

# 胚系表观突变与人类肿瘤

吴浦媛<sup>1,2</sup>, 范怡梅<sup>1,2</sup>, 王亚平<sup>1,2</sup>

## Germ-line epimutations and human cancer

Pu-Yuan Wu,<sup>1,2</sup> Yi-Mei Fan<sup>1,2</sup> and Ya-Ping Wang<sup>1,2</sup>

1. 南京大学医学院医学遗传学研究室,  
江苏 南京 210093
2. 江苏省医学分子技术重点实验室,  
江苏 南京 210093

*1. Department of Medical Genetics,*

*Medical School,*

*Nanjing University,*

*Nanjing, Jiangsu 210093,*

*P. R. China*

*2. Jiangsu Key Laboratory of*

*Molecular Medicine,*

*Nanjing, Jiangsu 210093,*

*P. R. China*

通讯作者: 范怡梅

Correspondence to: Yi-Mei Fan

Tel.: 86.25.83686495

Email: ymfan@nju.edu.cn

基金项目: 江苏省自然科学基金项目(编号: BK2008269); 江苏省国际科技合作计划项目(编号: BZ2008055)资助

**Grants:** Natural Science Foundation of Jiangsu (No. BK2008269); International Science and Technology Cooperation Project of Jiangsu Province (No. BZ2008055)

收稿日期: 2009-05-14

修回日期: 2009-07-14

**[Abstract]** Epimutations are errors in the normal process of epigenetic regulation which can result in aberrant transcriptional silencing of a normally active gene or reactivation of a normally silent gene. Epimutations are generally considered to be somatic events and to be confined in affected tissues. However, recent studies of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) have showed that allele-specific hypermethylation of CpG islands in the promoter region of the MLH1 gene, one of the causes of the tumor, existed in all the tissues examined. In addition, germ-line epimutations of other tumor suppressor genes (TSGs), such as MSH2 and BRCA1, have also been reported, demonstrating that epimutations might arise in the germ-line (during gametogenesis or early embryonic development). The role of germ-line epimutations might be as important as germ-line mutations in human disease. We reviewed the update on germ-line epimutations of TSGs including the possible mechanisms underlying germ-line epimutations, the possibility of transgenerational inheritance, and their impact on our understanding of human disease.

**Key words:** germ-line epimutation, tumor suppressor gene, hypermethylation, MLH1

**【摘要】** 表观突变是指表观遗传调控出现错误,导致正常情况下表达的基因沉默或者正常情况下沉默的基因转录表达。表观突变通常被认为是局部体细胞事件,一般只存在于病变组织。但是,最近几年关于遗传性非息肉性结直肠癌的研究发现,在部分患者中,所有检测的正常组织均存在 MLH1 单等位基因启动子区域 CpG 岛甲基化,并证实这种异常甲基化是肿瘤形成的病因。随后,关于其他抑癌基因 MSH2 与 BRCA1 等的胚系异常甲基化也陆续有报道。这提示,表观突变也可以起源于胚系(生殖细胞形成期或胚胎发育早期),从而造成全身细胞广泛的基因转录沉默。这种胚系表观突变类似于经典的基因胚系序列突变,可能成为人类疾病发生的病因。本文着重对近年来抑癌基因胚系表观突变研究进展作一综述,探讨胚系表观突变可能的产生机制和代间遗传的可能性,并展望其给人类疾病病因研究所带来的深远影响。

**关键词:** 胚系表观突变; 抑癌基因; 高度甲基化; MLH1

中图分类号: R730 文献标识码: A

文章编号: 1000-467X(2009)12-1236-07

表观遗传学研究的是不涉及 DNA 序列改变的可遗传的基因表达的变化<sup>[1]</sup>。表观遗传机制对于分化期组织特异的基因表达起着重要作用,从而造成发育的可塑性。表观遗传机制主要包括 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化与甲基化引起的染色质结构改变,以及非编码 RNA 的转录后调节等。其中, DNA 甲基化是目前研究的较多的表观遗传标

记,它在细胞有丝分裂或减数分裂过程中传递着非DNA序列的遗传信息。这些遗传信息在胚胎发育过程中,调控基因的适时启闭和时空有序表达,并维持着个体中各种不同表型的细胞的分化<sup>[2-4]</sup>。

在哺乳动物中,DNA甲基化主要发生在CpG二联核苷胞嘧啶第5位碳原子,即5'-m5CpG-3'。人类基因组中包含2800万个CpG二联核苷,其中7%存在于CpG岛<sup>[5]</sup>。CpG岛是指基因组中富含CpG二联核苷的长约200~500bp的区域。人类有接近70%基因的启动子区域含有CpG岛<sup>[6]</sup>。正常细胞中,大部分CpG二联核苷(约70%)处于甲基化状态,非甲基化的CpG主要集中于基因启动子区域的CpG岛<sup>[7]</sup>。

表观突变是指表观遗传调控出现错误,导致正常情况下表达的基因沉默或者正常情况下沉默的基因转录表达<sup>[8]</sup>。早在1987年,Holliday就提出表观突变会导致疾病<sup>[9]</sup>,而近些年来研究提供了越来越多的证据。例如,特定基因启动子区域CpG岛的高度甲基化会导致基因转录沉默,其机制可能是由于甲基化阻碍了转录因子与DNA的结合或者甲基化结合蛋白与DNA的结合等<sup>[10]</sup>。通过抑制受累等位基因的转录,表观突变可以有效地引起基因表达产物的降低,甚至完全丧失。从而产生与基因序列突变类似的后果,引起细胞或个体表型的改变,甚至导致某些疾病。

以前表观突变一直被认为是局部体细胞事件,例如在肿瘤演进过程中,肿瘤组织中广泛存在抑癌基因(tumor suppressor genes, TSGs)的表观突变。但是,近年的研究发现,表观突变并非只限于体细胞,而是可能发生于胚系(生殖细胞形成期或胚胎发育早期),并在个体发育的全过程中得以维持,从而存在于机体所有组织,并且可以传递给后代,称为胚系表观突变。以前胚系表观突变的研究,一直局限于植物和动物,直到近些年来,人类中胚系表观突变的研究才有进展。本文对胚系表观遗传突变的研究做一综述,主要阐述人类中最近发现的抑癌基因胚系表观突变。

## 1 真核生物中的胚系表观突变

植物中的胚系表观突变的研究开始得较早,对它的认识也相对比较清楚。玉米的P位点<sup>[11]</sup>、拟南芥的SUPERMAN基因<sup>[12]</sup>以及柳穿鱼的Lyc

基因<sup>[13]</sup>中均存在基因异常甲基化等表观突变,造成基因失表达,进而引起植物表型改变。这种表观突变可以由亲代传给子代。

植物的生殖细胞与体细胞在早期发育中并没有完全分开,因此,植物的表观突变通过两性生殖或营养生殖传递给下一代似乎并不奇怪。然而在哺乳动物中,也出现了类似的现象。

鼠类中有部分基因表现出不能用孟德尔定律解释的表达多样性,这些基因被称为亚稳定表观遗传等位基因,其中最著名的是A<sup>y</sup>(agouti viable yellow)基因和Axin<sup>Fu</sup>(axin fused)基因<sup>[14-16]</sup>。它们的表达取决于基因附近或其内部的反转座子(intracisternal-A particle, IAP)中长末端重复序列(long terminal repeat, LTP)的甲基化情况。A<sup>y</sup>基因上游IAP的低甲基化导致agouti基因表达,小鼠毛色为黄色;而高甲基化造成agouti基因沉默,鼠毛为灰色。因此携带A<sup>y</sup>基因的小鼠(A<sup>y</sup>/A)毛色表现出嵌合型表型,从与野生型(A/A)相同的灰色到灰黄镶嵌、再到完全的黄色<sup>[15]</sup>。Axin<sup>Fu</sup>基因第6内含子中有IAP序列,低甲基化状态的IAP会导致异常转录的Axin RNA增多,从而引起小鼠出现尾巴发育异常。IAP甲基化的程度与小鼠尾巴畸形的程度相关<sup>[16]</sup>。

胚系表观突变不仅发生在动植物中,在人类的印记基因疾病中也存在。Prader-Willi综合征(Prader-Willi syndrome, PWS)和Angelman综合征(Angelman syndrome, AS)是一种由位于15q11-q13的一组印记基因功能异常造成的疾病。在印记基因缺陷的患者中,只有小部分携带有印记中心(imprinting center, IC)的微缺失。而在没有序列缺失的印记基因缺陷患者中,印记中心的表观突变(DNA甲基化)是发病的直接原因。在这些患者中,PWS患者受累基因全部来自祖母,而AS患者受累基因一部分来自外祖父,另一部分来自外祖母。研究者根据实验证据推测这种表观突变发生于生殖细胞形成时期,并且可能是由于精子形成过程中对母源染色体表观遗传标记的不完全擦除(PWS患者),这种改变属胚系改变,会造成严重的临床疾病表型<sup>[17]</sup>。

这种发生于印记基因的胚系表观突变,在非印记基因中是否也同样存在呢?关于抑癌基因的研究给了肯定的回答,这种胚系表观突变不但可以解释遗传性状,还可能为某些疾病揭开病因。

## 2 抑癌基因胚系表观突变研究的突破性进展

与正常细胞相比,肿瘤细胞表现出全基因组甲基化程度降低(主要为DNA重复序列、基因编码和内含子区域、以及某些原癌基因甲基化程度减低),以及抑癌基因启动子CpG岛区域甲基化程度增加<sup>[18,19]</sup>。最早在视网膜母细胞瘤中发现了Rb基因启动子区域CpG岛甲基化,随后又在其他肿瘤中发现其他抑癌基因的甲基化,例如与细胞周期相关的p16<sup>INK4a</sup><sup>[20]</sup>与DNA损伤修复有关的hMLH1<sup>[21]</sup>、BRCA1等<sup>[18]</sup>和其他抑癌基因CDH1等<sup>[22]</sup>。近年来研究发现,DNA异常甲基化不仅存在于肿瘤细胞中,而且存在于一部分患者的所有胚层来源的非癌细胞,属胚系来源。

### 2.1 MLH1基因的胚系表观突变

遗传性非息肉性结直肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma, HNPCC)是一种常染色体显性遗传病<sup>[23]</sup>,其发生与DNA错配修复基因(mismatch repair genes, MMR)MLH1或MSH2等的沉默相关。2002年Gazzoli等<sup>[24]</sup>在1例(1/14)疑似HNPCC患者的血细胞DNA中检出了MLH1单等位基因启动子区域CpG岛的高度甲基化。进一步分析确认肿瘤组织存在杂合型缺失(loss of heterozygosity, LOH),即非甲基化等位基因丢失,而甲基化的等位基因保留。该患者未检出HNPCC相关基因胚系序列突变。由此,Gazzoli等认为MLH1基因的甲基化以及与其相关的沉默是一种发生于胚系的变化,这种变化与肿瘤发生相关。并且提出了肿瘤发生的可能的新机制,这个新机制符合“二次打击”(two-hits)学说,即抑癌基因的胚系甲基化是肿瘤发生的“第一次打击”,而LOH最终导致了肿瘤的发生。

2004年Suter等<sup>[25]</sup>进一步报道了2例HNPCC患者带有MLH1基因全身性的、等位基因特异性的、细胞嵌合型的甲基化。在2例患者的可以获得的所有胚层来源的正常体细胞中均检出了MLH1基因启动子区CpG岛的甲基化,这些正常体细胞组织包括起源于内胚层的口腔黏膜,起源于中胚层的外周血以及起源于外胚层的头发毛囊。由此看出,这种表观突变很可能是胚系新发生的突变。胚系表观突变可以产生与基因序列突变相同的疾病表型,因此带有胚系表观突变的个体对特定疾病的易感性增加。

此后,陆续有研究报道,不仅证实了上述发

现,而且对这种胚系甲基化有了更深入的认识。2005年Hitchins等<sup>[26]</sup>在160例来自HNPCC家庭的无错配修复基因胚系序列突变的先证者中发现1例男性患者带有全身细胞的MLH1单等位基因异常甲基化。进一步分析,患者的外周血白细胞中仅有非甲基化的MLH1等位基因表达,即MLH1的甲基化导致了转录沉默。此外,在300例正常对照中未筛查到MLH1启动子区甲基化,提示该异常甲基化具有病因学意义。两年后,2007年Hitchins等<sup>[27]</sup>在2例(2/24)年龄低于50岁的结直肠癌或子宫内膜癌患者中检出3种胚层细胞MLH1基因启动子区域单等位基因甲基化,同时对外周血白细胞和淋巴样干细胞中的mRNA进行分析,发现甲基化的等位基因是转录沉默的。更为重要的是,他们首次报道了MLH1胚系表观突变在两代之间的传递。

2008年Morak等<sup>[28]</sup>进一步扩大了检测样本,在12例(12/94)HNPCC患者外周血中检出MLH1启动子甲基化,并且其中一位患者将甲基化的MLH1等位基因传递给儿子。据此,在疑似HNPCC的、患有肿瘤组织微卫星不稳定(microsatellite instability-high, MSI-H)和MLH1表达缺失,但无MLH1胚系序列突变的人群中,血细胞中MLH1启动子异常甲基化的检出率可以达到13%,其中部分患者可能表现出嵌合型的甲基化。

目前共有7篇文章报道了25例MLH1启动子区域胚系甲基化的患者<sup>[24-30]</sup>。这些研究表明,MLH1胚系表观突变,类似于MLH1胚系序列突变,可以引起MSI-H与MLH1表达缺失的、疑似HNPCC的结直肠癌发生。但是,不同于基因序列突变,表观突变可以逆转至正常状态,因此使其表现出细胞间的高度变异性,从而使得胚系表观突变表现出嵌合型、遗传能力弱等特性。

### 2.2 其他抑癌基因的胚系表观突变

2006年Chan等<sup>[31]</sup>报道在一个HNPCC家庭中筛查到MSH2基因胚系等位基因特异的、嵌合型甲基化,患者均未检出DNA错配修复基因突变。并且这种MSH2基因的胚系表观突变在该家系连续三代间传递。2008年Snell等<sup>[32]</sup>报道了在家族性乳腺癌患者中发现了3例患者外周血中BRCA1基因启动子区域的嵌合型甲基化,其中1例患者的口腔颊黏膜DNA中也存在BRCA1低比例的甲基化。这表明在部分乳腺癌患者中,正常组织中存在低水平的BRCA1启动子甲基化,

并且与乳腺癌发病相关。此外,2008年 Romero-Gimenez 等<sup>[33]</sup>在筛查家族性腺瘤样息肉(familial adenomatous polyposis, FAP)患者中 APC 基因的胚系甲基化,没有发现 APC 基因的这种胚系表观突变。

这些研究共同表明,某些抑癌基因胚系表观突变在肿瘤发生的“二次打击”中扮演着第一次打击的角色,构成部分遗传性肿瘤的病因。抑癌基因胚系表观突变的研究才刚刚开始,这种发生机制是否在其他肿瘤中出现,在肿瘤发生中所占的比例是多少,还有待研究。因为 DNA 甲基化被认为是一种可逆的变化,与序列突变不同,因此可以为临床肿瘤的治疗开辟新的途径。

### 3 胚系表观突变的产生机制

表观遗传学沉默是个复杂的过程,有多种不同的因子参与其中,牵涉到多种蛋白质、DNA 与 RNA 间的相互作用,并且可能发生于哺乳动物生命循环的所有阶段。近三十年来的研究表明,哺乳动物个体表观遗传标记的建立经历两个关键时期,即生殖细胞形成时期和胚胎发育早期。在这两个时期中,细胞发生表观遗传标记重新编程,即清除原有表观遗传标记再建立新的表观遗传标记<sup>[34]</sup>。胚系表观突变可能源于重新编程中出现的错误,即重新编程过程中,某些位点的甲基化被错误地保留或错误地建立,这种错误可能是随机发生的或受到环境的影响而产生,因此可以称为原发性胚系表观突变。另一方面,这种异常的胚系甲基化,可能受到顺式作用(in cis)或者反式作用(trans)的调控,因此也可以被称为继发性胚系表观突变<sup>[35]</sup>。

目前已基本排除与 MLH1 基因胚系表观突变相关的可能的顺式作用,因为 MLH1 邻近区域的单体型分析显示,具有同样单体型的个体并未全部携带该表观突变<sup>[27]</sup>。虽然并不能够完全排除某种反式作用的影响,但是至今未见相关的实验证据。因此 MLH1 基因的表观突变很有可能是原发性胚系表观突变,随机产生或受到某种环境诱因影响,使得胚胎发育中甲基化重编程过程出现异常。这种改变原发于 MLH1 基因位点,即 MLH1 启动子 CpG 岛异常高度甲基化,造成体细胞 MLH1 蛋白表达低于正常,是导致癌症发生的直接原因。

动物实验提示环境因素在胚系表观突变的形成过程中具有重要意义,它可能直接导致胚系表观突变的产生。在大鼠胚胎早期性腺发育时期,给予环境内分泌干扰物乙烯菌核利(vinclozolin)和甲氧氯(methoxychlor),导致雄性后代(F1代)精子的数量和活力下降,雄性不育的比例提高。并且,这种生殖能力的下降可以通过父系遗传至 F4 代雄性大鼠。进一步,在受累雄性大鼠 DNA 中,检出基因异常甲基化。这些基因包括溶血磷脂酶(lysophospholipase, LPLase)及细胞因子诱导的 SH2 蛋白(cytosine-inducible SH2 protein)等。因此,环境内分泌干扰物可能影响了早期性腺发育中生殖细胞甲基化重新建立的过程,从而影响生殖细胞的表观遗传,造成大鼠的疾病表型<sup>[36]</sup>。除了环境毒物,母鼠妊娠中期饮食中甲基供体的多少也会影响小鼠 A<sup>y</sup> 基因的甲基化状态<sup>[37]</sup>。此外,环境因素不仅作用于配子合子形成过程和胚胎发育早期,还可以作用于出生后胎儿时期。出生一周内母鼠对幼鼠的舔舐理毛行为与幼鼠内侧视前区(medial preoptic area, MPOA)组织中雌激素受体 $\alpha$ (estrogen receptor  $\alpha$ , ER $\alpha$ )启动子区域的甲基化水平相关,影响 ER $\alpha$  表达以及雌激素活性,进而影响下一代母鼠对幼鼠的行为,从而这样的表观遗传改变得以在多代中维持<sup>[38]</sup>。

某些潜在的基因作用构成继发性胚系表观突变的直接原因,包括顺式作用或反式作用。在印记基因疾病 Beckwith-Wiedemann 综合征(Beckwith-Wiedemann syndrome, BWS)中,部分患者带有母源印记中心 1.4~1.8 bp 的微缺失,这种微缺失与母源印记基因的甲基化相关,其机制可能是微缺失减少了 CTCF 蛋白的结合位点<sup>[39]</sup>。在慢性淋巴细胞性白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)中,普遍检出抑癌基因 DAPK1 表达下调,同时广泛存在 DAPK1 基因启动子异常甲基化。进一步,DAPK1 基因的一个 SNP 位点(c.1-6531A>G)与 DAPK1 表达下调相关。综合分析推测这些 CLL 产生机制可能为该 SNP 可以增强 DNA 与 HOXB7 蛋白的结合,而 HOXB7 蛋白抑制 DAPK1 的表达,DAPK1 的表达下调再经由组蛋白修饰等过程,最终导致基因异常甲基化<sup>[40]</sup>。关于另一错配修复基因 MSH2 的表观突变分析,也显示与某种基因型相关<sup>[31]</sup>。该家族中所有具有与先证相同的单体型的个体均携带该表观突变,因此可能是某种顺式作用

启动了基因的沉默,而不能认为是原发的胚系表观突变的作用<sup>[41-43]</sup>。

最近的研究显示,非编码 RNA 通过靶向结合于基因序列的特定区域,对于异染色质形成以及介导并维持表观遗传学沉默起着重要作用,这种作用可以归结于表观突变形成中的反式作用。在分化的小鼠胚胎干细胞中,诱导  $\alpha 2$ -珠蛋白(HBA2)基因的反义转录,引起了基因 CpG 岛的异常甲基化,同时 HBA2 基因表达沉寂<sup>[44]</sup>。在白血病细胞中,p15 基因的反义 RNA 表达高于正常细胞。在分化的小鼠胚胎干细胞中导入 p15 的反义序列表达质粒,导致组蛋白乙酰化与甲基化状态的改变,继而 p15 的启动子区出现了高甲基化的现象,产生持久的 p15 正义基因表达抑制,构成部分白血病发生的分子机制<sup>[45]</sup>。

#### 4 胚系表观突变的遗传性

哺乳动物中的研究已经有证据表明胚系表观突变可以遗传给后代。最典型的例子是在鼠中的研究。亲代  $A^{vy}$  基因和  $Axin^{Fu}$  基因甲基化状态可以影响子代中这两个基因的甲基化水平(高度甲基化的亲代倾向产生高度甲基化的子代),这种遗传既可以来自于母本,也可能来自于父本<sup>[14-16]</sup>。并且这种遗传会受到孕鼠食物中叶酸的含量(即环境影响)与种系的影响<sup>[37]</sup>,显示出与经典的基因序列突变的差异,是一种非孟德尔方式的遗传。

在 MLH1 胚系表观突变的研究中也存在胚系表观突变遗传性的实验证据<sup>[27,28]</sup>。Hitchins 等<sup>[27]</sup>报道 HNPCC 患者 A 的一个儿子(II 6-A)的母源等位基因也带有与其母亲同样的 MLH1 胚系基因甲基化,且该 MLH1 母源等位基因转录沉默。但是,在他的精子中这种 MLH1 基因异常甲基化消失,并且母源等位基因重新转录活跃。进一步,具有同样单型的患者 A 的一个姐妹以及另外两个儿子,却未携带该 MLH1 胚系表观突变。而患者 B 的母亲和儿子带有与 B 相同的单型,却未检出 MLH1 异常甲基化。Morak 等<sup>[28]</sup>对 4 个携带胚系表观突变的 HNPCC 患者进行了甲基化状况的家系分析,其中有 1 例显示出母源等位基因异常甲基化传递给后代,两例为母源等位基因新发生的甲基化,还有 1 例男性患者的甲基化没有遗传给儿子。

以上研究提示胚系表观突变具有一定的遗传

能力。但是这种遗传性相对较弱,与动物研究中发现的非孟德尔遗传方式相符,即胚系表观突变可以在一定的情况下回复到正常的野生状态。在 Hitchins 等<sup>[27]</sup>的研究的例子中,母亲将受累的等位基因传递给了多个后代,但是该表观突变只在一个后代中维持。那些丢失了表观突变的后代可能由于表观突变在母亲生殖细胞中,或者在早期胚胎发育中被清除。这种突变的回复也可以解释胚系表观突变在个体中所呈现的不同程度的细胞嵌合现象。然而,由于并未评估先证的生殖细胞,胚系表观突变的遗传性并未得到完全确认。部分个体可能直接将该胚系甲基化传递给后代,也可能表观突变在胚系已被清除,某种遗传的反式作用元件在后代重建了该表观突变。但是,如上节所述,何种反式作用造成了表观突变并不清楚<sup>[8]</sup>。另一方面,不同的受累基因可能表现出不同的遗传模式。随着对表观突变的认识加深,这种遗传模式将会越来越清晰。

#### 5 小结与展望

人类抑癌基因胚系表观突变的发现,具有深远的意义。它不仅提出了肿瘤发生的新的机制,而且提示胚系表观突变可能与人类广泛的其他疾病相关。对于那些患有遗传性疾病却未筛查出相关基因序列突变的患者,胚系表观突变的研究显得尤为重要。例如 MLH1 胚系表观突变的筛查对象应当是低龄、无家族史、患有 MSI 肿瘤且肿瘤中 MLH1 表达缺失的患者。但是,如果某种疾病或综合征并不与特定基因突变相关,那么在广泛的基因组范围寻找可能存在的胚系表观突变就相对困难。胚系表观突变弱的遗传性,经常发生的可逆性,形成了嵌合型及非孟德尔方式的遗传模式,使得遗传图谱的绘制相对困难。而另一方面,胚系表观突变经常呈现出的嵌合型及非孟德尔方式的遗传特征,可以解释某些复杂疾病的表型可变性与变化的遗传外显率,从而为复杂疾病的病因学研究提供了新的思路。有些以前被当做复杂的多基因遗传病,可能简单地由单基因表观突变就可以解释<sup>[46]</sup>。然而,有待回答的问题还很多,不难想象,类似的研究将会在其它肿瘤,乃至肿瘤以外的遗传性疾病中积极展开。随着对这种胚系表观突变的进一步研究,将有可能扩展对疾病遗传基础认识,给临床诊断与治疗提供新的思路。

## [参 考 文 献]

- [1] Wolffe AP, Matzke MA. Epigenetics: Regulation through repression [J]. *Science*, 1999,286(5439):481-486.
- [2] Zilberman D. The human promoter methylome [J]. *Nat Genet*, 2007,39(4):442-443.
- [3] 王 溪, 朱卫图. 组蛋白甲基化酶及去甲基化酶的研究进展 [J]. *癌症*, 2008,27(10):1018-1025.
- [4] 腾丽娟, 李 克. 营养与肿瘤表观遗传学关系的研究进展—组蛋白修饰机制 [J]. *癌症*, 2007,26(9):1034-1038.
- [5] Brena RM, Costello JF. Genome-epigenome interactions in cancer [J]. *Hum Mol Genet*, 2007,16(R1):R96-R105.
- [6] Saxonov S, Berg P, Brutlag DL. A genome-wide analysis of CpG dinucleotides in the human genome distinguishes two distinct classes of promoters [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006,103(5):1412-1417.
- [7] Rollins RA, Haghighi F, Edwards JR, et al. Large-scale structure of genomic methylation patterns [J]. *Genome Res*, 2006,16(2):157-163.
- [8] Cropley JE, Martin DI, Suter CM. Germline epimutation in humans [J]. *Pharmacogenomics*, 2008,9(12): 1861-1868.
- [9] Holliday R. The inheritance of epigenetic defects [J]. *Science*, 1987, 238(4824):163-170.
- [10] Esteller M. Epigenetic gene silencing in cancer: The DNA hypermethylome [J]. *Hum Mol Genet*, 2007,16(R1):R50-R59.
- [11] Das OP, Messing J. Variegated phenotype and developmental methylation changes of a maize allele originating from epimutation [J]. *Genetics*, 1994,136(3):1121-1141.
- [12] Jacobsen SE, Meyerowitz EM. Hypermethylated superman epigenetic alleles in arabidopsis [J]. *Science*, 1997,277(5329):1100-1103.
- [13] Cubas P, Vincent C, Coen E. An epigenetic mutation responsible for natural variation in floral symmetry [J]. *Nature*, 1999,401(6749):157-161.
- [14] Rakyen VK, Blewitt ME, Druker R, et al. Metastable epialleles in mammals [J]. *Trends Genet*, 2002, 18(7):348-351.
- [15] Morgan HD, Sutherland HG, Martin DI, et al. Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse [J]. *Nat Genet*, 1999,23(3):314-318.
- [16] Rakyen VK, Chong S, Champ ME, et al. Transgenerational inheritance of epigenetic states at the murine axin (fu) allele occurs after maternal and paternal transmission [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003,100(5): 2538-2543.
- [17] Buiting K, Gross S, Lich C, et al. Epimutations in Prader-Willi and Angelman syndromes: A molecular study of 136 patients with an imprinting defect [J]. *Am J Hum Genet*, 2003,72(3):571-577.
- [18] Esteller M. Epigenetics in cancer [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(11): 1148-1159.
- [19] 元云飞, 李锦清, 汪建平, 等. 肿瘤相关基因过甲基化的研究进展 [J]. *癌症*, 2002,21(11):1267-1277.
- [20] Tamura G. Promoter methylation status of tumor suppressor and tumor-related genes in neoplastic and non-neoplastic gastric epithelia [J]. *Histol Histopathol*, 2004,19(1):221-228.
- [21] 李建华, 石先哲, 刘 敏, 等. 胃癌的微卫星不稳定性与 hMLH1 基因启动子甲基化的关系 [J]. *癌症*, 2005,24(3): 273-277.
- [22] 张 骞, 金 杰, 陶 谦. 抑癌基因甲基化在肾细胞癌研究中的进展 [J]. *癌症*, 2007,26(11):1276-1280.
- [23] Lynch HT, de la Chapelle A. Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer [J]. *J Med Genet*, 1999,36(11): 801-818.
- [24] Gazzoli I, Loda M, Garber J, et al. A hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma case associated with hypermethylation of the mlh1 gene in normal tissue and loss of heterozygosity of the unmethylated allele in the resulting microsatellite instability-high tumor [J]. *Cancer Res*, 2002,62(14):3925-3928.
- [25] Suter CM, Martin DI, Ward RL. Germline epimutation of MLH1 in individuals with multiple cancers [J]. *Nat Genet*, 2004,36(5):497-501.
- [26] Hitchins M, Williams R, Cheong K, et al. MLH1 germline epimutations as a factor in hereditary nonpolyposis colorectal cancer [J]. *Gastroenterology*, 2005,129(5):1392-1399.
- [27] Hitchins MP, Wong JJ, Suthers G, et al. Inheritance of a cancer-associated MLH1 germ-line epimutation [J]. *N Engl J Med*, 2007,356(7):697-705.
- [28] Morak M, Schackert HK, Rahner N, et al. Further evidence for heritability of an epimutation in one of 12 cases with MLH1 promoter methylation in blood cells clinically displaying HNPCC [J]. *Eur J Hum Genet*, 2008,16(7): 804-811.
- [29] Miyakura Y, Sugano K, Akasu T, et al. Extensive but hemiallelic methylation of the hmlh1 promoter region in early-onset sporadic colon cancers with microsatellite instability [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2004,2(2):147-156.
- [30] Valle L, Carbonell P, Fernandez V, et al. MLH1 germline epimutations in selected patients with early-onset non-polyposis colorectal cancer [J]. *Clin Genet*, 2007,71(3):232-237.
- [31] Chan TL, Yuen ST, Kong CK, et al. Heritable germline epimutation of MSH2 in a family with hereditary nonpolyposis colorectal cancer [J]. *Nat Genet*, 2006,38(10):1178-1183.
- [32] Snell C, Krypuy M, Wong EM, et al. BRCA1 promoter methylation in peripheral blood DNA of mutation negative familial breast cancer patients with a BRCA1 tumour phenotype [J]. *Breast Cancer Res*, 2008,10(1): 12.
- [33] Romero-Gimenez J, Dopeso H, Blanco I, et al. Germline hypermethylation of the APC promoter is not a frequent cause of familial adenomatous polyposis in APC/mutylh mutation negative families [J]. *Int J Cancer*, 2008,122(6):1422-1425.
- [34] Morgan HD, Santos F, Green K, et al. Epigenetic reprogramming in mammals [J]. *Hum Mol Genet*, 2005,14(suppl\_1):R47-R58.
- [35] Whitelaw NC, Whitelaw E. Transgenerational epigenetic inheritance in health and disease [J]. *Curr Opin Genet Dev*,

- 2008,18(3):273-279.
- [36] Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, et al. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility [J]. *Science*, 2005,308(5727):1466-1469.
- [37] Cropley JE, Suter CM, Beckman KB, et al. Germ-line epigenetic modification of the murine A<sub>vy</sub> allele by nutritional supplementation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(46):17308-17312.
- [38] Champagne FA. Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care [J]. *Front Neuroendo-crinol*, 2008,29(3):386-397.
- [39] Sparago A, Russo S, Cerrato F, et al. Mechanisms causing imprinting defects in familial Beckwith-Wiedemann syndrome with Wilms' tumour [J]. *Hum Mol Genet*, 2007,16(3):254-264.
- [40] Raval A, Tanner SM, Byrd JC, et al. Downregulation of death-associated protein kinase 1 (DAPK1) in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Cell*, 2007,129(5):879-890.
- [41] Suter CM, Martin DI. Inherited epimutation or a haplotypic basis for the propensity to silence? [J]. *Nat Genet*, 2007,39(5):573.
- [42] Horsthemke B. Heritable germline epimutations in humans [J]. *Nat Genet*, 2007,39(5):573-574.
- [43] Chong S, Youngson NA, Whitelaw E. Heritable germline epimutation is not the same as transgenerational epigenetic inheritance [J]. *Nat Genet*, 2007,39(5):574-575.
- [44] Tufarelli C, Stanley JA, Garrick D, et al. Transcription of antisense rna leading to gene silencing and methylation as a novel cause of human genetic disease [J]. *Nat Genet*, 2003, 34(2):157-165.
- [45] Yu W, Gius D, Onyango P, et al. Epigenetic silencing of tumour suppressor gene p15 by its antisense RNA [J]. *Nature*, 2008,451(7175):202-206.
- [46] Martin DI, Ward R, Suter CM. Germline epimutation: A basis for epigenetic disease in humans [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005,1054:68-77. [编辑:林志祥;校对:夏宁静]