

大肠肿瘤基础 与临床进展

● 主 编 项 平 宛新建

*D*achang Zhongliu Jichu Yu Linchuang Jinzhan

本书详细论述了大肠肿瘤基础和临床研究方面的最新进展。
全书共分3篇：基础篇、临床篇、内镜与影像篇，系统地对大肠
肿瘤的分子生物学、发病机制、临床表现和治疗策略等方面的
关键问题，进行了较为深入的阐述

大肠肿瘤基础与临床进展

主 编 项 平 宛新建

上海科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

大肠肿瘤基础与临床进展/项平,宛新建主编. —上海:
上海科学技术出版社, 2007. 8

ISBN 978—7—5323—9027—4

I. 大... II. ①项... ②宛... III. 大肠—肿瘤—
研究 IV. R735. 3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 110537 号

上海世纪出版股份有限公司 出版、发行
上海科学技术出版社

(上海钦州南路 71 号 邮政编码 200235)

新华书店上海发行所经销

苏州望电印刷有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 印张 18.5

字数:413 千字

2007 年 10 月第 1 版 2007 年 10 月第 1 次印刷

定价:47.00 元

本书如有缺页、错装或损坏等严重质量问题,
请向工厂联系调换

内容提要

本书详细论述了大肠肿瘤基础和临床研究方面的最新进展。全书共分3篇：基础篇、临床篇和内镜与影像篇，系统地对大肠肿瘤的分生物学、发病机制、临床表现和治疗策略等方面的关键问题，进行了较为全面而深入的阐述。基础篇主要从基因表达、蛋白组学等分子生物学水平的微观层面去阐述大肠肿瘤的发生和发展。临床篇则从流行病学、经济学等宏观视角去论述大肠肿瘤的临床进展，并在疾病的化疗、放疗、营养、免疫治疗等方面进行了多角度、多层次的阐述。内镜与影像篇则专门介绍消化内镜技术在大肠肿瘤诊治中所发挥的重要作用，详细介绍了近年开展的内镜下大肠癌的黏膜切除等新技术在治疗大肠肿瘤方面的应用。本书可供消化科各级临床医生参考使用。

编者名单

主 编

项 平 宛新建

主 审

徐富星

编 者 (以姓氏笔画为序)

卫 炜	王 锋	王 巍	王 韶	英 戈	之 铮
方 颖	卢 峪	田 相	生 晶	白 娇	娇 丽
冯 莉	朱 风	汤 茂	孙 旭	杨 丽	颖 臻
李 为	李 雷	汪 剑	张 伟	张 周	宛 新
张 汝	陈 莺	陈 慧	季 大	周 宛	建 芬
周 平	郑 昱	郑 莉	郑 嘉	俞 唐	曦 道
项 平	郝 强	郜 恒	保 志	唐 靖	
施 斌	姚 礼	袁 敏	殷 跃		
黄 玮	曹 忆	蒋 丽	赖 兴		
薛 寒	冰				

序

近年来,大肠肿瘤的发病率逐年升高,成为严重影响我国人民健康的常见疾病之一。因此,如何早期诊治并降低其病死率、提高生存率以及改进患者的生命质量,甚至如何在取得相当疗效的前提下降低医疗费用,成为医务工作者所关注的课题。随着科学技术的不断进步,目前对大肠肿瘤的基础和临床研究有了很大进展,结肠镜技术也发展迅猛,使我们对这些疾病的认识与理解不断加深。然而,现在专门针对大肠肿瘤的专著和论述还不多,远远不能满足目前临床和科研的需要。

本书主编项平教授已从事消化疾病诊治工作多年,尤其是在内镜诊治大肠肿瘤方面积累了丰富的临床实践和研究经验。参加本书的编写者,亦大多数是富有朝气的青年学者,他们对大肠肿瘤的临床表现、发病机制和治疗策略等方面的关键问题,尤其是结肠镜对大肠癌的诊断和治疗等进行了较为系统、全面、深入的阐述。

该书除参考了大量相关文献外,还包含有各位作者的经验和体会,内容新颖,相信每位阅读者都能从中取得收获。我有幸先睹为快,并愿意推荐给广大临床工作者。

中华医学会消化内镜学会原副主任委员

徐富星

2007年5月

前 言

随着人民生活水平的逐步提高和饮食结构的改变,大肠肿瘤的发病率逐年上升,发病年龄也有低龄化趋势,严重影响着我国人民的生活质量。当今,医学科学发展迅速,对大肠肿瘤的基础和临床研究不断深入,基础理论和治疗策略也在不断更新,尤其是目前消化内镜技术更是突飞猛进,已经成为大肠肿瘤诊治中不可或缺的重要手段。近年开展的内镜下大肠癌的黏膜切除等新技术甚至取代了传统的外科手术治疗。我们在查阅、探索新的学科进展的同时,邀请了40余位消化内科中青年专家,在各自擅长的领域就大肠肿瘤进行了深入、系统的阐述。本书首先从基因表达、蛋白组学等分子生物水平的微观层面对大肠肿瘤的发生和发展进行了描述,再从流行病学、经济学等宏观视角来介绍大肠肿瘤的临床进展,并在疾病的化疗、放疗、营养、免疫治疗等方面进行了多角度、多层次的阐述。最后则专门介绍了消化内镜技术在大肠肿瘤诊治中所发挥的重要作用,详细阐述了近年开展的内镜下大肠癌的黏膜切除等新技术在治疗大肠肿瘤方面的具体应用。

本书是在徐富星教授、李兆申教授等的直接关心和指导下编著而成,我们尽量将大肠肿瘤这一疾病的基础理论与临床实践密切结合。在各位参编专家的精诚合作下,本书力求做到内容新颖、阐述全面、重点突出、文字流畅。因此,无论是从事基础研究还是临床工作的消化疾病领域专业人员,相信都能从本书中得到一定的启示和帮助。

鉴于编写时间仓促和水平有限,书中如有不妥和遗误之处,尚祈同道赐教指正。

中华医学会消化内镜学会常委
上海医学会消化内镜学会副主任委员

项 平

2007年5月

目 录

基 础 篇

一、大肠肿瘤的基础研究若干进展概述	3
二、大肠癌的遗传学研究	17
三、大肠癌微卫星 DNA 不稳定性研究	25
四、大肠腺瘤及其恶变转化的研究进展	31
五、大肠癌基因治疗的研究现状	36
六、大肠癌多药耐药性的研究进展	46
七、肿瘤血管生成与抑制在结直肠癌中的作用	52
八、大肠癌诊治基因水平研究的新思路	58
九、蛋白质组学在大肠癌研究中的应用	64
十、结直肠癌预后的分子标志	69
十一、叶酸与大肠癌发生的相关性研究	76
十二、维生素与大肠肿瘤	85
十三、环氧合酶-2 抑制剂防治大肠癌的研究进展	89
十四、大肠侧向发育型肿瘤分子生物学特征研究进展	94
十五、大肠癌发生的分子机制与形态学	99

临 床 篇

一、大肠癌筛查的研究进展	111
二、大肠癌的流行病学	119
三、大肠癌的肿瘤标志物及其临床意义	125
四、大肠癌诊断与治疗策略	132

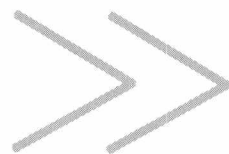
五、遗传性非息肉病性结直肠癌发病的分子机制与诊治进展	140
六、大肠 de novo 癌的诊治进展	148
七、儿童大肠肿瘤	153
八、结肠癌的临床和病理分期	160
九、结直肠癌的腹腔镜外科手术及其评价	164
十、大肠癌的化疗进展	170
十一、大肠癌的免疫治疗	179
十二、原发性晚期直肠癌非手术治疗的进展	186
十三、大肠癌诊治的经济学评价	194

内镜与影像篇

一、放大染色内镜技术诊断早期大肠癌的临床进展	201
二、内镜下荧光技术在诊断早期大肠癌中的应用进展	207
三、EUS 在大肠肿瘤临床中的应用	212
四、CT 仿真结肠镜	217
五、MRI 技术在大肠癌中的应用	221
六、大肠癌淋巴结转移的影像学诊断	226
七、介入放射学技术在大肠癌中的应用进展	231
八、内镜下光学新技术在胃肠癌前病变诊断中的应用	238
九、早期大肠癌的内镜下治疗进展	251
十、大肠癌性狭窄并发梗阻的内镜治疗	258
十一、氩离子凝固术治疗大肠肿瘤的临床应用	263
十二、大肠类癌的内镜下诊疗进展	269
十三、结肠镜操作中的并发症及其防治	273
十四、无痛内镜的临床应用	277
十五、结肠镜诊疗操作的护理要求	283

大 肠 肿 瘤 基 础 与 临 床 进 展

基 础 篇



一、大肠肿瘤的基础研究 若干进展概述

大肠癌在世界范围内属于第三大恶性肿瘤,其发病呈现很大的地区差异。一般而言,北美、西欧等经济发达的国家发病率最高,可达 35~50/10 万人,亚非地区较低,中国香港地区为 12~15/10 万人,印度为 3/10 万人。我国大肠癌发病率为 15.7/10 万人,在恶性肿瘤中占第 4 位,并且有逐渐增加的趋势。近年来,由于分子生物学技术的发展,大肠癌发生的分子机制研究取得了突破性进展。现就大肠癌的分子生物学变化及其基础研究进展作一简要综述。

(一) 大肠癌发生发展的多步骤分子模式

大肠癌的发生发展是一个涉及多基因改变的多步骤、多阶段的病变过程,既有原癌基因的激活,也有抑癌基因的失活,以及错配修复基因的失常等,使得肠道黏膜上皮发生异常增生,形成腺瘤直至腺癌。早在 1990 年, Fearon 和 Vogelstein 将大肠癌发生发展的分子模式总结如下(图 1-1)。但此模式只反映多数散发性大肠癌的分子变化模式,不能代表遗传性大肠癌和溃疡性结肠炎相关性大肠癌的特点。



图 1-1 大肠癌发生发展的分子模式

1. 癌基因 是诱导细胞恶性转化或使细胞恶变的一类基因,由于基因发生点突变、易位重排或基因扩增等改变,扰乱了原有的正常功能,最终成为对肿瘤发生和发展起重要作用的癌基因。与大肠肿瘤密切相关的癌基因主要有 *K-RAS*、*C-ERB-2*、*BCL-2* 和 *C-MYC* 基因。

(1) *RAS* 基因家族: *RAS* 基因首先从 Harvey 和 Kirsten 株大鼠肉瘤病毒中分离得到,目前证实有 *H-RAS*、*K-RAS* 和 *N-RAS* 基因 3 种,分别定位于 11、12 和 1 号染色体,因其编码的蛋白质相对分子质量均为 21×10^3 ,又称 P21 蛋白。研究发现,*RAS* 基因的激活发生于大肠肿瘤的较早阶段,可存在于约 50% 的大肠肿瘤中,最常发生在 *K-RAS* 基因的第 12 位密码子。进一步对大肠癌患者的粪便及其癌组织进行 *K-RAS* 基因突变体的检测分析,结果发现两者基因突变位点及碱基置换完全相同。对大肠癌患者血浆 DNA 中 *K-RAS* 基因突变的研究也显示,第 12 密码子发生与其相应肿瘤组织相同的基因点突变,而在正常对照组中未发现

有 RAS 基因突变。从而证实,应用聚合酶链反应(PCR)技术检测粪便或血浆 DNA 中的 K-RAS 基因突变体,能反映相应癌组织中的 K-RAS 基因突变体情况,具有高度敏感性和特异性,为大肠癌的早期诊断提供了分子检测手段。在大肠肿瘤中,常常发生 RAS 基因产物 P21 蛋白的过度表达,P21 蛋白的阳性信号主要位于细胞质内,部分位于细胞膜内侧。P21 蛋白还与肿瘤的淋巴结转移相关,当大肠肿瘤浸润深部组织或发生肝转移时,P21 蛋白表达率增高,并与 Dukes 分期相关。以上均提示 P21 蛋白可作为判断大肠肿瘤临床预后的指标。

(2) C-ERB-2 基因:为表皮生长因子受体,属生长因子受体家族。其在生理状态下是细胞的生长调节因子,与生长因子结合后启动细胞生长周期,将生长信号传导至细胞核内,而引起细胞生长反应。但当其过度表达时,可经不同途径引起细胞过度增殖,与大肠肿瘤的发生发展密切相关。文献报道,C-ERB-2 基因与 RAS 基因蛋白共同表达,对大肠肿瘤的增长有协同促进作用。

(3) BCL-2 基因:最先在造血系统肿瘤中发现,可抑制细胞凋亡,干扰 DNA 修复过程,从而参与肿瘤的发生。在正常大肠黏膜,BCL-2 基因表达主要见于隐窝基底部细胞,在大肠肿瘤组织,BCL-2 基因表达异常,并可见于与大肠肿瘤直接相邻且形态学正常的上皮细胞中,这种异常可随远离肿瘤而逐渐减弱直至隐窝基底部。研究发现,所有大肠腺瘤中均可有 BCL-2 基因表达,大肠癌中却有 50% 不能检测到 BCL-2 基因的表达。由此认为,BCL-2 基因可能在大肠癌发生的早期起作用。有学者认为,BCL-2 基因的表达与大肠癌的复发呈负相关。

(4) C-MYC 基因:是鸟骨髓细胞增多症病毒基因的同类物,主要通过 mRNA 和蛋白水平的表达增加而参与大肠肿瘤的发生。免疫组化显示,正常大肠黏膜只在腺体隐窝增生区的部分细胞核内有 C-MYC 基因表达,而在大肠肿瘤中其分布表现不同,可至整个细胞,呈局部或全胞质阳性表达。研究表明,C-MYC 基因过度表达大多发生在左半结肠的肿瘤。

2. 抑癌基因 是一类可抑制细胞生长、增殖、分化从而诱导细胞凋亡的基因,其缺乏、失活与肿瘤的发生和发展密切相关。研究发现,抑癌基因的杂合性缺失(LOH)对大肠肿瘤的发生尤为重要。LOH 是一个遗传学概念,即等位基因 LOH,主要指经过第一次打击(可以是生殖细胞,也可以是体细胞突变)后,另一正常等位基因编码正常活性基因产物的功能丧失,该位点在分子水平仍可以是杂合性的。与大肠癌密切相关的抑癌基因主要有 APC/MCC、DCC、P53 及 NM23 基因。

(1) APC 基因:即腺瘤性结肠息肉病基因,其失活是大肠癌过程中一个非常早期的事件,属于始动性基因变化。目前认为,多数大肠癌系从腺瘤发生,腺瘤的发生常常需要 APC 等位基因的杂合缺失。正常 APC 蛋白的缺乏,可引起生长抑制信号传导阻止,细胞克隆性生长,导致早期腺瘤的形成。继之,腺瘤中的某个细胞获得另一种突变,该突变导致细胞克隆继续生长,并在原有腺瘤的基础上过度生长,使腺瘤体积增大。在此过程中,其他基因突变逐渐累积,包括 DCC 基因和 P53 基因突变、失活的累积,发生 DCC 位点及 P53 位点的杂合缺失,使病变从良性表型转向恶性,并具有浸润及转移能力。文献报道,在结直肠异常发育的隐窝灶及管状腺瘤中,APC 基因突变的频率分别为 0.7% 和 36%,而在绒毛状腺瘤中的突变率可高达 77%。可见 APC 基因突变与上皮不典型增生程度、绒毛状结构以及腺瘤大小显著相关。

(2) DCC 基因:即结直肠癌缺失基因。DCC 基因的杂合性缺失在大肠肿瘤尤其是发生肝转移的大肠癌患者中呈现高频率表达,提示可以将其作为大肠癌肝转移的诊断标志及预后

评估的一项重要指标。

(3) *P53* 基因: 正常(野生型) *P53* 基因是一种抑癌基因,对细胞生长起负调节作用,当 *P53* 基因突变或失活时,正常细胞向癌细胞转化,导致肿瘤发生。文献报道,在从大肠腺瘤、腺瘤伴异型增生、腺瘤癌变、大肠腺癌到腺癌浸润转移的转化过程中,随着腺瘤向癌的转化, *P53* 蛋白的阳性表达及其表达强度不断增加。 *P53* 基因突变在大肠癌的发生中属晚期事件,其突变位点在第 110 位和第 232 位氨基酸上。Srivastava 等研究发现, *P53* 基因突变在大肠癌患者的粪便及相应癌组织中的阳性率为 50%~70%,其杂合性缺失频率在大肠腺瘤中为 20%,在大肠癌中可达 50%~75%,而发生 *P53* 基因过表达的大肠癌患者易发生肿瘤转移,预后差。这进一步证实, *P53* 基因的过表达在大肠腺瘤向大肠癌的转化过程中起重要作用,检测 *P53* 基因对大肠癌的早期诊断和预后判断具有重要意义。

(4) *NM23* 基因: 是美国国立癌症研究所从 7 个转移潜力不同的 K-1735 鼠黑色素瘤细胞株中分离克隆成功的,其编码的产物具有抑制肿瘤转移的功能,被认为是第一个转移抑制基因。 *NM23* 在分化良好的肿瘤中呈高水平表达,在大肠癌中呈低水平表达,并与肿瘤状态、淋巴结转移和肿瘤远处转移紧密相关。在人基因组中存在两个 *NM23* 基因,即 *NM23-H1* 和 *NM23-H2*,其中 *NM23-H1* 基因与肿瘤细胞转移关系更为密切。

(二) 大肠肿瘤浸润转移的分子基础

大肠肿瘤的浸润转移是一个复杂的、多步骤的、肿瘤细胞与宿主相互作用的过程,需要多种癌基因和抑癌基因的参与,以及不同类型细胞、结缔组织、血管成分和不同器官之间的相互作用。近年来新发现了一些参与癌侵袭过程的黏附分子、分解酶类、细胞运动因子及其受体,并对这些生物化学分子的功能和调节机制有了更进一步的认识。

1. 转移相关癌基因 *K-RAS* 基因是与大肠肿瘤相关的癌基因, *K-RAS* 基因突变,使其下游的 MAP 激酶通路激活,从而使 E-钙黏蛋白(E-cad)的表达减少和定位错误,继而发生大肠肿瘤细胞的浸润和转移。

C-MET 是 *C-MET* 原癌基因编码的蛋白产物,为肝细胞生长因子受体,具有酪氨酸激酶活性,参与细胞信息传导、细胞骨架重排的调控,是细胞增殖、分化和运动的重要因素。有文献报道,在大肠肿瘤组织中, *C-MET* mRNA 表达高于正常结直肠黏膜约 6 倍,伴肝转移或淋巴管浸润的大肠癌患者 *C-MET* 基因阳性表达率明显高于无转移者, *C-MET* 基因表达与大肠肿瘤的分期有关,随着肿瘤进展, *C-MET* 基因阳性表达率增高,提示 *C-MET* 基因在大肠肿瘤的生长和扩散中起重要作用。

2. 转移抑制基因 转移抑制基因抑制肿瘤转移,但并不影响肿瘤形成过程的基因,在大肠肿瘤中研究较多的是 *NM23* 基因。研究表明, *NM23-H1* 等位基因缺失的大肠癌患者发生转移的比率明显高于无等位基因缺失者。有学者分离出 *NM23* 免疫沉淀 RAS 激酶抑制剂(KSR),KSR 是有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)级联反应的支持蛋白。 *NM23* 可使 KSR 第 392 位的丝氨酸发生磷酸化,并通过 ERK-MAPK 通路进行信号传导在转移中起作用。

3. 细胞黏附分子(CAM) CAM 是存在于细胞膜上的整合蛋白,主要由 5 个超家族组成,即整合素家族(integrin)、钙粘连素家族(cadherin)、免疫球蛋白家族、选择素家族(selectin)和 CD44。不同的黏附分子介导不同细胞的黏附,包括肿瘤细胞与细胞外基质(ECM)的黏附,并参与细胞内外的信息传递。文献报道,CAM 在肿瘤的生长、浸润及转移中

起着重要的作用。其中 E-CAD、癌胚抗原(CEA)、CD44 等与大肠癌浸润转移关系尤为密切。

(1) 整合素家族: 是由 α 、 β 亚单位以非共价键结合形成的异二聚体, 其中层黏蛋白受体 $\alpha_6\beta_4$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 及其 β 亚基在大肠肿瘤中研究较为广泛。整合素可介导转移性肿瘤细胞在肝窦内黏附, α_6 -、 β -和 β_4 -整合素可直接介导细胞在肝脏微循环中黏附, α_2 -、 α_6 -、 β_1 -、 β_4 -整合素则与早期肿瘤细胞外渗至肝实质的过程有关。由此认为, 整合素可能与大肠癌肝转移密切相关。

(2) E-CAD: 为一种钙依赖性跨膜蛋白, 具有介导细胞黏附、信号传导和调节基因表达等功能。E-CAD 胞质区通过 β 连环蛋白(catenin)与 α 连环蛋白结合, 后者再与细胞骨架上的肌动蛋白微丝连接形成 E-CAD-连环蛋白复合物, 从而发挥细胞黏附作用。如基因发生突变、缺失或 E-CAD 表达下调, 均可导致 E-CAD、 α 连环蛋白、 β 连环蛋白的异常, 促进肿瘤细胞解离, 有利于大肠肿瘤的浸润与转移。钙黏蛋白介导的细胞间黏附被认为是大肠肿瘤细胞的侵袭抑制系统, 在大肠癌的浸润和转移过程中发挥重要的作用。钙黏蛋白黏附功能的丧失, 与大肠癌的去分化程度、浸润及转移有关。新近研究还发现一类结构独特的钙黏蛋白, 即肝肠钙黏蛋白(LI-CAD), 其细胞外结构由 7 个而非 5 个钙黏附素重复序列组成, 胞质内结构域仅有 20 个氨基酸而无 R-连环蛋白结合区, 与 E-CAD 等经典钙黏蛋白的相应区域没有同源性。Takamura 等研究表明, LI-CAD 表达下降与大肠癌进展及淋巴结转移密切相关。

(3) 癌胚抗原(CEA): 是一种高糖基细胞表面蛋白, 为免疫球蛋白(Ig)基因家族成员之一, 存在于大肠癌及胎儿肠道组织中。CEA 作为同型细胞间的黏附分子, 可促进细胞聚集, 并介导钙非依赖性结肠癌细胞间或与基质胶原间的黏附反应。研究认为, CEA 的黏附特性有助于大肠癌肝转移的发生。此外, CEA 还可通过诱导枯否(Kupffer)细胞产生细胞因子, 促进大肠肿瘤的肝转移。

(4) 选择素家族: 是一类调节钙依赖的白细胞、血小板和内皮细胞间黏附的分子, 主要包括 E-、P-、L-选择素, 可与表达含有唾液酸 Lewis 残基的特异性配体的细胞结合。唾液酸 Lewis 抗原尤其是 SLeX 与选择素的相互作用有助于肿瘤细胞黏附到肝窦内皮细胞。其中, E-选择素与细胞中 Lewis 唾液酸糖类的结合, 可进一步诱导信号传导, 从而影响大肠肿瘤的侵袭和转移能力。

(5) CD44: 系一类细胞表面跨膜蛋白, 分布广泛, 是透明质酸的受体, 分为标准型(CD44s)和变异体(CD44v)。其中, CD44s 能抑制大肠癌转移, 若将其 cDNA 转染入癌细胞株能明显抑制小鼠肝转移瘤的生长。CD44v 中研究较多的是 CD44v6, 其在良性大肠腺瘤和分化较好的大肠癌组织中上调, 而在肿瘤浸润转移过程中常下调。CD44 启动子区域性甲基化在大肠癌中常见, 并与肿瘤形成过程中 CD44v6 下调有关。手术切除的肿瘤标本若有 CD44v6 蛋白阳性, 常会伴有术后肿瘤复发或远处转移, 因此认为, CD44v6 可作为一种独立的估计大肠癌预后的标志物, 用以指导 Duckes B、C 期结肠癌治疗方案的制订。资料显示, CD44 基因表达异常在大肠腺瘤向大肠癌的演进过程中即已出现, 并且早于 K-RAS 基因和 P53 基因突变, 因此检查粪便中脱落细胞的 CD44 基因异常表达, 可作为大肠癌早期诊断以及无症状高危人群的筛选。

4. 细胞外基质降解酶 肿瘤细胞可产生大量的蛋白水解酶, 降解 ECM, 使肿瘤细胞易于迁移。目前报道的与大肠肿瘤转移相关的蛋白溶解酶包括基质金属蛋白酶(MMPs)、尿激酶纤维蛋白溶酶原激活因子(uPA)和组织蛋白酶等。

(1) 基质金属蛋白酶(MMPs): 是一类需要锌、铜等金属离子作为辅基的蛋白酶,可降解 ECM 所有成分,在大肠肿瘤中主要通过癌细胞自分泌或诱导间质细胞分泌来发挥其功能,是大肠肿瘤浸润和转移早期的重要环节。目前发现的与大肠癌密切相关的有 MMP-2、7、9,可作为大肠癌发生转移的标志物。近年来的研究显示,膜型-1 基质金属蛋白酶(MT1-MMP)也可降解组织中的屏障成分,主要是降解 I 型胶原(ECM 中含量最丰富的成分)。另外,MT1-MMP 可结合到 MMP-2 前体并将其激活,而后者是 IV 型胶原酶的一种。MT1-MMP 还可通过处理细胞黏附分子如 CD44、整合素 α 链等来调节细胞与 ECM 间的相互作用,最终促进肿瘤细胞迁徙。

(2) 尿激酶纤维蛋白溶酶原激活因子(uPA): 通过 uPA 受体介导,并受血浆纤溶酶原激活因子(PA)抑制物(PAI)的调节。在大肠肿瘤中,uPA 与 MMP-9 共同表达,激活纤溶酶原,继之纤溶酶激活 MMP-3 前体,后者再激活 MMP-9 前体,最终导致大肠癌的浸润和转移。Abe 等研究发现,大肠癌组织中 uPA、uPA 受体及其抑制物 PAI-1、2 的抗原水平明显高于相应的正常组织,并且 uPA 受体的高表达与大肠癌患者的预后相关。

(3) 组织蛋白酶类: 组织蛋白酶 B(CATB)和组织蛋白酶 L(CATL)是大肠肿瘤浸润和转移过程中重要的蛋白酶。CATB 是溶酶体胱氨酸蛋白酶,可降解 ECM 及基底膜,亦可将无活性的 uPA 前体活化为活性的 uPA,在原发性和转移性大肠肿瘤中均可检测得到。CATL 水平在大肠肿瘤细胞系中也相应增加。测定两者在大肠肿瘤及正常组织中的比值(CATB/CATL),发现随肿瘤进展,其活性比呈下降趋势,因此认为胱氨酸蛋白酶在大肠肿瘤的进展过程中起着重要的作用。

5. 血管内皮生长因子(VEGF) VEGF 是一种促血管形成的内皮细胞特异性生长因子,对肿瘤的血管形成起重要的调节作用。VEGF 可诱导内皮细胞增殖、移位,提高微血管通透性,促进肿瘤细胞进入血液循环,从而发生肿瘤浸润转移,同时血管增生也为肿瘤转移提供了通道。Takeda 等研究发现,Dukes B、C 期大肠癌组织中的 VEGF 阳性表达明显高于 A 期患者,有淋巴结转移或远处转移的大肠癌组织 VEGF 的表达亦明显高于相应无转移组。Cascinu 等的研究也证实,淋巴结阳性的直肠癌患者具有 VEGF 的高表达,VEGF 与肿瘤复发呈正相关。由此提示,VEGF 与大肠肿瘤的浸润、转移及复发密切相关,是大肠肿瘤早期诊断及疗效、预后判断的重要指标之一。

(三) 大肠肿瘤微卫星不稳定性的研究

自 1993 年 Aaltonen 等首次在遗传性非息肉病性结直肠癌(HNPCC)和散发性结直肠癌(CRC)中发现微卫星不稳定性(MSI)现象后,MSI 成为研究热点,在肿瘤生物学和肿瘤临床诊疗上开辟了新的一页。MSI 是指由于 DNA 错配修复(MMR)基因突变及功能异常,造成 DNA 频发复制错误,导致细胞的微卫星 DNA 序列发生改变,表现为微卫星片段长度增加或减少。由微卫星不稳定性分析可知,肿瘤发生时 MMR 缺失的细胞突变率可提高 1 000 倍。MSI 是肿瘤常见的遗传改变之一,是大肠肿瘤尤其是 HNPCC 形成的一种新机制。就基因水平而言,细胞恶性转化包括癌基因或抑癌基因的扩增、丢失和突变等一系列遗传改变,而微卫星作为基因变异和重排的来源,可能在肿瘤基因调控中起重要作用,这种基因水平的改变常先于表型的改变。文献报道,检测 MSI 可以反映大肠肿瘤细胞分子水平上的变化,不仅有助于早期发现大肠癌及高危人群,而且有助于进行早期防治,加上应用 PCR 技术检测微卫星 DNA 方

法较为简单,所以 MSI 在基因诊断领域内可能成为预测大肠肿瘤发生及早期诊断的有效手段。

MMR 是生物界普遍存在的一种保持遗传稳定性的基本功能,正常情况下,MMR 基因可通过其产物对 DNA 错配进行修复校正,从而保持 DNA 复制的精确性。一旦 MMR 基因发生突变或缺失,即可引起错配修复蛋白结构和功能发生改变,DNA 复制时所形成的错配就得不到及时修复,从而增加细胞的自发突变频率,细胞出现突变子表型,并导致多步癌变过程所需的多重突变发生。最常见的突变子表型为简单重复序列 DNA 复制错误,形成 MSI,并通过细胞分裂在基因组中保留下来。目前,已研究克隆到 4 种与 HNPCC 相关的 MMR 基因,分别命名为 *hMSH2*、*hMLH1*、*hPMS1* 和 *hPMS2*。文献报道,HNPCC 中有 50%~60% 系由于 *hMSH2* 突变所致,30% 由于 *hMLH1* 突变,另各有 5% 则由于 *hPMS1* 和 *hPMS2* 突变所致。MMR 基因突变若发生在生殖细胞中可导致 HNPCC,发生在体细胞中则导致相应的散发性大肠癌。最近认为,*hMLH1* 和 *hMSH2* 的失活突变可引起 HNPCC 中的 MMR,而散发性结直肠癌中的 MMR 通常是由于 *hMLH1* 的高甲基化引起。有研究证实,*hMLH1* 启动子区的高甲基化是大部分有复制错误(RER)现象的大肠癌细胞系突变表型的原因。

(四) 大肠肿瘤与表观遗传修饰

近几年来,有关大肠癌发生机制及发生途径的研究,使得许多概念得以更新。细胞恶化转化的分子机制除遗传学改变外,还包括表观遗传修饰改变,后者主要是指 DNA 甲基化和组蛋白乙酰化。

DNA 甲基化是 DNA 的一种天然修饰方式,广泛存在于细菌、植物和哺乳动物中,具有不同的生物学意义。主要是指位于胞嘧啶-鸟嘌呤二核苷(CpG)中的胞嘧啶为甲基基团所修饰,由 DNA 甲基化转移酶(Dnmt)-1、3a 和 3b 催化而成。在癌细胞中,*Dnmt* 基因表达的升高往往先于高甲基化变化,可以认为 *Dnmt* 活性升高是癌细胞一个具有特征的早期分子改变。基因组中 CpG 积聚的区域称为“CpG 岛”,生理情况下,多数基因的 CpG 岛是非甲基化的,而孤立的 CpG 则多半处于甲基化状态。大肠肿瘤的特征为多基因突变和 CpG 岛甲基化。

许多研究表明,在一些癌前期病变,普遍存在着 DNA 的低甲基化,随着肿瘤进展,癌基因的低甲基化逐渐变得明显,低甲基化状态更容易引起肿瘤的浸润和转移。例如,正常 RAS 基因的 CCGG 位点是甲基化的,而在大肠肿瘤中高表达的 RAS 基因却表现为去甲基化。Sharrard 等研究了各期大肠肿瘤 C-MYC 癌基因的甲基化模式,发现其第 3 外显子 CCGG 位点甲基化水平明显降低,其中 66.1% 的结肠腺癌和 83.1% 的转移灶中 C-MYC 基因 DNA 呈低甲基化,腺瘤性息肉占 50.5%,增生性息肉占 24.8%,而正常肠黏膜中仅有 9.2%。定量分析显示,在大肠良性增生、腺瘤、腺癌和转移癌组织中,C-MYC 基因第 3 外显子系列的甲基化程度逐渐减弱。C-MYC 癌基因可能通过其第 3 外显子上 CCGG 位点的去甲基化而被激活,出现异常表达,从而在肿瘤的发生发展中起作用。

对抑癌基因的甲基化研究表明,在大肠肿瘤中其甲基化程度明显增高。如 *P16^{INK4A}* 基因在结肠癌的高甲基化率为 10%~53%,几乎无突变发生。应用 MSP 和 RT-PCR 方法,Esteller 等发现 *P14^{ARF}* 启动子的高甲基化出现在大约 1/4 的原发性结直肠癌中,*P14^{ARF}* 启动子的高甲基化可看作为结直肠癌发生的早期现象,但其独立于 *P16^{INK4A}* 基因的甲基化,与 *P53* 突变呈边缘相关。文献报道,人体肿瘤中约 50% 存在 *P53* 基因突变,*P53* 抑癌基因的第 120~