

结直肠癌筛查和早期诊断生物标志物研究进展

张愉涵 陈宏达 卢明 代敏

国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院
癌症早诊早治办公室, 北京 100021

通信作者: 代敏, Email: daimin2002@hotmail.com

【摘要】 结直肠癌疾病负担沉重, 严重威胁人类健康, 人群中开展筛查可有效降低结直肠癌发病率和死亡率。近年来, 结直肠癌相关的遗传学、表观遗传学和微生物组学研究成果层出不穷, 随着基因测序和分子检测技术的发展, 探索与癌症发生发展相关的生物标志物以应用于结直肠癌筛查和早期诊断已成为目前的研究热点。本文对现有结直肠癌筛查和早期诊断生物标志物进行综述, 为进一步开发新型有效的结直肠癌非侵入性筛查和早期诊断技术提供依据。

【关键词】 结直肠肿瘤; 生物标志物; 筛查; 早期诊断

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2017-I2M-1-006, 2019-I2M-2-002); 国家自然科学基金(81703309); 北京市科技新星计划(Z191100001119065); 北京市自然科学基金(7202169)

Progress in research of biomarkers for colorectal cancer screening and early detection

Zhang Yuhan, Chen Hongda, Lu Ming, Dai Min

Office of Cancer Screening, National Cancer Center/National Clinical Research Center for Cancer/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China

Corresponding author: Dai Min, Email: daimin2002@hotmail.com

【Abstract】 Disease burden caused by colorectal cancer is growing, which has become a major concern in public health. Population-based screening has been proved effective in reducing the morbidity and mortality of colorectal cancer. To date, more evidences regarding the changes in genetics, epigenetics and microbiome of colorectal cancer have been recognized. Emerging technologies for gene sequencing and molecular detection shed lights on the development of informative colorectal cancer related biomarkers. In this article, we summarize the latest findings in research of biomarkers for colorectal cancer screening and early detection to provide references for the development of novel effective and non-invasive colorectal cancer screening tests in the future.

【Key words】 Colorectal neoplasm; Biomarker; Screening; Early detection

Fund programs: Chinese Academy of Medical Sciences Innovation Fund for Medical Science (2017-I2M-1-006, 2019-I2M-2-002); National Natural Science Foundation of China (81703309); Beijing Nova Program of Science and Technology (Z191100001119065); Natural Science Foundation of Beijing Municipality (7202169)

最新GLOBOCAN数据显示, 2018年全球结直肠癌新发病例约180万例, 位居全球恶性肿瘤发病第3位; 死亡病例约88.1万例, 居全球恶性肿瘤死亡第2位^[1]。2015年我国结直肠癌发病病例约38.8万例, 死亡病例约18.7万例, 分别位居全国恶性肿瘤发病和死亡的第3位和第5位^[2]。结直肠

癌患者中约70%为散发病例, 其发生发展多遵循“腺瘤-癌”序列^[3], 整个发展过程一般历时5~10年, 及时发现癌前病变并进行干预可以有效阻止结直肠癌的发生。此外, 结直肠癌预后与诊断分期高度相关, TNM I期结直肠癌患者5年生存率可达90%以上, 而TNM IV期仅有12%左右^[4]。研究

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200411-00556

收稿日期 2020-04-11 本文编辑 万玉立

引用本文: 张愉涵, 陈宏达, 卢明, 等. 结直肠癌筛查和早期诊断生物标志物研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(1): 142-148. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200411-00556.



证据已表明结直肠癌筛查和早诊早治可以有效降低结直肠癌的死亡率^[5-6]。传统的结直肠癌筛查方法包括免疫粪便潜血检测(fecal immunochemical test, FIT)、结肠镜、软式乙状结肠镜、CT仿真结肠镜等^[5-6]。然而这些筛查手段应用于人群筛查时存在一定的局限性,如内镜检查属于侵入性操作、人群依从性较差、对操作人员技术水平要求较高;FIT对结直肠癌前病变诊断效能有限等^[7-8]。近年来,随着对结直肠癌发生发展中遗传学和表观遗传学变化的深入了解以及生物检测技术的不断进步,人体血液、粪便和尿液等生物载体中的DNA、RNA、蛋白质及微生物等作为结直肠癌筛查和早期诊断生物标志物的潜能备受关注,这些标志物具有采样简便、风险较小等特点,有望成为下一代新型结直肠癌筛查和早期诊断检测靶点。本文将总结结直肠癌筛查和早期诊断生物标志物的最新研究进展,为后续结直肠癌筛查和早期诊断新技术的开发和评价提供理论参考。

一、血液标志物

在肿瘤发生和发展过程中,许多肿瘤相关生物分子可从肿瘤组织中释放进入血液,如肿瘤细胞来源的肿瘤基因组信息、肿瘤相关抗原以及一些基因表达产物等。目前研究已证明一系列血液标志物具有用于结直肠癌筛查和早期诊断的潜能。且血液检测采样方便快捷、风险较小,可潜在提升人群筛查参与率和依从性^[9-11],有助于提高人群筛查收益。

1. 循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)标志物:ctDNA指血液中游离的肿瘤组织DNA,可来源于肿瘤组织坏死、凋亡释放、循环肿瘤细胞溶解或肿瘤细胞的直接分泌^[12],其中一些DNA具有一定的肿瘤特异性,可用于肿瘤筛查和早期诊断^[13-14]。

(1)异常DNA甲基化(aberrant methylated DNA):DNA甲基化参与基因表达调节,在表观遗传中发挥重要作用,但基因的异常高甲基化或低甲基化往往与疾病发生有关。研究发现一些异常DNA甲基化与结直肠癌发生的早期事件有关,在肿瘤组织中普遍存在且反复出现^[15],提示DNA甲基化在结直肠癌筛查和早期诊断中具有广阔研究前景。近年来受到较多关注的有Septin9基因甲基化,该基因主要与胞质分裂和细胞周期调控有关^[16]。已有多项研究结果表明结直肠癌患者外周血中可检测到异常甲基化的Septin9基因,且对结直肠癌有较高的灵敏度和特异度^[17]。美国食品药品监督管理局(FDA)于2016年批准Epi proColon[®]为首个基于血液样本的结直肠癌筛查试剂盒^[18-20]。但受研究人群、检测试剂盒等因素的影响,不同研究中关于血液Septin9基因甲基化对结直肠癌的灵敏度和特异度分别为48.2%~95.6%和79.1%~99.1%^[18]。1项基于7941例结直肠癌筛查人群的前瞻性研究结果显示,第一代Septin9基因甲基化试剂盒Epi proColon 1.0对结直肠癌筛查灵敏度为48.2%,特异度为91.5%;对进展期腺瘤的灵敏度为11.2%^[20]。Potter等^[19]在同一研究人群中对Epi proColon 2.0试剂盒的诊断效能评估显示,该试剂盒对结直肠癌筛查

灵敏度提高到68%,特异度为80%,对进展期腺瘤筛查灵敏度为22%。基于以上两项研究结果,Wu等^[21]在1200例中国人群中开展了基于医院的结直肠癌筛查研究,结果显示,另一种Septin9基因甲基化检测试剂盒SensiColon对结直肠癌筛查的灵敏度为76.6%,特异度为95.9%,对腺瘤筛查的灵敏度为9.8%。

除Septin9基因甲基化之外,陆续开展的小样本临床病例-对照研究提示血液中还有一系列DNA甲基化具有作为结直肠癌筛查和早期诊断标志物的潜能,包括ALX4、APC、SFRP2、SDC2、SPG20等^[14,22-24],但仍需大样本前瞻性队列研究证据来进一步验证其诊断价值。此外,研究者也尝试采用多个基因甲基化联合检测的方法以进一步提高诊断效能。如1项包含2127例研究对象的多中心横断面研究结果表明血液BCAT1/IKZF1双基因甲基化诊断结直肠癌的灵敏度为66%,特异度为95%^[25]。Symonds等^[26]基于同一研究设计在1381例研究对象中比较BCAT1/IKZF1甲基化与FIT诊断效能,结果显示BCAT1/IKZF1检测结直肠癌的灵敏度和特异度分别为62.1%和92.7%,FIT试验的灵敏度和特异度分别为59.1%和95.6%。Jensen等^[27]基于1项包含434例研究对象的病例对照研究设计,使用C9orf50、KCNQ5及CLIP4基因甲基化联合检测结直肠癌,灵敏度和特异度分别为85%和99%,对I/II期结直肠癌诊断灵敏度分别为80%和85%。

(2)DNA突变(DNA mutation):包括KRAS、TP53、APC、BRAF、SMAD4、PIK3CA和FBXW7等在内的约200个基因被认为是结直肠癌发生的主要驱动基因,在肿瘤组织和血液中均可被检测出^[14]。其中前4种基因突变研究较多,但其用于结直肠癌筛查和早期诊断的表现并不突出。KRAS基因突变存在于约40%的结直肠癌患者中^[28],限制了其单独用于结直肠癌筛查的诊断价值;TP53突变出现较晚^[29],不适用于结直肠癌筛查和早期诊断;APC基因突变存在于超过85%的结直肠癌患者肿瘤组织中以及超过60%的I、II期结直肠癌患者体内^[30],但其诊断结直肠癌的灵敏度相对有限(14%~30%)^[31-32];结直肠癌早期即可发现BRAF突变,但研究表明该突变仅存在于5%~15%的结直肠癌患者中^[33]。目前血液突变DNA分子检测多用于指导结直肠癌治疗方案选择及预后评估^[34]。

2. RNA标志物:肿瘤组织中RNA表达高度异常,血液中的肿瘤来源RNA可用于肿瘤诊断标志物研究。RNA种类较多,包括信使RNA(mRNA)、微小RNA(miRNA)和长链非编码RNA(LncRNA)等,一般可在细胞外稳定存在,且易于提取和保存。其中与mRNA相比,miRNA在组织和体液中存在更稳定^[35]。

(1)miRNA:是一种小型非编码RNA,通过与mRNA结合参与基因表达调控,具有高保守性、高稳定性^[36],在多种肿瘤组织中均有特异性表达^[37]。2008年,Chen等^[38]发现与健康志愿者相比,结直肠癌患者血清中存在一系列miRNA分子的差异表达,提出循环miRNA可作为结直肠癌的潜在

诊断标志物。之后随着检测技术的发展,miRNA 分子作为结直肠癌筛查和早期诊断分子标志物的潜力陆续得到了深入探索。2009 年 Ng 等^[39]开展了 1 项包含 90 例结直肠癌患者和 50 例健康对照的病例对照研究,首次报道血液中 miR-92 分子作为结直肠癌分子标志物的 AUC 为 0.885,诊断结直肠癌的灵敏度为 89%,特异度为 70%。Liu 等^[40]基于 1 项包含 85 例结直肠癌患者和 78 例健康对照的病例对照研究,发现联合 miR-21、miR-29a、miR-92a 和 miR-125b 多个 miRNA 分子诊断结直肠癌的 AUC 可达 0.952,灵敏度和特异度分别为 84.7% 和 98.7%。总的来说,目前血液 miRNA 分子应用于结直肠癌筛查和早期诊断的研究正在不断成熟,单个 miRNA 分子诊断结直肠癌表现较好,多靶点联合使用可进一步提升诊断性能。

(2) LncRNA: 是长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA 分子,在调节肿瘤细胞增殖、细胞凋亡和迁移方面发挥着重要的生物学功能^[41]。血液中 LncRNA 可以长时间稳定存在,受室温、酸碱度、反复冻融等因素影响较小^[42]。目前 LncRNA 用于结直肠癌诊断的研究成果有很多,如 1 项包含 100 例结直肠癌病例和 100 例健康对照的病例对照研究结果显示,血液循环中的 NEAT1_v1 和 NEAT1_v2 区分结直肠癌患者和健康人群的 AUC 分别为 0.787 和 0.871,灵敏度分别为 69% 和 70%,特异度分别为 79% 和 96%^[43]。病例对照研究证据表明 ZFAS1、SNHG11、LINC00909 及 LINC00654 4 种 LncRNA 的组合对早期结直肠癌的 AUC 可达 0.935,其中 SNHG11 对癌前病变及早期结直肠癌的诊断能力尤其突出^[44]。

3. 可溶性蛋白标志物: 血液中一些抗原和细胞因子等蛋白质大分子也具有用于结直肠癌筛查和早期诊断的潜能,但单一的血液蛋白标志物对结直肠癌早期诊断能力有限,多指标联合可提高对结直肠癌的诊断性能。基于 1 项包含 4 698 例研究对象的横断面研究,Wilhelmsen 等^[45]发现以血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)和 CA19-9 为代表的一系列血清蛋白质分子对结直肠癌和高风险腺瘤的 AUC 为 0.52~0.65;而 CEA 联合 C 反应蛋白(c-reactive protein, CRP)、细胞角蛋白 19 的可溶性片段 CyFra21-1、以及铁蛋白诊断结直肠癌的 AUC 可达 0.74。Uchiyama 等^[46]在 1 项包含 56 例结直肠癌患者及 60 例健康对照的病例对照研究中对 5 种多肽联合诊断结直肠癌的效能进行评价,结果表明该组合标志物诊断 I/II 期结直肠癌的 AUC 分别为 0.779 和 0.946。Rho 等^[47]的研究结果显示,BAG 家族分子伴侣调节因子 4(BAG family molecular chaperone regulator 4)、白介素 6 受体 β 链(interleukin-6 receptor subunit beta)、血管性血友病因子(von willebrand factor)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor)以及 CD₄₄ 糖蛋白的组合也有望用于早期结肠癌的诊断。此外,近年研究者逐渐发现人体血液中的某些自身抗体等也可辅助结直肠癌诊断^[48]。

4. 其他: 除上述研究较多的分子标志物外,外泌

体^[49-50]、核小体^[15,51]等也陆续被提出未来可能运用于结直肠癌筛查和早期诊断。

二、粪便标志物

结直肠癌患者的肠黏膜癌变组织中可以检测出特异的遗传学变异,肠道黏膜上皮细胞可持续脱落并进入肠腔,从而使得肿瘤剥落细胞中包含发生改变的 DNA 等遗传物质,因此可以通过检测特定的遗传学或表观遗传学分子标志物来区分肿瘤病变和正常组织^[52]。此外,参与维持肠道黏膜稳态的肠道微生物与结直肠癌的发生发展关系密切,也有望用于结直肠癌筛查与早期诊断^[53]。

1. DNA 相关标志物: 粪便中结直肠癌早期诊断相关 DNA 标志物主要包括 DNA 甲基化和突变 DNA,其中 DNA 甲基化研究较多。SFRP2 基因甲基化是第一个被报道的结直肠癌相关粪便 DNA 甲基化标志物,1 项荟萃分析结果表明其对结直肠癌有着较高的灵敏度(71%)和特异度(94%),AUC 为 0.94^[54];另 1 项荟萃分析结果表明其对进展期腺瘤也有一定的诊断价值,灵敏度为 56%^[55]。此外,研究表明波形蛋白基因(VIM)甲基化诊断结直肠癌特异度较高(86.9%~100.0%),但不同研究之间灵敏度差异较大(20.0%~72.5%)^[17],一定程度上与粪便样本保存、DNA 提取技术、突变检测技术和分析方法等有关^[56]。此外,NDRG4、APC、ATM、BMP3、SFRP2、MLH1 等基因甲基化也陆续被报道可用于结直肠癌的早期诊断^[17,57-58]。与 DNA 甲基化相比,尽管对 DNA 突变相关研究较少,但也有证据表明其具有一定的结直肠癌诊断价值。如 Imperiale 等^[59]在 4 404 例一般风险人群中开展结直肠癌筛查,基于该横断面研究,对 1 个包含 21 个点突变的 DNA 分子标志物组合进行评价,结果显示该粪便 DNA 分子组合标志物对结直肠癌筛查的灵敏度为 52%,而愈创木脂粪便潜血试验(guaiac-based fecal occult blood test, gFOBT)在同一人群中的灵敏度为 13%。

在结直肠癌相关粪便 DNA 标志物各独立研究基础上,研究者尝试开发多靶点粪便 DNA 联合检测技术。Ahlquist 等^[60]基于在 4 482 例一般风险人群中开展的横断面研究证据,发现联合检测 APC 和 KRAS 突变以及 VIM 甲基化,诊断结直肠癌的灵敏度为 58%。随后得益于样品处理和检测技术的不断完善,在以上第一代粪便 DNA 多靶点检测研究基础上^[52],Imperiale 等^[61]结合粪便隐血和分子标记物(包括 KRAS 基因突变,及 NDRG4 和 BMP3 共 2 个甲基化标志)构建新型多靶点粪便 DNA 检测技术,并基于 1 项横断面研究在 4 482 例筛查人群中评价其对结直肠癌的诊断性能,结果表明该项技术对结直肠癌和进展期腺瘤的诊断灵敏度分别为 92.3% 和 42.4%,明显高于 FIT(73.8% 和 23.8%),但特异度略有降低(多靶点粪便 DNA 检测特异度为 86.6%~89.8%,FIT 特异度为 94.9%~96.4%)。美国 FDA 于 2014 年 8 月批准该项技术(Cologuard[®])用于结直肠癌筛查,目前该技术已经得到了多个权威指南的推荐^[5-6]。

2. RNA 和蛋白质标志物: 粪便中 RNA 分子和蛋白质在结直肠癌筛查和早期诊断中的应用价值也逐渐受到关注。

既往研究初步证实粪便中一些 miRNA 分子(如 miR-21、miR-92a、miR-29b、miR-135 及 miR-20a 等^[15,62-63])以及蛋白质分子[如钙卫蛋白(calprotectin)^[64-65]和肿瘤型 M2 丙酮酸激酶(tumor M2 pyruvate kinase, M2-PK)^[66]等]在结直肠癌患者和健康人群中具有差异表达,可潜在用于结直肠癌的早期诊断。如 Wu 等^[67]开展了 1 项包含 88 例结直肠癌、57 例结直肠息肉及 101 例健康对照的病例对照研究,发现粪便中 miR-92a 对结直肠癌灵敏度可达 71.6%,联合 miR-21 对结直肠癌灵敏度可达 81.8%;与近端结直肠癌相比(灵敏度为 51.9%),miR-92a 诊断远端结直肠癌的灵敏度更高(灵敏度为 80.3%, $P<0.05$);手术切除进展期腺瘤后,粪便中 miR-92a 水平会下降($P<0.05$)。M2-PK 作为糖酵解途径中的关键酶也备受关注,其可在肿瘤细胞中大量表达并主要以二聚体的形式存在。粪便 M2-PK 对结直肠癌诊断效能的研究已经开展很多,但由于研究对象组成、样本量、检测技术等因素的不同,研究结果存在一定差异^[67],其中 Kim 等^[68]在包含 139 例结直肠癌、124 例结肠腺瘤及 60 例健康对照的病例对照研究中发现,免疫层析法检测 M2-PK 诊断结直肠癌的灵敏度可达 90% 以上。

3. 微生物组标志物:测序平台的完善和组学技术的发展使得人类肠道微生物与癌症之间关联研究得以不断深入。不同地区、不同种族来源的病例-对照研究、体外研究及动物模型研究均表明肠道菌群失调与结直肠癌的发生、发展、转归过程有关^[53,69-70],其中具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum, Fn*)以及大肠埃希菌(*Escherichia coli*)和脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)的一些特定菌株在结直肠黏膜癌变中扮演重要的角色^[53]。研究者利用粪便中一些肠道菌群区分健康对照和结直肠癌患者,结果显示粪便微生物组具有作为结直肠癌筛查和早期诊断标志物的潜能。且由于结直肠癌的发生发展过程离不开多种肠道菌群的共同参与和相互影响,不同菌群标志物的组合可对诊断效能互相补充。例如, Liang 等^[71]基于 170 例结直肠癌患者和 200 例健康对照的粪便微生物分析发现,与健康对照人群相比,结直肠癌患者粪便中 *Fn* 丰度明显增加,其区分结直肠癌患者和健康对照的 AUC 为 0.868,灵敏度和特异度为 77.7% 和 79.5%,与另外 3 种肠道微生物的线性组合可将诊断结直肠癌的 AUC 提升至 0.886。Guo 等^[72]基于 215 例结直肠癌和 156 例健康对照的病例对照研究发现,基于 *Fn* 与双歧杆菌(*Bifidobacterium*)比值诊断结直肠癌的 AUC 可达 0.911,灵敏度为 84.6%,特异度为 92.3%。其他一些肠道微生物组合诊断结直肠癌的 AUC 也可达到 0.9 以上^[70,72-73]。此外,肠道微生物与 FIT 或结直肠癌相关危险因素结合能进一步提高对结直肠癌的诊断效能。如 Wong 等^[74]对 104 例结直肠癌病例、103 例进展期腺瘤病例及 102 例健康对照的粪便进行特定肠道微生物的定量测序研究,发现 FIT 结合 *Fn* 可将诊断结直肠癌的 AUC 从 0.86 提升至 0.95,对进展期腺瘤 AUC 从 0.57 提升至 0.65。Zackular 等^[75]开展了 1 项小样本病例对照研究,将 6 种肠道菌群标志物与年龄、种族及 BMI 结

合,所构建的回归模型对结直肠癌的 AUC 可达 0.92。

三、其他标志物

除血液和粪便之外,尿液也被广泛应用于临床检测,且样本采集过程无创,接受度相对较高。研究表明尿液中多种物质,如 DNA 甲基化、挥发性有机物(volatile organic compounds, VOCs)、蛋白质代谢物、核苷、酶及前列腺素 E 代谢物(prostaglandin E metabolite, PGE2-M)等均有可能成为结直肠癌诊断标志物^[76],但多数候选标志物在人群筛查中的诊断效能仍需进一步研究评价。其中,VOCs 作为一种气态的碳基化合物,除存在于尿液中,还可在人体呼气、粪便中检出,可在一定程度上反映机体健康状态^[77-78]。van Keulen 等^[78]开展了 1 项包含 447 例研究对象的横断面研究,以呼出 VOCs 构建数学模型,结果表明模型对结直肠癌的 AUC 为 0.84,灵敏度为 95%,特异度为 64%;对进展期腺瘤的 AUC 为 0.73,灵敏度为 79%,特异度为 59%。未来仍需进一步扩大样本量,以深入评价呼气 VOCs 对结直肠癌及癌前病变的识别能力。

四、小结与展望

应用于人群结直肠癌筛查的方法应具有准确、安全、便捷、价格合理、易被接受且可及性好等特点。对此,血液和粪便中的核酸分子对结直肠癌早期诊断价值是研究重点,其中 DNA 甲基化水平和 miRNA 分子可传达出丰富的人体健康状态信息,且肿瘤特异 DNA 甲基化在正常肠道黏膜癌变过程中出现较早,miRNA 在生物材料中存在相对稳定,使得这两类标志物在未来值得开展更深入的研究。此外,粪便肠道菌群具备用于结直肠癌筛查与早期诊断的潜能。

尽管结直肠癌早期诊断生物标志物的相关研究已开展很多,但真正运用于临床实践的很少,目前仅有 1 项多靶点粪便 DNA 检测试剂盒(Cologuard[®])被美国癌症协会和美国结直肠癌多学科工作组等推荐用于人群结直肠癌筛查^[5-6]。转化应用的限制主要来源于诊断效能、证据等级、检测技术和成本等问题。未来相关研究应致力于提高新型生物标志物诊断结直肠癌及癌前病变的灵敏度、特异度,优化生物样本采集、储存及处理和分子检测技术及操作环节,在此基础上提高研究证据质量,基于横断面或病例对照研究等探索性研究结果进一步开展前瞻性的大样本人群筛查效果研究,辅以卫生经济学评价及人群依从性等研究证据,并对不同地区、不同研究人群结果进行系统回顾和荟萃分析,指导新型结直肠癌筛查与早期诊断生物标志物筛查方案制定,如进一步明确筛查时间间隔等,从而推动实现科学研究成果的真正转化应用。此外,多靶点联合检测可以提高结直肠癌检出率,是未来的研究和应用趋势,组合项目选择需考虑诊断效能、检测及成本等多方面的问题,综合多方研究证据以达成决策共识。

本文对近年来结直肠癌筛查和早期诊断生物标志物的诸多研究成果进行了梳理和回顾,尽管未采用严格的系统综述方式开展,但仍较为全面的总结概括了多种类型生物标志物的研究进展,有助于了解当前结直肠癌筛查和早期

诊断生物标志物研究现状,并为将来开发有效的结直肠癌非侵入性筛查技术提供理论参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- [2] 孙可欣,郑荣寿,张思维,等. 2015年中国分地区恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. *中华肿瘤*, 2019, 28(1): 1-11. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.01.A001.
Sun KX, Zheng RS, Zhang SW, et al. Report of cancer incidence and mortality in different areas of China, 2015[J]. *China Cancer*, 2019, 28(1): 1-11. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.01.A001.
- [3] Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer[J]. *Lancet*, 2014, 383(9927): 1490-1502. DOI: 10.1016/s0140-6736(13)61649-9.
- [4] El-Shami K, Oeffinger KC, Erb NL, et al. American cancer society colorectal cancer survivorship care guidelines[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(6): 428-455. DOI: 10.3322/caac.21286.
- [5] Wolf AMD, Fontham ETH, Church TR, et al. Colorectal cancer screening for average-risk adults: 2018 guideline update from the American Cancer Society[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(4): 250-281. DOI: 10.3322/caac.21457.
- [6] Rex DK, Boland CR, Dominitz JA, et al. Colorectal cancer screening: recommendations for physicians and patients from the U.S. multi-society task force on colorectal cancer [J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(1): 307-323. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.05.013.
- [7] Haug U, Hundt S, Brenner H. Quantitative immunochemical fecal occult blood testing for colorectal adenoma detection: evaluation in the target population of screening and comparison with qualitative tests[J]. *Am J Gastroenterol*, 2010, 105(3): 682-690. DOI: 10.1038/ajg.2009.668.
- [8] Hundt S, Haug U, Brenner H. Comparative evaluation of immunochemical fecal occult blood tests for colorectal adenoma detection[J]. *Ann Intern Med*, 2009, 150(3): 162-169. DOI: 10.7326/0003-4819-150-3-200902030-00005.
- [9] Liles EG, Coronado GD, Perrin N, et al. Uptake of a colorectal cancer screening blood test is higher than of a fecal test offered in clinic: A randomized trial[J]. *Cancer Treat Res Commun*, 2017, 10: 27-31. DOI: 10.1016/j.ctarc.2016.12.004.
- [10] 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. DOI: 10.1186/1471-230x-14-183.
- [11] Osborne JM, Wilson C, Moore V, et al. Sample preference for colorectal cancer screening tests: Blood or stool? [J]. *Open J Prev Med*, 2012, 2(3): 326-331. DOI: 10.4236/ojpm.2012.23047.
- [12] Alix-Panabières C, Pantel K. Clinical applications of circulating tumor cells and circulating tumor DNA as liquid biopsy[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(5): 479-491. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-1483.
- [13] Nadal C, Winder T, Gerger A, et al. Future perspectives of circulating tumor DNA in colorectal cancer[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(5): 1010428317705749. DOI: 10.1177/1010428317705749.
- [14] Molnár B, Galamb O, Kalmár A, et al. Circulating cell-free nucleic acids as biomarkers in colorectal cancer screening and diagnosis—an update[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2019, 19(6): 477-498. DOI: 10.1080/14737159.2019.1613891.
- [15] Okugawa Y, Grady WM, Goel A. Epigenetic alterations in colorectal cancer: emerging biomarkers[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(5): 1204-1225.e12. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.07.011.
- [16] Vatandoost N, Ghanbari J, Mojaver M, et al. Early detection of colorectal cancer: from conventional methods to novel biomarkers[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2016, 142(2): 341-351. DOI: 10.1007/s00432-015-1928-z.
- [17] Rasmussen SL, Krarup HB, Sunesen KG, et al. Hypermethylated DNA as a biomarker for colorectal cancer: a systematic review[J]. *Colorectal Dis*, 2016, 18(6): 549-561. DOI: 10.1111/codi.13336.
- [18] Song LL, Jia J, Peng XM, et al. The performance of the *SEPT9* gene methylation assay and a comparison with other CRC screening tests: A meta-analysis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 3032. DOI: 10.1038/s41598-017-03321-8.
- [19] Potter NT, Hurban P, White MN, et al. Validation of a real-time PCR-based qualitative assay for the detection of methylated *SEPT9* DNA in human plasma[J]. *Clin Chem*, 2014, 60(9): 1183-1191. DOI: 10.1373/clinchem.2013.221044.
- [20] Church TR, Wandell M, Lofton-Day C, et al. Prospective evaluation of methylated *SEPT9* in plasma for detection of asymptomatic colorectal cancer[J]. *Gut*, 2014, 63(2): 317-325. DOI: 10.1136/gutjnl-2012-304149.
- [21] Wu D, Zhou GP, Jin P, et al. Detection of colorectal cancer using a simplified *SEPT9* gene methylation assay is a reliable method for opportunistic screening[J]. *J Mol Diagn*, 2016, 18(4): 535-545. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2016.02.005.
- [22] Ørntoft MBW. Review of blood-based colorectal cancer screening: how far are circulating cell-free DNA methylation markers from clinical implementation? [J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2018, 17(2): e415-433. DOI: 10.1016/j.clcc.2018.02.012.
- [23] Kim JH, Park SC. *Syndecan-2* methylation as a new biomarker for early detection of colorectal neoplasm[J]. *Gut Liver*, 2018, 12(5): 479-480. DOI: 10.5009/gnl18286.
- [24] Rezvani N, Alibakhshi R, Vaisi-Raygani A, et al. Detection of *SPG20* gene promoter-methylated DNA, as a novel epigenetic biomarker, in plasma for colorectal cancer diagnosis using the MethyLight method[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(5): 3277-3284. DOI: 10.3892/ol.2017.5815.
- [25] Pedersen SK, Symonds EL, Baker RT, et al. Evaluation of an assay for methylated *BCAT1* and *IKZF1* in plasma for detection of colorectal neoplasia[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 654. DOI: 10.1186/s12885-015-1674-2.
- [26] Symonds EL, Pedersen SK, Baker RT, et al. A blood test for methylated *BCAT1* and *IKZF1* vs. a fecal immunochemical test for detection of colorectal Neoplasia[J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2016, 7(1): e137. DOI: 10.1038/ctg.2015.67.
- [27] Jensen SO, Øgaard N, Ørntoft MBW, et al. Novel DNA

- methylation biomarkers show high sensitivity and specificity for blood-based detection of colorectal cancer—a clinical biomarker discovery and validation study[J]. *Clin Epigenet*, 2019, 11(1): 158. DOI: 10.1186/s13148-019-0757-3.
- [28] Lecomte T, Berger A, Zinzindohoué F, et al. Detection of free-circulating tumor-associated DNA in plasma of colorectal cancer patients and its association with prognosis[J]. *Int J Cancer*, 2002, 100(5): 542-548. DOI: 10.1002/ijc.10526.
- [29] Nikolouzakakis TK, Vassilopoulou L, Fragkiadaki P, et al. Improving diagnosis, prognosis and prediction by using biomarkers in CRC patients (Review)[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(6):2455-2472. DOI:10.3892/or.2018.6330.
- [30] Diehl F, Li M, Dressman D, et al. Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(45):16368-16373. DOI:10.1073/pnas.0507904102.
- [31] Petit J, Carroll G, Gould T, et al. Cell-free DNA as a diagnostic blood-based biomarker for colorectal cancer: a systematic review[J]. *J Surg Res*, 2019, 236: 184-197. DOI: 10.1016/j.jss.2018.11.029.
- [32] Wang JY, Hsieh JS, Chang MY, et al. Molecular detection of APC, K-ras, and p53 mutations in the serum of colorectal cancer patients as circulating biomarkers[J]. *World J Surg*, 2004, 28(7):721-726. DOI:10.1007/s00268-004-7366-8.
- [33] Nagaraja AK, Bass AJ. Hitting the target in *BRAF*-mutant colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(34):3990-3992. DOI:10.1200/jco.2015.63.7793.
- [34] Gonzalez-Pons M, Cruz-Correa M. Colorectal cancer biomarkers: where are we now?[J]. *BioMed Res Int*, 2015, 2015:149014. DOI:10.1155/2015/149014.
- [35] Ryan EJ, Creagh EM. Emerging methods in colorectal cancer screening[J]. *Br J Surg*, 2018, 105(2): e16-18. DOI: 10.1002/bjs.10650.
- [36] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(30): 10513-10518. DOI:10.1073/pnas.0804549105.
- [37] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers[J]. *Nature*, 2005, 435(7043): 834-838. DOI:10.1038/nature03702.
- [38] Chen X, Ba Y, Ma LJ, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. *Cell Res*, 2008, 18(10): 997-1006. DOI:10.1038/cr.2008.282.
- [39] Ng EKO, Chong WWS, Jin H, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening[J]. *Gut*, 2009, 58(10):1375-1381. DOI:10.1136/gut.2008.167817.
- [40] Liu HN, Liu TT, Wu H, et al. Serum microRNA signatures and metabolomics have high diagnostic value in colorectal cancer using two novel methods[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(4):1185-1194. DOI:10.1111/cas.13514.
- [41] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2009, 136(4): 629-641. DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.006.
- [42] Tong YS, Wang XW, Zhou XL, et al. Identification of the long non-coding RNA POU3F3 in plasma as a novel biomarker for diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14:3. DOI:10.1186/1476-4598-14-3.
- [43] Wu YC, Yang L, Zhao J, et al. Nuclear-enriched abundant transcript 1 as a diagnostic and prognostic biomarker in colorectal cancer[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 191. DOI: 10.1186/s12943-015-0455-5.
- [44] Xu W, Zhou G, Wang HZ, et al. Circulating lncRNA SNHG11 as a novel biomarker for early diagnosis and prognosis of colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(10): 2901-2912. DOI:10.1002/ijc.32747.
- [45] Wilhelmsen M, Christensen IJ, Rasmussen L, et al. Detection of colorectal neoplasia: Combination of eight blood-based, cancer-associated protein biomarkers[J]. *Int J Cancer*, 2017, 140(6):1436-1446. DOI:10.1002/ijc.30558.
- [46] Uchiyama K, Naito Y, Yagi N, et al. Selected reaction monitoring for colorectal cancer diagnosis using a set of five serum peptides identified by BLOTCHIP®-MS analysis [J]. *J Gastroenterol*, 2018, 53(11):1179-1185. DOI:10.1007/s00535-018-1448-0.
- [47] Rho JH, Ladd JJ, Li CI, et al. Protein and glycomic plasma markers for early detection of adenoma and colon cancer [J]. *Gut*, 2018, 67(3): 473-484. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312794.
- [48] Chen HD, Werner S, Tao S, et al. Blood autoantibodies against tumor-associated antigens as biomarkers in early detection of colorectal cancer[J]. *Cancer Lett*, 2014, 346(2): 178-187. DOI:10.1016/j.canlet.2014.01.007.
- [49] Matsumura T, Sugimachi K, Inuma H, et al. Exosomal microRNA in serum is a novel biomarker of recurrence in human colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2015, 113(2): 275-281. DOI:10.1038/bjc.2015.201.
- [50] Xiao Y, Li Y, Yuan YH, et al. The potential of exosomes derived from colorectal cancer as a biomarker[J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 490: 186-193. DOI: 10.1016/j.cca.2018.09.007.
- [51] Rahier JF, Druez A, Faugeras L, et al. Circulating nucleosomes as new blood-based biomarkers for detection of colorectal cancer[J]. *Clin Epigenetics*, 2017, 9: 53. DOI:10.1186/s13148-017-0351-5.
- [52] Robertson DJ, Imperiale TF. Stool testing for colorectal cancer screening[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(5): 1286-1293. DOI:10.1053/j.gastro.2015.05.045.
- [53] Wong SH, Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(11): 690-704. DOI: 10.1038/s41575-019-0209-8.
- [54] Yang QH, Huang T, Ye GL, et al. Methylation of *SFRP2* gene as a promising noninvasive biomarker using feces in colorectal cancer diagnosis: a systematic meta-analysis[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:33339. DOI:10.1038/srep33339.
- [55] Shariatpanahi AM, Yassi M, Nourai M, et al. The importance of stool DNA methylation in colorectal cancer diagnosis: A meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2018, 13(7): e0200735. DOI:10.1371/journal.pone.0200735.
- [56] Bailey JR, Aggarwal A, Imperiale TF. Colorectal cancer screening: stool DNA and other noninvasive modalities[J]. *Gut Liver*, 2016, 10(2):204-211. DOI:10.5009/gnl15420.
- [57] Zhang H. Accuracy of early detection of colorectal tumours by stool methylation markers: A meta-analysis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(38): 14040-14050. DOI: 10.3748/wjg.v20.i38.14040.
- [58] Xiao WH, Zhao HX, Dong WW, et al. Quantitative detection of methylated *NDRG4* gene as a candidate biomarker for

- diagnosis of colorectal cancer[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(3): 1383-1387. DOI:10.3892/ol.2014.2815.
- [59] Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, et al. Fecal DNA versus fecal occult blood for colorectal-cancer screening in an average-risk population[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(26):2704-2714. DOI:10.1056/NEJMoa033403.
- [60] Ahlquist DA, Sargent DJ, Loprinzi CL, et al. Stool DNA and occult blood testing for screen detection of colorectal neoplasia[J]. *Ann Intern Med*, 2008, 149(7):441-450. DOI: 10.7326/0003-4819-149-7-200810070-00004.
- [61] Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, et al. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(14):1287-1297. DOI: 10.1056/NEJMoa1311194.
- [62] Yau TO, Wu CW, Tang CM, et al. MicroRNA-20a in human faeces as a non-invasive biomarker for colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(2): 1559-1568. DOI: 10.18632/oncotarget.6403.
- [63] Hollis M, Nair K, Vyas A, et al. MicroRNAs potential utility in colon cancer: Early detection, prognosis, and chemosensitivity[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(27): 8284-8292. DOI:10.3748/wjg.v21.i27.8284.
- [64] Turvill J, Aghahoseini A, Sivarajasingham N, et al. Faecal calprotectin in patients with suspected colorectal cancer: a diagnostic accuracy study[J]. *Br J Gen Pract*, 2016, 66(648):e499-506. DOI:10.3399/bjgp16X685645.
- [65] Hoff G, Grotmol T, Thiis-Evensen E, et al. Testing for faecal calprotectin (Phi Cal) in the norwegian colorectal cancer prevention trial on flexible sigmoidoscopy screening: comparison with an immunochemical test for occult blood (Flex Sure OBT)[J]. *Gut*, 2004, 53(9):1329-1333. DOI: 10.1136/gut.2004.039032.
- [66] Tonus C, Sellinger M, Koss K, et al. Faecal pyruvate kinase isoenzyme type M2 for colorectal cancer screening: A meta-analysis[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(30): 4004-4011. DOI:10.3748/wjg.v18.i30.4004.
- [67] Wu CW, Ng SSM, Dong YJ, et al. Detection of miR-92a and miR-21 in stool samples as potential screening biomarkers for colorectal cancer and polyps[J]. *Gut*, 2012, 61(5):739-745. DOI:10.1136/gut.2011.239236.
- [68] Kim YC, Kim JH, Cheung DY, et al. The usefulness of a novel screening kit for colorectal cancer using the immunochromatographic fecal tumor M2 pyruvate kinase test[J]. *Gut Liver*, 2015, 9(5): 641-648. DOI: 10.5009/gnl13457.
- [69] Wirbel J, Pyl PT, Kartal E, et al. Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer[J]. *Nat Med*, 2019, 25(4): 679-689. DOI:10.1038/s41591-019-0406-6.
- [70] Thomas AM, Manghi P, Asnicar F, et al. Metagenomic analysis of colorectal cancer datasets identifies cross-cohort microbial diagnostic signatures and a link with choline degradation[J]. *Nat Med*, 2019, 25(4): 667-678. DOI:10.1038/s41591-019-0405-7.
- [71] Liang QY, Chiu J, Chen YX, et al. Fecal bacteria act as novel biomarkers for noninvasive diagnosis of colorectal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(8):2061-2070. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-16-1599.
- [72] Guo SH, Li LF, Xu BL, et al. A simple and novel fecal biomarker for colorectal cancer: ratio of *Fusobacterium nucleatum* to probiotics populations, based on their antagonistic effect[J]. *Clin Chem*, 2018, 64(9): 1327-1337. DOI:10.1373/clinchem.2018.289728.
- [73] Feng Q, Liang SS, Jia HJ, et al. Gut microbiome development along the colorectal adenoma-carcinoma sequence[J]. *Nat Commun*, 2015, 6:6528. DOI:10.1038/ncomms7528.
- [74] Wong SH, Kwong TNY, Chow TC, et al. Quantitation of faecal *Fusobacterium* improves faecal immunochemical test in detecting advanced colorectal neoplasia[J]. *Gut*, 2017, 66(8):1441-1448. DOI:10.1136/gutjnl-2016-312766.
- [75] Zackular JP, Rogers MAM, Ruffin IV MT, et al. The human gut microbiome as a screening tool for colorectal cancer [J]. *Cancer Prev Res*, 2014, 7(11):1112-1121. DOI:10.1158/1940-6207.Capr-14-0129.
- [76] Altobelli E, Angeletti PM, Latella G. Role of urinary biomarkers in the diagnosis of adenoma and colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Cancer*, 2016, 7(14):1984-2004. DOI:10.7150/jca.16244.
- [77] Bond A, Greenwood R, Lewis S, et al. Volatile organic compounds emitted from faeces as a biomarker for colorectal cancer[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2019, 49(8): 1005-1012. DOI:10.1111/apt.15140.
- [78] van Keulen KE, Jansen ME, Schrauwen RWM, et al. Volatile organic compounds in breath can serve as a non-invasive diagnostic biomarker for the detection of advanced adenomas and colorectal cancer[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2020, 51(3):334-346. DOI:10.1111/apt.15622.

中华流行病学杂志第八届编辑委员会通讯编委组成人员名单

(按姓氏汉语拼音排序)

鲍倡俊	陈曦	陈勇	冯录召	高培	高立冬	高文静	郭巍	胡晓斌
黄涛	贾存显	贾曼红	姜海	金连梅	靳光付	荆春霞	寇长贵	李曼
李霓	李希	李杏莉	林玫	林华亮	刘昆	刘莉	刘森	马超
毛宇嵘	潘安	彭志行	秦天	石菊芳	孙凤	汤奋扬	汤后林	唐雪峰
王波	王娜	王鑫	王海俊	王丽萍	席波	谢娟	闫笑梅	严卫丽
燕虹	杨鹏	杨祖耀	姚应水	余灿清	喻荣彬	张本	张茂俊	张周斌
郑莹	郑英杰	周蕾	朱益民					