·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. 泰州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

Significance of CTC and CTEC values in the peripheral blood of subjects with skin tumors

CAI Guiyue[1], *LI Sirui*[1], *LIU Ying*[2], *CHEN Rongyi*[1], *LUO Sujun*[1], *LIN Ping*[2]

1. *Dermatology Hospital, Southern Medical University, Guangzhou* 510091, *China*; 2. *Cytointelligen, Taizhou* 225300, *China*

Corresponding author: *LIN Ping*, *E-mail*: *plin.cyto@cytelligen.com*

[**Abstract**] **Objective** To investigate the clinical utility of identifying circulating tumor cells (CTC) and circulating tumorigenic endothelial cells (CTEC) in skin malignancies. **Methods** Subtraction enrichment-immunostaining and fluorescence in situ hybridization (SE-iFISH) were used to detect the number of CTC and CTEC in the peripheral blood of 5 patients with skin tumor (tumor group) and 14 healthy individuals (healthy controls), and the detection rate was calculated. The subtype characteristics of CTC/CTEC and the correlation between the number of CTC/CTEC and the clinical characteristics of the patients were analyzed. **Results** The positive rates of CTC and CTEC in the tumor group were 100%. The average CTC were (6.93±8.18)/mL and CTEC were (1.60±1.03)/mL in the peripheral blood of the tumor group. The positive rates of CTC and CTEC in the healthy controls were both 64%. The average CTC were (0.19±0.21)/mL,

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)

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

and CTEC were (0.30 ± 0.33) /mL in the peripheral blood of the healthy controls. Patients with larger diameter of tumor, lymph node metastasis, and clinical stages of III and IV had higher levels of CTC and CTEC; Large CTC accounted for 88.46% (184/208) of the total tumor cells, while large CTEC accounted for 81.25% (39/48) of the total tumor cells, which mainly were ≥ pentaploid CTC and CTEC. **Conclusions** Using SE-iFISH, the detection rates of CTC/CTEC are high in patients with skin tumors. The amounts of CTC and CTEC are correlated with the clinical features of patients. A higher proportion of CTC and CTEC is large multiploid cells in peripheral blood of subjects with skin tumors.

[**Keywords**] CTC; CTEC; skin tumor; subtraction enrichment-immunostaining and fluorescence in situ hybridization

皮肤作为人体面积最大器官,是抵御紫外线、细菌、病毒等的第一道防线[1-2],当其平衡被打破可发生多种恶性肿瘤,部分肿瘤恶性程度高,发生早期转移,病死率高[3-6]。循环肿瘤细胞(circulating tumor cells,CTC)、循环肿瘤血管内皮细胞(circulating tumorigenic endothelial cells,CTEC)分别为肿瘤细胞、肿瘤血管内皮细胞脱落入血形成,存在于肿瘤发生、发展全过程,具有完整的肿瘤生物学信息,是肿瘤转移的驱动因素,代表肿瘤的侵袭性,能全面、真实反映肿瘤整体负荷和复发转移潜能[7-10]。迄今为止,CTC 和 CTEC 检测技术已在乳腺癌、结直肠癌、肺癌、膀胱癌、宫颈癌等多种肿瘤中得到探索和运用[11-15]。目前 CTC 和 CTEC 的检测方法大多是根据 CTC 大小或细胞表面特殊标记物的表达进行识别,而肿瘤细胞不可预知的高异质性极大地限制了其在众多实体瘤中的临床应用。差相富集-免疫荧光染色结合染色体荧光原位杂交(SE-iFISH)技术通过有效富集各种实体瘤的 CTC 和 CTEC,并应用免疫荧光染色结合染色体荧光原位杂交(iFISH)对它们进行鉴别与分类,从而确定并分离出具有特殊临床意义的 CTC 和 CTEC。相较于其他检测方法,SE-iFISH技术在灵敏度及特异性方面具有明显优势。因此,本研究采用 SE-iFISH 技术检测皮肤恶性肿瘤患者外周血的 CTC 及 CTEC,初步探索 CTC 及 CTEC 检测在皮肤肿瘤中的临床运用价值。

1 材料与方法

1.1 标本来源

纳入 2022 年 8—9 月于南方医科大学皮肤病医院就诊的 5 例皮肤肿瘤患者,其中男 2 例,女 3 例;年龄 56~89 岁,平均(72.80 ± 14.65)岁。包括 2 例黑色素瘤,1 例 Merkel 细胞癌,1 例低分化鳞状细胞癌,1 例乳房外 Paget 病(extramammary Paget's disease,EMPD)。其中 EMPD 患者肿瘤大小超过 10 cm,合并淋巴结转移,临床分期为Ⅲ期;1 例低分化鳞状细胞癌肿瘤小于 10 cm,淋巴结及分期情况不明;其余 3 例肿瘤小于 10 cm,无淋巴结转移,临床分期为Ⅰ期。纳入标准:①符合中国临床肿瘤学会(CSCO)黑色素瘤诊疗指南(2022 版)[16]或皮肤鳞状细胞癌诊疗专家共识(2021)[17]或病理诊断为 Merkel 细胞癌[18]或病理诊断为 EMPD[19];②未接受药物或放射等抗肿瘤治疗。③采集标本之前均未接受任何药物或放射治疗,且未合并其他恶性肿瘤或重大疾病。排除标准:①合并其他实体肿瘤;②合并白血病、淋巴瘤等血源性肿瘤。对照组 14 例来源于同期泰州赛特生物医药科技有限公司招募的体检健康者,其中男 7 例,女 7 例;年龄 49~76 岁,平均(62.00 ± 8.63)岁。两组之间性别($P = 1.000$)、年龄($t = 2.00$,$P = 0.062$)分布无统计学差异,具有可比性。本研究经南方医科大学皮肤病医院伦理委员会批准(GDDHLS-2023032)。研究对象均已签署知情同意书。

1.2 主要试剂和仪器

人外周血 CTC、CTEC 差相富集试剂盒(赛特生物),iFISH 人 CTC、CTEC 检测试剂盒(赛特生物)。S500 型原位杂交仪(ThermoBrite),ST-16 型低速离心机(ThermoBrite),CS-08 型 iFISH 全自

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

动 CTC 图像扫描与分析系统(赛特生物),DHG-9031A 型电热干燥箱(上海精宏)。

1.3 方法

1.3.1 CTC、CTEC 差相富集 首先采集研究对象外周静脉血 6.0 mL 到 ACD 抗凝血管中,然后按以下步骤操作:①去除血清:常温 800 g 离心 8 min,去除上层血清,保留下层血细胞;②去除红细胞:在 50 mL 离心管中加入 3 mL 样本密度分离液,在样本密度分离液上层叠加血细胞,450 g 离心 6 min后,将含有白细胞和 CTC、CTEC 的白膜层吸到新的 50 mL 离心管中;③去除白细胞:在放有白细胞混液的离心管中加入 300 μL 磁珠,将离心管倾斜置于摇床上,130 r/min,摇动 20 min,靠磁力架静置 3 min,白细胞和磁珠混合物吸附在离心管四周,从中间吸取细胞悬液至新的 50 mL 离心管中,加入清洗液清洗后弃上清至 50 μL。

1.3.2 CTC、CTEC iFISH 检测 ①液染抗体:加入 2 μL 抗原修复液修复 10 min 后,加入 200 μL 抗体混合液(分别为三种抗体组合:$CD45^+CD31^+EpCAM^+Vimentin$; $CD45^+CD31^+Ki^-67^+Vimentin$; $CD45^+CD31^+SCCA\text{-}1^+Vimentin$),室温避光孵育 20 min,650 g 离心 5 min,弃上清至 100 μL。②固定和涂片:混匀细胞沉淀后加入 100 μL 固定液混匀、涂片,过夜烘干玻片。③染色体荧光原位杂交(FISH):将烘干的玻片经过晾置、杂交清洗液清洗和无水乙醇洗涤、脱水后,进行 CEP8(8 号染色体着丝粒探针)杂交。杂交条件为 76 ℃变性 10 min,37 ℃杂交 4 h。杂交结束清洗液清洗后滴加 10 μL DAPI 染液封片,并于 iFISH 全自动 CTC 图像扫描与分析系统扫描分析。

1.4 CTC、CTEC 判断标准

采用上皮细胞黏附分子(EpCAM)、波形蛋白(Vimentin)、鳞状细胞癌抗原 1(SCCA1)、细胞增殖标志物(Ki-67)、血小板 - 内皮细胞粘附分子(CD31)、白细胞分化抗原(CD45)、DNA 强力结合荧光染料 4′,6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)及 8 号染色体着丝粒探针(CEP8)共同识别肿瘤患者血液中的 CTC 及 CTEC。

CTC 定义为:$CD45^-/CD31^-/EpCAM^{+/-}/Vimentin^{+/-}/DAPI^+/CEP8 = 1/3/4/\geq 5$; $CD45^-/CD31^-/EpCAM^+$ 或 $Vimentin^+/DAPI^+/CEP8^+$。

CTEC 定义为:$CD45^-/CD31^+/EpCAM^{+/-}/Vimentin^{+/-}/DAPI^+/CEP8 = 1/3/4/\geq 5$; $CD45^-/CD31^+/EpCAM^+$ 或 $Vimentin^+/DAPI^+/CEP8^+$。

根据 CTC 及 CTEC 的大小、8 号染色体倍体、肿瘤标志物表达情况等,将检测到的所有 CTC 及 CTEC 分为不同亚型的 Chr8 非整倍性:单倍体、两倍体、三倍体、四倍体和≥五倍体。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 25.0 统计软件,计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组性别差异比较使用 Fisher′s 精确检验分析,CTC/CTEC 计数及年龄比较使用 t 检验分析,$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 CTC 及 CTEC 检出结果比较

肿瘤组患者 CTC($t = 3.26$, $P = 0.005$)及 CTEC($t = 4.35$, $P < 0.001$)平均值均高于健康对照组,差异具有统计学意义(表 1,图 1)。

表 1 肿瘤组与健康对照组 CTC 及 CTEC 的检出结果

Table 1 CTC and CTEC in the tumor patients and healthy controls

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

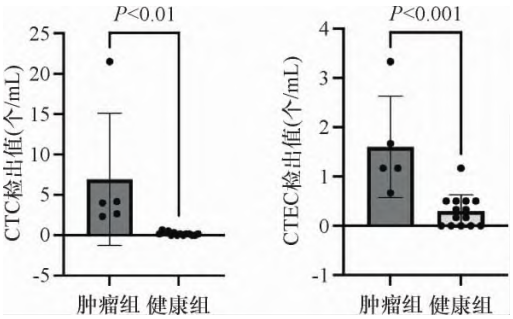

图 1 肿瘤组与健康对照组 CTC 及 CTEC 的比较

Figure 1 Comparison of CTC and CTEC between the tumor patients and the healthy controls.

2.2 肿瘤组临床特征与 CTC/CTEC 计数

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

肿瘤组中，EMPD 患者 CTC 和 CTEC 检出量均高于其余 3 例肿瘤较小、无淋巴结转移、临床分期较低患者及低分化鳞状细胞癌患者（表 2）。

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

疾病名称	肿瘤大小（cm）	淋巴结转移	临床分期	$CD31^-$ 异倍体 CTC（个）	$CD31^+$ 异倍体 CTEC（个）
Merkel 细胞癌	<10	无	Ⅰ	25	10
黑色素瘤	<10	无	Ⅰ	24	7
黑色素瘤	<10	无	Ⅰ	16	7
低分化鳞状细胞癌	<10	—	—	14	4
乳房外 Paget 病	>=10	有	Ⅲ	129	20

2.3 肿瘤组 CTC 及 CTEC 亚类分型

CTC 中大细胞（≥5 mm，$_{L}$CTC）共 184 个（88.46%，184/208），其中≥五倍体（$_{L}CTC^{multi}$）为 171 个（92.93%，171/184），三、四倍体（$_{L}CTC^{tri}$，$_{L}CTC^{tetra}$）共 13 个（7.07%，13/184），未检测到单倍体及两倍体$_{L}$CTC；CTC 中小细胞（≤5 mm，$_{S}$CTC）共 24 个（11.54%，24/208），其中包括单倍体、两倍体、三倍体、四倍体$_{S}$CTC，无≥五倍体$_{S}$CTC。

CTEC 大细胞（≥5 mm，$_{L}$CTEC）共 39 个（81.25%，39/48），其中≥五倍体（$_{L}CTC^{multi}$）为 37 个（94.87%，37/39），三、四倍体（$_{L}CTEC^{tri}$，$_{L}CTEC^{tetra}$）共 2 个（5.13%，2/39），未检测到单倍体及两倍体$_{L}$CTEC；CTEC 中小细胞（≤5 mm，$_{S}$CTEC）共 9 个（18.75%，9/48），其中≥五倍体（$_{L}CTEC^{multi}$）1 个（11.11%，1/9），其余为单倍体、两倍体、三倍体、四倍体$_{S}$CTEC（88.89%，8/9）。与其他亚型相比，皮肤肿瘤外周血中大细胞多倍体 CTC 和 CTEC 占比较高（图 2）。

3 讨论

本研究通过 SE-iFISH 检测技术，有效地从多种皮肤肿瘤患者及健康人群的外周血中分离、鉴定和表征异质性 CTC/CTEC 亚群，结果显示，皮肤肿瘤患者 CTC 及 CTEC 检出率均为 100%，阳性率远高于健康对照组，展示出 SE-iFISH 技术在检测 CTC/CTEC 方面良好的灵敏性和特异性。其中，肿瘤患者 CTC/CTEC 计数远高于健康对照组，差异具有统计学意义，提示外周血 CTC 或 CTEC 的检测对临床诊断有一定价值。但本研究显示健康对照组 CTC/CTEC 仍有一定比例的样本呈阳性，提示 CTC/CTEC 阳性并不能代替现有临床诊疗标准，可以作为辅助标准对现有诊疗标准进行完善和补充。分析 CTC/CTEC 计数与患者临床特征之间的关系发现，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。有研究采用 SE-iFISH 技术检测了卵巢癌及卵巢良性肿瘤患者中的 CTC 和 CTEC，发现卵巢癌 CTC 计数在统计学上高于良性组[20]。但本研究未对皮肤良性肿瘤患者进行检测，且样本数量小，需要扩大样本量及检测范围进一步研究才能得出最终结论。

非整倍体是细胞呈恶性的标志，大约 90% 的实体瘤和 75% 的血液癌表现出非整倍体[21]。而非整倍体 8 号染色体在多种癌症中最常见，包括肺癌、胃癌、胰腺癌、结肠癌、膀胱癌、食管癌和肝细胞癌[21]。Cheng 等[20]在对卵巢癌患者的 CTC 和 CTEC 检测中发现，良性肿瘤中也能检测到 CTC 和 CTEC，且主要为≥五倍体，但三倍体和四倍体 CTC 在区分恶性肿瘤患者和良性肿瘤患者方面表现出良好的实用性，分析发现≥五倍体联合三倍体和四倍体 CTC 具有较高的诊断价值。本研究在对 8 号染色体的非整倍性亚型分析中发现，检测到的 CTC 和 CTEC 主要为≥五倍体，也有少数为三倍体和四倍体，几乎未检测到单倍体及两倍体 CTC/CTEC。推断检测皮肤恶性肿瘤多倍体（三、四、≥五倍体）CTC/CTEC 对临床诊断具有重要意义。

细胞的大小分布亦是 CTC 和 CTEC 研究中的重要部分。本研究显示，皮肤恶性肿瘤中大细胞 CTC 占总数的 88.46%（184/208），大细胞 CTEC 占总数的 81.25%（39/48），小细胞 CTC 与

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

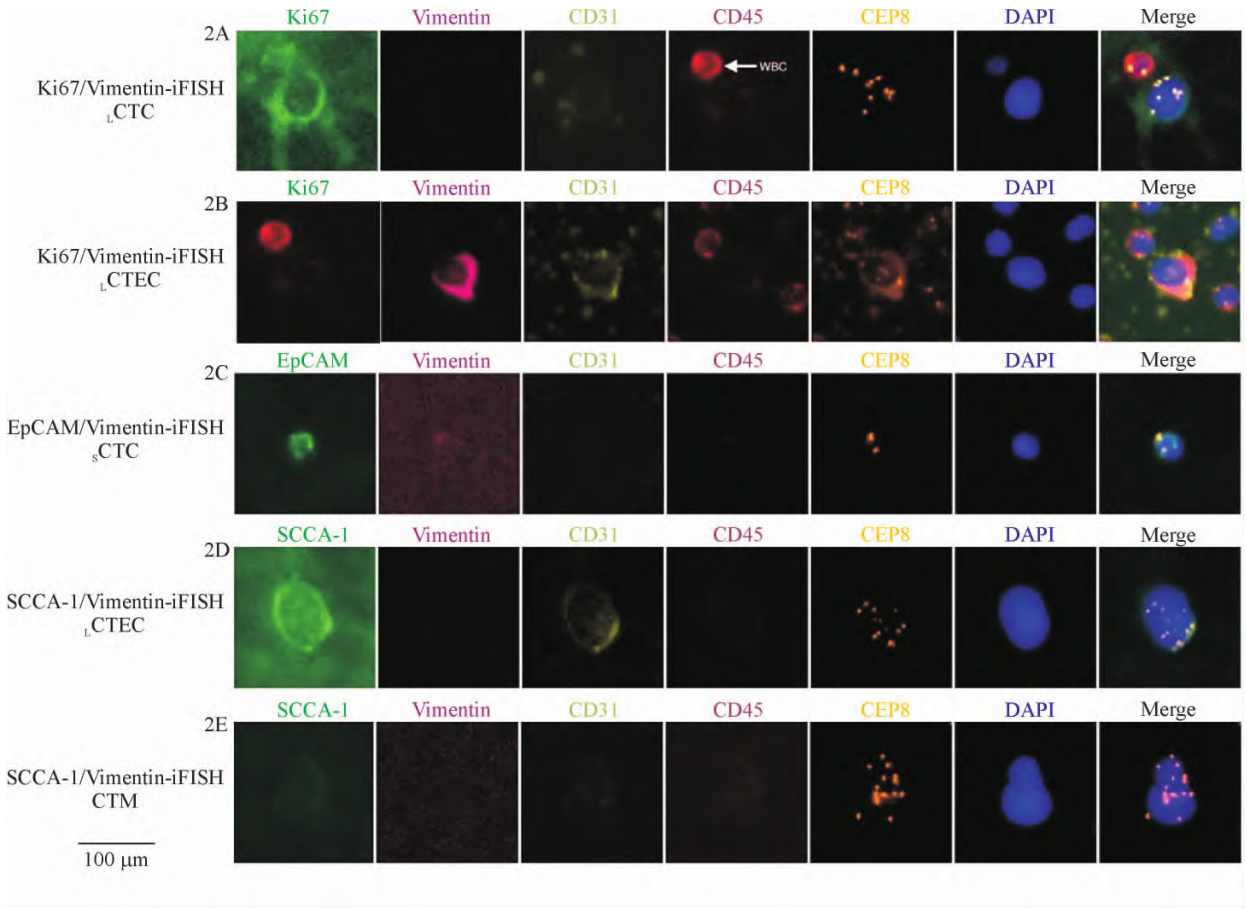

图 2　采用不同肿瘤标志物检测 CTC 和 CTEC 的代表性图像　2A: Ki67$^+$/Vimentin$^-$/CD31$^-$/CD45$^-$/CEP8$^+$多倍体大细胞 CTC (≥5 mm, $_L$CTC^{multi}),白色箭头显示 CD45$^+$白细胞(WBC); 2B: Ki67$^-$/Vimentin$^+$/CD31$^+$/CD45$^-$/CEP8$^+$四倍体大细胞 CTEC(≥5 mm, $_L$CTEC^{tetra}); 2C: EpCAM$^+$/Vimentin$^-$/CD31$^-$/CD45$^-$/CEP8$^+$二倍体小细胞 CTC (≤5 mm, $_S$CTC^{di}); 2D: SCCA-1$^+$/Vimentin$^-$/CD31$^+$/CD45$^-$/CEP8$^+$多倍体大细胞 CTEC (≥5 mm, $_L$CTEC^{multi}); 2E: SCCA-1$^-$/Vimentin$^-$/CD31$^-$/CD45$^-$/CEP8$^+$ CTC 团 (≥2 CTC, CTM)

Figure 2　Representative images of CTC and CTEC using different tumor markers　2A: Ki67$^+$/Vimentin$^-$/CD31$^-$/CD45$^-$/CEP8$^+$ polyploid large CTC (≥5 mm, $_L$CTC^{multi}), white arrow showing CD45$^+$ white blood cells (WBCs); 2B: Ki67$^-$/Vimentin$^+$/CD31$^+$/CD45$^-$/CEP8$^+$ tetraploid large CTEC (≥5 mm, $_L$CTEC^{tetra}); 2C: EpCAM$^+$/Vimentin$^-$/CD31$^-$/CD45$^-$/CEP8$^+$ diploid small CTC (≤5 mm, $_S$CTC^{di}); 2D: SCCA-1$^+$/Vimentin$^-$/CD31$^+$/CD45$^-$/CEP8$^+$ polyploid large CTEC (≥5 mm, $_L$CTEC^{multi}); 2E: SCCA-1$^-$/Vimentin$^-$/CD31$^-$/CD45$^-$/CEP8$^+$ CTC groups (≥2 CTC, CTM).

小细胞 CTEC 均低于总数 20%。有报道称小细胞 CTC 在鉴别良恶性肿瘤方面具有比大细胞 CTC 更重要的意义而上皮间质转化(EMT)过程和抗癌治疗可能会影响 CTC 的大小并导致检测呈阴性[22],来自 EMT 的间充质 CTC 可能是小细胞,化疗可能会减小 CTC 的大小,耐药 CTC 可能小于药物敏感 CTC[23-25]。本研究还发现,≥五倍体 CTC/CTEC 主要分布于大细胞,而小细胞则主要为三倍体和四倍体 CTC/CTEC。有学者比较了细胞大小依赖性微流体系统和 EpCAM 阳性选择两种 CTC 分离方法在头颈部鳞状细胞癌外周血 CTC 检测的灵敏性,发现在相同的血液标本中,与 EpCAM 依赖的 CTC 富集相比,无标记物的细胞大小依赖性 CTC 分离系统在灵敏度方面更优越,结果表明未来评估 CTC 分子表征在头颈部鳞状细胞癌中的临床运用研究应该基于尺寸依赖性富集方法[26]。因此,在未来的工作中需要对 CTC/CTEC 的大小及非整倍体的特征进行深入研究,为临床转化提供更多理论依据。

SE-iFISH 检测技术只需要采集受试者数毫

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

升外周血即可完成检测，受试者创伤小，且标本采集方便快捷，患者容易接受，在对肿瘤患者的动态监测及预后评估中都具有很大优势。研究发现动态监测 CTC 在多种皮肤肿瘤患者预后及疗效评估方面具有重要价值。Khoja 等[27]对 101 例转移性黑色素瘤患者外周血进行 CTC 检测及预后分析，其中 CTC≥2 个的患者占 26%；在单变量分析中，≥2 CTCs 和 <2 CTCs 的患者中位总生存率(OS)分别为 2.6 个月与 7.2 个月(P<0.011)；在多变量分析中，CTC 计数是 OS 的独立预后生物标志物；在接受治疗的患者中，CTC 数量在治疗期间维持≥2，其 OS 比持续 <2 个 CTC 的患者短。在黑素瘤动物实验中，所有荷瘤小鼠均检测到 CTC，并且在 BRAF 抑制剂治疗后 CTC 迅速下降；局部肿瘤早期脱落 CTC 或手术切除后短期抑制 BRAF 能够显著抑制远处转移发生率。在转移性黑素瘤患者中检测到的 CTC 数量较少，随着 BRAF 靶向治疗的成功，CTC 数量下降[28]。EpCAM 是 CTC 重要的表面标志物之一，Yamada-Kanazawa 等[29]用免疫组织化学方法检测了 EpCAM 在 EMPD 患者皮损组织中的表达，发现几乎所有的 EMPD 组织(90.6%，29/32)都呈 EpCAM 阳性，且 EpCAM 蛋白的染色强度与远处转移的存在呈负相关，表明 EpCAM 可能是一种新的治疗靶点，对 CTC 的研究可能在 EMPD 的治疗及预后中具有重要意义。本研究未对肿瘤患者进行动态监测，无法提供 CTC 和 CTEC 在评估患者预后及疗效方面的证据，但不可否认的是，CTC 可能是肿瘤患者预后及疗效评估的重要指标，未来需要更多实验数据来佐证。

综上所述，本研究利用 SE-iFISH 技术检测皮肤肿瘤 CTC/CTEC 具有较高的检出率，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，CTC 及 CTEC 数量与患者临床特征具有一定相关性，可以预知未来将其运用到临床具有良好的前景。下一步需要扩大样本量及检测范围对皮肤肿瘤患者 CTC 和 CTEC 进行动态监测以及对相关分子机制进行深入研究，以获得 CTC/CTEC 运用到皮肤肿瘤早期诊断、疗效评估、监测耐药、个体化治疗、肿瘤复发、预后评估等的证据。

[参考文献]

[1] GRAVITZ L. Skin[J]. Nature, 2018,563(7732): S83.

[2] GALLO R L. Human skin is the largest epithelial surface for interaction with microbes[J]. J Invest Dermatol, 2017, 137(6): 1213-1214.

[3] ZAYERI F, KAVOUSI A, NAJAFIMEHR H. Spatial analysis of relative risks for skin cancer morbidity and mortality in Iran, 2008-2010[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(13): 5225-5231.

[4] TISACK A, FOTOUHI A, FIDAI C, et al. A clinical and biological review of keratoacanthoma[J]. Br J Dermatol, 2021, 185(3): 487-498.

[5] GUY JR G P, THOMAS C C, THOMPSON T, et al. Vital signs: melanoma incidence and mortality trends and projections-united states, 1982-2030[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2015, 64(21): 591-596.

[6] WEHNER M R, SERRANO W C, NOSRATI A, et al. All-cause mortality in patients with basal and squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis[J]. J Am Acad Dermatol, 2018, 78(4): 663-672.e3.

[7] GKOUNTELA S, CASTRO-GINER F, SZCZERBA B M, et al. Circulating tumor cell clustering shapes DNA methylation to enable metastasis seeding[J]. Cell, 2019, 176(1-2): 98-112.

[8] SHARMA S, ZHUANG R, LONG M, et al. Circulating tumor cell isolation, culture, and downstream molecular analysis[J]. Biotechnol Adv, 2018, 36(4): 1063-1078.

[9] XU X W, JIANG Z Q, WANG J, et al. Microfluidic applications on circulating tumor cell isolation and biomimicking of cancer metastasis[J]. Electrophoresis, 2020, 41(10-11): 933-951.

[10] LIN P P. Aneuploid circulating tumor-derived endothelial cell (CTEC): a novel versatile player in tumor neovascularization and cancer metastasis[J]. Cells, 2020, 9(6): 1539.

[11] BIDARD F C, PROUDHON C, PIERGA J Y. Circulating tumor cells in breast cancer[J]. Mol Oncol, 2016, 10(3): 418-430.

[12] FRANCESCANGELI F, MAGRI V, DE ANGELIS M L, et al. Sequential isolation and characterization of single CTCs and Large CTC clusters in metastatic colorectal cancer patients[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(24): 6362.

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[13] GU X Y, HUANG X T, ZHANG X X, et al. Development and validation of a DNA methylation-related classifier of circulating tumour cells to predict prognosis and to provide a therapeutic strategy in lung adenocarcinoma [J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(13): 4984 - 5000.

[14] KHETRAPAL P, LEE M W L, TAN W S, et al. The role of circulating tumour cells and nucleic acids in blood for the detection of bladder cancer: a systematic review [J]. Cancer Treat Rev, 2018, 66: 56 - 63.

[15] PFITZNER C, SCHR ÖDER I, SCHEUNGRABER C, et al. Digital - Direct - RT - PCR: a sensitive and specific method for quantification of CTC in patients with cervical carcinoma [J]. Sci Rep, 2014, 4: 3970.

[16] 中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会(CSCO)黑色素瘤诊疗指南2022 [S]. http://www.csco.org.cn/cn/index.aspx, 2022.

[17] 中华医学会皮肤性病学分会皮肤肿瘤研究中心,中国医师协会皮肤科医师分会皮肤肿瘤学组. 皮肤鳞状细胞癌诊疗专家共识(2021) [J]. 中华皮肤科杂志, 2021, 54(8): 12.

[18] COGGSHALL K, TELLO T L, NORTH J P, et al. Merkel cell carcinoma: an update and review: pathogenesis, diagnosis, and staging [J]. J Am Acad Dermatol, 2018, 78(3): 433 - 442.

[19] 李艳,周乃慧,宋琳毅. 乳房外Paget病68例临床及组织病理分析 [J]. 临床皮肤科杂志, 2019, 48(9): 529 - 533.

[20] CHENG H Y, WANG S, LUAN W Q, et al. Combined detection and subclass characteristics analysis of CTCs and CTECs by SE-iFISH in ovarian cancer [J]. Chin J Cancer Res, 2021, 33(2): 256 - 270.

[21] LIN P P. Aneuploid CTC and CEC [J]. Diagnostics (Basel), 2018, 8(2): 26.

[22] QI L N, XIANG B D, WU F X, et al. Circulating tumor cells undergoing EMT provide a metric for diagnosis and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res, 2018, 78(16): 4731 - 4744.

[23] PEARL M L, ZHAO Q, YANG J, et al. Prognostic analysis of invasive circulating tumor cells (iCTCs) in epithelial ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2014, 134(3): 581 - 590.

[24] ITO H, YAMAGUCHI N, ONIMARU M, et al. Change in number and size of circulating tumor cells with high telomerase activity during treatment of patients with gastric cancer [J]. Oncol Lett, 2016, 12(6): 4720 - 4726.

[25] ITO H, INOUE H, KIMURA S, et al. Prognostic impact of the number of viable circulating cells with high telomerase activity in gastric cancer patients: a prospective study [J]. Int J Oncol, 2014, 45(1): 227 - 234.

[26] ZAVRIDOU M, MASTORAKI S, STRATI A, et al. Direct comparison of size-dependent versus EpCAM-dependent CTC enrichment at the gene expression and DNA methylation level in head and neck squamous cell carcinoma [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 6551.

[27] KHOJA L, LORIGAN P, ZHOU C, et al. Biomarker utility of circulating tumor cells in metastatic cutaneous melanoma [J]. J Invest Dermatol, 2013, 133(6): 1582 - 1590.

[28] LUO X, MITRA D, SULLIVAN R J, et al. Isolation and molecular characterization of circulating melanoma cells [J]. Cell Rep. 2014, 7(3): 645 - 653.

[29] YAMADA-KANAZAWA S, TASAKI Y, KAJIHARA I, et al. The expression of EpCAM in extramammary Paget's disease [J]. Intractable Rare Dis Res, 2019, 8(1): 20 - 23.

[收稿日期] 2023 - 04 - 26
(编辑: 黄瑛)

全文下载 微信公众号

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net