

网络出版时间: 2023-04-03 14:21:59 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20230403.0934.001.html>

基于 *H4C6* 甲基化水平和 cfDNA 浓度构建多癌种癌症风险预测模型

胡玉莲^{1,2}, 齐健^{1,3}, 王姝洁^{3,4}, 洪波^{3,4}, 孙晓君^{3,4}, 王宏志^{3,4}, 聂金福^{2,3,4}

摘要 目的 探究 *H4* 聚簇组蛋白 6 (*H4C6*) 甲基化水平和循环游离 DNA (cfDNA) 浓度在正常组与肿瘤组之间的差异; 基于 *H4C6* 甲基化水平和 cfDNA 浓度构建癌症风险预测模型并评估模型的预测性能。方法 使用磁珠法提取血液样本中的 cfDNA; 使用 Qubit 4.0 荧光定量仪检测 cfDNA 浓度; 利用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 技术检测 cfDNA 的 *H4C6* 甲基化水平; 使用 Logistic 回归算法构建 *H4C6* 甲基化水平联合 cfDNA 浓度的癌症风险预测模型; 使用受试者工作特征 (ROC) 曲线和校准曲线评估模型的准确性; 使用决策曲线分析 (DCA) 评估模型的临床效益。结果 联合 *H4C6* 甲基化水平与 cfDNA 浓度构建的模型区分肺癌、肝癌、结直肠癌、胃癌、泛癌与健康组的 ROC 曲线下面积 (AUC) 分别为 0.769、0.988、0.934、0.922、0.830; 校准曲线的平均绝对误差小于 0.05; DCA 曲线的净收益大于 0。结论 基于 *H4C6* 甲基化水平和 cfDNA 浓度构建的癌症风险预测模型有较好的预测性能, 有助于给临床前决策提供合理且有效的建议, 最终可能给患者提供有针对性的、个性化的癌症检测与诊断方案。

关键词 *H4C6* 甲基化水平; cfDNA 浓度; 癌症风险预测

中图分类号 R 730.43

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)04-0597-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.04.013

癌症具有高发病率与高病死率的特点^[1]。据世界卫生组织统计, 2020 年全球新发癌症死亡病例为 9 958 133 例^[2]。建立一种无创、经济且适用于大规模人群的癌症风险预测方法具有重要的临床意

义。循环游离 DNA (circulating free DNA, cfDNA) 是通过细胞凋亡或坏死过程释放到循环体液中的 DNA 片段^[3], 是癌症诊断中有巨大潜力的生物学指标^[4]。研究^[5]表明癌症患者的血浆 cfDNA 浓度高于健康人群。另外, *H4* 聚簇组蛋白 6 (*H4* clustered histone, *H4C6*) 在多种癌症组织中甲基化水平高, 而在正常组织中甲基化水平低^[6], 提示该指标可作为区分癌症与正常组织的通用标志物。但关于 *H4C6* 甲基化水平区分癌症患者血液样本与健康者血液样本方面的研究, 目前未见报道。该研究旨在评估 *H4C6* 甲基化水平联合 cfDNA 浓度区分癌症血液样本与健康血液样本的能力, 构建与之相关的癌症风险预测模型, 以期给临床前决策提供合理且有效的建议, 为患者提供有针对性的、有效的诊断方案。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2021 年 7—11 月来自中国科学院合肥肿瘤医院检验科 216 例受试者的临床资料, 包括肺癌 65 例、胃癌 22 例、结直肠癌 23 例、肝癌 12 例患者作为癌症组, 94 例健康者作为健康组 (对照组), 受试者的入组条件为年龄大于等于 18 岁且小于 85 岁, 其中癌症患者均有病理或细胞学诊断, 健康受试者的心肝肾功能与各项生化指标均正常。在伦理委员会通过后开展临床试验 (编号: Y-2020-16), 患者均签署了知情同意书。

1.2 主要仪器与试剂 Qubit 1 × dsDNA HS Assay Kit、Qubit 4.0 荧光定量仪和实时荧光定量 PCR (real-time quantitative PCR, RT-qPCR) 仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; PCR 扩增仪购自杭州朗基科学仪器有限公司; EZ DNA Methylation-Gold™ Kit 购自美国 ZYMO RESEARCH 公司; KAPA PROBE FAST qPCR Master Mix (2 ×) Kit 购自美国 KAPA Biosystem 公司; 磁珠法大体积游离核酸提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司。

1.3 样本收集与处理 使用 EDTA-K2 采血管收集受试者 10 ml 外周血, 4 ℃、13 000 r/min 离心 10 min 后取上层血清, 转移到微量离心管中再次离心,

2023-01-16 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81872438); 中国科学院合肥物质科学研究院院长基金青年“火花”项目 (编号: YZJJ2022QN43)

作者单位: ¹ 中国科学技术大学生命科学学院, 合肥 230026

² 中国科学院广州生物医药与健康研究院, 广州 510535

³ 中国科学院合肥物质科学研究院健康与医学技术研究所, 医学物理与技术安徽省重点实验室, 合肥 230031

⁴ 中国科学院合肥肿瘤医院检验科, 合肥 230031

作者简介: 胡玉莲, 女, 硕士研究生;

聂金福, 男, 研究员, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: jeffnie@cmpt.ac.cn

取 2 ml 上清血浆保存于 -80°C 冰箱中。取 2 ml 血浆,使用磁珠法大体积游离核酸提取试剂盒提取血浆中的 cfDNA,并用 Qubit 1X dsDNA HS Assay Kit 检测 cfDNA 的浓度。使用 EZ DNA Methylation-Gold™ Kit 转化 cfDNA,使得 cfDNA 上 *H4C6* 中未发生甲基化的胞嘧啶 C 转变为尿嘧啶 U,而发生甲基化的胞嘧啶 C 则不发生改变。

1.4 RT-qPCR 方法检测 *H4C6* 的甲基化水平 使用 KAPA PROBE FAST qPCR Master Mix($2\times$) Kit 快速检测 *H4C6* 的甲基化水平。以 Actin 为内参基因、健康人的白细胞基因组 DNA 为阴性对照、H69 肺癌细胞系基因组 DNA 为阳性对照、水为空白对照。PCR 引物及探针序列见表 1,qPCR 反应结束后记录 *H4C6* 基因和内参基因 Actin 的 Ct 值。使用相对定量法处理 qPCR 反应的结果,分别计算得到所有待测样本和阳性对照组的 $2^{-\Delta\text{Ct}}$,再把所有待测样本的 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 均除以阳性对照组的 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 得到 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$,最终以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 作图^[7]。

表 1 PCR 引物及探针序列

引物或探针名称	序列(5'-3')
<i>H4C6</i> 上游引物	TTATAAATGAGGTTTCGAAATGC
<i>H4C6</i> 下游引物	CGTAACAACATACAAAACATCACC
<i>H4C6</i> 正向探针	TTTTACGTCGTCGCGTCGG
<i>H4C6</i> 反向探针	ACCCGCCATCCGTCGCTTAAC
Actin 上游引物	GTGATGGAGGAGGTTTAG
Actin 下游引物	AAATTACAAAACACACAA
Actin 探针	CACCACCCAACACACAAT

1.5 模型构建 使用 R-3.5.0 软件的 pROC 包绘制 *H4C6* 基因甲基化水平联合 cfDNA 浓度区分癌症血液样本与正常血液样本的 ROC 曲线;使用 rms 包绘制 *H4C6* 基因甲基化水平联合 cfDNA 浓度的列线图与校准曲线;使用 rmda 包分析并绘制了模型的 DCA 曲线。使用 Logistic 回归算法构建 *H4C6* 甲基化水平联合 cfDNA 浓度预测多种癌症风险的模型,Logistic 回归算法是根据个体的实际情况分别对单个指标进行评分,然后将单个指标的得分相加得出总分,最后将个体的总得分与列线图的总刻度进行比较,即可预测待测个体患癌症的风险值。模型的准确性与临床有效性分别使用校准曲线和 DCA 曲线来进行评估。

1.6 统计学处理 采用 R-3.5.0 软件对数据进行分析,连续变量使用 $\text{Mean}(\text{IQR})$ 的形式表示,分类变量使用 $n(\%)$ 的形式表示。采用 Shapiro-Wilk 检验来评估数据的正态分布;正态分布数据使用 t 检验分析两组连续变量间的差异显著性,使用卡方检

验分析多组连续变量间的差异显著性,否则使用 Kruskal-Wallis 检验分析不具有正态分布的连续变量多组之间的差异;使用 wilcoxon 秩和检验分析不具有正态分布的连续变量两组之间的差异;使用 Fisher 精确检验分析多组分类变量之间的差异显著性。癌症组与对照组的年龄和性别差异中,年龄、cfDNA 浓度、*H4C6* 甲基化水平使用 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癌症组与健康组的临床信息比较 从表 2 可以看出,癌症组的性别和年龄与健康组之间差异无统计学意义。而 cfDNA 浓度和 *H4C6* 甲基化水平在癌症组与健康组之间差异有统计学意义($P < 0.001$)。

2.2 *H4C6* 甲基化水平在癌症组与健康组之间的差异分析 使用 wilcoxon 秩和检验分析 *H4C6* 甲基化水平在癌症组与健康组之间的差异,并绘制差异箱线图。癌症组的 *H4C6* 甲基化水平均高于健康组,差异有统计学意义($P < 0.001$)。见图 1。

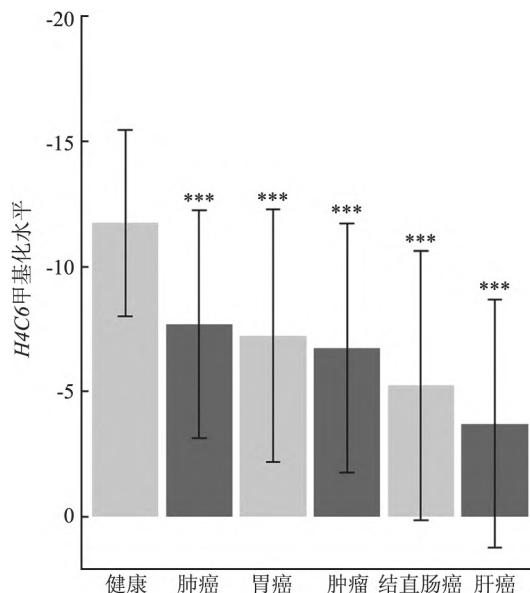
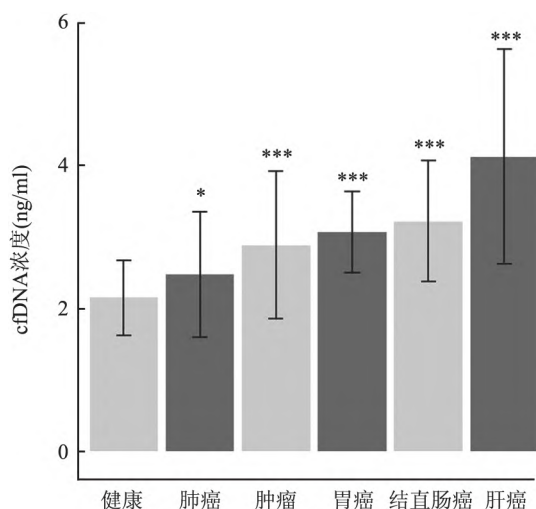


图 1 *H4C6* 甲基化水平在癌症组与健康组之间的差异箱线图
与健康组比较: *** $P < 0.001$

2.3 cfDNA 浓度在癌症组与健康组之间的差异分析 通过检测癌症组与健康组的 cfDNA 浓度,使用 wilcoxon 秩和检验分析 cfDNA 浓度在癌症组与健康组之间的差异,并绘制差异箱线图。各个癌症组 cfDNA 浓度均高于健康组,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$)。见图 2。

表2 癌症组与对照组的临床信息比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

变量	总样本($n=216$)	肺癌($n=65$)	肝癌($n=12$)	健康($n=94$)	结直肠癌($n=23$)	胃癌($n=22$)	χ^2 值	P 值
性别 [n (%)]							8.34	0.084
男	91 (42)	35 (54)	2 (17)	39 (41)	8 (35)	7 (32)		
女	125 (58)	30 (46)	10 (83)	55 (59)	15 (65)	15 (68)		
年龄 (岁)	55 (49, 60)	55 (51, 59)	56 (49, 60)	52 (48, 59)	57 (52, 64)	57 (52, 63)	6.13	0.190
cfDNA 浓度 (ng/ml)	2.54 (2.04, 2.99)	2.43 (1.87, 3.11)	3.71 (3.06, 4.26)	2.19 (1.86, 2.55)	3.03 (2.67, 3.41)	2.94 (2.63, 3.30)	73.73	<0.001
H4C6 甲基化水平	-8.1 (-14.2, -5.0)	-5.9 (-13.2, -4.5)	-3.1 (-4.8, -0.5)	-13.8 (-14.8, -8.2)	-4.0 (-7.1, -0.9)	-5.9 (-12.1, -3.9)	62.06	<0.001

图2 cfDNA 浓度在癌症组与健康组之间的差异箱线图
与健康组比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

2.4 H4C6 甲基化水平联合 cfDNA 浓度区分癌症组与健康组的能力的评估 使用 Logistic 回归方法构建分类模型,评估 H4C6 甲基化水平联合 cfDNA 浓度区分癌症组与健康组的能力。Logistic 回归分析的结果见表 3,评估结果通过 ROC 曲线来呈现 (图 3)。从图 3 可以看出,H4C6 甲基化水平联合 cfDNA 浓度区分肺癌组、肝癌组、结直肠癌组、胃癌组、泛癌组与健康组的 AUC 值分别为 0.769、0.988、0.934、0.922、0.830。这些数值均大于 0.5,提示 H4C6 基因甲基化水平联合 cfDNA 浓度作为区分癌症组与健康组标志物的效果较好。

2.5 构建 H4C6 甲基化水平联合 cfDNA 浓度的癌症风险预测模型 基于 Logistic 回归分析的结果,本研究构建了一个模型来预测个体患癌症的风险值,并且绘制了预测个体患癌风险的列线图 (图 4)。

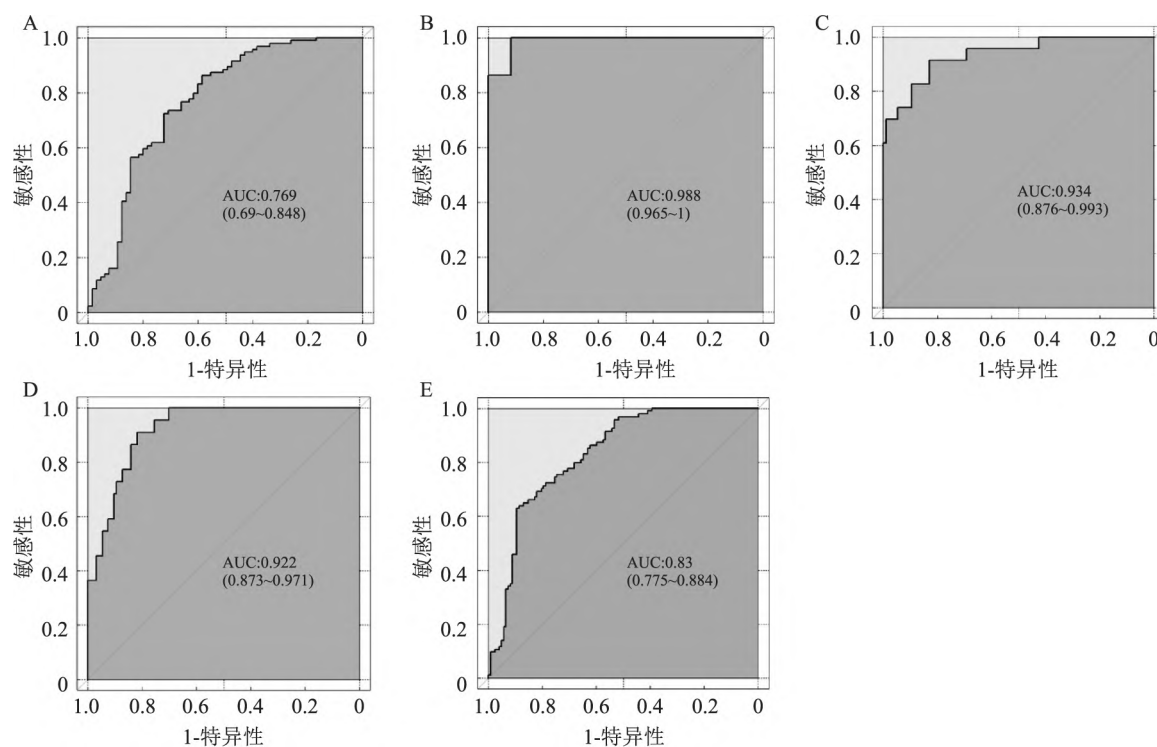
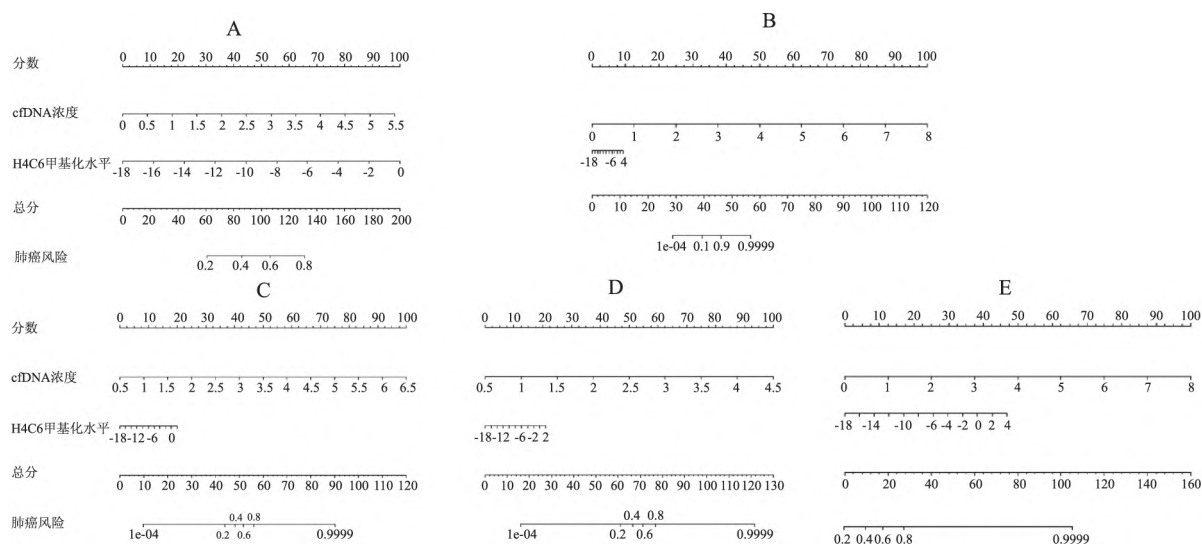


图3 H4C6 甲基化水平联合 cfDNA 浓度区分癌症组与健康组的 ROC 曲线

A: 肺癌; B: 肝癌; C: 结直肠癌; D: 胃癌; E: 泛癌

图4 基于 *H4C6* 甲基化水平和 cfDNA 浓度预测个体患癌症风险的列线图

A: 肺癌; B: 肝癌; C: 结直肠癌; D: 胃癌; E: 泛癌

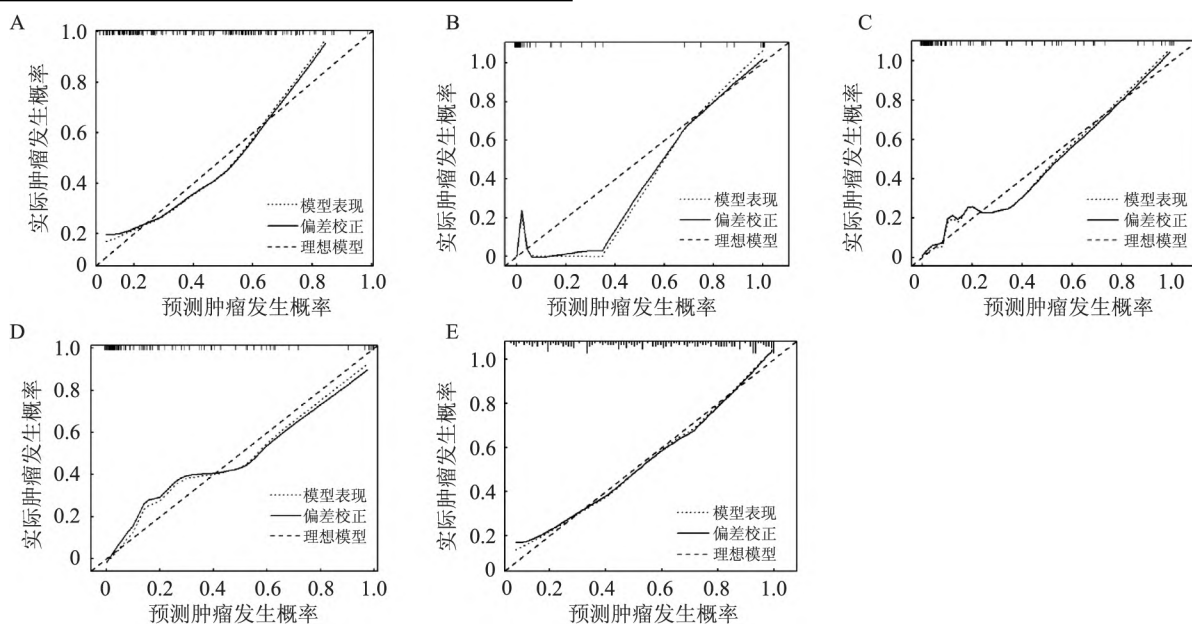
列线图包括 *H4C6* 甲基化水平和 cfDNA 浓度两个指标。列线图中有 *H4C6* 基因甲基化水平和 cfDNA 浓度两个指标,每个指标的线段刻度代表该指标的取值范围,线段长度代表该指标的得分,该模型可以用来预测患癌症风险。

表3 癌症组与对照组 Logistic 回归分析的结果

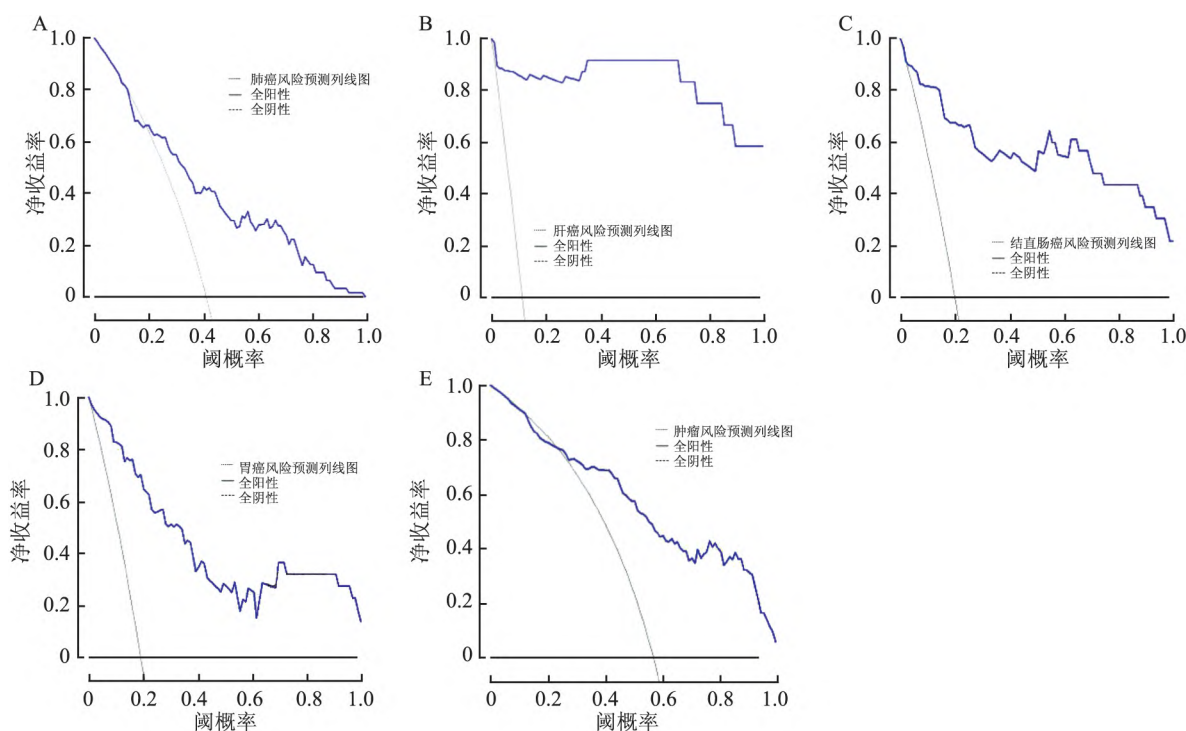
肿瘤类型	截距	cfDNA 浓度系数	<i>H4C6</i> 甲基化系数
肺癌	-0.155	-0.704	-0.219
肝癌	23.307	-8.263	-0.276
结直肠癌	-9.271	3.822	0.229
胃癌	-10.911	4.363	0.183
泛癌	0.773	-1.256	-0.214

2.6 模型的准确性与临床效益评估 列线图预测患癌风险的准确性通过校准曲线进行评估。图5所示,校准曲线的平均绝对误差均小于0.05,说明本研究构建的列线图预测个体患癌症的风险与实际观察到个体癌症风险的拟合度较高,即列线图的准确性较好。

本研究绘制 DCA 曲线来评估 *H4C6* 甲基化水平联合 cfDNA 浓度构建的癌症风险预测模型的临床效益,对角虚线为模型预测的概率与实际发生的概率相等,表示最理想的预测结果。由图6可见,评估模型临床效益的癌症风险列线图的决策曲线

图5 基于 *H4C6* 甲基化水平和 cfDNA 浓度构建的列线图的校准曲线

A: 肺癌; B: 肝癌; C: 结直肠癌; D: 胃癌; E: 泛癌

图6 基于 *H4C6* 甲基化水平和 cfDNA 浓度构建的列线图的 DCA 曲线

A: 肺癌; B: 肝癌; C: 结直肠癌; D: 胃癌; E: 泛癌

(蓝色实线) 在两条极端曲线(全阳性和全阴性) 的上方,提示本研究构建的癌症风险预测模型的预测较准确,可以实现临床效益更大化。

3 讨论

循环血液中的 cfDNA 浓度由释放和清除过程之间的平衡决定,研究已经表明癌症患者的血浆 cfDNA 浓度高于健康人群^[8]。Fan et al^[9] 检测了 50 例术前肺癌患者和 60 例健康受试者的血浆 cfDNA 浓度,发现术前肺癌患者的血浆 cfDNA 浓度明显高于健康受试者,将术前肺癌患者与正常健康组区分开来的 AUC 值为 0.820 9; Iizuka et al^[10] 检测了 52 例肝癌患者和 30 例丙肝病毒携带者的血清 cfDNA 浓度,发现肝癌患者的血清 cfDNA 水平明显高于丙肝病毒携带者,区分肝癌患者与丙肝病毒携带者的 AUC 值达到 0.90。以上研究表明血清 cfDNA 浓度可以作为癌症检测的生物标志物。

H4C6 是一个组蛋白基因,编码一个复制依赖性的核心组蛋白 H4 家族成员。Dong et al^[8] 通过生物信息学方法对 TCGA 数据库中肝癌、肺癌、直肠癌、胃癌等 17 种癌症的临床数据和甲基化数据进行分析,结果显示 *H4C6* 在这 17 种癌症中均发生异常的高度甲基化,表明 *H4C6* 高度甲基化有可能作

为一种潜在的通用癌症甲基化标志物。他们进一步在肺泡灌洗液样本中验证 *H4C6* 甲基化水平检测肺泡灌洗液样本的特异性高达 96.7%,敏感性高达 87.0%,且 *H4C6* 甲基化水平区分肺癌患者与肺部良性疾病患者的 AUC 值达到 0.98。与上述实验结果相比,该研究方法准确性略低,但是取样方便,并且侵入性低,对患者的伤害较小,更容易在临床上开展。

目前,国内外生物医学和生物信息学领域的研究团队还对基于机器学习方法构建模型预测癌症风险的研究表示了极大的兴趣。Wong et al^[11] 采用 Logistic 回归、脊回归、AdaBoost、决策树和随机森林五种机器学习方法,构建预测慢性病毒性肝炎患者患肝癌的风险模型。外部验证结果表明,脊回归算法构建的模型预测性能最佳(AUC: 0.844),能够准确预测慢性病毒性肝炎患者患肝癌的风险。Li et al^[12] 分别使用 Logistic 回归和 XGBoost 算法建立患肺癌风险的预测模型,结果表明,基于 Logistic 回归算法构建的肺鳞癌风险预测模型的预测性能更好(AUC: 0.833),该模型在中国人群中具有较强的预测能力。作为癌症检测和诊断的辅助工具,机器学习广泛应用于癌症的预测与诊断领域^[13]。

本研究分别通过荧光定量法和 qPCR 技术检测

血液样本中 cfDNA 浓度和 *H4C6* 基因的甲基化水平,评估 *H4C6* 基因甲基化水平联合 cfDNA 浓度作为区分癌症组与健康组标志物的效果。研究证明,*H4C6* 基因甲基化水平联合 cfDNA 浓度可以作为癌症检测的生物标志物。使用 Logistic 回归的机器学习方法构建了 *H4C6* 甲基化水平联合 cfDNA 浓度的患癌风险预测模型,模型预测患癌风险的准确性和临床效益都较好。在本研究中,使用侵入性小、取样过程简易、可操作性强、重复性好的血液样本。本研究使用的检测方法具有灵敏度高、特异性强且价格相对较低的优势。基于 *H4C6* 甲基化水平联合 cfDNA 浓度构建的患癌风险预测模型在应用时具有无创、经济且适用于大规模人群的优势。但本研究也存在不足之处,由于条件限制,本研究收集到的肝癌样本量偏少,其结果可能不具有代表性。此外,由于时间原因,本研究还没有进一步收集多种癌症的血液样本来进一步验证构建的患癌风险预测模型的预测性能。但本研究构建的患癌风险预测模型仍具有一定的临床参考价值。

综上所述,基于 *H4C6* 甲基化水平联合 cfDNA 浓度构建的癌症风险预测模型在应用时具有无创、经济且适用于大规模人群的优势。通过抽取血液进行化验,根据模型给出患癌风险分数的高低,判断患者是否需要进一步切取组织进行检验,从而简化检验流程,降低患者经济负担。

参考文献

- [1] Wild C P, Weiderpass E, Stewart B W. World cancer reports [M]. Geneva: Wild C P, 2020: 7-9.
- [2] 刘宗超,李哲轩,张阳,等. 2020 全球癌症统计报告解读 [J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1-14.
- [3] Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T, et al. Life and death of circulating cell-free DNA [J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(8): 1057-67.
- [4] Zhang X F, Ju S Q, Wang X D, et al. Advances in liquid biopsy using circulating tumor cells and circulating cell-free tumor DNA for detection and monitoring of breast cancer [J]. *Clin Exp Med*, 2019, 19(3): 271-9.
- [5] Schwarzenbach H. Circulating nucleic acids as biomarkers in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2013, 15(5): 211.
- [6] Dong S H, Li W, Wang L, et al. Histone-related genes are hypermethylated in lung cancer and hypermethylated HIST1H4F could serve as a pan-cancer biomarker [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(24): 6101-12.
- [7] 刘佳,蔡小凤. 宫颈癌 HSPC 238 和 RPS 27a 基因检测的临床意义研究 [J]. 中国计划生育和妇产科, 2018, 10(6): 35-7, 41.
- [8] Bronkhorst A J, Wentzel J F, Aucamp J, et al. Characterization of the cell-free DNA released by cultured cancer cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(1): 157-65.
- [9] Fan Y H, Shi M X, Chen S H, et al. Analysis of serum cfDNA concentration and integrity before and after surgery in patients with lung cancer [J]. *Cell Mol Biol*, 2019, 65(6): 56-63.
- [10] Iizuka N, Sakaida I, Moribe T, et al. Elevated levels of circulating cell-free DNA in the blood of patients with hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(6c): 4713-9.
- [11] Wong G L H, Hui V W K, Tan Q X, et al. Novel machine learning models outperform risk scores in predicting hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral hepatitis [J]. *J Hep Reports*, 2022, 4(3): 100441.
- [12] Li Y T, Zou Z X, Gao Z Y, et al. Prediction of lung cancer risk in Chinese population with genetic-environment factor using extreme gradient boosting [J]. *Cancer Med*, 2022, 11(23): 4469-78.
- [13] Xu J, Zhu C X, Yu Y, et al. Machine learning in cancer diagnostics [J]. *EBioMedicine*, 2019, 45: 1-2.

A multi-cancer risk prediction model which constructed based on *H4C6* methylation level and cfDNA concentration

Hu Yulian^{1,2}, Qi Jian^{1,3}, Wang Shujie^{3,4}, Hong Bo^{3,4}, Sun Xiaojun^{3,4}, Wang Hongzhi^{3,4}, Nie Jinfu^{2,3,4}

(¹ College of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230026;

² Guangzhou Institutes of Biomedicine and Health, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510535;

³ Anhui Province Key Laboratory of Medical Physics and Technology, Center of Medical Physics and Technology, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031;

⁴ Dept of Clinical Laboratory, Hefei Cancer Hospital, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031)

Abstract Objective To explore the difference in H4 clustered histone 6(*H4C6*) methylation level and circulating cell-free DNA (cfDNA) concentration between 94 normal group and 122 tumor groups (65 patients with lung cancer, 22 patients with gastric cancer, 23 patients with colorectal cancer, and 12 patients with liver cancer), and the

网络出版时间: 2023-04-03 15:13:46 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20230403.1101.002.html>

ROR γ 基因对结肠癌细胞增殖及迁移的影响

方昌义¹, 潘晓飞², 余昌俊¹, 武平², 陈本鑫², 李宝², 张干², 龚玉勇², 李洋²

摘要 目的 探究维甲酸相关孤儿核受体- γ (ROR γ) 基因对人结肠癌细胞增殖、转移能力的影响。方法 通过构建 ROR γ 敲减细胞系, 采用 RT-qPCR 及 Western blot 检测敲减效率; MTT、克隆形成、Transwell 和划痕实验检测细胞增殖与转移能力; 采用 Western blot 检测上皮间质转化 (EMT) 相关蛋白的表达情况; 通过 TIMER 2.0 数据库分析 ROR γ 基因的表达与肿瘤微环境中免疫细胞浸润的关系。结果 ROR γ 基因的敲减增强了结肠癌细胞的活力 (F 值 = 157.40, $P < 0.01$)、克隆形成能力 ($F = 61.35$, $P < 0.01$)、迁移能力 ($F = 13.00$, $P < 0.01$)、侵袭能力 ($F = 21.26$, $P < 0.01$) 和划痕愈合能力 ($F = 877.2$, $P < 0.01$), 抑制了上皮型钙黏附蛋白

(E-Cadherin) 的表达, 并促进了波形蛋白 (vimentin) 和神经型钙黏附蛋白 (N-Cadherin) 的表达; TIMER 2.0 数据库分析显示结肠腺癌 (COAD) 组织中 ROR γ 的表达水平与多种免疫细胞浸润相关。结论 ROR γ 表达的下调促进结肠癌细胞的增殖及转移。

关键词 结肠癌; 维甲酸相关孤儿核受体- γ ; 免疫浸润; 增殖; 迁移

中图分类号 R 735.35

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)04-0603-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.04.014

2023-02-11 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81902451); 安徽高校自然科学基金项目 (编号: KJ2020A0961、KJ2021ZD0025)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院普外科胃肠外科一病区, 合肥 230022

² 皖西卫生职业学院附属医院普外科三病区, 六安 237000

作者简介: 方昌义, 男, 博士研究生, 副主任医师;

潘晓飞, 男, 教授, 主任医师, 责任作者, E-mail: 461046693@qq.com;

余昌俊, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: yuchangjun321@163.com

据最新全球癌症统计, 2020 年新发结肠癌约 114 万例, 死亡人数超 57 万例, 结肠癌成为癌症相关死亡的第二大原因^[1]。尽管目前治疗手段很多, 但是由于缺乏高效、特异性的生物标志物, 对结肠癌的早期诊断及治疗仍是目前研究的热点。维甲酸相关孤儿核受体- γ (retinoid-related orphan receptor gamma, ROR γ) 是一种在器官中广泛表达的孤儿受体, 作为 ROR 家族成员之一, 参与多种肿瘤的发生与发展^[2]。近些年, 有研究^[3]表明 ROR γ 在肿瘤中扮演癌基因的角色, 也有研究^[4]表明 ROR γ 在一些癌症中低表达, 发挥抑癌作用。由此可见, ROR γ 在

age of total 216 subjects were between 18 and 85 years old. To construct a cancer risk prediction model based on *H4C6* methylation level and cfDNA concentration and evaluate the predictive performance of the model. **Methods** cfDNA was extracted from blood samples using magnetic beads. Qubit 4.0 fluorescence quantitative meter was used to detect the concentration of cfDNA. Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) technology was used to detect the methylation level of *H4C6* in cfDNA. Logistic regression algorithm was used to construct a cancer risk prediction model of *H4C6* methylation level combined with cfDNA concentration. The accuracy of the model was assessed using receiver operating characteristic (ROC) curve and calibration curve. The clinical benefit of the model was assessed using decision curve analysis (DCA). **Results** The model was constructed by combining *H4C6* methylation level and cfDNA concentration to distinguish lung cancer, liver cancer, colorectal cancer, gastric cancer, pancreatic cancer from healthy control group had the area under curve (AUC) of 0.769, 0.988, 0.934, 0.922, 0.830, respectively. The mean absolute error of the calibration curve was less than 0.05; the net benefit of the DCA curve was greater than 0. **Conclusion** The cancer risk prediction model based on *H4C6* methylation level and cfDNA concentration has good predictive performance, which helps to provide reasonable and effective suggestions for preclinical decision-making, and ultimately may provide patients with targeted and personalized cancer detection and diagnosis program.

Key words *H4C6* methylation level; cfDNA concentration; cancer risk prediction