

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00263

人类线粒体 DNA 突变与癌症

张淑萍¹, 宋书娟², 李雅轩¹

1. 首都师范大学生命科学学院, 北京 100037;
2. 北京大学医学部医学遗传学系, 北京 100083

摘要: 细胞中的线粒体在细胞的能量代谢等功能中发挥了重要的作用。人类的肿瘤形成与线粒体 DNA (mtDNA) 存在着复杂的关联, 在多种癌细胞中均检测到 mtDNA 的突变。文章综述了癌细胞中的 mtDNA 突变与癌症发生的相关性, 并讨论了部分突变产生的原因及在癌症中进行 mtDNA 突变检测的应用前景。

关键词: 线粒体 DNA; 癌细胞; 突变; 检测

Association between mitochondrial DNA mutations and cancer in human

ZHANG Shu-Ping¹, SONG Shu-Juan², LI Ya-Xuan¹

1. College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100037, China;
2. Department of Medical Genetics, Peking University Health Science Center, Beijing 100083, China

Abstract: Mitochondria are essential organelles that generate cellular energy in cells. Mutations of mitochondrial DNA (mtDNA) have been identified in various types of cancer, suggesting a complex relationship between mtDNA and cancer. This review focuses on the possible correlation between the mtDNA mutation and cancer. Additionally, possible causes for mtDNA mutations and applications for detecting mtDNA mutations in cancer are discussed.

Keywords: mitochondrial DNA; cancer cells; mutations; detection

细胞中的线粒体是具有双层膜结构的半自主性细胞器, 能够独立进行基因的转录、翻译和蛋白质的表达。它在细胞的能量代谢、自由基的产生和细胞凋亡等过程中都发挥着重要作用。线粒体 DNA(mtDNA) 为闭环双链 DNA 分子, 长 16 569 bp, 单个细胞中约有数千个拷贝。mtDNA 含有 37 个基因, 编码 13 个呼吸链多肽及 22 个 tRNA 和 2 个 rRNA, 此外有一含基因复制和转录调控序列的非编码区 “D-loop”。

因为 mtDNA 无内含子并暴露于呼吸链产生的高水平活性氧的环境下, 同时缺少组蛋白的保护,

线粒体中又无 DNA 损伤的修复系统, 其突变频率较核基因组高 10 倍以上, 且 mtDNA 序列微小的改变可涉及重要结构基因的变化, 导致线粒体功能障碍。人类的肿瘤形成与 mtDNA 的突变有重要关系, 在多种癌细胞中均检测到 mtDNA 的结构发生了改变, 如肝癌、消化系统肿瘤和肾癌等。分析 mtDNA 与癌症的关系, 可为人类癌症的诊断和治疗提供依据, 具有重要的临床应用价值。线粒体 DNA(mtDNA)与细胞癌变、肿瘤发生之间的关系问题目前已成为人类癌症研究的热点之一。

收稿日期: 2007-09-30; 修回日期: 2007-12-05

作者简介: 张淑萍(1983-), 女, 辽宁人, 硕士研究生, 专业方向: 分子遗传学。Tel: 010-68900825; E-mail: zhangshuping333@163.com

通讯作者: 李雅轩(1965-), 女, 北京人, 副教授, 专业方向: 分子遗传学。Tel: 010-68901842; E-mail: lyx1006@sohu.com

1 癌细胞中 mtDNA 突变的类型和特点

半个多世纪以前,已经有人推测线粒体的变异与癌症相关。最近,有越来越多的证据可以证明这一点。与同一个体的正常组织相比,很多肿瘤组织中的mtDNA的拷贝数量明显减少,或者含有大量的同质性mtDNA体细胞变异,或者其mtDNA发生了大量的片段缺失。例如谭端军等分析了五种肿瘤患者的癌组织和癌旁正常组织,发现这些细胞中均存在不同程度的mtDNA突变现象^[1]。对于这些突变的研究将为探讨mtDNA与肿瘤的关系及肿瘤的早期诊断和治疗提供有意义的参考。

1.1 癌细胞中 mtDNA 结构的改变

1.1.1 膀胱癌

在膀胱癌细胞中已发现了大量 D 环区域的突变,并且 mtDNA 中的单核苷酸重复序列是不稳定的,易发生缺失。同时也观察到了在其他基因中的缺失现象,如 ND2、ATP 酶 8 和 CO 基因。mtDNA 的高频突变表明其在膀胱癌的发生中起重要作用,并有可能作为膀胱癌早期诊断的标志之一。

1.1.2 肝癌

携带肝炎病毒的肝细胞癌组织mtDNA突变频率(约 70 个位点)远高于许多其他类型肿瘤(如结肠癌、甲状腺癌、肺癌),并发现这些肝细胞癌患者非肿瘤部位肝组织的mtDNA突变频率(约 40 个位点)也明显高于对照组(未感染肝炎病毒的肝脏疾病,如原发性或转移性肝癌、胆石病等)。黄学文等^[2]在对 20 例原发性肝癌组织的研究中发现了细胞内同时存在 mtDNA 点突变和 ROS 异常的现象,提示肝癌的 mtDNA 突变及肝癌的发生可能与 ROS 升高有关。研究 B 型肝炎病毒感染和肝细胞癌变之间的关系发现,在 HBV 感染过的肝细胞样本中 D 环区域的突变数量高于年龄相近的正常组织。结果表明慢性病毒性肝炎所致肝组织反复损伤和再生,造成 mtDNA 突变的累积,导致产生异常的 RNA 和呼吸链多肽,使脱离呼吸链的电子形成的氧自由基增加,进一步造成 mtDNA 和核 DNA 损伤,参与早期肝细胞致瘤性转化,因此 mtDNA 突变频率与肿瘤恶性程度有关^[3]。

Lee 等^[4]关于 61 例肝细胞癌(HCC)及癌旁对照的 mtDNA D-loop 区的突变研究发现,有 24 例(39.3%)存在 D-loop 区的体细胞突变,其突变类型主要为集中于 C-stretch 区的 T→C 和 G→A 的碱基置换,此外研究还指出 D-loop 调控区的突变可能是造成肿瘤细胞

mtDNA 拷贝数变化的主要原因。丁忠阳等^[5]对原发性肝癌组织中 mtDNA 基因突变情况进行了研究,证明线粒体 D-Loop 区是一个具有高度多态性和突变性的区域,在肝癌中突变率较高。这些事实表明,线粒体基因的突变可能在肿瘤的发生、发展中发挥了重要作用。

1.1.3 脑癌

脑癌中也发现有 D 环区域的基因突变和线粒体拷贝数的变化。检测脑癌细胞样品的 mtDNA D 环区域的突变,可发现 36% 的样本具有 mtDNA 的突变。这些突变信息可以被用来跟踪病情的变化但是不能用来诊断和预测疾病的发生。应用重叠 PCR 检测来自成神经管细胞瘤病人的脑脊髓液(CSF)细胞的完整的线粒体 DNA,在 D 环、rRNA、COI 和 ND4 基因等多个区域中共发现有 18 个突变,占所检测的样本总数的一半。而且,实验中也发现,一位在治疗后一直存在 mtDNA 突变的病人在 5 个月后疾病复发,而另一位没有与疾病有关的 mtDNA 突变现象的病人,在治疗后一直保持健康。这些实验给以后的脑脊髓液研究和脑癌研究提供了重要的参考^[6]。

1.1.4 肾癌

有研究发现肾癌体细胞中在 D 环区、rRNA 和 tRNA 发生 DNA 突变和在 ND1 基因中发生缺失。而且,在 D 环区、ND2、ND4、COI、ND5 和 ND4L 基因中发生的突变具有低水平的异质性(25%)。同时,实验表明体细胞 A3243G 突变经常是引起 MELAS (线粒体脑肌病、乳酸酸中毒和卒中样发作) 综合征的原因^[7]。日本 1 例儿科肾细胞癌具有母系遗传性 mtDNA A3243G 点突变。研究人员提供了生殖系 mtDNA 突变和儿科的肾细胞癌的体细胞突变共同发生的第一个例证,并检测了线粒体突变在肾癌的发病机制中的作用^[8]。

Nagy 等^[9]在对 8 例肾癌细胞及相应正常肾组织进行全线粒体基因组测序后,发现了 68 个已知的 45 个新的序列变化。其中 8 例肿瘤组织中的 5 例存在 6 种体细胞核苷酸改变,它们分别是: D-loop 区 A→T 置换和一个 mtNC7 非编码区 9 bp 序列的插入;编码区亚基 RNR1 和 mtRNR2 各自发生 G→A 和 C→T 的置换; mtND5 亚基 C 碱基的缺失及 mtND3 亚基 T 碱基插入,并且大多数的突变为异质型改变。

1.1.5 乳腺癌

在乳腺癌中,已发现在 mtDNA 的 D 环区和基因中都存在片段缺失和突变现象。研究表明,在乳

腺癌细胞及其周围临近组织中都发现了 4 977 bp 位点缺失和在 D 环区的体细胞突变。实验结果显示在 D 环区发生突变的病人比没有突变的病人的治愈率要低。检测的 25 个乳腺癌组织样本中, 与正常组织相比其 mtDNA 突变率达到了 80%。但是, 另一方面, 在同类研究中甲状腺乳头状癌细胞中 mtDNA 的拷贝数增加。推测 mtDNA 的拷贝数的变化是以肿瘤细胞特有的方式进行调控^[10]。

Zhu 等^[11]通过对 39 例乳腺癌组织、相应癌旁正常腺体和 23 例正常乳腺组织标本提取基因组 DNA, 并进行线粒体突变比较, 发现分别在 4 977 bp、3 938 bp、4 388 bp 和 4 576 bp 位点存在缺失, 其中 4 576 bp 的缺失现象没有在正常乳腺组织中发现, 而在癌旁和乳腺组织中的突变率分别为 13% 和 77%, 其他 3 种缺失类型并未发现具有乳腺旁特异性。研究还发现, 在 26 例乳腺癌标本中存在核 DNA (nDNA) 的杂合性缺失 (LOH), 15 例存在 nDNA 的微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MSI), 在 99.4% (38/39) 肿瘤中至少存在一种 nDNA 或 mtDNA 的异常改变。因此认为, mtDNA 拷贝数和相应的突变分析有可能作为未来早期乳腺癌筛查的辅助手段。Tan 等^[12]使用时相温度凝胶电泳和直接 DNA 测序对 19 例病人的正常和肿瘤相对照检测突变。体细胞突变率为 74% (14/19), 大部分突变 (81.5%) 局限于 D-loop 区域, 然而在 16S rRNA、ND2 和 ATPase6 基因位点也可以检测到突变。

在另一项研究中, 对 40 例乳腺肿瘤及癌旁正常组织中线粒体基因组不稳定性进行了分析, 发现 47.5% (19/40) 乳腺肿瘤 mtDNA 中存在 *Mnl* 酶切位点的突变, 超过正常女性胚系自发突变率 216 倍; 42.5% (17/40) 标本中存在 mtDNA MSI 现象, 比自发突变增加约 16 倍。研究并未发现 nDNA、mtDNA 的 MSI 之间存在相关性。Parrella 等^[13]通过对 18 例原发性乳腺癌进行 DNA 测序检测后发现, 有 12 种突变形式具有原发性乳腺癌的特异性 (未在相应正常乳腺组织和远端淋巴结中发现), 其中 5 例为 D-loop 环 303 至 315 位点间的缺失或插入, 另外 7 例 (58%) 突变则全部是线粒体基因组的编码区 (ND1、ND2、ND5 和细胞色素 b 基因) 和非编码区 (D-loop) 的单碱基置换。他们还通过快速 PCR 检测用以鉴定 46 例原发性乳腺癌 D-loop 310 区的多聚胞嘧啶 (poly C) 不稳定性, 结果发现至少 7 例具有这种性质的异常改变。

除此以外, 在结肠癌、胰腺癌、胃癌、食管癌等多种肿瘤中发现了 mtDNA 突变, 并且与人类衰老、神经退行性疾病、心肌病、肿瘤及糖尿病等多种疾病密切相关。人们也正在试图探索 mtDNA 在肿瘤发生、发展中的作用, 以造福于人类。

1.2 癌细胞中 mtDNA 拷贝数的改变

肿瘤细胞 mtDNA 不仅可能存在结构改变的现象, 在数量上也会发生改变。由于 mtDNA 的 D-loop 区含有复制的起始位点和转录的启动子, 肿瘤细胞 mtDNA D-loop 区的突变可能将影响 mtDNA 的复制速度, 从而改变其拷贝数。

在很多实体瘤中发现了 mtDNA 拷贝数减少的现象。实验中发现, 这一现象经常与氧化磷酸化蛋白的减少相关, 而且在多种肿瘤中, mtDNA 拷贝数的减少还与临床病理参数和肿瘤的侵袭性有关。例如, 与正常的肝脏组织相比, 肝癌细胞中的 mtDNA 的拷贝数明显减少, 并且结果显示其与肿瘤的大小和肝硬变有关。由此证明, 肝癌细胞中 mtDNA 拷贝数量的减少与癌症和癌症的恶化程度相关^[14]。在人肺癌 A549 细胞中, 由于 mtDNA 拷贝数的减少而诱导的线粒体压力引起了细胞表型的改变, 并影响了肿瘤的增长和肿瘤的侵袭性。这些发现充分的证明 mtDNA 拷贝数的减少与氧化磷酸化复合物的减少密切相关, 从而使很多肿瘤细胞出现了异常的生物能量学现象。

用低浓度的溴化乙啶处理癌细胞, 可建立无 mtDNA 细胞系。因为溴化乙啶可插入 mtDNA 分子, 并抑制 mtDNA 聚合酶在 mtDNA 复制过程中的活性。已有应用此细胞系分析 mtDNA 和线粒体呼吸作用以及细胞凋亡的生物学功能的报道。研究表明, mtDNA 的丢失可以使细胞对一个确定的细胞凋亡途径产生抗性。Avadhani 和他的同事证明, 无 mtDNA 的小鼠骨髓原细胞系 C1C12 表现出侵袭性的表现型, 并且可以检测到肿瘤的特殊标记组织蛋白酶 L 和 β -转化生长因子。这些研究表明 mtDNA 的丢失可以促进肿瘤的发展和转移。而且, 他们也证明了 mtDNA 的丢失可以通过神经钙蛋白介导的去磷酸化, 抑制 I κ B β 的活性, 激活 NF κ B/Rel 蛋白, 并引起细胞的表型发生变化^[15]。由此推测, mtDNA 的丢失也许能够通过阻止细胞凋亡和促进癌症相关蛋白的产生而影响癌症的发展和癌细胞的转移。

此外, 也存在癌细胞中 mtDNA 拷贝数增加的现象。

象,但是还未明确这种变化的发生机制。例如,刘宗文等^[16]对食管癌mtDNA进行了定量研究,发现正常食管粘膜、癌旁粘膜和食管鳞癌中mtDNA拷贝数呈逐渐递增的趋势,而且3者之间存在明显的数量级差别,3者互相比有显著性差异,提示mtDNA拷贝数量的增加与食管鳞癌的发生、发展密切相关。应用定量PCR分析卵巢癌细胞中的线粒体DNA,结果显示癌细胞中的mtDNA含量也明显高于正常卵巢组织^[17]。在卵巢癌的发展过程中,mtDNA含量的变化也许是一个重要的基因水平的事件。

1.3 mtDNA 与核基因组的作用

由于mtDNA的异常降解,其片段可与核基因组发生作用,并可能导致肿瘤的发生。一些细胞内外环境中有害因素的增加,使大量线粒体在短期内裂解,造成以下现象:游离的mtDNA过多;mtDNA降解失调;mtRNA在胞质中逆转录成mtDNA,致使mtDNA或其片段有机会游离并可能会具有类似致癌病毒样作用,穿过细胞核孔,随机整合到核基因组中。如果这种整合出现在癌基因或抑癌基因上,使癌基因激活或抑癌基因失活,可诱导细胞发生癌变。例如,对Hela T G 细胞的研究中发现,mtDNA细胞色素C氧化酶亚单位 整合入C-myc 基因组内,整合结果使细胞产生了含有来自C-myc以及细胞色素C氧化酶亚单位 的遗传信息的融合mtRNA^[18]。

mtDNA 在肿瘤细胞核内的整合可能是肿瘤发生的基础之一,这可为肿瘤发生的生物学机制提供了新的理论依据。mtDNA 在核 DNA 内的整合,可能通过引起核基因组的不稳定性而使细胞发生癌变。而且,这也会引起细胞能量产生的改变,并增加了线粒体氧化压力,引起线粒体酶表达异常和/或调控细胞凋亡等途径来影响细胞的生物学行为,使其发生恶变。

当然,在肿瘤的发生过程中,mtDNA 的突变只是影响因素之一,某一肿瘤的发生往往是多种因素共同作用的结果。

2 癌细胞中 mtDNA 突变的机理和影响

2.1 mtDNA 点突变的影响

mtDNA中唯一的非编码区是D-loop区,长度为1 121 bp,包括H链的复制起始区和H链与L链的翻译启动序列。癌细胞中的D环突变十分普遍。D-loop区域负责mtDNA的复制和翻译。因此,D-loop区的变

化可能会引起mtDNA翻译速度和复制速度的改变。Turner等^[19]报道,在体细胞mtDNA的3 243 位点发生突变,可引起mtDNA的丢失。他们指出,A3243G突变mtDNA与mtDNA缺陷型的畸胎癌细胞有关,并发现引起了有丝分裂遗传性突变,此突变先是表现为突变型mtDNA的增加,随后会出现mtDNA丢失的现象。

较为普遍的4 977 bp位点的缺失,可以引起5个tRNA基因和编码细胞色素氧化酶、复合体 和ATP酶的7个基因的丢失,也许还可引起一系列功能上的缺陷,并可抑制携带有mtDNA缺失的癌细胞的生长。带有大片段缺失的mtDNA的数量的减少,也许是由于对于癌细胞或者带有mtDNA突变的线粒体的选择性存活机制而引起。事实上,最近证明较为普遍的mtDNA的缺失使含有转移性的线粒体的细胞更易在较低的突变异质性水平就发生细胞凋亡。另一个方面,能够针对于片段缺失型mtDNAs的降解机制也能够使肿瘤细胞中发生大片段缺失的mtDNA的数量减少^[20]。

2.2 ROS 相关途径的影响

另一个可能引起mtDNA突变的途径是ROS相关途径。线粒体基因组对由于连续的暴露于活性氧而产生的损伤十分敏感。这些内生性的活性氧是由线粒体的呼吸链产生的。线粒体DNA可聚集高浓度的8-羟基-2'-脱氧鸟苷(8-oxo-G),这是一种可引起遗传性改变的损伤。8-oxo-G由鸟嘌呤在C8 位点羟基化产生。精确的碱基修复途径可修复大部分的这类碱基改变。8-羟基鸟嘌呤DNA糖苷酶(OGG1)蛋白是主要的修复DNA 8-oxo-G损伤的DNA糖苷酶。抑制OGG1 会引起mtDNA中点突变和缺失突变的累积。 γ 聚合酶是另一个在修复由ROS引起的DNA 8-oxo-G损伤的关键酶,并且转基因小鼠表达校正功能缺陷的 γ 聚合酶引起了mtDNA点突变和缺失突变的累积。为了抵抗ROS的影响,线粒体通过MnSOD代谢超氧化物,用含Se谷胱甘肽过氧化物酶来代谢过氧化氢。曾经认为ROS会增加mtDNA点突变和缺失突变。根据这些观察,抑制ROS引起的mtDNA损伤的修复系统和ROS的解毒作用系统,以及增加ROS的产生也许就是mtDNA突变的原因。这些mtDNA突变包括点突变、片段缺失和mtDNA 拷贝的丢失^[21]。

因此,引起核酸成分改变的核 DNA 的突变或微环境的改变,mtDNA 修复机制和 ROS 的产生,与

引起癌症发生的 mtDNA 的突变和 mtDNA 的丢失和缺失有关。

2.3 肿瘤抑制蛋白 p53 的缺失产生的影响

p53 肿瘤抑制蛋白在 DNA 损伤、细胞周期调控和细胞凋亡中都起到关键作用。超过 50% 的人类肿瘤携带有 p53 蛋白突变。p53 蛋白是一种转录因子, 除此之外, p53 蛋白也能对特殊的刺激做出反应, 进入线粒体中诱导细胞凋亡。而且, 这种蛋白在维持 mtDNA 的稳定性中也发挥作用。在内源性和外源性的 ROS 引起 mtDNA 损伤时, p53 能够进入线粒体作用于多聚酶 γ 。p53 作用于 mtDNA 和多聚酶 γ , 增强多聚酶 γ 的 DNA 复制功能。p53 的缺失可导致 mtDNA 损伤的程度明显增加并可能引起 mtDNA 的丢失和缺失。

最近, Achanta 等^[22]报道肿瘤抑制子 p53 通过作用于 mtDNA 聚合酶 γ 而在维持线粒体基因稳定性的过程中发挥了重要作用。若癌细胞中的 p53 缺失, 将会导致 mtDNA 对于损伤的敏感性增加, 从而引起 mtDNA 突变和 mtDNA 丢失的频率增加。

3 mtDNA 突变的检测方法和应用前景

mtDNA 突变分析也许为癌症的早期检测和诊断提供了一个分子工具。测定整个线粒体基因组的序列并进一步分析与癌症有关的多位点缺失可作为早期癌症的生物标记。基因芯片的技术是检测完整线粒体基因组突变的可靠且快速的方法。在芯片测序方法之外, 实时 PCR 也是一个检测分析的重要方法。线粒体基因的突变在早期肿瘤组织中是具有复发性的, 并与非侵袭性的体液有关。最近的发现证明相关的检测 mtDNA 突变的简单诊断实验, 包括线粒体微阵列芯片和/或实时 PCR 生物检定, 表明其具有为癌症检测和诊断可发挥的潜在作用。同时, mtDNA 突变分析也可以作为肿瘤发展的示踪标记, 并可监测肿瘤的复发情况^[23]。

线粒体的突变例如表达的改变和 mtDNA 编码区的突变已经在多种肿瘤中发现。最近发现, mtDNA 突变在肿瘤早期中大量存在, 而在其周围的正常组织中则很少发现。突变一般为同质性的, 其范围为整个 mtDNA 区域。突变形式包括点突变、片段缺失和插入突变等。mtDNA 突变的同质性使一些突变很容易通过影响能量代谢和 ROS 的产生而在肿瘤发生中发挥作用。由这些突变推测, 细胞的无性

繁殖可在随机性的 mtDNA 突变之后将其转换位同质性。很多癌细胞也许有天然的癌干细胞。统计结果显示观察到癌细胞中的同质性的线粒体突变, 其形成并不需要具有 mtDNA 复制或细胞存活的优势。癌细胞中的 mtDNA 突变是核 p53 基因突变的频率的 100 倍, 表明线粒体突变很容易作为检测癌症中的分子标记^[24]。

4 结 语

肿瘤是多因素多步骤发展的产物, 各种致癌物既然能有效地作用于 mtDNA 引起其产生与肿瘤相关的遗传改变, 那么 mtDNA 在肿瘤细胞中的生物学意义必将得到重视。因此, 深入研究肿瘤细胞 mtDNA 的结构及表达调控变化, 探讨 mtDNA 突变与肿瘤的关系, 对阐明细胞的癌变机制具有重要意义。目前已知多种肿瘤与 mtDNA 的突变有关, 但对于它们的研究还只处于起步阶段, 还没有得到 mtDNA 与细胞癌变直接相关的证据。也有资料显示, 很多已发现的突变在它们的翻译产物中并没有表现出影响。因此, mtDNA 在肿瘤发病以及诊断中的作用等问题还需要进一步探讨研究。

参考文献(References):

- [1] TAN Duan-Jun, LIU Ling-Ling, WEN Yi, LIU Peng, JULIA Chang, KUN-Tu Yeh, LEE Jun C Wong. Heteroplasmy: a common phenomenon of mitochondrial genome mutations in human tumor tissues. *Hereditas(Beijing)*, 2005, 27(1): 44-48.
谭端军, 刘玲玲, 文毅, 刘鹏, JULIA Chang, KUN-Tu Yeh, LEE Jun C Wong. 胞质异质性——人类肿瘤组织线粒体基因突变的普遍现象. *遗传*, 2005, 27(1): 44-48.
- [2] HUANG Xue-Wen, ZHAO Qi, CHEN Dao-Zhen, ZHANG Li-Shan. Mutations in the D-loop region of mitochondrial DNA and the ROS level in the tissue of hepatocellular carcinoma. *Hereditas(Beijing)*, 2005, 27(1): 14-20.
黄学文, 赵琪, 陈道桢, 张丽珊. 肝癌组织中线粒体 DNA D-Loop 区碱基变异与 ROS 水平. *遗传*, 2005, 27(1): 14-20.
- [3] Wheelhouse NM, Lai PB, Wigmore SJ, Ross JA, Harrison DJ. Mitochondrial D-loop mutations and deletion profiles of cancerous and noncancerous liver tissue in Hepatitis B virus-infected liver. *Br J Cancer*, 2005, 92(7): 1268-1272. [DOI](#)
- [4] Lee HC, Li SH, Lin JC, Wu CC, Yeh DC, Wei YH. Somatic mutations in the D-loop and decrease in the copy number of mitochondrial DNA in human hepatocellular carcinoma. *Mutat Res*, 2004, 547(1-2): 71-78.

- [5] DING Zhong-Yang, ZHANG Feng, CAI Bing, YU Yue, WANG Xue-Hao, LU Fei, SUN Li. Study on the D-Loop region of mitochondrion DNA. Mutation in primary hepatocellular carcinoma. *Journal of Clinical Medicine in Practice*, 2007, 11(3): 68–74.
丁忠阳, 张峰, 蔡兵, 俞悦, 王学浩, 陆飞, 孙力. 肝癌细胞线粒体 DNA D-Loop 高变区基因突变的研究及意义. *实用临床医药杂志*, 2007, 11(3): 68–74.
- [6] Montanini L, Regna-Gladin C, Eoli M, Albarosa R, Carrara F, Zeviani M, Bruzzone MG, Broggi G, Boiardi A, Finocchiaro G. Instability of mitochondrial DNA and mri and clinical correlations in malignant gliomas. *J Neurooncol*, 2005, 74(1): 87–89. [\[DOI\]](#)
- [7] Meierhofer D, Mayr JA, Foetschl U, Berger A, Fink K, Schmeller N, Hacker GW, Hauser-Kronberger C, Kofler B, Sperl W. Decrease of mitochondrial DNA content and energy metabolism in renal cell carcinoma. *Carcinogenesis*, 2004, 25(6): 1005–1010. [\[DOI\]](#)
- [8] Sangkhathat S, Kusafuka T, Yoneda A, Kuroda S, Tanaka M, Sakai N, Fukuzawa M. Renal cell carcinoma in a pediatric patient with an inherited mitochondrial mutation. *Pediatr Surg Int*, 2005, 21(9): 745–748. [\[DOI\]](#)
- [9] Nagy A, Wilhelm M, Sukosd F, Ljungberg B, Kovacs G. Somatic mitochondrial DNA mutation in human chromophobe renal cell carcinomas. *Genes Chromosome Cancer*, 2002, 35(3): 256–260. [\[DOI\]](#)
- [10] Verma M, Kumar D. Application of mitochondrial genome information in cancer epidemiology. *Clinica Chimica Acta*, 2007, 383(1-2): 41–50. [\[DOI\]](#)
- [11] Zhu W, Qin W, Bradley P, Wessel A, Puckett CL, Sauter ER. Mitochondrial DNA mutations in breast cancer tissue and in matched nipple aspirate fluid. *Carcinogenesis*, 2005, 26(1): 145–152. [\[DOI\]](#)
- [12] Tan DJ, Bai RK, Wong LJ. Comprehensive scanning of somatic mitochondrial DNA mutations in breast cancer. *Cancer Res*, 2002, 62(4): 972–976.
- [13] Parrella P, Xiao Y, Fliss M, Sanchez-Céspedes M, Mazzairelli P, Rinaldi M, Nicol T, Gabrielson E, Cuomo C, Cohen D, Pandit S, Spencer M, Rabitti C, Fazio VM, Sidransky D. Detection of mitochondrial DNA mutations in primary breast cancer and fine needle aspirates. *Cancer Res*, 2001, 61(20): 7623–7626.
- [14] Yamada S, Nomoto S, Fujii T, Kaneko T, Takeda S, Inoue S, Kanazumi N, Nakao A. Correlation between copy number of mitochondrial DNA and clinico-pathologic parameters of hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol*, 2006, 32(3): 303–307. [\[DOI\]](#)
- [15] Amuthan G, Biswas G, Zhang SY, Klein-Szanto A, Vijayasarathy C, Avadhani NG. Mitochondria-to-nucleus stress signaling induces phenotypic changes, tumor progression and cell invasion. *EMBO J*, 2001, 20: 1910–1920. [\[DOI\]](#)
- [16] LIU Zong-Wen, ZHAO Zhi-Hua, ZHAO Qiu-Min, LI Sheng-Lei, GAO Dong-Ling, PANG Xia, CHEN Kui-Sheng, ZHANG Yun-Han. Change in the mitochondrial DNA copy number and its significance in esophageal squamous cell carcinoma. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2007, 34(12): 667–669.
刘宗文, 赵志华, 赵秋民, 李晟磊, 高冬玲, 庞霞, 陈奎生, 张云汉. 食管鳞癌组织中线粒体 DNA 拷贝数量的变化及意义. *中国肿瘤临床*, 2007, 34(12): 667–669.
- [17] Wang Y, Liu VW, Xue WC, Cheung AN, Ngan HY. Association of decreased mitochondrial DNA content with ovarian cancer progression. *Br J Cancer*, 2006, 95(8): 1087–1091. [\[DOI\]](#)
- [18] Shay JW, Werbin H. New evidence for the insertion of mitochondrial DNA into the human genome: significance for cancer and aging. *Mutat Res*, 1992, 275(326): 227–235.
- [19] Turner CJ, Granycome C, Hurst R, Pohler E, Juhola MK, Juhola MI, Jacobs HT, Sutherland L, Holt IJ. Systematic segregation to mutant mitochondrial DNA and accompanying loss of mitochondrial DNA in human NT2 teratocarcinoma Cybrids. *Genetics*, 2005, 170: 1879–1885. [\[DOI\]](#)
- [20] Lee HC, Hsu LS, Yin PH, Lee LM, Chi CW. Heteroplasmic mutation of mitochondrial DNA D-loop and 4977-bp deletion in human cancer cells during mitochondrial DNA depletion. *Mitochondrion*, 2007, 7: 157–163. [\[DOI\]](#)
- [21] Higuchi M. Regulation of mitochondrial DNA content and cancer. *Mitochondrion*, 2007, 7: 53–57. [\[DOI\]](#)
- [22] Achanta G, Sasaki R, Feng L, Carew JS, Lu W, Pelicano H, Keating MJ, Huang P. Novel role of p53 in maintaining mitochondrial genetic stability through interaction with DNA Pol gamma. *EMBO J*, 2005, 24: 3482–3492. [\[DOI\]](#)
- [23] Jakupciak JP, Dakubo GD, Maragh S, Parr RL. Analysis of potential cancer biomarkers in mitochondrial DNA. *Curr Opin Mol Ther*, 2006, 8(6): 500–506.
- [24] Kang D, Hamasaki N. Mitochondrial DNA in somatic cells: a promising target of routine clinical tests. *Clinical Biochemistry*, 2005, 38: 685–695. [\[DOI\]](#)