

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.03.002

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20221024.1740.018.html\(2022-10-25\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20221024.1740.018.html(2022-10-25))

循环肿瘤细胞与胃癌患者临床病理特征及预后相关性分析*

王刘星^{1,2}, 杨弘鑫³, 戴礼¹, 陈太春¹, 梁百闯¹, 王黔^{1,3△}

(1. 贵州医科大学, 贵阳 550001; 2. 鄂州市中心医院, 湖北鄂州 436000;

3. 贵州医科大学附属医院胃肠外科, 贵阳 550001)

[摘要] **目的** 分析循环肿瘤细胞(CTC)数目及其分型与胃癌临床病理特征及预后的相关性。**方法** 回顾性分析 2018 年 3 月至 2020 年 3 月贵州医科大学附属医院胃肠外科收治的 68 例胃癌患者, 采用广州益善公司开发的 Canpatrol III CTC 检测技术检测患者 CTC, 分析 CTC 数目、表型及其与临床病理特征及预后的相关性。**结果** 68 例胃癌患者中, 男 34 例, 女 34 例, 平均年龄(55.0±12.3)岁, 临床表现为上腹饱胀、上腹疼痛、呃逆等; 无特异性临床表现。其中临床 I 期患者 19 例, 临床 II 期患者 16 例, 临床 III 期患者 33 例, 中位随访时间 28 个月, 截至末次随访日期, 共有 35 例患者存活, 33 例患者死亡。在 68 例胃癌患者治疗前外周血中, CTC 检出个数为 0~80 个, 检出中位数为 6 个; CTC 阳性患者 56 例(纳入 CTC 阳性组), CTC 阴性患者 12 例(纳入 CTC 阴性组), 阳性检出率为 82.4%(56/68)。而间质型 CTC 检出个数为 0~11 个, 检出中位数为 1 个; 间质型 CTC 阳性患者 35 例(纳入间质型 CTC 阳性组), CTC 阴性患者 33 例(纳入间质型 CTC 阴性组), 阳性检出率为 51.5%(35/68)。CTC 阳性及间质型 CTC 阳性与胃癌的 TNM 分期及肿瘤浸润深度均显著相关($P < 0.05$), CTC 阴性组及间质型 CTC 阴性组术后总生存率显著高于 CTC 阳性组及间质型 CTC 阳性组, 差异有统计学意义($P < 0.001$)。**结论** CTC 及间质型 CTC 与胃癌患者的 TNM 分期、肿瘤浸润深度及生存期等情况均密切相关, 术前检测 CTC, 特别是间质型 CTC 可作为胃癌患者预后的标志物。

[关键词] 胃肿瘤; 循环肿瘤细胞; TNM 分期; 液体活检; 预后

[中图分类号] R73 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)03-0326-07

Correlation analysis of circulating tumor cells with clinicopathological features and prognosis of gastric cancer patients*

WANG Liuxing^{1,2}, YANG Hongxin³, DAI Li¹, CHEN Taichun¹, LIANG Baichuang¹, WANG Qian^{1,3△}

(1. Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550001, China; 2. Ezhou Central Hospital, Ezhou, Hubei 436000, China; 3. Department of Gastrointestinal Surgery, Affiliated Hospital of Guizhou

Medical University, Guiyang, Guizhou 550001, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the correlation between the number of circulating tumor cells (CTC) and their types and the clinicopathological features and prognosis of gastric cancer. **Methods** A retrospective analysis of 68 gastric cancer patients admitted to the Gastrointestinal Department of the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University from March 2018 to March 2020 was conducted. The Canpatrol III CTC detection technology developed by Guangzhou Yishan Company was used to detect CTC in patients, and the number and phenotype of CTC and their correlation with clinicopathological features and prognosis were analyzed. **Results** Among the 68 gastric cancer patients, there were 34 males and 34 females, with an average age of (55.0±12.3) years old. The clinical manifestations were epigastric fullness, epigastric pain, hiccups, etc. There were no specific clinical manifestations. There were 19 patients with clinical stage I, 16 patients with clinical stage II, and 33 patients with clinical stage III. The median follow-up time was 28 months. As of the last follow-up date, a total of 35 patients were alive and 33 patients died. In the peripheral blood of 68 patients with gastric cancer before treatment, the number of CTC detected ranged from 0 to 80, with a median of 6. There were 56 CTC-positive patients (included in the CTC-positive group) and 12 CTC-negative patients (included in the CTC-negative group), with a positive detection rate of 82.4% (56/68). The number of detected

* 基金项目: 贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzwbj2022-081)。 作者简介: 王刘星(1995—), 住院医师, 硕士, 主要从事胃肠道肿瘤方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: wangqian118@outlook.com。

interstitial CTC ranged from 0 to 11, with a median of 1. There were 35 positive interstitial CTC patients (included in the interstitial CTC-positive group) and 33 negative patients (included in the interstitial CTC-negative group), with a positive detection rate of 51.5% (35/68). CTC positivity and interstitial CTC positivity were significantly correlated with TNM staging and tumor invasion depth of gastric cancer ($P < 0.05$). The postoperative overall survival rate of the CTC-negative group and the interstitial CTC-negative group were significantly higher than that of the CTC-positive group and the interstitial CTC-positive group, and the differences were statistically significant ($P < 0.001$). **Conclusion** CTC and interstitial CTC are closely related to TNM staging, tumor infiltration depth, and survival of gastric cancer patients. Preoperative detection of CTC, especially interstitial CTC, can be used as prognostic markers for gastric cancer patients.

[Key words] gastric tumor; circulating tumor cells; TNM staging; liquid biopsy; prognosis

胃癌是全球最常见的恶性肿瘤之一,全球每年新增胃癌病例数约为 100 万,死亡病例数约为 80 万,其发病率在所有恶性肿瘤中排名第 5 位,死亡率排名第 3 位^[1]。在我国,胃癌的发病率和死亡率分别位于所有恶性肿瘤的第 2 位和第 3 位,远高于世界平均水平^[2]。由于早期胃癌症状不典型,且我国高危人群胃癌筛查意识并不强烈,导致患者确诊时已是进展期胃癌或有远处转移,标准的 D2 手术治疗效果较差。复发和转移是导致胃癌术后低生存率的主要原因^[3]。

循环肿瘤细胞(CTC)是原发灶和转移瘤之间衔接的重要“桥梁”,在肿瘤转移过程中发挥着重要作用。CTC 从原发性或转移性肿瘤脱落,通过血液循环进行迁移。在迁移过程中,大多数 CTC 经过失巢凋亡、受到血流剪切应力的机械损伤及机体免疫细胞的消除,最终仅有 $< 0.01\%$ 具有高转移潜能的 CTC 可以存活,发生远处转移,在远处器官中形成新肿瘤^[4-7]。肿瘤的进展与上皮-间质转换(EMT)有关。EMT 在 CTC 存在的各个过程中发挥着重要作用。CTC 上皮标志物表达在 EMT 过程中会发生下调、甚至消失,根据 EMT 标志物的表达可将 CTC 分为上皮型[表达 E 钙黏着蛋白、上皮细胞黏附分子(EpCAM)、细胞角蛋白(CK)等]、间质型(表达 N 钙黏着蛋白、波形蛋白、snail 蛋白等)、混合型(同时表达上皮和间质标志物)。与上皮型 CTC 比较,间质型 CTC 具有更强的侵袭转移能力,在肿瘤的转移过程起主要作用^[8-10]。CTC 是一种非侵入性液体活检方法,已在乳腺癌、结直肠癌等肿瘤中被证实与患者临床病理特征及预后有关^[11-13]。而关于 CTC 在胃癌的应用,特别是 CTC 各表型在胃癌中的应用研究极少。本研究分析外周血中 CTC 数目及其表型与胃癌临床病理特征之间的相关性,探讨 CTC 及其分型作为判断胃癌预后标志物的可行性。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 4 月 1 日至 2020 年 4 月 1 日就诊于贵州医科大学附属医院胃肠外科并经病理确诊为胃癌的 68 例患者纳入研究,其中男 34 例,女 34 例,平

均年龄(55.0 ± 12.3)岁。纳入标准:(1)年龄 18~80 岁;(2)术前胃镜及活检证实为胃癌,行根治性胃癌切除术;(3)术前未行抗肿瘤药物治疗;(4)主要脏器功能基本正常;(5)东部肿瘤协作组(ECOG)评分为 0~1 分;(6)无严重并发症;(7)自愿参与并签署知情同意书。排除标准:(1)非根治性胃切除治疗的胃癌患者;(2)孕妇或哺乳期妇女;(3)主要脏器功能受损;(4)各种原因所致活动性出血的患者;(5)患有严重的急慢性疾病;(6)有严重感染性疾病;(7)临床病理资料不全或失访。

1.2 外周血 CTC 检测及 CTC 鉴定

CTC 检测:术前当天清晨 7:00,空腹采集 5 mL 外周血,采用新的 CTC 分离富集技术分离,鉴定胃癌患者外周血中的 CTC。样本采集:准备乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝采血管、样本保存管和样本采集连通器;使用 8 号采血针和 EDTA 抗凝采血管采集 5 mL 外周血;血样采集后,将 EDTA 抗凝采血管上下颠倒混匀 10 次;揭开样本采集连通器上的灰色标签;将 EDTA 抗凝采血管插入孔内,使孔中针头刺穿采血管橡胶塞;揭开样本采集连通器上的红色标签;将样本保存管插入孔内,使孔中针头刺穿样本保存管橡胶塞,EDTA 抗凝采血管内的血液将自动输入样本保存管内;待样本保存管内的液面不再上升后,拔出样本保存管,上下颠倒混匀 10 次;室温放置 30 min。CTC 富集:离心去除上清液,固定剂固定 8 min;通过真空歧管将过滤器与真空泵连接。将样本保存管中的液体转移至过滤器中。MRIA 样本制备:甲醛溶液室温固定 60 min。CTC 鉴定和观察:采用多重 RNA 探针,固定后的滤膜样本使用磷酸缓冲盐溶液(PBS)洗涤 3 次。加入特异性生物标记探针 EpCAM、CK8/18/19、间质型生物标记探针碱性螺旋-环-螺旋转录因子 1(Twist)与波形蛋白(Vimentin),以及白细胞标志物 CD45 进行杂交,在 40 °C 杂交反应 3 h。未结合探针用 1 000 μ L 洗脱液[0.1 \times SSC(Sigma 公司,美国)]洗涤 3 次。加入 100 μ L 预扩增液[30%马血清(Sigma 公司,美国),1.5%十二烷基硫酸钠(Sigma 公司,美国),3 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(pH

8.0), 0.5 fmol 预扩增探针], 置于 40 °C 孵育 30 min, 进行信号扩大探针反应。将膜进行冷却, 用 1 000 μ L 洗脱液洗脱 3 次(0.1 \times SSC), 然后与 100 μ L 扩增溶液[30% 马血清, 1.5% 十二烷基硫酸钠, 3 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(pH 8.0), 1 fmol 预扩增探针]在 40 °C 孵育 30 min。加入 3 种标记荧光蛋白, 分别为荧光染料 Alexa Fluor 594(用于标记上皮生物标记探针 EpCAM、CK8/18/19), Alexa Fluor 488(间质型生物标记探针 Vimentin 和 Twist)及 Alexa Fluor

750(用于标记白细胞标志物 CD45), 置于 40 °C 孵育 30 min。用 0.1 \times SSC 进行洗脱, 然后使用 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)进行细胞核染色 5 min, 在油镜(100 \times)下使用自动化荧光扫描显微镜, 对样本进行观察。针对多种 CTC 特异性基因, 通过不同颜色荧光信号, 可进一步将 CTC 分型。其中 I 型 CTC 显示为红色荧光信号点, III 型 CTC 显示为绿色荧光信号点, 而 II 型 CTC 同时显示红色荧光及绿色荧光信号点, 表达 I 型和 III 型特异性基因。

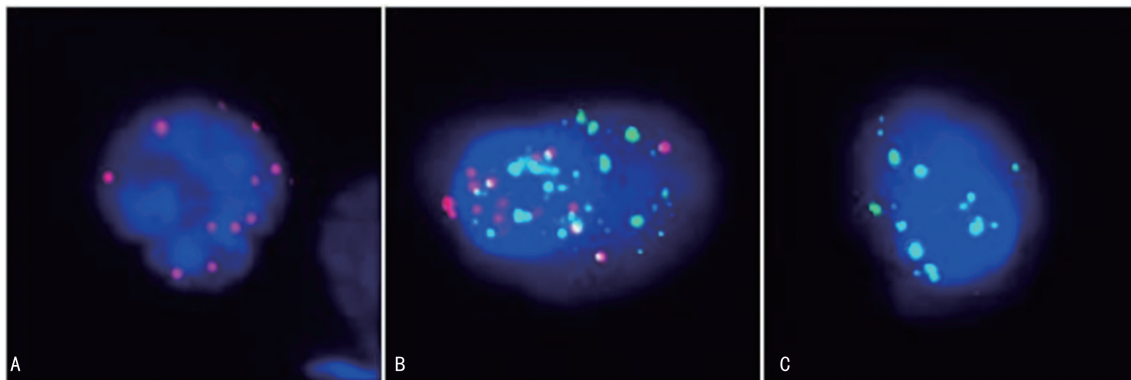


图 1 上皮型 CTC 图, 显示红色荧光信号; B: 混合型 CTC 图, 显示红色和绿色混合荧光信号; C: 间质型 CTC 图, 显示绿色荧光信号。

图 1 荧光显微镜下各个表型 CTC 示例

1.3 随访及预后监测

定期对 68 例胃癌术后患者进行严格的随访。每 3 个月对出院的患者进行 1 次门诊或电话随访。末次随访时间为 2021 年 12 月 20 日, 术后随访时间 3~44 个月, 中位随访时间 28 个月, 截至末次随访日期, 共有 35 例患者存活, 33 例患者死亡。总体生存期(OS)定义为手术后至患者因任何原因所致死亡。时间以月为单位统计, 详细记录患者术后组织病理学资料、随访资料。随访内容: 血常规、尿常规、肝功能、肾功能、腹部彩色多普勒超声、计算机断层扫描(CT)、磁共振成像(MRI), 胃镜、癌胚抗原、糖类抗原 125(CA-125)及 CA-199 等。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计学软件进行数据处理。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 非正态分布的计量资料以 $M(Q1, Q3)$ 表示, 组间比较采用秩和检验。计数资料以频数或百分比表示, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。2 组生存分析采 Kaplan-Meier 方法, 生存率的比较采用 Log-rank 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CTC 检测结果

根据既往文献[14-15]报道及本试验结果, 将 $CTC \geq 2$ 个视为检测结果阳性, CTC 总数 < 2 个视为检测结果阴性, 将各亚型 $CTC \geq 1$ 个视为检测结果阳性, 各亚型 $CTC < 1$ 个视为检测结果阴性。依据该判

断标准, 68 例胃癌患者治疗前外周血中, CTC 检出个数为 0~80 个, 中位数为 6 个, CTC 阳性患者 56 例, CTC 阴性患者 12 例, 阳性检出率为 82.4%(56/68)。而间质型 CTC 检出个数为 0~11 个, 中位数为 1 个, 间质型 CTC 阳性患者 35 例, CTC 阴性患者 33 例, 阳性检出率为 51.5%(35/68)。

2.2 CTC 及其表型与胃癌临床病理特征之间的关系

胃癌患者治疗前外周血 CTC 阳性与其年龄、性别、体重指数(BMI)、ECOG 评分、肿瘤部位、肿瘤分化程度、有无癌结节、神经侵犯、脉管侵犯、淋巴结转移均无明显相关; 而与临床分期及浸润深度明显相关。见表 1。胃癌患者治疗前外周血上皮型 CTC 阳性与其年龄、性别、BMI、ECOG 评分、肿瘤部位、肿瘤分化程度、有无癌结节、神经侵犯、脉管侵犯、临床分期、浸润深度、淋巴结转移均无明显相关。胃癌患者治疗前外周血间质型 CTC 阳性与其年龄、性别、BMI、ECOG 评分、肿瘤部位、肿瘤分化程度、神经侵犯、脉管侵犯、淋巴结转移均无明显相关; 与有无癌结节、临床分期、肿瘤浸润深度明显相关。见表 2。因混合型为上皮型和间质型复合形成, 且各自所占比例不一, 没有可比性, 本研究不作比较。

2.3 CTC 及其表型与胃癌术后总生存率的关系

CTC 总数阴性组患者死亡率为 8.3%(1/12), 而 CTC 总数阳性组患者死亡率为 57.1%(32/56)。 CTC 总数阴性组术后总生存率高于 CTC 总数阳性组, 差异有统计学意义($P = 0.004$), 见图 2。上皮型

CTC 阴性组患者死亡率为 33.3%(8/24),而上皮型 CTC 阳性组患者死亡率为 56.8%(25/44)。上皮型 CTC 阴性组术后总生存率高于上皮型 CTC 阳性组,但差异无统计学意义($P=0.069$),见图 3。间质型 CTC 阴性组患者死亡率为 21.2%(7/33),平均总生存时间为 38.3 个月[95% 置信区间(95% CI)=34.3~42.3],间质型 CTC 阳性组患者死亡率为 74.3%(26/35),平均总生存时间为 19.2 个月(95% CI=14.9~23.5)。间质型 CTC 阴性组术后总生存率高于间质型 CTC 阳性组,差异有统计学意义($P<0.001$),见图 4。

表 1 CTC 与胃癌临床病理特征之间的相关性

项目	CTC 阳性 (n=56)	CTC 阴性 (n=12)	χ^2/t	P
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	57.0±12.6	59.0±10.8	0.10	0.474
性别[n(%)]			0.00	1.00
女	28(50.0)	6(50.0)		
男	28(50.0)	6(50.0)		
BMI($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)	21.96±2.98	23.02±4.41	0.93	0.357
ECOG 评分[n(%)]			1.86	0.173
0 分	26(46.4)	3(25.0)		
1 分	30(53.6)	9(75.0)		
肿瘤部位[n(%)]			0.87 ^a	0.352
胃窦	31(55.4)	9(75.0)		
非胃窦部	25(44.6)	3(25.0)		
分化程度[n(%)]			0.14 ^a	0.713
低分化、印戒细胞癌	43(76.8)	8(66.7)		
中、高分化	13(23.2)	4(33.3)		
癌结节[n(%)]			0.81 ^a	0.368
有	8(14.3)	0		
无	48(85.7)	12(100)		
神经侵犯[n(%)]			0.69	0.407
否	30(66.7)	8(53.6)		
是	26(33.3)	4(46.4)		
脉管侵犯[n(%)]			2.96 ^a	0.085
否	34(60.7)	11(91.7)		
是	22(39.3)	1(8.3)		
肿瘤浸润深度[n(%)]			4.72 ^a	0.030
T1~T2	16(28.6)	8(66.7)		
T3~T4	40(71.4)	4(33.3)		
淋巴结转移[n(%)]			3.43	0.064
否	21(37.5)	8(66.7)		
是	35(62.5)	4(33.3)		
TNM 分期[n(%)]			4.97 ^a	0.026
I 期	12(21.4)	7(58.3)		
II~III 期	44(78.6)	5(41.7)		

^a:利用连续性校正公式(Yates's 校正)算出的统计值。

表 2 间质型 CTC 与胃癌临床病理特征之间的相关性

项目	CTC 阳性 (n=56)	CTC 阴性 (n=12)	χ^2/t	P
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	58.0±13.9	58.0±12.6	0.37	0.254
性别[n(%)]			0.06	0.808
女	17(48.6)	17(51.5)		
男	18(51.4)	16(48.5)		
BMI($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)	21.60±2.64	22.64±3.64	1.35	0.182
ECOG 评分[n(%)]			0.66	0.418
0 分	12(34.3)	17(51.5)		
1 分	23(65.7)	16(48.5)		
肿瘤部位[n(%)]			0.18	0.674
胃窦	18(51.4)	22(66.7)		
非胃窦部	17(48.6)	11(33.3)		
分化程度[n(%)]			0.14 ^a	0.713
低分化、印戒细胞癌	27(77.1)	24(72.7)		
中、高分化	8(22.9)	9(27.3)		
癌结节[n(%)]			6.49 ^a	0.011
有	8(22.9)	0		
无	27(77.1)	33(100.0)		
神经侵犯[n(%)]			1.56	0.211
否	17(48.6)	21(63.6)		
是	18(51.4)	12(36.4)		
脉管侵犯[n(%)]			1.23	0.268
否	21(60.0)	24(72.7)		
是	14(40.0)	9(27.3)		
肿瘤浸润深度[n(%)]			7.39	0.007
T1~T2	7(20.0)	17(51.5)		
T3~T4	28(80.0)	16(48.5)		
淋巴结转移[n(%)]			3.71	0.054
否	11(31.4)	18(54.5)		
是	24(68.6)	15(45.5)		
TNM 分期[n(%)]			4.18	0.041
I 期	6(17.1)	13(39.4)		
II~III 期	29(82.9)	20(60.6)		

^a:利用连续性校正公式(Yates's 校正)算出的统计值。

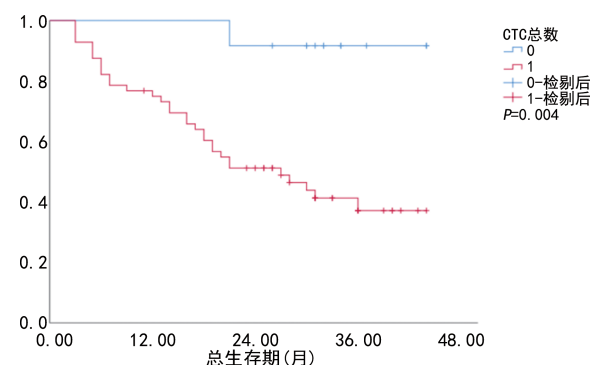


图 2 胃癌患者 CTC 总数阴性组与阳性组术后总生存期的比较

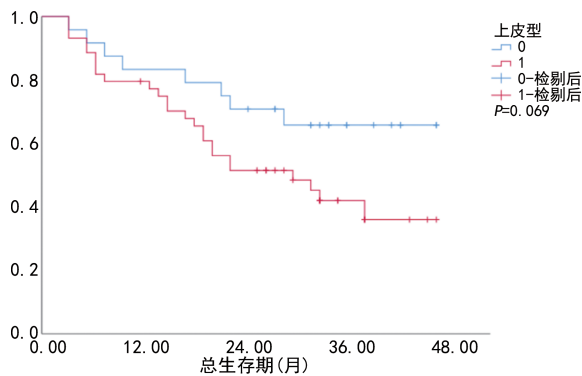


图3 胃癌患者上皮型 CTC 阴性组与阳性组术后总生存期的比较

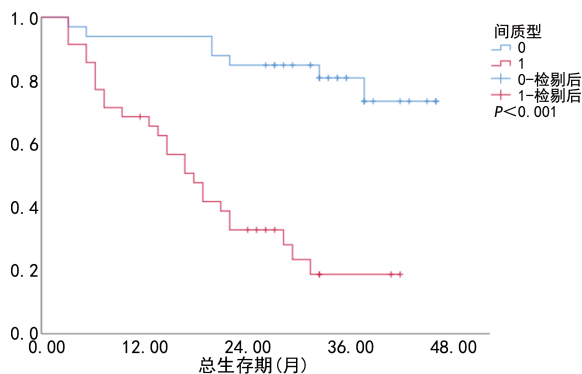


图4 胃癌患者间质型 CTC 阴性组与阳性组术后总生存期的比较

3 讨 论

CTC 检测是液体活检最主要的组成之一,也是推动肿瘤精准诊疗的新技术。与普通侵入式的组织活检及细胞学检查相比,CTC 检测具有一系列优势,如标本获取容易、可反复检测等。与循环肿瘤核酸(ctDNA)比较,CTC 作为完整的肿瘤细胞,可分析的内容多、获取的基因信息全面,是与组织活检一致性最高的液体活检手段^[16];CTC 也可以在体外进行肿瘤细胞的分析^[17]。CTC 在 EMT 的幅度上表现出了相当程度的表型异质性,但 CTC 各亚型在胃癌中的应用研究极少。本研究从 CTC 的 EMT 分型着手,探索 CTC 及其 EMT 分型与胃癌临床病理特征及预后的相关性。

既往有关于 CTC 与胃癌临床病理特征相关性的研究,但这些研究得出的结论不尽相同,但总体而言,大多研究认为 CTC 与胃癌患者的年龄、性别、BMI、肿瘤部位、肿瘤大小、肿瘤分化程度无明显相关性,而与胃癌的临床分期、肿瘤浸润深度、淋巴结转移情况有关^[18-20]。本研究利用 Canpatrol III 检测技术检测胃癌患者外周血中 CTC^[21-22],该技术采用生物纳米膜过滤法+多重 mRNA 荧光原位杂交方法,不依赖于生物标志物,避免阳性生物富集方法漏检已发生 EMT 转化表型的 CTC,避免阴性生物富集方法漏检与白细胞相互作用的 CTC。结果显示,CTC 在 I 期和 II~III 期胃癌患者中的检出率分别为 63.2% 和 89.8%,

差异有统计学意义($P<0.05$)。为进一步探讨原发肿瘤浸润程度和淋巴结转移情况与 CTC 检出率有无相关性,本研究对 TNM 分期进一步细化,分析不同 T 分期和 N 分期与 CTC 检出率的关系。原发肿瘤为 T1~T2 和 T3~T4 期患者 CTC 检出率分别为 66.7% 和 90.9%,两组间 CTC 检出率比较差异有统计学意义($P=0.030$)。淋巴结转移与否的 CTC 检出率分别为 72.4% 和 89.7%,但两组间比较差异无统计学意义($P=0.064$)。这与 HUANG 等^[23]的 meta 分析结果类似,该研究者纳入了包含 2 566 例胃癌患者的 26 项研究用于分析,发现 CTC 在 I/II 期患者中的检出率明显低于 III/IV 期患者($OR=0.39, 95\% CI$ 为 0.23~0.67)。ZHENG 等^[24]同样发现,CTC 阳性率和胃癌 TNM 分期、T 分期明显相关。但杨艳丽等^[25]研究发现,CTC 与胃癌患者是否淋巴结转移明显相关($P=0.034$),这与本研究结果相差较大。考虑产生这些结果的原因主要有:(1)CTC 的检测方法不同,不同的检测方法会导致检验结果的敏感度和特异度均存在一定差异;(2)选择截断值存在一定差异;(3)研究样本数量存在差异。另一方面,间质型 CTC 比上皮型 CTC 具有更强的转移侵袭能力和耐药能力,故本研究进一步细化 CTC 各亚型与胃癌临床病理特征之间的相关性,发现间质型 CTC 检出同样与胃癌的 TNM 分期、T 分期明显相关,而上皮型 CTC 的检出与胃癌的 TNM 分期、T 分期无明显相关性,可能提示了间质型 CTC 在 CTC 各亚型中的重要性。

在肿瘤的转移中,EMT 在促进静止肿瘤细胞的迁移和侵袭等部分具有关键作用^[26]。在 EMT 的形成过程中,上皮细胞将失去上皮特性,出现间质特征,例如钙黏蛋白、Vimentin、Twist 和纤维连接蛋白将过度表达,从而导致其侵袭能力增强^[27]。已有证据表明,间质型 CTC 与转移性乳腺癌的治疗结果间存在关联^[28]。HIRAIWA 等^[29]在 44 例胃癌患者的研究中发现,转移性疾病患者的 CTC 数量明显高于局限性疾病患者。但作者并未深入探讨各患者 CTC 分型及其数目。由于 CTC 具有异质性,仅进行 CTC 总计数的预测价值有限,有必要鉴定 CTC 各亚型的数量。此外,间质型 CTC 在胃癌中的预后价值极少被研究,也未发布相关指南或共识来指导其在胃癌临床实践中的应用。有研究发现,单纯的 CTC 检出并不能较好地预测肿瘤患者的疾病转归,间质型 CTC 的检出可能更加重要。一篇针对乳腺癌的研究发现^[30],在接受治疗的乳腺癌缓解病例中,仍有部分患者 CTC 数量呈增多趋势,但间质型 CTC 却呈减少趋势,另有患者治疗后 CTC 数量呈减少趋势,但间质型 CTC 却呈增多趋势,最终疾病出现临床进展。这提示间质型 CTC 在预测乳腺癌预后中的重要作用。本研究中,上皮型 CTC 阴性组术后总生存率高于上皮型 CTC 阳

性组,但差异无统计学意义($P=0.069$);CTC 总数阴性组术后总生存率高于 CTC 总数阳性组,差异有统计学意义($P=0.004$);间质型 CTC 阴性组术后总生存率高于间质型 CTC 阳性组,差异有统计学意义($P<0.001$)。死亡患者外周血间质型 CTC 计数高于存活患者,差异有统计学意义($P<0.001$)。大多数 CTC 在外周血液循环中发生凋亡,从而被免疫系统清除,只有极少数 CTC 才能存活下来并形成转移,而这部分存活并形成转移的 CTC 绝大多数是间质型 CTC 或循环肿瘤微栓子(CTM)。由于 CTC 侵袭转移能力是由 EMT 赋予^[31],因此,对 CTC 分型特别是间质型 CTC 进行检测,能更加精准地评估胃癌患者。

本研究利用 Canpatrol III CTC 检测技术检测胃癌患者的 CTC 计数及其分型,分析了 CTC 及其表型的检出水平与胃癌临床病理特征的关系,比较了间质型 CTC 的检出与胃癌患者总生存期的关系。结果表明,CTC 及间质型 CTC 可以作为胃癌辅助分期的指标,间质型 CTC 检出水平与胃癌患者的预后相关。但本研究样本量小,随访时间较短,还需对研究对象进行长期随访,有待下一步对 CTC 及其分型用于动态监测患者治疗有效性及疾病进展情况等方面的研究。

参考文献

- [1] MELINA A, JACQUES F, MARK B H, et al. Global burden of oesophageal and gastric cancer by histology and subsite in 2018[J]. *Gut*, 2020, 69(9):1564-1571.
- [2] 胃癌诊疗规范(2018 年版)[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2019, 5(1):55-82.
- [3] AARON P T, HASHEM B E. Burden of gastric cancer[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(3):534-542.
- [4] ZILIANG J, WEIHUA J, LIWEI W. Biomarkers for gastric cancer: progression in early diagnosis and prognosis (Review)[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(4):1502-1508.
- [5] PHUNG T H, SANJEEV G, NGUYEN T B, et al. Emerging role of circulating tumor cells in gastric cancer[J]. *Cancers*, 2020, 12(3):695.
- [6] KUNIHICO H, HIROYA T, HIROTOSHI H, et al. Clinical significance of circulating tumor cells in blood from patients with gastrointestinal cancers[J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(11):3092-3100.
- [7] RAFFAELE P, DOMENICA L, PAOLA C, et al. Liquid biopsy of cancer: a multimodal diagnostic tool in clinical oncology[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2018, 10:1758835918794630.
- [8] YIBIN K, KLAUS P. Tumor cell dissemination: emerging biological insights from animal models and cancer patients[J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(5):573-581.
- [9] CHRISTINE L C, ROBERT A W. A perspective on cancer cell metastasis[J]. *Science*, 2011, 331(6024):1559-1564.
- [10] SABINE K, OLIVER H, DIETHELM W, et al. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in primary breast cancer patients with circulating tumor cells[J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(1):R15.
- [11] ANTHONY L, CAROLYN S H, ASHUTOSH K L, et al. Circulating tumour cells in non-metastatic breast cancer: a prospective study[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(7):688-695.
- [12] MATTHEW G K, ROBERT S, LYNSEY P, et al. Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(12):1556-1563.
- [13] HISAE I, TOSHIKI W, KOSHI M, et al. Clinical significance of circulating tumor cells, including cancer stem-like cells, in peripheral blood for recurrence and prognosis in patients with Dukes' stage B and C colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(12):1547-1555.
- [14] JOSHI S S, BADGWELL B D. Current treatment and recent progress in gastric cancer[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):264-279.
- [15] HUANG X, GAO P, SONG Y, et al. Relationship between circulating tumor cells and tumor response in colorectal cancer patients treated with chemotherapy: a meta-analysis[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14:976.
- [16] PAOLETTI C, HAYES D F. Circulating Tumor Cells[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 882:235-258.
- [17] SIRAVEGNA G, MARSONI S, SIENA S, et al. Integrating liquid biopsies into the management of cancer[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(9):531-548.
- [18] LI Y, ZHANG X, GE S, et al. Clinical significance of phenotyping and karyotyping of circulating tumor cells in patients with advanced gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(16):6594-6602.

- [19] 张力,赵棉,贺帅.胃癌患者外周血 Cytte1 循环肿瘤细胞检测及临床意义[J].临床和实验医学杂志,2018,17(7):772-774.
- [20] 刘霞,董丽娟,张军鹏,等.循环肿瘤细胞在胃癌临床分期判断,疗效监测及预后评估中的价值[J].海南医学,2020,31(22):2915-2918.
- [21] YAOPENG Q, XINXIN Z, XIANGQIAN D, et al. Circulating tumor cell-associated white blood cell cluster is associated with poor survival of patients with gastric cancer following radical gastrectomy [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2022,48(5):1039-1045.
- [22] GUAN Y, XU F, TIAN J, GAO K, et al. The prognostic value of circulating tumour cells (CTCs) and CTC white blood cell clusters in patients with renal cell carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2021,21(1):826.
- [23] HUANG X, GAO P, SUN J, et al. Clinicopathological and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with gastric cancer: a meta-analysis [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(1): 21-33.
- [24] ZHENG L, ZOU K, YANG C, et al. Inflammation-based indexes and clinicopathologic features are strong predictive values of preoperative circulating tumor cell detection in gastric cancer patients [J]. *Clin Transl Oncol*, 2017, 19(9):1125-1132.
- [25] 杨艳丽,刘斌,苏勤军,等.胃癌中循环肿瘤细胞及其核型特征与临床分期的相关性[J].诊断病理学杂志,2018,25(11):754-760.
- [26] YEUNG KT, YANG J. Epithelial-mesenchymal transition in tumor metastasis [J]. *Mol Oncol*, 2017,11(1):28-39.
- [27] GALATEA K, MARIA AP, ELENI P, et al. Epithelial to mesenchymal transition markers expressed in circulating tumour cells of early and metastatic breast cancer patients [J]. *Breast Cancer Res*, 2011,13(3):R59.
- [28] WANG C, MU Z, CHERVONEVA I, et al. Longitudinally collected CTCs and CTC-clusters and clinical outcomes of metastatic breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2017, 161(1):83-94.
- [29] HIRAIWA K, TAKEUCHI H, HASEGAWA H. Clinical significance of circulating tumor cells in blood from patients with gastrointestinal cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15:3092-3100.
- [30] YU M, BARDIA A, WITTNER B S, et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition [J]. *Science*, 2013, 339(6119):580-584.
- [31] WERNER S, STENZL A, PANTEL K, et al. Expression of epithelial mesenchymal transition and cancer stem cell markers in circulating tumor cells [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 994: 205-228.

(收稿日期:2022-03-19 修回日期:2022-10-13)

(上接第 325 页)

- [14] 黄红铭,陈旭,陈良春. PCT、CRP 及 6 h 乳酸清除率对 AECOPD 患者合并呼吸衰竭的诊断及预后评估分析 [J]. *中国实验诊断学*, 2021, 25(1):13-16.
- [15] 牟厚玲,韩平. APACHE II 评分及血乳酸清除率在呼吸衰竭患者病情及预后评估的研究 [J]. *中国实验诊断学*, 2020, 24(2):230-233.
- [16] 周筋,王维秀,谭效锋. APACHE II 和 LIPS 在急性呼吸窘迫综合征病情评估及预后判断中的价值 [J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(1):62-65.
- [17] 尹然,庞敏,吕楠. 超声心肌活动指数结合血清 NT-proBNP、cTnI 水平对 ACS 患者 PCI 术后并发心力衰竭的预测分析 [J]. *医学影像学杂志*, 2022, 32(4):596-602.
- [18] 李路,杨阳,孙亚男,等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者心功能不全相关危险因素及其与预后的关系 [J]. *实用临床医药杂志*, 2021, 25(15): 43-48.
- [19] COPPOLA S, CACCIOPPOLA A, FROIO S, et al. Effect of mechanical power on intensive care mortality in ARDS patients [J]. *Crit Care*, 2020, 24(1):246.
- [20] 林化,倪琦,李超乾. 早期联合监测血管外肺水指数、肺血管通透性指数及血清氨基末端脑钠肽前体评估急性呼吸窘迫综合征患者预后的价值 [J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(11):1813-1815.

(收稿日期:2022-03-31 修回日期:2022-10-18)