

循环肿瘤细胞检测在乳腺癌新辅助化疗疗效评估中的价值

郝帅 田武国 高博 张晓华 姜燕 张姝 郭翎皓 汪伶俐 罗东林

【摘要】 目的 探讨乳腺癌患者外周血中循环肿瘤细胞(CTC)变化情况与乳腺癌新辅助化疗(NAC)疗效的关系。**方法** 根据纳入、排除标准,选取第三军医大学大坪医院野战外科研究所乳腺甲状腺外科 2014 年 12 月至 2016 年 6 月收治的女性乳腺浸润性癌患者共 94 例进行前瞻性研究。抽取患者 NAC 前后健侧上肢静脉血 5 ml,利用膜滤过法(ISET)检测外周血 CTC。首次化疗前及 2~4 个周期治疗后常规行影像学检查,以实体瘤疗效评价标准(RECIST)评价疗效,无效则改行手术治疗,有效则完成 6 个周期化疗后行手术治疗。以病理学 Miller-Payne 标准作为评估疗效的金标准,根据 NAC 后 CTC 数目变化情况,将 CTC 降低定义为有效,CTC 不变或者升高定义为无效。采用 χ^2 检验比较乳腺癌患者临床病理特征与 CTC 检出情况的关系。采用 McNemar 检验比较 NAC 前后 CTC 阳性率的差异。治疗前后 CTC 数目为非正态分布,采用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,并用 Wilcoxon 符号秩和检验比较 NAC 前后 CTC 数目的差异。CTC 检测与病理学金标准评估疗效的一致性分析采用 Kappa 检验,并采用 McNemar 检验、敏感度和特异度评价 CTC 检测。**结果** NAC 前外周血 CTC 阳性率为 62.8% (59/94)。与 HER-2 阴性及 Ki67 低表达患者相比,HER-2 阳性[80.0% (36/45)比 46.9% (23/45), $\chi^2 = 10.971, P < 0.001$]及 Ki67 高表达患者[77.4% (41/53)比 44.0% (18/41), $\chi^2 = 11.072, P < 0.001$]中 CTC 阳性率更高。NAC 后 CTC 阳性率[23.4% (22/94)比 62.8% (59/94), $\chi^2 = 35.100, P < 0.001$]及检出数目[0(0~0)个比 3(0~6)个, $Z = -6.120, P < 0.001$]均较治疗前显著降低。CTC 检测评估 NAC 疗效的敏感度为 76.5% (39/51),特异度为 69.8% (30/43);与金标准进行一致性分析,2 种评价方法中等相符(Kappa=0.463, $P < 0.001$)。**结论** 乳腺癌患者 NAC 后 CTC 的变化情况与 NAC 疗效有一定关系。CTC 检测有望成为一种新型评估 NAC 疗效的方法。

【关键词】 乳腺肿瘤; 化学疗法,辅助; 肿瘤细胞,循环

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

Application of circulating tumor cell detection in curative effect evaluation of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer

Hao Shuai, Tian Wuguo, Gao Bo, Zhang Xiaohua, Jiang Yan, Zhang Shu, Guo Lingji, Wang Lingli, Luo Donglin. Department of Breast and Thyroid Surgery, Research Institute of Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

Corresponding author: Luo Donglin, Email: ldl1967@sina.com

【Abstract】 Objective To explore the relationship between circulating tumor cell (CTC) in peripheral blood of breast cancer patients and the curative effect of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer.

Methods Totally 94 breast cancer patients in Department of Breast and Thyroid Surgery, Research Institute of Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, from December 2014 to June 2016 were enrolled for a prospective study according to the inclusion and exclusion criteria. Venous blood samples of 5 ml was collected from upper limb in healthy side of patients before and after neoadjuvant chemotherapy (NAC), and

isolation by size of epithelial tumor cells (ISET) was adopted in detecting circulating tumor cells in peripheral blood. Conventional imaging examination was given before the first chemotherapy and after 2–4 cycles of NAC to evaluate the curative effect of NAC according to Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST guideline version). If the chemotherapy was ineffective, the patients shifted to surgical treatment, otherwise, the patients completed 6 cycles of NAC and then underwent surgical treatment. According to pathological evaluation standard of Miller-Payne as a gold standard for curative effect evaluation, CTC reduction was defined as effective and CTC invariant or increase was defined as ineffective by the changes of CTC number after NAC. χ^2 test was used to analyze the association between the presence of CTC and clinicopathological characteristics of breast cancer patients. McNemar test was used to compare the positive rate of CTC before and after NAC. The number of CTC before and after treatment were expressed as $M(P_{25} - P_{75})$ because of its skewed distribution, and compared using Wilcoxon signed-rank test. Kappa test and McNemar test were used to evaluate the consistency between CTC detection and pathological gold standard. The sensitivity and specificity were calculated to evaluate the CTC detection. **Results** The detection rate of CTC in peripheral blood before NAC was 62.8% (59/94). The detection rate of CTC in HER-2 positive patients was significantly higher than that in HER-2 negative patients [80.0% (36/45) vs 46.9% (23/49), $\chi^2 = 10.971$, $P < 0.001$]. The detection rate of CTC in patients with high Ki67 expression was significantly higher than that in patients with low Ki67 expression [77.4% (41/53) vs 44.0% (18/41), $\chi^2 = 10.971$, $P < 0.001$]. The detection rate of CTC and the number of detected CTC after NAC were significantly lower than those before NAC [23.4% (22/94) vs 62.8% (59/94), $\chi^2 = 35.100$, $P < 0.001$; $0(0-0)$ vs $3(0-6)$, $Z = -6.120$, $P < 0.001$]. The sensitivity of CTC detection in NAC efficacy evaluation was 76.5% (39/51) and the specificity was 69.8% (30/34), and the consistency with the gold standard was described as moderate (Kappa=0.463, $P < 0.001$). **Conclusions** The alteration of CTC after NAC is related to the curative effect of NAC. CTC detection has the potential to become a new way to assess the efficacy of NAC.

[Key words] Breast neoplasms; Chemotherapy, adjuvant; Neoplastic cells, circulating

在世界范围内,乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,并且是女性癌症致死的首要原因^[1]。乳腺癌是一种全身性疾病,20%~30%的早期患者就会出现单个肿瘤细胞脱落入血,并通过血液播散继而导致远处转移^[2]。新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NAC)是乳腺癌综合治疗的重要部分,能够增加手术机会或者提高保留乳房率。NAC有不同的方案和周期选择,如果能够及时评估疗效,就能针对患者选择最优治疗方案,实现个体化治疗^[3]。当前NAC疗效评估方法均具有一定的局限性,因此急需寻找一种新型的疗效评估方法。研究证实,辅助治疗期间监测循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)可及时反映疗效,为评价治疗方案的敏感性及预后提供依据,有助于根据患者个体情况及时调整治疗策略,选择最佳治疗方案、时机和强度^[4-5]。然而,目前有关CTC评估乳腺癌NAC疗效的研究较少,且存在争议。因此,有必要进一步研究CTC在乳腺癌NAC疗效评估中的价值。笔者分别于NAC前后抽取94例乳腺癌患者外周静脉血,利用膜滤过法(isolation by size of epithelial tumor cells, ISET)检测患者外周血

CTC,探讨CTC检测与乳腺癌患者NAC疗效的关系。

资料与方法

一、一般资料

本研究为前瞻性研究,收集第三军医大学大坪医院乳腺甲状腺外科2014年12月至2016年6月收治的女性乳腺浸润性癌患者资料。纳入标准:(1)经空芯针穿刺活组织检查确诊为乳腺癌;(2)所有患者为Ⅱ~Ⅲ期乳腺癌;(3)年龄20~70岁,无化疗禁忌证并签署知情同意书;(4)肿瘤为单侧、单发,就诊前均未接受任何辅助性治疗;(5)无其他部位恶性肿瘤病史;(6)行2~6个周期TAC方案(多西他赛 75 mg/m²,表柔比星 60 mg/m²,环磷酰胺 500 mg/m²,21 d为一个周期)NAC,2~4个周期后应用实体瘤疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RECIST)标准评估疗效,若无效则改行手术,若有效则完成6个周期NAC后再行手术治疗。排除标准:(1)炎性乳腺癌;(2)哺乳期

乳腺癌;(3)患者入院前已行包块切除活组织检查;(4)不能按既定方案进行 NAC,依从性差;(5)存在远处转移。

根据 2015 年 NCCN 乳腺癌诊疗指南^[6]对患者进行术前全身化疗。严格按照纳入及排除标准纳入患者,最终入组 94 例患者,年龄 26 ~ 69 岁,中位年龄 50 岁。空芯针穿刺和手术切除的标本均由本院病理科行规范病理学检查。根据美国临床肿瘤学会和美国病理学家学会公布的乳腺癌 ER/PR 免疫组织化学指南评估 ER/PR 状况^[7]。根据 HereceptTest 评分系统评估 HER-2 表达情况^[8]。按照美国癌症联合会和国际抗癌联盟 2010 年第 7 版乳腺癌 TNM 分期标准进行分期^[9]。患者签署知情同意后,分别于首次化疗前、NAC 结束后和手术前抽取患者健侧上肢静脉血 5 ml,2 h 内应用 ISET 法检测外周血 CTC。本实验研究方案获得大坪医院伦理委员会批准(医研伦审 2014 年第 46 号)。

二、ISET 法检测循环肿瘤细胞

取患者首次化疗前、NAC 结束后和手术前健侧上肢浅静脉血 5 ml(弃去最初抽取的 2 ml 血液,排除皮肤上皮组织污染),颠倒混匀后在 2 h 内按照标准 ISET 检测流程进行 CTC 检测^[10]。将 5 ml 全血

应用包含 0.2% 甲醛的缓冲液稀释至 8 ml,将固定好的样本转移至自动化检测平台中(预先装有 8 μm 的滤膜),上机检测。经历过滤、漂洗、样本染色、清洗等自动化操作。检测完成后取出滤器,取下滤膜,置于载玻片上,干燥后封片,于光学显微镜下观察结果。

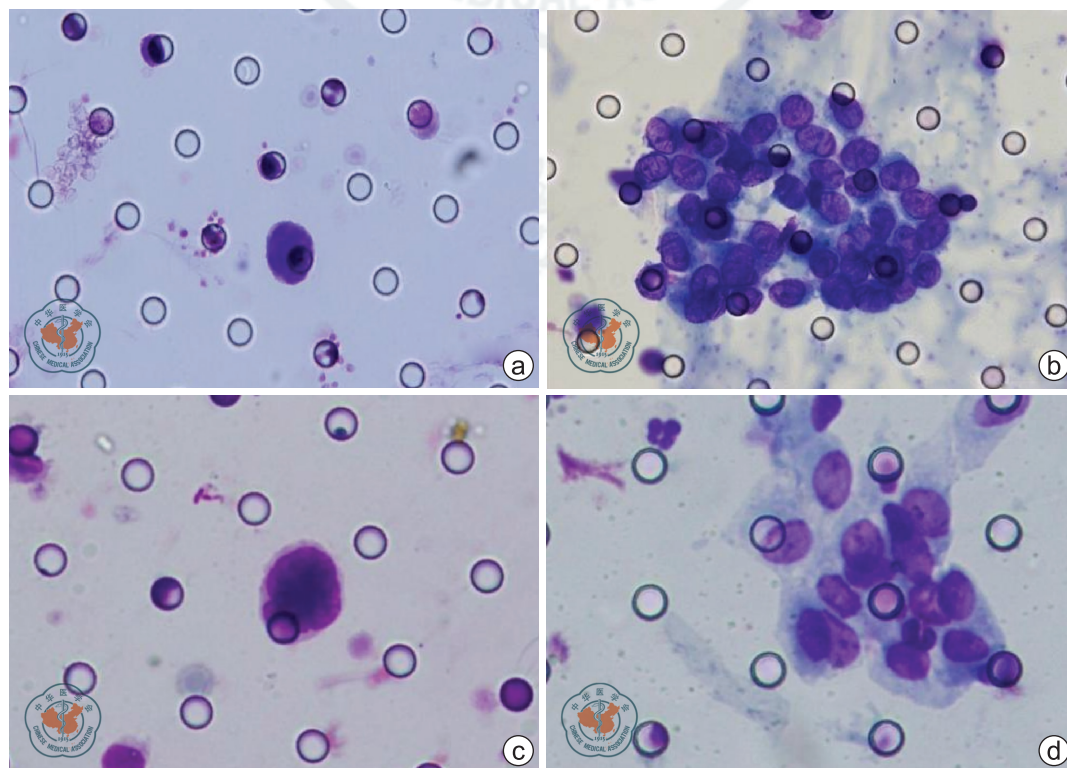
三、CTC、循环肿瘤微栓子(circulating tumor microemboli,CTM)形态学判断标准

根据 Hofman 等^[11]报道的 ISET 法 CTC 判读标准进行阅片并统一判读:(1)细胞核大小不均匀;(2)细胞核直径 $>18\ \mu\text{m}$;(3)细胞核存在异型性;(4)染色质存在三维层次;(5)高核质比。将以上 5 种情况中至少存在 4 种的细胞定义为 CTC。检测到 1 个 CTC 为检测阳性。 ≥ 3 个 CTC 聚集称为 CTM。所有患者的 CTC/CTM 细胞均由 3 位资深病理医师盲法独立确定(图 1)。依据 NAC 前后 CTC 数目降低或者不降低分别定义为 CTC 评估有效、CTC 评估无效。

四、NAC 疗效评估标准

1. 影像学 RECIST 评定标准^[12]

RECIST 是在 NAC 结束后,以超声、乳腺 X 线摄影等影像学手段为指导,测量实体肿瘤最大直径。化



注:a、c 图为典型 CTC;b、d 图为典型 CTM;ISET 法为膜滤过检测法;CTC 为循环肿瘤细胞;CTM 为循环肿瘤微栓子

图 1 ISET 法检测乳腺癌患者外周血典型 CTC 及 CTM(Diff-Quik $\times 40$)

疗效果分 4 类:疾病进展(progressive disease, PD), 基线病灶长径总和增加 $\geq 20\%$ 或者出现新的病灶; 疾病稳定(stable disease, SD), 基线病灶长径总和缩小但未达到 PR 或者有增加但未达到 PD; 部分缓解(partial response, PR), 基线病灶长径总和缩小 $\geq 30\%$; 完全缓解(complete response, CR), 即所有目标病灶消失。以 CR、PR 为化疗有效, PD、SD 为化疗无效。

2. 病理学 Miller-Payne 评定标准^[13]

病理学 Miller-Payne 标准是以手术切除瘤体后立即用 10% 多聚甲醛固定并于 24 h 内切开, 对肉眼所见残余病变肿瘤区和瘤旁区多点取材, 行常规石蜡固定切片, HE 染色。根据残留肿瘤细胞百分比数量分为 5 级: I 级, 浸润癌组织细胞无变化; II 级, 浸润癌组织细胞的数量减少比例 $\leq 30\%$; III 级, 浸润癌组织细胞的数量减少 30%~90%; IV 级, 浸润癌组织细胞的数量减少 $\geq 91\%$, 仅少量残余的癌细胞散在分布; V 级, 所有切片均无浸润性癌残留, 可见残留的 DCIS 成分。应用膜滤过法分别于 NAC 前后检测 CTC, 将 NAC 后 CTC 检出数目较治疗前降低定义为有效, NAC 后 CTC 检出数目较治疗前不变或者升高定义为无效; 病理学 Miller-Payne 标准作为评估疗效的金标准, I~II 级为无效, III~IV 级为有效。

五、统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析。治疗前后 CTC 数目为非正态分布, 采用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示, 并用 Wilcoxon 符号秩和检验比较。患者临床病理特征如年龄、绝经状态等计数资料采用 χ^2 检验进行比较。NAC 前后 CTC 阳性率差异的比较采用 McNemar 检验。CTC 检测与病理学金标准评估疗效的一致性分析采用 Kappa 检验, 并采用 McNemar 检验、敏感度[真阳性数/(真阳性数+假阴性数)]和特异度[真阴性数/(真阴性数+假阳性数)]评价 CTC 检测。检验水准 $\alpha=0.050$ 。

结 果

一、NAC 前 CTC 检出情况与患者临床病理特征的关系

94 例乳腺癌患者中, NAC 前外周血 CTC 阳性率为 62.8% (59/94)。与 HER-2 阴性及 Ki67 低表达患者相比, HER-2 阳性[80.0% (36/45) 比 46.9% (23/45), $\chi^2=10.971$, $P<0.001$] 及 Ki67 高表达患

者[77.4% (41/53) 比 44.0% (18/41), $\chi^2=11.072$, $P<0.001$] 中 CTC 阳性率更高。且 CTC 阳性率与患者年龄、肿瘤大小、ER、PR 表达情况均无关。luminal 型、HER-2 过表达型和三阴性乳腺癌患者 CTC 阳性率分别为 60.0% (39/65)、12/12 和 8/17, 3 种乳腺癌分子分型之间 CTC 阳性率差异有统计学意义($\chi^2=9.126$, $P=0.010$, 表 1)。

二、NAC 后 CTC 变化情况

NAC 前 CTC 阳性率为 62.8% (59/94), NAC 后 CTC 阳性率为 23.4% (22/94), NAC 后 CTC 阳性率较 NAC 前显著降低(表 2)。NAC 前 CTC 的 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 为 3(0~6) 个, NAC 后 CTC 的 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 为 0(0~0) 个, NAC 后 CTC 检出数目较 NAC 前显著降低($Z=-6.120$, $P<0.001$)。

三、CTC 检测评价 NAC 疗效

94 例患者总体有效率为 54.3% (51/94), 其中 pCR 率达 11.7% (11/94)。NAC 检测评估 NAC 疗效的敏感度为 76.5% (39/51), 特异度为 69.8% (30/43)。利用 Kappa 检验分析 CTC 检测评价结果与金标准的一致性, 2 种评价中等相符($Kappa=0.463$, $P<0.001$) (表 3)。

四、NAC 前 CTM 检出情况与患者临床病理特征的关系

94 例乳腺癌患者中, NAC 前外周血 CTM 阳性率为 34.0% (32/94), 在 HER-2 阳性($\chi^2=8.474$, $P=0.004$)、Ki67 高表达($\chi^2=6.838$, $P=0.009$)、ER 阴性($\chi^2=8.909$, $P=0.003$) 患者中 CTM 阳性率更高, 且与患者年龄、肿瘤大小、PR 表达情况无关(表 1)。luminal 型、HER-2 过表达型和三阴性乳腺癌患者 CTM 阳性率分别为 26.2% (17/65)、10/12、5/17, 3 组乳腺癌分子分型之间 CTM 阳性率差异有统计学意义(表 1)。

讨 论

乳腺癌是女性癌症致死的首要原因, 30%~40% 的早期患者, 即使接受了辅助治疗, 仍会发展为转移性乳腺癌^[14]。这与疾病早期就有部分肿瘤细胞进入血液循环有关。CTC 是恶性肿瘤患者外周血循环中的肿瘤细胞, 来源于原发肿瘤或者转移性病灶脱落入血。早在 1869 年, Ashworth^[15] 即提出这一概念。

在肿瘤患者的外周血中, 几乎每 10 万~100 万

表 1 94 例乳腺癌患者临床病理特征与 NAC 前 CTC 及 CTM 检出情况的关系

临床病理因素	例数	CTC 检测结果(例)		χ^2 值	P 值	CTM 检测结果(例)		χ^2 值	P 值
		阳性	阴性			阳性	阴性		
年龄									
>50 岁	44	30	14	1.038	0.308	17	27	0.777	0.378
≤50 岁	50	29	21			15	35		
绝经状态									
绝经前	45	27	18	0.283	0.595	13	32	1.021	0.312
绝经后	49	32	17			19	30		
ER									
阳性	63	37	26	1.331	0.249	15	48	8.909	0.003
阴性	31	22	9			17	14		
PR									
阳性	56	34	22	0.250	0.617	15	41	3.249	0.071
阴性	38	25	13			17	21		
HER-2									
阳性	45	36	9	10.971	<0.001	22	23	8.474	0.004
阴性	49	23	26			10	39		
Ki67									
≥15%	53	41	12	11.072	<0.001	24	29	6.838	0.009
<15%	41	18	23			8	33		
分子分型									
luminal 型	65	39	26	9.126	0.010	17	48	14.948	<0.001
HER-2 过表达型	12	12	0			10	2		
三阴性型	17	8	9			5	12		
肿瘤大小									
≤5 cm	62	39	23	0.001	0.969	22	40	0.169	0.681
>5 cm	32	20	12			10	22		

注:NAC 为新辅助化疗;CTC 为循环肿瘤细胞;CTM 为循环肿瘤微栓子

表 2 94 例乳腺癌患者 NAC 前后 CTC 检出情况差异(例)

化疗前 CTC 状态	化疗后 CTC 状态		合计
	阳性	阴性	
阳性	21	38	59
阴性	1	34	35
合计	22	72	94

注:NAC 为新辅助化疗;CTC 为循环肿瘤细胞;采用 McNemar 检验, $\chi^2 = 35.100, P < 0.001$

表 3 CTC 检测与病理学 Miller-Payne 标准评估 94 例乳腺癌患者 NAC 疗效的对比(例)

CTC 检测	Miller-Payne 标准		合计
	有效	无效	
有效	39	13	52
无效	12	30	42
合计	51	43	94

注:2 种疗效评估方法的比较采用 McNemar 检验, $\chi^2 = 0.040, P = 1.000$;CTC 检测与病理学金标准评估疗效的一致性分析采用 Kappa 检验, $Kappa = 0.463, P < 0.001$;CTC 为循环肿瘤细胞;NAC 为新辅助化疗

个白细胞中只有一个 CTC^[16],因此,高敏感度和特异度的 CTC 检测方法至关重要。当前多数研究由于检测敏感度较低或者阳性界定值的差异而导致 CTC 阳性率偏低^[17]。ISET 法最早由 Vona 等^[10]提出,利用 CTC 与正常细胞大小的差异,用 8 μm 孔径的滤膜过滤预先固定的外周血后,再应用形态学方法鉴别 CTC。与其他 CTC 检测技术相比,ISET 法或许会漏检部分体积较小的肿瘤细胞,但是其操作简便、价

格低廉,不依赖于肿瘤特异性抗原抗体表达状态的影响,可避免因上皮间质转化导致的 CTC 假阴性检测结果,明显提高了 CTC 的阳性率,并且能够直观检测 CTM 的存在。CTC 检出能力强,将有助于进一步开展 CTC 检测的临床研究^[18]。因此,ISET 法在 CTC 的检测中具有极大优势。本研究结果显示,

NAC 前外周血 CTC 阳性率为 62.8% (59/94), 优于其他检测方法, 这与文献报道是一致的^[19-20]。进一步分析 CTC 检出情况与患者临床病理特征的关系, 发现 CTC 检出与 HER-2 及 Ki67 表达情况有关, 且在不同分子分型之间阳性率差异有统计学意义, 但与患者年龄、肿瘤大小、ER、PR 表达情况无关。HER-2 阳性患者 CTC 阳性率较 HER-2 阴性患者高, 这可能与 HER-2 高表达的肿瘤侵袭力强, 恶性程度高有关^[21]。Ki67 高表达患者的 CTC 阳性率较低表达者更高, 这可能与 Ki67 高表达患者癌细胞增殖更加活跃有关, 但尚需进一步验证。

乳腺癌 NAC 的应用始于 20 世纪 70 年代, 现已成为乳腺癌综合治疗的重要部分^[22]。当前 NAC 疗效评估的方法主要包括临床评价和病理评价。临床评价包括临床触诊或影像学检查, 影像学检查包括超声检查、乳腺 X 线摄影、磁共振检查等, 但因为无法鉴别化疗后坏死和纤维化瘢痕组织, 上述方法准确率较低。病理评价是疗效评估的金标准, 但其存在明显的滞后性, 不能及时对疗效进行评估。此外, 研究发现 NAC 后能否达到 pCR 是评估 NAC 疗效的重要指标^[23-24], 但是在临床实践中发现, 即使达到 pCR 的患者仍存在复发、转移的可能^[25]。因此, 寻找能够及时准确评估 NAC 疗效、预测预后的指标非常重要。

NAC 后 CTC 变化是否与 NAC 的疗效有关, 当前研究存在争议。Fei 等^[26] 在一项 Meta 分析中发现, 乳腺癌患者 NAC 后 CTC 的数量变化与 pCR 无关, 且与临床获益与否也无直接关系。Serrano 等^[27] 发现, NAC 后持续存在的 CTC 与原发肿瘤对化疗的反应无关, 但是该类患者具有更高的早期复发风险和较差的 OS。而 Camara 等^[28] 研究发现, NAC 第 1 个周期治疗过程中 CTC 的变化能够预测肿瘤最终的疗效反应。

本研究应用 ISET 法检测 CTC, NAC 后 CTC 阳性率较 NAC 前显著降低。NAC 后 CTC 检出数目较 NAC 前同样是降低的。这与 Mueller 等^[29] 的研究结果基本一致, 说明 NAC 能够有效抑制乳腺癌患者的 CTC。以病理学 Miller-Payne 标准为评估疗效的金标准, 根据 NAC 后 CTC 数目降低或者不降低分别定义为 CTC 评估有效、CTC 评估无效, 其评估 NAC 疗效的敏感度为 76.5% (39/51), 特异度为 69.8% (30/43)。进一步将评价结果与“金标准”的一致性

进行分析, CTC 检测 ($Kappa = 0.463, P < 0.001$) 在一定程度上能够反应 NAC 疗效。

除单个 CTC 的检出外, 血液循环中同样存在以细胞团形式存在的肿瘤细胞, 称为 CTM, 其具有比 CTC 更强的迁徙和侵犯能力, 往往与恶性肿瘤的进展、转移相关^[30]。本研究中 NAC 前 CTM 阳性率为 34.0% (32/94)。在 HER-2 高表达、Ki67 高表达、ER 阴性的患者中 CTM 阳性率更高, 似乎与此类患者肿瘤侵袭性更强有关, 仍需进一步研究此类患者临床预后情况, 探讨 CTM 检出阳性的乳腺癌患者是否更容易发生病情进展、转移。

总之, 本研究结果初步显示 CTC 数目的变化与 NAC 疗效有一定的关系, NAC 后 CTC 阳性率及数值均明显降低, 与病理学金标准相比, CTC 能够一定程度上反映 NAC 的疗效。然而本研究中存在部分 CTC 检出阴性的患者, 这对结果存在一定影响。且目前尚不明确乳腺癌患者 NAC 后 CTC 的变化与患者的临床获益是否相关。同时, 本研究样本量较少, 因此 CTC 在 NAC 疗效评估中的作用价值仍需前瞻性、大样本、多中心的临床研究进一步验证。

参 考 文 献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108.
- [2] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Peto R, Davies C, et al. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100 000 women in 123 randomised trials [J]. Lancet, 2012, 379(9814):432-444.
- [3] 姜军. 乳腺癌的精准诊疗: 临床发展新趋势 [J/CD]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2014, 8(2):78-80.
- [4] Lv Q, Gong L, Zhang T, et al. Prognostic value of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: a systemic review and meta-analysis [J]. Clin Transl Oncol, 2016, 18(3):322-330.
- [5] Bidard FC, Peeters DJ, Fehm T, et al. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: a pooled analysis of individual patient data [J]. Lancet Oncol, 2014, 15(4):406-414.
- [6] Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, et al. Breast cancer version 2. 2015 [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2015, 13(4):448-475.
- [7] Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version) [J]. Arch Pathol Lab Med, 2010, 134(7):e48-72.
- [8] 《乳腺癌 HER2 检测指南》编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南 [J]. 中华病理学杂志, 2006, 35(10):631-633.
- [9] Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the

- 7th edition of the AJCC Cancer Staging Manual and the future of TNM [J]. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17(6):1471-1474.
- [10] Vona G, Sabile A, Louha M, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells [J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(1):57-63.
- [11] Hofman VJ, Llie MI, Bonnetaud C, et al. Cytopathologic detection of circulating tumor cells using the isolation by size of epithelial tumor cell method: promises and pitfalls [J]. *Am J Clin Pathol*, 2011, 135(1):146-156.
- [12] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) [J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(2):228-247.
- [13] Ogston KN, Miller ID, Payne S, et al. A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: prognostic significance and survival [J]. *Breast*, 2003, 12(5):320-327.
- [14] Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (EBCTCG). Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials [J]. *Lancet*, 2011, 378(9793):771-784.
- [15] Ashworth TR. A case of cancer in which cells similar to those in tumors were seen in the blood after death [J]. *Aust Med J*, 1869, 14:146-149.
- [16] Sun YF, Yang XR, Zhou J, et al. Circulating tumor cells: advances in detection methods, biological issues, and clinical relevance [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(8):1151-1173.
- [17] Banyspaluchowski M, Krawczyk N, Meierstegen F, et al. Circulating tumor cells in breast cancer-current status and perspectives [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2015, 97:22-29.
- [18] Krebs MG, Metcalf RL, Carter L, et al. Molecular analysis of circulating tumour cells-biology and biomarkers [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2014, 11(3):129-144.
- [19] Farace F, Massard C, Vimond N, et al. A direct comparison of CellSearch and ISET for circulating tumour-cell detection in patients with metastatic carcinomas [J]. *Br J Cancer*, 2011, 105(6):847-853.
- [20] Li H, Song P, Zou B, et al. Circulating tumor cell analyses in patients with esophageal squamous cell carcinoma using epithelial marker-dependent and -independent approaches [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(38):e1565.
- [21] Parekh T, Dodwell D, Shama N, et al. Radiological and pathological predictors of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: a brief literature review [J]. *Pathobiology*, 2015, 82(3-4):124-132.
- [22] King TA, Morrow M. Surgical issues in patients with breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2015, 12(6):335-343.
- [23] Fisher ER, Wang J, Bryant J, et al. Pathobiology of preoperative chemotherapy: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel (NSABP) protocol B-18 [J]. *Cancer*, 2002, 95(4):681-695.
- [24] Bear HD, Anderson S, Smith RE, et al. Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27 [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(13):2019-2027.
- [25] Trudeau M, Sinclair SE, Clemons M. Neoadjuvant taxanes in the treatment of nonmetastatic breast cancer: a systematic review [J]. *Cancer Treat Rev*, 2005, 31(4):283-302.
- [26] Fei F, Du Y, Di G, et al. Are changes in circulating tumor cell (CTC) count associated with the response to neoadjuvant chemotherapy in local advanced breast cancer? a meta-analysis [J]. *Oncol Res Treat*, 2014, 37(5):250-254.
- [27] Serrano MJ, Rovira PS, Martinezzubiaurre I, et al. Dynamics of circulating tumor cells in early breast cancer under neoadjuvant therapy [J]. *Exp Ther Med*, 2012, 4(1):43-48.
- [28] Camara O, Rengsberger M, Eque A, et al. The relevance of circulating epithelial tumor cells (CETC) for therapy monitoring during neoadjuvant (primary systemic) chemotherapy in breast cancer [J]. *Ann Oncol*, 2007, 18(9):1484-1492.
- [29] Mueller V, Riethdorf S, Loibl S, et al. Prospective monitoring of circulating tumor cells in breast cancer patients treated with primary systemic therapy-a translational project of the German Breast Group study GeparQuattro [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(18-Suppl):21085.
- [30] Aceto N, Bardia A, Miyamoto DT, et al. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis [J]. *Cell*, 2014, 158(5):1110-1122.

(收稿日期:2016-10-08)

(本文编辑:宗贝歌)

郝帅,田武国,高博,等.循环肿瘤细胞检测在乳腺癌新辅助化疗疗效评估中的价值[J/CD].中华乳腺病杂志(电子版), 2017, 11(1):6-12.