

恶性肿瘤

正

XINGZHONGLIU
XIANDAIZHENLIAOXUE

现代

诊疗学

主 编◎李少梅 纪丽莉 纪宇明 徐希春
王 洋 王世欣 董柱清 曲永柏

吉林科学技术出版社

恶性肿瘤现代诊疗学

主 编 李少梅等

吉林科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

恶性肿瘤现代诊疗学/李少梅主编.—长春:吉林科学技术出版社, 2007.3

ISBN 978-7-5384-3468-2

I. 恶... II. 李... III. 癌-诊疗 IV. R73

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 032766 号

恶性肿瘤现代诊疗学

李少梅 纪丽莉 纪宇明 徐希春 主编

王 洋 王世欣 董柱清 曲永柏

责任编辑:李 梁 封面设计:创意广告

*

吉林科学技术出版社出版、发行

长春市康华彩印厂印刷

*

787×1092 毫米 16 开本 23.5 印张 602 千字

2007 年 3 月第 1 版 2007 年 3 月第 1 次印刷

定价:36.00 元

ISBN 978-7-5384-3468-2

版权所有 翻印必究

如有印装质量问题,可寄本社退换。

社址 长春市人民大街 4646 号 邮编 130021

编委会

主 编 李少梅 纪丽莉 纪宇明 徐希春
王 洋 王世欣 董柱清 曲永柏

副主编:(按姓氏笔画)

于立言	于远臣	于福生	王会明	王 振
左玲莲	付成军	刘典夫	刘卓星	李万庆
李 杰	宋英杰	孙建军	孙德万	朱忠杰
何晓航	邱桂斌	姜乃德	姚为京	曹淑萍
梁贵成	粘洪晓	董洪光		

前 言

恶性肿瘤是威胁人类健康的重要疾病。预计 2020 年全球癌症生存者将达 3000 万，全球每年新发病例将有 1530 万人，发展中国家占 930 万人。每年全球有 980 万人死于癌症，发展中国家将达 670 万。发展中国家的年癌症发病率及死亡率的增长更为明显。因此，癌症的防治研究在本世纪仍旧有十分重要的意义。

恶性肿瘤需要综合诊断和治疗，这是国内外肿瘤专家的共识。我国近二十年来对恶性肿瘤的诊疗研究也取得了令人瞩目的成绩，目前有关肿瘤诊疗方面的专著虽然较多，但仍难以满足临床和科研工作者对知识更新的需要。我们觉得有责任和义务将目前这些宝贵的肿瘤研究资料加以整理萃取，编写本书，将现代恶性肿瘤诊疗的相关内容系统地介绍给大家。

全书分上下两篇，共三十章。上篇为总论，介绍了肿瘤研究的科学前沿、肿瘤的早期诊断、治疗以及预防。下篇为各论，分别介绍了临床常见的恶性肿瘤的诊疗。本书内容新颖、翔实、言简意赅，注重理论与实践结合，具有很强的临床实用性，可作为各级医务人员、医学院校教师、医学生、研究生和相关科研工作者的专业书籍和参考读物。

本书重点突出恶性肿瘤的诊疗新知识、新进展、新技术，并切合实用。若广大科研工作者和临床工作者能藉此书对恶性肿瘤诊疗方面的认识有所提高，在临床工作中有所借鉴和帮助，将是我们莫大的荣幸！

在繁忙的临床、教学和科研工作之余组织编写此书，倍觉时间紧迫、任务繁重，加上作者水平有限，虽几经编者相互修正和编辑精心审校，仍难免有不当之处，敬请读者海涵并指正。

《恶性肿瘤现代诊疗学》的出版得到了吉林科学技术出版社的大力支持，各位作者在百忙之中抽出时间积极撰稿，使得本书按时出版，在此表示衷心的感谢！

李少梅

二〇〇七年元月

目 录

上篇 肿瘤科学总论

第一章 癌症的基础研究前沿	1
第一节 癌基因与抑癌基因	1
第二节 血管内皮生长因子与实体瘤的关系	3
第三节 环氧合酶-2 与肿瘤	9
第四节 Survivin 与肿瘤	13
第五节 端粒酶与肿瘤	18
第六节 P16 的研究进展	25
第七节 PTEN 基因与肿瘤	29
第八节 树突状细胞瘤苗的临床应用	33
第九节 分子生物学技术在肿瘤研究中的应用	38
第十节 蛋白质组学技术在肿瘤研究中的应用	45
第二章 恶性肿瘤的诊断	50
第一节 恶性肿瘤诊断概论	50
第二节 影像学诊断	53
第三节 内镜诊断	59
第四节 肿瘤核医学检查	60
第五节 病理学诊断	61
第六节 肿瘤标志物检查	63
第七节 癌胚抗原与肿瘤	69
第三章 常见早期恶性肿瘤的诊断进展	73
第一节 早期食管癌诊断进展	73
第二节 早期胃癌的诊断进展	75
第三节 早期结肠癌诊断进展	78
第四节 早期胰腺癌的诊断进展	82
第五节 早期鼻咽癌的诊断研究进展	87
第六节 早期乳腺癌的诊断	89
第七节 早期膀胱癌诊断方法	91
第八节 早期卵巢癌的诊断	93
第四章 恶性肿瘤的治疗进展	97
第一节 恶性肿瘤的治疗概论	97

第二节 癌性疼痛的治疗·····	110
第三节 抗肿瘤治疗的不良反应·····	113
第四节 腹腔镜手术与恶性肿瘤转移·····	115
第五节 手术前的皮肤准备研究进展·····	118
第五章 恶性肿瘤的预防·····	121

下篇 常见的恶性肿瘤

第一章 鼻咽癌·····	125
第二章 甲状腺肿瘤·····	133
第一节 甲状腺癌诊治概论·····	133
第二节 动脉栓塞治疗甲状腺肿瘤·····	138
第三节 甲状腺髓样癌诊断和治疗·····	139
第三章 纵隔肿瘤·····	145
第一节 纵隔肿瘤概论·····	145
第二节 纵隔镜手术治疗胸部肿瘤·····	149
第四章 原发性支气管肺癌·····	152
第一节 肺癌概论·····	152
第二节 肺癌的外科治疗·····	164
第五章 乳腺癌·····	175
第一节 乳腺癌概论·····	175
第二节 乳腺癌的手术治疗·····	202
第三节 乳腺癌癌前病变的手术治疗进展·····	215
第四节 哨兵淋巴结活检与手术治疗·····	217
第五节 乳腺癌手术治疗进展·····	220
第六章 食管癌·····	221
第一节 食管癌概论·····	221
第二节 食管癌的外科治疗·····	225
第七章 胃癌·····	228
第一节 胃癌概论·····	228
第二节 胃癌的手术治疗·····	240
第八章 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤·····	245
第九章 肝癌·····	249
第一节 概论·····	249
第二节 肝细胞癌术后复发的治疗·····	261
第十章 胰腺癌·····	270
第十一章 大肠癌·····	274
第一节 大肠癌概论·····	274

第二节 大肠癌手术的基本原则·····	286
第十二章 宫颈癌·····	289
第十三章 卵巢癌·····	297
第十四章 子宫内膜癌·····	302
第十五章 恶性淋巴瘤·····	311
第十六章 脑瘤·····	316
第十七章 肾癌·····	321
第一节 概论·····	321
第二节 肾癌的手术治疗·····	325
第十八章 膀胱癌·····	330
第一节 概论·····	330
第二节 膀胱癌基因治疗研究·····	332
第十九章 前列腺癌·····	337
第二十章 睾丸肿瘤·····	341
第二十一章 阴茎癌·····	342
第二十二章 骨髓浆细胞瘤·····	345
第二十三章 骨与软组织肿瘤·····	351
第二十四章 类癌和类癌综合征·····	359
第二十五章 黑色素瘤·····	363

上篇 肿瘤科学总论

第一章 癌症的科学研究前沿

第一节 癌基因与抑癌基因

癌基因是指能导致细胞恶性转化的核酸片段。主要包括病毒癌基因（细胞癌基因）以及与细胞生长因子及其受体、蛋白激酶、转录因子及其信息加工、传递等有关的基因。抑癌基因是一大类可抑制细胞生长并能潜在抑制癌变作用的基因。

一、癌基因学说的提出

自1940年至1960年的20年是肿瘤研究发展的重要时期，在这个时期科学家们主要研究环境中致癌因素与肿瘤的关系。1941年Rous和Kidd证实多种不同的环境因素与肿瘤有关并将致癌物分成致癌和促癌两大类。根据苯并芘可致乳头状瘤的实验结果，Charlest和Clausen假设肿瘤的发生可能与细胞中抑癌基因的失活有关。1952年Boyland第一次证明了致癌物主要作用于DNA而非酶和蛋白质，1953年DNA双螺旋的发现为研究基因缺失与肿瘤的关系开创了一个新时代。组织培养技术的广泛应用为研究病毒与肿瘤的关系开辟了一条新途径。1951年Gross证明小鼠白血病的无细胞提取物可导致白血症的发生。1953年Grosst和Stewar分别从鼠白血病细胞中分离到多瘤病毒。同年，Rowe、Ward等在肿瘤细胞中分离到腺病毒，这些研究进展使病毒与肿瘤关系得到进一步的证实。但是就是在这时Nowell和Hungerford（1960年）发现费城染色体（Philadelphia, Ph）与慢性粒细胞白血病（chronic myeloid leukemia, CML）密切相关。1964年Brooks和Lawly用实验证明致癌物可使DNA发生突变，同时也明确了某些致癌物的致癌性与DNA亲和性之间有直接关系。从而为明确环境因素与遗传因素互相作用在肿瘤中的作用奠定了理论和实验的基础。从此，人们开始探索病毒如何使正常细胞发生恶性转化。1965年Fried分离到一个温度敏感的多瘤病毒，虽然在非理想的温度下不能转化正常细胞，但是它能在细胞内复制。这一研究结果表明病毒具有转染和复制的能力。1969年Vogt和Toyoshima以及1970年Martin分离到温度敏感的突变型Rous肉瘤病毒。Dulbecco等在1968年证明SV40病毒不仅能够转染细胞并能将病毒DNA序列整合到细胞的基因中。最重要的肿瘤病毒的研究进展源于逆转录酶的发现。1970年由Baltimore和Temin发现逆转录酶，它是一种由DNA模板合成DNA的一种

酶,打破了只由 DNA-RNA-蛋白质的法则,导致了病毒学领域的一场革命。这个发现提示了病毒 RNA 序列可以感染细胞,病毒也可以从宿主细胞借用 DNA 序列。1969 年 Harris 及其同事提出在恶性肿瘤中可能有一种抑制肿瘤恶性生长的基因,但获得这种基因十分困难。1971 年 Knudson 通过对视网膜母细胞瘤的研究,假设视网膜母细胞瘤的发生至少存在两步突变,提出了抑癌基因的假说。到了 1973 年 Rowley 证明费城染色体是由 9 号和 22 号染色体异位而形成的,从发现染色体异常到明确发生异常的原因用了 13 年的时间,主要是因为染色体分带技术的发展。由此可见,新的实验技术的创立在重大科学发展的重要作用。

二、癌基因及抑癌基因的研究

人类通过对肿瘤遗传家系的分析、流行病学以及大量的动物试验研究证明了肿瘤的发生受遗传因素的影响,特别是近 20 年来,已进一步明确肿瘤是一种环境因素与遗传因素互相作用的一类疾病。大多数环境致病因素如饮食、病毒、化学物质、射线的致癌作用都是通过影响遗传基因起作用的。癌基因是指细胞中发生变异的一类基因,这些基因在细胞中行使正常的生物学功能。当初人们将这些病毒基因的类似物称为原癌基因。事实上这些原癌基因就是细胞内的在细胞增殖和分化过程中起重要作用的基因。这些基因所编码的蛋白质都存在与细胞的各个组成部分中,包括细胞核、细胞质及细胞表面。目前研究的结果已表明肿瘤是细胞中多种基因突变累积的结果,这些基因突变主要发生在 3 类细胞基因,即癌基因 (oncogene)、抑癌基因 (tumor suppressor gene) 和 DNA 修复基因 (DNA repair gene)。其中绝大多数肿瘤的基因都是体细胞变异,包括点突变、扩增、重排、缺失或甲基化状态的改变。癌基因并不意味着其在细胞中的作用仅仅是促进肿瘤的发生,实际上只有当原癌基因发生突变导致其正常的结构和功能发生变化,也可以称原癌基因的活化,进而导致这种活化基因的表达和生物学功能发生时间核间的错位,从而在肿瘤的发生、发展过程中起促进作用。上世纪 90 年代初期,1990~1995 年,针对癌基因和抑癌基因研究中出现的问题,特别是单个基因分析的局限性,提出了人类基因组研究并全面启动。在 DNA 测序和基因制图的同时人们开始更注重基因功能的研究。疾病基因的识别已成为肿瘤学界和全社会关注的焦点,发现了许多与疾病相关的基因:细胞周期调控因子、凋亡相关基因、血管生长因子和受体、端粒酶,都是具有重要生物学功能的基因,并证明这些基因都参与细胞的增殖与分化的调控和正常生命活动的维持,并进一步明确这些基因的异常与肿瘤的发生发展密切相关,从而使疾病基因识别的研究成为生物医学界的主要任务。最近美国科学家发现了第二个与前列腺癌有关的基因,这一发现将来也许有助于医生诊断和治疗部分病人。论文作者之一的 Robert Silverman 说:以前已知正常型的 RNASEL 基因能让细胞在某些情况下产生自杀行为,这也许可以解释它与癌症之间的关系。细胞自杀的一个原因是它正开始变得有致癌性。有缺陷的 RNASEL 基因可能让前列腺癌更富侵袭性。我国科学家近日成功发现了肝炎病毒导致肝癌的基因。在对大量的肝炎病毒导致肝癌的患者进行多角度研究之后,设在上海的国家人类基因组南方研究中心的科学家找到了肝癌发病的两条主要基因传导途径:一条是较为活跃、能够引起肿瘤的高表达基因,另一条是正常情况下能够抑制肿瘤的低表达基因。当抑制肿瘤的基因急剧减少,而引起肿瘤基因迅速增加时,人体细胞调控就会出现紊乱,最终引发肝癌。近年来,特别是 1995~1999 年,人们对基因与肿瘤的研究从盲目乐观和悲观的困惑中

进入健康发展时期,多基因变异累积与肿瘤的发生、发展已成为学术界的共识。随着功能基因组、环境基因组、药物基因组研究的深入发展,疾病基因的研究也加速了肿瘤基因研究的步伐,癌基因与肿瘤关系的研究已从回顾性的实验室研究进入大规模的临床前瞻性研究。随着大规模测序、疾病基因识别、细胞信号传递和生物芯片技术的发展,将进一步明确癌基因在肿瘤发病中的作用,并将这些成果逐步用于肿瘤的预防、诊断和治疗。癌基因 *c-erbB-2* 可引起细胞恶性转化,在维持肿瘤细胞恶性表型上也起重要作用,其表达可被 EGF 等肽类调节因子诱导。有人发现 *c-erbB-2/neu* 能够阻止细胞的程序性死亡。原癌基因 *c-jun* 对人卵巢癌细胞生长有促进作用,是一个有意义的治疗靶基因。原癌基因 *MDM2* 编码 p90 (*MDM2*),能够与 P53 结合阻断其转录活化区进而来活并降解 P53 蛋白。野生型 *MDM2* 基因还有另一产物 p76 (*MDM2*),它不能与 P53 结合, p90 与 p76 共存的比率能够调节组织对 DNA 损伤的应激作用。抑癌基因 P53 能对多种肿瘤产生抑制,一旦突变反而促进癌变,而且 P53 突变随地理环境的不同而有各种不同地域类型, P53 的变异常见于癌及癌前期损伤,可能是散发及原位癌发生的重要原因。APC、DCC 和 MCC 都是抑癌基因, APC/MCC 缺失对胃癌早期发生及发展起重要作用,且 MCC 缺失对胃癌早期发生及发展起重要作用,且 MCC 缺失率更高。MMAC/PTEN 是定位于 10q23.3 的抑癌基因,该基因的变异及表达水平变化对成胶质细胞瘤的生长有重要影响,与病人的康复密切相关,有人报道 PTEN 在许多肿瘤中是因为体细胞突变而失活。位于 11q13 的抑癌基因 *MEN1* (multiple endocrine neoplasia type 1) 的杂合性缺失及其体突变导致的失活促使了 *MEN1* 型散发性内分泌的失调。EHIT (fragile histidine triad) 是定位于 3p14.2 的候选肿瘤抑制基因,它的缺失在弥漫性小叶乳腺癌发生中起重要作用。候选肿瘤抑制基因 *SMAD4* 定位于 18q21,在大肠癌上常有缺失, *SMAD4* 是候选的胰腺癌抑制基因,一些大肠癌中也检出了 *SMAD4* 的突变,但发生率很低, *SMAD4* 启动区超甲基化在大肠癌的肿瘤生成中不常见。AS3 也是一个候选肿瘤抑制基因,能调节前列腺癌细胞中雄激素诱导的终止增值作用。pp32 能抑制原癌基因介导的转化,在良性前列腺组织中表达,而 pp32r1 和 pp32r2 在前列腺癌中有表达,它们三者的选择性表达可以调节致癌力。有人根据大多数卵巢癌在 22q 存在缺失推测该处有一个肿瘤抑制基因。还有人认为 11q23 处有一个与大肠癌的形成相关的假定肿瘤抑制基因。1q 上也有一与甲状腺肿瘤相关的假定抑制癌基因。这些发现都对癌症的研究有着重要意义。

(姚为京)

第二节 血管内皮生长因子与实体瘤的关系

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF/VEGF-A) 又称血管通透性因子 (vascular permeability factor, VPF), 是一种多功能的细胞因子,其主要功能包括: (1) 高度特异性地促进内皮细胞增生、迁移、分化及存活,抑制内皮细胞的老化和凋亡,进而促进新生血管的形成。(2) 增加血管的通透性,引起血浆蛋白的外渗,促进实体瘤的生长和转移。(3) 抑制肿瘤细胞的老化和凋亡。(4) 促进新生淋巴管的形成。生理状态下, VEGF 只在少数成人组织器官中表达,病理状态下, VEGF 在全身多种组织器官的实体瘤和一些以血管生成异常为特征的疾病 (缺血性视网膜病变、心肌缺血等) 中均增高表

达。作为目前已知的最主要促新生血管形成因子之一, VEGF 对体积超过 2mm³ 的实体瘤的快速生长作用显著。

一、VEGF 的理化特征

VEGF 是一种高度糖基化的阳离子蛋白, 分子量大小约 31~45KD, 它以二硫键连接, 形成同源二聚体形式, 两条链反向平行排列, 呈现出晶状体样的结构。人 VEGF 的基因位于六号染色体短臂上, 每个 VEGF 基因含 8 个外显子、7 个内含子。在转录水平, VEGF 的 mRNA 经过不同剪切 (5, 6, 118, 119), 产生五种变异体, 分别称为 VEGF121、VEGF145、VEGF165、VEGF189、VEGF206。五种 VEGF 变异体在分泌效率、对 endothelial 细胞表面肝素和硫酸肝素的亲和能力、增加血管通透性及促内皮细胞有丝分裂等生物学特性方面明显不同。VEGF121 缺乏外显子 6、7 编码的 44 个氨基酸, 不能和肝素以及细胞外基质结合, VEGF165、189、206 拥有外显子 6、7 编码的氨基酸, VEGF145 具备外显子 6 编码的 21 个氨基酸 (这 21 个氨基酸包含可与肝素结合的次级结构域以及与细胞外基质结合的成分), 故 VEGF145、165、189、206 可以和肝素以及细胞外基质结合, 其中 VEGF189、206 更易与肝素结合, VEGF121、145、165 更易溶解且生物活性更强, VEGF189 没有分泌型形式且活性较低, VEGF121、165 含量最丰富、分布最广泛, VEGF145 只在生殖器官中表达。降解时, VEGF 分离成几个 17~23kD 的片段, 失去所有的生物活性。VEGF 必须借助于纤维蛋白酶的作用, 将其从结合状态下释放出来, 才能发挥其生物学活性, VEGF 通过与其两种跨膜受体 Flt-1 (fetal liver tyrosine kinase receptor) 和 Flk-1 (fetal liver kinase) /KDR (kinase insert domain containing receptor) 结合发挥生物学功能, 该过程相当复杂, 具体细节尚不清楚。因为 VEGF 与 Flt-1 的亲合能力比 VEGF 与 Flk-1 的亲合能力高出十倍以上, 故认为 Flt-1 是 VEGF 的主要作用受体。另外, 内皮细胞表面还有 VEGF165 特异性受体 neuropilin-1 和 neuropilin-2, 但是最近的研究发现, 这两种受体是 Flt-1 和 Flk-1 的协同受体, 并不能独立发挥作用。VEGF 的表达受多种生长因子、瘤基因、抑瘤基因、缺氧、氮氧化物等多因素调节, 这些因素以不同方式调节 VEGF 的基因表达, 进而实现 VEGF 在生理或病理状态下特定含量的表达。目前的研究主要集中在 VEGF121、165 这两种最具特征性的变异体上。

二、血管抑素的研究现状

(一) 血管抑素的发现和基本结构

早在 1994 年, O'Reilly 等首先在 Folkman 的实验室从荷 Lewis 肺癌小鼠的血液和尿液中分离出一种相对分子质量为 38×10^3 的蛋白质, 并证明该蛋白质能抑制血管内皮细胞的增殖。经蛋白测序发现, 其氨基酸序列与人纤溶酶原 N 末端 98 位到 440 位氨基酸残基的内片段有 98% 的同源性。最终证明它是大分子物质 Pgn 第 1.4K 裂解片段, 并命名为 angiostatin。随后发现在人体内同样存在这种大分子物质。Pgn 正常情况下经激活水解成为纤溶蛋白酶 (Plasmin, Plm), 参与体内纤溶过程。Pgn 和 Plm 都有 5 个三环结构称为 Kringle 区, 简称 K1-5。每个 Kringle 结构包含约 80 个氨基酸, 各个 Kringle 结构有 50% 左右的序列相同。血管抑素则具有前四个 K 区和部分的 K5 区, 依靠三个二硫键连接, Krin-

gle 结构中二硫键介导的折叠维持了血管抑素抑制内皮细胞生长的活性。

(二) 血管抑素的产生和作用机制

通常认为, Pgn 的蛋白水解是血管抑素产生的共同机制。Comelius 等又发现, 血管抑素的产生需要基质金属蛋白酶 (MMP) 的参与, 尤其是巨噬细胞弹性蛋白酶 (MME) 可有效地促进血管抑素的生成。此外, Dong 还发现: 血管抑素的生成与粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 有关。以 GM-CSF 培育的巨噬细胞, 其巨噬细胞弹性蛋白酶 mRNA 的表达增多, 而且生成血管抑素的量比对照组多 4 倍。而在体内的研究认为: 血管抑素不是由肿瘤细胞直接分泌的, 而是肿瘤细胞可以产生或激活某种蛋白酶, 该酶可将体内的前体分解为血管抑素。原发肿瘤存在时, 血管内皮细胞生长因子如血管内皮生长因子 (VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 等活性增强, 新生毛细血管网迅速形成, 以适应快速增长的肿瘤细胞需要, 同时伴随肿瘤生长存在的蛋白酶水解活性增加, 或是由于巨噬细胞浸润肿瘤, 并在肿瘤细胞来源的 GM-CSF 作用下分泌表达 MME; 或是肿瘤细胞本身产生的 MMP 增加, 使正常存在于血液循环中的 Pgn 和 Plm 水解生成血管抑素, 以对抗 VEGF、bFGF 等促血管内皮生长的作用, 形成一种平衡调节。在血管抑素作用机制的研究中, Lucas 的体外实验证实了血管抑素抗血管生成作用与其诱导的内皮细胞凋亡有关; 而 Griscelli 等则认为血管抑素干扰了 G-M 转换, 下调了 M 期的磷酸化, 通过阻止有丝分裂而阻断了内皮细胞的增殖作用; 最近 Moser 等研究发现血管抑素通过抑制内皮细胞表面 ATP 酶的代谢而抑制血管生成; Tarui 等的实验认为血管抑素与内皮细胞表面的特异性黏附分子受体整合蛋白 $\alpha\beta_3$ 结合, 从而阻断其介导的血管生成信号转导作用, 而抑制血管生成。虽然血管抑素的作用机理还不清楚, 但很多研究显示: 血管抑素能特异性抑制内皮细胞增殖和迁移, 并可进入血液循环, 对远离肿瘤的部位作用, 从而使肿瘤原发灶萎缩, 并防止转移灶的生长。

三、VEGF 与实体瘤新生血管形成

新生血管形成是实体瘤快速生长的关键, 因为新生血管促进氧合作用并提供大量营养物质与生长因子, 同时带走代谢废物。迄今已发现有包括生长因子、细胞因子和其他物质在内的 20 多种分子可促进肿瘤的新生血管化, 如 VEGF、酸/碱性成纤维细胞生长因子 (α/β FGF)、血小板源生长因子 (PDGF)、转化生长因子 α/β (TGF α/β)、angiotropin、angioenin、肿瘤坏死因子 α (TNF α) 等, 但是目前普遍认为, VEGF 是最主要的调控实体瘤血管发生和新生血管形成的因子之一: 将外源性 VEGF 引入实验性裸鼠体内, 促进了裸鼠头颈部肿瘤新生血管的生长, 在小鼠的纤维肉瘤模型中, 破坏肿瘤 VEGF 的表达降低了肿瘤血管生成, 大量诸如此类动物实验证实了上述论断。正常情况下, 新生血管形成受促血管形成因素和抗血管形成因素的共同调节, 维持在合理的动态水平, 但在实体瘤内, 促血管形成因素 (主要是 VEGF) 的病理型异常分泌打破了这一平衡, 引发了肿瘤新生血管的大量生成。肿瘤新生血管生成是不同于普通的血管发生的概念, 它是在原先存在的肿瘤血管床上长出新的毛细血管, 新生血管来自于成血管细胞, 其过程分为两个阶段, 即血管生成前期和血管生成期, 血管生成期过程相当复杂, 包括细胞外基质重塑、内皮细胞迁移与增生、毛细血管分化与吻合等, VEGF 参与该期一个或一个以上步骤而调节新生血管生成。不过, Peter 等认为 VEGF 对成血管细胞分化为早期的内皮细胞并非必需, 而一定量的 VEGF 对于进一步的

血管生成却必不可少, Edward 等也指出, VEGF 维持肿瘤新生血管的继续生长但并不发动肿瘤血管生成, 亦即 VEGF 的主要作用在于促进已成型血管的继续生长。不管怎样, 可以肯定的是, 肿瘤新生血管的大量生成相当程度上依赖于 VEGF 的功能。

四、实体瘤的抗血管生成治疗

随着分子肿瘤学的发展, 人们认识到肿瘤血管生成是实体瘤恶性转化、生长和转移的生物基础和重要环节。因此, 抑制肿瘤血管生成已成为一种新颖的抗癌途径, 以肿瘤血管生成的各个环节为靶点的血管生成抑制剂已广泛应用, 按其作用特异性可分为两类: ①特异性的: 只抑制血管生成或仅抑制血管内皮细胞的增殖或和迁徙, 不影响其他组织, 如血管抑素、内皮抑素、TNF 470 等; ②非特异性的: 除抑制血管生成外, 还有抗多种细胞增生的作用, 即对血管内皮细胞和肿瘤细胞均有抑制作用, 长期使用可能出现明显毒副作用。所以, 血管抑素在实体瘤抗血管治疗中更具应用价值。

五、VEGF 与实体瘤的发展、转移、诊断、复发及预后

Wolfgang 等认为所有组织都有增高表达 VEGF 的潜能, 而 Edward 等发现并非所有的实体瘤中都能检出 VEGF 的高表达, 不过他也承认这可能是由于以下原因: 肿瘤期前不典型增生期或肿瘤早期其他原因所致的高度新生血管化使得 VEGF 并不随肿瘤的发展而显著增加; 作为促 VEGF 增高表达主要因素之一的缺氧可能会间断产生, 而肿瘤正好在 VEGF 低表达时被切除; 微环境变化导致 VEGF 诱导因子的表达下调。迄今为止, 不同的研究者在多种组织器官的实体瘤中均检测到了 VEGF 的表达, 如乳腺癌、结肠癌、神经胶质瘤、肺癌、头颈部鳞癌、前列腺癌、子宫癌、食管癌、肾癌等, 他们认为 VEGF 是维持实体瘤快速生长、促进实体瘤播散转移、预测实体瘤患者生存预后的关键细胞因子。VEGF 主要是通过促进肿瘤新生血管形成来促进实体瘤的生长。研究证实, 大量的新生血管形成是体积大于 2mm^3 的肿瘤继续生长不可缺少的因素, 没有足够的新生血管提供充足的养分, 肿瘤生长无以为继。Baillie 等发现 VEGF 不仅能够促新生血管形成, 而且可以抑制树突状细胞的成熟, 这说明 VEGF 尚可可通过影响肿瘤宿主的免疫系统来促进肿瘤生长。在对非小细胞癌的研究中发现, VEGF 及其受体不仅在肿瘤细胞中表达, 而且在内皮细胞以及基质的成纤维细胞中表达, 该研究统计显示, 肿瘤细胞中 VEGF 的表达只和瘤细胞中 Flt-1 的表达正相关, 和内皮细胞中 Flt-1 的表达无相关性, 说明肿瘤细胞中的 VEGF 是作为一种生长因子, 以自分泌的方式促进肿瘤的生长。该研究统计表明, 成纤维细胞中 VEGF 的表达和内皮细胞中两种受体的表达呈正相关, 该部分 VRGF 很可能以旁分泌方式与内皮细胞上的受体结合, 从而促进肿瘤血管形成及肿瘤的发展。VEGF 不仅促进实体瘤的生长, 同时也加速了肿瘤的转移。随着肿瘤血管的增加, 更多的肿瘤血管参与血液循环, 进而促进肿瘤的转移; VEGF 通过促进血管的渗透性来加速肿瘤细胞进出血管, 因而加速了肿瘤的转移; 另外, VEGF 尚可可通过抑制肿瘤宿主的免疫系统促进肿瘤转移。在有转移和无转移的食管癌中, VRGF 的表达存在显著差异。针对 VEGF 所做的实验性抑制肿瘤生长的治疗不仅明显缩小了原发性肿瘤的体积, 同时也减少了肿瘤远处转移的发生。当人们最初发现实体瘤患者组血液中的 VEGF 水平明显高于健康对照组时, 他们希望可以藉此对早期肿瘤做出诊断, 但是最近的研

研究表明, VEGF 主要在进展期实体瘤患者的血液中显著升高, 而对于早期肿瘤患者, VEGF 的表达同对照相比并无显著差异, 因此, 就实体瘤的早期诊断而言, VEGF 的价值似乎不大。VEGF 可以用来监测实体瘤复发特别是手术切除后的复发。对某些实体瘤, 如乳房癌、结肠癌、卵巢癌的研究发现, 在手术切除肿瘤后, 患者血液中 VEGF 水平显著下降, 跟踪研究表明, 部分患者的肿瘤复发同时伴随着 VEGF 水平再度升高, 而其他肿瘤未复发患者血液中 VEGF 一直稳定在肿瘤刚切除时的低水平, 可见 VEGF 同肿瘤复发有着不可分割的联系。VEGF 是一个很好的独立的判断实体瘤预后的因子。人们常常借助于免疫组化方法, 用 VEGF 来预测肿瘤患者的生存预后; 因为 VEGF 的表达往往同 MVD (微血管密度) / MVC (微血管计数) 正相关, 所以也有不少学者用 MVD/MVC 代替 VEGF 作为判断预后的因素。在乳房癌、结肠癌、喉癌、非小细胞型肺癌等大量实体瘤中均观察到了 VEGF 或 MVD/MVC 测定值高低同肿瘤预后好坏紧密相关。但是, 在对少数实体瘤的研究中发现, VEGF 或 MVD/MVC 的表达与肿瘤患者的预后并无相关性, 这说明对于某些肿瘤, 应当慎用 VEGF 或 MVD/MVC 做为预测预后的细胞因子。不可忽视的是, 免疫组化方法存在明显的主观误差, 鉴于此, 近年来人们越来越倾向用循环血液中的 VEGF 数量判断实体瘤预后, 但是这也同样存在着一些尚待解决的问题, 如 VEGF 参考界值的确定、以血浆、血清还是以全血中的 VEGF 测定值为准等。

六、VEGF 在实体瘤基因/生物治疗中的应用

近年来, 人们针对 VEGF 在实体瘤的基因/生物治疗方面进行了多种不同的尝试, 其核心在于用不同的方法抑制 VEGF 的生物学功能, 从而达到破坏肿瘤生长的目的, 大致可分为以下几方面。

(一) 可溶性血管内皮生长因子受体 (Sflt-1) 与抗肿瘤治疗

正常的 VEGF 受体是跨内皮细胞膜受体, 其组成为胞外段、跨膜段和胞内段三个部分, 而 Sflt-1 只保留了胞外段部分, 缺少跨膜段和胞内段, 因而不能介导细胞信号传导, 但是它可以竞争性抑制 VEGF 与正常受体的结合, 破坏 VEGF 的作用。Goldman 等于 1998 年观察到用 Sflt-1 转染 HT-1080 人成纤维细胞瘤后, 肿瘤的生长和转移得到了抑制, Satomi 等于 1999 年用腺病毒介导 Sflt-1 治疗实验性眼睑恶性黑色素瘤, 亦取得了明显的效果, 对其他多种实体瘤所做的类似实验观察到了同样的结果。

(二) 反义 VEGF mRNA 的应用

反义 VEGF mRNA 可以和正常 VEGF mRNA 互补结合, 抑制 VEGF mRNA 的翻译并促进其降解, 从而抑制 VEGF 的表达与分泌。1996 年, Saleh 等最先用真核载体介导反义 VEGF 转染实验性 C6 胶质瘤小鼠模型, 明显抑制了小鼠肿瘤的生长, 后来, Seock-Ah 等、Cheng 等均观察到用反义 VEGF 阻止实体瘤生长的情况。

(三) VEGF 单克隆抗体途径

VEGF 单抗与 VEGF 结合阻断了 VEGF 与受体的结合, 因而阻断了 VEGF 的信号传导。Kim 等于 1993 年初次发现用 VEGF 单抗可以对抗实体瘤的生长, 对癌、肉瘤、神经胶质瘤荷兰小鼠所做的实验均表明了 VEGF 单抗的抗肿瘤作用, 其他研究者所做的诸多实验也证实了 VEGF 单抗抑制瘤生长的功能。另外, 尚有其他一些基因治疗方法, 如利用

VEGF 受体抗体抑制受体与 VEGF 结合,把细胞毒素与 VEGF 结合形成 VEGF-细胞毒素结合体而破坏 VEGF 的作用,用 VEGF 突变体竞争性抑制 VEGF 的功能等。作为近年来的一个研究热点,VEGF 得到了研究者的广泛关注,关于 VEGF 和实体瘤关系的一系列研究结果基本肯定了 VEGF 对实体瘤的独特作用:VEGF 促进了实体瘤新生血管形成和生长转移,可以作为预测实体瘤患者生存预后的独立因素等。针对 VEGF 实验性的抗肿瘤基因治疗也取得了明显的效果。但是,VEGF 的具体作用机制尚不明,VEGF 是否在所有实体瘤中都发挥相同或相似的作用尚待澄清,抗实体瘤基因治疗方法大多停留在动物实验阶段,而且存在不少需要突破的技术难点,不过可以肯定,随着研究的进一步深入和治疗方法的不断改进,在可以预见的将来,对 VEGF 的理解必将更加深刻,针对 VEGF 的抗肿瘤基因治疗也必将取得更加令人满意的效果。

七、血管抑素在实体瘤抗血管生成治疗中的应用

随着对血管抑素研究的深入,血管抑素抗实体瘤血管生成治疗已广泛展开。(1) 蛋白制剂治疗:血管抑素和重组的血管抑素蛋白直接注射于实验动物体内,能显著抑制肿瘤原发灶和转移灶的血管生成。血管抑素的发现者 O'Reilly 用它治疗荷瘤小鼠可致多种肿瘤原发灶萎缩,并可防止转移灶的血管生成及肿瘤发生。实验显示,在切除原发肿瘤后对小鼠持续以血管抑素腹腔注射 14 天,肉眼可见的转移灶数目减少 18 倍,全身应用人血浆纤维蛋白溶酶原来源的血管抑素,在小鼠的肿瘤模型实验中有明确的血管抑制作用,能抑制转移瘤的生长,并可抑制人和鼠的原发肿瘤,耐受性好且没有毒性。Sim 等将低转移表型的 Lewis 肺癌细胞 (LLC-LM) 接种于 C57BL-6 小鼠背部,14 天后无菌切除肿瘤,用重组人血管抑素蛋白给小鼠连续静脉注射,结果显示注射该蛋白后能显著抑制肺转移瘤形成,抑制程度约达 90%。上述实验显示的血管抑素和重组血管抑素抑制肿瘤原发灶和明显抑制肿瘤转移灶的作用,为其临床用药和联合用药提供了实验依据。(2) 用编码血管抑素的重组基因进行抗肿瘤血管生成的基因治疗。如 Cao 等将编码鼠血管抑素的 cDNA 转染导入小鼠 T241 纤维肉瘤细胞,然后将这些稳定表达血管抑素的细胞种植于 C57BL/6-J 小鼠,结果发现原发肿瘤生长的抑制率为 77%,切除原发肿瘤后,约 70% 的小鼠其肺微转移灶保持镜下休眠及无血管状态达 2~5 个月,已证明转染了血管抑素基因的内皮细胞有丝分裂明显受到抑制,其血管生成明显受抑。Indraccolo 等发现转录了血管抑素 cDNA 的逆转录病毒载体在裸鼠体内能稳定表达血管抑素,并抑制裸鼠 Kaposi's 瘤的生长和血管的生成,为肿瘤治疗展示了一条新途径,基因工程的迅速发展已为血管抑素的基因治疗提供了实验基础。由于抗肿瘤血管生成基因治疗不受肿瘤细胞周期的影响,故而是化疗、放疗和其他基因治疗方案的良好补充。(3) 联合治疗:在动物实验中 Yokoyama 等用酵母表达的血管抑素和内皮抑素联合,治疗小鼠的卵巢癌,显示出明显的协同作用。Gyorffy 等用血管抑素与 IL-12 免疫治疗联合,使实验小鼠实体瘤明显缩小。血管抑素的基因治疗与放疗、化疗联合作用可产生更强的抑瘤效果:如 Griscelli 等将表达血管抑素的腺病毒瘤内注射到大鼠 C6 胶质瘤模型,并联合使用放疗,结果观察到它们之间有明显的协同作用 ($P < 0.005$)。这均提示了血管抑素的抗血管治疗与传统的抗肿瘤细胞治疗的联合应用,能更有效地治疗肿瘤,为实体瘤的“双靶向”治疗奠定了实验基础。

(姚为京、李少梅)

第三节 环氧合酶-2 与肿瘤

一、环氧合酶的结构和功能

环氧合酶 (cyclooxygenase, COX) 是前列腺素 (PGs) 合成过程中重要的限速酶, 具有环氧合酶和过氧化物酶双重酶的功能, 通过其环氧合酶活性催化花生四烯酸转化为前列腺素 G₂ (PGG₂), 通过其过氧化物酶活性催化 PGG₂ 转化成 PGH₂。PGH₂ 被单个的合成酶或还原酶作用才能转化成具有活性的终产物, 如 PGE₂、PGF₂、PGI₂、TXA₂ 等。目前发现该酶至少有两种同工酶, 即 COX-1 和 COX-2。COX-1 是结构酶, 由管家基因编码, 共 599~600 个氨基酸, 为组成性表达。COX-1 参与维持机体正常的生理功能, 如保护胃粘膜, 调整肾脏血流和控制血小板聚集等。20 世纪 90 年代发现 COX-2, 它是一种诱导酶, 在正常生理状态下多数组织内检测不到, 只有当细胞接受相应的刺激才开始合成, 主要的刺激因素有: 生长因子、细胞因子 (如 PDGF、PAF、TNF、TGF、EGF、bFGF、HGF、IL-1)、脂多糖 (LPS)、肿瘤促进剂 (如佛波酯 TPA、PMA)、癌基因 (如 ras、v-src)、维甲酸、内皮素 (ET)、突触活动、高渗状态、一氧化氮、胃泌素、热休克蛋白、内毒素、人体绒毛膜促性腺激素 (HCG) 等。COX-2 与 COX-1 具有 61% 的同源性。人 COX-1 启动子上不含有 NF- κ B 位点序列, 而 COX-2 启动子上却含有 2 个 NF- κ B 位点序列, 该位点序列发生定向突变后, 几乎完全封闭 TNF 对 COX-2 启动子连接的报告基因活性的诱导作用, 可见 NF- κ B 位点为 COX-2 转录激活所必需。COX-2 主要定位于核膜, 其催化产生的前列腺素 (PGs) 可进入核内, 调节靶细胞基因的转录。COX-2 参与多种病理生理过程, 其高表达与炎症、疼痛、肿瘤的发生、发展及老年性痴呆的发生存在密切关系。

二、COX-2 与肿瘤的关系

COX-2 与肿瘤的关系首先来源于一些流行病学资料, 长期服用较高剂量非甾体类抗炎药物的人群结肠癌及腺瘤性息肉的发病率明显降低。近年来大量研究表明诱导型 COX-2 的过度表达导致的前列腺素水平升高在人类多种类型肿瘤的发生过程中起重要作用。COX-2 在结肠直肠癌中的作用已被确定, 腺瘤性息肉和恶性结肠肿瘤比正常肠黏膜表达 COX-2 的水平高, 后者无或仅有弱的 COX-2 表达。Sheehan 等对 76 例结肠直肠癌患者的病理组织进行免疫组织化学检查, 并用 14 名正常人结肠组织活检作对照, 发现 COX-2 在肿瘤上皮细胞、血管内皮细胞、炎症细胞及成纤维细胞中均有表达, 且肿瘤分级越高 (恶性度越高), COX-2 表达水平越高, 在正常结肠组织中未发现 COX-2 表达。临床实验表明, 非类固醇抗炎药物可以抑制 COX-1 和 COX-2 的表达, 并能显著减少家族性腺瘤性息肉患者腺瘤的数目, 并可减少患散发性结肠直肠癌的危险性。通过转基因诱发的结肠肿瘤动物模型研究发现, 给以特异性 COX-2 抑制药物可减少或预防肿瘤的形成。除结肠癌组织中普遍存在高表达的 COX-2 外, 其他组织的恶性肿瘤, 如胰腺、胃、食管、前列腺、肺和头颈部肿瘤, COX-2 的高表达亦常见。Uefuji 等用反转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测 37 例胃癌腺癌组织中 COX-2 mRNA 的表达, 结果表明, 有淋巴结转移的胃癌病人肿瘤组织中 COX-2 mRNA