

DNA 损伤修复与大肠癌关系的研究进展

常 东¹/王 帆²(综述)/韩 冰²/赵亚双²(审校)

(1. 哈尔滨医科大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨 150001; 2. 哈尔滨医科大学公共卫生学院, 黑龙江 哈尔滨 150081)

【摘要】大肠癌是人类恶性肿瘤之一,具有比较明确的遗传背景。近年来的研究表明,患者 DNA 的损伤修复与肿瘤的关系密切,本文综述 DNA 的错配修复、碱基切除修复、核苷酸切除修复等 3 种损伤修复机制与大肠癌相互关系的研究进展。

【关键词】错配修复;碱基切除修复;核苷酸切除修复;大肠癌

中图分类号: R735.3+4

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2008)05-0415-03

大肠癌(colorectal cancer, CRC)在工业化国家中的四种最常见的癌症中居第二位。近几年来,大肠癌在我国,特别是大城市有明显上升趋势。大肠癌的发生是一个多因素、多步骤的过程,是机体的内因与环境的外因交互作用的结果。多种物理或化学因素,诸如紫外线、电离辐射、化学诱变剂等可损伤细胞 DNA,当损伤得不到及时和有效的修复时,细胞将发生基因突变和癌变等严重后果。研究表明,DNA 氧化损伤修复与个体癌症易感性密切相关。目前已知哺乳类细胞存在 3 种 DNA 损伤修复方式:即错配修复(mismatched repair, MMR)、碱基切除修复(base excision repair, BER)和核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)。错配修复系统主要修复 DNA 复制后的错配碱基;碱基切除修复则修复 DNA 损伤,核苷酸切除修复系统主要修复致癌物、碱基加合物或紫外线引起的嘧啶二聚体,目前的研究结果尚未发现核苷酸切除修复机制与大肠癌的发病有关。本文中我们主要对前两种与大肠癌相关的 DNA 损伤修复机制分别进行阐述。

1 错配修复机制

DNA 错配修复系统(mismatched repair system, MMRs)是由

一系列能特异修复 DNA 碱基错配的酶分子组成。依靠错配修复系统,消除 DNA 生物合成错配,增加了染色体复制的可信性;相反,如果错配修复系统缺陷,DNA 错配在 DNA 复制前不能矫正,导致基因突变甚至肿瘤发生。

1.1 MMR 基因的组成和功能

MMR 发生突变,导致细胞错配修复功能缺陷,结果产生遗传不稳定,表现为复制错误(replication-errors, RER)或微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI),同时会使发生在某些癌基因和抑癌基因中的突变快速积累,最终影响到细胞的增殖调控,导致其增殖失控,肿瘤发生。

自 1993 年以来,已发现人类 MMR 系统的八个基因,分别是 *hMSH2*, *hMLH1*, *hPMS1*, *hPMS2*, *hMSH6* (*GTBP*), *hMSH3*, *hMSH4* 和 *hMSH5*。其中与大肠癌有关的基因是前 6 个,它们的基因产物及功能见附表^[1-2]。而 1997、1998 年发现的 *hMSH4*、*hMSH5* 目前只知它们和细胞有丝分裂有关,还不能肯定它们是否具有错配修复作用。目前主要是对 *hMSH2* 与 *hMLH1* 的研究,且主要集中在 HNPCC 家系。针对 *hMSH6* 的研究较少,大多是突变情况的报道,在临床意义方面的研究更少。

附表 人类 MMR 基因及其染色体区域定位和功能

基因(年代)	定位	开放阅读框架/全长	产物	功能
<i>HMSH2</i> (1993)	2p16	2 802 bp	934 aa	与 DNA 双链中的 G-T、A-C 错配特异结合,与 (CA) ₄ 及含 14 个碱基的 IDL 型错配结合
<i>HMLH1</i> (1994)	3p21.3	2 268 bp	756 aa	形成多聚体复合物,参与错配修复反应,可能与细胞烷化剂耐受及细胞周期检验点有关
<i>HPMS1</i> (1994)	2q31-q33	2 796 bp	932 aa	关形成多聚体复合物,参与错配修复反应
<i>HPMS2</i> (1995)	7p22	2 586 bp	862 aa	与 <i>hMLH1</i> 形成二聚体 <i>hMutLα</i> 识别新生 DNA 链,可能与基因重组及染色体联会有关
<i>GTBP</i> (1995)	2p16	全长 4.2 kb	160 kD 蛋白	与 <i>hMSH2</i> 形成二聚体复合物 <i>hMutSα</i> 结合到错配区
<i>HMSH3</i> (1995)	5q11-13	全长 160 kb	不明	可能是一些显示微卫星序列不稳定而又无明显错配修复功能或其他已知错配修复基因缺陷的肿瘤发生的相关基因

1.2 人类 MMR 基因的突变与大肠癌的关系

DNA 错配修复系统缺陷与多种肿瘤的发生过程有关,例如,

遗传性非多发性息肉型结肠癌(HNPCC)、散发性大肠癌、子宫内膜癌、胃癌、肺癌、前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌、白血病等,其中对

收稿日期: 2007-10-19; 修订日期: 2008-03-20

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(D2007-29); 黑龙江省卫生厅资助课题(2005-126)

作者简介: 常 东(1969-), 河北清河县人, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 分子流行病学。

于该系统对大肠癌的发生发展的影响作用的研究尤为深入。在上述各种癌细胞中均存在着微卫星不稳定 (MSI) 现象,其具体表现在肿瘤细胞和相应正常体细胞在某些特定的微卫星序列长度上有差异。人们通过对 MSI⁺的肿瘤细胞系进行体外错配修复活性检测,发现这些肿瘤细胞系均表现有 DNA 链特异性错配修复功能的缺陷,因此推断 MSI 可能是由于 MMR 缺陷所致,而 MSI 可作为一个检测肿瘤细胞突变表型的敏感指标,并且规定 10 个微卫星位点中有不少于 2 个以上的 MSI 即可确认为一个突变表型,称作 DNA 复制差错阳性 (replication error, RER⁺)。近年来,世界上许多实验室利用 PCR-SSCP 结合 DNA 测序或异源双链分析 (HA), RT-PCR 结合 DNA 测序或变性梯度凝胶电泳 (DGGE), RT-PCR 结合蛋白截短技术 (PTT) 等方法,对呈现 RER⁺的 HNPCC 细胞及其他一些肿瘤细胞系进行 MMR 基因突变的检测,发现 MMR 基因突变的类型主要包括基因内缺失、插入及点突变等。这些突变的表现形式呈广泛异质性,但大多会造成终止密码子的提前,有的是由于无义突变直接造成终止密码子的产生,也可以由于插入或缺失引起移码突变后导致终止密码子的提前出现,而最终形成截短型蛋白质,引起 MMR 基因产物功能丧失。

Wheeler 等^[3]选取 49 例人类大肠癌细胞系,用 PCR-SSCP 结合测序、MSP 结合 Western 杂交等方法分别研究了突变失活、启动子甲基化、杂合性缺失在引起 RER⁺大肠癌突变表型中所起的作用,证实前两者为主要原因,并且因启动子甲基化而使 hMLH1 沉默的肿瘤细胞系在经去甲基化处理后可以重新表达 hMLH1。因此,又一种新的肿瘤突变表型被确定,即“CpG 岛甲基化表型 (CpG island methylational phenotype, CIMP)”。目前已可肯定 CIMP⁺与 hMLH1 基因沉默之间的相关性,CpG 岛的甲基化可以使 hMLH1 基因不能转录而导致基因沉默。CIMP 存在于很多肿瘤邻近的正常组织中,推测它是肿瘤发生中的一个早期事件,通过对多种基因调控的影响,最终导致肿瘤的发生。但其他几种主要 MMR 基因如 hMSH2、hPMS1、hPMS2 等的失活是否也受到这种甲基化机制的调控,目前尚未明确^[4]。

Olschwang 等^[5]经分析后认为,约 70% 的 HNPCC 综合征都是由 MMR 基因的胚系突变引起的。其中 hMLH1 和 hMLH2 基因的胚系突变是超过 90% 的 HNPCC 的致病原因。MMR 基因的突变是引起肿瘤形成的一种机制。由于 MSI 是一个在 HNPCC 患者中高发的肿瘤标记物,国际上也将其作为 HNPCC 高危人群确定诊断的一个分子生物学标志^[6]。散发性结直肠癌在整个结直肠癌中的发病率占 80% 以上^[7]。约 15% 的散发性结直肠癌存在 MSI-H 表型^[8]。此外还发现一些切除修复基因,这些基因产物常为一些与切除修复有关的 DNA 结合蛋白、拓朴异构酶、核酸酶等,它们在 DNA 损伤修复过程中也起着相当重要的作用。对 hMSH 基因的研究较多,在 HNPCC 病例中,hMSH1、hMSH2 基因突变是一个较常见的现象,基因异常表达的 hMSH1、hMSH2 蛋白可能导致肿瘤的发生。

2 碱基切除修复机制

碱基切除修复 (base excision repair, BER) 是指切除和替换由内源性活性分子作用产生的 DNA 碱基损伤, DNA 糖基化酶参与此过程,随后糖-磷酸键断裂,切去碱基残基, DNA 链连接修复损

伤。在 DNA 氧化损伤中, 8-羟基鸟嘌呤 (8-hydroxyguanine, oh8Gua) 是形成频率最高、致突变能力最强的产物,与肿瘤的发生和发展关系密切^[9]。oh8Gua 是一种常见的 DNA 突变产物,这种异常碱基不能阻止 DNA 链延伸,在复制时由于空间构象改变使该碱基优先与腺嘌呤配对,造成 G:C→T:A 转变。这种碱基颠换是在肿瘤中最早发现的变异,特别常见于抑癌基因 p53 中,因此,oh8Gua 被视为导致细胞转化的一种内源性变异源和氧化损伤的敏感标志物。体内特异识别 oh8Gua 并将其切除修复的酶称为 8-羟基鸟嘌呤糖苷酶 (8-oxoguanine DNA glycosylase, OGG1), 存在于人体的被称作 hOGG1。一旦生物体内的氧化应激负荷超过抗氧化系统所承载的极限,活性氧便可攻击 DNA,造成 DNA 的损伤,如碱基错配、修饰、脱嘌呤或脱嘧啶位点形成、DNA 断裂以及 DNA 蛋白质交联等。损伤的 DNA 在再次复制和分裂时,可形成突变, DNA 突变可激活癌基因或使抑癌基因失活,从而导致细胞的生长周期紊乱。氧自由基造成的 DNA 损伤被认为是肿瘤发生和发展的重要原因。研究已经证明, oh8Gua 在肿瘤的发生发展过程中占有很重要的地位。有研究报道,肿瘤组织例如肺癌、肾癌、结肠癌等组织比相应癌旁组织含有更多的 oh8Gua。

2.1 hOGG1 基因结构及功能

hOGG1 基因位于人染色体 3p25,有 7 个外显子,起始密码子 ATG 和终止密码子 TAG 分别位于第 1 和第 7 外显子中。hOGG1 基因序列中没有 TATA 盒或 CAAT 盒,表明属于管家基因 (housekeeping gene)。

2.2 OGG1 基因的生物学功能及作用特点

OGG1 基因编码产物 OGG1 蛋白是一个带有 AP 裂解酶活性的双功能 DNA 核苷酶,主要功能是识别和切除 DNA 双链中的 8-oxoG,其作用具有较强的底物特异性,表现为 OGG1 蛋白只能结合含有 8-oxoG 的双链寡核苷酸,其中与 8-oxoG:C 的结合力最强,8-oxoG:T 次之,8-oxoG:A 和 8-oxoG:G 较弱。OGG1 蛋白与 8-oxoG 结合后将其切除,从而恢复基因组中正常的 G:C 配对,这在防止 8-oxoG 的致突变作用中起重要作用。此外,在糖苷酶识别并水解 DNA 分子中的损伤或错配碱基的糖苷键后, DNA 骨架中因丢失碱基而形成缺口,称之为 AP 位点 (apurinic site),即无嘌呤或无嘧啶位点。OGG1 蛋白还具有 AP 裂解酶活性,可在糖基化产生的 AP 位点将 DNA 链切除,以修复自发碱基丢失或因 DNA 糖苷酶作用后产生的、可阻断 DNA 复制的脱嘌呤或脱嘧啶 (AP) 位点。若 OGG1 基因失活或被敲除,细胞将发生以 G:C>T:A 颠换为特征的突变。

2.3 hOGG1 基因与大肠癌的关系

Kondo S 等^[10]的研究结果表明,结肠癌中 oh8Gua 糖苷酶活性与 hOGG1 基因表达同时上调,并且 oh8Gua 含量、oh8Gua 糖苷酶活性与 hOGG1 表达呈密切相关关系;在早期和晚期结肠癌中 oh8Gua 水平无明显差异,但晚期结肠癌中 oh8Gua 糖苷酶活性有显著增加。Park YJ 等^[11]研究发现结肠癌组织中, oh8Gua 糖苷酶活性明显增强,而抗氧化酶 (过氧化氢酶、超氧化物歧化酶) 活力明显下降,氧化损伤产物 oh8Gua 和丙二醛含量明显增高,表明氧化损伤可能与结肠癌的发生和发展有一定的关系。目前对 hOGG1 基因多态性与大肠癌的关系的研究还很少。Park YJ 等^[12]认为 hOGG1 基因多态性可能与结肠癌的发病危险性没有关系,结肠癌

组织 DNA 损伤的增强可能是机体抗氧化能力削弱的结果,但其所选样本量偏小(15 例)具有一定的局限性。Kim JI 等^[14]进行了一项比较大的病例对照研究,发现病例组和对照组之间 hOGG1 的 Ser/Cys 基因型无明显差异,但 hOGG1 基因多态性能够影响环境危险因素对结肠癌的发生和发展。肉类的摄入可明显增加 Cys/Cys 携带者患结肠癌的相对危险性,但对 Ser/Ser 或 Ser/Cys 携带者则影响不明显。这些研究主要以散发性病例为主,没有对大肠癌进行分型。hOGG1 基因涉及 oh8Gua 的切除修复,因此该基因多态引起个体对 DNA 氧化损伤修复能力的差异,可能与大肠癌的遗传易感性有关。但 hOGG1 基因多态性与 DNA 损伤修复和癌症发生的关系还缺乏足够的证据,尚需要大样本、设计严密的功能学及流行病学研究以明确它们的关系。

相同条件下接触环境有害因素的人群有不同程度的损伤,这是由于每个个体之间对有害因素存在许多由遗传造成的易感程度的差异。这些损伤如果不及时修复,使损伤积累至一定程度就可导致疾病。所以损伤修复,特别是 DNA 损伤修复具有重要意义。

参考文献:

- [1] 刘晓蓉. 人类错配修复基因突变在肿瘤发生中的作用研究新进展 [J]. 国外医学 遗传学分册, 2001, 24(6): 301-303.
- [2] Lanza G, Gafa R, Santini A, et al. Immunohistochemical test for MLH1 and MSH2 expression predicts clinical outcome in stage II and III colorectal cancer patients [J]. J Clin Oncol, 2006, 24(15): 2359-2367.
- [3] Wheeler JM, Beck NE, Kim HC, et al. Mechanisms of inactivation of mismatch repair genes in human colorectal cancer cell lines: the predominant role of hMLH1 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 31, 96(18): 10296-10301.
- [4] Lee JM, Lee YC, Yang SY, et al. Genetic polymorphisms of XRCC1 and risk of the esophageal cancer [J]. Int J Cancer, 2001, 95(4): 246-264.
- [5] Olschwang S, Bonaiti C, Feingold J, et al. Identification and management of HNPCC syndrome (hereditary nonpolyposis colon cancer), hereditary predisposition to colorectal and endometrial adenocarcinomas [J]. Bull Cancer, 2004, 91(4): 303-315.
- [6] Domingo E, Laiho P, Ollikainen M, et al. BRAF screening as a lowcost effective strategy for simplifying HNPCC genetic testing [J]. J Med Genet, 2004, 41(9): 664-668.
- [7] Wagner A, Hendriks Y, Meijers-Heijboer EJ, et al. Atypical HNPCC owing to MSH6 germline mutations: analysis of a large Dutch pedigree [J]. Med Genet, 2001, 38(5): 318-322.
- [8] Huycke MM, Gaskins HR. Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models [J]. Exp Biol Med, 2004, 229(7): 586-597.
- [9] Samowitz WS, Curtin K, Lin HH, et al. The colon cancer burden of genetically defined hereditary nonpolyposis colon cancer [J]. Gastroenterology, 2001, 121(4): 830-838.
- [10] Kondo S, Toyokuni S, Tanaka T, et al. Overexpression of the hOGG1 gene and high 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) lyase activity in human colorectal carcinoma: regulation mechanism of the 8-OHdG level in DNA [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(4): 1394-1400.
- [11] Park YJ, Choi EY, Choi JY, et al. Genetic changes of hOGG1 and the activity of oh8Gua glycosylase in colon cancer [J]. Eur J Cancer, 2001, 37(3): 340-346.
- [12] Kim JI, Park YJ, Kim KH, et al. hOGG1 Ser326Cys polymorphism modifies the significance of the environmental risk factor for colon cancer [J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(5): 956-960.
- [13] Cancer Cell, 2005, 7(3): 211-217.
- [28] Pollard JW. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis [J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(1): 71-78.
- [29] Hynes RO. A reevaluation of integrins as regulators of angiogenesis [J]. Nat Med, 2002, 8(9): 918-921.
- [30] Kacinski BM. CSF-1 and its receptor in breast carcinomas and neoplasms of the female reproductive tract [J]. Mol Reprod Dev, 1997, 46(1): 71-74.
- [31] Braun B, Lange M, Oeckler R, et al. Expression of G-CSF and GM-CSF in human meningiomas correlates with increased tumor proliferation and vascularization [J]. J Neurooncol, 2004, 68(2): 131-140.
- [32] Mueller MM, Fusenig NE. Friends or foes - bipolar effects of the tumour stroma in cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(11): 839-849.
- [33] Folkman J. Fundamental concepts of the angiogenic process [J]. Curr Mol Med, 2003, 3(7): 643-651.
- [34] Jung YD, Ahmad SA, Liu W, et al. The role of the microenvironment and intercellular cross-talk in tumor angiogenesis [J]. Semin Cancer Biol, 2002, 12(2): 105-112.
- [35] Albini A, Sporn MB. The tumour microenvironment as a target for chemoprevention [J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(2): 139-147.
- [36] Joyce JA. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment [J]. Cancer Cell, 2005, 7(6): 513-520.
- [37] LaBarge MA, Petersen OW, Bissell MJ. Of microenvironments and mammary stem cells [J]. Stem Cell Rev, 2007, 3(2): 137-146.
- [38] Kuperwasser C, Chavarria T, Wu M, et al. Reconstruction of functionally normal and malignant human breast tissues in mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(14): 4723-4724.
- [39] WH Zhu, Nicosia RF. The thin prep rat aortic ring assay: A modified method for the characterization of angiogenesis in whole mounts [J]. Angiogenesis, 2002, 5(1/2): 81-86.
- [40] Donovan D, Brown NJ, Bishop ET, et al. Comparison of three *in vitro* human 'angiogenesis' assays with capillaries formed *in vivo* [J]. Angiogenesis, 2001, 4(2): 113-121.

(上接第 414 页)

