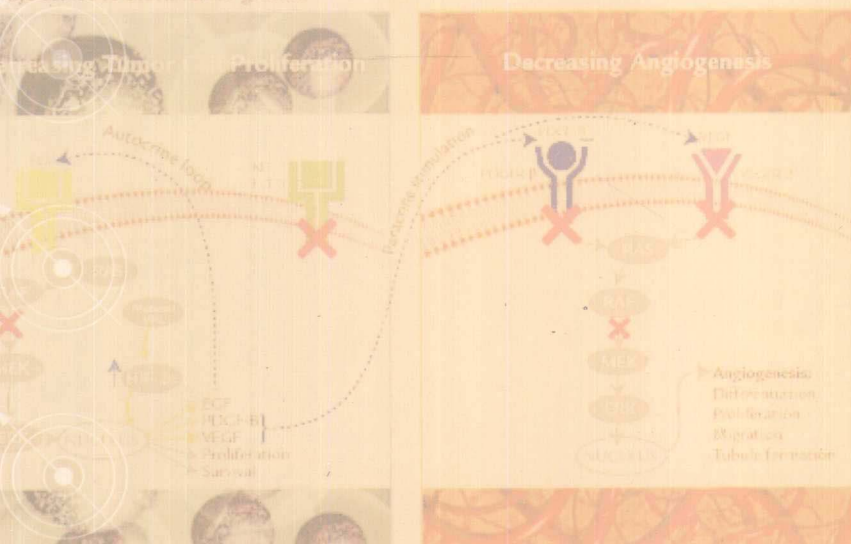


主编 周彩存 吴一龙

肺癌

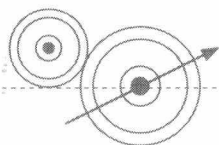
生物靶向治疗

kinase inhibition (X) upstream and downstream in tumor cell proliferation and angiogenic
ways serves to block tumor growth⁴⁶



人民卫生出版社

肺癌生物靶向治疗



主 编 周彩存 吴一龙

作者名单(按汉语拼音排序)

- 陈晓霞 (同济大学附属上海市肺科医院)
邓沁芳 (同济大学附属上海市肺科医院)
韩宝惠 (上海交通大学附属上海市胸科医院)
胡成平 (中南大学湘雅医院)
黄建安 (苏州大学附属第一医院)
马胜林 (浙江省肿瘤医院)
戚 川 (同济大学附属上海市肺科医院)
宋 勇 (南京军区总医院)
王绿化 (中国医学科学院附属肿瘤医院)
温 华 (中国医科大学附属第一医院)
吴一龙 (广东省人民医院)
杨耀琴 (同济大学医学院)
张贺龙 (第四军医大学附属唐都医院)
张 玲 (同济大学附属上海市肺科医院)
张晓彤 (中国医学科学院北京协和医院)
张 新 (复旦大学附属中山医院)
周彩存 (同济大学附属上海市肺科医院)
周建英 (浙江大学附属第一医院)
周崧雯 (同济大学附属上海市肺科医院)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

肺癌生物靶向治疗/周彩存等主编. —北京: 人民卫生出版社, 2010. 10

ISBN 978-7-117-13329-6

I. ①肺… II. ①周… III. ①肺肿瘤 - 药物治疗
IV. ①R734. 2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 174860 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

肺癌生物靶向治疗

主 编: 周彩存 吴一龙

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 18

字 数: 438 千字

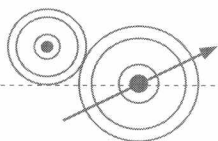
版 次: 2010 年 10 月第 1 版 2010 年 10 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-13329-6/R · 13330

定 价: 36.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)



前言

恶性肿瘤的发病率呈逐年上升的趋势,成为严重威胁人类健康的首要疾病。近年来随着对细胞生物学、分子生物学、肿瘤免疫学、生物工程学等诸多基础研究的深入和生物工程技术的进展,人类逐渐开始从器官、组织、细胞、基因、蛋白质各层次水平进一步认识肿瘤发病的靶点,随之出现的生物靶向治疗成为继手术、化疗、放疗三大传统治疗之后又一重大治疗方式,通过调动宿主的天然防卫机制或给予天然(或基因工程)产生的针对性靶向性很强的物质来取得抗肿瘤的效应。由于针对各靶点特异性,进行精准的治疗,显著提高了肿瘤治疗的有效性并且降低治疗的不良反应。随着新型分子靶向药物在临床实践中取得了显著的疗效,实践证明分子靶向治疗理论的正确性与可行性,将肿瘤的靶向治疗研究推向了一个前所未有的新阶段。

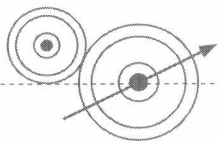
本书在此背景下,从分子基础阐述肿瘤的形成,形成过程中的信号传导通路的变异,基因的突变,重点介绍了目前生物靶向治疗的新进展、新药物及新的临床研究。由于肿瘤的异质性,相同的肿瘤、相同的病理类型及病期不同患者之间存在着分子学的差异,如何识别这些差异,是否存在肿瘤的分子标志物从而指导分子靶向的治疗,这些内容本书都有介绍。同时本书详细介绍了生物靶向治疗与传统手术、化疗、放疗的结合,以及如何结合才能得到最大生存受益的临床研究,力求从发病机制阐明治疗机制。

本书内容科学,观点新颖,邀请了国内多位知名专家编写,参考了最新发表的文献及有突破意义的临床研究,力求从知识、数据求真,展现肿瘤生物靶向治疗的最新面貌。在给广大医务工作者和研究生以丰富基本知识的同时,让他们对今后治疗的发展有所了解和思考,同时开拓思维即怎样才能对患者进行更好的个体化治疗。

由于编写人员的水平有限,在编写过程中难免出现疏漏和错误,恳请广大同仁给予指正批评。

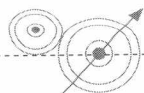
编者

2010年10月

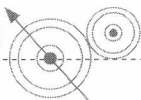


目 录

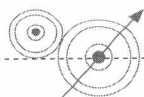
第一章 肺癌分子发病机制	1
第一节 生长因子信号通路	1
第二节 癌基因与抑癌基因	5
第三节 肿瘤侵袭、转移与血管生成	9
第四节 细胞凋亡与肿瘤	13
第二章 表皮生长因子受体信号转导通路	19
第一节 EGFR 的结构特性	19
第二节 EGFR 信号通路	19
第三节 EGFR 信号通路在癌变中的作用	22
第四节 EGFR 在肺癌的表达及其意义	23
第三章 可逆性表皮生长因子受体抑制剂	27
第一节 可逆性抑制剂的结构和药理作用	27
第二节 表皮生长因子受体抑制剂的临床应用	30
第三节 疗效预测因素	42
第四节 获得性耐药机制及其克服	47
第四章 不可逆表皮生长因子受体抑制剂	54
第一节 第二代不可逆酪氨酸激酶抑制剂	55
第二节 多靶点不可逆酪氨酸激酶抑制剂	55
第五章 表皮生长因子受体单克隆抗体	60
第一节 EGFR 单克隆抗体作用机制及其种类	60
第二节 常用的 EGFR 单克隆抗体	62
第六章 表皮生长因子受体抑制剂常见不良反应及其处理	69
第一节 皮肤毒性	69
第二节 皮肤毒性以外其他反应	75
第三节 EGFR TKIs 减量或停药	78



第七章 肺癌血管生成机制及治疗	80
第一节 血管生成机制和调控	80
第二节 抗肺癌血管生成靶向治疗策略	81
第三节 抗肺癌血管生成抑制剂	81
第四节 血管破坏制剂	85
第五节 抗肺癌血管生成治疗中存在的问题	88
第八章 血管内皮细胞生长因子及其受体抑制剂	91
第一节 血管内皮细胞生长因子与受体的结构和功能	91
第二节 小分子的血管内皮细胞生长因子受体抑制剂	94
第三节 VEGF 单克隆抗体	95
第四节 VEGF-TRAP	102
第五节 VEGF 靶向临床应用与地位	103
第六节 抗血管生成抑制剂疗效预测因素	104
第九章 多靶点抑制剂及其他信号传导通路抑制剂	108
第一节 多酪氨酸激酶抑制剂	108
第二节 C-kit, PDGFR	115
第三节 PI3K	115
第四节 Ras/Raf/MEK/ERK 信号传导通路及其功能	116
第五节 MEK 小分子抑制剂	117
第六节 Raf 小分子抑制剂	117
第七节 mTOR 信号通路及其抑制剂	120
第八节 环氧化酶抑制剂	123
第十章 抗血管生成抑制剂临床常见不良反应与处理	127
第一节 出血	127
第二节 高血压	131
第三节 蛋白尿	133
第四节 血栓栓塞	134
第五节 其他毒性	135
第十一章 蛋白激酶 C 抑制剂	141
第一节 蛋白激酶 C 的结构和分布	141
第二节 蛋白激酶 C 的信号转导通路和作用	142
第三节 蛋白激酶 C 抑制剂临床前研究及应用	144
第十二章 胰岛素样生长因子受体抑制剂	148
第一节 IGF- I R 结构与功能	148



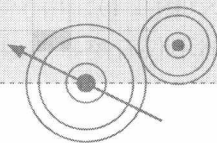
第二节	IGF- I R 临床应用	155
第十三章	蛋白酶体抑制剂	161
第一节	蛋白酶体的结构和功能	161
第二节	蛋白酶体抑制剂在肺癌治疗中的应用	163
第十四章	细胞凋亡信号通路与肺癌治疗	171
第一节	细胞凋亡的主要途径	171
第二节	B 细胞淋巴瘤/白血病基因 2 家族(Bcl-2)	176
第三节	凋亡抑制蛋白家族	181
第四节	肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体	186
第十五章	肺癌的基因治疗	192
第一节	基因治疗的策略	192
第二节	针对抑癌基因的基因治疗	199
第三节	针对癌基因的基因治疗	203
第四节	溶瘤腺病毒	205
第十六章	肺癌疫苗	212
第一节	肺癌抗原及其免疫	212
第二节	黑色素瘤抗原 A3 结构及其疫苗	213
第三节	BLP 疫苗	216
第四节	MUC1	216
第五节	GVAX	218
第十七章	肺癌免疫细胞治疗	220
第一节	DC 疫苗	220
第二节	过继性细胞免疫治疗	226
第三节	肺癌的免疫治疗概况	229
第四节	肿瘤免疫耐受和逃逸的主要机制	231
第十八章	分子靶向药物与放射治疗的联合治疗	236
第一节	分子靶向药物和放射治疗联合增效作用的理论基础	236
第二节	分子靶向药物和放射治疗联合的临床前研究	238
第三节	分子靶向药物和放射治疗联合的临床应用	240
第四节	分子靶向药物和放射治疗的联合策略	241
第十九章	小细胞肺癌的靶向治疗	249
第一节	信号转导抑制剂	250



第二节	血管生成抑制剂·····	252
第三节	基质金属蛋白酶抑制剂·····	254
第四节	凋亡调节因子·····	254
第五节	蛋白酶体抑制剂·····	255
第六节	免疫治疗·····	256
第二十章	靶向治疗药物的临床试验设计·····	261
第一节	概述·····	261
第二节	I 期临床试验·····	262
第三节	II 期临床试验·····	265
第四节	III 期临床试验·····	272

第一章

肺癌分子发病机制



肺癌是临床最常见的恶性肿瘤之一,是目前对人类健康与生命构成威胁最大的恶性肿瘤。在许多国家,肺癌是首位的癌症致死原因,给患者本人及家庭造成了极大痛苦。肺癌由遗传和环境等诸多因素相互作用所致,其发病是一个多步骤的过程,涉及大量相关基因结构和表达调控的改变。因此,了解肺癌的分子发病机制对寻找肺癌早期诊断的生物标志和新的分子靶向治疗药物有着重要的意义。

第一节 生长因子信号通路

细胞的增殖主要受到细胞外各种生长因子(growth factors,GF)、细胞因子和激素等因素的调控,其中GF起着主导作用。由GF介导的生物调节过程以正、负双重调节方式影响细胞的增殖,在靶细胞中引起一系列生化反应。GF与受体特异的结合和相互作用,引起细胞内“第二信使”的一系列变化,将细胞外信号传递到细胞核内,从而导致多种参与细胞分裂和分化的基因表达发生改变,最终引起DNA合成和细胞分裂。由GF刺激的信号转导通路在恶性肿瘤的发生中有特殊意义,本节将着重讨论生长因子的跨膜信号转导通路在肺癌发生中的作用。

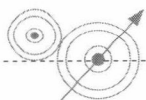
一、信号转导通路的基本组成

(一) 细胞外因子

细胞外因子种类繁多(如生长因子、细胞因子、神经递质、抗原等),除极个别外,这些细胞外刺激物能被相应的特异性膜受体所识别,进而细胞能对不同刺激做出适当的反应。GF是最重要的一类细胞外因子,它们是由细胞产生的刺激细胞生长和调节细胞活动的多肽或糖蛋白,如表皮生长因子(EGF)、碱性成纤维细胞生长因子(FGF)、转化生长因子(TGF)- β 、血小板源性生长因子(PDGF)等。GF能促进细胞有丝分裂,诱导细胞增殖。有些GF对细胞的作用是多方面的,如TGF- β 能抑制多种上皮细胞的生长;当内环境中存在PDGF时,TGF- β 能刺激成纤维细胞的生长,而当内环境中存在EGF时,TGF- β 却对成纤维细胞生长起抑制作用。癌细胞可产生GF,通过自分泌机制刺激自身增生,或通过GF受体的过度表达而使GF的促分裂信号途径异常地活化,导致细胞生长失控。

(二) 膜受体

GF膜受体多为跨膜糖蛋白,跨膜区由21~26个疏水性氨基酸形成 α 螺旋结构,肽链的两端分别位于细胞膜的两侧,通常N端在细胞外,C端在细胞内。根据跨膜次数,膜受体可



分为单次跨膜受体和 7 次跨膜受体,前者以酪氨酸激酶类为主,后者多见于 G 蛋白偶联受体。

大多数肽类 GF 的受体为酪氨酸激酶受体(tyrosine kinase receptors, TKR)。该类受体均含有一个糖基化的细胞外配体结合区,一个单次跨膜区和保守的胞内酪氨酸激酶活性区(图 1-1)。由于氨基酸序列相似性和结构的不同特点,TKR 可分为不同的家族。这类受体不仅有酪氨酸激酶的活性,受体本身也具有酪氨酸残基的磷酸化位点,即自身能发生酪氨酸磷酸化。GF 作为配体与 TKR 结合,诱导受体的寡聚体化,如 EGF 与单体的 EGF 受体(EGFR)结合诱导受体的二聚体化和构型改变,从而导致激酶区活化,并使受体自身的酪氨酸残基磷酸化(图 1-2)。受体自身磷酸化具有两种重要作用:①可增加激酶本身的催化作用;②成为酪氨酸蛋白激酶底物的识别位点,为下游信号分子所识别。从而可通过级联式磷酸化反应使信号逐级传递和放大。TKR 自身磷酸化是 GF 刺激的信号转导通路中的关键事件。

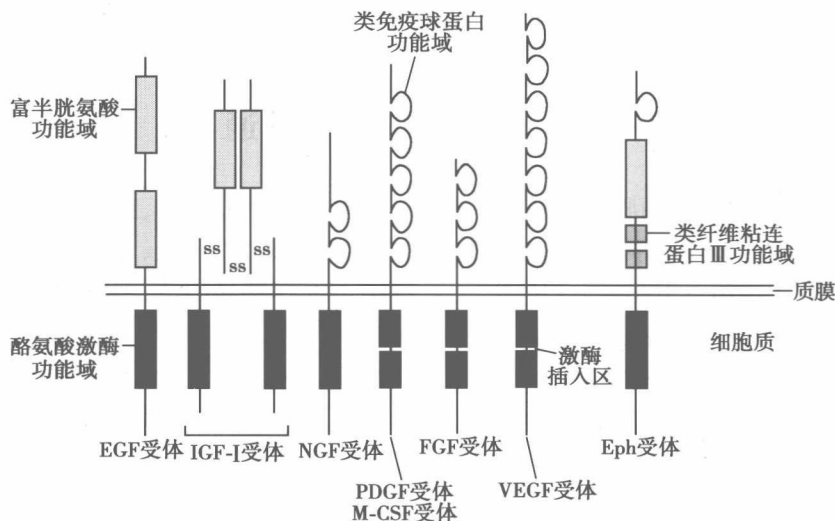


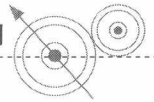
图 1-1 酪氨酸激酶受体结构模式图

G 蛋白偶联受体因通过 G 蛋白转导信号而得名。与 TKR 不同,G 蛋白偶联受体本身没有激酶活性,大多数激素、神经多肽和神经递质的受体属于 G 蛋白偶联受体。G 蛋白偶联受体膜内区与经典 G 蛋白(即 α 、 β 、 γ 三联体)相偶联,发挥信号传导功能。

(三) 细胞内信号转导途径及第二信使

细胞表面受体将与其配体结合所启动的信号,经细胞内的信号转导通路传递到细胞核内的转录因子,最终导致基因表达的变化。在细胞跨膜信号转导的过程中,有的受体本身就起到效应器的作用,如离子通道受体,在配体与受体结合后,直接引起离子通道的开放。多数受体则不能直接引起相关效应,而需要通过一些“接头蛋白”和第二信使的介导,形成细胞内蛋白质-蛋白质之间的联系,将信息传递至细胞核。

1. 接头蛋白 所谓的“接头蛋白”即是那些具有 SH2 或 SH3 结构域的蛋白质,它们本身没有酶活性,但通过识别和结合特异的氨基酸序列而构成信号转导复合物,使信号得以逐级下传。目前已知酪氨酸激酶底物蛋白都具有 src 原癌基因家族同源区-2(src homology



domain-2, SH2) 和 (或) SH3 的结构域。此类结构域的氨基酸序列能特异地识别受体的自身酪氨酸磷酸化位点及其周围氨基酸序列, 并与之结合。继而使 SH2 蛋白的酪氨酸残基发生磷酸化, 而 SH2 蛋白的酪氨酸残基磷酸化部位又能为其他 SH2 蛋白识别并与之结合, 从而使信号得以逐级传递。SH3 能与富含脯氨酸区域的蛋白结合。现已发现 20 多种参与细胞内信号转导的胞质蛋白和细胞骨架蛋白都含有 SH2 区和 (或) SH3 区。

2. 第二信使 第二信使是一些小分子或离子, 如 cAMP、cGMP、DG、IP₃、Ca²⁺ 等, 在信号的传递放大过程中起着至关重要的作用。

(四) 胞质激酶

胞质内的激酶大多为丝氨酸/苏氨酸激酶, 与 GF 关系最为密切的是丝裂原激活的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAP 激酶), 介导 MAP 激酶通路。其他一些重要的胞质激酶通路还有由环化核苷酸 (cAMP、cGMP 等) 激活的蛋白激酶 A、蛋白激酶 G; 由 DG 激活的蛋白激酶 C 等。

二、生长因子信号转导基本通路

(一) 酪氨酸激酶受体通路

酪氨酸激酶受体通路是细胞信号转导网络中最重要的转导通路之一, 几乎所有的 GF 刺激细胞增殖的信号, 以及大部分细胞因子的信号、抗原结合淋巴细胞表面受体诱发细胞的各种反应, 都离不开酪氨酸激酶受体通路 (图 1-3)。

GF 受体本身具有酪氨酸激酶活性, 当 GF 与之结合后, 促使受体形成二聚体 (同源或者异源), 激活胞内区的酪氨酸激酶, 使得受体自身磷酸化, 同时使底物的酪氨酸磷酸化, 其底物通常是磷脂酶 C- γ 、与 Ras 功能密切相关的 Grb 蛋白、c-Raf 蛋白、磷脂酰肌醇 3 激酶

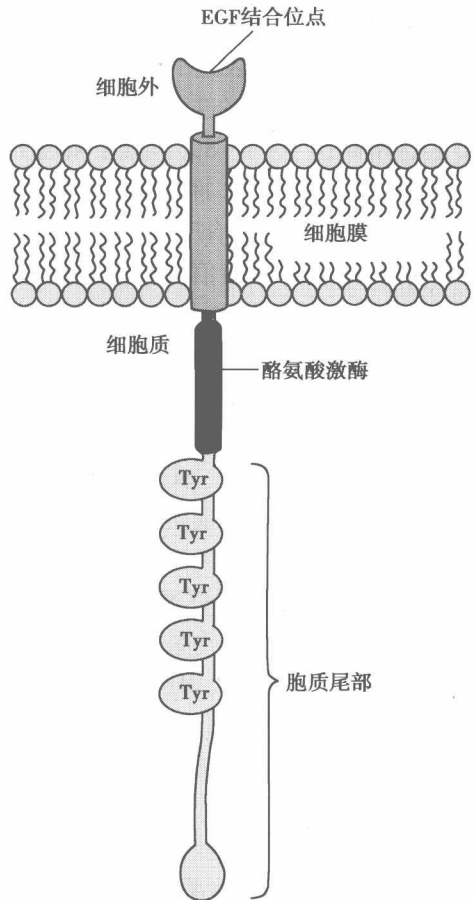


图 1-2 EGF 受体结构

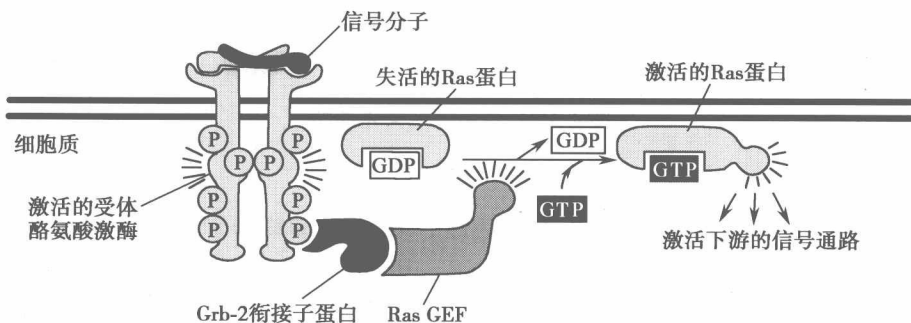
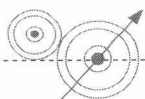


图 1-3 酪氨酸激酶受体通路



(PI3K)的调节亚单位等。由于在肺癌中常有自分泌或旁分泌生长刺激回路,GF 或调节肽类配体通过与其异常表达的受体相结合,激活相应的传导路径,通过激活/抑制不同基因,启动相应的信号通路来促进肿瘤的生长。非小细胞肺癌(NSCLC)中表皮生长因子受体(EGFR)表达率高达 40%~80%,其中鳞癌 EGFR 表达率(70%)明显高于腺癌(40%)。吉非替尼和厄洛替尼是 EGFR 抑制剂,对中、晚期 NSCLC 有明确的抗肿瘤效应,已广泛用于晚期 NSCLC 的二线和三线治疗。

Ras 是 EGFR 下游信号传导通路中重要调节因子之一,当 EGFR 被激活,它可与 Ras 蛋白结合,一方面可导致 Ras 核苷酸交换因子 SOS 移位于胞膜与衔接蛋白 Grb2 结合,启动下游信号传导路径如 Raf/MAPK;另一方面,激活的 Ras 可与 PI3K 蛋白结合,启动 PI3K/Akt 生存信号传导路径。这些信号传导路径与肿瘤细胞增殖、分化、存活、附着及细胞活性有密切关系。目前已发现大约 30%左右的 NSCLC 存在 Ras 基因的突变,主要为 K-ras,肺腺癌尤其明显;近 65% NSCLC 有 PI3K 的过度表达。

许多临床前期研究证实抑制 Ras 蛋白和 PI3K/Akt 及其底物可以提高化疗对 NSCLC 的疗效。但 NSCLC 很少发生 EGFR 过度表达,Ras 突变几乎为零。

(二) G 蛋白偶联受体通路

G 蛋白偶联受体通路是细胞信号转导的重要通路之一。其激活方式是,当配体与受体膜外区结合后,一方面使得膜内区与受体连的 G 蛋白中 α 亚单位从 $\beta\gamma$ 亚单位的结合中游离出来,与 α 亚单位相连的 GDP 被水解,并激活 α 亚单位,进而催化下游的效应子,产生第二信使(图 1-4);另一方面,受体激活 $\beta\gamma$ 亚单位,再通过调节 Ras 蛋白活性,启动和激活 Raf/MEK/MAPK 通路,从而活化下游的激酶系统。

G 蛋白偶联受体家族调控的信号传导通路活化,许多神经肽与其相应受体的结合是小细胞肺癌(SCLC)细胞生物行为的分子基础,目前还未有阻断该路径靶向治疗 SCLC 的临床报道。

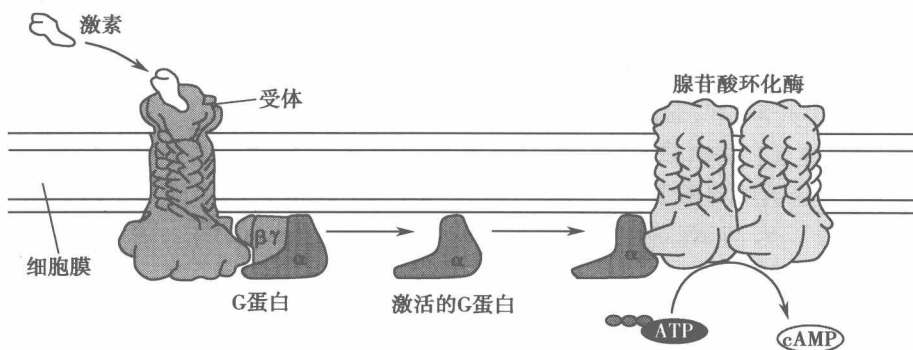
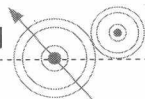


图 1-4 G 蛋白偶联受体通路

(三) TGF- β 信号转导通路

TGF- β 是一类结构上相关而具有激素活性的多肽,在动物器官形成、上皮组织增生、细胞外基质合成及组织稳定等方面发挥重要作用。其信号通路包括两种基本元素:丝氨酸/苏氨酸受体激酶和 Smad 蛋白家族。其基本过程则包括两个步骤:配体(TGF- β 家族成员)与丝氨酸/苏氨酸激酶受体形成受体复合物,后者激活 Smad 蛋白;Smad 蛋白负责装配由多个



亚基组成的转录复合物,调节靶基因的表达,肺癌的形成和发展可能与 Smad 蛋白失活有一定关系。在 TGF- β 信号转导通路中,可以通过对配体、受体活性、Smad 蛋白的调节而对该信号转导通路进行整合。另外,TGF- β 能激活 MAPK 的信号转导通路,从而介导多个基因转录的调节。

(四) 细胞凋亡信号转导通路

细胞凋亡对机体具有重要的生理作用,同时在肿瘤的发生发展中发挥重要作用。细胞凋亡的发生是一个复杂的过程,有多条通路分别独立地引发。肿瘤坏死因子(TNF)/FasL 转导通路是最重要的细胞凋亡信号传导途径。其具体是:在多种细胞外凋亡诱导因素的作用下,TNF 超家族成员,包括 FasL、TNF- α 、TNF 相关凋亡诱导配体 TRAIL 等,与细胞表面相应死亡受体的膜外区相连接,受体的膜内区与相应的相关死亡区蛋白结合,激活 Caspases-8,启动 Caspases 级联反应,最终激活 Caspases-3,导致细胞凋亡。

第二节 癌基因与抑癌基因

从分子生物学的角度,恶性肿瘤可视为基因疾病。某些基因的突变可使细胞缺乏分化和生长失控导致异常增生,最终形成肿瘤,并可侵犯正常组织和器官。肿瘤的发生是一个多阶段逐步演变的过程,涉及一系列基因改变,单一基因的突变不足以致癌,多种基因变化的积累才能引起控制细胞生长和分化的机制紊乱,使细胞的生长失控而癌变。20 世纪 80 年代,随着分子杂交等技术的出现,发现在动物和人类细胞的基因组中存在一类参与细胞生长和代谢,促进和调节细胞增殖、分化的基因,称为原癌基因。在细胞内还存在一类控制细胞生长、增殖及分化,并能抑制肿瘤生长的基因,称为肿瘤抑制基因,又称抑癌基因。

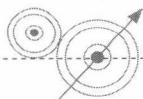
一、癌基因

癌基因可分为病毒癌基因(viral oncogene, v-onc)和细胞原癌基因(cellular proto-oncogene, c-onc)两大类。根据当代癌基因学说的论证,病毒癌基因是反转录病毒基因组中可使被感染动物细胞癌变的基因。细胞原癌基因则是所有动物细胞基因组中与 v-onc 有相似结构和功能的基因。

(一) 病毒癌基因

病毒癌基因不是病毒复制生活周期中的组成部分,从生物进化上看,v-onc 和 c-onc 可能本来就是同源的。反转录病毒在感染动物细胞后,很可能是通过重组整合到细胞原癌基因附近,与之融合,才成为有转化能力的癌病毒。Varmus 和 Bishop 等证明第一个被发现的病毒癌基因 v-src 与细胞原癌基因存在关联性,病毒在转导过程中从细胞“捕获”了细胞原癌基因 DNA 序列,形成了病毒癌基因。

病毒癌基因虽然是来自宿主细胞的原癌基因,但二者在结构及蛋白产物的功能上均有不同,病毒癌基因缺少内含子序列,其转录受病毒基因组两端的长末端重复序列控制,具有很高的转录活性。原癌基因中原有的具有调节功能的内含子及两侧转录调节序列大都在与病毒基因整合时丢失,即原癌基因被病毒进行了“改造”,具有高效表达性。原癌基因产物两端成分的丢失,导致与病毒蛋白发生融合,常常引起其功能的改变,如 Src 蛋白 C 末端 19 个氨基酸的丢失使其酪氨酸激酶活性大大加强,且大多数病毒癌基因存在点突变,具有转化细



胞能力,不需激活就具有诱发肿瘤的作用。

(二) 细胞原癌基因

细胞原癌基因本是正常细胞中固有的基因,正常情况下参与细胞增殖与分化的调控,对维持细胞的正常功能、调节生长或分化有着重要作用。原癌基因在通常情况下,具有极低的转录活性。原癌基因被激活后高表达可诱导正常细胞转化,称为癌基因。癌基因依赖其表达产物(通常称为转化蛋白)通过不同的途径和方式,改变细胞的生长和分化程序,引起细胞的癌变。只有当 c-onc 在不恰当的时间和空间被激活而发生异常(过度的)表达时,才具有使细胞发生恶性转化作用。原癌基因激活的机制主要有点突变、染色体重排、基因扩增、启动子插入和甲基化改变等。

(三) 癌基因的分类与功能

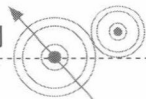
经过多年研究,人类从哺乳类和人的细胞中鉴定出与病毒癌基因高度同源的细胞原癌基因,根据基因产物在细胞内的定位和生物学功能可将其分为 GF、GF 受体、非受体蛋白激酶、信号转导分子、转录因子、细胞凋亡基因和细胞周期蛋白等(表 1-1)。

表 1-1 人类肿瘤代表性癌基因

分类	癌基因	染色体定位	激活机制	相关肿瘤
生长因子类	sis	22q12-13	过表达	脑肿瘤、肉瘤等
	hst-1	11q13.3	扩增、过表达	食管癌、乳腺癌等
	int-2	11q13.3	扩增	乳腺癌等
生长因子受体类	erbB-1	7q11-13	扩增	鳞状上皮癌等
	neu(erbB-2)	17q21	扩增、点突变	乳腺癌等
	ros	6q22	过表达	脑肿瘤等
	trk	1q25-31	染色体易位、重排	结肠癌、直肠癌等
非受体蛋白激酶类	src	20q12-13	过表达	结肠癌、直肠癌等
	abl	9q34	染色体易位、重排	CML、AML 等
	raf	3p25	染色体易位、重排	肺癌、肾癌
信号转导分子类	H-ras	11p15.5	点突变、扩增	膀胱癌等
	N-ras	1p22(1-13)	点突变、扩增	AML 等
转录因子	myc	8q24	染色体易位、重排、扩增	淋巴瘤、肺癌等
	myb	6q22	扩增	AML 等
	c-fos	14q21-24	过表达	多种
其他	Bcl-2	18q21.3	染色体易位、重排	B 细胞淋巴瘤等
	CyclinD1	11q13	染色体易位、过表达	胃癌、食管癌等
	mdm2	12q13-14	扩增	

1. neu 基因 也称 HER2 或 c-erbB-2 基因,位于人类 17 号染色体,编码分子量为 185kD 跨膜糖蛋白,该蛋白属表皮生长因子受体,其结构包括细胞外区、跨膜区和胞内区。胞外区是与配体的结合区,胞内区具有酪氨酸激酶活性,该受体在细胞生长信号转导中扮演重要角色。在许多肿瘤中 neu 基因可发生点突变、基因扩增和过表达,其结果导致患者预后差。在乳腺癌,约 30% 患者有 neu 基因扩增和过表达;NSCLC 中常见 neu 基因过表达,这种过表达的蛋白已成为肿瘤治疗的靶点之一,但 SCLC 则很少发生 HER2 过度表达。

2. Ras 基因家族 分为 H-ras、K-ras 和 N-ras 三类。ras 基因在正常细胞中有重要作



用。每种 ras 基因都分别编码一种鸟苷酸结合蛋白,分子量为 21kD(称为 p21^{ras})。可与 GTP 结合,生化与生物学特性极其类似 G 蛋白。在细胞内信号传导中,Ras 蛋白在激活的跨膜受体与下游蛋白激酶的传递中起作用。ras 基因第 12、13 及 61 位点的点突变可以降低 Ras 蛋白自身内源性鸟苷酸三磷酸酶(GTPase)活性,同时,突变的 ras 与 GTPase 活化蛋白的结合能力也下降。其结果是导致 Ras 蛋白与 GTP 的持续结合而促进细胞生长。因而 ras 基因点突变与肿瘤的发生和发展有关,据估计 15%~20%的肿瘤有 ras 基因的激活,它在肿瘤诊断中具有重要意义。

3. myc 基因家族 分为 N-myc、L-myc 和 R-myc。该基因最初发现于人类 Burkitt 淋巴瘤,位于 8 号染色体上,通过染色体易位而活化。最常见的是通过 8 号染色体与 14 号染色体间易位,使 myc 基因或其相邻区域与 14 号染色体的免疫球蛋白重链融合而被活化。myc 蛋白可与特定的 DNA 序列相结合而起转录因子作用。在人类肿瘤,除染色体易位,DNA 扩增也是 myc 基因的主要改变。在神经母细胞瘤和胶质细胞瘤中有 N-myc 的扩增,并且与患者的病程和预后有关,有重要的预后提示意义。

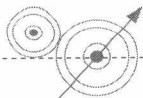
4. Bcl-2 基因 是从 B 细胞淋巴瘤中鉴定出的癌基因。定位于人染色体的 18q21.3,由 230kb 组成,含有 3 个外显子,正常情况下不表达或低表达。该基因编码蛋白分子量约为 25kD,位于核膜、部分内质网及线粒体外膜上。Bcl-2 基因与细胞凋亡密切相关,是细胞凋亡抑制基因。在肿瘤形成过程中,细胞过度增殖和细胞凋亡受阻,均可导致肿瘤的发生。Bcl-2 活化能抑制细胞的程序性死亡,导致某些肿瘤如淋巴瘤的发生。临床研究发现不同病理类型肺癌 Bcl-2 表达水平有明显差异,SCLC 的 Bcl-2 的表达明显高于 NSCLC,且早期肺癌组织中的 Bcl-2 表达要高于晚期,提示 Bcl-2 有可能成为肺癌早期诊断指标。

5. mdm2 基因 mdm2 基因是一种进化保守基因,转录产物为 5.5kb 的 mRNA,编码一个包含 491 个氨基酸的锌指蛋白质。基因定位在 12q13-14 染色体区域,蛋白质定位于细胞核,半衰期很短。mdm2 蛋白可与抑癌基因产物 p53 蛋白和 Rb 蛋白相结合而使后者功能失活,这是 mdm2 蛋白促进癌细胞生长的重要机制之一,有研究提示 mdm2 蛋白可能是 p53 抑癌基因的负性调控因子。在肺癌组织 mdm2 可过度表达,且进展期肺癌 mdm2 阳性率较早期高,故认为 mdm2 表达与肺癌的发展有关。

6. Survivin 基因 Survivin 基因是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein,IAP)家族中分子量最小的一个成员,基因定位于 17q25,靠近端粒,全长 14.7kb,由 3 个内含子和 4 个外显子组成,编码 142 个氨基酸。其表达产物是迄今发现的功能最强的凋亡抑制蛋白,在正常分化组织中几乎不表达,而在人类各种肿瘤组织中可特异性表达,为肿瘤的诊断和治疗提供了新的思路。Survivin 表达与肺癌的分化程度有关,肿瘤分化程度越低,其表达率越高,NSCLC 表达显著高于 SCLC。Survivin 基因的高表达提示肺癌有较高的浸润性和不良预后,因此,Survivin 表达具有早期诊断价值和较好的靶向特异性,可能成为肿瘤治疗的新靶点。

二、抑癌基因

抑癌基因的生物学功能与癌基因相反,在细胞增殖、分化和凋亡等过程中,癌基因调控属正信号,而抑癌基因属于负信号。正常时抑癌基因起抑制细胞增殖和肿瘤发生的作用,通常只有当其两个等位基因丢失或失活时,才会使细胞呈恶性生长,因此又称隐性癌基因,许



多肿瘤均发现抑癌基因的两个等位基因缺失或失活,目前认为肿瘤的发生与癌基因激活和抑癌基因失活密切相关,两类基因信号调控紊乱是导致肿瘤发生的主要原因。

1. Rb 基因 是第一个克隆出来的抑癌基因。此基因存在于染色体 13q14,全长 180kb,编码分子量 150kD 的核内磷酸化蛋白。该蛋白具有抑制细胞增殖和细胞转化作用,其磷酸化状态为 Rb 基因调节细胞生长分化的主要形式。在细胞周期的不同阶段,Rb 的状态不同。在 G_1 期,Rb 为去磷酸化状态,当细胞开始进入 S 期时,磷酸化状态急剧增加,并持续到 G_2 期和 M 期。Rb 磷酸化受其他蛋白激酶的调节,一旦 Rb 蛋白出现异常,可使细胞摆脱 Rb 的负调节作用,使细胞表型发生变化。

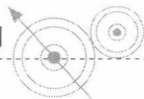
Rb 基因的异常主要表现为等位基因缺失和基因突变,导致 mRNA 和蛋白的异常。Rb 基因的异常与肿瘤发生的关系已在视网膜母细胞瘤等多种肿瘤中得到证实,肺癌中 Rb 的缺失以 SCLC 更为多见。在肿瘤的发生中,Rb 基因与 p53、C-myc、C-Fos、TGF 等存在相互调节的关系。

2. p53 基因 是研究最为深入和广泛的抑癌基因。p53 基因定位于人类染色体 17p13.1,全长 20kb,编码 393 个氨基酸组成的分子量为 53kD 的核内磷酸化蛋白,具有蛋白质-DNA 和蛋白质与蛋白质结合的功能。现已明确 p53 是细胞生长周期中负性调节因子,与细胞周期的调控、DNA 修复、细胞分化、细胞凋亡等生物学功能有关。p53 基因分为野生型和突变型两种。野生型 p53 蛋白极不稳定,半衰期仅数分钟,并具有反式激活功能和广谱的肿瘤抑制作用。

p53 基因除可以与某些病毒癌蛋白结合而使后者失去致癌活性外,还可与细胞内的转录因子结合,起活化和调节基因转录的作用。如 p53 基因可上调 p21 基因的表达,p21 基因的上游调节区含有 p53 结合位点,p21 基因转录产物具有抑制 CyclinD/CyclinD 依赖性激酶(CDK)的底物磷酸化作用,导致 G_1 期阻滞。当细胞受到损伤后,p53 蛋白通过与 p21 基因的上游调节区相应位点结合,上调 p21 基因的表达,使细胞阻滞于 G_1 期,在进入 S 期前修复损伤的 DNA。含野生型 p53 的细胞,在 DNA 受到损伤时可使细胞停滞于 G_1 期,在 DNA 开始合成前进行损伤的修复,如损伤的 DNA 被修复,则可进入 S 期,如损伤严重而不能修复,则启动细胞凋亡;而缺乏野生型 p53 功能的细胞则不能被阻滞于 G_1 期以修复损伤的 DNA。

p53 基因的缺失或突变已被证实是许多肿瘤发生的原因之一。其突变类型多样,在肿瘤中发生频率可达 50%~60%;突变大多集中在第 5~8 外显子,错义突变多引起蛋白功能改变,表现为蛋白过表达,半衰期可延长至 6~12 小时导致蛋白在细胞内积聚。肺癌中 p53 异常包括等位基因丢失、基因突变、插入失活或蛋白-蛋白相互作用(如与病毒癌蛋白结合),而突变最常见,约 60% 肺鳞癌,40% 的肺腺癌,90% SCLC 有 p53 突变。在肺鳞癌和腺癌,p53 蛋白水平和预后呈负相关。

3. p16 基因 定位于人类染色体 9p21,全长 8.5kb,由 2 个内含子和 3 个外显子组成,编码 CDK4 的抑制蛋白,分子量为 15.8kD,简称 p16。p16 既是细胞周期有效调控者,又是抑制肿瘤细胞生长的关键因子,p16、CyclinD 竞争与 CDK4 结合,当 p16 与 CDK4 结合后能特异性地抑制 CDK4 活性。CDK4 可使 Rb 蛋白磷酸化,从而解除 Rb 基因对转录因子的抑制,促进细胞生长、增殖。CyclinD 与 CDK4 结合占优势,其结果使细胞生长失控,细胞表型产生变化。人类肿瘤大部分类型均有 p16 基因的异常,主要表现为基因缺失,占实体瘤的



70%。由于 p16 基因片段较小,有专一的作用靶点 CDK4,因而已成为基因治疗和抗肿瘤药物的研究靶标。有资料证实 NSCLC 细胞株及原发性 NSCLC 组织均可见 p16 基因丢失或甲基化。

4. nm23 基因 定位于人类染色体 17q22,编码区为 533bp,产物由 153 个氨基酸残基组成,是分子量 17kD 的核内和胞质蛋白。nm23 基因家族中有两个成员: nm23H1 和 nm23H2,二者的基因产物有高度的同源性。nm23 蛋白与核苷二磷酸激酶(NDPK)的氨基酸序列有高度同源性,具有 NDPK 活性,还有与嘌呤结合功能。因而,它可能是一种具有 NDPK 功能的基因。NDPK 可能通过两种途径参与细胞调节:一是影响微管聚合以调节细胞运动;二是影响 G 蛋白的信号转导发挥负调节作用。nm23 基因是一种肿瘤转移抑制基因。将 nm23 基因转染到高转移肿瘤细胞中,可使癌细胞转移潜能下降。目前发现 nm23 基因参与乳腺癌、肺癌等多种恶性肿瘤的转移过程。

5. PTEN 基因 定位于染色体 10q23.3,命名为 10 号染色体丢失的磷酸酶基因及张力蛋白同源物。该基因的突变与人类多种肿瘤的发生发展密切相关,在细胞的生长发育、信号转导和细胞凋亡过程中起重要作用,并参与肿瘤细胞浸润、血管形成与肿瘤转移。临床研究发现 PTEN 的缺失、表达与部分 SCLC 的发生发展有关,在临床分期越晚的 SCLC 组织,PTEN 蛋白的缺失率越高,推测在 SCLC 中 PTEN 蛋白丢失的程度与肿瘤的进展呈正相关。

第三节 肿瘤侵袭、转移与血管生成

肿瘤转移是指恶性肿瘤细胞脱离原发病灶,通过各种转移方式,到达另一(些)组织或器官后得以继续增殖生长,形成性质与原发肿瘤相同或相近的继发肿瘤的全过程。肿瘤转移是恶性肿瘤有别于良性肿瘤的基本生物学特征。

一、肿瘤侵袭、转移的基本过程

肿瘤侵袭是指恶性肿瘤细胞从其起源部位沿组织间隙向周围组织浸润的过程,其标志是肿瘤细胞突破基底膜。肿瘤侵袭是肿瘤细胞、周围间质相互作用的结果,是肿瘤扩散的第一步。肿瘤转移是恶性肿瘤细胞从原发部位(原发瘤)侵入淋巴管、血管或体腔,至靶组织或靶器官,形成与原发肿瘤不连续而组织学类型相同的肿瘤(继发瘤)。肿瘤侵袭是肿瘤转移的前提和基础,但侵袭性生长的肿瘤不一定都伴有转移。如皮肤基底细胞癌、涎腺腺样囊性癌以及大多数中枢神经系统原发性恶性肿瘤,局部侵袭性明显,转移却极为罕见。恶性肿瘤转移的基本过程包括以下几个步骤。

(一) 早期原发癌生长

在原发癌的起始阶段,肿瘤细胞生长所带的养料是通过邻近组织器官微环境渗透提供。这一阶段的肿瘤直径一般不超过 1~2mm。肿瘤细胞数不超过 10^7 个,病理上称为原位癌(carcinoma in situ)。临床上报道较多的有宫颈原位癌、食管原位癌、胃原位癌。原位癌经手术或内镜切除后预后良好。

(二) 肿瘤细胞脱落并侵入基质

部分肿瘤细胞分泌一种物质,使黏附因子的表达受到抑制,从而增加肿瘤细胞的运动能