

## 栏目前言

肺癌是目前中国,也是世界上死亡率最高的恶性肿瘤之一。随着中国经济的快速发展,中国肺癌临床科研水平也得到大大提高。国际上新的诊疗技术与临床成果不断在中国的医疗机构得以推广应用,先进的科研理念与科研技术被用于肺癌研究并取得重要成果。尽管如此,中国的肺癌临床科研水平与国际先进水平仍然有一定的差距。为更好的服务于中国的肺癌工作者,《中国肺癌杂志》采用“走出去,请进来”的办刊模式,立足于向国内外同行展示中国肺癌临床科研成果的同时,精心选择国际期刊近期刊发的有重要临床科研指导意义的英文文章进行全文翻译,刊发于本刊“期刊博览”(Journal Watch)栏目以飨读者。《中国肺癌杂志》高度重视版权问题,所译文章全部取得版权所有者的官方许可。本栏目的设立是本刊编辑部服务读者理念的新实践,也是提高本刊可读性、时效性和信息量的新尝试,但由于编辑水平所限,虽尽力避免,但错漏之处难以避免,殷切欢迎广大专家、读者提出宝贵意见、建议,帮助本刊学术、编辑水平进一步提高。联系E-mail: liuqian@lungca.org。

## · 期刊博览 ·

### How epigenetics can explain human metastasis

#### A new role for microRNAs

Amaia Lujambio and Manel Esteller\*

Cancer Epigenetics and Biology Program (PEBC); Catalan Institute of Oncology (ICO); Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL) and Institutio Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA); Barcelona, Catalonia, Spain

## 表观遗传学如何诠释人肿瘤转移

### microRNA的新作用

南娟 丁燕 翻译 孙丹 校对

天津医科大学总医院,天津市肺癌研究所,天津市肺癌转移与肿瘤微环境重点实验室

【关键词】 转移;表观遗传学;DNA甲基化;组蛋白修饰;MicroRNAs;DNA去甲基化药物;组蛋白去乙酰化抑制剂;表观遗传学药物

【中图分类号】 R734.2 DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2009.08.16

转移过程的特征是肿瘤细胞可通过血液系统播散到远端组织,然后这些变异的细胞在那里增殖,并形成继发性肿瘤,这也是肿瘤患者死亡最主要的原因。近年来,一系列重要的肿瘤相关基因陆续被报道,如

钙粘素、层粘连蛋白、乙酰肝素硫酸盐、蛋白水解酶、血管生成抑制剂等。但是,这些基因在肿瘤转移中发生改变的机制尚不明了,因为尽管它们的表达普遍下调,但其遗传改变的发生率却极低。表观遗传学的改变,尤其是CpG岛超甲基化相关基因沉默,有可能解释众多基因的异常表达。组蛋白修饰物和染色质重塑因子的破坏亦可能导致转移基因的改变。作为调控RNA的新成员,microRNA(miRNA)在肿瘤及转移中起重要作用,并在肿瘤恶变中受表观遗传学机制调节。对表观遗传学机制参与转移各阶段作用机理的深入了解,使表观遗传学药物的治疗应用越来越成为可能,如DNA去甲基药物、组蛋白去乙酰基酶抑制剂,其可作用于转移相关基因和

\*Correspondence to: Manel Esteller; Cancer Epigenetics and Biology Program (PEBC); 3<sup>rd</sup> Floor; Hospital Duran i Reynals; Av. Gran Via 119-129; 08907 L'Hospitalet; Barcelona, Catalonia, Spain; Tel.: +34.93.260.7253; Fax: +34.93.260.72.19;

Email: mesteller@iconcologia.net

Cell Cycle 8:3, 377-382; 2009

Previously published online as a Cell Cycle E-publication:

http://www.landesbioscience.com/journals/cc/article/7526

miRNA, 并恢复它们的表达。本综述旨在分析肿瘤表观遗传学与转移相关的最新研究, 并重点介绍肿瘤演进中miRNA及其表观遗传学调节的重要作用。

### 肿瘤表观遗传学介绍

目前认为肿瘤是一种遗传学和表观遗传学疾病。遗传改变本身并不能解释发生于肿瘤细胞内复杂的异常现象。表观遗传学与遗传学相结合, 为更好的阐明所有恶性肿瘤的进展提供了另一种思路<sup>[1]</sup>。目前, 表观遗传学被定义为不依赖DNA序列变化的基因活性的可遗传改变<sup>[2]</sup>。DNA甲基化和组蛋白修饰是参与基因调控、发育和癌变的两种主要的表观遗传学事件<sup>[3]</sup>。

DNA甲基化对于维持正常哺乳动物细胞的正确表达模式是必需的, 并有利于确保基因组印记的建立和X染色体失活, 其中CpG二核苷酸是DNA甲基化的主要位点<sup>[4,5]</sup>。而且, 重复的基因组序列大量发生甲基化, 这样可以阻止由内寄生序列复活产生的染色体易位、基因不稳定和基因破坏, 从而保持染色体的完整性<sup>[6]</sup>。此外, DNA适当的甲基化对某些基因的种系特异性表达(如MAGE家族成员)和组织特异性基因的沉默(如maspin)也是必需的, 沉默基因在相应的细胞类型中不表达<sup>[7,8]</sup>。

有趣的是, DNA甲基化发生于复杂的染色体结构中, 而且组蛋白尾的修饰可影响DNA甲基化。现认为组蛋白是基因活性的动态调节因子, 它们主要受乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化和SUMO(小分子泛素样修饰体)化等翻译后化学修饰的影响<sup>[2,9]</sup>。简言之, 某些组蛋白的修饰(如组蛋白乙酰化)与转录活性相关, 而另一些修饰(如组蛋白H3第9位赖氨酸的甲基化)提示染色质的聚集与失活<sup>[10]</sup>。组蛋白密码假说认为染色质特定区域的表达状态取决于组蛋白修饰的特定组合<sup>[11]</sup>。但是, 鉴别所有可能的组合是一项艰巨的任务。而使问题更复杂的是, DNA甲基化与组蛋白修饰以精确的交联作用调控基因表达, 这一过程涉及若干不同的蛋白质和复合物<sup>[12]</sup>。所有这些调节通路更增加了我们所研究的表观遗传学的复杂性。

肿瘤细胞的表观遗传学机制失去了精细的调控, 而表观遗传学模式的破坏会促使肿瘤表型的表达。人肿瘤中, 影响DNA甲基化和组蛋白修饰的3种主要的表观遗传学改变为: 可导致基因沉默的抑癌基因的异常超甲基化、整体DNA低甲基化和组蛋白改变<sup>[13]</sup>。近年有证据表明, 表观遗传学改变与肿瘤关系密切。现认为, DNA甲基化、组蛋白修饰和染色质区室的严重紊乱是人肿瘤的

共同特点<sup>[13]</sup>。

表观遗传学对肿瘤的作用不仅限于肿瘤早期转化即影响到肿瘤转移, 而且转移是实体瘤患者死亡的首要原因<sup>[14,15]</sup>。转移过程由相互关联的步骤组成: 包括原发性肿瘤细胞获得侵袭相邻组织的能力、进入全身循环(intravasate)、通过脉管系统易位、远端毛细血管滞留、离开循环到周围间质组织, 最后从微转移灶增殖为肉眼可见的继发性肿瘤<sup>[14,15]</sup>。为达到这一目的, 肿瘤细胞需获得某种基因型和表型, 从而播散原发肿瘤, 或在播散的组织部位存活、增殖<sup>[16]</sup>。

因此, 转移也是一种遗传学与表观遗传学疾病。一方面, 转移具有复杂的基因标记特征, 这些标记有可能反映转移的潜能, 例如, 可以确定转移细胞个体在特异的继发组织部位的存活能力<sup>[17]</sup>。另一方面, DNA甲基化和组蛋白修饰的表观遗传学模式的破坏可解释部分转移相关基因表达的改变<sup>[18,19]</sup>。基因表达的变化可能是由于表观遗传学修饰直接或通过影响染色质间接改变了基因转录水平<sup>[17]</sup>。此外, 表观遗传学机制不仅调节“经典”的肿瘤和转移相关基因, 而且调节参与肿瘤发生与发展相关的miRNA基因<sup>[1]</sup>。可见, 调节转移相关基因和miRNA的表观遗传学机制可以阐明转移。

随着对转移表观遗传学改变的深入理解, 我们可以进一步识别新的转移相关基因和miRNA、发现有助于转移诊断的新型表观遗传学生物标记、制定基于表观遗传学药物的新的肿瘤治疗方案<sup>[20]</sup>。本文中, 我们将讨论表观遗传学在肿瘤演进和转移过程中所发挥的作用与转移相关基因和miRNA的关系。

### 转移相关基因的表观遗传学调节

在肿瘤转移中, 我们对转移相关基因的表达改变已有一定认识, 但对转移中DNA甲基化的作用知之甚少(图1)<sup>[16]</sup>。人们已对某些候选基因启动子区域内DNA甲基化增多进行了大量研究<sup>[16]</sup>。这种异常的超甲基化通常导致基因表达被抑制, 进而使肿瘤细胞发生转移或使其在继发组织部位具有选择优势<sup>[16]</sup>。有研究报道DNA的甲基化改变与个别基因或个别肿瘤环境有关。参与启动子CpG岛超甲基化的转移相关基因包括钙粘附蛋白(cadherin)基因、乙酰肝素硫酸盐合成途径、蛋白酶类组织抑制剂、轴突生长导向分子、血小板反应蛋白(thrombospondins)和层粘连蛋白等。

最明显的例子是E-cadherin基因(CDH1)。简单的

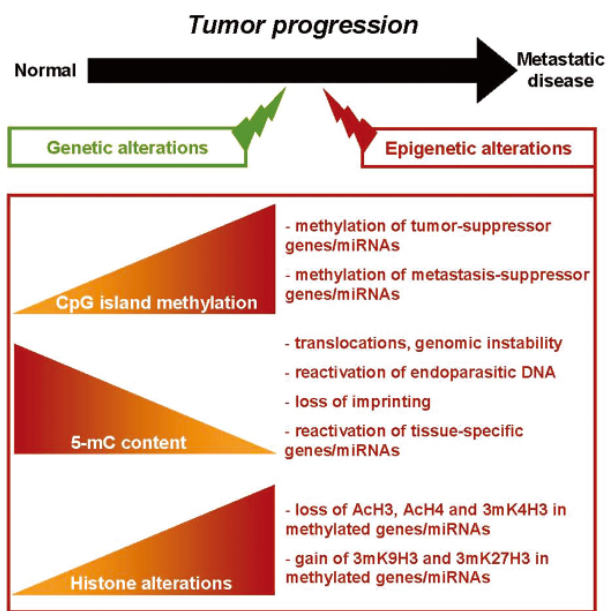


Fig 1 Epigenetic contribution to metastasis

Metastasis cannot be explained solely by genetic defects; epigenetic alterations also play a key role in tumor progression. Thus, there is an increased frequency of hypermethylated CpG islands (affecting classical genes and miRNAs), a progressive loss of total DNA methylation content and an increased histone modification imbalance in the development of the disease.

5-mC, 5-methyl-cytosine; Ac, acetyl; 3m, trimethyl; K, lysine.

Note: Reprinted with permission from the copyright holder © Landes Bioscience

图1 表观遗传学对转移的作用

遗传学改变不能单独解释转移机制，表观遗传学改变在肿瘤演进中也起重要作用。因为，在肿瘤发展过程中，总CpG岛的超甲基化频率增加（可影响经典基因和miRNA功能）、DNA甲基化总水平的大幅降低、组蛋白修饰紊乱增多。

5-mC: 5-甲基-胞嘧啶; Ac: 乙酰化; 3m: 三甲基化; K: 赖氨酸。

注: 本图得到版权所有© Landes Bioscience复制许可

说，E-cadherin体细胞突变是乳腺癌的特征，而其在弥漫性胃癌的遗传类型与种系有关。人肿瘤中E-cadherin缺失的主要机制是DNA超甲基化介导的表观遗传学沉默<sup>[21,22]</sup>。表观遗传学可使转移抑制基因可逆沉默，就此而言，表观遗传学是对达尔文理论最恰当的诠释。鉴于此，已有研究报道，某些原发肿瘤呈现E-cadherin超甲基化，但相应转移灶E-cadherin基因未发生甲基化<sup>[23]</sup>。这些结果支持以前研究报道的在原发肿瘤中发现E-cadherin表达缺失，但远端转移灶的E-cadherin表达恢复的结论<sup>[23]</sup>。由此可见，转移细胞要正确整合入一个新的正常的细胞环境，E-cadherin的去甲基和再表达是必不可少的。其它的表观遗传学机制，如募集染色质重构因子的活性抑制及组蛋白修饰模式的改变，都可能与E-cadherin的表达缺

失有关。在某些情况下，转录抑制子Snail和Slug可募集组蛋白去乙酰化（HDACs）至E-cadherin启动子，从而介导变异细胞的E-cadherin基因失活<sup>[24,25]</sup>。

在肿瘤中，肿瘤细胞CpG岛超甲基化的同时，其基因组也呈现异常的整体低甲基化，与正常细胞相比，肿瘤细胞基因组5-甲基胞嘧啶水平大约有20%–60%的降低（图1）<sup>[2,26,27]</sup>。这种低甲基化可影响基因结构（尤其是编码区和内含子）和组成20%-30%人基因组的重复DNA序列<sup>[6]</sup>。

对特定的肿瘤而言，细胞从良性增殖演变为侵袭性肿瘤的恶变进程中，细胞的整体DNA甲基化水平下降（图1）<sup>[28]</sup>。有趣的是，高效毛细管电泳（high-performance capillary electrophoresis, HPCE）研究显示，伴随肿瘤的演进，会出现持续的5-甲基胞嘧啶缺失<sup>[28]</sup>。DNA低甲基化水平可作为肿瘤侵袭性的生物标记，因为基因组的低甲基化具有动态特征，而不像癌变具有静态特点。这有力的说明了DNA低甲基化在肿瘤癌变过程中起关键作用<sup>[28]</sup>。

最重要的是，DNA低甲基化通过几种不同机制与肿瘤和转移相关联。首先，DNA甲基化的减少有利于有丝分裂重组，从而导致缺失和转位，并可诱导染色体重排（图1）<sup>[29,30]</sup>。此外，基因内寄生DNA，如L1（long interspersed nuclear elements, 长穿插核元素）和Alu（recombinogenic sequence, 重组序列）重复序列被激活后，可转录或转位至其它基因组区域并扰乱基因组（图1）<sup>[31]</sup>。关于转移，LINE-1和Alu元件内较高程度的低甲基化与神经内分泌肿瘤和淋巴结转移相关，而这些重复序列的甲基化缺失倾向与前列腺癌进展密切相关<sup>[32]</sup>。此外还发现8号染色体的低甲基化与前列腺癌转移高度相关<sup>[33]</sup>。

DNA甲基化的缺失也可影响特定的基因功能（图1）。例如，IGF2印记的丢失是结肠癌的危险因素。染色体印记的破坏有助于肾母细胞瘤（Wilms瘤）的发生<sup>[34-36]</sup>。就转移而言，S100A4是一种已证实的转移相关的钙结合蛋白，其基因低甲基化与直肠腺癌细胞系、髓母细胞瘤发育、低分化或分级较高的胰腺导管腺癌和子宫内膜癌中的基因活化有关<sup>[37-40]</sup>。另外，有研究显示，在许多具有高侵袭性或具转移潜能的肿瘤中，某些基因呈现低甲基化，如SNCG和uPA/PLAU<sup>[41,42]</sup>。

组蛋白修饰是肿瘤表观遗传学改变的第三种类型，且人们对其在人肿瘤中的破坏模式知之甚少（图1）。肿瘤细胞中启动子CpG岛的超甲基化与一种特定的组蛋白标记组合密切相关，这一特定组合包括：组蛋白H3和H4

去乙酰化、组蛋白H3赖氨酸K4的三甲基化缺失、H3K9的甲基化和H3K27的三甲基化<sup>[43]</sup>。作为一般规律,组蛋白乙酰化与转录激活有关,而组蛋白甲基化的作用取决于组蛋白尾的氨基酸类型及其位置<sup>[44,45]</sup>。

有趣的是,一项多期皮肤癌的模型的研究显示,在肿瘤发生过程中,组蛋白的改变出现较早,并累积增多(图1)<sup>[28]</sup>。这一肿瘤进展模型研究采用了染色质免疫共沉淀(ChIP)方法,应用两种抗体分别拮抗与转录激活相关的抗乙酰基-H4和抗二甲基-K4-H3,结果发现在高甲基化的CpG岛启动子内这两种标记物均明显减少,但在未甲基化的CpG岛内都显著增多<sup>[28]</sup>。比如,E-cadherin基因CpG岛的超甲基化与这两种标记物组蛋白修饰的明显减少相关。由此可见,在肿瘤发生中组蛋白修饰模式发生的很早,并在肿瘤演进中有所发展,这凸显了组蛋白修饰的重要生物学意义。总之,复杂的表观遗传学机制能可塑地调控转移进程中关键基因的表达。虽然我们对表观遗传学在肿瘤转移中的广泛作用知之甚少,但新的转移相关基因和新的转移相关miRNA的发现,都将是肿瘤转移治疗上的重要进展。

### 转移相关miRNA的表观遗传学调节

近年来,一种新的调节基因——miRNA,使经典的分子生物学理论发生了重大变革。这些短小的、单链且非编码RNA,长度大约为22个核苷酸,可负调节真核生物体内一系列基因的表达<sup>[46]</sup>。miRNA基因是若干细胞进程(包括增殖、分化、凋亡和发育)的重要调节因子,调控数百个基因的表达水平<sup>[46]</sup>。

已有许多研究表明,miRNA表达谱在肿瘤中会发生改变,从而引起广泛的恶变<sup>[47]</sup>。一些miRNA表达会下调,另一些则过表达,其既可作为抑癌基因,也可作为癌基因<sup>[47]</sup>。研究最清楚的抑癌miRNA是与慢性淋巴细胞白血病相关的miR-15a和miR-16-1及与肺癌相关的let-7家族,它们分别作用于致癌基因BCL2和RAS<sup>[48-51]</sup>。反之,这些单链RNA还可作为癌基因作用于抑癌基因<sup>[52]</sup>。在哺乳动物中,最早发现的原癌miRNA是miR-17-92簇<sup>[53]</sup>。miR-17-92的细胞功能日渐清晰,肿瘤病理学结果显示,致癌性miR-17-92的高表达预示着较低的细胞凋亡率,这将有利于肿瘤的发展<sup>[53]</sup>。此外,最新研究发现,与正常组织相比,miR-21在人胶质母细胞瘤组织和胶质母细胞瘤细胞系中呈现过表达<sup>[54]</sup>。

表观遗传学机制可在一定程度上解释肿瘤细胞中

miRNA的失衡<sup>[55]</sup>。一些miRNA可作为抑癌基因,而且有些抑癌基因在肿瘤中呈异常超甲基化状态。因此可推测,在肿瘤中,具有抑癌特性的miRNA可能呈现超甲基化<sup>[55-57]</sup>。有研究联合使用表观遗传学方法与miRNA表达谱,发现了两个甲基化的抑癌miRNA(图1):miR-127和miR-124a,分别负调节癌基因BCL6和CDK6的表达<sup>[56,57]</sup>。近来大量研究表明,在肿瘤中miRNA的表观遗传学调节是一种普遍现象,如miR-9-1、miR-193a、miR-137、miR-342、miR-203、miR-34b/c和miR-1<sup>[58-63]</sup>。

整体DNA低甲基化的情况也可以影响miRNA功能(图1)。人let-7a-3基因定位于染色体22q13.31,并与CpG岛相关。亚硫酸氢钠测序法结果发现,let-7a-3基因在人正常组织中大量超甲基化,但在某些肺腺癌中低甲基化。let-7a-3的低甲基化可恢复基因在人肺癌细胞系中的表达,从而导致转录谱中肿瘤表型增强和癌变<sup>[64]</sup>。最新的一项研究报道,卵巢癌中let-7a-3呈现甲基化,可影响IFG-II的表达和患者的生存状况。该发现表明miRNA的甲基化可理解为一种保护机制,而let-7a-3低甲基化及其复活会促进细胞转化<sup>[64,65]</sup>。

关于组蛋白修饰,miRNA基因也是肿瘤中组蛋白改变的靶点(图1)。通过转录抑制子甲基-CpG结合域蛋白(MBDs)介导的精确的交联作用,DNA超甲基化与组蛋白修饰相互作用<sup>[66]</sup>。染色质免疫共沉淀结果显示,DNA甲基化所致miR-124a沉默常伴有转录抑制子MeCP2、MBD2的占位和有活性的组蛋白标记物(如组蛋白H3和H4的乙酰化、组蛋白H3-K4的三甲基化)的缺失<sup>[57]</sup>。相反,当DNA甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)发生遗传破坏或经DNA去甲基药物(5-aza-2'-deoxycytidine)处理引起DNA低甲基化时,这些活性标记物的表达恢复,而且伴有MBDs的结合区域释放<sup>[57]</sup>。此外,上述部分结果已在miR-127启动子的染色质免疫沉淀研究中得到证实<sup>[56]</sup>。

最近又有研究介绍了miRNA在介导肿瘤转移方面的新功能,认为miRNA可促进或抑制肿瘤恶变进程<sup>[67-74]</sup>。若干具有促进肿瘤转移功能的miRNA已被报道<sup>[67-70]</sup>,首先得到证实的是miR-10b可作用于同源盒D10,导致促转移的RHOC表达上调,从而促进乳腺癌细胞的迁移和侵袭。乳腺癌的研究还显示,在肿瘤侵袭和转移中,miR-373和miR-520c可通过抑制CD44发挥作用<sup>[68]</sup>。MiR-21除具有致癌作用外,还可抑制多种转移抑制基因的功能,如TPM1、PDCD4和maspin,进而在侵袭和肿瘤转移中发挥作用<sup>[69,70]</sup>。

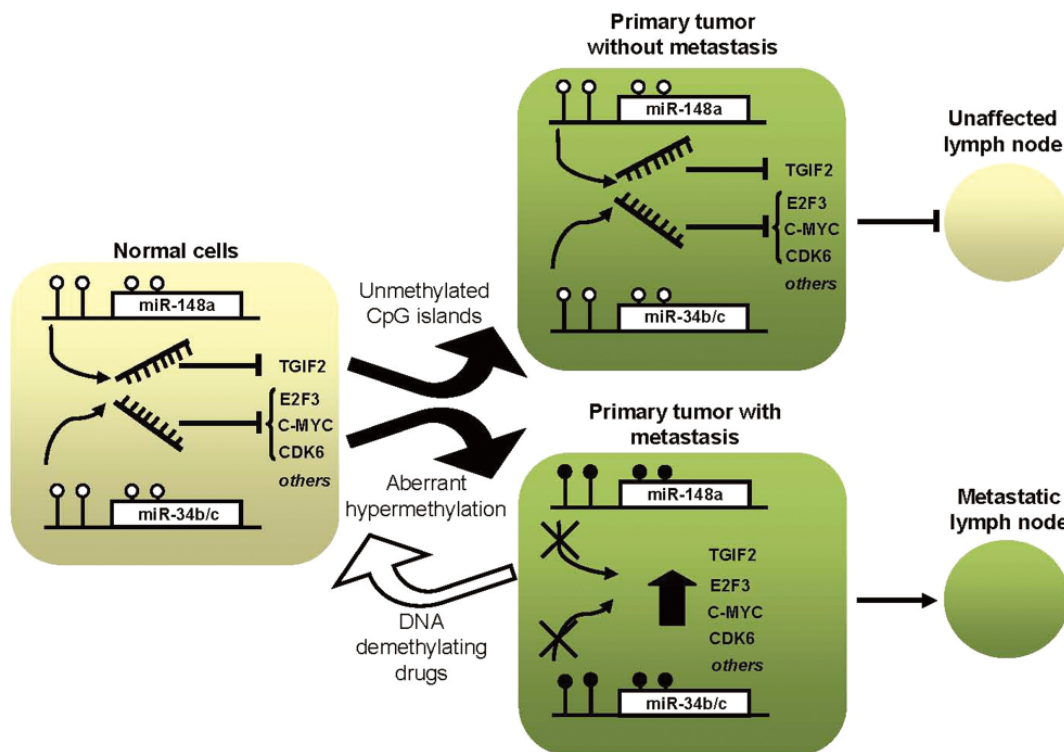


Fig 2 miRNA methylation in metastasis

miR-148a and miR-34b/c seem to inhibit tumor dissemination through the regulation of several oncogenes and metastasis-related genes. When they become aberrantly hypermethylated (bottom) there is a significant upregulation in the levels of these genes, which favors metastasis.

White circle, unmethylated CpG; black circle, methylated CpG.

Note: Reprinted with permission from the copyright holder © Landes Bioscience

图2 转移过程中miRNA的甲基化

miR-148a和miR-34b/c通过调节若干癌基因和转移相关基因来抑制肿瘤播散。当miR-148a和miR-34b/c发生异常超甲基化时（底部），癌基因和转移相关基因的表达水平会明显上调，有助于转移的发生。

白圈：无甲基化的CpG；黑圈：甲基化的CpG。

注：本图得到版权所有© Landes Bioscience复制许可

反之，miRNA也可作为转移抑制因子。例如，在乳腺癌中，miR-126和miR-335分别调节细胞增殖和肿瘤侵袭<sup>[71]</sup>。其中，miR-335通过作用于癌基因SOX4和tenascin C来抑制转移和迁移<sup>[71]</sup>。有趣的是，miR-200家族可靶向作用于E-cadherin抑制因子ZEB1、ZEB2、SIP1和转录因子8，从而抑制上皮—间质的转化<sup>[72-74]</sup>。

综上，新的转移相关miRNA的发现，对加深我们对转移的认识意义重大。我们认为，表观遗传学不仅可解释肿瘤相关miRNA的异常，也可说明转移相关miRNA的失调。因此，我们决定采用药理学方法来证实这一点<sup>[55,75]</sup>，通过一种miRNA表达测序方法，来检测经过或未经DNA去甲基药物5-aza-2'-deoxycytidine处理的3种转移性细胞系中miRNA的表达。DNA去甲基药物处理可诱导DNA甲基化的缺失，并伴随miRNA基因沉默<sup>[75,76]</sup>。通过这种方

法，我们发现了5种超甲基化miRNA：miR-148a、miR-9家族的3个成员和miR-34b/c簇，它们呈现肿瘤特异性甲基化<sup>[76]</sup>。已有研究报道，有两种甲基化的miRNA——miR-148a和miR-34b/c簇表达的恢复可以影响肿瘤离体和在体的侵袭能力。还有研究表明，此类miRNA的表观遗传学沉默，可介导致癌基因和转移基因的活化，如miR-34b/c促使E3F3、C-MYC和CDK6激活，而miR-148a导致TGIF2活化（图2）。在人原发性肿瘤中，我们发现miR-34b/c的甲基化与癌基因的上调明显相关，可见在体内这些癌基因也是miRNA作用的靶标，而且miRNA的表观遗传学沉默可导致其在肿瘤患者体内高表达（图2）。最重要的是，在发生转移的原发肿瘤组织中，此类miRNA的甲基化更明显（图2），这充分说明了miRNA在抑制肿瘤播散中起重要作用<sup>[76]</sup>。

因此, miRNA作为经典癌基因或转移抑制基因, 在肿瘤和转移中起关键作用, 并在恶性肿瘤疾病中呈现异常的甲基化。总之, 表观遗传学可阐明肿瘤转移抑制因子miRNA紊乱的各种机制。

### 用表观遗传学的武器抗击转移

表观遗传学机制的改变, 如DNA超甲基化和组蛋白修饰, 可解释某些转移相关基因和miRNA的失活。此外, 表观遗传学技术, 如通过亚硫酸氢盐基因组测序研究DNA甲基化, 有助于发现新的转移相关基因, 并进一步深入理解表观遗传学在控制转移进程中的重要作用。遗憾的是, 上述报道的许多超甲基化现象是癌症进展和肿瘤扩散的分子标记, 且与预后不良相关。

然而, 与肿瘤遗传学改变不同, 表观遗传学改变具有可逆性。通过采用DNA去甲基药物, 可使表观遗传学机制介导的沉默基因恢复表达<sup>[45]</sup>。低剂量的药物在肿瘤患者体内即具有明显的抗肿瘤活性。美国食品药品监督管理局已批准使用两种此类药物: 5-azacytidine和5-aza-2'-deoxycytidine, 可用于白血病前骨髓增生异常综合征的选择性治疗<sup>[45]</sup>。HDAC抑制剂是另一类应用表观遗传学治疗肿瘤的潜在药物<sup>[77]</sup>。这些药物可使“休眠”的抑癌基因(如*p21WAF1*)复活, 但同时也可能出现非特异性反应和不良反应。尽管如此, 一些HDAC抑制剂仍已进入I期临床试验, suberoylanilide hydroxamic acid甚至即将用于皮肤T细胞淋巴瘤的治疗<sup>[45]</sup>。

已有许多研究鉴定了与转移相关的特异基因和miRNA, 表观遗传学的变化可引起它们的表达改变, 因此, 这些基因是治疗肿瘤的新的表观遗传学药物良好的潜在靶点。就miRNA而言, 这些药物可诱导miRNA的复活和相应的癌基因的抑制(图2)<sup>[56,57,61,76]</sup>。另一方面, 完整的转移相关表观遗传组学标记尚未见报道, 部分是由于缺少必需的启动子微阵列平台<sup>[78]</sup>。

随着越来越多的参与转移的超甲基化基因和miRNA的发现, 治愈转移的可能性也在迅速增加。鉴于此, 今后我们应致力于研究受表观遗传学机制调控的新的转移相关基因和转移相关miRNA, 并鼓励开发基于表观遗传学药物的治疗方法。

### 致谢

Amaia Lujambio受到Francisco Cobos基金会的Formación de

Profesorado Universitario和Eduardo Gallego奖学金资助。

Manel Esteller为西班牙ICREA研究所教授。

本研究受到SAF2007-00027-65134、Consolider CSD2006-49和Spanish Association Against Cancer (AECC)等基金资助。

### 参考文献

1. Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med* 2008; 358:1148-59.
2. Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004; 429:457-63.
3. Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999; 21:163-7.
4. Kaneda M, Okano M, Hata K, Sado T, Tsujimoto N, Li E, et al. Essential role for de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. *Nature* 2004; 429:900-3.
5. Csankovszki G, Nagy A, Jaenisch R. Synergism of Xist RNA, DNA methylation, and histone hypoacetylation in maintaining X chromosome inactivation. *J Cell Biol* 2001; 153:773-84.
6. Walsh CP, Chaillet JR, Bestor TH. Transcription of IAP endogenous retroviruses is constrained by cytosine methylation. *Nat Genet* 1998; 20:116-7.
7. Bodey B. Cancer-testis antigens: promising targets for antigen directed anti-neoplastic immunotherapy. *Expert Opin Biol Ther* 2002; 2:577-84.
8. Futscher BW, Oshiro MM, Wozniak RJ, Holtan N, Hanigan CL, Duan H, et al. Role for DNA methylation in the control of cell type specific maspin expression. *Nat Genet* 2002; 31:175-9.
9. Wang Y, Fischle W, Cheung W, Jacobs S, Khorasanizadeh S, Allis CD. Beyond the double helix: writing and reading the histone code. *Novartis Found Symp* 2004; 259:3-17.
10. Peters AH, Mermoud JE, O'Carroll D. Histone H3 lysine 9 methylation is an epigenetic imprint of facultative heterochromatin. *Nat Genet* 2002; 30:77-80.
11. Sanders SL, Portoso M, Mata J, Bähler J, Allshire RC, Kouzarides T. Methylation of histone H4 lysine 20 controls recruitment of Crb2 to sites of DNA damage. *Cell* 2004; 119:603-14.
12. Ballestar E, Esteller M. The impact of chromatin in human cancer: linking DNA methylation to gene silencing. *Carcinogenesis* 2002; 23:1103-9.
13. Esteller M. Epigenetics provides a new generation of oncogenes and tumor-suppressor genes. *Br J Cancer* 2006; 94:179-83.
14. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nature Rev Cancer* 2003; 3:453-8.
15. Gupta GP, Massague J. Cancer metastasis: building a framework. *Cell* 2006; 127:679-95.
16. Rodenhiser DI. Epigenetic contribution to cancer metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2008; Epub ahead of print.
17. Welch DR. Microarrays bring new insights into understanding of breast cancer metastasis to bone. *Breast Cancer Res* 2004; 6:61-4.
18. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100:57-70.

19. Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nat Rev Genet* 2007; 4:286-98.
20. Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:563-72.
21. Graff JR, Herman JG, Lapidus RG, Chopra H, Xu R, Jarrard DF, et al. E-cadherin expression is silenced by DNA hypermethylation in human breast and prostate carcinomas. *Cancer Res* 1995; 55:5195-9.
22. Yoshiura K, Kanai Y, Ochiai A, Shimoyama Y, Sugimura T, Hirohashi S. Silencing of the E-cadherin invasion-suppressor gene by CpG methylation in human carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:7416-9.
23. Graff JR, Gabrielson E, Fujii H, Baylin SB, Herman JG. Methylation patterns of the E-cadherin 5 CpG island are unstable and reflect the dynamic, heterogeneous loss of E-cadherin expression during metastatic progression. *J Biol Chem* 2000; 275:2727-32.
24. Bolós V, Peinado H, Pérez-Moreno MA, Fraga MF, Esteller M, Cano A. The transcription factor Slug represses E-cadherin expression and induces epithelial to mesenchymal transitions: a comparison with Snail and E47 repressors. *J Cell Sci* 2003; 116:499-511.
25. Peinado H, Ballestar E, Esteller M, Cano A. Snail mediates E-cadherin repression by the recruitment of the Sin3A/histone deacetylase 1 (HDAC1)/HDAC2 complex. *Mol Cell Biol* 2004; 24:306-19.
26. Esteller M. Aberrant DNA methylation as a cancer inducing mechanism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45:629-56.
27. Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Eng J Med* 2003; 349:2042-54.
28. Fraga MF, Herranz M, Espada J, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, et al. A mouse skin multistage carcinogenesis model reflects the aberrant DNA methylation patterns of human tumors. *Cancer Res* 2004; 64:5527-34.
29. Eden A, Gaudet F, Waghmare A, Jaenisch R. Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation. *Science* 2003; 300:455.
30. Karpf AR, Matsui S. Genetic disruption of cytosine DNA methyltransferase enzymes induces chromosomal instability in human cancer cells. *Cancer Res* 2005; 65:8635-9.
31. Xu GL, Bestor TH, Bourc'his D, Hsieh CL, Tommerup N, Bugge M, et al. Chromosome instability and immunodeficiency syndrome caused by mutations in a DNA methyltransferase gene. *Nature* 1999; 402:187-91.
32. Choi IS, Estecio MR, Nagano Y, Kim do H, White JA, Yao JC, et al. Hypomethylation of LINE-1 and Alu in well-differentiated neuroendocrine tumors (pancreatic endocrine tumors and carcinoid tumors). *Mod Pathol* 2007; 20:802-10.
33. Schulz WA, Elo JP, Florl AR, Pennanen S, Santourlidis S, Engers R, et al. Genomewide DNA hypomethylation is associated with alterations on chromosome 8 in prostate carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2002; 35:58-65.
34. Feinberg AP. Imprinting of a genomic domain of 11p15 and loss of imprinting in cancer: an introduction. *Cancer Res* 1999; 59:1743-6.
35. Cui H, Cruz-Correa M, Giardiello FM, Hutcheon DF, Kafonek DR, Brandenburg S, et al. Loss of IGF2 imprinting: a potential marker of colorectal cancer risk. *Science* 2003; 299:1753-5.
36. Kaneda A, Feinberg AP. Loss of imprinting of IGF2: a common epigenetic modifier of intestinal tumor risk. *Cancer Res* 2005; 65:11236-40.
37. Nakamura N, Takenaga K. Hypomethylation of the metastasis-associated S100A4 gene correlates with gene activation in human colon adenocarcinoma cell lines. *Clin Exp Metastasis* 1998; 16:471-9.
38. Rosty C, Ueki T, Argani P, Jansen M, Yeo CJ, Cameron JL, et al. Overexpression of S100A4 in pancreatic ductal adenocarcinomas is associated with poor differentiation and DNA hypomethylation. *Am J Pathol* 2002; 160:45-50.
39. Lindsey JC, Lusher ME, Anderton JA, Gilbertson RJ, Ellison DW, Clifford SC. Epigenetic deregulation of multiple S100 gene family members by differential hypomethylation and hypermethylation events in medulloblastoma. *Br J Cancer* 2007; 97:267-74.
40. Xie R, Loose DS, Shipley GL, Xie S, Bassett RL Jr, Broaddus RR. Hypomethylation induced expression of S100A4 in endometrial carcinoma. *Mod Pathol* 2007; 20:1045-54.
41. Gupta A, Godwin AK, Vanderveer L, Lu A, Liu J. Hypomethylation of the synuclein gamma gene CpG island promotes its aberrant expression in breast carcinoma and ovarian carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63:664-73.
42. Pakneshan P, Szyf M, Farias-Eisner R, Pakneshan P, Szyf M, Farias-Eisner R, et al. Reversal of the hypomethylation status of urokinase (uPA) promoter blocks breast cancer growth and metastasis. *J Biol Chem* 2004; 279:31735-44.
43. Ballestar E, Paz MF, Valle L, Wei S, Fraga MF, Espada J, et al. Methyl-CpG binding proteins identify novel sites of epigenetic inactivation in human cancer. *EMBO J* 2003; 22:6335-45.
44. Bernstein BE, Meissner A, Lander ES. The mammalian epigenome. *Cell* 2007; 128:669-81.
45. Mack GS. Epigenetic cancer therapy makes headway. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98:1443-4.
46. He L, Hannon GJ. MicroRNAs: Small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet* 2004; 5:522-31.
47. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435:834-8.
48. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, 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; 99:15524-9.
49. Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res* 2004; 64:3753-6.
50. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:13944-9.
51. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* 2005; 120:635-47.
52. Hammond SM. MicroRNAs as oncogenes. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16:4-9.

53. He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005; 435:828-33.
54. Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res* 2005; 65:6029-33.
55. Lujambio A, Esteller M. CpG island hypermethylation of tumor suppressor microRNAs in human cancer. *Cell Cycle* 2007; 6:1455-9.
56. Saito Y, Liang G, Egger G, Friedman JM, Chuang JC, Coetzee GA, et al. Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the protooncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells. *Cancer Cell* 2006; 9:435-43.
57. Lujambio A, Ropero S, Ballestar E, Fraga MF, Cerrato C, Setién F, et al. Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67:1424-9.
58. Lehmann U, Hasemeier B, Christgen M, Müller M, Römermann D, Länger F, et al. Epigenetic inactivation of microRNA gene hsa-mir-9-1 in human breast cancer. *J Pathol* 2008; 214:17-24.
59. Kozaki K, Imoto I, Mogi S, Omura K, Inazawa J. Exploration of tumor-suppressive microRNAs silenced by DNA hypermethylation in oral cancer. *Cancer Res* 2008; 68:2094-105.
60. Grady WM, Parkin RK, Mitchell PS, Lee JH, Kim YH, Tsuchiya KD, et al. Epigenetic silencing of the intronic microRNA hsa-miR-342 and its host gene EVL in colorectal cancer. *Oncogene* 2008; 27:3880-8.
61. Bueno MJ, Pérez de Castro I, Gómez de Cedrón M, Santos J, Calin GA, Cigudosa J, et al. Genetic and epigenetic silencing of microRNA-203 enhances ABL1 and BCR-ABL1 oncogene expression. *Cancer Cell* 2008; 13:496-506.
62. Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y, Maruyama R, Imai K, Shinomura Y, et al. Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. *Cancer Res* 2008; 68:4123-32.
63. Datta J, Kutay H, Nasser MW, Nuovo GJ, Wang B, Majumder S, et al. Methylation mediated silencing of microRNA-1 gene and its role in hepatocellular carcinogenesis. *Cancer Res* 2008; 68:5049-58.
64. Brueckner B, Stresemann C, Kuner R, Mund C, Musch T, Meister M, et al. The human let-7a-3 locus contains an epigenetically regulated miRNA gene with oncogenic function. *Cancer Res* 2007; 67:1419-23.
65. Lu L, Katsaros D, de la Longrais IA, Sochirca O, Yu H. Hypermethylation of let-7a-3 in epithelial ovarian cancer is associated with low insulin-like growth factor-II expression and favorable prognosis. *Cancer Res* 2007; 67:10117-22.
66. Lopez-Serra L, Esteller M. Proteins that bind methylated DNA and human cancer: reading the wrong words. *Br J Cancer* 2008; 98:1881-5.
67. Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumor invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature* 2007; 449:682-8.
68. Huang Q, Gumireddy K, Schrier M, le Sage C, Nagel R, Nair S, et al. The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumor invasion and metastasis. *Nat Cell Biol* 2008; 10:202-10.
69. Zhu S, Wu H, Wu F, Nie D, Sheng S, Mo YY. MicroRNA-21 targets tumor suppressor genes in invasion and metastasis. *Cell Res* 2008; 18:350-9.
70. Asangani IA, Rasheed SA, Nikolova DA, Leupold JH, Colburn NH, Post S, et al. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pcd4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer. *Oncogene* 2008; 27:2128-36.
71. Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, Padua D, Wang Q, Bos PD, et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature* 2008; 451:147-52.
72. Hurteau GJ, Carlson JA, Spivack SD, Brock GJ. Overexpression of the microRNA hsa-miR-200c leads to reduced expression of transcription factor 8 and increased expression of E-cadherin. *Cancer Res* 2007; 67:7972-6.
73. Korpala M, Lee ES, Hu G, Kang Y. The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2. *J Biol Chem* 2008; 283:14910-4.
74. Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, Barry SC, Tsykin A, Farshid G, et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1. *Nat Cell Biol* 2008; 10:593-601.
75. Yoo CB, Jones PA. Epigenetic therapy of cancer: Past, present and future. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5:37-50.
76. Lujambio A, Calin GA, Villanueva A, Ropero S, Sánchez-Céspedes M, Blanco D, et al. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105:13556-61.
77. Villar-Garea A, Esteller M. Histone deacetylase inhibitors: understanding a new wave of anticancer agents. *Int J Cancer* 2004; 112:171-8.
78. Sadikovic B, Andrews J, Carter D, Robinson J, Rodenhiser DI. Genome-wide H3K9 histone acetylation profiles are altered in benzopyrene treated MCF7 breast cancer cells. *J Biol Chem* 2008; 283:4051-60.

( 本文编辑 刘谦 )