

综 述

DNA 甲基化在 COPD 发病机制中的研究进展

邱婷婷综述, 卞 涛审校

【摘要】 DNA 甲基化是表观遗传学的重要组成部分,与基因表达异常、DNA 损伤修复、基因组的不稳定性、遗传性状的改变密切相关。在外界刺激下,细胞的 DNA 甲基化可发生动态改变,调控基因的表达,参与各种疾病的病理生理过程。慢性阻塞性肺疾病(COPD)是影响人类健康的重要疾病,其发病机制也是研究的热点,近年来有研究发现表观遗传的改变对 COPD 的疾病进程及急性加重有重要作用,其中以 DNA 甲基化改变为主。文章通过小气道上皮细胞、肺组织、痰液、外周血几个方面综述 DNA 甲基化与 COPD 的关联性,为 COPD 的发病机制提供更为广阔的视角。

【关键词】 DNA 甲基化;表观遗传学;慢性阻塞性肺疾病

【中图分类号】 R563.9 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2018)06-0614-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2018.06.012

0 引 言

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种常见病、多发病,是全球导致发病率和死亡率的原因之一,随着全球人口老龄化和危险因素持续暴露预计将进一步增加 COPD 的发病率,加重社会经济负担,且严重影响人类健康^[1]。COPD 发病机制目前尚不明确,可能与肺部对香烟烟雾等有害气体或颗粒的异常炎症反应有关。近年研究发现与蛋白酶-抗蛋白酶失衡、氧化应激、炎症反应、表观遗传、细胞凋亡等相关。DNA 甲基化是一种可逆地表观遗传学修饰,广泛参与 COPD 的发生发展。越来越多的研究表明异常的 DNA 甲基化存在于 COPD 患者的痰液、外周血、肺泡巨噬细胞、气道上皮细胞以及肺组织中。鉴于 DNA 甲基化是一个可逆地表观遗传学修饰,通过研究 DNA 甲基化在 COPD 发病机制中的作用,对探索表观遗传学为基础的 COPD 的疗法提供理论依据。

1 DNA 甲基化概述

所谓的表观遗传学即在基因核苷酸序列不改

变的情况下,基因表达的可遗传性变化;DNA 的表观遗传学修饰包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、非编码的 RNA。其中 DNA 甲基化是通过 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)作用下,将 S-腺苷甲硫氨酸上的甲基转移到胞嘧啶 5' 碳原子上,形成 5 甲基胞嘧啶^[2]。DNA 甲基化状态与 DNA 片段的活性有关但并不影响 DNA 序列。一般而言,基因启动子区 CpG 岛的高甲基化通常导致基因沉默,而低甲基化触发转录激活,从而影响上下游靶基因的转录^[3]。同卵双胞胎拥有相同的 DNA 序列,但研究表明外界环境因素可改变基因启动子区 CpG 岛甲基化程度,如香烟烟雾暴露、饮食、衰老、等,可导致一系列疾病的发生,如 COPD^[4]。以往认为遗传因素和环境因素在 COPD 发病过程中是相互独立的危险因素,但表观遗传学的出现,把遗传和环境这两个独立因素有机结合在一起。

2 COPD 中 DNA 甲基化异常表达和调节

呼吸系统组织长期暴露于多种污染环境,如空气污染、生物燃料烟雾、烹饪油烟以及有害职业等,大小气道和肺组织的表观基因组倾向于动态改变,从而影响基因表达。尤其是吸烟,可刺激呼吸道产生炎症反应,增加肺组织中活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生,改变细胞的氧化还原状态从而导致不稳定的基因发生甲基化修饰,促进 COPD 发生发展和疾病过程^[5]。回顾 COPD 中异常甲基化表达研究进展,取材包括了外周血细胞、大小

作者单位:214023 无锡,南京医科大学附属无锡市人民医院呼吸内科(邱婷婷、卞 涛)

通信作者:卞 涛, E-mail: biantaophd@126.com

气道上皮细胞、肺组织、痰液以及肺泡巨噬细胞。不同取材标本获得的实验结果并不完全一致,即 DNA 甲基化状态是具有组织特异性的。下面分述各种取材样本中 DNA 甲基化研究进展。

2.1 小气道上皮细胞中异常的 DNA 甲基化 COPD 气流阻塞的主要位置是小气道,在 COPD 患者小气道上皮细胞的全基因组分析表明,异常 DNA 甲基化和基因表达主要通过三条信号通路与 COPD 发生发展相关:磷酸酶张力蛋白信号通路(phosphatase tensin signaling pathway, PTEN)、核转录因子 E-2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 介导的氧化应激反应通路、IL-17 因子炎症反应通路^[6]。其中 Nrf2 介导的氧化应激反应通路在 COPD 发病机制中尤为重要。机体在应对 ROS 损害时形成了一套复杂的氧化应激应答系统,当暴露于 ROS 时,机体自身能诱导出一系列保护性蛋白,以缓解细胞所受的损害^[7]。这一协调反应是由这些保护性基因上游调节区的抗氧化反应元件(antioxidant responsive elements, ARE)来调控的,而 Nrf2 是 ARE 的激活因子,通过与 ARE 相互作用调节编码抗氧化蛋白^[8-9]。生理状态下, Nrf2 在细胞质中与它的抑制蛋白 Keap1 结合,促进 Nrf2 泛素化继而被蛋白酶体降解。一旦受到亲电试剂或 ROS 的刺激时,Keap1 与 Nrf2 解偶联使得 Nrf2 转移入核,与基因中的 Maf 蛋白结合成异二聚体后识别并结合 ARE,启动下游保护性蛋白基因的转录,提高细胞抗氧化应激能力^[10-13]。与肺功能正常的个体相比, Nrf2 氧化应激通路中 DNA 甲基化水平和基因表达在多个上游和下游靶基因中均有差异。其中 *PKC*、*MEK2*、*ACTA1/ACTB*、*MAFG*、*HIP2*、*GSTM1/GSTP1/GSTT1*、*AOX1*、*MRP4* 基因仅仅是高甲基化的,而 *PTEN*、*Nrf2*、*JUND*、*HSP6*、*EPHX1*、*FTH1* 基因是高甲基化且低表达的^[6]。高甲基化导致的基因表达减少使得 Nrf2 介导的细胞保护作用减弱,造成细胞损害,介导了 COPD 的病理生理过程。

此外, COPD 患者较正常的个体更易合并发生肺癌^[14-15]。研究表明 Nrf2 的表达上调与肿瘤自我保护和耐药性密切相关, Keap1 或 Nrf2 在肺癌中的异常状态常导致疾病预后不良,因为 Nrf2 既可作为肿瘤抑制因子来阻止细胞癌变,也可促进肿瘤的发生发展和对化疗药的耐药性,这取决于肿瘤发展的不同阶段^[16]。因此阐明这一信号通路在氧化应激

和肿瘤的形成中所起的作用,可能对合理应用抗氧化剂疗法治疗慢性阻塞性肺病患者至关重要。

2.2 肺组织中异常的 DNA 甲基化 Sundar 等^[17]在肺组织中的研究表明, *NOS1AP*、*BID* 基因的 CpG 位点在吸烟者和 COPD 患者中异常甲基化,这些基因是 COPD 发病机制中氧化-抗氧化失衡、细胞凋亡的一部分。DNA 甲基化状态可能影响吸烟者和 COPD 患者肺组织中 *NOS1AP*、*BID* 基因的表达,扰乱细胞的衰老、自我吞噬、凋亡。 *NOS1AP* 是一种细胞保护性蛋白,与神经元型一氧化氮合成酶结合,缓解血液流动的冲击,保护动脉壁并减少炎症^[18]。 COPD 患者并发缺血性心脏病和肺癌的风险性是无 COPD 临床表现的单纯吸烟者的三倍。这可能与 *NOS1AP* 基因在肺组织中高甲基化以及异常表达相关^[19-20]。

BID 蛋白是细胞死亡调控因子 *BCL-2* 家族中的一员。有丝分裂是细胞的脆弱时刻,未能成功完成的有丝分裂通常导致非整倍体和癌症的发生,因此机体通过诱导细胞凋亡来清除异常细胞^[21], *BID* 作用在线粒体有丝分裂间期^[22],并参与一种活性氧依赖、局部线粒体间电位机制,通过蛋白的磷酸化,放大凋亡信号^[23]。在吸烟者和 COPD 患者中, *BID* 启动子 CpG 位点显著高甲基化, *BID* 表达减少,这表明 *BID* 可能通过细胞凋亡参与到 COPD 的发生发展中^[24-25]。

Yoo 等^[26]研究表明, *EPAS1* 在 COPD 患者的肺组织中高度甲基化,基因表达相对减少, *EPAS1* 蛋白水平也相对减低。在慢性暴露于香烟烟雾的老鼠肺组织中, *EPAS1* 基因表达也是减少的。 *EPAS1* 也被称为低氧诱导因子 2α (*HIF-2 α*), 是一个低氧反应转录因子^[27]。在充足的氧气供应下, *HIF* 基因退化,而在缺氧情况下, *HIF* 基因直接连接到 DNA 上增加靶基因的转录^[28]。低氧加重 COPD 疾病的严重程度,由肺泡低氧所致的肺血管收缩,也进一步加重肺动脉高压。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是 *EPAS1* 的下游靶基因之一, VEGF 参与到支气管微血管改变和炎症性的气道改变中。在肺气肿患者中,低水平的 VEGF 加重肺泡的损害^[29]。另一个相关现象,新生的小鼠缺乏完整的 *EPAS1* 基因的表达,肺表面活性物质 D 的缺乏,导致肺功能异常并死于呼吸衰竭^[30]。总而言之, *EPAS1* 的异常甲基化在 COPD

疾病的发生发展中起重要作用。

2.3 痰液中异常的 DNA 甲基化 在吸烟者的痰液中, Sond 等^[31] 研究发现, p16、GATA4 基因启动子区的异常甲基化与无此表观遗传变化的吸烟者相比, 肺功能显著下降和木材烟雾暴露的相关性更强。气道中的 GATA4 基因甲基化状态可用来预测 COPD 患者健康状态^[32]。此外, 在吸烟者的痰液中, 观察到肺癌相关基因 *SULF2* 启动子区的高甲基化, 与持续性的粘液高分泌相关^[33]。

2.4 外周血中异常的 DNA 甲基化 在吸烟者外周血的研究中, 发现 *FUT7* 基因在 COPD 患者中, 相对于处于低甲基化状态。中性粒细胞炎症反应是 COPD 的一个突出特征, 中性粒细胞黏附因子的异常表达在 COPD 患者中已经被观察到^[34-35]。而 *FUT7* 基因编码的 sialyl lewis X 是 E 选择素的配体, 研究证明 E 选择素在促进白细胞迁移到炎症组织中发挥重要作用, 其在慢性支气管炎和气流阻塞的患者中表达增加^[36]。*FUT7* 的相对低甲基化状态可能改变了外周组织中 sialyl lewis X 表达, 增加了其与 E 选择素的相互作用, 从而帮助中性粒细胞迁移到肺组织中, 加重 COPD 患者肺组织的炎症反应^[37]。

2.5 甲基转移酶的异常甲基化 与 COPD 相关的异常甲基化还包括了 DNMTs: DNMT1、DNMT3A、DNMT3B 的过度表达。研究认为 DNMT1 是哺乳动物中最丰富的甲基化转移酶, 被认为是维持甲基化的关键酶, DNMT3A 和 DNMT3B 则是主要的从头甲基化酶^[38]。目前关于 DNMTs 与 COPD 相关性的报道较少, 但 Liu 等^[39] 研究发现, 正常小气道上皮细胞和支气管上皮细胞在吸烟冷凝物的慢性暴露中会导致 DNMT1 的表达减少和 DNMT3B 的表达增加, 这一结果为 COPD 的发病机制提供了一定的线索。

3 结 语

DNA 甲基化是表观遗传的重要组成方式, 对许多基因的表达调控起重要作用。COPD 的发病机制目前并不明确, 已知的氧化应激、炎症反应、蛋白酶-抗蛋白酶失衡、凋亡、细胞衰老等均对疾病的发生发展起重要作用。DNA 甲基化介导的基因表达的改变, 参与疾病发生的许多通路, 穿插在各个重要的发病机制之中。是连接环境改变与遗传基础间的桥梁^[40]。对 DNA 甲基化与 COPD 发病机制的

相关性探究, 有助于未来进一步阐明 COPD 的发病机制。

[参考文献]

- [1] Wacker ME, Kitzing K, Jorres RA, *et al.* The contribution of symptoms and comorbidities to the economic impact of COPD: an analysis of the German COSYCONET cohort[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12: 3437-3448.
- [2] 王震凯, 汪芳裕. DNA 甲基化与肿瘤[J]. *医学研究生学报*, 2011, 24(6): 641-645.
- [3] Szulwach KE, Jin P. Integrating DNA methylation dynamics into a framework for understanding epigenetic codes[J]. *Bioessays*, 2014, 36(1): 107-117.
- [4] Li C, Zhao S, Zhang N, *et al.* Differences of DNA methylation profiles between monozygotic twins' blood samples[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(9): 5275-5280.
- [5] Adcock IM, Caramori G, Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer: new molecular insights[J]. *Respiration*, 2011, 81(4): 265-284.
- [6] Vucic EA, Chari R, Thu KL, *et al.* DNA methylation is globally disrupted and associated with expression changes in chronic obstructive pulmonary disease small airways[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 50(5): 912-922.
- [7] Potteti HR, Reddy NM, Hei TK, *et al.* The NRF2 activation and antioxidative response are not impaired overall during hyperoxia-induced lung epithelial cell death[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 2013: 798401.
- [8] Krajka-Kuzniak V, Paluszczak J, Baer-Dubowska W. The Nrf2-ARE signaling pathway: An update on its regulation and possible role in cancer prevention and treatment[J]. *Pharmacol Rep*, 2017, 69(3): 393-402.
- [9] Chang J, Zhang Y, Li Y, *et al.* Nrf2/ARE and NF-kappaB pathway regulation may be the mechanism for lutein inhibition of human breast cancer cell[J]. *Future Oncol*, 2018, 14(8): 719-726.
- [10] Noel S, Lee SA, Sadasivam M, *et al.* KEAP1 Editing Using CRISPR/Cas9 for Therapeutic NRF2 Activation in Primary Human T Lymphocytes[J]. *J Immunol*, 2018, 200(5): 1929-1936.
- [11] Ma Y, Zhu M, Miao L, *et al.* Mercuric Chloride Induced Ovarian Oxidative Stress by Suppressing Nrf2-Keap1 Signal Pathway and its Downstream Genes in Laying Hens[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2018. doi: 10.1007/s12011-018-1244-y. [Epub ahead of print].
- [12] Kageyama S, Saito T, Obata M, *et al.* Negative regulation of the Keap1-Nrf2 pathway by a p62/Sqstm1 splicing variant[J]. *Mol Cell Biol*, 2018. pii: MCB.00642-17.
- [13] Suzuki T, Yamamoto M. Molecular basis of the Keap1-Nrf2 system[J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 88(Pt B): 93-100.

- [14] Menegon S, Columbano A, Giordano S. The Dual Roles of NRF2 in Cancer[J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22(7): 578-593.
- [15] Omote N, Hashimoto N, Morise M, *et al.* Impact of mild to moderate COPD on feasibility and prognosis in non-small cell lung cancer patients who received chemotherapy[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12: 3541-3547.
- [16] Tong YH, Zhang B, Fan Y, *et al.* Keap1-Nrf2 pathway: A promising target towards lung cancer prevention and therapeutics [J]. *Chronic Dis Transl Med*, 2015, 1(3): 175-186.
- [17] Sundar IK, Yin Q, Baier BS, *et al.* DNA methylation profiling in peripheral lung tissues of smokers and patients with COPD[J]. *Clin Epigenetics*, 2017, 9: 38.
- [18] Tang L, Wang H, Ziolo MT. Targeting NOS as a therapeutic approach for heart failure [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 142(3): 306-315.
- [19] Pizarro S, Garcia-Lucio J, Peinado VI, *et al.* Circulating progenitor cells and vascular dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e106163.
- [20] Ives SJ, Harris RA, Witman MA, *et al.* Vascular dysfunction and chronic obstructive pulmonary disease: the role of redox balance [J]. *Hypertension*, 2014, 63(3): 459-467.
- [21] Sudo T, Nitta M, Saya H, *et al.* Dependence of paclitaxel sensitivity on a functional spindle assembly checkpoint [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(7): 2502-2508.
- [22] Wang P, Lindsay J, Owens TW, *et al.* Phosphorylation of the proapoptotic BH3-only protein bid primes mitochondria for apoptosis during mitotic arrest[J]. *Cell Rep*, 2014, 7(3): 661-671.
- [23] Garcia-Perez C, Roy SS, Naghdi S, *et al.* Bid-induced mitochondrial membrane permeabilization waves propagated by local reactive oxygen species (ROS) signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(12): 4497-4502.
- [24] Kang MJ, Shadel GS. A Mitochondrial Perspective of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Pathogenesis [J]. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*, 2016, 79(4): 207-213.
- [25] Park JW, Ryter SW, Choi AM. Functional significance of apoptosis in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *COPD*, 2007, 4(4): 347-353.
- [26] Yoo S, Takikawa S, Geraghty P, *et al.* Integrative analysis of DNA methylation and gene expression data identifies EPAS1 as a key regulator of COPD [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(1): e1004898.
- [27] Rawluszko-Wieczorek AA, Horbacka K, Krokowicz P, *et al.* Prognostic potential of DNA methylation and transcript levels of HIF1A and EPAS1 in colorectal cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2014, 12(8): 1112-1127.
- [28] Kabei K, Tateishi Y, Nozaki M, *et al.* Role of hypoxia-inducible factor-1 in the development of renal fibrosis in mouse obstructed kidney: Special references to HIF-1 dependent gene expression of profibrogenic molecules [J]. *J Pharmacol Sci*, 2018, 136(1): 31-38.
- [29] Truong TM, Li H, Dhapare S, *et al.* Sulfated dehydropolymer of caffeic acid: In vitro anti-lung cell death activity and in vivo intervention in emphysema induced by VEGF receptor blockade [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2017, 45: 181-190.
- [30] Voelkel NF, Vandivier RW, Tudor RM. Vascular endothelial growth factor in the lung [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006, 290(2): L209-L221.
- [31] Sood A, Petersen H, Blanchette CM, *et al.* Wood smoke exposure and gene promoter methylation are associated with increased risk for COPD in smokers [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182(9): 1098-1104.
- [32] Meek PM, Sood A, Petersen H, *et al.* Epigenetic change (GATA-4 gene methylation) is associated with health status in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Biol Res Nurs*, 2015, 17(2): 191-198.
- [33] Bruse S, Petersen H, Weissfeld J, *et al.* Increased methylation of lung cancer-associated genes in sputum DNA of former smokers with chronic mucous hypersecretion [J]. *Respir Res*, 2014, 15: 2.
- [34] Vaidyanathan A, Damodar KS. Response to Metabolic activity of neutrophils is elevated in COPD [J]. *Lung India*, 2016, 33(3): 357-358.
- [35] Vaidyanathan A, Damodar KS. Increased metabolic activity of neutrophils in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Lung India*, 2015, 32(6): 589-592.
- [36] Matsumura R, Hirakawa J, Sato K, *et al.* Novel Antibodies Reactive with Sialyl Lewis X in Both Humans and Mice Define Its Critical Role in Leukocyte Trafficking and Contact Hypersensitivity Responses [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(24): 15313-15326.
- [37] Qiu W, Baccarelli A, Carey VJ, *et al.* Variable DNA methylation is associated with chronic obstructive pulmonary disease and lung function [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 185(4): 373-381.
- [38] Bayarsaihan D. Epigenetic mechanisms in inflammation [J]. *J Dent Res*, 2011, 90(1): 9-17.
- [39] Liu F, Killian JK, Yang M, *et al.* Epigenomic alterations and gene expression profiles in respiratory epithelia exposed to cigarette smoke condensate [J]. *Oncogene*, 2010, 29(25): 3650-3664.
- [40] 孔令雯,董竞成. 氧化应激致组蛋白修饰在慢性阻塞性肺病发生发展中的作用 [J]. *医学研究生学报*, 2014, 27(9): 968-972.

(收稿日期:2018-03-16; 修回日期:2018-04-26)

(责任编辑:刘玉巧)