基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001041

DNMT1在不同年龄组人群角质形成细胞中的表达及意义

刘朝东，桂万里，张恒术
（重庆医科大学附属第一医院整形外科，重庆 400016）

【摘 要】**目的**：检测不同年龄组非曝光部位表皮组织的角质形成细胞中 DNA 甲基化转移酶 1（DNA methyltransferase 1，DNMT1）蛋白和 mRNA 的表达水平，初步探讨 DNMT1 在人表皮年龄衰老过程中的意义。**方法**：收集 40 例手术患者非曝光部位的表皮标本，根据年龄分为 4 组：儿童组（0~14 岁）、青年组（15~39 岁）、中年组（40~59 岁）和老年组（60 岁及以上），用免疫组织化学、RT-PCR 及 Western blot 检测每例表皮组织中 DNMT1 蛋白和 DNMT1 mRNA 表达量，分析不同年龄组之间 DNMT1 表达水平的差异。**结果**：DNMT1 主要表达于各组人表皮角质形成细胞的细胞核内，角质形成细胞 DNMT1 蛋白及 mRNA 表达依次在儿童组、青年组、中年组和老年组中呈下降趋势。儿童组、青年组、中年组和老年组角质形成细胞 DNMT1 阳性表达率分别为 84.7%、69.4%、51.1%、12.3%，表达率得分分别为：23.10 分、19.30 分、14.40 分和 3.80 分，采用 LSD 检验法对 4 组间进行两两比较，表明角质形成细胞 DNMT1 阳性表达率随年龄的增长呈递减趋势（均 $P<0.05$）。DNMT1 mRNA 相对表达量为 1.347、0.817、0.567 和 0.202，DNMT1 蛋白的相对表达量为 1.102、0.494、0.320 和 0.088，统计学分析 DNMT1 随着年龄的增长表达量降低（两两对比，均 $P<0.05$）。**结论**：随着年龄的增长，DNMT1 的表达水平下降，推测人表皮衰老可能与 DNMT1 的表达下调有一定的关联。

【关键词】DNMT1；表皮衰老；角质形成细胞；甲基化
【中图分类号】R622.9 【文献标志码】A 【收稿日期】2015-01-06

作者介绍：刘朝东，Email：aaliuchaodong@126.com，
研究方向：伤口愈合和瘢痕。
通信作者：张恒术，Email：1390527030@qq.com。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20161027.1054.026.html
（2016-10-27）

号值也逐渐降低，当含铁浓度为 50 mg/L 时，T2×WI 值明显降低。分析前述的检测结果，说明磁性抗体含铁浓度为 50 mg/L 是转染结肠癌干细胞的最佳浓度。

查阅文献发现，尽管有关含铁标记物转染细胞的最佳浓度，各家报道的数值均不尽相同，但范围均为 25~50 mg/L[7-9]，推测可能与标记物的粒径大小、修饰材料以及所转染细胞不同有关。本研究结果证实磁性抗体含铁浓度为 50 mg/L 时，可以有效转染结肠癌干细胞，并能被 MR 扫描所显示，也与文献报道的结果有较好的一致性。在后续研究中，课题组还将对不同时间点的细胞转染率、生物学活性以及在活体荷瘤动物体内展开一系列的深入研究。

参 考 文 献

[1] Cherciu I，Bărbălan A，Pirici D，et al. Stem cells，colorectal cancer and cancer stem cell markers correlations[J]. Curr Health Sci J，2014，40(3)：153-161.

[2] Ntziachristos V，Razansky D. Optical and opto-acoustic imaging[J]. Recent Results Cancer Res，2013，187(1)：133-150.

[3] Iovino F，Meraviglia S，Spina M，et al. Immunotherapy targeting colon cancer stem cells[J]. Immunotherapy，2011，3(1)：97-106.

[4] 李妹玲，文 明. 肿瘤干细胞的 MR 可视化研究进展[J]. 国际医学放射学杂志，2014，37(6)：568-571.

[5] Bánky B，Rásó-Barnett L，Barbai T，et al. Characteristics of CD44 alternative splice pattern in the course of human colorectal adenocarcinoma progression[J]. Mol Cancer，2012，11：83.

[6] Chen KL，Pan F，Jiang H，et al. Highly enriched CD133(+)CD44(+) stem like cells with CD133(+)CD44(high) metastatic subset in HCT116 colon cancer cells[J]. Clin Exp Metastasis，2011，28(8)：751-763.

[7] Xia T，Jiang H，Li C，et al. Molecular imaging in tracking tumor stem like cells[J]. J Biomed Biotechnol，2012，2012：420364.

[8] Chaleawlert-Umpon S，Mayen V，Manotham K，et al. Preparation of iron oxide-entrapped chitosan nanoparticles for stem cell labeling[J]. J Biomater Sci Polym Ed，2010，21(11)：1515-1532.

[9] Kaittanis C，Shaffer TM，Thorek DL，et al. Dawn of advanced molecular medicine：nanotechnological advancements in cancer imaging and therapy[J]. Crit Rev Oncog，2014，19(3-4)：143-176.

（责任编辑：冉明会）

Expression and significance of DNMT1 in keratinocytes of sun-unexposed area in different age groups

Liu Chaodong, Gui Wanli, Zhang Hengshu

(*Department of Plastic Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To detect DNMT1 protein and mRNA expression levels in epidermis keratinocytes of sun-unexposed area in different age groups and to explore the significance of DNMT1 in the process of human skin aging. ***Methods***: Forty cases of sun-unexposed area specimens of the epidermis were obtained and were divided into 4 groups according to age: children group (0 to14 years old), youth group (15 to 39 years old), middle-age group (40 to 59 years old) and elderly group (aged 60 and above). Immunohistochemistry and RT-PCR methods were used to detect the DNMT1 protein and mRNA expression level in each case and the differences of the DNMT1 expression level between each age group were analyzed. ***Results***: DNMT1 mainly expressed in the keratinocytes nuclei; the expression level of DNMT1 in keratinocytes was on the decline from children, youth, middle-aged to elderly group. DNMT1 positive expression rates in epidermis keratinocytes of children group, youth group, middle-age group and elderly group were 84.7%, 69.4%, 51.1%, 12.3% respectively and 23.10, 19.30, 14.40, 3.80 scores (P value of every two groups<0.05). The relative expression levels of DNMT1 mRNA were 1.347, 0.817, 0.567 and 0.202. The relative expression levels of DNMT1 protein were 1.102, 0.494, 0.320 and 0.088, and the expression levels of DNMT1 was decreased as aging (P value of every two groups<0.05). ***Conclusion***: DNMT1 expression level drops as the growth of the age, and human skin aging may have certain relevance with down-regulated expression of DNMT1.

【Key words】DNMT1; skin aging; keratinocytes; methylate

衰老是一种复杂的生理过程，不仅受内源性遗传因素（如遗传基因、自由基、机体代谢等）的调控[1-2]，同时也受外源性因素（如紫外线、外伤、感染、空气污染、吸烟等）的影响。皮肤衰老是机体衰老最直接、明显的反映，极大地影响人们的美容意识及心理。因此，人们越来越重视皮肤美容、皮肤衰老的研究。

目前，对于人体器官衰老与甲基化的研究比较热门[3-5]，而对于皮肤衰老与甲基化的研究尚未见明显报道。1988 年，Bestor 等[6]认为 DNMT1 是从真核生物中克隆出来的第一个 DNA 甲基转移酶，主要维持 DNA 复制后的甲基化状态，将甲基化传代下去[7]。目前，已有研究发现 DNMT1 在胚胎发育和肿瘤发生中起着重要作用[8-10]。DNMT1 在细胞衰老的过程中也发挥重要作用。研究表明，DNMT1 在衰老的人胚肺成纤维细胞中表达显著下降[11]；最新研究表明，DNMT1 的沉默导致人皮肤角质形成细胞中 p16INK4A 这一衰老相关基因表达上升[12]。在老年人或传代衰老的皮肤成纤维细胞中，DNMT1 的表达量均较相应年轻细胞低。

目前研究表明，成纤维细胞的衰老存在 DNMT1 的动态变化。那么，角质形成细胞的衰老是否也与甲基化有关呢？鉴于此，本实验研究了各年龄段皮肤表皮角质形成细胞 DNMT1 蛋白及 mRNA 的表达水平及差异，初步探究 DNMT1 的表达与表皮衰老的关联性，为皮肤衰老及皮肤年轻化研究寻找新的思路和突破口。

1 材料与方法

1.1 研究对象

2014 年 10 月至 2015 年 3 月，收集 40 例非曝光部位表皮组织标本，分别来自重庆医科大学附属第一医院烧伤整形美容科和泌尿外科、重庆医科大学附属儿童医院烧伤整形科和泌尿外科。标本分为 4 组，即儿童组[0~14 岁，平均年龄（7.8 ± 1.8）岁]、青年组[14~39 岁，平均年龄（24.5 ± 2.0）岁]、中年组[40~59 岁，平均年龄（50.2 ± 1.9）岁]和老年组[60 岁及以上，平均年龄（65.4 ± 2.3）岁]，每组 10 例标本。标本选择部位为：2 例上肢，3 例腹部，14 例包皮，9 例腹股沟，12 例大腿；标本大小为 0.5 cm × 0.6 cm 至 2.0 cm × 9.5 cm。所有表皮组织标本取材部位均未患皮肤疾病。收集标本前，经重庆医科大学附属第一医院及附属儿童医院伦理委员会批准，所有患者均签署了知情同意书。

1.2 主要材料与仪器

DNMTl 兔单克隆一抗（美国 Abcam 公司），DNMTl 兔单克隆二抗、DAB 显色剂（武汉博士德公司），总 RNA 提取试剂 Trizol、反转录试剂盒及 SYBR GREEN[Takara 宝生物工程（大连）有限公司]，RT-PCR 仪（AB 公司），高速离心机（美国 Sigma），显微镜分光光度计（THERMO）。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学 将全层皮肤标本以 10%多聚甲醛固定、石蜡包埋，制备免疫组化石蜡切片。免疫组化采用两步法

检测，按试剂盒说明书操作。实验结果依据角质形成细胞阳性细胞数及染色强弱评分，即先按阳性细胞比例将 0%、~25%、~50%、~75%、~100%分别计为 0、1、2、3、4 分；再按染色强度将无、弱、中、强分别计为 0、1、2、3 分，综合两部分得分即为总分。每张切片分别由 2 名资深病理医师采用半定量系统评价，所有结果均在双盲法下进行判定。

1.3.2 RT-PCR 标本收集后，生理盐水快速清洗离体后的皮肤，分离表皮和真皮，立即将表皮组织液氮保存，Trizol 提取标本总 RNA，测 RNA 浓度及纯度后取等量 500 ng RNA模板加样反转录试剂盒反转录 mRNA 为 cDNA，总反应体积为 20 μL，42 ℃ 60 min 反转录后，70 ℃ 10 min 灭活反转录酶，-20 ℃保存或立即进行 qRT-PCR 检测。通过 $2^{-\Delta\Delta G}$ 法计算基因的相对表达量。DNMT1 及 GAPDH 引物序列采用 Primer 5 在线软件设计，并由南京金斯瑞公司合成，详见表1。

表 1 DNMT1 及 GAPDH 引物序列及长度

Tab.1 The primer sequence and length of DNMT1 and GAPDH

引物名称	引物序列(5'-3')	产物长度
DNMT1-F	AGAACGGTGCTCATGCTTACA	81 bp
DNMT1-R	CTCTACGGGCTTCACTTCTTG	
GAPDH-F	CGACCACTTTGTCAAGCTCA	232 bp
GAPDH-F	AGGGGTCTACATGGCAACTG	

1.3.3 Western blot 将标本清洗处理，PBS 洗 2 min × 3 次，将皮肤剪为 5 mm × 5 mm 皮片，加入 4 倍体积的 0.125% DispaseII，37 ℃孵育消化 1 h，将表皮分离。表皮分离后，去离子水冲洗 2 min × 3 次，剪成肉糜状，12 000 g，4 ℃离心 45 min，取上清，用 Bradford 法检测蛋白浓度，-80 ℃冻存备用。每孔上样 250 μL 蛋白溶液进行等电聚焦双向垂直电泳。当溴酚蓝接近凝胶底线时终止电泳，将凝胶用固定液固定过夜，经水洗及敏化等处理后显色至蛋白清晰，然后用 GS800 系统扫描图像，分析蛋白表达量。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理和分析。计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，计数资料用构成比表示。计量资料采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-t 法。检验水准 α=0.05。

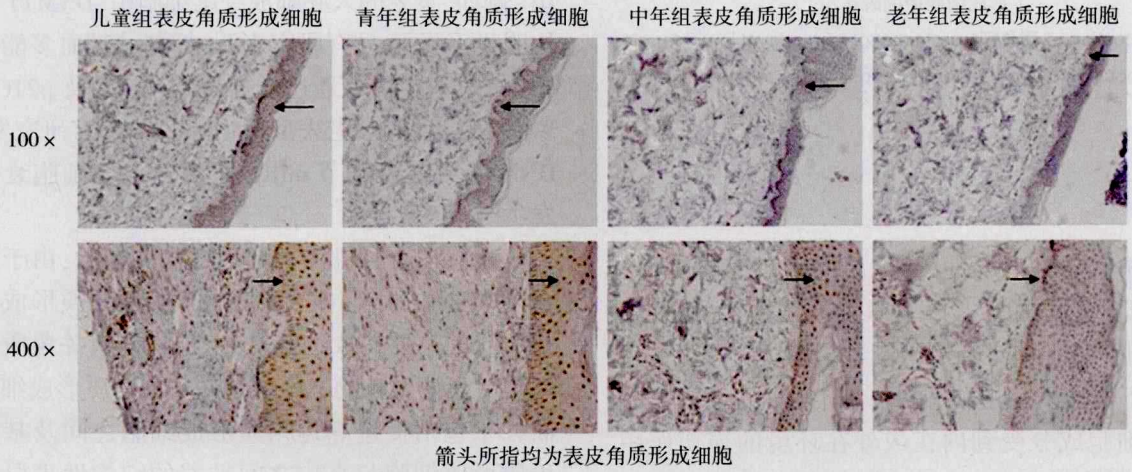
2 结 果

2.1 DNMTl 蛋白在各年龄组正常表皮角质形成细胞中的表达

DNMTl 蛋白主要表达在角质形成细胞的细胞核内，儿童组、青年组、中年组、老年组角质形成细胞 DNMTl 阳性表达率分别为 84.7%、69.4%、51.1%和 12.3%，阳性表达率得分分别为(23.100 ± 1.460)分、(19.300 ± 2.280)分、(14.400 ± 2.900)分、(3.800 ± 1.470)分，组间比较差异有统计学意义(P<0.05)(图 1)。各组 DNMTl 阳性表达率得分总体方差分析结果差异有统计学意义(F=155.415，P=0.000)。采用 LSD 检验行组间比较，结果显示各组间 DNMT1 表达水平均存在差异（均 P<0.05)，说明角质形成细胞 DNMT1 阳性表达率得分随年龄的增长呈递减趋势。

2.2 定量 DNMTl mRNA 在各年龄组正常表皮角质形成细胞中的表达

DNMT1 基因扩增曲线和溶解曲线表明扩增产物具有特异性。DNMT1 经内参 GAPDH 标准化，计算在不同年龄组表皮角质形成细胞中的相对表达量。各组 DNMTl mRNA 相对表达量总体方差分析结果差异有统计学意义(F=313.57，P=0.000)。DNMT1 mRNA 在儿童组、青年组、中年组、老年组的相对表达量分别为(1.347 ± 0.169)、(0.817 ± 0.064)、(0.567 ± 0.091)、(0.202 ± 0.037)，各组间两两比较差异均有统计学意义(P<0.05)。在儿童组和青年组的相对表达量分别为(1.347 ± 0.169)和(0.817 ± 0.0644)，均明显高于中年组的相对表达量(0.567 ± 0.091)(P=0.018；P=0.038)和老年组的相对表达量(0.202 ± 0.037)(P=0.049；P=0.048)；DNMT1 mRNA 在儿童组的相对表达量高于青年组(P=0.022)。结果表明，DNMT1 mRNA 在各年龄组正常表皮角质形成细胞中的表达中，儿童组>青年组>中年组>老年组。



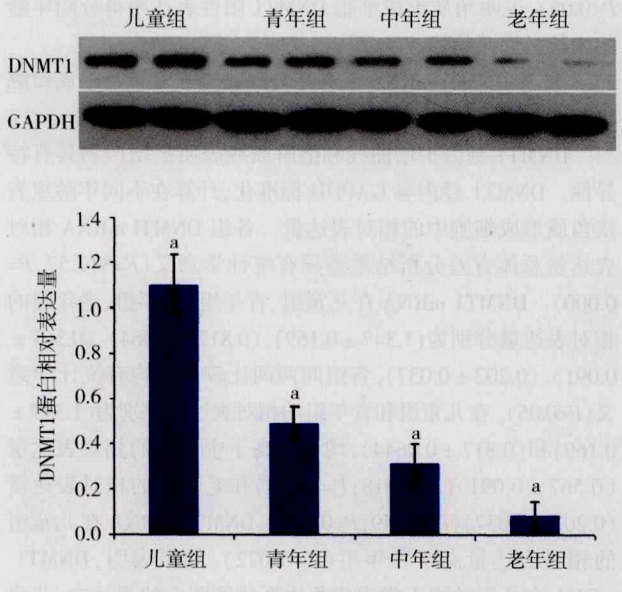
箭头所指均为表皮角质形成细胞

图 1 免疫组化染色检测 DNMTl 蛋白在各年龄组表皮角质形成细胞中的表达

Fig.1 DNMT1 protein expression level in epidermis keratinocytes of different age groups

2.3 半定量检测 DNMT1 蛋白在各年龄组正常表皮角质形成细胞中的表达

Western blot 检测显示（图 2），以 GAPDH 为内参，各组 DNMT1 蛋白相对表达量总体方差分析结果差异有统计学意义（F=178.99，P=0.000）。DNMT1 蛋白在儿童组、青年组、中年组、老年组的相对表达量分别为（1.102 ± 0.201）、（0.494 ± 0.102）、（0.320 ± 0.089）、（0.088 ± 0.012），各组间两两比较差异均有统计学意义（P<0.05）。在儿童组和青年组的相对表达量分别为（1.102 ± 0.201）和（0.494 ± 0.102），均明显高于中年组的相对表达量（0.320 ± 0.089）（P=0.014；P=0.023）和老年组的相对表达量（0.088 ± 0.012）（P=0.009；P=0.028）；DNMT1 蛋白相对表达量在儿童组的相对表达量高于青年组（P=0.008）。统计学结果显示随着年龄增长 DNMT1 蛋白在表皮角质形成细胞中的表达呈递减趋势。



a：与 GAPDH 蛋白表达量相比，P=0.000

图 2 Western blot 检测 DNMT1 蛋白在不同年龄组表皮角质形成细胞中的表达

Fig.2 Detection of DNMT1 protein expression level in epidermis keratinocytes of different age groups with by western blot

3 讨 论

皮肤衰老是内源性因素（自然生理衰老）和外源性因素共同作用的结果。皮肤表象的衰老反映在细胞水平即为细胞衰老。细胞衰老是指机体在正常环境条件下功能发生退化、逐渐趋向死亡的现象[13-14]，是各种细胞成分受到内在或外在环境的损伤作用后，因缺乏完善修复，使“差错”积累而导致的[15-16]。衰老既受遗传学调控如一些衰老相关特定基因的调控，也受表观遗传学调控。表观遗传是指 DNA 序列不发生变化但基因表达却发生了可遗传的改变，他虽不涉及核苷酸序列的改变，但可以通过有丝分裂和减数分裂进行遗传。表观遗传学主要包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重组、非编码 RNA 调控等[17]。

甲基化是表观遗传学的一个重要分支，DNA 甲基化与细胞的增殖、衰老、癌变等生命现象有着重大关系。DNA 的甲基化修饰是真核细胞基因表达调控的特点之一。通过这种甲基化机制和组蛋白修饰、染色质重组等共同作用，细胞可以不改变 DNA 的碱基序列而调控不同基因在不同细胞和组织中的表达。甲基化干扰基因表达的机制可能有两种：①CpG 甲基化本身使得转录因子不能有效结合到启动子上；②甲基化的 CpG 可被特异性蛋白因子如甲基化 DNA 结合蛋白（MBP）识别和结合，后者再招募其他蛋白因子结合到启动子上，由此导致基因转录沉默[18]。维持 DNA 甲基化的甲基转移酶（DNA methyltransferase，DNMT）是甲基化谱建立和维持非常重要的酶。目前已报道的 DNMT 家族成员有 DNMT1、DNMT2、DNMT3A、DNMT3B 和 DNMT3L。DNMT1 的功能主要是维持甲基化，确保每个细胞的 DNA 甲基化模式正常复制[19]，对催化 DNA 甲基化的 DNA 甲基转移酶的研究可以揭示 DNA 甲基化对基因表达调控的机制，从而研究与之相关的重要生命活动，如衰老及癌症。

目前已发现 DNMT1 在胚胎发育和肿瘤发生时肿瘤抑制基因的异常沉默中起重要作用。已有研究表明，DNMT1 在细胞衰老过程中也发挥了重要作用。例如，衰老的人胚肺成纤维细胞中，DNMT1 的表达明显下降[20]；另有研究表明，抑制脐带血多能干细胞中的 DNMT1 可通过增加 p16INK4A 及 p21C1P1/WAF 表达促进衰老表型发生[21]；近来又有研究发现，DNMT1 可通过调节 miRNAs 表达参与细胞衰老的发生[22]。

人们在研究机体衰老和皮肤衰老时，由于皮肤衰老的基础和本质是细胞的衰老，而角质形成细胞是皮肤的主要构成细胞之一，但目前有关角质形成细胞对衰老影响的文献报道较少。角质形成细胞表面分子包括促进邻近角质形成细胞之间及基底层角质形成细胞与真皮之间粘着的结构性蛋白和糖蛋白，在表皮生长、分化和增生方面发挥作用的调

节蛋白以及激发皮肤炎症和免疫反应的分子物质。目前大量研究表明，角质形成细胞表面分子在介导细胞与细胞间、细胞与细胞外基质间粘附，激发皮肤炎症及免疫反应，促进创伤愈合等方面发挥重要作用[22]。本课题以 DNA 甲基转移酶为切入点，着重从甲基化角度研究表皮角质形成细胞在皮肤衰老方面的机制，以期为探明衰老的发生和诸多皮肤病的成因提供新的思路和理论依据。

本研究发现，随着年龄增长，DNMT1 蛋白及 mRNA 的表达均呈递减趋势。根据实验结果推测 DNMT1 的表达与角质形成细胞的衰老过程有相关性，而皮肤衰老中起关键作用的正是角质形成细胞。因此，本研究结果进一步说明 DNMT1 的表达与人表皮年龄衰老过程相关。调控表皮细胞衰老的基因错综复杂，相关基因目前尚不完全清楚，DNMT1 调控角质形成细胞衰老的机制主要包括氧化应激学说、代谢失调学说、基因调控学说等[23]。已有研究证实，DNMT1 可调控 p53 通路、pI3K 通路以及 ERK/MAPK 通路等来调节细胞衰老[24]，具体机制目前不是很明确，可能是通过调节某些衰老相关基因的启动子区域甲基化状态从而调控衰老。

参 考 文 献

[1] Walker CL. Epigenomic reprogramming of the developing reproductive tract and disease susceptibility in adulthood[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol,2011,91(8):666-671.

[2] Zinovkina LA,Zinovkin RA. DNA methylation,mitochondria,and programmed aging[J]. Biochemistry(Mosc),2015,80(12):1571-1577.

[3] Sun R,Liu J,Wang B,et al. Deoxyribonucleic acid(DNA) methyltransferase contributes to p16 promoter CpG island methylation in lung adenocarcinoma with smoking[J]. Int J Clin Exp Med,2015,8(9):15773-15779.

[4] Lu ZM,Zhou J,Wang X,et al. Nucleosomes correlate with in vivo progression pattern of de novo methylation of p16 CpG islands in human gastric carcinogenesis[J]. PLoS One,2012,7(4):e35928.

[5] Fisher GJ. The pathophysiology of photoaging of the skin[J]. Cutis,2005,75(2 S):5-8.

[6] Bestor T,Laudano A,Mattaliano R,et al. Cloning and sequencing of a cDNA encoding DNA methyltransferase of mouse cells:the carboxyl-terminal domain of the mammalian enzymes is related to bacterial restriction methyltransferases[J]. J Mol Biol,1988,203(4):971-983.

[7] Jeltsch A. On the enzymatic properties of Dnmt1:specificity,processivity,mechanism of linear diffusion and allosteric regulation of the enzyme[J]. Epigenetics,2006,1(2):63-66.

[8] Li E,Bestor TH,Jaenisch R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality[J]. Cell,1992,69(6):915-926.

[9] Fan H,Zhao ZJ,Cheng J,et al. Overexpression of DNA methyltransferase 1 and its biological significance in primary hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol,2009,15(16):2020-2026.

[10] Ecke I,Petry F,Rosenberger A,et al. Antitumor effects of a combined 5-aza-2'deoxycytidine and valproic acid treatment on rhabdomyosarcoma and medulloblastoma in Ptch mutant mice[J]. Cancer Res,2009,69(3):887-895.

[11] Zhang W,Ji W,Yang J,et al. Comparison of global DNA methylation profiles in replicative versus premature senescence[J]. Life Sci,2008,83(13-14):475-480.

[12] Sen GL,Reuter JA,Webster DE,et al. DNMT1 maintains progenitor function in self-renewing somatic tissue[J]. Nature,2010,463(7280):563-567.

[13] Kozlowski M,Ladurner AG,et al. ATM,MacroH2A.1,and SASP:the checks and balances of cellular senescence[J]. Mol Cell,2015,59(5):713-715.

[14] Rai TS,Adams PD. Lessons from senescence:chromatin maintenance in non-proliferating cells[J]. Biochim Biophys Acta,2013,1819(3-4):322-331.

[15] Corpet A,Stucki M. Chromatin maintenance and dynamics insenescence:a spotlight on SAHF formation and the epigenome of senescent cells[J]. Chromosoma,2014,123(5):423-436.

[16] Duarte LF,Young AR,Wang Z,et al. Histone H3.3 and its proteolytically processed form drive a cellular senescence programme[J]. Nat Commun,2014,5:5210.

[17] Goldberg AD,Allis CD,Bernstein E. Epigenetics:a landscape takes shape[J]. Cell,2007,128(4):635-638.

[18] Razin A,Riggs AD. DNA methylation and gene function[J]. Science,1980,210(4470):604-610.

[19] Luco RF,Allo M,Schor IE,et al. Epigenetics in alternative pre-mRNA splicing[J]. Cell,2011,144(1):16-26.

[20] Zaratiegui M,Irvine DV,Martienssen RA. Noncoding RNAs and gene silencing[J]. Cell,2007,128(4):763-776.

[21] Vendetti FP,Rudin CM. Epigenetic therapy in non-small-cell lung cancer:targeting DNA methyltransferases and histone deacetylases[J]. Expert Opin Biol Ther,2013,13(9):1273-1285.

[22] Xu Z,Taylor JA. Genome-wide age-related DNA methylation changes in blood and other tissues relate to histone modification,expression and cancer[J]. Carcinogenesis,2014,35(2):356-364.

[23] van Otterdijk SD,Mathers JC,Strathdee G. Do age-related changes in DNA methylation play a role in the development of age-diseases?[J]. Biochem Soc Trans,2013,41(3):803-807.

[24] Schellenberg A,Lin Q,Schiiler H,et al. Replicative senescence of mesenchymal cells causes DNA-methylation changes which correlate with repressive histone marks[J]. Aging(Albany NY),2011,3(9):873-888.

（责任编辑：冉明会）