

·论著·

血清中 CDO1 基因与 HOXA9 基因启动子甲基化高表达在卵巢癌诊断中的意义

侯倩男¹ 袁宇¹ 李燕¹ 龚照林¹ 张强¹ 冯丹¹ 宫远福² 王林海² 刘沛²
谢小兵³ 何丽¹

¹成都市妇女儿童中心医院妇科,成都 610073; ²北京起源聚禾生物科技有限公司检测中心,北京 102600; ³湖南中医药大学第一附属医院医学检验与病理中心,长沙 410007
通信作者:何丽,Email:helisichuan@163.com; 谢小兵,Email:xxiaobing888@163.com

【摘要】目的 探讨应用血液游离 DNA(cfDNA)甲基化[半胱氨酸双加氧酶 1型(CDO1)基因和同源盒蛋白 A9(HOXA9)基因]检测卵巢癌的临床应用及分层管理价值。**方法** 收集 2022 年 1 月至 2023 年 10 月就诊于成都市妇女儿童中心医院妇科有卵巢肿块手术指征患者作为研究对象进行病例对照研究。术前采集血液进行血癌抗原 125(CA125)、人附睾蛋白 4(HE4)、卵巢恶性肿瘤风险算法(ROMA)指数评估及 DNA 甲基化检测。同时收集患者基本临床信息、生物标记物与经阴道超声(TVS)等信息。共收集 151 例研究对象,其中病理检查良性 122 例,卵巢癌 29 例。以腹腔镜下卵巢组织病理学诊断为金标准,采用多因素 Logistic 回归分析卵巢癌的高危因素,利用受试者工作特征曲线下面积(AUC)分析 DNA 甲基化检测对卵巢癌的临床检测效能。**结果** 卵巢癌患者组的年龄、绝经状态、CA125 与 HE4 检测、ROMA 指数、CDO1 基因与 HOXA9 基因单独或联合检测的阳性率均高于良性组($P<0.05$)。CDO1 与 HOXA9 双基因甲基化联合诊断卵巢癌的 AUC 最高为 0.936(95%CI 0.878~0.994),其敏感度、特异度分别为 89.7%(95%CI 73.6%~96.4%)和 97.5%(95%CI 93.0%~99.2%)。早期卵巢癌国际妇产科联盟分期 I、II 中 CDO1 与 HOXA9 双基因甲基化阳性检出率为 12/14。**结论** 在卵巢癌的风险评估和早期检测中,cfDNA 的甲基化分析显示出了较高的准确性和检测效能。

【关键词】 卵巢癌; DNA 甲基化; 筛查

The significance of hypermethylation level of CDO1 gene and HOXA9 gene in serum in the diagnosis of ovarian cancer

Hou Qiannan¹, Yuan Yu¹, Li Yan¹, Gong Zhaolin¹, Zhang Qiang¹, Feng Dan¹, Gong Yuanfu², Wang Linhai², Liu Pei², Xie Xiaobing³, He Li¹

¹Department of Gynecology, Chengdu Womens and Childrens Central Hospital, Chengdu 610073, China;

²Beijing Origin-Poly Bio-Tec Co., Ltd., Beijing 102600, China; ³Medical Laboratory and Pathology Center, the First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

Corresponding authors: He Li, Email: helisichuan@163.com; Xie Xiaobing, Email: xxiaobing888@163.com

[Abstract] **Objective** To explore the clinical application and triage management value of using blood circulating cell-free DNA (cfDNA) (cysteine dioxygenase type 1 gene, CDO1, and Homeobox protein A9 gene, HOXA9) hypermethylation level to detect and diagnose ovarian cancer.
Methods A case-control study was conducted on patients who went for surgery at Chengdu Womens and Childrens Central Hospital from November 2022 to October 2023. Blood samples were collected before surgery for evaluation of cancer antigen 125 (CA125), human epididymis protein

DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20231115-00287

收稿日期 2023-11-15 本文编辑 武昱

引用本文:侯倩男,袁宇,李燕,等. 血清中 CDO1 基因与 HOXA9 基因启动子甲基化高表达在卵巢癌诊断中的意义[J]. 中华检验医学杂志, 2024, 47(4): 401-406. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20231115-00287.



4 (HE4), risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) score, and DNA methylation testing. The basic clinical information, biomarkers, and transvaginal ultrasound (TVS) information were collected simultaneously. Information from a total of 151 patients was collected, including 122 cases with benign pathology and 29 ovarian cancer cases. The pathologic diagnosis of ovarian tissue was defined as the gold standard. The multivariate logistic regression analysis was used to identify high-risk factors for ovarian cancer. The clinical efficacy of DNA methylation detection for ovarian cancer was analyzed using the area under curve (AUC). **Results** The results showed that the age, menopausal status, CA125 and HE4 detection, ROMA score, positivity rate of CDO1 gene and HOXA9 gene single or combined testing in ovarian cancer patients were higher than those in the benign group and showed significant differences ($P<0.05$). Among these detection protocols, the AUC of CDO1 and HOXA9 dual gene methylation testing for ovarian cancer was the highest at 0.936 (95%CI, 0.878–0.994), with 89.7% (95%CI 73.6%–96.4%) sensitivity and 97.5% (95%CI 93.0%–99.2%) specificity, respectively. The positive detection rate of CDO1 and HOXA9 dual gene methylation in early ovarian cancer FOGO I-II stage is 12/14 higher than other tests. **Conclusion** Blood cfDNA methylation detection, a simple, non-invasive, and highly sensitive detection method, is superior to the current ovarian cancer testing in the risk assessment and early detection.

[Key words] Ovarian neoplasms; DNA methylation; Screening

卵巢癌在女性生殖系统肿瘤年发病率位居第3,死亡率位居第2且仅次于子宫颈癌^[1]。其I期5年存活率达90%,而IV期仅为20%^[2],因此,卵巢癌的早诊早治并提高存活率成为全球妇科肿瘤临床与科研关注重点。

卵巢癌发病隐匿并且临床缺乏有效的早期诊断与筛查措施,大部分卵巢癌患者确诊时已是晚期阶段^[1]。常见的卵巢癌辅助检查包括生物标志物检查、超声检查、腹腔镜探查活检术和组织病理学(诊断的金标准)。数据显示卵巢肿块接受腹腔镜手术患者近4成判定为良性囊肿,而国内腹腔镜检查比例更高,因此发掘新的早筛或肿块良恶性鉴别生物标志物对于卵巢癌疑虑患者的生活质量及诊疗具有重大意义^[3]。临床使用生物标志物检测作为影像学检查的补充,可提高卵巢肿块良恶性鉴别的特异性,降低不必要的有创腹腔镜检查,并减少手术风险及并发症^[4]。

肿瘤患者外周血中的游离DNA(circulating cell-free DNA, cfDNA)含量高于健康人,且具备与原发肿瘤组织一致的遗传学和表观遗传学改变的细胞生物学特性^[5-6]。肿瘤抑制基因和DNA修复基因的启动子高甲基化是许多肿瘤发生的早期事件,其启动子甲基化水平变化和基因沉默特性早于其表达产物变化,而基因启动子甲基化水平检测也是目前临床最常用的基于cfDNA的肿瘤早诊方法技术之一^[7-8]。

研究表明同源盒蛋白A9基因(homeobox protein A9, HOXA9)与半胱氨酸双加氧酶1基因(cysteine dioxygenase type 1, CDO1)启动子区高甲

基化参与了多种实体肿瘤的发生发展^[9]。HOXA9基因与浆液性乳头状组织类型的分化密切相关,其启动子甲基化也与卵巢癌发生具有高度关联性^[10-11]。CDO1蛋白可通过抑制癌细胞中谷胱甘肽的产生增加活性氧从而促进细胞凋亡^[12-13]。本研究观察了外周血HOXA9基因、CDO1基因启动子甲基化与卵巢癌患者临床病理的特征,分析了其作为卵巢癌及卵巢癌早筛方法的效能。

对象与方法

一、对象

收集2022年11月至2023年10月就诊于成都市妇女儿童中心医院妇科有卵巢肿块手术指征患者作为研究对象进行病例对照研究。

纳入标准:年龄>18周岁,根据临床表现和检查考虑为盆腔包块将进行腹腔镜检查及活检;既往未因生殖道肿瘤接受过任何治疗或手术治疗;愿意受检测并签署知情同意书;腹腔镜前评估未发现女性生殖道癌。

排除标准:无法获取卵巢病理信息者。根据本研究的入组流程,最终共有151例患者满足入组条件,包括29例卵巢癌患者(卵巢癌组)与122例卵巢良性病变组(良性组)。卵巢癌包括浆液腺癌13例、内膜样腺癌7例、转移癌3例、透明细胞癌2例、卵巢癌未分2例、黏液性腺癌1例、癌肉瘤1例。国际妇产科联盟(The International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)分期:I期12例、II期2例、III期9例、IV期1例、未分类2例、与转移



癌 3 例。本研究通过本院伦理委员会审批,成都市妇女儿童中心医院[科研伦审 2022(55)号]。

二、方法

1. 试剂与仪器: 糖类抗原 125 (cancer antigen 125, CA125)、人附睾蛋白 4 (human epididymis protein 4, HE4) 检测试剂和电化学发光免疫分析仪购自德国罗氏诊断公司; 血浆游离 DNA 管购自中国广东国盛医学科技有限公司; DNA 提取试剂盒、重亚硫酸盐转化试剂盒和卵巢癌甲基化引物探针试剂购自中国北京起源聚禾生物科技有限公司。

2. 血清 CA125 和 HE4 水平检测: 采集患者血清样本, 使用罗氏 Cobas E602 电化学发光免疫分析仪及其配套试剂按照仪器和试剂的说明书进行检测。CA125 的测量范围为 0.6~5 000 U/ml, 正常参考值为 <35 U/ml; HE4 的测量范围为 15~1 500 pmol/L, 正常参考值为(绝经前)<92.1 pmol/L、(绝经后)<121 pmol/L。

3. 卵巢恶性肿瘤风险算法 (risk of ovarian malignancy algorithm, ROMA 指数) 指数计算: 使用罗氏电化学发光免疫分析仪自带软件, 根据 CA125 和 HE4 的分析结果, 计算绝经前和绝经后患者的 ROMA 值。ROMA 值 (%) = $\exp(PI)/[1+\exp(PI)] \times 100\%$, 其中 PI 计算如下: (1) 绝经前 PI = $-12.0+2.38 \times \ln(\text{HE4})+0.0626 \times \ln(\text{CA125})$; (2) 绝经后 PI = $-8.09+1.04 \times \ln(\text{HE4})+0.732 \times \ln(\text{CA125})$ 。

4. 外周血中游离 DNA 甲基化检测及判断: 所有实验样本收集均遵循以下步骤: 参与者在腹腔镜前一天抽取 5 ml 外周静脉血保存于血浆游离 DNA 管, 采血完成后 72 h 内分离血浆。血浆离心分离后使用 DNA 提取试剂盒进行游离 DNA 提取, 使用重亚硫酸盐转化试剂盒进行重亚硫酸盐转化, 使用转化完成的 DNA (Bis-DNA) 进行扩增检测。反应条件: 预变性 96 °C 10 min; 45 个循环, 变性 94 °C 15 s, 退火 64 °C 5 s, 延伸、荧光采集 60 °C 30 s; 仪器冷却 25 °C 1 min。反应结束后根据 CDO1 基因、HOXA9 基因的 Ct 值进行判读, 内参基因 CtGAPDH < 34.6 值时依据 CtCDO1 < 45 或 CtHOXA9 < 45 判定为高甲基化(阳性)。

本研究纳入的所有患者均经过了系统的临床基本信息收集, 包括影像学检查结果。此外, 还对每位患者进行了生物标志物(包括血清 CA125 和 HE4)的检测, 并据此评估了 ROMA 指数。患者的腹腔镜检查由成都市妇女儿童中心医院具有相关资质的医生在静脉麻醉下完成, 根据病情对卵巢及

病变处进行活检。

三、统计学分析

使用 R 软件(4.3.1)进行统计分析。对于符合正态分布的连续变量, 使用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述, 并通过方差分析方法比较不同组之间的差异。非正态分布的连续变量用 $M(Q_1, Q_3)$ 表示, 两组间差异的比较采用 Mann-Whitney U 检验。对于分类变量, 使用 Fisher 精确概率法来检验不同组之间的构成比差异。使用多因素 Logistic 回归分析卵巢癌发生的相关因素。采用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线下面积 (area under curve, AUC) 评估各指标诊断卵巢癌的效果, 并计算敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、比值比 (odds ratios, OR) 及 95% 可信区间 (confidence interval, CI)。所有检验双侧 $\alpha=0.05$ 。

结 果

一、临床特征信息与单因素分析

卵巢癌组的年龄、绝经状态、CA125 与 HE4 检测、ROMA 指数、CDO1 基因与 HOXA9 基因单独或联合检测的阳性率均显著高于良性组 ($P<0.05$)。2 组患者的临床特征比较见表 1。98.4% 良性病变发生于未绝经期女性, 而 75.9% 的卵巢癌组为绝经期女性。ROMA 指数高风险(绝经前 ≥ 11.4%; 绝经后 ≥ 29.9%^[14]; 罗马指数由 CA125 与 HE4 组成, 故仅以 ROMA 指数代表)、CDO1 基因/HOXA9 基因高甲基化(双基因结果由 CDO1 基因与 HOXA9 单基因组成, 故仅以双基因结果代表)与卵巢癌高度相关 ($P<0.005$), 其 OR 值分别为 124.67 (95%CI 34.09 ~ 630.67) 和 343.78 (95%CI 77.92 ~ 2 268.15)。

二、多因素 Logistic 回归分析

纳入年龄、绝经状态、ROMA 指数和 CDO1/HOXA9 双基因甲基化检测结果进行 Logistic 回归分析发现, ROMA 指数和 CDO1/HOXA9 双基因甲基化检测的 OR 值分别为 1.31 (95%CI 1.062 ~ 1.702) 与 31.75 (95%CI 1.843 ~ 1 084.312), P 分别为 0.022 和 0.024。在调整年龄、绝经情况、ROMA 指数后, CDO1/HOXA9 双基因甲基化阳性者发生卵巢癌的概率是甲基化阴性者的 31.75 倍(表 2)。

三、各参数单项及联合诊断卵巢癌的临床效能

单项与双项联合检测诊断卵巢癌相关结果见表 3。不同单项及联合检测中 AUC 由大至小依次为 CDO1 与 HOXA9 双基因甲基化 0.936 (95%CI



表 1 患者临床特征信息

项目	良性组(122例)	卵巢癌组(29例)	t/U值	P值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	33.9±7.3	56.8±11.2	-10.45	<0.001
绝经状态[例(%)]			-	<0.001
未绝经	120(98.4)	7(24.1)		
绝经	2(1.6)	22(75.9)		
身高(mm, $\bar{x} \pm s$)	159.1±4.4	158.9±7.9	0.13	0.895
体重(kg, $\bar{x} \pm s$)	56.7±9.1	58.6±10.2	-0.91	0.369
BMI($\bar{x} \pm s$)	22.4±3.3	23.2±3.3	-1.11	0.273
CA125[$\mu\text{g/L}$, $M(Q_1, Q_3)$]	23.4(12.7, 55.9)	131.0(55.2, 661.0)	598	<0.001
HE4[pmol/L , $M(Q_1, Q_3)$]	28.6(22.6, 37.2)	113.0(81.3, 207.0)	90	<0.001
ROMA 指数[%, $M(Q_1, Q_3)$]	2.2(1.2, 3.7)	53.3(28.9, 81.5)	70	<0.001
ROMA 指数判读[例(%)]			-	<0.001
低风险	119(97.5)	7(24.1)		
高风险	3(2.5)	22(75.9)		
CDO1 基因 ^m [例(%)]			-	<0.001
阴性	120(98.4)	10(34.5)		
阳性	2(1.6)	19(65.5)		
HOXA9 基因 ^m [例(%)]			-	<0.001
阴性	119(97.5)	13(44.8)		
阳性	3(2.5)	16(55.2)		
CDO1 基因 ^m /HOXA9 基因 ^m [例(%)]			-	<0.001
阴性	119(97.5)	3(10.3)		
阳性	3(2.5)	26(89.7)		

注: BMI 为体重指数, CA125 为糖类抗原 125, HE4 为人附睾蛋白 4, ROMA 指数为卵巢恶性肿瘤风险算法, CDO1 基因^m 为半胱氨酸双加氧酶 1 基因甲基化, HOXA9 基因^m 为同源盒蛋白 A9 基因甲基化, CDO1 基因^m/HOXA9 基因^m 阳性判读为其中任一结果为阳性, 即整体判读为阳性结果。“-”为 Fisher 确切概率法, 无统计值

表 2 卵巢癌患者多因素分析

因素	参数估计值	标准误	OR 值(95%CI)	Wald χ^2 值	P 值
年龄	0.016	0.092	1.02(0.835 ~ 1.214)	0.173	0.863
绝经状态	0.753	3.277	2.12(0.003 ~ 919.251)	0.230	0.818
ROMA 指数	0.273	0.119	1.31(1.062 ~ 1.702)	2.293	0.022
CDO1/HOXA9 基因甲基化	3.458	1.535	31.75(1.843 ~ 1 084.312)	2.252	0.024

注: ROMA 指数为卵巢恶性肿瘤风险算法, CDO1 基因^m 为半胱氨酸双加氧酶 1 基因甲基化, HOXA9 基因^m 为同源盒蛋白 A9 基因甲基化, CDO1 基因^m/HOXA9 基因^m 阳性判读为其中任一结果为阳性, 即整体判读为阳性结果

0.878~0.994)、ROMA 指数 0.867(95%CI 0.787~0.948)、CDO1 基因甲基化 0.819(95%CI 0.731~0.908)、HE4 0.776(95%CI 0.684~0.868)、HOXA9 基因甲基化 0.764(95%CI 0.670~0.857)、CA125 为 0.704(95%CI 0.617~0.791)。

在单项与双项联合检测诊断卵巢癌的临床性能比较中, CDO1 与 HOXA9 双基因甲基化整体效能最佳, AUC、敏感度与阴性预测值均高于其他方法, 具体为 0.936(95%CI 0.878~0.994)、89.7%(95%CI 73.6%~96.4%) 与 97.5%(95%CI 93.0%~99.2%)。特异度以 HE4 最高为 100.0%(96.9%~100.0%)。并且 CDO1 与 HOXA9 双基因甲基化检测在敏感度

及阴性预测值上显著高于 ROMA 指数结果($P=0.046$ 与 $P=0.044$)。

四、不同卵巢癌 FIGO 分期的各项检测的阳性检出率

不同卵巢癌 FIGO 分期中各项检测的阳性数结果见表 4。在早期卵巢癌 FIGO I~II 期中 CDO1 基因^m/HOXA9 基因^m 阳性检出率最高为 12/14, 其他检测阳性检出率依序为 CA125 为 10/14、HOXA9 基因^m 与 ROMA 指数为 9/14、CDO1 基因^m 为 8/14 及 HE4 为 7/14。在晚期癌(FIGO III 与 IV 期)中 CDO1 基因^m/HOXA9 基因^m 阳性率仍为各项检测中结果最佳, 为 9/10。对于转移癌与未分期癌



表3 各检测指标诊断卵巢癌的临床性能与ROC曲线分析

项目	敏感度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	曲线下面积
CDO1 基因 ^m /HOXA9 基因 ^m	89.7(73.6~96.4)	97.5(93.0~99.2)	89.7(73.6~96.4)	97.5(93.0~99.2)	0.936(0.878~0.994)
ROMA 指数	75.9(57.9~87.8)	97.5(93.0~99.2)	88.0(70.0~95.8)	94.4(89.0~97.3)	0.867(0.787~0.948)
CDO1 基因 ^m	65.5(47.3~80.1)	98.4(94.2~99.5)	90.5(71.1~97.3)	92.3(86.4~95.8)	0.819(0.731~0.908)
HOXA9 基因 ^m	55.2(37.5~71.6)	97.5(93.0~99.2)	84.2(62.4~94.5)	90.2(83.9~94.2)	0.764(0.670~0.857)
CA125	79.3(61.6~90.2)	61.5(52.6~69.6)	32.9(23.0~44.5)	92.6(84.8~96.6)	0.704(0.617~0.791)
HE4	55.2(37.5~71.6)	100(96.9~100)	100(80.6~100)	90.4(84.2~94.3)	0.776(0.684~0.868)

注:括号内为 95%CI, CA125 为糖类抗原 125, HE4 为人附睾蛋白 4, ROMA 指数为卵巢恶性肿瘤风险算法, CDO1 基因^m 为半胱氨酸双加氧酶 1 基因甲基化, HOXA9 基因^m 为同源盒蛋白 A9 基因甲基化, CDO1 基因^m/HOXA9 基因^m 阳性判读为其中任一结果为阳性, 即整体判读为阳性结果

表4 卵巢癌不同 FIGO 分期中各检测指标的阳性结果(例)

项目	I 期(12 例)	II 期(2 例)	III 期(9 例)	IV 期(1 例)	转移癌(3 例)	未分期(2 例)
CDO1 基因 ^m /HOXA9 基因 ^m	11	1	8	1	3	2
ROMA 指数	8	1	7	1	3	2
CDO1 基因 ^m	7	1	7	0	3	1
HOXA9 基因 ^m	9	0	5	1	0	1
CA125	8	2	7	1	3	2
HE4	6	1	5	1	2	1

注:CA125 为糖类抗原 125, HE4 为人附睾蛋白 4, ROMA 指数为卵巢恶性肿瘤风险算法, CDO1 基因^m 为半胱氨酸双加氧酶 1 基因甲基化, HOXA9 基因^m 为同源盒蛋白 A9 基因甲基化, CDO1 基因^m/HOXA9 基因^m 阳性判读为其中一结果为阳性, 整体判读为阳性结果

CDO1 基因^m/HOXA9 基因^m、ROMA 指数、CDO1 基因^m 与 CA125 皆显示阳性结果。

讨 论

近年来, 卵巢癌的发病率呈现上升趋势。由于卵巢癌通常在晚期才通过腹腔镜下活检确诊, 许多患者在确诊时已处于晚期, 治疗后的复发率较高。高准确性的微创筛查技术不仅可以增强早期卵巢肿块良恶性的鉴别能力, 还能降低对侵入性腹腔镜手术的依赖, 这对于临床上的早期检测是非常重要的。

本研究使用血液中 cfDNA 并对其 CDO1 基因和 HOXA9 基因进行甲基化分析以诊断卵巢癌。此方法显示出了高敏感度[89.7%(73.6%~96.4%)] 和高特异度[97.5%(93.0%~99.2%)], 这种甲基化的检测方法具有微创、简便、准确的显著优势。特别是在卵巢癌的早期检测中, 阳性率达到了 10/14, 并且对于转移性癌症和未分期癌症也同样展现出高阳性率。

目前临床用于卵巢癌检测的血清学指标中, CA125 检测在绝经后女性中的敏感度(79.1%~90.7%)高于绝经前女性(69.8%~87.5%)^[15], 在女性生殖疾病中均呈现高阳性率。本研究同样显示

了 CA125 检测具有较低的特异度。血清 HE4 检测已成为近年来卵巢癌的重要生物标记物之一, 一项汇集了 38 项研究(14 745 例受试者)的荟萃分析显示 HE4 检测卵巢癌的敏感度为 79%, 特异度 92%^[16]。本研究中 HE4 的特异度较高但敏感度仅为 55.2%, 对于早期卵巢癌筛查效益仍具有一定局限性。ROMA 指数诊断卵巢癌的平均敏感度为 76.0% (95%CI 70.2%~81.0%), 特异度为 85.1% (95%CI 80.4%~88.8%)^[15]。Moore 等^[17] 多中心试验中显示 ROMA 指数较 CA125 与 HE4 具更高的敏感度(94.3%)与特异度(75%), 并在早期卵巢癌(I 期和 II 期)表现出更佳的阳性检出率。本研究中 ROMA 指数的敏感度为 75.9% (95%CI 57.9%~87.8%), 特异度为 97.5% (95%CI 93.0%~99.2%), 与 CDO1 与 HOXA9 双基因甲基化检测相比, ROMA 指数在特异度方面表现一致(均为 97.5%), 但其敏感度相对较低。

cfDNA 中卵巢癌抑癌基因启动子的高甲基化检测是一种微创手段, 它不仅为卵巢癌的早期筛查提供了新的可能性, 也为区分卵巢肿块的良恶性提供了一种降低手术需求的有效手段^[8,18]。例如 COL23A1 基因、C2CD4D 基因和 WNT6 基因甲基化检测在区分卵巢癌和健康女性方面具有极大潜力^[8]。如 Wu 等^[19] 也使用宫颈刷取细胞检测



AMPD3 基因、NRN1 基因和 TBX15 基因预测卵巢癌，此方法具有 81% 的敏感度与 84% 的特异度。本研究对卵巢肿块患者的血液中 cfDNA 进行了 CDO1 和 HOXA9 双基因甲基化检测，与血清 CA125、HE4 及 ROMA 指数相比显示出更优异的检测性能。它不仅有助于降低良性卵巢肿块患者的手术频率，而且还能有效发现早期卵巢癌。本研究虽然在样本量（仅包括 29 例癌症病例）和地域范围上存在一定局限性，但其涵盖了多例早期卵巢癌和不同亚型的卵巢癌患者，为发展卵巢癌早期微创筛查生物标志物提供了可行的基础验证。

综上所述，本研究结果显示血液 cfDNA 甲基化在卵巢癌高风险检测及早期卵巢癌的检测中均表现出了较好的准确性与检测效能，为女性检测提供了一种更简便、微创、客观并伴随较高准确性的检测方式。这种检测可以有效降低卵巢癌检查中的有创性操作，并具有降低心理负担的潜在价值，帮助提高患者在检测过程中的依从性。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 侯倩男：样本与信息收集、文章撰写；袁宇、李燕、龚照林、张强、冯丹：样本与信息收集；宫远福、王林海、刘沛：实验检测；谢小兵：试验设计；何丽：试验设计、文章撰写

参 考 文 献

- [1] Jelovac D, Armstrong DK. Recent progress in the diagnosis and treatment of ovarian cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(3):183-203. DOI: 10.3322/caac.20113.
- [2] Enroth S, Ivansson E, Lindberg JH, et al. Data-driven analysis of a validated risk score for ovarian cancer identifies clinically distinct patterns during follow-up and treatment[J]. Commun Med (Lond), 2022, 2: 124. DOI: 10.1038/s43856-022-00193-6.
- [3] žilovič d, čiurlienė r, sabaliauskaitė r, et al. future screening prospects for ovarian cancer[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(15): 3840. DOI: 10.3390/cancers13153840.
- [4] Lycke M, Kristjansdottir B, Sundfeldt K. A multicenter clinical trial validating the performance of HE4, CA125, risk of ovarian malignancy algorithm and risk of malignancy index[J]. Gynecol Oncol, 2018, 151(1): 159-165. DOI: 10.1016/j.ygyno.2018.08.025.
- [5] Li B, Pu K, Ge L, et al. Diagnostic significance assessment of the circulating cell-free DNA in ovarian cancer: An updated meta-analysis[J]. Gene, 2019, 714: 143993. DOI: 10.1016/j.gene.2019.143993.
- [6] Zachariah RR, Schmid S, Buerki N, et al. Levels of circulating cell-free nuclear and mitochondrial DNA in benign and malignant ovarian tumors[J]. Obstet Gynecol, 2008, 112(4): 843-850. DOI: 10.1097/AOG. 0b013e3181867bc0.
- [7] Recillas-Targa F. Cancer epigenetics: an overview[J]. Arch Med Res, 2022, 53(8):732-740. DOI: 10.1016/j.arcmed.2022.11.003.
- [8] Widschwenter M, Zikan M, Wahl B, et al. The potential of circulating tumor DNA methylation analysis for the early detection and management of ovarian cancer[J]. Genome Med, 2017, 9(1):116. DOI: 10.1186/s13073-017-0500-7.
- [9] Sun X, Liu B, Ji W, et al. The role of HOXA9 in human laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Oncol Res, 2013, 20(10): 467-472. DOI: 10.3727/096504013x13685487925257.
- [10] Ko SY, Barengo N, Ladanyi A, et al. HOXA9 promotes ovarian cancer growth by stimulating cancer-associated fibroblasts[J]. J Clin Invest, 2012, 122(10): 3603-3617. DOI: 10.1172/JCI62229.
- [11] Faaborg L, Jakobsen A, Waldstrøm M, et al. HOXA9-methylated DNA as a diagnostic biomarker of ovarian malignancy[J]. Biomark Med, 2021, 15(15): 1309-1317. DOI: 10.2217/bmm-2021-0144.
- [12] Chen M, Zhu JY, Mu WJ, et al. Cysteine dioxygenase type 1 (CDO1): Its functional role in physiological and pathophysiological processes[J]. Genes Dis, 2023, 10(3): 877-890. DOI: 10.1016/j.gendis.2021.12.023.
- [13] Marinelli LM, Kisiel JB, Slettedahl SW, et al. Methylated DNA markers for plasma detection of ovarian cancer: discovery, validation, and clinical feasibility[J]. Gynecol Oncol, 2022, 165(3): 568-576. DOI: 10.1016/j.ygyno.2022.03.018.
- [14] Wei SU, Li H, Zhang B. The diagnostic value of serum HE4 and CA-125 and ROMA index in ovarian cancer[J]. Biomed Rep, 2016, 5(1):41-44. DOI: 10.3892/br.2016.682.
- [15] 国家卫生健康委员会. 卵巢癌诊疗指南(2022 年版) [EB/OL]. [2022-04-15]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7659/202204/a0e67177df1f439898683e1333957c74.shtml>.
- [16] Nalini N, Kumar A, Sharma S, et al. The diagnostic accuracy of serum and urine human epididymis protein 4 (HE4) in ovarian cancer in 15,394 subjects: an updated meta-analysis[J]. Cureus, 2022, 14(10): e30457. DOI: 10.7759/cureus.30457.
- [17] Moore RG, Jabre-Raughley M, Brown AK, et al. Comparison of a novel multiple marker assay vs the risk of malignancy index for the prediction of epithelial ovarian cancer in patients with a pelvic mass[J]. Am J Obstet Gynecol, 2010, 203(3): 228.e1-6. DOI: 10.1016/j.ajog.2010.03.043.
- [18] Chen X, Gole J, Gore A, et al. Non-invasive early detection of cancer four years before conventional diagnosis using a blood test[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 3475. DOI: 10.1038/s41467-020-17316-z.
- [19] Wu TI, Huang RL, Su PH, et al. Ovarian cancer detection by DNA methylation in cervical scrapings[J]. Clin Epigenetics, 2019, 11(1): 166. DOI: 10.1186/s13148-019-0773-3.

