二等奖

国家科
技进步
二等奖

各时间段原发性肝癌住院患者总体生存曲线



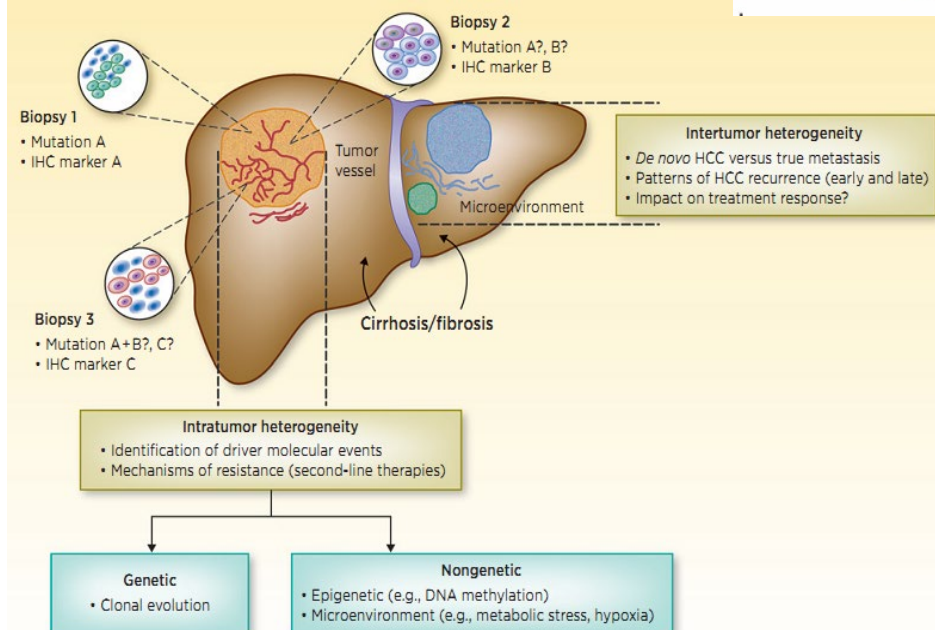
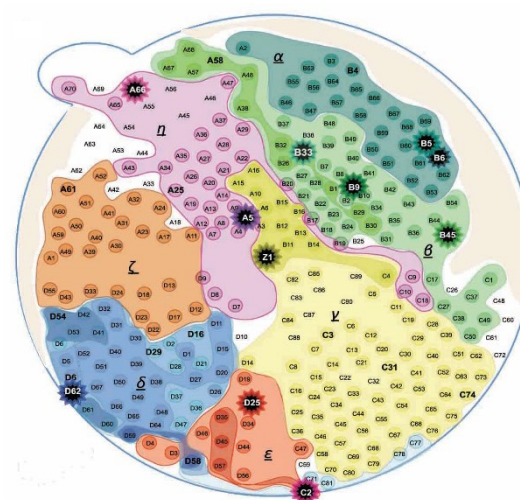
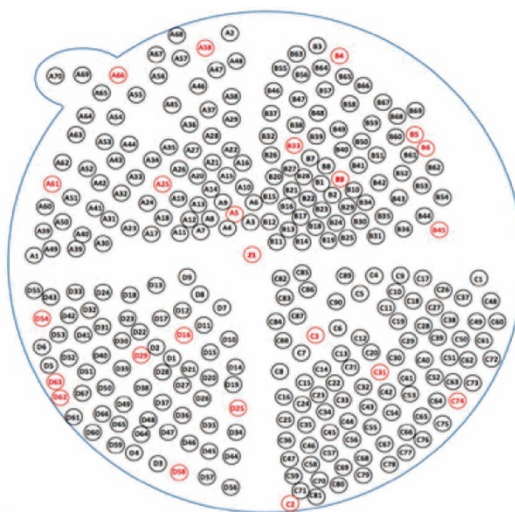
肝癌精准医学
研究

2015年

解决方案之一：靶向深度测序

肝癌组织内存在显著的异质性

PNAS, 2015;112:E6496-505



□ 单次、单部位取材无法全面揭示肿瘤基因组信息，将影响治疗准确性

□ 增加测序深度可发现相关驱动基因

解决方案之二：液体活检

肿瘤“液体活检”



VS



影像学检查



血清指标



肿瘤活检

循环肿瘤细胞
循环肿瘤DNA、miRNA
外泌体

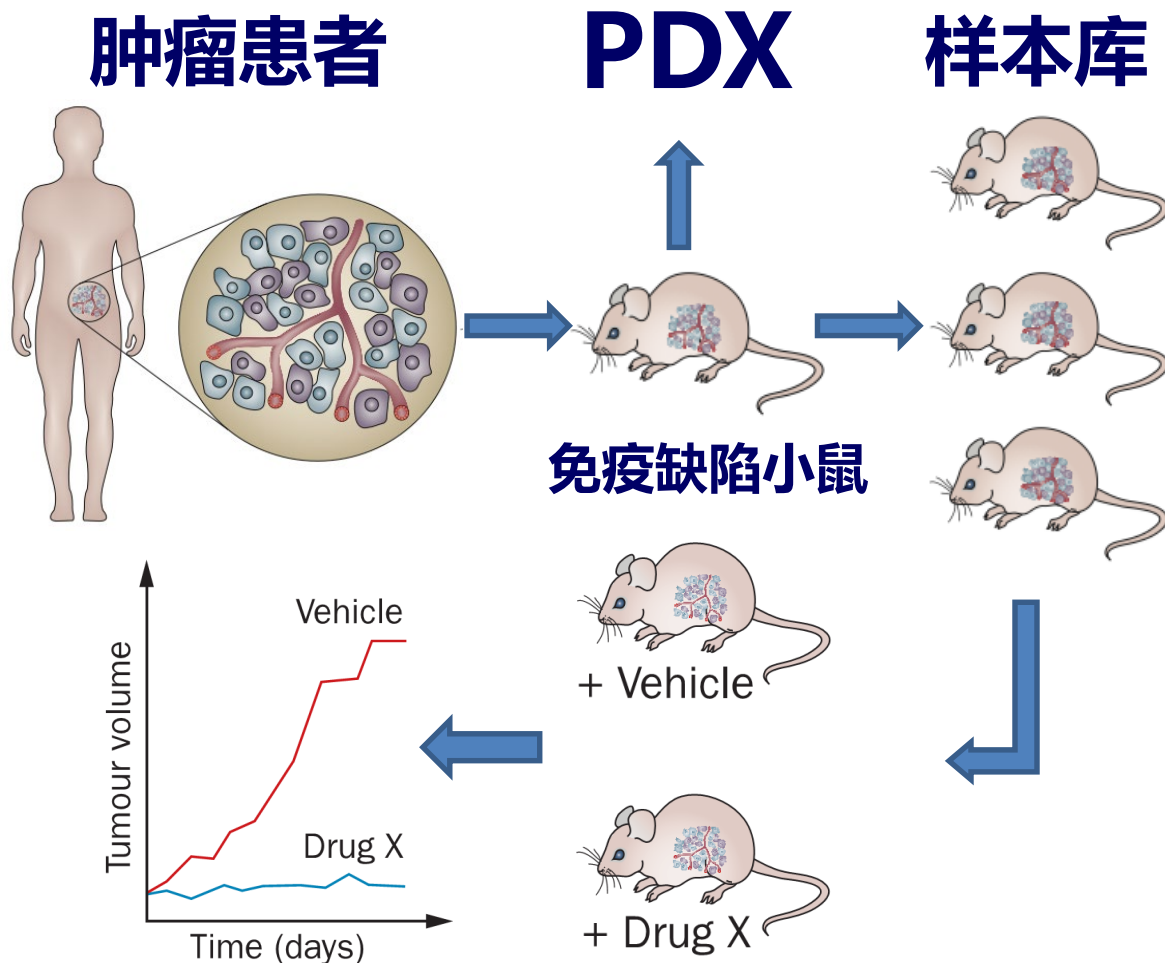
优势：微创、敏感、实时

- 1.动态监测：及时发现肿瘤复发、耐药征兆
- 2.早期预警：术后早期发现高危复发患者，提前干预
- 3.补充组织：作为无法手术/活检患者基因突变检测样本

解决方案之三：肝癌PDX模型

人源异种移植模型 (Patient Derived Xenograft, PDX):
人新鲜肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠

- 完整保留肿瘤生物学特性，反映基因组多样性
- 提供抗肿瘤筛药平台
- 研究肿瘤耐药机制



复旦大学中山医院精准医学中心



2015年5月26日 新民晚报

对特定患者做个性化精准治疗

中山医院成立“精准医学中心” 枫林论坛同时揭幕

本报讯 (记者 施捷)由复旦大学附属中山医院与“上海枫林生命科学联盟”共同主办的“国际精准医学论坛:临床应用”今天在沪举行,“复旦大学附属中山医院精准医学中心”揭牌成立,标志着精准医学在申城翻开了新篇章。

中山医院院长樊嘉教授介绍说,精准医学的本质,就是通过基因组、蛋白质组等组学技术以及一些医学前沿技术,针对大样本人群与特定疾病类型进行生物标记物的分析与验证,从而精确寻找到疾病的原因以及相应的治疗或预防的靶点,并对一种疾病的不同状态和过程进行精确亚分类,最终实现对于疾病和特定患者进行个性化精准治疗的目的。它作为一种提高治疗和预后检测的新方法,已经获得

精准医学

精准医学是以个体化医学为基础,随着基因组测序技术快速进步以及生物信息与大数据科学的交叉应用而发展起来的新型医学概念与医疗模式。作为一种新型的治疗策略,精准医学在个体化医疗领域已经得到实践并获得了超乎预期的成功。

据美国权威专家预测,运用精准医学的预防策略,可降低10%的心脏疾病、糖尿病和恶性肿瘤这3种疾病的发生率,就能节约2800亿美元的卫生医疗资源;若降低50%,则可节约高达1.453万亿美元以上。2014年,美国总统已批准2.15亿美元用于精准医学的启动,以推动精准医学应用于病人遗传学和个体化治疗的研究。

了学界和社会的高度重视。与此同时,精准医学还能鉴别那些处于疾病危险中的健康人群,既可以使预防医学的措施更有靶向性和针对性地运用到这些能获得最大益处的人群,又能节约大量的卫生医疗资源。“复旦大学附属中山医院精准

医学中心”将率先在心脏疾病、糖尿病和恶性肿瘤等疾病的个体化治疗和预防以及基因体检等方面,进行精准医学的探索和实践,为使上海的医学走在全国前列、走在世界前列做出新贡献。

今天上午的“国际精准医学论

坛:临床应用”邀请了华大基因总裁王俊、上海市临床生物信息研究所所长王向东、美国EpigenDx首席科学家Matthew Paulin等做精彩演讲。本次论坛也是由“上海枫林生命科学联盟”联合徐汇枫林地区生物医药领域院所及企业举办的枫林论坛2015“汇聚·创新·国际化”系列活动之一。枫林论坛将先后举行包括“全球视野看合作与创新”研讨会等4个论坛和会议。

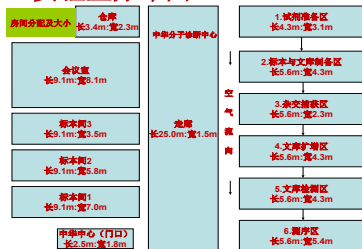
“上海枫林生命科学联盟”由市科委与徐汇区政府发起,联合生物医药领域大院大所大校大企业共同成立。联盟对生命科学领域优势资源进行整合联动,旨在推动本市和徐汇区生物医药原始研发创新和高端产业集聚,激发创新内蕴,打造产业高地。

复旦大学中山医院精准医学中心于2015年5月26日 在国际精准医学论坛上正式宣布成立和揭牌

中山医院精准医学研究平台

临床精准医疗中心实验室

1. 实验室分布图



5. 文库扩增区



6. 文库检测区



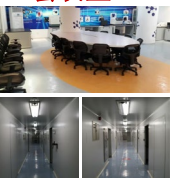
7. 测序区



8. 标本间1-3



9. 会议室



2. 试剂准备区



3. 标本与文库区



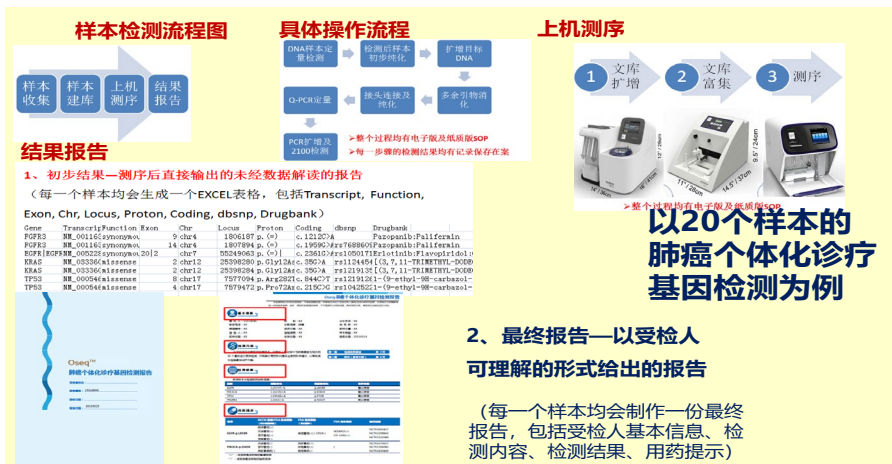
4. 杂交捕获区



已开发和建立临床检测：

1. 全基因组测序 (>50X)
2. 外显子基因测序 (>100X)
3. 基因表达 (RNAseq)
4. 靶向基因组测序 (>500X)
(肺癌、大肠癌、肝癌)

临床检测标准的流程



临床医护人员技术和理论培训

中山医院精准医学研究平台

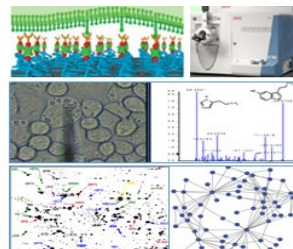
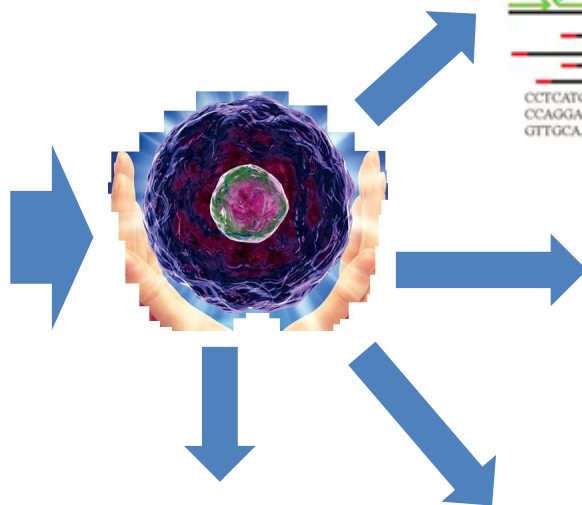
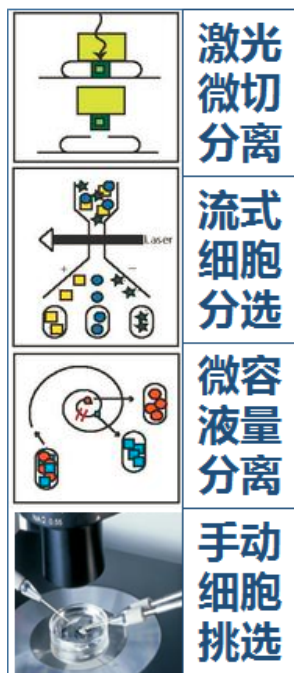
中山医院--临床单细胞系统生物医学中心



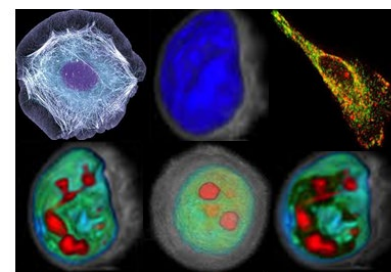
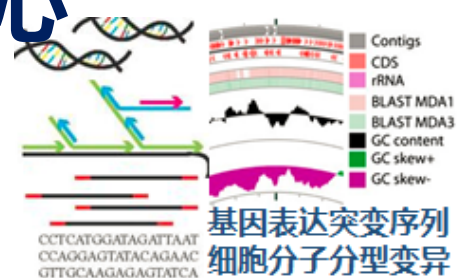
建立单细胞分离系统生物医学检测方法和理论



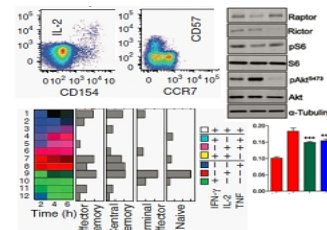
建立单细胞生物学形态和功能检测平台和研发



单细胞蛋白谱学分析
多肽和蛋白功能检查



单细胞分子影像学、功能影像学
影像组学、影像信息学、数据库



单细胞生物功能检查
药物敏感度药效反应

临床需求一：肝癌早期诊断

复旦大学肝癌研究所数据(1958-2015)

5年存活患者数
5219

小肝癌占59.7%

10年存活患者数
1582

小肝癌占61.3%

- 小肝癌(7257例)术后五年生存率：71%
- 大肝癌(6823例)术后五年生存率：39%

早期诊断是影响患者长期生存关键因素

肝癌早期诊断标志物筛选

早诊----疾病早期诊断的分子标志



基因和蛋白的改变要远远早于临床病理的改变！

筛选并验证血浆中7个miRNA 大样本、多中心的临床研究

ORIGINAL REPORT

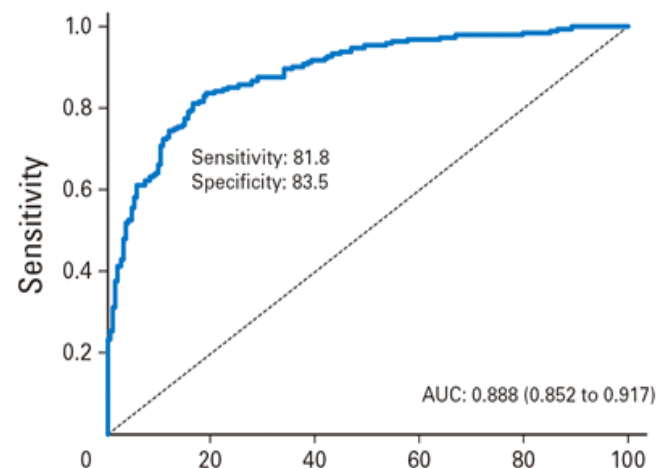
同期配发述评

诊断效能优于 传统肝癌标记物AFP

该miRNA模型有望成为肝癌筛查的首选手段

该miRNA模型具有足够的
准确性将肝癌和正常人、
慢性乙肝和肝硬化区分开

**Fan J, et al. J Clin Oncol
2011 29(36):4781-8**



to validate the diagnostic performance. The miRNA panel ent accuracy to discriminate patients with HCC from controls, patients with chronic hepatitis B, and patients with cirrhosis, showing an AUROC (sensitivity and specificity) of 0.94 (94.9% and 93.9%), 0.84 (79.1% and 76.4%), and 0.88 (75.0% and 75.0%), respectively.

The best diagnostic performance of the miRNA panel was observed in the comparison between patients with HCC and healthy controls. However, 20% of healthy controls had a serum level of ALT ≥ 40 U/L. The diagnostic performance may thus be biased.

More studies with larger numbers of healthy controls are needed to confirm the significance of the miRNA panel for the diagnosis of chronic hepatitis B.

Therefore, it might be possible to compare the miRNA panel of age and > 50 years old. In the study were not included patients with HBV-related HCC, the miRNA panel diagnostic accuracy is still unclear.

A number of studies have used the miRNA panel in clinical practice to detect HCC. Serum level of AFP has been widely used as a marker for HCC for many years. AFP is not elevated in all patients with HCC, and its sensitivity is low (approximately 30%). The optimal cutoff level of AFP for the diagnosis of HCC is still controversial.

该miRNA模型有望成为肝癌筛查的首选手段

controversial. The AUF level of 400 ng/mL is generally used for the confirmatory diagnosis of HCC, and 20 ng/mL is used for the early detection of HCC. It would be worthwhile to examine the validity (sensitivity and specificity) of miRNA signatures, particularly in patients with various tumor sizes should be additionally evaluated; tumor staging on the basis of the miRNA signatures is another area for future investigation. Abdominal ultrasonography is a widely used, simple, noninvasive tool for detection of HCC. Abdominal ultrasonography and the miRNA panel should be compared with respect to efficacy and cost-effectiveness for early diagnosis of HCC. If the miRNA panel is less expensive than ultrasonography, it has the potential to be used for first-stage detection of HCC, followed by ultrasonography. The positive predictive values and negative predictive values of this miRNA panel in conjunction with abdominal ultrasonography for the regular liver surveillance of patients affected with chronic hepatitis B should be additionally evaluated.

Jian Zhou, Lei Yu, Jie Hu, Zhi Dai,
Xiaowu Huang, Zheng Wang,
Shuangjian Qiu, Xiaoying Wang,

自主知识产权miRNAs肝癌诊断盒

与创新医疗企业合作 国际首个miRNA肿瘤诊断试剂盒

获批CFDA注册证 (III类)

中华人民共和国

医疗器械注册证（体外诊断试剂）

注册证编号： 国械注准20173403299

[illegible]

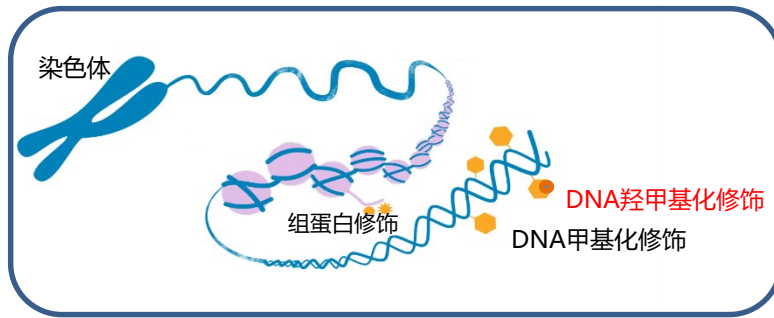
审批部门：国家食品药品监督管理局

有效期至:

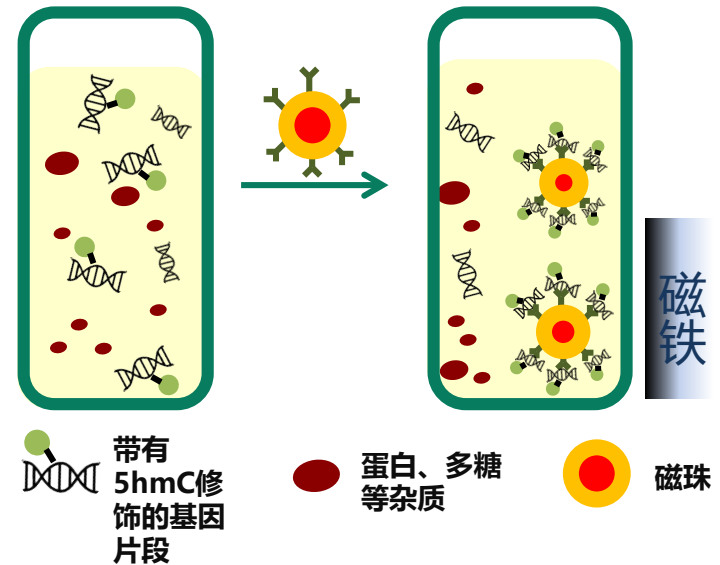
获国家授权发明专利、香港地区发明专利、韩国发明专利、日本发明专利、国际PCT，获CFDA注册证

构建cfDNA中的5HMC检测体系

- 表观遗传修饰是指在DNA序列上修饰多种化学基团，包括DNA甲基化和DNA羟甲基化等，能够调控基因的表达
- 5-羟甲基胞嘧啶（5hmC），能动态地反映基因高表达状态
- 血液cfDNA上5hmC分布特征能够反映体内癌症的特征



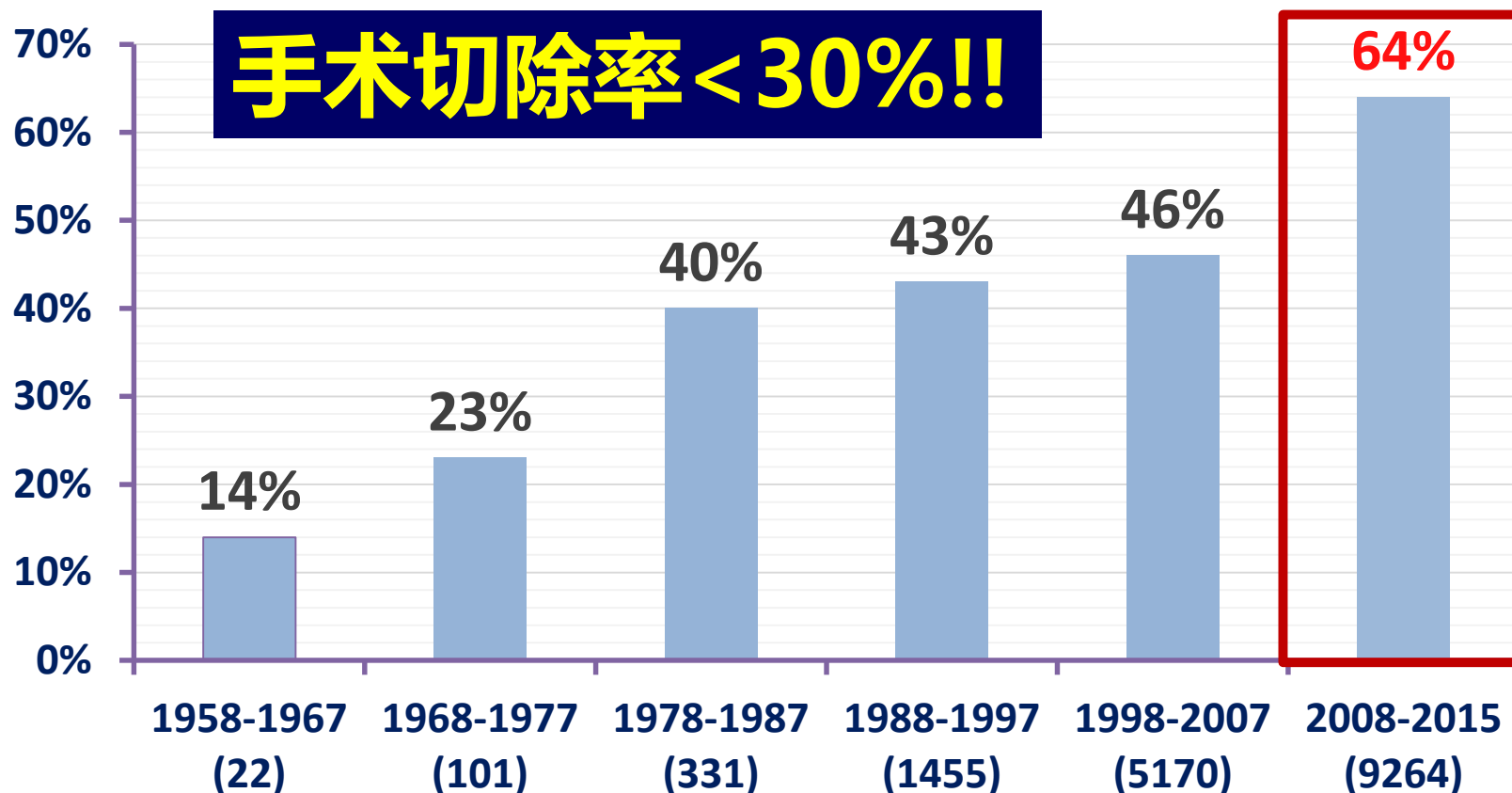
化学标记法捕获cfDNA中5hmC基因片段



临床需求二：提高肝癌切除率及疗效

不同时期接受根治性手术切除患者5年生存率

(复旦大学肝癌研究所：1958-2015, n=16343)



外科治疗——长期生存的最主要途径

精准术前评估及规划

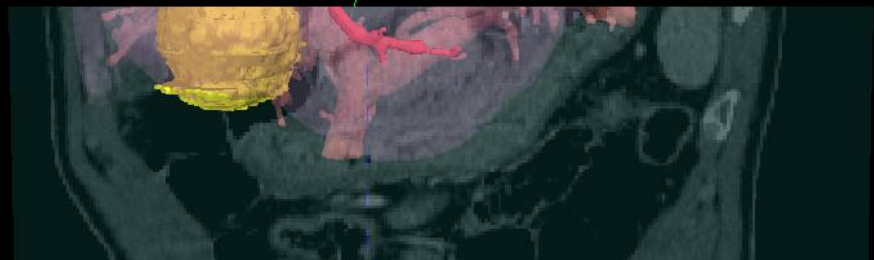
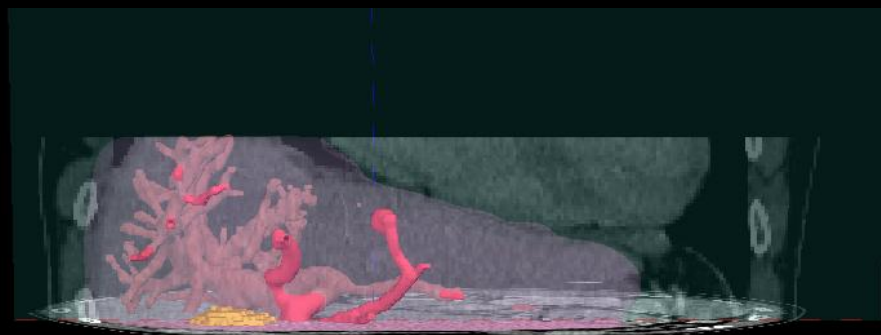
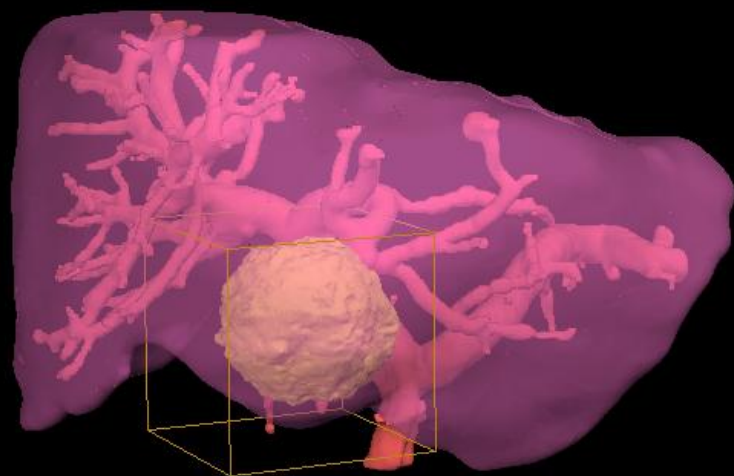
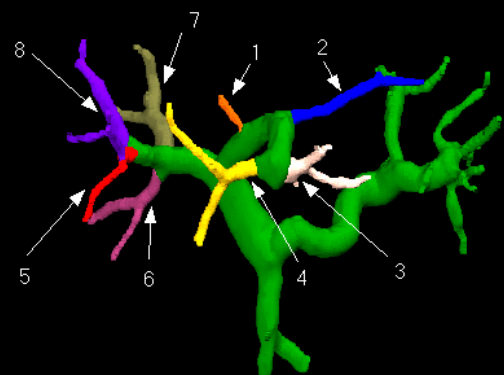
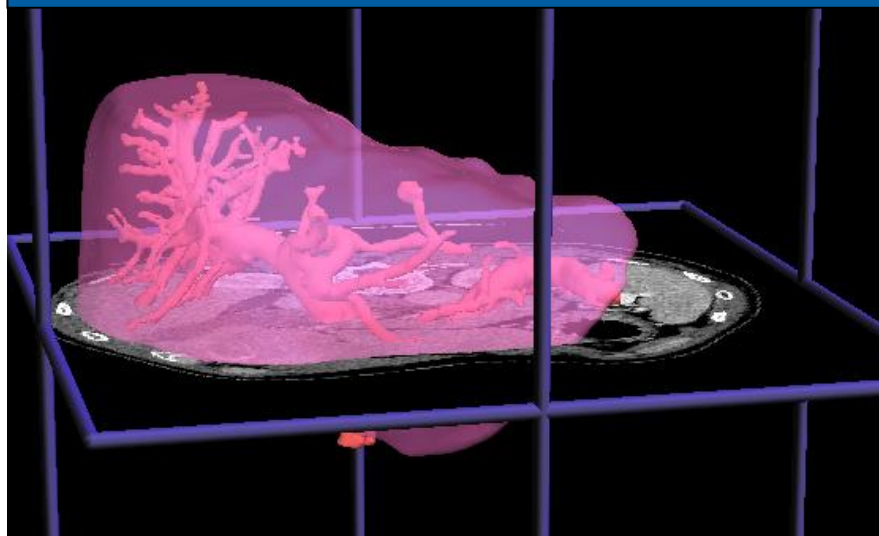
■ 术前肝功能的评估

- Child-pugh分级
- ICG 15
- Fiberscan检查
- MELD评分
- 肝脏有效血流测定

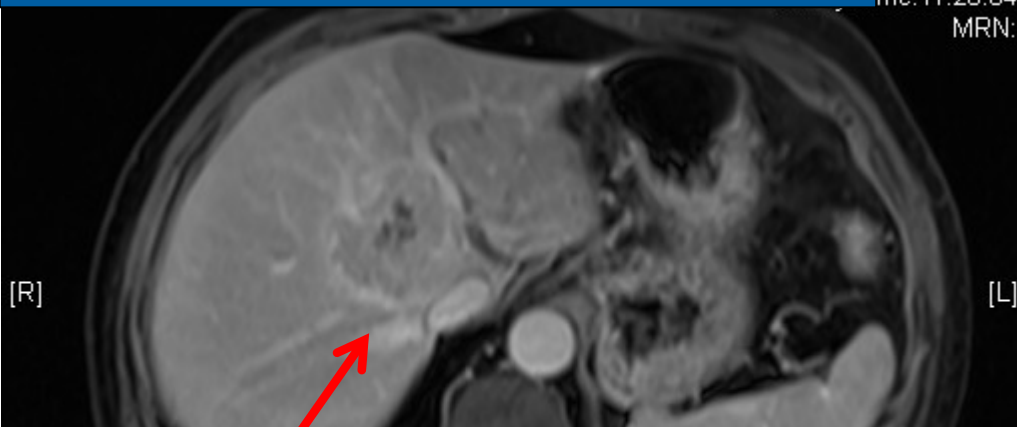
■ 余肝体积的测定（计算机辅助）

- 无硬化肝脏：SFLVR > 25%（余肝体积占标准化全肝比例）
- 硬化肝脏：SFLVR > 35%或SFLV > 250ml

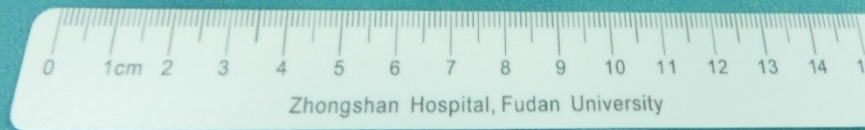
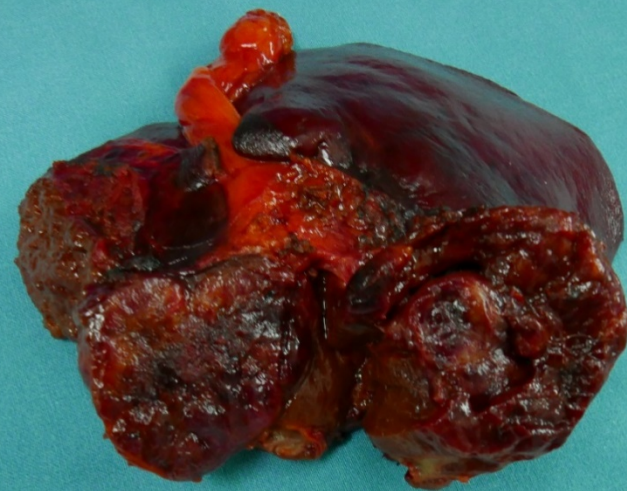
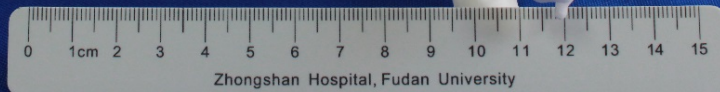
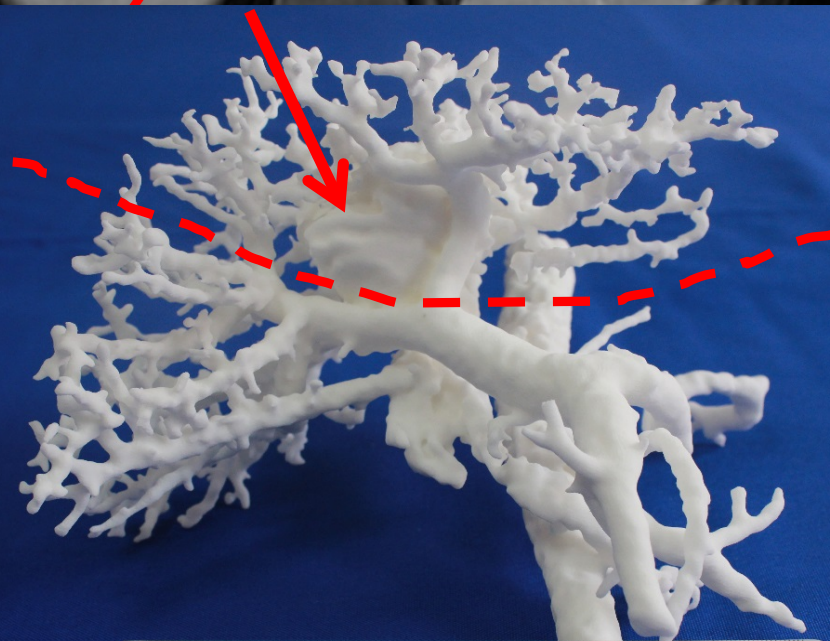
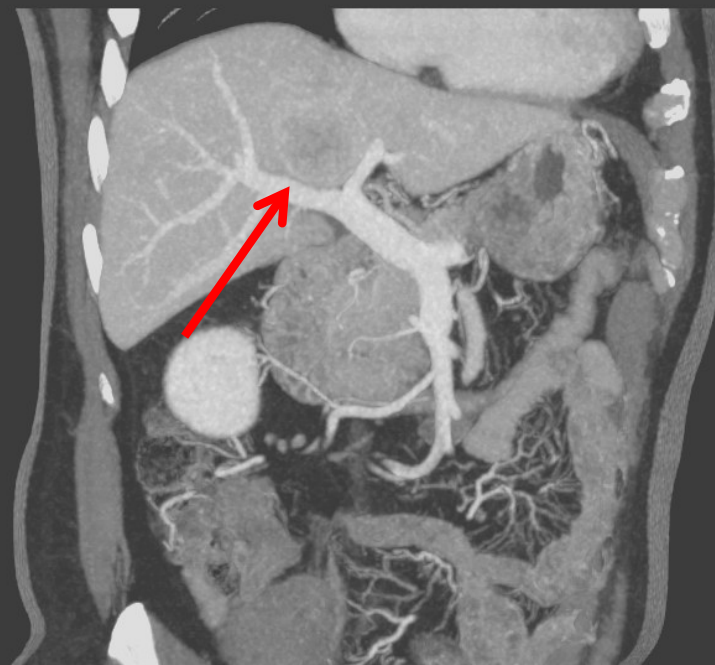
虚拟肝脏指导手术 方案制定,提高 手术安全性



3D生物打印指导 手术方案的制定

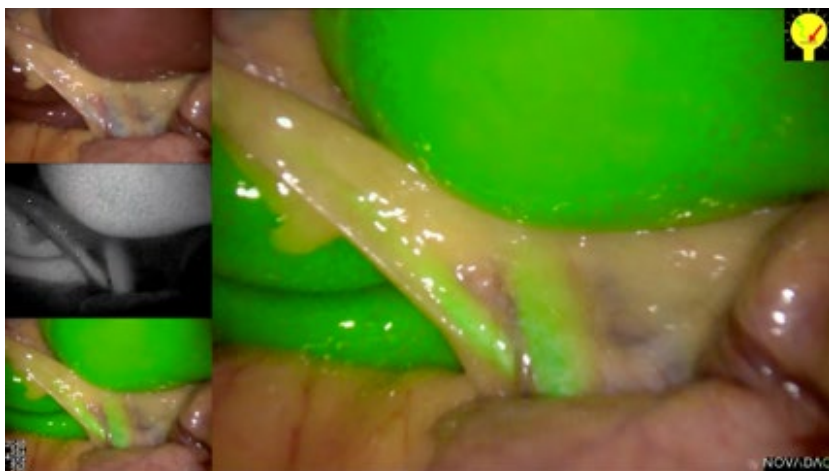


engfu
143403
ars
2015
35
◆ 烟
2015-06-16
me:11:20:04
MRN:

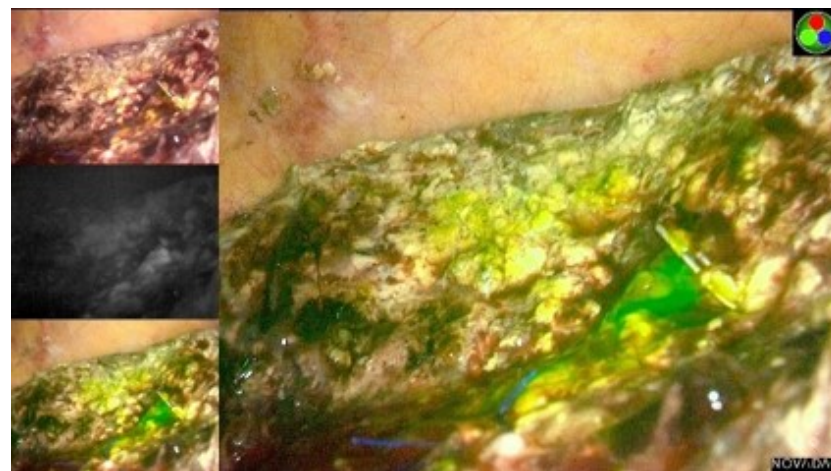


术中荧光实时导航精准肝切除

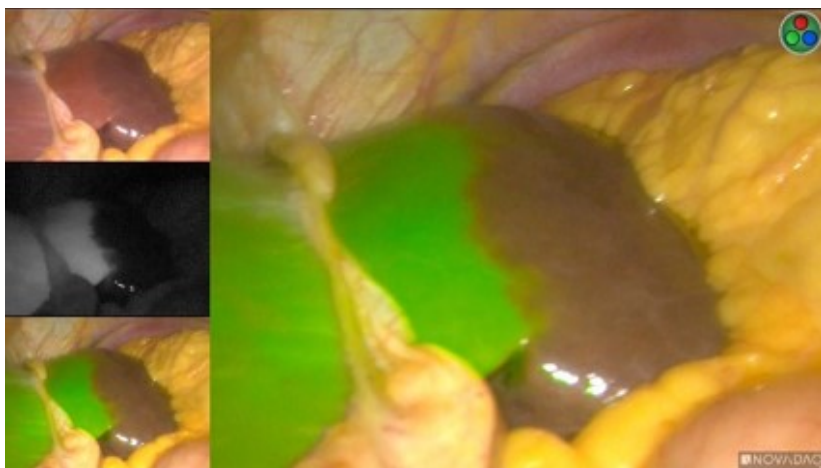
胆道显影



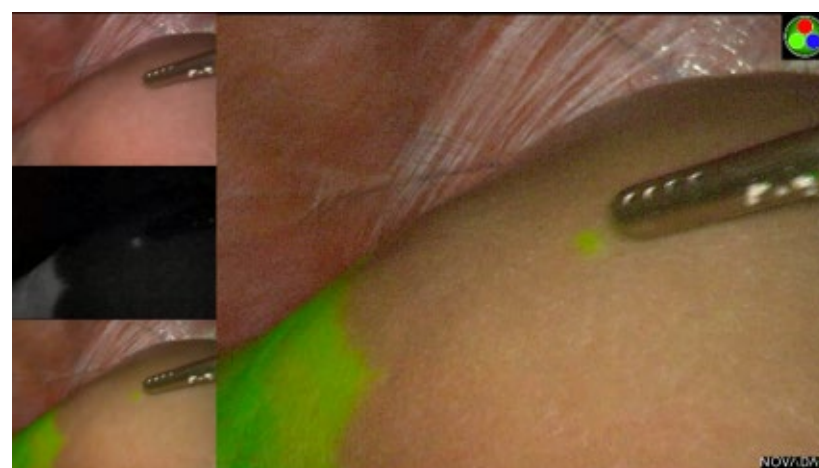
检查胆漏



肝段染色

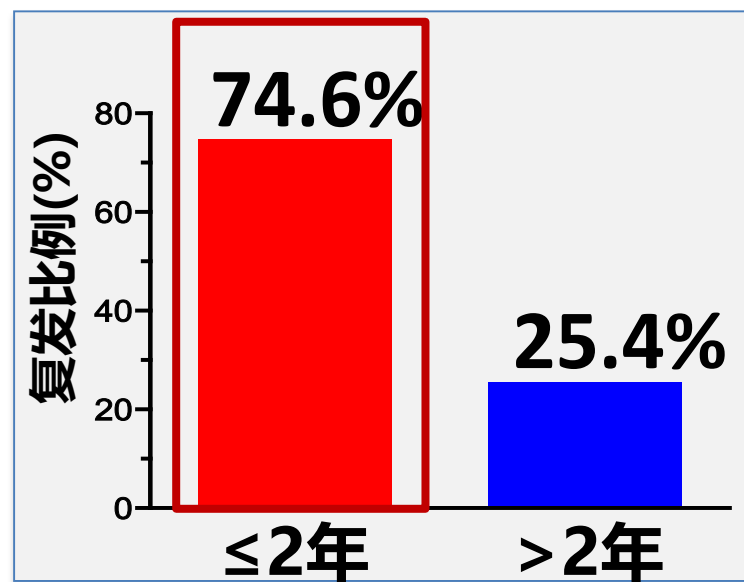
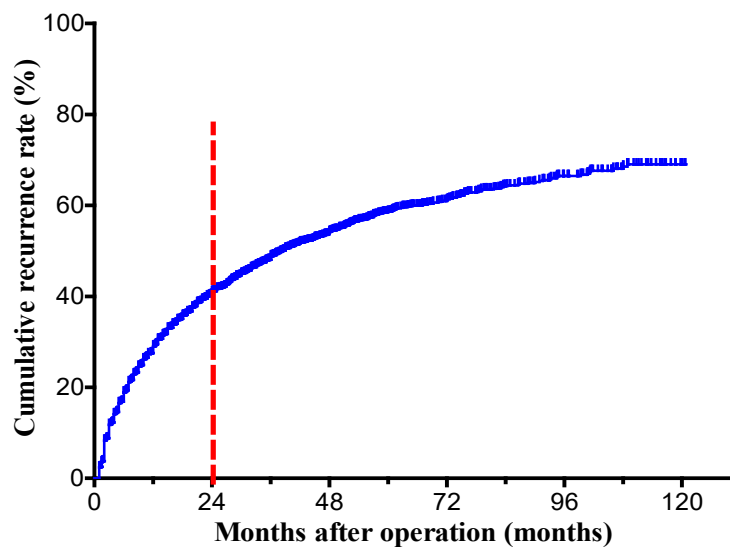


肿瘤定位



临床需求三：肝癌术后高复发和转移

中山医院4166例根治性切除患者 (2001-2008年)
(51.9% 肿瘤复发/转移)



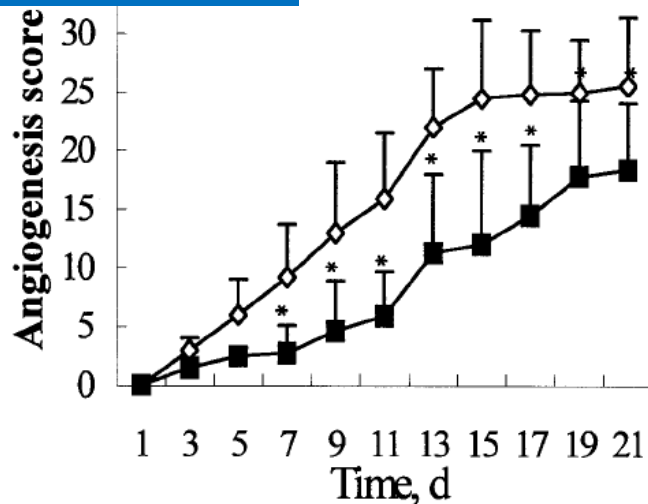
术后2年内复发/转移 (74.6%), 2年后 (25.4%)

IFN- α 预防肝癌术后转移复发

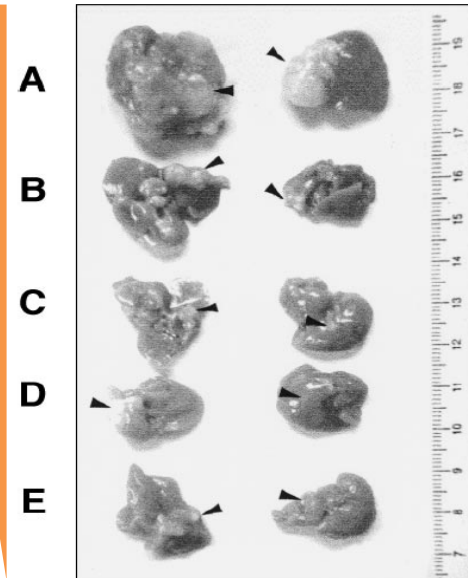
动物实验：IFN- α 抑制肿瘤新生血管生成，抗转移复发

IFN- α 抑制血管生成

2000年



肝内
复发
肿瘤
体积
减小



IFN- α
剂量递增

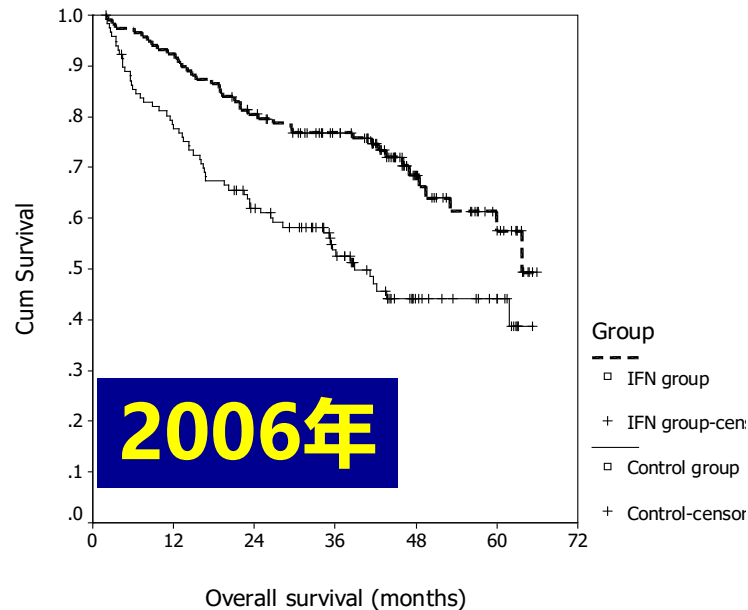
IFN- α -1b (U/kg/day)	Tumor Volume (mm ³) Mean \pm SD (Range)	Lung Metastases Case (%)	Life Span (Days) Mean \pm SD (Range)
0	8,475 \pm 2,636 (1,885-14,538)	5/5 (100)	45 \pm 4 (37-55)
7.5×10^6	7,963 \pm 3,214 (1,061-15,034)	4/5 (80)	53 \pm 8 (41-73)
1.5×10^7	769 \pm 287† (109-1,515)	2/5 (40)	81 \pm 6* (67-95)
3×10^7	13 \pm 9† (6-34)	0/5 (0)*	105 \pm 24* (51-146)

- IFN- α 抑制肿瘤生长和肺转移，延长小鼠生存时间
- 呈剂量依赖性

Wang, et al. Hepatology, 2000

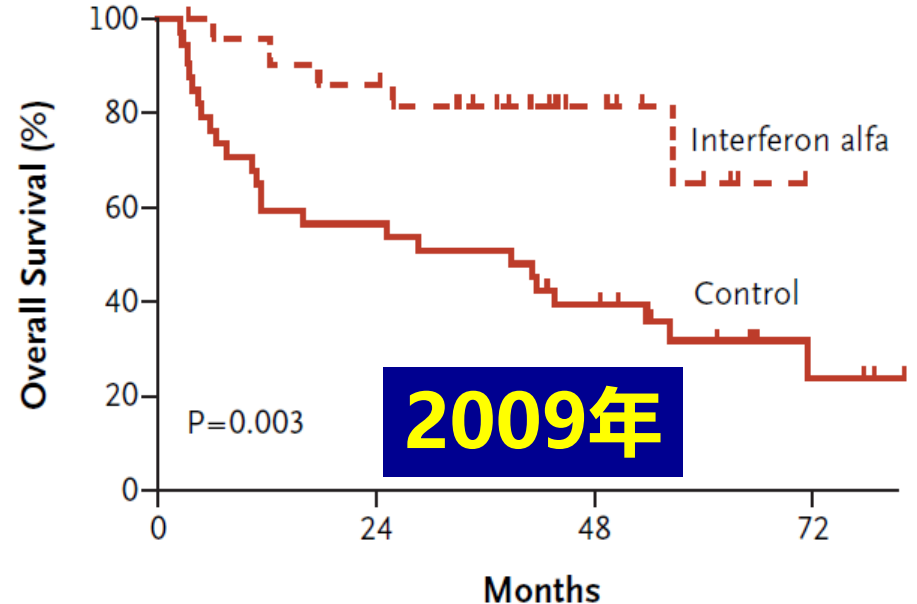
miR26指导术后干扰素治疗

RCT:干扰素延长生存



Sun et al. JCRCO 2006

miR-26a低表达:干扰素效果更好



Ji et al. N Engl J Med 2009

2014年-至今



干扰素预防肝癌术后复发的个体化治疗方案
多中心随机对照研究已经完成入组(miR-26a分组)

CTC预测肝癌预后和疗效

HEPATOLOGY

Official Journal of the American Association for the Study of Liver Diseases

Fan J, et al. *Hepatology*
2013 57 (4): 1456-1468

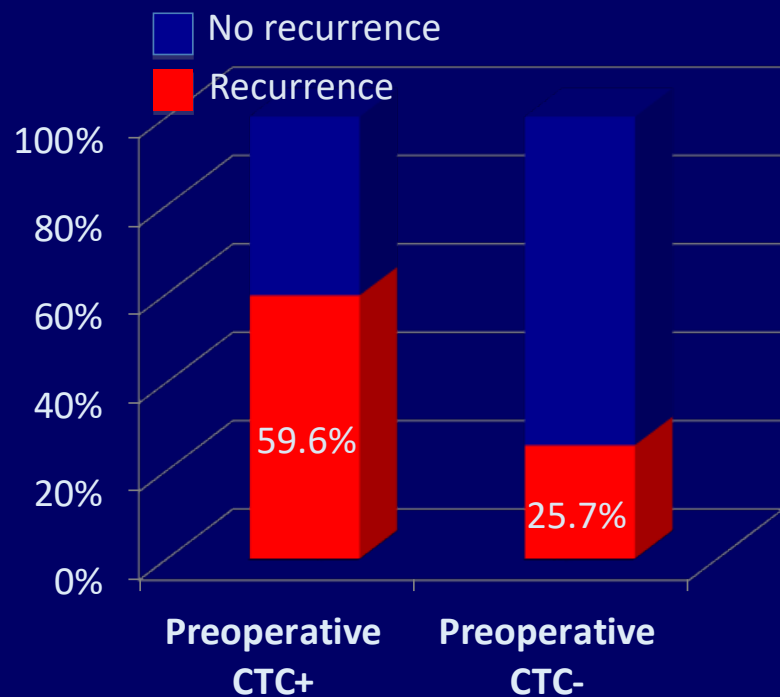


Circulating Stem Cell–Like Epithelial Cell Adhesion Molecule–Positive Tumor Cells Indicate Poor Prognosis of Hepatocellular Carcinoma After Curative Resection

Yun-Fan Sun,^{1*} Yang Xu,^{1*} Xin-Rong Yang,^{1*} Wei Guo,^{1,2} Xin Zhang,¹ Shuang-Jian Qiu,¹ Ruo-Yu Shi,¹ Bo Hu,¹ Jian Zhou,^{1,3} and Jia Fan^{1,3}

全球率先提出用**EpCAM⁺** 循环
肿瘤细胞 (CTC) 预测肝癌根
治性切除术后复发，国内第一
篇报道CTC检测的临床意义

他引186次，被ESI收录
为top 1%高被引论文

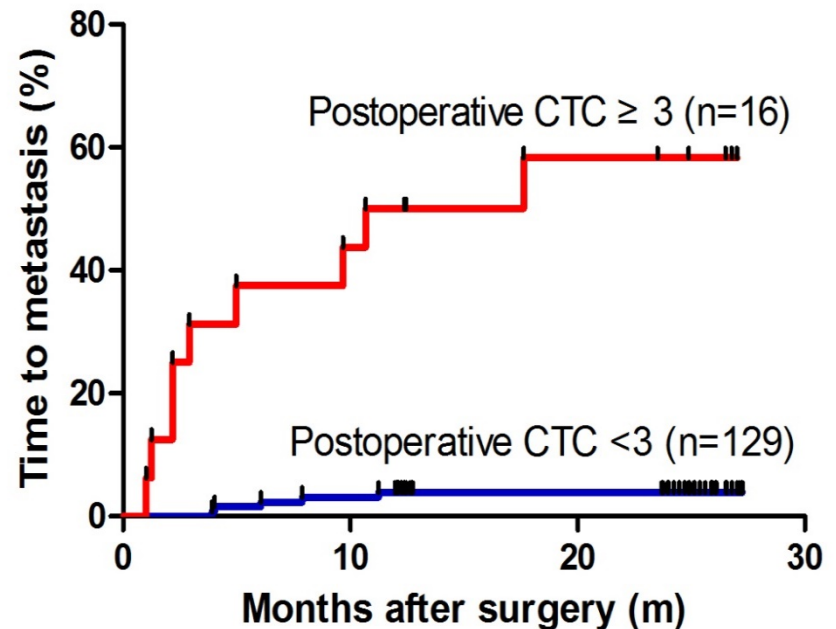
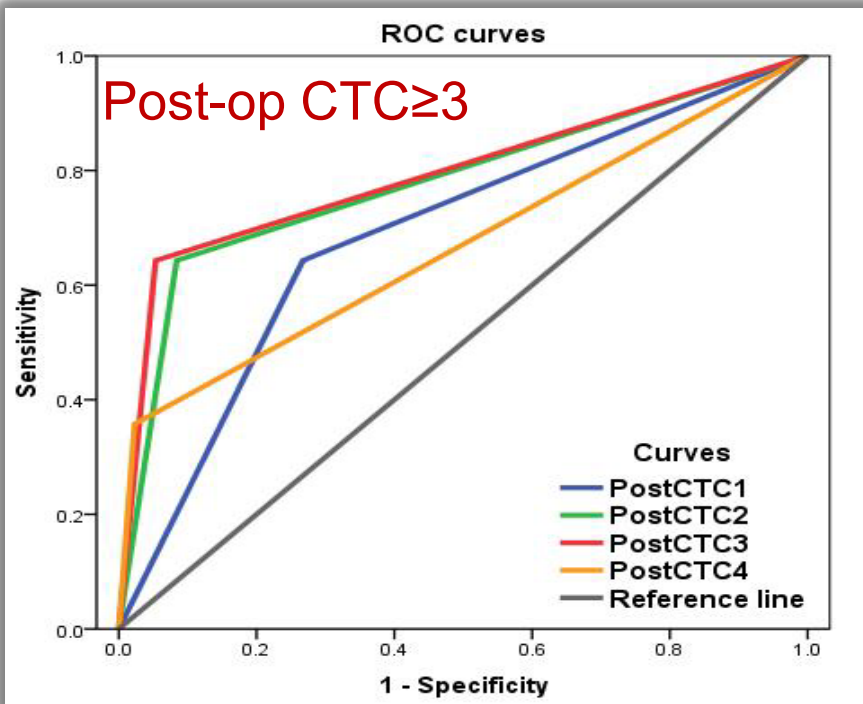


术后CTC数目预测肝外转移风险

□ Cut-off Value CTC=3, ROC-AUC: 0.795

(敏感度为64.3%、特异性为94.8%)

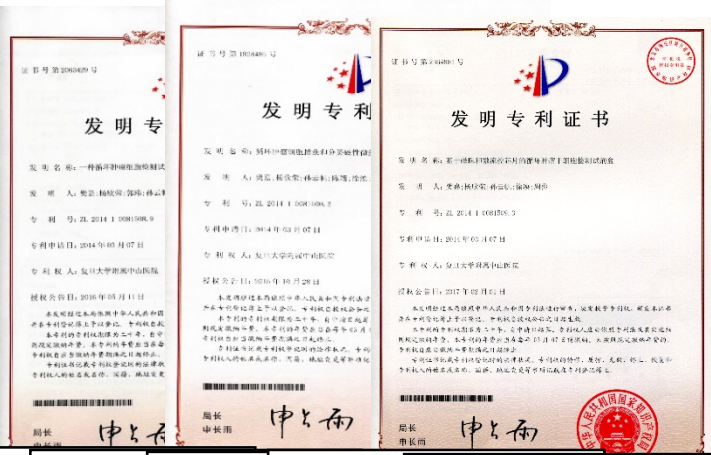
□ 术后CTC ≥ 3 EHM风险显著高于CTC < 3



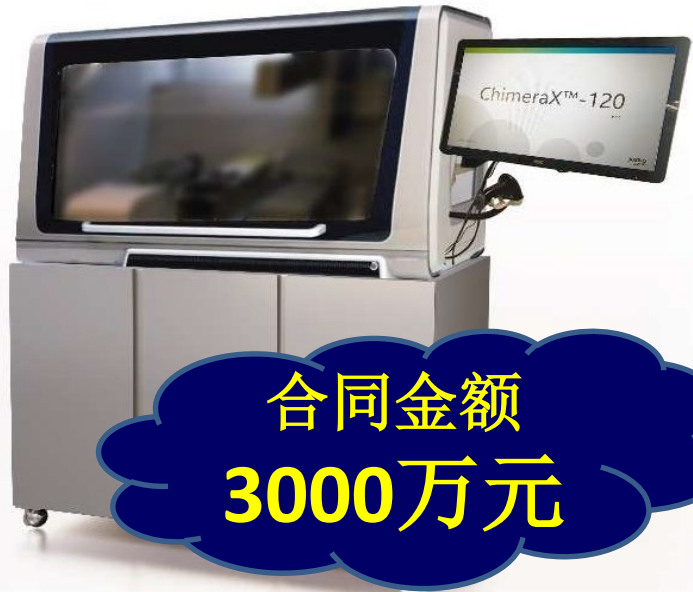
全自动CTC分选检测系统成功产业化

中山医院肝外科团队
CTC分选原研技术输入

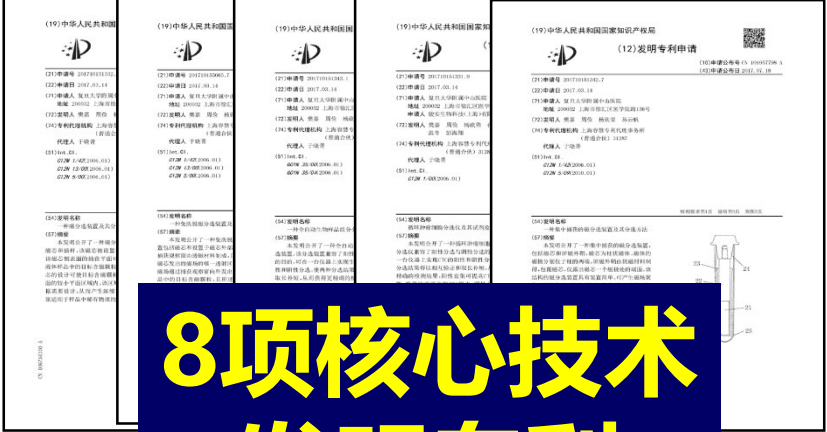
中山医院+顿慧医疗
合作研发自动化系统



成果转移
转让



合同金额
3000万元

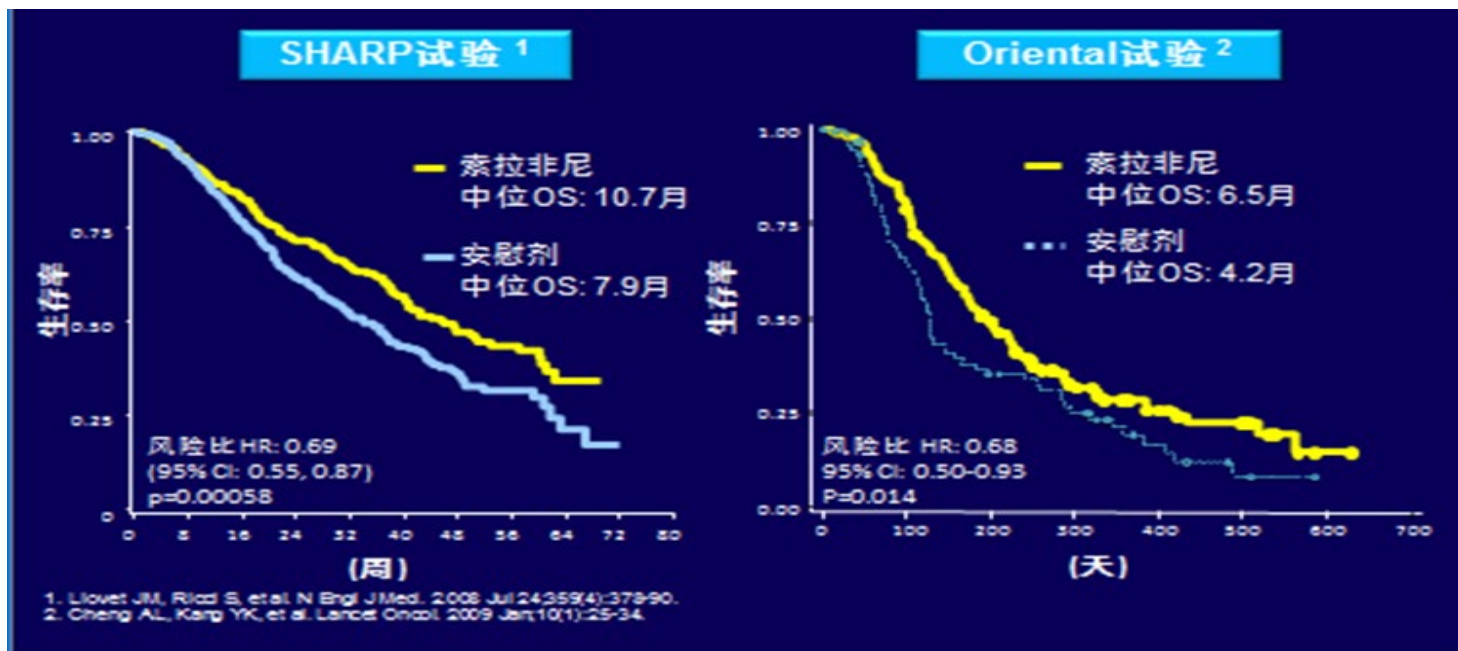


8项核心技术
发明专利

已启动CDFA注册申报工作

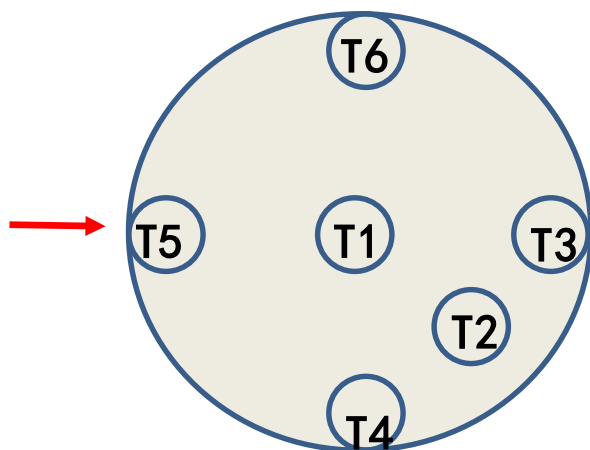
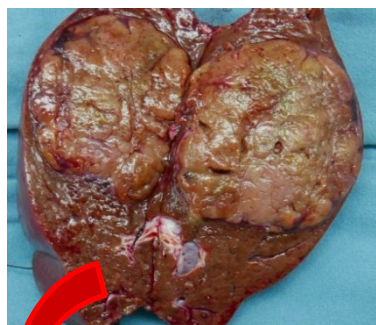
临床需求四：提高抗肝癌药物疗效

- 肝癌对现有的化疗药物不敏感
- 索拉菲尼提高生存<3月，晚期中位生存6.5-10.7月
- 瑞格菲尼提高OS 2-3月 (10.6 vs 7.8月)

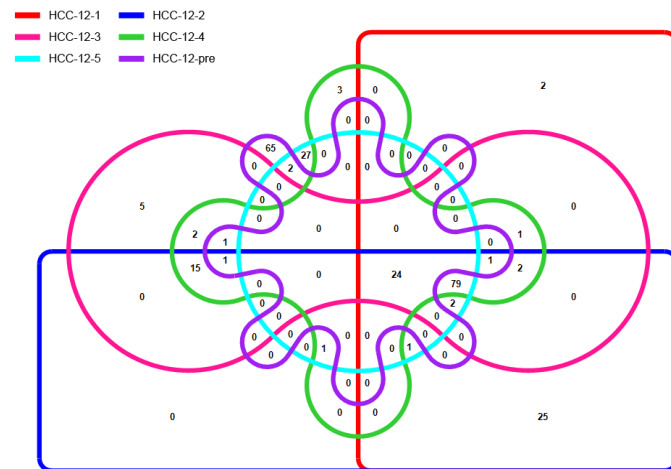


寻找敏感人群是提高疗效的关键

肝癌的瘤内异质性

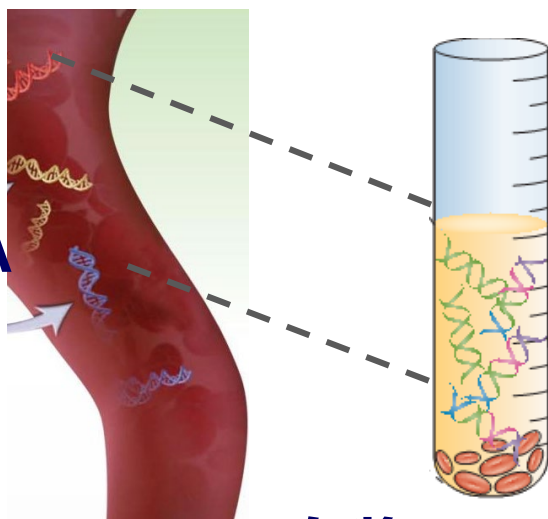


多个部位肝癌测序



> 50%非共有突变

肝癌DNA
释放入血



血浆DNA测序

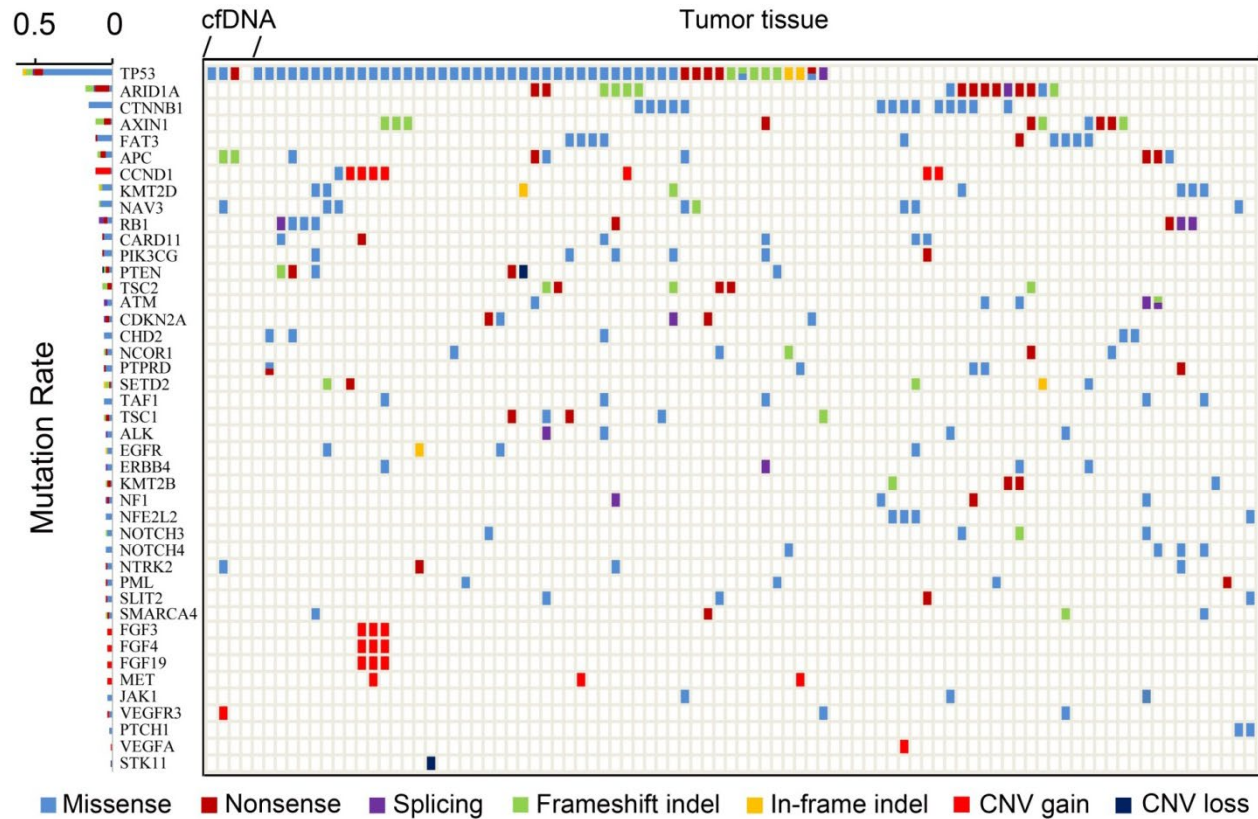
克服肿瘤异质性策略

- 靶向深度测序 (1500X)
- 肿瘤 “液体活检”

J Hepatology, 2017

基因测序：精准选择靶向药物

- 41%病人有潜在用药靶点
- 高于5% 高频突变基因仅约20个
- 靶向深度测序更适合临床转化



Zhou, et al. J Hepatology, 2017

个体化诊疗基因检测指导治疗

3.1 重要基因变异:

基因	碱基突变	氨基酸突变	突变频率
FLT4	Copy number gain		-
NOTCH1	c.[3583delG]	p.[G1196Afs*249]	29.78%
TP53	c.[715A>G]	p.[N239D]	21.35%
APC	c.[4797delA]	p.[K1600Nfs*50]	18.17%
APC	c.[2444_2445insT]	p.[T816Yfs*28]	16.75%
TERT	Copy number gain		-

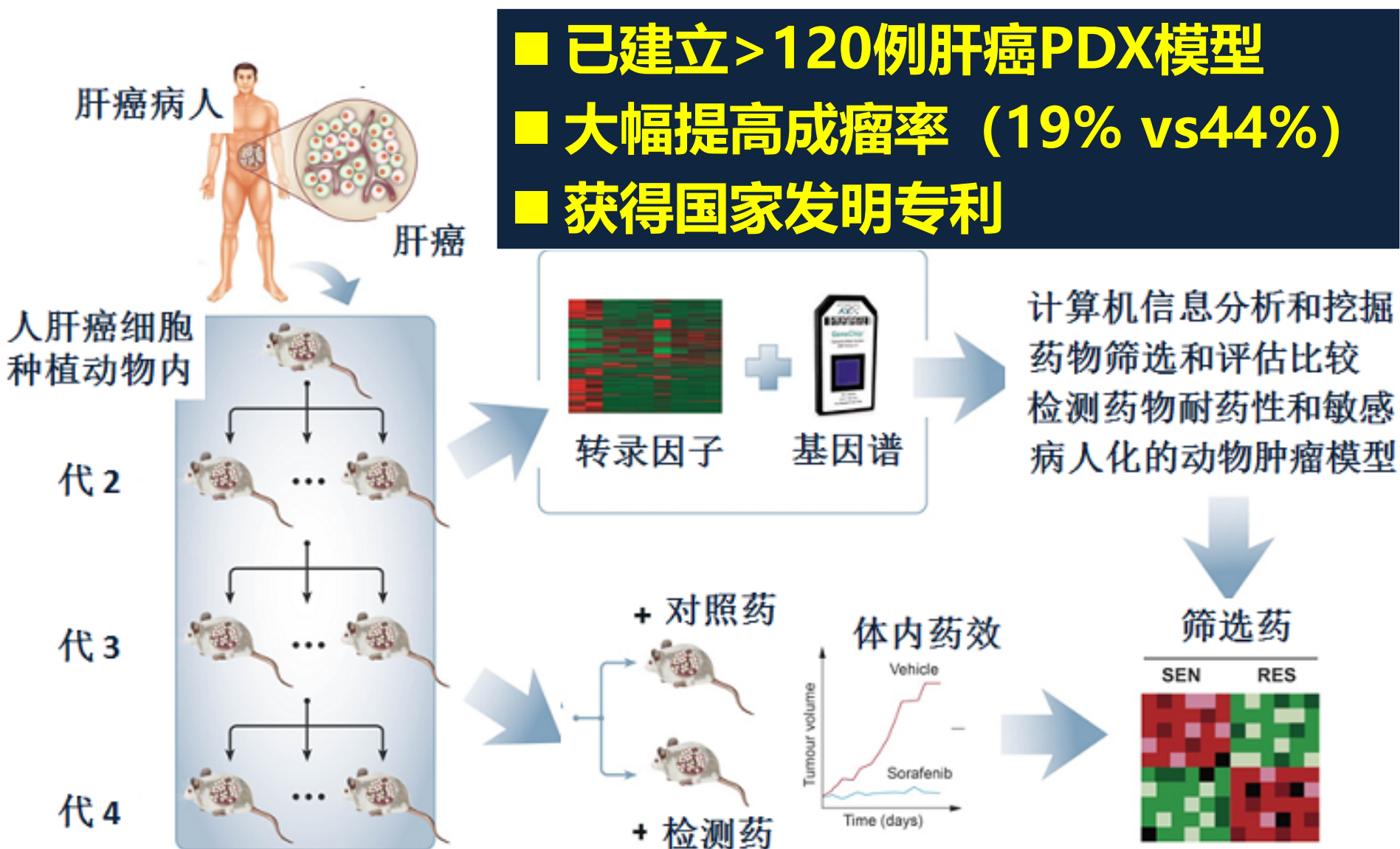
3.2 靶向药物用药提示

基因变异	FDA 推荐用于肝胆癌		FDA 推荐用于其他癌症	临床 II/III 期药物	其他相关药物
	正相关	负相关	正相关	正相关	研究结果存在争议
FLT4 扩增	索拉菲尼	None	瑞格非尼	None	None

索拉菲尼药敏相关

Off-label使用

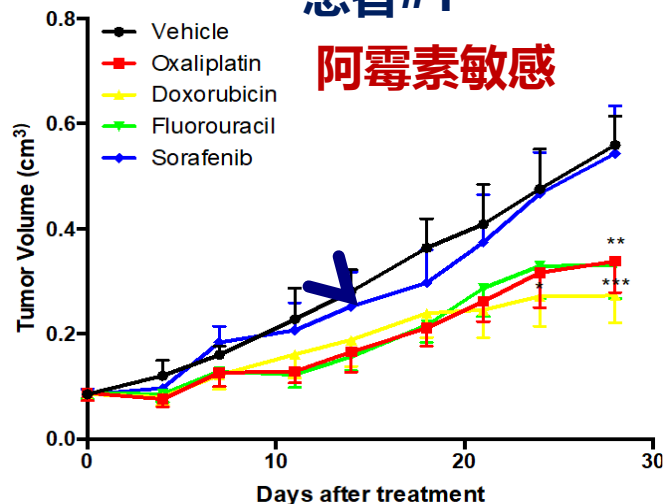
PDX模型指导肝癌个体化治疗



肝癌 PDX模型指导精准用药

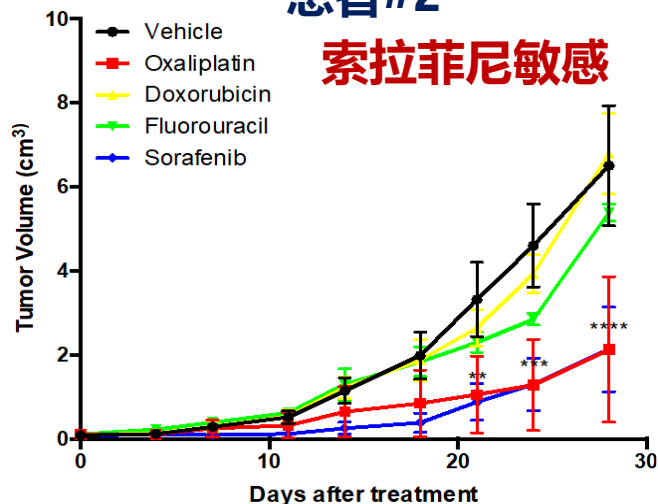
患者#1

阿霉素敏感



患者#2

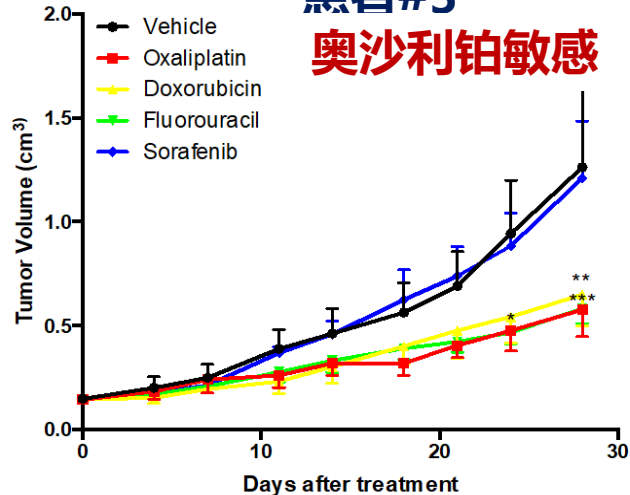
索拉菲尼敏感



PI

患者#3

奥沙利铂敏感



- 有效预测患者药物疗效
- 实现个体化治疗
- 降低副作用
- 减少患者经济负担

肝癌精准医学的中山策略



谢谢!

