

# JTD专栏

## 循环肿瘤细胞的检测方法

Published at: May 09, 2014 [2013年第33卷第6期](#)

Klaus Pantel<sup>1</sup>, Catherine Alix-Panabières<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Tumour Biology, Centre of Experimental Medicine, University Cancer Center Hamburg, University Medical Centre Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

<sup>2</sup> University Medical Centre, University Montpellier 1, Saint-Eloi Hospital, Institute of Research in Biotherapy, Laboratory of Rare Human Circulating Cells, Montpellier, France; University Medical Centre, Laboratory of Cell and Hormonal Biology, Arnaud de Villeneuve Hospital, Montpellier, France; University Institute of Clinical Research UM1-EA2415-Epidemiology, Biostatistics & Public Health, France

**通讯作者** Alix-Panabières Catherine Email: [c-panabieres@chu-montpellier.fr](mailto:c-panabieres@chu-montpellier.fr)

**DOI:** 10.11714/j.issn.2095-6959.

**基金:**

### 摘要

在原发上皮肿瘤形成和生长的早期，肿瘤细胞便可以通过血流播散到远处器官。这些循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)可以通过不同技术进行富集和检测，其分析被认为是对癌症患者的实时“液体活检”。这种活检能对CTCs特异性亚群进行表征，且有可能为癌症的检测和控制带来革命性的转变。本篇作者将着重讨论当前用于CTCs富集和检测的策略。

**关键词:** [循环肿瘤细胞](#)

## Detection methods of circulating tumor cells

Klaus Pantel<sup>1</sup>, Catherine Alix-Panabières<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Tumour Biology, Centre of Experimental Medicine, University Cancer Center Hamburg, University Medical Centre Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

<sup>2</sup> University Medical Centre, University Montpellier 1, Saint-Eloi Hospital, Institute of Research in Biotherapy, Laboratory of Rare Human Circulating Cells, Montpellier, France; University Medical Centre, Laboratory of Cell and Hormonal Biology, Arnaud de Villeneuve Hospital, Montpellier, France; University Institute of Clinical Research UM1-EA2415-Epidemiology, Biostatistics & Public Health, France

### Abstract

Early during the formation and growth of a primary epithelial tumor, cells disseminate through the bloodstream to

	<input type="text"/>
	<input type="button" value="搜索"/>

distant organs. These circulating tumor cells (CTCs) can be enriched and detected via different technologies and CTC analyses are considered as a real-time “liquid biopsy” in cancer patients. This biopsy allows the characterization of specific sub-populations of CTCs and may revolutionize cancer detection and management. This editorial highlights the current strategies used for enrichment and detection of CTCs.

**Keywords:** Epithelial tumor tumor dissemination circulating tumor cells biomarker personalized medicine

在原发上皮肿瘤形成和生长的早期，肿瘤细胞便可以通过血流播散到远处器官。这些循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)可以通过不同技术进行富集和检测，其分析被认为是对癌症患者的实时“液体活检”。这种活检能对CTCs特异性亚群进行表征，且有可能为癌症的检测和控制带来革命性的转变。本篇作者将着重讨论当前用于CTCs富集和检测的策略。

CTC检测具有广阔前景，在过去的几年中出现了许多令人振奋的新技术。然而在技术上，CTCs检测仍然非常具有挑战性，这是由于CTCs存在的浓度非常低(数百万正常造血细胞中有1个CTC)，因此对它们的鉴定需要极其敏感和特异的分析方法，通常是富集和检测程序相结合<sup>[1]</sup>。

CTC富集包括基于CTCs不同性质的多种技术，这些性质可用于区分它们和周围正常血细胞，包括物理性质(大小、密度、电荷、变形性)和生物学性质(表面蛋白表达，大多数为EpCAM表达)。为了获得更多的CTCs，基于结合CTC不同性质的新技术得以开发。通常在富集后，CTC成分中依然含有大量白细胞，因此CTCs的鉴定需要采用在单细胞水平上能够区分肿瘤细胞和正常血细胞的方法。在基于蛋白检测的策略中，CellSearch®系统(FDA-USA验证)和其他许多CTC检测采用了相同的鉴定步骤：包括细胞角蛋白(cytokeratin, CK)的荧光染色(阳性标记)、白细胞共同抗原CD45(阴性标记)和一种核染料(DAPI)；被确定的CTCs为CK<sup>+</sup>/CD45<sup>-</sup>/DAPI<sup>+</sup>细胞。关键问题在于：检测到的细胞是存活还是凋亡的，因为只有功能细胞可以促成转移灶的形成。为了只对存活的CTCs进行检测，功能EPISPOT检测(上皮免疫斑点法)得以运用，它可以添加到任一富集步骤中。为了避免与靶细胞直接接触，这种技术在分泌、脱落和释放蛋白质的48 h短时培养中对CTCs的存在进行评估<sup>[2-4]</sup>。过去的4年中，微流装置(CTC芯片)的发展引起了人们的注意，它可以检测极少量的血液。第一个CTC芯片由抗EpCAM抗体包被的微球阵列组成，之后它进一步发展成为人字形结构<sup>[5]</sup>。自2008年以来，CTC芯片得到不断改进(如Ephesia芯片<sup>[6]</sup>、基于芯片的微型霍尔探测器<sup>[7]</sup>以及针对CK<sup>+</sup>和CK<sup>-</sup> CTCs的CTC芯片<sup>[8]</sup>等)。此外，在基于mRNA检测的策略中，针对特异性mRNAs的检测最常作为免疫学检测的替代方法用于鉴定CTCs。CK19 mRNA常被用于乳腺癌的临床研究<sup>[9]</sup>。但是，许多转录本(如编码CK18, CK19, CK20, MUC1, PSA和CEA)在正常血液和BM细胞中也是低水平表达<sup>[9-10]</sup>，因此需要经过验证临界值的定量RT-PCR检测来解决这个问题。同时，基因转录有可能在CTCs中得到修饰，支持多标记RT-PCR法的应用。最近，Markou等<sup>[11]</sup>还介绍了一种新的液珠阵列杂交检测。

在CTC领域，仍有一个非常重要的生物学问题有待解决：上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)。EMT是导致细胞去分化的一个复杂过程，它通过细胞接触连接的重排和细胞黏附力的最终丧失来增加运动性。在这一转化过程中，细胞上皮表型部分或完全转化(如EpCAM, E-钙黏着蛋白和CK的表达)为间质类(如N-钙黏附素和波形蛋白的表达)，这种转化对CTCs的相关鉴定技术的影响依然是未知的。然而，EMT可能对具有干细胞样特性的肿瘤细胞有特殊影响<sup>[12]</sup>，当前基于上皮抗原的检测可能会漏掉最具有侵袭性的CTC亚群<sup>[13]</sup>。因此，迫切需要纳入没有在EMT中被抑制但仍可用于区分CTCs和周围血细胞分析的标志物，用以对CTC检测方法进行优化。

除了选择适当的CTC标志物，癌症患者中可获得的血量有限，这也可能对CTCs等的罕见概率事件的检测造成局限性，特别是在CTC数量很少的未发生远处转移的局限期肿瘤中更是如此。因此，可用于大血量样本分析的技术非常重要，应该引起更多的关注。克服这一局限的一个简单办法就是通过Gilupi nanodetector®在体内直接靶向CTCs。这个设备在外周手臂静脉使用30 min，可以使多达1.5 L的血液(包括CTCs)通过纳米检测仪2 cm的功能化区域，使大量的CTCs被抗EpCAM抗体捕捉<sup>[14]</sup>。另一种替代方法是开展白细胞去除术，应用于采用流式细胞术和实时PCR进行分子表征的后续体

CTCs检测和分子表征是癌症转化研究中最活跃的一个领域，共有427个临床研究把CTCs作为新的潜在的独立生物标志物：CTCs反映了癌症的实时进展，这个信息在系统性治疗的背景中很有价值。这些CTC检测方法的特异性和临床应用意义需要从大规模前瞻性多中心研究中获得高水平证据的支持，从而进入临床实践。将来，CTC表征将有助于指导某个治疗时间窗特定癌症患者的特异性靶向治疗，并将成为个体化医疗的一个标志。

## 参考文献

1. Alix-Panabières C, Schwarzenbach H, Pantel K. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. *Annu Rev Med*, 2012, 63: 199-215.
2. Alix-Panabières C. EPISPOT assay: detection of viable CTCs/CTCs in solid tumor patients[J]. *Recent Results Cancer Res*, 2012, 195: 69-76.
3. Alix-Panabières 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.
4. Alix-Panabières C, Vendrell JP, Pellé O, et al. Detection and characterization of putative metastatic precursor cells in cancer patients[J]. *Clin Chem*, 2007, 53(3): 537-539.
5. Stott SL, Hsu CH, Tsukrov DI, et al. Isolation of circulating tumor cells using a microvortex-generating herringbone-chip[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(43): 18392-18397.
6. Saliba AE, Saias L, Psychari E, et al. Microfluidic sorting and multimodal typing of cancer cells in self-assembled magnetic arrays[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(33): 14524-14529.
7. Issadore D, Chung J, Shao H, et al. Ultrasensitive clinical enumeration of rare cells ex vivo using a micro-hall detector[J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(141): 141ra92.
8. Pecot CV, Bischoff FZ, Mayer JA, et al. A novel platform for detection of CK<sup>+</sup> and CK<sup>-</sup> CTCs[J]. *Cancer Discov*, 2011, 1(7): 580-586.
9. Pantel K, Brakenhoff RH, Brandt B. Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(5): 329-340.
10. Lianidou ES, Markou A. Circulating tumor cells in breast cancer: detection systems, molecular characterization, and future challenges[J]. *Clin Chem*, 2011, 57(9): 1242-1255.
11. Markou A, Strati A, Malamos N, et al. Molecular characterization of circulating tumor cells in breast cancer by a liquid bead array hybridization assay[J]. *Clin Chem*, 2011, 57(3): 421-430.
12. Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells[J]. *Cell*, 2008, 133(4): 704-715.
13. Bednarz-Knoll N, Alix-Panabières C, Pantel K. Plasticity of disseminating cancer cells in patients with epithelial malignancies[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2012, 31(3/4): 673-687.
14. Saucedo-Zeni N, Mewes S, Niestroj R, et al. A novel method for the in vivo isolation of circulating tumor cells from peripheral blood of cancer patients using a functionalized and structured medical wire[J]. *Int J Oncol*, 2012, 41(4): 1241-1250.
15. Eifler RL, Lind J, Falkenhagen D, et al. Enrichment of circulating tumor cells from a large blood volume using leukapheresis and elutriation: proof of concept[J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2011, 80(2): 100-111

Please enable JavaScript to view the [comments powered by Disqus.](#) [comments powered by Disqus](#)

全文

● PDF

## 引用

引用本文: Pantel Klaus, Aïx-Panabières Catherine . 循环肿瘤细胞的检测方法[J]. 临床与病理杂志, 2013, 33(6): 473-475.

Cite this article as: Klaus Pantel, Catherine Aïx-Panabières . Detection methods of circulating tumor cells[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2013, 33(6): 473-475.