

- [8] Carobbio S, Frigerio F, Rubi B, et al. Deletion of glutamate dehydrogenase in beta-cells abolishes part of the insulin secretory response not required for glucose homeostasis[J]. J Biol Chem, 2009, 284(2):921-929.
- [9] Yang SJ, Huh JW, Kim MJ, et al. Regulatory effects of 5'-deoxy-pyridoxal on glutamate dehydrogenase activity and insulin secretion in pancreatic islets[J]. Biochimie, 2003, 85(6):581-586.
- [10] Frigerio F, Casimir M, Carobbio S, et al. Tissue specificity of mitochondrial glutamate pathways and the control of metabolic homeostasis[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA), 2008, 1777(7-8):965-972.
- [11] Smith TJ, Stanley CA. Untangling the glutamate dehydrogenase allosteric nightmare[J]. Trends Biochem Sci, 2008, 33(11):557-564.
- [12] Li M, Smith CJ, Walker MT, et al. Novel inhibitors complexed with glutamate dehydrogenase: allosteric regulation by control of protein dynamics[J]. J Biol Chem, 2009, 284(34):22988-23000.
- [13] Frigerio F, Casimir M, Carobbio S, et al. Tissue specificity of mitochondrial glutamate pathways and the control of metabolic homeostasis[J]. Biochimica Biophysica Acta (BBA), 2008, 1777(7/8):965-972.
- [14] Casimir M, Lasorsa FM, Rubi B, et al. Mitochondrial glutamate carrier GC1 as a newly identified player in the control of glucose-stimulated insulin secretion[J]. J Biol Chem, 2009, 284(37):25004-25014.
- [15] Li T, Bai L, Li J, et al. Spl is required for glucose-induced transcriptional regulation of mouse vesicular glutamate transporter 2 gene[J]. Gastroenterology, 2008, 34(7):1994-2003.
- [16] Liu S, Okada T, Assmann A, et al. Insulin signaling regulates mitochondrial function in pancreatic beta-cells[J]. PLoS One, 2009, 4(11):7983.

(收稿日期:2010-03-05)

• 综 述 •

## 结直肠癌的实验室诊断:从筛查到预后

陈慧娟 综述, 李洪波 审校

(广东省广州市金域医学检验中心 510330)

**关键词:** 结直肠肿瘤; 筛查; 诊断; 鉴别; 治疗结果; 预后

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.034

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2011)03-0359-03

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是较常见的恶性肿瘤之一, 位居中国常见恶性肿瘤的第 4 位<sup>[1]</sup>。约有 75% 的 CRC 患者为散发性 CRC, 主要是由环境、饮食和年龄等因素所引起, 另外 25% 为家族或遗传性 CRC, 其致病原因尚未完全清楚。遗传性 CRC 包括遗传性非息肉病性结直肠癌 (hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC) 和家族性结直肠息肉综合征 (familial adenomatous polyposis, FAP)、MYH 基因相关肿瘤、家族性黏膜皮肤色素沉着胃肠道息肉病 (Peutz-Jeghers 综合征) 和幼年性息肉病 (juvenile polyposis Syndrome, JPS), 该类 CRC 的遗传学特征较清晰。确定 CRC 的类型对患者及其家族成员的筛查和后续跟踪具有很大的指示作用。本文介绍了从 CRC 筛查、诊断、治疗到预后实验室所能提供的检测, 现综述如下。

### 1 结直肠癌的筛查

美国癌症协会推荐具有平均发病危险的个体从 50 岁起应根据自身状况定期进行 1 个或多个筛查, 同时美国胃肠病学协会推荐具有高发危险的个体应更早进行筛查并增加筛查的频率。在所有的筛查项目中, 粪便隐血试验 (fecal occult blood test, FOBT) 和粪便免疫化学试验 (fecal immunochemical test, FIT) 是没有侵入性的检测。FOBT 可以确诊癌前息肉, 通过手术切除可降低 CRC 的发病率和其相关的致死率, 可屈性乙状结肠镜检查也可降低 CRC 的致死率, 两者相结合可极大地提高筛查效率。双重对比钡剂灌肠法较少使用, 可检查整个结肠的状态但对息肉确诊的敏感性较差。目前临检实验室所提供的筛查项目主要为 FIT 和 FOBT, 早在 2003 年美国癌症协会的 CRC 便血检测项目指南已包括了 FIT, FIT 检测较 FOBT 检测具有一些优势。传统的以愈创木脂为试剂的 FOBTs 会因患者食用红肉、一些天然水果、未烹饪的蔬菜、非甾体类抗炎药

和阿司匹林等而呈假阳性, 因患者维生素 C 摄入量大于 250 mg/d 而呈假阴性, 因此 FOBT 在采样前需要对患者进行饮食和用药的限制, 而 FITs 如 InSure<sup>®</sup> 因其具有较高的特异性而不需要在采样前对患者进行饮食和用药的限制。InSure<sup>®</sup> 对结肠和直肠的隐出血具有较高的特异性, 一项比较 InSure<sup>®</sup> 和以愈创木脂为试剂的 FOBT 的临床研究发现<sup>[2]</sup>, InSure<sup>®</sup> 较 FOBT 具有较高真阳性率, 早期 CRC (92.3% vs 30.8%, n = 13), 所有分期 CRC (87.5% vs 54.2%, n = 24), 腺癌 (42.6% vs 23%, n = 61)。FOBT 或 FIT 的阳性结果一般反映了粪便中存在出血且该出血或许与 CRC 有关, 若 FOBT 或 FIT 结果阳性应进行结肠镜检查。粪便中血液分布不均或间歇性的出血可能导致假阴性结果, 因此阴性结果不能排除 CRC 可能。

### 2 结直肠癌的鉴别诊断

CRC 患者没有特异的发病特征 (如体质量减轻、腹部疼痛、排出黏液或结肠出血) 甚至没有症状, 因此 CRC 的诊断主要为结肠镜检查 and 怀疑病变组织的病理检查。一旦 CRC 被确诊, 确定其是否为遗传性将显得至关重要。若诊断为 HNPCC 或家族成员中有与 HNPCC 相关的突变, 将需要加强监控。

#### 2.1 微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MSI)

HNPCC 的诊断应从 MSI 检测开始进行, 符合任一 Bethesda 标准的 CRC 患者均应进行 MSI 检测。一项基于 1 222 例 CRC 患者的研究显示, Bethesda 标准与 MSI 相结合能极大地提高确定患者进行 MMR 突变检测的准确率, 两者相结合确定患者进行 MLH1 或 MSH2 突变检测的灵敏度为 81.8%, 特异性为 98%, 精确度为 97.9%, 两者结合能降低患者的检测费用<sup>[3]</sup>。MSI 检测的结果报告为高频率微卫星不稳定性 (MSI-H), 低频率微卫星不稳定性 (MSI-L) 和微卫星稳定 (MSS), 若在美国国家癌症研究所推荐的 5 个稳定标记物中有大于 2 个标记物显

示 MSI 则为 MSI-H, 要求做后续的 MMR 突变检测。虽然 MSI-H 是 HNPCC 的特征性标志物但在约 15%~20% 的散发性 CRC 中也存在 MSI-H。若仅有 1 个标记物表现 MSI 则其为 MSI-L, 其在大多数 MSI 阳性的散发性 CRC 中存在, 在 HNPCC 中小于 10%。MSI 的结果不能排除不是 HNPCC 的可能性, 因此即使 MSI 的结果高度怀疑为 HNPCC 也需要考虑进行 MMR 突变检测。

**2.2 MMR 基因突变检测** 对于怀疑为 HNPCC 但未知家系突变的患者, MMR 基因突变检测应从 *MLH1* 和 *MSH2* 基因检测开始。*MLH1*, *MSH2* 的突变率约为 60% 左右<sup>[4]</sup>, 包括较常见的 DNA 序列改变和缺失/重复突变, 若 *MLH1* 和 *MSH2* 基因未检测到突变应进行 *MSH6* 的突变检测。MMR 突变检测阳性能够确诊 HNPCC, 但 MMR 相关基因未检测到突变并不能排除其非 HNPCC。一旦被确诊为 HNPCC 且通过 MMR 基因突变检测证实, 其一级亲属应采用单个外显子分析来进行突变检测, 携带家族突变位点的亲属具有较高患发肿瘤的风险应进行密切的监控。对于符合 Amsterdam 标准但未知其家族突变的 HNPCC 患者的一级亲属, 应首先进行 *MLH1* 和 *MLH2* 突变检测, 若以上 2 项未检测到突变再考虑 *MSH6* 突变检测。因并非所有的 HNPCC 家族成员均符合 Amsterdam 标准, 在强烈怀疑其为 HNPCC 时需要考虑 MMR 突变检测。

### 3 治疗选择

在 CRC 的治疗阶段, 实验室的相关检测指标能预示患者对 5-氟尿嘧啶、伊立替康、奥沙利铂等化疗药物和爱必妥等分子靶向药物的反应, 为患者临床治疗方案的选择提供较好的辅助作用。以下简要介绍与几种常用化疗药物和靶向药物相关的现有的实验室检测指标。

**3.1 5-氟尿嘧啶(5-FU)** 二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPD)是嘧啶类化学药物如 5-FU, 也是卡培他滨分解代谢的限速酶, DPD 缺失的患者使用标准剂量的嘧啶类化学药物治疗会引起严重的骨髓抑制甚至死亡。约有 50% 的 DPD 缺乏的患者有 1 个或 2 个拷贝的 DPD 第 14 外显子 IVS14+1G>A 位点多态性, 约有 1/3 携带这种突变的患者使用 5-FU 治疗会产生 3~4 级毒性, 会有增加骨髓抑制的危险<sup>[5]</sup>, 但未检测到突变的患者并不代表排除存在这种危险的可能。5-FU 主要通过抑制脱氧胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)阻止脱氧尿苷酸(dUMP)甲基化转变为脱氧胸苷酸(dTMP), 从而影响 DNA 的合成而发挥作用。TYMS 是编码 TS 的基因, 其 3' 或 5' 非编码区的多态性会影响 TS 的酶活性进而影响患者对 5-FU 治疗的反应。

**3.2 伊立替康(CPT-11)** 会产生剂量限制性毒性如中性粒细胞减少、腹泻、虚弱等, 通过检测尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1 基因(uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1, UGT1A1)启动子区 TA 重复数可确定患者对 CPT-11 治疗的毒性风险<sup>[6]</sup>。SN-38 是 CPT-11 的活性代谢产物会产生药物毒性, UGT1A1 酶可代谢 SN-38 为无活性的 SN-38G。UGT1A1 启动子区 TA 的重复会降低 UGT1A1 酶的活性和 SN-38 的代谢, 可能会造成 CPT-11 的毒性增加。UGT1A1 基因启动子区 7TA 重复纯合的患者使用 CPT-11 治疗时应降低其初始剂量, 7TA 杂合重复患者的 UGT1A1 酶具有中度的酶活性可能会促使中性粒细胞减少但这类患者对 CPT-11 的正常初始剂量可耐受。TA 重复阴性的患者使用 CPT-11 治疗较少产生剂量限制性毒性。

**3.3 奥沙利铂** 剪切修复偶联因子 1(excision repair cross

complementation group 1, ERCC1)是核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)途径中的 1 个核酸剪切酶。ERCC1 基因的多态性可增强通过核酸切除修复途径的 DNA 修复能力, 从而导致对铂类化疗药物如奥沙利铂的抗性。ERCC1 基因密码子 118 位 T/T 基因型的患者相对 C/C 和 C/T 基因型的患者而言使用 5-FU/奥沙利铂治疗的效果更佳且具有较好的预后<sup>[7]</sup>。谷胱甘肽 S-转移酶 P1 (Glutathione S-transferase P1, GSTP1)是一种药物代谢酶, 可代谢铂类化疗药物而降低其疗效。GSTP1 基因 105 位密码子的多态性会降低谷胱甘肽 S-转移酶 P1 的活性, 研究表明 GSTP1 基因 105Val 纯合基因型患者使用奥沙利铂治疗会有较高的生存率、较低疾病进展和累积外周神经病变, 携带 Ile/Ile 基因型的患者的疾病进展危险是携带 Val/Val 基因型患者的 2 倍(95%CI 0.85~4.71,  $P=0.018$ )<sup>[8]</sup>。初步的研究结果表明, Ile/Ile 基因型和 Ile/Val 基因型的剂量限制性毒性如累积外周神经病变的风险较 Val/Val 基因型高(OR 值: 5.75; 95%CI 1.08~30.74;  $P=0.02$ )<sup>[9]</sup>。着色性干皮病 D 组蛋白(xeroderma pigmentosum group D, XPD)是核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)途径中的另 1 个组成成分, 可通过 DNA 修复而导致对铂类化疗药物如奥沙利铂的抗性。XPD 基因 K751Q 的多态性与患者治疗和预后密切相关, 携带 Lys/Gln 和 Gln/Gln 基因型的患者较 Lys/Lys 基因型的患者对 5-FU/奥沙利铂的反应较差, 无疾病进展期和平均生存期较短, 总生存率低。有研究表明<sup>[7]</sup>, Lys/Lys 基因型患者对 5-FU/奥沙利铂治疗的有效率为 67%, 而 Lys/Gln 和 Gln/Gln 基因型的患者分别为 45% 和 40.9%( $P=0.047$ )。XRCC1 Arg 399Gln 多态性 X 射线修复交叉互补蛋白 1(X-ray cross-complementation group 1, XRCC1)是另一种对铂类化疗药物抗性相关的 DNA 修复酶。研究表明, 携带 XRCC1 基因 399 位密码子 Arg/Arg 基因型的晚期 CRC 患者对 5-FU/奥沙利铂治疗呈现较好的疗效, 携带 399 位密码子 Arg/Gln 或 Gln/Gln 基因型的患者对 5-FU/奥沙利铂治疗无反应的危险性将增高 5.2 倍(95%CI 1.21~22.07)<sup>[10]</sup>。

**3.4 靶向治疗药物爱必妥** 是一种可特异性的与上皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)细胞膜外区域结合后可阻断信号传导和细胞生长的人/鼠嵌合单克隆重组抗体, 因此 EGFR 表达被认为是为爱必妥治疗有反应的先决条件。临床试验结果显示药物的疗效与 EGFR IHC 染色的强度无关, 虽然最初的研究表明 EGFR 检测的 FISH 结果能够反映患者对爱必妥治疗的反应, 但此仍需进一步的确认。研究证实靶向治疗药物的疗效与 K-ras 基因的突变密切相关, 伴随有 K-ras 基因突变(密码子 12 和 13 点突变)的晚期或转移 CRC 患者对分子靶向药物的反应较差<sup>[11-12]</sup>。

### 4 疾病监测

可根据癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)水平不断增高来发现接受根治治疗性手术后的 CRC 患者的微残留疾病。若肿瘤被完全切除, 在术后大约 6 周内 CEA 应回复到正常水平, 若术后 CEA 水平依旧持续不断地增高则表明有微残留疾病或肿瘤转移, 约有 50% 的接受根治治疗性手术后的 CRC 患者复发或转移。持续的术后 CEA 监控检测有助于发现复发或转移。其敏感性约为 80%, 特异性约为 70%, 其中肝转移的敏感性约为 100%, 肝转移是 80% 的 CRC 复发的主要因素, 原位复发的敏感性约为 60%<sup>[13]</sup>。确诊为 II 期和 III 期的患者在确诊后的至少 3 年内每 3 个月进行 1 次 CEA 水平检

测,以为患者的进一步手术或系统治疗提供依据。若 CEA 水平稳定或降低表明无疾病进展,经复查证实 CEA 水平升高表明可能疾病进展、复发或转移。Ⅳ期 CRC(远距离转移)和原位复发根据其转移或复发的位点和程度可采取手术切除、化疗、放疗等治疗方案,CEA 水平检测可用于评估转移手术切除的效果并可监控化疗的疗效。若化疗过程中 CEA 水平下降则代表有较好的疗效,若较化疗前水平持续增长表明疾病进展,根据其升高值应及时评估并考虑更换治疗方案。在化疗中出现的 CEA 水平的短暂升高不代表疾病进展,例如采用 5-FU 治疗的 2 周内,奥沙利铂治疗的 4~6 周内<sup>[14]</sup>,因此应根据治疗方案来确定 CEA 增长时间段。但目前对 CEA 水平改变多少在临床上才有意义尚无 1 个通用的标准。

### 5 预后评估

肿瘤分期对 CRC 患者的预后都能起到较好的评估作用。MSI 检测可以独立于 CRC 分期进行 CRC 的预后评估。从 1 项 32 个研究中心 7 642 例患者的荟萃分析研究发现 MSI 阳性的患者其总体生存率优于 MSS 患者[(HR)=0.65,95%CI 0.59~0.71],即使将Ⅱ期和Ⅲ期的 CRC 患者 HRs 合并( $n=2\ 935$ )MSI 阳性的患者依旧保持了较高总体生存率优势<sup>[15]</sup>。

### 6 展 望

CRC 的是较常见的胃肠道肿瘤,实验室的相关诊断技术对于 CRC 的早期筛查、诊断、治疗方案的选择以及监测、预后评估等均具有重要意义,完善和改进实验室的检测技术和手段使其能更好地服务临床,是目前广大检验届同仁依旧需要奋斗的目标。

### 参考文献

[1] 方桦,王兴元,王金万,等.300 例结直肠癌肝转移患者的临床预后分析[J].中华肿瘤杂志,2009,31(3):220-222.  
 [2] Smith A,Young GP,Cole SR,et al. Comparison of a brush-sampling fecal immunochemical test for hemoglobin with a sensitive guaiacbased fecal occult blood test in detection of colorectal neoplasia[J]. Cancer,2006,107(9):2152-2159.  
 [3] Pinol V,Castells A,Andreu M,et al. Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer[J]. JAMA,2005,293(16):1986-1994.  
 [4] Martínez-Bouzas C,Beristain E,Ojembarrena E,et al. A study on MSH2 and MLH1 mutations in hereditary nonpolyposis colorectal cancer families from the Basque Country, describing four new germline mutations[J]. Familial Cancer,2009,8(4):553-559.  
 [5] Van Kuilenburg AB,Meisma R,Zoetekouw L,et al. Increased

risk of grade IV neutropenia after administration of 5-Fluorouracil due to a dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency: high prevalence of the IVS14+1G>A mutation[J]. Int J Cancer, 2002,101(3):253-258.  
 [6] Schulz, Christoph,Boeck, et al. UGT1A1 genotyping: a predictor of irinotecan-associated side effects and drug efficacy[J]. Anti-Cancer Drugs,2009,20(10):867-879.  
 [7] Paré L,Marcuello E,Altés A,et al. Pharmacogenetic prediction of clinical outcome in advanced colorectal cancer patients receiving oxaliplatin/5-fluorouracil as first-line chemotherapy [J]. Br J Cancer,2008,99(7):1050-1055.  
 [8] Stoehmacher J,Park DJ,Zhang W,et al. A multivariate analysis of genomic polymorphisms: prediction of clinical outcome to 5-FU/oxaliplatin combination chemotherapy in refractory colorectal cancer[J]. Br J Cancer,2004,91(2):344-354.  
 [9] Lecomte T,Landi B,Beaune P,et al. glutathione S-transferase P1 polymorphism(Ile105Val)pre dicts cumulative neuropathy in patients receiving oxaliplatin-based chemotherapy [J]. Clin Cancer Res,2006,12(10):3050-3056.  
 [10] Stoehmacher J,Ghaderi V,Lobal S,et al. A polymorphism of the XRCC1 gene predicts for response to platinum based treatment in advanced colorectal cancer[J]. Anticancer Res,2001,21(4B):3075-3079.  
 [11] Lièvre A,Bachet JB,Boige V,et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab[J]. J Clin Oncol,2008,26(3):374-379.  
 [12] Freeman DJ,Juan T,Reiner M,et al. Association of K-ras mutational status and clinical outcomes in patients with metastatic colorectal cancer receiving Panitumumab alone[J]. Clin Colorectal Cancer,2008,7(3):184-190.  
 [13] Duffy MJ,vanDalen A,Haglund C,et al. Clinical utility of biochemical markers in colorectal cancer; European group on tumor markers(EGTM)guidelines[J]. Eur J Cancer,2003,39(6):718-727.  
 [14] Locker GY,Hamilton S,Harris J,et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer[J]. J Clin Oncol,2006,24(22):5313-5327.  
 [15] Popat S,Hubner R,Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis[J]. J Clin Oncol, 2005,23(3):609-618.

(收稿日期:2010-04-16)

### • 综 述 •

## 唐氏综合征产前筛查在优生中的作用

勾宗蓉 综述,宋大清 审校

(四川省绵阳市人民医院检验科 621000)

关键词:唐氏综合征; 产前筛查; 优生优育

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)03-0361-03

中国是人口大国,也是出生缺陷和残疾高发国家,每年约有 20~30 万肉眼可见先天畸形儿出生,其中最多见的染色体

异常疾病是唐氏综合征(Down's syndrome,DS),在中国占活产新生儿的 1/1 000,由于该病缺乏有效的治疗手段,一旦出生