doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.10.014

循环肿瘤细胞在 40 例晚期转移性乳腺癌患者中的检测意义 *

谢 宁 曾化桂 田 璨 吴 晖 欧阳取长△

（湖南省肿瘤医院 / 中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院乳腺内科 湖南 长沙 410000）

摘要 目的：探讨循环肿瘤细胞 CTCs 在晚期转移性乳腺癌中的应用价值。**方法：**CellSearch 系统检测本院 40 例复发转移性乳腺癌患者的 CTCs 水平，比较复发转移性乳腺癌患者血液中 CTCs 的差异，分析复发转移性乳腺癌患者 CTCs 与其疾病特征及预后的关系。**结果：**CellSearch 系统检测复发转移性乳腺癌患者外周血 CTCs 阳性率达 42.5%；在复发转移性乳腺癌患者中，CTCs≥ 5 个 /7.5 mL 者的肝脏转移、骨转移、转移灶≥ 3 处均较 CTCs<5 个 /7.5 mL 者更高（P<0.05），前者的 PFS 较之后者也表现出强烈的缩短趋势（X^2=3.573，P=0.059），而肺转移、淋巴结转移、脑转移、胸壁复发、受体及 HER2 表达在两组间无差异。**结论：**CellSearch 系统展现出较好的检测复发转移性乳腺癌患者外周血 CTCs 的能力。在复发转移性乳腺癌患者中，CTCs 的高检出率与腹腔脏器转移、肝转移、骨转移相关。CTCs≥ 5 个 /7.5 mL 患者的预后很可能要差于 CTCs<5 个 /7.5 mL 者。

关键词：循环肿瘤细胞；转移性乳腺癌；无疾病进展时间

中图分类号：R737.9 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2017)10-1856-03

Detection Value of Circulating Tumor Cells in 40 Patients with Metastatic Breast Cancer*

XIE Ning, ZENG Hua-gui, TIAN Can, WU Hui, OUYANG Qu-chang△

(Department of Breast Medicine, Hunan Cancer Hospital/The Affiliated Cancer Hospital of Xiangya Medical School, Changsha, Hunan, 410000, China)

ABSTRACT Objective: To observe the value of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer. **Methods:** Levels of CTCs of 40 patients with metastatic breast cancer were detected by the CellSearch system, relationships of the characteristics and prognosis of the disease and the level of CTCs were also analysed. **Results:** The positive rate of CTCs detected by the Cell Search system was 42.5%. Patients with a CTCs level ≥ 5 /7.5 mL were more likely have metastatic sites such as lung, bone and ≥ 3 metastatic sites than those patients with a level of <5 /7.5 mL, but not for metastatic sites such as lung,lymph node, brain and chest wall, and hormone receptor expression and HER2 expression were irrelevant with levels of CTCs. Patients with a higher CTCs level showed a strong trend of shorter PFS (X^2=3.573, P=0.059). **Conclusion:** Cell Search system showed a reliable ability in detecting CTCs. In patients with locally advanced or metastatic breast cancer, high level of CTCs is associated with liver metastasis, bone metastasis, or ≥ 3 metastatic sites. The Prognosis of patients with CTCs ≥ 5/7.5 mL is probably poorer than those with CTCs <5/7.5 mL.

Key words: Circulating Tumor Cells; Metastatic breast cancer; PFS

Chinese Library Classification(CLC): R737.9 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2017)10-1856-03

前言

乳腺癌是世界范围内女性最常见的恶性肿瘤，同时也是女性恶性肿瘤致死的第一位原因[1]。有数据显示，约 15%~30%的早期乳腺癌患者在 5 年内会出现复发或远处转移[2]，转移性乳腺癌（metastatic breast cancer，MBC）不可治愈，临床治疗主要以提高生存率、缓解临床症状、改善生活质量为目的[3]。循环肿瘤细胞（circulating tumor cell, CTCs）是因自发或诊疗等原因从原发肿瘤灶脱落而进入外周血循环中的肿瘤细胞的统称，其在血液中的出现可导致实体瘤的远处转移和全身扩散[4]。有分析表明，CTCs 计数在转移性乳腺癌患者每一阶段化疗中均可对治疗有效性作出评估；而 CTCs 水平较高的患者（CTCs≥ 5 个 /7.5 mL）与水平较低的患者（CTCs<5 个 /7.5 mL）相比，PFS 及 OS 要更短[5,6]。近年来，CTCs 已成为判断及预测肿瘤预后生物标志物方面的研究热点。本研究对本院进行 CTCs 检测的 40 例转移性乳腺癌患者临床资料进行回顾性分析，以探讨 CTCs 与 MBC 的关系，并期为乳腺癌患者判断病情及预后提供一定的参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2013 年 10 月至 2016 年 1 月我院经活检或手术后病

* 基金项目：湖南省卫计委科研基金项目（C2015-47）；湖南省科技厅 2014 年度课题，湘财企指【2014】4 号(2014SK3012)

作者简介：谢宁（1982-），男，博士，主治医师，从事乳腺癌方面的研究，E-mail：xieningxnn@163.com

△ 通讯作者：欧阳取长（1969-），男，博士，主任医师，从事乳腺癌方面的研究

(收稿日期：2016-08-31 接受日期：2016-09-23)

理学检查证实为复发转移性乳腺癌的 40 例患者的临床资料。患者年龄范围为 29~68 岁，平均(48.3± 8.1)岁。

1.2 方法

1.2.1 CTCs 检测 所有确诊患者均于清晨抽取外周血 7.5 mL，置于 cellsave 储存管并采用强生公司 CellSearch 系统自动处理标本，由我院检验科专门人员完成 CTCs 的判读并计数。以 7.5 mL 外周血中检测出的 CTCs 个数是否小于 5 个为界值，分别定为 CTCs 阴性(CTCs<5 个 /7.5 mL) 和 CTCs 阳性(CTCs≥ 5 个 /7.5 mL)[7]，并以此计算 CTCs 的阳性率。

1.2.2 病历资料整理 对进行 CTCs 检测的患者，记录其临床特征，包括 CTCs 结果、诊断、年龄、病理结果、转移部位、PFS、治疗过程，根据记录结果分析 MBC 患者 CTCs 阴性或阳性检出水平与转移部位、转移灶个数、激素受体、HER2 状态及 PFS 之间的关系。

1.3 统计学方法

应用 SPSS20.0 分析软件进行统计学处理，临床资料的描述采用百分比，频数资料组间分析采用 X^2 检验。对复发转移性乳腺癌不同 CTCs 的预后进行单因素分析，采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线，组间比较采用对数秩检验。P＜0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 复发转移性乳腺癌患者 CTCs 阳性率

40 例 MBC 患者中 CTCs 阴性(CTCs<5 个 /7.5 mL)患者为 23 例，阳性（CTCs≥ 5 个 /7.5 mL) 患者为 17 例，阳性率为 42.5%(17/40)。

2.2 复发转移性乳腺癌 CTCs 与复发转移的关系

复发转移性乳腺癌包括任何时候经影像学检查 / 细胞学检查 / 活检病理学检查确诊的乳腺癌合并复发和（或）转移，肝、脑、骨、肺转移分别包括单个或多个转移灶；淋巴结转移包括腋窝淋巴结、锁骨上淋巴结、纵隔淋巴结、肺门淋巴结等任何部位任何个数的淋巴结转移；胸壁复发为原发灶侧胸壁开始的单个或多个复发灶。≥ 3 个转移灶指在肝脏、肺、胸膜和(或)胸水、脑、骨、淋巴结、胸壁等器官中三个及以上部位同时存在复发转移，见表 1。

表 1 40 例复发转移性乳腺癌 CTCs 与复发转移的关系

Table 1 Relationship between CTCs and recurrence and metastasis of 40 cases of recurrent and metastatic breast cancer

Metastatic situation	CTCs negative(n=23)		CTCs positive(n=17)		P
	Yes(%)	No(%)	Yes(%)	No(%)	
Liver Metastases	1(4.3)	22(95.7)	6(35.3)	11(64.7)	＜0.05
Bone metastasis	8(34.8)	15(65.2)	12(70.6)	5(29.4)	＜0.05
Pulmonary metastasis	10(43.5)	13(56.5)	4(23.5)	13(76.5)	＞0.05
Lymphatic metastasis	14(60.9)	9(39.1)	11(64.7)	6(35.3)	＞0.05
Chest wall recurrence	6(26.1)	17(73.9)	6(35.3)	11(64.7)	＞0.05
Brain metastases	1(4.3)	22(95.7)	3(17.6)	14(82.4)	＞0.05
Metastases ≥ 3	6(26.1)	17(73.9)	10(58.8)	7(31.2)	＜0.05

2.3 40 例复发转移性乳腺癌 CTCs 与原发灶免疫组化结果的关系

40 例患者中，23 例 CTCs 阴性组和 17 例 CTCs 阳性组分别有 3 例、4 例因无法找回足够原发灶标本而不能明确原发病灶免疫组化状态；CTCs 阳性组中有 1 例原发灶病理结果为 ErBb-2(2+)，但患者拒绝行 FISH 检测而不能明确 HER2 状态，见表 2。

表 2 复发转移性乳腺癌 CTCs 与原发灶免疫组化结果的关系

Table 2 The relationship between CTCs and immunohistochemical results of recurrent metastatic breast cancer

Immuno histochemistry	CTCs≥ 5/7.5 mL	CTCs＜5/7.5 mL	P
ER+/PR+, HER2-	53.8(7/13)	55.0(11/20)	＞0.05
HER2+	25.0(3/12)	25.0 (5/20)	＞0.05
ER-,PR-,HER2-	23.1(3/13)	20.0 (4/20)	＞0.05

2.4 复发转移性乳腺癌 CTCs 检出率与预后的关系

患者随访截止时期为 2015 年 1 月 31 日。23 例 CTCs 阴性患者无 1 例失访，1 例患者死亡，余患者随访期间均存活；17 例 CTCs 阳性组有 3 位患者因失访而被剔除，余患者中有 1 例死亡。CTCs 阳性组与 CTCs 阴性组的 PFS 分别为 13.0 个月(10.3 个月 -15.8 个月)与 8.7 个月 (4.8 个月 -12.7 个月)，差异虽无统计学意义，但 CTCs 阳性组的 PFS 已表现出强烈的要短于 CTCs 阴性组的趋势(X^2=3.573，P=0.059)，见图 1。

3 讨论

血液循环系统是实体瘤发生远处转移的必要途径之一。CTCs 本身数量极为稀少(约 10^6-10^9 数量级的血细胞中可能仅

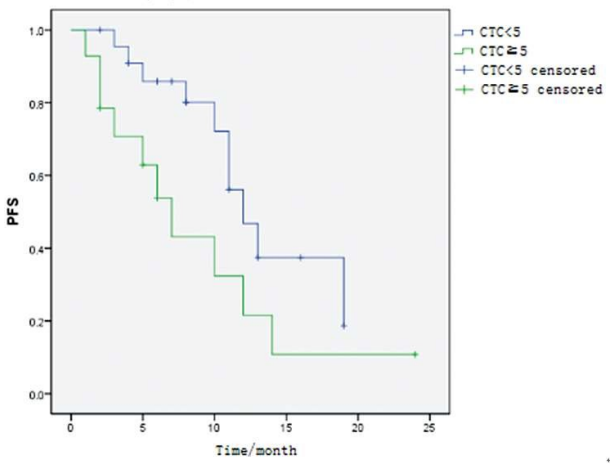

图 1 CTCs 阳性组与 CTCs 阴性组的 Kaplan-Meier 生存曲线图

Fig. 1 Kaplan-Meier survival curves of CTCs positive group and CTCs negative group

有个位数)，因此对检测方法也有一定的要求 [8]。有学者采用 PCR 方法或流式细胞术检测血液中的 CTCs[9,10]，而 Cell- Search 系统集 CTCs 的分离富集与检测为一体，是美国食品与药品监督管理局(FDA)目前唯一批准上市用于 CTCs 检测的系统，被称为 CTCs 检测公认的 " 金标准 "[11]。

有数据表明，晚期乳腺癌患者 CTCs 检出率可达 40%[12]，本研究中复发转移性乳腺癌 CTCs 检出率为 42.5%，显示出我院引入的 CellSearch 系统在检测 MBC 患者 CTCs 上具有较好的灵敏度。

荟萃性分析表明 CTCs≥ 5 个 /7.5 mL 与骨或肝转移存在相关性[13]，而转移部位的不同有可能对 MBC 患者的预后产生影响[13-15]。本研究结果显示在复发转移性乳腺癌中 CTCs≥ 5 个 /7.5 mL 与骨、肝等血运丰富的器官转移及转移灶≥ 3 个相关，而与肺、胸壁、脑、淋巴结转移无显著相关性。这种现象可能是与 CTCs 在血液循环中更青睐于肝、骨等血运丰富的器官，而胸壁复发、肺转移及淋巴结转移主要通过淋巴道转移有关。因此，临床上对于 CTCs≥ 5 个 /7.5 mL 患者，应更加注意肝脏及骨等血运丰富的器官是否有病变。

在本研究的观察中，CTCs 水平与激素受体情况及 HER2 状态并无相关性，这与崇梅红、Usiakova 等人的研究结果是相符的 [9,16]。但也有研究表明 CTCs 与活检 HER2 状态具有相关性，同时血液中 CTCs 自身的 HER2 状态与组织活检的 HER2 表达也有关联[10,17-18]。本研究未就 CTCs 自身的 HER2 表达进行检测，今后可扩大样本量后再行更为深入的研究。

国内江泽飞教授主持的临床研究结果表明，对于三阴性乳腺癌，CTCs≥ 5 个 /7.5 mL 中位 PFS 为 1.0 月，明显短于 CTCs＜5 个 /7.5 mL 的 7.5 个月 PFS [7]。而荟萃分析表明 CTCs≥ 5 个 /7.5 mL 患者的中位 PFS 为 6.5 月，明显短于 CTCs＜5 个 /7.5 mL 患者的 11.4 个月[13]。本研究显示 CTCs≥ 5 个 /mL 患者 PFS 表现出短于 CTCs＜5 个 /mL 患者 PFS 的强烈趋势，所以 CTCs 很有可能成为临床判断复发转移性乳腺癌患者预后的指标之一。

复发转移性乳腺癌虽不能治愈，但若及时发现某种方案治疗患者疗效可能欠佳并及时调整治疗方案，将有可能延长患者的至疾病进展时间和生存时间，同时改善患者的生活质量。所以，学者们也在对 CTCs 应用于乳腺癌疗效预测并个体化治疗的可能性进行研究[19]。虽然 SWOG S0500 研究未能取得预期的阳性结果[20]，但 CTCs 预测乳腺癌复发转移的潜在能力仍不能忽视。本研究结果表明，对于复发转移性乳腺癌，可进行 CTCs 检测，若 CTCs≥ 5 个 /7.5 mL 或持续升高，可密切随访，增加患者复查的频率，提高对病情的关注度，以期及时预测可能出现的复发转移并尽早开始针对性治疗。

参 考 文 献(References)

[1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics,2012[J].CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108

[2] Bear HD, Tang G, Rastogi P, et al. Neoadjuvant plus adjuvant bevacizumab in early breast cancer(NSABP B-40 [NRG Oncology]): secondary outcomes of a phase 3, randomised controlled trial [J]. Lancet Oncol, 2015, 16(9): 1037-1048

[3] Payandeh M, Sadeghi M, Sadeghi E. Differences in Prognostic Factors between Early and Late Recurrence Breast Cancers [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(15): 6575-6579

[4] Wicha MS, Hayes DF. Circulating tumor cells: not all detected cells are bad and not all bad cells are detected [J]. J Clin Oncol, 2011, 29 (12): 1508-1511

[5] Bidard FC, Peeters DJ, Fehm T, et al. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: a pooled analysis of individual patient data [J]. Lancet Oncol, 2014, 15 (4): 406-414

[6] Lv Q, Gong L, Zhang T, et al. Prognostic value of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: a systemic review and meta-analysis [J]. Clin Transl Oncol, 2016, 18(3): 322-330

[7] Jiang ZF, Cristofanilli M, Shao ZM, et al. Circulating tumor cells predict progression-free and overall survival in Chinese patients with metastatic breast cancer, HER2-positive or triple-negative (CBCSG004): a multicenter, double-blind,prospective trial [J]. Ann Oncol, 2013, 24(11): 2766-2772

[8] Sleijfer S, Gratama JW, Sieuwerts AM, et al. Circulating tumour cell detection on its way to routine diagnostic implementation [J]. Eur J Cancer, 2007, 43: 2645-2650

[9] 崇梅红,肇毅,王水,等.可手术乳腺癌循环肿瘤细胞与原发肿瘤临床病理特征的关系[J].中华乳腺病杂志(电子版), 2013, 7(2): 5-10
Chong Mei-hong, Zhao Yi, Wang Shui, et al. Relationship between circulating tumor cells and clinicopathologic characteristics of primary tumor in operable breast cancer patients [J]. Chinese Journal of Breast Disease(Electronic Version), 2013, 7(2): 5-10

[10] 龚福生,黄伟炜,刘健,等.乳腺癌患者循环肿瘤细胞检测的临床意义[J].中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(13): 1009-1013
Gong Fu-sheng, Huang Wei-Wei, Liu Jian, et al. Clinical significance of circulating tumor cells detection in breast cancer patients [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2015, 22 (13): 1009-1013

[11] Beije N, Jager A, Sleijfer S. Circulating tumor cell enumeration by the CellSearch system: the clinician's guide to breast cancer treatment [J]. Cancer Treat Rev, 2015, 41(2): 144-150

(下转第 1878 页)

cancer[J]. Clin J Gastroenterol, 2016, 9(5): 306-311

[4] Mueller MH, Zhao X, Macheroux T, et al. Differential activation of afferent neuronal and inflammatory pathways during small bowel obstruction (SBO) [J]. Neurogastroenterol Motil, 2016, 28 (10): 1599-1608

[5] Gong J, Xie Z, Zhang T, et al. Randomised clinical trial: prucalopride, a colonic pro-motility agent, reduces the duration of post-operative ileus after elective gastrointestinal surgery [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2016, 43(7): 778-789

[6] Fu Chen-xuan. Characteristic Exploration of the CT Image of Intestinal Obstruction with Different TCM Syndromes [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2016, 18(11): 183-186

[7] Li S, Yuan C, Xu MD. Two different endoscopic long intestinal tube placements for small bowel obstruction: Transnasal ultrathin endoscopy versus conventional endoscopy [J]. J Cancer Res Ther, 2015, Suppl:C248-52

[8] Vilz TO, Roessel L, Chang J, et al. Establishing a biomarker for postoperative ileus in humans - Results of the BiPOI trial[J]. Life Sci, 2015, 143: 58-64

[9] Wang ZW, Li XG, Pan J, et al. Placement of a Long Intestinal Tube in Patients with Early Postoperative Small Bowel Obstruction under Fluoroscopic Guidance[J]. Chin Med Sci J, 2015, 30(3): 156-161

[10] Gyedu A, Abantanga F, Kyei I, et al. Changing Epidemiology of Intestinal Obstruction in Ghana: Signs of Increasing Surgical Capacity and an Aging Population[J]. Dig Surg, 2015, 32(5): 389-396

[11] Musiienko AM, Shakerian R, Gorelik A, et al. Impact of introduction of an acute surgical unit on management and outcomes of small bowel obstruction[J]. ANZ J Surg, 2016, 86(10): 831-835

[12] Wang M, Gao YH, Xu J, et al. Zusanli (ST36) acupoint injection for preventing postoperative ileus: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials[J]. Complement Ther Med, 2015, 23(3): 469-483

[13] Ma Yue, Meng Fan-jie, Jin Ying-hui, et al. Chinese Herbal Enema Plus Gastrointestinal Intubation for Ileus: A systematic Review [J]. Chinese Journal of Evidence-Based Medicine, 2014, 14 (10): 1254-1262

[14] Zhu Min,He Qing-hu. The review of effects of tranditional Chinese medicine on autoimmue inflammatory diseases by regulating the differentiation of Th17 cell[J].Journal of Hunan University of Chinese medicine, 2016, 37(8): 82-85

[15] Li Bai, Tian Tong-ru, Ru Shu-ying, et al. Treatment of 19 Cases of Malignant Intestinal Obstruction by Enema [J]. Henan Traditional Chinese Medicine, 35(12): 3098-3099

[16] Kim HJ, Li H, Collins JJ, et al. Contributions of microbiome and mechanical deformation to intestinal bacterial overgrowth and inflammation in a human gut-on-a-chip [J]. Proc Natl Acad Sci USA. 2016, 113(1): E7-15

[17] Costes LM, van der Vliet J, van Bree SH, et al. Endogenous vagal activation dampens intestinal inflammation independently of splenic innervation in postoperative ileus [J]. Auton Neurosci, 2014, 185: 76-82

[18] Stoffels B, Hupa KJ, Snoek SA, et al. Postoperative ileus involves interleukin-1 receptor signaling in enteric glia [J]. Gastroenterology, 2014, 146(1): 176-187

[19] Oliveira-Filho RM, Vargaftig BB, Tavares-de-Lima W. Intestinal lymph-borne factors induce lung release of inflammatory mediators and expression of adhesion molecules after an intestinal ischemic insult[J]. J Surg Res, 2012, 176(1): 195-201

[20] Wang Hui, Qian Hong-jun. Effect of Dachengqi Decoction Combined with Traditional Chinese Medicine and Umbilicus and Acupuncture on Immune Function of Patients with Inflammatory Intestinal Obstruction [J]. Henan Traditional Chinese Medicine, 2015, 35(6): 1380-1382

(上接第 1858 页)

[12] Giordano A, Giuliano M, De Laurentiis M, et al. Circulating tumor cells in immunohistochemical subtypes of metastatic breast cancer: lack of prediction in HER2-positive disease treated with targeted therapy[J]. Ann Oncol, 2012, 23(5): 1144-1150

[13] 邵彬,李惠平,邸立军,等.多西他赛单药与联合方案一线治疗转移性乳腺癌的疗效及预后相关因素分析 [J]. 肿瘤, 2016, 36(06): 683-692

Shao Bin, Li Hui-ping, Di Li-jun, et al. Docetaxel combined with first-line treatment of breast cancer curative effect and prognostic factors of metastasis[J]. Tumor, 2016, 36(06): 683-692

[14] 丁晓燕,樊英,马飞,等.绝经后乳腺癌骨转移患者骨相关事件及预后分析[J].肿瘤防治研究, 2012, 39(06): 627-631

Ding Xiao-Yan, Fan Ying, Ma Fei, et al. Analyses on Skeletal-related Events and Prognosis of Postmenopausal Breast Cancer Patients with Bone Metastasis [J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2012, 39(06): 627-631

[15] Eichler AF, Kuter I, Ryan P, et al. Survival in patients with brain metastases from breast cancer:the importance of HER-2 status [J]. Cancer, 2008, 112(11): 2359-2367

[16] Usiakova Z, Mikulová V, Pinté rová D, et al. Circulating tumor cells in patients with breast cancer: monitoring chemotherapy success [J]. In Vivo, 2014, 28(4): 605-614

[17] Li L, Liu Y, Zhang S, et al. Detection of circulating tumor cells and its clinical value for different stages and various subtypes of breast cancer [J]. National Medical Journal of China, 2014, 94 (36): 2812-2815

[18] Liao Y, Wang SY, Meng XY, et al. Circulating tumor cells in breast cancer and its association with tumor clinicopathological characteristics: a meta-analysis[J]. Med Oncol, 2014, 31(12): 343

[19] 姜军.乳腺癌的精准诊疗:临床发展新趋势[J].中华乳腺病杂志(电子版), 2014, (2): 78-80

Jiang Jun. Accurate diagnosis and treatment of breast cancer: a new trend in clinical development [J]. Chinese Journal of Breast Disease (Electronic Version), 2014, (2): 78-80

[20] Smerage JB, Barlow WE, Hortobagyi GN, et al. Circulating tumor cells and response to chemotherapy in metastatic breast cancer: SWOG S0500[J]. J Clin Oncol, 2014, 32(31): 3483-3489