

实体肿瘤循环肿瘤细胞及其EMT分型临床研究进展

孙维忠¹, 刘志波²

¹青海大学研究生院, 青海 西宁

²青海大学附属医院肿瘤内科, 青海 西宁

收稿日期: 2022年3月22日; 录用日期: 2022年4月16日; 发布日期: 2022年4月25日

摘要

进入人体外周血的肿瘤细胞称为循环肿瘤细胞, 循环肿瘤细胞CTC可引起新的转移病灶。既往相关检测方法缺乏灵敏度及时效性, 循环肿瘤细胞(CTC)检测技术作为近年兴起的液态活检技术, 具有实时、方便、准确、微创的特点, 对肿瘤诊断、临床分期、方案制定、疗效及预后评价均具有重要意义; 同时, 外周血中CTC检测, 有助于更准确评估患者病情及分期, 为肿瘤诊断提供证据, 判断患者预后, 评估治疗反应的有效性, 在患者出现耐药时及时反馈信息, 有助于及时改变治疗策略, 做到肿瘤的精准医疗; 可真实反映肿瘤负荷和特征, 动态反映肿瘤基因组学信息和基因表达谱变化, 因此CTC不仅目前批准用于肿瘤筛查和诊断, 也在肿瘤治疗和预后评估中具有重要作用。

关键词

循环肿瘤细胞, 上皮间质转化, 实体肿瘤, 液体活检

Advances in Clinical Research on Solid Tumor Circulating Tumor Cells and Their EMT Typing

Weizhong Sun¹, Zhibo Liu²

¹Graduate School of Qinghai University, Xining Qinghai

²Department of Oncology, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining Qinghai

Received: Mar. 22nd, 2022; accepted: Apr. 16th, 2022; published: Apr. 25th, 2022

Abstract

Tumor cells entering human peripheral blood are called circulating tumor cells, and circulating

tumor cell CTC can cause new metastatic lesions. Previous detection methods lack sensitivity and timeliness. Circulating tumor cell (CTC) detection technology, as a liquid biopsy technology emerging in recent years, is real-time, convenient, accurate and minimally invasive, which is of great significance for tumor diagnosis, clinical staging, protocol formulation, efficacy and prognosis evaluation. At the same time, the detection of CTC in peripheral blood can help to more accurately evaluate the patient's condition and stage, provide evidence for tumor diagnosis, judge the patient's prognosis, evaluate the effectiveness of treatment response, and provide timely feedback in the case of drug resistance in patients, which is conducive to timely change of treatment strategy and achieve accurate cancer medicine. CTC can truly reflect tumor load and characteristics, and dynamically reflect changes in tumor genomic information and gene expression profile. Therefore, CTC is not only currently approved for tumor screening and diagnosis, but also plays an important role in tumor treatment and prognosis evaluation.

Keywords

Circulating Tumor Cell, Epithelial Mesenchymal Transformation, Solid Tumors, The Liquid Biopsy

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

CTC 即“循环肿瘤细胞(Circulating Tumor Cell)”，是由肿瘤原发灶或转移灶脱落进入血液循环系统的肿瘤细胞。CTC 检测是直接从血液中检测肿瘤细胞，即利用先进的循环肿瘤细胞检测技术，可以将人体外周循环血液中的肿瘤细胞捕获并检测计数。CTC 检测弥补了肿瘤组织难以获取的局限，且能重复取样，具有实时监测功能，目前已在各大肿瘤中心广泛应用。CTC 的检测对肺癌、前列腺癌、结直肠癌、肝癌、胃癌、宫颈癌、胰腺癌等实体肿瘤的诊断、病情进展监测有着至关重要的临床意义；本文就循环肿瘤细胞及其 EMT 分型在实体肿瘤中的临床研究进展进行阐述。

2. CTC 概念发展

CTC 也称循环肿瘤上皮细胞。是由澳大利亚一位内科医生 Ashworth [1]于 1896 年首次通过显微镜在一名死于转移瘤患者体内外周血中发现存在一种细胞与尸检发现的肿瘤细胞极其相似，随后，首次提出了“循环肿瘤细胞(CTC)”这一新概念；然而当时由于这些细胞在血液中的极度稀有性以及相关技术的条件有限，CTC 的研究相对较少，然而时代在进步，随着医学技术的不断提高以及 CTC 研究的逐渐深入，对其生物学特性的研究同时也取得了较大程度的进展。CTC 来源于原发恶性肿瘤或转移肿瘤[2]，当其获得脱离基底膜能力之后通过侵入组织基质进而进入血管的肿瘤细胞；目前 CTC 最新定义为：从肿瘤原发部位或转移灶脱落后进入血液循环的细胞[3]，它能够反映恶性肿瘤组织的生物学情况；进入血液循环的 CTC 细胞可以锚定在血管内皮细胞的表面，通过受体-配体结合的方式使 CTC 发生外渗，进而产生远处锚定，使肿瘤细胞形成远处转移。所不同的是：单个 CTC 细胞可通过毛细血管向外迁移，而 CTC 簇可逆性重组为单排链，再横向穿过毛细血管[4]，CTC 表面的整联蛋白通过与内皮细胞或血管细胞表面的黏附分子结合，为 CTC 突破血管壁细胞外基质提供动力，CTC 产生的趋化因子配体因各自受体表达情况不同，最终决定远处的归巢靶向器官，这些进入血管的肿瘤细胞被称为 CTC。而大部分 CTC 会被人体免疫系统所清除，仅有少数存活下来的 CTC 会随血液循环到达体内其他部位，形成肿瘤远处转移。实体

肿瘤每天都有大量肿瘤细胞进入到血液循环中, CTC 在血液循环中面临着免疫监视、血流剪切力、氧化应激等多方面的存活因素压力[5], 只有未被免疫系统清除的 CTC 才有可能进行播散定植并形成转移灶; 其中单独一个循环肿瘤细胞很容易被机体免疫系统中免疫细胞清除, 发生凋亡, 进而死亡。而由多个循环肿瘤细胞组成的循环肿瘤细胞团或循环肿瘤微栓(CTM) [6], 即细胞团形式的 CTC, 能更大程度上发生免疫逃逸, 具有更强的凋亡抵抗能力, 更易发生转移[7], 总之, CTM 的转移潜能比单个 CTC 细胞更强。CTC 可预示疾病的进展及预后, 是多种实体肿瘤有意义的肿瘤标志物[8]。

3. CTC 的特性

1) 稀有性: 实体肿瘤中每天有大量肿瘤细胞脱落进入到血液循环池, 但只有极少数循环肿瘤细胞能存活, 每 $10^5 \sim 10^7$ 个有核细胞中才有一个 CTC。

2) 异质性: 肿瘤在转移过程中会发生上皮间质转化(EMT), 在这个过程中细胞中上皮标记物表达量(EpCAM、E-cadherin、CK)下调, 间质标记物表达量(Vimentin、N-cadherin)上调, 从而使恶性肿瘤细胞的侵袭性以及转移性增强[9]; 不同实体瘤来源的 CTC、不同患者 CTC 表面抗原表达, 分布也存在差异。

3) 非典型形态: CTC 入血后随血液循环快速流动, 与其他细胞相碰撞, 继而 CTC 受到血管壁的挤压, 受机体免疫系统以及药物的攻击等产生一系列效应后将会导致 CTC 形态有别于肿瘤组织, 细胞大小、形态以及表型发生改变[10]。与正常血细胞比较, CTC 普遍具有细胞体积大、密度小、刚性低和膜电容高等的特性。

4) 增殖活性: CTC 平均半衰期较短, 在体内循环的 CTC 大多处于休眠状态[11], 期间还可能发生凋亡, 最终只有极少量 CTC 形成远处转移灶。了解血液中 CTC 休眠/活化[12]所占比例, 则能更好地决策治疗方案, 特别是化学治疗方案, 使抗恶性肿瘤化学治疗更为精准。

4. CTC 检测技术的优点

因为 CTC 携带了肿瘤细胞特异性的 DNA 信息, 所以也被称为“液体活检”样本。在 1974 年 Sorrells 首次提出“液态活检”这一概念, 当时主要是利用关节腔中的滑液来分析诊断滑膜性疾病, 目前这项技术经过不断实践、发展, 被应用到当前临床实践中, 服务于临床。液态活检的标本来源主要为以血液为主, 血液在临床上是很容易获取的临床检验样本, 而液态活检的一个主要研究对象就是 CTC。由于临床抽取外周血对患者损伤很小, 因此可以根据需要随时进行 CTC 抽取外周血检测, 实现恶性肿瘤动态监测。一次诊断不能指导后续的所有治疗, 因为病情是变化的; 肿瘤的治疗极其复杂, 即使相同分期和病理类型的肿瘤患者接受同样的治疗方案, 其疗效也有可能截然不同, 因此, 实时监测病情和治疗效果, 才可能在恶性肿瘤临床治疗中先发制瘤, 及时调整治疗策略、方案, 以期获得最大临床治疗效果。CTC 检测相比较 CT 可提前监测到肿瘤转移趋势, 便于及时治疗; CTC 检测可更早地提示治疗效果, 根据需及时调整治疗方案, 让肿瘤治疗效果临床最大化; 在肿瘤个体化治疗上可在肿瘤用药或者换抗肿瘤治疗方案之前, CTC 的基因特征能清楚的指导患者下一步的药物选择, 提高治疗效果; 其次, CTC 检测灵敏度高, 可以在转移灶形成前就检测到 CTC 异常, 比 CT 检查更早提示肿瘤变化趋势。总之, CTC 检查具有微创、便捷、高灵敏度, 临床可行性高等优点。

5. 循环肿瘤细胞上皮间质转化(EMT)

肿瘤细胞 EMT 是指上皮肿瘤细胞在受到内界以及外界环境刺激后会向间质细胞转化, 转化时上皮钙黏素下调、细胞骨架改变、肿瘤细胞从细胞间黏附脱离, 其增殖分裂、侵袭转移、修复和抗药能力都将大大增加; 激活上皮钙黏素时可以产生上皮间质的逆转化, 它可以引起 EMT [13], 转换后的 CTC 下调

了上皮细胞标志物的同时上调了间皮细胞标志。上皮标志物表达水平降低后, CTC 的检测呈现假阴性; 因此, 检测 EMT 标志物可作为上皮标志物的重要补充, 在 CTC 的检测中发挥重要作用。CTC 可分为上皮型(E-CTC)、上皮间质型(E/M-CTC)、间质型(M-CTC); 其中, 间质型 CTC 的恶性程度最高, 一般情况下, 如果病情缓解或者治疗效果显著, 患者血液中检出的间质型 CTC 比例会下降, 间质型 CTC 的存在与远处转移相关。

6. CTC 在实体肿瘤中的研究进展

6.1. CTC 在非小细胞肺癌中的临床研究进展

CTC 能够实时监测非小细胞肺癌在抗肿瘤过程中的动态变化。对此, 陆军医科大学西南医院[14]采集并分析了非小细胞肺癌和良性肺疾病中的 CTC。得出的结论是: 良性肺疾病患者的 E-CTC、E/M-CTC 和总 CTC 显著低于 NSCLC 患者; 非小细胞肺癌 M-CTC 略高于良性肺疾病; 由此可见, CTC 阳性可以很好地预测非小细胞肺癌的复发, 对非小细胞肺癌患者与良性肺疾病患者的鉴别有较大的临床价值, 即非小细胞肺癌患者 CTC 阳性率较良性肺疾病患者高; E-CTC、E/M-CTC 和 CTC 总数在非小细胞肺癌患者与良性肺疾病患者的鉴别上也有比较大的临床价值, 即非小细胞肺癌患者 E-CTC、E/M-CTC 和 CTC 总数较良性肺疾病患者高; 那非小细胞肺癌(NSCLC)患者 CTC 的 EMT 表型与远处转移之间有什么关系? 在临床研究以及癌症患者中 CTC 与癌症的转移密切相关; 然而, 哪种类型的 CTC 在癌症转移中发挥关键作用目前还不明确, 对此, 浙江大学附属医院第一医院[15]一项研究采集 CTC 进行基于 EMT 标志物的分子分型检测, 结果表明, 非小细胞肺癌(NSCLC)患者外周血中 CTC 的 EMT 表型中 M-CTC 阳性率最高。

6.2. CTC 在局限性前列腺癌中的临床研究进展

CTC 已被批准用于晚期前列腺癌病情监测, 但是 CTC 在局限性前列腺癌的临床价值尚不明确。对此, 上海交通大学新华医院泌尿外科一项研究[16]纳入 80 例新确诊的局限性前列腺癌患者, 进行 CTC 与局限性前列腺癌的临床相关性分析, 这项临床观察型研究目的在于检测、分析不同 EMT 转化表型的 CTC 与局限性前列腺癌的临床相关性, 此次实验的结论是 CTC 检测阳性率为 55%; 其中, 混合型 CTC 最具临床价值并且与局限性前列腺癌的 PSA 水平、病理分期等因素密切相关。间质型 CTC 在局限性前列腺癌中的阳性率较低, 但与精囊侵犯有关; 上皮型 CTC 的临床价值有限。由此可见, 混合型 CTC 在局限性前列腺癌的临床价值是不言而喻的, 局限性前列腺癌患者混合型 CTC 以及总 CTC 数目均是高阳性率; 其次, 间质型 CTC 精囊侵犯有一定的相关性。至此, 我们还可知混合型 CTC 与局限性前列腺癌的临床病理变量密切相关, 并且能够在术前预测患者术后病理分期。

6.3. CTC 在晚期结直肠癌中的临床研究进展

首先可以肯定的是: CTC 检测对结直肠癌有临床应用价值。北京大学深圳医院[17]分析了晚期结直肠癌患者血样本中 CTC 计数与结直肠癌患者临床病理特征的相关性。通过此次实验探讨循环肿瘤细胞(CTC)EMT 分型对大肠癌(CRC)的诊断价值。结果显示 M-CTC 计数与晚期结直肠癌淋巴结转移、远处转移呈正相关性。

6.4. CTC 在肝细胞癌中有的临床进展

6.4.1. 肝切除术是 HCC 的一线治疗方法

肝切除术作为 HCC 的一线治疗方法, 是否进行解剖或非解剖切除, 临床目前对此处于模糊的状态。

对此可根据循环肿瘤细胞(CTC)的数量和分型比较两种手术方式治疗肝细胞癌的临床效果。广西医科大学附属医院肝胆外科一项研究[18]搜集了2015年~2017年接受R0切除治疗的136例肝细胞癌患者,根据上皮间质转化表型对CTC进行富集和分类;此项研究的结果显示是总患者中CTC阳性率为91.91%,说明CTC阳性率与HCC呈高度正相关。然而,在CTC计数较低组、M-CTC和E/M-CTC阴性的患者中,TFS(无治疗生存期)显著增高,也就是说,在CTC计数较高组、M-CTC和E/M-CTC阳性的患者中,TFS(无治疗生存期)显著降低。复发的发生率和类型,肝切除前CTC计数较高组和M-CTC和E/M-CTC阳性与肝外和多发性肝内复发呈现显著相关性。接受解剖性肝切除治疗的患者肝衰竭和腹水的发病率较高。由此可见,解剖性肝切除可能比非解剖性肝切除仅在低CTC计数和M-CTC和E/M-CTC阴性的患者中更获益。对于CTC计数高的患者,手术风险和预后获益之间的平衡比采用的切除方法更重要;但需要注意的是:1)解剖性切除可提高HCC患者的生存,但只适用于那些CTC计数低且M-CTC和E/M-CTC阴性的患者。2)术前CTC分析可更好地指导HCC切除方法的选择。

6.4.2. 循环肿瘤细胞表型与肝细胞癌(HCC)术后预后风险之间的关系

CTC可能是恶性肿瘤有前景的预后标志物。然而,关于其在肝细胞癌(HCC)中的价值却鲜有报道。对此,南方医科大学南方医院肝胆外科一项研究[19]采集了大量肝癌根治术前外周血样本,分析CTC表型与HCC患者临床病理因素及复发风险的相关性。结果显示165例HCC患者中CTC检测阳性率为70.9%。较高甲胎蛋白(AFP)水平、多发肿瘤、TNM及存在栓子或微栓子的患者CTC数目增加更为常见。用EMT标志物检测CTC的异质性。M-CTC与高AFP水平、多发肿瘤、晚期TNM、栓子或微栓子的存在及早期复发密切相关。M-CTC的存在预测无复发生存期最短,其次为E/M-CTC,最后是E-CTC。由此可见,肝细胞癌(HCC)术后患者CTC总数与肝细胞癌(HCC)术后患者预后呈负相关,相应的,各型CTC中M-CTC与肝细胞癌(HCC)术后患者预后呈负相关性最高,其次是E/M-CTC,与肝细胞癌(HCC)术后患者预后呈负相关性最低的是E-CTC;因此,CTC表型可作为HCC患者预后指标[20]。

6.5. CTC在晚期胃癌中的临床研究进展

胃癌(GC)具有较高的整体发病率和较高的死亡率,并且由于晚期胃癌具有高度侵袭性和异质性,现有的预后方法具有局限性,因此需要一种新的判断预后指标。进入血液中的循环肿瘤细胞(CTC)检测被认为用于肿瘤的动态监测及肿瘤治疗疗效评估。临床研究表明程序性死亡受体1(PD-1)免疫疗法对部分晚期胃癌患者有效。对此,华中科技大学同济医学院附属协和医院肿瘤中心一项研究[21]纳入32位晚期胃癌患者,此项研究结果显示是CTC计数与临床病理参数之间存在显著相关性,与传统方法相比,监测CTC亚型评估疾病状态具有更高的敏感性。E-CTC的计数及其在总CTC中的相对丰度与临床疗效高度相关。更可喜的是CTC亚型对疾病状态的评估具有更高的敏感性,可以更简单地有效地检测晚期胃癌患者的疾病状态;其次,需要注意的是本次研究还发现上皮型CTC的计数晚期胃癌临床疗效呈高度相关性。

6.6. CTC在早期宫颈癌中的临床研究进展

四川省肿瘤医院一项研究[22]收集了90例早期宫颈癌患者外周血样本,分析了CTC数目、CTC表型与患者临床病理特征的相关性。此项研究的结果显示I~IIA期宫颈癌患者CTC阳性率为90%。在FIGO I II期、盆腔淋巴结转移和淋巴管受累的患者中,发现CTC数量增加。上皮型CTC占38.89%,间质型CTC占23.33%,混合表型CTC占14.44%,其中间质型CTC多见于FIGO I期、盆腔淋巴结转移、淋巴管受累及深层间质浸润患者。由此可见,间质型的CTC与I~IIA期宫颈癌的盆腔淋巴结转移和淋巴管浸润有高度相关性。循环肿瘤细胞表型的检测有助于宫颈癌微转移的早期诊断和疾病状态的评估。

6.7. CTC 在胰腺导管腺癌中的临床研究进展

胰腺癌患者循环肿瘤细胞 EMT 标志物的分子检测有哪些临床潜在价值? 中山大学孙逸仙纪念医院一项研究[23]纳入 107 例 PDAC 患者进行 CTC 检测, 用以评估胰腺导管腺癌(PDAC)患者循环肿瘤细胞(CTC)三个亚型(EMT)的临床特点。研究结果显示: 78.5%的 PDAC 患者检测到 CTC, 分析显示, 与 CTC 总数小于 6 的胰腺癌患者相比, CTC 总数 26 的胰腺癌患者 OS 和 PFS 显著降低。间质型 CTC (M-CTC) 的存在与 TNM 分期及远处转移呈正相关。此外, 淋巴细胞计数和中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)在 CTC 阴性和每一种 CTC 亚型阳性的患者中有显著差异。由此可知, CTC 总数高低状态于与胰腺导管腺癌(PDAC)患者总生存率和无进展生存期呈负相关; M-CTC 的总数状态与 TNM 分期及远处转移呈正相关; 因此, EMT 标志物对 CTC 进行分型有助于识别更具侵袭性的 CTC 亚群, 并为确定适合的临床路径提供有力依据。

6.8. CTC 在食管鳞癌中的临床研究进展

众所周知, 食管癌在我国是发病率和病死率最高的恶性肿瘤之一, 其早期能发现的临床症状不太典型, 患者就诊时已属于中晚期, 生存率较低, 预后较差。可通过 CTC 的检测可动态反映肿瘤的状态, 较早发现, 较早治疗。对此, 上海交通大学医学院瑞金医院胸外科一项研究[24]回顾性收集 21 例 ESCC 患者血样, 来探讨循环肿瘤细胞(CTC)EMT 状态与食管鳞癌(ESCC)的相关性。结果显示共检测到 129 个 CTC, 其中 E-CTC 11 个, E/M-CTC 76 个, M-CTC 42 个。每个患者的 CTC 平均数为 6.1 ± 7.1 个, 其中 E-CTC 0.5 ± 0.9 个, E/M-CTC 3.6 ± 5.2 个, M-CTC 2.0 ± 2.7 个; CTC 总数与 E/M-CTC 及 M-CTC 数量呈相关性, 而与 E-CTC 数量无关; CTC 数量与 N 分期和 TNM 分期相关。由此可见, CTC 总数、M-CTC 及 E/M-CTC 与食管鳞癌的发生呈正相关性。E/M-CTC 和 M-CTC 可能在 ESCC 进展中发挥重要作用; CTC 数量可能是 ESCC 预后预测的潜在因素。

7. 结论

综合以上几种实体瘤患者 CTC 检测研究: 1) 证实实体瘤患者外周血 CTC 的存在以及 EMT 分型在肿瘤转移的诊断分期和预后预测等方面具有重要的临床意义; 2) 肿瘤患者外周血间质性 CTC 与淋巴结转移以及远处转移呈高度正相关; 3) 肿瘤患者外周血 CTC 总数与肿瘤预后呈负相关; 4) 循环肿瘤细胞上皮间质分型中, 间质性 CTC 以及混合型 CTC 恶性程度较上皮型 CTC 高, 具有最强的转移侵袭能力; 5) 总的来说, 间质性 CTC 表现出的侵袭性最高, 但是在以上阐述中可以看到, 需要注意的是在局限性前列腺癌中, 混合型 CTC 表现出的侵袭性最高。

8. 展望

CTC 分子分型可为全面评估肿瘤状态和肿瘤精准诊疗提供重要的实时信息; 基于治疗靶标的 CTC 分型分析有助于提示药物疗效从而指导治疗决策, 如 ARV7 (前列腺癌内分泌治疗)、HER-2/EGFR/KRAS (靶向用药)、PD-L1 (免疫治疗)等。CTC-EMT 分型的临床应用价值在多种肿瘤类型研究中得到证实, 结合 CTC 计数和 EMT 分型及其动态变化可辅助肿瘤分期、复发风险评估及预后预测; 针对肿瘤细胞干性和代谢特征的 CTC 功能分型有助于反映 CTC 的生物学转归和疾病的发展, 是未来泛癌种 CTC 分子分型发展的前沿方向。

参考文献

- [1] Ahmed, W., Mofed, D., Zekri, A.R., El-Sayed, N., Rahouma, M. and Sabet, S. (2018) Antioxidant Activity and Apop-

- totic Induction as Mechanisms of Action of *Withania somnifera* (Ashwagandha) against a Hepatocellular Carcinoma Cell Line. *Journal of International Medical Research*, **46**, 1358-1369. <https://doi.org/10.1177/0300060517752022>
- [2] Ferreira, M.M., Ramani, V.C. and Jeffrey, S.S. (2016) Circulating Tumor Cell Technologies. *Molecular Oncology*, **10**, 374-394. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2016.01.007>
- [3] 于盼, 朱丽华, 阙祖俊, 田建辉. 肺癌循环肿瘤细胞的研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(5): 519-523.
- [4] Kulasinghe, A., Zhou, J., Kenny, L., Papautsky, I. and Punyadeera, C. (2019) Capture of Circulating Tumour Cell Clusters Using Straight Microfluidic Chips. *Cancers (Basel)*, **11**, Article No. 89. <https://doi.org/10.3390/cancers11010089>
- [5] Nurwidya, F., Zaini, J., Putra, A.C., Andarini, S., Hudoyo, A., Syahrudin, E. and Yunus, F. (2016) Circulating Tumor Cell and Cell-Free Circulating Tumor DNA in Lung Cancer. *Chonnam Medical Journal*, **52**, 151-158. <https://doi.org/10.4068/cmj.2016.52.3.151>
- [6] Fabisiewicz, A. and Grzybowska, E. (2017) CTC Clusters in Cancer Progression and Metastasis. *Medical Oncology*, **34**, Article No. 12. <https://doi.org/10.1007/s12032-016-0875-0>
- [7] 李健斌, 江泽飞. 循环肿瘤细胞研究进展: 从计数到表型的转变[J]. 中华肿瘤杂志, 2016, 38(12): 881-885.
- [8] 胡玉倩, 谢圣高, 郑义, 宁勇. 循环肿瘤细胞的富集与检测研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2014, 41(7): 834-838.
- [9] Thiery, J.P. (2002) Epithelial-Mesenchymal Transitions in Tumour Progression. *Nature Reviews Cancer*, **2**, 442-454. <https://doi.org/10.1038/nrc822>
- [10] 范军振, 吕亚莉, 宋欣, 钟梅, 王琼, 朱凤伟, 石怀银. 外周血循环肿瘤细胞的研究进展[J]. 中国社区医师, 2017, 33(7): 12-13.
- [11] 李昂, 孙建立. 循环肿瘤细胞的研究进展及其在肺癌中的应用[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(1): 175-181.
- [12] Müller, V., Stahmann, N., Riethdorf, S., Rau, T., Zabel, T., Goetz, A., Jänicke, F. and Pantel, K. (2005) Circulating Tumor Cells in Breast Cancer: Correlation to Bone Marrow Micrometastases, Heterogeneous Response to Systemic Therapy and Low Proliferative Activity. *Clinical Cancer Research*, **11**, 3678-3685. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-2469>
- [13] 吴方, 焦娟, 杨家树, 刘杰. 循环肿瘤细胞检测在肺癌中的研究进展[J]. 临床检验杂志, 2019, 37(8): 593-595.
- [14] Li, J., Liao, Y., Ran, Y., Wang, G., Wu, W., Qiu, Y., Liu, J., Wen, N., Jing, T., Wang, H. and Zhang, S. (2020) Evaluation of Sensitivity and Specificity of CanPatrol™ Technology for Detection of Circulating Tumor Cells in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *BMC Pulmonary Medicine*, **20**, Article No. 274. <https://doi.org/10.1186/s12890-020-01314-4>
- [15] Zhang, X., Wei, L., Li, J., Zheng, J., Zhang, S. and Zhou, J. (2019) Epithelial-Mesenchymal Transition Phenotype of Circulating Tumor Cells Is Associated with Distant Metastasis in Patients with NSCLC. *Molecular Medicine Reports*, **19**, 601-608. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9684>
- [16] Liu, H., Ding, J., Wu, Y., Wu, D. and Qi, J. (2020) Prospective Study of the Clinical Impact of Epithelial and Mesenchymal Circulating Tumor Cells in Localized Prostate Cancer. *Cancer Management and Research*, **12**, 4549-4560. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S253997>
- [17] Hou, J., Guo, C. and Lyu, G. (2020) Clinical Significance of Epithelial-Mesenchymal Transition Typing of Circulating Tumour Cells in Colorectal Cancer. *Colorectal Disease*, **22**, 581-587. <https://doi.org/10.1111/codi.14927>
- [18] Qi, L.N., Ma, L., Chen, Y.Y., Chen, Z.S., Zhong, J.H., Gong, W.F., Lu, Y., Xiang, B.D. and Li, L.Q. (2020) Outcomes of Anatomical versus Non-Anatomical Resection for Hepatocellular Carcinoma According to Circulating Tumour-Cell Status. *Annals of Medicine*, **52**, 21-31. <https://doi.org/10.1080/07853890.2019.1709655>
- [19] Ou, H., Huang, Y., Xiang, L., Chen, Z., Fang, Y., Lin, Y., Cui, Z., Yu, S., Li, X. and Yang, D. (2018) Circulating Tumor Cell Phenotype Indicates Poor Survival and Recurrence after Surgery for Hepatocellular Carcinoma. *Digestive Diseases and Sciences*, **63**, 2373-2380. <https://doi.org/10.1007/s10620-018-5124-2>
- [20] Cheng, Y., Luo, L., Zhang, J., Zhou, M., Tang, Y., He, G., Lu, Y., Wang, Z. and Pan, M. (2019) Diagnostic Value of Different Phenotype Circulating Tumor Cells in Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, **23**, 2354-2361. <https://doi.org/10.1007/s11605-018-04067-y>
- [21] Cheng, B., Tong, G., Wu, X., Cai, W., Li, Z., Tong, Z., He, L. and Yu, S. and Wang, S. (2019) Enumeration and Characterization of Circulating Tumor Cells and Its Application in Advanced Gastric Cancer. *Oncotargets and Therapy*, **12**, 7887-7896. <https://doi.org/10.2147/OTT.S223222>
- [22] Pan, L., Yan, G., Chen, W., Sun, L., Wang, J. and Yang, J. (2019) Distribution of Circulating Tumor Cell Phenotype in Early Cervical Cancer. *Cancer Management and Research*, **11**, 5531-5536. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S198391>
- [23] Zhao, X.H., Wang, Z.R., Chen, C.L., Di, L., Bi, Z.F., Li, Z.H. and Liu, Y.M. (2019) Molecular Detection of Epithelial-Mesenchymal Transition Markers in Circulating Tumor Cells from Pancreatic Cancer Patients: Potential Role in

Clinical Practice. *World Journal of Gastroenterology*, **25**, 138-150. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i1.138>

- [24] Han, D., Chen, K., Che, J., Hang, J. and Li, H. (2018) Detection of Epithelial-Mesenchymal Transition Status of Circulating Tumor Cells in Patients with Esophageal Squamous Carcinoma. *BioMed Research International*, **2018**, Article ID: 7610154. <https://doi.org/10.1155/2018/7610154>