

加,但在治疗随访 1.5 年后此差异即不存在;1 年时全因死亡率有显著降低趋势。最后结果也表明联合用药具有良好的治疗效果和安全性。

## 5 展 望

随着大型临床研究的循证医学证据积累,在整个 CHF 的治疗过程中, $\beta$  受体阻滞剂的地位更加受到重视。因此,应认真掌握其应用的适应证、禁忌证、应用时机以及应用原则,对每个 CHF 患者都应该早期个体化应用,尽量达标,坚持长期应用,以便延缓心脏重构,提高患者生活质量,减少猝死、改善远期预后,这即是 CHF 治疗指南的精神。

## 参考文献:

- [1] Cowie MR, Mosterd A, Wood DA, et al. The epidemiology of heart failure[J]. Eur Heart, 1997, 18(2):208-225.
- [2] Wald DS, Law M, Morris JK, et. Combination therapy versus monotherapy in reducing blood pressure: meta-analysis on 11 000 participants from 42 trials[J]. Am J Med, 2009, 122(3):290-300.
- [3] 陈瑾,胡大一,张麟,等.卡维地洛对心脏  $\beta_1$ 、 $\beta_2$  和  $\alpha_1$  受体自身抗体及心功能影响[J]. 中华心血管病杂志, 2005, 33(6):498-501.
- [4] 田颖,祝善俊,王江.神经内分泌拮抗治疗慢性心力衰竭的几个热点问题[J]. 中华心血管病杂志, 2005, 33(5):485-487.
- [5] 王宏宇,胡大一.冠心病的二级预防策略[J]. 中国医刊, 2003, 38(7):61-62.
- [6] 李勇,诸俊仁. $\beta$  受体阻滞剂治疗慢性心力衰竭-COMET 研究的意义[J]. 中华心血管病杂志, 2004, 32(5):466-468.

- [7] Waagstein F, Bristow MR, Swedberg K, et al. Beneficial Effect metoprolol in idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. Lancet, 1993, 342(12):1441-1446.
- [8] Aronow WS. Left ventricular diastolic heart failure with normal left ventricular aystolic function in older persons [J]. Lab Clin Med, 2001, 137(3):316-323.
- [9] Gilbert EM, Abraham WT, Olsen S, et al. Comparative hemodynamic, left ventricular functional, and antiadMer-gic effects of chronic treatment with metoprolol versus carvedilol in the failing heart [J]. Circulation, 1996, 94(6):2817-2825.
- [10] Kukin ML, Kahn J, Cnarney RH, et al. Prospective, randomized comparison of effect of long-term treatment with metoprolol or carvedilol on symptoms, exercise, ejection fraction, and oxidative stress in heart failure[J]. Circulation, 1999, 99(20):2645-2651.
- [11] Cruickshank JM, Higgins TJ, Pennart K, et al. The efficacy and tolerability of antihypertensive treatment based on atenolol in prevention of stroke and regression of left ventricular hypertrophy[J]. Hum Hypertens, 1987, 1(2):87-93.
- [12] Willenheimer R, van Veldhuisen OJ, Silke B, et al. Effect On survival and hospitalization of initiating treatment for chronic heart failure with hisoprolol followed by enalapril, as compared with the opposite sequence. Results of the randomized cardiac insufficiency bisoprolol study(CI-BIS III)[J]. Circulation, 2005, 112(16):2426-2435.

(收稿日期:2013-10-08 修回日期:2014-02-12)

## · 综 述 ·

# DNMT1 与 DNA 异常甲基化及肿瘤的关系

王倩综述,唐维平<sup>△</sup>审校

(南昌大学第二附属医院口腔科,南昌 330006)

**关键词:** DNA 甲基转移酶; DNA 异常甲基化; 肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.17.047

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1671-8348(2014)17-2228-04

DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMTs)是表观遗传学中催化并维持 DNA 甲基化的重要酶家族。在哺乳动物中它分为 3 个家族:DNMT1、DNMT2、DNMT3<sup>[1-2]</sup>。DNMT1 是 DNA 进行复制修复并维持其正常甲基化的关键酶;DNMT2 主要是 tRNA 的甲基转移酶;DNMT3 包含有 3 个亚基,3a、3b 催化 CpG 岛从头甲基化转移酶而 3L 是一个调节蛋白<sup>[3]</sup>。DNMT1 是 DNMT 酶家族中最重要也是目前研究最多的一种酶。众多研究发现 DNMT1 与 DNA 异常甲基化有关,并且二者与肿瘤的发生、发展也有密切关系。现就 DNMT1、DNA 异常甲基化与肿瘤的关系综述如下。

## 1 DNMT1 与 DNA 甲基化

### 1.1 DNMT1 的发现、基因结构及生物学功能

DNMT1 是

1964 年 Gold 和 Hurwit 等研究人员在大肠杆菌中提取的第 1 个 DNMT。1988 年 Bestor 等<sup>[3]</sup>克隆出第 1 个真核生物 C5 胞嘧啶特异的 DNA 甲基转移酶,命名为 DNMT1。DNMT1 是由 1 616 个氨基酸残基编码成的蛋白质,其相对分子质量  $183 \times 10^3$ ,定位在人染色体 19p13.2~13.3, cDNA 全长为 5 434 bp<sup>[4]</sup>。目前的研究结果认为 DNMT1 包括 3 个结构域,即 C 端的催化端、N 端的某些蛋白识别的靶区域及未知区域<sup>[5]</sup>。有学者发现 DNMT1 上调发生在 DNA 甲基化之前,也就是说 DNMT1 的上调可能是 DNA 发生异常甲基化的重要原因。另一方面研究人员利用 DNMT1 抑制剂作用于肿瘤细胞发现能够一定程度抑制肿瘤细胞生长,说明 DNMT1 和肿瘤有一定的关系,同时说明 DNMT1 作用 DNA 甲基化至肿瘤发生是一个可

逆的过程。苏玉等<sup>[6]</sup>总结出 DNMT1 不仅与胚胎发育、细胞衰老有关,也与肿瘤的发生密切相关。DNMT1 主要介导甲基化模式的建立与维护, DNMT1 高表达致甲基化模式发生异常, 抑癌基因沉默、原癌基因激活导致肿瘤发生<sup>[7]</sup>。

**1.2 DNA 甲基化与 CpG 岛** DNA 甲基化是在 DNMTs 的催化下, 将 S-腺苷甲硫氨酸提供的甲基基团转移到未进行甲基化胞苷-磷酸-鸟苷(CpG)二核苷酸中的胞嘧啶 5'-C 原子上形成 5-甲基胞嘧啶的过程<sup>[8]</sup>。在正常生理情况下, 启动子区的 CpG 二核苷酸有两种状态, 一种是处于相对集中的非甲基化状态, 另一种是相对分散的甲基化状态, 把相对集中成簇存在的非甲基化 CpG 的一段 DNA 称为 CpG 岛。CpG 岛一般位于基因的启动子区, 大小为 300~500 bp, 此区域多为管家基因及组织表达特异基因<sup>[9]</sup>。CpG 岛与 DNA 甲基化有密切关系。2006 年 Rollins 等<sup>[10]</sup>研究发现不易被甲基化的 CpG 岛(边界 400 bp 序列)有丰富的锌指结构的转录因子的结合位点, 而 80% 的结合位点在人和鼠中是保守的。Fan 等<sup>[11]</sup>推测 DNA 甲基化从甲基化中心结构 Alu 序列开始向外延伸, 当延伸致 CpG 岛周围密集的转录因子结合位点和具有锌指的结合位点结合以后则可以阻止甲基化向 CpG 岛蔓延, 阻止和蔓延达到动态平衡就形成稳定的甲基化模式。当环境发生改变, CpG 岛启动子区某些元件发生改变, 本可以结合并阻碍 DNA 甲基化蔓延的转录因子的结合能力减弱使阻碍功能变弱甚至消失时, 甲基化稳定模式改变。

## 2 DNMT1、DNA 异常甲基化与肿瘤的关系

**2.1 DNMT1 与肿瘤的关系** 研究表明, DNMT1 在多种肿瘤中呈高表达。DNMT1 是 DNA 甲基化的关键酶, DNMT1 活性增加促进 DNA 异常甲基化。Ang 等<sup>[12]</sup>通过免疫组化和免疫印迹两种方法研究 DNMT1 在胰腺癌组织和相应的癌旁组织中的表达, 免疫组化结果得出 78.7% (37/47) 的癌组织中 DNMT1 呈高表达, 而免疫印迹的评价结果得出癌组织中 80% (16/20) 呈高表达。提示 DNMT1 的异常激活可能在胰腺癌的发生发展中具有重要作用。Gömöri 等<sup>[13]</sup>用免疫组化及 PCR 评价 DNMT1 在胶质瘤中的表达也得出阳性的结果。Zhang 等<sup>[14]</sup>找到宫颈癌中有异常甲基化的基因, 利用 RNA 干扰技术沉默 DNMT1 基因的表达, 采用 qPCR 和免疫印迹方法检测 DNMT1 siRNA 干扰对 DNMT1 酶活性的影响, 结果表明 DNMT1 siRNA 能显著降低宫颈癌中 DNMT1 的活性, 抑制 DNMT1 在宫颈癌中的表达。通过流式细胞仪和 MTT 法分别检测 DNMT1 siDNA 干扰对宫颈癌细胞的周期变化和细胞生长的影响, 得出 DNMT1 siDNA 干扰能使宫颈癌细胞凋亡率增加。DNMT1 在宫颈癌的发生、发展中具有重要作用。Fan 等<sup>[15]</sup>应用免疫组化及 real-time PCR 分别检测 DNMT1 蛋白和 DNMT1 mRNA 在肝癌组织及癌旁组织中的表达, 得出癌组织 DNMT1 呈高表达状态, 二者之间表达差异有统计学意义。利用 DNMT1 抑制剂使肝细胞 SMMC-7721 凋亡, 说明 DNMT1 使肝细胞中的抑癌基因沉默导致肝癌, 同时研究还得出患有乙型肝炎的患者更容易发生 DNMT1 上调。有人研究在卵巢上皮癌中 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b 均呈高表达, 三者之间的关系呈正相关。Yang 等<sup>[16]</sup>研究 DNMT1 基因的多态性(rs 2114724, rs 2228611, rs 2228612, rs 8101866, rs 16999593)与中国南方人口胃癌的发生有一定的关联, 得出 DNMT1 的 rs16999593 基因型是南方人口胃癌发生的主要基因。DNMT1 在喉鳞状细胞癌、结肠癌等也有不同程度的

表达。

**2.2 DNA 异常甲基化与肿瘤发生、发展的关系** 在生理状态下, 启动子区的 CpG 岛(CpG 二核苷酸聚集区)处于非甲基化状态, 分散的 CpG 二核苷酸处于甲基化状态。当 DNA 甲基化异常时这种状态被打破, 启动子区的 CpG 岛发生甲基化, 导致调控基因表达受到抑制。1988 年 Feinberg 等<sup>[17]</sup>通过检测基因组中 DNA 甲基化胞嘧啶的丰度得出肿瘤组织呈现整体的低甲基化现象, 1999 年 Qu 等<sup>[18]</sup>通过甲基化敏感性酶的重复序列测定得出了相同的结论。研究充分证实基因组启动子区的 CpG 岛会发生异常甲基化。由此可以推断, 在肿瘤细胞基因组中呈现整体低甲基化伴随特定区域(CpG 岛)高甲基化状态。肿瘤细胞发生这种现象有以下几种解释<sup>[19-20]</sup>: (1)低甲基化使转录抑制作用减弱, 增加了部分沉默基因及病毒等有害基因的表达, 如原癌基因激活, 转座子成分活化。(2)整体低甲基化水平使染色体不稳定基因印记缺失。(3)低甲基化使肿瘤细胞浸润转移增加。(4)CpG 岛高甲基化使转录抑制增强, 抑癌基因沉默或缺失导致癌细胞过度增殖。随着表观遗传学的发展, DNA 高甲基化被认为是继基因突变、基因缺失之后第 3 种抑癌基因沉默或缺失的机制。(5)DNA 高甲基化沉默 DNA 修复基因, 增加基因组不稳定性。(6)DNA 高甲基化所致的基因沉默是 DNA 发生突变的易感因素, 肿瘤的发生机制从表观遗传学转为遗传学。González-Ramírez 等<sup>[21]</sup>研究得出肿瘤基因启动子 CpG 岛甲基化是口腔鳞状细胞癌发生的一个重要因素。文献<sup>[22]</sup>也得出相同的结论。口腔鳞状细胞癌组织中显示启动子甲基化的一些主要的基因是细胞周期调控基因(P16)、DNA 修复基因(MGMT 和 hMLH1)及细胞增殖(c-myc)和细胞凋亡基因(DAPK 和 PDCD4)。Supic 等<sup>[23]</sup>对口腔鳞状细胞癌手术切除的肿瘤进行相关基因(DAPK 等)甲基化检测, 以判断口腔鳞状细胞癌的预后。在一些癌旁组织中组织病理结果并无异常, 但 DNA 甲基化检测存在分子生物学的改变, 研究得出手术切缘存在 DAPK 启动子异常甲基化患者的生存率与甲基化水平呈反比( $P=0.004$ )。这类患者术后较易复发, 预后较差。DNA 异常甲基化是肿瘤发生的一个早期事件。

## 3 DNMT1 抑制剂与肿瘤治疗的关系

**3.1 DNMT1 抑制剂的研究** DNA 甲基化不涉及基因的改变, 因此它是一个可逆的过程, 抑癌基因的启动子在 DNMT1 的催化下发生异常甲基化使基因沉默, 反过来思考, 可以通过抑制 DNMT1 的活性来抑制或阻断抑癌基因沉默, 通过重新激活抑癌基因杀死肿瘤细胞。DNMT1 抑制剂的研究成为治疗癌症的新亮点。目前开发的 DNA 抑制剂主要有核苷(代表有阿扎胞苷、地西他滨等)及非核苷(氨基苯甲酸类、反义寡核苷酸类等)两大类<sup>[25]</sup>。作用机制主要有 4 种: (1)在 DNA 复制的过程中加入 DNA 与 DNMT1 结合。5-Aza-CdR 是较早研究的 DNMT1 抑制剂, 是在 DNA 复制时竞争性的与 DNMT1 结合, 导致 DNMT1 维持甲基化的水平降低使 DNA 基因序列从原来的高甲基化转为正常甲基化。多项临床试验证明, 它可以激活抑癌基因 P16 杀死癌细胞达到治疗肿瘤的目的<sup>[26]</sup>。(2)非共价的阻断 DNMT1 的活性位点。这类主要有 RG108(4)和 EGCG(5), 目前还处于临床前研究阶段<sup>[27-28]</sup>。(3)通过干扰 DNMT1 与 DNA 的结合位点。经研究发现抗心律失常药普鲁卡因胺同样具有抑制 DNMT1 活性的作用, 它可以直接作用于启动区的 CpG 岛, 通过抑制 DNMT1 的活性, 降低 DNMT1 对

DNA 的甲基化作用<sup>[29]</sup>。(4)直接抑制 DNMT1 的基因表达。通过应用反义寡核苷酸抑制 DNMT1 的基因表达,从而减少 DNMT1 的合成。MG-9 是第 2 代反义寡核苷酸 DNMT1 抑制剂。有研究表明,可以减少人体细胞中 DNMT1 蛋白的表达,诱导基因去甲基化。但这类化合物在体内很容易代谢水解,如何提高其稳定性尚需进一步探究<sup>[17-19]</sup>。

**3.2 DNMT1 抑制剂的展望** 随着表观遗传学的深入研究, DNMT1 作为治疗肿瘤的表现基因药物备受关注。DNMT1 抑制剂作为调节高甲基化的重要药物,已在临床多种肿瘤治疗的研究中得到应用。不同类别的 DNMT1 抑制剂根据自身的结构、作用机制及作用靶点的不同,其疗效、不良反应及代谢途径也有差别。目前,核苷类药物是作用机制较为明确的 DNMT1 抑制剂,地西他滨较阿扎胞苷药物性能更稳定,对肿瘤细胞的靶作用更敏感。阿扎胞苷实验效果更理想,但因具有细胞毒性,临床并未取得显著效果;大量的实验研究证明氨基苯甲酸类抑制剂的有效剂量具有较大的不良反应;反义寡核苷酸类抑制剂随着分子生物学的发展,通过构建 DNMT1 的特异性结构,特异的阻断 DNA 甲基化修饰过程,为治疗肿瘤提供了新思路<sup>[17]</sup>。随着表观遗传学的发展,对抑制异常甲基化的药物以及他调节表观遗传基因失衡的药物以及这些药物之间的相互协同作用会有进一步的研究。

#### 4 结 语

DNA 异常甲基化与肿瘤的发生、发展有着密切关系,是肿瘤发生的早期事件, DNMT1 是催化并维持 DNA 甲基化的关键酶。大量的研究证明 DNMT1 在组织中的异常表达与肿瘤有着密切的关系, DNMT1 高表达催化相关抑癌基因启动子 CpG 岛发生异常甲基化, DNA 甲基化水平的改变是肿瘤的一个特征性变化,往往和恶性肿瘤相关并随恶性肿瘤的发生、发展而不断变化。因此, DNA 甲基化检测技术对于肿瘤预防、诊断预后意义重大。但 DNA 甲基化检测技术目前只能用于科研还不能服务于临床。对 DNMT1 抑制剂的研究目前已有一定的成果,部分药物用于临床肿瘤治疗取得一定疗效,但随着分子生物学的发展, DNMT1 及 DNA 甲基化与肿瘤的关系尚有一些问题需要进一步深入研究,例如:哪些肿瘤具有特异的 DNA 甲基化片段? DNA 甲基化片段的检测怎样才能服务于临床? 怎样运用 DNMT1 抑制剂更好的服务于肿瘤? 随着后基因时代的发展,对表观遗传学不断地深入研究,相信会把这些问题搞清楚并服务于临床。

#### 参考文献:

- Cheng X, Blumenthal RM. Mammalian DNA methyltransferases; a structural perspective [J]. *Structure*, 2008, 16(3):341-350.
- Hermann A, Gowher H, Jeltsch A. Biochemistry and biology of mammalian DNA methyltransferases [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2004, 61(19/20):2571-2587.
- Bestor T, Laudano A, Mattaliano R, et al. Cloning and sequencing of a cDNA encoding DNA methyltransferase of mouse cells. The carboxyl-terminal domain of the mammalian enzymes is related to bacterial restriction methyltransferases [J]. *J MOL Biol*, 1988, 203(4):971-983.
- Svedružić ŽM. Dnmt1 structure and function [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2011, 101:221-54.
- Goyal R, Rathert P, Laser H, et al. Phosphorylation of serine-515 activates the mammalian maintenance methyltransferases DNMT1 [J]. *Epigenetics*, 2007, 2(3):155-160.
- 苏玉, 王溪, 朱卫国. DNA 甲基转移酶的表达调控及主要生物学功能 [J]. *遗传*, 2009, 31(11):1087-1093.
- Dhe-Paganon S, Syeda F, Park L. DNA methyl transferase 1; regulatory mechanisms and implications in health and disease [J]. *Int J Biochem Mol Biol*, 2011, 2(1):58-66.
- Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, et al. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1 [J]. *Science*, 2009, 324(5929):930-935.
- 王先火, 赵秀娟, 邱立华, 等. 肿瘤发生的表观遗传学: 进展与临床意义 [J]. *北京大学学报: 医学版*, 2012, 44(5):701-707.
- Rollins RA, Haghghi F, Edwards JR, et al. Large-scale structure of genomic methylation patterns [J]. *Genome Res*, 2006, 16(2):157-163.
- Fan S, Fang F, Zhang X, et al. Putative Zinc finger protein binding sites are over-represented in the boundaries of methylation-resistant CpG islands in the human genome [J]. *PLoS One*, 2007, 2(11):e1184.
- Ang Li, Noriyuki O, Seung-MH, et al. Pancreatic cancer DNMT1 expression and sensitivity to DNMT1 inhibitors [J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 9(4):1-17.
- Gömöri E, Pál J, Kovács B, et al. Concurrent hypermethylation of DNMT1, MGMT and EGFR genes in progression of gliomas [J]. *Diagn Pathol*, 2012, 20(7):8.
- Zhang Y, Chen FQ, Sun YH, et al. Effects of DNMT1 silencing on malignant phenotype and methylated gene expression in cervical cancer cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30:98.
- Fan H, Zhao ZJ, Cheng J, et al. Overexpression of DNA methyltransferase 1 and its biological significance in primary hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(16):2020-2026.
- Yang XX, He XQ, Li FX, et al. Risk-association of DNA methyltransferases polymorphisms with gastric cancer in the southern Chinese population [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(7):8364-8378.
- Feinberg AP, Gehrke CW, Kuo KC, et al. Reduced genomic 5-methylcytosine content in human colonic neoplasia [J]. *Cancer Res*, 1988, 48(5):1159-1161.
- Qu G, Dubeau L, Narayan A, et al. Satellite DNA hypomethylation VS. Overall genomic hypomethylation in ovarian epithelial tumors of different malignant potential [J]. *Mutat Res*, 1999, 423(2):91-101.
- 滕丽娟, 张长松, 李克. 营养与肿瘤表观遗传学关系的研究进展-DNA 甲基化机制 [J]. *医学研究生学报*, 2008, 21(1):95-97.
- 王志刚, 吴建新. DNA 甲基转移酶分类、功能及其研究进展 [J]. *遗传*, 2009, 31(9):903-912.
- González-Ramírez I, García-Cuellar C, Sánchez-Pérez Y, et

- al. DNA methylation in oral squamous cell carcinoma: molecular mechanisms and clinical implications[J]. Oral Dis, 2011, 17(8): 771-778.
- [22] de Freitas Cordeiro-Silva M, Oliveira ZF, de Podestá JR, et al. Methylation analysis of cancer-related genes in non-neoplastic cells from patients with oral squamous cell carcinoma[J]. Mol Biol Rep, 2011, 38(8): 5435-5441.
- [23] Supic G, Kozomara R, Jovic N, et al. Prognostic significance of tumor-related genes hypermethylation detected in cancer-free surgical margins of oral squamous cell carcinomas[J]. Oral Oncol, 2011, 47(8): 702-708.
- [24] 杨类, 薛晓文, 张奕华. DNA 甲基甲基转移酶抑制剂的研究进展[J]. 药学与临床研究, 2009, 17(4): 323-327.
- [25] 刘海燕, 袁洪, 黄志军, 等. DNA 甲基化与药物效应的表观遗传药理学研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 28(2): 142-145.
- [26] Gao Z, Xu Z, Hung MS, et al. Promoter demethylation of WIF-1 by epigallocatechin-3-gallate in lung cancer cells [J]. Anticancer Res, 2009, 29(6): 2025-2030.
- [27] Gu B, Ding Q, Xia G, et al. EGCG inhibits growth and induces apoptosis in renal cell carcinoma through TFPI-2 over expression[J]. Oncol Rep, 2009, 21(3): 635-640.
- [28] 李培坤, 耿小萍, 朱立新. DNA 甲基化抑制剂研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2010, 37(3): 189-202.
- [29] Plummer R, Vidal L, Griffin M, et al. Phase I study of MG98, an oligonucleotide antisense inhibitor of human DNA methyltransferase 1, given as a 7-day infusion in patients with advanced solid tumors[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(9): 3177-3183.

(收稿日期: 2013-11-08 修回日期: 2014-01-22)

· 综 述 ·

## hARD1 与肿瘤细胞凋亡及增殖的相关性研究进展

李春山 综述, 白 松<sup>△</sup> 审校

(昆明医科大学第一附属医院干疗科, 昆明 650032)

**关键词:** 人停滞缺陷蛋白; 细胞凋亡; 增殖; 肿瘤

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2014.17.048

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)17-2231-03

乙酰化在不同的生物过程中起着重要作用, 如 DNA 修复、蛋白质的稳定性和核转位、蛋白质间的相互作用以及细胞增殖、分化和凋亡等<sup>[1]</sup>。在人类约 84% 蛋白质 N-末端存在乙酰化修饰, 其作用对于蛋白质的稳定性和活性产生重大影响<sup>[2]</sup>。蛋白质乙酰化由一套范围很广的乙酰基转移酶催化; 其中 N- $\alpha$ -乙酰基转移酶可将乙酰辅酶 A 的乙酰基转移到新生多肽 N 端, 从而使新生多肽带负电荷, 以影响蛋白质的稳定性及活性。相关研究表明 50% 的酵母蛋白和 30% 的哺乳动物蛋白受到 N- $\alpha$ -乙酰化<sup>[3]</sup>。

### 1 人停滞缺陷蛋白 1 (human arrest defective 1, hARD1) 概述

最初在酵母中研究停滞缺陷蛋白 1 (arrest defective 1 ARD1) 发现其具有催化氨基末端  $\alpha$ -乙酰化的作用<sup>[4]</sup>, 作为 N-乙酰基转移酶 (N-acetyltransferases, NAT) 的 1 个亚基, 与细胞周期的调节密切相关; ARD1 发生异常会使 NATA 功能丧失, 从而导致酵母表现出多种异常表型<sup>[5]</sup>; 早期研究表明, ARD1 缺陷的菌株 N 末端为 Ser, Ala, Gly, Thr 的许多蛋白质乙酰化过程出现异常, 因此推测 ARD1 可能是一种新的乙酰基转移酶<sup>[6]</sup>。hARD1 基因与酵母 ARD1 基因具有高度同源性, 其蛋白与 N-乙酰基转移酶 (NATH) 结合形成具有乙酰基转移酶活性的复合物, 同时发挥了蛋白质 N 端  $\alpha$ -乙酰化和  $\epsilon$ -乙酰化活性<sup>[7]</sup>; 该基因定位于人染色体的 xq28 区域, 全长 5 019 bp, 含有 7 个外显子, 编码 235 个氨基酸, 蛋白质相对分子质量预测为  $26.5 \times 10^3$ <sup>[8]</sup>; 在人类某些肿瘤及其他疾病研究中, hARD1 作为一个 NAT 基因, 近年来逐渐成为研究的热点, 从基因至蛋白水平的研究均有所涉及, 但现有实验结果提

示, hARD1 活性调节的多样性和生物效应的特异性, 以及 hARD1 与人类肿瘤和其他疾病发生、发展过程中的作用机制不明, 尚有待深入研究。

### 2 hARD1 与细胞凋亡的关系

细胞凋亡是细胞死亡的一种方式, 其诱因很多, 如 DNA 损伤、生长因子撤除、糖皮质激素作用、FasL 以及肿瘤坏死因子 (TNF) 作用、细胞间接触等。其发生的机制极为复杂, 除了涉及诸如凋亡因子、受体、适配蛋白、启动蛋白、效应蛋白、抑制蛋白等多种蛋白的相互作用外, 还与线粒体和内质网等有关。hARD1 作为乙酰化因子在细胞凋亡过程中可能发挥着重要作用。

hARD1 通过与受体相关蛋白 1 (receptor-interacting protein 1, RIP1) 结合从而调节阿霉素诱导的核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 活性<sup>[9]</sup>; 而 (myeloid cell leukemia-1, MCL1) 蛋白作为一种抗凋亡蛋白, 其基因水平的转录激活需要 NF- $\kappa$ B 亚单位 RelA/p65 的乙酰化调节, Xu 等<sup>[10]</sup>通过微阵列技术分析发现, hARD1 对 RelA/p65 翻译后修饰起乙酰化作用, 在人结肠癌和人肺癌组织中 MCL1 和 ARD1 在 mRNA 水平呈正相关。因此, 发现 hARD1 可能通过对 RelA/p65 乙酰化作用从而调节 MCL1 基因转录, 最终达到抑制细胞凋亡的作用。

在柔红霉素 (daunorubicin, DNR) 诱导凋亡的 caspase 途径中发现, hARD1 及 NATH 被裂解, 使得 NAT 活性降低 40% ~ 80%<sup>[11]</sup>。Arnesen 等<sup>[5]</sup>用 RNA 干扰技术使 hARD1 表达下调亦能诱发细胞凋亡, 同时发现 hARD1 表达下调后细胞对 DNR 诱导细胞凋亡变得更加敏感; Caroline 等<sup>[12]</sup>通过沉默