

DNA 甲基化在病理性瘢痕中的作用研究

张益勋, 胡逸萍, 钟穗航, 谢有富

(暨南大学附属广州市红十字会医院烧伤整形科, 广东 广州 510220)

摘要:病理性瘢痕是指烧伤、创伤和手术等后创面过度修复引起,以胶原等大量细胞外基质产生与沉积失衡为特征的皮肤纤维增生性疾病,包括增生性瘢痕与瘢痕疙瘩等。随着对增生性瘢痕研究的不断深入,人们发现 DNA 甲基化在瘢痕形成的发生和发展过程中起着重要的作用。本文就 DNA 甲基化在病理性瘢痕中作用的研究进展进行综述。

关键词:病理性瘢痕;增生性瘢痕;瘢痕疙瘩;DNA 甲基化

中图分类号:R363

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2018.09.015

文章编号:1006-1959(2018)09-0046-04

Study on the Role of DNA Methylation in Pathological Scars

ZHANG Yi-xun, HU Yi-ping, ZHONG Sui-hang, XIE You-fu

(Department of Burn and Plastic Surgery, Guangzhou Red Cross Hospital, Jinan University, Guangzhou 510220, Guangdong, China)

Abstract: Pathological scars are caused by excessive repair of wounds after burn, trauma, and surgery, which are caused by a large amount of extracellular matrix produced by collagen and other extracellular matrix, including hyperplastic scar and keloid. With the development of hypertrophic scar, DNA methylation plays an important role in the occurrence and development of scar formation. This article reviews the research progress of the role of DNA methylation in pathological scars.

Key words: Pathological scars; Hypertrophic scar; Keloid; DNA methylation

病理性瘢痕是指烧伤、创伤和手术等后创面过度修复引起,以胶原等大量细胞外基质产生与沉积失衡为特征的皮肤纤维增生性疾病,包括增生性瘢痕与瘢痕疙瘩等。病理性瘢痕不仅影响患者的外观,还会导致机体功能障碍,给患者心理及生理带来严重的影响。病理性瘢痕的发病机制复杂,是各种信号通路和多种细胞之间相互作用的结果^[1]。DNA 甲基化是成纤维细胞持续活化形成的机制之一^[2]。近年来,随着对增生性瘢痕研究的不断深入,人们发现 DNA 甲基化在瘢痕形成的发生和发展过程中起着重要的作用^[3]。相关研究表明 DNA 甲基化影响瘢痕的形成^[4]。本文就 DNA 甲基化在病理性瘢痕中作用的研究进展进行综述。

1 DNA 甲基化概述

表观遗传学是指在不涉及基因突变或 DNA 碱基改变情况下对基因表达进行调控且能稳定遗传的学科^[5]。表观遗传学主要包括 DNA 甲基化、基因组印迹、组蛋白修饰和 RNA 编辑等,与传统的遗传学不同,它主要特点是可逆性、突变频率高等。DNA 甲基化任何一个环节的异常都将影响 DNA 的表达,从而导致疾病的发生^[6]。DNA 甲基化是指在 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的催化下,以

S-腺苷-L-甲硫氨酸为供体将甲基转移到 CPG 二核苷酸胞嘧啶的第 5 号碳原子上,使其转变成甲基化的 CPG。甲基化是维持正常细胞染色体结构和功能所必需的^[7]。已知的调控 DNA 甲基化的转移酶主要有 3 种,包括 DNMT1、DNMT3a 和 DNMT3b^[8]。DNA 异常甲基化总是伴随着 DNA 甲基化酶的异常表达^[9]。越来越来证据表明 DNA 甲基化的变化是许多复杂性状与疾病的基础^[10]。目前, DNA 甲基化水平和特定基因甲基化程度可以作为某些疾病的诊断指标^[11]。

2 增生性瘢痕与 DNA 甲基化

2.1 创面愈合与 DNA 甲基化 创面愈合是影响瘢痕增生的一个重要因素,对创面早期进行干预能预防和减少瘢痕增生。创面愈合^[12,13]与 DNA 甲基化密切相关。Marcus^[14]等研究表明全基因组 DNA 甲基化是伤口愈合中是一个重要的过程,并在动物实验中发现使用波长为 604 nm、能量为 1.6 J/cm² 的 LED 照射可引起创面 DNMT3a 基因表达增加,进而促进上皮愈合。有关研究结果显示 DNA 低甲基化可以通过上调 TGF- β_1 受体诱导 Tenon's 囊成纤维细胞分化和纤维化,从而导致青光眼滤过术后结膜瘢痕的形成,这表明 DNA 甲基化状态在结膜的伤口愈合中有着重要的作用^[15]。

2.2 成纤维细胞转化与 DNA 甲基化 成纤维细胞转化为肌成纤维细胞是瘢痕形成过程中重要的病理变

作者简介:张益勋(1992.7-),男,广东惠州人,硕士研究生,研究方向:慢性创面与瘢痕增生

通讯作者:谢有富(1965.10-),男,湖南株洲人,硕士,主任医师,硕士生导师,科主任,研究方向:慢性创面与瘢痕增生

化^[16]。1972 年 Gabbiani 描述,在创伤后伤口愈合和纤维化过程中,成纤维细胞被激活转化为 α -SMA 标记并具有平滑肌特征的肌成纤维细胞^[17]。 α -SMA 的表达情况能显示成纤维细胞向肌成纤维细胞转化的程度。DNA 甲基化在成纤维细胞转化过程中起着重要作用^[18],Biao Hu 等人研究表明 DNA 甲基化可诱导 α -SMA 基因的表达,从而促进成纤维细胞向肌成纤维细胞分化^[2]。杨娥^[19]等人研究发现烧伤创面后不同时期的瘢痕组织中成纤维细胞的 DNMT1 的表达存在差异,在瘢痕增生期中,DNMT1 的表达达高峰,随着瘢痕组织的消退和成熟,DNMT1 的表达也逐渐降低,说明 DNMT1 的表达与瘢痕组织增生密切相关,并由此推测 DNA 甲基化可能影响瘢痕增生与发展的全过程。瘢痕形成的发病机制相当复杂,其生成可能与某些基因的甲基化有关^[20]。p16 基因的表达产物可使细胞周期阻滞,并且与细胞增殖及分化发育等有重要关系^[21]。姚庆君^[22]等人通过实验发现 p16 基因在深 II 度烧伤早期的高甲基化可促进创面愈合,在创面愈合后 4 个月中低甲基化可能对快速瘢痕增生有抑制作用,8 个月后逐渐增高的甲基化水平可能是瘢痕继续增生的重要原因。

细胞因子及细胞通路在瘢痕的形成中扮演着重要的角色。大量研究证实 TGF- β_1 是诱导成纤维细胞分化的关键细胞因子,TGF- β_1 信号通过 Smads 蛋白家族进行传递及调控,TGF- β_1 /Smads 信号转导途径已被证实与瘢痕的形成密切相关^[23,24]。CPG 岛的甲基化可通过 TGF- β /Smads 通路影响疾病的发生^[25]。Yang E^[26]等人发现 DNMT1 在瘢痕成纤维细胞的细胞核内高表达,并在增生性瘢痕和正常皮肤间存在显著的差异,瘢痕成纤维细胞中 DNMT1、TGF- β_1 较正常皮肤组升高,且 Smad7 降低,因此推测 DNA 甲基化可能通过 TGF- β /Smads 通路导致瘢痕形成。

3 瘢痕疙瘩与 DNA 甲基化

瘢痕疙瘩临床表现为高出周围正常皮肤,超出原损伤部位持续性生长的肿块,是一种良性纤维增生性肿瘤。瘢痕疙瘩的发病机制非常复杂,是多种细胞因子、细胞通路间共同作用所致。DNA 甲基化在瘢痕疙瘩中起着举足轻重的作用^[27]。季红等人^[28]研究表明 p16 基因甲基化及其低表达可能参与瘢痕疙瘩中细胞周期、增殖的异常。亦有作者^[29]报道瘢痕疙瘩成纤维细胞中存在某些基因的高甲基化,利用甲基化抑制剂 5-氮杂-2-脱氧胞苷对某些基因的去

甲基化作用并恢复表达,通过抑制 TGF- β /Smad 信号通路,而导致瘢痕疙瘩组织成纤维细胞发生凋亡。

RUNX 家族成员包括 RUNX1、RUNX2 和 RUNX3,RUNX3 基因是一种抑癌基因,参与多种肿瘤的发生^[30,31]。陈贵宗等^[32]体外培养的瘢痕疙瘩成纤维细胞中 RUNX3 抑癌基因启动子区存在甲基化,因此推测抑癌基因启动子区的甲基化参与瘢痕疙瘩的形成。

CDC2L1 基因主要参与细胞分裂周期调控^[33]。有关研究表明 CDC2L1 基因在瘢痕疙瘩的形成中扮演重要角色^[34],研究者^[35]发现瘢痕疙瘩成纤维细胞中,CDC2L1 基因启动子区 CpG 岛的高甲基化状态可导致其功能失活,CDC2L1 基因表达蛋白 CDKIIP58 减少,下调细胞凋亡,进而导致瘢痕疙瘩的形成。

Garcia-Rodriguez^[36]等人研究发现瘢痕疙瘩与正常皮肤间存在不同的甲基化基因,研究分析并证实这些基因中 N-羟基-N'-3-吡啶基辛二酰胺、丁三酸甘油酯、环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶 II、前脑啡肽原 4 种主要调节分子参与了细胞增殖、凋亡和肿瘤抑制等过程,对瘢痕疙瘩的形成发挥着重要的作用。有学者^[37]发现瘢痕疙瘩成纤维细胞中存在启动子区甲基化的调控。在瘢痕疙瘩组织和瘢痕疙瘩成纤维细胞中,共同差异性高表达的基因有 STEAP1、SLC38A5、CRISPLD2 和 IL32,其启动子区间存在差异低甲基化,而共同差异性低表达的基因 ALX1 的启动子区存在差异高甲基化。在瘢痕疙瘩组织和瘢痕疙瘩成纤维细胞中 STEAP1、SLC38A5 和 CRISPLD2 的基因表达升高。

4 总结

综上所述,病理性瘢痕是一个多因素参与、多阶段的过程。DNA 甲基化从影响蛋白表达等方面促进成纤维细胞转化、抑制细胞增殖进而影响瘢痕增生。但各因素间相互联系及相关调节机制目前仍不清楚。随着对 DNA 甲基化与病理性瘢痕发生相关性的不断探索,相信未来会为病理性瘢痕的诊治提供新途径。

参考文献:

- [1]Safonov I.Pathological Scars (Keloid and Hypertrophic Scars) [M].Atlas of Scar Treatment and Correction.Springer Berlin Heidelberg,2012:97-160.
- [2]Biao Hu,Mehrnaz Gharaee-Kermani,Zhe Wu.Epigenetic Regulation of Myofibroblast Differentiation by DNA Methylation[J].Am J Pathol,2010,177(1):21-28.

- [3]Zhang X,Hu M,Lyu X,et al.DNA methylation regulated gene expression in organ fibrosis [J].*Biochim Biophys Acta*,2017,1863(9):2389-2397.
- [4]Podolak-Popinigis J,Ronowicz A,Dmochowska M,et al.The methylome and transcriptome of fetal skin:implications for scar-less healing[J].*Epigenomics*,2016,8(10):1331-1345.
- [5]Helliwell CA,Gonzalez-Bayon R.Epigenetics[J].*Encyclopedia of Applied Plant Sciences*,2017(2):152-156.
- [6]Hermann A,Gowher H,Jeltsch A.Biochemistry and biology of mammalian DNA methyltransferases [J].*Cellular and Molecular Life Sciences*,2004,61(19-20):2571-2587.
- [7]Edwards JR,Yarychkivska O,Boulard M,et al.DNA methylation and DNA methyltransferases[J].*Epigenetics Chromatin*,2017(10):23.
- [8]Bestor TH.The DNA methyltransferases of mammals[J].*Human Molecular Genetics*,2000,9(16):2395-2402.
- [9]Robert MF,Morin S,Beaulieu N,et al.DNMT1 is required to maintain CpG methylation and aberrant gene silencing in human cancer cells[J].*Nat Genet*,2003,33(1):61-65.
- [10]Dowson C,O'Reilly S.DNA methylation in fibrosis [J].*Eur J Cell Biol*,2016,95(9):323-330.
- [11]Hao X,Luo H,Krawczyk M,et al.DNA methylation markers for diagnosis and prognosis of common cancers [J].*Proc Natl Acad Sci USA*,2017,114(28):7414-7419.
- [12]Lewis CJ,Mardaryev AN,Sharov AA,et al.The Epigenetic Regulation of Wound Healing [J].*Adv Wound Care*,2014,3(7):468-475.
- [13]Saldanha SN,Royston KJ,Udayakumar N,et al.Epigenetic Regulation of Epidermal Stem Cell Biomarkers and Their Role in Wound Healing[J].*Int J Mol Sci*,2015,17(1):E16.
- [14]Zhang S,Duan E.Epigenetic regulations on skin wound healing: implications from current researches [J].*Ann Transl Med*,2015,3(16):227.
- [15]Fu S,Sun L,Zhang X,et al.5-Aza-2'-deoxycytidine induces human Tenon's capsule fibroblasts differentiation and fibrosis by up-regulating TGF- β type I receptor [J].*Exp Eye Res*,2017(165):47-58.
- [16]Darby IA,Zakuan N,Billet F,et al.The myofibroblast,a key cell in normal and pathological tissue repair [J].*Cellular and Molecular Life Sciences*,2016,73(6):1145-1157.
- [17]Gabbiani G,Majno G.Dupuytren's contracture:fibroblast contraction An ultrastructural study [J].*American Journal of Pathology*,1972,66(1):131-146.
- [18]Bechtel W,McGoohan S,Zeisberg EM,et al.Methylation determines fibroblast activation and fibrogenesis in the kidney[J].*Nature Medicine*,2010,16(5):544-550.
- [19]杨斌,张恒术.烧伤创面愈合后瘢痕组织成纤维细胞 DNA 甲基化初步研究[J].*中国烧伤创疡杂志*,2015,27(03):219-223.
- [20]Cisneros J,Hagood J,Checa M,et al.Hypermethylation-mediated silencing of p14 (ARF)in fibroblasts from idiopathic pulmonary fibrosis [J].*American Journal of Physiology*,2012,303(4):L295-L303.
- [21]Kotake Y,Naemura M,Murasaki C,et al.Transcriptional Regulation of the p16 Tumor Suppressor Gene [J].*Anticancer Research*,2015,35(8):4397-4401.
- [22]姚庆君,陈璧,胡大海,等.深 II 度烧伤早期及愈后增生性瘢痕组织中 p16 基因表达的甲基化调控[J].*第四军医大学学报*,2005,26(04):371-373.
- [23]Chalmers RL.The evidence for the role of transforming growth factor-beta in the formation of abnormal scarring[J].*International Wound Journal*,2011,8(3):218-223.
- [24]Xie JL,Qi SH,Pan S,et al.Expression of Smad Protein by Normal Skin Fibroblasts and Hypertrophic Scar Fibroblasts in Response to Transforming Growth Factor β 1 [J].*Dermatologic Surgery*,2008,34(9):1216-1224.
- [25]Xu M,He J,Li J,et al.Methyl-CpG-binding domain 3 inhibits epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells via TGF- β Smad signalling [J].*British Journal of Cancer*,2017,116(1):91-99.
- [26]E Y,Qipa Z,Hengshu Z.The Expression of DNMT1 in Pathologic Scar Fibroblasts and the Effect of 5-aza-2-Deoxycytidine on Cytokines of Pathologic Scar Fibroblasts[J].*Wounds*,2014,26(5):139-146.
- [27]He Y,Deng Z,Alghamdi M,et al.From genetics to epigenetics:new insights into keloid scarring[J].*Cell Prolif*,2017,50(2).
- [28]季江,冷红,冀胜军,等.瘢痕疙瘩及其成纤维细胞 p16 基因甲基化状态和相关基因表达研究[J].*中华皮肤科杂志*,2015,48(3):171-174.
- [29]Zou QP,Yang E,Zhang HS.Effect of the methylation enzyme inhibitors of 5-aza-2-deoxycytidine on the TGF-beta smad signal transduction pathway in human keloid fibroblasts[J].*Chinese Journal Of Plastic Surgery*,2013,29(4):285-289.
- [30]Rooney N,Riggio AI,Mendoza-Villanueva D,et al.Runx Genes in Breast Cancer and the Mammary Lineage [J].*Adv Exp Med Biol*,2017(962):353-368.
- [31]RUNX Genes in Development and Cancer: Regulation of Viral Gene Expression and the Discovery of RUNX Family Genes[J].*Advances in Cancer Research*,2008(99):33-76.
- [32]陈贵宗.甲基化抑制剂对瘢痕疙瘩成纤维细胞 RUNX3 及 Cdc2L1 基因转录调节作用研究[D].广东医学院,2012.
- [33]Feng Y,Goulet AC,Nelson MA.Identification and characterization of the human Cdc2l2 gene promoter [J].*GENE*,2004(330):75-84.

(上接第 48 页)

[34]Zhang G,Jiang J,Luo S,et al.Analyses of CDC2L1 gene mutations in keloid tissue [J].Clinical and Experimental Dermatology,2012,37(3):277-283.

[35]Zhang G,Guan Q,Chen G,et al.DNA methylation of the CDC2L1 gene promoter region decreases the expression of the CDK11p58 protein and reduces apoptosis in keloid fibroblasts[J]. Arch Dermatol Res,2017.

[36]Garcia-Rodriguez L,Jones L,Chen KM,et al.Causal network analysis of head and neck keloid tissue identifies potential master regulators[J].Laryngoscope,2016,126(10):E319-E324.

[37]苑春雨.瘢痕疙瘩中 lncRNA 表达谱及基因组甲基化异常的初探[D].北京协和医学院,2017.

收稿日期:2017-12-14;修回日期:2017-12-26

编辑/钱洪飞