

DNA 甲基化在动脉粥样硬化进程中的作用

张勤奕, 于 蕾, 潘丽丽, 张 茁, 博力杨, 李同勋, 田迎春

(首都医科大学附属北京安贞医院脑卒中科, 北京市 100029)

[关键词] DNA 甲基化; 动脉粥样硬化; 表观遗传学

[摘 要] 动脉粥样硬化是一种基因和环境共同作用导致的复杂疾病, DNA 甲基化是一种重要的表观遗传修饰调控机制, 由环境因素导致, 并可通过有丝分裂遗传下去。目前已有研究表明, DNA 甲基化在动脉粥样硬化疾病的发生发展过程中起到至关重要的作用。本文综述了 DNA 甲基化在动脉粥样硬化方面的研究进展。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Role of DNA Methylation in Atherosclerosis

ZHANG Qin-Yi, YU Lei, PAN Li-Li, ZHANG Zhuo, BO Li-Yang, LI Tong-Xun, and TIAN Ying-Chun

(Department of Stroke, Beijing Anzhen Hospital Affiliated to the Capital Medical University, Beijing 100029, China)

[KEY WORDS] DNA Methylation; Atherosclerosis; Epigenetics

[ABSTRACT] Atherosclerosis is a complex disease caused by both genetic and environmental factors. DNA methylation is an important epigenetic mechanism that regulates gene expression, while the altered gene expression patterns caused by environment can be passed on to the daughter cells. Recent studies suggested that DNA methylation played a critical role in the development of atherosclerosis. This article provides a review of the relationship of the DNA methylation and atherosclerosis in the recent studies.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种多基因疾病,目前,对于 As 的病理生理发病机制提出了多种学说。但这些学说并不能完全阐明 As 的具体机制。最新研究及临床实践中发现,As 是基因和环境因素共同作用导致的复杂疾病,As 的发病及进展与长期环境因素改变密切相关。表观遗传学研究已经证实,在 As 时, DNA 甲基化能够导致血管平滑肌细胞的功能改变^[1]。在受到外界刺激时,机体能够通过 DNA 甲基化、组蛋白修饰、非编码 RNA 等方式调控基因的表达来改变蛋白和细胞功能^[2],是高于基因水平的基因调控机制,并且会通过有丝分裂进行保持和增殖,并可以贯穿于一生。目前的研究表明 DNA 甲基化在 As 疾病的发生发展过程中起至关重要的作用。

DNA 甲基化是一种重要的表观遗传修饰调控过程,它是指复制后的 DNA 序列,在 DNA 甲基转移酶的催化下,将甲基基团转移到胞嘧啶碱基上的过程。DNA 甲基化主要发生在富含双核苷酸 CpG 岛的区域,导致这些区域 DNA 序列的空间构型发生改变,从

而影响基因表达及蛋白合成。DNA 甲基化在维持细胞正常功能、胚胎发育及遗传过程中均发挥至关重要的作用。甲基化能关闭某些基因的活性,去甲基化则诱导了这些基因的重新活化和表达。这种甲基化的形式在细胞分裂过程中能够稳定的被保留^[3]。通常甲基化状态有三种:持续的低甲基化状态、去甲基化状态及高甲基化状态。健康人基因组中, CpG 岛中的 CpG 位点通常是处于低甲基化或去甲基化状态的,而在 CpG 岛外的 CpG 位点通常处于甲基化状态。在哺乳类细胞或人体细胞中, DNA 甲基化与细胞的增殖、衰老、癌变等生命现象有着重大关系^[4]。高血压、糖尿病、饮食、衰老、代谢情况以及生活习惯(如吸烟)等危险因素均可改变基因的甲基化状态^[5,6]。

1 全基因组异常甲基化

已有研究证实,As 的发生发展与全基因组的甲基化紊乱状态有关,但基因组呈现高甲基化还是低

[收稿日期] 2013-07-16

[作者简介] 张勤奕, 硕士, 主任医师, 研究方向为缺血性脑卒中的外科治疗, E-mail 为 dr. qinyi@163.com。于蕾, 硕士, 研究方向为脑血管病。潘丽丽, 博士, 研究方向为心血管病。

甲基化尚有争议。Newman 早在 1999 就报道叶酸、维生素 B6、维生素 B12 的缺乏可以导致全基因组低甲基化,且与 As 有关^[7],2005 年 Zaina 等^[8]亦报道 Hcy 可以导致全基因组低甲基化。众所周知 Hcy 是 As 独立危险因素,体内叶酸、维生素 B6、维生素 B12 的缺乏和/或高同型半胱氨酸血症均可引起 S-腺苷同型半胱氨酸 (S-adenosyl homocysteine, SAM) 水平升高, SAM 与甲基转移酶的亲和力较高,它竞争性地与甲基转移酶结合,是甲基转移酶的强抑制剂,从而减低机体的甲基化能力。研究发现,无论是在人^[9,10]或动物^[11],均已证实 DNA 甲基化和亚临床 As、冠心病之间的关系,基因组 DNA 的广泛低甲基化可能通过影响某些基因表达,进而影响平滑肌细胞迁移和增殖,在 As 发生中发挥重要调控作用。

近来有一项研究总共纳入 286 名受试者,分析外周血白细胞基因组甲基化水平,平均随访 5.8 年,结果发现基因组甲基化水平与冠心病及冠心病风险呈正相关^[12]。一项动物研究发现载脂蛋白 E 基因敲除小鼠在尚未出现 As 病变之前,在主动脉和外周血单个核细胞中就已经出现了 DNA 甲基化特征的改变(包括低甲基化和高甲基化),提示 DNA 甲基化的异常改变可能是 As 发生的早期标志^[13]。

全基因组 DNA 甲基化紊乱与 As 的发生发展密切相关,目前研究结论的不一致可能与甲基化的部位、不同诱发因素以及选取的组织细胞不同有关,但究竟是高甲基化还是低甲基化促进了 As 的发生发展尚有待进一步研究证实,其机制需进一步探讨。对于基因组学方面的研究可能与药物治疗的关系更为密切。

2 动脉粥样硬化相关特异基因甲基化

目前在对 As 的发病机制研究中已经发现一些特异性基因出现异常甲基化。这些致病基因在 As 发病过程的不同阶段、在遗传因素和环境因素的作用下发生甲基化紊乱,影响基因表达,通过不同的信号转导通路互相作用导致 As 斑块的发生发展。

2.1 雌激素受体基因

生理状态下,雌激素通过作用于心血管平滑肌细胞中的雌激素受体(estrogen receptor, ER)对心血管系统发挥保护作用。雌激素与特异性 ER 结合后,能够提高一氧化氮合酶基因表达,增加一氧化氮含量,抑制血管平滑肌细胞的迁移、增殖以及调节脂代谢等,从而延缓 As 发生。在 As 发生过程中,ER 启动子 CpG 岛的异常高甲基化^[14],引起 ER 表

达抑制,导致血管平滑肌细胞中 ER 数目减少,使雌激素与 ER 结合后的生物学效应大大降低,从而减弱或消除了雌激素对心血管的保护作用,这可能是 As 发生的重要机制之一。

2.2 细胞外超氧化物歧化酶基因

氧化应激与 As 的关系一直备受关注。研究者检测了外周血和主动脉内皮细胞的甲基化,发现冠状动脉 As 患者外周血中细胞外超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)基因呈高甲基化状态,并发现细胞外 SOD 基因甲基化水平与腺苷合成酶呈正相关,与蛋氨酸合酶呈负相关,从而认为细胞外 SOD 基因甲基化促进氧化应激,导致患冠状动脉粥样硬化性疾病的风险增加^[15]。

2.3 单羧酸转运蛋白基因

单羧酸转运蛋白(monocarboxylate transporter, MCT)是一类帮助乳酸转运出细胞的蛋白质。平滑肌细胞的能量代谢主要来自于葡萄糖的无氧酵解,此过程会产生大量乳酸,如果乳酸转运受抑制,就会发生细胞内酸化反应,导致细胞损伤。乳酸也是骨骼肌的能量来源之一,需要被转运到骨骼肌细胞进行能量转化。所以,对于血管细胞,尤其是平滑肌细胞来说,MCT 的减少或活性降低均会导致血管损伤和 As 病变形成。研究表明,MCT3 第二外显子区 CpG 岛的甲基化与 As 病变的数量和程度有关,MCT3 基因经甲基化修饰后,影响 MCT3 的表达和平滑肌细胞的功能,参与 As 的发生发展^[16]。

2.4 组织因子途径抑制物 2 基因

组织因子途径抑制物 2(tissue factor pathway inhibitor-2, TFPI-2)是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂,具有抑制凝血、纤维溶解以及细胞外基质降解,调控平滑肌细胞和单核/巨噬细胞增殖的作用。TFPI-2 基因表达于平滑肌细胞、巨噬细胞和内皮细胞。研究发现,与正常对照组织相比,颈动脉 As 斑块中的 TFPI-2 基因甲基化水平显著增高,同时伴随有相应的基因表达减少,最终导致基质金属蛋白酶活性增加,基质降解,斑块破裂^[17]。

2.5 15-脂氧合酶基因

15-脂氧合酶(15-lipoxygenase, 15-LO)为多元不饱和脂肪酸的氧合酶,在血管紧张素 II 的作用下可增加巨噬细胞中 15-LO 对低密度脂蛋白的氧化作用和促进单核细胞在血管壁的沉积,15-LO 还有助于促进平滑肌细胞迁移,通过炎症反应促进 As 发生。Liu 等^[18]报道 15-LO 启动子区域呈高甲基化的细胞模型均不表达 15-LO,而未甲基化的细胞模型中均有 15-LO 的表达,加入 DNA 甲基化抑制剂可增加白

细胞介素 4 诱导的 15-LO 表达。

2.6 诱导型一氧化氮合酶基因

一项研究对多种原代培养的人内皮细胞和血管平滑肌细胞的基因组经亚硫酸盐修饰后直接测序,发现诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)基因启动子区域的 CpG 二核苷酸系列高度甲基化^[19]。iNOS 高度表达可以延缓 As 的发生发展,而高度甲基化的 iNOS 启动子区域可明显减低一氧化氮合酶的表达,从而促进 As 进展。

2.7 成纤维细胞生长因子 2 基因

成纤维细胞生长因子 2(fibroblast growth factor 2, FGF2)是调控细胞分裂与抑制凋亡的关键物质。研究表明,在同型半胱氨酸的诱导下,FGF2 的启动子区呈高甲基化状态,内皮细胞表达的 FGF2 显著降低,并呈时间和剂量依赖性,在给予甲基化抑制剂后,可逆转上述改变^[20]。提示,同型半胱氨酸损伤内皮细胞的机制可能是通过促进 FGF2 基因发生甲基化修饰,降低 FGF2 表达而实现的。

综上所述,以上这些证据均提示甲基化调控失衡参与了 As 疾病的发生发展。由于 As 疾病的发生发展是一个长期缓慢的过程,其累及的血管为终末分化的成熟组织,在基因转录表达水平调节中碱基序列发生改变的可能性很小,而基因和染色体的修饰如 DNA 甲基化可能在此过程中发挥重要的调节作用。由此可推断长期环境改变使 DNA 甲基化失调导致基因表达调节失衡,可能是 As 早期发病机制之一。

3 前景与展望

近年来对 As 的研究取得了很大的进展,但是对 DNA 甲基化与 As 之间关系的研究才开始起步。明确环境对 As 性疾病的影响,对于 As 早期预防和早期干预具有重要意义。现有的研究已经充分表明 As 的发生发展过程中伴有 DNA 甲基化紊乱,并且 DNA 甲基化异常的致病过程是可以被逆转的,可能是治疗 As 的新策略,为疾病的治疗提供了乐观的前景。

[参考文献]

- [1] Findeisen HM, Kahles FK, Bruemmer D. Epigenetic regulation of vascular smooth muscle cell function in atherosclerosis[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2013, 15 (4): 319.
- [2] 颜斌,曹仁贤,文格. DNA 甲基化与基因转录抑制[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2006, 26 (6): 524-526.
- [3] Cottrell SE. Molecular diagnostic applications of DNA methylation technology[J]. *Clin Biochem*, 2004, 37: 595-604.
- [4] Ramos-Duran LR, Kalafut JF, Hanley M, et al. Current contrast media delivery strategies for cardiac and pulmonary multidetector-row

computed tomography angiography[J]. *Thorac Imaging*, 2010, 25 (4): 270-277.

- [5] Feil R. Environmental and nutritional effects on the epigenetic regulation of genes[J]. *Mutat Res*, 2006, 600 (1-2): 46-57.
- [6] Junien C, Nathanielsz P. Report on the IASO Stock Conference 2006: early and lifelong environmental epigenomic programming of metabolic syndrome, obesity and type II diabetes[J]. *Obes Rev*, 2007, 8 (6): 487-502.
- [7] Newman PE. Can reduced folic acid and vitamin B12 levels caused deficient DNA methylation producing mutations which initiate atherosclerosis[J]. *Medhypotheses*, 1999, 53 (5): 421-424.
- [8] Zaina S, Lindholm MW, Lund G. Nutrition and aberrant DNA methylation patterns in atherosclerosis; more than just hyperhomocysteinemia[J]. *Nutr*, 2005, 135: 5-8.
- [9] Kim M, Long TI, Arakawa K, et al. DNA methylation as a biomarker for cardiovascular disease risk [J]. *PLoS One*, 2010, 5: e9692.
- [10] Movassagh M, Choy MK, Goddard M, et al. Differential DNA methylation correlates with differential expression of angiogenic factors in human heart failure[J]. *PLoS One*, 2010, 5: e8564.
- [11] Lund G, Andersson L, Lauria M, et al. DNA methylation polymorphisms precede any histological sign of atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein[J]. *Biol Chem*, 2004, 279: 29 147-154.
- [12] Kim M, Long TI, Arakawa K, et al. DNA methylation as a biomarker for cardiovascular disease risk [J]. *PLoS One*, 2010, 5: e9692.
- [13] Lund G, Andersson L, Lauria M, et al. DNA methylation polymorphisms precede any histological sign of atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein E[J]. *Biol Chem*, 2004, 279: 29 147-154.
- [14] Dong C, Yoon W, Goldschmidt-Clermont PJ. DNA methylation and atherosclerosis[J]. *Nutr*, 2002, 132: 2 406S-409S.
- [15] Zelko IN, Mueller MR, Folz RJ. CpG methylation attenuates Sp1 and Sp3 binding to the human extracellular superoxide dismutase promoter and regulates its cell-specific expression[J]. 2010, 48 (7): 895-904.
- [16] Zhu S, Goldschmidt-Clermont PJ, Dong C. Inactivation of monocarboxylate transporter MCT3 by DNA methylation in atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2005, 112: 1 353-361.
- [17] Zawadzki C, Chatelain N, Delestre M, et al. Tissue factor pathway inhibitor-2 gene methylation is associated with low expression in carotid atherosclerotic plaques[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 204: e4-14.
- [18] Liu C, Xu D, Sjöberg J. Transcriptional regulation of 15-lipoxygenase expression by promoter methylation [J]. *Exp Cell Res*, 2004, 297 (1): 61-67.
- [19] Chan GC, Fish JE, Mawji TA. Epigenetic basis for the transcriptional hyporesponsiveness of the human inducible nitric oxide synthase gene in vascular endothelial cells[J]. *Immunol*, 2005, 175 (6): 3 846-861.
- [20] Chang PY, Lu SC, Lee CM, et al. Homocysteine inhibits arterial endothelial cell growth through transcriptional downregulation of fibroblast growth factor-2 involving G protein and DNA methylation [J]. *Circ Res*, 2008, 102: 933-941.

(此文编辑 文玉珊)