

线粒体 DNA 突变与乳腺癌相关性的研究进展*

430071 武汉 武汉大学中南医院放化疗科 湖北省肿瘤生物学行为重点实验室 徐 会, 周福祥¹

【摘要】 乳腺癌体细胞线粒体 DNA(mtDNA) 编码区和调控区会发生多种突变, 大量研究提示 mtDNA 突变积累可能是引起线粒体功能持久缺陷的关键因子, 进而导致乳腺癌的发生与进展。本综述归纳了乳腺癌 mtDNA 点突变、缺失及其拷贝数改变在乳腺癌发生发展、病理生理过程中的作用, 讨论了“线粒体——细胞核逆行响应”信号通路及 mtDNA 作为新的肿瘤标志物和治疗靶标的潜在临床价值。

【关键词】 线粒体 DNA; 乳腺癌; 点突变; 缺失; 拷贝数

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1009-0460(2013)10-0943-04

Somatic mitochondrial DNA mutations in human breast cancer

XU Hui, ZHOU Fuxiang. Department of Radiochemotherapy, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Hubei Key Laboratory of Tumor Biological Behaviors & Hubei Cancer Clinical Study Center, Wuhan 430071, China

Corresponding author: ZHOU Fuxiang, E-mail: happyzhoufx@sina.com

【Abstract】 Numerous somatic mutations in both the coding and control regions of mitochondrial DNA(mtDNA) have been extensively examined in human breast cancer in the past decades, underscoring that accumulation of mitochondrial defects and consequently contributing to cancer initiation and progression. This review outlines a wide variety of somatic mtDNA mutations identified in breast cancer and highlights recent advances in understanding the causal roles of mtDNA variations in neoplastic transformation and tumor progression. In addition, it briefly illustrates how mtDNA alterations active mitochondria-to-nucleus retrograde signaling so as to modulate and promote malignant phenotypes in cancer cells. The present state of our knowledge regarding how mutational changes in the mitochondrial genome could be used as a diagnostic biomarker for early detection of breast cancer and as a potential target in the development of new therapeutic approaches is also discussed.

【Key Words】 Mitochondrial DNA; Breast cancer; Point mutation; Depletion; Copy number

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤。Globocan 2008 报道, 2008 年全球女性乳腺癌新诊断病例达 138 万例, 占全部女性恶性肿瘤发病率的 23%。线粒体在氧化磷酸化、自由基形成、调节启动内源性凋亡途径以及转化多种中间代谢产物中发挥重要作用^[1]。线粒体拥有自己的基因组, 每个细胞里有上千个 mtDNA 拷贝^[2]。人类 mtDNA 长 16 569bp, 母系遗传, 双链环状, 编码 13 个参与构成呼吸链复合体的多肽亚单位, 2 个 rRNA 和 22 个 tRNA。在 16024-576 处有一段长为 1124bp 的非编码区, 定义为 D 环区, 主要调节线粒体 DNA 的复制和转录起始^[3]。

因为缺乏组蛋白保护、低效的 DNA 校正能力和线粒体内膜处高浓度的活性氧微环境, 线粒体 DNA 对氧化损伤和其他遗传毒性损伤更加敏感^[4]。体细胞线粒体 DNA (mito-

chondrial DNA, mtDNA) 突变能扰乱氧化磷酸化供能, 造成电子泄露、活性氧簇 (ROS) 过表达, 从而促进肿瘤细胞增殖, 而肿瘤细胞增殖又可加速诱导 mtDNA 突变的产生^[5]; 另一方面, mtDNA 轻度的有害突变使肿瘤细胞在恶化和转移过程中适应新的肿瘤微环境与氧化压力^[6]。这些研究成果均提示 mtDNA 在肿瘤发生中有关键作用。在过去的 20 年里, 大量研究者关注 mtDNA 与肿瘤的关系, 并开展了许多研究。目前, 在许多实体瘤和血液系统恶性肿瘤中均发现了 mtDNA 突变^[7]。mtDNA 突变主要分为 3 种类型: 点突变、缺失和 mtDNA 拷贝数改变。

1 mtDNA 突变类型及其与乳腺癌的相关性

1.1 点突变 Tseng 等^[8] 研究发现 46.6% (27/58) 的乳腺

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81172129)

1 通讯作者, E-mail: happyzhoufx@sina.com

癌患者携带 mtDNA 突变,与较高发病年龄($P=0.029$)和肿瘤分期($P=0.006$)显著相关,提示 mtDNA 突变可能参与乳腺癌发生。mtDNA 突变主要位于 D 环区、编码区、tRNA 或者 rRNA 基因区域。

通过对 8 项乳腺癌线粒体 DNA 突变研究的总结,共纳

入 193 例乳腺癌患者,数据显示 mtDNA 突变的发生率为 58.0% (112/193),在 310 个突变位点中,73.6% (228/310) 位于 D 环区,20.3% (63/310) 突变发生在翻译线粒体呼吸链复合体必须的 mRNA 基因,其余的 6.1% (19/310) 位于 tRNA 或者 rRNA 基因。见表 1。

表 1 乳腺癌 mtDNA 点突变

作者	突变样本数 (%)	突变总数	D 环区突变数 (%)	编码区突变数 (%)	RNA 突变数 (%)
Tseng ^[8]	27/58 (46.6)	40	21 (52.5)	0 (0)	19 (47.5)
Sultana ^[9]	9/24 (37.5)	14	10 (71.4)	4 (28.6)	0 (0)
Cai ^[10]	10/10 (100.0)	42	42 (100.0)	0 (0)	0 (0)
Kuo ^[11]	13/30 (43.3)	17	17 (100.0)	0 (0)	0 (0)
Zhu ^[12]	9/15 (60.0)	45	17 (37.8)	28 (62.2)	0 (0)
Yu ^[13]	23/23 (100.0)	126	126 (100.0)	0 (0)	0 (0)
Fendt ^[14]	10/15 (66.7)	14	0 (0)	14 (100.0)	0 (0)

Kuo 等^[11]研究发现乳腺癌患者 D 环突变与 PR 阴性相关,携带 D 环突变的乳腺癌患者无病生存期更短。D 环区 np303-315 处的 D310 是近来研究热点,D310 是富含胞嘧啶 C 的链(序列为 CCCCCCTCCCC),存在于包括乳腺癌在内的许多种人类肿瘤之中^[15]。D310 氧化损伤会导致 mtDNA 复制过程发生滑动或错配,从而导致肿瘤细胞 mtDNA 突变率增加^[16]。Kulawiec 等^[17]使用胞质杂交技术发现 ND3 基因的 G10398A 突变使小鼠乳腺癌细胞抗凋亡和转移能力增强。Pezzotti 等^[18]发现长期饮酒和 G10398A 突变与乳腺癌风险相关($P=0.03$)。Kulawiec 等^[19]发现乳腺癌细胞 MDA-MB-435 细胞的一个特有突变,即 tRNA^{leu(CUN)} 12308 位点的 A-G 转换,尾静脉肿瘤转移模型显示携带该突变型 mtDNA 的细胞肺内转移灶数目更多。

mtDNA 突变也可使肿瘤细胞获得耐药性,Guerra 等^[20]研究发现 mtDNA 突变与浆液性卵巢癌耐药相关。mtDNA 突变被证明与肿瘤细胞放射敏感性相关。Alsbeih 等^[21]研究发现 ND3 基因的 A10398G 突变引起线粒体呼吸功能降低,使鼻咽癌细胞对放疗敏感。

1.2 缺失 跨越 np8470/8482 到 np13447/13459 的 4977bp mtDNA 缺失是常见缺失^[22]。4977bp 缺失包含了 7 个氧化磷酸化相关基因(ATPase6、ATPase 8、COXIII、ND3、ND4L、ND4、ND5)和 5 个 tRNA,从而严重影响氧化磷酸化系统。Tseng 等^[23]从 60 例乳腺癌及其癌旁组织中筛查 4977bp 缺失并检测醌氧化还原酶 1(NQO1) C609T 多态性,结果显示肿瘤组织大片段线粒体 DNA 突变频率(5%)显著低于癌旁组织(48.3%),由此推断肿瘤细胞可能进化出一种遗传性的选择机制,严格抑制含大片段缺失的 mtDNA 复制并最终清除它们。

1.3 线粒体 DNA 含量改变 乳腺癌患者中 mtDNA 含量下降与较高的发病年龄(>50 岁)、更高的组织学分级、孕激素受体阴性^[24]相关。mtDNA 含量下降的乳腺癌患者较正常患

者具有更短的无病生存期和总生存期^[15]。Singh 等^[25]通过基质胶侵袭致瘤性实验证实,通过引入 POLG 突变会导致 mtDNA 含量下降,可以使乳腺癌细胞在体外获得更强的侵袭能力;Lee 等^[26]发现上调线粒体转录因子 A(mtTFA)表达可增加 mtDNA 含量,进而促进皮肤癌细胞的增殖。

侵袭性乳腺癌显著下降的 mtDNA 拷贝数与 H 链复制起始位点的突变或 D 环区的 D310 显著相关^[15],因为这些序列参与形成与 mtDNA 合成所需的 RNA/DNA 复合体。这些位点的异常或者不稳定可能改变某些核 DNA 编码的诱导子或调节子(如 Tfam)与 D 环结合位点的亲和力,改变 mtDNA-蛋白复合体的强度,影响 mtDNA 转录和复制效率,从而导致肿瘤细胞 mtDNA 含量下降^[27]。p53 途径缺陷也容易导致线粒体 DNA 含量下降。p53 不仅可以在 ROS 诱导 mtDNA 损伤时,转到线粒体与 POLG 作用维持线粒体遗传稳定性,还可以作为线粒体调控点蛋白促进线粒体的生物合成^[28]。p53 缺失增加了 mtDNA 对氧化损伤的敏感性,扰乱正常的线粒体 ROS 稳态,最终引起 mtDNA 含量下降^[29]。

mtDNA 缺失的肿瘤细胞可能有其他复杂机制逃脱药物诱导的细胞死亡。Park 课题组发现,与野生型细胞相比,mtDNA 缺失的乳腺癌 T47D 细胞对化疗药物敏感性下降,多药耐药 1(MDR1)和 P-糖蛋白(P-gp)表达上调^[30]。mtDNA 含量高的乳腺癌 MDA-MB-231 细胞对多柔比星的敏感性降低,ROS 含量也降低^[31]。以上研究显示,mtDNA 含量影响乳腺癌化疗敏感性,是预测乳腺癌疗效的潜在的分子标志。

2 “线粒体-细胞核逆行响应”

越来越多的证据表明真核动物细胞线粒体呼吸功能扰动可以激活并调节核基因表达,这一过程被称为“线粒体-细胞核逆行响应”^[32]。mtDNA 改变可能引起核基因组表观遗传学变化,进而导致肿瘤形成。Moro 等^[32]发现前列腺上皮细胞 PNT1A 的 mtDNA 缺失后,p85 和 p110 表达上调,Akt2

活化,细胞耐药性增加、迁移能力增强。Ma 等^[33]将 mtDNA 缺失的骨肉瘤细胞 143B 与外源性 mtDNA (来自正常乳腺上皮 MCF-10A,不同乳腺癌细胞 MDA-MB-231、MDA-MB-436、MDA-MB-453)融合,他们观察到携带肿瘤细胞线粒体的细胞不仅线粒体功能下降,p53 基因也发生显著改变,提示肿瘤线粒体的致癌特性可以转移到细胞核并调节相关的靶基因表达。

“线粒体-细胞核逆行响应”可能是宿主氧化损伤修复能力受损引起的。这种效应被认为与线粒体 DNA 缺失导致的核苷酸池不平衡有关。线粒体 DNA 缺失后,乳腺癌细胞 dTTP 和 dCTP 的含量下降了 5~6 倍^[34]。mtDNA 缺失诱导 ROS 过表达,可能参与控制了来自线粒体的逆行信号转导至细胞核,并激活与成癌相关的关键基因如低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 和丙酮酸脱氢酶激酶 2 (Pdk2) 的表达^[35]。

虽然“线粒体-细胞核逆行响应”确切的分子机制尚不清楚,但是某些 mtDNA 突变与缺失引起的从线粒体到细胞核的逆行信号可能是促进肿瘤起始与进展的关键因素,需要进一步研究。

3 mtDNA 改变对乳腺癌的潜在诊断价值和靶向治疗价值

线粒体基因组长度短、结构简单,与体细胞基因组相比,线粒体全基因组筛查更简单也更经济有效,mtDNA 拷贝数较核 DNA 高,使用线粒体 DNA 作为恶性肿瘤细胞潜在的生物传感器具有更高的敏感性。

检测外周血 mtDNA 含量有望成为预测肿瘤治疗敏感性和检测肿瘤恶性进展的筛选标志。Shen 等^[36]分析 103 例乳腺癌患者和 103 例健康人血 mtDNA 含量,剂量-反应关系趋势分析显示乳腺癌发生风险随 mtDNA 含量升高而增加。mtDNA 多态性分析可以帮助具有遗传倾向的世代进行严谨的筛查和早期监视,如 ND3 基因的 A10398G 多态性被认为与非裔美国妇女侵袭性乳腺癌的发生密切相关^[37]。考虑到目前还没有可靠的早期诊断标准,mtDNA 为基础的分子标记,至少可以与其他检测标准联合应用以提高诊断的灵敏度与特异性。

肿瘤细胞和正常细胞线粒体结构和功能的差异提示可以设计一种源头创新的抗肿瘤药物,其药理学机制为靶向突变的 mtDNA 且优先破坏肿瘤细胞,而对正常细胞无影响或仅有很小的毒性。毋庸置疑,随着技术的进步,将外源性大分子(如正常的线粒体 DNA 分子)通过脂质体或者纳米颗粒靶向导入线粒体基质可能成为未来线粒体基因治疗的一项有效措施,已有研究报道正常的线粒体 DNA 分子可通过抑制癌基因信号通路抑制肿瘤细胞的转移^[38]。

4 结 语

大量研究结果表明 mtDNA 突变在乳腺癌发生中发挥重要作用,mtDNA 与乳腺癌临床病理特征和预后之间的关系进一步证实了这一观点。虽然并不是所有的突变都是致病突

变,但一些编码区突变还是有远期预警和研究意义。mtDNA 突变的确切机制及其在乳腺癌形成过程中的作用、线粒体如何与核基因组相互作用及其致乳腺癌的信号通路还需进一步研究,其研究结果必然会为乳腺癌预防、诊断和治疗提供新的方法。

参考文献

- [1] Wallace DC, Fan W, Procaccio V. Mitochondrial energetics and therapeutics[J]. *Annu Rev Pathol*, 2010,5:297-348.
- [2] Clay Montier LL, Deng JJ, Bai Y. Number matters: control of mammalian mitochondrial DNA copy number[J]. *J Genet Genomics*,2009,36(3):125-131.
- [3] Kohler C, Radpour R, Barekati Z, et al. Levels of plasma circulating cell free nuclear and mitochondrial DNA as potential biomarkers for breast tumors[J]. *Mol Cancer*,2009,8:105.
- [4] Tang D, Gao Y, Wang R, et al. Characterization, genomic organization, and expression profiles of MyD88, a key adaptor molecule in the TLR signaling pathways in miuiy croaker (*Miichthys miuiy*)[J]. *Fish Physiol Biochem*, 2012,38(6):1667-1677.
- [5] Lee HC, Wei YH. Mitochondrial DNA instability and metabolic shift in human cancers [J]. *Int J Mol Sci*, 2009, 10 (2) : 674-701.
- [6] Lee HC, Chang CM, Chi CW. Somatic mutations of mitochondrial DNA in aging and cancer progression[J]. *Ageing Res Rev*, 2010,9(Suppl 1):47-58.
- [7] Sharawat SK, Bakhshi R, Vishnubhatla S, et al. Mitochondrial D-loop variations in paediatric acute myeloid leukaemia: a potential prognostic marker[J]. *Br J Haematol*, 2010,149(3):391-398.
- [8] Tseng LM, Yin PH, Yang CW, et al. Somatic mutations of the mitochondrial genome in human breast cancers[J]. *Genes Chromosomes Cancer*,2011,50(10):800-811.
- [9] Sultana GN, Rahman A, Shahinuzzaman AD, et al. Mitochondrial DNA mutations-candidate biomarkers for breast cancer diagnosis[J]. *Chin J Cancer*,2012, 31(9):449-454.
- [10] Cai FF, Kohler C, Zhang B, et al. Mutations of mitochondrial DNA as potential biomarkers in breast cancer[J]. *Anticancer Res*,2011,31(12):4267-4271.
- [11] Kuo SJ, Chen M, Ma GC, et al. Number of somatic mutations in the mitochondrial D-loop region indicates poor prognosis in breast cancer, independent of TP53 mutation[J]. *Cancer Genet Cytogenet*,2010,201(2):94-101.
- [12] Zhu W, Qin W, Bradley P, et al. Mitochondrial DNA mutations in breast cancer tissue and in matched nipple aspirate fluid[J]. *Carcinogenesis*,2005,26(1):145-152.
- [13] Yu M. Somatic mitochondrial DNA mutations in human cancers [J]. *Adv Clin Chem*,2012,57:99-138.
- [14] Fendt L, Niederstatter H, Huber G, et al. Accumulation of mutations over the entire mitochondrial genome of breast cancer cells obtained by tissue microdissection[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011,128(2):327-336.

- [15] Guney AI, Ergec DS, Tavukcu HH, et al. Detection of mitochondrial DNA mutations in nonmuscle invasive bladder cancer[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2012, 16(7):672-678.
- [16] Xu C, Tran-Thanh D, Ma C, et al. Mitochondrial D310 mutations in the early development of breast cancer[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(9):1506-1511.
- [17] Kulawiec M, Owens KM, Singh KK. mtDNA G10398A variant in African-American women with breast cancer provides resistance to apoptosis and promotes metastasis in mice[J]. *J Hum Genet*, 2009, 54(11):647-654.
- [18] Pezzotti A, Kraft P, Hankinson SE, et al. The mitochondrial A10398G polymorphism, interaction with alcohol consumption, and breast cancer risk[J/OL]. *PLoS One*, 2009[2013-04-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19390621>.
- [19] Kulawiec M, Owens KM, Singh KK. Cancer cell mitochondria confer apoptosis resistance and promote metastasis[J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(14):1378-1385.
- [20] Guerra F, Perrone AM, Kurelac I, et al. Mitochondrial DNA mutation in serous ovarian cancer: implications for mitochondria-coded genes in chemoresistance[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(36):373-378.
- [21] Alsbeih GA, Al-Harbi NM, El-Sebaie MM, et al. Involvement of mitochondrial DNA sequence variations and respiratory activity in late complications following radiotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(23):7352-7360.
- [22] Wu YT, Lee HC, Liao CC, et al. Regulation of mitochondrial F₁(o)F₀ ATPase activity by Sirt3-catalyzed deacetylation and its deficiency in human cells harboring 4977bp deletion of mitochondrial DNA[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(1):216-227.
- [23] Tseng LM, Yin PH, Tsai YF, et al. Association between mitochondrial DNA 4,977 bp deletion and NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 C609T polymorphism in human breast tissues[J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(5):1169-1174.
- [24] Fan AX, Radpour R, Haghighi MM, et al. Mitochondrial DNA content in paired normal and cancerous breast tissue samples from patients with breast cancer[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2009, 135(8):983-989.
- [25] Singh KK, Ayyasamy V, Owens KM, et al. Mutations in mitochondrial DNA polymerase-gamma promote breast tumorigenesis[J]. *J Hum Genet*, 2009, 54(9):516-524.
- [26] Lee CH, Wu SB, Hong CH, et al. Aberrant cell proliferation by enhanced mitochondrial biogenesis via mtTFA in arsenical skin cancers[J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(5):2066-2076.
- [27] Vernochet C, Mourier A, Bezy O, et al. Adipose-specific deletion of TFAM increases mitochondrial oxidation and protects mice against obesity and insulin resistance[J]. *Cell Metab*, 2012, 16(6):765-776.
- [28] Kulawiec M, Ayyasamy V, Singh KK. p53 regulates mtDNA copy number and mitochekpoint pathway[J]. *J Carcinog*, 2009, 8:8.
- [29] Lebedeva MA, Eaton JS, Shadel GS. Loss of p53 causes mitochondrial DNA depletion and altered mitochondrial reactive oxygen species homeostasis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(5):328-334.
- [30] Yu M, Shi Y, Wei X, et al. Mitochondrial DNA depletion promotes impaired oxidative status and adaptive resistance to apoptosis in T47D breast cancer cells[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2009, 18(6):445-457.
- [31] Hsu CW, Yin PH, Lee HC, et al. Mitochondrial DNA content as a potential marker to predict response to anthracycline in breast cancer patients[J]. *Breast J*, 2010, 16(3):264-270.
- [32] Moro L, Arbin AA, Yao JL, et al. Mitochondrial DNA depletion in prostate epithelial cells promotes anoikis resistance and invasion through activation of PI3K/Akt2[J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(4):571-583.
- [33] Ma Y, Bai RK, Trieu R, et al. Mitochondrial dysfunction in human breast cancer cells and their transmitochondrial cybrids[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1797(1):29-37.
- [34] Takahashi Y, Hori T, Cooper TK, et al. Bif-1 haploinsufficiency promotes chromosomal instability and accelerates Myc-driven lymphomagenesis via suppression of mitophagy[J]. *Blood*, 2013, 121(9):1622-1632.
- [35] Sun W, Zhou S, Chang SS, et al. Mitochondrial mutations contribute to HIF1alpha accumulation via increased reactive oxygen species and up-regulated pyruvate dehydrogenase kinase 2 in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(2):476-484.
- [36] Shen J, Platek M, Mahasneh A, et al. Mitochondrial copy number and risk of breast cancer: a pilot study[J]. *Mitochondrion*, 2010, 10(1):62-68.
- [37] Pezzotti A, Kraft P, Hankinson SE, et al. The mitochondrial A10398G polymorphism, interaction with alcohol consumption, and breast cancer risk[J/OL]. *PLoS One*, 2009[2013-04-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19390621>.
- [38] Kaiparettu BA, Ma Y, Park JH, et al. Crosstalk from non-cancerous mitochondria can inhibit tumor properties of metastatic cells by suppressing oncogenic pathways[J/OL]. *PLoS One*, 2013[2013-04-06]. <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0061747>.

收稿日期:2013-03-11; 修回日期:2013-06-16