

# 血液循環中的腫瘤細胞

編輯部

在癌症病人的血液中，有可能發現循環的腫瘤細胞（circulating tumor cell; CTC）嗎？這個想法已經存在了很久，但是等到1869年，澳大利亞醫師 Thomas Ashworth 在一個轉移性癌症病人血液中發現癌細胞<sup>1</sup>，這個想法才得到證實。不過，CTC的臨床價值一直等到九零年之後才為大家了解。

文獻上有許多的報告指出，在不同的癌症病人血液中可以找到CTC。不過，要在血液中捕捉這微量的細胞猶如大海撈針，在技術上是困難的，因為平均  $1 \times 10^9$  個血球細胞中才能看到一個腫瘤細胞<sup>2,3</sup>。不過由於科技的進步，現在我們已經可以分離CTCs了。

一般而言，CTC的偵測和純化技術大致可分成兩類：物理方法和生物方法。物理方法運用的是CTC的特徵，例如大小、密度、電位、移動能力和變形狀況。這些方法包括密度梯度離心（density gradient centrifugation）、過濾、雙向電泳（dielectrophoresis）。由於上皮的癌細胞比血球細胞還要大，所以有人使用過濾的方法來分離CTC<sup>4,5</sup>。不過最近的研究發現CTC和血球細胞的大小有相當程度的重疊，因此單純以大小來分離CTC是不可靠的。

生物學方法是利用免疫抗體來捕捉，它是目前分離CTC常用的技術。簡單地說，免疫學的方法是正向地以抗體來捕捉腫瘤細胞，再反向地以抗體來

排除血球細胞。例如前者使用的抗體為EpCAM，後者使用的抗體為CD45。EpCAM就是上皮細胞黏合分子（epithelial cell adhesion），它常常在癌細胞有過度的表現，有時還扮演癌基因的角色<sup>6,7,8</sup>。所以，EpCAM是常用的正向捕捉方法。而CD45是白血球的特殊抗原，所以能成為常用的反向排除方法。

以抗體為基礎的技術而言，CellSearch（Verifex）是最為廣泛運用的分離系統。在這個技術平台，先用裹上抗EpCAM抗體的免疫磁珠來抓腫瘤細胞，接著再用正向指標（針對上皮細胞的CK8/18/19，以及針對核酸的4',6'-diamidino-2-phenylindole hydrochloride）和反向指標（CD45）來濃縮癌細胞。有許多研究證實CellSearch系統可用於轉移性腫瘤病人的診斷和預後之評估。至今，此系統是唯一被美國FDA核准的方法，可用於偵測轉移性乳癌、攝護腺癌和大腸癌病人周邊血液中的CTC<sup>9-14</sup>。

由於某些CTCs有其特徵，因此科學家也使用腫瘤特異的標記來捕捉CTC，例如人類表皮生長因子2（human epidermal growth factor 2; HER2）、攝護腺特異抗原（prostate-specific antigen; PSA）、黏液-1/2（mucin-1/2; MUC1/2）以及癌胚胎抗原（carcinoembryonic antigen; CEA）等。最近，一個叫做CTC-Chip的微流體裝置（microfluidic-

based device) 也被用來偵測CTC以增加產量和純度。在這種裝置裡，全血經過晶片的時候會自動地優化其流體力學，而裹著anti-CpCAM抗體的微點 (micropost) 可直接從微量的血液中直接捕獲CTC。這些CTC接著會被染以次級抗體 (例如PSA或HER2)，然後再自動地於微點中被掃描。目前已有數篇研究報告指出其臨床用途<sup>15-17</sup>。

一旦CTC濃縮了之後，研究者就可執行辨識的程序以研究這些細胞的基因和生物學上的特徵。然而，CTC在外表型和基因型上常常是多變異性的。所以用anti-CpCAM抗體來捕捉CTC，就會錯過CpCAM陰性的腫瘤細胞，這是此方法的一大缺點，因為只有少數的惡性腫瘤細胞能夠發展成轉移的腫瘤。在這過程中，某些CTC會有「上皮到間葉的轉換 (epithelial-to-mesenchymal transition; EMT)」。此轉換的特徵就是，細胞會減少上皮的標記，而得到間葉的特徵<sup>18</sup>。EMT被認為和癌症的侵犯能力以及腫瘤細胞移動能力有關。顯然，用anti-CpCAM抗體來捕捉具有上皮細胞特徵的癌細胞，是很有可能錯過最具有侵犯能力的癌細胞。可惜，在血液中辨識出EMT類型的癌細胞，目前還是有困難。

現在幾乎所有的方法都是從體外血液中捕獲CTC。不過，最近有研究者嘗試從周邊靜脈中直接濃縮CTC<sup>19</sup>。他們是用裹以anti-CpCAM抗體的Seldinger導絲 (guidewire) 插入周邊靜脈，在30分鐘內從1.5公升的血液中捕捉大量的CTC。不過，這個看似新奇的裝置，尚需大規模的試驗才足以了解其潛在的不良反應。

從癌症病人的血液中發現循環的腫瘤細胞，是一個極為有用的技術。不過，目前仍然有很多技術

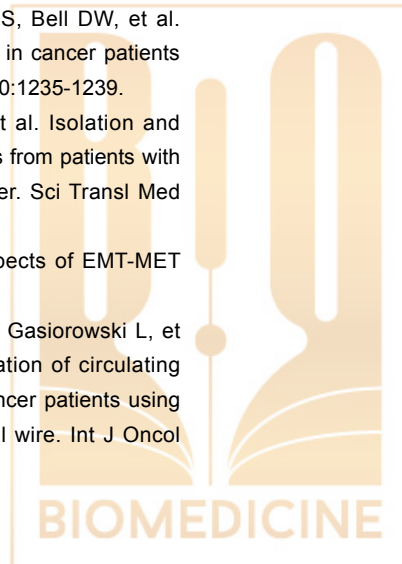
上的障礙需要克服。我們相信這個技術一定能夠為癌症治療帶來一大突破。

## 引用文獻

1. Ashworth T. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. *Aust Med J* 1869;14:146-149.
2. Ghossein RA, Bhattacharya S, Rosai J. Molecular detection of micrometastases and circulating tumor cells in solid tumors. *Clin Cancer Res* 1999;5:1950-1960.
3. Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res* 2004;10:6897-6904.
4. Zheng S, Lin H, Liu JQ, Balic M, et al. Membrane microfilter device for selective capture, electrolysis and genomic analysis of human circulating tumor cells. *J Chromatogr A* 2007;1162:154-161.
5. Vona G, Sabile A, Louha M, Sitruk V, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *Am J Pathol* 2000;156:57-63.
6. Munz M, Baeuerle PA, Gires O. The emerging role of EpCAM in cancer and stem cell signaling. *Cancer Res* 2009;69:5627-5629. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-0654.
7. van der Gun BT, Melchers LJ, Ruiters MH, de Leij LF, et al. EpCAM in carcinogenesis: the good, the bad or the ugly. *Carcinogenesis* 2010;31:1913-1921. doi:10.1093/carcin/bgq187.
8. Wenqi D, Li W, Shanshan C, Bei C, et al. EpCAM is overexpressed in gastric cancer and its downregulation suppresses proliferation of gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009;135:1277-1285.
9. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004;351:781-791.
10. Danila DC, Heller G, Gignac GA, Gonzalez-Espinoza R, et al. Circulating tumor cell number and prognosis in progressive castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:7053-7058.
11. Hayes DF, Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. *Clin Cancer Res* 2006;12:4218-4224.
12. Riethdorf S, Fritsche H, Müller V, Rau T, et al. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood of patients

with metastatic breast cancer: a validation study of the CellSearch system. Clin Cancer Res 2007;13:920-928.

13. Sastre J, Maestro ML, Puente J, Veganzones S, et al. Circulating tumor cells in colorectal cancer: correlation with clinical and pathological variables. Ann Oncol 2008;19:935-938.
14. Shaffer DR, Leversha MA, Danila DC, Lin O, et al. Circulating tumor cell analysis in patients with progressive castration-resistant prostate cancer. Clin Cancer Res 2007;13:2023-2029.
15. Maheswaran S, Sequist L V , Nagrath S, Ulkus L, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells. N Engl J Med 2008;359:366-377.
16. Nagrath S, Sequist L V, Maheswaran S, Bell DW, et al. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. Nature 2007;450:1235-1239.
17. Stott SL, Lee RJ, Nagrath S, Yu M, et al. Isolation and characterization of circulating tumor cells from patients with localized and metastatic prostate cancer. Sci Transl Med 2010;2:25ra23.
18. Thompson EW, Haviv I. The social aspects of EMT-MET plasticity. Nat Med 2011;17:1048-1049.
19. Saucedo-Zeni N, Mewes S, Niestroj R, Gasiorowski L, 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. Int J Oncol 2012;41:1241-1250.



# 生物醫學

BIOMEDICINE JOURNAL