循环肿瘤细胞与Ⅰ~ⅡA期宫颈癌临床病理参数的相关性

温月凤，曾丽斯，黄文瑾，彭海花，周同冲，林晓丹
（广州医科大学附属肿瘤医院，广东 广州 510000）

摘　要：[目的] 分析Ⅰ~Ⅱ宫颈癌患者外周血循环肿瘤细胞的表达与其临床病理参数相关性。[方法] 以莱尔生物循环肿瘤细胞检测技术检测69例初治Ⅰ~ⅡA期宫颈癌和20例正常人中循环肿瘤细胞的表达情况，并与Ⅰ~ⅡA期宫颈癌临床病理参数做相关分析。[结果] Ⅰ~ⅡA期宫颈癌和正常人中循环肿瘤细胞阳性率分别为47.8%和0（P<0.05）。在SCC≤1.5ng/ml和SCC>1.5ng/ml组中，循环肿瘤细胞阳性率分别为33.3%和59.0%（P=0.035）；在无盆腔淋巴结转移和有盆腔淋巴结转移组中，循环肿瘤细胞阳性率分别为39.2%和72.2%（P=0.035）；在无淋巴血管间隙受侵和有淋巴血管间隙受侵组中，循环肿瘤细胞阳性率分别为41.8%和71.4%（P=0.048）。在不同的年龄、病理类型和分期以及是否有宫旁浸润和深肌层浸润的各组中，循环肿瘤细胞表达差异均无统计学意义（P>0.05）。[结论] 循环肿瘤细胞与Ⅰ~ⅡA期宫颈癌盆腔淋巴结转移、淋巴血管间隙受侵和SCC密切相关，可用于评估Ⅰ~ⅡA期宫颈癌的病情。

主题词：循环肿瘤细胞；宫颈癌；临床病理参数
中图分类号：R737.33　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1671-170X(2018)03-0247-03
doi：10.11735/j.issn.1671-170X.2018.03.B014

Correlation of Circulating Tumor Cells with Clinicopathological Parameters in Patients with Stage Ⅰ~ⅡA Cervical Carcinoma

WEN Yue-feng，ZENG Li-si，HUANG Wen-Jin，et al.
（*Affiliated Cancer Hospital & Institute of Guangzhou Medical University，Guangzhou* 510000，*China*）

Abstract：[Objective] To investigate correlation of circulating tumor cells (CTCs) expression with clinicopathological parameters in stage Ⅰ~ⅡA cervical carcinoma patients，and explore its clinical significance. [Methods] A total of 69 stage Ⅰ~ⅡA cervical carcinoma patients and 20 healthy people were evaluated by CyttelBio CTC detection technology for detecting CTCs，and the correlation of CTCs with patients' clinicopathological parameters was also analyzed.[Results] The positive rate of CTCs in patients with stage Ⅰ~ⅡA cervical carcinoma and the healthy people was 47.8% and 0，respectively，and the difference was statistically significant(P<0.05). In patients with SCC≤1.5ng/ml and SCC>1.5ng/ml，the positive rate of CTCs were 33.3% and 59.0%，respectively(P=0.035). The positive rate of CTCs in patients with negative and positive pelviclymph node metastasis were 39.2% and 72.2%，respectively (P=0.035)，the positive rate of CTCs in patients with negative and positive lymphovascular involvement were 41.8% and 71.4%，respectively (P=0.048). In patients with different age，histological type，stage，parametrialextension or deepstromalinvation，CTCs expression had no significant difference (P>0.05). [Conclusion] CTCs are closely related with stage Ⅰ~ⅡA cervical carcinoma's pelviclymph node metastasis，lymphovascular involvement and SCC level，and can be used to evaluate stage Ⅰ~ⅡA cervical carcinoma.
Subject words：circulating tumor cells；cervical carcinoma；clinicopathological parameters

循环肿瘤细胞（circulating tumor cells，CTCs）是一种从肿瘤原发灶或转移灶脱落经周围血管进入血液循环系统的肿瘤细胞[1]。它是肿瘤转移过程中原发灶和转移灶之间的重要枢纽，扮演着诱导转移瘤形成的角色，并保留与原发肿瘤相似的生物学特性[2,3]。研究循环肿瘤细胞可以更进一步明确原发灶的相关特性，以期制订更有效的个体化治疗方案。Cristofanilli等[4]报道每7.5毫升血液中含有≥5个

基金项目：广州市医学重点学科建设项目（2017-2019年）
通讯作者：林晓丹，科主任，主任医师，学士；广州医科大学附属肿瘤医院放疗科，广东省广州市越秀区横枝岗路78号（510000）；E-mail:lxdllbllzc@126.com
收稿日期：2017-06-30；**修回日期**：2017-08-16

循环肿瘤细胞为转移性乳腺癌的不良预后因素,此外,文献报道循环肿瘤细胞与肺癌[2-5]、结直肠癌[6,7]、胰腺癌[8]、前列腺癌[9,10]等实体肿瘤的疾病进展及不良预后相关。本研究旨在分析Ⅰ~ⅡA期宫颈癌患者外周血循环肿瘤细胞与其临床病理参数的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集从2011年11月11日至2016年11月23日在广州医科大学附属肿瘤医院手术初治的69例国际妇产科联盟(international federation of gynecology and obstetrics,FIGO)分期Ⅰ~ⅡA期宫颈癌(术前宫颈活检病理和术后病理确诊)患者,经各项辅助检查排除合并其他肿瘤。其中,≤45岁13例,>45岁56例,中位年龄50岁;Ⅰ期29例,ⅡA期40例;病理类型:鳞癌57例,腺癌9例,其他3例;手术方式:69例患者均行子宫广泛切除术加盆腔淋巴结清扫术。另纳入20例正常人作为对照组,中位年龄45岁。所有研究对象均知情并签署知情同意书。

1.2 循环肿瘤细胞检测方法

应用莱尔生物公司imFISH技术检测外周血循环肿瘤细胞[11]。采用真空采血管采集3.2ml静脉血于ACD抗凝管中,采血48h之内去除血浆,采用裂解液去除红细胞,磁珠孵育混匀去除白细胞,然后使用分离液分离富集肿瘤细胞。应用CD45抗体进行细胞免疫荧光检测,8号着丝粒探针进行荧光原位杂交。在荧光显微镜下进行细胞计数,二倍体信号或CD45阳性为正常细胞,大于等于3倍体信号且DAPI阳性,CD45阴性为异常细胞,大于等于2个异常细胞即为循环肿瘤细胞阳性。

1.3 血清鳞状上皮细胞癌抗原(SCC)检测方法

采用真空采血管采集静脉血液5ml,采用电化学发光法测定治疗前患者血清中SCC浓度,参考值为1.5ng/ml,检测所用仪器、试剂均由德国罗氏公司提供。

1.4 统计学处理

应用SPSS 20.0软件进行统计分析。采用χ^2检验对CTCs在不同因素组的表达情况进行比较。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 宫颈癌与正常人中循环肿瘤细胞的表达差异

Ⅰ~ⅡA期宫颈癌患者中循环肿瘤细胞阳性率为47.8%,而正常人中循环肿瘤细胞阳性率为0,两组比较差异有统计学意义(χ^2=15.202,P<0.05)。

2.2 循环肿瘤细胞与宫颈癌临床病理特征的相关性

在不同的年龄、病理类型和分期的中,循环肿瘤细胞表达差异均无统计学意义 (P>0.05)。按照SCC的正常值上限1.5ng/ml将患者分为SCC≤1.5和

Table 1 Relationship between circulating tumor cells and clinicopathological parameters in early cervical carcinoma patients

Parameters	N	CTC-positive	CTC positive rate(%)	χ^2	P
Age(years)				0.563	0.453
≤45	13	5	38.5		
>45	56	28	50.0		
Pathology type				0.332	0.847
Squamous cell carcinoma	57	28	49.1		
Adenocarcinoma	9	4	44.4		
Others	3	1	33.3		
FIGO stage				3.569	0.059
Ⅰ	29	10	34.5		
Ⅱ	40	23	57.5		
SCC(ng/ml)				4.468	0.035
≤1.5	30	10	33.3		
>1.5	39	23	59.0		
Pelviclymphnode metastasis				5.809	0.016
−	51	20	39.2		
+	18	13	72.2		
Lymphovascular involvement				3.921	0.048
−	55	23	41.8		
+	14	10	71.4		
Deepstromal invation				1.045	0.307
−	46	20	43.5		
+	23	13	56.5		
Parametrial extension				0.028	0.868
−	57	27	47.4		
+	12	6	50.0		

SCC>1.5 组，两组的循环肿瘤细胞阳性率分别为33.3%和59.0%(P=0.035)；在无盆腔淋巴结转移和有盆腔淋巴结转移组中，循环肿瘤细胞阳性率分别为39.2%和72.2%(P=0.035)；在无淋巴血管间隙受侵和有淋巴血管间隙受侵组中，循环肿瘤细胞阳性率分别为41.8%和71.4%(P=0.048)；在有无宫旁浸润、深肌层浸润的各组中，循环肿瘤细胞表达差异无统计学意义(P>0.05)(Table 1)。

3 讨 论

循环肿瘤细胞作为一种新兴的分子标志物，对肿瘤的早期诊断、疗效评价、预后评估、个体化治疗等具有积极的临床指导意义[12]。此外，由于循环肿瘤细胞为非侵入性检测手段，取样便捷，可实现实时动态监测，并用于指导靶向药物治疗，被称为“液体活检”[13]。

本研究结果显示，循环肿瘤细胞的表达与SCC、盆腔淋巴结转移和淋巴血管间隙受侵之间存在相关性。SCC是宫颈鳞状细胞癌的血清肿瘤标志物。治疗前血清SCC水平与宫颈鳞癌的分期、盆腔淋巴结转移及对放化疗的敏感性相关，并可用于监测宫颈癌的复发和转移[14,15]。循环肿瘤细胞和SCC相关，提示循环肿瘤细胞与宫颈癌的病程进展密切相关，监测循环肿瘤细胞有助于宫颈癌的诊断、疗效评价及预后评估。我们推测肿瘤细胞可能通过侵入淋巴管、血管、淋巴血管间隙的途径进入外周血，而使循环肿瘤细胞表达呈阳性。而宫旁浸润、深肌层浸润者可能为肿瘤细胞直接侵袭深肌层、浸润周围间质组织，但肿瘤细胞未侵入淋巴管、血管而未进入外周血循环。据报道，在早期乳腺癌患者中，每30毫升血液中含有≥5个循环肿瘤细胞提示预后不良[4]。当非转移性结直肠癌患者外周血循环肿瘤细胞的数量≥1个/7.5ml血液时，提示发生复发、转移的风险更大，预后更差[16]。术后病理提示盆腔淋巴结转移、淋巴血管间隙受侵者具有复发、转移的高风险，临床上建议行辅助放疗、化疗，而循环肿瘤细胞与盆腔淋巴结转移、淋巴血管间隙受侵相关，由此推测循环肿瘤细胞阳性的宫颈癌患者具有更高的远处转移风险。对于这部分病人，建议进一步完善相关检查排除转移的可能性，并考虑加强化疗的强度。

综上所述，循环肿瘤细胞与Ⅰ~ⅡA期宫颈癌盆腔淋巴结转移、淋巴血管间隙受侵和SCC密切相关，检测循环肿瘤细胞的表达水平，有助于早期诊断宫颈癌的微转移，评估病情，为指导临床治疗提供依据。

参考文献：

[1] Pantel K, Brakenhoff RH. Dissecting the metastatic cascade[J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(6): 448–456.

[2] Hou JM, Krebs MG, Lancashire L, et al. Clinical significance and molecular characteristics of circulating tumor cells and circulating tumor microemboli in patients with small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(5): 525–532.

[3] Alix-Panabieres C, Pantel K. Liquid biopsy in cancer patients: advances in capturing viable CTCs for functional studies using the EPISPOT assay [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2015, 15(11): 1411–1417.

[4] Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer[J]. N Engl J Med, 2004, 351(8): 781–791.

[5] Sawabata N. Cluster circulating tumor cell is crucial in surgically resected lung cancer [J]. J Thorac Oncol, 2017, 12(2): e18–e19.

[6] Lalmahomed ZS, Mostert B, Onstenk W, et al. Prognostic value of circulating tumour cells for early recurrence after resection of colorectal liver metastases [J]. Br J Cancer, 2015, 112(3): 556–561.

[7] Tsai WS, Chen JS, Shao HJ, et al. Circulating tumor cell count correlates with colorectal neoplasm progression and is a prognostic marker for distant metastasis in non-metastatic patients[J]. Sci Rep, 2016, 6: 24517.

[8] Han L, Chen W, Zhao Q. Prognostic value of circulating tumor cells in patients with pancreatic cancer: a meta-analysis[J]. Tumour Biol, 2014, 35(3): 2473–2480.

[9] Danila DC, Samoila A, Patel C, et al. Clinical validity of detecting circulating tumor cells by adnatest assay compared with direct detection of tumor mrna in stabilized whole blood, as a biomarker predicting overall survival for metastatic castration-resistant prostate cancer patients [J]. Cancer J, 2016, 22(5): 315–320.

[10] Liu W, Yin B, Wang X, et al. Circulating tumor cells in prostate cancer: precision diagnosis and therapy [J]. Oncol Lett, 2017, 14(2): 1223–1232.

[11] Chen YY, Xu GB. Effect of circulating tumor cells combined with negative enrichment and CD45-FISH identification in diagnosis, therapy monitoring and prognosis of primary lung cancer[J]. Med Oncol, 2014, 31(12): 240.

[12] King JD, Casavant BP, Lang JM. Rapid translation of circulating tumor cell biomarkers into clinical practice: technology development, clinical needs and regulatory requirements[J]. Lab Chip, 2014, 14(1): 24–31.

[13] Alix-Panabieres C, Pantel K. Clinical applications of circulating tumor cells and circulating tumor DNA as liquid biopsy[J]. Cancer Discov, 2016, 6(5): 479–491.

[14] Li X, Zhou J, Huang K, et al. The predictive value of serum squamous cell carcinoma antigen in patients with cervical cancer who receive neoadjuvant chemotherapy followed by radical surgery: a single-institute study [J]. PLoS One, 2015, 10(4): e122361.

[15] Oh J, Lee HJ, Lee TS, et al. Clinical value of routine serum squamous cell carcinoma antigen in follow-up of patients with locally advanced cervical cancer treated with radiation or chemoradiation [J]. Obstet Gynecol Sci, 2016, 59(4): 269–278.

[16] Bork U, Rahbari NN, Scholch S, et al. Circulating tumour cells and outcome in non-metastatic colorectal cancer: a prospective study[J]. Br J Cancer, 2015, 112(8): 1306–1313.