



杜鲁涛, 山东大学齐鲁医院检验医学中心常务副主任, 山东省检验医学创新技术重点实验室主任, 教授、博士生导师, 国家优青获得者, 泰山学者青年专家, 山东省杰青获得者。研究方向主要包括: 肿瘤新型生物标志物的发现与液态活检技术研究。主持国家重点研发计划项目课题1项, 国家自然科学基金优秀青年基金1项、面上项目2项, 山东省重大科技创新工程1项。以第一或通讯作者身份在*PNAS*、*Nat Commun*、*Small*等上发表论文32篇, 以第一发明人身份获授权国家发明专利8项。主要学术兼职为中国医师协会检验医师分会委员, 中华医学会检验医学分会第十一届委员会青年学组副组长, 山东省医学会检验医学分会委员兼秘书。

## 肿瘤标志物在结直肠癌诊疗应用中的研究进展

邹璐泽<sup>1</sup> 齐秋晨<sup>1</sup> 李培龙<sup>1</sup> 李娟<sup>1</sup> 王传新<sup>1</sup> 杜鲁涛<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>山东大学第二医院检验医学中心, 济南 250033;

<sup>2</sup>山东大学齐鲁医院检验医学中心, 山东省检验医学创新技术重点实验室, 济南 250012)

**摘要** 结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界第三大常见恶性肿瘤,也是全球癌症相关死亡的主要原因之一。近年来,随着各种新兴组学测序技术和人工智能的发展,肿瘤标志物在临床肿瘤学中的应用研究不断拓宽。以DNA甲基化、非编码RNA、循环肿瘤细胞、肠道菌群及代谢物为主的新型标志物逐渐成为肿瘤诊疗研究中的重点方向,在CRC的早筛早诊、病情监测及预后评估等方面起着重要的指导作用。该文就近年来临床常用肿瘤标志物和新型肿瘤标志物在CRC诊疗中的应用及进展进行了综述,并对检验大数据和人工智能在肿瘤临床诊疗中的潜在应用前景进行了讨论,以期对CRC的诊疗应用研究提供借鉴。

**关键词** 结直肠癌; 肿瘤标志物; 早期诊断; 预后预测

## Advances in the Research of the Application of Tumor Markers in the Diagnosis and Treatment of Colorectal Cancer

ZOU Luze<sup>1</sup>, QI Qiuchen<sup>1</sup>, LI Peilong<sup>1</sup>, LI Juan<sup>1</sup>, WANG Chuanxin<sup>1</sup>, DU Lutao<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory, The Second Hospital Shandong University, Jinan 250033;

<sup>2</sup>Department of Clinical Laboratory, Qilu Hospital, Shandong University,  
Shandong Provincial Key Laboratory of Laboratory Medicine Innovation Technology, Jinan 250012, China)

**Abstract** CRC (colorectal cancer) is the third most common malignancy and one of the leading causes of cancer-related deaths worldwide. In recent years, with the development of various emerging omics sequencing technologies and artificial intelligence, the application of tumor markers in clinical oncology has been expanding. Novel biomarkers based on DNA methylation, non-coding RNA, circulating tumor cells, gastrointestinal microbiome

收稿日期: 2023-11-06 接受日期: 2023-12-06

山东省重点研发计划(批准号: 2021ZLGX02)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0531-82166802, E-mail: lutaodu@sdu.edu.cn

Received: November 6, 2023 Accepted: December 6, 2023

This work was supported by the Key R&D Program of Shandong Province (Grant No.2021ZLGX02)

\*Corresponding author. Tel: +86-531-82166802, E-mail: lutaodu@sdu.edu.cn

and metabolites have gradually become the key directions in cancer diagnosis and treatment research, and play an important guiding role in the early screening and diagnosis of CRC, efficacy testing and prognosis evaluation. This article reviews the application and progress of commonly used CRC tumor biomarkers and new tumor biomarkers in the diagnosis and treatment of CRC, and discusses the potential application prospects of big data and artificial intelligence in the diagnosis and treatment of tumors, in order to provide a reference for the research on the diagnosis and treatment of CRC.

**Keywords** colorectal cancer; tumor biomarkers; early diagnosis; prognosis

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是消化系统最常见的恶性肿瘤,其发病率和死亡率在恶性肿瘤中分别位居第三位和第二位,严重威胁人类健康。我国是CRC高发地区,其发病率从1972年的2.75增加到2019年的19.39(每10万人年),防控形势严峻<sup>[1]</sup>。因此,如何推进CRC的诊疗进程,改善患者预后成为备受关注的焦点问题。肿瘤标志物是指由肿瘤细胞释放,或是宿主对肿瘤细胞刺激反应而异常产生释放,并能反映肿瘤发生、进展的一类物质,因其无创、安全及有效等优势,对CRC的辅助诊断、疗效监测以及预后评估具有重要的指导价值,逐渐成为CRC诊疗的理想工具。随着转录组学、表观基因组学、宏基因组学和代谢组学等新兴组学测序技术及人工智能的发展,以DNA甲基化、非编码RNA、循环肿瘤细胞、肠道菌群及代谢物为主的各种新型生物标志物被发现,进一步拓展了肿瘤标志物在CRC诊疗中的应用<sup>[2-3]</sup>。此外,近年来随着自动化等高新检测技术的应用,检验科产生大量复杂、多维度的检验数据,借助人工智能充分利用挖掘检验大数据,建立肿瘤筛查、预警、监测模型,已经成为目前CRC等恶性肿瘤诊疗模型研究的重点方向<sup>[4]</sup>。本文就目前常用的肿瘤标志物如癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)等,以及新型肿瘤标志物如DNA甲基化、非编码RNA、循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)、肠道菌群及代谢物在CRC诊疗中的应用进展进行了综述,同时讨论了检验大数据结合人工智能在CRC诊疗中的临床应用前景,为CRC进一步的诊疗研究提供新思路。

## 1 常用肿瘤标志物在CRC诊疗中的应用

### 1.1 癌胚抗原

癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)是一种糖蛋白,属于癌胚抗原细胞黏附分子(carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule, CEACAM)家

族的12个成员之一,在健康成人中,其血清水平很低,CEA水平升高可见于CRC、胃癌、胰腺癌等中,其对CRC的辅助诊断、复发转移监测、预后预测等具有一定的指导价值。在CRC诊断方面,研究表明,血清、组织及粪便中的CEA表达水平与肿瘤分化程度、淋巴结阳性数等显著相关,肿瘤分化程度越低、淋巴结转移发生率越高,CEA表达水平则越高<sup>[5]</sup>,粪便及血清CEA水平在CRC中均具有较好的诊断效能,并可用于早期CRC的诊断<sup>[6]</sup>。在CRC预后监测方面,YOU等<sup>[7]</sup>发现术后CEA阳性及CEA水平与临床分期、T分期、N分期、肿瘤分化及淋巴浸润相关,且术后CEA阳性、CEA升高的患者预后较差,提示术后CEA阳性和CEA水平升高可以作为II期和III期CRC的独立预后因素。此外,在一项对1 027例患者的队列分析中,研究者发现,术后CEA升高的患者3年无复发生存期(recurrence free survival, RFS)显著低于CEA正常的患者<sup>[8]</sup>。以上研究表明,CEA水平可以作为CRC的诊断和预后的监测指标,其作为临床上常用的CRC生物标志物,虽然特异性受限,在结肠息肉等良性疾病中亦会升高,但其具备较好的稳定性,可以提示肿瘤的变化,在指导肿瘤治疗和疗效监测中仍具有重要价值。

### 1.2 糖类抗原

临床与CRC相关的常用糖类抗原(carbohydrate antigen, CA)标志物包括CA19-9、CA724、CA50等。CA19-9为细胞膜上的糖脂质,其在血清中主要以唾液黏蛋白的形式存在,是一类糖类蛋白肿瘤标志物,可用于CRC等多种消化系统肿瘤的筛查、转移预测及预后评估。一项对1 578名CRC患者和703名健康对照的血清CA19-9水平进行测定的研究显示,CRC患者血清中CA19-9水平显著高于健康对照组,检测特异性高达92%<sup>[9]</sup>,表明CA19-9在检测CRC中具有一定临床价值。同时,CA19-9可作为CRC肝转移患者复发的潜在预测因子,也可作为CEA低表

达患者的有效补充。LIU等<sup>[10]</sup>采用X-tile分析确定691例CRC肝转移患者CA19-9的最佳临界值,发现高水平CA19-9患者的RFS和总生存期(overall survival, OS)明显低于低水平CA19-9患者,CA19-9水平较高的患者在CEA水平较低时RFS和OS较低,多因素分析证实术前CA19-9是RFS的独立预测因子。此外,CA72-4与CA19-9类似,也是一种肿瘤相关糖蛋白,在CRC、胃癌等多种肿瘤中都异常高表达,据报道其在CRC诊断方面性能较差,敏感度不足30%<sup>[11]</sup>。在预后和淋巴结转移方面,CRC患者血清CA72-4水平与不良预后和淋巴结转移显著相关<sup>[12]</sup>。

### 1.3 粪便潜血试验

粪便潜血试验(fecal occult blood test, FOBT)用来检查粪便中隐匿的红细胞或血红蛋白等,对检查消化道出血是一项非常有用的诊断指标,也是用于CRC筛查的一项重要试验,其检测方法从化学测试发展到免疫化学测试,继而进一步从定性测试发展到定量测试<sup>[13]</sup>。LEE等<sup>[14]</sup>研究者在一项Meta分析中对FOBT的临床应用价值进行了研究,发现其对CRC诊断的敏感性为83%,高于非CRC病变的54%。粪便免疫化学试验(fecal immunochemistry test, FIT)基于抗原-抗体反应检测人血红蛋白,且对人血红蛋白具有特异性,在CRC筛查中也具有较好的表现,其对CRC检测的敏感性、特异性、总体诊断准确率分别为79%、94%和95%<sup>[15]</sup>。此外,一项人群筛查试验研究表明,FOBT筛查有助于改善CRC患者预后,检测到的CRC患者的OS优于未筛查检测到的CRC患者,筛查检测患者的5年OS为91%,未筛查检测患者的5年OS为70%<sup>[16]</sup>。以上研究表明,粪便潜血试验在CRC筛查诊断方面具有一定价值,并且能够改善预后,是基于人群的CRC筛查的重要手段。

### 1.4 传统肿瘤标志物的联合应用

由于肿瘤标志物单独检测时敏感度或特异度不够高,目前尚未发现任何一种传统肿瘤标志物单独应用可以满足CRC临床检测的需求,多标志物联合检测可进一步提高其在CRC中的临床价值。YANG等<sup>[17]</sup>发现联合检测CEA、CA19-9、环氧合酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)可弥补单项检测的不足,提高I、II期CRC诊断的敏感度和特异度,提示CEA、CA19-9和COX-2等多标志物联合检测适用于CRC早期诊断。ZHANG等<sup>[18]</sup>发现CRC肝转移患者血清CEA、CA19-9、CA-125水平升高,相较于于

CEA指标单独检测,CEA、CA19-9和CA-125联合检测可提高其诊断CRC肝转移的敏感性(76.8% vs 68.1%)。此外,LI等<sup>[19]</sup>分析了3 539例接受根治性切除术的CRC患者术前、术后及整个治疗期间CEA、CA19-9、CA125三种标志物的变化,发现与三指标同时降低组相比,单独CEA升高组、CA19-9升高组、CA125升高组及三指标同时升高组的死亡风险比分别为1.59、1.55、6.25、12.40,表明标志物联合可用于CRC预后预测,且优于单一标志物。研究表明就单项指标而言,CEA的敏感性最高为46.59%,其他常用标志物的敏感性为CA72-4>CA19-9>CA125,进一步研究表明2项到4项标志物联合检测的特异性和灵敏度均有不同,上述4项肿瘤标志物联合检测敏感度可提高至66.67%,此外,结直肠癌的分期越高,CEA、CA19-9、CA724阳性率越高<sup>[20]</sup>。综上,几项灵敏度、特异性能够互补的血清肿瘤标志物的联合检测可以提高传统肿瘤标志物在CRC诊疗中的临床价值。常用血清肿瘤标志物的联合检测不仅可用于CRC的诊断,也可用于肿瘤状态评价、转移预测及预后评估。

## 2 新型标志物在CRC诊疗中的应用研究进展

临床常用的CRC标志物主要包括CEA、CA19-9、CA72-4等,其对CRC检测的敏感度或特异度较为有限,难以满足CRC早期诊断、监测复发、评估预后的需求。为提高准确性,探索新型肿瘤标志物成为许多研究者关注的重点。目前,研究人员发掘出DNA甲基化、非编码RNA、循环肿瘤细胞、肠道菌群等多项新型生物标志物,这些新型标志物在CRC的诊断、预后判断和疗效预测等方面具有较好的应用前景。

### 2.1 DNA甲基化

DNA甲基化是指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-胞嘧啶的过程,是生物体内普遍存在,也是研究最深入的表观遗传修饰之一,能在不改变DNA序列的前提下,调控基因表达<sup>[21]</sup>。近年来,研究表明DNA甲基化能够在肿瘤的早期发生变化提示肿瘤的发生,已有研究报道血液、粪便等不同生物样本中的DNA甲基化可以作为CRC的生物标志物<sup>[22]</sup>。血浆Septin9基因甲基化(methylated Septin9 gene, mSEPT9)是研究较为成熟的DNA甲基化位点,早已被美国食品



药品监督管理局批准用于CRC的筛查试验<sup>[23]</sup>。一项评估中国西部人群 *Septin9* 基因甲基化诊断性能的研究,发现mSEPT9检测CRC的曲线下面积(area under the curve of ROC, AUC)为0.860,敏感性和特异性分别为76.4%和95.6%,均略高于FOBT组(敏感性:75.5%;特异性:91.2%),敏感性也远高于CEA的50.9%和CA19-9的15.5%<sup>[24]</sup>。血液中除*Septin9*外,速激肽-1(tachykinin-1, *TAC1*)、生长抑素(somatostatin, *SST*)和runt相关转录因子3(runt-related transcription factor 3, *RUNX3*)等基因的甲基化,也已被证明可作为CRC甲基化生物标志物,但上述*TAC1*、*SST*、*RUNX3T*等基因的甲基化在CRC早期诊断中的作用还需要研究来证明<sup>[25]</sup>。

此外,多甲基化标志物模型表现出更好的效能,如CAI等<sup>[26]</sup>基于在组织和血浆中具有较高检测能力的六种DNA甲基化标志物建立了一个多基因甲基化检测模型(ColonAiQ),该模型检测CRC的平均AUC为0.93,区分CRC和进展期腺瘤的AUC为0.84,对CRC(I~IV期)的综合敏感度为86%(149/173),对照组健康人群的检测特异性为92%(125/136);同时,还观察到复发组和非复发组术后样本的模型评分存在显著差异,92%的未复发患者该模型评分明显降低,这表明DNA甲基化不仅可以作为CRC诊断标志物,还在CRC早期复发预测方面有巨大潜力。LUO等<sup>[27]</sup>在循环游离DNA(circulating free DNA, cfDNA)甲基化分析的基础上,建立了一个联合预后评分模型,该模型和临床特征结合提高了对CRC预后的预测能力,预测效能AUC为0.87。

DNA甲基化不仅可以从血液样本中检测,也可以在粪便样本中检测,这大大提高了检测的简便性及无创性。ZENG等<sup>[28]</sup>发现粪便中多配体聚糖(syndecan 2, *SDC2*)基因甲基化,在早期结直肠癌患者中的阳性率为77.6%,而*SDC2*甲基化联合FIT可使阳性率提高到98.0%。NIU等<sup>[29]</sup>同样评价了粪便中*SDC2*甲基化用于CRC早期检测的临床诊断价值,将CRC组织与配对的相邻正常组织相比,AUC可达到0.92,并发现96.8%的结直肠癌组织中*SDC2*甲基化水平高于癌旁正常组织,粪便甲基化*SDC2*检测对结直肠癌和腺瘤的检出率分别为81.1%和58.2%,特异性为93.3%。另一项研究表明基于*SDC2*和*SFRP2*甲基化、*KRAS*突变和血红蛋白构建的分类模型对CRC的敏感性为91.4%,对腺瘤的敏感性为60%、特异性为

86.1%<sup>[30]</sup>。

## 2.2 非编码RNA

2.2.1 微小RNA 微小RNA(microRNA, miRNA)是一种长度为20~24个核苷酸的内源性非编码RNA,通过与mRNA特异性结合等方式调节基因表达<sup>[31]</sup>。游离的miRNA可以通过与蛋白质结合形成蛋白质复合物或者被外泌体转运而稳定存在,miRNA的失调与CRC的发生和进展相关,因而具有作为CRC诊断及预后标志物的潜力<sup>[32-33]</sup>。近年来,针对于miRNA的研究越来越多,一篇包含18项关于miRNA-21研究的Meta分析,总结了miR-21对CRC诊断的综合敏感性和特异性分别为77%和83%。综合阳性似然比为4.20,综合阴性似然比为0.30,AUC为0.87<sup>[34]</sup>。PARDINI等<sup>[35]</sup>使用包括miR-149-3p、miR-607-5p、miR-1246、miR-4488和miR-6777-5p在内的5个粪便miRNA建立模型,其区分CRC患者与对照组的AUC为0.86,同时在外验证中的AUC达到了0.96,这提示无论是来自血液还是粪便的miRNA都可以作为CRC预测的肿瘤标志物。MiRNA同样对CRC的预后具有指导作用。ABEDI等<sup>[36]</sup>发现与低表达miR-410的患者相比,高表达miR-410的患者表现出较低的预后生存期,Cox回归分析证实了miR-410表达上调是较差预后的独立预测因子(风险比为2.71)。同样地,ZHANG等<sup>[37]</sup>对比了健康人群和CRC患者血清中miRNA-31水平,发现血清中高水平的miRNA-31可能是预测CRC患者发生淋巴结转移的有效标志物。综上,单个miRNA及基于多个miRNA的模型在CRC诊断和预后评估中有一定的应用前景,但还需要大样本的临床队列研究证实其临床价值。

2.2.2 长链非编码RNA 长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类本身不编码蛋白、转录本长度超过200 nt的长链非编码RNA分子,它可在转录调控以及转录后调控等多个层面调控基因的表达。近年来,研究证明lncRNA在结直肠癌发生、发展、转移的多种机制中均发挥重要作用<sup>[38]</sup>。在CRC诊断方面,GHASEMIAN等<sup>[39]</sup>研究发现CRC组织中LINC00978高表达,利用LINC00978的表达区分CRC组织与邻近正常组织的AUC为0.81,其单独诊断的敏感度为72.7%,特异性为81.0%,与 $\beta$ -catenin联合后,诊断敏感度提升至86.0%,这提示LINC00978具有诊断CRC的潜力。此外,研究表明CRC患者血浆中lncRNA CCAT1和HOTAIR表达水平异常升高,

CCAT1联合HOTAIR对CRC的检测敏感度为84.3%, 特异性为80.2%<sup>[40]</sup>。一项近9 000名受试者的CRC早期检测研究显示, 一种多靶点粪便RNA(multitarget stool RNA, mt-sRNA)检测技术在CRC检测中的灵敏度高达94.4%, 显著优于粪便免疫化学检测(FIT, 94% vs 78%,  $P=0.01$ ), 检测进展期腺瘤的敏感性为45.9%, 且不受年龄影响, 可在未来成为无创筛查肠癌的有效选择<sup>[40]</sup>。在预后预测方面, SHIGEYASU等<sup>[41]</sup>发现lncRNA PVT1的高表达与CRC患者的生存率较低相关, lncRNA PVT1是CRC患者预后不良的独立预测因子。FAM83H-AS1是几种癌症中失调的lncRNA之一, 它在结肠癌患者中高度表达, 并且与较短的总生存时间相关<sup>[42]</sup>。JI等<sup>[43]</sup>发现lncRNA MALAT1能够调控CRC转移过程中原癌基因RUNX2的转录和翻译水平, 且MALAT1可以作为预测CRC患者复发和转移的潜在标志物。LIU等<sup>[44]</sup>采用多变量Cox回归分析建立包含3个lncRNA(AP003555.2、AP006284.1和LINC01602)的预后风险公式, 低风险得分组的OS优于高风险组, 3年和5年OS的AUC分别为0.712和0.674, 提示这3个lncRNA联合检测模型可作为预测CRC患者预后的潜在标志物。综上所述, 越来越多的CRC中异常表达的lncRNA被鉴定出来, 其在CRC的诊断及预后预测等方面具有潜在的临床应用价值。

### 2.3 循环肿瘤细胞

CTCs是从原发肿瘤脱落到全身血液循环或淋巴系统的癌细胞, 可以定植到远处组织形成转移。作为液体活检中可检测到的成分, 与常规用于人类癌症检测和监测的肿瘤生物标志物相比, CTCs具有易于收集、持续分析和全肿瘤评估的可能性等优势, 在早期诊断、恶性肿瘤复发预测以及预后判断等方面具有极大应用潜力<sup>[45]</sup>。CTCs计数可提示肿瘤转移风险和辅助肿瘤分期, 联合CTCs计数和影像学、病理学、血清学特征参数有助于更准确地评估肿瘤状态和疾病进展。CellSearch系统基于免疫磁珠阳性富集法, 是目前为止唯一获得美国食品和药物管理局(FDA)批准的CTCs检测方法, 能有效定义上皮来源的CTCs, 即EpCAM和细胞角蛋白为阳性, 而CD45为阴性<sup>[46]</sup>。基于CellSearch®系统, SASTRE等<sup>[47]</sup>在94例CRC患者的血液样本中鉴定出36.2%的CTCs, CTCs与临床病理特征(如原发肿瘤位置、分化等级)以及肿瘤标志物(如CEA、乳酸脱氢酶)水平呈正相

关, 病理分期越晚的CRC表现出的CTC水平越高。在另一项研究中, COHEN等<sup>[48]</sup>发现CTC水平可以预测CRC患者的预后, CTC水平高( $>3$  CTC/7.5 mL)的患者比CTC水平低( $<3$  CTC/7.5 mL)的患者的无进展生存期(progression free survival, PFS)和OS更短。除了CellSearch®系统外, 根据上皮肿瘤细胞的大小分离CTCs的平台可以从1 mL外周血样本中捕获CTCs进行计数和免疫形态学分析<sup>[49]</sup>, BAEK等<sup>[50]</sup>基于此对88例新诊断的CRC患者进行了研究, 发现了患者中检测到的CTCs数量高于健康对照组。每7.5 mL血液中CTCs $\geq 5$ 个的患者表现出更差的OS和PFS, 受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)显示CTCs计数在区分患者和对照组方面具有良好的敏感性和特异性(分别为75%和100%)。此外, CTCs计数联合常规肿瘤标志物可显著提高诊断敏感性。例如, 近期报道的基于CytteI方法的研究结果显示, CTCs计数与CEA联合可使I~II期CRC患者的诊断敏感性提高至84.38%<sup>[51]</sup>。

除了CTCs计数外, 通过系列技术对CTCs分子分型也可为全面评估肿瘤状态和肿瘤精准诊疗提供重要的实时信息。分析CTCs表达的蛋白质是最常用的方法之一, 它需要对细胞增殖和凋亡的特定标记物进行抗体免疫染色。一项针对30例局部晚期直肠癌患者的研究报道结果显示, 监测CTCs中胸苷酸合成酶(thymidylate synthetase, TYMS)、切除修复蛋白、紫外切除修复蛋白RAD23B(UV excision repair protein Rad23 homolog B, RAD23B)等蛋白标志物有助于预测化疗/放疗耐药<sup>[52]</sup>。其中TYMS和RAD23B在83%和75%的无应答者中表达, 此外, 在完全缓解的患者中发现TYMS不表达, 这表明TYMS/RAD23B在CTCs中的表达可以帮助区分CRC中应答和无应答的患者。另一种方法是通过多重定量qRT-PCR分析、RNA测序分析或原位RNA杂交在转录组学水平上表征CTCs。WANG等<sup>[53]</sup>报道CTCs在外周血中表达的上皮细胞转化序列2(epithelial cell transformation sequence 2, ECT2)癌基因在晚期CRC患者中显著高表达, 诊断敏感性高于血清CEA。另一项包括70例CRC患者的研究显示, T3和T4期患者的CTCs中MAGEA1-6或hTERT基因的表达水平明显高于T1和T2期患者<sup>[54]</sup>。SHOU等<sup>[55]</sup>在50例复发的III期或IV期CRC患者中开发了一种新的基于CTCs的6基因检测方法, 包含CEA、EpCAM、CK19、MUC1、EGFR和



*C-Met*, 结果显示6基因法诊断CRC的AUC为0.949, 在预测CRC的预后方面该标记物组合仍可作为CRC无进展生存期的有效预测因子, 效果优于CEA。此外, 肿瘤细胞在单细胞水平上具有高度的异质性, 单细胞技术可以帮助揭示肿瘤的异质性。一方面, 单细胞RNA测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)可以作为发现CTCs中新的肿瘤进展标志物的有力工具, 最近的研究报道了使用下一代测序仪对单个CTC进行基因组和转录组学分析<sup>[56-57]</sup>。另一方面, ABouleila等<sup>[58]</sup>报道了一种将单细胞质谱法与微流控细胞富集相结合的方法, 从胃肠道肿瘤患者外周血中获得了单个CTC的非靶向分子图谱, 揭示了不同肿瘤人群CTCs代谢组学特征的差异。这类深入分析可以实时监测癌症患者的体细胞突变谱和耐药克隆的基因组表达, 有助于推进CRC的精准诊疗。

目前, 已成功建立了多种高通量、高敏感度的CTCs分离平台, 可用于对CRC患者外周血中CTCs的动态计数, 然而由于采样和富集方法等差异, 临床评估CRC进展和预后仍缺乏统一的截断值。CTCs的下游分析和单细胞技术也提高了对肿瘤发生、发展、转移和异质性的认识, 有利于个性化药物检测平台的开发。尽管已有多种CTCs检测方法被报道, 但由于缺乏统一的高敏感度和特异性的标准化检测平台, CTCs在临床中的应用尚不广泛。大多数研究都是单中心研究, 病例数量很少, 最终导致许多研究结果由于个体间的差异而不同。故开发具有更高效率、特异性和敏感性的CTCs捕获平台, 纳入大量病例, 开展多中心前瞻性研究是未来重要的研究方向。

## 2.4 肠道菌群及代谢物

肠道菌群广泛参与能量获取、新陈代谢和免疫反应等生理活动, 是与人体健康密切相关的重要微环境, 肠道微生态紊乱是肠道肿瘤发生发展的关键内环境因素<sup>[59]</sup>。目前, 多种研究表明肠道菌群以直接或间接作用影响宿主的生理状态进而参与CRC的发生、发展和治疗过程<sup>[60]</sup>。因此, 鉴于其重要性, 肠道菌群及其代谢产物成为当前受到广泛关注的CRC早期筛查诊断和指导治疗的新型生物标志物<sup>[61]</sup>。

粪便作为能够准确、直观反映肠道微生物组的样本类型, 在基于细菌水平构建的CRC诊断模型中展现出稳健能力<sup>[62]</sup>。基于CRC发展各阶段肠道菌群的差异<sup>[63]</sup>, 粪便菌群分析可能为CRC早期诊断提供可靠依据。粪便中的具核梭杆菌(*Fusobacterium Nu-*

*cleatum*, Fn)丰度可作为CRC的诊断标志物, Fn标志物与FIT联合检测显示出比FIT更高的敏感度(92.3% vs 73.1%)和AUC(0.95 vs 0.86)<sup>[64]</sup>。此外, Fn与双歧杆菌(*Bifidobacterium*, Bb)微生物比值Fn/Bb检测CRC的AUC为0.911<sup>[65]</sup>。研究表明, 在健康人群、进展期肠道腺瘤患者和CRC患者的队列中, 经粪便宏基因组测序分析发现肠道菌群特征随疾病的发生发展存在显著差异, 并能够基于菌群基因标志物构建由4个效应指标组成的诊断分类器, 在独立验证队列中表现出极佳的诊断性能, 其中对进展期腺瘤、高级别异型增生腺瘤、CRC和CRC III~IV期的诊断敏感度分别为71.3%、76.4%、60.3%和74.7%, 特异度分别为90.5%、90.3%、94.6%和94.6%<sup>[66]</sup>。另一项研究整合了全球8个国家/地区的CRC队列共1 368例标本的宏基因组数据, 发现了包括11个细菌、4个真菌和1个古细菌在内的16个微生物菌株标志物, 在诊断CRC患者方面表现良好, AUC为0.83, 并在3个独立队列中保持较高的准确性<sup>[67]</sup>。除粪便标本之外, 在CRC患者的其他生物样本(包括组织<sup>[68]</sup>、血浆<sup>[69]</sup>和口腔拭子<sup>[70]</sup>)中同样也发现了与肠道菌群相关的特征, 表明CRC患者机体微生态的改变及微生物标志物在CRC早筛诊断中具备应用前景。

肠道菌群及其代谢产物不仅在CRC的诊断方面具备优势, 而且对于CRC的治疗预后亦存在不可忽视的指导作用<sup>[71-72]</sup>。YI等<sup>[73]</sup>将CRC患者根据新辅助放化疗(neoadjuvant chemoradiotherapy, nCRT)前后有无应答分为两组, 进行粪便微生物组测序分析, 发现与nCRT应答相关的微生物标志物LARC相关病原体种类的减少以及乳酸菌和链球菌丰度的增加, 并构建随机森林分类器, 训练队列和验证队列AUC值分别为93.57%和73.53%, 为预测nCRT应答提供了新的潜在生物标志物。

肠道菌群作为一种新型“内分泌”器官, 可通过产生各类生物活性代谢物调节宿主代谢活动、免疫稳态以及肿瘤进展全过程。目前已有相关研究将肠道菌群与代谢物进行联合分析, 不仅能够得到CRC的高效能诊断模型, 而且能够提示人体参与CRC发展过程中微生物与代谢产物的关联互作机制<sup>[74-75]</sup>。GAO等<sup>[76]</sup>开发了一种肠道微生物-血清代谢物组合诊断模型, 能够有效诊断腺瘤和CRC患者, AUC分别为0.912和0.994, 此外, 该研究关注到亮氨酸、血清素、全氟辛酸磺酸盐等代谢物与肠道微生物组特征

相关, 将宿主代谢调控与肠道菌群紧密关联。另一项研究对386名受试者的粪便样本进行了代谢组学和宏基因组学分析, 其中包括118名CRC患者、140名结直肠腺瘤(colorectal adenomas, CRA)患者和128名正常对照组(normal controls, NC), 建立了包含20种代谢物的模型, 其区分CRC与NC的AUC为0.80, 区分CRA与CRC的AUC为0.79; 肠道细菌与代谢物标志物的组合提高了其诊断性能, 其区分CRC和NC的AUC为0.94, 区分CRC和CRA的AUC为0.92, 提示肠道菌群与代谢标志物联合检测具有早期诊断结直肠肿瘤的潜力<sup>[75]</sup>。这些肠道微生物与代谢物是否能作为CRC诊疗的标志物还需进一步的临床验证。

### 3 检验大数据与人工智能在CRC诊疗中的应用

随着检验设备自动化普及与检验项目的增多, 患者在就诊过程中产生海量多维度的检验数据, 可利用人工智能如机器学习、深度学习等算法, 对检验大数据、相关临床数据及医学病理图像等进行深度挖掘, 从而建立肿瘤筛查、预警、监测模型。这可为肿瘤患者的早期诊断、分期/分型与预后预测提供可靠参考, 为检验数据的临床价值提升及个性化医疗与精准医学提供积极助力。

临床生化及免疫学检验涉及的项目众多, 产生的检验数据庞大而复杂, 利用机器学习可实现海量数据的有效归纳, 并通过数据挖掘为基础的主成分分析及神经网络模型的建立, 提供多项目组合结果的临床解释, 提升检验数据的临床参考价值。最近一项研究通过机器学习对97 223例结肠镜检查者的多种样本检测数据进行分析, 建立了包含粪便潜血试验、癌胚抗原、红细胞分布宽度、淋巴细胞计数、白球比、高密度脂蛋白胆固醇和乙型肝炎病毒核心抗体7个特征的CRC风险预测模型, 该模型在验证组和前瞻性验证组中的AUC分别为0.799和0.816, 明显高于粪便隐血试验的0.680和0.706<sup>[4]</sup>。

人工智能已广泛应用于医学病理图像识别领域<sup>[77]</sup>, 可将病理组织切片转化为高分辨率数字图像, 有效规避了传统病理诊断模式中的主观性大及不可准确量化的弊端, 通过对图像特征提取及深度学习, 从常规病理中识别生物标志物, 基于深度学习的人工智能技术成为肿瘤精准诊疗新工具。WAGNER等<sup>[78]</sup>开发了一种新的基于Transformer神经网络

的人工智能方法, 通过对来自7个国家的16个队列超过13 000例CRC患者的多中心队列的训练, 建立了基于Transformer的全流程生物标志物预测模型, 该方法在预测CRC生物标志物——微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)方面达到了0.99的敏感度和超过0.99的阴性预测值。FOERSCH等<sup>[79]</sup>通过人工智能建立并评估1 000多名CRC患者免疫评分的多链深度学习模型(multistain deep learning model, MSDLM), 该模型具有较高的预测能力, 并优于其他基于临床、分子和免疫细胞的参数, 该方法可为CRC的预后预测提供有价值的补充。

检验大数据和人工智能在CRC诊断和预后预测等方面已取得较大进展<sup>[80-81]</sup>, 是辅助临床决策及实现个体化医疗的宝贵工具。尽管发展前景广泛, 但算法算力局限以及临床和科研工作者对相关知识与技能的掌握不足仍是制约其在肿瘤诊疗应用中的因素。

### 4 总结与展望

综上所述, 目前临床上CRC常用的肿瘤标志物为CEA与CA19-9等, 其在结直肠癌的辅助诊断、复发转移监测和预后预测中具有一定的指导作用。众多研究表明, 传统血清肿瘤标志物如CEA、CA19-9、CA72-4和CA125等的联合检测在CRC诊疗中的临床价值显著优于单一传统标志物, 有助于CRC的辅助诊断、疗效判断和复发随访监测, 但灵敏度和特异性仍存在一定的局限性, 是CRC临床诊疗面临的一个重要挑战。随着高通量测序、组学分析技术、人工智能等技术的进步, 大量DNA甲基化、非编码RNA、CTC、肠道菌群及代谢物等新型肿瘤标志物逐渐被发现, 这些标志物不仅在CRC的发生发展、转移过程中起着关键作用, 而且在CRC的早期诊断、病情监测及预后预测中具有巨大的临床应用潜力。此外, 借助人工智能分析有效挖掘检验大数据, 建立肿瘤诊断、预警和监测模型, 为CRC的精准诊疗提供了可行性, 这也成为未来肿瘤诊疗的研究趋势。然而, 目前这些新型标志物在实现临床应用过程中尚有许多问题需要解决, 新型标志物的效能仍需要经过临床大样本人群队列验证。同时, 由于这些新型技术的检测成本较高, 检测流程也需要进一步优化完善和规范化, 这些都成为阻碍其广泛应用的重要因素。尽管如此, 相信新型检测技术的持续快速

发展, 将有望推动新型肿瘤标志物的应用推广, 进而推动CRC的精准诊疗进程。

### 参考文献 (References)

- [1] XU L, ZHAO J, LI Z, et al. National and subnational incidence, mortality and associated factors of colorectal cancer in China: a systematic analysis and modelling study [J]. *J Glob Health*, 2023, 13: 04096.
- [2] MÜLLER D, GYÖRFFY B. DNA methylation-based diagnostic, prognostic, and predictive biomarkers in colorectal cancer [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2022, 1877(3): 188722.
- [3] MALLA M, LOREE J M, KASI P M, et al. Using circulating tumor DNA in colorectal cancer: current and evolving practices [J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(24): 2846-57.
- [4] 郭杰, 刘海东, 韦琴, 等. 基于检验大数据的结直肠癌风险预测模型建立与验证[J]. *中华检验医学杂志*(GUO J, LIU H D, WEI Q, et al. Development and validation of colorectal cancer risk prediction model based on the big data in laboratory medicine [J] *Chin J Lab Med*), 2021, 44(10): 914-20.
- [5] TONG G, XU W, ZHANG G, et al. The role of tissue and serum carcinoembryonic antigen in stages I to III of colorectal cancer—a retrospective cohort study [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(11): 5327-38.
- [6] LI L, XING S, WU M, et al. Fecal CEA has an advantage in the diagnosis of colorectal cancer at early stage [J]. *Cancer Control*, 2021, doi: 10.1177/107327482111048292.
- [7] YOU W, YAN L, CAI Z, et al. Clinical significances of positive postoperative serum CEA and post-preoperative CEA increment in stage II and III colorectal cancer: a multicenter retrospective study [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 671.
- [8] KONISHI T, SHIMADA Y, HSU M, et al. Association of preoperative and postoperative serum carcinoembryonic antigen and colon cancer outcome [J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(3): 309-15.
- [9] RAO H, WU H, HUANG Q, et al. Clinical value of serum CEA, CA24-2 and CA19-9 in patients with colorectal cancer [J]. *Clin Lab*, 2021, doi: 10.7754/Clin.Lab.2020.200828.
- [10] LIU J M, WANG Y Y, LIU W, et al. Preoperative CA19-9: a competitive predictor of recurrence in patients with colorectal cancer liver metastases after hepatectomy [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2021, 36(4): 767-78.
- [11] ZHU Z, CHEN Z, CHEN C, et al. Opposite variation tendencies of serum CA724 levels in patients with colon and rectal carcinoma [J]. *Mol Clin Oncol*, 2014, 2(1): 139-45.
- [12] SUN Z Q, MA S, ZHOU Q B, et al. Prognostic value of lymph node metastasis in patients with T1-stage colorectal cancer from multiple centers in China [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(48): 8582-90.
- [13] YUAN S Y, WU W, FU J, et al. Quantitative immunochemical fecal occult blood test for neoplasia in colon cancer screening [J]. *J Dig Dis*, 2019, 20(2): 78-82.
- [14] LEE M W, POURMORADY J S, LAINE L. Use of fecal occult blood testing as a diagnostic tool for clinical indications: a systematic review and Meta-analysis [J]. *Am J Gastroenterol*, 2020, 115(5): 662-70.
- [15] LEE J K, LILES E G, BENT S, et al. Accuracy of fecal immunochemical tests for colorectal cancer: systematic review and Meta-analysis [J]. *Ann Intern Med*, 2014, 160(3): 171.
- [16] MENDIS S, HONG W, ANANDA S, et al. Biology and clinical implications of fecal occult blood test screen-detected colorectal cancer [J]. *JNCI Cancer Spectr*, 2022, doi: 10.1093/jncics/pkab100.
- [17] YANG W, LUO Y, HU S, et al. Value of combined detection of serum carcino-embryonic antigen, carbohydrate antigen 19-9 and cyclooxygenase-2 in the diagnosis of colorectal cancer [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(2): 1551-6.
- [18] ZHANG D, YU M, XU T, et al. Predictive value of serum CEA, CA19-9 and CA125 in diagnosis of colorectal liver metastasis in Chinese population [J]. *Hepatogastroenterology*, 2013, 60(126): 1297-301.
- [19] LI C, ZHANG D, PANG X, et al. Trajectories of perioperative serum tumor markers and colorectal cancer outcomes: a retrospective, multicenter longitudinal cohort study [J]. *EBioMedicine*, 2021, 74: 103706.
- [20] GAO Y, WANG J, ZHOU Y, et al. Evaluation of serum CEA, CA19-9, CA72-4, CA125 and ferritin as diagnostic markers and factors of clinical parameters for colorectal cancer [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2732.
- [21] PAPANICOLAOU-SENGOS A, ALDAPE K. DNA methylation profiling: an emerging paradigm for cancer diagnosis [J]. *Annu Rev Pathol*, 2022, 17: 295-321.
- [22] LAU C E, ROBINSON O. DNA methylation age as a biomarker for cancer [J]. *Int J Cancer*, 2021, 148(11): 2652-63.
- [23] CHURCH T R, WANDELL M, LOFTON-DAY C, et al. Prospective evaluation of methylated SEPT9 in plasma for detection of asymptomatic colorectal cancer [J]. *Gut*, 2014, 63(2): 317-25.
- [24] GAO J J, WANG Y W, LI Y, et al. Performance of circulating methylated Septin9 gene DNA in diagnosis and recurrence monitoring of colorectal cancer in Western China [J]. *Clin Chim Acta*, 2022, 537: 118-26.
- [25] WU Z, LI Y, ZHANG Y, et al. Colorectal cancer screening methods and molecular markers for early detection [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2020, doi: 10.1177/1533033820980426.
- [26] CAI G, CAI M, FENG Z, et al. A multilocus blood-based assay targeting circulating tumor DNA methylation enables early detection and early relapse prediction of colorectal cancer [J]. *Gastroenterology*, 2021, 161(6): 2053-6.e2.
- [27] LUO H, ZHAO Q, WEI W, et al. Circulating tumor DNA methylation profiles enable early diagnosis, prognosis prediction, and screening for colorectal cancer [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(524): eaax7533.
- [28] ZENG T, HUANG Z, YU X, et al. Combining methylated SDC2 test in stool DNA, fecal immunochemical test, and tumor markers improves early detection of colorectal neoplasms [J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1166796.
- [29] NIU F, WEN J, FU X, et al. Stool DNA test of methylated syndecan-2 for the early detection of colorectal neoplasia [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2017, 26(9): 1411-9.
- [30] SUN M, LIU J, HU H, et al. A novel panel of stool-based DNA biomarkers for early screening of colorectal neoplasms in a Chinese population [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2019, 145(10): 2423-32.
- [31] LIANG H, GONG F, ZHANG S, et al. The origin, function, and diagnostic potential of extracellular microRNAs in human body fluids [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2014, 5(2): 285-300.



- [32] SHIGEYASU K, TODEN S, ZUMWALT T J, et al. Emerging role of microRNAs as liquid biopsy biomarkers in gastrointestinal cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(10): 2391-9.
- [33] SCHWARZENBACH H, NISHIDA N, CALIN G A, et al. Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2014, 11(3): 145-56.
- [34] LIU T, LIU D, GUAN S, et al. Diagnostic role of circulating MiR-21 in colorectal cancer: a update Meta-analysis [J]. *Ann Med*, 2021, 53(1): 87-102.
- [35] PARDINI B, FERRERO G, TARALLO S, et al. A fecal microRNA signature by small RNA sequencing accurately distinguishes colorectal cancers: results from a multicenter study [J]. *Gastroenterology*, 2023, 165(3): 582-99.e8.
- [36] ABEDI P, BAYAT A, GHASEMZADEH S, et al. Upregulated miR-410 is linked to poor prognosis in colorectal cancer [J]. *Br J Biomed Sci*, 2020, 77(3): 118-22.
- [37] ZHANG W W, MING X L, RONG Y, et al. Diagnostic value investigation and bioinformatics analysis of miR-31 in patients with lymph node metastasis of colorectal cancer [J]. *Anal Cell Pathol*, 2019, 2019: 9740475.
- [38] OGUNWOBI O O, MAHMOOD F, AKINGBOYE A. Biomarkers in colorectal cancer: current research and future prospects [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 5311.
- [39] GHASEMIAN M, RAJABIBAZL M, MIRFAKHRAIE R, et al. Long noncoding RNA LINC00978 acts as a potential diagnostic biomarker in patients with colorectal cancer [J]. *Exp Mol Pathol*, 2021, 122: 104666.
- [40] ZHAO W, SONG M, ZHANG J, et al. Combined identification of long non-coding RNA CCAT1 and HOTAIR in serum as an effective screening for colorectal carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11): 14131-40.
- [41] SHIGEYASU K, TODEN S, OZAWA T, et al. The PVT1 lncRNA is a novel epigenetic enhancer of MYC, and a promising risk-stratification biomarker in colorectal cancer [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 155.
- [42] YANG L, CUI J, WANG Y, et al. FAM83H-AS1 is upregulated and predicts poor prognosis in colon cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109342.
- [43] JI Q, CAI G, LIU X, et al. MALAT1 regulates the transcriptional and translational levels of proto-oncogene RUNX2 in colorectal cancer metastasis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(6): 378.
- [44] LIU Y, LIU B, JIN G, et al. An integrated three-long non-coding rna signature predicts prognosis in colorectal cancer patients [J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1269.
- [45] TAMMINGA M, GROEN H J M. Required evidence for clinical applications of liquid biopsy using especially ctcs in lung cancer [J]. *Appl Sci*, 2020, 10(11): 3704.
- [46] ALIX-PANABIÈRES C, PANTEL K. Circulating tumor cells: liquid biopsy of cancer [J]. *Clin Chem*, 2013, 59(1): 110-8.
- [47] SASTRE J, MAESTRO M L, PUENTE J, et al. Circulating tumor cells in colorectal cancer: correlation with clinical and pathological variables [J]. *Ann Oncol*, 19(5): 935-8.
- [48] COHEN S J, PUNT C J A, IANNOTTI N, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(19): 3213-21.
- [49] VONA G, SABILE A, LOUHA M, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells [J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(1): 57-63.
- [50] BAEK D H, KIM G H, SONG G A, et al. Clinical potential of circulating tumor cells in colorectal cancer: a prospective study [J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2019, 10(7): e00055.
- [51] YU H, MA L, ZHU Y, et al. Significant diagnostic value of circulating tumour cells in colorectal cancer [J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(1): 317-25.
- [52] TRONCARELLI FLORES B C, SOUZA E SILVA V, ALI ABDALLAH E, et al. Molecular and kinetic analyses of circulating tumor cells as predictive markers of treatment response in locally advanced rectal cancer patients [J]. *Cells*, 2019, 8(7): 641.
- [53] WANG L, ZHOU S, ZHANG W, et al. Circulating tumor cells as an independent prognostic factor in advanced colorectal cancer: a retrospective study in 121 patients [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2019, 34(4): 589-97.
- [54] KIM D D, YANG C S, CHAE H D, et al. Melanoma antigen-encoding gene family member A1-6 and hTERT in the detection of circulating tumor cells following CD45- depletion and RNA extraction [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(1): 837-43.
- [55] SHOU X, LI Y, HU W, et al. Six-gene assay as a new biomarker in the blood of patients with colorectal cancer: establishment and clinical validation [J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(4): 781-91.
- [56] ORTIZ V, YU M. Analyzing circulating tumor cells one at a time [J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(10): 764-75.
- [57] ZHU Z, QIU S, SHAO K, et al. Progress and challenges of sequencing and analyzing circulating tumor cells [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2018, 34(5): 405-15.
- [58] ABOULEILA Y, ONIDANI K, ALI A, et al. Live single cell mass spectrometry reveals cancer-specific metabolic profiles of circulating tumor cells [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(2): 697-706.
- [59] GILBERT J A, BLASER M J, CAPORASO J G, et al. Current understanding of the human microbiome [J]. *Nat Med*, 2018, 24(4): 392-400.
- [60] CULLIN N, AZEVEDO ANTUNES C, STRAUSSMAN R, et al. Microbiome and cancer [J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(10): 1317-41.
- [61] WU Y, JIAO N, ZHU R, et al. Identification of microbial markers across populations in early detection of colorectal cancer [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3063.
- [62] 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 [J]. *Nat Med*, 2019, 25(4): 667-78.
- [63] YACHIDA S, MIZUTANI S, SHIROMA H, et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer [J]. *Nat Med*, 2019, 25(6): 968-76.
- [64] 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 [J]. *Gut*, 2017, 66(8): 1441-8.
- [65] 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 [J]. *Clin Chem*, 2018, 64(9): 1327-37.
- [66] XU J, ZHENG Z, YANG L, et al. A novel promising diagnosis

- model for colorectal advanced adenoma and carcinoma based on the progressive gut microbiota gene biomarkers [J]. *Cell Biosci*, 2022, 12(1): 208.
- [67] LIU N N, JIAO N, TAN J C, et al. Multi-kingdom microbiota analyses identify bacterial-fungal interactions and biomarkers of colorectal cancer across cohorts [J]. *Nat Microbiol*, 2022, 7(2): 238-50.
- [68] MOURADOV D, GREENFIELD P, LI S, et al. Oncomicrobial community profiling identifies clinicomolecular and prognostic subtypes of colorectal cancer [J]. *Gastroenterology*, 2023, 165(1): 104-20.
- [69] XIAO Q, LU W, KONG X, et al. Alterations of circulating bacterial DNA in colorectal cancer and adenoma: a proof-of-concept study [J]. *Cancer Lett*, 2021, 499: 201-8.
- [70] FLEMER B, WARREN R D, BARRETT M P, et al. The oral microbiota in colorectal cancer is distinctive and predictive [J]. *Gut*, 2018, 67(8): 1454-63.
- [71] GOPALAKRISHNAN V, HELMINK B A, SPENCER C N, et al. The influence of the gut microbiome on cancer, immunity, and cancer immunotherapy [J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(4): 570-80.
- [72] MATSON V, CHERVIN C S, GAJEWSKI T F. Cancer and the microbiome-influence of the commensal microbiota on cancer, immune responses, and immunotherapy [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(2): 600-13.
- [73] YI Y, SHEN L, SHI W, et al. Gut microbiome components predict response to neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced rectal cancer: a prospective, longitudinal study [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(5): 1329-40.
- [74] CHEN F, DAI X, ZHOU C C, et al. Integrated analysis of the faecal metagenome and serum metabolome reveals the role of gut microbiome-associated metabolites in the detection of colorectal cancer and adenoma [J]. *Gut*, 2022, 71(7): 1315-25.
- [75] 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 [J]. *Microbiome*, 2022, 10(1): 35.
- [76] GAO R, WU C, ZHU Y, et al. Integrated analysis of colorectal cancer reveals cross-cohort gut microbial signatures and associated serum metabolites [J]. *Gastroenterology*, 2022, 163(4): 1024-37, e9.
- [77] HUANG S, YANG J, SHEN N, et al. Artificial intelligence in lung cancer diagnosis and prognosis: current application and future perspective [J]. *Semin Cancer Biol*, 2023, 89: 30-7.
- [78] WAGNER S J, REISENBÜCHLER D, WEST N P, et al. Transformer-based biomarker prediction from colorectal cancer histology: a large-scale multicentric study [J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(9): 1650-61, e4.
- [79] FOERSCH S, GLASNER C, WOERL A C, et al. Multistain deep learning for prediction of prognosis and therapy response in colorectal cancer [J]. *Nat Med*, 2023, 29(2): 430-9.
- [80] CHEN H, LI C, LI X, et al. IL-MCAM: an interactive learning and multi-channel attention mechanism-based weakly supervised colorectal histopathology image classification approach [J]. *Comput Biol Med*, 2022, 143: 105265.
- [81] REICHLING C, TAIEB J, DERANGERE V, et al. Artificial intelligence-guided tissue analysis combined with immune infiltrate assessment predicts stage III colon cancer outcomes in PETACC08 study [J]. *Gut*, 2020, 69(4): 681-90.