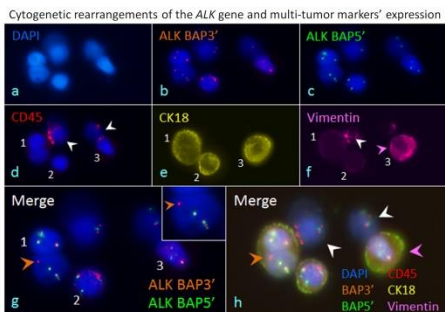


## 异倍体 CTC-WBC 细胞团在驱动基因突变阴性 NSCLC 中的重要意义

非小细胞肺癌 (NSCLC, 包括肺腺癌与肺鳞癌) 的肿瘤细胞中一些基因能编码对癌细胞生长起关键作用的蛋白, 这类基因被称作驱动基因 (driver genes)。NSCLC 会发生某些典型的驱动基因突变, 如表皮生长因子受体 EGFR、KRAS、BRAF、MET、PIK3CA、HER2 突变、ROS1 及 RET 基因重排、适于 SE-i•FISH 可视性检测的 ALK 融合基因 (钻石突变) 等。

SE-i•FISH 检测上皮或间质型 NSCLC 肿瘤细胞内的 ALK 融合基因



**Figure 3.** iFISH to co-detect cytogenetic rearrangements of the ALK gene and multi-tumor biomarker expression in cancer cells enriched from blood. A blood specimen containing adenocarcinoma NSCLC cells A549 was subjected to subtraction enrichment, followed by ALK/CK18/Vimentin-iFISH to quantitatively and qualitatively co-detect Chr 2 cytogenetic rearrangements of the broken apart ALK gene, and expression of CK18 as well as the mesenchymal marker Vimentin in enriched cells (a). The iFISH was performed using Vysis 3' (orange, (b)) and 5' (green, (c)) ALK Break Apart Probes (BAP) (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA). In situ immunofluorescence staining shows that two of cells are WBCs (CD45<sup>+</sup>, white arrows, (d)), and the rest of the enriched cells are the spiked non-hematologic cancer cells coded 1-3 (CD45<sup>-</sup>). Cell 1 has two nuclei. All the enriched cancer cells have positive expression of CK18 (CK18<sup>+</sup>/CD45<sup>-</sup>, (e)), whereas only cancer cell 3 has high amount of mesenchymal marker Vimentin co-expressed (Vimentin<sup>+</sup>/CK18<sup>+</sup>/CD45<sup>-</sup>, pink arrow, (f)). Cells 2 and 3 do not express Vimentin. One of the WBCs reveals significant positive staining of Vimentin (Vimentin<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>, white arrow, (f)). Analysis of ALK-iFISH detection (g) of merged (b,c) shows a positive signal of the broken apart ALK gene (the single isolated orange dot of BAP3' FISH signal, orange arrow) in the lung cancer cell-1 (CK18<sup>+</sup>/Vimentin<sup>-</sup>/CD45<sup>-</sup>). An enlarged image of the positive by either adjacent (green and orange) or overlapped (yellow) ALK BAP3' and ALK BAP5' FISH signals (solid or diffused dots) in tumor cells 1-3 and WBCs. (h) reveals the overlapping image of merged 6 fluorescence channels (a-f), showing a CK18<sup>+</sup>/Vimentin<sup>-</sup> cancer cell possessing the incomplete ALK gene (orange arrow), the CK18<sup>+</sup>/Vimentin<sup>+</sup> double positive cancer cell (pink arrow) and WBCs (white arrows). All the images were acquired and analyzed by the Metafer-iFISH<sup>®</sup> automated CRC scanning and analysis system (Zeiss, MetaSystems, and Cytelligen).

Lin 2018 *Diagnostics (Basel)* 8:26

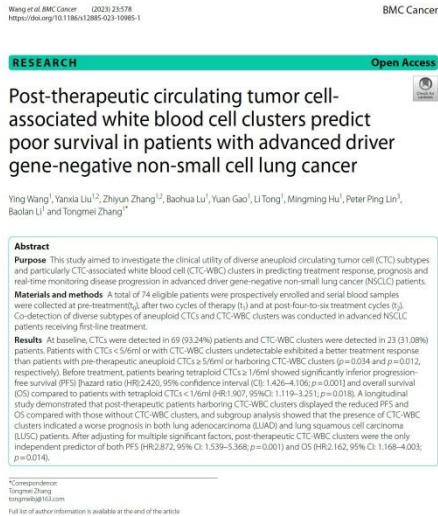
这些驱动基因 (尤其是 EGFR 及 ALK) 的改变构成了一线靶向药物络氨酸激酶抑制剂 (TKIs) 的靶点, 在治疗 NSCLC 过程中具有重要作用。驱动基

因突变阴性 (driver-gene negative) 则不适于 TKI 靶向治疗。无驱动基因突变的患者较易发生治疗耐受与肿瘤进展, 其 5 年生存率较低 (16~32%), 因而临床亟需一类新的标志物用于指导对此类 NSCLC 患者的治疗。

CTC 在外周血中常以单个细胞、CTC-CTC 细胞团 (microemboli, 癌栓) 或 CTC-白细胞细胞团的形式存在。其中白细胞 WBC 在外周血及肿瘤微环境中调节 CTC 细胞周期、促进 CTC 在肿瘤转移过程中的播种等一系列重要作用已被报道<sup>[1]</sup>。因此, 有效检测异倍体 CTC-WBC 在实时监测肿瘤进展、预测及指导临床治疗等方面具有非常重要的作用。上海复旦大学华东医院胸外科及血管外科与赛特生物之前共同报道了应用 SE-i•FISH 检测治疗前基线 CD31<sup>+</sup> CTC-WBC 在 NSCLC 中的预后意义<sup>[2]</sup>,

然而对于 NSCLC (尤其是无驱动基因突变患者) 治疗全程中各种异倍体 CTC 亚类细胞及“CTC-WBC”细胞团的动态衍变以及相关临床意义的研究仍为空白。最近, 首都医科大学附属北京胸科医院张同梅主任团队与赛特生物联合应用赛特 SE-i•FISH 技术针对此空白领域开展

了深入临床研究，相关重要成果刚刚在线发表 (Wang et al. 2023 BMC Cancer 23:578)。



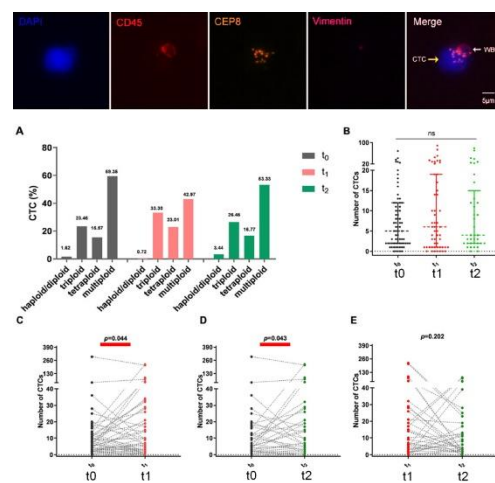
## 本文要点

- 前瞻性入组 74 例驱动基因突变阴性的初诊晚期 NSCLC 患者 (advanced NSCLC, aNSCLC, stage IIIB, IV), 包括 49 例肺腺癌及 25 例肺鳞癌; 所有患者接受铂类化疗或补加抗血管生成、免疫治疗或放疗
- SE-i•FISH** 动态检测 CD31<sup>+</sup>CTC 及 CTC-WBC (6 ml 血量): 治疗前基线、2 疗程后、4-6 疗程后
- 基线:** CTC 检出率 93% (63/74), CTC-WBC 检出率 31% (23/74); CTC 数量 ≥5、四倍体 CTC (tetraploid) 阳性检出 (≥1) 或 CTC-WBC 阳性检出 (≥1), 患者预后差

- 治疗中:** CTC-WBC 的阳性检出预示肺腺癌 (LUAD) 及肺鳞癌 (LUSC) 的较差预后
- 与基线相比, 治疗后检测出 CTC-WBC 细胞团是更为有效的 NSCLC 独立预后指标(包括 PFS 及 OS)

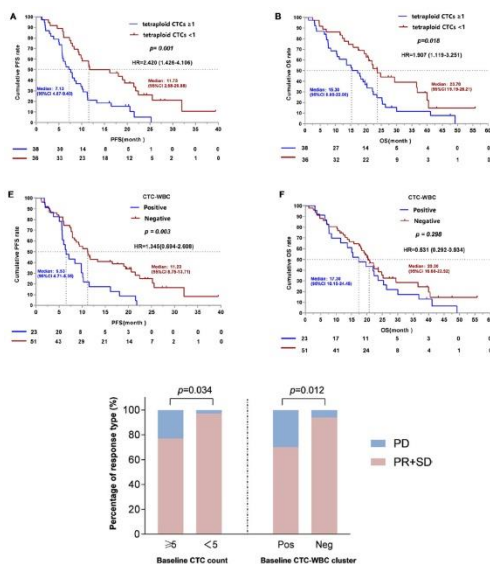
## 治疗前、后 CTC 量化分析

染色体异倍体数目与肿瘤细胞的恶性度高度相关<sup>[3]</sup>。本研究检测出的基线及治疗后 CTC 均为 8 号染色体多倍体 (Chr8 ≥5 倍体) 占多数, 其次为三倍体。作者进一步分析了每一个患者治疗前、后 CTC 数量变化, 结果显示基线细胞数目与 2 疗程后 (t<sub>0</sub> vs t<sub>1</sub>,  $p=0.044$ )、基线与 4-6 疗程后 (t<sub>0</sub> vs t<sub>2</sub>,  $p=0.043$ ) 相比均显著下降, 但 t<sub>1</sub> vs t<sub>2</sub> 差别并不明显 ( $p=0.202$ )。



## 基线 CTC 及 CTC-WBC

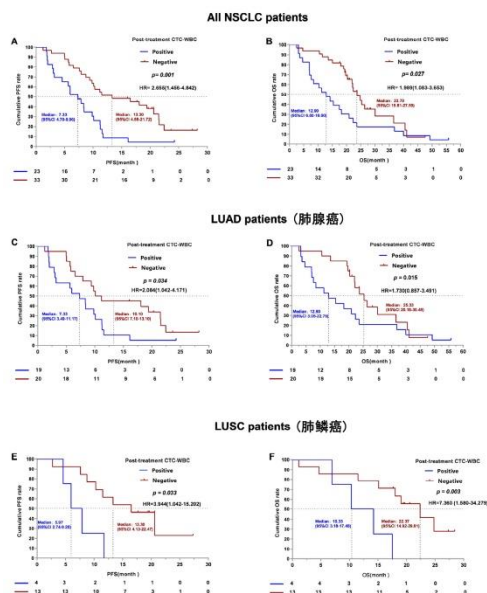
本研究首次发现治疗前基线四倍体 CD31<sup>+</sup> CTC 的重要意义。治疗前检测出该类细胞 ( $\geq 1$ )，NSCLC 患者的 mPFS 及 mOS 均短于阴性检出 (mPFS: 7.13 vs 11.73 mo,  $p=0.001$ )。治疗前 CTC-WBC 的阳性检出 ( $\geq 1$ ) 与较短 mPFS 相关 (6.53 vs 11.23 mo,  $p=0.003$ )，但与 mOS 无明显相关性。



## 治疗中 CTC-WBC

作者对开始接受治疗的 NSCLC 患者体内的 CTC-WBC 细胞团进行了动态监测。治疗开始后 CTC-WBC 细胞团阳性检出 ( $\geq 1$ , t1 或 t2) 的 NSCLC 患者总体分析，或将这些患者分类成肺腺癌 (LUAD)、肺鳞癌 (LUSC) 分别考量，

其 mPFS 及 mOS 均显著短于 CTC-WBC 阴性检出患者。



## 结论

伴随肿瘤治疗过程，动态检测异倍体 CTC-WBC 细胞团可快速评估肿瘤治疗的初期疗效，实时监测肿瘤进展，并有效预测驱动基因突变阴性的 NSCLC 患者生存时间。

## 参考文献

1. Szczerba et al. 2019 *Nature* 566:553–57.
2. Li et al. 2022 *J Thorac Dis* 14:1544-55.
3. Kronenwett et al. 2004 *Cancer Res* 6:904