

[文章编号] 1000-4718(2007)07-1446-05

线粒体 DNA 氧化损伤与肿瘤发生*

吴清华, 翟心慧[△]

(河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453007)

Correlation between oxidative injury of mitochondrial DNA and tumorigenesis

WU Qing-hua, ZHAI Xin-hui

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China.)

E-mail: zhaixinhui@henannu.edu.cn

[A Review] Mitochondrial DNA lies in the very position that reactive oxygen species (ROS) functions most frequently, and is the main target of ROS attack. Data showed that oxidative injury and mutations of mitochondrial DNA could be found over 90% of tumors. Mitochondrial DNA is prone to suffering from extensive oxidative injury, and the consequent mutations are likely to induce tumorigenesis. The correlation between oxidative injury of mitochondrial DNA and tumorigenesis has become one of the new tendencies of probing into the mechanisms of tumorigenesis. Here we introduce the development in this research.

[关键词] DNA, 线粒体; 氧化损伤; 肿瘤

[KEY WORDS] DNA, mitochondrial; Oxidative injury; Neoplasms

[中图分类号] R363 [文献标识码] A

线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 是哺乳动物细胞内唯一的核外遗传物质。1981 年 Anderson 等首次在《Nature》上公布了人类 mtDNA 基因组的全部核苷酸序列, 并绘制了详细的功能图谱。每个细胞内含有数个到上万个不等的线粒体, 而每个线粒体内含有数个到数十个不等的 mtDNA 分子。研究表明^[1], mtDNA 氧化损伤可能与人类衰老、神经退行性疾病、糖尿病以及肿瘤等疾病的发生有关。

线粒体电子传递链 (mitochondrial electron transport chain, METC) 是体内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的主要来源, ROS 对生物大分子 (特别是 DNA) 的氧化损伤被认为是启动和促进肿瘤发生的最重要因素^[2]。ROS 是指机体内或者自然环境中由氧组成、含氧并且性质活泼的物质的总称, 对正常生命活动的许多重要反应必不可少, 它参与多种生物活性物质的合成、解毒反应、吞噬细胞杀灭细菌等过程。但若 ROS 的产生与消解平衡严重失调, 则会导致广泛的损伤效应, 引起生物膜、蛋白质和核酸等生物大分子结构和功能的改变, DNA 损伤可能诱发细胞突变, 未修复或修复有误的突变可能导致肿瘤的发生。研究表明在衰老过程中发生的 DNA 氧化损

伤, 主要蓄积在 mtDNA。本文就 mtDNA 氧化损伤及其突变在肿瘤发生中的地位及作用机制进行综述。

1 mtDNA 概述

人类 mtDNA 是一长度为 16 569bp 的双链闭环分子, 两条链的碱基组成明显不同, 重链 (H) 含有较多的鸟嘌呤 (G), 而轻链 (L) 则含较多的胞嘧啶 (C)。每个 mtDNA 分子编码 13 个多肽编码基因、22 个 tRNA 基因和 2 个 rRNA 基因。这些基因紧密排列, 没有内含子, 某些基因可相互重叠, 几乎每个碱基都用于组建基因。除 ATPase6 和细胞色素氧化酶亚单位 (Cox) 基因是连续的外, 其余至少有 1 个 tRNA 基因将相邻的两个基因分开。mtDNA 每条链各自有自己的启动子。D 环 (D-loop) 是 mtDNA 的主要非编码区, 含有轻链和重链的复制起始点及启动子, 对 mtDNA 的转录和复制起调控作用^[3]。

2 mtDNA 易受氧化损伤的结构基础

mtDNA 编码与线粒体呼吸链有关的氧化磷酸化酶亚单位。与核 DNA (nDNA) 相比, mtDNA 具有以下几个方面的特征^[4,5]: ①分子量小; ②几乎不受 DNA 结合蛋白的保护; ③整个细胞周期过程中, mtDNA 的合成始终活跃, 复制频率和次数较 nDNA 高;

[收稿日期] 2005-09-26 [修回日期] 2005-12-28

* [基金项目] 河南省动物学省级重点学科基金资助项目

△通讯作者 Tel: 0373-3326340; E-mail: zhaixinhui@henannu.edu.cn

④易受外来因素的攻击而发生损伤,且受损伤后缺乏有效的修复;⑤母系遗传,子代的线粒体基因几乎全部来自母亲,遗传性状稳定;⑥复制时为不对称状态,出现的单链 DNA 有自发的脱氨基效应。

3 mtDNA 氧化损伤

由于线粒体具有有氧呼吸之特殊功能,人体内 90% 以上的氧消耗直接与线粒体呼吸链相联系,其产生的 ROS 占机体 ROS 总量的 90% 以上^[6],是人体内 ROS 产生的主要场所。正常生理情况下,机体自身的防御系统如抗氧化酶系统等,可将这些 ROS 及时清除。但在 ROS 产生过多或抗氧化防御系统作用减弱时,线粒体内 ROS 不能有效地清除而累积,使暴露在其中的 mtDNA 由于缺乏组蛋白的保护和有效的修复系统等原因,更易受线粒体膜内侧所产生的 ROS 的损害。ROS 在分子水平对细胞的损伤主要表现为 mtDNA 核酸片段缺失、碱基修饰、插入突变等,其中以核酸片段缺失最常见。

缺失突变型 mtDNA 比完整的野生型 mtDNA 长度小,其复制速度快,具有增殖优势,所占比例呈渐进性累积增加。mtDNA 具有遗传异质性,当发生突变时细胞内可同时存在野生型和突变型两种类型的 mtDNA。缺失突变型 mtDNA 的表型表达具有阈值效应,当发生突变的 mtDNA 累积到阈值以上,就可导致氧化磷酸化与呼吸链有关的酶的活性部分或全部丧失,造成呼吸链氧化磷酸化功能异常^[7]。同时由于异常的氧化磷酸化(OXPPOS),呼吸链上的电子漏增加,改变了电子载体的氧化还原电位,ROS 的产生进一步增多,更加重了 mtDNA 的氧化损伤。

4 活性氧致 mtDNA 氧化损伤机制

在活性氧致 mtDNA 的氧化损伤过程中,活性氧

可使 mtDNA 的碱基和脱氧核糖发生化学变化,引起碱基改变、破坏或脱落,脱氧核糖分解,磷酸二酯键断裂以及 mtDNA 核苷酸链的单链和双链断裂, mtDNA 同一条链内和相邻两条链间核苷酸可能发生链内交联与链间交联。

4.1 ·OH 在 ROS 中,·OH 因其化学性质最活泼,能在产生部位与其它物质发生连锁反应,被认为是引起 mtDNA 氧化损伤的直接因素之一。

①·OH 可致碱基损伤 ·OH 与 mtDNA 碱基的反应类型主要为加成、氢抽提和电子转移。

·OH 攻击嘌呤碱基时,在嘌呤碱基的 C₄、C₅ 和 C₈ 位加成^[8]。攻击嘧啶时在嘧啶碱基的 C₅ 和 C₆ 位加成,分别生成 C₅-OH 和 C₆-OH 加合物自由基。有氧存在时,O 原子可加入到 C₅-OH 胸腺嘧啶加合物自由基上形成氢过氧化物,逐步生成 5-羟甲基尿嘧啶。而在胞嘧啶的 C₅-OH 加合物自由基经过脱水和脱氨基后的产物是唯一的,最后生成 5-羟甲基尿嘧啶(5-hydroxyuracil, 5-OH-Ura)。

抽氢反应发生在胸腺嘧啶的甲基基团和脱氧核糖的 C 原子上,5 个 C 原子发生抽氢反应的机率是一致的。胸腺嘧啶烯丙基自由基是氢抽提产物,氧化后生成 5-羟甲基尿嘧啶和 5-甲醛基尿嘧啶。

在碱基损伤产物中,2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidine 和 8-hydroxy-guanine 是 8-OH 加合物自由基的还原和氧化产物。C₈-OH 加合物自由基上一个电子氧化和一个电子被还原,分别生成 8-羟基鸟嘌呤和甲酰氨基嘧啶。其反应机制如图 1 所示。

②·OH 可致 mtDNA 链的断裂 mtDNA 链的断裂分为单链断裂和双链断裂。发生 mtDNA 链断裂主要

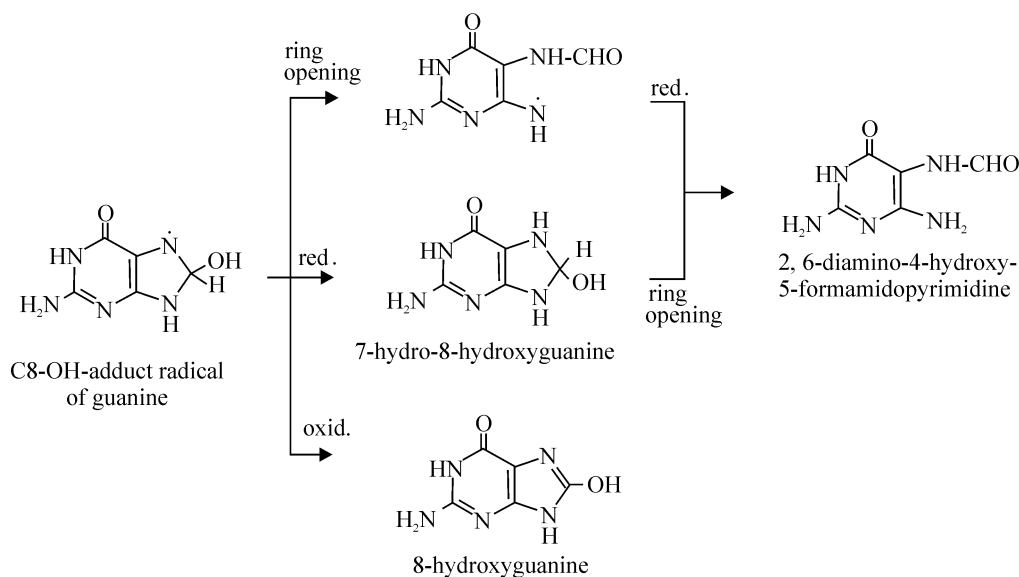


Fig 1 The mechanism of formation of guanine products from the C₈-OH adduct radical, which is formed by attack of ·OH to the C₈-position of guanine (cited from Dizdaroglu M, et al^[8]).

图 1 鸟嘌呤 C₈-OH 加合物自由基的氧化还原产物的反应机制

是·OH攻击下脱氧核糖遭到破坏,磷酸二酯键的断裂或碱基的破坏或脱落。

4.2 H_2O_2 、 O_2^- 和 1O_2 通常情况下, O_2^- 与 H_2O_2 的化学活性不足以直接损伤 mtDNA 分子,而·OH化学活性很强,但其寿命极短,只能在产生部位发挥作用,也即只有紧邻 mtDNA 分子处产生的·OH才有可能损伤 mtDNA。

H_2O_2 是一种典型的化学诱变剂,通过过渡金属离子参与的 Haber - Weiss Fenton 反应而产生·OH,后者进攻 mtDNA 分子导致单链断裂(SSB)、双链断裂(DSB)以及碱基损伤。1894年,Fenton 发现在 H_2O_2 对酒石酸的氧化过程中, Fe^{2+} 可以大大提高反应速率,后经顺磁共振实验(ESR)证实在此反应体系中,·OH是实际的氧化中间体。 H_2O_2 能在金属离子所在部位产生·OH,从而造成 mtDNA 的损伤,而且由于·OH产生较为集中,其攻击点会涉及 mtDNA 的双链,易发生双链断裂。当金属离子不在 mtDNA 分子内,则 H_2O_2 对 mtDNA 的作用,只能在金属离子所在部位产生·OH,而且只能是任意攻击性,即可能不发生损伤。生理情况下,常为任意攻击性。这与金属离子活化 H_2O_2 的能力(Fenton 和类 Fenton 反应)、金属离子与 mtDNA 分子的亲和力^[9]有关。

O_2^- 虽不能直接导致 mtDNA 损伤,但可与 NO 反应产生的 ONOO⁻ 对 mtDNA 产生损伤。ONOO⁻ 对 mtDNA 的损伤有 3 种机制^[10]:即改变 mtDNA 的结构,抑制 mtDNA 的修复和增高危害基因物质的产量。其中改变 mtDNA 的结构主要包括单链断裂和脱氨后引起的碱基结构的改变,如腺嘌呤变为次黄嘌呤,甲基胞嘧啶转变为胸腺嘧啶等。

另外,ONOO⁻ 可能与 H_2O_2 形成 1O_2 。 1O_2 可以氧化 mtDNA 的鸟嘌呤并可以使 mtDNA 脱氨基并诱导其突变,并增强线粒体氧化应激及细胞对过氧化物介导损伤的敏感性。上述这些 ROS 对 mtDNA 的氧化损伤机理仍需进一步研究。

4.3 脂质过氧化 Nakayama 等发现 α -生育酚通过将氢给予脂质自由基而抑制 DNA 自由基的形成,可以阻止甲基亚麻酸过氧化氢(methyl linoleate hydroperoxide)诱导 DNA 损伤。Arai 等^[11]观察到:使脂质自由基失活的抗氧化剂 α -生育酚可同时阻止脂质过氧化和 DNA 损伤;作为 H_2O_2 、·OH清除剂的 SOD、CAT 和甘露醇却无此保护作用。另一具有高度膜通透性的 ROS 清除剂二甲基亚砷,也不具有阻止脂质过氧化和 DNA 损伤作用。可以推测脂质过氧化过程中产生的 LO·、LOO·等自由基可以发挥类似·OH攻击 mtDNA 的作用,有关研究尚需进一步进行。

5 mtDNA 氧化损伤诱发肿瘤的可能机制

mtDNA 氧化损伤引起 mtDNA 突变,主要表现为

碱基损伤、DNA 链断裂和 DNA 片段缺失,在肝、胃、结肠、乳腺、卵巢等处的恶性肿瘤中都发现了这些 mtDNA 突变,这可能与肿瘤的发生有关。

5.1 mtDNA 碱基改变 线粒体基因编码区的突变能直接影响 METC 的氧化磷酸化作用而促进肿瘤发生。Parrella 等^[12]对 18 份乳腺癌组织作了 mtDNA 全基因组测序,发现 12 个 mtDNA 突变存在于 11 例肿瘤中,其中 7 例(58%)是 ND1、ND4、ND5 和 Cytb 编码区的单碱基替换,5 例是 D-loop 区 305-315 位点插入或缺失。蛋白质测序发现,编码区突变者中的 3 例(25%)引起氨基酸残基的改变。可以推测编码区的 mtDNA 突变不断积累,产生异常的 RNA 及蛋白质产物-与氧化磷酸化(OXPHOS)有关的一些酶类。这些功能异常的酶又反作用于 OXPHOS,激活一系列导致 ROS 升高的反应,继而引发更多的突变,造成 ROS 的大量产生及 ATP 水平下降,与 mtDNA 突变之间形成了恶性循环,促进了肿瘤的发生与发展。

D-loop 区是 mtDNA 转录调控位点,为 mtDNA 突变的热点区域^[13]。D-loop 区突变可能改变 mtDNA 的转录和蛋白质生成;也可能改变该区与 mtDNA 复制相关的反式作用因子的亲和力,从而影响 mtDNA 的复制,最终影响线粒体氧化磷酸化系统,导致细胞的氧化应激而诱发肿瘤。肝癌^[14]、前列腺癌^[14]等多种肿瘤组织中都发现了 D-loop 区突变。

现在已知的肿瘤 mtDNA 突变大部分为 T:C 或 G:A 的碱基替换,这种碱基替换已证实为高浓度的 ROS 的氧化损伤所导致,包括基因编码区与 D-loop 区。可能 mtDNA 突变导致 ROS 产生增加;而 ROS 的增加又加剧了 mtDNA 突变,进一步增加 ROS 产生,从而造成线粒体内持续的氧化应激环境,促使肿瘤发生。但 D-loop 区突变与基因编码区突变之间并无明显相关性^[15]。

5.2 线粒体基因组 D 环微卫星不稳定 微卫星不稳定(MSI)是核基因组的不稳定性(NGI)中最常见且仅在肿瘤组织中发生的事件。由于氧化损伤,线粒体基因组也可能会出现 D 环微卫星不稳定性(mt-MSI)^[16]。Habano 等报道了结肠直肠癌患者中 mt-MSI,用 PCR-SSCP 检测 45 对结肠癌和正常组织 mtDNA 突变时发现 20/45(44%)存在 D 环(C)_n 和 (CA)_n 微卫星不稳定。Sanchez-Céspedes 等对肺癌细胞及肺癌组织 mtDNA D-loop 区的 303-309(C7)核苷酸位点微卫星长度不稳定性研究发现,28 个肺癌细胞系中有 17 个细胞系(61%)表现为微卫星长度增加。

目前在胃癌、口腔癌、子宫内膜癌^[16]、甲状腺癌等肿瘤组织中都检测到 mtMSI,其中以 D310 区、D568 区和 D514 区不稳定最常见^[13,17],并且发现 mt-

MSI 与肿瘤的组织类型和分化程度无关^[18],并非肿瘤细胞恶性转化的标志^[17]。mtMSI 可能通过影响 mtDNA 复制或使肿瘤细胞获得选择性生长优势而促进肿瘤发生。可能与 DNA 聚合酶 γ 复制忠实性低有关。

5.3 转录及表达水平异常 由于氧化损伤,mtDNA 编码区常出现转录水平增高,而 ROS 可以影响 mtDNA 的表达^[19]。但是出现转录及表达水平改变的基因并不完全相同。在结肠癌组织中仅发现 ND2 表达增加,而在鼠肝癌细胞中 ND2、ND5、Cox I、Cox II 及 16S rRNA 的转录水平都增高,其中 ND5 的表达升高可能有利于肿瘤转移、Cox II 的表达可能影响细胞分化。Wang 等^[20]提出 mtDNA 转录水平增高可使细胞凋亡降低,可能与其诱发肿瘤有关。

5.4 mtDNA 片段缺失 mtDNA 氧化损伤最常见的就是核酸片段缺失。缺失长度从几十个碱基到上千个碱基不等,如在胸腺癌中存在 mtDNA 4 977 bp 大片段的缺失^[21],在胃癌中也发现 D-loop 区 50 bp 片段的缺失^[15]。并且研究发现在甲状腺 Hurthle 肿瘤中 mtDNA 缺失的发生与 D-loop 区突变相关^[22]。mtDNA 缺失随着细胞分裂而进入子代细胞以及在细胞中的累积将会严重损伤线粒体功能,进而促使肿瘤发生。

5.5 mtDNA 与 nDNA 的随机整合

① mtDNA 受氧化损伤后可进入核内 mtDNA 受氧化损伤后,可能在细胞质内产生游离的 mtDNA 或 mtDNA 片段,如果这种游离的 mtDNA 或 mtDNA 片段产生过多且 mtDNA 的降解失调则游离的 mtDNA 或 mtDNA 片段有可能穿过核孔,随机整合到核基因组中,类似致癌病毒。

② mtDNA 可以整合到核基因组 研究表明,mtDNA 可以整合到核基因组中^[23]。Shay 等发现 mtDNA 细胞色素 C 氧化酶亚单位 (Cox) 可以在 HeLa 肿瘤细胞 C-myc 基因组内整合。整合的结果使细胞产生了融合的 mRNA,这条 mRNA 含有来自 C-myc 及 Cox 的遗传信息。Liang 等用荧光标记的染色体原位杂交技术 (FISH 杂交) 在早期神经胶质瘤细胞内亦发现有 mtDNA 片段核内整合的现象,同时发现 mtDNA 整合入核基因组的程度与其复制程度有关。

③ mtDNA 进入核内后引起病理学改变 mtDNA 在核内的整合可能产生 3 种结果:一是无明显影响,即整合的片段或整合位点不影响核基因组的正常功能,对宿主细胞生物学特性无明显影响;二是有益,即激活了“有益基因”,使机体适应环境能力增强,推动生物进化;三是有害,即激活了原癌基因和/或抑制了抑癌基因的活性,导致细胞增殖和分化异常,诱发肿瘤^[24];或是激活抗凋亡基因和抑制凋亡基因,则细胞正常凋亡失控,无限增殖。

5.6 mtDNA 的复制与非随机分离机制 在细胞的有丝分裂或减数分裂过程中,线粒体这一半自主细胞器,通过自我复制(包括 mtDNA 复制和新线粒体的组装),然后分配到子代细胞中去。因此,mtDNA 氧化损伤后,传代细胞中将含有突变的和非突变 mtDNA。尽管 mtDNA 分子在子代细胞中的分配被认为是随机的,但至今并未发现突变 mtDNA 分子在一群细胞中永远存在。

White 等用人正常二倍体成纤维细胞与 HeLa 细胞融合,经筛选得到胞质融合体细胞(含有双亲的 mtDNA),传代培养 40 d 后,融合体细胞中 HeLa 细胞的 mtDNA 几乎完全消失。表明 HeLa 细胞的 mtDNA 在胞质融合体细胞有限的空间内发生了非随机分离。哺乳动物的心肌和神经元细胞内常含有较高水平的突变 mtDNA,这两种细胞属非分裂细胞,相应的组织明显容易衰老,但很少发生原发性肿瘤。可以推测生理适应要求 mtDNA 必须非随机分离保持一定量的非突变 mtDNA。当细胞内含有有害 mtDNA 突变体时,该细胞的能量代谢将出现一定程度的障碍。这时,细胞为了维护其自身的稳定性,以一定的方式启动有丝分裂。由于 mtDNA 的非随机分离,可将所有突变 mtDNA 分子归集到其中某一个子代细胞中去,这一细胞最终将因严重的呼吸障碍而凋亡。而那些含有非突变 mtDNA 的细胞,在这一无限的增殖过程中,可能就获得了选择性生长优势,从而发生恶性转化。

6 展望

肿瘤的发生是一个多步骤、多基因参与的过程,而 mtDNA 作为细胞核外唯一的基因组,其氧化损伤引起的 mtDNA 突变是其中之一。同时,mtDNA 突变理论能比其它理论更好地解释肿瘤发生的潜伏期。

但是有关 mtDNA 氧化损伤在肿瘤发生发展中地位和作用的研究起步较晚,目前尚无 mtDNA 氧化损伤与肿瘤发生直接相关的有力证据,许多设想尚缺乏充分的实验依据。比如有学者认为 mtDNA 氧化损伤引起的突变可能只是一个随机事件,与肿瘤发生无关^[25],而 mtMSI 可能仅反映了 D-loop 区的高变性,至于 Polyak 等在结直肠癌的细胞系中发现的 mtDNA 的高突变率,则可能是体外培养的肿瘤细胞的持续进化对 mtDNA 产生了比 nDNA 更为严重影响的结果。mtDNA 氧化损伤及突变与肿瘤发生到底有无关联? 其氧化损伤及突变在细胞的恶性转化过程中又起何作用? 损伤的 mtDNA 在核基因组内整合后,是否可能诱发原癌基因激活和/或抑癌基因失活而导致肿瘤发生? 这些问题均值得进一步研究课题。另外,深入研究肿瘤细胞 mtDNA 的结构及表达调控变化,探讨 mtDNA 氧化损伤与肿瘤发生的关系,对阐明肿瘤发生的机制具有重要意义。同时,由

于 mtDNA 的拷贝数高,将有可能成为癌症的非手术性快速诊断途径。

综上所述,mtDNA 氧化损伤可能与肿瘤的发生有一定的关系,但对其具体机制还有待于进一步研究。最近,有研究认为检测 mtDNA 氧化损伤会提高肿瘤诊断的灵敏度^[26],并且线粒体可作为某些抗肿瘤药物作用的靶点,所以阐明 mtDNA 氧化损伤与肿瘤发生的关系对肿瘤的诊断和治疗都有积极的意义。

[参 考 文 献]

- [1] Hibi K, Nakayama H. Mitochondrial DNA alteration in esophageal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2001, 92(3): 319.
- [2] Kawanishi S, Hiraku Y, Oikawa S. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging[J]. *Mutat Res*, 2001, 488(1): 65-76.
- [3] Kang D, Hamasaki N. Mitochondrial oxidative stress and mitochondrial DNA[J]. *Clin ChemLab Med*, 2003, 41(10): 1281-1288.
- [4] Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2004, 44: 239-267.
- [5] Vega A, Salas A, Gamborino E, et al. mtDNA mutations in tumors of the central nervous system reflect the neutral evolution of mtDNA in populations[J]. *Oncogene*, 2004, 23(6):1314-1320.
- [6] Liu SS. Generating, partitioning, targeting and functioning of superoxide in mitochondria[J]. *Biosci Rep*, 1997, 17(3): 259-272.
- [7] Santos JH, Hunakova L, Chen Y, et al. Cell sorting experiments link persistent mitochondrial DNA damage with loss of mitochondrial membrane potential and apoptotic cell death[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(3): 1728-1734.
- [8] Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, et al. Free radical-induced damage to DNA: Mechanisms and measurement[J]. *Free Radic Biol Med*, 2002, 32(11): 1102-1115.
- [9] 裘著革,晁福寰,孙咏梅,等. 金属离子介导活性氧引起 DNA 氧化损伤及机制研究[J]. *环境科学学报*, 2003, 23(5):662-667.
- [10] 方允中,郑荣梁. 自由基生物学的理论与应用[M]. 北京:科学出版社,2002. 143-147.
- [11] Arai M, Imai H, Koumura T, et al. Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase plays a major role in preventing oxidative injury to cells[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(8): 4924-4933.
- [12] Parrella P, Xiao Y, Fliss M, et al. Detection of mitochondrial DNA mutations in primary breast cancer and fine-needle aspirates[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(20): 7623-7626.
- [13] Lee HC, Li SH, Lin JC, et al. Somatic mutations in the D-loop and decrease in the copy number of mitochondrial DNA in human hepatocellular carcinoma[J]. *Mutat Res*, 2004, 547(1-2): 71-78.
- [14] Chen JZ, Gokden N, Greene GF, et al. Simultaneous generation of multiple mitochondrial DNA mutations in human prostate tumors suggests mitochondrial hyper-mutagenesis [J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24(9): 1481-1487.
- [15] Máximo V, Soares P, Seruca R, et al. Microsatellite instability, mitochondrial DNA large deletions, and mitochondrial DNA mutations in gastric carcinoma[J]. *Genes Chromosom Cancer*, 2001, 32(2): 136-143.
- [16] Wang Y, Vincent WS, Xue WC, et al. The increase of mitochondrial DNA content in endometrial adenocarcinoma cells: A quantitative study using laser-captured microdissected tissues [J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 98(1): 104-110.
- [17] Máximo V, Lima J, Soares P, et al. Mitochondrial D-Loop instability in thyroid tumours is not a marker of malignancy[J]. *Mitochondrion*, 2005, 5(5): 333-340.
- [18] Kose K, Hiyama T, Tanaka S, et al. Somatic mutations of mitochondrial DNA in digestive tract cancers [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20(11): 1679-1684.
- [19] Li JM, Cai Q, Zhou H, et al. Effects of hydrogen peroxide on mitochondrial gene expression of intestinal epithelial cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(6): 1117-1122.
- [20] Wang J, Silva JP, Gustafsson CM, et al. Increased *in vivo* apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA gene expression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(7): 4038-4043.
- [21] Zhu W, Qin W, Sauter ER. Large-scale mitochondrial DNA deletion mutations and nuclear genome instability in human breast cancer[J]. *Cancer Detect Prev*, 2004, 28(2): 119-126.
- [22] Máximo V, Soares P, Lima J, et al. Mitochondrial DNA somatic mutations (point mutations and large deletions) and mitochondrial DNA variants in human thyroid pathology: A study with emphasis on Hürthle cell tumors [J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(5): 1857-1865.
- [23] Yeh JJ, Lunetta KL, Van Orsouw NJ, et al. Somatic mitochondrial DNA (mtDNA) mutations in papillary thyroid carcinomas and differential mtDNA sequence variants in cases with thyroid tumours [J]. *Oncogene*, 2000, 19(16): 2060-2066.
- [24] Akimoto M, Niikura M, Ichikawa M, et al. Nuclear DNA but not mtDNA controls tumor phenotypes in mouse cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 327(4): 1028-1035.
- [25] Kiebish MA, Seyfried TN. Absence of pathogenic mitochondrial DNA mutations in mouse brain tumors [J]. *BMC Cancer*, 2005, 5(1): 102.
- [26] Lievre A, Chapusot C, Bouvier AM, et al. Clinical value of mitochondrial mutations in colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(15): 3517-3525.