

论 著

低剂量CT结合SHOX2、RASSF1A甲基化在肺癌早期预警中的应用*

李志娟^{1,*} 董红² 田涛¹于哲³ 李晓敏⁴

1.华北石油管理局总医院呼吸与危重症

医学科(河北沧州062550)

2.华北石油管理局总医院骨科

(河北沧州062550)

3.华北石油管理局总医院胸外科

(河北沧州062550)

4.华北石油管理局总医院病理科

(河北沧州062550)

【摘要】目的 探讨低剂量CT结合Ras相关区域家族蛋白1A(RASSF1A)、矮小同源盒基因2(SHOX2)甲基化在肺癌早期预测中的应用价值。**方法** 选取2021年1月~2023年1月我院90例拟行肺结节手术患者,根据手术病理学分为肺良性结节组和肺癌组。2组均于术前行低剂量CT检查、SHOX2、RASSF1A甲基化检测,采用Kappa指数分析上述检查结果与手术病理学一致性,分析低剂量CT、SHOX2、RASSF1A甲基化与血清肿瘤标志物[癌胚抗原(CEA)、神经特异性烯醇化酶(NSE)、鳞状细胞癌抗原(SCC-Ag)、细胞角蛋白19片段(CYFRA21)]对肺癌诊断效能,采用Spearman低剂量CT检查、SHOX2、RASSF1A甲基化与临床病理特征相关性。**结果** 低剂量CT、SHOX2、RASSF1A甲基化及三者联合分别确定40例、43例、46例、58例肺癌,三者联合与手术病理学诊断肺癌效能一致性Kappa值为0.951;三者联合诊断肺癌敏感度96.67%、准确度97.78%均高于三者单一诊断效能($P<0.05$);肺癌患者血清CEA、SCC、NSE、CYFRA21水平均高于肺良性结节患者($P<0.05$);低剂量CT联合SHOX2、RASSF1A甲基化诊断肺癌效能的AUC为0.983,近似于四种血清肿瘤标志物诊断肺癌效能的AUC 0.933;不同肿瘤直径、临床分期、组织学分化肺癌患者低剂量CT检出率及SHOX2、RASSF1A甲基化阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$);肺癌患者低剂量CT检出率、SHOX2及RASSF1A甲基化阳性率与肿瘤直径、临床分期呈正相关,与组织学分化呈负相关($P<0.05$)。**结论** 低剂量CT联合SHOX2及RASSF1A甲基化可用于肺癌早期预警中,临床可通过其进行早期诊断、评估病情进展程度,以针对性展开后续治疗,改善预后。

【关键词】 低剂量CT;矮小同源盒基因2;
Ras相关区域家族蛋白1A;肺癌;
血清肿瘤标志物

【中图分类号】 R734.2**【文献标识码】** A**【基金项目】** 2021年度河北省医学科学研究课题
计划(20210235)**DOI:**10.3969/j.issn.1672-5131.2024.02.023

Application of Low Dose CT Combined with Methylation of SHOX2 and RASSF1A in Early Warning of Lung Cancer*

Li Zhi-juan^{1,*}, DONG Hong², TIAN Tao¹, YU Zhe³, LI Xiao-min⁴.1.Department of Respiratory and Critical Care Medicine, General Hospital of North China
Petroleum Administration Bureau, Cangzhou 062550, Hebei Province, China2.Department of Orthopedics, General Hospital of North China Petroleum Administration
Bureau, Cangzhou 062550, Hebei Province, China3.Department of Thoracic Surgery, General Hospital of North China Petroleum Administration
Bureau, Cangzhou 062550, Hebei Province, China4.Department of Pathology, General Hospital of North China Petroleum Administration Bureau,
Cangzhou 062550, Hebei Province, China

ABSTRACT

Objective To investigate the application value of low dose CT combined with methylation of Ras related region family protein 1A (RASSF1A) and dwarf homeobox gene 2 (SHOX2) in early prediction of lung cancer. **Methods** 90 patients with pulmonary nodule operation in our hospital from January 2021 to January 2023 were selected and divided into benign pulmonary nodule group and lung cancer group according to surgical pathology. Low-dose CT examination and methylation detection of SHOX2 and RASSF1A were performed in both groups before surgery. Kappa index was used to analyze the consistency between the above examination results and surgical pathology. To analyze the diagnostic efficacy of low-dose CT, SHOX2, RASSF1A methylation and serum tumor markers (CEA), neuron-specific enolase (NSE), squamous cell carcinoma antigen (SCC-Ag), and cytokeratin 19 fragment (CYFRA21)) in lung cancer. Spearman low-dose CT examination, SHOX2 and RASSF1A methylation were correlated with clinicopathologic features. **Results** 40 cases, 43 cases, 46 cases and 58 cases of lung cancer were identified by low dose CT, SHOX2, RASSF1 methylation and their combination, respectively. The consistency of the efficacy of the combination of CT, Shox2 and Rassf1 in the diagnosis of lung cancer was 0.951 Kappa value. The sensitivity of 96.67% and accuracy of 97.78% were higher than the single diagnostic efficacy of the three methods ($P<0.05$). The levels of CEA, SCC, NSE and CYFRA21 in lung cancer patients were higher than those in benign pulmonary nodules ($P<0.05$). The AUC of low dose CT combined with SHOX2 and RASSF1 methylation in the diagnosis of lung cancer was 0.983, which was similar to the AUC of 0.933 of the four serum tumor markers. There were significant differences in the detection rate of low-dose CT and methylation positive rate of SHOX2 and RASSF1A among patients with different tumor diameter, clinical stage and histological differentiation ($P<0.05$). The detection rate of low-dose CT, the positive rate of methylation of SHOX2 and RASSF1A in lung cancer patients were positively correlated with tumor diameter and clinical stage, but negatively correlated with histological differentiation ($P<0.05$). **Conclusion** Low-dose CT combined with SHOX2 and RASSF1A methylation can be used for early warning of lung cancer, which can be used for early diagnosis and evaluation of the progression of the disease, so as to carry out targeted follow-up treatment and improve the prognosis.

Keywords: Low-dose CT; Dwarf Homeobox Gene 2; Ras-related Region Family Protein 1A; Lung Cancer; Serum Tumor Marker

肺癌为呼吸系统常见的恶性肿瘤,具有发病率、病死率较高等特点,近年来随医疗水平改善,虽可有效延长患者生存期,但晚期肺癌患者发生转移、侵袭后仍具有较高病死风险^[1-2]。报道显示^[3-4],早期肺癌无特异性临床症状,多数患者易忽略,而出现症状就诊时已处于中晚期,加大治疗难度,影响预后恢复。因此,早期准确筛查肺癌具有重大意义。CT检查为目前临床诊断恶性肿瘤的主要方案,可清晰呈现人体内部微小病变,但其辐射对人体存在一定危害性,而低剂量CT可有效降低辐射剂量,通过结合迭代重建技术可有效改善图像质量^[5-6]。矮小同源盒基因2(SHOX2)为同源盒基因家族的一员,具有调控基因、控制细胞分化的作用,Ras相关区域家族蛋白1A(RASSF1A)与多种恶性肿瘤的发生、发展均相关,为一种新型抑癌基因^[7]。目前已有研究证实^[8]SHOX2、RASSF1A甲基化程度均与恶性肿瘤相关,但鲜有关于其结合影像学检查诊断早期肺癌的相关研究,基于此,本研究试分析低剂量CT结合SHOX2、RASSF1A甲基化在肺癌早期预警中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2021年1月至2023年1月我院90例拟行肺结节手术患者,其中男52例,女38例,年龄54~75岁,平均(64.83±3.59)岁;体质指数20.2~26.2kg/m²,平均(23.12±1.13)kg/m²;结节部位:中央型48例,周围型42例。本研究经我院伦理委员会审核批(2020)科研第(10)号。

纳入标准: 均经病理活检、术后病理证实为肺结节患者;预计生存时间≥3个月;均为初次发病;可接受本研究检查方案;患者及家属知晓本研究,并签订知情同意书。排除

【第一作者】李志娟,女,副主任医师,主要研究方向:肺结节性质判定。E-mail: boseauwh3@21cn.com

【通讯作者】李志娟

标准：合并其他恶性肿瘤；全身性感染、循环系统疾病者；妊娠期、哺乳期妇女；重大脏器功能障碍者；合并低剂量CT检查绝对禁忌症者；合并精神异常或检查依从性较差者。

1.2 方法 低剂量CT检查：均采用美国GE 64排螺旋CT扫描仪进行检查，扫描范围为肺尖至肺底，参数设置为：管电压120kV，管电流50mA，螺距0.938，FOV400mm，准直器16mm×1.25mm，矩阵512×512，旋转范围1.0s。扫描完成后采用迭代重建技术进行重建，重建数据设置为：层间隔1.25mm，重建层厚1.0mm，将肺窗窗位设置于-550HU，窗宽设置为1600HU，纵隔窗设置为40HU，窗宽设置为400HU。由同两名具有丰富经验的影像学医师进行评估，若诊断意见不一致，则由第三名医师参与诊断，统一结论后进行定性诊断。

甲基化检测：标本采集：(1)肺泡灌洗液，均由具有丰富经验的支气管镜操作医师于患者病变肺段注入37℃生理盐水20mL，尽快充分回收灌洗液，重复2~5次，以回收率>40%为合格；(2)外周血，入院后均采用streck基因采血管采集5mL外周血保存，提取血浆细胞游离DNA于-20℃冰箱保存；(3)痰液，采集患者晨起黏液性痰液，将痰液涂片、固定、染色观察痰液成分，加入等体积标准固定液后采用双层消毒纱布过滤保存。标本采集完成后均严格按照相应说明书步骤进行DNA提取及亚硫酸盐修饰，DNA修饰完成后严格按照甲基化检测步骤及评估方法完成PCR检测，上述标本中任意1项SHOX2、RASSF1阳性即判断为阳性。

血清肿瘤标志物测定：采集所有患者入院后次日晨起空腹状态下外周静脉血5mL，37℃条件下经离心半径8cm、3500r/min离心10min后，分离血清保存待测。采用电化学发光免疫分析法测定血清癌胚抗原(CEA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、细胞角蛋白19片段(CYFRA21)、鳞状细胞癌抗原(SCC-Ag)水平，试剂盒购于武汉生源科技公司。

1.3 观察指标 (1)分析低剂量CT及SHOX2、RASSF1A甲基化与手术病理学一致性；(2)比较低剂量CT及SHOX2、RASSF1A甲基化与肿瘤标志物诊断肺癌效能；(3)比较肺癌与肺良性结节患者肿

瘤标志物水平；(4)分析低剂量CT联合SHOX2、RASSF1A甲基化对肺癌的诊断效能；(5)比较不同临床病理特征患者低剂量CT、SHOX2、RASSF1A甲基化状态；(6)分析低剂量CT及SHOX2、RASSF1A甲基化阳性检出率与临床特征相关性。

1.4 统计学方法 采用SPSS 23.0软件对不同数据类型进行相关处理分析，用EXCEL软件建立数据库，常规进行逻辑检错，符合正态分布的计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示，两组间比较采用独立样本t检验，计数资料用n(%)表示，两组间比较行 χ^2 检验，Spearman相关系数模型分析相关性，采用Kappa值进行一致性分析，其中Kappa值<0.4为差，0.4~0.75为良好，>0.75为优，诊断价值分析采用ROC曲线，默认双侧检验， $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低剂量CT及SHOX2、RASSF1A甲基化与手术病理学一致性 以手术病理学为“金标准”，共确诊60例肺癌，30例肺良性结节。低剂量CT、SHOX2、RASSF1A甲基化及三者联合分别确定40例、43例、46例、58例肺癌。三者联合与手术病理学诊断肺癌效能一致性较高(Kappa值=0.951，95%CI：0.744~1.157， $P<0.001$)。见表1。

2.2 低剂量CT及SHOX2、RASSF1A甲基化与肿瘤标志物诊断肺癌效能

2.2.1 低剂量CT及SHOX2、RASSF1A甲基化诊断肺癌效能 三者联合诊断肺癌敏感度、准确度均高于三者单一诊断效能($P<0.05$)，四者特异度比较差异无显著差异($P>0.05$)。见表2。

2.2.2 肺癌与肺良性结节患者肿瘤标志物 肺癌患者血清CEA、SCC、NSE、CYFRA21水平均高于肺良性结节患者($P<0.05$)。见表3。

2.2.3 ROC曲线 以肺癌为阳性标本，肺良性结节为阴性标本绘制ROC曲线，结果显示低剂量联合SHOX2、RASSF1A甲基化诊断肺癌效能的AUC为0.983(95%CI：0.957~1.000)，近似于四种血清肿瘤标志物诊断肺癌效能的AUC 0.933(95%CI：0.882~0.984)。见图2。

表1 低剂量CT及SHOX2、RASSF1A甲基化与手术病理学一致性

项目	手术病理学		Kappa值	准确度	P值	95%CI
	阳性	阴性				
低剂量CT	阳性	40	0.444	72.22	<0.001	0.250~0.640
	阴性	20				
SHOX2甲基化	阳性	43	0.552	77.78	<0.001	0.356~0.748
	阴性	17				
RASSF1甲基化	阳性	46	0.611	81.11	<0.001	0.411~0.811
	阴性	14				
三者联合	阳性	58	0.951	97.78	<0.001	0.744~1.157
	阴性	2				

表2 低剂量CT及SHOX2、RASSF1A甲基化诊断肺癌效能n(%)

项目	敏感度	特异度	准确度
低剂量CT	66.67(40/60)	83.33(25/30)	72.22(65/90)
SHOX2甲基化	71.67(43/60)	90.00(27/30)	77.78(70/90)
RASSF1甲基化	76.67(46/60)	90.00(27/30)	81.11(73/90)
三者联合	96.67(58/60)	100.00(30/30)	97.78(88/90)
χ^2 值	18.089	5.104	22.348
P值	<0.001	0.164	<0.001

表3 肺癌与肺良性结节血清肿瘤标志物(ng/mL)

组别	例数	CEA	SCC	NSE	CYFRA21
肺癌组	60	5.44±1.63	2.33±0.70	15.56±4.67	4.83±1.45
肺良性结节组	30	3.78±1.12	1.60±0.46	10.83±3.25	3.40±1.01
t值		5.011	5.173	4.972	4.840
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

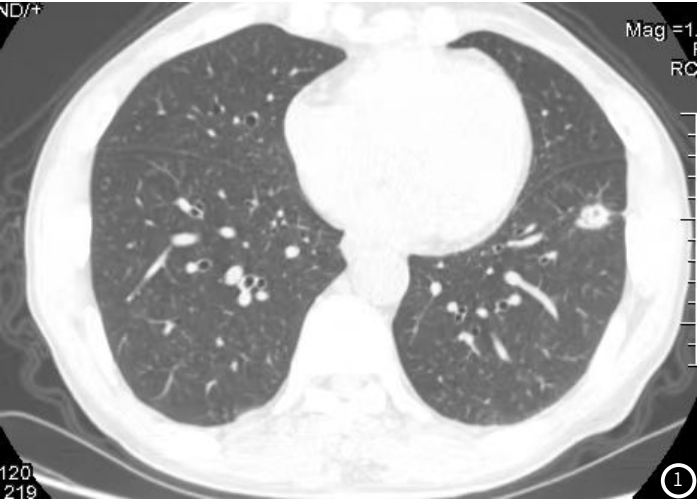
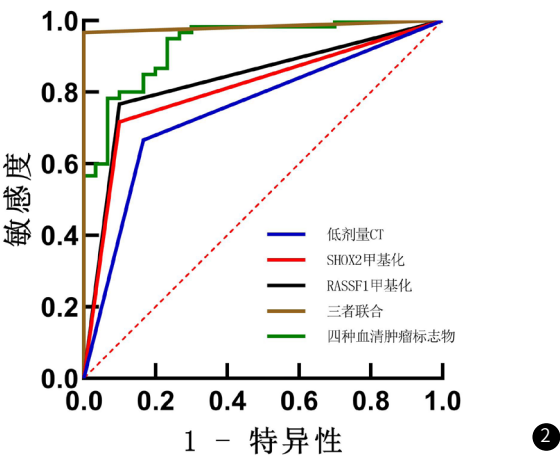


图1 1A肺癌患者低剂量CT影像学表现



2.3 不同临床病理特征患者低剂量CT、SHOX2、RASSF1A甲基化状态 针对手术病理学确诊肺癌患者展开后续研究。不同肿瘤直径、临床分期、组织学分化肺癌患者低剂量CT检出率及SHOX2、RASSF1A甲基化阳性率比较存在显著差异($P<0.05$)。见表4。

2.4 相关性分析 Speraman显示, 肺癌患者低剂量CT检出率、SHOX2及RASSF1A甲基化阳性率与肿瘤直径、临床分期呈正相关, 与组织学分化呈负相关($P<0.05$)。见表5。

表4 不同临床病理特征患者低剂量CT、SHOX2、RASSF1A甲基化状态

临床病理特征	例数	低剂量CT阳性检出率(n=40)	χ^2 值/P值	SHOX2甲基化阳性率(n=43)	χ^2 值/P值	RASSF1A甲基化阳性率(n=46)	χ^2 值/P值
性别	60		0.574, 0.4478		0.538, 0.463		0.301, 0.583
男	38	24(60.00)		26(60.47)		30(65.22)	
女	22	16(40.00)		17(39.53)		16(34.78)	
年龄(岁)			0.303, 0.582		0.604, 0.437		2.744, 0.098
≤60	33	21(52.50)		25(58.14)		28(60.87)	
>60	27	19(47.50)		18(41.86)		18(39.13)	
肿瘤直径(cm)			9.644, 0.002		12.703, <0.001		8.477, 0.004
<2.0	31	15(37.50)		16(37.21)		19(41.30)	
2.0~3	29	25(62.50)		27(62.79)		27(58.70)	
临床分期			4.538, 0.033		8.044, 0.005		5.637, 0.018
I~II期	40	23(57.50)		24(55.81)		27(58.70)	
III~IV期	20	17(42.50)		19(44.19)		19(41.30)	
组织学分化			15.639, <0.001		7.467, 0.024		13.755, 0.001
高分化	20	7(17.50)		11(25.58)		10(21.74)	
中分化	22	16(40.00)		15(34.88)		18(39.13)	
低分化	18	17(42.50)		17(39.53)		18(39.13)	
淋巴结转移			0.564, 0.453		0.764, 0.382		2.733, 0.098
有	23	14(35.00)		15(34.88)		15(32.61)	
无	37	26(65.00)		28(65.12)		31(67.39)	
吸烟			0.034, 0.853		0.284, 0.594		1.799, 0.179
有	35	23(57.50)		26(60.47)		29(63.04)	
无	25	17(42.50)		17(39.53)		17(36.96)	

注：均为肺腺癌早期。

表5 相关性分析

项目	低剂量CT检出率	SHOX2甲基化阳性率	RASSF1A甲基化阳性率
肿瘤直径	r	0.592	0.611
	P	<0.05	<0.001
临床分期	r	0.587	0.624
	P	<0.05	<0.001
组织学分化	r	-0.576	-0.605
	P	<0.05	<0.001

3 讨 论

随着社会结构趋于老龄化、环境污染加剧，肺癌发病率呈上升趋势，多数患者就诊时已处于进展期，无法进行手术切除治疗，导致生存率较低^[9]。报道显示^[10-11]，肺癌预后与肿瘤分期密切相关，中晚期患者经手术治疗后5年生存率约为18%，而早期患者经有效治疗生存率可达90%以上。因此，早期发现肺癌并针对性给予治疗对于提高患者存活率具有重大意义。

影像学检查为目前临床筛查诊断肺癌的主要方案，其中胸部X光片可用于早期肺部疾病筛查，具有辐射低、简便快捷等优点，但由于X光片敏感性为1cm以上实质性结节，对于早期肺癌检出率较低^[12-13]。CT检查通过检测不同组织对X线的吸收、透过率，可有效评估肿瘤进展程度，清晰呈现病灶边缘、周围组织及淋巴结等特征，但检查过程中对人体具有较强辐射性，无法作为肺癌筛查方案^[14]。因此本研究通过低剂量CT检查，结果发现，低剂量CT对于肺癌诊断准确率为72.22%，具有一定诊断价值。低剂量CT通过改变CT电压及电流，降低患者照射所受辐射剂量，但由于肺部充满气体，X射线较易通过，结合迭代重建技术对图像进行修正后，可在降低辐射剂量的情况下获取低噪声、高分辨率CT图像^[15-16]。有学者研究表明^[17]，通过低剂量单层螺旋CT筛查肺癌时，将管电流50mA降低至20mA后，图像质量虽有所下降，但二者阳性检出率无显著差异，且可有效降低患者辐射剂量。

相关研究表明^[18-19]，血液中游离DNA主要源于血液中肿瘤细胞释放，且肺癌多源于支气管黏膜上皮，痰液中常伴有脱落黏膜细胞，因此推测通过对外周血、痰液等标本中DNA甲基化检测对于早期肺癌具有一定诊断价值。本研究通过低剂量CT联合SHOX2、RASSF1A甲基化检查结果发现，三者联合诊断肺癌准确率可达97.78%，与手术病理学诊断结果一致性Kappa值可达0.951，具有较高诊断价值。报道显示^[20]，SHOX2基因为一种同源盒基因，可异常表达于肺癌、乳腺癌等肿瘤，具有调节骨骼、心脏、神经生长发育的作用。国外学者研究发现^[21]，SHOX2基因甲基化可作为为肺癌诊断标志物之一，且肺癌患者支气管灌洗液、外周血、痰液中均可检测出SHOX2基因甲基化。本研究与其结果基本一致。另有学者表明^[22]，SHOX2基因甲基化为肺癌患者预后的独立危险因素，随肺癌发生转移、侵袭，SHOX2基因甲基化水平逐渐升高，可反映病情进展。RASSF1A基因为参与细胞周期调控的重要抑制蛋白，可通过多种途径抑制细胞生长、促进细胞凋亡，与肿瘤进展过程密切相关^[23]。有学者表明^[24]，肺癌RASSF1A基因甲基化阳性率显著高于肺部良性结节患者，推测其原因在于，RASSF1A基因特异性甲基化可导致RASSF1A基因于肺癌中表达失活，致使RASSF1A蛋白无法参与细胞周期调控，促进肿瘤生长。因此，SHOX2、RASSF1A甲基化可用于早期肺癌评估诊断中。基于上述研究结果，本研究尝试采用ROC曲线分析低剂量CT、SHOX2、RASSF1甲基化对肺癌的诊断价值，发现三者联合诊断肺癌效能的AUC为0.983，与CEA、SCC、NSE、CYFRA21四种血清肿瘤标志物相近，进一步证实其对于早期肺癌的诊断价值。此外，本研究结果还发现，肺癌患者低剂量CT检出率、SHOX2及RASSF1A甲基化阳性率与肿瘤直径、临床分期、组织学分化均具有显著相关，提示临床可通过其初步评估肺癌进展程度，以制定相应治疗方案。

综上所述，低剂量CT联合SHOX2及RASSF1A甲基化对于早期肺癌具有较高诊断价值，为临床评估肺癌病情、早期制定干预方案提供参考，以改善预后。

参考文献

[1]Zhao Y,Liu Y,Li S,et al.Role of lung and gut microbiota on lung cancer pathogenesis[J].J Cancer Res Clin Oncol,2021,147(8):2177-2186.

[2]Oudkerk M,Liu S,Heuvelmans MA,et al.Lung cancer LDCT screening and mortality reduction – evidence,pitfalls and future perspectives[J].Nat Rev Clin Oncol,2021,18(3):135-151.

[3]Zhou F,Qiao M,Zhou C.The cutting-edge progress of immune-checkpoint blockade in lung cancer[J].Cell Mol Immunol,2021,18(2):279-293.

[4]Li MY,Liu LZ,Dong M.Progress on pivotal role and application of exosome in lung cancer carcinogenesis,diagnosis,therapy and prognosis[J].Mol Cancer,2021,20(1):22.

[5]Farsad M.FDG PET/CT in the Staging of Lung Cancer[J].Curr Radiopharm,2020,13(3):195-203.

[6]Xu P,Wang Y.Application of ¹⁸F-FDG PET/CT in evaluation of curative effect and prognosis for small cell lung cancer[J].J Central South Univ,2020,45(10):1255-1260.

[7]刘宇彪,周花玩,鞠上.祛瘀通络解毒方联合中药外治方对糖尿病足溃疡面局部组织活化素I型受体和人矮小同源盒基因2表达的影响[J].河北中医,2022,44(5):732-738.

[8]刘强,王帅,裴国田,等.矮小同源盒基因启动子区域甲基化诊断肺癌价值的meta分析[J].中国肺癌杂志,2021,24(7):490-496.

[9]Ettinger DS,Wood DE,Aisner DL,et al.2022,NCCN clinical practice guidelines in oncology[J].J Natl Compr Canc Netw,2022,20(5):497-530.

[10]Jasper K,Stiles B,McDonald F,et al.Practical management of oligometastatic non-small-cell lung cancer[J].J Clin Oncol,2022,40(6):635-641.

[11]Zhang L,Meng F,Zhong D.DNA damage repair system and antineoplastic agents in lung cancer[J].Chinese Journal of Lung Cancer,2022,25(6):434-442.

[12]Bhartia BS,Bradley SH,Callister ME,et al.Chest X-ray sensitivity and lung cancer outcomes:a retrospective observational study[J].Br J Gen Pract,2021,71(712):862-868.

[13]Bradley SH,Hatton NLF,Aslam R,et al.Estimating lung cancer risk from chest X-ray and symptoms:a prospective cohort study[J].Br J Gen Pract,2021,71(705):280-286.

[14]de Koning HJ,van der Aalst CM,de Jong PA,et al.Reduced lung-cancer mortality with volume CT screening in a randomized trial[J].N Engl J Med,2020,382(6):503-513.

[15]Nawa T.Low-dose CT screening for lung cancer reduced lung cancer mortality in Hitachi City[J].Int J Radiat Biol,2019,95(10):1441-1446.

[16]Dezube AR,Jaklitsch MT.New evidence supporting lung cancer screening with low dose CT & surgical implications[J].Eur J Surg Oncol,2020,46(6):982-990.

[17]Verschakelen JA.Reporting bronchiectasis in low-dose CT screening for lung cancer[J].Radiology,2022,304(2):448-449.

[18]Masago K,Fujita S,Oya Y,et al.Comparison between fluorimetry (qubit) and spectrophotometry (NanoDrop) in the quantification of DNA and RNA extracted from frozen and FFPE tissues from lung cancer patients:a real-world use of genomic tests[J].Medicina (Kaunas),2021,57(12):1375.

[19]Li N,Wang BX,Li J,et al.Periooperative circulating tumor DNA as a potential prognostic marker for operable stage I to IIIA non-small cell lung cancer[J].Cancer,2022,128(4):708-718.

[20]Li N,Zeng Y,Huang J.Signaling pathways and clinical application of RASSF1A and SHOX2 in lung cancer[J].J Cancer Res Clin Oncol,2020,146(6):1379-1393.

[21]Vo TTL,Nguyen TN,Nguyen TT,et al.SHOX2 methylation in Vietnamese patients with lung cancer[J].Mol Biol Rep,2022,49(5):3413-3421.

[22]Feng H,Shao W,Du L,et al.Detection of SHOX2 DNA methylation by methylation-specific PCR in non-small cell lung cancer[J].Transl Cancer Res,2020,9(10):6070-6077.

[23]张彤,王晓伟,吴俊秀,等.SHOX2和RASSF1A基因甲基化在非小细胞肺癌小活检样本临床病理诊断中的应用价值[J].诊断病理学杂志,2022,29(5):389-394.

[24]田祺,赵靖,刘菲菲,等.支气管肺泡灌洗液SHOX2和RASSF1A基因甲基化检测在临床肺癌早期诊断中的应用[J].中国老年学杂志,2020,40(17):3629-3632.

(收稿日期: 2023-07-06)
(校对编辑: 谢诗婷)