

砷致胃癌的作用机制

童玲¹, 张靖雯¹, 李帅¹, 段开鹏^{2*}

1. 苏州大学 苏州医学院 临床医学部, 江苏 苏州 215006; 2. 苏州大学附属第一医院 胃肠外科, 江苏 苏州 215006

摘要:砷是一种重金属元素,属于一类致癌物。人类主要通过饮用水摄入砷,长期接触砷可造成癌性病变和非癌性病变,其中癌性病变包括胃癌。目前已知的无机砷暴露导致胃癌发生发展的机制主要包括氧化应激、表观遗传改变和免疫调节。氧化应激可引起肠上皮结构和功能的变化,导致肠道黏膜屏障受损进而癌变;表观遗传改变主要表现在DNA甲基化、组蛋白翻译后修饰以及影响miRNA的表达导致胃癌的发生发展;淋巴细胞、树突状细胞、巨噬细胞等免疫细胞的正常功能的损害可使胃肠道菌群失调,进一步发展为胃癌。

关键词:砷;胃癌;氧化应激;表观遗传学;免疫调节

中图分类号:R730.2 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2024.11.1598

Mechanisms of arsenic induced gastric cancer

TONG Ling¹, ZHANG Jingwen¹, LI Shuai¹, DUAN Kaipeng^{2*}

1. Department of Clinical Medicine, Soochow Medical College, Soochow University, Suzhou 215006;

2. Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China

Abstract: Arsenic is a heavy metal element and has been classified as group 1 carcinogens. Humans are mainly exposed to arsenic through drinking water. Long-term exposure to arsenic causes carcinomatous and non-carcinomatous lesions, including gastric carcinoma. At present, the known mechanisms of inorganic arsenic exposure leading to the occurrence and development of gastric cancer mainly include oxidative stress, epigenetic changes and immune regulation. Oxidative stress may change the structure and function of the intestinal epithelium, leading to damage to the intestinal mucosal barrier and then carcinoma. Epigenetic changes are mainly manifested in DNA methylation, histone post-translational modification and miRNA expression, which lead to the occurrence and development of gastric carcinoma. Impairment of the normal function of immune cells such as lymphocytes, dendritic cells, and macrophages may lead to dysbiosis of the gastrointestinal microbiota and development of gastric carcinoma.

Key words: arsenic; gastric cancer; oxidative stress; epigenetics; immunoregulation

砷(arsenic)与多种疾病的发生发展相关,涉及全身多个器官系统,包括癌性病变和非癌性病变,其癌性病变中就包括胃癌。无机砷毒性高于有机砷。

自然环境中,无机砷主要存在于饮用水与土壤中。多个地区针对饮用水砷暴露与疾病的关系开展了流行病学研究,均显示了饮用水砷暴露与胃肠癌发生

收稿日期:2024-01-25 修回日期:2024-05-11

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(81700788);苏州大学“大学生创新创业训练计划”基金资助(202210285070Z)

*通信作者(corresponding author): duankaipeng@126.com

发展的相关性^[1]。土壤砷暴露与多种癌的发病率及死亡率相关。一项研究系统回顾了关于砷与消化道癌关系的流行病学研究,表明砷与胃癌有一定相关性^[2]。此外,一项病例对照研究评估了伊朗东部地区患者癌组织和非癌组织中重金属和砷的浓度,发现胃癌、食管癌和结肠癌患者癌组织中砷的浓度明显高于非癌患者的相应组织^[3]。上述研究表明,饮用水与土壤的砷暴露可能增加多种癌(包括胃癌)发生的风险,其导致胃癌发生的具体机制可能涉及以下多个方面。

1 砷通过氧化应激以及炎症反应损伤胃肠道黏膜细胞

砷可以通过相关的氧化应激和炎症反应损伤胃肠道黏膜细胞,破坏肠道屏障,促进胃癌的发生发展。

砷是活性氧的常见外源性来源,可以增加活性氧(reactive oxygen species, ROS)和/或活性氮(reactive nitrogen species, RNS)含量,使细胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量减少,上调应激蛋白和金属硫蛋白,降低过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性以及脂质过氧化,产生氧化应激。无机砷的氧化应激作用可引起肠上皮结构和功能的变化,改变维持上皮结构的紧密连接蛋白的分布,从而使肠上皮通透性增加,导致肠道屏障功能丧失^[4]。同时,砷及其代谢物产生的氧化应激可能通过DNA损伤、降低DNA修复效率、减弱端粒功能、暂停有丝分裂、引起不完全凋亡等机制导致染色体水平或核水平上的基因组不稳定,导致胃肠道肿瘤发生^[5]。

砷也可直接引发炎症反应并损伤胃肠道上皮。无机砷暴露刺激胃肠道黏膜细胞分泌IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-2等炎症因子并导致中性粒细胞浸润胃肠道黏膜,引发炎症反应^[6]。此外,小鼠胃中一些紧密连接相关基因的mRNA表达显著降低,包括ZO-1、ZO-2和紧密连接蛋白^[7]。持续暴露于受污染饮用水和某些食物中的无机砷可能会影响肠道上皮的吸收、消化和防御功能,并损害上皮修复机制,进而导致胃肠道黏膜细胞癌变^[8]。

2 砷介导的基因表观遗传变化促进胃癌的发生发展

表观遗传改变可能是砷致癌原因之一。表观遗传

过程的异常改变经常被认为是癌变的重要驱动因素,其可能通过引起DNA甲基化或组蛋白修饰等方式促进肿瘤的发生。通常认为,DNA启动子高甲基化会导致基因沉默,低甲基化则有助于基因的激活。砷介导的基因甲基化改变可能激活原癌基因或沉默抑癌基因,从而导致癌的发生。传统的胃癌分子研究大多是基于基因碱基突变的分析,近年来早期胃癌中表观遗传的作用逐渐被认识。

2.1 砷介导的全基因组低甲基化与胃癌的发生发展

砷可以导致全基因组低甲基化,其发生机制可能有如下三种。一是砷与DNA竞争S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl methionine, SAM),致使本该用于DNA甲基化的SAM减少;二是砷降低或直接抑制DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)活性;三是砷诱导氧化应激的发生,导致抗氧化剂GSH需求增加,使SAM再利用减少^[9]。

砷可以诱导DNA低甲基化的发生,而低甲基化则通过使细胞发生染色体缺陷和重排导致遗传不稳定和自发突变,促进恶性转化。黑色素瘤抗原(melanoma antigen, MAGE)、突触核蛋白(γ -synuclein, SNCG)和细胞周期蛋白D2(cyclin D2)等基因的去甲基化可导致胃癌发生。其中,MAGE-A1和MAGE-A3启动子的去甲基化常见于进展期胃癌,并且与不良预后相关;SNCG去甲基化常见于伴有淋巴结转移的病例;cyclin D2启动子的低甲基化在71%的胃癌病例中可以观察到^[10]。这些证据表明砷诱导的全基因组的低甲基化与胃癌的发生发展存在着密切关系。

2.2 砷介导的特定基因甲基化与胃癌的发生发展

砷在全域低甲基化的基础上同时可介导特定基因的高甲基化,导致相应基因的沉默。砷介导基因高甲基化致癌的作用机制尚不十分明确,可能是SAM的需求增加,反馈刺激DNMTs活性增加。或是砷作用于双加氧酶/ten-eleven转位(ten-eleven translocations, TETs)增加DNA甲基化。正常条件下TETs通过将5-甲基胞嘧啶的甲基氧化成5-羟甲基胞嘧啶来促进DNA去甲基化;而砷可靶向结合TET蛋白的锌指结构域,阻止TETs与DNA结合,使DNA保持甲基化状态^[11]。

砷介导的p16, MLH1等基因表达的缺失在胃癌

的研究中均有报道。一项针对台湾砷暴露患者尿路上皮癌的研究显示,经亚砷酸钠处理的尿路上皮细胞呈现出 p16 基因的高甲基化和 p16 mRNA 水平的降低^[12]。p16 基因负责细胞周期的调控,负调节细胞增殖及分裂,其表达一旦缺失就会导致细胞恶性增殖,致使肿瘤发生。无论是早期还是晚期胃癌, p16 甲基化均会影响总体预后,该基因在胃癌发生的多步骤过程中均发挥重要作用。长期暴露于饮用水中的砷与 DNA 错配修复基因 MLH1 的高甲基化呈现出一定的相关性^[13]。MLH1 是一种错配修复蛋白, MLH1 的表达缺失可以导致 DNA 修复途径的缺陷,发生微卫星重复的改变,即微卫星不稳定性。而 MLH1 启动子高甲基化在胃癌中并不少见,大多数表现出微卫星不稳定的胃癌均与 MLH1 表达缺失相关。

2.3 砷介导组蛋白翻译后修饰导致胃癌的发生发展

染色质由 8 个核心蛋白组成, H2A、H2B、H3 和 H4 各 2 个,由 146 bp 的 DNA 包裹。组蛋白翻译后修饰 (protein translational modifications, PTMs) 是指特定其核心蛋白上的特定氨基酸残基可以发生一系列翻译后修饰,如乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、苏素化、脯氨酸异构化、脱亚胺化和 ADP 核糖基化等。砷通过改变组蛋白 PTMs 沉积,可逆地调节染色质状态和完整性,影响基因调控过程。组蛋白 PTMs 可通过特异性转录调控、X 染色体失活,外染色质形成等过程发挥重要作用,而以上过程均可在致癌过程中出现。

组蛋白 3 的第 9 位氨基酸赖氨酸 (histone H3 lysine 9, H3K9) 的甲基化可能是砷诱导胃癌发生的桥梁。慢性暴露于 5 mg/L 和 25 mg/L 砷的大鼠睾丸中 H3K9 三甲基化修饰 (H3K9-tri-methyl, H3K9me3) 增加^[14],而 H3K9me3 与胃癌的肿瘤分期和淋巴血管侵犯正相关^[15]。因此,砷介导的赖氨酸甲基化可能与胃癌的发生存在联系。此外,组蛋白 4 的第 16 位氨基酸赖氨酸 (H4K16) 的乙酰化通过激活抑癌基因,使肿瘤趋向更好的预后,而 H4K16 的去乙酰化则会导致相反的结果。砷降低 H4K16 乙酰化水平在 UROtsa 细胞、HEK293T 细胞和 HeLa 细胞中均得到了证实^[16],其在胃组织中是否有同样的作用有待进一步的研究。

组蛋白磷酸化是细胞分裂、转录调控和 DNA 损

伤修复过程中染色体浓缩的关键中间步骤。在砷暴露的细胞中可观察到广泛的 H3 磷酸化^[17],而磷酸化组蛋白 H3 的过表达与肠型胃癌的发生、脉管侵犯和淋巴结转移相关。此外,磷酸化组蛋白 H3 过表达的胃癌病例显示出比低表达病例更差的预后^[18]。与组蛋白甲基化和乙酰化相比,目前对砷通过组蛋白磷酸化致癌研究并不深入。

2.4 砷通过影响 miRNA 的表达促进胃癌的发生发展

在砷诱导的人支气管上皮细胞-间充质转化过程中可以观察到 miRNA-21 的上调^[19]。miRNA-21 的过表达可增强胃癌细胞的增殖和侵袭能力,而敲低 miRNA-21 则抑制胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力^[20]。关于砷诱导 miRNA-21 表达上调致癌机制可能如下:miRNA-21 的表达增加抑制了抑癌基因程序性细胞死亡因子 4 (programmed cell death 4, PCD4) 的表达,当抑制 miRNA-21 的表达时,PCD4 水平升高,这一点佐证了 miRNA-21 通过影响 PCD4 的水平来影响癌的发生^[20]。

3 砷通过免疫调节介导胃癌的发生发展

近年的研究发现除了染色体异常和氧化应激等与砷致癌相关以外,砷对机体免疫系统也有显著影响。免疫系统可以分为适应性 (特异性) 和先天性 (非特异性) 免疫,参与机体免疫防御的细胞主要有 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、巨噬细胞、树突状细胞等。低到中等剂量砷暴露不仅会减少淋巴细胞数量,抑制适应性免疫反应,而且会改变先天性免疫反应从而削弱对抗病原体的能力^[21]。

低到中等剂量砷对 T 淋巴细胞的影响主要是通过改变关键免疫调节分子的表达、破坏 T 细胞功能、产生细胞因子、诱导细胞凋亡和诱导 T 细胞氧化应激^[22]。此外,低到中等剂量砷可抑制骨髓源性树突状细胞的吞噬功能,尤其是未成熟树突状细胞,使其活性降低,导致细胞膜通透性改变并抑制细胞的活化^[23]。T 淋巴细胞和浆细胞样树突状细胞与胃微生物群失调相关^[24],胃癌的发生与胃内菌群结构和功能的变化相关,不同类型胃癌肿瘤微生物微环境中不同的优势微生物。因此,低到中等剂量砷可能通过对 T 淋巴细胞和树突状细胞产生细胞毒性作用,从而使其活性降低而使胃微生物群失调,

进一步引起胃癌的发生发展。此外,砷在体外具有广谱的抗癌活性,也被应用于临床治疗。合适剂量的三氧化二砷可通过造成局部组织氧化应激及炎症反应,释放一系列能与单核细胞、髓系树突状细胞细胞上相关受体结合的“危险信号”分子(如 ATP、CALR、F-actin、IFN α/β 、HMGB1、Anex A1),增强肿瘤细胞的免疫原性,促进抗原吞噬和提呈,并激活 T 细胞,最终抑制肿瘤生长^[25]。

4 问题与展望

目前已有多个流行病学调查揭示了无机砷与胃癌之间的潜在联系,并对砷致胃癌发生发展的具体机制有了初步的认识,主要包括氧化应激、表观遗传修饰、免疫调节等方面。但目前仍有一些问题待解决。首先,砷的基因毒性机制包括下调 DNA 修复酶从而抑制 DNA 修复,然而砷在人体内通过代谢生成

的一甲基砷酸、二甲基砷酸、砷甜菜碱和砷胆碱等均具有一定基因毒性,具体是哪一种砷的代谢物导致的 DNA 修复抑制尚不清楚。其次,目前对于砷介导表观遗传变化影响胃癌发生发展的研究多集中在 DNA 的甲基化与去甲基化上,对于组蛋白修饰和 miRNA 的研究相对较少。这 3 种途径虽揭示了砷介导的表观遗传改变与胃癌之间存在的联系,但其在胃癌不同阶段的具体作用尚未明晰,且部分研究呈现出相悖的结论。最后,砷及其化合物对肿瘤有致癌与治疗癌的双重作用,主要取决于砷化合物的种类、浓度和作用于机体的时间。其中,三价砷、五价砷及其代谢产物可能对肿瘤有不同的影响,而现如今缺少不同种类砷化合物在胃癌发生发展作用中的探讨。因此,关于砷与胃癌二者之间具体的作用机制值得更进一步的研究,从而为早期诊疗胃癌提供新的思路和靶点。

参考文献:

- [1] Pál L, Jenei T, McKee M, *et al.* Health and economic gain attributable to the introduction of the World Health Organization's drinking water standard on arsenic level in Hungary: a nationwide retrospective study on cancer occurrence and ischemic heart disease mortality [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 851: 158305. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.158305.
- [2] Kasmí S, Moser L, Gonvers S, *et al.* Carcinogenic effect of arsenic in digestive cancers: a systematic review [J]. *Environ Health*, 2023, 22: 36. doi: 10.1186/s12940-023-00988-7.
- [3] Nozadi F, Azadi N, Mansouri B, *et al.* Association between trace element concentrations in cancerous and non-cancerous tissues with the risk of gastrointestinal cancers in Eastern Iran [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2021, 28: 62530-62540. doi: 10.1007/s11356-021-15224-3.
- [4] Chiochetti GM, Vélez D, Devesa V. Inorganic arsenic causes intestinal barrier disruption [J]. *Metallomics*, 2019, 11: 1411-1418. doi: 10.1039/c9mt00144a.
- [5] Speer RM, Zhou X, Volk LB, *et al.* Arsenic and cancer: evidence and mechanisms [J]. *Adv Pharmacol*, 2023, 96: 151-202. doi: 10.1016/bs.apha.2022.08.001.
- [6] Domene A, Orozco H, Rodríguez-Viso P, *et al.* Intestinal homeostasis disruption in mice chronically exposed to arsenite-contaminated drinking water [J]. *Chem Biol Interact*, 2023, 373: 110404. doi: 10.1016/j.cbi.2023.110404.
- [7] Zhao D, Yi H, Sang N. Arsenic intake-induced gastric toxicity is blocked by grape skin extract by modulating inflammation and oxidative stress in a mouse model [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 233: 113305. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113305.
- [8] Chiochetti GM, Vélez D, Devesa V. Effect of subchronic exposure to inorganic arsenic on the structure and function of the intestinal epithelium [J]. *Toxicol Lett*, 2018, 286: 80-88. doi: 10.1016/j.toxlet.2018.01.011.
- [9] Ozturk M, Metin M, Altay V, *et al.* Arsenic and human health: genotoxicity, epigenomic effects, and cancer signaling [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2022, 200: 988-1001. doi: 10.1007/s12011-021-02719-w.
- [10] Ji G, Wang X, Xi H. METTL3-mediated m6A modification of lncRNA SNHG3 accelerates gastric cancer progression by modulating miR-186-5p/cyclinD2 axis [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2023, 37: 3946320231204694. doi: 10.1177/03946320231204694.
- [11] Saintilnord WN, Fondufe-Mittendorf Y. Arsenic-induced epigenetic changes in cancer development [J]. *Semin*

- Cancer Biol, 2021, 76: 195-205. doi: 10. 1016/j. semcancer.2021.03.019.
- [12] Chakraborty A, Ghosh S, Biswas B, *et al.* Epigenetic modifications from arsenic exposure: a comprehensive review[J]. Sci Total Environ, 2022, 810: 151218. doi: 10. 1016/j. scitotenv.2021.151218.
- [13] Bi Z, Zhang Q, Fu Y, *et al.* Cooperation between NRF2-mediated transcription and MDIG-dependent epigenetic modifications in arsenic-induced carcinogenesis and cancer stem cells[J]. Semin Cancer Biol, 2021, 76: 310-318. doi: 10.1016/j. semcancer.2021.03.030.
- [14] Zhang AL, Tang SF, Yang Y, *et al.* Histone demethylase JHDM2A regulates H3K9 dimethylation in response to arsenic-induced DNA damage and repair in normal human liver cells[J]. J Appl Toxicol, 2021, 41: 650. doi: 10. 1002/jat.4142.
- [15] Wang L, Chen J, Zuo Q, *et al.* Calreticulin enhances gastric cancer metastasis by dimethylating H3K9 in the E-cadherin promoter region mediating by G9a[J]. Oncogenesis, 2022, 11: 29. doi: 10.1038/s41389-022-00405-7.
- [16] Jo WJ, Ren X, Chu F, *et al.* Acetylated H4K16 by MYST1 protects UROtsa cells from arsenic toxicity and is decreased following chronic arsenic exposure[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2009, 241: 294-302. doi: 10. 1016/j. taap.2009.08.027.
- [17] Veerappan A, Stavrou A, Costa M. Polyadenylation of canonical histone H3. 1 in carcinogenesis [J]. Adv Pharmacol, 2023, 96: 267-282. doi: 10. 1016/bs. apha. 2022.08.003.
- [18] Dai W, Shen G, Qiu J, *et al.* Aberrant expression of B7 H3 in gastric adenocarcinoma promotes cancer cell metastasis[J]. Oncol Rep, 2022, 48: 206. doi: 10. 3892/or. 2022.8421.
- [19] Nail AN, Ferragut Cardoso AP, Montero LK, *et al.* miRNAs and arsenic-induced carcinogenesis [J]. Adv Pharmacol, 2023, 96: 203-240. doi: 10. 1016/bs. apha. 2022.10.002.
- [20] Farasati Far B, Vakili K, Fathi M, *et al.* The role of microRNA-21 (miR-21) in pathogenesis, diagnosis, and prognosis of gastrointestinal cancers: a review [J]. Life Sci, 2023, 316: 121340. doi: 10.1016/j. lfs.2022.121340.
- [21] Zheng K, Zeng Z, Tian Q, *et al.* Epidemiological evidence for the effect of environmental heavy metal exposure on the immune system in children[J]. Sci Total Environ, 2023, 868: 161691. doi: 10. 1016/j. scitotenv. 2023.161691.
- [22] Haque R, Chaudhary A, Sadaf N. Immunomodulatory role of arsenic in regulatory T cells[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2017, 17: 176-181. doi: 10. 2174/1871530317666170818114454.
- [23] 马婉琪,张娜,刘思金,等.重金属砷、镉和铅对树突状细胞的差异化功能损伤[J/OL].环境化学:1-10[2024-04-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1844.x.20231012.0940.004.html>.
- [24] 沈乃营,鲁峰刚,张毅,等.胃癌组织中 Foxp3~+ Tregs 和 pDCs 与胃微生物群失调的关系[J].解剖学研究, 2021, 43: 503-507+513.
- [25] 陈锦锋,马瑜婷.砷剂调控肿瘤细胞命运的机制及激活抗肿瘤免疫的潜力[J].中国肿瘤临床, 2021, 48: 1113-1119.