

循环肿瘤细胞与胃癌患者临床病理特征及预后的关系研究



孙建兵, 吉翔, 汪亚辉, 马凯, 于建平, 李洪涛, 韩晓鹏, 刘宏斌

解放军兰州总医院普通外科(兰州 730050)

【摘要】 目的 检测胃癌患者空腹外周静脉血中循环肿瘤细胞(CTCs)水平并探讨其与胃癌患者临床病理特征和预后的关系。方法 选取就诊于解放军兰州总医院 2015 年 8 月至 2016 年 12 月期间经组织病理学证实为胃癌且行胃癌根治术的患者 100 例(胃癌组), 选取同时期就诊于我院的胃良性病变患者 38 例作为对照(胃良性病变组)。抽取 2 组患者清晨空腹肘正中静脉血 7 mL, 24 h 内采用免疫磁微粒阴性富集法联合免疫荧光原位杂交技术检测 CTCs, 计算 CTCs 阳性率并分析其与胃癌患者临床病理特征(肿瘤部位、浸润深度、分化程度、TNM 分期、淋巴结转移及有无脉管癌栓)及无进展生存期的关系。结果 胃癌组患者外周静脉血中 CTCs 阳性率为 89.0% (89/100), 明显高于胃良性病变组的 10.5% (4/38), 2 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。胃癌患者 CTCs 水平与肿瘤浸润深度 ($P = 0.017$)、淋巴结转移 ($P = 0.038$) 及 TNM 分期 ($P = 0.016$) 有关, 而与患者性别、年龄、肿瘤部位、分化程度及有无脉管癌栓无关 ($P > 0.050$)。CTCs 对胃癌诊断的预测价值明显优于肿瘤标志物 CEA、AFP、CA19-9 和 CA125 (受试者操作特征曲线下面积 0.935 比 0.711、0.570、0.666、0.551)。胃癌患者中 CTCs 低表达组术后无进展生存期明显长于高表达组 ($\chi^2 = 5.172, P = 0.023$)。结论 免疫磁微粒阴性富集法联合免疫荧光原位杂交技术检测胃癌患者 CTCs 具有较高的敏感度和诊断价值, 术前行 CTCs 检测对指导临床胃癌患者肿瘤分期及对患者预后的预测有一定的价值。

【关键词】 胃癌; 循环肿瘤细胞; 临床病理特征; 无进展生存期

Relationship between circulating tumor cells and clinicopathologic characteristics or prognosis in patients with gastric cancer

SUN Jianbing, JI Xiang, WANG Yahui, MA Kai, YU Jianping, LI Hongtao, HAN Xiaopeng, LIU Hongbin

Department of General Surgery, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, P. R. China

Corresponding author: LIU Hongbin, Email: liuhongbin999@163.com

【Abstract】 Objective To detect level of circulating tumor cells (CTCs) in peripheral venous blood of fasting patients with gastric cancer (GC) and to analyze relationships between CTCs and clinicopathologic features and prognosis of patients with GC. **Methods** One hundred patients with GC were selected (GC group), who underwent the surgery and confirmed by the histopathology in the Lanzhou General Hospital of PLA, from August 2015 to December 2016. Thirty-eight patients with gastric benign lesions who were treated in this hospital at the same time were selected as the control group. The 7 mL peripheral venous blood of the elbow in the morning was taken from the fasting patients and the CTCs were detected by the immunomagnetic microparticle negative enrichment combined with immunofluorescence *in situ* hybridization within 24 h. The positive rate of CTCs was calculated and its relationships with the clinicopathologic features (tumor location, tumor invasion depth, degree of differentiation, TNM stage, tumor markers, lymph node metastasis, and vascular tumor thrombus) and the progression-free survival of the patients with GC were analyzed. **Results** The positive rate of peripheral venous blood CTCs in the GC group was 89.0% (89/100), which was higher than that in the control group (10.5%, 4/38), and the difference was statistically significant ($P < 0.001$). The levels of CTCs in the patients with GC were significantly correlated with the tumor invasion depth ($P = 0.017$), lymph node metastasis ($P = 0.038$),

DOI: 10.7507/1007-9424.201808028

基金项目: 甘肃省自然科学基金(项目编号: 1506RJZA309)

通信作者: 刘宏斌, Email: liuhongbin999@163.com

共同第一作者: 吉翔, Email: 522518596@qq.com

and TNM stage ($P=0.016$), which were not associated with the age, gender, tumor location, degree of differentiation, and vascular tumor thrombus ($P>0.050$). The predictive value of CTCs for the diagnosis of GC was significantly superior to that of the tumor markers CEA, AFP, CA19-9, or CA125. The progression-free survival of patients with low CTCs expression was significantly longer than that in the patients with high CTCs expression ($\chi^2=5.172$, $P=0.023$). **Conclusions**

Detecting CTCs of patients with GC by immunomagnetic particle negative enrichment combined with immunofluorescence *in situ* hybridization has a high sensitivity. And it can improve early diagnosis of patients with GC. Preoperative CTCs detection has a certain value in guiding staging of gastric cancer and predicting prognosis of patients with GC.

【Keywords】 gastric cancer; circulating tumor cells; clinicopathologic features; progression-free survival

恶性肿瘤的防治是世界范围内的一项重大公共卫生问题,其中胃癌是全球第五大常见的恶性肿瘤,也是全球第三大癌症死亡原因^[1];2015年中国胃癌新发病例约为67.9万例,死亡病例约为49.8万例^[2]。患者被诊断为胃癌时只有23%的胃癌患者是局限性的,34%的病例已经发生转移,32%的病例已发生淋巴结转移^[3]。胃癌发病早期一般多无症状,被确诊时患者多属晚期^[4]。早期胃癌患者的5年生存率可达90%以上,而晚期胃癌患者的5年生存率仅为25%~30%^[5-6]。尽管手术、化疗和其他治疗方法在胃癌患者的治疗中不断取得进展,但胃癌患者的预后仍较差,其主要原因是胃癌的复发和转移,故胃癌的早期诊断、早期治疗在提高胃癌患者预后方面起着关键作用。循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)是指因自发或诊疗操作过程中由原发灶或转移灶脱落进入外周血液循环系统或者淋巴系统的肿瘤细胞^[7-9]。肿瘤的侵袭、转移是在肿瘤微环境中由多种分子参与、通过多种信号通路、涉及肿瘤细胞从原发灶或转移灶脱落、上皮间质转化、细胞外基质降解、浸润穿透基底膜、远处转移等多步骤、多环节的复杂过程。CTCs的产生在肿瘤的侵袭、转移过程中扮演了重要的角色。CTCs的检测被美国FDA批准用于转移性乳腺癌、结直肠癌和前列腺癌的临床诊断和疗效评估^[10-12]。目前CTCs的检测用于胃癌的诊治方面应用较少,本研究旨在通过检测胃癌患者术前清晨空腹外周静脉血中的CTCs,探讨其与胃癌患者的临床病理特征及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 纳入和排除标准

1.1.1 纳入标准 胃癌组:①符合中华人民共和国卫生部颁布的《中华人民共和国卫生行业标准》(WS316-2010)中的“胃癌诊断标准”^[13]的胃癌患者;②术前未行新辅助化疗及其他任何抗肿瘤治

疗;③患者不伴有其他器官恶性肿瘤;④肿瘤在接受手术时无明确广泛转移且行胃癌D2根治手术;⑤术后按期进行标准的FOLFOX6方案化疗;⑥患者病历资料齐全。对照组:①同期经病理诊断确诊为胃部良性病变患者(包括溃疡、炎症、出血);②既往无恶性肿瘤病史;③一般资料如性别和年龄与胃癌组无明显差异的患者。

1.1.2 排除标准 ①术后失访的患者;②术后行放疗、免疫治疗、靶向治疗等可能对研究结果产生影响的情况。

1.2 研究对象

选取就诊于解放军兰州总医院2015年8月至2016年12月期间经组织病理学证实为胃癌且行胃癌D2根治术的患者100例(胃癌组),其中男67例,女33例;年龄(58±10)岁。选取同时期就诊于我院的胃良性病变患者38例作为对照(胃良性病变组),其中男21例,女17例;年龄(59±11)岁。2组患者在年龄和性别方面比较差异无统计学意义($P>0.050$)。所有患者的手术方式、术后病理组织学检查或TNM分期均按日本第15版《胃癌处理规约》规定施行。

1.3 主要试剂和仪器

试剂:ACD抗凝采血管购自美国BD公司;人外周血白细胞去除试剂盒及人外周血CTCs鉴别试剂盒均购自北京莱尔生物医药科技有限公司。仪器:低速大容量离心机购自山海安亭飞鸽公司;原位杂交仪购自赛默飞世尔科技中国有限公司;荧光显微镜购自奥林巴斯中国有限公司;载玻片购自丹麦丹科DAKO公司。

1.4 CTCs的检测方法

抽取患者清晨空腹肘正中静脉血7 mL,并用ACD抗凝剂抗凝,24 h内采用免疫磁微粒阴性富集法联合免疫荧光原位杂交技术检测CTCs。

1.4.1 CTCs的阴性富集 ①取4 mL全血标本加入离心管中,用CS1缓冲液补充到45 mL,在室温下

离心 5 min (650×g), 吸去上清液, 留 10 mL 于离心管, 轻摇离心管混匀沉淀细胞。② 加 CS2 至 45 mL, 将离心管置于室温 8 min, 于垂直混匀仪混匀后再离心 5 min (650×g), 弃去上清液至 500 μL; 轻摇离心管混匀沉淀细胞后补加 CS1 缓冲液至 5 mL。③ 适量的磁微粒 (150 μL/人份) 混悬液至 2 mL 离心管中, 加入 1 mL CS1 缓冲液轻柔吹打混匀, 于磁力架上静置 1 min, 弃去上清液。重复洗涤 3 次后, 用 CS1 重悬磁微粒至 150 μL。将洗涤好的磁微粒保存在试管架上备用。④ 将② 中处理好的样本缓慢加入磁微粒, 调节摇床摇速至 120 次/分, 室温下摇动 20 min。⑤ 先于 5 mL 新的离心管中加入 3 mL CS3 缓冲液, 将④ 中的所有液体轻轻叠加到 CS3 顶层, 离心 5 min (300×g)。⑥ 离心后可见三层溶液, 轻柔吸取最上面的两层溶液, 移至一个新的 15 mL 离心管中, 加入 CS1 缓冲液至 14 mL, 轻柔颠倒混匀 3 次后再离心 5 min (950×g), 弃上清液至 300 μL, 加入 1 mL CS1, 重悬沉淀细胞。⑦ 将标本转移至新的 2 mL 离心管中, 靠于磁力架上 2~3 min, 将液体分别转移至新 15 mL 离心管中, 离心 3 min (2 070×g), 弃去上清液至 100 μL, 加入 100 μL CF1 固定液, 充分轻柔吹打混匀 10 次以上, 涂片至标本框 (免疫组化笔画框) 中。

1.4.2 CTCs 的鉴定 免疫荧光原位杂交鉴定: ① 预固定: CF2 预固定 8 min; ② 老化: 37 °C 预热的 2×SSC 老化 10 min; ③ 脱水: 75%、85%、100% 的梯度乙醇脱水, 各 2 min; ④ 杂交: 10 U 探针 (CEP17/CEP8), 盖片, 75 °C 变性 5 min, 37 °C 杂交 1.5 h; ⑤ 洗片: 43 °C 预热的 50% FA 中甩掉盖玻片, 并温浴 15 min; ⑥ 洗涤: 室温 2×SSC 中 5 min, 2 次; ⑦ 抗体孵育: 滴加抗体 (CD45), 室温孵育 1 h; ⑧ 洗片: 0.2% 的 BSA 洗标本区 2 次; ⑨ 复染: 10 μL 0.1% 的 4'6-联脒-2-苯基吲哚二盐酸盐 (4'6-Diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride, DAPI), 盖片, 待荧光显微镜下读片。

1.4.3 CTCs 的阳性结果判定 ① DAPI (+) CD45 (-) CEP8 多倍体 CEP17 二倍体; ② DAPI (+) CD45 (-) CEP8 二倍体 CEP17 多倍体; ③ DAPI (+) CD45 (-) CEP8 多倍体 CEP17 多倍体。DAPI 标记细胞核呈蓝色, CD45 标记白细胞呈红色, CEP8 标记 8 号染色体着丝粒呈橙色和 CEP17 标记 17 号染色体着丝粒呈绿色, 正常细胞均为二倍体。

1.5 肿瘤标志物的检测

胃癌和胃良性病变患者入院后行常规肿瘤标

志物 CEA、CA19-9 及 CA125 的检测并收集数据, 检测结果以 CEA>6.0 μg/L、CA19-9>27 U/mL、CA125>35 U/mL 判定为高表达。

1.6 随访及预后监测

定期对 100 例胃癌术后患者进行严密随访, 对出院患者每 3 个月进行 1 次门诊或电话随访。术后无瘤生存期为行手术治疗后至疾病复发或末次随访时间 (2017 年 12 月 20 日)。时间以月为单位统计, 详细记录患者一般资料 (性别、年龄)、术后组织病理学资料 (肿瘤部位、浸润深度、分化程度、TNM 分期、淋巴结转移、脉管癌栓) 及随访资料 (无进展生存期)。患者复发的判断标准: 病理活检结果证实和 (或) 明确的影像学检查结果证实。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件对数据进行分析。采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法分析 CTCs 水平与胃癌患者临床病理特征与之间的关系。采用受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 分析 CTCs 的诊断特异度和敏感度。采用 Kaplan-Meier 法分析比较不同 CTCs 水平患者的无进展生存期, 采用 log-rank 法检验。检验水准 $\alpha=0.050$ 。

2 结果

2.1 CTCs 的阳性鉴定结果

CTCs 阳性鉴定结果为 DAPI (+) CD45 (-) CEP8 多倍体 CEP17 二倍体、DAPI (+) CD45 (-) CEP8 二倍体 CEP17 多倍体、DAPI (+) CD45 (-) CEP8 多倍体 CEP17 多倍体, 见图 1a~1c; 阴性结

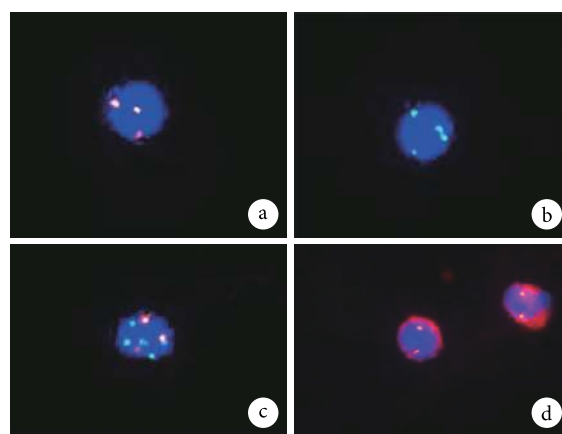


图 1 CTCs 的阳性鉴定结果 (荧光显微镜 ×400)

a: DAPI (+) CD45 (-) CEP8 (+) CEP17 (-); b: DAPI (+) CD45 (-) CEP8 (-) CEP17 (+); c: DAPI (+) CD45 (-) CEP8 (+) CEP17 (+); d: DAPI (+) CD45 (+) CEP8 (-) CEP17 (-)

果, 见图 1d)。胃癌组患者外周静脉血中共 94 例检出 CTCs; 胃良性病变组患者外周静脉血中共 11 例检出 CTCs。

2.2 2 组患者外周静脉血中 CTCs 和肿瘤标志物 CEA、CA19-9、CA125 诊断胃癌中的 ROC 曲线结果

选取最佳临界值 2 个 CTCs/4 mL 血为阳性, 此时 CTCs 诊断胃癌中的敏感度为 89.0%, 特异度为 89.5%, 此时的约登指数最大 (0.785)。因此, 设定 CTCs 截断值为 2 个 CTCs/4 mL 血, 将胃癌患者分为高表达组 (CTCs \geq 2 个 CTCs/4 mL 血) 和低表达组 (CTCs $<$ 2 个 CTCs/4 mL 血), 结果显示, 外周静脉血 CTCs 阳性率在胃癌组为 89.0% (89/100), 在胃良性病变组为 10.5% (4/38), 胃癌组外周血 CTCs 阳性率明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.001$)。血清标志物 CEA、CA19-9、CA125 在诊断胃癌时的敏感度和特异度分别为 23%、30%、10% 和 97.4%、92.1%、94.7%, 对相应的 AUC 值分别为 0.711、95%CI (0.621, 0.801), 0.666、95%CI (0.573, 0.759), 0.551、95%CI (0.445, 0.657), CTCs 的 AUC 值为 0.935、95%CI (0.894, 0.976), 其诊断胃癌的价值明显优于 CEA、CA19-9 和 CA125, 见图 2。

2.3 胃癌患者外周静脉血中 CTCs 水平与患者临床病理特征的关系

胃癌患者血周血中 CTCs 水平与肿瘤 TNM 分期、浸润深度及淋巴结转移情况有关 ($P<0.050$), 而与胃癌患者的性别、年龄、肿瘤部位、分化程度及脉管侵犯均无关 ($P>0.050$), 见表 1。

2.4 胃癌患者术前外周静脉血中 CTCs 水平与患者术后无进展生存期的关系

100 例胃癌患者中有 21 例术后复发, 复发率为 21.0%, 术后复发时间间隔在 8~22 个月。Kaplan-

Meier 生存分析显示, 胃癌患者外周静脉血中 CTCs 低表达者术后无进展生存期显著高于 CTCs 高表达者 ($\chi^2=5.172, P=0.023$), 结果提示, 术前外周静脉血中 CTCs 的表达水平与胃癌患者术后肿瘤复发密

表 1 胃癌患者外周静脉血中 CTCs 水平与患者临床病理特征的关系 (例)

临床病理参数	n	CTCs 水平		χ^2 值	P 值
		高表达	低表达		
性别					
男	63	58	9	1.227	0.330
女	33	31	2		
年龄					
≤ 60 岁	54	50	4	1.548	0.213
>60 岁	46	39	7		
肿瘤部位					
胃窦	43	39	4	0.222	0.753
其他	57	50	7		
浸润深度					
T1+T2	23	17	6	6.945	0.017
T3+T4	77	72	5		
分化程度					
未、低分化	72	66	6	1.868	0.283
中、高分化	28	23	5		
TNM 分期					
I~II 期	30	23	7	6.659	0.016
III~V 期	70	66	4		
淋巴结转移					
N0+N1	33	26	7	5.274	0.038
N2+N3	67	63	4		
脉管癌栓					
无	92	83	9	1.741	0.213
有	8	6	2		

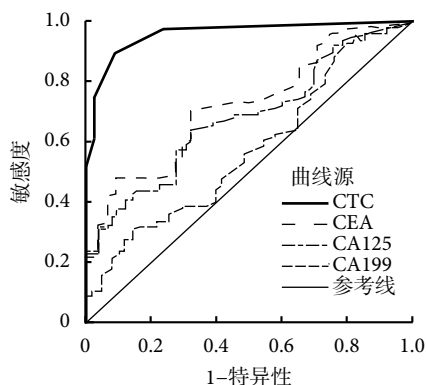


图 2 CTCs 及肿瘤标志物 CEA、CA19-9 和 CA-125 诊断胃癌的 ROC 曲线

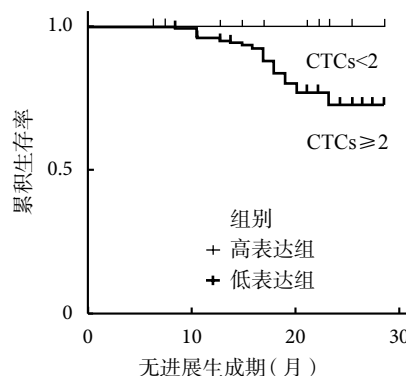


图 3 胃癌患者术前外周静脉血中 CTCs 水平与患者术后无进展生存期的关系

切相关, 见图 3。

3 讨论

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率均处于较高水平。Chen 等^[2]通过对中国国家中央癌症登记处提供的数据, 分析了来自 72 个人口癌症登记中心 (2009–2011 年) 的数据, 估计了到 2015 年我国胃癌新发病例将达到 429.2 万例, 死亡病例将达到 281.4 万例, 且农村地区居民的年龄标准化发病率和死亡率均显著高于城市居民。胃癌早期的症状多可表现为无明显临床症状, 因此, 当被确诊时通常处于胃癌的中晚期。诊断时最常见的症状是食欲不振、消化不良、体质量减轻和腹痛, 胃食管交界处或胃近端的肿瘤患者也可能出现吞咽困难。早期诊断手段主要依靠内镜、CT、PET-CT、上消化道造影等检查^[4]。相对来说, 早期胃癌患者经手术及辅助化疗后的预后较中晚期患者预后良好。据文献^[14]报道, 我国的早期胃癌诊断率不到 10%, 而且因国民健康理念及医疗卫生条件不同而各地区的差异较大。所以, 早期诊断、早期治疗在提高胃癌患者的预后方面至关重要。

CTCs 的发现及应用为肿瘤的诊断和预后判断提供了一种新的临床依据成为可能。CellSearch 检测系统检测 CTCs 在胃癌患者中的阳性率为 69%^[15]; 微流控技术检测胃癌患者 CTCs 阳性率为 75%^[16]; 本研究采用免疫磁微粒阴性富集并免疫荧光原位杂交鉴定 CTCs, 避免了肿瘤细胞因发生上皮间质转化导致上皮性的黏蛋白表达缺失而漏检的问题, 本研究中胃癌患者外周静脉血中 CTCs 的阳性率为 89.0%, 特异度为 89.5%, 说明免疫磁微粒阴性富集联合免疫荧光原位杂交技术检测 CTCs, 在胃癌的诊断中有较高的敏感性, 其相对胃癌血清肿瘤标志物 CEA、CA-199、CA-125, CTCs 对胃癌的诊断预测价值方面更优, 但其特异度较血清肿瘤标志物低, 因此, 临床中 CTCs 检测联合血清肿瘤标志物检测可能有助于提高胃癌诊断的敏感度。

有关 CTCs 与胃癌患者临床病理特征关系的研究结论存在争议。有研究^[17-18]认为, CTCs 阳性与肿瘤组织学分型和远处转移有关, 而与 TNM 分期、淋巴结转移等无关; 也有研究^[19-20]显示, CTCs 阳性与胃癌 TNM 分期、淋巴结转移、远处转移均无关。本研究中 CTCs 阳性与胃癌患者的肿瘤浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期有关。分析其原因可能是由于检测技术的差异导致敏感度不同, 产生信息偏倚。此外, 本研究纳入了 100 例胃癌患者作为研

究对象, 进行长达 30 个月的专人随访, 样本量大, 患者信息齐全, 随访数据可靠。

有学者^[15,21]认为, CTCs 是判断进展期胃癌无瘤生存期的独立预测指标; 本研究中胃癌患者 CTCs 低表达者的无进展生存期显著高于高表达者, 提示术前 CTCs 的检测可以预测胃癌患者术后肿瘤复发的风险及预后。

本研究的不足之处在于本研究是一项回顾性研究且样本量较少, 可能存在选择偏倚和混杂偏倚; 此外, 缺少术后及化疗前后患者血清 CTCs 的变化情况, 可能导致混杂偏倚。

综上, 胃癌患者术前利用免疫磁微粒阴性富集法联合免疫荧光原位杂交技术行 CTCs 检测的敏感度较高, 结合肿瘤血清学肿瘤标志物检测、提高诊断的特异度可能是患者肿瘤临床分期及术后肿瘤复发风险评估的一项预测指标, 对临床工作具有一定的指导意义。

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. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- 2 Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- 3 Sjoquist KM, Burmeister BH, Smithers BM, et al. Survival after neoadjuvant chemotherapy or chemoradiotherapy for resectable oesophageal carcinoma: an updated meta-analysis. *Lancet Oncol*, 2011, 12(7): 681-692.
- 4 Van Cutsem E, Sagaert X, Topal B, et al. Gastric cancer. *Lancet*, 2016, 388(10060): 2654-2664.
- 5 Allemani C, Weir HK, Carreira H, et al. Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). *Lancet*, 2015, 385(9972): 977-1010.
- 6 Ren G, Cai R, Zhang WJ, et al. Prediction of risk factors for lymph node metastasis in early gastric cancer. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(20): 3096-3107.
- 7 Saad F, Pantel K. The current role of circulating tumor cells in the diagnosis and management of bone metastases in advanced prostate cancer. *Future Oncol*, 2012, 8(3): 321-331.
- 8 Massagué J, Obenauf AC. Metastatic colonization by circulating tumour cells. *Nature*, 2016, 529(7586): 298-306.
- 9 Pantel K, Speicher MR. The biology of circulating tumor cells. *Oncogene*, 2016, 35(10): 1216-1224.
- 10 Paterlini-Brechot P, Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Lett*, 2007, 253(2): 180-204.
- 11 Alunni-Fabbroni M, Sandri MT. Circulating tumour cells in clinical practice: Methods of detection and possible characterization. *Methods*, 2010, 50(4): 289-297.
- 12 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. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(20): 6897-6904.
- 13 中华人民共和国卫生部. 胃癌诊断标准 (WS316-2010). 北京: 中国标准出版社, 2010.
- 14 廖专, 孙涛, 吴浩, 等. 中国早期胃癌筛查及内镜诊治共识意见 (2014年4月·长沙). *胃肠病学*, 2014, 34(7): 408-427.
- 15 Yang C, Zou K, Yuan Z, *et al.* Prognostic value of circulating tumor cells detected with the CellSearch system in patients with gastric cancer: evidence from a meta-analysis. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 1013-1023.
- 16 Yang C, Zhang N, Wang S, *et al.* Wedge-shaped microfluidic chip for circulating tumor cells isolation and its clinical significance in gastric cancer. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 139.
- 17 Okabe H, Tsunoda S, Hosogi H, *et al.* Circulating tumor cells as an independent predictor of survival in advanced gastric cancer. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(12): 3954-3961.
- 18 Zheng L, Zou K, Yang C, *et al.* Inflammation-based indexes and clinicopathologic features are strong predictive values of preoperative circulating tumor cell detection in gastric cancer patients. *Clin Transl Oncol*, 2017, 19(9): 1125-1132.
- 19 韩鸿彬, 李朝辉, 刘帅锋, 等. 胃癌患者外周血循环肿瘤细胞检测及其临床意义. *中国普外基础与临床杂志*, 2015, 22(7): 840-843.
- 20 曹中正, 丁连安, 牛冬光, 等. 胃癌外周血循环肿瘤细胞水平及其临床意义. *临床肿瘤学杂志*, 2014, 19(6): 539-542.
- 21 Kubisch I, de Albuquerque A, Schuppan D, *et al.* Prognostic role of a multimarker analysis of circulating tumor cells in advanced gastric and gastroesophageal adenocarcinomas. *Oncology*, 2015, 89(5): 294-303.

收稿日期: 2018-08-10 修回日期: 2018-11-14

本文编辑: 蒲素清