

共济失调毛细血管扩张症致病基因与乳腺癌易感性

张楠¹, 车鉴¹, 白松³, 吴争¹, 崔玉影¹, 邹伟^{1,2}

1 辽宁师范大学生命科学学院, 大连 116029

2 辽宁师范大学 辽宁省生物技术和分子药物研发重点实验室, 大连 116029

3 大连医科大学附属第一医院放射科, 大连 116011

摘要: 乳腺癌是与环境因素密切相关的肿瘤之一, 致癌因素诱发的 DNA 损伤信号被传送到多个效应因子, 最终导致细胞坏死和癌变。其中, 共济失调性毛细血管扩张症致病基因 (Ataxia-telangiectasia mutated, *ATM*) 编码的 ATM 蛋白激酶是 DNA 损伤应答的主要调控因子, 其通过磷酸化一系列下游底物来应对 DNA 损伤, 这在抑制乳腺癌的发生发展中起到了重要的作用。*ATM* 基因突变后, 导致损伤 DNA 不能得到正确修复, 最终加速了乳腺癌的转化和增殖。随着对 *ATM* 基因结构、功能及乳腺癌易感性机制研究的深入, *ATM* 基因与乳腺癌易感性关系已引起广泛的重视。以下就 *ATM* 基因突变、多态性和甲基化等几个方面与乳腺癌易感性的关系进行了简要概述。

关键词: *ATM* 基因, 乳腺癌, 基因突变, 多态性, 甲基化

Ataxia-telangiectasia mutated gene and breast cancer susceptibility

Nan Zhang¹, Jian Che¹, Song Bai³, Zheng Wu¹, Yuying Cui¹, and Wei Zou^{1,2}

1 College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China

2 Liaoning Key Laboratories of Biotechnology and Molecular Drug Research and Development of Liaoning Normal University, Dalian 116029, China

3 First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, China

Abstract: Breast cancer is bound up with the environment. As a consequence of DNA damage induced by environmental carcinogens, a number of sophisticated sensing and transduction systems are initiated and the signal is conveyed simultaneously to multiple effectors. This process ultimately results in cancer. The protein kinase Ataxia-telangiectasia mutated (*ATM*) that encoded by *ATM* gene is the master regulator of DNA damage response. In this consecutive reaction, the protein kinase *ATM* responds to the DNA damage by phosphorylating a variety of downstream substrates, which plays an important role in the inhibition of the development of breast cancer. After *ATM* gene mutate, DNA damaged could not be accurately repaired and finally accelerates breast cancer transformation and proliferation. With the further research of *ATM* gene structure, function and breast cancer susceptibility, the extensive attention is paid to the relationship between *ATM* gene and breast cancer susceptibility. We reviewed the research advances in breast cancer susceptibility in several aspects of *ATM* gene, including mutation, polymorphism and methylation.

Keywords: *ATM* gene, breast cancer, gene mutation, polymorphism, methylation

Received: September 6, 2009; **Accepted:** November 16, 2009

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 30570225), Scientific Research Foundation of Liaoning Provincial Education Department (No. 05L206).

Corresponding author: Wei Zou. Tel: +86-411-82159360; E-mail: weizou@hotmail.com

国家自然科学基金 (No. 30570225), 辽宁省教育厅科研基金资助项目 (No. 05L206) 资助。

ATM (Ataxia-telangiectasia mutated) 是共济失调毛细血管扩张性症 (Ataxia-telangiectasia, AT) 的突变基因, 是一种肿瘤抑制基因, 最初是在 AT 病中发现的。AT 是一种罕见的常染色体隐性遗传病, 由 *AT* 基因突变所致。1995 年, 以色列遗传学家 Shiloh 等确定 AT 病为单基因遗传病, 并将此致病基因命名为 *ATM* 基因^[1]。

乳腺癌的发生是一个多阶段、多因素参与的过程。研究发现, 与乳腺癌易感性相关的基因很多, 如 *CHEK2*、*NBS1*、*RAD50*、*BRIP1*、*PALB2*、*BRCA1*、*BRCA2* 和 *ATM* 等^[2]。近年来, 对 AT 病例流行病学的调查发现, 女性 AT 患者乳腺癌发病率较高, 因而

ATM 基因与乳腺癌的关系逐渐成为研究热点之一。以下仅就 *ATM* 基因的结构和功能及与乳腺癌易感性的关系加以综述。

1 *ATM* 基因的结构和功能

1.1 *ATM* 基因结构及其编码蛋白

ATM 基因位于染色体 11q22.3, 长度为 150 kb, 具有 66 个外显子 (图 1), 第 4 外显子为第一个编码外显子。*ATM* 蛋白是 *ATM* 基因编码的一种磷酸化的大分子核磷蛋白, 含有 3056 个氨基酸, 相对分子质量为 350.6 kDa, 是磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 家族的一员^[1]。

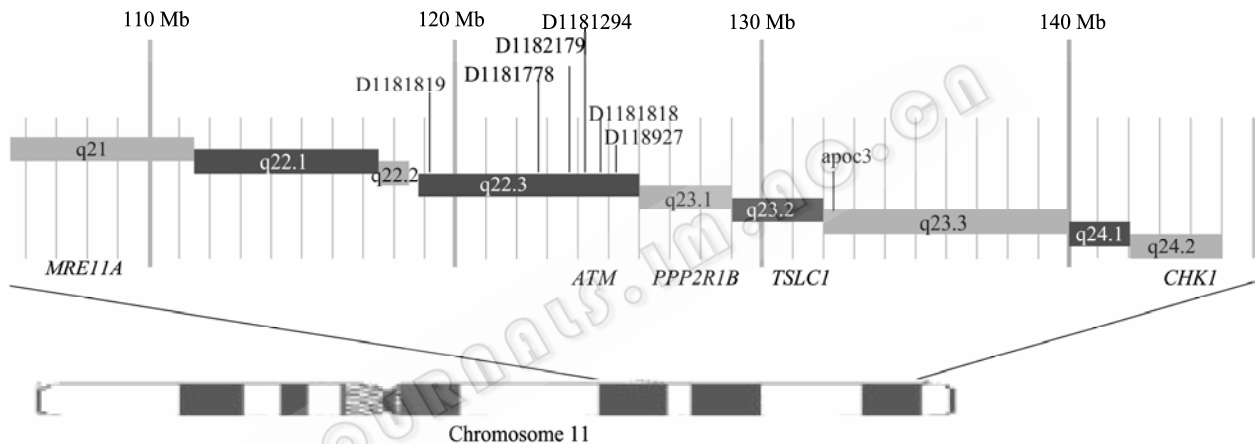


图1 *ATM* 基因在人染色体上的定位

Fig. 1 Locations of the *ATM* genes and the utilized microsatellite markers in chromosome 11q21-q24.

ATM 蛋白的 C 端包括 FRAP、ATM 和 TRAPP 区域 (又称 FATC 区域), 含有 35 个高度保守的残基。这部分区域在调节 *ATM* 激酶活性和结合其他调节蛋白上起着关键性的作用^[3]。*ATM* 蛋白的 N 端含有 HEAT 区域, 这些区域缺乏特征性的螺旋结构, 无定向特性并远离激酶功能域, 被认为是一些酶的结合区域, 故可能会影响 *ATM* 和其他蛋白的相互作用。*ATM* 中还有一些螺旋和超螺旋结构的功能域, 功能尚不明确^[4]。

ATM 是一种主要在细胞核内表达的蛋白激酶, 也有研究指出其在不同组织和细胞中有不同的定位: 在增殖细胞中, *ATM* 主要在核内表达, 而在卵母细胞、大脑神经元等分化细胞中 *ATM* 则主要在胞浆内表达^[5]。

1.2 *ATM* 基因与临床表现

AT 患者临床表现为渐进性小脑共济失调、皮肤和眼部瘤样小血管扩张、染色体不稳定以及射线敏感性增高等。临床上, 有大约 1/3 的 AT 病人患癌症, 大都为淋巴样恶性肿瘤, 包括白血病、淋巴瘤和乳腺癌等^[6]。新近的临床研究表明, *ATM* 基因突变还可能是骨髓癌的重要致病原因之一^[7]。

1.3 *ATM* 基因的功能

ATM 在细胞信号转导通路中主要参与激活细胞周期检验点、调控 DNA 的损伤修复及调控细胞凋亡等^[8]。

Bakkenist 等^[9]研究发现, 未受辐射的细胞内, *ATM* 以二聚体或者更高级的多聚体形式保持失活状态, 其激酶域束缚在丝氨酸 1981 位点所包绕的一个

区域内,当 DNA 双链断裂 (DSBs) 发生后,通过丝氨酸 1981 位分子间磷酸化和 Tip60 乙酰转移酶的乙酰化而形成有活性的单体激酶。研究显示 MRN (Mre11、Rad50、Nbs1) 复合物是 ATM 的激活的主要调控因子。其中, Mre11 具有核酸外切酶活性,而 Rad50 和 Nbs1 的作用是激活 Mre11 的酶活性^[10]。MRN 复合物可以感应断裂的产生,并与其他解旋酶及核酸外切酶切割 DNA 断裂端的 5'末端,产生一段 3'粘端的单链 DNA,这段寡核苷酸刺激 ATM 的构象发生改变,从而形成有活性的单体激酶^[11]。最近也有研究表明, ATM 是被单链 DNA 结合蛋白 hSSB1 所激活。DNA 断裂端被 MRN 切割成寡聚单链 DNA 后与 hSSB1 结合,而 hSSB1 蛋白在单链 DNA 上富集才能激活 ATM 激酶的活性。在 hSSB1 突变的 T117E 细胞中,不能检测到 ATM 的磷酸化,同时,基因组的稳定性也被破坏^[12]。

ATM 作为起始调控 DNA 损伤反应信号转导网络的核心分子,感受 DNA 损伤位点,并使其下游多种蛋白磷酸化,例如 Chk2、p53、c-Abl 和 RPA 等,它们参与细胞周期检验点使受损的 DNA 停滞于细胞周期检测点并对其进行修复^[13]。Chk2 是 ATM 下游的重要蛋白激酶,ATM 激活后,磷酸化位于 N 末端的 68 位苏氨酸而活化 Chk2。Chk2 激酶在 G1/S、S 和 G2/M 期均可被激活,通过磷酸酶 Cdc25 家族的活化而抑制不同细胞周期蛋白 Cyclin 与 CDK 复合物的磷酸化作用,从而阻滞细胞周期中各个时期的进程^[14]。

DNA 双链断裂 (DSBs) 是 DNA 损伤类型中较为严重的一种,细胞应对 DSBs 主要有两种类型:同源重组修复 (Homologous recombination repair, HR) 和非同源末端连接 (Non-homologous end joining, NHEJ)。ATM 主要介导 HR 修复通路。ATM 基因缺陷型的小鼠表现明显的 HR 修复障碍^[15]。咖啡因抑制 ATM 后会显著降低 DSB 诱导的 HR 通路的修复途径^[16]。

ATM 可以磷酸化 p53,并通过其下游的 Bcl-2 介导细胞凋亡。p53 是一种抑癌蛋白,在细胞凋亡的调控中起重要的作用。p53 可以诱导 DNA 损伤细

胞进入 G1 期,抑制细胞增殖,直到修复结束。如果修复失败, p53 则诱导细胞凋亡^[17]。研究表明,乳腺癌细胞中,ATM 可以磷酸化 p14^{ARF}。p14^{ARF} 是 p53 介导抑癌机制中的关键因子,其表达可使 p53 的 15 位丝氨酸磷酸化,激活 p53 活性,进而抑制乳腺癌细胞的增殖。RNAi 干扰 ATM 表达后, p14^{ARF} 诱导的 p53 磷酸化程度显著降低,表明 ATM 通过 p14^{ARF} 调节 p53 活性^[18]。

综上所述, ATM 对细胞信号转导的调控有两方面的作用: 1) 启动细胞周期检验点并介导其修复,使细胞恢复生理功能; 2) 启动细胞凋亡进程,使细胞免于恶性转化。因此 ATM 基因功能的改变或缺失后,致使细胞周期检测点和 DNA 损伤修复的异常、凋亡敏感性增加、染色体不稳定及辐射敏感性增强,从而导致癌症易感性增加。

2 ATM 基因与乳腺癌

2.1 ATM 在乳腺组织中的表达

乳腺结构中有两种不同的上皮细胞,其中一种为分泌导管上皮细胞,另一种为收缩性的肌上皮细胞。在正常乳腺组织中, ATM 主要表达于乳腺导管上皮细胞中,而在肌上皮细胞中几乎检测不到 ATM 的表达。但在硬化性乳腺病中, ATM 在乳腺导管上皮细胞和肌上皮细胞中均有表达。此外在 30%~50% 的扩散性乳腺肿瘤上皮细胞中, ATM 表达减少或缺失^[19]。

ATM 蛋白的表达水平在乳腺癌中低于正常组织,可能是因为 ATM 基因启动子区域发生了异常的甲基化^[20]。另外, ATM 的表达下调也可能与 DNA-PK 的表达下调有关。Peng 等^[21]在一些细胞中用 RNAi 技术降低 DNA-PK 的表达,结果发现, ATM 的 mRNA 表达水平降低,从而导致 ATM 蛋白表达下调,但其具体机制尚未清楚。本研究室同样利用 RNAi 技术,降低 MCF10F 细胞株中 DNA-PK 的表达,结果发现, ATM 蛋白的表达水平明显低于对照组^[22]。

2.2 ATM 基因和乳腺癌的易感性

自 ATM 基因被克隆出时,研究者通过分子水平的研究后便指出, ATM 基因有可能增加乳腺癌的易感性^[1]。尽管不是所有的后续研究都能确定 ATM 基

因和乳腺癌的关系^[23],但在 AT 患者家族中乳腺癌的确有较高的患病风险。Thompson 等^[24]发现在 AT 患者家族中,乳腺癌的发病率是正常人群的 2.23 倍。Olsen 等^[25]对 75 例 AT 患者及其血缘亲属进行研究,发现乳腺癌的发病率较高地集中在生育 AT 病患儿的母亲中,而在其他女性亲属中并不明显。他们提出这种现象可能的原因是生育一个 AT 患儿会增加其母亲的乳腺癌患病风险。因此在乳腺癌的研究中,ATM 一直作为热点研究基因。

2.2.1 ATM 基因突变和乳腺癌

近年来,许多研究组报道了关于 ATM 基因突变与乳腺癌易感性的关系。

Renwick 等^[26]在家族性乳腺癌中对 ATM 基因和乳腺癌的关系进行研究,排除了 CHEK2、BRCA1 和 BRCA2 乳腺癌易感基因突变的影响,在 443 例乳腺癌患者中检测出 12 种 ATM 基因突变类型,而在 521 例对照组中只有 2 种突变类型,证明 ATM 是乳腺癌的易感基因,并指出 ATM 基因突变将会提高乳腺癌的发生率。Brunet 等^[27]在 43 例未发生 BRCA1 和 BRCA2 基因突变的乳腺癌中研究了 ATM 基因的突变情况,结果发现了 34 种 ATM 基因突变类型。通过计算机模拟分析,其中有些突变类型会影响外显子的剪接和 ATM 蛋白的功能。因此,增加了乳腺癌的易感性。Paglia 等^[28]用增强型错配突变分析法(EMMA)对 122 例家族性乳腺癌患者基因进行分析,筛选出了 28 种 ATM 基因的突变类型。其中 c.7789G>T 的突变率在患者中为 6.65%,而在对照组中仅为 0.3%~0.6%。Tavtigian 等^[29]研究发现,一些低频的 ATM 基因错义置换会增加乳腺癌的易感性。他们认为,这些错义置换破坏了 ATM 蛋白中 FAT、激酶和 FATC 结构域的比例,致使 ATM 蛋白功能改变,从而增加乳腺癌易感性。这项研究采用元分析法,重新统计了曾经发表的 ATM 基因突变与乳腺癌的相关性的数据结果,并在此基础上增加了一些病例与对照组的研究,得出的结论解决了单一实验条件下对低频错义置换基因结果统计的局限性问题^[30]。

除了分析整个 ATM 基因编码区之外,许多研究小组在乳腺癌病例对照组中分析单个 ATM 基因变异

频率。Stredrick 等^[31]曾发现,乳腺癌中 ATM 基因 Ser49Cys 错义突变率较高,尤其在 50 岁以下的女性患者中多见。美国和波兰的两个研究团队也得到了相似的结果。Bogdanova 等^[32]研究了东欧一些国家乳腺癌的病例,发现许多患者 ATM 基因 E1978X 位点发生了突变。进一步分析表明,该位点的突变患乳腺癌的风险比对照组高约 5 倍。这些结论均支持了 ATM 是乳腺癌的易感基因。

当然不是所有的研究都指向 ATM 基因突变会增加乳腺癌的易感性。Dombernowsky 等^[33]在研究 ATM Ser49Cys 基因的突变与癌症的关系时指出,该位点的基因突变可能会增加其他类型癌症的患病风险,但并不能增加患乳腺癌的风险。

2.2.2 ATM 基因多态性和乳腺癌

基因多态性通常是指单核苷酸多态性 (SNP) 分析后,等位基因频率 (MAF) 大于 5% 的基因突变。乳腺癌病例除了与 BRCA1、BRCA2 等易感基因的突变有关之外,低外显率的易感基因如代谢酶基因、DNA 损伤修复基因、细胞因子以及抑癌基因等在乳腺癌的发生、发展、治疗与预后也起到了重要的作用^[34-35]。

Angele 等^[36]的临床研究发现 ATMex39 5557G>A(D1853N) 可增加由射线诱导的乳腺癌的发病机率。Heikkinen 等^[37]对 ATMex39 5557G>A(D1853N) 及其顺位基因 ATMivs38-8T>C 多态性和乳腺癌的关系进行研究时,推测这种复杂的等位现象在一定程度上会影响外显子 39 的正确剪接。虽然没有发生异常的转录激活现象,但这样的杂合子患者淋巴母细胞中的 ATM 蛋白表达水平比未携带杂合子的人低,而 ATM 蛋白的低表达会直接影响 DNA 的损伤应答途径,继而影响基因组的稳定性。因此,他们认为 5557G>A 和 ivs38-8T>C 对乳腺癌的发病率有一定影响。Tommiska 等^[38]继续研究 ATMivs38-8T>C 和 ATMex395557G>A(D1853N) 的多态性与乳腺癌的关系时发现,乳腺癌患者中 ivs38-8T>C 突变基因的携带者要略高于对照组(携带组为 8.1%,对照组为 5.6%)。这些都说明,ATMivs38-8T>C 和 ATMex395557G>A(D1853N) 的多态性与乳腺癌的易感性相关。

Lee 等^[39]通过测序确定了 *ATM* 基因中 5 个多态性位点 (-5144A>T、IVS21+1049T>C、IVS33-55T>C、IVS34+60G>A、3393T>G)。他们认为这 5 个位于非编码区域的多态性位点, 会在不同程度上影响外显子 11 的正确连接, 导致氨基酸残基 419 位的截短。用 Bayesian 方法评价基因库中的单倍型, 发现病例组与对照组的单倍型频率明显不同。而且进一步研究发现 *ATM* 基因中的 IVS21+1049TC/CC、IVS34+60GA/AA、3393TG/GG 基因型与绝经前乳腺癌妇女患病风险的增加有关。

Ho 等^[40]研究了 131 例乳腺癌患者, 检测出 51 例患者存在 *ATM* 多态性基因型。与其余的 80 例患者相比, *ATM* 多态性基因型患者表现出更高的辐射耐受性。结果表明 *ATM* 基因多态性可能会影响治疗乳腺癌的辐射敏感性。

2.2.3 *ATM* 基因甲基化和乳腺癌

随着表遗传学 (Epigenetics) 的发展, 近年来的研究发现, DNA 甲基化的机制与乳腺癌的发生、发展密切相关, DNA 甲基化状态的改变导致基因结构和功能的异常。研究表明, DNA 启动子区域甲基化对基因表达有抑制作用, 经常导致相关疾病和肿瘤的发生^[41]。*ATM* 基因启动子区域的甲基化与许多癌症相关。Kim 等^[42]发现, 射线辐射引起的 *ATM* 基因启动子区域甲基化与直肠癌的易感性相关。Ai 等^[43]在研究中发现, 头颈扁平上皮癌中 *ATM* 基因启动子甲基化频率较高。

由于甲基化是可逆的过程, 可以通过去甲基化恢复基因的表达和功能。因而 *ATM* 基因甲基化与乳腺癌易感性已逐渐成为研究热点。

Flanagan 等^[44]对双侧乳腺癌患者外周血液 DNA 中 *ATM* 基因启动子区域的甲基化进行了研究, 他们在英国乳腺癌研究中心的种族和年龄匹配的 190 个病例对照组 (双侧乳腺癌-未患乳腺癌) 中, 提取外周血液的 DNA, 通过焦磷酸测序研究了 *ATM* 基因启动子区域的甲基化, 发现患者血液中该区域甲基化程度高于对照组。并且在启动子区域的甲基化可变速点发生频率较高。这项研究结果提示乳腺癌患者的外周血液中存在 *ATM* 基因启动子区域甲基化现

象。提示, 外周血液中 *ATM* 基因去甲基化可能成为治疗乳腺癌的新型方法之一。

但是乳腺癌中 *ATM* 基因启动子区域的甲基化还是存在争议的。Brandes 等^[45]通过使用特异 MSP 引物设计的 PCR 方法检测了乳腺癌中 *ATM* 基因启动子区域的甲基化。他们所设计的引物与 Kim 等和 Ai 等设计的不同。原因是 Kim 和 Ai 设计的引物中缺少了非 CpG 岛的胞嘧啶, 因而对实验结果有一定的影响。通过这样的特殊引物设计 Brandes 认为至少在他们所检验的 43 例乳腺癌中没有发现 *ATM* 基因启动子区域的甲基化。

3 展望

ATM 基因作为 DNA 修复通路的修复基因之一, 在继 *BRCA1*、*BRCA2*、*TP53* 和 *CHEK2* 之后被认为是乳腺癌易感基因之一, 其通过相应的信号转导通路, 介导特定的分子间相互作用, 继而激活或抑制相应的细胞因子。虽然目前关于 *ATM* 基因与乳腺癌易感性的研究已经取得了一定的进展, 但关于其确切的关系, 还存在一定的争议, 需在各种生理及病理条件下进行更深入的研究。因此, 对 *ATM* 基因突变、甲基化、多态性等诸方面与乳腺癌易感性的关系进行进一步了解与研究具有重要意义, 并为乳腺癌的预防和治疗提供新的思路和理论基础。

目前, 如何提高肿瘤细胞的放射敏感性, 是人们致力解决的问题。“基因联合放射治疗”为恶性肿瘤的放射治疗提供了新的思路。*ATM* 基因突变后的放射敏感性是其特点之一, 但如果在乳腺癌的治疗中用人工方法造成类似的 *ATM* 基因突变或抑制 *ATM* 基因功能来增加患者的放疗敏感性, 可能成为乳腺癌治疗的一个良好策略。

基因甲基化在乳腺癌诊断中应用的最大问题是确定候选靶基因。选取最具有乳腺癌代表性的基因是该项技术是否能得到充分应用的最大门槛。尽管目前关于 *ATM* 基因甲基化与乳腺癌易感性的研究还处于发展阶段, 但随着表遗传学研究的深入, 相信 *ATM* 基因甲基化在乳腺癌的诊断中一定会有可观的应用前景。

REFERENCES

- [1] Shiloh Y, Savitsky K, Bar Shira A, *et al.* A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science*, 1995, **268**(5218): 1749–1753.
- [2] Walsh T, King M. Ten genes for inherited breast cancer. *Cancer Cell*, 2007, **11**(2): 103–105.
- [3] Jiang X, Sun Y, Chen S, *et al.* The FATC domains of PIKK proteins are functionally equivalent and participate in the Tip60-dependent activation of DNA-PKcs and ATM. *J Biol Chem*, 2006, **281**(23): 15741–15746.
- [4] Ahmed M, Rahman N. ATM and breast cancer susceptibility. *Oncogene*, 2006, **25**(43): 5906–5911.
- [5] Oka A, Takashima S. Expression of the ataxia-telangiectasia gene (ATM) product in human cerebellar neurons during development. *Neurosci Lett*, 1998, **252**(3): 195–198.
- [6] Sommer SS, Buzin CH, Jung M, *et al.* Elevated frequency of ATM gene missense mutations in breast cancer relative to ethnically matched controls. *Cancer Genet Cytogenet*, 2002, **134**(1): 25–32.
- [7] Austen B, Barone G, Reiman A, *et al.* Pathogenic ATM mutations occur rarely in a subset of multiple myeloma patients. *Br J Haematol*, 2008, **142**(6): 925–933.
- [8] Lazzaro F, Giannattasio M, Puddu F, *et al.* Checkpoint mechanisms at the intersection between DNA damage and repair. *DNA Repair*, 2009, **8**(9): 1055–1067.
- [9] Bakkenist CJ, Kastan MB. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature*, 2003, **421**(6922): 499–506.
- [10] Buis J, Wu Y, Deng Y, *et al.* Mre11 nuclease activity has essential roles in DNA repair and genomic stability distinct from ATM activation. *Cell*, 2008, **135**(1): 85–96.
- [11] Abraham RT. Cell cycle checkpoint signaling through the ATM and ATR kinases. *Genes Dev*, 2001, **15**(17): 2177–2196.
- [12] Richard DJ, Bolderson E, Cubeddu L, *et al.* Single-stranded DNA-binding protein hSSB1 is critical for genomic stability. *Nature*, 2008, **453**(7195): 677–681.
- [13] Eastman A. Cell cycle checkpoints and their impact on anticancer therapeutic strategies. *J Cell Biochem*, 2004, **91**(2): 223–231.
- [14] Falck J, Mailand N, Syljuåsen RG, *et al.* The ATM-Chk2-Cdc25A checkpoint pathway guards against radioresistant DNA synthesis. *Nature*, 2001, **410**(6830): 842–847.
- [15] Barchi M, Mahadevaiah S, Di Giacomo M, *et al.* Surveillance of different recombination defects in mouse spermatocytes yields distinct responses despite elimination at an identical developmental stage. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(16): 7203–7215.
- [16] Wang H, Boecker W, Guan J, *et al.* Caffeine inhibits homology-directed repair of I-SceI-induced DNA double-strand breaks. *Oncogene*, 2004, **23**(3): 824–834.
- [17] Jiang H, Reinhardt HC, Bartkova J, *et al.* The combined status of ATM and p53 link tumor development with therapeutic response. *Genes Dev*, 2009, **23**(16): 1895–1909.
- [18] Li Y, Wu D, Chen B, *et al.* ATM activity contributes to the tumor-suppressing functions of p14ARF. *Oncogene*, 2004, **23**(44): 7355–7365.
- [19] Janet Hall. The Ataxia-telangiectasia mutated gene and breast cancer: gene expression profiles and sequence variants. *Cancer Lett*, 2005, **227**(2): 105–114.
- [20] Vo QN, Kim WJ, Cvitanovic L, *et al.* The ATM gene is a target for epigenetic silencing in locally advanced breast cancer. *Oncogene*, 2004, **23**(58): 9432–9437.
- [21] Peng Y, Woods RG, Beamish H, *et al.* Deficiency in the catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase causes down-regulation of ATM. *Cancer Res*, 2005, **65**(5): 1670–1677.
- [22] Zou W, Che J, Wang CJ, *et al.* DNA-PKcs silencing inhibit the DNA repair induced by low dose radiation on human breast epithelial cells. *Chin J Biotech*, 2009, **25**(5): 727–732.
- 邹伟, 车鉴, 王崇杰, 等. DNA-PKcs 基因沉默抑制人乳腺上皮细胞对低剂量辐射损伤的修复. *生物工程学报*, 2009, **25**(5): 727–732
- [23] Broeks A, Urbanus J, Floore A, *et al.* ATM-heterozygous germline mutations contribute to breast cancer-susceptibility. *Am J Hum Genet*, 2000, **66**(2): 494–500.
- [24] Thompson D, Duedal S, Kirner J, *et al.* Cancer risks and mortality in heterozygous ATM mutation carriers. *J Natl Cancer Inst*, 2005, **97**(11): 813–822.
- [25] Olsen JH, Hahnemann JM, Børresen-Dale AL, *et al.* Breast and other cancers in 1445 blood relatives of 75 Nordic patients with ataxia telangiectasia. *Br J Cancer*, 2005, **93**(2): 260–265.
- [26] Renwick A, Thompson D, Seal S, *et al.* ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet*, 2006, **38**(8): 873–875.
- [27] Brunet J, Gutiérrez-Enríquez S, Torres A, *et al.* ATM germline mutations in Spanish early-onset breast cancer patients negative for BRCA1/BRCA2 mutations. *Clin Genet*, 2008, **73**(5): 465–473.

- [28] Paglia LL, Laugé A, Weber J, *et al.* ATM germline mutations in women with familial breast cancer and a relative with haematological malignancy. *Breast Cancer Res Treat*, Doi: 10.1007/s10549-009-0396-z.
- [29] Tavtigian SV, Oefner PJ, Babikyan D, *et al.* Rare, evolutionarily unlikely missense substitutions in ATM confer increased risk of breast cancer. *Am J Hum Genet*, 2009, **85**(4):427–446.
- [30] Milne RL. Variants in the ATM gene and breast cancer susceptibility. *Genome Med*, 2009, **1**(1): 12.
- [31] Stredrick DL, Garcia-Closas M, Pineda MA, *et al.* The ATM missense mutation p.Ser49CysG and the risk of breast cancer. *Hum Mutat*, 2006, **27**(6): 538–544.
- [32] Bogdanova N, Cybulski C, Bermisheva M, *et al.* A nonsense mutation (E1978X) in the ATM gene is associated with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, **118**(1): 207–211.
- [33] Dombernowsky SL, Weischer M, Allin KH, *et al.* Risk of cancer by ATM missense mutations in the general population. *J Clin Oncol*, 2008, **26**(18): 3057–3062.
- [34] Han DF, Zhou X, Hu MB, *et al.* Polymorphisms of estrogen-metabolizing genes and breast cancer risk: a multigenic study. *Chin Med J*, 2005, **118**(18): 1507–1516.
- [35] Försti A, Jin Q, Altieri A, *et al.* Polymorphisms in the KDR and POSTN genes: association with breast cancer susceptibility and prognosis. *Breast Cancer Res Treat*, 2007, **101**(1): 83–93.
- [36] Angèle S, Romestaing P, Moullan N, *et al.* ATM haplotypes and cellular response to DNA damage: association with breast cancer risk and clinical radiosensitivity. *Cancer Res*, 2003, **63**(24): 8717–8725.
- [37] Heikkinen K, Rapakko K, Karppinen SM, *et al.* Association of common ATM polymorphism with bilateral breast cancer. *Int J Cancer*, 2005, **116**(1): 69–72.
- [38] Tommiska J, Jansen L, Kilpivaara O, *et al.* ATM variants and cancer risk in breast cancer patients from Southern Finland. *BMC Cancer*, 2006, **6**(16): 209–217.
- [39] Lee KM, Choi JY, Park SK, *et al.* Genetic polymorphisms of ataxia telangiectasia mutated and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, **14**(4): 821–825.
- [40] Ho AY, Fan G, Atencio DP, *et al.* Possession of ATM sequence variants as predictor for late normal tissue responses in breast cancer patients treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007, **69**(3): 677–684.
- [41] Zilberman D, Gehring M, Tran RK, *et al.* Genome-wide analysis of *Arabidopsis thaliana* DNA methylation uncovers an interdependence between methylation and transcription. *Nat Genet*, 2007, **39**(1): 61–69.
- [42] Kim WJ, Vo QN, Shrivastav M, *et al.* Aberrant methylation of the ATM promoter correlates with increased radiosensitivity in a human colorectal tumor cell line. *Oncogene*, 2002, **21**(24): 3864–3871.
- [43] Ai L, Vo QN, Zuo C, *et al.* Ataxia-telangiectasia-mutated (ATM) gene in head and neck squamous cell carcinoma: promoter hypermethylation with clinical correlation in 100 cases. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004, **13**(1): 150–156.
- [44] Flanagan JM, Munoz-Alegre M, Henderson S, *et al.* Gene body hypermethylation of ATM in peripheral blood DNA of bilateral breast cancer patients. *Hum Mol Genet*, 2009, **18**(7): 1332–1342.
- [45] Brandes JC, Carraway H, Herman JG, *et al.* Optimal primer design using the novel primer design program: MSP primer provides accurate methylation analysis of the ATM promoter. *Oncogene*, 2007, **26**(42): 6229–6237.