

Immunodiagnostic cellulaire : cellules tumorales circulantes – CTC enrichissement et quantification

L'un des développements les plus prometteurs de la médecine oncologique est la détection de cellules tumorales circulantes (CTC) en tant que biomarqueurs multifonctionnels peu invasifs. Les CTC dans le sang périphérique proviennent de tumeurs solides et sont responsables des métastases. La quantification des CTC peut aider à évaluer et à prévoir l'évolution de la maladie chez les patients. Elle peut donc être considérée comme une « **biopsie liquide** » et un marqueur en temps réel de la progression des tumeurs et de la survie.

Les CTC doivent être détectés à des concentrations des millions de fois inférieures à celles des leucocytes. Selon les études actuellement disponibles, une détection de 30 à 100 cellules par 7,5 ml de sang EDTA est déjà considérée comme défavorable du point de vue pronostique. Cependant, ce nombre varie selon le type de tumeur. Ceci montre la grande nécessité d'une procédure d'essai très sensible ainsi que d'un enrichissement précédent pour la détection des CTC.

Enrichissement des CTC par la séparation immunomagnétique de cellules

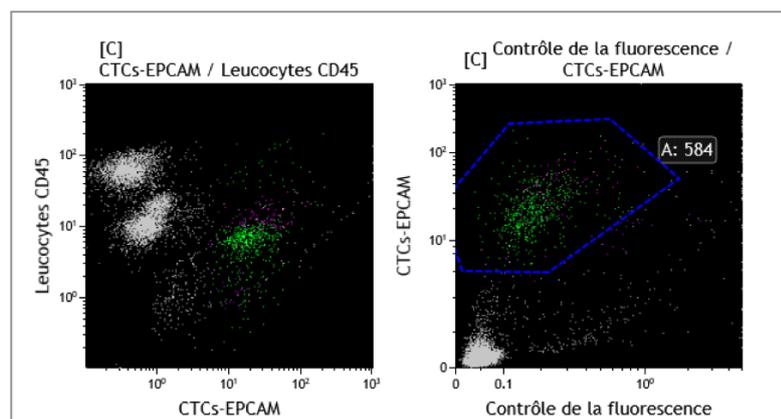
Presque toutes les cellules tumorales expriment l'**EPCAM** (epithelial cell-adhesion molecule = **HEA** human epithelial antigen) sur leur surface. A l'aide de cet antigène, les cellules sont marquées ferromagnétiquement et collées sur un support en fer par

un champ magnétique, lavées, puis éluées après élimination du champ magnétique. Des facteurs d'enrichissement de 1'000 à 2'000 fois peuvent ainsi être atteints.

Quantification analytique des CTC

En marquant les antigènes avec des anticorps conjugués à des colorants fluorescents, les CTC peuvent être détectés et quantifiés analytiquement. Pour ce faire, il existe différentes méthodes microscopiques de fluorescence et semi-automatiques.

Nous utilisons la **cytométrie en flux**: le liquide cellulaire est marqué avec des anticorps EPCAM, le marqueur de l'antigène leucocytaire CD45 et un colorant vital. Les CTC que nous recherchons sont positives pour l'EPCAM, négatives pour le CD45 (fig., vert) et colorées avec le colorant vital, quand elles ne sont plus vivantes (fig., rouge).



Toutes les CTC détectées sont-elles aussi des cellules tumorales ?

La méthodologie actuelle ne permet pas de confirmer définitivement qu'il s'agit de cellules tumorales, car les cellules tumorales en circulation ne portent pas d'antigène spécifique de la tumeur à leur surface. Elles ne peuvent être quantifiées que par leur état de cellules épithéliales (EPCAM+) et leur négativité pour l'antigène leucocytaire

CD45. Normalement, pratiquement aucune cellule épithéliale ne circule dans le sang des personnes saines. Des exceptions sont toutefois possibles, par exemple en cas de blessures, postopératoire ou de certaines maladies bénignes (par exemple diverticulose, polypes, maladie de Crohn, colite ulcéreuse ou foyers d'endométriose dans le colon). Il ne s'agit donc pas de cellules tumorales, mais de **cellules suspectes**.

Demande

- EPCAM, profil 7893
- De préférence prise de sang du lundi au jeudi.
- Avec informations cliniques, type de tumeur, traitement, etc.
- Matériel: 2x 7,5 ml sang EDTA.

Résultat et interprétation

Le nombre de cellules suspectes de tumeur EPCAM positives détectées dans 7,5 ml de sang EDTA. Un diagramme montrant l'évolution chronologique facilite l'évaluation concernant la thérapie et la progression de la maladie.

En cas d'une première mesure, nous recommandons l'interprétation suivante :

- 0 - env. 30 cellules / 7.5 ml sang EDTA : aucune nécessité de refaire la mesure.
- Env. 30-100 cellules / 7.5 ml sang EDTA : recommandation de refaire la mesure après env. 3 mois.
- A partir d'env. 100 cellules / 7.5 ml sang EDTA : recommandation de faire d'autres examens de clarification d'une tumeur.

Prix

350 NP (non remboursable par l'assurance de base).

Diagnostic complémentaire

- Test des cellules NK, profil de base 2830.
- De préférence prise de sang du lundi au jeudi.
- Matériel: sang hépariné, frais.

Le test des cellules NK peut être recommandé pour représenter en plus la capacité des cellules tueuses en tant que défense immunitaire primaire, non dépendante du CMH, contre les cellules tumorales. Il s'agit ici de tester le nombre, la capacité de dégranulation comme mesure de la cytotoxicité et la stimulabilité par l'interleukine 2 dans le profil de base. D'autres essais sur les modulateurs peuvent être demandés.

Des informations détaillées, vous trouvez dans les informations pour les médecins, sous le point de menu Service Téléchargement de la page d'accueil.



Bibliographie:

1. Lopresti et al.: Sensitive and easy screening for circulating tumor cells by flow cytometry; JCI Insight. 2019;4(14):e128180. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.128180>.
2. Warawdekar et al.: A versatile method for enumeration and characterization of circulating tumor cells from patients with breast cancer; J Cancer Metastasis Treat 2017;3:23–33.
3. Kerklaan et al.: EpCAM-based flow cytometry in cerebrospinal fluid greatly improves diagnostic accuracy of leptomeningeal metastases from epithelial tumors; Neuro-Oncology 18(6), 855–862, 2016; doi:10.1093/neuonc/nov273.
4. Watanabe et al.: Multicolor Detection of Rare Tumor Cells in Blood Using a Novel Flow Cytometry-Based System; Cytometry PartA 85A, 2014, 206–213.
5. Simsek et al.: Determination of Circulating Tumor Cells in Peripheral Blood By Flow Cytometry; Niche, 2014; 3: 0-0 • DOI: 10.5152/niche.2015.246
6. Parkinson et al.: Considerations in the development of circulating tumor cell technology for clinical use; Journal of Translational Medicine 2012, 10:138.
7. Man et al.: Currently Used Markers for CTC Isolation – Advantages, Limitations and Impact on Cancer Prognosis; J Clinic Experiment Pathol 2011, 1:1.
8. Allard et al.: Tumor Cells Circulate in the Peripheral Blood of All Major Carcinomas but not in Healthy Subjects or Patients With Nonmalignant Diseases; Clinical Cancer Research Vol. 10, 2004, 6897–6904.