

食管癌循环 DNA 的研究应用

刘莉莉^{1,2} 综述 陈亮¹ 审阅

厦门大学生命科学院 福建省厦门市, 361004

福建医科大学厦门中山医院教学医院, 厦门大学医学院第一临床学院, 临床检验中心 福建省厦门市, 361005

【摘要】 我国是食管癌的高发地区, 食管癌的死亡率占全国肿瘤死亡第二位, 早发现早治疗是提高食管癌患者生存率的关键。食管癌相关基因甲基化与食管癌的发生、发展密切相关, 基因的多态性与食管癌易感性相关。本文就近年来国内报道较少的有关食管癌基因甲基化、易感性等方面进行综述。

【关键词】 循环 DNA; 食管癌; 癌基因; 抑癌基因; 易感性

【中图分类号】 R735. 1

Research and Application of Plasm DNA in Esophageal Carcinoma

LIU Lili^{1,2}, CHEN Liang¹

¹College of Life Science, Xiamen University, Xiamen, 361005, China

²The Center of Laboratory of Xiamen Zhongshan Hospital, Xiamen, 361004, China

【Abstract】 Esophageal mortality occupied the second place in all tumors. It is important to diagnose and treat the condition as early as possible in order to improve survival. Esophageal carcinoma is closely related to the methylation of tumor-related genes. Susceptibility to esophageal cancer is correlated with polymorphism of gene. This paper reviews the research and application of plasm DNA in esophageal carcinoma.

【Key words】 circulating DNA; esophageal carcinoma; oncogene; anti-oncogene; susceptibility

随着分子生物学的发展, 人们对外周循环血的研究从细胞形态学的观察逐步深入研究到分子水平。早在 60 年前, 人们就开展了血液中核酸的研究。鉴于外周循环血中肿瘤 DNA 分子生物学检测为一种无创伤性检测, 近年来逐步得到重视。

1 循环肿瘤 DNA 的来源

人们早就发现, 在人体液 (血清/血浆或滑膜液) 中存在游离 DNA, 但当时认为循环 DNA 可能主要来源于淋巴细胞或其它有核细胞, 因此对于肿瘤患者血浆 DNA 增高的原因并未受到重视。随着 DNA 分子标记研究的开展, 人们进一步证实了肿瘤患者血浆 DNA 的基因型改变与其原发肿瘤细胞相一致^[1], 从而提示外周血循环 DNA 主要来源于肿瘤细胞 DNA。关于肿瘤循环 DNA 的来源及其发

生机理主要有以下 4 种假说: ① 循环肿瘤细胞或微转移灶的裂解; ② 肿瘤细胞的坏死; ③ 肿瘤细胞的凋亡; ④ 细胞自发性释放 DNA。

2 食管癌基因甲基化

DNA 甲基化对于原核生物 (如细菌) 可保护其不被噬菌体吞噬, 而对于真核生物则在于基因的调控, 即限制基因的表达。如特定组织中表达的基因如看家基因的调控区多呈低甲基化, 组织中不表达的基因则呈高甲基化。由于细胞癌变是基因表达失控的结果, 所以真核生物的 DNA 甲基化作用与细胞癌变密切相关。DNA 甲基化异常即通过影响染色体结构及癌基因和抑癌基因表达而参与肿瘤发生、发展。

近年来研究发现, 食管腺癌存在多基因启动子高甲基化现象。Brock 等^[4]分析了多个食管癌相关基因甲基化频率——腺癌样结肠息肉病 (APC) 基因 (68%)、E-钙粘素基因 (66%)、O6 鸟嘌呤

作者简介: 刘莉莉, 女, 1974 年生, 主管技师

通讯作者: 刘莉莉 (电话: 0592-2292450; E-mail: liulily1@sina.com)

甲基化 DNA 甲基转移酶 (MGMT, 56%)、雌激素受体 (ER, 1%)、p16 (39%)、DAP-激酶 (19%)、金属蛋白酶组织抑制因子-3 (TIMP3, 19%)。通过多变量分析, 表明这些食管癌相关基因伴有甲基化作为食管癌发生的危险因素, 比年龄或疾病临床分期更能预示食管癌患者的生存期和肿瘤复发。

食管鳞状细胞癌 (ESCC) MGMT 启动子异常甲基化引起 MGMT 失活也是一个常见的分子事件。研究发现, 21 例正常食管组织中不存在 MGMT 甲基化。而 119 例食管癌中有 46 例 (38.7%) 存在 MGMT 甲基化, 这种后生的改变也发生在肿瘤附近正常组织中。MGMT 甲基化的 ESCC 组中 MGMT 蛋白表达水平显著低于无 MGMT 甲基化 ESCC 组。而且在无 MGMT 甲基化 ESCC 中有大量独特型变异和很少表达。研究显示 MGMT 异常甲基化即与碱基 G: C 到 A: T 突变无关, 也与 p 53 非 CpG 岛二核苷酸突变型无关^[5]。

Hibi 等^[6]研究也发现食管癌中存在螺旋转录因子 (HLTF) 启动子异常甲基化。同时提出甲基化的发生可能在癌症早期阶段就存在。HLTF 也许依赖组织型发生变化, 在肿瘤癌变早期阶段失活。已有研究表明大多数原发食管腺癌患者存在 APC 启动子高甲基化。血浆中 APC 高甲基化基因 DNA 水平可作为食管腺癌发生有用的生物学标志^[7]。所以通过检测外周血中食管癌多基因甲基化, 早期发现食管癌的发生、转移及预后。有关这些方面的研究在国内还有待开展。

3 抑癌基因甲基化

3.1 CDKN1C

CDKN1C 由 226 个腺嘌呤、563 个胞嘧啶、485 个鸟嘌呤和 237 个胸腺嘧啶组成。细胞周期素 (Cyclin) 依赖型激酶抑制剂 1C 是多个 G₁ 期 cyclin/ Cdk 联合体的紧密粘合物, 也是细胞增殖的反调控器。食管癌细胞系的研究发现 CDKN1C 表达减少, 并且与自身启动子区 CpG 岛甲基化无关, 而与 DMR-L1T1 区 CpG 岛和组蛋白 H3 赖氨酸 9 甲基化有关^[8]。

3.2 E-钙粘连素基因

Si 等^[9]研究认为, E-钙粘连素基因是一个侵袭抑制分子和一个预后的标志。它位于 16q22.1, 发现食管癌 E-钙粘连素基因表达是降低的且伴有该基因启动子区的 5CPG 的甲基化, 表明甲基化作用参与食管癌发生是通过减少 E-钙粘连素基因表

达, 引起细胞内粘着和组织形态的破坏。

3.3 p16 基因

Hibi 等^[10]对食管癌外周血 p16 基因启动子甲基化进行研究。检测 38 例食管癌中 31 例 (82%) p16 基因启动子甲基化, 同时测这 31 例相应血清中 DNA, 发现 7 例 (23%) 发生同样的甲基化改变。所以抑癌基因甲基化为食管癌癌变研究提供了新的线索, 其在食管癌的发生、发展中的机理还有待进一步研究。

4 食管癌易感性

4.1 干扰素调节因子 3 单核苷酸多态性

有研究报道, 通过分离外周血白细胞提取 DNA 分析 191 例健康对照组和 152 例食管癌病人干扰素调节因子 3 (IRF-3) 单核苷酸多态性 (SNPs), 结果所有受试者密码子 96、194 或 377 上均不存在 IRF-3 基因多态性。在密码子 427 上两组受试组 IRF-3 的 SNPs 存在明显不同。所以 IRF-3 基因在密码子 427 上单核苷酸多态性与食管癌易感性相关^[11]。

4.2 乙醛脱氢酶 2 基因多态性

乙醛脱氢酶 2 (ALDH2) 是定位于 12 号染色体上编码乙醛的主要代谢酶, 与 60% 以上的乙醛代谢有关。ALDH2* 1 为野生型等位基因, 在其第 12 外显子发生 G1510A 点突变后形成 ALDH2* 2。ALDH2* 2 酶的活性大大降低。Itoga 等^[12]运用 4 种不同方法检测循环血中 ALDH2 基因型, 发现食管癌患者 ALDH2* 2 等位基因突变率为 27.7%, 显著高于健康对照组 (16.2%, $P < 0.01$)。同时提出对于临床小样本的基因型检测, LightCycle 溶解曲线分析法更适用, 而流行病学研究的大规模基因型检测则宜用 SSCP 法。

4.3 亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) 基因多态性

亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) 使亚甲基四氢叶酸转化为四氢叶酸, 同时使高半胱氨酸甲基化形成蛋氨酸, 蛋氨酸进一步可转化为 S-腺苷甲硫氨酸。Gao 等^[13]研究发现, 食管癌外周血中 MTHFR 基因型频率分别是 1298AA, 63.8%; 1298AC, 34.0%; 1298CC, 2.1%, 而对照组分别为 71.9%, 28.1%, 0.0%, 两组存在显著性差异 ($P = 0.035$)。食管癌中 1298C 等位基因是 0.19, 对照组为 0.14。与 AA 基因型无烟酒嗜好有喝茶习惯者相比, 存在 1298C 等位基因、嗜酒、吸烟无喝茶习惯者食管癌发生率明显升高。结果表明 MTHFR 基因多态性与食管癌易感性有关。

5 展望

近年来, 循环中肿瘤 DNA 成为国内外研究热点。从恶性疾病外周循环中可获得大量的细胞游离核酸。其遗传学和实验胚胎学的变化正日益被用于肿瘤的研究。至今, 肿瘤患者中几乎与疾病相关的核酸已在血浆或血清中检出, 而且循环病毒核酸水平的上调也证实该肿瘤病人受到病毒攻击。研究也表明肿瘤相关的核酸浓度一般与肿瘤的增殖和扩散蔓延相关。一系列主要的血浆核酸提供了随访疾病进程和预防复发的方法^[14]。目前, 循环肿瘤相关核酸的不同检测方法、潜在的肿瘤标志物的筛查、急性疾病的监测和预防等方面的问题正在研究中。随着分子标记技术的不断发展, 血浆肿瘤 DNA 的临床应用将更为广泛和深入。

6 参考文献

- 1 Ramirez JL, Taron M, Balana C, *et al.* Serum DNA as a tool for cancer patient management. *Rocz Akad Med Biolumst*, 2003, 48: 34-41.
- 2 Jahr S, Henze H, Englisch S, *et al.* DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: Quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res*, 2001, 61 (4): 1 659-65.
- 3 Giacona MB, Ruben GC, Iczkowski KA. Cell-free DNA in human blood plasma: length measurement in patients with pancreatic cancer and healthy controls. *Pancreas*, 1998, 17: 89-97.
- 4 Brock MV, Gou M, Akiyama Y, *et al.* Prognostic importance of promoter hypermethylation of multiple genes in esophageal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*, 2003, 9 (8): 2 912-9.
- 5 Zhang L, Lu W, Miao X, *et al.* Inactivation of DNA re-

- pair gene O6-methylguanine DNA methyltransferase by promoter hypermethylation and its relation to p53 mutations in esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis*, 2003, 24 (6): 1 039-44.
- 6 Hibi K, Nakayama H, Kanyama Y, *et al.* Methylation pattern of HMTF gene in digestive tract cancers. *Int J Cancer*, 2003, 104 (4): 433-6.
- 7 Kawakami K, Brabender J, Lord RV, *et al.* Hypermethylated APC DNA in plasma and prognosis of patients with esophageal adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92 (22): 1 805-11.
- 8 Soejima H, Nakagawachi T, Zhao W, *et al.* Silencing of imprinted CDKN1C gene expression is associated with loss of CpG and histone H3 lysine 9 methylation at DMR-LIT1 in esophageal cancer. *Oncogene*, 2004, 23 (25): 4 380-8.
- 9 Si HX, Tsao SW, Lam KY, *et al.* E-cadherin expression is commonly downregulated by CpG island hypermethylation in esophageal carcinoma cells. *Cancer Lett*, 2001, 173 (1): 71-8.
- 10 Hibi K, Taguchi M, Nakayama H, *et al.* Molecular detection of p16 promoter methylation in the serum of patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2001, 7 (10): 3 135-8.
- 11 Zhang CF, Cao BW, Lu ZM, *et al.* Relationship between polymorphism of IRF-3 gene codon 427 and esophageal cancer in Anyang population of China. *北京大学学报*, 2004, 36 (4): 345-7.
- 12 Itoga S, Nanmoku T, Uchimoto T, *et al.* Comparative Analyses of Four Different Methods of Genotyping ALDH2. *Alcohol Clin Exp Res*, 2004, 28 (8): 117S-22S.
- 13 Gao CM, Toshiro T, Wu JZ, *et al.* A case-control study on the polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase 1298A -C and susceptibility of esophageal cancer. *中华流行病学杂志*, 2004, 25 (4): 341-5.
- 14 Chan KC, LO YM. Circulating nucleic acids as a tumor marker. *Histol Histopathol*, 2002, 17 (3): 937-43.
(2004-04-13 收稿)

本杂志被美国化学文摘 (Chemical Abstracts, CA) 数据库收录,

CODEN: YFSZAO。请作者注意上网查询。