

叶酸受体阳性循环肿瘤细胞检测对肺部亚厘米结节的诊断价值

卢高俊 王若天 田笑如 金鑫 张毅

首都医科大学宣武医院胸外科, 北京 100053

通信作者: 张毅, Email: steven9130@sina.com



扫码阅读电子版

【摘要】目的 探讨叶酸受体 (FR) 阳性循环肿瘤细胞 (CTC) 检测在肺部亚厘米结节 (结节最大径 ≤ 10 mm) 良恶性诊断中的价值。**方法** 选择 2018 年 7 月至 12 月首都医科大学宣武医院收治的胸部 CT 检查显示有最大径 ≤ 10 mm 的肺小结节患者 37 例, 包括术后病理诊断为早期肺腺癌 22 例、肺良性病变 15 例。患者术前均留取静脉血, 应用新型配体靶向聚合酶链反应 (LT-PCR) 检测 FR⁺ CTC 水平 (以自定义的 FU/3 ml 为单位), 应用酶联免疫吸附试验检测癌胚抗原 (CEA)、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、细胞角蛋白 19 片段 CYFRA21-1、糖类抗原 125 (CA125)、CA199、胃泌素释放肽前体 (pro-GRP) 等肿瘤标志物水平。计量资料两组间比较采用 *t* 检验, 以检测试剂盒说明书指定的 CTC 值 8.70 FU/3 ml 为临界值, 应用二元 logistic 回归法分析肺结节为恶性的危险因素; 采用 kappa 一致性检验分析以 FR⁺ CTC 水平诊断与手术切除标本的病理结果诊断的一致性; 绘制受试者工作特征曲线 (ROC), 评估各指标对肺部亚厘米结节良恶性的诊断效能。**结果** 早期肺腺癌患者 FR⁺ CTC 表达水平高于肺良性病变患者, 差异有统计学意义 [(11.0 \pm 3.0) FU/3 ml 比 (7.0 \pm 3.7) FU/3 ml, $t = -3.327$, $P = 0.001$]; FR⁺ CTC 水平与患者的年龄、性别、吸烟史均无相关性 (均 $P > 0.05$)。经 logistic 回归分析显示, FR⁺ CTC 水平高为肺结节恶性的危险因素 ($OR = 37.333$, 95% CI 3.994 ~ 349.010, $P = 0.002$)。kappa 一致性检验结果显示 FR⁺ CTC 诊断肺亚厘米结节性质具有一定的准确性 ($\kappa = 0.627$, $P < 0.01$)。ROC 分析显示, FR⁺ CTC 作为诊断肺结节恶性的指标时, 其诊断价值优于 CEA、NSE、CYFRA21-1 三者联合; FR⁺ CTC 的曲线下面积 (AUC) 为 0.830 (95% CI 0.639 ~ 0.968), 诊断灵敏度为 72.7% (95% CI 49.6% ~ 88.4%), 特异度为 93.3% (95% CI 66.0% ~ 99.7%); 将 FR⁺ CTC、CEA、NSE、CYFRA21-1 四者联合诊断肺癌时, AUC 为 0.776 (95% CI 0.614 ~ 0.938), 诊断灵敏度为 86.4%, 特异度为 73.3%。**结论** FR⁺ CTC 检测对肺部亚厘米结节的良恶性诊断具有较高的价值。

【关键词】 叶酸盐受体; 肿瘤细胞, 循环; 肺结节; 肺肿瘤; 亚厘米结节

基金项目: 北京市医院管理局临床技术创新项目 (XMLX201702)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2020.01.001

Diagnostic value of folate receptor-positive circulating tumor cell detection in subcentimeter pulmonary nodules

Lu Gaojun, Wang Ruotian, Tian Xiaoru, Jin Xin, Zhang Yi

Department of Thoracic Surgery, Xuanwu Hospital Capital Medical University, Beijing 100053, China

Corresponding author: Zhang Yi, Email: steven9130@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the value of the folate receptor (FR)-positive circulating tumor cell (CTC) detection in the diagnosis of benign and malignant subcentimeter pulmonary nodules (the maximum diameter ≤ 10 mm). **Methods** Thirty-seven patients with subcentimeter pulmonary nodules (the chest CT showed the maximum diameter was ≤ 10 mm) in the Xuanwu Hospital of Capital Medical University from July to December 2018 were collected. Among them, 22 cases were diagnosed with early stage lung adenocarcinoma by postoperative pathological diagnosis and another 15 cases were benign lung lesion. Venous blood samples from these patients were collected before surgery and then utilized to detect FR⁺ CTC level (defined unit as FU/3 ml) by novel ligand-targeted polymerase chain reaction (LT-PCR), and the enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the levels of tumor markers, including carcinoembryonic antigen (CEA), neuron-specific enolase (NSE), cytokeratin 19 fragment CYFRA21-1, carbohydrate antigen 125 (CA125), CA199, pro-gastrin releasing peptide (pro-GRP), etc. The *t*-test was used to compare the measurement values between the groups. The CTC value 8.70 FU/3 ml described in the detection kit

instruction was used as the threshold. The binary logistic regression was used to analyze the risk factors of malignant pulmonary nodules. The kappa consistency test was used to identify the consistency of the diagnosis results obtained by the FR⁺ CTC level and the pathological results of surgically resected specimens. The receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to evaluate the efficiency of each index for the diagnosis of benign and malignant subcentimeter pulmonary nodules. **Results** The level of FR⁺ CTC in patients with early stage lung cancer was higher than that in patients with benign lung lesion, and the difference was statistically significant [(11.0±3.0) FU/3 ml vs. (7.0±3.7) FU/3 ml, $t = -3.327$, $P = 0.001$]. The level of FR⁺ CTC was not related to the age, gender and smoking history of patients (all $P > 0.05$). Logistic regression analysis indicated that high-level FR⁺ CTC was one of the risk factors for malignant pulmonary nodules ($OR = 37.333$, 95% $CI 3.994-349.010$, $P = 0.002$). The kappa consistency test indicated that the level of FR⁺ CTC used for the diagnosis of lung subcentimeter nodules presented a certain accuracy ($\kappa = 0.627$, $P < 0.01$). ROC illustrated that the FR⁺ CTC was better than CEA, NSE and CYFRA21-1 when it was used as an indicator for the diagnosis of malignant pulmonary nodules. The area under the curve (AUC) of FR⁺ CTC was 0.830 (95% $CI 0.639-0.968$), and the diagnostic sensitivity and specificity were 72.7% (95% $CI 49.6%-88.4%$) and 93.3% (95% $CI 66.0%-99.7%$), respectively. When FR⁺ CTC, CEA, NSE and CYFRA21-1 were combined for lung cancer diagnosis, the AUC, sensitivity and specificity were 0.776 (95% $CI 0.614-0.938$), 86.4% and 73.3%, respectively. **Conclusion** The detection of FR⁺ CTC has a high value in the diagnosis of benign and malignant subcentimeter pulmonary nodules.

【Key words】 Folate receptor; Neoplastic cells, circulating; Pulmonary nodules; Lung neoplasms; Subcentimeter nodules

Fund program: Clinical Technology Innovation Project of Beijing Hospital Administration (XMLX201702)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2020.01.001

原发性肺癌是世界范围内发病率和死亡率最高的恶性肿瘤,5 年生存率仅为 19%, 而 I 期非小细胞肺癌 (NSCLC) 的 5 年生存率达 88% ~ 100%^[1-3]。随着低剂量螺旋 CT (LDCT) 的广泛应用,越来越多的肺部小结节被发现,如何科学合理地诊断并处理这类肺结节已成为挑战。循环肿瘤细胞 (CTC) 的概念最早在 1869 年被提出^[4],目前定义为自发或因诊疗操作由实体瘤或转移灶释放进入外周血液循环的肿瘤细胞^[5]。CTC 检测是一种新兴的微创液体活组织检查技术,有助于疾病的早期诊断和治疗过程中的疾病监测。叶酸受体 (FR) 是一种细胞表面受体糖蛋白,在多种肿瘤中均高表达,72% ~ 83% 的 NSCLC 患者细胞表面过表达 FR^[6-7]。既往研究表明,应用新型配体靶向聚合酶链反应 (LT-PCR) 检测 NSCLC 患者的 FR⁺ CTC 具有良好的临床价值^[8-9]。但是目前已有的研究未具体区分肺结节的大小,且研究对象大多为直径较大的肺结节患者,单纯对亚厘米肺结节 (结节最大径 ≤ 10 mm) 患者进行 CTC 检测的研究较少。本研究对 37 例亚厘米肺结节患者采用 LT-PCR 法检测 FR⁺ CTC,采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测肿瘤标志物水平,探讨它们尤其是 FR⁺ CTC 对亚厘米肺结节的诊断价值,以辅助临床医生为那些不知如何处理小结节的焦虑患者定制个性化治疗方案。

1 资料与方法

1.1 临床资料

纳入标准:(1)胸部 CT 检查提示有可疑恶性的小结节 (结节最大径 ≤ 10 mm),同时未伴有纵隔淋巴结肿大或其他转移灶;(2)既往未接受抗肿瘤药物治疗。排除标准:(1)胸部 CT 检查提示肺结节最大径 > 10 mm;(2)其他部位肿瘤继发肺转移;(3)既往接受手术及放疗化疗治疗;(4)肺部肿瘤复发。选取 2018 年 7 月至 12 月我院收治的胸部 CT 检查有最大径 ≤ 10 mm 肺部亚厘米结节患者 37 例,其中男性 17 例,女性 20 例;年龄 37 ~ 77 岁。所有患者均接受手术治疗,术后依据石蜡标本进行病理诊断,其中早期肺腺癌 22 例,肺良性病变 15 例。本研究符合 2013 年修订的《赫尔辛基宣言》的要求,患者均知情同意并签署知情同意书。

1.2 FR⁺ CTC 及肿瘤标志物的检测方法

患者在入院后第 1 天抽取静脉血 3 ml,乙二胺四乙酸 (EDTA) 抗凝,30 min 内送至我院检验科进行血样处理,采用 LT-PCR 法检测 FR⁺ CTC 水平,采用 ELISA 对癌胚抗原 (CEA)、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、细胞角蛋白 19 片段 CYFRA21-1、糖类抗原 125 (CA125)、CA199、胃泌素释放肽前体 (pro-GRP)

等肿瘤标志物定量。采用美国 Biotek EL×800 全自动酶联免疫分析仪进行肿瘤标志物的检测,FR⁺CTC 检测试剂盒由南通格诺思博生物科技有限公司提供。FR⁺CTC 的检测过程:首先通过免疫磁珠负向富集法从 3 ml 外周血中捕获 CTC,然后通过靶向探针对 FR⁺CTC 进行标记,最后用 PCR 法定量检测 FR⁺CTC。以 FU/3 ml 为 FR⁺CTC 定量的单位^[9-10]。CEA > 5.0 ng/ml、CA125 > 35.0 U/ml、CA199 > 37.0 U/ml、NSE > 17 ng/ml、CYFRA21-1 > 3.3 ng/ml、pro-GRP > 69.2 pg/ml 中,满足任何 1 项即为阳性。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。FR⁺CTC 水平呈正态分布,用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较用 *t* 检验,组间分类资料比较用 χ^2 检验。以检测试剂盒说明书指定的 CTC 值 8.70 FU/3 ml 为临界值,对 FR⁺CTC 水平诊断肺结节恶性情况赋值,其中 ≥ 8.70 FU/3 ml 为 1, < 8.70 FU/3 ml 为 0;以 FR⁺CTC 水平为因变量,以性别、年龄、吸烟史、病理类型为自变量,应用二元 logistic 回归法分析肺结节恶性的危险因素;以手术切除标本的病理结果作为诊断肺癌的金标准,采用 kappa 一致性检验分析 FR⁺CTC 水平诊断亚厘米肺结节良恶性与金标准诊断的一致性;绘制受试者工作特征曲线 (ROC),计算曲线下面积 (AUC),评估各指标的诊断效能。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺部亚厘米结节患者一般情况

术后病理诊断早期肺癌 22 例,其中男性 9 例,女性 13 例,中位年龄 56 岁 (42 ~ 77 岁);均为腺癌,均未发现淋巴结转移灶和远处转移灶,即均为 I_{A1} 期;2 例有吸烟史。术后病理诊断肺良性病变 15 例,其中男性 8 例,女性 7 例,中位年龄 56 岁 (37 ~ 68 岁),其中 4 例有吸烟史。早期肺癌组与肺良性病变组间年龄、性别、吸烟史构成差异均无统计学意义 (均 *P* > 0.05),具有可比性。

2.2 不同临床病理特征肺部亚厘米结节患者 FR⁺CTC 水平比较

早期肺癌患者的 FR⁺CTC 水平高于肺良性病变患者,差异有统计学意义 (*P* = 0.001),不同年龄、性别、吸烟史分层的患者间,FR⁺CTC 水平差异均无统计学意义 (均 *P* > 0.05) (表 1)。logistic 回归分析显示,FR⁺CTC 水平高为肺结节恶性的危险因素 (*OR* = 37.333, 95% *CI* 3.994 ~ 349.010, *P* = 0.002)。

表 1 不同临床病理特征肺部亚厘米结节患者 FR⁺CTC 水平比较 (FU/3 ml, $\bar{x} \pm s$)

临床病理特征	例数	FR ⁺ CTC 水平	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄 (岁)				
≤60	21	9.1 ± 4.2	-1.209	0.670
>60	16	9.7 ± 3.4		
性别			0.183	0.758
女性	20	9.2 ± 3.4		
男性	17	9.6 ± 4.4		
吸烟史			-1.067	0.231
有	6	7.6 ± 2.4		
无	31	9.7 ± 4.0		
病理类型			-3.327	0.001
肺癌	22	11.0 ± 3.0		
肺良性病变	15	7.0 ± 3.7		

注:FR 为叶酸受体;CTC 为循环肿瘤细胞;亚厘米结节为经低剂量螺旋 CT 检查最大径 ≤ 10 mm 的结节;FR⁺CTC 水平以新型配体靶向聚合酶链反应检测

2.3 以 FR⁺CTC 水平及肿瘤标志物诊断肺部亚厘米结节良恶性的效能

kappa 一致性检验表明,以 FR⁺CTC 水平诊断亚厘米肺结节良恶性与金标准诊断有一定的一致性 ($\kappa = 0.627, P < 0.01$)。绘制 ROC,以 CEA + NSE + CYFRA21-1 联合对亚厘米肺结节恶性诊断的灵敏度较低;以 CEA + CA125 + CA199 + NSE + CYFRA21-1 + pro-GRP 六者联合诊断的灵敏度较高,但特异度低至 39.1%;以 FR⁺CTC 诊断时,AUC 最高,灵敏度为 72.7% (95% *CI* 49.6% ~ 88.4%),特异度为 93.3% (95% *CI* 66.0% ~ 99.7%),阳性预测值和阴性预测值均较高;以 FR⁺CTC + CEA + NSE + CYFRA21-1 联合诊断的灵敏度最高 (表 2,图 1)。

3 讨论

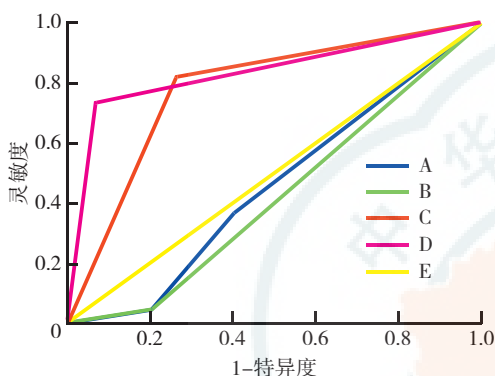
科学技术的进步推动了精准医疗的迅速发展,液体活组织检查通过非侵入式的对血液中的 CTC 及循环肿瘤 DNA 进行检测,正逐渐成为肿瘤精准医疗领域强有力的诊断工具。以血液或其他体液样本为基础的非侵入性技术,已经被证明是有效的^[11],可作为肺癌筛查或早期诊断的无创方法^[12-13]。

早期 NSCLC 患者生存率高,对其早发现、早诊治能极大地提高我国肺癌患者的整体生存率和治愈率。肿瘤的大小是预测 NSCLC 预后的重要指标。随着近年来高分辨率 CT 和低剂量 CT 筛查方案的应用,越来越多的较小肺结节被检出,尤其是最大径 < 10 mm 的肺结节。

表 2 FR⁺ CTC 及肿瘤标志物对肺部亚厘米结节恶性的诊断效能比较

诊断指标	AUC (95% CI)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
CEA + NSE + CYFRA21-1	0.418 (0.225 ~ 0.612)	23.8	75.0	62.5	36.0
CEA + CA125 + CA199 + NSE + CYFRA21-1 + pro-GRP	0.455 (0.259 ~ 0.650)	70.0	39.1	33.3	75.0
FR ⁺ CTC + CEA + NSE + CYFRA21-1	0.776 (0.614 ~ 0.938)	86.4	73.3	82.6	78.6
FR ⁺ CTC	0.830 (0.639 ~ 0.968)	72.7	93.3	94.1	70.0

注:FR 为叶酸受体;CTC 为循环肿瘤细胞;CEA 为癌胚抗原;NSE 为神经元特异性烯醇化酶;CYFRA21-1 为细胞角蛋白 19 片段;CA 为糖类抗原;pro-GRP 为胃泌素释放肽前体;AUC 为受试者工作特征曲线下面积;亚厘米结节为经低剂量螺旋 CT 检查最大径 ≤ 10 mm 的结节;FR⁺ CTC 水平以新型配体靶向聚合酶链反应检测



注:A 为 CEA + CA125 + CA199 + NSE + CYFRA21-1 + pro-GRP;B 为 CEA + NSE + CYFRA21-1;C 为 FR⁺ CTC + CEA + NSE + CYFRA21-1;D 为 FR⁺ CTC;E 为参考线;FR 为叶酸受体;CTC 为循环肿瘤细胞;CEA 为癌胚抗原;CA 为糖类抗原;NSE 为神经元特异性烯醇化酶;CYFRA21-1 为细胞角蛋白 19 片段;pro-GRP 为胃泌素释放肽前体;亚厘米结节为经低剂量螺旋 CT 检查最大径 ≤ 10 mm 的结节;FR⁺ CTC 水平以新型配体靶向聚合酶链反应检测

图 1 FR⁺ CTC 及肿瘤标志物诊断肺部亚厘米结节恶性的受试者工作特征曲线

最大径 ≤ 10 mm 的孤立性肺结节被称为亚厘米肺结节^[14-15],符合第 8 版肺癌 TNM 分期系统中 T_{1a} 病变的标准。肿瘤长径超过 2 mm 时便可诱导血管生成,为肿瘤提供血供,从而为肿瘤细胞迁移提供条件。动物实验表明,在转基因小鼠种植后 17 ~ 18 周,即可在血液中检出细胞角蛋白 (CK) 与人类表皮生长因子受体 2 (HER2) 同时阳性表达的细胞,而此时原发肿瘤体积 < 1 mm³。而且随着肿瘤逐渐增大,CTC 的数量呈指数级别上升^[16-17]。故本研究选取肺亚厘米结节患者为研究对象,探讨 FR⁺ CTC 对其的诊断效能。

本研究共入组了 22 例 I_{A1} 期肺癌患者和 15 例肺部良性病变患者,结果显示 I_{A1} 期肺癌组的 FR⁺ CTC 水平高于肺良性病变组 (P = 0.001)。该研究与既往不同检测 CTC 方法的研究得出一致的结论^[8-10,18-20],尤其与 Chen 等^[19]研究结果相同,在该研究中,早期

肺癌患者 FR⁺ CTC 的水平高于良性病变患者 [(12.41 ± 9.02) FU / 3 ml 比 (6.95 ± 5.45) FU / 3 ml, P < 0.001]。提示 FR⁺ CTC 的水平能有效区分肺癌和肺部良性疾病,因此临床诊疗过程中可以进行 FR⁺ CTC 的检测,以辅助对那些不知如何处理结节的患者定制个体化治疗方案。

有研究指出:肺癌患者 CTC 的水平与患者的无进展生存和总生存有明显的相关性,可以作为一种新的 NSCLC 患者预后指标^[21-23]。本研究中 I_{A1} 期患者的 FR⁺ CTC 水平也存在差异,FR⁺ CTC 水平的高低与预后是否存在明显的临床差异,我们也将持续进行随访观察。

本研究以 8.70 FU / 3 ml 为截断值,FR⁺ CTC 诊断肺结节恶性的灵敏度为 72.7%,特异度为 93.3%,与之前的大样本研究结果大体相符^[9,19]。其中,Chen 等^[19]的大样本研究以 8.93 FU / 3 ml 为最佳截断值,其灵敏度为 74.4%,特异度为 86.6%;但其研究对象中早期肺癌患者包括 I_{A1} 期、I_{A2} 期和 I_{A3} 期患者。较大肺结节及中晚期肺癌患者的 FR⁺ CTC 水平理论上高于亚厘米肺结节患者,而本研究的对象仅为亚厘米肺结节患者,即 I_{A1} 期患者,但得到相近的预测效果,甚至稍优于 Chen 等^[19]的研究结果。本研究结果提示 CTC 检测筛查 I_{A1} 期肺癌具有高灵敏度及特异度。

另外,为了提高诊断效能,本研究将传统肿瘤标志物与 FR⁺ CTC 进行了对比研究。已知的肺癌相关血清肿瘤标志物筛查肺癌的灵敏度较低,缺乏特异性。本研究结果显示,以 LT-PCR 检测的 FR⁺ CTC 水平对肺结节恶性诊断的阳性预测值高达 94.1%,阴性预测值可达 70.0%。另外,与 CEA、NSE 和 CYFRA21-1 相比,单独用 FR⁺ CTC 进行诊断的 AUC 高于三个肿瘤标志物联合的检测结果,也稍高于 FR⁺ CTC 与三个肿瘤标志物联合的诊断结果。Chen 等^[19]的研究表明,将 FR⁺ CTC 与 CEA、NSE、CYFRA21-1 联合进行肺癌的诊断时,其 AUC 大于单纯 FR⁺ CTC 诊断的 AUC。本研究的结果与此不同,但二者的 AUC 相近,可能因

为本研究的研究对象为亚厘米肺结节患者,因而与早期肺癌的肿瘤标志物的表达水平相对较低有关,也可能与本研究的样本量较小有关,需要进一步验证。

综上所述,FR⁺ CTC 检测可作为辅助筛查亚厘米肺结节、诊断早期肺癌的一种新型的有效生物标志物。但此次纳入的病例较少,进行大样本前瞻性研究来验证我们的结论是非常必要的。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68 (6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69 (1): 7-34. DOI:10.3322/caac.21551.
- [3] Sakurai H, Nakagawa K, Watanabe S, et al. Clinicopathologic features of resected subcentimeter lung cancer [J]. Ann Thorac Surg, 2015, 99 (5): 1731-1738. DOI:10.1016/j.athoracsur.2015.01.034.
- [4] Donato BM, Burns L, Willey V, et al. Treatment patterns in patients with advanced breast cancer who were exposed to an anthracycline, a taxane, and capecitabine: a descriptive report [J]. Clin Ther, 2010, 32 (3): 546-554. DOI:10.1016/j.clinthera.2010.03.007.
- [5] Allard WJ, Matera J, Miller MC, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10 (20): 6897-6904. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-04-0378.
- [6] O'Shannessy DJ, Yu G, Smale R, et al. Folate receptor alpha expression in lung cancer: diagnostic and prognostic significance [J]. Oncotarget, 2012, 3 (4): 414-425. DOI:10.18632/oncotarget.489.
- [7] Nunez MI, Behrens C, Woods DM, et al. High expression of folate receptor alpha in lung cancer correlates with adenocarcinoma histology and EGFR [corrected] mutation [J]. J Thorac Oncol, 2012, 7 (5): 833-840. DOI:10.1097/JTO.0b013e31824de09e.
- [8] Lou J, Ben S, Yang G, et al. Quantification of rare circulating tumor cells in non-small cell lung cancer by ligand-targeted PCR [J]. PLoS One, 2013, 8 (12): e80458. DOI:10.1371/journal.pone.0080458.
- [9] Yu Y, Chen Z, Dong J, et al. Folate receptor-positive circulating tumor cells as a novel diagnostic biomarker in non-small cell lung cancer [J]. Transl Oncol, 2013, 6 (6): 697-702. DOI:10.1593/tlo.13535.
- [10] 连欢欢,丁志丹,袁东风,等.应用 FR 靶向 PCR 法检测 CTC 在肺癌诊断中的临床价值:初步研究 [J]. 中国肺癌杂志,2016,19 (12):813-820. DOI:10.3779/j.issn.1009-3419.2016.12.03.
Lian HH, Ding ZD, Yuan DF, et al. Diagnostic value of folate receptor-positive circulating tumor cell in lung cancer: a pilot study [J]. Chin J Lung Cancer, 2016, 19 (12): 813-820. DOI:10.3779/j.issn.1009-3419.2016.12.03.
- [11] Molina-Vila MA, Mayo-de-Las-Casas C, Giménez-Capitán A, et al. Liquid biopsy in non-small cell lung cancer [J]. Front Med (Lausanne), 2016, 3: 69. DOI:10.3389/fmed.2016.00069.
- [12] The Lancet Oncology. Liquid cancer biopsy: the future of cancer detection? [J]. Lancet Oncol, 2016, 17 (2): 123. DOI:10.1016/S1470-2045 (16) 00016-4.
- [13] Strotman LN, Millner LM, Valdes R, et al. Liquid biopsies in oncology and the current regulatory landscape [J]. Mol Diagn Ther, 2016, 20 (5): 429-436. DOI:10.1007/s40291-016-0220-5.
- [14] Hattori A, Matsunaga T, Hayashi T, et al. Prognostic impact of the findings on thin-section computed tomography in patients with subcentimeter non-small cell lung cancer [J]. J Thorac Oncol, 2017, 12 (6): 954-962. DOI:10.1016/j.jtho.2017.02.015.
- [15] Tsou KC, Hsu HH, Tsai TM, et al. Clinical outcome of subcentimeter non-small cell lung cancer after VATS resection: single institute experience with 424 patients [J]. J Formos Med Assoc, 2020, 119 (1 Pt 3): 399-405. DOI:10.1016/j.jfma.2019.07.004.
- [16] Hüsemann Y, Geigl JB, Schubert F, et al. Systemic spread is an early step in breast cancer [J]. Cancer Cell, 2008, 13 (1): 58-68. DOI:10.1016/j.ccr.2007.12.003.
- [17] Eyles J, Puaux AL, Wang X, et al. Tumor cells disseminate early, but immunosurveillance limits metastatic outgrowth, in a mouse model of melanoma [J]. J Clin Invest, 2010, 120 (6): 2030-2039. DOI:10.1172/JCI42002.
- [18] Qian C, Wu S, Chen H, et al. Clinical significance of circulating tumor cells from lung cancer patients using microfluidic chip [J]. Clin Exp Med, 2018, 18 (2): 191-202. DOI:10.1007/s10238-018-0485-6.
- [19] Chen 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. DOI:10.1097/JTO.0000000000000606.
- [20] 沈茜,沈丽莎,陈茜,等.染色体着丝粒探针荧光原位杂交法检测血液循环肿瘤细胞对非小细胞肺癌的诊断价值 [J]. 中华结核和呼吸杂志,2018,41 (10):772-777. DOI:10.3760/ema.j.issn.1001-0939.2018.10.005.
Shen Q, Shen LS, Chen Q, et al. The value of circulating tumor cells detected by chromosome centromere probe identification in diagnosis of non-small cell lung cancer [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2018, 41 (10): 772-777. DOI:10.3760/ema.j.issn.1001-0939.2018.10.005.
- [21] Krebs MG, Sloane R, Priest L, et al. Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer [J]. J Clin Oncol, 2011, 29 (12): 1556-1563. DOI:10.1200/JCO.2010.28.7045.
- [22] Spiliotaki M, Mavroudis D, Kapranou K, et al. Evaluation of proliferation and apoptosis markers in circulating tumor cells of women with early breast cancer who are candidates for tumor dormancy [J]. Breast Cancer Res, 2014, 16 (6): 485. DOI:10.1186/s13058-014-0485-8.
- [23] Yoon SO, Kim YT, Jung KC, et al. TTF-1 mRNA-positive circulating tumor cells in the peripheral blood predict poor prognosis in surgically resected non-small cell lung cancer patients [J]. Lung Cancer, 2011, 71 (2): 209-216. DOI:10.1016/j.lungcan.2010.04.017.

(收稿日期:2019-05-08)

(本文编辑:吕晶丽 校对:周薇)