

新编
肿瘤预防与治疗
实用全书

主编：张东成



科学技术文献出版社

书

新编肿瘤预防与治疗

实用全书

第二卷

科学技术文献出版社

第五章 生殖泌尿系统肿瘤

第一节 生殖泌尿系统肿瘤的分子生物学

一、肾癌

美国每年有 28000 多例新发生的肾癌患者,死于肾癌者约 12000 例。肾癌最常见于 50~70 岁的成年人,年龄最小的患者为 3 岁儿童。肾癌约占成人恶性肿瘤的 3%,男女之比为 1.5:1。皮革及石棉工人的发病率较高,吸烟有肾癌有明显相关性。肾癌中 85% 为透明细胞癌,5%~15% 为乳头状癌。患获得性囊性变的肾透析患者易发生肾癌,其发病率高于正常对照组 30 倍。有肾癌家族史者也容易发病。

肾癌与结肠癌、乳腺癌及视网膜母细胞瘤一样分为家族性(遗传性)和散发性(非遗传性)二类。据估计 4% 的肾癌为遗传性,它至少有 3 种类型:凡黑普尔-林道病(Von Hippel-Lindau, VHL)相关性肾癌、遗传性乳头状肾癌(hereditary papillary renal carcinoma, HPRC)和遗传性透明细胞肾癌(hereditary clear renal carcinoma HCRC)。VHL 病属常染色体显性遗传的一种遗传性肿瘤综合征,发生包括肾脏在内的多器官肿瘤;HPRC 是最近发现的一种遗传性肾癌,为双侧、多发性乳头状肾癌,发病早;对 HCRC 了解较少,患者易发双侧、多发性透明细胞癌。

(一) 3 号染色体

1. 肾癌基因定位

Cohne 等首先对肾癌基因的定位进行了研究,1974 年他们报告了一个透明细胞癌家族,患者表现为双侧多灶性病变,发病早,胚系核型异常,即 3 号染色体短臂平衡易位于 8 号染色体长臂,无易位者不发病,后来,Pathak 等发现一 3 号染色体易位至 11 号染色体的家族。Kovaks 等报告了 3 号染色体易位于 6 号染色体的家族,均为 3 号染色体的短臂异常(图 5-1)。

2. 散发性肾癌的基因异常

为了解非遗传性肾癌的 3 号染色体是否有异常,Zbar 等应用限制性片段多态性分析(RFPA)方法检测了 18 例散发性肾癌组织,在可评价的 11 例患者的 3 号染色体短臂上均有杂合性丢失(loss of heterozygosity, LOH)。早期和晚期肾癌组织均存在 LOH,表明某些基因可能参与肿瘤的早期发生。为进一步了解散发性肾癌染色体 3p 和 LOH 发生率和相关基因的定位,Anglard 等对正常组织和 60 例各期肾癌组织的 DNA 进行分析,研究染色体各位点的等位基因丢失。研究结果表明 LOH 与肿瘤分期无关,约 90% 的瘤组织在 3 号染色体的 10 个受检位点上至少有一个发生 LOH,透明细胞癌有 LOH,但乳头状癌无 LOH。结

果表明,肾透明细胞癌均有一段 3p 染色体缺失,提示在 3 号染色体的短臂上可能有一肾癌基因,因肾癌最小缺失的 3p 区太大,无法应用目前常规的克隆技术进行研究,因此人们开始研究家族性 VHL 病相关性肾癌,推测 VHL 基因可能与散发性肾癌有关。

二次突变

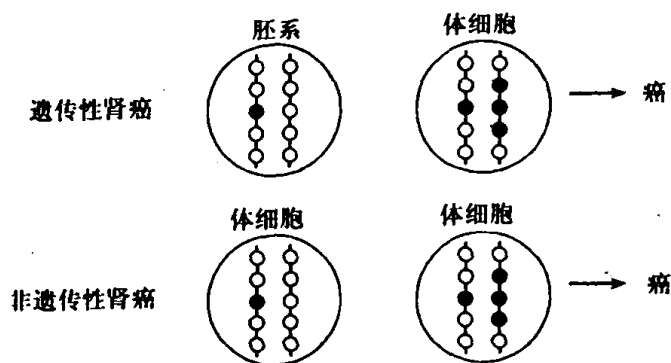


图 5-1 Knudson 的二次打击模型 VHL 病遗传性肾癌基因的二个拷贝均失活(VHL 基因的胚系失活 + 体细胞失活);而在大多数散发性肾癌可发现 VHL 基因的二个拷贝均为体细胞失活(引自 Zbar B. Chromosomal deletions in cancer and renal cancer. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Important advances in oncology, Philadelphia: JB Lippincott, 1989;41)

(二)遗传性肾癌:VHL 病

VHL 病是家族性肿瘤综合征,患者出现多器官肿瘤,包括肾脏、小脑、脊髓、眼、胰腺、肾上腺、内耳和附睾等。VHL 患者常较早出现双侧多发性肾肿瘤和多发性肾囊肿,肿瘤常生长于囊肿内,为透明细胞癌。据统计 VHL 患者的每一患肾有 600 个透明细胞癌灶和 1 100 个良性或不典型囊肿。这些肾肿瘤均为恶性,未经治疗者 40% 出现远处转移。多发性小脑和脊髓血管母细胞瘤血运丰富,虽然这些中枢神经系统肿瘤为良性病变,但仍可引起严重并发症。视网膜血管瘤可为 VHL 病的早期临床表现,它是良性的多血管肿瘤,最早可在 1 岁时发现。内耳内淋巴囊肿瘤为低度恶性的乳头状肿瘤,很少远处转移,但可局部浸润。VHL 患者可出现胰岛细胞瘤和胰腺囊肿,前者多为无功能性肿瘤,部分为恶性,可扩散。18% ~ 20% 的 VHL 患者有嗜铬细胞瘤,可为双侧或肾上腺外肿瘤,部分为恶性。附睾囊腺瘤常为双侧发病,均为良性。

1. VHL 基因在 3 号染色体上的定位

采用遗传连锁分析研究染色体 3p 以确定 VHL 基因。起初 VHL 基因被定位于 3p25-26 的 6~8 分摩(cM),其后的多点连锁分析进一步把些基因定位于 RAF1 和 D3S18 标记物之间的 3p26,长 4 分摩。虽然基因无异质性,但临床症状有异质性,已发现不同肿瘤表型的家系。VHL 基因具有抑癌基因的特性,Tory 等研究了 VOL 肾癌,发现携带野生型 VHL 等位基因的 3p 丢失。根据 Knudson 氏模型和散发性肾癌常发生 LKH,提示 VHL 基因的二个拷贝失活是发生肾肿瘤的起始步骤。

2. VHL 基因的鉴定

Yao 和 Richards 在无血缘关系的 VHL 家系中发现胚系有重叠缺失,这是确定 VHL 基因的重要步骤,在 VHL 家系中识别胚系的巢性缺失对确定候选 VHL 基因的 cDNAs 很关键。1993 年 Latif 等报道了 221 例 VHL 亲属的 VHL 基因检测结果,发现 28 例有 VHL 基因重组,其中 18 例为 VHL 基因缺失所致,包括 3 例非重叠缺失,3 例 VHL 亲属中有基因内突变,但与 VHL 病无关。VHL 基因的 cDNA 起始序列为一短的开放阅读框,仅编码 284 个氨基酸,其余则为一长的 3' - 非翻译区,该氨基酸或核苷酸序列与现存 DNA 数据库内的蛋白质或基因无明显同源性。

3. 基因型和表型的联系:VHL 亚型分类

Chen 等发现 75% (85/114) 的 VHL 家系中有基因突变,且与临床表型有密切关系。VHL 家系可分为 I 型(无嗜铬细胞瘤)和 II 型(有嗜铬细胞瘤)。I 型中 56% 的基因突变为插入 - 微小缺失、无义或长度突变,而 II 型的基因突变 96% 为错义突变。Crossey 等在 11 例有嗜铬细胞瘤的家族中发现 9 例有 VHL 基因错义突变,53 例无嗜铬细胞瘤家族中有 36 例因大的缺失或突变而产生了截短蛋白。Zbar 等分析了北美、欧洲和日本的共 473 个家系的基因突变,发现 299 个 (63%) 家系中存在胚系突变。有嗜铬细胞瘤的 VHL 家族中 89% 能发现可产生全长突变型 VHL 蛋白质的基因突变,突变热点位于 167 密码子内的 CpG 岛,12% 的突变位于此区,167 密码子突变常引起嗜铬细胞瘤,但无或甚少发生肾癌。因此以下三个表型与 VHL 基因的胚系突变有关:(1) VHL I 型 - 无嗜铬细胞瘤 VHL; (2) VHL II A 型 - 嗜铬细胞瘤、视网膜血管瘤和中枢神经系统血管成细胞瘤; (3) VHL II B 型 - VHL II A 型 + 肾癌 + 胰腺病变。

4. 肾透明细胞癌的 VHL 基因突变

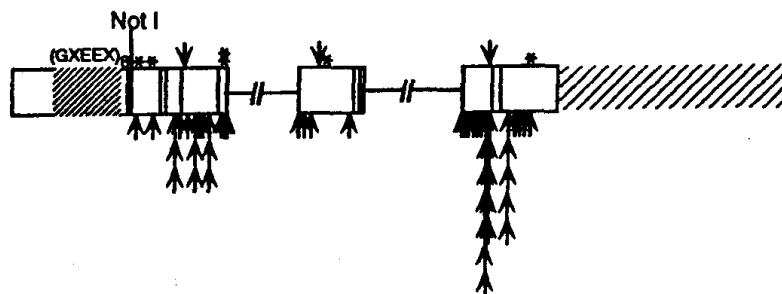
为了解 VHL 基因在肾癌中的作用,Gnarra 等检测了 110 例散发性肾癌组织和细胞系的 VHL 基因突变及 LOH,发现 98% 的患者存在 LOH,57% 的肾透明细胞癌有 VHL 基因突变,而乳头状肾癌、肺、乳腺、结肠、卵巢、宫颈、前列腺或膀胱癌的瘤组织中均未发现 VHL 基因突变(图 5-2)。体细胞和生殖细胞 VHL 基因突变的区别主要是前者在外显子 2 的突变率高于后者。VHL 基因突变可见于各期肾透明细胞癌,同一患者的多个标本具有相同的突变。Shuin 等发现 56% 的肾癌有体细胞突变,84% 的 VHL 基因有 LOH。Whaley 等在 180 多例散发性非透明细胞癌中未发现体细胞 VHL 基因突变。Cohen 等在 t(3;8) 家族的肿瘤组织中也检测到 VHL 基因突变,进一步说明 VHL 基因对肾透明细胞癌具有非常重要和特殊的作用。

5. 肾癌的 DNA 甲基化灭活 VHL 基因

Herman 等认为位于 VHL 基因 5' 区域的 CpG 岛在正常时不发生甲基化,而其超甲基化是造成相当部分肾透明细胞癌 VHL 基因失活的另一重要机制,19% (5/27) 的肾癌有 VHL 基因过度甲基化。VHL 基因可在非肿瘤肾或 VHL 基因突变失活的肾肿瘤中正常表达,但是由于 CpG 岛甲基化的结果,5 例肾肿瘤组织均无表达。VHL 基因超甲基化沉默基因的肾癌细胞系经过去甲基剂 5 - 氮杂 - 2 - 脱氧胞苷处理后,VHL 基因重新转录,表明基因的甲基化可使其失活。应进一步了解 VHL 基因的甲基化在散发性肾透明细胞癌中

的发生率及 5-氮-杂-2-脱氧胞苷等去甲基化剂的潜在应用价值。

胚系 VHL 基因突变



散发性肾癌的 VHL 基因突变

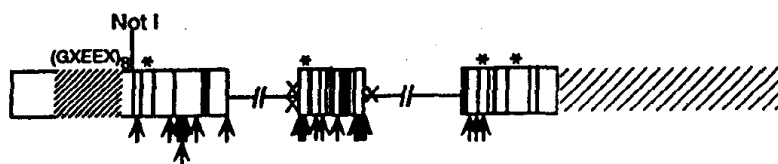


图 5-2 肾透明细胞癌(A)和 VHL 病胚系(B)的 VHL 基因突变分布图(引自 Chen F, Kishida T, Yao M, et al. Germline mutations in the Von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene: correlation with phenotype. Hum Mutat 1995;5:66; Gnarra JR, Tory K, Weng Y, et al. Mutation of the Von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in renal carcinoma. Nat Genet, 1994;7: 85)

6. VHL 抑癌基因蛋白抑制转录延长

VHL 基因与其他已知基因无明显同源性,大鼠与人的 VHL 基因有 88% 相同,但前者无人蛋白的 NH₂-末端酸性五聚体重复序列。Duan 等发现在培养的哺乳类细胞内,大鼠和人的 VHL 蛋白可与一些未知蛋白形成寡聚复合体,含有 VHL 蛋白和表观分子量(apparent molecular mass)为 9kd、16kd 的蛋白质。将自然存在的 VHL 错义突变导入 COS-7 细胞内的 VHL 基因,可引起 p16-p9 复合物全部或部分丢失。对 p16 和 p9 蛋白进行纯化及序列分析后可知它们为延长因子Ⅲ(SⅢ)复合物的组成部分。延长因子Ⅲ为异三聚体,含有 B 和 C 两个调节亚单位及一个能激活 RNA 聚合酶Ⅱ进行转录延长的转录活性亚单位 A。VHL 蛋白质与延长因子 B 和 C 特异牢固地结合,在体外能抑制延长因子的转录活性。Kibel 等发现 VHL 蛋白与延长因子 B 和 C 的结合区位于 VHL 蛋白的短共线区,而肾肿瘤常在此区突变。这些结果提示 VHL 蛋白的肿瘤抑制作用可能与它和延长因子 B、C 的结合力有关(图 5-3)。

Duan 等发现暂时转染的细胞核和胞浆内均有 VHL 蛋白;Lee 等发现 VHL 核内转运严格地受细胞培养密度调节,细胞稀少时,VHL 蛋白主要位于细胞核内,而细胞铺满时,VHL 蛋白则位于胞浆中。缺失突变分析显示,在 VHL 基因的 N-端区有一核定位信号,这表明 VHL 核转运受细胞密度调节,了解此生理调节机制可进一步了解 VHL 基因的多功能作用。

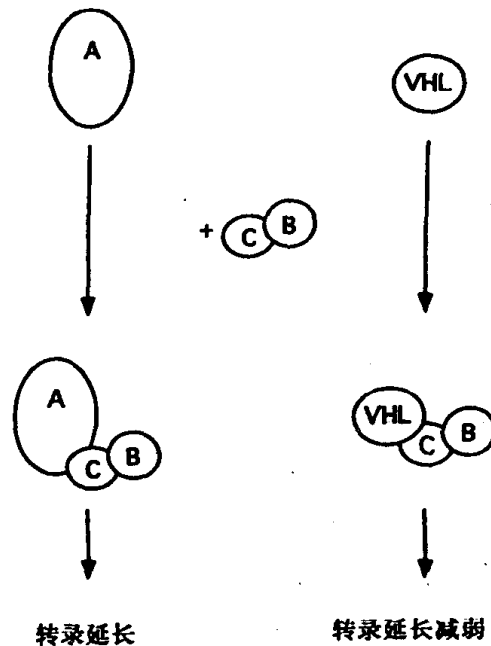


图 5-3 延长因子 B 和 C 复合体与 VHL 蛋白相互作用的示意图 VHL 蛋白与延长因子 A 竞争性结合延长因子 B 和 C, 调节延长因子 SⅢ 的转录延长; VHL 基因失活可使延长因子介导的转录延长抑制作用减弱 (引自 Gnarr JR, Duan DR, Weng Y, et al. Molecular cloning of the Von Hippel - Lindau tumor suppressor gene and its role in renal carcinoma. *Biochim BiophysActa* 1996; 1242: 201)。

(三) 遗传性乳头状肾癌

乳头状肾癌是不同于透明细胞癌的一种肾癌组织类型。透明细胞肾癌的 3 号染色体短臂上有杂合性缺失和 VHL 基因突变, 但乳头状肾癌组织无此改变。Zbar 等发现 HPRC 为常染色体显性遗传的双侧、多发性乳头状肾癌, 与 VHL 病不同, 它和 3 号染色体无关, 生殖细胞或 HPRC 瘤组织均无 VHL 基因突变。以后又发现了其他乳头状肾癌家族, 表明 HPRC 属于一种特殊的遗传性肿瘤类型。人们正对更多的家族进行研究, 以确定 HPRC 基因在染色体上的位置及其临床特点。

以上结果表明透明细胞肾癌和乳头状肾癌的分子遗传学不同, 前者有 VHL 基因突变。一旦确定了 HPRC 基因, 即可进一步了解这两种肾癌的分子遗传学基础, 且能显著提高对肾癌的诊治水平。

二、膀胱癌

约 90% 的膀胱癌来源于上皮, 其中绝大多数为移行上皮癌。根据肿瘤的组织形态和自然史, 膀胱上皮癌可分为生物学行为和预后不同的两类: 低度恶性肿瘤, 常为表浅乳头

状;高度恶性肿瘤,为乳头状或非乳头状,具有侵袭性。表浅膀胱肿瘤(Ta、Tis、T₁期)占75%~85%,其余15%~25%为浸润性(T₂、T₃、T₄期)或转移性(N⁺,M⁺)肿瘤。70%的表浅肿瘤初治后会出现一次或多次复发,其中1/3的病变加重,最终死亡。治疗方案主要取决于临床分期和分级,故正确诊断对预后具有重要意义。众所周知,任一分期中,形态相似的两个肿瘤其生物学特性可能不同,这就对正确预测患者预后产生一定困难,因此人们正试图用生物标记物和新的诊断技术来判断和监控那些易发生复发和进展的表浅肿瘤。对侵及肌层的肿瘤应重点了解肿瘤的转移能力及其对新辅助治疗的反应,应用客观预测方法能提高对肿瘤生物学特性的评价能力,并设计有效的治疗方案。

(一)细胞遗传学和间期细胞遗传学

膀胱癌细胞核型分析显示染色体有多种异常改变。已发现的非随机染色体异常包括9号染色体单体和13号染色体间质缺失,其他常见改变还有7号染色体三体、11p和3p缺失及1号染色体畸变。然而,绝大多数的分析是在少数病例中进行的,缺乏与临床病理的相关性研究。Tytkus等对17例膀胱原位癌进行核型分析,未发现9号染色体畸变,但1、5、8和11号染色体却有非随机性染色体改变。

现在多应用着丝点探针进行间期细胞遗传学研究以检测膀胱癌染色体数目改变,一些应用非同位素诊断方法的端粒及位点特异性探针已被用来检测遗传改变。Hopman等报道1q12上有染色体畸变及1、7、9、11和18号染色体数目异常。Waldma等在27例膀胱肿瘤中也发现7、9和11号染色体数目异常。

荧光原位杂交(FISH)已被用以检测膀胱癌 *erbB-2* (17q21)基因的扩增和 *c-myc* (8q24)复制数目的增加。Sauter等应用双标记杂交方法测定了141例膀胱癌,其中10例有 *erbB-2* 扩增,基因扩增与蛋白过度表达有关,但仅见于17号染色体非整倍体的肿瘤,并常侵及肌层。采用同样方法分析了87例膀胱肿瘤的 *c-myc* 基因拷贝数,其中3例明显增加,32例轻度增加,蛋白过度表达与拷贝轻度增加无关系,但 *c-myc* 的获得量与肿瘤分级、分期和Ki-67标记指数有密切关系,与8号染色体畸变在膀胱癌演变中的作用一致。FISH也可分析特异基因缺失,17P缺失与肿瘤分级及分期密切相关($P < 0.01$)。最近FISH已被用以检测膀胱冲洗液标本。为监测膀胱肿瘤复发,用1、7、9、11、15和17号染色体的着丝点序列标记探针检测了76例患者,结果24%无膀胱癌复发的患者表现为9号染色体单体。

(二)膀胱肿瘤的分子生物学和免疫病理分析

1. 癌基因

在T24膀胱癌细胞系中首先证实了 *ras* 癌基因的突变,其突变位点在H-*ras* 基因的12密码子(11p15.1)。尽管如此,关于膀胱癌 *ras* 基因的突变率一直有争议,在PCR DNA扩增技术之前认为 *ras* 基因的点突变率为10%~16%,主要改变是H-*ras* 基因12密码子的碱基替换,少数为K-*ras* 突变,而N-*ras* 无突变。Czeraniak等应用PCR方法发现40%的膀胱肿瘤有H-*ras*12密码子突变。有研究证实H-*ras* 有较高的突变率。Ooi等对124例Ta、T₁期移行细胞癌患者进行了研究,发现12密码子的G→T替换,不仅存在于初发及复发肿瘤,也存在于进展期肿瘤。Fitzgerald等在100例膀胱肿瘤患者的尿沉渣中发现44

例有 H-ras 基因的外显子 1 突变。应注意的是肿瘤类型不同,突变的 ras 家族成员也不同,如结直肠癌 K-ras 突变率约 40%,而 N-ras 突变则常见于造血系统肿瘤,另外有证据显示突变的 ras 等位基因参与结直肠癌的早期肿瘤转化。为进一步了解 H-ras 突变在膀胱癌中的作用;需采用组织显微解剖技术进行更多的病例对照研究。

膀胱癌的某些生长因子受体有过度表达与扩增。Neal 等发现浸润性膀胱癌的表皮生长因子受体(EGF-Rs)较表浅者表达增高,EGF-R 高表达与膀胱癌的高分级分期有关,为单独的预后因素。Messing 等发现正常尿路上皮基底层有 EGF-R 表达,而移行细胞癌基底层及基底上层的表达增高。Rao 等在不典型性增生尿路上皮中也发现 EGF-R 表达增高,表明 EGF-R 的过度表达可能是膀胱癌变过程中的早期改变。最近 Nguyen 等报告 EGF-R 过度表达并非是晚期膀胱癌患者的单一预后指标。Wood 等报告 14 例膀胱肿瘤,1 例出现 c-erbB-2 基因扩增,伴 mRNA 和蛋白质过度表达,5 例 mRNA 增高而无基因扩增,但其中 3 例蛋白过度表达。Sato 等报告 88 例膀胱肿瘤,23 例有 c-erbB-2 蛋白(p185)过度表达,与临床不良预后明显相关,为单一预后因素。Underwood 等研究了 236 例膀胱肿瘤的 c-erbB-2,89 例复发者中 16 例有 c-erbB-2 基因扩增,而初发肿瘤无基因扩增,肿瘤进展与基因扩增有密切关系,但与蛋白过度表达无关,因此 c-erbB-2 扩增在膀胱癌死亡的多因素分析中具有预测价值,而分期和分级仍为最有价值的单一预测因素。

细胞原癌基因产物 mdm2,或 p90 与 p53 结合,作为负调节因子抑制 p53 的转录反式激活活性。MDM2 基因位于 12q13-14,编码 90kd 的核蛋白(mdm2)。Lianes 等研究了 87 例膀胱肿瘤患者的 MDM2 和 TP53 的突变率及临床相关性,结果 26 例 mdm2 蛋白异常增高,仅有 1 例 MDM2 扩增,mdm2 过度表达与低分期、分级膀胱肿瘤有密切关系($P < 0.01$)。这些结果表明,mdm2 异常表型在膀胱癌中较常见,可能参与泌尿系肿瘤的发生或早期浸润。Barbareschi 等进行的另一研究发现,25 例膀胱肿瘤中 5 例有 mdm2 核蛋白过度表达,但与临床病理无相关性。

2. 抑癌基因

膀胱癌的分子遗传学研究显示,抑癌基因异常可能参与了肿瘤的发生与发展。11 号染色体短臂的 LOH 和 9q 等位基因丢失常见于膀胱肿瘤;17pLOH 也较常见于高分级膀胱癌。

为明确抑癌基因的分子异常在膀胱癌发病机理及发展中的作用,Presti 等随机抽取了 34 例患者,对其 5 个确定或可疑抑癌基因区 3p21-25、11p15、13q14、17p11-13 和 18q21 进行了研究,同时应用免疫组织化学技术(immunohistochemistry, IHC)检测视网膜母细胞瘤基因产物(pRB),发现肿瘤分级与 3P 缺失($P = 0.004$)和 17 缺失($P = 0.063$)有关;分期与 3p($P = 0.010$)和 17p($P = 0.015$)缺失及 pRB 异常表达($P = 0.054$)有关;血管浸润仅与 17p 缺失有关($P = 0.038$)。结果还显示 17p(TP53 位点)和 18q(DCC 基因位点)的缺失仅见于浸润性肿瘤,而 3p 和 11q 缺失则见于表浅及浸润性肿瘤。Dalbagni 等应用 18 个不同染色体臂上的多态性 DNA 标记物分析了 60 例配对的膀胱肿瘤和正常组织,发现等位基因缺失与临床病理有关,基因型与膀胱癌分期有关,提示表浅膀胱肿瘤演变存在二种遗传学途径,60%有 9q 缺失,此结果支持前述报告。局限于粘膜层的全部 Ta 肿瘤和侵及固有

层的几乎所有的 T_1 肿瘤有 9q 改变,而侵及肌层的 23 例 T_{2-4} 或 T_{2+} 中仅 10 例有 9q 缺失, T_1 和 T_2 肿瘤的 9qLOH 有显著统计学差异($P = 0.021$)。有些膀胱肿瘤仅有 9q 缺失,揭示 9 号染色体上可能存在抑癌基因;其异常可能导致表浅膀胱肿瘤发生。 T_a 病变无 5q,但 10 例 T_1 肿瘤中的 3 例和 26 例 T_2 肿瘤中的 8 例出现 5qLOH,揭示 5q 缺失可能参与表浅乳头状瘤(T_a)向早期浸润性肿瘤(T_1)的转变。47 例中有 21 例出现 17p 等位基因缺失,其中 T_a 病变未发现缺失,而 38 例浸润性肿瘤中则有 21 例出现此改变,表明 17p 参与膀胱癌发展。 T_a 肿瘤无 3p 等位基因缺失,而 33 例浸润性肿瘤中 18 例有缺失,各种不良预后指标与 3pLOH 有明显相关性。虽然 11p、6q 和 18q 等位基因缺失也在一些膀胱肿瘤中出现,但它们与临床病理无相关性,揭示它们可能仅在晚期膀胱癌发挥作用。其他抑癌基因位点的 LOH 发生率较低,且与临床病理无相关性。

Habuchi 等随后进行了等位基因分型研究,了解 1p、3p、9q、10q、11p、13q 和 17p 等 7 个染色体臂的等位基因丢失在泌尿系肿瘤中的作用,他们发现 9qLOH 常见于膀胱肿瘤,而且浸润性肿瘤 17p 和 13q 的丢失率高于非浸润性肿瘤。两个研究小组均发现了包含 13q14 上的 RB 位点的 13q 缺失,其中 Cairns 等用基因内 RB 探针发现 94 例中有 28 例出现 RB 位点的 LOH,其中 26 例为肌层浸润性肿瘤。

两个研究小组分别阐明了 RB 与膀胱癌的关系,Cordon - Cardo 等应用鼠单抗(mAB)和 IHC 对 48 例原发性膀胱肿瘤的冰冻切片进行了研究,发现 34 例 pRB 表达正常,另外 14 例则表达异常。侵及肌层的 38 例肿瘤中有 13 例 pRB 表达异常,10 例表浅肿瘤中仅 1 例异常;pRB 异常者的生存期明显低于正常者($P < 0.001$)。同样,Logothetis 等在局限浸润的膀胱癌中也发现 pRB 表达异常。他们采用 Rb - WL - 1 多克隆抗血清和 IHC 方法分析了 43 例患者,发现 37% 有 pRB 表达异常,其无瘤生存期明显下降。这些研究表明 pRB 表达异常可见于各分级、分期的膀胱癌,但更常见于肌层浸润性肿瘤,是浸润性膀胱癌的重要预后指标。临床检测膀胱癌的 TP53 突变和其编码产物 p53 的异常一直是研究的重点,早期研究提示 TP53 突变在膀胱癌中较常见,与分期、分级有关。

Dalbagni 等研究了 60 例膀胱肿瘤的 17 号染色体改变与 p53 核蛋白过度表达的相关性。17p 缺失与分级($P = 0.039$)和分期($P = 0.004$)相关,而 p53 过度表达与分级($P = 0.027$)、分期($P = 0.008$)、血管浸润($P = 0.021$)和淋巴结转移($P = 0.007$)相关。p53 过度表达与 TP53 缺失明显相关($P < 0.001$)。随后 Cordon - Cardo 等对检测 TP53 突变的各种实验方法(包括 mAB、PAb1801 的 IHC、RFLP、PCR、SSCP 和序列分析)的敏感性和特异性进行了研究,同时观察 IHC 测定的 p53 过度表达是否能可靠地确定膀胱肿瘤的突变型 TP53 产物,结果 42 例膀胱肿瘤中有 26 例可观察到核内免疫反应性,14 例出现了不同外显子的异常移动偏移,p53 核蛋白过度表达和 17pLOH 之间有密切关系($P < 0.001$),它与 SSCP 和序列分析测得的 TP53 突变的关系同样密切($P < 0.001$)。受者操作曲线统计分析显示 IHC 检测的 TP53 突变的准确率为 90.3%,并确定了 IHC 的合适判断标准,即 20% 肿瘤细胞核呈免疫反应性为 p53 阳性。

随后的一系列研究探讨了 p53 表达与表浅膀胱肿瘤进展的关系。应用 mAB PAb1801 的 IHC 技术检测了 43 例 T_1 期、54 例 T_a 期和 33 例单纯 Tis 膀胱癌的 p53 表达。细胞核 p53 过度表达与临床病理相关,将结果进行 Fisher 精确检验及单因素和多因素分析,三组

平均随访时间分别为 119 月、110 月和 124 月,每一分期患者根据前述判定标准(20%核阳性瘤细胞)分为二组,发现三组的 p53 阳性表型与肿瘤进展有密切关系($P < 0.01$),核 p53 过度表达是与肿瘤进展和死亡有关的单一指标。

关于非选择性膀胱癌的 p53 核内过度表达有二组研究报告。Lipponen 应用 IHC 和 20%核阳性染色判断标准分析了 212 例膀胱肿瘤,一抗为纯化的兔多血清(NCL-CM1-1:150 稀释),随访时间平均超过 10 年,p53 核内过度表达与肿瘤分级和进展有关;单因素分析显示,p53 过度表达者的预后较差,而多因素生存分析则显示它对临床分期和有丝分裂指数无单独预测作用。Esrig 等应用 IHC 和 PAb1801 抗体研究了 243 例根治性膀胱切除患者的 p53 核内积聚与肿瘤进展的关系,发现 p53 与高复发($P < 0.001$)和低生存期($P < 0.001$)密切相关,因此 p53 阳性是预测复发和生存期的单一因素。

新辅助化疗有助于保留浸润性膀胱癌患者的膀胱和早期治疗微转移,但原发病变的病理完全缓解率仅为 20%~30%。为确定 p53 表达异常对接受 M-VAC 化疗方案的膀胱癌患者的反应性、复发和存活期是否具有单一预测作用,Sakis 等观察了 90 例肌层浸润性膀胱癌患者,平均随访 5.8 年,47 例 p53 阳性患者的病死率明显增高,多因素分析显示,p53 过度表达对长期存活具有单一预测作用($P < 0.001$)。

如前所述,9 号染色体上遗传物质的丢失是膀胱肿瘤的早期改变,据此认为 9 号染色体的两臂上各有一畸变位点。Orlow 等分析了 73 例膀胱肿瘤,发现两区域的等位基因丢失率最高,一个在 9p 干扰素群(9p21),另一个位于 9q 的 q34.1-2 带。人类多种肿瘤细胞系的 9p21 区常发生突变,在此区寻找抑癌基因时发现了多肿瘤抑制基因 1(MTS1),即以前发现的 p16/INK4A/CDKS 2(p16)基因,另外 p15/INK4B/MTS2(p15)基因也在 9p21 上,二者前后排列。它们编码细胞周期负调节因子的一个新家族产物,发挥周期素依赖性激酶抑制分子的作用。起初人们对这些基因在细胞系中的高突变率很感兴趣,但后来的研究改变了这种情况,因为在人类原发肿瘤中并未发现相当的突变率。研究表明,p16 异常和 p15 缺失常见于包括膀胱癌在内的某些人类原发肿瘤,尤其前者更常见。p16 基因改变不依赖于 TP53 突变,提示 p16 和 p53 的肿瘤抑制作用途径不同。Orlow 等报告膀胱癌 p16 和 p15 的总缺失率及重组率分别为 19%和 18%,常见于低分期、低分级肿瘤,仅 Ta 和 T₁ 期病变有 p16 或 p15 缺失,而非 Tis。p16 改变不依赖于 p53 突变,后者常见于膀胱原位癌,结果支持膀胱肿瘤是由两种不同的分子途径引发的学说。总之,以上研究提示,p16 和 p15 异常改变使泌尿系肿瘤获得了选择性优势生长,但需其他基因突变才能形成恶性肿瘤。

(三)膀胱癌作为研究肿瘤发展的模型及发展趋势

根据膀胱癌的分子异常与自然史,人们提出了恶性肿瘤的发生和发展模型。有人认为某些特异性染色体异常和基因突变对膀胱肿瘤的发生起决定性作用,而其他改变则仅与肿瘤的发展有关(图 5-4)。原发分子异常是指与肿瘤发生有直接关系的改变,它常作为惟一的异常改变而与某些特异肿瘤有关。原发异常具有双重特性:

(1)它参与低分级、高分化肿瘤的发生,使细胞增殖不稳定,但对细胞间的相互作用、分化及细胞死亡速度或凋亡很少或不产生作用;(2)若参与高分级、低分化肿瘤的发生,则影响肿瘤的生长控制,包括影响细胞周期和凋亡的调节因子,对细胞分化有显著影响。有

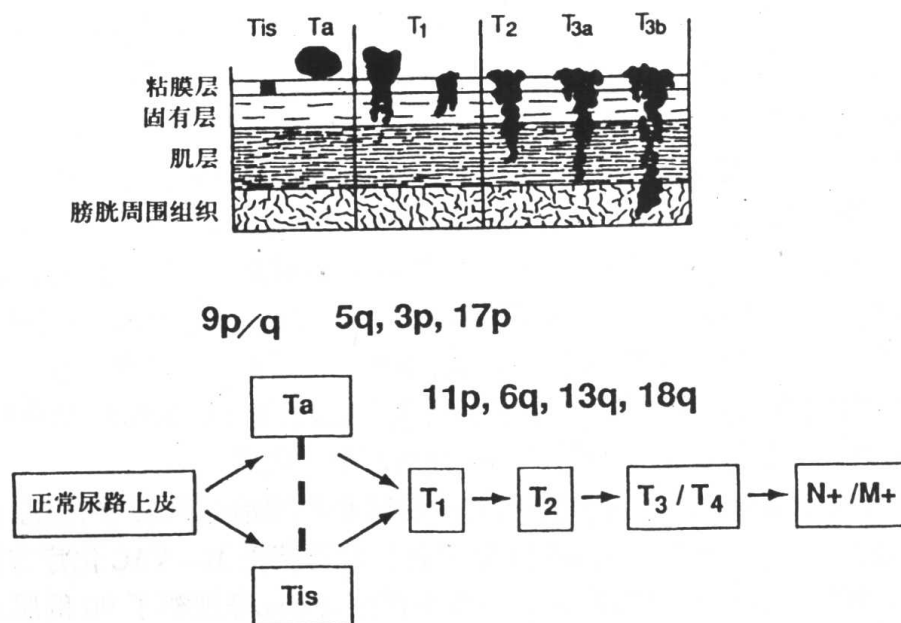


图 5-4 膀胱癌进展模型示意图

证据表明表浅低分级乳头状膀胱癌的原发事件靶点位于 9 号染色体,而高分级、扁平原位癌的原发部位尚不清楚,需应用组织显微解剖技术和分子遗传学新方法进一步研究。相反,继发异常可能是偶然事件,可能决定肿瘤的生物学行为。包括膀胱癌在内的大多数人类肿瘤可能有多种分子异常,其积累作用(而非顺序)非常重要,很可能有协同作用。因此,应注意像 TP53 和 RB 这些参与肿瘤晚期浸润的大多数基因是作为细胞周期和凋亡的主要调节因子而发挥作用的。

参与细胞周期控制的其他原癌基因(包括 cyclinD1 和 Cdk4)在膀胱肿瘤中是否有改变呢?一些尿路上皮肿瘤的遗传不稳定性是否是错配修复基因突变的结果?缺乏凋亡信号是否是对辅助治疗无反应的原因?RB 改变时,像 E2F 家族等非限制性转录因子是否能部分解释临床上的肿瘤耐药?P-糖蛋白等其他耐药机制对治疗失败能起多大作用?哪些基因参与膀胱癌的转移?这些临床难题需进一步研究。目前需要大量病例和新技术研究组织标本,以便将最新科学知识转化为诊断和治疗措施。

(四)临床意义

研究膀胱癌的基础遗传学改变可了解肿瘤转化的分子机制,进而发现新的诊疗方法;检测某些基因改变可提高尿路上皮肿瘤的早期诊断。Sidransky 等发现检测膀胱肿瘤组织和尿液标本的 p53 基因突变可显著提高膀胱癌诊断的敏感性,因为遗传学异常可在临床症状出现前数年被检测出来。人们通过一系列研究发现微卫星不稳定性与某些膀胱肿瘤有关,可出现于肿瘤的早期发生阶段;在一盲性对照研究中,同时用常规细胞学检查和基因不稳定性分析方法检测了 25 例怀疑为膀胱肿瘤的尿液标本,结果为 95% 可发现与肿瘤组织标本相同的微卫星改变,而尿细胞学检查仅能确诊 50% (9/18)。这些结果提示通过分子遗传学分析基因改变或微卫星不稳定性已成为目前筛选膀胱癌的有效辅助手段,有助于预测患者预后。

三、前列腺癌

本部分将讨论因遗传学改变而引起前列腺癌发生和发展的基因,其中包括家族性前列腺癌以及前列腺癌细胞的体细胞突变及其在肿瘤进展中的作用。

(一)肿瘤发生和发展的多步骤特性

肿瘤的发生是一复杂的多步骤过程。前列腺癌的多步骤发生学说常通过啮齿动物模型的实验研究显示。Thompson 等发现单一癌基因(如 *ras* 基因)在正常小鼠的前列腺细胞内并不能使之转化为癌,必须有第二个癌基因(*myc*)的表达才有可能使之频繁转化。即使如此,并非每个表达的细胞均能转化为癌,提示尚需其他步骤,如肿瘤抑癌基因的失活才能转化。虽然显示人类肿瘤转化的多步骤过程很困难,但是多发的遗传学异常作为人类肿瘤的一个共同特性,支持该学说。

肿瘤发生的多步骤学说应用于人类前列腺癌揭示偶发或潜伏癌及癌前病变(如前列腺上皮内肿瘤, PIN)仅为整个转变过程的一部分,若变为完全的恶性肿瘤尚需进一步“打击”或突变,某些散发的特异性基因异常与前列腺癌的分期、分级有关。尽管此理论很吸引人,但缺乏确切的证据支持,有资料显示某些特异性突变,如 *p53* 基因突变与前列腺癌的发展有密切关系。

前列腺癌的发展与哪些分子事件有关?即前列腺癌是如何或为什么能从潜伏状态发展为威胁人类生命的疾病?此演变过程是不可避免的吗?为什么有些前列腺癌患者无论何时被确诊始终不向进展期转化,而有些患者则在早期即出现转移?探讨这些问题的关键就是从分子遗传学角度来阐明前列腺癌发展的机理,只有这样才能寻找有效的治疗手段阻止肿瘤发展,而非经验性治疗。

前列腺癌的激发(形成组织学上可确定的病变)很常见,45 岁以上的男性中 1/3 会出现此病理改变。从地理上讲,这种组织学肿瘤的发病率全世界几乎相同,而临床型前列腺癌发病率却相差较大,表明有重要的环境因素参与肿瘤的激发过程。另外前列腺癌的家族聚集性提示 5%~10% 的前列腺癌直接受前列腺癌易感等位基因(见后文)遗传性的影响,而不依赖于环境因素。因此,前列腺癌和其他许多肿瘤一样受遗传学和环境因素的双重影响,其中多数是二者相互作用的结果。

(二)遗传性前列腺癌

1. 家族性前列腺癌

尽管早在 1960 年研究 Utah Mormon 人群时已发现前列腺癌具有家族聚集性,但直到最近才被广泛认为属于家族性肿瘤,以后的研究也证实了这一发现。两个大宗病例研究对确定前列腺癌是否具有家族聚集性很有意义。Cannon 等报告了 Utah Mormon 人群中前列腺癌的遗传学流行病学研究结果,值得注意的是前列腺癌的家族聚集性居第四位,仅次于唇癌、皮肤黑色素瘤和卵巢癌,高于结肠癌和乳腺癌,而后两者已被公认为具有家族遗传性。

为了解前列腺癌的家族聚集性程度,在 Johns Hopkins 医院进行了一项病例对照研究。通过 691 例男性前列腺癌患者及 640 例配偶作对照的肿瘤家谱分析发现,前列腺癌的阳

性家族史是惟一共同的危险因子。父亲或兄弟曾患前列腺癌的男性发病危险性是无亲属患病者的2倍,随家族中患病例数的增多,男性成员患病的危险性有增高趋势,如某男性的二、三个一级亲属患前列腺癌,则他患前列腺癌的危险性会增加5~11倍,Cox比例危险分析显示先证者越年轻(≤ 55 岁),其亲属患病的危险性越高。

上述研究表明前列腺癌具有家族聚集性,但并不能阐明这种家族聚集性的病因学机制。为直接阐明此问题并了解按孟德尔遗传方式能否解释家族聚集性,Canter等进行了分离分析,该分析揭示这种家族聚集性可用一个罕见($p = 0.003$)高危等位基因的显性遗传方式来解释。临床型前列腺癌的估计累积危险度显示该等位基因高度外显:85岁时88%的携带者将患前列腺癌,而非携带者仅5%患病。此模式表明遗传性前列腺癌可能在发病年龄低于55岁的早期发病者中占相当大的比例(43%),但占全部前列腺癌的比例却较小,85岁时占9%。另外,多成员及发病较早的前列腺癌家族很可能遵循孟德尔遗传规则,最适合进行连锁分析。

上述结果说明前列腺癌的遗传学与结肠和乳腺癌相似,患者继承了一种或多种肿瘤转化所需的偶然性遗传学异常,多成员患病的家族连锁分析对确定结肠和乳腺癌的易感基因(如APC、hMSH2、BRCA1和BRCA2)很重要,同样前列腺癌家族的连锁分析也将产生相似的预期结果。

2. 临床特点

为了解遗传性和散发性前列腺癌的区别,Carter等对650例前列腺癌的临床特点进行了研究,包括就诊时的临床分期、术前PSA值、最后的病理分期和前列腺重量,共分为3组。一组为遗传性前列腺癌,即根据家谱确定为一代内有3个或3个以上亲属患病,或者连续三代均有患者(包括先证者的父母谱系),或者2个亲属的发病率年龄均小于55岁;另外二组分别为其他家族成员无患病的散发性前列腺癌组及家族其他成员虽患病,但尚未达到遗传型标准者。结果各组的临床及病理表现无差异,多灶发病率亦无差异。由于携带其他肿瘤易感等位基因时靶器官常发生多发肿瘤,故有人推测遗传性前列腺癌可能也易多发,但Bastacky等的研究结果并非如此,因为以前即发现前列腺癌一般为多发,散发性和遗传性前列腺癌在这方面根本无差别。

(三)体细胞改变

1. 癌基因的作用

众多的癌基因检测已应用到前列腺癌组织中内,如ras、myc、sis、fos、EGFR和her2 neu等。前列腺癌细胞内虽有这些基因的表达,有些甚至为过度表达,但表达率相差较大,没有一个基因能保持一致的突变活性,因此,至今尚不清楚表达的机理。

早期研究表明活化的ras基因对前列腺癌可能起重要作用,特别是在啮齿类动物模型。Peehl等应用DNA转染实验首先在一个人类前列腺癌标本中发现了活化的K-ras基因。随后的研究采用PCR扩增的DNA示差寡脱氧核苷酸杂交法检测了前列腺癌标本,以了解前列腺癌的ras基因总突变率。Carter等测定了51例前列腺癌组织,包括腺泡状和导管癌、原发癌和转移癌以及前列腺癌细胞系,检测Ha-、Ki-和N-ras基因的12、13和61密码子上的突变。结果仅发现二种突变:一是A→G转换,使原发性前列腺导管癌的

Ha-ras 基因的 61 密码子上的精氨酸被谷氨酸替代;另一是 G-T 颠换,使前列腺癌细胞系 TSU-Pr1 的 Ha-ras 基因 12 密码子上的缬氨酸被甘氨酸替代,该细胞系来源于淋巴结转移。Gumerlock 和 Mou1 等也发现前列腺癌的 ras 基因突变率较低。综合这些研究可发现 94 例组织中共有 3 种 ras 基因突变,均为 H-ras,总突变率低于 4%。这些病例均为美国患者,结果说明在前列腺癌的发生或发展过程中通过点突变而激活 ras 基因并不常见。

相反,有两个研究报告无论是潜伏型或临床型前列腺癌的 ras 基因突变率均较高,约 25%。这些患者均为日本人,提示美国人和日本人的遗传学很可能有显著区别(后者的发病率比前者低 5 倍)。

后者的研究还发现,40% 多的前列腺癌组织中可检测到人乳头状瘤病毒的 DNA,北美男性前列腺癌组织中是否也存在此 DNA 尚有争议,但最近研究显示这种病毒很少见于前列腺癌,至少未达到宫颈癌的水平,此病毒与宫颈癌的病因关系已明确。

2. bcl-2、凋亡抑制剂

bcl-2 基因定位于 18q21,在人滤泡状 B-细胞淋巴瘤中因参与 t(14;18)染色体间易位的断裂点而被发现。易位后使 bcl-2 基因表达增强。bcl-2 基因编码 26kd 的膜结合蛋白,作为癌基因其过度表达可引起恶性转化,它与其他癌基因的区别在于它不提高细胞增生速度,但降低细胞的死亡速度。Mc-Donnell 等对 bcl-2 在前列腺癌的发生和发展中的作用进行了研究,应用 IHC 技术发现 bcl-2 在雄激素依赖性前列腺癌中通常不表达,而是在雄激素非依赖性细胞中表达,这已被 Colombel 等证实。这些结果表明前列腺癌 bcl-2 表达增高与向雄激素非依赖性转化有关。

3. 染色体缺失

前列腺癌的遗传学与肾癌等其他实体瘤不同,很少有一致的染色体缺失。Atkin 和 Baker 发现 7q 和 10q 是前列腺癌染色体缺失的频发部位,随后应用多态性 DNA 探针得到进一步证实,同时用探针检测了已知抑癌基因区 3p、9q、11p、13q、17p 和 18q,结果发现缺失频发区位于 10 和 16 号染色体的长臂,前者已通过核型分析确定,后者为新发现。10q 上有多个已知标记物,初步的缺失定位发现目的基因位于 10q24-qter。Kunimi 等也报告了前列腺癌的杂合性缺失,病例较少,包括 10 例原发癌和 8 例转移癌,他们对每个非近端着丝粒常染色体臂上的等位基因缺失进行了分析,发现在受检的 39 个染色体臂中,16q 最常发生缺失,其次为 10 号染色体双臂和 8p。Bergerheim 等进行的缺失定位显示,重要缺失区位于 8p12-q11.2 上的 pter 和 PLAT 之间以及 16 号染色体的 q21.1 和 qter 之间。有趣的是,Koning 等以前即在一些异种移植的前列腺癌上发现 8p 缺失,而且它与产生雄激素非依赖性有关。

如前所述,Bergerheim 等进行的研究显示前列腺癌的 LOH 位于 8p,Bova 等对 50 多例前列腺癌标本的染色体缺失定位进行了进一步研究,结果与 Kunimi 等的研究相似,8p 等位基因缺失率较高,特别是近 70% 出现 MSR 位点缺失,该位点位于 8p22,其中 1 例在此位点尚观察到纯合缺失;8p 缺失图将最小重叠区定位于 D8S163 和 LPL 之间的 14cM 长区域,在 MSR 位点两侧。Bookstein 等报告了此区域的物理图,Macoska 等应用 PCR、原位技术及 MacGrogan 等采用微卫星重复多态均观察到此区域标记物常丢失,后者及 Trapman

等在此染色体臂的更近侧还发现了一个等位基因缺失区。这些研究提示 8p 上存在一个或多个抑癌基因。有趣的是,结直肠癌和肺癌等多种人类常见肿瘤的 8p 上常有 LOH,它们与前列腺癌的 LOH 是否为同一基因尚不清楚,据估计大多数肿瘤的失活基因可能均位于该区域。确定参与前列腺癌发生的 8p 基因将有助于进一步明确其发生过程。

有些前列腺癌的 8p 除序列缺失外,尚观察到 8q 序列的拷贝数增加,提示该染色体上可能存在一个活化的癌基因,肝癌也有此现象。与 8q 序列增加相比,前列腺癌的 8p 缺失率相对较高,揭示后者的改变可能先于前者,它可能对肿瘤进展更重要。Van Den Berg 等证实了前列腺癌(特别是晚期者)的 8q 序列增加,提示 8q 部分扩增具有单独预后作用,目的基因很可能就是位于 8q24 的 *c-myc* 基因,前列腺和其他许多肿瘤都有 *c-myc* 高表达的报告,要明确 8q 增加和 *c-myc* 表达的关系需进一步研究。通过 FISH 等技术测定染色体畸变可获得有价值的预后信息,如 7、8 号染色体的非整倍体预示前列腺癌预后不良。

4. 比较基因组杂交(CGH)分析

Visakorpi 等应用比较基因组杂交新技术对未治疗的局限性前列腺癌和激素治疗失败者的全部基因组进行了研究,发现 8p 最易缺失,其次为 13q、6q、16q、18q 和 9p,与未治的原发肿瘤相比,激素治疗失败的 9 例晚期前列腺癌的 5p 缺失及 7p、8q 和 X 染色体增加均较之明显增高。有证据显示发生于后者染色体上的基因扩增可能就是雄激素受体基因。这些研究不但支持既往的前列腺癌等位基因缺失研究,而且扩大了包含“前列腺癌基因”的染色体区域。

5. 雄激素受体

雄激素在正常前列腺中的生理作用是无可置疑的,但雄激素及其受体(AR)对前列腺癌的作用尚不太清楚。最近,学者们对其作用途径及其在雄激素非依赖性前列腺癌进展中的作用产生了浓厚兴趣。起初认为 AR 基因丧失表达对雄激素非依赖性肿瘤很重要,后来的研究否定了此假说,因为在这些肿瘤中仍发现有 AR 基因表达,有的甚至高表达,Newmark 等首先在一未接受任何激素治疗的局限性前列腺癌组织中发现了突变的雄激素受体,其作用尚不清楚,它有可能使细胞在正常雄激素水平下优先生长。Sartor 等观察到有些患者停用抗雄激素药物氟他胺(flutamide)有反常反应,即停药后一些临床指标(如 PSA 水平和骨痛)反而改善。一种解释是,这些患者的 AR 基因突变与前列腺癌细胞系 LNCaP 相似,后者在密码子 868 上有 Thr→Ala 的转变,改变了受体的配体特异性,以致雌激素、抗雄激素剂和雄激素均可起激活剂的作用。前列腺癌的这种突变率尚不清楚,Ta-plin 等在 10 例骨转移的激素难治性前列腺癌中发现 5 例 AR 突变,其中至少 2 例 AR 激素特异性发生了改变。Visakorpi 等曾发现激素治疗失败的前列腺癌中 30% 出现 X 染色体区 q11-q13 的拷贝数增加,AR 基因即在此区,提示此类肿瘤并非对雄激素超敏感。因此,虽然对雄激素及其受体在前列腺癌中的确切作用尚不清楚,但这些研究提示它在前列腺癌的进展过程中可能起重要作用。

6. E-钙连素(E-Cadherin)和 α -钙粘素(α -Catenin)

16q 上等位基因的缺失使学者们想进一步检测该区的特定基因。E-钙粘素位于 16q21.1,其基因产物起初被 Peyrieras 等命名为桑椹粘蛋白,Behrens 等称之为 Arc-1,

Takeichi 称之为 E-钙粘素。它在胚胎和器官发生过程中起重要作用,介导上皮细胞间的识别和粘着。事实上,早期鼠胚胎细胞表面出现 E-钙粘素是其正常发育所必需的。目前钙粘蛋白的家族很大,可在多种细胞表达。E-钙粘素维持细胞分化的作用使人们欲进一步了解其对腺癌细胞的作用,发现 E-钙粘素在肿瘤细胞系中的水平常降低或缺乏,这些细胞系的形态通常更像纤维母细胞,实验测定时具有侵袭力。Vleminckx 等发现用抗体或反义 RNA 灭活 E-钙粘素后能获得侵袭力,用 E-钙粘素的 cDNA 转染侵袭性腺癌细胞能使之丧失侵袭性。

Bussemaker 等首先在 Dunning 鼠模型中检测了前列腺癌的 E-钙粘素,发现此蛋白缺乏与肿瘤转移或侵袭有密切关系。E-钙粘素阳性的非侵袭性肿瘤可发展为 E-钙粘素阴性且高度转移的肿瘤,这种直接观察结果更证实了这种关系。为了解人类前列腺癌中是否也如此,Umbas 等采用 IHC 技术检测了 90 多例前列腺癌标本的 E-钙粘素水平,结果良性者均表现为细胞间边缘的均匀强染色,肿瘤中的一半表现为 E-钙粘素染色减弱或消失。Gleason 高分级与 E-钙粘素异常染色有密切关系,Gleason 评分为 9 和 10 的肿瘤均无正常染色,低于 6 分者均染色正常。随后对其预后价值进行了研究,发现 E-钙粘素染色异常在疾病进展及总生存率方面均明显预示着不良预后。

为进一步了解 E-钙粘素介导的细胞间粘附对前列腺癌的作用,Morton 等应用免疫沉淀法研究了该蛋白及其相关蛋白在前列腺癌细胞系中的合成及其构造,发现培养的正常前列腺上皮细胞可产生丰富的 E-钙粘素,并与胞质内的 α 和 β 钙连素形成复合物。据认为这些蛋白(尤其 α -钙连素)可将 E-钙粘素与微丝细胞骨架连接起来,而且只有 E-钙粘素与这些蛋白相互作用才能诱发细胞间粘附作用。培养的前列腺癌细胞系中的 E-钙粘素水平常降低或缺乏,与手术切除的前列腺癌组织一样。在研究中还意外发现与 E-钙粘素相关的 α -钙连素水平亦降低;与正常表达 E-钙粘素和 α -钙连素的细胞相比, α -钙连素在 PC-3 前列腺癌细胞中的丢失与肿瘤细胞聚集力下降和侵袭力增加有关。 α -钙连素基因位于 5q31,其假基因位于 5q21-22,纯合性缺失使 PC-3 细胞无 α -钙连素表达。因此 E-钙粘素介导的细胞间粘附可通过多种方式灭活,该途径灭活后主要使细胞分化丧失并使前列腺癌获得侵袭力。最近发现 APC 基因产物与 β -钙连素可相互作用,提示可能有一癌易感基因通过新的作用机制,如调节细胞间粘附而发挥作用。

7. 微细胞转移研究

许多研究应用了微细胞转移技术,即将一特定染色体的正常拷贝插入前列腺癌细胞系,以判断染色体上是否存在抑制肿瘤生长的基因。包括 13(可能因为 RB 活性的恢复?) 12q、17 和 5 号染色体在内的一些染色体具有抑制肿瘤的特性,12 和 17 号染色体上具有此活性的基因尚未确定,后者的抑制力可能与 p53(可抑制体外生长,见后)活性恢复无关,提示这条染色体上可能还有一个抑癌基因。

5 号染色体上的候选抑癌基因是 α -钙连素,将 5 号染色体的一个正常拷贝重新导入 PC-3 细胞,并接种至裸鼠后发现不但细胞的致瘤性丧失,而且其形态亦有明显改变,在体外形成紧密堆集的上皮样克隆,以肌动蛋白为主形成的细胞骨架结构亦有显著改变。这种向正常表型的转变与 α -钙连素的重新表达有关,而且 E-钙粘素介导的细胞间粘附作用也同时恢复。这些结果表明了钙粘素和钙连素介导的细胞粘附对细胞增生的调节作