

循环肿瘤细胞在原发性肝癌中的研究进展

田 珊^{1,2}, 徐笑红²

(1. 温州医科大学检验医学与生命科学学院, 浙江 温州 325006; 2. 浙江省肿瘤医院, 中国科学院基础医学与肿瘤研究所, 浙江 杭州 310022)

摘要:原发性肝癌是消化系统常见的恶性肿瘤,发病率和死亡率较高,早期诊断及有效治疗是延长患者生存期的关键。循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)是存在于外周血中各类肿瘤细胞的统称,在肿瘤的转移过程中起关键作用。外周血液 CTC 检测可作为一种新的手段,对肿瘤诊断、疗效评估和复发转移的监测进行有效补充。近年来随着 PD-1/PD-L1 免疫治疗的迅速发展,很多研究都已明确了 CTC 中 PD-1/PD-L1 表达在肿瘤诊断及预后中的重要价值。全文结合近期相关研究和临床试验的报道,就 CTC 在原发性肝癌中的研究进展作一综述。

关键词:原发性肝癌;循环肿瘤细胞;转移;诊断;预后

中图分类号:R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2023)04-0329-06

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2023.04.B012

Research Progress of Circulating Tumor Cell in Primary Liver Cancer

TIAN Shan^{1,2}, XU Xiao-hong²

(1. School of Laboratory Medicine and Life Science, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325006, China; 2. Zhejiang Cancer Hospital, Institute of Basic Medicine and Cancer (IBMC), Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310022, China)

Abstract: Primary liver cancer is a common malignant tumor of the digestive system, with high morbidity and mortality. Early diagnosis and effective treatment are the key to prolong the survival of patients. Circulating tumor cells (CTCs) are tumor cells present in peripheral blood and play a key role in the metastasis of tumors. The detection of CTCs in peripheral blood can be used in diagnosis, treatment efficacy assessment and metastasis monitoring of malignant tumors. More recently, studies have shown that the detection of PD-1/PD-L1 is of significant value for immune checkpoint therapy. The research progress of CTC in primary liver cancer based on relevant studies and clinical trials are reviewed in this paper.

Subject words: primary hepatic carcinoma; circulating tumor cell; metastasis; diagnosis; prognosis

原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC),以下简称肝癌,是我国发病率第4位、死亡率第3位的消化道恶性肿瘤^[1-2]。目前治疗肝癌的方式主要有介入、手术、射频消融、放化疗及免疫治疗等^[3],以手术切除最为有效,也是肝癌患者获得长期生存最重要的治疗手段^[4]。但临床上肝癌发现时大多已中晚期,疗效差^[5]。肝癌临床诊断主要依赖于血清学、影像学、病理学等方法,但对于早期诊断缺乏一定的敏感性。甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是一种糖蛋白,主要由胎儿肝脏和卵黄囊合成分泌,胎儿出生后

不久血液循环中 AFP 浓度即降低。AFP 是肝癌早期筛查的主要指标之一,建议高危人群每隔 6 个月进行一次肝脏超声及 AFP 检查^[6]。对于转移性肝癌,传统的影像学如超声、CT 和 MRI 仅能够检测到 1 cm 甚至更大的肿瘤转移灶^[7];PET/CT 在肝癌转移方面虽然优于其他影像学,但其价格昂贵,对肿瘤的大小也有一定的要求。因此,寻找更灵敏、更有效的生物标志物应用于肝癌的早期筛查、疗效监测及预后评价具有重要意义。循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)是因自发脱落或诊疗操作等因素从病灶组织中释放进入外周血循环的所有肿瘤细胞的统称^[8],是肿瘤转移灶形成的直接因素。与常规的影像学检查及病理检查比较,CTC 具有早期、高效、取材

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2021KY553)

通信作者:徐笑红, E-mail: zjhxxh@163.com

收稿日期:2022-12-09; **修回日期:**2023-01-05

方便、可反复检测等优点,且 CTC 技术相对于传统的肿瘤标志物检查可以更快地反映出病变的变化。近年来许多研究^[9-11]都已证实:CTC 可应用于临床对肿瘤患者进行辅助诊断及疗效监测。CTC 检测已进入国内外指南,不断细化指导原则。2010 年,美国癌症联合委员会(AJCC)在《肿瘤分期指南》第 7 版中首次将 CTC 列入 TNM 分期系统。2017 年,乳腺癌 NCCN 指南 2017.V3 版将 CTC 列入 TNM 分期系统,再次肯定 CTC 完善肿瘤分期系统的重要意义。2019 年,CTC 进入乳腺癌 CSCO 指南,明确指出 CTC 不仅可以对疾病动态监测,还可以判断预后。2022 年,CTC 作为肝癌的新型标志物写入原发性肝癌 CSCO 指南中,CTC 检测作为一种肝癌疗效评估和预后监测的新工具。本文就 CTC 在原发性肝癌中的早期诊断、疗效判断、预后评估及其在 PD-1/PD-L1 免疫治疗中的研究进展作一综述。

1 CTC 的特征和检测方法

CTC 是澳大利亚病理学家 Thomas Ashworth 于 1869 年在 1 例死于癌症的患者血管中发现并首次提出。大多数 CTC 会出现凋亡或被吞噬,极少能存活在血液循环当中,外周血中 CTC 含量极少^[12]。CTC 的检测技术要求很高,富集的效能及细胞的活性是关键。CTC 有异质性、稀有性、非典型性的特点。从安全有效的角度考量,目前以体外检测为主,体外检测方法包括:根据细胞大小方法有过滤和密度梯度离心,根据免疫亲和力方法有免疫磁珠分离、微流控纳米芯片等^[13]。基于上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)的 CellSearch 系统,是美国强生的子公司 Veridex 开发的获得 FDA (2004 年)认可的经典 CTC 临床诊断体系^[14]。CTC 富集技术的优劣取决于捕获和回收效率的高低以及细胞活性的好坏。利用逆转录多聚酶链式反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)和二代测序技术(next-generation sequencing, NGS)等进行核酸分子层面分析,可提高 CTC 富集技术的灵敏度。基于 CTC 的不同上皮类型,可分为上皮型循环肿瘤细胞(epithelial circulating tumor cell, E-CTC)、间质型循环肿瘤细胞(mesenchymal circulating tumor cell, M-CTC)和混合型循环肿瘤细胞

(hybrid circulating tumor cell, H-CTC)。CTC 实时检测的优点为肿瘤治疗复发转移动态监测提供了更有价值的工具^[15-16]。已证实 CTC 可作为癌症辅助诊断、预后和复发风险评估、治疗方案筛选以及监测肿瘤负荷等临床实用指标。

2 CTC 在原发性肝癌中的应用

2.1 CTC 在原发性肝癌中的诊断价值

由于肝癌的病因尚未完全阐明,患者预后主要取决于早期发现。因此,对肝癌高危人群进行筛查与监测,有利于肝癌的早发现、早诊断和早治疗^[17-18]。我国肝癌的高危人群主要包括有肝癌家族史、有乙型或丙型病毒性肝炎、过度饮酒、肝硬化表现等。肝癌的恶性程度高,极易出现复发和转移,其中最常见的转移途径为血行转移。CTC 是一种非侵入性的生物标志物,在原发性肝癌的诊断中有一定价值,CTC 是肝癌血行转移的中心环节。Cheng 等^[19]收集 176 例经 B 超诊断为肝占位性病变的患者(最终诊断为肝细胞癌 113 例)资料,采用 CanPatrolTM CTCs 检测技术,发现 CTC 在肝癌中的诊断效能优于 AFP,且两者联合检测可提高诊断的灵敏度与特异度。由于外周血中 CTC 含量极少,有研究指出,由美国强生公司开发的 CellSearch 系统作为目前检测 CTC 金标准,提高了检测的灵敏度^[20]。Yang 等^[21]研究表明,CTC 在肝癌患者的阳性率为 91.17%,且与肿瘤大小无关,在肝硬化组和健康对照组中均未检出。Guo 等^[22]在早期肝脏疾病和乙型肝炎病毒相关肝细胞癌的诊断研究中发现 CTC 在肝细胞癌的高灵敏度和高特异度。刘霞等^[23]收集 134 例原发性肝癌和 74 例肝脏良性疾病患者,采用免疫荧光杂交技术检测 CTC,结果显示原发性肝癌患者外周血 CTC 计数高于肝脏良性疾病患者($P < 0.05$)。上述研究提示 CTC 对肝癌的诊断有重要价值。

2.2 CTC 在原发性肝癌中的疗效判断价值

CTC 在临床应用的另一个重要领域是对抗肿瘤治疗的疗效监测,可作为影像学的补充,对患者的治疗效果做出相应判断。虽然很多肝癌患者在发病初期就被确诊并接受相应治疗,但其复发率依然很高^[24]。由于 CTC 在治疗前和治疗期间均有不同程度的改变,所以 CTC 可以作为治疗的监测手段,帮助临床

医师对疗效进行评价,并对治疗方案进行调整,药物或手术治疗后通过检测 CTC 的数量变化来预测治疗效果,及时调整治疗方案。Sun 等^[25]纳入 123 例接受根治性切除的肝癌患者,使用 CellSearch 系统检测 EpCAM 阳性 CTCs,认为术前 CTCs ≥ 2 可作为肝细胞癌术后复发的预测指标,尤其是在 AFP ≤ 400 ng/mL 患者或肿瘤复发风险低的患者中,治疗前 CTCs 数目多的患者复发率高。此外,Wang 等^[26]研究了 62 例行根治性肝切除的肝细胞癌患者,采用 CanPatrolTM 系统进行分析,发现复发组(26 例)的 CTCs 总数高于非复发组(36 例)。化疗的疗效评估一般都要等到治疗几个月或者几个周期之后进行,因为治疗一段时间后肿瘤的大小才有明显变化,但随着 CTCs 技术的成熟,动态监测 CTCs 数目的变化可以更及时地监测药物疗效。对于 CTCs 数目持续增长的患者,临床医生可根据检测结果及时调整治疗方案。Yan 等^[27]通过流式细胞仪检测 CTCs 数量,发现索拉非尼治疗能显著减少 CTCs 的数量,表明 CTCs 与疾病进展和治疗反应密切相关。CTC 的定量检测也可评估肿瘤治疗的有效性 & 安全性^[28]。

2.3 CTC 在原发性肝癌中的预后评估价值

对转移性肿瘤患者进行预后评估是目前 CTC 临床应用最广泛的领域。肝癌存在极大的异质性,当肿瘤细胞脱落通过外周循环系统进入靶器官微环境时,与微环境相互作用,使少量的 CTC 最终形成靶器官转移灶^[29]。原发性肝癌患者治疗前后 CTC 数目的变化对预后也有重要的提示价值。大量实验证明 CTC 的出现与晚期肝癌患者预后密切相关。肖晗等^[30]纳入 909 例原发性肝癌患者,研究显示,CTC 阴性患者的总生存期明显高于 CTC 阳性患者。CTC 表达越高患者术后复发率越高,可评估远处转移和复发^[31]。Liu 等^[32]指出 CTC 数量与肝癌患者预后有关,CTC 数量越多,肿瘤术后复发风险越大,生存率越低。Lei 等^[33]通过收集 160 例术前肝癌患者血液样本,利用富集技术和原位杂交技术检测 CTC,结果显示术后 CTC 水平与肝癌的复发有关($P=0.03$),且 CTC 的表达与 BCLC 分期、血管浸润、肿瘤大小和 HBV-DNA 均显著相关($P<0.05$)。Shen 等^[34]通过 CellSearch 技术对 97 例接受介入治疗的肝癌患者进行 CTC 检测,结果显示 EpCAM 阳性的 CTC 计数预示着患者治疗后生存期较差。CTC 作为一个比传统肿瘤标志

物监测原发性肝癌术后复发转移的更好指标具有重要意义^[23]。随着 CTC 捕获技术的成熟,临床医生可通过监测 CTC 判断患者病情,若患者在治疗后 CTC 数量持续增多,则提示原发病灶复发或转移的可能性大。CTC 作为一种简便的血样检查方法,可即时对患者的预后进行评估。

3 CTC 在 PD-1/PD-L1 免疫治疗中的应用

3.1 CTC PD-1/PD-L1 表达检测特征

PD-1 属于 B7-CD28 共刺激受体家族,是一种表达于肿瘤细胞表面的蛋白,又称 B7-H1 蛋白,它与 PD-L1 结合,启动 T 细胞程序性死亡,抑制 T 细胞活化、减少了相应细胞因子的产生及 T 细胞的存活,使肿瘤细胞获得免疫逃逸。阻断这一通路可重新激活 T 细胞,再次产生抗肿瘤免疫应答。PD-L1 单抗是通过破坏肿瘤细胞免疫逃逸的新型免疫治疗^[35]。PD-L1 常规病理检查有一定难度,其表达非常动态,在标本中分布不均;常规的 PD-L1 免疫组化检测方法由于其表达的异质性容易造成假阴性,且 PD-L1 表达非持续存在,易造成时间差异性^[36]。在我国,免疫组化检测由于染色技术及条件和病理评价标准尚未完全统一,染色的抗体多样,导致 PD-L1 检测的价值降低。来自中国科学院国家纳米科学中心的肿瘤捕手 CTC 伴随诊断(PD-L1)检测产品,采用多肽纳米磁珠分离与捕获技术,弥补了常规方法的不足之处。其中多肽纳米磁珠与血液混合,特异性吸附在 CTC 表面,而不与其他血细胞结合。该办法利用免疫荧光法进行特异性生物标志物(CK、CD45、DAPI 细胞核染色剂)检测,且测定外周血中 CTC 及 CTC 表面 PD-L1 的表达量,可用于 PD-1/PD-L1 抑制剂用药指导和疗效判读。其中 PD-L1 阳性 CTC 为 CK(细胞角蛋白)+、CD45(白细胞共同抗原)-、PD-L1+,PD-L1 阴性 CTC 为 CK(细胞角蛋白)+、CD45(白细胞共同抗原)-、PD-L1-。Xu 等^[37]对 155 例消化道恶性肿瘤进行数据分析,也进一步证明了 TUMORFISH 纳米技术的准确性,更有效的富集使患者达到最佳的治疗效果。PD-L1 阳性型 CTC 数目在总 CTC 中所占比例越高,PD-1/PD-L1 抑制剂的应答率越高。

3.2 CTC 在 PD-1/PD-L1 免疫治疗中的应用

近年来随着 PD-1/PD-L1 免疫治疗的迅速发展,很多研究都已显示了 CTC 中 PD-1/PD-L1 的表达在肿瘤诊断及预后中的重要价值。在 PD-1/PD-L1 抑制剂进行免疫治疗的过程中,动态监测 CTC 的 PD-L1 表达率,已成为目前重要的预测指标^[38]。Yue 等^[39]对 35 例晚期消化道肿瘤患者行 CTC PD-L1 检测,发现 PD-L1 高表达患者的疾病控制率(48%)远高于 PD-L1 低表达的患者(14%),表明在基线时 PD-L1 高表达 CTC 可作为 PD-1/PD-L1 免疫治疗的一种预测因子,且测量 CTC 的动态变化可以早期提示治疗反应。Nicolazzo 等^[40]研究表明,CTC 可用于动态检测 PD-L1 在临床早期及治疗过程中的变化,即 CTC 可联合 PD-1/PD-L1 检测。Bai 等^[41]研究表明用药前 PD-L1 高表达 CTC 可以用来预测 PD-1 药物的疗效。PD-L1 阳性 CTC 对肿瘤的免疫治疗反应具有一定的参考作用^[42]。相关研究^[43-44]也进一步证实了 CTC 的数量与预后具有显著相关性。经治疗后,若检测到患者体内 CTC 数量持续增多,则提示有肿瘤复发或转移的可能性^[45]。Tan 等^[46]通过对 155 例不同晚期癌症患者进行分析,发现 CTC 表面 PD-L1 水平可作为免疫治疗的标志物,其动态变化可预测治疗反应。目前我们的研究已前瞻性收集了 41 例使用 PD-1/PD-L1 免疫治疗的肝癌患者,采用多肽纳米磁珠分离与捕获技术检测 CTC,随访跟踪患者治疗后体内 CTC 的动态变化,以期进一步验证 CTC 中 PD-1/PD-L1 的表达在肝癌中的应用价值。

4 结语与展望

CTC 经历了一百多年的探索,已逐渐被认识并应用于肿瘤的临床诊疗中。CTC 检测技术是一种极有发展前景的无创诊断和疗效监测方法,目前的检测行业已经逐渐成熟。尽管现有的研究结果在进行临床应用时仍存在诸多困难,且需要大规模的前瞻性研究进行验证,但由于目前富集和鉴定手段的不断提高,使 CTC 分离越来越容易捕获,对 CTC 的特异度和灵敏度有很大的改善。早期诊断及疗效评估为患者制定精确化、个体化的治疗方案提供依据。随着液态活检和精准医学的不断发展,CTC 在其他肿瘤的诊疗、预后等方面也有了很大的进步,如乳腺

癌、结直肠癌、胃癌、肺癌等^[25,47-52]。CTC 液态活检为临床提供了更精准、更前瞻性的肿瘤诊疗手段。

参考文献:

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. Lancet, 2018, 392(10159): 1789-1858.
- [3] Mazzola A, Costantino A, Petta S, et al. Recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation: an update[J]. Future Oncol, 2015, 11(21): 2923-2936.
- [4] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update[J]. Hepatology (Baltimore, Md), 2011, 53(3): 1020-1022.
- [5] Sarveazad A, Agah S, Babahajian A, et al. Predictors of 5 year survival rate in hepatocellular carcinoma patients[J]. J Res Med Sci, 2019, 24: 86.
- [6] 侯玉丽, 姜菲菲, 王颖, 等. AFP 在早期肝癌诊断中的临床价值研究[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(5): 92-96.
Hou YL, Jiang FF, Wang Y, et al. The clinical value of AFP in the diagnosis of early hepatocellular carcinoma[J]. Chinese Journal of Modern Medicine, 2018, 28(5): 92-96.
- [7] Robinson PJ. Imaging liver metastases: current limitations and future prospects[J]. Br J Radiol, 2000, 73(867): 234-241.
- [8] Xu X, Jiang Z, Wang J, et al. Microfluidic applications on circulating tumor cell isolation and biomimicking of cancer metastasis[J]. Electrophoresis, 2020, 41(10-11): 933-951.
- [9] Cheung KJ, Ewald AJ. A collective route to metastasis: Seeding by tumor cell clusters[J]. Science, 2016, 352(6282): 167-169.
- [10] Qi LN, Xiang BD, Wu FX, et al. Circulating tumor cells undergoing EMT provide a metric for diagnosis and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma CTCs in patients with HCC[J]. Cancer Res, 2018, 78(16): 4731-4744.
- [11] 刘娟妮, 李俊海, 吴宏培. 循环肿瘤细胞联合血清 CA153 检测在转移性乳腺癌中临床意义[J]. 肿瘤学杂志, 2021, 7(3): 202-205.
Liu JN, Li JH, Wu HP. Clinical significance of circulating tumor cells and CA153 detection in patients with metastatic breast cancer[J]. Journal of Chinese Oncology, 2021, 7(3):

- 202–205.
- [12] Young R, Pailler E, Billiot F, et al. Circulating tumor cells in lung cancer[J]. *Acta Cytol*, 2012, 56(6): 655–660.
 - [13] Chu Q, Mu W, Lan C, et al. High-specific isolation and instant observation of circulating tumour cell from hcc patients via glypican-3 immunomagnetic fluorescent nanodevice[J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16(16): 4161–4173.
 - [14] Zhang Z, Ramnath N, Nagrath S. Current status of CTCs as liquid biopsy in lung cancer and future directions[J]. *Front Oncol*, 2015, 5: 209.
 - [15] Hart CD, Galardi F, De Luca F, et al. Circulating tumour cells as liquid biopsy in breast cancer-advancing from prognostic to predictive potential [J]. *Curr Breast Cancer Rep*, 2015, 7(1): 53–58.
 - [16] Pantel K, Alix-Panabières C. Liquid biopsy and minimal residual disease-latest advances and implications for cure [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(7): 409–424.
 - [17] Zhang BH, Yang BH, Tang ZY. Randomized controlled trial of screening for hepatocellular carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2004, 130(7): 417–422.
 - [18] 肖潇, 高春芳. 循环肿瘤细胞在原发性肝癌中的应用进展[J]. *检验医学*, 2019, 34(7): 661–666.
Xiao X, Gao CF. Research and application of circulating tumor cells in primary liver cancer [J]. *Laboratory Medicine*, 2019, 34(7): 661–666.
 - [19] Cheng Y, Luo L, Zhang J, et al. Diagnostic value of different phenotype circulating tumor cells in hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastrointest Surg*, 2019, 23(12): 2354–2361.
 - [20] Mostert B, Sieuwerts AM, Bolt-de Vries J, et al. mRNA expression profiles in circulating tumor cells of metastatic colorectal cancer patients[J]. *Mol Oncol*, 2015, 9(4): 920–932.
 - [21] Yang ZF, Ho DW, Ng MN, et al. Significance of CD90+ cancer stem cells in human liver cancer [J]. *Cancer Cell*, 2008, 13(2): 153–166.
 - [22] Guo W, Sun YF, Shen MN, et al. Circulating tumor cells with stem-like phenotypes for diagnosis, prognosis, and therapeutic response evaluation in hepatocellular carcinoma CTC with stem-like phenotype for HCC diagnosis and prognosis[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(9): 2203–2213.
 - [23] 刘霞, 方喜生, 翁成荫, 等. 原发性肝癌患者循环肿瘤细胞检测及其与术后复发转移的关系 [J]. *广州医药*, 2020, 51(2): 36–39.
Liu X, Fang XS, Weng CY, et al. Detection of circulating tumor cells in patients with primary liver cancer and its relationship with postoperative recurrence and metastasis [J]. *Guangzhou Pharmaceutical*, 2020, 51(2): 36–39.
 - [24] Shao J, Lu J, Zhu W, et al. Derepression of LOXL4 inhibits liver cancer growth by reactivating compromised p53[J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(11): 2237–2252.
 - [25] Sun YF, Xu Y, Yang XR, et al. Circulating stem cell-like epithelial cell adhesion molecule-positive tumor cells indicate poor prognosis of hepatocellular carcinoma after curative resection[J]. *Hepatology*, 2013, 57(4): 1458–1468.
 - [26] Wang Z, Luo L, Cheng Y, et al. Correlation between post-operative early recurrence of hepatocellular carcinoma and mesenchymal circulating tumor cells in peripheral blood [J]. *J Gastrointest Surg*, 2018, 22(4): 633–639.
 - [27] Yan J, Fan Z, Wu X, et al. Circulating tumor cells are correlated with disease progression and treatment response in an orthotopic hepatocellular carcinoma model [J]. *Cytometry A*, 2015, 87(11): 1020–1028.
 - [28] Jin J, Niu X, Zou L, et al. AFP mRNA level in enriched circulating tumor cells from hepatocellular carcinoma patient blood samples is a pivotal predictive marker for metastasis[J]. *Cancer Lett*, 2016, 378(1): 33–37.
 - [29] Sun YF, Guo W, Xu Y, et al. Circulating tumor cells from different vascular sites exhibit spatial heterogeneity in epithelial and mesenchymal composition and distinct clinical significance in hepatocellular carcinoma the spatial heterogeneity of circulating tumor cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(3): 547–559.
 - [30] 肖晗, 余宏铸. 循环肿瘤细胞在原发性肝细胞肝癌患者中预后预测价值的 meta 分析 [J]. *肝胆外科杂志*, 2017, 25(2): 98–103.
Xiao H, Yu HZ. Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells in patients with primary hepatocellular carcinoma [J]. *Journal of Hepatobiliary Surgery*, 2017, 25(2): 98–103.
 - [31] Zhou Y, Wang B, Wu J, et al. Association of preoperative EpCAM circulating tumor cells and peripheral treg cell levels with early recurrence of hepatocellular carcinoma following radical hepatic resection[J]. *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 1–9.
 - [32] Liu S, Li N, Yu X, et al. Expression of intercellular adhesion molecule 1 by hepatocellular carcinoma stem cells and circulating tumor cells[J]. *Gastroenterology*, 2013, 144(5): 1031–1041.
 - [33] Lei Y, Wang X, Sun H, et al. Association of preoperative NANOG-positive circulating tumor cell levels with recurrence of hepatocellular carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 601668.
 - [34] Shen J, Wang WS, Zhu XL, et al. High epithelial cell ad-

- hesion molecule-positive circulating tumor cell count predicts poor survival of patients with unresectable hepatocellular carcinoma treated with transcatheter arterial chemoembolization[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2018, 29(12): 1678–1684.
- [35] Wang YN, Lee HH, Hsu JL, et al. The impact of PD-L1 N-linked glycosylation on cancer therapy and clinical diagnosis[J]. *J Biomed Sci*, 2020, 27(1): 77.
- [36] Chae YK, Arya A, Chiec L, et al. Challenges and future of biomarker tests in the era of precision oncology: can we rely on immunohistochemistry (IHC) or fluorescence in situ hybridization (FISH) to select the optimal patients for matched therapy[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 100863–100898.
- [37] Xu J, Zhang Y, Jia R, et al. Anti-PD-1 antibody SHR-1210 combined with apatinib for advanced hepatocellular carcinoma, gastric, or esophagogastric junction cancer: an open-label, dose escalation and expansion study[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(2): 515–523.
- [38] Morrissey SM, Yan J. Exosomal PD-L1: roles in tumor progression and immunotherapy[J]. *Trends Cancer*, 2020, 6(7): 550–558.
- [39] Yue C, Jiang Y, Li P, et al. Dynamic change of PD-L1 expression on circulating tumor cells in advanced solid tumor patients undergoing PD-1 blockade therapy [J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(7): e1438111.
- [40] Nicolazzo C, Raimondi C, Mancini M, et al. Monitoring PD-L1 positive circulating tumor cells in non-small cell lung cancer patients treated with the PD-1 inhibitor Nivolumab[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 31726.
- [41] Bai L, Du Y, Peng J, et al. Peptide-based isolation of circulating tumor cells by magnetic nanoparticles[J]. *J Mater Chem B*, 2014, 2(26): 4080–4088.
- [42] Winograd P, Hou S, Court CM, et al. Hepatocellular carcinoma-circulating tumor cells expressing PD-L1 are prognostic and potentially associated with response to checkpoint inhibitors[J]. *Hepatol Commun*, 2020, 4(10): 1527–1540.
- [43] Kallergi G, Konstantinidis G, Markomanolaki H, et al. Apoptotic circulating tumor cells in early and metastatic breast cancer patients apoptotic CTCs in breast cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(9): 1886–1895.
- [44] Satelli A, Bath IS, Brownlee Z, et al. Potential role of nuclear PD-L1 expression in cell-surface vimentin positive circulating tumor cells as a prognostic marker in cancer patients[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 28910.
- [45] Reddy RM, Murlidhar V, Zhao L, et al. Pulmonary venous blood sampling significantly increases the yield of circulating tumor cells in early-stage lung cancer [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2016, 151(3): 852–858.
- [46] Tan Z, Yue C, Ji S, et al. Assessment of PD-L1 expression on circulating tumor cells for predicting clinical outcomes in patients with cancer receiving PD-1/PD-L1 blockade therapies[J]. *Oncologist*, 2021, 26(12): e2227–e2238.
- [47] Dong J, Jan YJ, Cheng J, et al. Covalent chemistry on nanostructured substrates enables noninvasive quantification of gene rearrangements in circulating tumor cells[J]. *Sci Adv*, 2019, 5(7): eaav9186.
- [48] Liang DH, Hall C, Lucci A. Circulating tumor cells in breast cancer [J]. *Recent Results Cancer Res*, 2020, 215: 127–145.
- [49] Tellez-Gabriel M, Knutsen E, Perander M. Current status of circulating tumor cells, circulating tumor DNA, and exosomes in breast cancer liquid biopsies[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9457.
- [50] Yu H, Ma L, Zhu Y, et al. Significant diagnostic value of circulating tumour cells in colorectal cancer[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(1): 317–325.
- [51] Goodman CR, Seagle B LL, Friedl TW, et al. Association of circulating tumor cell status with benefit of radiotherapy and survival in early-stage breast cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(8): e180163–e180163.
- [52] Fan L, Chong X, Zhao M, et al. Ultrasensitive gastric cancer circulating tumor cellular CLDN18. 2 RNA detection based on a molecular Beacon[J]. *Anal Chem*, 2020, 93(2): 665–670.