



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.02.03  
文章编号: 2095-1264(2022)02-0154-07

## 循环肿瘤细胞在鼻咽癌中的研究进展\*

彭丽娟, 曾 勇\*, 王 晖\*

(中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院 肿瘤放射治疗转化医学湖南省重点实验室, 湖南长沙, 410013)

**摘要:** 中国鼻咽癌发病率及死亡率均高于世界平均水平, 提高其早期诊断水平以及监测其复发与转移, 对于提高患者 5 年生存率尤其重要。循环肿瘤细胞(CTC)作为一种新的血清学标志物, 具有取样方便快捷、创伤少、可动态监测等优点, 与影像学相比, 能够较早发现微转移, 且无射线伤害。因此, CTC 检测应用前景广泛, 已在肺癌、乳腺癌、直肠癌等肿瘤中进行了临床研究与应用。近年来, CTC 在鼻咽癌早期诊断、疗效监测、预后评估等方面的应用及其与血清 EBV-DNA 的相关性也展开了一些研究。本文总结了 CTC 在鼻咽癌领域的研究进展。

**关键词:** 循环肿瘤细胞; 鼻咽癌; 临床应用; 检测

**中图分类号:** R739.6 **文献标识码:** A

## Research development of circulating tumor cells in nasopharyngeal carcinoma\*

PENG Lijuan, ZENG Yong\*, WANG Hui\*

(Hunan Provincial Key Laboratory of Translational Medicine of Tumor Radiotherapy, the Affiliated Cancer Hospital of Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha, Hunan, 410013, China)

**Abstract:** The incidence and mortality of nasopharyngeal carcinoma in China are both higher than the world level. It is particularly important to improve the early diagnosis level and to monitor the recurrence and metastasis for improving the 5-year survival rate of patients with nasopharyngeal carcinoma. As a new serological marker, circulating tumor cell (CTC) has the advantages of convenient sampling, less trauma and repeatable monitoring. Compared with imaging, it can detect micro-metastases earlier and has no radiation damage. CTC detection has a wide application prospect, and has been used in many clinical studies in lung cancer, breast cancer, rectal cancer and other tumors. In recent years, there have been some studies on the application of CTC in the early diagnosis, efficacy monitoring and prognosis evaluation of nasopharyngeal carcinoma, and its correlation with serum EBV-DNA. This paper will review the research progress of CTC in nasopharyngeal carcinoma.

**Keywords:** Circulating tumor cell; Nasopharyngeal carcinoma; Clinical application; Detection

### 前言

鼻咽癌具有明显的地域和种族特征, 全球鼻咽癌发病率约 1.2/10 万<sup>[1]</sup>, 而中国发病率约 3.26/10 万, 接近全球发病率的 2 倍以上<sup>[2]</sup>, 处于世界较高水平<sup>[3]</sup>。因鼻咽解剖位置隐蔽, 早期症状不典型, 且易

发生淋巴结转移, 大多数患者就诊时已处于中晚期。早期诊断和复发转移的动态监测有利于提高鼻咽癌患者的生存率及生活质量。许多肿瘤患者在治疗后临床影像学检查无残余病灶, 但也可能出现复发和转移, 且复发、转移的肿瘤细胞表型与原发灶相似, 这可能与影像学技术检测不到的微小残留灶相关。

\*基金项目: 湖南省科技创新计划(2017SK50602)。

作者简介: 彭丽娟, 女, 硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 肿瘤放射治疗及转化研究。

\*通信作者: 王晖, 男, 博士, 主任医师, 研究方向: 肿瘤放射治疗及转化研究; 曾勇, 男, 博士, 副主任药师, 研究方向: 药物基因组学、肿瘤耐药机制、个体化药物治疗。

循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)作为一种可代表原发肿瘤的液态活检标本,为鼻咽癌患者的动态无创监测提供了新的血液标志物。

1896 年, Ashwort 就提出了 CTC 的概念——CTCs 是存在于血液循环中的肿瘤细胞,但由于当时 CTCs 捕获技术落后,未能被人们广泛认识与重视。近年来,随着临床肿瘤学、基础肿瘤学、转化肿瘤学的发展,CTCs 的富集及鉴定技术明显提高,CTCs 也已成为肿瘤领域的研究热点。研究发现,CTCs 对肺癌<sup>[4]</sup>、乳腺癌<sup>[5]</sup>、结直肠癌<sup>[6]</sup>、胃癌<sup>[7]</sup>、前列腺癌<sup>[8]</sup>、食管癌<sup>[9]</sup>等实体肿瘤的辅助诊断、疗效评估、复发和转移的监测及预后判断等均具有积极的临床指导意义,其在鼻咽癌中的临床应用也有一些研究报道。本文就 CTCs 的生物物理属性、检测技术及其在鼻咽癌中的研究进展进行综述。

## 1 CTCs 概述

**1.1 CTCs 的生物物理属性** CTCs 是指脱离原发灶或转移灶进入外周血液循环的单个或多个肿瘤细胞,与原发灶肿瘤细胞有着相似的基因遗传学特征<sup>[10]</sup>。通过显微镜、流式细胞术(flow cytometry, FCM)、电气测量等方法测定肿瘤细胞和外周血细胞的直径和体积,发现红细胞直径为 6.0~8.0  $\mu\text{m}$ 、中性粒细胞直径为 12.0~15.0  $\mu\text{m}$ 、嗜酸性粒细胞直径为 8.7~9.9  $\mu\text{m}$ 、小淋巴细胞直径为 7.0~10.0  $\mu\text{m}$ 、大淋巴细胞直径为 14.0~20.0  $\mu\text{m}$ 、单核细胞直径为 15.0~25.0  $\mu\text{m}$ 、CTCs 直径范围为 17.0~52.0  $\mu\text{m}$ ,但由于肿瘤的异质性,部分肿瘤细胞直径小于 17.0  $\mu\text{m}$  甚至 8.0  $\mu\text{m}$ <sup>[11]</sup>。CTCs 的密度低于红细胞及多核白细胞,介于 T 淋巴细胞、淋巴母细胞、B 淋巴细胞、自然杀伤细胞和单核细胞之间。杨氏模量的大小是描述细胞刚性的物理量,杨氏模量越小,说明细胞越容易形变。在细胞模型中发现,转移性 CTCs 较普通 CTCs 的杨氏模量小,更易变形,CTCs 比正常细胞有更强的变形能力<sup>[12]</sup>。此外,研究显示,由于肿瘤细胞的细胞膜功能、酸碱水平和羟基常数均高于健康细胞,氢离子常数低于健康细胞,使 CTCs 膜电位发生改变<sup>[13]</sup>。与白细胞相比,肿瘤细胞有更高的膜电容和更低的细胞质电导率。

80% 以上的肿瘤为上皮细胞起源,因此,经典的 CTCs 标志物为上皮细胞标志物,如上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)和细胞角蛋白(cytokeratin, CK)等。大多数免疫分离方

法是基于以上标志性蛋白。但上皮细胞可向间质细胞转化,即上皮-间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT),且这一现象可通过多种致癌信号通路、缺氧和肿瘤微环境信号来启动和促进<sup>[14]</sup>。有研究表明,EMT 可导致上皮细胞失去细胞极性和细胞间黏附力,获得侵袭、转移能力,产生较强的 DNA 修复能力,更易于抵抗化疗药物<sup>[15]</sup>。上皮样肿瘤细胞向间充质样肿瘤细胞转化后,其表面上皮细胞标志物表达水平降低,用 CKs 和 EpCAM 鉴定 CTCs 可能出现假阴性,因此,EMT 标志物检测可作为鉴定 CTCs 的重要补充手段。

**1.2 CTCs 检测技术** 根据 CTCs 的生物物理特性,人们发明了不同的检测方法。目前,CTCs 的检测一般可分为两个步骤:分离富集和鉴定。分离富集技术目前主要有密度梯度离心法、膜滤过分离肿瘤细胞技术、免疫分离富集法。前两者是利用 CTCs 与血细胞物理特征的差异进行分离,具有不依赖细胞表面特异性抗原表达的优点,但较小的肿瘤细胞可能因与白细胞的物理特性相似而难以被捕获<sup>[16]</sup>。免疫分离富集法主要通过特异性抗体靶向肿瘤细胞或血细胞的表面抗原将其分离,因此还可根据分离对象的不同分为阳性富集和阴性富集。阳性富集即利用肿瘤细胞表面特异性抗原,如 EpCAM 和 CKs,将其分离捕获。但由于肿瘤细胞表面抗原存在异质性<sup>[17]</sup>,目前尚无通用的 CTCs 特异性标志物。Cell Search 是阳性富集法的代表之一,已被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准应用于转移性乳腺癌、肠癌和前列腺癌<sup>[18]</sup>。阴性富集则是利用白细胞表面特异性抗原 CD45 去除白细胞,从而捕获 CTCs。Cytel 系统是阴性富集技术的代表之一<sup>[19]</sup>。

CTCs 鉴定技术目前主要有免疫细胞化学法(immunocytochemistry, ICC)、FCM、逆转录聚合酶链反应(reverse transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR)、荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)等。ICC 是指用显色剂标记的特异性抗体与肿瘤细胞抗原结合,通过抗原抗体反应和细胞化学呈色来识别、分析和计数 CTCs。但由于肿瘤细胞表面抗原的异质性高,单用 ICC 的检测敏感性低、检出率低。FCM 主要是运用标记荧光物质的单克隆抗体与肿瘤细胞特异性抗原相结合,使肿瘤细胞着色,然后用流式细胞仪进行测量分析。FCM 可高速分析上万个细胞,同时还可对细胞进

行物理、化学特性的多参数分析,但其敏感性仅为 1/100 000,而外周血中 CTCs 的数量常小于 1/1 000 000,因此,其主要用于有明显转移的进展期患者外周血 CTCs 的检测<sup>[20]</sup>。RT-PCR 技术是以肿瘤中某种物质的 mRNA 作为检测指标,通过检测其数量来推测 CTCs 的数目。该方法灵敏度高,但不同 CTCs 的肿瘤标志物表达水平存在差异,因而肿瘤标志物的含量并不能完全真实地反映 CTCs 的实际数量<sup>[21]</sup>。FISH 是利用荧光素标记的探针检测核酸,具

有较高的特异性和灵敏性,但由于肿瘤细胞的异质性,其无法针对所有靶细胞。

随着肿瘤学科的发展以及多学科的综合应用,CTCs 检测技术明显提高。但由于 CTCs 含量较低且存在异质性,其检测仍面临较大的挑战。单一的 CTCs 分离富集和检测技术存在一定的局限性,而采用多种检测技术联合应用将大大提高 CTCs 的检出率,为其临床应用提供可靠的技术支持。表 1 总结了目前常见的几种 CTCs 富集系统。

表 1 几种常见的 CTCs 富集系统  
 Tab. 1 Several common CTCs enrichment systems

系统名称	原理
Cell Search <sup>[11]</sup>	基于包覆上皮细胞特异性 EpCAM 抗体的免疫磁珠捕获表达 EpCAM 肿瘤细胞阳性富集的原理,捕获后用细胞角蛋白 8、18、19 和 CD45 荧光抗体以及核染料 4,6-二氨基-2-苯基吡啶荧光标记细胞,对 CTCs 进行鉴定
Cytel <sup>[22]</sup>	基于免疫磁性阴性富集的原理,用 CD45 免疫磁珠偶联血液样本中的白细胞,然后通过磁场将偶联磁珠的白细胞去除,从而间接获得 CTCs
Parsort <sup>TM</sup> <sup>[23]</sup>	基于肿瘤细胞与正常血液细胞的大小和变形性差异的原理,利用微流体技术捕获稀少的肿瘤细胞,进行下游分析
ISET <sup>[24]</sup>	即过滤法(isolation by size of epithelial tumor cells),基于肿瘤细胞与白细胞大小不同的原理,应用 8 μm 圆柱形孔膜过滤系统,被认为是一种有效、廉价和快速富集 CTCs 的方法,但无法捕获较小的肿瘤细胞
CTC 芯片 <sup>[25]</sup>	基于抗原抗体结合的原理。CTC 芯片由 78 000 个携带抗 EpCAM 抗体的微柱阵列组成,当血样流经微柱时,含有 EpCAM 的 CTCs 可与微柱结合,从而捕获 CTCs
第二代 CTC 芯片 <sup>[26]</sup>	与 CTC 芯片的原理相同,又称 HB 芯片(herringbone-chip),通过一种高通量微流混合装置使人字形微通道产生微涡流,增强 CTCs 与抗体包被的芯片表面之间的相互作用,涂覆抗 EpCAM 抗体的透明壁可捕获 CTCs
NP-HB CTC 芯片 <sup>[27]</sup>	NP-HB CTC 芯片(nanoparticle-herringbone CTC chip)利用纳米结构增加肿瘤细胞黏附和结合的表面积及其与抗体的接触面积,捕获效率较 HB CTC 芯片更高
Cell Collector <sup>[28]</sup>	不同于以上体外富集技术,Cell Collector 是一种体内检测 CTCs 的装置,由直径 0.5 mm、具有抗 EpCAM 抗体涂层的不锈钢丝组成,类似于静脉导管,将其暴露于肘部静脉腔内的血流中,并持续 30 分钟,以捕获血液中的 CTCs

## 2 CTCs 在鼻咽癌中的研究进展

**2.1 CTCs 用于鼻咽癌诊断** 中国鼻咽癌的发病率和死亡率接近全球的 2 倍以上<sup>[2]</sup>。鼻咽癌早期症状不典型,且淋巴结易转移,超过 70% 的鼻咽癌患者初诊时即为局部晚期(Ⅲ-ⅣA 期),早期诊断并及时治疗对提高其治疗效果和预后至关重要。Li 等<sup>[29]</sup>使用 FISH 技术从 3.2 mL 外周血中检测到 CTCs,发现各个临床分期阶段均可检测出 CTCs,但 T 分期、N 分期、TNM 分期均不是 CTCs 出现的危险因素。多项研究采用免疫组织化学染色法检测 CTCs,亦得出了相同的结果<sup>[30-32]</sup>。研究发现,CTCs 的数量随临床

分期的增加而增加,I-Ⅲ期和Ⅳ期的平均计数分别为(3.71±2.33)和(4.96±2.69),但差异无统计学意义( $P=0.052$ )<sup>[33]</sup>。而另外一项研究发现,CTCs 在 T<sub>1-2</sub>期和 T<sub>3-4</sub>期的表达有显著差异( $P=0.034$ )<sup>[34]</sup>。吴君心等<sup>[35]</sup>利用抗体标记联合 FCM 检测了 67 例鼻咽癌患者的 CTCs,单因素分析及 Logistic 多因素回归分析结果均显示,CTCs 与 N 分期相关,N 分期越晚,CTCs 阳性率越高,N<sub>2</sub>+N<sub>3</sub>期患者 CTCs 阳性率为 77.27%,N<sub>0</sub>+N<sub>1</sub>期患者 CTCs 阳性率为 26.09%。目前,多数研究在 CTCs 与临床分期的相关性上得出了不一样的结果,需要进一步扩大样本量进行研究。然而,以上研究均在各临床分期检测到了 CTCs,而同期健康

体检者的 CTCs 检测结果为阴性,意味着 CTCs 对鼻咽癌早期诊断具有潜在的应用价值。

鼻咽癌远处转移患者的生存率较无远处转移患者明显降低<sup>[36]</sup>。CTCs 可通过细胞锚定丧失、免受机械应力损伤和免受免疫系统攻击而存在于外周血中,具有高度活力和高转移潜能<sup>[13]</sup>。外周血中存活的肿瘤细胞可能是造成鼻咽癌转移的机制之一。You 等<sup>[30]</sup>收集了 148 例转移性鼻咽癌及 122 例非转移性鼻咽癌患者的血液样本,进行了 CTCs 及 EBV-DNA 基线检测,发现 CTCs 与 EBV-DNA 诊断鼻咽癌远处转移的特异性分别为 86.0% 和 41.0%,CTCs 诊断鼻咽癌转移的特异性较 EBV-DNA 明显提高。并且,ROC 分析发现 EBV-DNA 和 CTCs 联合应用的曲线下面积显著高于二者分别单独应用。因此,CTCs 也可用于鼻咽癌转移的诊断,且联合 EBV-DNA 检测具有更高的灵敏度和特异度。

**2.2 CTCs 用于鼻咽癌疗效监测** 当前,鼻咽癌的治疗多采用基于肿瘤分期、EGFR 表达情况、患者一般状况及肿瘤发展情况等因素的综合治疗,但治疗方案缺乏及时调整及个体化特点。CTCs 研究的深入有助于监测鼻咽癌的疗效及实现个体化治疗。目前,已有研究探讨了 CTCs 在鼻咽癌疗效监测中的作用,但由于监测时间点和检测技术不同,结论亦不尽相同。

华西医院的一项研究利用上皮生物标志物 Ep-CAM、CK8/18/19 以及间充质生物标志物 Vimentin、Twist,将 CTCs 分为三类:上皮标志物阳性而间充质标志物阴性的为上皮 CTCs,两者都有的为混合型 CTCs,上皮标志物阴性而间充质标志物阳性的为间充质 CTCs。结果发现,治疗 1 周后,2 例疾病进展 (progressive disease, PD) 的患者间充质 CTCs 数量较治疗前增加或不变,但其中 1 例总 CTCs 减少;28 例完全缓解 (complete response, CR) 的患者总 CTCs、上皮 CTCs、间质 CTCs 和混合 CTCs 的治疗前后差值均大于非 CR 患者,在无复发患者与复发患者之间也获得了类似的结果<sup>[37]</sup>。高州市人民医院应用相同的 CTCs 鉴定技术和分类方法对 58 例鼻咽癌患者进行研究,结果显示,43 例 (74.1%) 患者表现出与 CTCs 数目变化相关的治疗效果,其中 4 例 PD 患者 CTCs 数目增加,2 例疾病稳定 (stable disease, SD) 患者 CTCs 数目无变化,35 例部分缓解 (partial response, PR) 患者 CTCs 数目减少或无变化,2 例 CR 患者 CTCs 数目减少<sup>[38]</sup>。两项研究均发现,治疗后,PD 患

者 CTCs 数目较前增加。而新加坡一家医院纳入亚裔鼻咽癌患者进行研究,发现治疗前和治疗 1 个月后,患者的 CTCs 变化不明显<sup>[39]</sup>。但这几项研究的样本量均偏小,需要加大样本量进一步证实其研究结果。

此外,有研究采用 8 号染色体着丝粒 (CEP8) 探针法鉴定 CTCs<sup>[40]</sup>。此方法不受肿瘤细胞表面抗原的影响,灵敏度较高,并可根据核型将 CTCs 分为不同亚型。研究者检测了 12 例鼻咽癌患者接受吉西他滨联合顺铂化疗后 CTCs 核型的变化,结果发现 PR 患者的三倍体 CTCs 比例从 88.9% 下降至 66.7%,而 PD/SD 患者的三倍体 CTCs 比例从 66.7% 上升至 100.0%; PR 患者的四倍体 CTCs 从 66.7% 下降至 33.3%,PD/SD 患者的四倍体 CTCs 从 66.7% 下降至 33.3%; PR 患者的多倍体 CTCs 从 44.4% 下降至 33.3%,但 PD/SD 患者的多倍体 CTCs 比例保持不变 (33.3% vs. 33.3%)。因此,化疗后 PD/SD 患者三倍体 CTCs 和多倍体 CTCs 比例显著升高或保持不变。三倍体、多倍体 CTCs 的化疗敏感性与四倍体 CTCs 存在差异,可能与复发/远处转移鼻咽癌患者的化疗耐药有关。

总之,目前的部分研究表明鼻咽癌中 CTCs 的计数和核型分析可反映其疗效,表明动态监测 CTCs 在实时评价鼻咽癌疗效中具有潜在应用价值,但仍需更大样本的研究进一步证实。

**2.3 CTCs 用于鼻咽癌预后评估** 多项 CTCs 与鼻咽癌的相关性研究均显示,CTCs 阳性患者较阴性患者更容易出现进展<sup>[30, 41-42]</sup>。也有研究发现,CTCs 阳性患者的总生存时间 (overall survival, OS) 明显短于 CTCs 阴性患者<sup>[30, 34-35]</sup>。因此,CTCs 在鼻咽癌中具有重要的预后价值。

研究发现,非转移性鼻咽癌患者中,基线 CTCs 阳性者 2 年无进展生存 (progression-free survival, PFS) 率为 75%,CTCs 阴性者为 92%,CTCs 阳性与较短的 PFS 相关 ( $P=0.03$ ); CTCs 阳性者 2 年 OS 率为 91%,CTCs 阴性者为 100%,但差异无统计学意义 ( $P=0.09$ )<sup>[41]</sup>。在转移性鼻咽癌中,有研究者将 CTCs 基线值  $<12$  且一线化疗后 CTCs 值  $<1$  的患者定义为低风险组,CTC 基线值  $\geq 12$  且一线化疗后  $\geq 1$  的患者定义为高风险组,CTCs 基线值  $\geq 12$ 、一线化疗后  $<1$  或基线值  $<12$ 、一线化疗后  $\geq 1$  的患者定义为中风险组,结果发现高危组患者 PFS 及 OS 明显短于中危组和低危组,鼻咽癌患者一线化疗前后的 CTCs 水平是

PFS 和 OS 的强预测指标<sup>[30]</sup>。一项纳入各分期鼻咽癌的研究结果显示,CTCs 阳性和 CTCs 阴性患者的 1 年疾病进展率分别为 34.1% 和 11.5%, 差异有统计学意义( $P=0.047$ ), 并且 CTCs 阳性患者更易进展( $P>0.05$ )<sup>[33]</sup>。一项纳入局部晚期鼻咽癌患者的研究结果显示,CTCs 阳性患者和阴性患者的 2 年 OS 率分别为 83.26% 和 91.23%, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 治疗后 CTCs 水平变化与转移复发率相关, 随访期间 CTCs 阴性患者的转移复发率均明显低于阳性患者, 2 年转移率分别为 9.09% 和 50.00%, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )<sup>[35]</sup>。因此, 随访监测患者 CTCs 的变化, 有助于及时发现疾病的进展和转移。吴君心等<sup>[42]</sup>通过对鼻咽癌患者外周血中单个核细胞进行不同的抗体标记来监测 CTCs, 结果显示 CTCs 阴性患者的 OS 长于阳性患者, 3 年 OS 率分别为 100.0% 和 85.7%, 但差异无统计学意义( $P=0.067$ ), 而 CTCs 阳性患者的 PFS 较阴性患者显著缩短, 3 年 PFS 率分别为 73.7% 和 92.9% ( $P=0.029$ ), 虽然暂不能得出 CTCs 阳性鼻咽癌患者 OS 较阴性患者更短的结论, 但与前面几项研究一样, 可认为 CTCs 阳性鼻咽癌患者的 PFS 更短。因此, 无论转移性还是非转移性鼻咽癌, CTCs 阳性患者更易出现疾病进展, 如随访期间仍未转阴, 可能提示预后不良, 应高度怀疑肿瘤转移的可能性。而 CTCs 是否与 OS 相关, 目前多数研究均得出了肯定的结果。曾伟华等<sup>[35]</sup>研究表明, 局部晚期鼻咽癌 CTCs 阴性患者 2 年 OS 率高于阳性患者, 但 Qian 等<sup>[41]</sup>认为, 暂不能确定局部晚期鼻咽癌患者不同 CTCs 基线值与 2 年 OS 率有关, 这可能是由于两项研究的治疗方法、CTCs 检测技术等多方面因素不同导致。

**2.4 CTCs 与 EBV-DNA 的关系** 对于初治鼻咽癌患者, 肿瘤分期越晚, 血浆 EBV-DNA 拷贝数越高, 则复发、转移风险越大, 预后越差。疗效监测方面, 鼻咽癌放疗患者血浆 EBV-DNA 水平较治疗前显著下降<sup>[43]</sup>。越来越多的研究显示, 血浆 EBV-DNA 检测在鼻咽癌早期诊断和筛查、肿瘤复发和转移诊断、预后判断方面有着重要价值<sup>[44]</sup>。因此, 目前临床上主要通过血清 EBV-DNA 在治疗前及治疗过程中的动态变化及治疗后随访监测对鼻咽癌患者进行综合评估。而 CTCs 作为一种新型血液标志物, 其效果是否优于 EBV-DNA, 或两者联合检测的灵敏度和特异度更高, 有学者对此进行了相关研究。

在非转移性鼻咽癌患者中, EBV-DNA 阳性患

者治疗前 CTCs 计数明显高于阴性患者<sup>[37-38]</sup>, 治疗前 CTCs 计数与血浆 EBV-DNA 水平呈正相关<sup>[30, 39]</sup>, 但在疗效监测及预后方面, EBV-DNA 水平与短期放射反应及 OS 的相关性远远强于潜在或典型的 CTCs 计数<sup>[39]</sup>。在转移性鼻咽癌中, CTCs 具有更高的特异性, 但灵敏度不如 EBV-DNA, 一线化疗后 CTCs  $\geq 1$  个/7.5 mL 和 EBV-DNA  $\geq 4000$  拷贝/mL 都是 PFS 和 OS 的危险因素。因此, CTCs 与 EBV-DNA 联合检测可提高特异度和灵敏度, 确定哪些患者符合治疗间歇期条件, 哪些患者需要恢复或继续治疗<sup>[30]</sup>。CTCs 及 EBV-DNA 均来自肿瘤病灶, 二者具有正相关性。在非转移性鼻咽癌的辅助诊断、疗效检测及预后评估方面, EBV-DNA 似乎更优于 CTCs, 以上研究中 CTCs 检测灵敏度较低, 其检测技术仍有待提高。而在转移性鼻咽癌中, CTCs 检测阳性率低, 但特异度高。CTCs 和 EBV-DNA 联合检测有利于发现鼻咽癌在病程中的转移。

### 3 问题与展望

肿瘤细胞脱落后进入血液循环, 通过复杂的机制存活于血液中, 是实现肿瘤转移的途径之一。因此, CTCs 具有重要的临床意义, 但目前其临床应用仍存在以下问题: ①为提高 CTCs 检测的灵敏度和特异度, 其富集与鉴定技术有待提高; ②CTCs 阳性标准有待进一步确定, 阴性结果中仍可能存在发生播散的阳性细胞; ③CTCs 监测的间隔时间等。

随着近年来 CTCs 富集与鉴定技术的不断提高, 其临床价值日见凸显。作为一种微创动态监测检验方法, CTCs 在鼻咽癌早期诊断、转移监测、预后评估等方面的重要作用已得到证实。目前, CTCs 的检测技术多样, 但水平参差不齐, 可比性不强, 且关于 CTCs 在鼻咽癌中的研究样本量均较小, 而 CTCs 在疗效监测方面的研究结果存在差异。因此, 要将 CTCs 检测广泛应用于鼻咽癌的临床实践, 仍然任重道远。

目前, 大部分研究集中于 CTCs 的数量, 但也有学者开始研究 CTCs 的蛋白表达与鼻咽癌的相关性, 并发现 CTCs 中环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 的表达与鼻咽癌的临床特征及 EBV-DNA 有关, COX-2 表达阳性的间充质 CTCs 减少, 患者疗效更好<sup>[37]</sup>。由于 CTCs 的异质性, 探索其分子表型将成为研究的难点与热点。期待不久的将来 CTCs 检测技术能够进一步完善, 使其在肿瘤个性化治疗及

耐药性预测方面大放光彩。

### 参考文献

- [1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359–E386. DOI: 10.1002/ijc.29210.
- [2] 付振涛, 郭晓雷, 张思维, 等. 2014 年中国鼻咽癌发病与死亡分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2018, 40(8): 566–571. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2018.08.002.
- [3] 许可葵, 王静, 廖先珍, 等. 2015 年湖南省肿瘤登记地区恶性肿瘤的发病与死亡分析[J]. *中国肿瘤*, 2019, 28(4): 271–280. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.04.A006.
- [4] JIANG S S, DENG B, FENG Y G, et al. Circulating tumor cells prior to initial treatment is an important prognostic factor of survival in non-small cell lung cancer: a meta-analysis and system review [J]. *BMC Pulm Med*, 2019, 19(1): 262. DOI: 10.1186/s12890-019-1029-x.
- [5] BIDARD F C, MICHELIS S, RIETHDORF S, et al. Circulating tumor cells in breast cancer patients treated by neoadjuvant chemotherapy: a meta-analysis [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110(6): 560–567. DOI: 10.1093/jnci/djy018.
- [6] TAN Y, WU H. The significant prognostic value of circulating tumor cells in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Curr Probl Cancer*, 2018, 42(1): 95–106. DOI: 10.1016/j.cupr.2017.11.002.
- [7] ZOU K, YANG S, ZHENG L, et al. Prognostic role of the circulating tumor cells detected by cytological methods in gastric cancer: a meta-analysis [J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 2765464. DOI: 10.1155/2016/2765464.
- [8] ZHENG Y, ZHANG C, WU J, et al. Prognostic value of circulating tumor cells in castration resistant prostate cancer: a meta-analysis [J]. *Urol J*, 2016, 13(6): 2881–2888.
- [9] XU H T, MIAO J, LIU J W, et al. Prognostic value of circulating tumor cells in esophageal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(7): 1310–1318. DOI: 10.3748/wjg.v23.i7.1310.
- [10] STRILIC B, OFFERMANN S. Intravascular survival and extravasation of tumor cells [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(3): 282–293. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.07.001.
- [11] ALLARD W J, MATERA J, MILLER M C, 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. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0378.
- [12] CROSS S E, JIN Y S, RAO J Y, et al. Nanomechanical analysis of cells from cancer patients [J]. *Nat Nanotechnol*, 2007, 2(12): 780–783. DOI: 10.1038/nnano.2007.388.
- [13] DOBRZYŃSKA I, SKRZYDLEWSKA E, FIGASZEWSKI Z A. Effects of novel dinuclear cisplatin(II) complexes on the electric properties of human breast cancer cells [J]. *J Membr Biol*, 2014, 247(2): 167–173. DOI: 10.1007/s00232-013-9620-1.
- [14] GLOUSHANKOVA N A, ZHITNYAK I Y, RUBTSOVA S N. Role of epithelial-mesenchymal transition in tumor progression [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2018, 83(12): 1469–1476. DOI: 10.1134/s0006297918120052.
- [15] GONG C, LIU B, YAO Y, et al. Potentiated DNA damage response in circulating breast tumor cells confers resistance to chemotherapy [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(24): 14811–14825. DOI: 10.1074/jbc.m115.652628.
- [16] BANKÓ P, LEE S Y, NAGYGYÖRGY V, et al. Technologies for circulating tumor cell separation from whole blood [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 48. DOI: 10.1186/s13045-019-0735-4.
- [17] HEYMANN D, TÉLLEZ-GABRIEL M. Circulating tumor cells: the importance of single cell analysis [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1068: 45–58. DOI: 10.1007/978-981-13-0502-3\_5.
- [18] FARACE F, MASSARD C, VIMOND N, et al. A direct comparison of CellSearch and ISET for circulating tumour-cell detection in patients with metastatic carcinomas [J]. *Br J Cancer*, 2011, 105(6): 847–853. DOI: 10.1038/bjc.2011.294.
- [19] ZHANG Y, WANG F, NING N, et al. Patterns of circulating tumor cells identified by CEP8, CK and CD45 in pancreatic cancer [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): 1228–1233. DOI: 10.1002/ijc.29070.
- [20] JIANG W F, ZHANG H L. Enrichment and detection of circulating tumor cells in peripheral blood [J]. *Chin -Ger J Clin Oncol*, 2011, 10(4): 240–244. DOI: 10.1007/s10330-011-0768-9.
- [21] NEGIN B P, COHEN S J. Circulating tumor cells in colorectal cancer: past, present, and future challenges [J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2010, 11(1/2): 1–13. DOI: 10.1007/s11864-010-0115-3.
- [22] LU N N, XIE M, WANG J, et al. Biotin-triggered decomposable immunomagnetic beads for capture and release of circulating tumor cells [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(16): 8817–8826. DOI: 10.1021/acsami.5b01397.
- [23] MILLER M C, ROBINSON P S, WAGNER C, et al. The Parsortix™ Cell Separation System—A versatile liquid biopsy platform [J]. *Cytometry A*, 2018, 93(12): 1234–1239. DOI: 10.1002/cyto.a.23571.
- [24] 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. DOI: 10.1016/s0002-9440(10)64706-2.
- [25] NAGRATH S, SEQUIST L V, MAHESWARAN S, et al. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology [J]. *Nature*, 2007, 450(7173): 1235–1239. DOI: 10.1038/nature06385.
- [26] STOTT S L, HSU C H, TSUKROV D I, et al. Isolation of circulating tumor cells using a microvortex-generating herringbone-chip [J]. *PNAS*, 2010, 107(43): 18392–18397. DOI: 10.1073/pnas.1012539107.
- [27] PARK M H, REÁTEGUI E, LI W, et al. Enhanced isolation and release of circulating tumor cells using nanoparticle binding and ligand exchange in a microfluidic chip [J]. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(7): 2741–2749. DOI: 10.1021/jacs.6b12236.
- [28] 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. DOI: 10.3892/ijo.2012.1557.
- [29] LI F, LIU J, SONG D, et al. Circulating tumor cells in the blood of poorly differentiated nasal squamous cell carcinoma patients: correlation with treatment response [J]. *Acta Otolaryngol*

- yngol, 2016, 136(11): 1164–1167. DOI: 10.1080/00016489.2016.1201861.
- [30] YOU R, LIU Y P, LIN M, et al. Relationship of circulating tumor cells and Epstein - Barr virus DNA to progression-free survival and overall survival in metastatic nasopharyngeal carcinoma patients [J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(10): 2873–2883. DOI: 10.1002/ijc.32380.
- [31] HE C Y, HUANG X J, SU X, et al. The association between circulating tumor cells and Epstein-Barr virus activation in patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Biol Ther*, 2017, 18(11): 888–894. DOI: 10.1080/15384047.2017.1281493.
- [32] 毛燕娇, 徐剑锋, 尹伟. 外周血循环肿瘤细胞在 49 例鼻咽癌中表达 [J]. *肿瘤学杂志*, 2019, 25(2): 97–101. DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.02.B005.
- [33] CHEN Z, XU L, XU X, et al. The clinical value of detecting circulating tumour cells in the peripheral blood of nasopharyngeal carcinoma patients [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5): 6283–6290. DOI: 10.3892/ol.2018.8155.
- [34] 刘枝祥. 循环肿瘤细胞计数在常见实体肿瘤的意义 [D]. 广州: 广州医科大学, 2018.
- [35] 曾伟华, 李微旋, 邹国荣, 等. 外周血循环肿瘤细胞及其变化在局部晚期鼻咽癌疗效判断及预后预测中的作用 [J]. *中国医学创新*, 2019, 16(32): 134–138. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4985.2019.32.035.
- [36] AU K H, NGAN R K C, NG A W Y, et al. Treatment outcomes of nasopharyngeal carcinoma in modern era after intensity modulated radiotherapy (IMRT) in Hong Kong: a report of 3328 patients (HKNPCSG 1301 study) [J]. *Oral Oncol*, 2018, 77: 16–21. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2017.12.004.
- [37] XIE X Q, LUO Y, MA X L, et al. Clinical significance of circulating tumor cells and their expression of cyclooxygenase-2 in patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(16): 6951–6961. DOI: 10.26355/eur-rev\_201908\_18735.
- [38] WEN Z, LI Z, YONG P, et al. Detection and clinical significance of circulating tumor cells in patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(3): 2537–2547. DOI: 10.3892/ol.2019.10560.
- [39] VO J H, NEI W L, HU M, et al. Comparison of circulating tumor cells and circulating cell-free Epstein-Barr virus DNA in patients with nasopharyngeal carcinoma undergoing radiotherapy [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 13. DOI: 10.1038/s41598-016-0006-3.
- [40] ZHANG J, SHI H S, JIANG T T, et al. Circulating tumor cells with karyotyping as a novel biomarker for diagnosis and treatment of nasopharyngeal carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 1133. DOI: 10.1186/s12885-018-5034-x.
- [41] QIAN Y, WU Y, YUAN Z, et al. The frequency of circulating tumour cells and the correlation with the clinical response to standard chemoradiotherapy in locally advanced nasopharyngeal carcinoma: a prospective study [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 10187–10193. DOI: 10.2147/cmar.s222916.
- [42] 吴君心, 贺俊彦, 杜开新, 等. 鼻咽癌患者外周血循环肿瘤细胞的检测及其与预后的相关性 [J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(7): 1035–1039. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2017.07.010.
- [43] AL-KHOLY A F, ABDULLAH O A, ABADIER M Z, et al. Pre-treatment serum inflammatory cytokines as survival predictors of patients with nasopharyngeal carcinoma receiving chemoradiotherapy [J]. *Mol Clin Oncol*, 2016, 5(6): 811–816. DOI: 10.3892/mco.2016.1041.
- [44] 李金高, 林少俊, 陈晓钟. 血浆 EBV DNA 检测在鼻咽癌诊疗中的研究新进展 [J]. *中国肿瘤临床*, 2018, 45(10): 487–491. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2018.10.172.
- 收稿日期: 2020-03-19 校稿: 李征 董珊珊
- 本文引用格式:** 彭丽娟, 曾勇, 王晖. 循环肿瘤细胞在鼻咽癌中的研究进展 [J]. *肿瘤药学*, 2022, 12(2): 154–160. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.02.03.
- Cite this article as:** PENG Lijuan, ZENG Yong, WANG Hui. Research development of circulating tumor cells in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2022, 12(2): 154–160. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.02.03.