

放疗对非小细胞肺癌患者循环肿瘤细胞数目的影响

何瀚, 黄荣, 蒋军

(佛山市第一人民医院, 广东 佛山 528000)

摘要: [目的] 探讨放疗对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者循环肿瘤细胞(CTCs)的影响。[方法] 选取42例NSCLC患者为研究对象, 比较放疗前后CTCs数目的变化情况, 并分析各亚组治疗前后CTCs数目的改变。[结果] 放疗前CTCs数目与患者性别、年龄、吸烟状况及临床分期的无关。与放疗前比较, 放疗后CTCs数目下降明显($P < 0.001$); 男性、年龄 >60 岁及吸烟患者治疗后CTCs数目下降有统计学意义。[结论] 放疗可以在不同程度上降低CTCs数目, 但不同患者异质性较大, 需个体化分析和判断。

关键词: 循环肿瘤细胞; 非小细胞肺癌; 放疗

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2019)05-0402-03

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.05.B004

Effect of Radiotherapy on Circulating Tumor Cells in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer

HE Han, HUANG Rong, JIANG Jun

(Foshan First People's Hospital, Foshan 528000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the effect of radiotherapy on circulating tumor cells (CTCs) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). [Methods] Forty-two patients with NSCLC were enrolled in the study. The changes in the number of CTCs before and after radiotherapy were compared. [Results] The number of CTCs before radiotherapy was not related to gender, age, smoking status and clinical stage of patients. Compared with that before radiotherapy, the number of CTCs decreased significantly after radiotherapy ($P < 0.001$). The stratified analysis showed that the number of CTCs after radiotherapy was significantly associated with concurrent chemotherapy, male sex, smoking, and age >60 years ($P < 0.05$). [Conclusion] Radiotherapy can reduce the number of CTCs, which is related to age, gender, smoking status and concurrent chemotherapy of patients.

Subject words: circulating tumor cells; non-small cell lung cancer; radiotherapy

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)为常见肺癌病理类型, 大部分NSCLC患者确诊时已到中晚期, 治疗效果欠佳。放疗是NSCLC的重要治疗手段, 近年来放射技术进步降低了放疗的副作用, 且局部疗效相对较好^[1,2]。循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)是肿瘤细胞增殖并突破原发病灶进入血循环的肿瘤细胞。CTCs与肿瘤转移、复发有关, 通过对CTCs动态监测对肿瘤诊断、治疗后预后评估有重要意义。文献报道放疗可以降低

肺癌、前列腺癌肿瘤患者CTCs, 且CTCs与预后相关^[3,4]。本文采用免疫磁珠富集分离联合免疫荧光细胞染色法检测CTCs数量, 评价放疗对NSCLC患者CTCs影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2016年7月至2018年9月本院收治日经病理确诊NSCLC患者42例, 其中男性24例, 女性18例, 年龄28~88岁, ≥ 60 岁29例, <60 岁13例; 吸烟史27例, 无吸烟史15例。临床分期Ⅱ期、Ⅲ期

通信作者: 何瀚, 副主任医师, 硕士; 佛山市第一人民医院胸腹放疗科, 广东省佛山市禅城区岭南大道北81号(528000); E-mail: hhan@fsyy.com

收稿日期: 2019-01-07; **修回日期:** 2019-04-19

及Ⅳ期分别为9例、22例、11例。所有患者根据实际情况按照临床路径接受肺部放疗,照射剂量50~70Gy,分次剂量为2.0Gy/d,1次/d,5次/周,其中26例患者同期接受细胞毒药物的联合方案化疗,16例未接受化疗。

1.2 纳入标准和排除标准

肺癌组纳入标准:①明确诊断为非小细胞肺癌;②入组前未接受抗癌治疗;③未合并其他恶性肿瘤病史;④入组前均签署知情同意书并同意行循环肿瘤细胞检测。排除标准:①合并严重的心肺功能不全;②既往疾病治疗史不明确;③严重贫血或感染;④依从性较差不能完成随访的患者。

1.3 CTCs 富集及计数

入选患者放疗前和放疗疗程结束后2周内接受采血检测。采取个体10ml静脉血放入EDTA抗凝管中,6h之内完成CD45磁珠(德国Miltenyi Biotech公司)阴性富集分离,离心后取试管底部沉积细胞,再加入ASI液20μl,混合均匀后将样品转移至玻片上,室温放置干燥后免疫荧光细胞化学染色法检测CK8,免疫荧光染色阳性者为CTCs。

1.4 统计学处理

数据采用SPSS19.0分析,计量资料符合正态分布则使用均数±标准差($\bar{x} \pm s$),患者治疗前后比较采用配对t检验,如方差不齐则使用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 放疗前 NSCLC 患者 CTCs 数目相关因素分析

放疗前 NSCLC 患者 CTCs 数目在0~27个,CTCs数目0者1例,CTCs数目超过20者3例。对入选患者按性别、年龄、吸烟状况、化疗状况及临床分期的不同分别进行比较,未发现上述因素与CTCs数目有关(Table 1)。

2.2 放疗后 NSCLC 患者 CTCs 数目相关因素分析

放疗周期结束后2周内复查CTCs,整体上CTCs数目呈显著性下降,从化疗前平均8.17个细胞下降到5.6个,中位数

从6.5下降到6($P < 0.001$)。男性、年龄>60岁及吸烟患者治疗后CTCs数目下降有统计学意义;女性或年龄≤60岁患者虽然CTCs数目也有下降,但未达到统计学差异。

16例单纯放疗的患者中,11例患者CTCs细胞数目下降,1例患者CTCs没有变化,4例患者有升高;在化疗合并放疗的患者中,有5例患者疗程结束后CTCs数目反而有升高,但大多数下降。根据同期有无联合化疗分组,联合化疗组CTCs数目下降明显($P < 0.001$),单纯放疗患者虽然CTCs细胞数目也显著性下降,CTCs均数从8.81下降到5.94,但中位数没有变化(Table 1)。

3 讨 论

肺癌是一种恶性程度高的常见肿瘤,目前早期筛查和诊断主要依据影像学检查结果,但研究发现在影像学可以检测到肿瘤之前,外周血就可检测到CTCs^[5]。CTCs是从原发灶或转移灶进入循环血液中的肿瘤细胞,与肿瘤转移和复发密切相关,但CTCs在外周血中的浓度非常低,肿瘤患者在百万个正常血细胞中才有一个肿瘤细胞^[6];肿瘤恶性程度越高、分期越晚,血液循环系统中CTCs也越多^[7]。CTCs异质性很强,不仅仅体现在细胞形态,而且体现在基因组和转录组异常,且不同的CTCs恶性化程度也可能不同。在肺癌早期肿瘤患者在未形成微小病变前外周血中已存在CTCs,准确的CTCs检测可以为早

Table 1 Correlation of clinical feature and circulating tumor cells in patients with NSCLC before and after treatment

Clinical feature		N	CTCs		t	P
			Before treatment ($\bar{x} \pm s$)	After treatment ($\bar{x} \pm s$)		
Gender	Male	24	9.08±6.18	5.88±3.81	0.0368	0.005
	Female	18	6.94±6.49	5.22±4.98	0.3781	0.378
Age	>60years	15	9.35±7.14	6.15±4.76	1.8977	0.002
	≤60years	27	6.25±4.27	4.69±3.40	1.1456	0.262
Smoking	Yes	25	8.00±5.38	5.40±3.34	2.0533	0.011
	No	17	8.41±7.69	5.88±5.53	1.1009	0.280
Chemotherapy	Yes	26	7.77±6.15	5.38±3.94	1.6641	0.006
	No	16	8.81±6.75	5.94±4.96	1.3723	0.181
Clinical stage	II	9	7.11±7.79	5.22±5.24	0.6038	0.556
	III	22	8.18±6.62	5.45±4.16	1.6355	0.014
	IV	11	9.00±4.67	6.18±4.14	1.4974	0.150
Total		42	8.17±6.33	5.60±4.31	2.1773	0.000

期肺癌的鉴别诊断提供重要依据^[8]。然而, CTCs 识别是一个复杂的工作, 肺癌细胞在上皮间质转变的过程中上皮细胞的表型会减少或变弱, 以上皮细胞特征为筛选 CTCs 或会降低检出率。文献报道基于上皮特征阳性富集的 CellSearch 分选系统虽然对乳腺癌患者的 CTCs 有较高的检出率, 但是对肺癌患者的检出率却相对较低^[9]。本文对 42 例 NSCLC 患者治疗前后 CTCs 进行比较, 总体上治疗后 CTCs 数目降低, 但有个别患者 CTCs 数目没有降低甚至还增加; 治疗前 CTCs 与不同临床分期 NSCLC 患者无统计学差异, 推测可能与本研究纳入患者例数较少有关。

CTCs 也可以作为评估肺癌预后的指标之一。一项关于 NSCLC 患者的研究发现成簇 CTCs 提示着较早的复发和较高的恶性程度^[10]。国内的一项研究发现随着肿瘤的临床分期提高, CTCs 检出率和检出 CTCs 数目也随之增高, CTCs 与远处转移呈相关性^[11]。本项目观察了化疗与 CTCs 间的相关性, 但未对患者进行长时间随访, 我们下一步将开展这方面的研究评估 CTCs 在化疗预后评估中的诊断价值。

总之, CTCs 是反映肺癌患者疗效的一个指标, 放疗可以在不同程度上降低 CTCs 数目, 但异质性较大, 具体到某个患者要对病情进行个体化分析和判断。

参考文献:

- [1] Mery B, Guy JB, Swalduz A, et al. The evolving locally-advanced non-small cell lung cancer landscape: building on past evidence and experience[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2015, 96(2): 319-327.
- [2] Irie D, Saitoh JI, Shirai K, et al. Verification of dose distribution in carbon ion radiation therapy for stage I lung cancer[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2016, 96(5): 1117-1123.
- [3] Charrier M, Mezquita L, Lueza B, et al. Circulating innate immune markers and outcomes in treatment-naïve advanced non-small cell lung cancer patients[J]. Eur J Cancer, 2019, 108: 88-96.
- [4] Lorente D, Olmos D, Mateo J, et al. Circulating tumour cell increase as a biomarker of disease progression in metastatic castration-resistant prostate cancer patients with low baseline CTC counts[J]. Ann Oncol, 2018, 29(7): 1554-1560.
- [5] Jin XR, Zhu LY, Qian K, et al. Circulating tumor cells in early stage lung adenocarcinoma: a case series report and literature review[J]. Oncotarget, 2017, 8(14): 23130-23141.
- [6] Woo D, Yu M. Circulating tumor cells as "liquid biopsies" to understand cancer metastasis[J]. Transl Res, 2018, 201: 128-135.
- [7] Li H, Li S, Zhang BJ, et al. Application of circulating tumor cells detection in non small cell lung cancer [J]. Int J Oncol, 2015, 42(4): 298-300. [李浩, 李胜, 张百江, 等. 循环肿瘤细胞检测在非小细胞肺癌中的应用[J]. 国际肿瘤学杂志, 2015, 42(4): 298-300.]
- [8] Xia YT, Zhang ZW, Song X, et al. Progresses of research on circulating tumor cells in the individualized diagnosis and treatment of non-small cell lung cancer [J]. Chin J Cancer Biother, 2017, 24(4): 367-372. [夏雨婷, 张志伟, 宋鑫. 循环肿瘤细胞在非小细胞肺癌个体化诊疗中的应用的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(4): 367-372.]
- [9] Francart ME, Lambert J, Vanwynsberghe AM, et al. Epithelial-mesenchymal plasticity and circulating tumor cells: travel companions to metastases[J]. Dev Dyn, 2018, 247(3): 432-450.
- [10] Sawabata N, Funaki S, Hyakutake T, et al. Perioperative circulating tumor cells in surgical patients with non-small cell lung cancer: does surgical manipulation dislodge cancer cells thus allowing them to pass into the peripheral blood?[J]. Surg Today, 2016, 46(12): 1402-1409.
- [11] Fan F, Wang ZQ. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood of patients with advanced non-small cell lung cancer and its clinical significance[J]. Journal of Oncology, 2018, 24(5): 429-433. [范凡, 王自全. 晚期非小细胞肺癌循环肿瘤细胞的测定及其意义[J]. 肿瘤学杂志, 2018, 24(5): 429-433.]