

# 循环肿瘤细胞在可切除食管鳞癌患者当中的检测及其临床意义

唐继鸣, 陈刚, 田单, 袁晓松, 谢亮, 周海榆, 张冬坤, 施瑞卿, 邓澄, 乔贵宾(广东省人民医院, 广东省医学科学院, 广东广州 510080)

**摘要:**目的 探究循环肿瘤细胞在可切除食管鳞癌患者中的表达水平及其临床意义。方法 选取 36 例经手术治疗的食管鳞癌患者, 采用 FR-CTC 检测方法检测患者术前、术后外周静脉血中 CTC 水平, 分析 CTC 水平与其他临床病理资料的关系, 通过比较术前术后外周血 CTC 水平的变化, 探究手术对 CTC 水平的影响。结果 本研究共入组 36 名患者, 其中男性 32 人, 女性 4 人, 采集术前外周血标本 36 例, CTC 检测结果 2.25~27.5 Unit/3 mL, 采集术后标本 19 例, CTC 检测结果 2.33~42.41 Unit/3 mL, 接受三切口食管癌根治术的病人术前 CTC 水平显著低于两切口和左开胸病人 ( $P=0.02$ ), 术后病理 N0 的患者其术前 CTC 水平显著高于病理 N1-2 的病人 ( $P=0.01$ )。此外, 对于无淋巴结转移的患者 (23 例), 随着 T 分期的不断升高, CTC 表达水平也相应升高 ( $P=0.02$ )。选取了 19 例患者术前术后配对标本进行检测, 术前术后患者 CTC 水平差异无统计学意义 ( $P=0.29$ )。结论 采用 FR-CTC 技术可有效检测食管鳞癌患者外周血 CTC 水平, 术前 CTC 水平与肿瘤部位、病理 T 分期显著相关, 有助于评估疾病进展程度, 手术治疗并未导致肿瘤细胞进一步播散。

**关键词:** 循环肿瘤细胞; 食管鳞癌; 手术

中图分类号: R969.4

文献标志码: A

文章编号: 1674-229X(2019)01-0028-04

Doi: 10.12048/j.issn.1674-229X.2019.01.007

## Detection of Circulating Tumor Cells in Patients with Resectable Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Its Clinical Significance

TANG Jiming, CHEN Gang, TIAN Dan, BEN Xiaosong, XIE Liang, ZHOU Haiyu, ZHANG Dongkun, SHI Ruiqing, DENG Cheng, QIAO Guibin (Guangdong General Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the expression and clinical significance of circulating tumor cells in resectable esophageal squamous cell carcinoma. **METHODS** 36 esophageal squamous cell carcinoma patients who received radical surgery treatment were enrolled. The CTC levels were detected by FR-CTC technique before and after surgery, and the relationship between CTC level and other clinicopathological data was analyzed. By comparing the changes of peripheral blood CTC levels before and after operation, the effect of operation on CTC level was explored. **RESULTS** A total of 36 patients (32 males and 4 females) were enrolled in this study. 36 cases of preoperative specimens were collected and the results were 2.25-27.5 Unit/3 mL. 19 cases of postoperative specimens were collected and the results were 2.33-42.41 Unit/3 mL. The preoperative CTC levels in patients undergoing McKeown esophagogastrectomy were significantly lower than those in patients undergoing Ivor Lewis and left thoracotomy esophagogastrectomy ( $P=0.02$ ). The preoperative CTC level in patients with pathological N0 was significantly higher than that in patients with pathological N1-2 ( $P=0.01$ ). In addition, in 23 patients without lymph node metastasis, the level of CTC expression increased with the increasing of T stage ( $P=0.02$ ). We selected 19 matched specimens for examination and there was no significant difference in CTC levels before and after surgery ( $P=0.29$ ). **CONCLUSION** The level of CTC in peripheral blood of patients with esophageal squamous cell carcinoma can be detected effectively by FR-CTC technique. The preoperative CTC level is correlated with tumor location and pathological T stage, which is helpful to evaluate the degree of disease progression. The operation does not result in spread of tumor cells.

**KEY WORDS:** circulating tumor cells; esophageal squamous cell carcinoma; surgery

食管癌是危害人民生活健康的一大因素, 由于经济水平、饮食习惯差异等原因, 发展中国家的发病率明显高于发达国家<sup>[1-2]</sup>。中国是食管癌高发国家, 患者总量占全世界食管癌患者的一半以上, 我国食

基金项目: 广东省省级科技计划项目(2013B021800194)

作者简介: 唐继鸣, 副主任医师, 研究方向: 胸部肿瘤的微创手术, Tel: 13728016091, E-mail: tjm008008@162.com

管癌患者发病例数和死亡例数均居世界首位,分别占到新发和死亡病例的 62.9%和 52.7%<sup>[2]</sup>。据国家癌症中心发布的数据显示,2015 年癌症新发病例中,食管癌在男性和女性患者中分别排在第 3 和第 5 位,死亡数排在所有肿瘤的第 4 位,造成了极大的社会和经济负担<sup>[3]</sup>。手术为主的综合治疗是食管癌治疗的主要手段<sup>[4-5]</sup>,但由于在疾病早期缺乏特异性的临床症状,绝大多数患者在就诊时已处于中晚期,整体治疗效果不佳。此外,由于缺乏敏感准确的监测手段,无法有效监测食管癌患者病情进展,使患者无法及时得到有效的治疗。因此,寻找一种可行有效的分子标志物来评估、监测食管癌患者治疗效果及远期预后,具有重要的临床意义。

在肿瘤生长过程中,部分肿瘤细胞会脱离瘤体侵入局部血管及淋巴管进入循环系统到达全身各处,这类细胞称为循环肿瘤细胞(circulating tumor cell,CTC),通过检测患者外周血循环中 CTC 数目及变化情况,可监测患者疾病进展情况,有效预测患者治疗效果及预后,目前肺癌、乳腺、肾癌、直肠癌等均报道 CTC 水平与患者治疗效果及预后密切相关,是重要的临床治疗参考指标<sup>[6-10]</sup>。相比于其他系统肿瘤,针对食管鳞癌患者 CTC 检测的报道较少,本研究旨在研究手术前后食管鳞癌患者外周血 CTC 表达水平及其与患者临床病理资料之间的关系,探讨外周血 CTC 检测在中早期食管鳞癌患者当中的临床意义及手术对外周血 CTC 的影响。

## 1 病例选取

回顾性分析 2017 年 4 月~2018 年 5 月因食管癌就诊于广东省人民医院胸外科并行手术治疗的 36 例患者病例资料,所有患者术前均行胃镜及活检确诊食管鳞癌,常规行上消化道造影、胸部+上腹部增强 CT、全身骨扫描(部分患者行 PET/CT 检查)、心电图、心脏超声、肺功能检查,根据患者病例资料记录患者性别、年龄、肿瘤位置、手术方式、分化程度、病例分期资料,采用第八版 TNM 分期标准进行肿瘤分期。

## 2 循环肿瘤细胞(circulating tumor cell,CTC)检测

### 2.1 样本采集和处理

分别于手术前后采用加有 EDTA 抗凝剂的 6 mL 真空采血管(BD Diagnostics,MD,US)抽取患者的外

周静脉血样本 3 mL,上下颠倒 7~8 次令抗凝剂与血液充分均匀。样本采集后于 4℃~10℃ 冰箱暂存,并在 24 h 之内进行检测。

### 2.2 FR-CTC 检测

采用叶酸受体细胞检测试剂盒(免疫磁珠负向筛选+靶向荧光定量 PCR 法,上海格诺生物科技有限公司)检测外周血全血样本中的 FR+CTC 水平。简要步骤如下:于样本中加入 12 mL 细胞裂解液裂解样本中的红细胞,加入抗 CD45 和抗 CD14 磁珠于 4℃ 孵育 30 min 去除白细胞,加入 10 μL 特异性探针(叶酸-寡核苷酸偶联物)室温孵育 40 min 标记肿瘤细胞,洗涤、洗脱经标记的肿瘤细胞,并采用 ABI 7300 实时荧光定量 PCR 仪(Thermo Fisher Scientific,MA,US)进行荧光定量 PCR 扩增,通过试剂盒中提供的校准品得出的定量曲线计算样本中的 FR+CTC 水平,检测结果单位为 Unit/3 mL。

### 2.3 数据分析

所有实验数据采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,采用独立样本 *t* 检验检测不同组间患者 CTC 水平的差异,采用配对样本 *t* 检验检测同一患者手术前后 CTC 水平的差异,所有分析结果以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 入组患者临床病理学资料

本研究共入组 36 名患者,其中男性 32 人(88.9%),女性 4 人(11.1%),中位年龄 60 岁,胸上段食管癌 6 例(16.7%)、胸中段食管癌 22 例(61.1%)、胸下段食管癌 8 例(22.2%)。8 名(22.2%)患者接受术前新辅助治疗,所有患者均接受手术治疗,其中颈胸腹三切口食管癌根治术 26 例(72.2%)、胸腹两切口食管癌根治术 9 例(25.0%),左开胸食管癌根治术 1 例(2.8%),术后病理 T 分期患者:T0 有 2 例(5.5%)、T1 有 4 例(11.1%)、T2 有 6 例(16.7%)、T3 有 23 例(63.9%)和 T4 有 1 例(2.8%),所有患者均接受两野淋巴结清扫,术后病理证实 N 分期分别是:N0 有 23 例(63.9%)、N1 有 9 例(25.0%)和 N2 有 4 例(11.1%)。采集患者术前及术后外周静脉血行 CTC 检测,采集术前标本 36 例,CTC 检测结果为 2.25~27.5 Unit/3 mL,采集术后标本 19 例,CTC 检测结果为 2.33~42.41 Unit/3 mL。所有患者临床病理学资料见表 1。

表 1 入组患者临床病理学资料

项目	内容	n例(%)
年龄/岁	<60	18(50.0)
	≥60	18(50.0)
性别	男	32(88.9)
	女	4(11.1)
肿瘤位置	胸上段	6(16.7)
	胸中段	22(61.1)
	胸下段	8(22.2)
是否接受术前治疗	是	8(22.2)
	否	28(77.8)
手术方式	三切口	26(72.2)
	两切口	9(25.0)
	左开胸	1(2.8)
分化程度	未分化	1(2.8)
	低分化	9(25.0)
	中分化	25(69.4)
	高分化	1(2.8)
病理 T 分期	0	2(5.5)
	1	4(11.1)
	2	6(16.7)
	3	23(63.9)
	4	1(2.8)
病理 N 分期	0	23(63.9)
	1	9(25.0)
	2	4(11.1)

### 3.2 循环肿瘤细胞(circulating tumor cell ,CTC)在不同亚组患者当中检测水平的差异

分别分析不同年龄、性别、肿瘤、是否接受新辅助治疗、手术方式、肿瘤分化程度、病理 T 分期、病理 N 分期的患者术前、术后 CTC 表达情况,结果显示,

表 2 患者 CTC 检测水平

项目	术前 CTC( Unit/3 mL)			术后 CTC( Unit/3 mL)			
	n例	均值	P 值	n例	均值	P 值	
性别	男	32	11.32±6.19	0.56	16	14.11±9.78	0.29
	女	4	9.45±3.25		3	7.69±5.51	
年龄	<60 岁	18	11.35±6.93	0.82	13	15.43±10.53	0.11
	≥60 岁	18	10.88±4.92		6	8.04±2.98	
病变部位	胸中上	28	10.39±5.56	0.176	15	11.48±7.03	0.40
	胸下段	8	13.64±6.86		4	19.17±15.51	
术前治疗	无	28	10.93±5.56	0.73	15	13.28±9.32	0.87
	有	8	11.75±7.48		4	12.40±11.28	
手术方式	三切口	26	9.31±4.69	0.02	14	10.13±4.77	0.16
	两切口/左开胸	10	15.79±6.49		5	21.40±14.46	
分化程度	未分化+低分化	10	9.06±4.73	0.20	5	9.90±7.64	0.39
	中分化+高分化	26	11.90±6.23		14	14.24±9.99	
病理 T 分期	T0-2	12	9.24±4.13	0.18	6	10.23±7.02	0.38
	T3-4	24	12.05±6.53		13	14.42±10.33	
病理 N 分期	N0	23	12.94±6.08	0.01	13	14.41±10.78	0.39
	N1-2	13	7.89±4.13		2	10.24±5.18	

接受三切口食管癌根治术的病人术前 CTC 水平显著低于两切口和左开胸病人( $P=0.02$ ),术后病理 N0 的患者其术前 CTC 水平显著高于病理 N1-2 的病人( $P=0.01$ ),而其余各组患者 CTC 水平差异无统计学意义,见表 2。

本研究进一步选取 23 例术后病理证实无淋巴结转移的患者(pN0)作为研究对象,分析不同年龄、性别、病变部位、是否接受新辅助治疗、手术方式、肿瘤分化程度、病理 T 分期的患者术前、术后 CTC 表达情况,结果显示,接受三切口食管癌根治术的病人术前 CTC 水平显著低于两切口和左开胸病人( $P=0.007$ ),同时我们发现,尽管未达到统计学意义,但胸中上段食管癌患者术前 CTC 水平明显低于胸下段食管癌( $P=0.07$ )。术后病理方面,随着 T 分期的不断升高,CTC 表达水平也相应升高( $P=0.02$ )。此外,年龄<60 岁的患者术后 CTC 水平显著高于≥60 岁的患者( $P=0.04$ ),而其余各组患者 CTC 水平差异无统计学意义,见表 3。

### 3.3 手术前后循环肿瘤细胞(circulating tumor cell ,CTC)检测水平

为了研究手术对患者 CTC 水平的影响,笔者选取了 19 例患者术前术后配对标本进行检测,采用配对样本 t 检验,检测术前、术后患者外周血循环肿瘤细胞(circulating tumor cell ,CTC)水平的差异,结果显示,术前术后患者 CTC 差异无统计学意义( $P=0.29$ ),见表 4,提示单纯手术不会造成肿瘤细胞的广泛播散。

表3 pN0 患者检测 CTC 水平

项目	术前 CTC( Unit/3 mL)			术后 CTC( Unit/3 mL)			
	n例	均值	P 值	n例	均值	P 值	
性别	男	19	13.67±6.34	0.22	10	16.43±11.34	0.23
	女	4	9.45±3.25		3	7.69±5.51	
年龄	<60 岁	11	13.44±7.39	0.72	8	18.55±11.92	0.04
	≥60 岁	12	12.48±4.87		5	7.80±3.26	
病变部位	胸中上段	18	11.74±5.68	0.07	10	12.29±7.76	0.47
	胸下段	5	17.24±6.05		3	21.49±18.12	
术前治疗	无	19	12.68±5.79	0.67	12	13.23±10.34	0.18
	有	4	14.15±8.20		1	28.57	
手术方式	三切口	15	10.56±4.78	0.007	9	10.98±5.28	0.08
	两切口	8	17.40±5.96		4	22.15±16.59	
分化程度	未分化+低分化	5	9.38±3.51	0.14	3	12.57±8.79	0.75
	中分化+高分化	18	13.93±6.34		10	14.97±11.67	
病理 T 分期	T0-2	10	9.57±3.72	0.02	5	11.81±6.55	0.52
	T3-4	13	15.53±6.37		8	16.04±12.91	

表4 手术前后患者 CTC 水平

项目	术前 CTC ( Unit/3 mL)	术后 CTC ( Unit/3 mL)	P 值
数值	11.43±1.43	13.10±3.10	0.29

#### 4 讨论

我国是食管鳞癌高发国家,针对早中期患者根治性手术切除是改善患者长期生存的重要预后因素。但是,由于肿瘤生长异质性等原因,部分接受手术治疗的患者术后短期内肿瘤复发,提示采用现有的常规诊断及分期标准无法解决所有临床诊疗过程当中存在的问题。1869年,澳大利亚科学家 Thomas Ashworth 在一名晚期肿瘤患者外周血当中发现了与原发肿瘤形态、特征相类似的细胞,并猜测可能是在肿瘤生长转移过程中进入循环系统。基于这一发现,科学家们提出肿瘤转移的“种子-土壤”学说。在食管鳞癌生长过程当中,随着瘤体的不断增大,逐步侵犯区域脉管系统,脱落的肿瘤细胞不断进入淋巴及血液循环系统,进入全身各处,在局部环境条件允许的情况下逐步定植,并最终成为转移灶。因此,通过检测外周血 CTC 水平,根据 CTC 水平不同在现有分期基础上进一步筛选高危患者进行强化治疗以改善患者预后,具有重要的临床意义。

本研究结果显示,对于无淋巴结转移的患者,T分期较高(T3-4)的患者其术前 CTC 表达水平显著高于 T 分期较低(T0-2)的患者,这一结果与 Reeh 等<sup>[11]</sup>的研究结果一致,在食管癌生长过程当中,随

着 T 分期的不断增加,肿瘤逐步浸润食管各层,肿瘤细胞可通过食管壁各层的淋巴和血液回流进入循环系统,肿瘤侵犯深度越深,肿瘤细胞播散转移的几率越大。既往文献报道,食管癌患者 CTC 表达水平在不同 N 分期的患者当中差异无统计学意义<sup>[11-12]</sup>,而本研究结果显示,对于术后病理证实 N0 的患者,其术前 CTC 水平显著高于 N1 和 N2 的患者,这一结果提示我们,对于早期无淋巴结转移的患者,在其外周循环系统当中亦可存在较多的循环肿瘤细胞。现有研究证明,对于食管癌患者,围手术期采用铂类化疗药物为基础的辅助治疗可有效改善患者预后<sup>[13]</sup>,而 CTC 水平可以用来监测肿瘤患者的化疗疗效<sup>[9]</sup>。因此笔者认为,对于部分高危患者,需要密切监测其 CTC 变化情况,对于 CTC 水平异常增高的病人在疾病变化早期采用全身化疗,以改善患者预后。同时,本研究发现,胸下段食管癌患者其 CTC 水平显著高于胸中上段食管癌,笔者认为,胸下段食管癌临近腹腔,肿瘤细胞更易通过胸腔和腹腔两套回流系统进入血液循环,从而造成肿瘤细胞播散转移。

根治性手术切除是治疗食管癌的主要手段,完整性切除可以有效去除瘤体,从而阻止肿瘤细胞向循环系统的不断释放;但另一方面,手术过程当中对瘤体的触碰和挤压又会增加肿瘤细胞脱落的风险,因此,手术前后 CTC 水平的变化是研究者重点关注的方向<sup>[14-15]</sup>。为了评估评估手术操作对 CTC 水平的影响,笔者对比同一患者术前术后 CTC 水平的变化,结果显示,手术前后 CTC 水平差异无统计学意义,

(下转第 47 页)

- [13] Carreno E ,Portero A ,Galarreta D J *et al.* Update on twice-daily bromfenac sodium sesquihydrate to treat postoperative ocular inflammation following cataract extraction [J]. *Clin Ophthalmol* 2012 6: 637-644.
- [14] Guex C Y. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and ocular inflammation [J]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2001 218( 5) : 305-308.
- [15] Perry H D ,Donnenfeld E D. Bromfenac ophthalmic solution 0.09%: ocular role and systemic safety profile [J]. *Expert Rev Ophthalmol* 2008 3( 2) : 121-129.
- [16] McNamara T ,Baklayan G A ,Deshmukh H M *et al.* Concentrations of radioactivity in ocular tissues following a single topical ocular dose of 14c-bromfenac ophthalmic solution( Xibrom) [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006 47: 5086.
- [17] Ogawa T ,Miyake K ,McNanara T R *et al.* Pharmacokinetic profile of topically applied bromfenac sodium ophthalmic solution 0.1% in subjects undergoing cataract surgery [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006 47: 687.
- [18] Miyake K ,Ogawa T ,Tajika T *et al.* Ocular pharmacokinetics of a single dose of bromfenac sodium ophthalmic solution 0.1% in human aqueous humor [J]. *J Ocul Pharmacol Ther* 2008 24( 6) : 573-578.
- [19] Lin H T ,Chen W R ,Luo L X *et al.* Ocular Hypertension after Pediatric Cataract Surgery: Baseline Characteristics and First-Year Report [J]. *PLoS one* 2013 8( 7) : e69867.

( 收稿日期: 2018-07-09; 在线出版日期: 2018-11-19)

( 上接第 31 页)

提示手术并未增加肿瘤细胞播散的风险。Wang 等<sup>[16]</sup>研究了不同手术方式对食管癌 CTC 水平的影响,结果显示,接受微创手术治疗的患者术后 CTC 增加的水平显著低于接受开放手术治疗的患者,因此,采用微创技术,术中精细操作,减少不必要的挤压,是降低肿瘤细胞播散的关键。

综上所述,采用 FR-CTC 技术可有效检测食管鳞癌患者外周血 CTC 水平,术前 CTC 水平与肿瘤部位、病理 T 分期显著相关,有助于评估疾病进展程度,手术操作并未导致 CTC 水平的显著增高。在今后的研究当中,深入、细化的探究 CTC 水平对不同患者预后的影响,筛选出高危患者进行进一步的辅助治疗,是提高早中期食管鳞癌患者预后的关键。

#### 参考文献

- [1] He Y T ,Li D J ,Liang D *et al.* Estimated of esophageal cancer incidence and mortality in China ,2013 [J]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2017 39( 4) : 315-320.
- [2] 段纪俊,严亚琼,杨念念,等. 中国恶性肿瘤发病与死亡的国际比较分析[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)* 2016 8( 7) : 17-23.
- [3] 兰蓝,赵飞,蔡玥,等. 中国居民 2015 年恶性肿瘤死亡率流行病学特征分析[J]. *中华流行病学杂志* 2018 39( 1) : 32-34.
- [4] Allum W H ,Stenning S P ,Bancewicz J *et al.* Long-term results of a randomized trial of surgery with or without preoperative chemotherapy in esophageal cancer[J]. *J Clin Oncol* 2009 27( 30) : 5062-5067.
- [5] van Hagen P ,Hulshof M C ,van Lanschot J J *et al.* Preoperative chemoradiotherapy for esophageal or junctional cancer [J]. *N Engl J Med* 2012 366( 22) : 2074-2084.
- [6] Chen X X ,Zhou F ,Li X *et al.* Folate Receptor-Positive Circulating Tumor Cell Detected by LT-PCR-Based Method as a Diagnostic Biomarker for Non-Small-Cell Lung Cancer[J]. *J Thorac Oncol* 2015 , 10( 8) : 1163-1171.
- [7] Punnoose E A ,Atwal S ,Liu W *et al.* Evaluation of circulating tumor cells and circulating tumor DNA in non-small cell lung cancer: association with clinical endpoints in a phase II clinical trial of pertuzumab and erlotinib[J]. *Clin Cancer Res* 2012 18( 8) : 2391-2401.
- [8] Bluemke K ,Bilkenroth U ,Mey A *et al.* Detection of circulating tumor cells in peripheral blood of patients with renal cell carcinoma correlates with prognosis [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* , 2009 18( 8) : 2190-2194.
- [9] Smerage J B ,Barlow W E ,Hortobagyi G N *et al.* Circulating tumor cells and response to chemotherapy in metastatic breast cancer: SWOG S0500[J]. *J Clin Oncol* 2014 32( 31) : 3483-3489.
- [10] Magni E ,Botteri E ,Ravenda P S *et al.* Detection of circulating tumor cells in patients with locally advanced rectal cancer undergoing neoadjuvant therapy followed by curative surgery [J]. *Int J Colorectal Dis* 2014. 29( 9) : 1053-1059.
- [11] Reeh M ,Effenberger K E ,Koenig A M *et al.* Circulating Tumor Cells as a Biomarker for Preoperative Prognostic Staging in Patients With Esophageal Cancer [J]. *Ann Surg* ,2015 ,261 ( 6) : 1124-1130.
- [12] Matsushita D ,Yoshikazu U ,Takaaki A *et al.* Clinical Significance of Circulating Tumor Cells in Peripheral Blood of Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma [J]. *Ann Surg Oncol* ,2015 , 22( 11) : 3674-3680.
- [13] Cunningham D ,Allum W H ,Stenning S P *et al.* Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer[J]. *N Engl J Med* 2006 355( 1) : 11-20.
- [14] Sandri M T ,Zirzino L ,Cassatella M C *et al.* Changes in circulating tumor cell detection in patients with localized breast cancer before and after surgery [J]. *Ann Surg Oncol* 2010 17( 6) : 1539-1545.
- [15] Park S Y ,Choi G S ,Park J S *et al.* Influence of surgical manipulation and surgical modality on the molecular detection of circulating tumor cells from colorectal cancer [J]. *J Korean Surg Soc* 2012 82 ( 6) : 356-364.
- [16] Wang H B ,Guo Q ,Li Y H *et al.* Effects of Minimally Invasive Esophagectomy and Open Esophagectomy on Circulating Tumor Cell Level in Elderly Patients with Esophageal Cancer [J]. *World J Surg* 2016 40( 7) : 655-662.

( 收稿日期: 2018-09; 在线出版日期: 2019-01-14)