

tamase inhibition by NXL104 in combination with ceftaroline; examining organisms with multiple types of β -lactamases[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(1): 258-270.

[37] Steinmann J, Kaase M, Gatermann S, et al. Outbreak due to a *Klebsiella pneumoniae* strain harbouring KPC-2 and VIM-1 in a German university hospital, July 2010 to January 2011[J]. *Euro Surveill*, 2011, 16(33): 19944.

[38] Tsakris A, Themeli-Digalaki K, Poulou A, et al. Comparative evaluation of combined-disk tests using different boronic acid compounds for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing enterobacteriaceae clinical isolates[J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(8): 2804-2809.

[39] Leão RS, Carvalho-Assef AP, Correal JC, et al. KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* co-infection in a catheter-related infection[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2011, 17(3): 380-382.

[40] Richter SN, Frasson I, Bergo C, et al. Transfer of KPC-2 carbapenemase from *Klebsiella pneumoniae* to *Escherichia coli* in a patient: first case in Europe[J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(5): 2040-2042.

[41] Hirsch EB, Ledesma KR, Chang KT, et al. In vitro activity of MK-7655, a novel β -lactamase inhibitor, in combination with imipenem against carbapenem-resistant Gram-negative bacteria[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(7): 3753-3757.

(收稿日期: 2015-04-14)

• 综 述 •

循环肿瘤细胞的分子检测及临床应用的研究进展

韩丹丹, 魏 敏, 邓 芳[△]综述, 李 明 审核
(安徽省肿瘤医院, 安徽合肥 230000)

关键词: 肿瘤; 循环肿瘤细胞; 分子诊断; 个体化治疗
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 20. 043 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2015)20-3024-04

癌症是目前危害人类健康的首要疾病, 分子检测在癌症的诊断和治疗中发挥的作用日益增大, 基因重排、染色体易位和融合基因形成、原癌基因及抑癌基因等分子检测对于疾病的诊断、疗效监测、预后判断等具有重要的意义。并且在个体化治疗的时代, 基因检测成为决定日常临床治疗的一部分^[1-3]。

肿瘤细胞经过上皮间质转变, 突破细胞外基质进入外周血液循环成为循环肿瘤细胞(CTCs)^[4-5]。鉴于其取材简便, 能反映机体肿瘤情况, 相当于实时活检, 日益得到广泛的关注。从 1869 年 Ashworth 最早在转移性癌症患者血液中观测到 CTCs^[6], 随后在 90 年代中期开始探索捕获、分析 CTCs 的方法并进行大量临床试验^[7-9], 2004~2008 年美国 FDA 相继批准 CellSearch 技术用于转移性乳腺癌、结直肠癌和前列腺癌的临床诊断^[10-12], 2007 年 CTCs 被 ASCO 推荐为肿瘤标志物, CTCs 的应用已经从细胞计数发展到对其分子特性的研究, 其检测可反应肿瘤的生物行为, 可在证实肿瘤的存在、发病过程、评估患者的预后和个体化治疗后改善情况等作出提供相关信息, 以及发现和鉴定新的治疗靶点。本文就近年来 CTCs 富集技术的研究进展进行总结, 并探讨其在肿瘤诊治中应用价值。

1 CTCs 富集技术

CTCs 在外周血的中浓度极为罕见, 每毫升血液中约为 1~10 个。因此对外周血中的 CTCs 进行富集是研究 CTCs 的特性、形态及细胞标志的基础^[13]。目前, CTCs 的富集主要是根据其物理和生物属性原理, 随着纳米材料等新技术的不断进步, CTCs 分离技术层出不穷。

1.1 传统物理技术 在应用物理原理分离方面, 传统的分离法是基于 CTCs 的密度梯度进行离心分离, 但该方法缺乏特异性, 易导致目的肿瘤细胞丢失。Vona 等^[14]提出的基于肿瘤细胞与正常细胞的大小差异来分离肿瘤细胞的分离方法

(ISET), 但 ISET 只能分离直径大于 8 μ m 的肿瘤细胞, 使其分离的灵敏性也受到限制。近年来发展的微流控制技术, 利用细胞的大小和变形能力特征来捕获 CTCs, 制作半径介于 CTCs 和血细胞的阵列微流控制芯片, 使得 CTCs 向一侧汇聚而血细胞保持原有路径流过阵列, 从而实现肿瘤细胞和正常细胞的分选和富集。这种通过物理方法分离的肿瘤细胞形态和表面的各种抗原或分子标记均保存完整, 不影响细胞的特性, 为后续的检测提供了良好的条件^[15]。随着纳米技术的发展, 纳米技术应用到肿瘤的分子诊断有很大的前景, 纳米材料可使磁珠达纳米(10~100 nm)级, 增大了比表面积从而增加与待测细胞接触的概率, 同时可降低对细胞造成的机械性压力, 大大提高 CTCs 的富集效率, 被广泛用于 CTCs 的富集和检测^[16]。2013 年, *Nature* 杂志将 CTCs 纳米检测列为最具创新性和转化潜力的肿瘤诊断新方法^[17]。

1.2 传统免疫技术 免疫方法分为阳性选择法和阴性选择法, 阳性选择法研究较多, 其根据 CTCs 表面免疫分子表征进行选择捕获。常用的分子标志有: EpCAM 和 CK 等。目前公认的金标准 Cell Search TM CTCs 检测系统即依赖于免疫磁珠吸附肿瘤细胞表达 EpCAM(上皮细胞黏附分子)抗原, 利用抗体包被的磁珠来捕获 EpCAM 阳性的细胞, 然后成像并计数^[10]。2010 年, Stott 开发出一种“人字形 CTCs 芯片”, 利用 EpCAM 抗体来捕获 CTCs, 这种设计能够比较快速地处理血液, 每小时达 2 mL, 且具有良好的灵敏度和选择性^[18]。Armstrong 等^[19]的研究表明在乳腺癌和前列腺癌患者的 CTCs 细胞中均可检测到同时表达上皮标志及间皮标志以及干细胞标志的 CTCs 细胞, 可用此装置进行选择富集。但是 Gorges 等^[20]研究表明在正常细胞样和基底样型乳腺癌细胞中很多不表达 EpCAM, 因此仅通过 EpCAM 来捕获 CTCs 细胞则可能会丢失部分 CTCs。此时可利用 CTCs 细胞 CD45 表达缺如的特

性,选用 CD45 磁珠选择性去除白细胞(IMB 法)的负性捕获技术选择收集 CTCs,即为负性选择法,来提高阳性率。

1.3 物理联合免疫的新技术 目前 CTCs 的检测中,不同技术间的联合应用研究正受到广泛关注,利用靶向 CTCs 表面识别分子修饰的特异性,结合纳米和微流控等新型技术,减少血样量的同时,大大提高了 CTCs 的富集率和检测灵敏度。目前广泛应用的免疫磁珠技术,磁珠只能达到微米级,分离效率低且洗脱困难。将不同的纳米材料(纳米颗粒、纳米线)进行抗体化,可提高细胞与捕获靶点的接触概率,方便 CTCs 细胞先从表面洗脱,减少纳米材料颗粒吸附对细胞活力和分析检测的影响,从而提高了细胞的富集率和检测准确性^[16]。一种将免疫和物理方法相结合的微流芯片技术,即 CTCs-chip,在单晶硅表面蚀刻形成微柱阵列,表面经抗上皮细胞吸附分子(Anti-EpCAM)抗体修饰,当极小量($10^{-9} \sim 10^{-10}$ L)待检血液样本通过包被的微柱阵列,通过流体作用力将细胞排成一列纵队,此时肿瘤细胞与其结合,实现对 CTCs 选择性吸附和捕获。结合 anti-EpCAM 和 anti-MUC1 抗体在一个微流体装置可以进一步改进捕捉 CTCs 的性能^[21]。

2 CTCs 的分子检测与临床应用

CTCs 在经历侵袭和转移的过程中,需经历上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)机制入血、逃逸免疫监视、抵抗凋亡、耐受治疗等生物学特性的转变,才能形成远处转移灶^[22-23]。这些生物学特性改变的分子机制均有可能用来进行肿瘤分子分型并且有可能成为个体化肿瘤治疗的靶点。此外在治疗过程中的 CTCs 是不断变化的,伴随治疗耐药的出现,耐药性 CTCs 在治疗后逐渐增多^[24]。因此 CTCs 分析技术可以在肿瘤异质性和疾病进程中,进行实时、动态的监测肿瘤细胞的变化评估,反映患者的治疗状况及疾病进程,进一步了解肿瘤异质性选择个体化治疗方案。

2.1 CTCs 分子检测与肿瘤诊断 在肿瘤转移过程中 CTCs 表现的多种生物学特性及其分子机制都可被用于分型和肿瘤诊断的靶点。研究证实,在肿瘤患者 CTCs 高频出现共表达上皮标志物(EpCAM、cytokeratins、E-cadherin)、间质标志物(vimentin、N-cadherin、O-cadherin)和干细胞标志物的现象^[19]。对乳腺癌患者 CTCs 单细胞转录谱分析后发现 CTCs 普遍高表达 EMT 相关分子^[25]。采用 RT-PCR 对 68 例晚期乳腺癌患者的外周血 CTCs 样本进行检测,可检测到生物素,人端粒酶逆转录酶(hTERT),CK-7 和甲状腺转录因子-1(TTF-1)四个基因表达上调,此外在 TTF-1 和 CK7 检测均阳性的患者,无进展生存时间相较于阴性患者减短^[26]。此外在 CTCs 全基因表达谱和差异表达谱的研究发现,66 例早期乳腺癌患者 CTCs 基因表达谱中 CK19、MAGE-A3、HER-2、TWIST1、hTERT 和乳腺珠蛋白转录均低于 26 例转移性乳腺癌,提示这些基因与乳腺癌侵袭转移密切相关^[27]。9 例转移性前列腺癌患者 CTCs 基因表达谱分析,发现基因拷贝数广泛异常($>50\%$),且其中 7 例(78%)X 染色体上雄激素受体所在基因表达上调,提示其与前列腺癌的疾病进展高度相关^[28]。

2.2 CTCs 分子检测与靶向治疗 靶向药物的问世为肿瘤的治疗开创了新的局面。但在实践中,获得性耐药成为靶向治疗的瓶颈。近期国内外研究表明,应用初治前的组织标本进行分子检测指导整个治疗过程的策略对部分患者并不合适,进行实时的基因分析才能更精准地反映治疗过程中细胞内各亚克隆的动态变化^[29-31]。现有证据表明所谓的临床获得性耐药并非

是在治疗过程中产生细胞水平的耐药,而是肿瘤异质性细胞对靶向治疗的选择性反应^[24]。研究认为 CTCs 的 EMT 可以赋予 CTCs 干细胞特性。并且通过 CTCs 干细胞的特性使 CTCs 耐受化疗^[32]。检测乳腺癌 CTCs 中 EMT 相关转录因子(TWIST1、SNAIL1、SLUG、ZEB1、FOXC2)的表达情况,并分析了接受或未接受新辅助化疗对 CTCs 表达这些转录因子的可能影响,发现新辅助化疗并不能清除这些发生了 EMT 的 CTCs,进一步提示其与耐药相关^[33]。因此,CTCs 数目和分子特征改变的检测对于指导分子靶向药物的研发及临床个体化治疗具有重要意义^[34]。然而,反复进行组织活检在临床可行性上均存在一定难度。因此,利用外周血循环肿瘤细胞替代原发组织标本,建立实时、动态、无创的分子检测体系对药物靶点鉴定、指导靶向药物治疗、疗效监测和耐药的情况的评价具有重大临床意义。

2.3 CTCs 分子检测在靶向治疗中应用 近期有学者分析了 CTCs 的上皮间质转化(EMT)与乳腺癌化疗或靶向治疗的关系,发现 CTCs 中上皮标志物表达高的患者治疗反应优于 EMT 比例升高者。在靶向药物治疗过程中,可以通过动态监测 CTCs 的分子改变,来判断靶向药物治疗的终点^[35]。多项报道指出在乳腺癌中,多于 80% 的患者 CTCs 表达 HER-2 与原发肿瘤组织一致,提示 CTCs 具有指导乳腺癌 HER-2 基因的 Herceptin 靶向药物治疗可能,此外有研究表明小部分乳腺癌患者(11%)原发肿瘤组织 HER-2 阴性,但患者 CTCs 中 HER-2 阳性,使用 Herceptin 治疗部分患者有效,提示检测 CTCs 表达 HER-2 甚至优于检测原发肿瘤组织^[36-38]。提示针对 CTCs 基因分析有助于为临床治疗提供更加动态和预测性的个体化信息。CTCs 的分子分型中,PIK3CA 作为乳腺癌重要预后指标,一直广受关注。Markou 等^[39]发现 CTCs 中 PIK3CA 突变在转移性乳腺癌病程中的发生与不良预后相关,对比用药前后 CTCs 分子特性的变化,分析结果提示 PIK3CA 突变与 ErbB2 耐药有关,对指导 PIK3CA 体细胞突变的分子靶向治疗的效果有重要作用。在其他肿瘤方面,对非小细胞性肺癌患者研究发现 CTCs 中 EGFR 突变与肿瘤组织具有高度一致性,提示其检测具有指导非小细胞性肺癌患者吉非替尼靶向药物治疗的潜质^[40]。此外,前列腺癌患者 CTCs 中雄激素受体及其下游信号通路相关分子的表达情况可以指导前列腺癌内分泌治疗,并通过治疗过程中雄激素受体变化情况评估疗效^[41]。研究发现可在转移性结肠癌患者的 CTCs 中检测到 KRAS 基因的突变,通过跟踪检测外周血中 CTCs 的分子改变,作为靶向药停用的依据^[42]。北京大学肿瘤医院一项关于 CTCs 核型分析的研究显示核型分析 8 号染色体不同倍体对于紫杉醇、顺铂化疗敏感或耐药存在相关性。根据 CTCs 8 号染色体核型可以监测胃癌患者化疗耐药情况以及治疗疗效评估^[43]。此外,有报道称血液中除了单个循环肿瘤细胞外,还有一种循环肿瘤细胞团(CTCs cluster),是由原发性肿瘤脱落形成的寡细胞克隆体。尽管血液中的循环肿瘤细胞团很少,但是与单独的 CTCs 相比,成簇的 CTCs 有着更大的转移潜力。通过分析乳腺癌患者的血样和生存期,研究人员发现外周血液中的高含量循环肿瘤细胞团与肿瘤患者的不良预后密切相关^[44-45]。

3 小结与展望

对肿瘤进行分子分型并指导个体化治疗是目前肿瘤研究领域的热点,而取得具有代表性的肿瘤标本,对其生物特性进

行检测和研究是诊断和治疗癌症的基础。肿瘤标本获得不易, CTCs 作为脱离原发灶或转移灶进入血液的肿瘤细胞,不仅可以作为研究肿瘤转移复发过程和机制的绝佳标本,而且在指导肿瘤个体化诊疗上也有巨大潜力。但是在数量庞大的血细胞中分离出稀少的 CTCs 目前仍面临困难,利用肿瘤细胞表面分子标志进行的正性富集存在漏检问题,相反负性富集也有特异性差的缺点。在过去几十年,随着 CTCs 及其分子特征检测方面的研究不断增多,CTCs 分离和分析技术在此基础上也得到不断完善。CTCs 分离从基于上皮特异性分子(如 EpCAM、CK 等)发展到更高敏感度和更高特异性具有 EMT 表型的 CTCs 的富集方法。为进一步的临床应用奠定基础。

临床上,通过定期对血液中 CTCs 进行数量和基因分析,有望实现对肿瘤早期转移、术后复发及疗效的检测,但是由于肿瘤生物特性的异质性,不同肿瘤表面抗原的表达差异很大,尚没有统一的用于临床判断肿瘤的 CTCs 分析靶标。但是,随着检测技术的不断改进,灵敏度和特异度的不断提高,CTCs 分子检测在寻找新的肿瘤标志物用于肿瘤诊治及判断预后及开发新的肿瘤靶向药物中具有巨大应用价值。

参考文献

- [1] La Thangue NB, Kerr DJ. Predictive biomarkers: a paradigm shift towards personalized Cancer medicine[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8(10): 587-596.
- [2] Collisson EA, Cho RJ, Gray JW. What are we learning from the cancer genome[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2012, 9(11): 621-630.
- [3] Reis-Filho JS, Pusztai L. Gene expression profiling in breast cancer: classification, prognostication, and prediction[J]. *Lancet*, 2011, 378(9805): 1812-1823.
- [4] Chiang AC, Massagué J. Molecular basis of metastasis[J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(26): 2814-2823.
- [5] Chambers AF, Groom AC, Macdonald IC. Dissemination and growth of Cancer cells in metastatic sites[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(8): 563-572.
- [6] Ashworth T. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death[J]. *Aust Med J*, 1869, 14(1): 146-149.
- [6] Caixeiro NJ, Kienle N, Lim SH, et al. Circulating tumour cells—a bona fide cause of metastatic cancer[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2014, 33(2/3): 747-756.
- [7] Ross AA, Cooper BW, Lazarus HM, et al. Detection and viability of tumor cells in peripheral blood stem cell collections from breast Cancer patients using immunocytochemical and clonogenic assay techniques[J]. *Blood*, 1993, 82(9): 2605-2610.
- [8] Hayes DF, Cristofanilli M, Budd GT, et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast Cancer patients predict progression-free and overall survival[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(14 Pt 1): 4218-4224.
- [9] Nagrath S, Sequist LV, Maheswaran S, et al. Isolation of rare circulating tumour cells in Cancer patients by microchip technology [J]. *Nature*, 2007, 450(7173): 1235-1239.
- [10] Cristofanilli M. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast Cancer[J]. *N Engl J Med*, 2006, 9(8): 9-14.
- [11] Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal Cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(19): 3213-3221.
- [12] de Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, et al. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(19): 6302-6309.
- [13] Allard WJ, Matera J, Miller MC, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(20): 6897-6904.
- [14] Vona G, Sabile A, Louha M, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells[J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(1): 57-63.
- [15] Lee A, Park J, Lim M, et al. All-in-one centrifugal microfluidic device for size-selective circulating tumor cell isolation with high purity[J]. *Anal Chem*, 2014, 86(22): 11349-11356.
- [16] Gao Y, Yuan Z. Nanotechnology for the detection and kill of circulating tumor cells[J]. *Nanoscale Res Lett*, 2014, 9(1): 500.
- [17] Fan K, Cao C, Pan Y, et al. Magnetoferritin nanoparticles for targeting and visualizing tumour tissues[J]. *Nat Nanotechnol*, 2012, 7(7): 459-464.
- [18] Yu M, Stott S, Toner M, et al. Circulating tumor cells: approaches to isolation and characterization[J]. *J Cell Biol*, 2011, 192(3): 373-382.
- [19] Armstrong AJ, Marengo MS, Oltean S, et al. Circulating tumor cells from patients with advanced prostate and breast Cancer display both epithelial and mesenchymal markers[J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(8): 997-1007.
- [20] Gorges TM, Tinhofer I, Drosch M, et al. Circulating tumour cells escape from EpCAM-based detection due to epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12(1): 178.
- [21] Karabacak NM, Spuhler PS, Fachin F, et al. Microfluidic, marker-free isolation of circulating tumor cells from blood samples[J]. *Nat Protoc*, 2014, 9(3): 694-710.
- [22] Charpentier M, Martin S. Interplay of stem cell characteristics, EMT, and microtentacles in circulating breast tumor cells[J]. *Cancers (Basel)*, 2013, 5(4): 1545-1565.
- [23] Kasimir-Bauer S, Hoffmann O, Wallwiener D, et al. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in primary breast cancer patients with circulating tumor cells[J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(1): R15.
- [24] Marusyk A, Almendro V, Polyak K. Intra-tumour heterogeneity: a looking glass for Cancer? [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(5): 323-334.
- [25] Powell AA, Talasz AH, Zhang H, et al. Single cell profiling of circulating tumor cells: transcriptional heterogeneity and diversity from breast cancer cell lines[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): 33788.
- [26] Yu Y, Xu G, Cao J, et al. Combination of four gene markers to detect circulating tumor cells in the peripheral blood of patients with advanced lung adenocarcinoma using real-time PCR [J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(4): 1400-1406.
- [27] Strati A, Kasimir-Bauer S, Markou A, et al. Comparison of three molecular assays for the detection and molecular characterization of circulating tumor cells in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res*, 2013, 15(2): R20.
- [28] Magbanua MJ, Sosa EV, Scott JH, et al. Isolation and genomic analysis of circulating tumor cells from castration resistant metastatic prostate cancer[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12(1): 78.

[29] Cristofanilli M, Mendelsohn J. Circulating tumor cells in breast Cancer; Advanced tools for “tailored” therapy? [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(46): 17073-17074.

[30] Bidard FC, Mathiot C, Delaloge S, et al. Single circulating tumor cell detection and overall survival in nonmetastatic breast Cancer [J]. Ann Oncol, 2010, 21(4): 729-733.

[31] Barradas AM, Terstappen LW. Towards the biological understanding of CTC: capture technologies, definitions and potential to create metastasis [J]. Cancers (Basel), 2013, 5(4): 1619-1642.

[32] Barriere G1, Fici P, Gallerani G, et al. Circulating tumor cells and epithelial, mesenchymal and stemness markers; characterization of cell subpopulations [J]. Ann Transl Med, 2014, 2(11): 109.

[33] Mego M, Mani SA, Lee BN, et al. Expression of epithelial-mesenchymal transition-inducing transcription factors in primary breast Cancer; The effect of neoadjuvant therapy [J]. Int J Cancer, 2012, 130(4): 808-816.

[34] Kurata T, Tamura K, Kaneda H, et al. Effect of re-treatment with gefitinib (‘Iressa’, ZD1839) after acquisition of resistance [J]. Ann Oncol, 2004, 15(1): 173-174.

[35] Krawczyk N, Meier-Stiegen F, Banys M, et al. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in circulating tumor cells of breast cancer patients [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 415721.

[36] Hayes DF, Walker TM, Singh B, et al. Monitoring expression of HER-2 on circulating epithelial cells in patients with advanced breast Cancer [J]. Int J Oncol, 2002, 21(5): 1111-1117.

[37] Fehm T, Becker S, Duerr-Stoerzer S, et al. Determination of HER2 status using both serum HER2 levels and circulating tumor cells in patients with recurrent breast cancer whose primary tumor was HER2 negative or of unknown HER2 status [J]. Breast Cancer Res, 2007, 9(5): R74.

[38] Ignatiadis M, Rothé F, Chaboteaux C, et al. HER2-positive circulating tumor cells in breast cancer [J]. PLoS One, 2011, 6(1): 15624.

[39] 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.

[40] Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells [J]. N Engl J Med, 2008, 359(4): 366-377.

[41] Connolly RM, Carducci MA, Antonarakis ES. Use of androgen deprivation therapy in prostate Cancer: indications and prevalence [J]. Asian J Androl, 2012, 14(2): 177-186.

[42] Yang MJ, Chiu HH, Wang HM, et al. Enhancing detection of circulating tumor cells with activating KRAS oncogene in patients with colorectal Cancer by weighted chemiluminescent membrane array method [J]. Ann Surg Oncol, 2010, 17(2): 624-633.

[43] Li Y, Zhang X, Ge S, et al. Clinical significance of phenotyping and karyotyping of circulating tumor cells in patients with advanced gastric Cancer [J]. Oncotarget, 2014, 5(16): 6594-6602.

[44] Divella R, Daniele A, Abbate I, et al. The presence of clustered circulating tumor cells (CTCs) and circulating cytokines define an aggressive phenotype in metastatic colorectal Cancer [J]. Cancer Causes Control, 2014, 25(11): 1531-1541.

[45] Yu M, Bardia A, Wittner BS, et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition [J]. Science, 2013, 339(6119): 580-584.

(收稿日期: 2015-04-18)

• 综 述 •

急性早前 T 细胞淋巴细胞白血病研究进展

唐 雪 综述, 肖剑文 审校

(重庆医科大学附属儿童医院血液肿瘤科, 400014)

关键词: 白血病; 急性早前 T 细胞淋巴细胞; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 20. 044 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2015)20-3027-03

急性早前 T 细胞淋巴细胞白血病 (early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia, ETP-ALL) 属于早期非成熟 T-ALL 的一种^[1], 约占儿童 T-ALL 的 12. 2%~13%^[2], 是儿童急性淋巴细胞白血病非常高危的一类亚型^[3], 其诱导缓解失败率、复发率及总体生存率较经典 T-ALL 差。ETP-ALL 在基因表达谱、免疫分型等方面具有特异性及诊断价值, 现综述如下。

1 临床表现

现代观点认为, 对儿童而言初诊时年龄及外周血白细胞计数等临床特点作为对进行强化疗方案的 T-ALL 患儿预后判断指标并不可靠。对既往诊断为 T-ALL 的 91 例患儿进行回顾性分析发现, 有 5 名患儿符合 ETP-ALL 的免疫学诊断, 然而这些患儿与其他 86 名经典 T-ALL 患儿在发病年龄、性别、外周血白细胞计数、中枢神经系统浸润等方面无显著差异^[1]。对

222 名既往诊断为 T-ALL 患儿进行回顾性分析发现, ETP-ALL 患儿外周血白细胞水平较经典 T-ALL 低。Ma 等^[3]分析研究发现初诊时外周血高白细胞与预后差亦无确切相关性。

2 免疫分型

原始胸腺细胞从骨髓释放后, 通过一系列分化最终成熟为 CD4⁺CD8⁺T 细胞, 其在分化最初阶段缺乏 CD4 或 CD8 表达。处于 CD4⁻CD8⁻ (Double Negative, DN) 分化阶段的胸腺细胞依据 CD25、CD44 表达情况分为 DN1 (CD44⁺CD25⁻)、DN2 (CD44⁺CD25⁺)、DN3 (CD44⁻CD25⁻)、DN4 (CD44⁻CD25⁺) 四个不同分化阶段。研究发现处于 DN1 和早期 DN2 阶段的胸腺细胞具有向髓系、树突细胞、NK 细胞分化潜能^[4]。急性早前 T 细胞淋巴细胞白血病有淋系、髓系及干细胞特点, 因此猜想导致 ETP-ALL 的肿瘤起始细胞可能起源于处于 DN1 和早期 DN2 阶段的胸腺细胞^[5]。