

·学科进展·

基因组印迹与人类疾病

訾晓渊 熊俊 胡以平

(第二军医大学细胞生物学教研室,上海 200433)

[摘要] 基因组印迹与一些人类疾病密切相关,在韦-伯综合征(Beckwith-Wiedemann Syndrome, BWS)中有特异性亲源染色体的重排和单亲二体,在普-威综合征(Prader-Willi Syndrome, PWS)和安吉尔曼综合征(Angelma Syndrome, AS)中存在一些印迹基因,Turner's综合征与X染色体印迹有关,许多人类肿瘤中常有杂合性丢失(LOH)、单亲二体(UPD)和印迹缺失(LOI)现象,且LOI是人类肿瘤中普遍存在的遗传改变。由于肿瘤中的LOI有可能逆转,且伴有LOI的肿瘤患者常表现为H19CpG岛甲基化,因此人们希望用DNA甲基化抑制剂及其与之作用相似的药物治疗伴有LOI的肿瘤有益。

[关键词] 基因组印迹,印迹基因,人类疾病,肿瘤,肿瘤治疗

在过去十余年中,人们对基因组印迹的关注逐年增加,至1998年其论文数已达到1500多篇。目前在人类和小鼠中鉴定的印迹基因已超过25个,印迹基因在生长发育中尤其是胎儿和胎盘的生长发育中有重要作用,它还与细胞增殖有关,正常基因组印迹模式改变会引起一系列人类疾病^[1],本文拟对这一方面的进展作一综述。

1 基因组印迹与韦-伯综合征(Beckwith-Wiedemann Syndrome, BWS)

BWS是一种以过度生长并伴有肿瘤为特征的常染色体显性遗传病,部分为散发。BWS的主要表现是:巨舌或舌体增大,腹壁缺陷(包括直肠脱垂、脐疝),脐突出以及颅部畸形(包括面部痣斑、耳部凹陷和皱折、枕骨突起、上颌骨发育不全、鼻梁宽大、高腭弓、偶见小头畸形)。另外,典型的BWS还伴有新生儿低血糖,其部分原因是IGF₂的过度产生。

研究认为发生肿瘤的BWS患儿常有母源11p15优先缺失,表明基因组印迹可引起BWS且与散发肿瘤患者有关。印迹参与BWS的进一步证据是约1%的BWS患者有稀有染色体易位或插入。这些重排中大约一半是平衡的,与其他人类遗传疾病相似,平

衡重排破坏了BWS基因的编码序列,所有的平衡重排均涉及母源染色体,最简单的解释是重排破坏了母源基因的表达,的确在一些家族中,多个亲族个体都有相同的染色体重排,但仅母源性的重排才会发生BWS。BWS患者中其他类型的染色体重排有非平衡易位或重复,它们都是父源染色体过剩。以上可见,11号染色体上的父源重复和母源重排都可引起BWS。

Junien等人提供了BWS中11p15基因组印迹更直接的证据。他们发现部分BWS患者有父源单亲二体(uniparental disomy, UPD),即11p15上从β-珠蛋白位点到ras基因之间的2条同源染色体区域,且均来自父亲。这一区域非常大,至少10Mb,因此不能精确定位印迹基因,但他们为研究该染色体上的印迹位点奠定了很好的基础。以后,人们在11p15上克隆到了很多印迹基因(如表1),这为从分子水平了解BWS的机理奠定了基础。

2 基因组印迹与普-威综合征(Prader-Willi Syndrome, PWS)和安吉尔曼综合征(Angelma Syndrome, AS)

Prader-Willi综合征和Angelman综合征是临床

国家自然科学基金资助项目。

本文于2000年12月30日收到。

上明显与基因组印迹有关的两种遗传病,定位于15q11—13,每种疾病均有性器官生长和发育障碍,以及包括精神发育迟滞在内的行为和智力问题。PWS的主要特点是张力减退、食欲亢进和肥胖、性腺机能减退和发育迟滞。AS的主要特征是共济失调、睡眠障碍、癫痫发作和好动。严重的精神发育迟滞可伴有失语,个别AS患者有突然发作的傻笑兴奋面容。PWS和AS均为常染色体显性遗传病,约70%的PWS和AS患者其父系或母系的15q11—q13染色体上有3—4 Mb的缺失。约25%的PWS有母源UPD,但仅4%的AS患者有父源UPD。伴有不同表型的亲源等位基因缺失以及UPD的存在表明PWS和AS患者中有印迹基因(如PWS中的父源表

达基因和AS中的母源表达基因)。研究发现在20%的AS患者中有UBE3A基因的断裂突变而无染色体缺失。UBE3A基因编码一种常见的蛋白连接酶,定位于15q11—q13,在人类脑组织中为母源基因表达。因此,AS的发生可能是由于脑发育期间特异性母源表达基因UBE3A异常所致。在15q11—q13区还有4个父源表达的印迹基因:SNRPN(small nuclear riboprotein-associated polypeptide N)、IPW(Imprinted in Prwder-Willi)、ZGF127(Zincfinger 127)和NDN(necdin),它们为PWS的候选印迹基因。另外,父源表达的PAR1、PAR5和PAR-SN也可能与PWS有关。PWS和AS相关染色体区中的印迹基因如表1所示^[2-8]。

表1 BWS和(PWS/AS)相关染色体区中的印迹基因

基 因	表达的等位基因	特 征
BWS染色体 11p15		
H19	母本	功能不明的非编码 RNA
IGF2	父本	胚胎生长因子-胰岛素样生长因子 2
INS	父本	鼠卵黄囊中的印迹-胰岛素
ASCL2/HASH2	母本	胎盘发育中必需的转录因子
KCNQ1	母本	某些组织中的印迹(非心脏)-钾离子通道基因
CDKN1C	母本	细胞周期抑制基因-p57 ^{KIP2}
IMPT1/BWR1A/ORCTL2	母本	跨膜转运样基因
IPL/TSSC3/BW1C	母本	同源于鼠凋亡促进基因 TDAG
PWS/AS染色体 15p11-13		
ZnF127	父本	锌指基因
Necdin	父本	脑中不同神经元表达
SNRPN	父本	小核糖体相关多肽 N
PAR-SN	父本	非编码 RNA?
PAR5	父本	非编码 RNA?
IPW	父本	非编码 RNA?
PAR1	父本	非编码 RNA?
UBE3A	母本	普通蛋白连接酶 3A-母本表达于脑中,双等位表达于其他组织
GABR	父本	GABA _A 单位受体基因

3 基因组印迹与 Turner's 综合征(Turner's syndrome, TS)

Turner's 综合征(Turner's syndrome, TS)又称先天性卵巢发育不全,是一种散发性遗传病,致病原因系为一条X染色体部分或全部缺失。对TS患者核型分析发现,55%以上的核型为45,X,此外还有45,X/46,XX嵌合体,46,XXq-,46,XXp-,46,X,i(Xq),46,X,l(Xp)等。TS患者的主要特征为身材矮小,卵巢功能障碍和特殊的躯体畸形,这些患者的智力一般正常,但他们都存在社会适应问题。

正常女性(46,XX)的两条X染色体一条来自父亲,一条来自母亲。在体细胞中,其中一条X染色体随机失活,而单体(45,X)TS患者一条染色体部分

或全部缺失为什么会引起表型呢?目前的解释是单体(45,X)患者出现特殊表型是X印迹所致。对单体(45,X)TS患者研究发现,约75%的患者存留的一条X染色体来源于母亲(45,X_m),其余的25%患者的存留染色体来源于父亲(45,X_p)。两种患者相比较,前者的社会适应问题较严重。出现这种现象的原因可能是X染色体上存在调控社会认知的位点。母源X染色体上该位点印迹且不表达,而父源X染色体上该位点表达。为了能对该印迹位点作图,Skuse等人对8例父源X染色体短臂有缺失的TS患者(46,X_mX_{pp})进行研究认为,该印迹位点位于Xq或Xp近中心粒处(即Xp11.23-Xqter),而且这些印迹位点不发生X染色体失活,即可以躲过X染色体失活。这些表明TS患者之间表型差异与基因印迹

有关^[9]。

4 基因组印迹与人类肿瘤

4.1 肿瘤中基因组印迹的证据

研究基因组印迹在肿瘤中的作用经历了从全基因组印迹,个别染色体区域,最后到特异性印迹基因的过程。最早从葡萄胎和完全卵巢畸胎瘤的全基因组中发现基因组印迹在肿瘤中有重要作用。葡萄胎是一种胚外组织恶性肿瘤,是由于雄核胚胎引起的,即该胚胎有两组父本基因组等位体而无母源基因组等位点。相反,完全性卵巢畸胎瘤是一种良性肿瘤,含有头发、脂肪组织甚至牙齿,因仅含有两组母源基因组等位体而无父源等位体的孤雌胚胎引起的。这两种肿瘤虽少见,却为了解基因组印迹在肿瘤中的作用提供了两个重要的结论:一是要产生正常的胚胎不但需要46条染色体,而且需要父亲和母亲染色体平衡,若父亲和母亲染色体不平衡则会导致肿瘤形成。第二是若存在父亲和母亲染色体不平衡,则产生肿瘤的不同类型依赖于多出的染色体是来自父方还是母方的。

在Wilms'肿瘤(Wilms' tumor, MT)中发现的杂合性丢失(Loss of heterozygosity, LOH)现象揭开了人们对染色体特殊区域印迹在肿瘤中的作用的研究。人们发现在大多数儿童实体瘤患者中其15号染色体常有LOH,尤其在11p15区域。Schroeder等人报道在5例无家族史的患者中均有LOH,而且总是丢失母源等位基因。Sapienza等人进一步证实了这一结论并将其推广到其他儿童胚胎肿瘤,如肝胚细胞瘤和横纹肌肉瘤。

肿瘤中特异性印迹基因的发现源于人们对儿童的WT的研究,发现70%的WT患者中2个IGF2的等位基因均表达,而部分患者印迹的H19基因失活,随后,人们在儿童及成人的多种肿瘤中均发现了特异性印迹基因(表2)^[10-13]。

4.2 基因组印迹基因致肿瘤发生的途径

印迹基因可能通过以下途径参与肿瘤形成:第一,印迹的杂合性丢失(LOH)和单亲二体(UPD)可致肿瘤抑制基因有功能的拷贝缺失;第二,印迹区的印迹缺失(LOI)和UPD可使印迹的原癌基因过度表达,从而促使细胞生长;第三,印迹调控中心(IC)的失活突变可使印迹染色体上的多个印迹原癌基因和/或抑癌基因异常表达^[14]。

4.3 印迹缺失与肿瘤

对从WT中提取的RNA研究发现,70%的WT

患者2个IGF2等位基因表达,30%的患者两个H19等位基因表达。肿瘤中这种遗传改变称为印迹缺失(Loss of imprinting, LOI),其含义是特异性父源优先表达基因缺失,包括正常沉默等位基因异常表达,从而导致双等位基因表达,或使正常表达的等位基因沉默,从而导致后天基因位点沉默。Sapienza认为肿瘤中印迹异常可导致正常沉默的促生长基因活化。

随后,在很多肿瘤中都发现了LOI现象,在一些儿童肿瘤中如肝胚细胞瘤,横纹肌肉瘤和Ewing's肉瘤中均发现LOI现象。在一些成年人肿瘤中也发现了IGF2和H19的LOI现象,如子宫、颈部、食管、前列腺、肺部肿瘤、绒毛膜癌和生殖细胞肿瘤。因此,LOI是人类肿瘤中普遍存在的遗传改变^[15-17]。

表2 人类肿瘤中的异常印迹基因

肿瘤类型	基因
儿童肿瘤	
Wilms' 肿瘤	IGF2, H19, p57 ^{KIP2} , M6P/IGF2R, WT1
横纹肌肉瘤	IGF2
Ewing's 肉瘤	IGF2
肝胚细胞瘤	IGF2
成人肿瘤	
膀胱肿瘤	IGF2, H19, IPW
乳腺肿瘤	IGF2, NOEY2
宫颈肿瘤	IGF2, H19
绒毛膜癌	IGF2, H19
结直肠肿瘤	IGF2
食管肿瘤	H19
胃肠道腺癌	IGF2
神经胶质瘤	IGF2
肝细胞癌	IGF2, H19, M6P/IGF2R
急性髓性白血病	IGF2
慢性髓性白血病	IGF2
肺肿瘤	IGF2, H19, p73
成神经管细胞瘤	IGF2, H19
间皮瘤	IGF2
卵巢肿瘤	IGF2, NOEY2
前列腺肿瘤	IGF2
肾细胞癌	IGF2, p73
睾丸生殖细胞肿瘤	IGF2, H19
子宫肿瘤	IGF2

4.4 去甲基化与肿瘤治疗

考虑到正常基因组印迹参与后天修饰,且正常情况下印迹是可逆的,因此人们对人类肿瘤中的LOI感兴趣的原因之一是它有可能逆转。目前的一些实验表明这种设想有一定的希望,因为伴有LOI的肿瘤患者常表现为H19 CpG岛甲基化。用DNA甲基化抑制剂5-氮-2'-脱氧胞嘧啶(5-azaCdR)可逆转LOI。用5-aza CdR处理两系伴有LOI的肿瘤细胞24hr(约1个细胞分裂周期),结果在这两系细胞中发现增加5-azaCdR的剂量可导致IGF2两个等位基

因的不等表达。用 5-aza CdR 处理肿瘤细胞结果 H19 表达明显增加,发生了从双等位到单等位基因表达的开关现象,印迹特异性甲基化区 CpG 岛发生了从全部甲基化到单等位基因甲基化的开关现象。因此,5-aza-CdR 及其作用相似的药物单独使用或与其它药物合用可用于治疗伴有 LOI 的肿瘤。另外,还可通过其他措施介入基因组印迹的调节途径来开发设计新的肿瘤治疗方案^[18]。

5 展望

基因组印迹与人类疾病的关系越来越受到人们的关注,而且已发现了很多与疾病有关的印迹基因,但至今人们对这些基因在疾病发生中的具体作用还不够清楚,对如何利用这些印迹基因开辟诊断和治疗印迹相关的疾病还需研究,我国在这一领域中的研究相对较少,进入这一领域进行研究具有很好的前景。

参 考 文 献

- [1] 晔晓渊,熊俊,胡以平. 基因组印迹及其生物学意义. 中国科学基金, 2001, 15(2):68—72.
- [2] Koufos A, Grundy P, Morgan K et al. Familial Wiedemann Beckwith syndrome and a second Wilms tumor locus both map to 11p15.5. *Am. J. Hum. Genet.*, 1989, 44: 711—719.
- [3] Mannens M, Hoovers J M, Redeker E et al. Parental imprinting of human chromosome region 11p15.3 pter involved in the Beckwith Wiedemann syndrome and various human neoplasia. *Eur. J. Hum. Genet.*, 1994, 2: 3—23.
- [4] Nicholls R D. The impact of genomic imprinting for neurobehavioral and developmental disorders. *J. Clin. Invest.*, 2000, 105: 413—418.

- [5] Tycko B, Ashkenas. Epigenetics and its role in disease. *J. Clin. Invest.*, 2000, 105:245—246.
- [6] Maher E R, Reik W. Beckwith-Wiedemann syndrome: imprinting in clusters revisited. *J. Clin. Invest.*, 2000, 105:247—252.
- [7] Mannens M, Alders M. Genomic imprinting: concept and clinical consequences. *Ann. Med.*, 1999, 31:4—11.
- [8] Mannens M, Alders M. Genomic imprinting: concept and clinical consequences. *Ann. Med.*, 1999, 31:4—11.
- [9] Skuse D H, James R S, Bishop D V et al. Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X linked locus affecting cognitive function. *Nature*, 1997, 387(6634):705.
- [10] Heutink P, van Schothorst E M, van der Mey A G et al. Further localization of the gene for hereditary paragangliomas and evidence for linkage in unrelated families. *Eur. J. Hum. Genet.*, 1994, 2: 148—158.
- [11] Reeve A E, Sih S A, Raizis A M et al. Loss of allelic heterozygosity at a second locus on chromosome 11 alleles in sporadic Wilms' tumor cells. *Mol. Cell Biol.*, 1989, 9:1 799—1 803.
- [12] Tycko B Ashkenas. Epigenetic gene silencing in cancer. *J. Clin. Invest.*, 2000, 105:401—407.
- [13] Jirtle R C. Genomic imprinting and Cancer. *Exp. Cell Res.*, 1999, 248: 18—24.
- [14] Falls J G, Pulford D J, Wylie A A et al. Genomic imprinting: implications for human disease. *Am. J. Pathol.*, 1999, 154: 635—647.
- [15] Feinberg A P, Rainier S, DeBaun M R. Genomic imprinting, DNA methylation, and cancer. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.*, 1995, 17: 21—26.
- [16] Rainier S, Dobry C J, Feinberg A P. Loss of imprinting in hepatoblastoma. *Cancer Res.*, 1995, 55:1 836—1 838.
- [17] Li X, Adam G, Cui H et al. Expression, promoter usage and parental imprinting status of insulin like growth factor II (IGF2) in human hepatoblastoma: uncoupling of IGF2 and H19 imprinting. *Oncogene*, 1995, 11: 221—229.
- [18] Barletta J M, Rainier S, Strichman et al. Reversal of loss of imprinting in tumor cells by 5-aza-2'-deoxycytidine. *Cancer Res.*, 1997, 57: 48—50.

GENOMIC IMPRINTING AND HUMAN DISEASES

Zi Xiaoyuan Xiong Jun Hu Yiping

(Department of Cell Biology, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

Abstract Genomic imprinting is related with some human diseases closely. BWS sometimes involves parental origin-specific germline chromosomal rearrangement and uniparental disomy. PWS and AS are also involved some abnormal imprinted genes. Turner's syndrome is related with X chromosome imprinted. A wide variety of tumor types have been shown to undergo loss of heterozygosity (LOH), uniparental disomy (UPD) and loss of imprinting (LOI). And LOI is one of the most common alternations in human cancer. Because LOI may be reversible and tumor with LOI often shows increased methylation of the H19CpG island, the inhibitor of DNA methylation or drugs with similar effects may be useful in the treatment of tumor with LOI.

Key words genomic imprinting, imprinted gene, human diseases, tumor, treatment