

• 专家论坛 •

乳腺癌 BARD1 基因研究的现状

李波 华彬

乳腺癌是严重威胁女性健康的常见恶性疾病。乳腺癌的病因复杂,目前普遍认为乳腺癌是基因环境交互作用引起的疾病。只有对乳腺癌病因进行深入研究才能使广大女性在预防、诊断、治疗、随访等方面确实受益。大约只有 5%~10% 的乳腺癌是因为遗传了乳腺癌高共显易感基因,主要是 BRCA1/2(breast cancer1/2)^[1-2],但是却发现了绝大多数乳腺癌患者(散发性乳腺癌)和家族性乳腺癌患者 BARD1(BRCA1-associated RING domain 1) 基因突变,因此认为 BARD1 基因在乳腺癌的发生发展中发挥了一定的作用,这是目前国外研究的一个热点。现就 BARD1 基因的研究现状和进展做如下总结。

1 分子生物学基础

1996 年研究人员发现了一种可以与 BRCA1 蛋白结合的蛋白,因为具有和 BRCA1 相似的环指功能域,所以命名为 BARD1^[3]。BARD1 基因位于 2q34-35,编码含 777 个氨基酸残基的蛋白。该蛋白的主要功能域有环指功能域(包含 46-90 氨基酸残基),三个锚蛋白重复序列(包含 427-525 氨基酸残基),两个羧基端功能域(BRCT)(包含 616-653 氨基酸残基和 743-777 氨基酸残基)。此外该蛋白还包含了核输出信号(包含 102-120 氨基酸残基)和核定位信号(可能包含 204-209 氨基酸残基)。蛋白的不同部分发挥了不同的作用^[4-5]。

2 BARD1 基因产物的功能

2.1 与 BRCA1 相关的功能

BARD1 和 BRCA1 通过各自的环指区结合形成异二聚体,使两种蛋白变得更加稳定,发挥泛素链接酶的作用,维持细胞遗传稳定性,起到抑癌的作用^[6-8]。离体实验发现,BRCA1-BARD1 异二聚体通过 K48 和 K344 氨基酸残基泛素化中心粒的 γ 微管蛋白结合。如果 γ 微管蛋白 K48 受体变异会影响其降解,导致中心粒异常扩增,这说明 BRCA1-BARD1 异二聚体具有细胞周

作者单位:100730 北京,卫生部北京医院乳腺疾病诊疗中心

通信作者:李波, E-mail:libolxl@sina.com

期关卡调控的作用^[9]。核仁磷酸蛋白(nucleolar phosphoprotein nucleophosmin, NPM, 也称为 B23)的功能是复杂的,既有癌基因的功能又有抑癌基因的作用^[10]。BRCA1-BARD1 异二聚体通过 K6 氨基酸残基与 NPM 结合,可以使其保持稳定。三者结合使用共同的抑癌通路,NPM 起到拮抗 BARD1 的作用,抑制其 BRCA1 非依赖性功能。此外 BRCA1-BARD1 异二聚体还可以泛素化组蛋白 2AX (H2AX)、RNA 聚合酶 II 等,说明他们在染色体修饰、转录及 DNA 修复方面均发挥了作用^[11-12]。

2.2 与 BRCA1 不相关的功能

研究发现在增殖和凋亡活跃的细胞中,都可以发现 BARD1 和 BRCA1 的表达。而且组织细胞中增殖和凋亡越活跃,BARD1 和 BRCA1 表达越多。但是在一些凋亡相关的细胞中只发现了 BARD1 的表达,比如在减数分裂前的精子细胞中就只表达 BARD1^[13-14]。在乳腺、子宫内膜和卵巢细胞中也可以发现 BARD1 随着卵巢激素周期性的变化,其表达的程度也有不同,说明在不同时期,BARD1 发挥了不同的作用。在正常情况下,中枢神经系统不表达 BARD1,但是在发生缺氧引起细胞凋亡时就出现了 BARD1 的表达,说明在凋亡过程中,BARD1 起到重要作用。在离体实验时发现,当遗传毒性压力增大时,BARD1 的表达上调,而且这一作用依赖 P53 的稳定性和半胱氨酸酶 3 的活性;在此过程中,BARD1 依赖于 P53,但是受到 BRCA1 的调控^[15]。BARD1 通过 510-604 氨基酸残基与 P53 相连,这一狭窄的区域位于 ANK 和 BRCT 之间。在这一区间内 BRAD1 发生两个与肿瘤相关的突变即 C557S 和 Q564H。在细胞系中,Q564H 突变的 BARD1 缺乏诱导凋亡的功能。研究还发现当 BRCA1 和 BARD1 的基因产物数量相称时,诱导细胞存活和 DNA 的修复功能,如果 BARD1 产物超出 BRCA1 时则诱导凋亡^[16-17]。

3 BARD1 突变与肿瘤的发生发展

因为只有约 50% 的家族性乳腺癌和卵巢癌患者携带 BRCA1 和 BRCA2 突变(参见 the Human Gene Mutation Database),研究人员希望能通过 BARD1 突变来解释其他遗传性和散发性乳腺癌和卵巢癌。对散发性乳腺癌、卵巢癌和子宫内膜癌的筛查发现了三种错义突变:Q564H、V695L 和 S761N,其中 Q564H 和 S761N 还出现了杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH)^[18]。意大利关于非 BRCA1 和 BRCA2 基因突变的家族性乳腺癌和卵巢癌的研究发现了 BARD1 五种突变^[19],包括 1139del21 和 C557S,这两种突变在以前的研究中认为是基因的多态性^[18]。在芬兰基于人口的研究发现,

C557S 突变与乳腺癌的遗传易感性有关^[20]。日本对家族性乳腺癌(未携带 BRCA1 或 BRCA2 胚系突变)患者的研究发现了 6 种突变,包括 1139del21 突变和 N470S 胚系突变^[21]。日内瓦对卵巢癌的研究发现 cDNAs 中 70% 有 N 末端缺失,另外 30% 携带 Q406R 突变^[22]。免疫组织化学的研究让我们有了新的认识:BARD1 在散发性乳腺癌、卵巢癌和肺癌以及 BRCA1 突变的家族性肿瘤中突变并过度表达。过度表达的产物只出现在细胞浆,临近正常组织中细胞核内表达减少^[22]。实际上在卵巢透明细胞癌中 100% 的癌细胞表达胞浆 BARD1,而且 BARD1 在乳腺癌和卵巢癌中的表达上调与预后差正相关。在体外实验中发现,缺乏正常 BRAD1 基因产物的小鼠卵巢癌细胞系产生缺失外显子 2-6 的基因产物(BARD1 δ)有对抗凋亡的功能,植入 BARD1 正常产物后,可以诱导凋亡的发生^[16]。这说明,BARD1 基因异构体可能不但丧失了抑癌基因的作用,而且产生致癌性。

4 展望

BARD1 有很多功能,但是与肿瘤相关的功能主要是在 DNA 修复和细胞周期调节时的泛素链接酶活性和 P53 介导的细胞凋亡功能。它与 BRCA1 相关的功能域在 N 末端而和凋亡相关的功能域在 C 末端。癌症患者的胚系突变也发生在 C 末端。与 BRCA1 不同,BRAD 的突变没有发生在与 BRCA1 相结合的功能域中,这些数据表明除了和 BRCA1 相关的抑癌作用,BARD1 还有其他功能。肿瘤组织中表达短缩的 BRAD1 异构体。现有的研究发现这些异构体与较差的预后有关,因此我们或许可以据此进行乳腺癌的筛查和判断预后。BARD1 也是细胞增殖的必备产物,失去了 BARD1 的正常表达可以迅速引起基因的不稳定性,导致细胞死亡。能够在缺失 BARD1 的情况下存活的细胞基本都发生恶性变。因此在细胞恶变的过程中是否有 BRAD1 产物的减少将是一个重大的课题。这些亟待解决的问题或许可以对乳腺癌的发病机理做出更好的解释。

【关键词】 乳腺肿瘤;BARD1;BRCA1/2;遗传易感性

【中图分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

参考文献

- [1] Foulkes WD. Inherited susceptibility to common cancers. N Engl J Med, 2008, 359: 2143-2153.
- [2] Palacios J, Robles-Frias MJ, Castilla MA, et al. The molecular pathology of hereditary breast cancer. Pathobiology, 2008, 75: 85-94.
- [3] Wu LC, Wang ZW, Tsan JT, et al. Identification of a RING protein that can interact *in vivo* with the BRCA1 gene product. Nature Genet, 1996, 14, 430-440.

- [4] Rodriguez JA, Schuchner S, Au WW, et al. Nuclear-cytoplasmic shuttling of BARD1 contributes to its proapoptotic activity and is regulated by dimerization with BRCA1. *Oncogene*, 2004,23:1809-1820.
- [5] Irminger-Finger I, Leung WC. BRCA1-dependent and independent functions of BARD1. *Int J Biochem Cell Biol*, 2002,34:582-587.
- [6] Hashizume R, Fukuda M, Meada I, et al. The RING heterodimer BRCA1-BARD1 is a ubiquitin ligase inactivated by a breast cancer-derived mutation. *J Biol Chem*, 2001, 276:14537-14540.
- [7] Oyake D, Nishikawa H, Koizuka I, et al. Targeted substrate degradation by an engineered double RING ubiquitin ligase. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002,295: 370-375 .
- [8] Ruffner H, Joazeiro CA, Hemmati D, et al. Cancer-predisposing mutations within the RING domain of BRCA1: loss of ubiquitin protein ligase activity and protection from radiation hypersensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98:5134-5139 .
- [9] Starita LM, Machida Y, Sankaran S, et al. BRCA1-dependent ubiquitination of γ -tubulin regulates centrosome number. *Mol Cell Biol*, 2004,24:8457-8466 .
- [10] Grisendi S, Bernardi R, Rossi M. et al. Role of nucleophosmin in embryonic development and tumorigenesis. *Nature*, 2005,437:147-153 .
- [11] Chen A, Kleiman FE, Manley JL, et al. Autoubiquitination of the BRCA1-BARD1 RINGubiquitin ligase. *J Biol Chem*,2002,277:22085-22092.
- [12] Anderson SF, Schigiel BP, Nakajima T, et al. BRCA1 protein is linked to the RNA polymerase II holoenzyme complex via RNA helicase A. *Nature Genet*,1998, 19:254-256 .
- [13] Ayi TC, Tsan JT, Hwang LY, et al. Conservation of function and primary structure in the BRCA1-associated RING domain (BARD1) protein. *Oncogene*,1998,17:2143-2148.
- [14] Irminger-Finger I, Soriano JV, Vaudan G, et al. In vitro repression of Brcal-associated RING domain gene, Bard1, induces phenotypic changes in mammary epithelial cells. *J Cell Biol*, 1998,143:1329-1339.
- [15] Irminger-Finger I, Leung WC, Li J, et al. Identification of BARD1 as mediator between proapoptotic stress and p53-dependent apoptosis. *Mol Cell*,2001, 8:1255-1266.
- [16] Feki A, Jefford CE, Bernardi P, et al. BARD1 induces apoptosis by catalyzing phosphorylation of p53 by DNA-damage response kinase. *Oncogene*, 2005,24:3726-3736.
- [17] Jefford CE, Feki A, Harb J, et al. Nuclear-cytoplasmic translocation of BARD1 is linked to its apoptotic activity. *Oncogene*,2004,23:3509-3520.
- [18] Thai TH, Du F, Tsan JT, et al. Mutations in the BRCA1-associated RING domain (BARD1) gene in primary breast, ovarian and uterine cancers. *Hum Mol Genet*,1998, 7:195-202.
- [19] Ghimenti C, Sensi E, Presciuttini S, et al. Germline mutations of the BRCA1-associated ring domain (BARD1) gene in breast and breast/ovarian families negative for BRCA1 and BRCA2 alterations. *Genes Chromosomes Cancer*,2002, 33:235-242.
- [20] Winqvist R. Mutation screening of the BARD1 gene: evidence for involvement of the Cys557Ser allele in hereditary susceptibility to breast cancer. *J Med Genet*, 2004,41:e114.
- [21] Ishitobi M, Miyoshi Y, Hasegawa S, et al. Mutational analysis of BARD1 in familial breast cancer patients in Japan. *Cancer Lett*, 2003,200:1-7.
- [22] Wu JY, Vlastos AT, Pelte MF, et al. Aberrant expression of BARD1 in breast and ovarian cancers with poor prognosis. *Int J Cancer*,2006,118:1215-1226 .

(收稿日期:2010-07-26)

(本文编辑:范林军)

李波, 华彬. 乳腺癌 BARD1 基因研究的现状[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2010, 4(5): 554-557.