

• 综 述 •

DNA 去甲基化药物作用机制的研究进展

许 嵘^{1,2}, 张文州¹, 陈琳琳¹, 丁小明¹, 谢志新¹, 林阳君¹, 辛 军^{3*}

1. 泉州医学高等专科学校 药学院, 福建 泉州 362011

2. 南加州大学 凯克医学中心 诺里斯综合癌症中心, 美国 洛杉矶 90089

3. 福建医科大学附属泉州第一医院 泌尿外科, 福建 泉州 362000

摘 要: 癌症被认为是一种表观遗传疾病。表观遗传异常改变导致参与细胞正常生长的关键基因失活, 促进癌症发生和发展, 这使得对癌症治疗上可采取一些主动性表观遗传调节。DNA 去甲基化药物通过化学逆转重新激活高甲基化的肿瘤抑制基因, 已成为一个令人兴奋的癌症治疗方法。其作用机制主要有: 抑制 DNA 甲基转移酶, 干扰甲基转移反应途径和影响三羧酸循环途径。介绍了近年来 DNA 去甲基化药物作用机制的研究进展。

关键词: DNA 甲基化; DNA 去甲基化药物; 作用机制; 癌症

中图分类号: R979.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2017)01-0152-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.01.035

Research progress on action mechanism of DNA demethylating agents

XU Rong^{1,2}, ZHANG Wen-zhou¹, CHEN Lin-lin¹, DING Xiao-ming¹, XIE Zhi-xin¹, LIN Yang-jun¹, XIN Jun³

1. School of Pharmacy, Quanzhou Medical College, Quanzhou 362011, China

2. Norris Comprehensive Cancer Center, Keck School of Medicine, University of Southern California, Los Angeles 90089, USA

3. Department of Urology, the First Hospital of Quanzhou Affiliated Fujian Medical University, Quanzhou 362000, China

Abstract: Cancer was regarded as an epigenetic disease in recent years. Aberrant epigenetic changes which lead to inactivation of pivotal genes were involved in correct cell growth, contributing to cancer development and progression, which had resulted in several initiatives implementing epigenetics in cancer treatment. DNA demethylating agents reactivating hypermethylated tumor suppressor genes, which caused chemical reversal of them, had become an exciting approach for cancer treatment. Three aspects of action mechanism mainly include: the inhibition of DNA methyltransferase, interference of the methyl transfer reaction pathway, and the influence of the tricarboxylic acid cycle. In this review, recent advances in the research of DNA demethylating agents are described according to their mechanism of action.

Key words: DNA methylation; DNA demethylating agents; action mechanism; cancer

表观遗传修饰涉及多种疾病, 包括癌症、糖尿病、自身免疫性疾病。以癌症为例, 在恶性血液系统恶性肿瘤和实体瘤的初始、进展、转移和多药耐药的过程中, 观察到累积的表观遗传变化。这表明表观遗传药物可能在癌症治疗中有潜在的疗效。最近, 癌症被作为一种表观遗传疾病, 异常的表观遗传改变导致参与细胞正常生长的关键基因失活, 促

进癌症发生和发展, 这使得采取一些主动性表观遗传调节来对癌症进行治疗。表观遗传过程的可逆性导致了表观遗传药物的发展, 各种报道显示在体外和体内表观遗传药物都具有抗癌潜力。因此 DNA 去甲基化药物已被确认为潜在的治疗药物^[1-2]。

DNA 甲基化是 CpG 二核苷酸中胞嘧啶残基 5 位加上一个甲基。这个过程在整个基因组是非常常

收稿日期: 2016-10-31

基金项目: 骨干院校建设重点科研项目 (XJ1305); 福建省中青年教育科研项目 (JAT160852); 泉州市科技计划项目 (2013Z52)

作者简介: 许 嵘 (1978—), 男, 副教授, 主要从事表观遗传药物研究。E-mail: xurongabc0806@163.com

*通信作者 辛 军 (1968—), 男, 教授, 主要从事泌尿男生殖系统疾病的微创诊疗。E-mail: junxinj@163.com

见的。在肿瘤细胞中,异常甲基化模式是一种常见的现象,如导致抑癌基因沉默区域启动子高甲基化。与突变或缺失不同,这些沉默的基因通常有完整的DNA序列,这使化学逆转基因沉默成为一个令人兴奋的癌症治疗方法。DNA甲基转移酶(DNMT)催化从S-腺苷甲硫氨酸(SAM)供体将甲基转移到胞嘧啶5位上。由于DNMT作用的重要性,研究热点集中在开发能够干扰DNMT活性异常的药物^[3]。各种有DNA去甲基化作用的化合物已被设计出来,特别是有作用于DNMT靶点的DNMT抑制剂,可重新激活高甲基化的肿瘤抑制基因,已有很多药物被开发出来,并陆续进入临床试验^[4]。另外,通过干扰甲基转移反应,减少甲基供体,减缓DNA甲基化,以及影响三羧酸循环途径,增强DNA甲基化的氧化作用,这两方面的DNA去甲基作用也逐渐被重视。

1 DNMT靶点

3个活性DNA甲基转移酶已在高等真核生物鉴定。DNMT1是一个维持DNA甲基转移酶,通过识别DNA复制过程中半甲基化DNA,使新合成CpG二核苷酸甲基化,其亲代链仍然保留甲基化。相反,DNMT3A、DNMT3B虽然也能使DNA半甲基化,但主要功能是在胚胎发育过程中通过从头DNA甲基转移酶形成DNA甲基化。DNA甲基化为几种甲基结合蛋白提供了一个平台。这些包括MBD1、MBD2、MBD3和MeCP2。这些反过来功能招募组蛋白修饰酶的染色质模板过程协调^[5],通过DNMT家族,在胞嘧啶核苷酸上5位甲基化。其中,DNMT3A在急性髓系白血病(AML)、骨髓增殖性疾病(MPD)和骨髓增生异常综合征(MDS)中发生突变。除了其催化活性外,DNMT3A具有染色质阅读的机制,如PWWP域,这可能有助于定位其到染色质上。后天突变的癌症也可能影响这一领域^[6]。

1.1 掺入DNA并与DNMT共价结合

这类DNMT抑制剂为核苷类似物,能够在DNA复制过程中掺入DNA,然后被DNMT识别,通过与DNMT半胱氨酸残基上的巯基共价结合,从而使酶失活。5-氮杂胞嘧啶被代谢为5-氮-2'-脱氧胞苷三磷酸,作为碱基底物参与DNA复制进程,并进入DNA,5-氮杂胞嘧啶取代胞嘧啶。5-氮杂胞嘧啶鸟嘌呤二核苷酸被DNMT当作天然底物,并且DNMT通过亲核反应激活甲基化过程。这导致在胞嘧啶环

的6位碳原子与DNMT之间形成共价键。这个共价键通常是借助5位碳原子通过 β -消除反应断裂,当5位碳被氮取代时,反应5-氮杂胞嘧啶阻断。因此,DNMT与DNA保持共价结合,使DNMT的功能受阻。此外,共价结合物也损害DNA的功能和触发DNA损伤信号,导致被结合的DNMT降解^[7]。

当然,DNA复制过程中的甲基化标志丢失被当作是被动去甲基化过程。地西他滨可诱导DNA损伤,在肿瘤细胞株中使DNA双链断裂,此外,DNMT1参与药物对细胞损伤反应。地西他滨诱导的DNA损伤以及DNMT1在DNA修复中的作用,表明药物诱导的去甲基化模式可以通过DNA修复机制发挥作用。为了对药物诱导去甲基化机制有更详细的了解,可以定量测定氮杂核苷掺入基因组DNA的比率。在鼠成纤维细胞中,通过放射性标记的地西他滨发现,在基因组DNA中被5-氮杂胞嘧啶核苷替代胞嘧啶的比率可能高达10%。然而,大多数研究还是通过依赖药物DNMT1蛋白消耗方法替代非定量底物检测,从而证实氮杂核苷掺入DNA。当然,建立在基因组中5-氮杂胞嘧啶定量测定的分析方法也是可行的,也可作为一个潜在的生物标志物的响应预测的参数^[8]。

阿扎胞苷是一种核糖核苷,因此必须化学修饰成脱氧核糖核苷三磷酸形式才能掺入DNA。然而,在阿扎胞苷被转化为脱氧核糖核苷三磷酸之前,有一部分被掺入RNA,从而影响RNA的各种功能,包括核糖体合成,因此,除了去甲基化外,还有一系列对细胞影响^[9]。另一个DNA甲基转移酶抑制剂地西他滨,不需要脱氧修饰,直接掺入DNA。因此,地西他滨比阿扎胞苷更具有选择性,且毒性较小,显示出更大的抑制实验模型中DNA甲基化和抗肿瘤活性^[10]。DNMT抑制剂折布拉林经过化学修饰,作为胞嘧啶类似物掺入DNA。折布拉林比阿扎胞苷或地西他滨更稳定,且毒性低。虽然折布拉林出现了一些对癌细胞特异性,其作用机制是与氮杂核苷抑制剂类似。因此,折布拉林的去甲基活性也很难脱离于共价捕获DNMT导致耗竭的毒性作用^[11]。

1.2 非共价地阻断DNMT的活性位点

这类药物也能抑制DNMT的活性,直接阻断DNMT的活性,所以没有由共价捕获DNMT而引起的内在的毒性。这类化合物目前主要有表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和RG108,它们通过与DNMT酶的活性位点非共价结合,阻碍其与DNA

的结合,从而阻断 DNA 的甲基化过程,抑制肿瘤细胞的生长。

EGCG 是绿茶中主要的多酚化合物。EGCG 影响各种生物途径和人类癌细胞株的 DNMT 的活性。EGCG 结合并阻断人 DNMT 的活性位点,使癌细胞中甲基化沉默基因重新激活。EGCG 中 D、B 环结构在抑制 DNMT 活性中起重要作用。分子模拟研究表明 EGCG 能与 DNMT 催化域中脯氨酸 (1 223)、谷氨酸 (1 265)、胱氨酸 (1 225)、丝氨酸 (1 229) 和精氨酸 (1 309) 形成氢键^[12]。然而,降解 EGCG 产生大量的强氧化剂过氧化氢,以及 DNMT 和其他蛋白质的氧化可能促进由 EGCG 在体外产生 DNA 甲基化抑制,但同时也对人正常细胞产生毒性。DNMT 氧化的作用机制可能有机硒化合物参与,如氰酸苄酯。然而,在体内条件下,还没有有机硒化合物被证明能够抑制 DNA 甲基化。EGCG 直接结合到特异的 miRNA (miR-33a、miR-122) 导致其表达下调,EGCG 和 miRNA 结合的特性与影响细胞 miRNA 水平的作用是一致的。EGCG 对 miRNAs 的选择性以及结合特性可作为一个新的其调节代谢转录后机制^[13]。对于人类的 DNMT 的催化结构域的三维同源模型已经建立,用于筛选鉴定出一种小分子 DNMT 抑制剂 RG108。通过建模数据和其对纯化的重组 DNMT 催化活性的抑制能力,显示 RG108 能抑制 DNMT 的活性位点。RG108 对 DNMT 抑制机制也是直接的和有选择性的,因此 RG108 在人类癌细胞株相对低毒。RG108 是一个有吸引力的、作为新的药物开发的先导化合物有待进一步评价的候选药物^[9]。

1.3 干扰 DNMT 与 DNA 的结合位点

对非核苷类 DNMT 抑制剂还包含一些特征不明显的化合物。对氨基苯甲酸衍生物如抗心律失常药普鲁卡因胺、局部麻醉药普鲁卡因在细胞和小鼠移植瘤实验中都具有去甲基化活性。普鲁卡因胺能直接作用于 CpG 岛密集区,并特异性地抑制 DNMT1 的活性,降低了 DNMT1 对它的两个底物即半甲基化的 DNA 和甲基供体 S-腺苷甲硫氨酸的亲合力,这样就显著降低了 DNMT1 持续合成半甲基化的 DNA 的能力,避免了 DNA 的超甲基化。与普鲁卡因胺结构相似的普鲁卡因通过与 DNA 的 CpG 岛密集区紧密结合,从而阻止 DNMT 与 DNA 结合,强烈地使超甲基化的 CpG 岛去甲基化,从而使沉默的抑癌基因重新表达,达到治疗肿瘤的目的。

然而,普鲁卡因必须在高浓度时才有效,并且不是对所有细胞株都有效^[9]。

1.4 抑制 DNMT 的基因表达

另外一个抑制 DNA 甲基化的途径就是应用反义寡核苷酸从根本上抑制 DNMT 的基因表达,从而减少 DNMT 的合成。如 MG98 具有抗肿瘤活性,可直接作用于 DNMT1 mRNA,减少肿瘤细胞中 DNMT1 表达,并诱导去甲基化,使沉默的抑癌基因 p16 表达。在小鼠红细胞白血病细胞中,发夹环已作为 DNMT 的竞争性底物,并能够诱导人结肠癌细胞抑癌基因 p16 的弱表达。此外,用 DNMT1 反义寡核苷酸基因转染人结肠癌细胞株 HCT116 和 SW48 导致去甲基化并重新激活 p16。MG98 目前已进入 II 期临床试验,但单个 MG98 的临床试验只观察到有限的疗效,而目前在治疗转移性肾细胞癌的 II 期临床试验是评估 MG98 和干扰素联合治疗的效果^[14]。嵌合 RNA 寡核苷酸 (CRO) 能够针对特定的基因,减少 DNMT 的活性。双链嵌合 RNA 寡核苷酸 (dsCRO) 具有屏蔽 DNMT1 的能力,减少目标基因 DNA 甲基化。而单链嵌合 RNA 寡核苷酸 (ssCRO) 屏蔽 DNMT1 的能力是通过与细胞内 RNA 形成双链复合物,或通过与基因组 DNA 形成三螺旋结构。

每个寡核苷酸抑制剂包括至少 1 个修饰的 CpG 二核苷酸,作为 DNA 靶序列。在一条链上 CpG 中胞嘧啶被胞嘧啶类似物取代,而相反链上胞嘧啶未经改变,或被甲基化胞嘧啶取代,从而构建 1 条针对 DNMTs 的半甲基化作用靶点。这些寡核苷酸,包括 MTC-422、MTC-423、MTC-424,分别通过体外 DNMT 抑制实验评价,用 S-腺苷同型半胱氨酸 (SAH) 抑制反应作为阳性对照。根据肿瘤细胞中的 DNMT 基因序列,设计并合成的 3 个 siRNA 分子,能沉默 DNMT1、DNMT3A 和 DNMT3B 基因,明显促进肝癌细胞的免疫原性蛋白的表达^[4]。

2 甲基转移反应途径

辅酶因子 S-腺苷基甲硫氨酸 (SAM) 带有一个活化的甲基,作为甲基化反应的甲基供体,是 DNMT 催化 DNA 甲基化所必需。SAM 对 DNA 胞嘧啶残基的 5 位碳进行甲基化修饰,进而转化为去甲基化代谢物 SAH。通过干扰甲基转移反应,减少 SAM 提供甲基供体,从而阻止了 DNA 甲基化^[15]。

2.1 SAM 与 SAH

辅酶因子 SAM 作为甲基化反应的甲基供体,

是大多数 DNMTs 裂解 DNA 所必需。SAM 对 DNA 胞嘧啶残基的 5 位碳进行甲基化修饰,进而转化为去甲基化代谢物 SAH。SAH 随后水解生成腺苷和同型半胱氨酸。SAH 与 DNMTs 结合并抑制其催化反应,在生物转甲基化调节中起重要调节作用,因此 SAH 可作为甲基化反应的抑制剂。SAM 与 SAH 比例对调节细胞甲基化所必需酶的活性是至关重要的。在组织中, SAM 和 SAH 水平相当。因此,一些研究报道,在啮齿类动物模型中,膳食甲基缺乏引起 SAM 的消耗伴随着基因组和特定基因 DNA 的低甲基化^[16],导致癌基因的激活以及 DNA 高甲基化介导的 TSG 基因沉默,最终肿瘤生成^[17]。可利用一些参与一碳代谢和蛋氨酸途径膳食因子的活性来调节 SAM 和 SAH 的比例。最重要的是叶酸、维生素 B₆ 和维生素 B₁₂。另外,当叶酸提供的量不足以确保充分的甲基化,胆碱、甜菜碱和蛋氨酸是非常重要的,它们有助于维持足够的 SAM 水平来保证甲基化^[18]。

2.2 SAH 类似物

SAH 类似物 sinefungin 已有抑制人 DNMT 的报道,但它是一种具有潜在毒性的非选择性抑制剂。尽管在 DNMTs 序列一致性存在差异,但不同 DNMTs 都有一个保守的辅助因子的结合位点。DNMT1、DNMT3B 的活性部位需要柔韧的同型半胱氨酸基团构象,这方面还未见关注。同型半胱氨酸单元采用扩展或折叠的构象,特别是扩展的构象是适合催化所必需的。潜在的同型半胱氨酸受限的 SAH 类似物是已经设计和合成出来了,可以选择性地结合 DNMT1 和 DNMT3B^[15]。

3 三羧酸循环途径

DNA 去甲基化酶 (TET) 代谢 5-甲基胞嘧啶 (5mC) 生成几个氧化的中间体,包括 5-羟甲基胞嘧啶 (5hmC)、5-甲酰基胞嘧啶 (5fC) 和 5-羧基胞嘧啶 (5caC)。这些中间体参与主动 DNA 去甲基化过程。3 个 TET 家族成员在 AML、MDS、MPD 和 CMML 等癌症上都发生了突变^[19-20]。 α -酮戊二酸 (α -KG) 是 TET 酶的重要辅酶。通过影响三羧酸循环,可以调节代谢中间产物 α -KG 水平,从而增强 TET 酶活性,以达到 DNA 去甲基化作用。

3.1 α -KG 与 IDH1/2

在肿瘤细胞中,通过提高作为能量源的谷氨酰胺利用率,来提升细胞内的 α -KG 水平。此外, IDH1、IDH2 突变在继发性胶质母细胞瘤和急性髓系白血

病 (AML) 都有发现。这些突变与代谢产物积累相关,竞争性抑制 α -KG,而代谢产物如 2-羟基戊二酸 (2-HG)、富马酸和琥珀酸参与 TCA 循环^[21-22]。此外, IDH1、IDH2 突变导致获得性功能,使酶能催化 α -KG,生成致癌代谢物 2-HG,其可以抑制 TET2 活性,并最终导致甲基化表型改变,从而抑制造血细胞分化^[23]。其他的致癌代谢物还有待发现,然而,可以推测其他的表观遗传事件可以由新变体酶所产生这些化合物调节。

α -KG 可作为膳食补充剂,但长期使用这种膳食补充剂的安全性和生物后果还鲜为人知。据报道, α -KG 通过抑制血管生成显示抗肿瘤作用^[24],此外,由于其在 N-亚硝基二乙胺诱导的肝癌上可以积极调节转氨酶活性以及氧化-抗氧化失衡,还具有化学预防的性质^[25]。 α -KG 是 TET 酶的一种辅助因子。运用有效性取决于细胞内的能量水平的代谢辅助因子来调节 α -KG 细胞水平,使在预防干预中通过调节去甲基化过程使基因表达的程序重调,不失为是一个很好的思路。

3.2 NAD⁺与 SIRT1

细胞内 NAD 存在两种形式: NAD⁺和 NADH,分别是氧化和还原形式。当 ATP 充裕, NAD⁺生物合成主要包括吡啶单核苷酸的合成,或分别从外源性前体烟酰胺 (NAM) 和烟酸 (NA) 得到烟酰胺单核苷酸 (NMN) 或烟酸单核苷酸 (NAMN) 当中一种,无论哪一种都是饮食中维生素 B₃。维生素 B₃ 或烟酸是一个重要的维生素,基本上存在于各种鱼类、肉类、花生和蘑菇。这些途径,也被称为 Preiss-Handler 途径,对 NAD⁺平衡是很重要的。否则, NAD 只能从色氨酸从头合成,或重新利用循环降解 NAD 产物烟酰胺^[26-27]。

sirtuin 是一类具有有益健康效应的 NAD⁺依赖性去乙酰化酶。所有 sirtuin 都被 NAD⁺激活,所以促进细胞中 NAD⁺是研究的热点。sirtuin 最为熟知的功能是参与帮助细胞调节能量输出以满足能量需求。SIRT1 和一些其他 sirtuin 增强脂肪代谢和调节线粒体呼吸以优化能量获得。增强 SIRT1 活性有很多有益的作用,是目前公认的对癌症的发展潜在的预防策略和健康老龄化预防策略。增加 SIRT1 的活性可以通过不同类型的干预措施包括: (1) 热量限制; (2) 某些植物化学物质,如白藜芦醇; (3) 使用补充 NAD⁺前体增强 NAD⁺生物合成 (NA、NAM、NMN 和 NAMN); (4) 抑制其他 NAD⁺消费的反应,

如由聚(ADP-核糖)聚合酶催化的反应^[28]。

4 其他

在细胞实验中 psammaplin A、Q 可以抑制 DNMT 的活性,但其作用机制尚未阐明。另外, psammaplin A、Q 也可以抑制组蛋白去乙酰化酶活性,因此作为组蛋白去乙酰化酶和 DNA 甲基转移酶两者的抑制剂应进一步评估^[9, 29]。在体外,低浓度的 psammaplin G 具有抑制 HDAC 和 DNMT1 的活性,但也有关于 psammaplin A 没有体外抑制 DNMT1 活性的报道。这些差异可能与药物纯度、检测程序或细胞模型的变化相关^[30]。

5 小结

在表观遗传标记中,DNA 甲基化是最重要的标志之一。癌变的标志是由遗传和表观遗传修饰引起的基因表达和蛋白质功能的异常。事实上,抑癌基因启动子甲基化是肿瘤细胞的共同特征。由于 DNA 甲基化是可逆的,负责这种表观遗传标记的 DNMT 被认为是有前途的治疗目标^[31]。表观遗传修饰包括 DNA 甲基化、组蛋白尾巴共价修饰以及非编码 RNAs 的调控,这些变化是动态的,并作为对各种各样的环境和社会因素包括饮食的一种适应机制。大量研究证据表明,在食品和草药中发现的一些天然生物活性化合物可以通过不同的表观遗传机制调节基因的表达。一碳代谢的营养成分,如叶酸、核黄素、维生素 B₆、维生素 B₁₂、胆碱、甜菜碱和蛋氨酸通过调节 SAH 水平来影响 DNA 甲基化^[17]。正如表观遗传学异常已被证明是不同的健康状况包括癌偶然且必然的因素,因此直接或间接调节表观基因组的天然化合物有望成为在癌症预防和潜在抗肿瘤治疗上一个很好的方法。

参考文献

- [1] Fandy T E, Carraway H, Gore S D. DNA demethylating agents and histone deacetylase inhibitors in hematologic malignancies [J]. *Cancer J*, 2007, 13(1): 40-48.
- [2] Mani S, Herceg Z. DNA demethylating agents and epigenetic therapy of cancer [J]. *Adv Genet*, 2010, 70: 327-340.
- [3] Gnyszka A, Jastrzebski Z, Flis S. DNA methyltransferase inhibitors and their emerging role in epigenetic therapy of cancer [J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(8): 2989-2996.
- [4] Xu P, Hu G, Luo C, et al. DNA methyltransferase inhibitors: an updated patent review (2012-2015) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2016, 26(9): 1017-1030.
- [5] Klose R J, Bird A P. Genomic DNA methylation: the mark

and its mediators [J]. *Trends Biochem Sci*, 2006, 31(2): 89-97.

- [6] Guo X, Wang L, Li J, et al. Structural insight into autoinhibition and histone H3-induced activation of DNMT3A [J]. *Nature*, 2015, 517(7536): 640-644.
- [7] Gros C, Fahy J, Halby L, et al. DNA methylation inhibitors in cancer: recent and future approaches [J]. *Biochimie*, 2012, 94(11): 2280-2296.
- [8] Stresemann C, Lyko F. Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine [J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(1): 8-13.
- [9] Lyko F, Brown R. DNA methyltransferase inhibitors and the development of epigenetic cancer therapies [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(20): 1498-1506.
- [10] Abou Zahr A, Saad Aldin E, Barbarotta L, et al. The clinical use of DNA methyltransferase inhibitors in myelodysplastic syndromes [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2015, 15(9): 1019-1036.
- [11] Flotho C, Claus R, Batz C, et al. The DNA methyltransferase inhibitors azacytidine, decitabine and zebularine exert differential effects on cancer gene expression in acute myeloid leukemia cells [J]. *Leukemia*, 2009, 23(6): 1019-1028.
- [12] Fang M Z, Wang Y, Ai N, et al. Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits DNA methyltransferase and reactivates methylation-silenced genes in cancer cell lines [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(22): 7563-7570.
- [13] Baselga-Escudero L, Blade C, Ribas-Latre A, et al. Resveratrol and EGCG bind directly and distinctively to miR-33a and miR-122 and modulate divergently their levels in hepatic cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(2): 882-892.
- [14] Plummer R, Vidal L, Griffin M, et al. Phase I study of MG98, an oligonucleotide antisense inhibitor of human DNA methyltransferase 1, given as a 7-day infusion in patients with advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(9): 3177-3183.
- [15] Isakovic L, Saavedra O M, Llewellyn D B, et al. Constrained (1-)-S-adenosyl-L-homocysteine (SAH) analogues as DNA methyltransferase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19(10): 2742-2746.
- [16] James S J, Pogribny I P, Pogribna M, et al. Mechanisms of DNA damage, DNA hypomethylation, and tumor progression in the folate/methyl-deficient rat model of hepatocarcinogenesis [J]. *J Nutr*, 2003, 133(11 Suppl 1): 3740s-3747s.
- [17] Stefanska B, Karlic H, Varga F, et al. Epigenetic mechanisms in anti-cancer actions of bioactive food

- components--the implications in cancer prevention [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 167(2): 279-297.
- [18] Gray S. *Epigenetic Cancer Therapy* [M]. Amsterdam: Elsevier Inc., 2015.
- [19] Dawson M A, Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy [J]. *Cell*, 2012, 150(1): 12-27.
- [20] Cimmino L, Abdel-Wahab O, Levine R L, *et al.* TET family proteins and their role in stem cell differentiation and transformation [J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 9(3): 193-204.
- [21] Florean C, Schnekenburger M, Grandjenette C, *et al.* Epigenomics of leukemia: from mechanisms to therapeutic applications [J]. *Epigenomics*, 2011, 3(5): 581-609.
- [22] Teperino R, Schoonjans K, Auwerx J, *et al.* Histone methyltransferases and demethylases; can they link metabolism and transcription? [J]. *Cell Metab*, 2010, 12(4): 321-327.
- [23] Madzo J, Vasanthakumar A, Godley L A. Perturbations of 5-hydroxymethylcytosine patterning in hematologic malignancies [J]. *Semin. Hematol*, 2013, 50(1): 61-69.
- [24] Matsumoto K, Obara N, Ema M, *et al.* Antitumor effects of 2-oxoglutarate through inhibition of angiogenesis in a murine tumor model [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(9): 1639-1647.
- [25] Dakshayani K B, Subramanian P. Alpha-ketoglutarate modulates the circadian patterns of lipid peroxidation and antioxidant status during N-nitrosodiethylamine-induced hepatocarcinogenesis in rats [J]. *J Med Food*, 2006, 9(1): 90-97.
- [26] Chiarugi A, Dölle C, Felici R, *et al.* The NAD metabolome--a key determinant of cancer cell biology [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(11): 741-752.
- [27] Mouchiroud L, Houtkooper R H, Auwerx J. NAD⁺ metabolism: a therapeutic target for age-related metabolic disease [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2013, 48(4): 397-408.
- [28] Morris B J. Seven sirtuins for seven deadly diseases of aging [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 56: 133-171.
- [29] Kim H J, Kim J H, Chie E K, *et al.* DNMT (DNA methyltransferase) inhibitors radiosensitize human cancer cells by suppressing DNA repair activity [J]. *Radiat Oncol*, 2012, 7: 39.
- [30] Schnekenburger M, Dicato M, Diederich M. Epigenetic modulators from "The Big Blue": a treasure to fight against cancer [J]. *Cancer Lett*, 2014, 351(2): 182-197.
- [31] Gros C, Fleury L, Nahoum V, *et al.* New insights on the mechanism of quinoline-based DNA Methyltransferase inhibitors [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(10): 6293-6302.