

- [26] WEI H, PAN L, TAO D, et al. Circular RNA circZFR contributes to papillary thyroid cancer cell proliferation and invasion by sponging miR-1261 and facilitating C8orf4 expression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(1): 56-61.
- [27] WANG H, YAN X, ZHANG H, et al. CircRNA circ_0067934 overexpression correlates with poor prognosis and promotes thyroid carcinoma progression[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 1342-1349.
- [28] LAN X, CAO J, XU J, et al. Decreased expression of hsa_circ_0137287 predicts aggressive clinicopathologic characteristics in papillary thyroid carcinoma[J]. J Clin Lab Anal, 2018, 32(8): e22573.
- [29] HAUGEN B R. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: What is new and what has changed?[J]. Cancer, 2017, 123(3): 372-381.
- [30] GUO M, SUN Y, DING J, et al. Circular RNA profiling reveals a potential role of hsa_circ_IPCEF1 in papillary thyroid carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(2): 603.
- [31] DU G, MA R, LI H, et al. Increased expression of hsa_circ_0002111 and its clinical significance in papillary thyroid cancer[J]. Front Oncol, 2021, 11: 644011.
- [32] SHI E, YE J, ZHANG R, et al. A combination of circRNAs as a diagnostic tool for discrimination of papillary thyroid cancer[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 4365-4372.

循环肿瘤细胞在结直肠癌临床诊疗中的应用

武彤彤^{1,2}, 何清莲², 蔡方², 许萍榕¹, 朱伟^{1*} (1. 广东医科大学病理学系, 病理学技术教研室, 广东东莞 523808; 2. 惠州市中心人民医院病理科, 广东惠州 516001)

摘要: 循环肿瘤细胞(CTCs)是由肿瘤原发或转移灶自发脱落入外周血液循环的肿瘤细胞。CTCs在体内微环境调控下可发生间质上皮转变,又转变成具有上皮细胞表型的肿瘤细胞,重新获得上皮细胞特征并形成新的转移灶。研究表明,在结直肠癌中,CTCs的计数与肿瘤的分期分级、淋巴结转移数目、肝转移、肿瘤生物学标记物、KRAS基因突变等临床病理特点显著相关。该文综述了循环肿瘤细胞在结直肠癌临床诊疗中的应用。

关键词: 循环肿瘤细胞; 结直肠癌; 转移

中图分类号: R 365

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610 (2022) 04-0463-04

Application of circulating tumor cells in diagnosis and treatment of colorectal cancer

WU Tong-tong^{1,2}, HE Qing-lian², CAI Fang², XU Ping-rong¹, ZHU Wei^{1*} (1. Department of Pathology, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China; 2. Department of Pathology, Huizhou Central People's Hospital, Huizhou 516001, China)

Abstract: Circulating tumor cells (CTCs) are spontaneously detached from primary or metastatic tumors and circulate in the bloodstream. Under the regulation of microenvironment in vivo, CTCs undergo mesenchymal-epithelial transition and transform into tumor cells with epithelial phenotype, which regains the characteristics of epithelial cells and generates new metastases. The numbers of CTCs in colorectal cancer are significantly correlated with the clinicopathological features including tumor stage and grade, lymph node metastasis, liver metastasis, tumor markers, and KRAS mutation. This paper reviews the application of CTCs in diagnosis and treatment of colorectal cancer.

Key words: circulating tumor cells; colorectal cancer; metastasis

收稿日期: 2022-01-04

基金项目: 国家自然科学基金(81472275), 广东省普通高校特色创新项目(2020KTSCX045), 广东省自然科学基金(2020A151501303, 2022A1515012171), 广东医科大学科研基金自然科学类重点培育项目(GDMUZ2020001)

作者简介: 武彤彤(1975-),女,在读硕士研究生,主任医师

通信作者: 朱伟,男,医学博士,教授,博士生导师, E-mail: zhuwei@gdmu.edu.cn

循环肿瘤细胞(CTCs)是从实体肿瘤以及转移瘤中自发脱落的肿瘤细胞,进入血液循环且携带有与原发肿瘤细胞一致的分子遗传学改变^[1]。肿瘤细胞进入血液系统后,在血液冲击力及血液中各种免疫因子的协同下发生部分凋亡。有些肿瘤细胞在一定的条件下,通过各种微环境的改变逃脱免疫监管,发生上皮间质转化(EMT),聚集形成CTC簇或循环肿瘤微栓,以及循环肿瘤干细胞(CSCs)等相关CTCs亚群。这些CTCs在体内微环境的调控下可发生间质上皮转化(MET),又转变成具有上皮细胞表型的肿瘤细胞,重新获得上皮细胞特征并在远处器官形成转移灶。这是一个复杂的病理过程,可能有多要素、多步骤、多路径以及多种基因共同参与。本文对CTCs在结直肠癌临床诊疗中的应用作一综述。

1 CTCs的相关性研究

1.1 CTCs与EMT、MET

EMT过程是指上皮细胞由于发生基因的改变转化为间质细胞的过程,可致细胞极性、侵袭性、运动性、粘附性等特性发生改变,失去与基底膜的连接,使上皮细胞获得迁移能力。在这一过程中形成的CTCs是结直肠癌(CRC)浸润转移的重要载体。CTCs上皮细胞表型下调,E-钙黏蛋白下调,使细胞粘附性降低,肿瘤细胞分离;N-钙黏蛋白上调,增加细胞侵袭性及转移性;游离 β -连环蛋白增多,导致细胞持续增殖、侵袭和转移,参与多种肿瘤的形成^[2]。进入血液循环的肿瘤细胞发生EMT,形成CTCs,故上皮来源的恶性肿瘤细胞取得迁移和转移能力是EMT直接参与的过程。

CTCs侵出血管,在体内微环境的调控下可发生MET,又转变成具有上皮细胞表型的肿瘤细胞,重新获得上皮细胞特征并形成新的转移灶。这种表型间的相互转化,称为表皮可塑性,该特征引起CTCs增生、转移及侵袭能力增强,促使其逃避免疫监管,进而发生远处转移^[3]。

1.2 CTCs与CSCs

CSCs是指循环肿瘤细胞中具备干细胞特性的一部分细胞。干细胞特征包括自我更新、无限增殖及多分化潜能性和耐药属性。CSCs可参与诱导引起EMT^[4],这是导致恶性肿瘤复发和转移的根本原因^[5-7]。自我更新是维持干细胞特性的必要条件,能够抵抗放化疗,且CSCs具有顽强的侵袭和转移力,导致治疗失败;干细胞具有无限增殖和多分化潜能性的生物学特性,通过突变成为肿瘤干细胞。所以肿瘤干细胞具有

寿命长、增殖性低的特点,对细胞毒性条件具有抵抗能力。CSCs具有干细胞的耐药属性,因此在CRC中对放化疗不敏感,致使肿瘤的持续存在和复发,成为CRC治疗的主要难点^[8]。

1.3 CTCs与ctDNA

循环肿瘤DNA(ctDNA)属于细胞游离DNA的一部分,是由肿瘤细胞在发生不可逆性损伤时释放的、携带肿瘤特异性遗传物质的自由基因组片段^[9]。它包含了肿瘤的遗传学信息,即肿瘤组织的异质性和基因突变^[10]。研究表明,DNA甲基化在肿瘤发生发展过程中是一种关键的表观遗传学修饰机制,通过检查ctDNA的甲基化状态对于CRC的诊断、指导靶向治疗、预估治疗效果和预后等均有重要作用。Garrigou等^[11]研究发现,DNA甲基化改变与CRC发生发展密切相关,通过检测DNA甲基化状态,实现CRC的早发现早诊断。姜惠琴等^[12]通过检测165例晚期CRC患者血浆的ctDNA,发现ctDNA中KRAS、NRAS、BRAF和PIK3CA基因突变检出率分别为27.30%、2.42%、6.06%和9.70%。在另一项研究中,通过分析23对CTCs和ctDNA样本中K-Ras、BRAF和P13KCA基因的高突变位点,发现在CTCs和ctDNA中突变具有高度一致性:K-Ras基因突变有78.6%一致性,BRAF突变有73.9%一致性,P13KCA突变有91.3%的一致性^[13]。这一结果表明CTCs和ctDNA的同源性^[14],二者临床意义相似,尤其是ctDNA检测能够预测转移性CRC的疗效和预后^[15-17]。

有文献对1076例CRC患者进行分析后发现,ctDNA值大于治疗前中位值的患者预后较差^[18]。目前,CTCs在临床多应用于判断预后、复发风险评估和疗效监测,而ctDNA主要应用于靶向药物使用的评估和耐药性检测;而两者均与疾病发展、肿瘤负荷、治疗反应等有关,因此二者联合检测应用对临床工作的指导具有更大意义^[19]。

2 CTCs与CRC临床病理特征的关系

郭华等^[20]采用CytteITM-CTC平台检测技术(即阴性富集技术结合免疫荧光原位杂交法)检测CRC患者、结直肠良性病变患者及健康者的外周血,结果显示CRC患者中CTCs阳性率为78.9%,而良性病变和健康者中CTCs阳性率仅为6.9%,前者检出率与后者相比差异有统计学意义。Tsai等^[21]首先利用肠镜筛查出腺瘤到CRC的患者,然后检测其CTCs,观察到25%的患者被评估为癌前病变,75%的患者被评估为CRC,

CTCs 检出癌前病变的灵敏度为 76.6%, 特异度为 97.3%; 检出CRC 的灵敏度为 86.9%, 特异度为 97.3%。以上的研究说明在CRC 患者中CTCs 检出率远高于良性病变和健康者中的CTCs 检出率。晏玉武^[22]检测 71 例CRC 患者外周血中CTCs, 发现CRC 浸润范围、分级程度、TNM 分期、淋巴结转移等预后不良的指标越高, CTCs 的阳性率越高。研究观察到早期CRC 患者的肿瘤体积、部位、分化情况、转移范围等都有可能使CTCs 的水平发生变化; 此外TNM 分期越高, CTCs 的数目越多。另有研究发现, 术后CTCs 的数值与肿瘤的侵袭范围及发生部位有关, 但手术前后的CTCs 水平在年龄、性别和肿瘤病灶的分化情况之间均未发现存在相关性^[23-24]。随着TNM 分期增加, CTCs 检出率显著升高。

CTCs 计数被认为是影响预后独立因素之一, CTCs 数量随着淋巴结转移、远处转移的发展而增加。CTCs 的水平与无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)密切相关, 可作为评估疾病预后、预测复发风险的重要指标^[25]。核酸水平上一项Meta 分析发现, 在非转移性CRC 中, 通过PCR 方法检测CTCs 阳性患者的OS 和PFS 较CTCs 阴性患者明显缩短, 且CTCs 与许多预后不良指标相关, 如淋巴结转移、血管侵犯、肿瘤分化程度低及TNM 晚期等^[26]。在早期前列腺癌、乳腺癌和CRC 中应用CellSearch 系统, 每 7.5 mL 外周血中有 ≥ 5 个CTCs 是PFS 减少的有效预测指标^[27]。但在大型研究中CRC 通常使用 ≥ 3 CTC/7.5 mL 的血液阈值作为临界值^[28]。因此, CTCs 的检出率和计数与CRC 病理分期显著相关, 与苟苗苗等^[29]的研究结果一致, 即CRC 晚期转移性患者CTCs 阳性率高于III 期患者; KRAS 突变患者CTCs 阳性率高于未突变患者; CRC 肝转移患者CTCs 阳性率高于无肝转移患者; 转移器官数目 ≥ 2 个的CTCs 阳性率高于器官转移数目 < 2 个的患者。另外, CEA 是CRC 诊断和监测治疗反应的标记物, CTCs 水平与肿瘤标志物CEA 和CA19-9 阳性呈显著正相关^[29], 与蒋晓芬等^[30]的研究结果一致。所以在CRC 诊断中二者进行联合检测, 可提高诊断准确率。

2020 年美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)首次把CTCs 纳入肿瘤TNM 分期系统^[31]。CTCs 是疾病与预后评估的独立预测指标, 且CTCs 计数越多, 危险度越高, 预后越差。目前, CTCs 在肺癌、头颈部恶性肿瘤、食管癌、胃癌、乳腺癌等肿瘤的预后评估中广泛应用^[32-36]。

3 结语

CTCs 是探索CRC 发生转移机制的理想载体, 运用其检测技术到胃肠道恶性肿瘤及其他实体肿瘤各个方面, 用于疾病预后判断、复发风险评估、指导靶向用药及耐药性监测等^[37]。但CTCs 的相关性研究与CSCs 之间的关系、CRC 转移的调控因子对CTCs 的作用、研究CTCs 与CSCs 的基因表型及相关性, 能否为CRC 的诊断与治疗提供有用的分子标记物和靶点等方面的研究仍有待深入开展, 从而进一步揭示CRC 发生和发展的秘密。

参考文献:

- [1] MORRIS-HARDEMAN D. Circulating cancer cells[J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(suppl17): 95-100.
- [2] MOLES M A, MONTOYA J A, SALVAGO M D, et al. Implications of differential expression of β -catenin in oral carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(4): 1599-1604.
- [3] JOU J, DIEHL A M. Epithelial-mesenchymal transitions and hepatocarcinogenesis[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(4): 1031-1034.
- [4] 李奇栋, 许庆文, 孙利君. 循环肿瘤细胞上皮间质转化的研究进展[J]. *广东医科大学学报*, 2021, 39(1): 10-13, 39.
- [5] GUPTA P B, PASTUSHENKO I, SKIBINSKI A, et al. Phenotypic plasticity: Driver of cancer initiation, progression, and therapy resistance[J]. *Cell Stem Cell*, 2019, 24(1): 65-78.
- [6] MAKINO S, TAKAHASHI H, OKUZAKI D, et al. DCLK1 integrates induction of TRIB3, EMT, drug resistance and poor prognosis in colorectal cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(3): 394-396.
- [7] SHAFABAKHSH R, REITER R J, DAVOODABADI A, et al. Melatonin as a potential inhibitor of colorectal cancer: molecular mechanisms [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 12216-12223.
- [8] 黄文生, 陈柳静. 肿瘤干细胞与结直肠癌肿瘤干细胞[J]. *医学综述*, 2007, 13(3): 194-196.
- [9] YONG E. Cancer biomarkers: Written in blood[J]. *Nature*, 2014, 511(7511): 524-526.
- [10] MERKER J D, OXNARD G R, COMPTON C, et al. Circulating tumor DNA analysis in patients with cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists joint review[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(16): 1631-1641.
- [11] GARRIGOU S, PERKINS G, GARLAN F, et al. A study of hypermethylated circulating tumor DNA as a universal colorectal cancer biomarker[J]. *Clin Chem*, 2016, 62(8): 1129-1139.
- [12] 姜惠琴, 王蓓丽, 郭玮. 晚期结直肠癌患者血浆循环肿瘤DNA 与组织中KRAS 及NRAS 等基因突变一致性的影响因素分析[J]. *中华医学杂志*, 2021, 101(6): 400-404.

- [13] JIA S, ZHANG R, LI Z, et al. Clinical and biological significance of circulating tumor cells, circulating tumor DNA, and exosomes as biomarkers in colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(33): 55632-55645.
- [14] OXNARD G R, PAWELETZ C P, KUANG Y, et al. Noninvasive detection of response and resistance in egfr-mutant lung cancer using quantitative next-generation genotyping of cell-free plasma DNA[J]. *J Clin Cancer Res*, 2014, 20(6): 1698-1705.
- [15] WANG Y, LI L, COHEN J D, et al. Prognostic potential of circulating tumor DNA measurement in postoperative surveillance of nonmetastatic colorectal cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(8): 1118-1123.
- [16] TIE J, COHEN J D, WANG Y, et al. Serial circulating tumour DNA analysis during multimodality treatment of locally advanced rectal cancer: A prospective biomarker study[J]. *Gut*, 2019, 68(4): 663-671.
- [17] TIE J, COHEN J D, WANG Y, et al. Circulating tumor DNA analyses as markers of recurrence risk and benefit of adjuvant therapy for stage III colon cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(12): 1710-1717.
- [18] SPINDLER K G, BOYSEN A K, PALLISGÅRD N, et al. Cell free DNA in metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. *Oncologist*, 2017, 22(9): 1049-1055.
- [19] REINERT T, HENRIKSEN T V, CHRISTENSEN E, et al. Analysis of plasma cell-free DNA by ultradeep sequencing in patients with stages I to III colorectal cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(8): 1124-1130.
- [20] 郭华, 陈琳, 吴鼎龙, 等. 结直肠癌患者循环肿瘤细胞与临床病理特征的关系[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(24): 4389-4393.
- [21] TSAI W S, NIMGAONKAR A, SEGURADO O, et al. Prospective clinical study of circulating tumor cells for colorectal cancer screening[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(4 suppl): 556.
- [22] 晏玉武. 不同TNM分期结直肠癌患者血清中CXCL8和循环肿瘤细胞相关性的实验研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2016.
- [23] 曹霞, 吴伟, 赵小玉, 等. 早中期结直肠癌手术前后外周血循环肿瘤细胞的监测及预后分析[J]. *中山大学学报(医学版)*, 2019, 40(4): 604-614.
- [24] 黄天臣, 冯留顺, 肖建安, 等. 进展期结直肠癌患者循环肿瘤细胞水平及其与患者临床特征和预后的关系[J]. *中华实验外科杂志*, 2018, 35(12): 2314-2317.
- [25] PRAHARAJ P, BHUTIA S, NAGRATH S, et al. Circulating tumor cell-derived organoids: Current challenges and promises in medical research and precision medicine[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2018, 1869(2): 117-127.
- [26] YANG C, ZOU K, ZHENG L, et al. Prognostic and clinicopathological significance of circulating tumor cells detected by RT-PCR in non-metastatic colorectal cancer: A meta-analysis and systematic review[J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(725): 1-13.
- [27] 徐训政, 张好刚, 乔鹏飞, 等. 循环肿瘤细胞检测的临床有效性和实用性分析[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2018, 32(2): 169-173.
- [28] 任铁军, 陆翰杰. 循环肿瘤细胞与结直肠癌预后关系的研究[J]. *中国现代医药杂志*, 2019, 21(12): 36-38.
- [29] 苟苗苗, 张勇, 司海燕, 等. 循环肿瘤细胞与中晚期结直肠癌临床病理特征及生存的关系[J]. *解放军医学院学报*, 2019, 40(2): 117-120.
- [30] 蒋晓芬, 邵传锋, 张浩, 等. 循环肿瘤细胞联合癌胚抗原检测在I、II期结直肠癌诊断中的应用研究[J]. *中华全科医学*, 2018, 16(10): 1653-1655.
- [31] AMIN M B, GREENE F L, EDGE S, et al. *AJCC cancer staging manual*[M]. 8th ed. New York: Springer, 2017: 252-274.
- [32] 吴晓明, 刘渊源, 陈家令. 循环肿瘤细胞对非小细胞肺癌术后复发转移的预测价值[J]. *癌症进展*, 2019, 17(11): 1314-1316, 1323.
- [33] 胡明, 黄晓虹, 左维维, 等. 外周血循环肿瘤细胞对头颈恶性肿瘤患者临床病理特征和预后价值的Meta分析[J]. *肿瘤防治研究*, 2018, 45(11): 883-889.
- [34] HE W, HOU M, ZHANG H, et al. Clinical significance of circulating tumor cells in predicting disease progression and chemotherapy resistance in patients with gestational choriocarcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(6): 1421-1431.
- [35] 房玉霞. 循环肿瘤细胞与胃癌患者临床病理特征及预后的关系分析[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2019, 6(59): 60.
- [36] AMIN M B, GREENE F L, EDGE S B, et al. The eighth edition AJCC cancer staging manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging[J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(2): 93-99.
- [37] PAN X H, ZHANG X L. Utility of circulating tumor cells and DNA in the management of advanced colorectal cancer[J]. *Futur Oncol*, 2020, 16(18): 1289-1299.