

表遗传学与胃肠道肿瘤

朱新江, 戴冬秋

朱新江, 戴冬秋, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科 辽宁省沈阳市 110001

国家自然科学基金资助项目, No. 30572162, No. 30271477

教育部高校博士点基金资助项目, No. 20050159001

戴冬秋, 中国医科大学医学博士, 教授, 主任医师, 博士生导师. 2000-2002年美国M.D.安德森癌症中心博士后研究员, 中国抗癌协会全国胃癌专业委员会委员, 《CMJ》及《世界华人消化杂志》等5刊编委及审稿人. 主要从事肿瘤外科, 化疗及生物治疗等工作, 专于胃癌转移分子机制及早期预测与阻断的基础和临床研究.

通讯作者: 戴冬秋, 110001, 沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院肿瘤科, 辽宁省胃癌分子病理重点实验室. daidq63@163.com

电话: 024-83283560

收稿日期: 2006-09-28 接受日期: 2006-10-11

Epigenetic modification and gastrointestinal tumor

Xin-Jiang Zhu, Dong-Qiu Dai

Xin-Jiang Zhu, Dong-Qiu Dai, Department of Oncology Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30572162, No. 30271477, and the Scientific Research Foundation of Education Ministry for the Doctors, No. 20050159001

Correspondence to: Dr. Dong-Qiu Dai, Department of Oncology Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. daidq63@163.com

Received: 2006-09-28 Accepted: 2006-10-11

Abstract

Carcinogenesis springs from the combined forces of both genetic and epigenetic events. The role of epigenetic modification in the progression of carcinoma has been suggested by a lot of evidences in recent years. An epigenetic event alters the activity of genes without changing their structure. Gastrointestinal tumor is the most common cancer in China, and the investigation of epigenetic modification is significant in cell immunity, phylaxis, cell differentiation and preventive therapy.

Key Words: Gastrointestinal tumor; Gene regulation; DNA methylation; Histone modification

Zhu XJ, Dai DQ. Epigenetic modification and gastrointestinal tumor. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(34):3251-3256

www.wjgnet.com

摘要

肿瘤的形成受遗传学和表遗传学修饰的影响. 近年来, 越来越多的证据表明, 表遗传学修饰在肿瘤进展中同样有重要作用, 表遗传调控可以影响基因转录活性而不涉及DNA序列的改变. 胃肠道肿瘤是我国最常见的肿瘤, 表遗传研究对了解胃肠道肿瘤的发病机制、细胞免疫与防御、细胞分化以及预防治疗等方面具有十分重要的意义.

关键词: 胃肠道肿瘤; 基因调控; DNA甲基化; 组蛋白修饰

朱新江, 戴冬秋. 表遗传学与胃肠道肿瘤. 世界华人消化杂志 2006;14(34):3251-3256

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3251.asp>

0 引言

1999年, Wolffe *et al*在Science杂志上对表遗传学的现代概念作了一个比较精确的描述: 表遗传学是研究非DNA序列变化引起的, 可遗传的基因表达改变. 表遗传学的研究对象不是基因组核苷酸序列所携带的遗传信息, 而是研究基因表达在时间和空间上的调控问题, 包括DNA甲基化、组蛋白修饰、基因组印迹、染色体重塑、基因表达重新编程、X染色体失活等, 其中最主要的两个研究内容是DNA甲基化和组蛋白修饰.

随着人类基因组测序工作的基本完成, 人类遗传学研究从基因时代进入后基因组时代, 即功能基因组时代. 近几年, 表遗传学改变的研究取得了长足进展, 成为胃肠癌临床基础研究的一个热点领域. 人类表观基因组协会(human epigenome consortium, HEC)在2003-10正式宣布开始实施人类表观基因组计划(human epigenome project, HEP)这一计划标志着表遗传学和表观基因组学研究进入一个新的阶段, 也为征服肿瘤和其他疾病带来了希望. 现拟就胃肠道肿瘤的表遗传学研究进展作一综述.

■背景资料

胃肠道肿瘤发病率居各种恶性肿瘤之首, 严重危害人类健康. 过去10 a的研究表明表遗传学在胃肠道肿瘤发生、发展中扮演重要角色, 为其早期诊断、预后判断和干预治疗提供了新的思路.

■ 研发前沿

目前国际上的表遗传学方面的研究继组蛋白乙酰化后组蛋白甲基化成为又一热点。

1 DNA甲基化与胃肠道肿瘤

1.1 DNA甲基化 甲基化修饰是脊椎动物惟一的DNA自然修饰方式, DNA甲基化是指在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, Dnmt)的作用下, 以S-腺苷甲硫氨酸(SAM)为甲基供体, 将甲基基团转移到胞嘧啶和鸟嘌呤(CpG)二核苷酸的胞嘧啶中5位碳原子上并与其3'端的鸟嘌呤形成mCpG, 且在双链对称出现. 甲基化特征的遗传主要是通过维持性甲基转移酶(maintenance methyltransferase)实现的, 其特点是以双链中互补链为甲基化CG的CpG作为底物, 从而保证在子代细胞中有可能恢复亲代的甲基化状态, DNA甲基化在哺乳动物发育中有重要的调控功能. 胚胎起源中, 发生两步即新甲基化(denovo methylation)和再甲基化(maintenance methylation)的过程. 相应地存在两种DNA甲基化酶, 即维持甲基转移酶(maintenance DNA methyltransferase, DNMT1)重新甲基转移酶(de novo methyltransferase, DNMT3a, DNMT3b). 在甲基化的双链DNA复制后所生成的两条新的DNA链中, 只有亲代链是甲基化的, 新合成单链是非甲基化的. 维持甲基化酶的作用是识别子代DNA双链中亲代单链上已甲基化的CpG位点, 然后催化互补单链的胞嘧啶(C)发生甲基化DNA甲基化主要发生在CpG岛上. DNA甲基化异常可分为甲基化增强, 甲基化减弱和甲基化酶水平增高三种类型, 其中甲基化增强在肿瘤中最常见与肿瘤的关系比较明确, 被认为是肿瘤抑制基因失活的重要途径, 研究取得的进展也报道的最多. 癌基因多为不充分甲基化, 导致重新开放或异常表达; 抑癌基因多为过度甲基化, 从而表达受抑制, DNA异常甲基化导致肿瘤发生的可能机制如下. 首先, 在正常情况下非甲基化的CpG岛的高甲基化, 可以导致肿瘤抑制基因的失活. 其次, DNA甲基化可以促进肿瘤相关基因的突变, 因为5-甲基胞嘧啶可自发或在S-腺苷蛋氨酸的作用下引起邻位脱氨而变为胸腺嘧啶, 使甲基化的CpG突变为TpG, 这是最常见的突变, 在抑癌基因p53中也最常见, 是肿瘤相关基因甲基化促进细胞恶变的一种机制.

近年来胃肠道肿瘤相关基因的研究集中在相关基因启动子区域CpG残基的高甲基化, 特别是抑癌基因的研究, 目前已成为热点. CpG岛的定义是由Gardiner-garden和frommer提出的, 其大小范围为0.5-5 kB, 基因中平均每100 kB即可出现. 由于这些区域未发生甲基化, 故富含

CpG(60%-70%)CpG/GPC大于0.6. 目前认为: 基因表达与CpG岛甲基化程度呈负相关, CpG甲基化抑制基因转录的机制还远未完全明确.

1.2 DNA甲基化与胃癌

1.2.1 p16基因 又称多肿瘤抑制基因(multiple tumorsuppressor, MTS)定位于9p21, 全长 8.5×10^3 (M_r 8500)有2个内含子和3个外显子组成. 其编码的蛋白是一种重要的细胞周期负调控蛋白, 通过与细胞周期蛋白依赖激酶CDK4和CDK6结合而抑制蛋白激酶活性, 从而抑制细胞的增殖, 被认为是最重要的抑癌基因之一. Lee *et al*^[1]最早报道了p16甲基化与胃癌的关系, 他们用甲基化敏感性限制性内切酶研究了9个胃癌细胞株, 发现两个有甲基化, 而且不表达p16mRNA, 体外以去甲基化剂5-deoxy azacytidine对胃癌细胞处理后, 可见因CpG岛异常甲基化而封闭的基因重新表达. Lee *et al*^[2]同时测定了胃癌患者肿瘤和外周血基因的异常甲基化, p16甲基化的出现率分别为66.7%和51.9%, 而正常对照为阴性. 结果表明血清中基因异常甲基化能如实的反映肿瘤中基因异常甲基化的情况, 可作为胃癌患者的治疗筛选指标. Song *et al*^[3]用甲基化敏感性限制性内切酶研究了9个胃癌细胞株及28例原发性胃癌标本, 结果显示, 5个胃癌细胞株及5例原发性胃癌有启动子CpG岛的甲基化, 他们均不表达p16蛋白; 另外1例原发性胃癌也不表达p16蛋白, 但无CpG岛的甲基化. Shim *et al*^[4]用甲基化特异性PCR研究了88例散发性胃癌, 其中37例(42 %)有p16的甲基化. 他们通过免疫组织化学分析了41例胃癌(22例有甲基化, 19例无甲基化)的p16蛋白表达情况, 结果显示: 在22例有甲基化的胃癌标本中, 19例(86%)完全不表达p16蛋白; 而在19例无甲基化的胃癌标本中, 仅有2例(11%)完全不表达p16蛋白. 在这88例胃癌标本中, 21例曾证实有微卫星不稳定性, 这21例中13例(62%)有p16INK4a的甲基化. Kang *et al*^[5]研究表明, p16在慢性胃炎、肠化生、胃腺瘤和胃癌的甲基化频率逐渐升高, 分别为2.7%, 7%, 11.4%和43.8%, 反映了癌的演变过程, 也证明他是早期事件以上结果均证明: p16基因CpG岛甲基化可导致p16表达缺失, 是该基因灭活的重要原因. 在国内, 赵成海 *et al*^[6]的研究中发现p16基因甲基化在正常胃黏膜中未发现, 而在癌旁组织和胃癌组织中检出率分别为8.3%和33.3%. 提示胃癌中p16基因表达改变并不是由于基因突变或缺失

引起, 而主要由于启动子甲基化导致。

1.2.2 hMLH1 hMLH1是一种DNA错配修复基因与癌基因和抑癌基因一样在致癌过程中起关键作用, 他的突变或表达降低会增加受损细胞中DNA的突变频率, 不仅导致癌基因和抑癌基因的突变率增高, 还可导致微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)的发生。Fleisher *et al*^[7]检测了65例胃癌的hMLH1甲基化情况, 其中18例胃癌有多个微卫星位点突变, 为高频率微卫星不稳定性(MSI-H); 8例胃癌仅有1个微卫星位点突变, 为低频率微卫星不稳定性(MSI-L); 39例胃癌无微卫星位点突变, 为微卫星不稳定性阴性(MSI-阴性)。结果显示: 77.8%的MSI-H胃癌发生hMLH1基因的甲基化; 75%的MSI2L胃癌发生hMLH1基的甲基化; 仅23%的MSI-阴性胃癌有hMLH1基因的甲基化。而且, 发生hMLH1基因甲基化的胃癌仅表达少量的hMLH1蛋白, 而未发生hMLH1基因甲基化的胃癌表达丰富的hMLH1蛋白。这些数据表明: hMLH1基因甲基化可导致DNA错配修复缺陷, 并且与胃癌的MSI密切相关。Leung *et al*^[8]的研究不仅证实hMLH1基因甲基化与胃癌MSI-H密切相关, 还证实hMLH1蛋白的丢失与浸润性肿瘤的发生密切相关。Nakajima *et al*^[9]还发现随着年龄的增加, hMLH1甲基化的频率显著增加, 提示其在老年人胃癌的发生过程起着重要作用。Kang *et al*^[10]研究发现hMLH1甲基化可能包含在早期胃癌发展过程中, 如hMLH1甲基化在癌组织中出频率为42.2%, 比肠化生2.1%, 腺瘤11.5%更频繁。研究表明, hMLH1在慢性胃炎、肠化生、胃腺瘤和胃癌的甲基化频率逐渐升高, 反映了癌的变化过程。

1.2.3 pS2 他主要分布在胃肠道的黏液分泌细胞, 维持黏液分泌稳定。pS2在胃肠道黏膜受到急性损伤时表达增高, 刺激胃肠道黏膜细胞的增生、修复、维护胃肠道黏膜的屏蔽作用。pS2定位于第21号染色体, 含有3个外显子和2个内显子, 编码一含有信号肽的84个氨基酸的多肽, 成熟后为一60氨基酸的分泌型胞外多肽。pS2曾被认为是胃癌特异的肿瘤抑癌基因, Fujimoto *et al*^[11]检测了胃癌、腺瘤和非肿瘤性黏膜的pS2启动子的甲基化情况。结果显示: 其主要发生在分化好的胃癌和肠化生黏膜中, 发生pS2甲基化的胃癌不表达pS2蛋白。因此他们认为, pS2启动子甲基化参与早期胃癌的发生。

1.2.4 APC APC(adenomatous polyposis coli,

APC)最初是在结肠腺瘤性息肉病中发现的。位于5q的APC基因因为一个典型的抑癌基因, 其蛋白参与修饰转录活化和细胞周期的调节, 在多种人类肿瘤中发现其结构异常, 这说明APC基因可能涉及广谱人类肿瘤的发生。通过对胃癌APC基因的分析发现^[12]: 用特异化甲基PCR(MSP)对胃癌标本和胃癌细胞株的分析发现: 82.5%的原发性胃癌, 97.5%胃癌患者的癌旁胃黏膜和10个胃癌细胞株APC启动子1A呈高甲基化, 而启动子1B却没有发生甲基化。由于甲基化, 在10个细胞株中, 外显子1A没有出现APC表达, 而外显子1B却出现APC表达。说明APC启动子1A甲基化在胃癌形成的早期就出现, 可成为有用的生物标记。有研究表明: APC在慢性胃炎、肠化生、胃腺瘤和胃癌的甲基化频率均较高, 在肠化生中达80.7%, 可以说明他是胃癌发生的早期事件。

1.2.5 p14^{INK4a}/ARF(CDKN2A) 定位于染色体9p21, 编码2个不同的蛋白质, 一个为细胞周期依赖性激酶抑制剂p16^{INK4a}; 另一个产物为其可变读框基因(alter ativereading frame, ARF)编码, 产生一个由132个氨基酸组成, M_r 1390的P14蛋白, p14蛋白能稳定和提高了p53水平, 增强p53在G1S期和G2M期的限制点效应, 最终使细胞阻滞于G1期和G2期。因此p14属于肿瘤抑制基因, 具有显著的细胞周期负调控作用^[13]。目前认为, 恶性肿瘤中p14主要由于p14启动子甲基化而失活。Iida *et al*^[14]发现扩散型胃癌p14启动子甲基化率45.5%。同时, 因p14启动子甲基化而失活者, 在细胞质中可以发MDM2(murine doublegene 2), 而且p53表达失活, 用去甲基化试剂处理后, MDM2又回到细胞核而且p53也表达。Esteller *et al*^[15]对胃癌细胞株的分析发现, 7个细胞株中有5个不表达p14 mRNA, 对不表达者进一步分析, 发现其启动子高甲基化。有研究表明: p14在胃腺瘤和胃癌中的甲基化频率比在胃炎和肠化生中明显升高。

1.2.6 上皮-钙黏素 是一种重要的钙依赖性黏附分子, 在上皮细胞之间起着同质性黏附及维持组织结构完整性的作用, 在多种肿瘤中的表达降低或丢失。他在胃癌中的表达与肿瘤的浸润、转移呈负相关。在约50%的未分化型胃癌中, 上皮-钙黏素有突变, 从而被灭活。Tamura *et al*^[16]的研究显示, 上皮-钙黏素基因启动子的甲基化可导致其表达降低, 而且发生于胃癌的早期, 他们用甲基化特异性PCR-SCP及直接测序PCR产物的方法, 来研究上皮钙黏素基因启动子的甲基化

■应用要点
胃肠道肿瘤相关靶基因的异常DNA甲基化依靠MSP方法检测可用于肿瘤的早期诊断。

■创新盘点

本文介绍了存在于胃肠道肿瘤中的表遗传学改变,对近几年的研究热点和结论做了具体综述,尤其是肿瘤抑制基因启动子区甲基化状态的变化与肿瘤的发生发展之间的关系方面。

情况,该技术可以检测出启动子内所有被甲基化的胞嘧啶。对53例原发性胃癌检测结果显示,51%的胃癌有甲基化,未分化型胃癌的甲基化率(83%)明显高于其他组织类型的胃癌(34%);早期胃癌与进展期胃癌的甲基化率相似,对4例进展期胃癌和2例早期胃癌的DNA经硫化处理后进行了测序分析,发现这6例胃癌的上皮-钙黏素基因,在靠近转录起始部位的CpG均发生甲基化,经Western印迹杂交检测,证实有4例肿瘤的上皮-钙黏素蛋白表达消失或明显减少。因此可见,上皮-钙黏素基因启动子的甲基化与胃癌密切相关。

1.2.7 TIMP-3 为金属蛋白酶组织抑制基因,参与肿瘤细胞的扩散及肿瘤的生长调节。与正常细胞相比,90%的胃癌细胞株都因其CpG岛甲基化而不能表达,用去甲基化剂处理后又得到表达,说明该基因甲基化与胃癌的扩散、恶化有一定关系。关志宇 *et al*^[17]应用甲基化特异性PCR(MSP)技术和免疫组织化学方法分别检测78例患者的胃正常黏膜组织、胃癌组织及转移淋巴结中TIMP-3基因启动子甲基化和蛋白表达情况,发现胃正常黏膜组织,早期、进展期胃癌组织和转移淋巴结中TIMP3基因启动子均有甲基化修饰,其阳性率分别为35.9%(28/78);85.0%(17/20),89.7%(52/58);转移淋巴结100%(78/78)。胃正常黏膜组织TIMP3蛋白表达全部为阳性(100%),20例早期胃癌中,6例阳性(30%)。另外,胃癌70例蛋白表达阴性的标本中,64例TIMP3基因启动子甲基化阳性(91.4%)。得出结论:启动子区CpG岛高甲基化是胃癌组织中TIMP3基因表达失活的主要机制,可能成为胃癌分子诊断与病期评估的标志之一。

此外,近年人们的正在研究和关注的基因甲基化还有SOCS-1, p15INK4B, FEZ1/LZTS1, RUNX3, DCC, CD44等众多基因。

1.3 DNA甲基化与大肠癌

1.3.1 p16 p16是一个重要的细胞周期调控基因,p16基因被发现在多种肿瘤中失活,其中包括大肠癌,是一种广谱的癌特异性的甲基化的基因。多数研究表明,除了少数为等位基因的纯合性缺失外,启动子的过度甲基化是p16失活的主要原因。大约30%的结肠癌患者有p16基因启动子的甲基化,多数研究显示p16基因启动子过度甲基化的大肠癌具有一些特殊的临床病理特征。如Wiencke *et al*^[18]的研究显示p16基因启动子过度甲基化和右半结肠癌、女性和低分化癌相关。

Liang *et al*^[19]发现p16基因启动子过度甲基化的T3N0M0的大肠癌的预后较差。Herman *et al*^[20]对结直肠癌及正常结直肠黏膜的p16基因甲基化进行检测,发现在结直肠癌细胞系及原发瘤中,p16基因甲基化分别为92%(12/13),90%(18/20)。正常结直肠黏膜及5个小腺中p16基因无异常甲基化,这似乎显示p16基因甲基化是p16基因失活最重要机制而且是癌前的早期改变。

1.3.2 p14 p14也是一个细胞周期调控基因,可以通过等位基因的纯合性缺失或基因启动子的过度甲基化而失活,近1/4的大肠癌发生p14基因启动子的过度甲基化。Sato *et al*^[21]的研究显示p14启动子甲基化可能为溃疡性结肠炎相关的大肠癌发生过程中的常见的早期分子事件。Shen *et al*^[22]的研究表明在大肠癌中p14基因启动子过度甲基化与MSI关系密切,p14基因启动子过度甲基化的大肠癌更常表现为MSI。

1.3.3 hMLH1 研究表明大多数的遗传性非息肉病性结直肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)和部分散发性大肠癌(sporadic colorectal cancer, SCRC)(约10%-15%)表现为MSI,但二者发生MSI的原因不同,前者是由于错配修复基因的突变,而后者则主要是由于hMLH1基因启动子的过度甲基化导致hMLH1基因的沉默表达引起。研究显示MSI(+)的SCRC中hMLH1基因启动子过度甲基化的检出率高达70%-90%^[23]。Deng *et al*^[24]发现发生在hMLH1启动子近端区域(-248-178)的过度甲基化与hMLH1蛋白的失表达关系密切,前者导致了后者的发生。Arnold *et al*^[25]在hMLH1启动子过度甲基化的大肠癌细胞株的体外实验中发现,用甲基化抑制剂对细胞株进行处理使之重新表达hMLH1蛋白,可以克服大肠癌细胞株对5-FU的耐药性。Plumb *et al*^[26]在动物实验中也发现用甲基化抑制剂使hMLH1蛋白重新表达后可以逆转肿瘤对顺铂、卡铂、替莫唑胺和表柔比星的耐药性。

1.4 DNA甲基化与其他胃肠道肿瘤 有关DNA甲基化与小肠,十二指肠等的研究及报道甚少。仅有报导Laird以5-Aza-CdR(甲基转移酶抑制剂)治疗鼠小肠肿瘤,小肠腺肿平均数目由113个降为仅2个息肉,提示5-Aza-CdR可恢复因甲基化而沉默的生长调节基因而减缓肿瘤细胞的生长。

2 组蛋白的修饰与胃肠道肿瘤

2.1 组蛋白的修饰 组蛋白的修饰比DNA甲基化

复杂得多, 因为不同组蛋白(组蛋白H3和H4)的不同氨(H3末端有7个Lys和2个Ser; H4末端有5个Lys和1个Ser)可以发生不同类型的修饰, 包括乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、糖基化、ADP核糖基化、羧基化等, 他们都是组蛋白密码的基本元素^[27]. 在组蛋白的修饰中, 研究最多的是乙酰化, 乙酰化修饰大多在组蛋白H3 Lys的9, 14, 18, 23和H4 Lys 5, 8, 12, 16等位点. 组蛋白乙酰化是可逆的动态过程, 组蛋白乙酰基转移酶(histone acetyltransferase, HAT)将乙酰辅酶A(乙酰CoA)乙酰基部分转移到核心组蛋白氨基末端上特定Lys残基的氨基基团. 氨基上的正电荷被消除, 这时DNA分子本身所带有的负电荷有利于DNA构象的展开, 核小体的结构变得松弛. 这种松弛的结构促进了转录因子和协同转录因子与DNA分子的接触, 因此组蛋白乙酰化可以激活特定基因的转录过程. 组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)则移去组蛋白Lys残基上的乙酰基, 恢复组蛋白的正电性, 带正电荷的Lys残基与DNA分子的电性相反, 增加了DNA与组蛋白之间的吸引力, 使启动子不易接近转录调控元件, 从而抑制转录. 许多研究已证实了组蛋白高/低乙酰化在肿瘤发生中起重要作用: 组蛋白的乙酰化促进基因转录, 而去乙酰化抑制基因转录. 甲基化也是组蛋白的修饰之一, 是由组蛋白甲基化酶(histone methyltransferases, HMT)催化的, 可以改变染色体的状态, 进而调节基因的转录, 间接导致肿瘤的发生. H3-K9甲基化可以抑制基因表达, 而H3-H4甲基化可以激活效应. 上述各种修饰方式不是独立的, 更多的时候可以通过协同或拮抗来发挥作用. 组蛋白甲基化也与DNA甲基化联合作用共同参与基因沉默, H3-K9甲基化与DNA甲基化在基因的沉默机制中有协同作用, 而H3-H4甲基化拮抗DNA甲基化所产生的基因沉默. 在哺乳动物中, DNA甲基化可能是一个优势事件, 组蛋白甲基化需在DNA甲基化的指导下才能完成.

2.2 组蛋白修饰与胃肠道肿瘤 Kondo *et al*^[28]对结肠癌细胞株的研究表明, H3组蛋白的9-赖氨酸的低乙酰化、4-赖氨酸的低甲基化和9-赖氨酸的过度甲基化p16, hMLH1和MGMT三个基因启动子过度甲基化引起的基因表达沉默相关, 提示在大肠癌中DNA的甲基化和组蛋白的修饰密切相关, 共同作用于基因的调控过程. Cameron *et al*^[29]的研究显示对p16, TIMP-3, p15和hMLH1基因启动子过度甲基化的结肠癌细胞, 单用组

蛋白脱乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)抑制剂无法使失活的基因重新表达; 但如果先用小剂量的DNA甲基化抑制剂处理使基因获得轻度的重新表达, 再用HDAC抑制剂处理后, 则可使结肠癌细胞基因重新表达显著增强, 提示组蛋白的脱乙酰化和DNA的高甲基化共存于基因失活的过程之中, 但DNA的高甲基化在导致这些基因失活中可能扮演主导作用.

3 染色质重塑

染色质重塑(remodeling)指染色质位置和结构的变化. 主要涉及密集的染色质丝在核小体连接处发生松解造成染色质解压缩, 从而暴露基因转录启动子区中的顺式作用元件, 为反式作用蛋白(转录因子)与之结合提供了一种称为可接近性(accessibility)的状态. 染色体重塑过程由两类结构介导: ATP依赖型核小体重塑复合体和组蛋白修饰复合体. 前者通过水解作用改变核小体构型; 后者对核心组蛋白N端尾部的共价修饰进行催化. 修饰直接影响核小体的结构, 并为其他蛋白提供了和DNA作用的结合位点^[30]. 染色质的重塑和组蛋白的去乙酰化是相互依赖的, DNA甲基化可能需要组蛋白去乙酰化酶(HDACs)的活动或染色质的重塑中的成分参与.

近几十年来的研究表明, 单靠传统的遗传学研究并不能解释恶性肿瘤这一复杂现象的全部问题, 肿瘤的病因和发病机制至今依然是没有明确答案的谜团. 组蛋白乙酰化水平直接影响肿瘤的进程, HDAC抑制剂能诱导多种肿瘤细胞的生长停滞和分化, 证明了组蛋白高乙酰化在肿瘤发生预防中的作用. 目前研究中表遗传学研究为肿瘤的早期诊断、预后判断和干预治疗提供了新的思路, 表观基因改变和基因改变的主要区别在于: 表观基因改变是可逆的, 能被治疗剂所逆转甚至可通过饮食预防, 在这一点上, 他比基因改变有着更为广阔的治疗前景.

4 参考文献

- 1 Lee YY, Kang SH, Seo JY, Jung CW, Lee KU, Choe KJ, Kim BK, Kim NK, Koeffler HP, Bang YJ. Alterations of p16^{INK4A} and p15^{INK4B} genes in gastric carcinomas. *Cancer* 1997; 80: 1889-1896
- 2 Lee TL, Leung WK, Chan MW, Ng EK, Tong JH, Lo KW, Chung SC, Sung JJ, To KF. Detection of gene promoter hypermethylation in the tumor and serum of patients with gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1761-1766
- 3 Song SH, Jong HS, Choi HH, Kang SH, Ryu MH, Kim NK, Kim WH, Bang YJ. Methylation of specific

■同行评价

本文较全面的综述了近年来胃肠道肿瘤中个别基因, 尤其是肿瘤抑制基因的启动子区甲基化状态的变化与肿瘤的发生发展之间的关系, 具有一定的学术参考价值.

- CpG sites in the promoter region could significantly down-regulate p16^{INK4a} expression in gastric adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2000; 87: 236-340
- 4 Shim YH, Kang GH, Ro JY. Correlation of p16 hypermethylation with p16 protein loss in sporadic gastric carcinomas. *Lab Invest* 2000; 80: 689-695
- 5 Kang GH, Lee S, Kim JS, Jung HY. Profile of aberrant CpG island methylation along multistep gastric carcinogenesis. *Lab Invest* 2003; 83: 519-526
- 6 赵成海, 张宁, 卜献民, 李岩, 张海鹏. 胃癌多基因甲基化状态分析. *世界华人消化杂志* 2006; 4: 1004-1007
- 7 Fleisher AS, Esteller M, Wang S, Tamura G, Suzuki H, Yin J, Zou TT, Abraham JM, Kong D, Smolinski KN, Shi YQ, Rhyu MG, Powell SM, James SP, Wilson KT, Herman JG, Meltzer SJ. Hypermethylation of the hMLH1 gene promoter in human gastric cancers with microsatellite instability. *Cancer Res* 1999; 59: 1090-1095
- 8 Leung SY, Yuen ST, Chung LP, Chu KM, Chan AS, Ho JC. hMLH1 promoter methylation and lack of hMLH1 expression in sporadic gastric carcinomas with high-frequency microsatellite instability. *Cancer Res* 1999; 59: 159-164
- 9 Nakajima T, Akiyama Y, Shiraishi J, Arai T, Yanagisawa Y, Ara M, Fukuda Y, Sawabe M, Saitoh K, Kamiyama R, Hirokawa K, Yuasa Y. Age-related hypermethylation of the hMLH1 promoter in gastric cancers. *Int J Cancer* 2001; 94: 208-211
- 10 Kang GH, Shim YH, Jung HY, Kim WH, Ro JY, Rhyu MG. CpG island methylation in premalignant stages of gastric carcinoma. *Cancer Res* 2001; 61: 2847-2851
- 11 Fujimoto J, Yasui W, Tahara H, Tahara E, Kudo Y, Yokozaki H, Tahara E. DNA hypermethylation at the p52 promoter region is associated with early stage of stomach carcinogenesis. *Cancer Lett* 2000; 149: 125-134
- 12 Tsuchiya T, Tamura G, Sato K, Endoh Y, Sakata K, Jin Z, Motoyama T, Usuba O, Kimura W, Nishizuka S, Wilson KT, James SP, Yin J, Fleisher AS, Zou T, Silverberg SG, Kong D, Meltzer SJ. Distinct methylation patterns of two APC gene promoters in normal and cancerous gastric epithelia. *Oncogene* 2000; 19: 3642-3646
- 13 滕玥, 戴冬秋. 胃癌表遗传学的研究进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1814-1818
- 14 Iida S, Akiyama Y, Nakajima T, Ichikawa W, Nihei Z, Sugihara K, Yuasa Y. Alterations and hypermethylation of the p14(ARF) gene in gastric cancer. *Int J Cancer* 2000; 87: 654-658
- 15 Esteller M, Cordon-Cardo C, Corn PG, Meltzer SJ, Pohar KS, Watkins DN, Capella G, Peinado MA, Matias-Guiu X, Prat J, Baylin SB, Herman JG. p14^{ARF} silencing by promoter hypermethylation mediates abnormal intracellular localization of MDM2. *Cancer Res* 2001; 61: 2816-2821
- 16 Tamura G, Yin J, Wang S, Fleisher AS, Zou T, Abraham JM, Kong D, Smolinski KN, Wilson KT, James SP, Silverberg SG, Nishizuka S, Terashima M, Motoyama T, Meltzer SJ. E-Cadherin gene promoter hypermethylation in primary human gastric carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 569-573
- 17 关志宇, 戴冬秋. 胃癌TIMP3基因启动子甲基化及其蛋白表达的研究. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 138-143
- 18 Wiencke JK, Zheng S, Lafuente A, Lafuente MJ, Grudzen C, Wrensch MR, Miike R, Ballesta A, Trias M. Aberrant methylation of p16INK4a in anatomic and gender-specific subtypes of sporadic colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 501-506
- 19 Liang JT, Chang KJ, Chen JC, Lee CC, Cheng YM, Hsu HC, Wu MS, Wang SM, Lin JT, Cheng AL. Hypermethylation of the p16 gene in sporadic T3N0M0 stage colorectal cancers: association with DNA replication error and shorter survival. *Oncology* 1999; 57: 149-156
- 20 Herman JG, Merlo A, Mao L, Lapidus RG, Issa JP, Davidson NE, Sidransky D, Baylin SB. Inactivation of the CDKN2/p16/MTS1 gene is frequently associated with aberrant DNA methylation in all common human cancers. *Cancer Res* 1995; 55: 4525-4530
- 21 Sato F, Harpaz N, Shibata D, Xu Y, Yin J, Mori Y, Zou TT, Wang S, Desai K, Leytin A, Selaru FM, Abraham JM, Meltzer SJ. Hypermethylation of the p14(ARF) gene in ulcerative colitis-associated colorectal carcinogenesis. *Cancer Res* 2002; 62: 1148-1151
- 22 Shen L, Kondo Y, Hamilton SR, Rashid A, Issa JP. P14 methylation in human colon cancer is associated with microsatellite instability and wild-type p53. *Gastroenterology* 2003; 124: 626-633
- 23 Potocnik U, Glavac D, Golouh R, Ravnik-Glavac M. Causes of microsatellite instability in colorectal tumors: implications for hereditary non-polyposis colorectal cancer screening. *Cancer Genet Cytogenet* 2001; 126: 85-96
- 24 Deng G, Chen A, Hong J, Chae HS, Kim YS. Methylation of CpG in a small region of the hMLH1 promoter invariably correlates with the absence of gene expression. *Cancer Res* 1999; 59: 2029-2033
- 25 Arnold CN, Goel A, Boland CR. Role of hMLH1 promoter hypermethylation in drug resistance to 5-fluorouracil in colorectal cancer cell lines. *Int J Cancer* 2003; 106: 66-73
- 26 Plumb JA, Strathdee G, Sludden J, Kaye SB, Brown R. Reversal of drug resistance in human tumor xenografts by 2'-deoxy-5-azacytidine-induced demethylation of the hMLH1 gene promoter. *Cancer Res* 2000; 60: 6039-6044
- 27 Linggi BE, Brandt SJ, Sun ZW, Hiebert SW. Translating the histone code into leukemia. *J Cell Biochem* 2005; 96: 938-950
- 28 Kondo Y, Shen L, Issa JP. Critical role of histone methylation in tumor suppressor gene silencing in colorectal cancer. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 206-215
- 29 Cameron EE, Bachman KE, Myohanen S, Herman JG, Baylin SB. Synergy of demethylation and histone deacetylase inhibition in the re-expression of genes silenced in cancer. *Nat Genet* 1999; 21: 103-107

电编 李琪 编辑 张焕兰