

DNA 甲基化及其与胃癌相关研究进展

李 艳^{1,2} 黄晓俊^{1,2,3△} 陈 平^{1,2,3}

(1 甘肃省消化系统肿瘤重点实验室 甘肃 兰州 730030 2 兰州大学第二临床医学院 甘肃 兰州 730000 ;

3 兰州大学二院消化科 甘肃 兰州 730000)

摘要 :DNA 甲基化是表观遗传学中的研究热点,与肿瘤的发生、发展、诊断、治疗、预后等相关。胃癌的发生、发展与 DNA 甲基化状态改变关系密切,研究胃癌相关基因 DNA 甲基化状态的改变有助于胃癌的早期发现、诊断、治疗及预后。因此,研究胃癌相关基因的甲基化状态具有一定的临床价值。

关键词 :DNA 甲基化,胃癌,CpG 岛

中图分类号 :R735.2 **文献标识码** :A **文章编号** :1673-6273(2011)18-3577-03

Development Research Of DNA Methylation in Gastric Cancer

LI Yan^{1,2}, HUANG Xiao-jun^{1,2,3△}, CHEN Ping^{1,2,3}

(1 Key laboratory of gastrointestinal cancer in Gansu Province, Lanzhou 730030, China;

2 The second clinical medical college of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

3 Department of gastroenterology, the second hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China)

ABSTRACT: The research of DNA methylation research was a topic spot in epigenetics, which was associated with the occurrence, development, diagnosis, treatment and prognosis of tumor. And gastrical tumorigenesis was closely related with DNA methylation status change, some study suggested that the changes of DNA methylation state of gastric cancer related gene will contribute to early examination, diagnosis, treatment and prognosis of gastric cancer.

Key words: DNA methylation; Gastric cancer; CpG island

Chinese Library Classification(CLC): R735.2 **Document code**: A

Article ID:1673-6273(2011)18-3577-03

前言

表观遗传(Epigenetics)是通过 DNA 甲基化、组蛋白修饰、组蛋白变体并入、核小体重重新定位以及 RNA 干扰等机制^[1]在 DNA 核苷酸序列并不改变的前提下使基因表达发生可遗传变化的调控基因表达的基本方式之一。DNA 甲基化是目前表观遗传学机制中研究最多的。肿瘤的发病机制涉及遗传学和表观遗传学两个方面^[2]。胃癌的发病机制与 DNA 甲基化状态改变密切相关。

1 DNA 甲基化

DNA 甲基化是对 DNA 的一种化学修饰,在维持染色体结构、X 染色体失活、基因印记及胚胎发育、细胞分化、肿瘤的发生等方面均起重要作用^[3]。在细胞分裂中,甲基化特征主要通过甲基转移酶(DNA methyltransferase,DNMT)来实现^[4,5]。首先 DNMT 与 DNA 结合,将目标核苷酸反转为暴露于 DNA 双螺旋外,之后半胱氨酸的亲和基团与胞嘧啶第六位碳(C6)共价结合,从 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)处转甲基至胞嘧啶 C5 上^[6],从而形成甲基化状态。

1.1 DNA 甲基化与 CpG 岛

DNA 甲基化在原核生物及真核生物的基因组中均可见。原核生物中,DNA 甲基化发生于胞嘧啶、腺嘌呤及宿主限制系统的一部分^[7]。多细胞真核生物中,DNA 甲基化主要发生于胞嘧啶^[7,8]。甲基化的 CpG 序列在基因组中不均匀分布,一些部位 CpG 序列密度比平均密度高 10~20 倍,G+C 含量>50%,其长度>200 个碱基,这些区域称为 CpG 岛。大约一半以上的人类基因含有 CpG 岛,主要是看家基因及约 40%的组织特异性基因。DNA 甲基化有 2 种类型^[9]:衰老特异性甲基化(type A)和肿瘤特异性甲基化(type C)。type A 型甲基化随着年龄增加甲基化频率逐渐增加,正常人及肿瘤患者均出现,type C 型甲基化仅发生于肿瘤组织,依据甲基化频率高低而分为 CpG 岛甲基化表型阳性(CIMP+)和 CpG 岛甲基化表型阴性(CIMP-)。其中 CIMP+ 型肿瘤更容易转录沉寂,并可能同时导致多个抑癌基因失活。

1.2 DNA 甲基化与 DNMT

DNMT 催化、维持 DNA 甲基化,哺乳动物的 DNMT 因其作用的 DNA 底物链不同而分为两大类:维持甲基化转移酶 DNMT1 和重新甲基化转移酶 DNMT3a、DNMT3b^[2]。DNMT1 在 DNA 复制过程中将已存在的甲基化形式复制于新 DNA 链,DNMT3a、DNMT3b 主要作用于未甲基化的 CpG 位点使胞嘧啶甲基化。

作者简介 李艳(1985-)女,硕士研究生,主要研究方向 消化系统肿瘤 电话:13919425297 E-mail:289392434@qq.com

△通讯作者 黄晓俊 E-mail: huangxj62@163.com

(收稿日期 2011-01-28 接受日期 2011-02-23)

2 DNA 甲基化与肿瘤

甲基化状态的改变在肿瘤表观遗传学发病机制中占有重要地位,这种改变包括 DNA 去甲基化及 DNA 高甲基化。

2.1 DNA 去甲基化与肿瘤

2.1.1 全基因组水平 DNA 的去甲基化 多数肿瘤细胞中存在整个基因组水平 DNA 的去甲基化,主要在 DNA 的重复序列中,如微卫星 DNA、长散布元件(LINES)、Alu 顺序、异染色质 DNA 重复、散在逆转录转座子、内源的逆转录病毒元件等。DNA 去甲基化可造成染色体的不稳定,增加了基因突变的机率,激活惰性基因,尤其是某些原癌基因的表达,促进了肿瘤的发生。癌细胞 DNA 甲基化降低程度与癌症恶性程度相关。

2.1.2 印记丢失 (loss of imprinting, LOI) 基因组印记(genomic imprinting)是来自于双亲的特定等位基因的沉默^[10]。父母基因组中的等位基因通过精子和卵子传递给子代时发生了某些修饰,如 DNA 甲基化、染色质结构变化等,使子代仅表达父亲或母亲等位基因的一种。印记基因往往因高甲基化状态而沉默,印记丢失则常常为印记基因去甲基化被活化表达。印记丢失造成抑制和刺激生长的信号失衡,这在肿瘤的发生中发挥重要作用。

2.2 DNA 高甲基化与肿瘤

肿瘤相关基因启动子 CpG 岛的高甲基化易在转录水平抑制基因表达,甚至致基因沉默,从而破坏体内抗癌机制,导致细胞癌变。其机制主要涉及以下四种^[11]:(1)CpG 岛甲基化直接干扰转录因子与调控区识别位点的结合;(2)甲基化 CpG 结合蛋白(MeCP)特异性地结合甲基化 DNA 结合位点,进而募集共抑制复合体的其它成分来共同抑制基因转录;(3)DNMT 介导染色质重构,间接抑制基因转录;(4)DNA 甲基化阻止甲基化较多区域基因转录的有效延长。

此外, DNA 甲基化与组蛋白修饰、染色质重构间既相互独立,彼此之间又复杂的相互作用导致了基因转录的抑制。当基因启动子区域 CpG 岛发生甲基化后, MeCP 结合于此区,促使组蛋白去乙酰化复合物及其它转录抑制因子的结合,形成核心组蛋白去乙酰化复合物,作用于启动子下游的组蛋白,使组蛋白 H3、H4 N 端末部的赖氨酸去乙酰化,组蛋白上正电荷增加,其与带负电荷的 DNA 亲和性增加,从而使染色体结构压缩,进一步限制转录因子的结合,引起转录抑制。

一些 HMTs (Histone methyltransferase), 包括 G9a, SUV39H1, PRMT5 等可招募 DNMTs 并调节 DNMT 蛋白稳定性。DNMT 可反过来募集 HDACs(histone deacetylase)及 MBDS (methyl-binding domains)。DNA 甲基化还可通过效应蛋白(如 MeCP2)致 H3K9 甲基化从而使染色质抑制^[1]。

Curradi 等^[12]发现,甲基化 CpG 位点的数目与组蛋白去乙酰化抑制基因转录作用的发挥间尚有关联。当发生甲基化改变的启动子区域的 CpG 位点的数量不足以引起长距离的基因抑制时,组蛋白去乙酰化在抑制基因表达上将发挥重要作用。当发生甲基化的启动子区域的 CpG 位点的数目增大至可以引起基因广泛静止的阈值时,在改变的 DNA 上将会形成的特异的

染色质结构,随后染色质结构紧缩并向周边未改变的 DNA 蔓延。此时,组蛋白去乙酰化对转录抑制的作用是次要的了,因为用 HDAC 抑制剂曲古抑菌素 A (Trichostatin A, TSA) 处理,转录水平仍明显低于未甲基化的对照,提示高密度的甲基化使染色质结构高度紧缩并且相当稳定。

3 DNA 甲基化与胃癌

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,大量研究资料表明其发病机制非常复杂,并认为其发生、发展与特定基因 DNA 甲基化状态改变关系密切。

研究^[13,14]发现胃癌组织中 c-myc 和 c-Ha-ras 基因甲基化水平降低, c-Ha-ras 低甲基化是胃腺细胞早期癌变的一个重要遗传学事件。LOI 导致的 IGF2、p73 基因过度表达在胃癌发生、发展、转移中发挥重要作用^[15,16]。

在胃癌发病机制中,抑癌基因、凋亡相关基因等高甲基化也占重要地位。如:在高甲基化的抑癌基因中, p16、p14、p15、CHFR、RIZ1 等参与调节细胞周期; APC、PTEN、RASSF1、RUNX3、PKD1 等介导细胞信号转导; hMLH1、MGMT、pS2 参与 DNA 修复; E-cadherin、TIMP-3 等抑制肿瘤扩散、生长、转移。CDX2、GATA-4、GATA-5、TFPI2 等已被检测到在胃癌中高甲基化,但其作用机制尚不明确。DAPK、BNIP3、Apaf-1、DCC、SFRP1、HRK 等作为高甲基化的凋亡相关基因,其中有些因子亦可能同时是抑癌基因。

近来,一个意大利组的研究^[17]表明伴 Hp 感染的慢性胃炎患者与 CDH1、p16、MLH1、APC、COX2 的启动子甲基化相关,而 CDH1 的甲基化似乎是伴 Hp 感染的慢性胃炎的早期事件, MLH1 甲基化则发生于晚期伴随肠上皮化生的病变中。

4 DNA 甲基化的临床意义

DNA 甲基化是除了基因突变、基因缺失之外的一种常见致癌原因,它是一个动态过程,在一定程度上具有可逆性。因此,在其转变为不可逆的突变之前扭转其甲基化水平有重要意义。5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza-dC)是一种嘧啶类似物,是一种 DNMT 抑制剂。它作用于复制过程中的新 DNA 链,与 DNMT 活性位点形成共价复合物来减弱 DNMT 活性^[18],从而抑制 DNA 甲基化并扭转细胞转变进程。Chang Do Jee^[18]等用 TSA、5-Aza-dC 处理 SUN-1、SUN-601、SUN-719 三种胃癌细胞株,发现 TSA 及 5-Aza-dC 联合处理可使 TFPI2 表达明显增加,而用 TSA 单独处理则检测不到 TFPI2 表达上调,说明 TSA 及 5-Aza-dC 具有协同作用。Lin YS^[19]等发现普鲁卡因胺也是一种很好的脱甲基制剂,且没有 5-Aza-dC 的骨髓抑制的副作用。

Roa 等^[20]应用 MSP 检测了 47 例胃癌组织标本中 MLH1、p16、APC、CadherinE 及 FHIT 启动子的甲基化状态,并且分析了所有组织标本的形态特点及生物学特性后发现: APC 的甲基化状态与组织分化程度相关; CadherinE 甲基化状态与 Lauren 分型的弥漫型及 3 个以上淋巴结转移相关; FHIT、p16、CadherinE 甲基化与女性胃癌患病密切相关,但 p16 甲基化状态与 5

年生存率没有必然联系。临床上可根据肿瘤相关基因的甲基化状态来早期诊断、对肿瘤进行分级、分型并判断预后。

日常生活中,减少酒精摄入,注重饮食中的叶酸、维生素B12在体内的吸收代谢平衡,有利于DNA甲基化的正常反应,从而减少肿瘤的发生几率。

综上所述,DNA甲基化与胃癌的发生密切相关,目前据其开发的治疗药物及检测DNA甲基化技术亦在进一步研究中,相信随着DNA甲基化与胃癌发病机制的逐渐明确,基于DNA甲基化的检测、诊断、治疗将更加成熟,其将有助于胃癌的进一步诊治。

参考文献(References)

- [1] Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer[J]. Carcinogenesis, 2010,31(1):27-36
- [2] Taby R, Issa JP. Cancer epigenetics [J]. CA Cancer J Clin,2010,60(6): 376-392
- [3] Li Y, Tollefsbol TO. Impact on DNA methylation in cancer prevention and therapy by bioactive dietary components [J]. Curr Med Chem, 2010,17(20):2141-2151
- [4] Goll MG, Bestor TH. Eukaryotic cytosine methyltransferases[J]. Annu Rev Biochem,2005,74:481-514
- [5] Lee TF, Zhai J, Meyers BC. Conservation and divergence in eukaryotic DNA methylation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2010,107 (20): 9027-9028
- [6] Cheng X, Blumenthal RM. Mammalian DNA methyltransferases:a structural perspective[J].Structure,2008,16(3):341-350
- [7] Robert J Klose, Adrian P Bird. Genomic DNA methylation:the mark and its mediators[J]. Trends Biochem Sci,2006,31(2):89-97
- [8] Gupta R,Nagarajan A,Wajapeyee N.Advances in genome-wide DNA methylation analysis[J].Biotechniques,2010, 49(4):iii-xi
- [9] Gilbert SF. Ageing and cancer as diseases of epigenesis [J]. J Biosci, 2009,34(4):601-604
- [10] Arnaud P. Genomic imprinting in germ cells: imprints are under control[J]. Reproduction,2010,140(3):411-423
- [11] Prather RS, Ross JW, Isom SC, Green JA. Transcriptional, post-transcriptional and epigenetic control of porcine oocyte maturation and embryogenesis[J]. Soc Reprod Fertil Suppl,2009,66:165-176
- [12] Curradi M,Izzo A,Badaracco G,Landsberger N.Molecular mechanisms of gene silencing mediated by DNA methylation [J].Mol Cell Biol,2002,22(9):3157-3173
- [13] Luo J, Li YN, Wang F,et al. S-adenosylmethionine inhibits the growth of cancer cells by reversing the hypomethylation status of c-myc and H-ras in human gastric cancer and colon cancer [J]. Int J Biol Sci, 2010,6(7):784-795
- [14] Fang JY, Cheng ZH, Chen YX, et al.Expression of Dnmt1, demethylase, MeCP2 and methylation of tumor-related genes in human gastric cancer[J]. World J Gastroenterol. 2004 Dec 1;10(23):3394-3398
- [15] Lu Y, Lu P, Zhu Z, et al.Loss of imprinting of insulin-like growth factor 2 is associated with increased risk of lymph node metastasis and gastric corpus cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res,2009,28:125
- [16] Kang MJ, Park BJ, Byun DS,et al. Loss of imprinting and elevated expression of wild-type p73 in human gastric adenocarcinoma [J]. Clin Cancer Res. 2000,6(5):1767-1771
- [17] Perri F,Cotugno R,Piepoli A,et al.DNA methylation in non-neoplastic gastric mucosa of H.pylori infected patients and effect of eradication [J].Am J Gastroenterol 2007,102:1361-1371
- [18] Jee CD,Kim MA,Jung EJ,et al.Identification of genes epigenetically silenced by CpG methylation in human gastric carcinoma [J].Eur J Cancer,2009,45(7):1282-1293
- [19] Lin YS,Shaw AY,Wang SG,et al.Identification of novel DNA methylation inhibitors via a two-component reporter gene system [J].J Biomed Sci,2011,18(1):3
- [20] Roa S JC,García M P,Melo A A,et al.Gene methylation patterns in digestive tumors[J].Rev Med Chil,2008,136(4):451-458