

肿瘤研究

前沿

第8卷

樊代明 主编



 第四军医大学出版社

肿瘤研究

前沿

第8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8卷,主要介绍细胞内重要的信号分子、小RNA分子与肿瘤发生、发展的关系,重点从这些分子影响肿瘤恶性生物学行为的机制方面进行阐述。本书可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8卷)/樊代明主编. —西安:第四军医大学出版社,2008.12
ISBN 978-7-81086-559-3

I. 肿… II. 樊… III. 肿瘤-研究 IV. R73

中国版本图书馆CIP数据核字(2009)第000583号

肿瘤研究前沿(第8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 2008年12月第1版 2008年12月第1次印刷
开 本 850×1168 1/32
印 张 10.75
字 数 275千字
书 号 ISBN 978-7-81086-559-3/R·484
定 价 56.00元

(版权所有 盗版必究)

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，西京消化病医院院长、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，中华内科学会副主任，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。获国家科技进步一、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 180 余篇。

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 蛋白质组学及其在肿瘤中的应用	(1)
一、蛋白质组学简介	(1)
二、蛋白质组学的研究意义	(2)
三、蛋白质组学研究的策略和范围	(3)
四、蛋白质组学研究的主要技术	(4)
五、蛋白质组学技术在肿瘤研究方面的应用	(9)
参考文献	(17)
 第二章 肿瘤相关的 miRNA 及干细胞的研究进展	 (23)
一、miRNA 与肿瘤的发生、发展和预后相关	(23)
二、肿瘤干细胞的概述	(32)
三、miRNA 与肿瘤干细胞调控的关系	(35)
参考文献	(36)
 第三章 RNAi 技术在常见疾病及肿瘤治疗应用中 的研究进展	 (42)
一、RNAi 技术的概述	(42)

二、RNAi 在常见疾病及肿瘤治疗中的应用	(51)
-----------------------------	--------

参考文献	(53)
------------	--------

第四章 胃癌多药耐药以及 miRNA 在其中的作用

.....	(59)
-------	--------

一、肿瘤多药耐药现象及可能机制	(59)
-----------------------	--------

二、microRNA 研究概况	(72)
-----------------------	--------

三、miRNAs 与肿瘤耐药	(83)
----------------------	--------

参考文献	(84)
------------	--------

第五章 环氧合酶 -2 与肿瘤的关系

一、COX -2 概况	(99)
-------------------	--------

二、COX -2 与肿瘤的关系	(100)
-----------------------	---------

参考文献	(106)
------------	---------

第六章 HnRNP 家族及 HnRNPA2/B1 与肿瘤的关系

.....	(110)
-------	---------

一、HnRNP 的结构、表达和功能	(110)
-------------------------	---------

二、HnRNP A2/B1 的生物学特点及其在肺癌诊断中的 进展	(114)
---	---------

参考文献	(121)
------------	---------

第七章 免疫球蛋白与肿瘤

一、Ig 样物质的发现	(129)
-------------------	---------

二、Ig 样物质与非淋巴细胞性恶性肿瘤	(130)
三、Ig 样物质表达的原因和意义	(131)
四、免疫球蛋白与胃癌	(133)
参考文献	(135)
 第八章 穿孔素及其与肿瘤的关系	(138)
一、穿孔素的概况	(138)
二、穿孔素的抗肿瘤作用	(140)
 第九章 MGb2 - Ag/TRAK1 :一种新的肿瘤相关	
抗原	(145)
一、胃癌标志物的研究现状	(145)
二、MGb2 单抗的来源	(146)
三、MGb2 - Ag 和 TRAK1	(148)
四、MGb2 - Ag/TRAK1 的研究中所存在的问题与展望	
.....	(153)
参考文献	(154)
 第十章 肿瘤相关基因 Survivin 研究进展	(159)
一、Survivin 的结构特征	(159)
二、Survivin 与肿瘤的关系	(162)
三、Survivin 为靶点的治疗	(167)
参考文献	(168)

第十一章 细胞因子白细胞介素 24:一种抑癌基因

的研究进展	(174)
一、mda-7/IL24 的分子特征	(175)
二、mda-7/IL24 在肿瘤治疗中的价值	(175)
三、mda-7/IL24 在肿瘤治疗中的回顾与展望	(183)
参考文献	(184)

第十二章 p75NTR 及其与肿瘤的关系研究进展

.....	(191)
一、p75NTR 分子概况	(192)
二、p75NTR 的功能	(200)
三、p75NTR 与肿瘤的关系	(216)
四、p75NTR 的未来研究方向	(217)
参考文献	(218)

第十三章 朊蛋白的功能及其与肿瘤的关系..... (236)

一、朊蛋白的概况	(236)
二、朊蛋白的生理功能	(245)
三、朊蛋白与肿瘤	(263)
参考文献	(266)

第十四章 乙肝病毒 X 蛋白在肝癌发生中的作用

.....	(278)
一、HBx 的编码基因及其表达调节	(278)

二、HBx 在肝癌发生中的作用	(279)
参考文献	(291)
第十五章 肿瘤血管靶向肽的筛选及鉴定	(297)
一、生物导向治疗	(297)
二、肿瘤血管靶向治疗	(297)
三、肿瘤血管靶向治疗的分子基础	(302)
四、肿瘤血管导向性分子的鉴定	(315)
五、活体示踪技术	(317)
参考文献	(319)
缩略词表	(328)

第一章

蛋白质组学及其在肿瘤中的应用

一、蛋白质组学简介

人类基因组计划被誉为 20 世纪三大科技工程之一。人类基因组全序列草图的问世,宣告了后基因组时代的到来。以大规模分析细胞或生物体内蛋白质为主要内容的蛋白质组学研究成为后基因组时代的重要研究内容,同时也是功能基因组研究的重要支柱。

蛋白质组学(proteomics)由澳大利亚学者 Wilkins 和 Williams 在 1994 年首次提出,研究在特定环境、不同生理和病理条件、不同细胞类型或特定生长和发育阶段某个细胞或某种组织的基因组表达的全部蛋白质,即全景式地研究细胞、组织或生物体全部蛋白质的组成及其变化规律,研究内容包括蛋白质的差异表达、蛋白质鉴定和定量分析、翻译后修饰、亚细胞定位、生理功能及其相互作用网络等。蛋白质组学从整体蛋白质的水平,更深入、更接近生命本质的层次去发现和探讨生命活动的规律及重要生理病理现象的本质。蛋白质组学是后基因组时代十分活跃的研究领域,近几年,国际上蛋白质组学研究进展十分迅速,有关蛋白质组学的研究文献也呈指数级上升。目前,蛋白质组学研究已经成为生命科学的热点领域,蛋白质组学研究的开展不仅是生命科学

研究进入后基因组时代的里程碑,也是后基因组时代生命科学研究的核心内容。

二、蛋白质组学的研究意义

在结构基因组时代,随着对基因组研究的深入,人们认识到单纯从基因组信息并不能完全解读生命天书和揭示生命的奥秘。由于基因表达的时空性和可调节性,利用 DNA 序列信息仅提供相关基因组的结构和推测其功能,而不能预测:① 基因是否或何时被翻译;② 基因表达量的多少;③ 转录、转录后、翻译和翻译后等多水平的调控;④ 多基因现象的表型;⑤ 遗留的小基因或小于 300bp 的 ORFs 的功能;⑥ 蛋白质之间的相互作用和调控网络等等。由于蛋白质是生理功能的执行者和生命活动的直接体现者,几乎所有的生理和病理过程,以及药物和环境因子的作用都依赖于蛋白质,并引起蛋白质的相应变化;同时,同种生物的蛋白质随不同组织、不同分化程度和不同发育阶段甚至不同环境状态而不同,对蛋白质结构和功能的研究将直接阐明生物体在不同生理或病理条件下的变化机制,而且生物体功能的多样性更多的是在于蛋白质组而不是基因组,故而,“结构基因组时代”的迅猛发展同时激起了人们对“后基因组时代”中蛋白质组学研究的强烈需求。尽管现在已有多个物种的基因组完成测序,但这些基因组中,通常有一半以上基因的功能未知。因此,要全面阐述蛋白质之间、蛋白质和核酸之间的相互作用,及高通量研究生物体各种生化过程的机制,要对生命的复杂活动有全面和本质的认识,必然要在整体、动态和网络水平上对蛋白质进行研究,即开展蛋白质组学研究。

三、蛋白质组学研究的策略和范围

蛋白质组学一经出现,就有两种研究策略。一种采用高通量的蛋白质组学研究技术分析生物体内尽可能多乃至接近所有的蛋白质,这种观点从大规模、系统性的角度来看待蛋白质组学,也更符合蛋白质组学的本质。但是,由于蛋白质表达随空间和时间不断变化,要分析生物体内所有的蛋白质是一个难以实现的目标,所以很多人提出了另一种策略:功能蛋白质组学,即研究不同时期细胞蛋白质组成的变化,如蛋白质在不同环境下的差异表达,以发现有差异的蛋白质种类为主要目标。这种观点更倾向于把蛋白质组学作为研究生命现象的手段和方法。总体上看,蛋白质组学研究可分为四个方面:

1. 对细胞或组织内蛋白质的表达模式及修饰(表达蛋白质组学)的研究。
2. 建立在 X 线单晶衍射分析(晶体结构分析)、多维核磁共振波谱分析、电镜二维晶体三维重构术(电子晶体学)技术基础之上的蛋白质序列和高级结构(结构蛋白质组学)的研究。
3. 对蛋白质的胞内分布及移位(细胞图谱蛋白质组学)的研究:确定蛋白质在亚细胞结构中的位置,通过纯化细胞器或用质谱仪鉴定蛋白复合物组成等。
4. 蛋白质的功能模式(功能蛋白质组学):目前主要集中在蛋白质与蛋白质及其与其他分子的相互作用网络关系的研究。对蛋白质组组成的分析鉴定是蛋白质组学中的与基因组学相对应的主要内容,它要求对蛋白质组进行表征,即所有蛋白质的分离与鉴定及其图谱化。

随着学科的发展,蛋白质组学的研究范围也在不断完善和扩充。蛋白质翻译后修饰研究已成为蛋白质组学研究中的重要部

分和巨大挑战。

四、蛋白质组学研究的主要技术

蛋白质组学分为结构蛋白质组学和功能蛋白质组学两大类,前者主要研究蛋白质氨基酸序列及三维结构、种类分析和数量确定;后者主要研究蛋白质的功能和相互作用。蛋白质组学研究需要有足够的技术支撑,其中结构蛋白质组学以 X 线衍射为主要研究手段。当前,蛋白质组学研究的核心技术是双向凝胶电泳-质谱技术,即通过双向凝胶电泳将蛋白质分子彼此分离,然后利用质谱对蛋白质进行鉴定,最后应用生物信息学数据库对鉴定结果进行存储、处理、对比和分析。

(一)蛋白质组学研究的具体技术

1. 双向凝胶电泳

双向电泳(two dimensional gel electrophoresis, 2-D 或 2-DE)是目前大规模分离蛋白质的最有效方法,其原理是根据蛋白质的等电点和分子量差异将蛋白质分子彼此分开。第一向是等电聚焦(IEF),即根据各种蛋白质 PI 的不同将它们分离;第二向是十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,也就是 SDS-PAGE,即根据蛋白质分子量的大小将它们分开。二维电泳可以分离上千种蛋白质,甚至可分离纯化出上万种蛋白质。电泳完成后,采用银染、荧光染色或考马斯亮蓝染色等对胶片染色。目前,美国的 Proteome 公司已开发出一种自动化的工作站,灌胶、电泳和染色全部实现自动化。

2. 生物质谱技术

20 世纪 80 年代,基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(ma-

trix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS) 和电喷雾电离质谱 (electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS) 两项具有划时代意义的软电离质谱技术的出现, 开辟了质谱学新领域——生物质谱 (Bio-mass spectrometry), 并使质谱技术在生命科学研究领域得到广泛应用和发展。质谱技术由于具有极高的灵敏度而成为蛋白质组研究的核心工具, 是目前蛋白质组研究技术中最具活力和潜力的技术, 其基本原理是通过电离源先将样品分子离子化, 再根据不同离子间的质荷比 (m/z) 差异来分离蛋白质, 并确定其分子量和 PI 等属性参数。可以采用 MALDI-TOF-MS 测定肽质量指纹图谱 (peptide mapping fingerprint, PMF) 或运用电喷雾串联质谱 (ESI-MS-MS) 测定肽序列, 实现对蛋白质的鉴定, 其中采用 MALDI-TOF-MS 测定肽指纹图谱是当前蛋白质组学研究的常用鉴定方法, 其步骤是: 首先用特定的蛋白酶 (胰酶) 降解蛋白质; 然后对所得的肽混合物进行质谱分析。肽段序列分析是进一步鉴定蛋白质所必需的步骤。通常是先将液相的肽段经电喷雾电离, 进入串联质谱后, 肽链中的肽键断裂成 N 端离子序列和 C 端碎片序列。根据肽片段的断裂规律, 即可推导出肽段的氨基酸序列, 从肽段的分子量和肽段的序列信息即可鉴定蛋白质。用串联质谱测定肽序列比 MALDI-TOF-MS 获得指纹图谱的方法更为复杂, 且操作费时, 难以实现高通量, 但它具有可直接读出肽序列的优点。最近出现的基质辅助激光解吸电离——四极杆飞行时间质谱 (MALDI Q-TOF) 兼具肽指纹图谱的大规模和串联质谱的可直接获得肽序列的双重优点, 可用于测定蛋白质或多肽的精确分子量, 因而已成为生物质谱家族中的新宠。此外, 纳升高效液相色谱质谱和 MALDI-TOF-TOF 质谱等多种质谱新技术的出现, 使高灵敏度和高速度分离鉴定复杂混合物中的目标蛋白质成为可能。

3. 蛋白质芯片技术

蛋白质芯片技术在蛋白质组学研究上的应用主要是研究差异显示的蛋白质以及蛋白质间的相互作用。该技术的出现,大大提高了蛋白质鉴定的速度。与 DNA 芯片相似,蛋白质芯片技术就是将预先制备好的“诱饵”蛋白(通常是抗体)以微阵列的方式固定于经过特殊处理的底板上,然后将其与待分析蛋白质样品(“猎物”蛋白)反应,只有那些与特定蛋白抗体发生特异性结合的蛋白质才留在芯片上。蛋白质芯片技术实际上是酶联免疫技术的大规模应用。到目前为止,已经开发出包括玻璃板芯片、3D 胶芯片和微孔芯片在内的三种芯片,并实现了芯片与蛋白质分离以及与质谱的联机使用。

4. 酵母双杂交

酵母双杂交系统由 Fields 和 Song 首先提出,主要应用于研究蛋白质之间的相互作用,它的建立得益于对真核生物转录起始过程的认识。在真核生物中,基因的表达通常需要激活蛋白的诱导,这种转录激活蛋白(转录因子)如酵母的 GAL4 等都具有两个功能相对独立的域:DNA 结合结构域(binding domain, BD)和转录活化结构域(activation domain, AD),两者的结合可激活转录。任何可以相互配对的蛋白都可以通过结合将相互分开的 BD 和 AD 拉近,从而形成转录激活复合物。如果 X 蛋白与 BD 结合形成“诱饵”(bait)蛋白,Y 蛋白与 AD 结合形成“猎物”(prey)蛋白后,能形成转录激活复合物激活转录因子及报告基因的表达,就可证明 X 蛋白和 Y 蛋白之间存在相互作用。在研究蛋白质的结构功能特点和作用方式的过程中,有时要人为地破坏蛋白质之间的相互作用。根据这种需要,人们又发展了诸如逆双杂交系统和三杂交系统等新的双杂交系统。

5. 同位素亲和标签(ICAT)技术

同位素亲和标签技术(Isotope Coded Affinity Tages, ICAT) 是

1999年 Gygi 等人利用稳定同位素稀释原理发明,应用 MALDI-TOF-MS 和 LC-MS-MS 进行蛋白质差异表达的定量分析技术。ICAT 技术是利用同位素亲和标签试剂预先选择性地对蛋白质进行标记,然后依次通过胰酶水解、卵白素亲和层析、液相色谱(liquid chromatography, LC)和串联质谱(MS-MS)对蛋白质进行分离和分析。ICAT 试剂由三部分组成:①活性基团,能特异结合肽链中半胱氨酸残基的巯基;②连接子,可结合稳定的同位素;③生物素(Biotin),作为亲和标签,可以和卵白素结合,用于选择分离 ICAT 标记的多肽。这种新方法的建立,为发展定量蛋白质组学提供了广阔空间。

6. 表面等离子共振 (SPR) 技术

表面等离子共振技术是蛋白质之间相互作用研究方法中的新成员。该技术是将“诱饵”蛋白作为配基,固定在几十纳米厚的金属膜表面,然后加入含目标蛋白(“猎物”蛋白)的溶液,“诱饵”蛋白与“猎物”蛋白相互作用形成的复合物固定在金属膜表面,会使金属膜与溶液之间界面的折射率上升,导致共振角度改变,由此可检测出蛋白质间的相互作用。该技术具备不需标记引物或染料、测定快速且安全等优点。

7. 生物信息学

蛋白质组数据库是蛋白质组学研究水平的标志和基础,生物信息学的发展给蛋白质组学研究提供了更方便、有效的计算机分析软件。最近发展的利用质谱数据直接搜寻基因组的数据库,可利用质谱数据直接进行基因注释和判断复杂的拼接方式。基因组学的迅速推进,给蛋白质组学研究提供了更多更全的数据库,这对于发现新的蛋白质,预测蛋白质结构和功能及进行药物设计等具有不可缺少的作用。随着基因序列和蛋白质数据库资源的大量增加,生物信息学在蛋白质组学研究中的作用将愈来愈大。目前,许多与蛋白质组相关的软件可通过与 EXPASY 蛋白质组学服务器链接而获得(www.expasy.ch/tools.html),这些软件可用