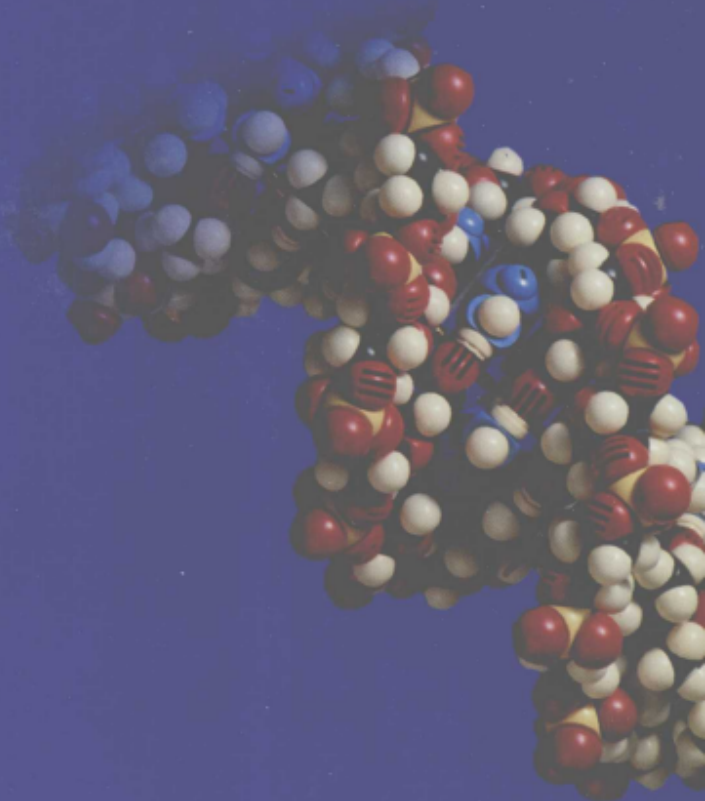


主 编 司履生
副主编 李 旭

癌基因

抑癌基因

肿瘤相关基因



陕西科学技术出版社

责任编辑 郑 冰
赵彩萍
封面设计 郑晓都

ISBN 7-5369-3487-4



9 787536 934870 >

ISBN 7-5369-3487-4/R·819

定价：85.00元

癌基因

抑癌基因

肿瘤相关基因

主 编 司履生
副主编 李 旭

陕西科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

癌基因、抑癌基因与肿瘤相关基因/司履生主编.

西安:陕西科学技术出版社,2002.12

ISBN 7-5369-3487-4

I. 癌... II. 司... III. ①致癌基因—研究②癌—防治 IV. R730.231

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 023479 号

出版者 陕西科学技术出版社
西安北大街 131 号 邮编 710003
电话(029)7211894 传真(029)7218236
<http://www.snstp.com>

发行者 陕西科学技术出版社
电话(029)7212206 7260001

印刷 陕西新世纪印刷厂印刷

规格 787mm×1092mm 16 开本

印张 49.625 印张

字数 1130 千字

印数 1~3000 册

版次 2002 年 12 月第 1 版
2002 年 12 月第 1 次印刷

定价 85.00 元

(如有印装质量问题,请与承印厂联系调换)

《癌基因·抑癌基因·肿瘤相关基因》

参加编写人员

马 军	卫军霞	于琳华	孔令洪
王一理	王玉珍	王 冰	王 凯
王剑利	王 梅	王 静	安小惠
司华新	李 昂	李琳琳	李 睿
李瑶琛	刘天菊	刘培军	刘 鹏
齐 旭	孙 建	孙向乐	闫晓彩
张进安	张王刚	陈梅珍	陈 萍
陈 葳	季 军	肖生祥	金 莉
杨旭东	杨章民	杨 谨	郑 瑾
周 伊	胡劲松	胡晓岩	赵长安
赵英仁	党娜娜	黄 辰	陶 洪
韩俊宏	傅 伟	楚雍烈	谢晓燕

序

近数十年来,人类科技飞速发展。癌基因发现标志着人类对肿瘤的认识已从蒙昧时期进入智能时代。大量癌基因、抑癌基因被发现、克隆,其相关研究报告大量涌现,文献之多,犹如浩瀚海洋,使初学者每每茫然,从而萌发了编写本书的念头。然我自知学浅才疏,力难胜任。又加我校图书资料匮乏,致完成此书,其难度之大,可想而知!所幸者,参编各位同仁,尽皆忠于职守,恪守学人之道德规范,以质量为生命,虽几经寒暑,几易其稿,皆无怨无悔,得以使本书达到预想的初衷,基本上能反映当代肿瘤基因研究之现状,并有较好的可读性,为医学生、研究生、初级研究工作者、医师提供一本工具书、参考书、入门的钥匙。

当前,分子生物学技术一日千里,人类基因组草图业已问世。在发达国家,克隆新基因已易如反掌,被发现的与肿瘤发生、进展有关的基因越来越多,癌基因和抑癌基因的内涵与时俱进,已不再以能否诱发细胞表型转化作为惟一标准。参与调节细胞生长、分化、衰老、死亡,参与 DNA 损伤、修复、维持染色体和基因稳定性的基因,当其表达失衡或时空不当时均可促进肿瘤之发生与发展,因而本书除包括经典之癌基因与抑癌基因外,也包括了其他与肿瘤发生、进展、化疗耐药的基因,统称之为肿瘤相关基因。全书共计收录基因 300 个以上,并将其按在细胞生长、信号转导、DNA 复制、修复、转录、表达中之功能重新分类。另外,为便于读者阅读,本书还增加了癌基因、抑癌基因概要、有关研究技术方法介绍及术语词条汇编等内容。

科技进步,日新月异。真理发展,永无止境。昨日奉之为神明的真理今日可能已成谬误。更兼我们水平所限,本书之错误缺点一定不少,乞望专家与读者指正。

在本书付印之际,要特别感谢刘鹏与郭庆春先生,他们分别参与了本书书稿的打印和部分插图的绘制。

最后仅以此书献给为原西安医科大学免疫病理研究室奋斗过的同志们。

司履生

目 录

第一章 癌基因与抑癌基因概述

癌基因的沿革	(1)	四、转录因子类	(25)
细胞癌基因活化的机制	(4)	五、转录延长与翻译的相关分子	(25)
抑癌基因概述	(9)	六、细胞周期调节分子	(26)
肿瘤抑制基因失活的机制	(14)	七、粘附分子类	(27)
癌基因与抑癌基因的功能	(17)	八、细胞骨架蛋白分子	(28)
一、刺激和抑制细胞生长的因子	(18)	九、细胞遗传稳定性相关分子	(30)
二、生长因子受体	(20)	十、凋亡和永生化分子	(33)
三、细胞内信号传导分子	(21)		

第二章 癌基因·抑癌基因·肿瘤相关基因

14-3-3	(39)	BAG1	(76)
ABL	(41)	BAG2	(77)
ADV	(47)	BAG3	(78)
AKT	(49)	BAG4	(79)
ALK	(53)	BAG5	(79)
AMPHL	(56)	BAK1	(80)
APC	(59)	BAX	(81)
AR	(64)	Bcl-2 家族	(83)
ATF2/CREB2/CREBP1	(66)	Bcl-2	(84)
ATM	(69)	BCLX	(87)
AURORA2	(70)	BECN1	(89)
AVEN	(72)	BI1	(90)
AXL	(72)	BID	(90)
BAD	(75)	BLK	(92)

<i>BLM</i>	(93)	<i>EMS1</i>	(187)
<i>Blym - 1</i>	(95)	<i>ERα/β</i>	(191)
<i>Bmi - 1</i>	(96)	<i>erbB - 2</i>	(195)
<i>BOK</i>	(99)	<i>erbB - 3</i>	(198)
<i>BRCA1</i>	(99)	<i>erbB - 4</i>	(200)
<i>BRCA2</i>	(104)	<i>ERG(ets - related gene)</i>	(202)
<i>BTK/ATK/BPK</i>	(107)	<i>ERK</i>	(203)
<i>CBFB</i>	(111)	<i>ETS 家族</i>	(206)
<i>CBL</i>	(113)	<i>ETV</i>	(210)
<i>CCNDS(Cylin D)</i>	(116)	<i>EVI1</i>	(212)
<i>CD₄₄</i>	(121)	<i>EWS</i>	(216)
<i>CDC42</i>	(125)	<i>EXT(multiple exostoses)</i>	(219)
<i>CDK2</i>	(127)	<i>FACC</i>	(222)
<i>CDK4</i>	(128)	<i>FAK</i>	(225)
<i>CHES1</i>	(130)	<i>Fas</i>	(229)
<i>CHK1</i>	(132)	<i>FasL</i>	(232)
<i>CHK2</i>	(134)	<i>FAT</i>	(235)
<i>CRK</i>	(137)	<i>FER</i>	(237)
<i>CSK</i>	(143)	<i>FES/FPS</i>	(239)
<i>CTNNB1</i>	(145)	<i>FGF</i>	(242)
<i>DBL</i>	(148)	<i>FGR</i>	(245)
<i>DCC</i>	(150)	<i>FHIT</i>	(248)
<i>DCR3</i>	(154)	<i>Fibronectin</i>	(251)
<i>DDX6/RCK</i>	(155)	<i>FKHRL1</i>	(257)
<i>DMBT1</i>	(157)	<i>FLT/VEGFR</i>	(259)
<i>DPC4/Smad4</i>	(159)	<i>c - Fms</i>	(262)
<i>E2F1</i>	(162)	<i>c - Fos</i>	(265)
<i>EBV</i>	(164)	<i>Fos - b</i>	(268)
<i>E - cadherin</i>	(167)	<i>Fra - 1, Fra - 2</i>	(269)
<i>ECT₂</i>	(172)	<i>FYN</i>	(271)
<i>EGFR/V - erbB - 1</i>	(174)	<i>GLI</i>	(274)
<i>EIF3s6/INT6</i>	(177)	<i>GM - CSF</i>	(279)
<i>ELE1/RFG</i>	(179)	<i>GNAS1</i>	(281)
<i>ELF - 2</i>	(181)	<i>Grb2</i>	(284)
<i>ELK1/2</i>	(183)	<i>GRF2</i>	(286)
<i>EMP</i>	(186)	<i>GRO</i>	(287)
		<i>GST - π</i>	(289)

101	<i>H4(DIOSI70)</i>	(293)	101	<i>LTK</i>	(392)
101	<i>HBV</i>	(295)	101	<i>LYN</i>	(394)
102	<i>HCK</i>	(300)	101	<i>M1 S1, M4 S1</i>	(396)
102	<i>Hedgehog</i>	(302)	101	<i>MAD, MXI1</i>	(397)
102	<i>Heparinase</i>	(304)	101	<i>MAF</i>	(399)
102	<i>HGFR</i>	(306)	101	<i>MAF G</i>	(402)
102	<i>HHV8</i>	(308)	101	<i>Mas</i>	(404)
102	<i>HKR3</i>	(310)	101	<i>Max</i>	(405)
102	<i>HPV</i>	(311)	101	<i>MCC</i>	(408)
102	<i>HRK</i>	(315)	101	<i>MDM2</i>	(410)
102	<i>HSPs</i>	(316)	101	<i>MDR</i>	(413)
102	<i>HST1</i>	(319)	101	<i>MEK 家族</i>	(418)
102	<i>HTLV-1</i>	(321)	101	<i>MEN1</i>	(422)
102	<i>HTS1/ST5</i>	(324)	101	<i>MEN2</i>	(424)
102	<i>IGF 及 IGFR</i>	(327)	101	<i>c-Mil</i>	(428)
102	<i>IL-2</i>	(330)	101	<i>MLL</i>	(431)
102	<i>IL-3</i>	(331)	101	<i>MMPs</i>	(433)
102	<i>INI1(intergrase interactor1)</i>	(333)	101	<i>MMR</i>	(441)
102	<i>INK4 家族</i>	(334)	101	<i>C-MOS</i>	(455)
102	<i>Integrin</i>	(338)	101	<i>MRP</i>	(458)
102	<i>IRF-1</i>	(346)	101	<i>MYB</i>	(462)
102	<i>IRF-4</i>	(348)	101	<i>MYC</i>	(465)
102	<i>JNK/SAPK</i>	(351)	101	<i>NBL1</i>	(469)
102	<i>JUN</i>	(354)	101	<i>NF1</i>	(470)
102	<i>JUN-B</i>	(357)	101	<i>NF2</i>	(473)
102	<i>JUN D</i>	(358)	101	<i>NKTR</i>	(475)
102	<i>KAI1</i>	(360)	101	<i>NM23</i>	(477)
102	<i>KIP1(P27)</i>	(363)	101	<i>NOTCH</i>	(479)
102	<i>KIP2(P57)</i>	(365)	101	<i>NOV</i>	(481)
102	<i>KIT</i>	(367)	101	<i>OVC</i>	(483)
102	<i>KSR</i>	(371)	101	<i>P33</i>	(484)
102	<i>LAMININ</i>	(374)	101	<i>P38</i>	(486)
102	<i>LATS</i>	(378)	101	<i>P53</i>	(489)
102	<i>LBC</i>	(379)	101	<i>P63</i>	(498)
102	<i>LCK</i>	(380)	101	<i>P73</i>	(500)
102	<i>LCN-2</i>	(383)	101	<i>P107</i>	(502)
102	<i>LRP</i>	(387)	101	<i>P130</i>	(505)
102	<i>LT-α/β</i>	(390)	101	<i>PACE</i>	(508)

- PAK1 (510)
- PCAF (511)
- PDGF β /SIS 及 PDGFR (514)
- PGR (517)
- PI3K (520)
- PLAG1 (526)
- PLM - 1 (528)
- PML (530)
- PPP1 R3 (536)
- PPP2 R1B (537)
- PTC (PATCHED) (539)
- PTEN (542)
- PVT1 (544)
- PYK2 (545)
- QIN (550)
- RAD (552)
- RAF (556)
- RAL (561)
- RAR α (563)
- RAS (567)
- RB1 (573)
- REL 家族 (578)
- RHO (586)
- ROS - 1 (590)
- RSK 家族 (592)
- SEA (595)
- SELECTIN (597)
- SHC (601)
- SKI (603)
- Smad2 (MADR2) (605)
- SMO (608)
- SOS (610)
- SPI - 1/PU - 1 (612)
- SPINK1 (614)
- SPT 家族 III (616)
- SRC (618)
- STK11 (621)
- SUPT (623)
- SV40 (626)
- TAL1 (628)
- TAL2 (630)
- TC - 21 (631)
- TCF (634)
- TCL1 (638)
- TELOMERASE (638)
- TFE3 (645)
- TGF - β R2 (647)
- THR/ERB - A (649)
- TIM (652)
- TIMP (653)
- TM4 SF1 (659)
- TOPO (661)
- TP53BP (665)
- TPL - 2/COT (670)
- TPO (672)
- TRK (675)
- TSC (677)
- TSG101 (681)
- VAV (684)
- VEGFR/FLT (686)
- VHL (689)
- WAF1 (691)
- WNT - 1, WNT - 3 (694)
- WRN (697)
- WT1 (700)
- XPA - G (703)
- YES (709)
- ZAP (711)

第三章 肿瘤研究中常用的分子生物学技术

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------------|
| 一、DNA 测序技术····· (715) | 十三、DNA 分子克隆····· (721) |
| 二、DNA 限制内切酶分析····· (715) | 十四、减除杂交····· (723) |
| 三、凝胶电泳和脉冲场电泳····· (716) | 十五、RNA 差异显示····· (723) |
| 四、Southern 杂交分析技术····· (716) | 十六、酵母双杂交系统····· (723) |
| 五、探针标记····· (716) | 十七、基因图制作及证实侯补位点
····· (724) |
| 六、寡核苷酸和反义核酸
····· (717) | 十八、基因芯片技术····· (724) |
| 七、PCR 反应和 RT-PCR 反应
····· (718) | 十九、识别基因突变的技术····· (724) |
| 八、Northern 杂交技术····· (718) | 二十、蛋白结构功能分析技术
····· (725) |
| 九、蛋白电泳和 Western 印迹技术
····· (718) | 二十一、转基因及基因敲除小鼠
····· (726) |
| 十、放射免疫沉淀····· (720) | 二十二、体细胞杂交····· (726) |
| 十一、原位杂交和 FISH 技术····· (720) | 二十三、单细胞分析····· (727) |
| 十二、免疫组化技术····· (721) | |

第四章 附录

- | | |
|------------------------------------|-----------------------------------|
| 一、常用语汇····· (729) | 表 3 癌基因染色体易位位点
····· (764) |
| 二、癌基因/抑制基因简表····· (760) | 表 4 人类肿瘤中检出的肿瘤
抑制基因····· (768) |
| 表 1 逆转录病毒转导的癌基因
····· (760) | 表 5 肿瘤抑制基因/癌基因
····· (770) |
| 表 2 因逆转录病毒插入而活化
的癌基因····· (761) | |

第一章

癌基因和抑癌基因概述

癌基因的沿革

虽然自细胞病理学诞生以后,人们已发现癌细胞的特性可以遗传给子代细胞,以至无穷无尽的遗传下去,直至使宿主毙命,因而认为肿瘤是体细胞遗传病,肿瘤细胞存在有遗传物质的某种异常,并可遗传给子代细胞。但是癌基因概念的诞生却始于对 RNA 致癌病毒的深入研究。1908 年 Hermann 和 Bang 首先使用鸟白血病细胞浸出的无细胞滤液引起被接种鸟发生白血病,但因当时对白血病的肿瘤性本质仍有争论而未引起应有的重视。至 1911 年, Rous 等使用鸡肉瘤组织的无细胞滤液成功的传播鸡肉瘤的事实成为病毒引起动物肿瘤的第一个范例⁽¹⁾。此后,陆续发现了许多可以引起动物肿瘤的其他逆转录病毒,包括小鼠乳腺癌病毒(MMTV),鸡、小鼠、猫、猿的白血病病毒,以至新近证实的成人 T 细胞白血病病毒(HTLV)⁽²⁾。

在众多的动物肿瘤逆转录病毒中,人们很快发现其致癌活性显著不同,大致可被分为急性转化病毒(acute transforming viruses)和非转化性病毒(nontransforming viruses),前者以 Rous 鸡肉瘤病毒(RSV)为代表,后者的代表是鸟白细胞增生病毒(avian leukosis virus, ALV)。比较两类病毒的 RNA,分析发现 RSV 的基因组全长约 10kb,而 ALV 的长 8.5kb,这一发现自然引起人们的联想,引起肿瘤或细胞转化的遗传信息可能正是位于这差异的 1.5kb 中⁽³⁾。对 RSV 转化缺陷突变株和 RSV 温度敏感突变株的基因组进行遗传学分析后最终证实野生型 RSV 除含有与 ALV 相同的与复制有关的结构基因 - gag - env - pol - 外,还含有大约 1.5kb 长的转化基因(后者已被命名为 src),而非转化病毒仅有结构基因^(4,5)(图 1)。

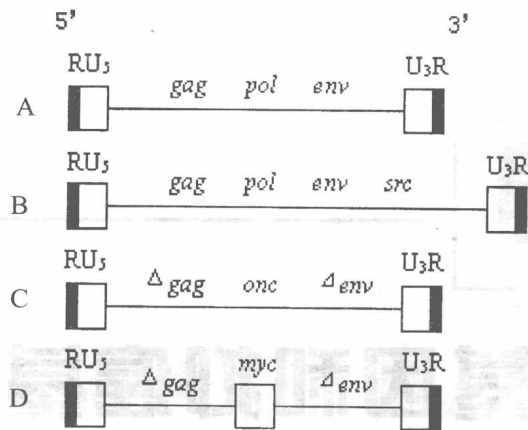


图1 逆转录病毒基因组

A. 非转化病毒的基因组含有三个与病毒复制有关的基因和两个非编码区, *gag* 编码核心蛋白, *pol* 编码逆转录酶, *env* 编码包被蛋白, RU₅ 和 U₃R 分别代表 5' 端和 3' 端的非编码重复序列。B. Rous 鸡肉瘤病毒的基因组结构, Rous 鸡肉瘤病毒是急性转化病毒, 除含逆转录病毒的结构基因外, 还有一个癌基因 *src*。C. 急性转化病毒的基因组, 其基因组部分或完全缺失病毒复制所需的一个或数个结构基因, 因而是复制缺陷性病毒。Δ*gag*、Δ*env* 代表其可能完全缺失或缺失部分序列, 这些基因可被癌基因取代。结构基因缺失的程度和癌基因的位置因病毒而不同。D. 为粒细胞增生症 MC-29 病毒的基因组结构, 该病毒为含有 *v-myc* 癌基因的复制缺陷性病毒。

后来, 对各种急性转化病毒, 包括分离自鸡、火鸡、小鼠、大鼠、猫、猴等不同动物的逆转录肿瘤病毒进行的分析, 证明了更多的引起动物肿瘤和细胞转化的特异性基因, 统称为逆转录病毒癌基因, *v-onc*, 含有 *v-onc* 的逆转录病毒都具有极强转化活性。非转化病毒不含癌基因, 不能直接引起培养细胞转化, 但接种至相关宿主后, 经数月的潜伏期也可在被接种动物引起肿瘤, 经过深入研究发现这是因为逆转录病毒进入细胞后, 其基因组 RNA 被逆转录为 DNA, 整合入宿主基因组, 并与宿主基因组重组, 使整合部位的原癌基因或细胞性癌基因 (*c-onc*) 活化所致, 同时这种非转化病毒也可与 *c-onc* 重组, 成为一个具有转化能力的病毒, 这些研究提示逆转录病毒癌基因实际上源于细胞性癌基因 (图 2)。

使用这种肿瘤的无细胞滤液再进行下一批动物接种, 同样可得到如急性转化病毒一样的后果⁽⁶⁾。以后的许多研究以 *v-onc* 做探针, 使用核酸杂交证明人及试验过的所有其他动物组织细胞内存在病毒性癌基因的高度同源序列, 并被称为内源性逆转录病毒 (endogenous retroviruses)⁽⁷⁻¹⁰⁾。另外, 使用提取的以化学致癌质诱发的人和动物肿瘤细胞 DNA 转染 NIH3T3 细胞的实验证明, 这些化学致癌质转化的肿瘤细胞中含有可引起细胞转化的与逆转录病毒癌基因同源的基因序列^(11,12), 即 *c-oncs* 或 *proto-oncogenes*, 而且化学致癌质还可以引起这些原癌基因的活化, NMU 引起小鼠乳癌可见 *H-ras* 突变, DMBA 引起的小鼠皮肤癌变可见 *H-ras* 突变。人和动物正常组织的 DNA 转染 NIH3T3 细胞, 亦可引起被转染细胞转化 (图 3), 只是其转化效率甚低, 仅为瘤细胞 DNA 转化效率的 1/100。使用这种被转化细胞的 DNA 再转染 NIH3T3 细胞, 会得到加速转化的效果, 进一步证明正常细胞基因组中含有 *c-onc*。至此, 癌基因的概念得到了普遍的证实。

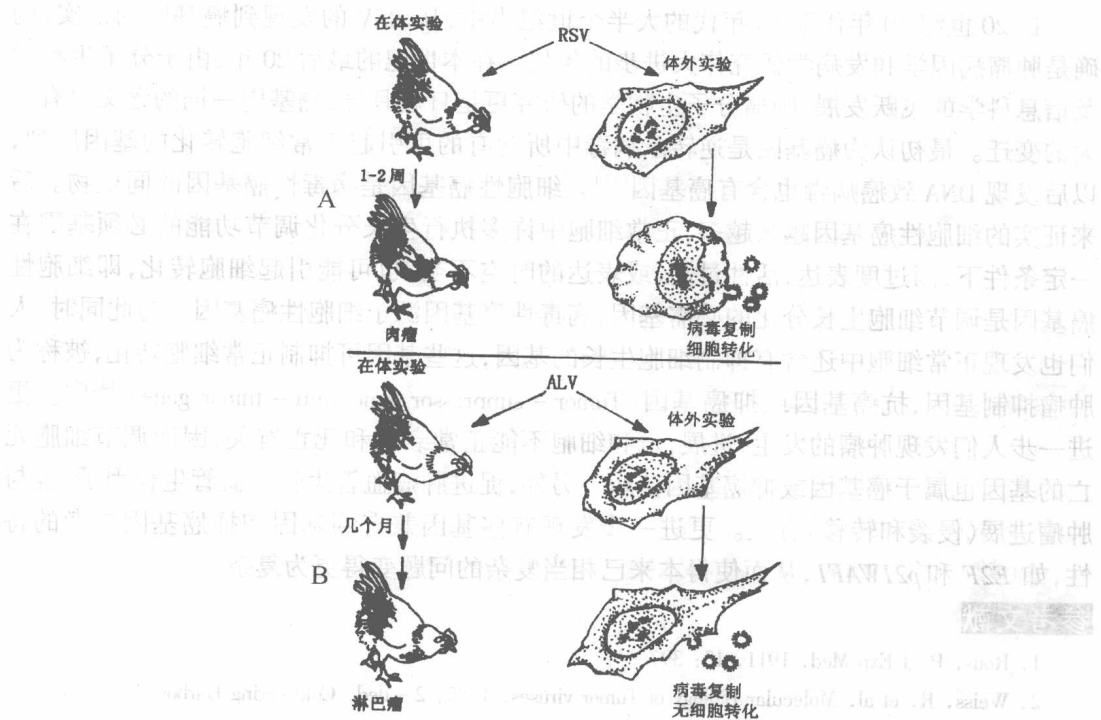


图2 RSV和ALA引起的肉瘤和细胞转化

A. 受 RSV 感染的鸡迅速发生肉瘤. 在细胞培养中, RSV 可迅速转化成纤维细胞. B. 受 ALV 感染的鸡, 须经长时间潜伏期后才出现淋巴瘤, 在细胞培养中 ALV 不引起细胞转化

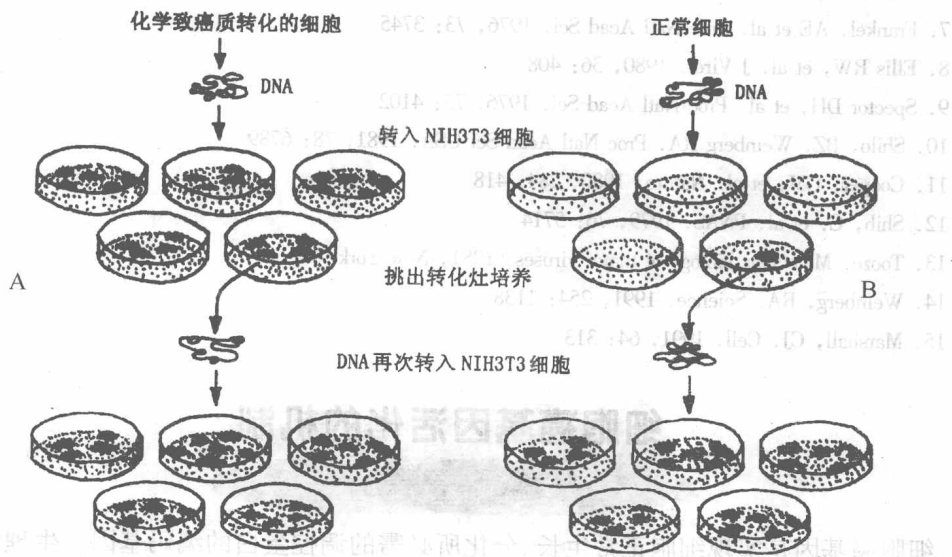


图3 证实细胞性癌基因的基因转染试验

A. 提取致癌物质转化细胞的 DNA, 转入 NIH3T3 细胞后, 可长出多数转化灶. B. 提取正常细胞 DNA, 转入 NIH3T3 细胞后, 亦可长出转化灶但数目较少. 在以后的几轮转染试验中, 转化灶形成加快, 数目增加

自 20 世纪 10 年代至 80 年代的大半个世纪当中,从 RSV 的发现到癌基因的证实,的确是肿瘤病因学和发病学研究伟大进步的年代。在本世纪的最后 20 年,由于分子生物学及信息科学的飞跃发展,肿瘤分子生物学的研究更是日新月异,癌基因一词的含义也有很大的变迁。最初认为癌基因是逆转录病毒中所含有的可引起正常细胞转化的基因序列,以后发现 DNA 致癌病毒也含有癌基因⁽¹³⁾。细胞性癌基因是病毒性癌基因的同植物。后来证实的细胞性癌基因越来越多,正常细胞中许多执行生长分化调节功能的必须基因在一定条件下,因过度表达,活性过高,或表达的时空不当,也可能引起细胞转化,即细胞性癌基因是调节细胞生长分化的必需基因,病毒性癌基因源于细胞性癌基因。与此同时,人们也发现正常细胞中还含有抑制细胞生长的基因,这些基因可抑制正常细胞转化,被称为肿瘤抑制基因,抗癌基因或抑癌基因(Tumor - suppressor gene, anti - tumor gene)^(14,15)。更进一步人们发现肿瘤的发生、进展,也和细胞不能正常衰老和死亡有关,因而调节细胞死亡的基因也属于癌基因或抑癌基因范畴。另外,促进肿瘤血管生长的血管生长因子,也与肿瘤进展(侵袭和转移)有关。更进一步发现有些基因兼有癌基因和抑癌基因二者的特性,如 *E2F* 和 *p21WAF1*,从而使得本来已相当复杂的问题变得更为复杂。

参考文献

1. Rous, P. J Exp Med. 1911, 13: 397
2. Weiss, R. et al. Molecular Biology of Tumor viruses. 1985, 2 - ded. Cold spring Harbour.
3. Duesburg PH, Vogt PK. Proc Natl Acad Sci. 1970, 67: 1673
4. Kawai, S. Hanafusa H. Virology. 1971, 46: 470
5. Lai MMC. et al. Proc Natl Acad Sci. 1973, 70: 266
6. Stehelin, D. et al. Nature. 1976, 260: 170
7. Frankel, AE et al. Proc Natl Acad Sci. 1976, 73: 3745
8. Ellis RW, et al. J Virol. 1980, 36: 408
9. Spector DH, et al. Proc Natl Acad Sci. 1976, 75: 4102
10. Shilo, BZ. Weinberg RA. Proc Natl Acad Sci USA. 1981. 78: 6789
11. Cooper, GM, et al. Nature. 1980, 284: 418
12. Shih, C. et al. PNAS. 1979, 76: 5714
13. Tooze. Molecular biology of tumor viruses. 1981, New York
14. Weinberg, RA. Science. 1991, 254: 1138
15. Marshall, CJ. Cell. 1991, 64: 313

细胞癌基因活化的机制

细胞癌基因是实现细胞正常生长、分化所必需的调控蛋白的编码基因。生理情况下,其活性受严格调控,与各细胞所处环境即维持细胞社会性的需要严格适应。如果这些基因表达紊乱,持续的异常活化、高表达,超过细胞及其周围环境的需要,则可能引起细胞过剩生长,严重的不受正常调控的增生就有可能导致肿瘤发生。

细胞癌基因异常活化的机制有:

1. 突变 最初使用自肿瘤细胞分离的 DNA 转入正常细胞,可使之转化,利用基因克隆技术证实瘤基因组中所含有的使正常细胞转化的基因可以是突变的原癌基因。后来对大批的人或动物肿瘤组织,利用 Southern 印迹杂交, RFLP, SSCP, 以至测序证明原癌基因突变,是原癌基因异常活化的重要机制之一。其突变可为点突变,亦可为更大范围的突变,如碱基替换、缺失或插入。癌基因编码的突变蛋白表现异常的功能活性。在人和动物肿瘤中,原癌基因点突变是其最常见的异常活化形式。*c - ras* 基因是最早和最多研究的点突变的原癌基因,也是用人肿瘤细胞 DNA 转染 NIH3T3 细胞所发现的第一个癌基因^(1,2)。野生型 *c - ras* 基因家族所有成员 (*N - ras*, *K - ras* 和 *H - ras*) 编码一个分子量约 21kDa 的蛋白 ($p21^{Ras}$)⁽³⁻⁵⁾, 是细胞内信号传导通路中的一个十分重要的枢纽分子,突变最常发生在 *c - ras* 基因编码区的第 12, 13 和 61 密码子,引起 $p21^{Ras}$ 的第 12, 13 或 61 氨基酸的突变⁽⁶⁾。如结肠腺瘤或结肠癌时, *K - ras* 基因突变引起 Gly¹² 突变为 Ala、Ser、Cys、Asp、或 Val, Gly¹³ 突变为 Asp, Gln⁶¹ 突变为 His 等。突变的 Ras 蛋白虽可与 GTP 结合,但丧失其野生型 Ras 蛋白所具有的 GTPase 活性。即野生型 Ras 蛋白具有水解 Ras·GTP 的能力,可使活化型 Ras (Ras·GTP) 转变为非活化型 Ras (Ras·GDP)。突变型 Ras 失去 GTP 活性后, Ras 蛋白牢固与 GTP 结合,致 Ras 处于持续的非调节的活化状态,持续作用于其下游靶蛋白,这是其引起细胞癌变的重要机制, *c - ras* 基因突变也可发生在非编码区,这会引引起拼接方式改变和其蛋白表达水平明显增高^(7,8)。Fms 的 301 位氨基酸突变也会引起其组成性活化,而 969 位氨基酸突变会引起其配体结合活性大大增强。

插入突变是导致原癌基因异常活化的另一种形式,非转化性逆转录病毒调节区如整合到原癌基因附近,通过基因重组也可为原癌基因提供一个更强的启动子或增强子,引起原癌基因活化。鸡的腔上囊淋巴瘤是这种事件的最早发现的实例。在这些肿瘤时,因鸟白血病毒 DNA 序列,尤其是其 LTR 整合入 *c - myc* 原癌基因的上游或基因内部(最常发生)或下游(较少发生),为 *c - myc* 提供了更强的启动子或增强子序列。处于病毒 LTR 控制下的 *c - myc* 表达明显增强,并且不对正常的促其表达终止的分化信号反应,引起 *c - myc* 的持续性表达⁽⁹⁻¹¹⁾。*c - erbB*⁽¹²⁾, *c - mos*⁽¹³⁾, *c - myb*⁽¹⁴⁾ 和 *c - H - ras*⁽¹⁵⁾ 等原癌基因也可通过插入突变而异常活化,参与癌变发生。在白血病细胞中 IL2、IL3 的编码基因因插入突变而活化,以致这些细胞不需要外源性因子诱导,持续分泌 IL2 或 IL3,成为维持和刺激白血病细胞生长的自分泌因子^(16,17)。已经证实有 70 个以上的原癌基因是通过非转化型逆转录病毒的整合被活化的⁽¹⁸⁾。

缺失突变同样可引起癌基因异常活化, *src* 和 *erbB* 是最典型的例子⁽¹⁹⁾, 编码序列的部分缺失导致产生一个截短了的蛋白。*c - src* 编码一个 60kDa 的非受体型的蛋白酪氨酸激酶,位于其羧基端的酪氨酸残基 (Tyr527) 磷酸化具有调节其蛋白自身活性的作用。突变的 *src* 常常缺失其 C 端部分编码序列,产生一个缺失包括 Tyr527 在内的截短了的 Src 蛋白,致其 PTK 酶活性增高,并获得转化活性。*c - erbB* 是 EGF 受体的编码基因, EGF - R 是典型的 I 型受体,具有细胞外区、一个越膜区和具有酪氨酸激酶活性的细胞内激酶区。只有 EGF 与其受体结合后, EGF - R 才二聚化,其细胞内激酶区也才自身磷酸化,进而向细胞内传递信号,所以 EGF 是 wt - EGF - R 的活化信号。*mt - erbB* 缺失其 N 端序列及 C 端部分序列,因而编码蛋白缺失细胞外区和细胞内区的 C 端部分,但仍保留其越膜区及 C

端的细胞内激酶区,这种截短了的蛋白可自发二聚化,组成性的表达酪氨酸激酶活性,这正是其引起细胞转化的基础。另外,*erbB2*也可引起该单体分子形成二聚体的活性异常增高。

2. 基因扩增(amplification) 在不同生物发育的某一阶段,其染色体的某些灶性部位,某些基因可在细胞周期 DNA 合成中因非程序性多次复制,而出现更多的拷贝数,即扩增。这是严格程序化的,和其生命活动相适应的。在某些不良因素作用下,如一时性缺氧、基因毒性药物作用时,也可发生 DNA 生成的异常,引起其相应位点的扩增。扩增片段通常累及长达数万 kb 的区带,因而并非仅累及一个基因,而是数个连锁的基因。使用核型分析发现,瘤细胞的基因扩增是十分常见的。基因扩增表现为出现双微体染色体(double minute chromosome),一种没有着丝粒的微小染色体样结构和染色体上出现均质深染区⁽²⁰⁾,以致破坏正常显带。这两种形式可以互相转换,因为双微体不含着丝粒,细胞分裂时不能稳定的遗传给子代细胞,为维持其遗传特性,要求对放大序列连续选择,双微体被整合入染色体,被认为是放大 DNA 的更稳定的遗传形式。使用 Southern 印迹杂交技术进行观察,可证明相应基因 DNA 拷贝数明显增多,虽不与转录蛋白表达严格平行,但一般来说,基因扩增可引起其转录 RNA 增多,进而翻译蛋白增多,表现出基因异常活化。在肿瘤细胞中,因化疗药物诱导可以出现耐药基因的扩增,也可因肿瘤细胞所处的环境压力,继发的出现某些基因扩增⁽²¹⁾。这种基因扩增,对肿瘤发生来说,并无发病学意义。但也可出现某些原癌基因的非随机性扩增。在癌前病变中已经出现,说明二者存在因果关系,证明基因扩增是其异常活化的一个常见形式。

c-myc 是第一个被发现的因基因扩增而异常活化的细胞性癌基因⁽²²⁾, Gallo 等曾报告前幼白血病 HL-60 细胞的 *c-myc* 扩增,而且是 Myc 蛋白高表达的基础。后来证明,*c-myc* 基因扩增也见于其他癌瘤,包括乳癌、胃癌,*L-myc* 扩增见于 SCLC(小细胞肺癌),*N-myc* 扩增见于神经母细胞瘤和胶质母细胞瘤等。

除 *c-myc* 外,在人体许多不同类型肿瘤中也发现有其它原癌基因扩增,如 *N-myc*、*L-myc*、*erb-B*、*erbB2*、*hst*、*int-2*、*mdm2*、*gli* 和 *K-sam* 等。*mdm2* 原来就是从一个小鼠的含有双微体的自发转化细胞株—DM 细胞株中克隆出的一个高度扩增的基因。人 *mdm2* 是小鼠 *mdm2* 的同源基因。30 天的人骨肉瘤和软组织肉瘤中可见 *mdm2* 基因的扩增⁽²³⁾。*mdm2* 编码蛋白 MDM2 可结合 p53 使之泛蛋白化并进一步被蛋白体降解。*mdm2* 扩增引起的 MDM2 表达增高是导致 p53 加速降解、失活的机制之一⁽²⁴⁾。

3. 染色体易位 逆转录病毒整合可以引起整合部位原癌基因异常活化的事实提示人们,许多肿瘤中所检出的非随机性染色体易位也可能是导致原癌基因异常活化的机制之一。60 年代初,已经发现 ph1 染色体是 CML 的特征性病变,是 t(9;22)(q34;q11)易位所形成的标记染色体,见于 90% 的 CML 病例⁽²⁵⁾。至 80 年代初,证实 *abl* 原癌基因位于 9 号染色体的断裂点(q34),并易位至 22 号染色体(ph1 染色体)末端的断裂部位 22q11,与位于该处的 *bcr* 基因融合,形成一个 *bcr-abl* 融合基因,表达 Bcr-Abl 融合蛋白。在融合时,*abl* 头两个或头三个外显子被剪除,产生的 *bcr-abl* 转录子,编码 210kDa Bcr-Abl 融合蛋白,后者因缺乏 Abl 的 N 端部分序列,致 Abl 蛋白酪氨酸激酶活性异常增高^(26,27)。用 *bcr-abl* 融合基因转染正常鼠骨髓细胞,几周后一些动物发生了白血病,与 CML 非常相似,说