

胰腺癌循环肿瘤细胞检测技术及临床应用前景

杨笑盈, 秦 骋, 赵邦博, 李天浩, 曹洪滔, 王维斌

中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院基本外科, 北京 100730

通信作者: 王维斌 电话: 010-69152610, E-mail: ww_b_xh@163.com

【摘要】胰腺癌是消化系统高度恶性的肿瘤之一, 其早期即可发生远处转移, 患者生存期较短、预后较差。循环肿瘤细胞 (circulating tumor cells, CTCs) 是一类可进入血液循环的肿瘤细胞, 不仅具有与原发肿瘤细胞相似的特征, 且与肿瘤远处转移的关系更为密切。体外定量检测 CTCs 对胰腺癌的早期诊断、辅助分期、疗效及预后评估均具有重要意义。本文对胰腺癌 CTCs 富集方法及 CTCs 检测在胰腺癌筛查、远处转移与预后评估中的应用进行综述。

【关键词】胰腺癌; 循环肿瘤细胞; 液体活检

【中图分类号】 R735.9 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-9081(2021)05-0768-06

DOI: 10.12290/xhyxzz.2020-0005

Detection Technology and Prospects of Clinical Application of Circulating Tumor Cells in Pancreatic Cancer

YANG Xiaoying, QIN Cheng, ZHAO Bangbo, LI Tianhao, CAO Hongtao, WANG Weibin

Department of General Surgery, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Corresponding author: WANG Weibin Tel: 86-10-69152610, E-mail: ww_b_xh@163.com

【Abstract】 Pancreatic cancer is one of the highly malignant tumors of the digestive system, and early metastasis is an important reason for its short survival time. Circulating tumor cells (CTCs) are a type of tumor cells that are released into the bloodstream from the primary tumor and/or metastatic sites, which have properties similar to primary tumor cells and are closely related to distant metastasis of tumors. *In vitro* quantitative detection of CTCs is of great significance in the early diagnosis, auxiliary staging, treatment efficacy, and prognosis evaluation of pancreatic cancer. Here we generally reviewed current research on the CTCs enrichment methods of pancreatic cancer and its application in screening pancreatic cancer and metastasis, and evaluating the prognosis.

【Key words】 pancreatic cancer; circulating tumor cells; liquid biopsy

Funding: National Natural Science Foundation of China (81773215)

Med J PUMCH, 2021,12(5):768-773

手术切除可能是目前治愈胰腺癌的唯一方式, 但由于其起病隐匿、早期症状不典型, 且缺乏早期诊断

的生物学标志物, 多数患者就诊时肿瘤已发生局部侵袭或远处转移而失去最佳手术治疗时机, 患者预后较

基金项目: 国家自然科学基金 (81773215)

引用本文: 杨笑盈, 秦骋, 赵邦博, 等. 胰腺癌循环肿瘤细胞检测技术及临床应用前景 [J]. 协和医学杂志, 2021, 12 (5): 768-773. doi: 10.12290/xhyxzz.2020-0005.

差, 5 年生存率不足 9%^[1-3]。此外, 胰腺癌术后复发和转移未能早期发现, 亦是导致患者预后不良的主要原因。因此, 早期诊断并及时发现转移灶对指导胰腺癌临床治疗及改善患者预后至关重要。循环肿瘤细胞 (circulating tumor cells, CTCs) 是一类通过循环系统从局部肿瘤扩散至远处部位的肿瘤细胞, 其保留了原发肿瘤的基本特征。目前认为, 胰腺癌复发和转移的关键在于 CTCs 发生早期微转移, 因此早期对血液中的 CTCs 进行检测有助于早期发现肿瘤远处转移。本文对目前胰腺癌诊断方法的应用现状、CTCs 富集方法及 CTCs 检测在胰腺癌早期筛查、远处转移与预后评估中的应用前景进行梳理和总结。

1 常规胰腺癌评估方法

目前, 影像学、糖链抗原 19-9 (carbohydrate antigen19-9, CA19-9) 以及组织病理学仍是胰腺癌筛查、临床分期、预后等的常规评估方法。

1.1 影像学

影像学检查主要包括 CT、MRI 或 PET/CT, 其对体积较大病灶的检出率较高, 对于一些微转移灶如粟粒样微小转移灶, 术前增强 CT 甚至 PET/CT 均无法发现, 部分患者由于在术中才发现微转移灶而被迫中止手术。研究显示, 对于微小肝转移灶, CT 和 MRI 检查的灵敏度分别为 69% 和 85%, 约 20% 的患者通过影像学评估导致肿瘤分期被低估, 影响治疗方案的选择^[4-5]。因此, 仅通过影像学检查对胰腺癌早期诊断及病情评估具有局限性。

1.2 CA19-9

CA19-9 是目前胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 诊断的首选肿瘤标志物, 其血清水平与肿瘤分期相关, 较高水平的 CA19-9 常提示肿瘤处于中晚期。但 CA19-9 表达受多种因素的影响, 特异性较差, 其在多种良性病变 (如胰腺炎、急性胆管炎、肝硬化) 和恶性肿瘤 (如大肠癌、胃癌、膀胱癌、子宫鳞状细胞癌) 中亦可异常升高^[6]。此外, Lewis 抗原 (岩藻糖基转移酶) 是 CA19-9 的关键合成酶, 约 15% 的人群该基因型表达异常, 无法正常分泌 CA19-9, 因此血清 CA19-9 水平极低, 导致临床假阴性^[7]。最近有研究认为, CA19-9 与其他多种血清标志物 (如蛋白质代谢物) 联合检测可能有助于 PDAC 的早期诊断与疾病分期^[8]。Bernard 等^[9]研究表明, CA19-9 结合循环肿瘤 DNA 以及患者性别、肿瘤转移部位等进行多因素分析可预测胰腺癌

患者的总生存期 (overall survival, OS)。但由于相关研究较少, 确切研究结果尚需进一步验证。

1.3 组织病理

内镜超声引导下细针穿刺术 (endoscopic ultrasonography guided fine-needle aspiration, EUS-FNA) 是获取活检标本的首选检查, 其阳性率约为 80% ~ 95%。内镜超声可发现毫米级微小病变, 当影像学难以区分胰腺肿块性质时, EUS-FNA 有助于胰腺占位病变的良恶性鉴别。但临床操作过程中, 存在穿刺吸取标本量过少、涂片质量差等现象, 导致假阴性结果。有研究认为对 EUS-FNA 获取的胰腺病理样本进行原癌基因 (如 K-ras) 突变检测和抑癌基因 (如 p16、DPC4) 缺失检测可提高其诊断的准确性。但 EUS-FNA 活体组织检查为有创检查, 难以作为早期筛查的手段。因此, 探究新的胰腺癌评估方法具有重要临床意义。

2 CTCs 检测技术

目前研究认为 CTCs 是介导肿瘤转移的重要因素^[10-12], 检测血液中 CTCs 含量可能对胰腺癌的临床分期、疗效监测及预后评估均有帮助。目前 CTCs 的检测主要包括富集、分离、计数等步骤, 而外周血中 CTCs 相较于血细胞含量极少, 约为 1/10⁹ ~ 1/10⁶, 因此富集外周血中的 CTCs 是检测的重要环节^[13]。近年来液体活检技术逐渐引起临床关注, 外周血中 CTCs 的分离、富集技术亦得以快速发展。目前 CTCs 检测技术可通过 CTCs 的物理特性或生物学特性与血液中其他细胞进行区分, 并将其富集、分离, 但尚不能确定 CTCs 的最优检测方法。

2.1 基于物理特性

CTCs 的物理性质主要包括其大小、可变形性、密度和电荷。研究表明, CTCs 通常比其他血细胞体积更大且密度更低^[14]。因此, 可基于此将血液样本稀释并铺在培养基上, 经离心、密度梯度法分离 CTCs 或利用 CTCs 体积较大的特性将其从血液中过滤出来。如 ISET 系统 (Rarecells, Paris, France) 使用具有 8 mm 圆柱形孔的聚碳酸酯膜过滤器从血液样本中富集 CTCs^[15]。

2.2 基于生物学特性

CTCs 的生物学特性主要包括表面标志物及免疫亲和力, 可利用不同抗体对血液中细胞表面抗原的吸附作用不同进行筛选, 即使用与 CTCs 细胞膜表面特定抗原结合的抗体标记、包被磁性微珠, 并施加磁场

以将被标记的 CTCs 吸附至微珠上,以达到分离、富集 CTCs 的目的。此种基于表面抗原的富集方法分为“正选择”和“负选择”。正选择直接通过 CTCs 的表面标志物,如上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)阳性选择相应的抗体从而将其富集,负选择则通过相应的抗体标志物(主要为 CD45)并耗尽血液中其他细胞(主要为白细胞),从而筛选出 CTCs^[16]。目前使用较广泛的选择系统是 CellSearch 系统(Janssen Diagnostics Raritan, NJ),该系统亦是目前美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的唯一可用于检测分离 CTCs 的平台。CellSearch 系统基于 EpCAM 抗体免疫磁性微珠捕获 CTCs,并通过细胞角蛋白(cytokeratin, CK)8、18 和 19 阳性,及血液特异性细胞表面标记 CD45 阴性,含有核成分 DAPI 阳性富集并鉴定分离 CTCs^[17]。

此方法存在一定的局限性,因不同患者之间 CTCs 表面蛋白差异性较大,即使同一患者的不同样本,EpCAM 或 CTCs 上其他表面蛋白的表达仍存在异质性。Went 等^[18]报道,尽管 78% 的 PDAC 患者的 CTCs 表面蛋白上 EpCAM 为阳性,但 CTCs 可通过上皮间质转化降低其 EpCAM 的表达水平。

Khoja 等^[19]入选 54 例胰腺癌患者比较了 CellSearch 系统与 ISET 系统对 CTCs 富集、检测效率,结果显示 ISET 系统检出 CTCs 的患者数比 CellSearch 系统多,且对分离出的 CTCs 进行细胞计数发现,同样血液量中,ISET 系统检出的 CTCs 数量明显更多。CTCs 表面标志蛋白存在异质性可能是导致 CellSearch 系统检出率低的原因之一。ISET 系统能检测出聚集成团的 CTCs,但对于体积较小的 CTCs(如小神经内分泌肿瘤细胞)则存在漏检的可能^[20]。因此,目前尚无检测 CTCs 的标准方法,由于不同参考文献中的标准不同,难以比较不同系统的优劣。

3 CTCs 在胰腺癌评估中的应用

2007 年, Nagrath 等^[21]使用 CellSearch 系统富集、检测 15 例 PDAC 患者的 CTCs,结果显示所有患者均可检测到 CTCs(跨度范围 9~831 CTCs/mL,中位数 120 CTCs/mL)。Iwanicki-Caron 等^[22]对疑诊为 PDAC 的患者采用 ScreenCell 系统检测 CTCs,并通过 EUS-FNA 收集可疑胰腺肿瘤细胞,结果发现 85% 的患者经 EUS-FNA 确诊为 PDAC,其中 70% 可检测出 CTCs,认为可考虑通过检测 CTCs 来诊断 PDAC。Zhang

等^[23]使用 hTERT 启动子调节的溶瘤性单纯疱疹病毒-1 靶向端粒酶逆转录酶阳性的肿瘤细胞,检测不同临床阶段的胰腺癌患者 CTCs 表达情况,结果显示 88.2% (15/17) 的患者检出 CTCs。Chang 等^[24]开发了一种平行微流控芯片,该芯片与免疫磁性吸附和基于物理特性过滤等不同策略相结合对胰腺癌患者的 CTCs 分离效果良好,胰腺癌患者的 CTCs 检出率为 91.7% (11/12),非小细胞肺癌患者的 CTCs 检出率为 100% (38/38)。

上述研究表明,基于目前的检测技术对 PDAC 患者进行 CTCs 定性检测或定量分析具有可行性,但不同检测技术的结果仍存在较大差异。

3.1 筛查

Rhim 等^[25]采用黄色荧光蛋白谱系标记物标记了 KPC 小鼠的所有胰腺细胞,检测了胰腺上皮内瘤变(pancreatic intraepithelial neoplasia, PanIN)阶段小鼠血液中循环胰腺细胞(circulating pancreatic cells, CPCs),发现 CPCs 表达的胰腺癌干细胞标志物 CD44 和 CD24 水平升高。此外,该研究发现 CPCs 可渗入骨髓、肾脏等组织,并表达 Fsp1 和 Zeb1 等间充质表面标志物,可作为胰腺癌患者死亡的独立预测因子。提示处于癌前病变时,胰腺肿瘤细胞即可离开原器官发生早期转移,CPCs 可能是早期胰腺癌的标志物。在随后的研究中,Rhim 等^[26]在 3 个不同的受试者组(所有阶段的 PDAC 患者、肿瘤前囊性病变以及无癌对照人群)中捕获 CTCs,结果显示 PDAC 患者和对照人群的 CTCs 检出率分别为 73% (8/11) 和 0 (0/19),且 40% (8/21) 的肿瘤前囊性病变患者血液中可检测到 CTCs,提示 CTCs 可用于胰腺癌的筛查。但 Cauley 等^[27]通过 ScreenCell 系统对 188 例受试者进行 CTCs 检测,结果发现健康受试者未检出 CTCs,胰腺癌、癌前病变及胰腺良性病变中,均有一定比例的患者可检出 CTCs,且 3 组间 CTCs 检出率无显著性差异。因此,CTCs 在胰腺癌早期诊断与筛查中的确切作用需进一步研究证实。

3.2 分期

CTCs 水平对胰腺癌早期出现的远处转移具有重要提示意义。Kamande 等^[28]研究发现,转移性 PDAC 患者的 CTCs 水平显著高于局部可切除 PDAC 患者,但该研究纳入的受试者仅 12 例(包括 7 例转移性 PDAC 患者及 5 例局部可切除 PDAC 患者)。Court 等^[29]对 126 例胰腺癌患者术前进行 CTCs 检测,得到了相似结果,即合并隐匿转移性胰腺癌的患者与局灶性胰腺癌患者相比可检出更多的 CTCs,差异具有统

计学意义。但亦有少数研究结果显示 CTCs 水平与胰腺癌淋巴结转移、远处转移及 TNM 分期无关^[30]。

胰腺癌患者预后较差主要归因于肿瘤较早出现远处转移,但尚无在无症状人群中甄别出早期胰腺癌的有效方法^[31]。目前研究认为在胰腺癌发生转移的早期,即可在血液中检出 CTCs,为胰腺癌早期诊断及转移筛查提供了可能性。但相关研究较少,且部分假阴性及假阳性结果的原因尚不清楚,确切结论及其应用价值需深入研究。

3.3 预后

通过不同平台检测 CTCs 的研究均表明,CTCs 可能是 PDAC 患者预后的独立影响因素。Soeth 等^[32]通过巢式 CK20 实时 PCR 在 52 例 PDAC 患者 (52/154, 33.8%) 中分离出了 CTCs,并发现这些患者的 OS 比未分离出 CTCs 的患者显著缩短。Kurihara 等^[33]使用 CellSearch 系统对 26 例胰腺癌患者进行 CTCs 检测,结果显示 11 例检出 CTCs,且此类患者的 OS 显著缩短。de Albuquerque 等^[34]在 34 例患者的研究中亦得到了一致的结果。Bidard 等^[35]进行了一项多中心随机对照临床试验,该研究纳入 79 例局部晚期非转移性 PDAC 患者,分别接受吉西他滨单药治疗或吉西他滨+厄洛替尼治疗,通过 CellSearch 系统在 2 个不同的时间点(基线和治疗 2 个月时)进行 CTCs 检测。结果表明,CTCs 的总体阳性率为 11%;多因素分析显示任意时间点 CTCs 阳性是局部晚期胰腺腺癌 OS 缩短的危险因素,但其对患者的无进展生存期(progression-free-survival, PFS)无显著影响。Gao 等^[36]通过非 EpCAM 依赖性方法富集、检测胰腺癌患者 CTCs,发现 CTCs 数目升高(≥ 3 CTCs/7.5 mL)患者的 OS 较 CTCs 数目较低患者(< 3 CTCs/7.5 mL)明显缩短(10.2 个月比 15.2 个月),且多因素分析显示 CTCs 数目升高是胰腺癌患者 OS 较短的危险因素($HR = 4.547$, $P = 0.016$)。Poruk 等^[37]基于物理特性富集并分离出 CTCs 后,对 panCK 和波形蛋白分别进行免疫荧光染色,比较了上皮型 CTCs (CK 阳性)和间质型 CTCs (波形蛋白阳性)患者的预后情况,发现上皮型 CTCs 与较短的 OS 密切相关($P < 0.01$),但间质型 CTCs 与 OS 无相关性($P = 0.39$)。大量研究证实,CTCs 阳性不仅提示胰腺癌患者 OS 缩短,且是 PFS 缩短的危险因素^[38-40]。

有部分研究认为,从门静脉分离出的 CTCs 与全身循环系统分离出的 CTCs 可能存在潜在差异。Catenacci 等^[41]在 18 例胰腺癌或胆管癌患者中均可检出门静脉 CTCs,而其中仅有 22% 的患者外周血可

检出 CTCs。Bissolati 等^[42]在对 20 例胰腺癌患者的研究中,9 例(45%)患者可检出 CTCs,其中 5 例仅在门静脉中检出 CTCs、3 例同时在门静脉和外周血中检出,1 例仅在外周血中检出;随访 3 年可知,相比门静脉 CTCs 阴性的患者,CTCs 阳性者具有更高的肝转移率。Tien 等^[43]收集了 41 例 PDAC 患者术中门静脉和外周血样本,仅发现门静脉 CTCs 数量升高是 PDAC 患者术后 6 个月肝转移的重要预测指标($P = 0.002$)。上述结果表明,门静脉血液中的 CTCs 比外周血中的 CTCs 更易被检出,且与 PDAC 潜在转移的关系更密切。但上述研究样本量较小,且检测方法不完全一致,从门静脉分离出的 CTCs 是否更有助于临床对胰腺癌患者进行预后判断仍需进一步研究。

4 小结

胰腺癌作为一种恶性程度高、预后差的肿瘤,在过去数十年的探索中患者预后并未获得明显的改善。由于存在特殊的解剖学位置及肿瘤细胞成分相对较低等特点,胰腺癌组织活检较为困难,而 CA19-9 等分子生物学标志物及 MRI、CT、PET/CT 等影像学技术在胰腺癌的早期诊断和转移筛查中均存在一定局限性。CTCs 作为保留原发肿瘤特性的一类肿瘤细胞,其在胰腺癌早期即可在血液中检测到,且获取方便、可多次收集,为胰腺癌的早期诊断、远处转移筛查提供了新思路,且在实时监测肿瘤进展、对治疗的反应以及预后评估中具有较好的应用前景^[44]。但目前尚缺乏 CTCs 富集、分离的标准平台和方法,且其在胰腺癌患者中的应用多为小样本量研究,需进行更多、更大规模的前瞻性临床试验进一步验证,以发掘其潜在价值。

作者贡献: 杨笑盈、秦骋撰写论文初稿;王维斌负责论文设计;赵邦博负责论文修改;李天浩、曹洪滔负责文献查阅工作;所有作者均参与本文修订。

利益冲突: 无

参 考 文 献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020 [J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70: 7-30.
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66: 115-232.
- [3] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68: 7-30.

- [4] Motosugi U, Ichikawa T, Morisaka H, et al. Detection of pancreatic carcinoma and liver metastases with gadoteric acid-enhanced MR imaging: comparison with contrast-enhanced multi-detector row CT [J]. *Radiology*, 2011, 260: 446-453.
- [5] Becker AE, Hernandez YG, Frucht H, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: risk factors, screening, and early detection [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 11182-11198.
- [6] Lee J, Park SS, Lee YK, et al. Liquid biopsy in pancreatic ductal adenocarcinoma: current status of circulating tumor cells and circulating tumor DNA [J]. *Mol Oncol*, 2019, 13: 1623-1650.
- [7] Malafa MP, Permuth J, Chen D. MicroRNA assay for detection and management of pancreatic cancer precursors [P]. U. S. Patent, 2019, 10: 240.
- [8] Yang ZJ, LaRiviere MJ, Ko J, et al. A multi-analyte panel consisting of extracellular vesicle miRNAs and mRNAs, cfDNA, and CA19-9 shows utility for diagnosis and staging of pancreatic adenocarcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26: 3248-3258.
- [9] Bernard V, Kim DU, San LFA, et al. Circulating Nucleic Acids Are Associated With Outcomes of Patients With Pancreatic Cancer [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156: 108-118.
- [10] Ashworth TR. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death [J]. *Aust Med J*, 1869, 14: 146.
- [11] 乔雪峰, 张玉娟, 崔巍. 循环肿瘤细胞致肿瘤血行转移研究进展 [J]. *协和医学杂志*, 2014, 5: 331-334.
- [12] Pantel K, Brakenhoff RH, Brandt B. Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8: 329-340.
- [13] Vaidyanathan R, Soon RH, Zhang P, et al. Cancer diagnosis: from tumor to liquid biopsy and beyond [J]. *Lab Chip*, 2018, 19: 11-34.
- [14] Hao S, Wan Y, Xia Y, et al. Size-based separation methods of circulating tumor cells [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 125: 3-20.
- [15] Vona G, Sabile A, Louha M, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells [J]. *Am J Pathol*, 2000, 156: 57-63.
- [16] Burinaru TA, Avram M, Avram A, et al. Detection of Circulating Tumor Cells Using Microfluidics [J]. *ACS Comb Sci*, 2018, 20: 107-126.
- [17] Riethdorf S, O'Flaherty L, Hille C, et al. Clinical applications of the CellSearch platform in cancer patients [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 125: 102-121.
- [18] Went PT, Lugli A, Meier S, et al. Frequent EpCam protein expression in human carcinomas [J]. *Hum Pathol*, 2004, 35: 122-128.
- [19] Khoja L, Backen A, Sloane R, et al. A pilot study to explore circulating tumour cells in pancreatic cancer as a novel biomarker [J]. *Br J Cancer*, 2012, 106: 508-516.
- [20] 杨卓, 张玉娟, 陈倩, 等. 循环肿瘤细胞检测及其特性 [J]. *协和医学杂志*, 2013, 4: 191-194.
- [21] Nagrath S, Sequist LV, Maheswaran S, et al. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology [J]. *Nature*, 2007, 450: 1235-1239.
- [22] Iwanicki-Caron I, Basile P, Toure E, et al. Usefulness of circulating tumor cell detection in pancreatic adenocarcinoma diagnosis [J]. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108: 152-155.
- [23] Zhang W, Bao L, Yang S, et al. Tumor-selective replication herpes simplex virus-based technology significantly improves clinical detection and prognostication of viable circulating tumor cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 39768-39783.
- [24] Chang C, Huang W, Jalal SI, et al. Circulating tumor cell detection using a parallel flow micro-aperture chip system [J]. *Lab Chip*, 2015, 15: 1677-1688.
- [25] Rhim AD, Mirek ET, Aiello NM, et al. EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation [J]. *Cell*, 2012, 148: 349-361.
- [26] Rhim AD, Thege FI, Santana SM, et al. Detection of circulating pancreas epithelial cells in patients with pancreatic cystic lesions [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146: 647-651.
- [27] Cauley CE, Pitman MB, Zhou J, et al. Circulating Epithelial Cells in Patients with Pancreatic Lesions: Clinical and Pathologic Findings [J]. *J Am Coll Surg*, 2015, 221: 699-707.
- [28] Kamande JW, Hupert ML, Witek MA, et al. Modular microsystem for the isolation, enumeration, and phenotyping of circulating tumor cells in patients with pancreatic cancer [J]. *Anal Chem*, 2013, 85: 9092-9100.
- [29] Court CM, Ankeny JS, Sho S, et al. Circulating Tumor Cells Predict Occult Metastatic Disease and Prognosis in Pancreatic Cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2018, 25: 1000-1008.
- [30] Kulemann B, Pitman MB, Liss AS, et al. Circulating tumor cells found in patients with localized and advanced pancreatic cancer [J]. *Pancreas*, 2015, 44: 547-550.
- [31] Klapman J, Malafa MP. Early detection of pancreatic cancer: why, who, and how to screen [J]. *Cancer Control*, 2008, 15: 280-287.
- [32] Soeth E, Grigoleit U, Moellmann B, et al. Detection of tumor cell dissemination in pancreatic ductal carcinoma patients by CK 20 RT-PCR indicates poor survival [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2005, 131: 669-676.
- [33] Kurihara T, Itoi T, Sofuni A, et al. Detection of circulating tumor cells in patients with pancreatic cancer: a

preliminary result [J]. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 2008, 15: 189-195.

[34] de Albuquerque A, Kubisch I, Breier G, et al. Multi-marker gene analysis of circulating tumor cells in pancreatic cancer patients; a feasibility study [J]. Oncology, 2012, 82: 3-10.

[35] Bidard FC, 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: 2057-2061.

[36] Gao Y, Zhu Y, Zhang Z, et al. Clinical significance of pancreatic circulating tumor cells using combined negative enrichment and immunostaining-fluorescence in situ hybridization [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 35: 66.

[37] Poruk KE, Valero V, Saunders T, et al. Circulating Tumor Cell Phenotype Predicts Recurrence and Survival in Pancreatic Adenocarcinoma [J]. Ann Surg, 2016, 264: 1073-1081.

[38] Stephenson D, Nahm C, Chua T, et al. Circulating and disseminated tumor cells in pancreatic cancer and their role in patient prognosis; a systematic review and meta-analysis [J]. Oncotarget, 2017, 8: 107223-107236.

[39] Effenberger KE, Schroeder C, Hanssen A, et al. Improved Risk Stratification by Circulating Tumor Cell Counts in Pancreatic Cancer [J]. Clin Cancer Res, 2018, 24: 2844-2850.

[40] Chang M, Chang Y, Chen J, et al. Clinical Significance of Circulating Tumor Microemboli as a Prognostic Marker in Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma [J]. Clin Chem, 2016, 62: 505-513.

[41] Catenacci DV, Chapman CG, Xu P, et al. Acquisition of Portal Venous Circulating Tumor Cells From Patients With Pancreaticobiliary Cancers by Endoscopic Ultrasound [J]. Gastroenterology, 2015, 149: 1794-1803.

[42] Bissolati M, Sandri MT, Burtulo G, et al. Portal vein-circulating tumor cells predict liver metastases in patients with resectable pancreatic cancer [J]. Tumour Biol, 2015, 36: 991-996.

[43] Tien YW, Kuo H, Ho B, et al. A High Circulating Tumor Cell Count in Portal Vein Predicts Liver Metastasis From Periapillary or Pancreatic Cancer: A High Portal Venous CTC Count Predicts Liver Metastases [J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95: e3407.

[44] Nagrath S, Jack RM, Sahai V, et al. Opportunities and Challenges for Pancreatic Circulating Tumor Cells [J]. Gastroenterology, 2016, 151: 412-426.

(收稿: 2020-12-03 录用: 2020-12-28 在线: 2021-02-05)
(本文编辑: 董 哲)

中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊
收录证书

协和医学杂志

依据文献计量学的理论和方法，通过定量与定性相结合的综合评审，
贵刊被收录为中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊，特颁发此证书。

证书编号: CSCD2021-0880
有效期: 2021年-2022年
发证日期: 2021年4月
查询网址: www.sciencechina.cn

