

ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2018 年 1 月 28 日 第 26 卷 第 3 期 (Volume 26 Number 3)



3 / 2018

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘 (Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志 (Abstract Journal, AJ)》数据库收录。



述评

- 143 高盐膳食对机体健康的影响及与肠道微生物的关系

贺璐, 刘又嘉, 郑淘, 谭周进

基础研究

- 150 乳腺癌缺失基因-1在胃癌中的表达及其临床意义

王兆平, 陆航

临床研究

- 159 早期肠内免疫微生态营养在胃癌术后患者中的应用价值

范勇, 石磊, 晏殊, 雍伟

- 165 局部枸橼酸抗凝在血浆吸附联合血浆置换治疗高危出血倾向肝衰竭患者中的应用

马元吉, 陈芳, 许艳, 白浪, 唐红

- 174 *IL-8*基因-251A/T多态性与急性胰腺炎遗传易感性的Meta分析

刘环, 张伟, 邓小冬, 马英, 刘云

文献综述

- 182 结直肠癌液体活检研究进展

张惠娟, 房新辉, 李健

- 190 利用益生菌降低胆固醇及纠正脂质代谢障碍研究进展

夏凯, 谢晓彤, 王笑梅, 肖家军

研究快报

- 195 观察超声造影在肝癌微波消融治疗中的应用价值

何华军, 吕梦圆, 王立平

临床实践

- 199 茵栀黄联合三联活菌对新生儿黄疸患儿肝功能和C反应蛋白的影响

蒋国丞, 蒋瑾, 杨拾梅

- 204 腹腔镜胆总管切开取石一期缝合对胆总管结石患者应激反应及胃肠功能的影响

尹浩, 周海军, 肖卫星, 周君

- 209 循证护理在2型糖尿病合并消化性溃疡的应用效果评价

刘艳

- 215 右美托咪定剂量差异对行ERCP老年患者血流动力学指标及呼吸参数的影响

束庆华, 傅朝霞

消 息

- 149 《世界华人消化杂志》外文字符标准
- 158 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
- 164 《世界华人消化杂志》正文要求
- 173 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
- 181 《世界华人消化杂志》参考文献要求
- 194 《世界华人消化杂志》修回稿须知
- 198 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
- 214 《世界华人消化杂志》栏目设置

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 白浪, 副教授, 副主任医师, 硕士研究生导师, 610041, 四川省成都市武侯区国学巷37号, 四川大学华西医院感染性疾病中心. 主要从事慢性病毒性肝炎与肝炎相关性肝癌分子发病机理的研究. 现任中华医学肝病分会青年委员, 四川省医学会肝病专委会常委. 承担过国家自然科学基金, 国家科技部十一五、十二五传染病重大专项子课题等多项国家级及省部级课题, 发表SCI文章20余篇, 其中第一作者或通讯作者10篇.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 闫晋利; 组版编辑 杜冉冉; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 马亚娟; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2018-01-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

[http://www.wjgnet.com/1009-3079/
editorialboard.htm](http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm)

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjgd@wjgnet.com<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 26 Number 3 January 28, 2018

EDITORIAL

- 143 Effect of high-salt diet on health: Relationship with intestinal microflora

He L, Liu YJ, Zheng T, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

- 150 Clinical significance of expression of deleted in breast cancer-1 in human gastric cancer

Wang ZP, Lu H

CLINICAL RESEARCH

- 159 Value of early enteral immune microecological nutrition in patients after surgery for gastric cancer

Fan Y, Shi L, Yan S, Yong W

- 165 Application of regional citrate anticoagulation during plasma adsorption and plasma exchange for patients with liver failure at high risk of bleeding

Ma YJ, Chen F, Xu Y, Bai L, Tang H

- 174 Association of *IL-8-251A/T* polymorphism with acute pancreatitis susceptibility: A meta-analysis

Liu H, Zhang W, Deng XD, Ma Y, Liu Y

REVIEW

- 182 Liquid biopsy in colorectal cancer

Zhang HJ, Fang XH, Li J

- 190 Possible mechanisms for probiotics to reduce cholesterol and improve lipid metabolism

Xia K, Xie XT, Wang XM, Xiao JJ

RAPID COMMUNICATION

- 195 Value of contrast-enhanced ultrasonography in microwave ablation of liver cancer

He HJ, Lv MY, Wang LP

CLINICAL PRACTICE

- 199 Effect of Yinzhihuang combined with bifid triple viable powder on liver function and C-reactive protein in neonates with jaundice

Jiang GC, Jiang J, Yang SM

- 204 Effect of laparoscopic choledocholithotomy with primary suture on stress response and gastrointestinal function in patients with common bile duct stones

Yin H, Zhou HJ, Xiao WX, Zhou J

- 209 Clinical effects of evidence-based nursing care in elderly patients with type 2 diabetes and peptic ulcer

Liu Y

- 215 Effect of different doses of dexmedetomidine on hemodynamic and respiratory parameters in elderly patients undergoing endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Shu QH, Fu ZX

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 26 Number 3 January 28, 2018

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Lang Bai, Associate Professor, Center of Infectious Diseases, West China Hospital of Sichuan University, 37 Guoxue Alley, Wuhou District, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Indexed/Abstracted by

Chinese Journal Full-text Database, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, and Abstract Journals.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan* Electronic Editor: *Ran-Ran Du* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Ya-Juan Ma* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date January 28, 2018

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

结直肠癌液体活检研究进展

张惠娟, 房新辉, 李 健

张惠娟, 郑州市第七人民医院 河南省郑州市 450003

房新辉, 李健, 郑州大学人民医院, 河南省人民医院消化内科 河南省郑州市 450003

张惠娟, 副主任医师, 主要从事消化道肿瘤的基础与临床研究.

基金项目: 河南省科技攻关项目, No. 172102310370; 郑州市重点科技攻关计, No. 131PPTGG379-2.

作者贡献分布: 本文综述由张惠娟与房新辉完成; 李健审阅.

通讯作者: 李健, 教授, 主任医师, 450003, 河南省郑州市金水区纬五路7号, 郑州大学人民医院, 河南省人民医院消化内科. jiuwei@163.com

收稿日期: 2017-12-19

修回日期: 2018-01-03

接受日期: 2018-01-06

在线出版日期: 2018-01-28

Revised: 2018-01-03

Accepted: 2018-01-06

Published online: 2018-01-28

Abstract

In recent years, liquid biopsy technology, including circulating tumor cells (CTCs), circulating tumor DNA (ctDNA), and exosomes, has been effectively used in the early diagnosis, relapse and drug resistance monitoring, and prognosis evaluation in colorectal cancer (CRC). In this paper, we review the basic research and clinical application of liquid biopsy in CRC.

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Circulating tumor cells; Circulating tumor DNA; Exosomes; Review

Zhang HJ, Fang XH, Li J. Liquid biopsy in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2018; 26(3): 182-189 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i3/182.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v26.i3.182>

Liquid biopsy in colorectal cancer

Hui-Juan Zhang, Xin-Hui Fang, Jian Li

Hui-Juan Zhang, Physical Examination Center, Zhengzhou Seventh People's Hospital, Zhengzhou 450003, He'nan Province, China

Xin-Hui Fang, Jian Li, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Zhengzhou University, He'nan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, He'nan Province, China

Supported by: Science and Technology Foundation of the Science and Technology Department of Henan Province, China, No. 172102310370; Key Science and Technology Foundation of the Science and Technology Bureau of Zhengzhou City, China, No. 131PPTGG379-2.

Correspondence to: Jian Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Zhengzhou University, He'nan Provincial People's Hospital, 7 Weiwei Road, Jinshui District, Zhengzhou 450003, He'nan Province, China. jiuwei@163.com

Received: 2017-12-19

摘要

近年来, 包括循环肿瘤细胞、循环肿瘤DNA和外泌体在内的液体活检技术有效地应用在结直肠癌早期诊断、复发和耐药监测及预后评估等临床与基础研究中. 现就液体活检在结直肠癌基础与临床的研究与应用作一综述.

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结直肠癌; 循环肿瘤细胞; 循环肿瘤DNA; 外泌体; 综述

核心提要: 包括循环肿瘤细胞、循环肿瘤DNA和外泌体在内的液体活检技术具有快速、无创、可重复等特点, 可实时动态监测结直肠癌原发灶及转移复发灶基因组信息, 协助早期诊断、疗效监测、评估预后、耐药分析及靶向治疗评估, 是一种新型的分子病理检测方式, 在结直肠癌诊疗领域具有广阔的临床应用前景。

张惠娟, 房新辉, 李健. 结直肠癌液体活检研究进展. 世界华人消化杂志 2018; 26(3): 182-189 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i3/182.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i3.182>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)全球每年新发病例约130万, 死亡率约33%, 严重威胁着人类的健康^[1]. 约50% CRC患者在初诊时就处于晚期或存在潜在可检测的远处转移, 失去最佳治疗时机^[2]. 近年来, 尽管消化内镜技术的发展有助于早期CRC的诊治, 临床试验研发化疗药物、靶向药物等新药问世增加治疗与康复的几率, 但CRC总体存活率并未显著改善^[3], 主要原因在于CRC术后转移及复发预警、耐药检测及预后评估标记物的缺乏. 传统组织活检技术在CRC诊治中存在局限性, 主要表现为: 部分CRC无法手术, 部分病灶不便穿刺; 穿刺本身具有临床风险; 肿瘤异质性所致活检标本无法反映转移病灶及肿瘤基因突变全貌、组织活检滞后性无法实时监测患者病情^[3,4]. 因此, 寻找一种用于CRC早期诊断、监测疾病演变过程和检测耐药的新型生物信息诊断技术迫在眉睫, 而液体活检技术具有全面、实时、方便及非侵入性等特点已被受高度重视. 人体血浆中的循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTCs)、循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)和外泌体是目前液体活检的主要靶标. 液体活检通过检测人体外周血、唾液、尿液等体液成份研究肿瘤特征及生物学行为, 能更全面捕获肿瘤异质性及其生物遗传学信息, 从而帮助临床医师能早期诊断肿瘤及制定最优的个体化治疗策略^[3,4]. 现就液体活检在结直肠癌基础与临床的研究与应用作一综述.

1 CTCs在CRC中的应用

CTCs是指从肿瘤原发灶或转移灶脱离进入外周血的肿瘤细胞, 以不同形态存在, 既可是游离单个CTC, 也可以细胞团存在, 或形成转移灶^[5,6]. CTCs具有高度异质性, 包括上皮型、上皮-间质转化型(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、生物表型(上皮/EMT+), 其中发生EMT的CTCs具有更强流动性和侵袭性, 更容易形成转移灶^[7].

1.1 监测治疗反应 实时检测血中CTCs数目和基因表达可有效评估治疗反应. Matsusaka等^[8]实时监测以奥沙利铂为化疗方案的CRC患者血中CTCs数目, 发现在基线、2 wk及8-12 wk时CTC \geq 3个/7.5 mL患者无进展生存期(progress-free survival, PFS)分别为8.5、7.3和1.9 mo, 较同期CTC $<$ 3个/7.5 mL患者的PFS分别为9.7 mo($P=0.047$)、10.4 mo ($P<0.001$)和9.1 mo($P<0.001$)缩短明显, 2 wk及8-12 wk时CTC \geq 3个/7.5 mL患者总生存期(overall survival, OS)分别为10.2和4.1 mo, 较同期CTC $<$ 3个/7.5 mL患者OS分别为29.1 mo($P<0.001$)和29.1 mo($P=0.001$)缩短显著. 此外, 化疗后2周CTC $<$ 3个/7.5 mL的患者预示对化疗药物治疗反应好.

通过检测CTCs的基因表达也可评估患者对化疗药物的治疗反应. Insua等^[9]分析了94例转移性CRC(mCRC)患者血中CTCs基因表达谱(VIL1、CLU、TIMP1、TLN1、LOXL3和ZEB2), 与治疗前基因低表达相比, 治疗前基因高表达患者其PFS和OS明显缩短, 治疗期间CTCs基因表达增加患者PFS和OS分别为8.95和11.74 mo, 而低表达患者PFS和OS分别为14.41 mo($P=0.003$)和24.7 mo($P\leq 0.001$).

1.2 检测肿瘤复发和评估预后 CTCs数量的动态监测可用于CRC的复发预测和预后评估. Wu等^[10]对44例CRC患者术后血样进行连续检测, 发现术后1 wk有10例可检测到CTCs, 其中7例CTCs计数减少且均无复发, 3例CTC计数增加且其中2例出现复发. 术后3月有34例检测到CTCs, 且与CTC ≥ 2 相比, CTC < 2 患者PFS显著延长($P=0.019$). 另外随访中, 术后CTCs数目较术前减少患者PFS更长. Garrigós等^[11]通过对16例II-III期CRC术后并化疗患者进行随访, 发现2例最终出现临床复发, 其CTCs升高比临床证据提示复发分别早5和6 mo. 1例临床证据未提示复发, 但CTCs升高. 其余13例未检测到或少许CTC, 且无临床复发证据($P=0.029$). 来自台湾90例III期CRC经过mFOLFOX辅助化疗的资料^[12]显示, 化疗后复发30例(33.3%), 平均随访时间是36 mo(范围18-61 mo). 通过单因素分析和多因素Cox回归分析, 神经浸润(HR = 2.752; 95%CI: 1.026-7.381), 化疗后血清CEA水平高(HR = 2.895; 95%CI: 1.143-7.333)和化疗后CTCs持续存在(HR = 6.273; 95%CI: 2.442-16.117)是化疗后复发的独立预测因子. 此外, 化疗后CTCs持续存在与PFS和OS降低密切相关. 通过检测化疗后CTCs持续存在状况, CRC III患者复发的准确性明显高于化疗后CEA水平(优势比: 50.091 vs 5.211).

另一项涉及12研究1329例包括可切除肝转移或广泛转移CRC患者的荟萃分析^[13]显示, CTCs阳性患者OS(HR = 2.47; 95%CI: 1.74-3.51)和PFS(HR = 2.07;

95%CI: 1.44-2.98)更差。与血中未检测到CTCs患者相比, 血中CTCs阳性者死亡概率增加2.5倍, 疾病进展或复发概率增加2倍。Cohen等^[14]进一步验证了CTCs在评估预后的临界值。该项研究共纳入430例接受一线、二线和三线治疗mCRC患者, 随后连续监测血中CTCs数量。结果显示, 根据CTC水平<3个或≥3个CTC/7.5 mL, 分为预后良与预后差两组。治疗前CTCs≥3个/7.5 mL患者PFS和OS分别为4.5和9.4 mo, CTC<3个/7.5 mL PFS和OS分别为7.9和18.5 mo, $P<0.0001$ 。治疗前及治疗期间CTCs数量是mCRC患者PFS和OS的独立预测因子。研究^[15]表明, 非mCRC患者中, 术前CTC≥1个/7.5 mL患者OS显著低于术前无CTC者(38.4 mo vs 49.8 mo, $P<0.001$), 多因素分析进一步证实, 术前CTCs检测是非mCRC强力与独立的预后指标(HR = 5.5; 95%CI: 2.3-13.6)。

CTCs中细胞角蛋白20(cytokeratin20, CK20)和survivin表达作为预后生物标志物是目前研究的热点^[16]。CK20作为细胞骨架组成部分之一, 具有更为严格的上皮组织特异性。正常组织中CK20多见于胃肠道黏膜细胞、泌尿系伞状细胞及表皮Merkel细胞, 而其他组织均为阴性。CK20在细胞化生、恶性转化、肿瘤转移等异常时表达持续存在。

Wong等^[17]对CRC研究发现, 40例术前CK20表达阳性CTC(CK20 pCTCs)>11的CRC患者中位生存期比43例术前CK20 pCTCs≤11显著为短(HR = 5.417, 95%CI: 1.063-4.759)。多因素分析研究^[18]表明, CRC患者CTCs中CK20或survivin高表达患者中位OS(9.4 mo), 比两种均低表达者中位OS(33.2 mo)显著为短(HR = 4.39; 95%CI: 1.56-12.35)。CTC中CK20或survivin表达升高对mCRC鉴别有较高的敏感性(79.6%)和特异性(85%)。因此, CTCs中CK20和survivin表达可能是预测接受全身治疗mCRC患者OS的有效生物标志物。

1.3 转移与肿瘤分期 CTCs引起转移的机制研究为CRC肝转移(CRC-LM)的辅助诊断提供了一种新策略。Fang等^[19]发现, 与CRC未转移患者相比, CRC-LM患者外周血CD133+和CD133+CD54+CD44+细胞亚群的表达更高。多因素分析进一步证实CD133+CD44+CD54+细胞亚群的表达与CRC-LM相关。CD133+CD44+CD54+细胞亚群联合腹部CT/MRI及CEA显示可提高CRC-LM检出率, 敏感性为88.2%和特异性92.4%, 并可准确预测肝转移(OR = 2.898, 95%CI: 1.374-6.110)。因此, CTCs亚群检测可作为评估CRC-LM的预测指标, 可提高该人群的生存期。研究^[19]还表明, CD133、CD44、CD26、CD24、CD166等细胞表面标记物还可用于检测与鉴别乳腺、前列腺、肺及其他实体肿瘤的肿瘤细胞和CTCs等。

肿瘤浸润和转移过程中存在EMT过程, 上皮肿瘤细胞获得更强迁移能力并上调多种可降解细胞外基质的蛋白酶, 更具侵袭性且侵入血循环中成为CTCs, CTCs EMT标记已在乳腺癌、前列腺癌、肝癌及肺癌得到证实^[20]。一项纳入1203例CRC患者队列研究^[21]通过检测CTCs上皮型和EMT型标记物的表达显示, 生物表型和EMT型CTCs与临床分期、淋巴结转移和远处转移均呈正相关, 而且EMT型CTCs的侵袭和转移能力更强。这表明联合检测CTCs上皮型(如EpCAM、CKs)和EMT型(如VIM、TWIST1、AKT2和SNAI1)标记物可能为CRC患者的肿瘤分期和转移评估提供依据。

根据种子-土壤学说, 上皮肿瘤细胞在适宜微环境中可能经过EMT获得干细胞特征并迁移入血液循环中形成CTCs。目前, 主要集中在CRC围手术期检测特定标记物捕获的CTCs数量来评估手术预后。随着CTCs检测技术向转录组学、蛋白组学研究等基础层面转向, 利用CTCs分子标识特征研究肿瘤转移机制、监测患者病情、建立基于CTCs库的药敏模型以及抗肿瘤新药研发提供理论基础。

2 ctDNA在CRC中的应用

1947年, Mandel和Metais首次证实健康人血浆中存在循环游离DNA(circulating cell-free DNA, cfDNA)。1977年, Leon等发现肿瘤患者cfDNA水平显著高于健康人群^[22]。研究发现, cfDNA是一种以单链或双链DNA、DNA蛋白质复合物等形式存在于血液、脑脊液等体液中的胞外DNA, 大小在150-210000 bp之间, 其来自正常细胞, 或异常细胞(如肿瘤细胞)或机体外部(如病毒DNA)^[23]。

ctDNA是指肿瘤细胞产生的释放入外周血的DNA片段。ctDNA半衰期短, 且携带有基因突变、拷贝数异常、缺失、重排和甲基化等信息, 数小时内即可动态监测肿瘤的临床变化^[24,25]。ctDNA因片段短、含量极少且易与血浆蛋白结合, 传统检测方法几乎检测不到, 仅在极少数晚期肿瘤且负荷较大的患者中才会检测到。二代测序技术(the next generation sequencing, NGS)如Safe-seq技术具有较高灵敏性和特异性, 能精确捕捉到微量ctDNA变化, 是目前认为最有效的分析方法^[24,25]。

2.1 筛选和早期诊断 ALU实时定量PCR分析^[26]表明, CRC患者与健康人群和腺瘤患者相比, 其cfDNA水平分别为17.58(9.96-35.59), 7.30(4.25-15.28)和7.60(4.44-14.48) ng/mL。CRC血清中cfDNA水平升高明显, 且CRC分期越晚, cfDNA升高越显著。cfDNA联合CEA可提高灵敏度和特异性, 可用于CRC早期诊断。Flamini等^[27]对75例健康志愿者和75例CRC患者进行病例-对照研究,

发现两组人群中, CEA和ctDNA无显著相关性; 当两者联合使用, 且至少一个阳性时, 其灵敏度88%, 而特异性与单个检测相同(70.7%); 当两者均阳性, 其特异性达到100%。

另外, 随着基因表观遗传学的不断深入研究, ctDNA的甲基化也用于CRC的筛选和早期诊断。Bedin等^[26]对25例CRC患者组织和血浆中OSMR和SFRP1甲基化PMR(percentage of methylated reference, 甲基化参考百分比)情况观察, OSMR-PMR中位数分别为32.68%(11.39%-65.96%)和0.20%(0%-12.02%), SFRP1-PMR中位数分别为127.40%(54.54%-157.60%)和3.76%(0.67%-29.80%), cfDNA中低甲基化定量比组织中更易观察到。与腺瘤患者相比, CRC患者cfDNA甲基化频率显著升高。同时, 检测CRC患者cfDNA的OSMR和SFRP1甲基化水平, 结果显示OSMR和SFRP1基因发生甲基化频率随CRC分期逐渐增加。另一组CRC血浆与组织对照研究^[28]发现, 早期CRC患者cfDNA和肿瘤组织中PCDH10启动子甲基化之间显著相关($P<0.0001$)。早期肿瘤(I和II期)中cfDNA血浆/组织甲基化率比值随cfDNA完整性而增加($r=0.353$, $P<0.029$); 晚期肿瘤(III和IV期)中cfDNA血浆/组织甲基化率比值随cfDNA完整性而降低($r=-0.401$, $P<0.047$), 随cfDNA浓度绝对值而增加($r=0.452$, $P<0.0234$)。

Church等^[29]以结肠镜作为参照标准, 评估了SEPT9甲基化水平在筛选CRC人群中的准确性, 从53例CRC和1457例非CRC患者产生SEPT9甲基化标准灵敏度为48.2%(95%CI: 32.4%-63.6%, 粗率50.9%); CRC I-IV期分别为35.0%、63.0%、46.0%和77.4%。特异性为91.5%(95%CI: 89.7%-93.1%, 粗率91.4%)。进展期腺瘤SEPT9灵敏度仅为11.2%。

2.2 检测肿瘤复发、最小残留灶及评估预后 通过检测ctDNA中基因突变、拷贝数变异等变化可作为CRC根治术后复发的一个预测指标。Ryan等^[30]通过对ctDNA中KRAS2基因突变检测发现, CRC患者术后KRAS2突变阳性持续阳性16例, 其中63%(10/16例)出现复发, 而阴性中仅2%(1/44例)出现复发(OR = 71.7, 95%CI: 7.7-663.9; $P=0.0000$), ctDNA预测复发灵敏度为91%, 特异性为88%。因此, ctDNA中KRAS2基因突变可作为监测CRC复发的独立预测因子(HR = 6.37, 95%CI: 2.26-18.0)。同样, Diehl等^[31]通过连续检测18例CRC患者术前和根治术后ctDNA的基因突变, 结果显示术后13-56 d内80%患者血清中可检测到至少一种基因突变(APC、KRAS、TP53和PIK3CA), 而这些患者中94%出现复发, 另外20%未检测到突变基因的患者未出现复发。Li等^[2]对CRC I-IV期研究发现, PGA-C评分显

示, CRC I-IV期曲线下面积预测值为0.54-0.84。位点特异性拷贝数分析确定9个CNVs与III-IV期CRC患者生存有显著相关性的基因组区域。多变量模型显示9个基因组区域中的6个区域(chr1: 26220001-26280000; chr2: 159480001-159540000; chr3: 9660001-9720000; chr4: 49020001-49080000; chr6: 97920001-97980000和chr22: 25740001-25800000)存在高风险分数与较短存活率的显著关联(HR = 5.33, 95%CI: 6.76-94.44, $P<0.0001$)。

II期CRC术后患者是否接受化疗尚需要根据组织病理和影像学表现, 这样可能会导致部分未接受化疗的患者出现复发。最近一项研究^[32]通过使用Safe-SeqS系统检测了CRC II期患者血清中ctDNA水平, 显示术后ctDNA阳性患者79%(11/14)出现复发(平均随访27 mo), 阴性中仅9.8%(16/164)出现复发(HR = 18; 95%CI: 7.9-40, $P<0.001$)。检测术后ctDNA预测36 mo内肿瘤复发的灵敏度和特异性分别为48%和100%。因此ctDNA可用于检测术后微小残留灶, 预测肿瘤复发, 从而使这些患者从辅助治疗中获益更多。

一些小样本研究认为ctDNA也可用于评估局部CRC的预后, 术前ctDNA水平与局部晚期CRC(III期)相关, 这些患者复发率高且预后差。Lecomte等^[33]分析58例原发性CRC患者术前血清ctDNA, 发现67%(39/58例)存在KRAS基因外显子2突变或p16基因甲基化。CRC I-III期患者中, 血清中ctDNA检测有无与2年无复发生存率有关[66%(17/25) vs 100%(8/8), $P=0.044$]。此外, ctDNA阳性患者2年总生存率为48%, 阴性则为100%, $P<0.03$ 。

2.3 监测肿瘤负荷和治疗反应 ctDNA也可监测肿瘤负荷。Zhou等^[34]连续采集6例接受手术和辅助化疗的I-III B期CRC患者血液, 通过检测ctDNA等位基因变异频率(variant allele frequencies, VAFs)和绝对浓度检测肿瘤负荷。结果发现, 在4例局部进展期CRC患者术前血浆中发现平均VAF为0.88%的低频率突变(对应于平均肿瘤负荷为0.20 ng/mL), 并与其原发肿瘤共享某些突变。ctDNA在术后和辅助化疗后均明显降低, 且手术前后平均浓度分别为0.163与0.038 ng/mL。只有1例出现复发且血液中ctDNA水平较复发前增加13倍, 而CEA和CA199检测一直正常。而该患者术前ctDNA中检测到6个体细胞突变均在复发后ctDNA中监测到, 且5个突变显示等位基因比例增加。丹麦研究者^[35]通过使用NGS技术采用SSVs(somatic structure variants, 体细胞结构变异)作为监测指标也证实ctDNA在监测CRC术后肿瘤负荷中意义, 该研究对6例复发和5例未复发共11个CRC患者进行为期3年的临床随访与监测。监测

中发现, 未复发患者中SSVs频率呈持续低水平存在, 复发患者ctDNA中均存在SSV频率升高, 且ctDNA在监测转移性复发方面, 比传统随访方法(CT和CEA检测)平均提早10 mo; 在监测术后复发中, SSVs的敏感性和特异性为100%。另有研究^[36]显示, 53例mCRC患者接受标准化疗方案检测ctDNA变化, ctDNA下降 ≥ 10 倍患者中74%(14/19)可在8-10 wk检测到影像学变化, 而ctDNA下降幅度 < 10 倍仅有35%(8/23)患者有反应(OR = 5.25, 95%CI: 1.38-19.93, $P = 0.016$)。2个治疗周期前ctDNA降低幅度 < 10 倍和降低幅度 ≥ 10 倍比较, PFS有增加趋势(中位数8.1 mo和14.7 mo; HR = 1.87; 95%CI: 0.62-5.61, $P = 0.266$)。

ctDNA基因突变状态的检测也可用于监测化疗的治疗效果。新近有关CRC分子检测研究强烈推荐mCRC患者需检测原发部位或转移肿瘤组织中的RAS或BRAF突变状态。KRAS、BRAF和PI3KCA的突变可能影响抗EGFR单克隆抗体或小分子抑制剂的疗效^[37,38]。检测含有甲基化和KRAS突变的ctDNA能更好预测mCRC患者接受化疗后的临床结局^[39]。Spindler等^[40,41]研究共纳入108例接受西妥昔单抗和伊立替康治疗CRC患者, 连续采集治疗前和治疗期间血样, 然后检测含KRAS、BRAF突变的ctDNA, 发现KRAS、BRAF突变的ctDNA低水平与病情控制相关。KRAS突变的ctDNA水平 $> 75\%$ 四分位数患者病情控制率为0%, 低于75%其病情控制率为42%($P = 0.048$)。3个化疗周期后ctDNA水平下降50%以上, 说明治疗效果良好。

2.4 耐药及个体化治疗 研究^[42]表明, 与继发性抗EGFR耐药相关的突变位点位于EGFR胞外结构域(s492r)、KRAS、NRAS、BRAF、PIK3CA基因以及两个新的EGFR的胞外结构域(R451C和k467t)。西妥昔单抗耐药细胞突变分析观察到3个额外EGFR基因: S464L、G465R和I491M。在结构上除R451C突变外, 这些突变均位于西妥昔单抗结合区域。在功能上, EGFR胞外结构域突变可防止结合西妥昔单抗, 但这些结构可与帕尼单抗相互作用。该研究提示ctDNA连续分析可早期监测耐药并及时调整治疗方案, 从而阻止疾病进展。

CRC中获得性RAS突变与抗EGFR治疗的继发性耐药相关。利用BEAMing技术检测CRC患者ctDNA中基因变化^[43], 共发现KRAS突变为69%(349/503), PIK3CA突变为17%(84/503), 仅有3%(17/502)发生BRAF突变例。48%(41/86)抗EGFR药物治疗患者血液中检测出KRAS突变型, 而这些患者原发部位肿瘤组织中DNA是KRAS野生型。Spindler等^[40]分析接受三线治疗(西妥昔单抗和伊立替康)mCRC患者原发部位肿瘤组织、治疗前血样和19%进展期血样的基因突变状

态。其中12例肿瘤组织存在KRAS突变, 但在治疗前血样中未检测到突变, 2例存在原发性突变且在随后血样中检测出不同类型的突变(KRAS和BRAF同步突变), 5例在进展期间获得了新的KRAS或BRAF突变。实时监测潜在耐药的突变基因为识别EGFR靶向药物的耐药以及临床医师决定何时停药提供了分子理论依据。

ctDNA获取便利及可重复性, 随着其在CRC领域广泛应用以及术后随访时间的延长, 更多更有利的临床研究数据会使其在准确检测复发、判断术后残留病灶及评估预后有良好的应用前景。同时, ctDNA中基因变化为监控靶向药物治疗及其阐明获得性耐药机制提供了切实有效的方法, 对推动CRC靶向治疗进程有积极意义。

3 外泌体在CRC中的应用

外泌体是由正常或病理性细胞分泌释放的微小囊泡, 直径为30-100 nm, 主要携带DNA、mRNA、miRNA、蛋白质和脂质等多种生物活性分子至受体细胞, 进而促进细胞间的相互作用^[44]。外泌体不仅通过促进肿瘤细胞黏附、触发信号通路、介导炎症反应和免疫逃逸机制等促使肿瘤的发生发展或转移, 还在肿瘤的诊断、疗效评估和预后发挥着重要作用^[45]。

最近, 外泌体作为一种新型的肿瘤生物标志物逐渐得到研究者的青睐。一项对原发性CRC患者、健康对照组血清和结肠癌细胞株(HCT116、HT-29、RKO、SW48和SW480)进行了外泌体miRNAs芯片分析^[46], 证实了CRC相关miRNAs。在原发性CRC甚至早期阶段患者(CRC I期)血清中发现7个miRNAs的水平(let-7a、mir-1229、mir-1246、miR-150、miR-21、miR-223、miR-23a)明显高于健康组, 且术后水平显著降低。在体外, 与正常结肠细胞株相比, 癌细胞株分泌miRNA水平显著升高。因此, 特异性miRNA可应用于CRC的无创性诊断。另外, 外泌体中特异性miRNAs也作为CRC复发的预测因子。Matsumura等^[47]通过实时定量RT-PCR技术和微阵列比较基因组杂交技术分析209例CRC患者血样外泌体miRNA表达谱和拷贝数异常。结果发现, 血清中外泌体 mir-17-92a水平与CRC复发相关。与健康组相比, CRC患者中miR-19a基因扩增显著增加, 且miR-19a高表达组比低表达组的预后更差($P < 0.001$)。

最近一项研究^[48]对CRC患者和健康人群血清纯化外泌体(serum-purified exosomes, SPEs)中蛋白质表达进行分析, 发现CRC患者有36个蛋白上调和22个蛋白下调。生物信息学分析显示, 上调蛋白质参与调控癌前微环境转移的过程。相反, 在肿瘤生长和细胞存活中发

挥关键作用的差异表达蛋白(DEPs)主要是下调的. 该研究表明, 这些表达不同的SPEs蛋白对CRC发生侵袭和转移至关重要, 但对其增殖影响很小. 该项研究阐明了外泌体在CRC病理生理的作用, 可作为未来CRC诊断和治疗的研究方向.

近期有一项p53基因在CRC中对外泌体产物控制作用的研究^[49]. 该研究利用结肠癌细胞株HCT116构建TP53野生型(WT)细胞, TP53基因敲除(KO)细胞和TP53突变(MT)细胞来评估其分泌外泌体的特点. 与WT细胞相比, MT和KO细胞表现出外泌体大小明显减少. 运用2D-LC-MS/MS结合iTRAQ技术对外泌体蛋白进行蛋白质组学分析, 具有 ≥ 2 相匹配多肽的3437个蛋白质组进行鉴定. 来自MT和KO细胞的外泌体肝细胞生长因子调节酪氨酸激酶底物(hepatocyte growth factor regulated tyrosine kinase substrate, HGS)呈持续下调. 功能研究表明, 低水平HGS导致外泌体大小下降. TP53调控HGS表达, 进而HGS依赖的外来体形成. 此外, 伴随CRC发生发展, HGS表达逐渐增加, 且是一个独立的不良预后因素. 该研究证实了CRC中一种新的HGS依赖TP53外泌体形成机制, 也为CRC治疗提供了一个新的靶点. Soldevilla等^[50]利用结肠癌HCT116细胞株研究发现, 由外泌体分泌DNp73参与肿瘤增殖及耐药, MTT实验发现, 与对照组相比, 结肠癌细胞显示来源外泌体DNp73b摄取过表达, 这种肿瘤细胞暴露奥沙利铂后, 其耐药性与细胞存活率提高, 提示外泌体可通过释放一些活性物质在肿瘤细胞中起到耐药传递的作用.

外泌体内含蛋白质、miRNA、mRNA等多种生物活性分子, 可传递至靶细胞激活细胞信号通路, 调控细胞功能状态. 靶向含有特定活性成分的外泌体为CRC治疗提供新靶点, 其在肿瘤耐药机制中研究可进一步指导CRC耐药患者的治疗.

4 结论

与传统活体组织相比, 液态活检具有快速、简便、无创、可重复等特点, 且不会造成医源性播散, 其优势十分明显. 在CTCs、ctDNA和外泌体领域, 因其三者基础研究、评价标准及生物学特征的差异, 其临床应用侧重点也不同. ctDNA和外泌体主要通过基因突变、甲基化及表达丰度等检测用于CRC肿瘤复发、最小残留灶及肿瘤负荷、评估预后和耐药分析等, 而CTCs主要通过细胞计数及其界值、表面标识等应用于临床. 若三者联合检测可为患者提供更加丰富和精确的临床信息. 实验室自建检测方法之间的质控差异, 使得ctDNA和CTCs分析在样本采集与处理等环节标准化不

足, 加强规范化操作流程及质控体系建设尤为重要. 目前液体活检在CRC中的研究, 尚需要大规模、多中心的临床研究进一步完善其向临床应用的转化.

液体活检具有快速、简便、无创、可重复等特点, 临床工作中不需要通过组织活检就能实时监测肿瘤复发、耐药和疗效. 液体活检在肿瘤的早期诊断和治疗决策方面具有很好的应用前景. 随着测序技术的快速发展和对CTCs、ctDNA和外泌体生物学及其临床潜力的研究深入, 液体活检终将会在临床实践中得到广泛应用.

5 参考文献

- 1 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136: E359-E386 [PMID: 25220842 DOI: 10.1002/ijc.29210]
- 2 Li J, Dittmar RL, Xia S, Zhang H, Du M, Huang CC, Druliner BR, Boardman L, Wang L. Cell-free DNA copy number variations in plasma from colorectal cancer patients. *Mol Oncol* 2017; 11: 1099-1111 [PMID: 28504856 DOI: 10.1002/1878-0261.12077]
- 3 Katsiampoura A, Kopetz S. Clinical Applications of Liquid Biopsies in Gastrointestinal Oncology. *Gastrointest Cancer Res* 2014; 7: S8-S12 [PMID: 27053977]
- 4 Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakakis F, Bardelli A. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol* 2013; 10: 472-484 [PMID: 23836314 DOI: 10.1038/nrclinonc.2013.110]
- 5 Masuda T, Hayashi N, Iguchi T, Ito S, Eguchi H, Mimori K. Clinical and biological significance of circulating tumor cells in cancer. *Mol Oncol* 2016; 10: 408-417 [PMID: 26899533 DOI: 10.1016/j.molonc.2016.01.010]
- 6 Hardingham JE, Grover P, Winter M, Hewett PJ, Price TJ, Thierry B. Detection and Clinical Significance of Circulating Tumor Cells in Colorectal Cancer--20 Years of Progress. *Mol Med* 2015; 21 Suppl 1: S25-S31 [PMID: 26605644 DOI: 10.2119/molmed.2015.00149]
- 7 Heerboth S, Housman G, Leary M, Longacre M, Byler S, Lapinska K, Willbanks A, Sarkar S. EMT and tumor metastasis. *Clin Transl Med* 2015; 4: 6 [PMID: 25852822 DOI: 10.1186/s40169-015-0048-3]
- 8 Matsusaka S, Suenaga M, Mishima Y, Kuniyoshi R, Takagi K, Terui Y, Mizunuma N, Hatake K. Circulating tumor cells as a surrogate marker for determining response to chemotherapy in Japanese patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Sci* 2011; 102: 1188-1192 [PMID: 21401804 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.01926.x]
- 9 Insua YV, Cámara J, Vázquez EB, Fernández A, Rivera FV, Silva MJVV, Barbazán J, Muínelo-Romay L, Folgar SC, Abalo A, López-López R, Abal M, Alonso-Alconada L. Predicting Outcome and Therapy Response in mCRC Patients Using an Indirect Method for CTCs Detection by a Multigene Expression Panel: A Multicentric Prospective Validation Study. *Int J Mol Sci* 2017; 18: [PMID: 28608814 DOI: 10.3390/ijms18061265]
- 10 Wu W, Zhang Z, Gao XH, Shen Z, Jing Y, Lu H, Li H, Yang X, Cui X, Li Y, Lou Z, Liu P, Zhang C, Zhang W. Clinical significance of detecting circulating tumor cells in colorectal cancer using subtraction enrichment and

- immunostaining-fluorescence in situ hybridization (SE-iFISH). *Oncotarget* 2017; 8: 21639-21649 [PMID: 28423493 DOI: 10.18632/oncotarget.15452]
- 11 Garrigós N, Gallego J, Guillén-Ponce C, Guaraz P, García-Bautista M, Castillejo A, Gómez-Martínez A, Carrato A, Rodríguez-Lescure A, Soto JL. Circulating tumour cell analysis as an early marker for relapse in stage II and III colorectal cancer patients: a pilot study. *Clin Transl Oncol* 2010; 12: 142-147 [PMID: 20156783 DOI: 10.1007/S12094-010-0479-7]
 - 12 Lu CY, Tsai HL, Uen YH, Hu HM, Chen CW, Cheng TL, Lin SR, Wang JY. Circulating tumor cells as a surrogate marker for determining clinical outcome to mFOLFOX chemotherapy in patients with stage III colon cancer. *Br J Cancer* 2013; 108: 791-797 [PMID: 23422758 DOI: 10.1038/bjc.2012.595]
 - 13 Groot Koerkamp B, Rahbari NN, Büchler MW, Koch M, Weitz J. Circulating tumor cells and prognosis of patients with resectable colorectal liver metastases or widespread metastatic colorectal cancer: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 2156-2165 [PMID: 23456317 DOI: 10.1245/s10434-013-2907-8]
 - 14 Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, Picus J, Morse M, Mitchell E, Miller MC, Doyle GV, Tissing H, Terstappen LW, Meropol NJ. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3213-3221 [PMID: 18591556 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.8923]
 - 15 Bork U, Rahbari NN, Schölch S, Reissfelder C, Kahlert C, Büchler MW, Weitz J, Koch M. Circulating tumour cells and outcome in non-metastatic colorectal cancer: a prospective study. *Br J Cancer* 2015; 112: 1306-1313 [PMID: 25867263 DOI: 10.1038/bjc.2015.88]
 - 16 Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology* 2002; 40: 403-439 [PMID: 12010363]
 - 17 Wong SC, Chan CM, Ma BB, Hui EP, Ng SS, Lai PB, Cheung MT, Lo ES, Chan AK, Lam MY, Au TC, Chan AT. Clinical significance of cytokeratin 20-positive circulating tumor cells detected by a refined immunomagnetic enrichment assay in colorectal cancer patients. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1005-1012 [PMID: 19188172 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1515]
 - 18 Ning Y, Hanna DL, Zhang W, Mendez A, Yang D, El-Khoueiry R, Matsusaka S, Sunakawa Y, Stremtizer S, Parekh A, Okazaki S, Berger MD, Barzi A, Lenz HJ. Cytokeratin-20 and Survivin-Expressing Circulating Tumor Cells Predict Survival in Metastatic Colorectal Cancer Patients by a Combined Immunomagnetic qRT-PCR Approach. *Mol Cancer Ther* 2015; 14: 2401-2408 [PMID: 26227487 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0359]
 - 19 Fang C, Fan C, Wang C, Huang Q, Meng W, Yu Y, Yang L, Peng Z, Hu J, Li Y, Mo X, Zhou Z. CD133+CD54+CD44+ circulating tumor cells as a biomarker of treatment selection and liver metastasis in patients with colorectal cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 77389-77403 [PMID: 27764803 DOI: 10.18632/oncotarget.12675]
 - 20 Micalizzi DS, Haber DA, Maheswaran S. Cancer metastasis through the prism of epithelial-to-mesenchymal transition in circulating tumor cells. *Mol Oncol* 2017; 11: 770-780 [PMID: 28544498 DOI: 10.1002/1878-0261.12081]
 - 21 Zhao R, Cai Z, Li S, Cheng Y, Gao H, Liu F, Wu S, Liu S, Dong Y, Zheng L, Zhang W, Wu X, Yao X. Expression and clinical relevance of epithelial and mesenchymal markers in circulating tumor cells from colorectal cancer. *Oncotarget* 2017; 8: 9293-9302 [PMID: 28030836 DOI: 10.18632/oncotarget.14065]
 - 22 Aarthi R, Mani S, Velusami S, Sundarsingh S, Rajkumar T. Role of Circulating Cell-Free DNA in Cancers. *Mol Diagn Ther* 2015; 19: 339-350 [PMID: 26400814 DOI: 10.1007/s40291-015-0167-y]
 - 23 Breitbach S, Tug S, Simon P. Circulating cell-free DNA: an up-coming molecular marker in exercise physiology. *Sports Med* 2012; 42: 565-586 [PMID: 22694348 DOI: 10.2165/11631380-000000000-00000]
 - 24 Heitzer E, Ulz P, Geigl JB. Circulating tumor DNA as a liquid biopsy for cancer. *Clin Chem* 2015; 61: 112-123 [PMID: 25388429 DOI: 10.1373/clinchem]
 - 25 Diaz LA Jr, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol* 2014; 32: 579-586 [PMID: 24449238 DOI: 10.1200/JCO.2012.45.2011]
 - 26 Bedin C, Enzo MV, Del Bianco P, Pucciarelli S, Nitti D, Agostini M. Diagnostic and prognostic role of cell-free DNA testing for colorectal cancer patients. *Int J Cancer* 2017; 140: 1888-1898 [PMID: 27943272 DOI: 10.1002/ijc.30565]
 - 27 Flamini E, Mercatali L, Nanni O, Calistri D, Nunziatini R, Zoli W, Rosetti P, Gardini N, Lattuneddu A, Verdecchia GM, Amadori D. Free DNA and carcinoembryonic antigen serum levels: an important combination for diagnosis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 6985-6988 [PMID: 17145818 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1931]
 - 28 Danese E, Minicozzi AM, Benati M, Montagnana M, Paviati E, Salvagno GL, Lima-Oliveira G, Gusella M, Pasini F, Lippi G, Guidi GC. Comparison of genetic and epigenetic alterations of primary tumors and matched plasma samples in patients with colorectal cancer. *PLoS One* 2015; 10: e0126417 [PMID: 25946211 DOI: 10.1371/journal.pone.0126417]
 - 29 Church TR, Wandell M, Lofton-Day C, Mongin SJ, Burger M, Payne SR, Castaños-Vélez E, Blumenstein BA, Rösch T, Osborn N, Snover D, Day RW, Ransohoff DF; PRESEPT Clinical Study Steering Committee, Investigators and Study Team. Prospective evaluation of methylated SEPT9 in plasma for detection of asymptomatic colorectal cancer. *Gut* 2014; 63: 317-325 [PMID: 23408352 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-304149]
 - 30 Ryan BM, Lefort F, McManus R, Daly J, Keeling PW, Weir DG, Kelleher D. A prospective study of circulating mutant KRAS2 in the serum of patients with colorectal neoplasia: strong prognostic indicator in postoperative follow up. *Gut* 2003; 52: 101-108 [PMID: 12477769]
 - 31 Diehl F, Schmidt K, Choti MA, Romans K, Goodman S, Li M, Thornton K, Agrawal N, Sokoll L, Szabo SA, Kinzler KW, Vogelstein B, Diaz LA Jr. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008; 14: 985-990 [PMID: 18670422 DOI: 10.1038/nm.1789]
 - 32 Tie J, Wang Y, Tomasetti C, Li L, Springer S, Kinde I, Silliman N, Tacey M, Wong HL, Christie M, Kosmider S, Skinner I, Wong R, Steel M, Tran B, Desai J, Jones I, Haydon A, Hayes T, Price TJ, Strausberg RL, Diaz LA Jr, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Gibbs P. Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer. *Sci Transl Med* 2016; 8: 346ra92 [PMID: 27384348 DOI: 10.1126/scitranslmed.aaf6219]
 - 33 Lecomte T, Berger A, Zinzindohoué F, Micard S, Landi B, Blons H, Beaune P, Cugnenc PH, Laurent-Puig P. Detection of free-circulating tumor-associated DNA in plasma of colorectal cancer patients and its association with prognosis. *Int J Cancer* 2002; 100: 542-548 [PMID: 12124803 DOI: 10.1002/ijc.10526]
 - 34 Zhou J, Chang L, Guan Y, Yang L, Xia X, Cui L, Yi X, Lin G. Application of Circulating Tumor DNA as a Non-Invasive Tool for Monitoring the Progression of Colorectal

- Cancer. *PLoS One* 2016; 11: e0159708 [PMID: 27459628 DOI: 10.1371/journal.pone.0159708]
- 35 Reinert T, Schøler LV, Thomsen R, Tobiasen H, Vang S, Nordentoft I, Lamy P, Kannerup AS, Mortensen FV, Stribolt K, Hamilton-Dutoit S, Nielsen HJ, Laurberg S, Pallisgaard N, Pedersen JS, Ørntoft TF, Andersen CL. Analysis of circulating tumour DNA to monitor disease burden following colorectal cancer surgery. *Gut* 2016; 65: 625-634 [PMID: 25654990 DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308859]
 - 36 Tie J, Kinde I, Wang Y, Wong HL, Roebert J, Christie M, Tacey M, Wong R, Singh M, Karapetis CS, Desai J, Tran B, Strausberg RL, Diaz LA Jr, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Gibbs P. Circulating tumor DNA as an early marker of therapeutic response in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2015; 26: 1715-1722 [PMID: 25851626 DOI: 10.1093/annonc/mdv177]
 - 37 Kidess-Sigal E, Liu HE, Triboulet MM, Che J, Ramani VC, Visser BC, Poultides GA, Longacre TA, Marziali A, Vysotskaia V, Wiggin M, Heirich K, Hanft V, Keilholz U, Tinhofer I, Norton JA, Lee M, Sollier-Christen E, Jeffrey SS. Enumeration and targeted analysis of KRAS, BRAF and PIK3CA mutations in CTCs captured by a label-free platform: Comparison to ctDNA and tissue in metastatic colorectal cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 85349-85364 [PMID: 27863403 DOI: 10.18632/oncotarget.13350]
 - 38 Kosmidou V, Oikonomou E, Vlassi M, Avlonitis S, Katseli A, Tsiaras I, Mourtzoukou D, Kontogeorgos G, Zografos G, Pintzas A. Tumor heterogeneity revealed by KRAS, BRAF, and PIK3CA pyrosequencing: KRAS and PIK3CA intratumor mutation profile differences and their therapeutic implications. *Hum Mutat* 2014; 35: 329-340 [PMID: 24352906 DOI: 10.1002/humu.22496]
 - 39 Lefebvre B, Charbonnier F, Di Fiore F, Tuech JJ, Le Pessot F, Michot F, Michel P, Frebourg T. Prognostic value of circulating mutant DNA in unresectable metastatic colorectal cancer. *Ann Surg* 2010; 251: 275-280 [PMID: 20010083 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181c35c87]
 - 40 Spindler KL, Pallisgaard N, Andersen RF, Jakobsen A. Changes in mutational status during third-line treatment for metastatic colorectal cancer--results of consecutive measurement of cell free DNA, KRAS and BRAF in the plasma. *Int J Cancer* 2014; 135: 2215-2222 [PMID: 24659028 DOI: 10.1002/ijc.28863]
 - 41 Spindler KL, Pallisgaard N, Vogelius I, Jakobsen A. Quantitative cell-free DNA, KRAS, and BRAF mutations in plasma from patients with metastatic colorectal cancer during treatment with cetuximab and irinotecan. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 1177-1185 [PMID: 22228631 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0564]
 - 42 Arena S, Bellosillo B, Siravegna G, Martínez A, Cañadas I, Lazzari L, Ferruz N, Russo M, Misale S, González I, Iglesias M, Gavilan E, Corti G, Hobor S, Crisafulli G, Salido M, Sánchez J, Dalmases A, Bellmunt J, De Fabritiis G, Rovira A, Di Nicolantonio F, Albanell J, Bardelli A, Montagut C. Emergence of Multiple EGFR Extracellular Mutations during Cetuximab Treatment in Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 2157-2166 [PMID: 25623215 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2821]
 - 43 Tabernero J, Lenz HJ, Siena S, Sobrero A, Falcone A, Ychou M, Humblet Y, Bouché O, Mineur L, Barone C, Adenis A, Yoshino T, Goldberg RM, Sargent DJ, Wagner A, Laurent D, Teufel M, Jeffers M, Grothey A, Van Cutsem E. Analysis of circulating DNA and protein biomarkers to predict the clinical activity of regorafenib and assess prognosis in patients with metastatic colorectal cancer: a retrospective, exploratory analysis of the CORRECT trial. *Lancet Oncol* 2015; 16: 937-948 [PMID: 26184520 DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00138-2]
 - 44 He M, Zeng Y. Microfluidic Exosome Analysis toward Liquid Biopsy for Cancer. *J Lab Autom* 2016; 21: 599-608 [PMID: 27215792 DOI: 10.1177/2211068216651035]
 - 45 Whiteside TL. The potential of tumor-derived exosomes for noninvasive cancer monitoring. *Expert Rev Mol Diagn* 2015; 15: 1293-1310 [PMID: 26289602 DOI: 10.1586/14737159.2015.1071666]
 - 46 Ogata-Kawata H, Izumiya M, Kurioka D, Honma Y, Yamada Y, Furuta K, Gunji T, Ohta H, Okamoto H, Sonoda H, Watanabe M, Nakagama H, Yokota J, Kohno T, Tsuchiya N. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer. *PLoS One* 2014; 9: e92921 [PMID: 24705249 DOI: 10.1371/journal.pone.0092921]
 - 47 Matsumura T, Sugimachi K, Iinuma H, Takahashi Y, Kurashige J, Sawada G, Ueda M, Uchi R, Ueo H, Takano Y, Shinden Y, Eguchi H, Yamamoto H, Doki Y, Mori M, Ochiya T, Mimori K. Exosomal microRNA in serum is a novel biomarker of recurrence in human colorectal cancer. *Br J Cancer* 2015; 113: 275-281 [PMID: 26057451 DOI: 10.1038/bjc.2015.201]
 - 48 Chen Y, Xie Y, Xu L, Zhan S, Xiao Y, Gao Y, Wu B, Ge W. Protein content and functional characteristics of serum-purified exosomes from patients with colorectal cancer revealed by quantitative proteomics. *Int J Cancer* 2017; 140: 900-913 [PMID: 27813080 DOI: 10.1002/ijc.30496]
 - 49 Sun Y, Zheng W, Guo Z, Ju Q, Zhu L, Gao J, Zhou L, Liu F, Xu Y, Zhan Q, Zhou Z, Sun W, Zhao X. A novel TP53 pathway influences the HGS-mediated exosome formation in colorectal cancer. *Sci Rep* 2016; 6: 28083 [PMID: 27312428 DOI: 10.1038/srep28083]
 - 50 Soldevilla B, Rodríguez M, San Millán C, García V, Fernández-Periañez R, Gil-Calderón B, Martín P, García-Grande A, Silva J, Bonilla F, Domínguez G. Tumor-derived exosomes are enriched in ΔNp73, which promotes oncogenic potential in acceptor cells and correlates with patient survival. *Hum Mol Genet* 2014; 23: 467-478 [PMID: 24067531 DOI: 10.1093/hmg/ddt437]

编辑: 马亚娟 电编: 杜冉冉





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

