

胸部肿瘤专题

· 临床研究 ·

284 例非小细胞肺癌患者循环肿瘤细胞与临床特征及凝血功能的相关性*

朱丽华[#], 周蕾[#], 罗斌, 欧阳怡然, 范瑞, 陆恩昊, 李和根[△], 田建辉[△]

200032 上海, 上海中医药大学附属龙华医院 肿瘤科(朱丽华、周蕾、罗斌、欧阳怡然、范瑞、陆恩昊、李和根、田建辉); 200032 上海, 上海市中医药研究院 中医肿瘤研究所(田建辉)

[摘要] 目的: 探讨非小细胞肺癌患者外周血循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)与临床特征及凝血功能的相关性。方法: 应用观察性研究的方法, 收集多中心 284 例确诊为原发性非小细胞肺癌患者的外周血 CTC, 研究 CTC 与性别、年龄、TNM 分期、病理类型等临床特征的相关性; 同时对患者血小板、凝血功能进行检测, 研究 CTC 表达与凝血功能的相关性。结果: CTC 阳性率在性别、年龄间差异无统计学意义; 不同的 TNM 分期患者的 CTC 阳性率差异显著($P < 0.05$), CTC 阳性率与 TNM 分期呈正相关($r = 0.137, P < 0.05$)。CTC 阳性肺癌患者的凝血酶原时间(prothrombin time, PT)水平降低($P < 0.05$), CTC 阳性率与 PT 呈负相关($r = -0.128, P < 0.05$); 有远处转移的患者纤维蛋白降解产物(fibrin degradation products, FDP)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)、PT 水平均显著高于无远处转移的患者($P < 0.05$), 凝血酶时间(thrombin time, TT)水平显著低于无远处转移患者, 相关性检验显示 FDP、FIB、PT 与转移呈正相关($P < 0.05$), TT 与转移呈负相关($r = -0.281, P < 0.05$)。结论: CTC 与非小细胞肺癌 TNM 分期相关, CTC 阳性患者存在凝血功能异常, 凝血功能异常可能促进非小细胞肺癌循环肿瘤细胞的远处转移。

[关键词] 肺癌; 循环肿瘤细胞; 转移; 凝血功能障碍

[中图分类号] R734.2; Q74 **[文献标志码]** A doi: 10.3969/j.issn.1674-0904.2020.09.004

引文格式: Zhu LH, Zhou L, Luo B, et al. Correlation of circulating tumor cells with clinical characteristics and clotting function in 284 patients with non-small cell lung cancer[J]. J Cancer Control Treat, 2020, 33(9): 746-752. [朱丽华, 周蕾, 罗斌, 等. 284 例非小细胞肺癌患者循环肿瘤细胞与临床特征及凝血功能的相关性[J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(9): 746-752.]

Correlation of Circulating Tumor Cells with Clinical Characteristics and Clotting Function in 284 Patients with Non-Small Cell Lung Cancer

Zhu Lihua[#], Zhou Lei[#], Luo Bin, Ouyang Yiran, Fan Rui, Lu Enhao, Li Hegen, Tian Jianhui[#]Contributed equally

Department of Oncology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China (Zhu Lihua, Zhou Lei, Luo Bin, Ouyang Yiran, Fan Rui, Lu Enhao, Li Hegen, Tian Jianhui); Cancer Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Academy of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China (Tian Jianhui)

Corresponding author: Li Hegen, E-mail: shlaogen@163.com; Tian Jianhui, E-mail: tjhhawk@163.com

This study was supported by National Thirteenth Five-Year Science and Technology Major Special Project for New Drug Innovation and Development (NO. 2017ZX09304001), the General Program of National Natural Science Foundation of China (NO. 81774166), and by grants from Shanghai Municipal

[收稿日期] 2020-04-21 [修回日期] 2020-08-10

[#]共同第一作者

[基金项目] * 十三五“重大新药创制”科技重大专项(编号:2017ZX09304001); 国家自然科学基金面上项目(编号:81774166); 上海市进一步加快中医药事业发展三年行动计划[编号:ZY(2018-2020)-CCCX-1016]; 浦东新区卫生健康委员会卫生行业科研专项(编号:PW2019E-1); 上海中医药大学预算项目(编号:2019LK005)

[通讯作者] [△] 李和根, E-mail: shlaogen@163.com; 田建辉, E-mail: tjhhawk@163.com

Health Commission & Shanghai Municipal Administrator of Traditional Chinese Medicine [NO. ZY(2018-2020)-CCCX-1016], Health Commission of Pudong New District of Shanghai, China (NO. PW2019E-1) and Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (NO. 2019LK005).

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the correlation of peripheral blood circulating tumor cells (CTC) with clinical features and coagulation function in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** Correlation between CTC and clinical features such as gender, age, TNM stage and pathological type was studied by collecting peripheral blood CTC of 284 patients with primary NSCLC; and correlation between CTC and the coagulation function was studied by detecting platelets and coagulation function of the patients. **Results:** There was no significant difference in gender and age differences in the positive expression of CTC. The positive expressions of CTC were significantly different in patients with different TNM stages ($P < 0.05$). Prothrombin time (PT) of CTC-positive patients was lower than that of CTC-negative patients ($P < 0.05$). The positive expression rate of CTC was positively correlated to the TNM stage of patients ($r = 0.137, P < 0.05$), and was negatively correlated to PT ($r = -0.128, P < 0.05$). The levels of fibrin degradation products (FDP), PT and fibrinogen (FIB) of patients with distant metastasis were significantly higher than those of patients without distant metastasis ($P < 0.05$); and thrombin time (TT) of patients with distant metastasis were significantly lower than those of patients without distant metastasis ($P < 0.05$). Distant metastasis was positively correlated to FDP, FIB and PT ($P < 0.05$), and was negatively correlated to TT ($r = -0.281, P < 0.05$). **Conclusion:** CTC are significantly correlated to TNM stage of NSCLC; coagulation dysfunction was observed in CTC-positive patients; and it may increase the risk of distant metastasis of CTC in NSCLC.

[**Key words**] Lung cancer; Circulating tumor cell; Metastasis; Coagulation disorders

肺癌是世界范围内癌症死亡率最高的恶性肿瘤,2018 年全球有 176 万人死于肺癌,占癌症总死亡率的 18.4%^[1]。肺癌中 80% 左右的患者为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)^[2]。I ~ IIIa 期 NSCLC 患者首选手术治疗,但总体 5 年生存率仍仅为 23%^[3]。手术后复发转移是影响预后的关键。循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)被认为是“转移的种子”,原发肿瘤形成的 CTC 通过血液循环进一步播散至远处器官,最终定植并增殖^[4]。恶性肿瘤患者通常都存在凝血功能异常^[5-6],高凝状态与肿瘤的形成、转移等存在密切关系^[7]。临床研究发现血液高凝状态可能促进了胃癌 CTC 的远处转移^[8],在肝癌、肺癌中也有凝血功能障碍促进 CTC 远处转移的报道^[9-10]。因此本研究将通过来自于临床的 NSCLC 患者病例资料,分析 CTC 表达与 NSCLC 临床特征及其与血小板(platelet, PLT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶时间(thrombin time, TT)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)、纤维蛋白降解产物(fibrin degradation products, FDP)、D-二聚体(D-dimer, D-D)等凝血功能的关系,探索 CTC 与 NSCLC 凝血功能状态、转移的相关性。

1 对象与方法

1.1 诊断标准

本研究依据国家卫生部发布的《中国原发性肺癌诊疗规范(2015)》中原发性支气管肺癌的诊断标准^[11]。肺癌分期标准采用国际肺癌研究学会(International Association for the Study of Lung Cancer, IASLC)2009 年修订的第 7 版 TNM 分期^[12]。

1.2 病例来源

研究对象来源于上海中医药大学附属龙华医院(189 例)、上海市胸科医院(44 例)、上海市第六人民医院(11 例)、上海市华东医院(14 例)、上海中医药大学附属中西医结合医院(26 例)住院或门诊患者。上海中医药大学附属龙华医院伦理委员会已批准此项研究(批件号:SHDC1201611)。

1.3 一般资料

课题组纳入了 2016 年 3 月至 2019 年 3 月收治的 NSCLC 患者 284 例,其中男性 163 例(57.4%),女性 121 例(42.6%);中位年龄 63 岁(范围:28 ~ 83 岁);病理类型中,腺癌 219 例(77.1%)、鳞状细胞癌 46 例(16.2%)、腺鳞癌 5 例(1.8%)、大细胞癌 8 例(2.8%)、其他类型 6 例(非小细胞 2 例、低分化神经内分泌癌 2 例、淋巴上皮瘤样癌 1 例、肉瘤样癌 1 例);依据 IASLC 第七版 TNM 分期为 I b 期 73 例(25.7%)、II a 期 33 例(11.6%)、II b 期 47 例(16.5%)、III a 期 49 例(17.3%)、III b 期 14 例(4.9%)、IV 期 68 例(23.9%)(表 1)。

表 1 非小细胞肺癌患者临床特征分布

Table 1. Clinical Characteristics of Patients with NSCLC

Variable	Frequency	Percentage
Gender	Male	163 57.4%
	Female	121 42.6%
Histology	Adeno-	219 77.1%
	Squamous	46 16.2%
	Adenosquamous	5 1.8%
	Large cell	8 2.8%
	Other non-small cell	6 2.1%
Stage	Stage Ib	73 25.7%
	Stage IIa	33 11.6%
	Stage IIb	47 16.5%
	Stage IIIa	49 17.3%
	Stage IIIb	14 4.9%
	Stage IV	68 23.9%

1.4 观察指标及方法

1.4.1 CTC 检测方法 所有标本均由本院肿瘤研究所专业人员完成,双人核对。1)采集的血液在 24 h 内完成 CD45 磁珠富集去除白细胞。具体操作方法参照有关文献^[13-14]。经免疫磁珠阴性法富集后,开始染色体原位杂交,利用 8 号染色体着丝粒探针标记细胞^[15],免疫荧光染色后再进行复染;2)CTC 计数:CTC 阳性标准,通过杂交信号判断是否存在超二倍体细胞,8 号染色体拷贝数为 2 个(绿色荧光标记探针),判定为正常细胞(二倍体细胞);拷贝数为 >2 个,判定为肿瘤细胞(超二倍体细胞)。CTC 计

数 ≥ 2 个,定义为 CTC 阳性^[16]。

1.4.2 血小板及凝血功能检查方法 由医院检验科生化实验室专业人员检测,抽取研究病例晨空腹肘静脉血 4 mL,PLT、PT、APTT、TT、FIB、FDP、D-D 通过自动血细胞分析仪及配套设备。

1.5 统计方法

本研究应用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析。1)计量资料:用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)进行统计描述,符合正态分布的计量资料,两组间相互比较时采用独立样本 t 检验;不符合正态分布的计量资料两组间相互比较时采用独立样本秩和检验;2)计数资料:总样本量 $n \geq 40$ 且 $T \geq 5$ 时,用 Pearson 检验; $n \geq 40$ 且 $1 \leq T < 5$ 时,用连续校正的 χ^2 检验; $T < 1$ 或 $n < 40$ 时,用 Fisher 确切检验;3)等级资料:采用 Wilcoxon 秩和检验;4)CTC 阳性表达的多因素分析采用 Logistic 回归分析;5)相关性分析采用 Spearman 秩相关分析法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CTC 与 NSCLC 患者临床特征的关系

CTC 阳性组与阴性组在性别、年龄、有否远处转移的构成上无显著差异;两组在病理类型构成上差异显著,腺癌阳性率 78.1%,鳞状细胞癌阳性率 60.1%,腺鳞癌 40%,大细胞癌 62.5%,腺癌患者的阳性率高于其他类型($P < 0.05$);不同的 TNM 分期,CTC 阳性组与阴性组构成差异显著($P < 0.05$) (表 2、图 1)。

表 2 非小细胞肺癌患者循环肿瘤细胞表达与临床特征的关系

Table 2. Association of Clinicopathologic Features with CTC Expressions

Variable	Frequency	CTC-negative (n = 75)	CTC-positive (n = 209)	χ^2	P
Gender				<0.001	0.990
Male	163	43	120		
Female	121	32	89		
Age (year)				0.018	0.891
≤ 65	176	46	130		
>65	108	29	79		
Histology				10.358	0.014
Adeno-	219	48	171		
Squamous	46	18	28		
Adenosquamous	5	3	2		

(Table 2 continues on next page)

(Continued from previous page)

Variable	Frequency	CTC-negative (n = 75)	CTC-positive (n = 209)	χ^2	P
Large cell	8	3	5		
Other non-small cell	6	3	3		
Stage				10.910	0.012
Stage Ib	73	22	51		
Stage II	80	30	50		
Stage III	63	10	53		
Stage IV	68	13	55		
Distant metastasis				2.567	0.120
Yes	216	62	154		
No	68	13	55		

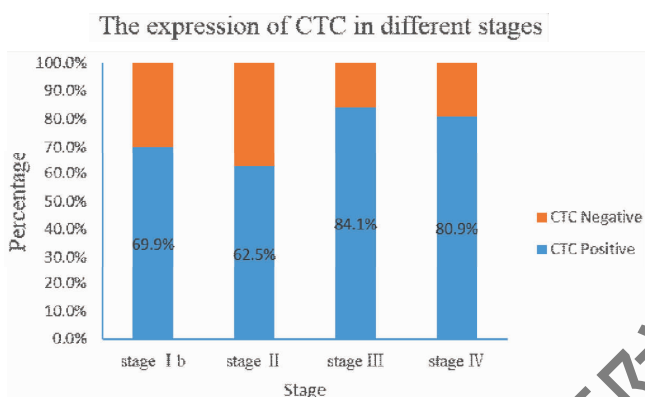


图 1 不同 TNM 分期 CTC 表达变化

Figure 1. CTC Expressions in Different TNM Stages of NSCLC

The CTC positive rate was 69.9% in stage I b NSCLC, 62.5% in stage II NSCLC, 84.1% in stage III NSCLC and 80.9% in stage IV NSCLC. The CTC positive rates in stage III NSCLC and stage IV NSCLC were higher than those in stage I b NSCLC or stage II NSCLC ($P = 0.012$).

2.2 CTC 与 NSCLC 患者临床特征的二元 Logistic 回归分析

二元 Logistic 回归模型在调整了性别、年龄、病理类型、TNM 分期等因素后,发现 TNM 分期与外周血 CTC 阳性表达呈正相关 ($P < 0.05$; 95% CI:

1.034 ~ 1.708),提示随着 TNM 分期增高,患者的外周血 CTC 阳性率显著增加。在病理类型方面,与腺癌相比,其他病理类型的患者外周血 CTC 阳性率显著降低 ($P < 0.05$, 95% CI: 0.481 ~ 0.894),提示本研究中腺癌患者外周血 CTC 阳性率更高(表 3)。

2.3 CTC 与血小板、凝血功能的关系

本研究中血小板、凝血功能指标均不满足正态分布,采用非参数检验。CTC 阳性组与 CTC 阴性组之间 PLT、D-D、FDP、FIB、TT、APTT 差异无统计学意义;CTC 阳性的肺癌患者的 PT 水平显著低于 CTC 阴性肺癌患者 ($P < 0.05$),提示 PT 与 CTC 可能存在一定联系(表 4)。

2.4 远处转移与血小板、凝血功能的关系

有远处转移的 NSCLC 患者 FDP、FIB、PT 水平均显著高于无远处转移的患者 ($P < 0.05$),TT 水平均显著低于无远处转移患者 ($P < 0.05$)(表 5)。

2.5 凝血功能与 CTC 及转移的相关性检验

经相关性检验,CTC 阳性表达率与 PT 呈负相关 ($r = -0.128, P < 0.05$);FDP、FIB、PT 与转移呈正相关 ($P < 0.05$),TT 与转移呈负相关 ($r = -0.281, P < 0.05$);FIB ($r = 0.163, P < 0.05$),PT ($r = 0.144, P < 0.05$)与 TNM 分期呈正相关,TT 与分期呈负相关 ($r = -0.242, P < 0.001$)。

表 3 非小细胞肺癌患者临床特征与 CTC 阳性表达的二元 Logistic 回归模型分析

Table 3. Analysis of Clinical Characteristics and CTC Levels by Binary Logistic Regression Model

Variable	χ^2	P	OR	95% CI	
				Lower limits	Upper limits
Gender	0.209	0.648	0.874	0.491	1.556
Age	0.002	0.964	0.999	0.969	1.030
Histology	7.119	0.008	0.656	0.481	0.894
Stage	4.922	0.027	1.329	1.034	1.708

表 4 CTC 阳性组与 CTC 阴性组凝血指标中值的比较 [M (IQR)]

Table 4. Coagulation Indicators of Patients with Different CTC Expressions [Median (IQR)]

Group	N	PLT ($10^9/L$)	D-D (mg/L)	FDP (ug/mL)	FIB (g/L)	PT(s)	APTT(s)	TT(s)
CTC-negative	75	216.0 (189.5 - 247.0)	0.5 (0.2 - 1.0)	2.25 (1.3 - 3.2)	3.18 (2.7 - 3.7)	11.6 (11.0 - 12.1)	27.7 (26.1 - 30.4)	17.8 (16.9 - 19.2)
CTC-positive	209	208 (172.5 - 258.0)	0.5 (0.3 - 1.0)	2.1 (1.2 - 3.7)	3.1 (2.5 - 3.9)	11.3 (10.9 - 11.9)	27.15 (25.4 - 28.8)	17.8 (16.8 - 18.8)
Z		-0.109	-0.630	-0.385	-0.368	-2.051	-1.916	-0.677
P		0.913	0.950	0.713	0.713	0.040	0.055	0.499

CTC: Circulating tumor cells; IQR: Interquartile range; PLT: Platelet; D-D: D-dimer; FDP: Fibrin degradation products; FIB: Fibrinogen; PT: Prothrombin time; APTT: Activation of partial thromboplastin time; TT: Thrombin time.

表 5 有远处转移者与无远处转移者凝血指标中值的比较 [M (IQR)]

Table 5. Coagulation Indicators of Patients with or without Distant Metastasis [Median (IQR)]

Distant metastasis	N	PLT ($10^9/L$)	D-D (mg/L)	FDP (ug/mL)	FIB(g/L)	PT(s)	APTT(s)	TT(s)
No	216	209.0 (166.5 - 246.0)	0.5 (0.2 - 0.9)	1.9 (1.2 - 3.1)	3.0 (2.5 - 3.6)	11.4 (10.9 - 11.9)	27.1 (25.5 - 28.8)	18.2 (17.0 - 19.1)
Yes	68	209.0 (179.0 - 273.3)	0.6 (0.4 - 1.4)	2.8 (1.6 - 5.3)	3.6 (2.8 - 4.7)	11.6 (11.0 - 12.3)	27.1 (25.9 - 29.6)	17.3 (16.1 - 17.9)
Z		-0.759	-1.819	-2.262	-3.491	-2.199	-0.573	-4.499
P		0.448	0.069	0.024	<0.001	0.028	0.567	<0.001

Abbreviations as indicated in Table 4.

3 讨论

CTC 是一种潜在的肿瘤标志物, 可以作为“液体活检”的样本, 与传统的活组织检查相比, 其具有微创、可反复检测等优点。研究证实 CTC 的存在与肿瘤早期转移^[17]、疗效反应^[18]及临床预后^[19]等密切相关, 并且 CTC 已被纳入美国癌症联合会第八版乳腺癌分期系统^[20]。在肺癌研究方面, 有报道应用膜过滤法检测良性肺部疾病 CTC 检出率仅 5%, 肺癌检出率高达 90%^[21]; 另一项研究在可手术切除的肺癌患者中使用 CellSearch 技术, 检出肺静脉中 CTC 阳性率为 48%^[22], 提示 CTC 检测在肺癌中具有一定敏感性。本研究应用免疫磁珠阴性富集法检测多中心、较大样本量的 NSCLC 患者外周血 CTC, 发现 284 例中有 209 例患者 CTC 检出阳性, 检出率为 73.6%。

3.1 CTC 在 NSCLC 中的表达规律

本研究结果显示 CTC 阳性率与 NSCLC 临床 TNM 分期相关, 而在不同年龄、性别的患者中差异无统计学意义, 其中 Ib 期、II 期、III 期、IV 期患者 CTC 阳性率分别为 69.9%、62.5%、84.1%、80.9%, III 期、IV 期患者的 CTC 阳性率显著高于 Ib 期、II 期, 差异有统计学意义, 提示随着 NSCLC 分期越晚, CTC 阳性

表达率越高。秦子敏等^[23]同样应用阴性免疫磁珠富集法检测 87 例肺癌患者, 发现 III + IV 期患者 CTC 水平显著高于 I + II 期患者。Zhang 等^[24]应用阳性免疫磁珠富集法检测了 91 例肺癌患者, III 期检出率为 25%、IV 期为 69.3%; 本研究与国内外文献报道相符, 从图 1 可以看出 III 期、IV 期 NSCLC 的 CTC 显著升高, 进一步说明 CTC 可能与肺癌发展以及严重程度具有密切联系。

其次本研究发现肺腺癌患者的 CTC 阳性率 78.1%, 高于鳞癌 (60.8%) 及其他非小细胞类型, 排除 TNM 分期构成的差异, 可能与腺癌病例数 (77.11%) 较多有关。曾有研究发现 CTC 在表皮生长因子受体突变患者中表达更高, 可能是腺癌检出率高的原因^[25]; 也有报道提示, 在 NSCLC 仅腺癌中术后 CTC 水平是无进展生存 (progression-free survival, PFS) 的独立预后因素^[26], 但在多中心进一步扩大样本量后并未发现差异^[27]。

3.2 晚期肺癌存在高凝状态

恶性肿瘤患者通常存在凝血功能障碍^[28-29], 在高凝状态下极易形成血栓, 动静脉血栓的形成进一步增加患者死亡风险, 且对肿瘤细胞的增殖、浸润与转移又有促进作用。肿瘤细胞在其发生发展的过程中会通过多种途径打破机体凝血与纤溶系统的平

衡。首先肿瘤细胞自身能释放促凝活性的物质如组织因子(tissue factor, TF)、癌促凝物质等形成凝血酶原激活物;其次炎性细胞因子如 VEGF、IL-1、TNF- α 等,促使纤溶酶原激活物的抑制物在内皮细胞表达,加速血液高凝状态的形成,共同使机体处于高凝状态。再者肿瘤细胞会与 PLT、内皮细胞、单核巨噬细胞相互作用,PLT 会释放出 ADP、5-HT、花生四烯酸、黏附蛋白分子等促进血液凝固的活性物质,进一步导致高凝状态的形成。

本研究分析了 NSCLC 患者血浆凝血功能指标及血小板,发现 FIB、PT、TT 与临床分期相关,FIB、PT 与分期呈正相关,TT 与分期呈负相关。多项研究证实 FIB、PT 的延长均与肺癌患者的不良预后相关^[28,30]。FIB 是肝脏合成和分泌的蛋白,含量在所有的凝血因子中最高。血浆 FIB 水平与肿瘤的病理分期和对治疗的反应密切相关,较高的 FIB 水平可预测 TNM 及淋巴结转移,且是肺癌的生存期(overall survival, OS)、PFS 的预后危险因素^[31]。本研究显示,有远处转移患者 FDP、FIB 延长,TT 缩短,说明高凝状态有助于促进肿瘤细胞的侵袭和转移^[32]。

3.3 高凝状态增强 CTC 抵抗能力促进转移

正常情况下,单个 CTC 从原发性肿瘤进入循环系统后,面临无数生存挑战,例如 T 细胞和自然杀伤细胞的攻击、剪切力和氧化应激等^[33],然而高凝状态的血液可以保护肿瘤细胞免受上述风险的侵害^[34-36],可能原因是 CTC 具有在早期转移过程中启动凝血激活的潜在作用^[37]。研究发现肿瘤细胞、血小板和纤维蛋白等聚集形成免疫血栓,它可包裹原发肿瘤细胞、有助于肿瘤细胞躲避机体免疫系统的识别^[38-39],因此凝血系统激活的微环境,有利于 CTC 在血管内存活,形成转移。研究者们前期在胃癌中发现血液高凝状态可能促进了胃癌 CTC 的远处转移,治疗前检测 CTC 指标对预测胃癌患者的预后具有重要意义;晚期不可切除胃癌患者 CTC 与患者高凝状态、疾病进展相关,可能存在 CTC-高凝-转移的恶性循环,积极抗凝及抗肿瘤治疗可能阻断这一恶性循环,改善高凝状态减少转移^[40]。

本研究中 III b + IV 期患者 CTC 阳性率为 84.1%,显著高于 I b ~ III a 期患者($P < 0.05$),而 III b + IV 期患者即为 N2 ~ N3 或 M1 的患者,即存在纵膈淋巴结转移或远处转移,提示有转移的患者 CTC 阳性率增高。此外我们发现远处转移(M1)的 NSCLC 患者 FDP、FIB 延长,TT 缩短,存在高凝状态,提示高凝状态有助于 CTC 的存活促进转移。有研究发现肺癌患者外周血中 CTC 指标可准确预测肺癌的

远处转移,而机体血液处于高凝状态下易促使肺癌远处转移发生^[41],影响患者预后^[42]。因此凝血功能异常可能促进 NSCLC CTC 的远处转移。

然而本研究不足之处在于,尚缺乏免疫细胞的检测以充分证实免疫系统和凝血功能共同影响 CTC 转移的作用,其次尚缺乏病例预后随访数据,以明确 CTC 对 OS 的影响。

综上所述,CTC 与 NSCLC TNM 分期相关,CTC 表达阳性患者存在凝血功能异常,高凝状态与 NSCLC 的转移相关,高凝状态可能促进 CTC 的转移。改善高凝状态、促进 CTC 清除可能是预防肺癌转移的有效方法。

作者声明: 本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

学术不端: 本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议: 经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权: 本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[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.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34.
- [3] Miller KD, Nogueira L, Mariotto AB, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(5): 363-385.
- [4] Massague J, Obenauf AC. Metastatic colonization by circulating tumor cells[J]. Nature, 2016; 529(7586): 298-306.
- [5] Repetto O, De Re V. Coagulation and fibrinolysis in gastric cancer[J]. Ann N Y Acad Sci, 2017; 1404(1): 27-48.
- [6] Sato R, Imamura K, Sakata S, et al. Disorder of coagulation-fibrinolysis system: An emerging toxicity of anti-PD-1/PD-L1 monoclonal antibodies[J]. J Clin Med, 2019, 8(6): 762.
- [7] Khorana AA. Cancer and thrombosis: Implications of published guidelines for clinical practice[J]. Ann Oncol, 2009, 20(10): 1619-30.
- [8] 杨汉, 陈怡璋, 崔笑雯, 等. 胃癌患者循环肿瘤细胞与凝血功能及预后的研究[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(4): 615-619.

- [9] 程清, 陈国荣, 李群艳, 等. 血小板计数和 D-二聚体水平联合检测在肺癌中的临床意义[J]. 肿瘤预防与治疗, 2019, 32(3): 228-232.
- [10] 宋娟娟, 周钦. 肺癌患者循环肿瘤细胞与 D-二聚体及血小板的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(16): 1940-1943.
- [11] 支修益, 石远凯, 于金明. 中国原发性肺癌诊疗规范(2015 年版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(1): 67-78.
- [12] Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, *et al.* The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumors[J]. J Thorac Oncol, 2007, 2(8): 706-714.
- [13] Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, *et al.* Non-Small Cell Lung Cancer (Version 5. 2017): NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2017, 15(4): 504-535.
- [14] Chen Q, Ge F, Cui W, *et al.* Lung cancer circulating tumor cells isolated by the EpCAM-independent enrichment strategy correlate with Cytokeratin 19-derived CYFRA21-1 and pathological staging[J]. Clin Chim Acta, 2013, 419: 57-61.
- [15] Chen YY, Xu GB. Effect of circulating tumor cells combined with negative enrichment and CD45-FISH identification in diagnosis, therapy monitoring and prognosis of primary lung cancer[J]. Med Oncol, 2014, 31(12): 240.
- [16] Li Y, Tian XD, Gao L, *et al.* Clinical significance of circulating tumor cells and tumor markers in the diagnosis of lung cancer[J]. Cancer Medicine, 2019, 8(8): 3782-3792.
- [17] Nevel KS, DiStefano N, Lin X, *et al.* A retrospective, quantitative assessment of disease burden in patients with leptomeningeal metastases from non-small-cell lung cancer[J]. Neuro Oncol, 2020, 22(5): 675-683.
- [18] Zhong X, Zhang H, Zhu Y, *et al.* Circulating tumor cells in cancer patients: Developments and clinical applications for immunotherapy[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 15.
- [19] He Y, Shi J, Schmidt B, *et al.* Circulating tumor cells as a biomarker to assist molecular diagnosis for early stage non-small cell lung cancer[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 841-854.
- [20] Lee SB, Sohn G, Kim J, *et al.* A retrospective prognostic evaluation analysis using the 8th edition of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2018, 169(2): 257-266.
- [21] Fiorelli A, Accardo M, Carelli E, *et al.* Circulating tumor cells in diagnosing lung cancer: Clinical and morphologic analysis[J]. Ann Thorac Surg, 2015, 99(6): 1899-1905.
- [22] Chemi F, Rothwell DG, McGranahan N, *et al.* Pulmonary venous circulating tumor cell dissemination before tumor resection and disease relapse [J]. Nat Med, 2019, 25(10): 1534-1539.
- [23] 秦子敏, 杨丁, 何山宏. 循环肿瘤细胞在肺癌诊断中的应用及临床意义[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(7): 3228-3232.
- [24] Zhang Q, Nong J, Wang J, *et al.* Isolation of circulating tumor cells and detection of EGFR mutations in patients with non-small-cell lung cancer[J]. Oncol Lett, 2019, 17(4): 3799-3807.
- [25] Morrow CJ, Trapani F, Metcalf R L, *et al.* Tumorigenic non-small-cell lung cancer mesenchymal circulating tumour cells: A clinical case study[J]. Ann Oncol, 2016, 27(6): 1155-1160.
- [26] de Miguel-Pérez D, Bayarri-Lara CI, Ortega FG, *et al.* Post-surgery circulating tumor cells and axl overexpression as new poor prognostic biomarkers in resected lung adenocarcinoma [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(11): 1750.
- [27] Lindsay CR, Blackhall FH, Carmel A, *et al.* EPAC-lung: Pooled analysis of circulating tumour cells in advanced non-small cell lung cancer[J]. Eur J Cancer, 2019, 117: 60-68.
- [28] Ferrigno D, Buccheri G, Ricca I. Prognostic significance of blood coagulation tests in lung cancer[J]. Eur Respir J, 2001, 17(4): 667-73.
- [29] Buccheri G, Ferrigno D, Ginardi C, *et al.* Haemostatic abnormalities in lung cancer: Prognostic implications[J]. Eur J Cancer, 1997, 33(1): 50-55.
- [30] Bian NN, Shi XY, Qi HY, *et al.* The relationship of plasma fibrinogen with clinicopathological stages and tumor markers in patients with non-small cell lung cancer [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(32): e16764.
- [31] Zhang Y, Cao J, Deng Y, *et al.* Pretreatment plasma fibrinogen level as a prognostic biomarker for patients with lung cancer [J]. Clinics (Sao Paulo), 2020, 75: e993.
- [32] Gabazza EC, Taguchi O, Yamakami T, *et al.* Evaluating prethrombotic state in lung cancer using molecular markers [J]. Chest, 1993, 103(1): 196-200.
- [33] Massagué J, Obenauf AC. Metastatic colonization by circulating tumour cells[J]. Nature, 2016, 529(7586): 298-306.
- [34] Castell JV, Gomezlechon MJ, David M, *et al.* Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein-synthesis in adult human hepatocytes[J]. FEBS Lett, 1989, 242(2): 237-239.
- [35] Seth R, Tai LH, Falls T, *et al.* Surgical stress promotes the development of cancer metastases by a coagulation-dependent mechanism involving natural killer cells in a murine model [J]. Ann Surg, 2013, 258(1): 158-168.
- [36] Dexter SPL, Griffith JP, Grant PJ, *et al.* Activation of coagulation and fibrinolysis in open and laparoscopic cholecystectomy [J]. Surg Endosc, 1996, 10(11): 1069-1074.
- [37] Mego M, Karaba M, Minarik G, *et al.* Relationship between circulating tumor cells, blood coagulation, and urokinase-plasminogen-activator system in early breast cancer patients[J]. Breast J, 2015, 21(2): 155-160.
- [38] Aceto NBA, Miyamoto DT, Donaldson MC, *et al.* Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis[J]. Cell, 2014, 158(5): 12.
- [39] Tayoun T, Faugeron V, Oulhen M, *et al.* CTC-Derived models: A window into the seeding capacity of circulating tumor cells (CTCs)[J]. Cell, 2019, 8(10): 1145.
- [40] 黄薇, 轩乾坤, 吴寅, 等. 晚期胃癌外周循环肿瘤细胞与血液高凝状态及预后的相关性研究[J]. 肿瘤学杂志, 2019, 25(8): 691-697.
- [41] 潘荣涛. 肺癌患者外周血中循环肿瘤细胞(CTC)与 D-二聚体、纤维蛋白原及血小板水平的关系研究[J]. 系统医学, 2018, 3(23): 4-6.
- [42] 何小平, 李书平, 马瑞东, 等. 肺癌术后血液高凝状态与外周血循环肿瘤细胞的关系[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2019, 11(11): 115-119.