DOI:10.16016/j.1000-5404.202007074

叶酸受体阳性 CTC 检测在恶性肺部结节辅助诊断中的应用

刘 博,黄 露,曹 亚,谭秋林,王亚丽,郭乔楠 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院病理科

[摘要] **目的** 评价靶向叶酸受体(folate receptor, FR)阳性循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)检测方法在临床肺部结节良恶性诊断中的实用价值。**方法** 选取 2017 年 5 月至 2018 年 4 月本院收治的肺部结节筛查患者 288 例,采用靶向 FR CTC 技术检测外周血中 CTC 含量;结合患者术后的病理检查结果,分析靶向 FR CTC 检测在肺部恶性肿瘤辅助诊断中的准确性、可行性。**结果** 以 8.7 Folate Units/3 mL 为 cut-off 值,136 例肺部恶性肿瘤的 CTC 水平显著高于 152 例肺部良性疾病患者($P<0.05$)。136 例肺部恶性肿瘤 FR 阳性 CTC 107 例,152 例良性病变结节 FR 假阳性 CTC 44 例,总体上靶向 FR CTC 检测技术对肺部恶性肿瘤的检测灵敏度为 78.7%,特异性为 71.1%。特别是在Ⅰ期肺癌灵敏度达到 76.9%,9 例原位肺癌 CTC 检测均呈阳性,与肿瘤标志物、CT 检查等比较,CTC 检测对早期肺癌具有较高的辅助诊断价值。**结论** 靶向 FR CTC 检测可以应用于肺部结节良恶性的筛查,对肺部恶性肿瘤的早发现有较好的辅助诊断价值。

[关键词] 叶酸受体;循环肿瘤细胞;肺部结节;肺癌;辅助诊断
[中图法分类号] R446.119; R730.43; R734.2 [文献标志码] A

Application of folate receptor-positive circulating tumor cells in auxiliary diagnosis of malignant pulmonary nodules

LIU Bo, HUANG Lu, CAO Ya, TAN Qiulin, WANG Yali, GUO Qiaonan Department of Pathology, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037, China

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the practical value of detecting folate receptor (FR)-positive circulating tumor cells (CTC) in clinical diagnosis of benign and malignant lung nodules. **Methods** A total of 288 patients with pulmonary nodules admitted in our hospital from May 2017 to April 2018 were enrolled in this study. FR-targeted CTC technology was used to quantitatively detect CTC content in peripheral blood samples. The results were analyzed with the postoperative pathological results to evaluate the accuracy and feasibility of the detection in the auxiliary diagnosis of lung malignant tumors. **Results** With a cut-off value of 8.7 Folate Units/3 mL as the threshold, the CTC content was significantly higher in the 136 patients with pulmonary malignant tumor than the 152 patients with pulmonary benign disease ($P<0.05$). Among the 136 patients with pathologically diagnosed pulmonary malignant tumors, FR-positive CTC were observed in 106 patients. In the 152 patients with benign nodules, 44 cases showed false positive CTC results. In general, the sensitivity and specificity of FR-positive CTC detection was 78.7% and 71.1%, respectively in the detection of pulmonary malignant tumors. Furthermore, the sensitivity reached 76.9% in stage I lung cancer (70/91), and all 9 cases of lung cancer *in situ* were positive in the detection. Compared with tumor markers and CT examinations, FR-positive CTC detection was of higher auxiliary diagnostic value for early lung cancer. **Conclusion** FR-positive CTC detection can be used to screen benign and malignant lung nodules, and has a

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金(31801664)
[通信作者] 郭乔楠,E-mail:qiaonan85@263.net

good value in the diagnosis of early-stage pulmonary malignant tumors.

[**Key words**] folate receptor; circulating tumor cells; pulmonary nodules; lung cancer; auxiliary diagnosis

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (31801664). Corresponding author: GUO Qiaonan, E-mail: qiaonan85@263.net

肺部结节是常见的肺部疾病,影像学检查显示肺实质内出现单个或多个圆形或与肺不张及局部淋巴结肿大相关的椭圆形致密阴影,直径通常小于3 cm。随着影像学技术的不断发展,胸部X线片、高分辨率CT的应用,肺部结节(包括磨玻璃结节)的检出率逐年上升[1]。根据影像学特征,肺部结节主要分为非实性、部分实性和实性结节,同时根据与周围组织的外部形态关系,可表现为边界是否光滑、规则,有无明显的分叶和毛刺等特征。虽然可根据结节的影像学特点评估结节性质,但在实际临床诊断中发现,该方法存在明显不足,需要其他检查辅助诊断。且对于微小结节(直径≤1 cm)而言,影像学方法难以区分较小的肺部结节良恶性质[2]。低剂量螺旋CT、PET-CT容易受结节过小、低肿瘤代谢活性和高血糖等因素干扰,假阳性率较高[3]。因此,很多患者选择定期随访,耽误了及早治疗的时机;虽通过穿刺或钳取等手段对病变的性质进行鉴定,但这些方式是有创的,部分患者不能耐受。当结节较小,位置复杂时,手术难以进行,对肺部结节病变的管理存在困难[2]。

叶酸受体(folate receptor, FR)是一种糖基磷脂酰肌醇偶联蛋白,正常人血液细胞(除巨噬细胞)中FR受体一般无表达,是理想的肺癌循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)检测靶点[4]。研究表明大部分非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中FR表达显著上调,每个肺癌肿瘤细胞表面约有50万个FR受体[5-6]。FR作为肿瘤靶点在核医学显像诊断与肿瘤治疗方面已有较为广泛的应用[7],市面上已有开发的针对FR受体的CTC商业化检测试剂盒。其原理是通过负向富集法去除血液中可能干扰的白细胞,结合特异性叶酸配体-寡聚核苷酸偶合物标记、聚合酶链式反应(PCR)技术,实现外周血CTC定量的检测技术。利用FR特异性抗体靶向识别肿瘤细胞,通过两次信号放大,该方法检测灵敏度显著提高,使血液中数量稀少的CTC检出率大幅上升。为了验证CTC检测在肺癌辅助诊断中的价值,本研究对288例肺部结节病患者采用靶向FR CTC检测技术,结合患者的病理检查结果进行回顾性分析,评价该检测方法在肺癌辅助诊断中的可靠性。本研究采用回顾性分析探讨该方法在肺癌早期辅助诊断中的可行性,以及存在的不足之处。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取本院2017年5月至2018年4月收治的肺部检查结节患者288例进行回顾性分析,其中男性163例,女性125例,年龄20~85岁,平均53.8岁。所有患者行胸部CT检查发现肺上有性质不明的结节,未确诊前均行靶向FR CTC检测。结合患者术后病理诊断报告评估该CTC检测对早期肺部结节的诊断准确性。对于部分未行手术病理检查的病例的阴性判读标准评价标准为:随访1年以上结节消失或无明显增大,患者无明显不适症状。

纳入标准:①年龄20~85岁;②肺部CT检查发现阴影结节,结节良恶性质不明;③入组血液样本采集时,患者未接受肿瘤相关治疗;④采集血液时血常规中白细胞含量正常;⑤既往无其他恶性肿瘤病史。排除标准:①有对比剂过敏、禁忌史(比如青光眼、前列腺肥大);②严重肝、肾功能不全病史(GFR<60 mL/min);③检查前接受分子靶向药物治疗或(和)手术治疗者;④怀孕或育龄、哺乳期妇女;⑤图像质量差者。

1.2 检测方法

采用格诺斯博公司开发的CTC检测试剂盒。简要的样本处理程序如下:①取临床标本全血3 mL,加入12 mL细胞裂解液裂解红细胞,离心弃上清。②加入缓冲液重悬细胞后,加入去除磁珠A、B液去除样本中的白细胞(CD45+)。③加入10 μL FR小分子探针抗体标记液,室温孵育40 min;加入洗涤液洗涤后,离心收集细胞。④PCR扩增离心收集细胞,计算校准样本CT值。对于CTC阳性的判定,主要根据多中心受试者临床试验结果,即CTC数值≥8.7 Folate Units/3 mL作为CTC的阳性界定值[8]。其核心技术是采用负向免疫磁珠富集去除血液中的白细胞,通过特异性叶酸配体-寡聚核苷酸偶合物标记和聚合酶链式反应(PCR)技术,两次信号放大实现外周血CTC定量的目的。检出值以Folate Units/3 mL为单位计量,可显示3 mL血液中CTC的相对含量。

1.3 统计学分析

采用SPSS 25.0、GraphPad Prism 7软件进行分析,两种病变间CTC检测资料的比较,采用独立样本t检验,$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺部结节患者基本资料

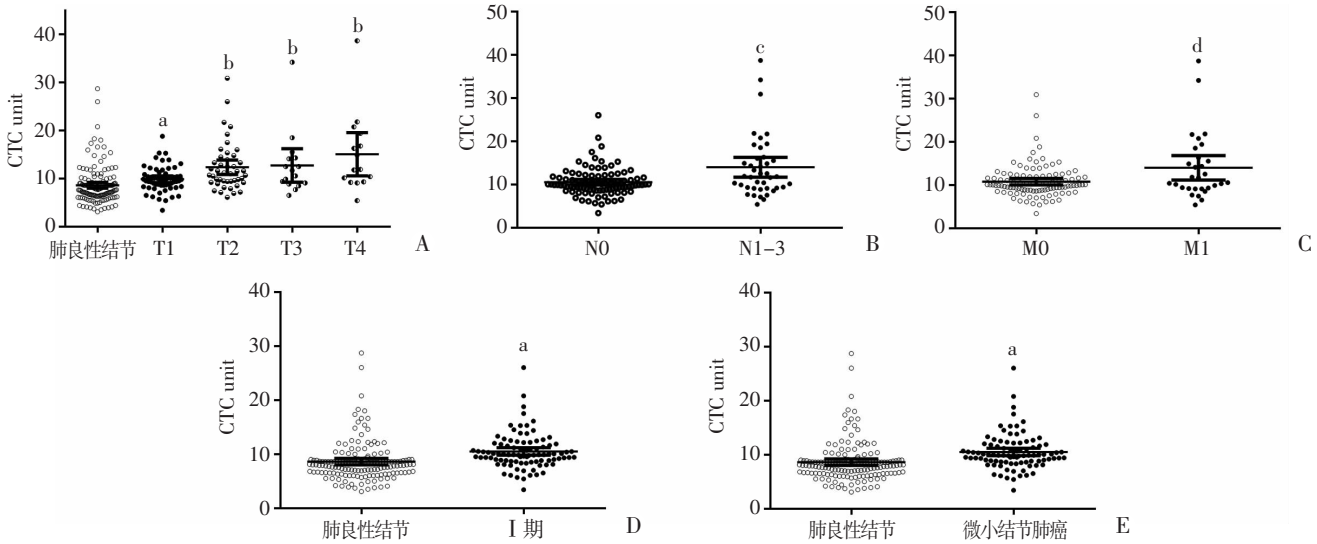
288 例肺部结节病患者年龄分布较广,在 20~85 岁之间,中位年龄 53.8 岁。40~70 岁是肺部结节患者高发年龄,共计 231 例,占比 80.2%。经独立样本 t 检验发现,男性/女性肺部结节患者 CTC 检出值差异无统计学意义($P>0.05$)。确诊恶性肿瘤 136 例,良性病变 152 例。肺部恶性肿瘤 136 例中含肺腺癌 114 例、肺鳞癌 9 例、肺小细胞癌 2 例、淋巴瘤 1 例、10 例肿瘤不能区分具体的病理类型,肺腺癌占比 85%(表 1)。

2.2 肺结节患者 CTC 检出值与临床分期

良性结节病变患者 CTC 平均水平为 8.61(3.10~28.70),肺癌组 CTC 平均水平为 11.61 (3.40~38.69),肺癌患者检出 CTC 值显著高于良性结节患者($P<0.05$)。在 123 例非小细胞肺癌患者中,Ⅰ期肺癌患者 91 例,占比 73.9%,灵敏度达到 76.9%。早期肺部结节通过影像学检查良恶性质难以判断,大部分患者需要行靶向 FR CTC 检测来辅助诊断。Ⅰ~Ⅳ期肺癌患者中,总体上临床分期越晚,检出 CTC 数值越高($P<0.01$),检出率也随之小幅上升(图 1)。根据 TNM 分期,T1~4 期结节患者肺癌 CTC 阳性率分别为 71.19%、82.22%、81.25%、93.33%,临床分期越晚,检出 CTC 数值越高($P<0.05$);有淋巴结和远端转移的患者,总体上 CTC 检出数值高于无淋巴结和远端转移的患者,阳性率也有较为明显的升高($P<0.01$)。进一步分析发现,91 例Ⅰ期肺癌患者 CTC 水平为 10.49(3.40~26.00),也显著高于肺良性结节患者($P<0.01$)。肺癌患者中 9 例原位癌 CTC 检测均为阳性,其中 3 例低剂量螺旋 CT 检查未发现问题,但患者 CTC 检出值显著高于阈值 8.7,分别在 7~9 个月后经组织学诊断确诊为肺原位癌。136 例肺部恶性肿瘤患者中,CT 影像≤1 cm 的微小结节肺癌患者 52 例,占比 38.2%。微小结节肺癌患者 CTC 中位数值 9.87(3.40~20.80),检出 CTC 值高于阈值患者 38 例,检出率 73.08%。

表 1 肺结节患者 CTC 检测与临床资料

临床特征	病例数	FR 阳性 CTC 例数	FR 阳性 CTC 比例(%)	P 值
性别				
男性	163	83	50.92	0.537
女性	125	68	54.40	
肺结节				
恶性	136	107	78.67	0.029
良性	152	44	28.94	
病理分型				
腺癌	114	86	75.44	<0.001
鳞癌	9	9	100.00	<0.001
小细胞癌	2	2	100.00	
其他恶性肿瘤	11	9	81.82	
临床分期				
Ⅰ期	91	70	76.92	<0.001
Ⅱ~Ⅳ期	44	28	86.36	<0.001
TNM 分期				
T1	59	42	71.19	0.019
T2	45	37	82.22	<0.001
T3	16	13	81.25	<0.001
T4	15	14	93.33	<0.001
N0	93	71	76.34	<0.001
N1-3	41	34	82.93	
M0	102	78	76.47	0.002
M1	30	25	83.33	
CT 影像				
结节≤1 cm	52	38	73.08	0.029



A~C:分别为 TNM 不同分期肺癌患者 CTC 水平　a:$P<0.05$,b:$P<0.001$,与肺良性结节比较;c:$P<0.001$,与 N0 比较;d:$P<0.01$,与 M0 比较;D:良性结节、肺癌Ⅰ期患者 CTC 水平　a:$P<0.001$,与肺良性结节比较;E:良性结节、微小结节肺癌(影像学直径≤1 cm)患者 CTC 水平　a:$P<0.05$,与肺良性结节比较

图 1　肺良性结节、肺癌患者 CTC 水平

2.3　干扰靶向 FR CTC 检测的因素

152 例肺部良性病变结节患者中,假阳性病例 44 例,病理诊断结果主要为结核杆菌感染、慢性炎或者炎性假瘤、非典型性腺瘤样增生,假阳性率 28.9%。病理诊断为结核杆菌感染、慢性炎或者炎性假瘤患者 CTC 检出均值分别达到 12.40、13.09,去除结核感染和慢性炎患者 40 例,良性病变组平均 CTC 数值为 7.32,显著低于肺部恶性肿瘤患者(11.61,$P<0.01$)。

3　讨论

肺癌是全球发病率、死亡率最高的恶性肿瘤[9]。在中国,很多患者发现时已是中晚期或已发生淋巴结和远端转移,外科手术切除不能达到根治的效果,约80%的术后患者存在复发和转移。确诊时临床分期越晚,行肺癌切除或有效的化疗效果越差,Ⅰ期患者 5 年生存率可达到 70%,而Ⅳ期患者总体 5 年生存率只有约 10%。因此,肺癌患者要想获得良好的治疗效果,早诊断、早治疗成为改善预后的关键所在[10]。早期的肺癌没有临床症状或症状较轻微,不易被发现。因此对于早期肺部病变,尤其是肺部结节良恶性的判定至关重要,对肺癌的早期诊断具有十分重要的意义。肺部是结节病的常见侵犯器官,大部分肺部结节是良性病变,且临床症状都是常见的咳嗽、气短等,不易与肺部恶性肿瘤区分。

外周血 CTC 是指主动或被动从实体肿瘤或转移灶脱离,释放入血的肿瘤细胞或细胞团。从首次发现以来逐渐成为肿瘤学科中的研究热点[11],在肿瘤发生的早期就可释放入血,条件适合可在特定器官种植、生长,是导致患者预后差、复发的主要原因。CTC 在外周血液中数量极少,一般每 $10^6 \sim 10^7$ 单核细胞中存在 1 个 CTC。因此,对检测方法的敏感度及特异性要求较高。目前在肺癌、前列腺癌、肝癌、结直肠癌等领域中 CTC 检测已有不少初步的研究和临床应用,但是这些方法仍然存在检出率不高、结果判读难等问题[12]。目前 CTC 分离有物理分离法和免疫分离法。物理分离是基于细胞大小和密度进行,肿瘤细胞一般较大,密度较高,可以使用分离网筛或密度梯度离心的方法获取肿瘤细胞。缺点是肿瘤细胞可塑性强,易变形,易通过分离网筛。另外白细胞体积与肿瘤细胞体积相当,使分离得到的极微量异型细胞鉴定存在较大困难。免疫学分离法又细分为正向分离法和负向分离法(去除白细胞)。基于肿瘤细胞表面存在的上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)的 EpCAM 正向分离法,利用免疫磁珠分离肿瘤细胞,不足之处是肿瘤细胞上皮细胞黏附分子表达率只有约 30%[13],且受上皮间质转换(epithelial-mesenchymal transition,EMT)作用等影响。负向分离法虽然分离到的肿瘤细胞纯度低,但回收率较高,再结合核酸扩增等技术,敏感度显著提高。

肺癌早期,当结节较小时,常规 CT、血液肿瘤标记等手段难以发现,需要 CTC 检测等多种手段辅助,综合判断结节性质[14]。虽然 CTC 在肿瘤早期就可释放

入血,但在肺癌中存在广泛的 EMT 作用,肿瘤细胞丢失上皮标记物而致使市面上多数 CTC 检测方法无效[15]。因此,开发针对肺部肿瘤的 CTC 检测技术,对肺癌的早期诊断、复发监测、治疗效果评估等十分必要。

FR 是一种细胞表面受体蛋白,最早发现在卵巢癌中高表达,后来发现在肺癌、结直肠癌等多种肿瘤中高表达,是包括 NSCLC 在内多种癌症的 CTC 检测的一个潜在靶点[4]。FR 在约 80%的肺癌细胞高表达,但血液中绝大部分细胞不表达 FR,为肺癌血液靶向 FR CTC 检测提供了理想的条件。在 NSCLC 患者中,每一个循环肿瘤细胞可表达 50 万个叶酸受体,再通过 PCR 扩增可实现信号两级放大,因此可以检测到 3 mL 血液样本中极少量的 CTC[8]。此外,该方法采用负向分离技术,肿瘤细胞回收率较其他 CTC 检测方法高,且不受 EMT 作用影响,使其具有独特的优势[8]。目前在临床上,靶向 FR CTC 方法在肺癌患者手术方案选择[16]、术后治疗方案评估[17]等领域均有初步的探索,取得了较好的结果。也有研究正在探讨该方法在肺部性质不明结节的辅助诊断中的可能应用[18],以期将该方法更好地应用到肿瘤早期诊断和术后监测等方面。

本回顾性研究发现肺部良性结节性病变患者 CTC 平均水平显著低于肺癌患者($P<0.05$)。136 例恶性肿瘤 FR 阳性 CTC 107 例,152 例良性结节 FR 假阳性 CTC 44 例,总体上靶向 FR CTC 检测技术对肺部恶性肿瘤的检测灵敏度为 78.7%,特异性为 71.1%。我院检测数据与该技术在肺癌大型临床研究中的检测灵敏度(79.6%)、特异性(88.2%)整体相当[8]。特别是在 91 例Ⅰ期肺癌灵敏度达到 76.9%,比肿瘤标志物、CT 等检查提高数倍,靶向 FR CTC 检测在早期肺癌辅助诊断可作为有效手段。值得注意的是本研究发现 9 例原位肺癌,CTC 检测均为阳性,有 3 例患者临床评估结节风险较低,但患者 CTC 检出值高于阈值,最终在随访半年后确诊为肺癌。总体上随着肿瘤的增大、临床分期越晚,CTC 检测值越高。病理科 CTC 送检血样主要是结节性质不明和术后监测(本研究不做探讨)患者,肺部结节较小时,高分辨率 CT 和肿瘤标记物检查难以明确结节良恶性质,需要 CTC 检测等其他手段辅助诊断。本研究回顾性分析中晚期肺癌患者(Ⅱ~Ⅳ期)总计 44 例,占比 32.6%,多数中晚期患者未行 CTC 检测就直接手术或者进行治疗。本研究还统计了 CTC 检测在微小结节患者中的应用价值,在 52 例 CT 影像≤1 cm 的肺癌结节患者中,CTC 中位数值为 9.87(3.40~20.80),检出 CTC 值高于阈值患者 38 例,检出率 73.08%,差异有统计学意义,显示靶向 FR CTC 检测在早期肺癌,尤其是肺腺癌诊断中具有较好的应用价值,可作为临床辅助诊断的一项重要指标。本研究肺癌患者中,含肺鳞癌样本 9 例,CTC 检测均为阳性,符合率 100%,但样本量太小,不具有统计学意义,需要纳入更多病例后才能评价。

值得注意的是良性结节病变患者中确诊为结核杆菌感染(CTC = 12.40)、慢性炎或者炎性假瘤(CTC = 13.10)的 CTC 检出值较高,占良性结节患者假阳性的 90%以上,对肺癌的诊断造成干扰[6, 19]。结核杆菌感染与炎症密切相关,常表现为炎性肉芽肿性病变,与慢性炎症导致靶向 CTC 检出值升高的机制应该是一致的。可能的原因有:①结核感染和慢性炎症均能引起上皮细胞脱落入血,肺上皮细胞也能表达叶酸受体,造成检出值升高;②虽然患者行 CTC 检测前会查看白细胞含量是否正常(白细胞干扰检测),但是血常规检测结果不能反映外周血中活化巨噬细胞含量,结核感染和慢性炎症患者外周血活化巨噬细胞可能增多造成检测值升高。去除结核感染和慢性炎症患者后,良性病变组平均 CTC 数值为 7.32,显著低于肺部恶性肿瘤患者($P<0.01$)。此外,部分肺癌肿瘤细胞叶酸受体蛋白表达不升高,CTC 检测结果可能假阴性,也使包括该方法在内的通过特定抗原抗体反应获取肿瘤细胞的方法存在一定局限性[20]。

外周血中含有 CTC 是包括肺癌在内大多数肿瘤发生、发展始终伴随的状态,并不一定意味着患者已经存在远处转移,但却为肿瘤的早期诊断、复发监测、疗效评估提供了很好的切入点[21]。在肿瘤的发生、发展过程中,释放入血的 CTC 存在多种免疫学、功能学改变,单一的 CTC 检测技术不容易捕获血液中含量极其微小的 CTC[22]。本研究发现靶向 FR CTC 检测在肺癌早期辅助诊断中具有较好的可行性,但后续需要优化检测,排除结核杆菌感染等引起的慢性炎症的干扰。

综上所述,靶向 FR CTC 检测用于肺部结节辅助诊断,对于早期肺部结节良恶性的判断有十分重要的意义。根据 CTC 检测结果进一步评估结节的风险,可及早对结节进行管理干预,很大程度上可缩短肺部恶性结节的确诊时间,并根据诊断结果制定治疗方案提高肺癌患者的预后。

利益冲突声明 本研究与 CTC 检测试剂盒开发公司不存在利益冲突

参考文献:

[1] 李国仁,戴建华. 我国肺部结节精准诊断的现状及研究进展[J]. 中华胸心血管外科杂志, 2019,35(9): 566-572. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-4497.2019.09.015.
LI G R, DAI J H. Status and research progress of precision diagnosis of pulmonary nodules[J]. Chin J Thorac Cardiovasc Surg,2019,35(9): 566-572. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-4497.2019.09.015.

[2] 黄静, 沈庆, 陈元澜,等. 肺部结节管理策略研究进展[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2018, 17(1): 97-101. DOI:10.7507/1671-6205.201706020.
HUANG J, SHEN Q, CHEN Y L, *et al*. Research progress of pulmonary nodule management strategy[J]. Chin J Respir Crit Care Med, 2018, 17(1): 97-101. DOI:10.7507/1671-6205.201706020.

[3] WANG Y J, GONG J, SUZUKI K, *et al*. Evidence based imaging strategies for solitary pulmonary nodule[J]. J Thorac Dis, 2014, 6(7): 872-887. DOI:10.3978/j.issn.2072-1439.2014.07.26.

[4] ZHOU Q, GENG Q, WANG L, *et al*. Value of folate receptor-positive circulating tumour cells in the clinical management of indeterminate lung nodules: a non-invasive biomarker for predicting malignancy and tumour invasiveness[J]. EBioMedicine, 2019, 41: 236-243. DOI:10.1016/j.ebiom.2019.02.028.

[5] 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.

[6] LOW P S, ANTONY A C. Folate receptor-targeted drugs for cancer and inflammatory diseases[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2004, 56(8): 1055-1058. DOI:10.1016/j.addr.2004.02.003.

[7] CHEN X, ZHOU F, LI X, *et al*. Folate receptor-positive circulating tumour cells as a predictive biomarker for the efficacy of first-line pemetrexed-based therapy in patients with non-squamous non-small cell lung cancer[J]. Ann Oncol, 2019, 30: v643-v644. DOI:10.1093/annonc/mdz260.084.

[8] YIN W, ZHU J J, MA B T, *et al*. Overcoming obstacles in pathological diagnosis of pulmonary nodules through circulating tumor cell enrichment[J]. Small, 2020, 16(25): 2001695. DOI:10.1002/smll.202001695.

[9] 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.

[10] SIMMONS J, GOULD M K, IACCARINO J, *et al*. Systems-level resources for pulmonary nodule evaluation in the United States: a national survey[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 193(9): 1063-1065. DOI:10.1164/rccm.201511-2163le.

[11] PANTEL K, ALIX-PANABIÈRES C. Liquid biopsy and minimal residual disease-latest advances and implications for cure[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(7): 409-424. DOI:10.1038/s41571-019-0187-3.

[12] REÁTEGUI E, ACETO N, LIM E J, *et al*. Tunable nanostructured coating for the capture and selective release of viable circulating tumor cells[J]. Adv Mater, 2015, 27(9): 1593-1599. DOI:10.1002/adma.201404677.

[13] ACETO N, BARDIA A, MIYAMOTO D T, *et al*. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis[J]. Cell, 2014, 158(5): 1110-1122. DOI:10.1016/j.cell.2014.07.013.

[14] WAN J C M, MASSIE C, GARCIA-CORBACHO J, *et al*. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(4): 223-238. DOI:10.1038/nrc.2017.7.

[15] LECHARPENTIER A, VIELH P, PEREZ-MORENO P, *et al*. Detection of circulating tumour cells with a hybrid (epithelial/mesenchymal) phenotype in patients with metastatic non-small cell lung cancer[J]. Br J Cancer, 2011, 105(9): 1338-1341. DOI:10.1038/bjc.2011.405.

[16] WEI S, GUO C, HE J, *et al*. Effect of vein-first vs artery-first surgical technique on circulating tumor cells and survival in patients with non-small cell lung cancer: a randomized clinical trial and registry-based propensity score matching analysis[J]. JAMA Surg, 2019, 154(7): e190972. DOI:10.1001/jamasurg.2019.0972.

[17] JIANG T, ZHAO J, ZHAO C, *et al*. Dynamic monitoring and predictive value of circulating tumor cells in EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer patients treated with first-line EGFR tyrosine kinase inhibitors[J]. Clin Lung Cancer, 2019, 20(2): 124-133;e2. DOI:10.1016/j.cllc.2018.11.014.

[18] 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.

[19] YI Y. Folate receptor-targeted diagnostics and therapeutics for inflammatory diseases[J]. Immune Netw, 2016, 16(6): 337-343. DOI:10.4110/in.2016.16.6.337.

[20] NUNEZ M I, BEHRENS C, WOODS D M, *et al*. High expression of folate receptor alpha in lung cancer correlates with adenocarcinoma histology and mutation[J]. J Thorac Oncol, 2012, 7(5): 833-840. DOI:10.1097/jto.0b013e31824de09c.

[21] ZHANG W, XIA W, LV Z, *et al*. Liquid biopsy for cancer: circulating tumor cells, circulating free DNA or exosomes?[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(2): 755-768. DOI:10.1159/000458736.

[22] BARRIÈRE G, TARTARY M, RIGAUD M. Epithelial mesenchymal transition: a new insight into the detection of circulating tumor cells[J]. ISRN Oncol, 2012, 2012: 382010. DOI:10.5402/2012/382010.

(收稿:2020-07-09;修回:2020-09-24)
(编辑 汪勤俭)