

心血管疾病与 DNA 甲基化关系研究进展

李建涛, 荆晶, 陈韵岱

解放军总医院 心内科, 北京 100853

摘要: DNA 甲基化是一个长期、稳定的表观遗传修饰, 可以改变细胞核内 DNA 与转录装置的结合能力, 进而调节基因信息的表达。心血管疾病是危害人类健康的主要疾病, 其发生、发展机制仍不明确。本文讨论了 DNA 甲基化在动脉粥样硬化、高血压病、心力衰竭等疾病发生、发展方面的相关作用机制。

关键词: 甲基化; 动脉粥样硬化; 高血压; 心力衰竭

中图分类号: R 394 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2015)07-0748-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2015.07.028

网络出版时间: 2015-04-10 17:26

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20150410.1726.005.html

Advances in association of DNA methylation with cardiovascular disease

LI Jiantao, JING Jing, CHEN Yundai

Department of Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: CHEN Yundai. Email: cyundai301@126.com

Abstract: DNA methylation is a long-term and stable epigenetic modification of genes, which can regulate the expression of gene through changing the ability of DNA in combining with transcription apparatus. Cardiovascular diseases are the main diseases that endanger human's health, up to now the pathogenesis of cardiovascular diseases is still not clear. This review focuses on the role of DNA methylation in major cardiovascular diseases such as hypertension, coronary artery disease, heart failure and so on, which will help us to understand such diseases and will lead to new approaches to the prevention and clinical treatment of them.

Keywords: methylation; atherosclerosis; hypertension; heart failure

DNA 甲基化是一个长期、稳定、可逆的表观遗传修饰, 由哺乳动物基因序列中 CpG 岛胞嘧啶的 5' 碳原子和 1 个甲基基团共价结合形成^[1]。其可以改变细胞核内 DNA 与转录装置的结合能力, 进而调节基因信息的表达。在细胞中, DNA 甲基化在遗传印记、X 染色体失活及进化中起着至关重要的作用^[2-5]。心血管疾病是危害人类健康的主要疾病, 其发生、发展机制仍不明确, DNA 甲基化有助于我们进一步认识此类疾病。

1 全基因组甲基化和心血管疾病

研究证实, 全基因组甲基化与多种疾病的发生、发展密切相关^[6-7]。在动脉粥样硬化斑块形成过程中, 平滑肌细胞从静止状态转化为增殖状态, 生长因子过度表达, 这些特征和肿瘤组织很相似^[8-9]。有研究发现, 在人、大鼠和兔子的进展性斑块中全基因组均呈现低甲基化状态, 这种基因组低甲基化是否促进动脉粥样硬化的发展, 或者只是平滑肌细胞增殖的结果, 仍有待研究。目前认为, 粥样硬化斑块中不同的细胞可能各自呈现独特的甲基化方式。Lund 等^[10]将易于动脉粥样硬化的 Apoe^{-/-}小鼠中主动脉早期粥

样硬化组织与 C57BL/6 对照鼠中主动脉组织比较, 发现粥样硬化组织呈现显著的全基因低甲基化状态, 并且发现了其发生早于动脉任何粥样硬化的组织学证据。Sharma 等^[11]研究了 137 例造影证实的冠心病患者和 150 例健康人外周血淋巴细胞的基因组甲基化水平, 发现冠心病患者淋巴细胞基因组甲基化水平明显高于健康人。种群、测试的组织细胞不同, 可能是导致结果不同的原因。可以认为, 在癌症和粥样硬化疾病中, 异常 DNA 甲基化状态可能是此类疾病明确发生的前奏。

同型半胱氨酸血症是心血管疾病的一个生物学标记, 一些研究发现, 全基因甲基化状态与同型半胱氨酸血症相关^[12]。Castro 等^[13]的研究发现, 与对照组比较, 患有血管疾病并且血浆半胱氨酸水平较高的患者白细胞的全基因甲基化水平明显下降, 这些患者血浆、细胞内同型半胱氨酸的前体 S-腺苷同型半胱氨酸水平也明显升高, 后者是 DNA 甲基转移酶的强抑制剂^[14]。

长核苷酸元件(long interspersed nucleotide element 1, LINE-1)在基因组中高密度存在, 含有大量甲基化 CpG 岛, 研究证实其甲基化状态与全 DNA 甲基化明显相关^[15], 可以作为全基因组甲基化状态的替代标记。Baccarelli 等^[16]比较了缺血性心脏病患者和对照组全基因组 LINE-1 甲基化水平, 发现白细胞 LINE-1 低甲基化与缺血性心脏病明显相关, 在 63 个月的随访中, LINE-1 甲基化水平低的个体, 罹患缺血性心脏病的风险增加。然而相反的结果也有报道,

收稿日期: 2015-03-19

基金项目: 国家科技部支撑计划项目 (2011BAI11B14)

Supported by the National Key Technology R&D Program(2011BAI11B14)

作者简介: 李建涛, 男, 在读博士, 医师。研究方向: 相关基因甲基化与动脉粥样硬化病变进展。Email: qingkong791119@126.com

通信作者: 陈韵岱, 女, 博士, 主任医师, 主任。Email: cyundai301@126.com

Kim等^[17]利用Alu和Juxtacentromeric Satellite2两个高度甲基化的重复元件评价外周血白细胞全基因组甲基化水平,发现在新加坡华人种群中,这些重复元件的高甲基化状态与心血管疾病或其诱因因素明显相关。上述研究入选标准以及对照人群的基线特征不同,用以测量全DNA甲基化的检测技术也不相同,均可能会导致结果的差异。目前结果不一致的具体原因仍不明确。需要进一步研究来明确全基因组甲基化是否与心血管疾病互为因果。

2 特定基因DNA甲基化和心血管疾病

2.1 与动脉粥样硬化相关的DNA甲基化

体内、体外和流行病学研究均显示雌激素受体对心脏的保护作用。雌激素通过结合其特异性受体,提高一氧化氮合酶基因表达,抑制血管平滑肌细胞的迁移和增殖,同时可以促进肝高密度脂蛋白合成,抑制低密度脂蛋白合成,降低循环中胆固醇水平,从而发挥保护心血管的作用,雌激素受体(estrogen receptor, ESR)属于核受体家族,其中雌激素受体 α (ESR1)和雌激素受体 β (ESR2)在心血管疾病中的作用已广泛研究。Post等^[18]发现,与近端正常的冠脉组织相比,冠状动脉粥样硬化斑块组织ESR1启动子区域的甲基化水平明显升高。而且,在从人主动脉分离并培养的平滑肌细胞中发现,在其增殖期细胞中ESR1基因DNA甲基化水平也明显增高^[19]。Kim等^[20]发现,在人动脉粥样硬化斑块中ESR2基因甲基化水平明显增高,同时ESR2表达下降。Zaina等^[21]高通量微阵列序列技术比较了人动脉粥样硬化组织和正常动脉组织所有的基因甲基化水平,发现粥样硬化组织许多基因位点呈高甲基化水平,给出了粥样硬化组织高甲基化基因位点图谱。

单羧酸转运蛋白(monocarboxylate transporters, MCTs)葡萄糖无氧酵解生成的乳酸转运出细胞,从而避免乳酸堆积导致细胞损伤。MCTs的减少或活性降低参与了动脉粥样硬化病变的形成。Zhu等^[22]研究发现,与收缩型平滑肌细胞相比,增殖型平滑肌细胞内MCT3水平及其参与乳酸转运功能明显下降,MCT3第二外显子区CpG岛的甲基化水平与动脉粥样硬化病变的数量和程度明显相关,将增殖型平滑肌细胞与去甲基化试剂共培养后,其MCT3的表达水平及乳酸转运功能得以恢复,siRNA介导的特异性MCT3基因敲除可以明显刺激平滑肌细胞的增殖。提示MCT3基因甲基化通过抑制MCT3基因的表达,降低单羧酸的转运功能,进而调节平滑肌细胞的功能并参与动脉粥样硬化的发生、发展。脂质过氧化酶15-lipoxygenase(ALOX15)在动脉粥样硬化斑块中显著表达,其基因启动子区域CpG岛甲基化水平明显降低,因此导致ALOX15基因表达明显升高。Liu等^[23]通过体外培养人单核细胞、T淋巴细胞及肿瘤细胞证实了该启动子甲基化对ALOX15基因翻译的调控作用。

2.2 与冠心病相关的DNA甲基化

凝血因子VII(Coagulation factor VII, F VII)在凝血通路中起关键作用,研究证实血液中F VII浓度升高与冠心病风险增加明显相关^[24-25],有研究发现,与非冠心病对照组相比,冠心病患者外周血单核细胞F VII基因启动子甲基化水平明显降低,血浆F VII的

浓度明显升高,且这种负相关只有F7基因在多态性位点402G > A的A1A1状态下才存在。

全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)已经证实染色体9p21多个单核苷酸多态性位点与冠心病相关,为了弄清这些多态性位点与冠心病相关性的机制,Zhuang等^[26]分析了冠心病及对照人群BAX、BCL-2、TIMP3、p14(ARF)、p15(INK4b)和p16(INK4a)6个候选基因甲基化水平,发现p15(INK4b)的DNA甲基化水平升高与冠心病的发生、发展相关。GWAS研究证实,ATP结合子转运体G1(ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1)、N-乙酰氨基半乳糖转移酶2(N-acetylgalactosaminyltransferase 2, GALNT2)和羟甲基戊二酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-co-enzyme A reductase, HMGCR)的基因与冠心病相关,这3个基因通过控制相应的脂质代谢途径影响冠心病的发生、发展^[27-29]。Ping等^[30]研究发现,ABCG1和GALNT2基因启动子高甲基化状态与冠心病危险的增加明显相关,吸烟和年龄可以影响DNA甲基化水平。

氯吡格雷通过抑制ADP受体P2Y12降低血小板的抑制血小板聚集,从而降低冠心病患者发生不良事件的概率。Su等^[31]研究了P2Y12基因启动子甲基化与氯吡格雷抵抗的相关性,通过比较氯吡格雷抵抗患者和非氯吡格雷抵抗患者P2Y12基因启动子两个CpGs序列甲基化水平发现,CpG1序列甲基化水平与氯吡格雷抵抗负相关,其甲基化水平受其他临床指标如AST、LEVF等的影响。

2.3 与高血压相关的DNA甲基化

高血压为多因素疾病,是遗传易感性和环境因素相互作用的结果。高血压的发病与交感神经系统活性亢进、肾性水钠潴留、肾素-血管紧张素-醛固酮系统激活、细胞膜离子转运异常等相关。在这些可能的机制中,一些研究已经发现特异基因DNA甲基化对上述的病理生理变化的调控作用。11 β -羟类固醇脱氢酶-2(11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-2, 11 β -HSD-2)能催化皮质醇转化为其非活性代谢物可的松,该酶活性降低时,皮质醇浓度升高并与盐皮质激素受体结合,从而引起水钠潴留、血容量增加并导致高血压。Alikhani-Koopaei等^[32]研究发现,11 β -HSD-2基因启动子及第一外显子区的CpG序列甲基化会引起11 β -HSD-2表达下降,导致血压升高。体外细胞及大鼠体内实验证实,给予DNA甲基化酶抑制剂5-杂氮-2'-脱氧胞苷后11 β -HSD-2基因的转录水平提高,提示11 β -HSD-2基因甲基化水平的改变与高血压的发病密切相关。Friso等^[33]的研究发现,高血压患者外周血单核细胞中11 β -HSD-2基因启动子甲基化水平升高,11 β -HSD-2酶表达水平下降,参与高血压的发生。

血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)可以催化血管紧张素1转化为血管紧张素2,后者可以使血管强烈收缩、血压升高,ACE基因启动子甲基化可以调控其基因表达,从而实现了对高血压的调控。Rivière等^[34]的研究证实,ACE基因启动子的高甲基化可以抑制其基因转录,DNA甲基化可以通过对ACE基因转录的抑制参与高血压的

形成与发展。

细胞膜离子转运相关基因的甲基化也与高血压的形成密切相关。Lee等^[35]研究了Na⁺-K⁺-2Cl⁻转运体基因启动子甲基化与高血压的关系。通过比较自发性高血压大鼠和正常对照大鼠该转运体基因启动子甲基化状态,发现自发性高血压大鼠该启动子区域呈现明显的低甲基化状态,转运体基因表达增加,从而更加肯定了高血压疾病中DNA甲基化的调控作用。

2.4 与心力衰竭相关的DNA甲基化 为了探索甲基化在心力衰竭中基因调控作用, Movassagh等^[36]通过高通量微阵列测序技术比较了人心力衰竭及正常心脏左心室组织全基因甲基化特征,在心力衰竭心脏组织中3个血管生长因子的表达受基因甲基化调控。在心力衰竭左心室组织中,血小板/内皮细胞黏附分子1(Platelet/endothelial cell adhesion molecule 1, PECAM1)表达减少与其基因启动子高甲基化明显相关,血管生成抑制素结合蛋白2(angiotensin like 2, AMOTL2)表达减少与其基因启动子低甲基化状态明显相关, RhoGTP酶激活蛋白(24Rho GTPase activating protein 24, ARHGAP24)表达明显升高与其基因高甲基化状态明显相关。

心力衰竭时心肌收缩力下降,心排血量不能满足机体代谢需要。心脏负荷增高时常以心肌肥厚为主要的代偿机制,导致心肌顺应性差,舒张功能降低,心室舒张末压升高。Xiao等^[37]给雄性成年大鼠静脉注射去甲肾上腺素4周,其中部分大鼠最后6d同时给予5-氮-2'-脱氧胞苷,取出大鼠心脏,进行左心室形态、功能及分子检测,发现注射去甲肾上腺素可以导致大鼠血压升高,基因组甲基化水平升高,左心室肥厚及系列蛋白表达发生变化,给予5-氮-2'-脱氧胞苷抑制甲基化水平后,蛋白表达变化恢复,心脏肥大及心力衰竭得以部分纠正。证实甲基化参与了心力衰竭的病理生理过程。

3 结语

一些研究已经证实DNA甲基化与心血管疾病的相关性,并试图探讨DNA甲基化参与心血管疾病发生、发展的机制。由于其检测方法、目标人群不同,所检测的DNA组织来源不同,目前研究结果也不尽相同。相信随着更多相关研究的开展,将会有更多与心血管疾病相关甲基化调控机制得到阐明。随着对DNA甲基化研究的深入,我们对心血管疾病发病机制将会有进一步了解,为其预防和治疗提供新的思路和靶点。

参考文献

- 1 Feinberg AP. Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease [J]. *Nature*, 2007, 447 (7143): 433-440.
- 2 Taberlay PC, Jones PA. DNA methylation and cancer [J]. *Prog Drug Res*, 2011, 67: 1-23.
- 3 Coppedè F. Epigenetic biomarkers of colorectal cancer: Focus on DNA methylation [J]. *Cancer Lett*, 2014, 342 (2): 238-247.
- 4 Demokan S, Dalay N. Role of DNA methylation in head and neck cancer [J]. *Clin Epigenetics*, 2011, 2 (2): 123-150.
- 5 Shenker N, Flanagan JM. Intragenic DNA methylation: implications

- of this epigenetic mechanism for cancer research [J]. *Br J Cancer*, 2012, 106 (2): 248-253.
- 6 刘绍祖, 佟明, 张骞, 等. PCDH10基因在前列腺癌组织中的甲基化测定及临床意义 [J]. *解放军医学院学报*, 2014, 35 (4): 379-382.
- 7 管静芝, 管维平, 朱文华. 阿尔茨海默病患者体内端粒甲基化分析 [J]. *军医进修学院学报*, 2011, 32 (2): 120-121.
- 8 Connelly JJ, Cherepanova OA, Doss JF, et al. Epigenetic regulation of COL15A1 in smooth muscle cell replicative aging and atherosclerosis [J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22 (25): 5107-5120.
- 9 Duthie SJ. Epigenetic modifications and human pathologies: cancer and CVD [J]. *Proc Nutr Soc*, 2011, 70 (1): 47-56.
- 10 Lund G, Andersson L, Lauria M, et al. DNA methylation polymorphisms precede any histological sign of atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein E [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279 (28): 29147-29154.
- 11 Sharma P, Kumar J, Garg G, et al. Detection of altered global DNA methylation in coronary artery disease patients [J]. *DNA Cell Biol*, 2008, 27 (7): 357-365.
- 12 Handy DE, Castro R, Loscalzo J. Epigenetic modifications: basic mechanisms and role in cardiovascular disease [J]. *Circulation*, 2011, 123 (19): 2145-2156.
- 13 Castro R, Rivera I, Struys EA, et al. Increased homocysteine and S-adenosylhomocysteine concentrations and DNA hypomethylation in vascular disease [J]. *Clin Chem*, 2003, 49 (8): 1292-1296.
- 14 Yi P, Melnyk S, Pogribna M, et al. Increase in plasma homocysteine associated with parallel increases in plasma S-adenosylhomocysteine and lymphocyte DNA hypomethylation [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275 (38): 29318-29323.
- 15 Yang AS, Estévez MR, Doshi K, et al. A simple method for estimating global DNA methylation using bisulfite PCR of repetitive DNA elements [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32 (3): e38.
- 16 Baccarelli A, Wright R, Bollati V, et al. Ischemic heart disease and stroke in relation to blood DNA methylation [J]. *Epidemiology*, 2010, 21 (6): 819-828.
- 17 Kim M, Long TI, Arakawa K, et al. DNA methylation as a biomarker for cardiovascular disease risk [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (3): e9692.
- 18 Post WS, Goldschmidt-Clermont PJ, Wilhide CC, et al. Methylation of the estrogen receptor gene is associated with aging and atherosclerosis in the cardiovascular system [J]. *Cardiovasc Res*, 1999, 43 (4): 985-991.
- 19 Ying AK, Hassanain HH, Roos CM, et al. Methylation of the estrogen receptor-alpha gene promoter is selectively increased in proliferating human aortic smooth muscle cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2000, 46 (1): 172-179.
- 20 Kim J, Kim JY, Song KS, et al. Epigenetic changes in estrogen receptor beta gene in atherosclerotic cardiovascular tissues and in-vitro vascular senescence [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1772 (1): 72-80.
- 21 Zaina S, Heyn H, Carmona FJ, et al. DNA methylation map of human atherosclerosis [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2014, 7 (5): 692-700.
- 22 Zhu S, Goldschmidt-Clermont PJ, Dong C. Inactivation of monocarboxylate transporter MCT3 by DNA methylation in atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2005, 112 (9): 1353-1361.
- 23 Liu C, Xu D, Sjöberg J, et al. Transcriptional regulation of 15-lipoxygenase expression by promoter methylation [J]. *Exp Cell Res*, 2004, 297 (1): 61-67.
- 24 Campo G, Pavasini R, Pollina A, et al. Coagulation factors and recurrence of ischemic and bleeding adverse events in patients with acute coronary syndromes [J]. *Thromb Res*, 2013, 132 (2): 151-157.

(上接 750 页)

- 25 Heinrich J, Balleisen L, Schulte H, et al. Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk. Results from the PROCAM study in healthy men [J]. *Arterioscler Thromb*, 1994, 14 (1): 54–59.
- 26 Zhuang J, Peng W, Li H, et al. Methylation of p15INK4b and expression of ANRIL on chromosome 9p21 are associated with coronary artery disease [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (10): e47193.
- 27 Jeemon P, Pettigrew K, Sainsbury C, et al. Implications of discoveries from genome-wide association studies in current cardiovascular practice [J]. *World J Cardiol*, 2011, 3 (7): 230–247.
- 28 Oram JF, Vaughan AM. ATP-Binding cassette cholesterol transporters and cardiovascular disease [J]. *Circ Res*, 2006, 99(10): 1031–1043.
- 29 Tietjen I, Hovingh GK, Singaraja RR, et al. Segregation of LIPG, CETP, and GALNT2 mutations in Caucasian families with extremely high HDL cholesterol [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (8): e37437.
- 30 Peng P, Wang L, Yang X, et al. A preliminary study of the relationship between promoter methylation of the ABCG1, GALNT2 and HMGR genes and coronary heart disease [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (8): e102265.
- 31 Su J, Li X, Yu Q, et al. Association of P2Y12 gene promoter DNA methylation with the risk of clopidogrel resistance in coronary artery disease patients [J/OL]. [http : //www.hindawi.com/journals/bmri/2014/450814](http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/450814).
- 32 Alikhani-Koopaei R, Fouladkou F, Frey FJ, et al. Epigenetic regulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression [J]. *J Clin Invest*, 2004, 114 (8): 1146–1157.
- 33 Friso S, Pizzolo F, Choi SW, et al. Epigenetic control of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 gene promoter is related to human hypertension [J]. *Atherosclerosis*, 2008, 199 (2): 323–327.
- 34 Rivi è re G, Lienhard D, Andrieu T, et al. Epigenetic regulation of somatic angiotensin-converting enzyme by DNA methylation and histone acetylation [J]. *Epigenetics*, 2011, 6 (4): 478–489.
- 35 Lee HA, Baek I, Seok YM, et al. Promoter hypomethylation upregulates Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 in spontaneously hypertensive rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(2): 252–257.
- 36 Movassagh M, Choy MK, Goddard M, et al. Differential DNA methylation correlates with differential expression of angiogenic factors in human heart failure [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (1): e8564.
- 37 Xiao D, Dasgupta C, Chen M, et al. Inhibition of DNA methylation reverses norepinephrine-induced cardiac hypertrophy in rats [J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 101 (3): 373–382.