

· 临床论著 ·

# 老年食管胃交界腺癌患者循环肿瘤细胞检测的临床意义

马国军<sup>1</sup>, 杨大伟<sup>2</sup>, 李阳<sup>2</sup>, 付建华<sup>1</sup>

1. 聊城市人民医院胸外科, 山东 聊城 252000; 2. 聊城市人民医院中原生物医学研究院, 山东 聊城 252000

**摘要:目的** 通过检测老年食管胃交界腺癌(AEG)患者外周血中的循环肿瘤细胞(CTCs),探讨CTCs与老年AEG患者临床特征及预后的关系。**方法** 回顾性分析聊城市人民医院2016年8月至2020年5月95例老年AEG患者的临床资料,治疗前的1周均采用阴性富集-免疫荧光原位杂交技术(NE-FISH)检测CTCs,分析CTCs计数阳性与患者临床特征的关系,通过随访获取老年AEG患者无进展生存期(PFS)及总生存期(OS),采用Kaplan-Meier法进行生存分析,Cox回归分析CTCs计数与老年AEG患者预后指标(PFS、OS)的关系。**结果** 95例老年AEG患者CTCs阳性(CTCs $\geq$ 2)率为72.6%(69/95)。老年AEG患者CTCs阳性与患者脉管内瘤栓、TNM病理分期、T分期、淋巴结转移、是否手术均密切相关( $P<0.05$ )。Kaplan-Meier生存分析示,与CTCs $<2$ 组比较,CTCs $\geq$ 2组老年AEG患者中位PFS(12个月 vs 50个月)及中位OS更短(20个月 vs 50个月),差异有统计学意义( $P<0.01$ )。**结论** 运用NE-FISH技术对老年AEG患者行外周血CTCs检测是可行的,CTCs阳性与老年AEG患者肿瘤转移、病情进展密切相关,CTCs $\geq$ 2可能是老年AEG患者预后不良的预测指标。

**关键词:** 食管胃交界腺癌; 循环肿瘤细胞; 无进展生存期; 阴性富集-免疫荧光原位杂交技术; 总生存期  
中图分类号: R735 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2024)06-0917-04

## Clinical significance of circulating tumor cell detection in elderly patients with esophagogastric gastric junction adenocarcinoma

MA Guojun\*, YANG Dawei, LI Yang, FU Jianhua

\* Department of Thoracic Surgery, Liaocheng People's Hospital, Liaocheng, Shandong 252000, China

Corresponding author: FU Jianhua, E-mail: jianhuafu1120@163.com

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between circulating tumor cells (CTCs) and clinical characteristics and prognosis of elderly patients with esophagogastric junction adenocarcinoma (AEG) by detecting CTCs in their peripheral blood. **Methods** A retrospective analysis was conducted on 95 elderly AEG patients at Liaocheng People's Hospital from August 2016 to May 2020. Negative enrichment-immuno fluorescence in situ hybridization (NE-FISH) was used to detect CTCs one week before treatment. The relationship between positive CTCs count and clinical characteristics of patients was analyzed. Progression free survival (PFS) and overall survival (OS) of elderly AEG patients were obtained through follow-up, and survival analysis was performed using Kaplan-Meier method. Cox regression analysis was used to analyze the relationship between CTCs count and prognostic indicators (PFS, OS) in elderly AEG patients. **Results** The positive rate of CTCs ( $\geq 2$ ) in 95 elderly AEG patients was 72.6% (69/95). The positivity of CTCs in elderly AEG patients was closely related to TNM pathological staging, T staging, lymph node metastasis, and surgery ( $P<0.05$ ). Kaplan Meier survival analysis showed that, compared with the CTCs $<2$  group, the median PFS (12 months vs 50 months) and median OS (20 months vs 50 months) of elderly AEG patients in the CTCs $\geq 2$  group were shorter and the differences were statistically significant ( $P<0.01$ ). **Conclusion** The use of NE-FISH technology for peripheral blood CTCs detection in elderly AEG patients is feasible. Positive CTCs are closely

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2024.06.020

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2021MH215)

通信作者: 付建华, E-mail: jianhuafu1120@163.com

出版日期: 2024-06-20

related to tumor metastasis and disease progression in elderly AEG patients, and CTCs  $\geq 2$  may be an indicator of poor prognosis in elderly AEG patients.

**Keywords:** Esophagogastric junction adenocarcinoma; Circulating tumor cells; Progressive free survival; Negative enrichment-immunofluorescence in situ hybridization; Overall survival

**Fund program:** Shandong Natural Science Foundation (ZR2021MH215)

近年来,食管胃交界腺癌(adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG)发病率呈逐年上升的趋势<sup>[1]</sup>。关于其定义一直存在争议,2018年国内专家学者定义AEG为肿瘤中心位于食管—胃解剖交界处上下5 cm区域内的腺癌。目前文献关于AEG相关的肿瘤标记物报道较少,主要为胃肠道肿瘤标记物,但胃肠道肿瘤标记物在AEG患者中的阳性率较低,不能满足中、早期AEG患者早期筛查的需要,研究寻找更加敏感的标记物是急需解决的问题。目前关于外周血循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)检测在AEG患者中的应用研究较少,本研究目的是探讨外周血中CTCs检测在老年AEG患者中的临床意义。

## 1 对象与方法

**1.1 对象** 回顾性收集聊城市人民医院胸外科2016年8月至2020年5月95例老年AEG患者的临床资料。其中男性79例(83.2%),女性16例(16.8%);年龄65~85(71.5 $\pm$ 4.8)岁。入组标准:(1)年龄 $\geq 65$ 岁;(2)经胃镜或手术确诊为AEG,AEG的定义为肿瘤中心位于食管—胃解剖交界处上下5 cm区域内的腺癌;(3)患者首次确诊为AEG,未行手术、放化疗等综合治疗。排除标准:(1)合并严重肝肾功能不全、心肺功能不全,不能耐受手术及放化疗等综合治疗;(2)近5年来合并肿瘤病史或肿瘤治疗史;(3)非AEG疾病所致的意外死亡。本研究为回顾性研究,获得聊城市人民医院伦理委员会的批准(序号:2017052)。

### 1.2 方法

**1.2.1 CTCs检测方法** 所有入组患者首次治疗前1周行CTCs检测。抽取患者外周血样本3.2 mL,在室温下进行CTCs检测。CTCs检测采用阴性富集-免疫荧光原位杂交检测技术(negative enrichment-immunofluorescence in situ hybridization, NE-FISH),即采用免疫磁微粒富集法中的阴性富集方法获取CTCs,并采用FISH识别CTCs,具体实验步骤可参照本课题组已发表的文章<sup>[2]</sup>,AEG患者CTCs检测和胃癌CTCs检测的方法与试剂相同。根据前期建立的CTCs检测方法<sup>[2]</sup>,本研究中将CTCs $\geq 2$ 视为阳性,CTCs $< 2$ 视为

阴性。

**1.2.2 胃肠道肿瘤标记物检测方法** 胃肠道肿瘤标记物[癌胚抗原(CEA)、糖类抗原(CA)19-9、CA72-4]使用罗氏Cobas e602全自动电化学发光分析仪检测。CEA、CA19-9和CA72-4的参考值上限分别为5 ng/mL、39 u/mL、6.9 u/mL。

**1.2.3 治疗方法** 95例患者中,78例患者接受手术,17例患者接受非手术(放疗、化疗或靶向治疗)综合治疗。无进展生存期(PFS)定义为首次治疗至肿瘤进展、患者失访或患者死亡的时间;总生存期(OS)定义为首次治疗至患者死亡、失访或未次随访的时间。

**1.2.4 随访** 通过门诊定期复查、信访和电话联系进行随访。随访截止于2022年10月31日,中位随访时间为30.8个月。随访过程中有3例患者失访。

**1.3 统计学方法** 采用SPSS 27.0软件分析数据。计量资料使用 $\bar{x}\pm s$ 描述,组间比较采用独立样本 $t$ 检验;计数资料以例数表示,组间比较行 $\chi^2$ 检验;采用Kaplan-Meier法进行生存分析及制作生存曲线,用Cox回归模型进行多因素回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 CTCs检测结果** 95例患者中69例(72.6%)CTCs阳性(CTCs $\geq 2$ ),26例CTCs阴性(CTCs $< 2$ )。

**2.2 CTCs计数阳性与老年AEG患者临床特征的关系(表1)** 老年AEG患者CTCs计数阳性( $\geq 2$ )与患者脉管内瘤栓、TNM病理分期、T分期、N分期(淋巴结转移)有关( $P < 0.01$ ),与患者胃肠道肿瘤标记物CEA、CA19-9和CA72-4均无显著关联( $P > 0.05$ )。

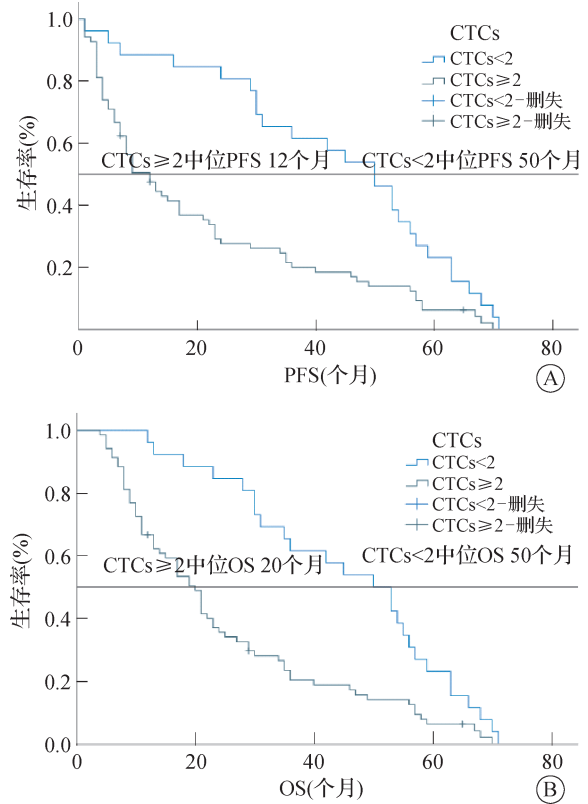
**2.3 不同CTCs计数的老年AEG患者生存曲线** 采用Kaplan-Meier法进行生存分析,与CTCs $< 2$ 组比较,CTCs $\geq 2$ 组老年AEG患者中位PFS更短(12个月 vs 50个月),中位OS更短(20个月 vs 50个月),差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见图1。

**2.4 老年AEG患者PFS、OS相关的多因素Cox回归分析** 多因素Cox回归分析显示,TNM分期(III+IV)、T分期(T3+T4)、淋巴结转移、未行手术治疗是影响老年AEG患者PFS、OS的独立危险因素( $P < 0.05$ )。见表2。

表1 老年 AEG 患者 CTCs 阳性与临床特征的关系

Tab. 1 Relationship between CTCs positivity and clinical characteristics in elderly AEG patients

项目	CTCs 计数(例)		阳性率(%)	$\chi^2$ 值	P 值
	<2	≥2			
性别					
男	23	56	70.9	0.292	0.589
女	3	13	81.3		
肿瘤分化程度				1.748	0.186
高分化	5	5	50.0		
中低分化	21	64	75.3		
脉管内瘤栓				35.111	<0.001
无	22	13	37.1		
有	4	56	93.3		
T 分期				8.194	0.004
T1+T2	13	14	51.9		
T3+T4	13	55	80.9		
淋巴结转移				8.485	0.004
无	11	10	47.6		
有	15	59	79.8		
TNM 分期				12.744	<0.001
I + II	18	20	52.6		
III + IV	8	49	86.0		
CEA				1.803	0.179
<5 ng/mL	20	43	68.3		
≥5 ng/mL	6	26	81.3		
CA19-9				1.088	0.297
<39 u/mL	24	58	70.7		
≥39 u/mL	2	11	84.6		
CA72-4				2.154	0.142
<6.9 u/mL	21	45	68.2		
≥6.9 u/mL	5	24	82.8		



注:A 为 PFS;B 为 OS。

图1 不同 CTCs 组的老年 AEG 患者生存曲线  
Fig. 1 Survival curves of elderly AEG patients in different CTCs groups

表2 老年 AEG 患者 PFS、OS 的 Cox 回归分析

Tab. 2 Cox regression analysis of PFS and OS in elderly AEG patients

影响因素	PFS				OS			
	单因素分析		多因素分析		单因素分析		多因素分析	
	HR(95%CI)	P 值	HR(95%CI)	P 值	HR(95%CI)	P 值	HR(95%CI)	P 值
性别(男 vs 女)	0.934(0.622~1.401)	0.741	1.142(0.718~1.814)	0.575	0.984(0.656~1.476)	0.937	1.370(0.871~2.155)	0.172
分化程度(中、低 vs 高)	1.444(0.830~2.511)	0.194	0.903(0.442~1.843)	0.778	1.666(0.959~2.894)	0.070	1.175(0.577~2.393)	0.657
TNM 分期(III+IV vs I+II)	2.886(2.001~4.160)	<0.001	3.154(1.324~7.514)	0.009	3.014(2.096~4.336)	<0.001	3.137(1.287~7.645)	0.012
脉管内瘤栓(有 vs 无)	2.649(1.806~3.885)	<0.001	0.906(0.527~1.559)	0.722	2.849(1.944~4.175)	<0.001	0.890(0.511~1.551)	0.682
CEA(≥5 ng/mL vs <5 ng/mL)	1.813(1.284~2.560)	0.001	1.072(0.701~1.640)	0.747	1.908(1.353~2.691)	<0.001	1.078(0.705~1.649)	0.728
CA19-9(≥39 u/mL vs <39 u/mL)	2.658(1.683~4.198)	<0.001	1.338(0.794~2.254)	0.274	2.993(1.893~4.731)	<0.001	1.643(0.989~2.728)	0.055
CA72-4(≥6.9 u/mL vs <6.9 u/mL)	1.902(1.352~2.676)	<0.001	1.259(0.835~1.899)	0.272	2.127(1.512~2.992)	<0.001	1.370(0.906~2.070)	0.135
T 分期(T3+T4 vs T1+T2)	1.380(0.960~1.985)	0.082	0.319(0.151~0.675)	0.003	1.441(1.002~2.072)	0.049	0.313(0.146~0.671)	0.003
淋巴结转移(有 vs 无)	1.883(1.578~2.249)	<0.001	1.406(1.044~1.893)	0.025	1.969(1.649~2.351)	<0.001	1.440(1.060~1.956)	0.020
CTCs(≥2 vs <2)	2.088(1.353~3.222)	0.001	1.581(0.885~2.827)	0.122	2.103(1.363~3.242)	0.001	1.545(0.870~2.742)	0.137
手术(否 vs 是)	3.732(2.422~5.750)	<0.001	2.499(1.558~4.010)	<0.001	3.400(2.232~5.179)	<0.001	2.978(1.862~4.764)	<0.001

### 3 讨论

AEG 的发病率在世界范围内迅速上升,尤其是老年 AEG 的发病率逐年增高<sup>[3]</sup>。目前,针对晚期胃癌检测的分子标记物如 CEA、CA19-9、CA72-4、CA125 的研究已经取得了一些进展,被临床用于诊断、预后和监测恶性肿瘤指标<sup>[4-5]</sup>。

CTCs 检测技术是一种新型的“液体活检”技术,

与传统的肿瘤组织活检技术相比,液体活检具有取样速度快、成本低、侵袭性小、能够跟踪肿瘤进展等优点。NE-FISH 技术,即采用免疫磁微粒富集法中的 NE 方法获取 CTCs,并采用 FISH 识别 CTCs,该检测技术是目前具有高效、广泛适用性的富集技术,较之其他 NE 法具有更高的纯度和分离效率,因此本研究采用该检测方法。Li 等<sup>[2]</sup>研究发现用 NE 方法检测,采用 2 作为 CTCs 阳性的临界值时,胃癌和食管

癌患者的检测阳性率分别为 86.21% 和 78.35%。本研究 95 例 AEG 患者 CTCs 的阳性率为 72.6%，与传统胃肠道肿瘤标记物相比，CTCs 有更高的阳性率，能更好的用于辅助诊断老年 AEG。

本研究结果表明 CTCs 阳性与患者 TNM 分期、淋巴结转移以及脉管内瘤栓密切相关，这与之前的研究一致<sup>[6-8]</sup>。本研究中 CTCs 阳性与肿瘤标记物 CEA、CA19-9 和 CA72-4 均无明显相关，这与田晓坤等<sup>[7]</sup>的研究结果不同，考虑与研究对象的肿瘤分期不同有关，与本研究患者的 CEA、CA19-9 和 CA72-4 阳性率明显低于 CTCs 阳性率有关。

本研究对老年 AEG 患者预后指标 (PFS、OS) 的分析结果显示，TNM 分期、淋巴结转移是影响预后的独立危险因素，这与之前的研究相符合<sup>[9-10]</sup>。本研究结果提示 T 分期 (T3 和 T4 期) 是老年 AEG 患者预后不良的独立危险因素，这和 Takeda 等<sup>[11]</sup>报道相符。本研究 CTCs  $\geq 2$  老年 AEG 患者的 PFS 及 OS 均较短，既可以提示患者疾病进展，又可以对患者的 OS 进行预测。分析原因，考虑 CTCs 与老年 AEG 患者肿瘤进展密切相关，可作为一种预后不良的指标。这与之前的研究也是相符合的<sup>[12-14]</sup>。Li 等<sup>[15]</sup>对食管癌患者 CTCs 检测采用 NE 技术，研究结果显示 CTCs  $\geq 2$  食管癌患者的 OS 明显短于 CTCs  $< 2$  患者。本研究中，CTCs  $\geq 2$  老年 AEG 癌患者的 OS 也明显短于 CTCs  $< 2$  患者，再次证实了前期研究的结果，CTCs  $\geq 2$  可能是老年 AEG 患者预后不良的一项指标。本研究中不能手术的患者预后差，考虑是因为不能手术的患者多为晚期老年 AEG 患者，TNM 分期晚，预后差。这与 TNM 分期晚是影响老年 AEG 患者预后的危险因素也是相符合的。总之，本研究从预后指标 PFS 和 OS 两方面对预后危险因素进行了分析，入组例数较以往研究增多。不足之处是本研究属回顾性研究，需要具有更多病例数的前瞻性研究进一步验证。

综上所述，运用 NE-FISH 技术对老年 AEG 患者行外周血 CTCs 检测是可行的，CTCs 阳性与老年 AEG 患者肿瘤转移、病情进展密切相关，CTCs  $\geq 2$  可能是老年 AEG 患者预后不良的预测指标。

利益冲突 无

#### 参考文献

[1] Victor CR, Fujiki FK, Takeda FR, et al. Safety and effectiveness of chemotherapy for metastatic esophageal cancer in a community hospital in Brazil[J]. J Glob Oncol, 2019, 5: 1-10.  
[2] Li Y, Ma GJ, Zhao PG, et al. Improvement of sensitive and specific detection of circulating tumor cells using negative enrichment and

immunostaining-FISH[J]. Clin Chim Acta, 2018, 485: 95-102.  
[3] Nakajima K, Tokunaga M, Okuno K, et al. Prognostic value of intraoperative blood transfusion in patients with adenocarcinoma of the esophagogastric junction[J]. Medicina, 2022, 58(4): 474.  
[4] Feng F, Tian YZ, Xu GH, et al. Diagnostic and prognostic value of CEA, CA19-9, AFP and CA125 for early gastric cancer[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 737.  
[5] Xu YT, Zhang PS, Zhang KD, et al. The application of CA72-4 in the diagnosis, prognosis, and treatment of gastric cancer [J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2021, 1876(2): 188634.  
[6] 王涛, 张伟, 朱元增, 等. 程序性死亡配体-1 表达与微卫星不稳定性胃癌患者预后的关系[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2022, 36(8): 779-782.  
Wang T, Zhang W, Zhu YZ, et al. Relationship between programmed death ligand-1 expression and prognosis of gastric cancer patients with microsatellite instability[J]. J Chin Pract Diagn Ther, 2022, 36(8): 779-782.  
[7] 田晓坤, 李玉明, 胡宝光, 等. 胃癌患者外周血 Cytel 循环肿瘤细胞检测及临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(2): 208-210.  
Tian XK, Li YM, Hu BG, et al. Detection and clinical significance of Cytel circulating tumor cells in peripheral blood of patients with gastric cancer[J]. Chin J Exp Surg, 2017, 34(2): 208-210.  
[8] Cheng BR, Tong GL, Wu X, et al. Enumeration and characterization of circulating tumor cells and its application in advanced gastric cancer [J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 7887-7896.  
[9] Ou Yang LY, Deng ZJ, You YF, et al. SIRGs score may be a predictor of prognosis and immunotherapy response for esophagogastric junction adenocarcinoma[J]. Front Immunol, 2022, 13: 977894.  
[10] Liu GJ, Hu XJ, Huo BJ, et al. Cystathionine  $\beta$ -synthase expression correlates with tumor development and poor prognosis in patients with adenocarcinoma of the gastroesophageal junction [J]. Am J Transl Res, 2022, 14(4): 2739-2748.  
[11] Takeda FR, Ramos MFKP, Pereira MA, et al. Tumor size predicts worse prognosis in esophagogastric junction adenocarcinoma[J]. Updates Surg, 2022, 74(6): 1871-1879.  
[12] Abdallah EA, Braun AC, Flores BCTCP, et al. The potential clinical implications of circulating tumor cells and circulating tumor microemboli in gastric cancer [J]. Oncologist, 2019, 24(9): e854-e863.  
[13] Qian CC, Cai RJ, Zhang WY, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio and circulating tumor cells counts predict prognosis in gastrointestinal cancer patients [J]. Front Oncol, 2021, 11: 710704.  
[14] Jhi JH, Kim GH, Park SJ, et al. Circulating tumor cells and TWIST expression in patients with metastatic gastric cancer: a preliminary study[J]. J Clin Med, 2021, 10(19): 4481.  
[15] Li Y, Wang ZX, Fu R, et al. Clinical utility of circulating tumor cells in patients with esophageal cancer [J]. Front Oncol, 2022, 12: 828368.

收稿日期: 2023-08-29 修回日期: 2023-09-30 编辑: 李方