

砷暴露所致 DNA 甲基化改变的研究进展

张正¹ 王学梅¹ 郭秀琴¹ 郭小娟^{1,2*}

1.内蒙古医科大学 公共卫生学院

2.温州医科大学 环境与公共卫生学院

摘要：无机砷诱导产生肿瘤的机制被广泛研究。越来越多的证据显示它的致癌性是与表观遗传、尤其是 DNA 甲基化的改变相关。本文就砷甲基化的代谢过程和产物、砷暴露对 DNA 甲基化的作用以及砷诱导癌标记基因的研究进展做一论述。

关键词：砷暴露；DNA 甲基化；致癌性

Research Progress in DNA Methylation of Arsenic Exposure

Abstract

Arsenic is a nonmutagenic carcinogen and its carcinogenic mechanisms still maintain unknown. Recent studies have reported that the arsenic carcinogenic mechanisms might be associated with epigenetic changes, especially DNA methylation. This dissertation summarizes the advancement of arsenic metabolism, DNA methylation, as well as the mechanism of arsenic-induced cancers and marker gene.

Keywords: Arsenic exposure; DNA methylation; Carcinogenicity

作者简介：张正，内蒙古医科大学，硕士研究生；*通讯作者：郭小娟，博士，温州医科大学教授，研究生导师，gxj@wzmc.edu.cn

基金：国家自然科学基金（项目批准号：81260413），

浙江省科技厅社会公益项目，（项目批准号：2013C33169），

砷作为一种环境污染物与许多疾病有关，包括心脑血管疾病，癌症，皮肤损伤，以及呼吸系统，肝脏，免疫系统的损伤^[1-5]。我国的地方性砷中毒主要分为饮水型砷中毒和燃煤型砷中毒；饮水型砷中毒主要分布于山西、内蒙古、新疆、宁夏、吉林、四川、安徽、青海、黑龙江、河南、山东等省（区），其中以山西、内蒙古病情最重。燃煤型砷中毒主要分布在贵州、陕西，其中以贵州最为严重。而在国外主要集中在美利坚，加拿大，阿根廷，智利，匈牙利，捷克，澳大利亚和印度等地区。尽管砷对健康危害的相关问题倍受世界的关注，但目前砷中毒的致病机制仍不明确，亦无早期诊断指标。近年来，表观遗传学机制在砷中毒以及砷致癌机制研究中倍受关注^[6]，其涉及的研究内容有 DNA 甲基化，组蛋白修饰，染色体重塑，遗传印记，RNA 调控，X 染色体失活等。目前研究最为广泛的是 DNA 甲基化。

砷在环境和生物体内均有甲基化代谢的转换过程，机体内的甲基化过程可能会导致 DNA 甲基化模式的改变^[7]，如基因组 DNA 的低甲基化和肿瘤相关基因启动子区的高甲基化^[8,9]。Andrew Feinberg 等^[10]总结前人的研究发现 DNA 甲基化模式改变与许多癌症有关；DNA 甲基化/脱甲基化可能会过度调控生物学过程，包括转录、分化、发育及 DNA 修饰与重组。Mass 等^[11]研究发现亚砷酸钠或砷酸钠的暴露剂量与人肺腺癌 A549 细胞 p53 启动子区 341 个碱基对的高甲基化存在显著的剂量关系，证实砷干扰 DNA 甲基化。随后有其他研究者发现^[12]暴露于不同剂量砷的人群的外周血白细胞 DNA 的 p53 及 p16 基因启动子区 DNA 高甲基化，一些高剂量砷暴露人群也出现了 p53 基因低甲基化。另外的研究报道，O6-甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转（MGMT）基因启动子区高甲基化抑制了燃煤型砷中毒患者皮肤组织中 MGMT 蛋白的表达，提示相关基因的异常甲基化与其基因表达改变密切相关^[13]。目前普遍认为的砷的体内代谢机制表明，无机砷是经甲基化作用转化为二甲基砷酸排出体外，但同时在这个过程中消耗了 S-腺苷-L-甲硫氨酸（SAM）和谷胱甘肽，其过程如图 1 所示^[14]。五价砷还原为三价砷是在多种酶包括嘌呤核苷酸磷酸化酶，甘油醛-3-磷酸脱氢酶，鸟氨酸氨甲酰转移酶的参与下的一种非特异性反应^[15,16]。这些酶通过将砷酸盐转化为砷酸酯，砷酸酐等代谢产物来促进砷酸盐还原，这些产物在谷胱甘肽参与下比无机砷更易还原为亚砷酸盐。除了这一特定的酶通路，还原性谷胱甘肽（GSH）在辅助砷酸盐还原的过程中也有损耗。一经还原后，亚砷酸甲基转移酶催化亚砷酸再次甲基化，这样就衍生了两个连续的化学反应。即以 SAM 为甲基供体甲基化三价砷以及将三价砷氧化为五价砷的反应。亚砷酸甲基转移酶可以用不同的还原剂将三价砷

甲基化，这些酶包括二硫苏糖醇，谷氧还蛋白，硫氧还蛋白，而后一种对三价砷的甲基化最为有效^[17]。随着氧化甲基化的进行，单甲基砷酸优先通过另一甲基供体还原，据报道这一还原过程由谷胱甘肽-S-转移酶与亚砷酸甲基转移酶介导^[18]。在人体，约有 10%-20%的砷以单甲基砷酸的形式排出体外，另有 60-80%的砷以二甲基砷酸的形式排出^[19]。因此，无机砷以每分子多倍等价的 GSH 和 SAM 进行甲基化。

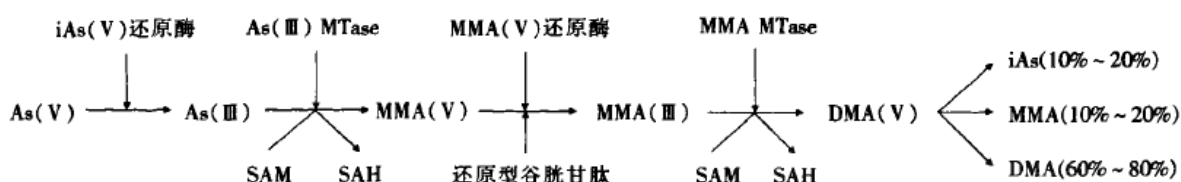


图 1 砷在人体内的代谢过程

1 砷暴露与 DNA 低甲基化

肖骞等^[20]研究发现在砷中毒人群中 p53 基因第 5 外显子“CCGG”序列的第二个 C 的甲基化程度要低于对照组，同时发现在砷中毒不同病情组，随着病情加重甲基化率有降低的趋势，且不同病情组甲基化程度都明显低于对照组。由于外显子有编码蛋白质的功能，当 p53 基因第五外显子发生异常低甲基化，会导致 DNA 结构稳定性遭到破坏，可能对慢性砷中毒的发生、发展中起到一定的作用。目前有关砷所致的 DNA 低甲基化改变，主要有以下两种假说：

1.1 甲基转移酶竞争 SAM

SAM 本来是用做正常细胞包括 DNA 甲基化的甲基供体，其反应过程如图 3。却被亚砷酸甲基转移酶用于砷甲基化的甲基供体，导致了 SAM 的消耗和 S-腺苷-L-同型半胱氨酸（SAH）的积聚^[7,21]。因此，过度的砷代谢所致的 SAM 消耗可能会使 DNA 甲基转移酶以及推测有其他细胞的甲基转移酶包括珠蛋白甲基转移酶的活性强加了辅因子的限制。而且 SAH 的大量积累可反馈性的负面调控 SAM 依赖的甲基转移酶的活性，进一步导致 DNA 甲基转移酶活性受到抑制^[4,7,21]。众所周知，砷主要在肝脏代谢，因此，由三价砷甲基转移酶（AS3 MT）调控的砷代谢所致的 DNA 甲基转移酶活性抑制主要局限于肝脏及其他 AS3 MT 表达的细胞。基于这种原因，砷在合成半胱氨酸的反应中所起的

效应在多种细胞中起着重要的作用。

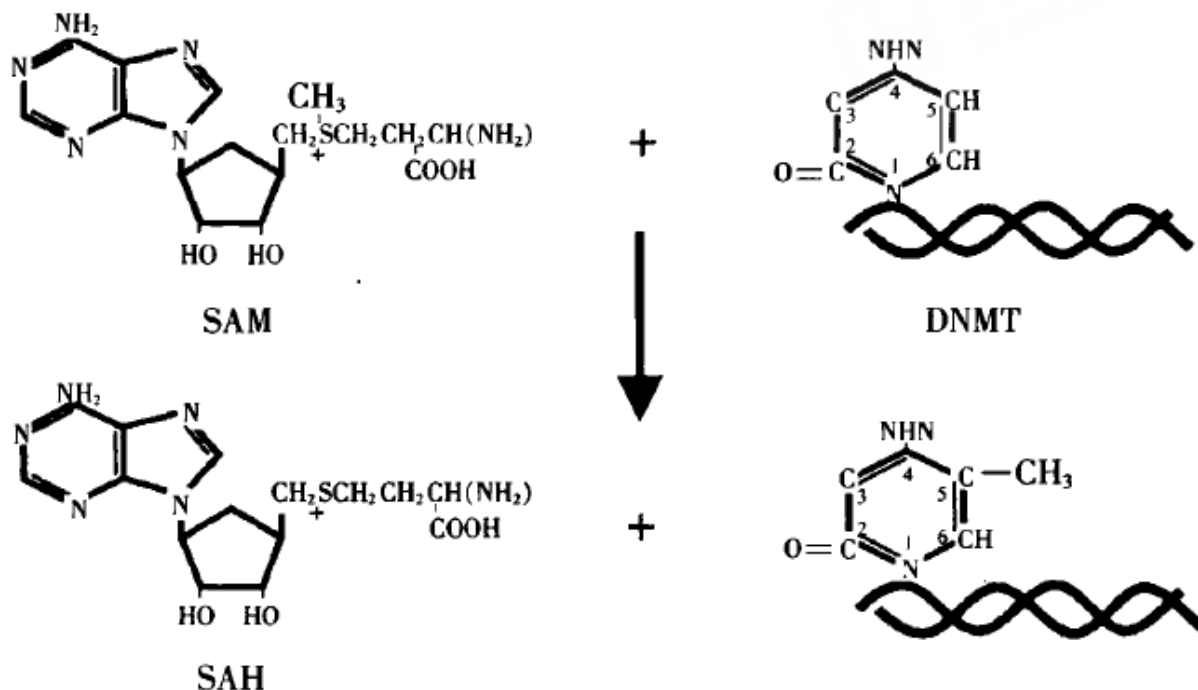


图 2 DNA 甲基化反应

1.2 氧化应激与转硫作用破坏半胱氨酸循环

目前研究表明砷诱导的活性氧可以作为第二信使，通过影响细胞信号通路，基因表达和转录因子等来促进细胞恶变以及肿瘤的发生与发展^[22]。同型半胱氨酸（HCY）是谷胱甘肽生物合成所需的半胱氨酸的主要原料。当增加的谷胱甘肽被用来抵消增加的氧化应激反应时，胱硫醚合成酶的诱导产物就会将同型半胱氨酸从甲硫氨酸循环分流到转硫途径中（由转硫酶催化的含硫基团转移反应，特指从丝氨酸经过高半胱氨酸合成半胱氨酸的反应）。砷中毒时，负责 GSH 生物合成的酶（包括转硫途径的酶）的表达被迅速诱导^[23,24]。这样在高氧化应激的情况下，HCY 被分流到转硫途径，使得染色质甲基化必需的 SAM 循环利用受到限制，最终导致全基因组 DNA 低甲基化^[25,26]。在生理条件下，砷自发的与半胱氨酸残基，二硫醇和谷胱甘肽等细胞巯基发生化学反应。在肝脏中砷的还原、氧化、甲基化消耗了多个等价的谷胱甘肽，使得胞内的谷胱甘肽氧化^[27]。而且在代谢过程中，砷通过烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶的催化刺激活性氧的产生^[28]。砷快速将胞内的 GSH 耗尽^[29]，由此使接触细胞的氧化态增加，在修复损害的过程中又可大量减少胞内谷胱甘肽生物合成的突变，进一步强调了 GSH 在砷诱导的氧化应激中所起的重要作用。

用。全基因组低甲基化作为一些癌症以及砷暴露的一些早期标志。有一项研究^[30]将雄性小鼠通过饮用水暴露于 450mg/l 的砷 48 周，分析他们的基因表达及 DNA 甲基化水平。最终经甲基接受试验揭示砷暴露组小鼠肝细胞 DNA 甲基化水平显著降低。此外，K. Broberg 等^[31]研究表明砷对 DNA 甲基化水平的影响可能与性别有关。该研究显示孕期砷暴露妇女所生的胎儿中，男性甲基化水平明显降低，而女性在砷暴露组与对照组无差异。

2 砷暴露与 DNA 高甲基化

为了探知干扰甲基化作用是否对慢性砷暴露的致癌作用产生一定的影响，Sarmishtha 等^[12]从慢性砷暴露人群以及皮肤癌患者血液中提取 p53，p16 基因，分别对甲基化特异性的限制性核酸内切酶消化的 p53 PCR 扩增基因，以及亚硫酸盐处理的甲基化敏感的 p16 扩增基因进行研究以分析其甲基化状态。在对砷暴露组人群和对照组人群的 DNA 比较中，发现其 p53 基因启动子区域高甲基化有显著性，而且这种高甲基化水平存在剂量反应关系。另外，砷暴露所致的皮肤癌患者与非砷暴露所致的皮肤癌患者相比较也出现了 p53 基因高甲基化。在印度孟加拉邦地区进行的一项对慢性砷暴露患者的血样 DNA 分析表明^[32]，砷暴露组比对照组在 p53 及 p16 基因启动子区有较高的甲基化水平，p53 基因编码是促进细胞凋亡和抑制细胞周期的肿瘤抑制基因。另一项研究是比较砷暴露所致的皮肤癌的人群与非砷暴露所致的皮肤癌人群 p53 基因的甲基化水平，最终结果得出砷诱导的皮肤癌组 p53 基因与非砷所致的皮肤癌组 p53 基因甲基化水平表达有显著提高^[12]。还有研究报道称慢性砷中毒患者与健康对照组比较，其白细胞中的 DNA p16 基因出现高甲基化水平^[33]。

关于 O6-甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶(MGMT)的表达，潘雪莉^[13]等研究发现患者皮肤组织中 MGMT 蛋白表达随着砷中毒患者皮肤损害程度加重而逐渐减弱。进一步的分析发现，MGMT 基因启动子区高甲基化抑制了患者皮肤组织中 MGMT 蛋白的表达。但在不同病情及 MGMT 启动子区不同甲基化状态的砷中毒患者外周血中，MGMT mRNA 的表达无显著性差异，提示 MGMT 表达变化主要是在砷中毒患者病变组织中。因此，对砷中毒患者病变皮肤组织中的 MGMT 蛋白检测很有意义。杨婷婷等^[34]研究发现砷中毒可通过人体谷胱甘肽转移酶 P1(GSTP1)基因启动子区 DNA 甲基化抑制其 mRNA 和蛋白表达，GSTP1 基因在砷致病或致癌过程中起重要作用。砷中毒人群外周血

中 GSTP1 基因 DNA 检出高甲基化，且由于外周血相对于病变组织易于获取、患者易于接受，因此为砷中毒表观遗传学标记的发现及应用提供了便利条件。由于 DNA 甲基化在生命过程及疾病的发生发展中扮演着重要的角色，而且是一种可逆的表遗传学改变，因此，GSTP1 基因启动子区 DNA 高甲基化是否能够通过抑制 DNA 甲基转移酶活性而发生逆转，恢复 GSTP1 mRNA 及蛋白的正常表达，值得深入研究。

最近有研究者通过比较 14 例砷暴露移行细胞癌患者与 14 例非砷暴露移行细胞癌患者，发现砷可能通过提高细胞粘附、水解、转录调节、神经通路和离子运输相关基因的甲基化水平来诱导移行细胞癌的发生^[35]。

3 子宫砷暴露 DNA 甲基化

子宫砷暴露主要是研究孕妇在孕期暴露于砷环境对胎儿的影响。越来越多的证据表明子宫砷暴露与胎儿先天畸形，远期疾病包括癌症有关。Ponpat 等^[36]对 71 例新生儿（其中砷暴露组 55 例，非砷暴露组 16 例）做统计分析，发现子宫砷暴露影响胎儿的 DNA 甲基化尤其是 p53 启动子区的甲基化，这可能会影响胎儿今后癌症的发生率。DevinC 等^[37]最新研究也发现低水平的子宫砷暴露可能影响婴儿的表观基因组，特别是在胎儿发育相关疾病的发育期间，即使是与大多数人的暴露水平一致的条件下，也可能诱发潜在细胞数量的变化以及基因特异性的 DNA 甲基化改变。同样，Molly L.Kile 等^[38]在健康孕妇及她们婴儿的白细胞中研究发现中等水平的饮用水砷暴露与长散布元件（LINE-1）的 DNA 甲基化增高，p16 启动子区较小程度的甲基化增加有关。J. Richard Pilsner 等^[39]研究发现孕期砷暴露与脐带血全基因组 DNA 甲基化有关，而且很可能有性别的差异性。即在所有男婴中，孕期砷暴露与 DNA 甲基化存在正相关，相反，在女婴中，孕期砷暴露与 DNA 甲基化存在负相关。

4 砷暴露相关标记基因的研究

虽然人类已经论证了暴露于不同剂量的砷可引起机体 p53 及 p16 基因启动子区高甲基化，但直到现在还没有发现在慢性环境砷暴露的情况下引起机体发生低甲基化或高甲基化的热点基因组。目前，通过甲基化敏感的随机引物聚合酶链反应发现了慢性砷暴露伴随或不伴随皮肤癌患者外周血白细胞 DNA 的一段高甲基化序列，该段序列来自负责海藻糖代谢的 GMDS 基因。GMDS 与海藻糖生物合成的第一步有关的端锚聚合酶是合作伴

倡^[9]。低聚糖参与生命过程的各个方面，包括出生，分化，生长，炎症，致癌作用，以及肿瘤的转移。岩藻糖基化是癌症中一种重要的低聚糖修饰，这种糖修饰被看做是癌症的生物标志^[40,41]。确定这一高甲基化的基因片段是否是砷暴露所致癌症的生物标志物，还需要进行重复检测或大样本的研究。

目前，对于砷暴露与 DNA 甲基化的研究，主要停留在砷所致的全基因组 DNA 低甲基化，肿瘤特异性的 DNA 高甲基化，但对其机制还尚未清楚。而甲基化敏感的深度测序和芯片技术的发展，将会对 DNA 甲基化在全基因组和区域基因组的改变的研究有一定的帮助，同时对其他影响基因表达的表观遗传机制研究也有一定的帮助。与此同时为了早期发现砷所致的癌症，人们开始研究那些特异性的 DNA 甲基化改变的基因，为癌症的早期发现提供更多的信息。随着经济的发展，世界各国对环境的治理逐渐在改善。通过改换水源，饮水除砷，限制高砷煤炭的开采使用以及改良炉灶的措施来预防人群环境砷暴露。这样就产生许多父辈是环境砷暴露的受害者，但子代所处的环境砷浓度已降至接触限值以下的人群的现象。那么这些人群是否仍然会出现砷暴露所致 DNA 甲基化改变，以及出现砷暴露所致的远期毒效应，我们的课题正在进行这方面的研究。

参考文献

- [1] Bhattacharjee P, Banerjee M, Giri AK. Role of genomic instability in arsenic-induced carcinogenicity: a review [J] . Environ Int, 2013, 53:29-40.
- [2] 郭志伟, 夏雅娟. 砷的皮肤毒性研究进展 [J] . 环境与健康杂志, 2010,27(10): 937-939
- [3] Ahmed S, Mahabbat-e Khoda S, Rekha RS, et al. Arsenic-associated oxidative stress, inflammation, and immune disruption in human placenta and cord blood. Environ Health Perspect (2011) 119: 258119: 2
- [4] Shen H, Xu W, Zhang J, et al. Urinary metabolic biomarkers link oxidative stress indicators associated with general arsenic exposure to male infertility in a Han Chinese population [J] . Environ Sci Technol, 2013, 47: 8843-8851.
- [5] Jomova K, Jenisova Z, Feszterova M, et al. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease [J] . J Appl Toxicol, 2011, 31: 95-107.
- [6] 张爱华. 表观遗传学：揭示砷中毒机制及改进防治策略的新路径[J] . 中华地方病学杂志, 2013, 32(1); 1-2
- [7] Ren X, Mchale CM, Skibola CF, et al. An emerging role for epigenetic dysregulation in arsenic toxicity and carcinogenesis [J] . Environ Health Perspect, 2011, 119: 11-19.
- [8] Gribble MO; Tang WY; Shang Y; et al. Differential methylation of the arsenic (III) methyltransferase promoter according to arsenic exposure. [J] . Arch Toxicol (2014) 88:275–282 .

- [9] Sarmishtha Chanda;Uma B Dasgupta;et al. Human GMDS gene fragment hypermethylation in chronic high level of arsenic exposure with and without arsenic induced cancer [J]. SpringerPlus 2013, 2:557
- [10] Feinberg A. DNA methylation in cancer: three decades of discovery. Genome medicine 2014 6(5):36
- [11] Mass MJ1, Wang L.Arsenic alters cytosine methylation patterns of the promoter of the tumor suppressor gene p53 in human lung cells: a model for a mechanism of carcinogenesis[J].Mutat Res.1997;386(3):263-77.
- [12] Chanda S, Dasgupta UB. DNA hypermethylation of promoter of gene p53 and p16 in arsenic-exposed people with and without malignancy [J]. Toxicological Sciences, 2006, 89:431-437.
- [13] 潘雪莉, 张爱华. 亚砷酸钠对 HaCaT 细胞 MGMT 基因甲基化和 mRNA 及蛋白表达水平的影响 [J]. 中国地方病学杂志, 2011, 30(3): 273-278.
- [14] Vahter M. Mechanisms of arsenic biotransformation. Toxicology 2002;181–182:211–217.
- [15] Gregus Z, Roos G, Geerlings P,et al.. Mechanism of thiol-supported arsenate reduction mediated by phosphorolytic-arsenolytic enzymes: II. Enzymatic formation of arsenylated products susceptible for reduction to arsenite by thiols. Toxicol. Sci 2009;110(2):282–292.
- [16] Nemeti B, Gregus Z. Glutathione-supported arsenate reduction coupled to arsenolysis catalyzed by ornithine carbamoyl transferase. Toxicol. Appl. Pharmacol 2009;239(2):154–161.
- [17] Thomas DJ, Li J, Waters SB, et al. Arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase and the methylation of arsenicals. Exp. Biol. Med 2007;232(1):3–13. Discusses the various enzymatic roles of arsenite methyltransferase in the metabolism of arsenic.
- [18] Waters SB, Devesa V, Fricke MW,et al. Glutathione modulates recombinant rat arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase-catalyzed formation of trimethylarsine oxide and trimethylarsine. Chem. Res. Toxicol 2004;17(12):1621–1629.
- [19] Vahter M. Effects of arsenic on maternal and fetal health. Annu. Rev. Nutr 2009;29:381–399.
- [20] 肖骞.p53基因甲基化与燃煤型砷中毒关系的探讨.中国卫生检验杂志,2011(04),21(4).
- [21] Reichard JF, Puga A. Effects of arsenic exposure on DNA methylation and epigenetic gene regulation [J] . Epigenomics, 2010, 2: 87-104.
- [22] 白彩军, 刘丹, 李冰.砷的氧化应激分子机制研究进展 [J] .实用预防医学.2012.19(2).
- [23] Kann S, Estes C, Reichard JF, et al. Butylhydroquinone protects cells genetically deficient in glutathione biosynthesis from arsenite-induced apoptosis without significantly changing their prooxidant status. Toxicol. Sci 2005;87(2):365–384.
- [24] Zheng XH, Watts GS, Vaught S, Gandolfi AJ. Low-level arsenite induced gene expression in HEK293 cells. Toxicology 2003;187(1):39–48.
- [25] Lertratanangkoon K, Orkiszewski RS, Scimeca JM. Methyl-donor deficiency due to chemically induced glutathione depletion. Cancer Res 1996;56(5):995–1005.

- [26] Lertratanangkoon K, Wu CJ, Savaraj N, Thomas ML. Alterations of DNA methylation by glutathione depletion. *Cancer Lett* 1997;120(2):149–156.
- [27] Spuches AM, Kruszyna HG, Rich AM, et al. Thermodynamics of the As(III)-thiol interaction: arsenite and monomethylarsenite complexes with glutathione, dihydrolipoic acid, and other thiol ligands. *Inorg. Chem* 2005;44(8):2964–2972.
- [28] Huang C, Ke Q, Costa M, et al. Molecular mechanisms of arsenic carcinogenesis. *Mol. Cell. Biochem* 2004;255(1–2):57–66.
- [29] Kann S, Huang MY, Estes C, et al. Arsenite-induced aryl hydrocarbon receptor nuclear translocation results in additive induction of phase I genes and synergistic induction of phase II genes. *Mol. Pharmacol* 2005;68(2):336–346.
- [30] Hua Chen;ShuanFang Li;Jie Liu;et al. Chronic inorganic arsenic exposure induces hepatic global and individual gene hypomethylation: implications for arsenic hepatocarcinogenesis. *[J] Carcinogenesis*. 2004;25(9):1779–1786
- [31] K. Broberg, S. Ahmed, K. Engström, et al. Arsenic exposure in early pregnancy alters genome-wide DNA methylation in cord blood, particularly in boys. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease* (2014), 5(4), 288–298.
- [32] Guha Mazumder D1, Dasgupta UB. Chronic arsenic toxicity: studies in West Bengal, India. *Kaohsiung .Med Sci.* 2011 Sep;27(9):360–70.
- [33] ZHANG AH, BIN HH, PAN XL, et al. Analysis of p16 gene mutation, deletion and methylation in patients with arseniasis produced by indoor unventilated-stove coal usage in Guizhou, China. *[J] Toxicol Environ Health A*. 2007;70:970–5
- [34] 杨婷婷,张爱华,黄晓欣,等.谷胱甘肽硫转移酶 P1 基因 DNA 甲基化、mRNA 和蛋白表达与燃煤污染型地方性砷中毒关系探讨. *中华地方病学杂志* 2013(01).32 (1) .
- [35] Tse-YenYang , Ling-IHsu , AllenW.Chiu ,et al. Comparison of genome-wide DNA methylation in urothelial carcinomas of patients with and without arsenic exposure. *Environmental Research* 128(2014)57–63
- [36] Ponpat Intarasunanont, Panida Navasumrit, Somchamai Waraprasit, et al. Effects of arsenic exposure on DNA methylation in cord blood samples from newborn babies and in a human lymphoblast cell line. *Environ Health*. 2012 May 2;11:31.
- [37] Devin C, Koestler, Michele Avissar-Whiting, et al. Differential DNA Methylation in Umbilical Cord Blood of Infants Exposed to Low Levels of Arsenic in Utero. *Environ Health Perspect*. 2013;121(8):971–977.
- [38] Kile ML1, Baccarelli A, Hoffman E, et al. Prenatal arsenic exposure and DNA methylation in maternal and umbilical cord blood leukocytes. *Environ Health Perspect*. 2012 ;120(7):1061–6.
- [39] Pilsner JR1, Hall MN, Liu X, et al. Influence of prenatal arsenic exposure and newborn sex on global methylation of cord blood DNA. *PLoS One*. 2012;7(5):e37147.

- [40] Miyoshi E, Moriwaki K, Terao N, et al. Fucosylation is a promising target for cancer diagnosis and therapy. *Biogeosciences*. 2012;2:34–45.
- [41] Moriwaki K, Noda K, Furukawa Y, et al. Deficiency of GMDS leads to escape from NK cell-mediated tumor surveillance through modulation of TRAIL signaling. *Gastroenterology*. 2009;137(1):188–198.