

脑组织对 DNA 双链断裂的反应

董晓荣 伍钢

【摘要】 DNA 双链断裂是电离辐射引起的最严重 DNA 损伤形式, 脑组织对 DNA 损伤的反应与其发展程度密切相关, 脑组织中增殖细胞主要是通过同源重组进行修复, 而分化细胞则通过非同源末端连接修复。DNA 双链断裂信号通路相关因子的缺陷会导致一系列的有神经病理表现的人类遗传病。重点讨论电离辐射触发脑细胞 DNA 双链断裂后, 信号转导相关因子和与相关因子导致的神经系统人类遗传疾病。

【关键词】 辐射损伤; 信号传导; DNA 损伤; DNA 修复; 脑

【中图分类号】 Q691.9 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2008)01-0051-04

The response of the brain tissue to DNA double strand breaks

DONG Xiao-rong, WU Gang

(Cancer Center, Wuhan Union Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430023, China)

【Abstract】 Double-strand breaks (DSB) are the most deleterious form of DNA damage after ionizing radiation, the response of the brain tissue to DNA damage is related to the developmental dynamics of this system. Homology recombination is particularly important for proliferating cells, while non-homologous end joining is critical for differentiating cells. Defects in the related factors to DNA damage pathway underpin many human genopathy with neuropathology. Reviewed the signal conduction system involved in the DNA DSB response and human neuropathology genopathy related to DNA DSB factors deficiencies in the brain cells.

【Key words】 Radiation injuries; Signal transduction; DNA damage; DNA repair; Brain

DNA 双链断裂 (DNA double-strand breaks, DSB) 被认为是最严重的 DNA 损伤形式, 可由外源性的因素如射线或某些化疗药物引起, 也可以由内源性的复制、V(D)J 重组 (是一种由 Variable 基因片段和 Diversity 或 Joining 基因片段随机连结的功能区) 和减数分裂过程中产生。目前认为, 电离辐射后 DSB 的形成和修复在辐射损伤中起重要的作用, DSB 形成后精确的细胞内信号转导和修复能力是维持生物体存活的基本条件, DSB 修复缺陷会导致一些人类疾病包括肿瘤、免疫缺陷、辐射敏感性的紊乱和神经退行性变。

脑细胞对 DNA 损伤的反应与其发展程度密切相关, 发育中的脑细胞对 DNA 损伤的反应是易产生凋亡, 而成熟脑细胞对 DNA 损伤的反应还不明确。脑细胞主要由两类细胞及其亚型组成: 神经元和神经胶质细胞, 形成于能产生神经前体细胞的亚

室区, 经过增殖, 然后从细胞周期中脱离, 再经过分化、迁徙和成熟的基本过程建立起除小胶质细胞外的整个脑组织。本文重点讨论脑细胞 DNA DSB 引起的信号反应和与 DSB 修复基因缺陷导致的神经系统人类疾病。

1 电离辐射触发脑细胞 DNA DSB 的信号反应

脑组织发育过程中, 在细胞复制和分化的区域, DNA 损伤主要是激活凋亡过程而不是 DNA 修复; 相反, 在成熟脑组织, 非同源末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ) 是脑细胞主要的 DNA DSB 修复方法, 可以保持成熟神经系统的稳定性。

DNA DSB 信号转导中较早发生的是组蛋白 H2AX 的丝氨酸-谷氨酰胺-谷氨酸 (Ser-Gln-Gln, SQE) 结构域中的第 139 位丝氨酸残基被迅速磷酸化, 而形成 γ -H2AX, 它可以使 DNA 损伤反应因子聚集在 DNA 损伤的部位^[1,2]。H2AX 是组蛋白 H2A 家族中的一种, 占 H2A 的 2%~25%, 在 C-端尾部第 139 位有保守的丝氨酸残基的 SQE 结构域。多年来, DSB 修复的分析方法都依赖于脉冲电场凝胶电

作者单位: 430023 武汉, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肿瘤中心

通讯作者: 伍钢 (E-mail: wugangzr@yahoo.com.cn)

泳,但是这需要在较高的剂量下分析(50 Gy)。近年来, γ -H2AX 焦点分析成为较低剂量的照射后检测 DSB 形成和修复的非常敏感的方法,这是用特异性抗体在细胞核内 DSB 位点形成荧光显微镜下可以分辨的斑点,这些点状的物质称为“焦点”,并且 γ -H2AX 分子聚集形成一个焦点即表明有一个 DSB 产生^[3]。电离辐射诱导的 H2AX 磷酸化主要由共济失调-毛细血管扩张突变 (ataxia-telangiectasia mutated, ATM) 蛋白和 DNA 依赖蛋白激酶催化亚基 (DNA-dependent protein kinase catalytic subunit, DNA-PKcs) 负责,有研究显示两者在功能上有一定的重叠^[4]。由于 H2AX 磷酸化非常迅速,形成的 γ -H2AX 在 DNA DSB 部位的聚集和保留需要其他 DNA 损伤反应因子,如:DNA 损伤检查点因子 1 (mediator of DNA damage checkpoint 1, MDC1)。MDC1 的 C 端串连的乳腺癌易感基因 C 末端 (breast cancer susceptibility gene C terminus, BRCT) 区域与 γ -H2AX 的 C 端相连,并且如果没有 MDC1, γ -H2AX 的形成和消失都会改变^[5,6]。因此, γ -H2AX 为大量加强 DNA 修复因子的招募因子。

另外一个对 DNA DSB 信号转导关键的因子是 ATM 蛋白,它能诱导一系列细胞周期调控或保持基因稳定的因子在 DNA 损伤后磷酸化^[7]。ATM 蛋白是一种磷酸化的核蛋白,属于磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphoinositide-3 kinase, PI3K) 族,含有 3056 个氨基酸,相对分子质量为 350.6×10^3 。ATM 以调节 DSB 诱导的细胞周期检查点阻滞而著称,包括 G₁-S、S 和 G₂-M 期检查点^[8]。ATM 对 DSB 后的凋亡也有调节作用。失活的 ATM 以二聚体的形式存在, DNA DSB 后,第 1981 位丝氨酸自身磷酸化形成有活性的单体。ATM 的激活与其他的因子密切联系,其中主要的是 MRN (分别由 MRE11、RAD50 和 NBS1 组成) 复合物,MRN 复合物功能下降的细胞,显示出 ATM 活性下降和 ATM 亚单位磷酸化减少,或影响 ATM 聚集到 DNA 损伤处形成的“焦点”^[9,10]。激活的 ATM 磷酸化大量底物,其中的大部分涉及细胞周期检查点、DNA 修复或凋亡。已证实 ATM 主要在 DSB 修复过程中的较晚时间点发挥作用 (≥ 24 h)^[11]。

DNA-PK 由包含 Ku70/Ku80 的调节亚单位和一个 470×10^3 的催化亚单位 DNA-PKcs 组成,任何成份的缺陷会导致哺乳动物细胞 DSB 修复缺陷并且

增强其对电离辐射的敏感性。DNA-PKcs、ATM 和共济失调毛细血管扩张症 Rad3 相关蛋白 (ATM-Rad3-related, ATR) 都是磷脂酰肌醇家族成员,显示丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶活性,并参与转录、细胞周期进展和基因稳定性的调节。DNA-PKcs 的一个作用是单独或作为一个多蛋白复合体的部分保护和调整损伤 DNA 末端。虽然 DNA-PKcs 的精确靶蛋白还不确定,但认为 DNA-PKcs 具有以下功能:①磷酸化 X 射线修复交叉互补基因和从 Ku 蛋白结合的 DNA 末端移除或再定位连接酶 IV/X 射线修复交叉互补基因复合物;②磷酸化 Ku70 和 Ku80;③调整 DNA 断端使其易于接近。因此,电离辐射形成 DSB 后的信号包含一系列很快发生并相互协调的分子事件,通过细胞周期阻滞而经同源重组 (homology recombination, HR) 或 NHEJ 修复受损 DNA 或激活凋亡,产生辐射效应。

2 脑细胞 DNA DSB 修复途径

DNA DSB 启动一系列的信号级联反应修复 DSB^[12]。DSB 主要有两条修复途径:HR 和 NHEJ。每条修复途径都有一系列修复酶和相关因子,通路中任何因子缺陷都会导致 DSB 修复缺陷。NHEJ 是哺乳动物细胞最主要的修复途径,HR 是单核生物中修复放射引起的 DSB 的主要方式。修复途径的选择与细胞周期有关,在 S 期和 G₂ 期以 HR 修复为主;G₀ 期和 G₁ 期以 NHEJ 为主。脑组织中的增殖细胞主要是通过 HR 进行修复,而分化细胞则通过 NHEJ 修复。DSB 未修复或错误修复会通过激活下游信号系统产生辐射损伤。

2.1 HR 修复途径

HR 是胚胎发生的早期到中孕期的主要 DSB 修复方式,当细胞快速分裂而需要无错误的高保真修复发生时,涉及到许多蛋白,以及触发 DNA 修复反应的损伤检测分子。

HR 对维持基因组的完整性是很重要的,尤其是在脑胚胎细胞和发育中脑组织的增殖细胞修复中,HR 占有比较显著的作用。HR 提高了 DSB 修复的精确性,从而增加了细胞在电离辐射后的存活,这对于发育中的脑组织的甚为重要。

2.2 NHEJ 修复途径

NHEJ 修复 DSB 的两个 DNA 断端,使其能直接相连,由于成熟神经系统大部分是分裂后的细

胞, 所以 NHEJ 是脑中主要的 DSB 修复方式^[13]。NHEJ 修复过程涉及许多修复因子, 其中包括 Ku 二聚体 (Ku70 和 Ku80)、DNA-PKcs、DNA 连接酶 IV (ligase IV, LIG4)、X 射线修复交叉互补基因等^[14]。成熟的脑细胞 DSB 大多以 NHEJ 修复为主。

3 DSB 信号通路因子缺陷导致有神经病理表现的人类遗传病

DNA DSB 信号通路因子功能失调能引起人类疾病, 体外研究表明, 此类疾病大多有相似的分子表型, 例如: 对电离辐射和其他引起 DSB 的化学物质高度敏感, 细胞周期蛋白检查点缺陷或高发的染色体断裂和重排等。神经发育中的 DNA DSB 修复缺陷导致神经病理, 如神经退行性变、小头畸形或脑肿瘤等, 这说明 DNA DSB 对维持神经内环境的稳定是很重要的。

3.1 共济失调-毛细血管扩张 (ataxia-telangiectasia, AT) 症

AT 是一种由于 ATM 基因突变导致的少见的常染色体隐性综合征^[15], 由 DNA 修复缺陷, 第 14 对染色体易位所引起, AT 是多系统功能紊乱, 包括免疫缺陷、易感肿瘤尤其是淋巴瘤和白血病、毛细血管扩张, 但是 AT 最主要的临床特征是进行性的共济失调。在分子水平, ATM 缺陷表现为对电离辐射和其他产生 DSB 的因素高敏感, 但对其他形式的 DNA 损伤低度敏感或不敏感。

3.2 共济失调性毛细血管扩张症样病症 (ataxia-telangiectasia-like disorder, ATLD)

ATLD 与 AT 患者有相似的临床特征: 神经退行性变^[16]。ATLD 是由 MRE11 基因突变导致 MRN 复合体三种成分的减弱, 其中三个组成部分都参与了电离辐射后的细胞内损伤反应, 包括: 与染色体的结合、与其他损伤反应因子的结合、参与辐射诱发的 foci 的形成和诱导不同的细胞周期检查点蛋白的作用。

3.3 Nijmegen 染色体断裂综合征 (Nijmegen break-age syndrome, NBS)

NBS 是少见的常染色体隐性遗传疾病, 表现为小头畸形、免疫缺陷和易患造血系统恶性肿瘤。NBS 是由 MRN 复合物中的下游效应基因 NBS1 突变引起^[17]。ATM 可以磷酸化 NBS1, 说明 ATM 可以作为 MRN 复合物的上游基因, NBS1 可以作为

ATM 的作用底物和 ATM 功能的中介者。

3.4 LIG4 综合征

LIG4 的下游效应基因突变导致 LIG4 活性降低, 从而引起与 NBS 相似的表现: 不正常的脸部特征, 生长减退和小头畸形。LIG4 在 NHEJ 和 V(D)J 重组中很重要。LIG4 综合征患者表现为免疫缺陷, 并从患者提取的细胞表现为辐射敏感和对 DNA DSB 修复的 NHEJ 通路缺陷。

4 展望

在神经系统, DNA DSB 信号通路因子信号缺陷导致一系列的人类疾病, 表现出不同的神经病理表现。脑组织中, 触发 DNA 修复或激活凋亡的分子反应是由其不同的发育阶段决定的 DNA DSB, 但是发育中的脑组织在电离辐射后的不良反应较成熟脑组织严重的机制还不明确, 何种程度的 DNA 损伤可以使成熟的神经元在消失前耐受, 这些都是今后研究的重点。

参 考 文 献

- [1] Sedelnikova OA, Pilch DR, Redon C, et al. Histone H2AX in DNA damage and repair[J]. *Cancer Biol Ther*, 2003, 2(3): 233-235.
- [2] Fernandez-Capetillo O, Lee A, Nussenzweig M, et al. H2AX: the histone guardian of the genome[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2004, 3 (8-9): 959-967.
- [3] Rothkamm K, Löbrich M. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low X-ray doses [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(9): 5057-5062.
- [4] Stiff T, O'Driscoll M, Rief N, et al. ATM and DNA-PK function redundantly to phosphorylate H2AX following exposure to ionising radiation[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(7): 2390-2396.
- [5] Stucki M, Clapperton JA, Mohammad D, et al. MDC1 directly binds phosphorylated histone H2AX to regulate cellular responses to DNA double-strand breaks[J]. *Cell*, 2005, 123(7): 1213-1226.
- [6] Lou Z, Minter-Dykhouse K, Franco S, et al. MDC1 maintains genomic stability by participating in the amplification of ATM-dependent DNA damage signals[J]. *Mol Cell*, 2006, 21(2): 187-200.
- [7] Lavin MF, Birrell G, Chen P, et al. ATM signaling and genomic stability in response to DNA damage[J]. *Mutat Res*, 2005, 569(1-2):123-132.
- [8] Kurz EU, Lees-Miller SP. DNA damage-induced activation of ATM and ATM-dependent signaling pathways [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2004, 3(8-9): 889-900.
- [9] Lee JH, Paull TT. Direct activation of the ATM protein kinase by the Mre11/Rad50/Nbs1 complex [J]. *Science*, 2004, 304(5667): 93-96.
- [10] Difilippantonio S, Celeste A, Fernandez-Capetillo O, et al. Role of

- Nbs1 in the activation of the Atm kinase revealed in humanized mouse models[J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(7): 675-685.
- [11] Riballo E, Kühne M, Rief N, et al. A pathway of double-strand break rejoining dependent upon ATM, Artemis and proteins locating to γ -H2AX foci[J]. *Mol Cell*, 2004, 16(5): 715-724.
- [12] Abner CW, McKinnon PJ. The DNA double-strand break response in the nervous system[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2004, 3(8-9): 1141-1147.
- [13] O'Driscoll M, Jeggo PA. The role of double-strand break repair: insights from human genetics[J]. *Nat Rev Genet*, 2006, 7(1): 45-54.
- [14] Orii KE, Lee Y, Kondo N, et al. Selective utilization of nonhomologous end-joining and homologous recombination DNA repair pathways during nervous system development[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(26): 10017-10022.
- [15] McKinnon PJ. ATM and ataxia telangiectasia[J]. *EMBO Rep*, 2004, 5(8): 772-776.
- [16] Taylor AM, Groom A, Byrd PJ. Ataxia-telangiectasia-like disorder (ATLD): its clinical presentation and molecular basis [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2004, 3(8-9): 1219-1225.
- [17] Digweed M, Sperling K. Nijmegen breakage syndrome: clinical manifestation of defective response to DNA double-strand breaks [J]. *DNA Repair(Amst)*, 2004, 3(8-9): 1207-1217.

(收稿日期: 2007-07-26)

· 简讯 ·

中国物理学会举办医学物理特邀学术报告会

经过数年酝酿, 中国物理学会新成立了医学物理专业委员会。2007年12月8日, 中国物理学会在清华大学主楼二层报告厅举办了首届医学物理特邀学术报告会。报告会受到了有关各界高度重视, 年过九旬的我国核医学泰斗、中国科学院资深院士王世真教授等多位院士和著名专家专程出席会议。中国物理学会理事长杨国祯院士、清华大学常务副校长何建坤教授先后在大会上致词, 阐述了发展我国医学物理学的重要意义和实际需要。中国物理学会医学物理专业委员会首届主任委员、清华大学医学院常务副院长赵南明教授和南京航空航天大学陈达院士、复旦大学附属肿瘤医院(上海)院长蒋国梁教授等多位相关学术界专家分别主持了一整天内容丰富的学术报告会。会议安排了12个特邀报告, 受到热烈欢迎。

中国科学院方守贤院士(中国科学院高能物理研究所)、詹文龙院士(中国科学院近代物理研究所)、叶朝辉院士(中国科学院武汉物理数学研究所)和华中科技大学副校长骆清铭教授分别报告了“质子治疗装置的初步考虑”、“HIRFL的重离子治癌”、“磁共振在生物医学中的机会”和“光学分子成像”, 生动反映了物理学与医学日益紧密交叉融合的新进展。解放军空军总医院夏廷毅教授、中国医学科学院、中国协和医科大学肿瘤医院张红志教授、华中科技大学附属武汉同济医院院长周云峰教授分别报告了“全身 γ 刀的技术特点及临床治疗结果”、“放射肿瘤物理学进展”、“从QA/QC看放疗物理高级人才培养的必要性”, 侧重反映了肿瘤放射治疗的进展与对医学物理的强烈需求。中国医学科学院、中国协和医科大学阜外医院何作祥教授、中国科学院高能物理研究所魏龙教授分别报告了“生物医学分子成像”、“国内核医学影像技术和设备发展”, 具体反映了核医学与核医学物理的新进展。郑钧正教授(原任职于中国医学科学院、中国协和医科大学放射医学研究所、中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所, 现受聘清华大学等高校兼职教授)报告了“保健物理是医学物理的重要组成部分”, 表明与国际接轨, 医学物理涵盖肿瘤放射治疗物理、医学影像物理、核医学物理和保健物理(放射防护), 重视放射防护与安全必将促进医学物理学和医用辐射事业更好的发展。清华大学工程物理系医学物理所副所长唐劲天教授、北京大学物理学院医学物理与工程重点实验室主任包尚联教授则分别报告了“清华大学医学物理建设”、“北京大学医学物理学科的建立和发展”, 介绍了我国这两所著名高校在推动建立我国医学物理学科和培养人才等方面的进展。目前, 清华大学、北京大学均设有医学物理硕士研究生班, 为各地医院培养、输送高层次医学物理人员。

建设好我国医学物理学科是当前我国临床医学、基础医学、物理学以及相应医疗器械产业不断发展的迫切需要。在2004年初, 国务院吴仪副总理对廿几位院士与专家联名上书呼吁建立医学物理师制度和发 展医学物理学科做出批示之后, 2004年3月第221次香山科学会议以“医学物理发展”为主题胜利召开。很快, 一些高校陆续开办医学物理的本科和研究生教育; 相关法规出台要求有关医院应配备医学物理人员等。正如此次报告会上所指出的, 我国医学物理学科建设正愈加受到重视而不断前进, 相信中国物理学会新成立医学物理专业委员会, 将起到进一步的推动作用。

(方 赋)