

# 循环肿瘤细胞检测在膀胱癌诊疗中的研究进展

贾康乐 王 博

渭南市第二医院 陕西 渭南 714000

**摘要:**膀胱癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤,其发病率在全球恶性肿瘤中居第九位,在我国泌尿系统肿瘤中发病率及死亡率均居首位。膀胱癌多数以浸润方式生长,首次治疗后复发率高,约50%~70%,但目前仍无确切的可应用于临床的血清标志物来监测膀胱癌的复发、进展与转移,而应用影像学检查并不能早期发现微小转移灶,因此近50%的肌层浸润性膀胱癌在临床确诊时已有微转移灶。基于此,临床急需一种能早期发现微转移灶的检测方法,以期早期发现膀胱癌的复发与转移,并据此制定有针对性的个体化治疗方案,从而降低膀胱癌的复发率,改善治疗效果及提高患者生存率。循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)是由肿瘤原发灶或转移灶释放进入外周血的肿瘤细胞,大多数被机体清除,少数存活,与原发肿瘤具有类似的抗原、遗传性,是肿瘤血行转移的基础。

**关键词:**泌尿系统;膀胱癌;CTC

## 1 检测方法

目前已有许多分离检测CTC的方式,但膀胱癌中的大多数CTC研究依赖于CellSearch系统。该系统采用阳性富集技术,通过捕获上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)阳性CTC,能够捕获到血液中的上皮型、上皮-间充质混合型CTC,是唯一被美国食品药品监督管理局批准用于CTC检测的标准化平台。已有文献证实,膀胱切除标本中96%的膀胱肿瘤表达EpCAM。然而CellSearch系统存在一定缺陷,其测定可能无法检测出失去EpCAM和(或)肌酸激酶表达的细胞,而这些细胞常在上皮-间充质转化期间产生。在膀胱癌和其他实体恶性肿瘤中,上皮-间充质转化对肿瘤细胞转移过程至关重要。但目前尚未有任何仪器能够检测到经历上皮-间充质转化的细胞。因此,独立于EpCAM表达的CTC捕获的测定,如针对细胞大小、形态、密度和电荷可能是新的研究方向。与CellSearch系统不同,AdnaTest系统不完全依赖于EpCAM阳性CTC,还可检测其他上皮标志物,如表皮生长因子受体和人表皮生长因子受体-2,已被运用于膀胱癌的检测。而Chalfin等使用新型无选择AccuCyte-CyteFinder系统,对膀胱癌患者一系列阶段中的CTC进行计数和标记发现,这种无选择方法能够识别EpCAM阳性以及EpCAM阴性CTC。利用这种新方法,可以在非肌层浸润性膀胱癌(non-muscle-invasive bladder cancer, NMIBC)和肌层浸润性膀胱癌(muscle-invasive bladder cancer, MIBC)患者中检测到使用CellSearch系统检测可能遗漏的EpCAM阴性CTC。另外, Ajjai等发现,与CellSearch系统相比,使用IsoFlux方法在膀胱癌中检测CTC具有更高的敏感性;在匹配的9例样本中, IsoFlux

测试显示4例样本(44%)中有10个或更多CTC,而使用CellSearch系统在所有样本中均未检测出。

一项针对膀胱癌患者的荟萃分析提示,CTC的总体灵敏度和特异度分别为0.35(95%CI 0.28~0.43)和0.97(95%CI 0.92~0.99),阳性似然比和阴性似然比分别为11.2(95%CI 4.5~27.5)和0.67(95%CI 0.60~0.76),诊断比值比为17(95%CI 6~43)。由于目前各种检测CTC的技术均存在其优缺点,故将不同的检测方法联合能提高CTC检测的敏感性和特异性。同时,亟需进一步开发敏感性和特异性更高的CTC检测技术。

## 2 CTC的分型

CTC是痕量存在于外周血中的各类肿瘤细胞的统称,因自发或诊疗操作从实体肿瘤病灶脱落,大部分CTC进入外周血后被吞噬或凋亡,存活的CTC仅占外周白血细胞的1/106~107,这些CTC在恶性肿瘤血行转移中起关键作用。肿瘤细胞的侵袭性和上皮细胞间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)有关,即发生了上皮细胞转化为间质,因此,CTC分为上皮型CTC、混合型CTC和间质型CTC。上皮型CTC通过自身分泌的基质金属蛋白酶使得迁移能力增强,转化为间质型CTC,从而播散、迁移能力更强,间质型CTC主要是肿瘤细胞通过修饰自身形态及骨架结构、黏附分子,使黏附能力下降、可塑性增强,易于脱落。

最终,间质型CTC具有更强的转移潜能。据此,可通过分型检测CTC不同表型来判断肿瘤细胞侵袭能力,从而确定肿瘤进展、转移可能性;而原发部位肿瘤细胞与CTC的基因表达谱又不同,因此,今后还可以检测CTC的基因表达谱,以确定肿瘤的原发部位或转移部位,对

肿瘤诊断及个体化治疗具有重要意义。

### 3 CTC 检测在临床膀胱癌中的应用

目前,有较多关于CTC检测与多种肿瘤包括乳腺癌、肺癌、胰腺癌和前列腺癌等的复发和转移关系紧密的报道,提示CTC检测对其诊断、分期、治疗均能提供重要依据。但CTC检测在临床膀胱癌中的应用报道相对较少<sup>[1]</sup>。

#### 3.1 膀胱癌的诊断和分期

膀胱癌微转移灶的早期诊断和干预对患者的预后极为重要,虽然目前有血清学的肿瘤标志物和高分辨率的影像学检查,但因缺乏特异性的血清标志物及显微影像学观察,仍无法做到早期发现微转移灶及对疾病的精准监测。而目前膀胱癌的CTC检测,一般为采集病理确诊的患者外周静脉血送检,因外周血CTC数目极少,浓集后每 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^9$ 个正常细胞才能检测出一个CTC,因此,一个及以上的CTC检出即视为进入循环的膀胱癌细胞,视为阳性。有研究表明,曾有临床 $\leq$  II期的膀胱癌患者,治疗前检测出CTC,治疗后确定为III期,甚至IV期,提示术前临床分期过低,因此,CTC的检测不仅能作为膀胱癌的诊断依据之一,还能作为非肌层浸润性膀胱癌与肌层浸润性膀胱癌的重要鉴别指标。而另一项研究指出,术前CTC的检出以及CTC数量的多少与根治术后膀胱癌的病理分期无明显相关性。目前的研究表明,CTC与膀胱癌的TNM分期有一定关联,特别是与T分期具有相关性,但未发现与N及M分期的相关性,因此,目前CTC检测还不能作为膀胱癌分期的指南性指标,仅能作为分期的参考,CTC的检出不是直接预示了肿瘤的高分期,而仅是提示了高危膀胱癌,高复发、高转移率,从而对治疗提供积极的指导意见。

#### 3.2 治疗及预后

围手术期化疗一直被研究在改善膀胱癌患者生存率方面的作用。临床试验数据表明对于肌层浸润性膀胱癌患者新辅助化疗可以明显提高肿瘤完全反应率并延长患者的总体生存期。几项荟萃分析均表明以顺铂为基础的联合化疗方案可以降低患者死亡风险达10%-13%,五年总体生存率提高5%,对于CT3患者5年生存率提高可达11%。但是,由于膀胱癌患者肾脏、心脏、神经系统功能不足,以顺铂为基础的新辅助化疗只适用于大约50%的膀胱癌患者。顺铂等化疗药物的应用也会给肾脏、神经系统等的损害带来风险。并且在膀胱切除之前,患者通常都要有较好的体力状态和器官功能,为新辅助疗法提供基础支持。当前关键是需要利用微创生物标记物来对肌层浸润性膀胱癌患者进行分类,使患者既能得益于新

辅助化学疗法又能减轻不必要的副作用<sup>[2]</sup>。

CTCs能在大部分上皮性肿瘤中被检测出来,它也能用于膀胱癌新辅助化学疗法的早期评估。CTCs CellSearch检测系统能在局限性和转移性膀胱癌中检测到CTCs。Winters等利用CellSearch系统检测了10例转移性膀胱癌患者化疗前后的CTCs,化疗前4例检测到 $>$  5个CTCs,化疗后CTCs平均下降86%,其中3例在后续影像学检查中证明疾病好转,表明CTCs下降和化疗疗效相关。但CellSearch检测系统对检测局灶性膀胱癌敏感性很低,相关研究表明,在根治性膀胱切除术之前,CellSearch检测系统只能检测到17%-23%患者外周血中的CTCs<sup>[3]</sup>。最近的一项研究表明:对于接受膀胱切除术但未行新辅助化疗的早期膀胱癌患者,CTCs是膀胱癌特异性死亡率的独立预后因素CellSearch检测系统的低敏感性限制了其在膀胱癌检测中的应用。但之前的相关研究表明:在前列腺癌和直肠癌患者中,IsoFlux检测系统能提高对CTCs检测及分子表达谱的敏感性。该检测平台利用免疫磁珠分离CTCs,在微流体环境中提高对CTCs的捕获并最低限度避免血液中白细胞的污染。Alva等在根治性膀胱切除术后4个月,使用IsoFlux系统检测匹配样本会发现10个或者更多的CTCs细胞,然而使用CellSearch系统检测该样本时,最多只能发现9个CTCs细胞。用IsoFlux方法检测CTCs细胞比CellSearch系统更具有敏感性。

利用CTCs监测肿瘤治疗及预后,可以更为客观并且早于影像学检查,能避免过度治疗带来的不良反应。CTCs研究是膀胱癌分子学的重大突破,并可以加速治疗个体化。

结语:CTCs检测是膀胱癌生物学研究的一大热门课题,有助于监测膀胱癌的进展、术后复发和转移,并且有助于评估疗效和制定膀胱癌治疗的个体化方案<sup>[7]</sup>。但是,目前还需要更特异和更敏感的肿瘤标记物来标记和分离CTCs,统一检测技术手段和检测标准,达到快速有效地对膀胱癌CTCs进行检测。另外,要积极开展大规模的前瞻性研究,进一步证实CTCs检测技术可以作为一种简便、有效和实时监控膀胱癌疾病进展、评估疗效的手段。

#### 参考文献

- [1]Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1):7-30.
- [2]贺宇彤,李道娟,梁迪,等.2014年中国膀胱癌发病和死亡分析[J].中华肿瘤杂志,2018,40(9):647-652.
- [3]Ashworth TR. A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death[J]. Aust Med J, 1969, 14:146-147.