

DNA甲基化模式及其在癌症中的作用

虞游 朱涵 卢佳伟 姚卉卉 陈建明*

(杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 310036)

摘要 随着对癌症研究的不断深入, 表观遗传调控在癌症发生发展中的作用也越来越受到人们的关注。DNA甲基化作为一种重要的表观遗传修饰机制, 在基因表达调控中起着十分重要的作用。该文对DNA甲基化模式及其在癌症中的作用作了综述, 并对DNA甲基化作为癌症早期诊断的生物标记以及癌症表观治疗的新策略作了总结和展望。

关键词 DNA甲基化; 癌症; 表观遗传; 生物标记; 表观治疗

DNA Methylation Patterns and Their Roles in Cancers

Yu You, Zhu Han, Lu Jiawei, Yao Huihui, Chen Jianming*

(College of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China)

Abstract With the deepening of the research on cancers, epigenetic regulation is now gaining more and more concern about its effects on the occurrence and development of cancers. DNA methylation, an important mechanism in epigenetic modifications, plays a significant role in the regulation of gene expression. In this review, DNA methylation patterns and their roles in cancers were reviewed. Additionally, DNA methylation as the bio-marker in the early diagnosis of cancers and the new strategy in the epigenetic therapy of cancers were summarized and their futures were prospected.

Key words DNA methylation; cancer; epigenetic; bio-marker; epigenetic therapy

自2000年人类基因组草图完成, 生命科学研究进入后基因组时代之后, 表观遗传的相关研究便取得了突飞猛进的进展。表观遗传(epigenetic)是指在DNA序列不发生改变的情况下, 基因的表达水平或功能发生改变, 并产生可遗传的表型^[1]。表观遗传的改变不仅可以遗传, 而且还是可逆的, 正是这一特性使之成为一种新的治疗靶点。表观遗传的修饰机制主要包括: DNA甲基化(DNA methylation)、组蛋白修饰(histone modification)、染色质重塑(chromatin remodeling)和RNA干扰(RNA interference)等^[2]。

近年来, 表观遗传学研究已经成为癌症研究的一个新方向。大量研究结果显示, 表观遗传修饰的

异常改变与癌症有着十分密切的联系, 全基因组范围内的表观遗传修饰改变已经成为癌症的新标记。最新的观点认为, 癌症的发生发展不仅仅与遗传改变相关, 表观遗传修饰的异常改变也贯穿于癌症的各个阶段。这就意味着癌症在一定程度上是一种表观遗传疾病^[3-5]。DNA甲基化作为表观遗传修饰的重要组成部分, 其在癌症的早期诊断、治疗、预后以及预防等方面的研究也取得了相应的成果^[6]。本文从表观遗传的角度, 对DNA甲基化模式及其在癌症中的作用作了综述, 并对DNA甲基化作为癌症早期诊断的生物标记以及癌症表观治疗的新策略作了总结和展望。

收稿日期: 2013-07-10 接受日期: 2013-09-09

浙江省钱江人才计划(批准号: 2010R10062)、浙江省新苗人才计划(批准号: 2013R421053)和《细胞生物学》市级精品课程(批准号: ZX13007002001)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0571-28933086, E-mail: jianmingchen@hznu.edu.cn

Received: July 10, 2013 Accepted: September 9, 2013

This work was supported by the Qianjiang Talented Person Project of Zhejiang Province (Grant No.2010R10062), the Program of "Xinmiao" Talents in Zhejiang Province (Grant No.2013R421053) and Cell Biology Municipal High-quality Course (Grant No.ZX13007002001)

*Corresponding author. Tel: +86-571-28933086, E-mail: jianmingchen@hznu.edu.cn

网络出版时间: 2013-11-22 11:01

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20131122.1101.006.html>

1 DNA甲基化

DNA甲基化是指在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)的作用下,以S-腺苷甲硫氨酸(SAM)为甲基供体,将甲基转移到特定的碱基上形成5-甲基胞嘧啶(5-mC)的过程。在哺乳动物体内,5-mC通常发生在5'-CpG-3'(cytosine-phosphate-guanine, CpG)二联核苷酸上^[7]。除此之外,研究人员在5'-CpNpG-3'和5'-CpCpWpGpG-3'等非CG位点也发现了甲基化^[8]。

CpG二联核苷酸在人基因组上的分布呈现出一定的规律,大约有80%的CpG处于甲基化状态,并定位于一些重复序列和染色体的着丝粒重复区域;而剩余的20%则处于未甲基化状态,这些CpG通常成簇出现,并分布于基因的启动子区以及1号外显子附近。通常,我们将一段长度不少于200 bp, (G+C)含量大于50%,并且观测值/期望值的比例不小于60%的序列称之为CpG岛(CpG island)^[9]。人类基因组草图分析结果显示,人类基因组中有将近30 000个CpG岛,平均每Mb就含有10个CpG岛,越来越多的研究报告发现CpG岛的数量与基因密度之间存在着一定的对应关系^[10]。

基因启动子区域CpG岛的甲基化与基因表达有关^[11]。一般来说, DNA甲基化能够抑制基因的转录(图1)。在细胞分化过程中,基因组的甲基化能够特异性失活某些基因,从而改变细胞的命运。除此之外,在已分化的细胞中,细胞特异性基因的表达同样也受到甲基化的调控。但是,在某些特殊的情况下, DNA甲基化也能够激活基因的表达(如*H19/Igf2*和*Rasgrf1*)^[12-13]。

2 DNA甲基化与癌症

1983年,科学家们首次发现DNA甲基化与癌症之间存在着密切的关系^[15-16]。Riggs和Jones^[16]发现,相对于正常细胞而言,癌细胞基因组呈现出低甲基化。异常的表现遗传改变与癌症的不同发展阶段有着密切的关系。据报道,超过300个基因和基因产物在各种类型的癌症中发生了表现遗传改变^[17],而这些改变与细胞增殖、细胞异型、发育异常、致癌、恶性肿瘤的侵袭、转移和治疗等都有一定的关系^[18]。在癌细胞中, DNA异常甲基化是最主要的表现遗传的改变,集中表现为:基因组范围内的低甲基化和启动子区域CpG岛特定位点的超甲基化^[19-20]。

2.1 DNA低甲基化与癌症

基因组DNA的低甲基化(hypomethylation)是癌细胞表现遗传的重大改变之一^[21]。研究发现,癌细胞的低甲基化水平主要是由于DNA重复序列的低甲基化以及基因编码区和外显子的去甲基化所致。一些常见的重复序列,如LINE、Alu等,在多种癌症中存在低甲基化的现象^[22-23]。以LINE-1为例,其低甲基化可以导致邻近基因的表达异常^[23]。DNA低甲基化在癌症的发生发展中扮演着十分重要的角色(表1),一方面可能通过影响染色体的稳定性,造成癌细胞中常见的染色体异常^[24];另一方面通过激活原癌基因(如*Ras*、*Myc*、*HOX11*等)的表达,从而促进肿瘤的发生^[25]。

2.2 DNA超甲基化与癌症

启动子区CpG岛特异性位点的超甲基化(hypermethylation)是癌细胞的另一个重要表现遗传改变。一般情况下,细胞的CpG岛大多处于非甲基化状态。

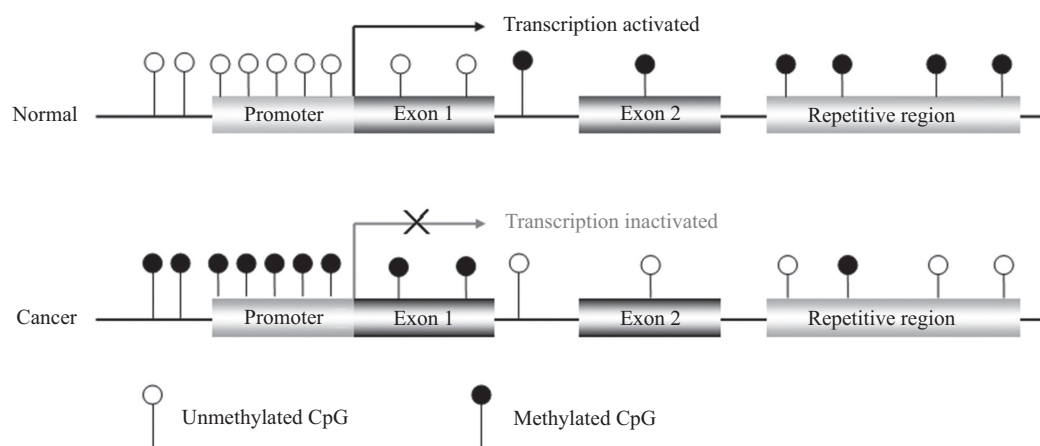


图1 正常细胞和癌细胞中DNA甲基化特征(根据参考文献[14]修改)

Fig.1 DNA methylation patterns alteration observed in normal and cancer cells (modified from reference [14])

研究发现, 在癌细胞中某些抑癌基因的启动子区的CpG岛通常发生甲基化, 引起抑癌基因的表现沉默, 进而导致细胞周期调控紊乱, 促进肿瘤的发生发展^[28]。迄今为止, 已有大量的基因被报道在癌细胞中存在高甲基化现象, 这些基因主要涉及DNA损伤修复、细胞周期调控、转录调节、转录因子、细胞凋亡、信号转导、药物解毒、激素受体、肿瘤细胞的转移等(表2)。研究发现, 某些基因如*RASSF1A*在肺癌、乳腺癌、卵巢癌、肾癌、前列腺癌、鼻咽癌中均表现出高甲基化^[29]。当然, 还有一些基因仅在特定的肿瘤组织中表现出超甲基化, 如*GSTP1*基因在前列腺肿瘤中表现为高甲基化, 但是在急性骨髓性白血病中却未出现甲基化, 同样在急性髓性白血病中, *RB*基因也未表现出超甲基化^[30]。虽然癌细胞中基因特异性甲基化机制目前尚不清楚, 但其对于某些肿瘤的早期诊断、治疗及预后具有非常重要的临床意义。

3 DNA甲基化: 癌症早期诊断的生物标记

众多研究显示, 与正常细胞相比, 肿瘤细胞中DNA甲基化状态发生了改变。某些基因(如*GSTP1*)还存在肿瘤特异性甲基化的改变。正是由于这种特性, 使得DNA甲基化在临床上作为癌症的早期诊断、治疗以及预后的标记物成为可能。

对于许多癌症来讲, 早期诊断对于其成功治疗十分重要。尽管传统的诊断方法, 包括细胞学检验、组织病理学检验、免疫组织化学检验、血清检查等十分有用, 但是分子标记可以进一步确定肿瘤的亚型。甲基化不仅能够区分不同类型的肿瘤, 而且还能够区分同一肿瘤不同的亚型, 甚至在一定程度上与化疗药物的疗效和预后有一定的关系。甲基化的改变一般先于明显的恶性病变, 因此对于癌症的早期诊断具有十分重要的借鉴意义, 而且不同类型的癌细胞中, 其甲基化程度也各异。例如, *CDH13*、*MYOD1*、*MGMT*、*p16^{INK4a}*以及*RASSF1A*等基因超

表1 低甲基化基因及其相关癌症(根据参考文献[26-27]修改)
Table 1 Hypomethylated genes and their related cancers (modified from reference [26-27])

基因 Gene	癌症类型 Cancer type(s)	检测方法 Method(s)
<i>Maspin</i>	Colorectal carcinoma, thyroid cancer	Methylation-specific PCR, RT-PCR
<i>BRCA2</i>	Sporadic ovarian cancer	Bisulfite-PCR, bisulfite sequencing
<i>P-Cadherin</i>	Invasive breast cancer	Methylation-specific PCR, RT-PCR
<i>p53</i>	Lung cancer	COBRA assay
<i>Protease uPA</i>	Breast cancer	MS-PCR, methylation-sensitive digest
<i>SNCG</i>	Breast cancer, ovarian cancer, bladder cancer	Bisulfite sequencing, nested methylation-specific PCR
<i>BAGE</i>	Colon cancer	Bisulfite restriction assay

表2 癌症中通常因超甲基化而失活的基因(根据参考文献[31]修改)
Table 2 Genes commonly inactivated by hypermethylation in cancers (modified from reference [31])

基因 Gene	相关信号通路 Interrelated pathway	癌症类型 Cancer type(s)
<i>p15</i>	Cell cycle	Lung, gliomas, breast, bladder, melanoma, prostate
<i>p16</i>	Cell cycle	Colon, liver
<i>Rb</i>	Cell cycle	Oligodendroglioma, retinoblastoma
<i>APC</i>	Nuclear export	Breast, lung, colon, stomach, liver
<i>MGMT</i>	DNA repair(p53-releated)	Lung, brain
<i>RASSF1A</i>	Cell proliferation	Lung, breast, ovarian, kidney, nasopharyngeal
<i>ER</i>	Hormone receptor	Breast, prostate
<i>E-cadherin</i>	Proliferation, invasion, and/or metastasis	Breast, thyroid, stomach
<i>GSTP1</i>	Carcinogen detoxification	Prostate, breast, kidney
<i>RUNX3</i>	Transcription factor	Lung, liver, colon, bladder
<i>DAPK</i>	Cell apoptosis	Lung, prostate, glioma

甲基化发生的频率在不同类型的癌细胞中存在明显的差异,通过检测患者的血液或尿液可以获得这些表观遗传改变的相关数据,从而为进一步的诊断及治疗提供参考。

目前,一些基因的甲基化检测已被广泛用于癌症的早期诊断中。如乳腺癌(*p16^{ink4a}*、*RAR β*)^[32]、肺癌(*p16*、*DAPK*、*APC*)^[33]、肝癌(*p15*)^[34]、前列腺癌(*GSTP1*)^[35]、卵巢癌(*TUSC3*)^[36]等,再辅之以其他的检测手段,对于癌症的进一步准确诊断以及治疗方案的选择具有重大的临床意义。此外,尽管DNA重复序列如SINEs和LINEs在癌细胞中通常处于低甲基化的状态,但将其应用到临床诊断中目前还存在一定的争议^[37]。

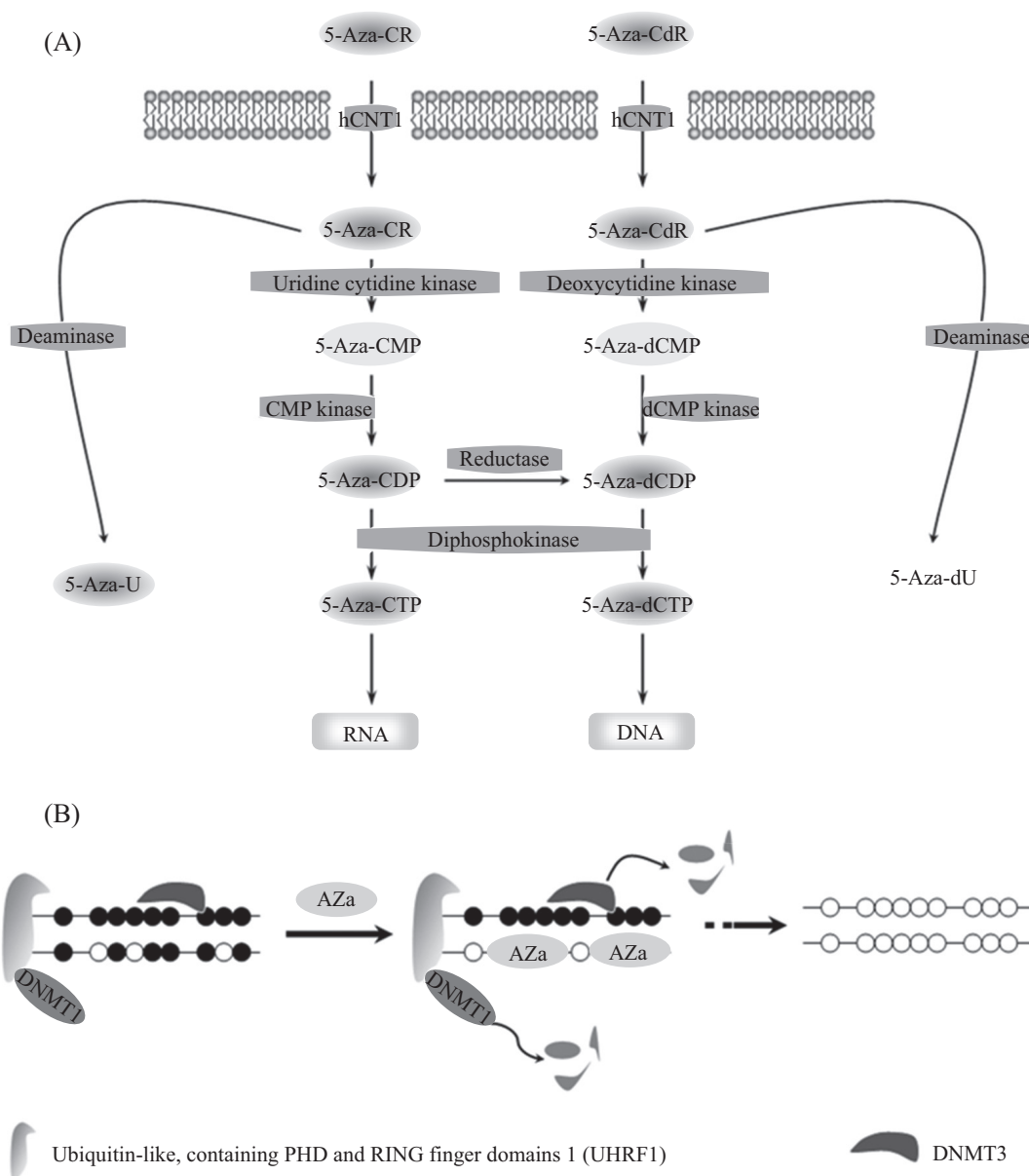
4 DNA甲基化:癌症治疗的新靶点

目前,临床上针对癌症的治疗方法还是以手术切除、放疗和化疗为主,但预后往往不是很理想,尤其是放化疗对病人具有很强的毒副作用。近年来,DNA甲基化作为癌症表观治疗的新靶点越来越受到人们的关注^[38-39]。

癌症的发生发展是一个多基因参与的过程,癌细胞全基因组的低甲基化和区域性的超甲基化等特征性改变揭示了癌症与表观遗传之间存在着密不可分的联系。但是,与普通遗传修饰所不同的是,表观遗传的改变是一个可逆的过程,DNA甲基化作为一种重要的表观遗传修饰,可以将其作为癌症表观治疗的一个新靶点。相关研究表明,通过一些去甲基化药物处理体外培养的细胞之后,能够重新激活因甲基化修饰而沉默的基因^[40]。目前,临床上DNA甲基化用于癌症治疗主要是以DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)为靶点,通过抑制DNA甲基转移酶活性实现DNA去甲基化。其中,最为常见的药物主要是胞嘧啶类似物,如5-氮杂胞嘧啶核苷(5-azacytidine, 5-Aza-CR)和5-脱氧氮杂胞嘧啶(5-aza-2-deoxycytidine, 5-Aza-CdR)。这两种药物通过人富集型核苷转运蛋白1(human concentrative nucleoside transporter 1, hCNT1)进入细胞后,在不同激酶的磷酸化作用下分别形成5-Aza-CTP和5-Aza-dCTP。随后,在核苷酸还原酶的作用下,5-Aza-CR能够与RNA和DNA结合;而5-Aza-CdR经磷酸化形成5-Aza-dCTP后便能够和DNA结合,结合之后的5-氮杂核苷通过经修饰过的嘧啶第5位上的氮破坏DNA

与DNA甲基转移酶之间的相互作用,以防止DNA被甲基化(图2A)。Ghoshal等^[41]研究发现,5-Aza-CdR还能够通过蛋白酶体途径快速并有选择性地降解DNMT1,这一降解过程发生在细胞核内,并且需要核定位信号和KEN框的参与。结合氮杂核苷的DNA经过第一轮复制之后便处于半甲基化状态,在经过几轮复制之后,便完全达到去甲基化(图2B)^[42]。除了抑制DNA甲基转移酶,5-Aza-CR还能够与RNA整合,通过诱导核糖体分解打断正常的细胞进程并能够阻止致癌蛋白的翻译^[43]。但是,5-Aza-CR和5-Aza-CdR在水溶液中极易水解,并且在胞苷脱氨酶的作用下能发生脱氨基作用,由于这类药物的不稳定性,不可避免地给临床应用带来了更为巨大的挑战^[44]。尽管在体外培养的细胞表现出良好的抑制肿瘤细胞生长、诱导细胞发生凋亡的疗效,但这些核苷类似物以非细胞特异性的方式靶向针对表观基因组,因此在肿瘤细胞和正常细胞中均能改变甲基化的状态,造成DNA损伤、突变、细胞毒性等毒副作用。已有文献报道,通过siRNA特异性沉默DNMT1或DNMT3b,并用5-Aza-dC处理胃癌细胞发现,与5-Aza-dC处理相比,siRNA介导的DNMT1靶向抑制能够很有效地激活沉默的基因,并能够使得CpG岛甲基化的基因去甲基化^[45]。更为重要的是, DNMT1 siRNA能够抑制肿瘤细胞的增殖,但几乎不会导致DNA损伤。因此,更为有效地以甲基化为靶点的表观治疗必须注重靶向特异性、较小的毒副作用以及更高的稳定性。

除了上述两种最为常见的胞嘧啶类似物之外,一些非核苷类似物由于不需要与DNA整合,因此表现出更小的细胞毒性。有研究显示,胍苯哒嗪(hydralazine)能够通过氮原子和Lys-162以及Arg-240相互作用来抑制DNA甲基转移酶活性^[46];而普鲁卡因胺(procainamide)则以竞争性抑制剂的形式,可以优先结合DNMT1^[44];另一种非核苷类似物小分子抑制剂RG108在前列腺癌中同样也表现出了较好的抗肿瘤作用^[47]。除此之外,一种亲脂性的喹啉衍生物SGI-1027在结肠癌RKO细胞中不仅能够降解DNMT1,而且还能够引起*CDKN2A*基因启动子的去甲基化并重新激活沉默的基因^[46,48]。可见,以DNA甲基化作为癌症表观治疗的分子靶点已经取得了一定的研究成果,相信随着研究的不断深入,与DNA甲基化相关的小分子药物设计与开发必将成为癌症



A: 5-Aza-CR和5-Aza-CdR通过hCNT1进入细胞, 经磷酸化形成活化的三磷酸腺苷形式。5-Aza-dCR能够与DNA结合, 而5-Aza-CR则与RNA结合。一旦5-Aza-CR转化为5-Aza-dCDP的形式后, 便能够和DNA结合。但是, 5-氮杂核苷极不稳定, 通常会发生脱氨作用生成无活性的尿苷。B: 5-氮杂核苷的作用模式: 在DNA复制过程中, UHRF1能够识别半甲基化DNA, 同时指导DNMT1甲基化新合成DNA链上的胞嘧啶, 从而在复制过程中维持子细胞中的DNA甲基化模式。5-氮杂核苷能够结合DNA并识别DNMTs, 在核定位信号和KEN框的协助下, 通过蛋白酶体途径降解DNMTs。含有氮杂核苷的DNA在第一轮复制之后处于半甲基化状态, 再经过几轮复制之后, 便能够完全去甲基化。

A: 5-Aza-CR and 5-Aza-CdR entry into cells in the assistance of human concentrated nucleoside transporter 1 (hCNT1), then they finally phosphorylated into their active triphosphate forms, respectively. 5-Aza-dCR can be incorporated into DNA, whereas 5-Aza-CR can be incorporated into RNA. But when 5-Aza-CR changed into 5-Aza-dCDP form, it can also be incorporated into DNA. 5-Azanucleosides are also very unstable and can be deaminated to inactive uridine. B: working model of 5-Azanucleosides. During DNA replication, ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains 1 (UHRF1) recognizes hemi-methylated DNA and directs DNMT1 to methylate the appropriate cytosine in newly synthesized DNA strands during the successive replications to maintain the patterns of DNA methylation in daughter cells. 5-Azanucleosides could be incorporated into DNA and trap DNMTs, then targeted for proteasomal degradation in cooperation with nuclear localization signal (NLS) and KEN box. DNA-containing azanucleosides are hemi-methylated after the first round of DNA replication then become fully demethylated after several rounds of replication.

图2 5-氮杂核苷的作用模式(根据参考文献[42]修改)

Fig.2 Schematic model of 5-Azanucleosides (modified from reference [42])

研究与治疗的一大热点。

5 展望

随着研究的不断深入,越来越多的证据表明,表观遗传修饰与癌症的发生发展有着密切的关系。DNA甲基化作为重要的表观遗传修饰在临床应用上具有重大价值。以DNA甲基化为基础的分子生物标记在癌症的早期诊断、治疗以及预后评估中都具有临床参考意义。近年来,对于癌症表观基因组的研究将更加有利于DNA甲基化作为生物标记在临床上的应用。不仅如此,表观基因组的研究也有利于表观分子靶向药物的设计,进而使表观治疗更具有特异性,减轻毒副作用。因此,有关癌症表观遗传沉默的发生及维持的分子机制的基础研究对于癌症的预防及治疗都具有十分重要的指导意义。

参考文献 (References)

- Capell BC, Berger SL. Genome-wide epigenetics. *J Invest Dermatol* 2013; 133(6): 1-4.
- Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31(1): 27-36.
- Esteller M. Epigenetics provides a new generation of oncogenes and tumour-suppressor genes. *Br J Cancer* 2006; 94(2): 179-83.
- You JS, Jones PA. Cancer genetics and epigenetics: Two sides of the same coin? *Cancer Cell* 2012; 22(1): 9-20.
- Sandoval J, Esteller M. Cancer epigenomics: Beyond genomics. *Curr Opin Genet Dev* 2012; 22(1): 50-5.
- Hansen KD, Timp W, Bravo HC, Sabunciyan S, Langmead B, McDonald OG, *et al.* Increased methylation variation in epigenetic domains across cancer types. *Nat Genet* 2011; 43(8): 768-75.
- Huidobro C, Fernandez AF, Fraga MF. The role of genetics in the establishment and maintenance of the epigenome. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70(9): 1543-73.
- Dyachenko OV, Schevchuk TV, Kretzner L, Buryanov YI, Smith SS. Human non-CG methylation: Are human stem cells plant-like? *Epigenetics* 2010; 5(7): 569-72.
- Han K, Lee J, Kim HS, Yang K, Yi JM. DNA methylation of mobile genetic elements in human cancers. *Genes Genom* 2013; 35(3): 265-71.
- Medvedeva YA, Fridman MV, Oparina NJ, Malko DB, Ermakova EO, Kulakovskiy IV, *et al.* Intergenic, gene terminal, and intragenic CpG islands in the human genome. *BMC Genomics* 2010; 11: 48.
- Lopez-Serra P, Esteller M. DNA methylation-associated silencing of tumor-suppressor microRNAs in cancer. *Oncogene* 2012; 31(13): 1609-22.
- Huang Z, Murphy SK. Increased Intragenic IGF2 Methylation is Associated with Repression of Insulator Activity and Elevated Expression in Serous Ovarian Carcinoma. *Front Oncol* 2013; 3: 131.
- Rajender S, Avery K, Agarwal A. Epigenetics, spermatogenesis and male infertility. *Mutat Res* 2011; 727 (3): 62-71.
- Gal-Yam EN, Saito Y, Egger G, Jones PA. Cancer epigenetics: Modifications, screening, and therapy. *Annu Rev Med* 2008; 59: 267-80.
- Doerfler W. DNA methylation and gene activity. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 93-124.
- Riggs AD, Jones PA. 5-methylcytosine, gene regulation, and cancer. *Adv Cancer Res* 1983; 40: 1-30.
- Ducasse M, Brown MA. Epigenetic aberrations and cancer. *Mol Cancer* 2006; 5: 60.
- Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol* 2010; 28(10): 1057-68.
- Torano EG, Petrus S, Fernandez AF, Fraga MF. Global DNA hypomethylation in cancer: Review of validated methods and clinical significance. *Clin Chem Lab Med* 2012; 50(10): 1733-42.
- Akhavan-Niaki H, Samadani AA. DNA methylation and cancer development: Molecular mechanism. *Cell Biochem Biophys* 2013; doi: 10.1007/s12013-013-9555-2.
- Ehrlich M, Lacey M. DNA hypomethylation and hemimethylation in cancer. *Adv Exp Med Biol* 2013; 754: 31-56.
- Bae JM, Shin SH, Kwon HJ, Park SY, Kook MC, Kim YW, *et al.* ALU and LINE-1 hypomethylations in multistep gastric carcinogenesis and their prognostic implications. *Int J Cancer* 2012; 131(6): 1323-31.
- Suzuki M, Shiraishi K, Eguchi A, Ikeda K, Mori T, Yoshimoto K, *et al.* Aberrant methylation of LINE-1, SLIT2, MAL and IGFBP7 in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* 2013; 29(4): 1308-14.
- Raddatz G, Gao Q, Bender S, Jaenisch R, Lyko F. Dnmt3a protects active chromosome domains against cancer-associated hypomethylation. *PLoS Genet* 2012; 8(12): e1003146.
- Luo J, Li YN, Wang F, Zhang WM, Geng X. S-adenosylmethionine inhibits the growth of cancer cells by reversing the hypomethylation status of c-myc and H-ras in human gastric cancer and colon cancer. *Int J Biol Sci* 2010; 6(7): 784-95.
- Wilson AS, Power BE, Molloy PL. DNA hypomethylation and human diseases. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1775(1): 138-62.
- Grunau C, Brun ME, Rivals I, Selves J, Hindermann W, Favre-Mercure M, *et al.* BAGE hypomethylation, a new epigenetic biomarker for colon cancer detection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(6): 1374-9.
- Sincic N, Herceg Z. DNA methylation and cancer: Ghosts and angels above the genes. *Curr Opin Oncol* 2011; 23(1): 69-76.
- Bhagat R, Chadaga S, Premalata CS, Ramesh G, Ramesh C, Pallavi VR, *et al.* Aberrant promoter methylation of the RASSF1A and APC genes in epithelial ovarian carcinoma development. *Cell Oncol (Dordr)* 2012; 35(6): 473-9.
- Ehrlich M. DNA hypomethylation in cancer cells. *Epigenomics* 2009; 1(2): 239-59.
- Kanwal R, Gupta S. Epigenetics and cancer. *J Appl Physiol* 2010; 109(2): 598-605.
- van de Voorde L, Speeckaert R, Van Gestel D, Bracke M, De Neve W, Delanghe J, *et al.* DNA methylation-based biomarkers in serum of patients with breast cancer. *Mutat Res* 2012; 751(2): 304-25.
- Brock MV, Hooker CM, Ota-Machida E, Han Y, Guo MZ, Ames S, *et al.* DNA methylation markers and early recurrence in stage I lung cancer. *N Engl J Med* 2008; 358(11): 1118-28.
- Song MA, Tiirikainen M, Kwee S, Okimoto G, Yu H, Wong LL.

- Elucidating the landscape of aberrant DNA methylation in hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2013; 8(2): e55761.
- 35 Sardana G, Diamandis EP. Biomarkers for the diagnosis of new and recurrent prostate cancer. *Biomark Med* 2012; 6(5): 587-96.
- 36 Pils D, Horak P, Vanhara P, Anees M, Petz M, Alfanz A, *et al.* Methylation status of TUSC3 is a prognostic factor in ovarian cancer. *Cancer* 2013; 119(5): 946-54.
- 37 Metias SM, Lianidou E, Yousef GM. MicroRNAs in clinical oncology: at the crossroads between promises and problems. *J Clin Pathol* 2009; 62(9): 771-6.
- 38 Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell* 2012; 150(1): 12-27.
- 39 Rius M, Lyko F. Epigenetic cancer therapy: Rationales, targets and drugs. *Oncogene* 2012; 31(39): 4257-65.
- 40 Bashir Q, William BM, Garcia-Manero G, de Lima M. Epigenetic therapy in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2013; 35(2): 126-33.
- 41 Ghoshal K, Datta J, Majumder S, Bai S, Kutay H, Motiwala T, *et al.* 5-Aza-deoxycytidine induces selective degradation of DNA methyltransferase 1 by a proteasomal pathway that requires the KEN box, bromo-adjacent homology domain, and nuclear localization signal. *Mol Cell Biol* 2005; 25(11): 4727-41.
- 42 Yang X, Lay F, Han H, Jones PA. Targeting DNA methylation for epigenetic therapy. *Trends Pharmacol Sci* 2010; 31(11): 536-46.
- 43 Stresemann C, Lyko F. Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine. *Int J Cancer* 2008; 123(1): 8-13.
- 44 Singh V, Sharma P, Capalash N. DNA methyltransferase-1 inhibitors as epigenetic therapy for cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2013; 13(4): 379-99.
- 45 Jung Y, Park J, Kim TY, Park JH, Jong HS, Im SA, *et al.* Potential advantages of DNA methyltransferase 1 (DNMT1)-targeted inhibition for cancer therapy. *J Mol Med (Berl)* 2007; 85(10): 1137-48.
- 46 Singh N, Duenas-Gonzalez A, Lyko F, Medina-Franco JL. Molecular modeling and molecular dynamics studies of hydralazine with human DNA methyltransferase 1. *Chem Med Chem* 2009; 4(5): 792-9.
- 47 Graca I, Sousa E, Baptista T, Almeida M, Ramalho-Carvalho J, Palmeira C, *et al.* Anti-tumoral effect of the non-nucleoside DNMT inhibitor RG108 in human prostate cancer cells. *Curr Pharm Des* 2013.
- 48 Yoo J, Choi S, Medina-Franco JL. Molecular modeling studies of the novel inhibitors of DNA methyltransferases SGI-1027 and CBC12: Implications for the mechanism of inhibition of DNMTs. *PLoS One* 2013; 8(4): e62152.