

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.10.017

· 综述 ·

磁性纳米载体用于循环肿瘤细胞的检测

Magnetic nanocarriers for the detection of circulating tumor cells

初琪慧 综述; 刘永军, 张娜 审阅(山东大学药学院 天然产物化学生物学教育部重点实验室, 山东 济南 250012)

[摘要] 循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)是从原发肿瘤分离进入外周血或淋巴循环的肿瘤细胞,与肿瘤转移密切相关。CTC作为液体活检重要标志物之一,支持实时动态重复检测,对于肿瘤的早期筛查、转移抑制、预后评估、复发监测、个性化治疗指导具有重要意义。然而CTC在血液中含量极低,寻找稳定性好、灵敏度高及特异性强的CTC检测方法是当前研究的热点。近年来,磁性纳米载体由于生物相容性好、表面易修饰和磁响应速度快等优势在CTC检测中受到广泛关注。本文阐述了CTC检测的意义,系统归纳了磁性纳米载体用于CTC检测的设计方案,通过巧妙设计构建理想的磁性纳米载体,包括CTC的特异性捕获,在特定刺激下实现CTC的释放,并对其捕获与释放过程进行监测,从而实现CTC的高效检测。

[关键词] 磁性纳米载体;循环肿瘤细胞(CTC);免疫磁分离

[中图分类号] R730.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)10-1177-06

肿瘤转移是导致肿瘤患者死亡的主要原因,约占肿瘤死亡人数的90%^[1]。肿瘤转移主要包括以下几个过程^[2]:(1)原发灶肿瘤细胞增殖;(2)原发灶肿瘤细胞脱落,形成循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC),CTC以单个细胞或细胞簇形式进入循环系统;(3)极少数具有高度转移潜能的CTC存活进入其他组织或器官,形成远处转移;(4)继发肿瘤生成并再次侵袭和转移。CTC检测对于肿瘤早期筛查、早期发现具有重要作用^[3],而稳定、灵敏及高特异性的方法是CTC检测的关键。目前常用的CTC检测方法主要有密度梯度离心法、微孔过滤法、微流控法、介电泳法、基于磁性纳米载体的免疫磁分离法等^[4]。其中,磁性纳米载体具有生物相容性好、表面易修饰和优良的磁富集功能等优点,广泛应用于磁生物分离领域。基于磁性分离的CellSearch®系统是 美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)唯一批准的CTC检测手段,可见磁性纳米载体在CTC分离检测中具有重要地位。本文综述了近年来用于CTC检测的磁性纳米载体的研究现状,以为合理研发基于磁性纳米载体的CTC新检测手段提供思路和方法,推动具有临床应用价值的磁性纳米载体的不断进步与发展。

1 CTC检测的意义

血液中CTC的数量与肿瘤的发生、发展和转移密切相关,检测CTC可用于:(1)肿瘤早期诊断,肿瘤直径在1 mm时,CTC即会进入循环系统^[5-6],而传统影像学手段难以及时发现肿瘤的转移,因此CTC检测可用于实现肿瘤早期诊断;(2)评估预后和复发监测,对已经切除实体肿瘤的患者,若术后监测过程中发现CTC阳性提示肿瘤复发的可能性;(3)指导个体

化治疗,无论是单个CTC还是CTC簇,均携带肿瘤原发灶和转移灶遗传和表型信息。通过分析CTC中的蛋白质、核酸等信息,可用于预判个体耐药性,指导患者用药,调整治疗方案等。

然而,CTC在血液中的含量极低^[7],对CTC的捕获与检测极具挑战。磁性纳米载体具有良好的生物相容性和磁分离能力,在外加磁场的作用下,能够快速实现CTC的分离,具有操作简便和分离效率高的优点。理想的磁性纳米载体应具备以下要求:(1)具有快速磁响应的核芯;(2)表面具有大量易于修饰的活性基团;(3)同时具备捕获、释放和监测功能(图1)。

2 磁性纳米载体的设计

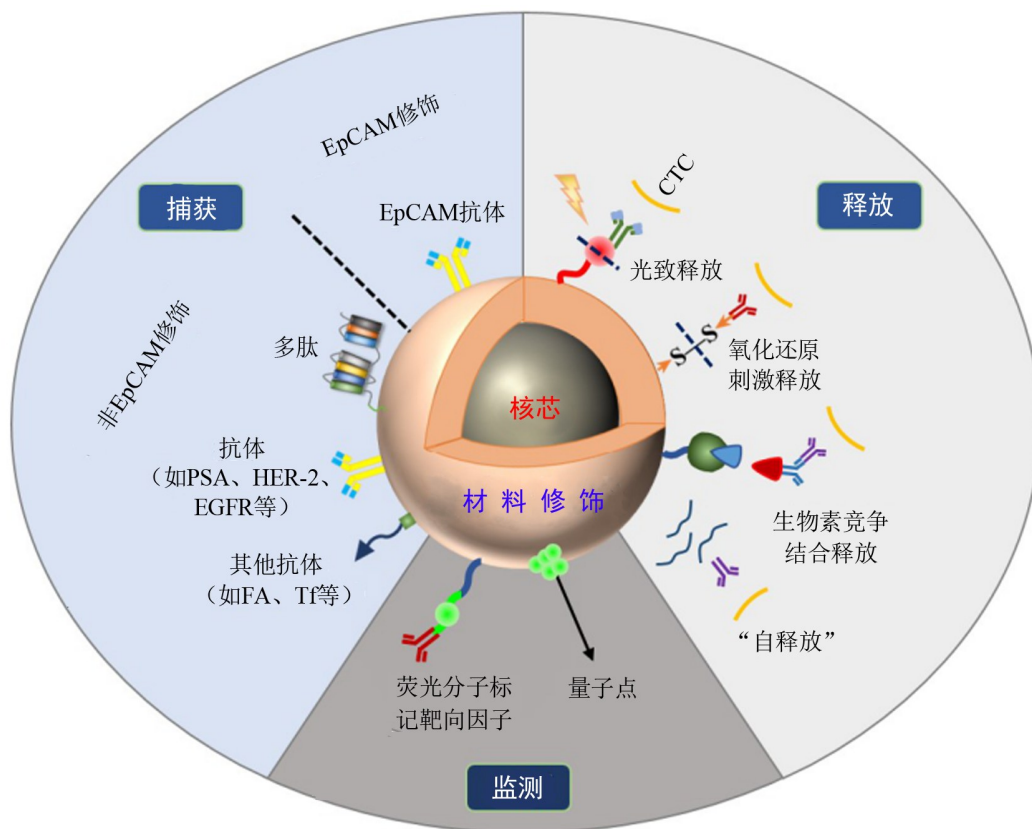
2.1 磁性纳米载体核芯

磁性纳米载体的核芯主要由铁、镍、钴及其氧化物等纳米磁珠组成,以氧化铁(γ - Fe_2O_3 、 Fe_3O_4)应用最多。其中,超顺磁性纳米磁珠在外加磁场的作用下表现磁性,而在移除外加磁场后不具有磁性,粒径范围为10~100 nm,表面积大,在溶液中呈单分散态,不易团聚,是目前应用最广泛的核芯材料^[7-8]。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81974498)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81974498)

[作者简介] 初琪慧(1994-),女,硕士生,主要从事药理学研究, E-mail: 451045990@qq.com

[通信作者] 刘永军(LIU Yongjun, corresponding author),博士,副教授,硕士生导师,主要从事纳米药物递送系统的研究, E-mail: liuyongjun@sdu.edu.cn; 张娜(ZHANG Na, co-corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事靶向生物药剂学和纳米给药系统的研究, E-mail: zhangnancy9@sdu.edu.cn



EpCAM: 上皮细胞黏附分子; PSA: 前列腺抗原; HER-2: 人类表皮生长因子受体2; FA: 叶酸; Tf: 转铁蛋白; CTC: 循环肿瘤细胞

图1 磁性纳米载体用于检测CTC的设计

2.2 核芯的材料修饰

由于磁珠表面缺少可修饰的活性基团,需利用具备活性基团(如-OH、-NH₂、-COOH等)的材料进行表面修饰,以便于抗体、多肽、荧光分子等的进一步连接。材料修饰后能显著改善磁性纳米载体的分散性,不易聚沉,提高磁性纳米载体的稳定性。常用于磁性纳米载体表面修饰材料可分为无机材料、有机材料和仿生材料。

2.2.1 无机材料 无机材料具有良好的生物惰性,能够提高载体的胶体稳定性;表面富含各种官能团,易与各种生物分子偶联,提高抗体的接枝量。同时,无机材料修饰后表面积增大,能够增加与CTC的接触,提高CTC捕获效率。对磁性纳米载体修饰的无机材料主要包括金^[6]、碳^[9]、氧化石墨烯^[10]、二氧化硅^[11]、二氧化锰^[12]、银^[13]等,修饰后能够制备新型的功能性磁性纳米载体。例如,以二氧化硅包覆磁性纳米粒,二氧化硅表面含有丰富的羟基,通过羟基功能化,将上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecules, EpCAM)抗体连接至载体表面^[14];ZHANG等^[15]则利用氧化石墨烯修饰磁性纳米粒,氧化石墨烯巨大的表面积和表面富含的羧基,增加了EpCAM抗体的接枝量。同时,石墨烯具有光热效应,通过建立CTC数目与由光热效应引起的温差之间的标准曲

线,将样品测得的温差代入标准曲线即可对样品中的CTC数目进行定量分析。

2.2.2 有机材料 有机材料修饰工艺简单,能够提高载体的水溶性,使其在血液中不易沉降,表面含有丰富的官能团能够实现生物功能化。有机材料主要包括脂质材料^[16]、生物大分子(如透明质酸等)^[17]、树枝状大分子^[18]、聚合物^[19]等。例如,BANERJEE等^[18]则制备了树枝状大分子修饰的磁性纳米载体,树枝状大分子表面含有丰富的氨基,利于靶向因子转铁蛋白和荧光染料Cy5的连接;MA等^[17]构建了透明质酸修饰的磁性纳米载体,能够提高载体的生物相容性和稳定性;透明质酸表面富含羧基、羟基,易于进一步连接叶酸和EpCAM抗体,实现了双靶修饰。

2.2.3 仿生材料 仿生材料主要包括红细胞膜、白细胞膜、血小板膜及其混合膜等。在样本检测时,由于CTC在血液中的含量极低,血细胞的干扰使捕获纯度降低,即使是获得FDA批准临床使用的CellSearch®系统,仍然会非特异性吸附1 000~3 000个白细胞,导致捕获纯度低^[20-21]。仿生材料(如细胞膜等)修饰的磁性纳米载体在提高血液相容性的同时,能够减少血液中其他细胞的非特异性吸附,提高捕获效率。

XIONG等^[22]通过静电吸附将白细胞膜包覆在磁

性纳米粒表面进行伪装,表面修饰EpCAM抗体用于乳腺癌CTC检测。仿生免疫磁球对白细胞具有隐形作用,可以避免被白细胞非特异性吸附,从而降低样本中的白细胞背景。实验结果表明,90%的CTC可以在15 min内从全血中捕获,且没有检测到非特异性吸附的白细胞,显著提高了CTC的捕获纯度。

与单一仿生白细胞膜相比,白细胞和血小板混合膜在减少白细胞非特异性吸附的同时,血小板膜的存在也能够增加载体与CTC的结合能力。RAO等^[23]将血小板膜和白细胞膜融合,包覆在磁性纳米粒上,然后用特异性抗体EpCAM修饰其表面。实验结果证明,该系统能够快速分离约90%的CTC,与CellSearch®系统相比,细胞捕获效率由66.68%提高到91.77%,细胞捕获纯度由66.53%提高到96.98%。

2.3 磁性纳米载体的表面修饰

理想的磁性纳米载体检测CTC的过程需要包括捕获、释放、监测3个过程。捕获过程是将磁性纳米载体加入全血中共孵育,从中捕获CTC,在外加磁场作用下达到分选CTC的目的;释放过程是CTC捕获后,在一定刺激下实现磁性纳米载体与CTC的解离,便于收集CTC并进一步培养分析;监测则是对磁性纳米载体荧光标记,实时观察CTC捕获和释放的过程^[24]。

2.3.1 捕获过程设计 磁性纳米载体通过免疫亲和法实现对CTC的捕获。CTC表面表达肿瘤组织来源的特异性标志物,将这些标志物的靶向因子修饰于磁性纳米载体表面,通过靶向因子与标志物之间的特异性结合达到捕获CTC的目的。靶向因子可通过共价键直接偶联于磁性纳米载体表面,也可利用亲和素和生物素(biotin)之间的特异性相互作用,将亲和素修饰的磁性纳米载体与生物素化的靶向因子进行连接。目前对CTC捕获的靶向因子修饰主要包括EpCAM修饰、非EpCAM修饰和双靶向因子修饰。

(1)EpCAM修饰 EpCAM是一种由上皮来源的癌细胞表达的常规标志物,在表皮源性癌及相关癌组织中有不同程度的表达,而在外周血细胞中无表达^[25],目前对CTC的捕获以基于EpCAM修饰最常用。CellSearch®系统即是基于EpCAM抗体修饰对CTC进行捕获。通过抗原抗体反应识别血液中表达EpCAM的CTC,在外加磁场的作用下将CTC与血液中其他细胞分离。

基于EpCAM捕获CTC尚存在一定局限性^[26]。例如,在良性结肠疾病患者中,循环上皮细胞呈EpCAM阳性,易产生假阳性的结果^[27]。此外,上皮循环肿瘤细胞进入血液后,在血小板源转化生长因子- β 的刺激下会经历上皮间质转化(epithelial mesenchymal

transformation, EMT)过程,从而导致上皮标志物EpCAM表达减少,上皮标志物的缺失会导致假阴性结果^[28]。此外,EpCAM的表达受局部微环境影响比较大,例如RAO等^[29]通过组织芯片和全血分析发现,转移CTC与原发组织相比,其表面EpCAM表达降低10倍。因此,研究基于非EpCAM修饰来捕获CTC显得极为重要。

(2)非EpCAM修饰 近年来,开发非EpCAM肿瘤组织相关的特异性标志物成为捕获CTC研究的热点。这些非EpCAM修饰的靶向因子包括前列腺抗原(prostatic specific antigen, PSA)^[30]、人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)^[31]、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)^[32]、转铁蛋白^[33]、叶酸^[34]、N-钙黏蛋白^[35]等。对于不同肿瘤来源的CTC,根据其表面特异性标志物对磁性纳米载体进行修饰,有助于提高CTC的捕获效率。如KUI等^[36]制备了EGFR抗体修饰的磁性纳米脂质体,与传统EpCAM抗体修饰的磁性纳米载体相比,EGFR抗体修饰的磁性纳米脂质体在捕获大肠癌患者外周血CTC的过程中,灵敏度显著提高,具有更高的捕获效率和特异性,捕获的细胞数量与临床诊断和病理相一致。

(3)双靶向因子修饰 依赖于单一表面生物标志物捕获CTC应用范围有限,而双靶向因子修饰比单一靶向因子修饰能有效地增强对CTC的识别,是当前提高CTC捕获率的有效策略。经历EMT的CTC会降低上皮标志物如EpCAM的表达,提高间质标志物如EGFR、N-钙黏蛋白的表达。MA等^[37]构建了EpCAM和EGFR双抗体偶联的磁性纳米载体,不仅能捕获EpCAM阳性的CTC,对于EpCAM阴性和经历EMT的CTC均能捕获,是当前依赖EpCAM的有效补充;PO等^[38]研究表明,N-黏钙蛋白抗体与EpCAM抗体双靶向修饰的磁性纳米载体对晚期卵巢癌患者血液中CTC捕获效率显著提高,约为EpCAM单靶向的3倍,具有良好的普遍适用性。

2.3.2 释放过程设计 实现CTC的无损伤释放,获取高生物活力的CTC进行体外培养,结合基因分析和药物试验,能够反映出肿瘤细胞基因突变以及其对治疗药物的敏感性等信息^[39]。因此,在磁性纳米载体与生物靶分子之间引入刺激响应性基团,高效捕获CTC后,在特定的刺激下,使磁性纳米载体和CTC有效解离,方便收集CTC并在体外进行后续培养,对肿瘤的预后和个性化治疗具有重要意义。目前,实现CTC刺激响应型释放主要包括光致释放、生物素触发释放、氧化还原刺激释放、“自释放”等(表1)。

表1 CTC刺激响应释放的类型

释放类型	响应基团	释放率 (%)	存活率 (%)	参考文献
光致释放	7-氨基香豆素	73	90	[40]
	邻硝基苄基	89	97	[41]
生物素触发释放	生物素-亲和素	70	85	[42]
氧化还原刺激释放	二硫键	89	96	[43]
		90	98	[44]
“自释放”	二氧化锰	55	70	[12]
	金属有机骨架材料MOF	95	94	[45]

(1)光致释放 光致释放主要是通过通过在磁性纳米载体与生物靶分子之间连接光敏基团,在紫外或近红外光照射下光敏基团发生断裂,从而释放CTC。光敏基团主要有硝基苄基类、香豆素类、喹啉类等,光作为外在刺激能够精准调控,有利于实现细胞的“定时”释放。LV等^[40]以链霉素亲和素(streptomycin avidin, SA)修饰磁性纳米载体,将7-氨基香豆素和生物素反应生成光敏连接剂,通过生物素与SA之间反应构建光致释放CTC磁性纳米载体。在光照条件下,香豆素中的C-O键断裂CTC释放,释放的细胞仍能保持增殖能力。

(2)生物素竞争结合释放 生物素结合竞争释放CTC,释放条件温和,主要是通过通过在载体与抗体之间引入能互相结合的链霉素亲和素与短肽序列,由于生物素与链霉素亲和素具有更高的亲和力,因此加入生物素后,使连接抗体的短肽从结合位点脱离,从而达到释放CTC的目的。LU等^[42]通过strep-tag II(一种短肽序列)连接抗体, strep-tactin(突变链霉素亲和素分子)连接磁性纳米载体, strep-tag II与strep-tactin特异性结合构建了CTC捕获免疫磁分离系统。实验结果表明,捕获后加入生物素能够实现CTC释放,成功地用于17例肿瘤患者外周血中CTC的检测,并得到释放后的CTC。

(3)氧化还原刺激释放 氧化还原刺激释放是通过在磁性纳米载体与生物靶分子之间引入二硫键,捕获CTC后,加入还原剂二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT),导致二硫键断裂,从而实现CTC的释放。HUANG等^[43]以巨噬细胞内吞磁性纳米粒,表面硅烷化,通过一种含二硫键的连接剂LC-SPDP和生物素-链霉素亲和素相互作用,在载体表面引入了EpCAM抗体。在加入DTT二硫键断裂后,近89%的CTC从载体表面释放。对释放的CTC进行活力研究发现,约96%的细胞存活,说明氧化还原诱导的细胞释放有利于保持细胞活性,便于后续细胞分析。

(4)“自释放” “自释放”是由于修饰磁性纳米粒的高分子材料自身具有环境响应性,在外界信号刺激下,材料自身发生降解,从而实现使CTC与磁性

纳米载体解离。自释放能够减少释放CTC过程中的额外步骤,提高细胞生存率。XIE等^[45]用金属有机骨架材料(MOF)修饰磁性纳米粒,由于MOF具有pH敏感性,因此捕获CTC后,在pH=5.5的培养基中继续共培养48 h,表面MOF材料被降解,从而释放CTC。实验结果显示,释放的CTC仍能保持良好的活性,使用基因突变分析和RNA测序技术对捕获的CTC进行了分析,结合临床诊断在指导精确医学治疗方面具有重要意义。

2.4 监测过程设计

为了实时监控捕获CTC的过程,实现CTC捕获后的可视化,通常采用荧光标记靶向因子或磁性纳米载体包载荧光素、量子点等来实现,常用的荧光染料主要包括异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)、香豆素、罗丹明B、近红外染料(Cy5)等。如DING等^[32]以FITC标记EGFR多肽,用于监测CTC的捕获过程;ZHOU等^[44]通过层层自组装将量子点包埋在磁性纳米载体中,能够检测到捕获后的CTC;而在外在环境刺激下CTC释放,荧光消失,说明载体与CTC分离,便于CTC后续培养分析。

3 磁性纳米载体的临床应用

目前基于磁性纳米载体的CellSearch®系统已上市,在临床上用于乳腺癌、结直肠癌和前列腺癌CTC的检测并取得良好的效果。对于低表达EpCAM的CTC,设计特异性高、灵敏性强的磁性纳米载体用于临床CTC检测是当前的研究热点,如NIE等^[46]设计了FA修饰的磁性纳米载体成功从卵巢癌患者的外周血中检测到CTC。将临床样本中分离出的CTC进行测序分析能够得到肿瘤细胞耐药性、预后评估以及肿瘤转移机制等信息,如MENG等^[8]构建了红细胞膜修饰的磁性纳米载体,从前列腺癌患者的血液样本中成功分离CTC后,进行基因突变分析,结果表明肿瘤转移与PIK3CA基因突变有关。

4 结 语

磁性纳米载体由于其磁响应速度快、生物相容

性好、易于功能化修饰等优点,在CTC检测中占据了重要地位。但由于血液中CTC含量低,肿瘤异质性使肿瘤细胞表面抗原的表达不均一,易出现白细胞非特异性吸附与抗体识别率低的问题,影响了CTC检测的灵敏性。针对CTC的捕获、释放与监测过程,合理设计磁性纳米载体,提高磁性纳米载体对CTC的捕获率与捕获纯度,从而满足临床需求,具有良好的研究及应用前景^[47]。

[参 考 文 献]

- [1] CHISTIYAKOV D A, CHEKHONIN V P. Circulating tumor cells and their advances to promote cancer metastasis and relapse, with focus on glioblastoma multiforme[J]. *Exp Mol Pathol*, 2018, 105(2): 166-174. DOI:10.1016/j.yexmp.2018.07.007.
- [2] MASSAGUÉ J, OBENAUF A C. Metastatic colonization by circulating tumour cells[J/OL]. *Nature*, 2016, 529(7586): 298-306[2020-02-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5029466/>. DOI:10.1038/nature17038.
- [3] TAN Y, WU H. The significant prognostic value of circulating tumor cells in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Curr Probl Cancer*, 2018, 42(1): 95-106. DOI: 10.1016/j.crrproblcancer.2017.11.002.
- [4] AGARWAL A, BALIC M, EL-ASHRY D, et al. Circulating tumor cells: strategies for capture, analyses, and propagation[J]. *Cancer J*, 2018, 24(2):70-77. DOI: 10.1097/PPO.0000000000000310.
- [5] GOODMAN C R, SEAGLE B L, FRIEDL T W P, et al. Association of circulating tumor cell status with benefit of radiotherapy and survival in early-stage breast cancer[J/OL]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(8): e180163[2020-02-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6143053/>. DOI:10.1001/jamaoncol.2018.0163.
- [6] XUE T, WANG S Q, OU G Y, et al. Detection of circulating tumor cells based on improved SERS-active magnetic nanoparticles[J]. *Anal Methods*, 2019, 11(22): 2918-2928. DOI:10.1039/c9ay00646j.
- [7] HUANG Q Q, WANG Y, CHEN X X, et al. Nanotechnology-based strategies for early cancer diagnosis using circulating tumor cells as a liquid biopsy[J/OL]. *Nanotheranostics*, 2018, 2(1): 21-41[2020-02-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5743836/>. DOI:10.7150/ntno.22091.
- [8] MENG Q F, CHENG Y X, HUANG Q, et al. Biomimetic immunomagnetic nanoparticles with minimal non-specific biomolecule adsorption for enhanced isolation of circulating tumor cells[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(32): 28732-28739. DOI: 10.1021/acsami.9b10318.
- [9] LI F R, LI Q, ZHOU H X, et al. Detection of circulating tumor cells in breast cancer with a refined immunomagnetic nanoparticle enriched assay and nested-RT-PCR[J]. *Nanomedicine*, 2013, 9(7): 1106-1113. DOI:10.1016/j.nano.2013.03.002.
- [10] LAI C H, TSAI W S, YANG M H, et al. A two-dimensional immunomagnetic nano-net for the efficient isolation of circulating tumor cells in whole blood[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(44): 21119-21127. DOI:10.1039/c9nr06256d.
- [11] WU S M, GU L, QIN J W, et al. Rapid label-free isolation of circulating tumor cells from patients' peripheral blood using electrically charged Fe₃O₄ nanoparticles[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(4): 4193-4203. DOI:10.1021/acsami.9b16385.
- [12] XIAO L, HE Z B, CAI B, et al. Effective capture and release of circulating tumor cells using core-shell Fe₃O₄@MnO₂ nanoparticles[J/OL]. *Chemical Physics Letters*, 2017, 668: 35-41[2020-02-28]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009261416309630>. DOI: 10.1016/j.cplett.2016.12.014.
- [13] PANG Y F, WANG C W, XIAO R, et al. Dual-selective and dual-enhanced SERS nanoprobe strategy for circulating hepatocellular carcinoma cells detection[J]. *Chemistry*, 2018, 24(27): 7060-7067. DOI:10.1002/chem.201801133.
- [14] CHANG Z M, WANG Z, SHAO D, et al. Shape engineering boosts magnetic mesoporous silica nanoparticle-based isolation and detection of circulating tumor cells[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(13): 10656-10663. DOI:10.1021/acsami.7b19325.
- [15] ZHANG H Y, ZHANG Z, WANG Y H, et al. Rapid and sensitive detection of cancer cells based on the photothermal effect of graphene functionalized magnetic microbeads[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(44): 29933-29938. DOI:10.1021/acsami.6b09490.
- [16] CUI S, NI Y, ZHAO Y, et al. Epidermal growth factor receptor-targeted immunomagnetic liposomes for circulating tumor cell enumeration in non-small cell lung cancer treated with epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors[J/OL]. *Lung Cancer*, 2019, 132: 45-53[2020-02-28]. [https://www.lungcancerjournal.info/article/S0169-5002\(19\)30390-3/](https://www.lungcancerjournal.info/article/S0169-5002(19)30390-3/). DOI: 10.1016/j.lungcan.2019.04.003.
- [17] MA S, ZHOU X, CHEN Q, et al. Multi-targeting magnetic hyaluronan capsules efficiently capturing circulating tumor cells[J/OL]. *J Colloid Interface Sci*, 2019, 545: 94-103[2020-02-28]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979719303133?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.jcis.2019.03.025
- [18] BANERJEE S S, JALOTA-BADHWAR A, SATAVALEKAR S D, et al. Transferrin-mediated rapid targeting, isolation, and detection of circulating tumor cells by multifunctional magneto-dendritic nanosystem[J]. *Adv Healthc Mater*, 2013, 2(6): 800-805. DOI: 10.1002/adhm.201200164.
- [19] SEYFOORI A, SEYYED EBRAHIMI S A, SAMIEI E, et al. Multifunctional hybrid magnetic microgel synthesis for immune-based isolation and post-isolation culture of tumor cells[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(28): 24945-24958. DOI:10.1021/acsami.9b02959.
- [20] ZHOU X X, LUO B, KANG K, et al. Leukocyte-repelling biomimetic immunomagnetic nanopatform for high-performance circulating tumor cells isolation[J]. *Small*, 2019, 15(17): e1900558. DOI: 10.1002/sml.201900558.
- [21] ZHU D M, WU L, SUO M, et al. Engineered red blood cells for capturing circulating tumor cells with high performance[J]. *Nanoscale*, 2018, 10(13): 6014-6023. DOI:10.1039/c7nr08032h.
- [22] XIONG K, WEI W, JIN Y J, et al. Biomimetic immuno-magneto-somes for high-performance enrichment of circulating tumor cells[J]. *Adv Mater Weinheim*, 2016, 28(36): 7929-7935. DOI:10.1002/adma.201601643.
- [23] RAO L, MENG Q F, HUANG Q Q, et al. Early cancer diagnosis: platelet-leukocyte hybrid membrane-coated immunomagnetic beads for highly efficient and highly specific isolation of circulating tumor cells (adv. Funct. Mater. 34/2018)[J]. *Adv Funct Mater*, 2018, 28(34): 1870241. DOI:10.1002/adfm.201870241.

- [24] XIE M, LU N N, CHENG S B, et al. Engineered decomposable multifunctional nanobioprobes for capture and release of rare cancer cells[J]. *Anal Chem*, 2014, 86(9): 4618-4626. DOI: 10.1021/ac500820p.
- [25] EYVAZI S, FARAJNIA S, DASTMALCHI S, et al. Antibody based EpCAM targeted therapy of cancer, review and update[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2018, 18(9): 857-868. DOI: 10.2174/1568009618666180102102311.
- [26] AUSTIN R G, HUANG T J, WU M, et al. Clinical utility of non-EpCAM based circulating tumor cell assays[J/OL]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 125: 132-142[2020-02-28]. <https://academic.oup.com/clinchem/article/62/4/571/5611746>. DOI: 10.1016/j.addr.2018.01.013.
- [27] PANTEL K, DENÈVE E, NOCCA D, et al. Circulating epithelial cells in patients with benign colon diseases[J]. *Clin Chem*, 2012, 58(5): 936-940. DOI:10.1373/clinchem.2011.175570.
- [28] GABRIEL M T, CALLEJA L R, CHALOPIN A, et al. Circulating tumor cells: a review of non-EpCAM-based approaches for cell enrichment and isolation[J]. *Clin Chem*, 2016, 62(4): 571-581. DOI: 10.1373/clinchem.2015.249706.
- [29] RAO C G, CHIANESE D, DOYLE G V, et al. Expression of epithelial cell adhesion molecule in carcinoma cells present in blood and primary and metastatic tumors[J]. *Int J Oncol*, 2005, 27(1): 49-57.
- [30] GOURDIN T, SONPAVDE G. Utility of cell-free nucleic acid and circulating tumor cell analyses in prostate cancer[J/OL]. *Asian J Androl*, 2018, 20(3): 230-237[2020-02-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5952476/>. DOI:10.4103/aja.aja_1_18.
- [31] SAEI A, ASFIA S, KOUGHAKZADEH H, et al. Antibody-modified magnetic nanoparticles as specific high-efficient cell-separation agents[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2020, 108(6): 2633-2642. DOI: 10.1002/jbm.b.34595.
- [32] DING J, WANG K, TANG W J, et al. Construction of epidermal growth factor receptor peptide magnetic nanovesicles with lipid bilayers for enhanced capture of liver cancer circulating tumor cells[J]. *Anal Chem*, 2016, 88(18): 8997-9003. DOI:10.1021/acs.analchem.6b01443.
- [33] ASADIAN-BIRJAND M, BIGLIONE C, BERGUEIRO J, et al. Transferrin decorated thermoresponsive nanogels as magnetic trap devices for circulating tumor cells[J]. *Macromol Rapid Commun*, 2016, 37(5): 439-445. DOI:10.1002/marc.201500590.
- [34] LIU W T, NIE L J, LI F L, et al. Folic acid conjugated magnetic iron oxide nanoparticles for nondestructive separation and detection of ovarian cancer cells from whole blood[J]. *Biomater Sci*, 2016, 4(1): 159-166. DOI:10.1039/c5bm00207a.
- [35] WANG Z L, SUN N, LIU H, et al. High-efficiency isolation and rapid identification of heterogeneous circulating tumor cells (CTCs) using dual-antibody-modified fluorescent-magnetic nanoparticles[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(43): 39586-39593. DOI: 10.1021/acsami.9b14051.
- [36] KUAI J H, WANG Q, ZHANG A J, et al. Epidermal growth factor receptor-targeted immune magnetic liposomes capture circulating colorectal tumor cells efficiently[J/OL]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(3): 351-359[2020-02-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5776396/>. DOI:10.3748/wjg.v24.i3.351.
- [37] MA X Y, WU L L, CHEN L, et al. Enhanced and high-purity enrichment of circulating tumor cells based on immunomagnetic nanospheres[J]. *ACS Appl Nano Mater*, 2018, 1(8): 4019-4027. DOI: 10.1021/acsanm.8b00802.
- [38] PO J W, ROOHULLAH A, LYNCH D, et al. Improved ovarian cancer EMT-CTC isolation by immunomagnetic targeting of epithelial EpCAM and mesenchymal N-cadherin[J/OL]. *J Circ Biomark*, 2018, 7: 1849454418782617[2020-02-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6043919/>. DOI:10.1177/1849454418782617.
- [39] SHARMA S, ZHUANG R, LONG M, et al. Circulating tumor cell isolation, culture, and downstream molecular analysis[J/OL]. *Biotechnol Adv*, 2018, 36(4): 1063-1078[2020-02-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5971144/>. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.03.007.
- [40] LV S W, WANG J, XIE M, et al. Photoresponsive immunomagnetic nanocarrier for capture and release of rare circulating tumor cells [J/OL]. *Chem Sci*, 2015, 6(11): 6432-6438[2020-02-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5507187/>. DOI: 10.1039/c5sc01380a.
- [41] LEE H J, OH J H, OH J M, et al. Efficient isolation and accurate in situ analysis of circulating tumor cells using detachable beads and a high-pore-density filter[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2013, 52(32): 8337-8340. DOI:10.1002/anie.201302278.
- [42] LU N N, XIE M, WANG J, et al. Biotin-triggered decomposable immunomagnetic beads for capture and release of circulating tumor cells[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(16): 8817-8826. DOI: 10.1021/acsami.5b01397.
- [43] HUANG C, YANG G, HA Q, et al. Multifunctional “smart” particles engineered from live immunocytes: toward capture and release of cancer cells[J]. *Adv Mater Weinheim*, 2015, 27(2): 310-313. DOI:10.1002/adma.201402213.
- [44] ZHOU X X, LUO B, KANG K, et al. Multifunctional luminescent immuno-magnetic nanoparticles: toward fast, efficient, cell-friendly capture and recovery of circulating tumor cells[J]. *J Mater Chem B*, 2019, 7(3): 393-400. DOI:10.1039/c8tb02701c.
- [45] XIE W, YIN T L, CHEN Y L, et al. Capture and “self-release” of circulating tumor cells using metal-organic framework materials[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(17): 8293-8303. DOI:10.1039/c8nr09071h.
- [46] NIE L J, LI F L, HUANG X L, et al. Folic acid targeting for efficient isolation and detection of ovarian cancer CTCs from human whole blood based on two-step binding strategy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(16): 14055-14062. DOI: 10.1021/acsami.8b02583.
- [47] 白日兰, 郭寒菲, 崔久崑. 肿瘤精准医学时代下精准检测技术的发展现状与临床应用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(2): 103-108. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.02.001.

[收稿日期] 2020-03-02

[修回日期] 2020-08-22

[本文编辑] 党瑞山