

DNA双链断裂损伤反应及它的医学意义*

宋 宜** 孙志贤***

(北京放射与辐射医学研究所, 北京 100850)

摘要 DNA 损伤应激反应是维持基因组稳定性的基石. 细胞在长期进化中形成了由损伤监视、周期调控、损伤修复、凋亡诱导等在内的自稳平衡机制. 一方面, 借助感应、识别并启动精细而复杂的修复机制修复损伤; 另一方面, 通过 DNA 损伤应激激活的细胞周期检查点机制, 延迟或阻断细胞周期进程, 为损伤修复提供时间, 使细胞能安全进入新一轮细胞周期; 损伤无法修复时则诱导细胞凋亡. DNA 双链断裂(double strand breaks, DSBs)是真核基因组后果最严重的损伤类型之一, 其修复不利, 同肿瘤等人类疾病的发生发展密切相关. 新进展揭示: DSBs 损伤反应信号分子 ATM-Chk2-p53、H2AX 等的组成性活化, 是肿瘤形成早期所激活的细胞内可诱导的抗癌屏障, 其信号网络的精确、精细调控在基因组稳定性维持中发挥重要作用. 此外, HIV 病毒整合进入宿主细胞基因组的过程也依赖于宿主细胞中 ATM 介导的 DSBs 损伤反应信号转导; ATM 特异性的小分子抑制剂在抗 HIV 感染中显示重要的功能意义. 文中重点讨论调控 DSBs 损伤应激反应信号网络的主要研究进展, 及其在肿瘤发生、发展及抗 HIV 感染中的新医学意义.

关键词 DNA 损伤反应, DNA 双链断裂(DSBs), ATM, p53, DNA 损伤检查点
学科分类号 Q343

基因组稳定性是细胞维持自稳平衡(cell homeostasis), 精确调控增殖、分化、死亡程序的遗传学基础. 环境中各种物理的、化学的以及机体自身代谢生成的基因毒(genotoxin), 均有可能引发染色体和线粒体基因组 DNA 多种类型的结构损伤(单、双链断裂, 碱基修饰, DNA 分子链间或 DNA-蛋白质分子间化学交联等), 基因组拷贝数改变, 或表达调控障碍. 损伤积累的终结果在机体水平是导致肿瘤、神经退行性病变, 衰老和遗传易感综合症等疾病的发生、发展.

机体在长期进化中发展了一整套 DNA 损伤反应(DNA damage response)防御系统. 细胞内称为“Sensor”的感应器分子(ATM、ATR)能迅速识别损伤, 再由“Signaller”(Chk2, Chk1)介导级联反应, 启动下游多种“effectors”分子(p21^{WAF1/cip-1}, Cdc25A, Cdc25C), 激活细胞周期检查点(cell cycle checkpoint), 引发周期阻滞, 提供时间修复损伤; 如损伤不能修复或不能正确修复, 则启动凋亡和非凋亡性死亡(apoptosis and non-apoptotic death)程序, 清除有损伤或病变倾向细胞. 由此, DNA 损伤反应构成的防御系统最大程度地减低可遗传的突变危险

并清除隐患, 维护组织平衡. DNA 双链断裂(double strand breaks, DSBs)是真核基因组后果最严重的损伤类型之一^[1], 本文重点讨论调控 DSBs 损伤反应信号网络的主要研究进展及其新医学意义.

1 ATM 及相关激酶活化是识别 DSBs 与启动 DDR 的主开关

DSBs 可在正常代谢过程或环境因素致病理状态下生成^[2]. DNA 损伤修复(DNA damage repair, DDR)是维护基因组完整性的关键, 哺乳动物细胞 DSBs 有 2 种主要修复途径: 一是, 非同源末端连接(nonhomologous end-joining, NHEJ); 二是, 保守的无错误的同源重组(homologous recombination, HR). 选择何种修复方式主要取决于受损时的细胞周期. HR 要求有同源 DNA 模板, 常发生在姊妹染色体已形成的晚 S 期和 G2 期; NHEJ 则主要对 G1 期和早 S 期的 DDR 负责. 修复的各步骤需多种蛋

*国家自然科学基金资助项目(30600162, 30600109).

** 宋宜与孙志贤为共同作者, *** 通讯联系人.

Tel: 010-66931244, E-mail: sunzx@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2007-01-30, 接受日期: 2007-03-22

白质及其复合体与修复酶的共同参与, 以确保修复的高效性和保真性, 近期已有相关文献评述^[3,4], 限于篇幅, 本文不予重点讨论.

Paull 等^[5]研究发现: 细胞发生 DSBs 后 1~3 min 即有 Ser139 位磷酸化的 H2AX(γ -H2AX)出现在 DSBs 处, 光镜下可见特征性的点状结构(foci), foci 数量 10 min 达峰值. γ -H2AX 和参与 DDR 的 53BP1 (p53 binding protein 1)、MDC1 (mediator of DNA damage checkpoint protein 1) 以及 Mre11/Rad50/NBS1(MRN)复合物等在 DSBs 处共定位. 这些不连续的, 电离辐射(ionizing radiation, IR)诱导的免疫荧光位点(irradiation-induced foci, IRIF)在 DNA 损伤修复完成前一直结合在 DSBs 处. γ -H2AX 的 foci 汇集对于 53BP1、MDC1、BRCA-1 以及 MRN 复合物在 DSBs 处的募集是必需的, 一旦 DSBs 位点 γ -H2AX 去除或缺失, 上述蛋白质复合物的 IRIF 也会消失. γ -H2AX 及 53BP1, BRCA-1 (Breast cancer susceptibility gene 1), MDC1 等蛋白质所具有的 BRCT(BRCA1-C-terminal)和 FHA(fork head-associated)结构域在蛋白质复合物的募集中显示重要功能作用. 引人关注的是, Petukhova 等发现: MRN 等修复复合物的 IRIF 并不出现于含有 ATM, NBS-1 或 BRCA-1 基因突变的细胞中. 研究揭示, 即便是 ATM 单基因突变, 也将导致修复异常^[6], 且 ATR(ATM and Rad3-related protein kinase)在 DSBs 处的聚集也依赖 ATM. 由此, 特异性的多蛋白复合物, 特别是 ATM 在 DDR 中扮演着十分重要的角色.

ATM 是单基因遗传病 - 毛细血管扩张共济失调症(Ataxia Telangiectasia, AT)的致病基因^[7]. 研究表明: 作为 PI3KKs(PI3K-related kinases)家族的主要成员, ATM 是特异性感受 DSBs 损伤的 Sensor 分子, 是 DSBs 损伤应激反应的主导激酶(hierarchical kinase). DSBs 快速活化 ATM, 通过磷酸化作用调控下游细胞周期检查点, 损伤修复和凋亡通路中的多种重要功能分子, 起始 DNA 损伤反应信号级联. 其分子 C 端的 PI3K 结构域和紧邻的 FAT(FRAP, ATM, TRRAP)结构域是 ATM 发挥激酶活性的结构基础. 研究证明, 活化的 ATM 能磷酸化 DSBs 识别与修复多蛋白复合物中的诸多分子: H2AX, 53BP1, BRCA-1, Mre11, NBS1 (Nijmegen Breakage Syndrome gene), MDC1, SMC1 (structural maintenance of chromosomes 1), Artemis 等^[8~10]. 其中, BRCA1 在维持基因组稳定

性, 特别是损伤修复中最具重要意义. Wang 等证明: BRCA-1 借助分子中的多个功能结构域与其他损伤修复相关蛋白相互作用, 形成具有基因组完整性监视功能的巨分子复合物 BASC (BRCA-1 associated genome surveillance complex), BASC 包含有 MRN 修复复合物、MSH2/MSH6 和 PMS1/MLH 异二聚体、ATM 激酶以及 RecQ 螺旋酶 BLM 等, 既有损伤修复相关蛋白, 也有周期检查点调控蛋白, 以及一些兼具这 2 种功能的分子. DNA 损伤检查点机制与损伤修复机制在维持基因组稳定性中密不可分, 巨分子复合物的形成使损伤反应的信号传递更加快速有序. 有关主开关(master switch)分子 ATM 的活化机制, Kastan 等已证明: DSBs 生成时, ATM 分 2 个步骤激活. 一是, ATM Ser1981 自身磷酸化, 二聚体或多聚体解聚为单体, 利于底物靠近; 二是, ATM 募集至 DSBs 部位, 磷酸化各底物分子, 起始 DSBs 反应. 新近研究发现: 这 2 个步骤均受 MRN 复合物调控^[6]. MDC1 也能通过介导 γ H2AX 和 ATM 的结合促进 ATM 活化及对底物的磷酸化, 发挥信号放大作用. 这些研究显示: BASC 复合物中诸多损伤感应分子间存在复杂的反馈调节, NBS1、53BP1、MDC1 等 ATM 底物分子同时又能调控 ATM 的激活过程, 是个极复杂的反馈调控环路, 尚有许多细节有待阐明^[10].

2 DNA 损伤检查点是维持细胞自稳平衡最重要的关卡

由 DNA 损伤检查点(DNA damage checkpoint)、DNA 复制检查点(DNA replication checkpoint)、有丝分裂纺锤体组装检查点(mitosis spindle assembly checkpoint)共同构成的细胞周期检查点机制是细胞确保 DNA 得以忠实复制, 染色体得以精确进行质量分配的核心机制. 在基因毒致 DNA 多种结构损伤, 异常 DNA 复制应激(DNA replication stress)致等位基因失衡(allelic imbalanced)及基因组不稳定性等诸多内外环境压力下, DNA 损伤检查点不仅是监控细胞周期进程的机制, 也是调控 DNA 损伤修复或 / 和细胞凋亡反应最为重要的关卡, 是对细胞命运抉择最具关键意义的机制之一. DNA 损伤检查点中对 DSBs 损伤做出反应的重要信号途径如下:

2.1 ATM/ATR-Chk2/Chk1-p53-p21^{WAF1/cip-1} 通路

DSBs 通过激活 ATM/ATR 及其下游 Chk2/Chk1, 协同催化 p53 Ser15、Ser20 磷酸化, 同时

ATM 磷酸化 MDM-2 (mouse double minute 2 homolog)、COP1 (constitutively photo-morphogenic 1)等 E3 连接酶,抑制 p53 泛素化降解.这是 p53 稳定表达,发挥功能最重要的翻译后修饰^[11~13].激活的 p53 借助分子 N 端转录激活结构域和序列特异性的 DNA 结合结构域转录活化下游分子.作为 p53 下游重要的转录靶, p21^{WAF1/cip-1} 一方面结合并抑制 CyclinE-Cdk2, 启动 G1/S 阻滞, 另一方面结合 CyclinD-Cdk4/6, 解除 Rb 磷酸化, 抑制 E2F-1 释放, 抑制多种 S 期进入所需基因转录.

2.2 ATM/ATR-Chk2/Chk1-Cdc25C 和 ATM-PLK3-Cdc25C 通路

DSBs 时处于 G2 期的细胞激活 G2/M 检查点, 使带有 DNA 损伤的细胞阻滞于 M 期之前, 不能进入有丝分裂.对此做贡献的主要信号途径有:

2.2.1 ATM/ATR-Chk-2/Chk-1-Cdc25C. Cdc25C 是调控 G2/M 检查点的关键分子. ATM/ATR-Chk-2/Chk-1 途径可在 Ser216 位磷酸化 Cdc25C, 促进它与 14-3-3 结合, 将其滞留于胞浆, 从而抑制 Cdc25C 对 Cdc2(Cdk1)的去磷酸化.磷酸化的抑制状态 Cdc2 无法催化 CyclinB 磷酸化和驱动 G2 期向 M 期转换, 引发 G2/M 阻滞.

2.2.2 ATM- PLK3-Cdc25C.

ATM 能激活 PLK3 (polo-like kinase3) 对 Cdc25C 的磷酸化, 诱导 G2/M 阻滞.新进展揭示: PLK3 还能通过催化 Chk2 Ser62, Ser73 的磷酸化, 促进 ATM 对 Chk2 Thr68 的磷酸化及 G2/M 检查点激活.

还应提及 ATM-Chk2-p53 通路同样参与 G2/M 阻滞调控.激活的 p53 通过转录活化 p21, 14-3-3 σ , GADD45, 转录抑制 Cdc25C, 维持 G2/M 阻滞.

2.3 ATM-Chk2-Cdc25A-CDK2 和 ATM-NBS1-SMC1 通路

DSBs 时处于 S 期的细胞或损伤未修复但逃脱了 G1/S 检查点的细胞激活 S 检查点, 抑制复制启动.主要有 ATM-Chk2-Cdc25A-CDK2 和 ATM-NBS1-SMC1 2 条途径激活 S 期检查点.被 ATM 磷酸化活化的 Chk2 通过催化 Cdc25A Ser123 磷酸化促进其泛素化降解, 致 CDK2 激活受抑, 引发 S 期阻滞. ATM 还能以 NBS1 和 BRCA1 依赖的方式于 DSBs 处磷酸化 SMC1 Ser957, Ser966, 调控 S 期检查点. ATM 的磷酸化底物 53BP1, BRCA1, MDC1 也可通过调控 ATM 下游 Chk1, Chk2, NBS1 的磷酸化而参与 S 期检查点调控.

3 p53 基因网络是调控细胞“生死”维持基因组稳定性的核心机制

3.1 p53调控细胞周期阻滞或细胞凋亡, 维持基因组稳定性

已发现受 p53 调控的基因超过 160 多种(其中转录激活 100 余种, 转录抑制 60 余种), 它们协同调节 DNA 损伤应激反应的细胞学事件, 由此提出了 p53 基因网络的概念^[14].作为 DNA 损伤活化的核心转录因子, p53 通过调节多种周期调控分子引发周期阻滞.如 p53 转录激活的 p21^{WAF1/cip-1} 分子, 既可通过抑制 CyclinD-Cdk4/6 和 CyclinE-Cdk2 诱发 G1/S 阻滞, 又可抑制 Cdc2/CyclinB, 诱发 G2/M 阻滞, 为损伤修复赢得时间, 调控损伤修复. p53 对另一重要靶分子 Cdc25C 的转录抑制(非磷酸化)则启动 G2/M 阻滞.

更为重要的是, p53 还是细胞凋亡信号转导的上游调控分子.作为转录激活因子, 许多 p53 的下游靶分子是凋亡诱导蛋白, 如 PUMA、Apaf-1、Bax、Noxa 等.作为转录抑制因子, p53 可借助分子 C 端 364~393 位氨基酸抑制 DNA 结合结构域(DNA binding domain, DBD)同特异靶序列的结合, 负调控凋亡诱导分子的转录激活, 也可通过 C 端寡聚区(oligomer domain, OD)与下游靶蛋白的相互作用实现转录抑制, 如 p53 对在异常增殖的肿瘤细胞中高表达的 Survivin 等抗凋亡分子显示的选择性转录抑制功能.而 p53C 端的磷酸化、乙酰化等修饰会使其失去对 DBD 的抑制, 转而增强下游基因转录活化, 促进凋亡诱导.

由此, DNA 损伤反应中, p53 既能调控细胞周期、诱发周期阻滞, 为损伤修复提供时间, 修复损伤, 使细胞得以存活, 又能诱导损伤无法修复的细胞发生凋亡, 是损伤修复和凋亡诱导的界面调控分子, 在调控细胞生与死, 维护基因组稳定性和细胞自稳平衡中发挥核心作用.尽管对 p53 这 2 种不同功能的抉择机制尚不明确, 但已有研究表明: 同靶基因启动子序列亲和力的差异以及 ASPP1/2 (apoptosis stimulating proteins of p53, 53BP1/2) 等转录辅因子(cofactor)均影响 p53 对下游效应分子的选择性.

3.2 调节 p53 稳定性和活性的共价修饰是其发挥功能作用的分子基础

现已证明, 近 50%人类肿瘤的发生发展同 p53 基因的不稳定性, 如突变、缺失紧密相关.在 DNA

损伤活化的 p53 基因网络中, p53 的功能发挥依赖于其定位, 稳定性及活性调控. 磷酸化, 乙酰化, 泛素化以及 SUMO(small ubiquitin-like modification) 化等各种翻译后修饰通过调节 p53 构象、亚细胞定位、与其他蛋白质相互作用而调控 p53 功能.

p53 不稳定性主要来源于合成后迅速经泛素-蛋白酶体途径降解, 正常细胞中 p53 保持在低水平, Mdm2、COP1 等泛素 E3 连接酶是其最重要的负调控因子. 如前述及, DSBs 反应中, ATM 及其活化的相关激酶 Chk2 能快速协同诱导 p53 和 Mdm2、COP1 磷酸化, 使 p53 稳定性增强, 表达增高. 此外, HAUSP (herpesvirus-associated ubiquitin-specific protease) 能通过催化 p53 去泛素化, 对抗 p53 降解, 而与 p53 结合的 ING1b 和与 Mdm2 结合的 pRb、p19^{ARF} 等则通过阻碍 p53 和 Mdm2 结合而提高 p53 稳定性.

p53 C 端多个赖氨酸残基的乙酰化修饰同样能对其稳定性和转录活性做出贡献. 乙酰化修饰和泛素化修饰常在同一位点相互竞争. 乙酰化修饰可拮抗 p53 蛋白的泛素化. 乙酰化修饰对泛素化的抑制作用不仅局限于被乙酰化的氨基酸本身, 还能通过改变蛋白质整体构象而抑制其他部位氨基酸的泛素化, 并特异性地激活 p53 的 DNA 结合活性. Mdm2 与 p53 结合会抑制 CBP/p300 对 p53 的乙酰化, 并通过对去乙酰化酶的募集作用促进 p53 的去乙酰化和泛素化降解.

除各种共价修饰外, 构象改变也在 p53 功能调节中占有不可或缺的地位. IR 反应中, Pin1 (prolyl isomerase 1) 通过结合 p53 磷酸化的 Ser33 和 Ser46, 催化其分子异构化, 抑制 p53 同 Mdm2 结合, 增强 p53 的转录调节活性, 是重要的 p53 正调控分子.

3.3 p53 肿瘤抑制的“搭档”分子——PML 为其维持基因组稳定性做贡献

早幼粒细胞白血病蛋白 (promyelocytic leukemia, PML) 能借助分子中的 RBCC 结构同近 50 种有重要功能的蛋白质相互作用而形成多蛋白复合物 PML-NBs(PML nuclear bodies). PML-NBs 与核基质相连, 是一个动态的亚核结构, 在真核基因时空表达调控的高层次模式中发挥重要作用. 研究证明: PML 蛋白(PML-IV)和 p53 存在直接相互作用^[15]. DSBs 以 ATM, Chk2 依赖的方式上调 PML-NBs 数量, 此时, p53 被募集到 PML-NBs,

其 Ser46 被同样募集到 PML-NBs 的 HIPK2 (homeodomain interacting protein kinase 2) 磷酸化, CBP/p300 催化的 p53Lys382 乙酰化也发生在 PML-NBs 中. 上述磷酸化和乙酰化修饰对 p53 的凋亡诱导能力至关重要. Wei 以及我们实验室新近研究发现: DNA 损伤反应中 PML 缺失将导致 p53 稳定性下降^[15], 转录激活下游凋亡相关基因的能力下调^[16]. 由此, 作为区室化核结构——染色质间区室的功能单位, PML-NBs 为 p53 同其他蛋白质的相互作用及修饰提供功能平台, 其所构成的 PML-p53 转录调控网络借助选择性凋亡诱导机制在维护基因组稳定性中发挥作用.

4 DNA 损伤反应信号网络的医学意义

新的研究进展揭示: DNA 损伤反应不仅是基因组稳定性的基石 (the cornerstone of genome stability), 同时, 其信号网络精细、精确调控构筑了抗癌屏障(anti-cancer barrier)^[17], 并在抗 HIV 感染中显示重要的医学意义.

4.1 肿瘤应激 (oncogenic stress) 与 DNA 损伤检查点的激活

2005 年 Bartkova 等首先发现人膀胱癌发生早期有 ATM、Chk2、p53、H2AX 等 DSBs 反应分子的磷酸化激活, 且 ATM-Chk2-p53 信号级联活化先于 p53 突变和 / 或基因组不稳定性增加. 对乳腺癌、结肠癌和肺癌等实体瘤细胞的检测结果证实, 多种类型肿瘤侵袭前阶段 (pre-invasive stages) 均存在 ATM-Chk2-p53 和 ATR-Chk1 途径异常组成性活化. 在细胞中过表达 CyclinE、Cdc25A 和 E2F-1 等 oncogenetic stress 异常刺激引发 DNA 复制应激 (replication stress) 时, 也能直接或间接激活此信号级联, 诱导细胞周期阻滞和 / 或细胞凋亡, 进而在基因组稳定性维持, 延迟并防御癌变中发挥重要作用 (图 1). 当上述信号分子发生突变或调控异常时, 基因组不稳定性增加, 细胞自稳失衡, 细胞无限增殖、恶性转化, 促成肿瘤发生发展. Hong 等^[18]在 Myc 转基因小鼠中的研究, 进一步确证了 ATM-p53 axis 在维护基因组稳定性、抗肿瘤生成中的重要意义. 因此, DNA 损伤信号分子 ATM-Chk2-p53、H2AX 等的组成性活化是肿瘤形成早期激活的可诱导的抗癌屏障, 通过监测相关信号分子的表达及功能将有可能对肿瘤发生作出预警!

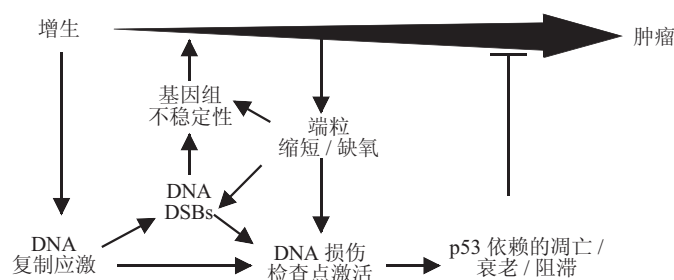


Fig. 1 Model for activation of the DNA damage checkpoint in cancer DNA damage response as an inducible anti-cancer barrier in early tumorigenesis^[19]

图1 多种类型肿瘤侵袭前阶段的异常刺激所导致的DNA复制应激,能直接或间接激活DNA损伤反应信号级联,诱导细胞周期阻滞和/或细胞凋亡,维持基因组稳定性,延迟防御癌变^[19]

4.2 以DNA损伤反应分子为靶对抗逆转录病毒HIV感染

以HIV病毒编码蛋白作为治疗靶标的研究表明,逆转录病毒生活周期短,突变率高,易出现抗药性.为此,研究人员提出,通过抑制宿主(人)细胞中对病毒复制扩增必需的靶蛋白的表达或功能来治疗HIV感染的新思路.10年前发现HIV整合入宿主DNA时,病毒整合酶切割宿主DNA,产生2个短的单链缺口(short single-stranded gaps),如不及时修复,会在复制过程中形成DSBs^[20].近期实验证实,及时修复“缺口”、保障病毒DNA稳定整合入宿主基因组的过程,是由宿主细胞的DNA损伤监视及修复分子执行的^[21,22],HIV感染能有效激活人细胞中ATM-Chk2信号级联,PI3KK抑制剂Wortmannin和Caffeine能引发病毒整合时被感染宿主细胞的大量死亡,特异性ATM小分子抑制剂KU-55933能有效抑制HIV对外周血单个核细胞的感染,且对因突变而产生药物抗性的HIV病毒株同样有效^[23].最新实验结果发现,KU-55933抑制ATM活性、抗HIV感染时,病毒蛋白Vpr对宿主细胞HR修复能力的激活作用也受到了抑制^[24],进一步证实HIV的整合依赖于宿主细胞中ATM介导的DNA损伤信号转导途径.ATM特异性的小分子抑制剂能有效抗HIV感染,显示出光明的开发前景.

参考文献

- O'Driscoll M, Penny A J. The role of double-strand break repair—insights from human genetics. *Nature Review Genetics*, 2006, **7** (1): 45~54
- Sancar A, Lindsey-Boltz L A, Unsal-Kacmaz K. *et al.* Molecular

mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem*, 2004, **73**: 39~85

- 严雨倩,周平坤.哺乳动物细胞DNA非同源末端连接及其生物学意义. *医学分子生物学杂志*, 2006, **3** (1): 69~72
Yan Y Q, Zhou P K. *Journal of Medical Molecular Biology*, 2006, **3** (1): 69~72
- 林莉,刘晓晴,宋三泰. DNA损伤修复与铂类耐药研究进展. *中国肿瘤*, 2006, **15** (1): 29~31
Lin L, Liu X Q, Song S T. *Bulletin of Chinese Cancer*, 2006, **15** (1): 29~31
- Paull T T, Rogakou E P, Yamazaki V, *et al.* A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage. *Curr Biol*, 2000, **10** (15): 886~895
- Aude D, Chatenet L B, Jean G. Two-step activation of ATM by DNA and the Mre11-Rad50-Nbs1 complex. *Nature Structure and Molecular Biology*, 2006, **13** (5): 451~457
- Savitsky K, Bar-Shira A, Gilad S, *et al.* A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI3-kinase. *Science*, 1995, **268** (5218): 1749~1753
- Riballo E, Kuhne M, Rief N, *et al.* A pathway of double strand break rejoining dependent upon ATM, Artemis and proteins locating to γ -H2AX foci. *Mol Cell*, 2004, **16** (5): 715~724
- Jeggo P A, Lobrich M. Artemis links ATM to double strand break rejoining. *Cell cycle*, 2005, **4** (3): 359~362
- Yosef S. The ATM-mediated DNA-damage response: taking shape, *Trends in Biochemical Sciences*, 2006, **31** (7): 402~410
- Atsushi H, Kong Y Y, Matsuoka S, *et al.* DNA damage-induced activation of p53 by the checkpoint kinase chk2. *Science*, 2000, **287** (5459): 1824~1827
- Kurt W K, Yves P. Molecular interaction map of the p53 and Mdm2 logic elements, which control the Off-On switch of p53 in response to DNA damage. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **331** (3): 816~827
- Hofmann T G, Möller A, Sirma H, *et al.* Regulation of p53 activity by its interaction with homeodomain-interacting protein kinase-2. *Nat Cell Biol*, 2002, **4** (1): 1~11

- 14 Levine A J. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*, 1997, **88** (3): 323~331
- 15 Bernardi R, Pandolfi P P. Role of PML and PML-nuclear body in the control of programmed death. *Oncogene*, 2003, **22** (56): 9048 ~ 9057
- 16 Tian B L, Mei Z Z, Song Y, *et al.* Knocking down PML impairs p53 signaling transduction pathway and suppresses irradiation induced apoptosis in breast carcinoma cell MCF-7. *J Cell Biochem*, 2006, **97** (3): 561~571
- 17 Jirina B, Zuzana H, Karen K, *et al.* DNA damage responses as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature*, 2005, **434** (7035): 864~870
- 18 Hong S, Pusapati R V, Powers J T, *et al.* Oncogenes and the DNA damage responses: Myc and E2F1 engage the ATM signaling pathway to activate p53 and induce apoptosis. *Cell Cycle*, 2006, **5** (8): 801~803
- 19 Gorgoulis V G, Vassiliou L V, Karakaidos P, *et al.* Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions. *Nature*, 2005, **434** (7035): 907~913
- 20 Miller M D, Wang B, Bushman F D. Human immunodeficiency virus type 1 preintegration complexes containing discontinuous plus strands are competent to integrate *in vitro*. *J Virol*, 1995, **69** (6): 3938~3944
- 21 Daniel R, Ramcharan J, Rogakou E P, *et al.* Histone H2AX is phosphorylated at site of retroviral DNA integration, but is dispensable for post-integration repair. *J Biol Chem*, 2004, **279** (44): 45810~45814
- 22 Skalka A M, Kalz R A. Retroviral DNA integration and the DNA damage response. *Cell death and Differentiation*, 2005, **12** (Suppl 1): 971~978
- 23 Lau A, Swinbank K M, Ahmed P S, *et al.* Suppression of HIV-1 infection by a small molecule inhibitor of ATM kinase. *Nat Cell Biol*, 2005, **7**(5): 493~500
- 24 Nakai-Murakami C, Shimura M, Kinomoto M, *et al.* HIV-1 Vpr induces ATM-dependent cellular signal with enhanced homologous recombination. *Oncogene*, 2007, **26** (4): 477~486

Cellular Responses to DNA Double Strand Breaks and Its Medical Significance*

SONG Yi**, SUN Zhi-Xian***

(Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

Abstract The DNA damage response is a cornerstone of genomic stability. The cell utilizes multiple mechanisms including damage detection, cell cycle regulation, damage repair and apoptosis to keep cell homeostasis. The DNA damage response includes several biochemical pathways: first, the recognition and repair of damaged DNA; second, the activation of DNA damage checkpoint, which arrests cell cycle progression so as to provide time for DNA repair and prevention of the transmission of genomic abnormalities to the daughter cells; third, apoptosis, which eliminates serious damaged cells. The double strand break (DSB) is believed to be one of the most severe types of DNA damage, and errors in DSB repair could result in genomic instability that might lead to malignancy. It has been reported recently that constitutive activation of the ATM-Chk2-p53 pathway and phosphorylation of histone H2AX acts as an inducible anti-cancer barrier in the early stages of human tumorigenesis. This ATM-regulated DNA damage response network maintains genomic integrity and delays or prevents cancer by eliciting growth arrest or cell death. In context with a recent report, the ATM-dependent DNA-damage cellular signaling has also been shown to be involved in the integration of human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) into host genomes, and KU55933, a specific ATM inhibitor, attenuated the infection of HIV-1 into host cells. The regulation and mechanisms of the signaling pathways of DSB response, and its role in HIV-1 infection and malignancy genesis were reviewed.

Key words DNA damage responses, double strand breaks(DSBs), ATM, p53, DNA damage checkpoint

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30600162, 30600109).

SONG Yi and SUN Zhi-Xian contributed equally to this paper. *Corresponding author. Tel: 86-10-66931244, E-mail: sunzx@nic.bmi.ac.cn

Received: January 30, 2007 Accepted: March 22, 2007