

染色体粉碎——基因组灾难性事件产物*

杨 健 蔡浩洋**

(四川大学生命科学院生长代谢衰老研究中心, 成都 610065)

摘要 “染色体粉碎”是最初在肿瘤细胞中发现的一种复杂的基因组重排现象。在该事件中, 细胞的一条或几条染色体在短时间内发生大量的 DNA 双链断裂, 形成小的 DNA 碎片, 之后这些碎片被细胞的 DNA 修复机制随机地拼接起来, 形成新的染色体。染色体粉碎事件会造成大量的基因组重排, 引起 DNA 拷贝数的变异和基因融合, 从而导致正常细胞向肿瘤细胞的快速转化。这与传统的癌症发生理论不同, 传统理论认为肿瘤的发生是由基因突变逐步积累而导致的, 因此染色体粉碎现象可能揭示了一种肿瘤发生的新机制。目前, 该现象的内在机制还不完全清楚, 其判别标准也存在争议。本文综述了近年来关于染色体粉碎现象的判别标准和产生机制, 探讨了该现象与肿瘤发生发展的关系, 为进一步研究染色体粉碎事件提供参考。

关键词 染色体粉碎, DNA 断裂, 基因组重排, 肿瘤

学科分类号 Q7

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0180

近年来, 随着第二代测序技术的快速发展, 全基因组测序已经广泛应用于生物学研究。在过去的 5 年中, 一种被称为“染色体粉碎”的现象受到研究者的关注。最初, 染色体粉碎现象(chromothripsis)是 Stephens 等^[1]在慢性淋巴细胞白血病中发现的一种独特的现象: 一个病人的 4 号染色体长臂出现了 42 个染色体结构变异, 具有明显的集中分布趋势, 同时 DNA 的拷贝数在 1 个拷贝和 2 个拷贝之间震荡变化。而进一步利用单核苷酸多态性(SNP)芯片研究 746 个肿瘤细胞系拷贝数变化, 发现 2.4% 的细胞系存在类似现象, 说明了这一现象的普遍性。Stephens 等推测这种大规模的染色体变异可能是由一次性细胞事件引起的: 细胞受到严重胁迫导致染色体发生大规模的断裂, 为了应对生存危机, 细胞的修复机制随机地将断裂的染色体片段连接起来, 因而在一个或少数几个染色体的一小片区域出现大量的基因组重排并伴随拷贝数的变化。这一发现引起了研究者的关注, 随后的多项研究也发现, 在许多肿瘤类型以及一些先天性疾病中也存在类似的现象, 如前列腺癌^[2]、成神经细胞瘤^[3]、霍奇金淋巴瘤^[4]等。

一直以来, 经典的肿瘤发生和发展假说认为, 肿瘤发生需要涉及细胞周期、凋亡、DNA 损伤修

复等过程的基因出现突变, 使得肿瘤前体细胞获得生长优势。而一般而言, 获得这种生长优势需要多个基因相继发生突变, 因此肿瘤发生常被认为是一个渐进的过程。染色体粉碎则展现出了另一种肿瘤快速发展的潜在模型: 细胞面临一次灾难性事件时可能发生大规模的染色体断裂, 进而可能随机地出现扩增、缺失、倒位和易位等重排事件(图 1)。这一事件可能同时导致多个基因的缺失或扩增、多个融合基因, 因而可能加快肿瘤发生和发展的进程。染色体粉碎现象本身发生的机制及其与肿瘤和先天性疾病的关系目前尚不清楚。本文就染色体粉碎的评估、机制及其与肿瘤等疾病的关系进行综述和探讨。

1 染色体粉碎在肿瘤中普遍存在

近年来, 第二代测序技术使得对全基因组的测序成本越来越低。第二代测序技术可以检测基因组中的 DNA 断点, 同时可对拷贝数进行分析, 而基

* 国家自然科学基金资助项目(31571314)。

** 通讯联系人。

Tel: 028-85418843, E-mail: haoyang.cai@scu.edu.cn

收稿日期: 2016-05-26, 接受日期: 2016-11-23

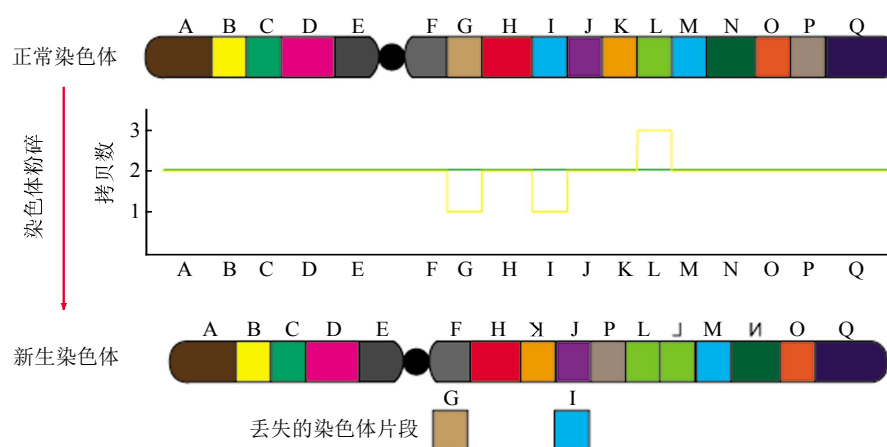


Fig. 1 The schema of chromothripsis

图1 染色体粉碎模式图

染色体粉碎是细胞的一次灾难性事件,表现为染色体上DNA断裂位点集中分布,出现大量的结构变异,可同时引起染色体片段出现扩增(L)、缺失(G和I)、倒位(K和N)和易位(K和P)等事件.图中,绿色线条表示正常染色体的拷贝数,黄色线条表示衍生染色体各个片段的拷贝数变异.

因杂交芯片或SNP芯片则可以检测拷贝数变异.已有的研究主要基于上述三种技术,发现在多种疾病中存在染色体粉碎现象.目前已经在白血病^[5-6]、膀胱癌^[7]、乳腺癌^[8]、结直肠癌^[9]等40余种肿瘤以及先天性疾病中发现染色体粉碎现象^[10].

染色体粉碎现象在不同疾病中的发生率是不同的(表1).在Stephens等^[1]的研究中,认为染色体粉碎在肿瘤中的发生频率约为2.41%,而在骨癌中的发生频率高达25%.而Cai等^[11]针对132种肿瘤的18394个基因组杂交芯片样本的研究中报道了918个样本存在着类似染色体粉碎的模式,反映出染色体粉碎频率约为4.99%.值得注意的是,在Cai等的研究中,染色体粉碎在骨癌中发生的比例为8.13%,而在一些软组织肿瘤中的比例非常高.此外,成神经管细胞瘤中染色体粉碎的发生率为3.95%,低于Rausch等^[12]研究中发现的比例13.27%.造成这一差异的主要原因之一是由于识别染色体粉碎的标准不同,Cai等基于统计模型识别染色体粉碎的模式,而Rausch等的研究则采用固定的拷贝数变化数目(>10)来识别.另外,一项针对7种肿瘤的研究则认为,染色体粉碎在肿瘤中的发生率可能更高,在成胶质细胞瘤中的比例高达

39%,而在其他肿瘤类型中的比例约9%^[13].在食管腺癌中,染色体粉碎的比例很高,约1/3(32.52%)的食管癌患者中发现了染色体粉碎现象^[14].在慢性淋巴细胞白血病人中,Salaverria等^[15]利用靶向基因组杂交芯片在4.44%(8/180)的样本中发现了类似染色体粉碎的现象.在多发性骨髓瘤中,利用高分辨率的SNP芯片分析拷贝数变化发现764个多发性骨髓瘤病人中出现染色体粉碎的比例则仅为1.3%^[15].由于染色体粉碎事件本身可能出现拷贝数未发生变化的情况,比如只存在转位、异位等变异的情况,因此这一比例可能比实际比例低.这些研究,尤其是基于大样本的研究,揭示出染色体粉碎在不同的肿瘤类型中的比例存在较大的差异.这可能反映出疾病本身致病机理的差异,甚至不同阶段的肿瘤其自身的机制也存在一定的差异性.

值得注意的是,染色体粉碎现象不局限于由体细胞突变而产生的肿瘤细胞中,在生殖细胞中也存在,但一般不引起拷贝数的变化^[16].这种拷贝数平衡的染色体粉碎不会对当代个体产生影响,但是有导致后代出现染色体拷贝数失衡的风险,引起一些先天性疾病,如猫叫综合征^[17].这在疾病诊断和优生优育等方面有潜在的指导意义.

Table 1 The reported frequencies of chromothripsis in different cancer types**表 1 已报道的不同肿瘤类型中染色体粉碎的发生频率**

研究文章	肿瘤类型	样本量	频率 / %
Stephens ^[1]	全部肿瘤	746	2.41
	骨癌	20	25.00
Cai ^[11]	全部肿瘤	18 394	4.99
	脂质癌	114	53.51
	纤维瘤	59	23.73
	肉瘤	48	22.92
	间质瘤	151	3.97
	骨癌	123	8.13
	肌上皮瘤	85	5.88
	乳癌	3 652	11.06
	食管癌	135	9.63
	卵巢癌	801	4.62
	胃癌	160	4.38
	非小细胞肺癌	1 164	9.36
	小细胞肺癌	90	6.67
	前列腺癌	653	6.28
	黑色素瘤	621	6.12
	原始神经外胚层肿瘤	65	6.15
	神经胶质瘤	669	4.04
	髓母细胞瘤	430	3.95
Malhotra ^[13]	胶质母细胞瘤	18	38.89
Rausch ^[12]	髓母细胞瘤	98	13.27
Zemanova ^[18]	骨髓增生异常综合征	157	47
Nones ^[14]	食管腺癌	123	32.52
Salaverria ^[15]	慢性淋巴细胞性白血病	180	4.44
Magrangeas ^[19]	多发性骨髓瘤	764	1.31
Molenaar ^[20]	神经母细胞瘤	87	11.50
Brastianos ^[21]	脑膜瘤	65	1.54
George ^[22]	小细胞肺癌	110	1.82

2 染色体粉碎的评估标准

对染色体粉碎的定义以及对其特征的准确描述是鉴别染色体粉碎事件的关键, 关系到对其机制的解析. 在 Stephens 等^[1]的研究中, 具有染色体粉碎的样本有如下几条特点: a. 所观察到的大量 DNA 拷贝数变异只在两种状态间震荡变化(1 个拷贝或 2 个拷贝, 偶尔出现 3 个拷贝的情况); b. 在高拷贝数区域保留了等位基因的杂合性; c. 在受影响的染色体或染色体臂上有更多的染色体断裂位点, 并且这些断点相对集中. 然而, 这些标准在后续的一些研究中并没有给出明确的验证, 而仅仅标注为类似染色体粉碎的现象, 一些文献中主要以染色体断点的数目和拷贝数周期性变化作为评估指标^[12, 23].

值得注意的是, 染色体粉碎导致复杂的结构变异可能与经过多个步骤的染色体结构变异结果相似. 因此, 染色体粉碎的评估标准目前尚未统一.

由于染色体粉碎的评判标准存在较大差异, 不同的标准同时又存在着可操作性、重复性的问题, 2013 年 Korbel 和 Campbell^[24]提出了 7 条比较严格的判断标准, 并给予了解释. a. 染色体上的断点聚集现象, 一般在较短的一段染色体上(如 50 kb 内)存在 5~10 个断点, 并可能被很长一段无断点区域间隔开. b. 拷贝数震荡变化的规律, 染色体粉碎过程中一般拷贝数变化在两个或三个状态之间. c. 杂合性缺失区域和杂合性区域相互间隔. 在染色体粉碎过程中, 常发生染色体片段丢失, 而丢失片段一般无法恢复, 表现为杂合性缺失, 而没

有丢失的部分则杂合性不会受到影响, 因此出现相互间隔. 并且这种杂合性变化应该与拷贝数变化相吻合. d. 受染色体粉碎影响的常常只是一条染色单体, 因为一般灾难性事件只会影响姐妹染色单体中的一条. e. DNA 片段之间的连接是随机的, 即片段之间连接不存在方向性偏好, 头对头、尾对尾、头对尾和尾对头这 4 种方式在数量上应该大体上相同. f. 断开的片段重新连接在一起的顺序也是随机的, 即每个重排涉及的两个断点之间的距离是随机的. g. 可以利用断点处的头-尾信息组装出衍生的染色体, 而渐进模型常出现嵌套的重排, 可能导致无法组装出完整的衍生染色体. 上述这些判断标准是比较严格的, 大部分研究并不能判断所有的上述 7 条标准, 尤其是最后一条标准难以准确判断, 需要高质量的全基因组测序和组装, 获取断点的精确位点和方向信息等必要条件, 而基于 SNP 芯片和比较基因组杂交芯片的数据只能得到基因组的拷贝数变化情况以及断点的位置, 无法实现片段连接随机性验证和衍生染色体组装.

然而, 对于染色体粉碎事件的真实性以及其证据的可靠性也有人提出质疑. Kinsella 等^[25]在他们的文章中对 Stephens 等曾使用的模拟渐进进化模型的实验进行了修正. 他们修正了倒位的逻辑错误, 提出在对断点及拷贝数变化的定义和计数方式在基于第二代测序和芯片的数据类型上存在差异, 将可能导致模拟结果中拷贝数变化的差异; 其次, 在选择加入断点时, 如果使新加入的断点更倾向于产生倒位的话, 还可使模拟结果中拷贝数变化进一步下降; 再次, 如果重排事件仅限于缺失和倒位, 通过渐进的方式可以使拷贝数变化也只会 1 和 2 之间变化. 因此, 在对染色体粉碎进行定义和识别时应该充分考虑以上判别标准. 染色体粉碎造成的基因组变异呈现出特殊的状态, 在渐进的突变模型下很难作出令人信服的解释. Kinsella 等的探讨给出了一个适合于渐进模型的解释, 理论上这种渐进的方式虽然可能导致相似的结果, 但还需要将这一理论纳入到生物体的特殊条件下, 考虑该模型的适用性. 染色体粉碎理论能比较好地解释这种集中的染色体重排事件. 染色体粉碎事件的证据目前还存在争议, 后续的相关研究会揭示更多关于该现象的特征.

3 染色体粉碎的机制

染色体粉碎自发现以来, 其机制就受到广泛的

关注, Stephens 等^[1]根据其特点推测如此大量的染色体断裂和连接可能是由一些内源性或外源性的灾难事件引起的, 如电离辐射或者与端粒缩短相关的断裂-融合桥(breakage-fusion bridge, BFB)循环. 这些不同的诱发染色体断裂的事件导致出现大量的双链断裂, 相互融合的片段之间也不存在或者仅有极短的同源片段. 因此, 细胞通过非同源末端融合(nonhomologous end-joining, NHEJ)或者微同源序列介导的末端融合(microhomology-mediated joining, MMJ)方式将染色体片段连接起来. 后续的相关研究也有不少是关于其机制的研究, 以下总结目前提出的几种主要的机制.

3.1 染色质过早凝聚

正常情况下, 细胞有丝分裂过程中染色体高级结构会解除, 以便进行 DNA 复制, 而在全套染色体复制完成后, 染色质凝聚形成染色体, 并分离到两个子细胞中. 然而, 在一些情况下, 例如 DNA 复制过程出错导致复制减缓或者微核中异步复制, 部分染色体没能在细胞进入分裂期时完成复制, 此时就可能出现染色质过早凝聚现象. 这种现象一般出现在有丝分裂中的细胞与处于复制期的细胞融合过程中, 或者主核与微核之间存在异步的细胞周期的同一细胞中(图 2a). Terzoudi 等^[26]就染色质过早凝聚与基因组不稳定性以及染色体粉碎的关系进行了研究, 通过射线照射引起 DNA 断裂后, 如果细胞处在 G2/M 转换阶段, 染色质凝聚过程将会在断裂位点或者 DNA 复制位点产生机械力, 导致染色单体断裂, 而染色单体断裂会导致染色体片段的重排以及出现染色体粉碎现象.

3.2 微核导致染色体异常

微核是真核细胞中染色体的异常结构, 是细胞分裂间期染色体异常的表现形式. 一般是由于细胞有丝分裂过程中染色体滞留或断裂、或是由于 DNA 复制和损伤修复过程中产生了无着丝粒染色体, 导致染色体或染色体片段无法进入主核, 在间期时形成的游离于主核之外的核物质^[27]. 有报道称, 在微核中的 DNA 片段更容易发生 DNA 损伤^[28]. David Pellman 的研究团队最初发现将完整的染色体引入到新形成的微核中会导致微核中 DNA 异步复制和染色体无法完成复制, 常出现大量的染色体片段化, 而微核中的染色体可以重新整合到主核中, 引起主核中染色体出现类似染色体粉碎的现象^[29](图 2b). 其后, 该团队结合活细胞成像技术和单细胞测序技术发现, 微核确实可以引起基因组出

现一系列的重排, 且需要细胞进入 S 期启动 DNA 复制, 而这种重排符合染色体粉碎的特征^[27].

3.3 断裂-融合桥循环及端粒异常

BFB 循环是染色体不稳定的一种机制, 在染色体末端出现断裂时, 染色体的保护结构“端粒”可发生丢失, 导致染色体末端极易与其他末端丢失的染色体融合, 形成双着丝粒染色体. 在细胞分裂后期, 这种具有双着丝粒的染色单体会被纺锤丝牵

引到细胞两极, 融合的染色体将受到两极被牵引到两个不同的子代细胞, 在子代细胞间形成染色体桥, 并在分裂后期发生断裂, 但是断裂位点不一定在染色体融合的位置^[30]. 这种断裂产生的末端还是缺少端粒, 进而会引起下一次的断裂-融合, 如此循环往复(图 2c). BFB 循环会导致同源染色体片段融合, 而多轮循环则可促使同一染色体的不同片段之间发生复杂的重排, 产生与染色体粉碎相符合的

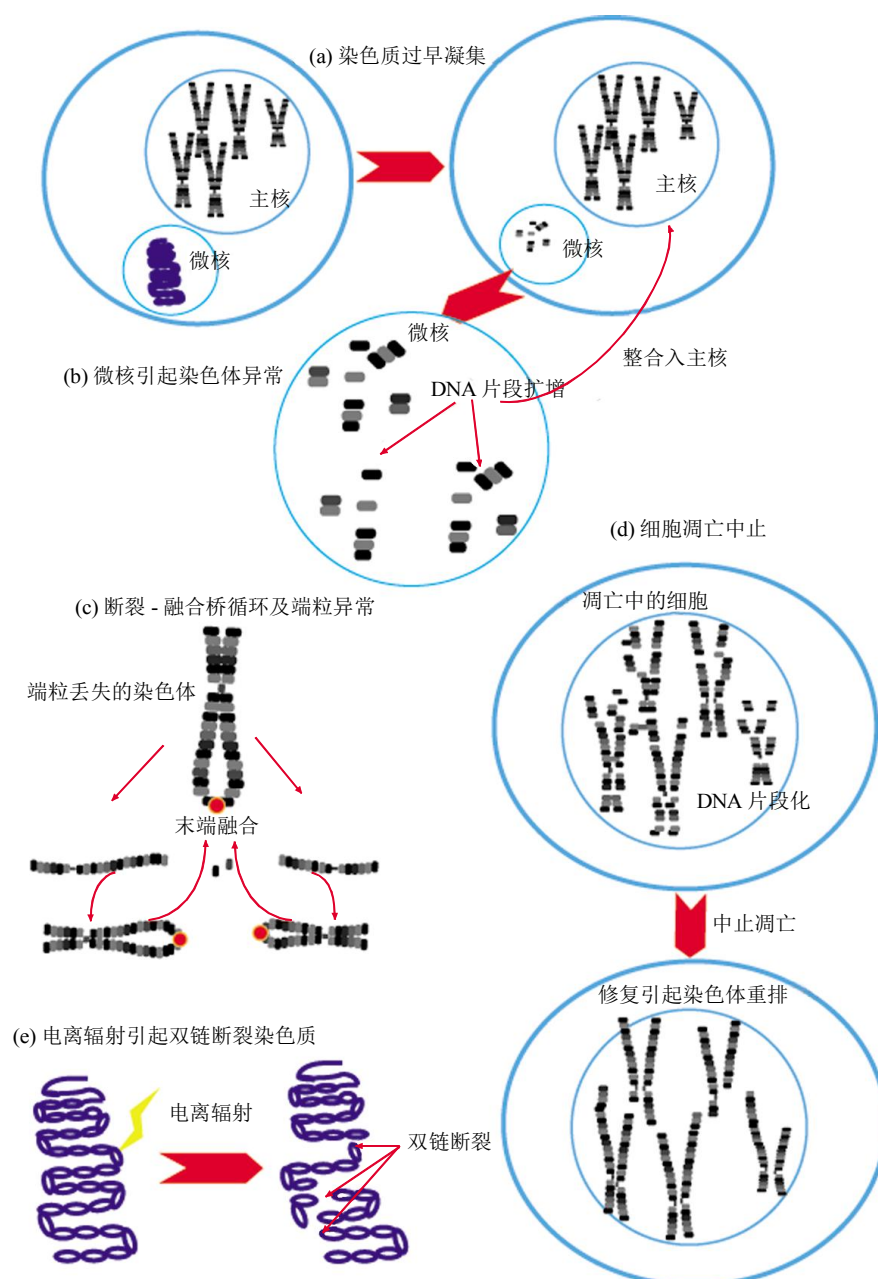


Fig. 2 Mechanism of chromothripsis events

图 2 染色体粉碎的发生机制

(a) 染色质过早凝集. 微核和主核的异步复制引起滞后的核过早凝集, 常发生片段化. (b) 微核引起染色体异常. 微核中常发生片段扩增, 可整合到主核中. (c) 染色体端粒丢失后同源染色体易末端融合, 在细胞分裂时断裂, 引起染色体片段拷贝数变化. (d) 细胞凋亡中止引起片段化的 DNA 重新连接. (e) 电离辐射引起染色质局部区域出现的多个双链断裂.

断点集中分布和拷贝数的震荡^[31]. Li 等^[5]的研究发现, 一类称为 iAMP21 (recurrent amplification of megabase regions of chromosome 21) 的儿童急性淋巴细胞白血病中, 15 号和 21 号染色体的罗宾逊易位会大幅增加患病几率, 并且散发的 iAMP21 样本中 BFB 循环一般是起始事件, 而其后常发生染色体粉碎.

3.4 细胞凋亡中止

在细胞受到胁迫时, 细胞将启动一系列挽救机制以帮助其生存. 然而当胁迫太大或者持续时间长时, 细胞会启动程序性细胞死亡, 即凋亡. 凋亡的一个重要特点是染色质固缩, 进而片段化. 然而, 在凋亡机制启动后, 有极少的细胞可能出现凋亡过程中止, 最终存活下来, 这些细胞会把片段化的 DNA 重新连接起来, 这一过程可以导致染色体出现大量的重排, 并且重排更容易发生在临近的染色体片段^[32](图 2d). 有研究发现, 凋亡中止现象确实存在, 一类凋亡抑制蛋白(IAP)可以与 caspase 家族成员 caspases 3、7 和 9 结合, 抑制后者的活性, 可中止凋亡过程^[33]. 而据报道, 在被 γ 疱疹病毒感染感染的细胞中, 凋亡过程可能出现了中止, 引发肿瘤^[34]. 因此, 细胞凋亡中止可能也是染色体粉碎的一个潜在机制.

3.5 电离辐射

发生染色体粉碎的一个重要的起始事件是染色体出现断裂. 有多种因素可能导致染色体出现断裂, 包括外源性的电离辐射、一些化学试剂以及内源性的 DNA 复制和修复过程. 其中, 电离辐射是一种重要因素, 主要是宇宙射线穿透大气层到达地表或者放射性同位素所致^[35]. 一些高能量的电离辐射, 如 α 离子、X 射线等可以直接或间接地导致染色体发生断裂, 并且据估计在人体中每个细胞每天可能出现约 50 个双链 DNA 断裂, 而单链断裂更多^[36]. 并且电离辐射的一个重要特点是, 它可以导致其运动轨迹上的 DNA 同时发生断裂, 使得在一片集中的染色体区域出现大量的断裂, 这种情况下就可能出现类似染色体粉碎的效果^[35](图 2e). 因此, 电离辐射可能是染色体粉碎的初始诱发事件之一.

上述的几种染色体粉碎机制从不同的角度对该过程进行了解释. 电离射线可能是一种染色体粉碎的诱发因素, 仅仅是导致染色体出现断裂; 而细胞分裂过程中形成的微核可能是另一种诱发因素, 或者仅仅是将染色体(或其部分片段)隔离出来, 而由

电离辐射等因素导致染色体在隔离出来的染色体区域片段化, 引起断点集中分布; 而细胞凋亡中断是染色体粉碎的原因还是结果也难以确定, 或许正是片段化的染色体被某种机制连接在一起后才抑制了细胞凋亡. 在成胶质细胞瘤中发现确有参与调控凋亡的基因 *FAFI* 出现了断裂, 导致其蛋白表达缺失, 该基因所在的染色体区域 1p 是该病中染色体粉碎的区域之一^[37]. BFB 循环似乎是一个相对独立的机制, 可引起类似染色体粉碎的结果, 但为多次事件的结果, 与染色体粉碎提出的一次性事件有所区别, 而其与染色体粉碎的关联性还有待进一步研究. 因此, 染色体粉碎本身是一个多阶段的过程, 至少包括 DNA 双链断裂、DNA 片段的融合两个过程, 上述不同的机制可能是染色体粉碎不同阶段的解释.

4 染色体粉碎与疾病: 因或果

在多项研究中, 染色体粉碎被报道与肿瘤的预后高度相关. 在多发性骨髓瘤中, 染色体粉碎被认为是一种稀有但是预后较差的一个标志^[19]. 在黑色素瘤病人中, 染色体粉碎也与其预后高度相关, 出现大量染色体变异的病人预后也较差^[38]. 多形性成胶质细胞瘤中, 5%的病人发生染色体粉碎, 影响 *MDM2* 和 *CDK4*, 其预后也较差^[37]. 在骨髓增生异常综合症患者中, 染色体粉碎发生比例极高, 并且涉及到 5 号染色体的复杂性染色体异常与该病较差的预后相关^[18]. 在儿童急性淋巴细胞白血病中, 21 号染色体常发生扩增, 这种扩增被认为是由染色体粉碎引起的, 并在此后异常染色体常进一步扩增, 使得白血病发病几率增大^[5]. 在高阶成神经细胞瘤中, 染色体粉碎比例也相对较高, 并且这些病人的预后也差^[20]. 这些研究表明染色体粉碎可能与疾病的发生发展有着重要的相关性.

4.1 染色体粉碎与肿瘤发生

染色体粉碎导致染色体出现大量的重排事件, 一般而言, 如此大量的变异会导致细胞凋亡. 然而, 受到这样大的扰动却能够存活的细胞可能获得了生存优势, 进而可能产生肿瘤. 这一假设在 Stephens 等^[1]的研究中也得到了验证, 在小细胞肺癌细胞系 SCLC-21H 的基因组中除了存在大量的拷贝数为 1 和 2 的片段外, 还存在一些高度扩增的片段, 而其中一段包含了原癌基因 *MYC*, 该基因在 10%~20% 的小细胞肺癌中出现扩增. 根据 FISH 实验验证, 这些高度扩增的片段是存在于双微体

中. 而关于小细胞肺癌的另一项研究中也发现, 发生染色体粉碎的细胞中一些已知的原癌基因如 *MYC* 拷贝数增加^[39]. 在食管癌中, 染色体粉碎产生的双微体的复制导致 *MYC*、*MDM2* 等基因拷贝数增加. 在多形性胶质细胞瘤中也发现 *MDM2* 和 *CDK4* 的扩增^[37]. 以上研究结果表明, 染色体粉碎可以通过增加原癌基因的拷贝数, 影响这些基因的表达水平, 进而引起肿瘤发生.

另一方面, 抑癌基因的丢失或失活也是癌症发生的一个重要原因. 在发生染色体粉碎的细胞中, 同样发现了一些抑癌基因拷贝数降低或者功能受损, 这在 Stephens 等^[1]的研究中也有报道, 如脊索瘤 PD3808a 病人中发现抑癌基因 *CDKN2A* 和 *FBXW7* 的拷贝数减少, 一个慢性淋巴细胞白血病患者 PD3175a 中发现 *CDKN2A* 和 *miR-15a/16-1* 拷贝数减少. 在遗传性眼癌中的一项研究也显示, 一个发生染色体粉碎的样本中发现了抑癌基因 *RB1* 处在染色体粉碎区域内, 导致 *RB1* 失活^[40].

除此之外, 染色体粉碎还可能导致基因融合事件, 一些融合基因可能也是肿瘤发生的重要因素. 在侵袭性甲状腺癌中, 研究者发现 *STRN* 和 *ALK* 基因的融合, 导致 *ALK* 基因组成性激活, 可能是该病的潜在标记^[41]. 而高阶的卵巢癌中, 发现非编码基因 *SLC25A40* 的启动子和 1 号外显子与一个跟药物外排相关的基因 *ABCB1* 的 2 号外显子融合, 导致 *ABCB1* 基因表达量上升, 可能是该病耐药的一种机制^[42].

4.2 染色体粉碎与体细胞突变

然而, 染色体粉碎并不一定会导致肿瘤等疾病的发生. 与之相反, McDermott 等^[43]发现, 一例自孩童时期开始就患有常染色体显性遗传的伴有免疫缺陷的疾病 WHIM 综合征(该病因患者出现皮肤疣 Warts、低丙种球蛋白血症 Hypogammaglobulinemia、复发性感染 Recurrent infections 以及中性粒细胞减少 Myelokathexis 而得名)的患者, 造血干细胞中 2 号染色体上的 *CXCR4*^{R334X} 基因突变体由于染色体粉碎而缺失, 并使得该患者的症状在 30 多岁时消失. 这一发现似乎说明, 染色体粉碎并不一定是肿瘤等疾病的发病原因, 而可能在病程中出现的附加效果, 并且其效应也不存在方向性. 而在结肠癌肿瘤异质性研究中发现, 在一个肿瘤样本所有的子样本内一些已知的肿瘤相关基因如 *APC*、*TP53* 常发生突变, 而染色体粉碎和基因组重排等事件则是在部分子样本中才存在^[9]. 这种分布的差异可能反映出

这些事件的发生时间有所差异, 而染色体粉碎和基因组重排可能是在 *TP53* 等基因突变后发生的. 另一项针对 *TP53* 的研究中, 研究者在含有 *TP53*^{C273X} 杂合突变和纯合的缺失突变小鼠中发现这两类小鼠出现染色体粉碎等基因组重排的频率差异极大, 前者更容易出现染色体粉碎, 反映出获得功能的 *TP53* 在染色体粉碎中可能扮演重要角色^[44]. 在 Sonic-Hedgehog 成神经管细胞瘤中, 研究者也发现了 *TP53* 与染色体粉碎的这种高度关联^[12]. 上述研究将 *TP53* 及其相关的 DNA 损伤修复通路联系起来, 反映出这些通路与染色体粉碎的关联性. 由于 *TP53* 突变在肿瘤发生中也是十分常见的, 染色体粉碎的发生与肿瘤发生的因果关系就更加不易分辨.

上述研究表明, 染色体粉碎在肿瘤等疾病中所起的作用可能比较复杂. 但是在多数情况下可能引起原癌基因和抑癌基因等疾病相关基因的拷贝数和表达变化, 使得细胞获得生存优势而引发肿瘤. 此外, 染色体粉碎现象也有可能只是肿瘤发生的一个附加产物, 然而考虑到发生染色体粉碎的肿瘤病人一般预后较差, 其可能与肿瘤的恶性发展密切相关.

5 展 望

染色体粉碎现象的发现可能揭示了一种新的肿瘤发生发展的模式, 为我们研究肿瘤产生的机制提供了新的视角. 针对染色体粉碎事件的定义尽管存在一些争论, 但是 Jan 和 Peter 提出的 7 条特征是目前最常用的判断标准. 在进行染色体粉碎事件判定的时候需要注意以下几个问题: a. 已有的一些研究采用的方法和判别标准有较大差异, 难以实现在不同研究间进行比较; b. 依然缺乏被广泛接受的标准, 虽然 Jan 和 Peter 提出了一系列标准, 但其中一些判断标准难以实行, 而且不适用于所有平台的数据; c. 染色体粉碎事件的呈现形式不统一, 虽然图形呈现常使用 *circos* 图或类似的图形展示出了拷贝数变化、倒位异位等事件, 但是一些染色体粉碎相关文章没有给出文本形式的呈现, 使得基于这些研究的整合性研究困难较大. 基于此, 我们还需要在染色体粉碎的判别方面做更多的理论研究, 提出一套可靠且易于操作的检测方案. 同时, 染色体粉碎是一个复杂性事件, 通过人工搜索费时费力, 因此开发一系列分析工具和流程十分重要. 目前这类的工具还较少, 例如已有基于第二代测序的分析工具 Shatterproof, 以及基于基因芯片数据的在线染色体粉碎模式识别网站 CTLPScanner^[45]. 然

而, 还需要针对不同的平台和数据类型开发更多的方便实用的工具, 以促进本领域的研究.

另一方面, 目前对于染色体粉碎的认识还处于初级阶段, 因而对其发生的原因、机理尚需要进一步研究. 而染色体粉碎与多种疾病之间的关系可能并非是简单的因果关系, 可能二者之间本就存在着互相影响. 例如, 染色体粉碎可能是由于 *TP53* 等与 DNA 损伤修复相关的基因突变, 导致染色体受损无法快速修复引起基因组不稳定, 最终出现灾难性的断裂; 也有可能染色体受到一次严重的物理化学或生物因素的破坏, 出现大量的断点, 在修复过程中导致抑癌基因失活、原癌基因激活或者产生新的融合基因, 导致肿瘤等疾病的发生; 也有可能这两种情况交替发生导致更为严重的后果. 因此, 染色体粉碎的机理以及与疾病之间的关系需要更深入的研究.

总之, 关于染色体粉碎现象目前还有许多需要研究和探讨的内容. 而第二代测序, 甚至新的第三代测序的快速发展必将进一步促进染色体粉碎领域的研究, 并最终改善疾病的诊断、预防以及治疗.

参 考 文 献

- [1] Stephens P J, Greenman C D, Fu B, *et al.* Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. *Cell*, 2011, **144**(1): 27–40
- [2] Teles Alves I, Hiltmann S, Hartjes T, *et al.* Gene fusions by chromothripsis of chromosome 5q in the VCaP prostate cancer cell line. *Hum Genet*, 2013, **132**(6): 709–713
- [3] Boeva V, Jouannet S, Daveau R, *et al.* Breakpoint features of genomic rearrangements in neuroblastoma with unbalanced translocations and chromothripsis. *PLoS One*, 2013, **8**(8): e72182
- [4] Nagel S, Meyer C, Quentmeier H, *et al.* Chromothripsis in hodgkin lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer*, 2013, **52**(8): 741–747
- [5] Li Y, Schwab C, Ryan S L, *et al.* Constitutional and somatic rearrangement of chromosome 21 in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*, 2014, **508**(7494): 98–102
- [6] Mackinnon R N, Campbell L J. Chromothripsis under the microscope: a cytogenetic perspective of two cases of AML with catastrophic chromosome rearrangement. *Cancer Genet*, 2013, **206**(6): 238–251
- [7] Schepeler T, Lamy P, Hvidberg V, *et al.* A high resolution genomic portrait of bladder cancer: correlation between genomic aberrations and the DNA damage response. *Oncogene*, 2013, **32**(31): 3577–3586
- [8] Przybytkowski E, Lenkiewicz E, Barrett M T, *et al.* Chromosome-breakage genomic instability and chromothripsis in breast cancer. *BMC Genomics*, 2014, **15**: 579
- [9] Kim T M, Jung S H, An C H, *et al.* Subclonal genomic architectures of primary and metastatic colorectal cancer based on intratumoral genetic heterogeneity. *Clin Cancer Res*, 2015, **21**(19): 4461–4472
- [10] Yang J, Deng G F, Cai H Y. ChromothripsisDB: a curated database of chromothripsis. *Bioinformatics*, 2015
- [11] Cai H Y, Kumar N, Bagheri H C, *et al.* Chromothripsis-like patterns are recurring but heterogeneously distributed features in a survey of 22,347 cancer genome screens. *BMC Genomics*, 2014, **15**: 82
- [12] Rausch T, Jones D T, Zapatka M, *et al.* Genome sequencing of pediatric medulloblastoma links catastrophic DNA rearrangements with TP53 mutations. *Cell*, 2012, **148**(1–2): 59–71
- [13] Malhotra A, Lindberg M, Faust G G, *et al.* Breakpoint profiling of 64 cancer genomes reveals numerous complex rearrangements spawned by homology-independent mechanisms. *Genome Res*, 2013, **23**(5): 762–776
- [14] Nones K, Waddell N, Wayte N, *et al.* Genomic catastrophes frequently arise in esophageal adenocarcinoma and drive tumorigenesis [M/OL]. London: Nature Publishing Group, 2014 [2016-12-21]. <http://www.nature.com/articles/ncomms6224>
- [15] Salaverria I, Martin-Garcia D, Lopez C, *et al.* Detection of chromothripsis-like patterns with a custom array platform for chronic lymphocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*, 2015, **54**(11): 668–680
- [16] Chiang C, Jacobsen J C, Ernst C, *et al.* Complex reorganization and predominant non-homologous repair following chromosomal breakage in karyotypically balanced germline rearrangements and transgenic integration. *Nat Genet*, 2012, **44**(4): 390–397, S391
- [17] Gu H, Jiang J H, Li J Y, *et al.* A familial Cri-du-Chat/5p deletion syndrome resulted from rare maternal complex chromosomal rearrangements (CCRs) and/or possible chromosome 5p chromothripsis. *PLoS One*, 2013, **8**(10): e76985
- [18] Zemanova Z, Michalova K, Buryova H, *et al.* Involvement of deleted chromosome 5 in complex chromosomal aberrations in newly diagnosed myelodysplastic syndromes (MDS) is correlated with extremely adverse prognosis. *Leuk Res*, 2014, **38**(5): 537–544
- [19] Magrangeas F, Avet-Loiseau H, Munshi N C, *et al.* Chromothripsis identifies a rare and aggressive entity among newly diagnosed multiple myeloma patients. *Blood*, 2011, **118**(3): 675–678
- [20] Molenaar J J, Koster J, Zwijnenburg D A, *et al.* Sequencing of neuroblastoma identifies chromothripsis and defects in neurogenesis genes. *Nature*, 2012, **483**(7391): 589–593
- [21] Brastianos P K, Horowitz P M, Santagata S, *et al.* Genomic sequencing of meningiomas identifies oncogenic SMO and AKT1 mutations. *Nat Genet*, 2013, **45**(3): 285–289
- [22] George J, Lim J S, Jang S J, *et al.* Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature*, 2015, **524**(7563): 47–53
- [23] Landry J J, Pyl P T, Rausch T, *et al.* The genomic and transcriptomic landscape of a HeLa cell line. *G3 (Bethesda)*, 2013, **3**(8): 1213–1224
- [24] Korbel J O, Campbell P J. Criteria for inference of chromothripsis in cancer genomes. *Cell*, 2013, **152**(6): 1226–1236
- [25] Kinsella M, Patel A, Bafna V. The elusive evidence for chromothripsis. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(13): 8231–8242

- [26] Terzoudi G I, Karakosta M, Pantelias A, *et al.* Stress induced by premature chromatin condensation triggers chromosome shattering and chromothripsis at DNA sites still replicating in micronuclei or multinucleate cells when primary nuclei enter mitosis [M/OL]. Amsterdam: Elsevier Science Publisher BV, 2014 [2016-12-21]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571815002041>
- [27] Zhang C Z, Spektor A, Cornils H, *et al.* Chromothripsis from DNA damage in micronuclei. *Nature*, 2015, **522**(7555): 179–184
- [28] Terradas M, Martin M, Tusell L, *et al.* DNA lesions sequestered in micronuclei induce a local defective-damage response. *DNA Repair (Amst)*, 2009, **8**(10): 1225–1234
- [29] Crasta K, Ganem N J, Dagher R, *et al.* DNA breaks and chromosome pulverization from errors in mitosis. *Nature*, 2012, **482**(7383): 53–58
- [30] Murnane J P. Telomere dysfunction and chromosome instability. *Mutat Res*, 2012, **730**(1–2): 28–36
- [31] Sorzano C O, Pascual-Montano A, Sanchez de Diego A, *et al.* Chromothripsis: breakage-fusion-bridge over and over again. *Cell Cycle*, 2013, **12**(13): 2016–2023
- [32] Tubio J M, Estivill X. Cancer: When catastrophe strikes a cell. *Nature*, 2011, **470**(7335): 476–477
- [33] Schimmer A D. Inhibitor of apoptosis proteins: translating basic knowledge into clinical practice. *Cancer Res*, 2004, **64**(20): 7183–7190
- [34] Lagunoff M, Carroll P A. Inhibition of apoptosis by the gamma-herpesviruses. *Int Rev Immunol*, 2003, **22**(5–6): 373–399
- [35] Cannan W J, Pederson D S. Mechanisms and consequences of double-strand DNA break formation in chromatin. *J Cell Physiol*, 2016, **231**(1): 3–14
- [36] Mehta A, Haber J E. Sources of DNA double-strand breaks and models of recombinational DNA repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, **6**(9): a016428
- [37] Zheng S, Fu J, Vegesna R, *et al.* A survey of intragenic breakpoints in glioblastoma identifies a distinct subset associated with poor survival. *Genes Dev*, 2013, **27**(13): 1462–1472
- [38] Hirsch D, Kemmerling R, Davis S, *et al.* Chromothripsis and focal copy number alterations determine poor outcome in malignant melanoma. *Cancer Res*, 2013, **73**(5): 1454–1460
- [39] Iwakawa R, Takenaka M, Kohno T, *et al.* Genome-wide identification of genes with amplification and/or fusion in small cell lung cancer. *Genes Chromosomes Cancer*, 2013, **52**(9): 802–816
- [40] McEvoy J, Nagahawatte P, Finkelstein D, *et al.* RB1 gene inactivation by chromothripsis in human retinoblastoma. *Oncotarget*, 2014, **5**(2): 438–450
- [41] Kelly L M, Barila G, Liu P, *et al.* Identification of the transforming STRN-ALK fusion as a potential therapeutic target in the aggressive forms of thyroid cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(11): 4233–4238
- [42] Patch A M, Christie E L, Etemadmoghadam D, *et al.* Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer. *Nature*, 2015, **521**(7553): 489–494
- [43] McDermott D H, Gao J L, Liu Q, *et al.* Chromothriptic cure of WHIM syndrome. *Cell*, 2015, **160**(4): 686–699
- [44] Hermesen R, Toonen P, Kuijk E, *et al.* Lack of major genome instability in tumors of p53 null rats. *PLoS One*, 2015, **10**(3): e0122066
- [45] Yang J, Liu J, Ouyang L, *et al.* CTLPScanner: a web server for chromothripsis-like pattern detection. *Nucleic Acids Res*, 2016, **44**(W1): W252–W258

Chromothripsis, The Consequence of Genomic Catastrophe*

YANG Jian, CAI Hao-Yang**

*(Center of Growth, Metabolism, and Aging, Key Laboratory of Bio-Resources and Eco-Environment,
College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China)*

Abstract Chromothripsis is a type of complex chromosomal rearrangements that was originally observed in cancer cells. In this event, one or several chromosomes of the cell shatter into pieces, and then randomly reassembled to create derivative chromosomes. This type of event generates a great number of chromosomal rearrangements, DNA copy number aberrations and fusion genes. It will convert a normal cell to a cancer cell in relatively short-time period. This is different from the classical theory of cancer initiation, in which gene mutations are accumulated step-by-step. Thus, chromothripsis may reveal a new paradigm in cancer initiation. The molecular mechanisms of this phenomenon are not fully understood, and some controversy exists in terms of chromothripsis detection criteria. This review highlights recent advances made in the chromothripsis identification criteria and mechanisms. We also discussed the relationship between chromothripsis and cancer initiation and progression. It provides a reference for further chromothripsis research.

Key words chromothripsis, DNA breakage, genome rearrangement, cancer

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0180

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (31571314).

**Corresponding author.

Tel: 86-28-85418843, E-mail: haoyang.cai@scu.edu.cn

Received: May 26, 2016 Accepted: November 23, 2016