

粪便 *SDC2* 基因甲基化检测在结直肠肿瘤早期检测中的应用价值

李创坤¹, 黄颖烽², 邹瞭南³, 李筱颖⁴, 罗杰⁵, 牛凤¹, 赵日升⁶, 王怀明¹, 王辉¹, 黄榕康¹

1. 中山大学附属第六医院结直肠外科, 广东 广州 510655;
2. 广州市第十二人民医院普外科, 广东 广州 510620;
3. 广东省中医院珠海医院肛肠外科, 广东 珠海 519015;
4. 江门市五邑中医院脾胃病科, 广东 江门 529000;
5. 上海国际医学中心内科, 上海 200120; 6. 中山大学附属第一医院胃肠外科, 广东 广州 510080

[摘要] **目的** 探讨粪便 *SDC2* 基因甲基化检测在结直肠肿瘤早期检测中的价值。**方法** 收集2018年1月—2018年12月收治的134例入组人群的病历资料, 观察和比较粪便 *SDC2* 基因甲基化和血清癌胚抗原(CEA)两种检测方法对结直肠肿瘤诊断的灵敏度和特异度。**结果** 134例入组人群中, 正常86例, 结直肠腺瘤22例, 结直肠癌26例。*SDC2* 基因甲基化检测(长安心)阳性45例, 阴性89例, 血清CEA检测阳性16例, 阴性118例。26例结直肠癌中 *SDC2* 基因甲基化检测阳性23例(88.46%), 血清CEA检测阳性7例(26.92%), *SDC2* 基因甲基化检测灵敏度高于血清CEA检测($P < 0.001$)。22例腺瘤患者中, *SDC2* 基因甲基化检测阳性高于血清CEA检测(31.82% vs. 4.54%, $P = 0.042$)。**结论** 相比血液CEA检测, 粪便 *SDC2* 基因甲基化检测诊断结直肠癌及癌前病变有较高灵敏度, 有待于扩大样本量对结直肠肿瘤早期诊断中价值作深入探讨。

[关键词] 结直肠癌; 甲基化; *SDC2* 基因; 早期检测

[中图分类号] R656 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-378X(2020)01-0010-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-378X.2020.01.003

Application value of fecal *SDC2* gene methylation test in early colorectal tumor diagnosis

LI Chuangkun¹, HUANG Yingfeng², ZOU Liaonan³, LI Xiaoying⁴, LUO Jie⁵, NIU Feng¹, ZHAO Risheng⁶, WANG Huaiming¹, WANG Hui¹, HUANG Rongkang¹

1. Department of Colorectal Surgery, The Sixth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510620, Guangdong, China;
2. Department of General Surgery, Guangzhou 12th People's Hospital, Guangzhou 510620, Guangdong, CHINA;
3. Department of Anorectal Surgery, Guangdong Province Hospital of Traditional Chinese Medicine Zhuhai Branch, Zhuhai 519015, Guangdong, China;
4. Department of Spleen and Gastroenterology, Jiangmen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangmen 529000, Guangdong, China;
5. Department of Internal Medicine, Shanghai International Medical Center, Shanghai 200120, China;
6. Department of Gastrointestinal Surgery, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

[作者简介] 李创坤(1994—),男,硕士研究生在读,从事临床结直肠外科工作

[通信作者] 黄榕康,电子邮箱:huangrk3@mail.sysu.edu.cn

[Abstract] Objective To investigate the value of fecal *SDC2* gene methylation test in early colorectal tumor diagnosis. **Methods** Medical records data of 134 enrolled patients were collected from six hospitals from January 2018 to December 2018. The sensitivity and specificity between fecal *SDC2* gene methylation test and serum carcinoembryonic antigen (CEA) test for early colorectal tumor diagnosis were compared. **Results** Of the 134 enrolled cases, 86 cases were without colorectal tumors, 22 cases with colorectal adenoma, and 26 cases with colorectal cancer. Fecal *SDC2* gene methylation was detected positive in 45 patients and negative in 89 patients. Serum CEA was detected positive in 16 patients and negative in 118 patients. In the 26 patients with colorectal cancer, the positive rate of *SDC2* gene methylation (88.46%) was higher than that of serum CEA (27.59%), indicating that the sensitivity of *SDC2* gene methylation test was higher than that of serum CEA test for patients with colorectal cancer ($P < 0.001$). In the 22 patients with colorectal adenoma, the positive rate of *SDC2* gene methylation was higher than that of serum CEA (22.73% vs. 4.54%, $P = 0.185$). **Conclusion** Compared with serum CEA test, fecal *SDC2* gene methylation test has a higher sensitivity in the diagnosis of colorectal tumor and precancerous lesions, and its role in the early diagnosis of colorectal tumor requires to be investigated in a larger sample size.

[Key words] Colorectal tumor; Methylation; *SDC2* gene; Early diagnosis

结直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率逐年递增^[1-3]。早期筛查、早期诊断并进行适当干预能提高患者存活率致75%~90%^[4],如发生转移则5年生存率不到10%。结肠镜活组织病理检查是目前结肠癌早期诊断的常用措施,具有很高的诊断价值,但仍有一定漏诊率,且是侵入性检查故有合并穿孔、出血、感染等并发症风险。其他如粪便潜血检查(fecal occult blood test, FOBT)、血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、CT仿真镜等,均存在特异度不高等缺点^[5]。因此,寻找灵敏度高、特异性好且易被患者接受的检测方法十分重要。

DNA甲基化是最早发现的修饰途径之一。大量研究表明,DNA甲基化能引起染色质结构、DNA构象、DNA稳定性及DNA与蛋白质相互作用方式的改变,从而控制基因表达;并广泛存在于多种肿瘤^[6]。有研究表明粪便DNA甲基化水平改变与结直肠癌发生发展关系密切,且异常甲基化常发生在结直肠肿瘤早期,对近远端结直肠癌(colorectal cancer, CRC)及大腺瘤(直径 ≥ 1 cm)检测具有较高准确率^[7]。本文通过检测粪便*SDC2*甲基化水平和血清CEA在结直肠癌及癌前病变中的灵敏度和特异度,探讨我们开展的一项大肠癌无创检测新技术——粪便*SDC2*基因甲基化检测在结直肠肿瘤早期检测中的临床价值。

1 对象和方法

1.1 受检人群

纳入条件为:(1)年龄30~90岁;(2)除肠癌外无其他肿瘤证据;(3)男女人数大致相同;(4)所有肿瘤患者未接受放化疗。收集2018年1月—2018

年12月作者所在医院收治的134例入组人群的临床资料。其中,男76例,女61例,年龄为30~90岁,中位年龄63岁;结直肠癌26例,结直肠腺瘤22例,正常人86例,均经肠镜及病理证实,见表1。所有入组人群均知情同意并签署知情同意书。

1.2 样本收集方法

收集134例入组人群正常饮食情况下的治疗前的粪便标本,每人4.5 g,放入长安心粪便采集装置(广州市康立明生物科技有限责任公司)的粪便保护液中,然后送至康立明生物公司进行基因检测。血清CEA检测则在指定医院进行。

1.3 诊断标准

粪便*SDC2*基因甲基化检测阳性表示*SDC2*高度甲基化,阴性为低度甲基化。血清CEA > 5 mg/mL为阳性,CEA ≤ 5 mg/mL为阴性。

1.4 统计学方法

采用IBM SPSS 25.0软件进行统计分析。数据采用阳性率和构成比表示,率比较应用 χ^2 检验,采用一致性检验(Kappa值)统计分析*SDC2*基因甲基化检测结果和血清CEA检测结果与肠镜检测结果的一致性,当Kappa值 > 0.4 ,说明两者一致性好,Kappa值 < 0.4 ,则两者一致性较差, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

结直肠癌患者粪便*SDC2*甲基化检测阳性检出率明显高于血清CEA检测(88.46% vs. 26.92%, $P < 0.001$);腺瘤患者粪便*SDC2*基因甲基化检测阳性检出率高于血清CEA检测(31.82% vs. 4.55%, $P = 0.042$),但无统计学差异;而正常人血清CEA和粪便*SDC2*甲基化阳性检出率无差异(其中肿瘤病人组

表1 137例入组人群一般临床资料

Tab.1 General clinical data of 137 enrolled patients

名称	癌	腺瘤	正常	P值
性别				
男	13	15	46	0.395
女	13	7	40	
年龄(中位数)				
≤63岁	11	15	63	0.035
>63岁	15	7	23	
TNM				
0~II	13	—	—	
III~IV	13	—	—	
直径(中位数)				
≤34 mm	12	—	—	
>34 mm	14	—	—	
肿瘤位置				
近端	4	—	—	
远端	22	—	—	
粪便SDC2甲基化检测				
阳性	23	7	15	0.000
阴性	3	15	71	
血清CEA				
阳性	7	1	8	0.026
阴性	19	21	78	

SDC2 甲基化检测有 3 例因取样失败而剔除), 见表 2。

采用一致性检验(Kappa 值)统计分析 SDC2 基因甲基化检测结果与肠镜检测结果的一致性; 结直肠癌患者粪便 SDC2 甲基化检测灵敏度 88.46% (23/26), 与肠镜结果一致性好 (Kappa=0.667, P<0.001) 具有统计学意义; 血清 CEA 检测结果与肠镜结果一致性差 (Kappa=0.227, P=0.05)。长安心检测灵敏度明显高于血清 CEA 检测(约登指数 0.76 vs. 0.19,), 表明长安心检测效果好于血

清 CEA 检测, 与肠镜和病理检查结果一致, 但血清 CEA 检测特异性 (91.67%) 高于长安心检测 (87.96%), 见表 3。

3 讨论

肠镜联合组织学病理检查是目前诊断结直肠肿瘤的金标准, 但由于侵入性导致患者依从率较低, 且时有报道发生近段结肠肿瘤漏检^[11]。粪便潜血试验是临床推荐的结直肠肿瘤早期筛查非侵入手段, 但灵敏度、特异度较低, 特别是对于直径≥1 cm 的腺瘤^[12]。血清 CEA 检测在其他胃肠肿瘤也表达, 特异度不高^[13]。因此, 基于血液、粪便等生物样本的精准无创检测便成为诊断结直肠肿瘤的新选择^[14-15]。研究表明, 结直肠肿瘤细胞比正常上皮细胞更易脱落至肠腔并随粪便排出, 在碱性环境降解速度缓慢, 因此粪便检测结直肠肿瘤基因改变切实可行^[8]。近年, 表观遗传学在肿瘤早期诊断中的作用受到重视, 如 DNA 甲基化^[9]。研究表明, DNA 甲基化改变与结直肠肿瘤发生发展关系密切, 尤其是基因区域性高甲基化在结直肠肿瘤中频繁出现^[10], 这为探索新的结直肠肿瘤检测方法提供了思路。

Chen 等^[16]报道, 粪便 NDRG4、SDC2 在结直肠肿瘤中甲基化频率和水平高于正常或非肿瘤邻近组织。Ahlquist 等^[7]的研究显示, 粪便 NDRG4、BMP3、TFPI2 甲基化水平检测结直肠癌和癌前病变的灵敏度分别为 85%、54%。许多研究证实了粪便基因检测在结直肠肿瘤早期发现中的价值^[18-19]。本研究结果, 结直肠肿瘤 SDC2 基因甲基化检测粪便样本阳性达 88.46%, 高于 Ahlquist 等^[17]的报道, 尤其在结直

表2 粪便SDC2基因甲基化与血清CEA检测 [n(%)]

Tab.2 Levels of fecal SDC2 gene methylation and serum CEA [n(%)]

检测方法	正常人	结直肠腺瘤	结直肠癌
粪便SDC2基因甲基化	15(17.44)	7(31.82*)	23(88.46*)
血清CEA检测	8(9.30)	1(4.55)	7(26.92)

注: 与血清CEA检测比较, *P<0.05。

表3 粪便SDC2基因甲基化检测与血清CEA检测诊断价值[n(%)]

Tab.3 Diagnostic value of fecal SDC2 gene methylation test and serum CEA test [n(%)]

诊断试验	试验结果	正常人 (n=108)	癌 (n=26)	灵敏度 (95%CI)	特异度 (95%CI)	阳性预测值 (95%CI)	阴性预测值 (95%CI)	约登指数
粪便SDC2甲基化检测	阳性	13	23	88.46(68.72 ~ 96.97)	87.96(79.95 ~ 93.18)	63.89(46.21 ~ 78.66)	96.94(90.67 ~ 99.21)	0.764
	阴性	95	3					
血清CEA	阳性	9	8	26.92(12.35 ~ 48.25)	91.67(84.35 ~ 95.88)	43.75(20.75 ~ 69.45)	83.90(75.74 ~ 89.79)	0.186
	阴性	99	19					

肠癌及癌前病变早期检测中也有较高的阳性率,但血清CEA检测灵敏度不高,存在一定程度漏诊。与直结肠癌血液CEA检测特异度和灵敏度均低于粪便基因甲基化检测的报道不一致^[21],这可能与入组人群结直肠癌患者数量低有关。但是,本研究结果显示虽然粪便SDC2甲基化水平在肿瘤病人的阳性率高于正常人群,但在正常人群中假阳性率达17.44%,而血清CEA的假阳性率为9.30%。这可能跟各个医院留置粪便标本的时间不同和单一基因检测有关。因为粪便放置太久容易破坏DNA,并且检测环节复杂,因此提高DNA的检出率及其重要。基因联合检测较单基因检测可明显提高敏感性以及特异性,从而降低假阳性率。

可见,粪便SDC2 DNA甲基化检测在结直肠肿瘤诊断中具有灵敏度高、取样方便且无创、检测快速等优点,相比血清CEA检测,能提高结直肠肿瘤诊断效能。如能扩大样本量,并通过长期的随访,有望在结直肠肿瘤早期筛查中发挥重要作用。

参考文献

- [1] 夏晨静, 陈志荣. 粪便DNA甲基化检测对结直肠癌诊断及预后评估临床价值研究进展[J]. 临床军医杂志, 2019, 47(6): 657-659.
- [2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] Chen W, Zheng R, Zeng H, et al. The incidence and mortality of major cancers in China, 2012 [J]. Chin J Cancer, 2016, 35(1): 73.
- [4] 王裴, 张明鑫, 张超, 等. 粪便DNA甲基化检测在结直肠癌早期诊断中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(6): 874-880.
- [5] 刘艳枚, 杨梦, 林金端, 等. SDC2基因甲基化检测在结直肠癌早期诊断中的应用[J]. 深圳中西医结合杂志, 2019, 29(14): 11-13.
- [6] Kadiyska T, Nossikoff A. Stool DNA methylation assays in colorectal cancer screening [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(35): 10057-10061.
- [7] Ahlquist D A, Zou H, Domanico M, et al. Next-generation stool DNA test accurately detects colorectal cancer and large adenomas [J]. Gastroenterology, 2012, 142(2): 248-256.
- [8] Brenner H, Hoffmeister M, Arndt V, et al. Protection from right- and left-sided colorectal neoplasms after colonoscopy: population-based study [J]. J Natl Cancer Inst, 2010, 102(2): 89-95.
- [9] Provenzale D, Jasperson K, Ahnen D J, et al. Colorectal Cancer Screening, Version 1.2015 [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2015, 13(8): 959-968.
- [10] 文小霞, 何磊. 血清肿瘤标志物联合检测对结直肠癌的诊断意义 [J]. 世界临床医学, 2017, 11(19): 187.
- [11] 矣金华, 刘江, 王昆华. 结直肠癌 CpG 岛甲基化表型的研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24(4): 558-565.
- [12] 王强, 郑海涛, 丁德祥. 结直肠癌的流行病学和筛查进展 [J]. 中国现代医生, 2008, 46(18): 103-104.
- [13] Bosch L J, Carvalho B, Fijneman R J, et al. Molecular tests for colorectal cancer screening [J]. Clin Colorectal Cancer, 2011, 10(1): 8-23.
- [14] 张丽丽, 吴建新. DNA 甲基化——肿瘤产生的一种表观遗传学机制 [J]. 遗传, 2006, 28(7): 880-885.
- [15] 赵慧霞, 李秋文, 董伟伟, 等. 粪便 SEPT9 基因甲基化检测在结直肠癌早期诊断中的应用研究 [J]. 中华临床医师杂志 (电子版), 2012, 6(10): 2599-2602.
- [16] Chen J, Sun H, Tang W, et al. DNA methylation biomarkers in stool for early screening of colorectal cancer [J]. J Cancer, 2019, 10(21): 5264-5271.
- [17] Castells A. Colorectal cancer screening [J]. Gastroenterol Hepatol, 2013, 36(Suppl 2): 66-72.
- [18] Dickinson B T, Kisiel J, Ahlquist D A, et al. Molecular markers for colorectal cancer screening [J]. Gut, 2015, 64(9): 1485-1494.
- [19] Zou H, Allawi H, Cao X, et al. Quantification of methylated markers with a multiplex methylation-specific technology [J]. Clin Chem, 2012, 58(2): 375-383.
- [20] Imperiale T F, Ransohoff D F, Itzkowitz S H, et al. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening [J]. N Engl J Med, 2014, 370(14): 1287-1297.
- [21] 潘世扬. DNA 甲基化标志物在分子诊断与治疗中的价值 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2009, 1(3): 145-147.

(收稿日期: 2020-03-03)