

免疫磁分离技术在循环肿瘤细胞检测中的研究进展

赵璐璐¹, 洪甜¹, 郝一然², 陈尔凝¹, 李静雯¹, 杜美红¹

1.北京市科学技术研究院分析测试研究所(北京市理化分析测试中心),北京 100094;

2.北京城市学院生物医药学部,北京 101309

摘要: 肿瘤侵袭和转移是癌症患者死亡的主要原因,循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)作为肿瘤转移的“种子”细胞,携带完整的细胞生物学信息,在肿瘤的早期诊断、预后评估及个体化治疗监测等方面具有重要意义。然而,由于血液中 CTC 细胞数量极低,开发高效的富集分离方法是实现 CTC 精准分析的关键。免疫磁分离技术具有高特异性、高效富集等优势,能够高效、特异性地分离和富集目标物,为生物医学研究和临床诊断提供了强大的工具。随着材料科学、生物技术、电子工程技术等多学科的交叉融合发展,免疫磁分离技术在前沿分析领域中的应用价值得到了显著提升,该技术在 CTC 检测领域有望迎来重大突破。综述了 CTC 免疫磁性材料的设计原理、CTC 免疫磁分离捕获平台及免疫磁分离技术与微流控联用研究进展,探讨了免疫磁分离技术在 CTC 检测中的挑战及优化策略,以期为推动 CTC 检测技术更深入的应用提供参考。

关键词: 循环肿瘤细胞;免疫磁分离;免疫磁性复合材料;微流控芯片

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2025.0030

中图分类号:Q291, R730

文献标志码:A

Research Progress of Immunomagnetic Separation Technology in Detection of Circulating Tumor Cell

ZHAO Lulu¹, HONG Tian¹, HAO Yiran², CHEN Erning¹, LI Jingwen¹, DU Meihong¹

1. Institute of Analysis and Testing, Beijing Academy of Science and Technology (Beijing Center for Physical & Chemical Analysis), Beijing 100094, China;

2. School of Biomedicine, Beijing City University, Beijing 101309, China

Abstract: Tumor invasion and metastasis are the primary causes of death in cancer patients. Circulating tumor cell (CTC), as the seed cells of tumor metastasis, carries complete cellular biological information and hold significant importance in early diagnosis, prognosis assessment, and personalized treatment monitoring of tumors. However, due to the extremely low number of CTC in the blood, developing efficient enrichment and separation methods are crucial for the precise analysis of CTC. Immunomagnetic separation technology, with its advantages of high specificity and efficient enrichment, can effectively and specifically isolate and enrich target substances, providing a powerful tool for biomedical research and clinical diagnosis. As the cross-disciplinary integration and development of materials science, biotechnology, and electronic engineering technology, the application value of immunomagnetic separation technology in cutting-edge analytical areas has been enhanced, expecting to achieve significant breakthroughs in the field of CTC detection. This article reviewed the design of CTC immunomagnetic material, the CTC immunomagnetic separation and capture platform, and the combination of immunomagnetic separation technology with microfluidics, discussed the challenges and optimization strategies of immunomagnetic separation technology in CTC detection, in order to provide a reference for promoting the deeper application of CTC detection technology.

Keywords: circulating tumor cell; immunomagnetic separation technology; immunomagnetic composite material; microfluidics

收稿日期:2025-03-04; 接受日期:2025-05-06

基金项目:北京市科学技术研究院财政资助项目(24CB003-14)。

联系方式:赵璐璐 E-mail: zhll2014@yeah.net

在全球范围内,癌症已成为严重威胁人类健康的重大疾病。世界卫生组织国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)于2020年发布的《全球癌症负担报告》指出:全球癌症发病率持续上升。随着全球人口老龄化加剧、生活环境改变以及不良生活方式的影响,预计到2040年,全球癌症新发病例数将比2020年增长47%^[1]。聚焦国内,国家癌症中心2024年发布的《2022年中国癌症发病率和死亡率》报告显示,我国癌症新发病例和死亡人数较前几年均有所增加^[2]。癌症的早期检测对于降低死亡率和改善患者预后至关重要。目前,癌症的传统诊断方法主要集中在影像学检查、组织病理学检查、生化检验等方法,然而传统诊断方法在早期诊断的灵敏度、特异性、成本和可及性等方面存在诸多局限性,严重影响患者的生存率和生活质量。

肿瘤侵袭和转移是癌症患者死亡的主要原因,从实体瘤中脱落下来进入外周血的循环肿瘤细胞是肿瘤发生远处转移的关键,这些细胞具有高度异质性,携带着肿瘤发生、发展及转移潜能的关键信息,通过捕捉检测外周血中痕量存在的CTC可为癌症患者和高危人群提供精准可靠、实时无创的系统解决方案,在肿瘤早期筛查、疗效监测、预后评估、复发转移监测及精准治疗中具有重要的临床价值。然而,外周血中CTC数量稀少,每毫升血液中通常仅有几个至几十个,且混杂于大量的血细胞中,使得CTC的检测极具挑战性。

免疫磁分离技术因其具有特异性捕获、磁性分离优势可为CTC的高效富集提供解决方案。目前,免疫磁分离技术已广泛应用于多种癌症类型的CTC检测中,包括乳腺癌、肺癌、结直肠癌等。以该技术为代表的CellSearch和CellCollector系统已获得国家药品监督管理局的批准,可用于临床上CTC的检测,并被列入美国国家综合癌症网络乳腺癌指南和中国临床肿瘤协会乳腺癌诊疗指南^[3]。然而,现有临床应用依然面临CTC异质性强、分离纯度低、捕获后功能分析受限、检测设备与成本较高等挑战。

随着新型磁性复合材料的研制、CTC免疫识别机理的解析及免疫磁分离技术与微流控技术的联合应用等热点研究的开展,免疫磁分离技术在CTC检测领域具有广阔的应用前景。本综述主要总结了CTC免疫磁分离技术原理、新型免疫磁分离

捕获平台及免疫磁分离与微流控技术的结合应用研究进展,为进一步开发和优化CTC富集和检测技术,推动CTC检测技术的进步提供有价值的参考。

1 CTC免疫磁分离技术概述

1.1 CTC免疫磁分离技术原理

免疫磁分离技术结合免疫学和磁学原理,能够实现目标细胞或生物分子的特异性捕获和分离富集。免疫磁分离技术中常用的磁性纳米粒子通常具有超顺磁性,即在外界磁场作用下能够迅速被磁化,而当磁场消失后,又能快速失去磁性,不会在溶液中形成磁团聚。这种特性使得磁性纳米粒子在分离过程中能够快速响应磁场,便于操作和分离,同时又不会影响生物分子的活性和生物功能。抗原和抗体之间存在高度特异性识别和结合能力也是免疫磁分离技术应用的关键,该技术将特异性抗体通过化学方法偶联到磁性纳米粒子表面,形成免疫磁珠,当含有目标抗原的样品与免疫磁珠混合时,免疫磁珠表面的抗体就会与目标抗原发生特异性结合,形成“免疫磁珠-抗原”复合物,从而实现目标抗原的特异性捕获。综上,CTC免疫磁分离技术可通过免疫磁性复合材料表面特异性捕获识别并捕获外周血样本CTC表面标志物,形成免疫磁性材料-靶细胞复合物,在外加磁场作用下,定向移动并被吸附至磁场区域,从而实现CTC靶细胞的分离富集。

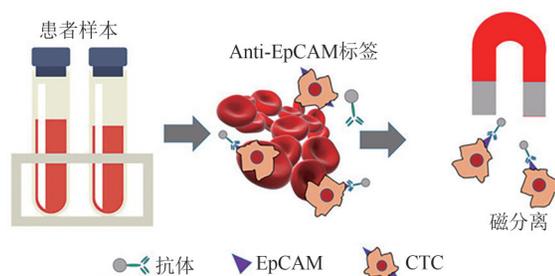


图1 CTC免疫磁分离原理^[4]

Fig. 1 Principle of CTC immunomagnetic separation^[4]

1.2 CTC免疫磁分离技术分类

CTC免疫磁分离技术通常分为阳性选择法、阴性选择法和联合选择法。阳性选择法主要利用免疫磁性材料直接捕获目标CTC。该过程主要是针对CTC特异性高表达标志物设计免疫磁性材

料,通过免疫磁性材料直接识别外周血中的CTC,实现CTC的特异性分离与富集。这种方法富集得到的CTC纯度相对较高,有利于后续的单细胞分析等深入研究,但可能会因肿瘤细胞表面抗原表达的异质性而遗漏部分CTC。

阴性选择法则是通过去除血液中的正常血细胞来间接富集CTC。采用针对血细胞表面标志物的免疫磁性材料,将白细胞等血细胞吸附去除,剩余部分即为CTC。该方法对抗原表达复杂多变的CTC有更好的包容性,可得到更多类型的CTC。然而,由于去除大量血细胞时,富集产物中可能残留少量血细胞杂质,因而样本需要进一步纯化处理。

为了克服阳性选择和阴性选择的局限性,联合选择法应运而生。它结合了两者的优点,先利用阴性选择去除大部分血细胞,减少背景干扰,再通过阳性选择针对CTC特异性标志物进行精准富集,从而能够提高CTC的捕获效率与纯度。

1.3 CTC免疫磁分离技术优势及实际应用价值

相较于传统的组织活检等肿瘤检测方法,CTC免疫磁分离检测技术具备非侵入性、微创性的取样优势,该取样方式更容易被患者接受,也便于对患者进行多次取样实现肿瘤的动态监测。与CTC分离富集的物理法相比,免疫磁分离技术利用免疫磁珠表面的特异性抗体与循环肿瘤细胞表面的抗原进行特异性结合,能够精准地识别和捕获肿瘤细胞,减少其他细胞的干扰,对目标细胞的分离具有高特异性。同时,该技术操作温和,对细胞的损伤较小,分离得到的肿瘤细胞可进行形态学观察、免疫组化分析、基因检测等,从而获取肿瘤细胞的多方面信息,为肿瘤的诊断、治疗和预后评估提供更全面的依据。另外,在自动化检测背景下,免疫磁分离技术的操作流程相对规范,更易于实现自动化,在大规模的临床检测中,自动化的免疫磁分离系统不仅能够提高工作效率,还可减少人为操作误差,提高检测结果的一致性和可靠性。

CTC免疫磁分离检测技术在肿瘤不同的发生发展阶段具备独特的临床应用价值。在肿瘤早期阶段,通常血液中可能已经存在少量的循环肿瘤细胞,利用CTC免疫磁分离技术可以检测到这些细胞,有助于在肿瘤尚处于较小、无症状阶段实现早期诊断,为患者争取更多的治疗时间和更好的

预后。在肿瘤治疗过程中,通过CTC免疫磁分离技术可对治疗前后患者血液中CTC的数量、类型和生物学特性等进行预后评估。一般来说,治疗前血液中CTC数量较多、具有某些特定分子特征的患者,往往预后较差,而治疗过程中CTC数量的动态变化能够反映治疗效果,帮助医生及时调整治疗方案。另外,CTC免疫磁分离技术的临床应用,可对分离出的CTC进行基因检测和分子特征分析,了解肿瘤细胞的基因突变情况、耐药相关标志物等信息,有助于指导个性化的精准治疗,提高治疗效果。在肿瘤患者病情监测中,CTC免疫磁分离技术有助于检测肿瘤转移的发生,CTC是肿瘤发生远端转移的重要根源,定期检测血液中的CTC,可以及时发现肿瘤细胞是否已经进入血液循环并发生远处转移,有助于早期干预和预防转移的发生,对提高患者生存率具有重要意义。

2 CTC免疫磁分离捕获平台

免疫磁性复合物是CTC免疫磁分离捕获平台的关键,主要由磁性材料和特异性捕手组成。其中,具有良好的磁响应和生物相容性的磁性材料是CTC免疫磁分离捕获平台的优良载体,磁性材料修饰靶向识别CTC标志物的特异性捕手是评价其性能的重要指标。

2.1 磁性材料的设计

免疫磁分离技术利用磁性材料在外加磁场下的快速响应特性,能够实现从复杂生物样本中高效分离CTC。在CTC检测中,具备磁学特性和纳米效应的磁珠是纳米磁性材料的典型代表,也被应用于首个批准用于临床CTC检测的CellSearch系统,但传统磁珠存在捕获效率有限、特异性不足、单细胞的分析受限等问题,限制了其在临床和科研中的应用效果,新型磁性材料的设计与开发在提高免疫磁分离效果方面有重要意义。

磁性碳纳米材料是将磁性纳米粒子与碳纳米材料(如碳纳米管、石墨烯等)复合而成的新型材料,其内核为磁性颗粒,外壳为石墨碳层,兼具高磁响应性和吸附能力,该类材料具有 π - π 堆积作用和疏水作用增强了对CTC表面标志物的特异结合,成为CTC捕获和分离的理想载体。有研究表明,通过在碳纳米管表面修饰特定的生物分子,可以显著提高CTC的捕获效率^[5]。Guo等^[6]利用

修饰电极磁性纳米管的独特性能,通过其与 CTC 表面标志物的特异性作用,引起电极阻抗变化,实现对 CTC 的高灵敏检测,检测限达到 $1 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。同样,Cui 等^[7]基于石墨烯量子点 GQDs、 Fe_3O_4 和 MoS_2 的磁性碳纳米材料建立了 CTC 的一步生物成像和富集法,该方法表现出低的细胞毒性和 90% 的平均捕获效率,实现了全血中多达 10 种肿瘤细胞的高灵敏检测。此外,磁性碳纳米材料还可以与其他检测技术结合使用,以提高 CTC 检测的准确性。例如,与电化学传感技术结合,开发出新型的电化学传感器,这些传感器利用碳纳米材料的优良导电性和高表面积,实现了对 CTC 的快速、灵敏检测。这种方法不仅具有成本低、操作简便的优点,还可以实现对多药耐药性癌细胞的早期诊断^[8]。

磁性金属有机框架是由金属离子或金属簇与有机配体通过自组装形成的具有周期性网络结构的多孔材料,高比表面积、可调节孔道结构的磁性金属有机框架在 CTC 检测中展现出巨大的应用潜力^[9]。Jian 等^[10]集成磁性金属有机框架纳米颗粒和 TiO_2 纳米管阵列的一体化装置用于 CTC 的捕获、分析,在模拟血液环境实验中对 CTC 的捕获率为 90%,而对正常血细胞的捕获率仅为 5%。Hu 等^[11]设计并合成了 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{UIO}-67$ 磁性材料,应用于 CTC 检测的临床双盲测试,结果显示外周血样本可显著区分胃肠道肿瘤患者与正常人群,检出率达到 100%,其中 CTC 检出个数在 $1 \sim 10 \text{ cells} \cdot 5 \text{ mL}^{-1}$,且在捕获 CTC 后可诱导金属框架塌陷获得满足下游深度分析的活性 CTC。针对不同金属框架的物化性质,可开发不同的 CTC 捕获后低损释放策略。Wang 等^[12]构建用于捕获 CTC 的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{ZIF}-8$ 磁性金属框架材料,在酸性环境 (pH 6.0) 和近红外辐射的协同作用下,可释放出具有较高细胞活力的 CTC,有利于后续的培养和分析。

磁性水凝胶材料结合了水凝胶生物相容性、多种材料的改性设计、环境响应性等特点,其在 CTC 的捕获、富集和检测中也得到了广泛关注。Wang 等^[13]开发了包裹有防污水凝胶层的磁性纳米颗粒,具有良好的稳定性和抗干扰能力,在模拟临床血液样本中靶细胞捕获率达 96%。同时,表面修饰抗污水凝胶层的磁性纳米颗粒,可以实现对 CTC 的温和捕获和高效回收,确保细胞的高纯度和高活性,这种方法不仅提高了 CTC 的检测效

率,还为后续分子分析提供了可靠的细胞样本。此外,磁性水凝胶材料还可以与其他材料结合形成多功能复合材料,进一步增强了 CTC 检测的性能。丁丕等^[14]构建了外层修饰的 CdSe/ZnS 量子点和明胶磁性复合物的 CTC 捕获平台,发现其在混合上皮细胞和间充质模型细胞的捕获效率分别达到 85.5% 和 92.4%,不仅有效改善了 CTC 富集过程中的漏检问题,还可温控明胶分子构象,使捕获后细胞低损释放,细胞活性达到 94.9%。Ma 等^[15]利用两性离子羧基甜菜碱甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酸胺苯硼酸酯、聚乙烯醇等材料,制备出基于自组装的自愈合三维网络水凝胶体系,不仅可利用磁响应实现 CTC 的快速富集,还可以通过模拟细胞外基质,抑制 CTC 脱离细胞外基质触发的失巢凋亡,避免直接接触细胞干扰 CTC 功能,进而保证后期 CTC 生物学信息采集的完整性。

2.2 基于抗体、多肽、核酸适配体的特异性捕手

在循环肿瘤细胞检测中,针对肿瘤细胞表面标志物的差异,不同抗体在各类癌症的 CTC 检测中展现出独特价值。上皮细胞黏附分子 (epithelial cell adhesion molecule, EpCAM/CD326) 是使用最广泛的 CTC 表面标志物,其参与细胞黏附、增殖、分化等多项生理过程,在癌组织细胞膜中普遍表达,以 EpCAM 抗体包被磁珠的 CellSearch 系统已在临床上实现乳腺癌、结直肠癌、肺癌等多种癌症患者外周血中 CTC 的检测^[16]。细胞角蛋白 (cytokeratin, CK) 也是上皮 CTC 的典型标志物,作为中间丝状蛋白家族成员,不仅能够维持上皮细胞的结构完整性,还具有组织和细胞表达特异性,以 CK8、CK18 和 CK19 开发的抗体常用于识别乳腺癌、肺癌、肝癌、胰腺癌和结直肠癌等多种癌症中的 CTC。然而,在上皮源性肿瘤从良性病变到侵袭性癌和转移的过程中,CTC 的上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 会导致 EpCAM 等表达下调,严重影响基于 EpCAM 识别捕获 CTC 性能。针对传统方法识别肿瘤细胞上皮-间充质转化 CTC 的挑战,开发新型抗体和多抗体联合的检测方法可覆盖更广泛的 CTC 群体,提高检测的灵敏度。细胞表面波形蛋白 (cell-surface vimentin, CSV) 主要存在于间质细胞及其起源细胞,为细胞提供机械支撑,维持细胞的形态和完整性。肿瘤细胞发生 EMT 过程中,CSV 表达上调,针对现有抗体识别 CTC 的局限性,Li 等^[17]开发

了针对 CSV 的单克隆抗体 84-1, 结果显示 CSV 抗体法可在 95% 的不可切除胃癌患者中检测 CTC, 而 EpCAM 抗体法仅在 45% 的不可切除胃癌患者中检测到, 表明基于新开发的 CSV 抗体的 CTC 检测更适用于晚期胃癌患者的评估。另外, Chen 等^[18]将 CSV 抗体与 EpCAM 抗体联用不仅解决了仅依赖 EpCAM 识别 CTC 的限制, 还增强了对异质 CTC 群体的捕获。类似的, 赋予 EMT-CTC 更强的迁移和侵袭能力的 N-钙粘蛋白抗体与 EpCAM 抗体联用可显著提高 CTC 检测性能。例如, Po 等^[19]实验结果显示, 在晚期卵巢癌患者血液样本中, EpCAM/N-钙黏蛋白双抗体联用的捕获效率是单独靶向 EpCAM 的 3 倍。

基于抗体的识别捕获在 CTC 检测中具有特异性, 尽管存在制备复杂、成本高昂、稳定性欠佳等问题, 但多肽的稳定性、合成便利性和抗干扰性使其在捕获 CTC 方面具有多方面的显著优势。多肽作为一类由氨基酸通过肽键连接而成的化合物, 结构相对简单, 且具备高度的可设计性和灵活性, 能够通过精准的序列设计, 特异性地识别并结合肿瘤细胞表面的特定标志物, 为 CTC 检测中的识别捕获提供新方案。Jia 等^[20]成功筛选出新的 N-钙粘蛋白靶向肽, 开发了一种新型的基于肽的磁性纳米颗粒, 用于检测间充质循环肿瘤细胞。这种纳米颗粒通过特异性肽段与 CTC 表面的特定受体结合, 提高了 CTC 的检测效率和特异性。近年来, CTC 表面标志物细胞程序性死亡-配体 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 的表达成为研究热点, Bu 等^[21]以 PD-L1 结合肽工程策略开发了靶向捕获表达 PD-L1 的肿瘤细胞方法, 增强了与 PD-1 的结合强度和特异性, 其捕获效率比 PD-L1 抗体高 1.5 倍。基于多肽的 CTC 识别捕获还可以将肽按照需要的密度、方向和构象固定在底物上, 最大限度地提高结合强度。TUMORFISHER[®]多肽纳米磁珠 CTC 检测技术通过设计合成特异性多肽, 并将组合好的簇状多肽组装在磁珠上, 形成类似海胆的结构, 实现了血液中 CTC 高效精准捕获和分子分型^[22-24]。目前, TUMORFISHER[®]多肽纳米磁珠 CTC 检测技术已经在国内多个三甲医院投入应用, 成为肿瘤个体化治疗和早期诊断的重要工具。另外, 开发功能肽还可以降低 CTC 免疫磁分离中的非特异性结合, Han 等^[25]研究设计的多肽不仅可特异性识别乳腺癌细胞 MCF-7, 且

在复杂的生物介质中具有抗污染能力, 基于该多功能肽开发的防污电化学生物传感器检测限为 $17 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在血液样本检测中没有遭受明显的生物污染, 为血液样本 CTC 的直接检测分析提供了一体化方案。

素有“化学抗体”之称的核酸适配体是一类能与靶标高特异性高亲和力结合的短的单链寡核苷酸。与抗体和多肽不同, 适配体识别 CTC 的机制基于其独特的三维结构可与 CTC 表面靶标高亲和力结合, 以适配体构建的新型检测平台层出不穷, 为 CTC 的捕获和检测带来了新的突破^[26-27]。Wang 等^[28]开发了由适配体功能化四面体 DNA 纳米结构和磁性镧系发光颗粒组成的 CTC 检测系统, 应用 EpCAM 适配体实现了低数量级 CTC 的特异性捕获, 检测限达 $5 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。适配体除了具有相当的亲和力和特异性外, 还具有良好的结构灵活性, 可以与 PCR 扩增等其他信号放大技术结合, 提高检测的灵敏度和特异性^[29]。Li 等^[30]基于适配体对 CTC 的生物识别, 通过等温扩增技术显著增强表面增强拉曼散射信号, 检测 $1000 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ MCF-7 细胞时, 信号放大近 4.5 倍, 在血液背景细胞中检测 MCF-7 细胞, 检测限为 $3 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$, 实现了对 CTC 的超灵敏检测。此外, 基于适配体的 CTC 捕手, 可通过核酸酶降解和互补杂交等方法调节适配体构象释放捕获后的 CTC, 保证了 CTC 膜抗原胞外结构域的完整性^[31]。Yin 等^[32]开发了一种基于适配体的多功能平台, 通过诱导偶联等离子体质谱检测, 实现了 CTC 的捕获、计数和释放。这种方法有效避免了 ICP-MS 计数过程中对 CTC 的破坏, 提高了检测的灵敏度, 并实现了细胞的回收, 得到的细胞活力约 74.3%, 可用于进一步分析。也有研究者应用噬菌体展示技术优势, 将适配体与噬菌体展示技术融合, 提高 CTC 的捕获能力。Li 等^[33]利用工程化丝状噬菌体的柔韧性和特异亲和性, 将背部修饰有靶向 MUC1 适配体的 M13 噬菌体定向锚定于磁珠, 固定在磁珠表面的噬菌体可自由扭曲, 调整其表面修饰适配体的分布, 这种利用噬菌体展示的方法使适配体最大限度地与 CTC 上的 MUC1 结合, 增强了 M13 噬菌体和 CTC 之间的多价相互作用, 实现了高效的 CTC 捕获。

2.3 基于仿生技术的 CTC 捕手

仿生技术作为一门融合了生物学、工程学和材料科学等多学科知识的前沿领域, 从模仿生物

膜的选择性渗透功能,到借鉴生物分子间的特异性识别机制,不仅能够充分发挥其在材料设计、分子识别和生物相容性方面的优势,还能显著提升 CTC 检测的效率、准确性和特异性。

细胞膜作为细胞与外界交互的“第一道屏障”,蕴含着丰富的生物信息与天然靶向性。科研人员巧妙地提取了肿瘤细胞或免疫细胞的细胞膜,包覆于磁性纳米粒子等材料表面,制备出仿生磁性材料。这种磁性材料携带了肿瘤细胞对同源细胞的识别能力,能够精准识别 CTC,并借助内核材料的磁性实现 CTC 的捕获和分离。在肝癌、胃癌等实体瘤研究中,此类仿生磁性材料在 CTC 捕获精准度上较传统方法提升约 40%。Zhou 等^[34]设计了一种具有白细胞排斥性的仿生免疫磁性纳米平台,用于高性能的循环肿瘤细胞分离。这种纳米平台通过模拟白细胞的特性,能够有效地避免与血液中其他细胞的非特异性结合,从而提高 CTC 的分离效率和纯度。Sun 等^[35]提取了人乳腺癌细胞膜和白细胞膜形成混合膜,将其修饰在载有吡啶菁绿的多孔磁性纳米粒子表面,构建了新型仿生磁性材料。该复合材料中的乳腺癌细胞膜增强了靶向肿瘤细胞的特异性,白细胞膜涂层减少了同源白细胞的干扰,结合聚合物光子晶体等方法,在 CTC 检测中的捕获效率和纯度均超过 95%。PETCTC[®]检测技术模仿中性粒细胞对糖代谢细胞的差异识别设计了“纳米糖”仿生磁性探针,利用肿瘤细胞葡萄糖高摄取的特性,通过磁力差别高效地将肿瘤细胞与正常细胞区分,实现对 CTC 的广谱性捕获。该技术在肺癌、肝癌、结直肠癌、乳腺癌、胃癌等多个常见癌种的临床样本检测中应用,灵敏度和特异性均超过 90%,且能涵盖 I~IV 的不同分期类型。

3 免疫磁分离与微流控技术结合的 CTC 检测

基于微流控芯片的 CTC 检测是目前该领域的主导技术,微流控技术凭借其高灵敏度、低样本需求、多功能集成等优势,在 CTC 检测中具有重要价值。以 CTC-Chip 为代表的第一代芯片基于微柱阵列结构富集 CTC,其高精度、复杂设计对制造工艺提出了极高的要求,难以满足大规模高通

量生产。介于微柱结构的芯片限制,HB-Chip 为代表的第二代芯片以表面捕获来实现 CTC 富集,然而该方法限制了捕获下游处理的灵活性。依赖磁场差异的免疫磁分离技术具备温和、高效分离特性,且易高度自动化检测、处理系统,可以为高度自动化、大规模集成提供技术支持。目前,最主流的第三代微流控芯片 CTC-iChip 应用免疫磁分离解决微通道装置捕获的局限性,将免疫磁分离与微流控技术结合,能够很好地控制细胞捕获与释放,为 CTC 检测带来了新的契机。

微流控芯片为免疫磁分离提供了一个精准可控的微环境。在微流控芯片中,通过设计特定的微通道结构和流体流动方式,可以优化免疫磁分离过程。例如,利用微通道的尺寸效应和流体动力学原理,使血液样本在芯片中以特定的流速和流型流动,确保免疫磁珠与 CTC 充分接触,提高结合效率。Hoshino 等^[36]构建了基于微芯片的免疫磁分离检测 CTC 的新方法,利用微通道的尺寸调节和极性交替排列的磁场梯度,磁性纳米颗粒标记的癌细胞可被高效捕获。与 CellSearch 系统相比,该方法仅需更少(25%)的磁性颗粒就能达到相当的捕获率。在加标血液样本中,以 $1:10^7 \sim 1:10^9$ 比例存在极低数量的癌细胞均可被有效检出,COLO205 和 SKBR3 细胞的癌细胞捕获率分别达到了 90% 和 86%,检出限达 $5 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。同样,Chang 等^[37]集成了微芯片、免疫磁分离、高通量流体技术和尺寸过滤系统,实现了血液样本中循环肿瘤细胞芯片上分离和检测。利用抗体功能化的磁珠进行靶向标记 CTC,将免疫磁性材料-靶细胞复合物聚集到芯片表面,同时运用有限元方法对系统中的磁力和流体动力进行建模,确定最佳流速后,对乳腺癌细胞 MCF-7 的捕获率达 89%,在 50 份非小细胞肺癌患者和胰腺癌患者的血液样本中,成功检测出 49 份,其中检测到 CTC 的数量为 $2 \sim 122 \text{ cells} \cdot 8 \text{ mL}^{-1}$ 。

免疫磁分离技术特异性结合能力和微流控技术精确操控能力的结合不仅可以增加磁性纳米颗粒与 CTC 的碰撞几率,还能够有效地去除非特异性结合的杂质,能够提高 CTC 的捕获效率和纯度。Huang 等^[38]基于红细胞的沉降方向与细胞分离所需的磁力有关的理论基础,开发了 CTC 免疫磁性微芯片筛选系统,通过改变磁场方向可减少红细胞在捕获表面停滞,进而提高特异性捕获纯

度,在加标筛选实验中对 SKBR3、PC3 和 COLO205 捕获率超过 90%。

微流控技术还可以为免疫磁分离技术提供多模块操作系统, Seyfoori 等^[39]应用偶联抗体的磁性微凝胶,制备了用于 CTC 捕获和鉴定的新型双层磁微流控设备,上层为聚二甲基硅氧烷层微通道,下层含微磁体,通过各层结构配合及外部永磁体作用实现细胞捕获,在 DMEM 培养基和 Jurkat 细胞混合物样本中对 MCF-7 细胞表现出良好的捕获能力,细胞纯度可达 87%。此外,该设备还能利用微凝胶热响应特性对捕获细胞进行原位染色和实时监测,以便进一步诊断鉴定。基于免疫磁分离的微流控芯片技术有助于开发 CTC 便携式的微流控芯片检测设备,推动临床转化与应用。Kefayat 等^[40]基于靶向 CTC 新型磁性复合材料 Anti-HER2/MOF@Ferrite 和微流控芯片设计的 CTC 透析系统可以处理大量的血液,对血液样本中 CTC 的分离效率超过 80%,且能够获得可增殖的活性 CTC,达到诊断和治疗的双重目的。

4 展望

未来 CTC 免疫磁分离技术将朝着多元化、智能化发展,主要体现在技术优化、临床应用拓展、新技术融合以及产业化推进等多个方面。在磁性载体上的技术优化中,可以从磁响应性、生物相容性、表面特性等方面开发性能优良的功能性磁性复合材料,实现 CTC 友好、高效分离;在靶向 CTC 的识别元件设计优化中,结合基因组、转录组、蛋白组和代谢组等多组学分析深入揭示 CTC 的分子特征和肿瘤异质性,为癌症研究提供新的视角和生物标志物。此外,随着分子模拟软件与前沿生物技术应用,运用噬菌体展示、计算机辅助设计等手段,人工合成或改造出可特异性识别 CTC 的小分子多肽、核酸适配体或纳米抗体等仿生分子,提高免疫磁分离技术对不同类 CTC 识别捕获能力,进一步满足不同癌症类型、不同亚型 CTC 的检测需求。与此同时,免疫磁分离 CTC 检测技术与微流控芯片、单细胞测序、人工智能等新兴技术的融合,将进一步推动其在精准度和应用范围上的突破。随着精准医疗需求的增长,CTC 检测市场将快速扩展,产业链的完善和标准化体系的建立也将加速其产业化进程。然而,该技术仍面

临成本控制、标准化规范以及伦理隐私等挑战,需要通过技术创新和政策支持加以解决。总体而言,在多学科协同创新发展下,免疫磁分离 CTC 检测技术有望变革癌症诊疗模式,使其在癌症诊断、治疗监测和预后评估等领域发挥越来越重要的作用,为肿瘤精准医疗提供强有力的支持,为人类战胜癌症注入源源不断的动力。

免疫磁分离技术为 CTC 的高效富集提供了核心手段,其与分子检测、微流控及 AI 技术的结合,正推动液体活检向精准化、动态化发展。然而,克服 CTC 异质性、提升检测灵敏度及推动临床转化仍是未来研究的重点。随着技术迭代与多学科交叉,CTC 检测有望成为肿瘤全程管理的重要工具。

参 考 文 献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J. Clin.*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] ZHENG R S, CHEN R, HAN B F, *et al.* Cancer incidence and mortality in China, 2022[J]. *Chin. J. Oncol.*, 2024, 46(3): 221-231.
- [3] CBIDARD F, KIAVUE N, JACOT W, *et al.* Overall survival with circulating tumor cell count-driven choice of therapy in advanced breast cancer: a randomized trial[J]. *J. Clin. Oncol.*, 2024, 42(4): 383-389.
- [4] SZERENYI D, JARVAS G, GUTTMAN A. Multifaceted approaches in epithelial cell adhesion molecule-mediated circulating tumor cell isolation[J/OL]. *Molecules*, 2025, 30(5): 976 [2025-05-05]. <https://doi.org/10.3390/molecules30050976>.
- [5] DING W, LOU C, QIU J, *et al.* Targeted Fe-filled carbon nanotube as a multifunctional contrast agent for thermoacoustic and magnetic resonance imaging of tumor in living mice[J]. *Nanomedicine*, 2016, 12(1): 235-244.
- [6] GUO Z, JIN S, YANG M, *et al.* Luminol/PtCo@rGO and Au@CNTs-based electrochemiluminescence cytosensor for ultrasensitive detection of breast cancer CTCs[J/OL]. *Anal. Chim. Acta*, 2025, 1335(000):343452[2025-07-30]. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2024.343452>.
- [7] CUI F, JI J, SUN J, *et al.* A novel magnetic fluorescent biosensor based on graphene quantum dots for rapid, efficient, and sensitive separation and detection of circulating tumor cells[J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019, 411(5): 985-995.
- [8] ZHANG H, JIANG H, SUN F, *et al.* Rapid diagnosis of multi-drug resistance in cancer by electrochemical sensor based on carbon nanotubes-drug supramolecular nanocomposites[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2011, 26(7): 3361-3366.
- [9] AFREEN S, HE Z, XIAO Y, *et al.* Nanoscale metal-organic frameworks in detecting cancer biomarkers[J]. *J. Mater. Chem.*

- B, 2020, 8(7): 1338-1349.
- [10] JIAN X, XU J, YANG L, *et al.* Intracellular metal-organic frameworks: integrating an all-in-one semiconductor electrode chip for therapy, capture, and quantification of circulating tumor cells[J]. *Anal. Chem.*, 2020, 92(19): 13319-13326.
- [11] HU M, LI C, WANG Z, *et al.* Development of metal-organic framework-based dual antibody nanoparticles for the highly specific capture and gradual release of circulating tumor cells[J/OL]. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2022, 10: 806238[2025-05-05]. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.806238>.
- [12] WANG J, ZHANG Y, DONG M, *et al.* Capture and release of circulating tumor cells stimulated by pH and NIR irradiation of magnetic Fe₃O₄@ZIF-8 nanoparticles[J/OL]. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2023, 224: 113206[2025-05-05]. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2023.113206>.
- [13] WANG Z, WU Z, SUN N, *et al.* Antifouling hydrogel-coated magnetic nanoparticles for selective isolation and recovery of circulating tumor cells[J]. *J. Mater. Chem. B*, 2021, 9(3): 677-682.
- [14] 丁丕,丁子鑫,马佳玲,等.基于CdSe/ZnS量子点和双抗体修饰的磁纳米颗粒用于多表型循环肿瘤细胞的高效富集与鉴定[J]. *分析化学*, 2023, 51(5): 821-832.
DING P, DING Z X, MA J L, *et al.* Effective isolation, label and release of multitype circulating tumor cells base on CdSe/ZnS quantum dots and dual-antibody modified magnetic nanoparticles[J]. *Chin. J. Analy. Chem.*, 2023, 51(5): 821-832.
- [15] MA Y, ZHANG J, TIAN Y, *et al.* Zwitterionic microgel preservation platform for circulating tumor cells in whole blood specimen[J/OL]. *Nat. Commun.*, 2023, 14(1): 4958[2025-05-05]. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40668-1>.
- [16] FRANKEN A, KRAEMER A, SICKING A, *et al.* Comparative analysis of EpCAM high-expressing and low-expressing circulating tumour cells with regard to their clonal relationship and clinical value[J]. *Br. J. Cancer*, 2023, 128(9): 1742-1752.
- [17] LI H, ZHU Y Z, XU L, *et al.* Exploring new frontiers: cell surface vimentin as an emerging marker for circulating tumor cells and a promising therapeutic target in advanced gastric Cancer[J/OL]. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2024, 43(1): 129 [2025-05-05]. <https://doi.org/10.1186/s13046-024-03043-6>.
- [18] CHEN J, XIE T, YANG J, *et al.* Feasibility study of expressing epcam + /vimentin + CTC in prostate cancer diagnosis[J]. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2023, 149(11): 8699-8709.
- [19] 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[2025-05-05]. <https://doi.org/10.1177/1849454418782617>.
- [20] JIA F, WANG Y, FANG Z, *et al.* Novel peptide-based magnetic nanoparticle for mesenchymal circulating tumor cells detection[J]. *Anal. Chem.*, 2021, 93(14): 5670-5675.
- [21] BU J, JEONG W J, JAFARI R, *et al.* Bimodal liquid biopsy for cancer immunotherapy based on peptide engineering and nanoscale analysis[J/OL]. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 213: 114445[2025-05-05]. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114445>.
- [22] LIANG N, LIU L, LI P, *et al.* Efficient isolation and quantification of circulating tumor cells in non-small cell lung cancer patients using peptide-functionalized magnetic nanoparticles[J]. *J. Thorac. Dis.*, 2020, 12(8): 4262-4273.
- [23] ZHOU J, WU J, HAO X, *et al.* An exploratory study on the checkout rate of circulating tumor cells and the prediction of efficacy of neoadjuvant therapy and prognosis in patients with HER-2-positive early breast cancer[J/OL]. *Front. Oncol.*, 2022, 12: 966624[2025-05-05]. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.966624>.
- [24] ZHOU Y, ZHOU J, XIAO J, *et al.* Prognostic relevance of estrogen receptor status in circulating tumor cells in breast cancer patients treated with endocrine therapy[J/OL]. *Front. Oncol.*, 2022, 12: 866293[2025-05-05]. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.866293>.
- [25] HAN R, LI Y, CHEN M, *et al.* Antifouling electrochemical biosensor based on the designed functional peptide and the electrodeposited conducting polymer for CTC analysis in human blood[J]. *Anal. Chem.*, 2022, 94(4): 2204-2211.
- [26] DICKEY D D, GIANGRANDE P H. Oligonucleotide aptamers: a next-generation technology for the capture and detection of circulating tumor cells[J]. *Methods*, 2016, 97: 94-103.
- [27] KONG H Y, BYUN J. Nucleic acid aptamers: new methods for selection, stabilization, and application in biomedical science[J]. *Biomol. Ther.*, 2013, 21(6): 423-434.
- [28] WANG X, ZENG Y, ZHU N, *et al.* *In vitro* detection of circulating tumor cells using the nicking endonuclease-assisted lanthanide metal luminescence amplification strategy[J/OL]. *Talanta*, 2024, 273: 125909[2025-05-05]. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.125909>.
- [29] SAFARPOUR H, DEGHANI S, NOSRATI R, *et al.* Optical and electrochemical-based nano-aptasensing approaches for the detection of circulating tumor cells (CTCs)[J/OL]. *Biosens. Bioelectron.*, 2020, 148: 111833[2025-05-05]. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111833>.
- [30] LI J, DONG C, GAN H, *et al.* Nondestructive separation/enrichment and rolling circle amplification-powered sensitive SERS enumeration of circulating tumor cells *via* aptamer recognition[J/OL]. *Biosens. Bioelectron.*, 2023, 231: 115273 [2025-05-05]. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2023.115273>.
- [31] DING P, WANG Z, WU Z, *et al.* Aptamer-based nanostructured interfaces for the detection and release of circulating tumor cells[J]. *J. Mater. Chem. B*, 2020, 8(16): 3408-3422.
- [32] YIN X, CHEN B, HE M, *et al.* A multifunctional platform for the capture, release, and enumeration of circulating tumor cells based on aptamer binding, nicking endonuclease-assisted amplification, and inductively coupled plasma mass spectrometry detection[J]. *Anal. Chem.*, 2020, 92(15): 10308-10315.
- [33] LI H D, CHEN Y Q, LI Y, *et al.* Harnessing virus flexibility to selectively capture and profile rare circulating target cells for precise cancer subtyping[J/OL]. *Nat. Commun.*, 2024, 15(1): 5849[2025-05-05]. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50064-y>.
- [34] ZHOU X, LUO B, KANG K, *et al.* Leukocyte-repelling biomimetic immunomagnetic nanoplatform for high-performance circulating tumor cells isolation[J/OL]. *Small*, 2019, 15(17): e1900558[2025-05-05]. <https://doi.org/10.1002/sml.201900558>.

- [35] SUN J, HAN S, YANG R, *et al.*. Combining hybrid cell membrane modified magnetic nanoparticles and inverted microfluidic chip for *in situ* CTCs capture and inactivation[J/OL]. Biosens. Bioelectron., 2024, 263: 116575[2025-05-05]. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2024.116575>.
- [36] HOSHINO K, HUANG Y Y, LANE N, *et al.*. Microchip-based immunomagnetic detection of circulating tumor cells[J]. Lab Chip, 2011, 11(20): 3449-3457.
- [37] CHANG C L, HUANG W, JALAL S I, *et al.*. Circulating tumor cell detection using a parallel flow micro-aperture chip system[J]. Lab Chip, 2015, 15(7): 1677-1688.
- [38] HUANG Y Y, HOSHINO K, CHEN P, *et al.*. Immunomagnetic nanoscreening of circulating tumor cells with a motion controlled microfluidic system[J]. Biomed. Microdevices, 2013, 15(4): 673-681.
- [39] SEYFOORI A, SEYYED EBRAHIMI S, SAMANDARI M, *et al.*. Microfluidic-assisted CTC isolation and *in situ* monitoring using smart magnetic microgels[J/OL]. Small, 2023, 19(16): e2205320[2025-05-05]. <https://doi.org/10.1002/sml.202205320>.
- [40] KEFAYAT A, SARTIPZADEH O, MOLAABASI F, *et al.*. Microfluidic system consisting of a magnetic 3D-printed microchannel filter for isolation and enrichment of circulating tumor cells targeted by anti-HER2/MOF@Ferrite core-shell nanostructures: a theranostic CTC dialysis system[J]. Anal. Chem., 2024, 96(11): 4377-4384.