

高级病理生理学

知识进展及其应用

Advanced Pathophysiology
Knowledge Progress and Application

◎ 陈莹莹 沈岳良 主编



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

高级病理生理学

知识进展及其应用

陈莹莹 沈岳良 主编



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

内容提要

本书共分9章,不仅有疾病的基础病理生理学内容,如表观遗传学、细胞因子与疾病、自由基与疾病、肿瘤和代谢综合征,还有系统病理生理学的内容,如心血管功能障碍、肝脏功能障碍、肾脏功能障碍和内分泌功能障碍。本书着重介绍病理生理学领域中与临床实践关系密切的热点问题和新进展,为广大的研究生更好地解决具体的临床和科研问题提供理论基础。

图书在版编目(CIP)数据

高级病理生理学知识进展及其应用 / 陈莹莹, 沈岳良主编.
—杭州: 浙江大学出版社, 2012. 2
ISBN 978-7-308-09500-6

I. ①高… II. ①陈…②沈… III. ①病理生理学
IV. ①R363

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 279324 号

高级病理生理学知识进展及其应用

陈莹莹 沈岳良 主编

责任编辑 樊晓燕
封面设计 刘依群
出版发行 浙江大学出版社
(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)
(网址: <http://www.zjupress.com>)
排版 杭州中大图文设计有限公司
印刷 浙江云广印业有限公司
开本 787mm×1092mm 1/16
印张 12
字数 292 千
版印次 2012 年 2 月第 1 版 2012 年 2 月第 1 次印刷
书号 ISBN 978-7-308-09500-6
定 价 29.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换
浙江大学出版社发行部邮购电话 (0571)88925591

编 委 会

主 编 陈莹莹 沈岳良

副主编 邵吉民 沈 静 汪 洋

编 委 齐宏研 邵吉民 沈岳良 汪 洋 陈莹莹

沈 静 金可可 郭 炜 戚仁斌

前 言

病理生理学是联系基础医学与临床医学的“桥梁”科学,研究疾病发生发展和转归的基本规律及共同机制,从而为阐明疾病的本质以及为疾病诊断和防治提供理论基础。本书是一本供医学基础和临床研究生使用的教材,其内容根据近年来医学科学和生命科学的研究进展,精选了细胞和分子病理生理学、重要器官以及全身性疾病病理生理学的部分新知识,并汲取同类教材的经验和长处,着重介绍病理生理学领域中与临床实践关系密切的热点问题和新进展,同时通过介绍病理生理学研究的研究策略和研究技术,有助于广大的研究生更好地解决具体的临床和科研问题。

本教材共分 9 章,不仅有疾病的基础病理生理学内容,如表观遗传学、细胞因子与疾病、自由基与疾病、肿瘤和代谢综合征,还有系统病理生理学的内容,如心血管功能障碍、肝脏功能障碍、肾脏功能障碍和内分泌功能障碍。

本教材由多位医学院校的病理生理学专家共同编写。除主编外,参加本教材编写的还有温州医学院汪洋和金可可,暨南大学医学院戚仁斌,上海中医药大学郭炜,浙江大学医学院邵吉民、沈静、齐宏研。限于水平,本教材可能会存在一定的缺点和错误,欢迎专家和读者指正。

邵吉民

2011 年 9 月于浙江大学医学院

目 录

第一章 表观遗传学与疾病	1
第一节 概 述	1
第二节 表观遗传现象与机制	2
第三节 表观遗传异常与人类疾病	8
第四节 表观遗传学研究策略与技术	13
第二章 细胞因子与疾病	20
第一节 细胞因子的种类、特性和功能	20
第二节 细胞因子与肺部疾病	25
第三节 细胞因子与心血管疾病	31
第四节 防治细胞因子相关疾病的措施	35
第三章 自由基与疾病	37
第一节 自由基概述	37
第二节 自由基与疾病	42
第三节 防治自由基相关疾病的措施	53
第四章 肿 瘤	55
第一节 肿瘤病因学	55
第二节 肿瘤发病学	61
第三节 肿瘤侵袭与转移	73
第四节 肿瘤诊断与防治的病理生理学基础	80
第五章 代谢综合征	85
第一节 代谢综合征的病因和机制	86
第二节 代谢综合征时机体功能与代谢变化	95
第三节 代谢综合征防治的病理生理学基础	96
第四节 代谢综合征的实验动物模型	97

第六章 心功能不全	100
第一节 心功能不全的病因、诱因和分类	100
第二节 心功能不全时机体的代偿适应反应.....	104
第三节 心力衰竭的发生机制.....	108
第四节 心功能不全时临床表现的病理生理基础.....	111
第五节 心功能不全防治的病理生理基础.....	114
第七章 肝脏功能障碍	117
第一节 概 述.....	117
第二节 肝性脑病.....	120
第三节 肝肾综合征.....	134
第八章 肾脏功能障碍	137
第一节 概 述.....	137
第二节 急性肾衰竭.....	141
第三节 慢性肾衰竭.....	151
第四节 尿毒症.....	158
第九章 内分泌功能障碍	163
第一节 概 述.....	163
第二节 激素的概念、分类和作用机制	163
第三节 内分泌调节系统.....	165
第四节 内分泌疾病.....	166

第一章 表观遗传学与疾病

第一节 概 述

从 DNA 双螺旋结构的发现到描述遗传信息流向的“中心法则”，很长时间以来人们一直认为基因决定着生命过程中所需要的各种蛋白质，决定着生命体的表型。近年来，科学家们发现了一些与“中心法则”相悖的遗传现象，例如同窝出生纯种小鼠的毛色不同；基因组完全相同的同卵双胞胎在性格、健康和对疾病的易感性上存在差异等。这类变异可以在 DNA 序列不变的情况下，使基因功能发生可遗传的变化，并最终导致表型的改变，故被称为“表观遗传变异(epigenetic variation)”。

表观遗传学(epigenetics)是研究表观遗传变异的遗传学分支学科。Epigenetics 这一术语最早由生物学家 C. H. Waddington 在 1942 年定义为“研究基因与决定表型的基因产物之间的因果关系”，该定义在当时主要被应用于生物发育过程的研究。1975 年，R. Holliday 对表观遗传学进行了更为准确的描述，即“表观遗传学研究没有 DNA 序列变化的、可遗传的基因表达改变”。1996 年，A. D. Riggs 将表观遗传学进一步定义为“研究在有丝分裂及减数分裂过程中无法用 DNA 序列改变来解释的基因功能的可遗传性改变”。该定义有三个密切相关的含义：(1)是可遗传的，即这类改变通过有丝分裂或减数分裂能在细胞或个体世代间遗传；(2)可逆性的基因表达调节；(3)没有 DNA 序列的变化或不能用 DNA 序列变化来解释。广义上，DNA 甲基化、组蛋白修饰、基因沉默、基因组印迹、染色质重塑、RNA 剪接、RNA 编辑、RNA 干扰(RNA interference, RNAi)、X 染色体失活(X-chromosome inactivation)和蛋白质剪接等均可归为“表观遗传”范畴。近年来，表观遗传学已成为许多生命学科的研究前沿，更是当今遗传学和基因研究的一个热点，具有重要的理论和实际意义。

经典遗传和表观遗传是一个事物(遗传)的两个方面，既相互区别又相互依存而构成一个整体。由此可认为基因组含有两类信息：遗传编码信息提供合成蛋白质的模板；而表观遗传信息则提供了何时、何地及以何种方式应用遗传信息的指令。基因组通过 DNA 精确地复制、转录和翻译，保证了遗传信息的稳定性和连续性。同时又通过表观遗传学机制，使基因组对各种内外环境条件作出反应，选择性地表达信息，最终形成遗传性状。可以说表观遗传学使复杂的生命体在具有稳定性的基础上，又具备了精确的反应性和强大的适应性。

生物系统正常功能的维持正是依赖于不同基因在多样的表观遗传修饰调控下开启或关闭。基因本身发生变异或调控模式发生异常，均可导致疾病的产生。与单基因疾病不同，在动脉粥样硬化、肿瘤、精神分裂症、糖尿病等常见多基因复杂性疾病的发病过程中，遗传因素

并不起决定性作用,通常需要环境、营养等外界因素作用后才会发病。而这些外界因素正是通过对疾病相关遗传信息的表达进行表观调控来完成的。如肿瘤细胞往往存在整体基因组甲基化水平低、一些抑癌基因又被异常甲基化而沉默的现象;染色质修饰酶因为染色体转位形成融合蛋白而与一些人类白血病相关等。因此,从遗传学和表观遗传学两个方面进行研究有助于全面了解疾病的分子机制,对寻找更为有效的疾病诊断、预防方法及发现新的靶向性治疗药物都有重要意义。

第二节 表观遗传现象与机制

在过去的 50 年间,随着人们对真核基因表达调控分子机制研究的深入,表观遗传学的含义和研究内容也在不断更新。许多与经典孟德尔定律不相符的遗传方式和案例被重新认识和理解。目前发现的常见表观遗传现象包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑、基因印迹、X 染色体失活、RNA 调控(RNA 干扰等)、转座元件、副突变、位置斑效应、等位反式互补等。其中,DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA 更是主要的表观遗传调控机制。本节将对主要的表观遗传现象和机制作一简单介绍。

一、DNA 甲基化

甲基化是基因组 DNA 的一种主要表观遗传修饰形式,通常是指在 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的作用下,将甲基添加在 DNA 分子中的碱基上。作为调节基因组功能的重要手段,DNA 甲基化(DNA methylation)在维持正常细胞功能、遗传印记、胚胎发育以及人类肿瘤发生中都起着重要作用。常见的 DNA 甲基化发生在 DNA 链上的胞嘧啶第 5 位碳原子上。胞嘧啶突出于 DNA 双螺旋并进入与 DNA 甲基转移酶 DNMT 结合部位的裂隙中。DNMT 将 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)的甲基转移到胞嘧啶的 5'位,形成 5 甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)。在脊椎动物中,CpG 二核苷酸是 DNA 甲基化发生的主要位点。基因组中大约有 60%~90%的 CpG 序列被甲基化。而大多数非甲基化的 CpG 常以成簇串联的形式存在于基因的 5'端调控区段,这种富含 CpG 的一段 DNA 区域称为 CpG 岛(CpG island),通常长度在 1~2kb。DNA 甲基化的研究与 CpG 岛的研究密不可分。CpG 岛主要位于基因的启动子区,少量位于外显子区,一般呈非甲基化状态。启动子区的 CpG 甲基化可直接导致基因沉默,其机制可能与在空间上阻碍转录因子复合物与 DNA 的结合相关。因此,DNA 甲基化一般与基因沉默(gene silence)相关联;而非甲基化一般与基因的活化(gene activation)相关联;而基因下游即非岛区 CpG 的甲基化则通常不抑制基因的转录。

DNA 甲基化主要是通过 DNA 甲基转移酶家族 DNMT 来催化的(见表 1-1)。DNMT 分两种:一种是维持性甲基化酶,主要指 DNMT1;另一种是重新甲基化酶如 DNMT3A 和 DNMT3B。维持性甲基化(maintenance methylation)是指在甲基化的 DNA 模板指导下使新合成的链甲基化。当甲基化的 DNA 序列被复制时,新合成的 DNA 双链呈半甲基化(hemimethylated),即只有母链有完整的甲基化标记,这时另一条链会经 DNMT 的催化而在与母链上 5mC 对称的位置上使相应的胞嘧啶甲基化。这对于基因印迹中 DNA 甲基化

模式的维持非常关键,是重要的表观遗传机制。重新甲基化(*de novo* methylation)是指无需模板指导从头合成的甲基化修饰。如在哺乳动物胚胎形成的初期,基因组中 DNA 会发生去甲基化,随后,会在重新甲基化作用下恢复到正常的甲基化水平。在细胞分化的过程中,基因的甲基化状态将遗传给后代细胞,从而建立起一种细胞记忆的形式。但在哺乳动物的生殖细胞发育时期和植入前胚胎期,其基因组范围内的甲基化模式会通过大规模的去甲基化和接下来的再甲基化过程发生重编程,从而产生具有发育潜能的细胞。

DNA 甲基化直接影响到基因的活化状态,在生命过程中扮演着非常重要的角色。一方面,DNA 甲基化在高等生物的生长发育中有重要作用。在胚胎发育和分化的过程中,尽管 DNA 序列通常没有改变,但在特异性组织和器官中基因的表达因为 DNA 甲基化状态等因素的影响而具有特定的模式。相同类型细胞间存在高度保守的甲基化模式,而同一器官的不同类型的细胞中甲基化模式是不同的。甲基化模式最早建立于配子形成期,并在发育过程中不断变化,通过甲基化、去甲基化等机制维持甲基化模式的动态平衡。另一方面,DNA 甲基化被发现与很多疾病,尤其是肿瘤的发生发展关系密切。肿瘤细胞通常呈现“基因组整体甲基化水平降低”和“一些抑癌基因被错误地高甲基化而异常沉默”的现象。

表 1-1 真核生物 DNA 甲基转移酶

蛋 白	生 物	主要活性
DNMT1	小鼠	维持性甲基化
MET1(RTS2)	拟南芥	维持性甲基化
CMT3	拟南芥	维持性甲基化
DIM-2	脉胞菌	重新甲基化
DNMT3a	小鼠	重新甲基化
DNMT3b	小鼠	重新甲基化
DRM2	拟南芥	重新甲基化
DNMT3L	小鼠	DNMT3 的辅因子

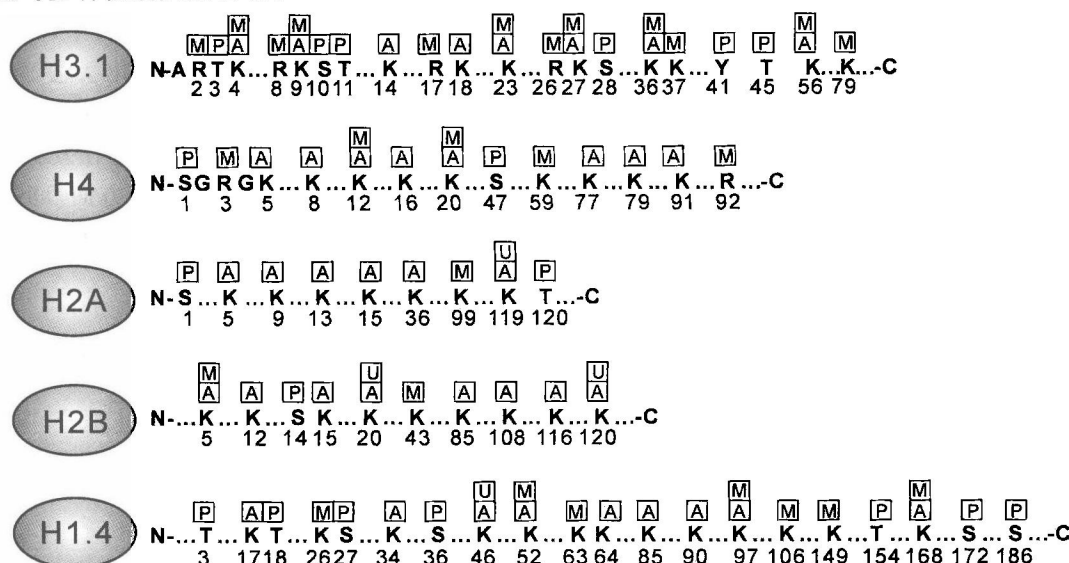
此外,DNA 甲基化和其他生命过程也有重要的联系,如雌性哺乳动物的 X 染色体失活,使体内 X 染色体上基因表达剂量维持平衡;管家基因的低甲基化,使其具有持续的表达活性;印迹基因的高甲基化,使其具有不同于经典孟德尔式的遗传方式;作为机体天然防御体系的转座子、病毒基因组的甲基化等。

值得注意的是,虽然 DNA 甲基化与基因沉默密切相关,但是一些研究表明 DNA 甲基化可能并不是基因沉默的原因,而可能是结果。同时,虽然 DNA 甲基化模式可以在细胞间传递,但它不是永久的。实际上,个体的一生都在经历着 DNA 甲基化模式的改变。一些变化可能是基于对环境改变的适应,而另一些变化可能与恶性转化或细胞老化等病理进程有关。目前对导致 DNA 甲基化改变的内外因素仍不十分清楚。对人类疾病 DNA 甲基化的深入研究将有助于我们理解表观遗传对人类生命的影响。

二、组蛋白修饰

组蛋白是染色质基本结构核小体的重要组成部分。组蛋白 H2A、H2B、H3 和 H4 分别形成同源二聚体,共同组成八聚体组蛋白,约 200bp 的 DNA 分子盘绕在八聚体外形成一个核小体。相邻核小体之间的 DNA 上结合组蛋白 H1。通过组蛋白氨基末端的翻译后修饰

实现对染色体结构和基因转录的精密调控是目前表观遗传学研究领域的重要内容。游离在外的组蛋白氨基末端可发生多种共价修饰,如乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、SUMO 化、糖基化等(如图 1-1 所示)。这些修饰方式与基因的活化或抑制相关(见表 1-2),并共同构成了“组蛋白密码(histone code)”的假说,即在一个或多个组蛋白氨基末端的多种修饰状态,可以互相联合或依次地被特定的蛋白或其他复合体等识别、结合而起作用,为发动或阻遏基因转录的染色质相关蛋白提供结合位点。组蛋白氨基端修饰调控异常可通过影响基因表达而与多种疾病关系密切。



M 代表甲基化, P 代表磷酸化, A 代表乙酰化, U 代表泛素化。

图 1-1 组蛋白的翻译后修饰

表 1-2 组蛋白修饰在基因转录调控中的作用

修饰种类	位 点	转录活性
乙酰化(赖氨酸)	H3(9,14,18,56), H4(5,8,13,16), H2A, H2B	激活
磷酸化(丝氨酸、苏氨酸)	H3(3,10,28), H2A, H2B	激活
甲基化(精氨酸)	H3(17,23), H4(3)	激活
甲基化(赖氨酸)	H3(4,36,79) H3(9,27), H4(20)	激活 抑制
泛素化(赖氨酸)	H2B(123* /120*) H2A(119#)	激活 抑制
SUMO 修饰(赖氨酸)	H2B(6/7), H2A(126)	抑制

* 酵母来源

哺乳动物来源

1. 组蛋白的乙酰化

组蛋白的乙酰化一般与活化的染色质构型——常染色质和有表达活性的基因相联系。通常组蛋白在转录活性区域乙酰化,使与其结合的基因处于转录活化状态,而低乙酰化的组

蛋白位于非转录活性的常染色质区域或异染色质区域。

乙酰化多发生在核心组蛋白 N 端碱性氨基酸集中区的特定赖氨酸 K 残基。由于 K 为正电荷氨基酸,可帮助组蛋白与 DNA 的负电荷糖—磷酸骨架紧密结合,乙酰化造成的正电荷中和效应可减弱 DNA 与组蛋白的相互作用,使染色质呈疏松状态而有利于基因的表达。组蛋白的乙酰化状态由组蛋白乙酰基转移酶(histone acetyltransferase, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)共同作用决定。前者将乙酰辅酶 A 的乙酰基转移至组蛋白氨基末端中特定的赖氨酸残基上,后者的功能则相反。HAT 家族可作为辅激活因子调控转录,调节细胞周期,参与 DNA 损伤修复,还可作为 DNA 结合蛋白。HDAC 家族则与染色体易位、转录调控、基因沉默、细胞周期、细胞分化和增殖以及细胞凋亡相关。已知乙酰化修饰可发生在组蛋白 H3 的 K9、K14、Ly18、K23 和 H4 的 K5、K8、K12、K16 等位点,不同位置的修饰均需特定的酶来完成。

2. 组蛋白的甲基化

组蛋白的甲基化修饰比较复杂,可发生在精氨酸 R 的胍基或是赖氨酸 K 的 ϵ 氨基上。每个 K 可以有 3 种不同的甲基化状态,即单甲基化、双甲基化和三甲基化,而 R 也可以被单甲基化或者双甲基化(双甲基化又可分为对称型和非对称型)。目前共发现 H3 和 H4 的 N 端有超过 5 个 K 位点(H3K4、H3K9、H3K27、H3K36 和 H4K20 等)和 5 个 R 位点(H3R2、H3R8、H3R17、H3R26 和 H4R3 等)可被甲基化,H3 的核心还有 K79 也能被甲基化。如果把这些甲基化信息都考虑在内,则可产生大于 3×10^{11} 种不同的组合状态,这为组蛋白发挥多样化的调控作用大大提供了可能。

组蛋白的甲基化与许多重要的生物学过程密切相关,包括异染色质形成、基因印记、X 染色体失活、基因转录调控、DNA 损伤反应等。研究表明,和乙酰化往往与基因活化相关不同,组蛋白甲基化对基因表达调控的作用比较复杂,如 R 的甲基化及 H3K4、H3K36、H3K79 的甲基化通常与基因活化有关,而 H3K9、H3K27 和 H4K20 的甲基化则经常与基因表达抑制相关。组蛋白甲基化是由组蛋白甲基转移酶(histone methyltransferase, HMT)催化的,根据识别的氨基酸不同又分为组蛋白赖氨酸甲基转移酶(HKMT)和组蛋白精氨酸甲基转移酶(HRMT)。而组蛋白的去甲基酶在很长一段时间内一直未被发现,加之细胞总体的甲基化水平改变不明显,组蛋白甲基化曾一度被认为是一种不可逆的稳定表观遗传标志。直到 2004 年 Shi 等人发现了第一个组蛋白去甲基酶 LSD1(lysine specific demethylase 1),这种观念才被彻底打破。其后,一大批含 JmjC 域的组蛋白去甲基酶家族成员被陆续发现,功能涉及神经系统疾病、内分泌调节及肿瘤的生成等。目前认为,不同位点、甚至不同程度的甲基化状态均由特异性甲基转移酶或去甲基酶来识别。如此精细的调控机制说明组蛋白的甲基化修饰可能在细胞整个生命活动过程中扮演着重要的角色。

3. 组蛋白的磷酸化

组蛋白的磷酸化修饰在基因转录、有丝分裂、细胞凋亡、DNA 损伤修复、DNA 复制和重组过程中发挥着直接的作用。通常认为磷酸基团携带的负电荷中和了组蛋白上的正电荷,造成组蛋白和 DNA 之间亲和力的下降。研究显示组蛋白 H3 的第 10 位丝氨酸(S10)的磷酸化对基因转录的起始和有丝分裂期染色体凝集时形态结构的改变都有重要作用。在哺乳

动物中,aurora B 是有丝分裂时 H3S10 磷酸化的激酶。此外,S10 的磷酸化可增强几种乙酰转移酶的催化活性,从而提高基因的转录活性。

组蛋白 H2A 的变体 H2AX 可在 DNA 双链断裂损伤(DNA double strand breaks,DSBs)发生后迅速被 ATM 和 ATR 蛋白激酶在第 139 位丝氨酸(S139)磷酸化,形成 γ -H2AX。研究发现大量组蛋白 H2AX 在 DNA 双链断裂位点发生磷酸化并形成荧光下可以分辨的焦点(foci)。一旦 DNA 损伤消除(如被修复),该结合位点就消失。并且, γ -H2AX 所形成的焦点与发生 DSBs 数量存在一一对应关系,因此, γ -H2AX 有望成为 DSBs 的早期效应生物标志物。除标志性作用外, γ -H2AX 的形成对于 DNA 损伤的高效修复是必需的,说明该过程可能介导了染色体结构的变化及起到募集或参与修复复合体的作用。

组蛋白 H1 被细胞周期蛋白依赖的激酶磷酸化是其主要的翻译后修饰。组蛋白 H1 的磷酸化能影响 DNA 二级结构和染色体凝集状态的改变。同时,组蛋白 H1 的磷酸化需要 DNA 的复制,并能被激活 DNA 复制的蛋白激酶所促进。

4. 组蛋白的泛素化

蛋白质的泛素化修饰就是蛋白质的赖氨酸残基位点与泛素分子的羧基端相互结合的过程。组蛋白 H2A 的泛素化主要发生在高度保守的 K119 位点。哺乳动物 H2BK120 位的泛素化和 H3K4 和 K79 位的甲基化往往标志着活性染色质区域。组蛋白的泛素化过程也是可逆的,经诱导后会被去泛素化。

三、染色质重塑

染色质高度紧密的折叠阻止了转录因子和辅因子与 DNA 的结合。在 DNA 复制、转录、修复和重组等过程中,染色质的包装状态、核小体中的组蛋白及对应的 DNA 分子会发生改变,这些结构变化被称为染色质重塑(chromatin remodeling)。其基本生物化学特点是染色质的一定区域对核酸酶敏感性的改变,对应的物理改变是核小体的位置和状态的变化。

目前认为,染色质重塑至少是通过两种机制来完成的,一种是通过 ATP 依赖的染色质重塑复合物(ATP-dependent chromatin remodeling complex),另一种是通过组蛋白尾部进行共价修饰的组蛋白修饰酶复合物(histone modifying complex)。前者是利用水解 ATP 获得的能量改变组蛋白与 DNA 之间的相互作用;后者对组蛋白的尾部进行共价修饰,包括赖氨酸的乙酰化、赖氨酸和精氨酸的甲基化、丝氨酸和苏氨酸的磷酸化、赖氨酸的泛素化和谷氨酸的多聚 ADP 核糖基化等。通过组蛋白修饰酶的作用,既可破坏核小体之间以及组蛋白尾部与基因组 DNA 之间的相互作用,引起染色质的重塑,又可作为染色质特异位点的标志,为高级染色质结构的组织者及与基因表达相关的蛋白提供识别位点。关于组蛋白修饰的内容详见上一节,这里仅简单介绍染色质重塑复合物的种类及作用机制。

染色质重塑复合物都含有 ATPase 亚基,此亚基属于 SNF2 蛋白超家族。根据亚基的同源性,可分为 SWI/SNF、ISWI、CHD、INO80/SWR1、Rad54 等亚家族。一般认为,重塑复合物均可结合核小体,且在结合后其 ATP 酶活性会上升。其中 ISWI 复合物与核小体的结合力较强,可能通过与组蛋白的相互作用而导致核小体移动并激活染色质;而 SWI-SNF 复合物则与裸 DNA 结合力较强,可能通过改变与核小体结合的 DNA 构型产生活性染色质。

目前认为染色质重塑主要存在滑动、重建和组蛋白突变体交换模型。滑动模型是指染

色质重塑复合物以 ATP 水解释放的能量对核小体进行重塑,结果组蛋白多聚体滑行到同一个 DNA 分子的另一位点,称为顺式滑行;或滑行到不同 DNA 分子的某一位点,称为反式滑行。滑行的结果使组蛋白八聚体与 DNA 发生相对移动,核小体 DNA 的限制性酶切位点暴露,并促使转录因子与相应序列元件结合。重建模型是指核小体的重建。可以是两个独立的核小体被结合在一起形成一个新的稳定结构。而组蛋白突变体交换模型的建立则是基于 SWR1 复合物的发现。该复合物可水解 ATP,使 H2A/HAB 与 H2A. Z/H2B 二聚体发生交换。

四、基因印记

基因印记(gene imprinting)是指来自父方和母方的等位基因在通过精子和卵子传递给子代时发生了某种修饰,这种作用使其后代仅表达父源或母源等位基因的一种,也称为基因组印记(genomic imprinting)。目前发现的印记基因大约 80%成簇,这些成簇的基因被位于同一条链上的顺式作用位点所调控,该位点被称作印记中心(imprinting center, IC)。

基因印记的具体机制目前还不是非常清楚,但通常认为与 DNA 甲基化造成的亲代基因特异性关闭相关。在器官的发育过程中,这些印记在某些体细胞中能保留下来,在另外一些中则被去除。目前在小鼠和人类中已经各发现超过 80 个印记基因,但基因表达谱的分析结果表明其数量可能更多。印记基因的存在可能体现了两性间的竞争,从已发现的印记基因看,父方对胚胎的贡献是加速其发育;而母方的贡献则是限制胚胎的过度发育生长从而提高生育后代的数量。此外,也有研究表明,通过印记的方式可保护一些等位基因免受选择压力的影响,从而提高群体对环境变化的适应能力。印记还可防止哺乳动物中的孤雌生殖。

五、X 染色体失活

在哺乳动物中,雌性个体细胞内有两条 X 染色体,而雄性只有一条,为了保持平衡,雌性的一条 X 染色体被永久失活,这便是“剂量补偿”效应。进一步的研究表明,雌性个体的 X 染色体失活遵循 $n-1$ 法则,不论有多少条 X 染色体,最终只能随机保留一条的活性。这种现象就被称为 X 染色体失活或里昂化。失活的 X 染色体常浓缩成染色较深的染色质体,通常位于间期核膜边缘,称为“巴氏小体(Barr body)”或 X 小体。

X 染色体失活的选择和启动发生在囊胚期,这个过程由 X 失活中心(X-inactivation center, Xic)控制。Xic 是一个顺式作用元件,包含辨别 X 染色体数目的信息和 *Xist* 基因,前者可保证仅有一条染色体有活性,但机制不明,后者缺失将导致 X 染色体失活失败。X 染色体失活的过程为:*Xist* 基因编码 *Xist* RNA,转录后不断扩展、包裹合成它的 X 染色体,然后一些对基因沉默有重要功能的因子(如 PcG 蛋白等)被招募,诱导 DNA 甲基化和组蛋白修饰的发生。关于 *Xist* 基因,以前认为是 X 染色体失活的触发因素,但在对小鼠的研究表明,该基因的缺失并不影响 X 染色体失活的启动,可能对失活状态的维持更为关键。*Xist* 的抑制还可被另一种未翻译的 RNA(*Tsix*)所调节。*Tsix* 基因通过编码 *Xist* 的互补序列可抑制 *Xist* 的积累。

一般认为,母系遗传的 X 染色体(X_m)在卵子里呈活化状态,父系遗传的 X 染色体(X_p)在精子中是沉默的。受精后,在胚胎植入前, X_p 被重新激活,之后 X_m 和 X_p 将随机失活。

第三节 表观遗传异常与人类疾病

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,以及这种改变在有丝分裂和减数分裂过程中如何遗传给子代的。在过去的几十年中人们发现很多表观遗传调节异常将影响染色质结构和基因表达,导致复杂的综合征、多因素疾病以及肿瘤等多种疾病(见表 1-3)。与 DNA 水平的变化不同的是,许多表观遗传改变被发现是可逆的,这就为疾病的治疗提供了更为乐观的前景。目前发现,受到表观遗传调节影响的疾病包括肿瘤、心血管疾病、代谢综合征及自身免疫性疾病等。在“后基因组”时代,理解表观遗传的运作机制对于人类疾病的防治具有重要且深远的意义。

表 1-3 表观遗传异常相关疾病举例

疾病	表观遗传异常
α -地中海贫血症和 X 染色质连锁的智力发育迟缓(ATRX 综合征)	ATRX 突变引起 DNA 甲基化异常
脆性 X 染色体综合征	FMR1 基因 5'端非翻译区的 CGG 重复序列扩增和异常甲基化导致基因沉默
ICF 综合征	DNMT3B 基因突变
Angelman 综合征	15q11-13 区基因印记异常(母源)
Prader-Willi 综合征	15q11-13 区基因印记异常(父源)
BWS	11p15.5 基因印记异常(涉及基因如 IGF2)
Rett 综合征	MeCP2 基因突变
各种肿瘤	MLH1 启动子重新甲基化引起基因沉默导致微卫星不稳定 启动子重新甲基化引起基因沉默导致 Rb、p53 信号通路失调 SNF5、BRG1、BRM 基因突变导致 SWI/SNF 染色质重塑复合物失调 印记缺失导致 IGF2 过表达、CDKN1C 基因沉默
白血病	染色体转位(影响 HAT 等)
Rubinstein Taybi 综合征	CBP 基因突变
Coffin-Lowry 综合征	Rsk-2 基因突变

一、DNA 甲基化与人类疾病

DNA 甲基化是指在 DNA 甲基转移酶(DNMT)的催化下,将甲基基团转移到胞嘧啶碱基上的一种修饰方式。它主要发生在 CpG 双核苷酸序列。正常情况下 CpG 岛是以非甲基化形式(活跃形式)存在的,发生 DNA 甲基化可导致基因表达沉默。

DNA 甲基化被发现与很多疾病,尤其是肿瘤的发生发展关系密切。DNA 甲基化状态的改变是引起肿瘤的一个重要因素,主要呈现以下特点:(1)基因组整体甲基化水平降低和

癌基因的不充分甲基化导致遗传不稳定性增加及癌基因重新活化或异常表达;(2) CpG 岛局部甲基化程度的异常升高引起抑癌基因高甲基化而失活。目前肿瘤甲基化的研究主要集中在抑癌基因。已发现相关基因涉及细胞周期(pRB、p16、p15、p53 等)、DNA 损伤修复(O6-MGMT、BRCA1、hMLH1 等)、信号传递(SOCS、TMS1D 等)和激素应答等。

DNMT 活性异常也和多种疾病有密切关系,例如 DNMT3B 基因突变可导致常染色体隐性遗传病“着丝点不稳定和面部异常”(immunodeficiency centromeric instability and facial anomalies),即 ICF 综合征。主要表现为免疫缺陷和面部异常。高同型半胱氨酸血症(hypohomocysteine, HHcy)与 DNMT1 活性降低引起的 DNA 低甲基化有关,而 HHcy 是动脉粥样硬化和冠心病的独立危险因素。DNMT 基因的过量表达与精神分裂症和情绪障碍等精神疾病的发生相关。系统性红斑狼疮(SLE)等自身免疫性疾病患者的 T 细胞存在 DNMT 活性的异常改变。

二、组蛋白修饰与人类疾病

组蛋白的修饰状态不仅控制着转录复合物能否靠近,影响基因的表达活性,而且能有效调节染色质转录活跃或沉默状态的转换,并对其他蛋白因子和 DNA 的结合产生协同或拮抗效应。常见的组蛋白修饰包括乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、糖基化等,是构成组蛋白密码的基本要素。其中,与人类疾病相关性研究较多的是乙酰化和甲基化。

组蛋白乙酰化过程的异常,如 HAT、HDAC 及相关蛋白发生突变或活性改变,可引发包括遗传病、肿瘤等在内的多种疾病。如乙酰基转移酶 CBP(CREB binding protein, CBP)的突变可导致 Rubinstein Taybi 综合征,患者智力低下、面部畸形、拇指和拇趾粗大、身材矮小;甲基化 CpG-结合蛋白-2(methyl cytosine binding protein-2, MeCP2)可募集去乙酰化酶到甲基化的 DNA 区域,使组蛋白去乙酰化导致染色质浓缩,MeCP2 基因的突变可导致 Rett 综合征,患者出生即发病,智力发育迟缓,伴孤独症;人类白血病细胞由于染色体转位形成融合蛋白,可异常募集 HDAC,引起组蛋白过度去乙酰化,进而使基因转录受到抑制和白血病发生;HDAC 在前列腺癌标本中表达明显上升;乳腺癌、卵巢癌和胃肠道恶性肿瘤中常存在组蛋白乙酰化和去乙酰化的异常。另外,如果抑制 HDAC 的活性、阻止组蛋白的过度低乙酰化,可引起抑癌基因表达水平增加,达到抑制肿瘤细胞增殖或诱导凋亡的目的。因此,HDAC 抑制剂被认为是一类具有广泛应用前景的抗肿瘤药物。

组蛋白的甲基化也被发现与人类疾病的发生密切相关。Suv39h1/2 敲除小鼠发生染色体错误分离,可导致 B 细胞淋巴瘤。人的 Suv39h1/2 与视网膜胶质细胞瘤蛋白共同调节周期蛋白 1 的表达,该基因失活可导致增殖失控而发生癌症,如非霍奇金淋巴瘤。组蛋白甲基化的异常还与人类白血病发生、乳腺癌的侵袭和转移相关。S-腺苷同型半胱氨酸能选择性抑制组蛋白的甲基化,其水平的增加与细胞甲基化水平的降低已成为解释高同型半胱氨酸血症与心血管疾病及神经系统疾病之间关系的一个机制。组蛋白甲基化的改变对于肿瘤发生过程中 DNA 甲基化相关基因的沉默非常关键,如肿瘤中的基因沉默往往伴随着 H3K4 的低甲基化和 H3K9 的高甲基化。

三、染色质重塑与人类疾病

染色质重塑是 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑复合物的共同作用。它通过影响

核小体结构,为其他蛋白提供和 DNA 的结合位点。其中染色质重塑因子复合物主要包括 SWI/SNF 复合物和 ISW 复合物。染色质重塑复合物如果发生突变,可导致染色质不能重塑,影响基因的正常表达,导致人类疾病。如果突变引起抑癌基因出现异常,将导致肿瘤的发生。ATR_X、ERCC6、SMARCA1 均编码与 SWI/SNF 复合物相关的 ATP 酶。ATR_X 突变引起 DNA 甲基化异常可导致一些遗传性疾病,如 X 连锁 α -地中海贫血综合征、Jungberg-Marsidi 综合征、Carpenter-Waziri 综合征、Sutherland-Haan 综合征和 Smith-Fineman-Myers 综合征。这些疾病与核小体重新定位的异常引起的基因表达抑制有关。ERCC6 的突变将导致 Cerebro-Oculo-Facio-Skeletal 综合征和 B 型 Cockayne 综合征。前者表现为出生后发育异常、神经退行性变、进行性关节挛缩、夭折;后者表现出紫外线敏感、骨骼畸形、侏儒、神经退行性变等症状。这两种病对紫外诱导的 DNA 损伤缺乏修复能力,表明 ERCC6 蛋白在 DNA 修复中有重要的作用。SMARCA1 的突变可导致 Schimke 免疫性骨质发育异常,表现为多向性 T 细胞免疫缺陷,临床症状表明 SMARCA1 蛋白可能调控和细胞增殖相关基因的表达。BRG1、SMARCB1 和 BRM 编码 SWI/SNF 复合物特异的 ATP 酶,这些酶通过改变染色质的结构使视网膜母细胞瘤(Rb)蛋白维持正常功能,这些基因发生突变可导致肿瘤形成。

四、基因组印记与人类疾病

基因组印记是指二倍体细胞的一对等位基因(父本和母本)只有一个可以表达,另一个因表观遗传修饰而沉默。印记丢失导致等位基因同时表达或有活性的等位基因突变,均可引起人类疾病。一些环境因素,如食物中的叶酸也会破坏印记。印记丢失不仅影响胚胎发育,还可诱发出生后的发育异常。如印记基因 *IGF2/H19*、*CDKN1C*、*LIT1* 等出现变异或印记丢失可导致 BWS 综合征(Beckwith-Wiedemann Syndrome),患者表现为胚胎和胎盘过度增生、巨舌、巨大发育等。15 号染色体的表观遗传异常可导致 Prader-Willi 综合征(PWS)和 Angelman 综合征(AS)。PWS 是由于突变导致父本表达的基因簇沉默,印记基因(如 *SNURF/SNRPN*)在大脑中高表达所致,患者表现为肥胖、身材矮小和轻度智力发育迟缓等;AS 是由于母本表达的 *UBE3A* 或 *ATPIOC* 基因的缺失或受到抑制所致,该基因编码泛素蛋白连接酶并在脑中表达,患者表现为共济失调、过度活跃、严重智障、少语、表情愉悦等。印记基因的异常同样可诱发肿瘤,包括急性早幼粒细胞白血病、横纹肌肉瘤和散发的骨肉瘤等。

与基因组印记相关的疾病常常是由于印记丢失导致两个等位基因同时表达,或突变导致有活性的等位基因失活所致。调控基因簇的印记中心发生突变将导致一系列基因不表达,引发复杂综合征。基因组印记的本质仍为 DNA 修饰和组蛋白修饰,所以和印记相关的蛋白发生突变也将导致表观遗传疾病。

五、X 染色体失活与人类疾病

和 X 染色体失活相关的疾病多是由 X 染色体的不对称失活使携带有突变等位基因的 X 染色体在多数细胞中具有活性所致。如 *WASP* 基因突变可引起 Wiskott-Aldrich 综合征,表现为免疫缺陷、湿疹、伴血小板缺乏症。因为女性为嵌合体,携带有 50% 的正常基因,通常无症状表现,所以该病患者多为男性。而女性患病时往往是由于不对称的 X 染色体失