

宿主细胞 DNA 甲基化在宫颈筛查中的临床研究进展

程晨晨 沈芳荣*

苏州大学附属第一医院, 江苏省苏州市, 215000;

摘要: 宫颈癌严重威胁女性健康, 鳞状上皮内病变 (Squamous Intraepithelial Lesion, SIL) 是其重要癌前阶段。传统宫颈筛查方法存在一定局限性, 而宿主细胞 DNA 甲基化标记在宫颈疾病的早期检测、诊断及管理方面展现出潜在优势。本文综合分析既往相关文献, 对宿主细胞 DNA 甲基化标记在宫颈筛查和 SIL 的管理中研究进展进行阐述, 旨在为临床实践提供参考, 推动宫颈疾病防治的发展。

关键词: 甲基化; 鳞状上皮内病变; 宫颈筛查

DOI: 10. 69979/3029-2808. 25. 05. 040

宫颈癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 发病率和死亡率极高^[1]。科学筛查、合理分流危险人群、积极干预是有效防止病情进展、改善预后、降低病死率的关键。目前, 宫颈筛查主要以宫颈液基细胞学检查和 HR-HPV 检测为主, 但这些方法的敏感性和特异性有限, 导致阴道镜转诊增多, 增加了女性的身心负担^[2]。DNA 甲基化是宫颈癌中研究最深入的表观遗传机制之一^[3]。已证实肿瘤抑制基因启动子区高甲基化修饰与宫颈病变程度呈正相关, DNA 甲基化检测有望成为宫颈癌诊断的工具^[4]。

1 宫颈筛查的现状

目前临床上常用的宫颈筛查方法主要包括: 子宫颈细胞学检查、HPV 核酸检测及其联合筛查, 醋酸和卢戈碘液染色肉眼观察法现已较少用作初筛^[2]。细胞学检查主要通过采集宫颈表面的细胞, 经过处理后, 在显微镜下观察是否存在异常细胞, 特异度高而敏感性较差, 细胞学检测敏感性范围不到 50%^[5-7]。HPV 检测则是通过检测宫颈细胞中是否存在 HPV 病毒的 DNA, 其灵敏度较高, 但无法区分是否是一过性感染, 且 HPV 检测不能准确判断病变的程度和发展趋势, 存在过度诊断和不必要的阴道镜转诊等问题^[8]。

2 宿主细胞 DNA 甲基化的基本概念与机制

近年研究表明, 基因组及表观遗传异常在肿瘤发生早期即存在^[9]。DNA 甲基化是一个复杂的过程, 主要发生在基因的 CpG 岛。DNA 甲基转移酶 (DNA Methyltransferase, NMT) 将甲基转移到交替的胞嘧啶上, 从而生成 5-甲基胞嘧啶 (5-mC), 目前已鉴定出两类 DNMT: DNMT1 和 DNMT3 (DNMT3a 和 DNMT3b)^[10]。DNMT1 的作用是

维持基因的甲基化状态; 它识别半甲基化的 DNA, 相反, DNMT3a 和 DNMT3b 负责甲基化基因, 即从头 DNA 甲基化^[1]。其致癌过程中甲基化的整体丧失会导致染色体不稳定^[12], 富含 CpG 的启动子区域局部高甲基化导致的肿瘤抑制基因沉默会导致癌症发展^[13]。

3 宿主细胞 DNA 甲基化检测在宫颈筛查中的研究进展

目前, 已有研究证实, 以下甲基化标记物可用于鳞状上皮内病变的筛查, 包括 miR124-2^[14]、FAM19A4^[15]、EPB41L3^[16]、ZNF582^[17, 18]和 TRH^[19]等。目前市场上有以下甲基化标记或标记组可供购买: 针对 FAM19A4/miR124-2 的 QIASure 甲基化测试 (Qiagen, 德国希尔登)、针对 ASTN1/DLX1/ITGA4/RXFP3/SOX17/ZNF671 的 GynTect 检测 (Oncgnostics, 德国耶拿)、针对 POU4F3 的 CONFIDENCE 标记检测 (NEUMANNDiagnosticsLtd., 匈牙利布达佩斯) 和针对 PAX1 的 Cervi-M 检测 (中国台湾新北市爱思特生物医学有限公司)。

现有研究对象多基于 HR-HPV 感染者, 将甲基化检测作为细胞学检测的替代方案进行分诊评估。一项回顾性分析评估了 QIASure 甲基化测试 (Qiagen) 的分诊性能, 结果显示, 与细胞学检查相比, 其敏感性相似 (71.3%vs76.0%), 但特异性较低 (78.3%vs87.0%)^[5, 20, 21]。一项大多数研究都纳入 HPV 阳性女性的荟萃分析纳入了各种甲基化标记物, 结果显示对 HSIL+检测的敏感性为 70.5% (95%CI: 64.8-75.6), 特异性为 74.5% (95%CI: 70.8-78.1)^[22]。该研究中, 与 HPV16/18 分型相比, DNMT3a 甲基化显示出相似的 HSIL+敏感度和特异度。与细胞学检查相比, DNA 甲基化检测在细胞学 ≥ ASC-US 的临界

值下具有相似的 HSIL+敏感性和更高的特异性。在另一项使用甲基化检测对 HPV 阳性女性进行分类检测的荟萃分析中, 结果表明, 在采集的宫颈样本中, 检测 HSIL+ 的敏感性为 81% (95%CI: 76-85), 特异性为 75% (95%CI: 70-79)^[23]。总之, 与细胞学检测相比, 甲基化检测在相似的敏感性情况下, 特异度得以显著提升。然而, 这些荟萃分析的主要局限性之一是评估 DNA 甲基化标记物的研究使用了不同的方法和方案。

研究显示, 使用以 HPV 为基础的筛查和细胞学分类, 阴道镜转诊率显著增加, 而 HSIL 和宫颈癌的检出率仅略有增加^[24, 25]。这主要是由于直接转诊了患有 ASC-US/LSIL 的 HPV 阳性女性, 而其中有较多患者并未检测到 HSIL+。因此, 多项研究已评估 DNA 甲基化作为 HPV 阳性 ASC-US/LSIL 女性的额外分类检测, 有研究显示, FAM19A4/miR124-2 甲基化检测在保持临床 HSIL+敏感性的同时, 可以减少 HPV 阳性, 而细胞学为 ASC-US/LSIL 患者的阴道镜转诊次数^[26]。若甲基化检测阳性, HSIL+风险为 33.1%, 而若甲基化阴性, 则 HSIL+风险为 9.8%。该策略可将阴道镜转诊减少 59%^[27]。因此, 对 HPV 阳性而细胞学 ASC-US/LSIL 的患者, 可使用 DNA 甲基化来决定是立即转诊进行阴道镜检查还是 6-12 个月后进行复查。

在宫颈筛查中, 标本的来源对于甲基化检测的效能有着重要影响。目前, 除了传统的医源性获得的子宫颈阴道脱落细胞标本外, 自我采样^[28]、尿液^[29]、血浆游离 DNA^[30]等标本也逐渐应用于甲基化检测, 为宫颈筛查提供了更多的选择。有研究表明, 使用自采样灌洗装置对 C13ORF18、JAM3、EPB41L3 和 TERT 进行 DNA 甲基化分析, 其诊断性能不劣于细胞形态学和 HR-HPV 检测^[31]。两项系统评价和荟萃分析表明, 自我采样 HR-HPV 检测的准确性与使用医生采集的宫颈刮片的准确性相当^[32]。这使得女性可以在家中自行采集样本, 提高了筛查的便利性和可及性。尿液样本采集无创、简便, 患者依从性高, 有望成为一种新的宫颈癌筛查标本来源^[33]。此外, 也有使用血浆中细胞游离 DNA 进行甲基化状态检测以筛查子宫颈癌的研究^[30]。血浆游离 DNA 甲基化检测具有无创、可重复检测等优点, 能够反映全身肿瘤细胞的甲基化状态, 对于宫颈癌的早期诊断和病情监测具有一定的价值。然而, 不同来源标本的甲基化检测在敏感性、特异性、准确性等方面可能存在差异, 需要进一步的研究和验证, 以确定最适合的标本来源和检测方法。

4 挑战与展望

尽管 DNA 甲基化检测在宫颈筛查中展现出了巨大的潜力, 但仍存在一些问题与挑战。技术层面, 目前 DNA 甲基化检测技术多样, 包括甲基化特异性 PCR (MSP)、定量 MSP、焦磷酸测序等。不同的检测技术在灵敏度、特异性、操作复杂程度等方面存在差异, 导致检测结果的可比性较差。此外, 检测过程中的样本处理、实验条件等因素也会影响检测结果的准确性和可靠性。因此, 建立统一的检测技术标准, 规范检测流程, 是实现 DNA 甲基化标记检测临床广泛应用的关键。需要进一步研发更加准确、灵敏、便捷且低成本的甲基化检测技术。成本效益方面, DNA 甲基化检测的成本相对较高, 如何降低检测成本, 提高成本效益, 是推广 DNA 甲基化标记检测面临的重要挑战。另外, 还需要更多大规模、多中心的临床研究来进一步验证其临床有效性和可靠性。基因甲基化检测的具体机制尚未完全明确, 深入了解宫颈病变的发病机制, 有助于为开发新的预防策略提供理论依据。例如, 针对基因甲基化异常的关键环节, 研发能够调节基因甲基化水平的药物或生物制剂, 有可能在宫颈病变的早期阶段进行干预, 阻止病变的进一步发展。

5 结论

多种 DNA 甲基化标记基因在宫颈病变的检测、诊断和管理中展现出良好的性能, 但还需要通过技术标准化、成本控制和进一步的临床验证等措施解决临床应用挑战。随着技术的不断进步和研究的深入, DNA 甲基化标记检测有望在未来成为宫颈疾病防治的重要工具, 为降低宫颈癌的发病率和死亡率做出贡献。

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] 邱丽华, 陈飞, 赵卫东, et al. 2024 子宫颈癌筛查和早期精准诊断现状白皮书 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2024, 40(01): 85-95.
- [3] Lechner M, Boshoff C, Beck S. Cancer epigenome [J]. Adv Genet, 2010, 70: 247-76.
- [4] Kristensen L S, Hansen L L. Pcr-based metho

- ds for detecting single-locus DNA methylation biomarkers in cancer diagnostics, prognostics, and response to treatment [J]. Clin Chem, 2009, 55(8): 1471-83.
- [5]Vink F J, Lissenberg-Witte B I, Meijer C, et al. Fam19a4/mir124-2 methylation analysis as a triage test for hpv-positive women: Cross-sectional and longitudinal data from a dutch screening cohort [J]. Clin Microbiol Infect, 2021, 27(1): 125 e1- e6.
- [6]Stanczuk G A, Baxter G J, Currie H, et al. Defining optimal triage strategies for hrhpv screen-positive women-an evaluation of hpv 16/18 genotyping, cytology, and p16/ki-67 cytoimmunohistochemistry [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2017, 26(11): 1629-35.
- [7]Pan Q J, Hu S Y, Guo H Q, et al. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing: A pooled analysis using the data from 13 population-based cervical cancer screening studies from china [J]. Gynecol Oncol, 2014, 133(2): 172-9.
- [8]Sawaya G F, Brown A D, Washington A E, et al. Clinical practice. Current approaches to cervical-cancer screening [J]. N Engl J Med, 2001, 344(21): 1603-7.
- [9]Xie N, Zhou Y, Sun Q, et al. Novel epigenetic techniques provided by the crispr/cas9 system [J]. Stem Cells Int, 2018, 2018: 7834175.
- [10]Rolls W, Wilson M D, Sproul D. Using human disease mutations to understand de novo DNA methyltransferase function [J]. Biochem Soc Trans, 2024, 52(5): 2059-75.
- [11]Wu Z, Zhao P. Epigenetic alterations in anesthesia-induced neurotoxicity in the developing brain [J]. Front Physiol, 2018, 9: 1024.
- [12]Ehrlich M. DNA hypomethylation in cancer cells [J]. Epigenomics, 2009, 1(2): 239-59.
- [13]Durzynska J, Lesniewicz K, Poreba E. Human papillomaviruses in epigenetic regulations [J]. Mutat Res Rev Mutat Res, 2017, 772: 36-50.
- [14]Wilting S M, van Boerdonk R A, Henken F E, et al. Methylation-mediated silencing and tumour suppressive function of hsa-mir-124 in cervical cancer [J]. Mol Cancer, 2010, 9: 167.
- [15]Steenbergen R D, Ongenaert M, Snellenberg S, et al. Methylation-specific digital karyotyping of hpv16e6e7-expressing human keratinocytes identifies novel methylation events in cervical carcinogenesis [J]. J Pathol, 2013, 231(1): 53-62.
- [16]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]. Int J Cancer, 2012, 130(8): 1861-9.
- [17]Huang R L, Chang C C, Su P H, et al. Methylation analysis identifies frequent DNA methylation of zinc finger protein 582 (znf582) in cervical neoplasms [J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41060.
- [18]Tian Y, Yuan Wu N Y, Liou Y L, et al. Utility of gene methylation analysis, cytological examination, and hpv-16/18 genotyping in triage of high-risk human papilloma virus-positive women [J]. Oncotarget, 2017, 8(37): 62274-85.
- [19]Chaiwongkot A, Buranapraditkun S, Oranratana S, et al. Efficiency of cin2+ detection by thyrotropin-releasing hormone (trh) site-specific methylation [J]. Viruses, 2023, 15(9).
- [20]Al Roomy M, Chehadeh W, Al Awadhi R. Prediction of cervical cancer precursor lesions by quantitative methylation specific pcr: A retrospective study [J]. Cytopathology, 2023, 34(3): 204-10.
- [21]Kaliff M, Lillsunde Larsson G, Helenius G, et al. Full genotyping and fam19a4/mir124-2 methylation analysis in high-risk human papillomavirus-positive samples from women over 30 years participating in cervical cancer screening in orebro, sweden [J]. PLoS One, 2022, 17(9): 149

- e0274825.
- [22]Kelly H, Benavente Y, Pavon M A, et al. Performance of DNA methylation assays for detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia (cin2+): A systematic review and meta-analysis [J]. *Br J Cancer*, 2019, 121(11): 954-65.
- [23]Salta S, Lobo J, Magalhaes B, et al. DNA methylation as a triage marker for colposcopy referral in hpv-based cervical cancer screening: A systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Epigenetics*, 2023, 15(1): 125.
- [24]Del Mistro A, Giorgi Rossi P, Frayle H, et al. Five-year risk of cin3 after short-term hpv-DNA negativity in cytology-negative women: A population-based cohort study [J]. *BJOG*, 2019, 126(11): 1365-71.
- [25]Thomsen L T, Kjaer S K, Munk C, et al. Clinical performance of human papillomavirus (hpv) testing versus cytology for cervical cancer screening: Results of a large danish implementation study [J]. *Clin Epidemiol*, 2020, 12: 203-13.
- [26]Dick S, Vink F J, Heideman D A M, et al. Risk-stratification of hpv-positive women with low-grade cytology by faml9a4/mir124-2 methylation and hpv genotyping [J]. *Br J Cancer*, 2022, 126(2): 259-64.
- [27]Polman N J, Snijders P J F, Kenter G G, et al. Hpv-based cervical screening: Rationale, expectations and future perspectives of the new dutch screening programme [J]. *Prev Med*, 2019, 119: 108-17.
- [28]Yeh P T, Kennedy C E, de Vuyst H, et al. Self-sampling for human papillomavirus (hpv) testing: A systematic review and meta-analysis [J]. *BMJ Glob Health*, 2019, 4(3): e001351.
- [29]van den Helder R, Steenbergen R D M, van Splunter A P, et al. Hpv and DNA methylation testing in urine for cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer detection [J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(10): 2061-8.
- [30]Bu Q, Luo X, He L, et al. Septin9 DNA methylation as a promising biomarker for cervical cancer [J]. *J Obstet Gynaecol*, 2023, 43(1): 2151356.
- [31]Eijsink J J, Yang N, Lendvai A, et al. Detection of cervical neoplasia by DNA methylation analysis in cervico-vaginal lavages, a feasibility study [J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 120(2): 280-3.
- [32]Snijders P J, Verhoef V M, Arbyn M, et al. High-risk hpv testing on self-sampled versus clinician-collected specimens: A review on the clinical accuracy and impact on population attendance in cervical cancer screening [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(10): 2223-36.
- [33]van den Helder R, van Trommel N E, van Splunter A P, et al. Methylation analysis in urine fractions for optimal cin3 and cervical cancer detection [J]. *Papillomavirus Res*, 2020, 9: 100193.
- 作者简介: 程晨晨 (1999-) 女, 汉族, 河南周口, 苏州大学附属第一医院全日制专业型, 硕士研究生在读, 研究方向为宿主细胞 DNA 甲基化
- 通讯作者: 沈芳荣 (1976-), 男, 汉族, 江苏苏州, 苏州大学附属第一医院, 主任医师, 博士学位, 研究方向为宿主细胞 DNA 甲基化