肿瘤研究

前沿

第6卷

樊代明 主编

第四军医大学出版社

673
10
5

肿瘤研究前沿

第6卷

樊代明 主编

第四军医大学出版社·西安

内容简介

本书是全面介绍肿瘤研究进展的系列著作——《肿瘤研究前沿》的第6卷，主要介绍了肿瘤耐药的相关知识。其中包含了肿瘤耐药机制，并从细胞凋亡通路、细胞周期通路以及细胞黏附通路这几个方面详细、系统地介绍了当前肿瘤研究的进展和前沿。本书作为相关专业研究人员的参考用书，也可供高校、医院的相关人员阅读使用。

图书在版编目(CIP)数据

肿瘤研究前沿（第6卷）/樊代明主编．—西安：第四军医大学出版社，2007．7

ISBN 978－7－81086－401－5

Ⅰ．肿…　Ⅱ．樊…　Ⅲ．肿瘤－研究　Ⅳ．R73

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第103466号

肿瘤研究前沿(第6卷)

主　　编　樊代明
责任编辑　富　明
出版发行　第四军医大学出版社
地　　址　西安市长乐西路17号(邮编:710032)
电　　话　029－84776765
传　　真　029－84776764
网　　址　http://press.fmmu.sn.cn
印　　刷　西安永惠印务有限公司
版　　次　2006年12月第1版　2006年12月第1次印刷
开　　本　850×1168　1/32
印　　张　7.75
字　　数　160千字
书　　号　ISBN 978－7－81086－401－5/R·292
定　　价　36.00元

(版权所有　盗版必究)

编委会

主　　编：樊代明

执行主编：潘阳林

参编人员：尹　芳　王　钧　卢媛媛　白飞虎
刘志国　孙　力　李晓华　李婷婷
杜昱蕾　杨利萍　邹　学　陈　瑜
罗贯虹　柳婧美　贺　莉　赵丽娜
高　娟　谢华红　韩　霜　樊　蕊

主 编 简 介

樊代明，1953年出生，重庆市人。中国工程院院士。现任第四军医大学校长，西京医院消化内科主任、教授、主任医师，肿瘤生物学国家重点实验室主任，国家临床药理基地主任，中华消化学会主委，中华内科学会副主委，国家教育部长江学者计划特聘教授，西安市科协主席，陕西省科协常委。担任25家杂志的编委、主编或副主编。目前担任北京大学等60余所大学的客座教授或名誉教授。

长期从事消化系统疾病的基础及临床研究，特别是在胃癌的研究中作出一定成绩，先后承担国家863、973、国家攻关、国家杰出青年基金、国家自然科学基金等课题。获国家科技进步二、三等奖各1项，国家发明三等奖1项，主编专著7本。发表论文211篇，其中在国外杂志发表论文143余篇。

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

序

肿瘤是严重危害人类健康及生命的疾病。尽管国内外已投入大量的人力和财力进行研究,发表的论著也有成千上万,但至今对其病因和发病机制尚不清楚,多数肿瘤在临床诊断、治疗及预防方面也无重大突破。造成这种现状的根本原因除了肿瘤本身的复杂性外,还与各专业的研究者之间沟通较少、“各行其是”,对肿瘤研究的全貌及进展了解不够、顾此失彼,以及各专业在理论及技术上的协作欠佳有关。要解决这个问题,需要有人把各专业对肿瘤研究的重大进展及时进行整理总结并加以评述,从中找出相互间研究的生长点及解决办法,然后适时地介绍给正在或将要从事肿瘤研究的同事。《肿瘤研究前沿》将会适应这种需求,结合著者自己的科研成果,将目前世界上肿瘤研究的最新进展尽力以最通俗的语言介绍给同行及相关研究人员,每年一卷,各卷介绍的内容有所侧重,连续下去,坚持数年,必有好处。如无特殊情况,直至肿瘤被攻克之日。

本书像专著,因为它含有著者的研究成果;它像综述,因为它介绍世界文献的最新进展;它像述评,因为它给出著者的观点及见解;它也像科普读物,因为它力求以最普通的文字面对读者。它以包容性、先进性、焦点争论为特色。这就是它既像什么又不完全是什么的缘故,这就是肿瘤研究的现状,也就是本书追逐的肿瘤研究的前沿。

樊代明

2001.8

目 录

第一章 肿瘤耐药的机制及进展 ……………………（1）
一、经典的肿瘤耐药机制 ………………………………（2）
二、肿瘤干细胞和耐药 …………………………………（3）
三、肿瘤耐药的细胞间传递 ……………………………（5）
四、肿瘤耐药的分子网络 ………………………………（7）
五、网络生物学的进展给肿瘤耐药研究带来的启示 …（8）
参考文献 ………………………………………………（11）

第二章 细胞凋亡通路与肿瘤耐药 ……………………（12）
一、细胞凋亡及其信号通路 ……………………………（12）
二、TNF 家族相关分子与肿瘤耐药 ……………………（24）
三、Bcl-2 家族分子与肿瘤耐药…………………………（44）
（一）Bcl-2 基因家族促凋亡分子 Bax，Bak
和 BAD 简介 ………………………………………（44）
（二）抑制凋亡分子 Bcl-2，Bcl-xL，Bcl-3 ……………（52）
四、CASP 家族分子与肿瘤耐药 ………………………（59）
五、其他凋亡相关分子与肿瘤耐药 ……………………（66）
（一）Fas 相关死亡结构域蛋白 ………………………（67）
（二）IAP 家族 …………………………………………（73）

(三)COX－2 …………………………………………………………… (88)
参考文献 ………………………………………………………………… (98)

第三章　细胞周期通路与肿瘤耐药 ……………………………… (126)
一、细胞周期通路简介 ………………………………………………… (126)
(一)细胞周期通路 ………………………………………………… (126)
(二)细胞周期检测点 ……………………………………………… (132)
二、Cyclin 家族分子与肿瘤耐药 ……………………………………… (140)
三、Cyclin 依赖性激酶相关分子与肿瘤耐药 ………………………… (147)
(一)p16INK4a …………………………………………………………… (148)
(二)p21WAF1 …………………………………………………………… (150)
(三)p27KIP1 …………………………………………………………… (153)
四、其他细胞周期相关分子与肿瘤耐药 ……………………………… (157)
(一)PCNA ……………………………………………………………… (157)
(二)ATR ………………………………………………………………… (159)
(三)MAD2 ……………………………………………………………… (161)
参考文献 ………………………………………………………………… (176)

第四章　细胞黏附通路与肿瘤耐药 ……………………………… (195)
一、细胞黏附介导的肿瘤耐药 ………………………………………… (195)
(一)细胞黏附与黏附介导的肿瘤耐药 …………………………… (195)
(二)整合素与肿瘤耐药 …………………………………………… (199)
二、细胞黏附通路相关分子与肿瘤耐药 ……………………………… (205)
(一)Caveolin …………………………………………………………… (205)
(二)Src ………………………………………………………………… (212)

(三)FAK ………………………………………………… (219)
参考文献 ………………………………………………………… (226)

缩略词表 ……………………………………………………… (233)

第一章

肿瘤耐药的机制及进展

在过去的20年中,肿瘤的药物治疗取得了长足的进展,30多种全新的化疗药物被FDA批准上市。这些药物能够抑制肿瘤的生长,减少肿瘤的体积,短期内显示出良好的临床疗效。然而,临床治疗的短期反应性和患者的远期生存率之间并没有好的相关性。大规模的随访研究结果表明,肿瘤患者的远期生存率并没有因为化疗药物的使用而得到显著提高。

目前已经认识到,耐药是肿瘤化疗失败的根本原因,克服耐药是提高肿瘤化疗效果的关键。肿瘤细胞产生耐药的机制十分复杂,包括药物靶点的突变或过表达、药物的失活、药物细胞内分布的改变、药物被细胞清除和细胞自我修复能力的增强等。经过化疗后,存活下来的肿瘤细胞往往会耐受多种结构和作用靶点完全不同的药物,这使得肿瘤的药物治疗变得更加棘手。研究人员曾经开发出了多种化疗增敏剂来逆转肿瘤的耐药,如维拉帕米(异搏定)、环孢素等,这些药物能够在一定程度上恢复肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,然而,这些药物严重的毒副作用限制了它们在临床上的应用。近20年来的研究表明,肿瘤耐药的产生有其分子基础,而研究肿瘤细胞产生耐药的分子机制将有助于从根本上克服肿瘤的耐药、提高现有化疗药物治疗的效果和开发新型的化疗药物。在近年的研究中,肿瘤耐药的分子机制研究取得了长足的进展。

一、经典的肿瘤耐药机制

自从1976年Ling等发现第一个耐药相关蛋白P-gp以及1986年其基因mdr1被成功克隆以来，肿瘤耐药的相关研究进展很快。近年来的研究表明，除了P-gp之外，ABC转运蛋白超家族中的多个分子、细胞解毒系统、凋亡相关分子和DNA损伤修复相关分子陆续被发现与肿瘤的耐药有关。

目前认为，肿瘤细胞耐药的产生与以下因素有关：①发生在细胞膜水平的化疗药物摄取减少和外排增多，引起细胞内药物的绝对浓度减低，如由P糖蛋白(P-glycoprotein，P-gp)引起的耐药，P-gp能将化疗药物泵出细胞外，降低细胞内化疗药物的有效浓度。②发生在细胞质和细胞器水平的药物亚细胞分布的改变，使药物无法接近其作用靶点，引起药物有效浓度的降低，如由多药耐药相关蛋白(multidrug resistance associated protein，MRP)引起的耐药，MRP不仅对药物有外泵作用，还可以使药物局限在胞浆内，减少药物与靶分子的结合。③肺耐药相关蛋白(lung resistance related protein，LRP)对化疗药物有胞吐作用，它能够将进入胞核的药物转运至胞浆，然后使胞浆药物进入运输系统进而通过胞吐机制排出胞外。④乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein，BCRP)对化疗药物的外排作用。⑤细胞解毒系统功能加强，使药物迅速灭活，如与GST有关的耐药，GST主要通过各种不同的催化过程使化疗药物失活，从而导致药物对肿瘤细胞DNA的损伤降低，GST与药物耦联后使药物更易被转运出胞外。⑥药物靶点在质和量上的改变，主要是拓扑异构酶Ⅱ表达降低，且发生点突变，活性下降，减弱了以此酶为靶点的药物的细胞毒性。⑦PKC活性升高，促进P-gp及拓扑异构酶Ⅱ的磷酸化。⑧抗凋亡基因Bcl-2表达增

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

高及凋亡基因 Fas、Bax 等的表达降低;DNA 修复系统功能加强,使药物引起的肿瘤细胞 DNA 损伤得以及时修复。⑨肿瘤细胞生存的内外环境发生改变,如 pH 值、温度及缺氧等。⑩肿瘤细胞因黏附而产生耐药,如肿瘤细胞通过整合素等分子黏附到细胞外基质上,能够抵抗药物对细胞的攻击。

上述是一些经典的耐药相关分子和耐药机制,上述内容在先前的几本专著中有详细介绍。然而研究发现,仅仅是上述的耐药分子还不能够完全解释肿瘤的耐药现象,而这些分子在细胞内也不是孤立地发挥作用,肿瘤耐药往往是肿瘤微环境的肿瘤细胞的内在变化、肿瘤细胞间相互作用以及肿瘤细胞和细胞外基质成分相互作用导致一系列细胞内外信号通路改变而产生的复杂结果。

二、肿瘤干细胞和耐药

传统的观点认为,肿瘤耐药的发生与肿瘤细胞群中少数细胞获得遗传学的改变有关,这些有遗传改变的细胞在药物处理的情况下有选择优势,它们的选择性扩增导致了肿瘤耐药细胞的产生。然而,新近发展起来的肿瘤干细胞理论认为:肿瘤耐药与肿瘤细胞中存在的少量肿瘤干细胞有关。

实体瘤中肿瘤干细胞的发现是近年来肿瘤研究中的重要事件,它改变了我们对化疗的观念。肿瘤干细胞的来源可能有两方面,它可以起源于正常的干细胞,也可以起源于重新获得自我更新能力的已分化细胞。目前已在多种肿瘤组织中发现了具有干细胞特性的肿瘤细胞,这为肿瘤细胞的干细胞起源假说提供了有力的佐证。

急性髓样白血病细胞中有 0.1% ~ 1% 的细胞具有白血病干细胞样的活性,在这些白血病干细胞上有多种正常造血干细胞的

表面标志物。在畸胎瘤组织也存在干细胞样细胞,小鼠的畸胎瘤干细胞样细胞能够发育成一个正常的小鼠。实体瘤的肿瘤干细胞往往表达器官特异性的标志分子,乳腺癌的肿瘤干细胞表达 $CD44^{+}CD24^{-/low}Lin^{-}$。还有研究表明,乳腺癌干细胞上能表达多种与细胞发育密切相关的 Wnt 家族分子,而 CD133 是中枢神经系统肿瘤干细胞的表面标志物。最近的研究发现,CD133 阳性的结肠癌细胞也是结肠癌中的干细胞。

骨髓造血干细胞表达高水平的 ABCG2 基因,ABCG2 基因在绝大多数前体细胞和成熟的血液细胞中不表达。干细胞表面高表达的 ABCG2 和 ABCB1 有助于干细胞的分离和鉴定。荧光染料 Hoechst33342 和 Rhodamine 123 分别是 ABCG2 和 ABCB1 的底物,向细胞中加入这些染料后,一般细胞内有这些染料的富集,而干细胞能将染料排出细胞外。有人认为,干细胞和正常细胞可以由于 Hoechst33342 荧光强度的差别而在流式细胞仪上被区分开。干细胞被认为可能是处于 Hoechst33342 染色阳性细胞群体之外的一群边缘细胞,被命名为 SP (side population, SP)细胞。利用 Hoechst33342 染色已经成功分离了大脑、乳腺、肺、心脏、胰腺、睾丸、皮肤、肝脏等多种组织的 SP 细胞,这些细胞可能是器官特异性的干细胞。对肿瘤细胞的研究发现,SP 细胞同样存在于乳腺癌、肺癌、胶质瘤、神经纤维母细胞瘤等肿瘤中。体外长期培养的大鼠胶质瘤细胞系的 SP 细胞也具有干细胞样的活性,它们既能自我更新,也能分化为非 SP 细胞,具有分化能力。然而,ABCG2 和 ABCB1 基因作为干细胞尤其是肿瘤干细胞的表面标志物和分离标志有其局限性,因为它们在耐药的肿瘤中表达升高,在多种分化的肿瘤细胞中也有较高的表达,有一些药物可以诱导 ABCB1 基因的表达。

干细胞根据自我更新能力可分为三种:①能够长期自我更新的干细胞;②仅能短期自我更新的干细胞;③只能分化而不能自

我更新的多能前体细胞。多能前体细胞及其衍生细胞均能快速增殖。具有自我更新和分化双重能力的多能干细胞存在于体内的多种组织和器官。尽管干细胞有自我更新的特性,但在大多数情况下它们都是处于静止的 G_0 期。干细胞在自我更新的过程中有能力修复损伤的 DNA。在致癌物作用的情况下,干细胞内的 DNA 突变会被蓄积,干细胞蓄积的多个 DNA 突变可能是我们通常所谓的多阶段癌变过程。临床上观察到,在肿瘤患者放化疗后,骨髓的造血干细胞和胃肠道的黏膜干细胞增生活跃,用以修复正常组织,提示正常的干细胞对射线和药物有天然的耐受作用。

除了自我更新和分化之外,干细胞有以下几个特点:①寿命较长,处于相对的静息状态,分裂较少;②表达多种 ABC 转运蛋白,能够抵抗射线、药物和毒素的作用;③DNA 损伤修复能力活跃;④抵抗凋亡。因此,如果肿瘤干细胞和正常干细胞有类似的功能,肿瘤干细胞将具有天然的药物耐受能力。肿瘤干细胞处于静息状态,能够有效地修复 DNA、抵抗凋亡并且表达 ABC 转运蛋白。肿瘤干细胞上的 ABC 转运蛋白如 ABCG2 等能够将药物排出细胞外。在静息状态下,药物难以进入代谢不活跃的肿瘤干细胞,很多化疗药物的作用与损伤 DNA 和诱导细胞凋亡有关,而肿瘤干细胞能抵抗凋亡和修复凋亡。在化疗药物的作用下,一部分肿瘤干细胞会存活下来,这些存活细胞的选择性扩增构成了耐药的肿瘤。由此可见,肿瘤干细胞可能赋予了肿瘤细胞天然耐药的能力。

三、肿瘤耐药的细胞间传递

肿瘤细胞群是一个高度异质的群体,肿瘤细胞并不是同时对

化疗药物产生耐受。事实上,同一肿瘤细胞群中的肿瘤细胞发生耐药有先有后,而研究表明,耐药细胞能通过细胞间通信促使药物敏感细胞也发生耐药。细胞间通信的方式有很多种,包括:①细胞突触间的电化学连接;②缝隙连接带来的细胞内分子传递;③细胞间配体受体的相互作用;④旁分泌作用;⑤膜分子的细胞间传递。耐药肿瘤细胞可以改变药敏肿瘤细胞的药物敏感性,使其耐受药物的作用,这一现象在多年以前就有人发现并有实验支持。

研究发现,六巯基嘌呤耐药的 $HPRT^-$ 细胞与 $HPRT^+$ 药敏细胞共同培养时,会出现耐药细胞耐药性降低而药敏细胞的耐药性升高的现象。Frankfurt 等也报道了细胞间耐药传递现象并对其机制进行了探讨。他们的研究表明,富含 GSH 的耐药肺癌细胞和 GSH 贫乏的药物敏感卵巢癌细胞共培养会导致药敏细胞内 GSH 的升高,使药敏细胞对药物的敏感性下降,缝隙连接介导了 GSH 的升高,用 TPA 阻断缝隙连接可以阻断 GSH 的升高,而 GSH 是一众所周知的与 MDR 密切相关的分子,这表明了不同的细胞系之间存在多药耐药的传递,它是由缝隙连接介导的。多药耐药细胞还会向细胞外基质中分泌多种成分,这些成分作用于药敏细胞,能够引起药敏细胞表型的改变。已经发现细胞黏附蛋白 Mac-2 BP、脑神经营养因子和 IL-6 等可作用于药敏细胞或耐药细胞,上调或下调肿瘤细胞内 P-gp 的表达水平。

最近,Andre 等的研究表明,功能性的 P-gp 分子可以从 P-gp 阳性的耐药肿瘤细胞向 P-gp 阴性的药敏肿瘤细胞传递。P-gp 阴性肿瘤细胞获取 P-gp 后持续表达 P-gp 的时间较为短暂,但在P-gp 阳性肿瘤细胞和选择性药物 Colchicine 存在的情况,P-gp 阴性肿瘤细胞上的 P-gp 能持续存在。体内外的研究均表明,细胞间传递的功能性的 P-gp 能导致多种肿瘤细胞耐受化疗药物的作用。肿瘤细胞间 P-gp 传递为药物敏感性肿瘤发生内源性的 P-gp 介导的

耐药赢得了足够的时间。P-gp 阳性肿瘤细胞的 P-gp 也可以向细胞外基质成分的成纤维细胞传递。

综上所述,肿瘤细胞耐药能力的传递主要发生在三个层面上:①耐药细胞通过细胞间缝隙连接与药敏细胞作用,彼此交换细胞内物质分子而降低药物敏感细胞对化疗药物的敏感性;②耐药肿瘤细胞通过旁分泌方式影响药敏细胞的药物敏感性;③耐药细胞上耐药相关分子脱落,转而插入到药敏细胞的细胞膜上,促进药敏细胞对化疗药物的耐受。

四、肿瘤耐药的分子网络

为了全面深入地理解肿瘤耐药的分子机制和耐药过程所涉及的耐药相关分子,我们对肿瘤耐药相关的文献进行了全面的回顾。用 Resistance/Sensitivity 和 Tumor 作为关键词对 Pubmed 文献数据库进行检索,发现可以检索到与肿瘤耐药相关的文献达74 000篇之多,其中涉及肿瘤耐药相关分子研究的文献约有2 200篇,这些文献涉及了约 400 个肿瘤耐药相关分子、36 种肿瘤和约 100 种化疗药物的信息。

通过对这些耐药分子、肿瘤和药物信息的分析,我们发现,尽管某一个药物或者某一种肿瘤相关的耐药基因有所不同,但不同药物或肿瘤相关的耐药基因之间存在一定的共性和联系,主要体现为:①不同的肿瘤耐药相关基因表现出相似的功能。例如,多个耐药相关分子,包括 MAPKKK3、ERBB2、CHK1、YES1、PKC 和 SRC 等都有激酶的活性,它们的分子功能和所参与的生物学过程都有较高的相似性。②众多的肿瘤耐药相关基因主要集中在几个重要的细胞内信号通路上,包括细胞凋亡、细胞周期、细胞黏附、DNA 损伤修复和应激相关等。例如,参与 ATM 通路上的几乎

所有的基因（p21、c-JUN、p73、RAD51、CHK1、CHK2、ABL、p53、BRCA1、GADD45、MDM2 和 SAPK1）均被报道与肿瘤的耐药相关。③不同的肿瘤耐药分子分属于不同的细胞内信号通路，不同信号通路之间的耐药相关分子相互作用、相互调节，形成一个复杂的分子网络。如图 1－1 所示，BRCA1 通路、p53 通路、细胞周期通路和细胞凋亡通路中均有若干分子参与了肿瘤的耐药，而这些通路之间又存在着交互的联系。

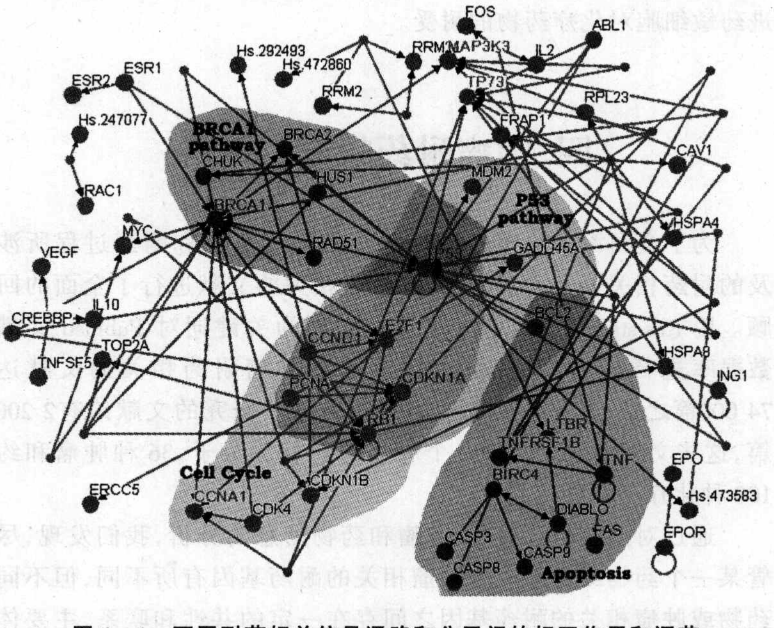

图 1－1　不同耐药相关信号通路和分子间的相互作用和调节

五、网络生物学的进展给肿瘤耐药研究带来的启示

网络生物学的发展可能有助于我们理解和进一步研究肿瘤

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com