

# 大肠癌的表观遗传学研究进展

陈成<sup>1</sup> 叶孟<sup>2\*</sup> 段世伟<sup>1</sup> 廖奇<sup>1</sup><sup>1</sup>宁波大学医学院, 宁波 315211; <sup>2</sup>宁波大学医学院附属医院肿瘤内科, 宁波 315000

**摘要** 大肠癌是一种高发的胃肠道恶性肿瘤, 预后不良。目前, 认为大肠癌的发生过程是涉及遗传学和表观遗传学变化的复杂过程, 其中表观遗传学的过程对大肠癌的发生起着重要的作用。表观遗传学改变主要包括DNA甲基化、组蛋白转录后修饰、染色质重塑以及非编码RNAs(如microRNAs和lncRNAs)的调控。因此, 从分子水平上了解这些表观遗传学的改变, 可以为大肠癌的预防、早期诊断、预后以及治疗提供帮助, 最终降低大肠癌的死亡率。该文主要讲述了大肠癌发生过程中重要表观遗传学改变的研究进展以及临床意义, 目的在于探讨表观遗传学在大肠癌早期诊断及治疗中的意义。

**关键词** 大肠癌; 表观遗传学; DNA甲基化; 组蛋白修饰; 非编码RNA

## Recent Progress in Epigenetics Study of Colorectal Cancer

Chen Cheng<sup>1</sup>, Ye Meng<sup>2\*</sup>, Duan Shiwei<sup>1</sup>, Liao Qi<sup>1</sup><sup>1</sup>School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China; <sup>2</sup>The Affiliated Hospital of Ningbo University, Ningbo 315000, China

**Abstract** Colorectal cancer is one of the most common gastrointestinal cancers with high incidence and poor prognosis. It is generally considered that the pathophysiology of colorectal cancer is a complex multi-step process involving the accumulation of genetic and epigenetic changes. The main epigenetic aberrations include DNA methylation, histone modification, chromatin remodeling, and non-coding RNAs regulation such as microRNAs and long noncoding RNAs (lncRNAs). Epigenetic study at molecular level would help to prevent, diagnose, and therapy of colorectal cancer, and finally to reduce mortality. In this review, we will talk about discovered epigenetic changes of colorectal cancer and their clinical significance, aiming to explore the possibility of the early diagnosis and early treatment for colorectal cancer with epigenetic characters.

**Key words** colorectal cancer; epigenetic; DNA methylation; histone modification; non-coding RNA

大肠癌(colorectal cancer, CRC)也叫结直肠癌, 是大肠黏膜上皮在环境或遗传等多种致癌因素作用下通过遗传学和表观遗传学的改变而发生的恶性病变。大肠癌的死亡率占有恶性肿瘤的9%<sup>[1]</sup>, 在全世界排名第二<sup>[2]</sup>。1992年以来, 全球大肠癌每年新增一百万患者、发病率每年增加1.2%<sup>[3]</sup>, 尤其是在发

达国家, 其死亡率高达33%。在我国, 随着人们生活水平的提高和饮食结构的改变, 大肠癌的发病率逐年升高, 并且初次诊断时往往已经处于中晚期, 我国大肠癌的发展趋势不容忽视。大肠癌患者的治疗通常以手术和放化疗为主, 尽管具有一定的疗效, 但大多数患者仍然预后较差。因此, 探索大肠癌在分子

收稿日期: 2013-01-26 接受日期: 2013-04-08

浙江省重点科技创新团队(批准号: 2010R50046)、宁波市消化系统恶性肿瘤诊治新技术创新团队(批准号: 2011B82014)和宁波市社会发展项目(批准号: 2011C50010)资助的课题

\*通讯作者。Tel/Fax: 0574-87035866, E-mail: dryemeng@aliyun.com.cn

Received: January 26, 2013 Accepted: April 8, 2013

This work was supported by the Innovative Research Team in Zhejiang Province (Grant No.2010R50046), the Science and Technology Innovation Team of Ningbo (Grant No.2011B82014) and Ningbo Social Development Research Projects (Grant No.2011C50010)

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-574-87035866, E-mail: dryemeng@aliyun.com.cn

网络出版时间: 2013-06-08 11:05

URL: http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130608.1105.002.html

水平的发生、发展机制,寻求及时、早期诊断和治疗的新方法,具有非常重要的意义。

大肠癌从一系列的临床和病理改变阶段发展而来,经过良性肿瘤(腺瘤性息肉)和恶性肿瘤(癌症)阶段,它的发生和发展过程是一系列遗传学和表观遗传学累积改变的结果。遗传学(genetics)主要从DNA分子水平研究基因的结构、突变、表达和调控等。引起癌症的遗传学机制主要包括抑癌基因或致癌基因的突变导致基因的功能缺失、表达失调等<sup>[4]</sup>。1990年, Fearon和Vogelstein<sup>[5]</sup>提出大肠癌的发展是一个多步骤、涉及抑癌基因的突变失活和致癌基因激活的累积过程。抑癌基因(*APC*、*SMAD2,4*、*TP53*

等)、致癌基因(*K-ras*等)的突变,以及病灶的病理通路改变共同导致肿瘤恶性程度的加深和转移<sup>[6]</sup>。研究显示,大肠癌患者中75%是散发的,余下25%为家族性遗传的,表明遗传因素对大肠癌的发生具有非常重要的作用。目前,已经发现一些重要基因的突变导致大肠癌的发生:如*BRAF*、*TP53*以及错配修复基因(*MLH1*、*MSH2*、*MSH6*、*PMS2*)的突变易患大肠癌<sup>[7]</sup>; *K-ras*的突变与大肠癌的转移和预后相关<sup>[8]</sup>;此外,通过对大肠癌的全基因组关联研究发现14个基因的SNP(single-nucleotide polymorphism)位点与大肠癌的发生风险有决定性的关系[1q41、3q26.2、8q23.1(*EIF3H*)、8q24.21、10p14、11q23、12q13.13、

表1 常见的表观遗传改变对大肠癌发生的影响<sup>[3]</sup>

Table 1 Common epigenetic changes in colorectal cancer<sup>[3]</sup>

基因 Genes	基因功能和在大肠癌中的表观遗传学变化 Gene function and epigenetic changes in colorectal cancer
<i>APC</i>	Tumor suppressor gene, antagonist of Wnt signaling pathway; high methylation leads to gene silencing
<i>MGMT</i>	Involved in DNA damage repairing; high methylation leads to gene silencing
<i>CDKN2A/P14</i>	Tumor suppressor gene, involved in cell cycle regulation; high methylation leads to gene silencing
<i>HLTF</i>	Encoding chromatin remodeling factors; high methylation leads to gene silencing
<i>hMLH1, hMLH2</i>	DNA repair gene; gene silencing by hypermethylation related with MSI
<i>CDKN2A/P16</i>	Tumor suppressor gene, involved in cell cycle regulation; high methylation leads to gene silencing
<i>CDH13</i>	Regulating cell adhesion-debonding process; inactivation by hypermethylation leads to cancer metastasis
<i>UNC5C</i>	Tumor suppressor gene; loss of expression by hypermethylation is associated with CRC
<i>DCC</i>	Tumor suppressor gene controlling programmed cell death; loss of expression in 70% of CRC
<i>COX2</i>	Involved in inflammation, mitosis, tumor angiogenesis and metastasis; hypermethylation leads to gene silencing
<i>HACE1</i>	Tumor suppressor gene; loss of expression by hypermethylation is associated with CRC
<i>RASSF1A</i>	Apoptosis inhibitory protein participated in death receptor-dependent; high methylation leads to gene silencing
<i>RUNX3</i>	Tumor suppressor gene; loss of expression by high methylation is associated with CRC
<i>SOCS1</i>	Negatively regulateing JAK/STAT3 pathway; loss of expression by high methylation is associated with CRC
<i>CHFR</i>	Checkpoint in early G <sub>2</sub> /M phase; often methylated in early CRC
<i>ADAM23</i>	Involved in cell-cell and cell-matrix interactions; loss of expression by high methylation is associated with CRC
<i>DLEC1</i>	Tumor suppressor gene; silencing by high methylation is associated with CRC
<i>SERP1</i>	SFRP gene silencing by hypermethylation leads to abnormal activation of the Wnt signaling pathway
<i>MYOD</i>	Stopping the cell cycle; silencing by hypermethylation is associated with CRC
<i>P15</i>	Cyclin-dependent kinase inhibitor; silencing may influence the risk of CRC
<i>P73</i>	Tumor suppressor gene; silencing by hypermethylation is associated with CRC
<i>WT1</i>	Tumor suppressor gene; silencing by hypermethylation is associated with CRC
<i>Cyclin A1</i>	Binding with transcription factors such as E2F-1, P21, Rb family; silencing by hypermethylation is associated with CRC
<i>MINT</i>	Inhibiting transcription; MINT methylation can be used to detect the level of local recurrence
<i>RAR-b</i>	Inhibition of retinoic acid-mediated growth, tumor suppressor genes; hypermethylation promotes the development of CRC
<i>RGC-32</i>	Regulating genes involved in chromatin assembly; <b>its silence and chromatin remodeling are associated with cell cycle activation</b>
<i>miRNA124a</i>	May affecting the expression of oncogenic protein
<i>miR-34b/c, miR-9-1, miR-129-2 and R-137</i>	They were observed methylation level higher in colorectal mucosal epithelium than normal mucosa
<i>miR-21</i>	Hypermethylation promotes invasion and metastasis of CRC
<i>miR-143</i>	Observed downregulation in colon cancer; negatively correlated with DNMT3A mRNA expression in CRC
<i>miR135</i>	Negatively correlated with APC mRNA expression in CRC and colorectal adenomas
<i>miR-34a</i>	Blocking SIRT1, enhancing activity of P53, silencing by hypermethylation is associated with CRC

14q22.2(*BMP4*)、15q13.3(*GREMI*)、16q22.1(*CDHI*)、18q21.1(*SMAD7*)、19q13.1(*RHPN2*)、20p12.3和20q13.33(*LAMA5*)<sup>[9]</sup>。

基因突变对大肠癌的发生有重要的影响, 而表现遗传学上的改变作为基因表达调控的主要机制, 同样对大肠癌的发生和发展有着不可忽略的作用。事实上, 大肠癌的发生和发展是一个多步骤的、涉及遗传和表现遗传变化累积的复杂过程<sup>[10]</sup>。大肠癌的发生不仅仅与遗传的改变有关, 还与表现遗传密切联系, 特别是在大肠癌发生的早期或称萌芽时期。表现遗传学主要指基因序列不发生改变, 而基因表达却发生了可遗传的变化。表现遗传主要影响细胞生长, 在基因、环境与疾病的关系之间起着至关重要的作用<sup>[4]</sup>。表现遗传标记的出错会导致多种细胞信号通路不适当的激活或抑制, 从而导致肿瘤的发生<sup>[11]</sup>。目前普遍认为, 表现遗传上的异常是大部分人类肿瘤如大肠癌、胃癌、恶性黑色素瘤等的罪魁祸首<sup>[12]</sup>。

在大肠癌中, 已经发现一些重要基因的表现遗

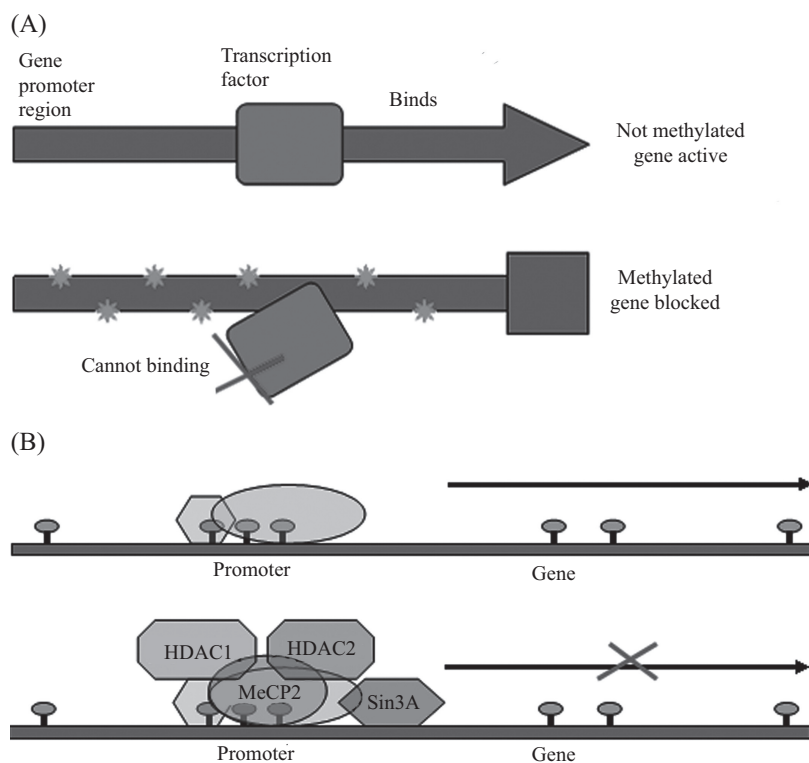
传学改变(表1), 对这些结果进行归纳和总结, 发现大肠癌的表现遗传学改变主要包括基因组DNA甲基化、组蛋白转录后修饰、染色质重塑以及非编码RNAs的调控。下面就从这几方面对大肠癌的表现遗传学研究进展进行阐述。

## 1 基因组DNA甲基化

DNA甲基化是指DNA的特定碱基转移上一个甲基的过程。甲基是由DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)从s-腺苷甲硫氨酸(SAM)转移催化而来。人类的DNA甲基化往往发生在CpG位点, 主要是在5'-CpG-3'的胞嘧啶残基上。很多基因启动子区存在富含CpG位点的CpG岛, 它与56%的人类基因组编码基因相关, 因此CpG岛的甲基化状态非常重要。

启动子DNA上的甲基化可以抑制基因的转录, 主要通过以下三种机制:

(1)干扰转录因子对DNA元件的识别和结合。



A: 基因启动子区甲基化干扰转录因子对DNA的识别和结合; B: 甲基化DNA募集HDAC形成转录抑制复合物, 干扰基因转录。

A: DNA methylation interfered with transcription factors recognition and binding of transcription factors to DNA elements; B: sequence-specific methylated DNA binding protein combined with methylation CpG islands in promoter region, raised histone deacetylase(HDAC), prevented the combination of transcription factors and promoter region target sequence, and finally affected the transcription of genes.

图1 基因组DNA甲基化对转录的影响

Fig.1 Genomic DNA methylation affects transcription

转录因子与DNA上特定的元件结合。DNA甲基化引起特定元件的修饰,使得转录因子无法识别,也无法与DNA结合,从而阻止基因的转录(图1A)。

(2)序列特异性的甲基化DNA结合蛋白与启动子区甲基化CpG岛结合,募集组蛋白去乙酰化酶(HDAC),形成转录抑制复合物,阻止转录因子与启动子区靶序列的结合,从而影响基因的转录(图1B)。

(3)DNA甲基化通过改变染色质结构,抑制基因的表达。染色质构型的变化伴随着组蛋白的乙酰化和去乙酰化,以调控基因转录的“开”和“关”。

启动子区CpG岛甲基化可以调控基因表达,一旦甲基化异常可通过多种方式影响基因转录与表达,导致细胞分化与增殖的异常,最终形成肿瘤。

在大肠癌中,一方面,相关基因的低甲基化可促使逆转座子的转录活性增强及癌基因激活如P-钙黏蛋白(CDH3)。更为重要的是,它还可以增加基因组的不稳定性。低甲基化的功能性结果包括抑制或上调原癌基因的转录,增加重组和突变,使X染色体失活、印记缺失、激活转座子和去甲基化的外源性物质<sup>[13]</sup>。比如着丝粒位点的低甲基化可能导致染色体重组和染色体复制的改变,它在微卫星稳定(MSS)的大肠癌中最常见<sup>[14]</sup>。可见,表观遗传学的改变可以作为预防、诊断大肠癌的生物标记。

另一方面,一些重要抑癌基因启动子DNA的甲基化,可以导致其表达下降,从而影响大肠癌的发生<sup>[15]</sup>。比如,细胞周期调控相关基因*CDKN2A*在40%的大肠癌中有甲基化的改变,并且在大肠腺瘤中也有发生<sup>[16]</sup>; *P16*基因在大肠癌中发生甲基化,并且在右侧结肠癌中发生的频率最高,其次是直肠癌和左侧结肠癌<sup>[17]</sup>; *UNC5C*和*DCC*基因的异常甲基化和表达分别在68%、56%的原发性大肠癌中被检测到,并且*UNC5C*在Dukes C期的甲基化频率比肿瘤早期明显增高<sup>[16]</sup>;此外, Hibi等<sup>[18]</sup>在58个原发性大肠癌患者中检测到一些重要基因(*P16*、*P14*、*HLFT*、*SOCS1*、*CDH13*、*RUNX3*、*CHFR*)的DNA发生甲基化,并且与大肠癌患者的临床分期显著相关。可见, DNA的甲基化状况与大肠癌的恶性潜能存在关联。

另有研究表明,非启动子区域上CpG岛的DNA甲基化也具有重要的意义。如组织特异表达的*MASPIN*基因的启动子区域不含有CpG岛,其表达也受到DNA甲基化的调控<sup>[19]</sup>。同样, CpG岛不位于启动子区域的*Oct-4*基因的DNA甲基化,也影响着基因

的表达水平<sup>[20]</sup>,这说明非CpG岛甲基化的重要作用,进一步揭示DNA甲基化对基因调节的复杂模式和机制。

那么,大肠癌的DNA甲基化如何检测?近年来随着测序技术的发展,国内外DNA甲基化检测的方法发展很快。目前,最常用的技术有重亚硫酸盐测序(bisulfite sequencing)、基于酶切消化的重亚硫酸盐测序(reduced representation bisulfite sequencing, RRBS)、甲基化DNA免疫共沉淀测序(methylated DNA immunoprecipitation sequencing, MeDIP-seq)、甲基化DNA结合结构域测序(methylated DNA binding domain sequencing, MBD-seq)<sup>[21]</sup>。DNA甲基化状态的检测越来越简便、灵敏,为大肠癌DNA甲基化信息的挖掘起到推波助澜的作用。比如,荷兰学者对711个大肠癌组织和53个对应的癌旁组织进行全基因组范围的甲基化筛查,发现*THBD-M*和*C9orf50-M*两个基因可以作为新的大肠癌生物标志物<sup>[22]</sup>。另外,粪便脱落细胞DNA甲基化检测是一新兴的大肠癌筛查技术,特异性强、灵敏度高,患者易接受,受到广泛重视,美国癌症协会、美国胃肠病学院等在其大肠癌筛查指南中明确地将粪便DNA检测作为推荐的筛查方法<sup>[23-24]</sup>。这些都为甲基化检测的广泛应用提供了条件。

DNA甲基化在基因调控和表达方面扮演着重要的角色。大肠癌的发生过程与癌基因、抑癌基因的低甲基化或高甲基化有关,已有多个相关基因的报道。大肠癌特异甲基化的检测可以用于早期诊断、了解不同个体的化疗敏感性以及发现复发和转移。另一方面,研究显示,一些甲基化的基因在去甲基化药物的作用下能够恢复正常功能,在临床试验中证明地西他滨和Zebularine有效,并且没有过大的副作用<sup>[13]</sup>。虽然我们已经了解了甲基化在大肠癌发生中的基本机制,但是在研究过程中仍然存在很多问题尚待解决。

## 2 组蛋白转录后修饰

大肠癌另一个重要的表观遗传学改变是染色质修饰,即组蛋白的共价修饰。人类染色体的基本单位是核小体,由146 bp长的DNA环和被它们围绕的核心组蛋白八聚体(H2A/H2B二聚体和H3/H4四聚体)组成。组蛋白可以改变包裹它们的DNA活性,组蛋白的共价修饰可以把密集和无活性的异染色质

板结变成松散的激活的常染色质, 反之亦然。

这些共价修饰, 比如乙酰化、甲基化、磷酸化和泛素化, 是发生在核心组蛋白N末端和C末端的可逆反应。组蛋白修饰是由几种不同功能的酶催化而来, 包括组蛋白乙酰转移酶(HATs)、组蛋白乙酰化酶(HDACs)和组蛋白甲基化转移酶等<sup>[25]</sup>。组蛋白的赖氨酸残基往往与转录的启动与停止有关。另外, 相同的赖氨酸残基上可以添加1、2或3个甲基, 导致不同的功能改变<sup>[26]</sup>。

目前, 已经证明组蛋白H3第10位丝氨酸的磷酸化与哺乳动物细胞中基因的失活有关。常见的组蛋白甲基化修饰有组蛋白H3第4位赖氨酸的二甲基化或三甲基化(H3K4me2/H3K4me3), H3第9位赖氨酸和第27位赖氨酸的三甲基化(H3K9me3、H3K27me3)。H3K4me2/H3K4me3与基因的转录激活有关, 而H3K9me3和H3K27me3则抑制甚至沉默基因的表达(图2)<sup>[27]</sup>。

因此, 组蛋白修饰可以通过共价修饰、染色体重塑等多种方式激活或抑制基因的转录, 特别是H3K27me3对一些重要抑癌基因的沉默, 导致了癌症的发生和发展。在大肠癌中, 已有研究利用ChIP-chip或者ChIP-seq技术找到了大量的H3K27me3修饰位点<sup>[28]</sup>。Pelaez等<sup>[29]</sup>研究表明, 组蛋白共价修饰受到癌基因RAS途径影响从而调节靶基因的表达, 如

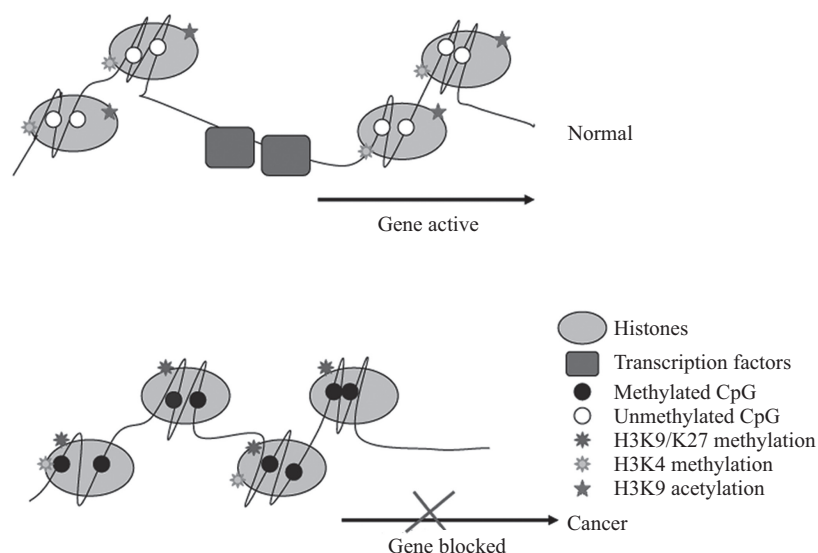
*Cylin D1*或*E-cadherin*, 同时去组蛋白修饰的酶是调节细胞增殖的关键。

目前, 对组蛋白修饰异常的研究尚不如对DNA甲基化的研究透彻。很多机制仍需要我们的进一步探索。

### 3 DNA甲基化与组蛋白修饰的相互关系

DNA甲基化与组蛋白修饰除了执行它们各自独立的功能, 它们还在多个水平彼此交互, 以决定基因表达状态、染色体结构和细胞内的识别<sup>[30]</sup>。多种组蛋白甲基化酶, 包括G9a、SUV39H1和PRMT5, 可以通过直接聚集DNA甲基转移酶(DNMTs)使特异的靶基因DNA发生甲基化, 导致靶基因的沉默<sup>[31]</sup>。除了直接募集DNMTs, 组蛋白甲基化酶和去甲基化酶同样可通过调节DNMTs蛋白的稳定性来影响DNA甲基化的水平<sup>[32]</sup>。DNA甲基化也可以通过效应蛋白, 如MeCP2使组蛋白H3K9发生甲基化, 从而产生压缩的染色质状态<sup>[33]</sup>。

另外, 在大肠癌中, 有些关键基因同时发生两种以上的表观遗传变化, 如*APC*、*SFRP1*、*SOX17*既是聚梳蛋白家族(polycomb group, PcG)的靶基因, 同时其启动子区域上又发生DNA甲基化<sup>[11]</sup>。研究表明, PcG的成员PRC2包含EZH2、SUZ12和EED亚基, 是目前发现的唯一可以发生H3K27me3修饰的复合体<sup>[34]</sup>。

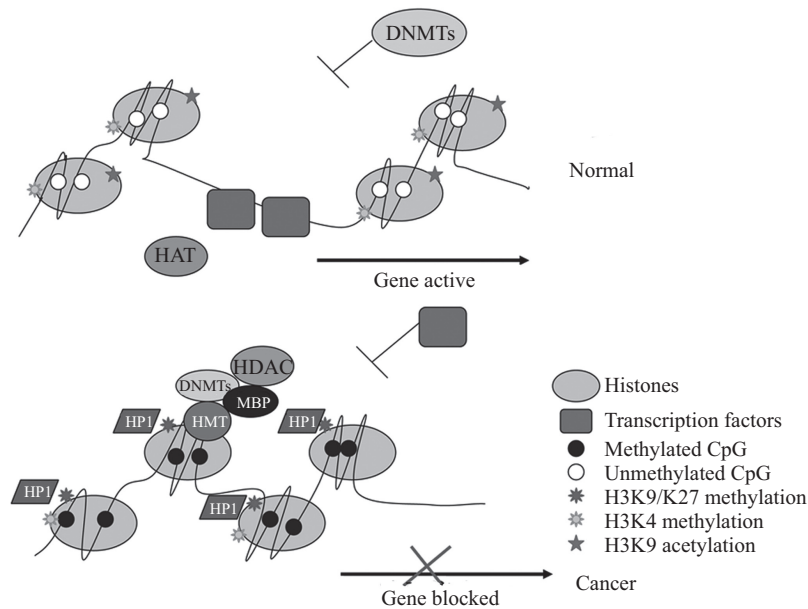


H3K4甲基化与转录激活有关, H3K9、H3K27甲基化则抑制基因转录。

H3K4me2/H3K4me3 activates gene promoters, whereas H3K9me3 and H3K27me3 are transcriptionally repressed.

图2 组蛋白转录后修饰对转录的影响

Fig.2 Post-translational modification of histone affects transcription



密集的染色质伴随着ATP分解重塑成松散的染色质,使转录因子与基因结合。

Dense chromatin remodels into a loose chromatin with ATP decomposed thus the transcription factor binding gene.

图3 染色质重塑对转录的影响

Fig.3 Chromatin remodeling affects transcription

这种对抑癌基因的双重抑制作用在大肠癌中具有重要的意义<sup>[35]</sup>。

#### 4 染色质重塑

染色质重塑(chromatin remodeling)指染色质位置和结构的变化,涉及密集的染色质在核小体连接处松懈造成染色质松散,从而暴露基因转录启动子区中的顺式作用元件,使反式作用因子(转录因子)可以与之接近结合<sup>[36]</sup>。这个过程不涉及组蛋白的化学改变,但却是能量(ATP酶)依赖的过程,决定着组蛋白和DNA之间的联系<sup>[36]</sup>(图3)。

目前,主要由两类结构介导染色体的重塑:一类是ATP依赖型核小体重塑复合体,它通过水解作用改变核小体构型;另一类是组蛋白修饰复合体,它主要催化对核心组蛋白N末端尾部进行共价修饰。

染色质重塑对基因调控有着重要的作用,一旦出错,常常引起肿瘤的发生和发展。有学者证明,BRG1和SNF5/INI1染色质重塑复合物在人类结肠癌细胞系中具有肿瘤抑制活性<sup>[37]</sup>。此外,ARID1A突变或缺失引起的染色质重塑异常出现在多种恶性肿瘤中,比如乳腺癌、大肠癌、胃癌、前列腺癌等,其中大肠癌的比例最高,大约10%的大肠癌中检测到ARID1A的染色质重塑<sup>[38]</sup>。

#### 5 非编码RNAs的调控

##### 5.1 microRNA

miRNAs是一类长度小于22 nt的非编码RNAs,它通过对靶基因的转录后沉默来调节基因的表达。miRNAs的表达具有组织特异性,调节众多的生物过程,包括细胞增殖、分化和凋亡等。目前,已经在人类基因组中找到成千上百个miRNAs以及它们对应的靶基因,表明miRNAs在调节全基因组的表达过程中起着关键作用<sup>[39]</sup>。如同基因一样,miRNAs的表达一方面受表观遗传改变的调节;另一方面,也影响着表观遗传的多种机制,如miRNAs可以影响DNA甲基化酶DNMT3A、DNMT3B和组蛋白修饰(EZH2)的表达水平<sup>[40]</sup>等。

近年来,对大肠癌组织和正常组织之间miRNAs表达谱的比较研究发现,大部分miRNAs的表达在大肠癌中存在广泛的改变<sup>[41]</sup>。miRNAs发挥抑癌还是致癌作用,取决于它们靶基因的功能。

miRNAs影响大肠癌的上皮分化(miRNA-141和miRNA-200c)<sup>[42]</sup>、WNT信号途径(miRNA-145、miRNA-135a和miRNA-135b)<sup>[43]</sup>和浸润、转移能力(miRNA-373和miRNA-520c)<sup>[44]</sup>。研究发现,调节细胞周期的miRNA-124a与CpG岛的高甲基化以及压缩性的染色质结构有关<sup>[45]</sup>。在大肠癌中检测到调节

TP53信号途径的miRNA-34b、miRNA-34c的启动子区CpG岛存在较高频率的过度甲基化<sup>[46]</sup>。有学者发现, miRNA-148a、miRNA-34b、miRNA-34c和miRNA-9的启动子区CpG岛甲基化与转移性大肠癌有关<sup>[47]</sup>。

## 5.2 lncRNAs

lncRNAs(long noncoding RNAs)是一类长度大于200 nt的长链非编码RNAs, 可被剪切, 可带poly-A, 也可加帽<sup>[48]</sup>。由于lncRNAs与mRNAs类似, 以往对lncRNA的认识有限, 认为它是没有功能的非编码RNAs, 曾一度忽略了对它的研究, 然而近几年, 随着二代测序技术的发展, 关于lncRNAs的研究越来越多, 其具体的作用也越来越明显, 已经有多种lncRNAs的功能被鉴定<sup>[49-52]</sup>。总的来说, lncRNAs主要调节蛋白编码基因, 改变蛋白编码基因的表达水平, 参与众多的生物过程, 如基因印迹、X染色体失活、细胞分化、免疫反应、生长发育、人类疾病及肿瘤发生等<sup>[53]</sup>。

很多研究证明, 一些lncRNAs通过与PRC2的相互作用对靶基因进行调节<sup>[54-55]</sup>。这些lncRNAs可能存在一种功能域, 可以与组蛋白修饰物CpG蛋白(主要是PRC2)相互作用形成复合物, 再一起结合到靶基因启动子区域的染色体上, 使得靶基因的组蛋白发生修饰, 如H3K9me3和H3K27me3等, 导致靶基因的表达受到影响。在癌症中, 一些lncRNAs由于其启动子区域失甲基化或者其他原因导致高表达, 从而抑制靶基因(通常为抑癌基因)的表达水平, 促进癌症的发生。

尽管关于lncRNAs的研究逐年增多, 目前对大肠癌中lncRNA功能的研究尚不多, 只有数篇文章。比如, Tian等<sup>[56]</sup>研究发现, 在大肠癌中, 由于lncRNA *H19*甲基化的紊乱, 导致H19/Igf2印迹区域的消失。另有研究表明, lncRNA *HOTAIR*在大肠癌中高表达, 并且可能也参与了大肠癌中表观遗传修饰的调节, 但是lncRNA *HOTAIR*对应的靶基因尚未检测出<sup>[57]</sup>。Xu等<sup>[58]</sup>发现lncRNA *MALAT-1*的3'端对大肠癌的细胞增殖、转移和浸润起着重要的作用。

总之, 综上所述, 大肠癌一旦确诊多属中晚期, 由于不能及时治疗 and 肿瘤广泛的浸润或转移, 大多数患者预后较差。因此早期诊断对大肠癌的防治具有非常重要的作用, 而表观遗传学变化对大肠癌的早期诊断、化疗敏感性评估和预后评价等具有重要

意义。另外, 表观遗传学的修饰是可逆的, 运用特定的药物去修饰, 抑制大肠上皮恶性转变, 个体化特异性靶向治疗大肠癌是一个值得探索的课题。大肠癌的发生与发展是一个多步骤的、涉及遗传和表观遗传变化累积的复杂过程, 而目前对表观遗传学改变与大肠癌关系的了解尚不够深入和全面。我们需要运用系统生物学、多组学、网络分析等技术来进一步研究表观遗传学。认识表观遗传学, 了解大肠癌在分子水平的发生、发展的机制, 对于方便、及时、早期诊断大肠癌、改进治疗方法、提高患者生存率, 具有非常重要的意义。

## 参考文献 (References)

- 1 Labianca R, Beretta GD, Kildani B, Milesi L, Merlin F, Mosconi S, *et al.* Colon cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010; 74(2): 106-33.
- 2 Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61(4): 212-36.
- 3 Migliore L, Migheli F, Spisni R, Coppede F. Genetics, cytogenetics, and epigenetics of colorectal cancer. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 792362.
- 4 Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31(1): 27-36.
- 5 Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61(5): 759-67.
- 6 Bellacosa A. Genetic hits and mutation rate in colorectal tumorigenesis: Versatility of Knudson's theory and implications for cancer prevention. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 38(4): 382-8.
- 7 Urso E, Agostini M, Pucciarelli S, Bedin C, D'Angelo E, Mescoli C, *et al.* Soft tissue sarcoma and the hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) syndrome: Formulation of an hypothesis. *Mol Biol Rep* 2012; 39(10): 9307-10.
- 8 Ren J, Li G, Ge J, Li X, Zhao Y. Is K-ras gene mutation a prognostic factor for colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Dis Colon Rectum* 2012; 55(8): 913-23.
- 9 Houlston RS. COGENT (COlorectal cancer GENeTics) revisited. *Mutagenesis* 2012; 27(2): 143-51.
- 10 Lao VV, Grady WM. Epigenetics and colorectal cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8(12): 686-700.
- 11 van Engeland M, Derks S, Smits KM, Meijer GA, Herman JG. Colorectal cancer epigenetics: Complex simplicity. *J Clin Oncol* 2011; 29(10): 1382-91.
- 12 Sandoval J, Esteller M. Cancer epigenomics: Beyond genomics. *Curr Opin Genet Dev* 2012; 22(1): 50-5.
- 13 Agrawal A, Murphy RF, Agrawal DK. DNA methylation in breast and colorectal cancers. *Mod Pathol* 2007; 20(7): 711-21.
- 14 Matsuzaki K, Deng G, Tanaka H, Kakar S, Miura S, Kim YS. The relationship between global methylation level, loss of heterozygosity, and microsatellite instability in sporadic

- colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11(24 Pt 1): 8564-9.
- 15 Bird AP. CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature* 1986; 321(6067): 209-13.
- 16 Goto T, Mizukami H, Shirahata A, Sakata M, Saito M, Ishibashi K, *et al.* Aberrant methylation of the p16 gene is frequently detected in advanced colorectal cancer. *Anticancer Res* 2009; 29(1): 275-7.
- 17 Wettergren Y, Odin E, Nilsson S, Carlsson G, Gustavsson B. p16INK4a gene promoter hypermethylation in mucosa as a prognostic factor for patients with colorectal cancer. *Mol Med* 2008; 14(7/8): 412-21.
- 18 Hibi K, Nakao A. Highly-methylated colorectal cancers show poorly-differentiated phenotype. *Anticancer Res* 2006; 26(6B): 4263-6.
- 19 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(2): 175-9.
- 20 Hattori N, Nishino K, Ko YG, Ohgane J, Tanaka S, Shiota K. Epigenetic control of mouse Oct-4 gene expression in embryonic stem cells and trophoblast stem cells. *J Biol Chem* 2004; 279(17): 17063-9.
- 21 Harris RA, Wang T, Coarfa C, Nagarajan RP, Hong C, Downey SL, *et al.* Comparison of sequencing-based methods to profile DNA methylation and identification of monoallelic epigenetic modifications. *Nat Biotechnol* 2010; 28(10): 1097-105.
- 22 Lange CP, Campan M, Hinoue T, Schmitz RF, van der Meulen-de Jong AE, Slingerland H, *et al.* Genome-scale discovery of DNA-methylation biomarkers for blood-based detection of colorectal cancer. *PLoS One* 2012; 7(11): e50266.
- 23 Maisonneuve P, Botteri E, Lowenfels AB. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps. *Gastroenterology* 2008; 135(2): 710; author reply 10-1.
- 24 Dominic OG, McGarrity T, Dignan M, Lengerich EJ. American college of gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2008. *Am J Gastroenterol* 2009; 104(10): 2626-7; author reply 28-9.
- 25 Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science* 2001; 293(5532): 1074-80.
- 26 Rodriguez J, Munoz M, Vives L, Frangou CG, Groudine M, Peinado MA. Bivalent domains enforce transcriptional memory of DNA methylated genes in cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(50): 19809-14.
- 27 Mikkelsen TS, Ku M, Jaffe DB, Issac B, Lieberman E, Giannoukos G, *et al.* Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. *Nature* 2007; 448(7153): 553-60.
- 28 Enroth S, Rada-Iglesias A, Andersson R, Wallerman O, Wanders A, Pahlman L, *et al.* Cancer associated epigenetic transitions identified by genome-wide histone methylation binding profiles in human colorectal cancer samples and paired normal mucosa. *BMC Cancer* 2011; 11: 450.
- 29 Pelaez IM, Kalogeropoulou M, Ferraro A, Voulgari A, Pankotai T, Boros I, *et al.* Oncogenic RAS alters the global and gene-specific histone modification pattern during epithelial-mesenchymal transition in colorectal carcinoma cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42(6): 911-20.
- 30 Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: Implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet* 2009; 10(1): 32-42.
- 31 Zhao Q, Rank G, Tan YT, Li H, Moritz RL, Simpson RJ, *et al.* PRMT5-mediated methylation of histone H4R3 recruits DNMT3A, coupling histone and DNA methylation in gene silencing. *Nat Struct Mol Biol* 2009; 16(3): 304-11.
- 32 Esteve PO, Chin HG, Benner J, Feehery GR, Samaranyake M, Horwitz GA, *et al.* Regulation of DNMT1 stability through SET7-mediated lysine methylation in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(13): 5076-81.
- 33 Fuks F, Hurd PJ, Wolf D, Nan X, Bird AP, Kouzarides T. The methyl-CpG-binding protein MeCP2 links DNA methylation to histone methylation. *J Biol Chem* 2003; 278(6): 4035-40.
- 34 Ku M, Koche RP, Rheinbay E, Mendenhall EM, Endoh M, Mikkelsen TS, *et al.* Genomewide analysis of PRC1 and PRC2 occupancy identifies two classes of bivalent domains. *PLoS Genet* 2008; 4(10): e1000242.
- 35 Rada-Iglesias A, Enroth S, Andersson R, Wanders A, Pahlman L, Komorowski J, *et al.* Histone H3 lysine 27 trimethylation in adult differentiated colon associated to cancer DNA hypermethylation. *Epigenetics* 2009; 4(2): 107-13.
- 36 Johnson CN, Adkins NL, Georgel P. Chromatin remodeling complexes: ATP-dependent machines in action. *Biochem Cell Biol* 2005; 83(4): 405-17.
- 37 DelBove J, Rosson G, Strobeck M, Chen J, Archer TK, Wang W, *et al.* Identification of a core member of the SWI/SNF complex, BAF155/SMARCC1, as a human tumor suppressor gene. *Epigenetics* 2011; 6(12): 1444-53.
- 38 Jones S, Li M, Parsons DW, Zhang X, Wesselung J, Kristel P, *et al.* Somatic mutations in the chromatin remodeling gene ARID1A occur in several tumor types. *Hum Mutat* 2012; 33(1): 100-3.
- 39 Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 2007; 302(1): 1-12.
- 40 Friedman JM, Liang G, Liu CC, Wolff EM, Tsai YC, Ye W, *et al.* The putative tumor suppressor microRNA-101 modulates the cancer epigenome by repressing the polycomb group protein EZH2. *Cancer Res* 2009; 69(6): 2623-9.
- 41 Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, *et al.* MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435(7043): 834-8.
- 42 Burk U, Schubert J, Wellner U, Schmalhofer O, Vincan E, Spaderna S, *et al.* A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells. *EMBO Rep* 2008; 9(6): 582-9.
- 43 Shi B, Sepp-Lorenzino L, Prisco M, Linsley P, de Angelis T, Baserga R. Micro RNA 145 targets the insulin receptor substrate-1 and inhibits the growth of colon cancer cells. *J Biol Chem* 2007; 282(45): 32582-90.
- 44 Huang Q, Gumireddy K, Schrier M, le Sage C, Nagel R, Nair S, *et al.* The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumour invasion and metastasis. *Nat Cell Biol* 2008; 10(2): 202-10.
- 45 Lujambio A, Ropero S, Ballestar E, Fraga MF, Cerrato C, Setien F, *et al.* Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67(4): 1424-9.



- 46 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(11): 4123-32.
- 47 Lujambio A, Calin GA, Villanueva A, Ropero S, Sanchez-Cespedes M, Blanco D, *et al.* A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(36): 13556-61.
- 48 Carninci P, Kasukawa T, Katayama S, Gough J, Frith MC, Maeda N, *et al.* The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science* 2005; 309(5740): 1559-63.
- 49 Guttman M, Garber M, Levin JZ, Donaghey J, Robinson J, Adiconis X, *et al.* Ab initio reconstruction of cell type-specific transcriptomes in mouse reveals the conserved multi-exonic structure of lincRNAs. *Nat Biotechnol* 2010; 28(5): 503-10.
- 50 Guttman M, Amit I, Garber M, French C, Lin MF, Feldser D, *et al.* Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature* 2009; 458(7235): 223-7.
- 51 Cabili MN, Trapnell C, Goff L, Koziol M, Tazon-Vega B, Regev A, *et al.* Integrative annotation of human large intergenic non-coding RNAs reveals global properties and specific subclasses. *Genes Dev* 2011; 25(18): 1915-27.
- 52 Chen G, Yin K, Shi L, Fang Y, Qi Y, Li P, *et al.* Comparative analysis of human protein-coding and noncoding RNAs between brain and 10 mixed cell lines by RNA-Seq. *PLoS One* 2011; 6(11): e28318.
- 53 Taft RJ, Pang KC, Mercer TR, Dinger M, Mattick JS. Non-coding RNAs: Regulators of disease. *J Pathol* 2010; 220(2): 126-39.
- 54 Tsai MC, Manor O, Wan Y, Mosammaparast N, Wang JK, Lan F, *et al.* Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science* 2010; 329(5992): 689-93.
- 55 Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, Suzuki S, Liu N, Kitagawa M, *et al.* Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15(INK4B) tumor suppressor gene. *Oncogene* 2011; 30(16): 1956-62.
- 56 Tian F, Tang Z, Song G, Pan Y, He B, Bao Q, *et al.* Loss of imprinting of IGF2 correlates with hypomethylation of the H19 differentially methylated region in the tumor tissue of colorectal cancer patients. *Mol Med Rep* 2012; 5(6): 1536-40.
- 57 Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K, Imoto S, Sudo T, *et al.* Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res* 2011; 71(20): 6320-6.
- 58 Xu C, Yang M, Tian J, Wang X, Li Z. MALAT-1: A long non-coding RNA and its important 3' end functional motif in colorectal cancer metastasis. *Int J Oncol* 2011; 39(1): 169-75.