



doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2014.06.025
http://www.lcbl.net/articles/792

· 综述 ·

血液标志物用于结直肠癌早期筛查的研究进展

杨喜艳¹, 程宗勇²

(1. 常德市第一人民医院消化内科, 湖南 常德 415003; 2. 中南大学湘雅二医院消化内科, 长沙 410001)

[摘要] 结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化道肿瘤,也是世界性疾病。其高发病率和死亡率严重威胁着人类的生命健康。目前,尚缺乏有效的早期筛查方法,以至于CRC患者的手术切除率和生存率不高。近年来关于CRC的早期筛查的研究主要集中在血液中的大分子物质,如DNA、RNA及蛋白质。本文通过将血液中可能成为肿瘤标志物的大分子物质的最新研究做一综述,以期在血液中寻找出能CRC早期筛查的指标。

[关键词] 结直肠癌; 肿瘤标志物; 早期筛查

Research of blood-based biomarkers for early diagnosis of colorectal cancer

YANG Xiyan¹, CHENG Zongyong²

(1. Department of Gastroenterology, First People's Hospital of Changde City, Changde Hunan 415003; 2. Department of Gastroenterology, Second Xiangya Hospital Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410001, China)

Abstract Colorectal cancer (CRC) is a common gastrointestinal cancer, which is a world-wide disease. The morbidity and mortality rates due to CRC will seriously threaten human life and health. Nowadays, lacking of effective screening method to diagnose the colorectal cancer at early stage leads to surgical resection and 5-year survival rate very low. In recent years, research on early detection of colorectal cancer is mainly concentrated in the blood macromolecules, such as DNA, RNA and protein. The main purpose of this review is to investigate the potential application of blood-based biomarkers in early diagnosis, and to find indicators of colorectal cancer.

Key words colorectal cancer; tumor markers; early detection of cancer

前言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界上第三大常见肿瘤, CRC的死亡率排世界上肿瘤死亡

率的第四位^[1]。随着世界人口呈老龄化趋势, CRC的发病率和死亡率将大体上呈上升的趋势^[2]。CRC早期可通过手术有效切除, 5年生存率较高。但是大部分CRC发现时已经没有手术切除的机会。如

果能在疾病的早期阶段诊断出来, 将明显提高CRC患者的预后。但目前临床所使用的CRC的筛查方法耗资较高及准备程序麻烦等特点, 最终导致了实行率低^[3]。如果能够从血液中检测某些标志物作为CRC早期筛查指标, 辨别CRC的高风险人群, 将可以改善这一现状。换句话说, 早期筛查方法需要将检查者分成三种状态: 一般人群(普通发病率), 高风险人群及肿瘤患者。然后再通过结肠镜检查明确病变部位, 将有效的提高CRC的早期诊断率。以往我们通过大便隐血实验作为早期筛查指标, 但其特异性不强^[4], 实际作用有限。血液系统通过将营养物质运输到人体细胞, 并将废物运出到体外从而避免毒性物质堆积。同时, 血液系统也是体内主要的信号通道, 血液标本也具有易取得、方便保存及非侵入性的特点, 是否可以通过血标本检测某些特异性和敏感性强的物质作为早期筛查的指标呢? 下面我们将综述近年来的一些科学研究, 以期找到这样一些适用于临床CRC早期筛查的方法, 以期提高CRC早期诊断率。

1 目前临床常用的结直肠癌筛查方法

目前临床上常用的检查方法主要有: 大便隐血实验, 肿瘤标志物CEA, CA199, 结肠镜等。

目前常用的CRC初筛方法主要是大便隐血试验。隐血实验敏感性高, 但特异性差, 极易出现假阳性^[4], 当隐血实验为阳性时, 可能是由于其他情况, 如结肠炎及痔疮导致的, 即使隐血实验阳性, 仍然需要行肠镜等直观检查, 由于这些原因, 增加了患者行结肠镜的负担和担忧。血中肿瘤标志物CEA、CA19-9可在多种人体肿瘤中出现阳性, 且特异性及敏感性不高^[5-7]。

影像学检查, 如气钡双重灌肠CT结肠成像^[8], 是一种非侵入性或者小侵入性的检查, 但是, 在发现有结直肠息肉时, 不能及时行息肉切除术及病理活检, 最终还是要依靠结肠镜检查。结肠镜可以直观全面的观察整个结直肠结构及黏膜情况, 同时可以直接镜下取病变部位组织做病理检查, 但是结肠镜需要在术前行清洁肠道准备, 准备程序麻烦, 同时结肠镜是侵入性检查, 同时检查过程中许多病人不能耐受, 使得这样一个直观有效的检查方法不能为大众接受^[3]。

2 血液标本做为结直肠癌筛查方法的研究

血液系统是人体重要的“运输通道”, 也

是体内主要的信号通道, 通过分泌和释放例如激素、细胞因子等信号分子, 从而调节体内不同功能。如果能从血液中寻找出某种物质能够具有高特异性和敏感性的反应结肠癌的情况, 将有助于降低CRC的发病率和死亡率。这也意味着血清及血浆中的分子, 包括DNA、RNA及蛋白质都有可能作为标志物。

2.1 DNA 作为肿瘤标志物

最早有文献记载的肿瘤细胞DNA在血清(或血浆)中出现始于1977年^[9]。游离的DNA(cell-free DNA, cfDNA)认为是由凋亡细胞或者坏死的肿瘤细胞释放以及由巨噬细胞或其他清道夫细胞在远处吞噬后分泌释放而来^[10]。刚开始, cfDNA由于检测难度大, 并没有引起很大的重视, 而近年来, 随着新一代测序技术(next generation sequencing, NGS)的兴起, cfDNA的检测有望成为CRC的一线筛查的肿瘤标志物。目前研究cfDNA主要集中在异常的甲基化标志, 异常的肿瘤DNA突变; 血液中的异常线粒体DNA。

2.1.1 异常的甲基化标志

DNA甲基化异常与肿瘤的发生相关, 主要是甲基化的异常改变了细胞正常的基因表达。例如, 抑癌基因的启动子出现超甲基化可以导致不相称的基因沉默从而导致肿瘤的发生。一般说来, DNA甲基化被认为与肿瘤发生的早期事件相关, 因此, DNA甲基化标志被视为一个潜在的早期肿瘤检查的标志^[11]。目前研究的方法主要是通过使用甲基化特异性PCR研究超甲基化的甲基化位点, 如CpG二核苷酸位点、CpG岛及肿瘤抑制基因的启动子基因的位点。Nakayama^[12]和Lecomte^[13]的研究发现, 在CRC病人血清中肿瘤抑制基因启动子p16超甲基化的阳性率分别为68%和69%。Grady等^[14]研究也发现, CRC血浆中人类MutL homolog 1启动子的异常甲基化占47%。其他调节肿瘤相关启动子的超甲基化, 包括假定转移抑制基因死亡相关性蛋白酶、降毒基因谷氨酰胺转移酶P1、修复基因O6-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶的阳性率在42%~73%不等^[15-16]。可以想象的是, NGS技术与MSP技术相结合, 以确定早期CRC和进展期腺瘤的肿瘤抑制基因沉默, 测试其相应的启动子甲基化, 并生成基于对表观遗传学变化的候选标志物作为未来检测CRC的校验码。

2.1.2 异常的肿瘤DNA 突变标记

目前新NGS技术开始运用于人体CRC基因突变的分析, 特别是一些高突变率基因^[17-19], 如

TP53、APC及K-RAS基因。但是,与野生DNA背景相比较,血中肿瘤cfDNA相当低。例如,Diehl等研究发现,在进展期CRC患者血液中,突变的APC的DNA片段大约占游离DNA的1.9%~27%,而在早期CRC中还不到0.01%~0.12%。即使采用直接测序技术,突变信号占背景DNA的量也不足25%^[20],可见这种方法并不可靠。而且,每一个不同的肿瘤病人,肿瘤相关的突变也是独一无二的,因此,基于目前可采用的技术,在早期的肿瘤患者中,很难找到一种低花费、高敏感性及全面性的检查去覆盖所有人体基因突变。

2.1.3 循环中线粒体DNA

在每个细胞中大约有上百个复制量的微粒体DNA^[21]。由于其多复制属性,研究发现线粒体DNA一般为伴有混杂多态性变异性的变异体。在肿瘤细胞中,线粒体DNA具有更多与肿瘤相关的变异改变,特别是高变的置换环区。随着NGS方法的运用,研究的重点要么在有差异的线粒体DNA复制量占总基因数的比例,要么是线粒体DNA改变或者与肿瘤相关的线粒体突变。在CRC的研究中,有人发现在早期CRC患者中存在线粒体DNA突变,并发现大约9%的CRC组织存在D-loop区DNA突变,但血清中线粒体DNA改变仅有14%^[22]。由于线粒体DNA改变在早期CRC的检出率低,大部分研究集中在转移性肿瘤的潜在运用中,血中肿瘤线粒体DNA的研究尚不足。

2.2 RNA 作为肿瘤标志物

传统观念认为, RNA高度不稳定极容易降解,因此认为RNA不可能在细胞外成为稳定可以检测到的物质。但是,近期大量的研究表明: RNA的确可以稳定的存在于细胞外^[23]。各种RNA包括信使RNA (message RNA, mRNA), 非编码RNA包括(microRNA, miRNA)和长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA)都可以在血清、血浆及人体其他体液中检测到。RNA的表达在正常状态下是受到高度调节的,而在病理状态下(如患有肿瘤性疾病时)RNA的表达常表现为非调节状态^[24-25]。因此,大量的研究主要集中在描述RNA的表达,这些表达状态可能于癌症状态相关并可能寻找到指示癌症的标志物。下面我们将从不同种类的RNA (主要有mRNA、miRNA及lnc RNA)进行分析。

2.2.1 mRNA 作为肿瘤标志

许多研究发现了循环中mRNA作为肿瘤标志物的可能性^[25]。常用的研究策略是,通过微阵列

技术检测mRNA表达,接下来通过逆转录后实时定量多聚酶链反应(real time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR)来验证。样本可以来自从血浆或血清中直接分离提取的mRNA,或者来源于外周血细胞中。Tsouma等^[26]研究发现从外周血细胞中提取mRNA后通过多种RT-qPCR技术检测三种物质的表达(癌胚抗原、细胞角蛋白20和表皮生长因子受体)来区分CRC的疾病阶段以及CRC的总生存率。在2003年, Twine等^[27]通过在外周血中单核细胞中提取mRNA,通过微阵列的方法寻找到一些潜在的标志物。但是,这些实验还只停留在概念证明阶段或者试验研究阶段,可见mRNA临床用于CRC的一线筛查还一定的距离。

2.2.2 血中 miRNA 作为肿瘤标志物

miRNA是一种大约18-25个核苷酸大小的非编码的RNA^[28-29]。大量的文献表明: miRNA在转录后水平调节基因的表达,并在肿瘤发生、发展以及肿瘤迁移和转移都发挥着重要的作用。miRNA的不同表达与不同的肿瘤相关。目前已有大量关于描述循环中miRNA与不同肿瘤的表达模式的研究,包括乳腺癌、肺癌、淋巴瘤、卵巢癌及胰腺癌的研究^[30-34]。在过去的5年里,关于CRC miRNA的研究主要集中在描述血浆或者血清中miRNA。Ng等^[35]首次通过real-time PCR方法从5名CRC患者和5名健康人群中提取95种miRNA,之后在90名CRC患者和50名健康人群中验证这些研究。他们的研究结果提示: CRC患者血标本中miR17-3p和miR-92较健康人群明显升高,其敏感性为89%,特异性约为70%。复旦大学附属肿瘤医院通过miRNA微阵列的方法,从10名CRC和10名正常人群中提取了742种miRNA,之后再将这些miRNA在191个独立个体中验证(包括90名CRC患者、43名进展期腺瘤患者和58名健康人群)。结果提示: CRC和进展期腺瘤患者血标本中miR-601和miR-760较健康人群明显降低,其敏感性为83.3%,特异性约为69.1%^[36]。近年来通过类似的方法即:先从CRC患者及正常人群血标本中提取miRNA,再将这些指标在较大样本中去验证某些miRNA在CRC、进展期腺瘤患者与正常人群的差异性表达。使得miRNA在CRC的研究中取得了不少成果^[36-38]。也有人通过查阅目前文献中报道的miRNA标志,再通过RT-qPCR方法验证这些miRNA在CRC、进展期腺瘤和正常人群中的表达。如复旦大学王教授等^[39]通过检测在其他文献中报道的12种miRNA,结果提示: miR-29a和miR-92a对CRC有潜在的指示作用,其敏感

性为83%，特异性为84.7%。目前关于miRNA的研究，主要有38种，主要可以分为在原发性CRC中上调、在原发性CRC下调和转移灶中上调等三种类型。虽然这些miRNA在其他人的研究者的实验中并不一定得出相同的结论，这可能和研究的样本、操作者及实验室条件不同相关，但仍有希望通过相同的实验方法，如NGS来解决这些问题，miRNA有望成为CRC的一线筛查指标。

2.2.3 血中 lncRNA 作为肿瘤标志物

LncRNA在过去一直认为是没有用处的，随着RNA测序技术的兴起，使得对lncRNA的研究成为可能，近年来的研究发现，lncRNA具有调节基因的表达和细胞功能的作用^[40-42]。LncRNA就像其miRNA一样，在抑制肿瘤和致癌中发挥着重要作用，也有发现lncRNA在肿瘤人群中存在失调的情况。因此，lncRNA作为肿瘤及其他疾病的潜在生物学标志物被广泛的研究。目前关于lncRNA在CRC的研究主要集中在其作为组织标志物，而非血循环中的标志物。如Zhai等^[43]研究发现，lncRNA-p21在CRC组织中表达上调，且其表达水平与肿瘤的进展呈正相关性，即在晚期CRC中高表达。Ling等^[44]的研究发现lncRNA-CCAT2在CRC中过度表达，这种lncRNA具有促进肿瘤生长、转移和染色体不稳定等作用。Kogo等^[45]研究证实具有重组染色体结构和促进乳腺癌转移作用的lncRNA-HOTAIR在CRC晚期肝转移是亦有增高。这些实验主要是在CRC组织水平进行得出来的结论，由于组织水平标本的来源主要是内镜下活检，活检可能会出现活检部位深度不够而漏诊，且作为有创性检查，不能像血液中检测那样具有可重复性及早期诊断的效果，但相信随着RNA测序技术的发展，lncRNA有望在血液中检测并作为CRC一线初筛的生物学指标。

2.3 蛋白质作为肿瘤标志物

目前蛋白质作为肿瘤标志物的研究受到越来越多的关注。大量的细胞表面抗原，包括许多分化抗原被认为是CRC潜在的诊断和转移的生物学标志。这些抗原在随着肿瘤的进展及肿瘤细胞与其他细胞相互作用时发生改变，被视为理想的肿瘤标志物^[46]。血标本中CRC的蛋白质标志物的研究重点则是肿瘤细胞通过分泌、漏出进入血液中的蛋白质。我们也称之为“肿瘤分泌物”^[46]。随着蛋白质组学技术的发展，如相对定量蛋白质组学技术-同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ)、点扫描

CRC抗体芯片等，使得血液中CRC的肿瘤标志物的发现成为了可能^[47]。有人通过从结直肠腺癌组织中共提取802种蛋白质，再通过iTRAQ联合二维液相色谱串联质谱(2D LC-MS/MS)技术发现82种可能的癌症相关性蛋白，免疫组化发现凝胶溶素在CRC时几乎没有表达，认为凝胶溶素降低是结直肠腺癌标志^[48]。通过同样的方法，有人在人结肠腺癌HCT-116细胞株的研究发现，Drebrin(DBN1)在肝转移时表现为过度表达^[49]。这些研究均有可能在血液中得到验证。Hamelin等^[50]的研究发现，热休克蛋白60在CRC时也有改变，但其特异性在晚期CRC更具特异性。张旭华等人通过对CRC患者血液的研究，发现CRC患者血浆中ORM2较正常人群及炎症性肠病患者明显升高，有望成为CRC血标本中的一线筛查指标^[51]。台湾学者发现，在CRC患者中SEC61 β 的表达明显升高，SEC61 β 在周围正常组织的表达明显降低。根据免疫印迹(Western blot)和血标本的结果表明：SEC61 β 抗体在CRC患者的敏感性和特异性分别为79%和75%^[52]。可见血中检查蛋白质的表达有望成为CRC初筛的生物学指标。

3 结语

结直肠癌是世界性疾病，其高发病率和高死亡率严重的威胁人类的生命健康。笔者通过综述目前关于结直肠癌诊断的方法以及结直肠癌的初筛的研究，试图找出某些能够作为结直肠癌一线筛查的方法，使结直肠癌能在疾病早期阶段诊断出来，增加患者手术机会及提高患者生活质量及生存率。血液中的结直肠癌的肿瘤标志物具有可重复检测及无创性，是未来研究结直肠癌早期诊断的重要方向。血中的某些DNA、RNA及蛋白质都有可能成为结直肠癌早期筛查的生物学标志物。但由于目前很多结直肠癌的生物学指标还停留在实验室研究阶段，我们期待更多更深入的这方面的研究，使得结直肠癌早期诊断这个世界性的难题可以攻破。

参考文献

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2893-2917.
2. Pourhoseingholi MA. Increased burden of colorectal cancer in Asia[J].

- World J Gastrointest Oncol, 2012, 4(4): 68-70.
3. Ait Ouakrim D, Lockett T, Boussioutas A, et al. Screening participation for people at increased risk of colorectal cancer due to family history: a systematic review and meta-analysis[J]. *Fam Cancer*, 2013, 12(3): 459-472.
 4. Wong CK, Fedorak RN, Prosser CI, et al. The sensitivity and specificity of guaiac and immunochemical fecal occult blood tests for the detection of advanced colonic adenomas and cancer[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2012, 27(12): 1657-1664.
 5. Wakabayashi-Nakao K, Hatakeyama K, Ohshima K, et al. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 4 (CEACAM4) is specifically expressed in medullary thyroid carcinoma cells[J]. *Biomed Res*, 2014, 35(4): 237-242.
 6. Madaan M, Puri M, Sharma R, et al. Unusually High Levels of CA19-9 Associated with Mature Cystic Teratoma of the Ovary[J]. *Case Rep Obstet Gynecol*, 2014, 2014: 187910.
 7. Liu L, Xu H, Wang W, et al. A preoperative serum signature of CEA+ /CA125+ /CA19-9 ≥ 1000 U/mL indicates poor outcome to pancreatectomy for pancreatic cancer. *Int J Cancer*, 2014. [Epub ahead of print].
 8. Murono K, Kawai K, Tsuno NH, et al. Barium enema and CT volumetry for predicting pathologic response to preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer patients[J]. *Dis Colon Rectum*, 2014, 57(6): 715-724.
 9. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, et al. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy[J]. *Cancer Res*, 1977, 37(3): 646-650.
 10. Schwarzenbach H, Hoon DS, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(6): 426-437.
 11. Sandoval J, Esteller M. Cancer epigenomics: beyond genomics[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2012, 22(1): 50-55.
 12. Nakayama H, Hibi K, Takase T, et al. Molecular detection of p16 promoter methylation in the serum of recurrent colorectal cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2003, 105(4): 491-493.
 13. Lecomte T, Berger A, Zinzindohoué F, et al. Detection of free-circulating tumor-associated DNA in plasma of colorectal cancer patients and its association with prognosis[J]. *Int J Cancer*, 2002, 100(5): 542-548.
 14. Grady WM, Rajput A, Lutterbaugh JD, et al. Detection of aberrantly methylated hMLH1 promoter DNA in the serum of patients with microsatellite unstable colon cancer[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(3): 900-902.
 15. Sanchez-Cespedes M, Esteller M, Wu L, et al. Gene promoter hypermethylation in tumors and serum of head and neck cancer patients[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(4): 892-895.
 16. Domínguez G, Carballido J, Silva J, et al. p14ARF promoter hypermethylation in plasma DNA as an indicator of disease recurrence in bladder cancer patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(4): 980-985.
 17. Shan L, Li M, Ma J, et al. PCR-based assays versus direct sequencing for evaluating the effect of KRAS status on anti-EGFR treatment response in colorectal cancer patients: a systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107926.
 18. Mohamadkhani A, Naderi E, Sharafkhan M, et al. Detection of TP53 R249 Mutation in Iranian Patients with Pancreatic Cancer[J]. *J Oncol*, 2013, 2013: 738915.
 19. Kim K, Shin DG, Park MK, et al. Circulating cell-free DNA as a promising biomarker in patients with gastric cancer: diagnostic validity and significant reduction of cfDNA after surgical resection[J]. *Ann Surg Treat Res*, 2014, 86(3): 136-142.
 20. Gormally E, Caboux E, Vineis P, et al. Circulating free DNA in plasma or serum as biomarker of carcinogenesis: practical aspects and biological significance[J]. *Mutat Res*, 2007, 635(2-3): 105-117.
 21. He Y, Wu J, Dressman DC, et al. Heteroplasmic mitochondrial DNA mutations in normal and tumour cells[J]. *Nature*, 2010, 464(7288): 610-614.
 22. Hibi K, Nakayama H, Yamazaki T, et al. Detection of mitochondrial DNA alterations in primary tumors and corresponding serum of colorectal cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2001, 94(3): 429-431.
 23. Tsui NB, Ng EK, Lo YM. Stability of endogenous and added RNA in blood specimens, serum, and plasma[J]. *Clin Chem*, 2002, 48(10): 1647-1653.
 24. Sourvinou IS, Markou A, Lianidou ES. Quantification of circulating miRNAs in plasma: effect of preanalytical and analytical parameters on their isolation and stability[J]. *J Mol Diagn*, 2013, 15(6): 827-834.
 25. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(30): 10513-10518.
 26. Tsouma A, Aggeli C, Lembessis P, et al. Multiplex RT-PCR-based detections of CEA, CK20 and EGFR in colorectal cancer patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(47): 5965-5974.
 27. Twine NC, Stover JA, Marshall B, et al. Disease-associated expression profiles in peripheral blood mononuclear cells from patients with advanced renal cell carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(18): 6069-6075.
 28. Liu HS, Xiao HS. MicroRNAs as potential biomarkers for gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(34): 12007-12017.
 29. Gallach S, Calabuig-Fariñas S, Jantus-Lewintre E, et al. MicroRNAs: promising new antiangiogenic targets in cancer[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 878450.
 30. Wang J, Raimondo M, Guha S, et al. Circulating microRNAs in Pancreatic Juice as Candidate Biomarkers of Pancreatic Cancer[J]. *J Cancer*, 2014, 5(8): 696-705.
 31. Liu HS, Xiao HS. MicroRNAs as potential biomarkers for gastric

- cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(34): 12007-12017.
32. De Tullio G, De Fazio V, Sgherza N, et al. Challenges and opportunities of microRNAs in lymphomas[J]. *Molecules*, 2014, 19(9): 14723-14781.
 33. Chang TY, Huang TS, Wang HW, et al. miRNome traits analysis on endothelial lineage cells discloses biomarker potential circulating microRNAs which affect progenitor activities[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 802.
 34. Bascuñán-Gamboa KA, Araya-Quezada M, Pérez-Bravo F. MicroRNAs: an epigenetic tool to study celiac disease[J]. *Rev Esp Enferm Dig*, 2014, 106(5): 325-333.
 35. Ng EK, Chong WW, Jin H, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening[J]. *Gut*, 2009, 58(10): 1375-1381.
 36. Wang Q, Huang Z, Ni S, et al. Plasma miR-601 and miR-760 are novel biomarkers for the early detection of colorectal cancer[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44398.
 37. Wang L, Zhi H, Li Y, et al. Polymorphism in miRNA-1 target site and circulating miRNA-1 phenotype are associated with the decreased risk and prognosis of coronary artery disease[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(8): 5093-5102.
 38. Ye JJ, Cao J. MicroRNAs in colorectal cancer as markers and targets: Recent advances[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(15): 4288-4299.
 39. Huang Z, Huang D, Ni S, et al. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(1): 118-126.
 40. Xu C, Yang M, Tian J, et al. MALAT-1: a long non-coding RNA and its important 3' end functional motif in colorectal cancer metastasis[J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(1): 169-175.
 41. Xie C, Yuan J, Li H, et al. NONCODEv4: exploring the world of long non-coding RNA genes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(Database issue): D98-103.
 42. Atkinson SR, Marguerat S, Bähler J. Exploring long non-coding RNAs through sequencing[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2012, 23(2): 200-205.
 43. Zhai H, Fesler A, Schee K, et al. Clinical significance of long intergenic noncoding RNA-p21 in colorectal cancer[J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2013, 12(4): 261-266.
 44. Ling H, Spizzo R, Atlasi Y, et al. CCAT2, a novel noncoding RNA mapping to 8q24, underlies metastatic progression and chromosomal instability in colon cancer[J]. *Genome Res*, 2013, 23(9): 1446-1461.
 45. Kogo R, Shimamura T, Mimori K, et al. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(20): 6320-6326.
 46. Schaaïj-Visser TB, de Wit M, Lam SW, et al. The cancer secretome, current status and opportunities in the lung, breast and colorectal cancer context[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1834(11): 2242-2258.
 47. Barderas R, Babel I, Casal JI. Colorectal cancer proteomics, molecular characterization and biomarker discovery[J]. *Proteomics Clin Appl*, 2010, 4(2): 159-178.
 48. Fan NJ, Gao CF, Wang CS, et al. Discovery and verification of gelsolin as a potential biomarker of colorectal adenocarcinoma in the Chinese population: Examining differential protein expression using an iTRAQ labelling-based proteomics approach[J]. *Can J Gastroenterol*, 2012, 26(1): 41-47.
 49. Lin Q, Tan HT, Lim TK, et al. iTRAQ analysis of colorectal cancer cell lines suggests Drebrin (DBN1) is overexpressed during liver metastasis[J]. *Proteomics*, 2014, 14(11): 1434-1443.
 50. Hamelin C, Cornut E, Poirier F, et al. Identification and verification of heat shock protein 60 as a potential serum marker for colorectal cancer[J]. *FEBS J*, 2011, 278(24): 4845-4859.
 51. Zhang X, Xiao Z, Liu X, et al. The potential role of ORM2 in the development of colorectal cancer[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31868.
 52. Fan CW, Chan CC, Chen KT, et al. Identification of SEC61 β and its autoantibody as biomarkers for colorectal cancer[J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412(11-12): 887-893.

本文引用: 杨喜艳, 程宗勇. 血液标志物用于结直肠癌早期筛查的研究进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2014, 34(6): 763-768. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2014.06.025

Cite this article as: YANG Xiyan, CHENG Zongyong. Research of blood-based biomarkers for early diagnosis of colorectal cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2014, 34(6): 763-768. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2014.06.025