

## 前列腺癌相关基因甲基化研究进展

欧译天, 夏成兴, 刘飞能 综述, 杨德林 审校

(昆明医科大学第二附属医院泌尿外科, 云南省泌尿外科研究所, 云南 昆明 650101)

**[摘要]** 随着前列腺癌 (prostate cancer, PCa) 的发病率逐年升高, 诊断、治疗以及评估疾病变得越发重要。甲基化过程是指从活性甲基化合物上将甲基催化转移到其他化合物的过程。很多研究表明前列腺癌中较正常组织存在更多基因启动子 CpG 岛异常甲基化, 不同基因异常甲基化的发生在前列腺癌中可发挥促癌或抑癌的作用, 且与肿瘤的发生发展、预后有密切关系。现综述基因甲基化在前列腺癌发生、发展、预后评估及治疗靶点筛选中的研究进展。

**[关键词]** 甲基化; 前列腺癌; 诊断; 预后

**[中图分类号]** R737 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2021) 1B-0107-04

## A Review on Methylation of Prostate Cancer Related Genes

OU Yi-tian, XIA Cheng-xing, LIU Fei-neng, YANG De-lin

(Dept. of Urology, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101, China)

**[Abstract]** With the increasing incidence of Prostate Cancer (PCA), diagnosis, treatment and evaluation of the disease become more and more important. Methylation process refers to the catalytic transfer of methyl group from an active methyl compound to another compound. Many studies have shown that there is more aberrant methylation of gene promoter CpG island in prostate cancer than in normal tissues. Aberrant methylation of different genes may play a role in promoting or suppressing cancer, and is closely related to the occurrence, development and prognosis of prostate cancer. Methylation of some genes may be an important factor in triggering prostate cancer; on the contrary, methylation of some genes may have an inhibitory effect on tumor cells. The purpose of this paper is to review the role of some genes' methylation in the occurrence, development, prognosis evaluation and therapeutic target screening of prostate cancer.

**[Key words]** Methylation; Prostate cancer; Diagnosis; Prognosis

前列腺癌在欧美已成为仅次于肺癌的男性第二大恶性肿瘤, 相关研究显示前列腺癌的发病率可达 245 /10 万人以上, 且近年来具有明显的上升趋势<sup>[1]</sup>。作为表观遗传学研究的主要内容之一, DNA、RNA 甲基化是基因表达调控中重要的机制, 甲基化后的基因启动子或增强子的多重羧基末端外显子暴露水平、三级空间构象发生明显变化, 同时显著影响细胞周期长短、G1/S 期细胞比

例和细胞分化方向, 该表观遗传学调控机制和细胞分化、胚胎发育和免疫调节等多种生物学过程密切相关。研究表明, 部分基因的甲基化会使复杂疾病的抑制基因失去表达。因此, 近年来研究表明甲基化状态可用于癌症的抑癌基因特异性检测<sup>[2]</sup>。对于前列腺癌, 其发生过程中受到许多基因甲基化的影响, 这包括了过表达基因的低甲基化和低表达基因的高甲基化<sup>[3]</sup>。部分基因甲基化水平

**[收稿日期]** 2020-11-12

**[基金项目]** 云南省科技计划重大科技专项 (生物医药) 基金资助项目[2018ZF009]

**[作者简介]** 欧译天 (1995~), 男, 云南昆明人, 在读硕士研究生, 主要从事泌尿外科工作。

**[通信作者]** 杨德林, E-mail: ydelin@163.com

还可以预测前列腺癌的进展、预后,还可以评估前列腺癌的治疗效果。本文将对基因甲基化在前列腺癌中的研究进展进行综述。

## 1 甲基化在前列腺癌发生发展中的作用

DNA 甲基化一般发生在 CpG 位点(胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤位点,即 DNA 序列中胞嘧啶后紧连鸟嘌呤的位点)。经 DNA 甲基转移酶催化胞嘧啶转化为 5-甲基胞嘧啶<sup>[4]</sup>。启动子 CpG 岛区的甲基化修饰在表观遗传学中起着抑制基因的作用,当 CpG 启动子出现异常甲基化时,可能导致抑癌基因的作用缺失,进而使得癌症发生。甲基化在其他癌症中的发病机理已被很多学者所报道:矮小同源盒基因 2 (SHOX2) 的高度甲基化就与肺癌的发生密切相关<sup>[5]</sup>;组蛋白去甲基化酶 KDM4 及其亚型在乳腺、结肠直肠、及甲状腺等组织的肿瘤中都表现为过表达<sup>[6]</sup>。PCDH10 基因的异常甲基化在卵巢、肝、甲状腺癌的发生中呈现高表达<sup>[7]</sup>。

而在前列腺癌的发生、进展过程中,研究表明谷胱甘肽 S 转移酶 P1 (glutathione S transferase P1, GSTP1) 可促使前列腺癌细胞凋亡,但异常甲基化会使 GSTP1 转录抑制,从而促进癌症的进展<sup>[8]</sup>。同时前列腺癌的发生、进展被认为与上皮间质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT) 的过程密切相关,而有研究表明 EMT 的发生过程就与转录因子 Snail 的甲基化有着密切联系<sup>[9-10]</sup>。杜艳丹等<sup>[11]</sup>就 Snail 基因在前列腺癌发生过程进行研究,他们通过免疫组化发现实验组中 Snail 表达强阳性;同时通过沉默 KDM4 的表达,可使 Snail 基因甲基化下调进而使得 EMT 下调,前列腺癌 PC3 细胞也从间质转变为上皮细胞形态。这说明 Snail 基因在前列腺癌细胞中高表达,同时通过抑制其甲基化可以通过下调 EMT 而间接抑制肿瘤发生。

原钙黏蛋白 (procadherin, PCDH) 甲基化和 DNA 甲基化转移酶 1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1) 被认为在多种癌症发生过程中有着明显变化。伍杰等人的研究发现 PCDH10 基因在前列腺癌细胞中高表达,肿瘤组中的 PCDH10 甲基化明显高于良性前列腺增生组 ( $X_2 = 60$ ,  $P < 0.05$ );并且随着前列腺癌的进展,PCDH10 甲基化水平还会不断增高:Gleason 评分 8~10 分组与 4~7 分组分别为 76.32%、47.62%,高危组甲基化水平明显高于低、中危组 ( $P < 0.05$ )<sup>[12]</sup>。DNA 甲基转移酶 1 维持甲基化状态也可使相关抑癌基因失活<sup>[13]</sup>,邢

红宇等<sup>[14]</sup>通过沉默 DNMT1 基因表达,发现抑癌基因对前列腺癌 LNCap 细胞增殖的抑制效果随着培养时间延长而不断增强 ( $P < 0.05$ );同时实验组 (DNMT1 沉默组, Si-DNMT1 组) LNCap 细胞的凋亡率也明显高于对照组 (DNMT1 组)。通过将上述两者联合研究,徐思琪等<sup>[15]</sup>则发现 DNA 甲基化抑制剂可以抑制前列腺癌 LNCaP-AI 细胞中的 PCDH7 甲基化水平,细胞生长抑制率和细胞凋亡率增加 ( $P < 0.01$ ),侵袭细胞数下降 ( $P < 0.01$ )。

同时很多研究发现某些 RNA 甲基化也对诊断前列腺癌有意义,如 m6A RNA 甲基化降低和前列腺癌密切相关, RNA m6A 甲基化是真核生物普遍存在的一种动态可逆的修饰,由 m6A 甲基转移酶、m6A 去甲基化酶、m6A 结合蛋白 3 种蛋白参与,参与 RNA 剪切、转运、稳定性以及翻译<sup>[16]</sup>。Li 等<sup>[17]</sup>发现前列腺癌组织中 miR-493-3p 呈现出下调,双重荧光素酶实验证实 YTHDF2 是 miR-493-3p 的直接作用靶点, YTHDF2 在前列腺癌中则为高表达。而将 YTHDF2 沉默之后, miR-493-3p 呈现高表达后可使 m6A 甲基化增高可明显抑制前列腺癌增殖。由于 YTHDF2 与 miR-493-3p 呈现密切负相关,可作为前列腺癌的检测位点并作为新的治疗靶点。Cai 等<sup>[18]</sup>发现人前列腺癌组织中 METTL3 蛋白以及 m6A 甲基化较正常前列腺和良性前列腺组织较高,敲除 METTL3,细胞 m6A、前列腺癌增殖、侵袭能力等均出现变化,可抑制肿瘤的生长。汪金华等<sup>[19]</sup>通过研究长链非编码 RNA 发现:通过 TCGA 数据库发现长链非编码 RNA MYU (lncRNA MYU) 在许多人类癌症中都呈现出高表达,其中包括前列腺癌;癌组织中 MYU 启动子区较正常组织显著低甲基化,体外实验中敲除 MYU 可使前列腺癌的增殖、迁移能力显著减弱,这可能是由于 MYU 通过外泌体从细胞排除后会增加周围细胞的增殖、转移能力。

目前非病理穿刺诊断前列腺癌的方法有许多,如 PSA、PCA3、多参数核磁共振 mpMRI 等方法,但在实际临床工作中,由于各种无创检查均存在较多干扰因素,在发现早期前列腺癌时常常还需行前列腺穿刺活检才可得出较准确诊断。甲基化是常见的基因修饰方法,许多基因、酶甲基化水平变化后会使抑癌基因失活从而促进肿瘤发生、进展,如果明确某些基因甲基化与前列腺癌有明确相关性,将特定基因检测应用于前列腺癌早期诊断中,不但可以减少患者的检查痛苦,还可以大大提高患者的诊断准确性。

## 2 甲基化作为前列腺癌治疗靶点以及预后评估作用

目前针对前列腺癌的治疗方式包括手术治疗及非手术治疗（包括内分泌治疗、放疗、化疗等），其中内分泌治疗是目前前列腺癌的重要治疗方法之一，大多数前列腺癌患者起初都对去势或联合雄激素阻断治疗有效，但经过中位时间 14 ~ 30 个月后，几乎所有的前列腺癌患者都将逐渐发展为激素非依赖性前列腺癌（CRPC），发展为 CRPC 后致死率明显升高，且治疗难度极大。因此对前列腺癌进展做出准确诊断对评估预后有着重要意义。目前许多研究表明甲基化对前列腺癌的预后也有着重要的评估作用。

在预测肿瘤进展方面，李猷等<sup>[20]</sup>通过将 TCGA 和基因表达数据库 GEO 两个数据库筛选后取交集，得到差异表达基因 301 个，其中上调 102 个，下调表达 199 个；其中过表达基因 EZH2、TOP2A、GTSE1 和 HOXC6 存在启动子区低甲基化情况，低表达基因 CAV1 启动子区高甲基化，差异具有显著性（ $P < 0.01$ ）。在过表达基因组中，EZH2、TOP2A 和 GTSE1 三个基因高表达的患者生存率明显低于低表达组的患者。王旻钰等<sup>[21]</sup>的研究发现 N-MYC、RB1/TP53、TMPRSS2-ERG 等基因与前列腺癌发展成为 CRPC 存在关系，SPDEF 基因的超甲基化会促进该过程。激素敏感型前列腺癌患者发展成为 CRPC 后预后将明显恶化。

在治疗效果方面，Wu X 等<sup>[22-23]</sup>研究发现，GTSE1 在肝癌、乳腺癌组织中的高表达可以显著增加肿瘤的 EMT 过程，进而促进肿瘤的侵袭和转移，这说明 GTSE1 可以对肿瘤患者预后进行预测。而 EZH2 基因表达的增加与放疗后前列腺癌复发有关，抑制 EZH2 表达可以提高细胞对放射治疗的敏感性。综合 Zhou J 及 Vinarskaja A<sup>[24-25]</sup>两个团队研究发现在前列腺癌中的差异甲基化表达基因 HOXC6 虽然目前在前列腺癌中的作用尚不明确，但 HOXC6 是细胞分化的重要调节因子，可作为前列腺癌的筛选和治疗靶点，以此可以针对靶点选择特异药物以及评估疗效。

目前针对前列腺癌患者的预测和治疗公认的是依据前列腺癌危险组，根据 EAU 发布的 2019 版前列腺癌指南，危险组的指标包括了 PSA、多参数

核磁 TNM 分期以及 Gleason 评分，但是实际临床工作中这些指标都存在特异性和敏感性不高的问题，部分患者在术后疗效方面依旧存在无法准确分组治疗的情况。尤其对于某些确诊即为高危组的患者，内分泌治疗是否有效以及该选用什么样的治疗方案常常需要患者进行更进一步的基因检测，但目前涉及甲基化为靶点的基因检测还并未普及。将某些基因甲基化作为前列腺癌基因检测的位点可以显著提高个体化治疗的效果。

## 3 小结

前列腺癌在发达国家的致死率随着更加先进的检测技术和规范化的诊疗过程而降低，但在医疗条件和检测体系尚不完备的发展中国家，在我国约 68% 的患者在确诊时肿瘤已进展至晚期<sup>[26]</sup>。如果能早期检测，或者更加精准的检测前列腺癌，并及早进行相应的个体化治疗，不但可以使患者更少的贻误最佳治疗时机而使治疗获益大大提升，还可以使患者的经济负担大大减少。

目前随着国内医疗事业的发展，无创筛查前列腺癌的方法越来越多，准确性和敏感性也在得到不断地提升。但由于这些检测手段都还存在一些不足，急需临床医生和科研人员不断发现新的检测手段，而作为在生物信息修饰中很普遍而又重要的一个过程——甲基化修饰就在各种研究中被反复提及。

基因甲基化检测的优势在于受外界因素影响更小、准确性及特异性更高，同时所检测的位点不但能诊断、评估预测，同样也可以作为特异靶点来进行治疗，以及检测疗效。如前文所述，许多团队通过大数据库的筛选发现很多在癌症（包括前列腺癌）中异于正常组织的基因位点，其中有低表达基因而呈现过表达，也有高表达基因表现为低表达。而目前已被研究的位点及相关信号通路仅占其中的冰山一角。同时，当前的研究还更多聚焦在于前列腺癌的诊断及预后评估方面，而针对 HSPC 最终发展成为 CRPC 的耐药机制、针对甲基化位点及通路的药物研究都还较为少见。因此，甲基化在前列腺癌的研究意义的优势在不断扩大，并且研究前景十分广阔，因此，充分利用甲基化进行多手段、多层面、多方法联合检测，必将造福前列腺癌患者。

## [参考文献]

- [1] Zhao F, Olkhov Mitsel E, Van Der Kwast T, et al. Urinary DNA methylation biomarkers for noninvasive prediction of aggressive disease in patients with prostate cancer on active surveillance[J]. J Urol, 2017, 197( 2 ): 335–341.
- [2] 董佳昕. 基于深度学习的全基因组DNA甲基化预测研究[D]. 大连: 大连海事大学硕士学位论文, 2020.
- [3] Qian Wang, Gang Wang. Prognostic value of CpG island methylator phenotype among hepatocellular carcinoma patients: A systematic review and meta-analysis [J]. International Journal of Surgery, 2018, 54(Pt A):92–99.
- [4] 凡时财, 张学工. DNA甲基化的生物信息学研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2009, 36(2):143–150.
- [5] Zhang C, Yu W, Wang L, et al. DNA Methylation analysis of theSHOX2 and RASSF1A panel in bronchoalveolar lavage fluid for lung cancer diagnosis [J]. J Cancer, 2017, 8( 17 ): 3585–3591.
- [6] 王红红, 潘云, 李艳. 非组蛋白甲基化与肿瘤研究进展[J]. 广东医学, 2018, 39(17):2675–2678.
- [7] Skorodumova L O, Babalyan K A, Sultanov R. GSTP1, APC and RASSF1 gene methylation in prostate cancer samples: Comparative analysis of MS–HRM method and Infinium humanMethyla– tion450 bead chip beadchiparray diagnostic value [J]. Biomed Khim, 2016, 62 ( 6 ) : 708–714.
- [8] Vo T T, Ta B T, Ta V T, et al. Promoter methylation profile of GSTP1 and RASSF1A in prostate cancer and benign hyperplasia in Vietnamese men [J]. Turk J Med Sci, 2016, 46( 1 ): 228–235.
- [9] Wang Y, Shang Y. Epigenetic control of epithelial to mesenchymal transition and cancer metastasis [J]. Experimental Cell Research, 2013, 319(2):160–169.
- [10] Vincent T, Neve E P, Johnson J R, et al. A Snail1–SMAD3/4 transcriptional repressor complex promotes TGF–beta mediated epithelial–mesenchymal transition [J]. Nature Cell Biology, 2009, 11(8):943–950.
- [11] 杜彦丹, 牛艺卿, 郑海军, 等. Snail基因甲基化与TGFβ1诱导前列腺癌细胞发生EMT的相关性研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(06):451–456.
- [12] 伍杰, 彭波, 孙亚铮, 等. 前列腺癌中PCDH10基因甲基化状态及意义 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2019, 53(05):523–526.
- [13] 董峰, 马君俊, 何子锐, 等. 靶向干扰 DNMT1 基因慢病毒载体构建及其对结肠癌 SW620 细胞株生物学行为的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15( 23 ): 2303–2307.
- [14] 邢红宇, 朱明月, 郑俊, 等. DNMT1基因沉默对前列腺癌细胞增殖、凋亡及GSTP1、SHOX2、DAPK甲基化状态的影响 [J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(10):1029–1034.
- [15] 徐思琪, 李红胜, 吴晓燕, 等. 异常甲基化的原钙黏蛋白7对雄激素非依赖性前列腺癌细胞生长的影响[J]. 江苏医药, 2020, 46(09):865–868.
- [16] 阴克强, 双卫兵. RNA m~6A甲基化在泌尿生殖系肿瘤中的研究进展 [J]. 海南医学院学报, 2020, 26(12):955–960.
- [17] Li J, Meng S, Xu M, et al. Down regulation of N(6)–methyladenosine binding YTHDF2 protein mediated by miR–493–3p suppresses prostate cancer by elevating N(6)–methyladenosine levels [J]. Oncotarget, 2018, 9(3):3752–3564.
- [18] Cai J, Yang F, Zhan H, et al. RNA m(6)A Methyltransferase METTL3 Promotes the growth of prostate cancer by regulating hedgehog pathway [J]. On–co Targets Ther, 2019, 12(5):9143–9152.
- [19] 汪金华. 长链非编码RNA MYU在前列腺癌细胞中的作用及分子机制的研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学硕士学位论文, 2018.
- [20] 李猷, 柳东辉, 张国勇. 前列腺癌不良预后相关差异甲基化基因筛选 [J]. 中国医药生物技术, 2020, 15(04):411–417.
- [21] 王旻钰, 李家兴, 殷波. 去势抵抗性神经内分泌前列腺癌发病中的基因变化及治疗研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2020, 43(04):432–437.
- [22] Wu X, Scott H, Carlsson S V. Increased EZH2 expression in prostate cancer is associated with metastatic recurrence following external beam radiotherapy [J]. Prostate, 2019, 79(10):1079–1089.
- [23] Xiaojuan Wu, Hongbo Wang, Yifan Lian, et al. GTSE1 promotes cell migration and invasion by regulating EMT in hepatocellular carcinoma and is associated with poor prognosis [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1)5127.
- [24] Zhou J, Yang X, Song P, et al. HOXC6 in the prognosis of prostate cancer [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1):2715–2720.
- [25] Vinarskaja A, Yamanaka M, Ingenwerth M, et al. DNA methylation and the HOXC6 paradox in prostate cancer [J]. Cancers (Basel), 2011, 3(4):3714–3725.
- [26] He D, Sun Z, Guo J, et al. A multicenter observational study of the real–world use of docetaxel for metastatic castration–resistant prostate cancer in China [J]. Asia Pac J Clin Oncol, 2019, 15(3):144–150.