

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.029

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.029>

循环肿瘤细胞的研究进展及其在肺癌中的应用

李昂¹ 综述 孙建立² 审校

(上海中医药大学附属龙华医院 1. 临床医学院; 2. 肿瘤六科, 上海 200232)

[摘要] 循环肿瘤细胞是从肿瘤组织脱落进入血液循环的肿瘤细胞。它具有细胞体积大、密度小、刚性低和膜电容高的物理特性以及增殖慢、表达上皮标志物、基因型和表型可转变、能发生上皮间质转化等的生物特性。根据这些特性,人们发明了不同的检测方法,并进行了较多的临床应用,其中在肺癌中的应用主要包括鉴别良恶性肿瘤、探究与临床分期的关系、评估治疗疗效、指导治疗以及推测预后等。

[关键词] 循环肿瘤细胞; 肺癌; 临床应用

Research progress in circulating tumor cells and its application in lung cancer

LI Ang¹, SUN Jianli²

(1. College of Clinical Medicine; 2. Sixth Department of Oncology, Longhua Hospital Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200232, China)

Abstract Circulating tumor cells refer to the tumor cells of solid tumor released into the blood. It has a large cell volume, low density, low rigidity and high membrane capacitance of the physical properties and slow proliferation, the expression of epithelial markers, transformed genotypes and phenotypes, the occurrence of epithelial mesenchymal transformation and other biological characteristics. According to these characteristics, people have invented different detection methods and carried out some clinical applications. Among them, the application in lung cancer mainly includes the identification of benign and malignant tumors, exploring the relationship with clinical stage, assessing the curative effect, guiding treatment and speculation of prognosis.

Keywords circulating tumor cell; lung cancer; clinical application

收稿日期 (Date of reception): 2017-10-24

通信作者 (Corresponding author): 孙建立, Email: 1721679167@qq.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81573890); 国家中医药管理局中医临床研究基地业务建设科研专项课题 (JDZX2015069); 龙华医院第三批中青年名中医培养计划 (RC-2017-01-10)。This work was supported by National Natural Science Foundation (81573890), Research Project for Practice Development of National TCM Clinical Research Bases (JDZX2015069), and the Third Batch of Well-known Chinese Medicine Doctor Training Program in the Longhua Hospital (RC-2017-01-10), China.

国家癌症中心2015年发布的数据显示:2006—2011年我国肺癌5年患病率是130.2(1/10万),居恶性肿瘤发病率前5位^[1]。截至2025年,我国肺癌年死亡人数将达100万^[2]。肺癌患者一旦出现远处转移,则生存期大大降低,然而约40%的患者在发现肺癌时已经出现远处转移,最终死于远处转移的患者超过90%^[3]。近年来,与转移息息相关的循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)逐渐成为肿瘤学科中的研究热点,在肺癌领域中有不少研究和应用,本文现就其研究进展及其在肺癌中的应用进行综述。

CTC是指主动或被动从实体肿瘤或转移灶脱离,逃离宿主免疫杀伤后存活于患者外周血中并能被检测到的异质性肿瘤细胞。肿瘤细胞进入循环系统一般有3种结局^[4]:1)被免疫系统攻击而消灭;2)进入休眠或静止状态;3)保持增殖活性,在血液中以单个或成群的方式运行。本文所讨论的CTC就是肿瘤细胞的第二或第三种状态,其中第二种状态亦称为休眠状态,而具有转移潜能的CTC通常指第三种状态的CTC,这两种状态在一定条件下可以相互转化^[5]。

1 CTC 的特性

1.1 物理特性

与正常血细胞比较,CTC的物理属性普遍具有细胞体积大、密度小、刚性低和膜电容高的特性^[4]。CTC直径为17.0~52.0 μm (其中小细胞肺癌患者的CTC直径更小,为7.2~10.0 μm),面积为70.0~796.0 μm^2 ,密度<1.077。CTC杨氏模量小于健康细胞,转移性CTC杨氏模量小于原发性CTC^[6]。杨氏模量是用来描述细胞刚性的物理量,杨氏模量越小,则说明细胞刚性越小,越易发生改变。这意味着CTC相比于健康细胞更容易变形,转移性CTC较原发性CTC具有更强的变形能力。

1.2 生物特性

1.2.1 增殖活性

CTC平均半衰期为1.0~2.4 h^[7-8],在体内循环的CTC大多处于休眠状态,期间还可能发生凋亡,最终只有少量CTC形成转移灶。对于CTC低表达增殖相关的核蛋白Ki-67的休眠细胞^[9-11],若使用细胞周期特异化学治疗(以下简称化疗)药物则可能增加肿瘤细胞耐受性。了解血液中CTC休眠与活化的比例,如通过检测与计算活化CTC分泌的

细胞角蛋白19(CK19)和MUC-1以及鉴定凋亡CTC的M30来推测活化CTC所占的比例,则能更好地决策治疗方案特别是化疗方案,使化疗更为“精准”^[12-14]。

1.2.2 CTC 标记基因的表达

超过80%的肿瘤来自于上皮细胞,目前经典CTC标记如上皮细胞黏附蛋白(EpCAM)和细胞角蛋白(CKs)都是上皮标志物,两者区别在于EpCAM是上皮细胞特异性表面标志蛋白,CKs是上皮细胞细胞质蛋白,是CTC的确认标志^[5]。如Freidin等^[15]曾做过1例经典个案报道,一位经肺组织穿刺活检被诊断为“低分化神经内分泌瘤”的患者通过外周血CTC检测到EpCAM和CK,于是对原诊断进行怀疑,进一步行肝穿刺活检发现肝内肺转移灶,最终确诊为小细胞性肺癌肝转移。

1.2.3 上皮-间质转化

上皮肿瘤细胞会向间质细胞转化,转化时上皮钙黏素下调、细胞骨架改变,肿瘤细胞从细胞间黏附脱离,其增殖、侵袭、转移、修复和抗药能力都大大增加^[16]。激活上皮钙黏素时可以产生上皮间质的逆转化。上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)可以引起表型转变,转化后的CTC下调了上皮细胞标志(CK和E-Cadherin)并上调了间皮细胞标志(fibronectin, vimentin, N-Cadherin, plastrin3, MMPs和活化的基质金属蛋白酶)^[17]。上皮表面标志物表达水平降低后,CTC的检测呈现假阴性。因此,检测EMT标志物(如fibronectin等)可作为上皮标志物的重要补充在CTC的检测中发挥作用。

1.2.4 CTC 基因型和表型的改变

CTC分子特征与原发肿瘤细胞不尽相同,且加上系统治疗的选择,其基因型和表型已不同于原发肿瘤细胞;此外,CTC可能从转移瘤中进入血液循环,因此其基因型和表型可能更接近于转移瘤^[18]。然而并非所有肿瘤的原发灶和转移灶均会产生明显的基因型改变,肿瘤膨胀性生长导致肿瘤细胞物理性渗透入血的CTC可以保持上皮表型而不发生表型改变^[19]。

2 CTC 的富集检测与阈值

2.1 基于 CTC 的物理特性或生物特性的富集与检测方法

根据CTC的大小、密度、刚性和膜电容等物理属性发明了相应的膜过滤法、密度梯度离心法、细胞变形富集法、细胞电学特征富集法;

根据CTC的生物学特性, 则产生了免疫磁性分离法(immunomagnetic separation, IMS)、流式细胞术(flow cytometry, FCM)、免疫细胞化学法(immunocytochemistry, ICC)、PCR和RT-PCR等方法。其优劣及应用见表1。

2.2 CellSearch 系统与检测阈值

在以上众多分选CTC的方法中, 基于免疫磁性分离法的CellSearch系统是唯—被美国食品和药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于检测CTC的方法。因其特异度和灵敏度较高, 也是目前用于检测CTC的“金标方法”。该系统是用EpCAM抗体磁珠来捕获CTC, 细胞内角蛋白荧光抗体(CK-PE)识别上皮细胞、白细胞荧光抗体(CD45-APC)识别白细胞以及DAPI荧光核染料生成细胞图像, 只要符合肿瘤细胞学形态特征并且CK-PE⁺, DAPI⁺和CD45⁻的细胞就会被定义为CTC。此系统可自动分选, 只需要7.5 mL

血液样本, 即可从400多亿血细胞中检测到1个CTC^[20-21]。该系统最初只被批准用于检测乳腺癌、结直肠癌和前列腺癌的CTC, 但近年来也开始应用于肺癌CTC的检测。它最常使用的CTC阳性阈值为5/7.5 mL外周血, 即在每7.5 mL外周血中检测出5个或5个以上CTC则判定为CTC检测阳性。这可能与首次使用CellSearch技术进行CTC检测的研究有关, 该研究^[22]是针对转移性乳腺癌患者进行CTC检测, 发现当以CTC $\geq 5/7.5$ mL外周血为阳性阈值时, CTC阳性的患者无进展生存期(progression-free survival, PFS)和总生存期(overall survival, OS)均短于CTC阴性患者, 差异具有统计学意义($P < 0.001$)。此后, 在其他癌症CTC的检测中, 当以CTC $\geq 5/7.5$ mL外周血判定为CTC阳性时, 也常常发现CTC阳性的患者比CTC阴性患者的PFS和OS要短的情况^[23-24]。因此, 在此后的研究中, 研究人员也常使用此阈值来进行进一步的实验研究。

表1 现阶段各种富集与检测CTC的方法

Table 1 Various enrichment and testing methods on CTC at present

方法	原理	优点	缺点	应用
密度梯度离心法 (又称区带离心法)	根据肿瘤细胞和正常细胞密度不同, 通过离心使密度较小的肿瘤细胞得以沉降, 从而产生一条属于肿瘤细胞的区带	操作简单, 费用便宜, 细胞的活性得以保存	纯度较低	OncoQuick分离法
膜过滤法	根据肿瘤细胞与血细胞大小不同, 通过膜过滤出肿瘤细胞	细胞形态保持完整	灵敏性低	ISET
IMS	用带有磁珠的特异性单克隆抗体与肿瘤细胞表面抗原结合, 因结合后带有磁性而滞留于磁场中, 从而分离出肿瘤细胞	灵敏性高	特异性低 费用贵	CellSearch系统, CTCs-Chip, 免疫磁性分选仪, RARE, AdnaTest
FCM	将肿瘤细胞单克隆抗体结合荧光, 使肿瘤细胞染色, 然后使用流式细胞仪对其进行分选	可定量计数	敏感度低 (1/1~10万), 价格昂贵, 耗时较长	
PCR和RT-PCR	检测癌基因、抑癌基因的突变、染色体变异或肿瘤特异性mRNA序列逆转录的DNA片段	灵敏度高, 可重复性好, 价格低	特异性低	实时定量RT-PCR、荧光定量RT-PCR、巢氏RT-PCR
ICC	用显色剂标示出特异性抗体, 在组织细胞中通过抗原抗体反应和细胞化学呈色反应, 对相应抗原进行定位、定性和定量	可进行细胞大小和形态学分析	敏感度低1/ [(1~10) × 10 ⁵]	光纤阵列扫描术、激光扫描细胞计量仪

1~4/7.5 mL外周血均有作为阳性阈值的情况, 但少见以6/7.5 mL及以上作为阈值之例。以CTC \geq 1/7.5 mL外周血为分界点常用于鉴别良恶性肿瘤之中, 如Kurusu等^[25]曾以CTC \geq 1/7.5 mL外周血为分界点, 发现肺癌患者CTC阳性率明显高于良性肿瘤患者阳性率(30.6% vs 12.0%, $P < 0.05$)。而Satre等^[26]检测大肠癌患者外周血CTC时使用的是CTC \geq 2/7.5 mL外周血为阳性阈值, 显示出CTC阳性率与结肠癌的临床分期相关(II期20.7%, III期24.1%, IV期60.7%, $P < 0.05$)。少见的阈值设定, 如Zhang等^[27]用ISET法检测SCLC患者CTC, 发现治疗前CTC \geq 50个和CTC $<$ 50个的两组OS有明显差异, 前者为5.4个月, 而后者为11.5个月; Yu等^[28]发现当阈值设定为8.64/3 mL时, CTC对NSCLC的敏感性为72.3%, 特异性为84.1%。

3 CTC在肺癌中的应用

3.1 鉴别良恶性肿瘤

孙霞等^[29]将120例肺癌患者和50例良性肺部疾病患者及40例健康对照组者外周血中CTC阳性率进行对比, 结果发现肺癌患者CTC阳性率显著高于良性肺部疾病患者($\chi^2 = 38.62$, $P < 0.001$)和健康对照组者($\chi^2 = 34.14$, $P < 0.001$), 并计算出CTC敏感度为92.7%, 特异度为73.5%, 说明肺恶性疾病和良性疾病患者外周血循环肿瘤细胞在数量上和表达上存在显著差异, 可以作为早期诊断疾病的方法之一。进一步的研究^[30]证实: CTC在鉴别肺部良恶性方面, 相比于常用肺癌标志物(CEA, NSE, CYFRA21-1)具有更高的敏感性(72.46% vs 76.37%)。

3.2 CTC与临床分期的关系

万佳蔚等^[31]分析出50例NSCLC患者外周血中CTC计数与患者性别、年龄、病理类型无明显关系, 而与临床分期(其临床分期分为I, II, III, IV期)呈正相关, 即随着临床分期的增高, CTC水平逐渐升高($F = 9.01$, $P < 0.01$)。郭迎雪等^[32]则发现60例NSCLC患者中, 转移患者外周血CTC阳性率高于非转移患者($P < 0.05$)。而田建辉等^[33]分析69例NSCLC患者外周血中CTC数值和临床分期(其临床分期分为I~IIIa, IIIb~IV期)呈负相关性($R_s = -0.253$, $P = 0.036$), 这说明有些病人在早期可能就已经出现了微转移。

3.3 CTC用于评估治疗疗效

孙霞等^[29]选取120例晚期肺癌患者为调查对象, 结果发现晚期肺癌患者化疗后CTC阳性率显著下降($\chi^2 = 77.35$, $P < 0.001$)。有学者^[34]将外周血CTC数量评价和RECIST实体瘤疗效评价标准进行比较, 结果显示二者具有高度一致性。其他研究^[35-36]发现CTC计数与放疗疗效和EGFR-TKI疗效亦相关。Normanno等^[37]发现患者化疗1个疗程后的CTC数目较基线水平CTC更能反映SCLC的预后和疗效。

3.4 CTC用于指导治疗及预后

研究^[15,36,38]发现: 肺癌患者外周血CTC检测EGFR突变与病理组织检测的一致性达92%; CTC用于诊断KRAS突变的敏感性和特异性分别为52.2%和88.1%; 以每毫升外周血中发现ALK基因重组的CTC \geq 4个为诊断阈值时, CTC用于诊断ALK重组的敏感性和特异性均为100%。由于化疗药物使用, 靶基因的表达或突变可以发生改变, 在原发灶靶点阴性的NSCLC患者中, 外周血CTC若检测到新的靶点突变, 应用靶向药物治疗后患者将获得更长的生存期。应用EMT标志物对CTC进行分类, 有助于标记出更具有侵袭力的CTC亚群, 为临床治疗方案的选择提供更多的依据。孙雯雯等^[39]将晚期NSCLC患者的CTCs分为上皮、混合及间质3种亚型, 86.2%检测出CTCs, 发现晚期NSCLC的CTCs以混合型常见, 上皮CTCs与分期呈正相关。何文杰等^[40]以66例老年晚期NSCLC患者CTC计数的中位数为分界点, 分为高于中位数的高表达组, 和低于中位数的低表达组, 两组都给予一代EGFR-TKI药物治疗, 结果发现低表达组有效率(CR+PR)为53.3%, 疾病控制率(CR+PR+SD)为80.0%, 而高表达组有效率为27.8%, 疾病控制率为44.4%, 两组差异有统计学意义($P < 0.05$); 预后方面CTC低表达组和高表达组中位数总生存时间分别为22.8个月和18.3个月, 中位无进展生存时间分别为11.5个月和5.6个月($P < 0.05$)。Tanaka等^[41]研究经受试者工作曲线(receiver operating characteristic, ROC)分析, CTC预测复发的灵敏度为71%, 特异度为83%。部分研究通过检测肿瘤特异性mRNA间接证明CTC存在, 并发现其与预后相关。Li等^[42]定义CTC为LUNX mRNA(+), Zhu等^[43]则将CTC定义为EpCAM/MUC1 mRNA(+), 他们均指出CTC是NSCLC预后不良因素。而Kurusu等^[25,44]

的研究也表明:通过影像学检查诊断为早期的肺癌患者,其血液中检测到CTC说明肿瘤细胞正在播散,5年内出现的局部复发和远处转移的手术患者超过30%^[45],说明这些临床上按常规影像学数据判定为早期肺癌的患者,如果仅仅按照目前针对早期肺癌患者所采取的常规措施治疗,疗效可能并不尽如人意;而若是能通过检测CTC,在某些早期肺癌术后患者中采取术后辅助化疗或者靶向治疗的方案,或许能提高疗效及生存率。

4 结语

CTC作为非创伤性诊断标志,已经逐渐成为早期发现肿瘤微转移、指导治疗方案和评价疗效的新方法^[46]。其独特的物理特性和生物学特性,是作为其在体内侵袭和转移的条件,但也是临床检测及应用的重要前提。近年来关于CTC的临床应用越来越多,对于CTC的研究方法包括单纯计数、表型分析及功能分析等^[47]。目前仍存在的问题主要集中在3个方面:1)检测方法有待进一步提高,目前的检测方法暂处于“百花齐放”的状态,各有利弊,包括被认为“金标准”的CellSearch系统,如当发生EMT时或不表达EpCAM时,CTC无法被完全检测到,且收集7.5 mL血液在消耗昂贵的EpCAM会出现较多的花费。因此,目前最常用的检测法并非CellSearch系统,而是密度梯度离心法和免疫荧光法联合应用,以降低费用和提高检出率。2)尚缺乏大型多中心前瞻性研究,其阳性率标准仍然未能完全统一,有以1~4/7.5 mL外周血作为阳性阈值,也有以 $\geq 6/7.5$ mL作为阈值。虽综合较多的临床应用经验,以CTC $\geq 1/7.5$ mL外周血为分界点常用于鉴别良恶性肿瘤,以CTC阳性 $\geq 5/7.5$ mL外周血常用于指导治疗和判断预后,但无法统一的标准仍然限制了CTC在临床中的广泛推广。3)对于CTC的应用研究目前主要集中于鉴别良恶性肿瘤、评估治疗疗效、进行指导治疗和推测预后,其用于诊断肺癌微转移、帮助建立肺癌分子分期、指导选择外科手术适应证和术后辅助治疗的愿景仍在探索中。目前,随着CTC检测技术的进一步提高,如核酸适配子^[48-49]、可开启微流控芯片^[50-52]、Atamer功能化水凝胶等新型检测方法的开展,CTC的检测方法将会更成熟,应用前景也较前更开阔,例如微流控芯片使得单个CTC也能被检测到并进行基因分型,其用于指导治疗和预后的功能将会更加方便、准确。

参考文献

1. Zheng R, Zeng H, Zhang S, et al. National estimates of cancer prevalence in China[J]. *Cancer Lett*, 2016, 370(1): 33-38.
2. Vinikoor-Imer LC, Davis JA, Luben TJ. An ecologic analysis of county-level PM2.5 concentrations and lung cancer incidence and mortality[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2011, 8(6): 1865-1871.
3. Wicha MS, Hayes DF. Circulating tumor cells: not all detected cells are bad and not all bad cells are detected[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(12): 1508-1511.
4. 安成,程实,王涛,等.循环肿瘤细胞生物物理特性的研究[J].*检验医学与临床*, 2016, 13(9): 1280-1283.
AN Cheng, CHENG Shi, WANG Tao, et al. Study on biophysical characteristics of circulating tumor cells[J]. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2016, 13(9): 1280-1283.
5. Luzzi KJ, MacDonald IC, Schmidt EE, et al. Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases[J]. *Am J Pathol*, 1998, 153(3): 865-873.
6. Byun S, Son S, Amodei D, et al. Characterizing deformability and surface friction of cancer cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(19): 7580-7585.
7. Meng S, Tripathy D, Frenkel EP, et al. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(24): 8152-8162.
8. Bednarz-Knoll N, Alix-Panabieres C, Pantel K. Clinical relevance and biology of circulating tumor cells[J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(6): 228.
9. Flores LM, Kindelberger DW, Ligon Ah, et al. Improving the yield of circulating tumour cells facilitates molecular characterisation and recognition of discordant HER2 amplification in breast cancer[J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(10): 1495-1502.
10. Muller V, Stahmann N, Riethdorf S, et al. Circulating tumor cells in breast cancer: correlation to bone marrow micrometastases, heterogeneous response to systemic therapy and low proliferative activity[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(10): 3678-3685.
11. Spiliotaki M, Mavroudis D, Kapranou K, et al. Evaluation of proliferation and apoptosis markers in circulating tumor cells of women and apoptosis markers in circulating tumor cells of women with early breast cancer who are candidates for tumor dormancy[J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(6): 485.
12. Alix-Panabieres C, Vendrell JP, Slijper M, et al. Full-length cytokeratin-19 is released by human tumor cells: a potential role in metastatic progression of breast cancer[J]. *Breast Cancer Res*, 2009, 11(3): R39.

13. Rossi E, Basso U, Celadin R, et al. M30 neoepitope expression in epithelial cancer: quantification of apoptosis in circulating tumor cells by CellSearch analysis[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(21): 5233-5243.
14. Payne RE, Wang F, Su N, et al. Viable circulating tumor cell detection using multiples RNA in situ hybridisation predicts progression-free survival in metastatic breast cancer patients[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(11): 1790-1797.
15. Freidin MB, Freydina DV, Leung M, et al. Circulating tumor DNA outperforms circulating tumor cells for KRAS mutation detection in thoracic malignancies[J]. *Clin Chem*, 2015, 61(10): 1299-1304.
16. Guarino M, Rubino B, Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology[J]. *Pathology*, 2007, 39(3): 305-318.
17. Gong C, Liu B, Yao Y, et al. Potentiated DNA damage response in circulating breast tumor cells confer resistance to chemotherapy[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(24): 14811-14825.
18. 周游, 蒋敬庭. 循环肿瘤细胞的生物学特性及临床应用[J]. *中国医药生物技术*, 2017, 12(1): 63-66.
ZHOU You, JIANG Jingting. Biological characteristics and clinical application of circulating tumor cells[J]. *Chinese Medicinal Biotechnology*, 2017, 12(1): 63-66.
19. 真德智, 周世杰, 刘志东, 等. 循环肿瘤细胞上皮间质转化的研究进展[J]. *医学综述*, 2016, 22(4): 699-703.
ZHEN Dezhi, ZHOU Shijie, LIU Zhidong, et al. New progress in epithelial-mesenchymal transition of circulating tumor cells[J]. *Medical Recapitulate*, 2016, 22(4): 699-703.
20. Naoe M, Ogawa Y, Morita J, et al. Detection of circulating urothelial cancer cells in the blood using the CellSearch System[J]. *Cancer*, 2007, 109(7): 1439-1445.
21. Racila E, Euhus D, Weiss AJ, et al. Detection and characterization of carcinoma cells in the blood[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(8): 4589-4594.
22. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(8): 781-791.
23. Goodman OB Jr, Fink LM, Symanowski JT, et al. Circulating tumor cells in patients with castration-resistant prostate cancer baseline values and correlation with prognostic factors[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkes Prev*, 2009, 18(6): 1904-1913.
24. Muinelo-Romay L, Vieito M, Abalo A, et al. Evaluation of circulating tumor cells and related events as prognostic factors and surrogate biomarkers in advanced NSCLC patients receiving first-line systemic treatment[J]. *Cancers (Basel)*, 2014, 6(1): 1556-1563.
25. Kurusu Y, Yamashita J, Ogawa M. Detection of circulating tumor cells by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in patients with resectable non-small-cell lung cancer[J]. *Surgery*, 1999, 126(5): 820-826.
26. Satre J, Maestro ML, Puente J, et al. Circulating tumor cells in colorectal cancer: correlation with clinical and pathological variables[J]. *Ann Oncol*, 2008, 19(5): 935-938.
27. Zhang Y, Li J, Cao L, et al. Circulating tumor cells in hepatocellular carcinoma: detection techniques, clinical implications, and future perspectives[J]. *Semin Oncol*, 2012, 39(4): 449-460.
28. Yu Y, Chen Z, Dong J, et al. Folate receptor-positive circulating tumor cells as a novel diagnostic biomarker in non-small cell lung cancer[J]. *Transl Oncol*, 2013, 6(6): 697-702.
29. 孙霞, 王琼, 殷华芳. CTC在晚期肺癌患者中的预测及预后的价值[J]. *黑龙江医药*, 2016, 29(4): 776-778.
SUN Xia, WANG Qiong, YIN Huafang. The prognosis value guided by CTC in patients with advanced lung cancer[J]. *Heilongjiang Medicine Journal*, 2016, 29(4): 776-778.
30. Chen X, Zhou F, Li X, et al. Folate receptor-positive circulating tumor cell detected by LT-PCR-based method as a diagnostic biomarker for non-small cell cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10(8): 1163-1171.
31. 万佳蔚, 沈洪远, 黄宏宇, 等. 非小细胞肺癌患者外周血循环肿瘤细胞与临床特征关系的初步研究[J]. *临床与病理杂志*, 2015, 35(1): 43-47.
WAN Jiawei, SHEN Hongyuan, HUANG Hongyu, et al. A preliminary study on the relationship between circulating tumor cells count and clinical features in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2015, 35(1): 43-47.
32. 郭迎雪, 李贵新, 李方超, 等. 非小细胞肺癌中循环肿瘤细胞与临床特征的关系[J]. *湖北民族学院学报(医学版)*, 2016, 33(1): 11-13.
GUO Yingxue, LI Guixin, LI Fangchao, et al. The relationship between circulating tumor cells count and clinical features in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Hubei Institute for Nationalities. Medical Edition*, 2016, 33(1): 11-13.
33. 田建辉, 罗斌, 毕凌, 等. 非小细胞肺癌循环肿瘤细胞表达规律及其与“伏邪”致病关系的研究[J]. *上海中医药杂志*, 2016, 50(1): 15-19.
TIAN Jianhui, LUO Bin, BI Ling, et al. Expression of circulating tumor cells in NSCLC and its relationship with “Hidden Pathogen”[J]. *Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2016, 50(1): 15-19.
34. Wu C, Hao H, Li L, et al. Preliminary investigation of the clinical significance of detecting circulating tumor cells enriched from lung cancer patients[J]. *J Thorac Oncol*, 2009, 4(1): 30-36.
35. Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells[J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(4): 366-377.
36. Ge M, Shi D, Wu Q, et al. Fluctuation of circulating tumor cells in patients with lung cancer by real-time fluorescent quantitative-PCR approach before and after radiotherapy[J]. *J Cancer Res Ther*, 2005, 1(4): 221-226.

37. Normanno N, Rossi A, Morabito A, et al. Prognostic value of circulating tumor cells' reduction in patients with extensive small-cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2014, 85(2): 314-319.
38. Pailler E, Adam J, Barthelemy A, et al. Detection of circulating tumor cells harboring a unique ALK rearrangement in ALK -positive non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2013, 31(18): 2273-2281.
39. 孙雯雯, 徐志红, 高蓓丽, 等. 晚期非小细胞肺癌循环肿瘤细胞特征性的初步探究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2016, 21(7): 626-632.
- SUN Wenwen, XU Zhihong, GAO Beili, et al. Initial researches on the characteristics of circulating tumor cells in advanced non-small cell lung cancer[J]. Chinese Clinical Oncology, 2016, 21(7): 626-632.
40. 何文杰, 江波, 金从国, 等. 老年晚期非小细胞肺癌患者循环肿瘤细胞与EGFR-TKI疗效的相关性研究[J]. 重庆医学, 2016, 45(32): 4507-4510.
- HE Wenjie, JIANG Bo, JIN Congguo, et al. Study on relationship between efficacy of EGFR-TKI and circulating tumor cell in elderly patient with advanced non-small cell lung cancer[J]. Chongqing Medicine, 2016, 45(32): 4507-4510.
41. Tanaka F, Yoneda K, Kondo N, et al. Circulating tumor cell as diagnostic marker in primary lung cancer[J]. Chin Cancer Res, 2009, 15(22): 6980-6986.
42. Li J, Shi SB, Shi WL, et al. LUNX mRNA-positive cells at different time points predict prognosis in patients with surgically resected non-small cell lung cancer[J]. Transl Res, 2014, 163(1): 27-35.
43. Zhu WF, Li J, Yu LC, et al. Prognostic value of EpCAM/MUC1 mRNA-positive cells in non-small cell lung cancer patients[J]. Tumour Biol, 2014, 35(2): 1211-1219.
44. Bevilacqua S, Gallo M, Franco R, et al. A "live" biopsy in a small-cell lung cancer patient by detection of circulating tumor cells[J]. Lung Cancer, 2009, 65(1): 123-125.
45. Jemal A, Thomas A, Murray T, et al. Cancer statistics, 2002[J]. CA Cancer J Clin, 2002, 52(1): 23-47.
46. Neki K, Kawahara H, Watanabe K, et al. Usefulness of circulating tumor cells after preliminary chemotherapy for prediction of response to further anticancer therapy in patients with initially unresectable metastatic colorectal cancer[J]. Anticancer Res, 2013, 33(4): 1769-1772.
47. 毕峰瑞, 颜宏利. 循环肿瘤细胞检测研究金钟: 从单纯计数到表型与功能分析[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(4): 341-347.
- BI Fengrui, YAN Hongli. Progresses of research on detection of circulating tumor cells: from simple counting to analysis of phenotypes and function[J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2017, 24(4): 341-347.
48. Lin M, Chen JF, Lu YT, et al. Nanostructure embedded microchips for detection, isolation, and characterization of circulating tumor cells[J]. Acc Chem Res, 2014, 47(10): 2941-2950.
49. Shen Q, Xu L, Zhao L, et al. Specific capture and re-release of circulating tumor cells using aptamer-modified nanosubstrates[J]. Adv Mater, 2013, 25(16): 2368-2373.
50. Tang M, Wen CY, Wu LL, et al. A chip assisted immunomagnetic separation system for the efficient capture and in situ identification of circulating tumor cells[J]. Lab Chip, 2016, 16(7): 1214-1223.
51. Lee SW, Hyun KA, Kim SI, et al. Continuous enrichment of circulating tumor cells using a microfluidic lateral flow filtration chip[J]. J Chromatogr A, 2015, 1377: 100-105.
52. Autebert J, Coudert B, Champ J, et al. High purity microfluidic sorting and analysis of circulating tumor cells: towards routine mutation detection[J]. Lab Chip, 2015, 15(9): 2090-2101.

本文引用: 李昂, 孙建立. 循环肿瘤细胞的研究进展及其在肺癌中的应用[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(1): 175-181. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.029

Cite this article as: LI Ang, SUN Jianli. Research progress in circulating tumor cells and its application in lung cancer[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2018, 38(1): 175-181. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.029