

体), 高效专一地杀灭幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*), 以治疗胃炎、预防胃癌? 基因工程病毒尤其是复制型病毒作为药物, 要获得许可必然要经过道义上和医学上的更为严格的评估。付诸临床, 恐非一日之功, 但它毕竟为疾病, 尤其是某些顽症的治疗开拓了一个崭新的途径, 也为设计高效、特异、安全的非病毒新药提供了借鉴。

## 参考文献

- [1] Paulovich A G. When checkpoints fail. *Cell* 1997, 88: 315
- [2] Elizabeth C, Daniel E, Koshland Jr. p53 sweeps through cancer research. *Science* 1993, 262: 1958
- [3] Chou J, Roizin B. The rl34.5 gene of HSV-1 precludes neuroblastoma cells from triggering total shutoff of protein synthesis characteristics of programmed cell death in neuronal cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 3266
- [4] Bishoff J R, Kin D H, Williams A, et al. An adenovirus mutant that replicated selectively in p53-deficient human tumor cells. *Science*, 1996, 274: 373
- [5] Heise C. ONYX-015, an E1B gene-attenuated adenovirus, causes tumor-specific cytotoxicity and antitumor efficacy that can be augmented by standard chemotherapeutic agents. *Nature Med*, 1997, 3: 639
- [6] Barinaga M. Treatment marks cancer cells for death. *Science* 1997, 278: 1037
- [7] Dugue P M, Abnso C, Sanchez-prieto R, et al. Antitumoraleffect of E1B defective adenoviruses in human malignant cells. *Gene Therapy* 1998, 5: 286
- [8] Wyatt R, Sodroski J. The HIV-1 envelope glycoproteins: fusogens, antigens and immunogens. *Science*, 1998, 280: 1884
- [9] Doms R W, Peiper S C. Unwelcomed guests with master keys: How HIV uses chemokine receptors for cellular entry. *Virology*, 1997, 235: 179
- [10] Mbatiana T, Finke S, Weiland F, et al. A CXCR4/CD4 pseudotype rhabdovirus that selectively infects HIV-1 envelope protein-expressing cells. *Cell* 1997, 90: 841
- [11] Schnell M J, Johnson J E, Buonocore L, Rose R. Construction of a novel virus that targets HIV-1-infected cells and controls HIV-1 infection. *Cell* 1997, 90: 849
- [12] Schweizer M, Turek R, Hahn H, et al. Markers of foamy virus infections in monkeys, apes, and accidentally infected humans: appropriate testing fails to confirm suspected foamy virus prevalence in humans. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1995, 11: 161
- [13] Rammekere J, Cornelis J J. Antineoplastic activity of parvoviruses. *J Virol Methods* 1991, 33: 233

(收稿日期: 1998-11-16)

作者简介: 肖庚富, 男, 博士, 讲师。

## · 综 述 ·

# 肿瘤易感基因 BRCA 2 的研究进展

颜江华

King 在 1974 年通过大量流行病学研究发现乳腺癌与遗传因子有关, 患者常染色体上有显性基因突变, 并能从父母遗传给子代。1990 年 King 研究组通过 17 号染色体的一系列微卫星标志物, 对基因组的连锁分析发现第一个家族性乳腺癌易感基因 BRCA 1 (Breast and ovarian cancer susceptibility gene, BRCA 1) 并定位在 17q21。随后大量研究显示 BRCA 1 可以解释既有多例早发性乳腺癌, 又有多例卵巢巢癌的家族和 45% 单患乳腺癌的家族, 而难以解释男女性乳腺癌均发的家族。虽然 p53 胚系突变和 AT (Ataxia Telangiectasia AT) 突变与乳腺癌有

关, 但 p53 和 AT 的突变也只能解释很少一部分与 BRCA 1 无关的家族。这促使了与乳腺癌相关基因的进一步研究。1994 年第二个乳腺癌易感基因 BRCA 2 被发现并定位在 13q12-13 上。本文就有关 BRCA 2 的基因定位、在肿瘤中的杂合性丢失 (Loss of Heterozygosity, LOH)、基因突变和表达调控研究情况作一综述。

## 一、BRCA 2 的基因定位

Woooster 等<sup>[1]</sup>对患有多例早发性乳腺癌而又与 BRCA 1 无关的 15 个家族进行基因组连锁分型分析, 首先发现一个新的与早发性乳腺癌相关联的基因——BRCA 2 并定位在 13q12-13 个区域。多点 Lot 计分法分析显示早发性乳腺癌家族与 D13S260

和 D13S267最大连锁率达 95.8%。两个重组人工染色体定位 BRCA 2端粒于 D13S289, 一个来源于双侧乳腺癌的重组人工染色体定位 BRCA 2的着丝点于 D13S267 至此确定 BRCA 2位于 13q12-13上标记物 D13S289/90和 D13S267 之间 6cM (centimorgans)的区域。完整的 BRCA 2基因尚未被鉴定,但已知 BRCA 2是一个由 26个外显子构成的大基因, 26个外显子共有 10254个核苷酸 其中 11号外显子几乎含编码系列的一半, 完整的 BRCA 2编码 3418个氨基酸的蛋白质, 该蛋白质与已鉴定的蛋白质几乎没有同源性, 但其具体特性尚不清楚, 可能是一种转录因子。

## 二、BRCA 2的杂合性丢失

Gudmundsson 等<sup>[2]</sup>用 D13S260 D13S267 和 D13S263等系微卫星标记物, 对 50例来自 5个家族, 被证明是 BRCA 2携带者的肿瘤标本进行分析。在 33例女性乳腺癌中 28例 LOH(+); 5例 LOH(-)中的 3例属患双侧乳腺癌, 在对侧乳腺肿瘤组织中发现等位基因的丢失。另 17例为其它肿瘤, 包括 1例男性乳腺癌、7例前列腺癌、6例卵巢癌、1例结肠癌、1例子宫颈癌和 1例输尿管癌, 除 1例卵巢癌和 1例前列腺癌外均为 LOH(+ )。

Vadenberg 等<sup>[3]</sup>对 84例来自散发性、家族性或遗传性的原发性乳腺癌标本, 用 5个涵盖 BRCA 2基因所在区域 13q12-13的微卫星标志物, 同时选用一个定位于 RB1内的标志物进行分析。在 BRCA 2区域 LOH(+ )为 34%; 在 RB1区域为 27%。BRCA 2 LOH(+ )与高 S期和高雌激素、孕激素受体密度以及 DNA 非双倍体有关; 也与肿瘤的大小、病理类型及其预后有关, 而与乳腺癌患者的淋巴结转移情况、年龄和家族史无关, 其结果同时显示在 BRCA 2区域和末端存在其它抑癌基因, 虽然 RB1也定位在这个区域, 但大量的基因组连锁分析表明 BRCA 2不是 RB1 这个区域一个或多个抑癌基因的失活与家族性和散发性乳腺癌的恶性生长程度和预后有关。

Hiroiyuki Takahashi 等<sup>[4]</sup>对 130例卵巢癌的杂合性丢失进行分析, LOH(+ )为 56%。Foster 等<sup>[5]</sup>对 85例卵巢癌的分析报道, LOH(+ )为 46%。在 BRCA 2携带者肿瘤中野生型染色体的丢失很可能是肿瘤细胞对双等位突变基因强烈选择的结果。流行病学研究显示 BRCA 2与家族性乳腺癌和卵巢癌

有关。这也说明 BRCA 2是一个抑癌基因。

与 BCRA 1一样, BRCA 2 LOH(+ )增加女性早发性乳腺癌的危险性。在 1例与 BRCA 2最大连锁的家族分析中发现到 80岁前女性乳腺癌发生率高达 87%, 这个结果可与 BRCA 1的高外显性相比。

## 三、BRCA 2基因突变

Foster 等对 50例卵巢癌肿瘤 DNA 样品 (31例 LOH(+ ), 19例 LOH(-)) 进行 BRCA 2 11号外显子的 PTT (Protein Truncation Test) 分析发现: 3个突变体 (3866 delA; 5803 delATTA; 6064 insA), 由于 1~4个 bp的插入或缺失导致框架移位突变; 同时发现一个独特的异二倍体, 表现为 16 bp的缺失 (9476 del 16—移去 24号外显子的 9bp和拼接体相应序列的 7bp) 对这 4个突变体各自的淋巴细胞的 DNA 分析显示 2个属胚系性突变, 2个是体细胞突变。2个胚系性突变的个体家族史上并无相关的癌症史。尽管大量的基因组分型连锁分析发现在乳腺癌和卵巢癌中 13q上 BRCA 2区域常见等位基因丢失, 但 BRCA 2基因胚系突变与遗传性卵巢癌的相关性远比 BRCA 1的低得多。而 BRCA 2基因的体细胞突变在散发性卵巢癌的发生过程中也并不常见, 这与 BRCA 1相似。几种 BRCA 2基因突变形式和多态性形式见附表<sup>[5,6]</sup>。

附表 基因突变和多态性形式

型	外显子	生殖因子型	核苷酸	变异	
胚系突变	10	299-300	1125-1126	insC	
	11	936-937	3034-3037	delAAAC	
	11	1908	5950-5951	delCT	
	11	2003	6174	del(Bernan DB et al)	
	11	1227	3688	delA	
	11	1862	5803	delATTA	
	11	1948	6064	insA	
	14	2486	7625	GCA(A b) - CAC(H is)	
	体细胞突变	10	605	2041	insA
		19	2787	8588	CGC(A rg) -CA C(H is)
多态性		10	372	1342	CAT(H is) -AA T(A sn)
		10	455	1593	TCA(Ser) -TCG(Ser)
		11	1552	4884	GGT(G ly) -GGC(G ly)
		11	1915	5972	ACG(Thr) -ATG(M et)
		14	2421	7470	TCA(Ser) -TCG(Ser)
27	Intron	- 68	delTTAC		

有关 BRCA 2突变的报道还很少, 而且我们无法确定 BRCA 2基因型与肿瘤表型的相关性。令人感兴趣的是 Bernan 等报道<sup>[7]</sup> 1例 BRCA 2 6174 del

T突变的男性有多种癌症的历史: 42岁被诊断有直肠癌, 46岁时诊断有乳腺癌, 47岁时诊断有食管癌。在其它 BRCA 2突变的家族中也发现多发有结肠癌、肺癌、输尿管癌、脑瘤、胰腺癌和白血病。BRCA 2突变家族中这种肿瘤的多样性在其它研究也有报道。有意义的是他们同时也发现 BRCA 2突变携带者的淋巴细胞染色体异常增加。他们认为 BRCA 2 的活性异常增加了基因组的不稳定性, 可以是导致多种肿瘤发生的原因之一。

#### 四、BRCA 2的基因表达与调控

Rajan 等的研究<sup>[8]</sup>发现 BRCA 2 mRNA 的表达受到严格调节, 并且这种调节与 BRCA 1相协调。BRCA 2 mRNA 在快速增殖细胞中升高, 峰值在 G1/S 交界处, 但与 DNA 的合成无关。乳腺上皮细胞分化时对糖皮质激素的反应是 BRCA 2 mRNA 升高, 表明 BRCA 2与细胞的增殖和分化过程有关。Spillman 等<sup>[9]</sup>也观察到在人乳腺癌细胞株 BT-483 和 MCF-7 中 BRCA 1 和 BRCA 2 mRNA 表达水平是协同受到雌激素调节的, 而不是孕激素, 两个抗雌激素试剂 (trans-4-hydroxytamoxifen 和 ICI 162,480) 可以阻断雌激素的作用, 证实这种调节是由雌激素介导的。在 BT-483 细胞株中雌激素刺激后 18~24 h, BRCA 1 和 BRCA 2 表达开始增高, 这又说明雌激素的作用是间接的。Cycloheximide 可以阻断雌激素的这种作用, 提示雌激素通过诱导一种尚不明确的雌激素反应蛋白的合成而导致 BRCA 1 和 BRCA 2 mRNA 增加。

#### 五、展望

BRCA 2 是新近发现的一个抑癌基因, 它在流行病学上与早期发现的 BRCA 1 有许多相似之处, 它们在遗传性乳腺癌、卵巢癌中均有较高频率的基因杂合性丢失, 并且在乳腺癌细胞中也观察到它们的 mRNA 表达受到协调调控。但 BRCA 2 与男性乳腺

癌有较高的相关性, 并且其它基因表型也与 BRCA 1 不同。目前, BRCA 2 的基因定位和 mRNA 编码已经清楚, 但其完整的基因结构及其蛋白质功能尚不清楚; 其在乳腺癌相关抑癌基因中所占的比例以及其与其它肿瘤广泛的相关性也需要进一步研究。

#### 参 考 文 献

- [1] Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene BRCA 2 to chromosome 13q12-13. *Science* 1994; 265(5181): 2088.
- [2] Gudmundsson J, Johannesdottir G, Arason A, et al. Frequent occurrence of BRCA 2 linkage in Icelandic breast cancer families and segregation of a common BRCA 2 haplotype. *Am J Human Genet* 1996; 58(4): 749.
- [3] Vandenberg J, Johansson O, Hakansson S, et al. Allelic loss at chromosome 13q12-q13 is associated with poor prognosis in familial and sporadic breast cancer. *Br J Cancer* 1996; 74(10): 1615.
- [4] Takahashi H, Chin HC, Bandera CA, et al. Mutations of the BRCA 2 gene in ovarian carcinomas. *Cancer Res* 1996; 56(12): 2738.
- [5] Foster KR, Harrington P, Kerr J, et al. Somatic and germline mutations of the BRCA 2 gene in sporadic ovarian cancer. *Cancer Res* 1996; 56(16): 3622.
- [6] Lancaster M, Wooster R, Mangion J, et al. BRCA 2 mutations in primary breast and ovarian cancers. *Nature Genet* 1996; 13(2): 238.
- [7] Bermann DB, Costakis J, Schultz DC, et al. A common mutation in BRCA 2 that predisposes to a variety of cancers is found in both Jewish Ashkenazi and non-Jewish individuals. *Cancer Res* 1996; 56(15): 3409.
- [8] Rajan JV, Wang M, Marquis ST, et al. BRCA 2 is coordinately regulated with BRCA 1 during proliferation and differentiation in mammary epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(23): 13078.
- [9] Spillman MA, Bowcock AM. BRCA 1 and BRCA 2 mRNA levels are coordinately elevated in human breast cancer cells in response to estrogen. *Oncogene* 1996; 13(8): 1639.

(收稿: 1997-10-27)

第一作者简介 颜江华, 男, 博士, 副研究员。