·论著·一次研究·

支气管肺泡灌洗液中 *SHOX2*、*RASSF1A* 基因甲基化水平对肺癌患者诊断与预后评估的价值

何韶华[1,2]，张田慧[3]，周　琴[1]，陈　成[1,2]，刘仁水[2,3]，余鹏飞[4]，蒋　丽[3]，贺志辉[3]，谢文霞[3]，谭力铭[2]

1. 怀化市肿瘤医院精准医学中心（湖南怀化 418000）
2. 肿瘤防治怀化市重点实验室（湖南怀化 418000）
3. 怀化市肿瘤医院呼吸与危重医学科（湖南怀化 418000）
4. 怀化市肿瘤医院病理科（湖南怀化 418000）

【摘要】目的 探讨支气管肺泡灌洗液（BALF）中 *SHOX2*、*RASSF1A* 甲基化水平在肺癌诊断与预后评估中的应用价值。**方法** 选取 2020 年 11 月至 2023 年 6 月于怀化市肿瘤医院行支气管镜检查的患者为研究对象，收集临床资料；通过 PCR 检测患者 BALF 样本中 *SHOX2*、*RASSF1A* 基因甲基化水平；采用 Kappa 一致性检验、受试者工作特征（ROC）曲线及其曲线下面积（AUC）评估 *SHOX2/RASSF1A* 甲基化水平对肺癌的诊断价值；采用 Kaplan-Meier 生存曲线和 Cox 回归分析评估 *SHOX2/RASSF1A* 甲基化水平对肺癌患者的预后价值。**结果** 共纳入 108 例研究对象，肺癌组 68 例，对照组 40 例。甲基化检测与组织病理学诊断有较高一致性［Kappa=0.718，95%CI（0.589，0.847）］。ROC 曲线结果显示，*SHOX2/RASSF1A* 阳性的 AUC 值为 0.879，高于 *SHOX2*、*RASSF1A* 单独阳性的 AUC 值（0.865 和 0.723）。生存曲线分析发现，*SHOX2/RASSF1A* 阳性患者生存率低于 *SHOX2*、*RASSF1A* 均阴性患者（$P < 0.05$）。单因素 Cox 分析提示 *SHOX2*、*RASSF1A* 与肺癌患者总生存期（OS）显著相关，多因素 Cox 分析则提示 *SHOX2*、*RASSF1A* 并非 OS 的独立风险因素。**结论** BALF 中 *SHOX2/RASSF1A* 甲基化检测在肺癌诊断中有较高的敏感性和特异性，并与肺癌患者的预后生存相关，可作为肺癌早期诊断及预后评估的辅助指标。

【关键词】DNA 甲基化；*SHOX2*；*RASSF1A*；肺癌；预后生物标志物

【中图分类号】R734.2　　**【文献标识码】**A

Value of *SHOX2* and *RASSF1A* gene methylation in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis and prognostic assessment in lung cancer patients

HE Shaohua[1,2], ZHANG Tianhui[3], ZHOU Qin[1], CHEN Cheng[1,2], LIU Renshui[2,3], YU Pengfei[4], JIANG Li[3], HE Zhihui[3], XIE Wenxia[3], TAN Liming[2]

1. Precision Medicine Center, Huaihua Cancer Hospital, Huaihua 418000, Hunan Province, China

2. Huaihua Key Laboratory of Cancer Prevention and Treatment, Huaihua 418000, Hunan Province, China

3. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Huaihua Cancer Hospital, Huaihua 418000, Hunan Province, China

4. Department of Pathology, Huaihua Cancer Hospital, Huaihua 418000, Hunan Province, China

Corresponding author: TAN Liming, Email: tanliming1973@126.com

DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202510121

基金项目：湖南省卫生健康委科研计划项目（D202303109479）

通信作者：谭力铭，博士，主任药师，硕士研究生导师，Email：tanliming1973@126.com

【Abstract】Objective To explore the application value of *SHOX2* and *RASSF1A* methylation in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in the diagnosis and prognostic assessment of lung cancer. Methods Patients undergoing bronchoscopy at Huaihua Cancer Hospital from November 2020 to June 2023 were enrolled as study subjects, and the clinical data were collected. *SHOX2* and *RASSF1A* methylation levels in BALF samples were detected by polymerase chain reaction (PCR). The Kappa consistency test, receiver operating characteristic (ROC) curve and the area under the curve (AUC) were used to evaluate the diagnostic value of *SHOX2*/*RASSF1* methylation for lung cancer, and the Kaplan-Meier survival curves and Cox regression were employed to evaluate the prognostic value. Results A total of 108 subjects were included in the study, comprising 68 in the lung cancer group and 40 in the control group. Methylation testing showed a high degree of agreement with histopathological diagnosis [Kappa = 0.718, 95% CI (0.589, 0.847)]. The diagnostic efficacy of *SHOX2*/*RASSF1A* positivity for lung cancer was 0.879, higher than the AUC values for *SHOX2* and *RASSF1A* positivity alone (0.865 and 0.723, respectively). Survival curve analysis revealed that the survival rate of patients positive for *SHOX2*/*RASSF1A* was lower than that of patients negative for both *SHOX2* and *RASSF1A* ($P < 0.05$). Univariate Cox analysis indicated that *SHOX2* and *RASSF1A* methylation were significantly associated with overall survival (OS) in lung cancer patients, whereas multivariate Cox analysis suggested that *SHOX2* and *RASSF1A* methylation were not independent risk factors for OS. Conclusion Detection of *SHOX2*/*RASSF1A* methylation in BALF has high sensitivity and specificity in the diagnosis of lung cancer and is associated with the prognostic survival of lung cancer patients, and can serve as an auxiliary indicator for early diagnosis and prognostic evaluation of lung cancer.

【Keywords】DNA methylation; *SHOX2*; *RASSF1A*; Lung cancer; Prognostic biomarker

全球癌症统计数据显示，肺癌是导致癌症死亡的首要原因[1]。我国肺癌患者5年生存率仅为19.7%，但早期识别并行肺叶切除术可使ⅠA期肺癌患者术后5年生存率提高至90%[2-3]。低剂量螺旋CT是早期肺癌筛查的常见方法，但其假阳性率高，易造成过度诊疗，加重患者身心与经济负担[4]。对于肺部可疑病灶，支气管镜活检为临床病理诊断的金标准，但受病灶位置、体积及操作水平等多重因素限制，支气管镜活检对外周肺结节的诊断敏感度仅为18%~62%[5]。此外，常规血清肿瘤标志物存在敏感度与特异度不足等局限，难以满足早期筛查需求[6-7]。因此，临床亟需一种高效、精准的新型生物标志物，为早期肺癌的精准诊断提供可靠依据。

DNA甲基化作为一种表观遗传修饰，广泛参与恶性肿瘤发生和进展的早期调控过程，可作为恶性肿瘤早期诊断的生物标志物[8-9]。矮小同源盒基因2（short stature homeobox 2，*SHOX2*）与RAS关联域家族蛋白1A（RAS association domain family 1A，*RASSF1A*）启动子区域的甲基化状态，是目前肺癌诊断及预后评估领域研究最为广泛的生物标志物[10-12]。然而，基于表观遗传的甲基化诊断标志物，易受遗传和环境变化的影响[9-10]。怀化地区处于湖南省西部，苗族、侗族、土家族等多个少数民族在此聚集，地理环境、饮食及行为习惯等与其他地区存在显著差异。基于此，本研究纳入怀化地区因肺部病变就诊的患者为研究对象，通过检测支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）中*SHOX2*、*RASSF1A*基因甲基化水平，评估DNA甲基化在该地区肺癌患者早期诊断和预后评估中的价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2020年11月至2023年6月于怀化市肿瘤医院行支气管镜检查的患者为研究对象，回顾性分析患者临床资料。纳入标准：①年龄18~85岁；②常规剂量CT或三维重建发现有肺部病变，描述为肺结节、占位或阴影性病变等；③具有1年以上随访信息；④能够充分理解知情同意书内容。排除标准：①术中不耐受内镜检查或未完善病理检查；②支气管灌洗液样本不合格；③合并其他部位原发肿瘤。本研究经怀化市肿瘤医院伦理委员会审批（批号：HHSEYYEC-202111-K1-修正案审查1）。

根据病理检查结果，将研究对象分为肺癌组和对照组。

1.2 资料收集

通过电子病历系统收集患者临床资料，包括

年龄、性别、民族、吸烟史、肿瘤分期、组织学亚型、分化程度以及肿瘤直径等。肿瘤分期按照国际肺癌研究协会制订的第8版国际肺癌TNM分期标准确定[13]。

1.3 BALF采集

由呼吸科副主任及以上医师操作，将60 mL灭菌生理盐水分3次注入病变肺段，停留20 s后负压抽吸，回收量≥20 mL，随后刷检或钳取组织行病理学检查。

1.4 DNA提取与亚硫酸盐修饰

取BALF 10 mL，10 000 rpm离心5 min，弃去上清液，采用天根生化科技（北京）有限公司的血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒（DP304-03）进行DNA提取。DNA亚硫酸盐修饰过程按照Zymo Research生物科技公司的EZ DNA Methylation-DirectTM Kit试剂盒说明书操作。

1.5 荧光定量PCR

修饰后的DNA采用*SHOX2*、*RASSF1A*基因甲基化DNA检测试剂盒（PCR荧光法）（上海透景生命科技股份有限公司，国械注准：20173403354）检测。阳性判读标准为：FAM荧光信号的扩增曲线为光滑S形，且Ct值＜35，提示*RASSF1A*基因甲基化阳性；VIC或HEX荧光信号的扩增曲线为光滑S形，且Ct值＜32，提示*SHOX2*基因甲基化阳性。*SHOX2/RASSF1A*阳性：*SHOX2*和*RASSF1A*基因甲基化联合检测任一阳性；*SHOX2+RASSF1A*阳性：*SHOX2*和*RASSF1A*基因甲基化联合检测均阳性。

1.6 统计学分析

采用SPSS 25.0和GraphPad Prism 9软件进行统计分析与图表绘制。计数资料采用例数和百分比（n，%）表示，组间比较采用χ^2检验。采用Kappa法分析PCR检测和组织病理学检测结果的一致性，采用受试者工作特征（receiver operating characteristic，ROC）曲线及其曲线下面积（area under curve，AUC）评估各指标的诊断效能。既往研究表明，肿瘤直径是肺癌患者的独立预后因素[14]。据此，采用Kaplan-Meier曲线和Log-rank检验评估不同肿瘤直径和DNA甲基化水平患者组间生存差异。单因素Cox回归分析初步筛选生存状况的影响因素，将P＜0.1的变量纳入多因素Cox比例风险模型最终筛选；P＜0.05为差异有统计学意义。总生存期（overall survival，OS）定义为入组至死亡的时间，若患者末次随访时仍然存活，则以末次随访时间（2025年3月15日）作为OS终点。

2 结果

2.1 一般情况

共纳入108例研究对象，肺癌组68例、对照组40例。两组患者在年龄、性别、民族、吸烟史等一般资料上差异无统计学意义（P＞0.05），见表1。

2.2 一致性检验

PCR检测BALF中*SHOX2*和*RASSF1A*基因甲基化水平，并与组织病理活检结果对比。68例肺癌组患者中*SHOX2*、*RASSF1A*基因甲基化阳性55例，40例对照组患者中甲基化阳性2例，提示甲基化检测与病理活检一致性较高，可用于肺癌诊断［Kappa=0.718，95%CI（0.589，0.847）］。

2.3 不同肿瘤分期诊断敏感性分析

*SHOX2/RASSF1A*阳性在不同分期肿瘤中的诊断敏感性高于*SHOX2*、*RASSF1A*单一阳性，也高于*SHOX2*、*RASSF1A*联合阳性；其中，*SHOX2*在肿瘤Ⅰ期患者中的敏感性较高，与*SHOX2/RASSF1A*检测结果一致，高于*RASSF1A*的敏感性，提示*SHOX2*甲基化对早期肺癌具有一定的诊断价值，见附件表1。

表1 肺癌组与对照组一般资料（n，%）

Table 1. General characteristics of the lung cancer and control groups (n, %)

特征	肺癌组（n=68）	对照组（n=40）	χ^2值	P值
年龄（岁）			0.365	0.833
18~60	20（29.4）	14（35.0）		
61~69	24（35.3）	13（32.5）		
70~85	24（35.3）	13（32.5）		
性别			0.879	0.349
男	50（73.5）	26（65.0）		
女	18（26.5）	14（35.0）		
民族			0.122	0.726
汉族	53（77.9）	30（75.0）		
少数民族	15（22.1）	10（25.0）		
吸烟史			1.271	0.260
有	48（70.6）	24（60.0）		
无	20（29.4）	16（40.0）		
组织学亚型			-	-
腺癌	28（41.2）	-		
鳞癌	25（36.8）	-		
小细胞肺癌	15（22.0）	-		
肿瘤分期			-	-
Ⅰ-Ⅱ期	11（16.2）	-		
Ⅲ-Ⅳ期	57（83.8）	-		
分化程度			-	-
中高分化	35（51.5）	-		
低分化	33（48.5）	-		

2.4 不同组织学亚型诊断敏感性分析

SHOX2、*RASSF1A* 甲基化在不同组织学亚型肿瘤中的诊断敏感性稍有差异。*SHOX2/RASSF1A* 甲基化阳性对肺鳞癌和小细胞肺癌亚型敏感性较好，高于肺腺癌；进一步分析发现，肺鳞癌、小细胞肺癌中 *SHOX2/RASSF1A* 的诊断能力主要基于 *SHOX2* 甲基化阳性，敏感性达92.0%、93.3%，见附件表2。

2.5 诊断效能分析

ROC 曲线结果显示，*SHOX2*、*RASSF1A* 单一阳性的 AUC 值分别为 0.865［95%CI（0.793，0.937）］和 0.723［95%CI（0.629，0.817）］，*SHOX2/RASSF1A* 阳性的 AUC 值为 0.879［95%CI（0.811，0.948）］，其中敏感性为80.9%，特异性为95.0%，提示 *SHOX2/RASSF1A* 阳性在肺癌中具有较高的诊断价值，见附件图1、附件表3。

2.6 预后价值分析

截至末次随访，肿瘤组尚有 11 例患者存活。Kaplan-Meier 曲线显示，*SHOX2*、*RASSF1A* 甲基化阳性患者生存率显著低于 *SHOX2*、*RASSF1A* 甲基化阴性患者（$P < 0.01$），见图 1-A 和 1-B；*SHOX2/RASSF1A* 甲基化阳性患者生存率低于 *SHOX2*、*RASSF1A* 均阴性患者（$P < 0.05$），但 *SHOX2/RASSF1A* 阳性与 *SHOX2*+*RASSF1A* 阳性对肺癌患者预后的影响无明显区别，见图 1-C。本研究还发现肿瘤直径 > 5 cm 的患者生存率明显低于肿瘤直径 ≤ 5 cm 的患者（$P < 0.001$）。肿瘤直径和 DNA 甲基化联合分析表明，肿瘤直径 ≤ 5 cm 且 *RASSF1A* 甲基化阴性患者生存率明显优于 *RASSF1A* 甲基化阳性患者，提示 *RASSF1A* 甲基化阳性是判断肺癌患者预后的优良指标（$P < 0.001$）；进一步分析显示，肿瘤直径 ≤ 5 cm 且 *SHOX2*+*RASSF1A* 甲基化阴性患者生存率显著高于肿瘤直径 > 5 cm 且 *SHOX2/RASSF1A* 阳性的患者（$P < 0.001$），见图 1-D 至 1-F。

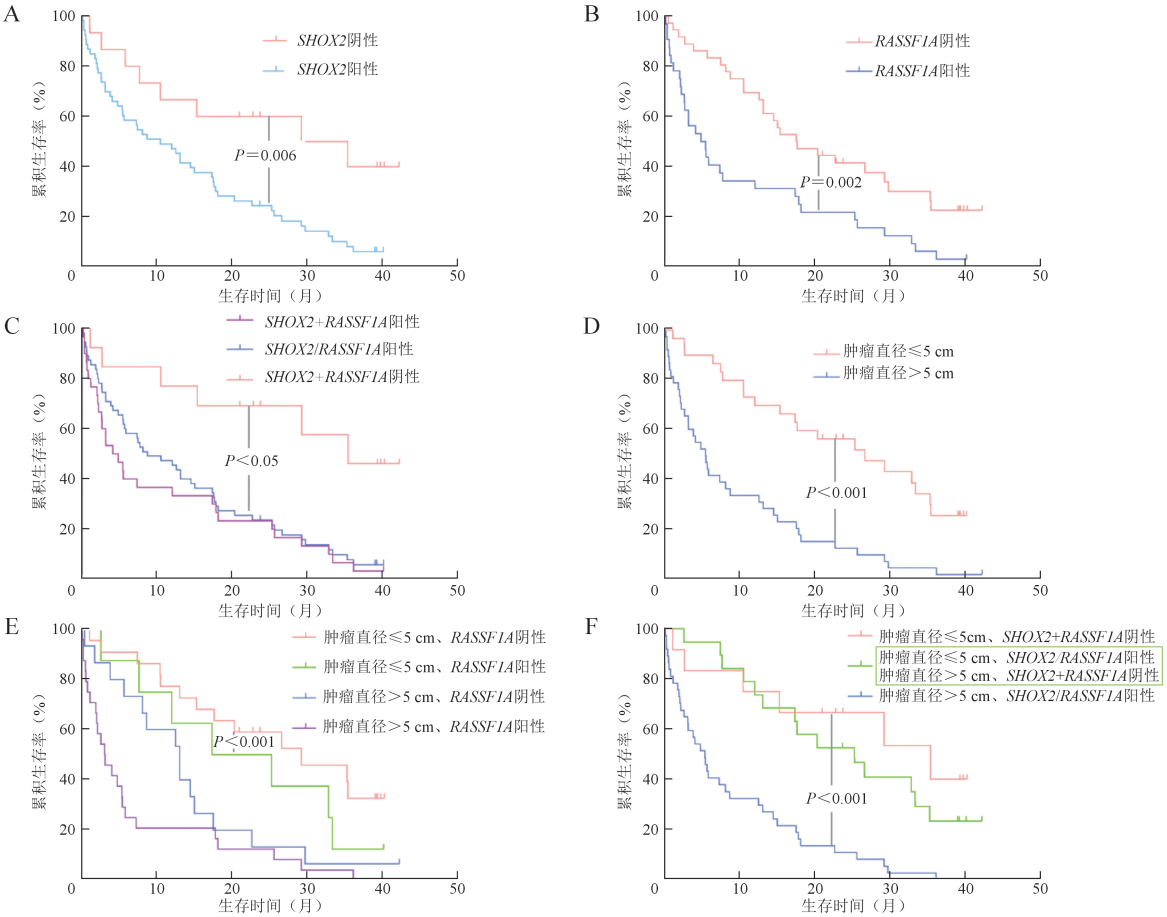


图1 肺癌患者生存曲线分析

Figure 1. Kaplan-Meier survival curves of lung cancer patients

注：A.*SHOX2* 甲基化结果分组生存曲线；B.*RASSF1A* 甲基化结果分组生存曲线；C.*SHOX2*+*RASSF1A* 阴性与 *SHOX2*、*RASSF1A* 单阳或双阳性组生存曲线；D. 肿瘤直径分组生存曲线；E. 肿瘤直径与 *RASSF1A* 甲基化联合分组生存曲线；F. 肿瘤直径与 *SHOX2/RASSF1A* 甲基化联合分组生存曲线，其中肿瘤直径 > 5 cm、*SHOX2*+*RASSF1A* 阴性组仅 1 例。

2.7 肺癌患者OS危险因素分析

单因素Cox回归分析显示年龄、吸烟史、肿瘤分期、分化程度、病理类型、*SHOX2/RASSF1A*等与肺癌患者OS相关，将其纳入多因素Cox回归模型，结果显示肿瘤III–IV期［HR=8.921，95%CI（1.823，43.655）］、低分化［HR=3.493，95%CI（1.487，8.204）］、小细胞肺癌［HR=2.620，95%CI（1.044，6.574）］是OS的独立危险因素，见表2。

表2 影响OS的单因素与多因素分析［HR（95%CI）］

Table 2. Univariate and multivariate analysis of factors affecting OS [HR (95%CI)]

指标	单因素Cox回归		多因素Cox回归	
	HR值（95%CI）	*P*值	HR（95%CI）	*P*值
年龄	0.969（0.935，1.005）	0.093	0.979（0.940，1.020）	0.312
男性	1.916（1.007，3.645）	0.047	2.618（0.912，7.515）	0.074
吸烟史	2.328（1.239，4.374）	0.009	0.842（0.235，3.011）	0.791
少数民族	1.420（0.776，2.598）	0.256	–	–
组织学亚型				
腺癌	Ref.		Ref.	
鳞癌	1.229（0.670，2.254）	0.505	1.229（0.487，3.101）	0.662
小细胞肺癌	5.490（2.659，11.336）	< 0.001	2.620（1.044，6.574）	0.040
分化程度低	6.914（3.541，13.498）	< 0.001	3.493（1.487，8.204）	0.004
肿瘤 > 5cm	3.193（1.828，5.578）	< 0.001	1.269（0.583，2.762）	0.547
淋巴结转移	4.478（2.012，11.345）	< 0.001	0.969（0.306，3.072）	0.958
肿瘤Ⅲ–Ⅳ期	9.195（2.802，30.171）	< 0.001	8.921（1.823，43.655）	0.007
*SHOX2*阳性	2.767（1.302，5.879）	0.008	0.476（0.091，2.479）	0.378
*RASSF1A*阳性	2.279（1.347，3.858）	0.002	1.000（0.527，1.896）	1.000
*SHOX2/RASSF1A*阳性	3.587（1.526，8.428）	0.003	3.602（0.460，28.181）	0.222

3 讨论

DNA甲基化是驱动恶性肿瘤发生发展的重要表观遗传修饰[15]。研究发现，肺癌中多个基因呈局灶高甲基化状态，其中抑癌基因启动子区域甲基化对肺癌的发生和进展具有显著影响[16]。因此，对外周血、痰液等体液标本中DNA甲基化状态检测，在肺癌早期筛查与诊断中具备重要临床应用价值[17-18]。

本研究结果显示，PCR检测BALF中*SHOX2/RASSF1A*甲基化水平诊断肺癌与组织病理学检查结果一致性较高（Kappa=0.718）。亚组分析发现，*SHOX2/RASSF1A*对中晚期患者的诊断敏感性明显高于早期患者，与唐华等[19]研究结果一致，可能与晚期肺癌侵袭性更强，DNA甲基化水平更高有关。在Ⅱ期患者中，*SHOX2*、*RASSF1A*单独应用的敏感性分别为60.0%和40.0%，联合应用则提升至80.0%。有研究表明，BALF中*SHOX2*甲基化是早期肺癌诊断的高敏感性指标，*SHOX2*甲基化在Ⅰ期肺癌的阳性率（78.6%）显著高于*RASSF1A*阳性率（28.6%）[20-22]。本研究中*SHOX2*在Ⅰ期肿瘤的敏感性为50.0%，高于*RASSF1A*。此外，一项TCGA数据库队列分析证实*SHOX2*甲基化在Ⅲ~Ⅳ期肺癌中无显著升高，提示*SHOX2*可能是早期肺癌而非进展期肺癌的诊断标志物[23]。抑癌基因*RASSF1A*与肺癌的TNM分期和淋巴结转移存在显著相关性，广泛参与肺癌的侵袭、转移等生物学过程[24]。*RASSF1A*基因高甲基化可在不同分期肺癌中检测到，特异度较高，但存在敏感性不足的问题[25]。基于两基因在肺癌中敏感性和特异性的不同优势，*SHOX2*、*RASSF1A*联合应用更具备作为早期肺癌诊断分子标志物的应用潜力，后续可进一步探索与传统肿瘤标志物、低剂量螺旋CT联用的诊断效能，以期改善临床早期肺癌诊断中假阳性与假阴性偏高的现状。

组织学亚型分析显示，*SHOX2*和*RASSF1A*甲基化在小细胞肺癌和鳞癌中的诊断敏感性较好，优于腺癌，与Ren等[20]研究结果一致。可能与小细胞肺癌和鳞癌多为中央型病灶，肿瘤细胞及其标志物更易释放至BALF有关[26]。预后分析显示，*SHOX2*、*RASSF1A*甲基化状态与肺癌患者生存率显著相关（$P < 0.05$）。单因素回归分析表明，2种基因甲基化均为肺癌预后的相关危险因

素，但多因素Cox分析显示，*SHOX2*、*RASSF1A*甲基化并非肺癌患者的独立预后因子（$P > 0.05$），而肿瘤分期、分化程度以及病理类型仍是影响预后的独立危险因素。不同病理类型肺癌的预后及治疗方案存在异质性，在校正病理类型、肿瘤分期等变量后，2种基因甲基化的预后独立预测价值被明显削弱，提示其预后作用可能受临床病理特征混杂调控。综上，尽管*SHOX2*、*RASSF1A*甲基化并非肺癌独立预后因素，但其在单因素模型中与生存预后显著关联，提示二者参与肺癌恶性进展进程，可为临床个体化治疗方案制定提供参考依据[27]。

本研究存在一定局限性。首先，研究样本量较小，Ⅰ~Ⅱ期患者占比较少，难以确定*SHOX2/RASSF1A*对早期肺癌的诊断效能，后续仍需进一步扩大验证；其次，表观遗传修饰受基因、饮食习惯及环境等多因素调控，本研究探索了民族差异对*SHOX2*、*RASSF1A*甲基化水平的影响，结果显示差异无统计学意义，可能与样本中少数民族占比较少，亚组分析的统计效力不足有关，后续研究值得扩大样本量进一步探索。

综上，*SHOX2/RASSF1A*甲基化检测在肺癌诊断中与组织病理学方法一致性较强，具有作为早期肺癌诊断生物标志物的潜力，*SHOX2/RASSF1A*甲基化水平与肺癌患者的生存预后存在相关性。

附件见《医学新知》官网附录（https://yxxz.whuznhmedj.com/futureApi/storage/appendix/202510121.pdf）

伦理声明：本研究经怀化市肿瘤医院伦理委员会审批（批号：HHSEYYEC-202111-K1-修正案审查1）

作者贡献：实验设计：何韶华；临床检查操作、数据收集、随访：张田慧、蒋丽、贺志辉；数据分析、作图：周琴、谢文霞；样本检测：陈成；临床病例入组：刘仁水；病理诊断：余鹏飞；论文撰写：何韶华、周琴；研究指导、论文审定、经费支持：谭力铭

数据获取：本研究中使用和（或）分析的数据可联系通信作者获取

利益冲突声明：无

致谢：感谢本次科研及论文写作过程中科室同事的支持

参考文献

1 Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021,71(3): 209-249.

2 Zeng H, Chen W, Zheng R, et al. Changing cancer survival in China during 2003-15: a pooled analysis of 17 population-based cancer registries[J]. Lancet Glob Health, 2018, 6(5): e555-e567.

3 Yotsukura M, Asamura H, Motoi N, et al. Long-term prognosis of patients with resected adenocarcinoma in situ and minimally invasive adenocarcinoma of the lung[J]. J Thoracic Oncol, 2021, 16(8): 1312-1320.

4 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.

5 Yang WH, Xu TQ, Zhang Y, et al. Application of electromagnetic navigation bronchoscopy in the early diagnosis and treatment of lung cancer: a narrative review[J]. Transl Cancer Res, 2021, 10(3): 1583-1593.

6 Chu XY, Hou XB, Song WA, et al. Diagnostic values of SCC, CEA, Cyfra21-1 and NSE for lung cancer in patients with suspicious pulmonary masses: a single center analysis[J]. Cance Biol Ther, 2011, 11(12): 995-1000.

7 中华医学会呼吸病学分会. 早期肺癌诊断中国专家共识(2023年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2023, 46(1): 1-18. [Chinese Thoracic Society. Chinese expert consensus on the early diagnosis of lung cancer (2023)[J]. Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 2023, 46(1): 1-18.]

8 Nishiyama A, Nakanishi M. Navigating the DNA methylation landscape of cancer[J]. Trends Genet: TIG, 2021, 37(11): 1012-1027.

9 Esteller M, Herman JG. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours[J]. J Pathol, 2002, 196(1): 1-7.

10 Mari-Alexandre J, Diaz-Lagares A, Villalba M, et al. Translating cancer epigenomics into the clinic:focus on lung cancer[J]. Transl Res, 2017, 189: 76-92.

11 Shi J, Chen X, Zhang L, et al. Performance evaluation of SHOX2 and RASSF1A methylation for the aid in diagnosis of lung cancer based on the analysis of FFPE specimen[J]. Front Oncol, 2020, 10: 565780.

12 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.

13 Detterbeck FC, Boffa DJ, Kim AW, et al. The eighth edition lung cancer stage classification[J]. Chest, 2017, 151(1): 193-203.

14 Cangir AK, Kutlay H, Akal M, et al. Prognostic value of tumor size in non-small cell lung cancer larger than five centimeters in diameter[J]. Lung Cancer, 2004, 46(3): 325-331.

15 张亚靖, 李昱立, 邱丽, 等. 良性肺部疾病患者*SHOX2*和*RASSF1A*基因甲基化的意义[J]. 西部医学, 2025, 37(1):10-14.[Zhang YJ, Li YL, Qiu L, et al. Significance of methylation of SHOX2 and RASSF1A genes in patients with benign lung disease[J].Medical Journal of West China, 2025, 37(1):10-14]

16 Hong Y, Kim WJ. DNA Methylation markers in lung cancer[J]. Curr Genomics, 2021, 22(2): 79-87.

17 王莉, 谷秀娟. 支气管肺泡灌洗液肿瘤标志物检测用于肺癌早期诊断的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(9): 141-145. [Wang L, Gu XJ. Research progress on tumor marker detection in bronchoalveolar lavage fluid for early diagnosis of lung cancer[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2021, 31(9): 141-145.]

18 罗汶鑫, 杨澜, 王成弟, 等. 肺癌筛查与早期诊断的研究现状与挑战[J]. 中国科学: 生命科学, 2022, 52(11): 1603-1611. [Luo WX, Yang L, Wang CD, et al. Current status and challenges of reasearch on lung cancer screening and early diagnosis (in Chinese)[J]. Scientia Sinica Vitae, 2022, 52(11): 1603-1611.]

19 唐华, 唐际富, 廖洪春, 等. 肺癌侵袭转移与外周血*RASSF1A*、*SHOX2*甲基化水平的相关性研究[J]. 河北医药, 2021, 43(23): 3593-3596.

[Tang H, Tang JF, Liao HC, et al. The correlation between the invasion, metastasis of lung cancer and the methylatron of RASSF1A,SHOX2 in peripheral blood[J]. Hebei Medical Journal, 2021, 43(23): 3593-3596.]

20 Ren M, Wang C, Sheng D, et al. Methylation analysis of *SHOX2* and *RASSF1A* in bronchoalveolar lavage fluid for early lung cancer diagnosis[J]. Ann Diagn Pathol, 2017,27: 57-61.

21 Liu J, Bian T, She B, et al. Evaluating the comprehensive diagnosis efficiency of lung cancer, including measurement of *SHOX2* and *RASSF1A* gene methylation[J]. BMC Cancer, 2024, 24(1): 282.

22 陈瑞英, 刘雅, 孙婷, 等. 支气管肺泡灌洗液中*SHOX2*和*RASSF1A*基因甲基化检测对肺癌的诊断价值[J]. 郑州大学学报, 2019, 54(5): 732-736.[Chen RY, Liu Y, Sun T, et al. Value of DNA methylation analysis of *SHOX2* and *RASSF1A* in bronchoalveolar lavage fluid in diagnosis of lung cancer[J]. Journal of Zhengzhou University (Medical Sciences), 2019, 54(5): 732-736.]

23 Gao H, Yang J, He L, et al. The diagnostic potential of *SHOX2* and *RASSF1A* DNA methylation in early lung adenocarcinoma[J]. Front Oncol, 2022, 12: 849024.

24 Chen T, Sun Z, Liu F, et al. *RASSF1A* and SIRT6 in non-small cell lung cancer: relationship with clinical outcome[J]. Oncol Lett, 2017, 14(5): 5759-5764.

25 Chen XP, He SX, Chen MY, et al. Meta-analysis of the accuracy for *RASSF1A* methylation in bronchial aspirates for the diagnosis of lung cancer[J]. PLoS One, 2024, 19(7): e0299447.

26 Zhang C, Yu W, Wang L, et al. DNA Methylation analysis of the *SHOX2* and *RASSF1A* panel in bronchoalveolar lavage fluid for lung cancer diagnosis[J]. J Cancer, 2017, 8(17): 3585-3591.

27 范可豪. *RASSF1A*基因在肺癌中的作用分析[J]. 中国医药科学, 2023, 13(17): 57-60, 64. [Fan KH, Analysis on the role of *RASSF1A* gene in lung cancer[J]. China Medicine and Pharmacy, 2023, 13(17): 57-60, 64.]

收稿日期：2025 年 10 月 27 日 修回日期：2025 年 12 月 30 日
本文编辑：杨室淞 曹 越

引用本文：何韶华, 张田慧, 周琴, 等. 支气管肺泡灌洗液中*SHOX2*、*RASSF1A*基因甲基化水平对肺癌患者诊断与预后评估的价值[J]. 医学新知, 2026, 36(6): 624-630. DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202510121.
He SH, Zhang TH, Zhou Q, et al. Value of *SHOX2* and *RASSF1A* gene methylation in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis and prognostic assessment in lung cancer patients[J]. Yixue Xinzhi Zazhi, 2026, 36(6): 624-630. DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202510121.