

检测异倍体 CTC 中波形蛋白 Vimentin 表达的特殊意义与临床应用

细胞骨架由微丝、微管及中间丝构成。其中，Vimentin 与角蛋白 (CK) 是中间丝蛋白的重要组成部分。Vimentin 主要表达于中胚层起源的间充质细胞中，如纤维母细胞、内皮细胞、肾小管细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等，其在维持细胞形态及细胞质完整性、稳定细胞骨架内的相互作用、保持细胞的灵活性等方面发挥着极为重要的作用。

波形蛋白 Vimentin 主要存在于正常间质化 (mesenchymal) 细胞的细胞核、内质网及线粒体的旁边或末端 (图 1)。除了少数特殊情况下会被分泌，Vimentin 也会分布到细胞表面，形成细胞表面波形蛋白 (Cell-Surface Vimentin, CSV)，参与细胞粘附，迁移和细胞内信号传导 (Perlson et al., 2006 J Mol Biol 364:938)，涉及自身免疫疾病，病毒感染和癌症。

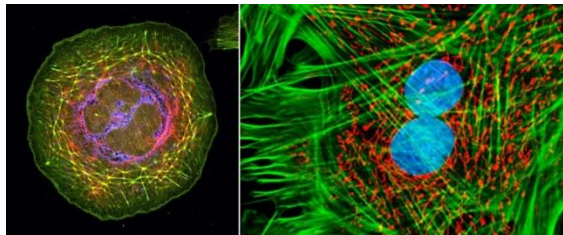


图 1 波形蛋白 Vimentin

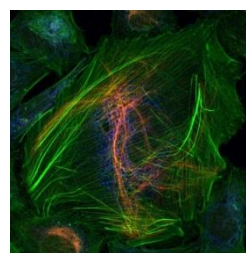
Vimentin 与肿瘤

肿瘤细胞中的 Vimentin 可呈现过量表达，并与下述多种肿瘤的增生、侵袭、转移、进展密切相关 (Satelli et al., 2011 Cell Mol Life Sci 68:3033)。

- 肺癌：高表达的 Vimentin 可作为较差预后的独立观测指标；而低表达的 Vimentin 则是病人良好生存质量的独立预测因素；糖基化 Vimentin 在肺腺癌细胞中含量降低，可作为诊断与疗效评估的标示物
- 胰腺癌：高表达，3-10 倍于其它瘤种；与浸润密切相关
- 前列腺癌：仅见于低分化、骨转移的癌细胞

- 结直肠癌：与肿瘤细胞的迁移及浸润高度相关
- 食管癌 (鳞癌)：与淋巴结转移密切相关
- 乳腺癌：常见于雌激素受体 (ER) 水平较低的高度恶性导管癌；在未接受辅助化疗的患者中，肿瘤原发灶 Vimentin 免疫组化染色阳性的病人预后较差，常伴有局部复发和远端脏器转移，并与肿瘤细胞的迁移及浸润高度相关
- 胃癌：与浸润性表型密切相关；可作为预后指标
- 肝癌：与转移密切相关
- 肾细胞癌、宫颈癌、子宫内膜癌、乳头状甲状腺癌、某些类型的淋巴瘤：可见 Vimentin 高表达
- 恶性黑色素瘤：可预测血路转移
- 中枢神经系统肿瘤 (胶质瘤等)：Vimentin 的表达与放、化疗疗效密切相关

Vimentin 与 EMT/CTC



肿瘤转移形成 CTC 的过程中，实体瘤肿瘤上皮细胞首先要经过“上皮向间质转化” (Epithelial-to-Mesenchymal Transition, EMT)。EMT 一旦被激活 (如 TGF-beta)，肿瘤上皮细胞之间的连接消失，细胞开始大量产生间质型蛋白，从而导致肿瘤细胞的浸润性及运动性大幅增加。同时，肿瘤细胞被诱导开始表达干细胞标示物，如 CD44 等 (Mani, et al., 2008 Cell 133:704)。这些间质化的肿瘤细胞从肿瘤组织上脱落后，形态变小 (Ito et al., 2014 Intl J Oncol 45:227)，穿过血管进入血流，形成 CTC。少部分 CTC 可在远端靶向器官穿出血管，经过反向的“间质向上皮转化” (MET)，形成肿瘤转移灶。肿瘤

转移过程由 EMT 与 MET 构成，而 EMT 在此过程中则起着主要的决定性作用。

在肿瘤转移的 EMT 与 MET 阶段，肿瘤细胞的上皮型标示物 (CK, EpCAM, E-cad) 与间质型标示物 (Vimentin, N-cad, O-cad)，经历着此消彼涨的动态变化 (Yu et al., 2013 Science 39:580)。以 EMT 阶段为例，CTC 的间质型蛋白呈现强表达，而上皮型蛋白则为弱或无表达 (Armstrong et al., 2011 Mol Cancer Res 9:997) (图 2)。其中，作为 EMT 最主要标示物的 Vimentin，因其在肿瘤细胞内具有的一系列特殊功能，近年来已受到人们日益广泛的密切关注。

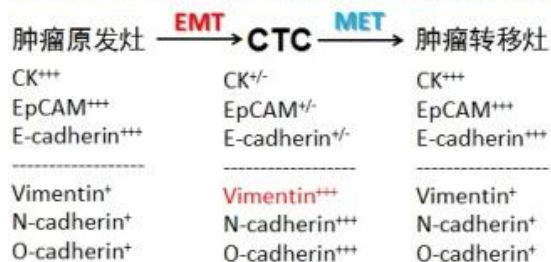
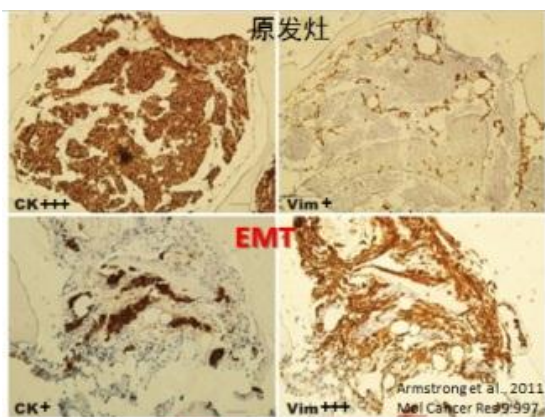


图 2 EMT 和 MET 过程中标志物的动态变化

Vimentin 与肿瘤耐药及复发

Vimentin 高表达与肿瘤细胞耐药的相关性早已有所报道 (Gupta et al., 2009 Cell 138:645)。最近，有关肺癌的研究指出，术前新辅助化疗可诱导肿瘤细胞的间质化 (Shintani et al., 2011 Ann Thorac Surg 92:1794)，且过量表达 Vimentin 也常见于肺癌复发病人的肿瘤细胞 (Kawamoto et al., 2012 Oncol Rep 27:51)。阐明 Vimentin 如何诱导肿瘤细胞耐药的机理还有待于人们进一步的

深入研究。一个可能的合理解释是，Vimentin 的高表达可诱导肿瘤细胞表达干性标示物，形成肿瘤干细胞。而肿瘤干细胞对化疗药物的耐药性已有诸多报道 (Tsai et al., 2017 Genes Develop 27:2192)。

检测异倍体 CTC 中的 Vimentin 蛋白表达

目前较常见的 CTC 检测方法仅局限于上皮标示物 CK 或 EpCAM 染色。鉴于形成 CTC 的 EMT 过程中，上皮型标示物大量降解，因而单纯的上皮标示物染色势必会造成不可忽视的 CTC 检测假阴性。

Vimentin 在肿瘤的生长、转移、耐药及复发等过程中具有无可替代的重要作用。检测 CTC 中的 Vimentin 蛋白表达，不仅可以弥补因 CTC 上皮型标示物降解而造成的大量检测假阴性，还可以有效评估肿瘤病人的疗效及预后。

经过多年的深入研究，赛特生物已成功开发出 Vimentin-iFISH 技术，并推广应用于临床。该检测方法可以对 CTC 中的 Vimentin 蛋白表达及染色体倍体进行原位、同步分析。在此基础上，我们进一步将上皮型标示物 (如 CK, EpCAM 等) 的检测整合进来，形成 (Vimentin + CK/EpCAM)-iFISH 全新技术平台，同时检测染色体异倍体 CTC、上皮型 CTC、间质型 CTC。借助 Metafer-iFISH 全自动 CTC 扫描系统，可以使人们对各种类型的 CTC 进行多方位的有效综合检测与分析 (如大、小细胞 CTC，癌栓，上皮型及间质型标示物蛋白表达，染色体倍体等，图 3)。赛特 iFISH 检测技术手段将为人们深入研究肿瘤细胞间质化(EMT) 与 CTC 在肿瘤转移、耐药、复发等过程中的重要作用提供极大的帮助。

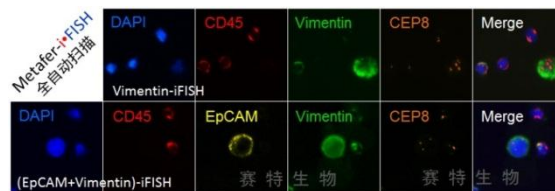


图 3 Metafer-iFISH 全自动 CTC 扫描系统