

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.26.044

DNA 羟甲基化修饰在消化系统肿瘤中的研究进展 *

刘少卿¹ 屈丁丁² 李卫萍³ 何晨翔¹ 张 健² 郑建勇^{1Δ}

(1 第四军医大学西京消化病医院消化外科 陕西 西安 710032;

2 第四军医大学生物化学与分子生物学教研室 陕西 西安 710032; 3 陕西中医药大学, 第二附属医院脑病科 陕西 西安 712046)

摘要: DNA 羟甲基化修饰是基因组表观遗传学的重要调控方式, 指 5- 甲基胞嘧啶(5-mC)在 TET 蛋白家族的催化作用下氧化生成 5- 羟甲基胞嘧啶(5-hmC), 完成 DNA 胞嘧啶的去甲基化过程。基因组甲基化异常导致了多种肿瘤的发生, 羟甲基化修饰作为去甲基化的一种, 同样与肿瘤发生密不可分。在消化系统肿瘤发生发展过程中存在 5-hmC 含量的变化, 其原因可能与 TET 蛋白家族、IDH 突变等密切相关, 提示 DNA 羟甲基化修饰参与了消化系统肿瘤的发生发展过程。本文围绕 DNA 羟甲基化修饰与消化系统肿瘤之间的关系进行综述, 旨在为消化系统肿瘤羟甲基化修饰研究提供新方向。

关键词: 羟甲基化; 胃癌; 肝癌; 结直肠癌; 食管癌

中图分类号: R735 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)26-5189-05

Research on DNA Hydroxymethylation Modification in Digestive System Carcinoma*

LIU Shao-qing¹, QU Ding-ding², LI Wei-ping³, HE Chen-xiang¹, ZHANG Jian², ZHENG Jian-yong^{1Δ}

(1 Department of Digestive Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Biochemistry and Molecular Biology, the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

3 Department of Neurology, Second Hospital Affiliated to Shannxi University of Traditional Chinese Medicine, Xi'an, Shaanxi, 712046, China)

ABSTRACT: DNA hydroxymethylation modification is an important part of genome epigenetic regulation. The demethylation process from 5-methylcytosine (5-mC) to 5-hydroxymethylcytosine (5-hmC) is catalyzed by Tet protein. Abnormal genomic methylation leads to the occurrence of a variety of tumors. Hydroxymethylation is modified as a kind of demethylation and is inseparable from tumorigenesis. The expression of 5-hmC changes accompanied with the development and progression of digestive system tumors, which may be associated with the TET protein family and IDH mutation. It suggested that DNA hydroxymethylation is involved in the development and progression of digestive system tumors. This paper reviews the relationship between DNA hydroxymethylation and digestive system tumors, and aims to provide a new direction for the study of Hydroxymethylation modification in digestive system tumors.

Key words: Hydroxymethylation; Gastric Cancer; Liver Cancer; Colorectal Cancer; Esophagus Cancer

Chinese Library Classification(CLC): R735 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)26-5189-05

前言

表观遗传学修饰是指非基因序列改变导致的基因表达水平的变化, 包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、非编码 RNA 和基因组印迹等。这些表观遗传学改变通过开放或关闭某些特定基因, 在胚胎发育、细胞分化、组织特异性蛋白表达、维持基因组完整性和染色体稳定性等方面发挥重要作用。DNA 羟甲基化修饰作为表观遗传学的重要组成, 是在 DNA 甲基化改变的基础上, 在胞嘧啶第五位碳原子的甲基基团上增加一个羟基生成 5- 羟甲基胞嘧啶而完成 DNA 的去甲基化的过程^[1,2]。Manon 等^[3]通过研究发现表观遗传学改变通过相互作用形成有机整体在肿瘤的发生、发展过程中发挥重要作用。羟甲基化表观遗传学

修饰方式在包括胃癌、肝癌、结直肠癌和食管癌等在内的消化系统肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用。本文围绕 DNA 羟甲基化修饰与消化系统肿瘤之间的关系进行综述。

1 DNA 羟甲基化修饰概述

1.1 DNA 甲基化与羟甲基化修饰的概念

DNA 甲基化修饰 (DNA methylation) 是指在甲基转移酶 (DNMTs) 的作用下, 基因组 CpG 二核苷酸的胞嘧啶 (C) 第 5 位碳原子以共价键结合上一个甲基基团, 最终导致一些区域 DNA 构象发生改变, 进一步影响 DNA 与转录因子的相互作用, 使多数基因在转录的起始阶段发生障碍, 导致基因失活。其中抑癌基因的异常甲基化可引起基因表达抑制, 导致肿瘤细胞

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (81572816); 陕西省科技统筹创新工程计划项目 (2015KTCQ03-02)

作者简介: 刘少卿 (1988-), 男, 硕士, 研究方向: 消化道肿瘤的基础与临床, E-mail: liusq1988@163.com

Δ 通讯作者: 郑建勇 (1968-), 男, 硕士生导师, 副教授, 副主任医师, 研究方向: 消化道肿瘤的基础与临床, E-mail: zhjy68@163.com

(收稿日期: 2017-04-21 接受日期: 2017-05-20)

的增殖失控、侵袭转移并参与肿瘤组织的血管生成,介导了肿瘤的发生发展过程。

DNA 羟甲基化修饰(DNA Hydroxymethylation)是指 10-11 易位(ten-eleven translocation, TET)蛋白家族通过氧化 5- 甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5-mC)生成 5- 羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylation, 5-hmC),使基因甲基化状态终止。5- 羟甲基胞嘧啶最早于 1952 年在 T- 偶数系噬菌体 DNA 中被发现^[4],是胞嘧啶碱基的另一种修饰方式。作为修饰碱基,5- 羟甲基胞嘧啶以低水平存在于多种细胞中,占全部胞嘧啶的 15%,占人类基因组总核苷酸的 1%。5-hmC 作为与去甲基化及表达调节相关的表观遗传学新标志物,被称为高等生物基因组 DNA 的 "第六碱基"。Penn 等^[5]在 1972 年发现哺乳动物 DNA 中也存在 5-hmC;2009 年 Tahiliani 等^[6]发现 5-hmC 富集在小鼠胚胎干细胞,证明 5-hmC 是哺乳动物 DNA 的正常组成部分,同年 Kriaucionis S 等^[7]在 Science 中报道 5-hmC 存在于大脑和浦肯野神经元中,开启了 5-hmC 研究的新篇章。

1.2 DNA 羟甲基化修饰参与 DNA 去甲基化

DNA 甲基化异常与肿瘤的发生发展密切相关,肿瘤组织及细胞内 DNA 甲基化的异常包括:① 原癌基因低甲基化,使原癌基因活化,原癌基因异常表达及突变增加了染色体的不稳定性;② 抑癌基因和细胞生长发育的调节基因启动子区域异常甲

基化导致失活关闭;③ 基因组甲基化率整体偏低,遗传不稳定性大大增加。DNA 羟甲基化修饰通过解除甲基化修饰参与肿瘤的发生发展。

DNA 去甲基化存在两种机制^[8]:即主动去甲基化和被动去甲基化。主动去甲基化即氧化途径,5-mC 在 TET 蛋白的氧化下依次生成 5-hmC、5-fC(5- 甲酰基胞嘧啶)和 5-caC(5- 羧基胞嘧啶),5-fC 和 5-caC 可以直接在胸腺嘧啶糖基化酶(TDG)的作用下启动碱基切除修复(BER)生成胞嘧啶,完成 DNA 的主动去甲基化;而被动去甲基化即脱氨基途径,5-mC 在脱氨酶的作用下转化为胸腺嘧啶,然后在 DNA 胸腺嘧啶糖基化酶的作用下启动碱基切除修复最终生成胞嘧啶,完成 DNA 的被动去甲基化。其去甲基化方式主要有^[9]:① 通过氧化作用将甲基基团氧化成羧基,再通过脱羧完成去甲基化;② 通过核苷酸切除修复途径(NER)切除含 5-mC 的 DNA,用未修饰胞嘧啶进行替换,完成去甲基化;③ 存在特异性识别 5-mC 的脱氨酶,通过脱氨将 5-mC 转化为 C,形成错配,在 TDG 等识别下启动 BER,完成去甲基化;④ 在 TDG 的作用下切除 5-mC 产生 AP 位点,启动 BER,完成去甲基化;⑤ 通过水解作用去甲基化。5-hmC 无论是在主动去甲基化还是在被动去甲基化过程中都发挥了重要的作用,与基因表达调控密切相关。

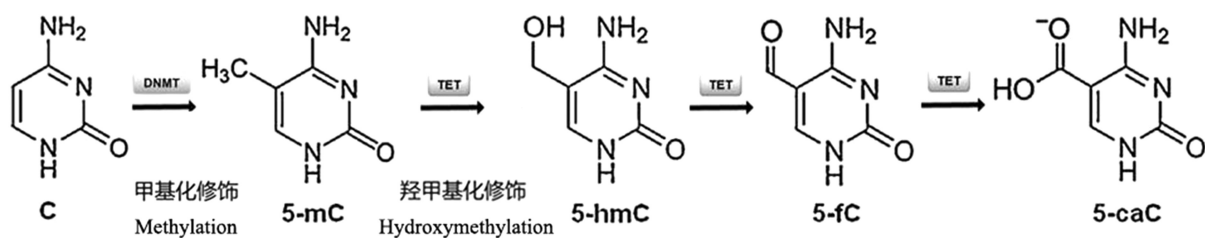


图 1 甲基化修饰与羟甲基化修饰

Fig.1 Methylation modification and Hydroxymethylation modification

1.3 DNA 羟甲基化修饰与 TET 蛋白(ten-eleven translocation)

Tahiliani 等^[6]最先发现并报道了 TET 蛋白家族。哺乳动物 TET 蛋白家族包括了 TET1、TET2 及 TET3,其结构上都有调节 N 端和催化 C 端,TET1 和 TET3 调节 N 端均具有 CXXC 结构域这一锌指结构,TET2 调节 N 端具有与 CXXC3 蛋白相互结合的功能,依此发挥生物学功能^[10]。催化 C 端有两个共同的保守结构域,其中包括 CD 区(catalytic/dioxygenase domain)和富含半胱氨酸区(Cys-rich domain),在 CD 区有与 α - 酮戊二酸和 Fe^{2+} 相结合的位点,TET 家族蛋白通过 CD 区氧化 5-mC 生成 5-hmC。CD 区和富含半胱氨酸区的存在使 TET 蛋白家族在催化 C 端具有高度同源性^[11]。

TET 蛋白家族可以将 5- 羟甲基胞嘧啶进一步氧化生成 5- 甲酰基胞嘧啶,5- 羧基胞嘧啶,其中最主要的作用是依赖 α - 酮戊二酸和 Fe^{2+} 催化 5-mC 氧化生成 5-hmC。TET 蛋白家族是 DNA 羟甲基化修饰中起催化作用的至关重要的蛋白家族。大量文献证明,TET 蛋白家族在生物体生长发育、干细胞分化、肿瘤形成和造血功能方面起重要调节作用^[12]。而最主要的功能研究多集中在肿瘤研究方面^[13]。TET1 在乳腺癌、前列腺癌及结直肠癌中表达含量明显降低,在这些实体肿瘤中发挥抑癌作用,其机制可能是 TET1 通过下调关键癌基因或抑癌基因甲基化

的作用抑制肿瘤的发生及侵袭^[14]。在骨髓增生异常综合征中 TET2 首先被发现,是一个抑癌基因^[15]。在肝癌、乳腺癌、肺癌、前列腺癌等多种实体瘤中 TET2 表达含量均降低,导致其催化产物 5-hmC 的含量减少,与肿瘤发生密切相关,但由于 TET2 蛋白无 CXXC 结构域,其发挥作用方式与 TET1 不尽相同。TET3 蛋白在 T 细胞性淋巴瘤中发现存在突变^[16],但关于 TET3 这一表观遗传学相关基因在肿瘤方面发挥的作用尚不是十分清楚。

1.4 DNA 羟甲基化修饰与异柠檬酸脱氢酶(IDH)

异柠檬酸脱氢酶家族共包括三个成员:IDH1、IDH2 和 IDH3,这三个酶的主要作用均是催化氧化异柠檬酸生成 α - 酮戊二酸。IDH1 主要存在于细胞质,是一个同源二聚体酶,主要利用 NADP^+ 作为电子受体生成 NADPH 及 NADH 作为产物;IDH2 主要存在于线粒体,也是一个同源二聚体酶,利用 NADP^+ 作为电子受体生成 NADPH 及 NADH 作为产物;IDH3 主要存在于线粒体,是一个异源四聚体酶(2 个 α 亚基,1 个 β 亚基及 1 个 γ 亚基),利用 NAD^+ 作为电子受体生成 NADPH 及 NADH 作为产物;IDH1 和 IDH2 是两个可逆转的代谢酶,通过增多或减少 α - 酮戊二酸的表达量来适应不同生理状态下细胞要求。 NADPH 和 α - 酮戊二酸是 IDH1 和 IDH2 催化生成的

两个重要中间代谢产物。NADPH 与细胞的增殖有关。 α -酮戊二酸则通过不同代谢路径与细胞分子通路间相互关联,其中 α -酮戊二酸可以作为辅因子参与 TET 蛋白催化 5-mC 生成 5-hmC 的生物过程,当 IDH 存在突变体时, α -酮戊二酸生成 2-羟戊二酸 (2-HG) 增多,2-羟戊二酸作为竞争性拮抗剂抑制 TET 蛋白的活性,使 5-hmC 表达含量降低^[17]。

在大约 20% 的急性粒细胞白血病 (AMLs) 中都存在 IDH1 和 IDH2 突变,同时发现伴随有 5-hmC 含量的减少,促进了全基因组的过渡甲基化状态。IDH1 和 IDH2 的突变预示着 AML 的不良预后,特别是细胞遗传学正常的 AML。同时 Figueroa ME 等^[18]指出 IDH1 和 IDH2 在 AML 中同时出现突变的可能性很小,并且 TET2 和 IDH2 突变总是互斥的,提示两个基因的产物之间存在一种上位相互作用,同时都在 AML 发病机制中发挥重要作用。

2 DNA 羟甲基化修饰在肿瘤中的作用

大量文献已经证实,与癌旁组织相比,肿瘤组织 5-hmC 的表达水平显著降低。其降低的可能原因为:癌症组织内 TET 蛋白含量降低,致使 TET 蛋白催化 5-mC 生成的 5-hmC 含量降低;作为 TET 蛋白催化生成 5-hmC 的辅因子 α -KG 代谢异常,TET 蛋白不能很好的发挥羟化酶作用,5-hmC 含量降低;细胞增殖过程中 DNMT1 不能识别 5-mC 氧化生成的半羟甲基化的 CpG 岛,难以维持 DNA 的羟甲基化,导致 5-hmC 表达水平降低。

Christine Guo Lian 等^[19]在斑马鱼黑色素瘤模型中利用打点杂交 (dot-blotting) 定量的方法证实 5-hmC 水平在成熟黑色素细胞和痣中表达含量较高,在人类黑色素瘤模型中表达含量降低甚至缺失,说明 5-hmC 在黑色素瘤发生发展过程中发挥重要功能,其功能直接与 IDH 和 TET 活性依赖的表观遗传学通路密切相关。

DNA 羟甲基化修饰引起的表观遗传学改变,调节基因转录,导致相应靶分子的激活或者失活,通过影响肿瘤细胞的增殖、侵袭转移、分化和凋亡等多方面参与肿瘤的发生发展^[20,21]。5-hmC 作为连接 5-mC 和 5-fC 的氧化中间产物,可由此阐明致癌基因去甲基化模式。分析与癌症相关的全基因组羟甲基化区域有助于更深入认识 DNA 羟甲基化修饰在癌症发生发展中的作用。

3 DNA 羟甲基化修饰与消化系统肿瘤

3.1 DNA 羟甲基化修饰与胃癌

Park, J L 等^[22]发现在胃癌中,5-hmC 的含量减少与 TET1 表达降低有关,同时预示着胃癌的转移和不良预后,在胃癌细胞系内通过 TET1 靶向小干扰 RNA 下调 TET1 的表达促进了 5-hmC 含量的降低,过表达 TET1 蛋白可以使 5-hmC 含量升高的同时使细胞增殖受到降低,他们认为 5-hmC 含量降低与胃癌的发生有关。为了进一步明确 5-hmC 含量降低是胃癌发生过程产生的结果亦或是胃癌发生的原因,他们在胃癌细胞 TET1 转录起始位点,通过甲基 CpG 岛结合域测序和 RRBS 测序 (Reduced Representation Bisulfite Sequencing),将启动子及 CpG 岛周围的基因组中尚未甲基化的胞嘧啶碱基和甲基化的胞嘧啶碱基分离开,揭示了 TET1 调控 5-hmC 生成的表观遗传

学特征,由此回答了 5-hmC 含量的减少作为一个起因而非结果参与胃癌的发生,TET1 表达降低导致的 5-hmC 含量的降低是胃癌发生的起因。

Chou, N H 等^[23]证实胃癌组织中 5-hmC 表达水平显著降低,而 5-mC 表达水平略微升高,同时在胃癌组织中 5-fC 和 5-caC 的表达水平无显著变化。通过进一步检测 IDH1 和 IDH2 在胃癌组织中的表达情况发现,与正常组织相比 IDH 在胃癌组织中表达含量明显降低。异常表达的 IDH2 可以增加胃癌细胞中 5-hmC 的含量。他们认为 IDH2 功能障碍在 5-hmC 含量降低中发挥重要作用,并参与了胃癌的进展。

3.2 DNA 羟甲基化与肝癌

人类肿瘤发生过程中 CpG 岛 (CGI) 的异常过度甲基化状态主要发生在宿主组织内被抑制的基因上,但是现阶段研究对驱动该现象的前驱事件了解甚少。Thomson, J. P 等^[24]通过在小鼠肝癌模型中追踪肝癌发生过程中的表观遗传学改变和转录组学异常,发现肝癌中与启动子相关的 5-hmC 的含量减少允许在进展期以静默 CpG 岛的方式重新编程 DNA 甲基化,在 CGI 区域减少的 TET1 活性是肝癌发生过程中的重要表观遗传调控,肝癌的发生与 TET 蛋白和 5-hmC 含量减少密切相关。Sahar Olsadat Sajadian 等^[25]认为全基因组 DNA 甲基化失调是肝细胞癌发生的关键原因之一,抗癌药物 5-氮杂胞苷 (5-AZA) 通过抑制 DNMT1 表达参与被动去甲基化介导了肿瘤抑制基因的活化,有证据证实 TET 蛋白介导的主动去甲基化也可能是全基因组甲基化的重要环节。他们利用 qPCR、免疫荧光及 western blot 的方法证实 TET2 和 TET3 而非 TET1 在肝癌组织和不同的肝癌细胞系中表达含量减少,在肝癌细胞系中运用小干扰 RNA 进行敲除实验,通过下调 TET 蛋白的表达证实 5-AZA 能够触发 TET2 依赖的去甲基化进程,同时伴随 5-hmC 和 5-mC 在肝癌细胞系及肝癌组织中含量的变化。

3.3 DNA 羟甲基化与结直肠癌

全基因组低甲基化率是结直肠癌发生发展过程中最重要的表观遗传学改变。结直肠癌对甲基化调节异常敏感,5-hmC 在结肠癌细胞中表达含量显著降低^[26],是结直肠癌患者预后的保护性因素^[27]。在结直肠癌发生发展过程中,研究 5-hmC 发挥的作用及意义,对于结直肠癌的早期诊断、治疗及预后至关重要。

5-hmC 在包括结直肠癌等人类多种肿瘤中含量减少,在结直肠癌中 TET1 蛋白 mRNA 水平降低参与了结直肠癌的发生。Huang Y 等^[28]证实 TET2 的核定位在结直肠癌组织中的重要部分缺失,并与结直肠癌转移有关;在结肠癌细胞中,TET2 而非 TET3 的核定位缺失;出核转运信号肽抑制剂 (Nuclear export inhibitor) 可以增加结直肠癌细胞中 5-hmC 的含量,其本质可能是通过调节 TET2 的表达;TET2 核表达的缺失是 TET2 功能受损的主要原因,因此 TET2 可以作为一个结直肠癌的肿瘤抑制基因;肿瘤抑制基因 TET1 和 TET2 在结直肠癌中受损遵循不同的分子机制。

3.4 DNA 羟甲基化与食管癌

Murata, A 等^[29]证实 5-hmC 含量在食管鳞状细胞癌患者组织中降低,5-hmC 含量与 TET2 的表达水平相关,TET2 含量的降低和随之导致的 5-hmC 含量减少参与了食管鳞状细胞癌的发生和发展。

Xuejiao Shi 等^[30]证实 5-hmC 含量在食管鳞状细胞癌组织

中表达含量降低，在肿瘤组织中 5-hmC 含量的降低是食管鳞 TET2 的下调和基因突变有关。状细胞癌患者的独立不利预后因素。同时 5-hmC 表达含量与

表 1 消化系统肿瘤羟甲基化修饰相关基因改变
Table 1 Hydroxymethylation modification changes in digestive system carcinoma

Disease	Species	Tumor	5-mC	5-hmC	TET、IDH	References
Gastric Cancer	Human	Tumor tissues	Unchanged	Descend	TET1 Descend	[22]
	Human	Tumor tissues	Upregulated	Descend	IDH Descend	[23]
Liver Cancer	Mouse,Human	Tumor tissues	Descend	Descend	TET1 Descend	[24]
	Human	Tumor tissues	Upregulated	Descend	TET2、TET3 Descend	[25]
	Human	Tumor tissues	Unchanged	Descend	Undetected	[31]
	Human	Tumor tissues	Upregulated	Descend	TET1 Descend	[32]
Colorectal Cacner	Human	Tumor tissues	Unchanged	Descend	Undetected	[33]
	Human	Tumor tissues	Unchanged	Descend	TET1 Descend	[34]
	Human	Tumor tissues	Undetected	Undetected	TET1 Descend	[26]
	Human	Tumor tissues	Undetected	Undetected	TET2 Descend	[28]
Esophagus Cancer	Human	Tumor tissues	Undetected	Descend	TET2 Descend	[29]
	Human	Tumor tissues	Undetected	Descend	TET2、TET3 Descend	[30]

4 小结与展望

DNA 羟甲基化修饰表观遗传学研究的不断深入，为消化系统肿瘤的基础研究提供了新思路,并有望应用于消化系统肿瘤的预防、诊断和治疗^[20]。较之 DNA 甲基化修饰及 miRNA 等表观遗传学修饰方式研究,羟甲基化修饰研究尚处于初级探索阶段。但随着越来越多的基础研究的深入,羟甲基化修饰参与消化系统肿瘤的发生、发展已广泛受到科学家的关注。随着生物信息技术和高通量测序方法的发展,hMeDIP-seq、TAB-Seq 等全基因组羟甲基化分析定量技术的日趋成熟，为 DNA 羟甲基化修饰在消化系统肿瘤中的研究提供了有力方法和武器。分析和探索与消化系统肿瘤相关的全基因组羟甲基化区域,有助于更深入认识 DNA 羟甲基化修饰在消化系统肿瘤发生发展中的作用,以此寻找新的肿瘤分子标志物及治疗靶标,可能会成为下一阶段羟甲基化修饰肿瘤研究的热点^[35]。

参 考 文 献(References)

[1] Okugawa Y, Grady WM, Goel A. Epigenetic Alterations in Colorectal Cancer: Emerging Biomarkers [J]. Gastroenterology, 2015, 149(5): 1204-1225 e1212

[2] W. Yan, M. Guo Epigenetics of colorectal cancer [J]. Methods in molecular biology, 2015, 1238: 405-424

[3] M. van Engeland, S. Derks, K.M. Smits, et al. Colorectal cancer epigenetics: complex simplicity [J]. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology, 2011, 29(10): 1382-1391

[4] WYATT GR, COHEN SS. Cohen A new pyrimidine base from bacteriophage nucleic acids[J]. Nature, 1952, 170(4338): 1072-1073

[5] Penn NW, Suwalski R, O'Riley C, et al. The presence of 5-hydroxymethylcytosine in animal deoxyribonucleic acid [J]. The Biochemical journal, 1972, 126(4): 781-790

[6] Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, et al. Conversion of 5-methylcytosine to

5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1 [J]. Science, 2009, 324(5929): 930-935

[7] Kriaucionis S, Heintz N. The nuclear DNA base 5-hydroxymethylcytosine is present in Purkinje neurons and the brain [J]. Science, 2009, 324 (5929): 929-930

[8] Kroeze LI, van der Reijden BA, Jansen JH. Jansen 5-Hydroxymethylcytosine: An epigenetic mark frequently deregulated in cancer[J]. Biochimica et biophysica acta, 2015, 1855(2): 144-154

[9] JianKang Zhu. Active DNA demethylation mediated by DNA glycosylases[J]. Annual review of genetics, 2009, 43: 143-166

[10] Tan L, Shi YG. Shi Tet family proteins and 5-hydroxymethylcytosine in development and disease[J]. Development, 2012, 139(11): 1895-19 02

[11] Mohr F, Döhner K, Buske C, et al. TET genes: new players in DNA demethylation and important determinants for stemness [J]. Experimental hematology, 2011, 39(3): 272-281

[12] Ko M, An J, Pastor WA, et al. TET proteins and 5-methylcytosine oxidation in hematological cancers[J]. Immunological reviews, 2015, 263(1): 6-21

[13] Rawłuszko-Wieczorek AA, Siera A, Jagodziński PP. Jagodzinski TET proteins in cancer: Current 'state of the art'[J]. Critical reviews in oncology/hematology, 2015, 96(3): 425-436

[14] Hsu CH, Peng KL, Kang ML, et al. TET1 suppresses cancer invasion by activating the tissue inhibitors of metalloproteinases [J]. Cell reports, 2012, 2(3): 568-579

[15] Grossmann V, Kohlmann A, Eder C, et al. Molecular profiling of chronic myelomonocytic leukemia reveals diverse mutations in >80% of patients with TET2 and EZH2 being of high prognostic relevance [J]. Leukemia, 2011, 25(5): 877-879

[16] Kalender Atak Z, De Keersmaecker K, Gianfelici V, et al. High accuracy mutation detection in leukemia on a selected panel of cancer genes[J]. PloS one, 2012, 7(6): e38463

- [17] Wang J, Tang J, Lai M, et al. 5-Hydroxymethylcytosine and disease [J]. Mutation research. Reviews in mutation research, 2014, 762: 167-175
- [18] Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation [J]. Cancer cell, 2010, 18(6): 553-567
- [19] CG Lian, Y Xu, C Ceol, et al. Loss of 5-hydroxymethylcytosine is an epigenetic hallmark of melanoma[J]. Cell, 2012, 150(6): 1135-1146
- [20] Vasanthakumar A, Godley LA. Godley 5-hydroxymethylcytosine in cancer: significance in diagnosis and therapy [J]. Cancer genetics, 2015, 208(5): 167-177
- [21] Uribe-Lewis S, Stark R, Carroll T, et al. 5-hydroxymethylcytosine marks promoters in colon that resist DNA hypermethylation in cancer [J]. Genome biology, 2015, 16: 69
- [22] Park Jong-Lyu, Kim Hee-Jin, Seo Eun-Hye, et al. Decrease of 5hmC in gastric cancers is associated with TET1 silencing due to with DNA methylation and bivalent histone marks at TET1 CpG island 3'-shore [J]. Oncotarget, 2015, 6(35): 37647-37662
- [23] Chou NH, Tsai CY, Tu YT, et al. Isocitrate Dehydrogenase 2 Dysfunction Contributes to 5-hydroxymethylcytosine Depletion in Gastric Cancer Cells[J]. Anticancer research, 2016, 36(8): 3983-3990
- [24] Thomson JP, Ottaviano R, Unterberger EB, et al. Loss of Tet1-Associated 5-Hydroxymethylcytosine Is Concomitant with Aberrant Promoter Hypermethylation in Liver Cancer [J]. Cancer research, 2016, 76(10): 3097-3108
- [25] Sajadian SO, Ehnert S, Vakilian H, et al. Induction of active demethylation and 5hmC formation by 5-azacytidine is TET2 dependent and suggests new treatment strategies against hepatocellular carcinoma[J]. Clinical epigenetics, 2015, 7: 98
- [26] Neri F, Dettori D1, Incarnato D, et al. TET1 is a tumour suppressor that inhibits colon cancer growth by derepressing inhibitors of the WNT pathway[J]. Oncogene, 2015, 34(32): 4168-4176
- [27] Kroeze LI, Aslanyan MG, van Rooij A, et al. Characterization of acute myeloid leukemia based on levels of global hydroxymethylation [J]. Blood, 2014, 124(7): 1110-1118
- [28] Yuji Huang, Guanghui Wang, Zhonglin Liang, et al. Loss of nuclear localization of TET2 in colorectal cancer [J]. Clinical epigenetics, 2016, 8: 9
- [29] Murata A, Baba Y, Ishimoto T, et al. TET family proteins and 5-hydroxymethylcytosine in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2015, 6(27): 23372-23382
- [30] Shi X, Yu Y, Luo M, et al. Loss of 5-Hydroxymethylcytosine Is an Independent Unfavorable Prognostic Factor for Esophageal Squamous Cell Carcinoma[J]. PloS one, 2016, 11(4): e0153100
- [31] Chen ML, Shen F, Huang W, et al. Quantification of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine in genomic DNA from hepatocellular carcinoma tissues by capillary hydrophilic- interaction liquid chromatography/quadrupole TOF mass spectrometry [J]. Clinical chemistry, 2013, 59(5): 824-832
- [32] Zhaoli Chen, Xuejiao Shi, Lanwei Guo, et al. Decrease of 5-hydroxymethylcytosine is associated with progression of hepatocellular carcinoma through downregulation of TET1 [J]. PloS one, 2013, 8(5): e62828
- [33] Li W, Liu M. Distribution of 5-hydroxymethylcytosine in different human tissues[J]. Journal of nucleic acids, 2011, 2011: 870726
- [34] Kudo Y, Tateishi K, Yamamoto K, et al. Loss of 5-hydroxymethylcytosine is accompanied with malignant cellular transformation[J]. Cancer science, 2012, 103(4): 670-676
- [35] Talmadge JE, Hood KC, Zobel LC, et al. Chemoprevention by cyclooxygenase-2 inhibition reduces immature myeloid suppressor cell expansion [J]. International immunopharmacology, 2007, 7(2): 140-151

(上接第 5140 页)

- [9] Ghousunn issa S. Genetic association of interferon gamma induced protein-10 (IP-10), CXCL-10 gene polymorphisms with TB pleurisy susceptibility in South Indian population [J]. Journal of Vaccines & Vaccination, 2015, 06(4): 1895-1904
- [10] Kumar P, Chawla K, Khosla P, et al. Co-existing tuberculosis and malignant mesothelioma with multiple sites venous thrombosis: a case report[J]. BMC Res Notes, 2016, 9(1): 409-413
- [11] D'Attilio LI, Di az A, Santucci N, et al. Levels of inflammatory cytokines, adrenal steroids, and mRNA for GR α , GR β and 11 β HSD1 in TBpleurisy[J]. Tuberculosis(Edinb), 2013, 93(6): 635-641
- [12] Dusemund F, Weber MD, Nagel W, et al.Characteristics of medically and surgically treated empyema patients: a retrospective cohort study [J]. Respiration, 2013, 86(4): 288-294
- [13] Lee SH1, Lee EJ, Min KH, et al. Procalcitonin as a diagnostic marker in differentiating parapneumonic effusion from tuberculous pleurisy or malignant effusion[J]. Clin Biochem, 2013, 46(15): 1484-1488
- [14] Cao GQ, Li L, Wang YB, et al. Treatment of free-flowing tuberculous pleurisy with intrapleural urokinase [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2015, 19(11): 1395-1400
- [15] 崔世红,姜燕,胡昕,等.胸腔置管引流并注入尿激酶治疗结核性渗出性胸膜炎的疗效观察 [J]. 新疆医科大学学报, 2015, 38(09): 1121-1123
- Cui Shi-hong, Jiang Yan, Hu Xin, et al. Central venous catheter with intrapleural injection of urokinase in the treatment of tuberculosis exudative pleurisy[J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2015, 38(9): 1121-1123
- [16] Yamamoto J, Shimanouchi M, Ueda Y, et al. Pulmonary mycobacterium intracellulare infection complicated with pneumothorax and chronic empyema[J]. Kyobu Geka, 2013, 66(9): 795-797
- [17] Hwang K E, Shon Y J, Cha B K, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 is responsible for residual pleural thickening in pleural tuberculosis [J]. Tohoku Journal of Experimental Medicine, 2015, 235(4): 327-33
- [18] Liang Y, Wang Y, Li H, et al. Evaluation of a whole-blood chemiluminescent immunoassay of IFN- γ , IP-10, and MCP-1 for diagnosis of active pulmonary tuberculosis and tuberculous pleurisy patients[J]. APMIS, 2016, 8(15): 388-392
- [19] Kim M C, Kim S M, Lee S O, et al. A diagnostic algorithm for tuberculous pleurisy using the ELISPOT assay on peripheral blood and pleural effusion[J]. Infectious Diseases, 2016, 48(9): 688-694
- [20] Li J, Yu S, Zhang Y, et al. Tissue-infiltrating mucosal-associated invariant T cells play an important role against Mycobacterium tuberculosis infection in tuberculosis pleurisy [J]. FASEB J, 2016, 8(9): 648-655