

大肠癌早期诊断新技术

张渊智, 李世荣

张渊智, 李世荣, 北京军区总医院消化科 北京市 100700
项目负责人: 张渊智, 100700, 北京市, 北京军区总医院消化科.
jianming2000@163.com
电话: 010-86357923
收稿日期: 2003-12-10 接受日期: 2004-02-01

摘要

早期发现大肠癌及癌前病变有助于降低大肠癌的发病率和死亡率。大便潜血试验是最常使用的大肠癌筛检方法,再水化愈创木酯试验可增加灵敏度,但特异性较无再水化者低;免疫化学法灵敏度和特异性均较高。仿真结肠镜灵敏度和特异性类似结肠镜检查,并能消除净化肠道带来的不适,增加患者的依从性。检查粪便大肠癌组织脱落的标准物是目前大肠癌筛检技术研究的热点。直接寻找粪便脱落癌细胞、检测粪便脱落细胞DNA含量等均具有较高的灵敏度和特异性。在大肠癌组织检出的基因突变,同样可以在患者粪便脱落细胞内检出。同时检测大肠脱落细胞内 K-ras、APC、p53 等多个基因突变和微卫星、凋亡等标准物对于筛检大肠癌及其癌前病变具有很好的灵敏度和特异性。检测大肠肿瘤特异的蛋白标准物更能增加筛检的灵敏度和特异性。粪便癌胚抗原、促衰变因子、STn 抗原等均具有较好的效果。

张渊智, 李世荣. 大肠癌早期诊断新技术. 世界华人消化杂志 2004;12(5): 1202-1206

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1202.asp>

0 引言

大肠癌(colorectal cancer, CRC)是临床上常见的恶性肿瘤,为西方国家第2位高发恶性肿瘤^[1],死亡率位居美国癌症死因的第3位^[2];在我国大肠癌死亡率位居癌症死因的第4-6位^[3-17],并且发病率和死亡率均有逐年上升的趋势^[9, 11-17]。西方统计资料显示,一生中患大肠癌的危险度为5-6%,50岁以后发病率急剧上升,而且75%的病例发生于普通人群^[18]。大肠癌患者的生存率直接与诊断时疾病的严重程度相关,进展期大肠癌患者5 a生存率约为7%,而早期诊断的患者,5 a生存率则可达92%^[18];并且早期发现和切除癌变前的息肉更有助于降低大肠癌的发病率和死亡率^[19]。早期大肠癌一般指Dukes A期,即TNM分期的T_{1,2}N₀M₀。大肠癌的早期诊断包括两方面:一方面是有症状患者的早期诊断,另一方面是无症状早期大肠癌患者的诊断。众所周知,相当多的早期大肠癌和癌前病变患者无任何症状,欲检出这部分患者,必须开展无症状人群的普查。目前国内外普遍采用先以无创、低价、简便、有效

的方法筛检出大肠癌高危对象,再继以精查的方法确诊。近年来国内外开发或改良了许多大肠癌早期诊断新技术,以下就大便潜血试验、仿真结肠镜、粪便脱落标志物检测等方面的研究作简要综述。

1 大便潜血试验

大便潜血是早期大肠癌的特征性表现之一。大便潜血试验(fecal occult blood test, FOBT)是大肠癌临床检验和普查最常使用的方法,分为五类:放射分析法、物理法、化学法、免疫化学法和血红素-卟啉试验。放射分析法是静脉注射⁵¹Cr标记的红细胞后检测粪便放射活性,用于定量分析,但日常使用太复杂;物理法是通过显微镜检测粪便红细胞和血色素晶体,或分光仪鉴定血红蛋白及其衍生物,主要用于学术研究;血红素-卟啉试验可检出任何形式的血红素如游离的血红素或与珠蛋白结合的血红素及其多种衍生物,用于定量分析大肠癌的隐性出血,但由于对上消化道出血的高灵敏性,降低了筛检大肠癌的特异性^[20];化学法和免疫化学法比较常用,被美国胃肠病学会推荐用于普通人群筛检大肠癌^[20]。

化学法以愈创木酯试验为代表,原理是血红蛋白分子的高铁血红素部分具有假性过氧化物酶(pseudoperoxidase)活性,可催化裂解过氧化氢,其衍生物与指示剂反应偶联,氧化显色剂的氧受体而形成有色产物,从而判断粪便中是否含有血红蛋白或血红素。显色剂常用联苯胺(benzidine),但由于其致癌性,最近有报道应用三环类抗抑郁药盐酸丙咪嗪(imipramine hydrochloride, IPH)和去甲丙咪嗪盐酸盐(desipramine hydrochloride, DPH)等代替联苯胺,作为新的大便潜血检测显色剂^[21]。再水化愈创木酯试验可以增加反应的灵敏度,但同时也可激活各种干扰因素的过氧化物酶活性而增加假阳性率^[22-23];研究发现无再水化时假阳性率为2-4%,再水化时则达8-16%^[18];而且再水化愈创木酯试验可使肿瘤的预测价值从44%下降到19%^[22]。由于愈创木酯试验检测血红蛋白不具有人类特异性,食用肉的非人类血红蛋白和其他具有过氧化物酶活性的膳食成分(如菠菜等)、过多的维生素C、非甾体抗炎药(NSAIDs)等均可引起假阳性,检查前常需限制膳食。但应用无再水化愈创木酯试验时,食用红肉的假阳性率只有0.7%^[24],检查前无须限制膳食^[20]。愈创木酯试验一般检测3次连续的大便,每次取2个样本。尽管单次试验的灵敏度很低(30-50%),但每年1次的检测方案能够检出大约92%的大

肠癌患者^[20]. 在美国明尼苏达州进行的一项随机对照试验显示大肠癌的累积死亡率, 应用每年一次的再水化 FOBT 时在 13 a 与 18 a 后均降低了 33%^[25-26], 2 a/次者在 18 a 后降低了 21%^[26]; 而应用 2 a/次的无再水化 FOBT 时在 7.8 a 和 10 a 后分别降低了 15% 和 18%^[27-28]. 因此美国癌症学会和胃肠病学会推荐使用每年一次的无再水化 FOBT 筛检大肠癌^[20, 29].

免疫化学法 FOBT 是利用抗原、抗体的特异性结合, 使用单克隆或多克隆抗体检测粪便内未受破坏的人血红蛋白的珠蛋白部分或其他血液产物. 由于珠蛋白通过上消化道时已被降解、代谢而失去免疫原性, 免疫化学法检测粪便潜血对于结肠和直肠出血更具特异性^[30-31], 明显优于愈创木酯试验, 后者对上、下消化道出血具有同等的灵敏度^[22]. 免疫化学 FOBT 不与非人类血红蛋白反应, 不必限制膳食, 受上消化道出血的影响也最小, 但非甾体抗炎药和其他常见的大肠非肿瘤性出血仍可引起假阳性^[21]. 免疫化学 FOBT 筛检大肠癌较愈创木酯试验更精确, 目前在日本已经广泛用于筛检大肠癌^[32]. Nakama et al^[33]采用 3 d 粪便收集法, 使用免疫化学 FOBT 检测大于 1 cm 的腺瘤, 结果显示灵敏度和特异性分别为 48% 和 97%. Wong et al^[34]发现愈创木酯试验虽然是西方国家筛检大肠癌最常使用的 FOBT, 但用于检测中国人非常明显的肿瘤时特异性很低; 而使用人类血红蛋白特异的自动免疫化学法 FOBT 时, 检测明显的结肠肿瘤(癌和=1.0 cm 的腺瘤)的灵敏度、特异性及阳性预测值分别为 62%、93% 和 44%. 与愈创木酯试验相比较, 免疫化学法提高了检测的特异性和患者的依从性, 不足之处是仍然是检测大便潜血, 灵敏度有限^[18]. 因为肿瘤是间歇性出血, 而且大多数腺瘤很少出血; 此外结肠或直肠的其他非癌或非腺瘤性病变如炎症或痔疮等也可引起出血.

FOBT 的基础是结肠和直肠内的癌和息肉出血, 灵敏度和特异性有限, 但由于他的非侵袭性、简单、有效、便宜等优点, 广泛用于高危人群和 50 岁以上的普通人群初步筛检大肠癌.

2 仿真结肠镜检查

仿真结肠镜检查(virtual colonoscopy)或 CT 结肠成像术(computed tomography colonography, CTC)是一种模拟传统结肠镜检查的成像技术, 通过使用结合多次螺旋 CT 扫描的计算机程序而产生患者结肠内部的二维或三维图像, 为新一代大肠评价技术^[35-36]. CTC 同传统的结肠镜一样, 检查前需清洗大肠, 一般建议患者 48 h 内进少渣膳食; 此外还要求使用空气扩张大肠, 亦可使用二氧化碳代替空气, 以减少患者的不适感, 但同时也增加了操作的复杂性和费用^[35]. 检查大于 1 cm 的息肉, CTC 的精确度与传统结肠镜检查相当, 很少出现假阳性, 对于经验丰富的放射学专家, 灵敏度和特异性均可达 90%; 而检查 0.5 cm 大小的息肉时灵敏度则下降到 50%^[36].

CTC 具有鉴别传统结肠镜检查无法鉴别的结肠癌如位于结肠袋折叠处等特殊位置内肿瘤的潜在优势, 同时也适用于各种主、客观原因无法完成结肠镜检查的患者; 此外, CTC 也为患者提供了是否进行大肠息肉切除术的选择, 因为比较小的增生性息肉, 近期内不可能演变为癌, 手术切除可能不会带来任何临床上的好处, 而 CTC 则可能会成为随访和监督这些患者的合适选择^[35]. 与结肠镜检查和双重钡灌肠检查相比较, 患者对 CTC 具有更好的依从性^[37]. CTC 也有许多不足之处^[35], 大约有 15% 的假阳性率, 原因可能是: (1)粪便储留; (2)憩室性疾病造成结肠扩张不充分; (3)误认增厚或复杂的结肠袋为息肉或包块; (4)体内金属植入或运动假象. 此外, 大肠扁平腺瘤虽然少见, 但较典型腺瘤性息肉更具侵袭性、更易恶变, 目前尚无 CTC 检查这种病变能力的报道; 增生性息肉较腺瘤性息肉更柔软, 在空气充分扩张大肠时呈扁平状, CTC 也不易检出; CTC 是非治疗性检查, 无法在检查期间同时进行息肉切除术, 而且所有阳性者必须随后进行结肠镜检查证实, 费用也较传统结肠镜检查高的多. 美国癌症学会大肠癌咨询小组认为, CTC 是一种相当有希望的新兴技术, 但目前尚未在普通人群大肠癌筛检中得到验证, 无法判断是否相当或优于传统的大肠癌筛检技术^[35].

磁共振结肠成像术(magnetic resonance colonography, MRC)是另一种新兴的大肠癌筛检技术. MRC 具有所有磁共振的优点如无放射性和多平面成像的能力, 作用类似于 CTC, 在大肠癌的诊断和筛检中具有较高的灵敏度和特异性, 与传统结肠镜检查相当, 优于双重对比钡灌肠造影检查^[38]. 不足之处是检查前仍需净化大肠. 最近有使用粪便标签(fecal tagging)技术, 能很好地消除净化大肠时带来的不适, 增加患者的依从性^[39]. 尽管仿真结肠镜检查的费用远高于传统的大肠癌诊断和筛检技术, 但随着未来智能计算机的发展, CTC 或 MRC 可能会代替传统的诊断性结肠镜检查, 成为现实的选择^[38].

3 粪便大肠脱落标志物检测

粪便筛检试验不同于其他大肠癌筛检技术, 具有非侵袭性和不需要导泻的优点. 然而目前广泛使用的 FOBT 假阳率和假阴率较高, 降低了筛检的有效性, 并增加了筛检的费用; 而且 FOBT 检测粪便潜血, 对于筛检大肠癌而言, 是一种固有的不灵敏和非特异性标志物. 选用更准确的粪便标志物, 能够极大地提高筛检的有效性和效率. 与血液标志物不同, 从大肠黏膜脱落的标志物本身来自于肿瘤, 并可持续释放, 检测这些标志物可同时增加筛检的特异性和灵敏度. 从理论上讲, 任何反映细胞发育异常的大肠黏膜上皮细胞成分均可成为这类标志物. 随着粪便脱落细胞分离和收集技术的发展^[40-44], 检测粪便大肠脱落标志物成为目前非侵袭性大肠癌筛检技术研究的热点.

3.1 粪大肠脱落细胞学检测 正常肠黏膜每 24 h 有 10^{10}

个上皮细胞脱落,而肿瘤上皮细胞更新速度更快,每天约有1%脱落入肠道并随粪便排出体外。不同的是,正常大肠黏膜脱落的主要是凋亡细胞,而大肠癌组织脱落的则主要是大量细胞角蛋白免疫染色阳性的健康结肠细胞和炎性细胞,并且脱落的健康结肠细胞仍保留表达肿瘤相关抗原的特性^[45]。收集粪便中大肠脱落上皮细胞进行常规病理学检查,研究发现对于大肠恶性肿瘤的诊断具有较高的灵敏度和特异性^[43, 46]。小染色体维护蛋白-2(minichromosome maintenance protein 2, MCM2)是DNA复制必需的复制前复合物成分之一,正常时表达局限于大肠隐窝基底1/3-1/2的增生带部分,但大肠腺瘤或腺癌时则可在表面大肠细胞表达^[47]。Davies et al^[48]应用免疫细胞化学法检测25例对照者和40例大肠癌患者粪便脱落细胞MCM2,对照组均未发现阳性细胞;大肠癌组37例MCM2阳性,而3例阴性者均为右半结肠癌。提示应用免疫细胞化学法检测粪便MCM2阳性细胞,能够精确地筛检大肠癌。

3.2 粪大肠脱落细胞DNA标志物检测 检测粪便内脱落肿瘤细胞的DNA标准物筛检大肠癌是很有发展前途的一种新兴非侵袭性筛检技术。DNA能够在粪便内稳定存在,并可持续从大肠黏膜脱落,使用PCR扩增技术可以检测粪便内微量的DNA^[20, 35]。正常体细胞染色体倍数和核DNA含量恒定,而恶性肿瘤细胞多数情况下染色体数目增加,DNA含量增加。在正常大肠黏膜经腺瘤向腺癌发展过程中,DNA含量呈逐渐增加的趋势,一些学者检测粪脱落细胞DNA含量,发现对大肠癌的诊断和预测具有较高的灵敏度与特异性^[42, 47, 49]。多项研究显示在大肠癌组织中检出的基因突变,同样可以在患者粪脱落细胞内检出,具有很高的致一致性^[31, 35, 50]。检测粪脱落细胞的基因改变在非侵袭性大肠癌筛检技术的研究中具有重要的意义,但大肠癌在遗传学上是高度异质的,到目前为止尚未确定出所有大肠癌均发生的单一突变,而且并非所有的DNA突变都是肿瘤细胞特异的,如K-ras突变亦可来自于过度增生的胰腺、增生反常的隐窝甚至正常的大肠黏膜组织^[31]。目前研究的热点已由过去检测单个基因的改变转向同时检测多个基因突变预测大肠癌的发生^[31, 35, 50-51]。Ahlquist et al^[51]对22个大肠癌患者、11个恶性腺瘤患者和28个正常大肠黏膜受试者同时检测粪便脱落细胞K-ras、APC、p53等基因的15个热点突变和Bat-26(一种微卫星不稳定性标志物)、长片段DNA(“long” DNA)(大于200 bp)等标志物,结果显示每一标准物均参与结果分析时检测大肠癌的灵敏度是91%,恶性腺瘤的灵敏度和特异性分别是82%和93%;如果从分析中剔除K-ras(因为以前的研究显示K-ras突变能够在正常大肠黏膜检出),检测大肠癌的灵敏度没有变化,但检测恶性腺瘤的灵敏度下降到73%,而特异性则上升至100%。在同时进行的FOBT检查中,恶性腺瘤患者粪便未发现任何潜血试验阳性者。Tagore et al^[52]对80个进展期大肠肿瘤患者

(遗传性非息肉病性大肠癌除外)和212个对照受试者进行的类似研究发现,侵袭性大肠癌的检出率为63.5%(33/52),其中无结节者(TNM分期I/II)为72.2%(26/36),进展期者(TNM分期III/IV)为43.7%(7/16);进展期腺瘤(包括高度不典型增生、绒毛状腺瘤或大于1cm的管状腺瘤)的检出率为57.1%(16/28),其中高度不典型增生为85.7%(6/7),其他进展期腺瘤为47.6%(10/21);在无结肠病变或仅有小息肉的患者,特异性为96.2%、提示DNA通过大肠全长时没有被降解,检测粪脱落细胞多个靶基因突变对于大肠任何位点的恶性肿瘤及癌前病变筛检均具有较高的灵敏度和特异性^[31, 35, 50-52]。检测粪便脱落细胞的基因突变筛检大肠癌具有很多优点^[35]:(1)所检测基因突变均为大肠癌特异性较高者;(2)标志物恒定,分析仅需一份大便标本;(3)具有很高的灵敏度和特异性;(4)依从性更好;(5)假阳性率低;(6)近端大肠癌检出率高。但同时亦有很多不足之处,如缺乏人群筛检资料的支持、基因检测数目和更特异基因的选择、费用过高等^[35]。因此,在应用于人群筛检前仍有许多亟待解决的问题。

3.3 粪大肠脱落细胞蛋白标志物检测 粪便内大肠脱落细胞的蛋白质是另一类很有发展前途的生物标志物。粪便内脱落的蛋白标志物分为两类:一类是非大肠上皮细胞的蛋白成分,如钙卫蛋白(calprotectin)等。钙卫蛋白来源于中性粒细胞的钙结合蛋白,一些学者发现大肠炎症性疾病和结肠癌患者粪便钙卫蛋白明显升高,但无法鉴别这两种疾病^[53-55]。最近Limburg et al^[56]在普通人群进行的临床研究显示,大肠肿瘤患者与非肿瘤患者粪钙卫蛋白浓度没有显著性差异。提示该类蛋白标准物用于筛检大肠肿瘤时效果较差。另一类蛋白标志物是大肠上皮细胞本身的蛋白成分。由于mRNA的表达可能与细胞内活性蛋白的量不相关,同时基因序列并不能描述蛋白质翻译后的修饰,而这些过程对蛋白质的功能和活性可能是必需的^[57]。分析细胞内的蛋白质,亦称蛋白组学(proteomics),有可能在蛋白水平对个体疾病过程(尤其是肿瘤)作出比较全面的判断。基于蛋白组学的试验有可能检出以蛋白质为基础的肿瘤特异性产物,并能够鉴别肿瘤患者与非肿瘤患者^[58]。从理论上讲,检测肿瘤特异性抗原能够增加大肠癌筛检的灵敏度和特异性。癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)是最早应用于临床的大肠癌相关抗原,广泛用于血清学检测大肠癌。早在1987年Shimano et al^[59]应用抗CEA的抗血清检测大肠癌患者粪便CEA,显示较高的灵敏度和特异性,明显优于血清学检测。Kim et al^[60]比较粪便CEA、血清CEA和FOBT等筛检大肠癌的灵敏度与特异性,发现86%(24/28)的大肠癌患者粪便CEA大于10 ng/mg粪便,而血清CEA(大于5 ng/mL)、FOBT检测大肠癌的灵敏度分别为39%和21%,并且粪CEA的特异性类似于FOBT和血清CEA,提示检测粪CEA是一项可供选择的非侵袭性大肠癌筛检技术。Mizuno et al^[61]发现大肠癌

患者粪便促衰变因子(decay-accelerating factor, DAF)或CD55水平明显高于大肠息肉、上消化道癌等患者和无消化道疾病的受试者,而且大部分小于2 cm的大肠肿瘤和早期或粪潜血试验阴性的大肠癌患者粪便DAF阳性,筛检大肠癌的灵敏度和特异性分别为55%和85%。Iwagaki et al^[62]应用抗DAF单克隆抗体包被的ELISA检测系统,能够可靠地检出粪便内极低浓度的DAF,极大地提高了筛检的灵敏度。大肠癌细胞能够产生一种具有STn(sialylated-Tn)抗原决定簇的异常粘蛋白,在免疫学上明显不同于正常的大肠粘蛋白,并可与抗结肠-卵巢肿瘤抗原(colon-ovarian tumor antigen, COTA)的单克隆抗体SP-21发生特异性免疫反应^[63]。Pant et al^[63]采用离心和乙醇沉淀的方法从粪便中分离出可溶性糖蛋白,应用SP-21定量检测大肠脱落黏膜上皮细胞COTA的表达,发现大肠癌、异型增生和腺瘤等患者COTA表达明显高于大肠黏膜正常的患者,以COTA值大于15 μg/mL为肿瘤阳性判断标准时,5/6的结肠癌、6/22的腺瘤、1/8的结肠炎患者和2/58的正常人结果阳性,筛检大肠癌的灵敏度和特异性均优于目前的愈创木酯试验。

3.4 其他粪大肠脱落细胞标志物 除上述标志物外,亦有关于检测粪大肠脱落细胞特异基因转录水平表达并用于大肠癌筛检的研究。人类大肠腺癌组织经常过度表达CD44外显子, Yamao et al^[64]应用RT-PCR和Southern杂交技术检测25例大肠癌患者手术前、后及15名健康自愿者粪脱落细胞CD44标准型、变异体6和变异体10等mRNA表达,发现大肠癌患者手术前、后及所有健康志愿者均可检出CD44标准型mRNA,变异体6和变异体10在大肠癌患者手术前粪便检出率分别为68%(17/25)和60%(15/25),术后检出率分别为12%(3/25)和28%(7/25);其中术前CD44变异体6阳性者术后阴转率为88.2%(15/17),变异体10阴转率为80%(12/15),而健康受试者仅有1名变异体阳性,提示粪脱落细胞CD44变异体表达分析可作为非侵袭性试验用于诊断和筛检大肠癌。

总之,非侵袭性检查为目前大肠癌筛检技术研究的趋势,包括大便潜血试验、仿真结肠镜检查、粪大肠脱落细胞标志物检查等。其中粪大肠脱落细胞标志物为目前研究的热点,最具发展前景。相信随着分子生物学技术、生物信息学和功能蛋白组分析技术等的发展,将会有更多、更特异的基因组合和肿瘤相关抗原应用于临床检测和普查,在大肠癌即将形成或早期就能预测或诊断。

4 参考文献

- Steinert R, Buschmann T, van der Linden M, Fels LM, Lippert H, Reymond MA. The role of proteomics in the diagnosis and outcome prediction in colorectal cancer. *Technol Cancer Res Treat* 2002;1:297-304
- Price AS. Primary and secondary prevention of colorectal cancer. *Gastroenterol Nurs* 2003;26:73-81

- 贺立绩, 王桂芳, 黄瑞德, 田永虎. 1990年-1992年山西阳城居民恶性肿瘤死亡情况分析. *肿瘤研究与临床* 2000;12:430-431
- 陈建顺, 陈礼慈, 游建旺, 陈心聪, 谢国评. 长乐市中年人恶性肿瘤死亡分析. *中国肿瘤* 2001;10:514-515
- 王寒松, 江建华, 倪倬健, 朱国华. 海门市1999-2000年恶性肿瘤发病状况分析. *中国肿瘤* 2001;10:509-511
- 李安乐, 方顺源, 汪志强. 杭州市1993-2000年主要恶性肿瘤死亡情况. *中国肿瘤* 2001;10:711-712
- 刘曙正, 戴涤新, 李刚. 河南省2001年恶性肿瘤死亡率分布状况. *中国肿瘤* 2002;11:705-706
- 刘月华, 海东, 张志学, 夏季杰. 黑龙江省1994-1999年恶性肿瘤死亡监测分析. *疾病检测* 2001;16:145-146
- 林英姬, 戴旭东, 孙喜文, 韩惠丽, 卢爱梅, 卢彦, 陈丽君. 黑龙江省主要城市1995年和2000年恶性肿瘤发病与死亡分析. *中国肿瘤* 2002;11:29-30
- 马新源, 汪祥辉, 雷通海, 钱明富, 姚开颜, 李其龙. 嘉善县大肠癌发病特征及流行趋势分析. *中国肿瘤* 2001;10:375-376
- 于永礼, 鲁惠琴. 宁夏永宁县恶性肿瘤变动趋势分析. *肿瘤* 1999;19:368-369
- 徐晓初, 沈国英, 张霞, 戴克俊, 董淑丽, 白雪林, 刘海温. 上海市长宁区1997-2001年居民主要恶性肿瘤死亡动态分析. *上海预防医学杂志* 2003;15:86-87
- 金凡, 周淑贞, 陶蓉芳, 茹蓉, 项永兵, 孙璐, 高玉堂. 上海市区恶性肿瘤发病趋势1972-1994年. *肿瘤* 1999;19:255-258
- 陆应祖, 赵金扣, 武鸣, 王培桦. 苏北地区恶性肿瘤的死亡现状及分布. *中国肿瘤* 2001;10:512-514
- 罗晋卿, 苏辉民, 蒙晞. 梧州市区1981-2000年主要恶性肿瘤发病趋势. *中国肿瘤* 2002;11:278-279
- 魏矿荣, 王德坤, 余元龙, 钱峰, 郑爱昂, 梁智恒, 刘倩婷. 中山市30 a恶性肿瘤死因分析. *中国肿瘤* 2002;11:89-90
- 李玲, 王启俊, 祝伟星, 刑秀梅. 北京城区居民1982-1997年癌症发病趋势. *中国肿瘤* 2001;10:507-509
- Strul H, Arber N. Fecal occult blood test for colorectal cancer screening. *Ann Oncol* 2002;13:51-56
- Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, Ries LA, Howe HL, Wingo PA, Jemal A, Ward E, Anderson RN, Edwards BK. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1276-1299
- Winawer S, Fletcher R, Rex D, Bond J, Burt R, Ferrucci J, Ganiats T, Levin T, Woolf S, Johnson D, Kirk L, Litin S, Simmam C. Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale-Update based on new evidence. *Gastroenterology* 2003;124:544-560
- Syed AA, Khatoun BA, Silwadi MF. New reagents for detection of fecal occult blood. *J Pharm Biomed Anal* 2001;24:581-586
- Syed AA, Silwadi MF, Khatoun BA. Detection and diagnosis of blood in feces and urine:an overview. *Clinica Chimica Acta* 2002;318:1-17
- US Preventive Services Task Force. Screening for colorectal cancer: Recommendation and rationale. *Ann Intern Med* 2002;137:129-131
- Crespi M, Lisi D. Is colorectal cancer screening by fecal occult blood feasible? *Ann Oncol* 2002;13:47-50
- Mandel JS, Bond JH, Church TR, Snover DC, Bradley GM, Schuman LM, Ederer F. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. Minnesota colon cancer control study. *N Engl J Med* 1993;328:1365-1371
- Mandel JS, Church TR, Ederer F, Bond JH. Colorectal cancer mortality: effectiveness of biennial screening for fecal occult blood. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:434-437
- Hardcastle JD, Chamberlain JO, Robinson MH, Moss SM, Amar SS, Balfour TW, James PD, Mangham CM. Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer. *Lancet* 1996;348:1472-1477
- Kronborg O, Fenger C, Olsen J, Jorgensen OD, Sondergaard O. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test. *Lancet* 1996;348:1467-1471
- Smith RA, Cokkinides V, Eyre HJ, American cancer society. American cancer society guidelines for the early detection of cancer, 2003. *CA Cancer J Clin* 2003;53:27-43
- Rockey DC, Auslander A, Greenberg PD. Detection of upper gastrointestinal blood with fecal occult blood tests. *Am J Gastroenterol* 1999;94:344-350

- 31 Ahlquist DA, Shuber AP. Stool screening for colorectal cancer: evolution from occult blood to molecular markers. *Clinica Chimica Acta* 2002;315:157-168
- 32 Nakama H, Zhang B, Zhang B. Evaluation of the optimum cut-off point in immunochemical occult blood testing in screening for colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2001;37:398-401
- 33 Nakama H, Fattah A, Zhang B, Uehara Y, Wang C. A comparative study of immunochemical fecal tests for detection of colorectal adenomatous polyps. *Hepatogastroenterology* 2000; 47:386-389
- 34 Wong WM, Lam SK, Cheung KL, Tong TS, Rozen P, Young GP, Chu KW, Ho J, Law WL, Tung HM, Choi HK, Lee YM, Lai KC, Hu WH, Chan CK, Yuen MF, Wong BC. Evaluation of an automated immunochemical fecal occult blood test for colorectal neoplasia detection in a Chinese population. *Cancer* 2003;97:2420-2424
- 35 Levin B, Brooks D, Smith RA, Stone A. Emerging technologies in screening for colorectal cancer: CT colonography, immunochemical fecal occult blood tests, and stool screening using molecular markers. *CA Cancer J Clin* 2003;53:44-55
- 36 Taylor SA, Halligan S, Bartram CI. CT colonography: Methods, pathology and pitfalls. *Clin Radiol* 2003;58:179-190
- 37 Gluecker TM, Johnson CD, Harmsen WS, Offord KP, Harris AM, Wilson LA, Ahlquist DA. Colorectal cancer screening with CT colonography, colonoscopy, and double-contrast barium enema examination: prospective assessment of patient perceptions and preferences. *Radiology* 2003;227:378-384
- 38 Achiam MP, Bulow S, Rosenberg J. CT- and MR colonography. *Scand J Surg* 2002;91:322-327
- 39 Lauenstein TC, Goehde SC, Debatin JF. Faecal tagging: MR colonography without colonic cleansing. *Abdom Imaging* 2002; 27:410-417
- 40 Iyengar V, Albaugh GP, Lohani A, Nair PP. Human stools as a source of viable colonic epithelial cells. *FASEB J* 1991;5:2856-2859
- 41 Albaugh GP, Iyengar V, Lohani A, Malayeri M, Bala S, Nair PP. Isolation of exfoliated colonic epithelial cells, a novel, non-invasive approach to the study of cellular markers. *Int J Cancer* 1992;52:347-350
- 42 吴显文, 李世荣, 田玉旺, 王志红, 邢惠清. 肠道脱落细胞 DNA 含量图像分析诊断大肠癌的意义. *华人消化杂志* 1998;6:88-89
- 43 范如英, 李世荣, 吴霞, 武子涛, 晨智敏. 粪便中大肠脱落细胞形态学观察、DNA 定量及 p53 蛋白表达的初步观察. *中华消化杂志* 2000;20:269-270
- 44 Bandaletova T, Bailey N, Bingham SA, Loktionov A. Isolation of exfoliated colonocytes from human stool as a new technique for colonic cytology. *APMIS* 2002;110:239-246
- 45 Ahlquist DA, Harrington JJ, Burgart LJ, Roche PC. Morphometric analysis of the "mucocellular layer" overlying colorectal cancer and normal mucosa: relevance to exfoliated stool screening markers. *Hum Pathol* 2000;31:51-57
- 46 范如英, 李世荣, 武子涛, 吴霞, 晨智敏. 大肠脱落细胞及其核 DNA 含量分析在大肠癌诊断中的意义. *癌症* 2002;21:776-780
- 47 Freeman A, Morris LS, Mills AD, Stoeber K, Laskey RA, Williams GH, Coleman N. Minichromosome maintenance proteins as biological markers of dysplasia and malignancy. *Clin Cancer Res* 1999;5:2121-2132
- 48 Davies RJ, Freeman A, Morris LS, Bingham S, Dilworth S, Scott I, Laskey RA, Miller R, Coleman N. Analysis of minichromosome maintenance proteins as a novel method for detection of colorectal cancer in stool. *Lancet* 2002;359:1917-1919
- 49 Loktionov A, O' Neill IK, Silvester KR, Cummings JH, Middleton SJ, Miller R. Quantitation of DNA from exfoliated colonocytes isolated from human stool surface as a novel noninvasive screening test for colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 1998;4:337-342
- 50 Rengucci C, Maiolo P, Saragoni L, Zoli W, Amadori D, Calistri D. Multiple detection of genetic alterations in tumors and stool. *Clin Cancer Res* 2001;7:590-593
- 51 Ahlquist DA, Skoletsky JE, Boynton KA, Harrington JJ, Mahoney DW, Pierceall WE, Thibodeau SN, Shuber AP. Colorectal cancer screening by detection of altered human DNA in stool: Feasibility of a multitarget assay panel. *Gastroenterology* 2000;119:1219-1227
- 52 Tagore KS, Lawson MJ, Yucaitis JA, Gage R, Orr T, Shuber AP, Ross ME. Sensitivity and specificity of a stool DNA multitarget assay panel for the detection of advanced colorectal neoplasia. *Clin Colorectal Cancer* 2003;3:47-53
- 53 Kronborg O, Ugstad M, Fuglerud P, Johnsen B, Hardcastle J, Scholefield JH, Vellacott K, Moshakis V, Reynolds JR. Faecal calprotectin levels in a high risk population for colorectal neoplasia. *Gut* 2000;46:795-800
- 54 Tibble J, Sigthorsson G, Foster R, Sherwood R, Fagerhol M, Bjarnason I. Faecal calprotectin and faecal occult blood tests in the diagnosis of colorectal carcinoma and adenoma. *Gut* 2001;49:402-408
- 55 Summerton CB, Longlands MG, Wiener K, Shreeve DR. Faecal calprotectin: a marker of inflammation throughout the intestinal tract. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:841-845
- 56 Limburg PJ, Devens ME, Harrington JJ, Diehl NN, Mahoney DW, Ahlquist DA. Prospective evaluation of fecal calprotectin as a screening biomarker for colorectal neoplasia. *Am J Gastroenterol* 2003;98:2299-2305
- 57 Lawrie LC, Curran S, McLeod HL, Fothergill JE, Murray GI. Application of laser capture microdissection and proteomics in colon cancer. *Mol Pathol* 2001;54:253-258
- 58 Ransohoff DF. Cancer: Developing molecular biomarkers for cancer. *Science* 2003;299:1679-1680
- 59 Shimano T, Okuda H, Monden T, Inaji H, Mori T. Usefulness of carcinoembryonic antigen measurement in feces of patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1987;30:607-610
- 60 Kim Y, Lee S, Park S, Jeon H, Lee W, Kim JK, Cho M, Kim M, Lim J, Kang CS, Han K. Gastrointestinal tract cancer screening using fecal carcinoembryonic antigen. *Ann Clin Lab Sci* 2003;33:32-38
- 61 Mizuno M, Nakagawa M, Uesu T, Inoue H, Inaba T, Ueki T, Nasu J, Okada H, Fujita T, Tsuji T. Detection of decay-accelerating factor in stool specimens of patients with colorectal cancer. *Gastroenterology* 1995;109:826-831
- 62 Iwagaki N, Mizuno M, Nasu J, Mizuno M, Okazaki H, Hori S, Yamamoto K, Okada H, Tsuji T, Fujita T, Shiratori Y. Advances in the development of a reliable assay for the measurement of stool decay-accelerating factor in the detection of colorectal cancer. *J Immunoassay Immunochem* 2002;23:497-507
- 63 Pant KD, McCracken JD. Noninvasive colorectal cancer screening. *Dig Dis Sci* 2002;47:1236-1240
- 64 Yamao T, Matsumura Y, Shimada Y, Moriya Y, Sugihara K, Akasu T, Fujita S, Kakizoe T. Abnormal expression of CD44 variants in the exfoliated cells in the feces of patients with colorectal cancer. *Gastroenterology* 1998;114:1196-1205