

抑癌基因甲基化作为潜在生物标志物在结直肠癌中的研究进展

漆江红, 王玉平, 卢启明

■背景资料

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 在世界范围内具有很高的发病率和死亡率, 研究表明表观遗传学在CRC发展过程中有重要角色, 表观遗传学的研究进展不仅可以提供自身在CRC中的致癌作用, 而且也引导潜在新颖的生物标志物的发展。

漆江红, 兰州大学第一临床医学院 甘肃省兰州市 730000

王玉平, 兰州大学第一医院消化内科 甘肃省胃肠病重点实验室 甘肃省兰州市 730000

卢启明, 甘肃省人民医院消化内科 甘肃省兰州市 730000

漆江红, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81570783; 甘肃省自然科学基金资助项目, No. 1506RJZA257; 甘肃省胃肠病重点实验室开放课题资助项目, No. gswcky-2013-006。

作者贡献分布: 本文综述由漆江红完成; 王玉平负责完善稿件; 卢启明负责选题方向、定稿。

通讯作者: 卢启明, 教授, 主任医师, 730000, 甘肃省兰州市城关区东岗西路204号, 甘肃省人民医院消化内科. luqim@163.com
电话: 0931-8281141

收稿日期: 2016-04-01
修回日期: 2016-04-15
接受日期: 2016-04-23
在线出版日期: 2016-06-08

Hypermethylated tumor suppressor genes as potential biomarkers in colorectal cancer

Jiang-Hong Qi, Yu-Ping Wang, Qi-Ming Lu

Jiang-Hong Qi, the First Clinical School of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Yu-Ping Wang, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Lanzhou University; Key Laboratory for Gastrointestinal Diseases of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Qi-Ming Lu, Department of Gastroenterology, Gansu Provincial Hospital, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81570783; Natural Science Foundation of Gansu Province, No. 1506RJZA257; Open Fund of Key Laboratory for Gastrointestinal Diseases of Gansu Province, No. gswcky-2013-006.

Correspondence to: Qi-Ming Lu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Gansu Provincial Hospital, 204 Donggang West Road, Chengguan District, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. luqim@163.com

Received: 2016-04-01

Revised: 2016-04-15

Accepted: 2016-04-23

Published online: 2016-06-08

Abstract

Colorectal cancer is a common malignant tumor and the fourth cause of cancer related death in the world. Colorectal cancer is a consequence of the accumulation of multiple genetic and epigenetic changes that transform colon epithelial cells into invasive malignant adenoma. Epigenetic changes, especially CpG island methylation in the promoter region, occur more frequently than genetic mutations in colorectal cancer. Hypermethylation contributes to carcinogenesis by inducing transcriptional silencing or downregulation of tumor suppressor genes. Up to now, more than 600 hypermethylated gene candidates have been identified. The use of methylated tumor suppressor genes as minimally invasive biomarkers has broad prospects, and great progress has been made in this area. These biomarkers, either stool-based or blood-based, are now commercially available for diagnostics. However, hypermethylated tumor suppressor genes as prognostic and predictive markers are

■同行评议者

靖昌庆, 主任医师, 山东省立医院胃肠外科

still at the primary stage of development.

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Tumor suppressor genes; Promoter methylation; Biomarkers

Qi JH, Wang YP, Lu QM. Hypermethylated tumor suppressor genes as potential biomarkers in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(16): 2506-2512 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i16/2506.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i16.2506>

摘要

结直肠癌是一种常见的恶性肿瘤, 在全世界癌症死亡例数中居第4位, 这是由于多基因组学累积和表观遗传学改变使结肠上皮细胞转变为侵袭性的恶性腺瘤所造成的, 结直肠癌中表观遗传学改变, 尤其是启动子区CpG岛甲基化比基因突变更是频繁发生, 高甲基化通过诱导转录沉默或抑癌基因下调而致癌, 目前超过600个高甲基化基因的候选者已经被识别. 表观遗传学中DNA甲基化是其代表中最大的体系之一, 他对微创生物标志物的发展有广阔的前景. 甲基化中诊断性标志物的发展已经取得很大的进步, 目前分别是基于血液与粪便排泄物, 其在市场上是可以购买到的, 预后和预测性的甲基化标志物仍然在发展的初级阶段.

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结直肠癌; 肿瘤抑癌基因; 启动子区甲基化; 生物标志物

核心提示: 本文综述了DNA甲基化与结直肠癌相关性的研究进展, 重点是甲基化和CpG岛甲基化子表型, 同时也讨论了表观遗传学中基于生物标志物的DNA甲基化的研究发展及其在临床上作为诊断性、预后性、预测性的工具, 而且探索无数的技术将用于发现甲基化生物标志物.

漆江红, 王玉平, 卢启明. 抑癌基因甲基化作为潜在生物标志物在结直肠癌中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2016; 24(16): 2506-2512 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i16/2506.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i16.2506>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)在全国范围

内是一种常见的恶性肿瘤, 其发病率在世界范围内男性居第3位和女性居第2位^[1], 在全世界癌症死亡例数中居第4位, 占有癌症死亡数的8.5%, 并且每年接近69400例. 不幸的是, 从2008-2012年CRC的高发病率与高死亡率一直都没有得以改善^[2], 因此提出根治性疗法是不太可能的. 总体来说, 由于大部分CRC是散发的, 但是要预防他却主要依靠早期诊断, 而筛选和早期检测的意义还是不清楚的^[3,4]. 有研究^[5]发现CRC与表观遗传学改变有关, 在癌变过程中, 这些改变通常会导致致癌基因获得功能或者抑癌基因丢失功能. 在基因表达中表观遗传学是可遗传式的改变, 而不是DNA序列改变的结果, 所以表观遗传学在癌症的发展过程中有一定的角色, 包括CpG岛、组蛋白修饰、微小RNA、非编码RNA以及核小体定位中的DNA甲基化^[6]; 表观遗传学的研究进展不仅可以提供自身在CRC中的致癌作用角色, 而且也可以引导潜在新颖的生物标志物的发展. 为了提升诊断技术、优化治疗方案以及最终实现早期诊断和降低CRC的发病率和死亡率, 发展生物标志物将有重大意义^[4].

1 DNA甲基化与CRC

1.1 DNA甲基化 DNA甲基化是一个酶促反应过程, 他涉及将甲基加入到胞嘧啶的第5位碳原子上从而生成5-甲基胞嘧啶, 这个共价修饰是被集中在CpG岛的CpG二核苷酸序列的DNA甲基转移酶所催化, 并且这些区域有大量的重复序列包括重复的着丝粒和rDNA^[7]. CpG岛与启动子区基因的60%-70%所重叠, 而且他在正常黏膜中缺乏甲基化, 并且不依赖基因的转录水平. 因此, 如果这种保障措施不存在, 那么启动子区可能会异常地被甲基化, 结果是导致转录抑制, 这可以通过多重的机制所实现, 包括直接地从他们可以获得的目标结合部位抑制顺式结合元件^[8], 或者是为了甲基化结合蛋白, 甲基化作用可以通过提供额外的结合位点诱导一个染色质结构, 这会通过组蛋白去乙酰化酶的相互作用来抑制基因表达.

1.2 CpG岛甲基化表型 CRC中DNA甲基化有一个独特的子型, 被称为CpG岛甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP), 他的特征是具有高频率的启动子甲基化^[8,9], 他展现出独特的分子和临床病理特征, 这表明CIMP代表了一个独特的致癌通路^[10]. 定量DNA甲基化分

■ 研究前沿

CRC中表观遗传学DNA甲基化作为潜在生物标志物正逐渐吸引很多人, 他作为诊断性标志物的发展已经取得很大的进步, 目前有两方面: 一个是基于血液, 另一个是基于粪便排泄物, 而预后和预测性甲基化标志物仍然在发展的初级阶段.

■ 相关报道

本文阐述抑癌基因甲基化作为CRC的诊断性标志物是基于血液和粪便排泄物两方面, 目前有大量文献也报道了两者的最新研究和已取得的进步, 并对两者的精确度加以分析和比较。

析表明CRC患者中大约有20%是CIMP型的肿瘤, 并且他与老年、女性、近侧结肠端、低分化、微卫星不稳定性以及KRAS和BRAF突变有很大的关系^[11,12]; 有研究表明依据标志物标准可以来鉴别CIMP子型^[10,13], 被分为高表型CIMP和低表型CIMP, 对125例CRC病例从基因范围分析DNA甲基化显示高表型CIMP肿瘤具有高的BRAF突变(61%), 但是他们有微卫星不稳定性^[14], 然而低表型CIMP肿瘤很少有BRAF突变, 但是他具有高FRAS突变(45%)。CRC中的CIMP型肿瘤被假设是增生性息肉通过锯齿状通路发展而来的^[15], 锯齿状病变包括广基锯齿状腺瘤(sessile serrated adenomas, SSAs)和传统的锯齿状腺瘤(traditional serrated adenomas, TSAs), 广基锯齿状腺瘤具有高CIMP、BRAF突变和近侧结肠段的特点, 并且他是高CIMP型CRC的前体细胞^[10]。

1.3 DNA甲基化和miRNAs 最近, 已经表明CRC中各种表观遗传学的改变有复杂的相互作用, 尤其是通过启动子CpG甲基化的肿瘤抑制性miRNAs沉默被报道之后^[16]。miRNAs是小的非编码RNA, 并且他在基因表达的转录后调节方面有一个角色^[17], 他们通过变异退化、翻译抑制或者脱腺苷化在mRNA分子上连接互补序列去诱导mRNA沉默^[18]。因此, miRNA会依靠被灭活的基因作为致癌基因或肿瘤抑制基因来起作用^[19], 而且甲基化可以使这些致癌的miRNA沉默而再次获得肿瘤抑制基因的生理调节作用, 那么肿瘤抑制性基因中miRNA中诱导DNA甲基化下调会促使CRC的形成也是正确的^[20]。抑制miRNA表达之后的一个分子机制之一已经被连接在DNMTs的超表达上, 这可以帮助增加DNA甲基化^[21,22], 因此, DNA甲基化可以直接地诱导miRNA的转录抑制, 这可能间接地造成进一步DNA甲基化。然而, 重要的是要识别出哺乳动物细胞中启动子区域之外的CpG二核苷酸的DNA甲基化, 这是属于常规机制。他可以提供稳定的基因沉默机制, 在调控基因表达和染色体结构方面有重要作用^[6]。

2 鉴定和常规分析DNA甲基化标记的技术

分析DNA甲基化水平, 首先应该建立一个甲基化的轮廓, 这在鉴定DNA甲基化在CRC的发病机制中有很大的作用。在全基因组筛选方法中,

甲基化敏感的随机引物-聚合酶链反应(MS-AP-PCR)可以用来分析两组临床DNA样本的甲基化差异。MS-AP-PCR可以在聚丙烯酰胺凝胶的PCR之后比较样本组织凝胶状斑点花样的位置, 来快速鉴定不同甲基化的CpG岛^[23]。

甲基化生物标志物发展的最近研究进展被基于技术的DNA甲基化所补充, 这个技术可以被潜在的用于常规诊断中。理想上, 他们是划算的、敏感的、特异的、有一个速效剂; 而且可以避免交叉污染和假阳性。由于通过微创技术所搜集到的样本中大多数生物标志物必须是可检测的, 因此, 他们是易于从体液或组织样本中提取DNA的, 焦磷酸测序、引物延伸和实时荧光定量PCR是很适合从原始组织中所提取DNA并做定量分析, 也适合监控已经接受过外科手术治疗后的复发情况。目前, 体液中DNA甲基化检测分析技术相对来说是比较有挑战的, 因为其的目的基因是低浓度的, 所以适用的技术必需是具有高特异性和高灵敏性的, 因此主要是基于实时PCR的方法, 有荧光法^[24]、实时甲基化特异性PCR分析之后的甲基化敏感熔炼分析^[25-27]。2010年时, 有专家研究出了一个多重的荧光PCR分析, 他可以特异性的结合实时PCR、高通量的多重PCR和多基因检测的高灵敏度分析, 这需把临床应用的所有参数考虑在内, 并且为了将来生物标志物的筛选程序, 需要潜在的候选基因^[28]。

3 启动子甲基化作为生物标志物

CRC中表观遗传学的普遍出现对于其的临床应用有宽广的潜力。他们作为生物标志物的潜力正逐渐吸引很多人, 因为他们固有的稳定性和对药物的可逆性^[29], 这是建立在当前诊断方法的不足之处的。目前, 结肠镜检查 and 粪便潜血试验是CRC诊断的金标准。尽管他们在随机对照试验中的减少死亡率方面展现出了成功之处^[30], 但是仅仅有一半的CRC患者是在晚期诊断, 所以结合结肠镜检查相关的风险、侵袭性和粪便潜血试验的低特异性, 更加敏感、特异性的非侵入性的早期诊断方法是很有必要的。当前识别游离核酸甲基化生物标志物的微创性方法可能进一步强调这些标志物的潜力^[4], 而且为了提高诊断水平, DNA甲基化也被探索运用癌症风险评估、预后分层和治疗反应预测^[31]。

3.1 诊断标志物 表观遗传学标志物在早期诊断中有很大的作用, 既可以单独运用, 也可以去辅助现存的诊断方法^[32], 故我们必须在癌症早期发现这些标志物的甲基化. 从不同来源的DNA中发现启动子高度甲基化是有可能的, 包括组织活检、血液样本、粪便、腹水、尿液等. 我们将会检查血液和粪便样本中的生物标志物, 因为他们对于CRC是更适用的.

3.1.1 在血液中早期检测: 良性和恶性病变可以使核酸循环的水平增加到15倍, 具有远处转移的癌症患者的核酸浓度可以达到500 ng/mL^[26], 大量释放游离DNA可能是凋亡和坏死细胞所为, 并且肿瘤相关的表观遗传学改变可以在正常DNA中被具体量化^[33]. 各种基因包括: *hMLH1*, *CDKN2A* (p16), *HLTF*, *ALX4*, *TMEFF2*, *NGFR*, *NEUROG1*, *SFRP2*和*RUNX3*都已经为了CRC作为潜在的基于血液的甲基化标志物而出现, 其敏感性34%-90%, 特异性69%-100%^[34-38], 因此, 随着血液样本的容易获得, 检测基于血液的生物标志物的方法可以提供一个实用的筛选工具. 目前临床上已经被认可是一个用于检测*SEPT9*甲基化的基于血液的试验, *SEPT9*可以标记与细胞分裂有关的GTP结合蛋白、细胞支架组织和膜改造^[39], *SEPT9*启动子的v2区域已经在CRC组织中显示为被甲基化, 并且在正常肠黏膜中没有, *SEPT9*实现了95%的特异性、52%的敏感性和0.80的药时曲线面积^[36], 随后具有实时PCR的测试进一步优化了*SEPT9*检测, 实现了90%的敏感性和88%的特异性, 从而保证了CRC患者中基于血液的筛选^[40].

3.1.2 粪便中的早期检测: 在CRC患者的筛选中, 粪便中生物标志物检测是另外一个有前途的方法. 从患者的角度看, 粪便检测的实际性远远高于抽血化验, 他是唯一一个非侵入性检查, 然而, 技术性的挑战依然存在, 从CRC患者的肿瘤上皮细胞的脱落物中分析人类DNA, 表现为仅仅是所有粪便DNA的0.01%, 其余的99.99%是非人类的, 要么来自于肠道微生物, 要么来自于饮食^[41]. 不可避免地是, 广泛的临床性运用将会要求最好的甲基化生物标志物, 并且某些研究结果支持粪便常规化验的优越性高于血液检查. 在CRC发生过程中, 从细胞中脱落释放进入到粪便中的标志物要比侵入血管进入血液的标志物出现的早^[42]; 也可以推

测, 通过粪便样本检测来诊断CRC的精确度是较高的, 因为从粪便中提取出来的人类DNA来自于CRC的可能性大于来自于转移癌或者是其他的原发性肿瘤.

3.2 预后型生物标志物 表观遗传学的资料作为生物标志物对于CRC患者的预后是有用的, 他们可以提供关于患者肿瘤结果、潜力的恶性程度和肿瘤复发风险的信息, 并且也可以粗略的评估降低存活的时间^[26]; 因此, 他被用来肿瘤的TNM分期, 目前这对于患者的预后来说是最重要的临床预测者^[43], 去指导临床管理的重新评估, 从而避免由于无效的治疗失去宝贵的时间, 目前临床上发现的预后生物标志物有*HLTF*与*HPPI1/TPEF*的启动子CpG岛甲基化、*TBX5*与*DACT2*基因间的启动子CpG岛, 其在原位癌中被检测到, 但在正常对照组中未检测到, 并且被证明这与缩短生存其有重要的关系^[40], 预后型生物标志物的研究仍然在初始阶段, 并且仍然没有适合临床发展的候选生物标志物, 他们中的许多都依赖于其他标志物的甲基化与辅助治疗^[44].

3.3 预测性生物标志物 预测性表观遗传学的标志物将会允许预测患者对于特定治疗的反应, 并且因此依据患者个人的甲基化资料来选择优化治疗方案, 结合CRC的异质性, 这是极其有价值的, 并且患者会免受不良反应与细胞毒药物治疗的花费^[26,45], 2012年, 有学者报道*TFAP2E*甲基化对于CRC患者的化疗是没有临床应答的, 正常情况下, *TFAP2E*可以通过直接绑定来抑制*DKK4*启动子活化, 因此, 低*TFAP2E*或无*TFAP2E*表达会导致在CRC细胞系的*DKK4*过度表达, 以前, *DKK4*与抗癌药氟二氧嘧啶耐受有关, 这在CRC细胞系中*DKK4*的过度表达会增加耐药性中所验证, 并且*TFAP2E*成功的增加了氟二氧嘧啶的敏感性, 进一步支持了低甲基化的患者会显示六倍高的反应可能性^[46], 对于CRC患者, 药理表观遗传学在鉴定表观遗传学生物标志物方面是强有力的, 这些标志物在治疗之前对于化疗和药物耐受性的理解方面是有用的, 这对于表观遗传学在药物疗法方面具有广阔的事业和潜力, 并且这毫无疑问对于不同的患者和医疗保健体系是有益的, 然而, 这是一个相对较新的研究领域, 并且在基于个体之间药物反应的研究机制仍然有待阐明^[47].

■创新盘点

本文较为全面的从DNA甲基化与CRC、鉴定和常规分析DNA甲基化标志的技术、启动子甲基化作为生物标志物等3个方面诠释了DNA甲基化与CRC的相关性研究, 而且主要探讨了DNA甲基化作为生物标志物在诊断方面的最新研究进展.

应用要点

本文主要阐述了抑癌基因甲基化在CRC中作为生物标志物的研究进展, 为将来早期诊断CRC提出更加敏感、特异性的非侵入性的方法指出思路, 而且运用于癌症风险评估、预后分层和治疗反应预测。

4 结论

调停肿瘤抑癌基因沉默的启动子CpG岛在CRC的发病过程中有重要的作用, 他在识别这些基因甲基化作为新颖的生物标志物发展方面有重要的意义, 这可以作为微创性的诊断性、预后性和预测性标志物的工具来试图提高临床效率和改善治疗结果。作为诊断标志物的证据, 一些有运用价值的数据已经被最新改进的技术所搜集, 并且得到了高敏感性和特异性, 可见甲基化生物标志物用作全面的CRC患者的筛查显示出了巨大的可能性。如果被运用的生物标志物都存在于粪便样本中, 那么以非侵入性方式即一个单一的粪便样本去完成评估是足够的; 因此, 表观遗传学与基因学标志物在基于粪便方法的重大作用方面都相得益彰^[48,49], 本文大部分集中在诊断标志物方面, 他依据早期诊断反响了一句话: 防病重于防治, 发展为恶性肿瘤是完全可以避免的, 然而, 这种理想状态不总是可以实现的, 并且表观遗传学疗法最新出现的领域对于具有CRC表观遗传学改变或CIMPs的患者可以证明是有用的^[50], 对于不同个体及广大人群的CRC患者来说, 这些生物标志物的潜在影响和所作的贡献是不朽的。

5 参考文献

- 1 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136: E359-E386 [PMID: 25220842 DOI: 10.1002/ijc.29210]
- 2 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 3 O'Shaughnessy JA, Kelloff GJ, Gordon GB, Dannenberg AJ, Hong WK, Fabian CJ, Sigman CC, Bertagnolli MM, Stratton SP, Lam S, Nelson WG, Meyskens FL, Alberts DS, Follen M, Rustgi AK, Papadimitrakopoulou V, Scardino PT, Gazdar AF, Wattenberg LW, Sporn MB, Sakr WA, Lippman SM, Von Hoff DD. Treatment and prevention of intraepithelial neoplasia: an important target for accelerated new agent development. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 314-346 [PMID: 11839647]
- 4 Toiyama Y, Okugawa Y, Goel A. DNA methylation and microRNA biomarkers for noninvasive detection of gastric and colorectal cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 455: 43-57 [PMID: 25128828 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.08.001]

- 5 Fearon ER. Molecular genetics of colorectal cancer. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 479-507 [PMID: 21090969 DOI: 10.1146/annurev-pathol-011110-130235]
- 6 Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31: 27-36 [PMID: 19752007 DOI: 10.1093/carcin/bgp220]
- 7 Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* 2002; 16: 6-21 [PMID: 11782440 DOI: 10.1101/gad.947102]
- 8 Lao VV, Grady WM. Epigenetics and colorectal cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8: 686-700 [PMID: 22009203 DOI: 10.1038/nrgastro.2011.173]
- 9 Nazemalhosseini Mojarad E, Kuppen PJ, Aghdaei HA, Zali MR. The CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2013; 6: 120-128 [PMID: 24834258]
- 10 Suzuki H, Yamamoto E, Maruyama R, Niinuma T, Kai M. Biological significance of the CpG island methylator phenotype. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 455: 35-42 [PMID: 25016183 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.07.007]
- 11 Nosho K, Irahara N, Shima K, Kure S, Kirkner GJ, Schernhammer ES, Hazra A, Hunter DJ, Quackenbush J, Spiegelman D, Giovannucci EL, Fuchs CS, Ogino S. Comprehensive biostatistical analysis of CpG island methylator phenotype in colorectal cancer using a large population-based sample. *PLoS One* 2008; 3: e3698 [PMID: 19002263 DOI: 10.1371/journal.pone.0003698]
- 12 Ogino S, Cantor M, Kawasaki T, Brahmandam M, Kirkner GJ, Weisenberger DJ, Campan M, Laird PW, Loda M, Fuchs CS. CpG island methylator phenotype (CIMP) of colorectal cancer is best characterised by quantitative DNA methylation analysis and prospective cohort studies. *Gut* 2006; 55: 1000-1006 [PMID: 16407376 DOI: 10.1136/gut.2005.082933]
- 13 van Engeland M, Derks S, Smits KM, Meijer GA, Herman JG. Colorectal cancer epigenetics: complex simplicity. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1382-1391 [PMID: 21220596 DOI: 10.1200/JCO.2010.28.2319]
- 14 Hinoue T, Weisenberger DJ, Lange CP, Shen H, Byun HM, Van Den Berg D, Malik S, Pan F, Noushmehr H, van Dijk CM, Tollenaar RA, Laird PW. Genome-scale analysis of aberrant DNA methylation in colorectal cancer. *Genome Res* 2012; 22: 271-282 [PMID: 21659424 DOI: 10.1101/gr.117523.110]
- 15 Rex DK, Ahnen DJ, Baron JA, Batts KP, Burke CA, Burt RW, Goldblum JR, Guillem JG, Kahi CJ, Kalady MF, O'Brien MJ, Odze RD, Ogino S, Parry S, Snover DC, Torlakovic EE, Wise PE, Young J, Church J. Serrated lesions of the colorectum: review and recommendations from an expert panel. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1315-1329; quiz 1314, 1330 [PMID: 22710576 DOI: 10.1038/ajg.2012.161]
- 16 Chen WS, Leung CM, Pan HW, Hu LY, Li SC, Ho MR, Tsai KW. Silencing of miR-1-1 and miR-133a-2 cluster expression by DNA hypermethylation in colorectal cancer. *Oncol Rep* 2012; 28: 1069-1076 [PMID: 22766685 DOI: 10.3892/or.2012.1899]
- 17 Sun K, Lai EC. Adult-specific functions of animal microRNAs. *Nat Rev Genet* 2013; 14: 535-548 [PMID: 23817310 DOI: 10.1038/nrg3471]

- 18 Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136: 215-233 [PMID: 19167326 DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002]
- 19 陈桦, 王小琦, 梁琼. 微小RNA与癌症的诊断、治疗及转移. *兰州大学学报(医学版)* 2009; 35: 82-86
- 20 Zhang Y, Wang X, Xu B, Wang B, Wang Z, Liang Y, Zhou J, Hu J, Jiang B. Epigenetic silencing of miR-126 contributes to tumor invasion and angiogenesis in colorectal cancer. *Oncol Rep* 2013; 30: 1976-1984 [PMID: 23900443 DOI: 10.3892/or.2013.2633]
- 21 Ng EK, Tsang WP, Ng SS, Jin HC, Yu J, Li JJ, Röcken C, Ebert MP, Kwok TT, Sung JJ. MicroRNA-143 targets DNA methyltransferases 3A in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009; 101: 699-706 [PMID: 19638978 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605195]
- 22 Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, Liu Z, Zanesi N, Callegari E, Liu S, Alder H, Costinean S, Fernandez-Cymering C, Volinia S, Guler G, Morrison CD, Chan KK, Marcucci G, Calin GA, Huebner K, Croce CM. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 15805-15810 [PMID: 17890317 DOI: 10.1073/pnas.0707628104]
- 23 Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 415-428 [PMID: 12042769 DOI: 10.1038/nrg816]
- 24 Eads CA, Danenberg KD, Kawakami K, Saltz LB, Blake C, Shibata D, Danenberg PV, Laird PW. MethyLight: a high-throughput assay to measure DNA methylation. *Nucleic Acids Res* 2000; 28: E32 [PMID: 10734209]
- 25 Dietrich D, Hasinger O, Bañez LL, Sun L, van Leenders GJ, Wheeler TM, Bangma CH, Wernert N, Perner S, Freedland SJ, Corman JM, Ittmann MM, Lark AL, Madden JF, Hartmann A, Schatz P, Kristiansen G. Development and clinical validation of a real-time PCR assay for PITX2 DNA methylation to predict prostate-specific antigen recurrence in prostate cancer patients following radical prostatectomy. *J Mol Diagn* 2013; 15: 270-279 [PMID: 23266319 DOI: 10.1016/j.jmoldx.2012.11.002]
- 26 How Kit A, Nielsen HM, Tost J. DNA methylation based biomarkers: practical considerations and applications. *Biochimie* 2012; 94: 2314-2337 [PMID: 22847185 DOI: 10.1016/j.biochi.2012.07.014]
- 27 Kristensen LS, Mikeska T, Krypuy M, Dobrovic A. Sensitive Melting Analysis after Real Time-Methylation Specific PCR (SMART-MSP): high-throughput and probe-free quantitative DNA methylation detection. *Nucleic Acids Res* 2008; 36: e42 [PMID: 18344521 DOI: 10.1093/nar/gkn113]
- 28 He Q, Chen HY, Bai EQ, Luo YX, Fu RJ, He YS, Jiang J, Wang HQ. Development of a multiplex MethyLight assay for the detection of multigene methylation in human colorectal cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 202: 1-10 [PMID: 20804913 DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2010.05.018]
- 29 Yoo CB, Jones PA. Epigenetic therapy of cancer: past, present and future. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5: 37-50 [PMID: 16485345 DOI: 10.1038/nrd1930]
- 30 Winawer S, Fletcher R, Rex D, Bond J, Burt R, Ferrucci J, Ganiats T, Levin T, Woolf S, Johnson D, Kirk L, Litin S, Simmang C. Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale-Update based on new evidence. *Gastroenterology* 2003; 124: 544-560 [PMID: 12557158 DOI: 10.1053/gast.2003.50044]
- 31 Mulero-Navarro S, Esteller M. Epigenetic biomarkers for human cancer: the time is now. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008; 68: 1-11 [PMID: 18430583 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2008.03.001]
- 32 Feinberg AP, Ohlsson R, Henikoff S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat Rev Genet* 2006; 7: 21-33 [PMID: 16369569 DOI: 10.1038/nrg1748]
- 33 Schwarzenbach H, Hoon DS, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 426-437 [PMID: 21562580 DOI: 10.1038/nrc3066]
- 34 Grützmann R, Molnar B, Pilarsky C, Habermann JK, Schlag PM, Saeger HD, Miehlke S, Stolz T, Model F, Roblick UJ, Bruch HP, Koch R, Liebenberg V, Devos T, Song X, Day RH, Sledziewski AZ, Lofton-Day C. Sensitive detection of colorectal cancer in peripheral blood by septin 9 DNA methylation assay. *PLoS One* 2008; 3: e3759 [PMID: 19018278 DOI: 10.1371/journal.pone.0003759]
- 35 Herbst A, Rahmig K, Stieber P, Philipp A, Jung A, Ofner A, Crispin A, Neumann J, Lamerz R, Kolligs FT. Methylation of NEUROG1 in serum is a sensitive marker for the detection of early colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1110-1118 [PMID: 21326223 DOI: 10.1038/ajg.2011.6]
- 36 Lofton-Day C, Model F, Devos T, Tetzner R, Distler J, Schuster M, Song X, Lesche R, Liebenberg V, Ebert M, Molnar B, Grützmann R, Pilarsky C, Sledziewski A. DNA methylation biomarkers for blood-based colorectal cancer screening. *Clin Chem* 2008; 54: 414-423 [PMID: 18089654 DOI: 10.1373/clinchem.2007.095992]
- 37 Tang D, Liu J, Wang DR, Yu HF, Li YK, Zhang JQ. Diagnostic and prognostic value of the methylation status of secreted frizzled-related protein 2 in colorectal cancer. *Clin Invest Med* 2011; 34: E88-E95 [PMID: 21463549]
- 38 Warren JD, Xiong W, Bunker AM, Vaughn CP, Furtado LV, Roberts WL, Fang JC, Samowitz WS, Heichman KA. Septin 9 methylated DNA is a sensitive and specific blood test for colorectal cancer. *BMC Med* 2011; 9: 133 [PMID: 22168215 DOI: 10.1186/1741-7015-9-133]
- 39 Weirich CS, Erzberger JP, Barral Y. The septin family of GTPases: architecture and dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9: 478-489 [PMID: 18478031 DOI: 10.1038/nrm2407]
- 40 Tan SH, Ida H, Lau QC, Goh BC, Chieng WS, Loh M, Ito Y. Detection of promoter hypermethylation in serum samples of cancer patients by methylation-specific polymerase chain reaction for tumour suppressor genes including RUNX3. *Oncol Rep* 2007; 18: 1225-1230 [PMID: 17914577]
- 41 Osborn NK, Ahlquist DA. Stool screening for colorectal cancer: molecular approaches. *Gastroenterology* 2005; 128: 192-206 [PMID: 15633136]
- 42 Ahlquist DA, Taylor WR, Mahoney DW, Zou H, Domanico M, Thibodeau SN, Boardman LA,

■名词解释

DNA甲基化: 是一个酶促反应过程, 他涉及将甲基加入到胞嘧啶的嘧啶环的5'端从而生成5-甲基胞嘧啶, 这个共价修饰被集中在CpG岛的CpG二核苷酸序列的DNA甲基转移酶所催化, 并且这些区域有大量的重复序列包括重复的着丝粒和rDNA.

同行评价

本文研究了抑癌基因甲基化这一研究热点在CRC中的最新进展, 并通过大量的文献支持回顾了其作为潜在生物标志物的意义, 层次分明、条理清晰, 为临床上对CRC的早期诊断、治疗提供了有力的支撑.

- Berger BM, Lidgard GP. The stool DNA test is more accurate than the plasma septin 9 test in detecting colorectal neoplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 272-277.e1 [PMID: 22019796 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.10.008]
- 43 Yu J, Ma X, Cheung KF, Li X, Tian L, Wang S, Wu CW, Wu WK, He M, Wang M, Ng SS, Sung JJ. Epigenetic inactivation of T-box transcription factor 5, a novel tumor suppressor gene, is associated with colon cancer. *Oncogene* 2010; 29: 6464-6474 [PMID: 20802524 DOI: 10.1038/onc.2010.3708]
- 44 Smits KM, Cleven AH, Weijnenberg MP, Hughes LA, Herman JG, de Bruïne AP, van Engeland M. Pharmacoepigenomics in colorectal cancer: a step forward in predicting prognosis and treatment response. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 1903-1916 [PMID: 19072647 DOI: 10.2217/14622416.9.12.1903]
- 45 Grady WM, Pritchard CC. Molecular alterations and biomarkers in colorectal cancer. *Toxicol Pathol* 2014; 42: 124-139 [PMID: 24178577 DOI: 10.1177/0192623313505155]
- 46 Ebert MP, Tänzer M, Balluff B, Burgermeister E, Kretzschmar AK, Hughes DJ, Tetzner R, Lofton-Day C, Rosenberg R, Reinacher-Schick AC, Schulmann K, Tannapfel A, Hofheinz R, Röcken C, Keller G, Langer R, Specht K, Porschen R, Stöhlmacher-Williams J, Schuster T, Ströbel P, Schmid RM. TFAP2E-DKK4 and chemoresistance in colorectal cancer. *N Engl J Med* 2012; 366: 44-53 [PMID: 22216841 DOI: 10.1056/NEJMoa1009473]
- 47 Gomez A, Ingelman-Sundberg M. Pharmacoepigenetics: its role in interindividual differences in drug response. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 85: 426-430 [PMID: 19242404 DOI: 10.1038/clpt.2009.2]
- 48 Barrow TM, Michels KB. Epigenetic epidemiology of cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 455: 70-83 [PMID: 25124661 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.08.002]
- 49 Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening. *N Engl J Med* 2014; 371: 187-188 [PMID: 25006736 DOI: 10.1056/NEJMc1405215]
- 50 Shinjo K, Kondo Y. Targeting cancer epigenetics: Linking basic biology to clinical medicine. *Adv Drug Deliv Rev* 2015; 95: 56-64 [PMID: 26494398 DOI: 10.1016/j.addr.2015.10.006]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

