

## LINE-1 的低甲基化在癌症中的研究进展\*

李佳慈, 李克秋, 景亚青 综述, 李 光<sup>△</sup> 审校

(天津医科大学遗传系, 天津 300070)

**[摘要]** 近年来研究发现真核生物基因组中有许多重复序列参与基因表达的调控。在这些重复序列中, 有一种广泛分布于基因组中的逆转座子 LINE-1, 目前发现其低甲基化对癌症的发生起着非常重要的作用, 具体表现为影响基因的转录活性及整个基因组的稳定性等。本文主要阐述了 LINE-1 的低甲基化对常见癌症的影响以及 LINE-1 低甲基化与癌症预后的关系, 这对认识癌症的发生与发展和对抗肿瘤药物的研发具有重要的价值。

**[关键词]** 肿瘤; 基因组; LINE-1; 低甲基化

**[中图分类号]** R730.231

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2018)19-2598-03

转座子, 即跳跃基因, 是一段在基因组中能够通过转录或逆转录的方式移动到其他基因座上的 DNA 序列。转座子的“跳跃”功能是通过基因编码的蛋白质(如 DNA 转座酶, 逆转录酶)来进行调节的<sup>[1]</sup>。根据转座过程中依赖的中间媒介, 转座子可被分为 DNA 转座子和 RNA 转座子。DNA 转座子是通过“切割-粘贴”机制转座的一类转座子, 它能编码一种转座酶, 特异识别染色体 DNA 中的转座序列, 将其切割下来并插入到新的位点<sup>[2]</sup>。

RNA 转座子又被称为逆转座子, 它通过 DNA 元件转录成 RNA, 再反转录成 cDNA, 然后插入基因组中某一新位点。分散在真核生物基因组中的大量逆转座子是导致基因组不稳定的因素, 可引起基因组序列的删除、扩增、倒位、移位、断裂、同源序列重组等现象。逆转座子主要有两类: 长末端重复序列(long-terminal repeats, LTR)和非 LTR 的反转座子。人们最为熟知的 LTR 转座子, 占人类基因组的 8%。非 LTR 的反转座子包括自主性和非自主性两种。自主性反转座子即长散布核元件(long interspersed nuclear elements, LINE), 主要成员是 LINE-1; 非自主性反转座子有短散布核元件(short interspersed nuclear elements, SINE)、可变数目串联重复序列(variable number tandem repeat, VNTR)和 SINE-VNTR-Alu 的结合序列 SVA。SINEs 和 SVA 不编码任何蛋白, 但是它们的转座要依赖于活性 LINE-1, 故也将其形象地称为“LINE-1 的寄生虫”。本文将重点阐述 LINE-1 的研究进展<sup>[3]</sup>。

## 1 LINE-1

LINE-1 是 LINE 中的一种最为重要的重复序列, 是在人类基因组中唯一可以自主转座的逆转座子。尽管人类基因组中有超过 50 000 个 LINE-1 序列, 但是大多数由于基因重排、点突变、5' 端截断等原因失去活性, 只有 80~100 个 LINE-1 序列在人体中

存在活性, 并且其活性部位存在个体差异性<sup>[4]</sup>。一个有活性的 LINE-1 序列长约 6 500 bp, 主要集中在腺嘌呤、胸腺嘧啶(AT)富集区。LINE-1 及其编码的反转录酶可作用于其他非自主反转录转座子的转座过程, LINE-1 参与转座生成的 DNA 序列, 累加约占到人类基因组的 30%<sup>[5]</sup>。

## 2 LINE-1 转座的调控模式

LINE-1 的转座受多种因素的调控, 如 DNA 甲基化、RNA 剪接和多聚腺苷酸、细胞内蛋白网络调控等。

甲基化调控模式: DNA 甲基化发生在原生殖细胞中, 它是在 DNA 碱基上添入甲基基团的化学修饰现象。DNA 的甲基化在许多生物过程中有着重要的作用<sup>[6]</sup>。在缺乏甲基化转移酶-3L(DNMT-3L)的减数分裂异常的雄性小鼠中可以观察到 LINE-1 的过表达。在小鼠的生殖细胞中, 通过基因敲除, 使 DNMT3 甲基化酶家族低表达, LINE-1 转录激活, 进一步表明了甲基化作用是 LINE-1 表达的主要调控作用。同时发现 LINE-1 的 5' UTR 区域存在大量的 CpG 序列高甲基化, 高甲基化的 CpG 序列与甲基化 CpG 结合蛋白 MeCP 结合而沉默。此蛋白在上皮癌和白血病的细胞系中可抑制 LINE-1 的移动, 这种抑制也发生在体细胞, 而对于低甲基化的生殖细胞和人类肿瘤细胞抑制程度会减弱。BECK 等<sup>[4]</sup>发现在人体组织中 DNA 甲基化对 LINE-1 的表达有影响。

RNA 剪接和多聚腺苷酸调控模式: 靶序列引发反转录(TPRT)机制介导人 LINE-1 mRNA 逆转录转座, 此过程中剪接位点是有功能的, 它的激活可以导致产生更短的 LINE-1 mRNA 片段, 短片段 LINE-1 mRNA 可能会构成逆转录转座子。实际上在组织中, LINE-1 mRNA 剪接是抑制 LINE-1 表达的一种调控机制<sup>[7]</sup>。LINE-1 包括许多潜在的多腺苷酸化信号, 这些信号可以生成更短的用于逆转录的 LINE-1 mR-

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21647008); 国家重点研发计划(2017YFC1001904); 天津市科技支撑计划(16YFZCSY00900)。

作者简介: 李佳慈(1993-), 在读硕士, 主要从事环境与健康研究。△ 通信作者, E-mail: lig@tmu.edu.cn。

NA<sub>s</sub> 序列,这种方式可能对 LINE-1 的表达有调控作用。

抑制 LINE-1 逆转录的蛋白质调控模式:WIS-SIGN 等<sup>[8]</sup>发现在培养的多种细胞中,APOBEC3 胞苷脱氨酶家族,尤其是 APOBEC3A(A3A)和 APOBEC3B(A3B),对 LINE-1 逆转录抑制作用较强。RICE 等<sup>[9]</sup>在体外培养细胞中发现 T<sub>rex1</sub> 基因和 SAMHD1 基因过表达均可抑制 LINE-1 的逆转录。最近有研究表明:莫洛尼白血病病毒 10(MOV10)对人 LINE-1 的逆转录也有抑制作用<sup>[10]</sup>。

在 LINE-1 的几种调控模式中,LINE-1 甲基化是一种最为重要的调控方式。LINE-1 在人类几乎所有肿瘤细胞中因其去甲基化而处于高表达状态,并且高表达的 LINE-1 能促进细胞增殖,如肺癌细胞 A549、肝癌细胞 HepG2、乳腺癌细胞 MCF-7,而在正常组织细胞中却处于沉默状态。有研究表明 LINE-1 的这种激活与表达可能对基因组产生巨大的破坏:如突变、基因的不稳定<sup>[11]</sup>,其具体功能尚在研究中。LIU 等<sup>[12]</sup>研究发现,LINE-1 以反转座的形式,强烈的抑制某些肿瘤细胞在 G<sub>1</sub>/S/G<sub>2</sub>/M 期的停留。LINE-1 与细胞,尤其是肿瘤细胞的生物学行为之间的关系是近年来国内外研究的热点之一。

### 3 LINE-1 低甲基化与癌症

LINE-1 的低甲基化是癌症中常见的表观遗传现象,对癌症的发生有一定的影响。在正常情况下,LINE-1 是高度甲基化的。但是,有研究表明,在上皮癌、大肠癌、胃癌等癌症中,LINE-1 表现明显的低甲基化<sup>[13-15]</sup>。LINE-1 的甲基化降低导致 LINE-1 的逆转录活性增加,影响细胞正常的功能,增加癌症的发病风险。

目前对于 LINE-1 的插入在癌症的发生和演进中的机制存在着几种猜想:(1)环境因素最初改变了 LINE-1 启动子甲基化的状态,从而增加了 LINE-1 的转录活性,新的 LINE-1 逆转录转座进入到一段致癌的区域,这一过程可能会造成癌症的发生;(2)一旦癌症发生,LINE-1 启动子区去甲基化可能也会增加,进而激发反义的启动子区和附近的基因<sup>[16]</sup>。

**3.1 LINE-1 的低甲基化对常见癌症的影响** HOSHIMOTO 等<sup>[13]</sup>认为 LINE-1 的低甲基化可以作为食管鳞状细胞癌一个早期的生物标志。早期的食管鳞状细胞癌中 LINE-1 的低甲基化水平和细胞侵袭的深度有密切的联系。

此外,ZHU 等<sup>[14]</sup>报道显示,在食管鳞状细胞癌中 LINE-1 的甲基化水平与 CDK mRNA 和 CDK 蛋白的表达水平有显著的联系。LINE-1 表观遗传的变化伴随着多耐药基因 MDR1 表达的激活,导致其表达产物 P-糖蛋白作用异常,细胞耐药性降低,增大肿瘤细胞变异的可能性。

**3.2 LINE-1 的低甲基化对肾母细胞瘤的影响** CHANG 等<sup>[15]</sup>发现,LINE-1 甲基化和肾母细胞瘤的端粒长度有明显的联系。低甲基化通过 DNA 损伤或

其他途径促进 LINE-1 转录从而缩短端粒长度。用低甲基化药物 5-脱氧氮杂胞苷处理肾母细胞瘤细胞系,发现实验组细胞中相对端粒长度缩短,LINE-1 甲基化降低。这些研究结果都表明,在肾母细胞瘤中普遍存在 LINE-1 的甲基化,并且 LINE-1 的低甲基化是端粒长度缩短的原因之一。

**3.3 LINE-1 的低甲基化对大肠癌的影响** TANG 等<sup>[16]</sup>发现 LINE-1 的低甲基化程度与不同临床表现和分子特征的大肠癌有关,LINE-1 的低甲基化是检测大肠癌的一个可能的生物标记。在患有大肠癌的中国患者中,人黏液膜上 LINE-1 的甲基化程度降低;然而,LINE-1 的甲基化在人相邻正常的肠黏液膜中起着关键的作用,此项发现对于结肠癌的发展进程有着重要的影响<sup>[17]</sup>。

**3.4 LINE-1 的低甲基化对肝细胞癌的影响** 在 HARADA 等<sup>[18]</sup>的报道中显示,在 LINE-1 低甲基化的肝细胞癌中周期蛋白依赖性激酶 CDK6 表达量明显升高,这说明 LINE-1 的低甲基化通过对细胞周期的调控,增大肝细胞癌的发病风险。ZHU 等<sup>[19]</sup>认为,在肝细胞癌中 LINE-1 的低甲基化通过致癌基因 c-MET 的激活,对肝细胞癌预后的总生存数和无病存活数产生影响,这与肝细胞癌的发病进展有一定的联系。此外,有研究显示,LINE-1 上 ORF1 蛋白可以促进 HepG2 细胞增殖并且可以减少化疗药物的细胞毒性<sup>[20]</sup>。而且,新的 LINE-1 逆转录转座子能抑制大肠癌肿瘤突变蛋白(MCC),并且激活肝细胞癌中的肿瘤发生抑制因子 ST18<sup>[21]</sup>。综上所述,LINE-1 的低甲基化有可能作为肝细胞癌诊断及预后的一个生物标记。

**3.5 LINE-1 的低甲基化对其他癌症的影响** 在预测妊娠滋养细胞瘤及葡萄胎方面,LINE-1 的部分低甲基化发生在恶性转化出现之前,LINE-1 可能是一个有前景的生物标记<sup>[22]</sup>。在乳腺癌的研究进展当中,LINE-1 的低甲基化可能作为一个早期的诊断标准;而 Alu 家族在乳腺癌的癌症发病进展中可能作为一个晚期的诊断标准。细胞膜受体 HER2 丰富的亚型中,Alu 和 LINE-1 的显著低甲基化,这可能和特殊亚型的不稳定性有关<sup>[23]</sup>。此外,在肺癌、膀胱癌等的研究中,也发现了不同程度的 LINE-1 甲基化的降低,LINE-1 的甲基化降低间接反映了全基因组甲基化水平的降低,LINE-1 甲基化降低会造成致癌基因的过表达,从而加大了癌症的发病风险。

### 4 LINE-1 低甲基化与癌症的不良预后的关系

随着恶性肿瘤表观遗传学的发展,LINE-1 序列 5'端启动子区域的低甲基化状态与癌症的不良预后是密切相关的。有文献报道,在 95 例肝癌患者中,LINE-1 甲基化高组(甲基化程度大于 75.91%)患者的术后生存率和总生存率都明显高于 LINE-1 甲基化低组(甲基化程度小于或等于 75.91%)。在浸润性乳腺癌患者的 10 年随访中发现,LINE-1 的低甲基化与无病生存时间无关。在皮肤癌中,LINE-1 CpG2 和 CpG3 两个位点的低甲基化与恶性黑色素瘤的改善预

后有关,且 LINE-1 CpG3 的低甲基化与恶性黑色素瘤的改善预后关系更为显著。

LINE-1 低甲基化可增加 LINE-1 mRNA 表达,激活逆转录活性,因此抑制 LINE-1 逆转座可作为抗肿瘤药物研发的新思路。2006 年获批的一项专利显示,在治疗中利用 RNA 干扰技术降低反转录酶的表达水平,从而使肿瘤组织增殖减慢,并且诱导终末分化。研究者发现在高 LINE-1 转录活性的 Hela 细胞中,抗病毒药物核苷类似物(反转录酶抑制剂)司他夫定、齐多夫定、拉米夫定联合使用能有效抑制 LINE-1 的转录<sup>[24]</sup>。虽然这些研究目前只是临床前的试验阶段,但 LINE-1 与癌症发生发展的关系近些年来已经引起了科研工作者的兴趣,相信在未来的时间内抑制 LINE-1 活性药物会成为治疗癌症的福音。

## 参考文献

- [1] HANCKS D C, KAZAZIAN H H. Roles for retrotransposon insertions in human disease[J]. *Mob DNA*, 2016, 7(9):9-36.
- [2] SINZELLE L, IZSVÁK Z, IVICS Z. Molecular domestication of transposable elements: from detrimental parasites to useful host genes[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(6):1073-1093.
- [3] BELANCIO V P, HEDGES D J, DEININGER P. Mammalian non-LTR retrotransposons: for better or worse, in sickness and in health[J]. *Genome Res*, 2008, 18(3):343-358.
- [4] BECK C R, COLLIER P, MACFARLANE C, et al. LINE-1 retrotransposition activity in human genomes[J]. *Cell*, 2010, 141(7):1159-1170.
- [5] BABUSHOK D V, KAZAZIAN H H. Progress in understanding the biology of the human mutagen LINE-1[J]. *Hum Mutat*, 2007, 28(6):527-539.
- [6] GUO H, ZHU P, YAN L, et al. The DNA methylation landscape of human early embryos[J]. *Nature*, 2014, 511(7511):606-610.
- [7] RICHARDSON S R, DOUCET A J, KOPERA H C, et al. The influence of LINE-1 and SINE retrotransposons on mammalian genomes [J]. *Microbiology spectrum*, 2015, 3(2):MDNA3-0061-2014.
- [8] WISSING S, MONTANO M, GARCIA-PEREZ J L, et al. Endogenous APOBEC3B restricts LINE-1 retrotransposition in transformed cells and human embryonic stem cells [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(42):36427-36437.
- [9] RICE G I, BOND J, ASIPU A, et al. Mutations involved in Aicardi-Goutières syndrome implicate SAMHD1 as regulator of the innate immune response[J]. *Nat Genet*, 2009, 41(7):829-832.
- [10] ZHAO K, DU J, HAN X, et al. Modulation of LINE-1 and Alu/SVA retrotransposition by Aicardi-Goutières syndrome-related SAMHD1 [J]. *Cell Rep*, 2013, 4(6):1108-1115.
- [11] PORNTHANAKASEM W, KONGRUTTANACHOK N, PHUANGPHAIROJ C, et al. LINE-1 methylation status of endogenous DNA double-strand breaks[J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(11):3667-3675.
- [12] LIU L, CHEN X H, HUANG J, et al. NSSR1 promotes neuronal differentiation of mouse embryonic carcinoma P19 cells[J]. *Neuroreport*, 2004, 15(5):823-828.
- [13] HOSHIMOTO S, TAKEUCHI H, ONO S, et al. Genome-wide hypomethylation and specific tumor-related gene hypermethylation are associated with esophageal squamous cell carcinoma outcome[J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10(3):509-517.
- [14] ZHU J, LING Y, XU Y, et al. Elevated expression of MDR1 associated with Line-1 hypomethylation in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11):14392-14400.
- [15] CHANG H B, ZOU J Z, HE C, et al. Association between Long Interspersed Nuclear Element-1 Methylation and Relative Telomere Length in Wilms Tumor[J]. *Chin Med J*, 2015, 128(22):3055-3061.
- [16] TANG J T, WANG Z H, FANG J Y. Assessing the potential value of long interspersed element-1 hypomethylation in colorectal cancer: evidence from retrospective studies[J]. *Onco Targets Ther*, 2015(8):3265-3276.
- [17] ZHUO C, LI Q, WU Y, et al. LINE-1 hypomethylation in normal colon mucosa is associated with poor survival in Chinese patients with sporadic colon cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(27):23820-23836.
- [18] HARADA K, BABA Y, ISHIMOTO T, et al. LINE-1 methylation level and patient prognosis in a database of 208 hepatocellular carcinomas[J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(4):1280-1287.
- [19] ZHU C, UTSUNOMIYA T, IKEMOTO T, et al. Hypomethylation of long interspersed nuclear element-1 (LINE-1) is associated with poor prognosis via activation of c-MET in hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21(Suppl 4):S729-735.
- [20] FENG F, LU YY, ZHANG F, et al. Long interspersed nuclear element ORF-1 protein promotes proliferation and resistance to chemotherapy in hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(7):1068-1078.
- [21] SHUKLA R, UPTON K R, MUÑOZ-LOPEZ M, et al. Endogenous retrotransposition activates oncogenic pathways in hepatocellular carcinoma[J]. *Cell*, 2013, 153(1):101-111.
- [22] LERTKHACHONSUK R, PAIWATTANANUPANT K, TANTBIROJN P, et al. LINE-1 methylation patterns as a predictor of postmolar gestational trophoblastic neoplasia [J]. *Biomed Res Int*, 2015(2015):421747-421753.
- [23] PARK S Y, SEO A N, JUNG H Y, et al. Alu and LINE-1 hypomethylation is associated with HER2 enriched subtype of breast cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):e100429-e100437.
- [24] JONES R B, GARRISON K E, WONG J C, et al. Nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors differentially inhibit human LINE-1 retrotransposition [J]. *PLoS One*, 2008, 3(2):e1547-e1552.