

• 论 著 •

多重基因甲基化分析在宫颈癌诊断中的应用研究

王娟娟, 荣婷婷, 郑英霞, 朱威南, 沈立松[△]
上海交通大学医学院附属新华医院检验科, 上海 200092

摘要:目的 分析宫颈脱落细胞 CADM1、C13ORF18、PCDHA4 和 TERT 4 种基因的甲基化水平在识别宫颈癌及癌前病变中的价值。方法 收集 2019 年 9 月至 2020 年 8 月在上海交通大学医学院附属新华医院妇科就诊的 101 例女性患者及 20 例健康女性(对照组)的宫颈脱落细胞,提取基因组 DNA 进行人乳头瘤病毒(HPV)16/18 检测及 CADM1、C13ORF18、PCDHA4 和 TERT 4 种基因的甲基化特异性 PCR 检测,分析 4 种基因甲基化单项或联合 HPV16/18 检测在宫颈癌或癌前病变中的诊断性能。结果 C13ORF18 和 TERT 基因的甲基化阳性率在对照组、低级别鳞状上皮内病变(LSIL)组、高级别鳞状上皮内病变(HSIL)组和宫颈癌组 4 组间比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。CADM1 和 PCDHA4 基因的甲基化阳性率在 4 组间差异无统计学意义($P>0.05$)。C13ORF18 和 TERT 基因甲基化单项检测用于宫颈癌的筛查具有良好的诊断性能,C13ORF18 基因甲基化单项检测诊断宫颈癌的特异度为 93.94%,TERT 基因甲基化单项检测诊断宫颈癌的灵敏度为 86.36%,联合 HPV16/18 检测并没有明显提高诊断性能。结论 宫颈脱落细胞 CADM1、C13ORF18、PCDHA4 和 TERT 这 4 种基因中,TERT 和 C13ORF18 基因甲基化单项检测在宫颈癌及癌前病变的筛查中体现了较好的临床价值。

关键词:甲基化特异性 PCR; HPV16/18; 宫颈癌; 宫颈脱落细胞
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.02.019 **中图法分类号:**R737.33
文章编号:1673-4130(2022)02-0221-07 **文献标志码:**A

Application of multiple gene methylation analysis in the diagnosis of cervical cancer
WANG Juanjuan, RONG Tingting, ZHENG Yingxia, ZHU Weinan, SHEN Lisong[△]
Department of Clinical Laboratory, Xinhua Hospital, Shanghai Jiaotong University
School of Medicine, Shanghai 200092, China

Abstract: **Objective** To analyze the value of methylation levels of four genes, CADM1, C13ORF18, PCDHA4 and TERT in identifying cervical cancer and precancerous lesions. **Methods** Cervical exfoliated cells of 101 female patients and 20 healthy females in the Xinhua Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine from September 2019 to August 2020 were collected. Genomic DNA was extracted for human papillomavirus (HPV) 16/18 detection and methylation-specific PCR detection of CADM1, C13ORF18, PCDHA4 and TERT genes. Then the diagnostic performance of methylation of 4 genes alone or in combination with HPV16/18 detection in the diagnosis of cervical cancer or precancerous lesions was analyzed. **Results** The difference of methylation positive rates of C13ORF18 and TERT in control group, low grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) group, high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) group and cervical cancer group was statistically significant ($P<0.01$). The methylation positive rates of CADM1 and PCDHA4 genes had no significant difference among the 4 groups ($P>0.05$). The methylation detection of C13ORF18 and TERT alone had good diagnostic performance for cervical cancer screening, while the specificity of the methylation detection of C13ORF18 gene for diagnosing cervical cancer was 93.94% and the sensitivity of the methylation detection of TERT gene for diagnosing cervical cancer was 86.36%. The detection combined with HPV16/18 did not significantly improve the diagnostic performance. **Conclusion** Among the 4 genes of CADM1, C13ORF18, PCDHA4 and TERT in cervical exfoliated cells, the methylation detection of single TERT gene and C13ORF18 gene shows good clinical value in screening cervical cancer and precancerous lesions.

Key words: methylation-specific PCR; HPV16/18; cervical cancer; cervical exfoliated cells

作者简介:王娟娟,女,主管技师,主要从事分子病毒方向的研究。[△] 通信作者,E-mail:lisongshen@hotmail.com。
本文引用格式:王娟娟,荣婷婷,郑英霞,等.多重基因甲基化分析在宫颈癌诊断中的应用研究[J].国际检验医学杂志,2022,43(2):221-227.

宫颈癌是一种可预防、可治愈的疾病,却也是全球女性中发病率和病死率均排名第 4 位的癌症^[1]。据 GLOBOCAN 2020 年的数据,全球宫颈癌每年新发病例近 60 万例,病死病例约 34.2 万例^[2]。早期发现的宫颈癌患者其 5 年生存率为 92%,而宫颈癌筛查成为提高早诊率、降低病死率的主要途径。巴氏涂片法是最早用于宫颈癌筛查的检测方法,但灵敏度低,容易发生漏检^[3]。液基细胞学虽然提高了细胞学检查的准确性,但灵敏度和特异度与传统的细胞学检查方法没有明显差异^[4]。人乳头瘤病毒(HPV)检测具有很高的灵敏度和阴性预测值^[5],但不足以提供准确的预测,因为并非所有 HPV 亚型感染都将导致宫颈癌的发生^[6]。本研究针对 CADM1、C13ORF18、PCDHA4 和 TERT 4 种基因,收集不同病变类型的宫颈脱落细胞标本,检测每个基因的甲基化水平,研究其单项或联合检测与宫颈癌发生、发展的联系,并结合高危 HPV 检测及病理结果,综合分析它们在识别宫颈癌及癌前病变中存在的价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2019 年 9 月至 2020 年 8 月在上海交通大学医学院附属新华医院妇科就诊的 101 例女性患者的宫颈脱落细胞,其中低级别鳞状上皮内病变(LSIL)51 例作为 LSIL 组,高级别鳞状上皮内病变(HSIL)28 例作为 HSIL 组,宫颈癌 22 例作为宫颈癌组,101 例患者均在阴道镜下活检获得组织标本进行病理学确诊。其中有 76 例患者进行 TCT 检查。同时,采集 20 例健康女性的宫颈脱落细胞作为对照组。本研究经本院伦理委员会批准,所有入组研究对象均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 仪器和试剂检测均严格按说明书进行操作。SLAN-96S 实时定量 PCR 仪(上海宏石医疗科技有限公司)、Centrifuge 5417R 高速冷冻离心机(Eppendorf 公司)、GL-1800 恒温金属浴(海门市其林贝尔仪器制造有限公司)、电泳仪(上海天能科技有限

公司)、凝胶成像仪(上海天能科技有限公司)、Nano-Drop 2000(赛默飞世尔科技公司)。核酸提取试剂盒(上海之江生物科技股份有限公司)、HPV 高危亚型检测试剂盒(上海之江生物科技股份有限公司)、PCR 检测试剂盒(上海之江生物科技股份有限公司)、M. SssI 酶(NEB 公司)、核酸提取或纯化试剂(苏州海苗生物科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 宫颈脱落细胞的基因组 DNA 提取 采用 Autrax 全自动核酸提取工作站提取宫颈脱落细胞中的人基因组 DNA 和 HPV DNA,提取的 DNA 使用 NanoDrop 2000 进行测量,保存于-20℃冰箱备用。

1.3.2 MSP 甲基化引物设计 利用 MethPrimer、NCBI primer-blast 等网站进行 5 个基因甲基化和非甲基化引物的设计(ACTB 为内参基因,具体序列见表 1),并将引物送出合成。

1.3.3 HPV DNA 的检测 采用 HPV 高危亚型检测试剂盒对脱落细胞基因组 DNA 进行 HPV16/18 的 PCR 检测。

1.3.4 阳性对照制作 提取对照组外周血白细胞的基因组 DNA,采用 M. SssI 酶处理后作为甲基化引物的阳性对照待用。

1.3.5 重亚硫酸盐修饰 采用核酸提取或纯化试剂对提取的人脱落细胞基因组 DNA 和 M. SssI 酶处理后的阳性对照 DNA 进行重亚硫酸氢盐处理并纯化,按试剂盒说明书操作。目的是将 DNA 中的非甲基化 C 转化为 U,然后通过 PCR 扩增转化为 T。

1.3.6 配制 PCR 反应混合液 按照厂家(上海之江生物科技股份有限公司)说明书配制 PCR 反应混合液,将重亚硫酸盐修饰后的基因组 DNA 加入混合液,上机进行 PCR 扩增,扩增条件如下:95℃,15 min;95℃ 15 s,60℃ 30 s,72℃ 40 s,40 个循环;72℃,10 min。

表 1 9 对基因引物序列表

基因类别	引物序列(5'→3')	基因长度(bp)
ACTB-F	TGG TGA TGG AGG AGG TTT AGT AAG T	133
ACTB-R	AAC CAA TAA AAC CTA CTC CTC CCT TAA	
CADM1-F	TTA GTT GTT CGT TCG GGT TTC GG	100
CADM1-R	CGC ACA CTA AAA TCC GCT CGA	
CADM1-UF	TTA GTT GTT TGT TTG GGT TTT GGA GG	103
CADM1-UR	CAC CAC ACA CTA AAA TCC ACT CAA	
C13ORF18-F	TTT TTA GGG AAG TAA AGC GTC G	119
C13ORF18-R	ACG TAA TAC TAA ACC CGA ACG C	
C13ORF18-UF	GTT TTT TAG GGA AGT AAA GTG TTG T	128
C13ORF18-UR	CAT AAA TAC ATA ATA CTA AAC CCA AAC ACC	

续表 1 9 对基因引物序列表

基因类别	引物序列(5'→3')	基因长度(bp)
PCDHA4-F	AGG GAT ATT AAC GAT AAT TCG TCG	101
PCDHA4-R	ACG CCC TCT AAT AAA AAC CGA	
PCDHA4-UF	TGA GGG ATA TTA ATG ATA ATT TGT TG	
PCDHA4-UR	AAA CAC CCT CTA ATA AAA ACC AAA	
TERT-F	GGT TTC GAT AGC GTA GTT GTT TC	88
TERT-R	CTA CAC CCT AAA AAC GCG AAC	
TERT-UF	GGT TTT GAT AGT GTA GTT GTT TTG GG	90
TERT-UR	CCC TAC ACC CTA AAA ACA CAA AC	

1.3.7 琼脂糖凝胶电泳 将 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳,胶浓度 3%,电压 120 V。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 21.0 软件进行数据处理及统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组一般资料比较 121 例女性的年龄 (46.91 ± 13.89) 岁,其中对照组 (44.00 ± 12.85) 岁,

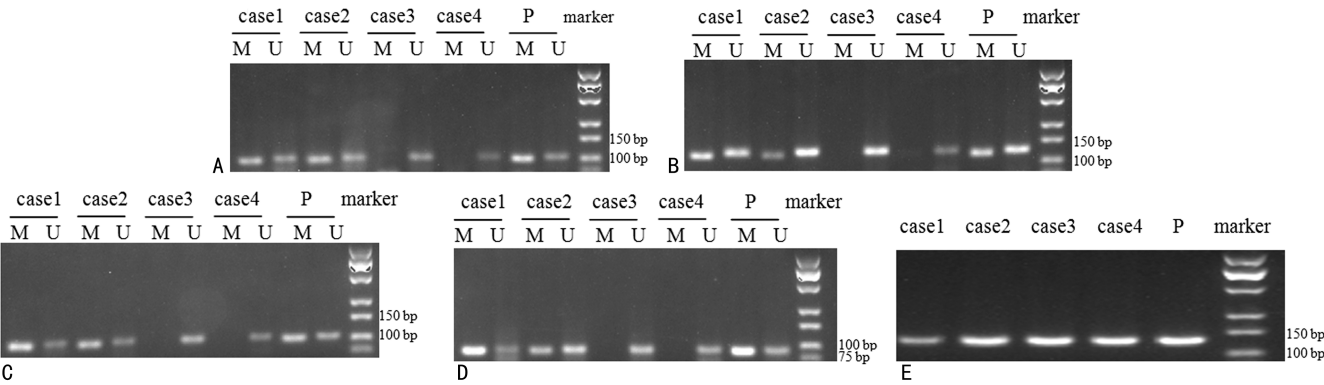
LSIL 组 (45.69 ± 13.37) 岁,HSIL 组 (44.93 ± 15.01) 岁,宫颈癌组 (54.91 ± 12.40) 岁。宫颈癌组 ≥ 55 岁人数比例高于对照组、LSIL 组和 HSIL 组 ($P < 0.01$)。对照组和不同病变程度的宫颈病变组中,HPV16/18 的阳性率随着病变程度增加呈上升趋势 ($P < 0.01$)。76 例患者的 TCT 检查结果见表 2。

2.2 琼脂糖凝胶电泳结果 4 对甲基化引物、4 对非甲基化引物及 1 对人基因组内参引物的 PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳后确认目的基因长度,见图 1,并送上海生工进行克隆测序,确定目的基因序列。

表 2 各组一般资料情况 (n)

组别	n	年龄(岁)		HPV16/18		TCT				
		<55	≥ 55	阳性	阴性	正常	ASCUS	LSIL	HSIL	非典型腺细胞
对照组	20	16	4	1	19	20	0	0	0	0
LSIL 组	51	38	13	9	42	13	14	8	5	0
HSIL 组	28	19	9	14	14	2	5	2	12	0
宫颈癌组	22	8	14	15	7	3	2	0	7	3
合计		81	40	38	83	38	21	10	24	3

注:ASCUS 为不能明确意义的不典型鳞状细胞。



注:A 为 CADM1 引物;B 为 C13ORF18 引物;C 为 PCDHA4 引物;D 为 TERT 引物;E 为 ACTB 引物;case1 为宫颈癌,case2 为宫颈癌,case3 为正常对照,case4 为正常对照;M 为甲基化引物,U 为非甲基化引物,P 为 M. SssI 酶处理阳性对照。

图 1 9 对引物 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳结果图

2.3 4 组间 4 种基因的甲基化水平差异分析 CADM1 和 PCDHA4 基因的甲基化阳性率在 LSIL

组、HSIL 组、宫颈癌组和对照组 4 组间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$),C13ORF18 和 TERT 基因的甲基

化阳性率在 4 组间的差异均有统计学意义($P < 0.01$)。CADM1 基因的甲基化阳性率在对照组、LSIL 组、HSIL+宫颈癌组 3 组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);PCDHA4 基因的甲基化阳性率在对照组、LSIL 组、HSIL+宫颈癌组 3 组间随着病变程度增加而升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 C13ORF18 基因甲基化检测、TERT 基因甲基化检测与 HPV16/18 检测单项或联合检测时对于宫

颈癌的诊断效能 C13ORF18 基因甲基化检测与 HPV16/18 二者联合检测,以及 C13ORF18 基因甲基化检测、TERT 基因甲基化检测与 HPV16/18 三者联合检测时,特异度均为 96.97%,但三者联合检测具有更高的阳性预测值(75.00%)。TERT 基因甲基化单项检测灵敏度和阴性预测值均最高,分别为 86.36%、94.74%。见表 4。

表 3 4 种基因在不同宫颈病变患者及对照组中的甲基化阳性情况

组别	n	CADM1		C13ORF18		PCDHA4		TERT	
		阳性(n)	阳性率(%)	阳性(n)	阳性率(%)	阳性(n)	阳性率(%)	阳性(n)	阳性率(%)
对照组	20	6	30.00	0	0.00	10	50.00	1	5.00
LSIL 组	51	28	54.90	1	1.96	40	78.43	28	54.90
HSIL 组	28	16	57.14	5	17.86	22	78.57	16	57.14
宫颈癌组	22	15	68.18	14	59.09	18	81.82	19	86.36

表 4 不同检测方法对宫颈癌的诊断效能(%)

检测方法	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
C13ORF18 基因甲基化检测	59.09	93.94	68.42	91.18
TERT 基因甲基化检测	86.36	54.55	29.69	94.74
HPV16/18 检测	68.18	75.76	38.46	91.46
C13ORF18 基因甲基化与 TERT 基因甲基化联合检测	54.55	95.96	75.00	90.48
C13ORF18 基因甲基化与 HPV16/18 联合检测	45.45	96.97	76.92	88.89
TERT 基因甲基化与 HPV16/18 联合检测	54.55	85.86	46.15	89.47
C13ORF18 基因甲基化、TERT 基因甲基化与 HPV16/18 联合检测	40.91	96.97	75.00	88.07

2.5 C13ORF18 基因甲基化检测、TERT 基因甲基化检测与 HPV16/18 检测单项或联合检测在 TCT 检查结果为不能明确意义的不典型鳞状细胞(ASCUS)患者中区分高级别及以上病变的诊断效能 当 TCT 检查结果为正常或 ASCUS 时,HPV16/18 检测筛查高级别及以上病变的检测灵敏度最好(分别为 100.00%和 71.43%),且具有较好的阴性预测值。C13ORF18 基因甲基化检测具有较好的特异度,均高

达 100.00%,且具有较好的阳性预测值。HPV16/18 与 C13ORF18 基因甲基化联合检测的灵敏度低于 HPV16/18 单项检测,同时与 C13ORF18 基因甲基化单项检测比较,虽特异度一致,但灵敏度没有提高,甚至在 ASCUS 的 TCT 结果诊断中明显下降。TERT 基因甲基化检测无论是单项还是联合 HPV16/18 检测,灵敏度均不及 HPV16/18 单项检测,特异度也不及 C13ORF18 基因甲基化单项检测,见表 5、6。

表 5 C13ORF18 甲基化检测、TERT 基因甲基化检测与 HPV16/18 检测单项或联合检测在正常 TCT 结果中诊断高级别及以上病变的诊断效能(%)

检测方法	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
HPV16/18	100.00	61.54	50.00	100.00
C13ORF18 基因甲基化检测	20.00	100.00	100.00	76.47
TERT 基因甲基化检测	40.00	61.54	28.57	72.73
HPV16/18 与 C13ORF18 基因甲基化联合检测	20.00	100.00	100.00	76.47
HPV16/18 与 TERT 基因甲基化联合检测	40.00	84.62	50.00	78.57
HPV16/18	71.43	78.57	62.50	84.62
C13ORF18 基因甲基化检测	14.29	100.00	100.00	70.00

表 6 C13ORF18 甲基化检测、TERT 基因甲基化检测与 HPV16/18 检测单项或联合检测在 ASCUS 的 TCT 结果中诊断高级别及以上病变的诊断效能 (%)

检测方法	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
TERT 基因甲基化检测	42. 86	42. 86	27. 27	60. 00
HPV16/18 与 C13ORF18 基因甲基化联合检测	0. 00	100. 00	—	66. 67
HPV16/18 与 TERT 基因甲基化联合检测	42. 86	85. 71	60. 00	75. 00

注：—表示无数据。

3 讨 论

高危 HPV 亚型的感染是导致宫颈癌发生的主要原因^[7],但是高危 HPV 亚型感染并不一定能够促使最终发展为宫颈癌,仅有少部分人 HPV 持续性感染会发展为子宫颈病变。本研究中宫颈癌组的女性年龄明显高于对照组、LSIL 组和 HSIL 组,且 HPV16/18 的阳性率随着宫颈病变程度的增加而增高,也证实了高危 HPV 亚型的持续感染在子宫颈癌及癌前病变中的关键作用。

目前对于宫颈癌的筛查策略主要采用细胞学检查或主要的高危 HPV 亚型检测,分别侧重于检测异常细胞和是否存在高危 HPV 亚型感染。传统宫颈巴氏涂片可以诊断宫颈癌病变,但灵敏度低,假阴性率非常高,容易导致临床误诊和漏诊^[8]。TCT 检查提高了细胞学检查的阳性率,但其受标本采集及制片的影响^[9],本研究中 76 例患者的 TCT 检查结果也证实了细胞学检查的局限性;而高危 HPV 亚型筛查不能区分一过性感染和持续性转化感染,降低了筛查的特异度,这表明需要采取更加客观的筛查策略。

DNA 甲基化是修饰 DNA 的一种方式,其不改变基因组 DNA,仅改变表观遗传表现,是细胞维持基因稳定和调节基因表达的主要因素^[10]。DNA 甲基化主要机制是在 DNA 甲基化转移酶(DNMT)的催化作用下,使胞嘧啶磷酸鸟嘌呤二核苷酸(CpG)5'端 C 原子与 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)提供的活性甲基发生共价结合,形成 DNA 的甲基化修饰。CpG 岛中的大多数 CpG 在正常细胞中通常未甲基化,CpG 的超甲基化是在肿瘤细胞中经常观察到的变化之一,这可能导致肿瘤抑制基因沉默^[11]。因此,基因甲基化可能是宫颈癌诊断的潜在生物标志物。目前在宫颈组织中已检测出超过 100 种基因甲基化标志物^[12],赵娟等^[13]研究发现,宫颈癌和癌旁组织中的 SALL3 基因启动子区甲基化水平明显高于正常宫颈组织。尽管如此,病理组织标本取样烦琐,并不适用于一般人群筛查。有报道显示,宫颈脱落细胞基因甲基化检测可应用于宫颈癌早期筛查,并可能成为更加灵敏、特异的手段^[14]。近年来国内也有许多关于宫颈脱落细胞如 PAX1^[15]、FAM19A4^[16]等基因甲基化的研究,结果也提示了宫颈脱落细胞基因甲基化的检测在宫颈癌及癌前病变

筛查中具有一定临床应用价值。

CADM1,又称肺癌肿瘤抑制因子 1(TSLC1),主要发挥维持细胞间黏附稳定及细胞骨架构建的功能。在许多实体瘤(如胰腺癌、肺癌、黑色素瘤、食道癌和宫颈癌)中,CADM1 经常被启动子高甲基化灭活^[17],有研究发现,CADM1 与 MAL 基因甲基化异常与高级别宫颈病变更高的阳性率相关^[18]。C13ORF18 为 13 号染色体开放阅读框 18,C13ORF18 的启动子甲基化会导致细胞周期的破坏,可能是宫颈癌发生的早期事件^[19]。原钙黏蛋白(PCDH)是细胞黏附分子超家族中最大的一员,分为 α 、 β 、和 γ PCDH 基因簇(根据人类基因组组织命名法分别对应 PCDHA@、PCDHB@和 PCDHG@),在 5q31 号染色体上串联分布,PCDHA4 是 PCDHA@中的一种。有研究显示,与 HPV 检测相比,对于宫颈上皮内瘤变 2 级病变的早期检测,PCDHA4 的甲基化检测具有相同的灵敏度,但特异度更高^[20]。TERT 是细胞内一种与癌变密切相关的反转录酶,其基因启动子区异常甲基化已被证实存在于包括宫颈癌^[21]在内的多种肿瘤组织中。

GUSTAFSON 等^[22]对液基细胞学标本中 15 种基因甲基化进行研究,结果显示,CADM1 基因甲基化检测是区分高级病变与正常及低级别病变最好的标志物。VAN BAARS 等^[23]的研究也显示了相似的结果,CADM1 基因甲基化随着病变严重程度的增加而增加,并且是病变特异性的标志物。而本研究结果表明,CADM1 基因甲基化阳性率在 4 组间差异无统计学意义($P>0.05$),并在低级别和高级别及以上病变之间差异无统计学意义($P>0.05$),这可能是由研究人群的种族、地域差异造成的。

WANG 等^[20]的研究显示,正常对照、癌前病变(CIN)1 级、CIN2/3 级和子宫颈癌中 PCDHA4 基因甲基化阳性率随着病变程度增加明显增高,而本研究中该基因甲基化阳性率在 4 组间差异无统计学意义($P>0.05$),可能因为本研究宫颈癌患者例数太少。然而,该基因甲基化阳性率在对照组、LSIL 组和 HSIL+ 宫颈癌组 3 组间差异有统计学意义($P<0.05$),说明 PCDHA4 基因的甲基化检测有助于区分低级别和高级别及以上的病变。

YANG 等^[24]等的研究显示,对于区分正常和

CIN2 级及以上的病变, C13ORF18 基因甲基化是良好的检测标志物。也有试验证实, 宫颈刮片中的 C13ORF18 启动子甲基化与高级别病变密切相关^[25]。本研究结果显示, 对照组、LSIL 组、HSIL 组和宫颈癌 4 组间的 C13ORF18 基因甲基化阳性率随着病变程度的加深而明显增高($P<0.01$), 且 C13ORF18 基因甲基化单项检测用于诊断宫颈癌, 显示出了较好的特异度 (93.94%), 并优于 HPV16/18 (75.76%) 和 TERT 基因甲基化 (54.55%) 单项检测。

EIJSINK 等^[26]的研究显示, TERT 基因甲基化阳性率在正常、CIN1、CIN2、CIN3 和宫颈癌的冰凍宫颈组织中分别为 8%、16%、14%、51%、90%, 而本研究中该基因在宫颈脱落细胞中也有相似的结果, 该基因甲基化阳性率在对照组、LSIL 组、HSIL 组和宫颈癌组中随着病变程度增加而增加($P<0.05$), TERT 基因甲基化单项检测用于诊断宫颈癌的灵敏度为 86.36%, 高于 C13ORF18 基因甲基化 (59.09%) 和 HPV16/18 (68.18%) 单项检测, 但特异度比 C13ORF18 基因甲基化和 HPV16/18 单项检测低。

对 C13ORF18 基因甲基化、TERT 基因甲基化联合 HPV16/18 检测诊断宫颈癌的综合分析结果显示, C13ORF18 基因甲基化检测联合 HPV16/18 检测可以略微提高检测特异度 (从 93.94% 提升至 96.97%), 但是灵敏度大大降低 (从 59.09% 降至 45.45%); TERT 基因甲基化检测联合 HPV16/18 检测可以提高特异度至 85.86%, 但不及 C13ORF18 基因甲基化单项检测的特异度高, 且灵敏度较低; 三者联合检测特异度与 C13ORF18 基因甲基化检测联合 HPV16/18 检测的特异度相同, 但检测灵敏度较低。

此外, 本研究结果显示, HPV16/18 检测和 C13ORF18 基因甲基化检测可能有助于对于细胞学检查后进一步进行危险分层。对于正常或 ASCUS 的 TCT 检查结果, HPV16/18 检测对于区分宫颈高级别及以上病变具有很高的灵敏度 (分别为 100.00% 和 71.43%), 而 C13ORF18 基因甲基化检测的特异度均高达 100.00%。

综上所述, 宫颈脱落细胞 CADM1、PCDHA4、TERT 和 C13ORF18 这 4 种基因中, TERT 基因和 C13ORF18 基因甲基化单项检测在宫颈癌及癌前病变的筛查中体现了较好的临床价值, 但是联合 HPV16/18 的筛查并不能明显提高诊断性能。HPV16/18 检测和 C13ORF18 基因甲基化检测对于细胞学检查后进一步进行危险分层具有一定的临床意义。本研究样本量尤其是宫颈癌患者病例较少, 宫颈癌标本临床资料不够全面, 未来可扩大研究人群, 补充临床资料, 并结合更多的基因进一步研究。

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.

[2] 杨春红. 宫颈上皮内瘤变的诊治进展研究[J]. 系统医学, 2019, 4(12): 195-198.

[3] CURRY S J, KRIST A H, OWENS D K, et al. Screening for cervical cancer: US preventive services task force recommendation statement[J]. JAMA, 2018, 320(7): 674-686.

[4] WRIGHT T C, STOLER M H, BEHRENS C M, et al. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: end of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test[J]. Gynecol Oncol, 2015, 136(2): 189-197.

[5] XU W X, XU M Y, WANG L L, et al. Integrative analysis of DNA methylation and gene expression identified cervical cancer-specific diagnostic biomarkers [J]. Signal Transduct Target Ther, 2019, 4: 55-67.

[6] 陈丽梅. 宫颈癌筛查技术发展及最新筛查指南[J]. 上海医药, 2018, 39(1): 3-7.

[7] FANG J, ZHANG H, JIN S. Epigenetics and cervical cancer: from pathogenesis to therapy[J]. Tumour Biol, 2014, 35(6): 5083-5093.

[8] 王楠. 宫颈刮片脱落细胞学联合阴道镜对宫颈癌初筛的价值分析[J]. 系统医学, 2021, 6(5): 115-117.

[9] 马新卉, 刘莎莎. 宫颈液基薄层细胞学检测联合阴道镜在宫颈癌前病变筛查中的价值分析[J]. 中外女性健康研究, 2021, 29(1): 167-168.

[10] THAKORE P I, BLACK J B, HILTON I B, et al. Editing the epigenome: technologies for programmable transcription and epigenetic modulation[J]. Nat Methods, 2016, 13(2): 127-137.

[11] HAO X, LUO H, KRAWCZYK M, et al. DNA methylation markers for diagnosis and prognosis of common cancers[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(28): 7414-7419.

[12] 李明珠, 魏丽惠. 甲基化检测在宫颈癌诊治中的意义[J]. 现代妇产科进展, 2019, 28(9): 704-705.

[13] 赵娟, 魏星, 杨婷, 等. SALL3 甲基化与宫颈癌的相关性[J]. 中国医学科学院学报, 2019, 41(5): 609-614.

[14] SAHASRABUDDHE V V, LUHN P, WENTZENSEN N. Human papillomavirus and cervical cancer: biomarkers for improved prevention efforts[J]. Fut Microbiol, 2011, 6(9): 1083-1098.

[15] 黄勉, 林珺, 沈张, 等. PAX1 基因启动子甲基化用于子宫颈癌临床应用价值探讨[J]. 中南药学, 2019, 17(4): 616-621.

[16] 王三锋, 布俏雯, 张亮, 等. 宫颈脱落细胞中 FAM19A4 基

因启动子甲基化的检测分析[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(25):1963-1967.

[17] SI X, XU F, XU F, et al. CADM1 inhibits ovarian cancer cell proliferation and migration by potentially regulating the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 123:109717.

[18] UIJTERWAAL M H, VAN ZUMMEREN M, KOCKEN M, et al. Performance of CADM1/MAL-methylation analysis for monitoring of women treated for high-grade CIN[J]. Gynecol Oncol, 2016, 143(1):135-142.

[19] SUN L L, LIU Y, SUN X, et al. Limited role of promoter methylation of MGMT and C13ORF18 in triage of low-grade squamous intraepithelial lesion [J]. Chin Med J (Engl), 2018, 131(8):939-944.

[20] WANG K H, LIN C J, LIU C J, et al. Global methylation silencing of clustered proto-cadherin genes in cervical cancer: serving as diagnostic markers comparable to HPV [J]. Cancer Med, 2015, 4(1):43-55.

[21] ROGERI C D, SILVEIRA H C S, CAUSIN R L, et al. Methylation of the hsa-miR-124, SOX1, TERT, and LMX1A genes as biomarkers for precursor lesions in cervical cancer[J]. Gynecol Oncol, 2018, 150(3):545-551.

[22] GUSTAFSON K S, FURTH E E, HEITJAN D F, et al. DNA methylation profiling of cervical squamous intraepithelial lesions using liquid-based cytology specimens: an approach that utilizes receiver-operating characteristic analysis[J]. Cancer, 2004, 102(4):259-268.

[23] VAN BAARS R, VAN DER M J, SNIJDERS P J, et al. CADM1 and MAL methylation status in cervical scrapes is representative of the most severe underlying lesion in women with multiple cervical biopsies[J]. Int J Cancer, 2016, 138(2):463-471.

[24] YANG N, EIJSINK J J, LENDVAI A, et al. Methylation markers for CCNA1 and C13ORF18 are strongly associated with high-Grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer in cervical scrapings[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2009, 18(11):3000-3007.

[25] HUISMAN C, WISMAN G B, KAZEMIER H G, et al. Functional validation of putative tumor suppressor gene C13ORF18 in cervical cancer by artificial transcription factors[J]. Mol Oncol, 2013, 7(3):669-679.

[26] EIJSINK J J, LENDVAI A, DEREGOWSKI V, et al. A four-gene methylation marker panel as triage test in high-risk human papillomavirus positive patients[J]. Intern J Cancer, 2012, 130(8):1861-1869.

(收稿日期:2021-03-12 修回日期:2021-07-28)

(上接第 220 页)

[2] 张露灏. 脂质-DNA 复合结构的细胞应用[D]. 北京:中国科学院大学, 2000.

[3] ASBURY A K, CORNBATH D R. Assessment of current diagnostic criteria for Guillain-Barre syndrome[J]. Ann Neurol, 1990, 27(suppl):S21-S24.

[4] 刘杰, 王利娟, 吴兆媛, 等. 格林-巴利综合征患者神经系统感染病毒抗体谱分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(23):2849-2852.

[5] OZDEMIR H H. Analysis of the albumin level, neutrophil-lymphocyte ratio, and platelet-lymphocyte ratio in Guillain-Barre syndrome[J]. Arq Neuropsiquiatr, 2016, 74(9):718-722.

[6] SU Z, CHEN Z, XIANG Y, et al. Low serum levels of uric acid and albumin in patients with Guillain-Barre syndrome[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(15):e6618.

[7] ETHEMOGLU O, CALIK M. Effect of serum inflammatory markers on the prognosis of adult and pediatric patients with Guillain-Barre syndrome[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2018, 14:1255-1260.

[8] FOKKINK W J, WALGAARD C, KUITWAARD K, et al. Association of albumin levels with outcome in intravenous immunoglobulin-treated Guillain-Barre syndrome [J]. JAMA Neurol, 2017, 74(2):189-196.

[9] 徐辉, 李玉华. 65 岁以上老年人体检血糖、血脂水平分析[J]. 影像学及检验诊断, 2020, 18(18):173.

[10] WEAVING G, BATSTONE G F, JONES R G. Age and sex variation in serum albumin concentration: an observation study[J]. Ann Clin Biochem, 2016, 53(Pt 1):106-111.

[11] BROOKS J A, MCCUDDEN C, BREINER A, et al. Causes of albuminocytological dissociation and the impact of age-adjusted cerebrospinal fluid protein reference intervals: a retrospective chart review of 2627 samples collected at tertiary care center[J]. BMJ Open, 2019, 9(2):e025348.

[12] 刘晓宇, 李春, 王晓放, 等. 吉兰-巴雷综合征患者急性期血脂水平与疾病严重程度关系[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2020, 23(21):1872-1877.

[13] TANG H Y, CHIU D T, LIN J F, et al. Disturbance of plasma lipid metabolic profile in Guillain-Barre syndrome [J]. Sci Rep, 2017, 7(1):8140-8151.

(收稿日期:2021-03-12 修回日期:2021-07-28)