

表观遗传修饰与肝癌的关系

孙其恺 王伟 姜卫东

【摘要】 表观遗传学是指基因的核苷酸序列在不发生改变的情况下,基因表达了可遗传的表型变化。表观遗传机制的失调在人类恶性肿瘤包括肝癌发生、发展过程中发挥了重要作用。目前研究结果发现:大量表观遗传可调节有关基因靶点和信号转导通路,如 DNA 甲基化、组蛋白修饰、RNA 调节基因沉默等与肝癌的发生和发展密切相关。探究这些异常的表观遗传机制对诊断和治疗肝癌有着重要的意义。

【关键词】 肝肿瘤; 表观遗传; 甲基化; 组蛋白修饰; 微小 RNA

Epigenetic modification and hepatocellular carcinoma SUN Qi-kai, WANG Wei, JIA Wei-dong. Department of Hepatic Surgery & Anhui Province Key Laboratory of Hepatopancreatobiliary Surgery, Anhui Medical University, Hefei 230001, China
Corresponding author: JIA Wei-dong, Email: jwd1968@sina.com

【Abstract】 Epigenetics refers to steady phenotypic changes in gene expression without modifications in the genetic nucleotide sequence. Disorder of epigenetic mechanisms plays an important role in the occurrence and development of human malignant tumors including hepatocellular carcinoma. A large number of gene targets and pathways related to epigenetics were discovered. For instance, DNA methylation, histone modification and RNA regulator gene silencing were associated with the development of hepatocellular carcinoma. Exploring the abnormal epigenetics is of great significance for prevention and treatment of hepatocellular carcinoma.

【Key words】 Liver neoplasms; Epigenetics; Methylation; Histone modification; MicroRNA

肝细胞癌(简称肝癌)在全球肿瘤致死原因中高居第 3 位,位列我国恶性肿瘤病死率的第 2 位^[1-2]。诱发肝癌的因素很多,包括肝硬化、HBV 和 HCV 感染、黄曲霉菌感染、长期饮酒、吸烟、肥胖以及糖尿病等。病理学研究结果表明:肝癌的发生和发展是一个由多因素诱导的、多步骤、多基因参与的长期的

过程^[3]。大多数学者认为肝癌是一种由基因和表观遗传异常改变引起的疾病。目前,关于基因异常改变引发肝癌的研究已经比较成熟,但是关于表观遗传学变化致病的研究仍然很局限。本文就表观遗传修饰与肝癌的关系作一综述。

1 DNA 甲基化与肝癌的关系

DNA 甲基化是表观遗传学的一个重要调节机制,在不改变 DNA 序列的条件下通过给 DNA 链添加甲基来调控基因表达。DNA 甲基化对个体的生长、发育、基因表达模式以及基因组的稳定性起到重要的调控作用,且这种修饰在细胞增殖和发育过程中还可以稳定传递。DNA 甲基化始发于胚胎早期,随着胚胎的进一步发育,基因组 DNA 经历了去甲基化、区域性的重新甲基化以及组织特异基因选择性的去甲基化的过程,而后这种 DNA 甲基化模式就相对稳定下来^[4]。然而,肿瘤细胞中的甲基化模式却发生了改变,表现为全基因组广泛的低甲基化,以及某些基因(如抑癌基因)启动子 CpG 岛区的高甲基化。低甲基化可诱导激活原癌基因及增加染色体不稳定性,最终导致肿瘤的发生;同时在整体低甲基化水平下,某些抑癌基因却发生高甲基化,导致该类基因的沉默。

恶性肿瘤细胞的基因组总体呈现低甲基化状态。基因组甲基化区域主要是由 DNA 重复序列构成,包括 LINE1、ALU、IAPs、SAT2 等^[5]。这些重复序列的低甲基化会造成基因组中甲基化水平的降低,该现象所带来的后果将导致高频率的染色体重组或杂合性丢失,使得基因组不稳定性增加^[6]。Tangkijvanich 等^[7]的研究结果发现:LINE1 在血液中的甲基化水平可以作为肝癌诊断的血清标志物。但基因组整体 DNA 低甲基化是否就是恶性肿瘤的诱因目前还不是很清楚^[8]。正常情况下,基因启动子区域中的 CpG 岛呈低甲基化状态。而启动子区域甲基化的改变与肝癌的发生和发展也有关。高甲基化状态启动子区域 CpG 岛通过阻碍活化转录因子

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2013.09.021

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81172364);国家自然科学基金青年科学基金项目(81201906)

作者单位:230001 合肥,安徽省立医院肝脏外科、肝胆胰外科安徽省重点实验室

通信作者:姜卫东,Email: jwd1968@sina.com

和促进阻遏蛋白的形成来促进抑癌基因的失活^[9]。目前已有的研究结果表明:肝癌中的肿瘤抑制基因和某些肿瘤相关基因都与启动子的高甲基化状态有关,而这些基因在调节细胞周期、凋亡、黏附、侵袭及 DNA 修复中具有关键作用^[10]。目前研究结果发现 RASSF1A、p16、CRABP1、GSTP1、CHRNA3、DOK1、SFRP1、GAAD45a、CHFR、EDNRB、3-OST-2 及 p15 等基因的异常甲基化与肝癌发生有关,而且在肝癌进展期中发现 CHFR 和 SYK 基因呈高甲基化^[9,11]。这些研究证据均表明启动子区域的异常甲基化与肝癌发生、发展息息相关。

DNA 错配修复系统是一种修复 DNA 碱基错配的自身保障体系。它由一系列特异修复 DNA 错配的酶组成,通过修复 DNA 复制过程中产生的错误,维持基因组的稳定性。人体内错配修复基因启动子甲基化会引起错配修复基因失活,导致机体 DNA 错配修复功能的降低,进而导致整个基因组的不稳定,从而使某些癌基因和抑癌基因的突变在体内得到快速聚集,最终导致了肿瘤发生^[12]。张翠娟等^[13]的研究结果发现:错配修复基因 hMLH1、hMSH2 在肝癌组织中的表达明显上调。肝癌组织中异常的 DNA 甲基化模式与 DNA 甲基化调节机制功能障碍密切相关,而甲基转移酶 1 (DNA methyltransferases 1, DNMT1) 在维持基因甲基化状态的过程中起着重要的作用。Saito 等^[14]的研究结果发现:肝癌组织和癌前病变组织中 DNMT1、DNMT3A、DNMT3B 表达均上调。因此,笔者认为 DNA 甲基化状态的异常改变在肝癌发生、发展中都发挥了重要作用。

2 组蛋白修饰与肝癌的关系

组蛋白是染色体中与 DNA 结合的蛋白质,包括 H1、H2A、H2B、H3 和 H4 这 5 个种类,并存在多种修饰形式。染色体是由成串的核小体组成。核小体是由组蛋白和 DNA 构成,H2A、H2B、H3 及 H4 各 2 个组成组蛋白八聚体,以及 1 个大小为 147 bp DNA 和 1 个单体蛋白 H1 形成 1 个核小体。组成核小体的组蛋白核心部分状态大致是均一的,游离在外的 N-端则可以受到包括组蛋白末端的乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化以及 ADP 核糖基化等多种组蛋白的修饰。组蛋白的修饰为表观遗传改变之一,能导致基因表达的改变,在恶性肿瘤的发生、发展中起重要作用。

目前研究结果表明:肝癌细胞相关基因转录沉

默与它们启动子区域组蛋白修饰调节有关^[15]。Yao 等^[16]的研究结果发现:人类肝癌组织中肿瘤抑制基因 p16INK4A 的转录沉默与该基因启动子区域组蛋白 H3K9 及 H3K27 甲基化标记物表达水平升高有关。Cai 等^[17]的研究结果也证实:肝癌患者的个体基因组水平中组蛋白修饰也发生了改变,尤其是 H3K27me3 表达水平的增加与肿瘤血管侵袭及患者的预后密切相关。

不仅如此,肝癌发病机制与组蛋白修饰酶调节异常也有关,组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 是一类蛋白酶,在染色体的结构修饰和基因表达调控中发挥着重要的作用。一般情况下,组蛋白的乙酰化有利于各种转录因子和协同转录因子与 DNA 结合位点特异性结合,从而激活基因的转录。正常细胞核内组蛋白乙酰化与组蛋白去乙酰化过程处于动态平衡。而在癌细胞中 HDAC 的过度表达引起去乙酰化作用增强,不利于特定基因(包括某些肿瘤抑制基因)的表达。目前的研究结果表明:HDAC 过表达与肝癌的临床病理特征及肿瘤复发有关^[17]。组蛋白甲基转移酶 (histone methyltransferase, HMT) 通过对组蛋白赖氨酸或精氨酸残基的甲基化状态的调控来影响基因的表达。Pogribny 和 Rusyn^[18]的研究结果发现 HMT 在肝癌的发生和发展中也起着重要作用,组蛋白甲基转移酶 SMYD3、EZH2 等在肝癌组织中明显上调,而组蛋白甲基转移酶 RIZ1 的表达则下调。肝癌组织中组蛋白修饰酶表达水平的异常变化也佐证了组蛋白的修饰参与肝癌的发生和发展过程。

3 非编码 RNA 与肝癌的关系

微小 RNA (microRNA) 及长链非编码 RNA 的调控也是表观遗传机制的重要组成部分之一,这些非编码 RNA 能够改变基因的表达并保持遗传特性^[19]。目前对 microRNA 的研究较为深入,micro-RNA 由约为 22 个核苷酸组成,进化上结构高度保守,是能调节转录后基因表达的小分子单链 RNA。目前的研究结果发现它参与了细胞增殖、分化、凋亡等多种细胞生理病理过程,它与肿瘤发生的关系也比较密切^[20]。microRNA 通过结合靶 mRNA 的 3'-UTR 区相互作用,从而阻止所结合的 mRNA 的翻译或直接降解靶 microRNA。每个 microRNA 可以调控多个靶基因,而一个 microRNA 也可以同时受多个 microRNA 调节^[21]。目前的研究结果表明:在肝癌的发

展和转移过程中发现有 microRNA 改变,如 microRNA-221 表达上调可抑制细胞凋亡;肝癌组织中 microRNA-9 过表达能增强肿瘤细胞侵袭能力;肝癌细胞中 microRNA-23b 的高表达可使肝细胞生长因子受体和尿激酶型纤溶酶原激活因子基因表达沉默,从而抑制肿瘤细胞的迁移和增殖;但具有肿瘤抑制基因功能的 microRNA-101、microRNA-195、microRNA-122 和 microRNA-338 在肝癌组织中则不表达或表达明显下调^[22]。基于 micro-RNA 在肝癌发生、发展中的研究,microRNA 有可能成为治疗肝癌的一种新的分子靶标。

不仅如此,肝细胞中 microRNA 表达改变与其他表观遗传调节也有着直接或间接的联系。He 等^[23]研究发现 micro-RNA-191 在肝癌组织中的高表达与 microRNA-191 基因的低甲基化状态有关。但也有研究结果表明: microRNA-1、microRNA-124、microRNA-125b 及 micro-RNA-203 与 DNA 高甲基化存在某种联系;而 micro-RNA-29、microRNA-152、microRNA-200a 表达的异常改变同时引起 DNA 甲基化和组蛋白修饰的改变^[19]。目前,通过检测肝癌患者的血清或尿液发现:与健康者比较,肝癌患者血液循环中 microRNA 存在表达差异,这为将来在临床上开展肿瘤无创检测提供了理论基础;特别是在未来对肝癌的预防及早期诊断具有重要的临床意义^[24]。

相对非编码短链 RNA(微小 RNA、干扰 RNA 等)还有一部分非编码长链 RNA(lncRNA)渐成为目前的研究热点。这种 lncRNA 的长度一般超过 200 个核苷酸,它不仅参与基因的转录,而且还参与了表观遗传调节。目前的研究结果表明:lncRNA 与细胞转化等细胞生物学过程关系紧密,也被认为是一种与肿瘤密切相关的 RNA^[25-26]。但是具体的作用机制还有待进一步的研究。Yang 等^[27]通过对 107 例肝癌患者标本的研究发现,HBV 感染的肝癌患者,肝癌组织中的 lncRNA 表达明显上调;同时 lncRNA 在肝癌中的表达水平与肿瘤复发关系密切,可以作为预测肝癌患者预后的潜在指标之一。Yuan 等^[28]的研究结果还发现:与肿瘤微血管侵袭相关的 lncRNA 在肝癌组织中过表达,而且与患者较差的预后存在相关性。这些研究结果表明:lncRNA 与肝癌发生、发展之间的联系,凸显其潜在的临床意义,特别是为分子靶向治疗肝癌提供了一个潜在的标记物。

4 表观遗传学变化与肝癌的诊断和治疗

目前随着对表观遗传学研究的进一步加深,它与肿瘤发生、发展的关系也逐渐呈现在人们面前。探讨表观遗传学机制与肝癌发生、发展间的关系,对临床上肝癌防御、诊断及各阶段的治疗有着重要意义。

临床中对肿瘤 DNA 甲基化的研究主要集中在肿瘤的早期诊断、分子分型及判断预后和疗效评估等方面。随着对 DNA 甲基化与肿瘤发生、发展相关性研究的不断深入,人们逐渐认识到 DNA 甲基化改变与传统的预后指标之间存在密切联系。DNA 甲基化在肝癌中的改变可以作为一个潜在的肝癌诊断标志,特别是对早期肝癌患者的诊断具有重要意义;而且检测其改变有助于判断肝癌患者的预后,进而为临床上监控病情、预测预后风险及评估疗效提供重要依据。目前,人们对各种肿瘤相关性启动子 CpG 岛甲基化异化情况进行分析的基因总数不超过 200 个,且散见于不同类型的肿瘤中。而这类研究大多存在临床样品样本量少以及缺乏必要的多参数平行性分析等方面的不足。因此,通过寻找肝癌相关基因靶点并对这些基因进行甲基化异化谱式绘制,有可能为开展以 DNA 甲基化异化谱式为标准的肝癌现代分期和分型,为临床指导肝癌诊断、预后及疗效评估提供可靠的理论依据和工作基础。

现有文献关于 microRNA 在肝癌诊断中的应用报道较少。已有的研究结果表明:血液中 microRNA 的水平可作为诊断肝癌的一个非侵袭性标记物,同时 microRNA 还可作为预测肝癌术后复发的指标之一^[29-30]。目前有文献报道组蛋白 H3K4me 在肝癌组织中的高表达与肝癌患者预后不良有明显关联,而且进一步探究发现它与 TNM I、II 期的肝癌患者的预后相关性更强,这也预测了 H3K4me 作为一种肝癌临床生物诊断标记物及治疗靶点可能具有广阔前景^[31]。但是,目前关于组蛋白修饰及 microRNA 这两种表观遗传方式在临床肝癌治疗及预防中的研究比较局限,亟待更深入的探索。

5 小结

不同类型的表观遗传学机制可能存在相互依赖性,并共同决定某一类组织细胞的表观遗传状态。表观遗传修饰及其在细胞调节、肿瘤发生过程中相关作用机制还有待进一步的深入研究。不同于基因遗传的是表观遗传是可逆的,因此它具有更好的治疗干预特点。目前,几乎所有的肝癌亚型中

都存在表观遗传的改变。深入探索表观遗传调节机制与肝癌的关系,将会带来新的肝癌诊断和治疗模式。

参考文献

- [1] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*, 2005, 55(2):74-108.
- [2] 范上达, 邱宗祥, 潘冬平. 肝癌的综合治疗. *中华消化外科杂志*, 2011, 10(4):241-246.
- [3] Venook AP, Papandreou C, Furuse J, et al. The incidence and epidemiology of hepatocellular carcinoma: a global and regional perspective. *Oncologist*, 2010, 15 Suppl 4:5-13.
- [4] 杨晓丹, 韩威, 刘峰. DNA 甲基化与脊椎动物胚胎发育. *遗传*, 2012, 34(9):1108-1113.
- [5] De Smet C, Lorient A. DNA hypomethylation in cancer: Epigenetic scars of a neoplastic journey. *Epigenetics*, 2010, 5(3):206-213.
- [6] Saito Y, Kanai Y, Sakamoto M, et al. Overexpression of a splice variant of DNA methyltransferase 3b, DNMT3b4, associated with DNA hypomethylation on pericentromeric satellite regions during human hepatocarcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(15):10060-10065.
- [7] Tangkijvanich P, Hourpai N, Rattanatanyong P, et al. Serum LINE-1 hypomethylation as a potential prognostic marker for hepatocellular carcinoma. *Clin Chim Acta*, 2007, 379(1-2):127-133.
- [8] Tränkleh W, Puls F, Christgen M, et al. Frequent and distinct aberrations of DNA methylation patterns in fibrolamellar carcinoma of the liver. *PLoS One*, 2010, 5(10):e13688.
- [9] Sceusi EL, Loose DS, Wray CJ. Clinical implications of DNA methylation in hepatocellular carcinoma. *HPB (Oxford)*, 2011, 13(6):369-376.
- [10] Liu WR, Shi YH, Peng YF, et al. Epigenetic of hepatocellular carcinoma: a new horizon. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125(13):2349-2360.
- [11] Lambert MP, Paliwal A, Vaissière T, et al. Aberrant DNA methylation distinguishes hepatocellular carcinoma associated with HBV and HCV infection and alcohol intake. *J Hepatol*, 2011, 54(4):705-715.
- [12] Banno K, Kisu I, Yanokura M, et al. Epimutation and cancer: a new carcinogenic mechanism of Lynch syndrome (Review). *Int J Oncol*, 2012, 41(3):793-797.
- [13] 张翠娟, 李晓明, 丘礼武, 等. DNA 错配修复基因甲基化在肝细胞癌发生发展中的作用. *中华病理学杂志*, 2004, 33(5):433-436.
- [14] Saito Y, Kanai Y, Nakagawa T, et al. Increased protein expression of DNA methyltransferase (DNMT) 1 is significantly correlated with the malignant potential and poor prognosis of human hepatocellular carcinomas. *Int J Cancer*, 2003, 105(4):527-532.
- [15] Kondo Y, Shen L, Suzuki S, et al. Alterations of DNA methylation and histone modifications contribute to gene silencing in hepatocellular carcinomas. *Hepatol Res*, 2007, 37(11):974-983.
- [16] Yao JY, Zhang L, Zhang X, et al. H3K27 trimethylation is an early epigenetic event of p16INK4a silencing for regaining tumorigenesis in fusion reprogrammed hepatoma cells. *J Biol Chem*, 2010, 285(24):18828-18837.
- [17] Cai MY, Hou JH, Rao HL, et al. High expression of H3K27me3 in human hepatocellular carcinomas correlates closely with vascular invasion and predicts worse prognosis in patients. *Mol Med*, 2011, 17(1-2):12-20.
- [18] Pogribny IP, Rusyn I. Role of epigenetic aberrations in the development and progression of human hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2012 [Epub ahead of print].
- [19] 廖博懿, 周俭, 樊嘉, 等. 长链非编码 RNA 在肝癌中的表达及其功能. *中华消化外科杂志*, 2012, 11(5):485-488.
- [20] Banaudha KK, Verma M. The role of microRNAs in the management of liver cancer. *Methods Mol Biol*, 2012, 863:241-251.
- [21] Wong CM, Kai AK, Tsang FH, et al. Regulation of hepatocarcinogenesis by microRNAs. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2013, 5:49-60.
- [22] Herczeg Z, Paliwal A. Epigenetic mechanisms in hepatocellular carcinoma: how environmental factors influence the epigenome. *Mutat Res*, 2011, 727(3):55-61.
- [23] He Y, Cui Y, Wang W, et al. Hypomethylation of the hsa-miR-191 locus causes high expression of hsa-miR-191 and promotes the epithelial-to-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *Neoplasia*, 2011, 13(9):841-853.
- [24] Qi J, Wang J, Katayama H, et al. Circulating microRNAs (cmiRNAs) as novel potential biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Neoplasia*, 2013, 60(2):135-142.
- [25] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(3):155-159.
- [26] Orom UA, Derrien T, Beringer M, et al. Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Cell*, 2010, 143(1):46-58.
- [27] Yang F, Zhang L, Huo XS, et al. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans. *Hepatology*, 2011, 54(5):1679-1689.
- [28] Yuan SX, Yang F, Yang Y, et al. Long noncoding RNA associated with microvascular invasion in hepatocellular carcinoma promotes angiogenesis and serves as a predictor for hepatocellular carcinoma patients' poor recurrence-free survival after hepatectomy. *Hepatology*, 2012, 56(6):2231-2241.
- [29] Sato F, Hatano E, Kitamura K, et al. MicroRNA profile predicts recurrence after resection in patients with hepatocellular carcinoma within the Milan Criteria. *PLoS One*, 2011, 6(1):e16435.
- [30] Xu J, Wu C, Che X, et al. Circulating microRNAs, miR-21, miR-122, and miR-223, in patients with hepatocellular carcinoma or chronic hepatitis. *Mol Carcinog*, 2011, 50(2):136-142.
- [31] He C, Xu J, Zhang J, et al. High expression of trimethylated H3 lysine 4 is associated with poor prognosis in hepatocellular carcinomas. *Hum Pathol*, 2012, 43(9):1425-1435.

(收稿日期: 2013-03-04)

(本文编辑: 赵蕾)