

综述

Septin9基因甲基化在原发性肝癌中的作用

李好^{1,2}, 李岩^{1,2}, 殷和良^{1,2*}⁽¹牡丹江医科大学第一临床学院, 牡丹江 157011; ²齐齐哈尔市第一医院肝胆胰外科, 齐齐哈尔 161005)

摘要: *Septin9*是细胞骨架GTPase家族的一员, 参与细胞分裂、极化、囊泡运输、膜重建、细胞迁移和凋亡等多种生物过程。*Septin9*与诸多恶性肿瘤的发生发展密切相关, 已成为目前研究肿瘤发生机制的热点。*Septin9*基因在肝癌患者中高度甲基化且与患者的生存预后具有相关性, *Septin9*基因甲基化单一检测及与其他肿瘤标志物联合的诊断效能均明显高于传统肿瘤标志物, 可以作为肝癌无创早期筛查、诊断和预后的新的肿瘤标志物, 并有可能成为肝癌治疗的新靶点。本文综述了*Septin9*基因及其在原发性肝癌中的研究进展。

关键词: Septin9; 甲基化; 肝细胞癌; 筛查; 诊断; 预后

Roles of *Septin9* gene methylation in primary liver cancer

LI Hao^{1,2}, LI Yan^{1,2}, YIN Heliang^{1,2*}⁽¹First Clinical College, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, China;²Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Qiqihar Hospital Affiliated to Southern Medical University, Qiqihar 161005, China)

Abstract: *Septin9*, a member of the cytoskeletal GTPase family, is involved in a variety of biological processes such as cell division, polarization, vesicle trafficking, membrane remodeling, cell migration, and apoptosis. *Septin9* is closely related to the occurrence and development of many malignant tumors, and has become a new hotspot in the study of the mechanism of tumorigenesis. *Septin9* gene is highly methylated in patients with liver cancer and is associated with the survival and prognosis of patients. The diagnostic efficacy of *Septin9* gene methylation alone or in combination with other tumor markers is significantly higher than that of traditional tumor markers. *Septin9* gene methylation can be used as a new tumor marker for non-invasive early screening, diagnosis and prognosis of liver cancer, and may become a new target for liver cancer treatment. This paper reviews *Septin9* gene and its research progress in primary liver cancer.

Key Words: Septin9; methylation; hepatocellular carcinoma; screening; diagnosis; prognosis

根据世界卫生组织2020年的报告, 肝癌被列为全球第六大最常见的肿瘤类型和第三大癌症相关死亡原因, 2020年有超过90.5万例新病例和577 522例死亡。在所有原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)中, 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)占全球原发性肝癌的80%^[1]。早

期原发性肝癌症状不明显或无症状, 不易被发现, 所以当肝癌发现就诊时, 疾病大多处于晚期阶段。尽管HCC的患病率很高, 但对于晚期HCC患者而言, 尚有许多治疗选择, 迫切需要改善HCC患者的早期发现和预后^[2]。目前, 临床上HCC的诊断主要采用影像学检查和病理检查, 可以通过增强扫

收稿日期: 2024-06-27

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(LH2020H136)

第一作者: E-mail: 15675196835@163.com

*通信作者: E-mail: 18704527737@163.com

描显示肝组织的血流量, 计算机断层扫描(computed tomography, CT)对肝脏病变与邻近组织的界限识别较弱, 容易误诊^[3]。穿刺活检病理检查是PHC诊断的金标准。但对于直径 ≤ 2 cm的病灶穿刺有假阴性率, 延误了患者的治疗^[4]。甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)是已被广泛应用于HCC的诊断标志物。然而, 根据美国肝病研究协会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)指南, AFP在筛选试验中敏感性或特异性较低^[5]。因此, 积极寻找诊断肝癌的重要指标和特异度强的肿瘤标志物具有重要意义。研究发现, *Septin9* 基因与人类多种疾病相关, 并在肿瘤的发生发展中发挥重要作用^[6]。隔膜蛋白9(Septin 9, SEPT9)是细胞骨架GTP酶保守家族的成员, 其由侧翼为可变N-末端区域和C-末端区域的基于P-环的GTP结合结构域组成^[7], 参与了胞质分裂、极化、囊泡运输、膜重建、脱氧核糖核酸修复、细胞迁移和凋亡等多种生物学过程^[8]。研究表明, SEPT9可能作为某些恶性肿瘤的早期筛查、诊断和预后的标志物, 并有可能成为抗癌治疗的新靶点^[9]。本文就*Septin9* 基因在原发性肝癌早期筛查、诊断及预后方面的研究进展做一综述, 以期后续研究提供新线索。

1 *Septin9* 基因结构与功能

Septin9 基因编码一种细胞周期蛋白, 位于人类染色体17q25.3, 长度约 2.4×10^4 bp, 包含17个外显子。*Septin9* 编码包括长型(Septin9_v1、Septin9_v2、Septin9_v3)、中等型(Septin9_v4、Septin9_v4*)和短型(Septin9_v5)等15种多肽和至少18种转录产物^[10,11]。还有研究发现, *Septin* 基因间的高亲和力可形成含有数个多肽的三聚体、六聚体, 在哺乳动物中的*Septin* 基因间甚至可以形成一个八聚体复合物, 即*Septin9-Septin7-Septin6-Septin2-Septin2-Septin6-Septin7-Septin9*^[12]。这个八聚体复合物可以结合Septin依赖的Ras同源基因(Ras-homolog gene, *Rho*)鸟嘌呤核苷酸交换因子(SA-Rho-GEF)和肌球蛋白, 在肌球蛋白完全激活和细胞分裂过程中起关键作用^[13]。研究发现, SEPT9是细胞分裂的关键调节剂, 是一种肿瘤抑制因子, 生理功能被证实为主要通过中央区域的鸟核苷酸相互作用序列与

部分主要细胞骨架成分相互作用, 通过召集其他蛋白质至细胞质的特定位点^[14]在细胞增殖、分裂、运动以及调节微血管、转运等方面起重要作用。*Septin9* 基因甲基化在乳腺、中枢神经系统、胰腺、软组织、皮肤和甲状腺等来源的肿瘤中呈高表达, *Septin9* 基因在肿瘤的发生发展中充当抑癌基因的角色^[15]。*Septin9* 基因受到siRNA的调节时, 则会出现细胞分裂不完全的现象, 进而产生双核细胞; 当*Septin9* 基因的GTP结构域发生突变时, 基因将趋于不稳定, 因而易向肿瘤细胞转化^[16]。这可能是*Septin9* 基因甲基化致癌的机制。

2 *Septin9* 基因甲基化致癌机制

2.1 缺氧诱导因子1信号通路

缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)是由氧敏感的 α 亚基和氧不敏感的 β 亚基[也被称为芳烃受体核转运子(arylhydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT)]^[17]形成的异二聚体。在低氧环境中, HIF-1转录激活多种基因, 这些基因可以通过介导血管生成、氧转运、糖酵解、葡萄糖摄取、生长因子信号传导、侵袭和转移来调节肿瘤细胞的存活和增殖。HIF-1也可以通过调控下游基因来增强肿瘤增殖抑制, 从而抑制肿瘤细胞凋亡^[18]。Amir等^[19]发现, HIF-1 α 与SEPT9蛋白同源物MSF-A蛋白之间存在相互影响。SEPT9_i1是SEPT9_v1转录本产物, 被鉴定为缺氧途径中的正调节因子, 通过活化蛋白激酶C1受体(receptor for activated C kinase-1, RACK-1) E3连接酶介导的O₂非依赖性途径降低HIF-1 α 泛素化和降解, 从而增加HIF-1 α 蛋白表达水平, 增加HIF-1 α 蛋白的稳定性以及HIF-1的转录活性, 导致肿瘤生长和血管生成增加, 提高了肿瘤细胞的转移和侵袭能力。高表达的血管内皮生长因子又可以促进肿瘤组织中血管的生成, 同时也为肿瘤的增殖和浸润提供了物质基础^[17]。然而, 新生血管存在缺陷使缺氧形成恶性循环促进了正常细胞向恶性肿瘤转化。

2.2 c-Jun氨基末端激酶(JNK)信号通路

c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)是丝裂原活化蛋白激酶的c-Jun氨基末端激酶信号通路信号转导蛋白, 在细胞生长、细胞分裂、癌细胞转化和细胞周期调控等过程中起着重要作

用^[20,21]。JNK通路还参与调节多种形式的应激诱导的细胞凋亡,并且有相互矛盾的证据表明,JNK信号传导可能是促细胞凋亡的或抗细胞凋亡的^[22-24]。JNK信号通路在不同类型的癌症中具有双重作用,肝细胞中,JNK1和JNK2缺乏可以促进肝细胞癌的进展,表明其在抑制肿瘤发展中的作用^[25],JNK1的缺乏还可以显著降低二乙基亚硝胺诱导肝癌发生的易感性^[26]。然而,JNK信号通路可以通过产生促肿瘤细胞因子在肝脏的非实质细胞中具有致癌作用^[25]。Gonzalez等^[27]研究表明,*Septin9*基因表达的上调通过延迟JNK降解激活JNK信号通路,通过增加细胞周期蛋白D1(cyclinD1)的转录活性诱导细胞周期进展,从而抑制细胞凋亡、促进细胞增殖。他们还发现,cyclinD1是JNK的转录靶点,并介导其在肝细胞中的增殖作用。肝癌的发生发展也可能存在类似的机制。

2.3 Rho/ROCK信号通路

Rho/Rho相关螺旋卷曲蛋白激酶(Rho-associated coiled coil forming protein kinase, ROCK)信号通路与肿瘤的发展有密切的联系^[28]。Rho/ROCK信号通路由Rho三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)家族、RhoA、RhoB、RhoC、Ras相关蛋白1(Ras-related protein 1, Rac1)、Rac2、Rac3和细胞分裂控制蛋白42,以及下游分子ROCK1和ROCK2等核心成员组成^[29]。ROCK1和ROCK2是Rho-GTP酶下游肌动蛋白细胞骨架动力学的关键调节器,作为肌动蛋白细胞骨架重塑、胞质分裂和细胞运动等生物过程的调节因子发挥重要作用^[30]。Rho激活包括ROCK和Dia(Diaphanous)蛋白在内的各种下游效应器,ROCK促进肌动蛋白细胞骨架重组并形成应力纤维,与Dia相协调。Rho被激活后,Rhotekin蛋白可以通过破坏纤维来重组SEPT结构,最终改变*Septin9*基因的结构和功能,从而影响细胞的增殖与分化^[31]。同时,也有研究发现,肝细胞癌中存在ROCK2过度表达,并且ROCK2的过度表达与肝内转移存在正相关^[32]。

目前,对于*Septin9*基因与肝癌的研究多属于临床研究,对于*Septin9*基因甲基化促进肝癌发生、发展的具体机制尚不明确。李洁^[33]构建的*Septin9*基因真核表达载体可以使惰性转移潜能肝癌细胞株HepG2中SEPT9蛋白表达量增加,*Septin9*过表达

可以促进人肝癌HepG2细胞增殖,同时,能增强HepG2细胞的迁移、侵袭转移能力。Huang等^[34]研究发现,甲基化SEPT9(methylated SEPT9, mSEPT9)表达水平与肿瘤数目、肿瘤大小、微血管浸润、巴塞罗那肝癌分期显著相关,还发现血浆mSEPT9水平与Ki67表达显著相关,表明mSEPT9高表达患者可能更具侵袭性。既往研究表明,SEPT9在细胞分裂中起关键作用,并且是一种候选肿瘤抑制基因,其超甲基化与致癌相关^[35,36]。在肝癌中SEPT9表达经常通过异常启动子高甲基化而沉默,并且是肝癌发生中的重要转录因子基因^[37]。以上研究表明,*Septin9*基因甲基化可能通过启动子关键区域甲基化引起生物功能异常,从而促进肝癌发生、发展,其详细机制仍不明确,需进一步的基础研究探究其致癌机制。

3 SEPT9与肝细胞癌的关系

3.1 mSEPT9在肝癌中的检测性能

近年来的研究表明,SEPT家族某些成员尤其是SEPT9与肿瘤的发生直接相关,其功能研究逐渐成为恶性肿瘤发生机制研究的新热点。已有研究证实,多种消化道恶性肿瘤具有较高的SEPT9阳性率。第一代上市的血清*Septin9*基因甲基化(methylation SEPT9, mSEPTIN9)试剂盒是由Lofton-Day等开发的,第二代检测试剂Epi-proColon® V2.0 CE(Epigenomics AG, 柏林, 德国)于2016年被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准作为CRC筛查检测试剂盒,应用于拒绝结肠镜检查和高灵敏度粪便检测的平均风险年龄在50岁及以上的人群。Bannaga等^[38]采用第二代检测试剂,遵循1:1算法评估mSEPT9对HCC检测和生存的诊断性能的研究发现,mSEPT9检测HCC的灵敏度和特异性分别为89%和81%,受试者操作特征曲线下面积(area under the receiver operating characteristic curve, AUROC)为0.854,与传统肝癌生物学标志物甲胎蛋白(敏感性和特异性分别为50%和97.09%)相比表现出优秀的诊断效能。Oussalah等^[39]按照1:3算法,即三个qPCR反应中的任何一个产生阳性检测结果即表示mSEPT9检测结果为阳性,在欧洲肝癌患者中进行的研究结果表明,mSEPT9检测HCC的

灵敏度为80.8%，特异性为95.8%，与Bannaga等^[38]的研究结果类似，可以推测出mSEPT9在欧洲肝癌患者中具有较高的阳性表达。He等^[40]的研究同样发现，mSEPT9在中国肝癌患者中具有较高的阳性表达率，可达76.6%，mSEPT9对肝癌检测的特异度为91.7%。在日本人群中采用新型检测方法进行的研究发现，mSEPT9检测HCC的灵敏度为63.2% (可能存在检测方法及人种差异的因素)，特异性为90%^[41]。该研究还发现，肝癌肿瘤组织中mSEPT9表达显著高于癌旁组织。Zheng等^[42]发现，mSEPT9检测联合AFP和PIVKA-Ⅱ在肝细胞癌高危人群中的联合检测的灵敏度可达84.00%，特异度为85.57%，受试者特征曲线为0.89，联合检测可显著提高对肝癌诊断效能。以上研究结果表明mSEPT9检测在肝癌中具有较高的表达，在不同人群中均表现出不错的灵敏度和特异度，且联合其他肿瘤标志物对肝癌的早期检测较单独检测具有更好的检测性能。

3.2 mSEPT9与HCC早期筛查及诊断

mSEPT9检测在HCC中具有较高的灵敏性与特异性，可以用于原发性肝癌的早期筛查、诊断及预后监测。He等^[43]纳入64例HCC患者外周血样本进行研究发现，与传统肿瘤标志物AFP相比，外周血mSEPT9检测肝癌的灵敏度显著高于AFP，受试者工作特征曲线的曲线下面积为0.85，而甲胎蛋白的曲线下面积为0.80，表明与AFP相比，mSEPT9对于肝癌的早期诊断具有较好的潜力。进一步研究发现，mSEPT9表达的阳性率具有年龄依赖性，50岁以上患者对mSEPT9表现出更高的敏感性，表明mSEPT9对于老年早期肝癌的诊断更有潜力。Li等^[44]对104例HCC患者、174例健康体检患者作为对照的共373例血液标本进行*Septin9*基因甲基化检测，通过单盲方式评估血浆mSEPT9对HCC的诊断性能，结果检测敏感性为82.7%，特异性为96.0%。其受试者工作特征曲线下面积显示血浆mSEPT9对HCC的诊断性能优于AFP，当mSEPT9联合血清AFP检测早期HCC时，可提高对早期肝癌诊断的灵敏度及特异度，两者联合诊断的受试者工作特征曲线下面积为0.986，高于两者单独检测。该研究表明，血浆mSEPT9检测可作为早期诊断HCC的一个有用的、无创的生物标志物。

Bannaga等^[38]发现，在HCC中，mSEPT9的敏感性和特异性分别为89.47%和81.55%，而AFP的敏感性和特异性分别为50%和97.09%。在肝癌患者中，mSEPT9的敏感性显著高于目前临床常用的肿瘤标志物AFP，但特异度较低，mSEPT9阴性预测值为95.45%，AFP阴性预测值为84.03%，表明mSEPT9阴性可以比AFP更准确地排除HCC。该研究还进一步评估了AFP和mSEPT9联合检测HCC的价值，AFP和mSEPT9联合检测的灵敏度为81%，联合特异性为80%，与mSEPT9单独检测相比，mSEPT9和AFP联合检测HCC疾病并没有显示出优势，表明单独使用mSEPT9检测HCC更好，这与既往研究结果相反。此研究还发现，HCC患者mSEPT9阳性的机率是非HCC患者的27.4倍，表明mSEPT9为HCC的诊断提供了潜在的生物标志物。

国内学者也对mSEPT9在原发性肝癌中的作用进行了研究。He等^[40]对75例原发性肝癌患者用聚合酶链式反应荧光探针法检测外周血浆mSEPT9，发现肝癌患者血浆mSEPT9检测灵敏度与特异度均高于传统肿瘤标志物甲胎蛋白，血浆mSEPT9检测在我国肝癌患者中的阳性率高于AFP，且与年龄及临床分期、组织分化程度相关，并有一定早期诊断价值。沈志明等^[45]对175例原发性肝癌患者血浆进行SEPT9甲基化检测，发现*Septin9*基因甲基化对HCC阳性表达率为61.7%，同时还发现γ谷氨酰胺转肽酶(*gamma*-glutamyltranspeptidase, GGT)与血浆SEPT9甲基化联合检测的标准曲线下面积为0.845，约登指数最大时的灵敏度为88.6%，特异度为68.3%。优于单个指标的检测，可以提高对原发性肝癌的诊断效能。因此，GGT和血浆SEPT9甲基化联合检测可为肝癌的早期鉴别及诊断提供一定的参考依据，可以作为肝癌早期筛查和诊断的新肿瘤标志物。在近期更新的一项涉及9 766名受试者的meta分析中发现，循环肿瘤DNA(*circulating tumor DNA*, ctDNA)，尤其是mSEPT9，在HCC中显示出有希望的诊断潜力，但用于单独诊断HCC是不够的，ctDNA与AFP等常规检测相结合可有效提高对肝癌早期诊断的效能^[46]。Liu等^[47]在一项*Septin9*基因甲基化与老年原发性肝癌相关性研究中发现，*Septin9*基因甲基化阳性表达和GGT高表达是原发性肝癌发生的危险因素，表明这两个变

量在PHC的检测中具有诊断价值,且两者联合检测的标准曲线下面积值最高,是原发性肝癌早期诊断潜在的分子标志物。

*Septin9*基因通过甲基化改变表达水平,在肝癌的发生、发展中扮演着复杂的角色,可以通过多种机制导致正常细胞向肿瘤细胞转化。通过对外周血的*Septin9*基因甲基化检测有助于早期发现肝癌,与传统的肿瘤标志物相比,*Septin9*基因甲基化检测有更高的灵敏度。将*Septin9*基因甲基化检测与其他传统肿瘤标志物相结合可以显著提高对原发性肝癌检测的敏感性及特异性,有助于临床上对原发性肝癌的早期诊断。

3.3 mSEPT9与HCC的预后监测

目前,HCC的治疗疗效监测方法主要为CT检查,但影像学检查无法多次动态评估,提前预警HCC出现复发转移的价值较低,且对较小病灶(直径<1 cm)的灵敏度有限。*mSEPT9*除了在HCC的早期筛查及诊断中的应用外,还表现出在HCC生存预测方面的潜力。He等^[43]对纳入研究的肝癌患者进行长达21个月的随访,并进行了生存分析,发现*mSEPT9*阳性患者的生存率明显低于*mSEPT9*阴性患者,结果显示,*mSEPT9*的阳性表达对于预测肝癌患者的预后具有不错的潜力。同样,Bannaga等^[38]对纳入的肝癌患者进行了80个月的随访,发现肝癌患者的死亡时间与*mSEPT9*阳性率相关,Kaplan-Meier曲线显示,与AFP相比,*mSEPT9*的HCC生存率更高,*mSEPT9*阳性患者的生存率明显低于*mSEPT9*阴性患者,表明*mSEPT9*可作为HCC的潜在诊断和预后标志物。Li等^[44]与Liu等^[47]对肝癌患者术前与术后的血浆*mSEPT9*进行比较,发现术后血浆*mSEPT9*显著下降,国内有学者也对*mSEPT9*在原发性肝癌预后中的表达做了研究。He等^[40]对参与研究的肝癌患者进行了630天的随访后,发现*mSEPT9*阳性表达者的中位生存时间低于阴性表达者,这与之前研究得出的结果一致。

目前的研究认为,*mSEPT9*是可以用于评估HCC预后的一种有潜力的标志物,然而对不同分期的HCC患者预后的效果,不同治疗手段如化疗、分子靶向治疗以及是否可以联合多种肿瘤标记物及其他特异性甲基化标记共同评估,术后5年甚至更长时间的预后监测是否同样有效,目前相应的

研究较少,值得进一步探究。*Septin9*基因通过甲基化改变表达水平,在肝癌的发生、发展中扮演着复杂的角色,可以通过多种机制导致正常细胞向肿瘤细胞转化。对外周血的*Septin9*基因甲基化检测有助于早期发现肝癌,与传统的肿瘤标志物相比,*Septin9*基因甲基化检测有更高的灵敏度。将*Septin9*基因甲基化检测与其他传统肿瘤标志物相结合可以显著提高检测的敏感性及特异性,有助于临床上原发现肝癌的早期诊断。

4 总结

自从SEPT被发现以来,国内外学者对其进行了深入的研究。根据其不同的组织表达模式和与其作用的不同蛋白质,SEPT家族的成员可以执行不同的细胞功能。*Septin9*基因中的遗传和表观遗传变化与增殖、自噬、血管生成、细胞侵袭、染色体不稳定性、微卫星不稳定性、抗癌药物抗性以及癌症相关微环境诱导肿瘤生长有关。DNA甲基化是调控*Septin9*差异表达的重要机制,通过多种机制参与肝癌的发生、发展及预后。在我国,*Septin9*基因甲基化检测已被用于CRC的筛查、诊断、预后和复发检测。大量的研究表明,SEPT9在肝癌的早期筛查、诊断、预后检测中都展现出了不俗的潜力。然而,由于SEPT家族结构的性质及其成员的复杂性,SEPT的详细生理功能需要进一步研究。SEPT家族的表达受到严格控制,以维持细丝的正确组装和正常的细胞功能。然而,如果基因突变导致SEPT蛋白或其表达水平发生变化,则可能导致疾病的发展。如上所述,大量研究已经证实了*Septin9*基因与多种肿瘤类型之间的相关性。*Septin9*基因的表达水平、突变和功能在不同的肿瘤中是不同的。一些临床试验已经证实,*Septin9*基因的甲基化是某些肿瘤的特异性生物学标志物。然而,目前对于*Septin9*基因甲基化与肝癌的关系多为临床研究,需要更多的基础研究来确定*Septin9*调节影响肿瘤发生和肿瘤进展的具体机制,以及多中心研究来确定*Septin9*与其他致病机制之间的相关性。未来,随着研究的不断深入及检测技术的发展,*Septin9*可能在肝癌的早期筛查、诊断、靶向治疗、预后和复发监测中发挥新的作用。

参考文献

- [1] McGlynn KA, Petrick JL, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2021, 73(S1): 4-13
- [2] El-Gazzaz G, Wong W, El-Hadary MK, et al. Outcome of liver resection and transplantation for fibrolamellar hepatocellular carcinoma. *Transplant Int*, 2000, 13(S1): S406-S409
- [3] Bhangu JS, Beer A, Mittlböck M, et al. Circulating free methylated tumor DNA markers for sensitive assessment of tumor burden and early response monitoring in patients receiving systemic chemotherapy for colorectal cancer liver metastasis. *Ann Surg*, 2018, 268(5): 894-902
- [4] Wen F, Zheng H, Zhang P, et al. Atezolizumab and bevacizumab combination compared with sorafenib as the first-line systemic treatment for patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a cost-effectiveness analysis in China and the United states. *Liver Int*, 2021, 41(5): 1097-1104
- [5] Reig M, Forner A, Ávila MA, et al. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. Update of the consensus document of the AEEH, AEC, SEOM, SERAM, SERVEI, and SETH. *Med Clin (Barc)*, 2021, 156(9): 463.e1-463.e30
- [6] Chan SL, Chong CC, Chan AW, et al. Management of hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis: review and update at 2016. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(32): 7289-7300
- [7] Wang Y, Wang J, Li X, et al. N1-methyladenosine methylation in tRNA drives liver tumorigenesis by regulating cholesterol metabolism. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 6314
- [8] Nakos K, Rosenberg M, Spiliotis ET. Regulation of microtubule plus end dynamics by Septin 9. *Cytoskeleton*, 2019, 76(1): 83-91
- [9] Krokowski S, Mostowy S. Bacterial cell division is recognized by the septin cytoskeleton for restriction by autophagy. *Autophagy*, 2019, 15(5): 937-939
- [10] 张苗苗, 余辉, 陈庆, 等. SEPT9 基因在肿瘤中的研究进展. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(04): 453-458
- [11] Mostowy S, Cossart P. Septins: the fourth component of the cytoskeleton. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(3): 183-194
- [12] Berhane S, Toyoda H, Tada T, et al. Role of the GALAD and BALAD-2 serologic models in diagnosis of hepatocellular carcinoma and prediction of survival in patients. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2016, 14(6): 875-886.e6
- [13] Akiyama J, Alexandre L, Baruah A, et al. Strategy for prevention of cancers of the esophagus. *Ann New York Acad Sci*, 2014, 1325(1): 108-126
- [14] Sirajuddin M, Farkasovsky M, Hauer F, et al. Structural insight into filament formation by mammalian septins. *Nature*, 2007, 449(7160): 311-315
- [15] Nagata K, Asano T, Nozawa Y, et al. Biochemical and cell biological analyses of a mammalian septin complex, Sept7/9b/11. *J Biol Chem*, 2004, 279(53): 55895-55904
- [16] Nagata K, Kawajiri A, Matsui S, et al. Filament formation of MSF-A, a mammalian septin, in human mammary epithelial cells depends on interactions with microtubules. *J Biol Chem*, 2003, 278(20): 18538-18543
- [17] Wang GL, Jiang BH, Rue EA, et al. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(12): 5510-5514
- [18] Bárdos JI, Ashcroft M. Hypoxia-inducible factor-1 and oncogenic signalling. *Bioessays*, 2004, 26(3): 262-269
- [19] Amir S, Wang R, Matzkin H, et al. MSF-A interacts with hypoxia-inducible factor-1 α and augments hypoxia-inducible factor transcriptional activation to affect tumorigenicity and angiogenesis. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 856-866
- [20] Xu R, Hu J. The role of JNK in prostate cancer progression and therapeutic strategies. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109679
- [21] Seki E, Brenner DA, Karin M. A liver full of JNK: signaling in regulation of cell function and disease pathogenesis, and clinical approaches. *Gastroenterology*, 2012, 143(2): 307-320
- [22] Lin A. Activation of the JNK signaling pathway: breaking the brake on apoptosis. *Bioessays*, 2003, 25(1): 17-24
- [23] Tournier C, Hess P, Yang DD, et al. Requirement of JNK for Stress-induced activation of the cytochrome c-mediated death pathway. *Science*, 2000, 288(5467): 870-874
- [24] Xia Z, Dickens M, Raingeaud J, et al. Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. *Science*, 1995, 270(5240): 1326-1331
- [25] Zhi Y, Zhou X, Yu J, et al. Pathophysiological significance of WDR62 and JNK signaling in human diseases. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 640753
- [26] Johnson GL, Nakamura K. The c-jun kinase/stress-activated pathway: regulation, function and role in human disease. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773(8): 1341-1348
- [27] Gonzalez ME, Makarova O, Peterson EA, et al. Up-regulation of SEPT9_v1 stabilizes c-Jun-N-Terminal kinase and contributes to its pro-proliferative activity in mammary epithelial cells. *Cell Signal*, 2009, 21(4): 477-487
- [28] Shahbazi R, Baradaran B, Khordadmehr M, et al. Targeting ROCK signaling in health, malignant and non-

- malignant diseases. *Immunol Lett*, 2020, 219: 15-26
- [29] Crosas-Molist E, Samain R, Kohlhammer L, et al. Rho GTPase signaling in cancer progression and dissemination. *Physiol Rev*, 2022, 102(1): 455-510
- [30] Guan G, Cannon RD, Coates DE, et al. Effect of the Rho-kinase/ROCK signaling pathway on cytoskeleton components. *Genes (Basel)*, 2023, 14(2): 272
- [31] Loirand G, Touyz RM. Rho kinases in health and disease: from basic science to translational research. *Pharmacol Rev*, 2015, 67(4): 1074-1095
- [32] Wong CCL, Wong CM, Tung EKK, et al. Rho-kinase 2 is frequently overexpressed in hepatocellular carcinoma and involved in tumor invasion. *Hepatology*, 2009, 49(5): 1583-1594
- [33] 李洁. SEPT9基因过表达对人肝癌HepG2细胞增殖及侵袭转移的影响[D]. 泸州: 泸州医学院, 2014
- [34] Huang F, Yang G, Jiang H, et al. Role of Plasma methylated SEPT9 for predicting microvascular invasion and tumor proliferation in hepatocellular carcinoma. *Technol Cancer Res Treat*, 2022, 21: 15330338221144510
- [35] Burrows JF, Chanduloy S, McIlhatton MA, et al. Altered expression of the septin gene, SEPT9, in ovarian neoplasia. *J Pathol*, 2003, 201(4): 581-588
- [36] Robertson C, Church SW, Nagar HA, et al. Properties of SEPT9 isoforms and the requirement for GTP binding. *J Pathol*, 2004, 203(1): 519-527
- [37] Villanueva A, Portela A, Sayols S, et al. DNA methylation-based prognosis and epidrivers in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2015, 61(6): 1945-1956
- [38] Bannaga AS, Alvarez R, Zhou L, et al. Role of methylated septin 9 as an adjunct diagnostic and prognostic biomarker in hepatocellular carcinoma. *HPB*, 2021, 23(10): 1595-1606
- [39] Oussalah A, Rischer S, Bensenane M, et al. Plasma mSEPT9: a novel circulating cell-free DNA-based epigenetic biomarker to diagnose hepatocellular carcinoma. *eBioMedicine*, 2018, 30: 138-147
- [40] He N, Feng G, Zhang FN, et al. Expression and clinical significance of plasma methylated SEPT 9 gene in patients with primary liver cancer. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*, 2023, 31(3): 265-270
- [41] Saeki I, Suehiro Y, Yamauchi Y, et al. Methylated SEPT9 assay-based liquid biopsy as a biomarker in molecular targeted agent-treated hepatocellular carcinoma. *Hepatol Int*, 2023, 17(5): 1289-1299
- [42] Zheng K, Dai L, Zhao Y, et al. Methylated SEPT9 combined with AFP and PIVKA-II is effective for the detection of HCC in high-risk population. *BMC Gastroenterol*, 2023, 23(1): 260
- [43] He N, Feng G, Zhang C, et al. Plasma levels of methylated Septin 9 are capable of detecting hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. *Mol Med Rep*, 2020, 22(4): 2705-2714
- [44] Li B, Huang H, Huang R, et al. SEPT9 gene methylation as a noninvasive marker for hepatocellular carcinoma. *Dis Markers*, 2020, 2020: 6289063
- [45] 沈志明, 冯杰, 魏静, 等. 血浆Septin9甲基化在肝癌鉴别诊断中的临床价值. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(23): 2831-2834, 2838
- [46] Kopystecka A, Patryn R, Leśniewska M, et al. The use of ctDNA in the diagnosis and monitoring of hepatocellular carcinoma—literature review. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(11): 9342
- [47] Liu H, Wei D, Yan Z, et al. Analyzing the role of Septin9 gene methylation in the diagnosis and treatment of primary liver cancer in the elderly. *Altern Ther Health Med*, 2023, 29(4): 194-199