文章编号: 1001-0580(2009)11-1315-03　中图分类号: R 735.7　文献标志码: A　【专题报道之二】

DNA修复基因多态性与肝癌易感性研究进展*

刘雯 (综述),胡志坚 (审校)

关键词: 肝癌易感性;DNA修复基因;基因多态性

肝癌为常见恶性肿瘤。据世界卫生组织 2007年数据显示,癌症总死亡人数为 790万,其中肝癌死亡人数就达到 65万。中国年发病人数约 35万,每年约有 32万人死于此病,发病率和死亡率均占癌症中第 2位[1]。肝癌的发生是环境与基因共同作用结果,在人类正常细胞中存在一整套十分有效的 DNA修复系统,可使受损伤 DNA分子迅速恢复正常,以保持细胞正常功能和遗传稳定。在参与人类 DNA修复的 130余种基因中,已经发现 45种基因存在单核苷酸多态性 (SNP)。研究表明,个体间 DNA修复能力差异主要取决于 DNA修复基因 SNP。现就 DNA修复基因 SNP与肝癌易感性关系的研究进展作一综述。

1　碱基切除修复 (BER)

BER主要修复各种小分子包括活性氧、烷化剂等引起的 DNA损伤以及脱氨,自发水解等原因引起的 DNA单链断裂。BER修复过程可分为:损伤探查、形成无嘌呤和无嘧啶位点 (AP),修复复合体形成、修复后连接。

1.1　X线修复交叉互补组 1基因 (XRCC1)　XRCC1位于人 19q13.2,其编码的蛋白质通过多聚 ADP核糖聚合酶 (PARP)、DNA连接酶 III(LigIII)及 DNA多聚酶 β(Polβ)的相互作用参与 DNA碱基修复及 DNA单断裂修复。目前已经发现 XRCC1基因编码区有 3个 SNP位点导致其蛋白质相应氨基酸改变,可能改变 XRCC1功能,从而影响个体肿瘤易感性。Long XD等[2]对我国广西地区黄曲霉毒素 (AFB1)暴露的 257例肝细胞癌患者和 649名健康人群对照进行基因多态性分析,发现 399Gln基因明显增加 AFB1暴露人群发生肝细胞癌的危险性 (OR = 2.47, 95% CI = 1.72～3.54)。

1.2　人类 8-羟基鸟嘌呤 DNA糖苷酶基因 (hOGG1)　该基因位于人染色体 3p25～26区域内,整个基因由 7个外显子和 6个内含子组成。hOGG1基因第 7外显子的第 1 245位碱基具有 C/G多态性,结果使第 326位密码子编码丝氨酸或半胱氨酸。此外,在第 98位密码子处及非编码区内,也存在多态位点 hOGG1基因编码的蛋白产物具有 DNA糖苷酶和 AP裂解酶活性,可以特异切除 8-羟基鸟嘌呤 (oh8Gua),从而避免在 DNA复制过程中导致 G:C-T:A颠换突变。研究表明,致癌物 2-硝基丙烷在引起肝癌过程中靶细胞 DNA的 oh8Gua含量明显升高。由于 hOGG1-326Cys等位基因编码蛋白活性降低,所以携带 Cys/Cys基因型个体修复氧化损伤能力降低,特异性识别并切除 oh8Gua能力减弱,使发生肝癌的危险性增加。刘志明等[3]对 96例肝细胞癌 (HCC)患者和 96名正常人外周血 DNA测序分析显示,携带等位基因 Cys频率为 HCC组高于正常对照组,Ser/Cys杂合子个体和 Cys/Cys纯合子个体的 OR值分别为 1.5和 1.9,表明 DNA修复基因 hOGG1的 Cys等位基因可能会增加肝细胞癌遗传易感性。

1.3　甲基化 CpG结合结构域蛋白 4(MBD4)　MBD4基因编码 DNA糖苷酶,全长 13 059 bp,包含 8个外显子。该基因具有一个糖苷酶结构域和 CpG结合结构域,可以切除 CpG区与 G错配的 T,从而避免因错配而造成突变[4]。小鼠模型实验表明,该基因缺失会明显增加多种癌症风险。张昊等[5]对 MBD4基因在汉族人群中重新测序发现,第 3外显子存在 Glu346Lys高频多态,导致其编码 346位谷氨酸 (Glu)变为赖氨酸 (Lys)。研究发现,正常人群 Glu/Glu、Glu/Lys、Lys/Lys基因型频率分别为 40.4%, 46.8%和 12.8%, HCC组为 41.7%, 48.8%和 9.5%。等位基因 Lys频率在病例和对照分别为 33.9%和 36.2%,显示 DNA修复基因 MBD4的 Lys等位基因可能与 HCC的遗传易感性无关。

1.4　环境应答基因 (JWA)　JWA定位于人染色体 3p14,有 3个外显子和 2个内含子。JWA与多种化学物质介导的白血病细胞分化和凋亡有关[6],对环境刺激应答活跃。最近研究显示:作为全新应答基因,JWA积极参与苯并芘和 H_2O_2 诱导的细胞 DNA损伤和修复过程调节[7]。汤唯艳等[8]通过对 JWA基因启动子 (-76G/C)和外显子 (723T/G)的 2个多态性位点频率分析发现,-76G/C与消化道肿瘤 (包含肝癌病例)易感性相关;存在 -76G/C这种基因变异个体明显增加消化道肿瘤 (包含肝癌)发生易感性。

1.5　脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶 (APE)　APE基因定位于人染色体 14q11.2～12,含 5个外显子、4个内含子和 1个单一开放阅读框架。它是人体内一种重要的多功能蛋白,具有氧化还原作用,可调节多种转录因子 DNA连接酶活性,又名氧化还原因子 1(Ref-1),常用 APE/Ref-1表示其双功能特点。APE/Ref-1是人类细胞中唯一修复 DNA上无嘌呤/嘧啶 (Ap)位点的双功能酶。APE在 BER中起重要作用,属于限速酶。在 APE基因 DNA修复功能区存在 7个导致氨基酸改变的 SNP,其中最常见多态性是 D148E,携带变异基因型 APE148Asp者可加重黄曲霉毒素 B1诱导后淋巴细胞 DNA损伤。苏智雄[9]研究表明随着 AFB1浓度增加,APE mRNA表达逐渐升高,呈浓度依赖性。肝癌组的外周血淋巴细胞,AFB1作用 2 h后,AFB1浓度为 20 μg/mL时,APE mRNA水平与对照组比较,差异有统计学意义 (P < 0.01),表明氧化损伤可以激活 APE表达;随着损伤加重,APE mRNA表达逐渐升高。

1.6　聚腺苷酸二磷酸核糖聚合酶-1(PARP-1)　PARP-1是存在于真核细胞中催化聚 ADP核糖化的细胞核酶。研究

*基金项目: 福建省自然科学基金 (C0710019)
作者单位: 福建医科大学公共卫生学院流行病与统计教研室,福州 350004
作者简介: 刘雯 (1982-),女,福建人,硕士在读,研究方向:肝癌分子流行病学。
通讯作者: 胡志坚

表明: PARP - 1是一种催化以 NAD为底物,将聚 ADP核糖多聚体共价连接到受体蛋白上的翻译后修饰酶,它参与体内 DNA修复、染色质结构与功能调节、细胞程序化死亡等多种重要生命活动。PAPR - 1缺失使细胞对 DNA损伤因子易感,可能参与肿瘤发生。王志强等[10]研究表明, PARP - 1在人肝癌中表达明显高于其在癌旁肝组织,表明 PARP - 1可能参与了肝癌的恶性转化。

2 核苷酸切除修复 (NER)

NER系统可识别并修复多种结构不相关 DNA损伤。NER修复过程为:损伤探查、解旋、内切和外切损伤 DNA片段、寡核苷酸片段重新合成和连接。

2.1 着色性干皮病基因 C(XPC) XPC基因定位于染色体 3p25,包括 16个外显子和 15个内含子,其第 8外显子和第 15外显子均存在 SNP位点, XPC第 8外显子第 499位密码子 C→T多态可引起丙氨酸 (Ala)—缬氨酸 (Val)替代, XPC第 15外显子第 939位密码子 A→C多态可引起 Lys→Gln,可能导致个体间 DNA修复能力差异, XPC蛋白是 XPC基因编码产物,可与损伤 DNA结合,从而启动核苷酸切除修复作用。蔡旭玲等[11]研究证实,广东省顺德市人群 DNA修复基因 XPC第 8外显子 Ala499Val、第 15外显子 Lys939Gln的基因多态与饮酒、丙型肝炎病毒 (HCV)感染对原发性肝癌影响,存在交互作用。

2.2 着色性干皮病基因 D(XPD) XPD基因位于 19q13.3,含有 23个外显子,已经发现 XPD基因编码区有 6个 SNP位点。研究结果显示, XPD基因密码子 156, 312和 751位点的多态性与肿瘤易感性密切相关。XPD基因第 751位点的 A→C碱基突变会导致对应 Lys→Gln氨基酸改变。XPD - 751杂合子及突变纯合子型 (Lys/Gln和 Gln/Gln基因型)会导致 NER能力明显下降。许丽等[12]对肝癌病例对照研究显示: XPD - 751位点的 Lys/Gln或 Gln/Gln基因型频率在病例组明显高于对照组 (OR = 3.13, 95% CI = 1.16～8.47),并且乙型肝炎病毒 (HBV)感染患者伴有 XPD - 751位点为 Lys/Gln或 Gln/Gln基因型的个体,其发生肝癌危险性是 HBV阴性及 XPD - 75 1位点为 Lys/Lvs野生型基因型个体的 6.68倍 (OR = 6.68, 95% CI = 3.43～13.01)。

2.3 切除修复交叉互补基因 1(ERCCl) ERCC1基因位于 19q13.2～13.3, ERCC1在 NER中作为结构高度保守的核酸内切酶,主要是对核苷酸进行切除和修复, ERCC1编码一种含有 297个氨基酸的蛋白质,这种蛋白质与 XPF等基因编码产物可以形成稳定复合物,是 NER系统切开受损 DNA链 5′端的关键分子,并且能与修复基因家族其他成员协同作用,清除体内多种 DNA损伤。在对 ERCC1基因缺陷大鼠研究中发现,细胞染色体不稳定和修复缺失型表型均明显增加。郑霄雁[13]对福州市肝癌高发区病例对照研究显示, ERCC1基因 4 533位点和 8 092位点发生突变可能是福州市肝癌高发危险因素之一,并且其 8 092位点突变与吸烟存在交互作用。谢伟敏[14]的研究显示:在 HBV(+)人群中, ERCC1C8092A的 CA +AA基因型状况与吸烟状况和 HCC家族史存在明显交互作用。

3 错配修复 (MMR)

MMR主要修复错配碱基和插入、缺失环,这些错误主要来自重组过程或重复序列复制过程中的滑动。研究表明,这些微卫星不稳定表型是由 MMR缺陷引起, MMR修复过程为:错配识别、聚集 MMR修复因子、找寻错配信号 (即新合成链的错误信号),降解始于错配位点的新合成 DNA片段、切除片段重新合成。目前发现参与错配修复功能的基因有 6个,即 hMSH2、hMSH6、hMSH3、hMLH1、hPMS1和 hPMS2。该系统中任一基因突变,都会导致细胞错配修复功能缺陷,结果产生遗传不稳定,表现为复制错误或微卫星不稳定,以 hMSH2和 hMLH1的突变率最高。张翠娟等[15]研究证明, hMSH2基因启动子高甲基化在 HCC发生发展中是常见的早期基因改变。

4 双链断裂修复 (DSBR)

DSBR可分为同源重组与非同源末端连接。同源重组过程为:同源序列搜寻,断端结合入另一完整的 DNA分子, DNA合成, DNA连接,同源基因重组联合点分开。非同源末端连接则直接将两断端相连。这一过程主要由末端结合复合体 Ku70/80和 DNA - PKcs来完成,前者负责断端保护,后者负责损伤信号传导。参与断端连接的连接酶复合体是 XRCC4 - ligase4。XRCC3位于人 14q32.3,其编码的蛋白质产物是参与同源重组修复 (HRR)的重要酶,与 RAD51蛋白共同作用参与 DNA双链和单链断裂修复。有关该基因多态性与癌症易感性研究主要集中在第 7外显子第 241密码子发生的 C→T转换致 Thr→Met氨基酸替换反应。

5 其 他

5.1 甲基鸟嘌呤脱氧核糖核酸甲基转移酶 (MGMT) MGMT是人体中保护 DNA免受环境致癌物影响的重要蛋白,其在致癌物诱导 DNA损伤的直接修复中发挥重要作用。DNA异常甲基化可使相关抑癌基因活性降低或缺失,从而使肝癌易感性增加。袁丁等[16]研究显示,在肝癌组织中, MGMT表达水平明显低于正常肝组织,提示 MGMT水平下降导致细胞 DNA修复功能降低可能是肝细胞发生病变的重要因素。

5.2 p53基因 p53基因定位于人染色体 17p13.1,其编码产物是含有 393个氨基酸的核磷蛋白,主要功能是抑制某些促使细胞进入有丝分裂的酶活性,阻止细胞进入 DNA合成期,并使 DNA损伤有充分时间修复,其编码产物还能启动细胞程序性死亡过程,防止细胞恶性转化。p53基因突变可解除对细胞异常分裂和增殖的抑制,影响 DNA修复机制活性导致细胞恶性转化。DNA遭受各种损害均可激活 p53,后者能与双链及单链 DNA以非序列特异性结合于双链 DNA断裂处的端点等。陈益存等[17]研究表明,肝癌中 p53基因第 7外显子转录水平上存在表达差异,且其异常表达与肝癌的临床病理特征有关。

5.3 p21基因 p21即 WAF1/Cip1基因,定位于 6p21.2,全长约 2.1 kb。作为 p53下游基因, p21是细胞周期重要调控因子,依赖周期素的蛋白激酶抑制因子 (CKI)之一。在正常细胞 DNA受损伤时,被 p53诱导产生,随之抑制 DNA复制,增强 DNA修复,以消除由于 DNA损伤的积累而引起肿瘤隐患。p21表达减弱或消失可能使抑制细胞增殖作用减弱,或细胞正常增生转变为增生分化不良,导致肿瘤发生。张浩等[18]研究表明, p21WAF1蛋白缺失与 HCC的发生发展有关。

5.4 p16基因 p16基因定位于人染色体, 9p21区域,全长 8.5 kb,由 2个内含子及 3个外显子构成。有研究显示, HCC组织中 p16蛋白缺失率高达 40%,在 HCC的致病机制中发挥重要作用。Jin D等[19]用逆转录 -聚合酶链反应 (RT - PCR)检测了 20例 HCC组织, p16基因的外显子 1, 2和 3的纯合性

缺失 (2个等位基因全部缺失)率分别为 25%, 15%及 15%,提示 p16基因外显子纯合性缺失是 HCC发生发展的重要机制。

6 小　结

综上所述,基因多态性可通过影响 DNA损伤修复能力而影响人的肝癌易感性。国内外对这些基因进行了大量研究,但研究结果尚不一致,其原因可能与研究样本量、人群所接触的致病因素不同及种族、地区差异等因素有关,也有可能与多基因多态性的交互作用有关,有待进一步研究。

参考文献

〔1〕 Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Global cancer statistics, 2002[J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55: 74 - 108.

〔2〕 Long XD, Ma Y, Wei YP, et al. The polymorphisms of GSTM 1, GSTT1, HYL 1 * 2, and XRCC 1, and aflatoxin B1-related hepato cellular carcinoma in Guangxi population, China[J]. Hepatol Res, 2006, 36(1): 48 - 55.

〔3〕 刘志明,彭涛,严律南,等. 广西肝癌高发区氧化性 DNA损伤与修复酶 hOGG1的表达和多态性关系的研究[J]. 中华肝胆外科杂志, 2005, 11(8): 505 - 509.

〔4〕 苗瑞芬. MBD4基因多态与肺癌易感性及预后的分子流行病学研究[D]. 中国优秀硕士学位论文全文数据库, 2008, 1: 27 - 28.

〔5〕 张昊,郝冰涛,贺福初. MBD4基因的单核苷酸多态与肝细胞肝癌遗传易感性研究[J]. 肿瘤, 2005, 12(12): 23 - 26.

〔6〕 Hunag S, Shen Q, Mao WG, et al. JWA, a novel signaling molecule, involved in the induction of diefferentation of human myeloid leukemia cells[J]. Biochem Biophys Res Commu, 2006, 341: 440 - 450.

〔7〕 Zhu T, Chen R, Zhou JW, et al. Regulation of a novel cell differentiation assoeiated gene, JWA, during oxidative damage in K562 and MCF-7 cells[J]. J Boimed Sci, 2005, 12: 219 - 227.

〔8〕 汤唯艳,缪珩,李春平,等. JWA基因多态性与消化道肿瘤易感性关系的研究[J]. 南京医科大学学报, 2006, 26(8): 640 - 644.

〔9〕 苏智雄. 氧化损伤与修复机制在黄曲霉毒素相关原发性肝癌的发生与化疗反应性中的作用[D]. 中国博士学位论文全文数据库, 2007, 05: 36 - 37.

〔10〕 王志强,黄志勇,陈孝平,等. 人肝癌组织中 PARP - 1的表达与生物学特征的关系[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(20): 1995 - 1998.

〔11〕 蔡旭玲,陈思东,郜艳晖. 广东顺德人群 XPC基因第 8、15外显子及基因 - 基因交互作用、基因. 环境交互作用与原发性肝癌的关研究[J]. 公共卫生与预防医学, 2008, 19(1): 53 - 55.

〔12〕 许丽,吴一迁,金晏,等. DNA修复基因 XPD多态性和肝细胞肝癌危险性的病例对照研究[J]. 肿瘤, 2004, 24(6): 526 - 529.

〔13〕 郑霄雁. 修复基因 ERCC1多态性与肝癌易感性的关系[D]. 中国优秀硕士学位论文全文数据库, 2008, 01: 30 - 33.

〔14〕 谢伟敏. 核苷酸切除修复基因多态性与肝癌遗传易感性及临床表型的关联研究[D]. 中国优秀博士学位论文全文数据库, 2008, 01: 57 - 58.

〔15〕 张翠娟,李晓明,丘礼武,等. DNA错配修复基因甲基化在肝细胞癌发生发展中的作用[J]. 中华病理学杂志, 2004, 10(33): 36 - 39.

〔16〕 袁丁,陈治强,陈娟. O^6 - 甲基鸟嘌呤 - DNA甲基转移酶在肝癌组织中的表达及其意义[J]. 现代肿瘤医学, 2008, 16(12): 2135 - 2137.

〔17〕 陈益存,陆东东,谢蓓,等. 肝癌及癌旁组织中 P53基因第七外显子转录水平的表达差异及临床意义[J]. 陕西医学杂志, 2004, 32(6): 495 - 497.

〔18〕 张浩,钱贤忠,罗建生,等. 原发性肝细胞癌 p21～(WAF1)和 p16表达及意义[J]. 肿瘤学杂志, 2005, 10(3): 200 - 201.

〔19〕 Jin D, 林勍. Promoter hypermethylatton of p16 gene and dapk gene in sera from hepatocellular carcinoma (HCC) patients[J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2005, 17(4): 250 - 254.

收稿日期: 2009-06-01　(解学魁编辑　王奕校对)

文章编号: 1001-0580(2009)11-1317-02　**中图分类号**: R 734.2　**文献标志码**: A　**【专题报道之二】**

肺癌组织中结核杆菌 L - 型感染检测

张淑杰[1],章广玲[1],田艳生[2],熊亚南[1],王梅梅[1]

摘　要: **目的**　检测肺癌组织中结核分枝杆菌 L - 型的感染状况,以分析结核分枝杆菌 L - 型在肺癌形成过程中的作用。**方法**　选择肺癌患者手术切除后经石蜡包埋的组织标本共 102份;采用原位分子杂交技术检测结核分枝杆菌 L型 MPB64基因片段的存在及定位;同时,用抗酸染色法检测标本中的结核分枝杆菌 L - 型。**结果**　原位分子杂交检测石蜡包埋肺组织中 MPB64基因片段, 102份肺癌组织中结核菌阳性 83例,阳性率为 81.4%;染色检测结核 L - 型分枝杆菌,在 102份肺癌组织中阳性 69份,阳性率 67.6%;原位分子杂交 (81.4%)与染色法检出率 (67.6%)比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论**　结核分枝杆菌 L - 型感染在肺癌的形成过程中可能起到一定作用。

关键词: 结核分枝杆菌 L - 型;肺癌;原位杂交

Detection of Mycobacterium **tuberculosis L forms infection in tissues of lung carcinoma**　ZHANG Shu-jie, ZHANG Guang-ling, TIAN Yan-sheng, et al. Department of Biological Science, North China Coal Medical College (Tangshan 063000, China)

Abstract: **Objective**　To determine the incidence, clinic epidemiological characteristics and the roles of Mycobacterium tuberculosis L forms infection in the diffusion and metastasis of lung carcinoma. **Methods**　One hundred and two cases of formalin-fixed and paraffin-embeded tissue samples of surgically resected lung carcinomas were confirmed further by histopathological observation with hematoxylineosin (HE) staining. With MPB64 probe, the target gene and it's location in the tissue samples were detected with in situ hybridization technique. Meanwhile the Mycobacterium tuberculosis L forms in the sample was detected with intensified Kinyoun's acid fast staining. **Results**　MPB64 gene fragment was detected in 83 of 102 lung cancinoma paraffin-embeded tissue (81.4%). Totally 67 Myobacterium taberculosis L forms positive cases were found

作者单位: 1. 华北煤炭医学院生物科学系,河北 唐山 063000; 2. 华北石油总医院检验科
作者简介: 张淑杰 (1953 -),女,河北任丘人,教授,本科,主要从事病原微生物的分子生物学诊断以及病毒与肿瘤的相关性研究。