

电离辐射的DNA甲基化调控机制及生物学效应

章群, 闫鹏

摘要: DNA甲基化在生物学过程中作用重要, 机体处于甲基化平衡状态是基因表达的合理调控及遗传物质保持稳定等生命活动的必要保障。电离辐射可导致全基因组低甲基化和CpG岛启动子区部分基因的高甲基化, 是肿瘤、衰老及免疫功能下降的诱因之一。本文综述电离辐射致机体DNA甲基化状态的改变, 电离辐射致DNA甲基化异常的生物学效应及其作用机制, 并提出干预电离辐射致机体甲基化失衡的一些设想。

关键词: 电离辐射; DNA甲基化; 作用机制; 生物学效应; 干预

DNA Methylation Regulation Mechanism and Biological Effects of Ionizing Radiation ZHANG Qun, YAN Peng (Division of Environmental and Occupational Health, Ningbo Municipal Center for Disease Control and Prevention, Ningbo, Zhejiang 315010, China). Address correspondence to ZHANG Qun, E-mail: zhangq@nbcdc.org.cn • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: DNA methylation plays an important role in biological processes. Balance of methylation warrants life activities such as regulation of appropriate gene expression and stability maintenance of genetic materials. Ionizing radiation can induce hypomethylation in whole genome and hypermethylation in part of genes in CpG islands, which is a potential trigger of cancer, aging, and decreased immune function. In this paper, we described the changes and the biological effects and possible mechanisms of ionizing radiation-induced DNA methylation abnormality, and also proposed some opinions to prevent ionizing radiation-induced methylation imbalance.

Key Words: ionizing radiation; DNA methylation; mechanism; biological effect; intervention

DNA甲基化是指基因组DNA中胞嘧啶的第5位碳原子共价结合一个甲基基团, 是真核生物一种常见的碱基共价修饰过程。基因组中60%以上的CpG (cytosine and guanine base pairs) 均被甲基化, 未被甲基化的CpG成簇组成CpG岛, 位于结构基因启动子的核心序列和转录起始点。生命活动离不开DNA甲基化, 如胞嘧啶的甲基化贯穿着细胞发育、增殖等一系列活动, 胸腺嘧啶脱氧核苷则由尿嘧啶脱氧核苷酸经甲基化作用而生成。DNA甲基化机制与寿命、细胞免疫、神经系统发育、肿瘤及一些慢性疾病息息相关。DNA甲基化的改变与环境、RNA干扰、病毒感染等多因素相关, 而环境因素中, 电离辐射诱导的DNA甲基化改变是当前研究的热点, 本文就电离辐射的DNA甲基化调控机制及效应研究做一综述。

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2016.16191

【基金项目】宁波市自然科学基金资助项目(编号: 2015A610194)

【作者简介】章群(1979—), 男, 硕士, 主管医师; 研究方向: 放射卫生;

E-mail: zhangq@nbcdc.org.cn

【作者单位】宁波市疾病预防控制中心环境与职业卫生所, 浙江 宁波 315010

1 电离辐射致机体DNA甲基化状态改变

电离辐射的DNA甲基化改变表现为全基因组低甲基化和肿瘤抑制基因启动子区CpG岛DNA的高甲基化。机体甲基化失衡的程度与电离辐射的类型、强度和照射时间相关, 也与机体对电离辐射的反应和相关酶类的活性相关。

Antwih等^[1]对细胞照射不同剂量后发现, 较低剂量照射细胞表现为照射后前2h的超甲基化, 照射后4~72h的低甲基化; 更高剂量照射表现为前8h的低甲基化趋势, 24~72h的高甲基化。不同剂量条件下, 细胞通路DNA甲基化有所差异, 导致细胞分裂周期受到影响。Lee等^[2]对核电厂工作人员职业辐射暴露诱导的DNA甲基化改变的队列分析提示, 全基因组甲基化水平与辐射作业工人近1.5年辐射剂量呈明显负相关, LINE-1(longinterspersed nuclear elements 1, 长散在重复序列核元件1)甲基化水平与总累积辐射剂量呈正相关。Raiche等^[3]发现X射线辐射C57/BI6小鼠可以引起小鼠脾脏细胞的全基因组DNA低甲基化, 同时伴随着DNA甲基化转移酶1(DNMT1)、DNMT3a、

DNMT3b 和甲基结合蛋白 MeCP2、MBD2 表达量的降低,且均呈一定的剂量依赖关系。

电离辐射的旁效应也直接影响 DNA 甲基化;未受到电离辐射照射的组织,也出现甲基化异常和甲基化转移酶表达的改变。Koturbash 等^[4]研究发现,未照射组织中 DNMT3a 和 DNMT3b 明显降低, DNMT1 水平增高;而参与转录沉默的甲基 CpG 结合蛋白 2 和去甲基化酶的表达水平提高。Koturbash 等^[4]将小鼠的局部暴露于电离辐射,其他有效屏蔽,发现未受到照射的组织细胞的 DNA 低甲基化,组蛋白甲基化和 miRNA 表达,提示旁效应的表观遗传学调控。Illytskyy 等^[5]和 Tamminga 等^[6]的研究也显示,电离辐射导致的旁效应可能与 DNA 甲基化异常存在联系,动物实验电离辐射局部照射后,未照射组织也可出现 DNA 甲基化改变和 DNA 损伤的增加。

2 电离辐射致 DNA 异常甲基化的作用机制

电离辐射致 DNA 甲基化异常的作用机制尚不明确,可能与电离辐射对机体水分子的电离、激发作用,产生大量活性氧类(reactive oxygen species, ROS)对 DNA 甲基化的影响,以及电离辐射对 DNMT 活性的影响有关。

低甲基化效应可能与 ROS 作用于生物大分子,生成有去甲基化效应的 DNA 氧化体(如 8-羟脱氧鸟苷、5-羟甲基胞嘧啶等),抑制甲基化供体一碳单位的生成,影响 DNA 甲基化相关酶类活性有关。ROS 包括 $\text{HO}^\cdot$ 、 $\text{HO}^\cdot_2$ 、 $\text{ROO}^\cdot$ 等系列氧自由基以及氧离子、过氧化物及超氧化物等。 $\text{HO}^\cdot$ 、单线态氧等氧自由基攻击鸟嘌呤碱基第 8 位碳原子,生成的 8-羟基脱氧鸟苷可抑制胞嘧啶碱基的 DNA 甲基化而诱导 DNA 低甲基化^[7]。ROS 大量生成导致氧化酶类活跃,5-甲基胞嘧啶在 Tet 双加氧酶的作用下生成 5-羟甲基胞嘧啶,进一步氧化成 5-胞嘧啶羧基,在胸腺嘧啶 DNA 糖基化酶(TDG)的作用下去羧基还原成胞嘧啶^[8]。此外,ROS 可导致同型半胱氨酸的过氧化而导致甲硫氨酸循环中 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)逐步消耗,活性一碳单位供应的减少而导致 DNA 低甲基化^[9]。电离辐射可以导致细胞核内 DNMT 活性下降同时细胞质中 DNMT 升高,机体大多数 DNA 保存于细胞核内, DNMT 活性的下降将导致全基因组的 DNA 低甲基化^[3]。

CpG 岛基因启动子区域部分基因的高甲基化效应

也可能与 ROS 的大量生成有关。Wu 等^[7]的研究显示,ROS 作为 DNA 甲基化的催化剂,导致肿瘤抑制基因(TSG)的启动子区域的 DNA 甲基化,但其机制尚不明确。O'Leary 等^[10]研究提示,电离辐射激活 MAT2A 基因诱导生成更多的 S-腺苷甲硫氨酸导致特定基因的高甲基化。CpG 岛启动子区域部分基因的高甲基化也可能与机体的基因自我保护机制有关,人体 60% 以上的基因启动子在 CpG 岛,高剂量电离辐射照射时, DNA 甲基化调控致基因启动子高甲基化,染色质高度螺旋化,凝缩成团从而避免高剂量电离辐射对 DNA 的直接物理损伤^[11],但部分基因一直处于高甲基化状态将直接影响其正常表达。

3 电离辐射致 DNA 甲基化异常产生的生物学效应

电离辐射致 DNA 甲基化异常的效应主要表现为机体甲基化失衡状态下,基因突变率增加、基因稳定性改变和基因表达调控异常。

3.1 电离辐射致机体甲基化失衡增加基因突变率

电离辐射导致机体全基因组 DNA 低甲基化, DNA 抵御射线物理损伤和电离后自由基损伤的能力下降,且机体的 DNA 低甲基化状态可引起碱基错配未完全修复,从而导致染色体畸变率提高。Lee 等^[2]对核电厂工作人员职业辐射暴露诱导的 DNA 甲基化改变与染色体畸变关联性的回顾性队列分析显示,辐射作业工人比对照组全基因组 DNA 甲基化水平低,而 LINE-1 甲基化水平高。职业暴露组相比对照组染色体畸变率更高。职业接触低剂量辐射影响 DNA 甲基化水平,并且辐射诱导的 DNA 甲基化的改变可能与染色体畸变有关。正常机体甲基化-去甲基化处于平衡状态,机体可通过胞嘧啶脱氨基酶作用使 5-甲基胞嘧啶脱氨基生成胸腺嘧啶,形成 TG 错配后进行碱基剪切修复,实现胞嘧啶的去甲基化^[12]。但机体受到电离辐射照射后,胞嘧啶脱氨基酶含量会迅速上升,全基因组同步低甲基化^[13]。低甲基化的 DNA 在有丝分裂中碱基错配未被完全修复就会诱发遗传病或癌症。

3.2 电离辐射致机体 DNA 甲基化异常对基因稳定性和基因表达调控的影响

辐射诱导的基因组不稳定性与电离辐射 DNA 甲基化异常存在一定联系。真核生物任何基因组的甲基化都是对称的,通过特殊的酶复制给子代基因,维持遗传的 DNA 甲基化模式,且大多数基因均固缩在

CPG 岛中,以维持基因组的稳定性^[14]。电离辐射改变机体的甲基化状态,造成全基因组的 DNA 低甲基化和 CPG 岛中部分基因高甲基化,直接影响遗传的 DNA 甲基化模式,导致基因组的不稳定。Kaup 等^[15]在人角质形成细胞的辐射实验中发现, DNA 甲基化在从照射细胞暴露于培养基中的幼稚细胞失调持续了 20 代。在相同培养条件下,这些细胞也表现出染色体畸变率增加,细胞凋亡,生殖细胞死亡和基因组不稳定。LINE-1 和 Alu 重复序列约占全基因组 30% 的比例,这些序列通常为高甲基化状态,辐射诱导这些重复序列的低甲基化会影响基因组的稳定性,甚至肿瘤发生^[16]。Pogribny 等^[17]通过 X 射线照射小鼠 0.5 Gy 后发现,胸腺细胞 DNMT1 下降,全基因组低甲基化, DNA 损伤增加且组蛋白 H4-Lys20 三甲基显著缺失。而这些均是信号细胞恶变的重要信号,提示一定剂量的电离辐射引起的全基因组低甲基化可能导致了基因组的不稳定性,从而诱发肿瘤。DNA 甲基化异常影响基因的稳定性,可通过表观遗传传递给子代。Loree 等^[18]分别对雌、雄 C57Bl/6 小鼠的一方或双方进行 7 天 2.5 Gy 的 X 射线照射后,对其子代的脾脏和胸腺进行 DNA 甲基化检测,发现子代出现全基因组的 DNA 低甲基化,具体表现为雄性亲代小鼠单独照射的子代 DNMT1 表达显著下降;雌性亲代单独照射的子代 DNMT3A 和 3b 表达显著下降;双亲均暴露的子代 DNA 转移酶表达均下降。子代 DNA 低甲基化水平与亲代剂量暴露负相关。

机体正常的甲基化状态是基因表达调控平衡的重要保障之一, DNA 甲基化与基因沉默密切相关,正常调控状态下一些基因表达被抑制,如癌基因;而另一些基因(如抑癌基因)则正常表达。电离辐射的 DNA 去甲基化效应导致被甲基化抑制基因表达,如癌基因等,且辐射可诱导肿瘤抑制基因启动子区 CpG 岛的 DNA 高甲基化,导致抑癌基因表达抑制。Wang 等^[19]发现低剂量的 X 射线可以引起小鼠血液细胞的整体 DNA 甲基化水平的下降,但同时也能引起特定基因(比如 Rad23b 和 Ddit3 等)的启动子区域高甲基化,启动子区的高甲基化导致抑癌基因失活是人类肿瘤所具有的共同特征之一。

4 电离辐射致机体甲基化失衡的干预设想

电离辐射致全基因组低甲基化过程中,机体也在通过一碳单位的消耗不断地恢复 DNA 甲基化状态,

此时甲基供应和甲基化转移酶的活性对于 DNA 恢复甲基化起到重要作用。DNA 甲基化的恢复与甲硫氨酸循环和一碳单位的供应直接相关。叶酸是一碳单位的直接供体,在甲基四氢叶酸还原酶的作用下,生成 N⁵-甲基四氢叶酸,在甲硫氨酸还原酶的作用下参与甲硫氨酸循环。其中,维生素 B6 和维生素 B12 直接影响 S-腺苷甲硫氨酸一碳单位的供给^[20-22]。Batra 等^[23]对甲基补充膳食的小鼠和对照组进行为期两周的照射(剂量 2、4、6 Gy),研究结果提示,对照组小鼠出现全基因组低甲基化,而甲基补充组 DNMT 和 MSase 表达增加,全基因组 DNA 甲基化程度好于对照组。

低剂量电离辐射较高剂量在低甲基化的时间及低甲基化的恢复周期都存在一定的差别^[1]。长期暴露于低剂量电离辐射环境的放射工作人员,如介入诊疗医师、核电站工作者等,因无法得到充足的间歇时间来恢复 DNA 甲基化,机体可能长期处于全基因组甲基化偏低状态。个人防护用品的佩戴及合理的轮休制度可使机体甲基化平衡得以部分恢复。同时,恰当摄入甲基膳食补充剂(叶酸,胆碱、维生素 B6、B12)^[20-22],也有助于机体提高或恢复全基因组 DNA 甲基化,使职业照射带来的健康损伤最小化。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] Antwi DA, Gabbara KM, Lancaster WD, et al. Radiation-induced epigenetic DNA methylation modification of radiation-response pathways[J]. Epigenetics, 2013, 8(8): 839-848.
- [2] Lee Y, Kim YJ, Choi YJ, et al. Radiation-induced changes in DNA methylation and their relationship to chromosome aberrations in nuclear power plant workers[J]. Int J Radiat Biol, 2015, 91(2): 142-149.
- [3] Raiche J, Rodriguez-Juarez R, Pogribny I, et al. Sex- and tissue-specific expression of maintenance and de novo DNA methyltransferases upon low dose X-irradiation in mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 325(1): 39-47.
- [4] Koturbash I, Rugo RE, Hendricks CA, et al. Irradiation induces DNA damage and modulates epigenetic effectors in distant bystander tissue in vivo[J]. Oncogene, 2006, 25(31): 4267-4275.
- [5] Illynskyy Y, Koturbash I, Kovalchuk O. Radiation-induced bystander effects in vivo are epigenetically regulated in a

- tissue-specific manner[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2009, 50(2): 105-113.
- [6] Tamminga J, Kovalchuk O. Role of DNA damage and epigenetic DNA methylation changes in radiation-induced genomic instability and bystander effects in germline in vivo[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2011, 4(2): 115-125.
- [7] Wu QH, Ni XH. ROS-mediated DNA methylation pattern alterations in carcinogenesis[J]. *Curr Drug Targets*, 2015, 16(1): 13-19.
- [8] Xu GL, Wong JM. Oxidative DNA demethylation mediated by Tet enzymes[J]. *Natl Sci Rev*, 2015, 2(3): 318-328.
- [9] Kloypan C, Srisa-art M, Mutirangura A, et al. LINE-1 hypomethylation induced by reactive oxygen species is mediated via depletion of S-adenosylmethionine[J]. *Cell Biochem Funct*, 2015, 33(6): 375-385.
- [10] O'Leary VB, Ovsepiyan SV, Carrascosa LG, et al. PARTICLE, a triplex-forming long ncRNA, regulates locus-specific methylation in response to low-dose irradiation[J]. *Cell Rep*, 2015, 11(3): 474-485.
- [11] Falk M, Lukasova E, Kozubek S. Higher-order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair[J]. *Mutat Res*, 2010, 704(1/2/3): 88-100.
- [12] Cortellino S, Xu JF, Sannai M, et al. Thymine DNA glycosylase is essential for active DNA demethylation by linked deamination-base excision repair[J]. *Cell*, 2011, 146(1): 67-79.
- [13] 邓大君. DNA甲基化和去甲基化的研究现状及思考[J]. *遗传*, 2014, 36(5): 403-410.
- [14] Bock C, Lengauer T. Computational epigenetics[J]. *Bioinformatics*, 2008, 24(1): 1-10.
- [15] Kaup S, Grandjean V, Mukherjee R, et al. Radiation-induced genomic instability is associated with DNA methylation changes in cultured human keratinocytes[J]. *Mutat Res*, 2006, 597(1/2): 87-97.
- [16] Antelo M, Balaguer F, Shia J, et al. A high degree of LINE-1 hypomethylation is a unique feature of early-onset colorectal cancer[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45357.
- [17] Pogribny I, Koturbash I, Tryndyak V, et al. Fractionated low-dose radiation exposure leads to accumulation of DNA damage and profound alterations in DNA and histone methylation in the murine thymus[J]. *Mol Cancer Res*, 2005, 3(10): 553-561.
- [18] Loree J, Koturbash I, Kutanzi K, et al. Radiation-induced molecular changes in rat mammary tissue: possible implications for radiation-induced carcinogenesis[J]. *Int J Radiat Biol*, 2006, 82(11): 805-815.
- [19] Wang JZ, Zhang YW, Xu K, et al. Genome-wide screen of DNA methylation changes induced by low dose X-ray radiation in mice[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90804.
- [20] Batra V, Mishra KP. Modulation of DNA methyltransferase profile by methyl donor starvation followed by gamma irradiation[J]. *Mol Cell Biochem*, 2007, 294(1/2): 181-187.
- [21] Kotsopoulos J, Sohn KJ, Kim YI. Postweaning dietary folate deficiency provided through childhood to puberty permanently increases genomic DNA methylation in adult rat liver[J]. *J Nutr*, 2008, 138(4): 703-709.
- [22] Linhart HG, Troen A, Bell GW, et al. Folate deficiency induces genomic uracil misincorporation and hypomethylation but does not increase DNA point mutations[J]. *Gastroenterology*, 2009, 136(1): 227-235.e3.
- [23] Batra V, Sridhar S, Devasagayam TPA. Enhanced one-carbon flux towards DNA methylation: Effect of dietary methyl supplements against γ -radiation-induced epigenetic modifications[J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 183(3): 425-433.

(收稿日期: 2016-02-19)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 洪琪; 校对: 陶黎纳)