

主编

王振义

陈竺

科学
从书
生命

上海科学技术出版社

肿瘤的诱导分化和凋亡疗法

5/250.5
127

生命科学丛书

肿瘤的诱导分化 和凋亡疗法

王振义 陈 竺 主编

上海科学技术出版社

责任编辑 季英明

生命科学丛书

肿瘤的诱导分化和凋亡疗法

王振义 陈 竺 主编

上海科学技术出版社出版、发行

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所经销 商务印书馆 上海印刷厂印刷

开本 787×1092 小 1/16 印张 17.5 插页 4 字数 260 000

1998年12月第1版 1998年12月第1次印刷

印数：1—1 500

ISBN 7-5323-4802-4/R·1221

定价：28.20元

本书如有缺页、错装或坏损等严重质量问题，
请向承印厂联系调换

内 容 提 要

诱导分化和凋亡疗法是近 10 年来治疗恶性肿瘤的新方法。它不仅有理论上的重要意义,而且对有的恶性肿瘤,主要是急性早幼粒细胞白血病有很高的疗效。本书中,作者结合自己的经验,并参考有关文献,对这两种疗法的基础理论和临床应用作了较为全面的介绍。对从事肿瘤尤其是白血病防治的研究和临床工作者,是一本非常重要的参考书。

《生命科学丛书》序

本世纪 50 年代 DNA 双螺旋结构的发现,以及随后遗传信息传递的中心法则的确定、重组 DNA 技术的建立,分子生物学和遗传学的概念和技术已渗透到生命科学的各个分支学科中,生命科学与物理学、化学、数学的交叉渗透,计算机和大量新技术的广泛应用,已使当代生命科学的面貌发生了根本性的变化。科学家预言,21 世纪将是生命科学的世纪。

生命科学的研究对象是形形色色的生物体及其复杂的生命活动的规律。与生物的多样性一样,生命科学的分支学科也是多种多样的。有根据研究的生物对象区分的,如植物学、动物学、微生物学、病毒学等;也有按研究的生命活动过程或层次区分的,如分子生物学、生物化学、细胞生物学、遗传学、发育生物学、生理学、形态学、生态学等。当代生命科学的特点是:由于学科交叉的结果,生命科学的发展极为迅速,传统的学科界限正在消失,而新的分支学科或生长点又在不断产生,如由于人类基因组和其他生物基因组研究而产生的基因化学,由利用分子生物学手段研究生物系统和进化而产生的分子系统学等。同时,生命科学又与人类的日常生活密切相关,它直接关系到人类自身及其生存环境的维护,如人口控制、疾病的预防和治疗、农产品的生产、生物多样性和环境的保护等。由于生命科学是当代医学和农学的重要基础,在很多研究领域,基础研究和应用研究之间的距离正在缩短。特别是分子生物学的发展,以重组 DNA 技术为代表的生物工程的兴起,已为近代生物医药产业的发展、重大疾病的预防和治疗、农作物的改良及病虫害防治的研究和实践注入了新的动力,提供了一系列新的技术。在这些领域中不断传来令人振奋的消息。

至今,有科学记载的生物已有 170 多万种,最保守的估计全球也有 500~1 000 万种生物。地球上有不少地方,特别是热带地区,还没有作过系统的调查研究,因此地球上物种的数目也可能远远超过此数。系统进化的研究和生物多样性的研究,将为人们认识生物演化的历史进程和生物多样性的保护,以及自然资源的合理开发和利用,提供扎实的科学基础。

为了反映当代生命科学的研究进展及其在社会经济发展中的作用和影响,并展现我国科学家所取得的研究成果,上海科学技术出版社就生命科学中的若干专题,聘请有关专家学者编著这套《生命科学丛书》,力求从一个个侧面,向不同层次的读者介绍有关的生物学知识,及其实际应用的现况或潜力,并以此促进社会各界更好地关心和支持我国生命科学的发展,吸引更多的青年人投身到生命科学及其相关的研究行列中来,在中华大地上为发展我国的生命科学及生物工程作出贡献。让我们面对新世纪的曙光,迎接生命科学世纪的到来。



许智宏

(《生命科学丛书》主编)

1997年7月

撰 稿 人

(按姓氏笔划排序)

- | | |
|-----|---------------------------------|
| 王振义 | 上海第二医科大学瑞金医院上海血液学研究所
中国工程院院士 |
| 孙关林 | 上海第二医科大学瑞金医院上海血液学研究所 |
| 孙逸武 | 上海第二医科大学瑞金医院上海血液学研究所 |
| 杜心埏 | 上海第二医科大学病理教研室 |
| 沈志祥 | 上海第二医科大学瑞金医院血液科 |
| 李秀松 | 上海第二医科大学瑞金医院血液科 |
| 茅 矛 | 上海第二医科大学瑞金医院上海血液学研究所 |
| 周光炎 | 上海第二医科大学上海市免疫研究所 |
| 陈 竺 | 上海第二医科大学瑞金医院上海血液学研究所
中国科学院院士 |
| 陈国强 | 上海第二医科大学瑞金医院上海血液学研究所 |
| 陈赛娟 | 上海第二医科大学瑞金医院上海血液学研究所 |
| 胡 炯 | 上海第二医科大学瑞金医院血液科 |
| 姜叙诚 | 上海第二医科大学病理教研室 |
| 倪建华 | 上海第二医科大学瑞金医院上海血液学研究所 |
| 韩泽广 | 上海第二医科大学瑞金医院上海血液学研究所 |

前 言

恶性肿瘤(简称肿瘤)是危害人类健康最严重的疾病之一。全世界每年约有 700 万人因患肿瘤而被夺去了生命,我国的肿瘤死亡人数也在百万以上。国内外已有许多有关肿瘤的基础理论和临床方面的专著,可供研究和治疗癌症参考。

除外科手术外,化疗和放疗是肿瘤的主要治疗方法。但它们的最大缺点是,除耐药性外,在它们杀伤肿瘤细胞的同时,正常组织和细胞也受到损伤,尤其是对造血组织和细胞,可引起严重致死性并发症。70 年代初,人们开始研究是否可以通过诱导分化,使肿瘤细胞向正常细胞分化,从而得到治疗。1986 年我国首先应用全反式维 A 酸(ATRA,又称全反式维甲酸)诱导分化治疗急性早幼粒细胞白血病(APL),缓解率高。近 10 多年来,人们对肿瘤细胞的凋亡也进行了大量的研究。并已证明,有些化疗药物能促进肿瘤细胞的凋亡,甚至放疗的作用机制之一也是肿瘤细胞的凋亡。但尚无单凭一种药物通过诱导凋亡治疗肿瘤而能奏效的例子。1972 年哈尔滨医科大学使用含砷中药治疗白血病,取得良好效果。1992 年后他们又系统地报道了用含 As_2O_3 的“713”溶液治疗 APL,缓解率很高。尤其可贵的是,它对经 ATRA 治疗取得缓解后复发的 APL 也有很高疗效。上海第二医科大学瑞金医院上海血液学研究所与哈尔滨医科大学合作,发现 As_2O_3 治疗 APL 的作用机制主要是促进 APL 细胞凋亡。ATRA 及 As_2O_3 治疗 APL 分别为通过诱导分化和凋亡治疗肿瘤提供了成功的范例,从而引起许多肿瘤研究和临床工作者的兴趣和重视,迫切需要有一本专门介绍诱导分化和凋亡治疗肿瘤的专著。为此,我们组织编写了本书。本书内容分两篇,分别介绍诱导分化和凋亡疗法的基础理论和临床应用。有些内容结合了上海血液学研究所多年来在这一领域中的研究成果和临床总结,希望能为这两种肿瘤治疗的新途径提供较为系统的参考资料。由于这两方面的研究十分活跃,文献较多,进展很快,本书的编写仅是初步尝试,其中未免会遗漏一些内容,甚至会有

目 录

《生命科学丛书》序

前言

第 1 篇 肿瘤的诱导分化疗法

第 1 章 肿瘤的发生机制	3
§ 1.1 肿瘤的基本生物学特征	3
§ 1.2 癌基因与原癌基因	8
§ 1.3 抑癌基因.....	16
§ 1.4 细胞凋亡相关基因.....	21
§ 1.5 发育、分化相关基因及转录因子	23
§ 1.6 肿瘤相关基因间协同作用.....	27
第 2 章 诱导分化疗法的实验研究	30
§ 2.1 肿瘤细胞培养.....	30
§ 2.2 肿瘤分化疗法实验研究的模型.....	31
§ 2.3 分化诱导中肿瘤细胞表型的测定.....	37
§ 2.4 基因型变化的检查.....	41
第 3 章 诱导分化剂	43
§ 3.1 极性化合物.....	44
§ 3.2 佛波酯.....	46
§ 3.3 维生素 D ₃	47
§ 3.4 细胞因子.....	51
§ 3.5 丁酸类化合物.....	57
§ 3.6 苯乙酸.....	58
§ 3.7 环腺苷酸类衍生物.....	60

§ 3.8	抗肿瘤药物·····	61
§ 3.9	维 A 类化合物 ·····	63
§ 3.10	新发现和正在研究中的诱导分化剂 ·····	73
第 4 章	实体瘤诱导分化疗法 ·····	78
§ 4.1	维 A 酸对实体瘤的诱导分化作用 ·····	78
§ 4.2	非维 A 酸诱导分化剂 ·····	89
第 5 章	维 A 酸诱导分化治疗急性早幼粒细胞白血病的临床应用 ···	92
§ 5.1	维 A 酸对急性早幼粒细胞白血病细胞诱导分化的体外研究·····	93
§ 5.2	维 A 酸在急性早幼粒细胞白血病诱导缓解中的应用 ···	95
§ 5.3	剂量和药代动力学的研究·····	97
§ 5.4	全反式维 A 酸治疗急性早幼粒细胞白血病过程中血象及骨髓象的变化·····	98
§ 5.5	全反式维 A 酸治疗急性早幼粒细胞白血病过程中的出血和凝血机制的改变 ·····	100
§ 5.6	全反式维 A 酸治疗急性早幼粒细胞白血病过程中的副反应及防治方法 ·····	101
§ 5.7	全反式维 A 酸治疗取得完全缓解后的治疗 ·····	105
§ 5.8	全反式维 A 酸治疗急性早幼粒细胞白血病过程中复发病例的治疗 ·····	106
§ 5.9	对全反式维 A 酸的耐药机制及处理 ·····	108
§ 5.10	<i>PML/RARα</i> 融合基因的检测在全反式维 A 酸治疗急性早幼粒细胞白血病中的意义·····	111
第 6 章	维 A 酸诱导急性早幼粒细胞白血病细胞分化的作用机制·····	118
§ 6.1	维 A 酸诱导早幼粒细胞白血病细胞分化是肿瘤分化治疗研究的最好模式 ·····	118
§ 6.2	维 A 酸在细胞内的代谢、维 A 酸受体和维 A 酸受体的靶基因 ·····	119

§ 6.3	与急性早幼粒细胞白血病发病相关的维 A 酸受体融合基因	123
§ 6.4	<i>PML/RARα</i> 是急性早幼粒细胞白血病的致病基因 ...	126
§ 6.5	全反式维 A 酸导致 <i>PML/RARα</i> 的快速降解及 <i>RAR/RXR</i> 和 <i>PML</i> 结构、功能的恢复	127
§ 6.6	识别急性早幼粒细胞白血病分化过程中受维 A 酸调控的基因	128
§ 6.7	关于肿瘤靶向治疗的概念	130
第 7 章	新维 A 类及其他诱导分化药物的研究	137
§ 7.1	新型维 A 类化合物	137
§ 7.2	新天然分化诱导剂	145
第 2 篇 肿瘤的诱导凋亡疗法		
第 1 章	细胞凋亡与坏死	153
§ 1.1	细胞死亡	153
§ 1.2	坏死的形态变化及生化改变	154
§ 1.3	凋亡和程序性细胞死亡	156
§ 1.4	凋亡和坏死的区别	157
第 2 章	细胞凋亡的形态学及生物化学变化	161
§ 2.1	细胞凋亡的形态学变化	161
§ 2.2	细胞凋亡的检测法	165
§ 2.3	凋亡细胞的生化变化	170
§ 2.4	凋亡的生理意义	171
第 3 章	细胞凋亡的调控	174
§ 3.1	<i>ICE</i> 相关蛋白	174
§ 3.2	<i>BCL-2</i> 相关蛋白	182
§ 3.3	<i>P53</i>	191
§ 3.4	<i>C-MYC</i>	193
§ 3.5	<i>FAS</i> 及其配体	195

第 4 章 肿瘤与凋亡	201
§ 4.1 概述	201
§ 4.2 与肿瘤细胞凋亡相关基因	202
§ 4.3 凋亡与肿瘤治疗的抗药性	207
§ 4.4 诱导凋亡与肿瘤治疗	210
第 5 章 凋亡与免疫应答	221
§ 5.1 免疫系统中细胞凋亡的特征	221
§ 5.2 淋巴细胞在免疫器官中的发育成熟与细胞凋亡	227
§ 5.3 细胞凋亡对特异性免疫应答的调节	231
§ 5.4 细胞凋亡在免疫杀伤中的作用	234
§ 5.5 凋亡诱导非中枢性自身免疫耐受	236
第 6 章 凋亡与血液病	240
§ 6.1 急性粒细胞白血病	240
§ 6.2 慢性粒细胞白血病	246
§ 6.3 恶性淋巴瘤和慢性淋巴细胞白血病	246
§ 6.4 骨髓增生异常综合征	247
§ 6.5 多发性骨髓瘤	249
第 7 章 砷剂治疗白血病及急性早幼粒细胞白血病	252
§ 7.1 砷的生物学作用	252
§ 7.2 砷剂治疗白血病的临床应用	253
§ 7.3 砷剂治疗白血病的毒理作用和药代动力学研究	257
第 8 章 As₂O₃ 治疗急性早幼粒细胞白血病的机制	260
§ 8.1 As ₂ O ₃ 对急性早幼粒细胞白血病细胞的剂量依赖性双 重效应	260
§ 8.2 As ₂ O ₃ 的细胞效应和 PML/RAR α 蛋白	264
§ 8.3 As ₂ O ₃ 的细胞效应和凋亡相关基因	265

第 1 篇 肿瘤的诱导分化疗法

第 1 章 肿瘤的发生机制

过去 20 年中,肿瘤发生机制的研究已获得很大的进展。大多数肿瘤呈单克隆性,从正常细胞转化为恶性细胞要历经多个步骤,呈明显不同的发展阶段。更为重要的是,随着分子生物学技术的应用,提示肿瘤的发生与基因的异常有着非常密切的关系:①约 5%的人类肿瘤呈家族遗传性;②所有肿瘤的发生都有体细胞突变,肿瘤的发展涉及多种基因的表达异常;③多种致癌因素如病毒、离子辐射、化学致癌剂等都可导致基因突变;④肿瘤发生、发展所涉及的基因常与细胞增殖、分化、凋亡等基本生命活动有关。因此,现已公认肿瘤是基因的疾病^[1]。

§ 1.1 肿瘤的基本生物学特征

一般认为,肿瘤细胞是从正常细胞演变而来,正常细胞转变为恶性肿瘤的过程称为癌变或恶性病变。肿瘤细胞有别于正常细胞之处在于:细胞增殖失控、分化障碍或(和)凋亡受阻和细胞相邻关系改变、侵袭及转移。

1.1.1 肿瘤细胞增殖失控

为研究正常细胞和肿瘤细胞在生长调控方面的区别,人们利用肿瘤病毒、化学致癌剂等诱导正常细胞演变为“转化(transformation)”细胞,这些转化细胞获得永生后,在体外具有与肿瘤细胞相同的许多特征。体外实验体系显示,肿瘤细胞或转化细胞与正常细胞有明显的差别(表 1.1.1)。

正常细胞需要粘附于固定的表面进行生长(依赖锚泊),它们形成单层,当单层细胞铺满后即停止生长,此过程称为接触抑制或密度依赖抑制。而肿瘤细胞和转化细胞则缺乏这种生长限制,甚至可在半固体琼脂中呈悬浮生长,不需要依附于固定表面,不受密度限制,可持续分裂达到很

高密度而出现堆积生长,形成高出单层细胞的细胞灶。另外,肿瘤细胞或转化细胞还具有侵袭和渗透基底膜的能力。肿瘤细胞或转化细胞的生长对生长因子或血清的依赖性降低,甚至在缺乏生长因子时也可生长、分裂。这可能有几种机制:①肿瘤细胞能合成、分泌自身生长所需的生长因子(自分泌);②肿瘤细胞所表达的一些受体异常增高,这样即使配基浓度非常低,也将有很大的活性;③与细胞增殖相关信号的传导途径异常,这与基因突变有关。肿瘤细胞或转化细胞所表现出的粘附性降低和形态学改变,可能与细胞外基质蛋白如纤连蛋白合成减少、细胞骨架破坏,细胞微管系统紊乱有关。体外培养的正常细胞仅进行有限倍增后即告死亡,而肿瘤细胞或转化细胞如小鼠成纤维细胞株 NIH3T3 具有无限增殖能力(细胞永生),这与刺激生长的基因活性增加或(和)一些生长抑制基因活性降低有关。

表 1.1.1 正常细胞与肿瘤细胞生长特征

生长特征	正常细胞	肿瘤细胞
饱和密度	有	无
依赖生长因子或血清	依赖	不依赖
依赖锚泊	依赖	减弱或不依赖
增殖能力	有限	无限
粘附性	高	低
形态	扁平	圆形

正常细胞与肿瘤细胞、转化细胞的细胞周期不同,主要表现在肿瘤细胞、转化细胞 G_1 期明显短于正常细胞, S 、 G_2 和 M 期差别不大,由于细胞周期加快,故单糖摄取增加,糖酵解加强。

1. 1. 2 肿瘤细胞分化障碍

从发育生物学观点分析肿瘤,认为分化障碍是肿瘤细胞的一个重要生物学特征,甚至有人认为肿瘤本身是一种分化疾病,是由于正常基因功能受控于错误的表达程序所致。复杂的多细胞生物包括人类,需要胚胎细胞分化为各种具有特殊功能的细胞,并进一步组成各种组织和器官,分化

是一个定向的、严密调节的程序控制过程,其关键在于基因按一定时空秩序有选择地被激活或抑制,多数情况下,终末分化细胞不再具有增殖能力。而肿瘤细胞在不同程度上缺乏成熟的形态和完整的功能,丧失某些终末分化细胞的性状,并常对正常的分化调节机制缺乏反应。因此,Pierce等提出恶性肿瘤是细胞分化和胚胎发育过程中的一种异常表现,这一见解对于理解肿瘤细胞起源和本质特征有着重要意义。

绝大多数肿瘤呈单克隆形式生长,即肿瘤中的全部细胞来源于同一个恶变细胞。根据生长动力学原理,肿瘤细胞群体大致可分为4种类型:①干细胞。它是肿瘤细胞群体的起源,具有无限分裂增殖及自我更新能力,维持整个群体的更新和生长;②过渡细胞。它由干细胞分化而来,具备有限分裂增殖能力,但丧失自我更新特征;③终末细胞。它是分化成熟细胞,已彻底丧失分裂增殖能力;④G₀期细胞。它是细胞群体中的后备细胞,有增殖潜能但暂不分裂,在一定条件下可以重新进入增殖周期。

肿瘤干细胞在肿瘤发生、发展中起关键作用,大量证据表明:肿瘤起源于一些未分化或微分化的干细胞,是由于组织更新时所产生的分化的异常。在一定条件下,恶性细胞有可能分化为正常细胞。所谓组织更新,不仅存在于高等生物的发育过程中,也存在于其成年期。在成年生物组织中如骨髓等,存在着未分化干细胞,干细胞的增生和分化使衰老或受损的组织、细胞更新或恢复。这些正常干细胞常是恶性变的靶细胞,其直接证据来自小鼠畸胎瘤实验:将12 d 胚龄的小鼠胚胎生殖嵴移植到同系成年小鼠睾丸被膜下,移植17 d 后,发现80%的睾丸有胚胎性癌细胞病灶,并且很快发展成典型畸胎瘤细胞,胚胎性癌细胞形态上非常类似原始生殖细胞,都具有未分化的细胞质;同样,将早期发育阶段的胚胎,包括受精卵也移植至同系成年小鼠睾丸被膜下,也获得畸胎瘤。受精卵、原始生殖细胞都处于相同的未分化状态,因此,正常未分化生殖干细胞是畸胎瘤的起源细胞。白血病发生也遵循这一规律,即白血病起源于未分化或微分化的干细胞。这种认识可从白血病细胞免疫表型、免疫球蛋白和T细胞受体(TCR)基因分析及其与正常造血干细胞发育、分化比较中找到依据。

在正常组织更新过程中,致癌因素如放射线、化学致癌物等可作用于