

液体活检与肿瘤治疗的动态靶标：CTC 及 DTC

肿瘤转移是肿瘤致死的最主要原因。病人血液中的循环肿瘤细胞 CTC 及病人淋巴结、骨髓(骨转移)中的播撒肿瘤细胞 (disseminated tumor cell, DTC) 是公认的肿瘤转移与复发的前体细胞。除了作为液体活检的主要检测指标,表达了各种肿瘤标示物的 CTC 及 DTC 已成为肿瘤治疗的动态靶标。目前,全球共有 22 个多瘤种、多中心的 CTC 临床实验正在积极开展,其中涉及了 20 个

CTC 肿瘤标示物及 14 个 DTC 瘤标。

最近,由上海第一人民医院肿瘤中心、著名的德国 Ludwig-Maximilians 大学 EpCAM 专家 Olivier Gires 研究组以及赛特生物 (Cytelligen) 联合发表的综述文章,对肿瘤形成,淋巴、骨及远端器官转移过程中肿瘤细胞的各种变化,以及 CTC/DTC 应用于肿瘤检测及治疗用靶标、评估疗效、指导用药等,做了系统性的论述(图 1)。



图 1 CTC/DTC 应用于肿瘤检测及临床意义综述

肿瘤生成一般是从单细胞基因突变开始。成瘤后,肿瘤组织上的某些特殊肿瘤细胞经过 EMT 过程后脱落,并浸润血管。入血的肿瘤细胞 (CTC) 由血液带至远端器官,CTC 穿透血管后,经过反向的 MET 过程,在远端器官形成新的肿瘤转移灶。此过程亦常见于肿瘤复发(图 2)。

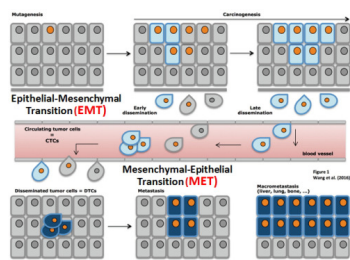


Figure 1: Schematic representation of tumor progression. Primary carcinomas are induced through multiple mutations and the

图 2 肿瘤转移及复发过程

在肿瘤的形成、转移过程中,肿瘤细胞上的各种标示物呈高-低或有-无的动态表达与分布。以 EpCAM 为例,正常粘膜上皮细胞的 EpCAM 表达仅限于基底上层细胞,然而成瘤后,肿瘤上皮细胞则开始大量表达 EpCAM⁺,经过 EMT 过程,入血的 CTC 呈阴性或阳性与阴性混合型表达 (EpCAM⁻或^{+/+},角蛋白 CK18⁻或^{+/+})。CTC 经 MET 形成转移灶后,转移灶内的肿瘤细胞又开始表达 EpCAM⁺(图 3)。

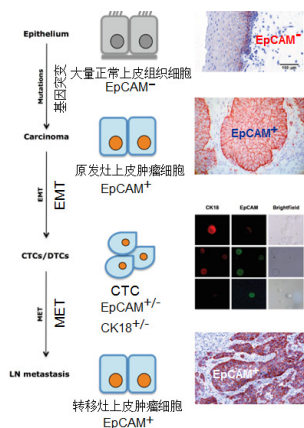


图3 EMT和MET过程中上皮标志物的变化

与 CTC 相比，DTC 不再循环于外周血中，而是定居于远端的骨髓 (骨转移) 或淋巴结，属于比较晚期的肿瘤细胞。由此，DTC 包含了更多与肿瘤转移相关的宝贵信息。以食管癌淋巴结转移

过程中的 DTC 为例，本文作者之一的 Gires 研究组发现，DTC 上的 EpCAM 表达变化与病人极差的预后密切相关 (Driemel et al., 2014 *Oncogene* 33:4904)。

液体活检技术中利用 CTC 检测来评估肿瘤患者预后已相继被报道。相对于常规的以检测单一肿瘤标志物为基础的简单 CTC 计数，我们与北京大学肿瘤中心 (北京肿瘤医院) 沈琳主任课题组联合，针对染色体异倍体 CTC 及其临床意义进行了深入研究。已发表的文章结果显示，胃癌病人体内 8 号染色体多倍体 (≥ 5) 与三倍体 CTC 对化疗药物顺铂具有不同的内源性或继发性耐药特性 (Li et al., 2014 *Oncotarget* 5:6594-6602)。此外，我们最新联合发表的临床研究证实，胃癌病人两程化疗后体内残存的多倍体 CTC 数目，与病人的肿瘤无进展生存期 (PFS) 及总生存期 (OS) 高度密切相关 (Li et al., 2016 *Chin J Cancer Res* 28:579-88) (图 4)。

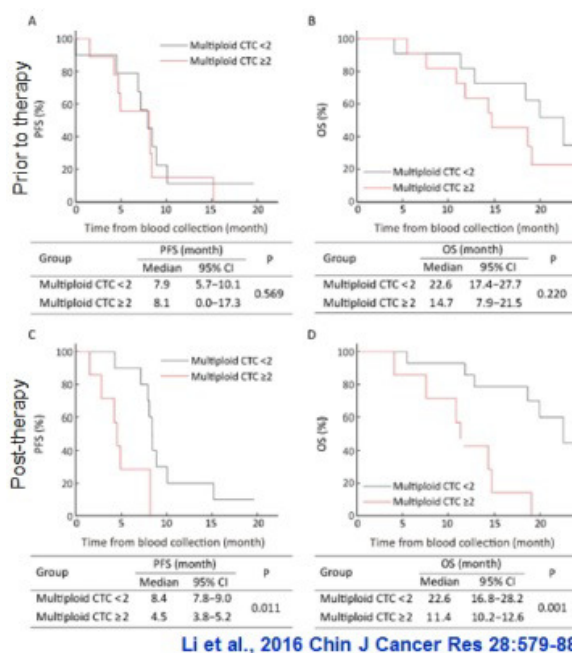


图4 多倍体 CTC 数目与 PFS 及 OS 相关性

目前临床上共使用 28 种抑制剂抗肿瘤药物，这些抑制剂主要针对肿瘤进展病人体内的原发实体瘤细胞上的常见抗原 (如 CK, HER2, EGFR,

EpCAM, VEGF, BRAF 等) 发挥作用。最近，人们已开始根据 CTC/DTC 检测结果对早期乳腺癌

病人开展相关治疗(Tolaney et al., 2015 N Engl J Med 372:134)。

不同于以往的 TNM 分期，一种针对 CTC/DTC 进行“分子分期”(molecular staging)的新概念已被提出并付诸实践。检测 CTC/DTC 中的核酸及各种肿瘤标志物的表达，势必会为包括辅助治疗 (adjuvant therapy) 在内的肿瘤精准治疗提供更加可靠的依据。相关实例比比皆是，如乳腺癌病人体内间质化 (Vimentin⁺) CTC 数目的增多，与肿瘤进展及耐药密切相关；前列腺肿瘤病人 CTC 上的雄激素受体 (AR) 的表达可以为二线抑制剂治疗提供判断标准等等。

EpCAM 和 CK 的蛋白表达与一系列肿瘤的分化、转移、预后及复发的密切相关性之前已详细讨论 (Lin, 2015 Clin Transl Med 4:38; 由磊等, 2017 临床与实验病理学杂志 33:297)。

目前全球共有 22 个多瘤种、多中心的 CTC 临床实验正在积极开展中，这些工作已不再局限于简单的 CTC 计数，而是针对 CTC 上的 20 个相关瘤标及 DTC 上的 14 个瘤标 (包括 EpCAM, HER2, Vimentin, CD133, CD44 等) 进行新药的设计开发与临床疗效评估。此外，在肿瘤细胞上进行 PD-L1 检测已是相关免疫治疗选择的前提 (图 5)。

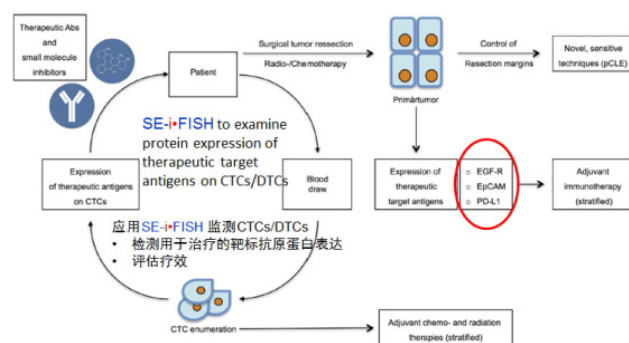


Figure 3: Therapeutic options in targeting CTCs and DTCs. After initial diagnosis, patients eligible for operation undergo

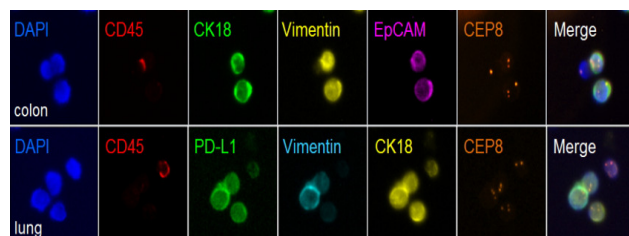


图 5 SE-iFISH 技术在 CTC 上检测多种瘤标

赛特生物 (Cytointelligen China, Cytelligen USA) 开发的独特 SE-iFISH CTC 检测系列技术产品，与蔡司 Metafer-iFISH 全自动 CTC 图像扫描分析系统相结合，可在肿瘤细胞上原位进行染色体分析、多个瘤标的蛋白表达检测分析及不同亚类 CTC/DTC 的自动数理统计。该整合技术平台在目前进行的多个 CTC/DTC 临床实验中显现

出了一系列技术优势，如在观测肿瘤细胞 EMT 状态 (EpCAM, CK/Vimentin) 的基础上，对 CTC/DTC 的其它瘤标 (如 HER2, PD-L1, CA19-9, CEA 等) 及染色体的不同倍体数目进行同步检测，用于 CTC 亚类分型、肿瘤细胞分子分型、指导临床用药、疗效及预后评估、肿瘤耐药与复发的实时监测等，并为抗肿瘤新药靶点的发掘、肿瘤单细胞测序等方面奠定了坚实基础。