

# DNA甲基化在肝脏疾病发生与发展中的作用及其机制的研究进展

孔德松, 张峰, 邱萍, 郑仕中

孔德松, 南京中医药大学第三附属医院 江苏省南京市 210001  
张峰, 邱萍, 郑仕中, 南京中医药大学药学院 江苏省南京市 210023  
张峰, 郑仕中, 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室 江苏省南京市 210023  
孔德松, 主要从事天然药物预防和治疗肝纤维化与肿瘤的研究。  
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81270514, 30873424  
教育部博士点基金资助项目, No. 20103237110010  
江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2008456  
江苏省六大人才基金资助项目, No. 2009-B-010  
江苏省针灸学重点实验室开放课题基金资助项目, No. KJA200801  
江苏高校优势学科建设工程基金资助项目, No. ysk-2010  
南京中医药大学中药学一级学科开放课题基金资助项目, No. 2011ZYX4-008  
十一五科技支撑计划基金资助项目, No. 2008BAI51B02  
作者贡献分布: 本文综述由孔德松、张峰及邱萍完成; 郑仕中负责审核。  
通讯作者: 郑仕中, 教授, 博士生导师, 210023, 江苏省南京市栖霞区仙林大道138号, 南京中医药大学药学院. nytws@163.com  
收稿日期: 2014-04-26 修回日期: 2014-06-01  
接受日期: 2014-06-06 在线出版日期: 2014-07-28

## Role and mechanisms of DNA methylation in liver diseases

De-Song Kong, Feng Zhang, Ping Qiu, Shi-Zhong Zheng

De-Song Kong, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of T.C.M., Nanjing 210001, Jiangsu Province, China  
Feng Zhang, Ping Qiu, Shi-Zhong Zheng, College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China  
Feng Zhang, Shi-Zhong Zheng, Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270514 and 30873424; Doctoral Discipline Foundation of Ministry of Education of China, No. 20103237110010; Jiangsu Natural Science Foundation, No. BK2008456; Project for Supporting Jiangsu Provincial Talents in Six Fields, No. 2009-B-010; Open Program of Jiangsu Key Laboratory of Acupuncture & Medicine, No. KJA200801; Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions, No. ysk-2010; the Open Project Program of National First-Class Key Discipline for Traditional Chinese Medicine of Nanjing University of Chinese Medicine, No. 2011ZYX4-008; and the National Key Technologies R & D Program of China during the 11<sup>th</sup> Five-Year Plan Period, No. 2008BAI51B02  
Correspondence to: Shi-Zhong Zheng, Professor, College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, 138

Xianlin Dadao, Qixia District, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China. nytws@163.com  
Received: 2014-04-26 Revised: 2014-06-01  
Accepted: 2014-06-06 Published online: 2014-07-28

## Abstract

DNA methylation plays an important role in disease development, cell differentiation, embryonic development, and environmental adaptation by regulating gene transcription, gene imprinting and X chromosome inactivation and defending from invasion of exogenous genetic material. DNA methylation is a hot topic in the study of epigenetics. Numerous studies have demonstrated that DNA methylation plays an important role in the occurrence and development of liver diseases, and it influences the process of liver diseases through regulation of the activation and expression of genes related to lipid metabolism, inflammation, and cell proliferation in liver cells. In this review, we will review the recent progress in understanding the role and mechanisms of DNA methylation in alcoholic liver disease, nonalcoholic fatty liver disease, viral hepatitis, liver fibrosis and hepatocellular carcinoma, with an aim to provide a theoretical basis for the treatment of liver diseases and drug development.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** DNA methylation; Alcoholic liver disease; Nonalcoholic fatty liver disease; Liver fibrosis; Viral hepatitis; Hepatocellular carcinoma

Kong DS, Zhang F, Qiu P, Zheng SZ. Role and mechanisms of DNA methylation in liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(21): 3041-3047 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3041.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i21.3041>

## 摘要

DNA甲基化通过调节基因转录、印记、X染色体灭活和防御外源性遗传物质入侵等, 在细

## 背景资料

中国是一个肝病大国, 各种慢性肝病严重危害人们的健康和生命, 如何进行有效的防治仍是摆在我们面前的一大难题。DNA甲基化作为最常见的一种表观遗传修饰形式, 在各类肝病的发生与发展中都扮演有重要角色, 对甲基化调控的研究对各类肝病防治的具有重要意义。

## 同行评议者

唐南洪, 教授, 福建医科大学附属协和医院肝胆外科研究所

**研发前沿**  
近年来研究证实, DNA甲基化参与并调控肝脏疾病的发生与发展, 这些发现为各类肝脏疾病的诊断、肝细胞癌的早期发现, 以及相应治疗提供了新的思路与策略。

胞分化、胚胎发育、环境适应和疾病发生发展上发挥重要作用, 是当前表观遗传学研究的热点领域之一。越来越多的研究证实DNA甲基化在肝脏疾病的发生与发展过程中扮演着重要角色。DNA甲基化修饰通过调控肝脏内细胞脂质代谢、炎症反应、细胞增殖活化等基因与蛋白的表达, 进而影响肝脏疾病的发展进程。本文详细阐述与分析了DNA甲基化在酒精性肝病、非酒精性脂肪肝、肝纤维化、病毒性肝炎及肝细胞癌中的具体作用机制及近年来的研究进展, 以期能为肝病的治疗与药物的开发提供一定的理论支持。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** DNA甲基化; 酒精性肝病; 非酒精性脂肪肝; 肝纤维化; 病毒性肝炎; 肝细胞癌

**核心提示:** DNA甲基化可通过影响代谢相关基因、纤维化相关基因、肝炎病毒基因或共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA)、抑癌基因等来调控各类肝脏疾病的发生发展。

孔德松, 张峰, 邱萍, 郑仕中. DNA甲基化在肝脏疾病发生与发展中的作用及其机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(21): 3041-3047 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3041.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i21.3041>

## 0 引言

肝脏是人体内最大、最重要的消化及代谢器官。肝病则是世界范围内的一种重要且难治的疾病。全世界约有3亿多人感染乙型肝炎病毒, 1.7亿多人感染丙型肝炎病毒, 以及众多因酒精、化学物质、遗传及代谢性疾病等原因导致的其他类型肝脏疾病的人群。持续性的肝脏损伤, 可导致肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)、肝硬化甚至肝癌的产生<sup>[1,2]</sup>。中国是一个肝病大国, 各种慢性肝病严重危害人们的健康和生命, 深入阐明各类肝病发病机制并寻求有效治疗策略已刻不容缓。

DNA甲基化就是在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的作用下将S-腺苷甲硫氨酸提供的甲基共价结合到胞嘧啶的第5位碳原子上, 生成5-甲基胞嘧啶的过程, 是最常见的基因组DNA的后天修饰方式, 具有调节基因表达和保护DNA该位点不受特定限制酶降解的作用<sup>[3]</sup>。越来越多的研究<sup>[4-6]</sup>报道显示, DNA甲基化在多种慢性肝脏疾病的发生与发展进程中多具有重要作用, 如酒精性肝病、非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease,

NAFLD)、HF、病毒性肝炎、肝癌等。本文就DNA甲基化在各种慢性肝脏疾病发生与发展中的作用及作用机制的研究进展做一综述。

## 1 DNA甲基化

DNA甲基化是指在DNMTs的催化下, CpG岛5-胞嘧啶选择性共价结合甲基基团形成5-甲基胞嘧啶, 可在细胞分裂过程中传递给子细胞的表现遗传现象。在DNA甲基化过程中, 催化甲基转移的DNMTs分为DNMT1、DNMT2、DNMT3a/3b 3种类型: DNMT1主要在DNA复制时维持新生链的DNA甲基化; DNMT3a/3b负责非甲基化双链DNA从头甲基化; 而DNMT2与DNA甲基化无关, 主要参与天冬氨酸-tRNA的甲基化修饰<sup>[3,7]</sup>。正常细胞中CpG是非甲基化的, 当其被甲基化后, 甲基结合蛋白与之结合使得染色质密集及基因表达沉默。发生在启动子及周围的DNA甲基化将直接阻碍转录因子与启动子结合, 使基因不能转录或转录水平降低<sup>[7,8]</sup>。DNA甲基化在维持细胞正常功能、胚胎发育及遗传过程中均发挥至关重要的作用, 异常的DNA甲基化模式也是许多疾病共同的分子学基础。

## 2 DNA甲基化与酒精性肝病

异常的DNA甲基化出现在多种肝脏疾病的发展进程中, 其中就包括酒精性肝损伤。酒精可导致细胞的受损, 并可改变细胞的表现遗传状态, 其中包括组蛋白的甲基化与去乙酰化, DNA的高度甲基化及去甲基化的改变<sup>[9-11]</sup>。Shukla等<sup>[12]</sup>研究发现长期暴露于酒精的肝脏中某些基因出现低甲基化的状态, 比如*c-myc*基因在酒精性肝病组其甲基化水平要明显低于正常组。长期摄入酒精的怀孕大鼠, 其新生小鼠组织中伴随着DNMT活性的降低也出现低甲基化的状态<sup>[13]</sup>。同时在酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)的外周血细胞中也检测到了DNMT活性的降低<sup>[14]</sup>。另外, 酒精可在转录水平抑制DNMT的生成, 并改变精子中编码区DNA甲基化的状态<sup>[15,16]</sup>。长期的酒精摄入还会导致一碳化合物的代谢紊乱, 最终导致在DNA与组蛋白甲基化中重要甲基供体S-腺苷-甲硫氨酸的生成减少<sup>[17,18]</sup>。这为我们提供了一个在核小体水平研究酒精性肝病发病机制的新视角。

## 3 DNA甲基化与NAFLD

表观遗传修饰、营养供给及代谢性疾病三者间有着确切的联系。给予肥胖或具有患癌症倾向的

刺鼠含有甲基供体的饮食可防止其相关疾病的进一步发展<sup>[19]</sup>. 不含甲基供体的饮食则会导致啮齿类动物体内, DNA甲基化的降低及脂肪变性的进一步加剧. 如在高热量饮食中加入甲基供体, 则能抑制NAFLD的发生与发展. 这些都表明DNA甲基化修饰可能参与到肝脏脂代谢的过程, 并发挥重要作用<sup>[7,20]</sup>. Ahrens等<sup>[21]</sup>分析了45000个CpG基因位点, 发现与身体较瘦的人相比, 非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)患者有467个二核苷酸的甲基化状态出现了偏差, 其中有8个与新陈代谢及NAFLD发病相关的基因(*GALNTL4*、*ACLY*、*IGFBP2*、*PLCG1*、*PRKCE*、*IGF1*、*IP6K3*、*PC*), 其CpG甲基化状态出现了反转. 进一步的研究发现, 一种编码胰岛素信号通路负调控因子*PTPRE*基因, 在进行减肥治疗的患者中, 出现甲基化升高及转录活性下调的现象. 有趣的是, 脂代谢与生物节律调节之间也有着密切的关联. 生物节律转录因子*CLOCK-BMAL1*调控着数以百计的基因的表达, 其中就包括PPARs<sup>[22]</sup>. 因此, 我们看到PPARs调控的代谢调控相关基因也是呈节律性的表达. 生物节律基因表达缺失的小鼠会变得贪食、肥胖并逐步发展为NASH<sup>[23]</sup>. 去乙酰化酶*SIRT1*可与*CLOCK-BMAL1*形成一种染色质复合物. 这种复合物则决定着组蛋白的乙酰化水平, 与生物节律和代谢相关基因的转录水平. *SIRT1*稳定高表达则能抑制给予高脂饲料导致的小鼠代谢性疾病的发生<sup>[24]</sup>. 而流行病学显示生活无规律的人, 其患有代谢紊乱性疾病的风险明显增高, 与实验研究结果正好吻合<sup>[25]</sup>. 这提醒我们保持规律健康的生活状态对于预防NAFLD等肝脏疾病的重要意义.

#### 4 DNA甲基化与HF

近年来的研究发现, HF发生时, 多种参与纤维化进程的细胞存在异常DNA甲基化的现象. DNA甲基化在HF发生与发展中的重要作用也逐渐受到学者们的关注. Yang等<sup>[26]</sup>研究发现DNA甲基化抑制剂5-氮杂2'-脱氧胞苷(5-Aza-2'-deoxycytidine, 5-AzaC)处理, 可抑制活化型HSC中*PTCHI*基因的表达下调, *PTCHI*基因启动子的异常甲基化可导致HSC中*Gli1*和*Smad3*的表达. Komatsu等<sup>[27]</sup>对CCl<sub>4</sub>诱导HF早期状态的大鼠肝组织中的基因组DNA甲基化状态进行了分析, 发现一些基因像骨桥蛋白*Spp1*(一种与免疫调节相关的细胞因子)出现了高度甲基化的状态. Bian等<sup>[28]</sup>研究发现在活化的HSC及CCl<sub>4</sub>所致HF肝组织中, 磷酸酶基因

(*PTEN*)的表达是下调的, 这种表达的下调正是*PTEN*基因启动子高度甲基化的结果, 并最终导致HSC中ERK与AKT细胞通路表达的上调. Tao等<sup>[29]</sup>发现DNA甲基化修饰参与*RASAL1*基因的表达调控, 进而影响HSC活化及HF进程. 研究<sup>[30]</sup>证实过氧化物酶体增殖物激活受体γ(peroxisome proliferator-activated receptor, PPARγ)在HF的发生与发展中具有重要作用. 但有研究<sup>[31]</sup>却发现, PPARγ的表观遗传修饰也参与HF的调控. 沉默MeCP2或者应用5-AzaC处理, 都可抑制活化型HSC中PPARγ表达的下降及向肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)的转变. 同样大家所熟知的核转录因子-κB(nuclear factor-kappa B, NF-κB), 其参与多种疾病, 如: 肿瘤、免疫性疾病和肝脏疾病等的发生与发展过程. 下调MeCP2的表达可提高MFB中IκB的表达, 表明DNA甲基化修饰可通过调控NF-κB的表达, 进而影响HF的发展<sup>[31]</sup>. 有研究<sup>[26,32]</sup>发现在肝硬化肝脏中, 一些与DNA损伤修复相关的启动子出现了甲基化的状态. 另外, 对于转化生长因子-β1、hMSH3、甲基鸟嘌呤DNA甲基转移酶(methylguanine DNA methyltransferase)、谷胱甘肽S-转移酶M3(glutathione S-transferase M3)的DNA甲基化修饰在HSC的活化与增殖及HF的发生与发展中也都有重要作用<sup>[33]</sup>. 基于以上阐述, 消除异常的DNA甲基化状态似乎是一项前景广阔的治疗策略进一步研究参与异常甲基化消除的物质基础及分子机制, 开发相应的靶向药物, 十分必要.

#### 5 DNA甲基化与病毒性肝炎

在我国, 病毒性肝炎在所有肝脏疾病中占有很大比例. 肝炎病毒可整合到宿主基因组中, 或者形成共价闭环环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)微型染色体, 病毒不仅能通过对自身基因的表观遗传学的调控, 而且还可通过改变宿主肝脏细胞的表观遗传学状态, 影响肝脏疾病的发展进程.

研究<sup>[34,35]</sup>发现在肝癌细胞中整合到宿主基因组的乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV) DNA发生甲基化升高的现象. 同时检测到在肝炎患者的肝组织中未整合到宿主细胞基因组的HBV DNA和cccDNA也会出现甲基化状态的改变<sup>[36,37]</sup>. HBV基因组CpG岛的甲基化在病毒复制的调控中具有重要作用. 目前, 在HBV基因组中, 至少6个CpG岛被确认出来, 包括3个覆盖于基因启动区域的常规结构区域(岛1), 包裹增强子I和

**相关报道**  
DNA甲基化在酒精性肝病、非酒精性脂肪肝、肝纤维化、病毒性肝炎以及肝细胞癌中均呈现差异性表达, 通过抑制或激活相关基因的表达调控疾病的发生、发展.



### 创新盘点

本文对DNA甲基化在各类肝脏疾病中的作用及其作用机制进行了细致而详尽地阐述,为进一步探究DNA甲基化在肝脏疾病发生与发展中的调控机制,及如何用以防治各类肝脏疾病提供了新的视角。

X基因启动子的结构区域(岛2),以及*Sp1*启动子和P基因启动密码子(岛3)<sup>[38]</sup>。在慢性乙型肝炎患者肝活检样本中提取的HBV DNA中,CpG岛1与2出现甲基化的现象,这表明增加HBV DNA的甲基化可能能够减少病毒蛋白的表达<sup>[36,37,39]</sup>。CpG岛2的高度甲基化与乙肝表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)与乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)的表达减少息息相关<sup>[39]</sup>。Kim等<sup>[40]</sup>研究发现HBV cccDNA的高度甲基化状态与病毒装载、RNA的转录、病毒产物的生成减少具有密切的关联。

将甲基化的HBV DNA转染到HepG2细胞,能够减少细胞内HBV mRNA的表达水平,减少HBsAg与HBeAg的表达,并减少细胞上清中病毒蛋白的生成,同样HepG2细胞中cccDNA的甲基化也能抑制病毒蛋白的生成<sup>[41]</sup>。Vivekanandan等<sup>[42]</sup>将DNMT3a和HBV DNA共转染入HepG2细胞,发现细胞内HBsAg、HBeAg及致癌相关蛋白的表达减少。肝炎病毒还可刺激宿主细胞相应物质表观遗传学状态的改变,进而影响细胞的发展进程。Higgs等<sup>[43]</sup>研究发现,在转入HCV基因的小鼠肝脏中,*Gadd45β*基因启动子出现甲基化升高的现象,导致在细胞周期调控及DNA修复中具有重要作用的*Gadd45β*表达减少。

## 6 DNA甲基化与肝细胞癌

肝癌是各种慢性肝脏疾病发展的最终及最坏的结果,是目前死亡率排名第2位的癌症类型,严重影响人们的身体健康与生活质量。越来越多的研究证实细胞表观遗传水平的改变是肝癌发生与发展的关键事件。同时各种慢性肝病及肝炎病毒作为肝细胞癌的演变进程及诱发因素,上文中对于慢性肝病及肝炎病毒的表现遗传修饰机制,在肝细胞癌的发生与发展中也同样具有不可或缺的作用。

毫无疑问,DNA甲基化在肝癌疾病的发生与发展中具有重要作用。Hernandez-Vargas等<sup>[44]</sup>分析了30例肝癌患者的1505个CpG岛,发现在肝癌组织及肝细胞中存在高度甲基化的DNA序列,例如:腺瘤性结肠息肉病(adenomatous polyposis coli, APC)、*RASSF1A*、*CDKN2A*、*FZD7*、*NAT2*、*CSPG2*和*DCC*等。Song等<sup>[45]</sup>分析了分别取自27例肝癌患者与正常对照组肝组织样本的DNA甲基化状态,发现一些调控细胞发育、基因表达及肿瘤发生的基因,如*BMP4*、*CDKN2A*、*GSTP1*和*NEFHC1*等,其基因启动

子CpG岛出现甲基化状态升高的现象。Shen等<sup>[46]</sup>利用全基因组分析的方法研究肝癌患者DNA甲基化状态,发现基因(*DAB2IP*、*BMP4*、*ZFP41*、*SPDY1*和*CDKN2A*)甲基化升高,而基因(*CCL20*、*ATK3*、*SCGB1D1*、*WFDC6*和*PAX4*)甲基化降低。Revill等<sup>[47]</sup>和Nishida等<sup>[48]</sup>发现了DNA甲基化具有调控抑癌基因活性的作用及作用机制,Revill发现抑癌基因*SMPD3*和*NEFH*的高表达能够抑制癌细胞的增殖,Nishida则发现了8个在慢性丙型肝炎向肝细胞癌转变中具有重要调控作用的基因,这些基因的活性都与其DNA甲基化状态有着密切的关系。由此可见,DNA甲基化在肝细胞癌的发生与发展过程中扮有重要角色。

DNA甲基化是抑癌基因沉默调控的重要机制。并且部分抑癌基因甲基化状态的改变往往出现在肿瘤发生与发展的早期,例如:*HIC1*、*GSTP1*、*SOCS1*、*RASSF1*、*CDKN2A*、*APC*、*RUNX3*和*PRDM2*基因<sup>[48]</sup>。进行以相应DNA甲基化为肿瘤早期标志物的研究,开发相应的检测试剂盒,对于肿瘤的早期发现与治疗,提高人们的生存质量具有重要意义。另外,Koide等<sup>[49]</sup>研究发现,与普通肝细胞癌相比,纤维板层型肝癌基因组中*CyclinD2*、*Rassfla*、*Mir-9-1*与*Mir-9-2*出现了甲基化的改变,而APC和钙黏蛋白在纤维板层型肝癌中则未发现甲基化的变化,这将为肝癌诊断的进一步分型提供了分子依据。调控DNA甲基化状态,已成为肿瘤防治的新策略。目前,主要的DNA甲基化抑制剂都是抗代谢类药物,Venturelli等<sup>[50]</sup>研究发现,5-AzaC具有双重抗肿瘤效果,不仅能够恢复肿瘤表观异常状态,而且能够使肿瘤对凋亡诱导物质(如肿瘤坏死因子相关细胞凋亡诱导配体)进行充分高效的再敏感化,为其抗肿瘤作用提供了分子依据。

## 7 结论

DNA甲基化修饰可通过多种途径升高或抑制特定基因的表达,影响细胞的发展进程,维持细胞的稳定性,一旦修饰出现异常就会导致细胞性状的转变和疾病的发生<sup>[1,5]</sup>。在肝脏疾病的发生与发展过程中,就伴随着DNA甲基化修饰的异常变化。随着对表观遗传学研究的日趋深入,其成果将有助于我们理解基因表达调控,以及正常和疾病状态下不同基因相互作用的关系,可为HF等肝脏疾病疾病的深入研究提供新的诠释依据。虽然目前DNA甲基化修饰在肝脏疾病中的作用及

机制研究已经取得了一定的进展, 但更多详细内容和具体机制还有待于进一步的深入研究。

遗传改变与表观遗传改变区别之处在于, 表观遗传修饰具有可逆性<sup>[51]</sup>。这种可逆性修饰让我们看到了针对相关疾病的治疗、预防的希望。对DNA甲基化的异常导致的肝脏疾病的研究有助我们了解表观遗传机制, 进而指导肝脏疾病的治疗和新药的研制, 还可为环境因素、营养和衰老研究提供新的方法, 为药物研发挖掘新的靶标。通过药物或基因疗法等手段有目的地改变基因的甲基化状态进而影响肝脏疾病发展进程是一项很有吸引力的研究工作, 具有广阔的应用前景。相信通过对DNA甲基化在肝脏疾病中的作用及机制进行系统而深入的研究, 将为揭示肝脏疾病的发病机制的研究开辟一个新的思路, 也将在肝脏疾病的预防、诊断和治疗方面发挥不可估量的作用。

## 8 参考文献

- 1 Tang CM, Yau TO, Yu J. Management of chronic hepatitis B infection: Current treatment guidelines, challenges, and new developments. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 6262-6278 [PMID: 24876747 DOI: <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v20.i20.6262>]
- 2 Wallace MC, Friedman SL. Hepatic fibrosis and the microenvironment: fertile soil for hepatocellular carcinoma development. *Gene Expr* 2014; 16: 77-84 [PMID: 24801168 DOI: 10.3727/105221614X13919976902057]
- 3 Duncan EJ, Gluckman PD, Dearden PK. Epigenetics, plasticity, and evolution: How do we link epigenetic change to phenotype? *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 2014; 322: 208-220 [PMID: 24719220 DOI: 10.1002/jez.b.22571]
- 4 Mann DA. Epigenetics in liver disease. *Hepatology* 2014 Mar 16. [Epub ahead of print] [PMID: 24633972 DOI: 10.1002/hep.27131]
- 5 Mandrekar P. Epigenetic regulation in alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2456-2464 [PMID: 21633650 DOI: 10.3748/wjg.v17.i20.2456]
- 6 Bian EB, Zhao B, Huang C, Wang H, Meng XM, Wu BM, Ma TT, Zhang L, Lv XW, Li J. New advances of DNA methylation in liver fibrosis, with special emphasis on the crosstalk between microRNAs and DNA methylation machinery. *Cell Signal* 2013; 25: 1837-1844 [PMID: 23707524 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.05.017]
- 7 He XJ, Chen T, Zhu JK. Regulation and function of DNA methylation in plants and animals. *Cell Res* 2011; 21: 442-465 [PMID: 21321601 DOI: 10.1038/cr.2011.23]
- 8 Moore LD, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology* 2013; 38: 23-38 [PMID: 22781841 DOI: 10.1038/npp.2012.112]
- 9 Pogribny IP, Tryndyak VP, Bagnyukova TV, Melnyk S, Montgomery B, Ross SA, Latendresse JR, Rusyn I, Beland FA. Hepatic epigenetic phenotype predetermines individual susceptibility to hepatic steatosis in mice fed a lipogenic methyl-deficient diet. *J Hepatol* 2009; 51: 176-186 [PMID: 19450891 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.03.021]
- 10 Oliva J, Dedes J, Li J, French SW, Bardag-Gorce F. Epigenetics of proteasome inhibition in the liver of rats fed ethanol chronically. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 705-712 [PMID: 19222094]
- 11 Petrak J, Myslivcova D, Man P, Cmejla R, Cmejlova J, Vyoral D, Elleder M, Vulpe CD. Proteomic analysis of hepatic iron overload in mice suggests dysregulation of urea cycle, impairment of fatty acid oxidation, and changes in the methylation cycle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G1490-G1498 [PMID: 17307722]
- 12 Shukla SD, Aroor AR. Epigenetic effects of ethanol on liver and gastrointestinal injury. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5265-5271 [PMID: 16981253]
- 13 Bönsch D, Lenz B, Fiszer R, Frieling H, Kornhuber J, Bleich S. Lowered DNA methyltransferase (DNMT-3b) mRNA expression is associated with genomic DNA hypermethylation in patients with chronic alcoholism. *J Neural Transm* 2006; 113: 1299-1304 [PMID: 16463117]
- 14 Bielawski DM, Abel EL. The effect of administering ethanol as single vs. divided doses on blood alcohol levels in the rat. *Neurotoxicol Teratol* 2002; 24: 559-562 [PMID: 12127902]
- 15 Bielawski DM, Zaher FM, Svinarich DM, Abel EL. Paternal alcohol exposure affects sperm cytosine methyltransferase messenger RNA levels. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26: 347-351 [PMID: 11923587]
- 16 Ouko LA, Shantikumar K, Knezovich J, Haycock P, Schnugh DJ, Ramsay M. Effect of alcohol consumption on CpG methylation in the differentially methylated regions of H19 and IG-DMR in male gametes: implications for fetal alcohol spectrum disorders. *Alcohol Clin Exp Res* 2009; 33: 1615-1627 [PMID: 19519716 DOI: 10.1111/j.1530-0277.2009.00993.x]
- 17 El-Moselhy MA, Abdel-Hamid NM, Abdel-Raheim SR. Gastroprotective effect of nicorandil in indomethacin and alcohol-induced acute ulcers. *Appl Biochem Biotechnol* 2009; 152: 449-459 [PMID: 18931948 DOI: 10.1007/s12010-008-8384-z]
- 18 Shukla SD, Velazquez J, French SW, Lu SC, Ticku MK, Zakhari S. Emerging role of epigenetics in the actions of alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 2008; 32: 1525-1534 [PMID: 18616668 DOI: 10.1111/j.1530-0277.2008.00729.x]
- 19 Dolinoy DC, Weidman JR, Waterland RA, Jirtle RL. Maternal genistein alters coat color and protects Avy mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 567-572 [PMID: 16581547]
- 20 Cordero P, Campion J, Milagro FI, Martínez JA. Dietary supplementation with methyl donor groups could prevent nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2011; 53: 2151-2152 [PMID: 21538430 DOI: 10.1002/hep.24164]
- 21 Ahrens M, Ammerpohl O, von Schönfels W, Kolarova J, Bens S, Itzel T, Teufel A, Herrmann A, Brosch M, Hinrichsen H, Erhart W, Egberts J, Sipos B, Schreiber S, Häslér R, Stickel F, Becker T, Krawczak M, Röcken C, Siebert R, Schafmayer C, Hampe J. DNA methylation analysis in nonalcoholic fatty liver disease suggests distinct disease-specific and remodeling signatures after bariatric surgery. *Cell Metab* 2013; 18: 296-302 [PMID: 23931760 DOI: 10.1016/j.cmet.2013.07.004]
- 22 Inoue I, Shinoda Y, Ikeda M, Hayashi K, Kanazawa K, Nomura M, Matsunaga T, Xu H, Kawai S, Awata T, Komoda T, Katayama S. CLOCK/BMAL1 is involved in lipid metabolism via transactivation of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) response element. *J Atheroscler Thromb* 2005; 12: 169-174 [PMID: 15811111]

**应用要点**  
DNA甲基化作为肝细胞癌发生的早期时间, 为临床肝癌的早期诊断及治疗提供了新的思路, 可研究开发相应早期诊断试剂盒。

同行评价  
本文内容较为详实, 对临床有一定的指导意义。

- 16020918]
- 23 Bellet MM, Sassone-Corsi P. Mammalian circadian clock and metabolism - the epigenetic link. *J Cell Sci* 2010; 123: 3837-3848 [PMID: 21048160 DOI: 10.1242/jcs.051649]
- 24 Pfluger PT, Herranz D, Velasco-Miguel S, Serrano M, Tschöp MH. Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 9793-9798 [PMID: 18599449 DOI: 10.1073/pnas.0802917105]
- 25 Haus E, Smolensky M. Biological clocks and shift work: circadian dysregulation and potential long-term effects. *Cancer Causes Control* 2006; 17: 489-500 [PMID: 16596302]
- 26 Yang JJ, Tao H, Huang C, Shi KH, Ma TT, Bian EB, Zhang L, Liu LP, Hu W, Lv XW, Li J. DNA methylation and MeCP2 regulation of PTCH1 expression during rats hepatic fibrosis. *Cell Signal* 2013; 25: 1202-1211 [PMID: 23333245 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.01.005]
- 27 Komatsu Y, Waku T, Iwasaki N, Ono W, Yamaguchi C, Yanagisawa J. Global analysis of DNA methylation in early-stage liver fibrosis. *BMC Med Genomics* 2012; 5: 5 [PMID: 22281153 DOI: 10.1186/1755-8794-5-5]
- 28 Bian EB, Huang C, Ma TT, Tao H, Zhang H, Cheng C, Lv XW, Li J. DNMT1-mediated PTEN hypermethylation confers hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 264: 13-22 [PMID: 22841775 DOI: 10.1016/j.taap.2012.06.022]
- 29 Tao H, Huang C, Yang JJ, Ma TT, Bian EB, Zhang L, Lv XW, Jin Y, Li J. MeCP2 controls the expression of RASAL1 in the hepatic fibrosis in rats. *Toxicology* 2011; 290: 327-333 [PMID: 22056649 DOI: 10.1016/j.tox.2011.10.011]
- 30 Zhang F, Kong D, Lu Y, Zheng S. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  as a therapeutic target for hepatic fibrosis: from bench to bedside. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 259-276 [PMID: 22699820 DOI: 10.1007/s00018-012-1046-x]
- 31 Mann J, Oakley F, Akiboye F, Elsharkawy A, Thorne AW, Mann DA. Regulation of myofibroblast transdifferentiation by DNA methylation and MeCP2: implications for wound healing and fibrogenesis. *Cell Death Differ* 2007; 14: 275-285 [PMID: 16763620]
- 32 Mannaerts I, Nuytten NR, Rogiers V, Vanderkerken K, van Grunsven LA, Geerts A. Chronic administration of valproic acid inhibits activation of mouse hepatic stellate cells in vitro and in vivo. *Hepatology* 2010; 51: 603-614 [PMID: 19957378 DOI: 10.1002/hep.23334]
- 33 Watanabe T, Tajima H, Hironori H, Nakagawara H, Ohnishi I, Takamura H, Ninomiya I, Kitagawa H, Fushida S, Tani T, Fujimura T, Ota T, Wakayama T, Iseki S, Harada S. Sodium valproate blocks the transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1 autocrine loop and attenuates the TGF- $\beta$ 1-induced collagen synthesis in a human hepatic stellate cell line. *Int J Mol Med* 2011; 28: 919-925 [PMID: 21822535 DOI: 10.3892/ijmm.2011.768]
- 34 Miller RH, Robinson WS. Integrated hepatitis B virus DNA sequences specifying the major viral core polypeptide are methylated in PLC/PRF/5 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983; 80: 2534-2538 [PMID: 6302693 DOI: 10.1073/pnas.80.9]
- 35 Chen JY, Hsu HC, Lee CS, Chen DS, Zuckerman AJ, Harrison TJ. Detection of hepatitis B virus DNA in hepatocellular carcinoma: methylation of integrated viral DNA. *J Virol Methods* 1988; 19: 257-263 [PMID: 2836461 DOI: 10.1016/0166-0934]
- 36 Vivekanandan P, Thomas D, Torbenson M. Hepatitis B viral DNA is methylated in liver tissues. *J Viral Hepat* 2008; 15: 103-107 [PMID: 18184192]
- 37 Guo Y, Li Y, Mu S, Zhang J, Yan Z. Evidence that methylation of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in liver tissues of patients with chronic hepatitis B modulates HBV replication. *J Med Virol* 2009; 81: 1177-1183 [PMID: 19475606 DOI: 10.1002/jmv.21525]
- 38 Zhang Y, Li C, Zhang Y, Zhu H, Kang Y, Liu H, Wang J, Qin Y, Mao R, Xie Y, Huang Y, Zhang J. Comparative analysis of CpG islands among HBV genotypes. *PLoS One* 2013; 8: e56711 [PMID: 23451072 DOI: 10.1371/journal.pone.0056711]
- 39 Vivekanandan P, Kannangai R, Ray SC, Thomas DL, Torbenson M. Comprehensive genetic and epigenetic analysis of occult hepatitis B from liver tissue samples. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 1227-1236 [PMID: 18444860 DOI: 10.1086/529437]
- 40 Kim JW, Lee SH, Park YS, Hwang JH, Jeong SH, Kim N, Lee DH. Replicative activity of hepatitis B virus is negatively associated with methylation of covalently closed circular DNA in advanced hepatitis B virus infection. *Intervirology* 2011; 54: 316-325 [PMID: 21242658 DOI: 10.1159/000321450]
- 41 Vivekanandan P, Thomas D, Torbenson M. Methylation regulates hepatitis B viral protein expression. *J Infect Dis* 2009; 199: 1286-1291 [PMID: 19301974 DOI: 10.1086/597614]
- 42 Vivekanandan P, Daniel HD, Kannangai R, Martinez-Murillo F, Torbenson M. Hepatitis B virus replication induces methylation of both host and viral DNA. *J Virol* 2010; 84: 4321-4329 [PMID: 20147412 DOI: 10.1128/JVI.02280-09]
- 43 Higgs MR, Lerat H, Pawlotsky JM. Downregulation of Gadd45beta expression by hepatitis C virus leads to defective cell cycle arrest. *Cancer Res* 2010; 70: 4901-4911 [PMID: 20530689 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4554]
- 44 Hernandez-Vargas H, Lambert MP, Le Calvez-Kelm F, Gouysse G, McKay-Chopin S, Tavtigian SV, Scoazec JY, Herceg Z. Hepatocellular carcinoma displays distinct DNA methylation signatures with potential as clinical predictors. *PLoS One* 2010; 5: e9749 [PMID: 20305825 DOI: 10.1371/journal.pone.0009749]
- 45 Song MA, Tiirikainen M, Kwee S, Okimoto G, Yu H, Wong LL. Elucidating the landscape of aberrant DNA methylation in hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e55761 [PMID: 23437062 DOI: 10.1371/journal.pone.0055761]
- 46 Shen J, Wang S, Zhang YJ, Kappil M, Wu HC, Kibriya MG, Wang Q, Jasmine F, Ahsan H, Lee PH, Yu MW, Chen CJ, Santella RM. Genome-wide DNA methylation profiles in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012; 55: 1799-1808 [PMID: 22234943 DOI: 10.1002/hep.25569]
- 47 Revill K, Wang T, Lachenmayer A, Kojima K, Harrington A, Li J, Hoshida Y, Llovet JM, Powers S. Genome-wide methylation analysis and epigenetic unmasking identify tumor suppressor genes in hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2013; 145: 1424-1435.e1-25 [PMID: 24012984 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.08.055]
- 48 Nishida N, Kudo M, Nagasaka T, Ikai I, Goel A. Characteristic patterns of altered DNA methylation pre-



- dict emergence of human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012; 56: 994-1003 [PMID: 22407776 DOI: 10.1002/hep.25706]
- 49 Koide Y, Ina Y, Nezu N, Yoshida TO. Calcium influx and the Ca<sup>2+</sup>-calmodulin complex are involved in interferon-gamma-induced expression of HLA class II molecules on HL-60 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85: 3120-3124 [PMID: 2966398 DOI: 10.1371/journal.pone.0013688]
- 50 Venturelli S, Berger A, Weiland T, Zimmermann M, Häcker S, Peter C, Wesselborg S, König-srainer A, Weiss TS, Gregor M, Fulda S, Lauer UM, Bitzer M. Dual antitumour effect of 5-azacytidine by inducing a breakdown of resistance-mediating factors and epigenetic modulation. *Gut* 2011; 60: 156-165 [PMID: 21106551 DOI: 10.1136/gut.2010.208041]
- 51 Kexue M, Keshi M, Xingzi X. [Research progress of epigenetic transgenerational phenotype]. *Yi Chuan* 2014; 36: 476-484 [PMID: 24846997]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注码号.如马连生<sup>[1]</sup>报告……,潘伯荣等<sup>[2-3]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>.文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.