

外周血基因表达谱检测在大肠癌筛查中的应用研究进展

Research Progress in Application of Blood-Based Gene Expression Tests for Colorectal Cancer Screening // XU Qing-hua, YE Xun, MENG Xia

徐清华^{1,2}, 叶 迅^{1,2}, 孟 夏^{1,2}

(1. 复旦大学附属肿瘤医院-梅里埃研究所联合实验室, 上海 200032;
2. 梅里埃诊断产品(上海)有限公司, 上海 201315)

摘 要: 对大肠癌的筛查有助于早期诊断及早期治疗, 提高生存率。目前临床常规诊断方法包括粪便隐血检测、粪便 DNA 突变检测、结肠镜检查 and 乙状结肠镜检查。其中, 粪便隐血检测联合结肠镜检查方案被广泛应用于自然人群的筛查, 尽管经济有效, 但这一联合方案存在一定的局限性, 难以满足大规模人群筛查的要求。外周血基因表达谱检测是近年来迅速发展起来的大肠癌检测技术, 具有微创、灵敏度高、人群依从性好等优点。文章介绍了外周血 mRNA 作为大肠癌生物标志物的研究进展, 并对该技术在结肠癌筛查中的进一步应用进行了展望。

关键词: 大肠癌; 筛查; 外周血; 生物标志物; 基因表达谱

中图分类号: R735.3

文献标识码: A

文章编号: 1004-0242(2013)02-0090-04

大肠癌是人类常见的恶性肿瘤之一, 发病率在男性恶性肿瘤中排第三位, 在女性恶性肿瘤中排第二位。2008 年全球大肠癌新发病例超过 120 万, 死亡病例超过 75 万^[1]。我国大肠癌的发病率和死亡率呈逐年上升趋势^[2]。上海市疾病预防控制中心癌症监测数据显示, 2007 年上海市大肠癌的年龄标化发病率和死亡率分别为 45.26/10 万和 20.80/10 万, 接近西方发达国家的水平。

通常大肠癌发生发展有明确的癌前病变, 经息肉腺瘤或扁平腺瘤过渡而癌变并发展为进展性癌甚至远处扩散, 这一过程历时可达 20 余年^[3]。这为大肠癌筛查和预防提供了充足的时间。目前应用于大规模人群筛查的技术方法主要有粪便隐血检测、结肠镜检查 and 乙状结肠镜检查。Gupta 等^[4]报道大肠癌筛查可以提高大肠癌和腺瘤的检出率, 发病率降低 23%, 其中左半结肠癌发病率减少 40%。Cotterchio 等^[5]研究表明通过粪便隐血检测和乙状结肠镜检查均能够显著降低大肠癌的危险性。在另一项大样本的病例对照研究中, Newcom 等^[6]证实乙状结肠镜筛查可以显著降低大肠癌的危险性。从 50 岁开始, 每年一次的粪便隐血检测检查以及每 5 年一次的结肠

镜检查至 85 岁, 可使大肠癌的发病率下降 60%, 死亡率下降 80%^[7]。对家族性息肉腺瘤病家系进行大肠癌筛查可有助于提高其术后生存率^[8]。对遗传性非息肉性大肠癌家系的筛查可明显改善大肠癌分期, 并提高 10 年生存率^[9]。郑树等^[10]在浙江省嘉善县开展的随机对照研究表明筛查区大肠癌 8 年累积死亡率较对照区下降 14.7%, 其中直肠癌死亡率较对照区降低 31.2%。国内外已有的研究结果证实, 大肠癌属于筛查效果明确的恶性肿瘤, 大肠癌筛查可有效提高患者的生存率, 降低发病率和死亡率。

1 大肠癌筛查的现状存在问题

近年来, 我国展开了一系列的大肠癌筛查工作, 其中, 具有代表性的研究有 2001 年李世荣等^[11]采用序贯粪便隐血检测方案对北京自然人群进行筛查, 在参与筛查的 26 827 人中, 共检出 12 例大肠癌患者, 自然人群大肠癌检出率为 44.7/10 万。在所有的检出病例中超过 90% 为早期患者, 证实大肠癌筛查确实能够有助于发现早期患者, 实施早诊早治。2005 年, 许岸高等^[12]采用问卷调查联合粪便隐血检测方案对广东省惠州地区自然人群进行筛查, 研究共筛

收稿日期: 2012-08-23

通讯作者: 孟夏, E-mail: xia.meng@biomerieux.com

查 68 953 人,发现大肠癌高危人群 3 870 人;其中 2 849 人接受肠镜检查,检出 9 例大肠癌患者,自然人群大肠癌检出率为 17.7/10 万。自 2007 年起,郑树等^[13]采用问卷调查联合粪便隐血检测方案在杭州、上海、哈尔滨等大城市以及浙江省海宁市、嘉善县开展大肠癌筛查工作,在筛查的 106 412 人中,发现高危人群 14 043 人,其中 8 531 人进行了肠镜检查,检出大肠癌 92 例,自然人群大肠癌检出率为 86.5/10 万。

在上述研究中,大肠癌筛查方案均以粪便隐血检测作为自然人群的初筛手段,对于初筛结果阳性的高危人群行结肠镜检查进行确诊。粪便隐血检测作为目前应用最为广泛的大肠癌初筛方法,具有简单、快速、花费低等优点,然而,粪便隐血是一种不灵敏和非特异的标记物,并非所有的大肠癌均有出血,单次粪便隐血检测的敏感度约为 40%~50%。因此,单以粪便隐血检测进行筛查,将有一半左右的患者漏检。同时,并非所有出血者均为大肠癌,其阳性预测值仅为 0.68%。在使用粪便隐血检测进行自然人群筛查时,会导致大量的假阳性出现,在增加受检者接受侵入性检查的痛苦和风险的同时,造成结肠镜医疗资源的浪费。以郑树的研究为例^[13],对初筛结果阳性的 8 531 人行结肠镜检查,共发现大肠癌 92 例,阳性预测值仅为 1%,造成大量结肠镜检查的浪费。结肠镜检查作为大肠癌诊断的金标准,可对整段结肠进行直视,其对腺瘤、息肉病、大肠癌检查的敏感度高于粪便隐血检测、乙状结肠镜等其他检查^[14,15]。除了能对诊断结肠进行直视诊断并活检外,还可进行息肉性病变和早期癌的镜下治疗,避免了二次检查的风险。从我国目前的经济水平和医疗资源普及程度出发,结肠镜更适用于高危人群的确诊。但是,结肠镜检查的费用较高,需要肠道准备,有发生出血及穿孔危险,人群依从性较差。

两项对城市居民关于大肠癌筛查看法的调查结果显示^[16,17],85%的居民认为“①工作忙,顾不上;②粪便隐血检测过程复杂,上交 3 次便样太麻烦”是他们不愿意参加或不能完全参加大肠癌筛查的主要原因。部分粪便隐血检测阳性受检者认为结肠镜检查“太痛苦,承受不了”是他们拒绝进一步参加结肠镜检查的首要原因。在依从性较高的老龄人群中,因年龄太大而拒绝进一步进行肠镜检查的比例占 50%;

因其他疾病如高血压、心衰、骨折、中风未进行肠镜检查的占 15%。因此,粪便隐血检测联合结肠镜的筛查方案,在实际工作中,尤其是城市社区的大肠癌筛查中,受到人群依从性不高、结肠镜检查效率低下等问题的限制。一种准确可靠、侵袭性小、并且简单易行的血液筛查技术,能够有效提高人群筛查的依从性,将是对我国现行大肠癌筛查方案的有效补充。

2 外周血基因表达谱检测应用于大肠癌早期诊断的研究进展

基因芯片是近年来迅速发展起来的分子生物学技术。通过基因芯片能够同时检测成千上万基因的表达情况,因此广泛应用于研究疾病的发病机制,寻找疾病相关基因,建立基因诊断模型等领域。近年来,外周血基因表达谱检测正发展成为基因芯片应用于疾病诊断的热点。国内外多个研究证实^[18,19],作为人体免疫系统的重要组成部分,外周血中血细胞的基因表达受机体内环境和外部环境的作用呈动态变化。血细胞通过血液循环与人体各个部分不间断的接触,任何潜在的病变都可能引起血细胞产生敏感的、特异的变化。通过对外周血基因表达谱分析,发现特征性的基因表达模式,可用来鉴别患病人群与健康人群。外周血取样方法侵入性小、操作简便、更容易为患者所接受。由 PreAnalytiX 公司研制开发的新型血液 RNA 系统 — PAXgene™ 系统可应用于收集、存储、运输血液,在密闭的采血管中稳定细胞内 RNA,以及后续从全血中分离纯化细胞内 RNA,用于基因表达谱检测。这一创新技术为外周血基因表达谱检测应用于大肠癌筛查提供可能。

Han 等^[20]比较 101 例大肠癌和 110 例对照的外周血基因表达谱,构建基于 5 个基因的预测模型,模型的敏感度和特异性分别为 88%和 64%。Marshall 等^[21]从 314 例大肠癌和 328 例正常对照研究中发现 7 个显著基因,预测模型的敏感度和特异性分别为 72%和 70%;Rosenthal 等^[22]比较 314 例大肠癌和 328 例正常对照的外周血基因表达谱,构建了 202 个显著基因的预测模型,模型的敏感度和特异性分别为 90%和 88%。Xu 等^[23]从 144 例大肠癌和 153 例正常对照研究中,筛选出 18 个显著基因构建预测模型,模型的敏感度和特异性均达到 89%。目前外周血大

肠癌分子检测试剂盒在北美、欧洲和亚洲的一些国家已实现商品化。Lofton-Day 在最近的一篇综述中^[24],将商品化的试剂盒与粪便隐血检测、结肠镜检查进行了比较,尽管一些外周血分子标志物在初步研究中显示出比粪便隐血检测更好的性能,但仍有待大规模的严格对照试验来证实外周血基因表达谱在自然人群大肠癌筛查中的价值。

与传统的粪便隐血检测比较,外周血基因表达谱检测显示出更高的敏感度。因此可作为辅助性检测应用于大规模的人群筛查中,向粪便隐血检测结果阳性的受检者提供第二轮筛查。对外周血基因表达谱检测阴性的受检者,可建议其随访,免去结肠镜检查的痛苦和风险;对外周血基因表达谱检测显示阳性的受检者,强烈建议行结肠镜检查做最后的确诊。

相对于以发现癌前疾病,降低大肠癌发病率为目的自然人群筛查,个体筛查作为一种临床筛查,其目的主要在于早期检出大肠肿瘤,提高个体的治疗效果。个体筛查主要针对主动到医院和体检中心进行健康体检的个体;因其它疾病就诊,但有大肠癌高危因素的个体;以及存在非大肠肿瘤症状的门诊患者。有学者指出^[25,26],现阶段我国还很难从国家层面开展如同西方发达国家那样的人群筛查,充分利用现有的医疗资源对更广泛的人群实施大肠癌个体筛查策略具有重大的现实意义。在大肠癌的个体筛查中,外周血基因检测将大有用武之地。外周血基因表达谱检测可无缝整合到常规的血液检查流程中。对于基因检测结果阳性者行结肠镜检查确诊。在个体筛查中,以外周血基因表达谱检测替代粪便隐血检测作为初筛手段,在提高准确性和人群依从性的同时,减少不必要的结肠镜检查,提高筛查效率。

3 总 结

近年来随着基因表达谱芯片技术和血标本保存技术的进步,发现新的外周血 mRNA 标志物已成为大肠癌早期诊断的研究热点之一。许多研究报道了令人可喜的成果,但大多数仍处于试验阶段,尚需大规模的前瞻性研究来验证外周血基因表达谱检测在大肠癌筛查中的价值。与常用的筛查技术比较,外周血基因表达谱检测具有微创、灵敏度高、人群依从性

好等优点,可作为辅助性检测应用于现行的大肠癌人群筛查方案中,对粪便隐血检测结果阳性者做进一步筛查,提高初筛的检出率,减少不必要的结肠镜检查,在减轻患者痛苦的同时节约宝贵的医疗资源。随着技术的不断进步,外周血基因表达谱检测在未来也可能替代粪便隐血检测作为初筛手段,联合结肠镜检查应用于大肠癌的个体筛查。这一方案能有效提高人群的依从性,最大限度地利用医院门诊、社区医疗机构和体检中心对更广泛的人群实施大肠癌个体筛查,在现阶段的中国具有重大的现实意义。

参考文献:

- [1] Ferlay J,Shin HR,Bray F,et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 [J]. Int J Cancer,2010,127(12):2893-2917.
- [2] Wu M,Zhang SW,Han RQ ,et al. Analysis on the mortality of colorectal and anal cancer in China during 2004-2005 [J]. Chin J Prev Med,2010,44(5):403-407.[武鸣,张思维,韩仁强,等. 2004-2005 年中国结直肠和肛门癌死亡水平分析[J]. 中华预防医学杂志,2010,44(5):403-407.]
- [3] Jones S,Chen WD,Parmigiani G,et al. Comparative lesion sequencing provides insights into tumor evolution[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2008,105(11):4283-4288.
- [4] Gupta AK,Melton LJR,Petersen GM,et al. Changing trends in the incidence,stage,survival,and screen-detection of colorectal cancer: a population-based study[J]. Clin Gastroenterol Hepatol,2005,3(2):150-158.
- [5] Cotterchio M,Manno M,Klar N,et al. Colorectal screening is associated with reduced colorectal cancer risk: a case-control study within the population-based Ontario Familial Colorectal Cancer Registry[J]. Cancer Causes Control,2005,16(7):865-875.
- [6] Newcomb PA,Storer BE,Morimoto LM,et al. Long-term efficacy of sigmoidoscopy in the reduction of colorectal cancer incidence[J]. J Natl Cancer Inst,2003,95(8):622-625.
- [7] Frazier AL,Colditz GA,Fuchs CS,et al. Cost-effectiveness of screening for colorectal cancer in the general population[J]. JAMA,2000,284(15):1954-1961.
- [8] Heiskanen I,Luostarinen T,Jarvinen HJ. Impact of screening examinations on survival in familial adenomatous polyposis [J]. Scand J Gastroenterol,2000,35 (12): 1284-1287.
- [9] Renkonen-Sinisalo L,Aarnio M,Mecklin JP,et al. Surveillance improves survival of colorectal cancer in patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer [J]. Cancer

- Detect Prev, 2000, 24(2):137-142.
- [10] Zheng S, Chen K, Liu X, et al. Cluster randomization trial of sequence mass screening for colorectal cancer [J]. Dis Colon Rectum, 2003, 46(1):51-58.
- [11] Li S, Nie Z, Li N, et al. Colorectal cancer screening for the natural population of Beijing with sequential fecal occult blood test: a multicenter study [J]. Chin Med J (Engl), 2003, 116(2):200-202.
- [12] Xu AG, Yu ZJ, Zhong XH, et al. Screening of high-risk group with colorectal cancer [J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2010, 90(2):116-118. [许岸高, 余志金, 钟旭辉, 等. 大肠癌高危人群筛查研究 [J]. 中华医学杂志, 2010, 90(2): 116-118.]
- [13] Zheng S, Zhang SZ, Cai SR, et al. Protocol and practice for colorectal cancer screening [J]. China Cancer, 2009, 19(9): 700-704. [郑树, 张苏展, 蔡善荣, 等. 大肠癌筛查方案及其实践 [J]. 中国肿瘤, 2009, 19(9):700-704.]
- [14] Johnson DA, Gurney MS, Volpe RJ, et al. A prospective study of the prevalence of colonic neoplasms in asymptomatic patients with an age-related risk [J]. Am J Gastroenterol, 1990, 85(8):969-974.
- [15] Reilly JM, Ballantyne GH, Fleming FX, et al. Evaluation of the occult blood test in screening for colorectal neoplasms. A prospective study using flexible endoscopy [J]. Am Surg, 1990, 56(3):119-123.
- [16] Qu LY, Wang YD, Wang GQ, et al. Qualitative research on the experimental community residents' view and cognition of colorectal cancer screening in Beijing [J]. Chinese General Practice, 2007, 10(23):1935-1937. [曲利园, 王亚东, 王贵齐, 等. 北京市试点社区居民对大肠癌筛查的看法和对大肠癌认知情况的定性研究 [J]. 中国全科医学, 2007, 10(23):1935-1937.]
- [17] Cai SR, Zheng S, Zhou L, et al. Colorectal cancer screening for the natural population in Hangzhou urban community [J]. Journal of Practical Oncology, 2006, 21(2):177-178. [蔡善荣, 郑树, 周伦, 等. 杭州城市社区自然人群大肠癌筛查实践 [J]. 实用肿瘤杂志, 2006, 21(2):177-178.]
- [18] Liew CC, Ma J, Tang HC, et al. The peripheral blood transcriptome dynamically reflects system wide biology: a potential diagnostic tool [J]. J Lab Clin Med, 2006, 147(3):126-132.
- [19] Mohr S, Liew CC. The peripheral-blood transcriptome: new insights into disease and risk assessment [J]. Trends Mol Med, 2007, 13(10):422-432.
- [20] Han M, Liew CT, Zhang HW, et al. Novel blood-based, five-gene biomarker set for the detection of colorectal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(2):455-460.
- [21] Marshall KW, Mohr S, Khettabi FE, et al. A blood-based biomarker panel for stratifying current risk for colorectal cancer [J]. Int J Cancer, 2010, 126(5):1177-1186.
- [22] Rosenthal A, Nuernberg D, Pross M, et al. Detector-C: A blood-based IVD with high sensitivity and specificity for early detection of colorectal cancer [J]. J Clin Oncol, 2010, 28(15s): abstr 3580.
- [23] Xu Y, Xu Q, Ye X, et al. An 18-gene blood-based IVD test for colorectal cancer early detection with high sensitivity and specificity [J]. J Clin Oncol, 2012, 30(s): abstr 3551.
- [24] Lofton-Day C. Opportunities and limitations of blood-based CRC screening tests [J]. Practical Gastroenterology, 2012, XXXVI(7):29-34.
- [25] Han Y, Li SR. Colorectal cancer screening methods, pattern and screening strategy at present in China [J]. Chin J Intern Med, 2010, 49(9):731-732. [韩英, 李世荣. 大肠癌筛查方法和模式及现阶段我国筛查策略的思考 [J]. 中华内科杂志, 2010, 49(9):731-732.]
- [26] Li SR. The current screening policy of colorectal cancer in China [J]. Chin J of Gastroenterol Hepatol, 2008, 17(4): 261-262. [李世荣. 现阶段我国大肠癌筛查策略的思考 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2008, 17(4):261-262.]