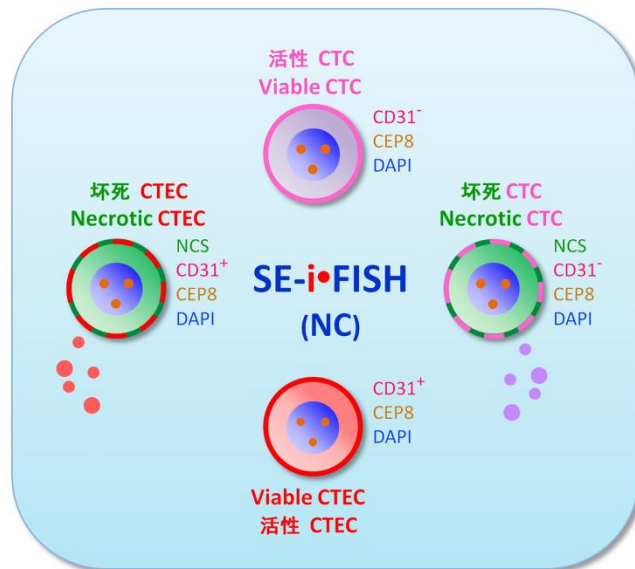


新领域！SE-iFISH (NC) 区分与检测活性及坏死细胞 CTC、CTEC



CTC 及 CTEC 的重要临床意义在国内、外已被广泛报导。正当人们仍将目光聚焦于无法有效区分活性与坏死细胞 CTC 检测方法的时候，赛特生物应国内外广大医生的积极建议与迫切需求，经过长期努力，在全球首次开发出可有效区分、检测肿瘤患者体内活性及坏死异倍体 CTC、CTEC 的独特技术 SE-iFISH® (NC)，从而为肿瘤精准个体化治疗提供了全新的评估手段，以快速、准确评估疗效。该技术开辟了 CTC、CTEC 相关基础研究、转化医学及临床应用的新领域，为探索肿瘤发生、转移、复发、MRD 及抗肿瘤新药研发提供了新的途径。相关最新进展刚刚在 *Cancers* 上得到发表 (Lin et al. 2021 *Cancers* 13:5108) (影响因子 IF=6.639)，赛特生物林平博士为本文通讯作者。

有效鉴别外周血中活性及坏死肿瘤细胞的重要临床意义

循环肿瘤细胞 (CD31⁻ CTC) 及循环肿瘤血管内皮细胞 (CD31⁺ CTEC) 作为血液中的一对独特的“细胞型循环肿瘤标志物”^[1]，两者相辅相成，在肿瘤血管生成及肿瘤发生、进展、耐药、转移、复发、MRD 等方面发挥着重要作用。相对于目前临床常用的无差别混合计数 CTC、CTEC 活细胞及死细胞，应用赛特 SE-iFISH® (NC) 对正在接受肿瘤治疗的患者体内分别检测活细胞和死细胞 CTC、CTEC，能更直观、全面、实时性地判断抗肿瘤药物对肿瘤治疗的有效性，并进一步揭示这些对治疗耐受的不同活性细胞的重要临床意义。

坏死异倍体 CTCs、CTECs:

- 治疗初期快速评估疗效：肿瘤患者治疗初期，体内大部分 CTC、CTEC 如果呈现为坏死细胞 (necrotic cell, NC)，提示治疗方案有效。相对于体外建模筛药，此检测能在第一时

间为医生提供更加客观、准确的药物有效性评估，有助于精准制定肿瘤个体化治疗方案

- 动态监测疗效：治疗过程中持续检测出 CTC、CTEC 死细胞提示肿瘤治疗持续有效

活性异倍体 CTCs、CTECs:

- 治疗初期持续检测出大量活细胞 CTC、CTEC 提示药效不佳
- 实时动态监测肿瘤转移、进展及耐药产生：治疗过程中出现大量活性 CTC、CTEC，提示肿瘤产生耐药并伴有肿瘤转移与进展
- 全程治疗结束后，患者体内仍残存有大量活性 MRD CTC、CTEC，提示治疗效果不佳，存在较高复发风险

如果能够做到无创性地快速识别、动态监测肿瘤患者体内对药物敏感的坏死肿瘤细胞及对治疗产生耐药的活性肿瘤细胞，其重要临床意义不言而喻！

CTC 及 CTEC 均具有肿瘤细胞的典型特征 – 染色体异倍体。染色体的异倍体数目与肿瘤细胞的恶性度成正相关^[2]。异倍体 CTC、CTEC 来自于肿瘤原发灶中某些特殊克隆的细胞，这些细胞脱落入血后，在循环系统内经过不断适应性筛选，其细胞特性（包括瘤标表型蛋白表达、对药物的敏感与耐受性等）与原发灶肿瘤细胞有很大的不同^[3]，最后得以生存的 CTC、CTEC 在远端器官形成新的转移灶或耐药性 MRD^[4]。目前，不断有报道指出，**肿瘤治疗过程中应做到有效检出、锁定、消**

除活性异倍体 CTC、CTEC，以减少肿瘤转移并降低复发风险^[5, 6]。

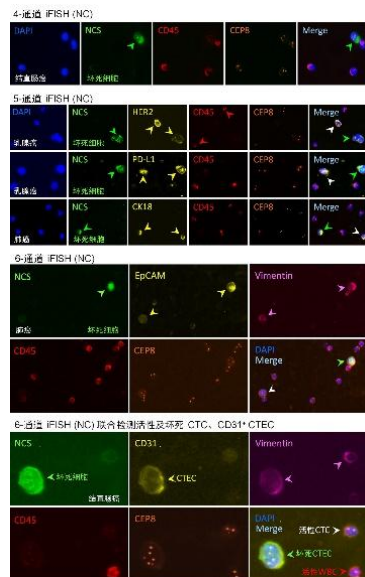
在 CTC、CTEC 上开展坏死细胞检测的首要前提是具备可靠的细胞分离手段，以维持细胞膜的完整性及细胞高活性。然而多项研究表明，目前较常见的微流控、低渗裂解红细胞、压力过滤去除白细胞等方法产生的副作用，如剪切应力 (shear stress) 等，均易对细胞膜造成损伤，从而使细胞的通透性增加^[7-9]，造成坏死细胞染料非特异性进入活细胞，人为造成坏死细胞染色假象。赛特“差相富集技术 (SE)”的实验路径规避了这些潜在问题^[10]，可在有效富集各种 CTC、CTEC 的同时有效保持细胞膜的完整性及维持细胞极高的生物活性^[11]。

相对于单纯使用角蛋白 CK 抗体染色鉴别 CTC 会带来因 EMT 引起的不可忽视的假阴性^[10, 12]，大量发表的多中心研究成果证明，常规 i•FISH 技术对 CTC、CTEC 进行染色体异倍体、肿瘤标志物蛋白表达及细胞形态三位一体的全方位检测，能够确保对这些细胞检测的高灵敏性与高特异性。然而常规 i•FISH 并不能区分活性与坏死 CTC 及 CTEC，且通常使用的坏死细胞 (necrotic cell, NC) 鉴定方法与常规 i•FISH 技术不匹配，两者无法进行有效整合。

SE-i•FISH (NC) 联合检测异倍体 CTC 与 CTEC

赛特生物通过不懈努力与创新，对常规 i•FISH 的试剂组成、实验流程等方面进行了一系列改进与优化，在大量实验验证的基础上，首次成功开发出可有效区分、

联合检测异倍体 CTC、CTEC 活细胞与坏死细胞的 **SE-i•FISH® (NC)** 新技术。如图所示，表达了 HER2、PD-L1、上皮标志物 CK、EpCAM 或间质化标志物 Vimentin 的肠癌、乳腺癌、肺癌等瘤种的坏死与活性异倍体细胞 CTC、CTEC 均可被精确识别出来。研究人员根据需要，可自由选取 4、5 或 6 通道 **SE-i•FISH® (NC)** 以开展相关检测与研究。



SE-i•FISH® (NC) 可一网打尽对药物敏感或耐受的各种 CTC、CTEC 细胞亚类，以帮助临床医生根据用药后检测出的活细胞或死细胞迅速判断药效，从而为转化医学、肿瘤精准治疗提供有力证据。并且，该技术为人们从全新领域进一步深入研究 CTC、CTEC 的重要临床意义提供了可靠的技术保障。

相关文献

1. Lin 2020 Aneuploid Circulating Tumor-Derived Endothelial Cell (CTEC): A Novel Versatile Player in Tumor Neovascularization and Cancer Metastasis. **Cells** 9:1539.

2. Danielsen et al., 2016 Revisiting tumour aneuploidy - the place of ploidy assessment in the molecular era. **Nat Rev Clin Oncol** 13:291.
3. Pantel et al., 2004 Dissecting the metastatic cascade. **Nat Rev Cancer** 4:448.
4. Meads et al., 2009 Environment-mediated drug resistance: a major contributor to minimal residual disease. **Nat Rev Cancer** 9:665.
5. Pantel et al., 2019 Liquid biopsy and minimal residual disease - latest advances and implications for cure. **Nat Rev Clin Oncol** 16:409.
6. Pierga et al., 2008 Circulating tumor cell detection predicts early metastatic relapse after neoadjuvant chemotherapy in large operable and locally advanced breast cancer in a phase II randomized trial. **Clin Cancer Res** 14:7004.
7. Regmi et al., 2017 High Shear Stresses under Exercise Condition Destroy Circulating Tumor Cells in a Microfluidic System. **Sci Rep** 7:39975.
8. Suttera 1977 Flow-induced trauma to blood cells. **Circulation Res** 41:2.
9. Vuorte et al., 2001 Evaluation of red blood cell lysing solutions in the study of neutrophil oxidative burst by the DCFH assay. **Cytometry A** 43:290.
10. Lin 2015 Integrated EpCAM-independent subtraction enrichment and iFISH strategies to detect and classify disseminated and circulating tumors cells. **Clin Transl Med** 4:38.
11. Lin et al., 2017 Comprehensive in situ co-detection of aneuploid circulating endothelial and tumor cells. **Sci Rep** 7:9789.
12. Yang et al., 2020 Guidelines and definitions for research on epithelial-mesenchymal transition. **Nat Rev Mol Cell Biol** 21:341.