

Ku蛋白与肿瘤

占大钱, 黄志勇, 陈孝平

占大钱, 黄志勇, 陈孝平, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝胆外科中心 湖北省武汉市 430030
教育部新世纪优秀人才支持计划项目资助, No. NCET-04-0701
通讯作者: 黄志勇, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝胆外科中心.
zyhuang@medmail.com.cn
电话: 027-83663871 传真: 027-83663400
收稿日期: 2006-05-11 接受日期: 2006-05-26

摘要

Ku蛋白是DNA结合蛋白, 能与DNA末端及DNA损伤导致的双链DNA断裂(DSBs)结合. Ku蛋白, 由Ku70/Ku80两亚基紧密结合形成的异二聚体结构, 与DNA依赖的蛋白激酶催化亚基(DNA-PKcs)结合形成DNA依赖的蛋白激酶全酶(DNA-PK), 在DSBs的非同源末端结合(NHEJ)修复途径中发挥重要作用. 此外, Ku蛋白在维持端粒结构也有着重要作用. Ku蛋白缺失会造成小鼠成纤维细胞明显的染色体的畸变和淋巴瘤的发生. 在人的肿瘤中, Ku蛋白的活性与肿瘤的发生发展相关. Ku蛋白的DNA末端结合(DEB)活性以及表达和功能与肿瘤对抗癌治疗抵抗相关. 因此, Ku蛋白可作为一个治疗靶点克服肿瘤细胞对抗癌的抵抗而增强对肿瘤的杀伤作用.

Ku蛋白; DNA修复; 肿瘤

占大钱, 黄志勇, 陈孝平. Ku蛋白与肿瘤. 世界华人消化杂志 2006;14(22):2217-2222
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2217.asp>

Ku80蛋白(又称Ku80)与Ku70蛋白形成异二聚体, 称Ku蛋白. 他是存在于细胞中的DNA末端结合蛋白. Ku蛋白是一种进化保守蛋白, 在不同物种中均发现有同源的Ku蛋白. 最初他是作为一种自身抗原在多发性肌炎-硬皮病重叠综合征(scleroderma-polymyositis overlap syndrome)患者中被发现的, 其命名是源于第一个患者前两个字母Ku^[1]. Ku蛋白广泛存在于不同组织中, 但其mRNA的含量在胸腺和淋巴细胞中更丰富. Ku蛋白主要存在细胞核中, 但也有报道分布在细胞质和细胞膜上^[2-5]. 近年来, 许多学者对Ku

蛋白的功能进行了广泛研究, 发现Ku蛋白与肿瘤的发生和发展以及肿瘤的化疗抵抗性相关.

Ku蛋白是由2条多肽链通过非共价键紧密结合形成的异二聚体结构, 分别称为Ku70和Ku80. 人Ku70基因位于染色体22q13, 编码609个氨基酸(AA), 相对分子质量为69 kDa. Ku80基因位于2q33-34, 编码732个AA, 相对分子量约83 kDa. 尽管两亚基有不同的生化特性, 但是他们很可能起源于同一个基因, 在酵母中对Ku80与Ku70两亚基比较研究发现, 位于两亚基C端的AA中22%是相同的, 38%是相似的^[6-8].

Ku80与Ku70有一定的相互作用区域, 也均有与DNA末端结合的特定区域, 这也是与DNA结合的分子基础. 研究认为Ku70的C端20 kDa与Ku80的C端32 kDa是形成异二聚体的结合部位. 进一步研究认为, Ku80的第449-477位AA是两亚基相互作用的重要部位^[6]. Wang *et al*^[9]报道Ku80的第371-510位AA是与Ku70相互作用的部位; Ku80C端的第179-732位AA对DNA的末端结合是必要部位. Ku70的第536-609位AA是与DNA结合的核心结构域^[7]. Ku蛋白的稳定性有赖于两亚基的相互依存. 如在Ku80突变的xrs-6细胞系中, 尽管Ku70 mRNA的表达正常, 但很难测得Ku70蛋白^[10-11]. 不过也有报道Ku80蛋白水平的下降并不影响Ku70的表达^[12].

■背景资料

Ku蛋白通过调控DNK-PK的活性参与DSBs的NHEJ的修复, 维持基因组的稳定. 近来报道Ku蛋白可能是一个抑癌基因以及Ku蛋白的表达和活性的增高与肿瘤的抵抗性相关的文章增多.

2.1 在DNA损伤修复中的作用 Ku蛋白可结合游离的DNA末端或一些特殊的DNA结构. 与DNA末端的结合并不依赖DNA末端特异结构, 如能与平性末端, 与3'和5'黏性末端结合, 还能与发夹样末端结合, 但是不能与单链末端结合. 特殊DNA结构主要包括单链向双链转变, 环状DNA分子内的一个缺口或DNA单链上的一个空隙或双链中因为碱基不互补而形成的“泡状”结构, 这些结合都非DNA序列特异性的. 可以推断, Ku能与细胞内的各种DNA断裂结构相结合而

■ 研发前沿

进一步深入研究 Ku 的生物活性以及作为一个治疗靶点的有效性成为研究热点。

识别各种类型的DNA损伤^[13]。同时,发现Ku蛋白与DNA-PKcs结合形成DNA-Pk全酶^[14-15]。DNA-Pk是一种由双链DNA激活的丝-苏氨酸激酶, Ku蛋白是DNA-Pk的调控成分; DNA-PKcs是催化亚基部分, 由4127个AA组成, 相对分子质量约470 kDa的大分子量蛋白, 其基因位于8q11, 他是磷脂酰肌激酶3(PI3-K)家族中的一员, 但没有脂质激酶的活性^[7,16]。Ku蛋白可通过2条途径激活DNA-PKcs, (1)Ku蛋白与DNA结合后招募DNA-PKcs而激活; (2)Ku蛋白可直接与DNA-PKcs相互结合激活, 但游离的Ku蛋白与DNA-PKcs直接结合并不形成稳定结构。尽管如此, 在没有Ku蛋白时DNA-PKcs本身能与游离的DNA末端结合而被激活^[7]。

DNA-PK最初一直作为一个转录调控因子被研究, 因为体外研究结果显示, 他可以磷酸化包括SP1, P53, OC-1以及RNA聚合酶II在内的一系列转录因子^[6]。后续研究才认识到Ku和DNA-PKcs在哺乳细胞系的DSBs修复中起重要作用^[17-20]。DSBs可由外源性损伤导致, 如电离辐射, 抗癌药物; 生理过程中也会产生, 如V(D)J重组即在淋巴细胞发育过程产生多态性抗体和T细胞表面受体分子特异性基因重组过程。DSBs是最致命的DNA损伤, 不仅威胁到基因组的完整性, 也会导致机体的死亡。未修复的DSBs可激活细胞周期阻滞机制或发出细胞死亡信号; 更糟的是未修复的DSBs或不恰当修复或重组的DSBs可导致基因结构的改变而导致肿瘤发生^[16,21]。

对于DSBs细胞, 主要有两条途径修复即非同源性末端连接(NHEJ)和同源重组修复(HR)。在不同物种中两者所起的作用不同, 在哺乳细胞系中NHEJ途径占主导地位, 而在酵母细胞则主要由HR途径修复^[16,22]。HR主要用姐妹染色单体和同源染色体作为模板修复损伤的染色体。目前认为, NHEJ途径至少有6种核心因子参与: 其中Ku70, Ku80, 连接酶IV XRCC4蛋白在酵母和哺乳类都有, 而DNA-PKcs和Artemis蛋白是在最近的进化过程中产生的^[16,23]。其中Artemis有核酸内切酶和外切酶活性, 对不能直接连接的部位进行修饰^[24]。当DNA的DSBs修复时, 首先, 2个Ku分子分别识别并结合到一条DNA链末端, Ku-DNA复合物招集DNA-PKcs到损伤部位与之结合并激活其激酶活性, 而且还可能招集其他蛋白质参与DNA修复^[13,23]。然后, 两DNA末端通过在DNA-PK上的相互独立的结合位点或两DNA-PK相互联系而连系在一起, 此后有些DSBs可直接连接,

大多数情况下, DSBs不能直接连接而需要加工。研究发现: DSBs修复时会切除DNA末端的核苷酸直到可互补的1-6不等的核苷酸同源处再通过碱基互补, 没有互补的核苷酸被核酸酶水解掉, 这可能就是加工的过程^[21]。此后, 由DNA聚合酶合成填补空缺; 最后, 由XRCC4蛋白和连接酶IV连接DNA末端形成DNA分子^[16]。在连接之前, DNA-Pk发生自身磷酸化, 使DNA-PKcs和Ku从DNA链解离下来。

当然, 在哺乳类动物中NHEJ对DSBs修复占主导作用, 但HR也同样能修复DSBs。在Ku80突变的xrs-6细胞系中, 发现HR在修复DSBs起重要作用^[22]。在缺失DNA-PK的细胞系中, DSBs仍可以通过其他途径修复多达50%^[23]。研究结果显示, NHEJ主要修复G1和G0期的DSBs, 虽然在其他细胞周期中也发挥作用, 但作用很小; HR则是在细胞间期和G2期起作用^[16]。

2.2 Ku蛋白与端粒

端粒是位于染色体末端类似染色体的“帽子”的特殊结构, 由重复序列和一系列蛋白质构成, 能保护DNA末端避免外切酶损伤而降解和阻止不合理的重组及末端融合, 在维持染色体的稳定性发挥重要作用。在酵母细胞中端粒还可以抑制临近基因的表达, 被称为端粒沉默或端粒位置效应。当编码YKu70或YKu80蛋白基因突变时不仅NHEJ受损而且端粒沉默和端粒长度明显受损^[25]。在哺乳类动物中DNA-PKCS以及(TRF-2)端粒重复序列激活因子共同作用形成染色体末端的t环样结构而发挥人类染色体末端的帽子功能^[26]。在Ku80-/-小鼠中也出现与染色体末端相关的广泛的端粒缩短, Ku80+/-细胞表型出中度水平的端粒缩短^[27]。在DNA-PK任一组成部分发生突变的小鼠, 小鼠均出现染色体末端融合, 而且DNA-PK活性部分丧失足有影响端粒的保护功能。可见DNA-PK对端粒的保护是必要的。那么Ku, DNA-Pkcs是怎样同时一方面促进DNA损伤断端的连接而另一方面又能保护染色体末端的, 目前并不清楚^[28]。

当然, 除此之外, Ku蛋白及DNA-Pkcs也参与其他生命活动。如DNA-PK激活后磷酸化P53和其调控因子Mdm-2, 使P53活化产生损伤应答, 但辐射损伤后P53的激活并非DNA-PK依赖的, 研究表明DNA-PK选择性的激活P53诱导的细胞凋亡途径而对细胞周期阻止是非必要的^[29]。可见, DNA-PK还可能转导细胞周期阻滞或凋亡信号而参与DNA修复或凋亡。有报道认为, 分布在细胞膜上的Ku蛋白介导肿瘤细胞与纤维结合蛋

白的结合以及细胞之间的相互作用^[30-31].

肿瘤是由于一系列的基因的改变导致控制细胞生长、分化、死亡机制的紊乱或基因组的不稳定而引发的多基因紊乱性疾病^[32]. DNA修复机制和端粒结构在保护基因组的稳定性而抑制肿瘤发生和进展方面起着重要作用. Ku蛋白和DNA-PKcs在NHEJ修复中扮演着重要角色, 与端粒结构的维持也紧密相关. 因此, Ku蛋白可能为一个肿瘤抑制蛋白.

肿瘤易感基因分为carethaker和gatekeeper. Caretaker基因主要在DNA修复中发挥作用而维持基因组的稳定性; gatekeeper主要控制细胞的死亡和增殖, 2种基因功能的共缺失会大大增加肿瘤的易感性^[33]. 研究认为, Ku基因是一个caretaker基因, 当与gatekeeper基因共缺失或异常将导致肿瘤的发生. 对Ku80^{-/-}小鼠研究表明, 小鼠能成活, 不自发产生肿瘤, 但其成纤维细胞表现出明显的染色体畸形, 83%基因断裂或易位, 15%出现非整倍体^[34-35]. Ku70基因敲除也可造成小鼠成纤维细胞姐妹染色体互换率增高及淋巴瘤的发生^[36]. Lim *et al*^[37]把小鼠的Ku80基因和P53基因共敲除后中发现: 小鼠开始发育正常, 但出生3 mo后都因发生原B细胞淋巴瘤而死亡. 另有研究显示, Ku8和PARP-1(DNA损伤信号分子)作为caretakers基因在抑制肝脏肿瘤的发生有协同作用, Ku80和PARP-1基因共敲除的小鼠在胚胎期第9.5 d死亡, PARP-1-Ku80^{+/+}小鼠肝脏肿瘤的发生率高达60%^[38]. 不过, 人肿瘤组织的Ku蛋白的研究结果并不完全一致. Moll *et al*^[39]对各种正常组织和肿瘤组织中Ku蛋白和DNA-PKcs的表达研究发现, 大多数正常组织有两者的表达, 但各组织间的表达水平不同, 呈组织细胞特异性, 而且Ku蛋白和DNA-PKcs的表达水平会随机体的生理状态改变, 如在泌乳期乳腺组织80%有Ku蛋白和DNA-PKcs的表达, 而静止期很少有表达. 肿瘤组织中两者的表达与对应正常组织相类似. Ku70mRNA, Ku80mRNA和DNA-PKcsmRNA在各组织的表达差异小, 因此认为是转录后水平的修饰引起各组织间的Ku蛋白和DNA-PKcs的差异. Rigas *et al*^[40]用免疫组化方法对人正常结肠组织、结肠腺瘤、结肠癌和结肠癌周边的正常组织中的Ku蛋白及DNA-PKcs表达水平研究发现, 在结肠腺瘤中Ku70/Ku80水平只有结肠癌的1/3-1/2水平, 但两者均较正常结

肠组织低, 而DNA-PKcs下降不明显. 认为腺瘤阶段的Ku70/Ku80蛋白水平的明显下降很可能对结肠癌的发展起关键性的作用. Korabiowska *et al*^[41]也报道, 在结肠直肠肿瘤中Ku70/Ku80表达下调, 而且在遗传性的肿瘤更多见. 在恶性黑色素瘤中, Ku基因的表达随着肿瘤的进展而下调^[42]. 相反, Stronati *et al*^[43]发现膀胱癌细胞中的Ku表达以及Ku-DNA结合活性较对照组增强. Lim *et al*^[44]发现胃癌细胞的高度增殖与细胞核中的COX-2(环氧化酶-2)依赖的Ku70/Ku80高水平相关. 在结肠直肠肿瘤中DNA-Pk活性以及Ku70/Ku80, DNA-PKcs的mRNA和蛋白水平因为转录因子SP1的增高而增高^[45]. 在成人, 儿童的急性和慢性恶性淋巴细胞中Ku80的平均表达水平比对照组增高^[46]. Pucci *et al*^[47]对15例膀胱癌和乳腺癌病人的癌组织中Ku的DNA结合活性进行研究, Ku70/Ku80的DNA结合活性的调控与人肿瘤的进展相关, 在开始阶段Ku的活性与癌细胞的快速增殖有关, 在后期及转移阶段, Ku的DNA修复活性失活抑制DNA自发损伤的修复促使肿瘤的进展. 另有报道分布在细胞膜上的Ku蛋白与基质金属蛋白酶相作用调控细胞外基质的重建, 在细胞浸润中和肿瘤的转移中发挥作用^[30,48].

目前, 有许多靶向作用或干扰DNA功能的肿瘤治疗手段, 如抗癌药物、丝裂霉素C、放疗等. 然而, 受到正常组织和肿瘤组织的敏感性问题的限制, 在临床上的应用不大理想. DNA-Pk在DSBs的修复中发挥重要作用, 他的活性的增高使细胞对抗癌药物和放疗产生抵抗, 而DNA-Pk的活性是由Ku蛋白的DEB活性调控. 因此认为Ku蛋白的表达水平和功能与肿瘤的抵抗性相关. 在多发骨髓瘤细胞的研究中发现: 86%只表达Ku86变异体即Ku86v(能与Ku70结合, 但结合DNA末端活性下降)14%表达Ku86及Ku86v. 只表达Ku86v的细胞较正常骨髓和有Ku86表达的细胞对放射更敏感^[49]. 顺铂抵抗的和电离辐射抵抗的白血病细胞(L1210)也显示了DEB活性增高与Ku86亚基的过度表达^[50]. 体外研究发现, 在未处理的苯丁酸氮芥抵抗的慢性白血病中的B淋巴肿瘤细胞中, DNA-Pk的活性增高与他对苯丁酸氮芥抵抗相关, 而DNA-Pk的活性的增高与Ku的DEB活性增高相关^[51-52]. Willson *et al*^[53]发现在宫颈癌患者中, 虽然Ku表达和DNA-Pk活性不与SF2(即放疗剂量为2Gray的生存分数)相关, 但放疗敏感的肿瘤中DNA-Pk的活性下降, 肿瘤

■相关报道

Ku蛋白的高表达与活性的增高与肿瘤抵抗相关, 并且有报道认为以Ku为靶点能提高肿瘤的放化疗敏感性.

■创新盘点

本文突出了Ku蛋白与肿瘤治疗的关系,从而提出作为一个肿瘤治疗的靶点.

细胞中Ku70表达低的生存率高,因此,认为Ku70在宫颈癌中可作为一个放疗疗效的预测指标. Harima *et al*^[54]研究认为, Ku80低表达使得宫颈癌放疗敏感以及Ku80在宫颈癌的治疗结果中扮演重要角色. 在儿童的急性和慢性恶性淋巴细胞中发现,高水平的Ku80蛋白对放化疗反应较对照组差^[46]. 在慢性恶性B细胞淋巴瘤中Ku70/Ku80的表达和DNA末端结合的活性与敏感性的相比,在表现抵抗性的患者中要高2-3倍^[55]. Shintani *et al*^[56]报道在口腔鳞状细胞癌细胞系和术前放疗患者中DNA-PK复合物表达增高,增高的量与肿瘤的放疗抵抗性相关. 可见, Ku蛋白的表达以及结合活性与肿瘤的放化疗敏感性紧密相关. 此外,在前列腺癌细胞中,发现Ku和PARP-1与转录因子C/EBPalpha相作用可增强细胞对DNA的损伤因子的敏感性和减弱Ku和PARP-1的对DSBs的修复能力,这在肿瘤对治疗的增强其敏感性有着重要的指导意义^[57].

为此,许多学者通过各种方法抑制Ku80, Ku70和DNA-PK的活性来致敏肿瘤细胞,提高肿瘤的放化疗效果. Belenkov *et al*^[58]用Ku80反义链转染至未缺失DNA-PKcs的神经胶质瘤MO59K细胞系中使Ku80基因表达受抑而抑制DNA-PK的活性,发现转染后细胞对电离辐射和抗癌药物敏感性增强,但不能增强同源的缺失DNA-PKcs的MO59J细胞系的敏感性^[58]. Li *et al*^[59]用腺病毒介导热击诱导表达的反义Ku70 RNA使内源性的Ku70 RNA表达下降,能明显地增高转染细胞的敏感性,同时使鼠肿瘤Fsa-II对电离辐射敏感. 此外,以DNA-PKcs为作用靶点如PI3-K的抑制剂,渥曼青霉素(wortmannin)以及DNA-PKcs特异性抑制剂UN7062,可以抑制DNA-PK的活性而使肿瘤细胞对电离辐射更加敏感^[60-63]. Sak *et al*^[64]通过DNA-PKcs的反义链抑制非小细胞型肺癌中的DNA-PK的活性发现,DSBs的连接被抑制和非小细胞型肺癌的放射敏感性较对照组增高. 另外研究结果表明, Ku-DNA结合活性, Ku70/Ku80, DNA-PKcs水平在多药耐药性(MDR)肿瘤细胞系中比同源的药物敏感细胞中要高,而且DNA-PK抑制剂渥曼青霉素能使MDR细胞系对抗癌药物敏感^[65].

Ku蛋白作为DNA修复蛋白,在正常情况下修复DNA修复. 同样,癌细胞也利用Ku蛋白及DNA-PKcs的修复能力使细胞对放化疗产生抵抗作用,而且,认为肿瘤细胞更依赖于DNA修复机制. 因此,可以以Ku蛋白为靶点阻断DNA损伤

的NHEJ的修复途径致敏肿瘤细胞;其次,肿瘤细胞中Ku蛋白活性的改变在理解肿瘤的发生发展及对放疗反应的机制中具有重要意义. 相信,随着对Ku蛋白的功能及其作用机制的进一步了解以及更有效地抑制肿瘤细胞中Ku蛋白活性方法的不断出现,使Ku蛋白可作为一个治疗靶点,增强对肿瘤细胞的杀伤作用,有效地对肿瘤局部控制和预防各种恶性肿瘤的转移成为可能.

- Mimori T, Akizuki M, Yamagata H, Inada S, Yoshida S, Homma M. Characterization of a high molecular weight acidic nuclear protein recognized by autoantibodies in sera from patients with polymyositis-scleroderma overlap. *J Clin Invest* 1981; 68: 611-620
- Reeves WH. Antibodies to the p70/p80 (Ku) antigens in systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am* 1992; 18: 391-414
- Prabhakar BS, Allaway GP, Srinivasappa J, Notkins AL. Cell surface expression of the 70-kD component of Ku, a DNA-binding nuclear autoantigen. *J Clin Invest* 1990; 86: 1301-1305
- Dalziel RG, Mendelson SC, Quinn JP. The nuclear autoimmune antigen Ku is also present on the cell surface. *Autoimmunity* 1992; 13: 265-267
- Ginis I, Mentzer SJ, Li X, Faller DV. Characterization of a hypoxia-responsive adhesion molecule for leukocytes on human endothelial cells. *J Immunol* 1995; 155: 802-810
- Featherstone C, Jackson SP. Ku, a DNA repair protein with multiple cellular functions? *Mutat Res* 1999; 434: 3-15
- Dynan WS, Yoo S. Interaction of Ku protein and DNA-dependent protein kinase catalytic subunit with nucleic acids. *Nucleic Acids Res* 1998; 26: 1551-1559
- Blier PR, Griffith AJ, Craft J, Hardin JA. Binding of Ku protein to DNA. Measurement of affinity for ends and demonstration of binding to nicks. *J Biol Chem* 1993; 268: 7594-7601
- Wang J, Dong X, Reeves WH. A model for Ku heterodimer assembly and interaction with DNA. Implications for the function of Ku antigen. *J Biol Chem* 1998; 273: 31068-31074
- Boubnov NV, Hall KT, Wills Z, Lee SE, He DM, Benjamin DM, Pulaski CR, Band H, Reeves W, Hendrickson EA. Complementation of the ionizing radiation sensitivity, DNA end binding, and V(D)J recombination defects of double-strand break repair mutants by the p86 Ku autoantigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 890-894
- Chen F, Peterson SR, Story MD, Chen DJ. Disruption of DNA-PK in Ku80 mutant xrs-6 and the implications in DNA double-strand break repair. *Mutat Res* 1996; 362: 9-19
- Boulton S, Kyle S, Durkacz BW. Mechanisms of enhancement of cytotoxicity in etoposide and ionising radiation-treated cells by the protein kinase inhibitor wortmannin. *Eur J Cancer* 2000; 36: 535-541
- Rathmell WK, Chu G. A DNA end-binding factor involved in double-strand break repair and V(D)J recombination. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 4741-4748
- Dvir A, Peterson SR, Knuth MW, Lu H, Dynan WS.

- Ku autoantigen is the regulatory component of a template-associated protein kinase that phosphorylates RNA polymerase II. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 11920-11924
- 15 Gottlieb TM, Jackson SP. The DNA-dependent protein kinase: requirement for DNA ends and association with Ku antigen. *Cell* 1993; 72: 131-142
 - 16 Collis SJ, DeWeese TL, Jeggo PA, Parker AR. The life and death of DNA-PK. *Oncogene* 2005; 24: 949-961
 - 17 Singleton BK, Priestley A, Steingrimsdottir H, Gell D, Blunt T, Jackson SP, Lehmann AR, Jeggo PA. Molecular and biochemical characterization of xrs mutants defective in Ku80. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 1264-1273
 - 18 Errami A, Finnie NJ, Morolli B, Jackson SP, Lohman PH, Zdzienicka MZ. Molecular and biochemical characterization of new X-ray-sensitive hamster cell mutants defective in Ku80. *Nucleic Acids Res* 1998; 26: 4332-4338
 - 19 Gu Y, Jin S, Gao Y, Weaver DT, Alt FW. Ku70-deficient embryonic stem cells have increased ionizing radiosensitivity, defective DNA end-binding activity, and inability to support V(D)J recombination. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8076-8081
 - 20 Blunt T, Finnie NJ, Taccioli GE, Smith GC, Demengeot J, Gottlieb TM, Mizuta R, Varghese AJ, Alt FW, Jeggo PA. Defective DNA-dependent protein kinase activity is linked to V(D)J recombination and DNA repair defects associated with the murine scid mutation. *Cell* 1995; 80: 813-823
 - 21 Chu G. Double strand break repair. *J Biol Chem* 1997; 272: 24097-24100
 - 22 Liang F, Romanienko PJ, Weaver DT, Jeggo PA, Jasin M. Chromosomal double-strand break repair in Ku80-deficient cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 8929-8933
 - 23 Lombard DB, Chua KF, Mostoslavsky R, Franco S, Gostissa M, Alt FW. DNA repair, genome stability, and aging. *Cell* 2005; 120: 497-512
 - 24 Ma Y, Pannicke U, Schwarz K, Lieber MR. Hairpin opening and overhang processing by an Artemis/DNA-dependent protein kinase complex in non-homologous end joining and V(D)J recombination. *Cell* 2002; 108: 781-794
 - 25 Gravel S, Larrivee M, Labrecque P, Wellinger RJ. Yeast Ku as a regulator of chromosomal DNA end structure. *Science* 1998; 280: 741-744
 - 26 Bailey SM, Meyne J, Chen DJ, Kurimasa A, Li GC, Lehnert BE, Goodwin EH. DNA double-strand break repair proteins are required to cap the ends of mammalian chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 14899-14904
 - 27 Hande MP. DNA repair factors and telomere-chromosome integrity in mammalian cells. *Cytogenet Genome Res* 2004; 104: 116-122
 - 28 Bailey SM, Goodwin EH. DNA and telomeres: beginnings and endings. *Cytogenet Genome Res* 2004; 104: 109-115
 - 29 Wang S, Guo M, Ouyang H, Li X, Cordon-Cardo C, Kurimasa A, Chen DJ, Fuks Z, Ling CC, Li GC. The catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase selectively regulates p53-dependent apoptosis but not cell-cycle arrest. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 1584-1588
 - 30 Tai YT, Podar K, Kraeft SK, Wang F, Young G, Lin B, Gupta D, Chen LB, Anderson KC. Translocation of Ku86/Ku70 to the multiple myeloma cell membrane: functional implications. *Exp Hematol* 2002; 30: 212-220
 - 31 Monferran S, Muller C, Mourey L, Frit P, Salles B. The Membrane-associated form of the DNA repair protein Ku is involved in cell adhesion to fibronectin. *J Mol Biol* 2004; 337: 503-511
 - 32 Fu YP, Yu JC, Cheng TC, Lou MA, Hsu GC, Wu CY, Chen ST, Wu HS, Wu PE, Shen CY. Breast cancer risk associated with genotypic polymorphism of the nonhomologous end-joining genes: a multigenic study on cancer susceptibility. *Cancer Res* 2003; 63: 2440-2446
 - 33 Kinzler KW, Vogelstein B. Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers. *Nature* 1997; 386: 761, 763
 - 34 Nussenzweig A, Chen C, da Costa Soares V, Sanchez M, Sokol K, Nussenzweig MC, Li GC. Requirement for Ku80 in growth and immunoglobulin V(D)J recombination. *Nature* 1996; 382: 551-555
 - 35 Difilippantonio MJ, Zhu J, Chen HT, Meffre E, Nussenzweig MC, Max EE, Ried T, Nussenzweig A. DNA repair protein Ku80 suppresses chromosomal aberrations and malignant transformation. *Nature* 2000; 404: 510-514
 - 36 Li GC, Ouyang H, Li X, Nagasawa H, Little JB, Chen DJ, Ling CC, Fuks Z, Cordon-Cardo C. Ku70: a candidate tumor suppressor gene for murine T cell lymphoma. *Mol Cell* 1998; 2: 1-8
 - 37 Lim DS, Vogel H, Willerford DM, Sands AT, Platt KA, Hasty P. Analysis of ku80-mutant mice and cells with deficient levels of p53. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 3772-3780
 - 38 Tong WM, Cortes U, Hande MP, Ohgaki H, Cavalli LR, Lansdorp PM, Haddad BR, Wang ZQ. Synergistic role of Ku80 and poly(ADP-ribose) polymerase in suppressing chromosomal aberrations and liver cancer formation. *Cancer Res* 2002; 62: 6990-6996
 - 39 Moll U, Lau R, Sypes MA, Gupta MM, Anderson CW. DNA-PK, the DNA-activated protein kinase, is differentially expressed in normal and malignant human tissues. *Oncogene* 1999; 18: 3114-3126
 - 40 Rigas B, Borgo S, Elhosseiny A, Balatsos V, Manika Z, Shinya H, Kurihara N, Go M, Lipkin M. Decreased expression of DNA-dependent protein kinase, a DNA repair protein, during human colon carcinogenesis. *Cancer Res* 2001; 61: 8381-8384
 - 41 Korabiowska M, Cordon-Cardo C, Schinagl M, Karaus M, Stachura J, Schulz H, Fischer G. Loss of Ku70/Ku80 expression occurs more frequently in hereditary than in sporadic colorectal tumors. Tissue microarray study. *Hum Pathol* 2006; 37: 448-452
 - 42 Korabiowska M, Bauer H, Quentin T, Stachura J, Cordon-Cardo C, Brinck U. Application of new in situ hybridization probes for Ku70 and Ku80 in tissue microarrays of paraffin-embedded malignant melanomas: correlation with immunohistochemical analysis. *Hum Pathol* 2004; 35: 210-216
 - 43 Stronati L, Gensabella G, Lamberti C, Barattini P, Frasca D, Tanzarella C, Giacobini S, Toscano MG, Santacroce C, Danesi DT. Expression and DNA binding activity of the Ku heterodimer in bladder carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 2484-2492
 - 44 Lim JW, Kim H, Kim KH. Expression of Ku70 and Ku80 mediated by NF-kappa B and cyclooxygenase-2 is related to proliferation of human gastric cancer cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 46093-46100
 - 45 Hosoi Y, Watanabe T, Nakagawa K, Matsumoto Y, Enomoto A, Morita A, Nagawa H, Suzuki N. Up-

■应用要点

本文为肿瘤的治疗提供了新的研究思路。

■名词解释

1 DNA-PK: DNA-PK是一种由双链DNA激活的丝-苏氨酸激酶,由调控成分Ku蛋白和催化亚基部分DNA-PKs组成,参与机体多种生命活动,如DNA的修复、凋亡等。

2 NHEJ: 即非同源末端连接,至少由Ku70, Ku80, 连接酶IV, XRCC4蛋白, DNA-PKs和Artemis蛋白参与,在连接处可能会水解几个碱基。直到同源互补处才连接而完成修复。

- regulation of DNA-dependent protein kinase activity and Sp1 in colorectal cancer. *Int J Oncol* 2004; 25: 461-468
- 46 Chen TY, Chen JS, Su WC, Wu MS, Tsao CJ. Expression of DNA repair gene Ku80 in lymphoid neoplasm. *Eur J Haematol* 2005; 74: 481-488
- 47 Pucci S, Mazzarelli P, Rabitti C, Giai M, Gallucci M, Flammia G, Alcini A, Altomare V, Fazio VM. Tumor specific modulation of KU70/80 DNA binding activity in breast and bladder human tumor biopsies. *Oncogene* 2001; 20: 739-747
- 48 Monferran S, Paupert J, Dauvillier S, Salles B, Muller C. The membrane form of the DNA repair protein Ku interacts at the cell surface with metalloproteinase 9. *EMBO J* 2004; 23: 3758-3768
- 49 Tai YT, Teoh G, Lin B, Davies FE, Chauhan D, Treon SP, Raje N, Hideshima T, Shima Y, Podar K, Anderson KC. Ku86 variant expression and function in multiple myeloma cells is associated with increased sensitivity to DNA damage. *J Immunol* 2000; 165: 6347-6355
- 50 Frit P, Canitrot Y, Muller C, Foray N, Calsou P, Marangoni E, Bourhis J, Salles B. Cross-resistance to ionizing radiation in a murine leukemic cell line resistant to cis-dichlorodiammineplatinum(II): role of Ku autoantigen. *Mol Pharmacol* 1999; 56: 141-146
- 51 Muller C, Christodouloupoulos G, Salles B, Panasci L. DNA-Dependent protein kinase activity correlates with clinical and in vitro sensitivity of chronic lymphocytic leukemia lymphocytes to nitrogen mustards. *Blood* 1998; 92: 2213-2219
- 52 Christodouloupoulos G, Muller C, Salles B, Kazmi R, Panasci L. Potentiation of chlorambucil cytotoxicity in B-cell chronic lymphocytic leukemia by inhibition of DNA-dependent protein kinase activity using wortmannin. *Cancer Res* 1998; 58: 1789-1792
- 53 Wilson CR, Davidson SE, Margison GP, Jackson SP, Hendry JH, West CM. Expression of Ku70 correlates with survival in carcinoma of the cervix. *Br J Cancer* 2000; 83: 1702-1706
- 54 Harima Y, Sawada S, Miyazaki Y, Kin K, Ishihara H, Imamura M, Sougawa M, Shikata N, Ohnishi T. Expression of Ku80 in cervical cancer correlates with response to radiotherapy and survival. *Am J Clin Oncol* 2003; 26: e80-e85
- 55 Deriano L, Guipaud O, Merle-Beral H, Binet JL, Ricoul M, Potocki-Veronese G, Favaudon V, Maciorowski Z, Muller C, Salles B, Sabatier L, Delic J. Human chronic lymphocytic leukemia B cells can escape DNA damage-induced apoptosis through the nonhomologous end-joining DNA repair pathway. *Blood* 2005; 105: 4776-4783
- 56 Shintani S, Mihara M, Li C, Nakahara Y, Hino S, Nakashiro K, Hamakawa H. Up-regulation of DNA-dependent protein kinase correlates with radiation resistance in oral squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 2003; 94: 894-900
- 57 Yin H, Glass J. In prostate cancer cells the interaction of C/EBPalpha with Ku70, Ku80, and poly(ADP-ribose) polymerase-1 increases sensitivity to DNA damage. *J Biol Chem* 2006; 281: 11496-11505
- 58 Belenkov AI, Paiement JP, Panasci LC, Monia BP, Chow TY. An antisense oligonucleotide targeted to human Ku86 messenger RNA sensitizes M059K malignant glioma cells to ionizing radiation, bleomycin, and etoposide but not DNA cross-linking agents. *Cancer Res* 2002; 62: 5888-5896
- 59 Li GC, He F, Shao X, Urano M, Shen L, Kim D, Borrelli M, Leibel SA, Gutin PH, Ling CC. Adenovirus-mediated heat-activated antisense Ku70 expression radiosensitizes tumor cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res* 2003; 63: 3268-3274
- 60 Price BD, Youmell MB. The phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor wortmannin sensitizes murine fibroblasts and human tumor cells to radiation and blocks induction of p53 following DNA damage. *Cancer Res* 1996; 56: 246-250
- 61 Sarkaria JN, Tibbetts RS, Busby EC, Kennedy AP, Hill DE, Abraham RT. Inhibition of phosphoinositide 3-kinase related kinases by the radiosensitizing agent wortmannin. *Cancer Res* 1998; 58: 4375-4382
- 62 Izzard RA, Jackson SP, Smith GC. Competitive and noncompetitive inhibition of the DNA-dependent protein kinase. *Cancer Res* 1999; 59: 2581-2586
- 63 Veuger SJ, Curtin NJ, Richardson CJ, Smith GC, Durkacz BW. Radiosensitization and DNA repair inhibition by the combined use of novel inhibitors of DNA-dependent protein kinase and poly(ADP-ribose) polymerase-1. *Cancer Res* 2003; 63: 6008-6015
- 64 Sak A, Stuschke M, Wurm R, Schroeder G, Sinn B, Wolf G, Budach V. Selective inactivation of DNA-dependent protein kinase with antisense oligodeoxynucleotides: consequences for the rejoining of radiation-induced DNA double-strand breaks and radiosensitivity of human cancer cell lines. *Cancer Res* 2002; 62: 6621-6624
- 65 Kim SH, Um JH, Dong-Won B, Kwon BH, Kim DW, Chung BS, Kang CD. Potentiation of chemosensitivity in multidrug-resistant human leukemia CEM cells by inhibition of DNA-dependent protein kinase using wortmannin. *Leuk Res* 2000; 24: 917-925

电编 李琪 编辑 潘伯荣