

سحر محمدی فاتح، دانشجوی دوره کارشناسی ارشد سلولی ملکولی واحد علوم دارویی، دانشکده فناوری های نوین و همکار پژوهشی در انیستیتو پاستور ایران
دکتر طاهره ناجی، ریاست گروه علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی

سرطان و متیلاسیون DNA

فعالیت رونویسی و سرکوب رونویسی است. بنابراین تنظیم DNA، صحت همانند سازی کروموزوم ها، بیان ژن و ثبات خاموشی ژن ها را تضمین می کند. (۲)
متیلاسیون DNA از عمده ترین زمینه های مطالعاتی اپی ژنتیکی در پستانداران بوده و اثر مهمی بر فیزیولوژی سلول های نرمال دارد. از آنجایی که به نظر می رسد تغییرات DNA نقش ویژه ای در تنظیم رونویسی دارد، دور از انتظار نیست که نقص در این مکانیسم منجر به ظهور بیماری های مختلف از جمله سرطان شود. در این مقاله سعی بر آن است خلاصه ای از نقش تغییرات متیلاسیون در پیشرفت تومور بیان شود. (۳)

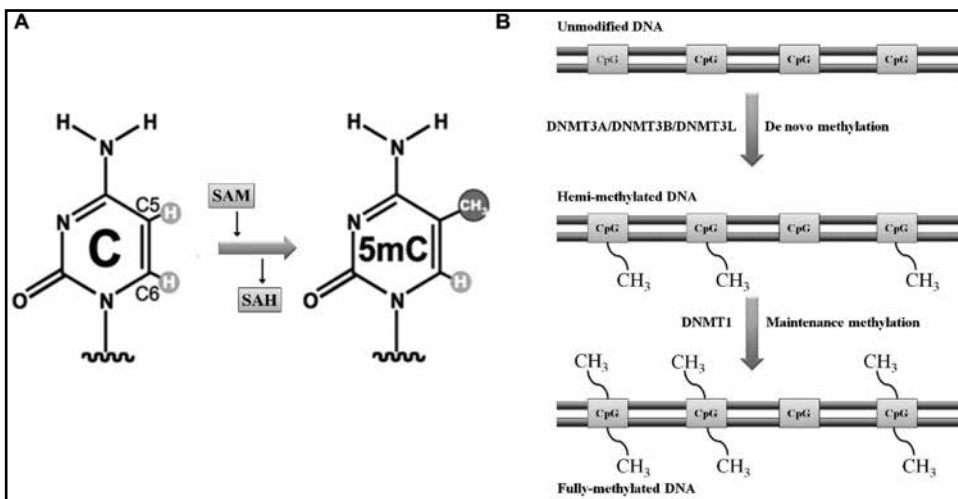
اساس مولکولی متیلاسیون DNA

روند بیوشیمیایی متیلاسیون DNA به خوبی شناخته شده است که شامل اضافه شدن گروه متیل به صورت کووالانسی در موقعیت ۵ سیتوزین است. (شکل ۱)
سیتوزین متیله شده به صورت ۵ هیدروکسی متیل سیتوزین (hmC) تبدیل می شود که از لحاظ ساختاری شبیه همتای تغییر نیافته اش است. (۴) ۵ متیل سیتوزین ها در دو نوکلئوتیدی های CpG دیده می شود. متیلاسیون CpG در نواحی غیر CpG غیر معمول است هرچند که ۵ متیل سیتوزین در CpA و به مقدار بسیار کمتر در CpT نیز در سلول های جنینی دیده شده، ولی در بافت های سوماتیک دیده نمی شود (۵). بررسی های تازه، گویای آن است که گسترش ۵ متیل سیتوزین در ژنوم پستانداران در سلول های جنینی انسان و فیروبلاست های جنینی نشان

متیلاسیون DNA، یکی از عمده ترین جنبه های مطالعه تغییرات اپی ژنتیکی در پستانداران است. در سلول های نرمال، این پدیده ثبات تنظیم بیان ژن ها را بیمه می کند. متیلاسیون DNA که همراه با تغییرات هیستون ها نقش اساسی در پایداری عملکرد ژنوم با از راه تغییرات کروماتین دارد. دربخش های سرشار از CpG (که جزایر CpG خوانده می شود) اضافه شدن گروه متیل به سیتوزین هایی که در دو نوکلئوتیدی های CpG هستند از راه پیوند کووالانسی و با آنزیم های متیل ترانسفراز انجام می شود. آنزیم های متیل ترانسفراز نقش ایجاد و حفظ الگوی متیلاسیون را عهده دار هستند.

یک ارگانسیم تنها از مسیر ژنتیکی کلاسیک ایجاد نمی شود. برای انجام نمو و عملکرد سلول عامل اپی ژنتیک برای کنترل بیان ژن نیز مورد نیاز خواهد بود. اپی ژنتیک را می توان علم دگرگونی قابل وراثت در تغییرات بیان ژن ها تعریف کرد که این تغییرات مستقل از تغییر در توالی ابتدایی DNA انجام می گیرد. یک اپی ژنوم ویژه می تواند بیان کننده تفاوت وضعیت سلول در طول مراحل مختلف نمو باشد، جایی که زیگوت به بافت های سوماتیکی تغییر شکل می دهد، در حالی که توالی DNA ثابت می ماند. این امر ارتباط اپی ژنتیک با بسیاری از بیماری ها را که در دوقلوهای همسان به طور متفاوت دیده می شود، در حالی که ماده ژنتیکی یکسانی دارد را توجیه می کند. (۱)

تنظیم اپی ژنتیکی بیان ژن، از راه مکانیسم هایی از جمله متیلاسیون، تغییرات هیستونی و موقعیت نوکلئوزوم در طول DNA انجام می شود. همکنش میان عوامل اپی ژنتیکی با تغییر وضعیت کروماتین، تضمین کننده ایجاد تعادل بین



شکل ۱) عملکرد آنزیم های دم متیلاز (DNMT) و SAM

در محتوی CpG دیده می شود که این امر موجب ناپایداری ژنومی و با تناوب کمتر موجب فعالسازی انکوژن های خاموش می شود. به بیان دیگر هایپر متیلاسیون جزایر CpG در پروموتور ژن های خاصی به عنوان یکی از شاخصه های سرطان در بسیاری از سلول های سرطانی شناخته شده است. (۸) شمار رو به افزایش ژن هایی که به وسیله مکانیسم های متیلاسیون در فرایند تومور زایی غیر فعال می شود و به عنوان سرکویگر های تومور در بافت های نرمال شناخته می شوند گزارش می شود. (۹)

امروزه این فرضیه که دگرگونی اپی ژنتیکی در گام های نخست نمو تومور و حتی آمادگی توموری شدن نقش دارد، بسیار پر رنگ شده است و باور بر این است که اختلال اپی ژنتیکی آغازگر وقایعی است که به "سلول های آغازگر تومور" می انجامد. (۹)

هایپو متیلاسیون DNA

در سلول های نرمال هتروکروماتین های پری سنتریک به شدت متیله هستند، سکانس های ماهواره ای و توالی های تکرار شونده، خاموش است که مایه ی نگه داشت یکپارچگی و پایداری ژنومی می شود. در طیف گسترده ای از تومورها این مکانیسم دچار نارسایی شده و منجر به ازدست رفتن متیلاسیون DNA در مناطقی می شود که به صورت نرمال غیر فعال هستند. به دنبال این رویداد، شانس بیشتری برای ایجاد نوترکیبی های میتوزی ناخواسته ایجاد می شود، عناصر ترانسپوزون

می دهد، نزدیک به ۲۵ درصد متیلاسیون DNA در سلول های جنینی در قسمت غیر CpG دیده می شود. (۶) متیلاسیون سیتوزین در سلول های بنیادی دیده شده و به نظر می رسد متیلاسیون در این قسمت ها همزمان با متمایز شدن سلول از بین می رود. بنابراین متیلاسیون در نواحی غیر CpG می تواند با

ایجاد و حفظ وضعیت چند توانی (pluripotent) در ارتباط باشد. (۶) برخلاف انتظار، گستردگی محتوی CpG در کل ژنوم کم بوده و تنها در قسمت هایی از ژنوم که جزایر CpG و یا CpG Island خوانده می شود دیده می شود. CpG Island ها بیشتر در بخش پروموتور ژن و یا اولین اگزون بوده و سرشار از CpG است. برپایه محاسبات، نزدیک به ۶۰ درصد پروموتورهای انسانی محتوی CpG بالایی دارند. البته غلظت CpG به تنهایی بیان ژن را تحت تاثیر قرار نمی دهد، بلکه این تنظیم منحصر به روند متیلاسیون DNA بستگی دارد. در حالت نرمال جزایر CpG در ژن هایی که از لحاظ رونویسی فعال هستند به صورت غیر متیله بوده در حالیکه پروموتور ژن های خاموش به صورت متیله شده است. (۷) واکنش متیلاسیون سیتوزین توسط گروهی از آنزیم ها با نام متیل ترانسفرازها کاتالیز می شود که گروه متیل را از اس آدنوزین متیونین به سیتوزین منتقل می کند و پنج خانواده از این آنزیم ها در پستانداران شناخته شده است. (۸)

ناهنجاری های متیلاسیون DNA در سرطان

متیلاسیون درست DNA، در نمو و کارکرد صحیح سلول نقش اساسی دارد. بنابراین هرگونه نقص یا اشتباه در این روند می تواند منجر به ظهور بیماری های مختلفی از جمله سرطان شود. به راستی سلول های توموری با تفاوت در الگوی متیلاسیونشان است که از سلول های نرمال قابل تمایز می شود. جالب توجه اینکه هر دو وضعیت هایپر متیلاسیون و هایپو متیلاسیون در سرطان دیده می شود. رویهمرفته یک کاهش کلی

فعال شده و به صورت تصادفی داخل ژنوم جای می گیرد که باعث ناپایداری و افزایش جهش پذیری ژنوم می شود. این رویدادها می تواند با نمو تومور وابسته بوده و می تواند با مراحل مشخصی از بیماری در ارتباط باشد. (۱۰-۱۲)

از دست دادن متیلاسیون DNA شاید با فعال کردن توالی های لنتی ویروسی، داخل ژنوم شده و زمینه ی توموری شدن را فراهم کنند. برای نمونه، ژنوم ویروس تناسلی انسان، پاپیلوما ویروس به طور موثری با متیلاسیون DNA بعد از عفونت سرکوب می شود. پدیده از دست رفتن متیلاسیون DNA می تواند باعث بیان دوباره HPV شود که با پیشرفت سرطان سرویکال همراه است. (۱۳)

هایپر متیلاسیون DNA

با وجود هایپومتیلاسیون کلی در سرطان، ژن های مشخصی تحت تاثیر هایپر متیلاسیون جزایر CpG در نواحی تنظیمی غیر فعال می شوند در حالیکه این نواحی در بافت های سالم به صورت غیر متیله است. این نوع خاموش شدن های اپی ژنتیکی نخستین بار در بررسی های پروتئین رتینوبلاستون مشاهده شد که در آن افزایش متیلاسیون (هایپر متیلاسیون) در پروموتور رتینوبلاستوما که ژن سرکوبگر تومور (RB1) کشف شد (۱۴). از آن پس شمار زیادی از ژن های سرکوبگر تومور که توسط افزایش میزان متیلاسیون در بافت های توموری خاموش شده بود، شناخته شد و این گمان را تقویت کرد که خاموش شدن ژن توسط متیلاسیون DNA نقش اساسی در تومورزایی دارد و در واقع یکی از شاخصه های مهم در سرطان های انسانی است. (۳)

ژن هایی که در نواحی تنظیمی دچار افزایش متیلاسیون می شود در مسیرهای سلولی بسیار مهمی دخالت دارند. برای نمونه دو ژن وابسته به چرخه سلولی $p16^{INK4a}$ (CDKN2A) و $p15^{INK4a}$ (CDKN2B) در سرطان های مختلف متاثر از افزایش متیلاسیون DNA خاموش شده اند. ژن های بسیاری که دست اندر کار مراحل ترمیم DNA هستند نیز در بافت های توموری افزایش متیلاسیون داشته که این حقیقت را تایید می کند، که رخدادهای اپی ژنتیکی می تواند دگرگونی های ژنتیکی از جمله جهش ها را سوق دهد. (۱۵)

خاموش شدن ژن ها به دلیل افزایش متیلاسیون در ژن های دخیل در فرایندهای اتصال سلولی نیز دیده شده است. برای نمونه (E-cadherin) CDH1 و

CDH13 (H-cadherin) می تواند منجر به تهاجم یا متاستاز و در نتیجه گسترش تومور شود. (۱۶)

روی هم رفته شواهدی مانند نمونه هایی که ذکر شد تایید می کند که متیلاسیون غیر صحیح جزایر CpG در نمو و پیشرفت سرطان نقش دارند. البته باید به این نکته توجه کرد که اگرچه در بسیاری از تومورها گروهی از ژن ها به صورت هایپر متیلاسیون هستند (مانند p16) اما در کل مطالعات اخیر نشان می دهد متیلاسیون پروموتورها در هر سلول سرطانی متفاوت است. هر نوعی از سرطان می تواند با یک متیلوم خاص تعریف شود. علاوه بر آن تفاوت در الگوی متیلاسیون ممکن است مرحله تومورزایی را نشان دهد یا حتی بین دو مشخصه هیستولوژیکی خاص تمایز قایل شود. (۱۷)

بحث و نتیجه گیری

از زمان کشف متیلاسیون DNA و نقش آن در عملکرد مناسب سلول، تحقیق در این زمینه توجه بسیاری را به خود جذب کرده است. مطالعات بسیاری موید نقش کلیدی متیلاسیون DNA در نمو تومور و پیشرفت آن است. هایپرمتیلاسیون پروموتورها که منجر به خاموشی ژن ها می شود، یکی از نقش های مرکزی است که در سرطان ایفا می کند. افزون بر آن در مقایسه با ناهنجاری های ژنتیکی کلاسیک، نقص در متیلاسیون DNA به عنوان لایه دوم مجموعه تومورزایی است. از آنجائی که به نظر می رسد هایپر متیلاسیون DNA یک روند اتفاقی نبوده و می تواند به طور دقیق، نوع، مرحله و هیستولوژی تومور خاص را مشخص کند و می تواند نقش ارزشمندی در استفاده از مارکرها های متیلاسیون در تشخیص های بالینی دهد. تلاش های بسیاری به امید تعیین مارکرها یی برای ایجاد پنل تشخیص زود هنگام، ارزیابی ریسک پیشرفت و عود مجدد، پیش بینی با روش های غیر تهاجمی در حال انجام است. در کل آنچه نقش هایپرمتیلاسیون را در سرطان قابل توجه کرده است برگشت پذیر بودن آن است. شانس بازگشت فنوتیپ سلول به شکل نرمال به وسیله ممانعت از متیلاسیون، از مزایای قابل توجه روند اپی ژنتیک بر ژنتیک کلاسیک است. موثر بودن دو داروی ۵-آزیتیدین و ۲'-deoxycytidine Aza-5 در درمان سندروم میلوپلاستیک و لوکمی مزمن میلومونوسین مشوق ما در پیش برد این روند است.

