

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.08.019

SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 联合检测在肺癌诊断中的应用^{*}

杨德平, 张 萍, 金慧敏, 张 艳, 郑江花[△]

上海健康医学院附属周浦医院医学检验科, 上海 201318

摘 要:目的 探讨人矮小同源盒基因 2(SHOX2)基因甲基化、前列腺素 E 受体 4(PTGER4)基因甲基化和鳞状细胞癌相关抗原(SCC)联合检测在肺癌患者诊断中的应用价值。方法 收集 2019 年 1 月至 2020 年 5 月在该院就诊的 48 例肺癌患者(肺癌组)和 56 例肺部良性疾病患者(良性肺病组)血标本。利用 PCR 荧光探针法进行 SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化检测,同时用化学发光法检测临床常用辅助诊断肺癌的肿瘤标志物 SCC、癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白 19 片段(Cyfra21-1)和神经元特异性烯醇化酶(NSE)。采用多因素 Logistic 回归和受试者工作特征(ROC)曲线分析相关指标联合检测在肺癌诊断中的应用价值。结果 48 例肺癌组患者血浆中 SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化阳性率分别为 66.7%(32/48)和 39.6%(19/48),明显高于良性肺病组的阳性率[25.0%(14/56)和 5.4%(3/56)],差异均有统计学意义($P < 0.01$)。同时肺癌组患者血清中 SCC 水平明显高于良性肺病组($t = 2.943, P < 0.01$),两组 CEA、Cyfra21-1 和 NSE 水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析显示,SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 是肺癌的独立影响因素($P < 0.05$)。SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 诊断肺癌的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.720、0.671 和 0.673,灵敏度分别为 74.1%、39.6%和 70.4%,特异度分别为 70.0%、94.6%和 55.0%。SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 3 项指标联合诊断肺癌的 AUC 为 0.826,灵敏度为 77.8%,特异度为 90.0%。肺癌组不同病理类型患者血浆中 SHOX2、PTGER4 基因甲基化情况和血清 SCC 水平比较,只有 SCC 水平在肺鳞癌与小细胞肺癌及非鳞非小细胞肺癌比较中,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 水平联合检测可提高对肺癌患者诊断的灵敏度和特异度,可作为肺癌诊断的辅助指标。

关键词:SHOX2 基因甲基化; PTGER4 基因甲基化; 鳞状细胞癌相关抗原; 肺癌

中图分类号:R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)08-1101-04

肺癌是人类病死率最高的肿瘤之一^[1]。由于吸烟、空气污染和社会人口老龄化等因素影响,中国肺癌的发病情况更加突出^[2]。著名的英国肿瘤学家 PETO 教授曾预测,到 2025 年,中国将每年有高达 100 万的新发肺癌患者^[3]。据我国癌症中心数据报道,每年有 78 万新发肺癌病例,其中有 70 万患者病死。据闵佩红等^[4]报道,我国 75%的肺癌患者在就诊时已属晚期,5 年生存率约 16.1%。因此,寻找有效的早期筛查方法,是提高肺癌患者生存率及早期干预治疗的关键^[5]。目前,诊断肺癌最常用的是内镜检查技术,这项技术特异度和灵敏度较高,但它是有创侵入性操作,例如支气管镜等,会给患者带来额外痛苦^[6]。鳞状细胞癌相关抗原(SCC)、癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白 19 片段(Cyfra21-1)等肿瘤标志物也是临床上常用的肺癌辅助诊断指标,但研究表明单独检测这些肿瘤标志物的灵敏度均低于 60%^[7]。随着人们对表观遗传学 DNA 甲基化的认识,人们发现 DNA 甲基化异常存在于许多人类恶性肿瘤中,在肿瘤形成的早期即发生,是许多肿瘤的里程碑事

件^[8-9]。有研究提示,SHOX2 和 PTGER4 基因的高度甲基化能导致患者抑癌功能沉默,促进癌症发生,其基因的甲基化在肺癌发生的早期即可出现,这 2 个基因甲基化检测可对目前肺癌的常规诊断方法给予补充^[10-11]。同时血浆中 SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化情况可以提示肺结节患者病变的良恶性,减少患者不必要的有创检查^[11]。但关于血浆 SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化在肺癌诊断中的临床研究仍较少。因此,本研究通过 SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 联合检测,探讨这 3 项指标辅助诊断肺癌的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入标准:根据《2007 中国肺癌临床指南》和《中国肺部结节分类、诊断与治疗指南(2016 年版)》诊断为肺癌和肺部良性疾病的患者。选择 2019 年 1 月至 2020 年 5 月在上海健康医学院附属周浦医院就诊、符合上述标准的患者共 104 例,其中肺癌(肺癌组)48 例,男 26 例、女 22 例,年龄 33~92 岁、平均(66.77 ± 13.22)岁,肺鳞癌 20 例、小细胞肺癌

^{*} 基金项目:上海市浦东新区卫生和计划生育委员会领先人才培养计划(PWRL2017-07);2019 年周浦医院院级科研项目(ZPXM-2019A-11);上海健康医学院 2020 年师资人才百人库(B3-0200-20-311008)。

[△] 通信作者, E-mail: jhzheng2013@sina.com。

本文引用格式:杨德平,张萍,金慧敏,等. SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 联合检测在肺癌诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(8): 1101-1104.

(SCLC)6 例、非鳞非小细胞肺癌 (NSCLC)22 例;56 例良性肺病患者(良性肺病组)中,男 25 例、女 31 例,年龄 26~89 岁、平均(61.25±15.32)岁。两组患者性别、年龄差异均无统计学意义($P>0.05$),有可比性。

1.2 仪器与试剂 Cyfra21-1 和神经元特异性烯醇化酶(NSE)采用新产业 Maglumi 800 全自动化学发光分析仪及配套试剂进行检测,SCC 和 CEA 采用雅培 I2000 全自动免疫分析仪及配套试剂进行检测。SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化采用美国 ABI 公司 7500 荧光定量 PCR 仪及北京鑫诺美迪基因检测技术有限公司提供的人 SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化检测试剂盒进行检测。

1.3 方法

1.3.1 肿瘤标志物检测 用含促凝剂的真空采血管采集患者 3 mL 静脉血,室温静置离心后上机。采用新产业 Maglumi 800 全自动化学发光分析仪和雅培 I2000 全自动免疫分析仪及配套试剂检测血清中 SCC、CEA、Cyfra21-1 和 NSE 水平。检测过程严格按

照说明书操作。

1.3.2 血浆 SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化检测 用血浆游离 DNA 保存管采集患者 10 mL 静脉血,缓慢颠倒 10 次,让血液与管内成分充分混匀,以 3 000 r/min 离心 10 min 后,吸取上清液进行游离 DNA 提取,提取好的 DNA 在-20 ℃条件下保存待检。采用美国 ABI 公司 7500 荧光定量 PCR 仪及北京鑫诺美迪基因检测技术有限公司提供的人 SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化检测试剂盒检测游离 DNA 中 SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化情况。检测过程严格按照说明书操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验和 Fisher 确切概率检验;肺癌的影响因素采用多因素 Logistic 回归分析;各指标鉴别肺癌的价值采用受试者工作特征(ROC)曲线进行分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 两组患者 SHOX2、PTGER4 基因甲基化及部分肿瘤标志物水平比较

组别	<i>n</i>	SHOX2 基因甲基化 (阳性/阴性, <i>n</i> / <i>n</i>)	PTGER4 基因甲基化 (阳性/阴性, <i>n</i> / <i>n</i>)	SCC ($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	CEA ($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	Cyfra21-1 ($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	NSE ($\bar{x}\pm s$,ng/mL)
良性肺病组	56	14/42	3/53	1.33±0.50	3.37±1.10	2.56±0.71	1.89±0.75
肺癌组	48	32/16	19/29	2.78±0.82	4.50±1.42	3.36±1.03	3.05±1.36
χ^2 或 t		18.191	16.159	2.943	1.491	0.831	1.699
P		0.000 1	0.000 1	0.006	0.140	0.411	0.120

2 结 果

2.1 两组患者 SHOX2、PTGER4 基因甲基化及部分肿瘤标志物水平比较 两组患者 CEA、Cyfra21-1、NSE 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。肺癌组患者 SHOX2、PTGER4 基因甲基化阳性率分别为 66.7%(32/48)和 39.6%(19/48),明显高于良性肺病组[25.0%(14/56)和 5.4%(3/56)],差异有统计学意义($\chi^2=18.191,16.159,P<0.01$)。肺癌组患者血清 SCC 水平高于良性肺病组,差异有统计学意义($t=2.943,P<0.01$)。见表 1。

2.2 多因素 Logistic 回归分析肺癌影响因素 以是否患有肺癌(赋值:否=0,是=1)为因变量,以 SHOX2 基因甲基化、PTGER4 基因甲基化、SCC 值为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,SHOX2、PTGER4 基因甲基化及 SCC 是促使肺癌发生的影响因素($P<0.05$)。见表 2。

表 2 SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 诊断肺癌 Logistic 回归分析

变量	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i>	P	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
SHOX2 基因甲基化	1.792	0.435	16.987	0.001	6.000	2.559~14.067
PTGER4 基因甲基化	2.449	0.663	13.650	0.001	11.575	3.157~42.432
SCC	0.825	0.416	3.928	0.048	2.282	1.009~5.162

注: β 为偏回归系数, SE 为标准误, $Wald$ 为检验统计量,95% CI 为 95%置信区间。

2.3 ROC 曲线分析诊断肺癌的相关指标 以 SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 为检验变量,以是否患有肺癌为分类变量绘制 ROC 曲线,结果显示这 3 项指标单独检测诊断肺癌的 AUC 最高为 0.720,灵敏度最高为 74.1%,特异度最高为 94.6%。而当 SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 联合诊断肺癌时,AUC 为 0.826,灵敏度提高到 77.8%,特异度为 90.0%,相比这 3 项指标单独检测,联合检测诊断肺癌的 AUC 和灵敏度都有所提高,尤其是联合检测的灵敏度从单项检测的 39.6%提高到 77.8%。见表 3 和图 1。

表 3 SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 诊断肺癌 ROC 曲线分析

指标	AUC	灵敏度 (%)	特异度 (%)	95% <i>CI</i>
SHOX2 基因甲基化	0.720	74.1	70.0	0.568~0.872
PTGER4 基因甲基化	0.671	39.6	94.6	0.505~0.815
SCC	0.673	70.4	55.0	0.521~0.826
SHOX2 基因甲基化+PTGER4 基因甲基化+SCC	0.826	77.8	90.0	0.701~0.950

2.4 肺癌组不同病理类型患者血浆中 SHOX2、PTGER4 基因甲基化及血清 SCC 水平比较 肺癌组不同病理类型患者之间,血浆中 SHOX2、PTGER4 基因甲基化阳性情况比较,差异均无统计学意义($P>$

0.05)。患者血清中 SCC 水平在肺鳞癌与 SCLC、非鳞 NSCLC 比较中,差异均有统计学意义($P<0.05$),肺鳞癌患者血清 SCC 水平明显高于其他病理类型的肺癌。而血清中 SCC 水平在 SCLC 与非鳞 NSCLC 比较中,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

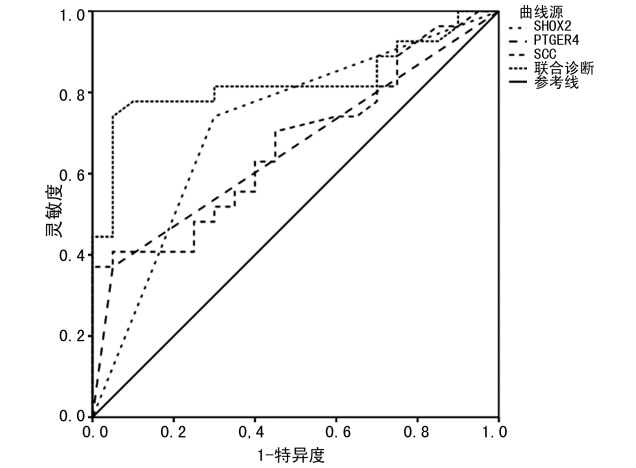


图 1 不同指标诊断肺癌的 ROC 曲线

表 4 肺癌组不同病理类型患者血浆中 SHOX2、PTGER4 基因甲基化及血清 SCC 水平比较

病理类型	n	SHOX2 基因	PTGER4 基因	SCC ($\bar{x}\pm s$, ng/mL)
		甲基化(阳性/ 阴性, n/n)	甲基化(阳性/ 阴性, n/n)	
SCLC	6	5/1	3/3	1.50±0.39 [#]
肺鳞癌	20	15/5	10/10	4.39±1.40
非鳞 NSCLC	22	12/10	6/16	1.49±0.76 [#]

注:与肺鳞癌比较,[#] $P<0.05$ 。

3 讨 论

目前分子靶向治疗和免疫抑制剂的应用已明显提高了晚期肺癌的生存率,但肺癌的病死率仍然很高。我国肺癌患者发现时大多数已是晚期,因此,早期发现肺癌是提高患者生存率的关键。肺癌的发生、发展涉及多种因素,其中以异常的 DNA 甲基化为主,整个基因组 DNA 的低甲基化和 DNA 启动子区 CpG 岛高甲基化在肺癌的发病机制中起着重要作用^[12]。DNA 甲基化伴随着肺癌发展的全过程,故其有望成为肺癌诊断的分子标志物^[13]。SHOX2 是一种同源盒基因,其基因序列中有 2 个 CpG 岛^[14]。研究发现,SHOX2 基因在许多恶性肿瘤中,如肾癌、乳腺癌和肺癌等,都异常表达^[15]。有研究显示,对肺癌患者的癌细胞进行全基因组和多重甲基特异性甲基化实验分析,SHOX2 基因在大多数肺癌患者的癌组织中高度甲基化^[15],SHOX2 基因甲基化可能是肺癌诊断的辅助指标。PTGER4 基因位于染色体 5p13.1 上,研究表明,敲除该基因或使用其拮抗剂可抑制 NSCLC 的生长,与 SHOX2 基因联合检测,可提高肺癌检出率和诊断准确性^[16]。

本研究在检测 SHOX2、PTGER4 基因甲基化的同时也检测临床上一些肺癌常用的肿瘤标志物,如

SCC、CEA、Cyfra21-1 和 NSE。本研究结果显示,肺癌组患者 SHOX2、PTGER4 基因甲基化阳性率分别为 66.7%和 39.6%,明显高于良性肺病组,差异均有统计学意义($P<0.05$),此结果与夏冬平等^[17]、初霞等^[11]关于 SHOX2、PTGER4 基因甲基化诊断肺癌的研究结果具有较好的一致性。肺癌组患者的血清 SCC 水平高于良性肺病组,差异有统计学意义($P<0.05$),提示肺癌的发生与该指标密切相关,有待进一步研究分析。而 CEA、Cyfra21-1、NSE 水平在肺癌组与良性肺病组之间差异无统计学意义($P>0.05$),这与已有研究结果不相符^[17],可能与收集的标本数量相对过少有关,笔者将加大标本收集数量,做进一步研究。

本研究用多因素 Logistic 回归对肺癌的影响因素进行了分析,结果显示血浆 SHOX2、PTGER4 基因甲基化和血清 SCC 水平是肺癌的独立影响因素($P<0.05$),提示这 3 项指标在一定程度上可以独立反映肺癌的情况。

为了分析 SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化及 SCC 检测对诊断肺癌的价值,本研究进行 ROC 曲线分析,结果显示 SHOX2 基因甲基化检测诊断肺癌的 AUC 为 0.720,灵敏度为 74.1%,特异度为 70.0%;PTGER4 基因甲基化检测诊断肺癌的 AUC 为 0.671,灵敏度只有 39.6%,但特异度却能达到 94.6%;而血清 SCC 水平诊断肺癌的 AUC 能达到 0.673,灵敏度为 70.4%,特异度为 55.0%。当笔者将 SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 3 项指标进行联合检测,结果显示,与单项指标检测相比,联合检测诊断肺癌的灵敏度从单项最低 39.6%提高到 77.8%,AUC 达到 0.826,总体诊断性能得到提高,这也提示这 3 项指标的联合检测对鉴别诊断肺癌和肺部良性疾病具有较好的价值,可作为诊断肺癌的辅助指标。

最后,本研究分析了 SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 水平在肺癌组不同病理类型患者的情况,发现血浆中 SHOX2、PTGER4 基因甲基化在不同病理类型患者比较中差异无统计学意义($P>0.05$),提示 SHOX2、PTGER4 基因甲基化在不同病理类型的肺癌中无组织特异性,这与夏冬平等^[17]的研究结果有所不同,可能与本研究收集的肺癌例数较少有关。而患者血清中 SCC 水平在肺鳞癌与 SCLC 和非鳞 NSCLC 比较中差异有统计学意义($P<0.05$),与倪军等^[7]的研究结果一致,说明肺鳞癌患者血清中 SCC 水平明显高于其他病理类型的肺癌。

综上所述,SHOX2、PTGER4 基因甲基化和 SCC 联合检测能提高肺癌诊断灵敏度和特异度,在诊断肺癌和肺部良性疾病方面具有较好的价值,可作为非侵入性诊断肺癌较好的辅助指标。

参考文献

[1] CHEN W,ZHENG R,BAADE P D,et al. Cancer statistics in China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2):

- 115-132.
- [2] 钱桂生. 肺癌不同病理类型发病率的变化情况及其原因[J/CD]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2011, 4(1): 1-6.
- [3] LIU B Q, PETO R, CHEN Z M, et al. Emerging tobacco hazards in China: 1. Retrospective proportional mortality study of one million deaths[J]. BMJ, 1998, 317(7170): 1411-1422.
- [4] 闵佩红, 朱默然, 陈豪. 体检人群胸部 CT 检出 921 例肺部结节的影像学特征分析[J]. 西部医学, 2018, 30(7): 1037-1040.
- [5] SHEN H, ZHU M, WANG C. Precision oncology of lung cancer: genetic and genomic differences in Chinese population[J]. NPJ Precis Oncol, 2019, 3: 14-17.
- [6] 李玺, 黄小艳, 刘斌, 等. 径向超声非实时引导下经支气管镜肺活检对周围型肺癌的诊断价值和假阴性分析[J]. 中国内镜杂志, 2017, 23(12): 46-49.
- [7] 倪军, 郭子健, 张力. 单独与联合检测四项肺癌血清肿瘤标志物在肺癌诊断中的价值[J]. 中华内科杂志, 2016, 55(1): 25-30.
- [8] PAN Y B, LIU G H, ZHOU F L, et al. DNA methylation profiles in cancer diagnosis and therapeutics[J]. Clin Exp Med, 2018, 18(1): 1-14.
- [9] 林列坤, 卢春生, 郑义, 等. 支气管肺泡灌洗液 SHOX2 和 RASSF1A 基因甲基化检测在临床肺癌诊断中的应用[J]. 中国实用医药, 2019, 14(18): 1-3.
- [10] 黄晖, 冯旭, 孔勇. 矮小同源盒基因亚型 2、Runt 相关转录因子 3 基因甲基化在肺癌发生发展中的意义[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(4): 758-760.
- [11] 初霞, 赵伟, 王保健. 血浆无细胞 DNA 中 SHOX2 和 PTGER4 基因甲基化检测有助于肺结节患者的鉴别诊断[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35(4): 357-361.
- [12] 温冬梅, 余思源, 芮奎, 等. DNA 甲基化在肺部疾病中的作用研究进展[J]. 临床肺科杂志, 2020, 25(4): 599-602.
- [13] 胡春燕, 周建华. DNA 甲基化修饰异常与肺癌[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2009, 29(5): 398-402.
- [14] OGUSHI K, HATTORI A, SUZUKI E, et al. DNA methylation status of SHOX-Flanking CpG islands in healthy individuals and short stature patients with pseudoautosomal copy number variations [J]. Cytogenet Genome Res, 2019, 158(2): 56-62.
- [15] PENG X, LIU X, XU L, et al. The mSHOX2 is capable of assessing the therapeutic effect and predicting the prognosis of stage IV lung cancer[J]. J Thorac Dis, 2019, 11(6): 2458-2469.
- [16] WEISS G, SCHLEGEL A, KOTTWITZ D, et al. Validation of the SHOX2/PTGER4 DNA methylation marker panel for Plasma-Based discrimination between patients with malignant and nonmalignant lung disease[J]. J Thorac Oncol, 2017, 12(1): 77-84.
- [17] 夏冬平, 史小武, 周颖, 等. SHOX2 基因甲基化水平对肺癌和肺部良性疾病的鉴别诊断研究[J]. 中国全科医学, 2018, 21(35): 4358-4363.
- (收稿日期: 2020-08-20 修回日期: 2021-01-15)
- 临床探讨 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2021.08.020

基于物联网的抢救护理信息链流程在创伤性休克患者中的应用*

许开云¹, 谢海香^{2△}

1. 上海东方肝胆外科医院急诊科, 上海 201805; 2. 上海市闵行区中心医院急诊科, 上海 201100

摘要:目的 探讨在创伤性休克患者中采用基于物联网的抢救护理信息链流程的效果。方法 回顾性分析上海市闵行区中心医院在基于物联网的抢救护理信息链流程施行前后两组各 120 例创伤性休克患者的临床资料。对照组患者(施行前)入院时间为 2017 年 6 月至 2018 年 5 月, 观察组患者(施行后)入院时间为 2018 年 6 月至 2019 年 5 月。对照组采用常规创伤性休克急救护理方案, 观察组在对照组护理方式的基础上应用基于物联网的抢救护理信息链流程。比较两组抢救情况差异。结果 观察组术前准备时间、院内抢救介入时间均明显低于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 抢救成功率方面, 观察组抢救的成功率高达 96.67%, 远高于对照组 86.67% 的抢救成功率, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 基于物联网的抢救护理信息链流程能改善创伤性休克患者院前急救效率, 提高救治成功率, 具有明显的临床价值。

关键词: 物联网; 创伤; 休克; 流程; 时效性; 休克指数

中图分类号: R473.6

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)08-1104-03

创伤性休克(TS)是指因钝物击打或剧烈撞击所致严重创伤, 继而出血所致的休克现象。TS 患者因脏器受损出血, 导致有效循环血容量减少, 同时基础代谢也存在不同程度的损伤, 容易发生低血糖、低体

温及多器官功能障碍综合征(MODS), 严重的甚至会发生死亡^[1-2]。早期规范、科学的抢救护理是 TS 患者入院治疗的关键干预手段, 能有效降低患者休克发生率, 提高生存率^[3]。基于物联网的信息链流程是指在

* 基金项目: 2019 军队医学科技青年培训计划(19QNPNP022)。

△ 通信作者, E-mail: 13916494378@163.com。

本文引用格式: 许开云, 谢海香. 基于物联网的抢救护理信息链流程在创伤性休克患者中的应用[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(8): 1104-