

CTC 分类的意义与研究

过去一年中，赛特生物就循环肿瘤细胞 CTC 的临床意义及研究方法已有很多报道与讨论，其中，我们从不同角度、不同瘤种上向大家介绍了独特的差相富集与瘤标识别-染色体荧光原位杂交 (SE-iFISH) 整合技术进行 CTC 分离、检测与相关研究的优势。为了便于大家能够对 SE-iFISH 技术有一个更加全面的了解，我们最近将该技术及其在 CTC 方面的研究系统性地进行了汇总并以综述形式发表 [Lin (2015) *Clin Transl Med* 4(38):1-7] (图 1)。

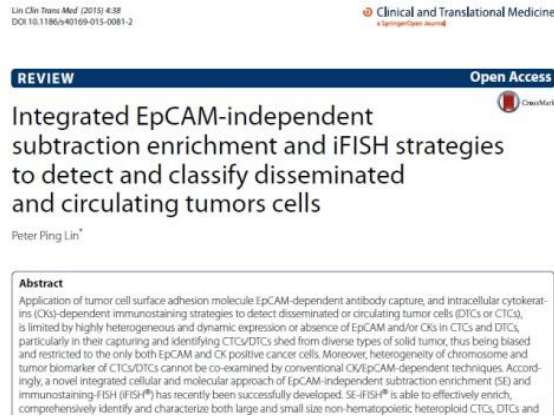


图 1 SE-iFISH CTC 综述文章

文章对目前较为常用的 CTC 获取与鉴别技术做了简要概述。其中，获取 CTC 的技术主要分为依赖肿瘤细胞大小的细胞筛法 (cell filtration)，依赖 CTC 表面标示物 (EpCAM) 表达的抗体捕获法 (antibody capture)，及不依赖于上述肿瘤细胞生物学特性的差相富集技术 (Subtraction Enrichment, SE)；CTC 主要鉴别手段则包括了各种核酸技术 (nucleic acid)，依赖角蛋白 (cytokeratin, CK) 表达的免疫荧光染色 (IF staining)，及肿瘤标示物荧光染色-染色体异倍体复合检测技术(iFISH) (图 2)。

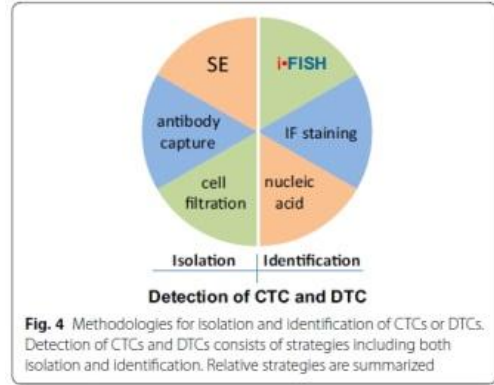


图 2 分离与鉴别 CTC 的主要方法

鉴于病人体内 CTC 的高度异质性，千差万别、大小不一的各种细胞形态，及来源于不同肿瘤组织或 CTC 形成的不同阶段 (如间质化 epithelial-mesenchymal-transition, EMT) 过程中的 EpCAM 及角蛋白 CK 的降解或不表达，仅依赖肿瘤细胞单一性状 (如细胞大小)，或利用表面标示物 EpCAM 进行捕获及依赖角蛋白 (Cytokeratin, CK) 进行 CTC 鉴别，显然已不能满足人们想要高灵敏与高特异地检测 CTC 的要求。我们以往发表的文章对此已有很多讨论 (Li et al. 2014, *Oncotarget* 5: 6594-6602; Ge et al. 2015, *Oncotarget* 6:27049-64)，在此不再赘述。

我们发表的研究成果已证实，不同肿瘤细胞，如乳腺癌、膀胱癌、黑色素瘤细胞表面的 EpCAM 表达从高到无，差异极大 (Ge et al. 2015, *Oncotarget* 6:27049-64)。在此基础上，本文进一步提供了 EpCAM 在不同肿瘤细胞内具有明显不同分布的证据。结果显示，EpCAM 在所有结直肠癌细胞(SW480)上明显分布高表达于细胞膜表面，而在较多的非小细胞肺癌细胞 (A549) 及少量的胰腺癌细胞 (PANC-1) 中则呈现较弱的细胞核分布 (图 3)。

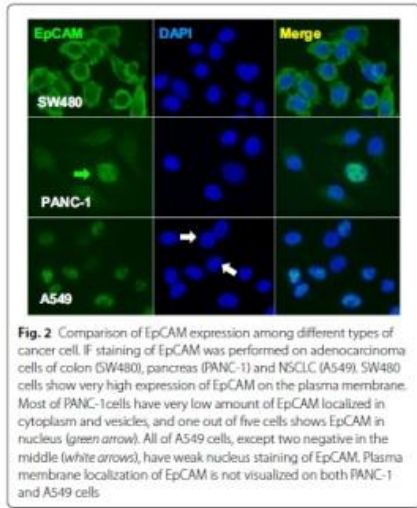


图 3 EpCAM 在不同肿瘤细胞中的分布

所得结果部分解释了为什么依赖 EpCAM 表达的抗体捕获法（如 CellSearch）针对多种肿瘤（包括非小细胞肺癌，胰腺癌等）CTC 具有较低的检出率，同时也为 EpCAM 可调控肺癌 A549 细胞的基因表达（Masser et al. 2008, *Br J Cancer* 99:1635-43）这一结论提供了有力证据。

显而易见，EpCAM 不仅具有肿瘤细胞的“上皮标示物”(epithelial marker)的特性，同时也是具有特殊生物学功能的“生物标示物”(biomarker)，即“双标”(dual marker)特性。与此类似，角蛋白 CK 同样具有明显的“双标”特性。大量来自不同实验

室的报道结果显示，EpCAM 与 CK 的生物标示物的意义甚至远大于其作为上皮标示物的意义，这一点在我们以前发表的文章中已做了充分讨论（Ge et al. 2015, *Oncotarget* 6:27049-64）。

随着对 CTC 认知、探索的不断加深，人们已意识到多重技术检测手段可更全面、更深入地研究 CTC。自从 10 年前我们与北京协和医院及中国医学科学院肿瘤医院在美国 AACR 大会上首次报道了差相富集技术可用于小细胞及非小细胞肺癌以及胰腺癌的 CTC 检测以来，我们与国内外广大同行密切合作，始终专注于相关新技术的开发与优化。最新的 SE-iFISH 整合技术不仅使原代培养富集的 CTC 成为可能，同时也使人们能够首次对 CTC 进行肿瘤标示物表达及染色体异倍体的同步分析及亚类分型。不同亚类的 CTC 已被证明与肿瘤病人的耐药及预后密切相关（Li et al. 2014, *Oncotarget* 5: 6594-6602）。

根据瘤种及临床实验目的不同，我们已开发出了一系列瘤标-iFISH 产品，涵盖了细胞膜表面蛋白、胞浆蛋白及核蛋白等各种标示物（包括肿瘤干细胞标示物），并已与国内、外多家医院开始进行展深入合作，以观察、研究不同亚类的 CTC 在不同瘤种中与特定临床指标的相关性，如免疫治疗、化疗的药敏与耐药，以及肿瘤转移、复发等。同时，iFISH 锁定的具有不同临床意义的 CTC 亚类细胞也为进一步的单细胞分析提供了明确的指导意义。