

膀胱癌 DNA 甲基化的研究进展

田俊波,董自强,曾文,梁云

(三峡大学第一临床医学院,湖北 宜昌 443003)

【摘要】 在恶性肿瘤中,相关的癌基因或抑癌基因由于异常的甲基化导致了其表达的升高或降低这一生物学改变普遍存在。膀胱癌作为泌尿系统肿瘤中死亡率和复发率很高的恶性肿瘤,其相关基因的甲基化状况也是很多学者研究的热点,本文将就其相关研究进展做一综述。

【关键词】 膀胱癌;DNA 甲基化;恶性肿瘤

【中图分类号】 R737.14 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2014)02-0228-03

DNA 甲基化(DNA methylation)是一种表观遗传修饰,该种修饰影响着 DNA 和其他分子的相互作用,并且通过细胞分裂和增殖遗传。它在胚胎的早期发育、干细胞的分化和特定组织的基因表达起着重要的作用^[1]。越来越多的研究表明,DNA 甲基化异常在肿瘤的发生发展中扮演着重要角色。膀胱癌是泌尿系统中最常见的恶性肿瘤,因此,DNA 甲基化与膀胱癌的研究成为了近年来的研究重点。

1 DNA 甲基化的生物学特点

DNA 甲基化即 CPG 双核苷酸上胞嘧啶的第五位碳原子经 DNA 甲基化转移酶作用转变为 5-甲基胞嘧啶。在真核 DNA 中,5-甲基胞嘧啶是一种很常见的碱基修饰,而且在 CPG 双核苷酸序列上包含了 90% 的甲基化位点^[2]。在人类基因组转录区,CpG 相互聚集,称为 CpG 岛(CpG islands)。CpG 岛一般至少长为 0.5 kb,其中富含 G:C 和 CpG 内容,并且发现了大约 70% 的人类基因启动子^[3]。在正常细胞和肿瘤细胞中其基因的 CPG 岛甲基化状况绝然不同,前者几乎大部分处于非甲基化状态,后者则常表现为异常甲基化。DNA 甲基化模式以发育阶段和细胞分化为特征,也本质的与多发病变相关联,已经成为了恶性肿瘤发生的一个标志^[4]。

2 膀胱癌与 DNA 甲基化的关系

在肿瘤的形成过程中常常伴有 DNA 异常甲基化的改变,一般分为 CpG 岛 DNA 高甲基化和全基因组水平 DNA 低甲基化这两种状况^[5]。很多基因的 CpG 岛异常甲基化伴随着膀胱癌的发生发展,在膀胱癌的组织标本、膀胱癌细胞系、患者尿液标本中检测多种基因的异常甲基化。

3 相关 DNA 甲基化与膀胱癌发生的机制研究

3.1 人类 RUNT 相关转录因子 3 (Human runt-re-

lated transcription factor 3, RUNX3) RUNX3 是 RUNX 基因家族成员之一,它定位于人染色体 1 号断臂 1p36,具有很强的肿瘤抑制活性,并且参与了上皮细胞增殖和细胞凋亡的调控,目前在很多人类的实体肿瘤中发现了 RUNX3 基因失活的状况。在转化因子 TGF- β 信号传导过程中,RUNX3 起着至关重要的作用,TGF- β 主要调控细胞周期的 G1 期,减弱 TGF- β 的敏感性能引起与细胞凋亡相关的生长停滞^[6]。Jeong 等^[7]研究观察到,在非肌层浸润性膀胱癌(Non-muscle invasive bladder cancer, NMIBC)患者中,RUNX3 启动子甲基化发生在肿瘤样本中的比率是 69%,而在其邻近的正常膀胱上皮中是 47%。Kaplan-Meier 评估分析在 NMIBC 患者中,正常邻近膀胱上皮 RUNX3 基因甲基化与病程进展呈时间显著相关($P=0.017$)。提示 RUNX3 基因参与了膀胱癌的发生发展,RUNX3 启动子甲基化状况有望成为膀胱癌预后的生物标记。

3.2 死亡相关蛋白激酶 1 (Death-associated protein kinase-1, DAPK) DAPK 是一种依赖钙调蛋白调节的蛋白激酶,位于人染色体 9q34,是一种正性调节细胞凋亡的基因,其低表达或缺失是参与细胞癌变的重要机制之一。Zbigniew 等^[8]用 MSP 法在膀胱原位癌标本中有 64.3%(27/42)检测到了 DAPK 的异常甲基化,而在其对照组患者的血清样本中并未发现 DAPK 的甲基化。同时,DAPK 基因的高甲基化在膀胱癌 G1 期患者比率为 71.4%,处于 G2、G3 期患者的比率为 55%,提示 DAPK 基因的高甲基化与病理分级分期具有显著差异且相关。

3.3 长散在重复序列 1 (Long interspersed nuclear elements1, LINE1) LINE1 是一种分布在人类基因组中的内源性的易变基因序列,它占据整个人类基因组的 5%,其具备核酸内切酶和反转录酶的活性。

LINE1启动子区低甲基化能引起其反转录活性激活导致抑癌基因的失活,进而引起肿瘤的发生,这一现象在与结肠癌发生相关的抑癌基因 APC 中很常见^[9]。LINE1序列的低甲基化现象出现在多种肿瘤中,包括前列腺癌、结肠癌、膀胱上皮癌、卵巢癌、恶性生殖细胞瘤、宫颈癌。因此LINE1基因的低甲基化可以作为肿瘤诊断的标记物^[10]。Wilhelm等^[11]通过对不同年龄和不同吸烟状况的465例对照组和285例膀胱癌患者的外周血提取基因LINE1的甲基化水平进行PCR检测,并根据LINE1甲基化水平分组对比,发现LINE1低甲基化组相对于高甲基化组,患膀胱癌的概率提高了2.08倍,提示LINE1基因的低甲基化与膀胱癌的发生相关。

3.4 RAS 相关区域家族1基因(RASSF1A) 作为众所周知的Ras相关结构域家族基因1的A型异构体,RASSF1A是一种抑癌基因,它处于人染色体3p21。肿瘤发生过程与RASSF1A密切相关,一般是由于其启动子区的CpG岛发生高甲基化引起了基因的低表达,导致了RAS抑制效应低下^[12]。RASSF1A的甲基化已经在许多人类的实体瘤中被发现,其发生频率波动在30%~50%。在Gao等^[13]的研究中,为证实RASSF1A的甲基化对于膀胱癌患者的诊断意义,他们对10个研究组中包含了543例患者和217例对照者的样本进行了元分析,发现在尿液和肿瘤组织中检测到的RASSF1A的甲基化对于膀胱癌来说是一个潜在的危险因素,而且在膀胱癌患者患者中RASSF1A的甲基化的概率是对照组的8.4倍。

3.5 P16、P15、P14抑癌基因 这3个基因是定位于人染色体9p21区的抑癌基因,其编码蛋白产物通过激活Rb和P53蛋白产物从而抑制细胞周期从G1期向S期过渡或者直接引起细胞凋亡,在肿瘤的发生发展中起着重要的作用^[14],所以这3个基因的异常甲基化也与膀胱癌的多发有着很高的相关性。在Kawamoto等^[15]用MSP法对65例患者(其中45例膀胱癌患者和19例膀胱癌复发患者)的原发肿瘤和复发肿瘤组织的P16、P14基因的甲基化水平进行检测发现,这两个基因的甲基化比率分别为17.8%和31.1%,而且相对于表浅性膀胱癌,侵入性膀胱癌的甲基化程度更高,经过生存分析显示P14基因甲基化与患者预后密切相关。Chen等^[16]通过对台湾(104例)、香港(82例)、北京(24例)膀胱癌患者的肿瘤组织用MSP法进行p14、p15等一些抑癌基因的甲基化检测发现其甲基化比率分别是61.8%(P14)、24.5%(P15)、87.5%(P14),很好地显示了这些抑癌基因甲基化与膀胱

癌的相关性。

3.6 Wnt 抑制因子1(WIF-1) Wnt信号通路在人类早期发育、疾病以及恶性肿瘤的发生中扮演着重要角色,而WIF-1是一种能与Wnt蛋白结合而抑制Wnt信号通路的分泌型蛋白拮抗剂,已有研究报道表明WIF-1的表达下调与其启动子的高甲基化与肿瘤的发生发展密切相关^[17]。Urakami等^[18]用MSP法检测到在膀胱肿瘤组织中WIF-1基因CpG岛启动子甲基化比率比膀胱周围黏膜更高,WIF-1甲基化和WIF-1的mRNA的表达呈负相关。

4 DNA 甲基化与膀胱癌的诊断

尿路细胞学检查以及膀胱镜是目前应用于膀胱癌检查的最普遍的方法,然而由于尿路细胞学检查敏感性差、膀胱镜检查价格高、有侵入性等缺点,使得它们不能很好的作为一种普查手段。当前,基于PCR技术的DNA甲基化检测法逐渐成熟,将其应用于DNA甲基化的检测已经越来越多。Reinert等^[19]应用RT-PCR技术对184例非浸润性膀胱癌患者的390份尿沉渣细胞的EOMES、HOXA9、POU4F2、TWIST1、VIM and ZNF154基因甲基化水平检测,其敏感性在90%左右,特异度在50%左右,该检测由于只需要患者尿液样本,易收集无创伤,十分可取。

5 DNA 甲基化应用于膀胱癌的治疗

一些肿瘤的抑癌基因或者癌基因的启动子区或调节区发生了甲基化而失活,从而引起肿瘤的发生,如果DNA的甲基化能被逆转,这些基因便可重新表达。目前众所周知的DNA甲基化抑制剂是5-氮胞苷和5-氮-2'脱氧胞苷(5-Aza-CdR),它们的主要靶点是甲基化转移酶,通过抑制该酶的活性,使目的基因的甲基化程度随着细胞分裂周期进行性的减少^[20]。Christine B Yoo等^[21]对膀胱癌T24细胞用5-Aza-CdR处理后,发现5-Aza-CdR不仅抑制了T24的生长,还能够诱导p16的重新表达。这类去甲基化药物将在临床的肿瘤治疗中有着广阔的前景。

6 展 望

目前DNA甲基化的机制在表观遗传学中研究比较深入,很多抑癌基因的异常甲基化都参与了肿瘤的发生和发展。DNA甲基化具有可逆性,这一点既可以用于诊断,也可用于治疗。然而,随着DNA甲基化与膀胱癌关系的研究日趋深入,还有很多问题,如能否找到更具敏感性和特异性的甲基化基因?能否发现更多的药物来预防甲基化或者逆转甲基化?若这些问题得以解决,也许能给膀胱癌的诊断、治疗和风险评估等带来更好的应用前景。

脊柱结核微创治疗研究的现状与进展

占道禄, 林明侠, 沈宁江, 林庆彪, 陈 科, 蔡文涛, 李一波, 刘 键
(海南省人民医院脊柱外科, 海南 海口 570311)

【摘要】 脊柱结核的治疗是脊柱外科中的重要组成部分, 随着现代微创技术的不断发展, 脊柱结核的外科治疗也逐渐踏上微创的步伐, 经过前人不懈的努力, 取得了令人瞩目的成效。本文就脊柱结核微创治疗的现状及发展趋势做一综述。

【关键词】 脊柱结核; 微创; 治疗; 进展

【中图分类号】 R529.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2014)02-0230-03

结核病作为目前全球单因致死率最高的传染性疾病, 其严重危害人类健康, 其中骨关节结核约占结核病的 13%, 而脊柱结核约占骨关节结核的 50%^[1]。

由其造成的椎体破坏、塌陷, 引发患者致残、致畸, 严重影响病患的生活质量。

目前针对脊柱结核的治疗方法可分为三大类: 药

通讯作者: 占道禄。E-mail: 85796852@qq.com

参 考 文 献

[1] Yim RL, Kwong YL, Wong KY, et al. DNA methylation of tumor suppressive miRNAs in non-Hodgkin's lymphomas [J]. *Front Genet*, 2012, 3(233): 1-8.

[2] 郭万松, 杨 波, 丛宪玲, 等. DNA 甲基化与膀胱癌研究进展[J]. *中国实验诊断学*, 2009, 13(8): 1123-1128.

[3] Kang GH. CpG island hypermethylation in gastric carcinoma and its premalignant lesions [J]. *The Korean Journal of Pathology*, 2012, 46(1): 1-9.

[4] Barrera V, Peinado MA. Evaluation of single CpG sites as proxies of CpG island methylation states at the genome scale [J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(22): 11490-11498.

[5] Janine GB, Nicole B, Zhenyu Z, et al. Fidelity index determination of DNA methyltransferases [J]. *Plos one*, 2013, 8(5): 63866.

[6] Ko HJ, Kim BY, Jung CH, et al. DNA methylation of RUNX3 in papillary thyroid cancer [J]. *Korean J Intern Med*, 2012, 27(4): 407-410.

[7] Jeong P, Min BD, Ha YS, et al. RUNX3 methylation in normal surrounding urothelium of patients with non-muscle-invasive bladder cancer: potential role in the prediction of tumor progression [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2012, 38(11): 1095-1100.

[8] Jablonowski Z, Reszka E, Gromadzińska J, et al. Hypermethylation of p16 and DAPK promoter gene regions in patients with non-invasive urinary bladder cancer [J]. *Arch Med Sci*, 2011, 7(3): 512-516.

[9] Schernhammer ES, Giovannucci E, Kawasaki T, et al. Dietary folate and B vitamins in relation to LINE-1 hypomethylation in colon cancer [J]. *NIH Public Access*, 2010, 59(6): 794-799.

[10] Ogino S, Kawasaki T, Noshio K, et al. LINE1 hypomethylation is inversely associated with microsatellite instability and CpG island methylator phenotype in colorectal cancer [J]. *International journal of cancer*, 2008, 122: 2767-2773.

[11] Wilhelm CS, Kelsey KT, Butler R, et al. Implications of LINE1 methylation for bladder cancer risk in women [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(5): 1682-1689.

[12] Shivakumar L, Minna J, Sakamaki T, et al. The RASSF1A tumor suppressor blocks cell cycle progression and inhibits cyclinD1 accumulation [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(12): 4309.

[13] Gao TY, Wang SK, He BS, et al. The association of RAS association domain family protein1A (RASSF1A) methylation states and Bladder cancer risk: A systematic review and meta-analysis [J]. *Plos One*, 2012, 7(11): 1-6.

[14] Makoto Endo, Chikashi Kobayashi, Nokitaka Setsu, et al. Prognostic Significance of p14ARF, p15INK4b, and p16INK4a Inactivation in Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors [J]. *Clinical Cancer Res*, 2011, 17: 3771-3782.

[15] Kawamoto K, Enokida H, Gotanda T, et al. p16INK4a and p14ARF methylation as a potential biomarker for human bladder cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 339(3): 790-796.

[16] Chen PC, Tsai MH, Yip SKH, et al. Distinct DNA methylation epigenotypes in bladder cancer from different Chinese sub-populations and its implication in cancer detection using voided urine [J]. *BMC Med Genomics*, 2011, 4: 45.

[17] Yang ZY, Wang Y, Fang JS, et al. Downregulation of WIF-1 by hypermethylation in astrocytomas [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2010, 42(6): 418-425.

[18] Urakami S, Shiina H, Enokida H, et al. Epigenetic inactivation of Wnt inhibitory factor-1 plays an important role in bladder cancer through aberrant canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Clinical Cancer Research*, 2006, 12(2): 383-391.

[19] Reinert T, Borre M, Christiansen A, et al. Diagnosis of bladder cancer recurrence based on urinary levels of EOMES, HOXA9, POU4F2, TWIST1, VIM, and ZNF154 Hypermethylation [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): 1-9.

[20] 王成祖, 张 瑾. DNA 甲基化与膀胱癌的研究进展[J]. *现代医学生物进展*, 2010, 10(16): 3178-3180.

[21] Yoo CB, Jeong SW, Egger G, et al. Delivery of 5-Aza-2'-Deoxycytidine to Cells Using Oligodeoxynucleotides [J]. *Cancer Research*, 2007, 67(13): 6400-6408.

(收稿日期: 2013-07-10)