

DOI: 10.13376/j.cbls/2015017

文章编号: 1004-0374(2015)02-0113-07

· 评述与综述 ·

NTP焦磷酸酶的生物学功能及临床相关性研究进展

施逸怡¹, 杨深¹, 李凯歌¹, 余力¹, 张勇^{2*}, 王颖^{2*}

(1 上海交通大学医学院11级临床医学五年制, 上海 200025; 2 上海交通大学医学院上海市免疫学研究所, 上海 200025)

摘要: 核苷三磷酸焦磷酸酶 (nucleotide triphosphates pyrophosphatase, NTP-PPase) 是一类可将核苷三磷酸 (nucleotide triphosphates, NTPs) 水解生成其对应的 NMPs, 同时释放出焦磷酸的核酸酶。随着其在从大肠杆菌到哺乳动物细胞中的广泛发现, 它们在进化上的保守性表明该家族分子在维持生命过程中具有重要作用。NTP 焦磷酸酶可以通过水解异常核苷酸, 避免其掺入到新合成的 DNA 或 RNA 链中, 保证 DNA 合成的精确性和基因组的稳定性, 并与肿瘤的发生、发展密切相关。将对 NTP 焦磷酸酶的研究进展作简要介绍。

关键词: 核苷三磷酸焦磷酸酶; 生物学功能; 肿瘤

中图分类号: Q55; R730.231 **文献标志码:** A

Research progress in biological function and clinical relevance of NTP pyrophosphatase

SHI Yi-Yi¹, YANG Shen¹, LI Kai-Ge¹, YU Li¹, ZHANG Yong^{2*}, WANG Ying^{2*}

(1 Clinical Medicine, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China;

2 Shanghai Institute of Immunology, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract: NTP pyrophosphatases are capable of hydrolyzing NTPs into di- or monophosphates. With the prevalent presence from *Escherichia coli* to mammals, its evolutionary conservation suggests the critical roles in maintaining proper life processes. NTP pyrophosphatases guarantee the fidelity of DNA replication and genome stability through hydrolyzing non-canonical NTPs to avoid the incorporation of these non-canonical nucleotides into daughter DNA. They are demonstrated to be related to tumorigenesis as well as chemotherapy drug resistance. In this review, we intend to summarize the recent research progresses in NTP pyrophosphatases.

Key words: NTP pyrophosphatase; biological function; tumor

核苷三磷酸是 DNA 分子合成的原料, 它具有维持细胞核苷池中 (d) NTPs 组成合理性的作用, 是 DNA 合成的精确性和基因组的稳定性的重要保障; 同时, 细胞在各种应激情况下, 会产生多种异常核苷酸, 这些异常核苷酸浓度的增加将大大提高 DNA 合成中的突变概率, 从而可能造成细胞的突变。因此, 通过不同的机制保持细胞内核苷池中 (d) NTPs 的动态稳定性尤为重要。

NTP 焦磷酸酶是一类可将核苷三磷酸水解生成其对应的 NMPs, 同时释放出焦磷酸的核酸酶。20 世纪以来, 研究人员已经发现从低等的原核生物到高等真核生物中, 该酶均普遍存在, 其主要的生物

学功能是通过水解异常核苷酸, 避免异常核苷酸掺入到新合成的 DNA 或 RNA 链中。随着对该家族分子生化特性认识的加深, 其生物学意义及其与临床疾病的相关性研究也逐渐得到重视。本综述将对 NTP 焦磷酸酶的研究进展作一简要介绍。

收稿日期: 2014-05-06; 修回日期: 2014-07-23

基金项目: 上海市教委创新重点项目(13ZZ083); 上海市卫生局项目(20114195); 上海交通大学医学院大学生创新性实验项目(2013016)

*通信作者: 王颖, E-mail: ywang@sibs.ac.cn; 张勇, E-mail: zhangy@shsmu.edu.cn, Tel: 021-63846590-776319

1 NTP焦磷酸酶是在进化上结构和功能高度保守的家族分子

NTP 焦磷酸酶的研究报道最早来自于在低等原核生物中的研究, 第一个 NTP 焦磷酸酶是由 Bhatnagar 和 Bessman^[1] 于 1988 年在大肠埃希菌中发现的 MutT, 该分子具有水解 dGTP 和其他异常 NTP 的功能, 属于专一性较低的焦磷酸水解酶。随后, 在不同的原核生物(如大肠杆菌、酵母菌、真菌等)及逆转录病毒中发现了具有类似功能的分子。在高等哺乳动物中, 第一个被发现的焦磷酸酶是 dUTP 焦磷酸酶, 后来又在真核细胞中陆续发现 dITP 焦磷酸酶、MTH1 (MutT homologue 1) 等^[2]。这些来自于不同种属的 NTP 焦磷酸酶尽管在进化过程中部分序列及底物特异性发生了变化, 但都保留了降解异常核苷酸的功能, 并且具有极高的结构相似性。在进化上的高度保守提示了这类分子在维持生命进程中的重要性。

目前, 根据 NTP 焦磷酸酶的结构特征, 将其分为 Nudix 超家族、Maf/HAM1 (α/β)、碱性磷酸酶 (a/b) 超家族、三聚体 dUTPase 样超家族、dITPase 超家族以及全 $-\alpha$ NTP 焦磷酸酶等。

1.1 Nudix超家族

Nudix 超家族的成员包括原核生物中的 MutT 和真核生物中的 MTH1 (MutT homologue 1), 后者主要表达于啮齿动物, 是微生物 MutT 分子的同源蛋白。MutT 酶结构中包括可以区分 8-oxo-dGTP 和 dGTP 核苷酸的活性部位, 如位于比邻嘌呤环的 Arg78 和 Asn119 所处的碱基部位; 而 MTH1 也可以识别 8-oxo-dGTP、2-oxo-dATP 和 8-oxo-dATP 等异常核苷酸, 因为它具有有别于 MutT 的残基 Asn33^[3]。它们都具有的特征性结构是“Nudix box”基序 Gx5Ex5UxREUxEEExGU (U 代表疏水氨基酸, x 代表其他残基), 该基序位于一个环-螺旋-环的结构域上^[4], 并不直接与含氮碱基相连, 而是协调与 Mg 离子的相互作用。该家族的酶分子对于底物具有高度专一性, 在结构上高度保守。

1.2 全- α NTP焦磷酸酶家族

全 $-\alpha$ NTP 焦磷酸酶家族分子包括 MazG、二聚体 dUTPase、HisE、RS21-C6 和人 dCTP 焦磷酸酶 (dCTP pyrophosphatase, DCTPP1)。在序列结构上, 该家族分子的活性部分由一系列 α 螺旋的活性结构框架组成, 二聚体亚基具有相同的结构基础, 但 MazG 和 HisE 序列的长度短于 dUTPase 亚基序列,

这是因为少量螺旋结构可以有效地形成与 dUTPase 相似的结构域^[5]。MazG 样结构是全 $-\alpha$ NTP 焦磷酸酶家族的祖先, 随着家族进化, 其结构可以成倍增大, 如形成二聚体 dUTPase。

通过平行分析来源于人、酵母、大肠杆菌以及逆转录病毒中的 dUTP 焦磷酸酶, 比较它们的氨基酸序列, 可以发现: 这些酶都具有 5 个氨基酸的高保守结构序列; 结构域 III 中的一段氨基酸序列 (GVIDXDXG) 还普遍存在于许多果糖磷酸激酶中; C 端含有保守的结构域 V, 富含 Gly 残基; 同时, 这些酶具有与许多 ATPase 和 GTPase 相似的核苷酸结合蛋白易感序列——磷酸结合环 (P-loops), 说明该酶的进化过程是高度保守的。

再通过平行分析来源于霍乱弧菌 MazG 蛋白、小鼠体内的 RS21-C6 和人体内的 DCTPP1 蛋白, 可发现后两者均为 MazG 的同源蛋白^[6-7]。通过序列比对和结构分析发现, 在小鼠和人类基因中都具有典型的 MazG 结构域。目前在所有脊椎动物、绿色植物、单子囊真菌和细菌中也均发现有 MazG 高度保守的同源蛋白, 其结构与霍乱弧菌 MazG 有着极高的相似性^[8]。故从原核霍乱弧菌中的 MazG, 到哺乳动物小鼠体内的 RS21-C6, 再到人的 dCTP 焦磷酸酶, 其进化过程始终高度保守, 保留相同的 MazG 结构域。

1.3 三聚体dUTPase样超家族

三聚体 dUTPase 广泛存在于几乎所有细菌、古细菌、真核基因组类哺乳动物中。它由大量的 β - 折叠组成, 并且在两个 β - 折叠之间的狭窄空隙可以容纳一个嘧啶环, 通过与 O2、N3、O4 原子结合完成与尿嘧啶的连接。dUTPase 存在 5 个高度保守的功能结构域, 它们作为该酶的活性位点起到重要的作用。其中: (1) 两个结构域来自于同一个亚基; (2) 另外两个结构域来源于另外两个亚基, 其中一个亚基负责糖类物质识别, 另一个亚基具有磷酸化的作用; (3) 还有另外一个结构域——第三个亚基在 C 端有富含甘氨酸的常见结构域。所有 dUTPase 发挥功能都需要 Mg^{2+} 的存在^[9]。尽管 dUTPase 广泛存在于所有基因组中, 但是三聚体 dUTPase 是该家族中唯一具有清理功能的酶^[10]。

1.4 dITPase样超家族分子

dITPase 样超家族包括大肠埃希菌中的 MJ0226 和 YggV/RdgB、海栖热袍菌中的 TM0159、酵母菌中的 HAM1 和人 ITPase 等。以 TM0159 为例, 该分子单体 α/β 折叠结构中, 位于中心位置的 3 个较

长的 β 片层结构构成了3个反向平行的 β 长链。其中一个片层位于中心,由其余两个片层包绕,而这两个片层在另一面通过与 α 螺旋结合共同形成核心结构^[11]。两个 β 片层之间为IMP的结合位点,其核苷结合位点由几个高度保守的氨基酸残基组成。所有典型的dITPase样家族分子均能高效地与ITP和XTP结合,将其迅速水解;但是对于经典的NTPs,包括具有相似结构的GTP,却无法被dITPase水解,这是由于鸟嘌呤结合位点上的2-氨基酸残基导致了空间上的不兼容,使得dITPase无法与GTP结合^[12]。

1.5 Maf/HAM1 (α/β)

枯草杆菌中的Maf蛋白是该家族中最有代表性的蛋白,古生菌、原核生物和真核生物中存在大量该蛋白同源物。三维结构显示这类蛋白在进化过程中相关基因高度保守^[13]。

1.6 碱性磷酸酶样(a/b)超家族分子

磷酸脱氧核糖变位酶、磷酸甘油转移酶和核苷酸焦磷酸酶属于同一个金属酶超家族,即碱性磷酸酶家族(ALKP superfamily)。这些酶在序列和结构上保持高度保守,都具有与金属离子相连接的残基,同时它们共有的保守丝氨酸、苏氨酸和半胱氨酸残基都具有磷酸化或者硫化作用^[14]。

2 NTP焦磷酸酶的生化特性

虽然目前已经发现的NTP焦磷酸酶属于不同的家族,但是它们在功能上主要是以水解三磷酸形式的核苷酸为主。存在于原核生物和真核生物中的核苷酸焦磷酸酶均具有水解异常核苷酸的作用。

2.1 水解经典核苷三磷酸

目前,无论是在低等生物还是高等生物中,大部分已知的NTP焦磷酸酶均可以水解经典的核苷三磷酸,只是每种酶的底物不完全一样。

在低等生物中,最先发现的大肠埃希菌的MutT属于低特异性的焦磷酸酶,可以水解dGTP和其他非典型NTP。经过对其克隆基因产物进行表达、纯化和定性研究发现,MutT可以作用于所有8种经典核苷三磷酸,对dGTP尤其敏感,可以将dGTP水解为dGMP和PPi^[1]。

来自于结核分枝杆菌的MazG能够水解所有经典的核苷三磷酸生成相应的单磷酸核苷和PPi,而大肠埃希菌中的MazG对ATP和dTTP有更强的水解活性。

来自于放线菌、a、b-变形菌和古生菌的HisE

属于磷酸核糖ATP焦磷酸酶(phosphoribosyl-ATP pyrophosphatase, PRATP),可水解磷酸核糖ATP生成磷酸核糖AMP,同时释放焦磷酸,其作用是催化组氨酸生物合成的第三步反应过程,具有水解和环化双重功能,是生物生存必不可少的酶^[15]。

在真核生物中发现的可水解经典三磷酸核苷酸的NTP焦磷酸酶有dUTPase、RS21-C6和DCTPP1等。其中,dUTPase能够特异性水解dUTP中的 α - β 焦磷酸键生成dUMP和PPi。除此之外,具有结构同源性的鼠RS21-C6和人类DCTPP1能够水解dCTP产生dCMP。

2.2 水解异常核苷酸

NTP焦磷酸酶水解底物除了上述经典的核苷三磷酸外,被研究人员重点关注和研究的,是其对异常(non-canonical)核苷酸水解的能力,因为异常核苷酸在DNA复制过程中的掺入会增加突变的概率,并进而影响基因组的稳定性,造成异常基因型的产生。而NTP焦磷酸酶水解核苷池内的异常核苷酸成为纠正错误掺入的重要机制之一。

大肠埃希菌的MutT除了可以水解所有8种典型的核苷三磷酸外,在DNA复制过程中,它还可“清理”核苷酸池中与腺嘌呤错配的核苷三磷酸。其中,8-oxo-dGTP作为dGTP的突变形式,是MutT的最适底物。在大肠杆菌中,MutT可特异性地水解核苷酸池中异常的鸟嘌呤(8-oxo-dGTP),防止其错误地掺入DNA合成链,在维持多种微生物的基因稳定性中起到重要作用。当AT-CG的突变频率开始明显增高时,MutT能够及时地直接阻断这一过程。因此,MutT的缺失会导致大肠杆菌的AT-CG突变率明显升高^[16]。

MazG可通过水解非经典NTP,如8-oxo-dGTP、dUTP、dITP和2-oxo-dATP等,避免诱发突变,从而发挥“house cleaning”功能^[17]。虽然MazG的体外酶学实验表明,它的专一性较低,但之后的研究陆续证明MutT在特定的生理条件下的水解底物可能是较为专一的。在分枝杆菌中的MazG具有水解异常核苷酸8-OH-dCTP的特性,即其最适底物为8-OH-dCTP。而MazG的缺失会造成细菌在增殖和氧化应激的压力下,CG-TA的突变率增高,同时对巨噬细胞和脾脏环境的抵抗力降低^[18]。

Maf除了水解常规核苷酸如dTTP、UTP和CTP,还可以水解异常核苷酸如5-甲基-UTP、伪UTP、5-甲基-CTP和7-甲基GTP^[13]。

dUTPase和ITPase是真核生物中能特异性水

解异常核苷酸的两种 NTP 焦磷酸酶。ITPase 由 ITPA 基因编码, 主要水解底物是脱氧次黄嘌呤三磷酸 (dITP) 和 2'-脱氧-N-6-羟基氨基嘌呤核苷三磷酸, 得到相应的脱氧核苷单磷酸和焦磷酸。除此之外, 巯基嘌呤类药物的代谢产物, 如硫唑嘌呤、脱氧黄嘌呤核苷酸 (dXTP) 和 2'-脱氧-6-羟基氨基嘌呤核苷三磷酸 (2'-deoxy-N-6-hydroxylaminopurine triphosphate, dHAPTP) 等也是 ITPase 的底物^[19]。

RS21-C6 和 DCTPP1 除了能水解 dCTP 外, 还可以通过水解异常修饰的 5-甲基-dCTP、5-I-dCTP 等, 从而防止不当的 DNA 甲基化、DNA 复制阻滞

或者突变成^[6-7]。

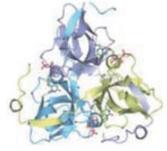
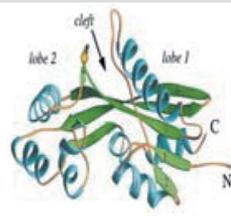
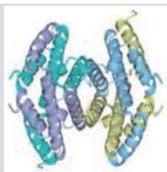
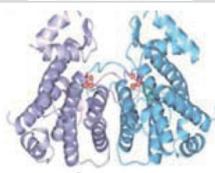
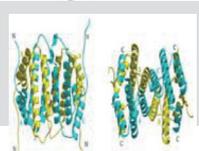
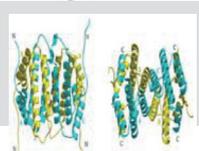
目前已经发现的所有 NTP 焦磷酸酶的结构和生化特性汇总于表 1。

3 NTP焦磷酸酶家族分子的生物学功能

NTP 焦磷酸酶酶学特性表明, NTP 焦磷酸酶除了发挥水解经典核苷三磷酸的功能以维持胞内核苷酸池中正常的浓度外, 更重要意义可能在于参与细胞内的异常核苷酸代谢。

细胞分裂过程中, 遗传信息的传递依赖于 DNA 复制的准确性, 除了复制过程中众多保障机

表1 NTP焦磷酸酶的特性汇总

名称	来源	结构	水解核苷酸	参考文献
MutT	大肠埃希菌		8-oxo-dGTP	[15]
MTH1	人		8-oxo-dGTP 8-oxo-dATP 2-oxo-dATP 2-oxo-rATP	[2]
Trimeric dUTPase	基本存在于所有细菌和古细菌中, 还存在于真核生物中, 例如人		dUTP	[10]
ITPase	詹氏甲烷球菌、大肠埃希菌和酵母菌 人(红细胞)		dITP dXTP	[19]
Maf	枯草芽孢杆菌		dTTP\UTP\CTP 5-methyl-UTP、 pseudo-UTP、 5-methyl-CTP、 7-methyl-GTP	[13]
MazG	大肠埃希菌 硫化叶菌 结核分枝杆菌		2-oxo-dATP 8-oxo-dGTP 8-OH-dCTP dUTP、dITP	[17]
Dimeric dUTPase	空肠弯曲菌 金黄色葡萄球菌 利什曼原虫 克氏锥虫		dUTP	[18]
RS21-C6	小鼠		dCTP 5-methyl-dCTP 5-I-dCTP	[6]
DCTPP1	人		5-methyl-dCTP	[7]

制, 保证参与 DNA 合成的原料——核苷三磷酸组成的稳定性也是必不可少的。一旦异常核苷酸掺入到 DNA 链中, 会导致基因突变和遗传不稳定^[20]。这些异常核苷酸一方面来自于细胞受到的外部损伤, 一方面来自于正常代谢过程中产生的活性氧引起的 DNA、RNA、蛋白质和脂质的氧化损伤, 从而产生的有毒或有潜在毒性的副产物, 包括各种异常核苷三磷酸盐, 如 dUTP、dTTP, 以及 8-oxo-dGTP、2-oxo-dATP 等。它们一般通过氧化过程、脱氨基过程或者其他典型核苷酸的修饰过程而产生^[21]。这些异常核苷酸一旦在复制过程中整合入原始 DNA, 会导致错配而造成基因突变率增高。因此, NTP 焦磷酸酶对异常核苷酸的特异性水解能大大减少细胞核苷酸池中异常核苷酸的存在, 从而提高 DNA 复制的准确性。

NTP 焦磷酸酶的突变往往导致 DNA 突变的增加, 并影响细胞分裂。大肠杆菌的 MTH1 酶具有清理核苷酸池中异常核苷酸的功能, 其进化高度保守, 能选择性清除 NTP 池中的氧化核苷酸 8-oxo-dGTP 和 2-OH-dATP(即 dGTP 和 dATP 的氧化形式), 从而阻止氧化应激的异常核苷酸掺入到 DNA 中造成 DNA 损伤。MutT 的缺失会导致大肠杆菌的 AT-CG 突变率明显升高^[16]。结核分枝杆菌中 MazG 基因的突变可以导致编码利福平抗性基因的突变率大大增加, 同时会降低细菌对巨噬细胞和脾组织的抵抗力, 从而影响细菌的正常生长^[18]。

大肠埃希菌中 MazG 酶基因的突变累积可产生致死表型^[22]。根据酵母属基因库的数据显示, 一些酵母菌中 Nudix 家族的突变可以造成 20~40 代以内的传代细胞出现生长缺陷^[23]。而与 MazG 同源的人 DCTPP1 在细胞核、细胞质和线粒体中均广泛存在, 并对嘧啶类似物具有高水解特异性, 最适底物为 5-甲基 dCTP。DCTPP1 对核苷类似物 5-碘脱氧胞苷和 5-甲基-2-脱氧胞嘧啶有高敏感性, 对 dCTP 在核苷池内平衡的维持以及脱氧胞苷类似物的代谢起到重要作用, 有助于保护基因的完整性^[7]。

dITP/dXTP/dHAPTP 焦磷酸酶可高效水解 ITP 和 XTP, 还可以水解 HAP 的脱氧核苷三磷酸衍生物 dHAPTP, 防止其掺入 DNA 链中, 保护细胞抵抗 6-羟氨基嘌呤类似物 (6-N-hydroxylaminopurine, HAP) 介导的毒性和致突变作用, 在维持基因组的完整性及编码和非编码 RNA 的完整性中起到了关键作用^[24]。在大肠杆菌与酵母菌中, 过表达的 ITPase 同系物能够保护细胞免受 HAP 的毒性和

致突变作用。相似的作用在人体内同样被发现^[12]。

生理状况下, dUTPase 可以控制核苷池内 dUTP/dTTP 的比值, 防止尿嘧啶以较高比率掺入到新合成的 DNA 中, 从而维持 DNA 的稳定复制有序进行^[6]。

上述 NTP 焦磷酸酶清除核苷酸池内异常核苷酸的功能, 反映了 NTP 焦磷酸酶具有清除细胞有毒的内源性代谢产物和调节生物化学途径中的异常中间产物积累的能力, 所以该分子也被称为“清理蛋白 (house-cleaning protein)”。

4 NTP焦磷酸酶与肿瘤

NTP 焦磷酸酶与临床疾病的相关性研究与对其生物学功能的认识密不可分。因为肿瘤细胞异常旺盛的增殖和高代谢水平需要大量焦磷酸酶来保证其复制准确性, 而 NTP 焦磷酸酶具有降低突变, 保证 DNA 复制准确性的生物学功能, 所以对其与临床疾病相关的研究首先集中于肿瘤的发生发展。以下将主要介绍哺乳动物中 NTP 焦磷酸酶与肿瘤的关系。

4.1 dUTPase

dUTPase 在神经系统、造血系统和消化系统的某些恶性肿瘤中表达水平高, 而在肺癌、乳腺癌等肿瘤组织中表达水平较低^[24-26]。dUTPase 在肝癌组织中的表达水平显著升高, 且与肝癌预后有着统计学相关性。在肝癌细胞中, 编码 dUTP 焦磷酸酶的基因 DUT 在大约 2/3 的肝脏肿瘤细胞样本中表达显著升高, 组化结果显示细胞核中 dUTP 焦磷酸酶在以 82 例肝癌患者为总体的 36.6% 的样本中表达显著升高^[25]。

体外抑制 dUTP 焦磷酸酶的表达会抑制细胞增殖, 并增加 Hu-7 细胞对 5-氟尿嘧啶敏感性; dUTPase 表达水平的上调可导致肿瘤对能够抑制胸苷酸合成酶的药物产生抵抗。在临床研究中还发现, dUTPase 的高表达可能造成结肠癌患者对 5-FU 的耐药性以及预后水平较差^[26]。由此可见, dUTPase 可能作为部分恶性肿瘤患者诊断和预后的有效标志物, 并且成为优化治疗方案新的靶分子。

4.2 DCTPP1

DCTPP1 在包括乳腺癌、肝癌、肺癌、结肠癌、食管癌和宫颈癌等多种肿瘤组织中的表达明显高于癌旁正常组织, 并且在肿瘤组织中出现向细胞核内聚集的定位变化。这一现象在乳腺癌中特别突出, 通过分析 DCTPP1 的基因表达情况与乳腺癌患者的

临床相关性显示, DCTPP1 高表达的患者其无复发生存率、管状 B 型无复发率、治疗后无复发率、三期整体生存率和治疗后整体生存率都明显低于 DCTPP1 低表达的患者。另外, 细胞核中 DCTPP1 的表达情况与肿瘤组织学亚型有显著相关性, 在胃癌患者中, 印戒细胞癌、未分化癌比管状腺癌或鳞癌中 DCTPP1 表达水平更高; 食管癌中, 腺癌较鳞癌和小细胞癌 DCTPP1 表达水平更高; 而肺癌中, 小细胞肺癌患者中 DCTPP1 表达水平明显高于非小细胞肺癌尤其是鳞癌患者^[27]。

4.3 MTH1

MTH1 在人的乳腺癌、肝癌和肺癌等多种肿瘤组织中异常高表达^[28-30]。小鼠 MTH1 基因 (MutT 的直系同源基因) 的缺陷可造成癌症发生率显著增高^[31]。由于 MTH1 酶并不是正常细胞所必需的, 而是肿瘤细胞生存所需要的, 因此针对这种酶的抑制剂能有效遏制肿瘤细胞生长。2014 年, Huber 等^[32]研究发现, (克唑替尼) (S)-crizotinib 可以作为 MTH1 抑制剂, 选择性杀死皮肤癌患者手术切除肿瘤中的癌细胞。对于 (S)-crizotinib 的研究仍在深入进行中, 并将具有良好的应用前景。

5 展望

随着对 NTP 焦磷酸酶生物学功能研究的深入, 特别是通过对其在肿瘤等疾病中的生理病理功能的不断认识, NTP 焦磷酸酶有可能成为疾病治疗的新靶点。Marinaki 等^[33]研究发现, 人 ITP 基因突变导致的 ITPase 缺陷会造成机体对咪唑硫嘌呤 (一种用于癌症和肠炎治疗的嘌呤类似物) 产生有害反应。Corson 等^[34]研究表明, 我国传统中药雷公藤的有效成分雷公藤甲素可以直接与 DCTPP1 结合, 降低其酶活性, 是第一个被认定的 dCTP 焦磷酸酶抑制剂。

综上所述, 这些具有专一性的 NTP 焦磷酸酶可以作为潜在药物设计的靶点, 在肿瘤等疾病的治疗中发挥重要作用。

【参 考 文 献】

- [1] Bhatnagar SK, Bessman MJ. Studies on the mutator gene, mutT of *Escherichia coli*. Molecular cloning of the gene, purification of the gene product, and identification of a novel nucleoside triphosphatase. *J Biol Chem*, 1988, 263(18): 8953-7
- [2] Nakabeppu Y, Tsuchimoto D, Furuichi M, et al. The defense mechanisms in mammalian cells against oxidative damage in nucleic acids and their involvement in the suppression of mutagenesis and cell death. *Free Radic Res*, 2004, 38(5): 423-9
- [3] Mishima M, Sakai Y, Itoh N, et al. Structure of human MTH1, a Nudix family hydrolase that selectively degrades oxidized purine nucleoside triphosphates. *J Biol Chem*, 2004, 279(32): 33806-15
- [4] Koonin EV. A highly conserved sequence motif defining the family of MutT-related proteins from eubacteria, eukaryotes and viruses. *Nucleic Acids Res*, 1993, 21(20): 4847
- [5] Moroz OV, Harkiolaki M, Galperin MY, et al. The crystal structure of a complex of *Campylobacter jejuni* dUTPase with substrate analogue sheds light on the mechanism and suggests the "basic module" for dimeric d(C/U)TPases. *J Mol Biol*, 2004, 342(5): 1583-97
- [6] Nonaka M, Tsuchimoto D, Sakumi K, et al. Mouse RS21-C6 is a mammalian 2'-deoxycytidine 5'-triphosphate pyrophosphohydrolase that prefers 5-iodocytosine. *FEBS J*, 2009, 276(6): 1654-66
- [7] Requena CE, Pérez-Moreno G, Ruiz-Pérez LM, et al. The NTP pyrophosphatase DCTPP1 contributes to the homeostasis and cleansing of the dNTP pool in human cells. *Biochem J*, 2014, 459(1): 171-80
- [8] Moroz OV, Murzin AG, Makarova KS, et al. Dimeric dUTPases, HisE, and MazG belong to a new superfamily of all- α NTP pyrophosphohydrolases with potential "house-cleaning" functions. *J Mol Biol*, 2005, 347(2): 243-55
- [9] Persson R, Cedergren-Zeppezauer ES, Wilson KS. Homotrimeric dUTPases; structural solutions for specific recognition and hydrolysis of dUTP. *Curr Protein Pept Sci*, 2001, 2(4): 287-300
- [10] Larsson G, Svensson LA, Nyman PO. Crystal structure of the *Escherichia coli* dUTPase in complex with a substrate analogue (dUDP). *Nat Struct Biol*, 1996, 3(6): 532-8
- [11] Awwad K, Desai A, Smith C, et al. Structural and functional characterization of a noncanonical nucleoside triphosphate pyrophosphatase from *Thermotoga maritima*. *Acta Crystallogr D: Biol Crystallogr*, 2013, 69(Pt 2): 184-93
- [12] Galperin MY, Moroz OV, Wilson KS, et al. House cleaning, a part of good housekeeping. *Mol Microbiol*, 2006, 59(1): 5-19
- [13] Minasov G, Teplova M, Stewart GC, et al. Functional implications from crystal structures of the conserved *Bacillus subtilis* protein Maf with and without dUTP. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(12): 6328-33
- [14] Galperin MY, Jedrzejewski MJ. Conserved core structure and active site residues in alkaline phosphatase superfamily enzymes. *Proteins*, 2001, 45(4): 318-24
- [15] Javid-majid F, Yang D, Ioerger TR, et al. The 1.25 Å resolution structure of phosphoribosyl-ATP pyrophosphohydrolase from *Mycobacterium tuberculosis*. *Acta Crystallogr D: Biol Crystallogr*, 2008, 64(6): 627-35
- [16] Maki H, Sekiguchi M. MutT protein specifically hydrolyses a potent mutagenic substrate for DNA

- synthesis. *Nature*, 1992, 355(6357): 273-5
- [17] Zhang J, Inouye M. MazG, a nucleoside triphosphate pyrophosphohydrolase, interacts with Era, an essential GTPase in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2002, 184(19): 5323-9
- [18] Liang DL, Bi KT, Xiao YF, et al. Mycobacterial MazG safeguards genetic stability via housecleaning of 5-OH-dCTP. *PLoS Pathog*, 2013, 9(12): e1003814
- [19] Kursula P, Flodin S, Gräslund S, et al. Crystal structure of human inosine triphosphatase. Substrate binding and implication of the inosine triphosphatase deficiency mutation P32T. *J Biol Chem*, 2007, 282(5): 3182-7
- [20] Kamiya H. Mutagenic potentials of damaged nucleic acids produced by reactive oxygen/nitrogen species: approaches using synthetic oligonucleotides and nucleotides: survey and summary. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31(2): 517-31
- [21] Lu L, Sun Q, Fan X, et al. Mycobacterial MazG is a novel NTP pyrophosphohydrolase involved in oxidative stress response. *J Biol Chem*, 2010, 285(36): 28076-85
- [22] Bradshaw JS, Kuzminov A. RdgB acts to avoid chromosome fragmentation in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 2003, 48(6): 1711-25
- [23] Christie KR, Weng S, Balakrishnan R, et al. Saccharomyces genome database (SGD) provides tools to identify and analyze sequences from *Saccharomyces cerevisiae* and related sequences from other organisms. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(Database issue): D311-4
- [24] Noskov VN, Staak K, Shcherbakova PV, et al. HAM1, the gene controlling 6-N-hydroxylaminopurine sensitivity and mutagenesis in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 1996, 12(1): 17-29
- [25] Takatori H, Yamashita T, Honda M, et al. dUTP pyrophosphatase expression correlates with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Liver Int*, 2010, 30(3): 438-46
- [26] Ladner RD, Lynch FJ, Groshen S, et al. dUTP nucleotidohydrolase isoform expression in normal and neoplastic tissues: association with survival and response to 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Cancer Res*, 2000, 60(13): 3493-503
- [27] Zhang Y, Ye W, Wang J, et al. dCTP pyrophosphohydrolase exhibits nucleic accumulation in multiple carcinomas. *Eur J Histochem*, 2013, 57(3): e29
- [28] Wani G, Milo GE, D'ambrosio SM. Enhanced expression of the 8-oxo-7, 8-dihydrodeoxyguanosine triphosphatase gene in human breast tumor cells. *Cancer Lett*, 1998, 125(1): 123-30
- [29] Zhou H, Cheng B, Lin J. Expression of DNA repair enzyme hMTH1 mRNA and protein in hepatocellular carcinoma. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2005, 25(4): 389-92
- [30] Hibi K, Liu Q, Beaudry GA, et al. Serial analysis of gene expression in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*, 1998, 58(24): 5690-4
- [31] Tsuzuki T, Egashira A, Igarashi H, et al. Spontaneous tumorigenesis in mice defective in the MTH1 gene encoding 8-oxo-dGTPase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(20): 11456-61
- [32] Huber KV, Salah E, Radic B, et al. Stereospecific targeting of MTH1 by (S)-crizotinib as an anticancer strategy. *Nature*, 2014, 508(7495): 222-7
- [33] Marinaki AM, Ansari A, Duley JA, et al. Adverse drug reactions to azathioprine therapy are associated with polymorphism in the gene encoding inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPase). *Pharmacogenetics*, 2014, 14(3): 181-7
- [34] Corson TW, Cavga H, Aberle N, et al. Triptolide directly inhibits dCTP pyrophosphatase. *ChemBioChem*, 2011, 12(11): 1767-73