doi:10.16118/j.1008-0392.2019.04.021

·综 述·

TDG 介导的去甲基化在细胞发育分化及肿瘤发生中的研究进展

郁霞青,宋影春 综述,李 丹 审校

(同济大学附属第十人民医院核医学科,上海 200072)

【摘要】DNA 甲基化是一种重要的表观遗传修饰,可对生命发生发展阶段中的基因表达进行调控。近来研究发现,胸腺嘧啶 DNA 糖苷酶(thymine DNA glycosylase, TDG)是能特异修复 G:T 错配的酶,在 DNA 去甲基化过程中起到重要作用。TDG 与 TET、AID、Gadd45a 等蛋白协同,通过碱基切除修复(base excision repair, BER)作用参与 DNA 去甲基化过程。此外,TDG 介导的 BER 作用能去除甲基化中间产物的 5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)及其衍生物的积累、消除 5-甲基胞嘧啶(5-methylcyosine, 5mC)自发脱氨基导致的突变,保持基因组的遗传稳定性。TDG 的表达下降或酶的失活会引起基因组稳定性降低,增加肿瘤发生的风险。TDG 介导的 DNA 去甲基化修饰调节影响胚胎发育、细胞分化与衰老的过程,其对癌症的发生也有着不可忽视的作用。

【关键词】胸腺嘧啶 DNA 糖苷酶;DNA 去甲基化;胚胎发育;细胞分化;衰老;癌症

【中图分类号】R394.3 【文献标志码】A 【文章编号】1008-0392(2019)04-0516-07

Research progress of TDG-mediated demethylation in cell development, cell differentiation and tumorigenesis

YU Xia-qing, SONG Ying-chun, LI Dan

(Dept. of Nuclear Medicine, Tenth People's Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200072, China)

【**Abstract**】DNA methylation is an important epigenetic modification that regulates gene expression during the development of life. Thymidine DNA glycosylase (TDG) is an enzyme for specifically repairing G:T mismatch found in recent years, which plays an important role in DNA demethylation. Cooperated with proteins such as TET, AID and Gadd45a, TDG participates in DNA demethylation by base excision repair (BER). In addition, TDG-mediated BER can remove the accumulation of methylated intermediates 5-hydroxymethylcytosine (5hmC) and its derivatives, and eliminate mutations caused by spontaneous deamination of 5-methylcytosine (5mC), thereby maintaining the genetic stability of the genome. Deregulation of TDG will cause genomic instability, leading to tumorigenesis. This TDG-mediated regulation of DNA methylation profoundly affects the process of embryonic development, cell differentiation and aging, and it also plays an important role in the occurrence of cancer.

【**Key words**】thymine DNA glycosylase; DNA demethylation; embryo development; cell differentiation; aging; cancer

收稿日期:2018-10-14

基金项目:国家自然科学基金(81501505)

作者简介:郁霞青(1993—),女,博士研究生.E-mail:yuxiaqing93@163.com

通信作者:李 丹.E-mail:plumredlinda@163.com

DNA 甲基化与去甲基化的平衡在个体的整个生长发育过程中起到重要的调节作用，并且受到严密的调控。胸腺嘧啶 DNA 糖苷酶（thymine DNA glycosylase，TDG）是近几年研究发现的一个调节 DNA 甲基化的酶，属于尿嘧啶 DNA 糖苷酶（uracil-DNA glycosylase）超级家族，在调控 DNA 甲基化动态平衡中，特别是 DNA 主动去甲基化中，发挥了重要作用。本文对 TDG 调控 DNA 去甲基化的机制及其在生命发生发展与疾病发生中的作用进行综述，为进一步了解 TDG 在生理和病理过程中的作用提供理论依据。

1　TDG 在 DNA 甲基化修饰调节中发挥多方面的作用

1.1　DNA 的甲基化修饰

DNA 甲基化是最早被发现的 DNA 表观遗传修饰途径之一[1]。在胚胎发育、配子发生和体细胞组织分化等过程中，建立和维持正确的 DNA 甲基化模式是必不可少的[2]。在本综述中，对于 DNA 甲基化修饰特指胞嘧啶被修饰成 5 -甲基胞嘧啶（5-methylcyosine，5mC）。

1.2　TDG 介导的 DNA 去甲基化

TDG 参与的 DNA 去甲基化修饰包含两种类型：DNA 被动去甲基化和 DNA 主动去甲基化。

1.2.1　*TDG 与 DNA 被动去甲基化*　DNA 的甲基化的发生和传递依赖 DNA 甲基转移酶（DNA methylation transferase，DNMT）驱动，如果 DNMT 的活性受到抑制，会阻碍新的甲基化修饰发生。TDG 通过靶向锚定 DNMT，抑制 DNMT 对 DNA 产生新的甲基化修饰[2-3]，已携带修饰基团的 DNA 被不断地“稀释”，总体的 DNA 的甲基化率则会随着复制的进行而不断减低，这被称为 TDG 介导的 DNA 被动去甲基化。

1.2.2　*TDG 与 DNA 主动去甲基化*　DNA 被动去甲基化只能阻断新的甲基化事件的发生，若是需要通过不依赖 DNA 复制的方式将已被修饰的 DNA 甲基化基团完全去除，则需要通过 DNA 主动去甲基化过程实现。TDG 介导的 DNA 主动去甲基化的机制主要是对 5mC 氧化或脱氨基后产生的异常碱基进行碱基切除修复（base excision repair，BER），最终达到将 5mC：G 修复成未经修饰的 C：G 的目的[4]。将 5mC 进行氧化或脱氨基需要其他蛋白协助，包括 DNA 羟甲基化酶 10 - 11 转位（ten-eleven translocation，TET）蛋白家族、活化诱导胞苷脱氨酶（activation-induced cytidine deaminase，AID）和载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽（apolipoprotein-B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide，APOBEC）蛋白家族、生长阻滞和 DNA 损伤诱导蛋白 45（growth arrest and DNA damage-inducible protein 45，Gadd45）、DNMT 等。

TET 蛋白家族是最主要的与 TDG 协同作用参与 DNA 主动去甲基化的蛋白，该蛋白家族中的 TET1、TET2 和 TET3 均可对 5mC 进行氧化，将其逐步变成 5 -羟甲基胞嘧啶（5-hydroxymethylcytosine，5hmC）、5 -醛基胞嘧啶（5-formylcytosine，5fC）和 5 -羧基胞嘧啶（5-carboxylcytosine，5caC）[5]。研究表明，TET1 和 TDG 在物理上相互结合，能够有效地进行 DNA 去甲基化修饰[6]。5hmC 是 DNA 主动去甲基化的重要中间产物，在哺乳动物细胞中有广泛累积[7]。5fC 是 5hmC 的氧化产物，TDG 对 5fC 显示出较高的亲和力[8]。5caC 是 5fC 进一步的氧化产物，TDG 通过不同的机制切除 5fC 和 5caC，并恢复未修饰的 G：C 配对[9]。

另一种主动去甲基化的方式是 5mC 脱氨基后的切除修复。5mC 可直接被 AID/APOBEC 脱氨基至胸腺嘧啶[10]，或者也可在被氧化成 5hmC 后被 AID/APOBEC 脱氨基至 5 -羟甲基尿嘧啶（5hmU）[11]，随后 TDG 通过 BER 过程进行修复。有研究证明 AID、Gadd45a、TDG 互相结合成一个复合体共同发挥作用[4]。Gadd45a 与 Gadd45b 均是 Gadd45 蛋白家族的成员，在胚胎干细胞中具有相似的表达水平。Gadd45a（或 Gadd45b）可以通过促进 TDG 介导的 DNA 主动去甲基化修饰，消除 5fC 和 5caC 的积累[12]。此外，有研究显示，从头甲基化的过程也是一个可逆的过程，在缺失甲基供体 S -腺苷基甲硫氨酸的情况下，DNMT3a 和 DNMT3b 亦能将 5mC 脱氨基成胸腺嘧啶[13]，从而实现去甲基化。其中，DNMT3a 的 PWWP 结构域和催化结构域能与 TDG 相互作用，对 TDG 的糖基化酶活性进行正向调节[3]。

1.3　TDG 与 DNA 的稳定性维持

甲基基团在胞嘧啶中的写入和擦除为甲基化修饰建立调节机制提供了可能性，但是这种分子模式

也有缺点。5mC可自发脱氨基而产生胸腺嘧啶,导致T:G错配,若不能及时修复,则会在后续复制中导致该位点产生C→T的突变,降低基因组的稳定性。另外,有学者综述了AID带来的体细胞自发突变与DNA修复之间的平衡关系,胞嘧啶可在AID的作用下脱氨基生成尿嘧啶,跨尿嘧啶的DNA复制可导致C→T或G→A的突变[14],而由5mC羟基化生成的5hmC亦可造成这种跨尿嘧啶复制产生的突变。碱基错配情况的存在使高保真的DNA的自身修复显得尤为重要。尿嘧啶DNA糖苷酶家族是可对DNA中的错配碱基对进行特异性识别修复的一组酶[15]。TDG作为该家族中的重要成员,可通过BER作用修复异常T:G碱基错配[3-4],亦可将5hmU切除修复为胞嘧啶[11,14]。TDG在消除这种由5mC自发脱氨带来的基因组不稳定问题上发挥了重要的作用。

此外研究发现,当DNA双链中胸腺嘧啶与受损的腺嘌呤残基配对时,TDG可对受损碱基对序列发动异常修复,切除位于受损链对侧的正常链中的胸腺嘧啶,启动异常碱基修复[16]。通过对人单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)数据库的生物信息学分析,与全基因组突变谱相比,CpG岛的自发突变谱显示出对TpG→CpG与CpA→CpG突变的强烈突变偏向,TDG催化的BER被认为可能参与维持体内启动子CpG岛中的CG含量,维持CpG岛的完整性[16]。TDG维持启动子区域CpG岛的完整性这一功能,为甲基化修饰调控基因的表达提供了稳定的序列背景。

2　TDG调控的DNA去甲基化修饰在胚胎发育、细胞分化及衰老中的意义

2.1　TDG与胚胎发育

哺乳动物的生殖细胞在大体上具有相似的甲基化模式——配子高甲基化、合子的甲基化修饰被大部分擦除后再重建——生殖细胞从配子形成到受精发育成胚胎的过程中会经历多次必须的去甲基化修饰[1,17]。人类原始生殖细胞的甲基化水平在妊娠后10~11周降至最低点,随后进入重新甲基化过程[18]。去甲基化在胚胎发育过程中的普遍存在提示着其在生命发生中扮演了重要角色。

TDG作为DNA去甲基化的一个关键因子,对于胚胎发育是必不可少的。一项原位杂交实验检测到在小鼠早期胚胎中TDG高度表达于神经系统、胸腺、肺、肝、肾和肠等组织;在晚期小鼠胚胎中TDG高度表达于胸腺、脑、鼻上皮、肠、皮肤、肾、牙齿和骨骼的增殖区域(在肺和肝中较早期胚胎下降);出生后TDG在大多数组织中均表达下降(除了睾丸)[19]。在两项TDG基因敲除小鼠的研究中,TDG缺失的纯合子小鼠胚胎在发育早期(大约第11.5天)即死亡,且死亡的胚胎表现出内出血及器官发育障碍等异常表型[2,4]。在TDG缺失的死亡胚胎中,胚胎发育和发生相关的基因在缺少TDG的情况下出现严重表达下调(如HOXD13、SFRP2、HOXA10、TWIST2、RARB[2],以及RAR、RXR、p300[4]等),可在这些基因的启动子CpG岛检测出高甲基化状态[2]。在胚胎发育过程中,TDG与常染色体紧密结合,保护调控发育基因的启动子CpG岛免受高甲基化修饰,阻止了胚源性疾病的发生。

2.2　TDG与细胞分化

哺乳动物细胞的DNA甲基化模式的擦除重建与细胞重编码后多能性的建立与稳定息息相关[20]。TDG通过介导DNA的主动去甲基化,使基因组发生重编码,重新激活细胞多能性[20-22]。在Hu等[20]的研究中,TDG与TET协同介导DNA去甲基化过程,使得小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryo fibroblasts, MEFs)的基因重新编码,失分化形成多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)。而TDG缺陷的MEFs会造成间充质向上皮转换的过程被阻断,导致重编码失败。同时去甲基化过程所依赖的microRNA(miRNA)也会因此出现缺失(包括miRNA-200a、miRNA-200b、miRNA-200c、miRNA-141及miRNA-429),这在某种程度上进一步阻碍了MEFs向iPSCs转化的过程[20]。这证明了TDG在诱导细胞产生多能性的过程中必不可少。

此外,TDG在参与体细胞的生长分化过程中发挥着重要作用。在一项研究中,体外细胞系实验证实TDG可受miRNA-26a的靶向调节,抑制TDG的表达。随后证实了TDG在小鼠出生后胰岛的分化过程中表达下调,且伴随miRNA-26a的上调。通过建立miRNA-26过表达的小鼠,研究者发现miRNA-26a的过表达增加了体内胰腺细胞的数量以及在体外培养时的内分泌细胞与腺泡细胞的比例[21]。这

说明了 TDG 可受 miRNA 的调控，对体内的细胞的分化增殖产生影响。另有研究显示，miR-29b 与 TDG 存在靶向关系[23]，而 miR-29b 可以下调 DNA 去甲基化酶 TET 蛋白的表达，并显著促进间充质干细胞向成骨细胞的分化[24]，但是 TDG 在此过程中的作用有待深入研究。此外，TDG 可能参与 Gadd45b 调控的神经系统的生长发育。研究显示，Gadd45b 缺失的小鼠在神经祖细胞增殖、成年海马体中新生神经元的树突生长中表现出特异性缺陷[22]。可见 TDG 介导的 DNA 去甲基化在建立组织特异性表达的细胞生长分化过程中具有重要作用。

2.3　TDG 与衰老

过去的研究表明，人类基因组甲基化模式的变化与生命周期中随着时间进行的老化有关，这种现象通常被定义为“表观遗传漂移”[25]。DNA 去甲基化和超甲基化的共同发生构成了哺乳动物衰老过程中 DNA 甲基化的变化模式[26]。衰老过程中出现广泛的基因组中 CpG 甲基化修饰的减少。这种去甲基化事件往往发生在整个基因组的重复序列中，因此形成了在全基因组中普遍存在的局面[27]。而除了广泛的全基因组低甲基化外，衰老还涉及显著的 DNA 甲基化的增加，提示着在衰老情况下存在特定基因的表达沉默[26]。

近年来的研究表明，TDG 在哺乳动物衰老状况下表现出局部表达下降的趋势。在欧洲的“MARK-AGE”项目中的一项研究中，衰老群体外周血单核细胞中的 TDG、TET1、TET3 表达降低，伴随 5hmC 减少和 5caC 积累[28]。其中，TDG 的下调或者 TDG 活性的损伤则是 5caC 积存的原因[29]。另有研究显示，老年小鼠主动脉 miRNA-29a 的水平与 TDG 负相关[30]，miRNA-29a 可以抑制 TDG 的表达[30-31]，这提示了衰老状况下机体可能通过 miRNA 调节 TDG 的表达而影响甲基化模式。此外，在老化的卵母细胞中，所有 DNA 去甲基化的标志物发生动态调节。TDG 在自然老化的卵母细胞中表达受到抑制，并伴随 TET3 的增高。在加速老化的状态下，TET3 和 TDG 亦产生同样的变化[32]。因此，TDG 的表达降低，以及相关甲基化标志物的动态改变，这些都有可能导致机体在衰老状态下的甲基化模式改变，并很有可能促进衰老状态下疾病的发生。

3　TDG 介导的 DNA 去甲基化与肿瘤发生

TDG 与癌症的发生发展具有密切的关系。在许多恶性肿瘤疾病或其疾病模型中可观察到 TDG 的异常表达，包括食管癌[33]、结直肠癌[34-35]、胰腺癌[36]、多发性骨髓瘤[37]、非黑色素瘤皮肤癌[38]等。其中涉及到的 TDG 作用机制包括：杂合错义突变造成酶的功能失活[34-35,38]，TDG 的表达抑制受到癌基因 Ras 的调控[36]，TDG 自身高甲基化导致的基因沉默[37]等。

3.1　去甲基化通路失衡引发基因突变

TDG 表达失调，在极大程度上会影响 DNA 去甲基化通路中各个酶之间的平衡作用，对基因组的稳定性及基因表达调控产生负面影响。TDG 的缺失或表达下调，会导致去甲基化中间产物的毒性累积、5mC 自发脱氨后的突变损伤延续，造成体细胞的 G：C→A：T 突变，增加对外界损伤因素的敏感性；而 TDG 对同时存在的去甲基化中间产物和 T：G 错配的修复效率差异，亦可能在 TDG 酶失调时造成修复遗漏，影响体细胞基因组的自我修复过程，从而导致肿瘤的形成。

3.1.1　去甲基化中间产物的毒性累积　TDG 介导的 DNA 主动去甲基化涉及到多种蛋白，一旦参与其中的各种酶之间没有保持高度协调，则会导致通路中的上下联系无法达到一个相对平衡的状态。在一项细胞实验中，TDG 的敲除会导致 TET2 参与的 DNA 主动去甲基化产生的中间产物（包含羟基化产物：5hmC、5fC、5caC）的累积。这些中间产物的累积会诱导哺乳动物细胞基因组的突变，促使 G：C→A：T 的转变[39]。因此，TDG 的正常表达对于控制 TET2 的活性表达结果十分重要。在 TDG 缺少的情况下，去甲基化作用失衡造成的具有基因组毒性的中间产物的累积，将引起体细胞发生突变，降低基因组的稳定性。

3.1.2　自发脱氨后的突变损伤　相比于胞嘧啶自发脱氨基产生尿嘧啶，5mC 更容易自发脱氨基产生胸腺嘧啶，产生 T：G 错配。并且，上文中提及到 AID 的脱氨基作用可使胞嘧啶脱氨基为尿嘧啶，5hmC 亦可脱氨基为 5hmU，通过跨尿嘧啶复制而引起突变的发生[14]。因而甲基化状态下的 DNA 若是缺乏 DNA 修复酶的保护，十分容易发生内源性突

变,导致基因组的不稳定。因此甲基化状态下的碱基错配修复酶的缺失可能加剧基因组的不稳定性。在1例存在TDG杂合错义突变的直肠癌病例中,研究者发现了肿瘤细胞DNA中大量C:G→T:A的突变,而在肿瘤中突变基因的CpG位点大体上在正常结肠黏膜中被甲基化修饰[34]。可推测这些位点的突变可能是由5mC脱氨基化为胸腺嘧啶引起的。TDG的杂合错义突变造成TDG蛋白表达失调,以致G:T错配碱基修复失败,产生大量的C:G→T:A突变的累积与延续。该病例可为TDG错义突变引起5mC自发突变的挽救失败而导致肿瘤的发生提供体内证据。

3.1.3　TDG的修复遗漏　TDG作为尿嘧啶DNA糖苷酶超级家族的成员之一,具备高效的碱基切除修复能力。但是当存在多种影响基因组稳定性的威胁时,其对不同修复对象的修复效率差异会使修复过程存在一定的局限性。有研究显示,当去甲基化中间产物5caC和T:G错配分别存在时,TDG会以高于5caC的效率处理T:G错配。但是,当两者同时存在于邻近的相对位点时,TDG更倾向于修复5caC,两种作用的前后发生可以避免DNA双链断裂(DNA double-strand break, DSB)[6]。但与此同时也有潜在的隐患,5caC的优先修复可能造成T:G错配修复的遗漏,最终导致C:G→T:A突变的固定和延续。这种隐患在TDG功能失调的情况下会恶化,导致基因组的不稳定。

3.2　TDG失调导致肿瘤易感性增加

TDG参与的去甲基化通路失衡会增加基因突变的风险。而基因突变会使细胞对各种损伤因素的敏感性增加,基因的不稳定性可以诱发肿瘤形成。多项研究证明,TDG的基因表达水平下降或TDG蛋白活性下降可能会增加癌症发生的风险。

3.2.1　TDG的表达沉默与肿瘤　TDG不仅参与去甲基化过程,其本身亦受到表观遗传修饰调控。有学者在多发性骨髓瘤细胞系中检测到TDG的表达下调与其启动子区域的高甲基化程度相关[37]。TDG表达水平与细胞在受到过氧化氢损伤时显示出的修复活力具有显著相关性;外源性的TDG表达可以在功能上补偿受损的DNA修复活动。由此看来,高甲基化造成的TDG沉默可能增加细胞对外界损伤因素的敏感性,但是还需更多的研究证明高甲基化引起的TDG下调对肿瘤发生的影响。此外,有研究发现TDG在胰腺癌中表达下降[36]。并且该研究通过体外实验证实癌基因Ras通过抑制转录激活因子生长蛋白抑制剂4(inhibitor of growth protein 4)与TDG的启动子的相互作用,从而下调TDG的表达。综上,不同机制导致的TDG的表达沉默可能增加癌症发生的风险。

3.2.2　TDG的错义突变与肿瘤　TDG的SNP与肿瘤易感性相关。有体外研究表明,表达TDG的G199S变异(SNP:rs4135113)的细胞中会发生无碱基位点的持续积累,从而引发DSB。这将降低基因组的稳定性,诱导细胞的转化[40]。该研究证明了TDG的错义突变增加了基因组对损伤因素的敏感性,进而发生更为严重的DSB结局,造成细胞命运向癌变的方向发展。

此外,临床病例研究为TDG错义突变与肿瘤易感性提供了更多证据。在一项基于人群的DNA修复基因变异的研究中发现,TDG的两种SNP与非黑色素瘤皮肤癌患者再患其他恶性肿瘤的风险之间具有显著相关性:一种是导致TDG的V367M变异的非同义编码的SNP(rs2888805),另一种是与rs2888805高度连锁不平衡的SNP(rs4135150)[38]。其中,造成V367M变异的SNP(rs2888805)在一项94例家族性直肠癌的研究中存在10%以上的突变[35]。此外,在直肠癌中还发现了氨基酸的R66G变异、非同义编码氨基酸D284Y变异等[34-35]。另外,尽管不是错义突变,TDG的SNP(rs4135054)被报道与食管鳞状上皮细胞癌显著相关[33]。这些基于肿瘤病例的研究进一步说明了TDG错义突变增加了基因组的不稳定性及肿瘤发生的风险。

4　展　　望

TDG通过参与被动与主动去甲基化过程,在建立和维持合理的基因组甲基化模式中发挥了重要作用。在整个生命发生发展的过程中,TDG在各个阶段肩负不同的使命:在胚胎发育过程中保护了发育相关基因的正常表达,避免了胚源性疾病的发生;调控基因组的重编码、激活细胞的多能性,诱导胚胎成纤维细胞失分化为多能干细胞;参与机体在衰老状况下的基因组甲基化模式调整,调控衰老过程中特定基因的表达与沉默。

此外，TDG 的碱基切除修复作用维持着基因组的稳定性，消除了外源性或内源性因素对基因组的损伤，避免基因突变及 DNA 双链断裂。当 TDG 表达下降或活性降低时，去甲基化途径中产生的多种损伤因素会影响基因组的稳定性：（1）影响去甲基化通路中各个酶的协调运作，造成去甲基化中间产物的毒性累积；（2）高甲基化位点中 5mC 的自发脱氨基引发 DNA 突变的累积和延续；（3）TDG 对去甲基化中间产物的优先修复造成邻近的其他错配修复遗漏。这些影响基因组稳定性的因素可能与癌症的发生具有密切联系。

目前关于 TDG 与癌症的研究资料为 TDG 功能失活而增加肿瘤易感性的风险积累了证据，但是还未能总结出公认的 TDG 介导的去甲基化作用与癌症之间的关联机制。本综述提出可能的关联机制是：TDG 参与的去甲基化通路失调所产生的上述 3 种损伤因素，将引起基因突变，降低基因组的稳定性，从而增加了肿瘤生成的风险。研究 TDG 介导的去甲基化与肿瘤生成之间的关联机制，将有助于我们理解表观遗传分子在肿瘤中的相互作用关系，为优化肿瘤的早期诊断指标、开发高效精准的表观遗传调控药物、准确评估肿瘤的预后提供新的策略。

【参考文献】

[1] SCHAEFER C B, OOI S K, BESTOR T H, et al. Epigenetic decisions in mammalian germ cells[J]. Science, 2007,316(5823): 398－399.

[2] CORTÁZAR D, KUNZ C, SELFRIDGE J, et al. Embryonic lethal phenotype reveals a function of TDG in maintaining epigenetic stability[J]. Nature, 2011,470(7334): 419－423.

[3] LI Y Q, ZHOU P Z, ZHENG X D, et al. Association of Dnmt3a and thymine DNA glycosylase links DNA methylation with base-excision repair[J]. Nucleic Acids Res, 2007,35(2): 390－400.

[4] CORTELLINO S, XU J F, SANNAI M, et al. Thymine DNA glycosylase is essential for active DNA demethylation by linked deamination-base excision repair[J]. Cell, 2011,146(1): 67－79.

[5] TAHILIANI M, KOH K P, 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.

[6] WEBER A R, KRAWCZYK C, ROBERTSON A B, et al. Biochemical reconstitution of TET1-TDG-BER-dependent active DNA demethylation reveals a highly coordinated mechanism[J]. Nat Commun, 2016,7: 10806.

[7] SONG C X, SZULWACH K E, FU Y, et al. Selective chemical labeling reveals the genome-wide distribution of 5-hydroxymethylcytosine[J]. Nat Biotechnol, 2011,29(1): 68－72.

[8] HASHIMOTO H, ZHANG X, CHENG X D. Selective excision of 5-carboxylcytosine by a thymine DNA glycosylase mutant[J]. J MolBiol, 2013,425(6): 971－976.

[9] MÜLLER U, BAUER C, SIEGL M, et al. TET-mediated oxidation of methylcytosine causes TDG or NEIL glycosylase dependent gene reactivation[J]. Nucleic Acids Res, 2014,42(13): 8592－8604.

[10] MORGAN H D, DEAN W, COKER H A, et al. Activation-induced cytidine deaminasedeaminates 5-methylcytosine in DNA and is expressed in pluripotent tissues: implications for epigenetic reprogramming[J]. J Biol Chem, 2004,279(50): 52353－52360.

[11] GUO J U, SU Y J, ZHONG C, et al. Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain[J]. Cell, 2011,145(3): 423－434.

[12] LI Z, GU T P, WEBER A R, et al. Gadd45a promotes DNA demethylation through TDG[J]. Nucleic Acids Res, 2015,43(8): 3986－3997.

[13] VAN DER WIJST M G, VENKITESWARAN M, CHEN H, et al. Local chromatin microenvironment determines DNMT activity: from DNA methyltransferase to DNA demethylase or DNA dehydroxymethylase[J]. Epigenetics, 2015,10(8): 671－676.

[14] LIU M, SCHATZ D G. Balancing AID and DNA repair during somatic hypermutation[J]. Trends Immunol, 2009,30(4): 173－181.

[15] SJOLUND A B, SENEJANI A G, SWEASY J B. MBD4 and TDG: multifaceted DNA glycosylases with ever expanding biological roles[J]. Mutat Res, 2013,743-744: 12－25.

[16] TALHAOUI I, COUVE S, GROS L, et al. Aberrant repair initiated by mismatch-specific thymine-DNA glycosylases provides a mechanism for the mutational bias observed in CpG Islands[J]. Nucleic Acids Res, 2014,42(10): 6300－6313.

[17] SMITH Z D, CHAN M M, HUMM K C, et al. DNA methylation dynamics of the human preimplantation embryo[J]. Nature, 2014,511(7511): 611－615.

[18] GUO F, YAN L Y, GUO H S, et al. The transcriptome and DNA methylome landscapes of human primordial germ cells[J]. Cell, 2015,161(6): 1437-1452.

[19] NIEDERREITHER K, HARBERS M, CHAMBON P, et al. Expression of T: G mismatch-specific thymidine-DNA glycosylase and DNA methyl transferase genes during development and tumorigenesis[J]. Oncogene, 1998,17(12): 1577-1585.

[20] HU X, ZHANG L, MAO S Q, et al. Tet and TDG mediate DNA demethylation essential for mesenchymal-to-epithelial transition in somatic cell reprogramming [J]. Cell Stem Cell, 2014,14(4): 512-522.

[21] FU X H, JIN L, WANG X C, et al. MicroRNA-26a targets ten eleven translocation enzymes and is regulated during pancreatic cell differentiation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013,110(44): 17892-17897.

[22] MA D K, JANG M H, GUO J U, et al. Neuronal activity-induced Gadd45b promotes epigenetic DNA demethylation and adult neurogenesis[J]. Science, 2009, 323(5917): 1074-1077.

[23] YANG Y W, PAN QQ, SUN B X, et al. MiR-29b targets LPL and TDG genes and regulates apoptosis and triglyceride production in MECs[J]. DNA Cell Biol, 2016,35(12): 758-765.

[24] 秦兵莲,沈君颜,陈嘉瑜,等.miR-29b 调节 TET 蛋白对脂肪来源的间充质干细胞成骨分化的影响[J].同济大学学报(医学版),2017,38(5): 7-12.

[25] TESCHENDORFF A E, WEST J, BECK S. Age-associated epigenetic drift: implications, and a case of epigenetic thrift? [J]. Hum Mol Genet, 2013,22(R1): R7-R15.

[26] ZAMPIERI M, CICCARONE F, CALABRESE R, et al. Reconfiguration of DNA methylation in aging[J]. Mech Ageing Dev, 2015,151: 60-70.

[27] BOLLATI V, SCHWARTZ J, WRIGHT R, et al. Decline in genomic DNA methylation through aging in a cohort of elderly subjects[J]. Mech Ageing Dev, 2009,130(4): 234-239.

[28] VALENTINI E, ZAMPIERI M, MALAVOLTA M, et al. Analysis of the machinery and intermediates of the 5hmC-mediated DNA demethylation pathway in aging on samples from the MARK-AGE Study[J]. Aging (Albany NY), 2016,8(9): 1896-1922.

[29] SHEN L, WU H, DIEP D, et al. Genome-wide analysis reveals TET-and TDG-dependent 5-methylcytosine oxidation dynamics[J]. Cell, 2013,153(3): 692-706.

[30] ZHANG P, HUANG B H, XU X R, et al. Ten-eleven translocation (Tet) and thymine DNA glycosylase (TDG), components of the demethylation pathway, are direct targets of miRNA-29a[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013,437(3): 368-373.

[31] MORITA S, HORII T, KIMURA M, et al. MiR-29 represses the activities of DNA methyltransferases and DNA demethylases[J]. Int J Mol Sci, 2013,14(7): 14647-14658.

[32] QIAN Y, TU J J, TANG N L S, et al. Dynamic changes of DNA epigenetic Marks in mouse oocytes during natural and accelerated aging[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2015,67: 121-127.

[33] LI W Q, HU N, HYLAND P L, et al. Genetic variants in DNA repair pathway genes and risk of esophageal squamous cell carcinoma and gastric adenocarcinoma in a Chinese population[J]. Carcinogenesis, 2013, 34(7): 1536-1542.

[34] VASOVCAK P, KREPELOVA A, MENIGATTI M, et al. Unique mutational profile associated with a loss of TDG expression in the rectal cancer of a patient with a constitutional PMS2 deficiency[J]. DNA Repair (Amst), 2012,11(7): 616-623.

[35] BRODERICK P, BAGRATUNI T, VIJAYAKRISHNAN J, et al. Evaluation of NTHL1, NEIL1, NEIL2, MPG, TDG, UNG and SMUG1 genes in familial colorectal cancer predisposition[J]. BMC Cancer, 2006,6: 243.

[36] SUN J, SHEN Q, LU H Q, et al. Oncogenic Ras suppresses ING4-TDG-Fas axis to promote apoptosis resistance[J]. Oncotarget, 2015,6(39): 41997-42007.

[37] PENG B, HURT E M, HODGE D R, et al. DNA hypermethylation and partial gene silencing of human thymine-DNA glycosylase in multiple myeloma cell lines [J]. Epigenetics, 2006,1(3): 138-145.

[38] RUCZINSKI I, JORGENSEN T J, SHUGART YY, et al. A population-based study of DNA repair gene variants in relation to non-melanoma skin cancer as a marker of a cancer-prone phenotype[J]. Carcinogenesis, 2012,33(9): 1692-1698.

[39] MAHFOUDHI E, TALHAOUI I, CABAGNOLS X, et al. TET2-mediated 5-hydroxymethylcytosine induces genetic instability and mutagenesis[J]. DNA Repair (Amst), 2016,43: 78-88.

[40] SJOLUND A, NEMEC A A, PAQUET N, et al. A germline polymorphism of thymine DNA glycosylase induces genomic instability and cellular transformation [J]. PLoS Genet, 2014,10(11): e1004753.