

核酸甲基化在肿瘤治疗导致心血管毒性中的作用研究进展

朱敏, 徐明*

(北京大学第三医院心血管内科, 血管医学研究所, 国家卫生健康委心血管分子生物学与调节肽重点实验室, 分子心血管学教育部重点实验室, 心血管受体研究北京市重点实验室, 北京 100191)

[摘要] 肿瘤治疗引起的心血管毒性严重危害患者的预后, 其表现形式多种多样, 但对其造成的损伤机制知之甚少。随着表观遗传学的研究深入, 发现很多疾病与核酸甲基化存在密切的相关性。综述核酸甲基化在肿瘤治疗所引起的心血管毒性过程中的作用, 旨在为防治肿瘤治疗引起的心血管毒副作用提供新的线索和思路。

[关键词] 核酸甲基化; 肿瘤治疗; 心脏毒性

[中图分类号] R541.9; R979.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2018) 07-0483-09

Advanced Research of Nucleic Acid Methylation in Cardiovascular Toxicity of Oncotherapy

ZHU Min, XU Ming

(Department of Cardiology and Institute of Vascular Medicine, Peking University Third Hospital; MHC Key Laboratory of Cardiovascular Molecular Biology and Regulatory Peptides; Key Laboratory of Molecular Cardiovascular Science, Ministry of Education; Beijing Key Laboratory of Cardiovascular Receptors Research, Beijing 100191, China)

[Abstract] Cardiovascular toxicity induced by anticancer treatment seriously affects the prognosis of patients. The clinical manifestations of cardiovascular toxicity varies with different anticancer treatments, but its mechanisms are still poorly understood. With in-depth researches in epigenetics, it has been found that many diseases are closely related to nucleic acid methylation. With the purpose of providing new clues and thoughts for preventing cardiovascular toxicity of oncotherapy, this review focuses on the roles of nucleic acid methylation in cardiovascular toxicity of oncotherapy.

[Key words] nucleic acid methylation; oncotherapy; cardiovascular toxicity

近年来, 由于肿瘤治疗尤其是新的抗肿瘤药物的不断涌现, 致使肿瘤患者的死亡率大幅度降低, 但抗肿瘤药物的长期使用所带来的毒副作用也与日俱增, 其中因心血管毒性导致肿瘤患者死亡的病例屡见不鲜。大量抗肿瘤药物在临床应用过程中造成了严重的心血管系统损伤, 但其具体的致病机制尚不清楚。随着甲基化研究的深入, 越来越多的研究表明核酸甲基化在肿瘤以及心血管系统等疾病的发生发展中起着非常重要的作用。目前针对核酸甲基化的药物已广泛应用于实体瘤和血液系统肿瘤的治疗。该类药物通过对抑癌基因的去甲基化而达到抑制肿瘤生长的作用, 但因为抗肿瘤药物的靶器官输送问题尚未解决, 在肿瘤治疗的同时会造成心血管系统及其他器官组织的损伤。此外, 一些传统化疗药如烷化剂在治疗过程中也会引发新的

核酸甲基化, 造成碱基错配和诱发细胞毒性。本综述将主要探讨核酸甲基化在肿瘤治疗导致心血管毒性中的可能作用和机制, 以期防治因肿瘤治疗所引起的心血管毒副作用提供新的思路。

1 核酸甲基化的类型及其作用

核酸甲基化是指核酸序列中的碱基在甲基转移酶的作用下与甲基供体(如S-腺苷甲硫氨酸)上的甲基发生共价结合, 将甲基基团转移到某些碱基的过程。DNA甲基化是目前研究最为深入的甲基化形式, 是表观遗传学最重要的现象之一。随着甲基化检测技术的不断改进成熟, RNA甲基化也受到越来越多的关注。研究表明核酸甲基化可以调节基因转录活性、基因印迹、染色体稳定性等, 在细胞分化、胚胎发育以及基因相关疾病的发生发展等过程中发挥重要的作用。

1.1 DNA甲基化的形式及其功能

现有研究探讨最多的核酸甲基化主要是指DNA水平的甲基化, 其主要形式为5-甲基胞嘧啶(m^5C)、 N^6 -甲基腺嘌呤(m^6A)、 N^7 -甲基鸟嘌呤(m^7G)和

接受日期: 2018-06-04

项目资助: 国家杰出青年科学基金(No. 81625001)

*通讯作者: 徐明, 研究员, 博士生导师;

研究方向: 心力衰竭的分子机制研究;

Tel: 010-82265739; E-mail: xuminghi@bjmu.edu.cn

O⁶-甲基鸟嘌呤 (O⁶MeG)。

1.1.1 5-甲基胞嘧啶 胞嘧啶第5位碳原子上发生甲基化的现象是目前研究最多的表观遗传修饰,且大多数情况是发生在 CpG 序列上 (CpG 岛)。在脊椎动物中超过一半的基因的启动子区存在 CpG 重复序列。大量研究表明启动子区的 CpG 岛上的胞嘧啶 C 发生甲基化后,可以显著抑制该基因的转录活性^[1]。与此同时,有研究提示非 CpG 岛上的 C 甲基化也与基因的表达存在密切的联系^[2]。另外,胞嘧啶的甲基化在调控印记基因和 X 染色体的失活方面发挥重要的作用。通过改变某些基因的甲基化水平来调控基因的转录翻译,有望实现控制个体发育和疾病的发生。近几十年的肿瘤研究显示,肿瘤发生的早期,某些基因 (抑癌基因 / 原癌基因) 的 DNA 的甲基化水平即出现异常,抑癌基因启动子区甲基化水平的升高使其蛋白表达下调,而原本高甲基化的原癌基因因去甲基化其蛋白表达水平升高,共同促进肿瘤的发生发展^[3-4]。除肿瘤之外的许多其他疾病,包括动脉粥样硬化、糖尿病、心力衰竭、自身免疫疾病、阿尔茨海默病、先天性遗传病等都与 DNA 甲基化异常相关^[5-6]。而且有研究显示,在早期胚胎发育和心力衰竭发展过程中, DNA 甲基化是一个去甲基化和重新甲基化的动态过程^[7]。

1.1.2 其他类型 DNA 甲基化 研究发现 m⁶A 主要是原核生物的 DNA 甲基化形式,在调控错配修复、复制起始、转录调控和病原体宿主结合等方面发挥重要的作用^[8]。但在真核生物基因组中 m⁶A 丰度相对较低,一直难以检测,目前有学者通过超高效液相色谱串联质谱 (UHPLC-MS/MS) 的方法分析发现 m⁶A 其实在果蝇体内也广泛存在。他们的研究显示 m⁶A 在果蝇胚胎发育早期含量最高,但随着胚胎的发育, m⁶A 的含量急剧下降,提示 m⁶A 在控制胚胎发育过程中可能发挥重要作用^[9-10]。此外,在斑马鱼和猪的胚胎发育过程中 m⁶A 也表现出类似的现象和功能^[11]。随着甲基化检测方法的不断改进, m⁷G 也越来越受到关注,但是其具体的生物学功能还有待进一步的探讨。有报道显示 CpG 岛内的 m⁷G 可以通过与特异性蛋白结合而造成染色质重塑和解离从而导致基因表达上调^[12],并与前列腺癌的发生相关^[13]。O⁶MeG 是另一种 DNA 甲基化形式,其含量相对偏低,但是在芳香族异硫氰酸酯化合物、烟草特有亚硝胺和烷化剂的刺激下,机体容易产生 O⁶MeG^[14],造成复制过程中甲基化的鸟嘌呤与胸腺

嘧啶的错配,导致鸟嘌呤→腺嘌呤突变,甚至引起细胞凋亡^[15]。

1.2 RNA 甲基化的形式及其功能

除了 DNA 的甲基化,研究显示 RNA 甲基化修饰广泛存在于 rRNA、tRNA 和 mRNA 等中,其中以 m⁶A、m⁵C 等甲基化修饰特征和生物学功能研究较多^[16-17]。随着近年来 m⁶A 的研究深入,发现 m⁶A 主要分布在基因编码和 3'UTR 区,尤其是在终止密码子上游富集。m⁶A 不仅在细菌 DNA 复制、错配修复和抵御外源性基因侵入方面发挥重要作用^[18],而且在高等生物的 mRNA 成熟剪接^[19]、microRNA 前体剪接^[20]、肿瘤干细胞增殖^[21]和急性髓性白血病的发生^[22]等方面发挥着重要的调控作用。

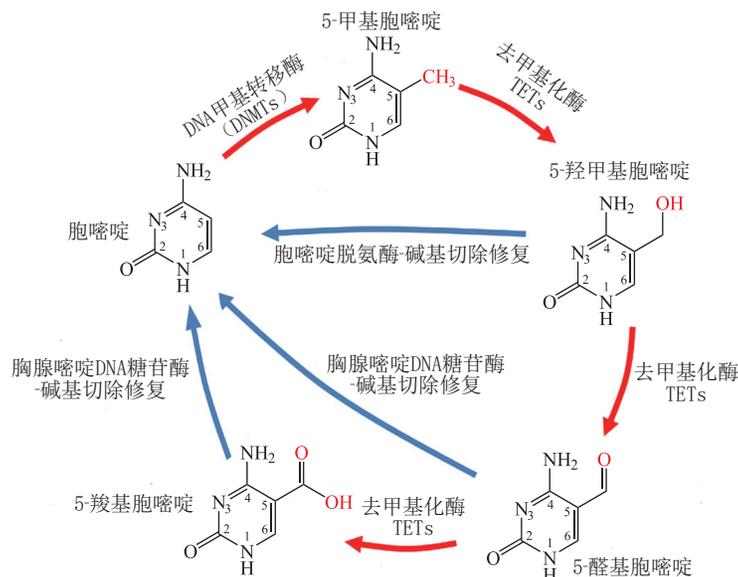
目前广泛研究的胞嘧啶甲基化通常是指 DNA 水平的 m⁵C,其实早在 40 多年前就发现 mRNA 和 tRNA 中也存在 m⁵C 修饰^[23],其功能研究提示 m⁵C 在 tRNA 的稳定性和蛋白质的合成方面发挥积极的促进作用^[24]。随着甲基化测序 MeRIP、hMeRIP-seq 等技术的成熟,在 mRNA 和非编码 RNA (ncRNA) 上已发现有上万个 m⁵C 修饰位点。这些 m⁵C 修饰可能参与基因 (细胞增殖分化等相关重要蛋白) 转录后水平的调节^[25-26],与染色体异常、组织发育分化和肿瘤生长等疾病密切相关^[27]。目前这部分的研究尚处于起步阶段,尤其是在疾病发生发展方面的研究,未来还需要再深入探讨。

2 肿瘤治疗中的甲基化

研究发现,许多肿瘤中抑癌基因的关闭与其启动子区高甲基化密切相关^[28-29]。正常情况下,核酸的甲基化修饰是可逆和动态变化的,包括甲基化和去甲基化的过程,并且有相应的甲基化酶和去甲基化酶参与其中。DNA 甲基化包含从头甲基化和维持甲基化 2 种类型。其中 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferases, DNMTs) DNMT3A 和 DNMT3B 负责 DNA 的从头甲基化,以及非 CpG 岛,如 CpA 或 CpT 中 C 的甲基化^[30]。DNMT1 是维持 CpG 甲基化状态以及非 CpG 位点从头甲基化所必需^[31]。而在 DNA 的去甲基化方面主要是由 TETs (Ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase) 蛋白负责催化。研究显示 TET1 可以催化 m⁵C 氧化成为 5-羟甲基胞嘧啶 (5hmC)^[32],5hmC 在 TET1 和 TET2 的催化下进一步氧化成 5-醛基胞嘧啶 (5fC) 和 5-羧基胞嘧啶 (5caC),随后 5fC 和 5caC

在胸腺嘧啶糖苷酶的作用下通过碱基切除修复机制切除不同修饰的碱基实现去甲基化, 重新回到未甲基化的状态^[33-35] (见图1)。然而, 在很多正常组织向恶性肿瘤转变时, DNMTs 表达上调与 TETs 蛋白表达下调共

同存在^[36-37], 促使许多抑癌基因从未甲基化状态转变为高甲基化, 促进了肿瘤的发生发展。目前许多表观遗传药物的研发主要以 DNMT 为靶点, 通过抑制 DNMT 活性从而导致抑癌基因去甲基化, 发挥抑制肿瘤生长的作用。



注: 胞嘧啶在DNA甲基转移酶 (DNMTs) 催化下发生甲基化形成5-甲基胞嘧啶 (m^5C); m^5C 在去甲基化酶TETs的作用下进一步氧化成5-醛基胞嘧啶 (5fC) 和5-羧基胞嘧啶 (5caC), 最后在胸腺嘧啶DNA糖苷酶-碱基切除修复机制作用下实现去甲基化。

图1 DNA 胞嘧啶甲基化和去甲基化过程^[38]

Figure 1 Methylation and demethylation of cytosine in DNA

近年来, 美国食品药品管理监督局 (Food and Drug Administration, FDA) 和欧洲药品管理局 (European Medicines Agency, EMA) 已经陆续批准一些能够逆转表观遗传基因失活的药物用于癌症治疗, 但是大多数尚处在临床试验, 还没有正式上市^[39]。其中已批准上市的 DAN 甲基转移酶抑制剂 (DNMTi) 5-氮杂-2'-脱氧胞苷 (5-aza-2'-deoxycytidine, 地西他滨) 和 5-氮胞苷 (5-azacytidine, 阿扎胞苷) 广泛应用于实体瘤和血液系统肿瘤的治疗。其化学结构与胞嘧啶相似, 故其药理作用机制在于通过与 DNMT 形成共价键, 使之不能甲基化核酸, 从而发挥去甲基化的作用, 使沉默的抑癌基因重新表达。但在开启原本沉默的基因的表达时可能会造成心血管系统损伤, 即关闭某些基因的正常表达会使其丧失对心血管的保护作用。有临床病例研究发现应用地西他滨会引起急性心肌炎和短暂性心肌症的发生^[40-41]。而阿扎胞苷治疗过程会引起患者严重的室上性心动过速、心包积液和心包炎等^[42-43] 心脏毒性。虽然它们的毒副作用的机制尚不明确, 但是与其去甲基化的功能特点密切相关。这些毒副作用的产生严重

限制了其广泛的临床应用, 同时对基于甲基化的抗肿瘤药物的研发提出了更高的要求。

传统的化疗药烷化剂是首个用于肿瘤治疗的药物。这类药物发挥作用的机制主要是在体内形成缺电子活泼中间体或其他具有活泼的亲电性基团的化合物, 通过与其他生物大分子中的负电子基团 (如巯基、羧基、羟基、磷酸基等) 进行亲电反应共价结合, 从而使大分子的正常功能丧失。一个主要的表现是烷化剂药物可以将甲基 ($-CH_3$) 等烃基附着在 DNA 的碱基上, 导致 DNA 上的碱基发生异常的甲基化修饰。有研究显示, 链脲霉素 (streptozotocin)、替莫唑胺 (temozolomide)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、顺铂 (cisplatin) 等烷化剂抗肿瘤药物主要使鸟嘌呤 N3、O6、N7 位, 腺嘌呤 N1、N3、N7 位, 胸腺嘧啶的 O2、O4 和 N3 位, 以及胞嘧啶的 O2、N3 位发生甲基化, 形成甲基化碱基^[44-46] (见图2), 其中大部分的甲基化可以造成碱基突变, 在错配修复和核苷酸切除修复的机制下避免进一步的损伤。肿瘤化疗过程中往往会出现碱基突变修复不及时, 因此对机体产生了无法逆转的损伤。其中 m^7G 、

N^3 -甲基腺嘌呤 (m^3A) 和 O^6MeG 分别占总损伤的 80%~85%、8%~18% 和 4%~8%, 可以引起碱基错配、链交联和链断裂, 是最重要的致细胞毒性和致突变损伤^[45]。例如, 在 DNA 复制过程中如果出现鸟嘌呤 O^6 位甲基化, 如果没有及时得到甲基鸟嘌呤甲基转移酶 (O^6 -methyl guanine-DNA methyltransferase, MGMT) 的修复, 则甲基化的鸟嘌呤可以与胸腺嘧啶配对, 最终导致鸟嘌呤→腺嘌呤突变^[47-48], 是烷化剂抗肿瘤的作用机制之一, 但同时也容易促发其他毒副作用的产生。在淋巴瘤细胞和结直肠癌组织中, 因 MGMT 启动子的高甲基化使其表达沉默, 造成了 *K-ras* 基因上的鸟嘌呤→腺嘌呤突变, 从而产生耐药和骨髓毒性等现象^[49]。由

此可见, 甲基鸟嘌呤在此过程中扮演重要的桥梁作用。据《2016年欧洲心脏病学会肿瘤治疗与心血管毒性声明》报道, 因使用环磷酰胺 (cyclophosphamide) 和异环磷酰胺 (ifosfamide) 治疗的肿瘤患者发生心血管方面的疾病占 7%~28%^[50]。很多学者认为烷基化抗肿瘤药物造成心血管毒副作用是因为直接损伤血管内皮, 引起血管内皮渗透性升高, 使药物渗入心肌细胞造成死亡^[51]。基于上述的研究结果, 有理由推测烷化剂药物的心脏毒性可能与 O^6MeG 和 MGMT 存在密切的相关性。同时, 烷化剂等化疗药物是否引起 RNA 甲基化的改变及其在肿瘤治疗中的作用, 目前还没有相关的研究报道, 需要在未来的工作中进一步探索。

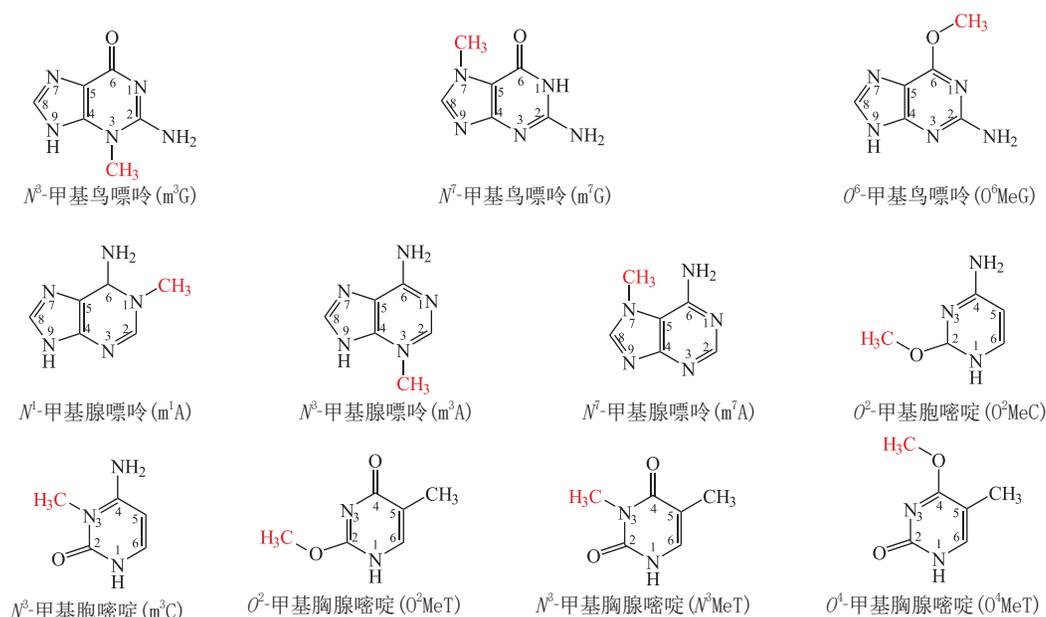


图2 烷化剂化疗药诱发的核酸甲基化

Figure 2 Nucleic acid methylation induced by alkylating chemotherapy agents

3 甲基化在治疗肿瘤和心血管疾病中的作用

虽然肿瘤治疗药物研发取得了很大的进步, 极大地延长了患者的生存时间, 但因其心血管毒副作用, 反而增加了心血管疾病的发生率和死亡率^[52]。很多肿瘤患者在长期化疗过程中出现了心律失常、心肌症、局部缺血、血压升高、心包炎等心血管方面的损伤^[53]。为此, 《2016年欧洲心脏病学会肿瘤治疗与心血管毒性声明》对肿瘤药物治疗出现的心血管毒性提出了很多诊治和预防操作规范和建议^[50], 声明认为及时给予相关的药物预防和干预是减少肿瘤治疗导致的心血管毒性发生和死亡的有效方法。目前针对预防和减轻化疗药物的

心脏毒性开发了多种药物^[54], 其中使用右丙亚胺可以显著减轻蒽环类药物诱导的心肌细胞病理损伤和凋亡, 减少心脏不良反应^[55-56], 也是目前唯一获批应用于临床防治蒽环类药物心脏毒性的药物。而对于大部分因肿瘤治疗而引起的心血管疾病的机制还不很明确, 尚无很好的处理方法和药物。随着传统化疗和甲基化药物治疗出现的毒副作用的研究深入, 有学者提出抗肿瘤药物的毒副作用引发的其他疾病或许是表观遗传性质的改变。在临床上, 使用胍苯哒嗪和普鲁卡因胺能够治疗抗肿瘤药物引起的高血压和心律失常, 并取得了一定的疗效, 其发挥作用的机制是通过抑制 DNA 的甲基化和降低 T

细胞内 DNA 甲基化水平而激活一些基因的表达实现的, 但具体是哪些基因发生了甲基化还需要进一步鉴定。由此可见, 核酸甲基化在肿瘤和心血管疾病的发生发展中发挥非常重要的作用, 探寻它们共同的甲基化位点或许能给肿瘤治疗及其心血管毒性的防治带来更多的选择靶点。

3.1 肿瘤治疗相关去甲基化药物的心血管毒副作用

随着甲基化研究的深入, 甲基化药物的研发也取得了巨大进展。其中, 针对 DNMTi 的研究相对成熟, 已在临床上广泛应用于多种肿瘤治疗中。但是其作用的底物特异性较差, 临床应用存在很多不良反应。众所周知, 血管紧张素转化酶 1 (ACE) 可以通过催化血管紧张素 II 产物的生成而调控血压的变化。有临床研究表明, 使用 DNMTi 5-aza-dC 可以使 ACE 的表达上调, 诱发肿瘤患者治疗过程中的高血压症状^[57], 提示正常情况下 ACE 的表达与其基因甲基化相关。此外, $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 协同转运蛋白 (NKCC1)^[58] 的低甲基化与自发性高血压的发生发展密切相关, 或许也是去甲基化药物引起高血压的起因之一。大量研究表明, 在心血管疾病的进展过程中, 有基因 DNA 甲基化升高, 也有基因的去甲基化发生^[59]。如冠心病 (CHD) 的发生发展与血脂蛋白相关的磷脂酶 A2 (LP-PLA2)^[60] 和葡萄糖激酶 (GCK)^[61] 等相关基因的启动子高甲基化高度相关。因 11β -羟类固醇脱氢酶 2 (11β -HSD2) 启动子甲基化水平升高引起 11β -HSD2 表达不足, 是高血压的主要诱因之一^[62]。此外, 高通量分析妊娠期高血压和正常人群的子代的外周血 DNA 甲基化状态, 发现 ARID1B、Linc00226 和 SMOC2 高甲基化, 而 CTRHC1、LRR1Q3 和 TRIM31 呈现低甲基化^[63]。在心力衰竭患者中血小板/内皮细胞黏附分子 1 (PECAM1) 和 PLEC 表达显著下调与其基因启动子甲基化水平明显升高相关^[64], 而 MPV17L、SLC2A1 的表达升高与 DNA 甲基化水平降低相对应^[65]。综上所述, 可以看出心血管疾病与基因的甲基化水平存在密切的联系。因此, 去甲基化药物治疗肿瘤时, 因无法实现精准基因的去甲基化, 在抑制不利肿瘤生长基因的甲基化状态的同时, 势必影响其他器官组织中核酸甲基化状态的重排, 是诱发药物不良反应的主要原因之一。

越来越多的临床病例研究陆续报道地西他滨和阿扎胞苷等去甲基化药物的心脏毒性的发生^[40-43], 严重限制了去甲基化抗肿瘤药物的临床应用。结合心血管疾

病与肿瘤基因甲基化的差异, 以及“个体化治疗”和“精准医疗”概念的提出, 更加精准的“靶向 DNA 去甲基化药物”将是去甲基化药物研发未来发展的方向。

3.2 去甲基化药物的潜在靶基因

研究表明, 雌激素受体 (ER)- α 受体低表达的乳腺癌患者更容易发生浸润转移, 原因是与 ER- α 基因 DNA 的甲基化水平明显升高相关^[66]。与此同时, ER- α 在心血管保护方面起到重要的介导作用。研究表明动脉粥样硬化患者中的 ER- α 基因启动子区 DNA 甲基化水平明显升高, 是动脉粥样硬化一个主要的致病原因^[67]。此外, 基质金属蛋白酶 (MMPs) 在肿瘤转移和心血管重构方面均扮演重要的角色。研究发现, 在黑色素瘤中 MMP-9 基因内的高甲基化通过促进 MMP-9 蛋白表达上调, 进而影响细胞外基质的形成, 促进肿瘤的转移^[68-69]。MMP-9 的过度产生可以通过降解细胞外基质, 帮助肿瘤细胞穿透血管屏障而发生远端转移, 同时也会增加患者的动脉粥样硬化和其他心血管疾病的发生风险。另外, 血栓调节蛋白 (thrombomodulin, TM) 作为一种抗凝血活性的糖蛋白, 可以结合凝血酶, 引起抗凝血和纤溶性作用, 在炎症和肿瘤的进展中都发挥着重要的作用^[70]。研究发现 TM 低表达于食道癌、肺癌、肝癌和黑色素瘤中, 与 TM 基因的 DNA 高甲基化相关。而且因 TM 基因启动子高甲基化使其蛋白表达沉默, 可以增加罹患 CHD 的风险^[71]。上述研究提示, 在肿瘤和心血管疾病的发生发展中存在很多共同基因的甲基化变化, 如果通过肿瘤和心血管系统多组学 (基因组学、转录组学、甲基化和蛋白组学) 联合分析, 相信会挖掘出更多相同甲基化类型的功能基因。研发出针对这些共同甲基化基因相应的去甲基化药物, 既可抑制肿瘤的生长和转移, 延长患者的生命, 同时还可以防止动脉粥样硬化以及其他心血管疾病的发生。

迄今为止, 几乎所有处于研发或已应用于临床的甲基化药物均主要围绕被动去甲基化的作用机制 (DNMTs 及其抑制剂) 而展开, 包括核苷类似物、天然小分子、DNMTs 的反义寡核苷酸抑制剂等 (见表 1)。但其实际核酸的去甲基化还包括主动去甲基化机制。被动去甲基化是指在 DNA 复制过程甲基化酶的表达缺失或功能丧失而造成的, 而主动去甲基化是指在去甲基化酶 TETs 作用下主动去除 DNA 甲基化修饰的过程, 对于维持正常甲基化水平起到关键作用。但是目前对于主

动去甲基化修饰的药物研发还相对较少。在肿瘤治疗过程中,针对如何消除放疗所产生的甲基化问题,主动去甲基化可能是未来的一个选择。越来越多的研究表明去甲基化酶 TET2 通过改善血管内皮细胞自噬而上调 eNOS 的表达,起保护血管内皮细胞功能^[72]。同时 TETs 可以促进组蛋白去乙酰化而抑制 IL-6 转录,通过减轻炎症反应而阻碍动脉粥样硬化斑块的形成^[73]。鉴于 TETs 蛋白在机体发育和去甲基化过程中的重要角色^[74],以及在心血管疾病和多种肿瘤中的异常表达^[36],提示如果能靶向调节 TETs 的表达及活性,可能在肿瘤的治疗和降低心血管系统的损伤方面起到双

刃剑的作用。

4 展望

核酸甲基化在肿瘤和心血管疾病的发生发展过程中起着非常重要的作用。但核酸甲基化在肿瘤治疗中所引发心血管系统损伤的作用机制研究还处于初步阶段,尤其对临床上使用去甲基化和烷化剂抗肿瘤药物治疗时产生新的核酸甲基化的作用缺乏系统的认识。深入探讨核酸甲基化在肿瘤治疗导致心血管系统损伤的作用机制,对研制既能抗肿瘤又具有低心血管毒性的药物有积极的推动作用。

表 1 DNA 甲基转移酶抑制剂及其肿瘤治疗和心血管系统作用

Table 1 DNMT inhibitors and their roles in oncology and cardiovascular system

类型	药物名称	靶点	作用机制	肿瘤治疗阶段	心血管作用
核苷类似物	5-硫腺嘌呤-20-脱氧胞嘧啶 (地西他滨) (decitabine, 5-aza-CdR)	DNMTs	进入DNA,与DNMTs共价结合;与RNA结合导致核酸解离,抑制tRNA功能,阻碍蛋白质合成	已上市	诱发急性心肌炎和短暂性心肌症
	5-氮胞苷 (阿扎胞苷) (5-azacytidine, 5-azaCR)	DNMTs	进入RNA,与DNMTs共价结合,去甲基化	已上市	诱发室上性心动过速、心包积液和心包炎等
小分子化合物	胍屈嗪 (hydralazine)	DNMT1	与DNMT1竞争性结合DNA和S-腺苷-L-甲硫氨酸	III期临床试验	抗高血压
	普鲁卡因 (procaine)	DNMT1	与DNMT1竞争性结合DNA和S-腺苷-L-甲硫氨酸	II期临床试验	抗心律失常
	普鲁卡因胺 (procaïnamide)	DNMT1	与DNMT1竞争性结合DNA和S-腺苷-L-甲硫氨酸	II期临床试验	抗心律失常
	2-(1,3-二氧-1,3-二氢-2H-异吲哚-2-yl)-3-(1H-吲哚-3-yl)-丙酸 (RG108)	DNMTs	与DNMTs结合,抑制其酶活性	临床前研究	无相关报道
	SGI-1027	DNMTs	与DNMTs结合,抑制其酶活性	临床前研究	无相关报道
	三氧化二砷	DNMT1	与DNMT1的分子间相互作用,抑制DNMT1的活性	已上市	心肌坏死
天然小分子	二硫醚类 (psammaplins)	DNMTs	抑制DNA转移酶或组氨酸脱羧酶活性	I期临床试验	无相关报道
	儿茶素-3-没食子酸盐 (EGCG)	DNMTs	具有抑制儿茶酚-O-甲基转移酶 (COMT),而DNMTs和COMT结构类似	II期临床试验	抗动脉粥样硬化、预防冠心病、抗心肌坏死、抗心肌肥厚
	丹参酮IIA	DNMT1	抑制DNMT1的表达	临床前研究	抗动脉粥样硬化、抗心室肥厚、抗氧化、抗心律失常等
	雷公藤甲素	DNMTs	抑制DNMTs的表达	临床前研究	抑制糖尿病心肌病和心肌纤维化
	苦参碱	不清楚	降低DNA甲基化水平	临床前研究	抗心律失常、强心作用、降血压、抗心肌损伤等
	姜黄素	DNMT1	与DNMT1共价结合	临床前研究	急性冠脉综合征、动脉粥样硬化、心力衰竭、代谢综合征治疗
反义寡核苷酸抑制剂	MG98	DNMT1	以DNMT1的mRNA为靶点,消除DNMT1的表达	II期临床试验	无相关报道
	miRNA-29b	DNMT3A/3B	以DNMT3A和DNMT3B作为靶点,降低其蛋白表达	临床前研究	无相关报道

[参考文献]

- [1] Weber M, Davies J J, Wittig D, *et al.* Chromosome-wide and promoter-specific analyses identify sites of differential DNA methylation in normal and transformed human cells [J]. *Nat Genet*, 2005, 37(8): 853-862.
- [2] Irizarry R A, Ladd-Acosta C, Wen B, *et al.* The human colon cancer methylome shows similar hypo- and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores [J]. *Nat Genet*, 2009, 41(2): 178-186.
- [3] Jang S J, Soria J C, Wang L, *et al.* Activation of melanoma antigen tumor antigens occurs early in lung carcinogenesis [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(21): 7959-7963.
- [4] Dogan S, Cilic A, Marjanovic D, *et al.* Detection of cytosine and CpG density in proto-oncogenes and tumor suppressor genes in promoter sequences of acute myeloid leukemia [J]. *Nucleos Nucleot Nucl*, 2017, 36(4): 302-316.
- [5] 贾镭, 王晓建, 惠汝太. DNA 甲基化与动脉粥样硬化 [J]. 中国分子心脏病学杂志, 2011, 11(3): 189-192.
- [6] Xu S, Pelisek J, Jin Z G. Atherosclerosis is an epigenetic disease [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2018. Doi: 10. 1016/j. tem. 2018. 04. 007.
- [7] Gilsbach R, Preissl S, Gruning B A, *et al.* Dynamic DNA methylation orchestrates cardiomyocyte development, maturation and disease [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5288.
- [8] Marinus M G, Casadesu J. Roles of DNA adenine methylation in host-pathogen interactions: mismatch repair, transcriptional regulation, and more [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2009, 33(3): 488-503.
- [9] 黄华. 高等真核生物 DNA N⁶-甲基腺嘌呤修饰分析与功能研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2016.
- [10] Zhang G, Huang H, Liu D, *et al.* N⁶-methyladenine DNA modification in *Drosophila* [J]. *Cell*, 2015, 161(4): 893-906.
- [11] Liu J, Zhu Y, Luo G Z, *et al.* Abundant DNA 6mA methylation during early embryogenesis of zebrafish and pig [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13052.
- [12] Watanabe S, Ichimura T, Fujita N, *et al.* Methylated DNA-binding domain 1 and methylpurine-DNA glycosylase link transcriptional repression and DNA repair in chromatin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(22): 12859-12864.
- [13] Donkena K V, Young C Y, Tindall D J. Oxidative stress and DNA methylation in prostate cancer [J]. *Obstet Gynecol Int*, 2010, 2010: 302051.
- [14] Morse M A, Amin S G, Hecht S S, *et al.* Effects of aromatic isothiocyanates on tumorigenicity, O⁶-methylguanine formation, and metabolism of the tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in A/J mouse lung [J]. *Cancer Res*, 1989, 49(11): 2894-2897.
- [15] Ochs K, Kaina B. Apoptosis induced by DNA damage O⁶-methylguanine is Bcl-2 and caspase-9/3 regulated and Fas/caspase-8 independent [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(20): 5815-5824.
- [16] Roundtree I A, Evans M E, Pan T, *et al.* Dynamic RNA modifications in gene expression regulation [J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1187-1200.
- [17] He C. Grand challenge commentary: RNA epigenetics? [J]. *Nat Chem Biol*, 2010, 6(12): 863-865.
- [18] Gokhale N S, McIntyre A B R, McFadden M J, *et al.* N⁶-methyladenosine in *Flaviviridae* viral RNA genomes regulates infection [J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 20(5): 654-665.
- [19] Roundtree I A, He C. Nuclear m⁶A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing [J]. *Trends Genet*, 2016, 32(6): 320-321.
- [20] Ma J Z, Yang F, Zhou C C, *et al.* METTL14 suppresses the metastatic potential of hepatocellular carcinoma by modulating N⁶-methyladenosine-dependent primary MicroRNA processing [J]. *Hepatology*, 2017, 65(2): 529-543.
- [21] Cui Q, Shi H, Ye P, *et al.* m⁶A RNA methylation regulates the self-renewal and tumorigenesis of glioblastoma stem cells [J]. *Cell Rep*, 2017, 18(11): 2622-2634.
- [22] Bansal H, Yihua Q, Iyer S P, *et al.* WTAP is a novel oncogenic protein in acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2014, 28(5): 1171-1174.
- [23] Desrosiers R, Friderici K, Rottman F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71(10): 3971-3975.
- [24] Tuorto F, Liebers R, Musch T, *et al.* RNA cytosine methylation by Dnmt2 and NSun2 promotes tRNA stability and protein synthesis [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19(9): 900-905.
- [25] Squires J E, Patel H R, Nusch M, *et al.* Widespread occurrence of 5-methylcytosine in human coding and non-coding RNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(11): 5023-5033.
- [26] Edelheit S, Schwartz S, Mumbach M R, *et al.* Transcriptome-wide mapping of 5-methylcytidine RNA modifications in bacteria, archaea, and yeast reveals m⁵C within archaeal mRNAs [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(6): e1003602.
- [27] Yang X, Yang Y, Sun B F, *et al.* 5-methylcytosine promotes mRNA export-NSUN2 as the methyltransferase and ALYREF as an m⁵C reader [J]. *Cell Res*, 2017, 27(5): 606-625.

- [28] Robertson K D. DNA methylation and human disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2005, 6(8): 597-610.
- [29] Tahara T, Arisawa T. DNA methylation as a molecular biomarker in gastric cancer [J]. *Epigenomics*, 2015, 7(3): 475-486.
- [30] Patil V, Ward R L, Hesson L B. The evidence for functional non-CpG methylation in mammalian cells [J]. *Epigenetics*, 2014, 9(6): 823-828.
- [31] Margot J B, Cardoso M C, Leonhardt H. Mammalian DNA methyltransferases show different subnuclear distributions [J]. *J Cell Biochem*, 2001, 83(3): 373-379.
- [32] Feng J, Shao N, Szulwach K E, et al. Role of Tet1 and 5-hydroxymethylcytosine in cocaine action [J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(4): 536-544.
- [33] Ito S, Shen L, Dai Q, et al. Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine [J]. *Science*, 2011, 333(6047): 1300-1303.
- [34] He Y F, Li B Z, Li Z, et al. Tet-mediated formation of 5-carboxylcytosine and its excision by TDG in mammalian DNA [J]. *Science*, 2011, 333(6047): 1303-1307.
- [35] Nabel C S, Kohli R M. Molecular biology. Demystifying DNA demethylation [J]. *Science*, 2011, 333(6047): 1229-1230.
- [36] Huang Y, Rao A. Connections between TET proteins and aberrant DNA modification in cancer [J]. *Trends Genet*, 2014, 30(10): 464-474.
- [37] Guillaumot M, Cimmino L, Aifantis I. The impact of DNA methylation in hematopoietic malignancies [J]. *Trends Cancer*, 2016, 2(2): 70-83.
- [38] Horii T, Hatada I. Regulation of CpG methylation by Dnmt and Tet in pluripotent stem cells [J]. *J Reprod Dev*, 2016, 62(4): 331-335.
- [39] 张玲, 盛树力, 秦川. 表观遗传学药物的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(3): 297-303.
- [40] De C, Phookan J, Parikh V, et al. Decitabine induced transient cardiomyopathy: a case report [J]. *Clin Med Insights Oncol*, 2012, 6(6): 325-329.
- [41] Bibault J E, Cambier N, Lemahieu J M, et al. Acute myocarditis induced by hypomethylating agents [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(14): e411-e412.
- [42] Newman M, Malla M, Gojo I. Azacitidine-induced pericarditis: a case series [J]. *Pharmacotherapy*, 2016, 36(4): 443-448.
- [43] Yogelzang N J, Herndon J E, Cirrincione C, et al. Dihydro-5-azacytidine in malignant mesothelioma. A phase II trial demonstrating activity accompanied by cardiac toxicity. Cancer and Leukemia Group B [J]. *Cancer*, 1997, 79(11): 2237-2242.
- [44] Chadt J, Sykora D, Nilsson R, et al. Monitoring of dimethyl sulphate-induced *N*³-methyladenine, *N*⁷-methylguanine and *O*⁶-methylguanine DNA adducts using reversed-phase high performance liquid chromatography and mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2008, 867(1): 43-48.
- [45] Beranek D T. Distribution of methyl and ethyl adducts following alkylation with monofunctional alkylating agents [J]. *Mutat Res*, 1990, 231(1): 11-30.
- [46] Shrivastav N, Li D, Essigmann J M. Chemical biology of mutagenesis and DNA repair: cellular responses to DNA alkylation [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(1): 59-70.
- [47] 林雪飞, 孙成科, 姚立峰, 等. 6-烷基鸟嘌呤与 DNA 碱基间氢键作用的理论研究 [J]. *化学学报*, 2010, 68(16): 1553-1560.
- [48] Cao Y, Liu H, Li H, et al. Association of *O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase protein expression with postoperative prognosis and adjuvant chemotherapeutic benefits among patients with stage II or III gastric cancer [J]. *JAMA Surg*, 2017, 152(11): e173120.
- [49] Esteller M, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, et al. Inactivation of the DNA repair gene *O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is associated with G to A mutations in K-ras in colorectal tumorigenesis [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(9): 2368-2371.
- [50] Zamorano J L, Lancellotti P, Rodriguez Munoz D, et al. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: the task force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(36): 2768-2801.
- [51] Kumar S, Gupta R K, Bhake A S, et al. Cardiotoxic effects of high doses of cyclophosphamide in albino rats [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1992, 319(9): 58-65.
- [52] Ewer M S, Ewer S M. Cardiotoxicity of anticancer treatments [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(9): 547-558.
- [53] van Halteren H K, Liem A H, Planting A S. Myocardial ischaemia as a result of treatment with capecitabine [J]. *Ned Tijdschr Geneesk*, 2007, 151(26): 1469-1473.
- [54] Wiseman L R, Spencer C M. Dexrazoxane. A review of its use as a cardioprotective agent in patients receiving anthracycline-based chemotherapy [J]. *Drugs*, 1998, 56(3): 385-403.
- [55] Marty M, Espie M, Llombart A, et al. Multicenter randomized phase III study of the cardioprotective effect of dexrazoxane (Cardioxane[®]) in advanced/metastatic breast cancer patients treated with anthracycline-based chemotherapy [J]. *Ann Oncol*, 2006, 17(4): 614-622.

- [56] Lipshultz S E, Rifai N, Dalton V M, *et al.* The effect of dexrazoxane on myocardial injury in doxorubicin-treated children with acute lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(2): 145-153.
- [57] Riviere G, Lienhard D, Andrieu T, *et al.* Epigenetic regulation of somatic angiotensin-converting enzyme by DNA methylation and histone acetylation [J]. *Epigenetics*, 2011, 6(4): 478-489.
- [58] Lee H A, Baek I, Seok Y M, *et al.* Promoter hypomethylation upregulates Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 in spontaneously hypertensive rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(2): 252-257.
- [59] Zhang Y, Zeng C. Role of DNA methylation in cardiovascular diseases [J]. *Clin Exp Hypertens*, 2016, 38(3): 261-267.
- [60] Jiang D, Zheng D, Wang L, *et al.* Elevated PLA2G7 gene promoter methylation as a gender-specific marker of aging increases the risk of coronary heart disease in females [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e59752.
- [61] Xu L, Zheng D, Wang L, *et al.* GSK3 gene-body hypomethylation is associated with the risk of coronary heart disease [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 151723.
- [62] Friso S, Pizzolo F, Choi S W, *et al.* Epigenetic control of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 gene promoter is related to human hypertension [J]. *Atherosclerosis*, 2008, 199(2): 323-327.
- [63] Julian C G, Pedersen B S, Salmon C S, *et al.* Unique DNA methylation patterns in offspring of hypertensive pregnancy [J]. *Clin Transl Sci*, 2015, 8(6): 740-745.
- [64] Movassagh M, Choy M K, Goddard M, *et al.* Differential DNA methylation correlates with differential expression of angiogenic factors in human heart failure [J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8564.
- [65] Li B, Feng Z H, Sun H, *et al.* The blood genome-wide DNA methylation analysis reveals novel epigenetic changes in human heart failure [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(8): 1828-1836.
- [66] Xu J, Sun T, Guo X, *et al.* Estrogen receptor-alpha promoter methylation is a biomarker for outcome prediction of cisplatin resistance in triple-negative breast cancer [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 2855-2862.
- [67] Min J, Weitian Z, Peng C, *et al.* Correlation between insulin-induced estrogen receptor methylation and atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2016, 15(1): 156.
- [68] Falzone L, Salemi R, Travali S, *et al.* MMP-9 overexpression is associated with intragenic hypermethylation of MMP9 gene in melanoma [J]. *Aging (Albany NY)*, 2016, 8(5): 933-944.
- [69] Klassen L M B, Chequin A, Manica G C M, *et al.* MMP9 gene expression regulation by intragenic epigenetic modifications in breast cancer [J]. *Gene*, 2018, 642: 461-466.
- [70] Wu C T, Chang Y H, Lin P, *et al.* Thrombomodulin expression regulates tumorigenesis in bladder cancer [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(1): 375.
- [71] 刘文秀, 郑强, 舒青. 冠心病与血浆血栓调节蛋白基因启动子甲基化有关 [J]. *心脏杂志*, 2007, 19(2): 179-181.
- [72] Yang Q, Li X, Li R, *et al.* Low shear stress inhibited endothelial cell autophagy through TET2 downregulation [J]. *Ann Biomed Eng*, 2016, 44(7): 2218-2227.
- [73] Zhang Q, Zhao K, Shen Q, *et al.* Tet2 is required to resolve inflammation by recruiting Hdac2 to specifically repress IL-6 [J]. *Nature*, 2015, 525(7569): 389-393.
- [74] Zhao H, Chen T. Tet family of 5-methylcytosine dioxygenases in mammalian development [J]. *J Hum Genet*, 2013, 58(7): 421-427.



【专家介绍】徐明: 北京大学第三医院心内科、血管医学研究所研究员。国家杰出青年基金获得者、教育部新世纪优秀人才、北京市科技新星。研究方向为心力衰竭(心衰)的分子机制, 重点围绕心衰中心肌细胞兴奋收缩耦联调控机制开展研究, 发现导致心肌细胞兴奋收缩耦联结构紊乱和功能衰退的关键分子及其上游调控分子, 成果获国家发明专利授权, 并在临床检测中得到验证。近5年发表SCI论文30篇, 他引600余次, 2017年以第三完成人获国家自然科学基金二等奖。