

CTCs-CTMs-CSCs

目前,液体活检呈现出异军突起之势,其正快速渗透到临床肿瘤辅助诊断的各个环节,通常液体活检包括 CTC、ctDNA 和外泌体三个组成部分,但以 CTC 最为热门也是研究的最为深入的一支。在对 CTC 的研究过程中人们又发现存在 CTM 和 CSC,那么究竟什么才是 CTM、CSC 和 CTC 呢?本文将分别进行介绍。

CTM 又称为循环肿瘤微栓子,是由若干个细胞(至少三个细胞)聚集形成并在血液中循环的细胞团块,目前在一些实体瘤患者体内已经发现 CTM 的存在,CTM 相对于单个细胞而言更具有生存优势,因为它可以抵御失巢凋亡和免疫清除,目前研究发现 CTM 避免失巢凋亡的机制主要有通过 EMT 转化使肿瘤细胞失去黏附而更易转移,保持细胞内部的连接以抵御失巢凋亡。包含有纤维母细胞和内皮细胞的 CTM 更容易躲过免疫清除(例如 NK 细胞的追杀)形成远端转移病灶。CTM 是肿瘤细胞的集体迁移行为,因其能抵抗细胞凋亡、保持增殖能力而具有更大的转移潜能,通常认为 CTM 的预后肯定不好。

恶性肿瘤为了获得运动型和侵袭性,会丢失某些上皮细胞的表型并获得某些间质细胞的表型,这就是上皮-间质转换(EMT),多数恶性肿瘤细胞在脱离原发灶的过程中发生 EMT。最近研究发现,CTM 与间质细胞表型密切相关,并且高比例的间质细胞表型 CTC 与化疗耐药有关,另有研究表明,CTM 不仅可以由肿瘤细胞组成也可以在不断地循环碰撞中黏附白细胞、内皮细胞、壁细胞、血小板等组成一个混合体,形成封闭的微环境。一旦形成 CTM 其耐受力、生存率大大提高,不仅可以抵御凋亡、免疫清除,还可以耐受细胞毒性药物,因此,CTM 数量虽然更少,但与单个 CTC 相比 CTM 的转移成瘤能力提高了 23-50 倍,通过 RNA 测序分析 CTM 中含有维持细胞黏附的关键分子而且 CTM 微环境有利于肿瘤的存活,与预后的相关性更强。

许多不同的肿瘤使用循环肿瘤细胞(CTCs)的特征,提供预后、预测和药效学信息。然而,在胰腺导管腺癌(PDAC)患者中,CTM 的临床意义更为显著。有报道,台湾大学台北医院的研究人员证实,治疗前 CTM 而非 CTC 的数量是 PDAC 患者的总生存率(OS)和无进展生存期(PFS)的独立预测因子。在这项研究中,研究人员统计了 63 例 PDAC 患者外周血的 CTM,结果显示,CTM 存在于 81%的患者中,根据 CTM 多于或少于 30 个/2mL 血液,将患者分为 CTM 不利和有利组,基线为不利 CTM 的患者与有利 CTM 的患者相比,PFS 和 OS 更短;如果按疾病早期和晚期对患者进行分组,差异仍然存在,为临床意义因子调整后,治疗前的 CTM 数量是 PFS 和 OS 的独立预测因子。

CSC 又被称为肿瘤干细胞,理论认为肿瘤组织内有一小群细胞具有与干细胞类似的生物学特性这一小部分细胞被认为是肿瘤发生、扩散、复发过程中的根源。对于 CSC 的来源主要有两类,一类是肿瘤固有的 CSC 细胞,CSC 存在于肿瘤病灶发生的早期阶段,可能是正常干细胞或者祖细胞衍生化而来;另一类是 EMT 过程诱发形成 CSC,肿瘤细胞最初形成的基质细胞,比如纤维母细胞、粒细胞、巨噬细胞、间充质干细胞,这些细胞形成了一个释放因子的微环境,引起周围的肿瘤细胞经历 EMT 机制获得了广泛增殖、自我更新以及分化潜能的干细胞特性。

首先,CSC 保留了干细胞的特性,其具有不断地自我更新能力,这也导致了肿瘤的无限增殖。癌细胞的无限增殖必然导致高致瘤性,促使肿瘤体积的不断增大,给机体造成危害。当体积

足够大时其会形成一个内部微环境,以往的研究表明 CSC 的微环境由成纤维细胞、细胞因子、脂肪细胞、内皮细胞和细胞外基质组成,而且其生长的微环境使 CSC 对放疗和化疗都相对不敏感,而且 CSC 虽然在肿瘤组织中数量较少,但是大多数都处于静止期,能够躲避针对快速分裂细胞起效的化疗药物攻击,所以如果不能杀死 CSC 则肿瘤依然有死灰复燃的潜能。

其次, CSC 在体外和体内都具有分化能力。这也是肿瘤异质性形成的原因,由于其具有干细胞特性,理论上即具有分化成任何一种肿瘤的可能,在临床治疗过程中虽然一些特效药物可以暂时性地降低肿瘤的体积但是观察一段时间后反而出现疗效降低的现象,在外部因素的刺激下,肿瘤干细胞的特性被激发出来,沿着不同的分化途径进行分化生长,这无疑给肿瘤的治疗带来了极大的困难,因为在现有的医学水平上人们无法预知肿瘤干细胞下一步的分化方向,这也就造成了对肿瘤治疗的束手无策。例如,有研究发现把大鼠的结肠腺瘤细胞注射到健康大鼠体内,其可以生成结肠所有类型的肿瘤细胞。

最后, CSC 诱导肿瘤细胞出现耐药性。CSC 细胞膜上多数表达转运蛋白,大多可运输并外排包括代谢产物、药物、毒性物质、内源性脂类物质、多肽及固醇类等多种物质。Koshiba 等发现人类转运 ABC 蛋白中的 ABCG2,参与异外源性物质新陈代谢的第三阶段,被认为是代谢物排出的“泵”,而且可以保护人类身体不受外源性物质侵犯。但是 CSC 表面存在的这些转运蛋白可以将进入细胞内药物排泄出来,降低了药物的浓度使其难以达到治疗的目的,这也是目前治疗肿瘤的难点所在,虽然目前已经开发出一系列的转运体抑制剂,如络氨酸激酶抑制剂、3-羟基-3 甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶、黄酮类等,但还没有完全解决该问题。

CTC 又称为循环肿瘤细胞,是一种从肿瘤组织上脱离后经过 EMT 过程进入血管,随着血液循环的肿瘤细胞个体。由于 CTCs 与原发病灶肿瘤组织具有高度的一致性,所以其能够代表原发肿瘤的表型和遗传组成,并能够作为任何转移性肿瘤的“液体活检”。关于 CTC 的论述最早由澳大利亚学者 Ashworth 提出,此后关于 CTC 的报道不时见诸于报端,特别是随着研究的不断深入人们逐渐认识到其独特的作用之后对其研究更是变成了一股热潮。

一般而言,恶性肿瘤都会通过血液传播转移到身体的其他器官,而肿瘤转移是导致肿瘤患者死亡的主要原因。肿瘤细胞侵入到原发肿瘤细胞的周围组织中,进入血液和淋巴管系统,形成循环肿瘤细胞 CTCs,并转运到远端组织,再渗出,适应新的微环境形成转移灶,目前关于 CTC 的研究成果主要集中在以下几个方面。

1. 循环肿瘤细胞(CTCs)与肿瘤的早期诊断

从上世纪末以来 CTC 检测技术得到了不断的改进,随之带来的是 CTC 检测在临床上的推广应用。对于肿瘤的常规检测手段来讲,例如医学影像学、内窥镜探查,当肿瘤直径小于一公分的情况下,不能被有效捕捉到,即使被探查发现医生也不能认定就是异常状态,因为也有可能是良性增生。但是很多研究表明,很多肿瘤体积即使在 2-4mm 的情况下已经有肿瘤细胞发生转移进入血液循环,从这个角度讲,CTC 检测技术对于肿瘤的早期诊断具有重要意义。CTC 技术可以做到在极微量的肿瘤细胞数量下进行敏锐的捕获,能够协助临床鉴定肿瘤的良/恶性以及肿瘤细胞的器官来源,进而做到肿瘤治疗的有的放矢,为肿瘤患者的早期治疗赢得宝贵的时间。

2. 循环肿瘤细胞(CTCs)与疗效监测

抗肿瘤治疗的疗效监测是 CTC 的另一项重要临床应用领域。CTC 检测可作为影像学及临床评分体系的补充, 对患者的治疗应答做出准确的评价。以 CTC 作为肿瘤标志物, 多次取样定性定量检测肿瘤负荷, 监控疾病发展; 同时还可以追踪药物响应, 通过药物疗效信息及时采取进一步治疗。靶向药物有效时, CTC 中药物敏感的肿瘤特异突变减少, 一旦产生耐药, CTC 中耐药突变增加。目前在肝癌、乳腺癌、结直肠癌、非小细胞肺癌等多种癌症中都有报道。具文献报道将同一时间点采集的 CTC 和肿瘤活体组织切片进行对比, 血液样本中的游离肿瘤细胞与活体肿瘤样本完全相符合, 均可表示肿瘤进展中响应药物治疗的模式和变异情况, 可见 CTC 在实时监控肿瘤发展情况, 辅助调整治疗方案方面也大有可为。随着 CTC 技术的成熟, 通过测定 CTC 数目的变化即可对临床用药给出合理化建议, 如果 CTC 数目是显著下降的, 说明化疗药物是有效的, 如果 CTC 数目还在增加则说明药物是无效的, 检测结果可以提醒医生及时采取新的治疗方案, 避免贻误病情。

3. 循环肿瘤细胞(CTCs)体内耐药预警

很多情况下给病人使用化疗药物 一开始是有效的, 但是过一段时间后肿瘤病人的发病并没有得到控制, 这有可能是病人对药物产生了耐受性。目前, 对于肿瘤治疗病人是否会产生耐药以及什么时间产生耐药是未知的。临床上更常见的是当发现病人产生耐药时, 病情已经得不到有效的控制。随着 CTC 技术的成熟, 对肿瘤病人持续跟踪 CTC 监测, 在动态的观察过程中一旦发现 CTC 数目呈显著增加的趋势, 即可提示医生应及时更换新的治疗方案。

4. 循环肿瘤细胞(CTCs)与靶向药物开发及应用

CTC 对肿瘤患者进行预后判断和疗效监测基本都是基于其数目的变化, 但是其潜在的临床意义在于根据其分子改变确定靶向药物的治疗靶点。有文献研究发现, 在转移性结肠癌 CTC 中发现 KRAS 基因改变, 提示通过分析 CTC 细胞中基因位点改变可以作为及时更改靶向药物治疗的依据, 而且可以指导制药企业开发相应的靶向药物, 这无疑对靶向药物的研发有更大的促进作用, 这也是国外很多大的药厂都投入巨资开发肿瘤新药, 在开发的过程中不仅把实体肿瘤作为靶向治疗 的一个靶标, 同时也把 CTC 作为药物治疗对象的原因。

5. 循环肿瘤细胞(CTCs)与复发转移监测

对转移肿瘤患者进行预后评估是目前 CTC 临床应用最广泛的领域。恶性肿瘤患者治疗前后的 CTC 类型和数目的变化具有重要的预后提示价值。大量研究已经证实, CTC 检测将有助于复发转移监控、判断患者预后、指导术后辅助治疗等。由于 CTCs 在健康人和良性疾病患者血液中几乎检测不到, 在肿瘤早期的患者血液中含量极低, 但在肿瘤进展到晚期后其计算显著升高。所以, 根据 CTC 的数量就可以判定肿瘤的分期以及预后进展。已被批准应用于临床的 Cell search 是专门用于 CTCs 富集和鉴定的仪器, 该技术集合了免疫磁珠法富集 CTCs 和免疫荧光分析, 具有较高的特异性、准确性和可靠性。通常利用具有 EpCAM 抗体耦合标记的磁珠在磁场的作用下进行分离, 然后再用荧光染料染色标记后, 系统自动识别 EpCAM+ CD45-DAPI+ 状态, 从而达到 CTCs 的自动识别。在临床上, Cell search 已应用于转移性肺癌、结肠癌、前列腺癌、非小细胞肺癌的术后愈合检测。