

本文引文格式:陆飞燕,陆相磊,岑小宁,等. 血浆 *Septin9* 基因甲基化检测对结直肠癌诊断的价值研究[J]. 右江民族医学院学报, 2023, 45(4): 626-629, 634.

【论著与临床报道】

血浆 *Septin9* 基因甲基化检测对结直肠癌诊断的价值研究

陆飞燕¹, 陆相磊¹, 岑小宁², 黄春程¹, 黄林达¹, 龙喜带^{1,3,4}, 朱晓莹^{1,3,4}

1. 右江民族医学院附属医院临床病理诊断与研究中心, 广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院附属医院胃肠外科, 广西 百色 533000;
3. 广西肝胆疾病分子病理学重点实验室, 广西 百色 533000;
4. 广西高校肿瘤分子病理学重点实验室, 广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨血浆中 *Septin9* 基因甲基化(methylated *Septin 9*, mSEPT9)检测在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)诊断中的应用价值。方法 收集2020年5月至2022年4月在右江民族医学院附属医院收治并经病理学诊断为非CRC患者42例和CRC患者129例,分别作为非CRC组和CRC组,分析患者血浆mSEPT9检测、大便隐血试验(FOBT)、癌胚抗原(CEA)和CA199检测结果,评价其单项检测和基于血浆mSEPT9的联合检测在CRC诊断中的应用价值。结果 ①CRC组mSEPT9检测阳性率为58.14%(75/129),非CRC组mSEPT9检测阳性率为19.05%(8/42),两组差异具有统计学意义($P < 0.001$)。②血浆mSEPT9检测CRC的敏感度为58.14%,高于CEA(39.53%)和CA199(19.38%);特异度为80.95%,高于FOBT(47.62%),基于血浆mSEPT9检测的联合检测敏感度均高于其单项检测。结论 mSEPT9检测在CRC诊断中具有较高的敏感性和特异度,基于mSEPT9的联合检测敏感度高于单项检测,是CRC诊断重要的辅助手段。

关键词: *Septin9* 基因甲基化; 结直肠肿瘤; 大便隐血; 癌胚抗原

中图分类号: R735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2023)04-0626-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.04.014

The value of plasma methylated *Septin9* detection in the diagnosis of colorectal cancer

Lu Feiyan¹, Lu Xianglei¹, Cen Xiaoning², Huang Chuncheng¹,
Huang Linda¹, Long Xidai^{1,3,4}, Zhu Xiaoying^{1,3,4}

1. Clinical Pathological Diagnosis and Research Centre, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
2. Department of Gastrointestinal Surgery, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
3. The Key Laboratory of Molecular Pathology of Hepatobiliary Diseases of Guangxi, Baise 533000, Guangxi, China;
4. The Key Laboratory of Tumor Molecular Pathology of Guangxi Colleges and Universities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To explore the value of plasma methylated *Septin 9* (mSEPT9) detection in the diagnosis of colorectal cancer (CRC). **Methods** A total of 42 patients with non CRC and 129 patients with CRC who were admitted to the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities from May 2020

基金项目:百色市科学研究与技术开发计划项目(百科学[2021]32号),广西临床重点专科(病理)建设项目(桂卫医发[2022]21号)

第一作者简介:陆飞燕(1994-),女,硕士,主管技师,研究方向:分子病理,E-mail:792321838@qq.com

通讯作者简介:朱晓莹(1981-),女,在读博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:分子病理,E-mail:00422@ymun.edu.cn

to April 2022 and diagnosed pathologically were collected, and they were divided into non-CRC group and CRC group. The results of plasma mSEPT9 detection, fecal occult blood test (FOBT), carcino embryonic antigen (CEA), and CA199 detection were analyzed, and the value of single detection and combined detection based on plasma mSEPT9 in the diagnosis of colorectal cancer were evaluated. **Results** ① The positive rate of mSEPT9 detection was 58.14% (75/129) in colorectal cancer group and 19.05% (8/42) in non-CRC group, and the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.001$). ② The sensitivity of plasma mSEPT9 detection for CRC was 58.14%, higher than that of CEA (39.53%) and CA199 (19.38%); the specificity of plasma mSEPT9 detection was 80.95%, higher than that of FOBT (47.62%), and the sensitivity of the combined detection based on plasma mSEPT9 was higher than that of the single detection. **Conclusion**

mSEPT9 detection has high sensitivity and specificity in the diagnosis of CRC, and the combined detection based on mSEPT9 is more sensitive than the single detection, which is an important auxiliary means for the diagnosis of CRC.

Key words: methylated Septin 9; colorectal tumor; fecal occult blood testing; carcino embryonic antigen

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是我国常见的恶性肿瘤之一,据统计报告显示^[1]:CRC 发病率位居所有恶性肿瘤中的第 2 位,死亡率位居第 4 位,对人类健康具有很大威胁。医疗技术的发展为患者带来福音,早期 CRC 患者生存质量和生存期得到明显改善。但由于 CRC 早期症状不典型,绝大多数患者就诊时疾病已经进展至中晚期而错过最佳治疗时期。据报道^[2-3],早期 CRC 患者 5 年生存率可达 90%,而进展期仅为 10%。因此,早期筛查诊断是 CRC 患者早期治疗、获得较好治疗效果的关键。

以往的 CRC 筛查主要有结肠镜检查、大便隐血试验(FOBT)、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 199(CA199)检测等,肠镜是一种侵入性检查,结肠镜筛查依从率较低^[4],而后几种检测对 CRC 诊断的敏感度和特异性相对较低,不能很好地满足临床需求。研究发现 *Septin9-v2* 启动子区的 CpG 岛高度甲基化是 CRC 发生的关键,即 *Septin9* 基因甲基化(methylated *Septin 9*, mSEPT9)的异常表达导致基因转录活性降低,进而影响基因正常的生理功能,最终诱导癌症的发生。mSEPT9 随着癌细胞坏死破裂进入到血液循环中可被检测到,为 CRC 检测提供了基础。我国一项 CRC 筛查分析报道,拒绝接受结肠镜检查对象中有 82.6%愿意接受血浆 mSEPT9 检查^[5]。相对于以往的 CRC 筛查方法,血浆 *Septin9* 基因甲基化检测具有简单易行、无创的优势,本研究通过检测血浆 mSEPT9 结果对 CRC 的诊断价值,辅助临床开展 CRC 相关诊疗工作。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2020 年 5 月至 2022 年 4 月在右江民族医学院附属医院收治并进行病理学诊断为非 CRC 患者 42 例和 CRC 患者 129 例,分别作为非 CRC 组和 CRC 组。纳入标准:参照《中国临床肿瘤学会

(ESCO)CRC 诊疗指南(2019 版)》综合诊断为 CRC 的患者。排除标准:既往其他肿瘤病史,已接受放疗、手术治疗或全身治疗,合并严重心血管疾病者,妊娠期、哺乳期妇女,临床资料不完整等。本次研究入选患者 171 例,男性 105 例,女性 66 例,年龄 28~82 岁,平均年龄(57.46±12.50)岁。171 例患者均接受血浆 mSEPT9 检测、FOBT、CEA 和 CA199 检测。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 试剂 血浆 *Septin9* 基因甲基化检测试剂盒(北京博尔诚医学检验所有限公司),大便隐血(FOBT)检测试剂盒(胶体金法)(四川沃文特生物技术有限公司)、癌胚抗原(CEA)检测试剂盒[罗氏诊断产品(上海)有限公司]、CA199 检测试剂盒[罗氏诊断产品(上海)有限公司]。

1.2.2 仪器 实时荧光定量 PCR 仪(7500fast),轮状旋转混匀器,加热型恒温金属浴,试管架和磁力架,离心机,自动粪便处理分析仪,全自动电化学发光分析仪[罗氏诊断产品(上海)有限公司]等。

1.3 方法

1.3.1 血浆 *Septin9* 基因甲基化检测(PCR 荧光探针法) 检测流程按照试剂盒说明书进行。①样本采集和保存:使用 EDTA-K2 抗凝真空采血管采静脉血 10 mL,24 h 内室温(1350±150) r/min 离心 12 min,分离血浆至少 3.5 mL,血浆于-20℃保存,1 周内完成检测;②DNA 样本提取和转化:按试剂盒说明书提取血浆 DNA 并进行亚硫酸盐转化;③配制 PCR 反应体系:按试剂说明书配制 PCR 反应体系并加入亚硫酸盐转化后的 DNA 样本;④PCR 反应:利用实时荧光定量 PCR 仪(7500fast)按试剂盒说明书设置 PCR 反应程序,进行 PCR 反应;⑤结果判读:按照试剂盒说明书对结果进行判读。

1.3.2 大便隐血试验(FOBT) 粪便标本 24 h 内检

测。使用自动粪便处理分析仪上机检测,结果由本院检验科提供。

1.3.3 CEA 和 CA199 检测 及时离心分离血清,24 h 内检测。采用化学发光法检测,结果由本院检验科提供。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,计量资料比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,诊断效能采用 ROC 曲线评价。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者年龄和性别分布情况 在 171 例入选患者中,CRC 组 129 例,其中男性 85 例,女性 44 例,男性多于女性(约 1.93 : 1),年龄 28~82 岁,平均年龄(56.83±12.94)岁;非 CRC 组 42 例,其中男性 20 例,女性 22 例,年龄 32~78 岁,平均年龄(59.38±10.95)岁。

2.2 CRC 组和非 CRC 组血浆 mSEPT9 检测结果

CRC 组患者血浆 mSEPT9 阳性率为 58.14% (75/129)。非 CRC 组 mSEPT9 阳性率为 19.05% (8/42),其中结直肠腺瘤/息肉组 mSEPT9 阳性率为 29.17% (7/24),结直肠无异常组 mSEPT9 阳性率为 5.56% (1/18)。CRC 组和非 CRC 组患者 mSEPT9 检测结果相比,差异具有统计学意义($P < 0.001$),结直肠腺瘤/息肉组与结直肠无异常组 mSEPT9 检测结果相比,差异无统计学意义($P = 0.126$)。mSEPT9 检测结果在年龄、性别上差异无统计学意义,见表 1。

2.3 mSEPT9、FOBT、CEA、CA199 及 mSEPT9 联合检测在 CRC 诊断中的应用价值比较 单项检测中,mSEPT9 检测在 CRC 诊断中的敏感度和阴性预测值高于 CEA 和 CA199;特异度和阳性预测值高于 FOBT。血浆 mSEPT9 检测联合 FOBT 检测敏感度

表 1 mSEPT9 检测结果与临床特征关系

类别	<i>n</i>	阳性	阴性	χ^2	<i>P</i>
例数	171	83(48.54)	88(51.46)		
性别				0.910	0.340
男	105	54(51.43)	51(48.57)		
女	66	29(43.94)	37(56.06)		
年龄/岁				0.443	0.506
<60	91	42(46.15)	49(53.85)		
≥60	80	41(51.25)	39(48.75)		
肿瘤部位				0.143	0.705 ^a
结肠	86	49(56.47)	37(43.02)		
直肠	43	26(60.47)	17(39.53)		
总计	129	75(58.14)	54(41.86)	19.384	<0.001 ^b
非 CRC				2.345	0.126
结直肠腺瘤/息肉	24	7(29.17)	17(70.83)		
结直肠无异常	18	1(5.56)	17(94.44)		
总计	42	8(19.05)	34(80.95)		

注:①表内计数资料数据用[n (%)]表示;②a:结肠癌组与直肠癌组相比;b: CRC 组与非 CRC 组相比。

高达 96.12%,明显高于两者单项检测,但特异度较两者单项检测有所降低。mSEPT9 检测联合 CEA 敏感度明显高于两者单项检测,但特异度与单项 mSEPT9 检测特异度相当,较 CEA 检测特异度(100%)有所降低。mSEPT9 检测联合 CA199 敏感为 63.57%,高于两者单项检测,但特异度低于单项检测。mSEPT9、FOBT、CEA 和 CA199 四项联合检测敏感度达 96.90%。从 ROC 曲线来看,mSEPT9 检测、FOBT、CEA 检测 AUC 值分别为 0.695、0.688、0.698,显示对 CRC 的诊断准确性较好($P < 0.001$),而 CA199 的 AUC 为 0.573($P = 0.155$)。基于 mSEPT9 的联合检测中,mSEPT9 联合 CEA 使得 AUC(0.746)高于两者单项检测(0.695,0.698),其他联合检测并不比单项 mSEPT9 有更好地提升。见表 2、图 1。

表 2 不同检测方法在 CRC 诊断中的应用价值

检测项目	敏感 度/%	特异 度/%	阳性预 测值/%	阴性预 测值/%	ROC 曲线		
					AUC	<i>P</i>	95 CI
mSEPT9	58.14	80.95	90.36	38.64	0.695	<0.001	0.608~0.783
FOBT	89.92	47.62	84.06	60.61	0.688	<0.001	0.586~0.790
CEA	39.53	100.00	100.00	35.00	0.698	<0.001	0.619~0.776
CA199	19.38	95.24	92.59	27.78	0.573	0.155	0.479~0.667
mSEPT9+FOBT	96.12	40.48	83.22	77.27	0.683	<0.001	0.579~0.787
mSEPT9+CEA	68.22	80.95	91.67	45.33	0.746	0.001	0.662~0.830
mSEPT9+CA199	63.57	76.19	89.13	40.51	0.699	<0.001	0.609~0.788
mSEPT9+FOBT+CEA+CA199	96.90	38.10	82.78	80.00	0.675	<0.001	0.570~0.780

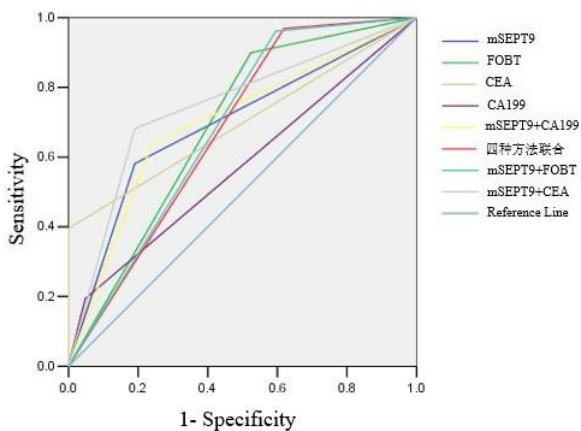


图 1 不同检测方法诊断 CRC 的 ROC 曲线

3 讨论

CRC 是常见的消化系统恶性肿瘤之一,全球范围内,CRC 发病率呈现不同程度的增加趋势,在肿瘤致死原因中位居第二^[6]。随着饮食方式西方化、运动量减少等原因,我国 CRC 新发病例依然上升,2018 年我国 CRC 的新发病例超过 37.6 万例,死亡数达 19.1 万例^[7],而早期对 CRC 患者进行筛查并及时治疗对于提高患者 5 年生存率具有重要意义。CRC 的发生发展与其他恶性肿瘤一样是一个复杂的过程,其具体机制目前尚未完全清楚。Septin 基因组广泛存在于真核生物中,参与细胞质分裂、细胞极化、囊泡运输和细胞膜重构等多个生物过程^[8]。Septin9 蛋白能调控细胞生长,防止细胞分裂过快或不受控制的增殖,是抑癌基因家族成员之一。而 Septin9-v2 启动子区的 CpG 岛高度甲基化而引起自身表达异常,可诱导癌症的发生。本研究结果显示,CRC 组血浆 mSEPT9 检测阳性率高于非 CRC 组,两组患者血浆 mSEPT9 检测结果差异具有统计学意义,表明 Septin9 基因甲基化与 CRC 的发生密切相关,血浆 mSEPT9 检测对 CRC 的诊断具有重要参考意义。同时发现,血浆 mSEPT9 检测结果与患者年龄、性别及肿瘤的位置无关,与 SONG L L 等^[9]和陈培等^[10]研究结果相一致,提示该检测方法可能不与这些临床特征相关,而适用于更多的患者。

传统的 CRC 检测方法包括 FOBT、CEA、CA199 等,本研究将血浆 mSEPT9 检测与几种传统检测方式结果进行对比,发现血浆 mSEPT9 检测敏感性和阴性预测值均高于 CEA 和 CA199,与堵一乔等^[11]和宫晓红等^[12]结果相一致;特异度和阳性预测值高于 FOBT。虽然 FOBT 敏感性最高,但由于引起大便隐血阳性的因素很多,导致特异度不够,而 CEA 和 CA199 虽然特异度高,但敏感度较低。综合来看,单项检测中血浆 mSEPT9 检测敏感性和特异度均较高,且优于单项 FOBT、CEA 和 CA199 检测,对 CRC 具有较

好的检测效能。另外,研究结果显示血浆 mSEPT9 分别与 FOBT、CEA 和 CA199 联合检测时敏感度均明显高于两者单项检测,血浆 mSEPT9、FOBT、CEA 和 CA199 四项联合检测敏感度达 96.90%,表明基于血浆 mSEPT9 检测的联合检测对 CRC 筛查诊断具有更高的参考价值。本研究联合检测结果特异度与李娜等^[13]结果有一定差异,可能是因为样本数量、样本自身、样本采集和运送条件等原因有关。由于确定 mSEPT9 阳性的方法有 1/1、1/2、1/3 和 2/3 等不同算法,如 1/3 算法表示:3 次 PCR 重复实验应出现至少 1 次阳性则判断为阳性。根据临床实际,临床样本很难多次重复检测,不同的计算方法可能会得出不同的结果,实验中使用哪种算法目前没有达成标准,需要进一步研究探索。除了血清肿瘤标志物检测,目前已有报道 mSEPT9、SDC2、TFPI2 基因甲基化联合筛查 CRC 的研究^[14-15],显示多基因联合检测可提高检测敏感度,同时为癌前病变检测提供一定应用依据。但联合哪几种分子检测效能最佳,是否可作为诊断金标准等问题尚需要更多研究和数据支持。综上所述,基于血浆 mSEPT9 的联合检测能够提高检测敏感度,可能更好地满足临床筛查 CRC 的需要,同时提示临床可根据患者情况,采取适合的联合检测项目,以提高检出率。

本研究存在一些不足之处,由于资料局限性,尚未分析 mSEPT9 检测结果与 CRC 患者临床分期、转移情况关系,未开展患者治疗前后血浆 mSEPT9 水平变化关系和复发监测等研究。随着基因甲基化相关治疗的研究进展,mSEPT9 有望成为 CRC 治疗靶点之一,这些都值得进一步探索。血浆 mSEPT9 作为一种简单无创、敏感度和特异度较高的检测方法,联合检测能够一定程度上提高敏感性,对于 CRC 的筛查诊断具有重要意义。应积极做好 CRC 防治宣传,预防为主,同时提高筛查依从性,探究检测项目提高检测效能,通过早发现早治疗提高患者生存质量。

参考文献:

- [1] ZHENG R S,ZHANG S W,ZENG H M,et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016[J]. J Natl Cancer Cent,2022,2(1):1-9.
- [2] YANG X,XU Z J,CHEN X,et al. Clinical value of preoperative methylated septin 9 in Chinese colorectal cancer patients[J]. World J Gastroenterol,2019,25(17):2099-2109.
- [3] COPPEDÈ F,LOPOMO A,SPISNI R,et al. Genetic and epigenetic biomarkers for diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer[J]. World J Gastroenterol,2014,20(4):943-956.

(下转第 634 页)

- 行病学特点[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(4): 481-486.
- [13] BAILEY D C, ALEXANDER E, RICE M R, et al. Structural and functional delineation of aerobactin biosynthesis in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(20): 7841-7852.
- [14] 吴翰欣, 张静, 郑春梅. 高黏性肺炎克雷伯菌毒力血清型、毒力基因以及耐药性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(13): 1571-1574.
- [15] LIU C, GUO J. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (hypermucoviscous and aerobactin positive) infection over 6 years in the elderly in China: antimicrobial resistance patterns, molecular epidemiology and risk factor [J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2019, 18(1): 4.
- [16] 牛琰, 廖卫, 梁鑫, 等. 高黏液型肺炎克雷伯菌感染的临床分析及耐药性分析[J]. 中国热带医学, 2021, 21(8): 748-752.
- [17] JIANG X M, ZHAO L N, SHEN Z, et al. Emergence of a hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* strain coproducing *K. pneumoniae* carbapenemase-2 and new delhi metallo- β -lactamase-5 Carbapenemases in Shanghai, China [J]. *Microb Drug Resist*, 2022, 28(10): 980-987.
- [18] 杜芳玲, 梅艳芳, 万腊根, 等. 高黏液型肺炎克雷伯菌荚膜血清分型及碳青霉烯类耐药机制研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2018, 18(3): 278-285.

收稿日期: 2023-02-27; 修回日期: 2023-04-12

(上接第 629 页)

- [4] 王晓翠, 曹畅, 郭磊, 等. 2016—2018 年郑州市结直肠癌高危人群无痛结肠镜筛查依从率分析[J]. 肿瘤学杂志, 2021, 27(8): 628-635.
- [5] ADLER A, GEIGER S, KEIL A, et al. Improving compliance to colorectal cancer screening using blood and stool based tests in patients refusing screening colonoscopy in Germany [J]. *BMC Gastroenterol*, 2014, 14: 183.
- [6] 郑莹, 王泽洲. 全球结直肠癌流行数据解读[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(1): 149-152.
- [7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 中国结直肠癌诊疗规范(2020 年版) [J]. 中华外科杂志, 2020, 58(8): 561-585.
- [8] HALL P A, RUSSELL S E. The pathobiology of the septin gene family [J]. *J Pathol*, 2004, 204(4): 489-505.
- [9] SONG L L, JIA J, YU H T, et al. The performance of the mSEPT9 assay is influenced by algorithm, cancer stage and age, but not sex and cancer location [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(6): 1093-1101.
- [10] 陈培, 邓钦木, 李丹丹. 血浆 Septin9 甲基化检测在结直肠癌中的诊断价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(4): 10-13.
- [11] 堵一乔, 胡婷婷, 王文惠, 等. 结直肠癌患者血浆 SEPT9 基因甲基化检测的研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(5): 395-398.
- [12] 宫晓红, 马天舒, 朱鸿. SEPT9 基因甲基化检测联合 CA199 和 CEA 在结直肠癌诊断中的应用价值 [J]. 当代医学, 2022, 28(3): 130-132.
- [13] 李娜, 惠凌云, 冯艾, 等. 结直肠癌患者血浆 Septin9 DNA 甲基化联合 FOBT 检测的临床应用价值 [J]. 现代肿瘤医学, 2023, 31(6): 1085-1090.
- [14] 李海军, 牛春梅, 任静, 等. 联合检测 Septin9 与 SDC2 和 TFPI2 甲基化及粪便隐血在大肠病变筛查中的临床应用 [J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(4): 482-488.
- [15] 张玉晓. SEPT9 和 SDC2 甲基化联合检测诊断结直肠癌的价值 [J]. 中国肛肠病杂志, 2022, 42(9): 1-3.

收稿日期: 2023-03-21; 修回日期: 2023-04-12