

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.04.023

外周血 Septin9 基因甲基化和血清 CA199 联合检测在结直肠癌筛查中的诊断价值^{*}

穆剑强¹, 高海锋^{2△}

1. 云南新昆华医院检验科, 云南昆明 655600; 2. 陕西省宝鸡市中心医院检验科, 陕西宝鸡 721008

摘要:目的 探讨外周血 Septin9 基因甲基化和血清糖类抗原 199(CA199)联合检测在结直肠癌(CRC)筛查中的诊断价值。方法 选取 2018 年 8 月至 2020 年 8 月云南新昆华医院收治的 202 例结直肠病变患者为研究对象,其中 CRC 患者 93 例(CRC 组),结直肠息肉患者 109 例(结直肠息肉组);同时选择同期体检健康者 50 例作为对照组。采用实时荧光 PCR 测定 Septin9 基因甲基化的情况,化学发光法测定 CA199 的水平,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 Septin9 基因甲基化和 CA199 对结直肠癌的诊断价值。结果 CRC 组外周血 Septin9 基因甲基化和 CA199 阳性率显著高于结直肠息肉组和对照组($P < 0.05$),结直肠息肉组 Septin9 基因甲基化和 CA199 阳性率亦高于对照组($P < 0.05$)。Septin9 基因甲基化诊断 CRC 的灵敏度为 89.32%,约登指数为 0.681 1, AUC 为 0.793,均高于 CA199 检测的结果,但 CA199 诊断 CRC 的特异度较外周血 Septin9 基因甲基化高;二者联合检测的灵敏度、约登指数和 AUC 均较单项检测高($P < 0.05$)。治疗后, CRC 组 Septin9 基因甲基化和 CA199 阳性率降低,与治疗前相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。随着治疗的方式不同,治疗后 Septin9 基因甲基化和 CA199 阳性的比例不一致,采用手术治疗的 76 例患者中,治疗后 Septin9 基因甲基化阳性率为 22.37%(17/76),CA199 阳性率为 31.58%(24/76);采用药物化疗的 17 例患者中,治疗后 Septin9 基因甲基化阳性率为 82.35%(14/17),CA199 阳性率为 35.29%(6/17)。结论 外周血 Septin9 基因甲基化和 CA199 检测诊断 CRC 具有简便、快速、准确、患者易接受及适用于普查等优点,二者联合检测可以做到优势互补,提高诊断效率,对于 CRC 的诊断具有较高的临床价值,值得在临床上推广。

关键词: Septin9 基因甲基化; 糖类抗原 199; 结直肠癌**中图法分类号:** R446.1**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-9455(2022)04-0526-04

结直肠癌(CRC)是消化系统常见的恶性肿瘤,其发病率居恶性肿瘤的第 3 位,且发病率呈逐年上升的趋势^[1-2]。但是,约 80% 的 CRC 患者被诊断时病情已发展至中晚期^[3],给患者带来巨大的身心痛苦和经济压力。目前, CRC 筛查手段种类繁多,且各有优劣,主要包括粪便潜血试验(FOBT)、结直肠镜检查、病理活检等。FOBT 检测结果不稳定,灵敏度及特异度都较低;结直肠镜是侵入性检查,易造成肠穿孔、肠道感染等并发症,不易被患者接受;病理活检是确诊 CRC 的金标准,但属于有创操作,不易被患者采纳,甚至有感染的风险,不适用于普查。研究表明,外周血中 Septin9 基因的甲基化检测诊断 CRC 的准确性较高,是一种可靠的诊断指标^[4-6]。因此,本研究将 Septin9 基因甲基化与传统标记物 CA199 进行联合检测,探讨二者联合检测对 CRC 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2018 年 8 月至 2020 年 8 月云

南新昆华医院收治的 202 例结直肠病变患者的病历资料,以结直肠镜病理诊断为金标准,确诊 CRC 患者 93 例(CRC 组),其中男 60 例、女 33 例,年龄 35~81 岁、平均(60.72±14.24)岁;结直肠息肉患者 109 例(结直肠息肉组),其中男 72 例、女 37 例,年龄 33~83 岁、平均(61.11±13.87)岁。同时选择同期体检健康者 50 例作为对照组,其中男 35 例、女 15 例,年龄 35~80 岁、平均(60.12±13.84)岁。各组研究对象年龄、性别差异无统计学意义($P > 0.05$)。参与本研究的对象均自愿签署知情同意书,研究方案经云南新昆华医院伦理委员会批准后实施。

1.2 方法

1.2.1 标本采集

Septin9 基因甲基化检测标本的采集使用专用 EDTA-K₂ 抗凝管,抽取受试者外周静脉血 10 mL,离心后取 3.5 mL 血浆保存于 -20 °C 冰箱待测。同时抽取受试者外周静脉血 3~5 mL 于普通促凝管中,用于 CA199 的测定,离心后取上层血清

* 基金项目:云南省昆明市卫生健康委员会卫生科研课题项目(2019-11-01-012)。

△ 通信作者, E-mail: haifenggao1982@126.com。

本文引用格式:穆剑强,高海锋.外周血 Septin9 基因甲基化和血清 CA199 联合检测在结直肠癌筛查中的诊断价值[J].检验医学与临床,

保存于-20℃冰箱待测。

1.2.2 项目检测 Septin9 基因甲基化检测采用聚合酶链反应(PCR)荧光探针法,试剂盒由北京博尔诚科技有限公司提供。核酸提取采用 Smart32 核酸提取仪,核酸扩增使用 DA7600 型实时荧光定量 PCR 扩增仪,仪器由中山大学达安基因科技有限公司提供。提取及扩增程序严格按照试剂及仪器操作说明进行操作。CA199 检测试剂盒、质控品、校准品及 Cobas 601 全自动化学发光分析仪均由瑞士罗氏有限公司提供。

1.3 结果判断 结果判断:扩增循环数(Ct)≤41.0 且 ACTB 内参的 Ct≤32.0 时结果为阳性;Ct>41.0 且 ACTB 内参的 Ct≤32.0 时结果为阴性;检测结果满足上述要求,且扩增曲线无异常时结果最终判为有效。CA199 的正常参考区间为 0~37.0 U/mL,>37.0 U/mL 时判定为阳性,否则为阴性。

1.4 CRC 组治疗 CRC 患者分别采用手术治疗和药物化疗,其中手术治疗 76 例,药物化疗 17 例。

1.5 观察指标 比较 CRC 组治疗前各组 Septin9 基因甲基化和血清 CA199 阳性情况,以及 CRC 组治疗后 Septin9 基因甲基化和血清 CA199 阳性情况。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 24.0 统计学软件对数据进行处理。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 Septin9 基因甲基化、CA199 单项及联合检测对 CRC 的诊断性能。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CRC 组治疗前各组 Septin9 基因甲基化和 CA199 阳性率的比较 CRC 组治疗前,CRC 组、结直肠息肉组和对照组 Septin9 基因甲基化阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=118.35, P<0.001$);CRC 组与结直肠息肉组 Septin9 基因甲基化阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=67.88, P<0.001$);CRC 组与对照组 Septin9 基因甲基化阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=100.44, P<0.001$);结直肠息肉组与对照组 Septin9 基因甲基化阳性率比较,差异亦有统计学意义($\chi^2=18.378, P<0.001$)。CRC 组、结直肠息肉组和对照组 CA199 阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=84.61, P<0.001$);CRC 组与结直肠息肉组 CA199 阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=48.795, P<0.001$);CRC 组与对照组 CA199 阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=63.97, P<0.001$);结直肠息肉组与对照组 CA199 阳性率比较,差异亦有统计学意义($\chi^2=10.984, P<0.001$)。见表 1。

2.2 Septin9 基因甲基化和 CA199 对 CRC 诊断的性

能比较 Septin9 基因甲基化、CA199 单项检测及联合检测对 CRC 诊断的性能比较,见表 2。联合检测的灵敏度、约登指数和 AUC 较单项检测高($P<0.05$)。

2.3 CRC 组治疗后 Septin9 基因甲基化和 CA199 阳性率 经治疗后,CRC 组 Septin9 基因甲基化阳性率为 33.33%(31/93),CA199 阳性率为 32.26%(30/93),与表 1 中治疗前的 Septin9 基因甲基化(87.10%)和 CA199(72.04%)阳性率比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗方式不同,治疗后 Septin9 甲基化基因和 CA199 阳性的比例不一致,采用手术治疗的 76 例患者中,治疗后 Septin9 基因甲基化阳性率为 22.37%(17/76),CA199 阳性率为 31.58%(24/76);采用药物化疗的 17 例患者中,治疗后 Septin9 基因甲基化阳性率为 82.35%(14/17),CA199 阳性率为 35.29%(6/17)。

表 1 各组 Septin9 基因甲基化、CA199 阳性率的比较[n(%)]			
组别	n	Septin9 基因甲基化阳性	CA199 阳性
CRC 组	93	81(87.10)	67(72.04)
结直肠息肉组	109	32(29.36)*#	25(22.94)*#
对照组	50	0(0.00)*	1(2.00)*
χ^2		87.63	43.75
P		<0.001	<0.001

注:与 CRC 组比较,* $P<0.05$;与对照组比较,# $P<0.05$ 。

表 2 Septin9 基因甲基化、CA199 单项检测及联合检测对 CRC 的诊断性能比较				
项目	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数	AUC
Septin9 基因甲基化	89.32	78.79	0.681 1	0.793
CA199	76.95	82.24	0.591 9	0.692
Septin9 基因甲基化+CA199	94.66	77.46	0.721 2	0.834

3 讨 论

CRC 是临床上最常见的消化系统恶性肿瘤之一,调查显示,我国每年 CRC 新发病例超过 25 万,死亡病例约 14 万,均占世界同期 CRC 病例的 20%^[7]。CRC 早期症状不明显,不易被患者察觉,出现明显症状的 CRC 患者到医院就诊时,其病情已经发展到中晚期,错过最佳治疗时期,手术 5 年存活率仅 30%~50%^[8]。因此,高效的 CRC 筛查方法可以显著改善患者 5 年生存率,降低病死率^[9]。目前,诊断 CRC 的方法较多,包括 FOBT、常规血清肿瘤标记物筛查、结肠镜检查、病理活检等,但 these 方法灵敏度、特异度较低或为有创检查,不能满足 CRC 早期诊断和筛查的需求。研究显示,异常 DNA 甲基化和蛋白修饰异

常引起致癌基因过度表达、抑癌基因表达缺失是 CRC 发生与发展的重要机制,其中 Septin9 基因甲基化被认为与 CRC 密切相关^[10]。因此,本研究将 Septin9 基因甲基化和传统肿瘤标记物 CA199 纳入研究,探讨二者联合检测在 CRC 筛查中的应用价值。

Septin9 基因属于抑癌基因,其甲基化会抑制该基因正常表达,导致细胞分裂异常和癌变,其参与 CRC 癌变的机制主要包括缺氧诱导因子(HIF)-1 信号通路、JNK 信号通路、Rho 信号通路以及通过影响细胞正常分裂诱导多核细胞产生^[11]。在 CRC 患者体内,由于肿瘤细胞凋亡及坏死,其 DNA 被释放入外周血,因此在外周血中可检测到异常甲基化的 Septin9^[12]。本研究结果显示,CRC 组外周血 Septin9 基因甲基化阳性率明显高于结直肠息肉组和对照组($P<0.05$),结直肠息肉组 Septin9 基因甲基化阳性率显著高于对照组($P<0.05$),表明 Septin9 基因甲基化在 CRC 患者中高表达,外周血 Septin9 基因甲基化检测对诊断 CRC 具有较好的临床价值。CRC 组血清 CA199 阳性率显著高于结直肠息肉组和对照组,但均较 Septin9 基因甲基化阳性率低。

本研究进一步对 CRC 组中 Septin9 基因甲基化和 CA199 单项检测和联合检测诊断 CRC 的性能做了研究,结果显示 Septin9 基因甲基化诊断 CRC 的灵敏度为 89.32%,较文献[13-14]报道的 Septin9 基因甲基化检测筛查 CRC 的灵敏度高,这可能与本研究收集的病例数较少、患者就诊时间点的选择等因素有关。Septin9 基因甲基化诊断的约登指数为 0.681 1, AUC 为 0.793,均高于 CA199 检测的结果,表明 Septin9 基因甲基化对诊断 CRC 具有很高的灵敏度和准确度,可成为 CRC 患者筛查或诊断的实验室指标。血清 CA199 检测的灵敏度较外周血 Septin9 基因甲基化低,但特异度较外周血 Septin9 基因甲基化高,所以可以弥补 Septin9 基因甲基化诊断中的不足。最后,本研究将两项指标联合进行分析,结果显示,二者联合检测的灵敏度、约登指数和 AUC 均较单项检测高,表明联合检测较单一指标检测更有优势。通过这种无创的检测方法可以快速地将高危人群筛查出来,进而再对高危人群做进一步的病理组织检查,最大限度地减少有创检查的比例,提高患者依从性,缩短检测周期,节省医疗资源。

最后,本研究将 CRC 组治疗前后 Septin9 基因甲基化和 CA199 阳性率做了统计研究,结果发现,CRC 组 Septin9 基因甲基化和 CA199 治疗前后阳性率的比较,差异有统计学意义($P<0.05$),表明两项指标对于评估 CRC 患者治疗后效果具有一定的临床价值。随后,本研究对采用不同治疗方式的患者做了统计,

结果显示:采用手术治疗的 76 例患者中,治疗后 Septin9 基因甲基化阳性率为 22.37%,CA199 阳性率为 31.58%;采用药物化疗的 17 例患者中,治疗后 Septin9 基因甲基化阳性率为 82.35%,CA199 阳性率为 35.29%。这就表明,Septin9 基因甲基化检测在手术后的患者中改变明显。CA199 对于手术治疗的 CRC 患者的预后评估价值虽然不及 Septin9 基因甲基化,但其在药物化疗评估中的变化较采用手术治疗更明显。

综上所述,Septin9 基因甲基化和 CA199 检测具有简便、快速、准确、患者易接受及适用于普查等优点,二者联合检测可以做到优势互补,提高诊断效率,对于 CRC 的诊断和预后评估具有很高的价值。由于本研究样本量较少,对于外周血 Septin9 基因甲基化在 CRC 分期中的诊断价值未做进一步研究,将继续积累病例,将 Septin9 基因甲基化水平与 CRC 分期的相关性探索纳入今后的研究中,为 CRC 分期的诊断提供更可靠的科学依据。

参考文献

- [1] 郁雨婷,赵根明,郁建国,等.上海市松江区结直肠癌发病危险因素研究[J].中国全科医学,2018,21(30):3709-3713.
- [2] 陈万青,郑荣寿,张思维,等.2012 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J].中国肿瘤,2016,25(1):1-8.
- [3] COSKUN Ö,ÖZTOPUZ Ö,ÖZKAN Ö F. Determination of IL-6, TNF- α and VEGF levels in the serums of patients with colorectal cancer[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2017,63(5):97-101.
- [4] 李丹,苏光建,肖燕萍,等.外周血甲基化 Septin-9 检测对结直肠癌诊断价值的 Meta 分析[J].中国免疫学杂志,2017,33(10):1547-1551.
- [5] 张桂前,孙鹭,朱红艳,等.血浆 Septin9 基因甲基化检测在结直肠癌筛查中的应用分析[J].中华肿瘤防治杂志,2020,27(15):1263-1268.
- [6] 程世芳,毛永芸,唐生业.癌组织及外周血 CD44、PLCE1、甲基化 Sept9 基因及 DNA 错配修复蛋白表达水平与结直肠癌病理分期及预后的相关性分析[J].胃肠病学和肝病杂志,2020,29(2):183-188.
- [7] SIEGEL R, DESANTIS C, JEMAL A. Colorectal cancer statistics, 2014[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(2): 104-117.
- [8] 康倩,李娜,金鹏,等.外周血 Septin9 基因甲基化检测在老年人结直肠癌筛查中的意义[J].胃肠病学和肝病杂志,2019,28(5):503-507.
- [9] 王中月,于洪升. Septin9 基因与结直肠癌关系的研究进展[J].智慧健康,2019,5(3):43-44.
- [10] 马晓颖,姬乐,陈红男,等.结直肠癌患者血浆甲基化 Sept9 基因的表达及临床意义[J].现代生物医学进展,

- 2018,18(9):1762-1766.
- [11] 刘志永,徐心. Septin9 基因与结直肠癌相关性研究进展[J]. 医学综述,2016,22(17):3390-3393.
- [12] MOLNÁR B, TÓTH K, BARTÁK B K, et al. Plasma methylated septin 9: a colorectal cancer screening marker[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2015, 15(2): 171-184.
- [13] 李建,樊华,何晓斌,等. 血浆 SFRP1 和 Septin9 基因甲基化检测对结直肠癌诊断的临床价值[J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(5): 517-519.
- [14] 郁迪,张小虎,鲁辛辛. 血清 Septin9 基因甲基化检测在结直肠癌诊断中的应用[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(9): 687-689.
- (收稿日期:2021-05-27 修回日期:2021-12-10)
- 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2022. 04. 024

北京地区 2 308 例男性精液质量检查结果分析^{*}

王 越,王甲琪,胡 娜,刘锦锦,赵永平[△],王建六

北京大学人民医院妇产科,北京 100044

摘 要:目的 通过对北京地区 2 308 例男性精液质量检查结果进行分析,寻找北京地区男性的最佳生育时间。方法 收集 2020 年 1—12 月在该院进行精液常规检查的 2 308 例男性患者,根据年龄分为 5 组:≤25 岁组 109 例,26~30 岁组 491 例,31~35 岁组 913 例,36~40 岁组 532 例,≥41 岁组 263 例。使用计算机辅助精子自动分析系统(CASA)分析精液检查常规参数,按照第 5 版《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》对其进行统计分析,并比较各年龄组患者的精液质量。结果 受检的 2 308 例男性患者中,精液各项参数均正常占 13.52%(312/2 308),无精子症占 1.60%(37/2 308)。各单项精液参数检查中,前向运动精子百分率异常率(31.59%)最高,其次是精子总活力异常率(24.91%)。对 5 个不同年龄组男性精液质量比较分析发现:各组间 pH 值和液化时间差异均无统计学意义($P>0.05$);精液量在 36~40 岁组开始降低,≥41 岁组精液量与≤25 岁、26~30 岁、31~35 岁组相比差异均有统计学意义($P<0.05$);随着年龄增加,精子总数逐渐增加,其他年龄组与≤25 岁组相比,差异均有统计学意义($P<0.05$);精子浓度在 31~35 岁组以后,呈稳定增加,31~35 岁、36~40 岁、≥41 岁组的精子浓度与≤25 岁组相比,差异均有统计学意义($P<0.05$)。前向运动精子百分率随着年龄增加先增加后降低,但各年龄组间差异无统计学意义($P>0.05$);精子总活力呈先增高后降低的变化,36~40 岁组的精子总活力与≥41 岁组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 北京地区男性精液质量异常除精子形态外,主要表现在前向运动精子百分率和精子总活力异常。同时,随着年龄的增加,≥41 岁精子总活力下降,建议男性在 40 岁以前完成生育。

关键词:男性; 精液质量; 年龄; 北京

中图法分类号:R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)04-0529-03

不孕症是世界卫生组织公认的一种疾病,根据大规模人口调查,全球约有 7 240 万不孕人群,其中男性因素占 50%^[1]。早在 20 世纪初,有研究认为在伴侣怀孕时年龄在 40 岁以上的男性为“高龄父亲”,并提示男性精液质量确实和年龄呈负相关^[2-4]。故及时了解男性精液质量,分析年龄因素对精液质量的影响,可以更好地指导当地居民生育。各地区对当地男性精液质量调查分析较常见,本研究对北京地区男性精液质量进行调查和分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2020 年 1—12 月在本院计划生育与生殖中心进行生育咨询或生育健康体检的男

性作为研究对象,年龄 17~64 岁,平均(33.97±5.86)岁。所有患者排除生殖系统疾病史、恶性疾病、慢性病及家族遗传病史。将研究对象按照年龄分为 5 个组:≤25 岁组 109 例,26~30 岁组 491 例,31~35 岁组 913 例,36~40 岁组 532 例,≥41 岁组 263 例。

1.2 仪器与试剂 北京伟力 9000 型计算机辅助精液分析系统、精密 pH 试纸、计数板。

1.3 方法 采用称量法测定精液标本体积。使用精密 pH 试纸(5.5~9.0)检测精液 pH 值。精液黏稠度检测:将精液标本吸入吸管,使精液借助重力滴下,正常精液离开吸管时呈不连续小滴,异常时液滴会形成超过 2 cm 的拉丝。精液常规采用北京伟力 9000

* 基金项目:国家重点研发项目(2019YFC1005200、2019YFC1005201)。

[△] 通信作者, E-mail: ypzhaol966@126.com。

本文引用格式:王越,王甲琪,胡娜,等. 北京地区 2 308 例男性精液质量检查结果分析[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(4): 529-531.