

УДК 577.1
ББК 28.072
Т 23

Татаркова Е.А.

Аспирант кафедры ботаники факультета естествознания Адыгейского государственного университета, тел. (8772) 59-38-02, Майкоп, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Роль метилирования ДНК в канцерогенезе

(Рецензирована)

Аннотация

Процесс зарождения и развития опухоли сопровождается серьезными нарушениями в характере метилирования ДНК. Нередко в злокачественных клетках тотальное гипометилирование ДНК сочетается с локальным гиперметилированием, что вызывает нестабильность генома. В прогрессии опухоли также большое значение имеют нарушения в нормальной регуляции метилтрансфераз DNMT1, DNMT3a и DNMT3b. Изменения в метилировании ДНК являются потенциально чувствительными молекулярными маркерами для определения риска развития опухолей, осуществления ранней диагностики, а также разработки мер профилактики развития опухолевых процессов.

Ключевые слова: метилирование ДНК, тотальное гипометилирование, локальное гиперметилирование, CpG-островки, ДНК-метилтрансферазы DNMT1, DNMT3a и DNMT3b, опухолевый процесс, канцерогенез.

Tatarkova E.A.

Post-graduate Student of Botany Department of Natural Science Faculty, Adyge State University, Mai-kop, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

The role of DNA methylation in carcinogenesis

Abstract

The origin and development of the tumor is accompanied by serious violations in the nature of DNA methylation. Frequently, the total DNA hypomethylation in malignant cells is combined with local hypermethylation, which causes the genomic instability. Of great importance in tumor progression are also violations in the normal regulation of methyltransferases DNMT1, DNMT3a and DNMT3b. Changes in DNA methylation are the potentially sensitive molecular markers to determine the risk of tumor development, to carry out early diagnosis and to develop measures to prevent the development of malignant processes.

Keywords: DNA methylation, total hypomethylation, local hypermethylation, CpG islands, DNA-methyltransferases DNMT1, DNMT3a and DNMT3b, malignant process, carcinogenesis.

Метилирование ДНК представляет собой обратимую ковалентную химическую модификацию ДНК, в результате которой происходит присоединение метильной группы (CH₃) к углероду в позиции N₅ пиримидинового кольца в составе CpG-динуклеотида. Процесс осуществляется ферментативным путем при посредничестве сайт-специфических ДНК-метилтрансфераз и имеет важное значение во многих внутриклеточных процессах [1, 2].

Значение процесса метилирования ДНК. Одним из компонентов клеточного иммунитета является метилирование ДНК. Его роль заключается в подавлении функций чужеродной ДНК и других агентов. В ряде работ, проводимых на клетках грызунов и человека, экспериментально доказано, что посредством метилирования происходит подавление транскрипции интегрированных вирусных нуклеотидных последовательностей и транспозонов, вследствие чего прекращается их дальнейшее распространение [3, 4]. Метилирование у млекопитающих кроме того выступает как компенсаторный механизм для организации генома на транскрипционно-активные и неактивные области. Например, у женщин происходит стабильная репрессия эндогенной инактивированной X-хромосомы. В связи с этим, от характера процесса метилирования ДНК в клетках человека зависят их нормальное развитие, регуляция экспрессии генов во время развития и дифференцировки, геномный импринтинг, поддержание структуры хроматина [5, 6].

Процесс метилирования ДНК у позвоночных животных, особенно имеющих самый высокий уровень 5-метилцитозина млекопитающих, настолько широко распространен в геноме, что в настоящее время говорят о его тотальном метилировании [7].

Нарушение метилирования ДНК и канцерогенез. Согласно современным взглядам, нарушение нормальной картины метилирования ДНК сопровождается онкологическими заболеваниями человека [8]. По сравнению с нормальными, злокачественные клетки показывают серьезные сбои в их характере метилирования ДНК [9, 10]. Нередко в подобном случае в опухолевых клетках тотальное гипометилирование генома сочетается с локальным гиперметилированием ДНК промоторов ряда генов, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла, что вызывает нестабильность генома [7, 11].

Тотальное гипометилирование генома является одним из первичных нарушений метилирования ДНК в клетках, которое затрагивает гены, содержащиеся в регуляторных областях единичные CpG-динуклеотиды. Уменьшение количества CH₃-групп является одним из ранних событий в многостадийном процессе развития опухоли. Гипометилирование мобильных ДНК (или ретротранспозонов) в геноме человека вызывает активацию транскрипции, что было доказано при изучении многих видов злокачественных новообразований [9, 12]. Для опухолей молочной железы, шейки матки, яичников и головного мозга была доказана корреляция между снижением общего уровня метилирования генома и степени злокачественности опухоли. Однако, несмотря на явную связь гипометилирования ДНК с канцерогенезом, его причины и конкретные механизмы до сих пор остаются неясными.

Локальное гиперметилирование в процессе злокачественной трансформации происходит за счет aberrантного метилирования CpG-динуклеотидов, которые входят в состав CpG-островков. Важно отметить, что CpG-островки представляют собой относительно небольшую часть (около 20%) специфических последовательностей, ассоциированных с промоторными участками определенных генов, в том числе генов-супрессоров опухолевого роста. В нормально функционирующих клетках большинство CpG-островков не метилировано, а их метилирование при развитии опухоли, как правило, сопровождается подавлением транскрипции соответствующего гена [7]. Таким образом инактивируются гены, участвующие в апоптозе, ангиогенезе, дифференцировке, репарации ДНК, метастазировании, детоксикации, лекарственной резистентности и др. Кроме того, aberrантное метилирование приводит к постепенной инактивации генов-супрессоров опухолевого роста в процессе канцерогенеза [10, 13-15]. Именно этим, по всей видимости, объясняется ограниченное количество генов, активированных в патологических новообразованиях в результате гипометилирования генома. Механизмы инициации локального метилирования CpG-островков в опухолях остаются пока неясными [7].

ДНК-метилтрансферазы и их роль в онкогенезе. В клетках животных и человека метилирование CpG-последовательностей в ДНК происходит при активном участии группы ферментов, известных как ДНК-метилтрансферазы (*DNMTs*) [9, 16]. Метилтрансферазы катализируют перенос метильной группы (CH₃) от кофактора к пятому атому углерода остатка цитозина, при этом s-аденозилметионин (AdoMet) превращается в s-аденозилгомоцистеин (AdoHcy) [17]. Следует отметить, что механизм взаимодействия *DNMTs* с ДНК до сих пор остается малоизученным [6].

У млекопитающих существуют три известных на сегодняшний день основных ДНК-метилтрансфераз (*DNMTs*), проявляющих метилтрансферазную активность: *DNMT1*, *DNMT3a* и *DNMT3b*. Важность этих ферментов была доказана в результате нескольких проведенных экспериментов на мышах: особи, дефицитные по гену, умирали на начальных этапах эмбрионального развития или сразу после рождения [9, 18].

В таблице 1 приведен перечень ДНК-метилтрансфераз, участвующих в процессе метилирования и ассоциированных с ними белков, играющих значительную роль во многих внутриклеточных процессах [19].

Таблица 1

Белки, ассоциированные с ДНК-метилтрансферазами (Buryanov, Shevchuk, 2005)

ДНК-метил-трансфераза	Ассоциированный белок	Функция ассоциированного белка
DNMT1	DNMT3a	метилирование ДНК (de novo)
	DNMT3b	метилирование ДНК (de novo)
	HDAC1	деацетилаза гистонов
	HDAC2	деацетилаза гистонов
	SUV39H1	метилтрансферазагистона h3 (lys9)
	Rb	опухолевый супрессор
	PML-RAR	онкогенный транскрипционный фактор
	DMAP1	транскрипционный корепрессор
	hSNF2H	белок, задействованный в перестройках хроматина
	PCNA	факторрепликации ДНК
	MBD2	связывание с метилированными CpG-сайтами
	MBD3	связывание с метилированными CpG-сайтами
	MeCP2	связывание с метилированными CpG-сайтами
	HP1 β	белок гетерохроматина
РНК-полимераза II	РНК-полимераза II	
DNMT3a	DNMT1	поддерживающее метилирование ДНК
	DNMT3L	репрессор транскрипции
	HDAC1	деацетилаза гистонов
	SUV39H1	метилтрансферазагистона h3 (lys9)
	PML-RAR	онкогенный транскрипционный фактор
	RP58	транскрипционный корепрессор
	HP1 β	белок гетерохроматина
	SUMO-1	убиквитинподобный белок
DNMT3b	DNMT1	поддерживающее метилирование ДНК
	DNMT3L	репрессор транскрипции
	HDAC1	деацетилаза гистонов
	SUMO-1	убиквитинподобный белок

Из трех ДНК-метилтрансфераз наиболее изучена DNMT1 – основной фермент соматических клеток млекопитающих [20]. Главная функция DNMT1 в клетках заключается в осуществлении поддерживающего метилирования, исполнение которого тщательно скоординировано с процессом репликации. Вероятно, именно она ответственна за распространение процессов метилирования за пределы центров метилирования, что показано в прямых тестах с очищенной ДНК [21].

ДНК-метилтрансферазы Dnmt3a и Dnmt3b присутствуют в больших количествах в эмбриональных стволовых клетках, в тканях взрослого организма их экспрессия подавлена. Важно отметить, что в ряде научных работ упоминается роль функционирования Dnmt3a при развитии таких онкологических заболеваний, как меланома и рак толстого кишечника [22-24]. В некоторых типах опухолей не было обнаружено какой-нибудь

значимой корреляции между метилированием CpG-островков и уровнем мРНК DNMT1, DNMT3a и DNMT3b [24-26]. Хотя гиперэкспрессия экзогенной DNMT1 может привести к клеточной трансформации в опухоли, по-видимому, происходит нарушение специфичности взаимодействия фермента с ДНК [27]. Это приводит к метилированию CpG-островков, неметилированных в нормальных клетках. Такие нарушения регуляции метилтрансферазной активности в опухолевых клетках опосредованы изменениями во взаимодействии между DNMT1 и ее регуляторами, в число которых входят и гены-супрессоры опухолевого роста. Одновременно с DNMT1 происходит изменение специфичности также и DNMT3a [28] или DNMT3b [29].

Резюме. Эпигенетические изменения, связанные с нарушением процесса метилирования ДНК, регистрируются на самых ранних стадиях канцерогенеза и, следовательно, могут служить диагностическими и прогностическими маркерами как уже имеющихся заболеваний, так и для оценки риска их развития [18]. Кроме того, в отличие от необратимых изменений в геноме (мутаций и т.д.), нарушение процесса метилирования ДНК как эпигенетического процесса потенциально обратимо. Деметилирование генов-супрессоров опухолей с их последующей реактивацией представляется разумным подходом к лечению злокачественных новообразований [10]. Нарушения нормальной регуляции ДНК-метилтрансфераз DNMT1, DNMT3a и DNMT3b являются важным этапом в прогрессии опухоли. Использование метилтрансфераз в качестве мишени для действия ингибиторов позволит изменять статус метилирования ДНК в клетке при лечении новообразований [6, 18].

Следовательно, все перечисленное выше позволяет говорить о необходимости исследования механизмов изменения процесса метилирования ДНК в канцерогенезе и возможные пути его нормализации. Целесообразно проводить анализ степени метилирования промоторной области генов-супрессоров, ответственных за подавление опухолевых процессов, среди разных контингентов населения с учетом их этнической принадлежности для установления причинно-следственных связей в процессах появления и развития новообразований.

Примечания:

1. Голикова Л.Н. Изучение свойств ДНК-метилтрансфераз системы рестрикции-модификации BstF5I из *Bacillus stearothermophilus* F5: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Кольцово, 2003. 19 с.
2. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory // *Genes Dev.* 2002. No. 16. P. 6-21.
3. Barlow D.P. Methylation and imprinting: from host defense to gene regulation // *Science.* 1993. No. 260. P. 309-310.
4. Bestor T.H., Tycko B. Creation of genomic methylation patterns // *Nat. Genet.* 1996. No. 12. P. 363-367.
5. Robertson K.D. DNA methylation and chromatin-unraveling the tangled web // *Oncogene.* 2002. No. 35. P. 5361-5379.
6. Черепанова Н.А. CG-узнающие C5-цитозин-ДНК-метилтрансферазы SssI (*Spiroplasma*) и Dnmt3a (мыши): ингибирование и исследование особенностей каталитического механизма: автореф. дис. ... канд. хим. наук. М., 2010. 24 с.
7. Петренко А.А. Анализ метилирования ДНК при раке шейки матки: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2003. 22 с.

References:

1. Golikova L.N. Study of the properties of DNA methyltransferase of the system of restriction-modification of BstF5I from *Bacillus stearothermophilus* F5: Diss. abstract for the Candidate of Biol. degree. Koltsovo, 2003. 19 pp.
2. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory // *Genes Dev.* 2002. No. 16. P. 6-21.
3. Barlow D.P. Methylation and imprinting: from host defense to gene regulation // *Science.* 1993. No. 260. P. 309-310.
4. Bestor T.H., Tycko B. Creation of genomic methylation patterns // *Nat. Genet.* 1996. No. 12. P. 363-367.
5. Robertson K.D. DNA methylation and chromatin-unraveling the tangled web // *Oncogene.* 2002. No. 35. P. 5361-5379.
6. Cherepanova N.A. CG-recognizing C5-cytosine-DNA-methyltransferase SssI (*Spiroplasma*) and Dnmt3a (mice): inhibition and research of features of catalytic mechanism: diss. abstract for the Cand. of Chem. degree. M., 2010. 24 pp.
7. Petrenko A.A. Analysis of DNA methylation of carcinoma of uterine cervix: Diss. abstract for the Candidate of Biol. degree. M., 2003. 22 pp.

8. Шевчук Т.В. Структурно-функциональный анализ CNG-специфического метилирования ДНК эукариот: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Пушино, 2008. 47 с.
 9. [Электронный ресурс]. URL: <http://jco.ascopubs.org/content/22/22/4632.full.pdf%20html>
 10. Baylin S.B., Herman J.G. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics // *Trends in Genetics*. 2000. No. 16. P. 168-174.
 11. Eden A., Gaudet F., Waghmare A. Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation // *Science*. 2003. P. 455.
 12. Genome-wide hypomethylation in hepatocellular carcinogenesis / C.H. Lin [et al.] // *Cancer Res*. 2001. No. 61. P. 4238-4243.
 13. Jones P.A., Baylin S.B. The fundamental role of epigenetic events in cancer // *Nat. Rev. Genet*. 2002. No. 3. P. 415-428.
 14. Aberrant patterns of DNA methylation, chromatin formation and gene expression in cancer / S.B. Baylin [et al.] // *Hum. Mol. Genet*. 2001. No. 10. P. 687-692.
 15. Jones P.A., Baylin S.B. The epigenomics of cancer // *Cell*. 2007. No. 128. P. 683-692.
 16. Hermann A., Gowher H., Jeltsch A. Biochemistry and biology of mammalian DNA methyltransferases // *Cell. Mol. Life Sci*. 2004. No. 61. P. 2571-2587.
 17. Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA-(cytosine-5)-methyltransferases / Okano [et al.] // *Nature Genetics*. 1998. No. 19. P. 219-220.
 18. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.hindawi.com/journals/jst/2012/956958/>
 19. Buryanov Ya.I., Shevchuk T.V. DNA Methyltransferases and Structural-Functional Specificity of Eukaryotic DNA Modification // *Biochemistry*. 2005. No. 7. P. 730-742.
 20. DNA-(cytosine-5)-methyltransferases in mouse cells and tissues. Studies with a mechanism-based probe / J.A. Yoder [et al.] // *J. Mol. Biol*. 1997. No. 270. P. 385-395.
 21. Influence of pre-existing methylation on the de novo activity of eukaryotic DNA methyltransferase / D. Carotti [et al.] // *Biochemistry*. 1998. No. 37. P. 1101-1108.
 22. An essential role for DNA methyltransferase 3a in melanoma tumorigenesis / T. Deng [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. 2009. No. 557. P. 611-616.
 23. MicroRNA-143 targets DNA methyltransferases 3A in colorectal cancer / E.K. Ng [et al.] // *Br. J. Cancer*. 2009. No. 101. P. 699-706.
 24. Expression of mRNA for DNA methyltransferases and methyl-CpG-binding proteins and DNA methylation status on CpG islands and pericentromeric satellite regions during human hepatocarcinogenesis / Y. Saito [et al.] // *Hepatology*. 2001. No. 33. P. 561-568.
 25. DNA methylation status of hMLH1, p16 (INK4a), and CDH1 is not associated with mRNA expression levels of DNA methyltrans-
8. Shevchuk T.V. Structural-functional analysis of CNG-specific DNA methylation of eukaryotes: Diss. abstract for the Cand. of Biol. degree. Pushchino, 2008. 47 pp.
 9. [Electronic resource]. URL: <http://jco.ascopubs.org/content/22/22/4632.full.pdf%20html>
 10. Baylin S.B., Herman J.G. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics // *Trends in Genetics*. 2000. No. 16. P. 168-174.
 11. Eden A., Gaudet F., Waghmare A. Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation // *Science*. 2003. P. 455.
 12. Genome-wide hypomethylation in hepatocellular carcinogenesis / C.H. Lin [et al.] // *Cancer Res*. 2001. No. 61. P. 4238-4243.
 13. Jones P.A., Baylin S.B. The fundamental role of epigenetic events in cancer // *Nat. Rev. Genet*. 2002. No. 3. P. 415-428.
 14. Aberrant patterns of DNA methylation, chromatin formation and gene expression in cancer / S.B. Baylin [et al.] // *Hum. Mol. Genet*. 2001. No. 10. P. 687-692.
 15. Jones P.A., Baylin S.B. The epigenomics of cancer // *Cell*. 2007. No. 128. P. 683-692.
 16. Hermann A., Gowher H., Jeltsch A. Biochemistry and biology of mammalian DNA methyltransferases // *Cell. Mol. Life Sci*. 2004. No. 61. P. 2571-2587.
 17. Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA-(cytosine-5)-methyltransferases / Okano [et al.] // *Nature Genetics*. 1998. No. 19. P. 219-220.
 18. [Electronic resource]. URL: <http://www.hindawi.com/journals/jst/2012/956958/>
 19. Buryanov Ya.I., Shevchuk T.V. DNA Methyltransferases and Structural-Functional Specificity of Eukaryotic DNA Modification. // *Biochemistry*. 2005. No. 7. P. 730-742.
 20. DNA-(cytosine-5)-methyltransferases in mouse cells and tissues. Studies with a mechanism-based probe / J.A. Yoder [et al.] // *J. Mol. Biol*. 1997. No. 270. P. 385-395.
 21. Influence of pre-existing methylation on the de novo activity of eukaryotic DNA methyltransferase / D. Carotti [et al.] // *Biochemistry*. 1998. No. 37. P. 1101-1108.
 22. An essential role for DNA methyltransferase 3a in melanoma tumorigenesis / T. Deng [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. 2009. No. 557. P. 611-616.
 23. MicroRNA-143 targets DNA methyltransferases 3A in colorectal cancer / E.K. Ng [et al.] // *Br. J. Cancer*. 2009. No. 101. P. 699-706.
 24. Expression of mRNA for DNA methyltransferases and methyl-CpG-binding proteins and DNA methylation status on CpG islands and pericentromeric satellite regions during human hepatocarcinogenesis / Y. Saito [et al.] // *Hepatology*. 2001. No. 33. P. 561-568.
 25. DNA methylation status of hMLH1, p16 (INK4a), and CDH1 is not associated with mRNA expression levels of DNA methyltrans-

- ferase and DNA demethylase in gastric carcinomas / N. Oue [et al.] // *Oncol. Rep.* 2001. No. 8. P. 1085-1089.
26. DNA methylation in ovarian cancer: II Expression of DNA methyltransferases in ovarian cancer cell lines and normal ovarian epithelial cells / A. Ahluwalia [et al.] // *Gynecol. Oncol.* 2001. No. 82. P. 299-304.
27. De novo methylation of CpG island sequences in human fibroblasts overexpressing DNA-(cytosine-5)-methyltransferase / P.M. Vertino [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* 1996. No. 16. P. 4555-4565.
28. Methyltransferase recruitment and DNA hypermethylation of target promoters by an oncogenic transcription factor / L. Di Croce [et al.] // *Science.* 2002. No. 295. P. 1079-1082.
29. DNMT1 and DNMT3b cooperate to silence genes in human cancer cells / I. Rhee [et al.] // *Nature.* 2002. No. 416. P. 552-556.
- ferase and DNA demethylase in gastric carcinomas / N. Oue [et al.] // *Oncol. Rep.* 2001. No. 8. P. 1085-1089.
26. DNA methylation in ovarian cancer: II Expression of DNA methyltransferases in ovarian cancer cell lines and normal ovarian epithelial cells / A. Ahluwalia [et al.] // *Gynecol. Oncol.* 2001. No. 82. P. 299-304.
27. De novo methylation of CpG island sequences in human fibroblasts overexpressing DNA-(cytosine-5)-methyltransferase / P.M. Vertino [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* 1996. No. 16. P. 4555-4565.
28. Methyltransferase recruitment and DNA hypermethylation of target promoters by an oncogenic transcription factor / L. Di Croce [et al.] // *Science.* 2002. No. 295. P. 1079-1082.
29. DNMT1 and DNMT3b cooperate to silence genes in human cancer cells / I. Rhee [et al.] // *Nature.* 2002. No. 416. P. 552-556.