

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.24.005

外周血循环肿瘤细胞检测在胃癌患者中的临床价值研究^{*}

乔维洲,朱翠屏,杨婷婷[△]

大连市中心医院检验科,辽宁大连 116033

摘要:**目的** 探讨循环肿瘤细胞(CTCs)的检测在胃癌患者中的临床价值。**方法** 选取 2016 年 12 月至 2017 年 12 月该院收治的 178 例胃癌患者为研究对象,并按照胃癌分期进行分组,其中Ⅰ期 34 例,Ⅱ期 44 例,Ⅲ期 48 例,Ⅳ期 52 例。选择同期 40 例健康体检者为对照组。使用 CellSearch 系统对各期患者、对照组及患者治疗前后外周血中 CTCs 计数进行检测。**结果** 与对照组比较,胃癌患者 CTCs 计数升高,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗前,Ⅲ~Ⅳ期患者 CTCs 计数 $[(20.24\pm6.38)/7.5\text{ mL}]$ 高于Ⅰ~Ⅱ期患者 $[(13.56\pm3.28)/7.5\text{ mL}]$,差异有统计学意义($P<0.05$);与手术前比较,手术后 8 h 的 CTCs 计数降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。Ⅰ~Ⅲ期患者术后 8 h 的 CTCs 计数与术后 24 h 比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与化疗前相比,化疗 1 个疗程后胃癌患者 CTCs 计数显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);对于更换化疗方案的患者,其 CTCs 计数与更换方案前比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** CTCs 检测不仅能早期提示癌灶的转移,也为实时评估疗效及预后提供参考。

关键词: 胃癌; 循环肿瘤细胞; CellSearch 系统

中图法分类号: R446.1

文章编号: 1672-9455(2019)24-3566-03

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Value of the detection of circulating tumor cells in gastric cancer patients^{*}

QIAO Weizhou, ZHU Cuiping, YANG Tingting[△]

Department of Clinical Laboratory, Dalian Municipal Central Hospital, Dalian, Liaoning 116033, China

Abstract: Objective To investigate the effect of detection of circulating tumor cells (CTCs) on the therapeutic effect of gastric cancer. **Methods** A total of 178 patients with gastric cancer were selected from December 2016 to December 2017. And there were 34 cases, 44 cases, 48 cases and 52 cases in stage I, II, III and IV stage. In addition, 40 healthy people were selected as control group. CellSearch System was used to detect CTCs in peripheral blood of each group before and after treatments. **Results** The CTCs counts in gastric cancer patients were significantly higher than that of control group ($P<0.05$). Before treatment, the CTCs counts of III-IV stage patients $[(20.24\pm6.38)/7.5\text{ mL}]$ were higher than that of I-II stage patients $[(13.56\pm3.28)/7.5\text{ mL}]$, and difference was statistically significant ($P<0.05$). The CTCs counts in patients 8 h after surgery were lower than before surgery ($P<0.05$), and there were significant differences between 8 h and 24 h after surgery in I-II stage patients ($P<0.05$). The CTCs counts in gastric cancer patients after one course of chemotherapy were lower than before chemotherapy ($P<0.05$). There was no significant difference between the number of CTCs counts before and after changing chemotherapy ($P>0.05$). **Conclusion** The detection of CTCs could not only prompt the metastasis of cancer, but also provide a new way to evaluate the therapeutic effect and condition in real time.

Key words: gastric cancer; circulating tumor cells; CellSearch System

胃癌是起源于胃黏膜上皮的恶性肿瘤,恶性肿瘤细胞具有较强的侵袭能力,脱落的肿瘤细胞早期即可通过血液系统、淋巴系统等途径到达不同部位侵袭正常人体组织,这是恶性肿瘤致死的主要原因^[1-2]。通常把进入人体外周血的肿瘤细胞称为循环肿瘤细胞(CTCs),其是导致肿瘤发生远处转移的主要因素。

强生公司开发的 CellSearch 系统通过免疫磁颗粒捕获方法捕获并使用免疫荧光技术鉴定血液中少量上皮来源的 CTCs,具有较高的特异性、灵敏度和可重复性,是目前自动化程度较高的 CTCs 检测技术^[3-4]。国内目前对于 CTCs 的研究还只限于乳腺癌等少数肿瘤,而 CTCs 对胃癌患者病情监测等方面的研究报

^{*} 基金项目:辽宁省大连市医药卫生科学研究项目(20161109)。

作者简介:乔维洲,男,副主任技师,主要从事临床检验方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: 543293817@163.com。

道较少。本文采用 CellSearch 系统检测胃癌患者外周血中 CTCs 的表达,探讨胃癌患者 CTCs 的表达在疾病复发、转移以及疗效评价中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 12 月至 2017 年 12 月就诊于本院经病理检查为胃癌的患者 178 例为研究对象,其中男 132 例,女 46 例;年龄 40~77 岁,平均(61.53±5.12)岁;Ⅰ期 34 例,Ⅱ期 44 例,Ⅲ期 48 例,Ⅳ期 52 例。所有受检者自愿签署知情同意书;入选患者均即将开始新的治疗方案(包括手术和化疗),并且无其他恶性肿瘤病史。选择同期 40 例健康体检者为对照组,其中男 28 例,女 12 例;年龄 38~65 岁,平均(56.23±6.69)岁。两组研究对象一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 主要仪器 Cellsearch 系统;CellTracks Auto-Prep System、CellTracks Analyzer II;CellSearch 循环上皮细胞检测试剂盒(免疫磁颗粒细胞捕获+荧光染色法)。

1.3 方法 采集受检者静脉血于 CellSave 管中,取出 7.5 mL 血液标本于专用锥形管中并加入 6.5 mL 缓冲液离心。利用 CellTracks AutoPrep System 对 CTCs 进行捕获和染色。首先,免疫磁珠富集表达上皮细胞黏附分子(EpCAM)的 CTCs,之后加入荧光剂进行细胞染色,定义 CD45-、EpCAM+ 及细胞角蛋白 8、细胞角蛋白 18+ 和(或)细胞角蛋白 19+ 为 CTCs。经过免疫磁颗粒捕获、荧光染料标记的 CTCs 转入经过 CellTracks Analyzer II 结果分析系统中的 MagNest 装置形成单层细胞分析面,MagNest 装置上带有数据芯片可以自动记录样本信息。所得结果以 7.5 mL 血中检测出的 CTCs 个数为单位(/7.5 mL)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计分析软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 治疗前不同分期胃癌患者与对照组 CTCs 计数的比较 结果显示,治疗前,Ⅲ~Ⅳ期胃癌患者 CTCs 计数[(20.24±6.38)/7.5 mL]、Ⅰ~Ⅱ期胃癌患者 CTCs 计数[(13.56±3.28)/7.5 mL]均显著高于对照组[(1.16±0.48)/7.5 mL],差异有统计学意义($P<0.05$);Ⅲ~Ⅳ期患者 CTCs 计数显著高于Ⅰ~Ⅱ期患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 手术前后不同分期胃癌患者 CTCs 计数的比较 与手术前相比,Ⅰ~Ⅲ期患者手术后 8 h 的 CTCs 计数显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);且Ⅰ~Ⅲ期患者术后 8 h 的 CTCs 计数与术后 24 h 比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.3 Ⅳ期胃癌患者化疗前后 CTCs 计数的比较 选取Ⅳ期需要进行化疗的患者,分别于化疗前和化疗 1 个疗程后检测 CTCs 计数,其中部分需要更换化疗方

案的患者于更换方案 1 个疗程后检测 CTCs 计数。结果显示,与化疗前相比[(21.27±6.30)/7.5 mL],化疗 1 个疗程后胃癌患者 CTCs 计数[(13.27±5.70)/7.5 mL]减少,差异有统计学意义($P<0.05$);更换化疗方案后的患者,其 CTCs 计数[(14.14±4.82)/7.5 mL]与更换方案前比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 手术前后不同分期胃癌患者 CTCs 计数的比较($\bar{x} \pm s$,/7.5 mL)

分期	<i>n</i>	手术前	术后 8 h	术后 24 h
Ⅰ期	34	12.36±2.96	7.06±2.66*	1.97±0.77* [△]
Ⅱ期	44	13.56±3.28	7.11±2.52*	2.44±0.89* [△]
Ⅲ期	48	18.70±5.38	14.10±4.46*	8.50±2.62* [△]

注:与手术前比较,* $P<0.05$;与术后 8 h 比较,[△] $P<0.05$;由于Ⅳ期患者选择保守治疗,此部分结果未纳入其数据

3 讨 论

CellSearch 系统是美国食品药品监督管理局批准的唯一可应用于临床 CTCs 检测的系统。CTCs 检测可以在肿瘤转移早期发现癌细胞,并且可早于影像学检查,为早期治疗争取了更多时间,达到更好的治疗效果。国内目前对于 CTCs 的研究还只限于乳腺癌等少数肿瘤,而 CTCs 对胃癌患者的病情监测等方面的研究报道较少。

张力等^[1]用莱尔法检测胃癌患者的 CTCs,结果显示胃癌患者 CTCs 阳性率为 67.69%,与胃部良性疾病患者(8.00%)相比,胃癌患者的 CTCs 阳性率显著升高,表明 CTCs 在胃癌早期诊断中具有重要意义。贾海明等^[2]应用 CellSearch 系统检测证实胃癌患者血 CTCs 阳性率显著高于慢性胃炎患者和健康人群,与文献[3-6]报道一致。进入血液循环的肿瘤细胞大多数在短时间内死亡,只有少数具有高度活力和高度转移潜能的肿瘤细胞可存活下来,聚集成微小癌栓并在一定条件下发展成转移灶。胃癌患者外周血中 CTCs 阳性与脉管内癌栓的发生密切相关,而脉管内检测到癌栓说明肿瘤已经侵入周围脉管系统,存在远处转移的可能性,因此在外周血中检测到 CTCs 说明可能发生肿瘤转移^[7]。本研究结果显示,与对照组相比,胃癌患者 CTCs 计数显著升高,且Ⅲ~Ⅳ期患者 CTCs 计数高于Ⅰ~Ⅱ期患者($P<0.05$)。提示 CTCs 的检测可能成为诊断胃癌转移的血清学指标,且临床分期越高,CTCs 计数越高。

研究发现,Her-2 阳性转移性乳腺癌患者经 2 个疗程拉帕替尼治疗后,76.2%患者外周血中 CTCs 计数降低^[8]。MATSUSAKA 等^[9]研究发现进展期胃癌患者接受化疗 2 周和 4 周后外周血中的 CTCs 计数明显降低,其中以化疗 2 周后降低最明显。以上研究说明,CTCs 能够实时反映靶向治疗效果,并为临床治疗方案调整提供参考^[8]。目前胃癌治疗效果评价主要依靠无进展生存时间和总生存期等,难以实时监测疗

效,可能导致患者过多接受无效治疗,还可能导致过早停用有效的治疗方案,不利于胃癌患者的预后^[7]。本研究发现,与手术前相比,手术后 8 h 的 CTCs 计数显著降低,而术后 24 h 也持续降低,提示手术切除癌灶,癌栓的转移得到了有效控制,手术效果较好。对于Ⅳ期化疗的胃癌患者而言,与化疗前相比,化疗 1 个疗程后胃癌患者 CTCs 计数显著减少,对于更换化疗方案的患者,其 CTCs 计数与更换方案前差异无统计学意义($P>0.05$),与上述研究结论相似。此外有研究还发现在转移性胃癌患者中 CTCs 阳性的患者化疗效果较差,与 CTCs 阴性患者化疗效果比较,差异有统计学意义($P<0.05$)^[10]。

综上所述,与传统的肿瘤检测方式相比,CellSearch 系统为新型液态活检方法,避免了传统方式需要手术、穿刺取样的局限性,提高了实时监测的可能性。CTCs 与肿瘤的诊断分期、复发转移密切相关,检测 CTCs 不仅可早期提示肿瘤的发生及转移,也可提示治疗效果,提高疗效监测的准确性,为个体化治疗提供可靠的依据。

参考文献

- [1] 张力,赵棉,贺帅. 胃癌患者外周血 Cytel 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.
- [2] 贾海明,米泰宇,杨雯,等. CellSearch 系统检测胃癌患者循环肿瘤细胞及临床意义[J]. 卫生职业教育,2017,35(17):149-151.
- [3] 郭迎雪,李贵新,李方超,等. 胃癌中循环肿瘤细胞与临床特征的关系[J]. 潍坊医学院学报,2016,38(1):73-75.
- [4] KREBS M G, SLOANE R, PRIEST L, 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.
- [5] 卢荣,陈强,施纯玫,等. 循环肿瘤细胞(CTC)生物学特性及其在胃癌中的研究进展[J]. 实验与检验医学,2017,35(2):135-139.
- [6] 田晓坤,李玉明,胡宝光,等. 胃癌患者外周血 Cytel 循环肿瘤细胞检测及临床意义[J]. 中华实验外科杂志,2017,34(2):208-210.
- [7] 崔笑雯,汤翠菊. 循环肿瘤细胞在胃癌中的研究进展[J]. 东南国防医药,2019,21(3):282-286.
- [8] AGELAKI S, KALYKAKI A, MARKOMANOLAKI H, et al. Efficacy of Lapatinib in Therapy-Resistant HER2-Positive Circulating Tumor Cells in Metastatic Breast Cancer [J]. PLoS One,2015,10(6):e0123683.
- [9] MATSUSAKA S, SUENAGA M, MISHIMA Y, et al. Circulating tumor cells as a surrogate marker for determining response to chemotherapy in Japanese patients with metastatic colorectal cancer[J]. Cancer Sci, 2011, 101(4):1067-1071.
- [10] LEE S J, LEE J, KIM S T, et al. Circulating tumor cells are predictive of poor response to chemotherapy in metastatic gastric cancer[J]. Inter J Biol Markers, 2015, 30(4):382-386.

(收稿日期:2019-03-29 修回日期:2019-08-23)

(上接第 3565 页)

- [2] FURBERG A S, VEIEROD M B, WILSGAARD T, et al. Serum high-density lipoprotein cholesterol, metabolic profile, and breast cancer risk[J]. J Natl Cancer Inst, 2004, 96(15):1152-1160.
- [3] KUCHARSKA-NEWTON A M, ROSAMOND W D, MINK P J, et al. HDL-cholesterol and incidence of breast cancer in the ARIC cohort study[J]. Ann Epidemiol, 2008,18(9):671-677.
- [4] KIM Y, PARK S K, HAN W, et al. Serum high-density lipoprotein cholesterol and breast cancer risk by menopausal status, body mass index, and hormonal receptor in Korea[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2009, 18(2):508-515.
- [5] 魏丽娟,张弛,张寰,等. 血脂代谢水平与乳腺癌发病风险的病例-对照研究[J]. 中华预防医学杂志,2016,50(12): 1091-1095.
- [6] 蒋圣早,陈东祥. 血清血脂及载脂蛋白水平与乳腺癌的相关性[J]. 中国现代医生,2015,53(14):17-20.
- [7] 曹培. 血脂代谢水平与乳腺癌发病风险的病例对照研究[J/CD]. 临床医药文献电子杂志,2018,5(76):107.
- [8] 亓建波,马家驰,郭庆金. 血脂水平与乳腺恶性肿瘤的关系[J]. 现代肿瘤医学 2017,25(2):290-291.
- [9] MAITI B, KUNDRANDA M N, SPIRO T P, et al. The association of metabolic syndrome with triple-negative breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2010,121(2): 479-483.
- [10] 李帅,张琳琳. 血脂对乳腺癌远处转移的预测价值[J]. 智慧健康,2017,3(9):5-6.
- [11] 陈晓春. 乳腺癌远端转移与外周血脂水平的相关性[J]. 实用临床医药杂志,2015,19(23):66-68.
- [12] 徐闻欢,周云海,徐振宇,等. 乳腺癌患者血脂水平与淋巴结转移的相关性研究[J]. 中国血液流变学杂志,2015,25(2):144-146.
- [13] 王冬梅,雷先华,李荣,等. 血脂、CA153 表达异常对乳腺癌转移的影响[J]. 中国医学创新,2017,14(32):54-56.
- [14] 周孟强,张潇月,吴军召,等. 血脂对乳腺癌远处转移的预测价值[J]. 中国老年学杂志,2015,8(35):4565-4566.
- [15] 熊臣,罗振宇,喻译锋,等. 高脂血症对 HER2 过表达型乳腺癌预后的影响[J]. 医学美学美容,2015,4:236-237.
- [16] MERDAD A, KARIM S, SCHULTEN H J, et al. Transcriptomics profiling study of breast cancer from Kingdom of Saudi Arabia revealed altered expression of Adiponectin and Fatty Acid Binding Protein4: Is lipid metabolism associated with breast cancer? [J]. BMC Genomics, 2015, 16 (Suppl 1):S11-S15.

(收稿日期:2019-05-19 修回日期:2019-09-08)