

学新进展丛书之二

肿瘤学

新概念 与 临床实践

刘乐宇 宋 平 主编著
郭静竹

科技出版社

医学新进展丛书之二

肿瘤学新概念与临床实践

刘乐宇 朱 平 郭静竹 主编著

陈文杰 主审

中国医药科技出版社

登记证号：(京)075 号

内 容 提 要

目前，各个学科的分子生物学研究正在飞速发展，而肿瘤的分子生物学研究正是这一领域中进展最快的学科之一。将肿瘤的基础研究与临床实践联系在一起，是肿瘤研究的目的和发展趋势，因此，本书试图重点讨论当前肿瘤基础研究和临床应用中发展较成熟的热点问题，内容包括：肿瘤发生的癌基因理论、肿瘤抑制基因与人类肿瘤、病毒与肿瘤、大肠癌发生与发展的分子机制、白血病和淋巴瘤发生的分子机制、癌基因和肿瘤抑制基因研究的临床指导意义、DNA 损伤、修复与肿瘤治疗、肿瘤细胞的耐药性、细胞因子与肿瘤、肿瘤的导向治疗、肿瘤的基因治疗等。可供广大的医学院大中专学生、研究生、临床和基础医务工作者参考使用。

肿瘤学新概念与临床实践

刘乐宇 朱 平 郭静竹 主编著

*

中国医药科技出版社 出版

(北京西直门外北礼士路甲 38 号)

(邮政编码 100810)

北京昌平精工印刷厂 印刷

华云电子数据中心 照排

新华书店北京发行所 发行

*

开本 787×1092mm¹/32 印张 11

字数 265 千字 印数 1—2000

1994 年 12 月第 1 版 1994 年 12 月第 1 次印刷

ISBN 7-5067-1316-0/R · 1164

定价：16.50 元

编 著 者

(按姓氏笔画为序)

朱 平	朱广迎	刘 方
刘明泽	刘乐宇	李锦云
孙金英	郭建平	郭静竹

序

肿瘤是重大疾病之一，对人类的健康危害极大。在发达国家，肿瘤是第一位死亡原因。近年来，由于分子生物学研究在肿瘤学领域中的广泛应用，使肿瘤学的研究，无论在基础研究或是在临床应用研究方面，都取得了重大进展。

作者对当前肿瘤学研究中出现的新理论、新概念、新诊断治疗方法，如肿瘤的发病机制，癌基因及抑癌基因，病毒与肿瘤，生物学治疗，导向治疗，耐药基因及逆转等人们感兴趣的问题，编写了《肿瘤学新概念与临床实践》一书，对肿瘤的认识将会产生积极的推动作用，对医学科技人员和临床医师必将有所帮助。

目前，活跃在肿瘤研究领域中的多为年轻学者，他们对新生事物比较敏锐，有自己的科研课题，并参阅大量的国内外文献。《肿瘤学新概念与临床实践》一书能够使基础理论与临床实践结合起来，代表着肿瘤学研究方向，因此，该书的出版是件可喜可贺之事。特在正式问世时，以此为序。

北京医科大学

王德炳

1995年1月

前 言

近十多年来，随着分子生物学的理论与技术应用于肿瘤的研究，使肿瘤研究领域成果累累，进展迅速。在肿瘤研究的基础理论方面，出现了许多的新理论和新概念，诸如癌基因、肿瘤抑制基因、多药耐药基因等。同时，肿瘤基础理论的研究进展也正在迅速推动着临床肿瘤学的研究，并逐渐开始为肿瘤的临床诊断与治疗提供指导作用。此外，其它学科的分生物学研究进展也被应用到肿瘤的诊断与治疗中，并已产生了新的肿瘤治疗方法（如细胞因子用于肿瘤的治疗）或为以往的肿瘤治疗手段（如肿瘤的导向治疗）提供新的思路。由此，从当前肿瘤基础理论研究所获得的新概念着手，探讨这些新概念的相关理论在临床肿瘤研究中的应用的状况及前景，使基础理论与临床实践联系在一起，正是作者在编写此书时的宗旨及力图达到的目的。

从这一目的出发，本书的内容大体上可划分为三个部分：第一部分（从第一章至第七章）重点讨论肿瘤发生与发展的基本理论与概念，并同时讨论这些理论的临床指导作用；第二部分（第八、九章）内容是关于肿瘤细胞的 DNA 损伤与修复，肿瘤细胞耐药性的理论及临床应用。这部分内容与肿瘤的放射治疗及化学治疗的原理及所涉及的问题有关；第三部分（第十章至第十三章）讨论目前一些新的肿瘤治疗手段（如导向治疗、细胞因子的应用及基因治疗）及其相关内容，并对这些新的治疗手段的研究及应用现状、前途进行一些评

价。如果以上内容能够给读者一些帮助，将使作者感到欣慰无比。

当然，由于篇幅限制以及我们理论水平的限制，难免有些不足之处，甚至出现错误。致此，衷心地希望各位专家及读者给予批评指正。特别要指出的是，在本书的撰写和出版过程中，受到了陈文杰教授的热情支持、帮助和鼓励，并亲自为本书进行审阅，谨在此表示深深的谢意。

编者

1994年12月于北京

目 录

前言

第一章 致癌基因：肿瘤发生的分子基础	(1)
第一节 DNA 病毒与病毒性癌基因	(1)
第二节 逆转录病毒与细胞性原癌基因	(6)
第三节 人类肿瘤中细胞性原癌基因的 激活方式	(16)
第二章 细胞性原癌基因蛋白的功能及其 致癌性转化的机制	(27)
第一节 生长因子类及受体类原癌基因 蛋白	(28)
第二节 细胞内信号传导蛋白类原癌 基因蛋白	(32)
第三节 核转录因子类原癌基因蛋白	(37)
第三章 肿瘤抑制基因与人类肿瘤的发生	(50)
第一节 肿瘤抑制基因的研究线索	(50)
第二节 人类家族性肿瘤中肿瘤抑制 基因的研究	(56)
第三节 p53 基因与人类肿瘤	(65)
第四章 病毒与肿瘤	(77)
第一节 肿瘤病毒的种类	(78)
第二节 肿瘤病毒致癌的机制	(81)
第三节 主要的人类 RNA 肿瘤病毒	(85)

第四节	主要的人类 DNA 肿瘤病毒	(90)
第五节	总结与展望	(97)
第五章	大肠肿瘤发生与发展的分子生物	
	学基础	(100)
第一节	大肠肿瘤中原癌基因体细胞性	
	突变和肿瘤 DNA 低甲基化	(101)
第二节	大肠肿瘤中染色体区带缺失与	
	肿瘤抑制基因	(102)
第三节	大肠肿瘤发生、发展的分子模式	(109)
第六章	白血病及淋巴瘤发生的分子机制	(118)
第一节	Ph 染色体在白血病中的分子机制	(119)
第二节	急性髓性白血病中染色体易位	
	的分子机制	(123)
第三节	淋巴细胞白血病/淋巴瘤中染色体	
	易位的分子机制	(129)
第四节	白血病/淋巴瘤中其它的细胞	
	基因突变	(137)
第五节	血液系统肿瘤发生的分子机制	(139)
第七章	癌基因和肿瘤抑制基因研究的	
	临床指导意义	(150)
第一节	突变性癌基因和肿瘤抑制基因	
	作为肿瘤诊断的基因标志	(151)
第二节	原癌基因扩增与肿瘤演进及预后	
	判断	(157)
第三节	癌基因和肿瘤抑制基因的研究	
	用于指导抗肿瘤治疗的设计	(161)
第八章	DNA 损伤、修复与肿瘤治疗	(172)

第一节	药物性 DNA 损伤	(172)
第二节	放射性 DNA 损伤	(177)
第三节	DNA 修复与肿瘤治疗	(185)
第四节	残留 DNA 损伤	(191)
第九章	肿瘤细胞的抗药性	(197)
第一节	临床常用抗癌药物及其作用机制	(198)
第二节	肿瘤细胞的抗药性	(201)
第三节	mdr ₁ 基因及其基因产物的检测	(206)
第四节	mdr ₁ 基因表达与急性白血病 疗效的关系及临床意义	(211)
第五节	MDR 的逆转	(217)
第十章	细胞因子及其检测	(221)
第一节	细胞因子的来源及生物学功能	(221)
第二节	细胞因子的检测方法	(227)
第三节	检测方法的局限性	(242)
第十一章	重组性细胞因子在肿瘤治疗中 的应用	(248)
第一节	细胞因子的肿瘤治疗作用	(249)
第二节	细胞因子的辅助肿瘤治疗作用	(260)
第十二章	肿瘤的导向治疗	(272)
第一节	肿瘤导向治疗的基本概念	(272)
第二节	肿瘤的导向治疗策略	(276)
第三节	基因工程抗体	(287)
第四节	基因工程抗体在肿瘤导向治疗中 的新思路	(295)
第五节	基因工程方法产生抗体的途径	(298)
第十三章	基因治疗的原理及肿瘤的基因治疗	(310)

第一节	基因治疗的基本原理·····	(310)
第二节	基因向细胞内的转移和表达·····	(314)
第三节	检测基因获得改造的细胞·····	(321)
第四节	改造 TIL 的基因进行肿瘤基因治疗 ·····	(325)
第五节	用反义技术和核酶做肿瘤基因治疗·····	(328)

第一章 致癌基因：肿瘤发生的分子基础

绝大多数的肿瘤都被证明是单克隆性的，即肿瘤发生是来源于一个异常的细胞。由此提示，导致肿瘤发生的异常作用效应必须是可遗传性的，必须在肿瘤的后代细胞中仍发生作用。这种可遗传性的异常作用可以是基因结构的改变（即细胞 DNA 序列发生改变），也有可能是由于基因表达类型的改变（不伴有细胞 DNA 序列改变）。目前已经积累的大量证据表明，绝大多数肿瘤的发生是基因结构改变的结果。在许多肿瘤细胞中还常常可发现有明确的特征性基因损伤性改变，如慢性髓性细胞白血病中出现的肿瘤性染色体——Ph 染色体。近十余年来，肿瘤细胞中致癌基因的发现及其致癌机制的研究，直接证明了基因突变的致癌理论，并且迅速推动了对肿瘤本质的认识和研究。

第一节 DNA 病毒与病毒性癌基因

几乎所有的动物类 DNA 病毒的均有可能发展成为肿瘤性病毒。支持 DNA 病毒具有致肿瘤效应的依据至少有两个：①DNA 病毒可以使正常的培养细胞发生肿瘤性转化，简称转化（见表 1-1），并可以诱导实验动物发生肿瘤；②在相关的肿瘤的发生过程中，可以在靶细胞中检测出病毒成分持续存在。DNA 病毒的致癌机制与其生活史有关，并且病毒本身的基因组编码产物可以直接参与细胞的转化过程。这便是本节

中将要重点讨论的内容。

表 1-1 正常培养细胞和肿瘤病毒转化细胞的基本特征

细胞类型	基本特征
典型的正常细胞	(1) 细胞中染色体为二倍体 (2) 细胞生长为停泊依赖性及密度抑制性，表现为在培养皿表面形成密集的单层扁平细胞 (3) 生长有限性，通常培养小于 50 代 (4) 非致瘤性，即注射到免疫耐受性鼠体内不具有肿瘤形成能力
转化细胞	(1) 细胞中染色体为非整倍体 (2) 失去停泊依赖性生长特征，甚至可以附着于固体表面生长 (3) 生长成异常高的细胞密度 (4) 永久生长性，即可以无限地持续生长 (5) 注射到易感动物体内可形成肿瘤

一、DNA 病毒转化非相容性宿主细胞

动物类 DNA 病毒的基因组长度为 5~20kb。较小基因组的病毒仅编码少数几种蛋白，依赖宿主细胞的功能完成其复制过程；而大基因组 DNA 病毒本身可以编码许多相关的酶，参与复制过程。其中具有代表性的和研究较清楚的是乳多空病毒，属于小 DNA 病毒，包括猴病毒 40 (SV40) 和多瘤病毒。本节中将以乳多空病毒为例进行讨论。

DNA 病毒感染后，在宿主细胞中产生大量的子病毒，并且导致宿主细胞发生溶解而死亡。这类宿主细胞被称为相容性的细胞。猴细胞对 SV40 是相容性的；小鼠细胞对多瘤病毒是相容性的。乳多空病毒感染相容性细胞的过程可分为两个阶段：在早期阶段（感染后 15~18 小时），病毒合成某些自

身蛋白，并诱导宿主细胞合成一些相关的蛋白（如用于 DNA 复制的酶类），使细胞从 G_0 或 G_1 期进入 S 期。细胞呈现出转化的形态；在晚期阶段（感染后 24~48 小时），病毒 DNA 复制，合成外壳蛋白，生成大量的新的子病毒。宿主细胞发生溶解，释放子病毒。如果乳多空病毒所感染的是非相容性细胞，此时宿主细胞可被诱导至 S 期，但病毒 DNA 不能发生复制。这可能是由于宿主细胞的相关的酶与病毒的重要序列或蛋白不相容的缘故。因此感染不能转入到后期阶段，并且不发生细胞溶解。感染的细胞在病毒的早期功能作用下被持续不断地诱导，不能停止在 G_0 期。在这种情形下，可能的结局有两种：在大多数情况下，病毒基因组随细胞增生而发生降解或丢失，细胞逐渐恢复正常。这种结局称为流产型转化；在少数的非相容性细胞中，病毒的基因组可以整合到宿主细胞的基因组中去。整合的乳多空病毒基因随宿主 DNA 而发生持续性表达，使细胞发生完全的转化。

病毒 DNA 整合到宿主细胞基因组的方式从理论上讲有两种：①位点特异性整合：是指整合发生在细胞基因组上的特定的靶序列或/和病毒基因组上特异的整合位点。这一整合方式需要某些特殊的蛋白（可能来源于病毒）结合到特定的位点上指导整合；②随机性方式。乳多空病毒可能是以随机性方式进行整合的，因为该病毒基因所编码的蛋白不具有参与整合过程的作用。可能所有的 DNA 病毒都是以随机性方式整合到宿主基因组中的。整合后的病毒不能产生子代病毒，因此也不具有传播作用。

在某些情况下，DNA 病毒可以使相容性细胞发生转化。其机制可能是由于病毒突变而失去复制 DNA 的功能，致使仅有早期功能基因产物在相容性细胞中表达。多瘤病毒引起

小鼠细胞发生转化的机制常常是由于病毒突变的结果。

二、DNA 病毒的早期功能基因是引起肿瘤发生的致癌基因

DNA 病毒诱导肿瘤发生取决于三个事件的作用结果：①病毒感染非相容性细胞；②病毒基因组整合到宿主细胞的基因组中去；③被感染的非相容性细胞不发生死亡。检查乳多空病毒的转染细胞发现，至少部分病毒基因组在宿主细胞 DNA 中是持续存在的，提示病毒基因不但对转化有起动作用，而且对转化状态的维持起着重要的作用。乳多空病毒的突变体的分离和研究为证实 DNA 病毒基因的致癌作用提供了直接的依据。乳多空病毒中的多瘤病毒的第一类突变体为温度敏感性突变体 (tsA 突变体)，在非相容的温度下，tsA 突变体可使转化的起动过程产生条件性缺陷。tsA 突变体中条件性缺陷所累及的基因被证明可编码一个病毒蛋白——大 T 抗原，该抗原对病毒 DNA 的转录和复制过程起重要的作用。多瘤病毒的第二类突变体 (即 hr-t 突变体) 对转化过程产生非条件性缺陷。互补试验和分子分析证明，hr-t 突变体所累及的基因与 tsA 不同，可编码中 T 抗原和小 t 抗原。

由 DNA 病毒的转化过程提示，病毒基因组中的早期功能基因对转化的发生可能起着重要的作用。支持这一观点的实验室依据有：将乳多空病毒的一半基因组 (编码病毒的结构蛋白) 去除后，并不影响该病毒的转化活性，并且在乳多空病毒的转化细胞中，病毒的晚期阶段所必需的基因不发生表达。对腺病毒的研究也有类似的结果：在腺病毒的基因组中，仅 10% 的基因部分 (约 40kb 的病毒早期功能基因) 对转化的发生是必需的，而病毒所有的晚期功能基因 (即结构基

因)与转化表型的产生无关。因此, DNA 病毒的早期功能基因组是这类病毒的致癌基因。通过对乳多空病毒的基因组 DNA、cDNA 和编码蛋白的序列分析发现, 多瘤病毒的早期功能基因可以通过不同的拼接方式转录成三种独立的 mRNA, 分别编码三种蛋白产物, 即大 T 抗原, 中 T 抗原和小 t 抗原。SV40 可以通过上述类似的过程, 产生两种早期功能蛋白: 大 T 抗原和小 t 抗原。对腺病毒的研究发现, 腺病毒的早期功能基因由两个相邻的区域组成, 即 E1A (early1A) 和 E1B。这两组基因可以通过阅读区的重叠或部分重合而编码多种蛋白。前者以 289R (31kD) 和 243R (26kD) 为重要; 后者以 19kD 和 55kD 蛋白为重要。

进一步的转染-转化试验, 从功能上证实了 DNA 病毒的早期功能基因的致癌作用, 并证明不同的早期功能病毒蛋白在转化过程中具有协同作用。将构建有多瘤病毒中 T 抗原基因的质粒导入小鼠 3T3 细胞系中, 可使之出现多种转化特征, 但被转化的细胞不能在低血清浓度的培养基中生长, 该质粒也不能使原代培养的小鼠成纤维细胞出现转化特征。单独将载有多瘤病毒大 T 抗原基因的质粒导入已经建系的细胞中, 可减少细胞对培养基中血清的需要量, 但不能使细胞发生形态上的转化。继之导入载有中 T 抗原基因的质粒后, 细胞可发生类似于野生型多瘤病毒所致的完全性转化。说明大 T 抗原 (主要定位在细胞核) 和中 T 抗原 (定位在细胞膜) 在转化过程中起着完全不同的作用。小 t 抗原的作用是产生完全的转化。对腺病毒转化功能的研究也呈现类似的结果: E1A 基因产物作用于细胞核, 不产生形态学上的转化, 但可以使原代培养的鼠胚胎细胞永久生长; 而 E1B 基因可使之进一步发生完全性转化。对于 SV40 而言, 由于该病毒的产物大

T 抗原中含有细胞核作用部分和细胞膜作用部分，因此单一的大 T 抗原便可以使细胞发生完全性转化。

关于乳多空病毒及腺病毒的早期功能蛋白的致癌机制，需涉及细胞性原癌基因及肿瘤抑制基因的内容，将在相应的章节中阐述。表 1-2 列出了这些蛋白的一些基本性质。

表 1-2 代表性的 DNA 肿瘤病毒及其癌基因

病毒	癌基因	产物蛋白	主要特征
乳多空病毒			
SV40	A 基因	大 T 抗原(90kD)	主要分布在细胞核,可与 p53 蛋白结合,DNA 结合
多瘤病毒	A 基因	大 T 抗原(90kD)	定位细胞核,DNA 结合
	hr-t 基因	中 T 抗原(55kD)	可激活 c-Ras 蛋白
腺病毒	E1A	289R(31kD)	定位于细胞核
		243R(26kD)	激活病毒和宿主基因转录
	E1B	55kD	结合 p53 蛋白
		19kD	

第二节 逆转录病毒与细胞性原癌基因

早在本世纪初期(1191 年)人们便已发现,Rous 鸡肉瘤组织的无细胞滤液可以使健康的鸡发生肉瘤,原因是滤液中存在有感染性颗粒。这一颗粒后来被证明是逆转录病毒(RNA 病毒)。与 DNA 肿瘤病毒不同,逆转录病毒的基因组中不含编码具有转化活性蛋白的基因,由此,关于逆转录病毒致癌机制是十分复杂的,需要先从病毒的生活史开始。

一、逆转录病毒的基本结构与生活史

逆转录病毒由两个序列完全相同的 RNA 基因组成,彼