



结直肠肿瘤无创筛查技术的研究进展

曾瑶^{1,2}, 梁巧仪^{1,2*}

1. 香港中文大学医学院内科及药物治疗学系, 李嘉诚健康科学研究所, 香港 999077;

2. 香港中文大学深圳研究院, 深圳 518000

* 联系人, E-mail: JessieQY@cuhk.edu.hk

2023-12-30 收稿, 2024-04-22 修回, 2024-05-16 接受, 2024-06-12 网络版发表

国家自然科学基金(82372587)资助

摘要 结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是中国癌症相关死亡的第四大原因。结直肠肿瘤的早期诊断可以显著降低CRC发病率和死亡率。结肠镜下病理活检是目前诊断结直肠肿瘤的金标准, 该方法具有侵入性、需进行麻烦的术前肠道准备、费用较高, 导致患者依从性差。因此, 亟需开发结直肠肿瘤无创诊断方法来提高患者的依从性。本文对结直肠肿瘤无创诊断相关手段的研究进展进行了综述, 包括核酸标志物、循环肿瘤细胞和无细胞肿瘤DNA、粪便蛋白标志物、微生物标志物、代谢组学标志物以及影像学检查等诊断方式, 介绍其原理和检测准确性, 并讨论不同诊断方式的优势和局限性, 以及无创诊断标志物在结直肠肿瘤诊断中的未来发展趋势。

关键词 结直肠肿瘤, 无创筛查, 生物标志物, 影像学检查

根据最新的《中国癌症报告》, 结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是中国癌症相关死亡的第四大原因。不论男女, CRC发病率或病死率都位居前五, 并呈现逐年增长的趋势, 造成了巨大的社会负担。结直肠肿瘤主要包括CRC和结直肠腺瘤。结直肠腺瘤是CRC最主要的癌前疾病。大多数CRC起源于腺瘤性息肉, 以腺瘤——肿瘤的发展顺序进行恶化, 其发病机制复杂多样, 由多种遗传和环境因素协同作用。由于CRC是一个长期、缓慢的发展过程, 对CRC筛查可以及早发现癌前病变, 从而获得更多的治疗机会。一项北美大型社区人口调查发现: 2000~2015年, 筛查率的提高使得CRC年发病率下降25.5%, 死亡率下降52.4%^[1]。在我国, CRC在全部恶性肿瘤中的发病数量居第2位^[2]。截至2019年, 我国通过标准化内镜筛查惠及200万人, 通过筛查发现了3.2万例患者, 消化道肿瘤早期检出率和治愈率分别达到72.6%和83.4%^[3]。国内外数据均证实了早期诊断的重

要性。结肠镜下病理活检是结直肠肿瘤诊断的金标准, 但具有侵入性、麻烦的术前肠道准备及高昂的费用, 导致参与者对该检查方式的依从性远远低于无创诊断方式。利用粪便、血液及影像学检查等进行的无创诊断方式受到越来越多的关注。本文对于不同的非侵入性结直肠肿瘤筛查诊断方法进行了综述, 还进一步比较了它们的机制、准确性及局限性, 为它们在临床上的应用提供理论依据。

1 核酸标志物

结直肠肿瘤细胞及其异常高表达的分子标志物可以被分泌进入血液循环, 因此可以通过血液样本进行检测。在结直肠肿瘤进展过程中, 由于肠上皮细胞黏附性降低、肿瘤生长损伤邻近细胞等因素, 粪便中脱落细胞增加。这些脱落的细胞携带大量的重要遗传信息, 包括水平异常的分子标志物, 因此也可以利用粪便样

引用格式: 曾瑶, 梁巧仪. 结直肠肿瘤无创筛查技术的研究进展. 科学通报, 2024

Zeng Y, Liang Q Y. Advances in non-invasive screening tests for colorectal cancer and adenoma (in Chinese). Chin Sci Bull, 2024, doi: [10.1360/TB-2023-1359](https://doi.org/10.1360/TB-2023-1359)

本对结直肠肿瘤进行无创检测。核酸标志物异常情况包括microRNA(miRNA)表达异常、DNA甲基化异常以及基因突变。这些异常调控或突变在CRC发展中起重要作用,是诊断CRC的重要分子标志物,也可以用于CRC的预后评估。这里概述有望成为CRC筛查重要靶标的来源于肿瘤细胞的RNA和DNA标志物。

1.1 miRNA

miRNA是一类由约22个核苷酸组成的非编码单链小RNA,参与基因表达调控及多种生理生化过程。miRNA结构相对稳定,不易被RNA酶降解,很容易在体液中被检测到,因此是备受关注的一类生物标志物。CRC的发生发展与一些miRNA异常高表达密切相关,包括miR-21、miR-29a、miR-92a等。miR-21通过抑制PTEN信号通路促进CRC细胞增殖和侵袭^[4]。miR-29a通过靶向调节KLF4促进CRC细胞侵袭^[5]。miR-92a通过调节RECK-MMP信号通路促进CRC细胞侵袭和迁移^[6]。miR-92a作为血浆标志物,以及miR-92a和miR-21作为粪便标志物被第一次报道用于CRC无创诊断后,越来越多具有CRC诊断价值的miRNA被发现及验证。已获得我国药监局批准上市的“睿长太”粪便miRNA检测试剂盒,原理是基于粪便miR-92a水平对CRC进行诊断^[7-9]。目前已有许多在CRC中异常表达的miRNA被报道,然而一些预测性miRNA对某一类型的癌症特异性不高,而且大多数尚未经过原理验证和试点阶段的评估。表1总结了CRC病人血液和粪便样本中表达水平异常升高或者降低的miRNA相关信息,至少有两篇相关文献进行了交叉验证的miRNA才被归纳进来。

1.2 DNA甲基化标志物

表观遗传异常在恶性肿瘤中的病理生理作用引起了相当多的关注。DNA甲基化是表观遗传学中重要的调控机制,由DNA甲基转移酶催化甲基共价结合到嘧啶环的第5个碳原子上产生5-甲基-胞嘧啶,从而变成甲基化修饰的DNA。DNA异常甲基化始于CRC早期,包括DNA低甲基化和DNA高甲基化,共同参与CRC的发展。近年研究证实,抑癌基因的高甲基化具有CRC诊断潜力。不论是国外还是国内,已有基于DNA甲基化检测的商业化产品。例如由美国食品药品监督管理局批准上市的“Cologuard”是一种替代性粪便检测,原理是对粪便中*NDRG4*和*BMP3*超甲基化、*KRAS*突变、 β -肌动蛋白基因和免疫法粪便隐血检测(FIT)等进行多靶点检

测^[27,28]。与单项FIT相比,该产品对CRC和进展期腺瘤的特异性略低(96.4% vs 89.9%),但敏感性更高(分别为73.8% vs 92.3%; 23.8% vs 42.2%)^[27]。另一项美国食品药品监督管理局批准的血液测试“Epi proColon”,原理是通过聚合酶链反应检测抑癌基因*SEPT9*启动子区域甲基化水平,对CRC的敏感性为68.2%,特异性为80%^[29]。在我国,由国家食品药品监督管理局批准上市的粪便DNA肠癌检测产品“长安心”,原理是检测*SDC2*基因甲基化情况。国内最近发表的一项小样本研究称,*SDC2*基因甲基化检测CRC的敏感性和特异性均为93.3%^[30]。国内另一CRC无创诊断产品“艾长康”是联合检测*SDC2*和*TFPI2*基因甲基化情况,敏感性为95.31%,特异性为96.67%^[31]。在国内外相关研究以及在商业化试剂盒的开发过程中,相关工作者付出了诸多努力来提高筛查的准确性。但由于费用较高、成本效益较低等缺陷,推广应用于大规模CRC筛查仍然存在困难。

1.3 DNA突变

DNA突变引起的遗传性改变可导致原癌基因的突变激活以及抑癌基因的突变失活。CRC中常见的突变基因有*APC*、*KRAS*、*PIK3CA*、*DCC*、*SMAD4*和*TP53*等。抑癌基因*APC*功能丧失突变是CRC发生的早期事件之一,约85%的CRC存在*APC*突变。而癌基因*KRAS*突变广泛存在于CRC中,在早期和晚期CRC其突变率相似(40% vs 41%)^[32,33]。大部分*KRAS*突变导致*KRAS*蛋白结构性激活,持续刺激下游促进细胞增殖和存活的信号通路。基因突变导致的*APC*功能丢失和*KRAS*激活协同作用诱导CRC发生和耐药性^[34],增加治疗难度。已上市产品“Cologuard”就涉及对*KRAS*突变进行检测^[27]。CRC患者中其他基因的突变率通常较低,因此将基因突变作为诊断标志物理论上特异性高,敏感性低。当前大多数研究主要关注利用DNA突变(如*BRAF*、*KRAS*、*TP53*和*APC*突变)预测肿瘤转移^[35]、预后^[36]以及抗癌药物的应答等风险^[37]。

2 循环肿瘤细胞和无细胞肿瘤DNA

循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)是指脱离实体瘤原发灶进入外周血循环的肿瘤细胞。循环肿瘤细胞可以借由血液循环扩散至其他器官,是形成肿瘤远端转移的重要机制。循环肿瘤细胞与CRC临床分期有关,可用于CRC的诊断、预后以及个体化治疗方案的制定^[38]。CRC患者血液中循环肿瘤细胞显著高于

表 1 CRC病人血液及粪便中表达水平异常升高或者降低的miRNA^{a)}

Table 1 The dysregulation of miRNA in blood and feces of CRC patients

miRNA标志物	样本类型	CRC中异常情况	样本量(健康对照/CRC患者)	敏感性(%)	特异性(%)	AUC	定量方法	国家/区域	参考文献
miR-21	血清	上调	60(20/40) 80(40/40)	88.9 86.0	83.3 73.0	0.863 0.783	qRT-PCR qRT-PCR	中国 伊朗	[10] [11]
miR-92a和 miR-92a-1	血浆 血清	上调	900(379/521) 216(68/148)	76.0 81.8	64.0 95.6	0.772 0.914	qRT-PCR qRT-PCR	中国、西班牙、德国 中国	[12] [13]
miR-29a和miR-92a	血浆	上调	179(59/120)	83.0	84.7	0.883	qRT-PCR	中国	[14]
miR-92	血浆	上调	140(50/90)	89.0	70.0	—	qRT-PCR	中国	[15]
miR-1290	血清 血浆	上调	268(57/211) 110(30/80)	70.1 76.6	91.2 90.2	0.830 0.880	Microarray 和qRT-PCR qRT-PCR	日本 中国	[16] [17]
miR-20a	血清 血浆	上调	154 (24/130) 100 (50/50)	—	—	0.788 0.736	miScript miRNA PCR array qRT-PCR	埃及 中国	[18] [19]
miR-21和miR-92a	血清	上调	280 (80/200)	68.0	91.2	0.847	qRT-PCR	中国	[20]
miR-21、miR-29a、 miR-92a、miR-125b 和miR-223	血清	上调	178(78/100)	84.7	98.7	0.952	qRT-PCR	中国	[21]
miR-24、miR-320a 和miR-423-5p	血浆	下调	241(130/111)	90.7	70.8	0.941	qRT-PCR	中国	[22]
miR-223和miR-92a	血浆	上调	398(183/215)	75.8	70.5	0.780	qRT-PCR	中国	[7]
miR-21	粪便	上调	189(101/88) 80(40/40)	55.7 86.0	73.3 81.1	0.640 0.829	qRT-PCR qRT-PCR	中国 伊朗	[8] [11]
miR-92a	粪便	上调	58(29/29) 189(101/88)	89.7 71.6	51.7 73.3	0.760 0.780	qRT-PCR qRT-PCR	韩国 中国	[9] [8]
miR-144*	粪便	上调	58(29/29) 105(40/65)	78.6 74.3	66.7 87.2	0.770 0.829	qRT-PCR qRT-PCR	韩国 意大利	[9] [23]
miR-135b和miR-135b-5p	粪便	上调	213(109/104) 106(29/77)	78.0 96.5	68.0 74.1	0.790 0.870	qRT-PCR qRT-PCR	中国 中国	[24] [25]
miR-135b	粪便	上调	80(40/40)	92.2	87.7	0.919	qRT-PCR	伊朗	[26]
miR-223和miR-92a	粪便	上调	447(309/138)	71.7	79.9	0.810	qRT-PCR	中国	[7]

a) “—”为没有数据

健康受试者,当临界值设置为每3.2毫升血液样本中有2个循环肿瘤细胞时,该检测对CRC的敏感性和特异性分别为83.05%和100%^[39]。循环肿瘤细胞在外周血中分布极其稀少。虽然可以通过细胞表面的EpCAM为靶标用相应抗原富集浓缩,但由于循环肿瘤细胞自身的异质性、肿瘤转移过程中的上皮-间质转化引起的表面抗原丢失等原因,均会导致富集效率低。另一方面,CRC组织分化程度和个体化差异可能会影响循环肿瘤细胞计数值^[40]。肿瘤低分化的患者循环肿瘤细胞计数值一般更高^[41]。在CRC早期诊断中应用循环肿瘤细胞技术,还需要进一步开发CRC特异性循环肿瘤细胞

标志物和下游技术。

循环游离DNA(circulating free DNA, cfDNA),也称无细胞DNA,是细胞凋亡坏死后释放到血管中的游离DNA片段。健康人血浆和血清中循环的无细胞DNA主要来源于正常血细胞的死亡。癌症患者有一部分无细胞DNA是肿瘤衍生的,称为无细胞肿瘤DNA。无细胞肿瘤DNA包括同个肿瘤病灶多个区域或不同肿瘤病灶释放的DNA。癌症病人随着肿瘤分期的进展,血浆中无细胞肿瘤DNA含量上升,通过对样本进行实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)分析cfDNA含量可以评估肿瘤负荷情况^[42]。在三项使用CellMax仿生平台的研究中,循环肿

瘤细胞和无细胞肿瘤DNA显示出良好的诊断性能^[43-45], 该平台检测原理通过涂有模拟的细胞脂质双分子层生物芯片, 从血液样本中侦测到极为稀少的异常肿瘤细胞. 前两项研究的外周血样本中循环肿瘤细胞在癌前病变和CRC检测中的敏感性分别为76.6%~79%, 86.9%~95%, 特异性分别86%和97.3%^[43,44]. 第三项研究是检测循环胃肠道上皮细胞和无细胞肿瘤DNA. 该研究中中期结果显示对CRC和进展期腺瘤检测敏感性分别100%和80%, 特异性为90%^[45]. 最近也有研究利用受试者血浆中无细胞肿瘤DNA甲基化水平对健康对照与CRC患者进行区分^[46]. 无细胞肿瘤DNA不受肿瘤定位的影响, 但其结果可能存在个体差异^[47-49], 技术操作等因素(比如分离和纯化策略)也会影响诊断的准确性^[50].

3 粪便蛋白标志物

粪便蛋白标志物来源于CRC病变部位的出血以及脱落到粪便中的细胞尤其是肿瘤细胞, 包括血红蛋白、转铁蛋白、钙网蛋白、肿瘤细胞代谢酶等. 这些在CRC患者粪便中水平显著升高的蛋白标志物, 具有一定早诊价值. 目前针对这些蛋白标志物已开发出了粪便隐血测试、酶测试等诊断技术. 蛋白质组学也逐渐被应用于粪便蛋白标志物的研究与检测.

3.1 血红蛋白、转铁蛋白、钙网蛋白和乳铁蛋白

粪便隐血试验(FOBT)是CRC无创筛查的重要手段之一, 包括化学法愈创木酯检测(gFOBT)和免疫法粪便隐血检测(FIT). gFOBT是通过过氧化物酶活性检测血红蛋白的亚铁离子. 食物干扰(如摄取食物含有动物血液)、口腔破裂出血、消化道出血均会导致gFOBT呈假阳性. FIT利用血红蛋白中的球蛋白与抗体结合, 不受饮食、药物和粪便中其他成分干扰. 由于检测所需样本量更少, 患者对FIT的依从性更高. 另外, gFOBT的敏感度及特异度均较低, 已逐渐被FIT取代. 总的来说, FIT能定量检测粪便中的血红蛋白, 其全自动操作模式输出数值化结果, 客观反映消化道出血程度, 适用于大样本量人群普查, 已作为非侵入性手段被最广泛地应用在CRC筛查及诊断中.

除了血红蛋白外, 还有其他粪便蛋白也可用于CRC筛查, 但相关研究成果不多. 转铁蛋白由嗜酸性颗粒释放, 存在于血液中, 负责与铁结合并将铁输送到全身. 健康状态下, 胃肠道中几乎不存在转铁蛋白, 当胃肠道出血粪便中就会出现大量转铁蛋白. 临床上常联

合检测血红蛋白和转铁蛋白, 以提高CRC的诊断准确性^[51]. 但在炎症、创伤、感染等各种以炎性反应为主的疾病中, 转铁蛋白含量下降, 可能会导致转铁蛋白试验检测出现假阴性. 钙网蛋白是一种可溶性蛋白, 主要定位于内质网, 参与免疫逃逸. 它由白细胞、中性粒细胞所释放, 可作为胃肠道炎症的生物标志物. 尽管炎症参与了与肿瘤进展, 对于CRC的诊断, 钙网蛋白的有效性无论是单独测量还是联合其他标志物, 尚未获得定论^[52]. 乳铁蛋白是一种非血红素铁结合糖蛋白, 是哺乳动物宿主防御第一线的重要组成部分, 也是重要的炎症标志物. 大肠癌病变组织周围一般有大量的炎症细胞浸润, 能引起乳铁蛋白高表达, 该蛋白又能够跟随炎症细胞漏至肠腔, 进一步在粪便中检测到. 虽然一些研究发现粪便乳铁蛋白有助于检测CRC^[52], 也有其他研究持相反结论^[53].

3.2 粪便中肿瘤丙酮酸激酶同工酶M2 (M2-PK)

M2-PK是糖酵解酶, 有4种同工酶, 在肿瘤细胞糖代谢及生长中发挥重要作用. M2-PK在肿瘤组织中以与磷酸化丙酮酸低亲和力的二聚体形式优先表达, 能促进肿瘤细胞侵袭和转移. 在CRC和腺瘤患者中, M2-PK可以从肿瘤细胞释放到血液或者粪便中. 多项研究表明粪便M2-PK对CRC有一定诊断潜力, 其敏感性为73%~92.8%, 特异性为83.3%~95.2%^[54-57]. 在腺瘤检测方面, M2-PK对直径小于1 cm的腺瘤检出率为25%±5%; 而对直径大于1 cm的腺瘤, M2-PK检出率为47%±24%, 均高于gFOBT^[57]. 但该测试的特异性比gFOBT略低(86.7% vs 92.2%), 增加的假阳性结果会增加后续更多结肠镜检查需求. 最近发表的一项小样本研究中, 血清M2-PK、血清癌胚抗原检测(CEA)和糖类抗原19-9 (CA19-9)三者联合检测CRC的敏感度为90%^[58]. 由于息肉、腺瘤、CRC中均可检测到M2-PK, 它也可以应用在非出血性肿瘤和腺瘤中^[57]. 然而这个测试也存在缺陷, 譬如炎症性肠病患者的M2-PK水平也异常升高^[57], 因此特异性较差.

3.3 基于蛋白质组学鉴定的CRC粪便差异蛋白标志物

一项基于蛋白质组学进行的多中心研究在CRC患者粪便中筛选出了多个差异蛋白, 构建了用于CRC早筛的组合^[59]. 该组合包括67个差异蛋白可以用于CRC诊断, 其中有16个免疫相关蛋白与致病菌丰度呈正相

关。另一项基于蛋白质组学的国内研究鉴定出CRC相关粪便差异蛋白MMP-9、RBP4、CHI3L1和C3a, 并进一步利用Luminex技术验证了它们在CRC和腺瘤组患者粪便中的水平显著高于正常组, 该组合诊断CRC敏感性为91.4%, 特异度为100.0%, 诊断腺瘤的敏感度为81.0%, 特异度为89.5%, 联合诊断CRC和腺瘤的敏感度为83.9%, 特异度为97.4%^[60]。然而, 该研究也提到CRC患者粪便中蛋白的差异水平存在地域和种族差异。当前已有研究验证了粪便蛋白标志物在CRC筛查中的应用, 但是所检测人群队列来自中国、美国、荷兰等国家, 均存在地域、饮食习惯和种族的差异^[60-62], 因此尚需扩大样本数量及进行多中心验证。

4 微生物标志物

4.1 粪便宏基因组标志物

随着国内外研究的深入, 肠道微生物菌群通过多种机制影响CRC的发生。粪便菌群结构的改变与CRC发病率的提升显著相关^[63]。然而, 超过三分之二的粪便细菌不能通过实验室常规技术培养。越来越多研究使用基于DNA测序和统计学工具的宏基因组学分析方法来确定各类微生物丰度与疾病之间的关系。已有大量临床研究报道了CRC患者肠道微生物群失衡, 为肠道微生物作为非侵入性CRC诊断和预后工具奠定了基础。一项中国队列研究发现健康受试者和CRC患者的粪便宏基因组存在差异并鉴定出多个有望用于诊断CRC的微生物标志物^[64]。通过使用不同的注释方法, 17个微生物基因组(integrated microbial genome, IMG)物种、7个种水平的分子操作分类单位(species-level molecular operational taxonomic units, mOTUs)和27个宏基因组连锁群(metagenomic linkage group, MLG)在CRC中具有较好的诊断作用, 受试者工作特征曲线下面积(AUROC, 有时也简称AUC)分别为0.86、0.89和0.96。该研究还进一步发现了一组20个微生物基因标志物能将CRC与健康对照区分开来。通过丹麦、法国和奥地利队列研究又进一步筛选出了4个可以区分CRC患者和健康对照组的微生物标志物组合, 在3个地区的AUC分别为0.71、0.72和0.77^[64]。一项西班牙队列研究发现了16个细菌属能够区分健康对照和CRC患者, 中位数AUROC为0.887。但这些标志物在区分进展期腺瘤和健康对照方面表现不佳^[65]。另一项研究报告了类似的结果, 使用16种细菌对CRC交叉验证, 大多数数据集的AUC大

于0.8, 进一步使用64个基因家族丰度水平预测得到的AUC高于0.8^[66]。一项Meta分析对CRC粪便宏基因组以及同源基因丰度进行了鉴定分析, AUC最低为0.8^[67], 表明微生物信号是普遍的, 可以克服技术和地理差异。总的来说, 基于宏基因组学发现的标志物采用宏基因组技术对CRC具有很高的预测价值。然而, 这些标志物区分腺瘤患者和健康受试者的能力有限。

4.2 粪便细菌标志物

基于宏基因组研究发现的CRC及腺瘤中丰度异常的细菌可作为CRC早期诊断的潜在生物标志物, 针对这些细菌标志物开发靶向定量的技术, 有望将这些新标志物应用于CRC无创诊断。我们在此对目前研究较多的细菌进行了讨论。

4.2.1 具核梭杆菌

具核梭杆菌是起源于口腔内的厌氧共生菌, 通过招募肿瘤浸润性免疫细胞产生促炎微环境促进CRC发展^[68], 还能利用分泌的FadA黏附素激活 β -catenin信号传导^[69]。2019年《肠道微生态与大肠癌相关性研究专家共识意见》认同具核梭杆菌与CRC的发生发展存在相关性^[70]。具核梭杆菌在CRC患者粪便样本和原发肿瘤组织中高度富集^[71,72]。其在组织中的丰度与肿瘤的总生存时间显著相关, 这种趋势在IV期CRC患者中更明显^[73]。利用粪便中具核梭杆菌的水平区分CRC患者与健康对照组, 敏感度为72.1%~77.7%, 特异度为79.5%~91.0%^[71,74]。当具核梭杆菌与拟杆菌、梭状芽孢杆菌、细菌标志物m7及FIT进行合并, 该组合检测敏感度增加至92.8%, 特异性为81.5%^[74]。具核梭杆菌与双歧杆菌属的比例可作为CRC筛查的生物标志物, 敏感性为84.6%, 特异性为92.3%^[75]。该比值在敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值等方面均优于单独使用具核梭杆菌^[75]。

4.2.2 一个新的细菌标志物m3

通过宏基因组测序, 本团队在粪便样本中鉴定了一个新的细菌m3^[76]。经过大样本验证, 发现细菌m3在结直肠腺瘤和CRC患者粪便中丰度显著高于健康对照, 且呈逐渐上升趋势^[76]。该细菌m3的特异DNA序列与*Lachnospirillum* sp. YL32的基因组某一区域序列相似度为97%。然而同一队列中m3和*Lachnospirillum* sp. YL32丰度存在明显差异。因此携带m3基因的细菌物种可能是与*Lachnospirillum* sp. YL32接近的新物种^[76], 其确切的物种及其在CRC发生中的作用有待进

一步研究. 在腺瘤检测方面, 单独使用 *m3* 优于 FIT 和其他细菌标志物, *m3* 的敏感性为 48.0%, 而 FIT 或“具核梭杆菌、梭状芽胞杆菌和拟杆菌”组合的腺瘤敏感性分别为 9.3% 或 42.2%^[76]. 当 *m3* 与具核梭杆菌、梭状芽胞杆菌、拟杆菌及 FIT 联合使用时, 该组合检测 CRC 和进展期腺瘤的敏感度分别提高为 90.9% 和 48.5%^[76]. *m3* 与具核梭杆菌、梭状芽胞杆菌、拟杆菌及 FIT 的组合在检测无症状非进展期腺瘤方面也明显优于 FIT (41.9% vs 0%)^[77]. 此外, *m3* 还被进一步证实能用于诊断腺瘤复发^[78]. *m3*、具核梭杆菌和梭状芽胞杆菌的组合在检测腺瘤复发的 AUROC 为 0.74 (95%CI: 0.65~0.82), 敏感性为 81.3%, 特异性为 55.4%, 明显高于 FIT 检测复发性腺瘤的敏感性 (8.3%). *m3* 作为细菌标志物, 其变化趋势应该在不同生活方式和饮食习惯的人群中保持稳定. 因此需要大规模的、前瞻性的、多种族研究来证实 *m3* 在非侵入性 CRC 诊断中的普遍应用. *m3* 连同具核梭杆菌、梭状芽胞杆菌、拟杆菌及 FIT 的组合显示出比单独使用 FIT 更好的诊断敏感性, 有较高的诊断准确率. 该细菌标志物组合的靶向定量检测方法基于 qPCR 技术, 具有检测难度低, 成本效益高等优势, 有望在临床中推广.

4.2.3 pks+大肠杆菌

一类大肠杆菌的菌株基因组中含有产生遗传毒素聚酮合酶“pks”的基因岛序列(被称为 pks+大肠杆菌), 会合成大肠杆菌素(colibactin). 大肠杆菌素是一种能损伤 DNA 的毒素, 诱导 DNA 双链在富含 AT 的六聚体序列基序处断裂, 通过 DNA 突变损伤导致 CRC 发生. 研究发现, pks+大肠杆菌在 CRC 患者的粪便中丰度显著升高. 通过 qPCR 检测遗传毒素合成有关的基因 *clbA*, 敏感性为 56.4%, 特异性为 81.5%. 当与具核梭杆菌联合使用时, 这两个细菌标志物检测 CRC 的敏感性为 84.6%, 特异性为 63.1%^[79]. 当 pks+大肠杆菌、具核梭杆菌、血清癌胚抗原检测、糖类抗原、gFOBT 联合检测 CRC 时, AUC 为 0.887, 敏感性为 75%, 特异性为 98.1%^[80].

4.2.4 微小微单胞菌、消化链球菌及产肠毒素脆弱拟杆菌

微小微单胞菌、消化链球菌及产肠毒素脆弱拟杆菌均为来源于口腔的病原体, 在 CRC 患者粪便中丰度升高, 表明 CRC 的发生可能与微生物群的口腔-肠道易位途径有关. 来自具核梭杆菌的丁基辅酶 A 脱氢酶基因和来自微小微单胞菌的 *rpoB* 基因在 II 期 CRC 患者中丰

度明显升高. 当对这两个基因进行合并检测, 可以准确区分出 CRC 样本, AUC 高达 0.84^[64]. 此外, 微小微单胞菌、消化链球菌及脆弱拟杆菌可以诊断横向扩散的结肠直肠癌肿瘤(一种大于等于 10 mm 的浅表病变, 沿结肠壁横向延伸), 敏感性为 88.7%, 特异性为 81.4%^[81]. 肠道组织及粪便中产肠毒素脆弱拟杆菌的存在与 CRC 显著相关. 产肠毒素脆弱拟杆菌及其分泌的脆弱拟杆菌毒素(BFT)可以通过调节黏膜免疫应答和诱导上皮细胞改变而参与 CRC 的发生发展. 脆弱拟杆菌毒素能导致上皮细胞钙黏蛋白降解, 触发细胞核 Wnt/ β -catenin 信号传导, 增加原癌基因表达^[82].

4.2.5 牙龈卟啉单胞菌

牙龈卟啉单胞菌是牙周病最主要的致病菌. 牙龈卟啉单胞菌可以与具核梭杆菌协同感染并影响口腔鳞状细胞癌 KB 细胞的细胞周期, 促进 IL-6 及 IL-8 等炎症因子的分泌^[83]. 其致病作用不仅在口腔, 也存在于消化系统. 一组包括牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的 34 个扩增子序列变体, 在合并患者年龄、性别和体重指数(BMI)后, 可用于区分 CRC 患者和健康对照, 其 AUC 为 0.93^[84]. 另一项研究也证实牙龈卟啉单胞菌是 7 种在 CRC 粪便中水平显著升高的细菌之一, 其余细菌分别是脆弱拟杆菌、具核梭杆菌、微小微单胞菌、中间普氏菌、芬氏别样杆菌和嗜热微生物弧菌, 该组合区分 CRC 与对照组 AUC 达到 0.80^[85].

4.2.6 共生梭菌

共生梭菌在腺瘤、早期 CRC、晚期 CRC 患者中相对丰度都高于健康对照, 且逐渐上升^[86]. 该细菌在 CRC 检测中敏感性为 73%, 进展期腺瘤检测的敏感性为 37%~58%, 早期 CRC 检测的敏感性为 50%~56%. 该细菌结合其他细菌和现有的 CRC 筛查测试可以提高诊断性能. 当合并共生梭菌、具核梭杆菌、血清癌胚抗原检测和 FIT, 该组合诊断 CRC 的 AUC 为 0.886, 高于单项检测^[86]. 也有其他研究陆续证实共生梭菌在 CRC 患者粪便样本中丰富显著升高^[66,67].

4.2.7 厌氧消化链球菌

厌氧消化链球菌可以改变肠道上皮细胞的多种信号通路, 促进肠道上皮细胞癌变. 厌氧消化链球菌的一种表面蛋白, 假定细胞壁结合重复 2(PCWBR2), 能与受体整合素 $\alpha 2/\beta 1$ 相互作用, 进一步增加细胞增殖并激活 PI3K-Akt 和核因子 κB (NF- κB) 通路诱导炎症反应^[87]. 研究证实 CRC 患者厌氧消化链球菌高于与对照组, CRC 诊断模型 AUC 为 0.72, 略低于具核梭杆菌的

0.83和微小微单胞菌的0.73^[71]。它在进展期瘤患者和健康对照组之间没有显著丰度差异，在腺瘤进展期检测方面的潜力有限^[71]。本文对CRC诊断相关微生物标志物进行了总结(表2)。

5 粪便代谢组学标志物

细菌代谢物可以通过细菌分泌直接作用于肠道上

皮。这些代谢物可以改变肠道黏液层、上皮细胞层结构与组成，参与肠道稳态的建立。肠道微生物群落及分泌的代谢物引起的生态失调在进展期腺瘤和CRC的发生和进展中起着重要作用。有研究通过粪便代谢组学分析揭示了CRC患者和健康对照的肠道代谢物显著不同，其中1,5-戊二胺和丁二胺能用于鉴定CRC，其AUC分别为0.77和0.67^[88]。另一项研究则证实了一组11种代

表 2 CRC 诊断相关的微生物标志物

Table 2 CRC diagnosis-related microbial markers

微生物标志物	样本量 (健康/CRC)	敏感性(%)	特异性(%)	AUC	定量方法	国家/区域	参考文献
17个微生物基因组物种、7个种水平的分子操作分类单位和27个宏基因组连锁群	128 (54/74)	—	—	0.860 0.890 0.960	宏基因组测序	中国	[64]
具核梭杆菌的丁基辅酶A脱氢酶基因、微小单胞菌的 <i>rpoB</i> 基因	156 (109/47)	—	—	0.84	qPCR	中国香港	[64]
16个细菌属	166 (77/89)	—	—	0.887	16S rDNA 测序	西班牙	[65]
粪便宏基因组以及同源基因丰度	778 (392/386)	—	—	>0.8	宏基因组测序	法国、奥地利、中国、美国、德国	[67]
16种细菌和64个基因家族	826 (413/413)	—	—	>0.8	宏基因组测序	法国、中国、奥地利、美国、加拿大、意大利	[66]
消化链球菌	206 (102/104)	—	—	0.720	qRT-PCR	中国香港	[71]
具核梭杆菌	206 (102/104) 370 (200/170)	72.1 77.7	91 79.5	0.830 0.868	qRT- PCR qPCR	中国香港	[71,74]
核梭杆菌、梭状芽孢杆菌和拟杆菌与未分类细菌 <i>m7</i> (联合 FIT)	669 (355/314)	92.8	81.5	—	qPCR	中国	[74]
具核梭杆菌与双歧杆菌的比例	625 (258/367)	84.6	92.3	0.911	qRT-PCR	中国	[75]
细菌标志物 <i>m3</i>	659 (385/274)	62.1	78.5	0.741	qPCR	亚洲	[76]
细菌标志物组合(<i>m3</i> 与具核梭杆菌、梭状芽孢杆菌和拟杆菌)	659 (385/274)	85.2	80.2	0.907	qPCR	亚洲	[76]
pks+大肠杆菌、具核梭杆菌	104 (65/39)	84.6	63.1	—	qPCR	瑞士	[79]
pks+大肠杆菌、具核梭杆菌(联合血清癌胚抗原、糖类抗原、gFOBT检测)	102(42/60)	75.0	98.1	0.887	qPCR	中国	[80]
微小微单胞菌、消化链球菌及脆弱拟杆菌	267 (113/154)	88.7	81.4	0.922	qPCR	中国	[81]
34个扩增子序列变异 (联合年龄、性别、BMI)	558 (252/306)	—	—	0.930	16S rDNA 测序	中国、美国、法国、加拿大	[84]
共生梭菌	569 (242/327)	73	—	—	qPCR	中国	[86]
卟啉单胞菌、脆弱拟杆菌、具核梭杆菌、微小微单胞菌、中间普氏菌、芬氏别样杆菌和嗜热微生物弧菌	526 (271/255)	—	—	0.800	宏基因组测序	中国、澳大利亚、美国、德国、法国	[85]
共生梭菌、具核梭杆菌(联合FIT和血清癌胚抗原检测)	569 (242/327)	—	—	0.876	qPCR	中国、美国、法国、加拿大	[86]

a) “—”为无数据

代谢物组合(三丁酰甘油、苯巴比妥、维生素 E 衍生物、 γ -生育酚等)能对CRC患者和健康对照进行区分, AUC为0.77^[89]。另一项临床队列研究利用粪便代谢组学和宏基因组学对CRC患者、腺瘤患者、健康对照这三类人群的肠道代谢物组学进行分区, 证实它们存在明显组间差异^[90]。其中从健康组到腺瘤组, 正缬氨酸和肉豆蔻酸呈上升趋势。CRC相关代谢物富集于支链氨基酸、芳香氨基酸和氨基酰基tRNA生物合成途径。该研究发现了一组20种代谢物标志物的组合(2-羟基丁酸、3-氨基异丁酸、 α -亚麻酸、丁酸等)能对健康人群和CRC患者进行区分, 其AUC达0.8, 它们区分CRC和腺瘤的AUC为0.79。

合并细菌与代谢物能显著提高诊断性能。前述来自中国的临床队列研究^[90]进一步合并肠道细菌标志物(具核梭杆菌、厌氧消化链球菌、微小单胞菌、罗氏菌、侵蚀艾肯菌和穿孔黄单胞菌)以后, 增加了对CRC和腺瘤的诊断潜力(CRC vs 健康对照, AUC: 0.94; CRC vs 腺瘤, AUC 0.92; 腺瘤 vs 健康对照, AUC: 0.86)。也有研究证实, 当拟杆菌属与醋酸、丁酸及两种共轭亚油酸(t10和c12-CLA)合并以后, 区分腺瘤组和正常对照的AUC为0.7~0.9^[91]。综上所述, 代谢组学和菌群变化的联合分析揭示了CRC不同阶段代谢物和细菌之间的关联变化, 可以单独或者联合使用作为CRC不同发展阶段无创诊断标志物。

6 影像学检查

6.1 仿真结肠镜检查

仿真结肠镜检查一种侵入性较低的大肠癌筛查方法。该方法模拟传统结肠镜检查的成像技术, 通过使用CT扫描的计算机程序产生人体结肠内部的二维或三维图像。其诊断性能与目前用于结直肠肿瘤检测的金标准——肠镜下病理学活检相当。仿真结肠镜检查对直径大于10、8、6 mm的腺瘤性息肉的敏感性分别为93.8%、93.9%及88.7%, 而光学结肠镜检查对这三类的敏感性分别为87.5%、91.5%和92.3%^[92]。另一研究结果类似, 该研究证实仿真结肠镜检查对大小在6~9 mm的息肉的敏感性为70%, 对大于9 mm的息肉的敏感性为85%^[93]。由于仿真结肠镜检查是一种侵入性较低的方式, 无须镇静, 潜在的严重不良事件的发生率很低, 容易被有其他并发症(如有心血管疾病、糖尿病、中风史等)的中老年群体所接受。与光学结肠镜检查相

比, 仿真结肠镜检查具有多方向检测的优点, 检查时盲点较少降低了息肉的漏诊率^[92]。

6.2 结肠胶囊内窥镜检查

结肠胶囊内窥镜检查是一种可以记录胃肠道内部图像的一种医学诊断的方式。受试者吞下一个药丸大小的摄像机, 就能进行胃肠镜检查, 比普通胃肠镜轻松许多。结肠胶囊内窥镜检查是一种准确性较高的CRC无创筛查方法。第二代结肠胶囊检测大于6 mm息肉的敏感性为79%~86%, 特异性为88.1%~97%。而对大于10 mm的息肉, 敏感性为80%~88%, 特异性为95.3%~99%^[94~96]。结肠胶囊内窥镜检查程序相对安全, 无须镇静。患者可以在进行大肠评估的同时继续进行大多数的日常活动。它可以作为不能接受肠镜或做过不完全肠镜人群的替代选择。但该检查成本高、缺乏切除病变组织的能力限制了其大范围推广。人工智能技术(artificial intelligence, AI)在消化内镜领域的研究也是成年的热点。由于胶囊内窥镜视频结果读取比较耗时, 存在一定出错率, 人工智能技术辅助胶囊内窥镜进行检测可以提高诊断成效。联合应用可以提高对多个病灶同出现的检测敏感性^[97], 这一领域相关数据不多, 仍处于临床前研究阶段。

7 不同筛查方式的局限性

目前已广泛应用于临床的CRC诊断方式, 如结肠镜检查 and FIT, 仍有其局限性。结肠镜下病理活检是结直肠肿瘤筛查的金标准, 但它是入侵性检查, 需要繁复的肠道准备, 对操作医师的技术水平要求较高, 有些地区预约等候期较长(从数周到数月), 单次检查费用较高。由于恐惧和各种感性因素, 很大一部分筛查参与者不愿接受肠镜检查。在资源有限的情况下, FIT是CRC筛查的主要替代选择。然而, FIT对CRC敏感性并不能令人满意, 不同国家的研究结果差异很大, 且对腺瘤不敏感^[98]。研究表明缺铁性贫血患者的FIT结果可能为假阴性, 而具有地中海贫血特征的患者由于FIT免疫分析不能检测到其球蛋白变异, 其结果也可能是假阴性^[99,100]。患有这些疾病的高风险病人可能因此漏诊, 直到出现更严重的晚期症状才被发现。此外, 急性腹泻期也不推荐进行FIT^[100]。

新开发的CRC无创诊断方式虽已有大量文献支持其临床转化潜力, 仍有一些不足尚需进一步解决。对于miRNA标志物, 一些预测性miRNA对某一类型的癌症

特异性不高,而且大多数还没有经过原理验证和试点阶段的评估。另外,并非所有的miRNA标志物都在不同研究中进行过交叉验证。传统的miRNA检测方法有qPCR、微阵列和二代测序,但没有一种方法是完全理想的临床应用。基于DNA甲基化标志物多靶点检测商品的“Cologuard”,对进展期腺瘤的敏感性较低,不适合筛查癌前病变^[100]。另一个基于表观遗传学检测的商品“Epi proColon”(检测SEPT9甲基化水平)对进展期腺瘤的检测率仅为11.2%^[101]。从成本角度,目前已上市的基于粪便检测的无创CRC诊断试剂盒,费用总体偏高,成本效益低,比较难在我国广泛推广用于CRC大样本量筛查。CRC患者中特定基因的突变率通常较低,基因突变的检测结果表现为特异性高,敏感性低。循环肿瘤细胞的稀有性、异质性以及富集技术的局限性限制了其作为一种新的生物标志物被广泛接受和应用。无细胞肿瘤DNA不受肿瘤定位的影响,但可能受年龄、性别、BMI、慢性疾病、CRC分期等的影响^[47-49]。尽管无细胞肿瘤DNA分离和纯化策略取得了进展,但在纯化步骤中仍有大量无细胞肿瘤DNA丢失从而影响结果准确性^[50]。粪便蛋白标志物相关研究成果有限,有研究持相反结论^[53,102-104],对早期病变检测敏感性和特异性较低^[57,105],蛋白的差异水平存在地域和种族差异^[60]。目前缺乏足够的证据支持粪便蛋白标志物用于CRC无创诊断。

基于肠道微生物菌群开发的无创诊断模型,由于其采样无创无痛而易于被接受。粪便微生物宏基因组分析主要通过DNA测序与统计学分析进行的。该方法涉及的实验流程比较复杂,生信分析工作量大。不同的DNA提取方法和不同生信分析流程(bioinformatics pipeline)会导致结果差异。例如不同品牌DNA提取试剂盒的提取效率存在差异(主要为粪便DNA的提取质量和产量)。宏基因组生信分析流程通常是用mOTU-v2进行,而对于低丰度种属(小于总丰度0.5%)是否需要联合使用DADA2 pipeline产生更高质量的结果也是重点考虑之一^[106]。人群种族、居住地理位置、饮食习惯的差异、药物服用史等原因可能影响肠道微生物菌群组成,从而影响下游分析。使用粪便细菌标志物组合比使用单一细菌标志物具有更高的区分性能,并且对CRC和腺瘤检测敏感度高^[76]。为了将来的推广普及,细菌标志物变化趋势应该在不同生活方式和饮食习惯的人群中保持稳定。因此需要大规模的、前瞻性的、多种族研究来证实它们在非侵入性CRC诊断中的普遍应用。粪便差异代谢物在CRC临床诊断中具有重要的应用潜力,

但由于其研究的新颖性,尚缺乏多中心验证。受试者生活史影响肠道微生物菌群及其代谢物组成,从而影响下游分析。

影像学检查方面,仿真结肠镜检查需要大量的肠道准备。由于它只能对大肠进行非治疗性评估,如检测到不良结果仍需肠镜下检查进行息肉切除术。因此选择仿真结肠镜检查的病人仍然有可能需要再进行肠镜检查。该测试结果很大程度上取决于操作人员的技术和经验。主要由增生性息肉组成的扁平病变在仿真结肠镜检查中比较难发现^[107]。另一方面,仿真结肠镜检查是一种涉及使用辐射的检查技术。可能增加的癌症风险限制了它作为定期筛查的长期使用。结肠胶囊内窥镜检查主要局限性在于它检测锯齿状病变的性能不确定。一项利用结肠胶囊内窥镜检查的大样本量研究统计发现26%的息肉患者(大于6 mm的无梗锯齿状息肉)没能被检测到^[94]。与结肠镜检查相比,结肠胶囊内窥镜检查成本高,肠道准备更加严格,且肠道准备不合格无法通过冲洗来修复。由于结肠胶囊内窥镜检查没有治疗功能,结肠胶囊内窥镜检查后仍可能需结肠镜检查进行息肉切除术,还需要泻药促进胶囊的排泄。人工智能辅助胶囊结肠镜检查由于其技术新颖性和特殊性,采集图形质量标准不统一等原因,尚处于临床前研发阶段,缺乏前瞻性、多中心、大样本量的研究数据。

8 结直肠肿瘤无创诊断技术展望

从腺瘤到恶性肿瘤的发展大约10年时间。CRC筛查可以发现癌前息肉或者腺瘤,并通过息肉切除术来预防向CRC的恶性发展。CRC的早期诊断能提高疾病预后,降低已有疾病症状出现后才诊断出CRC的死亡率。目前,结肠镜下病理活检仍是结直肠肿瘤诊断的金标准,而其侵入性、麻烦的肠道准备等原因阻碍了患者的参与。使用非侵入性筛查方法可以辅助发现患CRC或癌前病变风险高的患者,进一步对结肠镜检查的患者进行风险分层,提高参与者依从性,从而提高CRC及癌前病变的检出率^[76]。利用粪便、血液等样本进行无创CRC筛查和诊断的方法众多(图1),有些已应用于临床,如FIT、粪便细菌检测、多靶点测试、SEPT9甲基化水平测试、仿真结肠镜检查 and 结肠胶囊内窥镜检查。目前应用最广泛的无创CRC筛查是FIT。其他癌症不同,粪便是一种CRC筛查的良好手段。随着恶性或癌前结肠细胞不断进入管腔,来自宿主细胞的生物标志物(如miRNA、甲基化DNA标志物、突变

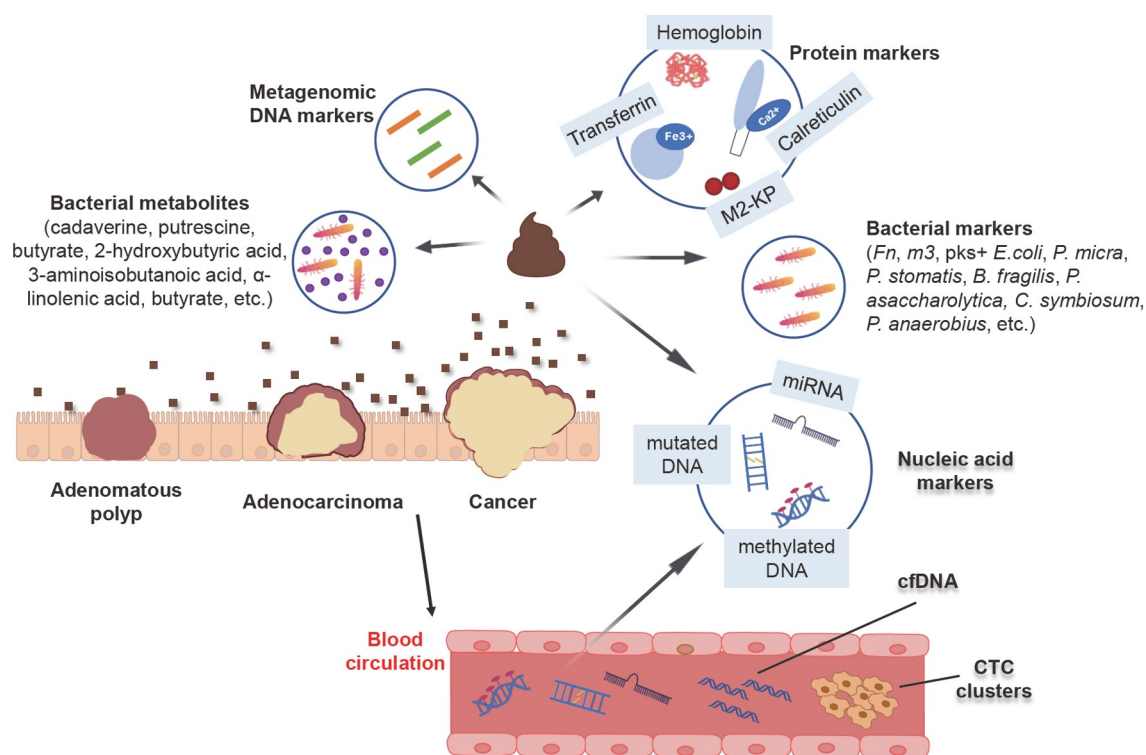


图 1 (网络版彩色) CRC中无创诊断标志物的来源及类型. 标志物主要来源于血液和粪便样本. 核酸标志物来自脱落的肿瘤细胞, 通过体内循环可以在血液或者粪便样本中进行检测. 血液标志物还包括无细胞肿瘤DNA和循环肿瘤细胞. 粪便蛋白标志物来源于宿主细胞或肠道出血, 包括血红蛋白、铁转蛋白、钙网蛋白和丙酮酸激酶同工酶M2. 其他粪便标志物包括宏基因组标志物、细菌标志物以及代谢组学标志物

Figure 1 (Color online) The sources and types of non-invasive diagnostic markers for CRC. The sources of the markers mainly include blood and fecal samples. Nucleic acid markers from exfoliative tumor cells could be detected in both blood and fecal samples. Blood markers also include cell-free DNA and circulating tumor cells. Fecal protein markers originate from host cells or bleeding, such as hemoglobin, transferrin, calreticulin, and M2-PK. Other fecal markers include metagenomic DNA markers, bacterial markers and bacterial metabolites

DNA和蛋白质)可以在粪便中检测到. 肠道微生物菌群和某些粪便细菌标志物在结直肠癌无创诊断中的价值已被证实. 最新研究表明细菌生物标志物具有较高的诊断准确率, 显示出比FIT更好的诊断敏感性. 粪便细菌标志物的定量是基于qPCR技术对单个或多个菌种或基因标志物进行靶向检测, 具有检测难度低, 成本效益高等优势, 更适用于临床推广. 虽然市场上已经有了基于血液进行检测的商业化试剂盒, 从取样的便利性、检测技术难度、诊断的准确性、成本效益等方面来看, 基于粪便细菌标志物的检查更有希望应用于CRC筛查和早期诊断. 此外, 口腔中丰度异常的细菌可以作为CRC检测的生物标志物. 口腔微生物菌群对CRC和息肉的敏感性和特异性在多项研究中被证实^[108,109]. 口腔取样简单方便, 更有利于提高患者依从性, 如未来有更多的多中心、大样本研究证实其有效

性, 是非常有前景的CRC早期无创诊断方法. 此外, 已有研究验证了其他类型标志物, 如长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA)以及免疫标志物, 在CRC诊断和预后中的重要价值. 组织中的lncRNA(如UICLM, MIR17HG, Lnc34a)的水平在CRC不同阶段存在显著差异, 是一类有潜力的CRC诊断标志物^[110]. CRC中免疫标志物的相关研究较多集中在预后预测等方面^[111]. 近期有一项研究证实泛素化基因DZIP3与免疫系统的细胞组分改变相关, 可以作为CRC早期预测的标志物^[112]. 当前与CRC诊断相关的lncRNAs和免疫标志物研究有限, 尚需要系统性的研究来验证lncRNAs和免疫标志物在癌症中的分子机制, 以确定它们用于CRC筛查和诊断的价值. 随着对结直肠癌领域无创诊断标志物相关研究的深入, 基于无创诊断标志物的方法在临床实践中将具有广阔的转化前景.

参考文献

- 1 Levin T R, Corley D A, Jensen C D, et al. Effects of organized colorectal cancer screening on cancer incidence and mortality in a large community-based population. *Gastroenterology*, 2018, 155: 1383–1391.e5
- 2 Zheng R, Zhang S, Zeng H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016. *J Natl Cancer Center*, 2022, 2: 1–9
- 3 Dong Z W, Wang G Q, Wei W Q, et al. Technical Plan for Screening and Early Diagnosis and Treatment of Upper Gastrointestinal Cancer (Trial Version in 2020). Beijing: People's Medical Publishing House, 2020
- 4 Wu Y, Song Y, Xiong Y, et al. microRNA-21 (Mir-21) promotes cell growth and invasion by repressing tumor suppressor PTEN in colorectal cancer. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43: 945–958
- 5 Tang W, Zhu Y, Gao J, et al. MicroRNA-29a promotes colorectal cancer metastasis by regulating matrix metalloproteinase 2 and E-cadherin via KLF4. *Br J Canc*, 2014, 110: 450–458
- 6 Wei Q D, Zheng W B, Sun K, et al. MiR-92a promotes the invasion and migration of colorectal cancer by targeting RECK. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12: 1565–1577
- 7 Chang P Y, Chen C C, Chang Y S, et al. microRNA-223 and microRNA-92a in stool and plasma samples act as complementary biomarkers to increase colorectal cancer detection. *Oncotarget*, 2016, 7: 10663–10675
- 8 Wu C W, Ng S S M, Dong Y J, et al. Detection of miR-92a and miR-21 in stool samples as potential screening biomarkers for colorectal cancer and polyps. *Gut*, 2012, 61: 739–745
- 9 Choi H H, Cho Y S, Choi J H, et al. Stool-Based miR-92a and miR-144* as noninvasive biomarkers for colorectal cancer screening. *Oncology*, 2019, 97: 173–179
- 10 Li G, Wang Q, Li Z J, et al. Serum miR-21 and miR-210 as promising non-invasive biomarkers for the diagnosis and prognosis of colorectal cancer. *Rev Esp Enferm Dig*, 2020, 112: 832–837
- 11 Bastaminejad S, Taherikalani M, Ghanbari R, et al. Investigation of microRNA-21 expression levels in serum and stool as a potential non-invasive biomarker for diagnosis of colorectal cancer. *IBJ*, 2017, 21: 106–113
- 12 Yang X, Zeng Z, Hou Y, et al. microRNA-92a as a potential biomarker in diagnosis of colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 2014, 9: e88745
- 13 Shi Y, Liu Z. Serum miR-92a-1 is a novel diagnostic biomarker for colorectal cancer. *J Cell Mol Medi*, 2020, 24: 8363–8367
- 14 Huang Z, Huang D, Ni S, et al. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Intl J Canc*, 2010, 127: 118–126
- 15 Ng E K O, Chong W W S, Jin H, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: A potential marker for colorectal cancer screening. *Gut*, 2009, 58: 1375–1381
- 16 Imaoka H, Toiyama Y, Fujikawa H, et al. Circulating microRNA-1290 as a novel diagnostic and prognostic biomarker in human colorectal cancer. *Ann Oncol*, 2016, 27: 1879–1886
- 17 Liu X, Xu X, Pan B, et al. Circulating miR-1290 and miR-320d as novel diagnostic biomarkers of human colorectal cancer. *J Canc*, 2019, 10: 43–50
- 18 Zekri A R N, Youssef A S E D, Lotfy M M, et al. Circulating serum miRNAs as diagnostic markers for colorectal cancer. *PLoS ONE*, 2016, 11: e0154130
- 19 Liu X, Xu T, Hu X, et al. Elevated circulating miR-182 acts as a diagnostic biomarker for early colorectal cancer. *Cancer Manag Res*, 2018, Volume 10: 857–865
- 20 Liu G H, Zhou Z G, Chen R, et al. Serum miR-21 and miR-92a as biomarkers in the diagnosis and prognosis of colorectal cancer. *Tumor Biol*, 2013, 34: 2175–2181
- 21 Liu H -, Liu T -, Wu H, et al. Serum microRNA signatures and metabolomics have high diagnostic value in colorectal cancer using two novel methods. *Canc Sci*, 2018, 109: 1185–1194
- 22 Fang Z, Tang J, Bai Y, et al. Plasma levels of microRNA-24, microRNA-320a, and microRNA-423-5p are potential biomarkers for colorectal carcinoma. *J Exp Clin Canc Res*, 2015, 34: 86
- 23 Kalimutho M, Del Vecchio Blanco G, Di Cecilia S, et al. Differential expression of miR-144* as a novel fecal-based diagnostic marker for colorectal cancer. *J Gastroenterol*, 2011, 46: 1391–1402
- 24 Wu C W, Ng S C, Dong Y, et al. Identification of microRNA-135b in stool as a potential noninvasive biomarker for colorectal cancer and adenoma. *Clin Canc Res*, 2014, 20: 2994–3002
- 25 Li L, Wang A, Cai M, et al. Identification of stool miR-135b-5p as a non-invasive diagnostic biomarker in later tumor stage of colorectal cancer.

- Life Sci, 2020, 260: 118417
- 26 Saidijam M, Saidijam M, Taherikalani M, et al. Serum and stool miR-135b levels as a potential diagnostic biomarker for colorectal cancer. Clin Exp Invest, 2020, doi: 10.31487/j.CEI.2020.01.04
- 27 Imperiale T F, Ransohoff D F, Itzkowitz S H, et al. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening. N Engl J Med, 2014, 370: 1287–1297
- 28 Bosch L J W, Melotte V, Mongera S, et al. Multitarget stool DNA test performance in an average-risk colorectal cancer screening population. Am J Gastroenterol, 2019, 114: 1909–1918
- 29 Ferrari A, Neefs I, Hoeck S, et al. Towards novel non-invasive colorectal cancer screening methods: A comprehensive review. Cancers, 2021, 13: 1820
- 30 Li N, Li C, Zhang X, et al. Diagnostic value of human fecal SDC2 gene in colorectal cancer. Am J Transl Res, 2023, 15: 2843–2849
- 31 Zhang L, Dong L, Lu C, et al. Methylation of SDC2/TFPI2 and its diagnostic value in colorectal tumorous lesions. Front Mol Biosci, 2021, 8: 706754
- 32 Lin A Y, Kahl A R, Pan J Y, et al. KRAS mutation as a predictor for cause-specific survival in early-versus late-onset colorectal cancer: A United States population-based study. J Clin Oncol, 2019, 37: 580
- 33 Liu J, Huang X, Liu H, et al. Immune landscape and prognostic immune-related genes in KRAS-mutant colorectal cancer patients. J Transl Med, 2021, 19: 27
- 34 Wong C C, Wu J L, Ji F, et al. The cholesterol uptake regulator PCSK9 promotes and is a therapeutic target in APC/KRAS-mutant colorectal cancer. Nat Commun, 2022, 13: 3971
- 35 Huang D, Sun W, Zhou Y, et al. Mutations of key driver genes in colorectal cancer progression and metastasis. Canc Metastasis Rev, 2018, 37: 173–187
- 36 Lochhead P, Kuchiba A, Imamura Y, et al. Microsatellite instability and BRAF mutation testing in colorectal cancer prognostication. JNCI-J Natl Canc Institute, 2013, 105: 1151–1156
- 37 Vidal J, Muinelo L, Dalmases A, et al. Plasma ctDNA RAS mutation analysis for the diagnosis and treatment monitoring of metastatic colorectal cancer patients. Ann Oncol, 2017, 28: 1325–1332
- 38 Das A, Kunkel M, Joudeh J, et al. Clinico-pathological correlation of serial measurement of circulating tumor cells in 24 metastatic colorectal cancer patients receiving chemotherapy reveals interpatient heterogeneity correlated with CEA levels but independent of KRAS and BRAF mutation. Canc Biol Ther, 2015, 16: 709–713
- 39 Yu H, Ma L, Zhu Y, et al. Significant diagnostic value of circulating tumour cells in colorectal cancer. Oncol Lett, 2020, 20: 317–325
- 40 Vymetalkova V, Cervena K, Bartu L, et al. Circulating cell-free DNA and colorectal cancer: A systematic review. Int J Mol Sci, 2018, 19: 356
- 41 Zhang N W. Advances in circulating tumor cell assays for clinical cancer applications. Adv Clin Med, 2023, 13: 19062–19071
- 42 Kim K, Shin D G, Park M K, 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. Ann Surg Treat Res, 2014, 86: 136–142
- 43 Tsai W S NA, Segurado O, et al. Prospective clinical study of circulating tumor cells for colorectal cancer screening. J Clin Oncol, 2018, 36 (4_suppl): 556
- 44 Tsai W S, You J F, Hung H Y, et al. Novel circulating tumor cell assay for detection of colorectal adenomas and cancer. Clin Transl Gastroenterol, 2019, 10: e00088
- 45 Friedland S, Pan J Y, Watson D, et al. Development and clinical validation of a blood test for early detection of colorectal adenomas and cancer. J Clin Oncol, 2021, 39: 50
- 46 Feduk V, Erez N, Furth N, et al. Multiplexed, single-molecule, epigenetic analysis of plasma-isolated nucleosomes for cancer diagnostics. Nat Biotechnol, 2023, 41: 212–221
- 47 Zhao M, Chu Y M, Peng H X. Research advances in screening modalities for colorectal cancer and colorectal adenoma (in Chinese). J Shanghai Jiao Tong Univ (Med Sci), 2022, 42: 673–679 [赵敏, 褚以忒, 彭海霞. 结直肠癌和结直肠腺瘤筛查方式的研究进展. 上海交通大学学报(医学版), 2022, 42: 673–679]
- 48 Alghofaili L, Almubarak H, Gassem K, et al. Cell-free DNA levels of twins and sibling pairs indicate individuality and possible use as a personalized biomarker. PLoS One, 2019, 14: e0223470
- 49 Ørntoft M - W, Jensen S Ø, Øgaard N, et al. Age-stratified reference intervals unlock the clinical potential of circulating cell-free^{DNA} as a biomarker of poor outcome for healthy individuals and patients with colorectal cancer. Intl J Canc, 2021, 148: 1665–1675
- 50 Islam M S, Gopalan V, Lam A K, et al. Current advances in detecting genetic and epigenetic biomarkers of colorectal cancer. Biosens Bioelectron, 2023, 239: 115611
- 51 Chen J G. Colorectal cancer screening: Comparison of transferrin and immuno fecal occult blood test. World J Gastroenterol, 2012, 18: 2682–2688

- 52 Turvill J, Mellen S, Jeffery L, et al. Diagnostic accuracy of one or two faecal haemoglobin and calprotectin measurements in patients with suspected colorectal cancer. [Scand J Gastroenterol](#), 2018, 53: 1526–1534
- 53 Hijos-Mallada G, Lué A, Velamazán R, et al. The addition of other fecal biomarkers does not improve the diagnostic accuracy of immunochemical fecal occult blood test alone in a colorectal cancer screening cohort. [Front Med](#), 2021, 8: 665786
- 54 Kim J I, Kim J J. The diagnostic value of the immunochromatographic fecal tumor M2 pyruvate kinase test as a screening tool for colorectal malignant lesions. [J Clin Oncol](#), 2015, 33: 517
- 55 Hardt P D, Mazurek S, Toepler M, et al. Faecal tumour M2 pyruvate kinase: A new, sensitive screening tool for colorectal cancer. [Br J Canc](#), 2004, 91: 980–984
- 56 Shastri Y M, Naumann M, Oremek G M, et al. Prospective multicenter evaluation of fecal tumor pyruvate kinase type M2 (M2-PK) as a screening biomarker for colorectal neoplasia. [Intl J Canc](#), 2006, 119: 2651–2656
- 57 Tonus C. Faecal pyruvate kinase isoenzyme type M2 for colorectal cancer screening: A meta-analysis. [World J Gastroenterol](#), 2012, 18: 4004–4011
- 58 Chen J J, Jiang X Y, Wu Q H. Value of combined detection of serum tumor markers and M2-PK in colorectal cancer screening. [WCJD](#), 2021, 29: 1441–1446
- 59 Zhang H, Zuo L, Li J, et al. Construction of a fecal immune-related protein-based biomarker panel for colorectal cancer diagnosis: A multicenter study. [Front Immunol](#), 2023, 14: 1126217
- 60 Li J, Yin L, Zhang M, et al. Construction of a fecal protein Luminex liquid chip detection system for early diagnosis of colorectal tumors. [Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao](#), 2023, 43: 1874–1880
- 61 Li H, Vanarsa K, Zhang T, et al. Comprehensive aptamer-based screen of 1317 proteins uncovers improved stool protein markers of colorectal cancer. [J Gastroenterol](#), 2021, 56: 659–672
- 62 de Klaver W, Wisse P H A, van Wifferen F, et al. Clinical validation of a multitarget fecal immunochemical test for colorectal cancer screening. [Ann Intern Med](#), 2021, 174: 1224–1231
- 63 Irrazábal T, Belcheva A, Girardin S E, et al. The multifaceted role of the intestinal microbiota in colon cancer. [Mol Cell](#), 2014, 54: 309–320
- 64 Yu J, Feng Q, Wong S H, et al. Metagenomic analysis of faecal microbiome as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer. [Gut](#), 2017, 66: 70–78
- 65 Clos-García M, García K, Alonso C, et al. Integrative analysis of fecal metagenomics and metabolomics in colorectal cancer. [Cancers](#), 2020, 12: 1142
- 66 Thomas A M, Manghi P, Asnicar F, et al. Metagenomic analysis of colorectal cancer datasets identifies cross-cohort microbial diagnostic signatures and a link with choline degradation. [Nat Med](#), 2019, 25: 667–678
- 67 Wirbel J, Pyl P T, Kartal E, et al. Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer. [Nat Med](#), 2019, 25: 679–689
- 68 Kostic A D, Chun E, Robertson L, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. [Cell Host Microbe](#), 2013, 14: 207–215
- 69 Rubinstein M R, Wang X, Liu W, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin. [Cell Host Microbe](#), 2013, 14: 195–206
- 70 Consensus Expert Group of the Journal. Consensus on the correlation between gut microbiome and colorectal cancer (in Chinese). [Modern Dig Interv](#), 2019, 24: 105–108 [《现代消化及介入诊疗》杂志共识专家组. 肠道微生态与大肠癌相关性研究专家共识意见. 现代消化及介入治疗杂志, 2019, 24: 105–108]
- 71 Wong S H, Kwong T N Y, Chow T C, et al. Quantitation of faecal *Fusobacterium* improves faecal immunochemical test in detecting advanced colorectal neoplasia. [Gut](#), 2017, 66: 1441–1448
- 72 Sun C H, Li B B, Wang B, et al. The role of *Fusobacterium nucleatum* in colorectal cancer: From carcinogenesis to clinical management. [Chronic Dis Transl Med](#), 2019, 5: 178–187
- 73 Yamaoka Y, Suehiro Y, Hashimoto S, et al. *Fusobacterium nucleatum* as a prognostic marker of colorectal cancer in a Japanese population. [J Gastroenterol](#), 2018, 53: 517–524
- 74 Liang Q, Chiu J, Chen Y, et al. Fecal bacteria act as novel biomarkers for noninvasive diagnosis of colorectal cancer. [Clin Canc Res](#), 2017, 23: 2061–2070
- 75 Guo S, Li L, Xu B, et al. A simple and novel fecal biomarker for colorectal cancer: Ratio of *Fusobacterium nucleatum* to probiotics populations, based on their antagonistic effect. [Clin Chem](#), 2018, 64: 1327–1337
- 76 Liang J Q, Li T, Nakatsu G, et al. A novel faecal *Lachnoclostridium* marker for the non-invasive diagnosis of colorectal adenoma and cancer. [Gut](#), 2020, 69: 1248–1257
- 77 Liang J Q, Wong S H, Szeto C H, et al. Fecal microbial DNA markers serve for screening colorectal neoplasm in asymptomatic subjects. [J Gastro](#)

- Hepatol, 2021, 36: 1035–1043
- 78 Liang J Q, Zeng Y, Kwok G, et al. Novel microbiome signatures for non-invasive diagnosis of adenoma recurrence after colonoscopic polypectomy. *Aliment Pharmacol Ther*, 2022, 55: 847–855
 - 79 Eklöf V, Löfgren-Burström A, Zingmark C, et al. Cancer-associated fecal microbial markers in colorectal cancer detection. *Intl J Canc*, 2017, 141: 2528–2536
 - 80 Liu K, Yang X, Zeng M, et al. The role of fecal *Fusobacterium nucleatum* and pks(+) *Escherichia coli* as early diagnostic markers of colorectal cancer. *Dis Markers*, 2021, 2021: 1171239
 - 81 Shen X, Li J, Li J, et al. Fecal enterotoxigenic bacteroides fragilis–peptostreptococcus stomatis–parvimonas micra biomarker for noninvasive diagnosis and prognosis of colorectal laterally spreading tumor. *Front Oncol*, 2021, 11: 661048
 - 82 Sears C L, Garrett W S. Microbes, microbiota, and colon cancer. *Cell Host Microbe*, 2014, 15: 317–328
 - 83 Wang C M, Hong L H, Zhang Z M, et al. Research progress on the relationship between *Porphyromonas gingivalis* and the malignancy of the digestive system and possible pathogenetic mechanism. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 2019, 37: 521–526
 - 84 Wu Y, Jiao N, Zhu R, et al. Identification of microbial markers across populations in early detection of colorectal cancer. *Nat Commun*, 2021, 12: 3063
 - 85 Dai Z, Coker O O, Nakatsu G, et al. Multi-cohort analysis of colorectal cancer metagenome identified altered bacteria across populations and universal bacterial markers. *Microbiome*, 2018, 6: 70
 - 86 Xie Y H, Gao Q Y, Cai G X, et al. Fecal *Clostridium symbiosum* for noninvasive detection of early and advanced colorectal cancer: Test and validation studies. *EBioMedicine*, 2017, 25: 32–40
 - 87 Long X, Wong C C, Tong L, et al. *Peptostreptococcus anaerobius* promotes colorectal carcinogenesis and modulates tumour immunity. *Nat Microbiol*, 2019, 4: 2319–2330
 - 88 Yang Y, Misra B B, Liang L, et al. Integrated microbiome and metabolome analysis reveals a novel interplay between commensal bacteria and metabolites in colorectal cancer. *Theranostics*, 2019, 9: 4101–4114
 - 89 Goedert J J, Sampson J N, Moore S C, et al. Fecal metabolomics: Assay performance and association with colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 2014, 35: 2089–2096
 - 90 Coker O O, Liu C, Wu W K K, et al. Altered gut metabolites and microbiota interactions are implicated in colorectal carcinogenesis and can be non-invasive diagnostic biomarkers. *Microbiome*, 2022, 10: 35
 - 91 Chen C, Niu M, Pan J, et al. Bacteroides, butyric acid and t10,c12-CLA changes in colorectal adenomatous polyp patients. *Gut Pathog*, 2021, 13: 1
 - 92 Pickhardt P J, Choi J R, Hwang I, et al. Computed tomographic virtual colonoscopy to screen for colorectal neoplasia in asymptomatic adults. *N Engl J Med*, 2003, 349: 2191–2200
 - 93 Mulhall B P, Veerappan G R, Jackson J L. Meta-analysis: Computed tomographic colonography. *Ann Intern Med*, 2005, 142: 635–650
 - 94 Rex D K, Adler S N, Aisenberg J, et al. Accuracy of capsule colonoscopy in detecting colorectal polyps in a screening population. *Gastroenterology*, 2015, 148: 948–957.e2
 - 95 Voska M, Zavoral M, Grega T, et al. Accuracy of colon capsule endoscopy for colorectal neoplasia detection in individuals referred for a screening colonoscopy. *Gastroenterol Res Pract*, 2019, 2019: 5975438
 - 96 Spada C, Pasha S F, Gross S A, et al. Accuracy of first- and second-generation colon capsules in endoscopic detection of colorectal polyps: A systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2016, 14: 1533–1543.e8
 - 97 Kim S H, Lim Y J. Artificial intelligence in capsule endoscopy: A practical guide to its past and future challenges. *Diagnostics (Basel)*, 2021, 11: 1722
 - 98 Lee J K, Liles E G, Bent S, et al. Accuracy of fecal immunochemical tests for colorectal cancer: Systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*, 2014, 160: 171
 - 99 D'Souza N, Brzezicki A, Abulafi M. Faecal immunochemical testing in general practice. *Br J Gen Pract*, 2019, 69: 60–61
 - 100 Chan F K L, Wong M C S, Chan A T, et al. Joint Asian Pacific Association of Gastroenterology (APAGE)–Asian Pacific Society of Digestive Endoscopy (APSDE) clinical practice guidelines on the use of non-invasive biomarkers for diagnosis of colorectal neoplasia. *Gut*, 2023, 72: 1240–1254
 - 101 Church T R, Wandell M, Lofton-Day C, et al. Prospective evaluation of methylated *SEPT9* in plasma for detection of asymptomatic colorectal cancer. *Gut*, 2014, 63: 317–325
 - 102 Saitoh O, Kojima K, Kayazawa M, et al. Comparison of tests for fecal lactoferrin and fecal occult blood for colorectal diseases. A prospective pilot study. *Intern Med*, 2000, 39: 778–782
 - 103 Hirata I. Usefulness of fecal lactoferrin and hemoglobin in diagnosis of colorectal diseases. *World J Gastroenterol*, 2007, 13: 1569–1574
 - 104 Uchida K, Matsuse R, Tomita S, et al. Immunochemical detection of human lactoferrin in feces as a new marker for inflammatory gastrointestinal

- disorders and colon cancer. [Clin Biochem](#), 1994, 27: 259–264
- 105 Harlid S, Gunter M J, Van Guelpen B. Risk-predictive and diagnostic biomarkers for colorectal cancer a systematic review of studies using pre-diagnostic blood samples collected in prospective cohorts and screening settings. [Cancers](#), 2021, 13: 4406
- 106 Bergsten E, Mestivier D, Sobhani I. The limits and avoidance of biases in metagenomic analyses of human fecal microbiota. [Microorganisms](#), 2020, 8: 1954
- 107 Pickhardt P J, Choi J R, Hwang I, et al. Nonadenomatous polyps at CT colonography: Prevalence, size distribution, and detection rates. [Radiology](#), 2004, 232: 784–790
- 108 Flemer B, Warren R D, Barrett M P, et al. The oral microbiota in colorectal cancer is distinctive and predictive. [Gut](#), 2018, 67: 1454–1463
- 109 Zhang S, Kong C, Yang Y, et al. Human oral microbiome dysbiosis as a novel non-invasive biomarker in detection of colorectal cancer. [Theranostics](#), 2020, 10: 11595–11606
- 110 Wu Y, Xu X. Long non-coding RNA signature in colorectal cancer: Research progression and clinical application. [Canc Cell Int](#), 2023, 23: 28
- 111 Ye L, Zhang T, Kang Z, et al. Tumor-infiltrating immune cells act as a marker for prognosis in colorectal cancer. [Front Immunol](#), 2019, 10: 2368
- 112 Quan Y, Liang F, Wu D, et al. Blood cell DNA methylation of aging-related ubiquitination gene DZIP3 can predict the onset of early stage colorectal cancer. [Front Oncol](#), 2020, 10: 544330

Summary for “结直肠肿瘤无创筛查技术的研究进展”

Advances in non-invasive screening tests for colorectal cancer and adenoma

Yao Zeng^{1,2} & Jessie Qiaoyi Liang^{1,2*}

¹ Department of Medicine and Therapeutics, Li Ka Shing Institute of Health Sciences, Faculty of Medicine, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China;

² Shenzhen Research Institute, The Chinese University of Hong Kong, Shenzhen 518000, China

* Corresponding author, E-mail: JessieQY@cuhk.edu.hk

Colorectal cancer (CRC) ranks as the fourth leading cause of cancer-related deaths in China. Early detection of CRC and its precursor, colorectal adenoma (CRA), is crucial to reduce morbidity and mortality rates. However, the current gold standard for CRC diagnosis, colonoscopy, is invasive, requires cumbersome preoperative bowel preparation, and is expensive, leading to poor patient compliance. Therefore, the development of noninvasive diagnostic methods is urgently needed to improve patient adherence. This review provides a comprehensive overview of the advancements in noninvasive diagnostic tests for CRC and CRA. Various modalities, including nucleic acid markers, circulating tumor cells (CTCs), circulating free DNA (cfDNA), protein markers, gut microbiome analysis, gut metabolomics, and imaging techniques, are discussed, along with their underlying principles and diagnostic accuracies. The advantages and limitations of each diagnostic modality are also examined, and future trends in the development of noninvasive biomarkers for CRC and CRA diagnosis are explored. Noninvasive diagnostic markers for CRC and CRA are predominantly sourced from blood and fecal samples. Nucleic acid markers derived from exfoliated tumor cells can be detected in both blood and fecal samples. Blood-based markers, such as cfDNA and CTCs, are also utilized. Fecal protein markers originate from host cells or bleeding, including hemoglobin, transferrin, calreticulin, and M2-PK. Additional fecal markers encompass metagenomic DNA markers, bacterial markers, and bacterial metabolites. Stool-based testing has proven to be a valuable CRC screening approach, with the fecal immunochemical test (FIT) being the most widely used noninvasive method. However, FIT sensitivity for CRC detection varies across different studies and is particularly inadequate for adenoma detection. Recent investigations have demonstrated that fecal bacterial biomarkers exhibit superior diagnostic sensitivity and accuracy compared to FIT. Quantification of fecal bacterial markers utilizes qPCR technology, targeting single or multiple bacterial species or gene markers. Stool-based tests offer the advantages of easy detection and are more suitable for clinical implementation. It is anticipated that in the near future, novel screening tests based on these fecal biomarkers will replace FIT, providing higher cost-effectiveness. Moreover, dysbiosis of the oral microbiota holds promise as a noninvasive tool for CRA and CRC detection. Further research is needed to elucidate the mechanisms underlying oral microbiota dysbiosis in colorectal carcinogenesis and validate its application in the non-invasive diagnosis of CRC.

colorectal cancer and adenoma, non-invasive screening, biomarkers, imaging modalities

doi: [10.1360/TB-2023-1359](https://doi.org/10.1360/TB-2023-1359)