

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.13.015

## 循环肿瘤细胞在胃癌化疗预后评估中的临床意义\*

洪流<sup>1</sup> 韩宇<sup>2△</sup> 周威<sup>1</sup> 杨万里<sup>1</sup> 柳金强<sup>1</sup>

(1 空军军医大学西京医院消化病医院肿瘤生物学国家重点实验室 陕西 西安 710032;

2 空军军医大学西京医院耳鼻咽喉头颈外科 陕西 西安 710032)

**摘要 目的:**探讨检测循环肿瘤细胞对评估胃癌患者化疗敏感性和预后的临床价值。**方法:**选取行根治术的胃癌患者 112 例,术前留取血液标本进行循环肿瘤细胞检测。选取病理分期为 III 期的 36 位患者进行术后 6 周期 Xelox 化疗,在化疗前和化疗结束后检测循环肿瘤细胞。分析循环肿瘤细胞检测值和肿瘤分期、化疗预后的关系。**结果:**在胃癌患者中,循环肿瘤细胞阳性率(>2)为 39.29%(44/112),并且和肿瘤分期与淋巴结转移明显相关( $P<0.05$ )。在术后行辅助化疗的胃癌患者中,循环肿瘤细胞阳性率和化疗敏感性明显相关,循环肿瘤细胞检测值动态增高的患者比降低的患者预后差( $P<0.05$ )。**结论:**循环肿瘤细胞的动态监测有助于预测胃癌患者的化疗预后。

**关键词:**胃癌;循环肿瘤细胞;化疗;预后

**中图分类号:**R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)13-2466-04

## Predictive Value of Circulating Tumor Cells for the Chemotherapy Response of Gastric Cancer Patients\*

HONG Liu<sup>1</sup>, HAN Yu<sup>2△</sup>, ZHOU Wei<sup>1</sup>, YANG Wan-li<sup>1</sup>, LIU Jin-qiang<sup>1</sup>

(1 State Key Lab of Cancer Biology, Xijing Hospital of Digestive Diseases, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 2 Department of ENT, Xijing Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

**ABSTRACT Objective:** This study aims to investigate the predictive value of circulating tumor cells (CTCs) for chemotherapy response in gastric cancer patients. **Methods:** Totally 112 gastric cancer patients receiving operation were involved in this retrospective study. Blood samples from these patients were obtained and CTCs were counted at baseline. In 36 stage III gastric cancer patients of them, CTCs were longitudinally enumerated during the treatments. The relation of CTCs value and clinical data concerning patients was evaluated. **Results:** At baseline analysis of all patients, CTCs positivity (>2) was detected in 44 patients (39.29%), and it was correlated with the stage classification and lymph node metastasis ( $P<0.05$ ). In 36 stage III patients receiving 6 cycles of Xelox chemotherapy after surgery, CTCs positivity was closely correlated with the chemotherapy sensitivity. Patients with an increased change in CTC status had poorer prognosis than those with decreased changes ( $P<0.05$ ). **Conclusions:** Evaluation of CTCs has the value of predicting chemotherapy response in patients with gastric cancer.

**Key words:** Gastric cancer; Circulating tumor cells; Chemotherapy; Prognosis

**Chinese Library Classification(CLC):** R735.2 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2019)13-2466-04

### 前言

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,以根治性手术为主的综合治疗是胃癌治疗的首选方案<sup>[1]</sup>。我国大多数胃癌患者首诊时已属进展期,术后需要辅助化疗<sup>[2]</sup>。临床指南虽然推荐了术后的化疗方案,但在化疗方案敏感性评估方面存在盲区<sup>[3]</sup>。多数胃癌患者的术后化疗方案根据经验医学进行选择,常常因为化疗不敏感发生早期复发和转移<sup>[4]</sup>。目前,胃癌患者的术后 5 年生存率低,主要原因是缺乏能够有效评估化疗预后的方法。

循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)是指存在于外周血中的各类肿瘤细胞,可发展成为转移灶<sup>[5]</sup>。研究表明循环肿

瘤细胞出现早于影像学和临床症状,与传统的肿瘤标志物检测和影像学检查相比可以更早地检测出肿瘤的转移和复发[6-9]。CTCs 的检测具有损伤小、灵敏度高、特异性好等优点,已成为临床上进行治疗效果监测的研究热点<sup>[10]</sup>。本研究回顾分析了 112 例胃癌患者中 CTCs 的表达,主要探讨了检测 CTCs 对评估胃癌化疗敏感性的临床意义。

### 1 材料与方法

#### 1.1 一般资料

本研究选取了从 2014 年 10 月至 2017 年 9 月在西京医院行胃癌根治手术的病例 112 例,其中男 77 例,女 35 例,年龄

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(81870719)

作者简介:洪流(1980-),博士,副教授,主要从事消化系病的外科诊疗工作,电话:13709284513, E-mail: hongliu180@126.com

△ 通讯作者:韩宇(1980-),博士,主治医师,主要从事耳鼻咽喉头颈疾病的诊疗工作, E-mail: hlhyhj@126.com

(收稿日期:2019-01-28 接受日期:2019-02-23)

27~74岁。所有患者术前抽取外周血检测 CTCs,术后病理结果均为腺癌,病理分期 I 期为 11 例,II 期为 41 例,III 期为 57 例,IV 期为 3 例。术后病理为 III 期的 36 位患者进行 6 个周期的 Xelox 方案(奥沙利铂+卡培他滨)辅助化疗,在化疗前和 6 周期化疗结束后分别检测 CTCs。

## 1.2 手术情况

所有患者均行根治性胃癌切除术,均为 R0 切除。55 例行全胃切除术,48 例行远端胃切除术,9 例行近端胃切除术。

## 1.3 随访情况

对于术后行 Xelox 方案化疗的胃癌患者,每三周一疗程,每个疗程结束都复查胸片、腹部超声、血常规和肝功离子。所有患者每三月复查胸腹部增强 CT,连续随访 3 年。疾病情况由肿瘤专科医生评估,分为完全缓解(CR),疾病稳定(SD),部分缓解(PR)和疾病进展(PD)。

## 1.4 统计学分析

运用 SPSS13.0 进行统计学分析,计量资料以“均数±标准差”表示,组间比较采用 t 检验,计数资料组间比较采用卡方检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

# 2 结果

## 2.1 胃癌患者 CTCs 的阳性率及其与临床病理特征的相关性

以 CTCs 大于 2 设置为阳性,若小于或等于 1 则设置为阴性。如表 1 所示,在所有胃癌患者中,术前 CTCs 阳性率为 39.29%(44/112),I 期、II 期、III 期和 IV 期患者 CTCs 的阳性率分别为 18.18%(2/11)、24.39% (10/41)、50.88% (29/57) 和 100% (3/3)。III 期和 IV 期患者中 CTCs 的阳性率明显高于 I 期和 II 期患者(53.33% vs. 23.08%, $P<0.05$ )。术前,淋巴结转移患者 CTCs 的阳性率明显高于未转移患者( $P<0.05$ )。CTCs 的术前阳性率和患者的年龄、性别、肿瘤分化程度均无明显相关性( $P>0.05$ )。

表 1 112 例胃癌患者的临床资料

Table 1 Clinical characteristics of 112 cases of gastric cancer patients

| Characteristics           | Negative group<br>(CTC≤ 2, n=68)<br>(mean ± SD) | Positive group (CTC>2, n=44)<br>(mean ± SD) | P value |
|---------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------|
| Age (years)               | 55.19 ± 0.41                                    | 51.85 ± 0.28                                | >0.05   |
| Sex                       |                                                 |                                             | >0.05   |
| male                      | 47                                              | 30                                          |         |
| female                    | 21                                              | 14                                          |         |
| Differentiation status    |                                                 |                                             | >0.05   |
| Well differentiated       | 18                                              | 11                                          |         |
| Moderately differentiated | 20                                              | 14                                          |         |
| Poorly differentiated     | 30                                              | 19                                          |         |
| Stage classification      |                                                 |                                             | <0.05   |
| I + II                    | 40(9+31)                                        | 12(2+10)                                    |         |
| III+IV                    | 28(28+0)                                        | 32(29+3)                                    |         |
| Lymph node metastasis     |                                                 |                                             | <0.05   |
| Positive                  | 41                                              | 33                                          |         |
| Negative                  | 27                                              | 11                                          |         |

## 2.2 胃癌患者 CTCs 的阳性率与化疗敏感性及其预后的相关性

在行辅助化疗的 III 期胃癌患者中,术前 CTCs 的阳性率为 55.56%(20/36)。如表 2 所示,患者疾病进展状态为 PR、SD 和 PD 的例数分别是 4 例 (11.11%)、24 例 (66.67%) 和 8 例 (22.22%)。在 PD 患者(7/8, 87.5%)化疗后 CTCs 的阳性率显著高于 PR 患者(0/4, 0%)和 SD 患者(8/24, 33.33%)。

如表 3 所示,在行辅助化疗的胃癌患者中,有 5 例患者的 CTCs 由化疗前阳性转为化疗后阴性,3 例的 CTCs 在化疗后升高。在化疗过程中 CTCs 数目不断上升的患者为 3 例,均发生在 PD 组。

# 3 讨论

由于胃癌缺乏预警、早诊的有效手段,大多数患者首诊时已届进展期<sup>[11]</sup>,患者术后多需要辅助化疗。临床指南推荐胃癌患者术后化疗方案分为一线方案和二线方案,但没有明确如何选择具体化疗方案。获得耐药性导致大多数进展期肿瘤患者治疗效果差。耐药性常由药物外排转运蛋白异常激活介导,例如 P-糖蛋白(P-gp)和 MRP。肿瘤耐药机制包括细胞内药物转运失调、DNA 修复活动的增强、DNA 分解活动的障碍、凋亡通路的失活、干细胞的增殖等<sup>[12]</sup>。对于胃癌患者而言,即使首选的化疗方案是敏感性方案,但是随着耐药性的产生,化疗敏感性将会不断下降,疗效也会不断下降<sup>[13-15]</sup>。因此,有必要探索能够动态评估化疗敏感性的检测工具,从而及时更改化疗方案,进行个体化治疗。

表 2 术后 CTCs 的阳性率和胃癌患者预后的相关性

Table 2 The correlation of CTCs positive rate with the prognosis of gastric cancer patients

| Outcome | Patients numbers | Baseline |     | Post-surgery |     | Post-chemotherapy |     |
|---------|------------------|----------|-----|--------------|-----|-------------------|-----|
|         |                  | >2       | ≤ 2 | >2           | ≤ 2 | >2                | ≤ 2 |
| PR      | 4                | 2        | 2   | 2            | 2   | 0                 | 4   |
| SD      | 24               | 13       | 11  | 11           | 13  | 8                 | 16  |
| PD      | 8                | 5        | 3   | 4            | 5   | 7                 | 1   |

表 3 胃癌患者化疗前后 CTCs 阳性率的变化

Table 3 The changes of CTCs in the gastric cancer patients before and after chemotherapy

| Outcome | CTC status changes   |                      |                      |                      |       |
|---------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-------|
|         | Positive to positive | Negative to positive | Positive to negative | Negative to negative | Total |
| PR      | 0                    | 0                    | 2                    | 2                    | 4     |
| SD      | 8                    | 0                    | 3                    | 13                   | 24    |
| PD      | 4                    | 3                    | 0                    | 1                    | 8     |
| Total   | 12                   | 3                    | 5                    | 16                   | 36    |

为了获取最适宜应对肿瘤生物学特性的药物,目前较为公认的个体化肿瘤药物筛选方案包括:<sup>①</sup> 根据患者基因表型选择合适的细胞毒性药物及靶向药物;<sup>②</sup> 通过患者组织标本、循环肿瘤细胞或者恶性胸腹水中的肿瘤细胞,进行原代细胞培养后进行体外高通量药物筛选;<sup>③</sup> 利用患者肿瘤组织借助免疫缺陷小鼠建立人源肿瘤动物模型进行药物筛选。液体活检技术是近年来兴起的新技术,指抽取外周血检测 CTCs 和循环肿瘤 DNA,该技术为动态监测化疗敏感性的变化提供了新工具。早在 1869 年,澳大利亚内科医生 Thomas Ashworth 通过对一名转移瘤死者的研究,发现了外周血中的循环肿瘤细胞并提出相关概念。细胞进入外周血循环的过程中会发生上皮-间质转变(EMT),循环肿瘤细胞可通过 EMT 作用转变为循环肿瘤干细胞,具备强大的转移能力。在外周血中,循环肿瘤细胞不仅以游离的单个细胞形式出现,也有聚集成团的细胞团形式。对外周血中 CTCs 数量的动态监测对评估肿瘤转移、化疗疗效及长期预后具有重要临床意义<sup>[16-25]</sup>。既往研究表明胃癌患者 CTCs 检出率高于健康人和胃炎患者,早期胃癌患者 CTCs 的检出率为 45.5%,提示 CTC 可望提高胃癌的早期诊断率<sup>[16]</sup>。在 45 例胃癌患者中,CTCs 阳性率为 60%,CTCs 阳性患者中的 19 例(70.4%)和 15 例(55.6%)分别发生淋巴结转移和远处转移,提示 CTCs 有助于预测胃癌进展<sup>[17]</sup>。CTCs 阳性胃癌患者的总生存期和无进展生存期均较 CTCs 阴性病人明显缩短,提示 CTC 可能预测胃癌患者的预后<sup>[18]</sup>。目前,通过动态监测 CTCs 的变化评估胃癌化疗药物敏感性的研究尚未见报道。

CTCs 的收集方法是无创的,因此很容易在治疗过程中实现持续监测,为疗效评价和病情评估提供可靠依据<sup>[26-28]</sup>。本研究结果显示胃癌患者术前 CTCs 的阳性率为 39.29%,III 期和 IV 期患者 CTCs 的阳性率明显高于 I 期和 II 期患者,淋巴结转移患者 CTCs 的阳性率明显高于未转移患者,说明 CTCs 能有效预警胃癌的侵袭和转移。此外,CTCs 阳性预示不良预后和较差的化疗敏感性。在化疗过程中 CTCs 数目不断上升的患者均发生

在 PD 组,提示动态监测 CTCs 数目可以有效预测化疗的预后。

综上所述,CTCs 检测对胃癌的化疗疗效和预后评估有重要临床意义。肿瘤标志物、动物模型、液体活检技术都具有预测肿瘤化疗敏感性的作用;将三者整合可能获得更加有效、更加灵敏、更加准确、更加方便的预测手段。联合检测 CTCs 和其他肿瘤标志物将有助于提高临床预测的精准性、灵敏性和特异性<sup>[29,30]</sup>。

#### 参考文献(References)

- [1] Kanaji S, Suzuki S, Matsuda Y, et al. Recent updates in perioperative chemotherapy and recurrence pattern of gastric cancer [J]. *Ann Gastroenterol Surg*, 2018, 2(6): 400-405
- [2] Park R, Williamson S, Kasi A, et al. Immune therapeutics in the treatment of advanced gastric and esophageal Cancer [J]. *Anticancer Res*, 2018, 38(10): 5569-5580
- [3] Gramaticu IM, Croitoru AE. Current Management of Gastric Cancer in Europe[J]. *Chirurgia (Bucur)*, 2018, 113(6): 758-764
- [4] Fukuchi M, Mochiki E, Ishiguro T, et al. Prognostic Significance of Conversion Surgery Following First- or Second-line Chemotherapy for Unresectable Gastric Cancer [J]. *Anticancer Res*, 2018, 38(11): 6473-6478
- [5] Pantel K, Hille C, Scher HI. Circulating Tumor Cells in Prostate Cancer: From Discovery to Clinical Utility [J]. *Clin Chem*, 2019, 65(1): 87-99
- [6] Mason J, Blyth B, MacManus MP, et al. Treatment for non-small-cell lung cancer and circulating tumor cells[J]. *Lung Cancer Manag*, 2017, 6(4): 129-139
- [7] Mamounas EP. Circulating Tumor Cells in Patients Receiving Neoadjuvant Chemotherapy: Refining the Paradigm of Prognosis and Treatment Individualization[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110(6): 543-544
- [8] Kohli M, Li J, Du M, et al. Prognostic association of plasma cell-free DNA-based androgen receptor amplification and circulating tumor cells in pre-chemotherapy metastatic castration-resistant prostate

- cancer patients[J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2018, 21(3): 411-418
- [9] Chen W, Li Y, Yuan D, et al. Practical value of identifying circulating tumor cells to evaluate esophageal squamous cell carcinoma staging and treatment efficacy[J]. Thorac Cancer, 2018, 9(8): 956-966
- [10] Kermanshah L, Poudineh M, Ahmed S, et al. Dynamic CTC phenotypes in metastatic prostate cancer models visualized using magnetic ranking cytometry[J]. Lab Chip, 2018, 18(14): 2055-2064
- [11] Bian NN, Wang Y, Min GT. S-1 combined with paclitaxel may benefit advanced gastric cancer: evidence from a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Surg, 2019, 12: 1743-9191
- [12] Rawicz-Pruszyński K, van Sandick JW, Mielko J, et al. Current challenges in gastric cancer surgery: European perspective [J]. Surg Oncol, 2018, 27(4): 650-656
- [13] Mehta R, Shah A, Almhanna K. Pembrolizumab for the treatment of patients with recurrent locally advanced or metastatic gastric or gastroesophageal junction cancer: an evidence-based review of place in therapy[J]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 6525-6537
- [14] Wu P, Wang P, Ma B, et al. Palliative gastrectomy plus chemotherapy versus chemotherapy alone for incurable advanced gastric cancer: a meta-analysis [J]. Cancer Manag Res, 2018, 10: 4759-4771
- [15] Yang L, Wang X, Wang B, et al. The clinical outcomes of S-1 plus cisplatin for patients with advanced gastric cancer: A meta-analysis and systematic review [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97 (49): e12789
- [16] 郭迎雪, 李贵新, 李方超, 等. 胃癌中循环肿瘤细胞与临床特征的关系[J]. 潍坊医学院学报, 2016, 38(01): 73-75
- [17] Li M, Zhang Z, Liu X, et al. Stem cell-like circulating tumor cells indicate poor prognosis in gastric cancer [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 981261
- [18] Kubisch I, Albuquerque A, Schuppan D, et al. Prognostic Role of a Multimarker Analysis of Circulating Tumor Cells in Advanced Gastric and Gastroesophageal Adenocarcinomas [J]. Oncology, 2015, 89(5): 294-303
- [19] Chikamatsu K, Tada H, Takahashi H, et al. Expression of immune-regulatory molecules in circulating tumor cells derived from patients with head and neck squamous cell carcinoma[J]. Oral Oncol, 2019, 89: 34-39
- [20] Zhou X, Li Y, Wu H, et al. A amperometric immunosensor for sensitive detection of circulating tumor cells using a tyramide signal amplification-based signal enhancement system [J]. Biosens Bioelectron, 2019, 130: 88-94
- [21] Fu L, Zhu Y, Jing W, et al. Incorporation of circulating tumor cells and whole-body metabolic tumor volume of (18)F-FDG PET/CT improves prediction of outcome in IIIB stage small-cell lung cancer [J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30(6): 596-604
- [22] Luo W, Rao M, Qu J, et al. Applications of liquid biopsy in lung cancer-diagnosis, prognosis prediction, and disease monitoring [J]. Am J Transl Res, 2018, 10(12): 3911-3923
- [23] Dong H, Yao D, Zhou Q, et al. An integrated platform for the capture of circulating tumor cells and in situ SERS profiling of membrane proteins through rational spatial organization of multi-functional cyclic RGD nanopatterns[J]. Chem Commun (Camb), 2019, 55(12): 1730-1733
- [24] Eigeliene N, Saarenheimo J, Jekunen A. Potential of Liquid Biopsies for Breast Cancer Screening [J]. Diagnosis, and Response to Treatment, Oncology, 2019, 17: 1-10
- [25] Yang W, Han Y, Zhao X, et al. Advances in prognostic biomarkers for esophageal cancer[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2019, 19(2): 109-119
- [26] Rodrigues P, Vanharanta S. Circulating Tumor Cells: Come Together, Right Now, Over Metastasis[J]. Cancer Discov, 2019, 9(1): 22-24
- [27] Xue Y, Cong W, Xie S, et al. Folate-receptor-positive circulating tumor cells as an efficacious biomarker for the diagnosis of small pulmonary nodules[J]. J Cancer Res Ther, 2018, 14(7): 1620-1626
- [28] Thiele JA, Pitule P, Hicks J, et al. Single-Cell Analysis of Circulating Tumor Cells[J]. Methods Mol Biol, 2019, 1908: 243-264
- [29] Bauer ECA, Schochter F, Widschwendter P, et al. Prevalence of circulating tumor cells in early breast cancer patients 2 and 5 years after adjuvant treatment [J]. Breast Cancer Res Treat, 2018, 171(3): 571-580
- [30] He W, Hou M, Zhang H, et al. Clinical significance of circulating tumor cells in predicting disease progression and chemotherapy resistance in patients with gestational choriocarcinoma [J]. Int J Cancer, 2019, 144(6): 1421-1431

(上接第 2459 页)

- [16] Lin W, Xiong L, Han J, et al. Increasing pressure of external counterpulsation augments blood pressure but not cerebral blood flow velocity in ischemic stroke[J]. Clin Neurosci, 2014, 21: 1148-1152
- [17] 崔喜红. 脑性瘫痪合并语言障碍患儿小组语言训练的疗效观察[J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(6): 274-275
- [18] 王春南, 齐腾激, 兰颖, 等. 舌针治疗脑性瘫痪语言障碍的作用机制比较研究[J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(2): 385-387
- [19] 欧阳莎菲, 胡碧浓. 早期言语康复训练对脑性瘫痪患儿智力发育及言语功能的影响[J]. 广西医学, 2017, 39(8): 1164-1167
- [20] 万鸽. 小组语言训练在脑瘫合并语言障碍患儿中的疗效观察[J]. 中国现代药物应用, 2015, 9(1): 238-239
- [21] Zivković ZI, Golubović S. Tongue mobility in patients with cerebral palsy[J]. Vojnosanit Pregl, 2012, 69(6): 488-491
- [22] 郑钦, 李润利, 吴燕秋, 等. 小组语言训练对脑瘫患儿交流功能的影响[J]. 中国康复, 2016, 31(6): 411-411
- [23] 张晓晓. 早期康复训练治疗小儿脑瘫的 If 每床效果观察[J]. 国际医药卫生导报, 2016, 22(21): 3281-3283
- [24] 覃洪金, 黄任秀, 李玉梅, 等. 健康教育联合口腔运动指导对脑瘫高危儿家长喂养行为的影响[J]. 护理学杂志, 2015, 30(1): 65-68
- [25] 梁秋叶, 覃花桃. 健康指导与家庭康复相结合提高脑瘫儿童疗效及生存质量的研究[J]. 中国儿童保健杂志, 2015, 23(10): 1114-1116