

多环芳烃暴露对 DNA 甲基化的影响

王 君 黄丽华 金银龙

摘 要 多环芳烃是一类不完全裂解产物,多环芳烃暴露引起的基因组的低甲基化和特定基因的高甲基化与人类癌症和其他疾病相关。甲基转移酶起重要作用。本文从多环芳烃暴露对基因组总甲基化水平、特定基因甲基化、甲基转移酶及宫内暴露几个方面综述了多环芳烃暴露对 DNA 甲基化的影响。

关键词 多环芳烃 DNA 甲基化 研究进展

[中图分类号] R12 [文献标识码] A

多环芳烃类 (polycyclic aromatic hydrocarbon, PAHs) 是一类典型的环境化学污染物,主要由煤、烟草和其他一些有机化合物高温加热或燃烧不完全时产生。它普遍存在于空气、食物、饮用水和土壤中,已知多种 PAHs 具有致癌、致突变和发育毒性。近年来越来越多的研究证明,PAHs 暴露引起的肿瘤等一系列健康效应中,遗传物质的损伤不仅涉及其一级结构的序列变化也会影响到其空间结构的改变,这就是表观遗传学范畴,其中 DNA 甲基化是最早发现的也是研究比较深入的表观遗传机制,也是近年来研究的热点问题^[1-4]。

DNA 甲基化是指在 DNA 甲基转移酶的作用下,以 S-腺苷甲硫氨酸提供甲基供体,将其甲基转移到脱氧胞嘧啶环第 5 位碳原子形成甲基化脱氧胞嘧啶 (5mC) 的共价修饰。DNA 甲基化是重要的表观遗传学修饰之一,能调控体内基因的表达,DNA 甲基化与基因表达呈负相关,在启动子区低甲基化与转录活性呈正相关(非启动子区甲基化例外),基因本身的甲基化与基因表达也有弱的负相关。肿瘤细胞发生时常出现 DNA 甲基化模式的变化,主要包括甲基化转移酶表达水平的提高、基因组整体甲基化水平降低和 CpG 岛局部甲基化水平的异常升高,可以沉默或激活致癌关键通路中的关键基因,导致基因组不稳定而提高肿瘤的发生率。研究证实,PAHs 暴露导致的遗传损伤已经不足以解释复杂的多阶段致癌过程,DNA 甲基化作为被熟知的一种表观遗传机制在解释

复杂的分子致癌机制中充当了重要角色^[5-10]。本文将从以下几个方面综述多环芳烃暴露对 DNA 甲基化的影响。

一、多环芳烃暴露与基因组总甲基化水平

基因组总甲基化水平的改变会增加基因组不稳定性。研究表明,PAHs 暴露能改变基因组总甲基化水平。许多体外体内的实验表明,PAHs 的代表物质苯并(a)芘(BaP)的暴露可以导致细胞的甲基化改变,并且与暴露剂量高度相关。Yauk 等^[11]将小鼠暴露于城市工业区空气污染源中的颗粒物,3 周后发现实验小鼠的精子细胞全基因组有高甲基化现象,并在小鼠的肺中检测到了 PAH-DNA 加合物,证明小鼠暴露了 PAHs。Duan 等^[12]在一项体外研究中用煤焦炉燃放物质处理人支气管上皮细胞(16HBE)时,发现在产生高浓度的 BPDE-DNA 加合物的同时也有以 LINE-1 为代表的基因组的低甲基化现象,说明煤焦炉释放物质中含有大量的 PAHs,也提示 LINE-1 的低甲基化或许可以用作 PAHs 暴露的生物学标志物。

职业暴露多环芳烃的人群研究也显示,多环芳烃能够影响人外周血白细胞 DNA 基因组总甲基化改变。在一项对波兰焦炉男工的病例对照研究中发现,慢性暴露高浓度的 PAHs 对 DNA 甲基化的状态有一定的影响。研究以 49 名不吸烟的焦炉男工为病例组,以 43 名资料匹配与之相匹配的未暴露人群为对照组,发现病例组外周血以 LINE-1 和 Alu 序列为代表的全基因组高甲基化的百分数与 PAHs 暴露有关 ($P < 0.0001$)^[13]。而 Alegria-Torres 等^[4]对墨西哥圣路易斯省 39 名 PAHs 暴露的制砖工人进行了小样本的横断面研究中发现,在尿 1-OHP 浓度偏低的情况下 ($0.18 \mu\text{g/g}$ 尿肌酐 $0.023 \sim 1.110$, 低于预期的职

基金项目:卫生行业科研专项基金资助项目(201002001)

作者单位:100021 北京,中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所

通讯作者:金银龙,研究员,电子信箱:jinyinlong1951@sina.com

业暴露水平)则显示暴露水平与以 Alu 片段为代表的 DNA 的总甲基化水平呈负相关。此次研究是用焦磷酸测序法测定了血液样本中的 DNA 甲基化。由此可见,职业暴露 PAHs 对 DNA 甲基化的影响并不能完全一致,原因可能是职业暴露有太多的混杂因素,比如不能排除重金属对基因组甲基化影响的干扰、暴露浓度的差异等,另外实验室分析技术的差异也能导致最终结果的不同^[13-15]。从作用机制的角度,也发现了一些 PAHs,比如 BaP 能够降低 LINE-1 启动子区胞嘧啶甲基化水平从而激活转座子^[16]。对于普通人群流行病学调查研究主要集中在宫内暴露的研究^[17-19]。

二、多环芳烃暴露对特异基因甲基化的影响

许多研究表明 DNA 甲基化水平的高低往往影响着基因表达的程度,通常呈负相关。环境暴露引起的基因启动子及其附近区域内 CpG 岛内甲基化是众多基因实现表达或沉默和基因印迹的重要途径,这也是导致癌症发生发展的机制之一。近年来关于 PAHs 的暴露对特异基因甲基化的研究也很多。Tang 等^[19]在 Kran 等^[7]的研究基础上,分别做了白血病细胞和两种人肺腺癌细胞系的细胞系 BaP 染毒模型,发现在低浓度、无细胞毒性的剂量范围内(BaP 浓度:0.1~1.0nmol/L),3种细胞系的干扰素因子 IFN- γ 的基因的两个启动子区域的甲基化程度都有增加,并且这种甲基化程度的增加与 IFN- γ 的表达降低有关。Alegria-Torres 等^[4]对墨西哥圣路易斯省 39 名 PAHs 暴露的制砖工人进行了小样本的横断面研究中发现,低浓度的 PAHs 暴露与白介素(IL-12)、肿瘤坏死因子(TNF- α)及 p53 基因启动子的甲基化呈负相关。前面提到波兰的进行的一项职业暴露人群的病例对照研究中,以 49 名非吸烟人群的焦炉工人为病例组,以 43 名非吸烟人员为对照组,发现病例组外周血肿瘤抑制基因 p53、HIC1 基因启动子低甲基化与 PAHs 暴露有关($P < 0.05$)^[13]。

也有研究发现,吸烟的肺癌患者外周血白细胞中有 p53 低甲基化现象,并认为 p53 低甲基化有预测患肺癌风险的作用。而 Pavanello 等^[13]的研究发现,健康个体因职业原因暴露于高水平的 BaP 时也有 p53 低甲基化的现象,因而患肺癌的风险增加。而作为平衡细胞和体液免疫力之间关键的调节因子 IL-12 和 TNF- α 也会因 PAHs 的暴露而受到影响,从而破坏了炎症进程和过敏反应失调。特异基因启动子区域的甲基化改变不仅能沉默或抑制关键基因的表达,而

且往往发生在基因变化和表达改变之前,这些都为筛选 PAHs 暴露的早期健康效应指标或生物学标志物提供了可能。

三、多环芳烃暴露与甲基转移酶

目前,在哺乳动物体内发现的甲基转移酶(DNMTs)有 5 种,分别为 DNMT1、DNMT2、DNMT3a、DNMT3b、DNMT3L。有甲基转移活性的有 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b 3 种,它们共同参与甲基化状态的维持。DNMT1 在 DNA 复制过程中确保甲基精确地复制到子链, DNMT3a、DNMT3b 在早期胚胎时建立 DNA 甲基化起着重要作用,是主要的从头甲基化酶。DNMTs 的异常改变会影响基因表达、基因印记、基因组稳定性、染色质修饰体系等,这些与化学致癌有关。

大量研究表明,PAHs 暴露能使甲基转移酶发生改变。邓雯文等^[20]在用苯并[a]芘诱导的小鼠胚胎成纤维细胞恶性转化过程中, DNMTs 表达水平及活性受到影响,说明后者的改变可能参与了苯并(a)芘诱导的细胞恶性转化过程。Yauk 等在用 BaP 慢性暴露小鼠成纤维细胞时发现,基因组的甲基化改变与 DNMT1 的过表达有关。Damiani 等在其开发的一体外细胞转化模型中,发现永生化的支气管上皮细胞暴露 BaP 二醇环氧化物后, DNMT1 蛋白水平表达有增加,且不同转化细胞系中 5~10 个基因启动子高甲基化与 DNMT1 蛋白水平相关。研究认为,苯并(a)芘二醇环氧化物是支气管上皮细胞永生化的原因, DNMT1 介导了甲基化过程。另有研究指出, DNMTs 不仅(尤其是 DNMT1)密切参与了 DNA 损坏的过程,而且在 anti-BaPDE-加合物优先攻击 p53 启动子区域抑制 DNA 甲基化过程中起直接作用。PAHs 的高浓度慢性暴露对焦炉工人造成的基因组 DNA 甲基化程度的增加可能就是 BaP 暴露导致 DNMTs 的过度表达造成的^[13]。

四、宫内暴露 PAHs 对子代基因甲基化的影响

DNA 甲基化模式在胚胎形成时期建立,并在基因转录,维护染色体稳定, X-染色体失活,组织分化, DNA 重复序列的抑制中起着重要作用。多环芳烃宫内暴露 PAHs 导致的遗传损伤研究较多,比如形成 PAH-DNA 加合物,而实验表明加合物的形成可能首先会影响到基因组的甲基化^[18]。胎儿基因组和特异肿瘤抑制基因的甲基化改变有可能导致胎儿在成人期发生肿瘤的危险因素。因此, PAHs 的宫内暴露导致胎儿 DNA 甲基化的持久性改变也是导致成人期发生慢性疾病的潜在机制。

关于孕期母体暴露 PAHs 对子代基因的甲基化影响也有也有一些研究报道。Herbstman 等^[18]在对纽约 164 个孕妇研究中发现,PAHs 暴露与脐带血白细胞基因组 DNA 低甲基化相关($P=0.050$)。另外,在纽约的一项队列研究中,Perera 等在 6 个候选基因(ACSL3、RAD21、DUSP22、SCD5、SFMBT2、WWOX)中筛选发现只有 ACSL3(酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 3)基因 5'-CGI 甲基化状态与 PAHs 的宫内暴露有关($P<0.01$),还与母亲 PAHs 暴露出生的儿童哮喘的相关。因此,可以把 ACSL3 作为 PAHs 暴露的候选生物学标志物来预测有 PAHs 暴露史的母亲所生后代儿童期患哮喘的风险^[17]。Tang 等^[19]在 Perera 等^[17]的研究基础上,也做了高浓度 PAHs 暴露地区母亲分娩时的脐带血白细胞研究,发现脐带血干扰素因子 IFN- γ 的基因启动子的甲基化程度及基因表达量与 PAHs 的暴露密切相关。因此,作为哮喘相关基因 IFN- γ ,和 ACSL3 一样,都可以作为 PAHs 暴露的一种表观遗传生物学标志物,这将为制定 PAHs 暴露相关儿童哮喘的预防政策中起到促进作用。

五、展 望

随着表观遗传学的研究进展,有关多环芳烃暴露的表观遗传学内容日渐受到关注,尤其是多环芳烃引起的 DNA 甲基化已经成为研究热点。综上所述,PAHs 暴露对基因组总甲基化水平、特异基因甲基化都有影响,甲基转移酶参与其中。DNA 甲基化水平的改变可能是 PAHs 的致癌机制之一,它在解释复杂的分子致癌机制中充当了重要角色,更可作为 PAHs 暴露引起的致癌风险评估中有意义的生物学标志物。胎儿生长发育期是一生中对环境化学致癌物最敏感的一个阶段,研究证明 PAHs 能够通过胎盘屏障对胎儿出生结局及成人期造成严重健康影响。母体暴露 PAHs 对子代的危害在遗传学角度已经被广泛研究证实,但对于表观遗传的影响,尤其基因组甲基化状态的改变近年来也有一些相关研究,但仍处于初期阶段,缺乏大样本的人群流行病学研究。在开展横断面调查的同时,有必要开展前瞻性队列研究,针对不同的暴露人群分析其暴露特征,结合不同时期的暴露-反应探讨其远期效应。

DNA 甲基化通常发生在基因改变之前,容易检测的到并且具有可逆性,是一类早期有意义的效应标志物,对 DNA 甲基化的检测能够及早地观察到机体的损伤。而在此前 PAHs 暴露的遗传毒性研究中还包含被公认的早期有效生物学效应指标如 PAH-

DNA 加合物,如果能深入研究两者之间的相关关系,则能为解释 PAHs 暴露的复杂分子致癌机制提供更充分完善的理论基础,也能对其造成的健康危害的早期鉴别及预防控制提供新的思路。

参考文献

- Bollati V, Baccarelli A. Environmental epigenetics [J]. *Heredity*, 2010, 105:105-112
- Risch A, Plass C, et al. Lung cancer epigenetics and genetics [J]. *Int J Cancer*, 2008, 123:1-7
- Perera F, Herbstman J. Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease [J]. *Reproductive Toxicology*, 2011, 31:363-373
- Alegria-Torres JA, Barretta F, Batres-Esquivel LE, et al. Epigenetic markers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexican brickmakers: a pilot study [J]. *Chemosphere*, 2013, 91:475-480
- Jin SG, Jiang Y, Qiu R, et al. 5-Hydroxymethylcytosine is strongly depleted in human cancers but its levels do not correlate with IDH1 mutations [J]. *Cancer Res*, 2011, 71:7360-7365
- Kudo Y, Tateishi K, Yamamoto K, et al. Loss of 5-hydroxymethylcytosine is accompanied with malignant cell transformation [J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(4):670-676
- Krau TF, Globisch D, Wagner M, et al. Low values of 5-hydroxymethylcytosine (5hmC), the "sixth base", are associated with anaplasia in human brain tumors [J]. *Int J Cancer*, 2012, 131:1577-1590
- Toyooka S, Mitsudomi T, Soh J, et al. Molecular oncology of lung cancer [J]. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*, 2011, 59(8):527-537
- Skinner MK. Role of epigenetics in developmental biology and transgenerational inheritance [J]. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2011, 93:51-55
- Alegria-Torres JA, Baccarelli A, Bollati V, et al. Epigenetics and lifestyle [J]. *Epigenomics*, 2011, 3(3):267-277
- Yauk C, Polyzos A, Rowan-carroll A, et al. Germ-line mutations, DNA damage, and global hypermethylation in mice exposed to particulate air pollution in an urban/industrial location [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(2):605-610
- Duan H, He Z, Ma J, et al. Global and MGMT promoter hypomethylation independently associated with ggg genomic instability of lymphocytes in subjects exposed to high-dose polycyclic aromatic hydrocarbon [J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(11):2013-2022
- Pavanello S, Bollati V, Pesatori A C, et al. Global and gene-specific promoter methylation changes are related to anti-B[a]PDE-DNA adduct levels and influence micronuclei levels in polycyclic aromatic hydrocarbon-exposed individuals [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(7):1692-1697
- Wu HCh, Wang Q, Delgado-Cruzata L, et al. Genomic methylation changes over time in peripheral blood mononuclear cell DNA: differences by assay type and baseline values [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2012, 21(8):1314-1318
- Flom JD, Ferris JS, Liao Y, et al. Prenatal smoke exposure and genomic DNA methylation in multiethnic birth cohort [J]. *Cancer Epi-*

- demiol Biomarkers Prev, 2011, 20(12): 2518 - 2523
- 16 Teneng I, Montoya - Durango DE, Quertermous JL, *et al.* Reactivation of L1 retrotransposon by benzo(a)pyrene involves complex genetic and epigenetic regulation[J]. Epigenetics, 2011, 6(3): 355 - 367
- 17 Perera F, Tang WY, Herbstman J, *et al.* Relation of DNA methylation of 5' - CpG island of ACSL3 to transplacental exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and childhood asthma [J]. PLoS One, 2009, 4(2): e4488
- 18 Herbstman JB, Tang DL, Zhu DG, *et al.* Prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons, benzo[a]pyrene - DNA Adducts, and genomic DNA methylation in cord blood[J]. Environ Health Perspect, 2012, 120(5): 733 - 738
- 19 Tang WY, Levin L, Talaska G, *et al.* Maternal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and 5' - CpG methylation of interferon - γ in cord white blood cells[J]. Environ Health Perspect, 2012, 120(8): 1195 - 1200
- 20 邓雯文, 杨沫, 张遵真, 等. 苯并[a]芘诱导的细胞恶性转化对 DNA 甲基化转移酶的影响[J]. 卫生研究, 2013, 42(6): 915 - 924
(收稿日期: 2014 - 03 - 20)
(修回日期: 2014 - 04 - 08)

电离辐射对男性生育力的影响

盛慧强 洪艳

摘要 电离辐射在日常生活中广泛存在,对人类健康产生各种不良影响。作为对电离辐射敏感的细胞之一,男性生殖细胞容易受到损伤,在受到不同程度的电离辐射后将引起精子浓度、活力、形态、精子染色体及 DNA 的一系列变化,导致男性生育力下降。因此,合理进行电离辐射损伤预防的同时,积极开展男性生育力保存工作显得尤为重要。

关键词 电离辐射 精子 生育力

[中图分类号] R321.1 [文献标识码] A

电离辐射是由能直接产生电离的粒子(如 α 粒子、 β 粒子、质子等带电粒子)或间接产生电离的粒子(如 X 射线、 γ 射线及中子等不带电粒子),或两者混合组成的任何射线所致的辐射。在日常生活中,电离辐射无处不在,如天然本底辐射,包括宇宙射线和自然界中天然放射性核素发出的射线,还有各种人工辐射源,包括核电站、物理探矿、医用诊断和治疗、辐射育种、辐射加工和灭菌、考古研究等。大量的研究证明,电离辐射所导致的生物学效应可损伤机体细胞,对人类的健康产生各种不良的影响,包括机体敏感组织或器官如骨髓、肺、甲状腺、眼晶体、生殖腺、皮肤等的损伤,以及诱发肿瘤和各种遗传疾患^[1-3]。近年来,人类生活的环境日趋恶化,自身繁衍及后代素质面临严重挑战,据统计,在世界范围内约有 15% 育龄夫妇患有不育症,其中男女双方因素各占 50%,也有诸多文献报道,最近几十年男性精液质量呈现逐年下降的趋势^[4,5]。伴随着生殖医学的兴起,男性生育力的各种影响因素也成为研究热点。本文就电离辐射

对男性生育力的影响做一综述。

一、电离辐射对男性生殖系统的生物学效应

机体受辐射作用时,根据照射剂量、照射方式以及效应表现的情况,在实际工作中常将生物效应分类表述。如按照照射方式可以分为外照射与内照射、局部照射与全身照射;按照照射剂量率可分为急性效应与慢性效应;按效应出现时间可分为早期效应与远期效应;按效应表现的个体可分为躯体效应与遗传效应;科学研究中最常使用的是按效应发生和照射剂量的关系分类,可以将电离辐射对生殖系统的生物学效应分为确定性效应和随机性效应。

1. 确定性效应:确定性效应是指效应的严重程度(不是发生率)与照射剂量的大小有关,取决于细胞群中受损细胞的数量或百分率。一般发生于高剂量急性照射时,此种效应存在阈剂量(通常大于 0.1Gy),如卵巢接受的照射剂量超过 0.85Gy 将抑制排卵,睾丸接受大于 0.46Gy 的照射将影响精子的浓度,剂量越大,产生的生物学效应越严重,但这是一种非线性的剂量 - 反应关系^[6]。

2. 随机性效应:随机性效应指效应的发生率(不是严重程度)与照射剂量的大小无关,这种效应在个别细胞损伤(主要是突变)时即可出现,几乎没有流

作者单位:310013 杭州,浙江省医学科学院(盛慧强、洪艳);
310012 杭州,浙江省计划生育科学技术研究所(盛慧强)
通讯作者:洪艳,电子信箱:Hongy1008@163.com