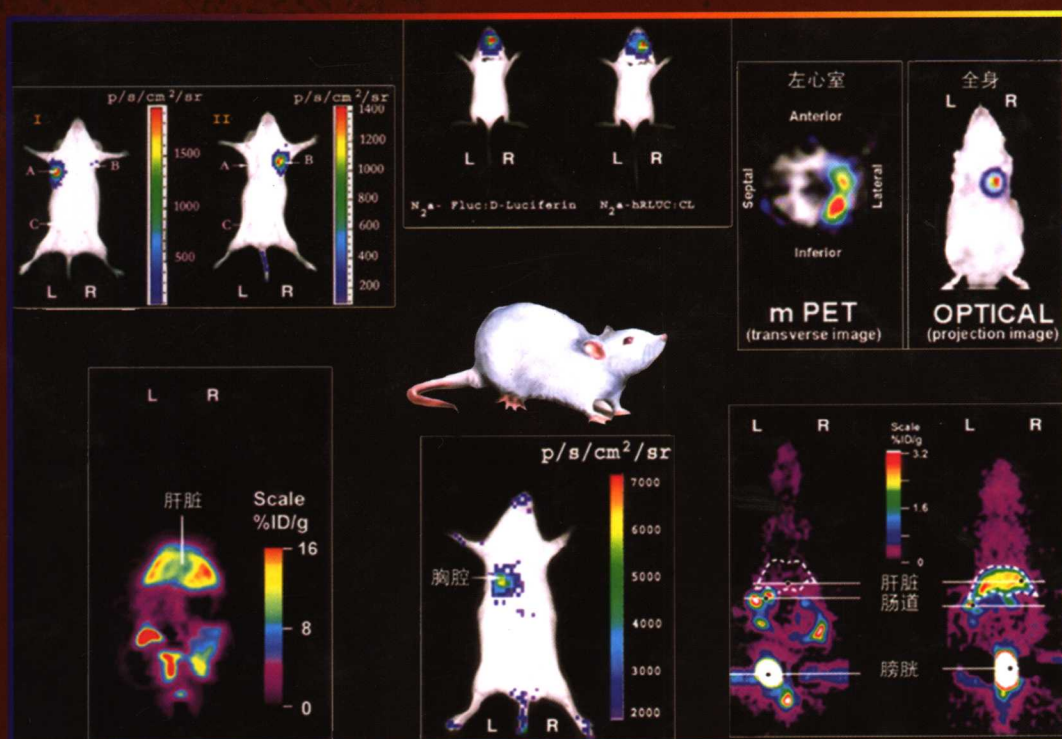


肿瘤靶向分子影像

李林法 主编



科学出版社
www.sciencep.com

肿瘤靶向分子影像

主 编 李林法

副主编 张敏鸣

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

全书共分十七章,涵盖了肿瘤分子诊断,肿瘤靶向分子影像基础,靶向影像放射性药物,靶向非特异性显像,放射免疫显像,受体显像,肿瘤 PET 及 PET/CT 显像,靶向 MR、CT 和超声成像,淋巴结靶向影像,肿瘤血管生成显像,细胞凋亡和乏氧显像,信号传导显像,基因表达显像,光学成像及肿瘤分子介入治疗等诸方面内容。

本书将理论与实践相结合,内容新颖、全面、系统而又重点突出,图文并茂,对临床医学及研究人员进一步了解现代肿瘤诊断研究技术,特别是对了解分子水平的影像诊断研究技术具有重要的参考价值,同时也适合医学院校研究生、本科生及科研人员使用。

图书在版编目(CIP)数据

肿瘤靶向分子影像/李林法主编. —北京:科学出版社,2006

ISBN 7-03-017327-9

I. 肿… II. 李… III. 肿瘤-影像诊断 IV. R730.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 054212 号

责任编辑:农 芳 黄 敏/责任校对:张 琪

责任印制:刘士平/封面设计:黄 超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2006 年 7 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2006 年 7 月第一次印刷 印张:33

印数:1—3 000

字数:757 000

定价:88.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈科印〉)

《肿瘤靶向分子影像》编写人员

主 编 李林法

副主编 张敏鸣

编 者 (按姓氏拼音排序)

敖建阳 冯靖祎 蒋天安 李林法 刘振锋 楼 岑
楼海燕 沈文华 王 敏 王照明 闻世凤 武新英
肖文波 徐 勤 徐晓俊 张 军 张 琳 张敏鸣
赵 葵 赵春雷 周 华 邹 煜

编写秘书 朱阳军

序 一

现代医学的发展日新月异,随着影像医学与分子生物学等学科的发展和相互融合,医学影像的发展将从解剖病理学的影像时代逐步走向靶向分子影像时代。

靶向分子影像与经典的临床影像不同,它是探测疾病过程中细胞和分子水平的异常,而不是这些细胞和分子改变的终效应——解剖学改变的成像,也就是运用影像学手段显示组织水平、细胞和亚细胞水平的特定分子,反映活体状态下分子水平变化,对其生物学行为在影像方面进行定性和定量评价,为临床早期诊断、治疗和疾病的研究提供分子水平信息。

肿瘤是威胁人类健康的主要疾病之一,是当前的医学难题,而肿瘤的早期诊断和早期治疗是提高生存率和改善预后与生活质量的关键,影像诊断在肿瘤早期发现中发挥着重要作用。

对靶分子的特异性成像可以早期检测和揭示肿瘤信息,能用更特异的参数来提高其诊断的准确性和可靠性,而且在肿瘤患者出现症状前即可从分子水平上确定有无肿瘤,更直观地了解肿瘤的发展过程,用于肿瘤的早期诊断、分期、转移与复发的监测及疗效评估,对于临床肿瘤内、外科的科学治疗具有极大的帮助。

核医学影像(SPECT、PET、PET-CT等)、磁共振成像以及光学成像等是实现靶向分子影像的主要手段,在肿瘤的诊治中有着举足轻重的作用。肿瘤靶向分子影像基于上述技术的发展而出现,它是一门前沿、交叉学科,涉及面很广。近年来,该领域发展迅速,成绩喜人。该书编者参照了大量国内外医学文献,以靶向性与分子影像为中心,全面介绍了肿瘤靶向分子影像基础、技术、方法和应用现状及展望,前瞻性地组织编写了这本书。

这是一部系统介绍肿瘤在分子代谢、基因水平影像诊断研究的著作,该书的出版对于致力于肿瘤基础及临床研究的广大医学工作者,特别是为在现代医学技术条件下从事肿瘤影像工作的人员提供一部非常有价值的参考书,也有助于促进分子影像技术的发展。

中国工程院院士
浙江大学医学院附属第一医院院长
郑树森
2006年6月

序 二

《肿瘤靶向分子影像》包括肿瘤基础、各种肿瘤靶向分子影像诊断技术以及临床应用等共十七章,各章节均由各作者精心撰写。从肿瘤基础方面如癌基因、抑癌基因、肿瘤的生化 and 免疫诊断技术等循序渐进,逐步深入讨论肿瘤的各种显像技术,例如在现代医学领域中的放射免疫显像、受体显像、PET 显像以及肿瘤血管生成显像、基因显像、光学显像等先进技术。

PET(PET/CT)显像是肿瘤诊断的成熟技术,在临床上应用日趋广泛,而 PET 技术对药物的药代动力学、定量药物引起的生化反应以及药物机制的研究,几乎是当今最佳的方法,该书均有深入的介绍。

书中还介绍了 MRI、CT 和超声靶向分子成像技术,从基本原理、概念和发展趋向方面作了深入的描述,还介绍了 MRS 及弥漫加权成像应用于脑、前列腺、骨骼、肝脏、乳腺肿瘤等疾病,它们所表现的不同波谱和信号是可靠诊断的基础。此外, ^1H MRS 在各种肿瘤中的表现与体内生化代谢的变化和出现的各种波谱有关,此技术目前仍处于研究阶段,本书亦作了前瞻性的介绍。

一些正在发展的显像技术,如与血管生成是否丰富相关的肿瘤血管生成显像;信号转导途径不同的信号转导显像;在基因水平上早期诊断疾病和评价疗效的基因表达显像;无损伤、非侵入、非电离辐射、实时探测活体组织的光学成像等章节,虽然多处于发展阶段,但这些领域具有潜在、广阔的应用前景,编著者参阅了最新文献,做了全面的综合性介绍,对读者非常有益。

该书各章节均体现了理论与实践相结合的原则,有些章节是编著者自己实践经验的总结,一些清晰的图表支持了文字的叙述。

多学科交叉的医学影像学技术的阐述,使从事单一影像工作的专业人员可集中了解现代分子影像在肿瘤诊断方面的作用,并了解其他影像学科的知识和发展趋向。

书中最后一章介绍了当前热门课题,即肿瘤基因治疗。

该书的出版将对国内医学影像学科起到促进作用,将为从事肿瘤基础研究、肿瘤临床、肿瘤影像的各级医务人员和研究生提供优秀的参考书。

上海交通大学附属第六人民医院

上海市第六人民医院

马寄晓

2006 年 6 月

前 言

恶性肿瘤已日益成为危害人类健康和生命的主要疾病之一,研究人员正在进行不懈的努力以冀能早日攻克肿瘤。但到目前为止,肿瘤的发生、发展尚有许多关键性的问题未能明了,因而,肿瘤的防治也只能从肿瘤的早期诊断和科学有效的治疗入手,特别是肿瘤的早期发现是肿瘤防治的重要方面。

医学影像在肿瘤的诊治过程中有着举足轻重的作用,特别是近几年由于分子生物学和影像技术的发展,肿瘤诊断研究技术也有了飞快的发展,肿瘤影像也超过了原有的解剖和病理学范畴和概念,深入到了组织、细胞、分子、基因水平,使代谢图像、分子图像、基因图像有了发展。肿瘤分子影像学已成为 21 世纪持续发展的新影像学的特征。它的成像基础是基于肿瘤早期在代谢分子细胞水平的改变,而并非一般影像学所显示的疾病发展过程中较晚期的形态学变化。对靶分子的特异性成像可以进行早期检测和揭示肿瘤,在代谢分子水平评估疗效方面,更直观地了解肿瘤的发展过程,具有传统影像手段和方法所不具有的优点。

肿瘤靶向分子影像是一门新兴交叉学科,实现上述目标的技术手段主要有核医学影像(SPECT、PET 或 PET/CT)、MR 成像、光学成像等,虽然它们尚处于初步阶段,但相信未来随着靶向分子影像药物(探针)及不断改进和创新的影像学诊断技术和设备进入临床,肿瘤靶向分子影像必将得到更大的发展和应用,为肿瘤的早期诊断和科学有效地治疗创造条件。有鉴于此,我们参阅了国内外大量文献,并结合自己的临床实践经验,组织编写了《肿瘤靶向分子影像》,希望对国内肿瘤临床及基础研究工作者,特别是肿瘤影像诊断工作者有所裨益,也为造福人类尽我们的一份力量。

全书共分十七章,前四章主要介绍了肿瘤分子生物学基础、肿瘤分子诊断、肿瘤靶向分子影像设备、靶向影像放射性药物等;后面十三章主要介绍靶向非特异性显像、放射免疫显像、受体显像、肿瘤 PET 及 PET/CT 显像、靶向 MR、CT 和超声成像、淋巴结靶向影像、肿瘤血管生成显像、细胞凋亡和乏氧显像、信号传导显像、基因表达显像、光学成像及肿瘤分子介入治疗和 PET 在抗癌药研制和使用中的应用等诸方面内容。

本书编写过程中得到了同行许多老师的关心、鼓励、支持和指导;也得到了浙江大学医学院附属第一医院领导和科学出版社领导及编辑的支持和帮助;另外,本书参考了许多同行的有关专著、文献、图表,在此一并表示衷心的感谢和崇高的敬意。

由于肿瘤靶向分子影像在国内外都刚刚起步,有一些技术尚处于探索阶段,而我们又缺乏一定的实践经验,所以,尽管我们尽了最大努力,但不足之处在所难免,肯请指正并请谅解。

李林法

2005 年 11 月

目 录

第一章 肿瘤基础	(1)
第一节 肿瘤分子生物学.....	(1)
第二节 肿瘤生化	(12)
第三节 肿瘤免疫	(16)
第四节 肿瘤病理	(20)
第二章 肿瘤的分子诊断	(30)
第一节 肿瘤的免疫诊断	(30)
第二节 肿瘤的基因诊断	(37)
第三章 肿瘤靶向分子影像基础	(45)
第一节 发射型计算机断层成像	(45)
第二节 磁共振成像技术	(58)
第三节 光学分子成像	(63)
第四节 小动物成像研究	(66)
第四章 肿瘤靶向影像放射性示踪药物	(70)
第一节 概述	(70)
第二节 肿瘤叶酸受体	(71)
第三节 肿瘤乏氧显像	(80)
第四节 肿瘤细胞凋亡显像	(82)
第五节 肿瘤血管生成显像	(84)
第六节 分子成像探针	(86)
第五章 放射免疫显像	(98)
第一节 肿瘤特异性抗体	(98)
第二节 鼠单克隆抗体的人源化.....	(106)
第三节 标记抗体制备.....	(110)
第四节 标记抗体的检测.....	(112)
第五节 放射免疫显像技术及影响因素.....	(113)
第六节 放射免疫显像的临床应用.....	(116)
第六章 肿瘤受体显像	(126)
第一节 受体概述.....	(126)
第二节 受体显像.....	(129)
第三节 肿瘤受体显像.....	(134)
第七章 肿瘤靶向非特异性影像	(167)
第一节 概述.....	(167)

第二节	^{67}Ga 肿瘤显像	(168)
第三节	^{201}Tl 肿瘤显像	(176)
第四节	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmin 及 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{V})$ -DMSA 肿瘤显像	(182)
第五节	骨转移肿瘤核素影像	(195)
第八章	肿瘤 PET 影像	(204)
第一节	概述	(204)
第二节	肿瘤 PET 显像类型及显像剂	(204)
第三节	^{18}F -FDG PET 显像	(209)
第四节	肿瘤 ^{18}F -FDG PET 显像的临床应用	(218)
第五节	PET 与生物适形调强放疗	(259)
第九章	肿瘤靶向 MRI、CT 和超声成像	(269)
第一节	磁共振成像靶向造影剂	(269)
第二节	磁共振波谱分析	(280)
第三节	弥散加权成像与弥散张量成像	(292)
第四节	磁共振灌注成像	(301)
第五节	CT 灌注成像	(311)
第六节	磁化传递对比成像	(316)
第七节	肿瘤靶向超声造影剂	(319)
第十章	淋巴结靶向影像	(327)
第一节	概述	(327)
第二节	前哨淋巴结	(328)
第三节	核素靶向影像	(333)
第四节	靶向 MR 影像	(338)
第五节	靶向超声微泡影像	(339)
第十一章	肿瘤血管生成成像	(343)
第一节	血管生成与肿瘤	(343)
第二节	核素肿瘤血管生成显像	(350)
第三节	超声血管生成成像	(358)
第四节	CT 肿瘤血管生成成像	(364)
第五节	MR 肿瘤血管生成成像	(375)
第十二章	细胞凋亡和乏氧显像	(388)
第一节	概述	(388)
第二节	细胞凋亡与肿瘤	(389)
第三节	细胞凋亡显像	(398)
第四节	乏氧显像	(401)
第十三章	信号转导显像	(407)
第一节	信号转导	(407)
第二节	信号转导与肿瘤	(412)

第三节	肿瘤信号转导显像·····	(413)
第四节	其他一些肿瘤阳性显像·····	(415)
第十四章	基因表达显像·····	(419)
第一节	概述·····	(419)
第二节	肿瘤基因及其调控机制·····	(419)
第三节	基因表达显像的手段·····	(426)
第四节	分子显像的探针药物·····	(432)
第五节	克服分子显像中生物屏障·····	(435)
第六节	基因表达显像的具体应用·····	(437)
第十五章	光学成像及活体显微术·····	(452)
第一节	概述·····	(452)
第二节	弥散光学断层成像·····	(453)
第三节	近红外线荧光成像·····	(456)
第四节	其他光学成像技术·····	(461)
第五节	绿色荧光蛋白基因成像·····	(466)
第六节	肿瘤活体显微术·····	(472)
第十六章	PET 在抗癌药研制和使用中的应用 ·····	(479)
第一节	PET 在药物研究和发展中的应用 ·····	(479)
第二节	PET 在肿瘤学研究和发展中的必要性与挑战 ·····	(481)
第三节	抗癌药物的药代动力学研究·····	(482)
第四节	抗癌药的药效学研究·····	(484)
第五节	四种抗癌药治疗反应及预后的成像介绍·····	(486)
第十七章	肿瘤分子介入治疗·····	(490)
第一节	肿瘤分子治疗·····	(490)
第二节	肿瘤免疫治疗·····	(493)
第三节	肿瘤基因治疗·····	(499)
第四节	细胞移植·····	(507)

第一章 肿瘤基础

第一节 肿瘤分子生物学

经过多年来的研究和探索,人们认识到正常细胞转化成肿瘤细胞是多种因素相互作用、相互影响、长期积累的结果。恶性肿瘤的发生是调控细胞增殖、发育和分化所依赖的细胞特定基因群所属的基因发生结构异常和(或)异常表达的结果,所说的基因群对特定的组织细胞来说涉及两种类型:一类是对细胞生长起正调控的癌基因,另一类是对细胞生长起负调控的抑癌基因。迄今为止,已有 100 多种癌基因和 20 余种抑癌基因得到分离和鉴定。癌基因和抑癌基因的发现,验证了多基因、多步骤、多阶段的肿瘤发生理论和学说。

一、癌基因

(一) 癌基因的概念和分类

癌基因研究最早起源于对 Rous 肉瘤病毒(RSV)的研究,RSV 是 1911 年由 P Rous 从鸡肉瘤中分离到的第一个急性转化反转录病毒(图 1-1-1)。由于分子生物学及信息科学的飞跃发展,肿瘤分子生物学的研究日新月异,近 20 年来,癌基因一词的概念和含义有了很大的变迁。最初认为癌基因是反转录病毒中所含有的可引起正常细胞转化的基因序列,现在比较统一的癌基因概念应包括病毒癌基因和细胞癌基因。在反转录病毒中能使靶细胞发生转化的基因被称为病毒癌基因(V-oncogenes),而在细胞中业已存在的能使正常细胞转化成肿瘤细胞的基因,被称为细胞癌基因(C-oncogenes)。正常细胞中的癌基因也被称为原癌基因(proto-oncogene),它们在细胞的正常生长、分化中起着重要作用,具有以下特点:①所有

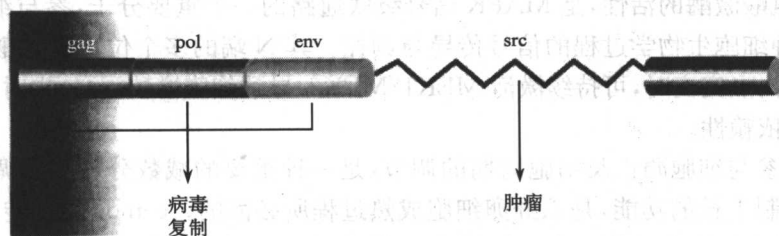


图 1-1-1 Rous 肉瘤病毒的基因结构

单链 RNA 基因组有四个基因组成,其中三个与病毒复制有关:病毒壳蛋白(gag)、病毒反转录与整合酶(pol)及病毒表面糖蛋白(env)。src 基因即病毒癌基因

的反转录病毒癌基因都能在宿主细胞中发现其同源序列,即细胞癌基因为病毒癌基因的同源物。②从进化角度看具有高度保守性,细胞癌基因不仅存在于灵长类和人类,也存在于低等的果蝇和酵母,其外显子序列极为保守。③正常情况下,细胞癌基因转录活性极低。

癌基因的分类方法多种,现根据其在细胞生命活动过程中的主要功能分为以下五类(表 1-1-1)。

1. 生长因子类 生长因子是一类多肽分子,能与相应细胞表面受体结合而刺激细胞分裂增殖。生长因子作用于细胞,引起细胞分裂增殖的过程一旦发生异常,则可导致细胞生长行为的改变。

sis 基因是第一个被发现能编码生长因子的癌基因,其产物与血小板生长因子(PDGF) β 链同源。sis 基因的过度表达,引起具有 PDGF 受体细胞的转化,如成纤维细胞、平滑肌细胞。将 sis 基因导入 PDGF 受体阳性细胞可引起细胞的转化。

2. 生长因子受体类 一些癌基因与生长因子受体基因同源,如 erbB 基因和上皮生长因子(EGF)受体基因同源,trk 编码神经生长因子(NGF)受体,met 编码肝细胞生长因子受体,fms 基因与单核巨噬细胞集落刺激因子(CSF-1)受体基因同源。

已有研究证明,癌基因 erbB 仅编码 EGF 受体的跨膜和胞内部分,而缺乏膜外部分,这种结构上的改变使其具有转化性质,即可以无需 EGF 的结合就能彼此形成二聚体,表现为 EGF 受体酪氨酸激酶的持续活化,刺激细胞增殖。其他编码生长因子受体的癌基因如 erbB-2、kit、ros、met、ret 等,其编码产物均有 N 端生长因子结合区的缺失。这些生长因子受体结构的不同改变或过度表达,最后均表现为受体酪氨酸激酶的活性过高,导致细胞异常增殖。

3. 细胞内信号传导分子类

(1) 非受体型蛋白酪氨酸激酶:属于这一类的癌基因很多,有 src、yes、fes、fps、fgr、abl 等,其基因产物位于胞浆膜内面,为非跨膜蛋白,均具有使酪氨酸磷酸化的蛋白激酶活性,它们相互间在酪氨酸激酶活性中心都有很强的同源性,具有相似的基因编码结构,提示来源于同一远祖基因的可能性。已知酪氨酸激酶是细胞内生长信号传导通路的重要组成部分,癌基因的激活可以导致细胞内酪氨酸激酶活力持续增高,进而引起细胞的持续生长。

(2) 丝氨酸/苏氨酸激酶:至今所发现的丝氨酸/苏氨酸激酶都是可溶性胞浆蛋白,而且都属于磷酸化反应链的成员,包括 mos、cot、pim-1 和 raf 等癌基因编码蛋白。Raf 蛋白具有丝氨酸/苏氨酸激酶的活性,是 MAPK 信号级联通路的一个重要分子,参与细胞增殖、分化、凋亡等多种细胞生物学过程的信号传导与调控。其 N 端的多个位点受磷酸化调控,若 N 端缺失、融合、点突变时,可持续激活 MEK1/MEK2,导致细胞增殖,并失去对豆蔻酰化以及 gag 序列的依赖性。

Mos 蛋白参与细胞凋亡及细胞周期的调节,是一种重要的减数分裂成熟调节剂,在爪蛙卵中具有抑制生长的功能,是爪蛙卵细胞成熟过程所必需的。c-mos 经反转录病毒转导后,使之在成纤维细胞中异位表达,可促使细胞提前进入 M 期,而致染色体断裂。许多瘤细胞的非整倍体核型可能与之有关。

(3) 具有 GTP 酶活性的蛋白:ras 基因是第一个被克隆并分离成功(1982 年)的癌基因,也是迄今为止研究最多的癌基因之一。ras 基因的发现证实了具有 GTP 酶活性的蛋白

表 1-1-1 原癌基因及其功能和鉴定方法

原癌基因	蛋白产物功能	基因鉴定方法
生长因子类		
sis	血小板来源生长因子	反转录病毒同源性
int-2	生长因子	插入突变
生长因子受体类		
erbB	酪氨酸激酶/EGF 受体	反转录病毒同源性
erbB-2(neu/HER-2)	酪氨酸激酶	基因转染
fms	酪氨酸激酶/CSF-1 受体	反转录病毒同源性
kit	酪氨酸激酶/Steel 受体	反转录病毒同源性
trk	酪氨酸激酶/NGF 受体	基因转染
ret	酪氨酸激酶	基因转染
met	酪氨酸激酶/肝细胞生长因子受体	基因转染
sea	酪氨酸激酶/肝细胞生长因子受体	反转录病毒同源性
ros	酪氨酸激酶/肝细胞生长因子受体	反转录病毒同源性
mas	血管紧张素受体	基因转染
信号传导分子类		
abl	酪氨酸激酶	反转录病毒同源性
fes	酪氨酸激酶	反转录病毒同源性
fgr	酪氨酸激酶	反转录病毒同源性
lck	酪氨酸激酶	插入突变
src	酪氨酸激酶	反转录病毒同源性
yes	酪氨酸激酶	反转录病毒同源性
raf	丝氨酸/苏氨酸激酶	反转录病毒同源性
mos	丝氨酸/苏氨酸激酶	反转录病毒同源性
pim	丝氨酸/苏氨酸激酶	插入突变
H-ras	结合 GDP/GTP	反转录病毒同源性
K-ras	结合 GDP/GTP	反转录病毒同源性
N-ras	结合 GDP/GTP	基因转染
gsp	G 蛋白	突变
gip	G 蛋白	突变
转录因子类		
erbA	T3 受体/DNA 结合	反转录病毒同源性
ets	DNA 结合	反转录病毒同源性
fos	DNA 结合/同 Jun 形成 Ap-1 复合物	反转录病毒同源性
jun	DNA 结合/同 Fos 形成 Ap-1 复合物	反转录病毒同源性
myb	DNA 结合	反转录病毒同源性
c-myc	DNA 结合	反转录病毒同源性
L-myc	DNA 结合	扩增法
N-myc	DNA 结合	扩增法
rel	DNA 结合	反转录病毒同源性
ski	DNA 结合	反转录病毒同源性
细胞程序性死亡调节类		
bcl-2	膜蛋白/凋亡	染色体易位

(引自 D. K. Baltimore, 1992. Protooncogenes and Tumor Suppressor Gene in Neoplastic Hematopathology. Williams & Wilkins)

在肿瘤发生中的作用。ras 基因家族包括三个成员 H-ras、K-ras 和 N-ras,这三种癌基因编码的产物的相对分子质量都为 21 000,故又称其为 P21 蛋白,其 N 端序列高度保守。Ras 蛋白是膜结合小分子 G 蛋白,也有 Ras · GDP 非活性状态及 Ras · GTP 活性状态且保持动态平衡。它具有多种功能,参与细胞的生长分化及凋亡、细胞分泌、细胞骨架形成、细胞周期及多种基因的转录。图 1-1-2 显示了 ras 信号通路模式图。ras 基因和人体肿瘤的关系最为密切,在很多肿瘤中都能检测到 ras 基因的活化,通过点突变引起的基因激活是 ras 基因家族的最主要激活形式。突变后 Ras 蛋白 GTP 酶活性降低,Ras · GTP 不能及时转换为 Ras · GDP,呈持续性活化状态。

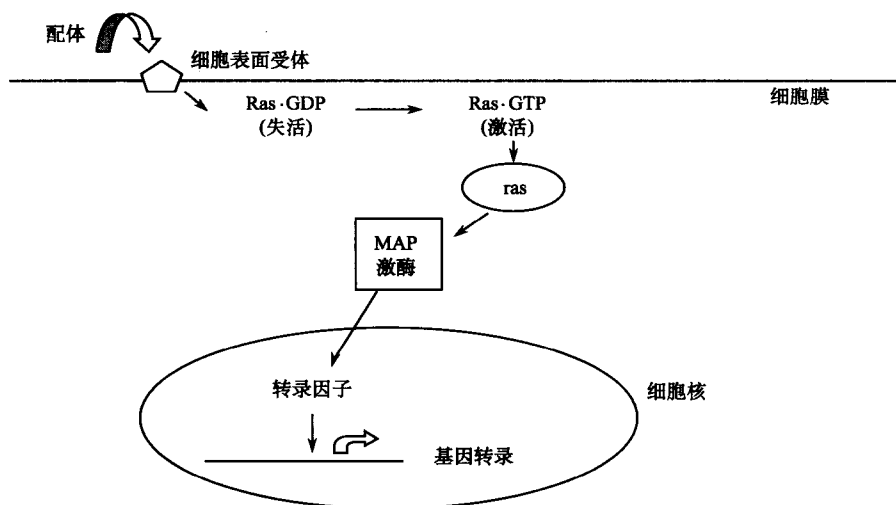


图 1-1-2 ras 激活导致基因转录示意图

4. 转录因子类 核转录因子蛋白类癌基因包括 myc、myb、c-fos、c-jun、erbA、rel、ski 等基因。这些基因的结构各不相同,但其编码产物都在细胞核内,与多种基因的转录表达调控有关,通过蛋白质与特定 DNA 序列的结合影响下游基因的转录活性。各类转录因子常含有共同的 DNA 结合区,如锌指结构、亮氨酸拉链等,且至少有两个功能区:DNA 结合区和转录活化区。

转录因子 AP-1 被发现于 1987 年,之后证明了 AP-1 就是 Fos、Jun 的二聚体。c-jun 家族的蛋白产物可自身形成同源二聚体,也可和 c-fos 家族的蛋白产物形成异源二聚体,后者的稳定性更好一些。而 c-fos 家族的蛋白产物只有和 c-jun 家族形成异源二聚体才能有蛋白活性。c-fos 和 c-jun 两个家族形成有活性的蛋白二聚体而发挥作用有以下优点:能更精确地调控转录;通过形成二聚体,少量的蛋白即能形成具有不同组合、不同特性的大量转录因子。AP-1 对许多基因的转录活性起上调作用。其活性与肿瘤的发生发展有密切关系。

c-myc 家族包括有 c-myc 基因、n-myc 基因、l-myc 基因和 b-myc 基因。myc 基因具有高度的保守性,除哺乳类外,在禽类、两栖类乃至鱼类基因组中都可以发现 myc 的同源基因。三种 Myc 蛋白都位于细胞核内,具有螺旋-环-螺旋的特殊蛋白结构,许多研究结果证实 Myc 蛋白在结合 DNA 调节基因转录前必须先和 Max 蛋白结合形成异源二聚体才有活性。

Myc 蛋白的过表达刺激相关基因的转录而有助于细胞的增殖和肿瘤的形成。c-myc 基因的表达还可促进细胞通过细胞周期早期阶段的一些限速环节。高表达的 Myc 蛋白还能诱导细胞凋亡。

1986 年, c-erbA 基因被证实是高亲和性的甲状腺受体基因, 其表达产物和甲状腺受体同源。ErbA 蛋白是癌基因产物中第一个被发现的转录因子。c-erbA 家族至少有四个成员: c-erbA α_1 、 α_2 和 c-erbA β_1 、 β_2 。和其他的核内激素受体一样, 氨基端结合 DNA, 羧基端有激素结合区。当其结合激素时, 可促进红细胞分化基因的表达。在细胞发育的调节中, 可能是阻止细胞进入终末分化而停留在高度增殖的未成熟状态, 最终促进细胞的增殖。故 c-erbA 被认为是一个显性负调节癌基因。

5. 细胞程序死亡调节类 迄今为止, bcl-2 是癌基因中唯一被发现参与调节细胞程序死亡相关的基因。bcl-2 的活化能抑制淋巴细胞的程序化死亡, 导致某些淋巴瘤的发生。bcl-2 编码的蛋白位于线粒体内膜、内质网和核膜。Bcl-2 蛋白可能作为抗氧化剂而抑制胞膜脂质过氧化, 从而抑制细胞凋亡。

(二) 细胞癌基因的激活机制

细胞的原癌基因是细胞的正常基因, 在正常的情况下也能进行表达, 与细胞的正常生长、分化、代谢有一定关系, 但相对而言, 是处在抑制状态, 即低表达或其产物处于低活性状态。一定的条件下, 原癌基因通过点突变、基因扩增和染色体重排等方式被激活成为致癌基因。由于肿瘤的发生是多基因、多步骤的过程, 不同的致癌因素往往通过不同的机制使原癌基因活化。在肿瘤的形成过程中, 一个原癌基因可以涉及不同的激活机制, 而不同的致癌因素也可以通过同一种机制激活原癌基因, 主要常见的激活机制可概括为以下几个方面:

1. 突变 原癌基因的突变是原癌基因异常活化的重要机制之一。突变方式有碱基取代(点突变)、缺失和插入等。在人类肿瘤中, 最常见的突变是原癌基因点突变, 碱基取代后引起蛋白质单一氨基酸的改变。

点突变常见于 ras 基因, 大约 15%~20% 的人类肿瘤有 ras 点突变。c-ras 基因是最早和研究最多的点突变原癌基因。用 DNA 转染技术证明, 活化 ras 基因与原癌基因相比, 有一个核苷酸位点的突变, 这些突变集中在 c-ras 基因编码区的第 12、13 和 61 密码子, 引起 ras 基因产物 P21 蛋白的第 12 号氨基酸突变(通常是甘氨酸被缬氨酸取代)及第 13、61 号氨基酸突变。这些位点的氨基酸置换可以引起 P21 蛋白结构改变, 从而改变其生物学功能。对膀胱癌的研究结果表明: 和膀胱癌有关的 H-ras 癌基因所编码合成的 P21 蛋白与正常相比, 差异在于第一外显子第 12 密码子的鸟嘌呤被胸腺嘧啶所取代(G→T), 即 P21 蛋白第 12 位点上的甘氨酸被苏氨酸取代。正是这一个碱基的改变使原癌基因被激活, 进而使细胞有可能恶性变。进一步研究还证明, 在同一原癌基因中, 使其被活化的某个点突变可以出现不同的突变, 即不同的核苷酸可以分别取代同一位点的核苷酸, 同一密码子内不同的位点或不同密码子内也可以出现这种突变。

插入突变是导致原癌基因异常活化的另一重要形式, 非转化性反转录病毒调节区如果整合到原癌基因附近, 通过基因重组可为原癌基因提供更强的启动子。1981 年, Hayword 等发现禽类白血病病毒(ALV)感染细胞后可以激活细胞的 c-myc 原癌基因, 诱发鸡 B

细胞淋巴瘤。ALV 本身并无转化细胞的能力,但其前病毒两端的长末端重复序列(LTR)具有启动子作用,插入到细胞 *c-myc* 基因的上游附近或基因内部,可使 *c-myc* 活化。*c-erbB*、*c-mos*、*H-ras* 也可通过插入突变而异常活化,参与癌变发生。已证实有 70 个以上的原癌基因是通过非转化性反转录病毒整合而被活化。

缺失突变同样可引起癌基因异常活化,*src* 和 *erbB* 是最典型的例子,编码序列的部分缺失导致截短蛋白产生。*c-src* 编码一个相对分子质量为 60 000 的非受体型的蛋白酪氨酸激酶,位于其 C 端的酪氨酸残基(Tyr527)磷酸化具有调节其蛋白自身活性的作用。突变的 *src* 常缺失其 C 端部分编码序列,产生一个包括 Tyr527 在内的缺失截短的 Src 蛋白,致蛋白酪氨酸激酶活性增高。*c-erbB* 是 EGF 受体的编码基因,EGF 受体具有细胞外区、跨膜区和具有酪氨酸激酶活性的胞内激酶区。*mt-erbB* 缺失其 N 端序列及 C 端部分序列,因而编码蛋白缺失细胞外区和细胞内区的 C 端部分,但仍保留其跨膜区及 C 端的胞内激酶区,截短蛋白可自发二聚化,引起细胞转化。

2. 原癌基因扩增 目前普遍认为原癌基因扩增和细胞的恶性转化有关,扩增的基因因为基因组 DNA 大量复制,在细胞内常出现成对微小染色体(DMs)和同源基因均染色区(HSRs)两种核异形,而这两种核异形通常见于肿瘤细胞。在人类肿瘤中常可观察到 DMs 和 HSRs。基因扩增可引起转录 RNA 增多,进而翻译蛋白增多,表现为基因异常活化。

研究表明,原癌基因 *myc*、*erbB* 和 *ras* 的扩增在人类肿瘤中最为常见。大约 10%~20% 的乳癌、卵巢癌和鳞状细胞癌有 *c-myc* 基因的扩增,*N-myc* 基因在神经母细胞瘤中的扩增常提示预后较差;*c-myc* 在小细胞肺癌中亦常有扩增。*erbB* 基因在 50% 的胶质成纤维细胞瘤及 10%~20% 的头颈部鳞状细胞癌中均有扩增,将近 15%~30% 的乳癌和卵巢癌中有 *erbB-2*(*HER/neu*)基因的扩增,且同预后有关。而 *ras* 基因家族成员在各种肿瘤中均有散在性的扩增。

3. 染色体易位与基因重排 细胞原癌基因和细胞的其他基因一样,编码序列(外显子)在 DNA 链上不是连续的,而是被间隔序列(内含子)分隔开的。当染色体出现易位、交换等改变时,可使原癌基因被置于强转录活性的启动子控制下而被激活。反转录病毒具有一种与细胞转座子类似的结构可使基因在染色体内移动,可以引起基因重排;理化因素可以通过产生和暴露 DNA 重组位点引起基因重排。而染色体上有一些与细胞原癌基因密切相关的脆弱位点,它们易受致癌因素的作用而断裂,使染色体发生易位,进而原癌基因发生重排。已知通过这种机制活化的细胞原癌基因至少有 *c-myc*、*c-abl*、*c-mos* 和 *c-erbB* 等。而基因重排的另一种机制是易位切断部位的基因相互融合形成一嵌合基因,产生一融合蛋白。

染色体易位与基因重排在血液系统恶性肿瘤中极为常见,被认为是其遗传性特征。Burkitt 淋巴瘤是因染色体易位而引起基因活化的最好例子。在 Burkitt 淋巴瘤中,85% 发生 *t*(8;14)(q24;q32)的易位,使位于 8q24 的 *c-myc* 基因易位到 14q32 的免疫球蛋白重链基因的转录调节区附近,使 *c-myc* 置于 Ig 基因增强子控制下,引起 *c-myc* 基因的活化,导致细胞的增殖。有些 Burkitt 淋巴瘤 *c-myc* 基因也可易位到免疫球蛋白轻链的基因调节区附近而被活化(8q24→2p12)。在急性 T 淋巴细胞白血病中(ALL),*c-myc* 基因通过 *t*(8;14)(q24;q11)易位于 T 细胞受体 α 基因的附近而被活化(8q24→14q11)。

20 世纪 60 年代初,已经发现 Ph 染色体是慢性髓性白血病(CML)的特征性病变,是

t(9;22)(q34;q11)易位所形成的标记染色体,见于 90% 的 CML 病例。至 20 世纪 80 年代初,证实 *abl* 原癌基因位于 9 号染色体的断裂点(q34),并易位至 22 号染色体(Ph 染色体)末端的断裂部位 22q11,与位于该处的 *bcr* 基因融合,形成一个 *bcr-abl* 融合基因,表达 Bcr-Abl 融合蛋白。融合蛋白因缺乏 Abl 的 N 端部分序列,致 Abl 蛋白酪氨酸激酶活性异常增高。将此融合基因转染正常鼠骨髓细胞,可发生鼠白血病,与 CML 非常相似。说明该染色体易位是 CML 的原因。

综上所述,原癌基因的激活可能是肿瘤发生过程中的一个关键步骤。同一个癌基因可通过不同机制活化,不同的致癌因素也可以通过同一方式激活癌基因。癌基因的活化机制常随不同肿瘤而异。如在血细胞肿瘤和软组织肉瘤中,常通过基因重排激活各种癌基因;在结肠癌和肺癌等上皮细胞来源的实体瘤中,常有癌基因和抑癌基因的突变。基因扩增则发生于肿瘤进展期,如 *erbB-2* 基因的扩增常见于乳癌晚期。应该注意的是,癌基因的激活是个复杂的相互协同的过程,一个癌基因的活化在同一致癌过程中常涉及不同机制。激活的癌基因可以产生量和(或)质异常的基因产物,进而在一些内外因素的协同下通过细胞增殖、分化的复杂过程,最终导致肿瘤。

二、抑癌基因

癌基因发现稍后,人们通过体细胞杂交和对遗传性肿瘤的研究,发现另一类与细胞生长有负调节作用的基因,其功能缺失也可导致肿瘤的发生。这一类基因被称为抑癌基因(suppressor gene)或肿瘤抑制基因(tumor suppressor gene)或隐性癌基因(recessive oncogene)。其最初的概念是由 Knudson 提出的,他对视网膜母细胞瘤的遗传基础进行了研究,发现肿瘤的形成需要 13 号染色体上(13q14)的两个等位基因的同时缺失或失活,这表明可能是这两个等位基因的存在抑制了肿瘤的形成,故称之为抑癌基因 Rb。Rb 基因是人类细胞中第一个被发现的抑癌基因,随后许多抑癌基因如 p53、WT1、APC、p16、NF1、NF2、BRCA 被陆续克隆鉴定,进一步加深了人们对肿瘤发生机制的认识。

(一) 抑癌基因存在的证据和研究

1. 细胞融合实验 肿瘤细胞(HeLa 细胞)与正常人成纤维细胞融合后形成非致瘤的杂交细胞,即正常细胞抑制了肿瘤细胞的致瘤能力,但这种抑制现象仅发生在细胞杂交后的早期传代中,这与杂交细胞的核型多不稳定、易于丢失某些染色体有关,当它们失去了某些来自正常细胞的染色体(如 13 号或 11 号染色体)时,就又恢复了恶性细胞的表型。这说明在正常细胞的染色体上存在有抑制细胞恶性表型的基因,它们的丢失使抑制解除,使细胞的恶性表型重新出现。

此外,不仅正常细胞与肿瘤细胞的融合能够抑制恶性表型,即使是两种不同的肿瘤细胞融合,也能抑制恶性表型,说明不同细胞的融合相互补充了缺失的基因,该基因对肿瘤的生长呈抑制作用。

2. 遗传性肿瘤中某些缺失基因的分析 遗传性肿瘤中可发生某些基因的丢失,如上所述,在视网膜母细胞瘤患者的体细胞中都存在着染色体 13q14 位点上一个等位基因的缺失