

主 编 / 王要军
荆 萌
孔繁山
董新军
李全香

现代恶性肿瘤的 科学前沿

 吉林科学技术出版社

现代恶性肿瘤的科学前沿

主 编 王要军 荆 萌 孔繁山
董新军 李全香

吉林科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

现代恶性肿瘤的科学前沿/王要军主编. —长春: 吉林科学技术出版社, 2007.3

ISBN 978-7-5384-3469-9

I. 现... II. 王... III. 癌-防治-研究 IV. R73

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 032769 号

现代恶性肿瘤的科学前沿

王要军 荆 萌 孔繁山 董新军 李全香 主编

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 23.25 印张 595 千字

2007 年 3 月第 1 版 2007 年 3 月第 1 次印刷

定价: 35.00 元

ISBN 978-7-5384-3469-9

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



第一主编简介

王要军，第二军医大学医学博士、主任医师、教授。现任中国人民解放军济南军区总医院消化科副主任、全军肝硬化专病诊疗中心副主任。现代医药专著编审中心学术主任；全国病理生理学会消化专业委员会副主任委员；济南军区消化专业委员会委员；全军专业技术考试命题委员会委员；山东省肝病学会委员；济南军区高职评委；第二军医大学济南临床医学院内科教研室常务副主任、教授；济南市医务技术鉴定委员会委员；《中国消化病基础与临床杂志》副总编辑；《世界华人消化杂志》中、英文版第一、二届编委；《医学理论与实践》杂志社理事。《实用医药杂志》特邀审稿专家。

主要从事消化内科疾病的诊治。获中华医学奖、山东省科技进步奖和军队科技进步奖十余项，其中主研军队科技进步奖四项。在专业杂志、科普杂志、报纸主笔发表各体裁文章百余篇。曾主编《新肝脏病学》《原发性肝癌基础与临床》《肝纤维化》《急危重症现代诊疗进展》《常见危重症现代治疗学》专著五部。参编《高级生物化学》等专著十多部。临床主要侧重肝病的诊断和治疗，尤其擅长食管胃底静脉曲张内镜介入治疗。

编委会

主 编:王要军 荆 萌 孔繁山 董新军 李全香

副主编:彭宪忠 刘永光 刘大海 李立业 逢金满 孙亚伟

编委所在单位:

王要军	中国人民解放军济南军区总医院
荆 萌	临沂市人民医院
孔繁山	济南市第四人民医院
董新军	滨州医学院附属医院
李全香	东营市人民医院
彭宪忠	滨州医学院附属医院
刘永光	济南市第三人民医院
刘大海	胜利油田中心医院
李立业	山东省医学科学院附属医院
逢金满	济南市第三人民医院
孙亚伟	山东枣庄矿业集团枣庄医院
于云英	胜利油田中心医院
魏 巍	胜利油田中心医院

前 言

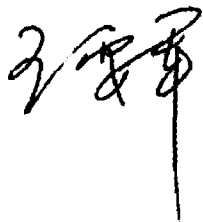
恶性肿瘤发病率逐年增高,严重威胁人类健康。预计2020年全球癌症生存者将达3000万人,发展中国家占930万人。发展中国家的年癌症发病率及死亡率的增长更为明显。因此,恶性肿瘤的深入研究已刻不容缓。

随着分子生物学的飞速发展,我国近二十年对肿瘤的研究也取得了令人瞩目的成绩,目前有关肿瘤研究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的科学前沿资料加以整理萃取,编写本书,将恶性肿瘤的新进展较系统地介绍给大家。

本书主要参考国际国内近三年的科学前沿文献,重点突出现代恶性肿瘤诊治的新知识、新技术、新进展,如肿瘤干细胞、基因组学、蛋白质组学、基因治疗、分子生物学技术等最新知识。主要目的是让广大肿瘤工作者能进行知识更新。若广大科研工作者和临床工作者能籍此书对肿瘤防治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!

全书共三十四章。内容新颖、翔实、言简意赅,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。

在繁忙的临床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,本书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。《现代恶性肿瘤的科学前沿》的出版得到了吉林科学技术出版社领导、尤其是责任编辑李梁老师的鼎力支持,在此表示衷心的感谢!



二〇〇七年元月

目 录

第一章 肿瘤干细胞.....	1
第二章 人乳头瘤病毒与恶性肿瘤.....	5
第三章 原发癌与转移癌的生物学行为研究	10
第四章 抑瘤素 M 与肿瘤.....	13
第五章 实体瘤内注射药物治疗	16
第六章 肿瘤相关基因	19
第一节 癌基因与抑癌基因	19
第二节 生长抑制因子 1 基因	21
第三节 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性和恶性肿瘤	26
第七章 微生态制剂在肿瘤中的应用	29
第八章 树突状细胞瘤苗治疗肿瘤	34
第九章 癌前病变研究进展	40
第一节 乳腺癌癌前病变的发病模式	40
第二节 乳腺癌癌前病变的阻断治疗	41
第三节 结肠癌癌前疾病和癌前病变	43
第四节 炎症性肠病与结肠癌	47
第五节 胃的癌前病变	48
第十章 胶质瘤的基因治疗	63
第十一章 鼻咽癌的基因治疗	68
第十二章 口腔癌的研究进展	72
第一节 口腔鳞癌生物学行为与预后的关系	72
第二节 腮腺粘液表皮样癌	74
第三节 化疗所致口腔炎及其护理	76
第十三章 甲状腺癌研究进展	79
第一节 甲状腺肿瘤标记物研究	79
第二节 甲状腺癌的超声诊断	83
第十四章 乳腺癌研究进展	86
第一节 CD44V6 与乳腺癌	86
第二节 端粒酶与乳腺癌	87
第三节 血管生成与乳腺癌浸润转移	88
第四节 转移抑制基因 BRMS1 与乳腺癌	91
第五节 纳米技术在乳腺癌治疗中的应用	92
第六节 乳腺癌的肿瘤生物学特性	94

第七节 乳腺癌的基因检测	98
第十五章 肺癌研究进展	101
第一节 CT 和 MRI 在肺癌 TNM 分期中的应用	101
第二节 中心型支气管肺癌的影像学诊断	104
第三节 周围型支气管肺癌影像诊断	105
第十六章 食管癌与胃癌研究进展	110
第一节 吸烟饮酒与食管癌的关系	110
第二节 食管癌外科治疗进展	113
第三节 胃癌介入治疗	115
第十七章 原发性肝癌研究进展	123
第一节 原发性肝癌的病因学	123
第二节 原发性肝癌的发病机制	125
第三节 原发性肝癌的诊断	129
第四节 原发性肝癌的治疗	132
第五节 肝癌门静脉癌栓治疗	136
第六节 肝细胞癌术后转移复发	138
第十八章 胆道肿瘤研究进展	147
第一节 胆囊癌的危险因素	147
第二节 胆管癌治疗进展	151
第三节 胆管细胞癌的多层螺旋 CT 诊断	155
第十九章 胰腺癌研究进展	158
第一节 胰腺癌研究概况	158
第二节 胰腺癌的流行病学	161
第三节 胰腺癌放疗进展	164
第四节 腹腔镜在胰腺癌中的应用	167
第二十章 大肠癌研究进展	170
第一节 大肠癌的分子生物学途径	170
第二节 早期内镜治疗	172
第三节 大肠癌的介入治疗	175
第四节 大肠癌化疗进展	177
第五节 大肠癌肝转移治疗进展	180
第六节 遗传性大肠癌综合征	185
第二十一章 类癌研究进展	190
第一节 消化道类癌研究进展	190
第二节 阑尾类癌诊治进展	191
第三节 直肠类癌的研究进展	195
第二十二章 肾母细胞瘤的治疗进展	198
第二十三章 膀胱癌	203

第一节	膀胱癌的早期诊断方法	203
第二节	膀胱癌的基因治疗	208
第二十四章	阴茎癌	213
第二十五章	前列腺癌的诊断与治疗进展	216
第二十六章	子宫癌	220
第一节	子宫内膜癌进展	220
第二节	宫颈癌研究进展	228
第三节	FHIT 基因与宫颈癌	235
第二十七章	卵巢癌	239
第一节	卵巢癌的早期诊断	239
第二节	复发性卵巢癌的治疗进展	241
第三节	癌相关基因与卵巢癌的预后	247
第四节	激素与卵巢癌	249
第二十八章	妇科恶性肿瘤腹腔镜手术治疗进展	254
第二十九章	多发性骨髓瘤的治疗进展	257
第三十章	骨转移瘤研究进展	261
第一节	骨转移瘤	261
第二节	放射性核素在骨转移癌中的应用	268
第三节	脊柱转移瘤诊断与外科治疗的进展	271
第三十一章	肉瘤研究进展	277
第一节	端粒酶与肉瘤	277
第二节	横纹肌肉瘤的病理诊断	279
第三节	软组织肉瘤研究进展	282
第四节	艾滋病卡波西肉瘤	287
第三十二章	黑色素瘤研究进展	295
第一节	黑色素瘤	295
第二节	恶性黑色素瘤的细胞凋亡	298
第三十三章	中医药与肿瘤研究进展	303
第一节	中药治疗原发性肝癌的机理	303
第二节	肝癌的中药介入治疗	306
第三节	胰腺癌中医药治疗	309
第四节	胃癌的中医治疗	311
第五节	恶性淋巴瘤中医治疗	314
第六节	中西医结合防治鼻咽癌	317
第七节	中医药治疗膀胱癌	319
第八节	白血病的中医治疗	321
第九节	乳腺癌的中医治疗	324
第十节	肺癌的中医药治疗	326

第十一节	骨转移癌的中医药治疗·····	331
第十二节	中医治疗大肠癌·····	334
第三十四章	肿瘤的康复与护理进展·····	338
第一节	肿瘤患者常见心理问题的护理·····	338
第二节	老年肿瘤病人的心理护理·····	340
第三节	肿瘤化疗病人的护理·····	341
第四节	老年肿瘤患者化疗并发症的护理·····	344
第五节	肿瘤介入治疗并发症的护理·····	346
第六节	食管癌病人术后肺部并发症的护理·····	349
第七节	癌痛止痛与护理·····	351
第八节	应用静脉镇痛泵的护理·····	354
第九节	化疗性呕吐的防治·····	356
第十节	临终关怀的护理·····	358

第一章 肿瘤干细胞

传统理论认为肿瘤生长是所有肿瘤细胞共同增殖的结果,近年来对肿瘤的研究发现肿瘤组织中存在肿瘤干细胞,肿瘤细胞的生长繁殖和干细胞之间有许多相似之处。目前对肿瘤干细胞的研究越来越热,许多实验室也已经证实了肿瘤干细胞的存在,人们也在不断探索肿瘤干细胞的起源。这些研究将会对肿瘤的认识提高到一个新的阶段,对肿瘤研究领域和肿瘤的治疗也将会产生深远影响。

一、干细胞与肿瘤

干细胞(stem cell)是人体内最原始的细胞,具有多种分化潜能,自我更新和高度增殖的能力。根据干细胞分化能力的不同可将干细胞分为全能干细胞(如胚胎干细胞),多能干细胞(如成人组织干细胞),单能干细胞。全能干细胞可以分化成人体各种细胞,这些细胞又构成人体各种组织和器官,如胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES)在体外可以被诱导分化出包括3个胚层在内的所有分化细胞,在动物体内,ES细胞可分化产生出由三个胚层细胞组成的畸胎瘤。全能干细胞在进一步分化中,形成各种多能干细胞,多能干细胞再进一步分化成单能干细胞。过去认为成体组织或器官内的干细胞具有组织特异性,只能分化成特定的组织和器官。但研究表明成体干细胞(adult stem cell)也具有强大的分化可塑性,组织特异性干细胞同样具有分化成其他细胞或组织的潜能。1999年Margaret Goodell等发现小鼠肌肉组织干细胞可以“横向分化”(transdifferentiation)成血液细胞。现在已证明人的骨髓干细胞可以分化为肝脏细胞、肌肉细胞、神经细胞等。

随着对干细胞研究的不断深入,在肿瘤研究领域,亦加深了对肿瘤起源与发病机理的认识。人们发现干细胞与肿瘤细胞之间存在着很多相似之处,它们都具有自我更新能力和不定分化潜能;相似的细胞表面标志;以及一些相同的细胞信号调节通路,如Notch、Wnt、SHH、PTEN信号通路,以及新近发现的BMI1、Oct 3/4通路。于是人们提出肿瘤起源于干细胞的假说,认为肿瘤细胞有可能是在干细胞的基础上转化而来。早在19世纪,病理学家们就利用显微镜观察肿瘤组织,发现了胚胎组织与肿瘤组织之间的相似性,并提出了肿瘤可能起源于胚胎样组织。Sell通过分析不同器官的肿瘤细胞,指出肿瘤的起源很可能是维持正常组织更新的干细胞。按照发育生物学的观点,肿瘤细胞的来源可能有两种:成熟分化的细胞去分化(dedifferentiation)或机体、组织内本已存在的干细胞在特定的分化水平停止分化或分化失常(dysdifferentiation)。传统理论认为肿瘤的本质是体细胞基因突变的结果,而肿瘤细胞就是成熟体细胞在恶变过程中去分化所致。但越来越多的观点认为肿瘤发生之前必须积累许多的基因突变,肿瘤可被看作是致癌细胞通过累积突变而获得了不定增殖能力的异常器官。Marx认为肿瘤起源于正常干细胞遗传突变的积累,Knudson又提出了肿瘤形成的二次打击学说,认为干细胞是突变的靶标,干细胞也许是能够长时间存活以接受所有突变的唯一的一种细胞,而成熟体细胞的突变不会形成肿瘤,因为成熟细胞寿命短仅分裂几次就

死亡了,而干细胞却具有罕见的几乎无限的“自我更新”能力。由于多次遗传突变的累积以及细胞组织中微环境的变化,最终导致了肿瘤的发生。即使肿瘤细胞有分化细胞的表型,也是干细胞先发生突变,然后传给分化的子代细胞,子代获得自我更新能力,在此基础上又发生其他突变形成转化细胞。

二、肿瘤干细胞

由于肿瘤细胞与干细胞之间存在着许多相似性,近年提出了肿瘤干细胞学说。该学说认为肿瘤组织中存在极少量肿瘤细胞,在肿瘤中充当干细胞角色,具有无限的自我更新能力,能够产生与上一代完全相同的子代细胞;并有多种分化潜能和高度增殖能力,产生不同表型的肿瘤细胞,使肿瘤在体内不断扩大,或形成新的肿瘤。

(一) 肿瘤干细胞的发现及其存在的证据

上世纪六七十年代就已发现来自小鼠腹水的不同种骨髓瘤细胞,在体外克隆形成实验中能够形成克隆的癌细胞只是很少一部分,仅占 $1/10000 \sim 1/100$,而且与在体内利用脾脏培养的克隆形成率一致。在白血病细胞移植实验中,也仅有 $1\% \sim 4\%$ 的细胞能在脾脏内形成克隆。Hamburger 等发现在人肺癌、卵巢癌、神经母细胞瘤的体外培养实验中,也只有 $1/1000 \sim 1/5000$ 的肿瘤细胞能在软琼脂上形成克隆。这些肿瘤细胞克隆的差异反映了正常干细胞克隆形成的差异,而这些已克隆的肿瘤细胞就被认为是肿瘤干细胞或肿瘤起始细胞(tumor initiating cell, TIC)。在此基础上产生了两种肿瘤形成学说,一种是随机(Stochastic)学说,认为肿瘤组织内的每个细胞都是潜在的 TIC,它们以很小的几率、随机的进入细胞周期增生分裂;另一种是阶层(Hierarchy)学说,认为肿瘤在细胞功能上是异质的,只有少量细胞具有 TIC 的功能,且其成瘤率很高。虽然两种学说都认为肿瘤是由肿瘤组织中很少的细胞发展而来的,但它们有着本质的差别。按阶层学说,无论环境或细胞的突变状态,仅有少数表型明显的肿瘤细胞有广泛增殖潜能或形成新的肿瘤能力。若要说明第二种学说,就需分离不同种类的肿瘤细胞并显示其某一亚群具有高度的克隆形成能力,而其他细胞在克隆形成时表现为逐渐衰竭减少。

(二) 白血病干细胞的证实

实验证明了人的急性髓系白血病(AML)肿瘤干细胞是一种以 $CD34^+CD38^-$ 为特异表面标志的细胞,虽然这些细胞所占比例很少(每一病人中占 0.2%),但它们是唯一可以将人类的 AML 转移给 NOD/SCID 小鼠的细胞,这说明肿瘤组织中只有少量细胞是 TIC, Dick 等。Blair 等将白血病克隆原细胞应用体外悬浮培养和移植入 NOD/SCID 小鼠体内增殖,在 $2 \sim 8$ 周的时间内发现能够在体外扩增和在鼠体内广泛增殖的细胞均是 $CD34^+/CD38^-/Thy^{-1}$ 的细胞,尽管它们仅占 AML 细胞总数的小部分($0.2\% \sim 1\%$ 之间),而这一小部分细胞就被称为 SCID 白血病启动细胞或 SLIC。随后,Blair 等又进一步实验证明了这一小部分具有长期增殖能力的 AML 细胞具有和正常干细胞相同的表面标志($CD34^+/CD38^-/CD71/HLA-DR^-$)。虽然也有人证明 AML 的 $CD34^-$ 亚群和 $CD34^+$ 亚群均有 TIC 存在,但目前普遍认为 $CD34^+$ 细胞才是 TIC。

(三) 实体瘤干细胞的证实

类似于造血系统肿瘤,实体瘤细胞也是异质性的。但由于当时实体瘤细胞表面标志的缺

乏,还未能对实体瘤干细胞进行分离纯化。直到2002年,Michigan大学的Michael F. Clarke研究小组首次从乳腺癌中分离出干细胞,他们利用流式细胞仪从乳腺癌患者乳房切除术的标本制成的单细胞悬液中筛选出表达CD44(黏附分子)、B38.1(乳腺/卵巢癌特异性标记)和ESA(上皮细胞特异性抗原)的细胞,注入NOD/SCID小鼠体内,小鼠长出肿瘤,证明这部分细胞具有肿瘤源性。Al-Hajj等通过特异性的细胞表面标志分离纯化出乳腺癌干细胞(breast cancer initiating cells, BRCA IC),这种细胞以 $\text{Lin}^- \text{ESA}^+ \text{CD44}^+ \text{CD24}^{\text{low}}$ 为特异性细胞表面标志。此类细胞在细胞移植中具有干细胞样生长特性,能够无限增殖,并分化产生多种类型的细胞。研究结果显示 $\text{Lin}^- \text{ESA}^+ \text{CD44}^+ \text{CD24}^{\text{low}}$ 细胞的致瘤能力比未分类细胞增加50倍, $\text{Lin}^- \text{ESA}^+ \text{CD44}^+ \text{CD24}^{\text{low}}$ 细胞虽然只占小鼠移植乳腺癌的2%,但只需200个即可在小鼠乳腺中形成肿瘤;而 $\text{Lin}^- \text{ESA}^+ \text{CD44}^+ \text{CD24}^{\text{low}}$ 细胞不能形成肿瘤。Al-Hajj等在接下来的实验中,用 $\text{Lin}^- \text{ESA}^+ \text{CD44}^+ \text{CD24}^{\text{low}}$ 的细胞免疫NOD/SCID小鼠,发现新形成的肿瘤与原来肿瘤的表型异质性相似,而且也仅 $\text{Lin}^- \text{ESA}^+ \text{CD44}^+ \text{CD24}^{\text{low}}$ 细胞具有致瘤源性。随后在中枢神经系统肿瘤中亦发现了相似的结果,分别有不同的研究小组从人类不同的脑肿瘤细胞中培养出具有脑干细胞样特征的细胞集落。Arthur and Sonia Labatt脑肿瘤中心Peter B. Dirks等在脑肿瘤中分离出 CD133^+ 和 CD133^- 的脑瘤细胞,并把这些细胞移植到NOD SCID小鼠的大脑中。100个 CD133^+ 肿瘤细胞就可以引起小鼠中肿瘤的形成,而 10^5 个 CD133^- 的细胞却不能形成肿瘤。通过一系列的免疫组化比较 CD133^+ 形成的肿瘤的细胞显型与原位肿瘤是一样的,且 CD133^+ 的肿瘤细胞具有很强的自我更新能力和分化能力。这些研究结果提示 CD133^+ 脑瘤细胞是分化形成胶质细胞瘤和成神经管细胞瘤的脑肿瘤干细胞(brain tumor stem cells, BTSC)。

而最近又有人提出胃癌可能起源与骨髓干细胞,当小鼠慢性感染HP后,其骨髓源性细胞可引起胃上皮癌。相信随着研究的深入,会有更多的实体瘤干细胞被人们所认识。

三、肿瘤干细胞在临床治疗中的意义

现有治疗肿瘤的方法主要是依靠尽可能的杀死所有的肿瘤细胞,来减少肿瘤细胞的体积和数量。由于多数细胞及癌肿的增殖潜能是有限的,而药物缩小肿瘤的能力主要反映杀灭这些增殖细胞的能力,实际上大部分肿瘤经过一段时间后又会上复发。根据现在的肿瘤干细胞理论,这种治疗方法并没有将肿瘤干细胞完全杀死,即使只有很少的一部分肿瘤干细胞存活下来,也仍具有无限增殖能力,能继续促进肿瘤的生长。而且事实表明,不同组织来源的干细胞比来源于同一组织的成熟细胞,耐受放疗和化疗的能力更强。目前的研究认为此现象可能与抗凋亡蛋白bcl-2家族蛋白及膜转运蛋白(ABC转运、多药抗性蛋白等)在干细胞的高水平表达有关。如果肿瘤干细胞也高水平表达这些蛋白,它们将比肿瘤细胞对化疗药物更具耐药性。即使治疗后肿瘤完全的衰退,可能剩下的肿瘤干细胞也足以使肿瘤再生。

肿瘤转移也是恶性肿瘤的基本特征,是临床肿瘤患者死亡的主要原因。Paget提出了著名的“种子和土壤”学说来解释转移瘤在组织中的分布问题,该学说认为在已发生转移的肿瘤中,也并不是每一个肿瘤细胞都能成功的进行转移,只有极少数的细胞具有转移潜能,这种细胞即为所谓的“种子”。根据现在的肿瘤干细胞理论,我们可以认为Paget当时所说的“种子”可能就是肿瘤干细胞。由于肿瘤干细胞的无限自我更新能力和分化能力,使得肿瘤

干细胞这种极少数的“种子”在靶器官形成转移瘤。同时 Tu 等认为干细胞具有迁移的特性,干细胞的迁移和癌细胞的转移,又皆受特异性化学因子及其受体的调节。干细胞迁移到特定的组织和器官,而这可以解释肿瘤转移也有一定器官和组织特异性。Benny K. Abraham 等亦认为乳腺癌中 $CD44^{+}CD24^{-/low}$ 的肿瘤细胞倾向于发生远处转移,尤其是骨转移。由于肿瘤的复发、侵袭转移、耐药、抗辐射等恶性表型特征都与肿瘤干细胞有关,因此肿瘤治疗的关键应是针对肿瘤干细胞的治疗,以肿瘤干细胞为治疗靶点,这对传统的治疗方式提出了巨大的挑战。研究肿瘤细胞的细胞学、分子生物学改变以及异常信号转导通路的组成(信号分子的表达以及组成异常)是肿瘤干细胞靶向治疗的基础,也是治疗的靶向特异性所在。

微阵列分析已经用于病理学标准无法区分的肿瘤亚型,通过微阵列分析肿瘤干细胞和一般肿瘤细胞之间基因表达的差异,从而检测出不同类别细胞对治疗的敏感性,指导用药。而且可以通过比较肿瘤干细胞、有限增殖的肿瘤细胞、正常干细胞和正常组织的基因表达序列的不同,就有可能把多表达于肿瘤干细胞的一些基因序列做为肿瘤治疗的靶点。同时肿瘤干细胞还具有和正常干细胞相同的调控自我更新的信号传导通路,可以通过抑制这些信号通路来杀伤肿瘤干细胞,但是否会同时抑制正常干细胞而发生严重的毒副作用还有待探讨。我们也许可以通过鉴别一些因子来选择性杀伤肿瘤干细胞而不会产生正常干细胞的毒副作用,已有研究表明,去甲氧基柔红霉素和蛋白酶体抑制剂联合治疗可以杀伤白血病干细胞而不会产生正常白血病干细胞的副作用,这也为靶向治疗实体瘤干细胞给出了重要启示。

肿瘤干细胞起源于干细胞的异常突变,而肿瘤又起源于肿瘤干细胞的自我更新和分化,由于干细胞的异常突变可能和细胞所处的微环境有关,那么也许可以设法通过改变微环境来诱导癌细胞向正常细胞分化。已有大量实验证明维甲酸可以诱导分化白血病细胞,而且对于实体瘤的诱导分化研究,也已积累了不少实验室及临床经验。但目前所用的诱导分化物都有严重的毒副作用,所以如何靶向性的诱导肿瘤干细胞的分化也将会是今后研究的方向。

总之,人们通过对肿瘤干细胞生物学特性的进一步认识,以及对其功能的不断深入研究,寻找肿瘤干细胞表现出来的特异性靶位,研制新的针对肿瘤干细胞的药物,从而为临床彻底根治肿瘤展示新的希望。

(王要军)

第二章 人乳头瘤病毒与恶性肿瘤

宫颈癌的病因研究一直为国内外学者所重视。自从 1977 年 Lavery 在电镜中观察到宫颈活检组织中存在人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 颗粒, 以及上世纪 70 年代末 Zur Hausen 首先提出人乳头瘤病毒与宫颈癌发病可能有关的假想后, 国内外学者就 HPV 感染与宫颈癌的关系进行了大量的研究, 并获取了许多证据, 1995 年国际癌症协会 (IARC) 专题讨论会的学者们认为: HPV 感染是宫颈癌的主要病因。近年来又发现与食管癌有密切的关系。

一、检测

(一) 目前最常用的 HPV 检测的方法

1. 血清学检查 Baird 用牛乳头瘤病毒的特异性抗原检测 HPV 感染者血清抗体, 发现 IgG 水平比正常人群高, 因此, 此项实验可作为 HPV 感染的辅助诊断。L1 和 L2 蛋白可用于检测 HPV 型特异性免疫应答。但目前尚不能用血清学方法对 HPV 进行确诊及分型。

2. 核酸分子杂交 核酸分子杂交不仅可以对 HPV 感染进行确诊, 还可以进行 HPV 的分型。它主要是制备高特异性及高灵敏度的探针, 并进行放射性的核素或生物素标记, 杂交以后进行检测分析等到相应的结果。目前, 已经有许多相应的核酸杂交技术, 如 Southern 印迹杂交、斑点杂交、原位杂交等。

3. PCR 法 此法可检测核酸杂交阳性标本中的 HPV-DNA 片断, 灵敏度可以达到 1pg, 且有操作简便、省时, 标本来源不受限制等特点, 因此, PCR 检测目前来看是最好的检测 HPV 的方法。在此基础上, 发展了原位 PCR、间接原位 PCR、巢式 PCR 等检测。但是, PCR 检测也有很大的缺陷, 正是由于它的高灵敏性导致很容易发生因为样品的交叉污染而发生检测的假阳性。

4. 基因芯片 是一个很有前途的检测分型技术, 它结合了光学, 分子生物学等种种手段, 通过芯片制备、样品制备、杂交反应和结果分析等过程得出结果, 缺点是价格昂贵, 很难投入临床实际应用, 但随着此项技术的发展, 如果成本下降, 无疑它是未来最有潜力的检测分析手段。

(二) HPV 检测与细胞学检查联合应用

传统巴氏细胞涂片是一项筛查子宫颈癌的重要的但不完美的方法。理论上, 在用巴氏涂片法筛查的质量和覆盖率均较高的地区, 可将子宫颈癌的发病率降低 90%。但是, 发展中国家由于缺乏有效的鉴别和治疗癌前病变手段, 例如: 传统的巴氏涂片筛查不能马上得到结果, 大约 50% 异常 (CIN 和癌) 依赖于周期性筛查发现。子宫颈癌的死亡率仍高于发达国家。其次, 巴氏涂片结果中有 5%~10% 不明意义非典型鳞状细胞 (ASCUS) 和低度病变 (LSIL)。由于阴道镜下活检显示巴氏涂片常低估宫颈病变程度, 因此这部分人群中包括有极少数浸润癌和 <25% 的高度病变 (HSIL)。因此, 有专家建议对细胞学诊断为 ASCUS 和

LSIL 病人应行阴道镜检, 以避免漏诊。由于 HPV 感染可用于预测将来的宫颈上皮病变, 同时检测方法具敏感度和特异度较高, 简便, 高效, 重复性好, 不受采集样本的影响, 易培训, 适于大样本筛查等优点。能在一定程度上弥补巴氏涂片的不足。另外, HPV-DNA 检测阳性预测值随年龄的上升而增加, 但是细胞学检查正好相反, 两者联合应用可以达到互补的目的。目前两者联合应用主要用于以下两方面。(1) 用 HPV 检测对细胞学诊断为 ASCUS/LSIL 的病人进行分类转诊。2003 年美国妇产医师学会 (ACOG) 推荐的分类转诊方法为: ①单独使用细胞学检查。超过 30 岁的妇女 3 次连续 (3 年) 宫颈细胞学检查阴性, 则可每 2~3 年进行 1 次细胞学检查。②对 30 岁以上妇女联合使用巴氏涂片进行粗筛。对细胞学诊断为 ASCUS 或 LSIL 的病人做 HPV-DNA 检测, 阳性者进行阴道镜。细胞学联合 HPV 检测具有更高的阴性预测值 ($>99\%$), 能够比巴氏涂片更加准确衡量宫颈病变的有无, 可减少 ASCUS 和 HPV 阴性结果这组人群的忧虑, 提供评价妇女风险状态的客观指标。使用 HPV 检测作为中间分诊指标, 能够决定病人是否需要转诊阴道镜, 提高阴道镜检测的灵敏度, 并降低监测的成本, 减少医生和病人的不便, 确保 HPV 阴性妇女转入传统筛查方法的可信度。(2) 对于宫颈癌高危人群的初筛。2003 年美国 FDA 批准对 30 岁以上妇女进行细胞学和 HPV (杂交捕获试验) 的初筛。它是继有 50 多年历史的巴氏涂片之后又一有价值的检查手段。二者联合使用对宫颈病变诊断的灵敏度高于单独应用其中任何一种方法。

二、与宫颈癌的关系

(一) 宫颈癌的病因研究进展

1. HPV 感染 宫颈癌是威胁妇女健康和生命的主要危险, 它是感染性疾病, 发病原因主要是 HPV 感染, 特别是高危型 HPV 感染与宫颈癌的发生有明确关系。HPV 感染强烈地预示着鳞状上皮内病变 (SIL) 的存在, 在 99.8% 的宫颈癌患者中可以发现 HPV。一般在正常妇女中, HPV 感染者低于 4%, 而在宫颈上皮内瘤变 (CIN) I 级、II 级和 III 级患者中的检出率分别是 30%, 55% 和 65%: (1) 高危型 HPV 持续感染, 使 CIN III 级持续并发展; (2) 只要有 HPV 感染, 就预示着疾病的存在; (3) HPV 感染使宫颈癌发生的相对危险性增加 250 倍。目前, HPV 感染患者逐渐年轻化, 25 岁以下女性中 HPV 阳性率相对较高, 而 30 岁以上者相对较低。但即便年龄大于 30 岁, 同样的细胞涂片阴性, 高危型 HPV 阳性者发展为高度鳞状上皮内病变 (HSIL) 者仍是 HPV 阴性者的 116 倍。由于 HPV 感染的年轻化, 使宫颈癌的发生率呈上升趋势, 尤其是在发展中国家。因此, 对宫颈上皮内瘤变 (CIN)、HPV 感染的处理, 是防治宫颈癌的关键。认识、了解其认真地普查和随诊, 积极地处理癌前病变, 可以阻断病程, 预防宫颈癌, 特别是宫颈浸润癌的发生; 早期诊断, 可以达到治愈。所以, 宫颈癌的筛查和预防有重要意义。

2. HPV 感染的检测和分型 是处理宫颈病变的重要依据, 是筛查不可缺少的内容。如果细胞学结果为意义不明确的不典型鳞状上皮细胞改变 (atypical squamous cell of undetermined significance, ASCUS), 应进行 HPV 检测, HPV 阴性, 可行常规随诊; HPV 阳性, 则应进行阴道镜检查及相应处理; 细胞学结果为 CIN I 级, 在一般情况下可以随诊, 但如果同时 HPV 阳性, 也应进行阴道镜检查或治疗。目前, 已有 80 多种 HPV 被发现, 其中 35 种属于粘膜型, 而这些粘膜型又分为高危 (致癌) 型及低危 (非致癌) 型。最近的研究表

明,在世界范围内,99.7%的宫颈癌患者是 HPV 高危型阳性;前瞻性研究发现,不论细胞学结果正常与否,持续高危型 HPV 感染会促进 CIN (即宫颈癌前病变) 的形成;在 CIN 的发展中,持续的 HPV 感染也是必要的条件。

(二) 高危型 HPV 感染与宫颈癌发病机理的关系

当妇女进入性活跃年龄,就有感染高危型 HPV 的可能。对于约 80% 的感染者,感染是暂时的,并不发展为 CIN,病毒在 6~8 个月内会被清除,针对高危型 HPV 感染产生的中和抗体反应能保护这些妇女免于发展成为 CIN。另外 20% 感染者会形成 CIN,但其中大多数(约 80%) 人体内的病毒会被清除,病损逐渐好转,针对 HPV 的细胞毒性 T 淋巴细胞反应可能在这一过程中起了关键作用;剩余的 20% 原始感染者体内的病毒不会清除,感染持续存在,最终导致 CIN 的形成,或从 CIN I (轻度非典型增生) 发展到 CIN III (重度非典型增生) 甚至宫颈癌。低危型 HPV 感染也可导致 CIN I 及 CIN II,然而这些病损从不或极少发展为 CIN III 级和宫颈癌。文献报道低危型 HPV 感染从不单独存在于 CIN III 及宫颈癌组织中。人群调查资料显示, CIN I 的产生与宫颈癌形成之间的间隔大约是 12.7 年,因为 CIN 的产生必须存在有持续的高危型 HPV 感染,从开始感染到宫颈癌形成约需 15 年。那么从 HPV 感染到宫颈癌形成最短的时间是多少? 这是目前许多学者研究的课题。

除了持续的高危 HPV 感染及免疫因素 (HPV 特异性的 T 细胞反应,抗原提呈) 作用外,被感染细胞基因组产生变化才能导致恶性肿瘤的发展;而高危型 HPV 是通过 E6, E7 蛋白发挥致癌性的,它们分别结合肿瘤抑制基因产物 P53 及 Rb,在增生的细胞中相互作用,干扰细胞周期的调控及削弱 DNA 的修复,随之导致遗传不稳定性并增加特异的致癌性,这是恶性表型形成的必须条件 (如激活致癌基因,抑癌基因失活以及端粒末端转移酶的激活)。

在上述研究的基础上,出现下列情况时,要进行 HPV 检测: (1) 与细胞学共同进行防癌筛查,作为细胞涂片检查的补充,如在 ASCUS (未明确意义的不典型鳞状细胞改变) 时,高敏感的 HPV 检测方法可能发现 CIN II 及 CIN III。(2) 细胞学结果不明确或轻至中度非典型增生, CIN 有发展的可能,准备取活检时,可用 HPV 检测来判定。(3) 检测出漏诊的 CIN 或复发的 CIN。(4) 宫颈癌治疗后的随访。Sellers 等的普查资料显示了上述措施的有效性。资料显示高危型 HPV 的流行 (不论细胞学结果如何) 在 20~24 岁组的妇女中呈现峰值,随着年龄的增长阳性率逐渐下降。这种流行在孕妇与非孕妇中其年龄分布相似。Sellers 等还发现,其他几种因素如终身性伴数超过 3 个、年轻时性伴数超过 1 个、习惯抽烟、口服避孕药、离婚或单身等,会使 HPV 阳性的发生率更高。高危型 HPV 的感染似乎与改变性伴及增加性活动有关。

(三) HPV 的检测与子宫颈癌的筛查

自 1941 年 Papanicolaou 首先提出子宫颈和阴道细胞检查方法以来,世界各国都将该法 (巴氏涂片) 作为宫颈癌筛查的 1 种手段引入临床,使筛查人群宫颈浸润癌的发病率降低了 70%。但巴氏涂片筛检的敏感性为 58%, 特异性为 69%, 假阴性率高,其中 62% 是由于标本原因,在发展中国家尤为明显。目前的流行病学和生物学资料已经证明 HPV 感染是子宫颈癌及其癌前病变的主要病因。因此,许多学者提出将检测 HPV 感染作为子宫颈癌的 1 种筛查手段。综合近年来的一些研究,表明 HPV-DNA 检查在子宫颈癌筛查中的作用是公认的,高危型 HPV-DNA 检测的临床价值主要有以下几个方面: ① 高危型 HPV-DNA 检测可