

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.05.020

· 综述 ·

利用 *SEPT9* 基因甲基化检测筛查结直肠癌的研究进展

Research progress of methylated *SEPT9* gene in the detection for colorectal cancer

宋乐乐^{1,2,Δ}, 李月敏^{1,▲}, 宫媛³, 何宝明⁴ (1. 解放军第309医院放疗科, 北京100091; 2. 博尔诚(北京)科技有限公司, 北京100176; 3. 解放军总医院消化科, 北京100853; 4. 解放军第309医院核医学科, 北京100091)

[摘要] 结直肠癌发病率位居全球恶性肿瘤第三位, 早期诊断和治疗可以大大降低结直肠癌的病死率。由于目前临床较普遍使用的粪便潜血和结肠镜检查患者依从性低, 所以外周血 Septin9 (*SEPT9*) 基因甲基化检测为结直肠癌早期诊断和筛查提供了一个较为有前景的选项。截至目前有数项临床试验证明此检测对结直肠癌的灵敏度和特异性较高, 与癌分期有一定相关性, 其检测效果优于化学法粪便潜血检测及糖蛋白类肿瘤标志物, 与免疫学粪便潜血检测和粪便 DNA 检测相比, 也具备一定优势。此检测对结直肠癌前病变如腺瘤的检测效果仍有待观察, 但其有可能成为结直肠癌治疗效果、复发和转移的监测指标, 并对肿瘤的分期和分型有辅助作用。本文将简要介绍此检测的原理, 重点回顾以此方法检测结直肠癌的临床研究, 并与其他方法进行比较, 最后简述其未来可能的应用方向。

[关键词] Septin9 (*SEPT9*); DNA 甲基化; 结直肠癌; 腺瘤; 息肉; 便潜血试验

[中图分类号] R735.3; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)05-0589-06

在欧洲和美国, 结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 已成为排名第二和第三位新增癌症病例的原因^[1-2]。在中国, 估计2012年新增的CRC病例约40万, 已成为新发肿瘤病例和死亡的第三大原因^[3]。定期筛查可以早期发现结直肠癌, 从而进行早期干预, 以防止疾病进展甚至治愈疾病。然而, 60% ~ 70% 患者在首次确诊时即为中、晚期CRC^[4]。美国预防服务工作小组 (United States Preventive Services Task Force, USPSTF) 的统计数据显示, 如果健康人每年进行常规定期检查, 实现CRC的早期诊治, 可避免约60% CRC患者病死, 平均五年生存率可以从46% 提高到73%^[5]。因此, 有效的早期筛查方法, 可提高CRC患者的五年生存率, 降低病死率。目前临床主要运用两种方法进行CRC筛查: 粪便潜血试验 (Fecal occult blood tests, FOBT) 和结肠镜检查。FOBT 主要包括 gFOBT (愈创木脂粪便潜血试验)、iFOBT (免疫粪便潜血试验) 和 FIT (人体血红蛋白特异性粪便免疫化学试验)。作为常规使用的筛查方法, gFOBT 易受食物、药物和其他因素的影响, 可导致假阳性结果, 且稳定性较差; iFOBT 的敏感度和特异性明显优于 gFOBT, 但此检测仍然是定性试验, 如果样品采集后放置过久 (超过5d), 其检出率明显下降^[6]; FIT 与 *SEPT9* 检测相似, 其敏感度较高, 但价格更昂贵。相比之下, 结肠镜检查是侵入性的, 需要肠道准备, 以确保大肠管腔视野良好。另外, 肠镜检查有一系列并发症, 如肠活检部位出血、肠穿孔和

感染^[7]; 该检查有多种禁忌证, 如严重的心脏疾病、心肺功能不全、急性腹泻、严重溃疡性结肠炎、结肠克罗恩病、腹膜炎和妊娠等。因此, 无论是 FOBT 还是结肠镜检查, 患者依从性均较差。上海市疾病预防控制中心监测显示, 仅有不到5% 的上海市民做过粪便隐血试验检查, 3% 做过肠镜检查^[8]。目前, 亟待更方便、更准确的CRC检查方法以提高筛查率。

近5年来, 以血浆检测为基础的 *septin9* (*SEPT9*) 基因甲基化测试为CRC的早期诊断提供了较有前景的筛查方法。迄今为止的临床筛查试验证明, 甲基化 *SEPT9* 基因是CRC发生过程中早期的特异性生物标志物。在CRC的早期阶段, 甲基化 *SEPT9* 基因的DNA从坏死或凋亡的肿瘤细胞被释放到外周循环血液, 通过检测外周血 *SEPT9* 基因的甲基化水平可以判定CRC的患病风险^[9]。

[基金项目] 中国博士后科学基金特别资助项目 (No. 201003778)。Project supported by the Postdoctoral Science Foundation of China (No. 201003778)

[作者简介] 宋乐乐 (1979 -), 男, 北京市人, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事肿瘤发病机制、肿瘤诊断与治疗以及钙离子通道结构、功能和相关疾病的研究; 李月敏 (1968 -), 女, 博士, 副主任医师, 肿瘤放疗科主任, 主要从事恶性肿瘤的基础和临床研究。▲为共同第一作者

[通信作者] 李月敏 (Li Yuemin, corresponding author), E-mail: liyuemin224@sina.com; 宋乐乐 (Song Lele, co-corresponding author), E-mail: songlele@sina.com。Δ为共同通信作者

1 SEPT9 基因甲基化应用于筛查 CRC 的原理

1.1 SEPT9 的结构和生理作用

SEPT9 基因位于染色体 17q25.3, septin 家族是一组高度保守的 GTP 结合蛋白, 广泛存在于人类细胞, 它们在细胞分裂过程中提供结构支撑^[10]。在人类, 总共有 13 个 septin 基因, 相应编码 15 个多肽^[11-12]。所有 septin 可以形成异聚复合物并参与高级结构的组成, 例如丝状结构、戒指状结构和笼状结构的形成。这些独特的结构是控制细胞过程所必需的, 在肌动蛋白动力学、血管生成、细胞运动、细胞增殖、细胞形状、细胞质分裂、微管调节、囊泡靶向与胞吐作用方面均有重要的生理作用。最近在人类细胞中的研究^[13-14]表明, septin 蛋白可以围绕细菌病原体形成笼样结构, 以固定并防止它们入侵其他细胞。

目前认为, septins 形成稳定的六聚体或八聚体, 六聚体包含各两分子 SEPT2、SEPT6 和 SEPT7, 而八聚体包含两分子 SEPT9^[14]。研究^[15]表明, SEPT9 在八聚体中占据了终端的位置, 对亚基聚合起关键作用, 并稳定整个多聚体。SEPT9 在子细胞的胞质分裂过程的最后分离阶段至关重要^[16]。如果 SEPT9 表达不正常或无 SEPT9 表达, 胞质分裂可能会受到严重影响。SEPT9 在 septin 多聚体中的关键作用可能是 SEPT9 基因超甲基化及转录受到抑制时引起结直肠组织癌变的关键因素。

1.2 SEPT9 与肿瘤发生的关系

最近的研究表明, septin 与癌症发生有明显关系, 这些癌症包括乳腺癌^[17-18]、结肠癌^[19]、卵巢癌^[20-22]、头颈部癌症^[23]、白血病和淋巴瘤^[24]。它也可能在唐氏综合症、遗传性神经性肌萎缩和细菌感染中有病理作用。在小鼠胚胎中敲除 SEPT9 基因对胚胎是致命的^[25]。

在乳腺癌和卵巢癌, SEPT9 基因的区域是杂合性缺失中一个频繁删除的区域, 进一步提示该基因可能是一个肿瘤抑制基因^[26]。在一些肿瘤细胞系, SEPT9 的 V4 的转录本的表达消失或减少, 但 5-氮杂胞苷治疗后其表达可被重新激活^[20]。此外, 在 SEPT9_V2 转录本的启动子区域的 DNA 甲基化是 CRC 癌变的标志^[27], 该基因的异常调控可导致 CRC 的发生。这些证据均支持该基因作为肿瘤抑制基因的观点。研究^[28]还发现, 在结肠癌活检组织、激光显微切割的上皮细胞和间质中, 随着疾病从腺瘤进展到不典型增生再到癌, 组织中 SEPT9 基因 mRNA 的表达进行性减少, 而且 CRC 组织中 SEPT9 的表达量显著低于健康对照组; SEPT9 基因超甲基

化与 mRNA 表达缺失之间存在显著相关性的现象强烈表明, SEPT9 mRNA 的下调和 SEPT9 基因表达的减少可能是结肠组织中良性病变进展为恶性病变的原因。

DNA 甲基化主要发生在 -C-磷酸-G- (CpG) 位点。CpG 位点中, 胞嘧啶与鸟嘌呤毗邻并以线性方式连接。目前认为, 哺乳动物中, 60% ~ 90% 的 CpG 处于甲基化状态^[29-30]。未甲基化的 CpG 通常成簇分布并形成 CpG 岛。CpG 岛经常存在于许多基因的 5' 调控区, 特别是启动子区。已经证明, 在癌症, 启动子区域高含量的 5-甲基胞嘧啶可造成基因转录沉默, 而 DNA 甲基化在长期的基因沉默过程中逐渐积累^[31-32]。DNA 甲基化可通过两种方式抑制基因的转录。首先, 甲基化的 DNA 分子在空间上可抑制转录因子与基因的结合。其次, DNA 的甲基化可结合甲基化 CpG 结合域蛋白 (MBDS), 此蛋白又会结合其它蛋白, 如组蛋白去乙酰化酶和其他染色质重塑蛋白, 并形成紧凑的、不活跃的染色质, 即异染色质。由于异染色质具有紧凑的结构和不活跃的性质, 使基因转录被其抑制^[33]。

最新的研究^[34]表明, 在结肠腺瘤和癌组织中, SEPT9_V2 转录本的甲基化模式的重大变化只限于一个 CpG 岛, 即 CGI3。这个区域包含 SEPT9_V2 的启动子区和 ATG 起始密码子。腺瘤和 CRC 表现出截然不同的甲基化模式。在 CRC 的样品中, 异常的甲基化从 CGI3 核心蔓延至甲基化岛的 5' 末端, 而腺瘤标本中, CGI3 的 5' 末端无甲基化, 这一观察提示, 异常甲基化的扩散可能是一个相对较晚的事件, 即腺瘤发展为 CRC 时才发生。在 SEPT9 CGI3 核心区, 这种独特的甲基化模式可能代表甲基化状态的过渡, 并在细胞水平反映结肠黏膜中恶性肿瘤的进展。CGI3 的超甲基化可以抑制 SEPT9_V2 的正常表达, 进而扰乱结构蛋白的形成和关键的细胞功能^[35]。CRC 的早期诊断检测试剂盒 Epi ProColon (Epigenomics AG, 德国)^[9], 其检测的靶片段就是 SEPT9_V2 的这一信息最丰富的区域。

虽然在结直肠癌组织及患者外周血中检测到的 SEPT9 基因发生异常甲基化, 但 SEPT9 基因异常甲基化不仅发生在结直肠癌, 也发生在乳腺癌^[17-18]、卵巢癌^[20-22]、头颈部癌症^[23]、白血病和淋巴瘤^[24]。然而, 这些癌症患者血浆中的 SEPT9 基因异常甲基化的检出率远不如结直肠癌。Grutzmann 等^[37]对 SEPT9 基因在各种肿瘤及非肿瘤疾病患者血浆的甲基化水平进行了系统研究, 结果显示, 结直肠癌患者血浆 SEPT9 甲基化的检出率 (72% , 90/125) 远高于

非结直肠癌的其他癌症患者(11.5%, 11/96)、非癌症疾病患者(13%, 41/315)及正常人(10%, 19/183)。这一结果说明血浆中 SEPT9 甲基化对结直肠癌有较高的灵敏度和特异性,与其他癌症、非癌症疾病和正常人有显著性的差异,这为 SEPT9 甲基化作为结直肠癌特有诊断指标提供了依据。

2 SEPT9 基因甲基化检测筛查结直肠癌的临床验证

2.1 SEPT9 甲基化检测具有高灵敏度、高特异性

自 2008 年起至现在,不同的试验组已经发表了一系列针对 SEPT9 早期诊断 CRC 的临床验证数据。这些数据^[9,36-40]显示,此检测针对 CRC 的敏感度在 68%~79.3%,特异性在 86%~99%。尤其是第二代 SEPT9 检测试剂盒(Epi proColon 2.0, Epigenomics AG, 德国)的应用,使检测灵敏度由约 70%^[36-40]提高到约 90%^[9,40],而特异性稳定在 90%左右。由于在数据分析时不同算法的应用,不同的验证试验间灵敏度和特异性有所差别。算法的选择一般是基于诊断或筛查的特定需求。例如,在由 Toth 及其同事发表的报告中^[9],测试结果来源于 3 次平行荧光定量 PCR。如果一次 PCR 结果阳性即判断最终测试结果阳性(1/3 算法),其灵敏度为 95.6%,特异性为 84.8%,然而,若至少两次 PCR 结果阳性才判读为阳性(2/3 算法),该灵敏度下降至 79.3%,特异性提高到 99%。1/3 算法保证了测试的高灵敏度,但会出现一定的假阳性率(低特异性),而 2/3 的算法,确保较高真阴性率(高特异性)而敏感度则偏低。对于癌症筛查,我们认为排除非癌症患者的重要性超过一次性检测出所有可能的阳性患者的重要性。低灵敏度造成的阳性患者漏检可以通过定期反复检测得到补偿。因此,为了确保高真阴性率,即避免假阳性患者的出现,Epi proColon 2.0 的使用手册建议使用 2/3 算法。

2013 年结束的 PRESEPT 研究^[41]是迄今为止唯一一个利用 SEPT9 检测了 7941 人所进行的前瞻性筛查,结果发现,SEPT9 检测对 CRC 筛查的敏感度为 48%,此敏感性相对之前的回顾性验证试验的敏感度偏低。这是因为在这个特定的研究中,作者研究 SEPT9 检测对早期无症状大肠癌患者的敏感度,而此前公布的临床验证数据来源于已经诊断为 CRC 和为方便抽样选择的患者或正常人,这不代表无症状人群的状况,因而其参考意义有限。这项前瞻性研究所代表的情况是在现实生活中大肠癌筛查遇到的实际情况,因此比病例对照研究具有更好的临床指导意义。

几乎所有已完成的临床试验均以德国人和美国人为对象进行。虽然在这两个国家有许多不同的种族,目前并未发现在两个种群间存在敏感度和特异性的差异。在中国,博尔诚(北京)科技有限公司使用 Epi proColon 2.0 试剂盒对中国汉族人进行了检测,其结果显示出与 Toth 及其同事报道的相同的敏感度和特异性(敏感度为 81.5%,特异性为 100%,81 例结直肠癌,53 例健康对照)^[9]。然而,最近的一篇韩国研究者的报告显示出较低的灵敏度(36.6%),而特异性与其他报道无显著差异。此研究使用的是雅培 MS9 大肠癌检测试剂盒(Abbott, 美国)^[42],而非 Epi proColon 2.0 试剂盒。鉴于此报道是迄今为止唯一显示潜在种族差异的报告,所以此差异是否由不同供应商的试剂盒引起,或是有真正的种族差异,仍然需要进一步研究。

2.2 SEPT9 甲基化的阳性检出率与 CRC 分期相关

目前已发表的分期阳性检出率数据显示出一种明显的趋势,即随着分期的增高,阳性检出率也升高。SEPT9 检测可以检测出平均约一半的 I 期 CRC,70%的 II 期和 III 期 CRC,64.7%~100%的 IV 期 CRC^[9,37-42]。同时,所有已发表的研究均显示约 90%的高特异性。这些数据表明,SEPT9 阳性检出率与肿瘤的恶性程度呈一定相关性,而且 SEPT9 甲基化检测可为早期阶段的 CRC(I 期和 II 期)提供有效的早期诊断方法。

2.3 SEPT9 检测可能不能用于检测结直肠腺瘤

在 Grutzmann 和 Church^[37,41]的报道中,腺瘤/息肉组(分别为 11.8%和 11.2%)和正常对照组(分别为 10%和 9.1%)的阳性检出率没有实质差别,表明 SEPT9 检测不能区分腺瘤/息肉样本和正常对照组。在 Tanzer 和 Warren^[39-40]的研究中,SEPT9 检测对腺瘤/息肉组阳性检出率(分别为 29.0%和 11.5%)比正常对照组(分别为 9.0%和 5.7%)显著增高。然而,这两个研究中 SEPT9 检测对腺瘤/息肉的检测灵敏度仍然过低,所以此检测目前很难成为癌前病变的筛查试验。由于腺瘤/息肉是癌前病变的最常见的形式,这些数据表明,由于敏感度较低,单独使用 SEPT9 检测对腺瘤/息肉的诊断意义有限。

2.4 SEPT9 甲基化检测优于目前最常用的 gFOBT 检测

针对 CRC 的临床粪便潜血检查主要包括 gFOBT 和 FIT,它们的灵敏度在 33%~79%^[9,43-49],其中最常用的标准 gFOBT 检测针对 CRC 的灵敏度为 33%~75%^[50],此灵敏度低于 Epi proColon

SEPT9 检测(79.3%)^[9],而特异性与 *SEPT9* 检测相同。但是,粪便检测因其不方便及需要反复测试,所以依从性较低。此外,还有许多干扰因素可导致粪便测试呈现假阳性结果,包括炎症、感染、溃疡、息肉和痔疮等。更重要的是,*SEPT9* 检测对于左侧病变和右侧病变没有任何敏感度方面的差异,而 *gFOBT* 试验对左右两侧病变的敏感度有显著性差异^[9]。因此,从检测的准确程度和便利性方面来看,*SEPT9* 检测优于 *gFOBT* 检测。然而,当前相对较高的费用阻碍了 *SEPT9* 检测在大规模筛查方面的应用,*gFOBT* 检测在价格和认知度方面更胜一筹。此外,更昂贵的 *FIT* 检测针对 *CRC* 的敏感度为 60% ~ 85%^[51],因此,*FIT* 越来越多地被用来代替 *gFOBT* 用于筛查。而且,还有数据显示,在诊断 *CRC* 和 ≥ 1 cm 腺瘤方面,近来出现的粪便 DNA 检测灵敏度优于血浆 *SEPT9* 检测。肿瘤标志物进入肠道和血流的机制是不同的,理论上讲,结肠脱落肿瘤细胞进入肠道早于肿瘤对血管的侵犯,因此在癌前病变检测方面,粪便检测应该比血检更早探测到病变。Ahlquist 等^[53] 比较了粪便 DNA 检测与外周血 *SEPT9* 检测的效果;研究发现,粪便 DNA 检测不仅在 ≥ 1 cm 腺瘤的检测方面优于 *SEPT9* 检测,显示出 82% 的高灵敏度(*SEPT9* 检测灵敏度为 14%),而且在检测早期 *CRC* 方面,粪便 DNA 检测(灵敏度: 87%)也优于血浆 *SEPT9* 检测(灵敏度: 60%),粪便 DNA 和血浆 *SEPT9* 检测的特异性分别为 93% 和 73%。这些研究结果说明,粪便 DNA 检测在检测癌前病变及早期结肠癌方面比血浆 *SEPT9* 检测更有效^[52,53]。然而,对于不同试验得出的敏感性和特异性数据,应放到相同的试验条件下进行比较,即病例对照研究的数据不应该直接与筛查试验数据相比较。上述 *FIT* 和粪便 DNA 的研究^[51-55] 都是病例对照研究,所以它们比 *SEPT9* 筛查表现出更高的敏感性和特异性。理想状况下,应在同一病例对照或人群筛查研究中,将 *SEPT9*、*FIT* 和 *gFOBT* 置于同样的试验条件下,平行比较他们的检测效果。

2.5 *SEPT9* 检测比任何现有的糖蛋白标志物更敏感

糖蛋白类肿瘤标记物的主要缺点是任何单一标志物的灵敏度和特异性都不高,不足以成为癌症的可靠诊断指标。所以通常将几种糖蛋白的肿瘤标志物联合使用,以达到诊断意义。目前,五个糖蛋白标志物在临床上作为 *CRC* 早期诊断的指标,包括 *CEA*、*CA199*、*CA242*、*CA72-4* 和 *CA125*。最新的报告^[56] 显示,这五个糖蛋白肿瘤标志物的任何一个单独使用时,其针对 *CRC* 灵敏度均较低(18.8% ~

52.2%),而五项指标的组合使用时表现出的敏感性和特异性分别为 85.3% 和 95%,这与单独使用 *SEPT9* 检测时的效果相似^[9]。然而,对于检测早期阶段的 *CRC*(*I* 期, *II* 期),*SEPT9* 检测的灵敏度(30% ~ 100%)优于五个糖蛋白标志物的任何一个单独使用时的灵敏度,提示 *SEPT9* 作为检测早期 *CRC* 是更有效的指标。在另一报告中,Toth 和同事^[9] 平行比较了目前最常用的糖蛋白类肿瘤标志物 *CEA* 与 *SEPT9* 检测的性能,*SEPT9* 检测表现出 79.3% 的灵敏度和 98.9% 特异性,这均优于 *CEA* (灵敏度 51.8%,特异性 81.2%)。由于 *SEPT9* 检测显示出比糖蛋白肿瘤标志物更好的性能和更高的稳定性,因此在早期检测 *CRC* 方面,*SEPT9* 检测比糖蛋白类肿瘤标志物价值更高。

3 结 语

目前已证实 *SEPT9* 检测是早期诊断 *CRC* 的有效工具,并有可能成为未来 *CRC* 的筛查工具。它的效果优于粪便免疫学检测和糖蛋白肿瘤标志物检测,相对于结肠镜,它准确方便并且具有非侵入性的优点;这些优势会增加患者进行结肠癌筛查的依从性。然而,*SEPT9* 检测在无症状人群中筛查的灵敏度仍然不理想,目前对检测癌前病变如结肠腺瘤还不够敏感。因此,若此检测用作未来常规筛查和癌前病变检测,仍有不小的改进空间。上述临床试验大多是验证性试验和病例对照试验,这些试验证明 *SEPT9* 检测是检测早期 *CRC* 的可靠方法。有理由相信,*SEPT9* 检测不仅可用于 *CRC* 早诊和筛查,而且还有潜力用于治疗评估、治疗随访及辅助病理分级。首先,有报道^[42] 表明,*CRC* 根治性手术后 *SEPT9* 甲基化转为阴性,而 *CRC* 复发后 *SEPT9* 又重新转阳。所以 *SEPT9* 有可能用于放化疗治疗效果的评估、复发和转移的监测指标。其次,如果 *SEPT9* 的定量甲基化可以用来衡量肿瘤的恶性程度,*SEPT9* 可以被用于协助对 *CRC* 的分期和分型。最后,*SEPT9* 是否可以同其他癌症相关基因合用,作为对个性化治疗的指导,也是一个非常有意义的研究方向。

[参 考 文 献]

- [1] American Cancer Society. Cancer facts & figures 2013 [R]. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2013: 12-13.
- [2] Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012 [J]. Eur J Cancer, 2013, 49(6): 1374-1403.
- [3] 赫捷,赵平,陈万青. 2012 中国肿瘤登记年报 [M]. 北京:军

- 事医学科学出版社,2012: 46-48.
- [4] American Cancer Society. Colorectal cancer facts & figures 2011-2013 [R]. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2011: 7-8.
- [5] National Cancer Institute. Survival rate for colorectal cancer by stage [R]. National cancer institute, PDQ, Treatment, Health Professionals,1999: 1-2.
- [6] van Rossum LG, van Rijn AF, van Oijen MG, et al. False negative fecal occult blood tests due to delayed sample return in colorectal cancer screening [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(4): 746-750.
- [7] Dominitz JA, Eisen GM, Baron TH, et al. Complications of colonoscopy [J]. *Gastrointest Endosc*, 2003, 57(4): 441-445.
- [8] 上海市疾病预防控制中心. 上海: 大肠癌发病率年均增速超 4% [EB/OL]. [2012-04-13]. <http://www.scdc.sh.cn/b/17037.shtml>.
- [9] Toth K, Sipos F, Kalmar A, et al. Detection of methylated *SEPT9* in plasma is a reliable screening method for both left- and right-sided colon cancers [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(9): e46000.
- [10] Longtine MS, DeMarini DJ, Valencik ML, et al. The septins: Roles in cytokinesis and other processes [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1996, 8(1): 106-119.
- [11] McDade SS, Hall PA, Russell SEH. Translational control of *SEPT9* isoforms is perturbed in disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2007, 16(7): 742-752.
- [12] McIlhatton MA, Burrows JF, Donaghy PG, et al. Genomic organization, complex splicing pattern and expression of a human septin gene on chromosome 17q25.3 [J]. *Oncogene*, 2001, 20(41): 5930-5939.
- [13] Mostowy S, Nam Tham T, Danckaert A, et al. Septins regulate bacterial entry into host cells [J]. *PLoS ONE*, 2009, 4(1): e4196.
- [14] Mostowy S, Bonazzi M, Hamon MA, et al. Entrapment of intracytosolic bacteria by septin cage-like structures [J]. *Cell Host Microbe*, 2010, 8(5): 433-444.
- [15] Kim MS, Froese CD, Estey MP, et al. *SEPT9* occupies the terminal positions in septin octamers and mediates polymerization-dependent functions in abscission [J]. *J Cell Biol*, 2011, 195(5): 815-826.
- [16] Estey MP, Di Ciano-Oliveira C, Froese CD, et al. Distinct roles of septins in cytokinesis: *SEPT9* mediates midbody abscission [J]. *J Cell Biol*, 2010, 191(4): 741-749.
- [17] Montagna C, Lyu MS, Hunter K, et al. The *Septin9* (*MSF*) gene is amplified and overexpressed in mouse mammary gland adenocarcinomas and human breast cancer cell lines [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(9): 2179-2187.
- [18] Connolly D, Yang Z, Castaldi M, et al. *Septin9* isoform expression, localization and epigenetic changes during human and mouse breast cancer progression [J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(4): R76.
- [19] Tanaka M, Kijima H, Itoh J, et al. Impaired expression of a human septin family gene *bradeion* inhibits the growth and tumorigenesis of colorectal cancer in vitro and in vivo [J]. *Cancer Gene Ther*, 2002, 9(6): 483-488.
- [20] Burrows JF, Chanduloy S, McIlhatton MA, et al. Altered expression of the septingene, *SEPT9*, in ovarian neoplasia [J]. *J Pathol*, 2003, 201(4): 581-588.
- [21] Scott M, Hyland PL, McGregor G, et al. Multimodality expression profiling shows *SEPT9* to be overexpressed in a wide range of human tumours [J]. *Oncogene*, 2005, 24(29): 4688-4700.
- [22] Scott M, McCluggage WG, Hillan KJ, et al. Altered patterns of transcription of the septin gene, *SEPT9*, in ovarian tumorigenesis [J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(5): 1325-1329.
- [23] Bennett KL, Karpenko M, Lin MT, et al. Frequently methylated tumor suppressor genes in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(12): 4494-4499.
- [24] Gulten T, Yakut T, Karkucak M, et al. *AML1* amplification and 17q25 deletion in a case of childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Clin Lab Anal*, 2009, 23(6): 368-371.
- [25] Mostowy S, Cossart P. Septins: the fourth component of the cytoskeleton [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(3): 183-194.
- [26] Russell SE, McIlhatton MA, Burrows JF, et al. Isolation and mapping of a human septin gene to a region on chromosome 17q, commonly deleted in sporadic epithelial ovarian tumors [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(17): 4729-4734.
- [27] Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer [J]. *Cell*, 2007, 128(4): 683-692.
- [28] Tóth K, Galamb O, Spisák S, et al. The influence of methylated *Septin 9* gene on RNA and protein level in colorectal cancer [J]. *Pathol Oncol Res*, 2011, 17(3): 503-509.
- [29] Ehrlich M, Gama Sosa MA, Huang LH, et al. Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 1982, 10(8): 2709-2721.
- [30] Tucker KL. Methylated cytosine and the brain: A new base for neuroscience [J]. *Neuron*, 2001, 30(3): 649-652.
- [31] Craig JM, Wong NC. Epigenetics: A reference manual [M]. Norfolk, UK: Caister Academic Press, 2011: 1-464.
- [32] Daura-Oller E, Cabre M, Montero MA, et al. Specific gene hypomethylation and cancer: New insights into coding region feature trends [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(8): 340-343.
- [33] Choy MK, Movassagh M, Goh HG, et al. Genome-wide conserved consensus transcription factor binding motifs are hypermethylated [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 519-528.
- [34] Wasserkort R, Kalmar A, Valcz G, et al. Aberrant *Septin9* DNA methylation in colorectal cancer is restricted to a single CpG island [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13(2): 398-408.
- [35] Estey MP, Kim MS, Trimble WS. Septins [J]. *Curr Biol*, 2011, 21(10): 384-387.
- [36] Lofton-Day C, Model F, Devos T, et al. DNA methylation biomarkers for blood-based colorectal cancer screening [J]. *Clin Chem*, 2008, 54(2): 414-423.
- [37] Grutzmann R, Molnar B, Pilarsky C, et al. Sensitive detection of colorectal cancer in peripheral blood by *septin9* DNA methylation assay [J]. *PLoS ONE*, 2008, 3(11): e3759.
- [38] deVos T, Tetzner R, Model F, et al. Circulating methylated *SEPT9* DNA in plasma is a biomarker for colorectal cancer [J].

- Clin Chem, 2009, 55(7): 1337-1346.
- [39] Tanzer M, Balluff B, Distler J, et al. Performance of epigenetic markers SEPT9 and ALX4 in plasma for detection of colorectal precancerous lesions [J]. PLoS ONE, 2010, 5(2): e9061.
- [40] Warren JD, Xiong W, Bunker AM, et al. Septin9 methylated DNA is a sensitive and specific blood test for colorectal cancer [J]. BMC Med, 2011, 9: 133-141.
- [41] Church TR, 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): 317-325.
- [42] Lee HS, Hwang SM, Kim TS, et al. Circulating methylated septin9 nucleic acid in the plasma of patients with gastrointestinal cancer in the stomach and colon [J]. Transl Oncol, 2013, 6(3): 290-296.
- [43] Wong CK, Fedorak RN, Prosser CI, et al. The sensitivity and specificity of guaiac and immunochemical fecal occult blood tests for the detection of advanced colonic adenomas and cancer [J]. Int J Colorectal Dis, 2012, 27(12): 1657-1664.
- [44] Mandel JS, Bond JH, Church TR, et al. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood [J]. N Engl J Med, 1993, 328(19): 1365-1371.
- [45] Kronborg O, Fenger C, Olsen J, et al. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test [J]. Lancet, 1996, 348(9040): 1467-1471.
- [46] Hardcastle JD, Chamberlain JO, Robinson MH, et al. Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer [J]. Lancet, 1996, 348(9040): 1472-1477.
- [47] Mandel JS, Church TR, Ederer F, et al. Colorectal cancer mortality: Effectiveness of biennial screening for fecal occult blood [J]. J Natl Cancer Inst, 1999, 91(5): 434-437.
- [48] Benson VS, Patnick J, Davies AK, et al. Colorectal cancer screening: A comparison of 35 initiatives in 17 countries [J]. Int J Cancer, 2008, 122(6): 1357-1367.
- [49] Whitlock EP, Lin JS, Liles E, et al. Screening for colorectal cancer: A targeted, updated systematic review for the U. S. Preventive services task force [J]. Ann Intern Med, 2008, 149(9): 638-658.
- [50] Lieberman DA. Clinical practice. Screening for colorectal cancer [J]. N Engl J Med, 2009, 361(12): 1179-1187.
- [51] Levin B, Lieberman DA, McFarland B, et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: A joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology [J]. Gastroenterology, 2008, 134(5): 1570-1595.
- [52] Ahlquist DA, Zou H, Domanico M, et al. Next-generation stool DNA test accurately detects colorectal cancer and large adenomas [J]. Gastroenterology, 2012, 142(2): 248-256.
- [53] Ahlquist DA, Taylor WR, Mahoney DW, et al. The stool DNA test is more accurate than the plasma Septin 9 test in detecting colorectal neoplasia [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2012, 10(3): 272-277.
- [54] Zhu MM, Xu XT, Nie F, et al. Comparison of immunochemical and guaiac-based fecal occult blood test in screening and surveillance for advanced colorectal neoplasms: A meta-analysis [J]. J Dig Dis, 2010, 11(3): 148-160.
- [55] Vart G, Banzi R, Minozzi S. Comparing participation rates between immunochemical and guaiac faecal occult blood tests: A systematic review and meta-analysis [J]. Prev Med, 2012, 55(2): 87-92.
- [56] 付红兵, 王为民, 蔡清萍. 肿瘤标记物的联合检测在结肠癌中的应用 [J]. 中华临床医师杂志; 电子版, 2012, 6(17): 5087-5090.
- [收稿日期] 2014-04-12 [修回日期] 2014-08-11
[本文编辑] 阮芳铭

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》, 本刊对论文中有关实验动物的描述, 要求写清楚以下事项: (1) 品种、品系及亚系的确切名称; (2) 遗传背景或其来源; (3) 微生物检测状况; (4) 性别、年龄、体重; (5) 质量等级及合格证书编号; (6) 饲养环境和实验环境; (7) 健康状况; (8) 对动物实验的处理方式。

医学实验动物分为四级: 一级为普通级; 二级为清洁级; 三级为无特定病原体 (SPF) 级; 四级为无菌级 (包括悉生动物)。省部级课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。

(本刊编辑部)

欢迎访问《中国肿瘤生物治疗杂志》网站 www.biother.org