



袁健, 博士, 同济大学医学院生物化学与分子生物学系主任, 博士生导师, 国家优秀青年基金获得者。袁健教授长期从事DNA损伤修复与肿瘤发生, 肿瘤放化疗耐受分子机制研究, 原创性阐明多个新的DNA损伤调控因子在肿瘤发生及放化疗耐药中的关键作用。相关工作成果发表在*Cell*、*Nat Cell Biol*、*Mol Cell*、*Sci Adv*、*Nat Commun*、*Genes Dev*、*EMBO J*等杂志。入选国家自然科学基金委优秀青年人才项目、教育部新世纪人才计划及上海市科委浦江人才计划。担任科技部973项目环境应激致血管内皮细胞衰老、损伤及修复的分子机制课题组长, 并获得国家自然科学基金重大项目及重大专项(培育)、面上项目及青年项目资助。目前担任中国病理生理学会蛋白质修饰与疾病修饰分会青年委员会委员, GIAD期刊杂志编委, 国家自然科学基金评审专家。

## DNA损伤应答通路在肿瘤发生和治疗中作用的研究进展

李昀辉<sup>1</sup> 李磊<sup>1</sup> 王新舒<sup>1</sup> 曹月誉<sup>1,2</sup> 黄致远<sup>1</sup> 杨韞瞳<sup>1,2</sup> 王丽<sup>1,2</sup> 袁健<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>同济大学附属东方医院转化医学研究中心, 上海 200120; <sup>2</sup>同济大学医学院生化与分子生物学系, 上海 200331)

**摘要** 保持基因组稳定性对于维持人体各个器官的正常工作至关重要。生物机体无时无刻不在遭受各种DNA损伤因子的攻击, 内源性因素如自由基, 外源性因素如离子辐射、紫外线等, 都能对细胞基因组DNA造成损伤。人的机体有一套应答机制来应对DNA损伤: DNA损伤激活细胞周期检验点, 暂时阻滞细胞周期, 启动细胞对损伤的DNA进行修复; 如果损伤无法修复, 则会引起细胞凋亡。DNA损伤应答系统的缺陷可导致基因组不稳定, 使其易发生突变, 从而诱发肿瘤。该文针对目前DNA损伤应答与肿瘤的发生以及肿瘤治疗的研究现状予以回顾, 并基于此提出了肿瘤治疗新的展望, 以期发为发掘新的肿瘤靶点和肿瘤治疗提供借鉴。

**关键词** DNA损伤应答(DDR); 肿瘤发生; 肿瘤治疗

## Research Progress on the Role of DNA Damage Response Pathway in Tumorigenesis and Treatment

LI Yunhui<sup>1</sup>, LI Lei<sup>1</sup>, WANG Xinshu<sup>1</sup>, CAO Yueyu<sup>1,2</sup>, HUANG Zhiyuan<sup>1</sup>, YANG Yuntong<sup>1,2</sup>, WANG Li<sup>1,2</sup>, YUAN Jian<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>Research Center for Translational Medicine, East Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200120, China;

<sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200331, China)

**Abstract** Maintaining genomic stability is very important to maintain the normal work of human organs. Biological organisms are attacked by various DNA damage factors all the time. Endogenous factors such as free

收稿日期: 2022-01-27 接受日期: 2022-03-01

国家自然科学基金重大项目(批准号: 32090032)和国家自然科学基金面上项目(批准号: 32070713)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 13818233596, E-mail: yuan.jian80@outlook.com

Received: January 27, 2022 Accepted: March 1, 2022

This work was supported by the Major Projects of National Natural Science Foundation of China (Grant No.32090032), and General Project of National Natural Science Foundation of China (Grant No.32070713)

\*Corresponding author. Tel: +86-13818233596, E-mail: yuan.jian80@outlook.com

radicals and exogenous factors such as ionic radiation and ultraviolet can injure cell genomic DNA. The human body has a set of response mechanisms to deal with DNA damage. DNA damage activates cell cycle checkpoint, blocks cell cycle temporarily and starts cells to repair damaged DNA. If the damage cannot be repaired, it will cause apoptosis. The defect of DNA damage response system can lead to genomic instability and mutation, which can induce tumor. This paper reviews the current research status of DNA damage repair, tumor occurrence and tumor treatment, and puts forward a new prospect of tumor treatment, looking forward to provide reference for exploring new tumor targets and tumor treatment.

**Keywords** DNA damage response; tumorigenesis; tumor therapy

DNA是人体和各类生物有机体最重要的遗传物质,是生物体生长、发育和繁殖所需的生物模板。因此,保证DNA的完整准确的复制对生命至关重要。但是生物体在生命循环的过程中,各种外源性和内源性损伤等因素都会使DNA不断受到损伤<sup>[1]</sup>。

内源性DNA损伤是由细胞代谢过程引起的,包括氧化、水解、烷基化和聚合酶插入错误等,其中氧化性DNA损伤的最主要来源是活性氧(reactive oxygen species, ROS),体内ROS过量则可引起生物大分子氧化损伤,严重损害细胞健康,促进疾病发展<sup>[1]</sup>。外源性DNA损伤主要来自于环境因素,如IR、UV辐射和各种化学试剂等,其中最严重的一种损伤形式是由IR引起的DNA双链断裂损伤。由于遗传突变或体细胞修复基因突变造成DNA修复途径缺失,修复不足将引起DNA损伤的增加,并会导致复制错误的增加或容易出错的修复增加(例如非同源端连接),从而导致突变。增加的突变激活致癌基因,失活抑癌基因,引起基因组不稳定,最终导致肿瘤<sup>[2]</sup>。

近年来研究发现,生物有机体已经进化出了一套复杂的DNA损伤应答(DNA damage response, DDR)信号通路网络和修复机制,以保护基因组的稳定性。本文将对DNA损伤应答关键蛋白质维持基因组稳定性与细胞稳态,以及在肿瘤发生中的关键作用机理进行阐述,并且对目前发现和鉴定的一系列可用于肿瘤治疗的重要靶点和小分子化合物进行汇总,为肿瘤疾病预防和治疗提供参考。

## 1 DNA损伤应答与肿瘤发生

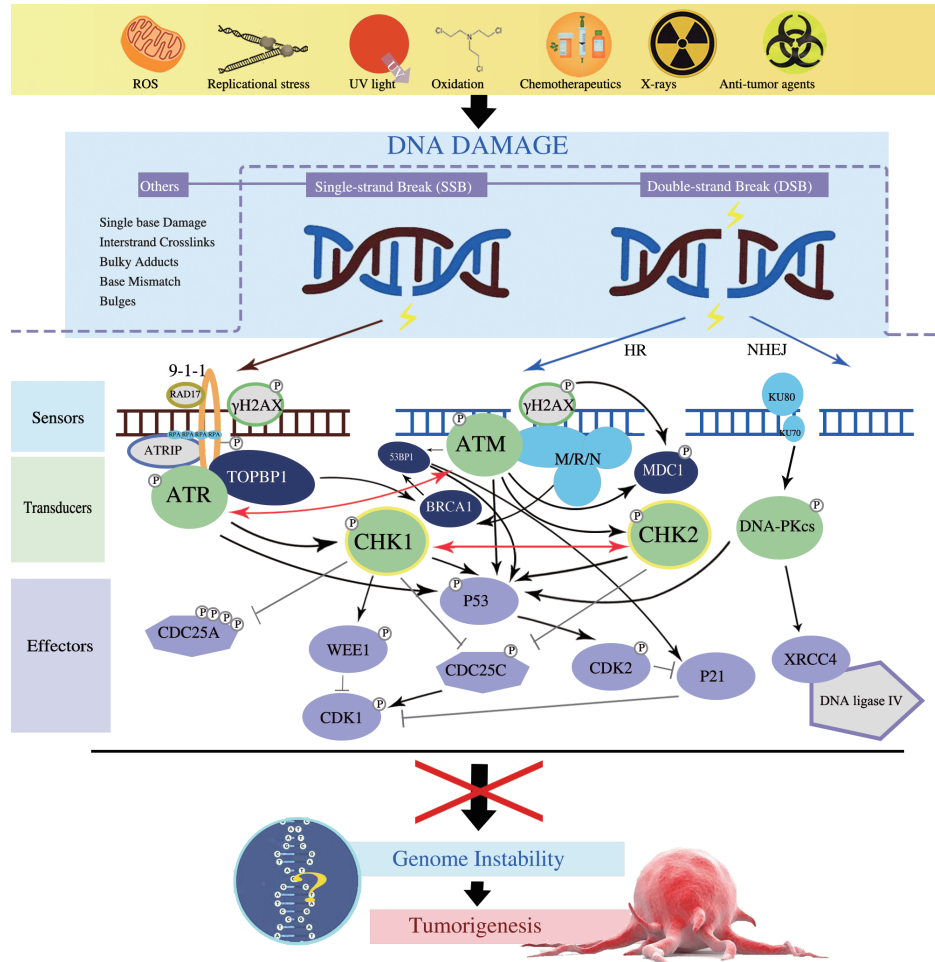
在细胞发生DNA损伤的同时,DNA损伤应答修复系统启动。目前真核生物中有五种DNA修复类型:核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)、碱基切除修复(base-excision repair, BER)、错配修复(mismatch repair, MMR)、单链断裂修复

(single strand break repair, SSBR)和DNA双链断裂修复(double strand break repair, DSBR)<sup>[2]</sup>。其中,核苷酸切除修复(NER)可以去除大片段DNA损伤,碱基切除修复(BER)可以修复单个碱基损伤,而错配修复(MMR)用于修复碱基错配,单链断裂修复(SSBR)可修复DNA单链断裂,DSBR包括三种机制:非同源端连接(non-homologous end joining, NHEJ)、同源重组(homologous recombination, HR)和微同源端连接(microhomologous end joining, MMEJ)。

DNA损伤应答过程涉及到一系列蛋白的活化,这些DNA损伤修复的关键蛋白与肿瘤发生过程的调节密切相关。DNA损伤感应子(Sensors)和早期的转导子(Transducers)在识别DNA损伤信号中发挥了重要作用。MRN复合物等DNA损伤感应子最早到达DNA损伤位点,识别损伤信号,激活细胞的信号转导过程,并将DNA损伤蛋白招募到DNA损伤位点处。ATM/ATR等信号转导子具有激酶活性,激活下游调节子(Mediators)和效应子(Effectors)(图1)<sup>[3]</sup>。

### 1.1 DNA损伤感应子(Sensors): MRE11-RAD50-NBS1(MRN)蛋白复合物

1.1.1 MRN蛋白复合物的结构 MRN复合物作为感应子,最早在DDR信号网络中发挥作用<sup>[5]</sup>。MRE11是MRN复合物形成、DNA结合和酶促反应过程的核心蛋白。MRE11是一个高度保守的70~90 kDa蛋白,N-端是Mn<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>依赖的磷酸酯酶结构域,包含NBS1的结合位点<sup>[6]</sup>,C-端有两个DNA结合结构域,并且在两个DNA结合结构域的中间还含有RAD50的结合区域<sup>[7]</sup>。因此,NBS1和RAD50两个蛋白之间并不能形成直接的相互作用。MRE11在N-端形成稳定的二聚体结构有助于MRN复合物的稳定和结合,并且MRE11具有单链DNA(single stranded DNA, ssDNA)核酸内切酶和双链DNA(double stranded DNA, dsDNA)的核酸外切酶活性,这对于DNA末端剪切十



DNA损伤发生后, 损伤修复的关键蛋白(包括感应子、转导子、调节子和效应子)激活, 并与肿瘤发生的调节密切相关。

After DNA damage, the key proteins of damage repair (including sensors, transducers, mediators and effectors) are activated and closely related to the regulation of tumorigenesis.

图1 DNA损伤应答通路图(根据参考文献[4]修改)

Fig1 The pathway of DNA damage response (modified from reference[4])

分重要<sup>[8]</sup>。

RAD50是一个约150 kDa的蛋白, 在MRN复合物中是最大的组分, 其序列和结构与染色体(SMC)家族成员具有同源性<sup>[9]</sup>。N末端和C末端分别是Walker A和B核苷酸结合基序, 优先结合并部分解开dsDNA末端<sup>[10]</sup>。

NBS1是一个65~85 kDa的蛋白, 主要通过介导DNA断裂位点的蛋白质-蛋白质相互作用来修复DSB。NBS1在其N-端由一个FHA结构域和两个相邻的BRCT结构域组成, 能够结合被磷酸化的蛋白。NBS1在其C-端含有与MRE11相互作用的区域<sup>[11]</sup>, 也包含一个可与ATM相互作用并将其招募到DSBs的区域, 这是在细胞受损时诱导细胞凋亡所必需的<sup>[12]</sup>。NBS1的中心区域还含有被ATM激酶磷酸化的SQ基

序, 在该位点其可以被ATM磷酸化<sup>[13]</sup>。

1.1.2 MRN蛋白复合物的功能 在DNA损伤发生时, MRN复合物被 $\gamma$ -H2AX和RAD17招募到DNA损伤位点,  $\gamma$ -H2AX与NBS1的FHA/BRCT区域相互作用, 并在MDC1的协助下促进NBS1的foci形成, 但是RAD17不依赖与MDC1, 它被ATM磷酸化后与NBS1相互作用, 并招募MRN复合物到DNA损伤位点<sup>[14-15]</sup>。另外, ATM在被NBS1招募到DNA损伤位点后, 会发生自身磷酸化而进一步活化, 活化的ATM又磷酸化MRN复合物进而激活下游信号通路<sup>[16]</sup>。这些结果说明, MRN复合物与ATM形成正反馈调节环路, 这对调节DNA损伤修复具有非常重要的作用。

1.1.3 MRN蛋白复合物与肿瘤发生 MRN是响应DNA损伤的重要复合物, 任何一个成员的突变都将导

致疾病,特别是肿瘤发生。最近的一项大样本数据库分析显示,携带有MRE11、RAD50和NBS1的关键功能区域突变的患者,乳腺癌患病风险显著升高<sup>[17]</sup>。另外,在卵巢癌和神经胶质瘤中也发现了肿瘤的易感性与MRN复合物突变显著相关<sup>[17]</sup>。MRN复合物中单个基因改变在癌症发展中也有大量报道。在散发性胃癌样本中,MRE11阴性率显著高于早发或家族性胃癌<sup>[18]</sup>。在化学试剂诱导的小鼠恶性肿瘤模型中,肿瘤组织中Mre11的表达水平显著低于非肿瘤组织中的表达水平,这表明化学试剂可能诱导DDR蛋白的变化,并且DDR基因产物的改变对肿瘤的发展和生长很重要<sup>[19]</sup>。另外,研究表明在急性髓系白血病、子宫内膜癌等肿瘤中,RAD50发生改变,并且Rad50的锌指结构域的纯合突变在小鼠中具有致死效应,而杂合突变导致肝肿瘤的发生,这表明Rad50在调控肿瘤发生中发挥关键作用<sup>[20]</sup>。目前的研究也发现,NBS1是前列腺癌易感基因,其变体在有家族史的患者中比在散发性前列腺癌患者中更普遍<sup>[21]</sup>。在肺癌、肝癌和肝内胆管癌(immunohistochemistry, IHC)中也观察到NBS1变异与癌症易感性显著相关<sup>[22-23]</sup>。

## 1.2 DNA损伤转导子(Transducers)

### 1.2.1 ATM/ATR

作为DDR的关键激酶,ATM和ATR在启动DNA损伤应答机制中起重要作用<sup>[24]</sup>。ATM和ATR直接或间接地参与了许多与细胞周期检查点和DSB修复通路相关的蛋白的磷酸化。通过大规模的蛋白质组学分析,在700个蛋白质中鉴定出900多个包含一致ATM和ATR磷酸化基序(S/T-Q)的磷酸化位点<sup>[25]</sup>。

ATM是多个信号级联的关键调控因子,在发生DNA损伤后,ATM成为单体,在Ser1981位点被磷酸化<sup>[26]</sup>。最近,Ser367和Ser1893被鉴定为ATM自磷酸化位点<sup>[27]</sup>,这三个自磷酸化位点的突变都将使ATM信号通路发生缺陷,导致细胞的放射敏感性、基因组不稳定性及G<sub>2</sub>/M检查点异常。MRN复合物为DNA末端传感器并可激活ATM。激活的ATM进一步使Chk2和p53等底物磷酸化,并使核小体两侧的H2AX磷酸化。磷酸化H2AX( $\gamma$ H2AX)被MDC1识别,并形成反馈环,将激活的ATM和 $\gamma$ H2AX扩散到大的染色质结构域上。临床研究表明,ATM缺陷型胰腺癌细胞株对化疗药物表现耐受,但它们对照射高度敏感<sup>[28]</sup>。敲减ATM可显著提高胶质瘤干细胞在

体外和体内的放射敏感性<sup>[29]</sup>。最近,也有报道证明了ATM的抑制增加了干扰素信号强度和PD-L1的表达,使胰腺癌对免疫检查点抑制敏感<sup>[30]</sup>。

DSB除了激活ATM外,还可以激活ATR激酶。ATM和ATR对于DSB诱导的检查点响应和DSB修复都至关重要,它们在这些过程中具有不同的DNA损伤特异性<sup>[31]</sup>。与ATM不同,ATR除了被DSB激活外,还可被广泛的DNA损伤激活。ATR-ATRIP在DNA损伤部位的定位取决于ATRIP与RPA包被的长链单链DNA之间的直接相互作用,这表明单链DNA可能是在DSB上引发ATR反应的关键结构<sup>[32]</sup>。与ATM相比,ATR对增殖细胞的存活至关重要,其缺失会引发小鼠的早期胚胎致死性和人类细胞的细胞致死性<sup>[33]</sup>。部分功能丧失ATR突变也可导致口咽癌综合征发生<sup>[34]</sup>。

### 1.2.2 CHK1/CHK2

CHK1是一种丝氨酸(Ser)/苏氨酸(Thr)蛋白激酶,可调节细胞周期检查点反应和DDR。CHK1被上游激酶ATR磷酸化而被激活,导致DNA修复和细胞周期检查点的启动。据报道,在细胞应激处理后,CHK1被K63连接的Ub链修饰<sup>[35]</sup>,去泛素化酶USP3减少CHK1的K63多聚泛素化,进而抑制CHK1染色质交联和激活<sup>[36]</sup>。USP1通过去泛素化FANCD2来调节DNA修复,而FANCD2又反过来稳定CHK1<sup>[37]</sup>。磷酸化CHK1在耐辐射肺癌细胞株中的表达水平高于辐射敏感肺癌细胞株。使用CHK1小分子抑制剂AZD7762显著增强了辐射耐受细胞和辐射敏感细胞对照射的敏感性。在同一研究中,免疫组化分析结果也说明了p-CHK1的表达与肺癌病人的无进展生存期(progression free survival, PFS)之间存在负相关关系。

CHK2也是一种Ser/Thr激酶,在DDR中起关键的中介作用。与CHK1相比,CHK2被ATM磷酸化和激活。最近的一项研究报道,去泛素化酶USP28稳定CHK2和肿瘤蛋白p53结合蛋白1(53BP1),诱导DNA损伤后的细胞凋亡<sup>[37]</sup>。此外,USP28与p53诱导的PIRH2和CHK2相互作用,进而通过阻断PIRH2诱导的泛素化和CHK2降解来稳定CHK2<sup>[38]</sup>。最近,USP39被报道为一种新的CHK2去泛素酶。USP39去泛素化CHK2并增强其稳定性。此外,USP39敲减后CHK2降解,导致细胞凋亡减少,使癌细胞对电离辐射和化疗药物产生耐药性<sup>[39]</sup>。与BRCA1或BRCA2野生型肿瘤相比,BRCA1或BRCA2的体细胞突变(somatic mutation)的乳腺癌患者,低CHK2表

达与高T期相关( $pT3-4$ ;  $P=0.002$ )。然而,在这组乳腺癌患者中,CHK2 IHC状态与激素受体状态、组织学、淋巴结状态和临床结局之间没有相关性。有报道证明非小细胞肺癌中CHK2低表达或不表达是由于CHK2基因启动子的高甲基化,导致CHK2基因转录的随后沉默。

早期的研究认为,ATM和ATR分别激活CHK2和CHK1,并且这两条通路在很大程度上是线性且不重叠的<sup>[40]</sup>。然而,最近的观察表明,这些通路并不是相互排斥的。虽然ATR调节了IR后的大部分后期反应,但ATM和ATR都有助于延迟进入M阶段<sup>[41]</sup>,并且只有ATR和ATM的双缺失才能完全消除IR诱导的G<sub>2</sub> DNA损伤检查点。

### 1.3 DNA损伤调节子(Mediators)

**1.3.1 MDC1** MDC1,也被称为NFB1(拥有BRCT结构域的核因子1),作为调节子,对许多DDR蛋白,如BRCA1、53BP1和Mre11/Rad50/NBS1(MRN)复合体招募到损伤位点起到分子平台的作用<sup>[42]</sup>。在双链断裂发生后的较早时期,组蛋白变体H2AX由活化的PI3K样激酶(ATM/ATR/DNA-PK)磷酸化,含有H2AX磷酸化位点的多肽以磷酸化依赖的方式与MDC1结合形成复合物,MDC1通过BRCT结构域与 $\gamma$ -H2AX直接相互作用。在MDC1的引导下,ATM进一步将靠近损伤断裂处的组蛋白H2AX的第139个氨基酸磷酸化,与DNA结合的组蛋白的结构被改变,导致组蛋白将断裂处暴露出来<sup>[43]</sup>。而由ATM介导的MDC1的自身磷酸化同时也是同源重组修复过程中下游的泛素化级联反应所必需的,ATM被MRN复合体招募并磷酸化H2AX,放大H2AX信号形成 $\gamma$ -H2AX的效应<sup>[44]</sup>。也有研究发现,MDC1在DNA损伤后会由ATM磷酸化Thr98位点进而发生寡聚,该位点的突变会破坏MDC1的寡聚作用,导致检查点激活缺陷<sup>[45]</sup>。此外,MDC1下调也将导致细胞对DSB诱导条件的超敏性,G<sub>2</sub>/M和S期检查点失活以及DNA损伤的异常激活从而诱导细胞凋亡。

在肿瘤层面,MDC1在某些癌症中RNA和蛋白水平缺失,是一种潜在的肿瘤抑制因子<sup>[44]</sup>。现已在癌症组织中发现大量的MDC1的体细胞突变,其中最常见突变是位于PST结构域的G1558C突变,该突变在黑色素瘤、膀胱癌、前列腺癌和非小细胞肺癌患者样本中均有发现<sup>[46-47]</sup>,PST结构域在同源重组修复中如何作用、其缺失如何导致结构体功能缺陷

还有待领域内进一步研究。但由于MDC1能直接与p53相互作用并抑制其活性以达到防止细胞凋亡的目的。因此,MDC1在阻止细胞凋亡方面的作用能保持早期肿瘤细胞的存活。低MDC1表达与侵袭性更强的晚期肿瘤相关,这表明MDC1表达可能有助于限制疾病的进展<sup>[44]</sup>。

**1.3.2 53BP1** 53BP1(p53 binding protein 1)是一种大型的中介蛋白,与MDC1类似,含有一个C-端的BRCT结构域。此外,53BP1包含Tudor域,对其定位到DNA损伤位点至关重要。Tudor结构域可以结合组蛋白H3的甲基化赖氨酸79和组蛋白H4的二甲基化赖氨酸<sup>[48]</sup>。研究表明,53BP1是通过位于串联Tudor结构域附近的保守泛素依赖补充(ubiquitin depends on replenish, UDR)基序识别组蛋白H2ak15。对MDC1和53BP1相互作用的分析表明,MDC1与53BP1的直接结合是由MDC1的BRCT结构域介导的,53BP1中MDC1结合区域的缺失导致53BP1的异常招募,表明MDC1-53BP1相互作用可能在53BP1招募到DSBs中发挥作用<sup>[49]</sup>。53BP1在ATM或ATR介导的DNA损伤信号通路诱导的DNA损伤处附近迅速募集而形成foci,53BP1停留在DNA损伤处依赖于E3泛素连接酶RNF168<sup>[50]</sup>。53BP1在端粒上聚集能导致端粒在去除保护性蛋白复合物的成分作用下变得功能失调,并激活ATM或ATR激酶(或两者都激活)<sup>[51-52]</sup>,形成端粒功能失调诱导病灶(telomere dysfunction induced foci, TIFs)。

53BP1在DSB修复的两个主要途径(HR和NHEJ)中的起到平衡作用。最近研究发现,53BP1通过N-端Phospho-SQ/TQ结构域在G<sub>1</sub>期使RIF1被招募到DSB中,抑制核酸酶对DNA末端的5'端切除,促进NHEJ抑制HR。BRCA1和53BP1/RIF1之间相互排斥,BRCA1在S期拮抗NHEJ,53BP1的功能被抑制,确保DSB修复模式转换到同源重组修复,并整合细胞输入,以确保修复途径在适当的细胞周期中的选择性和优势,避免细胞生存能力下降,并促进肿瘤发生<sup>[53]</sup>。另外,也有研究发现,末端切除和RAD51招募在HR过程中并没有相关性,53BP1通过PTIP抑制DNA2和RIF1/Shieldin进而抑制EXO1,而破坏RIF1/Shieldin与53BP1的互作或RIF1/Shieldin的失活,并同时恢复BRCA1缺陷细胞中的末端切除及RAD51加载的能力<sup>[54]</sup>。

53BP1在肿瘤发生/发展、血管生成、转移和耐

药性发展的各个方面都发挥重要作用, 该蛋白的异常表达与肿瘤的发生发展和不良预后密切相关。研究表明, 53BP1的缺失可以使BRCA1缺陷的乳腺细胞存活, 并最终导致出现三阴性乳腺癌细胞<sup>[55]</sup>。另外, 53BP1的缺失也与结直肠癌的肿瘤大小增加、生存率降低和分期升高有关。在体外, 敲除53BP1可以抑制HCT-116细胞的凋亡和增殖<sup>[56]</sup>。

#### 1.4 DNA损伤效应子(Effectors): p53

p53是最重要的抑癌基因, 在肿瘤发生和预防中起着重要作用。在正常情况下, p53保持在低水平。在发生DNA损伤等刺激时, 细胞中的p53被稳定和激活, 并作为转录因子促进下游的目的基因发挥功能, 启动DNA修复、细胞周期阻滞、衰老和凋亡。进而维持基因组的稳定性, 抑制肿瘤细胞的增殖<sup>[57]</sup>。

在DNA损伤过程中, p53发生多种翻译后修饰, 包括多个位点的磷酸化、泛素化、乙酰化、甲基化和SUMO等, 从而调节其下游激活的转录基因表达, 发挥抑癌功能。DYRK2是p53直接调控蛋白。最近的全基因组关联研究发现, DYRK2基因的体细胞突变与乳腺癌风险显著相关<sup>[58]</sup>。DYRK2被MDM2和SIAH2泛素化, 导致其结构性降解, 使p53介导的DYRK2 Ser46位点不能磷酸化<sup>[59]</sup>。焦磷酸肌醇、硒代半胱氨酸、Nutlin-3a和棕榈碱等多种药物处理, 可以使p53在多个位点发生磷酸化(Ser15、20、37、46), 进而诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[60-61]</sup>。此外, 在p53两个磷酸化位点S312A和S18/23A突变的小鼠中, 存在磷酸化缺陷的小鼠更容易发生肿瘤, 并且p53基因敲除的小鼠肿瘤发生率也增加<sup>[62-63]</sup>。

## 2 DNA损伤修复与肿瘤治疗

DNA损伤是基因组不稳定和突变的潜在原因, 可诱发多种癌症。参与DNA损伤修复关键调控分子的缺失也是诱发癌症的原因。当细胞应对DNA损伤时, 能否及时通过DNA损伤修复信号有效地修复, 决定着肿瘤的发生与发展, 同时也影响肿瘤细胞对放疗的敏感或耐受程度。

### 2.1 DNA损伤修复缺陷与肿瘤治疗

PARP抑制剂通过抑制肿瘤细胞DNA损伤修复、促进肿瘤细胞发生凋亡, 从而增强放疗以及烷化剂和铂类药物化疗的疗效。PARP抑制剂主要通过阻断PARP的活性及单链损伤修复, 导致DNA损伤, 促使DNA双链断裂。由于DNA双链断裂高度依

赖于同源重组修复, 因此PARP抑制剂对同源重组修复缺陷型癌症, 例如BRCA1、BRCA2基因突变, 具有很好的治疗效果<sup>[64]</sup>。已完成的临床试验显示, 在DNA损伤修复缺陷型前列腺肿瘤中, BRCA2缺陷肿瘤患者对PARP抑制剂高度敏感<sup>[65]</sup>。目前, Niraparib、Rucaparib和Olaparib作为PARP抑制剂已被美国食品药品监督管理局批准, 用于治疗化疗后BRCA1/2突变的晚期卵巢癌和乳腺癌患者<sup>[66-67]</sup>。

### 2.2 抑制DNA损伤修复的靶向治疗

分子靶向治疗的靶点主要针对于肿瘤细胞的恶性因子, 例如参与肿瘤细胞DNA损伤修复的蛋白, 通过使用靶向药物有效地抑制肿瘤的生长。近期此类研究有了突破性进展, 一类新的精准药物在早期临床试验中表现出应用前景<sup>[68]</sup>。通过利用新型ATR抑制剂BAY 1895344首次在人体中进行了测试, 发现此类药物的应用可以阻止多种晚期肿瘤患者的肿瘤的生长, 尤其对于ATM基因缺失或突变的晚期癌症有效且具有良好的耐受性。因此, ATR抑制剂可能将成为一类新的靶向药物, 有助于克服癌症对PARP抑制剂等其他精准药物产生的耐药性。同时, PARP抑制剂与靶向DNA损伤修复蛋白的抑制剂连用, 在癌症治疗中也起到重要作用。例如, 在肝癌治疗中, 通过Olaparib与DNA-PKcs抑制剂的联合用药, 在PDX小鼠模型中可观察到较单一用药, 联合用药明显抑制肿瘤的生长。

### 2.3 靶向DNA损伤修复蛋白提高肿瘤放疗的疗效

传统肿瘤的治疗常采用放射及化疗方法, 放射治疗是利用一种或多种电离辐射对恶性肿瘤进行杀伤, 诱导肿瘤DNA双链断裂, 触发一系列细胞DNA损伤应答, 包括DNA损伤修复、细胞周期停滞等。已有研究发现, 多种肿瘤患者接受放射治疗后, DNA损伤修复相关蛋白, 例如Ku70/Ku80的表达会增强<sup>[69]</sup>, 而此类蛋白的表达增强会赋予肿瘤放射抗性<sup>[70]</sup>。而化疗常用的拓扑异构酶抑制剂、顺铂、吉西他滨等药物, 都是基于诱导肿瘤细胞DNA损伤, 干扰DNA生物合成的基因毒剂, 这些药物的连续治疗, 也会引起机体的耐受, 影响肿瘤的治疗。

近年研究表明, 采用靶向肿瘤细胞的DNA修复蛋白, 促使DNA损伤在放化疗后得不到及时完整的修复, 从而诱导肿瘤细胞死亡。例如在BRCA2缺陷的乳腺细胞系中采用PARP抑制剂联合顺铂治疗, 显

示出协同的细胞毒性,且在BRCA1缺陷的乳腺肿瘤基因工程小鼠模型中,相比单一药物治疗,PARP抑制剂与铂类药物的联合治疗可以延长总的生存期<sup>[71-72]</sup>,证实了PARP抑制剂可以增强DNA毒性试剂的功效,同样地,PARP抑制剂在多种肿瘤放射性治疗中也显示出了明显的增敏效果<sup>[73-74]</sup>。

此外,针对通过调控DNA损伤修复来治疗肿瘤的新的机制和治疗方法也在不断的被发现。有研究发现ROS可以诱导DNA损伤,影响DNA损伤应答,因此ROS调节剂联合化疗和放疗可能成为治疗肿瘤新的方法,为肿瘤的治疗提供了新的思路<sup>[75]</sup>。

## 2.4 DNA损伤修复缺陷与免疫检查点抑制剂联合治疗

肿瘤细胞可表达一些蛋白来激活免疫检查点,从而抑制T细胞的免疫功能,逃脱机体的免疫反应而存活。免疫检查点抑制剂则通过抑制免疫检查点,例如PD-1、PD-L1和CTLA4的抗体蛋白的活性,恢复T细胞的免疫功能,从而发挥抗肿瘤的目的<sup>[76]</sup>。在多种肿瘤中针对PD-1或者PD-L1免疫检查点的靶向治疗被证明有效。研究表明,DNA损伤修复与免疫应答存在关联<sup>[77-78]</sup>。DNA错配修复是一种高度保守的DNA修复途径,DNA错配修复基因的缺失或突变的肿瘤对免疫检查点阻断剂高度敏感,机制上有研究表明DNA损伤促进肿瘤新抗原的产生<sup>[79]</sup>,在DNA错配修复缺陷或突变癌症中增加的新抗原可作为抗PD-1治疗中高客观反应率的重要指标。研究利用DNA错配修复基因Mlh1的肿瘤模型,发现此类肿瘤细胞可积累大量胞质DNA,激活cGAS-STING信号通路促进IFN- $\beta$ 的生成,从而对免疫检查点阻断剂敏感<sup>[80]</sup>。

近期研究表明,PARP抑制剂除了通过阻断PARP的活性影响单链损伤修复发挥功能外,还可能参与影响免疫应答<sup>[81]</sup>。PARP抑制剂通过GSK3 $\alpha/\beta$ 失活的机制促进PD-L1的表达,从而减弱抗肿瘤免疫反应,此时连用PD-L1抑制剂可以恢复T细胞的杀伤能力,从而有利于肿瘤的治疗。在BRCA1突变卵巢癌的异种移植模型中,PARP抑制剂Talazoparib处理后可促进CD8<sup>+</sup>T细胞和NK细胞的产生,增加IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 的含量<sup>[82]</sup>。在小细胞肺癌模型中,通过直接利用DNA损伤应答蛋白抑制剂、CHK1抑制剂SRA737联合免疫检查点抑制剂可显著增加抗肿瘤CD8<sup>+</sup>细胞毒性T细胞、树突细胞数量促进IFN $\beta$ 的表

达<sup>[83]</sup>。因此,在肿瘤治疗过程中,联用PARP抑制剂与免疫检查点抑制剂具有广泛的临床应用前景。有趣的是,近期研究还发现,PD-L1可作为RNA结合蛋白,调节NBS1、BRCA1和其他DNA损伤相关基因的mRNA稳定性,揭示了细胞内PD-L1可能是一个潜在的治疗靶点,可通过抑制DNA损伤反应和修复来提高放疗和化疗在癌症中的疗效(表1)<sup>[84]</sup>。

综上所述,考虑到DNA损伤应答和修复对肿瘤治疗至关重要,未来应进一步研究与DNA损伤应答相关的癌症发生发展及引发的耐药性机制,旨在发现更多治疗靶点及开发更多改善肿瘤治疗的潜在抑制剂。随着全基因组测序技术的发展,未来甚至有希望对某种DNA损伤应答及修复蛋白缺陷的病人,采用个性化靶向治疗联合多种治疗手段,从而提高肿瘤的治疗效果。

## 3 未来前景与展望

机体内的DNA损伤应答途径是长期进化形成的、应对压力以维持细胞遗传物质稳定的生理防线,历经数十年的研究与发展,DNA损伤应答通路中,感应子-传感子-效应子(sensors-transducers-effectors)之间的信号传递环节与调控网络逐渐清晰。DNA损伤发生后,ATM/ATR/PI3K的激活通常被认为是损伤应答通路激活的首要步骤,激活的感受器蛋白进一步通过各类传感器媒介,激活效应器激酶CHK1和CHK2作用于下游底物,以维持细胞功能与基因组的稳定性。DNA损伤反应缺陷所导致的基因组不稳定性与疾病发生等的关系正被深入地发掘与阐释。

由于DNA损伤与衰老、肿瘤、神经系统疾病等发生密切关联,DNA损伤相关遗传图谱的建立与完善将成为未来的研究热点。MARTÍNEZ与MOSTOSLAVSKY及其团队<sup>[97]</sup>发表在*Cell Reports*上的研究,在DNA损伤后,利用高通量分析筛选对300种蛋白质进行监测,详细可视化了一部分DNA修复机制,并鉴定出新的修复蛋白。DUROCHER团队<sup>[98]</sup>在*Cell*杂志上所发表的研究,在不同基因毒性药物处理的细胞中进行CRISPR筛选,经细胞中基因-基因/基因-药物相互作用的基因组规模分析,确定了参与DNA损伤修复途径中的新分子,并明确了其中的药物作用机制。

基因组不稳定性是肿瘤的重要特征之一,肿瘤的发生与增殖组织中细胞DNA损伤修复缺陷、突变

表1 DNA损伤应答及修复相关的抑制剂在癌症治疗中的应用

Table 1 Application of inhibitors related to DNA damage response and repair in cancer treatment

抑制剂 Inhibitors	靶点 Targets	临床应用进展 Progress in clinical application	肿瘤 Tumour	参考文献 References
Olaparib, Niraparib, Rucaparib	PARP	The FDA approved	Ovarian cancer Breast cancer	[66,85]
Veliparib (ABT-888)	PARP	Phase III	Breast cancer	[86]
AZD0156, KU-55933, AZD1390	ATM	Phase I	Breast cancer Bladder cancer Brain tumor	[16,87]
M6620, AZD6738, BAY1895344	ATR	Phase I	Solid tumor	[88-89]
Cyclophosphamide	BRCA1/2, PALB2, BLM	Phase II	Breast cancer Ovarian cancer	[90]
GDC-0575	CHK1	Phase I	Solid tumor	[91]
LY2606368	CHK1	Phase II	Breast cancer	[92]
Rucaparib	PARP	Phase III	Ovarian cancer	[93]
Adavosertib+Gemcitabine	WEE1	Phase II	Ovarian cancer	[69]
Doxorubicin, Cetuximab	topoisomerase II	Phase III	Liver cancer	[94-95]
VX-984, NU5455, KU60648, NU7441, NU7026, Wortmannin	DNA-PKcs	No clinical trials	Gastric cancer Liver cancer	[96]

积累、原癌或抑癌基因级联反应异常密切相关, 基因组的不稳定性和可突变性使癌细胞具有驱动肿瘤进展的基因改变<sup>[99]</sup>。对基因组不稳定性机制与DNA损伤修复机制的研究是癌症基础研究与临床治疗研究的重点新兴问题。应用特定的有DNA修复通路阻断效果的抗肿瘤药物, 利用其更强的细胞毒性, 逆转肿瘤耐药, 提高治疗效果。经过长期的研究, 多种DNA损伤反应通路相关的抑制剂已经得到开发。PARP抑制剂作为DDR靶向药物, 在特定的BRCA突变基因背景下可作为单药治疗乳腺癌, 目前除了用于治疗乳腺癌和卵巢癌外, 也正用于BRCA突变的胰腺癌、结直肠癌等肿瘤<sup>[100]</sup>。另外, DDR靶向药物与其他抑制剂的联用治疗晚期恶性肿瘤的靶向药物正在临床试验<sup>[101]</sup>。在将来, 基于DNA损伤相关的分子标记物检测的小分子抑制剂与对应的精准医疗实践, 即将成为当下医疗时代与患者的选择。

我国每年癌症新发病例近350万, 严重威胁着人类幸福与生命安全。由于肿瘤发生发展及治疗过程的复杂性, 完善修复途径或新蛋白的鉴定, 以及结构功能解析将作为肿瘤领域、分子生物学领域聚焦的重要研究方向之一支撑未来的临床实践<sup>[102]</sup>。基因测序技术服务可用于肿瘤易感基因和肿瘤靶向药靶点两方面的检测, 2020年中国NGS(新一代测序)

肿瘤诊断渗透率仅为5%, 远低于NGS肿瘤诊断渗透率达到35%的美国, 新一代测序技术对于肿瘤诊断和特定病理资料和数据收集应该得到更多重视。总之, 伴随后基因组时代蛋白质组学与生物信息学的发展, 本土患者相关数据库的建立与应用, 将大大提升基础与临床治疗方面的参考数据支持, 大数据与计算的应用将为DNA损伤及肿瘤的研究提供理论支持, 为患者选择最佳的联合治疗方案, 实现个体化精准治疗奠定研究基础。

### 参考文献 (References)

- [1] PIZZINO G, IRRERA N, CUCINOTTA M, et al. Oxidative stress: harms and benefits for human health [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 8416763.
- [2] SHANN Y J, HSU M T. Cloning and characterization of liver-specific isoform of Chk1 gene from rat [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(52): 48863-70.
- [3] CICCIA A, ELLEDGE S J. The DNA damage response: making it safe to play with knives [J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 179-204.
- [4] XIAOFEI E, KOWALIK T F. The DNA damage response induced by infection with human cytomegalovirus and other viruses [J]. *Viruses*, 2014, 6(5): 2155-85.
- [5] PETRINI J H, STRACKER T H. The cellular response to DNA double-strand breaks: defining the sensors and mediators [J]. *Trends Cell Biol*, 2003, 13(9): 458-62.
- [6] HOPKINS B B, PAULL T T. The P. furiosus mre11/rad50 complex promotes 5' strand resection at a DNA double-strand break



- [J]. *Cell*, 2008, 135(2): 250-60.
- [7] WILLIAMS R S, WILLIAMS J S, TAINER J A. Mre11-Rad50-Nbs1 is a keystone complex connecting DNA repair machinery, double-strand break signaling, and the chromatin template [J]. *Biochem Cell Biol*, 2007, 85(4): 509-20.
- [8] WILLIAMS R S, MONCALIAN G, WILLIAMS J S, et al. Mre11 dimers coordinate DNA end bridging and nuclease processing in double-strand-break repair [J]. *Cell*, 2008, 135(1): 97-109.
- [9] HOPFNER K P, KARCHER A, CRAIG L, et al. Structural biochemistry and interaction architecture of the DNA double-strand break repair Mre11 nuclease and Rad50-ATPase [J]. *Cell*, 2001, 105(4): 473-85.
- [10] DE JAGER M, VAN NOORT J, VAN GENT D C, et al. Human Rad50/Mre11 is a flexible complex that can tether DNA ends [J]. *Mol Cell*, 2001, 8(5): 1129-35.
- [11] LLOYD J, CHAPMAN J R, CLAPPERTON J A, et al. A supramodular FHA/BRCT-repeat architecture mediates Nbs1 adaptor function in response to DNA damage [J]. *Cell*, 2009, 139(1): 100-11.
- [12] FALCK J, COATES J, JACKSON S P. Conserved modes of recruitment of ATM, ATR and DNA-PKcs to sites of DNA damage [J]. *Nature*, 2005, 434(7033): 605-11.
- [13] STRACKER T H, MORALES M, COUTO S S, et al. The carboxy terminus of NBS1 is required for induction of apoptosis by the MRE11 complex [J]. *Nature*, 2007, 447(7141): 218-21.
- [14] WANG Q, GOLDSTEIN M, ALEXANDER P, et al. Rad17 recruits the MRE11-RAD50-NBS1 complex to regulate the cellular response to DNA double-strand breaks [J]. *Embo J*, 2014, 33(8): 862-77.
- [15] SHARMA A, SINGH K, ALMASAN A. Histone H2AX phosphorylation: a marker for DNA damage [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 920: 613-26.
- [16] JIN M H, OH D Y. ATM in DNA repair in cancer [J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 203: 107391.
- [17] ZHANG H, LIU Y, ZHOU K, et al. Genetic variations in the homologous recombination repair pathway genes modify risk of glioma [J]. *J Neurooncol*, 2016, 126(1): 11-7.
- [18] KIM H S, KIM J W, HWANG I G, et al. Expression of DNA damage response markers in early-onset or familial gastric cancers [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20(5): 1369-76.
- [19] PHILLIPS T D, RICHARDSON M, CHENG Y S, et al. Mechanistic relationships between hepatic genotoxicity and carcinogenicity in male B6C3F1 mice treated with polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures [J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89(6): 967-77.
- [20] SIMONETTI G, PADELLA A, DO VALLE I F, et al. Aneuploid acute myeloid leukemia exhibits a signature of genomic alterations in the cell cycle and protein degradation machinery [J]. *Cancer*, 2019, 125(5): 712-25.
- [21] ZHEN J T, SYED J, NGUYEN K A, et al. Genetic testing for hereditary prostate cancer: current status and limitations [J]. *Cancer*, 2018, 124(15): 3105-17.
- [22] KAŁUŻNA E M, REMBOWSKA J, ZIÓŁKOWSKA-SUCHANEK I, et al. Heterozygous p.I171V mutation of the NBN gene as a risk factor for lung cancer development [J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(5): 3300-4.
- [23] WANG Y, HONG Y, LI M, et al. Mutation inactivation of Nijmegen breakage syndrome gene (NBS1) in hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82426.
- [24] YUAN J, LUO K, DENG M, et al. HERC2-USP20 axis regulates DNA damage checkpoint through Claspin [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(21): 13110-21.
- [25] MATSUOKA S, BALLIF B A, SMOGORZEWSKA A, et al. ATM and ATR substrate analysis reveals extensive protein networks responsive to DNA damage [J]. *Science*, 2007, 316(5828): 1160-6.
- [26] BAKKENIST C J, KASTAN M B. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation [J]. *Nature*, 2003, 421(6922): 499-506.
- [27] KOZLOV S V, GRAHAM M E, PENG C, et al. Involvement of novel autophosphorylation sites in ATM activation [J]. *Embo j*, 2006, 25(15): 3504-14.
- [28] HE H, CHANG R, ZHANG T, et al. ATM mediates DAB2IP-deficient bladder cancer cell resistance to ionizing radiation through the p38MAPK and NF-κB signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(2): 1216-22.
- [29] LI Y, LI L, WU Z, et al. Silencing of ATM expression by siRNA technique contributes to glioma stem cell radiosensitivity *in vitro* and *in vivo* [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(1): 325-35.
- [30] ZHANG Q, GREEN M D, LANG X, et al. Inhibition of ATM increases interferon signaling and sensitizes pancreatic cancer to immune checkpoint blockade therapy [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(15): 3940-51.
- [31] WANG H, WANG H, POWELL S N, et al. ATR affecting cell radiosensitivity is dependent on homologous recombination repair but independent of nonhomologous end joining [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(19): 7139-43.
- [32] ZOU L, ELLEDGE S J. Sensing DNA damage through ATRIP recognition of RPA-ssDNA complexes [J]. *Science*, 2003, 300(5625): 1542-8.
- [33] CORTEZ D, GUNTUKU S, QIN J, et al. ATR and ATRIP: partners in checkpoint signaling [J]. *Science*, 2001, 294(5547): 1713-6.
- [34] TANAKA A, WEINEL S, NAGY N, et al. Germline mutation in ATR in autosomal-dominant oropharyngeal cancer syndrome [J]. *Am J Hum Genet*, 2012, 90(3): 511-7.
- [35] LATIF C, DEN ELZEN N R, O'CONNELL M J. DNA damage checkpoint maintenance through sustained Chk1 activity [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 16): 3489-98.
- [36] CHENG Y C, SHIEH S Y. Deubiquitinating enzyme USP3 controls CHK1 chromatin association and activation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(21): 5546-51.
- [37] GUERVILLY J H, RENAUD E, TAKATA M, et al. USP1 deubiquitinase maintains phosphorylated CHK1 by limiting its DDB1-dependent degradation [J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(11): 2171-81.
- [38] WANG X, LIU Z, ZHANG L, et al. Targeting deubiquitinase USP28 for cancer therapy [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 186.
- [39] WU J, CHEN Y, GENG G, et al. USP39 regulates DNA damage response and chemo-radiation resistance by deubiquitinating and stabilizing CHK2 [J]. *Cancer Lett*, 2019, 449: 114-24.
- [40] GUO Z, KUMAGAI A, WANG S X, et al. Requirement for ATR in phosphorylation of Chk1 and cell cycle regulation in response

- to DNA replication blocks and UV-damaged DNA in *Xenopus* egg extracts [J]. *Genes Dev*, 2000, 14(21): 2745-56.
- [41] BROWN E J, BALTIMORE D. Essential and dispensable roles of ATR in cell cycle arrest and genome maintenance [J]. *Genes Dev*, 2003, 17(5): 615-28.
- [42] LOU Z, MINTER-DYKHOUSE K, WU X, et al. MDC1 is coupled to activated CHK2 in mammalian DNA damage response pathways [J]. *Nature*, 2003, 421(6926): 957-61.
- [43] STEWART G S, WANG B, BIGNELL C R, et al. MDC1 is a mediator of the mammalian DNA damage checkpoint [J]. *Nature*, 2003, 421(6926): 961-6.
- [44] RUFF S E, LOGAN S K, GARABEDIAN M J, et al. Roles for MDC1 in cancer development and treatment [J]. *DNA Repair*, 2020, 95: 102948.
- [45] LUO K, YUAN J, LOU Z. Oligomerization of MDC1 protein is important for proper DNA damage response [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(32): 28192-9.
- [46] CERAMI E, GAO J, DOGRUSOZ U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data [J]. *Cancer Discov*, 2012, 2(5): 401-4.
- [47] GAO J, AKSOY B A, DOGRUSOZ U, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal [J]. *Sci Signal*, 2013, doi: 10.1126/scisignal.2004088.
- [48] BOTUYAN M V, LEE J, WARD I M, et al. Structural basis for the methylation state-specific recognition of histone H4-K20 by 53BP1 and Crb2 in DNA repair [J]. *Cell*, 2006, 127(7): 1361-73.
- [49] ELIEZER Y, ARGAMAN L, RHIE A, et al. The direct interaction between 53BP1 and MDC1 is required for the recruitment of 53BP1 to sites of damage [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(1): 426-35.
- [50] STEWART G S, PANIER S, TOWNSEND K, et al. The RIDDLE syndrome protein mediates a ubiquitin-dependent signaling cascade at sites of DNA damage [J]. *Cell*, 2009, 136(3): 420-34.
- [51] DENCHI E L, DE LANGE T. Protection of telomeres through independent control of ATM and ATR by TRF2 and POT1 [J]. *Nature*, 2007, 448(7157): 1068-71.
- [52] TAKAI K K, KIBE T, DONIGIAN J R, et al. Telomere protection by TPP1/POT1 requires tethering to TIN2 [J]. *Mol Cell*, 2011, 44(4): 647-59.
- [53] ZIMMERMANN M, DE LANGE T. 53BP1: pro choice in DNA repair [J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24(2): 108-17.
- [54] CALLEN E, ZONG D, WU W, et al. 53BP1 enforces distinct pre- and post-resection blocks on homologous recombination [J]. *Mol Cell*, 2020, 77(1): 26-38.e7.
- [55] BOUWMAN P, ALY A, ESCANDELL J M, et al. 53BP1 loss rescues BRCA1 deficiency and is associated with triple-negative and BRCA-mutated breast cancers [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(6): 688-95.
- [56] BI J, HUANG A, LIU T, et al. Expression of DNA damage checkpoint 53BP1 is correlated with prognosis, cell proliferation and apoptosis in colorectal cancer [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6070-82.
- [57] HORN H F, VOUSDEN K H. Coping with stress: multiple ways to activate p53 [J]. *Oncogene*, 2007, 26(9): 1306-16.
- [58] BONIFACI N, GÓRSKI B, MASOJĆ B, et al. Exploring the link between germline and somatic genetic alterations in breast carcinogenesis [J]. *PLoS One*, 2010, 5(11): e14078.
- [59] PÉREZ M, GARCÍA-LIMONES C, ZAPICO I, et al. Mutual regulation between SIAH2 and DYRK2 controls hypoxic and genotoxic signaling pathways [J]. *J Mol Cell Biol*, 2012, 4(5): 316-30.
- [60] RAO F, CHA J, XU J, et al. Inositol pyrophosphates mediate the DNA-PK/ATM-p53 cell death pathway by regulating CK2 phosphorylation of Tti1/Tel2 [J]. *Mol Cell*, 2020, 79(4): 702.
- [61] ZAJKOWICZ A, GDOWICZ-KŁOSOK A, KRZEŚNIAK M, et al. Actinomycin D and nutlin-3a synergistically promote phosphorylation of p53 on serine 46 in cancer cell lines of different origin [J]. *Cell Signal*, 2015, 27(9): 1677-87.
- [62] CHAO C, HERR D, CHUN J, et al. Ser18 and 23 phosphorylation is required for p53-dependent apoptosis and tumor suppression [J]. *Embo j*, 2006, 25(11): 2615-22.
- [63] DONEHOWER L A, HARVEY M, SLAGLE B L, et al. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours [J]. *Nature*, 1992, 356(6366): 215-21.
- [64] MATEO J, CARREIRA S, SANDHU S, et al. DNA-repair defects and olaparib in metastatic prostate cancer [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(18): 1697-708.
- [65] MATEO J, PORTA N, BIANCHINI D, et al. Olaparib in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer with DNA repair gene aberrations (TOPARP-B): a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(1): 162-74.
- [66] CHEN L, HOU J, ZENG X, et al. LRRK2 inhibition potentiates PARP inhibitor cytotoxicity through inhibiting homologous recombination-mediated DNA double strand break repair [J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(3): e341.
- [67] PILIE P G, TANG C, MILLS G B, et al. State-of-the-art strategies for targeting the DNA damage response in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(2): 81-104.
- [68] YAP T A, TAN D S P, TERBUCH A, et al. First-in-human trial of the oral ataxia telangiectasia and RAD3-related (ATR) inhibitor BAY 1895344 in patients with advanced solid tumors [J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(1): 80-91.
- [69] BAPTISTELLA A R, LANDEMBERGER M C, DIAS M V S, et al. Rab5C enhances resistance to ionizing radiation in rectal cancer [J]. *J Mol Med*, 2019, 97(6): 855-69.
- [70] HUANG R X, ZHOU P K. DNA damage response signaling pathways and targets for radiotherapy sensitization in cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 60.
- [71] EVERS B, DROST R, SCHUT E, et al. Selective inhibition of BRCA2-deficient mammary tumor cell growth by AZD2281 and cisplatin [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(12): 3916-25.
- [72] ROTTENBERG S, JASPERS J E, KERSBERGEN A, et al. High sensitivity of BRCA1-deficient mammary tumors to the PARP inhibitor AZD2281 alone and in combination with platinum drugs [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(44): 17079-84.
- [73] RYU H, KIM H J, SONG J Y, et al. A small compound KJ-28d enhances the sensitivity of non-small cell lung cancer to radio- and chemotherapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, doi: 10.3390/ijms20236026.
- [74] GUILLOT C, FAVAUDON V, HERCEG Z, et al. PARP inhibition and the radiosensitizing effects of the PARP inhibitor ABT-888 in *in vitro* hepatocellular carcinoma models [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 603.
- [75] SRINIVAS U S, TAN B W Q, VELLAYAPPAN B A, et al. ROS

- and the DNA damage response in cancer [J]. *Redox Biol*, 2019, 25: 101084.
- [76] MCLAUGHLIN M, PATIN E C, PEDERSEN M, et al. Inflammatory microenvironment remodelling by tumour cells after radiotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(4): 203-17.
- [77] MOUW K W, GOLDBERG M S, KONSTANTINOPOULOS P A, et al. DNA damage and repair biomarkers of immunotherapy response [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(7): 675-93.
- [78] RAGU S, MATOS-RODRIGUES G, LOPEZ B S. Replication stress, DNA damage, inflammatory cytokines and innate immune response [J]. *Genes*, 2020, doi: 10.3390/genes11040409.
- [79] GALLUZZI L, SENOVILLA L, ZITVOGEL L, et al. The secret ally: immunostimulation by anticancer drugs [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11(3): 215-33.
- [80] LU C, GUAN J, LU S, et al. DNA sensing in mismatch repair-deficient tumor cells is essential for anti-tumor immunity [J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(1): 96-108, e6.
- [81] JIAO S, XIA W, YAMAGUCHI H, et al. PARP inhibitor upregulates PD-L1 expression and enhances cancer-associated immunosuppression [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(14): 3711-20.
- [82] HUANG J, WANG L, CONG Z, et al. The PARP1 inhibitor BMN 673 exhibits immunoregulatory effects in a *Brcal*<sup>-/-</sup> murine model of ovarian cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 463(4): 551-6.
- [83] SEN T, DELLA CORTE C M, MILUTINOVIC S, et al. Combination treatment of the oral CHK1 inhibitor, SRA737, and low-dose gemcitabine enhances the effect of programmed death ligand 1 blockade by modulating the immune microenvironment in SCLC [J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(12): 2152-63.
- [84] TU X, QIN B, ZHANG Y, et al. PD-L1 (B7-H1) competes with the RNA exosome to regulate the DNA damage response and can be targeted to sensitize to radiation or chemotherapy [J]. *Mol Cell*, 2019, 74(6): 1215-26, e4.
- [85] PILIÉ P G, TANG C, MILLS G B, et al. State-of-the-art strategies for targeting the DNA damage response in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(2): 81-104.
- [86] DIÉRAS V, HAN H S, KAUFMAN B, et al. Veliparib with carboplatin and paclitaxel in BRCA-mutated advanced breast cancer (BROCADE3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(10): 1269-82.
- [87] JUCAITE A, STENKRONA P, CSELÉNYI Z, et al. Brain exposure of the ATM inhibitor AZD1390 in humans—a positron emission tomography study [J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(4): 687-96.
- [88] MEI L, ZHANG J, HE K, et al. Ataxia telangiectasia and Rad3-related inhibitors and cancer therapy: where we stand [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 43.
- [89] YAP T A, O'CARRIGAN B, PENNEY M S, et al. Phase I trial of first-in-class ATR inhibitor M6620 (VX-970) as monotherapy or in combination with carboplatin in patients with advanced solid tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(27): 3195-204.
- [90] ZSIROS E, LYNAM S, ATTWOOD K M, et al. Efficacy and safety of pembrolizumab in combination with bevacizumab and oral metronomic cyclophosphamide in the treatment of recurrent ovarian cancer: a phase 2 nonrandomized clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2021, 7(1): 78-85.
- [91] ITALIANO A, INFANTE J R, SHAPIRO G I, et al. Phase I study of the checkpoint kinase 1 inhibitor GDC-0575 in combination with gemcitabine in patients with refractory solid tumors [J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(5): 1304-11.
- [92] GATTI-MAYS M E, KARZAI F H, SOLTANI S N, et al. A phase II single arm pilot study of the CHK1 inhibitor prexasertib (LY2606368) in BRCA wild-type, advanced triple-negative breast cancer [J]. *Oncologist*, 2020, 25(12): 1013-e824.
- [93] COLEMAN R L, OZA A M, LORUSSO D, et al. Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2017, 390(10106): 1949-61.
- [94] CHOUËIRI T K, JACOBUS S, BELLMUNT J, et al. Neoadjuvant dose-dense methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin with pegfilgrastim support in muscle-invasive urothelial cancer: pathologic, radiologic, and biomarker correlates [J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(18): 1889-94.
- [95] BRIDGEWATER J A, PUGH S A, MAISHMAN T, et al. Systemic chemotherapy with or without cetuximab in patients with resectable colorectal liver metastasis (new EPOC): long-term results of a multicentre, randomised, controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(3): 398-411.
- [96] WILLOUGHBY C E, JIANG Y, THOMAS H D, et al. Selective DNA-PKcs inhibition extends the therapeutic index of localized radiotherapy and chemotherapy [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(1): 258-71.
- [97] MARTINEZ-PASTOR B, SILVEIRA G G, CLARKE T L, et al. Assessing kinetics and recruitment of DNA repair factors using high content screens [J]. *Cell Rep*, 2021, 37(13): 110176.
- [98] OLIVIERI M, CHO T, ÁLVAREZ-QUILÓN A, et al. A genetic map of the response to DNA damage in human cells [J]. *Cell*, 2020, 182(2): 481-96, e21.
- [99] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-74.
- [100] PLUMMER R, JONES C, MIDDLETON M, et al. Phase I study of the poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor, AG014699, in combination with temozolomide in patients with advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(23): 7917-23.
- [101] LIU J F, BARRY W T, BIRRER M, et al. Combination cediranib and olaparib versus olaparib alone for women with recurrent platinum-sensitive ovarian cancer: a randomised phase 2 study [J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(11): 1207-14.
- [102] 回天鹤. DNA损伤修复与癌症[J]. 临床医药文献电子杂志 (HUI T H. DNA damage repair and cancer [J]. *Journal of Clinical Medical*), 2017, 4(79): 15607-8.