

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,表达了各种肿瘤标志物的 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 肿瘤标志物及 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)。

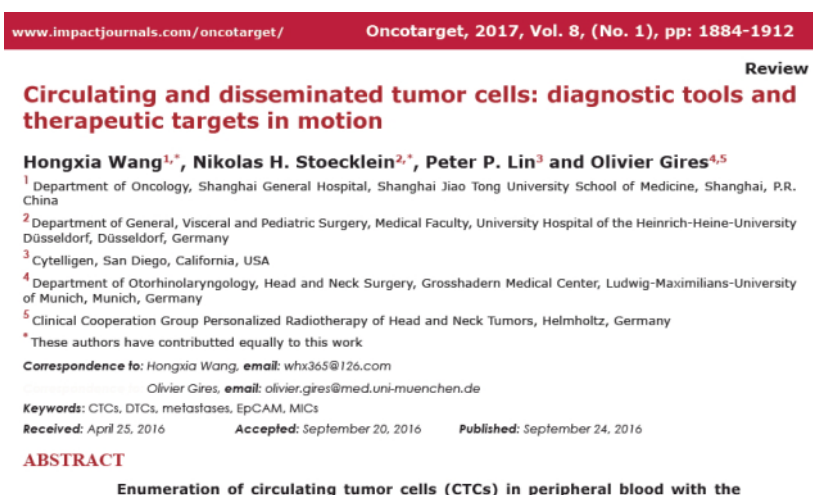


图 1 CTC/DTC 应用于肿瘤检测及临床意义综述

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)。

在肿瘤的形成、转移过程中,肿瘤细胞上的各种标志物呈高-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)。

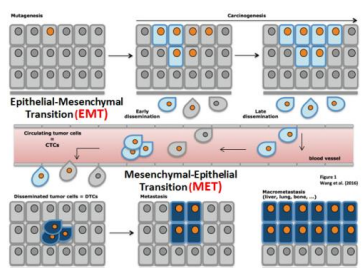


图 2 肿瘤转移及复发过程

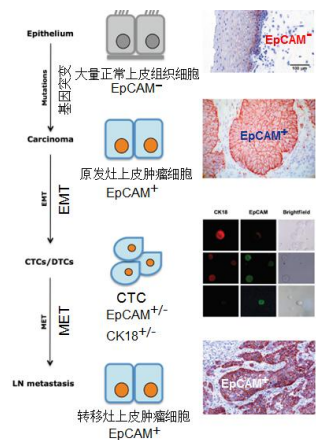


图3 EMT 和 MET 过程中上皮标志物的变化

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)。

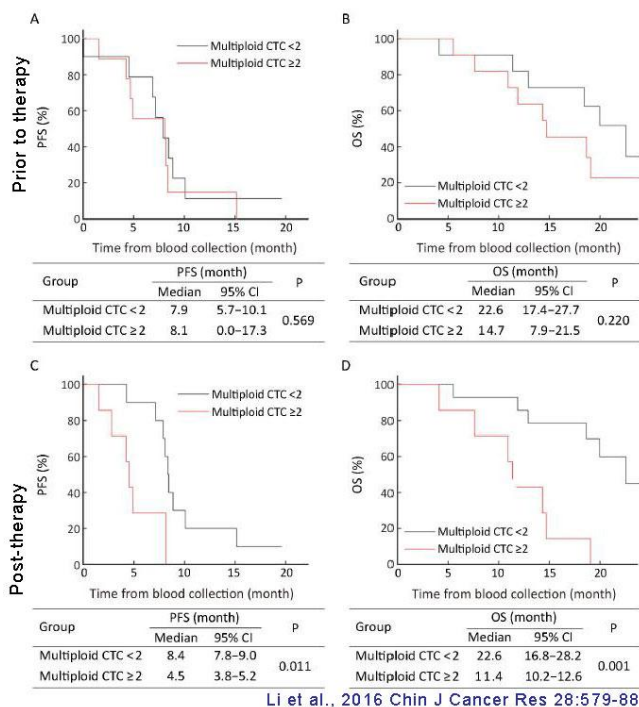


图4 多倍体 CTC 数目与 PFS 及 OS 相关性

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示物的表达，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)。

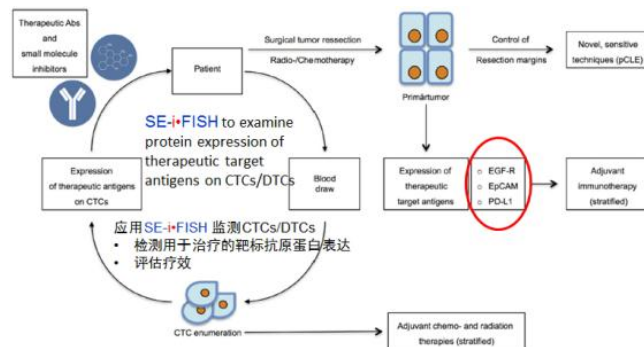


Figure 3: Therapeutic options in targeting CTCs and DTCs. After initial diagnosis, patients eligible for operation undergo

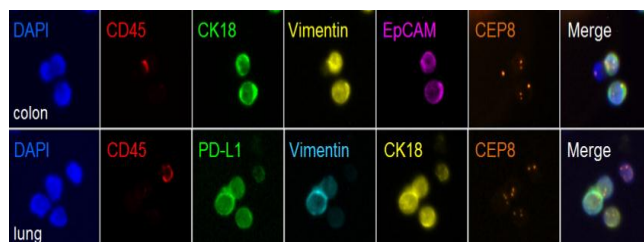


图 5 SE-iFISH 技术在 CTC 上检测多种瘤标

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。