

SE-iFISH 有效检出皮肤癌 Ki-67/SCCA1 阳性 CTC、CTEC

Ki67 是一种核蛋白,与肿瘤细胞增殖 (proliferation)、核糖体 RNA (rRNA) 转录密切相关。肿瘤细胞的 Ki67 蛋白表达明显增高,被临床病理视为常用的细胞增殖及肿瘤浸润标志物^[1]。Ki67 蛋白主要分布在细胞核内,但亦可见于肿瘤细胞的细胞浆内。鳞状细胞癌抗原 (squamous cell carcinoma antigen 1, SCCA1) 是鳞癌的一种糖蛋白标志物。Ki67 及 SCCA1 与肿瘤大小、分期、进展、转移、疗效、术后 MRD、复发等相关,是不良预后的危险因素^[2]。国内外有关检测 Ki67⁺/SCCA1⁺ 染色体异倍体 CTC 及 CTEC 的研究一直为空白。

皮肤癌尤其是恶性黑色素瘤 (恶黑) CTC、CTEC 的有效检测与研究始终受到人们的密切关注。由于恶黑 CTC 不表达 EpCAM,因而基于 EpCAM 表达的各种抗体、多肽的方法无法检测恶黑 CTC。最近,南方医科大学皮肤病医院 (广东省皮肤病医院) 陈嵘祎主任团队与赛特生物密切合作,针对不同皮肤癌患者包括恶黑、Merkel 细胞癌、低分化鳞癌、湿疹样癌 (乳房外 Paget 病, EMPD) 等,应用赛特 SE-iFISH 技术对表达了不同肿瘤标志物的上皮或间质型 CD31⁺ CTC、

CD31⁺ CTEC 开展了初步探讨性临床研究,部分研究成果刚刚得到发表。赛特生物林平博士为本文通讯作者。

198

J Diagn Ther Dermatol-Venerol, Jun. 2023, Vol. 30, No. 3

· 基础 · 临床研究 ·

皮肤肿瘤患者外周血循环肿瘤细胞与循环肿瘤血管内皮细胞检测的临床价值

蔡桂月¹, 李思锐¹, 刘颖², 陈嵘祎¹, 罗素君¹, 林平²

1. 南方医科大学皮肤病医院, 广东 广州 510091; 2. 赛特生物医药科技有限公司, 江苏 泰州 225300

【摘要】 目的 探究循环肿瘤细胞 (CTC) 与循环肿瘤血管内皮细胞 (CTEC) 检测在皮肤恶性肿瘤中的临床运用价值。方法 采用差相富集-免疫荧光染色结合染色体荧光原位杂交 (SE-iFISH) 方法检测 5 例皮肤恶性肿瘤患者 (肿瘤组) 以及 14 例健康人 (健康组) 外周血中 CTC 及 CTEC 数量, 计算检出率, 分析肿瘤组 CTC/CTEC 的亚类分型特征以及 CTC/CTEC 数量与患者临床特征的相关性。结果 肿瘤组 CTC 及 CTEC 阳性检出率均为 100%, 外周血中 CTC 平均值为 (6.93 ± 8.18) 个/mL, CTEC 平均值为 (1.60 ± 1.03) 个/mL; 健康组 CTC 及 CTEC 阳性检出率均为 64%, 外周血中 CTC 平均 (0.19 ± 0.21) 个/mL, CTEC 平均 (0.30 ± 0.33) 个/mL。肿瘤直径较大、伴淋巴结转移、临床分期为 III、IV 期患者 CTC 及 CTEC 水平较高。肿瘤患者大细胞 CTC 占总数的 88.46% (184/208), 大细胞 CTEC 占总数的 81.25% (39/48), 且主要为 ≥ 五倍体 CTC 和 CTEC。结论 皮肤肿瘤患者 CTC/CTEC 检出率较高; CTC 及 CTEC 数量与患者临床特征具有密切关系; 皮肤肿瘤外周血中大细胞多倍体 CTC 和 CTEC 比例高于其他亚型。

【关键词】 循环肿瘤细胞; 循环肿瘤血管内皮细胞; 皮肤肿瘤; 差相富集-免疫荧光染色结合染色体荧光原位杂交

DOI: 10.3969/j.issn.1674-8468.2023.03.003

通信作者: 林平, 博士, E-mail: plin_cyto@cytelligen.com

基金项目: 广东省自然科学基金 (2020A1515010281)

实验结果显示, SE-iFISH 可有效检测表达了 Ki67、SCCA1 的上皮型 (EpCAM⁺) 或间质型 (Vimentin⁺) 异倍体 CTC 及 CTEC。CTEC-CTC 数目与皮肤癌原发灶直径、淋巴结转移、中晚期分期成正比。由于外周血中的肿瘤细胞大小具有重要的临床意义^[3], 且染色体异倍体数目与肿瘤细胞恶性度成正比^[4]、与肿瘤耐药密切相关, 因而精确检测这些不同大小 CTC、CTEC 的染色体数目格外重要。

SE-i-FISH 原位联合检测皮肤癌异倍体 CD31⁻ CTC 及 CD31⁺ CTEC

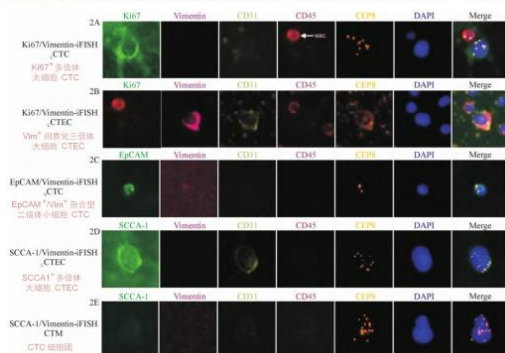


表 2 5 例皮肤肿瘤患者的临床特征及 CTC/CTEC 计数

Table 2 Clinical characteristics and CTC/CTEC count of five patients with skin tumors

组织名称	肿瘤大小 (cm)	淋巴结转移	临床分期	CD31 ⁻ 异倍体 CTC 个数 (CD31 ⁺ 异倍体 CTEC 个数)
Merkel 细胞癌	<10	无	I	25
黑色素瘤	<10	无	I	24
黑色素瘤	<10	无	I	16
低分化鳞状细胞癌	<10	—	—	14
乳房外 Paget 病	>10	有	Ⅲ	129

需要特别指出的是，与非小细胞肺癌 NSCLC 相似，除了检测出的各种肿瘤标志物阳性细胞外，所有患者检测出的循环稀有细胞，无论是 CD31⁻ CTC 还是 CD31⁺ CTEC，均以不表达任何肿瘤标志物的异倍体裸细胞 (null cell) 占多数，裸细胞 CTEC 预测贝伐单抗对 NSCLC 具有较好疗效已被报道^[5]。

(Ki67 + Vim)-iFISH	(Ki67 + Vim)-iFISH	(EpCAM + Vim)-iFISH
24 CD31 ⁻ CTC	16 CD31 ⁻ CTC	129 CD31 ⁻ CTC
7 CD31 ⁺ CTEC	7 CD31 ⁺ CTEC	20 CD31 ⁺ CTEC
包括	1 CTC 细胞团 (CTM)	4 CTC 细胞团 (CTM)
1 Ki67 ⁺ CTC	1 Vim ⁺ CTC	3 EpCAM ⁺ CTC, 1 Vim ⁺ CTC
1 Vim ⁺ CTC	5 Vim ⁺ CTEC	2 EpCAM ⁺ CTEC
2 Ki67 ⁺ CTEC	2 null CTC	125 null CTC
22 null CTC	2 null CTEC	18 null CTEC
5 null CTEC		

本研究显示，肿瘤患者体内检测出的 CTC、CTEC 数目明显高于健康对照组，两组间数目具有显著统计学差异。

组别	项目	检出 (个)	平均值 (个/mL)	检出率 (%)
肿瘤组 (n = 5)	CTC	208	6.93 ± 8.18	100
	CTEC	48	1.60 ± 1.03	100
健康组 (n = 14)	CTC	16	0.19 ± 0.21	64
	CTEC	25	0.30 ± 0.33	64

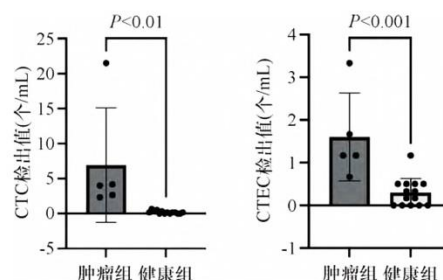


图 1 肿瘤组与健康对照组 CTC 及 CTEC 的比较

结论

SE-i-FISH 可有效检测皮肤癌患者体内的上皮或间质型 Ki67⁺/SCCA1⁺ CTC、CTEC，从而为进一步深入研究这些不同亚类的循环稀有细胞在皮肤癌及其它瘤种中的临床意义提供了可靠技术保障。

文献

1. Brown et al. (2002) Ki67 protein: the immaculate deception? Histopathol 40:2.
2. Li et al. (2015) Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer (Review). Mol Med Reports 11:1566.
3. Kronenwett et al. (2004) Improved grading of breast adenocarcinomas based on genomic instability. Cancer Res 64:904
4. Wang et al. (2018) Quantified postsurgical small cell size CTCs and EpCAM+ circulating tumor stem cells with cytogenetic abnormalities in hepatocellular carcinoma

patients determine cancer relapse Cancer Lett 412:99.

5. Zhang et al. (2021) Role of aneuploid circulating tumor cells and

CD31+ circulating tumor endothelial cells in predicting and monitoring anti-angiogenic therapy efficacy in advanced NSCLC. Mol Oncol 15:2891.