

· 经验交流 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.21.035

粪便脱落细胞 DNA 与血 CEA 和 CA199 在结肠癌术后复发监测中的对比研究*

项涛¹, 雷慧^{1△}, 黄志明¹, 林土坤¹, 戴小敏¹, 谭绮琼², 胡波³, 刘芳⁴

(1. 广东省吴川市人民医院内科, 广东湛江, 524500; 2. 广东医科大学附属佛山市高明区人民医院内 5 科, 广东佛山, 528500; 3. 浙江省肿瘤医院化疗科, 杭州 310022; 4. 同济大学生命科学技术学院, 上海 200092)

[摘要] **目的** 探讨粪便脱落细胞 DNA 检测在结肠癌术后患者复发监测中的评估价值。**方法** 收集 2018 年 1—12 月吴川市人民医院及浙江省肿瘤医院的住院结肠癌术后患者 180 例, 分为试验组 (DNA 组) 和对照组 (血 CEA、CA199 组), 每组 90 例。所有病例均经过病检确诊, 入组前粪便脱落细胞 DNA 与血 CEA、CA199 均为阴性。使用人类 SDC2 基因甲基化检测试剂盒专用取便器收集患者 50 mL 粪便, PCR 技术体外定性检测脱落细胞 DNA 的 SDC2 基因; 吴川市人民医院检验科化验血 CEA、CA199 的水平。分析其敏感性和特异性。**结果** 粪便脱落细胞 DNA 的 SDC2 基因阳性 15 例, 血 CEA、CA199 阳性 7 例, 22 例肠镜取材病理结果为腺癌, 其他 168 例的肠镜取材病理结果为慢性炎症。试验组粪便脱落细胞 DNA 的 SDC2 基因敏感性 93.75%, 特异性 97.27%, 对照组血 CEA、CA199 敏感性 70.00%, 特异性 81.25%, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 粪便脱落细胞 DNA 检测在结肠癌术后复发监测中具有重要的评估价值。

[关键词] 粪便; 脱落细胞; DNA; SDC2 基因; 血; 癌胚抗原; CA199; 结肠癌术后; 复发监测; 对比

[中图分类号] R735.2

[文献标识码] B

[文章编号] 1671-8348(2019)21-3748-02

众所周知, 结肠癌术后存在复发危险, 早期发现较困难, 对于结肠癌术后复发监测目前主要是血 CEA、CA199 等, 但其敏感性、特异性不高, 目前世界上敏感性、特异性较高并且可临床实用的检测指标非常少, 国际上运用粪便脱落细胞 DNA 监测结肠癌术后复发几乎是空白。本研究检测 180 例结肠癌术后患者粪便脱落细胞 DNA 的 SDC2 基因与血 CEA、CA199 的水平, 讨论粪便脱落细胞 DNA 的 SDC2 基因在结肠癌术后复发监测中的评估价值, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 1—12 月吴川市人民医院及浙江省肿瘤医院的住院结肠癌术后患者 180 例, 中位年龄 61.2 岁, 所有病例均经过病检确诊, 患者入组前粪便脱落细胞 DNA 与血 CEA、CA199 均为阴性。分为试验组 (粪便 DNA 组) 和对照组 (血 CEA、CA199 组), 每组 90 例。所有患者均签署知情同意书, 通过医院伦理委员会批准 (L2018.01002)。

1.2 方法 使用人类 SDC2 基因甲基化检测试剂盒专用取便器 (广州康立明生物公司, 医疗器械备案凭证编号: 粤穗械备 20160241 号) 收集患者 50 mL 粪便, PCR 技术体外定性检测脱落细胞 DNA 的 SDC2

基因; 吴川市人民医院检验科化验血 CEA、CA199 的水平。SDC2 基因拷贝数大于 10^3 为阳性, 血 CEA、CA199 水平采用医院检验科化学发光法检测, 大于吴川市人民医院血 CEA、CA199 标准区间则为阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析。计数资料以率表示, 采用 Mann-Whitney 检验。受试者工作曲线 (ROC 曲线) 确定诊断界值, Kaplan-Meier 法计算患者生存率及中位生存期, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

粪便脱落细胞 DNA 的 SDC2 基因阳性 15 例, 血 CEA、CA199 阳性 7 例, 22 例肠镜取材病理结果为腺癌, 其他 168 例的肠镜取材病理结果为慢性炎症。试验组粪便脱落细胞 DNA 的 SDC2 基因敏感性 93.75%, 特异性 97.27%, 对照组血 CEA、CA199 敏感性 70.00%, 特异性 81.25%, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1、2。

表 1 两组检测阳性情况

组别	阳性 (n)	可疑阳性 (n)	敏感性 (%)
试验组	15	3	93.75
对照组	7	18	70.00

* 基金项目: 广东省佛山市卫生局医学科研立项课题 (2014208)。

作者简介: 项涛 (1979—), 副主任医师, 硕士, 主要从事恶性腹水

研究。△ 通信作者, E-mail: bxyulu@126.com。

表 2 两组检测阴性情况

组别	阴性(n)	特异性(%)
试验组	72	97.27
对照组	65	81.25

3 讨 论

中国大肠癌的发病率居恶性肿瘤发病谱的第三位,仅次于肺癌和胃癌,病死率居第 5 位。男性的发病率和病死率高于女性,从年龄分布来看,40~45 岁以后发病率上升迅速,在 75~80 岁达到高峰。目前人们一般认为大肠癌致病因主要包括:(1)双高饮食(高蛋白、高脂肪)和低纤维素的饮食;(2)肥胖;(3)遗传因素。此外,还有吸烟、环境污染等致病因素^[1]。近年来研究发现,肠道细菌失调也会增加人们患大肠癌的风险^[2]。肠道是人体内最大的微生态系统,数以亿计的细菌聚集在人体内,其中超过 90% 的微生物生活在肠道里,被称为“肠道菌群”,又称为“肠道微生物”,肠道微生物稳态对消化、营养物质代谢、人体自身发育、免疫及疾病的产生等方面都起到极其重要的作用。据推测,一个健康成人体内,肠道内的细菌总质量可达 1.0~1.5 kg,包含的细菌数量则可以达到 10^{14} 个。而一个成年人自身的细胞数量为 10^{13} 个,人体肠道内的细菌数量超过人体细胞总数的 10 倍以上。数量庞大的细菌并不会对人体造成伤害,相反,肠道内微生物菌群结构保持相对平衡,有益菌和有害菌相互作用才可以更好地保证肠道健康,肠道菌群失调可引起多种疾病。肠道菌群检测是肠癌多维度检测体系的重要组成部分,通过改善肠道菌群的失调状态可降低结肠癌的发生率和抑制结肠癌的生长恶化,但肠道菌群检测敏感性、特异性偏低,实际意义不大。

比肠道菌群检测更具有现实意义的粪便脱落细胞 DNA 基因检测技术具有无须特殊设备和限制饮食,无创、检出率高等优点,为不愿做肠镜的患者提供了一种高效、简易的方法。在美国 2016 年肠癌指南中,把粪便 DNA 基因检测列为肠癌筛查的 7 种办法之一^[3]。这种方法主要检测粪便中肠癌脱落细胞中变异基因,对早期大肠癌癌变筛查非常有优势。患者只需要提供粪便作为检测样本,通过分析粪便中的遗传物质(粪便 DNA),可以检测出直径 1 cm 以上进展期腺瘤和肠癌病灶,及时发现早期肠癌基因突变。

许多研究人员试图找到粪便脱落细胞 DNA 中的某些高表达基因来发现早期癌症,但绝大多数失败或者单次检测费用过高,患者无法承担^[4]。因为大肠癌的发生、发展过程较长,从增生性病变到腺瘤、癌变、临床期癌以致晚期肿瘤是一个 10 年以上的过程,因此给了人们预防的机会。以前电子肠镜筛查和早诊

早治是预防大肠癌的最主要方法。早期诊断从癌上来讲 90% 都可以治愈,标准是治疗以后 5 年无复发和转移。建议 40 岁以上男性、35 岁以上女性的高危人群每年做 1 次筛查,中低危人群 2~3 年做 1 次即可。无症状是大肠癌的隐身衣,早期不易引起人们的警惕,便血症状又与痔疮有些相似,很容易被忽略,加上传统肠镜检查准备繁琐、侵入性强,人们往往对此感到恐惧,这使得中国无症状人群的肠镜检测率低于 1%。当出现明显临床症状时,患者往往已经错过最佳治疗时机^[5]。

目前较多采用的筛查方法主要有以下几种:大便隐血、乙结肠镜、纤维结肠镜、CT-MRI 模拟肠镜、粪便 DNA 检测。传统的肠镜检查前需空腹 1~2 d 后服泻药作肠道准备,痛苦且不方便,还影响工作,作为大肠癌的初筛,人群接受率差且成本较高。因此更前沿的筛查应该用粪便 DNA 检测,因为依从性高。

众所周知,粪便脱落细胞 DNA 对于检测肠道恶性肿瘤细胞具有天然的优势^[6]。因为健康成年人每天都有上皮细胞脱落至肠腔并随粪便排出体外^[7],而结肠癌肿瘤细胞由于异常增殖,细胞与细胞间或者细胞基底膜的黏附性降低等因素,比正常上皮细胞更易脱落^[8]。因此,肠道肿瘤患者的粪便中会含有大量的从肠道肿瘤表面脱落的携带了肠癌病变信息的细胞和细胞成分,这些信息可以由特殊的检测手段来解读^[9]。

本研究发现粪便脱落细胞 DNA 检测基本解决了血 CEA、CA199 在结肠癌术后复发监测中敏感性、特异性不高的情况^[10]。

参考文献

- [1] YUN B H, BELLAMRI M, ROSENQUIST T A, et al. A method for biomonitoring of DNA adducts in exfoliated urinary cells by mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(16): 9943-9950.
- [2] BRINA K R, CARVALHO T S, ARDENGHI P G, et al. Micronuclei and other nuclear anomalies in exfoliated buccal cells of urban solid waste collectors and recyclers in southern Brazil[J]. *Chemosphere*, 2018, 193(2): 1058-1062.
- [3] CHEN A, FU G, XU Z, et al. Detection of urothelial bladder carcinoma via microfluidic immunoassay and single-cell DNA copy-number alteration analysis of captured urinary-exfoliated tumor cells[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(14): 4073-4085.
- [4] FERREIG R M, ABDELBAKY H H, IHARA F, et al. Development and evaluation of the first immunochromatographic test that can detect specific antibodies against *Cryptosporidium parvum*[J]. *Acta Tropica*, 2018, 185(9): 349-356.

阳性球菌效力强,易通过血脑屏障的抗生素,如万古霉素、利奈唑胺、碳青霉烯类等,持续用药 4~6 周或以上^[14]。由于 GBS 致颅内感染控制困难等原因,GBS 脑膜炎住院时间、住院费用均明显大于其他脑膜炎^[15]。国内有报道在对新生儿 GBS 败血症合并脑膜炎的临床研究中发现大部分新生儿复查脑脊液提示原治疗效果不佳,建议必要时联合用药,可联合使用头孢曲松、美罗培南、万古霉素、利奈唑胺等^[16]。本研究中最终结局良好,并发症少,可能与早期使用高级抗生素(如万古霉素、利奈唑胺、碳青霉烯类),联合用药,及时根据患儿体质量增长调整用药剂量等因素有关。

综上所述,新生儿 GBS 脑膜炎临床症状不典型,炎症指标及脑脊液改变明显,住院时间长、费用大,并发症发生率高。应逐步开展妊娠妇女 GBS 筛查和进行新生儿 GBS 预防。临床上对于新生儿出现高热、炎症指标明显升高时,应警惕 GBS 脑膜炎可能,需及早完善腰穿检查。一旦检测证实,应尽早给予强有效、足量、足疗程的抗菌治疗,必要时联合用药,并对并发症进行严密监测,改善预后。

参考文献

- [1] GIANNONI E, BERGER C, STOCKER M, et al. Incidence and outcome of group B streptococcal sepsis in infants in switzerland[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2016, 35(2): 222-224.
- [2] 林罗娜,林立,温顺航,等. 儿童细菌性脑膜炎 100 例病原分布及耐药分析[J]. *临床儿科杂志*, 2016, 34(2): 105-110.
- [3] 邵肖梅,叶鸿瑁,丘小汕,等. 实用新生儿学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2011:349-351.
- [4] AUJARD Y. Empiric antibiotic therapy for neonatal infections: time to change [J]. *Arch Pediatr*, 2015, 22(2): 123-127.
- [5] JAUNEIKAITE E, KAPATAI G, DAVIES F, et al. Serial

clustering of late onset group B streptococcal infections in the neonatal unit—a genomic re-evaluation of causality[J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67(6): 854-860.

- [6] MADRID L, SEALE A C, KOHLI-LYNCH M, et al. Infant group B streptococcal disease incidence and serotypes worldwide: systematic review and meta-analyses[J]. *Clin Infect Dis*, 2017, 65(suppl 2): S160-172.
- [7] 耿海峰,杨斌,朱雪萍. 新生儿化脓性脑膜炎 53 例临床分析及其无乳性链球菌脑膜炎特点[J/CD]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2016, 10(5): 751-754.
- [8] 汪月娟,李坚旭,叶素芬,等. 无乳链球菌致新生儿脑膜炎的临床特点[J]. *实用临床医学*, 2017, 18(4): 76-78.
- [9] HEMMATI F, PISHVA N. C-reactive protein as an indicator of aqueductal gliosis and hydrocephaly in neonatal meningitis [J]. *Singapore Med J*, 2008, 49(6): e163-165.
- [10] 黄楚君,林佳周,张利滨,等. 新生儿无乳链球菌脑膜炎的临床特点[J]. *广东医学*, 2018, 39(7): 75-79.
- [11] 彭琼玲,吴渚,刘朵朵,等. 儿童细菌性脑膜炎 95 例病原菌分布和预后分析[J]. *临床儿科杂志*, 2016, 34(6): 425-429.
- [12] MAO D H, MIAO J K, ZOU X, et al. Risk factors in predicting prognosis of neonatal bacterial meningitis—a systematic review[J]. *Front Neurol*, 2018, 20(9): 929.
- [13] GAO K, GUAN X, ZENG L, et al. An increasing trend of neonatal invasive multidrug-resistant group B streptococcus infections in southern China, 2011—2017[J]. *Infect Drug Resist*, 2018, 11: 2561-2569.
- [14] 张胜,罗序峰,周涛,等. 晚发型无乳链球菌脑膜炎的临床特征及治疗策略[J]. *中国全科医学*, 2015(29): 3633-3635.
- [15] 赵宁,王萍,魏谋,等. 无乳链球菌致新生儿脑膜炎的临床特点分析[J]. *中国小儿急救医学*, 2015, 22(3): 177-179.
- [16] 杨欢欢,李菁. 新生儿无乳链球菌败血症合并脑膜炎 12 例临床分析[J]. *临床儿科杂志*, 2016, 34(3): 181-184.

(收稿日期:2019-04-14 修回日期:2019-06-03)

(上接第 3749 页)

- [5] STOLL M L, WEISS P F, WEISS J E, et al. Age and fecal microbial strain-specific differences in patients with spondyloarthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 14.
- [6] MORIN D J, WAITS L P, MCNITT D C, et al. Efficient single-survey estimation of carnivore density using fecal DNA and spatial capture-recapture: a bobcat case study [J]. *Population Ecology*, 2018, 60(3): 197-209.
- [7] SU T T, LIU R, LONG Y Q, et al. 1-day or 5-day fecal samples, which one is more beneficial to be used for DNA-based gut microbiota study [J]. *Curr Microbiol*, 2018, 75(3): 288-295.
- [8] KARASARTOVA D, GURESER A S, RUH E, et al. An

alternative DNA extraction method for detection of *Blas-tocystis* spp. in human fecal samples [J]. *Exp Parasitol*, 2018, 186(3): 36-41.

- [9] HIDALGO A, MELO A, ROMERO F, et al. DNA extraction in *Echinococcus granulosus* and *Taenia* spp. eggs in dogs stool samples applying thermal shock[J]. *Exp Parasitol*, 2018, 186(3): 10-16.
- [10] ATTALLAH A M, EL-FAR M, IBRAHIM A R, et al. Clinical value of a diagnostic score for colon cancer based on serum CEA, CA19-9, cytokeratin-1 and mucin-1[J]. *Br J Biomed Sci*, 2018, 75(3): 1-6.

(收稿日期:2019-03-21 修回日期:2019-05-16)