

文章编号 (Article ID): 1009-2137(2006)04-0635-04

• 专论 •

表观遗传修饰与白血病

陈燕, 李新刚

华中科技大学同济医学院协和医院血液病研究所, 武汉 430022

摘要 表观遗传修饰 (epigenetic modification), 如 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化和甲基化、RNA 相关性沉默与细胞生长、分化、凋亡、转化及肿瘤进展相关基因的转录密切相关。白血病的发生和发展与表观遗传修饰异常直接相关。本文综述细胞周期调节基因甲基化、组蛋白翻译后修饰异常及 sRNA 对白血病细胞的作用, 为白血病治疗提供新策略。

关键词 表观遗传修饰; 白血病; 表观遗传学

中图分类号 R733.7 Q75

文献标识码 A

Epigenetic Modification in Human Leukemia —Editorial

CHEN Yan, LI Xin-Gang

Institute of Hematology, Union Hospital Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Abstract Epigenetic modification, which involve DNA methylation, RNA-associated silencing and histone modification, is implicated in cell proliferation, differentiation, survival, apoptosis and malignant transformation. Some leukemogenesis has been shown to be aberrance of epigenetic modification. This paper discussed the potential causes of some of leukemias correlating with the methylation of cell cycle regulation genes, small interference RNA and modification abnormality of histone after translation. The study on epigenetic modification abnormality of leukemia cells provides a new strategy for treatment of leukemia.

Key words epigenetic modification; leukemia; epigenetics

J Exp Hematol 2006 14(4): 635-638

表观遗传学 (epigenetics) 是指非基因序列改变所致基因表达水平的变化。表观遗传学研究基因表达变化, 这种变化可通过减数分裂或有丝分裂遗传, 不涉及编码的 DNA 序列改变, 却能引起基因表达水平的异常^[1]。表观遗传修饰 (epigenetics modification) 包括三种调节性机制: DNA 甲基化, RNA 相关性沉默和组蛋白翻译后修饰, 这些机制常与启动和维持表观遗传沉默有关^[2], 三者不是孤立而是相互作用的。研究表明, 表观遗传修饰, 如 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化和甲基化等影响细胞生长调节、分化、凋亡、转化以及肿瘤发展相关基因的转录等。白血病的发生和发展与表观遗传修饰异常密切相关。

目前认为白血病的发生是复杂的多步骤的, 涉及与细胞增殖、分化、存活、基因组整合有关的原癌基因、肿瘤抑制基因和其他细胞内的重要基因。在器官和细胞水平, 机体对细胞的转化有内在的抵抗或保护作用, 所以肿瘤的发生是多因素积累的结果。白血病是一组异质性疾病, 除了细胞遗传学变化外, 还发现它们都存在一种或多种基因的失活, 肿瘤抑制基因不能表达。因此, 白血病的发生是细胞遗传

和表观遗传改变的结果。

DNA 甲基化与白血病

DNA 甲基化是表观遗传学上研究最深入的一种机制, 是一种酶介导的化学修饰过程。在人类和大多数哺乳动物, DNA 甲基化转移酶 (DNMT) 以 S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体, 将甲基转移到 DNA 上胞嘧啶 5 碳位置, 形成 CpG 位点, 富含 CpG 区域称为 CpG 岛。在大约 40% 的哺乳动物这些 CpG 岛延伸到 DNA 的启动子区域, 导致稳定的可遗传的转录沉默, 对基因表达有明显抑制作用^[3]。启动子区域的 CpG 岛甲基化能沉默基因转录, 在正常细胞中是一种调节基因表达的手段。然而抑制肿瘤生长的基因发生异常甲基化是在肿瘤早期就发生而且一直进行的, 导致恶性肿瘤表型的表达。抑癌基因能被这种表观遗传机制沉默。98 种不同原发性人类肿瘤的

通讯作者: 陈燕, 教授、主任医师、博士生导师。电话: (027) 85727784。E-mail: yanchen@public.wh.hb.cn
2005-06-20 收稿; 2006-05-29 接受

基因组筛查揭示,在每种肿瘤平均存在 600个异常 CpG 岛甲基化位点^[4],很多甲基化 CpG 岛存在于尚未确定的基因组区域,也许在肿瘤发生中扮演重要角色。

肿瘤抑制基因启动子区域过甲基化常常是白血病淋巴瘤发生的一种重要机制。白血病细胞周期异常、增殖失控与细胞周期蛋白异常表达或缺失相关。有学者研究发现,在 78%的急性髓系白血病(AML)、67%的浆细胞疾病、46%的骨髓增生异常综合征(MDS)、40%的急性淋巴细胞白血病(ALL)、13%的非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)存在 p15^{NK4B}(p15)基因高甲基化,在 B 细胞 NHL 存在 p16^{NK4A}(p16)的高甲基化。追踪 MDS 进展发现,7例 p15 基因正常的早期患者随疾病进展有 5例发生了甲基化^[5]。另一项研究显示,7例 p15 基因正常的 MDS 转化为白血病后 5例发生了甲基化^[6]。还有学者报道,153例 NHL 中低恶性的 41例 p16 表达正常,71例高恶性者中 41例全部或部分丧失 p16 的表达,而发生由低恶性向高恶性转化的 41例在转化前 p16 表达正常,转化后 35例全部或部分丧失 p16 的表达^[7]。Reddy 等^[8]研究蛋白酪氨酸磷酸酶基因 SHP1、蛋白激酶基因 SYK、细胞因子信号抑制因子基因 SOCS1 发现,在 93% (119/130)的白血病淋巴瘤和多发性骨髓瘤至少存在一种基因的甲基化,在 100%的 NHL 和 94%的白血病细胞株存在 SHP1 甲基化,SOCS1 甲基化率达 30%。应用去甲基化处理后可见到 SHP1 重新表达,STAT3 磷酸化水平降低,结果提示细胞因子信号紊乱与这些基因甲基化沉默有关。细胞周期蛋白基因甲基化与细胞因子信号抑制因子基因甲基化导致其表达异常,白血病淋巴瘤细胞增殖失控, MDS 细胞恶性转化,导致血液恶性肿瘤的发生。

不仅细胞周期蛋白和细胞因子信号抑制因子基因发生甲基化,白血病淋巴瘤细胞促凋亡基因同样也存在过甲基化,而在抗凋亡基因有低甲基化现象。Murai 等^[7]发现,在 15%的急性淋巴细胞白血病、17%的急性髓细胞白血病、21%的多发性骨髓瘤病人存在促凋亡基因 BNIP3 基因位点的高甲基化,并且使该区域组蛋白乙酰化时也能直接促使该基因表达,因此作者认为, BNIP3 基因的沉寂是该基因组 DNA 异常甲基化和组蛋白去乙酰化作用的结果。van Doorn 等^[9]在 T 细胞淋巴瘤中发现肿瘤抑制基因 P73 和凋亡相关基因 BCL7a 启动子区域过甲基化,与 DNA 修复有关的肿瘤抑制基因失活,凋亡信号传导异常而使细胞增殖失控。Nakatsuka 等^[10]在

对白血病淋巴瘤的研究中发现,促凋亡蛋白激酶 DAP (death-associated protein) 启动子基因在 B 细胞白血病淋巴瘤甲基化率为 79.4% (27/34 例),在 T 细胞和 NK 细胞白血病淋巴瘤甲基化率为 47.4% (9/19 例)和 62.5% (15/24 例),并发现 DNA 甲基化程度高的白血病淋巴瘤细胞均耐受凋亡诱导作用,联合应用去甲基化处理则恢复对凋亡诱导的敏感性。Chen 等^[11]应用 DMBA 诱导小鼠口腔鳞状细胞癌的实验中发现,DMBA 处理组抗凋亡蛋白 survivin 明显表达, mRNA 合成增加,在药物未处理组则未测到。同时发现在 DMBA 未处理组, survivin 基因高甲基化,而 DMBA 处理组未发现 survivin 基因甲基化,表明 survivin 的表达是通过表观遗传机制控制的。这些研究说明表观遗传修饰异常是白血病发生发展的一种重要机制。

组蛋白乙酰化转移酶和去乙酰化酶与白血病

一些证据表明组蛋白乙酰化转移酶 (HAT) 具有肿瘤抑制功能。如果 HAT 活性缺失或失调可能导致癌症的发生。在许多类型的癌症中,编码 HAT 的基因发生易位、扩增、过表达和突变。在已知的 HAT 中, P300 和 CBP 认为是肿瘤抑制因子。P300 和 CBP 基因分别位于 16p13 和 22q13 在白血病或治疗相关性 MDS 中表现染色体移位、重排。在 80% 的恶性角质瘤和急性白血病中发现 P300 的杂合性缺失。在急性髓细胞白血病 (AML), 因 t(8; 16) (p11; p13) 染色体异常使 CBP 移位, 并和乙酰化酶基因 MOZ 或同源盒基因 MLL 融合, 在此两种融合蛋白中, CBP 的 HAT 结构域保持完整。在另一种 AML 中, t(11; 22) (q23; q13) 异常导致 P300 基因重排。MLL 基因位于 11q23 分别和 P300 CBP 形成 t(11; 22) (q23; q13)、t(11; 16) (q23; p13) 移位融合基因, 产生 MLL-P300 和 MLL-CBP 融合蛋白。这些染色体异常证明, HAT 错误靶向的乙酰化在白血病发生的原因方面起重要作用。在小鼠中发现 MLL-CBP 融合蛋白能形成 MDS 综合征, 并进展为髓性白血病^[12]。CBP 的嗅结构和乙酰化酶活性区域是致白血病必须的, 认为 MLL 的 N 端部分直接被 CBP 乙酰化导致白血病的发生。MLL-CBP 的潜在靶点是 HOX 基因家族, 可能导致这些基因异常表达, 引起白血病^[13]。

组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 参与癌症发展的证据来源于急性早幼粒细胞性白血病中的融合蛋白

PML-RAR α 和 PLZF-RAR α , 利用融合蛋白中的 RAR α 部分, PML 和 PLZF 募集组蛋白去乙酰化酶复合物至维甲酸 (RA) 受体 α 的靶基因阻抑转录和细胞分化。在 t(8 21)M2b 白血病中, AML1-ETO 失去了 AML1 作为调控造血和细胞周期转录因子的功能, 它们招募组蛋白去乙酰化酶复合体作用于 AML1 靶基因, 抑制 AML1 介导的转录活性。AML1-ETO 融合蛋白中 ETO 的 CRD 功能域介导的转录抑制活性占到 50% 左右, 主要通过 mSin3A 结合而起作用^[14]。因此, AML1-ETO 骨髓系细胞分化受阻和白血病转化作用可能是通过如下模式实现的: AML1-ETO 仍与 DNA 上的 AML1 特异序列结合, 但与野生型 AML1 不同, 融合蛋白 AML1-ETO 不能启动 P300/CBP 引导的组蛋白乙酰化和转录激活。相反, 通过融合蛋白中 ETO 的锌指结构域, AML1-ETO 募集 N-CoR 和 HDAC, 使该复合物持久地固定于 AML1 反应基因的启动子区, 维持该区的组蛋白去乙酰化构象, DNA 和转录复合体不能接近, 主动阻抑分化基因转录^[15]。

组蛋白修饰与白血病

组蛋白修饰是表观遗传学修饰的另一机制, 包括组蛋白乙酰化修饰和甲基化修饰。组蛋白赖氨酸的 N 端乙酰化或去乙酰化修饰改变着核小体的结构, 组蛋白中去乙酰化的赖氨酸带正电荷, 被吸引到带负电荷的 DNA 中, 产生一种紧密的染色质结构, 抑制转录。另一方面, 组蛋白乙酰化酶使赖氨酸乙酰化移走它们的正电荷, 从而导致开放的染色质结构, 加速基因转录。HDAC 从赖氨酸移走乙酰基, 可以逆转这一过程从而抑制转录。核小体中组蛋白的异常去乙酰化可能与 HDAC 专一性的错误调节有关, 也与肿瘤转化相关。组蛋白中赖氨酸被特异性组蛋白甲基化转移酶甲基化, 一方面核小体中组蛋白 H3 的赖氨酸 4 甲基化与染色质开放构象和基因表达相关; 另一方面, 组蛋白 H3 中赖氨酸 9 的甲基化与染色质的浓缩和转录抑制相关。这种组蛋白甲基化修饰和组蛋白乙酰化及去乙酰化对基因表达的影响称作组蛋白密码^[16], 与基因转录表达相关, 异常时与肿瘤发生有关。

人类 hDoTIL 基因和 AF10 (一种与 MLL 和 AML 有关的融合蛋白) 结合, 通过 AF10 的 OM-LZ 区域介导 MLL 白血病的发生, MLL-hDoTIL 和 MLL-AF10 介导的白血病细胞转化, 导致一系列白血病相关基因的上调, 并伴有组蛋白 H3 K79 的高甲基

化^[17]。MLL 蛋白具有组蛋白 H3 甲基化转移酶活性, 可以通过直接结合或使 Hox 基因甲基化而调节 Hox 表达, 在白血病细胞转化和发生中有重要作用^[18]。Lukasova 等^[19] 研究 CML 的表观遗传学发现, CML 患者的粒细胞存在不同程度的组蛋白 H3 甲基化现象, 在 CML 加速期和白血病期, 组蛋白 H3 甲基化作用明显增强。在 CML 慢性期, 组蛋白甲基化水平、疾病进展和用药方式没有明显相关性, 甚至在 "治愈" 的患者仍可见到组蛋白 H3 甲基化现象, 提示在这些患者粒细胞的染色质变构调节是不完全的。白血病细胞组蛋白 H3 甲基化现象提示其染色质浓缩的不完整性, 可能与白血病细胞增殖、疾病预后和复发有重要相关性。

人类端粒酶逆转录酶 (hTERT) 基因在正常分化细胞是失活的, 而在肿瘤细胞被再激活。研究在细胞分化过程中 hTERT 启动子活性减低的机制, 发现是由于 hTERT 启动子基因进行性的组蛋白低乙酰化和甲基化积累的结果^[20], 说明细胞进化过程中表观遗传修饰的复杂性, 低乙酰化和高甲基化对维持细胞正常功能也是必须的。在急性早幼粒细胞白血病细胞, PML-RAR α 移位基因产生的融合蛋白募集 DNA 甲基化转移酶到分化基因启动子靶点诱导该基因高甲基化和沉默。这种高甲基化作用与白血病发生直接相关, 维甲酸处理后显示启动子基因去甲基化, 分化基因在表达, 白血病表型逆转^[21]。这个研究结果提示在白血病细胞转化过程中, 遗传学异常和表观遗传学异常是互相联系的, 而表观遗传学的积累对白血病发生的早期阶段是至关重要的。

RNA 相关性沉默与白血病

RNA 沉默 (RNA silencing) 是一种在真核生物体内普遍存在的、发生在 RNA 水平的、基于核酸序列特异性的相互作用来抑制基因表达的调控机制, 在动物中称为 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi)。双链 (ds) RNA 是 RNA 沉默起始的关键分子, dsRNA 首先被降解为不同长度的小 RNA, 其中具有 21-26 个碱基的双链小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 在介导对病毒、转基因和转座子等外来入侵核酸序列特异性的 RNA 降解, 在防御病毒感染和监视外来核酸中起重要作用^[22]。RNAi 是转录后水平的基因沉默机制, 高效抑制基因表达, 能封闭病毒生存和繁殖所必需的基因, 产生抗病毒效应。RNAi 与白血病发病关系的研究未见报道, 推测在与病毒密切相关的白血病/淋巴瘤的发病中应存在 RNAi 机

制缺陷,未能对入侵的核酸分子(如 HTLV, EBV, C 型病毒等)起到应有的作用,而使这些外来核酸分子复制整合导致恶性血液病的发生。

RNA 对白病实验性治疗已有报道。Wohlbold 等^[23]应用 bcr/abl 断裂融合点基因设计的 sRNA 能明显减少 bcr/abl 蛋白表达,对抗 bcr/abl 蛋白的生化特性,能选择性抑制依赖 bcr/abl 的细胞的生长,而且 bcr/abl 同源的 sRNA 能增加伊马替尼对 bcr/abl 阳性细胞的敏感性。Cicca 等^[24]应用 C-raf 和 bcl2 基因设计的 dsRNA 转染入 HL-60, U937, THP-1 和 K562 细胞,结果均可以降低 C-raf 和 Bcl2 蛋白表达,诱导这些细胞的凋亡和增加其对伊托泊甙及柔红霉素化疗的敏感性。Heidenreich 等^[25]应用靶向 AML1-MTG8 位点的 sRNA,能明显减低 AML1-MTG8 蛋白水平而不影响野生型 AML1 的活性。McCarthy 等^[26]设计 IL-10 的 sRNA 作用于 CLL 的 B-1 细胞株 LNC,显示降低 IL-10 的表达,使 LNC 细胞阻滞在 G₂/M 期,有效地诱导 LNC 细胞凋亡。sRNA 作为一种使异常基因沉默的理想靶点,其有效性得到公认,但还需进一步深入研究。

尽管多数肿瘤是克隆性起源,但同种或同类肿瘤间巨大的异质性提示肿瘤的发生是遗传因素、表观遗传因素和微环境的选择性压力联合作用的结果。表观遗传修饰在肿瘤相关基因表达中的重要性逐渐被重视,对白血病细胞表观遗传学异常的研究将为白血病的治疗提供新的策略。

参 考 文 献

- 1 W olffe AP, Matzke MA. Epigenetics: regulation through repression. *Science*, 1999; 286(5439): 481 - 486
- 2 Egger G, Liang G, Aparicio A, et al. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, 2004; 429(6990): 457 - 446
- 3 Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet*, 2002; 3: 415- 428
- 4 Costello JF, Fruhwald MC, Smiraglia DJ, et al. Aberrant CpG-island methylation has non-random and tumor-type specific patterns. *Nat Genet*, 2000; 24: 132- 138
- 5 Hasegawa D, Manabe A, Kubota T. Methylation status of the p15 and p16 genes in paediatric myelodysplastic syndrome and juvenile myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*, 2005; 128: 805- 812.
- 6 Zhang SJ, Endo S, Saito T, et al. Primary malignant lymphoma of the brain: frequent abnormalities and inactivation of p14 tumor suppressor gene. *Cancer Sci*, 2005; 96: 38- 41
- 7 Mura M, Toyota M, Satoh A, et al. Aberrant DNA methylation associated with silencing BNIP3 gene expression in haematopoietic tumours. *Br J Cancer*, 2005; 92: 1165- 1172
- 8 Reddy J, Shivapurkar N, Takahashi T, et al. Differential methylation of genes that regulate cytokine signaling in lymphoid and hematopoietic tumors. *Oncogene*, 2005; 24: 732- 736

- 9 varDoom R, Zouman WH, Dijkman R, et al. Epigenetic profiling of cutaneous T-cell lymphoma: promoter hypomethylation of multiple tumor suppressor genes including BCL7a, PTPRG, and p73. *J Clin Oncol*, 2005; 23: 3886- 3896
- 10 Nakatsuka S, Takakuwa T, Tomita Y, et al. Hypomethylation of death-associated protein (DAP) kinase CpG island is frequent not only in B-cell but also in T- and natural killer (NK) T-cell malignancies. *Cancer Sci*, 2003; 94: 87- 91
- 11 Chen YK, Hsue SS, Lin LM. Survivin expression is regulated by an epigenetic mechanism for DMBA-induced hamster buccal pouch squamous cell carcinoma. *Arch Oral Biol*, 2005; 50: 593- 598
- 12 Lavau C, Du C, Thimian M, et al. Chromatin-related properties of CBP fused to MLL generate a myelodysplastic-like syndrome that evolves into myeloid leukemia. *EMBO J*, 2000; 19: 4655- 4664
- 13 Aytton PM, Cleary ML. Transformation of myeloid progenitors by MLL oncoproteins is dependent on Hoxa7 and Hoxa9. *Genes Dev*, 2003; 17: 2298- 2307
- 14 Hildebrand D, Tiefenbach J, Heinzel T, et al. Multiple regions of ETO cooperate in transcriptional repression. *J Biol Chem*, 2001; 276: 9889- 9895
- 15 Mehik AM, Westendorf JJ, Polinger A, et al. The ETO protein disrupted in t(8;21)-associated acute myeloid leukemia is a corepressor for the promyelocytic leukemia zinc finger protein. *Mol Cell Biol*, 2000; 20: 2075- 2086
- 16 Nguyen CT, Weisenberger DJ, Velculescu M, et al. Histone H3 lysine 9 methylation is associated with aberrant gene silencing in cancer cells and is rapidly reversed by 5-azaz-2'-deoxycytidine. *Cancer Res*, 2002; 62: 6456- 6461
- 17 Okada Y, Feng Q, Lin Y, et al. hDOT1L links histone methylation to leukemogenesis. *Cell*, 2005; 121: 167- 178
- 18 Hess JL. Mechanisms of transformation by MLL. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2004; 14: 235- 254
- 19 Lukasova E, Koristek Z, Falk M, et al. Methylation of histones in myeloid leukemias as a potential marker of granulocyte abnormalities. *J Leukoc Biol*, 2005; 77: 100- 111
- 20 Liu L, Saldanha SN, Pate MS, et al. Epigenetic regulation of human telomerase reverse transcriptase promoter activity during cellular differentiation. *Genes Chromosomes Cancer*, 2004; 41: 26- 37
- 21 Di Croce L, Raker VA, Corsaro M, et al. Methyltransferase recruitment and DNA hypomethylation of target promoters by an oncogenic transcription factor. *Science*, 2002; 295(5557): 1079- 1082
- 22 Carrington JC, Ambros V. Role of microRNAs in plant and animal development. *Science*, 2003; 301(5631): 336- 338
- 23 Wohlbold L, van der Kuip H, Methling C, et al. Inhibition of bcr-abl gene expression by small interfering RNA sensitizes for imatinib mesylate (STI571). *Blood*, 2003; 102: 2236- 2239
- 24 Cicca DP, Aoki Y, Kiyosawa K. RAN interference is a functional pathway with therapeutic potential in human myeloid leukemia cell lines. *Cancer Gene Ther*, 2003; 10: 125- 133
- 25 Heidenreich O, Krauter J, Riehle H, et al. AML1-MTG8 oncogene suppression by small interfering RNAs supports myeloid differentiation of t(8;21)-positive leukemic cells. *Blood*, 2003; 101: 3157- 3163
- 26 McCarthy BA, Mansour A, Lin YC, et al. RNA interference of IL-10 in leukemic B-1 cells. *Cancer Immunol*, 2004; 4: 6