

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.22.049

基因的单核苷酸多态性与乳腺癌关系的研究进展*

陈诗哲¹ 马天骏¹ 周文琪¹ 李金明^{2△} 郭艳芳^{2△}

(1 南方医科大学第一临床医学院八年制 广东 广州 510515; 2 南方医科大学基础医学院生物信息学系 广东 广州 510515)

摘要:乳腺癌是女性发病率最高的恶性肿瘤,具有家族聚集性,其发生发展是一个复杂的过程,涉及多种不同基因的相互作用和相互调控。随着基因技术和分子生物技术的飞速发展,许多基因被揭示在乳腺癌的发生发展中起关键作用,如 BRCA、FGFR、ATM、ZNF365、Pokemon 基因等。基于流行病学研究,这些易感基因可被分为高外显率易感基因和低外显率易感基因,其多态性对乳腺癌具有重要的影响。对乳腺癌易感基因的研究有助于阐明乳腺癌的发生机制、发展过程,对其早期诊断、预后判断和良恶性鉴别也有着重要的意义,可为乳腺癌的临床生物基因靶向治疗提供新的靶点和理论基础。本文主要对这些基因的单核苷酸多态性与乳腺癌关系的研究进展进行了综述。

关键词:单核苷酸多态性;乳腺癌;BRCA;FGFR;ATM;ZNF365;Pokemon

中图分类号:R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)22-4382-04

Research Progress on the Correlation of Single Nucleotide Polymorphism of Genes with Breast Cancer*

CHEN Shi-zhe¹, MA Tian-jun¹, ZHOU Wen-qi¹, LI Jin-ming^{2△}, GUO Yan-fang^{2△}

(1 First School of Clinical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510515, China;

2 Department of Bioinformatics, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510515, China)

ABSTRACT: Breast cancer has the highest incidence of female cancers. Breast cancer shows familial aggregation and its development is a complex process, involving the interaction of different genes and their regulation. With the rapid development of gene technology and molecular biological technology, many of the genes were revealed to play a key role in the occurrence of breast cancer, including BRCA, FGFR, ATM, ZNF365, Pokemon gene, etc. Based on the epidemiological studies, the susceptible genes can be divided into high penetrance and low penetrance susceptible genes. Susceptible genes greatly influence the breast cancer. Researches on the identification of susceptibility genes of breast cancer will deeply contribute to clarify its pathogenesis, development, early diagnosis, prognosis, and benign and malignant, and also provide new targets and theoretical basis for the clinical biological gene targeted therapy. Therefore, research on breast cancer susceptible gene is of great significance to the development of medicine, and the susceptible gene detection has received more and more attention of the researchers. This article mainly reviews the correlation of single nucleotide polymorphism of these susceptible genes with breast Cancer.

Key words: SNP; Breast cancer; BRCA; FGFR; ATM; ZNF365; Pokemon

Chinese Library Classification:R737.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)22-4382-04

前言

乳腺癌是危害女性健康的主要恶性肿瘤之一,近年来发病率呈逐年上升趋势,已跃居女性恶性肿瘤的第一位。遗传性乳腺癌约占所有乳腺癌的 5%~10%,具有明显的家族聚集倾向。乳腺癌易感基因的多态性对乳腺癌的发生、发展起到重大作用。单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是指群体中不同个体间同一序列单个核苷酸的差异(转换、颠换、插入或缺失),一般表现为二等位多态性单碱基的颠换、替换。早

在 1996 年,美国学者将 SNP 列为继限制性片段长度多态性和微卫星多态性之后的第三代 DNA 遗传标记^[1]。目前研究显示,包括高表达基因 BRCA(包括 BRCA1 和 BRCA2)、中风险等位基因包括 ATM、CHEK2 和 PALB2 等 27 个基因通过全基因组研究(GWAS)鉴定与乳腺癌相关^[2]。本文主要就这些基因的单核苷酸多态性与乳腺癌关系的研究进展进行了综述。

1 BRCA 基因

BRCA 是一种重要的肿瘤抑制基因,主要负责编码肿瘤抑

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(31371290);广东省高校人才引进专业(粤财字 2011-430)

作者简介:陈诗哲(1991-),女,直博生,主要研究方向:肿瘤遗传,13602479916,Email:chenshizhe09@gmail.com

△ 通讯作者:郭艳芳(guoyanfang@gmail.com),李金明(jmli@smu.edu.cn)

(收稿日期:2014-02-13 接受日期:2014-03-03)

癌蛋白,对肿瘤的生长起到抑制作用,包括 BRCA1、BRCA2 和 BRCA3 三种亚型,具有广泛的生物学功能,主要影响 DNA 的损伤修复以及细胞周期的基因转录和表达的调控。BRCA 基因的突变、启动子甲基化、基因杂合性缺失均与乳腺癌的发生关系密切^[3]。在遗传性乳腺癌家族中,BRCA1 的突变率高达 40% 以上,而其他 40~50% 的遗传性乳腺癌家系则与 BRCA2 基因突变密切相关。有研究显示携带 BRCA1 与 BRCA2 突变的人乳腺癌的患病风险可高达 90%。

1.1 BRCA1

BRCA1 基因是定位于 17 号染色体长臂上的长约 80kb 的 DNA 片段,其编码区长约 5711 bp,共有 24 个外显子,其中 22 个外显子转录产生 7.8 kb 的 mRNA,编码成 1863 个氨基酸组成的蛋白。BRCA1 确切的作用机制尚未完全阐明,但目前的研究表明乳腺癌组织中 BRCA1 蛋白的表达下降,然而 BRCA1 基因突变并不具有普遍性;且乳腺癌组织中 BRCA1 的表达与复发具有负相关性,高表达者具有较长的生存期。BRCA1 蛋白也具有细胞定位的差异,其在良性乳腺组织中主要分布在细胞核,而在癌组织中细胞质也可见清晰的表达^[4]。

BRCA1 基因主要对 DNA 损伤修复、调节人体细胞复制、参与蛋白质泛素化以及基因的转录调控有重要作用,影响细胞的正常生长、增生和分化。当前大量的研究关注的是其 DNA 损伤修复和转录调控功能。BRCA1 通过两条途径调节转录活性,包括磷酸化-去磷酸化和蛋白质-蛋白质相互作用。同时,研究显示 BRCA1 作为细胞周期负调控子的作用相当重要,且与 DNA 修复密切相关^[5]。研究证实 BRCA1 具有典型的等级相关性,其在组织中的表达随着组织的异常增殖而减少,即正常上皮>增生上皮>异常增生上皮>癌组织^[6]。BRCA1 作为重要的抑癌基因,其突变使抑癌功能减弱或消失,可导致乳腺上皮在各种原因的综合作用下发生乳腺癌。BRCA1 可抑制细胞增殖、分裂,并诱发细胞凋亡,而其抑癌功能的实现则是通过以下两条途径:一是 E2F 转录因子的作用,二是细胞周期蛋白 CDKs 复合物的磷酸化。

1.2 BRCA2

BRCA2 基因是定位于 13 号染色体长臂长约 70kb 的 DNA 片段,其中 10987bp 为编码区,共 27 个外显子转录产生 10kb mRNA,编码由 3418 个氨基酸组成的蛋白质。BRCA2 通过抑制 P53 的作用在基因转录水平调节其基因表达,对调节细胞周期具有重要作用;BRCA2 亦具有 DNA 损伤修复功能,主要通过同源重组途径实现^[3]。BRCA2 与新中心粒相关蛋白(centrobin)间存在体内和体外结合,外源表达 BRCA2 定位于中心体,在有丝分裂各时相新中心粒相关蛋白均定位于中心体。BRCA2 与新中心粒相关蛋白在体内形成复合物,并存在直接物理结合作用,二者存在细胞空间定位的一致性^[7]。BRCA2 在转录调节中的作用与 BRCA1 相反,在 DNA 的损伤修复过程中,BRCA2 可以通过增加 DNA 修复蛋白 RAD51 核蛋白亚基结合形成复合物进而影响其同源 DNA 的配对以及体外重组反应的 DNA 链交换^[8]。

2 P53 基因

P53 基因位于人类第 17 号染色体断臂上,DNA 基因组长

16~20 kb,包含 11 个外显子和 10 个内含子,但不具有常见的启动序列包括 CAAT 盒、TATA 盒和 GC 盒,其转录的 mRNA 长约 2.5 kb,编码的蛋白质含有 393 个氨基酸。P53 基因是乳腺癌重要的抑癌基因,在抑制乳腺癌的发生中扮演着重要的角色。P53 蛋白的主要功能包括阻滞细胞周期、活化 DNA 修复蛋白、诱导细胞凋亡和维持基因组的稳定性,以达到避免受损 DNA 累积、细胞分化和衰老的调控和抑制肿瘤血管生成的目的。研究显示,P53 可通过 P53-VEGF 通路调节肿瘤内微血管密度(MVD),进而影响肿瘤生长和肿瘤淋巴转移^[9]。同时,P53 基因的表达水平对乳腺癌预后的判断也有极其重要的作用。首先,P53 基因既可以直接用于判断乳腺癌预后,也可以与其他基因联合作为乳腺癌预后判断的标志。其次,P53 基因的表达有助于鉴别诊断乳腺良、恶性病变:P53 基因表达水平与乳腺癌分化程度呈负相关,而与淋巴结转移呈正相关。

3 FGFR 基因

成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptors,FGFR)家族是一类新的受体激酶家族,包括四种密切相关的基因所编码的四种受体亚型(FGFR-1,2,3 和 4)及一些异构分子,其中 FGFR1 和 FGFR2 与乳腺癌关系较为密切。

3.1 FGFR1

FGFR1 基因编码一种酪氨酸激酶受体家族蛋白,包括部分成纤维细胞生长因子和生长因子受体。大量研究表明在多种肿瘤中均可检测到 FGFR1 的过表达。近年研究显示在部分乳腺癌中也检测到 FGFR1 的过度表达。如 Garcia 等^[10]研究发现 FGFR1 蛋白及 FGFR1 mRNA 的过表达与基因扩增相比更为普遍。此外,有研究发现,在约 10% 的乳腺癌中 FGFR1 呈过表达,并与预后不良紧密相关,且 FGFR1 扩增的细胞株可增加内分泌治疗抵抗的发生^[11]。研究已证实 FGFR1 表达在乳腺发育及乳腺癌发生中起到重要作用^[12],而 FGFR1 过度表达具有致癌性。

3.2 FGFR2

FGFR2 基因编码跨膜酪氨酸激酶,对细胞生长、侵袭和血管生成等方面影响重大。FGFR2 与多种肿瘤有关,如乳腺癌、肾癌等。FGFR2 在乳腺肿瘤中出现扩增或过度表达,在乳腺上皮细胞中可能是依赖于基因的不同剪接形式的平衡途径来激活 FGFR2 的特异性。已有研究表明 FGFR2 在人类乳腺癌的 ER 阳性肿瘤中表达增高。然而,FGFR2 基因作为乳腺癌风险因子的确切机制尚未阐明。

4 ATM 基因

ATM 基因位于人类染色体 11q22q23,全长 150 kb,含有 66 个外显子,在许多组织中常常表达一个 13 kb 的转录本,整个基因编码一个 350kDa 的蛋白质,包含 3056 个氨基酸^[13]。ATM 基因的主要功能区为磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K),位于 ATM 蛋白 C 末端,主要参与细胞周期的调控、DNA 损伤识别和修复、修复编码蛋白、同时还具有检查细胞周期信号,调节转录以及活化细胞凋亡的作用。在正常情况下,ATM 在乳腺导管上皮细胞表达,而在肌上皮细胞不表达;而当乳腺发生异常,ATM 蛋白则在乳腺导管上皮细胞和肌上皮细胞中均

表达。研究表明 ATM 杂合子可以增加 2~5 倍的患乳腺癌风险^[13]。

5 ZNF365 基因

研究表明,基因组的稳定性是 P53 通过激活 ZNF365 来维持的。由于 ZNF365 缺陷型细胞的 DNA 复制不完全,染色体无法平均分配,导致细胞分裂发生异常。ZNF365 缺乏会导致染色体数异常(非整倍体),这种现象与包括癌症在内的多种疾病有关。Paik 等的研究首次揭示了 p53-ZNF365-端粒通路的分子机制,这一通路发生异常会增加癌症的患病风险,对这一通路的进一步解析,有望为癌症治疗提供新的途径^[14]。

研究人员采用 TCGA (Cancer Genome Atlas) 的数据在 49 例三阴性乳腺癌 TNBC 和 300 例非三阴性乳腺癌中比较了 ZNF365 的表达情况,结果显示三阴性乳腺癌中 ZNF365 的表达量最低,而在非三阴性乳腺癌中 ZNF365 表达量较高^[15]。同时,对 TCGA 中的 2978 名患者的数据进行分析,发现 ZNF365 高表达的患者生存优势高 26%。随后,研究人员利用组织芯片检测了 18 例正常乳腺组织、141 例三阴性乳腺癌和 145 例非三阴性乳腺癌的样本,结果显示 ZNF365 存在于正常的乳腺组织和非三阴性乳腺癌样本,但在三阴性乳腺癌样本中 ZNF365 的表达显著下降^[15]。ZNF365 在不同类型的乳腺癌中的表达不同,而 ZNF365 的表达情况与患者的预后有关,因而可以在这一指标的基础上对患者进行个性化的治疗。

6 Pokemon 基因

Pokemon 基因(POK 红系髓性致癌因子)是肿瘤抑制因子 POK 家族成员之一,其基因定位于人类染色体的 19p 13.3 区域,包含 2 个外显子和 2 个内含子,其编码的产物同时具有位于 N 末端的 BTB/POZ 域和 C 末端的 Kruppel 型锌指结构,两者均是 DNA 结合区域,可通过招募转录辅阻遏物起到转录抑制作用,并在结合区域结合 DNA,对 DNA 的修饰和重组起到重要作用。Pokemon 蛋白可以在调节生物体发育和肿瘤发展中发挥重要作用正是取决于它的这种特殊结构^[16,17]。迄今为止,在人类基因中发现的 Pokemon 蛋白已超过 40 种。

Maeda^[18]在《Nature》发表了的文章明确指出 pokemon 基因可以通过特异性地抑制 P14^{ARF} 基因作用于 ARF/P53 通路,减弱其抑癌作用,从而促进肿瘤的发生发展。POK 蛋白通过 BTB/POZ 结合域形成异/同型二聚体,与 Bcl-6 共同作用于淋巴组织的生发中心,导致淋巴瘤的产生。

研究显示在不同组织的细胞核中 Pokemon 蛋白的表达率不同:乳腺癌组织>正常乳腺组织,乳腺癌伴腋窝淋巴转移组织>一般乳腺癌组织,提示 Pokemon 基因在乳腺癌演变过程中发挥重要作用且与腋窝淋巴转移密切相关^[19],也表明 Pokemon 基因的激活是乳腺癌发生过程中的重要分子事件。

研究利用免疫组织化学 SP 法检测乳腺癌组织和正常乳腺组织中 Pokemon 蛋白和 MDM2 蛋白的表达水平并分析其关联性,结果显示 Pokemon 蛋白和 MDM2 蛋白的表达与乳腺癌腋窝淋巴转移相关,提示 Pokemon 与 MDM2 可能共同参与乳腺癌的发生、发展和转移^[20],但 Pokemon 蛋白与乳腺癌患者的年龄、肿瘤大小、肿瘤的分期、预后生存均无关。

7 结语

随着乳腺癌发病率的逐年升高,其对女性的危害越来越受到人们的重视,针对其易感基因的研究也越来越受到关注。虽然乳腺癌中只有 5~10%属于遗传性乳腺癌,但乳腺癌患者的一级亲属较一般人群的患病风险高 2 倍,这不仅仅依靠高外显率突变基因来解释,还有许多低外显率基因的变化对乳腺癌有着重要的影响。通过对这些易感基因的研究能够全面阐述乳腺癌的发病机制、遗传机制以及对乳腺癌患者危险性进行准确评估,并且为乳腺癌的早期发现、有效治疗和早期预防提供理论基础。

参考文献(References)

- [1] Martin DB, Nelson PS. From genomics to proteomics: techniques and applications in cancer research [J]. Trends Cell Biol, 2001, 11(11): S60-65
- [2] Michailidou K, Hall P, Gonzalez-Neira A, et al. Large-scale genotyping identifies 41 new loci associated with breast cancer risk [J]. Nat Genet, 2013, 45(4): 353-361, 361e1-2
- [3] Bernstein JL, Thomas DC, Shore RE, et al. WECARE Study Collaborative Group. Contralateral breast cancer after radiotherapy among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a WECARE study report[J]. Eur J Cancer, 2013, 49(14): 2979-2985
- [4] Bosviel R, Durif J, Déchelotte P, et al. Epigenetic modulation of BRCA1 and BRCA2 gene expression by equol in breast cancer cell lines[J]. Br J Nutr, 2012, 108(7): 1187-1193
- [5] Metcalfe KA, Finch A, Poll A, et al. Breast cancer risks in women with a family history of breast or ovarian cancer who have tested negative for a BRCA1 or BRCA2 mutation [J]. Br J Cancer, 2009, 100(2): 421-425
- [6] Fackenthal JD, Zhang J, Zhang B, et al. High prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in unselected Nigerian breast cancer patients [J]. Int J Cancer, 2012, 131(5): 1114-1123
- [7] Liska F, Gosele C, Popova E, et al. Overexpression of full-length centrobins rescues limb malformation but not misexpression and clinical significance of pSTAT3, VEGF and VEGF-C in pancreatic ale fertility of the hypodactylous (hd) rats [J]. PLoS One, 2013, 8(4): e60859
- [8] Baumann P, Benson FE, West SC. Human Rad51 protein promotes ATP-dependent homologous pairing and strand transfer reactions in vitro[J]. Cell, 1996, 87(4): 757-766
- [9] Huang C, Huang R, Chang W, et al. The adenocarcinoma [J]. Neoplasma, 2012, 59(1): 52-61
- [10] Garcia M, Pole JC, Chin SF, et al. A 1 Mb minimal amplicon at 8p11-12 in breast cancer identifies new candidate oncogenes [J]. Oncogene, 2005, 24(33): 5235-5245
- [11] Turner N, Pearson A, Sharpe R, et al. FGFR1 amplification drives endocrine therapy resistance and is a therapeutic target in breast cancer[J]. Cancer Res, 2010, 70(5): 2085-2094
- [12] Xian W, Schwertfeger KL, Vargo-Gogola T, Rosen JM. Pleiotropic effects of FGFR1 on cell proliferation, survival, and migration in a 3D mammary epithelial cell model [J]. J Cell Biol, 2005, 171(4): 663-673

- [13] Ahmed M, Rahman N. ATM and breast cancer susceptibility [J]. *Oncogene*, 2006, 25(43): 5906-5911
- [14] Zhang Y, Shin SJ, Liu D, et al. Protopopov A, Depinho RA, Paik JH. ZNF365 promotes stability of fragile sites and telomeres [J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(7): 798-811
- [15] Zhang Y, Park E, Kim CS et al. ZNF365 promotes stalled replication forks recovery to maintain genome stability [J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(17):2817-2828
- [16] Melnick A, Carlile G, Ahmad KF, et al. Critical residues within the BTB domain of PLZF and Bcl-6 modulate interaction with corepressors[J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(6): 1804-1818
- [17] Laudes M, Bilkovski R, Oberhauser F, et al. Transcription factor FBI-1 acts as a dual regulator in adipogenesis by coordinated regulation of cyclin-A and E2F-4[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2008, 86(5): 597-608
- [18] Maeda T, Hobbs RM, Pandolfi PP, The transcription factor Pokemon: a new key player in cancer pathogenesis[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(19): 8575-8578
- [19] Aggarwal A, Hunter WJ 3rd, Aggarwal H, et al. Expression of leukemia/lymphoma-related factor (LRF/POKEMON) in human breast carcinoma and other cancers [J]. *Exp Mol Pathol*, 2010, 89(2): 140-148
- [20] Turkoz FP, Solak M, Petekkaya I, et al. Association between common risk factors and molecular subtypes in breast cancer patients [J]. *Breast*, 2013, 22(3): 344-350

(上接第 4376 页)

- [16] Ma L, Zhu Z, Zhao Y, et al. Cannabinoid receptor type 2 activation yields delayed tolerance to focal cerebral ischemia[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2011, 8(2): 145-152
- [17] Torres E, Gutierrez-Lopez M D, Borcel E, et al. Evidence that MDMA ('ecstasy') increases cannabinoid CB2 receptor expression in microglial cells: role in the neuroinflammatory response in rat brain [J]. *J Neurochem*, 2010, 113(1): 67-78
- [18] Ashton J C, Rahman R M, Nair S M, et al. Cerebral hypoxia-ischemia and middle cerebral artery occlusion induce expression of the cannabinoid CB2 receptor in the brain [J]. *Neurosci Lett*, 2007, 412(2): 114-117
- [19] Hermann H, Marsicano G, Lutz B. Coexpression of the cannabinoid receptor type 1 with dopamine and serotonin receptors in distinct neuronal subpopulations of the adult mouse forebrain [J]. *Neuroscience*, 2002, 109(3): 451-460
- [20] Pisani A, Fezza F, Galati S, et al. High endogenous cannabinoid levels in the cerebrospinal fluid of untreated Parkinson's disease patients[J]. *Ann Neurol*, 2005, 57(5): 777-779
- [21] Lastres-Becker I, Cebeira M, de Ceballos M L, et al. Increased cannabinoid CB1 receptor binding and activation of GTP-binding proteins in the basal ganglia of patients with Parkinson's syndrome and of MPTP-treated marmosets [J]. *Eur J Neurosci*, 2001, 14(11): 1827-1832
- [22] Romero J, Berrendero F, Perez-Rosado A, et al. Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of nigrostriatal dopaminergic neurons increased CB1 receptor mRNA levels in the caudate-putamen[J]. *Life Sci*, 2000, 66(6): 485-494
- [23] Zeng B Y, Dass B, Owen A, et al. Chronic L-DOPA treatment increases striatal cannabinoid CB1 receptor mRNA expression in 6-hydroxydopamine-lesioned rats [J]. *Neurosci Lett*, 1999, 276(2): 71-74
- [24] Giuffrida A, Parsons L H, Kerr T M, et al. Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum [J]. *Nat Neurosci*, 1999, 2(4): 358-363
- [25] Cao X, Liang L, Hadcock J R, et al. Blockade of cannabinoid type 1 receptors augments the antiparkinsonian action of levodopa without affecting dyskinesias in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated rhesus monkeys[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 323(1): 318-326
- [26] van der Stelt M, Fox S H, Hill M, et al. A role for endocannabinoids in the generation of parkinsonism and levodopa-induced dyskinesia in MPTP-lesioned non-human primate models of Parkinson's disease[J]. *FASEB J*, 2005, 19(9): 1140-1142
- [27] Kelsey J E, Harris O, Cassin J. The CB (1) antagonist rimonabant is adjunctively therapeutic as well as monotherapeutic in an animal model of Parkinson's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2009, 203(2): 304-307
- [28] Morgese M G, Cassano T, Gaetani S, et al. Neurochemical changes in the striatum of dyskinetic rats after administration of the cannabinoid agonist WIN55,212-2[J]. *Neurochem Int*, 2009, 54(1): 56-64
- [29] Sieradzan K A, Fox S H, Hill M, et al. Cannabinoids reduce levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease: a pilot study[J]. *Neurology*, 2001, 57(11): 2108-2111
- [30] Carroll C B, Bain P G, Teare L, et al. Cannabis for dyskinesia in Parkinson disease: a randomized double-blind crossover study [J]. *Neurology*, 2004, 63(7): 1245-1250