

鼻咽癌的表现遗传学研究进展*

刘华英 彭淑平 周 鸣 李桂源**

(中南大学肿瘤研究所, 长沙 410078)

摘要 表观遗传学是功能基因组学的重要组成部分, 它实际上是研究理化、生物等环境因素以及饮食习惯等对遗传因素的作用, 并由这一作用引起 DNA 序列以外的遗传物质改变. 鼻咽癌是我国南方常见恶性肿瘤, 具有明显的家族聚集倾向, 存在基因组不稳定性, 易受理化、生物等环境因素的影响, 是多基因遗传性肿瘤. 鼻咽癌这种独特病因体系提示: 鼻咽癌是研究肿瘤表观遗传修饰的最佳模型之一. 主要从 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重构和非编码 RNA 的调控 4 方面对鼻咽癌表观遗传学研究进展进行综述并针对性地提出了一些新的建议, 目的是为进一步探究鼻咽癌表观遗传学发病机制, 更好地全面理解鼻咽癌的病因发病机制网络体系, 寻找鼻咽癌高危易感人群的筛查、早期诊断、治疗、预后判断的表观遗传修饰分子标志物开辟新的前景.

关键词 鼻咽癌, 表观遗传学, DNA 甲基化, 组蛋白修饰, 染色质重构, 非编码 RNA 调控, 表观遗传修饰分子标志物

学科分类号 Q74

结构基因组学为我们研究基因活性和人类疾病的相关性提供了有力根据, 但人类大部分疾病并不仅仅是因为基因改变所致, 生物、理化等环境因素、饮食习惯以及人体内环境稳态紊乱等诸多因素都参与了疾病的发生发展. 因此, 单纯的结构基因组学无法回答生命科学领域的所有问题, 人类基因组学还需要从横向纵向, 如: 表观基因组学、转录组学、代谢组学、肿瘤基因组学、综合性疾病基因组学等多方面延伸. 表观基因组学是功能基因组学的重要组成部分. 在基因组水平上研究表观遗传修饰的领域被称为“表观基因组学”^[1,2]. 表观基因组学使人们对基因组的认识又增加了一个新视点: 对基因组而言, 不仅仅是序列包含遗传信息, 其修饰也可以记载遗传信息. 欧洲的生物学家于 1999 年成立了“人类表观基因组联合研究体”, 人类表观基因组协会(HEC)于 2003 年宣布正式启动为期 5 年的人类表观基因组计划(HEP), 2004 年 9 月 24 日欧洲还成立了“表观基因组学”先进研究网络, 表明表观基因组学研究已渐入佳境^[3,4].

1 肿瘤表观遗传学概况

表观遗传是指 DNA 序列不发生变化但基因表达却发生了可遗传的改变^[1,2]. 这种改变是细胞内

DNA 序列以外的其他遗传物质发生的改变, 且在发育和细胞增殖过程中通过减数分裂能稳定传递. 这种改变反应的是环境因素和遗传因素的相互作用, 也是遗传学中相同基因型出现不同表型的最佳解释. 更为重要的是: 通常 DNA 序列的改变是永久性的, 而许多表观遗传改变是可逆的^[5,6]. 一般来说, 表观遗传修饰主要包括以下 4 个方面: DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重构和非编码 RNA 的调控. 任何一方面的异常都将影响染色质结构和基因表达, 导致复杂综合征——多因素疾病以及癌症.

与大多数人类疾病一样, 肿瘤细胞也有其自身的表观遗传学病因^[7]. DNA 甲基化水平紊乱, 又称为甲基化重排是人类肿瘤最常见的表观遗传改变. 在肿瘤中, 低甲基化通常发生在中度和高度重复序列, 包括异染色质 DNA 重复序列、散布的逆转录

*国家自然科学基金重大项目(30330560), 湖南省卫生厅重大专项(05SK1001-1), 国家重点基础研究发展计划(973)前期研究专项(2005CCA03200), 国家自然科学基金(30300175、30300205、30300063、30400238、30400084、30400528、30500584)和湖南省自然科学基金(05JJ300063)资助项目.

** 通讯联系人. Tel: 0731-4805383, E-mail: ligy@xyism.net

收稿日期: 2006-11-26, 接受日期: 2006-12-31

转座子(retrotransposons)和内源性逆转录病毒元件. 低甲基化可导致染色质的不稳定性, 特别是重复序列染色质结构的不稳定性. 另外, 低甲基化也可发生于某些单一序列, 如一些癌基因的启动子区等. 启动子区低甲基化可以提高基因的表达而激活癌基因^[8,9], 如: EGR1(early growth response-1)的启动子区 CpG 岛低甲基化导致膀胱癌, cyclin D2 启动子区 CpG 岛低甲基化导致胃癌等. 癌细胞在整体低甲基化的水平下, 一些跨越管家基因和肿瘤抑制基因启动子的 CpG 岛区却是高甲基化. 这种高甲基化的 DNA 序列一方面通过结合甲基化 CpG 岛结合蛋白, 如: MeCP2、MBD2, 而抑制基因转录, 另一方面通过募集和绑定染色质非活性复合物(此复合物中含有组蛋白去乙酰化酶和组蛋白甲基化转移酶)于甲基化的 DNA 序列, 导致局部染色质浓缩为转录抑制型, 从而抑制基因表达^[10]. CpG 岛高甲

基化作用在肿瘤的发生发展中起着重要的作用. 同时, 它也是肿瘤发生发展中基因表达沉默的主要机制, 尤其表现在肿瘤抑制基因和错配修复基因. 以往认为肿瘤抑癌基因失活只有两条途径: 基因突变和染色体遗传物质丢失(杂合性丢失 LOH 或等位基因丢失). Herman 和 Baylin^[11]认为 DNA 甲基化是肿瘤抑制基因失活的第三种机制, 而且在某些情况下是抑癌基因失活的唯一机制(图 1). 约翰霍普金斯大学的研究者们认为, 肿瘤细胞的表现遗传学改变比肿瘤细胞的基因突变来得更早些. 肿瘤的最早发生可能源自干细胞阶段的表现遗传学改变(epigenetic alterations). DNA 甲基化可发生于细胞恶变之前, 因此检测肿瘤相关基因特别是肿瘤抑癌基因启动子甲基化, 有助于早期发现有癌变倾向的细胞, 鉴别肿瘤类型和亚型, 还可作为分子指标判断预后等.

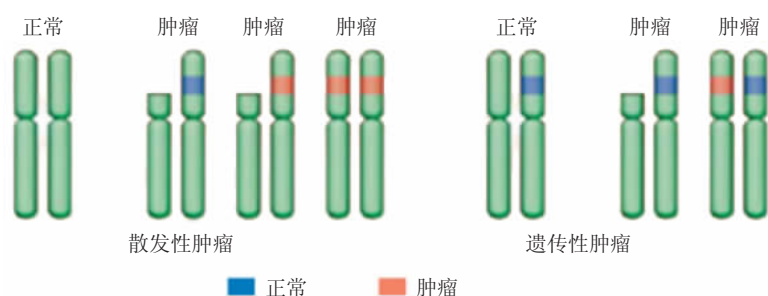


Fig. 1 Genetic and epigenetic changes that inactivate tumor-suppressor genes according to the Knudson two-hit hypothesis^[11]

图 1 根据 Knudson 的二次打击学说描述的导致肿瘤抑制基因失活的遗传和表观遗传改变示意图^[11]

组蛋白修饰是细胞内基因转录调控的关键信息平台, 它通过整合上游分子通路, 产生适宜的细胞核信号, 如转录激活或转录抑制, 而调节基因的表达. 组蛋白修饰相关酶在表观遗传编码机制中具有重要作用^[12]. 组蛋白修饰酶变异及组蛋白修饰异常也将导致肿瘤, 而且异常组蛋白修饰与 DNA 甲基化重排往往相互作用, 使肿瘤细胞多基因表达紊乱更加复杂, 分化受阻更加严重. 肿瘤细胞中由 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重构和非编码 RNA 共同构成的精细而完美的基因表达调控机制被极度扭曲. 基因组 DNA 的异常甲基化、染色质重构异常、组蛋白的异常修饰、印记基因异常及非编码 RNA 分子的异常表达等都参与了细胞癌变过程, 并成为肿瘤细胞的一个重要特征^[11,12].

2 鼻咽癌与 DNA 甲基化修饰

鼻咽癌是一种多基因遗传性肿瘤, 在中国南方和国外中国南方移民及后裔中发病率极高, 尤其是中国南方广东省, 鼻咽癌发病率较欧美其他地区高 25~30 倍^[3,4], 因此鼻咽癌被俗称为“中国癌”(Chinese cancer)^[13,14]. 流行病学调查结果显示, 鼻咽癌的病因主要包括以下几个方面: a. EB 病毒感染, 调查结果表明几乎所有的未分化和低分化鼻咽癌都与 EB 病毒潜伏性感染有关; b. 遗传因素, 鼻咽癌具有明显的种族及家族聚集现象, 居住在其他国家的中国南方人后代仍保持着高的鼻咽癌发病率; c. 饮食因素, 鼻咽癌高发区的居民从幼时都习惯食咸鱼, 咸鱼中含有亚硝胺化合物, 用这种咸鱼喂养大

白鼠,可以诱发鼻腔及鼻窦癌,且与食咸鱼的年龄,食用的期限、额度及烹调方法有关^[13~16]. Feil^[17]最近报道,环境因素、饮食习惯等可以在不改变 DNA 序列的情况下,影响相关基因的转录和表达,不利环境因素和饮食习惯可以通过 DNA 甲基化和组蛋白的共价修饰来扰乱基因的正常表达. 鼻咽癌发病的这种独特病因体系提示:鼻咽癌是研究肿瘤表现遗传修饰的最佳模型之一.

近年来,研究者们开展了对鼻咽癌的表现遗传改变研究,特别是启动子甲基化修饰研究. 姚开泰等发现,编码 RhoGTP 酶激活蛋白的肿瘤抑制基因 DLC1 (deleted liver cancer 1) 在鼻咽癌组织及细胞中表达下调,但该基因在鼻咽癌中并没有突变^[18]. 利用甲基化特异性引物 PCR 技术发现,79%的鼻咽癌组织及 2 株不表达 DLC1 细胞系 5-8F、6-10B 中存在 DLC1 基因启动子 CpG 岛甲基化. 鼻咽癌组织及细胞中 DLC1 基因表达下调或缺失是其启动子 CpG 岛高甲基化所致^[19]. Ying 等^[20]发现,编码细胞粘附分子蛋白的抑癌基因 PCDH10 (protocadherin 10)、抑制细胞生长和应答环境压力的抑癌基因 GADD45G (growth arrest and DNA damage-inducible) 在鼻咽癌细胞株和瘤组织中都存在启动子高甲基化,但在正常细胞株及癌旁组织没有这种现象. DNA 甲基化酶抑制剂 5-氮杂胞嘧啶核苷(5-aza-2'-deoxycytidine)或敲除甲基化转移酶基因 DNMT1 和 DNMT3b,能分别逆转 PCDH10 和 GADD45G 基因在鼻咽癌中的表达. 染色体 3p21.3 区域的杂和性丢失是人类肿瘤的常见事件. RASSF1 基因是位于染色体 3p21.3 区域的抑癌基因. 在检测的 35 例原发性鼻咽癌中, RASSF1 基因的高频突变率为 74%(17/23). 更为重要的是,在检测的同组病例中, RASSF1 基因启动子高甲基化的频率也为 74%,而且该基因启动子高甲基化和基因突变没有任何关联,提示这二者都参与了鼻咽癌的发病过程,并起着同等重要的作用^[21,22]. 姚开泰等也发现, RASSF1 基因启动子的异常高甲基化和高 EB 病毒负荷都是鼻咽癌发病的重要分子机制,这二者都将可能成为鼻咽癌分子诊断标志物^[23]. 压力应答基因 BLU 是位于染色体 3p21.3 区域的抑癌基因. Qiu 等^[24]发现, BLU 在鼻咽癌中表达下调,且这种下调与启动子区的甲基化程度负相关. 视黄酸信号通路 (retinoid signaling pathway) 具有控制细胞生长、分化和凋亡的能力, Kwong 等^[25,26]发现该信号通路中的 RARbeta2 (retinoic receptor beta2)、CRBP I

(cellular retinol-binding protein 1)、CRBP IV (cellular retinol-binding protein 4) 和 TIG1 (tazarotene-induced gene 1) 在鼻咽癌细胞株和移植瘤中都存在启动子高甲基化现象. 在 48 例原发性鼻咽癌病例中, CRBP I、CRBP IV、TIG1 启动子高甲基化频率分别为 87.8%、54.2%和 90.7%. DNA 甲基化酶抑制剂 5-氮杂胞嘧啶核苷能逆转 CRBP I、CRBP IV、TIG1 基因在鼻咽癌细胞株中的表达. 另外,他们还发现在鼻咽癌病例和细胞株中 RARbeta2、CRBP I、CRBP IV、TIG1 基因启动子同时出现高甲基化也是经常性的事件. 这些结果提示因 RARbeta2、CRBP I、CRBP IV、TIG1 基因的异常表观遗传修饰所致视黄酸应答障碍在鼻咽癌的发病机制中起着重要的作用.

EB 病毒与鼻咽癌密切相关,中国南方地区鼻咽鳞状细胞癌与 EB 病毒的感染有着较恒定而非偶然的关系. EB 病毒 LMP1 (latent membrane protein) 基因能明显改变上皮细胞的生物学行为,促进细胞的生长、增殖和转化,使转染的上皮细胞获得肿瘤细胞的生长特征^[27]. Tsai 等^[28,29]发现, LMP1 能诱导 DNA 甲基化转移酶 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b 的表达及酶活性,进而引起 E-钙粘素 (E-cadherin) 基因启动子的高甲基化,并使 E-钙粘素基因表达下调, 5-氮杂胞嘧啶核苷(5-aza-2'-deoxycytidine)能逆转 E-钙粘素启动子活性,并能上调表达 LMP1 基因的鼻咽癌株中的 E-钙粘素基因的表达.

另外,研究还发现 TSLC1 (tumor suppressor in lung cancer)、EDNRB (endothelin receptor type B)、DAP-kinase (death associated protein kinase)、p16、CHFR (checkpoint with fork-head associated and ring finger)、HIN-1 (high-in-normal-1) 等基因启动子高甲基化都参与了鼻咽癌的发病过程^[30~34].

综合分析国内外有关 DNA 异常甲基化修饰对鼻咽癌发病机制的作用研究可知,不只一个或几个基因的异常甲基化修饰参与了鼻咽癌的发病过程, DNA 甲基化修饰可能涉及鼻咽癌发病不同阶段、不同分化程度的多个信号分子通路的多组基因或分子. 因此,我们还需要从基因组水平整体地考察 DNA 甲基化修饰与鼻咽癌癌变机制的关系.

3 组蛋白修饰与鼻咽癌癌变机制的关系

表观遗传修饰除了 DNA 甲基化修饰以外,还有一种常见的方式是修饰染色质结构. 不同的染色质结构常常影响到基因的表达. 细胞对外在刺激作

出的每一个反应几乎都会涉及到染色质结构的改变, 这一改变是通过修饰组蛋白, 变换组蛋白密码实现的. 组蛋白在进化中是保守的, 但它们并不是静态结构. 组蛋白在翻译后的修饰中会发生改变, 从而提供一种识别的标志, 称为组蛋白密码 (histone code). 常见的组蛋白密码元素包括组蛋白乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、糖基化, ADP 核糖基化、羧基化等修饰作用. 其中乙酰化和甲基化研究最多. 一般来说, 组蛋白乙酰化能选择性地使某些染色质区域的结构从紧密变得松散, 开放某些基因的转录, 增强其表达水平. 组蛋白甲基化既可抑制也可增强基因表达^[35-37]. 在人类多种疾病中, 都存在组蛋白密码错误的迹象. 因此, 有人将组蛋白密码称之为“第二套遗传密码”.

最近, 中南大学肿瘤研究所^[38,39]发现, 鼻咽癌候选抑癌基因 BRD7 编码蛋白能结合和识别乙酰化组蛋白, 并且与乙酰化组蛋白在细胞核内存在共定位. 进一步研究证实, BRD7 蛋白是通过其溴区结构域与第 14 位赖氨酸乙酰化的组蛋白 3 结合, 如果缺失 BRD7 的溴区结构域, 则丧失了这种结合

力. 在鼻咽癌细胞中过表达 BRD7 基因能通过调节细胞周期相关基因, 如: E2F3 等的转录活性而抑制鼻咽癌细胞增殖和细胞周期 G1 至 S 期的进程. 这些结果提示 BRD7 基因在鼻咽癌细胞中可能通过涉及组蛋白的解码功能而调控下游靶基因的转录活性. Zhang 等^[40]发现锚蛋白重复序列共刺激因子家族新成员 Anco-1 编码一个含 5 个锚蛋白重复序列的大核蛋白. 这个蛋白的 N 端序列已被证实为鼻咽癌的抑癌蛋白, 它的中间部分被证实为小儿髓芽细胞瘤抗原 (medulloblastoma antigen). Anco-1 能与 p160 共激活因子结合, 并且与组蛋白去乙酰化酶存在共定位. 研究表明它可能通过募集组蛋白去乙酰化酶至 p160 共激活因子而抑制配体依赖性的反式激活作用 (ligand-dependent transactivation). Nishikawa 等^[41]发现, 60%EB 病毒感染鼻咽癌细胞中能检测到 LMP1 的表达, LMP1 的表达水平随肿瘤的不同及细胞类型的不同而各异, EB 病毒阳性而 LMP1 低表达的鼻咽癌细胞 TWO-EBV 经乙烯基丁酸酯 (n-butyrate) 或去乙酰化酶抑制剂 trichostatin A 处理后, LMP1 表达水平上升, 这种

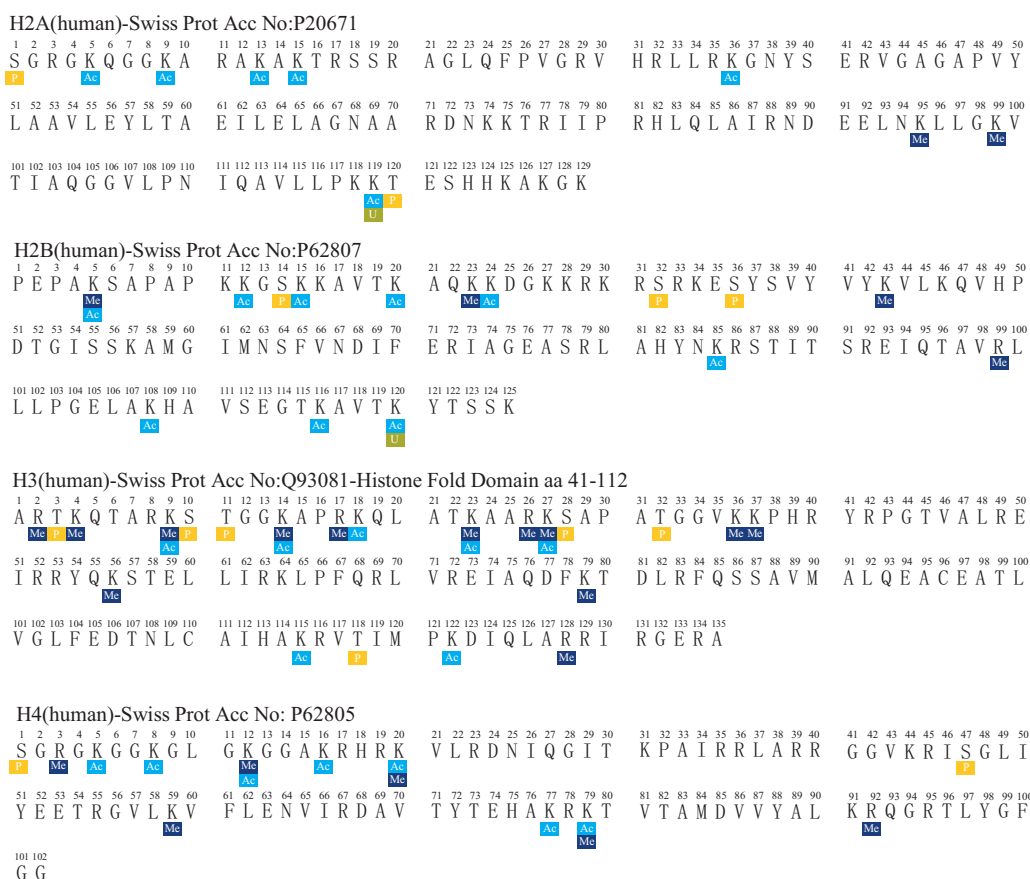


Fig. 2 Histone modification map (human)

图 2 人类组蛋白修饰图谱 (<http://www.abcam.com>)

上升在药物处理 2 h 后就能检测到, 且持续到处理后 24 h. 免疫荧光定位实验显示: 几乎所有处理过的 TWO-EBV 细胞都表达 LMP1, 但并未检测到 EBNA2 和 BZLF 的表达. 另外, 在乙炔基丁酸酯 (n-butyrate) 或去乙酰化酶抑制剂 trichostatin A 处理 2 h 后, 鼻咽癌细胞 TWO-EBV 中就出现乙酰化组蛋白 H3 和 H4 的表达, 且其表达水平持续上升到处理后 8 h. 这些结果表明: 组蛋白去乙酰化酶抑制剂能上调 EB 病毒感染鼻咽癌细胞中 LMP1 的表达.

组蛋白修饰是细胞内基因表达的重要调控机制, 研究组蛋白修饰与鼻咽癌病因发病机制的关系, 对于我们从表现遗传学角度理解鼻咽癌癌变机制具有非常重要的意义. 但目前对组蛋白修饰与鼻咽癌癌变关系的研究甚少, 而组蛋白修饰类型和修饰位点众多. 到目前为止, 已发现了将近 70 余种不同位点及类型的组蛋白修饰(图 2), 因此, 染色质内 8 个核心组蛋白能形成多少种组蛋白修饰组合就可想而知了. 要从基因组水平全面考察组蛋白修饰与鼻咽癌发病分子机制的关系, 单靠传统的研究单个或几个组蛋白位点修饰的方法是无从达到这一目的. 微型、集成化、高通量的组蛋白修饰抗体芯片的运用为我们的研究带来了新的思路. 运用这一高通量技术, 一方面可以使我们从表现遗传学角度更好地理解鼻咽癌的病因发病机制, 另一方面为寻找组蛋白修饰相关的鼻咽癌早期诊断和治疗的分子标志物提供科学的前提基础.

4 染色质重建与鼻咽癌癌变机制的关系

染色质重构是表现遗传修饰的又一重要调节机制. 染色质重构使染色质结构发生一系列重要的变化, 如染色质去凝集, 核小体变成开放式的疏松结构, 使转录因子更易接近并结合核小体 DNA, 从而调控基因转录等^[37]. 一般来说, 染色质重构受如下 3 种不同的方式调控. 一是通过 ATP 依赖型重建复合体途径催化的^[42]. 目前已鉴定出了许多种人类 ATP 依赖型重建复合体, 如 SWI/SNF, RSC, CHRAC, NURF ACF 等等. 这些重建复合体通过共激活因子、转录因子以及重建复合体之间的相互作用调控靶基因的表达. 有些共激活因子可以结合并打开紧缩的染色质, 改变 DNA 与核小体中心颗粒缠绕的途径, 或改变核小体中心颗粒本身的结构, 从而促进转录因子及 RNA 聚合酶与启动子结合, 起始转录. 重建染色质的另一方式是经组蛋白乙酰转移酶(HAT)修饰组蛋白^[43]. 乙酰基转移至组蛋白末

端的碱基氨基酸后, 碱性组蛋白与酸性 DNA 之间的结合力将会降低. 这一过程还需别的特异共激活因子的共同参与. 而且 ATP 依赖型重建复合体与组蛋白乙酰转移酶 HAT 总是以协同作用的方式重建染色质. 染色质重建通常首先发生在增强子位点, 再延伸扩展到基因的启动子位点, 使 RNA 聚合酶等与启动子结合, 转录 RNA. 另外, 乙酰化的组蛋白也可在组蛋白去乙酰酶(HD)作用下除去乙酰基, 恢复紧缩的染色质结构. 重建染色质的第三种方式就是染色体内募集的多样性的组蛋白变体, 它们能改变组蛋白的稳定性, 并调整被修饰的核心组蛋白. 现发现组蛋白 H2A, H2B, H3 和 H1 都存在多种变体^[44]. 除了以上 3 种主要机制之外, 染色质重建和启动子 DNA 甲基化、组蛋白修饰紧密相连, 任何一种组蛋白修饰组合或 DNA 甲基化修饰都将引起染色质构象的改变, 并通过相关蛋白质因子募集转录共激活或共抑制因子, 从而调控目的基因的表达. 在鼻咽癌癌变分子机理研究中, 鼻咽癌基因组染色质重建的研究几乎还是个盲区, 进行探索的人太少. 期望不久的将来这一研究领域将得到学者们的关注.

5 miRNAs——鼻咽癌表现遗传修饰研究的新目标

非编码 RNA 调控, 特别是 microRNAs (miRNAs) 调控是表现遗传修饰中的一种新颖的基因表达调控机制^[45,46]. 它是由约 22 个核苷酸组成的非编码的单链 RNAs, 即 miRNAs 介导的基因调控机制. miRNAs 广泛地存在于动植物细胞中, 是一种新型的基因表达调控因子, 其功能是负调控基因表达. 当 miRNAs 和编码蛋白质的 mRNA 几乎完全配对时, miRNAs 诱导 RNA 介导的干扰途径 (RNAi). 但绝大多数哺乳动物细胞中的 miRNAs 并不导致靶 mRNA 的降解, 而是通过另外一种机制进行基因表达调控. 这些 miRNAs 通过不完全的碱基配对的方式与 mRNA 的 3' 非翻译区 (UTRs) 结合, 在一个类似于或者可能是等同于 RNA 干扰途径中, 在转录后水平上抑制基因翻译(图 3)^[47~49].

miRNAs 分子有其自身的编码基因, 有些位于基因组的非编码区, 有些位于蛋白质编码基因的内含子内. 最新预测认为, 人类基因组可能含有约 1 000 个 miRNA 基因, 它们在动物细胞中普遍都处于高表达水平, 而且每个 miRNA 可能调控近 200 个靶基因的表达. 许多癌基因和肿瘤抑制基因

同样也受到 miRNAs 分子的调控, 此时的 miRNAs 可能起到肿瘤抑制基因或是癌基因作用(图 4)^[50~52]. 在肿瘤中, miRNAs 分子表达常常发生异常改变, 如: 定位于染色体的 11q24 脆性位点的 mir-125b-1 在很多乳腺癌、肺癌、卵巢癌、子宫癌病人中存在缺失^[53]. Calin 等^[54]发现, 位于一个功能未知的被称为 LEU2 的非编码蛋白 RNA 基因内含子区域的 mir-15a 和 mir-16-1 基因簇, 在大多数成年型 B 细胞慢性淋巴型白血病(CLL)病人的细胞中缺失或是

表达下调. mir-143 和 mir-145 在结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、子宫癌、淋巴瘤等细胞系中其表达量也明显下调. 另外, 有些 miRNAs 分子表达下调可能导致其肿瘤靶基因表达上调, 如: 肺癌中 let-7 表达下调导致 RAS 上调从而导致肿瘤的发生^[55]. MiR-17-92 基因簇在人类恶性淋巴瘤中表达上调, 当它与 c-Myc 基因共表达于小鼠时, 可以放大 c-Myc 的效应^[54]. Cimmino 等^[56]最近发现, miR-15a 和 miR-16-1 负调控 BCL2, 因此, 这 2 个 miRNAs

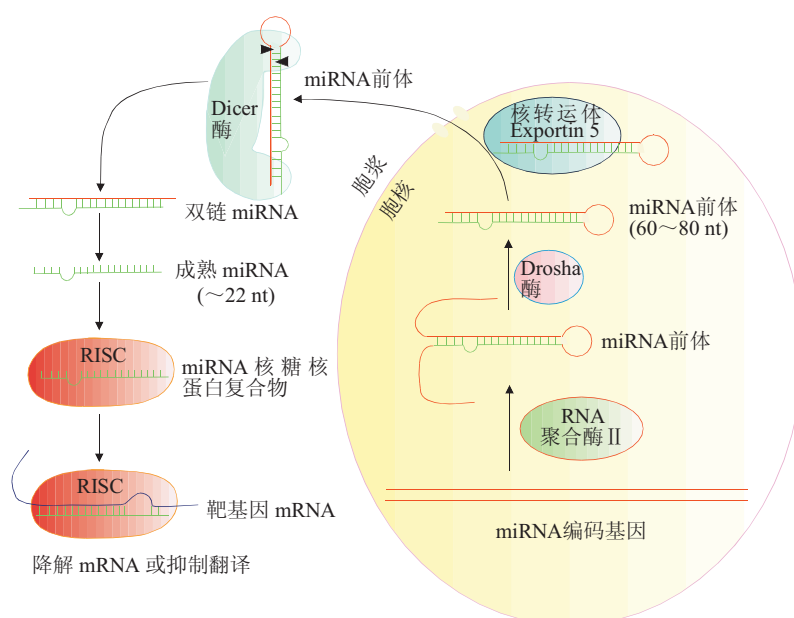


Fig. 3 Schematic representation of key steps in miRNA biogenesis and function^[47]

图 3 miRNA 的生物合成及发挥功能效应关键步骤示意图^[47]

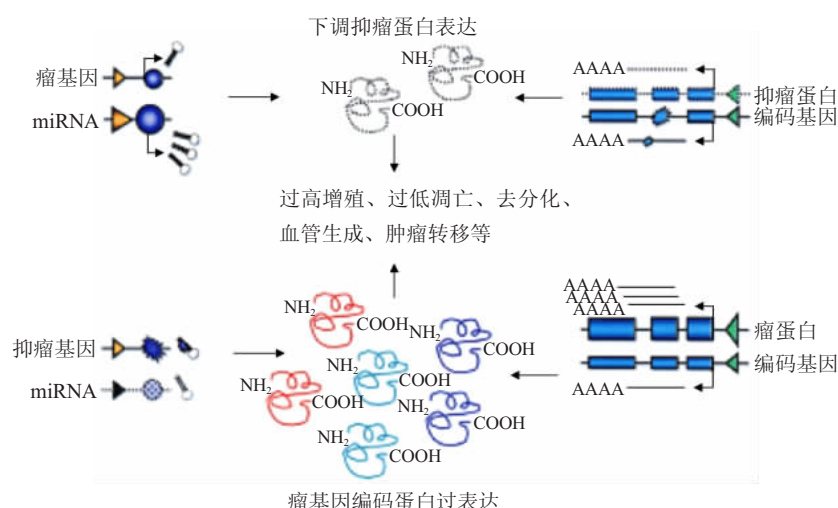


Fig. 4 miRNA activation and inactivation events and cooperation with protein coding genes in human tumorigenesis^[50]

图 4 miRNA 癌基因的活化和 miRNA 抑癌基因失活事件以及这些 miRNA 基因与蛋白编码癌基因、抑癌基因协同作用导致肿瘤发生的示意图^[50]

的缺失或下调, 导致了 BCL2 表达的升高, 促进了白血病和淋巴瘤的发生. 这些研究都说明 miRNAs 在肿瘤发生过程中起了至关重要的作用^[53]. 因此, 在鼻咽癌领域中研究 miRNAs 的调控模式、寻找鼻咽癌发病不同阶段细胞中差异表达 miRNAs、开展差异表达 miRNAs 分子对鼻咽癌发病机制的作用研究, 是鼻咽癌研究领域急需开展的新方向.

6 展 望

鼻咽癌是我国常见的恶性肿瘤, 占头颈部恶性肿瘤的 78.08%, 占上呼吸道癌肿的 92.99%, 每年新发病例达 1.5 万人以上. 由于其原发部位隐蔽, 不易被早期发现, 且恶性程度高, 易早期转移, 因此早期发现、早期诊断对鼻咽癌的防治具有非常重要的意义. 从全基因组水平研究 DNA 甲基化, 组蛋白修饰和 miRNA 调控对鼻咽癌发病不同阶段分子机制的作用, 建立鼻咽癌表现遗传修饰网络体系, 寻找和建立特异的、敏感的鼻咽癌早期诊断和高危易感人群筛查的 DNA 甲基化芯片、组蛋白修饰抗体芯片、差异表达 miRNA 分子芯片, 以及研发针对鼻咽癌表现遗传改变的新特效药物为解决鼻咽癌早期预防、早期诊断和治疗开辟了新的思路和前景. 这些芯片一旦研制成功并转化为生产力, 不但有望有效地预防和治疗鼻咽癌, 而且可获得巨大的经济效益和社会回报, 也可在有自主知识产权的生物工程领域的经济份额中占有一席之地.

参 考 文 献

- Esteller M. The necessity of a human epigenome project. *Carcinogenesis*, 2006, **27** (6): 1121~1125
- Garber K. Momentum building for human epigenome project. *J Natl Cancer Inst*, 2006, **98** (2): 84~86
- Rauscher F III. It is time for a human epigenome project. *Cancer Res*, 2005, **65** (24): 11229
- Jones P A, Martienssen R. A blueprint for a human epigenome project: the AACR human epigenome workshop. *Cancer Res*, 2005, **65** (24): 11241~11246
- Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev*, 2002, **16** (1): 6~21
- Takai D, Jones P A. Comprehensive analysis of CpG islands in human chromosomes 21 and 22. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (6): 3740~3745
- Jones P A, Laird P W. Cancer epigenetics comes of age. *Nature Genet*, 1999, **21** (2): 163~167
- Feinberg A P, Vogelstein B. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature*, 1983, **301** (5895): 89~92
- Feinberg A P, Gehrke C W, Kuo K C, *et al.* Reduced genomic 5-methylcytosine content in human colonic neoplasia. *Cancer Res*, 1988, **48** (5): 1159~1161
- Baylin S B, Herman J G. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends Genet*, 2000, **16** (4): 168~174
- Herman J G, Baylin S B. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med*, 2003, **349** (21): 2042~2054
- Fraga M F, Esteller M. Towards the human cancer epigenome: a first draft of histone modifications. *Cell Cycle*, 2005, **4** (10): 1377~1381
- Wei W I, Sham J S. Nasopharyngeal carcinoma. *Lancet*, 2005, **365** (9476): 2041~2054
- Lo K W, To K F, Huang D P. Focus on nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Cell*, 2004, **5** (5): 423~428
- Chan A T C, Teo P M L, Johnson P J. Nasopharyngeal carcinoma. *Ann Oncol*, 2002, **13** (7): 1007~1015
- Yu M C, Yuan J M. Epidemiology of nasopharyngeal carcinoma. *Semin Cancer Biol*, 2002, **12**: 421~429
- Feil R. Environmental and nutritional effects on the epigenetic regulation of genes. *Mutat Res*, 2006, **600** (1~2): 46~57
- Peng D, Ren C P, Yi H M, *et al.* Genetic and epigenetic alterations of DLC-1, a candidate tumor suppressor gene, in nasopharyngeal carcinoma. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2006, **38** (5): 349~355
- Seng T J, Low J S, Li H, *et al.* The major 8p22 tumor suppressor DLC1 is frequently silenced by methylation in both endemic and sporadic nasopharyngeal, esophageal, and cervical carcinomas, and inhibits tumor cell colony formation. *Oncogene*, 2007, **26**: 934~944
- Ying J, Li H, Seng T J, *et al.* Functional epigenetics identifies a protocadherin PCDH10 as a candidate tumor suppressor for nasopharyngeal, esophageal and multiple other carcinomas with frequent methylation. *Oncogene*, 2006, **25** (7): 1070~1080
- Pan Z G, Kashuba V I, Liu X Q, *et al.* High frequency somatic mutations in RASSF1A in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Biol Ther*, 2005, **4** (10): 1116~1122
- Chow L S, Lo K W, Kwong J, *et al.* RASSF1A is a target tumor suppressor from 3p21.3 in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer*, 2004, **109** (6): 839~847
- Zhou L, Jiang W, Ren C, *et al.* Frequent hypermethylation of RASSF1A and TSLC1, and high viral load of Epstein-Barr Virus DNA in nasopharyngeal carcinoma and matched tumor-adjacent tissues. *Neoplasia*, 2005, **7** (9): 809~815
- Qiu G H, Tan L K, Loh K S, *et al.* The candidate tumor suppressor gene BLU, located at the commonly deleted region 3p21.3, is an E2F-regulated, stress-responsive gene and inactivated by both epigenetic and genetic mechanisms in nasopharyngeal carcinoma. *Oncogene*, 2004, **23** (27): 4793~4806
- Kwong J, Lo K W, Chow L S, *et al.* Epigenetic silencing of cellular retinol-binding proteins in nasopharyngeal carcinoma. *Neoplasia*, 2005, **7** (1): 67~74

- 26 Kwong J, Lo K W, Chow L S, *et al.* Silencing of the retinoid response gene TIG1 by promoter hypermethylation in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer*. 2005, **113** (3): 386~392
- 27 Thompson M P, Kurzrock R. Epstein-Barr virus and cancer. *Clin Cancer Res*, 2004, **10** (3): 803~821
- 28 Tsai C N, Tsai C L, Tse K P, *et al.* The Epstein-Barr virus oncogene product, latent membrane protein 1, induces the downregulation of E-cadherin gene expression via activation of DNA methyltransferases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (15): 10084~10089
- 29 Li H, Minarovits J. Host cell-dependent expression of latent Epstein-Barr virus genomes: regulation by DNA methylation. *Adv Cancer Res*, 2003, **89**: 133~156
- 30 Lung H L, Cheng Y, Kumaran M K, *et al.* Fine mapping of the 11q22-23 tumor suppressive region and involvement of TSLC1 in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer*, 2004, **112** (4): 628~635
- 31 Hui A B, Lo K W, Kwong J, *et al.* Epigenetic inactivation of TSLC1 gene in nasopharyngeal carcinoma. *Mol Carcinog*, 2003, **38** (4): 170~178
- 32 Xiang Y N, Zhang W Y. The clinical significance of p16 protein non-expression and p16 gene inactivation by deletions and hypermethylation in nasopharyngeal carcinoma. *Chinese Journal of Pathology*, 2005, **34** (6): 358~361
- 33 Cheung H W, Ching Y P, Nicholls J M, *et al.* Epigenetic inactivation of CHFR in nasopharyngeal carcinoma through promoter methylation. *Mol Carcinog*, 2005, **43** (4): 237~245
- 34 Liu X Q, Chen H K, Zhang X S, *et al.* Alterations of BLU, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 3p21.3, in human nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer*, 2003, **106** (1): 60~65
- 35 Strahl B D, Allis C D. The language of covalent histone modifications. *Nature*, 2000, **403** (6765): 41~45
- 36 Turner B M. Cellular memory and the histone code. *Cell*, 2002, **111** (3): 285~291
- 37 Luger K, Mader A W, Richmond R K, *et al.* Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*, 1997, **389** (6648): 251~260
- 38 Cong P, Jie Z, Ying L H, *et al.* The transcriptional regulation role of BRD7 by binding to acetylated histone through bromodomain. *J Cell Biochem*, 2006, **97** (4): 882~892
- 39 Zhou J, Ma J, Zhang B C, *et al.* BRD7, a novel bromodomain gene, inhibits G1-S progression by transcriptionally regulating some important molecules involved in ras/MEK/ERK and Rb/E2F pathways. *J Cell Physiol*, 2004, **200** (1): 89~98
- 40 Zhang A, Yeung P L, Li C W, *et al.* Identification of a novel family of ankyrin repeats containing cofactors for p160 nuclear receptor coactivators. *J Biol Chem*, 2004, **279** (32): 33799~33805
- 41 Nishikawa J, Kis L L, Liu A, *et al.* Upregulation of LMP1 expression by histone deacetylase inhibitors in an EBV carrying NPC cell line. *Virus Genes*, 2004, **28** (1): 121~128
- 42 Lusser A, Kadonaga J T. Chromatin remodeling by ATP-dependent molecular machines. *Bioessays*, 2003, **25** (12): 1192~1200
- 43 Turner B M. Decoding the nucleosome. *Cell*, 1993, **75** (1): 5~8
- 44 Khochbin S. Histone H1 diversity: bridging regulatory signals to linker histone function. *Gene*, 2001, **271** (1): 1~12
- 45 Mattick J S. Non-coding RNAs: the architects of eukaryotic complexity. *EMBO Rep*, 2001, **2** (11): 986~991
- 46 Mattick J S. Challenging the dogma: the hidden layer of non-protein-coding RNAs in complex organisms. *Bioessays*, 2003, **25** (10): 930~939
- 47 Yang M, Li Y, Padgett R W. MicroRNAs: Small regulators with a big impact. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005, **16** (4~5): 387~393
- 48 Yelin R, Dahary D, Sorek R, *et al.* Widespread occurrence of antisense transcription in the human genome. *Nat Biotechnol*, 2003, **21** (4): 379~386
- 49 Mattick J S. RNA regulation: a new genetics?. *Nat Rev Genet*, 2004, **5** (4): 316~323
- 50 Calin G A, Croce C M. MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale. *Cancer Res*, 2006, **66** (15): 7390~7394
- 51 Kiss A M, Jady B E, Bertrand E, *et al.* Human box H/ACA pseudouridylation guide RNA machinery. *Mol Cell Biol*, 2004, **24** (13): 5797~5807
- 52 Esquela-Kersch A, Slack F J. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, **6** (4): 259~269
- 53 Calin G A, Sevignani C, Dumitru C D, *et al.* Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101** (9): 2999~3004
- 54 Calin G A, Dumitru C D, Shimizu M, *et al.* Frequent deletions and downregulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (24): 15524~15529
- 55 Medicine Stanford, Calif He L, Thomson J M, *et al.* A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature*, 2005, **435**: 828~833
- 56 Cimmino A, Calin G A, Fabbri M, *et al.* miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102** (39): 13944~13949

Progress of Epigenetic Study on Nasopharyngeal Carcinoma*

LIU Hua-Ying, PENG Shu-Ping, ZHOU Ming, LI Gui-Yuan**

(Cancer Research Institute, Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract Epigenetics is the important component of functional genomics. It can be defined as the study of the interplay between environment and genetics, and the study of the heritable change that is not strictly dependent on DNA sequence. Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is the common malignant tumor in south China. As a polygenetic inheritance tumor, NPC has the characteristic of obvious tendency of familial aggregation, possesses genomic instability, and is vulnerable to physical, chemical and biological carcinogenic factors. This specific etiological system of NPC refers that it is one of the best model for studying cancer epigenetics. The main point of this review focuses on the progress of studying on the effects of DNA methylation, histone modification, chromatin remodeling and non-coding RNA regulation on the pathogenesis of NPC, and suggests future directions to thoroughly explore the epigenetic pathogenesis of NPC. Moreover, it will open a new prerequisite foundation for finding the epigenetic molecular marks for screening the high-risk susceptibility population, early diagnosis, treatment and prognostic identification of NPC.

Key words nasopharyngeal carcinoma, epigenetics, DNA methylation, histone modification, chromatin remodeling, genetic regulation by non-coding RNAs, epigenetic molecular marker

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30330560), Special Program of Hunan Provincial Department of Health (05SK1001-1), Special Project of National Grand Fundamental Research Pre-973 of China (2005CCA03200), The National Natural Science Foundation of China (30300175, 30300205, 30300063, 30400238, 30400084, 30400528, 30500584) and Natural Science Foundation of Hunan Province (05JJ300063).

**Corresponding author. Tel: 86-731-4805383, E-mail: ligy@xysm.net

Received: November 26, 2006 Accepted: December 31, 2006