

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.01.013

· 病例报道 ·

TumorFisher CTCs 检测技术用于术前预警高风险甲状腺乳头状癌一例报告及文献复习

Application of TumorFisher CTCs detection technique in preoperative early warning of high-risk thyroid papillary carcinoma: a case report and literature review

李雪杰¹, 蒋烈浩², 胡志远^{1,3}, 葛明华² (1. 福建医科大学 基础医学院, 福建 福州 350108; 2. 浙江省人民医院 头颈外科, 浙江 杭州 310000; 3. 国家纳米科学中心, 北京 100190)

[摘要] 弥漫硬化型甲状腺乳头状癌(DSV-PTC)是甲状腺乳头状癌的少见病例亚型,其特征为双侧甲状腺弥漫增大,目前术前检测技术尚不足以精准诊断出其较强的恶性程度及风险分层。作为液体活检的代表性技术之一的循环肿瘤细胞(CTCs)检测,可作为DSV-PTC的非侵入性肿瘤检测手段,实现高危型甲状腺乳头状癌的术前精准诊断。本研究通过术前采集1例DSV-PTC患者外周血,以TumorFisher技术检测CTCs,结果检测到30个CTCs,提示其恶性程度较高和转移风险较大;术后病理诊断为DSV-PTC且ATA分层为高风险,与术前CTCs检测结果一致。由此可见,CTCs检测可在术前精准预测该患者有较高风险及较强的恶性程度,进而辅助临床医生实现正确诊断和精准治疗方案的制定。

[关键词] 弥漫硬化型;甲状腺乳头状癌;诊断;液体活检;循环肿瘤细胞;风险分层

[中图分类号] R736.1;R730.43 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)01-0087-04

甲状腺癌目前已成为增长最快的恶性肿瘤^[1],其在女性恶性肿瘤发病排名榜中位于第5名^[2]。在甲状腺癌中最常见的是乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC),该癌种占甲状腺恶性病变的85%以上^[3]。其中,弥漫硬化型甲状腺乳头状癌(diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma, DSV-PTC)是一种少见的、侵袭性更强的PTC亚型。虽然其在PTC中的占比较低^[4],但因超声特征与桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis, HT)相似,易与HT混淆^[5],而DSV-PTC与HT的治疗方案相悖,因此对于DSV-PTC的术前确诊极为重要,会直接影响患者的治疗方案及预后。

目前对于DSV-PTC的术前临床诊断多依赖于超声及超声介导的细针穿刺活检,但这些检测均存在一定局限。对于超声而言,DSV-PTC的诊断特征常表现为单侧或双侧甲状腺弥漫性增大及弥漫分布的砂砾样微钙化,无明显占位,呈“暴风雪”样改变^[6],有与HT相似的表征,难以鉴别诊断。由于癌细胞常呈多灶、散在分布,导致细针穿刺细胞学检查不易准确穿刺到肿瘤部位,易造成漏诊可能^[7]。且DSV-PTC亚型不易在术前根据临床症状和体征、实验室检查、超声诊断及细针穿刺活检等方法正确评估其风险分层,所以临床医生在选择手术方案时一般会选择较为保守的治疗方案,导致肿瘤切除及淋巴结清扫不全面。

近年来,以检测循环肿瘤细胞(CTCs)为代表的液体活检技术能够为甲状腺癌患者临床诊疗

决策提供必要的依据,包括甲状腺癌的术前诊断、疗效评估、预后监测等方面^[8-10]。利用抗上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)抗体包裹的铁磁流体纳米颗粒采集阳性表达EpCAM的CTCs的CellSearch检测系统,是全球唯一通过FDA(2004年)和NMPA(2020年)批准用于肿瘤临床诊断的检测系统,但是该系统的灵敏度不足一直是其广泛临床应用的障碍。为解决该系统灵敏度不足的缺陷,中科院国家纳米科学中心自主研发了TumorFisher技术,以高度特异性识别EpCAM的多肽替代抗体来检测CTCs^[11]。在早期乳腺癌队列研究^[12]发现,TumorFisher方法的灵敏度(27/50)显著高于CellSearch系统(15/50, $P=0.008$)。本研究在术前采集患者外周血,使用TumorFisher CTCs技术检测患者CTCs,用来评估患者的风险分层和协助临床诊断。通过与术后病理诊断进行对比分析,发现术前通过CTCs计数对癌症风险的评估和术后病理诊断有较强一致性,从而证实了CTCs液体活检可以对DSV-PTC患者进行正确的风险分层和有效的鉴别诊断,从而实现对患者的精准诊断和治疗决策,有效避免误诊,保证了患者的治疗效果。

[基金项目] 福建省科技厅科技研究项目(No.2019Y9001)

[作者简介] 李雪杰(1997—),女,硕士生,主要从事癌症液体活检的研究,E-mail: Lixj2021@nanoctr.cn

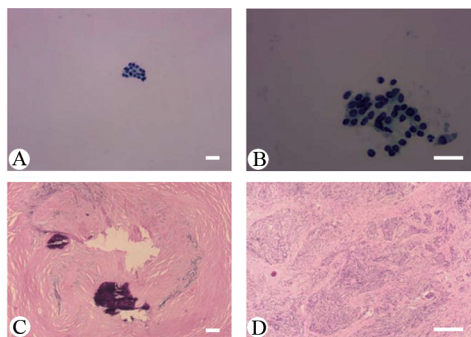
[通信作者] 葛明华,E-mail: gemingh@163.com

1 病例资料

患者女性,新疆维吾尔自治区人,47岁,因体检发现甲状腺肿块数月余,于2020年9月收入浙江省人民医院朝晖院区。入院术前检查甲状腺功能7项指标,仅有抗甲状腺球蛋白抗体和甲状腺过氧化物酶抗体高于参考值范围,降钙素检测结果在正常范围内。

超声:提示甲状腺双侧叶形态不规则结节(左侧多发),ACR-TIRADS-5类;甲状腺右叶中部结节,ACR-TIRADS-4类;余甲状腺结节,ACR-TIRADS-3类;甲状腺弥漫性回声改变,左侧颈部多发结构异常淋巴结,考虑转移。

细针穿刺活检:甲状腺左侧中下部和左颈部淋巴结细针穿刺活检找到癌细胞,考虑为甲状腺乳头状癌,但不能明确其恶性程度及亚型(图1A、B)。



A:术前左颈部III区淋巴结穿刺液基涂片;B:术前甲状腺左叶中下部穿刺液基涂片;C:术后病理见左侧DSVP-PTC;D:术后病理见右侧甲状腺微小乳头状癌

图1 病理诊断(标尺=50 μm)

诊断结果:考虑该患者为甲状腺乳头状癌或桥本甲状腺炎,未明确其恶性程度及淋巴结转移情况。因此选取TumorFisher CTCs技术辅助诊断以进一步指导手术治疗方案的选择。术前一天抽取该患者外周血4 mL,采用TumorFisher检测试剂盒进行检测。该试剂盒利用EpCAM多肽纳米磁珠富集CTCs,通过荧光显微镜对细胞进行扫描,当细胞的表型特征表现为EpCAM⁺、pan-CK⁺、CD45⁺和DAPI⁺,即判定为CTCs。该患者检测结果显示,4 mL血中有30个CTCs,提示患者有较高的肿瘤恶性风险和有较高的转移风险(图2)。综合考虑患者临床诊断结果和CTCs检出结果,建议临床医生采取更加积极彻底的手术治疗方案。因此临床医生决定采取内镜双侧甲状腺全切术+双侧中央区淋巴结清扫术+左侧II、III、IV、V区淋巴结清扫术,切下的肿瘤组织送病理科进行病理诊断。

最终病理诊断:左侧甲状腺腺叶为DSVP-PTC,大

小为2.3 cm×2 cm×1 cm,肿瘤侵及腺叶周边纤维脂肪组织内并局灶浸润至甲状旁腺,神经侵犯阴性,脉管内癌栓阳性(图1C);右侧甲状腺腺叶为甲状腺微小乳头状癌,直径约0.5 cm,肿瘤未见甲状腺腺叶外扩散,未见神经侵犯及脉管内癌栓(图1D);区域淋巴结(6/16)枚可见癌转移,最大转移淋巴结直径大于3 cm,左侧颈部淋巴结(4/13)枚、左中央区淋巴结(2/2)枚、右中央区淋巴结(0/1)枚。根据美国甲状腺协会(ATA)分化型甲状腺癌风险分层指南,对该患者进行风险分层,符合指南里对于高危患者的临床指征:(1)大体明显的腺外侵犯;(2)转移淋巴结>3 cm。风险分层结果为高危。该结果与术前CTCs检测结果一致,显示了CTCs检测技术在预测高危甲状腺癌患者中的应用前景。

2 讨论

2.1 DSV-PTC的临床特征

DSVP-PTC是甲状腺乳头状癌中少见的病例亚型,即该亚型仅占PTC的1%~6%^[4]。由VICKERY等^[13]于1985年首次提出“弥漫硬化性变异”之称。与经典型PTC相比,DSVP-PTC有独特的临床病理特征,如明显的鳞状上皮化生、大量的砂粒体、广泛的间质纤维化和严重的淋巴细胞浸润^[6];且DSVP-PTC患者更易出现甲状腺外侵犯和颈部淋巴结转移,更具侵袭性^[14]。2017年,VOUNG研究团队^[15]和2016年MALANDRINO研究团队^[16]进行的两项荟萃分析,研究结果均显示DSVP-PTC表现出比经典PTC更具侵袭性,包括更易发生血管侵犯、淋巴结转移和远处转移,以及更高的复发率。本例患者发生淋巴结转移(6/16),且是多发转移,提示DSVP-PTC相比PTC更具有侵袭性,与既往文献报道一致。血清学检查中,只有甲状腺球蛋白抗体和甲状腺过氧化物酶抗体升高,提示为HT,即DSVP-PTC需与HT进行鉴别诊断^[17-18]。依据目前的临床诊断方法,尚不能明确患者的风险分层和淋巴结转移情况,因此,寻找早期指标,进一步改进甲状腺癌术前评估其恶性程度及风险分层的方案,对于患者的精准治疗,避免过度治疗和治疗不充分具有重要意义。

2.2 CTCs检测在甲状腺癌精准诊疗中的临床价值

CTCs检测作为液体活检的重要分支技术,为临床诊断提供重要依据。CTCs起源于原发肿瘤的恶性细胞,侵入肿瘤附近的血管壁或淋巴管壁进入血管或淋巴管,进而形成新的转移灶,是癌症相关死亡的主要原因^[9]。到目前为止,CTCs检测已被证明为乳腺癌、前列腺、结直肠癌、肺癌提供了重要的诊断和预后信息^[20]。自1998年RINGEL等^[21]通过免疫磁珠

分离技术证实复发及远处转移甲状腺癌患者外周血中循环肿瘤细胞的存在后,越来越多的研究开始关注甲状腺癌中CTCs检测的应用价值,其主要集中于术前诊断及预后评估。细针穿刺细胞学检查作为术前诊断甲状腺癌的金标准,尽管阳性预测值较高,但15%~20%病例无法辨别良恶性。针对这一问题,ALIYEV研究团队^[22]通过对182例可疑甲状腺癌患者(12例 Bethesda III级,112例 Bethesda IV级,58例 Bethesda V级)进行TSHR mRNA检测,发现CTCs对于Bethesda III~V级患者独立诊断的灵敏度分别为33%、65%、79%,特异度分别为67%、66%、71%,如再与超声联合操作后可提高其诊断价值。由北京国家纳米科学中心研发的TumorFisher CTCs检测技术已在国内多家顶级三甲医院开展多种恶性肿瘤临床研

究,并发现 TumorFisher CTCs 检测技术在乳腺癌^[12,23-24]、肺癌^[25]和消化道癌^[26]等多种肿瘤^[27]中明显优于第一代CellSearch CTCs检测技术,检测率上升了2~5倍(由28%~60%提高至94%~97%)^[11]。根据课题组前期研究数据(未发表)分析,以ATA风险分层,将患者分为低风险组、中风险组和高风险组,结果显示:(1)低风险组和高风险组的CTCs检测结果为(0.25±0.54) vs (11.2±11.43)个肿瘤细胞;(2)根据5个以上淋巴结为中高风险的临床判断标准,以及CTCs>2的cut-off值,十字划门,检测PTC的准确性可达到84.5%。本例患者CTCs检测结果为30个CTCs,远远高于PTC队列中高风险组CTCs均值,且淋巴结转移数大于5个,因此建议临床医生采取更为积极彻底的方案。

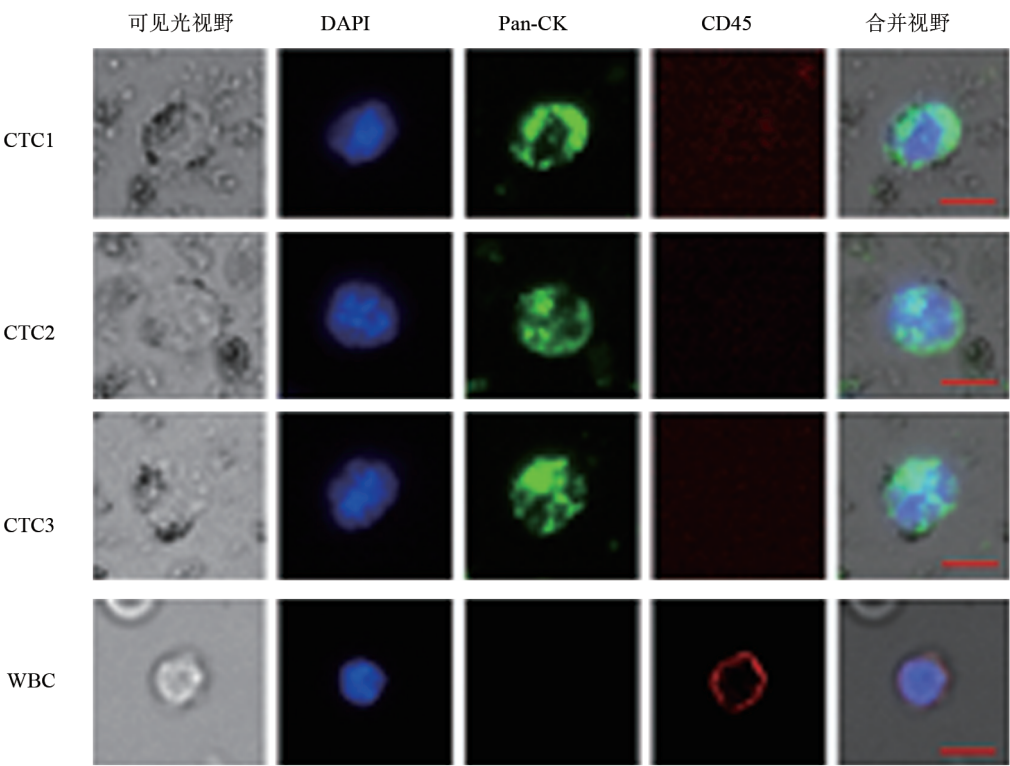


图2 以 TumorFisher 技术检测的部分 CTCs 和白细胞的荧光图(标尺=10 μm)

总体上PTC具有惰性的生物学行为,预后较好,但仍有一些亚型具有较高侵袭性,其中DSV-PTC是一种高风险的PTC,目前术前诊断技术不足以判断其恶性程度及风险分层。以CTCs检测技术为重要代表的液体活检技术被“美国麻省理工学院科技评论”评为十大未来医疗技术之一,可作为DSV-PTC的非侵入性肿瘤诊断手段之一。本研究证实了术前CTCs活检计数可用于早期判断患者高危的风险分层及转移情况,辅助临床医生对DSV-PTC的术前进行精准诊断,进而正确地选取合适的治疗方案,在甲状腺癌的临床应用中具有重大意义。

[参 考 文 献]

[1] 郑传铭, 王佳峰, 吕恬, 等. “中国肿瘤整合诊治指南(CACA)——甲状腺癌诊治指南”解读[J]. 肿瘤学杂志, 2022, 28(8): 627-630. DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2022.08.B001.

[2] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al.* Cancer statistics, 2022 [J]. CA A Cancer J Clinicians, 2022, 72(1): 7-33. DOI: 10.3322/caac.21708.

[3] DAVIES L, WELCH H G. Current thyroid cancer trends in the United States[J]. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg, 2014, 140(4): 317-322. DOI: 10.1001/jamaoto.2014.1.

[4] MARC PUSZTASZERI M D, MANON AUGER M D. Update on the cytologic features of papillary thyroid carcinoma variants[J].

- Diagn Cytopathol, 2017, 45(8): 714-730. DOI: 10.1002/dc.23703.
- [5] LLOYD R V, BUEHLER D, KHANAFSHAR E. Papillary thyroid carcinoma variants[J]. Head Neck Pathol, 2011, 5(1): 51-56. DOI: 10.1007/s12105-010-0236-9.
 - [6] LEE J Y, SHIN J H, HAN B K, *et al.* Diffuse sclerosing variant of papillary carcinoma of the thyroid: imaging and cytologic findings [J]. Thyroid, 2007, 17(6): 567-573. DOI: 10.1089/thy.2006.0321.
 - [7] SPINELLI C, STRAMBI S, BAKKAR S, *et al.* Surgical management of diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma. experience in 25 patients[J]. World J Surg, 2020, 44(1): 155-162. DOI: 10.1007/s00268-019-05230-5.
 - [8] WENG X, YANG Yang, CAI Y J. Clinical significance of circulating tumor cells (CTCs) and survivin on predicting prognosis in thyroid cancer patients[J/OL]. Dis Markers, 2022, 2022: 5188006 [2022-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35140820/>. DOI: 10.1155/2022/5188006.
 - [9] INNARO N, GERVASI R, FERRAZZO T, *et al.* Minimal residual disease assessment of papillary thyroid carcinoma through circulating tumor cell-based cytology[J]. Cancer Med, 2022, 11(24): 4830-4837. DOI: 10.1002/cam4.4813.
 - [10] WIJEWARDENE A A, CHEHADE M, GILD M L, *et al.* Translational utility of liquid biopsies in thyroid cancer management[J/OL]. Cancers, 2021, 13(14): 3443[2022-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34298656/>. DOI: 10.3390/cancers13143443.
 - [11] BAI L L, DU Y M, PENG J X, *et al.* Peptide-based isolation of circulating tumor cells by magnetic nanoparticles[J]. J Mater Chem B, 2014, 2(26): 4080-4088. DOI: 10.1039/C4TB00456F.
 - [12] ZHOU J M, WU J L, HAO X P, *et al.* An exploratory study on the checkout rate of circulating tumor cells and the prediction of efficacy of neoadjuvant therapy and prognosis in patients with HER-2-positive early breast cancer[J/OL]. Front Oncol, 2022, 12: 966624[2022-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35992876/>. DOI: 10.3389/fonc.2022.966624.
 - [13] VICKERY A L Jr, CARCANGIU M L, JOHANNESSEN J V, *et al.* Papillary carcinoma[J]. Semin Diagn Pathol, 1985, 2(2): 90-100. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3843693/>.
 - [14] TAKAGI N, HIROKAWA M, NOBUOKA Y, *et al.* Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma: a study of fine needle aspiration cytology in 20 patients[J]. Cytopathology, 2014, 25(3): 199-204. DOI: 10.1111/cyt.12076.
 - [15] VUONG H G, KONDO T, PHAM T Q, *et al.* Prognostic significance of diffuse sclerosing variant papillary thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur J Endocrinol, 2017, 176(4): 433-441. DOI: 10.1530/EJE-16-0863.
 - [16] MALANDRINO P, RUSSO M, REGALBUTO C, *et al.* Outcome of the diffuse sclerosing variant of papillary thyroid cancer: a meta-analysis [J]. Thyroid, 2016, 26(9): 1285-1292. DOI: 10.1089/thy.2016.0168.
 - [17] HAUGEN B R, ALEXANDER E K, BIBLE K C, *et al.* 2015 American thyroid association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American thyroid association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer[J/OL]. Thyroid, 2016, 26(1): 1-133[2022-09-10]. <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/thy.2015.0020>. DOI: 10.1089/thy.2015.0020.
 - [18] MD X W, BD F X, MM J G, *et al.* Differential diagnosis of diffuse sclerotic thyroid papillary carcinoma and Hashimoto's thyroiditis using fine-needle aspiration cytology, BRAFV600E, and ultrasound elastography[J]. J Clin Ultrasound, 2022, 50(7): 942-950. DOI: 10.1002/jcu.23260.
 - [19] DIAMANTOPOULOU Z, CASTRO-GINER F, SCHWAB F D, *et al.* The metastatic spread of breast cancer accelerates during sleep[J/OL]. Nature, 2022, 607(7917): 156-162[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/6842272/>. DOI: 10.1038/s41586-022-04875-y.
 - [20] HEIDRICH I, AČKAR L, MOSSAHEBI MOHAMMADI P, *et al.* Liquid biopsies: potential and challenges[J]. Int J Cancer, 2021, 148(3): 528-545. DOI: 10.1002/ijc.33217.
 - [21] RINGEL M D, LADENSON P W, LEVINE M A. Molecular diagnosis of residual and recurrent thyroid cancer by amplification of thyroglobulin messenger ribonucleic acid in peripheral blood[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1998, 83(12): 4435-4442. DOI: 10.1210/jcem.83.12.5346.
 - [22] ALIYEV A, PATEL J, BRAINARD J, *et al.* Diagnostic accuracy of circulating thyrotropin receptor messenger RNA combined with neck ultrasonography in patients with Bethesda III - V thyroid cytology[J]. Surgery, 2016, 159(1): 113-117. DOI: 10.1016/j.surg.2015.06.063.
 - [23] YUE C Y, JIANG Y B, LI P, *et al.* Dynamic change of PD-L1 expression on circulating tumor cells in advanced solid tumor patients undergoing PD-1 blockade therapy[J/OL]. Onco Immunology, 2018, 7(7): e1438111[2022-09-10]. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2018.1438111>. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1438111.
 - [24] ZHOU Y, ZHOU J M, XIAO J Y, *et al.* Prognostic relevance of estrogen receptor status in circulating tumor cells in breast cancer patients treated with endocrine therapy[J/OL]. Front Oncol, 2022, 12: 866293[2022-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35574364/>. DOI: 10.3389/fonc.2022.866293.
 - [25] LIANG N X, LIU L, LI P, *et al.* Efficient isolation and quantification of circulating tumor cells in non-small cell lung cancer patients using peptide-functionalized magnetic nanoparticles[J]. J Thorac Dis, 2020, 12(8): 4262-4273. DOI: 10.21037/jtd-20-1026A.
 - [26] FAN L Y, CHONG X Y, ZHAO M Z, *et al.* Ultrasensitive gastric cancer circulating tumor cellular *CLDN18.2* RNA detection based on a molecular beacon[J]. Anal Chem, 2021, 93(2): 665-670. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c04055.
 - [27] TAN Z L, YUE C Y, JI S J, *et al.* Assessment of PD-L1 expression on circulating tumor cells for predicting clinical outcomes in patients with cancer receiving PD-1/PD-L1 blockade therapies [J/OL]. Oncologist, 2021, 26(12): e2227-e2238[2022-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34516729/>. DOI: 10.1002/onco.13981.

[收稿日期] 2022-12-09

[修回日期] 2023-01-15

[本文编辑] 黄静怡, 沈志超