

• 短篇论著 •

Septin9 基因甲基化在食管癌诊断中的应用价值*

徐银海, 孙静芳, 李世宝, 朱迎星, 胡 澜, 马 萍[△]

(徐州医科大学附属医院检验科, 江苏徐州 221002)

摘要:目的 评价外周血 Septin9 基因甲基化 DNA 检测方法在食管癌诊断中的应用价值。方法 收集 2018 年 1—12 月在徐州医科大学附属医院初诊的 31 例食管癌患者作为实验组, 20 例健康者作为对照组。以病理诊断为金标准进行确诊, 同时进行外周血血浆 Septin9 甲基化的检测。用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)下面积对 Septin9 甲基化对食管癌的诊断进行评价, 并分析其与临床病理特征之间的联系。结果 Septin9 甲基化检测诊断食管癌的灵敏度为 67.6%, 特异度为 100.0%, ROC 曲线下面积为 0.839, 差异具有统计学意义; 但其检测结果与食管癌的临床病理特征之间无相关性。结论 外周血 Septin9 基因甲基化检测可作为筛查食管癌一个有效的辅助指标。

关键词:食管癌; Septin9 基因甲基化; 受试者工作特征曲线

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.24.030

中图法分类号:R730.43

文章编号:1673-4130(2019)24-3067-03

文献标识码:B

食管癌是临床常见的消化道恶性肿瘤之一, 其 5 年生存率仅为 25%~30%^[1]。据 GLOBOCAN 2018 统计世界范围内每年大约有新发病例 572 000 例, 死亡病例 508 100 例^[2]。我国食管癌每年新发病例 477 900 例, 死亡病例 375 000 例^[3]。早期诊断是减少食管癌病死率最有效的手段, 研究显示, 早期食管癌患者手术治疗后 5 年生存率可达 85%^[4], 但食管癌的临床症状不典型且目前没有有效的标志物来早期发现食管癌的存在, 大部分患者在确诊时已经是晚期, 错过了最佳治疗时期。因此, 亟需一种敏感、特异的标志物对食管癌进行诊断和预后跟踪。

近年来, 表观遗传学机制备受研究者的关注, 其中, DNA 发生异常甲基化是肿瘤常见的表观遗传学改变。Septin9 基因广泛存在于人类细胞中, 在细胞分裂中起关键作用^[5]。已有研究表明, 在多种恶性肿瘤中存在 Septin9 基因甲基化改变, 如结肠癌^[6-8]、胃癌^[9]、卵巢癌^[10]等, 但其在食管癌中的研究甚少涉及。因此, 本研究旨在通过对外周血 Septin9 基因甲基化的检测, 评估其在食管癌诊断中的价值, 以期发现一种相对敏感、特异的标志物对食管癌进行辅助诊断。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 1—12 月在徐州医科大学附属医院初诊的食管癌患者(实验组)31 例, 其中

男 23 例, 女 8 例, 健康人群 20 例(对照组)。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。其中食管癌的诊断均由徐州医科大学附属医院病理学确诊报告且资料完整。食管癌患者的血样采集均为术前血样, 且未经过相关的治疗。

1.2 仪器与试剂 ABI7500 荧光 PCR 扩增仪(美国, ABI 公司); 人 Septin9 基因甲基化检测试剂盒(苏州, 天隆科技)

1.3 血样采集与制备 取外周血 10 mL, 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝, 采样后立即处理。全血 1 600 g 离心 10 min, 转移血浆至新的 15 mL 离心管, 分离血浆再 1 600 g 离心 10 min, 将上层血浆转移至新的离心管中-80 °C 保存。

1.4 检测方法 依据试剂说明书依次加入蛋白酶 K 溶解液、裂解液、磁珠、提取漂洗液、洗脱液等进行血浆样本 DNA 提取, 依次加入转化试剂、DNA 保护液、结合液、磁珠、纯化漂洗液、洗脱液对提取的血浆样本 DNA 进行亚硫酸盐转化, 依据试剂说明书加入 PCR Mix、DNA 聚合酶配制反应体系, 加入样本 DNA 进行 PCR 扩增定量等步骤。

1.5 结果判读 检测样本 FAM 通道的 Ct 值 < 50 且内标检测结果 Ct 值 ≤ 32 判为阳性; 检测样本 FAM 通道的 Ct 值无数值且内标 VIC 通道的 Ct 值 ≤ 32, 结

* 基金项目: 徐州市科技项目(KC17169)。

[△] 通信作者, E-mail: pingm62@aliyun.com。

本文引用格式: 徐银海, 孙静芳, 李世宝, 等. Septin9 基因甲基化在食管癌诊断中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(24): 3067-

果判为阴性;若检测过程中内标检测无数值或 Ct 值>32,样本 DNA 纯度或浓度过低,则检测结果无效,应当重新采样检测。

1.6 统计学处理 所有数据采用 SPSS18.0 软件进行分析,计数资料采用频数和百分率表示,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价 Septin9 对食管癌的诊断价值。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 实验组和对照组一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组一般资料比较

临床特征	实验组	对照组
性别(n)		
男	23	15
女	8	5
年龄(岁)	67(49~79)	65(45~76)
分化程度(n)		
高分化	14	—
中分化	12	—
低分化	5	—
肿瘤浸润程度(n)		
T1	5	—
T2	12	—
T3	11	—
T4	3	—
淋巴结转移(n)		
N0	21	—
N1	4	—
N2	6	—
N3	0	—
临床分期(n)		
I	4	—
II	19	—
III	8	—
IV	0	—

注:—表示无数据

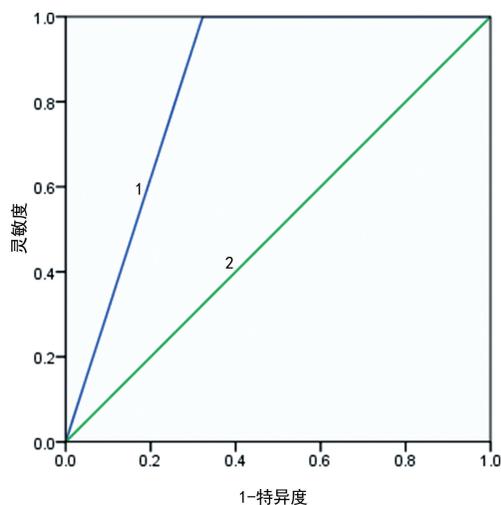
2.2 Septin9 对食管癌的诊断价值 Septin9 诊断实验组阳性率为 67.7%(21/31),对照组阳性率为 0(0/20),差异具有统计学意义($\chi^2 = 23.03, P = 0.000$)。见表 2。Septin9 诊断食管癌的 ROC 曲线下面积为 0.839,灵敏度为 67.6%,特异度为 100.0%,见图 1。

2.3 Septin9 与食管癌临床病理分期的关系 Septin9 的检出率在食管癌的分化程度、肿瘤浸润程度、淋巴结转移及临床分期之间比较,差异无统计学意义

($P > 0.05$)。见表 3。

表 2 Septin9 基因甲基化在食管癌患者检出结果(n)

组别	阳性	阴性	合计
实验组	21	10	31
对照组	0	20	20
合计	21	30	51



注:1 表示 Septin9 对食管癌的诊断能力;2 表示参考线

图 1 Septin9 诊断食管癌的 ROC 曲线

表 3 Septin9 基因甲基化与食管癌临床病理分期之间的关系

临床特征	n	Septin9 基因甲基化阳性率[% (n/n)]	P
分化程度			
高分化	14	64.3(9/14)	0.503
中、低分化	17	70.6(12/17)	
肿瘤浸润程度			
T1+T2	17	70.6(12/17)	0.503
T3+T4	14	64.3(9/14)	
淋巴结转移			
有	10	60.0(6/10)	0.405
无	21	71.4(15/21)	
临床分期			
I+II	23	69.6(16/23)	0.517
III+IV	8	62.5(5/8)	

3 讨论

Septin9 基因广泛存在于人类细胞中,编码 GTP 结合蛋白,在细胞分裂中起关键作用^[5]。越来越多的研究表明多种肿瘤的发生发展涉及表观遗传学的异常改变,而 DNA 甲基化是其中常见的表观遗传学改变。自 2008 年 LOFTON 等^[11]首次报道 Septin9 基因甲基化可以作为筛查结肠癌的指标以来,国内外多位学者发表了一系列的关于 Septin9 基因甲基化筛查

结肠癌的文章^[6-8,12],刘彦魁等^[8]的研究发现 Septin9 基因甲基化不仅发生在结肠癌中,在胃癌、食管癌等其他恶性肿瘤中也可检测到,但目前关于 Septin9 在食管癌中的研究甚少。

本研究结果显示 Septin9 基因甲基化可作为食管癌筛查的一个指标:以病理结果为金标准,其在筛查食管癌中的 ROC 曲线下面积为 0.839,灵敏度和特异度分别为 67.6% 和 100.0%,与健康对照组比,有显著差异。刘彦魁等^[8]对 27 例食管癌进行 Septin9 基因甲基化检测,阳性率为 25.9%,低于本研究的 67.6%,这可能与患者之间的差异性及其检测方法有关,进一步扩大样本量对其在食管癌中的检测效能进行验证。在本研究中,外周血 Septin9 基因甲基化与食管癌的各临床病理特征之间比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示 Septin9 基因甲基化的检出可能与肿瘤的临床病理特征之间无直接的联系。刘彦魁等^[8]的研究结果显示 Septin9 基因甲基化 I、II 期患者的发生比例低于 III、IV 期患者,提示 Septin9 基因甲基化的发生随着临床分期的进展而增加,CHURCH 等^[13]得到与此类似的研究结果。但本研究结果未发现肿瘤的临床病理特征影响 Septin9 基因甲基化状态,可能是不同检测试剂盒的灵敏度和特异度对检测结果造成的不同影响,也有可能是本研究的样本量较少,使结果相对局限,未能显示出 Septin9 基因甲基化与肿瘤临床病理特征之间的关系。除样本量较少这一不足之外,食管癌没有相应的肿瘤标志物做对照也是一处不足,没有体外诊断的其他指标来做比较,仅 Septin9 一个指标来诊断食管癌,说服力欠妥。

虽然本研究存在一定的局限性,但其在食管癌患者中相对高的灵敏度和特异度提示 Septin9 基因甲基化可以作为食管癌的一个初筛指标,以辅助其早期诊断,适当地弥补食管癌目前临床缺乏特异肿瘤标志物的缺陷。

综上所述,本研究结果证明检测外周血中 Septin9 基因甲基化状态可作为辅助筛查食管癌的肿瘤标志物,作为一种新的无创的食管癌的筛查方法,其无创、采样方便、灵敏度和特异度较强的优势是比较适合辅助食管癌临床筛查的。

参考文献

[1] LIU Y, XIONG Z, BEASLEY A, et al. Personalized and

targeted therapy of esophageal squamous cell carcinoma: an update[J]. Ann N Y Acad Sci, 2016, 138(1):66-73.

- [2] FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018; GLOBOCAN sources and methods[J]. Int J Cancer, 2019, 144(8):1941-1953.
- [3] CHEN W, ZHENG R, BAAD P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2):115-132.
- [4] WANG G Q, JIAO G G, CHANG F B, et al. Long-term results of operation for 420 patients with early squamous cell esophageal carcinoma discovered by screening[J]. Ann Thorac Surg, 2004, 77(5):1740-1744.
- [5] ESTEY M P, DICIANO-OLIVERIA C, FROESE C, et al. Distinct roles of septins in cytokinesis: SEPT9 mediates midbody abscission[J]. J Cell Biol, 2010, 191(4):741-749.
- [6] XIE L, JIANG X Y, LI Q, et al. Diagnostic value of methylated Septin9 for colorectal cancer detection[J]. Front Oncol, 2018, 32(2):247-249.
- [7] SONG L, GUO S, WANG J, et al. The blood mSEPT9 is capable of assessing the surgical therapeutic effect and the prognosis of colorectal cancer[J]. Biomark Med, 2018, 12(9):961-973.
- [8] 刘彦魁, 王玟, 浦柯艳, 等. 结直肠癌 Septin9 基因甲基化检测的临床应用价值初探[J]. 中华病理学杂志, 2018, 47(8):631-632.
- [9] 张意琴, 胡笑蓉, 毛雄英, 等. 胃癌组织 Septin 9 基因甲基化及其临床意义研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(14):1987-1990.
- [10] 王甲涛, 王雁冰, 王敏. 外周血 Septin-9 基因表达变化在评估卵巢上皮癌患者预后的意义[J]. 中国妇幼健康研究, 2016, 27(8):930-932.
- [11] LOFTON D C, MODEL F, DEVOS T, et al. DNA methylation biomarkers for blood-based colorectal cancer screening[J]. Clin Chem, 2008, 54(2):414-423.
- [12] 康倩, 金鹏, 杨浪, 等. 外周血游离 DNA 中 Septin9 基因甲基化在结直肠癌筛查中的意义[J]. 中华医学杂志, 2014, 94(48):3839-3841.
- [13] CHURCH T R, WANDELL M, LOFTON D C, et al. Prospective evaluation of methylated SEPT9 in plasma for detection of a symptomatic colorectal cancer[J]. Gut, 2014, 63(2):317-325.

(收稿日期:2019-04-10 修回日期:2019-07-30)