

钦伦秀 主编

MOLECULAR DIAGNOSIS & PREDICTION
of CANCER

肿瘤的分子诊断与预测



上海科技教育出版社

肿瘤的分子诊断与预测

钦伦秀 主编

MOLECULAR
DIAGNOSIS
&
PREDICTION
of
CANCER



上海科技教育出版社

图书在版编目(CIP)数据

肿瘤的分子诊断与预测/钦伦秀主编. —上海:上海
科技教育出版社,2004. 12

ISBN 7-5428-3523-8

I. 肿... II. 钦... III. 肿瘤—分子生物学—实验
室诊断 IV. R730.43

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 092904 号

肿瘤的分子诊断与预测

主 编 / 钦伦秀

责任编辑 / 许华芳

装帧设计 / 汤世梁

出版发行 / 世 纪 出 版 集 团

上海科技教育出版社

(上海冠生园路393号 邮政编码200235)

网址 / www.ewen.cc

www.sste.com

经销 / 各地新华书店

印刷 / 上海中华印刷有限公司

开本 / 787×1092 1/16

字数 / 820 000

印张 / 47.5

版次 / 2004年12月第1版

印次 / 2004年12月第1次印刷

印数 / 1-3 000

书号 / ISBN 7-5428-3523-8/R·270

定价 / 100.00元

ISBN 7-5428-3523-8



9 787542 835239 >



钦伦秀 男,1966年生,博士,复旦大学肝癌研究所、复旦大学附属中山医院外科教授、主任医师、博士生导师、肝外科副主任。1987年本科毕业(临床医学系),1990年获硕士学位(肝胆外科),1993~1996年师从著名肝癌外科专家汤钊猷院士,获博士学位。1999~2000年先后在美国国立卫生院(NIH)及香港大学进修并进行合作研究。现为中华医学会全国肝脏外科学组青年委员、中国抗癌协会肝癌专业委员会委员、上海市医学会肿瘤靶分子专科委员会常务委员兼肝癌组组长、国家自然科学基金委员会生命科学部专家评审组专家成员、上海市科技创新团队(肝脏系统生物学)主要成员。*World J Gastroenterol*、《中华肝胆外科杂志》、《肿瘤》、《癌症》等多本英、中文杂志的编委,*J Cancer Res Clin Oncol*、*J Exp Clin Oncol*、*Chin Med J*、*HBPD INT*、*The Chin-Germ J Clin Oncol* 以及《中华外科杂志》等多本英、中文杂志审稿人或通讯编委。

1993年以前主要从事普通外科临床工作,此后主要从事肝肿瘤外科临床工作。主要研究方向为肝癌转移复发的机制及其防治。目前承担国家“863”重点专项子项目、国家杰出青年基金、国家自然科学基金、教育部重大项目、教育部跨世纪优秀人才基金、上海市青年科技启明星计划(包括跟踪计划)及复旦大学 Med-X 基金重点项目等研究。作为主要成员参与国家“973”重点基础研究发展规划项目、“九五”及“十五”攻关、美国中华医学基金会(CMB)、上海市医学发展基金重点项目及上海市医学领先专业等的研究工作。

发表论文 40 余篇(其中近半数在英文杂志发表,包括 *Nature Med*、*Cancer Res* 等国际著名杂志)。曾获上海市科技进步二等奖、中华医学科技奖、上海市卫生系统银蛇奖(上海市卫生系统最高荣誉奖)、上海市卫生系统先进工作者、上海市新长征突击手、明治乳业生命科学奖优秀奖等多项奖励。参与 5 本专著的编写。多次应邀在国际及国内学术会议作特邀报告。

编写者(以章节先后为序)

钦伦秀	复旦大学肝癌研究所	肝外科副主任、教授、博士
翁永强	复旦大学肝癌研究所	博士研究生
孙惠川	复旦大学肝癌研究所	副教授、博士
赵 磊	复旦大学肝癌研究所	博士
吴 欣	复旦大学肝癌研究所	助理研究员、博士
梁春敏	复旦大学肝癌研究所	博士研究生
徐 泱	复旦大学肝癌研究所	博士
杨 炯	复旦大学肝癌研究所	博士
叶青海	复旦大学肝癌研究所	副教授、博士
冯巨涛	复旦大学肝癌研究所	博士研究生
贾户亮	复旦大学肝癌研究所	博士研究生
朱晓群	复旦大学肝癌研究所	硕士研究生
孙一睿	复旦大学肝癌研究所	硕士研究生
王红海	复旦大学肝癌研究所	硕士研究生
雷科锋	复旦大学肝癌研究所	硕士研究生
张 侗	复旦大学肝癌研究所	博士研究生
任 宁	复旦大学肝癌研究所	主治医师、博士

序

由钦伦秀教授主编的《肿瘤的分子诊断与预测》一书要我写序,我欣然同意了。近年由于年龄与健康的原因,对很多作者要我写序的邀请都婉谢了,但这本书我还是想写上几句。理由是:第一,“肿瘤分子诊断与预测”是当前肿瘤研究的一个重点。要攻克肿瘤,诊断是需要首先解决的问题。肿瘤标记物是肿瘤诊断极为重要的一个方面,它已从肿瘤细胞产物、肿瘤抗原发展到当今的分子标记物;肿瘤诊断的内涵也从肿瘤诊断扩展到转移复发和预后的预测;甚至肿瘤的分型,也将出现与过去不同的分子分型,也就是更多地从肿瘤生物学特性的角度来分型。更为重要的是,从事这一研究必将涉及攻克肿瘤的核心问题——“癌的侵袭与转移”,需要寻找癌侵袭转移相关的分子,而这些分子机制的研究,又必将给肿瘤治疗提供新的靶点。这些重大技术与观念的改变,将给临床医师以崭新的视野。第二,这本书的作者都是直接从事这方面工作的博士或即将获博士学位的年轻学者。尽管他们的年龄都不超过40岁,但已承担着国家级相关的重大课题,有些已在Nature Medicine、Cancer Research等国际权威杂志发表第一作者论文。他们掌握这个领域的最新动向,他们有自己的实践经验,加上年轻,思想也比较敏锐。他们中的多数曾经或现在是我的博士研究生,据我了解,学风也比较严谨。第三,更为重要的是,他们中的多数是临床医师。钦伦秀教授是外科医师、博士生导师,其他有些是副教授或外科主治医师,在临床繁忙工作的同时能在较短时间内写出这本专著,是特别难能可贵的。由于多数是临床医师,因此更注重与临床的结合。临床与基础的更紧密结合是推动基础研究更快地转化为临床实践的关键。我相信这本书对从事癌症研究者和临床肿瘤医师有参考价值,也许对临床医师而言有些超前,但这些内容付诸临床应用当指日可待。

中国工程院院士

汤钊猷

2004年6月

前言

肿瘤的分子诊断与预测,是分子医学的重要组成部分,已成为近年肿瘤研究的热点领域,甚至被列为21世纪“最有望改善全球健康状况的十大关键生物技术”之首位。随着分子生物学的发展,特别是人类基因组计划的顺利实施、人类基因组序列的剖析、相关基因功能的识别,对肿瘤的发生、发展及转归机制有了更深入的了解,使人类除了能更早期发现及诊断肿瘤外,还可预测人群或个体发生肿瘤的风险(肿瘤易感性)、病因检测、肿瘤的恶性特征、对特定治疗手段的反应(疗效预测)、转移复发的可能与早期发现等,进行肿瘤诊断、分类、判断预后及指导治疗。同时也赋予传统意义上的肿瘤实验诊断以新的内涵。

遗憾的是,迄今国内尚未有一本现成的、能反映这一活跃领域动向的专著。在我的老师汤钊猷院士的鼓励下,在繁忙的临床工作之余,联合几位有同样兴趣的年轻同人,结合我们各自的相关工作,参照相关最新文献,集中成册。经过近一年的努力,《肿瘤的分子诊断与预测》一书终于付梓。

全书分为4个部分:第一部分主要介绍可用于肿瘤分子诊断与预测的标记物。诊断就是要发现差异,标记物是基础。并简要叙述肿瘤标记物的定义和分类、发展历程及概况,新分子标记物的发展途径、临床用途的判定,以及常用标记物的临床应用指南等;并重点介绍了AFP、CEA、PSA、HER/neu及p53等重要标志物的生物学特性及其应用,以及外周血核酸的检测、遗传与肿瘤分子诊断、肿瘤侵袭转移相关分子等研究热点。第二部分主要介绍肿瘤分子诊断与预测的相关技术。第三部分主要介绍肿瘤的分子诊断,包括肿瘤分子诊断的途径及其意义(早期诊断、分子显像、分子分类与分期、以及个体化治疗等)。第四部分为肿瘤的分子预测,包括肿瘤侵袭转移的分子预测,微小残留的检测及其意义,肿瘤疗效预测与个体化治疗等,并概括了作者所在单位有关肝癌转移复发的预测指标的研究成果。

这是本人独立主编的第一本专著,欣喜之余,难免有些顾虑。作为一位临床外科医生,这本书的内容的确有所超前,不在“正业”(临床外科手术)范围之内,有“不务正业”之嫌。尽管本人近10年来一直从事该领域的研究工作,并且先后得到“863”重大专项基金等的资助,在国际杂志发表多篇相关论文,但本人及大多数参与写作的年轻同道都是未受过正规分子生物学训练的临床外科医生,在实际写作过程中,备感知识浅薄、力有不逮。但在大量的临床

工作中发现许多问题难以用“手术刀”解决,在当今生物医学迅速发展的今天,分子生物学技术已成为临床医学的必备。只好现学现卖,力争尽可能地忠实反映这一领域的最新进展。难免有错讹之处,尚请各位师长、同道批评指正!

最后,衷心感谢我尊敬的老师汤钊猷院士!没有他的热情鼓励,我难以有这种勇气和决心。感谢所有参与本书编写以及为本书付出辛勤劳动的同人,是他们的共同努力,才使本书得以面世。

汤钊猷

2004 年 11 月 25 日于上海

目 录

I 肿瘤诊断与预测的分子标记物

1 肿瘤标记物的发展与应用(钦伦秀)	3
1.1 肿瘤标记物的定义和分类	4
1.2 肿瘤标记物的发展概况	5
1.3 甲胎蛋白	10
1.4 癌胚抗原	16
1.5 前列腺特异性抗原	22
1.6 肿瘤标记物的临床应用	36
2 肿瘤分子标记物的选择与发展(钦伦秀)	63
2.1 肿瘤分子标记物的分类	64
2.2 肿瘤分子标记物的选择	66
2.3 肿瘤分子标记物的发展途径	70
2.4 分子细胞遗传学标记	75
2.5 外周血核酸作为肿瘤标记物	83
2.6 <i>HER/neu</i> 基因	88
2.7 <i>p53</i> 基因突变	94
3 遗传与肿瘤分子诊断(钦伦秀)	117
3.1 遗传性肿瘤综合征	118
3.2 临床肿瘤遗传学咨询服务	141
4 肿瘤侵袭转移的相关分子(钦伦秀 翁永强 孙惠川 赵磊 吴欣)	161
4.1 肿瘤转移的过程与细胞生物学基础	163
4.2 肿瘤转移相关分子遗传学标记	172
4.3 肿瘤转移相关基因	182
4.4 细胞黏着分子	195
4.5 细胞外基质降解相关分子	208
4.6 宿主微环境相关分子	215

II

4.7 肿瘤血管生成相关分子	221
----------------------	-----

II 肿瘤分子诊断与预测相关技术

5 免疫相关技术(梁春敏 吴欣)	273
5.1 概述	274
5.2 免疫组织化学技术	275
5.3 酶联免疫吸附测定技术	278
5.4 免疫印迹技术	280
5.5 放射免疫分析技术	281
5.6 免疫电镜技术	283
5.7 流式细胞术	286
5.8 免疫磁化富集技术	289
5.9 凋亡细胞的检测技术	289
6 肿瘤分子诊断相关的分子生物学技术(吴欣 徐泱)	295
6.1 目的基因获取相关技术	296
6.2 目的基因分析技术	302
6.3 差异显示相关技术	315
6.4 噬菌体展示技术	322
7 荧光原位杂交及其相关的分子细胞遗传学技术(杨炯 钦伦秀)	341
7.1 概述	341
7.2 荧光原位杂交技术	342
7.3 多色荧光原位杂交	346
7.4 比较基因组杂交技术	349
7.5 其他FISH技术	351
7.6 FISH技术与其他技术的联合应用	357
7.7 结语和展望	360
8 生物芯片技术(叶青海 冯巨涛)	369
8.1 基因芯片技术	371
8.2 组织芯片技术	379
8.3 蛋白质芯片	387
9 蛋白质组学相关技术(冯巨涛 钦伦秀)	403
9.1 蛋白质样品的制备技术	404

9.2 蛋白质分离技术	407
9.3 蛋白质的鉴定技术	418
9.4 定量蛋白质组学研究技术	428
9.5 蛋白质相互作用的研究技术	435
9.6 蛋白质组信息学	445
10 组织显微切割技术(贾户亮 钦伦秀)	453
10.1 概述	453
10.2 激光捕获显微切割的基本原理	455
10.3 激光捕获显微切割的基本过程	456
10.4 激光捕获显微切割系统的优缺点	460
10.5 激光捕获显微切割系统的应用	462
10.6 发展和展望	470

III 肿瘤的分子诊断

11 肿瘤分子诊断的途径(钦伦秀 朱晓群 孙一睿)	477
11.1 肿瘤易感基因的检测	478
11.2 肿瘤相关基因蛋白质水平的检测	478
11.3 肿瘤相关基因扩增/过表达、突变/缺失的检测	479
11.4 表型遗传修饰的检测	484
11.5 染色体微卫星异常分析	490
11.6 端粒酶活性的检测	494
11.7 基因表达图谱	499
11.8 新技术在肿瘤分子诊断中的应用	508
12 肿瘤分子诊断的意义(钦伦秀 王红海 雷科锋 张佃)	521
12.1 肿瘤的早期诊断	522
12.2 肿瘤的分子显像	524
12.3 肿瘤的分类与分期	538
12.4 肿瘤的个体化治疗	548

IV 肿瘤的分子预测

13 肿瘤侵袭转移的分子预测(任宁 钦伦秀)	573
13.1 问题的提出	573
13.2 有潜在临床价值的组织学指标	574
13.3 有潜在临床价值的血清学指标	597

IV

13.4 有潜在临床价值的其他体液及骨髓指标	605
13.5 问题与展望	606
14 微小残癌的检测及其意义(赵磊 钦伦秀)	629
14.1 概论	630
14.2 播散肿瘤细胞和微转移相关的分子标记物	631
14.3 检测临床标本中播散肿瘤细胞和微转移的非核酸相关技术	632
14.4 检测临床标本中播散肿瘤细胞与微转移的核酸相关技术	634
14.5 外周血中肿瘤DNA的检测	641
14.6 骨髓中播散肿瘤细胞的检测及生物学特征	645
14.7 淋巴结中播散肿瘤细胞的检测及生物学特征	647
14.8 实体瘤患者播散肿瘤细胞检测的临床意义	648
15 肿瘤疗效的分子预测(张佃 钦伦秀)	673
15.1 疗效预测指标与预后预测指标的区别	674
15.2 分子标记物在肿瘤疗效判定中的意义	676
15.3 分子标记物在肿瘤疗效预测中的应用	676
15.4 HER-2/neu状态对乳癌疗效的预测	683
15.5 新技术促进疗效预测分子标记物的发现与应用	688
15.6 问题与展望	695
16 肝癌转移复发的预测指标(钦伦秀)	709
16.1 癌细胞“特异性”标记物	710
16.2 细胞增殖和细胞周期相关标记物	712
16.3 癌基因与抑癌基因	714
16.4 细胞黏着分子	716
16.5 细胞外基质降解酶	719
16.6 肿瘤血管生成调节因子	721
16.7 基因组异常和癌表达谱	723
16.8 其他	725
16.9 复旦大学肝癌研究所有关肝癌转移复发预测指标的研究概述	726
16.10 问题与展望	728

I 肿瘤诊断与预测的分子标记物

1 肿瘤标记物的发展与应用

1.1 肿瘤标记物的定义和分类

1.2 肿瘤标记物的发展概况

1.2.1 第一代标记物:肿瘤细胞的产物

1.2.1.1 酶类肿瘤标记物

1.2.1.2 激素类肿瘤标记物

1.2.1.3 蛋白质类标记物

1.2.2 第二代标记物:肿瘤抗原

1.2.3 第三代标记物:细胞表面分子标记物

1.2.4 第四代标记物:细胞核内相关分子

1.3 甲胎蛋白

1.3.1 AFP的结构与生理

1.3.2 影响AFP水平的因素

1.3.3 AFP在肝癌临床中的应用

1.3.3.1 AFP用于肝癌筛查与早期诊断

1.3.3.2 AFP用于肝癌的诊断与鉴别诊断

1.3.3.3 AFP用于肝癌治疗后的疗效评价与预后判断

1.3.3.4 AFP用于肝癌患者转移复发的预测

1.3.4 AFP异质体

1.3.4.1 定义

1.3.4.2 AFP异质体的临床应用

1.4 癌胚抗原

1.4.1 CEA的结构和功能

1.4.2 影响结直肠癌患者血清CEA水平的因素

1.4.3 血清CEA作为结直肠癌标记物

1.4.3.1 结直肠癌的筛查

1.4.3.2 结直肠癌的诊断

1.4.3.3 结直肠癌患者预后的评估

1.4.3.4 结直肠癌肝转移患者预后的评估

1.4.4 CEA用于结直肠癌术后的监测

1.4.5 胆汁中CEA浓度用于结直肠癌肝转移的预测

1.4.6 血清和体液CEA mRNA的测定及其意义

1.5 前列腺特异性抗原

1.5.1 PSA简介

1.5.2 血清PSA升高的机制与原因

1.5.3 血清PSA水平的动态变化特征

1.5.4 PSA检测的缺陷与提高PSA效能的途径

1.5.5 PSA检测的意义

1.5.5.1 PSA作为前列腺癌早期发现的手段

1.5.5.2 PSA作为前列腺癌分期的手段

1.5.5.3 在前列腺癌复发监测和治疗反应评价中的作用

1.5.6 结语

1.6 肿瘤标记物的临床应用

1.6.1 肿瘤标记物的临床用途

1.6.1.1 肿瘤的筛查

1.6.1.2 肿瘤的诊断与鉴别诊断

1.6.1.3 预后的判断

1.6.1.4 肿瘤患者的治疗后监测

1.6.2 肿瘤标记物临床用途的判定

1.6.3 肿瘤标记物临床应用指南

1.6.3.1 生殖细胞肿瘤

1.6.3.2 结直肠癌

1.6.3.3 乳癌

1.6.3.4 卵巢癌

1.6.3.5 前列腺癌

1.6.3.6 肺癌、神经内分泌癌和甲状腺癌

1.1 肿瘤标记物的定义和分类

肿瘤标记物,广义地讲,是指肿瘤细胞区别于正常细胞的生物学和分子特征(也称生物学标记物和分子标记物);是在肿瘤发生、发展过程中,由肿瘤细胞合成、释放,或是宿主对肿瘤的反应性释放的一类物质。肿瘤标记物可能是仅存在于肿瘤细胞的独特基因或其产物;或者可能是一些在正常细胞存在、但在肿瘤细胞的特殊部位异常表达的基因或其产物,表现为量的异常;或对细胞应激、环境信号反应的功能异常。肿瘤标记物可能位于细胞内或细胞表面,或分泌至细胞外间隙,甚至进入血循环。

尽管肿瘤标记物可能在肿瘤诊断方面发挥一定作用,但很少单独依靠特异性的标记即可真正做出明确诊断。对于大多数肿瘤科医师来说,肿瘤标记物的真正价值在于改善患者预后、选择最可能受益于特定疗法的患者以及监测疾病过程。随着对癌的分子特征的不断了解,很可能发展出特异性、敏感性及预测价值更高的肿瘤标记物。

由于对肿瘤发生、发展及其生物学特征的进一步了解,发现愈来愈多与肿瘤相关的标记物,但这些肿瘤标记物的来源和性质非常复杂,迄今还没有统一的分类方法。目前主要根据标记物的来源和标记物本身的化学特性进行分类。

根据来源及其特异性,肿瘤标记物大致分为两大类:①肿瘤特异性标记物(仅由某一种肿瘤产生的特异性物质),如前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)为前列腺癌的特异性标记物;②肿瘤辅助性标记物(是一类组织类型相似而性质不同的肿瘤中,水平出现变化),大多数标记物属于此类,这类标记物在良性肿瘤和正常组织中也出现,但在肿瘤发生时,其水平明显高于良性肿瘤和正常组织。

根据标记物本身的化学特性,肿瘤标记物可分为:胚胎性抗原标记物;糖类标记物;酶类标记物;激素类标记物;蛋白质类标记物;基因类标记物^[1]。

1.2 肿瘤标记物的发展概况

1.2.1 第一代标记物:肿瘤细胞的产物

肿瘤细胞的产物(tumor cell product)为最初发现的肿瘤标记物。包括肿瘤细胞所产生的骨髓瘤蛋白(myeloma protein)、激素、酶类及其同工酶等。

1.2.1.1 酶类肿瘤标记物

酶及其同工酶是最早发现和使用的肿瘤标记物之一。早在20世纪五六十年代,人们就已发现细胞癌变过程中,由于基因调控失调,导致蛋白质合成紊乱,从而使机体的酶活性(包括同工酶谱)发生明显变化。原因包括:①肿瘤细胞或组织本身诱导其他细胞和组织产生酶;②肿瘤细胞的代谢旺盛,细胞通透性增加,肿瘤细胞内的酶进入血液,或因肿瘤引起某些器官功能不良,导致酶的灭活和释放障碍。根据其来源,肿瘤标志酶可分为两类:①组织特异性酶,因组织损伤或变化导致贮存在细胞内的酶释放出来,如PSA;②非组织特异性酶,主要是由于肿瘤细胞代谢加强,特别是无氧酵解增强,大量酶进入血液中,如己糖激酶等。

在酶类肿瘤标记物分析中,同工酶的分辨和检测是提高标记物临床应用的重要环节。目前已知的肿瘤标志同工酶可分为三大类型:①异位型同工酶,指某种肿瘤组织改变了自己的分泌特性,而分泌表达了其他组织的同工酶;②胚胎型同工酶,某些组织在癌变时,同工酶谱退化到胚胎时未分化状态,而分泌大量胚胎时期的同工酶,这种变化往往与肿瘤的恶性程度成正比;③胎盘型同工酶,有些肿瘤可分泌一些原属胎盘阶段的同工酶谱。

目前已知的酶类标记物包括:前列腺特异性抗原(PSA,丝氨酸蛋白酶)(前列腺癌,后详述);醛缩酶(3个同工酶,肝脏肿瘤);碱性磷酸酶(7个同工酶,骨、肝、卵巢等肿瘤,肉瘤,白血病);淀粉酶(胰腺肿瘤);谷胱甘肽转移酶(多个同工酶,肝、胃、结肠等肿瘤);肌酸激酶(4个同工酶,前列腺、肺、结肠、卵巢等肿瘤); γ -谷氨酰转移酶(GGT, *gamma-glutamyl transferase*)(12个同工酶,肝脏肿瘤);乳酸脱氢酶(5个同工酶,肝脏肿瘤、淋巴瘤、白血病);神经源特异性烯醇化酶(2个同工酶,成神经细胞瘤,即神经母细胞瘤,类癌、黑素瘤、嗜铬细胞瘤)等。

酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)主要存在于血细胞等的溶酶体