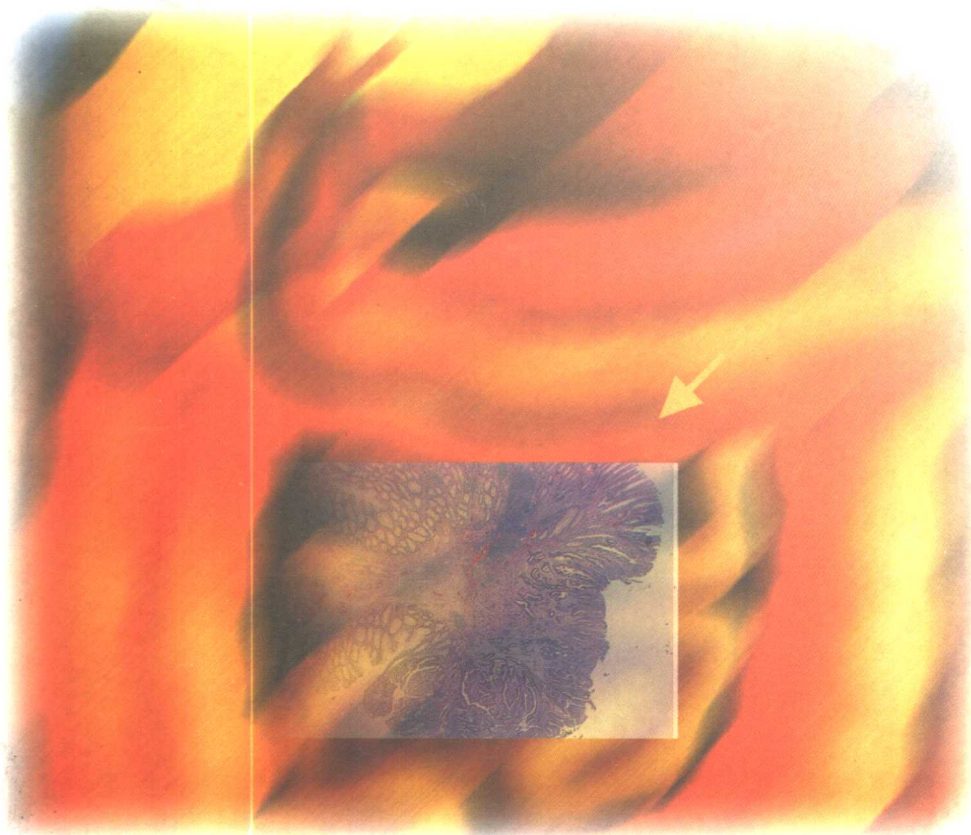


大肠癌

—早期诊断、治疗和预防

李世荣 主编



科学出版社

110494

大 肠 癌

——早期诊断、治疗和预防

李世荣 主编

科 学 出 版 社

2000

内 容 简 介

本书作者结合自身的临床经验和研究成果,对当今国内外有关大肠癌的新理论、新技术、新成果进行了系统介绍,其中突出了早诊、早治、早预防的临床实用内容。

全书共分十一章,第一、二章简要论述了近年有关大肠癌的分子生物学及病理学基本理论,第三至第十一章重点介绍了有关“三早”的实用技术。

该书内容新颖,图文并茂,对胃肠病专科医生以及从事大肠癌研究工作的医务人员有重要参考价值。

图书在版编目(CIP)数据

大肠癌:早期诊断、治疗和预防/李世荣主编. -北京:科学出版社,2000.2
ISBN 7-03-007855-1

I. 大… II. 李… III. ①大肠-肿瘤-诊疗②大肠-肿瘤-预防(卫生) IV.
R735.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 38845 号

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号
邮政编码:100717

科 地 亚 印 刷 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

2000年2月第 一 版 开本:787×1092 1/16
2000年2月第一次印刷 印张:24 3/4 插页:9
印数:1—5 000 字数:569 000

定价:60.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换(新欣))

《大肠癌》编写人员

主 编：李世荣

副主编：韩 英 张明智

编 者：（以章节为序）

韩 英 王鲁平 李虹义

李世荣 金懋林 张明智

盛剑秋 GP Young 柴富贵

PD Zalewski

序

大肠癌是我国较常见的胃肠道肿瘤之一。据 90 年代的统计,大肠癌在我国的发病率比六七十年代有倍增的趋势。在人口密集、经济发达、老龄化比重较大的城市,这一趋势更加显著。随着经济的发展和人民生活水平的提高,我国人民的膳食已从过去的以粮、菜为主向着以肉、蛋、奶类等高脂肪、高蛋白和低纤维素的饮食成分过渡。这种饮食结构的变化也是诱发大肠癌的重要原因之一。这预示着在 21 世纪,本病在我国的发病率将会有明显增加。因此,《大肠癌》一书的问世,对及时指导和推动我国大肠癌的防治工作,无疑具有重要的意义。

本书是从内科角度论述大肠癌的第一部专著。书的主编多年来从事于大肠癌的研究,又领导和参与过对大肠癌的大面积自然人群的普查,对本病的临床诊治和预防工作具有全面的理论知识和丰富的实践经验。其他编著者,也都是各自领域的行家。编者们将自己多年来积累的宝贵经验加以系统的总结,又融会国际、国内大肠癌研究方面的最新重要进展,予以综述,使书的内容更加丰富多彩。

全书 70 余万字,除第一章对大肠肿瘤的分子生物学研究作了概括的介绍外,其余内容对大肠癌的病理、临床诊断、普查、治疗和预防等诸多方面作了系统的论述。本书的特色之一是具有实用性,其内容侧重于临床,临床方面又重点突出早期诊断、早期治疗和预防。特色之二是,书中对各种诊断、治疗方法的优点和局限性多加以比较和评价,内容翔实,具参考价值。特色之三是全书对所引证的部分均附有注码,方便读者查阅。在出版之前,我有幸先学习了书的部分章节,深感本书对于内科临床工作者和从事肿瘤防治的人员是一部重要的参考读物,故愿在此推荐给广大读者。

潘国宗

一九九九年九月

前言

长期以来我国被认为是大肠癌低发国家，因而对其在我国的发病规律研究较少。近年一些临床和普查资料显示，我国大肠癌的发病率有逐年上升趋势，城市中这种趋势更加明显。80年代末，我们曾对华北地区十余万无症状人群进行了一次大规模普查，发现该人群大肠癌的发病率达24.31/10万，已接近世界中等发病率地区。随着我国经济的发展和人们生活水平的提高，人们的膳食结构也已从以糖类和高纤维素为主向以奶、蛋和肉类等高脂饮食为主过渡。众所周知，这后一种饮食结构正是诱发大肠癌的重要环境因素。经济发展后膳食内容的演变并不会因医学家的劝告而更改。因此，摆在临床学家面前的重要任务是，一方面要加强科普宣传，作好群众性预防工作，另一方面则是要加强大肠癌早发现、早诊断、早治疗工作的力度，有效地提高大肠癌患者无病生存率，改善他们的生存质量。为此，我们综合近年国际上相关学术领域的研究进展，结合自己的临床研究资料，撰写本书以作抛砖之举，祈望国内同仁推荐出内容更丰富、研究更深入的成果为我国大肠癌的防治工作贡献一份力量。

本书共分十一章，前两章重点介绍近年有关大肠肿瘤的分子生物学和临床病理学知识，后九章着重论述大肠癌早诊、早治、早预防的新技术。内容力求在介绍新知识、新技术的同时，结合临床，突出实用。为充实该书的内容，较全面地反映国外有关大肠癌预防方面的研究动态，我们聘请了国际上著名的大肠癌和胃肠病学专家 Dr. GP Young 专章介绍了近年有关大肠癌预防领域的最新动态。

由于编者学术水平有限，加之编写人员分散，因此在编写形式上，写作风格方面难以做到完全统一，书中缺点、错误或遗漏之处在所难免，敬请学术界前辈和同道批评指正。

本书出版过程中得到中华医学会消化学会主任委员潘国宗教授的指点和鼓励，并于初稿完成后赐序，组稿之初得到科学出版社的热情帮助，成文后消化科同事赵晓军、邹明、李静、范如英、朱翔等协助校对，借此该书出版之际一并表示深切的谢意。

还要特别感谢贝尔快检公司给予了大力支持和赞助，使本书得以尽快面世。

编者

1999年6月

目 录

序

前言

第一章 大肠肿瘤分子生物学	1
第一节 肿瘤遗传学	2
第二节 大肠癌变的分子模式	14
第三节 大肠癌前标志物	24
第四节 大肠癌的流行病学及环境因素	29
第五节 大肠癌预后的分子标志物	38
第二章 大肠癌早期诊断的病理学基础及进展	52
第一节 概论	52
第二节 大肠癌及有关病变的概念及术语的定义	52
第三节 散发性大肠癌的形态发展顺序及发生机制	54
第四节 大肠癌的相关疾病和癌前病变	57
第五节 与大肠癌发生有关的因素	72
第六节 大肠癌的病理形态学	73
第七节 大肠癌的扩散与转移	79
第八节 直肠癌局部切除的病理学标准及预后	80
第九节 大肠癌的预后因素	80
第三章 大肠癌高危人群的监测	88
第一节 初步预防措施——健康宣教与对策	88
第二节 大肠癌的患病危险	92
第三节 家族性大肠癌的诊断与处置	99
第四节 大肠腺瘤和大肠癌患者的检测	112
第五节 炎症性肠病中大肠癌的预防	122
第四章 大肠癌的早期诊断	140
第一节 大肠癌的诊断与误诊	140
第二节 大肠癌的早期诊断	142
第三节 发展中的早期大肠癌筛检技术	145
第四节 大肠癌早期诊断的策略	159
第五章 早期大肠癌内镜诊断及治疗	181
第一节 内镜下染色及放大、超声内镜检查	181
第二节 早期大肠癌内镜诊断程序及有关事项	196
第三节 隆起型早期大肠癌的内镜诊断	203
第四节 表面型早期大肠癌的内镜诊断	211

第五节 大肠腺瘤和早期癌的内镜治疗	219
第六章 大肠癌的内科综合治疗原则与化疗	234
第七章 大肠癌的放疗与热疗	268
第一节 大肠癌的放射治疗	268
第二节 大肠癌的温热疗法	278
第八章 大肠癌的介入放射学治疗	281
第九章 大肠癌的生物治疗	290
第一节 大肠癌非特异性免疫治疗	290
第二节 大肠癌特异性免疫治疗	296
第三节 大肠癌生物治疗应注意的问题	304
第四节 大肠癌基因治疗的现状与展望	306
第十章 大肠癌的中医治疗	317
第一节 概述	317
第二节 中医治疗大肠癌的基本思想	317
第三节 治疗大肠癌的常用中草药	320
第四节 治疗大肠癌的常用动物药	323
第五节 治疗大肠癌的常用中成药	324
第六节 中医治疗大肠癌的法则	325
第七节 大肠癌的辨证施治	332
第八节 中药与手术配合治疗大肠癌	360
第九节 中药与放疗联合应用治疗大肠癌	361
第十节 中药与化疗联合应用	362
第十一节 中医中药治疗大肠癌评述	363
第十一章 大肠癌的预防	365
索引	381
彩版	385

第一章 大肠肿瘤分子生物学

大肠癌的发生是一个复杂的过程,包含环境和基因缺陷两方面的诸多因素。从基因角度又可分为体细胞性和遗传性缺陷。目前已经明确,大肠癌与几种家族综合征有关,其中包括家族性腺瘤息肉病(family adenoma polyposis, FAP),遗传性非息肉病性结肠癌(hereditary non-polyposis colon cancer, HNPCC)等。了解上述遗传性基因改变对于此类综合征的早期诊断和预防是非常重要的。此外,与上述综合征有关的体细胞基因突变在散发性大肠肿瘤的发生和发展过程中亦有重要作用。

近年来,随着对大肠癌遗传易感性的研究的进展,导致对肿瘤发生内因的关注。借助生物技术的发展与应用,逐渐丰富了对肿瘤发生发展过程中分子生物学改变的认识,推动了临床诊断与治疗的分子水平的相应研究,为大肠癌防治提供了现代分子技术的基础。我国在这方面的的工作也逐渐展开,如各种大肠癌相关基因的研究;大肠癌遗传易感性及早诊筛检研究等。1986年,Vogelstein等结合大肠癌发生发展的形态学特征,根据已知的分子生物学改变,首次提出了大肠癌发生发展过程中分子生物学改变的模式图,动态反映了肿瘤在发生发展过程中多步骤、多基因、多阶段的过程。随着研究的深入,该模式也在不断加以充实。Kinzler和Vogelstein^[1]于1996年阐述了大肠癌从腺瘤演变为癌的遗传学模式,该模式中,除可见到与癌的发生有显性作用的癌基因和具有隐性作用的抑癌基因:APC、DCC、P53等以外,尚与处在早期阶段的DNA损伤错配修复相关的基因有关。目前至少有9~10个基因与之相关。此外,作者将家族性腺瘤性息肉病的腺瘤称之为早期腺瘤,非息肉病的腺瘤称之为过渡期腺瘤,非息肉性腺瘤伴局灶性癌变的称之为晚期腺瘤。根据他们提出的“腺瘤-癌”的遗传学模式理论,对上述不同时期腺瘤的基因改变进行了对比分析,阐明了APC、K-ras、DCC以及P53基因在大肠癌发生过程中的作用及意义。有些大肠癌源于正常上皮(原位癌、de novo),大多数大肠癌则由良性肿瘤(如腺瘤)衍变而来。通过对不同来源的病变及不同分期的肿瘤所作的研究分析发现了与大肠肿瘤发生、发展相关的癌基因和抑癌基因。已有不少文献报告,息肉切除可以降低大肠癌的发生率。组织病理学研究亦证实腺瘤性息肉的癌灶、异型增生和绒毛结构组织以及癌组织中含有残存的腺瘤成分。此外,结肠内有成百上千个腺瘤的FAP患者,如果不切除这些腺瘤,则最终肯定会发生癌变。因此,对于与腺瘤-癌演变过程有关的基因的研究意义更为重要。

本章主要论述与大肠肿瘤发生发展的不同阶段有关的多种分子缺陷,回顾人类肿瘤发生学方面有关癌基因与抑癌基因的研究,遗传性癌综合征的基因改变;基于肿瘤分子遗传学的研究为大肠肿瘤的发生机制提供了新的认识基础,因此从遗传学角度为预防和早期诊断大肠癌提供了新的解决途径;以及分子遗传学研究在临床处置大肠肿瘤的实践中的应用前景。

第一节 肿瘤遗传学

一、概述

大肠肿瘤的发生是一多步骤、多阶段的过程,主要由于癌基因功能增强(gain of function)、突变和抑癌基因及DNA修复基因功能缺失(loss of function)、突变所致。最初发现的是癌基因。在人类基因组中大约有10万个基因,已知其中高达100多个基因在发生突变后能够促进肿瘤形成。迄今只有为数很少的抑癌基因被发现和认定。DNA修复基因在大肠肿瘤发病机制中的作用只是近年才有报告^[2,3]。

(一) 癌基因

癌基因是正常细胞基因中突变的基因,通常称为原癌基因(protooncogen)。原癌基因一词并不是指这些基因潜伏在细胞中,其唯一作用就是促进肿瘤形成。确切的定义是指由于这些基因发生了突变而改变了正常结构和(或)表达方式,从而产生致癌性并发生功能改变。癌基因以显性方式发挥作用,促进肿瘤形成。遗传学术语称之为功能增强。所有癌基因的特征是促进肿瘤生长。例如将癌基因导入培养的细胞株则可使其出现恶性细胞生长特性。此外,癌基因在转基因小鼠表达后能够促进肿瘤形成^[2,3]。

原癌基因编码的蛋白质涉及胞核、胞浆和细胞外环境等多方面。尽管其在细胞中的定位不同,但其蛋白质产物的基因是调节细胞增生和分化的信号转导途径中的组成部分。

癌基因最初是在研究动物RNA肿瘤病毒时发现的。从鸡的Rous肉瘤中分离出具有转移功能的基因,命名为V-src。有意义的是,V-src其实并不是病毒基因,它是来源于一个正常的细胞基因或称为C-src的原癌基因。Rous肉瘤病毒的祖先显然是选中了C-src基因并使其发生突变,从而具有转移能力。上述发现证实,确实有一些正常的细胞基因被激活后能够使哺乳类细胞发生转移,如C-src逆转录病毒。但是上述发现并不能与人类癌发生学完全吻合,因为人类肿瘤中并未发现Rous肉瘤病毒类的逆转录病毒的存在^[4]。

人类肿瘤的形成过程中癌基因激活的三种常见机制为:点突变、染色体易位和DNA扩增。点突变导致的癌基因激活首先是用人类原发性肿瘤和细胞株制备的DNA通过啮齿类纤维母细胞转移分析法发现的。上述研究方法发现,人类胆囊癌细胞株(EJ或T27)突变的H-ras基因能够将一株啮齿类永生细胞株转变成为一株完全的肿瘤细胞株。ras基因点突变在大肠肿瘤发生机制中的作用,将在下文重点论述。

染色体易位至少通过两种方式激活原癌基因:将一原癌基因的蛋白编码序列和另一基因的调节序列合并,从而干扰了原癌基因的表达,其经典的实例是:Burkitt淋巴瘤myc基因激活就是因免疫球蛋白的基因序列并列易位而引起的。癌细胞中染色体易位是基因调节失控的最常见现象。有些染色体可导致一个新的融合蛋白质(fusion protein)合成,从而使其功能、结构均发生改变。例如,bcr-abl融合基因是在费城染色体阳性的慢性髓性白血病中发现的。此种病变系由于染色体9q和22q序列之间的易位造成的。分子学研究证实,此种易位改变致使abl原癌基因(一种酪氨酸激酶,可能参与正常细胞转录)易位

生成一种杂交转录单位,后者可能编码一种 bcr-abl 融合蛋白,从而改变其酪氨酸激酶的活性。其他易位可以生成嵌合体,可以致癌,也可以生成转导因子。染色体易位已在白血病和淋巴瘤中得到广泛证实,但在上皮组织肿瘤包括大肠癌中的发生频率、性质及意义均不清楚^[5]。

通过增加原癌基因的复制数(如基因扩增),则可导致基因表达调节失控。人类肿瘤中许多原癌基因的激活是通过此种机制,其中包括小细胞肺癌的 myc 基因,神经母细胞瘤的 N-myc 基因,神经胶质母细胞瘤的上皮生长因子受体(EGFR) 基因以及乳腺和卵巢癌的 NEU 基因。在某些癌中,通过基因扩增使原癌基因激活。例如,大约 40% 的神经胶质母细胞瘤有 EGFR 基因扩增。在某些肿瘤,原癌基因扩增对癌细胞生物学行为起到决定性作用。例如,N-myc 扩增与神经母细胞瘤的进展期有相关性。在大肠肿瘤的任何阶段,原癌基因扩增均不常见^[5]。

(二) 抑癌基因

最初的证据表明,抑癌基因的发现都是间接证实的。但是,许多啮齿类动物和人类肿瘤细胞发生学的体细胞遗传研究,提供了抑癌基因确实存在的可靠证据。Harris^[6]等人报告,细胞形成肿瘤的能力具有隐性遗传特性。如果将恶性肿瘤细胞与非恶性细胞融合,则可抑制小鼠肿瘤细胞在有性繁殖的动物体内的生长。这些细胞经数次传代后,再次转变成恶性细胞,且发现有染色体缺失。此后,Stanbridge^[7]等人利用杂交技术将人类肿瘤细胞株与人的正常二倍体纤维母细胞杂交。该杂交细胞株所包含的两种细胞的亲代染色体均受到抑制。一旦杂交的细胞出现染色体缺失,则细胞表现出恶变征象。由于某一个特异的染色体缺失与细胞恶变有关,提示单一染色体(甚或某一个基因)足以抑制细胞恶变。尽管体细胞遗传学研究并未发现抑癌基因的直接证据,但是上述实验确实提供了令人信服的间接证据。细胞中确实存在一些调节细胞生长的关键基因,这些基因能够抑制永生细胞甚或癌细胞的表型特征。Knudson^[8]等分析了视网膜母细胞瘤的年龄特异性发病情况后提出,视网膜母细胞瘤的发生必须经过两次“攻击”或“诱变”的假说。尽管视网膜母细胞瘤常为散发性,但在某些家系则以常染色体显性遗传的方式发病。因此,Knudson 提出,具有干细胞突变遗传类型的个体,存在着一个视网膜母细胞瘤的易感基因位点。此种初级突变对于肿瘤形成并非必需,因为即使在易感个体中亦仅有一个或几个视网膜母细胞瘤发生。因此,Knudson 提出第二次体细胞的突变是促进肿瘤细胞形成的必要条件。假设至少一个视网膜细胞在发育过程中发生体细胞突变,该假说解释了视网膜母细胞瘤罹患家庭的显性遗传类型。非遗传性视网膜母细胞瘤,两次突变均可能起源于同一细胞。有研究证实两次“攻击”发生在同一基因位点,最终导致视网膜母细胞瘤(RB)易感基因的两个等位基因全部失活。Knudson 的两次“攻击”假说不仅可以用于解释遗传性和体细胞基因改变在癌变过程中的作用机制,而且也将人类肿瘤隐性基因决定簇的概念与表现为隐性遗传的恶性肿瘤的体细胞遗传方式联系起来。

在过去的 10 余年中,分子遗传学研究发现,某一特定的染色体或染色区域缺失,即所谓的等位基因缺失或杂合体缺失(LOH)是人类肿瘤发生的特征。LOH 在肿瘤发病过程中的意义并不十分明确,因为在某些病例中受累的染色体区域内并未发现基因改变。但

是,根据 Knudson^[9]两次“攻击”假说推理,如果 LOH 使正常的或“野生型”抑癌基因的等位基因失活,其复制基因将会被更为局限的、更隐秘的突变所失活。上述推理已在人类肿瘤中 LOH 常易累及的数个染色体区域和抑癌基因中得到证实。

遗憾的是,迄今为止,只发现了 10 余个抑癌基因。这些抑癌基因在细胞内的突变以及各抑癌基因的蛋白质产物在调节细胞生长、分化等方面的特定功能亦不相同。与大肠癌发生学有关的抑癌基因常常由于等位基因缺失和另一个等位基因隐性突变的共同作用导致该抑癌基因失活,从而诱发肿瘤。

二、大肠癌基因改变的克隆选择

从分子遗传学的角度,肿瘤就是具有自主生长和体细胞遗传基因改变特征的细胞克隆增生。有关 X 染色体失活的研究支持上述学说。发生在女性胎儿发育初期的 X 染色体随机失活,所有子代细胞均从其亲代细胞遗传了同一特异 X 染色体失活基因,称为莱昂现象。大肠癌的研究发现,所有肿瘤细胞均为同一基因失活,证实其来源于一个单一的先祖细胞(克隆)。

依据肿瘤的均质性来检测 DNA 中体细胞突变的研究进一步验证了肿瘤的克隆选择学说。检测体细胞突变的经典技术需要在该肿瘤中至少 30%~50% 的细胞发生改变。观察这些突变的能力意味着在肿瘤进展过程中由于克隆选择的原因,绝大多数肿瘤细胞发生突变。

根据克隆选择学说,已发生改变的细胞株增生时可出现随机基因改变。此种情况发生在小腺瘤的早期。一旦发生基因改变则细胞生长迅速,不断膨胀,进而发展成为大腺瘤。这一新的细胞株进一步发生基因改变,当突变导致增生加速时,该细胞株则成为选择的克隆,继续增生。在肿瘤生长期间,上述过程周而复始,结果形成多突变选择,使肿瘤进一步生长。由正常组织发展为腺瘤再进展为浸润癌的过程是一系列基因改变的叠加作用和细胞克隆扩增的过程。该过程的关键在于,在肿瘤晚期检测出的大多数克隆体细胞改变对于该肿瘤的生长具有重要意义。

年龄依赖性肿瘤发生率的数学模型提示,在大肠癌浸润表型发生之前,至少有 5~6 个体细胞基因的改变。这些基因对大肠上皮的叠加“攻击”通常需要数年,典型的可达数十年。因此,大肠癌的发生与患者的平均年龄相关,一般在 70 岁时发生大肠癌^[10]。

三、导致大肠癌或其他肿瘤的基因改变

导致某一特定细胞增生并发展成为大肠癌或其他肿瘤的基因通常包括以下三类:

- (1) 原癌基因:突变后(成为癌基因)可促进细胞增生;
- (2) 抑癌基因:突变后不能调节细胞增生;
- (3) DNA 修复基因:突变后不能确保 DNA 复制的精确度,导致原癌基因和抑癌基因突变。

(一) 原癌基因

原癌基因是与肿瘤发生有关的第一类基因。最初发现时被认为是一些病毒,可诱导禽类和啮齿类动物发生肿瘤。以后的研究发现,此种可以致癌的基因序列其实是病毒宿主自身的正常 DNA 的延伸,病毒整合到这些 DNA 的基因组中并且异常表达。

正常基因即原癌基因编码的蛋白质与细胞生长和增生有关。当原癌基因发生改变并且异常表达时则成为癌基因。癌基因编码的蛋白质导致本应处于正常静止状态或死亡的细胞异常增生。激活原癌基因的机制包括点突变(例如 ras 基因)、基因扩增(例如 C-myc 基因)及染色体易位(例如 bcr/abl)。所有上述改变均导致基因表达失控或生成具有异常功能的嵌合体蛋白。除 K-ras 外,与大肠癌相关的癌基因为数不多。但是,少部分大肠癌中确实有 C-myc, myb 或 NEU 等癌基因突变^[11]。

癌基因曾被认为是 Harvey 和 Kirsten 小鼠肉瘤病毒的转化物质。最初,研究人员发现了三种哺乳类 ras 癌基因(H-ras, K-ras, N-ras),均编码 21kD 蛋白质。ras 癌基因的重要性在于其出现率较高,大约占全部恶性肿瘤的 15%,占大肠癌的 50%^[11]。此外,将突变的 ras 基因导入适当的细胞中可诱发恶变^[12];抑制大肠癌细胞株的 ras 基因功能则可逆转其细胞增生状态,使细胞生长速度得到控制。

ras 蛋白是三磷酸鸟苷酶超家族的成员。该类蛋白质广泛调控细胞的加工处理,作为关键性的中继环节,调节各类细胞表面受体和胞核间的信号通路。哺乳类已发现了 40 余种不同的 ras 类基因蛋白,这些基因蛋白在低等动物中亦存在,这进一步表明 ras 蛋白在细胞调节方面的重要作用。除了对细胞增生和分化方面的作用之外,ras 基因蛋白亦参与细胞骨架的控制和多种膜载细胞成分之间的交通调节^[13]。此外,还涉及血管形成、凋亡等途径。大量的通过 ras 介导的途径说明,不论在这些途径的上游或下游发生任何基因突变均可导致与 ras 基因突变同样的后果。因此,这些基因可以作为被攻击的原癌基因或抑癌基因,导致肿瘤形成。

K-ras 基因生成的异常蛋白质是 ras 基因超家族的唯一蛋白质产物,是大肠新生物中常见的突变型蛋白质。位于密码子 12 或 13 上的一个等位基因突变约占大肠癌中原癌基因 K-ras 突变的 90%。此种突变的结果是生成一个结构性活性蛋白,是以三磷酸鸟苷结合形式存在。该变异型蛋白通常刺激下游信号转导途径,影响细胞分裂。

有关大肠肿瘤的 K-ras 基因激活时间尚有争议。最初认为小腺瘤的基因突变不常见,基因突变发生于小腺瘤向大腺瘤进展过程中,大肠癌进展期的基因突变频率与大肠腺瘤基本一致。但是,有人报告约有 13%~58%的变异型灶性隐窝(aberrant crypt foci)中有 K-ras 基因突变,而变异型灶性隐窝已被认为有可能是大肠癌的癌前病变^[14~16]。目前认为,K-ras 基因激活是大肠癌的早期征象。有意义的是,相当一部分增生性息肉中亦可见到 K-ras 基因突变,尽管这些息肉并不是癌前病变。

ras 基因是正常细胞生长的正性调节因子,单个等位基因突变足以使细胞表型改变,即基因结构改变。即使仅在单个染色体的基因突变,也可致其表型改变。国外对 K-ras 基因突变与大肠癌相关性进行了研究,发现 K-ras 阳性率较高。

1993 年国内首先报道了 35 例手术切除标本中,中国人结肠癌细胞中 K-ras 基因突

变占 7%, 其中 11 例发生于第 12 密码子, 1 例发生于第 61 密码子, 同时成功地在 33.3% (6/18 例) 的结肠癌患者的粪便中用非放射性核素方法检测到突变的 K-ras 基因片段, 为分子诊断提供了可能^[17]。

1994 年对我国大肠癌细胞系 HR8348 及 Hce8693 K-ras 基因的点突变进行了分析, 以 PCR-RFLP 结合直接测序方法在我国首次证实存在 K-ras 第 12 密码子的点突变, 其方式均为 GGT-GAT, 未发现第 13 和 61 密码子的突变。1996 年以细胞 K-ras 反义寡核苷酸抑制 Hce8693 细胞生长, 观察其生物效应, 以 RT-PCR 并结合 PCR 产物直接测序法证明: 人大肠癌细胞系 HR8348 及 Hce8693 K-ras 的 cDNA 片段(第 3~83 密码子)中存在第 12 密码子 GGT-GAT 突变。与野生型和上述突变型 K-ras 第 9~15 密码子互补的 18 聚硫代磷酸型寡核苷酸能抑制 Hce8693 细胞生长, 并有 P21 ras 蛋白表达量的抑制, 而与野生型 K-ras 互补者及随机合成者均无明显抑制作用, 说明 c-K-ras 反义寡核苷酸对 Hce8693 细胞生长和 P21 ras 蛋白合成抑制作用存在明显的核苷酸序列特异性^[17]。

1996 年, 根据突变的 ras12 蛋白常发生单个氨基酸置换而成为肿瘤特异性蛋白的研究, 以 ELISA 法对 160 例结肠癌, 40 例正常人血清测定有无 ras 12 抗体。结果发现, 结肠癌的阳性检出率为 31.8%, 正常对照为 2.5% (1/40 例)。有 2 例结肠癌患者的外周血中, T 细胞对 ras D2 多肽反应突变的 ras 蛋白或多肽片段具有免疫原性^[17]。

有人^[18]提出人类大肠腺癌来源于腺瘤或非异型粘膜, 并且发现 K-ras 和 APC 基因改变与腺瘤的癌变有关。为了确定不同的致癌方式(不同的致癌物 and 不同的接触时间)是否通过不同机制引起癌症, 他们给大鼠直肠注入 1,2-二甲基肼(DMH)或 N'-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)3 周或 15 周(每周剂量相同), 通过组织病理学对肿瘤进行分析, 同时检测 K-ras 和 APC 基因有无突变。应用 15 周组在开始注入 DMH 或 MNNG 的 20 周之后发生肿瘤, 其中绝大多数是不伴有低度异型增生的癌(即使体积 < 20mm³), 且在整个实验周期中均以此种类型的肿瘤为主。因此可以推测, 这些肿瘤从一开始就是癌。与此相反, 3 周组于注入 DMH 或 MNNG 后 30 周才观察到肿瘤, 其中大多数是伴有低度异型增生的癌。此外, 在该组中, 30 周时主要为腺瘤, 且整个实验期间数目无明显变化, 但是伴有低度异型增生的癌数目增多。上述结果提示, 3 周组的癌最初是腺瘤。此外, 3 周组的癌组织中没有检测到 K-ras 基因变异。上述研究表明, 在大鼠结肠发生的癌, 不论是从腺瘤-癌顺序演变而来, 抑或是始发癌, 取决于与致癌物接触时间的长短。尽管这些基因改变并非完全与人类的情况相似, 但是这些发现仍有助于理解人类腺瘤-癌顺序演变过程和始发癌在病原学上的不同。

(二) 抑癌基因

抑癌基因的概念来源于 Knudson 的视网膜母细胞瘤发生假说。根据遗传性视网膜母细胞瘤在幼年发病且呈双侧性, Knudson 提出, 两次“攻击”是此类肿瘤发生的原因。后来的研究证实, 家族性视网膜母细胞瘤的特征是一条突变(失活)的视网膜母细胞瘤(RB)基因复制遗传, 加上另一条基因复制的随机性体细胞失活导致视网膜母细胞瘤。由于除了遗传性的种系突变外, 只需要一次体细胞“攻击”, 因此肿瘤常在幼年时发生, 且为双侧性。反之, 散发性视网膜母细胞瘤则需要通过随机体细胞突变致使两个野生型 RB 基因均失活。

因此,散发性视网膜母细胞瘤罕见,发病年龄较大,通常只有一侧受累。

Knudson 假说中有关两次“攻击”致使抑癌基因失活的假说,已被证实是肿瘤发生的主要机制之一。已有文献报告,一个抑癌基因的两个等位基因失活常涉及两种不同的突变机制,因此进一步支持两次“攻击”假说。一个抑癌基因的一种复制常常由于基因的原因而引起突变,如点突变或小的移码缺失或插入,该抑癌基因的另一种复制失活常常是由于一大段染色体甚至染色体的一条整臂缺失所致。有关大的染色体区域缺失导致的抑癌基因失活的实验研究有助于发现其他的抑癌基因。识别肿瘤中染色体缺失的一个基因区域可作为确定重要的抑癌基因的一个标志。十几年前,有人曾利用肿瘤核型技术(一种相对粗糙,敏感性较低的方法)来检测抑癌基因。近年来,DNA 分析技术取得了很大进步,可将肿瘤中获取的 DNA 与正常组织的同源性 DNA 进行比较。为了确定具有潜在重要性的抑癌基因的相对位置,研究人员对肿瘤中染色体杂合体缺失(等位缺失)的基因位点进行了检测。Vogelstein^[19]等利用等位基因分型技术(allelotyping)分析了大肠癌染色体缺失的基因位点。尽管这些染色体位点中的许多位点已被证实是抑癌基因,但在大多数病例中特定的抑癌基因仍不清楚。此外,大多数染色体臂上的杂合体“背景性”缺失(background LOH)率约为 5%~15%,其意义尚未明确。

1. APC 基因

在家族性腺瘤性息肉病(FAP)的基因缺陷的研究中发现了结肠腺瘤性息肉病基因(APC 基因)。目前已证实,在所有大肠新生物的发生、发展过程中,APC 基因是最重要的因素之一。根据 FAP 患者的正常组织和肿瘤组织的细胞学和连锁分析首先证实:APC 基因位于染色体 5q21~22,并通过定位克隆技术得以确认。APC 基因的种系突变可作为 FAP 家族成员的筛检标志。此外,由于散发性大肠癌亦有染色体 5q 的缺失,因此有人调查分析了非家族性大肠癌患者的 APC 基因。结果发现,大多数散发性大肠癌存在 APC 基因突变。已知,不论是散发性抑或 FAP,APC 基因突变均发生在肿瘤的初始阶段,即病理学检查仅见异型增生的微小腺瘤或变异型灶性隐窝。上述发现提示,APC 基因失活是大肠癌最早期的改变,可能是大肠癌的启动因素^[20,21]。

大量证据表明,APC 基因是一种抑癌基因。FAP 患者为 APC 基因种系突变,而后在大肠癌细胞中发生体细胞等位基因突变或缺失导致恶变;而散发性大肠肿瘤患者则为体细胞的两个等位基因失活。90%以上的 APC 基因突变导致其失活,结果造成转录提前终止。许多实验已经证实,体细胞 APC 基因的等位基因突变或缺失与 FAP 患者的结肠外表现有关,例如硬纤维瘤、十二指肠腺瘤、胃癌和壶腹周围癌等。还有一种学说认为,某些 APC 基因突变可能系一显性负效应方式,阻断了野生型蛋白的功能,因此不需要第二次“打击”,即可具有致癌性^[22]。

种系和体细胞 APC 基因突变主要导致 APC 蛋白羧基端的部分缺失,提示 APC 基因中抑制生长活性的功能残基可能位于该区域。大多数 APC 基因突变为小的缺失或数个碱基对插入或无义点突变,极少数为错义突变。APC 基因的移码突变可以出现在短的 DNA 重复序列的延伸部分,其原因可能与 DNA 错配修复失败有关。

种系 APC 基因突变与体细胞 APC 基因突变的分布有明显不同。种系 APC 基因突变的两个突变热点密码子为 1061~1063 和 1309~1311,大约占有 APC 基因种系突变的

20%，其结果导致 FAP。但是，体细胞 APC 基因突变主要发生在一个称为“突变密集区”内。该区包含密码子 1286~1513，其中最常发生突变的是密码子 1309~1311 和密码子 1450。以上发现提示，肿瘤生长的原因与“突变密集区”内密码子选择性突变有关。以多发性息肉为表型的 FAP 患者的血缘亲属种系突变的调查资料亦证实了上述发现。在这些亲属中，突变发生在密码子 1285~1465。需要说明的是，APC 基因 3' 末端极少发生突变^[10]。

APC 基因是一个大的“管家”基因，并且在许多组织中均有表达。该基因由 19 个外显子组成，其中 6 个交替表达。APC 基因负责编码一个含有 2843 个氨基酸的蛋白质。有研究报告，APC 基因产物与许多蛋白质相互作用。APC 基因可以与自身结合（同源寡聚体化），可与 β -Catenin 和 EB1（一功能未明的蛋白质）结合，亦可与细胞骨架微管成分结合。

APC 蛋白的中央部分的残基包括三个 β -catenin 结合位点。这些结合位点都在可进行磷酸化的位点附近。发生 APC 基因突变的大多数肿瘤细胞中，这些 APC 蛋白的磷酸化位点缺失或截断。实际上，在“突变密集区”截断的 APC 蛋白仍能够形成二聚体，也可以与 β -catenin 结合，但已不能进行磷酸化，不能改变细胞内 β -catenin 水平，而且不能和细胞骨架微管结合。Catenin 是细胞骨架与肌动蛋白丝（参与细胞与细胞间粘附分子）和钙依赖性粘附分子（Cadherin）结合的一个超家族蛋白质。可以想象，APC 基因失活可以干扰细胞与细胞间以及细胞与间质组织间的相互作用，导致异常增生。突变的 APC 蛋白通过调节细胞内有活性的 β -Catenin 的水平可以影响细胞间的粘附。

有人提出，APC 蛋白可以看作是腺瘤发生发展进程中的一个分子“守门人”（gate-keeper）^[23]。根据上述观点，APC 基因失活可以导致细胞无序分裂而不死亡，从而造成无序增生。APC 基因除了影响细胞-细胞间和细胞-间质之间的相互作用外，还可通过诱导凋亡来发挥“守门人”的作用。此外，APC 蛋白通过调节细胞周期素-细胞周期素依赖性激酶（CDK）复合物的活性来调控细胞周期。APC 蛋白超表达可以阻断 G₀ 期和 G₁ 期细胞向 S 期过渡，而 APC 蛋白的这一超表达作用可被细胞周期素 E-CDK₂ 或细胞周期素 D₁-CDK₄ 所拮抗。尽管 APC 蛋白调节细胞周期素-CDK 复合物，但是 APC 介导的细胞周期阻断与其他抑癌基因（例如 P53 和 RB 基因）产物无关。

最近的研究结果发现，APC 基因通过下述机制调节细胞生长：①调节细胞粘附；②维持肌动蛋白和细胞骨架的微管成分；③参与多种细胞信号途径，包括细胞周期进程和凋亡。

FAP 是由 APC 基因种系突变引起的一种较为罕见的常染色体显性遗传综合征。FAP 与 APC 基因完全外显性有相关性，其在普通人群中的种系突变频率约为 1/10 000^[24]。FAP 发病的年龄差异较大，往往在 20~40 岁之间，临床表现为数百甚至数千个结肠腺瘤。如果这些腺瘤未经治疗，发展至浸润性癌的平均年龄为 44 岁，较散发性大肠癌早 20 年。此外，FAP 患者常发生结肠外病变，包括先天性视网膜色素上皮增生，胃、十二指肠息肉，硬纤维瘤、骨瘤、肝胚胎瘤、脑瘤及内分泌系统病变等。大约 20% 的 FAP 患者无家族史^[25]。目前认为，此类患者系携带新的自发性种系突变的 APC 基因。

FAP 综合征是 Knudson 两次“攻击”假说的强有力证据。临床上，青年时期出现多发性病变说明靶器官的所有细胞具有遗传性突变，而体细胞的另一条等位基因失活可以发生于任何细胞。因此，体细胞等位基因突变是肿瘤发生的一个次要因素。有人报告，结肠早期癌前病变（<1mm 的小腺瘤和变异型灶性隐窝）时，APC 基因的两条等位基因均失

活^[14]。

有关 FAP 的基因型-表型之间相关性的研究亦有报告。已经证实, FAP 有数种不同的表型, APC 基因突变的特定位点与特定的表型有关。轻型结肠腺瘤性息肉病 (attenuated adenomatous polyposis coli) 的特点是发病年龄较晚, 结肠腺瘤数量较少。此类家族成员的 APC 基因种系突变区多集中在 APC 基因的氨基末端, 通常位于前 157 个氨基酸。与轻型结肠腺瘤性息肉病相反, 重型(多发性) 结肠腺瘤性息肉病 (profuse adenomatous polyposis coli) 的患者其表型则为多发性息肉(息肉多达 5000 个以上)。重型(多发性) FAP 表型的血缘亲属往往是 APC 基因种系突变, 且主要发生在“突变密集区”。

与 FAP 有关的结肠外病变中, 先天性视网膜色素上皮增生可作为 FAP 外显性的早期诊断标志, 其突变发生在密码子 463~1387 之间^[26]。约有 2/3 的 FAP 家族有先天性视网膜色素上皮增生。加德纳(Gardner)综合征也是一种独特的 FAP 表型, 其特点是结肠息肉病合并骨瘤、皮样囊肿、皮肤纤维瘤。加德纳综合征的基因突变发生在密码子 1403~1578 之间, 而该区域的密码子突变并不引起先天性视网膜色素上皮增生。最近有证据表明, 以大肠癌合并神经胶质母细胞瘤为特征的 Turcot 综合征家族可以表现为 FAP, 并携带已发生种系突变的 APC 基因^[27]。

尽管各种不同表型 FAP 的基因突变集中在某些区域, 但是同一位点突变而表型各异的情况亦很常见。甚至有些来自同一家族的成员亦有突变位点相同而表型不同的现象。例如, 有人对来自 11 个不同家族但突变均发生在密码子 1309 的 FAP 患者进行了分析研究, 结果发现变异范围极大^[28]。其中, 结肠息肉数为 3.8~13.1/cm²; 诊断结肠癌时年龄自 19~62 岁不等; 结肠外病变的百分率为 0%~100%。研究人员从上述现象得到启发, 进一步寻找能够影响 APC 基因突变后果的一些独立的修饰基因位点。所谓修饰基因是指能够修饰一个突变基因的表现形式, 而对正常状态无明显影响的一些基因。利用 FAP 小鼠模型(min 模型, 即多发性肠道新生物模型—multiple intestinal neoplasia 的英文缩写)的实验发现一个修饰基因, 称为 Mom1(modifier of min 的缩写), 位于小鼠的第 4 号染色体。该基因的人类同源基因分析则发现其位于人类染色体 1p35~36, 且编码分泌性磷脂酶 A₂, 在轻型 FAP 患者中未发现该基因的任何表达^[29]。

最近, 大鼠动物实验中又发现一个具有强力修饰作用的基因位点, 称为 COX-2, 编码前列腺素合成酶。缺乏该基因功能性复制的动物大肠腺瘤的数量明显减少^[30]。人类结肠肿瘤组织中该基因产物较高。对该基因产物的研究为 FAP 及散发性大肠癌干预性治疗开辟了一条新的途径。应用环氧化酶抑制剂如非类固醇类抗炎药(NSAIDs)可以显著降低 FAP 患者及大鼠模型的大肠息肉数量。FAP 可作为研究遗传与环境相互作用对大肠腺瘤发病率影响的一个较好模型。

自从将预防性大肠结肠切除术广泛用于治疗 FAP 以来, 死于结肠癌的 FAP 患者明显减少; 接受预防性手术切除的 FAP 患者术后 30 年生存率约为 70%。因此, 目前 FAP 的主要死因是肠道外肿瘤, 其中最主要的是硬纤维瘤和乳头周围癌^[31]。

APC 基因属抑癌基因, 不仅与家族性结肠腺瘤性息肉病(FAP)有关, 而且是散发性大肠癌形成的一种重要抑癌基因。APC 基因编码区含 15 个外显子, APC 基因的失活是大肠肿瘤发生的早期分子生物学改变, 且稳定保持此状况于肿瘤发生发展的全过程。其突变点 50%~75%位于 15 外显子 5'端, 95%以上突变是因形成终止密码, 因而产生了不全