

the atrial natriuretic factor prohormone amino terminus lower blood pressure and produce diuresis, natriuresis, and/or kaliuresis in humans. *Circulation*, 1994, 90:1129-1140.

- 6 Buckley MG, Markand ND, Sagnella GA. N-terminal atrial natriuretic peptide and atrial natriuretic peptide in human plasma investigation of plasma levels and molecular

circulating forms, using radioimmunoassays for pro-atrial natriuretic peptide (31-67), pro-atrial natriuretic peptide (1-30) and atrial natriuretic peptide (99-126). *Clin Sci*, 1994, 87:311-317.

(收稿日期:2002-02-08)

(本文编辑 周国泰)

·论著摘要·

口腔癌患者体细胞线粒体基因突变分布、特点及突变热点探讨

刘玲玲 谭端军 Lesley J Agress LJC Wong

目的 近年研究已经发现线粒体 DNA 编码、氧化磷酸化和细胞 ATP 产生所需的多肽的表达改变是肿瘤细胞的常见特征,线粒体已涉及到细胞凋亡,也可能由于它对突变子的高度敏感性和 DNA 修复机制的缺陷而参与了肿瘤的发生过程。有研究显示沉溺于嚼槟榔伴用矿物粉的男性患者,在其后半生具有口腔癌发生的高度风险,癌发生率也有逐年增高的趋势。为了调查体细胞线粒体突变在口腔癌发生过程中的潜在角色,本研究对口腔癌组织线粒体全基因进行突变检测,确定突变分布、突变热点,以及探讨其作为口腔癌分子标志的可能性。

方法 对 18 例中老年亚裔口腔癌患者,其中 17 例原发性口腔鳞状细胞癌,1 例为囊腺癌,均经病理证实。采用酚、氯仿抽提癌及癌旁正常组织 DNA,利用 32 对重叠引物 PCR 扩增线粒体 16.6kb 全长基因, DNA 片段长度为 306~805bp,平均 594bp。继之,采用时间温度梯度变性凝胶电泳技术对癌及癌旁组织进行线粒体全基因配对扫描,每对样本中如两者条带迁移率不同代表着纯合子的 DNA 变异,如出现多个条带则代表着杂合子 DNA 改变。最终采用 ABI377 自动测序仪测序以明确这些 DNA 序列,并与已出版的线粒体 DNA 剑桥序列进行比较。

结果 18 例口腔癌中 9 例(50%)显示有体细胞线粒体基因突变。共有 13 个突变被辨明,其中 6 个(46%)发生在 D 环区,7 个在 mRNA 区,其中 4 个为错义突变,分别位于 NADH 脱氢酶基因 2 (H186R, T137P)、细胞色素 C 氧化酶 I (V258A)、

细胞色素 B 基因(N148T)。此外,在细胞色素 C 氧化酶 II 发现一个移码突变(9 484 位点 T 缺失),自突变点开始编码 13 个氨基酸后转录终止(起始于氨基酸位点 92,终止于 105 位点)。所有已查明的突变中有 9 个是由癌旁组织的纯合子状态转变为癌组织中的杂合子状态,2 例由杂合子转为纯合子,另外 1 例在癌和癌旁组织中均为杂合子,但两者中突变 DNA 所占百分率不同。3 例插入突变发生在 D 环区的 np303~309 多聚 C 位点。突变密度分析显示,在多重多肽酶复合体 I、II、III、IV 和 D 环区的每 1 000 碱基对的突变率分别为 0.63%、0.88%、0.66%、0% 和 5.5%。

讨论 本研究提示,体细胞线粒体 DNA 突变确实存在于口腔癌组织中,以非编码高变 D 环区突变密度为最高。np299~315 是线粒体 DNA 保守序列段,该区域的任何长度变异可能在调节线粒体 DNA 复制过程中扮演了重要角色,位于此区域内的 np303~309 突变,可能作为口腔癌的突变热点,参与了肿瘤的发生和发展过程。在编码区的突变率则以多肽酶复合体 II 较高,尽管突变位点的分布并未集中在某个特定编码区域,但作者认为在线粒体基因组中任何位点的突变都可能影响线粒体 DNA 复制、转录和翻译的效率,尤其在编码区的基因突变可能产生明显的功能效应,而导致肿瘤细胞中突变的线粒体获得生长优势。在肿瘤中观察到的杂合子状态提示,肿瘤在发生形态学变化之前已经在分子水平发生了 DNA 变化,或者代表着肿瘤发生的渐进过程。

(收稿日期:2002-05-16)

(本文编辑 周国泰)

作者单位:100853 北京 中国人民解放军总医院老年心血管病研究所

作者简介:刘玲玲,女,在读医学博士,副主任医师