

遗传性MUTYH基因突变与结直肠癌

周卉卉 综述, 吕炳建, 来茂德 审校

(浙江大学医学院病理学与病理生理学系, 浙江 杭州 310058)

[摘要] 碱基切除修复酶基因MUTYH突变与人类疾病相关,由遗传性MUTYH双等位基因突变引起的MUTYH相关性息肉(MAP)是一种腺瘤性结直肠息肉,可显著增加结直肠癌的发生率,其分子机制-碱基切除修复系统(BER)的突变及与错配修复系统(MMR)的关联,已成为目前的热点话题。文中对BER与DNA氧化损伤,BER与其它修复系统间的相互作用和MAP肿瘤发生机制,临床表型及防治作了介绍。

[关键词] 结直肠肿瘤; 息肉; DNA修复; DNA损伤; 突变; 碱基切除修复; MUTYH; MUTYH相关性息肉; 结直肠癌

[中图分类号] R 735.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2007)04-0406-06

Inherited mutations of MUTYH and colorectal cancer

ZHOU Hui-hui (*Department of Pathology, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China*)

[Abstract] MUTYH, one of base-excision repair enzymes, is associated with human genetic disorders. Inherited biallelic mutations in the human MUTYH gene are responsible for an autosomal recessive syndrome-adenomatous colorectal polyposis (MUTYH associated polyposis, MAP), which significantly increases the risk of colorectal cancer (CRC). In this article we review the relationship between BER and the oxidative damage to DNA, the functional overlap of BER with other repair proteins, the molecular mechanism of tumorigenesis in MAP, and delineate the MUTYH polyposis phenotype and its prevention.

[Key words] Colorectal neoplasms; Polyps; DNA Repair; DNA damage; Mutation; Base-excision repair; MUTYH; MUTYH associated polyposis; Colorectal cancer

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2007, 36(4): 406-411.]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发生可因原癌基因和抑癌基因突变累积而成, DNA损伤修复系统缺陷可导致基因突变率增高, 促进肿瘤发生。DNA损伤切除修复系统主要包括: 碱基切除修复(BER)、核酸切除修复(NER)和错配修复(MMR)^[1-2]。在遗传性结直

肠癌中, BER和MMR相关基因的生殖细胞系突变是MUTYH相关性息肉(MAP)和遗传性非息肉病性结直肠癌(HNPCC)发生的分子遗

收稿日期: 2007-02-28 修回日期: 2007-04-27

作者简介: 周卉卉(1978—), 女, 在读硕士, 病理学与病理生理学系; E-mail: zhoushuhnew-0@163.com

传学基础。作者旨在对MUTYH突变导致的BER修复系统的缺陷与遗传性结直肠癌的关系作一概述。

1 DNA氧化损伤与BER

DNA氧化损伤是生物体内基因突变的常见原因之一,ROS(reactive oxygen species)是细胞新陈代谢的产物,也可因外源性的物理或化学的氧化作用而产生,一旦其超过生物体内的抗氧化系统所承载的极限,累积的ROS便可攻击DNA,造成核内和线粒体DNA的损伤,如碱基错配、修饰、脱嘌呤或脱嘧啶位点形成、DNA断裂以及DNA蛋白质交联等^[3]。ROS是某些退行性疾病如老化、癌症、免疫系统功能下降、神经退行性变、白内障等发生的原因。在人类中,ROS对DNA损伤大约每天每个细胞 10^4 次^[4]。

DNA氧化损伤产物主要有8-氧-脱氧鸟苷(8-oxodG)和2-羟基腺苷(2-OH-A),其中8-oxodG稳定,是最重要的产物。在细菌和酵母体内,8-oxodG引起DNA损伤的机制可以是模板链中鸟嘌呤(G)的直接氧化,也可以是核苷酸池中游离鸟苷的氧化,DNA聚合酶与8-oxodG:A中A的结合效率比C高5~200倍^[5],因此,如果8-oxodG:C不能得到及时修

复,在复制中8-oxodG易与A错配,继续复制在子链中形成A:T配对,最终导致G:C→A:T的碱基颠换,从而引起相关基因功能的改变^[6-7]。

目前认为,BER在抗氧化损伤中发挥主要作用,它可明显降低8-oxodG的致突变作用,BER修复是一个多步骤的过程,需要多种酶的参与。在细菌和酵母体内,BER修复酶基因主要有三种:MutT,MutM,MutY。在人类,其同源基因为NUDT1(又称MTH1)、OGG1、MUTYH(又称hMYH)^[8]。MUTYH基因定位于1p32.1-1p34.3,含有16个外显子,包含1641bp(GenBank:NM_012222.1),编码535个氨基酸^[8],MUTYH蛋白是一种糖基化酶,定位于细胞核和线粒体内^[9]。BER修复途径在生物体内是保守的,NUDT1基因定位于染色体7p22,其蛋白质发挥作用的时间在DNA复制之前,它水解核酸池中氧化的三磷酸鸟苷,阻止其进入复制过程。OGG1基因定位于染色体3p26.2,其蛋白质在复制过程中识别并切除8-oxodG:C中的8-oxodG,启动复制中BER系统,MUTYH酶在复制后切除子链DNA中与母链8-oxodG错配的A。如果MUTYH蛋白失活,则易导致复制过程中G:C→A:T的颠换^[10-11]。BER修复途径见图1^[5,11]。

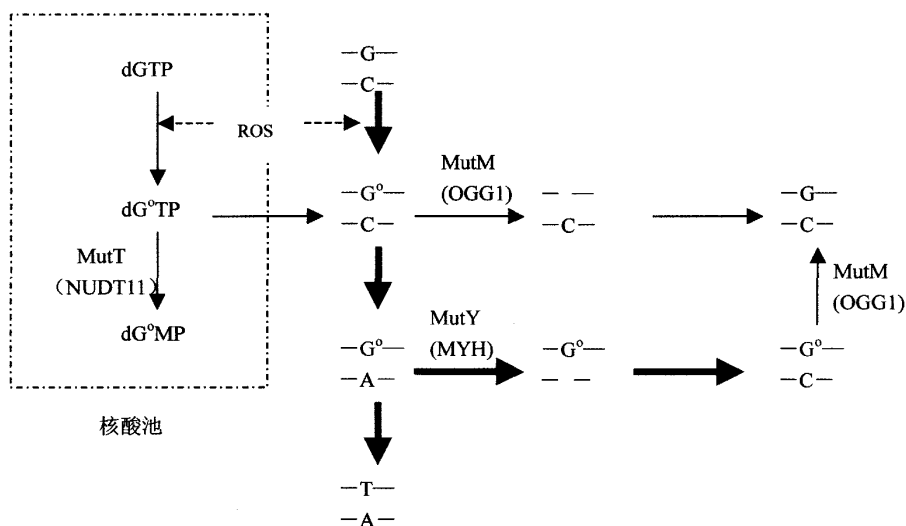


图1 BER系统作用途径示意图

Fig. 1 The mechanism of BER system

2 BER 与 MMR

BER 和 MMR 系统存在相互作用,MMR 也参与内源性 DNA 氧化损伤的修复,在 MSH2 功能缺陷的小鼠体内 DNA 的氧化损伤易累积^[7],但是目前其具体机制还不明确。Van 等^[12]在一 HNPCC 家系中发现一例患者同时具有 MSH6 和 MUTYH 生殖细胞系突变,其临床症状轻微,至 56 岁时腺瘤数目还很少,但其兄只有 MUTYH 突变,无 MMR 缺陷,临床症状却严重得多。这一现象提示 MMR 和 BER 系统功能缺失在 DNA 氧化损伤修复过程中可能存在拮抗作用。

大量体内实验也证明 BER 和 MMR 系统存在相互作用。Parker 等人^[13]通过免疫共沉淀和 western-blotting 证实, MUTYH 与 PCNA (proliferating cell nuclear antigen), RPA (replication protein A) 和 APE1 (apurinic/apyrinidinic endonuclease) 相互作用, MUTYH C 端 505-527 位碱基编码一个保守的 PCNA 结合框架 [QXXLXXFF], 其 N 端 6-32 位碱基编码一个 RPA 结合框架。在 MSH3 和 MSH6 的序列中也发现了保守的 PCNA 结合框架。哺乳动物体内 BER 存在两种作用方式:短补丁碱基切除修复和长补丁碱基切除修复,前者只能切除修复 1 个核苷酸,后者则可切除修复 2~8 个核苷酸,而 PCNA 和 RPA 只参与长补丁碱基切除修复。鉴于这些发现,目前的观点认为 MUTYH 参与长补丁碱基切除修复。Hanna 等^[14]报道, MUTYH、hMSH2/hMSH6 两者共同定位于 PCNA 复制区,可能构成一个修复复合体参与 DNA 错配碱基的修复过程,PCNA 在 MMR 和 BER 两系统中可能发挥重要的连接作用。Gu 小组^[15]报道了 MMR 和 BER 两系统作用的直接证据, MUTYH 通过 hMSH2/hMSH6 二聚体中的 hMSH6 亚基与之相互作用,二聚体可促进 MUTYH 与 DNA 的结合,并且可提高 MUTYH 糖基化酶的活性。

3 MUTYH 突变与肿瘤

2002 年 Al-Tassan^[16]等第一次报道 MUTYH 突变与人类疾病有关,在分析英国一

个多发性结直肠腺瘤腺癌家系时,发现 7 个同胞兄弟中有 3 个患者呈现 AFAP (attenuated familial adenomatous polyposis) 类似症状,但没有 APC 基因生殖细胞系突变。这些肿瘤微卫星稳定,也不支持 HNPCC。对其 APC 基因的开放阅读框架测序发现 G:C→A:T 的颠换频率显著增高(约 80%),而以前报道的体细胞系 APC 基因的常见突变类型是移码突变和杂合性丢失,颠换突变只占 10% 左右。对 MUTYH 分析显示,生殖细胞系双等位基因复合性杂合型突变导致其编码的 165 位和 382 位氨基酸的改变—Tyr165Cys 和 Gly382Asp,而这个家系中其它未患病成员的基因型为正常纯合型或只有一个等位基因突变的杂合型,这也提示该结直肠多发腺瘤为常染色体隐性遗传。随后大量报道相继证实 MUTYH 双等位基因突变与结直肠癌的发生有关,并在不同人种中发现了不同类型的 MUTYH 突变(无义、错义、框移和剪切位点的突变,或产生截短蛋白,表 1)。在欧美高加索人群患者中, Y165C 和 G382D 两个位点突变率约占 80%^[4,8],其基本突变形式为 Y165C-Y165C 或 G382D-G382D 纯合型突变和 Y165C-G382D 复合型杂合性突变。在亚洲,印度发现的 MUTYH 突变位点为 Y90X 和 E466X,巴基斯坦为 Y90X,日本报道了 R231C 纯合型双等位基因突变,和一个剪切位点的单等位基因突变, IVS10-2 A→G。在家族遗传性胃癌中也发现了 MUTYH 的突变,在日本发现 IVS10-2 A→G 剪切位点的突变^[25],在中国家族遗传性胃癌中,也发现了两个新的突变位点: Pro18Leu 和 Gly25Asp^[26]。在现有关于亚洲人 MAP 的报道中,还未发现高加索人种中常见的 Y165C 和 G382D 两个位点的突变,这提示 MUTYH 突变存在人种间的差异。

4 MAP 临床表型及检测

随着 MUTYH 突变与结直肠癌关系的发现,一种特殊类型的家族遗传性结直肠腺瘤病——隐性遗传性结直肠腺瘤性息肉即 MAP (MUTYH-associated polyposis),已经受到越来越多人关注。MUTYH 生殖细胞系双等位基因突变,导致体细胞系 APC 和 K-ras 基因 G:

表1 MUTYH 突变位点与 MAP

Table 1 Mutant alleles in carriers of MUTYH mutations

作者*	病例数	MAP	突变位点
Enholm S (3)	1042	4	Y165C G382D
Aretz S (8)	329	55	Y165C G382D
Al-Tassan N(16)	3	3	Y165C G382D
Sieber OM(17)	259	14	Y165C G382D 1103delC 1419delC
Gismondi V (18)	70	14	Y165C G382D 1395delGGA
Isidro G (19)	53	21	Y165C G382D Y114H R168H E396fsX437*
Nielsen M (20)	170	40	Y165C G382D P391L Q377X R233X 649-1G→A
Eliason K (21)	219	28	Y165C G382D 891+3A→C 1103delC E182X Q300X IVS13+25del30* E466X 1395delGGA
Kairupan CF (22)	302	19	Y165C G382D 1391delAGG
Miyaki M (23)	35	4	R231C IVS10-2A→G*
Croitoru ME(24)	1238	12	Y165C G382D Y90X 891+3A→C

※:()内为参考文献序号;*:fs(frameshift),框移突变;IVS(interveling sequence),内含子

C→A;T 的颠换无法正常修复^[27-28],从而促进结直肠癌的发生。

其临床症状与 AFAP 和非典型的 FAP 的类似,其特点有:(1)结直肠息肉癌变比 FAP 或 AFAP 晚发,平均诊断年龄约在 46 岁^[8,20,24,29],但是癌变率高,与无携带者相比,MUTYH 生殖细胞系双等位基因突变和单等位基因携带者 CRC 发生率均可增高,前者是无携带者的 50 倍,后者为 3 倍^[30],到 65 岁时几乎 100%发生癌变^[14,31]。(2)同时性多发性息肉,息肉数目一般<100 个,发生 15~100 个腺瘤的患者 MUTYH 双等位基因突变率在 16%~42%之间^[20-23,25,28],(3)全结肠均可多发,Lipton 报道 24 例 MAP 癌变患者有 17 例位于左半结肠,约占 71%,且直肠多发^[28],但 Nielsen 等报道 40 例荷兰 MAP 患者中右半结肠 CRC 多发^[20],这可能与两者样本选择有关。(4)MAP 的肠外表现相关报道已经陆续出现,Sieber 等在 259 例结直肠腺瘤腺癌患者中,发现 16 例十二指肠息肉(duodenal polyposis)和 13 例先天性视网膜色素上皮肥大(congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium,CHRPE)^[17]同样,Marra 等在多发性结直肠腺瘤患者中也发现了十二指肠息肉和 CHRPE^[32],Nielsen 报道了 MAP 患者伴有乳腺癌、胃癌和骨肉瘤等肠外肿瘤^[20],Baglioni 等报道一 MAP 家系发现 2 例

钙化上皮瘤^[33],另外还有发现甲状腺癌^[8]等的报道。

因为 MAP 与 AFAP 和非典型的 FAP 的临床症状较难区分,因此遗传学检测尤为必要。对于无显性遗传家族史,但息肉数目多于 10 个,或具有一些相关肠外表现的患者,应考虑 MAP,对 MUTYH 基因突变位点比较明确的种族进行常见突变位点的检测,如果发现一个突变位点,应进行 MUTYH 全基因测序。因为 MAP 为常染色体隐性遗传,患者同胞有 25%患病风险,所以对其亲属,尤其是一级亲属应进行预防性基因检测。因为 MAP 癌变率高,多数 MAP 患者是通过结直肠镜发现的,因此,从 20 岁开始患者每 2 年进行全结直肠常规结肠镜检查或进行预防性结直肠切除,对于防止结直肠癌的发生非常重要^[20]。因为胃底和十二指肠息肉是 MAP 的重要肠外表现,因此胃和十二指肠内窥镜的检测应该予以推荐^[31]。

5 问题与展望

目前国外已有较多的关于研究 MAP 机制的报道,认为 MAP 是一种新型的遗传性结直肠腺瘤。由于其常染色体隐性遗传的特点,临床筛选困难,目前还没有统一的临床诊断标准,遗传学检测成为确定 MAP 及 MUTYH 突变携带者的唯一可靠方法。我们认为,MAP 虽然发生

率低,但一些不明机制的遗传相关性结直肠癌很可能是MAP发展而来,所以目前的首要问题,是要明确MAP分子流行病学情况和相关突变热点,建立切实可行的检测方法,确立易感人群,建立并实施有效的干预手段。迄今,中国人群中MAP未见报道,关于MUTYH突变的研究也较少,仅Zhang等^[26]在家族遗传性胃癌中有报道,但可以肯定中国人遗传性结直肠中MAP不会太少,因此建立在科研设计基础之上的合作研究,可以了解中国人MUTYH突变情况及中国人MAP发病特点和规律。在此基础上推出适合中国人的监测和筛选标准,应该是胃肠肿瘤工作者的一个研究目标。

References:

- [1] HOEIJMAKERS J H. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer [J]. *Nature*, 2001, 411(6835): 366-374.
- [2] RISINGER M A, GRODEN J. Crosslinks and crosstalk: human cancer syndromes and DNA repair defects [J]. *Cancer Cell*, 2004, 6(6): 539-545.
- [3] ENHOLM S, HIENONEN T, SUOMALAINEN A, et al. Proportion and phenotype of MYH-Associated colorectal neoplasia in a population-based series of Finnish colorectal cancer patients [J]. *Am J Pathol*, 2003, 163(3): 827-832.
- [4] LU A L, LI X, GU Y, et al. Repair of oxidative DNA damage: mechanisms and functions [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2001, 35(2): 141-170.
- [5] CHOW E, THIRLWELL C, MACRAE F, et al. Colorectal cancer and inherited mutations in base-excision repair [J]. *Lancet Oncol*, 2004, 5(10): 600-606.
- [6] PARKER A R, ESHLEMAN J R. Human MutY: gene structure, protein functions and interactions, and role in carcinogenesis [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2003, 60(10): 2 064-2 083.
- [7] RUSSO M T, DE LUCA G, DEGAN P, et al. Different DNA repair strategies to combat the threat from 8-oxoguanine [J]. *Mutat Res*, 2007, 614(1-2): 69-76.
- [8] ARETZ S, UHLHAAS S, GOERGENSEN H, et al. MUTYH-associated polyposis: 70 of 71 patients with biallelic mutations present with an attenuated or atypical phenotype [J]. *Int J Cancer*, 2006, 119(4): 807-814.
- [9] BOLDOGH I, MILLIGAN D, LEE M S, et al. hMYH cell cycle-dependent expression, subcellular localization and association with replication foci: evidence suggesting replication-coupled repair of adenine:8-oxoguanine mispairs [J]. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29(13): 2 802-2 809.
- [10] SAMPSON J R, JONES S, Dolwani S, et al. Mutyh (myh) and colorectal cancer [J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33(Pt 4): 679-683.
- [11] CHEADLE J P, SAMPSON J R. Exposing the MYtH about base excision repair and human inherited disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2003, 12(2): R159-165.
- [12] VAN PUIJENBROEK M, NIELSEN M, REINARDS T H, et al. The natural history of a combined defect in MSH6 and MUTYH in a HNPCC family [J]. *Fam Cancer*, 2007, 6: 43-51.
- [13] PARKER A, GU Y, MAHONEY W, et al. Human homolog of the MutY repair protein (hMYH) physically interacts with proteins involved in long patch DNA base excision repair [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(8): 5 547-5 555.
- [14] KLECZKOWSKA H E, MARRA G, LETTIERI T, et al. hMSH3 and hMSH6 interact with PCNA and colocalize with it to replication foci [J]. *Genes Dev*, 2001, 15(6): 724-736.
- [15] GU Y, PARKER A, WILSON T M, et al. Human MutY homolog, a DNA glycosylase involved in base excision repair, physically and functionally interacts with mismatch repair proteins human MutS homolog 2/human MutS homolog 6 [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(13): 11 135-11 142.
- [16] AL-TASSAN N, CHMIEL N H, MAYNARD J, et al. Inherited variants of MYH associated with somatic G: C → T: A mutations in colorectal tumors [J]. *Nat Genet*, 2002, 30(2): 227-232.
- [17] SIEBER O M, LIPTON L, CRABTREE M, et al. Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis, and germ-line mutations in MYH [J]. *N Engl J Med*, 2003,

- 348(9):791-799.
- [18] GISMONDI V, META M, BONELLI L, et al. Prevalence of the Y165C, G382D and 1395delGGA germline mutations of the MYH gene in Italian patients with adenomatous polyposis coli and colorectal adenomas [J]. **Int J Cancer**, 2004, 109(5):680-684.
- [19] ISIDRO G, LARANJEIRA F, PIRES A, et al. Germline MUTYH (MYH) mutations in portuguese individuals with multiple colorectal adenomas [J]. **Hum Mutat**, 2004, 24(4):353-354.
- [20] NIELSEN M, FRANKEN P F, REINARDS T H, et al. Multiplicity in polyp count and extracolonic manifestations in 40 Dutch patients with MYH associated polyposis coli (MAP)[J/OL]. **J Med Genet**, 2005, 42(9):e54. <http://www.jmedgent.com/cgi/content/full>
- [21] ELIASON K, HENDRICKSON B C, JUDKINS T, et al. The potential for increased clinical sensitivity in genetic testing for polyposis colorectal cancer through the analysis of MYH mutations in North American patients [J]. **J Med Genet**, 2005, 42(1):95-96.
- [22] KAIRUPAN C F, MELDRUM C J, CROOKS R, et al. Mutation analysis of the MYH gene in an Australian series of colorectal polyposis patients with or without germline APC mutations [J]. **Int J Cancer**, 2005, 116(1):73-77.
- [23] MIYAKI M, IJIMA T, YAMAGUCHI T, et al. Germline mutations of the MYH gene in Japanese patients with multiple colorectal adenomas [J]. **Mutat Res**, 2005, 578(1-2):430-433.
- [24] CROITORU M E, CLEARY S P, DI NICOLA N, et al. Association between biallelic and monoallelic germline MYH gene mutations and colorectal cancer risk [J]. **J Natl Cancer Inst**, 2004, 96(21):1 631-1 634.
- [25] TAO H, SHINMURA K, HANAOKA T, et al. A novel splice-site variant of the base excision repair gene MYH is associated with production of an aberrant mRNA transcript encoding a truncated MYH protein not localized in the nucleus [J]. **Carcinogenesis**, 2004, 25(10):1 859-1 866.
- [26] ZHANG Y, LIU X, FAN Y, et al. Germline mutations and polymorphic variants in MMR, E-cadherin and MYH genes associated with familial gastric cancer in Jiangsu of China [J]. **Int J Cancer**, 2006, 119(11):2 592-2 596.
- [27] JOHNSON V, LIPTON L R, CUMMINGS C, et al. Analysis of somatic molecular changes, clinicopathological features, family history, and germline mutations in colorectal cancer families: evidence for efficient diagnosis of HNPCC and for the existence of distinct groups of non-HNPCC families [J]. **J Med Genet**, 2005, 42(10):756-762.
- [28] LIPTON L, HALFORD S E, JOHNSON V, et al. Carcinogenesis in MYH-associated polyposis follows a distinct genetic pathway [J]. **Cancer Res**, 2003, 63(22):7 595-7 599.
- [29] SAMPSON J R, DOLWANI S, JONES S, et al. Autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis due to inherited mutations of MYH [J]. **Lancet**, 2003, 362:39-41.
- [30] JENKINS M A, CROITORU M E, MONGA N, et al. risk of colorectal cancer in monoallelic and biallelic carriers of MYH mutations: a population-based case-family study [J]. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 2006, 15(2):312-314.
- [31] FARRINGTON S M, TENESA A, BARNETSON R, et al. Germline susceptibility to colorectal cancer due to base-excision repair gene defects [J]. **Am J Hum Genet**, 2005, 77(1):112-119.
- [32] MARRA G, JIRICNY J. Multiple colorectal adenomas-is their number up [J]? **N Engl J Med**, 2003, 348(9):845-847.
- [33] BAGLIONI S, MELEAN G, GENSINI F, et al. A Kindred With MYH-Associated Polyposis and Pilomatricomas [J]. **Am J Med Genet A**, 2005, 134(2):212-214.
- [34] SAMPSON J R, JONES S, DOLWANI S, et al. MutYH (MYH) and colorectal cancer [J]. **Biochem Soc Trans**, 2005, 33(Pt 4):679-683.

[责任编辑 张荣连]