

循环肿瘤细胞在肺癌诊疗中的临床研究进展

王 猛

(天津市胸科医院胸外科, 天津 300222)

摘要:肺癌现已成为发病率及致死率最高的恶性肿瘤,且呈逐年增高趋势,给人类的身体健康及生命安全带来严重威胁。肺癌的复发与转移是导致患者死亡的最主要原因,可能与循环肿瘤细胞(CTCs)进入血液存在一定关系,CTCs 在肺癌患者的早期诊断、治疗指导、疗效评估及预后等方面具有十分重要的作用。本文就 CTCs 在肺癌诊疗中临床应用及研究进展进行综述。

关键词:肺癌;循环肿瘤细胞;反转录聚合酶链反应

中图分类号:R734.2

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2019.15.019

文章编号:1006-1959(2019)15-0058-03

Progress in Clinical Research of Circulating Tumor Cells in the Diagnosis and Treatment of Lung Cancer

WANG Meng

(Department of Thoracic Surgery, Tianjin Chest Hospital, Tianjin 300222, China)

Abstract: Lung cancer has become the malignant tumor with the highest incidence and mortality, and it is increasing year by year, posing a serious threat to human health and life safety. The recurrence and metastasis of lung cancer is the most important cause of death, which may be related to the entry of circulating tumor cells (CTCs) into the blood. CTCs play an important role in the early diagnosis, treatment guidance, efficacy evaluation and prognosis of lung cancer patients. This article reviews the clinical application and research progress of CTCs in the diagnosis and treatment of lung cancer.

Key words: Lung cancer; Circulating tumor cells; Reverse transcriptase polymerase chain reaction

肺癌(lung cancer)属于一种起源于肺泡上皮、细支气管上皮、支气管腺体及支气管上皮的恶性肿瘤,现已成为发病率及致死率最高的恶性肿瘤,且呈逐年增高趋势,给人类的身体健康及生命安全带来严重威胁。肺癌的复发与转移是导致患者死亡的最主要原因,大部分肺癌患者会出现肾上腺、肝等远处器官转移,在其转移过程中血液循环系统发挥着重要的作用^[1]。相关研究显示,肿瘤细胞的复发与远处转移可能与循环肿瘤细胞(circulation tumor cells, CTCs)进入血液存在一定关系^[2]。为此,本文就 CTCs 在肺癌诊疗的临床应用及研究进展进行简单阐述。

1 肺癌循环肿瘤细胞概述

CTCs 是 Ashworth 于 1869 年在 1 例肿瘤死亡患者血液中所发现的,其形态与体积与原发肿瘤细胞相似^[3]。当前临床主要将 CTCs 定义为因诊疗操作或自发导致的由转移灶或实体瘤释放而进入外周血液循环的肿瘤细胞。Pixberg CF 等^[4]的研究发现,启动子中的三个基因的甲基化会导致肿瘤细胞上皮-间质转化(EMT)的发生,而这种转化会导致肿瘤细胞出现散播与转移。Yadavalli S 等^[5]的研究结果显示,在 CTCs 发生远处转移的过程中,白细胞外渗途径发挥了十分重要的作用。此外,其还发现多数癌症 CTCs 存在不同数量的间质及上皮细胞标记物表达^[6],说明 EMT 具有多样性与动态性特点,上述观点对癌症进展与转移的临床研究具有重要意义。

基金项目:天津市科委科技支撑重点项目(编号:17YFZCSY00850)

作者简介:王猛(1984.8-),男,山东曲阜人,硕士,主治医师,主要从事早期肺癌复发和转移的分子机制的研究

2 肺癌循环肿瘤细胞检测

CTCs 在外周血液中存在较少,一般每 106~107 单核细胞中存在一个 CTC,因此,CTCs 的检测对检测方法的敏感度及特异性要求较高^[7],当前较为常用的肺癌 CTCs 的检测方法主要有以下几种。

CTC 芯片技术是一种可以对血液中 CTCs 进行有效分离的微流体检测技术,芯片由结合 EpCAM 抗体的微阵列组成,在对血液样本采用特定流速与芯片进行接触后,可使 EpCAM 的阳性细胞依附于微阵列,从而通过对芯片信号的检测来对外周 CTCs 进行检测^[8]。现阶段 CTC 芯片技术主要应用于前列腺癌^[9]、肝癌^[10]、胃癌^[11]等患者的外周 CTCs 检测。

反转录聚合酶链反应(RT-PCR)及以其为基础的改进检测技术在临床 CTCs 检测中应用较为广泛,RT-PCR 检测技术主要是基于 PCR 采用特异性引物对肿瘤特异性 mRNA 序列反转录的 DNA 片段进行扩增,进而对肿瘤或病灶组织特异性 mRNA 的表达进行识别。RT-PCR 技术操作简单,且具有高特异性、高敏感性、高效率等优点,但游离的特异性 mRNA 半衰期较短,在血液样本收集或细胞凋亡后,其在外周血液中会被 RNA 酶迅速降解致使其在正常外周血中不表达,导致假阳性检测结果的发生^[12]。当前较为先进的实时定量 RT-PCR、巢式 PCR 及荧光定量 PCR 等技术虽然在一定程度上提升了检测的特异性与敏感度,但对 CTCs 仍然难以做到精确计数。

细胞搜索系统属于一种基于染色与磁免疫的免疫细胞化学方法,其主要应用 EpCAM 抗体磁珠对 CTCs 进行富集,利用强磁场作用将其由血液中提取

出来,将分离的肿瘤细胞进行固定、通透并采用荧光抗体染色的角蛋白进行鉴定、分析^[13]。该种检测方法被 FDA 于 2004 年批准用于临床转移性前列腺癌、大肠癌及乳腺癌患者的 CTCs 检测与分析,且在肺癌 CTCs 的临床研究中应用较为广泛^[14]。

3 肺癌循环肿瘤细胞与转移

导致肺癌患者死亡的最主要原因是肿瘤细胞发生远处转移形成转移瘤,相关研究发现^[15],晚期肺癌患者 CTCs 阳性检出率远高于早期患者,且 I 期肺癌患者常规检测无临床转移病灶,但仍可检测出 CTCs,说明在现有临床分期的早期肺癌患者已经发生隐匿转移。隐匿转移又称为微转移,其是指采用常规病理及如 PET、MR、CT 等常规影像学手段无法检测到的隐匿在原发肿瘤病灶以外的组织中的转移病灶,其经过合适的环境及一定的时间会逐渐进展为临床可见病灶。相关研究显示^[16],由原发肿瘤部位转移扩散或许是癌症进展的早期事件,并非之前所认为的癌症后期结果。作为定植于远处器官的肿瘤细胞,CTCs 虽然会经常保持休眠,但其最终仍会发展为可见的转移性病灶。肿瘤细胞进入血液循环系统是出现远处转移的关键步骤,肿瘤细胞在肺癌实体瘤上的不断增殖,由 EMT 转变为具有侵袭、转移能力的外周血 CTCs,之后 CTCs 溢出脉管系统并在此通过 EMT 在远隔器官上定植,形成转移病灶^[17]。相关研究表明^[18],EMT 能够对细胞间的结合力进行削弱,改变细胞骨架并提高降解基质的能力,使肿瘤细胞的迁徙与侵袭得到促进,抗凋亡信号得到增强,最终在血液中存活。由此可以看出,CTCs 通过 EMT 转化出现了本质上的改变,并且获取了更强的肿瘤干细胞样表型与侵袭能力。由此可推测,部分具有强大致瘤性、多能性及自我更新性的干细胞样 CTCs 在肿瘤转移过程中发挥着关键作用。为此,通过深入研究获取 EMT 的 CTCs,不但能优化具有 EMT 相关标志物的 CTCs 的检测方法,同时还可以促进针对高侵袭性细胞的靶向治疗方法的研究。

4 肺癌循环肿瘤细胞临床应用

当前对于肺癌的诊断主要依靠肿瘤标志物、病理学及影像学,然而因其早期并无明显症状导致大多数患者在就诊时病情已达中晚期,无法取得较好的治疗效果,对预后造成严重影响^[19]。由此可以看出肺癌的早期诊断与分期对患者的治疗效果及预后具有十分重要的作用。多位学者就 CTCs 对肺癌的诊断价值进行了大量研究,Xu Y 等^[20]选取 66 例非小细胞肺癌患者作为实验组,20 例健康体检者作为对照组,采用细胞搜索系统对两组患者外周血 CTCs 进行检测,结果显示实验组中检测到 CTCs 者达到 47 例,对照组未检测到。结果提示,CTCs 检测用于

肺癌的诊断具有较高的特异性与敏感性。此外,在其对实验数据统计分析过程中发现,CTCs 阳性率与肿瘤的病理学分期存在一定关系,ⅢA 期肺癌患者 CTCs 阳性率最低,ⅢB 期患者 CTCs 阳性率低于Ⅳ期患者。由此可以看出 CTCs 对于肺癌的诊断与分期具有一定的特异性与敏感性。肺癌患者的治疗方法主要包括放射治疗、分子靶向治疗、化疗等,不同的治疗方法对于不同时期及不同类型的肺癌患者治疗效果存在一定差异。钟光华等^[21]学者在肺癌患者研究中发现,吉西他滨能够通过 HGF/cMet 通路靶向对抗 EpCAM 阳性的 CTCs 从而抑制非小细胞肺癌的微转移。在此次研究中选取了 40 例在化疗前后均为 CTCs EpCAM 阳性患者作为研究对象,并将其分为 CD45 阴性与 EpCAM 阳性两组,比较采用不同药物进行治疗时 CTCs 中 HGF/cMet 通路的被抑制情况,结果显示,加用吉西他滨进行治疗的患者其肿瘤细胞的 EMT 过程与 HGF/cMet 通路均受到抑制,降低了肿瘤细胞的侵袭与迁徙,且在之后 3 年的随访过程中发现,应用吉西他滨治疗的患者生存率更高。另外,加强对肺癌患者外周血 CTCs 数量增减的监测能够有效反映患者病情的改变,对治疗方案的疗效评价具有一定的指导意义。范军振等^[22]学者研究发现,进展期非小细胞肺癌患者治疗后 CTCs 数目较治疗前显著减少,且病情稳定恢复,整体治疗效果良好。结果表明对肺癌患者外周血 CTCs 数量的增减进行监测能够有效反映患者治疗过程中的病情变化情况。

此外,对于是否能采用 CTCs 作为判断肺癌患者的预后因素,不少学者也做了大量研究。张晓茜等^[23]在循环肿瘤细胞与肺癌患者预后相关性的 Meta 分析中发现,与原发肺癌 CTCs 阳性患者预后效果比较,肺癌 CTCs 阴性患者预后效果明显更佳,可见,对肺癌患者进行外周血 CTCs 检测有助于指导原发性肺癌患者临床治疗及预后判断。叶春晖等^[24]在晚期非小细胞肺癌 102 例患者治疗中分组分别应用培美曲塞联合顺铂、吉西他滨联合顺铂、多西他赛联合顺铂进行治疗,治疗后对患者外周血 CTCs EGFR 基因表达情况进行检测发现三组患者外周血 CTCs EGFR 基因突变率较治疗前显著增加,但组间并无统计学意义,虽无法明确化疗是否可以改变肺癌患者外周血 CTCs EGFR 基因突变状态,但是可以根据患者外周血 CTCs EGFR 基因表达情况指导制定靶向治疗方案。李发凯等^[25]在对 23 例非小细胞癌化疗前后进行外周血 CTCs 检测,化疗后 3 周、化疗后 6 周外周血 CTCs 计数均较化疗前显著增加,提示在非小细胞癌患者治疗期间检测外周血 CTCs 变化,可以作为早期评估治疗效果的一个有效补充指标。

以上研究均可一定说明外周血 CTCs 变化可以指导临床治疗及预后判断。

5 挑战与展望

临床大量研究已表明,CTCs 在肺癌患者的早期诊断、治疗指导、疗效评估及预后等方面具有十分重要的作用^[19]。相信随着越来越多的科研人员及临床医生对肺癌 CTCs 的加大研究,可使得 CTCs 能够为临床治疗发挥更大的作用。但研究过程中仍面临较多的挑战:①肺癌 CTCs 作为预后的标准尚未统一,仍需大样本更为具有说服力的研究和更为一致的检测方法以增强其可信性^[20];②临床对于肺癌 CTCs 相关研究尚浅,刚处于起步极端,需积极开展多部门合作的大规模临床研究,以便对 CTCs 在肺癌研究上的不同意义进行了解;③用于 CTCs 富集、分离、检测及分析的试剂盒价格太过昂贵,使其难以临床广泛应用,且对于 CTCs 的计数方法及标准尚不成熟,对 CTCs 的分子特点与数理无法做到准确检测^[21]。

综上所述,在肺癌诊疗中进行外周血循环肿瘤细胞(CTCs)检测,对其早期诊断、指导临床治疗以及疗效、预后的评估的一个有效补充指标,有着较高的参考价值。

参考文献:

- [1]聂启鸿,刘华峰,卢燕军.外周血循环肿瘤细胞上皮-间质转化机制调控的 EP 方案治疗小细胞肺癌的研究[J].重庆医学,2019,48(1):91-93.
- [2]刘磊,黄诚,李力,等.循环肿瘤细胞中不同表型细胞 FGFR1 基因表达程度与非小细胞肺癌临床病理特点相关性研究[J].中国肺癌杂志,2018,21(5):365-374.
- [3]张丽妍,谭晓明.循环肿瘤细胞检测在肺癌诊疗中的应用[J].上海交通大学学报(医学版),2018,38(3):343-347.
- [4]Pixberg CF,Raba K,Muller F,et al.Analysis of DNA methylation in single circulating tumor cells [J].Oncogene,2017,36(23):3223-3231.
- [5]Yadavalli S,Jayaram S,Manda SS,et al.Data-Driven Discovery of extravasation pathway in circulating tumor cells [J].Sci Rep,2017(7):43710.
- [6]李晶,姜北,万鹏,等.晚期非小细胞肺癌患者循环肿瘤细胞检测的临床意义[J].中国全科医学,2013,16(27):3202-3204,3207.
- [7]朱颖,江波,杨承纲,等.晚期非小细胞肺癌外周血 CTC 与肿瘤组织 EGFR 表达的相关性 [J].中国现代医学杂志,2017,27(29):32-38.
- [8]蔡博,邓美洲,陈俊华,等.微流控芯片技术在循环肿瘤细胞富集和分析中的应用 [J].中华实验外科杂志,2018,35(12):2369-2372.
- [9]沈敏娜,戴谦,周佳烨,等.481 例恶性肺癌患者循环肿瘤细胞(CTC)检测的回顾性分析[J].复旦学报(医学版),2018,45(6):769-774.
- [10]牛剑祥,宋瑞,王万祥.肝细胞癌循环肿瘤细胞的监测及其临床意义[J].中国老年学杂志,2019,39(4):800-802.
- [11]向森,焉然,张开芳.外周血循环肿瘤细胞对早期胃癌的诊断和预后评估价值[J].癌症进展,2019,17(6):693-696.
- [12]肖瑶,刘双,王增智,等.重组病毒特异性检测肺癌患者外周血活性循环肿瘤细胞的临床意义 [J].中华结核和呼吸杂志,2019,42(2):101-105.
- [13]赵桦,洪煜婧,陈相,等.免疫磁珠负性富集结合免疫荧光抗体技术检测卵巢癌患者外周血 CTCs 的方法建立和应用[J].现代检验医学杂志,2017,32(3):56-58,62.
- [14]任慧子,陈健,丁世凯.EPCAM 联合 CK8 免疫磁珠制备及循环肿瘤细胞检测[J].国际检验医学杂志,2018,39(14):1698-1700.
- [15]胡瑞娟,吴兆红.外周血循环肿瘤细胞与非小细胞肺癌患者临床分期的相关性[J].长江大学学报(自然版)理工,2018,15(8):29-31.
- [16]苗欣,赵家义,范银星,等.循环肿瘤细胞联合血清胃泌素释放前肽及神经元特异性烯醇化酶水平对 SCLC 化疗疗效的评估意义[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2017,24(4):362-366.
- [17]吴文君,王智华,王卓,等.肺癌患者外周血中循环肿瘤细胞的快速分离与体外培养[J].遗传,2017,39(1):67-75.
- [18]Dorsey JF,Kao GD,Macarthur KM,et al.Tracking viable circulating tumor cells(CTCs)in the peripheral blood of non-small cell lung cancer(NSCLC)patients undergoing definitive radiation therapy:Pilot study results[J].Cancer,2015,121(1):139-149.
- [19]葛含天,朱万森,黄建中.循环肿瘤细胞定量检测在非小细胞肺癌患者中的应用价值研究[J].中国全科医学,2017,20(S3):144-146.
- [20]Xu Y,Qin T,Li J,et al.Detection of circulating tumor cells using negative enrichment immunofluorescence and an in situ hybridization system in pancreatic cancer[J].International Journal of Molecular Sciences,2017,18(4):622-630.
- [21]钟光华,刘丽贤,朱晓慧,等.循环肿瘤细胞检测在预测非小细胞肺癌化疗疗效中的应用 [J].实用癌症杂志,2017,32(9):1521-1523.
- [22]范军振,吕亚莉,王波,等.非转移性非小细胞肺癌患者循环肿瘤细胞与临床病理特征的关系[J].诊断病理学杂志,2018,25(4):281-284,288.
- [23]张晓茜,范贤明.循环肿瘤细胞与肺癌患者预后相关性的 Meta 分析[J].临床合理用药杂志,2018,11(12):144-146.
- [24]叶春晖,陈亮,王继鹏,等.培美曲塞联合顺铂对晚期非小细胞肺癌患者外周血循环肿瘤细胞 EGFR 表达及预后的影响[J].中国医学前沿杂志(电子版),2017,9(12):34-37.
- [25]李发凯,陆远,王媛,等.循环肿瘤细胞检测在非小细胞肺癌化疗疗效评价中的应用[J].国际呼吸杂志,2018,38(12):898-903.
- [26]汪代杰,尹雷,周梅,等.预测非小细胞肺癌化疗患者循环肿瘤细胞检测的应用分析 [J].临床医药文献电子杂志,2018,5(69):176.
- [27]郑张军,张金星.不同分子学方法在乳腺癌患者外周血循环肿瘤细胞检测中的应用[J].临床检验杂志(电子版),2019,8(1):97-98.

收稿日期:2019-4-23;修回日期:2019-5-10

编辑/杨倩