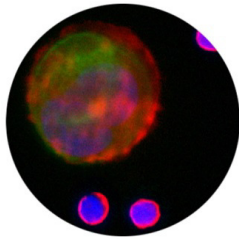


Metafer-i·FISH®全自动 CTC 图像扫描与分析系统



随着人们对循环肿瘤细胞 (CTC) 研究及认知的不断深入, 传统的单纯角蛋白 (CK) 染色法用于鉴别 CTC 早已不能满足有效鉴别各种不同 CTC 的要求。同步原位检测 CTC 肿瘤标示物蛋白表达、染色体异倍体核型 (Kops, et al., 2005 Nat Rev Cancer 5:773) 及细胞形态 (癌栓, 大、小 CTC 等) 是今后 CTC 检测与研究的必然发展趋势。美国 Cytelligen 与国内赛特生物(www.cytointelligen.com) 联合开发的具有自主知识产权的 SE-i·FISH® CTC 检测技术 (Lin 2015, Clin Transl Med 4:38), 已被证明可在不同瘤种的肿瘤病人及 PDX 肿瘤动物模型体内有效检测与锁定具有相关临床意义(如药敏、耐药、转移、复发等)的各种 CTC 亚类细胞, 从而为进一步揭示 CTC 的各

种生物学特征及 CTC 单细胞研究提供了独特而有效的技术手段。然而, 如何高通量地检测、分析各类 iFISH-CTC 则是令人困扰的技术瓶颈。

最近, 世界顶级显微镜公司(蔡司, Zeiss)、著名的细胞图像分析公司(德国 MetaSystems) 与 Cytelligen 及赛特生物经过长期通力合作, 在大量肿瘤临床标本严格验证的基础上, 终于在全球首次成功开发出 Metafer-i·FISH® 全自动 CTC 图像扫描与分析系统 (图 1)。该系统在蔡司 AXIO Imager.Z2 扫描平台的基础上, 集自动上片、X-Y 平面及 Z-断层扫描于一身, 可 24 小时全自动、不间断地对格式化载玻片上的各种不同组织来源的 iFISH-CTC 进行采集、处理、分析, 并且保存各颜色通道下的 CTC 原始数据图像。所有 CTC 细胞均被数字化定位, 记录坐标, 以备随时镜下查验或后续挑取 CTC 单细胞之需。



图 1 Metafer-i·FISH®全自动 CTC 图像扫描与分析系统

由于病人体内原代 CTC 极高的异质性，因此有效检测及研究 CTC 需整体考量细胞三要素，即核酸、蛋白和细胞形态。利用 iFISH 技术，可对不同倍体的 CTC 实施单瘤标、双瘤标或多瘤标检测（图 2）。

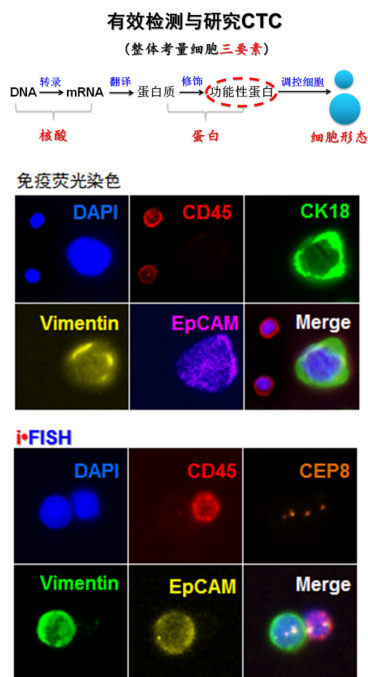


图 2 iFISH 方法有效检测与研究 CTC

细胞表达的蛋白质是细胞内生物链的最终产物，起着直接调控细胞功能的作用。因此相对于检测中间产物 mRNA，检测 CTC 特定蛋白的表达更具无可替代的特殊意义。众所周知，上皮-间质转化 (Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT) 在 CTC 的形成及功能调控 (例如肿瘤耐药) 过程中起着极为重要的作用，因此，在异倍体 CTC 上同步原位检测 EpCAM (E marker) 及 Vimentin (M marker) 的蛋白表达已是 CTC 亚类细胞检测与研究的迫切需要。以本图为例，应用 (EpCAM+Vimentin)-iFISH，可对上皮型(E 表型, EpCAM+)，间质化型 (M 表型, Vimentin+)，或上皮-间质化型 (EM 表型, EpCAM +, Vimentin+) 的 CTC 进行准确检测。根据瘤种及实验目的不同，赛特生物目前已独立成功开发出 iFISH 的系

列产品 (如 CA19-9, AFP, HER2, CD133, 间皮素 methothelin, GFAP 等)，从而使人们可根据需要自由选定相应瘤标-iFISH。

除了高通量快速扫描以外，Metafer-i•FISH® 系统的另一巨大特殊优势在于其可对核实后的 CTC 细胞实时进行分析与统计。鉴于染色体异倍体在肿瘤细胞中的作用已受到人们的日益密切关注 (Passerini, et al., 2016 Nat Commun 7:10754)，针对 iFISH 产品的技术特点及肿瘤病人体内 CTC 的高度异质性，以及小细胞 CTC 具有的特殊临床意义 (Ito et al., 2014 Intl J Oncol 45:227 ; Coumans et al., 2010 Ann Oncol 21:1851)，MetaSystems 与赛特生物团队对相关 CTC 分析软件进行了系统性优化，使得该扫描平台在有效识别病人体内各种 CTC 的基础上，进一步对不同时间段检测的 CTC，从细胞大小、瘤栓、多种瘤标表达及染色体倍体等方面进行多指标综合动态分析 (图 3)，从而精确锁定具有不同临床意义(如耐药、转移等)的 CTC 亚类细胞，为后续 CTC 单细胞研究奠定了基础。

SE-i•FISH® CTC 检测技术及 Metafer-i•FISH® CTC 图像扫描系统目前已被用于多个 CTC 临床实验。此独特的整合技术平台将为人们进一步开展全面的 CTC 检测与研究提供可靠的技术保障。

Cytelligen® CTC 多指标综合动态分析

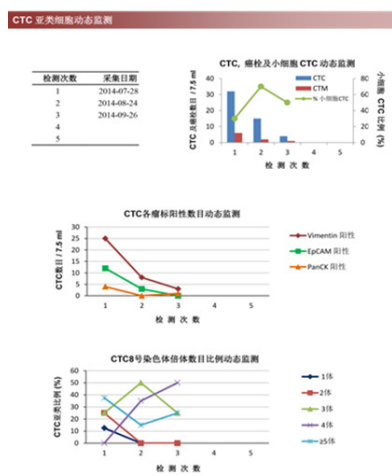


图 3 CTC 多指标综合动态分析