

电离辐射诱导的 DNA 甲基化模式改变及其在辐射致癌机制研究中的意义

石大伟 赵永成

【摘要】越来越多的研究已经表明,表观遗传机制在癌症发生发展中扮演了非常重要的角色,但是对于辐射致癌的表观遗传机制的研究仅刚刚起步。本文介绍了表观遗传和一种重要的表观遗传标志——DNA 甲基化的相关概念,并综述了近年来人们对电离辐射诱导的 DNA 甲基化模式改变的研究以及 DNA 甲基化模式改变在辐射致癌机制研究中的意义。

【关键词】 肿瘤, 放射性; DNA 甲基化; 表观遗传

【中图分类号】 Q691.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)04-0240-04

Radiation-induced DNA methylation profile changes and its impact on mechanisms of radiation carcinogenesis

SHI Da-wei, ZHAO Yong-cheng

(Department of Biology, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

【Abstract】 More and more evidence has been accumulated to indicate that epigenetic mechanisms play a important role in carcinogenesis. However, the studies on epigenetic mechanisms of radiation carcinogenesis are at their dawn. Here the related concepts of DNA methylation and epigenetics were introduced, and summarized the studies on radiation-induced DNA methylation changes in recent years and its meaning to radiation carcinogenesis.

【Key words】 Neoplasms, radiation-induced; DNA methylation; Epigenetics

人类基因组计划完成以后,生命科学进入了后基因组时代,人们关注的焦点开始由基因本身转向了基因的表达调控,由遗传转向了表观遗传,这种情况也发生在致癌机制的研究中。越来越多的研究已经表明,表观遗传机制在癌症发生发展中扮演了非常重要的角色,但是对于辐射致癌的表观遗传机制的研究刚刚起步。DNA 甲基化是最早发现的表观遗传标志,而 DNA 甲基化模式改变在各种表观遗传致癌机制中研究得最为深入,本文简要介绍电离辐射诱导的 DNA 甲基化模式改变及其在辐射致癌机制研究中的意义。

1 DNA 甲基化和表观遗传学

1.1 表观遗传学及其相关概念^[1-3]

表观遗传学(epigenetics) 首先由 Waddington CH

于 1939 年提出,后经发展和补充而逐渐形成目前普遍接受的概念,即:不涉及 DNA 序列改变的可遗传(通过有丝分裂或减数分裂至少传递一代)的基因表达的变化被称为表观遗传改变(epigenetic changes),而研究这种变化的科学称为表观遗传学,也有翻译成表(现)遗传学、外(因)遗传学、外区遗传学、后生遗传学、后成遗传学、拟遗传学等的。表观遗传调控的分子机制主要包括:DNA 碱基修饰、组蛋白修饰、染色质重塑和 RNA 干扰等,其中 DNA 碱基修饰又包括:DNA 甲基化、DNA 乙酰化、DNA 磷酸化等,其中对 DNA 甲基化研究得最早也最深入。

1.2 DNA 甲基化

1.2.1 DNA 甲基化和 DNA 甲基转移酶(DNA methyl-transferase, DNMT)^[4]

DNA 甲基化通常是指发生在复制后由 DNMT 诱导的 DNA 胞嘧啶的 C-5 位与甲基的共价结合。在哺乳动物细胞中 5-甲基胞嘧啶是最常见的形式,目前也研究得最清楚。DNA 甲基化多发生在 CpG 二核苷

作者单位: 300192 天津, 中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所生物学研究室

通讯作者: 石大伟 (E-mail: davidstone340@yahoo.com)

酸对的胞嘧啶上, CpG 二核苷酸对多聚集成 CpG 岛, 而基因组中有一半的基因 5' 非编码区有 CpG 岛。

DNA 甲基化主要由一系列 DNMT 来完成, 目前已发现的主要 DNMT 包括: DNMT1, DNMT2, DNMT3a 和 DNMT3b。DNMT1 的主要功能是在 DNA 复制时, 按照亲本链的甲基化模式对新合成的 DNA 单链进行甲基化, 使新合成的 DNA 链具有与亲代 DNA 链相同的甲基化模式, 从而使这种表观遗传信息得以在细胞和个体世代间传递; DNMT3a 和 DNMT3b 的主要作用是在胚胎发育和细胞分化时, 将未甲基化或者被去甲基化的 DNA 甲基化; DNMT2 的功能仍不清楚。

1.2.2 DNA 甲基化的机制

目前认为, 机体通过四氢叶酸和甲硫氨酸代谢循环最终生成 S₂-腺苷酰甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM), 并将其作为甲基供体为 DNMT 提供甲基, 然后 DNMT 将 SAM 上的甲基转移到 DNA 分子中胞嘧啶残基的第 5 位碳原子上, 生成 5-甲基胞嘧啶(见图 1)^[9]。

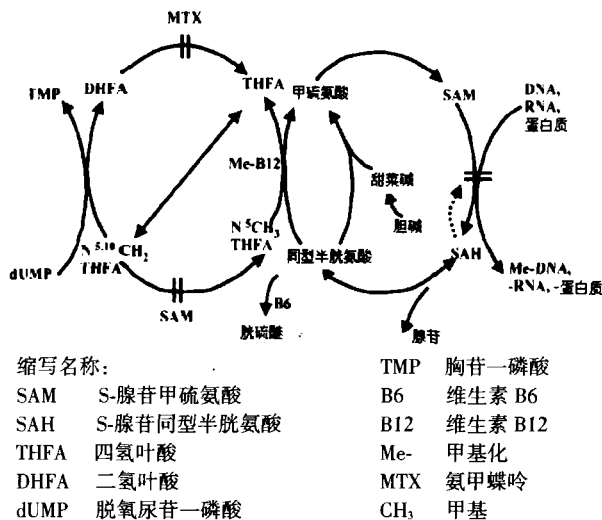


图 1 DNA 甲基化的生化代谢途径

1.2.3 DNA 甲基化模式

DNA 甲基化模式包括: 基因组 DNA 甲基化水平和特定基因的启动子区 CpG 岛的 DNA 甲基化状态。目前认为, 基因组 DNA、癌基因启动子区 CpG 岛的低甲基化和抑癌基因启动子区 CpG 岛的高甲基化等 DNA 甲基化模式的改变与癌症相关^[9]。

2 电离辐射诱导的 DNA 甲基化模式改变及其特点

许多研究证实, 电离辐射可以诱导 DNA 甲基

化模式发生改变。由于 DNA 甲基化测定技术的限制, 目前对于电离辐射诱导的 DNA 甲基化模式改变的研究多集中在辐射诱导的基因组 DNA 甲基化水平的改变, 而研究电离辐射诱导对特定基因的启动子区 CpG 岛的 DNA 甲基化状态影响的非常少。研究者们发现, 电离辐射诱导的基因组 DNA 甲基化水平改变(绝大多数情况下为低甲基化)的程度具有组织、性别、照射剂量和射线类型差异。此外, 辐射诱导的基因组 DNA 低甲基化具有一定的持续性, 在 DNA 损伤已被修复后仍能存在一个月以上。

Kalinich 等^[7]于 1989 年第一次较明确地阐明了电离辐射诱导的基因组 DNA 甲基化水平改变与电离辐射间的关系。他们使用不同剂量的 γ 射线急性照射四种体外培养的细胞系(CHO K-1, HeLa S-3, C-1300 N1E-115 和 V79A03), 并在照射后 24 h、48 h 和 72 h 测定细胞基因组 DNA 甲基化水平, 发现在 10 Gy 照射后所有细胞的基因组 DNA 甲基化水平在不同时间的观察点都出现了剂量依赖的下降, 且在 10 Gy 照射后 48 h 时下降最大; 但是在 1~5 Gy 照射后 24 h, 来源于上皮组织的 CHO K-1 和 HeLa S-3 细胞的基因组 DNA 甲基化水平出现了一个平台, 而来源于成神经组织的 C-1300 N1E-115 细胞是在 5~10 Gy 出现平台, 来源于成纤维组织的 V79A03 细胞始终没有出现平台。

Pogribny 等^[8]于 2003 年进行了一系列的体内动物实验(C57/Bl 小鼠), 较为系统地探讨了不同条件下 X 射线照射诱导的不同组织基因组 DNA 甲基化水平改变的特点。他们发现, 在不同剂量(0, 0.5, 1, 2.5, 5 Gy)急性照射时, 雄性和雌性小鼠脾组织中基因组 DNA 甲基化水平均显著地下降并有较好的剂量依赖性, 但是在肝组织中这种情况仅发生在雌性, 在肺组织中则无论雄性还是雌性都没有任何显著性改变; 他们还发现慢性大剂量(0.5Gy/d, 10 d)间断照射在肝和脾组织没有产生任何影响。但是在另一项研究中, 慢性小剂量(0.05 Gy/d, 10d)间断照射导致雄性肌肉组织中基因组 DNA 甲基化水平显著下降, 而肝组织中则没有^[9]。

在肝和脾组织中, 基因组 DNA 甲基化水平下降程度都是雌性大于雄性^[8, 10, 11]。相反的是, 在甲状腺组织中, 虽然小剂量急慢性照射对雄性和雌性均有显著降低作用, 但是慢性小剂量间断照射诱导的雄性小鼠 DNA 甲基化水平下降显著大于同类型照

射的雌性和急性照射的同性别小鼠^[12]。急性大剂量照射诱导的肝脾组织的 DNA 低甲基化在照射后一个月均恢复,与对照相比没有显著差异。大剂量 X 射线照射对于肺组织基因组 DNA 甲基化水平的影响是远后效应,照射后 6 h 没有显著变化,一个月后甲基化水平却显著下降,而且雄性更明显^[9]。在另一研究中,急慢性大剂量照射诱导的甲状腺组织 DNA 低甲基化可以持续一个月,而同时研究的肌肉组织 DNA 甲基化则与对照相比没有显著差异^[10]。

有流行病学研究报道,小剂量长时间照射的肿瘤患者的肿瘤组织与对照相比,其 P16INK4a 基因启动子区有高甲基化和基因低表达^[13]。

3 电离辐射诱导 DNA 甲基化模式改变的可能机制

电离辐射导致基因组 DNA 低甲基化可能通过两种机制:① 电离辐射诱导的 DNA 损伤修复;② 电离辐射诱导的 DNMT 表达量和(或)活性下降。

3.1 电离辐射诱导的 DNA 损伤修复

动物实验发现,急性大剂量电离辐射诱导的脾和肝组织的 DNA 甲基化水平同电离辐射诱导的 DNA 损伤呈很好的负相关(雌性小鼠脾: $r=-0.99$; 雄性小鼠脾: $r=-0.94$; 雌性小鼠肝: $r=-0.83$; 雄性小鼠肝: $r=-0.99$)^[9]。在甲状腺不同类型的照射所诱导的基因组 DNA 低甲基化也伴随 DNA 损伤,而电离辐射诱导的甲状腺 DNA 低甲基化在大部分 DNA 损伤已经被修复后仍存在^[10]。有证据表明, DNA 链断裂、尿嘧啶错误掺入和 DNA 损伤修复常与 DNA 低甲基化有关^[14],而人淋巴细胞中叶酸缺乏诱导的 DNA 损伤先于 DNA 低甲基化出现^[15],因此可以认为电离辐射产生的 DNA 遗传毒性损伤的累积导致了 DNA 低甲基化。电离辐射导致的各种类型的 DNA 损伤可能直接或者间接地干扰 DNA 甲基化过程而进一步地导致 DNA 低甲基化^[16]。DNA 链断裂是电离辐射导致的 DNA 损伤的主要形式^[17],它可以通过重组修复或长片段切除修复而被有效修复,而在这两种修复过程中都存在 DNA 聚合酶将原本的甲基胞嘧啶替换成胞嘧啶的可能,从而使基因组甲基数量降低,导致 DNA 低甲基化^[9]。根据以上证据, Kovalchuk 的研究小组认为,电离辐射诱导的 DNA 损伤修复过程可能是基因组 DNA 低甲基化的一个机制^[7,9,11]。

3.2 电离辐射诱导的 DNMT 表达量和(或)活性下降^[11]

电离辐射可以导致多种 DNA 损伤,而 DNA 损

伤产物(如: DNA 加合物 8-羟基-2-脱氧甘氨酸)会影响 DNMT 甲基化的能力^[18,19], DNMT 活性的异常又会导致 DNA 甲基化的紊乱^[9]。因此,电离辐射诱导的 DNMT 表达量和(或)活性下降可能是基因组 DNA 低甲基化的一个机制。但是,各种 DNMT 在电离辐射诱导的 DNA 低甲基化中的具体作用和相互关系仍然不清^[12]。

3.3 其他可能机制

Kalinich 等^[7]发现,电离辐射可以导致细胞核内 DNMT 活性下降而同时细胞质中 DNMT 升高,并提出可能是电离辐射影响了核膜的包被能力或核孔复合体的功能,从而使核内的 DNMT “漏”到了细胞质内,或者细胞质内新合成的 DNMT 进入核内异常。但是这个假设没有人进一步验证。

4 电离辐射诱导 DNA 甲基化模式改变对于辐射致癌机制研究的意义和展望^[19]

DNA 甲基化改变在肿瘤发生发展过程中起重要作用, DNA 低甲基化在癌变前期的组织和肿瘤中经常被发现。小鼠在被人为诱导发生 DNA 低甲基化后发生肿瘤,这说明 DNA 低甲基化与肿瘤发生有一定的因果关系^[9]。基因组的广泛低甲基化、癌基因调控区的低甲基化和抑癌基因调控区的高甲基化被认为与癌症发生和进展相关^[9]。

慢性小剂量电离辐射可以导致严重的基因组不稳定继而导致癌症,但是其机制不清。近年来有许多研究指出,基因组不稳定性是电离辐射致癌的机制之一,基因组不稳定性有向子代细胞传递的能力^[21],这提示基因组不稳定性与表观遗传有关^[9]。

基因组 DNA 低甲基化已经被证明与基因组不稳定性增加有关^[22,23],并常常被认为是基因组不稳定的标志^[24]。研究发现,慢性小剂量间断电离辐射能导致 DNA 低甲基化而慢性大剂量则不能^[9]。因此, DNA 甲基化模式改变对于解释慢性小剂量电离辐射更易导致基因组不稳定进而导致癌症的机制具有重要意义。

脾和甲状腺是电离辐射的靶器官,而电离辐射诱导的 DNA 低甲基化在脾和甲状腺较其他组织更为显著^[8,10]。因此,研究靶器官的 DNA 甲基化改变有助于理解电离辐射对于靶器官的特异选择性。研究发现,电离辐射造成的甲状腺 DNA 损伤被修复后 DNA 低甲基化仍然存在,这种持续存在的 DNA 低甲

甲基化反过来影响了基因组 DNA 重排的频率^[10]。进一步的研究发现,小鼠甲状腺淋巴瘤中抑癌基因 *Rit1/Bcl11b* 纯和缺失频率增高不是电离辐射直接作用的结果,而是通过某种未知的间接机制^[23]。另一方面, DNA 低甲基化又与染色体缺失、突变和基因组不稳定有关^[24,25]。因此,上述基因组重排的增加可能与表观遗传改变,特别是 DNA 低甲基化有关^[10]。

总之, DNA 甲基化模式改变对于深入理解辐射的致癌机制有重要意义。今后,我们应该进一步研究其他照射剂量、射线种类和性激素对于 DNA 甲基化的影响,以及 DNA 甲基化同组蛋白、DNA 甲基化结合因子的相互作用在辐射致癌过程中的意义^[12]。虽然目前的研究中存在一些难以解释的结果,但是我们对于辐射诱导 DNA 甲基化的研究前景充满乐观。现在我们已经可以预见到 DNA 甲基化模式改变的一些应用,如:抑制 DNMT 表达的下降可保护细胞而使其减少发生 DNA 低甲基化和基因组不稳定可能是预防肿瘤的一个新途径^[11];检测 DNA 甲基化水平可作为基因组不稳定性诊断和早期细胞恶变的生物标志物^[8]。

参 考 文 献

- 1 Wu C, Morris JR. Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence. *Science*, 2001, 293(5532): 1103-1105.
- 2 薛开先. 肿瘤表观遗传学研究的进展. 国外医学遗传学分册, 2003, 26(1): 1-5.
- 3 Feinberg AP. Cancer epigenetics takes center stage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(2): 392-394.
- 4 Hermann A, Gowher H, Jeltsch A. Biochemistry and biology of mammalian DNA methyltransferases. *Cell Mol Life Sci*, 2004, 61(19-20): 2571-2587.
- 5 Poirier LA. The effects of diet, genetics and chemicals on toxicity and aberrant DNA methylation: an introduction. *J Nutr*, 2002, 132(8 Suppl): 2336S-2339S.
- 6 Laird PW. The power and the promise of DNA methylation markers. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(4): 253-266.
- 7 Kalinich JF, Catravas GN, Snyder SL. The effect of gamma radiation on DNA methylation. *Radiat Res*, 1989, 117(2): 185-197.
- 8 Pogribny I, Raiche J, Slovack M, et al. Dose-dependence, sex- and tissue-specificity, and persistence of radiation-induced genomic DNA methylation changes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 320(4): 1253-1261.
- 9 Kovalchuk O, Burke P, Besplug J, et al. Methylation changes in muscle and liver tissues of male and female mice exposed to acute and chronic low-dose X-ray-irradiation. *Mutat Res*, 2004, 548(1-2): 75-84.
- 10 Koturbash I, Pogribny I, Kovalchuk O. Stable loss of global DNA methylation in the radiation-target tissue—a possible mechanism contributing to radiation carcinogenesis?. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 337(2): 526-533.
- 11 Raiche J, Rodriguez-Juarez R, Pogribny I, et al. Sex- and tissue-specific expression of maintenance and de novo DNA methyltransferases upon low dose X-irradiation in mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 325(1): 39-47.
- 12 Pogribny I, Koturbash I, Tryndyak V, et al. Fractionated low-dose radiation exposure leads to accumulation of DNA damage and profound alterations in DNA and histone methylation in the murine thymus. *Mol Cancer Res*, 2005, 3(10): 553-561.
- 13 Romanenko A, Morell-Quadreny L, Lopez-Guerrero JA, et al. P16INK4A and p15INK4B gene alteration associated with oxidative stress in renal cell carcinomas after the chernobyl accident (pilot study). *Diagn Mol Pathol*, 2002, 11(3): 163-169.
- 14 Duthie SJ, Narayanan S, Blum S, et al. Folate deficiency in vitro induces uracil misincorporation and DNA hypomethylation and inhibits DNA excision repair in immortalized normal human colon epithelial cells. *Nutr Cancer*, 2000, 37(2): 245-251.
- 15 Pogribna M, Pogribny IP, James SJ. DNA lesions induced by folate/methyl deficiency in vitro precede DNA hypomethylation in human lymphocytes. *FASEB J*, 1999, 13: A1452.
- 16 Cerda S, Weitzman SA. Influence of oxygen radical injury on DNA methylation. *Mutat Res*, 1997, 386(2): 141-152.
- 17 Huang L, Snyder AR, Morgan WF. Radiation-induced genomic instability and its implications for radiation carcinogenesis. *Oncogene*, 2003, 22(37): 5848-5854.
- 18 Panayiotidis MI, Rancourt RC, Allen CB, et al. Hyperoxia-induced DNA damage causes decreased DNA methylation in human lung epithelial-like A549 cells. *Antioxid Redox Signal*, 2004, 6(1): 129-136.
- 19 Turk PW, Laayoun A, Smith SS, et al. DNA adduct 8-hydroxyl-2'-deoxyguanosine (8-hydroxyguanine) affects function of human DNA methyltransferase. *Carcinogenesis*, 1995, 16(5): 1253-1255.
- 20 Gaudet F, Hodgson JG, Eden A, et al. Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation. *Science*, 2003, 300(5618): 489-492.
- 21 Morgan WF. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: II. Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vivo, clastogenic factors and transgenerational effects. *Radiat Res*, 2003, 159(5): 581-596.
- 22 Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instability in colorectal cancers. *Nature*, 1997, 386(6625): 623-627.
- 23 Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*, 2003, 33(Suppl): 245-254.
- 24 Chen RZ, Pettersson U, Beard C, et al. DNA hypomethylation leads to elevated mutation rates. *Nature*, 1998, 395(6697): 89-93.
- 25 Sakata J, Inoue J, Ohi H, et al. Involvement of V(D)J recombinase in the generation of intragenic deletions in the *Rit1/Bcl11b* tumor suppressor gene in gamma-ray-induced thymic lymphomas and in normal thymus of the mouse. *Carcinogenesis*, 2004, 25(6): 1069-1075.

(收稿日期: 2006-02-08)