

氧化应激引起的遗传变化和 DNA 甲基化改变在肿瘤发生中的作用

刘雄雄^{1,2,3} 李强^{1,2}

¹ (中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

² (中国科学院重离子辐射生物医学重点实验室 兰州 730000)

³ (中国科学院大学 北京 100049)

摘要 氧化应激不但可导致基因遗传变化,还可诱发表观遗传变化。氧化应激引起的遗传变化主要是活性氧(ROS)攻击DNA,造成DNA链断裂、碱基修饰、DNA-DNA交联和DNA-蛋白质交联等多种形式的DNA损伤,这些损伤在肿瘤发生起始阶段发挥重要作用。氧化应激引起的表观遗传变化中,一个重要的机制是DNA甲基化水平改变,主要表现在高甲基化引起基因转录抑制(如抑癌基因)和低甲基化诱导基因转录激活(如癌基因),DNA甲基化水平变化与肿瘤发生息息相关。本工作介绍了ROS诱导的氧化应激引起的遗传改变和DNA甲基化水平变化在肿瘤发生中的作用,并展望了肿瘤治疗的发展趋势。

关键词 肿瘤,氧化应激,遗传,表观遗传,DNA甲基化

中图分类号 Q691.5

活性氧(ROS)又称“氧自由基”或“自由基”,是需氧生物体内氧分子经单电子逐步还原形成的一类物质,包括过氧化氢(H₂O₂)、超氧阴离子(O₂^{·-})、羟自由基(·OH)等。生理水平的ROS作为信号分子,几乎在所有生理功能的调控中都发挥重要作用,特别是在细胞内信号转导方面。由于其高活泼性,过量的活性氧可引起机体多种分子的氧化损伤,如DNA、蛋白质和不饱和脂肪酸等。同时机体自身也有一套完整的抗氧化防御系统,通过超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等酶的作用,促进过氧化氢和脂质过氧化物还原,还可消除体内超氧离子,有效的阻断并防止因自由基链式反应造成的氧化损伤,从而保护细胞膜和组织免受损害。但是当机体遭受有害刺激,如辐射(X或γ射线,α粒子和紫外线等)、药物处理或者自身免疫反应和炎症时,细胞内活性氧产生过多,细胞内的氧化程度超出其对氧化物的清除能力,氧化系统和抗氧化系统失衡,机体会出现“氧化应激态”。此时,ROS会严重损伤生物大分子的结构和功能,并最终诱导细胞突变和恶性转化。

一般来说,肿瘤的发生是细胞中多种分子改变积累的复杂过程,主要经历3个阶段:即起始,促

进及发展阶段。任一阶段的基因表达改变或蛋白异常修饰,都可能会引发肿瘤。一些有关细胞改变的机理已被深入研究,仍有诸多关于肿瘤发生的分子机制尚待探索。氧化应激引起的遗传改变和DNA甲基化变化在肿瘤发生的起始阶段和肿瘤转化中起着重要的作用^[1]。因此,探索这些分子机制,对肿瘤的诊断和治疗具有重要意义。

1 氧化应激引起的遗传变化在肿瘤发生中的作用

细胞中过量的ROS不但可以直接攻击DNA碱基形成多种多样的修饰碱基,诱发基因突变,同时也能作用于DNA脱氧核苷酸骨架及其他细胞成分,通过链式反应,形成更多的活性基团,继续攻击DNA,造成DNA链断裂、碱基修饰、DNA-DNA交联和DNA-蛋白质交联等多种形式的DNA损伤,最终可能导致肿瘤发生^[2]。大部分DNA碱基修饰位于脱氧鸟嘌呤第8个碳原子上,形成8-OHdG。8-OHdG的形成可使被修饰的鸟嘌呤被胸腺嘧啶所取代,发生基因突变,导致DNA复制过程中发生G-C→T-A碱基错误配对。Hoffmann等^[3]研究发现,肿瘤细胞中8-OHdG水平明显高于正常细胞,因此

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(973计划,2010CB834203)、国家自然科学基金重点项目(10835011)、国家自然科学基金项目(10905080,11075191)和中国科学院“西部之光”项目(Y162100XB0,Y1621130SJ0)资助

第一作者:刘雄雄,女,1984年9月出生,2011年7月于西北师范大学获理学硕士学位,现生物物理学在读博士,主要从事辐射生物学基础研究

通讯作者:李强,博士生导师,研究员,E-mail:liqiang@impcas.ac.cn

收稿日期:初稿 2013-04-23,修回 2013-05-28

人们将其视为 DNA 氧化损伤的生物标志物。8-OHdG 虽然不能直接使细胞致死,但可造成邻近 DNA 碱基的异常修饰,促进基因组的不稳定性和肿瘤细胞转移。正常情况下,单碱基切除修复酶 OGG1 和 MUTYH,特异性的识别并切除与胞嘧啶或腺嘌呤配对的 8-OHdG,修复 DNA 的氧化损伤。此类加合物(如 8-OHdG)如果逃避 DNA 的自身修复,就可能致基因突变(主要是点突变);当突变发生在肿瘤相关基因如 Ras 癌基因、p53 肿瘤抑制基因,则有可能引发肿瘤^[4-7]。在大约 30%的肺癌、皮肤癌、肝癌、膀胱癌及结肠癌患者细胞中检测到了 Ras 基因突变(膜结合的 G 蛋白,主要作用是调节细胞增殖和抑制细胞凋亡)^[8]。然而,在 50%以上的肿瘤患者中检测到 p53 基因突变。Barbara 等^[9]对结肠发育异常及结直肠癌患者的研究发现,氧化应激, DNA 损伤和 p53 突变之间有直接的关系。一般来说, p53 的作用在于调节细胞周期并作为氧化还原反应的转录因子(即调节细胞中 ROS 的产生以及 ROS 介导的细胞凋亡)。ROS 介导的转录后修饰可以抑制 p53 功能,同时激活端粒酶,金属蛋白酶类和甲基化转移酶^[10-11]。在正常细胞增殖过程中, p53 可诱导细胞程序化凋亡,而在 p53 突变或缺失的肿瘤细胞中细胞增殖与细胞凋亡失去控制,向无限繁殖方向发展^[12]。

电离辐射是导致细胞产生氧化应激态的一个主要因素,它可通过能量沉积直接作用损伤 DNA,也

可通过间接作用诱导基因改变使基因组不稳定性增加。Limon-Pacheco 等^[13]发现,对前列腺癌和宫颈癌患者照射后,会使其直肠癌和膀胱癌发生的几率增加。细胞会随着电离辐射时间的延长积累 ROS,导致 DNA 损伤,改变细胞增殖状态,使其恶性转化。本实验室研究人员利用不同剂量重离子和 X 射线照射 HL-7702 细胞,结果发现,在照射 30 min 后,ROS 的产生不断积累,12 h 时达到最大,此时细胞出现氧化应激态。更重要的是,电离辐射引起的 ROS 可诱导 PI3K, MAPK, JNK 及 p38 信号途径并抑制络氨酸蛋白激酶的活性,而这些信号通路在控制细胞增殖和转移中起着相当重要的作用^[14-15]。

氧化应激引起的 DNA 损伤包括单链断裂(SSBs)、碱基修饰、双链断裂(DSBs)以及团簇 DNA 损伤(OCDLs)。然而, DNA 受到损伤后的第一道防御系统是细胞内部的非酶自由基清除剂如谷胱甘肽(GSH)及维生素 C、E 等;抗氧化酶如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)及特异的 DNA 修复途径。正常情况下, DNA 损伤是通过碱基切除修复(BER)或核苷酸切除修复(NER)途径来完成,单链 DNA 损伤修复要比团簇 DNA 损伤修复容易的多^[16]。DNA 损伤如果没有得到修复,细胞将会通过凋亡途径死亡,或者基因组不稳定性增加(肿瘤发生的起始阶段),最终导致肿瘤发生。图 1 展示了氧化应激引起的 DNA 损伤与肿瘤发生之间的关系。

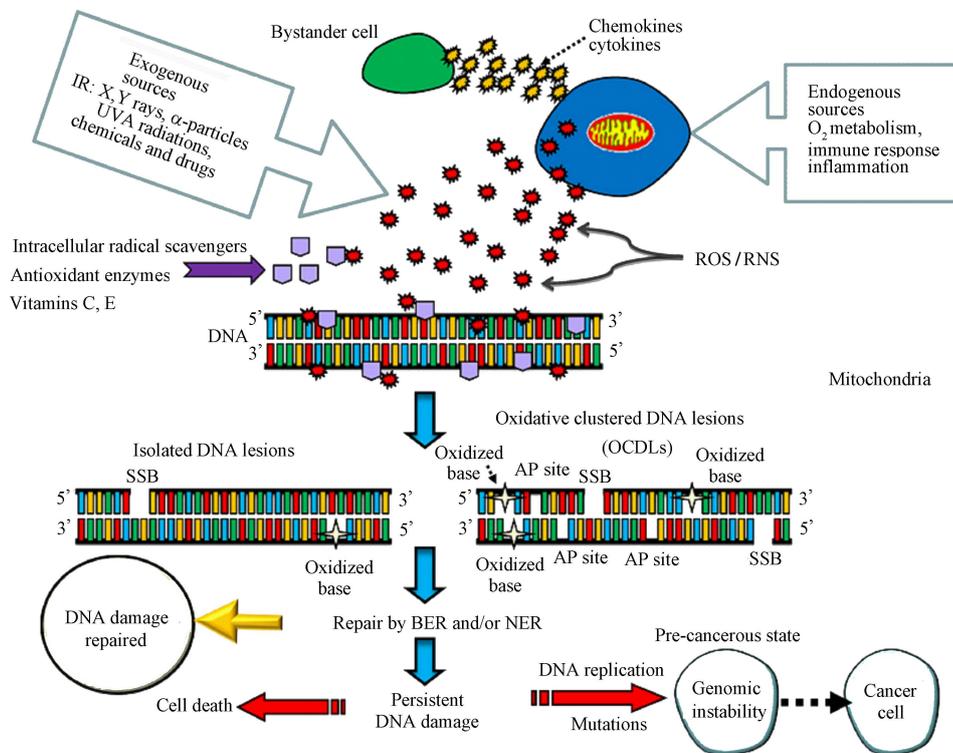


图 1 氧化应激引起的 DNA 损伤与肿瘤发生之间的关系^[7]
 Fig.1 Relationship between oxidative stress-induced DNA lesions and tumorigenesis^[7]

ROS 诱导的 DNA 损伤会削弱 DNA 修复系统。复杂的 DNA 损伤, 比如 DSBs 和 OCDLs 都是辐射诱导氧化损伤的标志物^[17]。Peddi 等^[15]用 X 射线照射人乳腺癌细胞, 发现 OCDLs 的积累可使基因组不稳定性明显增加。总之, 一旦 DNA 损伤不能得到修复, 就会在肿瘤发生中起作用。

越来越多的证据表明, 除核 DNA (nDNA) 外, 线粒体 DNA (mtDNA) 的氧化损伤也会诱发肿瘤发生。事实上, 线粒体基因编码复合体 I、III、IV 和 V 的突变, 以及 mtDNA 区域性的改变在许多人类肿瘤中都已证实^[18]。一般来说, 由于 mtDNA 缺乏组蛋白保护, 损伤修复能力非常有限, 且 mtDNA 位于呼吸链附近, 因此 mtDNA 比 nDNA 更易受到 ROS 攻击, 引起氧化损伤^[19]。mtDNA 损伤后会直接影响编码呼吸链蛋白的基因表达, 导致呼吸链功能障碍, 产生更多的 ROS 再次攻击 mtDNA。这样, 在 mtDNA 与 ROS 之间产生恶性反馈循环。Valko 等^[8]在研究 nDNA 与 mtDNA 关系时发现, 异常的 mtDNA 片段可以插入到 nDNA 中激活癌基因。综上所述, 无论是 nDNA 还是 mtDNA 在受到 ROS 氧化损伤后都可使细胞癌变的可能性增大。

2 氧化应激引起的 DNA 甲基化变化在肿瘤发生中的作用

表观遗传 (Epigenetics) 是指 DNA 序列不发生变化, 但基因表达却发生了可遗传的改变。在表观遗传中, 一个重要的机制是 DNA 甲基化。DNA 甲基化是指 DNA 复制后, 经 DNA 甲基转移酶 (Dnmt) 催化, 将 S-腺苷酰-L-甲硫氨酸 (SAM) 上的甲基基团连接到 DNA 分子腺嘌呤碱基或胞嘧啶碱基上, 进行 DNA 修饰的过程^[20]。DNA 甲基化参与基因表达控制, 具有组织特异性和基因特异性。在正常细胞中, 利用肿瘤抑制基因启动子区域的低甲基化, 某些重复序列如 LINE1 元件和 Alu 元件的高甲基化来维持基因组的正常状态^[21]。

多项研究证实基因组整体低甲基化往往伴随着局部 DNA 的高甲基化及该区域基因表达沉默, 因为 DNA 链的破坏可能导致 DNA 甲基转移酶对某些特异位点的高亲和性。在脊椎动物中, CpG 二核苷酸是 DNA 甲基化的主要位点。CpG 常成簇存在, 人们将基因组中富含 CpG 的一段 DNA 称为 CpG 岛 (CpG island), 通常长度在 1-2 kb 左右。CpG 岛常位于转录调控区附近, DNA 甲基化的研究与 CpG 岛的研究密不可分^[22]。

体内甲基化状态有 3 种^[23]: 持续的低甲基化状态, 如持家基因; 诱导的去甲基化状态, 如处于发

育阶段的一些基因; 高甲基化状态, 如女性的一条缢缩的 X 染色体。DNA 甲基化主要是通过 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferase, Dnmt) 催化完成。在哺乳动物细胞中, Dnmts 包括 Dnmt1、Dnmt2、Dnmt3a、Dnmt3b 及 Dnmt3L。Dnmt2 和 Dnmt3L 由于在氨基末端调节区域 (Dnmt2) 和催化区域 (Dnmt3L) 缺乏酶功能, 所以不具有酶活性^[24]。而 Dnmt1 可通过识别半甲基化的 DNA 来维持 DNA 甲基化, Dnmt3a 和 3b 可结合到半甲基化和未甲基化的 CpG 位点, 将甲基转移到未被甲基化的胞嘧啶上, 因而称之为从头甲基化转移酶^[25]。总之, 这些酶都是催化甲基从 S-腺苷甲硫氨酸转移到基因组 CpG 位点胞嘧啶的 5' 羰基上, 促进启动子高甲基化, 也可保证在细胞分裂和分化的过程中, 将甲基化基因遗传给后代, 在哺乳动物生殖细胞发育时期和植入前胚胎期, 其基因组的甲基化模式由起初大规模的去甲基化到接下来的再甲基化编程, 从而产生具有发育潜能的细胞。然而, 人正常细胞中甲基化转移酶的异常作用可使细胞获得向肿瘤转化的潜能。

肿瘤发生早、晚期 Dnmt1 表达增加, 表明 DNA 异常甲基化诱导了肿瘤的发生。除此之外, Dnmt3b 异常表达与染色体畸变有关^[22]。Leu 等^[25]利用 RNA 干扰技术研究发现, 在癌细胞中所有甲基化转移酶都协同性的过度表达 (尤其是 Dnmt1 和 Dnmt3b) 来维持 DNA 甲基化和基因沉默。研究发现, 利用不同剂量 X 射线照射 HL-7702 细胞, 远后细胞 DNA 甲基转移酶表达水平发生改变。然而, 到底是什么原因导致正常细胞 DNA 甲基化状态发生变化, 进而向恶性细胞转化呢? 据目前报道^[21], 电离辐射引起的细胞氧化应激态是细胞基因组 DNA 甲基化异常的一个重要原因。

氧化应激引起的 DNA 损伤不仅干涉了 DNA 作为甲基化转移酶的底物, 而且也降低了 DNA 碱基对甲基的接受能力。Veck 等^[26]和 Selaru 等^[21]发现, 诸多癌细胞 (乳腺癌和结肠癌等) 中都存在基因组整体水平低甲基化和某些特殊位点如抑癌基因启动子区域的高甲基化, 这些研究结果也可以说明 DNA 甲基化的异常对于正常细胞的恶性转化以及癌症的发生都起着至关重要的作用。

ROS 的积累与 DNA 甲基化模式相关, 特别是·OH 自由基引起的 DNA 损伤 (如 8-羟基-2-脱氧鸟苷、8-羟基鸟苷、8-OHdG^[4]和 O⁶-甲基鸟嘌呤^[27]) 会影响 DNA 作为甲基转移酶 (Dnmts) 的底物, 从而使基因组整体甲基化水平降低^[6]。而且, CpG 二核苷酸序列 8-OHdG 的存在严重抑制了邻近胞嘧啶残基的甲基化, 也干扰了核酸内切酶对 DNA 的

切割能力^[28]。一系列的实验表明^[29-31]，在 HpaII 甲基化酶识别位点 (CCGG)，用鸟嘌呤 G 代替 8-OHdG 可抑制甲基化转移酶与 DNA 的结合，从而降低邻近胞嘧啶的甲基化。O⁶-甲基鸟嘌呤可自发的与胸腺嘧啶配对，促使 DNA 的低甲基化。除此之外，ROS 可诱导肿瘤抑制基因启动子区域异常的高甲基化，从而使细胞恶性转化。例如，用 H₂O₂ 处理肝癌细胞，可使 Snail (一种下调 E-钙黏蛋白表达的转录因子，它可募集组蛋白去乙酰化酶 1 和 DNA 甲基化转移酶 1) 的表达增加，从而诱导细胞 E-钙黏蛋白基因启动子区域高甲基化^[32]。所以说，ROS 介导的 DNA 甲基化在肿瘤发生中是把双刃剑，一方面，肿瘤的形成往往伴随着抑癌基因的高甲基化，基因组整体水平的低甲基化；另一方面，DNA 甲基化可使基因表达模式改变，基因组稳定性降低。

20 多年前 Kirk 等^[33]研究发现，人类肿瘤细胞和正常细胞 DNA 甲基化水平存在差异。从此，人们对肿瘤细胞中表观遗传的变化做了大量研究，如沉默肿瘤抑制基因，激活癌基因使 DNA 修复缺失

等^[34]。DNA 甲基化作为最广泛研究的表观遗传机制，在基因表达调节和染色体结构变化中起着重要的作用。甲基化胞嘧啶在基因组中大约占整个核苷酸数目的 1%，占 CpG 二核苷酸数目的 75%。大约 50%–60% 基因启动子位于 CpG 位点内，估计人类基因组包括大约 29 000 个这样的 CpG 序列^[5,35]。

肿瘤细胞中 DNA 甲基化改变的特点^[36]：区域性 CpG 位点的高甲基化和整体 DNA 的低甲基化。肿瘤抑制基因 CpG 岛的高甲基化在肿瘤细胞中普遍存在，该基因的高甲基化会使其转录失活从而失去正常功能。同时，肿瘤细胞基因组整体水平、重复序列 (LINE1、Alu 元件) 存在低甲基化现象，一些组织特异性的印迹基因 DNA 也会失去甲基化。研究发现 (数据尚未发表)，利用重离子或 X 射线辐射正常细胞，会导致其远后基因组整体甲基化水平降低，微卫星位点出现低甲基化现象，这可能是由于电离辐射诱导的氧化应激使基因组不稳定性增加，细胞发生恶性转化。图 2 为正常细胞与肿瘤细胞中甲基化变化模式比较。

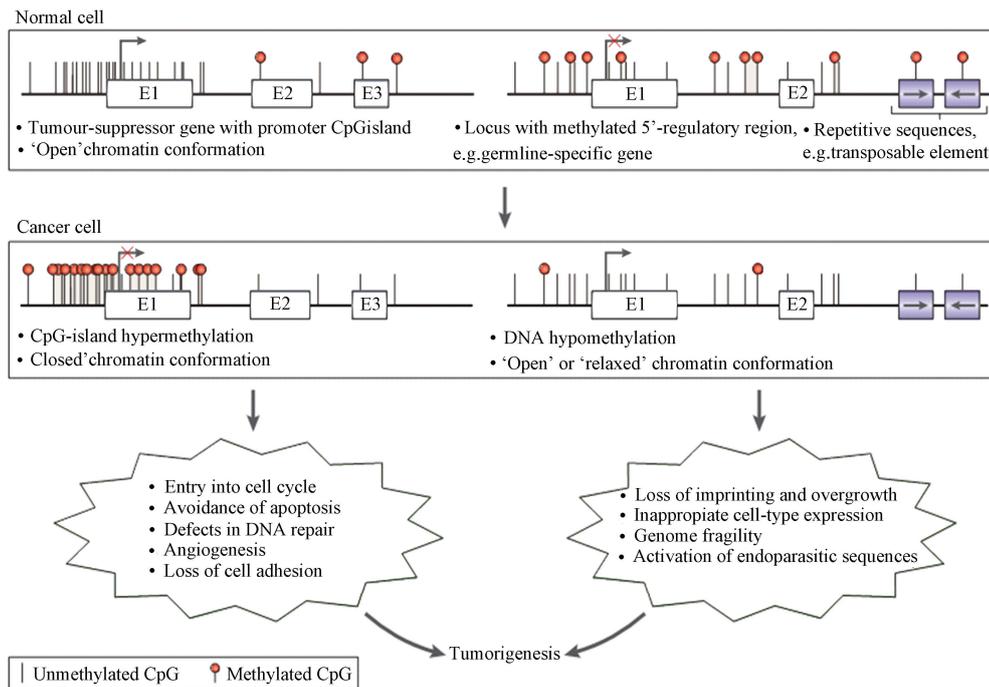


图 2 正常细胞与肿瘤细胞中甲基化变化模式比较^[37]
 Fig.2 Comparison between methylation changes in normal and tumor cells^[37]

在氧化应激引起的肿瘤发生中，肿瘤抑制基因是最为常见的甲基化异常位点。例如，当 ROS 积累时，肿瘤抑制基因 p15^{INK4B}、p16^{INK4A}、CDKN2A、RB、VHL、BRAC1 及 E-钙黏蛋白等启动子区域 CpG 位点均可发生高甲基化，从而使基因表达沉

默^[38-40]。Esteller 等^[37]和 Karpinski 等^[41]研究发现，MHL1 (错配修复基因) 和 MGMT (负责去除 O⁶-甲基化鸟嘌呤复合物) 基因启动子区域高甲基化引起基因沉默，增加了人结直肠癌的发生率。Paluszczak 等^[42]研究表明，68% 非小细胞肺癌患者

在基因 p16、RASSF1A、FHIT、H-cadherin 和 RAR β 中, 至少有一个基因启动子区域存在甲基化异常状态。此外, 子宫内膜癌患者细胞中检测到异常 DNA 高甲基化 (CDH13、HSPA2、MHL1、RASSF1A 和 SOCS2)。而在宫颈癌患者中, 可根据三个相关基因 (DAPK1、RAR β 和 TWIST1) 的甲基化水平来判断癌症发展时期, 其特异性和敏感性可达到 95%^[42]。总体而言, RB、p16、VHL、hMLH1、E-钙粘蛋白 和 BRAC1 的甲基化水平已作为肿瘤发生的诊断工具, 用来检测多种癌症包括胃癌、结肠癌、肝癌、乳腺癌、子宫癌、肾癌等的发生。

此外, 基因组整体低甲基化也被广泛用在肿瘤的诊断中。事实上, 几乎所有的肿瘤细胞与正常细胞相比都存在基因组整体甲基化水平降低的现象, 到目前为止, 还没有探明基因组整体低甲基化和局部 DNA 高甲基化之间的关系。但是, 基因组整体低甲基化和癌基因的过度表达引起的染色体不稳定性之间存在很大的相关性^[43]。反过来说, DNA 低甲基化引起的染色体不稳定性也会增加基因的突变率。一般地, 基因组 DNA 低甲基化主要是由于重复序列甲基化水平降低, 由于非重复序列只占人类基因组不到 5%。人们认为氧化应激会引起重复序列 (被定义为富含 CpG 的基因非编码序列, 包括微卫星 SAT2 和 SAT3; 散在重复序列 LINEs、SINEs 和 LTRs) DNA 甲基化异常^[44-45], 这与我们的研究结果一致。正常情况下, 富含 CpG 的 SAT2 和 SAT3 基因甲基化水平很高, 可促进异染色质的形成。如果这些位点的甲基化水平降低可能会导致肿瘤发生, Miyakura 等^[46]推测, 该基因甲基化水平改变可能与 ROS 介导的氧化应激有关。

许多研究者探索抗氧化酶 (代谢 ROS) 基因的表达, 目的是寻求该酶表达水平与肿瘤发生病理学之间的关系。已证实, 锰超氧化物歧化酶 (MnSOD) 基因表达变化与人胰腺癌细胞, 乳腺癌细胞的增殖有关^[47-48], 也就是说, 抑制抗氧化酶基因的表达与氧化应激引起的启动子区高甲基化所致的基因沉默具有正相关性。

由于表观遗传的改变是可逆的, 所以可通过改变表观遗传调控因子来阻止肿瘤的发生或治疗人类癌症。DNA 甲基化作为一种非常有前景的疾病诊断工具, 与其他基因检测及蛋白组学方法相比具有以下优势^[49-50]: (1) DNA 在提取和处理过程比较稳定; (2) DNA 甲基化测定值可与绝对参照值相比 (例如以未甲基化的或完全甲基化的 DNA 为参照), 结果更为可靠; (3) 肿瘤细胞与正常细胞 DNA 甲基化模式有很大区别, 这使疾病检测更具敏感性和特

异性; (4) DNA 甲基化具有可遗传性, 在肿瘤发生中, 一旦某基因发生高甲基化, 那么在细胞增殖的过程中该甲基化信号可持续存在。DNA 甲基化状态的改变是致癌的一个关键因素, 把癌基因组学与表观遗传学的研究结合起来, 是癌症治疗研究的发展趋势。

综上所述, ROS 引起的氧化应激会导致基因表观遗传变化, 这与肿瘤的发生密不可分。由于表观遗传引起的细胞改变具有可逆性, 表观疗法在肿瘤的治疗中具有非常诱人的前景, 从此入手很可能会找到治疗人类肿瘤的有效途径。

3 结论和展望

肿瘤发生是一个相当复杂、伴随多种分子改变的过程。氧化应激可导致细胞遗传改变和 DNA 甲基化水平变化最终引发肿瘤。ROS 引起的遗传变化包括 DNA 碱基修饰, DNA 链损伤, DNA-蛋白交联等, 这些都可增加基因突变率。此外, ROS 引起的 DNA 甲基化改变可导致肿瘤抑制基因的沉默或癌基因的激活, 从而促进细胞恶性转化。由于表观遗传改变是一个可逆的过程, 而且 DNA 甲基化可作为肿瘤诊断与治疗的生物标志物, 所以本实验室研究人员正在探索氧化应激引起 DNA 甲基化的分子机制, 有望找到一条治疗人类肿瘤的有效途径。同时, 我们正在开展重离子治癌研究工作, 期待利用重离子辐射优越的物理学及生物学特性将射线能量集中沉积在肿瘤靶区部位, 降低正常组织接受的剂量, 最大程度地减小正常组织的辐射损伤, 并寻求结合生物治疗手段, 提高肿瘤治疗的疗效。相信通过多方面的努力, 在不久的将来, 可以有效控制与治疗人类肿瘤。

参考文献

- 1 Ziech D, Franco R, Pappa A, *et al.* Reactive oxygen species (ROS)-induced genetic and epigenetic alterations in human carcinogenesis [J]. *Mut Res*, 2011, **711**(1-2): 167-173
- 2 Aypar U, Morgan W F, Baulch J E. Radiation-induced epigenetic alterations after low and high LET irradiations [J]. *Mut Res*, 2011, **707**(1-2): 24-33
- 3 Hoffmann M J, Schulz W A. Causes and consequences of DNA hypomethylation in human cancer [J]. *Biochem Cell Biol*, 2005, **83**(3): 296-321
- 4 Van De Voorde L, Speeckaert R, Van Gestel D, *et al.* DNA methylation-based biomarkers in serum of patients with

- breast cancer [J]. *Mutat Res*, 2012, **751**(2): 304-325
- 5 Donkena K V, Young C Y, Tindall D J. Oxidative stress and DNA methylation in prostate cancer [J]. *Obstet Gynecol Int*, **2010**: 302051
 - 6 Franco R, Schoneveld O, Georgakilas A G, *et al.* Oxidative stress DNA methylation and carcinogenesis [J]. *Cancer Lett*, 2008, **266**(1): 6-11
 - 7 Kryston T B, Georgiev A B, Pissis P, *et al.* Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis [J]. *Mut Res*, 2011, **711**(1-2): 193-201
 - 8 Valko M, Rhodes C J, Moncol J, *et al.* Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer [J]. *Chem Biol Interact*, 2006, **160**(1): 1-40
 - 9 Barbara T, Alicja W, Justyna J, *et al.* Involvement of oxidatively damaged DNA and repair in cancer development and aging [J]. *Am J Transl Res*, 2010, **2**(3): 254-284
 - 10 Bartsch H, Nair J. Chronic inflammation and oxidative stress in the genesis and perpetuation of cancer: role of lipid peroxidation, DNA damage, and repair [J]. *Langenbecks Arch Surg*, 2006, **391**(5): 499-510
 - 11 Ralph S J, Rodriguez-Enriquez S, Neuzil J, *et al.* The causes of cancer revisited: "mitochondrial malignancy" and ROS-induced oncogenic transformation-why mitochondria are targets for cancer therapy [J]. *Mol Aspects Med*, 2010, **31**(2): 145-170
 - 12 Lebedeva M A, Eaton J S, Shadel G S. Loss of p53 causes mitochondrial DNA depletion and altered mitochondrial reactive oxygen species homeostasis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, **1787**(5): 328-334
 - 13 Limon-Pacheco J, Gonsebatt M E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress [J]. *Mut Res*, 2009, **674**(1-2): 137-147
 - 14 Teramo A, Gattazzo C, Passeri F, *et al.* Intrinsic and extrinsic mechanisms contribute to maintain the JAK/STAT pathway aberrantly activated in T-type large granular lymphocyte leukemia [J]. *Blood*, 2013, **121**(19): 3843-3854
 - 15 Peddi P, Francisco D C, Cecil A M, *et al.* Processing of clustered DNA damage in human breast cancer cells MCF-7 with partial DNA-PKcs deficiency [J]. *Cancer Lett*, 2008, **269**(1): 174-183
 - 16 Radak Z, Boldogh I. 8-Oxo-7, 8-dihydroguanine: links to gene expression, aging, and defense against oxidative stress [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, **49**(4): 587-596
 - 17 Melanie G, Catherine L, Terry J, *et al.* Processing of clustered DNA damage generates additional double-strand breaks in mammalian cells post-irradiation [J]. *Nucl Acids Res*, 2004, **32**(4): 1602-1609
 - 18 Ayala-Peña S. Role of oxidative DNA damage in mitochondrial dysfunction and Huntington's disease pathogenesis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, **62**: 102-110.
 - 19 周鑫, 王振华, 张红. 电离辐射引起的线粒体 DNA 损伤及突变研究进展[J]. *原子核物理评论*, 2012, **29**(4): 399-405
ZHOU Xin, WANG Zhenhua, ZHANG Hong. Current study on ionizing radiation-induced mitochondrial DNA damage and mutations [J]. *Nucl Phys Rev*, 2012, **29**(4): 399-405
 - 20 Ordovas J M, Smith C E. Epigenetics and cardiovascular disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2010, **7**(9): 510-519
 - 21 Selaru F M, David S, Meltzer S J, *et al.* Epigenetic events in gastrointestinal cancer [J]. *Am J Gastroenterol*, 2009, **104**(8): 1910-1912
 - 22 Amatu A, Sartore-Bianchi A, Moutinho C, *et al.* Promoter CpG island hypermethylation of the DNA repair enzyme mgmt predicts clinical response to dacarbazine in a phase ii study for metastatic colorectal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, **19**(8): 2265-2272
 - 23 Gendrel A V, Apedaile A, Coker H, *et al.* Smchd1-dependent and-independent pathways determine developmental dynamics of CpG island methylation on the inactive X chromosome [J]. *Dev Cell*, 2012, **23**(2): 265-279
 - 24 Vertino P M, Coll J M, Applegren N, *et al.* DNMT1 is a component of a multiprotein DNA replication complex [J]. *Cell Cycle*, 2002, **1**(6): 416-423
 - 25 Leu Y W, Shi H, Wei S H, *et al.* Double RNA interference of DNMT3b and DNMT1 enhances DNA demethylation and gene reactivation [J]. *Cancer Res*, 2003, **63**(19): 6110-6115
 - 26 Veeck J, Esteller M. Breast cancer epigenetics: from DNA methylation to microRNAs [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2010, **15**(1): 5-17

- 27 Lalezari S, Chou A P, Tran A, *et al.* Combined analysis of O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase protein expression and promoter methylation provides optimized prognostication of glioblastoma outcome [J]. *Neuro Oncol*, 2013, **15**(3): 370-381
- 28 Wimmer K. Combined restriction landmark genomic scanning and virtual genome scans identify a novel human homeobox gene, ALX3, that is hypermethylated in neuroblastoma [J]. *Genes Chromosom Cancer*, 2002, **33**: 285-294
- 29 Colaneri A, Staffa N, Fargo D C, *et al.* Expanded methyl-sensitive cut counting reveals hypomethylation as an epigenetic state that highlights functional sequences of the genome [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(23): 9715-9720
- 30 Kim J G, Takeshima H, Niwa T, *et al.* Comprehensive DNA methylation and extensive mutation analyses reveal an association between the CpG island methylator phenotype and oncogenic mutations in gastric cancers [J]. *Cancer Lett*, 2013, **330**(1): 33-40
- 31 Tapp H S, Commane D M, Bradburn D M, *et al.* Nutritional factors and gender influence age-related DNA methylation in the human rectal mucosa [J]. *Aging Cell*, 2013, **12**(1): 148-155
- 32 Lim S O, Gu J M, Kim M S, *et al.* Epigenetic changes induced by reactive oxygen species in hepatocellular carcinoma: methylation of the E-cadherin promoter [J]. *Gastroenterology*, 2008, **135**(6): 2128-2140
- 33 Kirk H, Cefalu W T, Ribnicky D, *et al.* Botanicals as epigenetic modulators for mechanisms contributing to development of metabolic syndrome. *Metabolism: clinical and experimental* [J]. *Metabolism*, 2008, **57**(7 Suppl 1): 16-23
- 34 Herceg Z. Epigenetics and cancer: towards an evaluation of the impact of environmental and dietary factors [J]. *Mutagenesis*, 2007, **22**(2): 91-103
- 35 Hauser A T, Jung M. Targeting epigenetic mechanisms: potential of natural products in cancer chemoprevention [J]. *Planta Med*, 2008, **74**(13): 1593-1601
- 36 Park S Y, Yoo E J, Cho N Y. Comparison of CpG island hyper-methylation and repetitive DNA hypomethylation in premalignant stages of gastric cancer, stratified for *Helicobacter pylori* infection [J]. *Pathol*, 2009, **201**: 410-416
- 37 Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps [J]. *Nat Rev Genet*, 2007, **8**(4): 286-298
- 38 Waki T. Promoter methylation status of E-cadherin, hMLH1, and p16 genes in nonneoplastic gastric epithelia [J]. *Am J Pathol*, 2002, **161**: 399-403
- 39 Toyokuni A. Molecular mechanisms of oxidative stress-induced carcinogenesis: from epidemiology to oxygenomics [J]. *Iubm Life*, 2008, **60**: 441-447
- 40 Georgakilas A G, Aziz K, Ziech D, *et al.* BRCA1 involvement in toxicological responses and human cancer etiology [J]. *Toxicol Lett*, 2009, **188**(2): 77-83
- 41 Karpinski P, Walter M, Szmida E, *et al.* Intermediate-and low-methylation epigenotypes do not correspond to CpG island methylator phenotype (low and -zero) in colorectal cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2013, **22**(2): 201-218
- 42 Paluszczak J, Dubowska W B. Epigenetic diagnostics of cancer-the application of DNA methylation markers [J]. *J Appl Genet*, 2006, **47**: 365-375
- 43 Wilkerson M D, Yin X, Walter V, *et al.* Differential pathogenesis of lung adenocarcinoma subtypes involving sequence mutations, copy number, chromosomal instability, and methylation [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(5): e36530
- 44 Yan P S. Differential distribution of DNA methylation within the RASSF1A CpG island in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2003, **63**: 6178-6186
- 45 Muramoto H, Yagi S, Hirabayashi K, *et al.* Enrichment of short interspersed transposable elements to embryonic stem cell-specific hypomethylated gene regions [J]. *Genes Cells*, 2010, **15**(8): 855-865
- 46 Miyakura Y. Extensive methylation of hMLH1 promoter region predominates in proximal colon cancer with microsatellite instability [J]. *Gastroenterology*, 2001, **121**: 1300-1309
- 47 Sato N. Discovery of novel targets for aberrant methylation in pancreatic carcinoma using high-throughput microarrays [J]. *Cancer Res*, 2003, **63**: 3735-3742
- 48 Sturgeon S R, Balasubramanian R, Schairer C, *et al.* Detection of promoter methylation of tumor suppressor

- genes in serum DNA of breast cancer cases and benign breast disease controls [J]. *Epigenetics*, 2012, **7**(11): 1258-1267
- 49 Board R E, Knight L, Greystoke A, *et al.* DNA methylation in circulating tumor DNA as a biomarker for cancer [J]. *Biomark Insights*, 2007, **2**: 307-319
- 50 Gaudet F. Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation [J]. *Science*, 2003, **300**: 489-492

Role of genetic and DNA methylation alterations caused by oxidative stress in tumorigenesis

LIU Xiongxiang^{1,2,3} LI Qiang^{1,2}

¹(*Institute of Modern Physics, Chinese Academy of sciences, Lanzhou 730000, China*)

²(*Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Biology and Medicine of Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China*)

³(*University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

ABSTRACT Oxidative stress can initiate genetic and epigenetic alterations. Oxidative stress-induced genetic changes mainly involve that ROS attacks DNA, inducing various DNA changes like strand breaks, base modifications, DNA-DNA and DNA-protein cross linkages which are all strongly implicated in the initiation stage of tumorigenesis. In oxidative stress-induced epigenetic changes, one of the most important mechanisms is the change of DNA methylation levels: hypermethylation-induced transcriptional repression (in the case of tumor suppressor genes) or hypomethylation-induced activation (in the case of oncogenes), which is closely associated with tumorigenesis. In this paper, the current status of knowledge on the role of ROS-induced oxidative stress in altering the genetic and DNA methylation during tumorigenesis was introduced, and the developing tendency of tumor therapy was prospected.

KEYWORDS Tumor, Oxidative stress, Genetic, Epigenetic, DNA methylation

CLC Q691.5