

错配修复系统缺陷对肿瘤放化疗的影响

郭阳

【摘要】 在肿瘤干细胞和增殖性肿瘤细胞中,广泛存在错配修复(MMR)系统的功能缺失。对于接受化疗的肿瘤,若 MMR 缺失,可导致细胞绕过细胞周期的 G₂S 期循环阻滞,产生对化疗药物的抗性。在临床上,即使是 O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶阴性的胶质瘤细胞也会因 MMR 的缺失,对替莫唑胺产生抗性。对于接受放射治疗的肿瘤,MMR 缺失的作用表现为相互矛盾的两个方面:首先,MMR 缺失可导致肿瘤细胞对辐射抗性的提高,细胞不出现凋亡和自吞噬;另一方面,预先给予放射增敏剂 5-碘-2'-脱氧尿苷(IUdR)等药物后,MMR 的缺失会导致 DNA 中掺杂大量未被修复的 IUdR 等基团,从而提高肿瘤细胞的辐射敏感性。

【关键词】 碱基错配; DNA 修复; 辐射耐受性; 抗药性; 肿瘤

The effect of mismatch repair deficiency on chemotherapy and radiotherapy in tumors GUO Yang.

Department of radiotherapy, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China

【Abstract】 It is very common phenomenon that mismatch repair(MMR) deficiency in various tumors, both stem cells and proliferation cells. With MMR deficiency, the cells treated by chemotherapy drugs passed the G₂S arrest and became resistant to the drugs. In the clinical trial, even in the glioma with negative O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase expression show the resistance to Temozolomide. The MMR deficiency cells treated by radiotherapy show two contradictory behaviors. MMR deficiency enhanced the cells resistance to radiation, for cells show less apoptosis or autophagy. On the other hand, pretreated with radiation enhancer, such as 5-iodo-2'-deoxyuridine(IUdR), resulting in more IUdR-DNA unrepaired cells and increasing the sensitivity to radiation.

【Key words】 Base pair mismatch; DNA repair; Radiation tolerance; Drug resistance, neoplasm

错配修复(mismatch repair, MMR)系统是进化过程中高度保守的系统,研究发现,从酵母到人类的 MMR 同源基因具有高度保守性。MMR 系统能修复细胞中 DNA 的碱基-碱基对的错配,从而消除点突变、插入或删除环突变,达到消除阅读框架位移突变的目的,起到保持基因组稳定的作用。这些突变形式主要出现在 DNA 复制的细胞周期 S 期,因此 MMR 系统可以降低 DNA 复制的错配率。研究表明,MMR 系统在肿瘤的发生、增殖、侵袭、转移、预后、对放化疗反应等方面都起到很重要的作用。

1 MMR

1.1 MMR 过程和信号通路

MMR 过程可分为 3 个亚过程。首先,在真核细胞中, DNA MMR 过程由两个 Mut S(一种 MMR 蛋白)相关蛋白异二聚体所识别,分别为 Mut S α

(Mut S 同源蛋白 2/ Mut S 同源蛋白 6 二聚体)和 Mut S β (Mut S 同源蛋白 2/ Mut S 同源蛋白 3 二聚体),其中, Mut S α 结合到碱基-碱基对错配处和小的插入或删除错配处;而 Mut S β 则主要修复大的插入或删除错配。其次,是错配切除过程,由 Mut L α [Mut L 同源蛋白 1/PMS2(一种 MMR 蛋白)二聚体]或 Mut L β (Mut L 同源蛋白 1/ Mut L 同源蛋白 3 二聚体)分别结合到 Mut S α 上,形成复合物,再募集核酸外切酶 1,切除子代 DNA 的错配,形成 DNA 单链断裂,再由 DNA 多聚酶 δ 在至少另外两种蛋白——增殖细胞核抗原和复制蛋白 A 的存在下,完成 DNA 的重新合成。最后,由 DNA 连接酶完成子代 DNA 链缺口的封闭^[1-2]。在 MMR 系统完整的细胞(正常细胞)中,当错配不能完全修复时,将会启动更进一步的细胞进程,激活 G₂S 期细胞循环阻滞,并激活凋亡和自吞噬这两种细胞程序性死亡形式。有研究表明, P53 蛋白为 MMR 系统下游的自吞噬通路上的关键分子^[3];相反,在 MMR 系统缺陷

的细胞(如肿瘤细胞)中,细胞则通过旁路绕过 G₂/S 期细胞循环阻滞而表现出对化疗药物及辐射的耐受和抵抗^[3-4]。

1.2 MMR 系统与其他修复形式间的关系

对于各种因素导致的 DNA 损伤,细胞自身的修复系统会在损伤出现后被激活,并进行一定程度的修复。各种化疗药物和射线辐射对肿瘤细胞的杀伤作用主要表现为对肿瘤细胞 DNA 的损伤。对各种烷化剂所致的 DNA 烷基化,如 O⁶-烷基鸟嘌呤,细胞主要通过 O⁶-烷基鸟嘌呤-DNA 烷基转移酶进行修复,而对缺乏 O⁶-烷基鸟嘌呤-DNA 烷基转移酶的细胞,则可能通过 MMR 诱导细胞进入凋亡和自吞噬程序^[3]。当伴有 MMR 系统缺陷时,胶质瘤细胞则表现出替莫唑胺抗性^[5-6]。放射治疗通常导致 DNA 双链断裂,而 DNA 双链断裂主要通过非同源重组 DNA 末端连接修复和同源重组修复两种方式来完成。MMR 系统正常时可以阻断同源重组修复,提高肿瘤的辐射敏感性^[37-38]; MMR 系统缺陷时,当 DNA 中掺杂有大量未被修复的 5-碘-2'-脱氧尿苷(5-iodo-2'-deoxyuridine, IUdR)时,肿瘤细胞对辐射的敏感性提高^[9]。另一个重要的 DNA 修复机制是碱基切除修复(base excision repair, BER), Kinsella 等^[10]的研究表明,与 MMR 系统相反,当 BER 系统正常时,放化疗导致的细胞毒性作用减小,而 BER 系统缺陷时,则细胞毒性作用增大。

2 MMR 系统与肿瘤干细胞

2.1 肿瘤干细胞

肿瘤干细胞是肿瘤中具有自身更新能力的克隆源细胞。从肿瘤发生学角度来看,由于正常干细胞中出现 DNA 损伤修复机制的缺失,特别是 MMR 系统缺陷时,正常干细胞的突变得以累积进而发生恶变^[2,10]。肿瘤干细胞中 MMR 功能缺陷,使得肿瘤干细胞在出现 DNA 损伤时,不能激活 P53 蛋白和细胞周期 G₁ 期阻滞,从而不能保障核苷酸切除修复基因 XPB 和 XPD 与 P53 蛋白作用来修复 DNA 损伤,也不能诱导细胞以 P53 蛋白依赖方式发生凋亡^[9]。由于肿瘤干细胞中普遍存在 MMR 功能缺陷,而肿瘤干细胞又是克隆源细胞,逻辑上可以认为,大量的非干细胞性的快速增殖的肿瘤细胞来源于干细胞,其中也会存在大量的 MMR 功能缺陷的细胞,树立这样一个概念对指导临床放化疗工作具有

重要意义。此外,一些研究表明,肿瘤干细胞对放化疗具有抵抗性,该抗性可能来源于干细胞本身或干细胞龛,但是否与 MMR 系统缺陷相关尚缺乏详细的研究和证据^[2,11]。

2.2 肿瘤干细胞中 MMR 系统的调节

肿瘤内存在缺氧区域,有研究表明,缺氧可以诱导干细胞中 MMR 的下调^[1]。干细胞龛的缺氧会导致缺氧诱导因子 1 α 水平的升高,并通过 H3 组蛋白的低乙酰化或高甲基化,使 SP1 (一种转录因子)与 Mut L 同源蛋白 1 和 Mut S 同源蛋白 6 相邻启动子区域的结合力下降,实现 MMR 的下调。这再次表明,即使干细胞内 MMR 基因正常,但由于缺氧等因素,会使 MMR 基因的表达下调。

3 MMR 系统缺陷对放化疗的影响

3.1 对化疗的影响

MMR 功能对化疗的反应可分成两种模式:无效循环(futile cycle)模式和一般损伤传感器(或称为直接通路)模式^[14,12]。这两种模式均与细胞周期 G₂ 检控点阻滞延长的激活以及随后的细胞程序性死亡通路的激活有关。在无效循环模式中,MMR 的惟一功能是 Mut S α /Mut L α /核酸外切酶 1 复合物最终在被化学药物修饰的碱基旁形成 DNA 单链断裂,由于被化学药物修饰的碱基仍在模板链上,需要在重复的(无效)循环中取出被化学药物修饰的错配碱基。这样的无效循环是 G₂ 检控点阻滞和细胞程序性死亡的激活信号,早期经 P53/共济失调毛细血管扩张症 Rad3 相关蛋白/细胞周期检控点激酶 1 通路,晚期经共济失调毛细血管扩张症突变蛋白/细胞周期检控点激酶 2 路径,进入 G₂ 期阻滞^[13]。对于不同药物引起的错配,其修复所经的通路也不同,如对顺铂造成的 DNA 链内交联是通过原癌基因 c-jun 和 c-Abl 激酶路径。在一般损伤传感器(或称为直接通路)模式中,MMR 具有两个独立的功能:一是修复,二是转导 DNA 损伤信号^[14],即通过 Mut S α /Mut L α 复合物识别化学诱导的错配碱基,并将其作为传感器,直接激活 P53/共济失调毛细血管扩张症 Rad3 相关蛋白/细胞周期检控点激酶 1 通路,而无需其他 MMR 过程。在 MMR 系统功能缺陷的肿瘤细胞中,细胞不会出现 MMR 而表现出对化疗药物的耐受或抵抗。

3.2 对放疗的影响

MMR 可以识别辐射导致的 DNA 损伤。在暴露

于急性高剂量率的辐射时,细胞表现出中度细胞毒性;而暴露于长期低剂量率的辐射时,则表现为显著增加的细胞毒性。在这两种辐射方式中,MMR系统正常的细胞均表现出G₂检控点阻滞,由p53-p21通路激活,并导致细胞的凋亡和自吞噬增强;而MMR系统缺陷的细胞则表现出对辐射的抗性^[1]。另一方面,若MMR系统缺陷细胞被预先持续给予放射增敏剂IuDR,当IuDR大量掺杂在DNA中而未修复时,细胞表现出对辐射敏感性的提高^[9]。

4 MMR系统缺陷与肿瘤治疗策略

4.1 针对肿瘤干细胞的策略

在大多数肿瘤中,肿瘤干细胞所占的比例不足1%,通常它们处于静息状态,对常规放化疗具有抗性。要完全杀伤这些干细胞,治疗方式就应特异性地针对其特定通路上的特定靶点。激活或提高MMR基因的表达,有利于提高肿瘤干细胞对放化疗的敏感性^[2]。

4.2 利用MMR系统缺陷的策略

研究表明,利用MMR系统缺陷,将药物前体掺杂到DNA中的方法,不但可以检测到MMR系统缺陷的肿瘤细胞中IuDR等错配碱基数量的持续明显增加,还能检测到此时MMR系统缺陷的肿瘤细胞循环明显快于MMR系统正常的肿瘤细胞,因而其对辐射的敏感性提高^[2,9]。

4.3 联合其他修复方式的策略

如前所述,BER系统与MMR系统相反,当BER系统正常时,放化疗导致的细胞毒性作用减小,而BER系统缺陷时则细胞毒性作用增大。各种BER因子及其下游的激酶抑制剂已用于增加肿瘤细胞对放射治疗和化疗的敏感性^[15]。目前已有研究者提出了兼顾抑制BER系统和MMR系统缺陷的联合放化疗策略,已进行临床试验的有替莫唑胺、甲氧基胺和IuDR三种药物与放射治疗联合治疗恶性脑胶质瘤的方案^[16]。有研究表明,即使是O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶阴性的胶质瘤细胞,也会因MMR系统的缺失而对替莫唑胺产生抗性^[5]。

在探索提高肿瘤对放化疗敏感性的过程中,研究人员发现,DNA修复过程和机制在其中发挥着重要作用,而目前人们对DNA修复过程和机制的认识还相对肤浅,还需要进一步的研究和探索。

参 考 文 献

- [1] Kinsella TJ. Coordination of DNA mismatch repair and base excision repair processing of chemotherapy and radiation damage for targeting resistant cancers. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(6): 1853-1859.
- [2] Vaish M. Mismatch repair deficiencies transforming stem cells into cancer stem cells and therapeutic implications. *Mol Cancer*, 2007, 6: 26.
- [3] Zeng X, Kinsella TJ. A novel role for DNA mismatch repair and the autophagic processing of chemotherapy drug in human tumor cells. *Autophagy*, 2007, 3(4): 368-370.
- [4] O'Brien V, Brown R. Signalling cell cycle arrest and cell death through the MMR system. *Carcinogenesis*, 2006, 27(4): 682-692.
- [5] Yip S, Miao J, Cahill DP, et al. MSH6 mutation arise in glioblastomas during temozolomide therapy and mediated temozolomide resistance. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(14): 4622-4629.
- [6] Hunter C, Smith R, Cahill DP, et al. A hypermutation phenotype and somatic MSH6 mutations in recurrent human malignant gliomas after alkylator chemotherapy. *Cancer Res*, 2006, 66(8): 3987-3991.
- [7] Yan T, Seo Y, Kinsella TJ. Differential cellular responses to prolonged LDR-IR in MLH1-proficient and MLH1-deficient colorectal cancer HCT116 cells. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(22): 6912-6920.
- [8] Shahi A, Lee JH, Kang Y, et al. Mismatch-repair protein MSH6 is associated with Ku70 and regulates DNA double-strand break repair. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(6): 2130-2143.
- [9] Kinsella TJ, Kinsella MT, Seo Y, et al. 5-iodo-2-pyrimidinone-2'-deoxyribose (IPdR)-mediated cytotoxicity and radiosensitization in U87 human glioblastoma xenografts. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007, 69(4): 1254-1261.
- [10] Gerson SL, Reese J, Kenyon J. DNA repair in stem cell maintenance and conversion to cancer stem cells. *Ernst Schering Found Symp Proc*, 2007, 5: 231-244.
- [11] Rodríguez-Jiménez FJ, Moreno-Manzano V, Lucas-Dominquez R, et al. Hypoxia causes downregulation of mismatch repair system and genomic instability in stem cell. *Stem Cells*, 2008, 26(8): 2052-2062.
- [12] Jiricny J. The multifaceted mismatch-repair system. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(5): 335-346.
- [13] Adamson AW, Beardsley DI, Kim WJ, et al. Methylator-induced, mismatch repair-dependent G2 arrest is activated through Chk1 and Chk2. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(3): 1513-1526.
- [14] Yoshioka K, Yoshioka Y, Hsieh P. ATR kinase activation mediated by Mut S α and Mut L α in response to cytotoxic O⁶-methylguanine adducts. *Mol Cell*, 2006, 22(4): 501-510.
- [15] Helleday T, Petermann E, Lundin C, et al. DNA repair pathways as targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(3): 193-204.
- [16] Schulz CA, Mehta MP, Badie B, et al. Continuous 28-days iodo-deoxyuridine infusion and hyperfractionated accelerated radiotherapy for malignant glioma: a phase I clinical study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 59(4): 1107-1115.