

循环肿瘤细胞对结直肠癌临床诊疗的研究进展

邵磊¹, 才保加^{2*}

¹青海大学研究生院, 青海 西宁

²青海大学附属医院肿瘤外科, 青海 西宁

收稿日期: 2022年5月8日; 录用日期: 2022年5月25日; 发布日期: 2022年6月10日

摘要

近年来全球结直肠癌的发病率和死亡率均呈明显增长。结直肠癌在确诊时, 大部分已是中晚期, 治疗效果及患者的预后均不理想; 现阶段临床上诊断结直肠癌还是依靠肿瘤标记物的监测以及CT、MRI、结肠镜等影像学检查, 这些检查或灵敏度欠佳, 或对患者自身创伤较大, 或是不能随时监测疾病进展。有研究显示循环肿瘤细胞可用于诊断早期结直肠癌、评估结直肠癌诊疗效果以及监测癌症转移和预后等。笔者就循环肿瘤细胞对结直肠癌临床诊疗的全球研究进展作了综述, 这对临床参考价值极大。

关键词

循环肿瘤细胞, 结直肠癌, 诊断, 治疗效果, 预后, 复发, 转移

Research Progress of Circulating Tumor Cells in Clinical Diagnosis and Treatment of Colorectal Cancer

Lei Shao¹, Baojia Cai^{2*}

¹Graduate School of Qinghai University, Xining Qinghai

²Department of Tumor Surgery, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining Qinghai

Received: May 8th, 2022; accepted: May 25th, 2022; published: Jun. 10th, 2022

Abstract

In recent years, the incidence and mortality of colorectal cancer have increased significantly worldwide. When colorectal cancer is diagnosed, most of it is in the middle and advanced stage,

*通讯作者。

and the treatment effect and prognosis of patients are not ideal. At the present stage, the clinical diagnosis of colorectal cancer still relies on the monitoring of tumor markers and imaging examinations such as CT, MRI and colonoscopy. These examinations are not sensitive enough, or have great trauma to the patients themselves, or cannot monitor the progress of the disease at any time. Studies have shown that circulating tumor cells can be used to diagnose early colorectal cancer, evaluate the therapeutic effect of colorectal cancer, and monitor cancer metastasis and prognosis. This paper reviews the global research progress of circulating tumor cells in clinical diagnosis and treatment of colorectal cancer, which has great clinical reference value.

Keywords

Circulating Tumor Cells, Colorectal Cancer, Diagnosis, Therapeutic Effect, The Prognosis, Recurrence, Transfer

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

在世界范围内, 癌症已经成为令人谈之色变的疾病, 每年因为癌症而死亡的人数在持续上升, 癌症死亡率居高不下的一个重要原因是缺乏有效的早期诊断、治疗效果评估以及实时的预后检测。随着经济的发展, 人们生活方式发生巨大改变, 例如增加动物脂肪、肉类的摄入量, 减少纤维摄入量, 减少体育锻炼等, 这些变化改变了肠道菌群和增加结直肠癌的风险[1]。结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是当今世界上位居第三位的常见癌症, 仅次于乳腺癌和肺癌, 死亡率更是高达全球第二[2]。近年来在中国结直肠癌发病率和死亡率也明显增长, 先后位居我国恶性肿瘤的第三位和第五位[3]。目前直肠指诊、大便隐血试验、CT、MRI、结肠镜检查 and 结肠气钡双重造影是筛查结直肠癌的手段, 但这些检查灵敏性和特异性一般、存在较高的侵入性而且价格昂贵。重要的是基于这些实验室检验及影像学检查的方法无法准确判断患者的临床分期, 而且由于这些方法的繁琐性, 无法在每个患者层面提供临床有用的预后[4]。CEA、CA19-9 以及 CA125 等血清肿瘤标记物, 虽然在临床上广泛应用于测定多种癌症, 包括消化系统恶性肿瘤、卵巢肿瘤等, 但这些标志物在检测结直肠癌时特异度和灵敏度都不理想, 仅作为一种辅助参考。所以, 针对结直肠癌的诊断, 就迫切需要找到一个简便易行、非侵入性、高灵敏度的特异性诊断标志物。由于临床上对结直肠癌的不断深入研究, 研究人员发现了在结直肠癌患者的外周血中出现的循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)有可能作为结直肠癌的早期检测标志应用于临床[5]。

循环肿瘤细胞(CTCs)是起源于原发肿瘤、转移肿瘤或其他未知的微小残留病灶(MRD)部位并释放到血液循环中的各种肿瘤细胞的总称[6]。1869年, 澳大利亚学者 Ashworth 首先从 1 名癌症病人的外周血中发现并首次提出了 CTCs 的概念[7]。研究表明, CTCs 与结直肠癌的 TNM 分期有关, 对结直肠癌的早期诊断、个体化治疗方案的建立及预后监测方面都具有一定的预测价值[8]。本文就 CTCs 对结直肠癌临床诊疗的研究进展作一综述, 以期为提高早癌检出率、规范临床诊疗行为、扩大临床获益以及实时监测患者预后提供参考。

2. CTCs 的形成及检测

2.1. CTCs 的形成及作用机制

CTCs 的生成过程涉及上皮细胞 - 间充质转化机制(Epithelial-mesenchymal transition, EMT) [9]。此机制指的是在原肿瘤部位生长的肿瘤细胞通过上皮 - 间叶转化, 肿瘤细胞原有的上皮细胞特性显著下降,

细胞之间黏附功能减弱, 继而自基底膜脱落, 脱落以后的肿瘤细胞有了间叶细胞的特征, 其运动能力和侵袭能力都比以前增强, 从而穿过基质, 进入血管, 形成循环肿瘤细胞[10]。循环肿瘤细胞(CTCs)具有与原发肿瘤细胞相似的生理特性, 不同的是, 这些细胞更具有侵袭性[11]。为了侵入并进入血液, 循环肿瘤细胞发生了上皮-间质转化(EMT)。相反, 为了在远处器官中成功发展为转移, 肿瘤细胞必须通过重新表达上皮蛋白并失去间充质特性来恢复到其原始表型, 这一过程称为间充质-上皮过渡(MET) [12]。

2.2. CTCs 的检测

由于 CTCs 是从肿瘤原发灶脱落进入血液, 而且经过机体免疫系统的杀伤, 所以 CTCs 在外周血中的含量少之又少。而且外周血中含有大量的红细胞、白细胞等人体自身正常存在的细胞, 这意味着寻找这几个循环肿瘤细胞, 无疑是大海捞针。此前, CTCs 检测时要进行 CTCs 的富集, 富集的方法是根据 CTCs 的物理特性或者表面生物学特性, CellSearch™ 系统就是根据 CTCs 的表面生物学特性富集 CTCs。但是, 无论是哪一种富集方式, 在操作过程中都难免会造成 CTCs 的大量流失, 影响检测的灵敏度, 以至于难以通过 CTCs 实现早期的癌症检测。现阶段, 临床上常用的检测技术是基于微流控技术平台, 比如 CellMax (CMx)微流体 CTCs 检测技术, 利用其特有的仿生涂层和成像技术精准地检测到血液中极少数的 CTCs, 使得早期的结直肠癌甚至是癌前病变得以及时地发现[13]。Lu G 等[5]研究表明多次 CTCs 检测在结直肠癌中具有重要意义。化疗后的第一次 CTC 计数和 EMT 分类与肿瘤的临床基线相关; 第二次 CTCs 计数和 EMT 分类与肿瘤患者预后更相关。CTCs 动态数据分析是判断患者预后的好方式, 结直肠癌的单次 CTCs 检测不能实时监测患者肿瘤的发生和发展, 在不同时间点进行多次 CTCs 检测更有利于评估患者的预后。

3. CTCs 对结直肠癌的诊断意义

科学研究证实, 经过早期诊断和治疗的结直肠癌患者, 其 5 年生存率可超过 90%, 而已经发生转移的晚期 CRC 患者, 其 5 年生存率低于 10%, 因此早期检测对于提高结直肠癌患者的生存率具有重要意义 [14]。分析表明, ① CTCs 数量对于结直肠癌以及早期结直肠癌的检测具有一定的价值。张波等[15]对结直肠癌早期组(I 期至 II 期)患者 30 例, 晚期(III 期至 IV 期)患者 29 例进行调查得出: 结直肠癌组和对对照组 CTCs 中位数量(四分位数间距)分别为 1 个(4)个和 0 个, 差别有统计学意义($Z = 2.721, P = 0.007$)。以 0 个/7.5ml 血液作为 CTCs 的检测指标, 结直肠癌和早期结直肠癌检出率分别为 65.6% (40/61)和 63.3% (19/30)。又如 Wensy 等[16]报道, 在 620 例门诊患者中, 438 例经结肠镜确诊为腺瘤性息肉或结直肠癌, 然后都行 CTCs 检查, 结果为癌前病变 111 例(25%), 结直肠癌 327 例(75%), CTCs 检出癌前病变的灵敏度和特异度分别为 76.6%与 97.3%; 检出结直肠癌的灵敏度和特异度分别为 86.9%与 97.3%; 由此得出, 检出癌前病变和结直肠癌的准确率高达 88%。提示 CTCs 对早期诊断结直肠癌有参考价值。② CTCs 与结直肠癌的临床分期相关。Li 等[17]通过比较 76 例结直肠癌患者(病例组)和 50 名健康体检者(对照组)循环肿瘤细胞的表达得出: 病例组循环肿瘤细胞数目 ≥ 1 检出率为 76.32%, 明显高于对照组的 10.71%, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。不同肿瘤分期患者的循环肿瘤细胞阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$), IV 期最高(85.71%), III 期次之(65.00%), II 期最低(40.00%)。说明不同 TNM 分期与 CTCs 有一定关联, 即临床分期越高, CTCs 阳性的概率越高。③ CTCs 与血清标志物 CEA、CA19-9 等在结直肠癌检出上具有相关性。Jiang X 等[18]通过选取 I、II 期结直肠癌患者 86 例分别检测患者血清中 CEA 和 CTCs 水平, 研究表明: CEA 水平不同的患者 CTCs 计数差异有统计学意义($P < 0.05$)。CEA 检测结直肠癌的阳性率为 47.67% (41/86), CEA 检测与病理学诊断一致性差($Kappa = 0.269$)。CTCs 检测的阳性率为 72.09% (62/86), CTCs 检测与病理学诊断一致性一般($Kappa = 0.560$)。CEA 联合 CTCs 检测的阳性率为 90.70% (78/86),

CTC 联合 CEA 检测与病理学诊断一致性较好(Kappa = 0.829)。Yang C 等[19]研究通过 Logistic 回归分析结果显示,CEA、CA125、CTC 是结直肠癌发生的危险因素[比值比(OR)值分别为 1.368、1.135、5560619.101, 95%可信区间(CI)分别为 1.120~1.672、1.037~1.244、0.000~2.129 × 10214]。ROC 曲线分析结果表明,通过 CEA、CA125、CTC 单项及联合检测鉴别诊断结直肠癌的曲线下面积(AUC)分别为 0.840、0.741、0.822、0.943。结论为联合检测 CTCs、CEA、CA125 在结直肠癌中有较大的临床价值。由此可见,CTCs 在结直肠癌的早期诊断以及确定结直肠癌临床分期等结直肠癌诊断方面存在实用价值,值得进一步探究,明确其诊断标准,为结直肠癌的早发现早治疗提供一个简便易行、准确性高的检测方法。

4. CTCs 对结直肠癌治疗效果的评价意义

4.1. CTCs 评估结直肠癌化学治疗的疗效

目前 CTCs 在预测结直肠癌化学治疗效果方面没有明确的标准,现阶段临床对于化疗的评估还是依靠 CT、结肠镜等影像学检查。一项 Meta 分析[20]纳入 8 项临床研究共计 1048 名结直肠癌患者,根据循环肿瘤的存在与否,将结直肠癌患者分为阳性组和阴性组,研究结果显示循环肿瘤细胞阳性组患者的化疗反应率(RR = 0.43, 95% CI [0.20, 0.95], P = 0.037)和疾病控制率较阴性组患者低(RR = 0.68, 95% CI [0.44, 1.05], P = 0.08)。两组患者的无病生存期(PFS; HR = 2.40, 95% CI [1.50, 3.84], P < 0.001)和总生存期(OS; HR = 3.18, 95% CI [1.80, 5.65], P < 0.001)具有统计学差异。此外,循环肿瘤细胞在化疗过程中转阳或者持续阳性的结直肠癌患者相对于转阴的患者具有更差的疾病控制率和生存预后。结论:循环肿瘤细胞可作为结直肠癌化疗的指标早期预测化疗效果。Che H 等[21]收集 60 例晚期转移性结直肠癌患者,在化疗前、两周期化疗后分别使用免疫磁珠法阴性富集法及免疫荧光杂交技术(FISH)检测患者外周血循环肿瘤细胞数量;同时完善化疗前后影像学检查,对比化疗前后 CTCs 数目的变化与影像学检查结果之间的关系。按照影像学 RECIST1.1 评价标准,经过 2 周期化疗后,有 30 例患者评价为完全缓解(CR) + 部分缓解(PR),占 50%;16 例患者评价为疾病稳定(SD),占 26.7%;14 例患者评价为疾病进展(PD),占 23.4%。通过 kappa 一致性检验,发现 CTCs 数目变化与 RECIST1.1 标准评价效果一致性良好,完全缓解或部分缓解的患者化疗前后 CTCs 数目减少明显,疾病稳定患者 CTCs 数目基本无变化,而疾病进展患者,CTCs 数目呈现增多趋势。目前有诸多同上研究提示 CTCs 变化可以为临床评价患者化学治疗疗效提供一种全新的评价指标。

4.2. CTCs 对结直肠癌手术治疗预后的评价

① 通过检测观察结直肠癌根治性手术前后 CTCs 的数量来评估手术后患者的预后,在结直肠癌中的应用较为广泛[22]。Aggarwal 等[23]研究发现,在晚期结直肠癌病人中,治疗前 CTCs 水平较低的病人(<3 个, n = 99)相对于较高的病人(≥3 个, n = 58)有更长的存活时间(20.8 月 vs 11.7 月),且全部病人治疗前血液中 CEA 均呈阳性,说明 CTC 可以监测患者预后。Cao X 等[24]纳入 67 例早中期结直肠癌患者,检测根治术前 24 小时以及术后三个月的 CTCs,使用 ROC 曲线分析 CTCs 与无病生存期(DFS)和总生存期(OS)的关系,术后以 CTCs = 3 个/7.5mL 为界值对 DFS 和 OS 预测意义显著,AUC 值最大(AUC = 0.936, P < 0.001; AUC = 0.863, P < 0.001),术后 CTCs < 3 的 48 例(71.6%),术后 CTCs ≥ 3 的 19 例(28.4%)。术后 CTCs < 3 组的 DFS 和 OS 均较 CTCs ≥ 3 组显著延长(DFS: 43.7 月 vs 20.4 月, P < 0.001; OS: 54.4 月 vs 43.3 月, P < 0.001);术后 CTCs 升高的 25 例(37.3%),持平或降低的 42 例(62.7%)。CTCs 持平或降低组的 DFS 和 OS 均较术后 CTCs 增高组显著延长(DFS: 48.7 月 vs 26.8 月, P < 0.001; OS: 54.8 月 vs 45.1 月, P < 0.001)。因此术后 CTCs 可作为独立指标预测早中期结直肠癌的预后,其次检测手术前后 CTCs 的变化也能预测早中期结直肠癌的预后。② 多项研究表明,在结直肠癌根治术后 1 天或者 3 天检测 CTCs,其数量反而较

术前有不同程度的增加, 推测可能是术前组织学活检或者术中钳夹等对肿瘤组织的一系列操作导致肿瘤细胞不同程度地入血, 进而使得术后 CTCs 短暂地升高, 此后免疫系统会吞噬大部分 CTCs, 使其数量在短暂的上升后逐渐下降, 因此术后前 3 天的 CTCs 数量变化并不能反映患者的预后情况, 应取患者术后 7 天以上的外周血做 CTCs 检测。此外, 术前术中无瘤技术对于结直肠癌的治疗尤为重要, 能有效地预防癌症的转移及复发[25]。③ CTCs 与术后病理分期存在一定关系, 病理分期为 III、IV 期的晚期结直肠癌患者 CTCs 的阳性率较病理分期为 I、II 期的结直肠癌患者高。Jiang D 等[26]利用 X-tile 软件基于预后确定 CTCs 数量 ≥ 2 个/3.5mL 作为术后 14 天 CTCs 最优阈值, 得出术后 14 天 CTCs 数目与 TNM 分期相关; III 期病人 CTCs 阳性率高于 II 期病人($\chi^2 = 3.916, P = 0.048$)。综上, 术后复发的患者其 CTCs 的数量较未复发者多, 因此 CTCs 在预测手术后患者的预后情况方面具有潜在的价值。临床工作中可以寻找 CTCs 的最优阈值作为标准, 来评价结直肠癌患者手术治疗的预后情况。

5. CTCs 类型与结直肠癌复发及转移的关系

CTCs 分为三种类型, 分别为上皮型、上皮-间质型以及间质型。后两种类型的形成与循环肿瘤细胞的上皮-间质转化机制(EMT)有关。上皮型循环肿瘤细胞主要表达上皮细胞黏附分子(EpCAM)和角蛋白(CKs), EpCAM 的减少与结直肠癌的侵袭性和病情进展有关; 间质型循环肿瘤细胞主要表达波形蛋白(VIM)、TWIST1、AKT2 和 SNAI1, 这些都与肿瘤的转移与复发密切相关[27]。Zhong Y 等[28]在抗肿瘤治疗前, 从 74 名结直肠癌患者中收集外周血样本, 在入组后使用 CanPatrol 技术检测 CTCs。在肿瘤大小 ≥ 5 cm (85.7% vs 49.1%, $P = 0.004$)和癌胚抗原(CEA) > 5 ng/mL (83.3%对 51.0% $P = 0.024$)的患者中, 间质型 CTCs 的阳性率显著更高。此外, T 分期(T1 0, T2 33.3%, T3 59.4%, T4 100%, $P < 0.0005$)和 TNM (I 期 11.8%, II 期 79.2%, III 期 64.3%, IV 期 100%, $P < 0.0005$)与间质型 CTCs 的阳性率相关。而且, 间质型 CTCs 的比例与 T 分期($P < 0.0005$)和 TNM 分期($P = 0.0200$)相关, 但与 N 分期($P = 0.6889$)无关。生存分析发现间质型 CTCs > 1 与较差的无病生存率相关($P = 0.007$)。治疗后, CTCs 和间质型 CTCs 的数量和比例显著降低。这说明, 间质型 CTCs 与结直肠肿瘤的大小、TNM 分期和 CEA 等相关。随着疾病的进展, 间质型 CTCs 的比例逐渐增加, 患者预后越差。Hou 等[29]研究表明与无转移的患者相比, 淋巴结转移(N2 81.8%; N1 72.7%; N0 38.9%)和远处转移(M0 50%; M1a 81.25%; M1b 85.7%)的患者检测到间质型 CTCs 的频率更高, 间质型 CTCs 的存在与远处转移($P < 0.01$)密切相关。间质型 CTCs 的出现是晚期结直肠癌患者无进展生存时间(PFS)的一个独立预后因素。间质型 CTCs 患者的 PFS 比没有间质型 CTCs 的患者短得多($P = 0.011$)。还有一项研究表明, 循环肿瘤微栓子(CTM)以及每个 CTCs 的类型与血淋巴细胞计数和肿瘤转移阶段密切相关($P < 0.001$)。缺乏 CTCs 的患者, 其淋巴细胞计数、中性粒细胞与淋巴细胞比率(NLR)较 CTM 和每个 CTCs 类型检测呈阳性的患者有显著差异($P < 0.001$)。与其他 CTCs 类型相比, 肿瘤转移与 CTM 和间质型 CTCs 的存在关系更大[30]。

所以, CTCs 不仅从数量上能预测患者的治疗效果和预后情况, 从类型上也能为肿瘤的复发和转移提供有价值的参考, 确定一个统一的标准, CTCs 将会是一个简单、准确的肿瘤标记物, 对于结直肠癌诊断及预后的评价都有里程碑式的参考意义。

6. 问题与展望

CTCs 作为一种新型的“液体活检”技术, 还存在着一些技术上和实际应用中的不足, 不同的检测手段以及临床试验中病例组纳入标准的异质性, 导致 CTCs 检测的准确性和可信度仍存在争议, 最重要的是, 虽然经过证实, CTCs 对于肿瘤的检测方面存在价值, 但缺乏具体的行业标准来标准化 CTCs 的检测方法和最佳阈值。近年来诸多临床研究一致认为 CTCs 在结直肠癌中存在可靠的临床应用价值, 比如: 诊

断早期结直肠癌、探寻早期结直肠癌的隐匿性转移、监测结直肠癌的进展、评估化疗及手术的治疗效果、监测结直肠癌患者的复发及转移等。现如今伴随着临床技术的发展、肿瘤新辅助化疗和根治性手术治疗的进步、靶向治疗的应用以及肿瘤个体化的诊治,使结直肠癌患者的总生存率和无病生存期有大幅度的提高,但结直肠癌的确诊以及疗效的检测大部分还是依靠CT等影像学 and 可获取的肿瘤组织进行。而在临床实际检测工作中,复杂的疾病情况导致影像学检查灵敏度及特异度较低,通过穿刺活检获得的肿瘤组织较少,各种检查方法繁琐、价格昂贵。CTCs的检测从分子生物学方面的检测方式,为解决临床上这些难题提供了可能,并且具有高度可行性、微创性、可重复性。所以,外周血CTCs可作为一种新型肿瘤标志物广泛应用于临床,相信它在结直肠癌的早期诊断、指导治疗、评估复发和转移等方面将发挥难以低估的作用。目前要做的就是明确各种CTCs检测方法的标准化流程,确立统一的评价标准,明确不同方法之间的比较分析,得出权威的结果,获取真正有用的疾病信息,促进CTCs在临床诊疗中的应用和个体化治疗中的发展,使CTCs成为一种真正的简便易行、灵敏度及特异度高的肿瘤评价方法。

参考文献

- [1] Jiayi, H. and Lei, C. (2021) Research Progress of Intestinal Flora Imbalance and Colorectal Cancer. *Translational Medicine Journal*, **10**, 4.
- [2] Hu, M., Wang, Z., Wu, Z., Ding, P., Pei, R., Wang, Q. and Xing, C. (2021) Circulating Tumor Cells in Colorectal Cancer in the Era of Precision Medicine. *Journal of Molecular Medicine (Berlin)*, **100**, 197-213. <https://doi.org/10.1007/s00109-021-02162-3>
- [3] 孙可欣, 郑荣寿, 张思维, 曾红梅, 邹小农, 陈茹, 顾秀瑛, 魏文强, 赫捷. 2015年中国分地区恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. *中国肿瘤*, 2019, 28(1): 1-11.
- [4] Amin, M.B., Greene, F.L., Edge, S., Compton, C.C., Gershenwald, J.E., Brookland, R.K., Meyer, L., Gress, D.M., Byrd, D.R. and Winchester, D.P. (2017) The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to Build a Bridge from a Population-Based to a More "Personalized" Approach to Cancer Staging. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **67**, 93-99. <https://doi.org/10.3322/caac.21388>
- [5] Heidrich, I., Abdalla, T.S.A., Reeh, M. and Pantel, K. (2021) Clinical Applications of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA as a Liquid Biopsy Marker in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*, **13**, 4500. <https://doi.org/10.3390/cancers13184500>
- [6] Lu, G., Lu, Z., Li, C., Huang, X. and Luo, Q. (2021) Prognostic and Therapeutic Significance of Circulating Tumor Cell Phenotype Detection Based on Epithelial-Mesenchymal Transition Markers in Early and Midstage Colorectal Cancer First-Line Chemotherapy. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, **2021**, Article ID: 2294562. <https://doi.org/10.1155/2021/2294562>
- [7] Ferreira, M.M., Ramani, V.C. and Jeffrey, S.S. (2016) Circulating Tumor Cell Technologies. *Molecular Oncology*, **10**, 374-394. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2016.01.007>
- [8] Das, A., Kunkel, M., Joudeh, J., et al. (2015) Clinico-Pathological Correlation of Serial Measurement of Circulating Tumor Cells in 24 Metastatic Colorectal Cancer Patients Receiving Chemotherapy Reveals Interpatient Heterogeneity Correlated with Ca Levels But Independent of Kras and Braf Mutation. *Cancer Biology & Therapy*, **16**, 709-713. <https://doi.org/10.1080/15384047.2015.1030555>
- [9] Vu, T. and Datta, P.K. (2017) Regulation of EMT in Colorectal Cancer: A Culprit in Metastasis. *Cancers (Basel)*, **9**, 171-192. <https://doi.org/10.3390/cancers9120171>
- [10] Friedlander, T.W., Premasekharan, G. and Paris, P.L. (2014) Looking Back to the Future of Circulating Tumor Cells. *Pharmacology & Therapeutics*, **142**, 271-280. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.12.011>
- [11] Alix-Panabières, C. and Pantel, K. (2021) Liquid Biopsy: From Discovery to Clinical Application. *Cancer Discovery*, **11**, 858-873. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-20-1311>
- [12] Balcik-Ercin, P., Cayrefourcq, L., Soundararajan, R., Mani, S.A. and Alix-Panabières, C. (2021) Epithelial-to-Mesenchymal Plasticity in Circulating Tumor Cell Lines Sequentially Derived from a Patient with Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*, **13**, 5408. <https://doi.org/10.3390/cancers13215408>
- [13] Tsai, W.S., You, J.F., Hung, H.Y., Hsieh, P.S., Hsieh, B., Lenz, H.J., Idos, G., Friedland, S., Yi-Jiun Pan, J., Shao, H.J., Wu, J.C., Lai, J.M., Chang, S.E., Mei, R., Watson, D., Javey, M. and Nimgaonkar, A. (2019) Novel Circulating Tumor Cell Assay for Detection of Colorectal Adenomas and Cancer. *Clinical and Translational Gastroenterology*, **10**,

- e00088. <https://doi.org/10.14309/ctg.0000000000000088>
- [14] 胡茜玥, 刘正, 王锡山. 结直肠癌筛查策略的研究现状与思考[J]. 中国全科医学, 2021, 24(33): 4165-4171.
- [15] 张波, 谢良军, 江波, 等. 循环肿瘤细胞计数在辅助诊断结直肠癌中的应用价值[J]. 中华消化杂志, 2017, 37(10): 679-683. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2017.10.007>
- [16] Wensy, T., Ashish, N., Oscar, S., et al. (2018) Prospective Clinical Study of Circulating Tumor Cells for Colorectal Cancer Screening. *Journal Clinical Oncology*, **36**, 556. https://doi.org/10.1200/JCO.2018.36.4_suppl.556
- [17] 李贵, 赵建波, 胡桂明, 等. 不同分期结直肠癌患者循环肿瘤细胞的表达及临床意义[J]. 临床心身疾病杂志, 2020, 26(3): 6-10. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-187X.2020.03.002>
- [18] 蒋晓芬, 邵传锋, 张浩, 杨丽娟, 王中林, 潘杰, 吴伟. 循环肿瘤细胞联合癌胚抗原检测在 I、II 期结直肠癌诊断中的应用研究[J]. 中华全科医学, 2018, 16(10): 1653-1655.
- [19] 杨朝美, 冯杰, 郎磊, 颜光涛. CTC、CEA、CA125 联合检测在结直肠癌中的临床价值[J]. 检验医学, 2021, 36(9): 901-905.
- [20] 黄选章, 王振宁. 循环肿瘤细胞在结直肠癌化疗中意义的 Meta 分析[C]//中国抗癌协会胃癌专业委员会. 第 9 届全国胃癌学术会议暨第二届阳光长城肿瘤学术会议论文汇编. 中国抗癌协会胃癌专业委员会: 中国抗癌协会, 2014: 2.
- [21] 车凯军, 查国华, 龙剑. 循环肿瘤细胞在晚期结直肠癌化疗疗效评价的价值探讨[J]. 江西医药, 2021, 56(8): 1147-1149.
- [22] Chen, C.J., Sung, W.W., Chen, H.C., Chern, Y.J., Hsu, H.T., Lin, Y.M., Lin, S.H., Peck, K. and Yeh, K.T. (2017) Early Assessment of Colorectal Cancer by Quantifying Circulating Tumor Cells in Peripheral Blood: ECT2 in Diagnosis of Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**, 743. <https://doi.org/10.3390/ijms18040743>
- [23] Aggarwal, C. and Meropol, N.J. (2013) Relationship among Circulating Tumor Cells, CEA and Overall Survival in Patients with Meta-Static Colorectal Cancer. *Annals of Oncology*, **24**, 420-428. <https://doi.org/10.1093/annonc/mds336>
- [24] 曹霞, 吴伟, 赵小玉, 李曾, 韩亚兵, 李翔, 田姗, 张丹. 早中期结直肠癌手术前后外周血循环肿瘤细胞的监测及预后分析[J]. 中山大学学报(医学版), 2019, 40(4): 604-614.
- [25] 刘之林, 张成武. 进展期胃癌腹腔种植转移的研究进展[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2020, 12(3): 271-275.
- [26] 汪栋, 金岚, 王今, 白志刚, 王婷婷, 丁国乾, 杨盈赤, 姚宏伟, 张忠涛. II-III 期结直肠癌病人围手术期外周血循环肿瘤细胞检测及其临床意义[J]. 中国实用外科杂志, 2019, 39(4): 361-364.
- [27] Liu, H., Zhang, X., Li, J., Sun, B., Qian, H. and Yin, Z. (2015) The Biological and Clinical Importance of Epithelial-Mesenchymal Transition in Circulating Tumor Cells. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **141**, 189-201. <https://doi.org/10.1007/s00432-014-1752-x>
- [28] Zhong, Y., Ma, T., Qiao, T., Hu, H. Li, Z., Luo, K., Wang, Y., Tang, Q., Wang, G., Huang, R. and Wang, X. (2021) Role of Phenotypes of Circulating Tumor Cells in the Diagnosis and Treatment of Colorectal Cancer. *Cancer Management and Research*, **13**, 7077-7085. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S316544>
- [29] Hou, J., Guo, C. and Lyu, G. (2020) Clinical Significance of Epithelial-Mesenchymal Transition Typing of Circulating Tumour Cells in Colorectal Cancer. *Colorectal Disease*, **22**, 581-587. <https://doi.org/10.1111/codi.14927>
- [30] Wu, F., Zhu, J., Mao, Y., Li, X., Hu, B. and Zhang, D. (2017) Associations between the Epithelial-Mesenchymal Transition Phenotypes of Circulating Tumor Cells and the Clinicopathological Features of Patients with Colorectal Cancer. *Disease Markers*, **2017**, Article ID: 9474532. <https://doi.org/10.1155/2017/9474532>