

Analysis of Fecal SDC2 Methylation Gene Screening Results in Healthy People

Yali Fan Yongqin Feng Ronghua Chen Caijing Xiao Xiaoyan Li

Three Gorges Medical Laboratory, Yichang, Hubei, 443000, China

Abstract

Objective: To understand the detection rate of fecal SDC2 gene methylation in colorectal cancer by screening fecal SDC2 gene methylation in healthy people in some areas of Hubei Province. **Methods:** Male and female were divided into age groups, and the methylation of SDC2 gene in feces of physical examination subjects was detected by fluorescence PCR. **Results:** The results of stool SDC2 gene methylation detection in 1895 healthy people; Among the physical examination population, 43 cases were positive for SDC2 methylation gene (CT value < 38), the positive detection rate was 2.27%, and 72 cases were in gray area ($38 \geq$ CT value < 39), the detection rate was 3.8%; The positive rate of male and female was significantly higher than that of female ($P < 0.05$), and the positive rate of SDC2 gene methylation in feces increased with the increase of age, especially in people over 71 years old. The positive rate of SDC2 gene methylation in feces was significantly higher than that of female ($P < 0.05$). The positive rate of SDC2 gene methylation in feces increased with the increase of age, and the increase was most significant in people over 71 years old. Among the SDC2 positive cases, 18 cases underwent colonoscopy or histopathological examination at the same time, and 10 cases were found to have adenomatous polyps, intestinal adenomas and other intestinal diseases. The detection rate of SDC2 gene methylation reached 55%. **Conclusion:** Early screening of fecal intestinal cancer nucleic acid genes in the community is of great significance for reducing the incidence and mortality of CRC.

Keywords

Colorectal cancer (CRC); Early screening of stool SDC2; gene methylation tumors

健康人群粪便 SDC2 甲基化基因筛查结果分析

范亚丽 冯永钦 陈荣华 肖才境 李晓艳

三峡医学检验实验室, 中国·湖北宜昌 443000

摘要

目的: 通过对湖北省部分地区的健康人群进行粪便SDC2基因甲基化的筛查, 了解粪便SDC2基因甲基化在结直肠癌中的检出率。**方法:** 按男女进行年龄分组, 用荧光PCR法检测体检对象的粪便SDC2基因甲基化。**结果:** 1895例健康体检人群粪便SDC2基因甲基化检测结果; 体检人群中粪便SDC2基因甲基化阳性 (CT值 < 38) 43例, 阳性检出率2.27%, SDC2基因甲基化处于灰区的 ($38 \geq$ CT值 < 39) 72例, 灰区检出率3.8%; 男女间阳性率比较, 男性检出率明显高于女性 $P < 0.05$, 且粪便SDC2基因甲基化阳性检出率随着年龄的增长而增高, 到71岁以上人群增高最为显著。SDC2阳性病例中, 有18例同期进行了肠镜或组织病理学检查, 有10例均发现有腺瘤样息肉, 肠道腺瘤等肠道疾病, SDC2基因甲基化的检出率达到了55%。**结论:** 在社区开展粪便肠癌核酸基因的早期筛查, 对于降低CRC的发病率和病死率, 具有重要意义。

关键词

结直肠癌 (CRC); 粪便SDC2基因甲基化; 肿瘤早期筛查

1 引言

结直肠癌 (Colorectal cancer, CRC) 是我国常见的恶性肿瘤之一。根据 2020 年全球癌症统计报告显示; 在我国全部恶性肿瘤发病率和死亡率中, CRC 分别位于第 2 位和第 5 位, 其中新发病例 55.7 万例, 死亡病例 28.6 万。在我国早在 2012 年国家就将城市癌症早诊早治项目正式纳入国家重大公共卫生专项, 针对城市高发的五大癌症 (肺癌、结

直肠癌、上消化道癌、乳腺癌和肝癌) 开展了危险因素调查、高危人群评估和癌症筛查, 并在一些地方政府支持下对社区开展了教育动员和筛查。为此, 我们从 2021 年 11 月起对湖北省内的部分社区和单位的部分健康人群进行了粪便 SDC2 甲基化基因筛查工作, 现将结果报告如下。

2 材料与方

2.1 研究对象

2022 年 11 月至 2023 年 7 月湖北地区 (主要为宜昌及周边地区) 的部分健康体检者共 1895 例, 其中男性 850 例, 女性 1045 例, 年龄 25~87 岁, 平均年龄 (54.4 ± 36.8)。

【作者简介】范亚丽 (1979-), 女, 中国湖北宜昌人, 主管检验师, 从事肿瘤相关检测研究。

2.2 标本收集

收集上述健康体检人群在正常饮食情况下采用居家方式用广州康立明生物科技有限公司生产的人类 SDC2 基因甲基化检测试剂盒-长安心专用粪便采样装置采集成形粪便 4.5 克左右,送三峡医学检验实验室进行粪便 SDC2 基因甲基化检测。

2.3 检测相关仪器及检验试剂

长安心全自动样本前处理仪;长安心试剂配套的自动核酸提取仪;ABI-7500 型荧光 PCR 扩增仪。

检测试剂;广州康立明生物科技有限公司人类 SDC2 基因甲基化检测试剂盒;批号 CSC12220101, CSC12220303, CSC12220502。

2.4 检测方法

荧光 PCR 法,严格按照试剂说明书和实验室操作流程进行操作。

①粪便前处理;采用粪便前处理仪或手工添加保护液将粪便进行漩涡混匀,并充分匀质化,然后离心、过滤,留取上层清液待检。

②粪便核酸提取及转化:采用核酸提取仪或手工将送检粪便与试剂盒中的阴、阳性质控品同时进行目的 DNA 甲基化基因捕获与转化,获得模板 DNA,然后上机进行扩增。

③DNA 扩增及结果判断;样本经扩增后,ACTB 基因(管家基因)的 ct 值 ≤ 36 时,说明样品合格,SDC2 基因甲基化 ct 值 < 38 时其结果为阳性;SDC2 基因甲基化 ct > 39 或无 ct 值时结果为阴性;ACTB 基因的 ct 值 ≤ 36 , SDC2 基因甲基化的 ct 值 $38 \geq ct \leq 39$ 时,实验判断为灰区(但按阴性结果报告),表示检测到轻度的与肠癌发生的基因变异。

3 结果

1895 例健康体检人群粪便 SDC2 基因甲基化检测结果;结果见表 1。从表 1 可以看出,体检人群中粪便 SDC2 甲基化基因阳性(ct 值 < 38) 46 例,阳性检出率 2.37%,体检人群中粪便 SDC2 甲基化基因 ($38 \geq ct \leq 39$) 73 例,灰区检出率 3.85%,阳性结果+灰区结果共 118 例,检出率为 6.22%。在 46 例阳性体检者中其中男性 24 例(检出率 2.82%)、女性 22 例(检出率 2.1%),男女间阳性率比较,男性明显高于女性 $P < 0.05$ 具有统计学差异。

表 1 健康体检人群粪便 SDC2 甲基化基因检测结果

	检测总例数	阳性例数	阴性例数		合计
			无 CT 值	38>CT>39	
男	850	24	793	36	850
女	1045	22	983	37	1045
合计	1895	46	1776	73	

1895 例健康体检人群粪便 SDC2 甲基化基因男女分组检测结果。结果见表 2;从表 2 可以看出,男女性人群总的

趋势是随着年龄的增长阳性检率逐渐增高,从 51 岁开始逐渐明显增高,而到 71 岁以上人群增高最为显著。

表 2 粪便 SDC2 甲基化基因男女分组检测结果

性别	年龄	检测总数	检测阳性		检测阴性		
			例数	%	无 CT 值	38>CT>39 例数	% 例数
男	30~40	249	4	1.60	238	7	2.81
	41~50	240	5	2.08	225	11	4.58
	51~60	245	7	2.86	229	9	3.27
	61~70	82	4	4.88	70	8	9.75
	70~+	34	4	11.76	29	1	2.94
女	30~40	332	1	0.3		10	3.01
	41~50	341	7	2.05	323	11	3.22
	51~60	255	8	3.13	240	7	2.74
	61~70	90	4	4.44	83	4	4.44
	70~+	27	2	7.4	20	5	18.51
合计		1895	46	2.37	1776	73	3.85

粪便 SDC2 基因甲基化阳性者与肠镜检查结果对比。在 46 例粪便 SDC2 基因甲基化阳性的送检者中,收集到 18 例的结肠纤维镜检查结果,其检查结果有 10 例均发现有腺瘤样息肉,肠道腺瘤等,SDC2 基因甲基化的检出率达到了 55%。

4 讨论

粪便 DNA 检测主要测定肠道脱落细胞中某些特定 DNA 位点突变和表观遗传生物标志物的异常改变,具有无创、便捷、精准等优点,目前国内外均已成熟产品上市。粪便 SDC2 基因甲基化检测,就是基于粪便的一项无创结直肠癌筛查技术。我室采用广州康立明生物技术有限公司生产的粪便 SDC2 甲基化基因检测试剂盒对湖北宜昌地区部分健康体检人群共 1895 例进行了粪便 SDC2 甲基化基因筛查,检出阳性病例 46 例,总检出率 2.37%,男性阳性检出率 2.82%,女性阳性检出率 2.1%,SDC2 检出值处于灰区的 ($38 \geq ct \leq 39$) 73 例,SDC2 甲基化基因检出率 3.85% (73/1895),SDC2 甲基化基因总检出率(阳性+灰区)为 6.22% (119/1895),且 SDC2 基因甲基化检出率随着年龄的增长而增长,与该肿瘤的发生发展规律基本一致。

在肿瘤的癌变机制中,抑癌基因启动子的异常甲基化是癌症发生的早期事件,因此特定基因位点的甲基化可作为重要的肿瘤早期筛查分子标志物。对于结直肠癌,研究者发现有些基因在肠道腺瘤阶段就发生甲基化水平的改变,SDC2 基因就是其中之一。SDC2 基因编码跨膜(I 型)硫酸肝素蛋白聚糖,参与细胞增殖、血管形成和细胞迁移等,在结肠间质细胞中表达。研究人员发现结直肠肿瘤标本 SDC2 基因调控区甲基化水平显著高于配对的相邻非肿瘤组织,且在肿瘤发生的早期阶段甚至腺瘤阶段就可检测出。本次筛查 SDC2 阳性病例中,有 18 例同期进行了肠镜和组织

病理学检查,有10例均发现有腺瘤样息肉、肠道腺瘤等,SDC2基因甲基化的检出率达到了55%,与国内相关的文献报告的腺瘤的SDC2阳性率58.2%基本一致,说明进行粪便核酸基因的检测能够起到肠道肿瘤疾病早期筛查的作用。

粪便核酸检测的生物学基础是细胞脱落现象的持续存在。正常结肠粘膜发生细胞凋亡并不断脱落至肠腔作为粪便的正常成分排出,这些细胞以每天至少1010个细胞的速度脱落,每个细胞的寿命为3~4天,整个结肠粘膜在3~4天内得到更新,而CRC肿瘤细胞由于快速分裂和对基底膜黏附性降低等因素,会持续不断地脱落到肠腔中,据此可以从粪便中捕获和提纯、分析肠道肿瘤脱落细胞的基因并以此判断肠道肿瘤的发生情况。通过我们这次对湖北部分社区的自然人群众体筛查肠癌工作的数据说明,粪便SDC2基因甲基化检测对于肠癌防治的早期筛查,是科学、精准、实用的正确选择。

CRC是个长期的逐渐进展的过程,发病率最高的管状腺瘤有比较明确的发展过程,大都由腺瘤发展而来,由腺瘤→不典型增生→癌的演变过程大概要经过10~15年,这一时间窗为CRC的预防和早期诊断提供了有利的时机,也使得CRC成为为数不多的可以通过早期筛查降低发病率和病死率的恶性肿瘤,美国CRC发病率及病死率的下降,正是得

益于有效早期筛查手段的应用和展开。为此我们在社区开展粪便肠癌核酸基因的早期筛查,有利于CRC高风险人群早期诊断及治疗,可有效控制病情,对于降低CRC的发病率和病死率,为实现健康中国的战略目标具有重要的意义。

参考文献

- [1] 国家消化系统疾病临床医学研究中心(上海),国家消化道早癌防治中心联盟,中华医学会消化内镜学分会.中国早期结直肠癌筛查流程专家共识意见(2019,上海)[J].中华内科杂志,2019,99(38).
- [2] 中华医学会检验医学分会分子诊断学组,早期结直肠癌和癌前病变实验诊断技术中国专家共识中华检验医学杂志,2021,5(44):372-380.
- [3] 张昱张金卓结直肠癌早期筛查及其诊断生物标志物的研究进展,中国医学创新,2023,12(20):169-172.
- [4] 谢程捷,戴一扬.粪便DNA甲基化在结直肠癌筛查中的研究进展,中外医学研究,2023,1(21):175-180.
- [5] 国家消化系统疾病临床医学研究中心(上海),中华医学会消化内镜学分会,中国抗癌协会肿瘤内镜专业委员会,等.中国结直肠癌癌前病变和癌前状态处理策略专家共识[J].中华消化内镜杂志,2022,39(1):1-18.
- [6] 马晓阳,张爽,江泽友.大肠肿瘤Syndecan-2基因甲基化及临床意义[J].临床肿瘤学杂志,2020,25(4):305-310.