

网络出版时间:2024-11-18 15:33:55 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20241115.1544.023

# 循环肿瘤细胞在胰腺癌早期诊断及预后中的研究进展

蒋梦若<sup>1</sup> 综述 彭立嗣<sup>1</sup>,夏传超<sup>1,2</sup>,李诗钰<sup>1</sup> 审校

(<sup>1</sup> 海军军医大学附属长海医院消化内科,上海 200433;

<sup>2</sup> 浙江大学医学院附属第一医院消化内科,杭州 310002)

**摘要** 胰腺癌是一类恶性程度高、预后极差的消化道恶性肿瘤,早期诊断困难,而可靠的生物标志物的应用将有利于胰腺癌的早期评估和管理。循环肿瘤细胞(CTCs)被排入血液中,可以相对容易地从微创的液基活检中获得并用于检测,从而在早期肿瘤诊断、肿瘤预后和治疗反应监测等方面发挥应用潜力。本文对国内外近十年来检测 CTCs 的技术进展及 CTCs 在胰腺癌中多方面的临床应用进行综述,以期对胰腺癌的早期诊断及预后提供新视角。

**关键词** 循环肿瘤细胞;胰腺癌;液基活检;生物标志物

**中图分类号** R 576

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2024)11-2059-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.11.023

胰腺癌是一类起源于胰腺导管上皮及腺泡细胞的消化系统恶性肿瘤,按照病理可分为导管腺癌、囊腺癌、黏液癌等,其中胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是胰腺癌中最常见的一种类型,占有病例的85%以上,其恶性程度高,预后极差。2021年美国预计有60430例新诊断的PDAC患者,并且发病率以每年0.5%~1.0%的速度增长,预计至2030年,胰腺癌将成为美国癌症死亡的第二大原因<sup>[1]</sup>。而2021年中国国家癌症中心统计数据显示,胰腺癌位列我国男性恶性肿瘤发病率的第7位,女性位列第11位,占恶性肿瘤相关病死率的第6位<sup>[2]</sup>。目前,PDAC仍缺乏敏感和特异的早期检测和预防性筛查的生物标志物,液基活检作为一种微创技术,可用于检测实体肿瘤病灶脱落至外周血循环中的循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)<sup>[3]</sup>,有利于早期发现胰腺癌细胞的病变及复发,从而在胰腺癌的早期诊断和预后监测中展现出应用潜力。该文对近年来检测 CTCs 的技术进展及其在胰腺癌早期诊断、肿瘤预后和治疗反应监测等方面的临床应用作一综述,以期对胰腺癌的早期诊断和预后提供新的参考。

## 1 CTCs 的特征

2024-04-25 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:82300734)

作者简介:蒋梦若,女,博士研究生;

李诗钰,女,博士,通信作者,E-mail: lizfish@126.com

文献<sup>[4]</sup>报道,血液中的CTCs是从原发病灶中分离出来的播散性肿瘤细胞,其在临床影像检查中无法被检测到,也无法被清除,是远处转移的基础。虽然CTCs在其他肿瘤中得到了广泛研究,但其在PDAC不同阶段中的意义尚未完全阐明。研究<sup>[5-8]</sup>表明,CTCs可作为PDAC中转归预测和理解肿瘤生物学的有价值工具。胰腺癌中心位置被重要的结构包围,使活检具有挑战性并需承担并发症的风险。即使是常规和相对安全的内镜超声引导下的细针吸取细胞学检查(endo-scopic ultrasonography guided fine needle aspiration, EUS-FNA),即PDAC诊断的金标准,在15%~30%的病例中也无法取得令人满意的结果<sup>[9-10]</sup>。但外周血液样本可在治疗过程中较为便利地于一个或多个时间点采集,对患者危害较小,并且已有新的证据<sup>[11]</sup>表明,液基活检可以作为肿瘤组织活检的替代检查手段。

PDAC中CTCs分析的一个重要观点是上皮间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)的概念<sup>[12]</sup>,在这个生物过程中,通常与基底膜接触的极化细胞会经历多种生化变化并获得间充质特性,导致细胞迁移能力、侵袭性增强,对凋亡的抵抗力增强,细胞可以从原发病灶分离并进入血液。在远处,它们可以经历相反的过程,即间质向上皮转化(mesenchymal-to-epithelial transition, MET)以诱导新的转移。在这一过程中,有循环上皮肿瘤细胞(circulating epithelial cells, CECs)、循环间充质肿瘤细胞和循环上皮/间充质肿瘤细胞的参与,体现了CTCs的异质性。

## 2 CTCs 的分离和检测方法

CTCs 在血液中的含量极低,CTCs 的检测通常分两步进行:第一步是 CTCs 富集;第二步是 CTCs 检测。

CTCs 富集技术如下:① 基于物理特性分离。即根据电荷或细胞的大小、密度、可变形性进行分离。CTCs 具有比正常血液成分更高的密度、不同的电荷、不同的运动性和更大的尺寸<sup>[13]</sup>。红细胞和白细胞变形能力强,即使过滤器的孔比细胞小,它们也能通过过滤器,而癌细胞通常比红细胞和白细胞更大,变形能力也更弱,因而它们不容易通过小孔的过滤器。因此,可以用专用设备(微过滤器、微流控芯片、电分离器等)对 CTCs 进行分离。② 基于生物学特性分离。即利用不同抗体对血液中细胞表面的吸附作用进行筛选,可分为“阳性”或“阴性”富集。阳性选择系统依赖作用于 CTCs 表面标志物的抗体,常使用上皮细胞黏附分子(EpCAM)进行阳性选择<sup>[14]</sup>。阴性选择系统会使用 CD45 抗体结合血液成分,清除样本中的白细胞,并分离出 CD45 阴性的 CTCs。Li et al<sup>[15]</sup>使用了抗 CTCs 抗体的微流体平台,该平台使用 EpCAM 进行阳性选择成功分离了 CTCs 及其亚型。

第二步是富集 CTCs 的检测,也可以用各种方法进行:① 辅以肿瘤特异性抗体的免疫细胞学染色形态学检查是 CTCs 检测的金标准<sup>[15]</sup>。② 在 PDAC 中对上皮或胰腺标志物进行 mRNA 分析<sup>[3,16]</sup>。③ 对 PDAC 中肿瘤特异性突变的富集细胞的 DNA 进行突变分析(最典型的为 KRAS)。这也可以将 CTCs 的突变情况与具有高特异性的原发肿瘤进行比较。有研究<sup>[17-18]</sup>表明,27%至 81%的 PDAC 患者显示出 KRAS 特异性循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)阳性,而这种肿瘤特异性突变的鉴定通常仅限于 ctDNA 水平较高的患者。此外,Pahattuge et al<sup>[19]</sup>的研究表明,特定的系统模块化芯片可以用于全面分析临床样本的 CTCs,该芯片可在 4 h 内自动化完成外周血中 CTCs 的亲选择和计数、活力测定,并对 CTCs 进行染色/成像以进行免疫分型,从而可以方便快速地处理样本,极大地减小了样本运送中的污染风险。

## 3 CTCs 在胰腺癌中的临床应用

**3.1 CTCs 在胰腺癌早期诊断中的应用** 除了影像学检查,PDAC 目前没有标准化的筛查工具,其他

癌前病变或良性病变,如胰腺导管内乳头状黏液性肿瘤(intraductal papillary mucinous neoplasms, IPMN)或慢性胰腺炎,必须通过横断面成像和 EUS-FNA 与胰腺癌进行鉴别诊断,有时会造成对良性病变的过度解释或对胰腺肿块的错误“肿瘤阴性”分类。因此,用于检测胰腺癌和鉴别胰腺癌与其他胰腺病变的诊断工具具有很大意义。

Xing et al<sup>[20]</sup>在 75.5% (80/106) 的胰腺癌不同阶段的患者中检测出 CTCs, Ting et al<sup>[21]</sup>在胰腺肿瘤荷瘤小鼠中检测到 CTCs (0~1 694 个,平均 118 个/ml)。El-Heliebi et al<sup>[22]</sup>应用 KRAS 作为胰腺癌患者 CTCs 计数和分子特征的标记,发现 47% (7/15) 的患者 CTCs 呈阳性 (1~3 个 CTCs/患者), 40% (6/15) 的患者具有 KRAS 突变型 CTCs。Brychta et al<sup>[23]</sup>发现尽管有转移和无转移患者样本中的 CTCs 检出率没有差异(分别为 44% 和 40%),但当存在远处转移时,CTCs 数量略高(IV 期为 0~7, II b-III 期为 0~2)。Zhu et al<sup>[24]</sup>分析了基因小鼠模型(genetically engineered mouse model, GEMM)和胰腺癌患者的胰腺 CTCs 的单细胞测序图谱,发现 Clic4 和 Gas2l1 在 CTCs 中高表达,提示 Gas2l1 可作为胰腺 CTCs 的潜在识别标志物。

CTCs 已经在胰腺肿瘤前瞻性研究中用于良性疾病及癌前病变的评估。Cauley et al<sup>[25]</sup>发表了 179 例患有各种胰腺疾病(如慢性胰腺炎、IPMN、PDAC 和神经内分泌肿瘤)的患者的 CECs 细胞学结果。结果显示,良性病变、癌前病变和恶性病变患者中的 CECs 识别率差别不大。对这些细胞进行更详细的形态学分析,发现良性和恶性疾病患者的细胞学外观相似<sup>[25]</sup>。但这些研究缺乏免疫表型和遗传信息,既未进行突变分析、增殖分析,也未进行表型分析。综上所述,在癌前疾病和良性疾病患者中存在循环上皮细胞,使 CTCs 具有潜力成为在癌前阶段检测肿瘤的方法,然而,其临床应用的可行性尚未明确,需进一步的研究阐明。

**3.2 CTCs 在进展期胰腺癌中的应用** CTCs 水平与更具侵袭性的病理特征以及与进展期疾病的相关性仍有争议。一项前瞻性研究<sup>[26]</sup>表明,CTCs 与侵袭性胰腺癌的分化水平显著相关。Park et al<sup>[27]</sup>发现 33.3% 的 CTCs 阳性 PDAC 患者,系统性复发(远处转移和腹膜播散)发生率显著 ( $P = 0.025$ ),且多变量 Logistic 回归分析显示,CTCs 阳性是早期复发 ( $P = 0.027$ ) 和全身复发 ( $P = 0.033$ ) 的独立危险因素。Kamande et al<sup>[28]</sup>发现从转移性 PDAC 患者分离

出的 CTCs 水平(平均 53 CTCs/ml)明显高于可切除 PDAC 患者的 CTCs 水平(平均 11 CTCs/ml)。Ankeny et al<sup>[29]</sup>报道了患有潜在转移性的 PDAC 患者的 CTCs 明显多于局限性的 PDAC 患者(平均 7 个 CTCs : 1 个 CTC)。Pang et al<sup>[30]</sup>在涉及 50 例患者的 9 项研究的综合评价和 Meta 分析中发现,CTCs 阳性与更差的无进展生存期和总生存期相关。近期,Xing et al<sup>[20]</sup>也发现 II、III、IV 期胰腺癌患者术前 CTCs 阳性率分别为 37.5% (12/32)、88.0% (44/50)、100% (24/24),且总 CTCs、混合 CTCs 和间充质 CTCs 与患者较短的无进展生存期密切相关。此外,总 CTCs ( $\geq 6$ )和阳性间充质 CTCs 也与复发和转移有显著相关性,这些均提示 PDAC 患者的 CTCs 数量是胰腺癌无进展生存期恶化的独立指标。在 Lee et al<sup>[31]</sup>于 2023 年的一项前瞻性研究中,分别采集 40 例 PDAC 患者在诊断时、诊断后 2 个月、疾病进展或复发时的血样,多因素分析显示,诊断后 2 个月的总 CTCs 计数与疾病进展相关( $P < 0.05$ ),而 Kaplan-Meier 分析显示,2 个月时总 CTCs 阳性与较差的无进展生存期显著相关( $P = 0.038$ )。

然而,同时也存在相反结论的研究,Cauley et al<sup>[25]</sup>认为 CTCs 阳性与胰腺癌肿瘤特征、淋巴结转移、可切除性和晚期 TNM 分期无关。同样,Bobek et al<sup>[32]</sup>及 Kulemann et al<sup>[33]</sup>的研究发现检测出的 CTCs 比例与 TNM 分期和远处转移无关,因此,还需要进一步的研究来证实 CTCs 与胰腺癌肿瘤特征、侵袭性等的关系。

**3.3 CTCs 在胰腺癌预后中的应用** 常见的预后因素,如肿瘤大小、淋巴结状态和神经侵袭等只有在肿瘤切除后才能准确评估,并且大多证实为预后不良。而 CTCs 通过血液样本即可了解肿瘤的发生和进展。Bidard et al<sup>[34]</sup>调查了局部进展期 PDAC 的患者,发现其中 11% 呈 CTCs 阳性且总体生存率低。一些使用非抗体依赖性 CTCs 分离方法的研究则通常有更多的 CTCs 阳性患者<sup>[11, 35-36]</sup>。Park et al<sup>[27]</sup>分析了 36 例 PDAC 患者外周血中的 CTCs,发现相较于 CTCs 阴性的 PDAC 患者,CTCs 阳性的 PDAC 患者全身复发(远处转移和腹膜扩散)发生率明显增高。2014 年的一项 Meta 分析<sup>[37]</sup>纳入了超过 600 例 PDAC 患者(I~IV 期)的 9 项队列研究,结果显示 CTCs 阳性患者(43%)的无进展生存期和总生存期均低于 CTCs 阴性患者,提示 CTCs 可能是具有应用前景的预测 PDAC 预后的生物标志物。

Semaan et al<sup>[38]</sup>对 74 例 PDAC 患者(33 例发生

转移)的 272 份外周血行 CTCs 分析,总 CTCs 检出率为 76.8%,该研究发现了 4 种不同的 CTC 亚群:上皮细胞(E-CTC)、间质细胞(M-CTC)、部分上皮-间质转化细胞(pEMT-CTC)和干细胞(SC-CTC),而 pEMT-CTC 亚群数量多的患者预后较差,术后更易复发,总生存时间更短。Poruk et al<sup>[39]</sup>对 50 例 PDAC 患者的研究中,在考虑了其他预后因素后,通过单变量和多变量分析,明确细胞角蛋白阳性的 CTCs 是一个显著的独立的生存预测因子,而 CTCs 的共表达标志物波形蛋白和细胞角蛋白被证明能预测肿瘤复发,具有波形蛋白和细胞角蛋白阳性的 CTCs 的患者复发更早。他们还评估了 PDAC 患者 CTCs 中肿瘤起始细胞(tumor initiating cells, TIC)和干细胞的标志物细胞角蛋白、CD133、CD44 和 ALDH。通过单变量分析发现 ALDH 阳性 CTCs 和三阳性 CTCs 与较差的生存率显著相关,ALDH 阳性 CTCs、三阳性 CTCs、以及细胞角蛋白/CD133 阳性 CTCs 不仅是胰腺癌复发的独立预测因子,而且还与较短的无病生存期相关<sup>[40]</sup>。因此,评估 PDAC 患者血中 CTCs 可辅助判断患者预后,CTCs 阳性的 PDAC 患者应该及早接受系统治疗和积极监测的综合策略,以发现可能的早期复发。

White et al<sup>[41]</sup>对 31 例可切除 PDAC 患者行术中门静脉取血,与外周血进行对比,分析两种途径血来源的 CTCs 与总生存率的关系,此外,该研究表明,PDAC 患者术中取门静脉血的安全性及可行性,且在评估总生存率方面,门静脉血中 CTCs 计数明显优于外周血。总之,CTCs 能作为胰腺癌预后的标志物和临床相关工具。

除了作为预后标志物外,Yu et al<sup>[42]</sup>研究了一种药物基因组学(pharmacogenomic, PGx)模型,结果表明该模型可以有效预测 PDAC 患者对化疗方案的治疗反应,表现在治疗后肿瘤无进展和总体生存率的差异。Gemenetzi et al<sup>[43]</sup>于 2018 年进行了一项关于胰腺癌治疗中 CTCs 的前瞻性动态研究,200 例 PDAC 患者的多个血液样本被收集并在治疗过程中对 CTCs 进行了评估,主要鉴定了两类 CTCs:具有上皮表型的 eCTCs 和具有上皮/间充质混合表型的 mCTCs。在 136 例切除的患者中有 56 例接受新辅助化疗,手术使这些患者所有亚型的 CTCs 明显减少,术前所有 CTCs 亚群的数量是预先化疗和首次切除患者术后 12 个月内早期复发的唯一预测因子。在治疗前没有 CTCs 的新辅助化疗患者的总生存期显著延长。在单纯化疗组中,CTCs 与较差的总体生

存率无关。研究人员还发现肿瘤复发前 CTCs 会增加,并根据 CTCs 增加的差异制定了风险评估评分。这一评分能确定未来两个月内的疾病复发,准确率为 75%。而 Freed et al<sup>[5]</sup> 于 2023 年的一项研究中也发现,88% ( $n = 31$ ) 的 PDAC 患者在接受-聚 ADP-核糖聚合酶抑制剂 (poly ADP-ribose polymerase inhibitor, PARPI) 治疗后,全血中 mCTCs 与 eCTCs 的数值比率降低,提示肿瘤对 PARPI 治疗的敏感性。此外,纵向试验期间 mCTCs 与 eCTCs 数值比率的变化比糖类抗原 19-9 (carbohydrate antigen 19-9, CA19-9) 更能预测治疗反应,表明其比 CA19-9 具有更高的置信度来区分 PARPI 应答者和无应答者。

#### 4 总结与展望

早期 PDAC 无特异性症状,大部分患者明确诊断时已处于疾病终末期。目前,PDAC 仍缺乏敏感和特异的早期检测和预防性筛查的生物标志物,仅 CA19-9 被 FDA 批准为 PDAC 的唯一血清生物标志物,但其受诸多因素影响,特异性较差。本文基于 CTCs,系统描述了 CTCs 的特征及分离检测方法并总结了近年来关于 CTCs 在胰腺癌早期诊断、进展期胰腺癌及胰腺癌预后中的应用。一些前瞻性研究中 CTCs 都体现出了作为 PDAC 预后标志物和肿瘤复发危险因素的临床应用价值,然而,目前 CTCs 对胰腺癌的诊疗价值争议仍较大,现阶段还缺少有力证据支持该方法。关于胰腺癌 CTCs 的相关研究仍存在样本量小、偏倚风险高等缺陷,还需要更充分的研究来证实 CTCs 的预测价值,需要使用一致的 CTCs 分离技术对 PDAC 患者进行大规模研究来验证 CTCs 的诊断和预后潜力。此外,自原位瘤的生长到转移性肿瘤的发展需要数年时间,使得在局部晚期甚至转移性肿瘤出现前进行介入成为可能。因此,筛查和早期检测处于“机会窗口”期的 PDAC 是未来研究的重点,而近年来 CTCs 逐渐在胰腺癌早期诊断、预后监测等方面发挥出应用潜力,可为胰腺癌的早期诊断和预后提供临床应用价值。

#### 参考文献

- [1] Park W, Chawla A, O'Reilly E M. Pancreatic cancer; a review [J]. *JAMA*, 2021, 326(9): 851 - 62. doi:10.1001/jama.2021.13027.
- [2] 国家卫生健康委办公厅. 胰腺癌诊疗指南(2022年版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38(5): 1006 - 15. doi:10.3969/j.issn.1001-5256.2022.05.007.
- [2] General Office of National Health Commission. Standard for diagnosis and treatment of pancreatic cancer (2022 edition)[J]. *J Clin Hepatol*, 2022, 38(5): 1006 - 15. doi:10.3969/j.issn.1001-5256.2022.05.007.
- [3] Hou J, Li X, Xie K P. Coupled liquid biopsy and bioinformatics for pancreatic cancer early detection and precision prognostication [J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 34. doi:10.1186/s12943-021-01309-7.
- [4] Wang G, Zhang Y, Tang S, et al. Multivalent aptamer nanoscaffold cytosensor for glioma circulating tumor cells during epithelial-mesenchymal transition [J]. *Biosens Bioelectron*, 2023, 226: 115140. doi:10.1016/j.bios.2023.115140.
- [5] Freed I M, Kasi A, Fateru O, et al. Circulating tumor cell subpopulations predict treatment outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) patients [J]. *Cells*, 2023, 12(18): 2266. doi:10.3390/cells12182266.
- [6] Lawrence R, Watters M, Davies C R, et al. Circulating tumour cells for early detection of clinically relevant cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(7): 487 - 500. doi:10.1038/s41571-023-00781-y.
- [7] Dopico P J, Le M N, Burgess B, et al. Longitudinal study of circulating biomarkers in patients with resectable pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Biosensors*, 2022, 12(4): 206. doi:10.3390/bios12040206.
- [8] Kim H, Heo C M, Oh J, et al. Clinical significance of circulating tumor cells after chemotherapy in unresectable pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Transl Oncol*, 2022, 16: 101321. doi:10.1016/j.tranon.2021.101321.
- [9] Sagami R, Nakahodo J, Minami R, et al. True diagnostic ability of EUS-guided fine-needle aspiration/biopsy sampling for small pancreatic lesions  $\leq 10$  mm and salvage diagnosis by pancreatic juice cytology: a multicenter study [J]. *Gastrointest Endosc*, 2024, 99(1): 73 - 80. doi:10.1016/j.gie.2023.08.006.
- [10] Lundy J, Gao H, Berry W, et al. Targeted transcriptome and KRAS mutation analysis improve the diagnostic performance of EUS-FNA biopsies in pancreatic cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(21): 5900 - 11. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-1107.
- [11] Wang K, Wang X, Pan Q, et al. Liquid biopsy techniques and pancreatic cancer: diagnosis, monitoring, and evaluation [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 167. doi:10.1186/s12943-023-01870-3.
- [12] Akhmetkaliyev A, Alibrahim N, Shafiee D, et al. EMT/MET plasticity in cancer and go-or-grow decisions in quiescence: the two sides of the same coin? [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 90. doi:10.1186/s12943-023-01793-z.
- [13] Hao S J, Wan Y, Xia Y Q, et al. Size-based separation methods of circulating tumor cells [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 125: 3 - 20. doi:10.1016/j.addr.2018.01.002.
- [14] Xing L, Wan X, Yu M T, et al. A novel whole blood purifier for efficient capture and separation of circulating tumor cells [J]. *Biosens Bioelectron*, 2023, 232: 115292. doi:10.1016/j.bios.2023.115292.

- [15] Li Q, Wang Y, Gao W, et al. A microfluidic device for enhanced capture and high activity release of heterogeneous CTCs from whole blood[J]. *Talanta*, 2024, 266(Pt 1): 125007. doi:10.1016/j.talanta.2023.125007.
- [16] Amantini C, Morelli M B, Nabissi M, et al. Expression profiling of circulating tumor cells in pancreatic ductal adenocarcinoma patients: biomarkers predicting overall survival[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 874. doi:10.3389/fonc.2019.00874.
- [17] Jiang J, Ye S, Xu Y, et al. Circulating tumor DNA as a potential marker to detect minimal residual disease and predict recurrence in pancreatic cancer[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 1220. doi:10.3389/fonc.2020.01220.
- [18] Sivapalan L, Kocher H M, Ross-Adams H, et al. Molecular profiling of ctDNA in pancreatic cancer: opportunities and challenges for clinical application[J]. *Pancreatology*, 2021, 21(2): 363 – 78. doi:10.1016/j.pan.2020.12.017.
- [19] Pahattuge T N, Freed I M, Hupert M L, et al. System modularity chip for analysis of rare targets (SMART-chip): liquid biopsy samples[J]. *ACS Sens*, 2021, 6(5): 1831 – 9. doi:10.1021/acssensors.0c02728.
- [20] Xing Y, Zhang X, Qin F, et al. The clinical significance of circulating tumor cells and T lymphocyte subtypes in pancreatic cancer patients[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(2): 2130 – 8. doi:10.1080/21655979.2021.2023800.
- [21] Ting D T, Wittner B S, Ligorio M, et al. Single-cell RNA sequencing identifies extracellular matrix gene expression by pancreatic circulating tumor cells[J]. *Cell Rep*, 2014, 8(6): 1905 – 18. doi:10.1016/j.celrep.2014.08.029.
- [22] El-Heliebi A, Hille C, Laxman N, et al. In situ detection and quantification of AR-V7, AR-FL, PSA, and KRAS point mutations in circulating tumor cells[J]. *Clin Chem*, 2018, 64(3): 536 – 46. doi:10.1373/clinchem.2017.281295.
- [23] Brychta N, Drosch M, Driemel C, et al. Isolation of circulating tumor cells from pancreatic cancer by automated filtration[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(49): 86143 – 56. doi:10.18632/oncotarget.21026.
- [24] Zhu L, Kan K J, Grün J L, et al. GAS2L1 is a potential biomarker of circulating tumor cells in pancreatic cancer[J]. *Cancers*, 2020, 12(12): 3774. doi:10.3390/cancers12123774.
- [25] Cauley C E, Pitman M B, Zhou J, et al. Circulating epithelial cells in patients with pancreatic lesions: clinical and pathologic findings[J]. *J Am Coll Surg*, 2015, 221(3): 699 – 707. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2015.05.014.
- [26] Song B G, Kwon W, Kim H, et al. Detection of circulating tumor cells in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma: a prospective evaluation as a prognostic marker[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 616440. doi:10.3389/fonc.2020.616440.
- [27] Park Y, Jun H R, Choi H W, et al. Circulating tumour cells as an indicator of early and systemic recurrence after surgical resection in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1644. doi:10.1038/s41598-020-80383-1.
- [28] Kamande J W, Hupert M L, Witek M A, et al. Modular microsystem for the isolation, enumeration, and phenotyping of circulating tumor cells in patients with pancreatic cancer[J]. *Anal Chem*, 2013, 85(19): 9092 – 100. doi:10.1021/ac401720k.
- [29] Ankeny J S, Court C M, Hou S, et al. Circulating tumour cells as a biomarker for diagnosis and staging in pancreatic cancer[J]. *Br J Cancer*, 2016, 114(12): 1367 – 75. doi:10.1038/bjc.2016.121.
- [30] Pang T C Y, Po J W, Becker T M, et al. Circulating tumour cells in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis of clinicopathological implications [J]. *Pancreatology*, 2021, 21(1): 103 – 14. doi:10.1016/j.pan.2020.11.022.
- [31] Lee H S, Jung E H, Shin H, et al. Phenotypic characteristics of circulating tumor cells and predictive impact for efficacy of chemotherapy in patients with pancreatic cancer: a prospective study [J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1206565. doi:10.3389/fonc.2023.1206565.
- [32] Bobek V, Gurlich R, Eliasova P, et al. Circulating tumor cells in pancreatic cancer patients: enrichment and cultivation[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(45): 17163 – 70. doi:10.3748/wjg.v20.i45.17163.
- [33] Kulemann B, Pitman M B, Liss A S, et al. Circulating tumor cells found in patients with localized and advanced pancreatic cancer[J]. *Pancreas*, 2015, 44(4): 547 – 50. doi:10.1097/MPA.0000000000000324.
- [34] Bidard F C, Huguet F, Louvet C, et al. Circulating tumor cells in locally advanced pancreatic adenocarcinoma: the ancillary CirCe 07 study to the LAP 07 trial[J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(8): 2057 – 61. doi:10.1093/annonc/mdt176.
- [35] Cheng H, Yang J, Fu X, et al. Folate receptor-positive circulating tumor cells predict survival and recurrence patterns in patients undergoing resection for pancreatic cancer[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 1012609. doi:10.3389/fonc.2022.1012609.
- [36] Marin A M, Sanchuki H B S, Namur G N, et al. Circulating cell-free nucleic acids as biomarkers for diagnosis and prognosis of pancreatic cancer[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(4): 1069. doi:10.3390/biomedicines11041069.
- [37] Han L, Chen W, Zhao Q. Prognostic value of circulating tumor cells in patients with pancreatic cancer: a meta-analysis [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(3): 2473 – 80. doi:10.1007/s13277-013-1327-5.
- [38] Semaan A, Bernard V, Kim D U, et al. Characterisation of circulating tumour cell phenotypes identifies a partial-EMT sub-population for clinical stratification of pancreatic cancer[J]. *Br J Cancer*, 2021, 124(12): 1970 – 7. doi:10.1038/s41416-021-01350-9.
- [39] Poruk K E, Valero V 3rd, Saunders T, et al. Circulating tumor cell phenotype predicts recurrence and survival in pancreatic adenocarcinoma[J]. *Ann Surg*, 2016, 264(6): 1073 – 81. doi:10.1097/SLA.0000000000001600.
- [40] Poruk K E, Blackford A L, Weiss M J, et al. Circulating tumor cells expressing markers of tumor-initiating cells predict poor survival and cancer recurrence in patients with pancreatic ductal ade-

- nocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(11): 2681–90. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-1467.
- [41] White M G, Lee A, Vicente D, et al. Measurement of portal vein blood circulating tumor cells is safe and may correlate with outcomes in resected pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2021, 28(8): 4615–22. doi:10.1245/s10434-020-09518-y.
- [42] Yu K H, Ricigliano M, Hidalgo M, et al. Pharmacogenomic modeling of circulating tumor and invasive cells for prediction of chemotherapy response and resistance in pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(20): 5281–9. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-0531.
- [43] Gemenetzi G, Groot V P, Yu J, et al. Circulating tumor cells dynamics in pancreatic adenocarcinoma correlate with disease status: Results of the prospective CLUSTER study[J]. *Ann Surg*, 2018, 268(3): 408–20. doi:10.1097/SLA.0000000000002925.

## Research progress on circulating tumor cells for early diagnosis and prognosis of pancreatic cancer

Jiang Mengruo<sup>1</sup>, Peng Lisi<sup>1</sup>, Xia Chuanchao<sup>1,2</sup>, Li Shiyu<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>*Dept of Gastroenterology, Changhai Hospital Affiliated to Naval Medical University, Shanghai 200433;*

<sup>2</sup>*Dept of Gastroenterology, The First Hospital Affiliated to Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003)*

**Abstract** Pancreatic cancer is a highly malignant gastrointestinal cancer with a poor prognosis, and early diagnosis remains challenging. The use of reliable biomarkers can significantly enhance the early evaluation and management of this disease. Circulating tumor cells (CTCs) are released into the bloodstream and can be obtained easily through minimally invasive liquid-based biopsy, making them promising candidates for early tumor diagnosis, prognosis assessment, and monitoring therapeutic responses. This paper reviews the advancements in CTCs detection technology and their clinical applications in pancreatic cancer over the past decade, both domestically and internationally, which offer a new perspective on the early diagnosis and prognosis of pancreatic cancer.

**Key words** circulating tumor cells; pancreatic cancer; liquid-based biopsy; biomarkers

**Fund program** Natural Science Foundation of China(No. 82300734)

**Corresponding author** Li Shiyu, E-mail: lizfish@126.com

(上接第 2032 页)

formation were significantly enhanced. Compared with the control group, a total of 494 differential genes were significantly expressed in TRPP2 knockdown transcription profile, among which 234 genes were up-regulated and 260 genes were down-regulated. The expression of EpCAM gene, which is related to cell adhesion, was up-regulated. In addition, UPR related genes PERK, ATF6, GRP78 were up-regulated, while ATF6 and EpCAM were down-regulated in OSCC compared to HOK cells. The expression of ATF6 and EpCAM in oral squamous cell carcinoma cells was up-regulated by TRPP2 knockdown, and the cell migration and invasion ability decreased. The ATF6 inhibitor ceapin-A7 (5  $\mu\text{mol/L}$ ) restored the OSCC migration and invasion ability of TRPP2 knockdown. **Conclusion** TRPP2 is highly expressed in OSCC. When TRPP2 is knocked down, OSCC proliferation ability is enhanced, migration and invasion ability are inhibited. TRPP2 mediates the expression of EpCAM through activation of UPR, thus affecting the invasion and migration of oral squamous cell carcinoma.

**Key words** oral squamous cell carcinoma; transient receptor potential polycystic 2; unfolded protein response; endoplasmic reticulum epithelial stress; cell adhesion molecule; cell migration and invasion

**Fund programs** Health Research Project of Anhui Province Supported by National Natural Science Foundation of China (Nos. AHWJ2023A20133, U22A20272)

**Corresponding authors** Shen Bing, E-mail: bshen@must.edu.mo; Xue Haowei, E-mail: xuehaowei@ahmu.edu.cn