

# 环境、肿瘤和表观遗传学

HUANJING ZHONGLIU HE  
BIAOGUAN YICHUANXUE

杨 瑾 / 著



军事医学科学出版社

# 环境、肿瘤和表观遗传学

杨 瑾 著

军事医学科学出版社

· 北 京 ·

---

**图书在版编目(CIP)数据**

环境、肿瘤和表观遗传学 / 杨瑾著.

—北京: 军事医学科学出版社, 2013.11

ISBN 978-7-80245-683-9

I. ①环… II. ①杨… III. ①环境毒理学-关系-医学遗传学  
②肿瘤-关系-医学遗传学 IV. ①R994.6 ②R394 ③R73

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第018501号

---

策划编辑: 孙宇

责任编辑: 曹继荣

出版人: 孙宇

出版: 军事医学科学出版社

地址: 北京市海淀区太平路27号

邮编: 100850

联系电话: 发行部: (010) 66931049

编辑部: (010) 66931127, 66931039, 66931104

传真: (010) 63801284

网址: <http://www.mmsp.cn>

印装: 北京宏伟双华印刷有限公司

发行: 新华书店

---

开本: 710mm × 1000mm 1/16

印张: 12.5 (彩6)

字数: 224千字

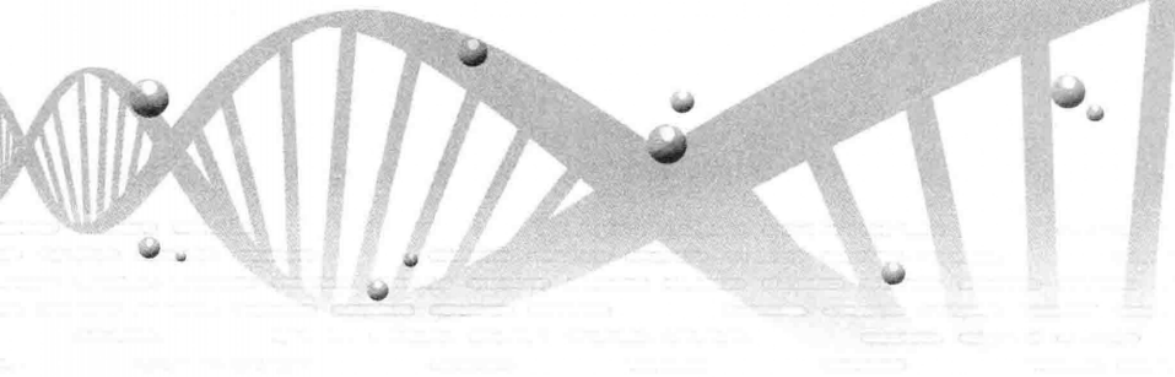
版次: 2014年5月第1版

印次: 2014年5月第1次

定价: 50.00元

---

本社图书凡缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换



## 前 言

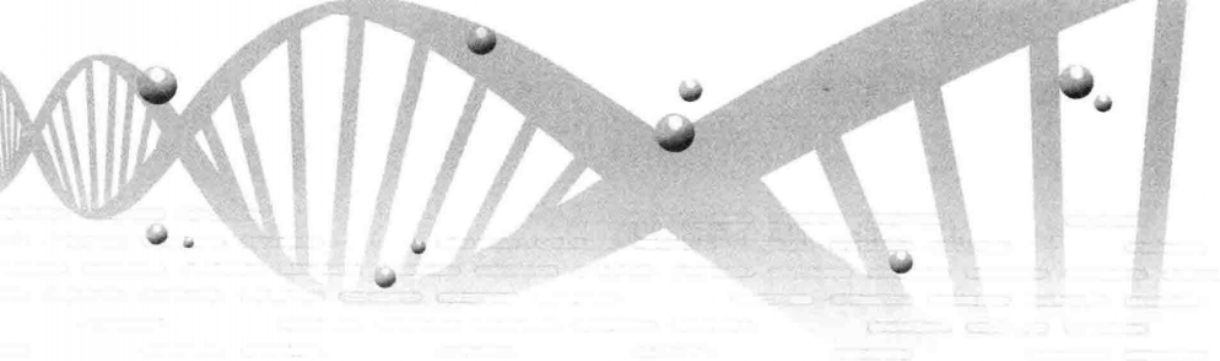
在后基因组时代，基因的定义已经不限于“编码蛋白质的 DNA 序列”。表观遗传学是针对不涉及到 DNA 序列变化而表现为 DNA 甲基化谱、染色质结构状态和基因表达谱在细胞代间传递的遗传现象的一门科学。高等真核生物的正常发育取决于表观遗传学调控机制准确无误地运行。该机制的失误可引起包括肿瘤和神经退行性病变在内的多种疾病。表观遗传修饰是近年来生命科学的重大发现和热点之一，它主要包括 DNA 甲基化与组蛋白的共价修饰。表观遗传学已经进入主流生物学，并且推动了遗传学新的发展，已成为许多生命科学领域的研究前沿。近年来如此重视表观遗传学研究，不仅是因为它对医学和农业可能有重要的意义，而且还提供了评价遗传和进化的新观点。

编写这本《环境、肿瘤和表观遗传学》旨在介绍近年来表观遗传学研究现状和发展趋势，从而为推动生命科学各领域表观遗传学研究发展贡献微薄之力。本书共包括 7 章，系统地介绍了表观遗传学的基本概念、发展历史、表观遗传现象及其机制，同时描述了表观遗传学与环境、肿瘤发生发展等的关系。本书作者将自己的研究成果和国内外研究现状联系，比较系统地反映了表观遗传在环境和肿瘤领域的研究热点和成就。作者热切地期望该书能为环境毒理学领域的科研工作者、医学工作者和学生提供有价值的知识体系和参考信息。由于这一领域发展较为迅速，本书肯定存在诸多不足之处，敬请各位读者批评指正。

作者的研究在国家自然科学基金（30901180，81273041）和山西省自然科学基金（2009021044-1）的资助下完成，在此一并表示感谢！

杨 瑾

2013 年 11 月



# 目 录 / CONTENTS

<b>第一章 绪 论</b> .....	1
第一节 后基因组时代带来的挑战 .....	1
第二节 表观遗传学研究内容 .....	4
第三节 表观遗传学对医学的影响 .....	8
<b>第二章 DNA甲基化</b> .....	14
第一节 DNA甲基化 .....	14
第二节 DNA去甲基化 .....	16
第三节 真核生物的DNA甲基转移酶 .....	21
第四节 DNA甲基化检测技术 .....	22
<b>第三章 组蛋白修饰</b> .....	31
第一节 组蛋白的甲基化 .....	32
第二节 组蛋白的乙酰化 .....	33
第三节 组蛋白的磷酸化 .....	36
第四节 组蛋白的泛素化 .....	38
第五节 组蛋白的SUMO化 .....	40
第六节 组蛋白修饰组合模式 .....	41
<b>第四章 染色质重塑</b> .....	49
第一节 核小体的定位 .....	49
第二节 染色质重塑 .....	54
第三节 染色质重塑与基因表达调控 .....	59



<b>第五章 siRNA和miRNA介导的调控</b> .....	<b>66</b>
第一节 概 述 .....	66
第二节 siRNA的作用机制及功能研究进展 .....	68
第三节 miRNA的作用机制及研究进展 .....	77
<b>第六章 表观遗传学与环境</b> .....	<b>94</b>
第一节 概 述 .....	95
第二节 苯并芘致DNA损伤修复的机制研究 .....	96
第三节 镍的表观遗传学效应 .....	125
第四节 砷的表观遗传学效应 .....	156
第五节 环境中其他物质的表观遗传学效应 .....	163
<b>第七章 肿瘤的表观遗传学</b> .....	<b>171</b>
第一节 DNA甲基化与肿瘤 .....	171
第二节 组蛋白修饰与肿瘤 .....	177
第三节 miRNA和肿瘤 .....	185



# 第一章 绪论

## 第一节 后基因组时代带来的挑战

从 DNA 双螺旋结构模型提出至今已经经过了半个多世纪，分子生物学取得了一系列令人瞩目的成就，尤其是人类基因组草图正式发表这一里程碑事件，推动了生命科学的进一步发展。科学家试图比较多个物种的基因组序列来揭示生物体生长、发育、进化的规律。然而科学的结论往往超出人们的想象，科学的每一次进步都在对以前的理论进行修正和完善。

### 一、基因概念的延伸

#### 1. 经典基因概念

从孟德尔定律的发现到现在，一百多年来人们对基因的认识在不断地深化。1866 年，奥地利学者 G. J. 孟德尔在他的豌豆杂交实验论文中，用大写字母 A、B 等代表显性性状如圆粒、子叶黄色等，用小写字母 a、b 等代表隐性性状如皱粒、子叶绿色等。他并没有严格地区分所观察到的性状和控制这些性状的遗传因子。但是从他用这些符号所表示的杂交结果来看，这些符号正是在形式上代表着基因，而且至今在遗传学的分析中为了方便起见仍沿用它们来代表基因。

20 世纪初孟德尔的工作被重新发现以后，他的定律又在许多动植物中得到验证。1909 年丹麦学者 W. L. 约翰森提出了基因这一名词，用它来指任何一种生物中控制任何性状而其遗传规律又符合于孟德尔定律的遗传因子，并且提出基因型和表现型这两个术语，前者是一个生物的基因成分，后者是这些基因所表现的性状。

1910 年美国遗传学家兼胚胎学家 T. H. 摩尔根在果蝇中发现白色复眼（white eye, W）突变型，首先说明基因可以发生突变，而且由此可以知道野生型基因 W<sup>+</sup> 具有使果蝇的复眼发育成为红色这一生理功能。1911 年摩尔根又在果蝇的 X 连锁基因白眼和短翅两品系的杂交子二代中，发现了白眼、短翅果蝇和正常的



红眼长翅果蝇，首先指出位于同一染色体上的两个基因可以通过染色体交换而分处在两个同源染色体上。交换是一个普遍存在的遗传现象，不过直到 20 世纪 40 年代中期为止，还从来没有发现过交换发生在一个基因内部的现象。因此当时认为一个基因是一个功能单位，也是一个突变单位和一个交换单位。

20 世纪 40 年代以前，人们对基因的化学本质并不了解。直到 1944 年 O. T. 埃弗里等证实肺炎双球菌的转化因子是 DNA，才首次用实验证明了基因是由 DNA 构成。

1955 年 S. 本泽用大肠埃希菌 T4 噬菌体作材料，研究快速溶菌突变型 r II 的基因精细结构，发现在一个基因内部的许多位点上可以发生突变，并且可以在这些位点之间发生交换，从而说明一个基因是一个功能单位，但并不是一个突变单位和交换单位，因为一个基因可以包括许多突变单位（突变子）和许多重组单位（重组子）。

1969 年 J. 夏皮罗等从大肠埃希菌中分离到乳糖操纵子，并且使它在离体条件下进行转录，证实了一个基因可以离开染色体而独立地发挥作用，于是颗粒性的遗传概念更加确立。随着重组 DNA 技术和核酸的顺序分析技术的发展，人们对基因的认识又有了新的发展，主要是发现了重叠的基因、断裂的基因和可以移动位置的基因。

### 2. 后基因组时代基因概念的延伸

整个人类基因组计划的完成过程就像一个由粗到细的画图过程，先画好框架，再画草图，再对草图进行加工，越画越细致。2000 年 6 月 26 日，参与“国际人类基因组计划”的美、英、日、法、德、中 6 个国家 16 个研究中心联合宣布人类基因组“工作框架图”画好了。人类基因组“工作框架图”是覆盖人的大部分基因组，准确率超过 90% 的 DNA 序列图。从这一时刻开始，人类真正认识了自己，从此人类历史进入了一个崭新的时代——后基因组时代。

在后基因组时代，基因的定义已经不限于“编码蛋白质的 DNA 序列”。人类蛋白质的编码序列仅占全基因组序列的 3% ~ 5%，另外许多 RNA “基因”仅以 RNA 形式发挥明确的生理功能，却并不编码任何蛋白质。还有一类操纵基因，它们没有转录作用和翻译产物，仅起着控制和操纵基因活动的作用。这些碱基序列简单重复，不编码蛋白质，但在真核细胞中这些片段的数量可以很大，甚至占全基因组序列的 55% 以上。这些重复碱基片段的功能目前还不十分清楚，可能与某些基因活动的调节和染色体结构的稳定性有关。因此，应该把基因看作是 DNA 分子上具有特定功能的（或具有一定遗传效应）核苷酸序列，而不仅仅是编码蛋白质的 DNA 序列。



与此同时，蛋白质组学研究的深入使人们对基因概念再度反思。组成蛋白质的氨基酸有 20 种，远远多于组成脱氧核糖核酸的 4 种碱基，蛋白质多种多样，几乎执行着生物体的所有功能，蛋白质不仅参与生物组织和器官的组成，还可以作为酶来催化调节生物体的各种代谢活动，并与特异的 DNA 或 RNA 序列结合以调节基因的表达，维持生命活动有条不紊的进行。在确定人类含有 27 000 条基因的同时发现人类含有大约 10 万种蛋白质，显示了蛋白质水平上基因表达的多样性。另外通过基因组比较发现，人类的基因与其他脊椎动物相似，这远远少于人们的估计，尽管由于 mRNA 的可变剪接可使蛋白质种类增加一些，但不同物种的编码蛋白质相当保守，从蛋白质水平讲，它不足以表示物种的复杂性和个体表现出来的差异。例如，大约 99% 的人类蛋白质在小鼠中能找到它的类似物，甚至许多人类蛋白质在结构上和功能上与一些无脊椎动物相似；人类基因组序列在个体水平上有 300 万个（0.1%）碱基差异，而编码蛋白质的基因突变只有 2 万个，这些突变大多是不影响蛋白质氨基酸序列的无效突变。科学家们也发现，即使基因的表达也具有时间和空间的特异性，在基因的 DNA 序列没有发生改变的情况下，基因功能发生了可遗传的变化，并最终导致了表型的变化。例如，基因沉默、X 染色体剂量补偿、DNA 甲基化、基因组印记等表观遗传现象，都不符合孟德尔遗传规律的核内遗传，但这些特性使得细胞核生物体在保持遗传稳定性的同时能够更好地适应环境。

上述研究的进展可将基因定义为“不仅仅是遗传的基本功能单位，更应该是遗传信息贮存和加工的单元”。21 世纪基因的概念将有可能随“表观遗传学”的发展而进一步拓展，人们也将能更准确、更全面地揭示生物遗传编译的本质规律。

## 二、表观遗传学发展的历史和趋势

### 1. 表观遗传学的发展历史

表观遗传学（epigenetics）由 C. H. Waddington 于 1942 年作为一个后生论和遗传学的合词而提出。后生论是一个很古老的概念，现在更多的用来描述胚胎发育过程中细胞的分化源自干细胞的全能状态。当 Waddington 提出这个词语时，当时对基因的物理性质及其在遗传中的作用还不清楚，他使用此词语表示基因可能与环境相互作用产生表现型的一个概念模型。

Robin Holliday 将表观遗传学定义为“在复杂有机体的发育过程中，基因活性在时间和空间中调控机制的研究”。因此，后生论也可用来描述任何影响有机体发育的因素，而不仅仅是 DNA 序列。



目前在科学界对此词有了更严格的定义。Arthur Riggs 及其同事将其定义为，一项关于能引起可遗传的基因功能改变的有丝分裂和（或）减数分裂的研究，而这些变化是 DNA 序列的改变无法解释的。表观遗传学的希腊语前缀 epi- 意味着“在……之上”或“除……之外”，因此表观遗传学特征是传统的分子水平的遗传之上或之外的遗传。

## 2. 表观遗传学的发展趋势

从遗传学角度来看，同卵双生的孪生子具有完全相同的基因组。如果这两个孪生子在同样的环境下成长，从逻辑上讲，两个人的气质和体质应该非常相似。但是一些孪生子长大成人后往往在性格、健康和疾病易感性等诸多方面有着很大差异，这种现象长期困扰着遗传学家。现在科学家们发现，可以在不影响 DNA 序列的情况下改变基因组的修饰，这种改变不仅可以影响个体发育，而且可以遗传下去。因此这类变异被称为“表观遗传修饰”，并被认为是导致遗传物质一致的孪生子出现个体差异的主要原因。

表观遗传学是针对不涉及 DNA 序列变化而表现为 DNA 甲基化谱、染色质结构状态和基因表达谱在细胞代间传递的遗传现象的一门科学。高等真核生物的正常发育取决于表观遗传学调控机制准确无误地运行。该机制的失误可引起包括肿瘤和神经退行性病变在内的多种疾病。表观遗传修饰是近年来生命科学的重大发现和研究热点之一，它主要包括 DNA 甲基化与组蛋白的共价修饰。表观遗传学已经进入主流生物学，并且推动了遗传学新的发展，已成为许多生命科学领域的研究前沿。近年来如此重视表观遗传学研究，不仅是因为它对医学和农业可能有重要的意义，而且还提供了评价遗传和进化的新观点。

## 第二节 表观遗传学研究内容

真核基因的表达受细胞核内、外多层次的调节，呈现多级调控，包括遗传调控（genetic regulation）和表观遗传调控（epigenetic regulation）。遗传调控包括基因转录、转录后加工、翻译以及翻译后修饰等环节，其中转录水平的调控是真核生物遗传信息传递过程中第一个具有高度选择的环节。在遗传调控过程中，反式作用因子与顺式作用元件间的相互作用是构成基因表达调控网络的基础。表观遗传调控是指转录前基因在染色质水平上的结构调整，它是真核基因组一种独特的调控机制，所以表观遗传调控又被称为以染色质为基础的基因表达调控。

广义上讲，DNA 甲基化、基因沉默、基因组印记、染色质重塑、RNA 剪接、RNA 编辑、RNA 干扰、X 染色体失活、组蛋白修饰、蛋白质剪接和蛋白质翻译

后修饰等均可归为表观遗传范畴。表观遗传学研究的具体内容则主要分为两大类：①基因选择性转录表达的调控；②基因转录后的调控。

## 一、基因选择性转录表达的调控

表观遗传学一般是研究在没有 DNA 序列改变情况下发生的可遗传的基因功能变化，主要是研究为什么作用于亲代的环境因素可以造成子代基因表达方式的改变。

### 1. DNA 甲基化

DNA 甲基化是由 DNA 甲基转移酶催化 S-腺苷甲硫氨酸作为甲基供体，将胞嘧啶转变为 5-甲基胞嘧啶 (mC) 的反应，在真核生物 DNA 中，5-甲基胞嘧啶是唯一存在的化学性修饰碱基。DNA 甲基化主要发生在 CpG 岛上，如果这些区域甲基化，将会导致该基因稳定的转录沉寂。异常 CpG 重新甲基化，被认为是人类癌症发生早期的一个特征。

### 2. 基因印记

经典孟德尔遗传学认为所有父系及母系等位基因有同等表达，但基因印记现象打破了这种平衡，它指在配子或合子发生期间，来自亲本的等位基因或染色体在发育过程中产生专一性的加工修饰，导致后代体细胞中两个亲本来源的等位基因有不同的表达方式，又称遗传印记或配子印记。它是一种伴有基因组改变的非孟德尔遗传形式，可遗传给子代细胞，但并不包括 DNA 序列的改变。

### 3. 组蛋白共价修饰

组蛋白是真核生物染色体的基本结构蛋白，是一类小分子碱性蛋白质，有 5 种类型：H1、H2A、H2B、H3、H4，它们富含带正电荷的碱性氨基酸，能够同 DNA 中带负电荷的磷酸基团相互作用。组蛋白的共价修饰可通过影响组蛋白与 DNA 双链的亲水性，从而改变染色质的松散或凝集状态，使 DNA 双链变得可以被基因调控蛋白作用，来调节基因的表达。组蛋白修饰信息称为组蛋白密码 (histone code)，所有这些组蛋白密码组合变化非常多。因此，组蛋白共价修饰可能是更为精确的基因表达方式。

(1) 组蛋白甲基化：组蛋白甲基化是由组蛋白甲基转移酶 (histone methyltransferases) 催化完成的，甲基化发生在 H3 和 H4 组蛋白 N 端精氨酸或者赖氨酸残基上的甲基化。目前发现 24 个组蛋白甲基化位点，甲基化可以是单位点、双位点或三位点。生物体则以组蛋白密码的方式发挥着各种生物功能。真核模型系统中，组蛋白 H3K4、H3K36、H3K79 甲基化与可遗传转录活力相关。在 K9、K27 发生的赖氨酸甲基化同基因抑制相关。甲基化的 H3K9 被发现与异



染色质蛋白质 -1 结合在着丝粒周围，也见于其他遗传性染色体抑制区域，与着丝粒周围染色质凝集和 X 染色体失活有关。

(2) 组蛋白乙酰化: 组蛋白乙酰化是由组蛋白乙酰基转移酶 (histone acetyltransferase, HACs) 和组蛋白去乙酰化酶 (histone de-acetylase, HDACs) 协调进行的, 主要发生在组蛋白 N 端的赖氨酸。这是真核细胞中非常普遍的一种蛋白修饰方式, 40% ~ 50% 的酵母蛋白会进行 N 端乙酰化, 而在人的细胞中, 这一比例高达 80% ~ 90%, 并且这种修饰方式在进化上是保守的。在人的细胞中, 已经鉴定出了两个 N- $\alpha$ -乙酰基转移酶。人 N- $\alpha$ -乙酰基转移酶的亚基被证实与癌症发生密切相关, 甲状腺乳头状癌和神经母细胞瘤的癌细胞中 N- $\alpha$ -乙酰基转移酶的表达水平过高。

(3) 其他组蛋白修饰方式: 组蛋白除了乙酰化、甲基化修饰还有其他几种方式, 如磷酸化、腺苷酸化、泛素化、ADP 核糖基化等等。这些修饰可能通过两种机制影响染色体的结构与功能。首先, 这些修饰几乎都能改变组蛋白的电荷, 因此改变了组蛋白与 DNA 结合的特性; 其次, 这些修饰能够募集专一蛋白复合物到它们的表面起作用。

#### 4. 染色质重塑

DNA 复制、转录、修复、重组在染色质水平发生, 这些过程中, 染色质重塑 (chromatin remodeling) 可导致核小体位置和结构的变化, 引起染色质变化。ATP 依赖的染色质重塑因子可重新定位核小体, 改变核小体结构, 共价修饰组蛋白。重塑包括多种变化, 一般指染色质特定区域对核酶稳定性的变化。人们发现体内染色质结构重塑存在于基因启动子中, 转录因子 TF 以及染色质重塑因子与启动子上特定位点结合, 引起特定核小体位置的改变 (滑动), 或核小体三维结构的改变, 或两者兼有, 它们都能改变染色质对核酶的敏感性。

染色质重组过程中, 核小体滑动可能是一种重要机制, 它不改变核小体结构, 但改变核小体与 DNA 的结合位置。实验证明, 这种滑动能被核小体上游的“十字形”结构阻断。但“滑动”机制并不能解释所有实验现象。人们推测, 在重组过程中, 还有其他机制如核小体可能与 DNA 分离, 然后核小体经过重排, 结构变化后, 与 DNA 重新组装, 产生新的结构形式, 整个过程是可逆的, 受其他因子调节, 某些因子可决定反应进行方向。

## 二、基因转录后的调控

随着功能基因组学研究的深入, 基因的表达调控研究已经逐渐从单个基因

点、线式的调控拓展到立体层面上多基因、基因簇以至整个基因组的调控网络。基因的表达在转录水平实现调控外，针对 mRNA 的调控机制日益受到重视。当前的研究表明，细胞中短链 RNA 可能充当着保护基因组稳定性的角色，RNA 通过对 DNA 甲基化和组蛋白修饰的指导作用，积极参与了表观遗传调控，但是否就是表观遗传的诱因目前还不清楚。

### 1. 非编码 RNA

非编码 RNA 是指不编码蛋白质的 RNA。其中包括 rRNA、tRNA、snRNA、snoRNA 和 microRNA 等多种已知功能的 RNA，还包括未知功能的 RNA。这些 RNA 的共同特点是都能从基因组上转录而来，但是不翻译成蛋白，在 RNA 水平上就能行使各自的生物学功能了。大量研究数据表明，高等生物多达一半以上的 DNA 转录为 RNA，其中绝大多数为非编码 RNA。有的科学家预言，非编码 RNA 在生物发育的过程中，有着不亚于蛋白质的重要作用。要了解非编码 RNA 的生物功能，也就是要弄清每个细胞类型在特定的时间内所有蛋白和所有非编码 RNAs 的功能以及它们之间、它们和 DNA 之间的相互作用。

### 2. 微小 RNA

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类长度约为 21 nt 的非编码小 RNA。miRNA 基因具有前体折叠形成茎环或类似茎环的二级结构的特点，以单拷贝、多拷贝或基因簇等多种形式存在于基因组中，而且绝大部分定位于基因间隔区，其转录独立于其他基因，并不翻译成蛋白质，且在相近或多物种中具有保守性。miRNA 的主要功能是调节与个体生长、发育、疾病发生过程相关基因的表达，在生物发育过程中发挥着包括早期发育、细胞分化、细胞凋亡、肿瘤生成等多方面的重要作用，研究 miRNA 的表达，尤其对其功能进行研究，对探索生物进化及防治人类疾病具有重要意义。

### 3. 反义 RNA

反义 RNA 是指与 mRNA 互补的 RNA 分子，也包括与其他 RNA 互补的 RNA 分子。由于核糖体不能翻译双链的 RNA，所以反义 RNA 与 mRNA 特异性的互补结合，即抑制了该 mRNA 的翻译。通过反义 RNA 控制 mRNA 的翻译是原核生物基因表达调控的一种方式，最早是在 E. coli 的产肠杆菌素的 Col E1 质粒中发现的，许多实验证明在真核生物中也存在反义 RNA。近几年来通过人工合成反义 RNA 的基因，并将其导入细胞内转录成反义 RNA，即能抑制某特定基因的表达，阻断该基因的功能，有助于了解该基因对细胞生长和分化的作用。同时也暗示了该方法对肿瘤实施基因治疗的可能性。



#### 4. 内含子

内含子 (intron) 是指在转录后的加工中, 从最初的转录产物除去的内部的核苷酸序列。内含子可能含有“旧码”, 就是在进化过程中丧失功能的基因部分。正因为内含子对翻译产物的结构无意义, 它比外显子累积有更多的突变。它们可以转录, 但在基因转录后, 由这些间插序列转录的部分经加工被从初级转录本中准确除去, 才产生有功能的 RNA。内含子的功能现在还没有完全的被探究清楚, 但是估计可能与基因表达的调控有关, 比如在切除一些内含子之后某些基因无法表达或者错误表达。一种说法认为, 内含子对基因的转录具有某种调控作用, 比如增强作用; 另一种说法认为, 内含子可以把不同的外显子组合在一起, 使其形成不同功能的蛋白质。

#### 5. 核糖开关

核糖开关 (riboswitch) 指的是 mRNA 一些非编码区的序列折叠成一定的构象, 这些构象的改变应答于体内的一些代谢分子, 从而通过这些构象的改变达到调节 mRNA 转录的目的。核糖开关主要由两部分组成, 分别是感受外界配体的适体域 (aptamer domain) 和调控基因表达的结构域-表达平台 (expression platform)。两部分的作用机理可简单叙述为, 配体同适体域特异性地结合, 引起适体域构象的变化, 从而影响到表达平台构象的变化, 进而调控基因的表达。

### 第三节 表观遗传学对医学的影响

表观遗传学是研究在不改变 DNA 序列的情况下基因表达发生改变的机制, 从基因序列变异以外因素的作用探索疾病发生的机制, 可能对正确认识肿瘤等人类重大疾病具有更为重要的意义。

#### 一、表观遗传学与肿瘤

过去人们一直认为基因突变对肿瘤的形成具有非常重要的作用, 并相继发现了许多癌基因和抑癌基因。以 DNA 甲基化为代表的表观遗传修饰在肿瘤细胞中经常发生改变。通过对 DNA 甲基化模式的研究, 人们发现肿瘤细胞中存在异常的 DNA 甲基化状态: 基因组整体甲基化水平降低, 导致遗传不稳定性增加; 组织特异性基因的启动子区域出现从头甲基化; 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。

组蛋白修饰同样在肿瘤发生过程中发挥重要作用。通常认为组蛋白氨基末端

赖氨酸残基的高乙酰化与染色质松散及基因转录激活有关，而低乙酰化与基因沉默或抑制有关。研究表明，HDAC 异常结合到特定的启动子区从而抑制正常功能基因的转录可能是恶性肿瘤发生的机制之一。在急性早幼粒细胞白血病中由于染色体易位形成维甲酸受体  $\alpha$  (RAR $\alpha$ ) 融合蛋白 (PML-RAR $\alpha$  或 PLZF-RAR $\alpha$ )，与含有 HDAC 的辅抑制复合物相互作用，造成维甲酸受体  $\alpha$  靶基因的转录抑制，致使粒细胞成熟障碍导致白血病的发生。

## 二、表观遗传学与自身免疫性疾病

表观遗传机制对免疫系统的正常发育和功能有重要的作用。如果外界因素影响使表观遗传在免疫反应中出现不平衡导致基因异常表达，就会使免疫系统紊乱，在有些情况下可以导致自身的先天性免疫疾病的发生。最初关于 DNA 甲基化在自身免疫病中的潜在作用的提示来自于可以导致 DNA 甲基化减少的小化合物的研究，比如 5-aza、胍苯哒嗪及普鲁卡因胺诱导了与自身免疫病相关的症状。这些药物在人类及小鼠模型中都能够诱导 CD4<sup>+</sup>T 细胞的自身反应性和抗核因子的产生。最近发现，用 aza 处理过的细胞转移给小鼠会引起狼疮样疾病。此外，直接应用 5-aza 和普鲁卡因胺在小鼠中引起狼疮样综合征，5-aza 处理的 T 细胞已被证实与来自有活动性狼疮患者的 T 细胞亚群具有表现型及功能上的相似。所有这些数据都指向表观遗传学改变的 T 细胞引起自身免疫的作用。

## 三、表观遗传学与心血管疾病

心血管疾病是发病和致死的最主要原因，这些疾病复杂的发病机制归因于大量遗传和环境因素共同作用，其中表观遗传机制是很重要的方面。

冠心病心绞痛等主要心血管疾病的病理始动原因是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS)。高胆固醇血症会影响染色质结构。研究认为，高半胱氨酸抑制了甲基化供体赖以产生的叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 依赖的甲硫丁氨酸-S-腺蛋氨酸 (S-adenosyl methionine, SAM) 转化过程，从而影响了 DNA 的甲基化反应。DNA 低甲基化对 AS 的恶化作用是促使血管平滑肌细胞 (smooth muscle cells, SMCs) 增殖及纤维沉积，同样外部损伤也会引起新生血管内膜组织 DNA 低甲基化。外周血的低甲基化可使参加免疫和炎性反应的细胞过度增殖从而加重 AS 的炎性反应。所以高半胱氨酸水平、低叶酸及低维生素 B 水平均是引起主动脉





及外周血淋巴细胞（peripheral blood mononuclear cells, PBMC）DNA 低甲基化，从而导致 AS 的危险诱发因素。

目前心血管疾病发展中表观遗传作用包括了两类研究，与叶酸缺乏相关和提高后的高半胱氨酸水平，以及可以预防疾病的重要基因的甲基化和表达沉默。

#### 四、表观遗传学与神经系统疾病

DNA 甲基化的改变、组蛋白修饰、非编码 RNA 的表达都与神经干细胞的稳定性相关，这些表观遗传学的改变可以协调神经干细胞分化过程中各个基因的表达情况。在神经退行性疾病包括亨廷顿病和帕金森病治疗中，去乙酰化酶抑制剂可以促进特定基因的转录，起到神经保护，防止和延缓神经功能失调的作用。miRNA 不仅对神经系统正常发展起着重要作用而且对于神经病理学改变也同等重要。miRNA 通过靶基因的调控，能够对神经细胞生长和分化起到上调和下调的作用，例如 miR-7、miR-122、miR-124 促进神经元细胞的生长，而 miR-9 却抑制神经前体细胞的增殖。miRNA 涉及从维持胚胎干细胞的多能性到建立神经系统的表型等中枢神经系统发展的每一个环节，因此，通过调控 miRNA 的表达能够促进神经系统的发展。

#### 五、表观遗传学与精神疾病

表观遗传与精神疾病的关系尤其是 DNA 甲基化与精神分裂症的关系，引起了研究者的重视，已有不少研究提示 DNA 甲基化参与了精神分裂症的发生。Reelin 是一种正常神经递质、记忆和突触可塑性所必需的蛋白。研究人员发现，在精神分裂症患者大脑中 reelin 的 mRNA 降低了 50%。大脑皮质  $\gamma$ -氨基丁酸能神经元出现 DNMT1 上调，尾状核和核壳的  $\gamma$ -氨基丁酸能神经元也出现 DNMT1 含量的增加和 reelin 的降低。研究已证实，reelin 基因的低活性是与基因启动子区域的超甲基化有关，超甲基化可以抑制精神疾病患者大脑 Reelin 的表达。

甲基化 CpG2 结合蛋白 2（MeCP2）可使组蛋白去乙酰化导致染色质浓缩而失活，其中 Rett 综合征就是 MeCP2 的突变所致。以 Rett 综合征为例，MeCP2 编码了与甲基化的 DNA 结合的蛋白。



## 六、表观遗传学治疗

### 1. DNA 甲基转移酶抑制剂

目前,正在研究开发的 DNMT 抑制剂较多,其化学结构主要有核苷及非核苷两大类,其目的都是激活沉默基因。

核苷类 DNMT 抑制剂能够在 DNA 复制过程中掺入 DNA,然后被 DNA 甲基转移酶识别,通过与 DNMT 半胱氨酸残基上的巯基共价结合从而使酶失活。早期的核苷类似药物在 20 世纪 60 年代合成,即阿扎胞苷(5-azacytidine)和 5-氮杂-2'-脱氧胞苷[又名地西他滨(decitabine)],很小剂量即可诱导细胞分化或抑制 DNA 甲基化。

非核苷类药物包括与 DNMT1 活性部位结合或抑制 DNMT1 表达的小分子药物,与核苷类似物相比,毒性相对较小。其中反义寡核苷酸从根本上抑制 DNMT 的基因表达,从而减少 DNMT 的合成。其中比较成功的例子是 MG-98。

普鲁卡因胺(procainamide)和普鲁卡因(procaine)均为 4-氨基苯甲酸衍生物。通过与 DNA 的 CpG 岛密集区紧密结合,强烈地使超甲基化的 CpG 岛去甲基化,从而使沉默的抑癌基因重新表达,达到治疗肿瘤的目的。

另外,还有天然提取的 DNMT 抑制剂。EGCG 是存在于绿茶中的多酚类化合物,通过非共价地与 DNMT1 的催化活性位点结合,阻碍 DNA 甲基化。

### 2. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂

组蛋白的乙酰化修饰会影响染色体结构和基因表达,但该修饰是可逆的,这为疾病治疗提供了乐观的前景,目前研究最多的是 HDAC 抑制剂(HDACi)。已发现的 HDAC 抑制剂有近百种。它们通过不同官能团发挥 HDAC 抑制活性,恢复基因功能,改变参与细胞存活和分化的蛋白水平。

目前认为,HDACi 的作用机制主要包括:①阻滞细胞周期和促进细胞分化。HDAC 抑制剂通过增加组蛋白乙酰化而上调抑癌基因的表达,尽管受影响的基因只占基因总数的 2%~5%,但仍有重要意义,其中最常见受累及的基因是抑制细胞周期的 p21(WAF1/CIP1)。②诱导肿瘤细胞凋亡。包括选择性地诱导肿瘤细胞凋亡,增加活性氧的产生,线粒体凋亡途径,死亡受体介导的凋亡途径,Bcl-2 家族 BH3 蛋白激活途径诱导凋亡等。③抑制血管生成。研究表明,HDACi 主要通过下调内皮细胞和肿瘤细胞的血管生成相关的基因表达、激活抗血管生成基因表达以及直接阻止内皮细胞的增殖及血管生成,从而抑制肿瘤血管的生成。很多 HDACi 还具有增强放疗效果的特性。

组蛋白去乙酰化酶抑制剂按结构可分为 4 类:①短链脂肪酸(SCFAs),如丁