

当代医学新理论与新技术丛书

主编 巴德年

临床医学卷

内科学

(下册)

主编 王振义

N E W
T H E O R Y

T E C H N I C A L
O L O G Y

黑龙江科学技术出版社

当代医学新理论与新技术丛书

主编 巴德年

临床医学卷 内科学

(下册)

主编 王振义

N E W

T H E O R Y

N E W

T E C H N O L O G Y

黑龙江科学技术出版社

中国·哈尔滨

内容简介

《内科学》是当代医学新理论与新技术丛书——临床医学卷的一个分册。由中国工程院院士、上海瑞金医院血液病研究所王振义教授主编。参加编写者也均为当今内科学领域中各专业的学科代头人和著名专家。

全书 140 多万字,按呼吸系统、心血管系统、肾脏疾病、血液系统、内分泌系统、风湿性疾病、神经系统疾病分为八篇,将当今内科领域中进展较快的,临床、科研亟待了解、掌握的新理论与新技术按专题进行了系统的阐述。它不同于已出版的众多内科学,也不是简单的对某一专题的综述,而是一部系统性、理论性和实用性很强的内科专著。是从事医学内科临床、教学、科研的专业人员,高等医学院校的研究生和本科生不可多得的工具书和参考书。

责任编辑 常虹

特约编辑 陈新石(中华医学杂志编辑部)

刘小梅(中华医学杂志编辑部)

封面设计 史伟争

版式设计 关士军

当代医学新理论与技术丛书

主编 巴德年

临床医学卷·内科学(下册)

LINCHUANG YIXUE JUAN·NEIKEXUE XIACE

主编 王振义

出版 黑龙江科学技术出版社

(150001 哈尔滨市南岗区建设街 41 号)

电话 (0451)3642106 电传 3642143(发行部)

印刷 黑龙江新华印刷厂

发行 全国新华书店

开本 787×1092 1/16

印张 64.75

字数 1 488 000

版次 2000 年 1 月第 1 版·2000 年 1 月第 1 次印刷

印数 1-3 000

书号 ISBN 7-5388-3595-4/R·760

定价 120.00 元(上、下册)

第五篇

血液系统

第一章

血液系统恶性肿瘤的细胞遗传学和分子生物学

1890年, Von Hansemann 发现肿瘤细胞有分裂异常, 并将其用于肿瘤诊断。1914年 Boveri 提出肿瘤细胞的分裂异常可能是由于染色体异常所致, 这些染色体异常是通过体细胞突变获得的, 并具有克隆性。肿瘤细胞通过体细胞突变和选择压力获得生长优势, 扩增成肿瘤细胞群体。1960年, 首次在慢性粒细胞白血病(CML)发现了 Ph^1 染色体, 这是人类第一次在肿瘤细胞观察到染色体异常。70年代染色体显带技术的发展极大地推动了肿瘤细胞遗传学的研究, 发现了大量与恶性肿瘤相关的染色体异常。80年代应用分子遗传学技术研究肿瘤细胞, 分离克隆了很多肿瘤相关基因(特别是在血液系统恶性肿瘤), 并逐步从分子水平阐明恶性肿瘤的发病机制。

对大量血液系统恶性肿瘤细胞染色体异常及相关基因的分析表明, 染色体异常主要导致相关基因表达异常或形成融合基因。其中一些染色体异常具有白血病亚型特异性, 受累的通常为癌基因。在血液系统恶性肿瘤细胞中也发现肿瘤抑制基因突变, 与一些特异染色体异常同时出现, 但本文主要讨论与白血病(淋巴瘤)密切相关的染色体异常(主要是相互易位和倒位)及相关基因。这些癌基因编码的蛋白质的具体功能还不完全清楚。根据它们的结构和功能特点可分为以下几类: ①转录因子, 一般具有 DNA 结合结构域, 二聚体化结构域及反式效应结构域, 大多数急性白血病多累及这类分子。②生长因子如 IL-3。③生长因子受体, 如 PDGFR β 。④与细胞周期有关的分子, 如 PRAD1。⑤与信号传导途径有关的蛋白, 如 ABL 等。一些重复出现的染色体易位及其所累及的基因列于表 5-1-1。

表 5-1-1 血液系统恶性肿瘤中重复出现的染色体易位及受累基因

疾病类型	染色体易位	受累基因	性质
AML			
M2b	t(8;21)(q22;q22)	ETO; AML1	转录因子
M4Eo	inv(16)(p13q22)	MYH11; CBF β	转录因子
M5	t(9;11)(p21~22;q23)	AF9; MLL	转录因子
M3	t(15;17)(q22;q11~21)	PML; RAR α	转录因子 + 维甲酸受体

续表 5-1-1

疾病类型	染色体易位	受累基因	性质
M3	t(11;17)(q23;q21)	PLZF; RAR α	转录因子 + 维甲酸受体
M3	t(5;17)(q32;q21)	NPM; RAR α	RNA 转运 + 维甲酸受体
M6	t(3;5)(q21-25;q31-35)	MLF1;	NPM 转录因子 + RNA 转运
M2, M4	t(6;9)(p23;q34)	DEK;	CAN 转录因子
AML	t(16;21)(p11;q22)	FUS; ERG	转录因子
	t(6;11)(q27;q23)	AF6; MLL	转录因子
M4, M5	t(11;19)(q23;p13)	MLL; ENL	转录因子
M4, M5	t(8;16)(p11;p13)	MOZ; CBP	乙酰转移酶
M2	t(7;11)(p15;p15)	NUP98; HOXA9	转录因子
CML	t(9;22)(q34;q11)	ABL; BCR	酪氨酸激酶
CML-BC	t(3;21)(q26;q22)	EVII/EAP; AML1	转录因子
CML-BC	t(9;12)(q34;p13)	ABL; TEL	酪氨酸激酶
CMML	t(5;12)(q23;p13)	PDGFR; TEL	酪氨酸激酶
B 细胞系			
前 B-AL	t(12;21)(p13;q22)	TEL; AML1	转录因子
前 B-ALL	t(4;11)(q21;q23)	AF4; MLL(HRX)	转录因子
前 B-ALL	t(1;11)(p32;q23)	AF1P; MLL	转录因子
前 B-AL	t(6;11)(q27;q23)	AF6; MLL	转录因子
前 B-ALL	t(11;19)(q23;p13)	MLL; ENL/ MEN	转录因子
前 B-AL	t(1;19)(q23;p13)	PBX1; E2A	转录因子
前 B-ALL	t(17;19)(q22;p13)	HLF; E2A	转录因子
前 B-A	t(5;14)(q31;q32)	IL-3; IgH	生长因子
B-CLL	t(14;19)(q32;q13)	IgH; BCL3	转录因子
B-CLL/ALL	t(8;12)(q24;q22)	MYC; BTG	转录因子
B 淋巴瘤	t(14;18)(q32;q21)	IgH; BCL2	转录因子
B 淋巴瘤	t(10;14)(q24;q32)	IgHL; YT10	转录因子
B 淋巴瘤	t(11;14)(q13;q32)	IgH; BCL1(PRAD1, CCND1)	转录因子
B 淋巴瘤	t(3;22)(q27;q11)	BCL6; Ig λ	转录因子
Burkitt's	t(8;14)(q24;q32)	MYC; IgH	转录因子
	t(2;8)(p11;q24)	Ig κ ; MYC	转录因子
	t(8;22)(q24;q11)	MYC; Ig λ	转录因子
T 细胞系			
T-ALL	t(8;14)(q24;q11)	MYC; TCR α	转录因子
T-ALL	t(11;14)(p15;q11)	TTG1(RBTN1); TCR δ	转录因子
T-ALL	t(11;14)(p13;q11)	TTG2(RBTN2); TCR δ	转录因子
T-ALL	t(10;14)(q24;q11)	HOX11(TCL3); TCR δ	转录因子
T-ALL	t(1;14)(p32;q11)	TAL1(SCL, TCL5); TCR δ	转录因子
T-ALL	t(1;7)(p34;q34)	LCK; TCR β	蛋白激酶
T-ALL	t(7;9)(q34;q34.4)	TCR β ; TAN1	转录因子
T-ALL	t(7;9)(q34;q32)	TCR β ; TAL2	转录因子
T-ALL	t(7;19)(q35;p13)	TCR β ; LYL1	转录因子

续表 5-1-1

疾病类型	染色体易位	受累基因	性质
T-ALL	t(7;10)(q35;q24)	TCR β ; HOX11	转录因子
T-ALL	t(7;11)(q35;p13)	TCR β ; TTG2	转录因子
T-ALL	t(X;11)(q13;q23)	AFX1; MLL	转录因子
T-CLL	t(14;14)(q11;q32)	TCR β ; TCL1	转录因子
T 淋巴瘤	t(2;5)(p23;q35)	ALK; NPM	蛋白激酶 + RNA 转运
T 淋巴瘤	t(4;16)(q26;p13)	IL-2; BCM	生长因子
NHL	inv(2;2)(p13;p11.2~14)	REL; NRG	转录因子

第一节 急性髓系白血病(AML)

一、亚急性粒细胞白血病(M2b型)

儿童和青年 AML 中最常见的特异性染色体易位是 t(8;21)(q22;q22), 主要见于 M2b 型, 少数见于 M1、M4 和儿童 ALL, 偶见于 CML 急变期和 MDS。21 号染色体受累基因为 AML1 (acute myeloid leukemia 1), 编码一种核蛋白, 5' 端为 DNA 结合结构域, 与果蝇分节蛋白 runt 有同源性, 3' 端含反式激活结构域, 有脯氨酸/丝氨酸/蛋氨酸富含区。髓过氧化物酶、中性粒细胞弹性蛋白酶、IL-3 及其受体、GM-CSF 和 M-CSF 受体等基因可能是 AML1 在粒系的靶基因。在淋巴系的靶基因可能为 TCR 或 BCL2 基因。AML1 可能通过调节这些基因的表达而在造血细胞分化过程中发挥重要作用。研究表明, AML1 可与 CBF β 形成二聚体。CBF α 可增强 AML1 对 DNA 的亲合力。runt 结构域既可介导异二聚体的形成, 又可与 DNA 结合。AML1 在各系造血细胞均有表达, 主要促使粒系分化。缺乏 AML1 的小鼠因胚胎造血缺陷而死亡, 各系造血细胞均受累。8q22 上累及 ETO(eight twenty one)基因。ETO 基因编码一个转录因子, 含 2 个锌指结构域, 与周期素 D2 有同源性。

AML1-ETO 融合基因包含 AML1 的 runt 结构域和 ETO 的 2 个锌指结构域。21 号染色体断裂点集中在 AML1 的第 5 和第 6 号外显子之间。AML1 的 5' 端易位至 8 号染色体上, 与 ETO 基因融合。

另一染色体易位 t(3;21) 也累及 AML1 基因。在 3 号染色体已发现 3 个基因可与 AML1 融合, 即 EVI1、EAP 和 MDS1。与 AML1-ETO 相似, 这些融合基因都含有 AML1 的 runt 结构域。最近研究表明, 这些融合蛋白已失去了转录活性, 可能以显性负的方式抑制野生型 AML1 的活性。慢粒急变时出现的融合基因 AML1-EVI1 可增强 BCR-ABL 的转化作用。EVI1 也是一种转录因子, 有 2 个锌指结构域, 可与 DNA 结合。AML1-EVI1 可能具有双重作用, 既阻断粒系分化, 又刺激细胞增殖, 导致慢粒急变。

最近在 ALL 发现的 t(12;21) 易位也累及 AML1 (见第三节), 但发生融合的方式不

同。在 t(12;21), 几乎整个 AML1 基因与 12 号染色体上的 TEL(translocation ets leukemia) 基因融合, 形成 TEL-AML1 融合基因。目前还不清楚为什么与 AML1 发生融合的基因类型和方式不同, 白血病表型也不一样。最近发现 AML1/CBF β 可影响造血细胞同源盒基因的表达。不同的融合基因对同源盒基因表达的影响也不一样, 这可能与表型不同有关。

二、急性粒单细胞白血病伴嗜酸性细胞增多症(M4Eo)

inv(16)(p13;q22) 和 t(16;16)(p13;q22) 主要见于 M4Eo, 累及 16q22 上的 CBF β 基因, 断裂点位于 3' 端, 5' 端与 AML1 形成异二聚体的结构域仍然保留在融合蛋白中。在 16p13 上发生断裂的是编码平滑肌肌球蛋白重链的 MYH11 基因。MYH11 分子包括头部(具 ATP 酶活性)、铰链区和尾部。MYH11 可通过尾部形成同二聚体或多聚体。发生融合后 MYH11 基因保持完整读框, 3' 端尾部保留在融合蛋白中, 可使 CBF β -MYH11 融合蛋白形成同二聚体或多聚体, 而不再与 AML1 形成异二聚体, 所以, 可以显性负方式抑制野生型 AML1 的转录活性。AML 中最常见的 2 种染色体异常都与 CBF 有关, 说明 CBF 可能在 AML 的发病机制中有重要作用。

三、急性早幼粒细胞白血病(M3, acute promyelocytic leukemia, APL)

t(15;17)(q22;q21) 是 M3(APL) 的特异性染色体改变, 见于 90% 以上 M3 病例, 而未见於其它亚型。上海血液学研究所首次应用维甲酸诱导分化治疗 M3 获得成功, 促进受累基因之一 RAR α 的发现和克隆。另一受累基因为 PML(15q22), 全长 50 kb, 含 10 个外显子, 编码为一 60 kD 蛋白。根据氨基酸顺序分析, PML 属于一个新的核蛋白家族, 含有能与 DNA 结合的锌指结构及一个亮氨酸拉链结构域, 可与其它蛋白分子组成 POD(PML oncogenic domain) 结构, 可能在细胞分化过程中发挥作用。

RAR α 为维甲酸的细胞核受体, 又可与 DNA 结合。RAR α 有 6 个进化上高度保守的区域 A~F。A 和 B 区具有自主的、启动子特异的、不依赖配体的转录活性。C 区可与 DNA 结合。E 区具有多种不同功能, 如依赖配体的转录活性、介导二聚体形成、识别及结合配体(维甲酸等)。在 PML-RAR α 融合基因中, 17 号染色体断裂点总是发生在 RAR α 基因的第 2 内含子。15 号染色体断裂点有 3 个丛集区, 可形成不同的 PML-RAR α 异构体。具有不同异构体的患者对维甲酸治疗的反应也不一样。PML-RAR α 融合蛋白含有来自 2 个分子的重要功能结构域, 可形成二聚体并与 DNA 结合, 此外还可与维甲酸结合。它可能以一种依赖维甲酸的方式分别影响受 PML 和 RAR α 调控的基因。

在 M3 还发现一种少见的变异型易位 t(11;17)(q23;q21), 使 RAR α 与另一转录因子 PLZF(promyelocytic leukemia zinc-finger) 基因融合。PLZF 属于 ZID(zinc-finger protein with interaction domain) 蛋白, 其 N 端有一 POZ(poxvirus and zinc-finger) 结构域, 可介导形成同二聚体, 或与 PLZF 或 RXR 形成异二聚体。PLZF-RAR α 融合蛋白的结构与 PML-RAR α 相似, 含有 PLZF 的 N 端(包括 2 个锌指结构域) 和部分 RAR α 。PLZF-RAR α 可能通过显性负作用抑制野生型 RAR α 的功能。

M3 的另一变异型易位 t(5;17)(q32;q21) 累及 5 号染色体上的 NPM(nucleophosmin)

基因。NPM 蛋白定位于核内颗粒区,可能与 rRNA 的生成和转运有关。有试验表明,NPM-RAR α 融合蛋白对野生型 RAR α 也有显性负作用。此外,NPM-RAR α 可与野生型 PML 在核基质发生相互作用,引起核内 PML 分布的改变,破坏核小体聚集成 POD 结构,干扰粒系的分化。

四、染色体易位累及 11q23 的白血病

累及 11q23 的染色体易位多见于 AML(M4)、ALL、MDS 和一些化疗(尤其是拓扑异构酶 II 抑制剂)引起的 AML。与 11q23 发生易位染色体(或区带)不同,表型也不一样。目前已发现有 30 多种不同染色体区带可与 11q23 发生易位。11q23 上的受累基因为 MLL(ALL1 或 HRX)。MLL 基因在 100 kb 以上,编码蛋白为 431 kD,N 端为 3 个 A-T 钩结构单元,可与 DNA 结合,1 个哺乳动物甲基转移酶(MT)同源区,2 个锌指结构域,C 端与果蝇 trithorax 基因有很高的同源性,具有反式激活功能。断裂点集中在 A-T 钩和锌指结构域之间,融合基因只保留 A-T 钩序列。

与 MLL 发生融合的基因中有些编码转录因子,有些编码胞浆蛋白。常见的如 19p13、4q21、9p22、10p12、17q23 等,易位基因分别是 ENL、AF4、AF9、AF10 及 AF17,均编码核转录因子。而 AF1p(1p32)和 AF6(6q27)基因编码胞浆蛋白。

t(11;19)常见于婴儿白血病,经诱导分化治疗后具有髓系和淋巴系双表型特征,说明染色体易位可能发生在多能造血干细胞阶段。此外,在 ALL 和 AML 也可见 t(11;19)。19 号染色体断裂点可发生在 19p13.3 或 19p13.1,受累基因分别是 ENL 和 ELL(MEN)。ENL 受累多见于淋巴系、双表型和大多数先天性髓系白血病。MEN 易位多发生在成人 AML。最近,在 1 例 t(11;19)(q23;19p13)的 AML 患者发现另一新基因 EEN(extra eleven nineteen)与 MLL 融合。EEN 含有 α -螺旋区和 C 端 SH3(Src homology 3)结构域,在多种组织均有表达。SH3 结构域可与富含脯氨酸的结构单元结合,介导蛋白质相互作用,而 MLL 有富含脯氨酸的序列,由此推测,MLL-EEN 可形成同二聚体,或与 MLL 形成异二聚体。其它几种融合蛋白,如 MLL-AF1p、MLL-AF6、MLL-AF10 及 MLL-AF17 等也可形成二聚体。融合蛋白的具体作用还不清楚。白血病的发生可能与 MLL 断裂有关。发生断裂后,缺失锌指结构域的 MLL 不能与 DNA 结合,失去其转录活化功能。另一方面,融合蛋白也可能获得新的功能。

MLL 与其它基因发生重排的机制还不十分明了,可能与 V-D-J 重组酶有关,因为在基因断裂点附近发现有七聚体样序列。此外,在 MLL 基因第 6 内含子中有 8 个 Alu 重复序列,所以人们推测 Alu 序列之间的同源重组可能也是染色体易位机制之一。另外在拓扑异构酶 II 抑制剂治疗引起的白血病中,11q23 易位多见。在其断裂点附近也发现有拓扑异构酶 II 的结合位点。所以,拓扑异构酶 II 介导的同源重组可能在染色体易位中也有作用。

第二节 慢性粒细胞白血病(CML)

几乎所有 CML 患者都有 Ph 染色体,即 $t(9;22)(q34;q11)$,分别累及 BCR(break-point cluster region)和 ABL(abesine mouse leukemia 基因的同源基因)基因。BCR 基因长 130 kb,含 21 个外显子,可在多种组织表达。BCR 编码的蛋白产物有 130 kD 和 160 kD 两种,均定位于胞浆,具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性。ABL 基因长约 230 kb,有 12 个外显子,可剪接出 2 个不同转录本,分别为 6 kb 和 7 kb。ABL 属于 SRC 癌基因家族(非受体型酪氨酸蛋白激酶家族),具有特异性酪氨酸蛋白激酶活性。9 号染色体断裂点集中在第 1 和第 2 内含子。22 号染色体断裂点丛集于一 5.8 kb 的区域(包括 12、13、14 和 15 号外显子)。融合蛋白分子量 210 kD,也定位于胞浆,其酪氨酸蛋白激酶活性较 ABL 增高,可能是 BCR 对 ABL 激酶活性调节区的作用所致。人们自然认为 BCR-ABL 可作为胞浆酪氨酸蛋白激酶激活细胞有丝分裂信号途径,促进细胞增值。这一假设得到了试验和临床方面的证实。在已阐明的一些信号传导途径中,最引人注目的是 RAS 途径。BCR-ABL 可通过与一些结合器分子相互作用,最终激活 RAS。最近发现 BCR-ABL 还可通过 STAT 途径发挥作用。在正常造血细胞,STAT(signal transducers and activators of transcription)途径可被细胞因子或生长因子特异激活。在细胞因子浓度下降或缺乏时,BCR-ABL 可刺激细胞生长。在骨髓移植模型和转基因小鼠模型均证实融合蛋白可诱导造血系统恶性肿瘤。融合蛋白酪氨酸激酶活性增高也见于其它白血病或淋巴瘤。在慢性粒单核细胞白血病(CMML)的 $t(5;12)$,TEL 的 N 端与血小板衍生长因子受体 β (PDGFR β)的跨膜区及酪氨酸激酶结构域发生融合;在未分化型急性白血病和 AML,TEL 与 ABL 融合;在具有 $t(2;5)$ 的淋巴瘤发现另一酪氨酸激酶型融合蛋白 NPM-ALK。NPM(nucleophosmin)为核仁磷蛋白,与核糖体的组装有关。ALK(anaplastic lymphoma kinase)具有酪氨酸蛋白激酶活性,但在正常淋巴细胞不表达。这些融合蛋白的结构与 BCR-ABL 相似,也可能通过类似的信号传导途径发挥作用。

正常酪氨酸激酶型生长因子受体的活性受其配体的严格调控。如 PDGFR β 通过膜外部分与配体结合,相邻受体二聚体化,激活胞浆部分酪氨酸激酶活性,刺激细胞分裂。而 TEL-PDGFR β 融合蛋白形成二聚体后酪氨酸激酶活性失控,处于持续活化状态。在体外试验也证实 TEL-PDGFR β 融合蛋白可使造血细胞呈生长因子非依赖性生长。TEL 的 N 端含有螺旋-环-螺旋(HLH)结构域,可介导蛋白质相互作用。BCR 的 N 端也可介导二聚体或四聚体形成。去掉融合蛋白中的二聚体化结构域后,融合蛋白失去蛋白激酶活性和转化能力。最近有人用酪氨酸蛋白激酶抑制剂诱导 CML 白血病细胞死亡,进一步说明融合蛋白酪氨酸激酶活性在白血病中的作用。

$t(9;22)$ 还见于 ALL(4%),但在 BCR 的断裂点不同,主要位于第 1 内含子的 3' 端,使 BCR 基因第 1 外显子与 ABL 基因第 2 外显子拼接,编码的蛋白为 190 kD。在培养的小鼠骨髓细胞中,p190 刺激未成熟淋巴细胞增殖的作用比 p210 强。在转基因试验中也观察到 p190 诱发的白血病具有起病早,发展快和恶性程度高的特点。但目前还未弄清融合

基因断裂点不同如何导致不同白血病表型。

第三节 急性淋巴细胞白血病(ALL)

ALL 主要发生在儿童,特异染色体易位常累及 Ig 基因(B 细胞)或 TCR 基因(T 细胞),使与之发生重排的基因异常高表达。在 ALL 也可见融合基因形成。

一、前 B 细胞性白血病(前 B-ALL)

t(1;19)(q23;p13)主要见于前 B-ALL(30%),使转录因子基因 E2A(19p13)与同源盒基因 PBX1(1q23)融合。E2A 编码结合因子 E12 和 E47,其 5' 端可与 Ig κ 基因增强子序列结合,属于碱性螺旋-环-螺旋(bHLH)转录因子,在各种哺乳动物组织均有表达。E12 和 E47 可形成同二聚体或与其它相关蛋白如 TAL1 形成异二聚体。二聚体的形式决定其 DNA 结合的特异性。体外试验发现 E2A 调节多种细胞的生长和分化。缺失 E2A 的小鼠无 B 细胞生成,而其它造血和非造血细胞却没有明显异常。因缺失 E2A 的小鼠在胚胎期死亡,所以很难确定 E2A 作用于 B 细胞发育的那个阶段。但在 E2A 缺失型小鼠仍可见少数 B220(CD45⁺)细胞,说明分化停滞在 B 系定向祖细胞之后,但在 B 细胞成熟的最早期阶段。

PBX1 在正常组织几乎没有表达。易位后,E2A 的 5' 端转录激活结构域与 PBX1 的同源盒结构域融合。E2A-PBX1 的结构提示,融合蛋白可能激活受 PBX1 调控的基因。E2A 的反式激活结构域激活前 B 细胞或更早期的 B 系祖细胞中的靶基因(可能为同源盒基因),使细胞转化。转基因试验也观察到所有表达融合蛋白的小鼠均死于淋巴系肿瘤。

另一变异型易位 t(17;19)(q22;p13)也累及 E2A 基因。另一受累基因为 HLF(hepatic leukemia factor)基因。有试验表明,E2A-HLF 融合蛋白对细胞凋亡有抑制作用。HLF 与线虫凋亡相关蛋白 CES2 有同源性。CES2 可抑制另一诱导凋亡的蛋白 CES1 的活性,从而阻断凋亡过程。由此推测,在人类,E2A-HLF 可与 CES2 样蛋白竞争 CES1,使前 B 细胞凋亡活性下降,寿命延长,而发生其它基因突变的机会也大大增加。

二、B 细胞 ALL

最近在儿童 B-ALL 中发现一种新的染色体易位 t(12;21)(p12;q22)。12p12 上的 ETS 相关转录因子基因 TEL(ETV6)与 AML1 基因融合。TEL 基因易位也见于其它类型,如 CMML 中的 t(5;12),MDS 中的 t(3;12),AML 或 ALL 或非典型 CML 中的 t(9;12),AML 的 t(12;22)等。由于 t(12;21)易位区带的特征使常规细胞遗传学方法不能分辨,以往认为这一易位在 ALL 中极少见。但目前发现在儿童 ALL 中 25% 有这种易位,是儿童 ALL 中最常见的染色体异常。

TEL-AML1 融合蛋白包含 TEL 的 N 端 336 个氨基酸及几乎整个 AML1 分子。TEL 的 DNA 结合结构域却未包括在融合蛋白中,提示 TEL-AML1 融合蛋白可能不是通过作用于受 TEL 调控的基因而发挥细胞转化作用的。具有 t(12;21)的患者约 1/3 没

有 AML1-TEL 融合蛋白表达,说明这一融合蛋白在白血病中可能没有多大作用。与 AML1 的其它融合基因不同,TEL-AML1 含有 AML1 的反式激活结构域,提示 TEL-AML1 诱导淋巴细胞转化的机制与 AML1-ETO 诱导髓系细胞转化的机制是不同的。但试验表明 TEL-AML1 和 AML1-ETO 可能都通过显性负作用阻断正常 AML1 的功能,使 AML1 失去结合 DNA 的能力,不能激活其靶基因。但也不能排除另一可能性,即 TEL-AML1 可能获得新的转录活性。然而至今仍未在动物模型中证实 TEL-AML1 的转化作用,也没有在其它类型白血病发现这一融合基因。值得注意的是,t(12;21)患者的一条正常 12 号染色体上的 TEL 基因总是因缺失而失活,使患者完全缺乏野生型 TEL。这种杂合性丢失(loss of heterozygosity, LOH)使人们有理由认为 TEL 具有肿瘤抑制基因的功能。目前还没有试验证据支持这一假设。TEL 缺失型小鼠均死于胚胎期,所以很难分析 TEL 在正常造血过程中的作用。人们更倾向于认为正常 TEL 缺失使 TEL-AML1 的转化潜能增强。

三、T-ALL 的特异染色体易位

在 T-ALL 中染色体易位常累及 TCR 位点 14q11(TCR α , δ)、7q34-36(TCR β)或 7p15(TCR γ)。与之发生重排的多是与细胞生长和分化有关的转录因子基因。这些基因在正常 T 细胞一般不表达。

t(1;14)(p32;q11) 累及 TAL1(T cell acute leukemia 1)基因和 TCR β 基因。TAL1 编码 bHLH 转录因子,与细胞生长和分化有关。TAL1 与 E47 形成二聚体后可与 DNA 结合。正常时,TAL1 主要在早期造血祖细胞、红细胞系、肥大细胞、巨核细胞和内皮细胞表达,而在 T 细胞表达极低。缺失 TAL1 基因的小鼠胚胎造血缺陷,在卵黄囊和胎肝均没有血细胞形成,表明 TAL1 作用于造血分化的最早期。染色体易位后使 TAL1 在 T 细胞异常表达,可能激活一些在正常 T 细胞并不表达的基因,导致细胞转化。另在 25% 儿童 T-ALL 还发现 TAL1 基因 5' 端缺失。常规遗传学方法检测不到这一突变。缺失部分可能为 TAL1 基因的调控序列,突变使 TAL1 基因表达失控,导致与染色体易位相似的表型。另一易位 t(7;9)(q34;q32)累及 TAL2(9q32)和 TCR β (7q34)基因。TAL2 与 TAL1 结构相似,也具有 bHLH 结构域。

t(10;14)(q24;q11) 和另一种变异型易位 t(7;10)(q34;q24)见于 7% 的 T-ALL。14q11 和 7q34 上分别累及 TCR δ 和 TCR β 基因。10q24 上受累的是同源盒基因 HOX11。在小鼠发育过程中,HOX11 主要在鳃弓、后脑和内脏中胚层表达。缺失 HOX11 的小鼠没有脾脏形成,导致白细胞增高,但血细胞生成并未受影响。正常情况下,HOX11 基因主要在肝脏表达,而在胸腺和 T 细胞中几乎没有表达。染色体易位导致 HOX11 的异位表达可能在 T 细胞转化过程中有重要作用。HOX11 可与 DNA 结合,发挥反式激活转录作用。此外,HOX11 可与细胞分裂过程中有重要功能的磷酸酶发生相互作用,其在 T 细胞的异常表达可能使细胞进入有丝分裂相。

t(11;14)(p15;q11) 累及 14q 的 TCR δ 基因和 11p 的 TTG1(T cell translocation gene 1,或称 rhombotin 1 或 RBTN1)基因。TTG1 可能在中枢神经系统的发育过程中有作用,而在正常胸腺和淋巴细胞系不表达。TTG1 编码一富含半胱氨酸/锌指的蛋白质,可介导

蛋白质之间的相互作用。这一结构也见于秀丽线虫同源盒基因 *lin-11*、*isl-1* 和 *mec-3*，故亦称为 LIM 结构域。另一种易位 $t(11;14)(p13;q11)$ 累及 TTG2 基因。TTG2 在多种组织表达，以造血组织中表达最高，但在 T 细胞中却不表达。TTG2 与 TTG1 有 50% 的同源性，可与 TAL1 结合，但还未证实 TTG2 可与特异 DNA 序列结合。它可能通过与其它蛋白相互作用而影响基因表达。缺失 TTG2 的小鼠与缺失 TAL1 的小鼠表型相似，提示两者之间的相互作用对造血早期分化有重要作用。但还未找到其作用的下游靶分子。而 TTG2-TCR δ 转基因小鼠可诱导 T 细胞白血病。说明染色体易位使 TTG2 在 T 细胞异常表达与白血病直接相关。

第四节 恶性淋巴瘤

大多数 NHL 患者都有染色体异常，对 NHL 的研究也比较多。恶性淋巴瘤中最常见的染色体易位是 $t(14;18)(q32;q21)$ ，见于绝大多数滤泡型淋巴瘤 (FL)。在大多数 Burkitt's 淋巴瘤 (BL) 中可见到 $t(8;14)$ 或其变异型 $t(2;8)$ 和 $t(8;22)$ 。而在 HD，细胞遗传学和分子水平的研究都没有得到明确结论，甚至还没弄清 R-S 细胞的来源。

一、小无裂细胞淋巴瘤 (Burkitt 型)

小无裂细胞淋巴瘤 (Small Non-cleaved Cell Lymphoma) 有两型：Burkitt 型和 non-Burkitt 型。前者又分主要在非洲发病的流行性和在其它地区发病的散发性两种亚型。流行性 Burkitt 淋巴瘤约 95% 有 EB 病毒感染史，而散发性 20% 与 EB 病毒有关。EB 病毒与淋巴瘤发生的关系还不清楚，但在体外 EB 病毒可使 B 细胞获得永生。大约 75% 的 Burkitt 型淋巴瘤伴有 $t(8;14)(q24;q32)$ 易位，使 8 号染色体上的 bHLH/leucine 锌指转录因子基因 MYC 与 14 号染色体上的免疫球蛋白重链恒定区融合。变异型易位有 $t(2;8)(p12;q24)$ 和 $t(8;22)(q24;q11)$ 。这些变异型易位与 $t(8;14)$ 易位不同的是，MYC 基因仍在 8 号染色体上，而 Ig 轻链基因易位到 MYC 基因的远端。易位后，MYC 基因编码区读框不变，但表达增高。此外，还发现 MYC 基因位点伴随易位而出现突变，从而改变 MYC 转录或基因功能。例如，MYC 第一个外显子 3' 末端的点突变，阻碍了一个抑制 MYC 转录的因子与之结合。另有报道突变使 Rb (retinoblastoma) 相关蛋白 P107 不能与 MYC 转录激活功能域结合，这些突变可能是由于靠近 Ig 位点而发生的。在正常情况下，体细胞突变发生在可变区，有利于抗体多样性的产生。MYC 是一个转录因子，能促进细胞分裂和细胞转化且对分化有抑制作用。用反义核苷酸阻断 MYC 的表达，则细胞不能进入 S 期，说明 MYC 功能是细胞进入分裂相所必需的。将激活的 MYC 基因导入 EB 病毒感染的淋巴细胞，可使原始 B 细胞发生转化。将 Ig 基因启动子与 MYC 连接后转入小鼠，进一步证实了 MYC 促进转化的作用。开始是一个多克隆前 B 细胞增殖的短期阶段，尔后转入单克隆性增殖。肿瘤的发生过程显示，仅有 MYC 基因的高表达并不足以导致转化，需要合并其它体细胞突变才促使肿瘤发生，与肿瘤发生的多步骤学说相符。许多基因可与 MYC 基因协同作用，促进肿瘤发生，包括 BCL2、PLM-1、RAS、ABL、BMI-1 和

RAF-1 等。

虽然 MYC 促使细胞转化的确切机制还未完全清楚,但可能与 MYC 的下游靶基因的转录调控有关,例如鸟氨酸脱羧酶和细胞周期磷酸酶 CDC25 等。已知 MYC 或其同二聚体并不能与 DNA 特异结合,而是与另一个 bHLH/leucine 锌指蛋白 (MAX) 结合成 MYC/MAX 异二聚体后,才能发挥其转录因子的作用。体外试验显示,MYC/MAX 异二聚体可与特异 DNA 序列结合。而 MAX/MAX 同二聚体可与 MYC/MAX 异二聚体竞争靶基因序列,分别抑制或激活靶基因转录。MYC 高表达促进 MYC/MAX 复合物的形成,激活一系列为通过 G1 期必需的基因。MYC 的过度表达同时也降低了 MAX 和其它两个 bHLH/leucine 锌指蛋白 MAD 和 MX11 形成的异二聚体,而 MAD/MX11 异二聚体与细胞分化有关。

二、滤泡型淋巴瘤 (FL)

80%~90% 滤泡型淋巴瘤 (Follicular Lymphoma) 有 t(14;18)(q32;q21), 这是淋巴瘤中最常见的染色体易位。FL 占成人 B 细胞 NHL 的 45%。BCL2 (B cell leukemia and lymphoma 2) 基因位于 18 号染色体,易位至 14 号染色体 Ig 重链位点。绝大多数 (>70%) 的断裂点发生在 BCL2 基因的 3' 非翻译区,称为主要断裂点区 (Major Breakpoint Region, MBR), 其余大多发生在 3' 端的 20 kb 范围内,称为次要断裂点区 (Minor cluster Region, MCR)。发生断裂后 BCL2 基因编码区的读框仍保持完整。临床上可利用这些断裂点两侧的序列设计引物,用 PCR 方法检测 t(14;18) 的存在。这些研究表明,在长期临床完全缓解的病人体内仍存在 t(14;18) 的细胞。BCL2 插入到 Ig 重链位点,促进 BCL2 的转录,而 BCL2 蛋白结构并未改变,仍为 25 kD。有趣的是,在淋巴结、睾丸、卵巢以及外周血中的正常淋巴系细胞也有 BCL2-Ig 重排,表明在淋巴系发育过程中,t(14;18) 易位是经常发生的,同时也说明,BCL2-Ig 重排还不足以导致淋巴瘤的产生。据报道,仅仅伴有 t(14;18) 染色体异常的淋巴瘤病人,临床发展过程相对缓慢,而如果同时伴有其它基因异常,其临床发展过程大大加快。例如,单独发现 t(14;18) 并不影响 FL 的生存率,但如同时有 17 号染色体受累,则预后较差。17 号染色体异常有可能影响 17p13 处的 p53 基因,这些改变可能与 FL 的组织转化有关。

三、外套层细胞淋巴瘤 (Mantle Cell Lymphoma)

在 REAL 分类中是一个独特的病理类型。绝大多数的病例有 t(11;14)(q13;q32) 易位,此易位在其它 NHL 亚型中少见。外套层细胞淋巴瘤占 NHL 的 2%~10%,主要见于 55 岁以上男性,预后差,中位生存期 3~5 年。

t(11;14) 易位使 11 号染色体上的 CCND1 (CyclinD1) 基因与 14q32 的 Ig 重链基因增强子并置而被激活。CCND1 (亦称为 PRAD1) 首先是在甲状旁腺瘤相关的易位中被发现受累的。t(11;14) 易位并不影响 CCND1 编码区读框的完整性,而是导致表达增高。CCND1 高表达可能促进细胞由 G1 期进入 S 期。CCND1 是 D 型 Cyclins 家族的一个成员,可激活 Cyclin 依赖激酶 (主要是 CDK4 和 CDK6)。CyclinD1-CDK 复合物又可与高度磷酸化的 pRb 结合,阻止 pRb 与转录因子如 E2F 的相互作用,使细胞不能进入 S 期。

除外套层细胞淋巴瘤和甲状旁腺腺瘤外,在乳腺癌和宫颈癌也发现有 CyclinD1 基因高表达。转基因小鼠实验也表明 CyclinD1 的高表达可使发生肿瘤的异感性增高。

四、淋巴浆细胞样淋巴瘤

在 REAL 分类中,淋巴浆细胞样淋巴瘤(Lymphoplasmacytoid Lymphoma)是一个独立的病理类型,其 50% 的病例伴有 $t(9;14)(p13;q32)$,B 细胞具有浆细胞表型(有细胞浆的免疫球蛋白和产生血浆副蛋白)。典型病例是经历一段缓慢进展期,随后发展为大细胞淋巴瘤。近来研究揭示, $t(9;14)$ 导致 PAX5(paired homeobox 5)基因与 14 号染色体上的 Ig 重链位点融合。PAX5 是 PAX 家族的一个成员。PAX 有两个独立的 DNA 结合功能域,与胚胎发育和器官形成有关。PAX5 在正常情况下是在胎脑和胎肝中表达,但出生后仅限于 B 淋巴细胞和睾丸。在转基因小鼠中,失去 PAX5 使 B 细胞发育停滞在前 B 淋巴细胞阶段,而该基因的过度表达导致脾 B 细胞增殖。PAX5 和它的靶基因(包括 B 细胞抗原 CD19、B 细胞浆酪氨酸激酶及 p53 肿瘤抑制基因)都是 B 细胞生长和发育过程中所必需的。 $t(9;14)$ 导致 PAX5 的过度表达使 P53 下调,并可能改变其它靶基因的转录活性,促进淋巴瘤的形成。除了 $t(9;14)$ 外,其它染色体也可与 9p13 发生易位,如 1q25、3q27、7q11、12q13、12q21、10p13 等。

五、弥漫性大细胞型淋巴瘤(Diffuse Large Cell Lymphoma,DLCL)

大细胞淋巴瘤占 NHL 发病率的 30%~40%,占死亡率的 80%。10%~12% 的大细胞淋巴瘤(包括弥漫性大细胞型,弥漫性混合细胞和免疫母细胞型)染色体异常累及 3q27,通常是 3q27 与免疫球蛋白重链(14q32)或轻链(2p12、22q11)位点发生重排。染色体易位累及 3q27 上一个锌指蛋白 Kruppel 样亚家族的转录因子基因 BCL6(也称为 LAZ3 或 BCL5)。BCL6 氨基端含有一个介导蛋白/蛋白相互作用的 POZ 结构域,可介导形成同二聚体,或介导与其它具有 POZ 结构域的转录因子形成异二聚体。BCL6 可识别并结合特异 DNA 序列,使受该序列调控的靶基因转录活性受抑制。

在 B 细胞发育过程中 BCL6 的表达不同。BCL6 在成熟的 B 细胞中表达,而在 B 系祖细胞或较成熟的子代细胞(如免疫母细胞或浆细胞)中不表达。在淋巴结内,BCL6 表达仅出现在生发中心和凋亡的 B 细胞或 B 细胞转变成的记忆细胞或免疫母细胞。BCL6 可能对生发中心 B 细胞的进一步分化或抑制 B 细胞凋亡有重要作用。

大约有 10%~20% 患者的 BCL6 基因重排只能在 DNA 分子水平检测到,而常规细胞遗传学方法不能发现染色体易位,说明重排可能发生在亚显微水平。通过 Southern blot 分析发现大约有 1/3 的 DLCL 有 BCL6 基因重排。重排发生在 45% 的单纯的 DLCL 病例中,也可出现在弥漫性混合细胞型淋巴瘤中。20% 与 AIDS 相关的 DLCL 病例有 BCL6 重排。但 BCL6 基因重排并不仅限于大细胞淋巴瘤,5%~14% 的 FL 也有 BCL6 基因重排。BCL6 重排与原发淋巴结外和无骨髓浸润的淋巴瘤相关,提示 BCL6 重排可能与化疗后相对较好的预后有关。

所有 BCL6 断裂点均发生在第一个外显子的非编码区内或其附近,BCL6 基因编码区读框不受影响。染色体易位使 BCL6 基因被置于另一启动子控制之下,导致 BCL6 基因

的异常表达,结果使 BCL6 对 B 细胞分化成浆细胞的下调作用受抑制。

除了染色体易位外,在 DLCL 和 FL 中还发现 BCL6 基因本身可发生突变。突变通常出现在 BCL6 基因的 5' 非编码区,且常为多发性和双位点。在正常或伴有 BCL6 基因重排的病例中均可发生 BCL6 基因突变,因此,突变的发生似乎与染色体易位无关。BCL6 基因突变见于 3/4 的 DLCL 和 1/2 的 FL,提示 BCL6 基因具有遗传不稳定性,并可能参与 NHL 的发病过程。

六、间变性大细胞淋巴瘤 (Anaplastic Large Cell Lymphoma, ALCL)

间变性大细胞淋巴瘤 (ALCL) 以前曾诊断为恶性组织细胞肿瘤、淋巴细胞缺乏的何杰金氏病、恶性黑色素瘤等,近来认为它是一种高度恶性的淋巴瘤。ALCL 具有形态特殊的特征性恶性细胞 (多形性核仁、染色质紧密、丰富胞浆),弥散分布在淋巴结的付皮质区的窦之间,并有 CD30 抗原的表达。CD30 抗原是属于神经生长因子/肿瘤坏死因子受体家族的一种,是与淋巴细胞激活有关的标记,在激活的 T 或 B 细胞或 HD 中的 R-S 细胞表达。免疫表型分析发现,绝大多数 ALCL 病例的淋巴瘤细胞表达 T 细胞标记,少数表达 B 细胞标记或无淋巴细胞标记。近来细胞遗传学分析发现,ALCL 相关的非随机的染色体易位为 $t(2;5)(p23;q35)$,但其发生率报道不一。

1994 年, Morris 等发现 $t(2;5)$ 易位导致形成一个融合基因 NPM (Nucleophosmin)/ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase)。NPM/ALK 融合蛋白的氨基端是 NPM 部分,羧基端是 ALK 部分。NPM 基因位于 5 号染色体,编码核仁磷酸蛋白,后者是一个高度保守、普遍存在的非核糖体 RNA 结合蛋白,往返于核仁和细胞浆之间,参与前核糖体颗粒装配的晚期阶段。NPM 基因转录和翻译受细胞周期调节,进入 S 期前达到顶峰而在 G2 期前降至最低水平。ALK 基因位于 2 号染色体,可能编码一个跨膜酪氨酸激酶型受体,与胰岛素受体亚家族成员,如白细胞酪氨酸激酶 (LTK)、胰岛素样生长因子受体 α 链、胰岛素受体 α 链等有很高的同源性。正常情况下,ALK 基因在神经组织中表达,在造血细胞没有表达。目前还不知道 ALK 的正常功能。在 NPM/ALK 融合蛋白包含 ALK 胞浆部分的激酶催化结构域。正常淋巴细胞中,ALK 基因的启动子处于静止状态。 $t(2;5)$ 易位可能使 NPM 基因启动子驱动 ALK 激酶功能区的转录,导致淋巴细胞中 ALK 激酶活性异常增高。另外,在 NPM/ALK 融合蛋白中,ALK 催化结构域的激酶活性可能因缺失膜外和跨膜区而失去控制,通过磷酸化激活有丝分裂信号通路上的底物蛋白,发挥其转化细胞的作用。体外细胞转化试验也证实了 NPM/ALK 的致癌能力。表达 NPM/ALK 的转基因小鼠,接受致死量放射线照射后,经过 3~4 个月的潜伏期最终发展为 T 细胞淋巴瘤。在体外,T 细胞的存活和生长依赖 IL-2,由此推测,NPM/ALK 可能作用于 IL-2 的下游分子,激活其中的信号传导途径。

PCR、FISH 和 Southern Blot 均可用于伴有 $t(2;5)$ 的 NHL 的诊断。另外,正常情况下淋系是不表达 ALK 的,故也可用抗 ALK 抗体检测 NPM/ALK 融合蛋白。用传统的组织形态学对 ALCL 进行诊断约有 1/3 误诊,故检测 NPM/ALK 融合基因或蛋白的这些方法有助于提高 ALCL 的诊断准确率。从已报道的 400 例 ALCL 中,NPM/ALK 的阳性率约 30%~35%。NPM/ALK 阳性的 NHL 几乎总是 T 细胞表型或无表型。NPM/ALK 表

达并不只限于 ALCL, 在其它的组织亚型如大细胞淋巴瘤中也有报道。在形态学上, ALCL 和非 ALCL 的大细胞淋巴瘤不太容易区别, 是否有些病例是 ALCL 的变异型还未弄清楚。一些 ALCL 病例, 尤其是有淋巴结纤维化和组织学上形态多样者, 在形态学和免疫学上与 HD 有重叠。例如, ALCL 和 HD 的 R-S 细胞都表达 Ki-1 抗原。目前还不清楚两者是同一疾病的不同形态变异型还是两种独立的病种。总的来说, 绝大多数 HD 没有 t(2;5) 易位。

(刘建湘、孟秀琴、陈赛娟)

参考文献

- 1 Mitelman F., Mertens F. and Johansson B. A breakpoint map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia. *Nature Genetics*, 1997, 15: 417~474
- 2 Henderson E. S., Lister T. A. and Greaves M. F. eds. *Leukemia*. 6th ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1996
- 3 Heim S. and Mitelman F. eds. *Cancer cytogenetics: Chromosomal and molecular genetic aberrations of tumor cells*. 2nd ed. New York, Wiley-Liss, 1995
- 4 Mitani K. Chromosomal abnormalities and oncogenes. *International Journal of Hematology*, 1996, 63: 81~93
- 5 Shurtleff SA, Buijs A, Behm FG, et al: TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis. *Leukemia*, 1995, 9: 1985~1989
- 6 陈竺, 王亚新主编 分子生物学与疾病. 上海: 百家出版社, 1994
- 7 Young BD: The molecular analysis of 11q23 abnormalities in leukemia. *Haematologica*, 1996, 1: 369~380
- 8 Rabbitts T. H. Chromosomal translocations in human cancer. *Nature*, 1994, 372: 143~149
- 9 Shivdasani R. A. and Orkin S. H. The transcriptional control of hematopoiesis. *Blood*, 1996, 87: 4025~4039
- 10 Raimondi S. C. Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 1993, 81: 2237~2251
- 11 Sawyers C. L. Molecular genetics of acute leukemia. *Lancet*, 1997, 349: 196~200
- 12 Look A. T. Oncogenic transcription factors in the human acute leukemia. *Science*, 1997, 278: 1059~1064
- 13 Magrath I. The pathogenesis of Burkitt's lymphoma. *Adv Cancer Res*, 1990, 55: 133~270
- 14 Packham G, Cleveland JL. C-Myc and apoptosis. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1242: 11~28
- 15 Zelenetz AD, Chen TT, Levy R. Histologic transformation of follicular lymphoma to diffuse lymphoma represents tumor progression by a single malignant B cell. *J Exp Med*,