



文路副研究员与合作者解析外周血游离DNA组织来源

最新

2019/06/27 信息来源: 生命科学学院
编辑: 凌薇 | 责编: 山石

北京大学生物医学前沿创新中心 (BIOPIC)、北京未来基因诊断高精尖创新中心文路副研究员与首都医科大学世纪坛医院肝胆外科彭吉润教授合作, 利用团队之前开发的甲基化CpG短串联扩增与测序技术 (MCTA-Seq), 探究正常人、肝病患者与急性胰腺炎患者外周血游离DNA的组织来源。研究成果以“[Comprehensive DNA methylation analysis of tissue-of-origin of plasma cell-free DNA by methylated CpG tandem amplification and sequencing \(MCTA-Seq\)](#)” 为题在线发表于6月25日的《临床表观遗传学》(Clinical Epigenetics)。

近年来, 外周血游离DNA因其在无创产前DNA检测与肿瘤液体活检的临床应用而受到广泛关注。正常人外周血中也有一定浓度的游离DNA, 主要来源于白细胞, 但有多大比例来自其他组织器官尚不完全清楚。在多种疾病状态下, 游离DNA浓度会显著增高, 是否来自于受损组织或者另有其它来源, 也是一个尚未解决的问题。DNA甲基化是DNA的主要表观遗传修饰。由于不同组织器官具有截然不同的DNA甲基化修饰模式, 它非常适合于鉴别游离DNA的组织来源。在之前的研究中, 课题组研发了一种分析外周血游离DNA甲基化组的新技术MCTA-Seq, 在本项研究中, 合作团队将该技术应用于探究外周血游离DNA在生理与病理状态下的组织来源问题。

研究者首先采用MCTA-Seq技术比较了14名正常人的血浆游离DNA与白细胞基因组DNA, 发现有77个甲基化位点在血浆游离DNA中被特异检测到。通过比较八种人体主要组织器官(肝、肺、胃、肠、肾、胰腺、皮肤和肌肉)的MCTA-Seq结果, 他们发现, 这77个血浆vs白细胞的差异甲基化位点主要是肝脏特异性甲基化位点(图1)。作为一种互补的方法, 他们鉴定了146个组织特异性甲基化标记物, 比较血浆与白细胞, 发现仅肝脏特异性甲基化标记物在血浆中显著增高。这些结果提示, 正常人外周血游离DNA, 除了白细胞作为主要来源外, 肝脏是另一个重要来源。为了定量计算组织来源DNA所占比例, 研究者建立了一种粒子群最优化算法。结果表明, 正常人血浆游离DNA中肝脏来源比例为1.3%左右(图2)。

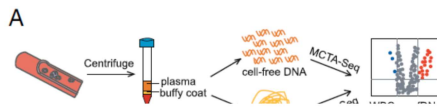


图1.MCTA-Seq鉴定血浆游离DNA/细胞差异性甲基化位点

- 07 2019.12 北大7人入选2019
- 07 2019.12 【主题教育】物理开展主题教育专题
- 07 2019.12 法学院开展“12·4”
- 06 2019.12 【主题教育】财财牢记使命”专题
- 06 2019.12 北大勇夺首都高校军

专题



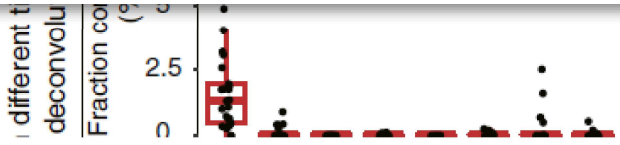


图2.正常人外周血游离DNA的组织来源

随后，研究者采用MCTA-Seq结合粒子群最优化算法对13例胆结石患者、17例肝硬化患者、30例肝癌患者和8例急性胰腺炎患者进行了分析。结果表明，胆囊结石患者的游离DNA浓度及组成与正常人接近，而肝内胆管结石患者的肝脏DNA释放显著增加，可高达30%。肝硬化患者、肝癌患者和急性胰腺炎患者的游离DNA浓度均显著高于正常人，这与已有文献报道一致。急性胰腺炎患者外周血中升高的游离DNA过去普遍被认为可能来自受损的胰腺组织。然而，研究者通过MCTA-Seq组织来源定量分析意外地发现，白细胞才是急性胰腺炎患者外周血中游离DNA升高的主要来源（图3）。另外，肝硬化患者外周血中升高的游离DNA也主要来源于白细胞，肝硬化患者的游离DNA升高则是肝脏细胞与白细胞共同过度释放的结果（图4）。

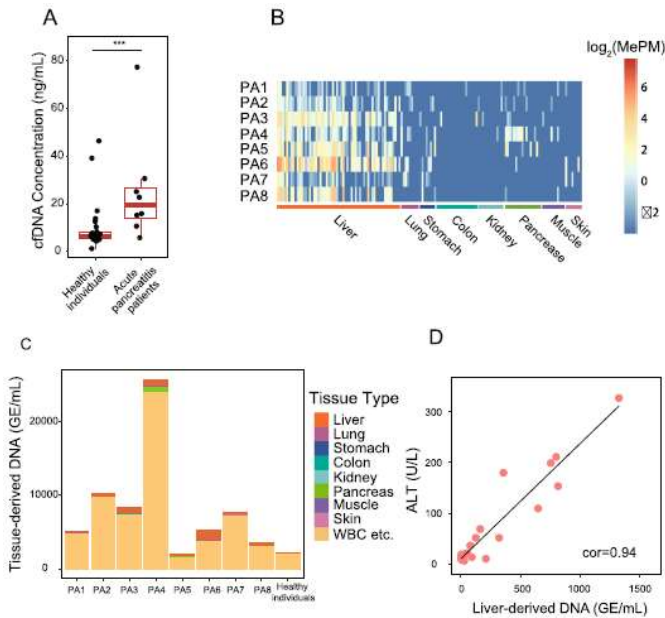


图3.急性胰腺炎患者外周血游离DNA的组织来源

A

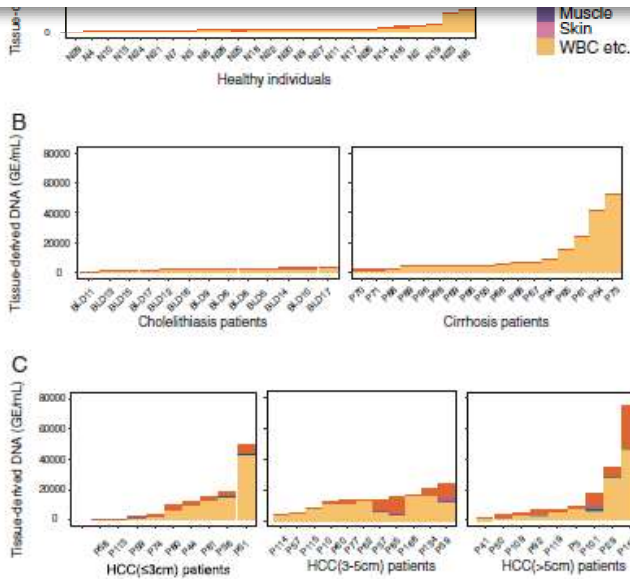


图4.肝脏疾病患者外周血游离DNA的组织来源

正常人外周血游离DNA部分来自肝脏，提示肝脏细胞存在生理性凋亡和自我更新；肝内胆管结石患者与肝癌患者外周血中有大量肝脏DNA释放，提示肝脏细胞在这些病理状态下发生显著死亡；急性胰腺炎患者升高的游离DNA主要来自白细胞，可能与免疫系统的急性炎症激活有关；肝硬化患者升高的游离DNA主要来自白细胞，则可能是脾功能亢进破坏血细胞的结果。

最后，研究者发现了一类新颖的适用于游离DNA检测的组织特异性甲基化CpG岛。这类CpG岛位于组织特异性高表达基因内部，具有很强的组织特异性超甲基化模式（图5）。

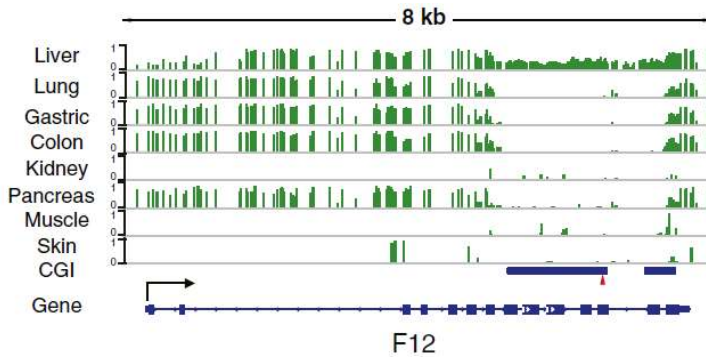


图5.位于基因内部的肝细胞特异性超甲基化CpG岛。F12为凝血因子XII基因，在肝细胞中特异性高表达。绿线显示甲基化程度，红色箭头为MCTA-Seq所检测的CGCGCGG

本研究开发了组织来源定量分析新算法，揭示了外周血游离DNA在生理与病理状态的复杂组织来源，鉴定了新的组织特异性甲基化标记物，拓展了MCTA-Seq应用于疾病检测的前景。

北京大学生物医学前沿创新中心、北京未来基因诊断高精尖创新中心、生命科学学院博士生刘晓萌、任杰，北京首都医科大学世纪坛医院肝胆外科博士生罗楠为该论文并列第一作者。彭吉润为该论文的共同通讯作者。该项目得到了国家自然科学基金面上项目、北京未来基因诊断高精尖创新中心的基金支持。

转载本网文章请注明出处

