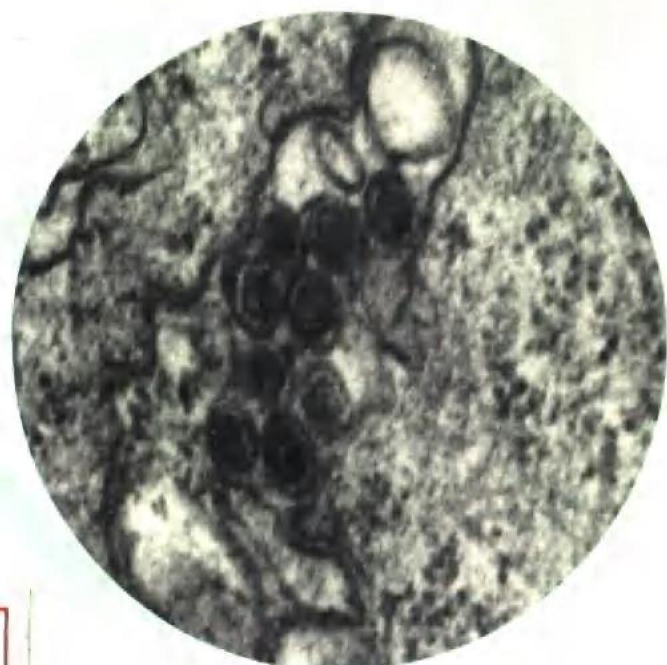


VIRAL ONCOLOGY

病 毒 肿 瘤 学

孔宪寿 程 立 何开玲 主编



上海医科大学出版社

病毒肿瘤学

VIRAL ONCOLOGY

孔宪寿 程立 何开玲 主编

上海医科大学出版社

(沪)新登字 207 号

责任编辑 顾关云

封面设计 朱仰慈

病毒肿瘤学

孔宪寿 程立 何开玲 主编

上海医科大学出版社出版发行

上海市医学院路 138 号

邮政编码 200032

新华书店上海发行所经销

常熟市人民印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 20.5 字数 498 000

1996 年 11 月第 1 版 1996 年 11 月第 1 次印刷

印数 1-3 000

ISBN 7-5627-0323-X/R·304

定价: 35.80 元

内 容 提 要

本书阐述肿瘤病毒及与其相关的人类恶性肿瘤，以及治疗肿瘤的新技术和新方法。全书共分4篇20章，分别介绍肿瘤病毒的特征、肿瘤病毒的致癌机理、肿瘤病毒与人类肿瘤和肿瘤治疗，反映近年来肿瘤病毒及其相关肿瘤研究的新进展和新成就。

主 编

孔宪寿 程 立 何开玲

编 写 者

(以姓氏笔画为序)

孔宪寿	上海医科大学病理生理学教研室	教授
叶胜龙	上海医科大学中山医院	教授
许凤娣	第二军医大学长征医院	教授
许良中	上海医科大学肿瘤医院	教授
吴厚生	上海医科大学免疫学教研室	教授
何开玲	上海医科大学生物化学教研室	教授
金志军	第二军医大学长征医院	副教授
单易非	上海医科大学生物物理学教研室	教授
胡昌奇	上海医科大学天然药物化学教研室	教授
俞顺章	上海医科大学预防医学研究所	教授
葛治华	上海医科大学微生物学教研室	教授
程 立	上海医科大学病理生理学教研室	教授
谢 琪	上海医科大学免疫学教研室	教授

前 言

肿瘤是严重危害人类健康的常见多发病。近百年来,广大科研人员和临床学家对此进行广泛的研究,在肿瘤的流行病学、病理、诊断和治疗等方面都获得了很大的进展,但对肿瘤的病因和发病机理仍未充分阐明。因此,肿瘤的治疗尚未根本解决。人们仍需继续不断地进行多方面探索,特别是在分子水平上进行研究,积累更多的资料,探明肿瘤的病因和发生机理,为最后攻克人类的恶性肿瘤作出不懈的努力。

根据临床观察和实验研究表明,肿瘤可由物理性、化学性和生物性致癌因素所诱发。生物性致癌因素主要是指肿瘤病毒,其研究起步稍晚于前两个因素,但近几十年来这方面发展迅速。1908年 Ellermann 和 Bang 首先证明患白血病的鸡的无细胞滤液可诱发健康鸡患白血病,为病毒致癌的实验性研究奠定了基础。此后,在两栖类、禽类、啮齿类、哺乳类和灵长类动物中的白血病、淋巴瘤、肉瘤、乳腺癌、皮肤癌和肾癌等肿瘤均已证实与病毒有病因学上的联系。近年来的研究还证明人类的鼻咽癌、Burkitt 淋巴瘤、子宫颈癌、肝癌与 T 淋巴细胞白血病等的发生与病毒作用有关。与上述肿瘤有关的病毒已被分离,并进行了深入的研究。目前,动物肿瘤病毒的致癌作用已被公认,而人类有关肿瘤的病毒病因的最后确定,尚需进一步探讨和证实。

肿瘤病毒是一种生物性因子,具有生命体的一般基本特征,其致癌作用特点有:①肿瘤病毒是具有生命的微生物,含有特殊的物质——核酸(DNA 或 RNA),可进行复制和遗传,产生和形成子代病毒,继续发挥致癌作用;②肿瘤病毒对动物和人类具有感染性,有些病毒对某些细胞具有特异的亲嗜性(如人类 T 细胞白血病病毒对 T 淋巴细胞和乙型肝炎病毒对肝细胞的亲嗜作用),发生不同的疾病并诱发肿瘤;③肿瘤病毒的核酸(DNA 或 RNA 经过逆转录形成的前病毒 DNA)可以整合到宿主细胞 DNA 链上,通过不同的机理而使细胞发生恶变;④有些肿瘤病毒基因组中含有特殊的序列,即病毒癌基因(v-onc),可编码转化蛋白,进而使细胞发生恶性变化。由于上述特点,使病毒在致癌作用的研究中,具有特殊而重要的地位。

肿瘤病毒癌基因及其引起细胞转化机理的研究成果,不仅揭示了病毒在肿瘤发生中的作用,还对分子生物学的发展和非病毒性肿瘤转化机理提供了新的理论。例如分子杂交技术证明, RNA 肿瘤病毒的 v-onc,实际上起源于细胞癌基因(c-onc),而后者存在于正常细胞中。c-onc 的异常激活产生过量的编码蛋白而可诱发癌变。c-onc 的发现不仅丰富了细胞遗传学的内容,而且还改变了癌变机理研究的领域,而成为近代癌症研究的热门课题之一。从 70 年代起,随着科学技术的发展,各种学科互相交叉,病毒与肿瘤关系的新的资料不断积累,而形成了病毒肿瘤学(Viral Oncology),它是肿瘤学中的一个新兴分支学科,其内容涉及基础医学和临床医学中多个学科,正在迅速发展,报道的有关文献日益增多,但多分散在各专业期刊中。目前国内尚缺少一本系统地叙述肿瘤病毒基础研究和临床医学密切结合的专著,《病毒肿瘤学》的编写和出版,填补了国内这方面的空缺。

《病毒肿瘤学》的内容共 20 章,分为四篇:第一篇肿瘤病毒的特征,包括第 1~4 章内容,这是肿瘤病毒的总论,叙述病毒的分类和基本特征,DNA 和 RNA 肿瘤病毒超微结构、基因组组成和功能,以及肿瘤病毒的流行病学等;第二篇肿瘤病毒的致癌机理,包括第 5~7 章内容,这是从分子水平上叙述细胞癌基因、抑癌基因和病毒癌基因的序列组成,编码产生不同功能的蛋白质,并讨论 DNA 和 RNA 肿瘤病毒在细胞恶性转化中的作用机理等;第三篇肿瘤病毒与人类肿瘤,包括第 8~14 章内容,将肿瘤病毒与人类某些肿瘤密切结合起来,重点讨论成人 T 淋巴细胞白血病、鼻咽癌、Burkitt 淋巴瘤、子宫颈癌、乳腺癌、肝癌和 Kaposi 肉瘤等病因——发病学中相关病毒的作用及其机理的新进展;第四篇肿瘤治疗,包括 15~20 章内容,主要叙述肿瘤的免疫疗法(分为特异性主动免疫和过继性细胞免疫)、细胞因子抗肿瘤疗法、肿瘤的基因疗法、肿瘤细胞逆转和抗病毒性肿瘤的药物疗法等研究进展,为肿瘤的临床治疗提供最新资料。

自 60 年代初以来,上海医科大学病理生理学、生物物理学、免疫学和生物化学等教研室及肿瘤医院病理科的有关科研工作者一直从事肿瘤病毒病因,特别是小鼠白血病与逆转录病毒作用的研究,建成了 L6565 病毒性白血病模型,分离纯化 SRS 白血病病毒(SRSV)和建立了病毒感染的 SRSV/3T3 细胞系,并对 SRSV 的生物学、免疫学和分子生物学以及基因治疗等方面进行了深入的研究,科研成果获得 6 次国家教委和卫生部的科技成果、进步奖。1983 年起,在上海医科大学为研究生学习开设的《肿瘤基础理论》课程中,“肿瘤的病毒病因及其致癌机理”、“人类 T 细胞白血病/淋巴瘤病毒及其致癌机理”、“肿瘤基因”和“基因调控与肿瘤发生”等已列为主要内容之一。通过多年来的研究生教学,该教材内容不断得到补充和更新,这为编写《病毒肿瘤学》打下了良好的基础。参加编写《病毒肿瘤学》的专家、教授和临床医师,他(她)们从事病毒与肿瘤的研究和临床实践多年,取得了不少科研成果及丰富的诊治经验,在总结自己工作的基础上结合近期国内外文献资料编写了本书。

由于作者的学术水平有限,因此在选材和编写方面如有不足之处和缺点,敬请广大读者鉴谅和指正。

程 立

1995 年 8 月 8 日

目 录

第一篇 肿瘤病毒的特征

1 病毒概论	1	2.6 嗜肝 DNA 病毒科	30
1.1 病毒的结构与化学组成	2	2.6.1 嗜肝 DNA 病毒科的分类	30
1.1.1 病毒的结构	2	2.6.2 人乙型肝炎病毒的结构	30
1.1.2 病毒的化学组成	2	2.6.3 人乙型肝炎病毒基因组结构及其功能	31
1.2 病毒的增殖	4	2.7 痘病毒科	32
1.2.1 病毒的吸附	4	2.8 DNA 肿瘤病毒与动物肿瘤	33
1.2.2 病毒的穿入	4	2.8.1 Lucke 病毒与蛙肾腺瘤	33
1.2.3 病毒的脱壳	5	2.8.2 Marek 病病毒与 Marek 病	33
1.2.4 病毒的生物合成	5	2.8.3 多瘤病毒与多型肿瘤	34
1.2.5 病毒的装配与释放	9	2.8.4 疱疹病毒与兔淋巴瘤	34
1.3 病毒的分类	9	2.8.5 疱疹病毒与猴淋巴瘤	34
1.3.1 RNA 病毒	10	2.9 DNA 肿瘤病毒与人类恶性肿瘤	35
1.3.2 DNA 病毒	14		
2 DNA 肿瘤病毒	17	3 RNA 肿瘤病毒	37
2.1 DNA 肿瘤病毒的分类	17	3.1 概述	37
2.2 DNA 肿瘤病毒的一般结构和生物学特性	18	3.2 RNA 肿瘤病毒的超微结构	38
2.3 乳多空病毒科	18	3.2.1 A型病毒	39
2.3.1 乳头状瘤病毒属	18	3.2.2 B型病毒	39
2.3.2 多瘤病毒属	20	3.2.3 C型病毒	39
2.4 腺病毒科	22	3.2.4 D型病毒	39
2.4.1 腺病毒的一般生物学特性	22	3.3 RNA 肿瘤病毒的生物化学特性	40
2.4.2 腺病毒的结构和致癌作用	22	3.3.1 化学组成和特性	40
2.4.3 腺病毒基因组编码产物及其转化作用	23	3.3.2 核酸	40
2.5 疱疹病毒科	23	3.3.3 蛋白质	41
2.5.1 疱疹病毒科的分类和一般生物学特性	23	3.3.4 酶类	41
2.5.2 疱疹病毒的致癌作用	24	3.3.5 脂类和糖类	41
2.5.3 单纯疱疹病毒	24	3.4 RNA 肿瘤病毒的抗原性	42
2.5.4 EB 病毒	25	3.4.1 型特异性抗原	42
2.5.5 巨细胞病毒	29	3.4.2 组特异性抗原	42
2.5.6 Marek 病病毒	29	3.4.3 种群抗原	42
		3.5 RNA 肿瘤病毒的基因组结构和功能	42
		3.6 RNA 肿瘤病毒的复制	43
		3.7 RNA 肿瘤病毒的综合分类和生物学	

作用特点	44	3.9.7 SRSV 的分子生物学研究	55
3.7.1 内源性病毒	45	3.10 RNA 肿瘤病毒与人类恶性肿瘤	55
3.7.2 外源性病毒	45		
3.8 RNA 肿瘤病毒与动物肿瘤	46	4 肿瘤病毒及其相关肿瘤流行病学	58
3.8.1 RNA 肿瘤病毒与动物白血病	46	4.1 概况	58
3.8.2 RNA 肿瘤病毒与动物肉瘤	50	4.2 肝炎病毒与肝细胞癌的流行病学	59
3.8.3 RNA 肿瘤病毒与小鼠乳腺癌	52	4.2.1 乙型肝炎病毒与肝细胞肝癌	59
3.9 中国小鼠白血病病毒病因学研究	53	4.2.2 丙型肝炎病毒与肝细胞癌	62
3.9.1 白血病病毒的超微结构及其致白血 病作用	53	4.3 EB 病毒与 Burkitt 淋巴瘤和鼻咽癌的 流行病学	63
3.9.2 L615K 小鼠白血病病毒的分离及其 生物学特性	53	4.3.1 Burkitt 淋巴瘤流行病学	63
3.9.3 白血病病毒的纯化及其理化特性	54	4.3.2 鼻咽癌流行病学	65
3.9.4 体外白血病病毒感染细胞系的建立	54	4.4 乳头状瘤病毒与宫颈癌流行病学	65
3.9.5 小鼠白血病病毒蛋白组分及其比较 研究	54	4.5 单纯疱疹病毒和巨细胞病毒与肿瘤	66
3.9.6 SRSV 的核糖核酸研究	54	4.6 逆转录病毒与成人 T 淋巴细胞白血病流 行病学	67
		4.7 结语	68

第二篇 肿瘤病毒致癌机理

5 细胞癌基因	71	5.4.2 与酪氨酸蛋白激酶有关的癌基因蛋 白	80
5.1 细胞原癌基因	71	5.4.3 胞质丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶	81
5.1.1 src 癌基因族	72	5.4.4 GTP 结合蛋白	82
5.1.2 ras 癌基因族	73	5.4.5 核蛋白	83
5.1.3 myc 癌基因族	73	5.4.6 癌基因的协同作用	85
5.1.4 myb 癌基因族	73		
5.2 细胞原癌基因与病毒癌基因的区别	73	6 抑癌基因	87
5.2.1 v-myb 与 c-myb 基因的区别	73	6.1 抑癌基因的命名与分类	87
5.2.2 v-jun 与 c-jun 基因的区别	73	6.1.1 命名	87
5.2.3 v-fos 与 c-fos 基因的区别	74	6.1.2 分类	87
5.2.4 v-erb A 与 c-erb A 基因的区别	74	6.2 抑癌基因的生化功能	88
5.2.5 v-src 与 c-src 基因的区别	74	6.2.1 RB 基因及其编码产物	88
5.2.6 v-rel 与 c-rel 基因的区别	75	6.2.2 p53 基因及其编码产物	89
5.2.7 v-myc 与 c-myc 基因的区别	75	6.2.3 NF1 基因及其编码产物	90
5.2.8 v-ras 与 c-ras 基因的区别	75	6.2.4 WT1 基因及其编码产物	90
5.3 细胞原癌基因的活化	75	6.3 抑癌基因转入肿瘤细胞的研究	91
5.3.1 点突变	75	6.4 癌基因与抑癌基因的协同作用	91
5.3.2 基因的扩增	76		
5.3.3 病毒基因启动子的插入	76	7 病毒癌基因和病毒致癌作用	93
5.3.4 基因易位	77	7.1 肿瘤病毒致癌作用的特点	93
5.4 癌基因编码蛋白的功能	79	7.1.1 病毒转化细胞的特征	93
5.4.1 与生长因子有关的癌基因蛋白	79		

7.1.2 病毒转化细胞的途径	93	7.2.4 免疫缺陷病毒的致癌机理	103
7.1.3 病毒转化细胞的性质	94	7.3 DNA 肿瘤病毒的致癌机理	103
7.2 RNA 肿瘤病毒的致癌机理	95	7.3.1 转化基因编码产物直接致癌	103
7.2.1 转导性逆转录病毒的致癌机理	95	7.3.2 转化基因编码产物间接致癌	105
7.2.2 顺式激活逆转录病毒的致癌机理	100	7.3.3 转化基因编码产物反式激活致癌	105
7.2.3 反式激活逆转录病毒的致癌机理	102		

第三篇 肿瘤病毒与人类肿瘤

8 人类 T 淋巴细胞白血病 I 型病毒与

成人 T 淋巴细胞白血病

8.1 概述	109
8.2 成人 T 淋巴细胞白血病	109
8.2.1 成人 T 淋巴细胞白血病的临床特点	109
8.2.2 成人 T 淋巴细胞白血病临床分型	110
8.2.3 成人 T 淋巴细胞白血病的病因学	110
8.3 人类 T 淋巴细胞白血病病毒的分离	111
8.4 HTLV-I 型病毒的流行病学	111
8.5 HTLV-I 型病毒的体外感染和转化作用	113
8.6 HTLV-I 型病毒的分子生物学研究	113
8.6.1 HTLV-I 型病毒的逆转录酶	113
8.6.2 HTLV-I 型病毒的核心蛋白	114
8.6.3 HTLV-I 型病毒的核苷酸序列	114
8.6.4 HTLV-I 型病毒系非内源性病毒	114
8.7 HTLV-I 型病毒基因组结构及其功能	114
8.8 HTLV-I 型病毒基因的反式调节	116
8.9 HTLV-I 型病毒的致白血病机理	116
8.10 成人 T 淋巴细胞白血病的诊断和治疗原则	117

9 EB 病毒与 Burkitt 淋巴瘤和鼻咽

癌

9.1 概述	120
9.2 EB 病毒的生物学特性	121
9.2.1 B 淋巴细胞的激活	121
9.2.2 EB 病毒受体	121
9.2.3 淋巴细胞的永生化	122
9.2.4 EB 病毒与癌基因的表达	123
9.3 EB 病毒的潜伏性感染	124
9.4 EB 病毒的抗原表达	125
9.4.1 EB 病毒核抗原(EBNA)	126

9.4.2 早期抗原(EA)	126
9.4.3 膜抗原(MA)	127
9.4.4 衣壳抗原(VCA)	127
9.4.5 潜伏态膜蛋白(LMP)	127
9.5 EB 病毒的血清流行病学	127
9.5.1 VCA 抗体	127
9.5.2 EA 抗体	129
9.5.3 CF 抗体	130
9.6 EB 病毒与其他肿瘤	131
9.6.1 EB 病毒与霍奇金病	131
9.6.2 EB 病毒与结外 T 细胞淋巴瘤	131
9.6.3 EB 病毒与平滑肌肿瘤	132
9.6.4 EB 病毒与胃肠道癌	132

10 乳腺肿瘤病毒与乳腺癌

10.1 概述	135
10.2 乳腺增生与肿瘤发展	136
10.3 乳腺增生结节移植研究	137
10.4 外源性 MMTV 前病毒 DNA 研究	137
10.5 MMTV 与乳腺癌发生	139
10.5.1 MMTV 与超抗原	139
10.5.2 MMTV 激活细胞基因	139
10.5.3 int-1 和 int-2 基因与乳腺癌	141
10.6 与乳腺癌相关的其他基因	142
10.6.1 转化分析	142
10.6.2 转基因小鼠研究	143
10.7 肿瘤病毒与人类乳腺癌	143

11 单纯疱疹病毒 I 型与宫颈癌

11.1 概述	145
11.2 HSV-2 病毒的特征	146
11.2.1 HSV-2 病毒的结构	146
11.2.2 HSV-2 病毒基因组	146
11.3 HSV-2 病毒诱发宫颈癌的动物模型	147

11.4 HSV-2 病毒致癌机理	148	12.5.1 组织学检查	158
11.5 宫颈癌细胞 HSV-2 病毒基因表达	149	12.5.2 电子显微镜观察	159
11.5.1 HSV-2 病毒蛋白	149	12.5.3 免疫学检查	159
11.5.2 HSV-2 病毒 mRNA	149	12.5.4 核酸分子杂交	160
11.5.3 HSV-2 病毒 DNA	149	12.5.5 多聚酶链反应技术(PCR 法)	160
11.6 HSV-2 病毒和宫颈癌的流行病学	150	12.6 HPV 病毒在宫颈癌发生中的作用	160
11.6.1 HSV-2 病毒的分离	150	12.6.1 c-Ha-ras 癌基因、HPV 病毒与宫	
11.6.2 HSV-2 病毒感染妇女的宫颈癌发		颈癌	161
病率	150	12.6.2 c-myc 癌基因、HPV 病毒与宫颈癌	
11.6.3 时间性——HSV-2 病毒感染较宫颈			161
癌发生约早 20 年	150	12.6.3 p53、E6 蛋白与宫颈癌	161
11.6.4 特异性——暴露于 HSV-2 病毒的频		12.6.4 p105 ^{RB} 、E7 蛋白与宫颈癌	162
率与宫颈癌发生相关	150	12.7 HPV 病毒相关的宫颈癌临床和形态学	
11.6.5 HSV-2——一种性传播病毒	150	诊断	162
11.6.6 宫颈癌——一种性传播疾病	150	12.7.1 宫颈癌的传统普查	162
11.6.7 协同因子	151	12.7.2 HPV 感染的生殖器鳞状上皮形态	
11.7 与 HSV-2 病毒相关的宫颈癌患者的免		学改变	162
疫反应	151	12.7.3 宫颈癌的 HPV 普查	162
11.7.1 ICP ₁₀ /AG ₄ 抗体	151	12.8 HPV 病毒相关的宫颈癌防治措施	163
11.7.2 AG-e	151		
11.7.3 VP ₁₄₃ 抗体	151		
11.7.4 其他	152		
11.8 HSV-2 病毒在宫颈癌发生中的临床意			
义	152		
11.8.1 抗全 HSV-2 抗原抗血清	152		
11.8.2 AG ₄ 血清学检查	152		
11.9 抑制 HSV-2 病毒的方法	153		
11.9.1 应用无环鸟苷及其他核苷衍生物	153		
11.9.2 应用免疫制剂	153		
11.9.3 其他	153		
12 人乳头状瘤病毒与宫颈癌	155		
12.1 前言	155		
12.2 HPV 病毒分类	155		
12.3 HPV 病毒基因组结构	156		
12.3.1 晚期区(L 区)	156		
12.3.2 早期区(E 区)	156		
12.3.3 上游调节区(URR)	156		
12.4 宫颈癌和 HPV 病毒感染的流行病学	157		
12.4.1 性接触传播	158		
12.4.2 污染物传播	158		
12.4.3 母体直接传播给胎儿或婴儿	158		
12.5 HPV 病毒的检测	158		
		12.5.1 组织学检查	158
		12.5.2 电子显微镜观察	159
		12.5.3 免疫学检查	159
		12.5.4 核酸分子杂交	160
		12.5.5 多聚酶链反应技术(PCR 法)	160
		12.6 HPV 病毒在宫颈癌发生中的作用	160
		12.6.1 c-Ha-ras 癌基因、HPV 病毒与宫	
		颈癌	161
		12.6.2 c-myc 癌基因、HPV 病毒与宫颈癌	
			161
		12.6.3 p53、E6 蛋白与宫颈癌	161
		12.6.4 p105 ^{RB} 、E7 蛋白与宫颈癌	162
		12.7 HPV 病毒相关的宫颈癌临床和形态学	
		诊断	162
		12.7.1 宫颈癌的传统普查	162
		12.7.2 HPV 感染的生殖器鳞状上皮形态	
		学改变	162
		12.7.3 宫颈癌的 HPV 普查	162
		12.8 HPV 病毒相关的宫颈癌防治措施	163
		13 肝炎病毒与肝癌	166
		13.1 概述	166
		13.2 肝炎病毒分类	166
		13.2.1 甲型肝炎病毒	166
		13.2.2 乙型肝炎病毒	166
		13.2.3 丙型肝炎病毒	167
		13.2.4 丁型肝炎病毒	167
		13.2.5 戊型肝炎病毒	167
		13.3 肝炎病毒的检测	168
		13.3.1 甲型肝炎病毒检测	168
		13.3.2 乙型肝炎病毒检测	168
		13.3.3 丙型肝炎病毒检测	169
		13.3.4 丁型肝炎病毒检测	169
		13.3.5 戊型肝炎病毒检测	170
		13.4 肝炎病毒的分子生物学研究	170
		13.4.1 HBV 的分子生物学研究	170
		13.4.2 HCV 的分子生物学研究	172
		13.5 肝炎病毒与肝癌的关系	173
		13.5.1 HBV 与肝癌的关系	173
		13.5.2 HCV 与肝癌的关系	174
		13.5.3 HDV 与肝癌的关系	175
		13.6 乙型肝炎病毒的致肝癌机理	175
		13.6.1 HBV DNA 插入激活原癌基因	175

13.6.2 HBxAg 反式激活细胞基因	175	14.1 HIV 的分类和生物学特性	194
13.6.3 HBV 致癌的多阶段模式	176	14.1.1 HIV 的分类	194
13.7 原发性肝癌的诊断	176	14.1.2 HIV 的形态结构	196
13.7.1 分型分期	176	14.1.3 HIV 的基因组	191
13.7.2 临床表现	176	14.2 HIV 的传播与感染方式	193
13.7.3 血清肿瘤标记	177	14.2.1 HIV 的体外传播	193
13.7.4 影像学诊断	180	14.2.2 HIV 的体内传播	193
13.7.5 诊断标准	181	14.2.3 HIV 在体内的储存	195
13.7.6 鉴别诊断	182	14.3 HIV 损伤细胞的机理	195
13.8 原发性肝癌的治疗	183	14.4 HIV 感染与免疫反应	196
13.8.1 手术治疗	183	14.4.1 HIV 感染后免疫异常	196
13.8.2 局部治疗	184	14.4.2 HIV 感染者长期存活的机理	196
13.8.3 放射治疗	185	14.4.3 HIV 感染发展的机理	197
13.8.4 化学治疗	185	14.5 HIV 感染过程与临床分类	198
13.8.5 导向治疗	185	14.5.1 HIV 的感染过程	198
13.8.6 生物治疗	185	14.5.2 HIV 感染的临床分类	198
13.8.7 中医中药治疗	186	14.6 防治 HIV 感染的策略	198
13.8.8 对症治疗和并发症处理	186	14.7 HIV 感染相关肿瘤	200
13.8.9 治疗方法的选择	186	14.7.1 Kaposi 肉瘤	200
14 人类免疫缺陷病毒与相关肿瘤	190	14.7.2 淋巴瘤	201

第四篇 肿瘤治疗

15 肿瘤特异性主动免疫疗法	205	16.1.2 LAK 细胞的基本特征	215
15.1 ASI 治疗肿瘤的理论基础	205	16.1.3 LAK 细胞杀伤肿瘤细胞的机理	216
15.2 瘤细胞疫苗的种类型	206	16.1.4 LAK 细胞的临床应用	220
15.2.1 活瘤细胞疫苗	206	16.1.5 LAK 细胞治疗改进措施	220
15.2.2 灭活的瘤细胞疫苗	206	16.2 肿瘤浸润的淋巴细胞	222
15.2.3 修饰或改变的瘤细胞疫苗	206	16.2.1 TIL 细胞的分离和扩增	222
15.3 新型肿瘤疫苗的研制	207	16.2.2 TIL 细胞的基本特征	223
15.3.1 制备与肿瘤发生有关的病毒疫苗	208	16.2.3 TIL 细胞的杀瘤谱	224
15.3.2 制备表达肿瘤相关抗原的痘苗病毒 重组体	208	16.2.4 TIL 细胞识别的靶抗原	225
15.3.3 基因转移入肿瘤细胞制备疫苗	208	16.2.5 TIL 细胞的临床应用	226
15.4 ASI 临床应用概况	211	17 细胞因子抗肿瘤疗法	229
15.4.1 常规制备的瘤苗临床应用	211	17.1 细胞因子总论	229
15.4.2 免疫佐剂在瘤苗接种中的应用	212	17.1.1 细胞因子概念	229
16 过继性细胞免疫治疗	214	17.1.2 细胞因子分类	229
16.1 淋巴因子激活的杀伤细胞——LAK 细胞	214	17.1.3 细胞因子来源	230
16.1.1 LAK 细胞的制备	214	17.1.4 细胞因子的共同特性	231
		17.1.5 细胞因子网络	231
		17.2 细胞因子抗肿瘤疗法概论	233

17.2.1 细胞因子抗肿瘤疗法的简史和现状	233	18.3 包装细胞系	267
17.2.2 细胞因子抗肿瘤作用	234	18.3.1 第一代包装细胞系	267
17.3 干扰素	235	18.3.2 第二代包装细胞系	268
17.3.1 干扰素分类和生物活性作用	235	18.3.3 第三代包装细胞系	268
17.3.2 干扰素治疗肿瘤的临床研究	237	18.3.4 第四代包装细胞系	269
17.4 肿瘤坏死因子	238	18.4 疾病的基因治疗	270
17.4.1 肿瘤坏死因子的分子生物学研究	238	18.4.1 应用基因疗法的疾病	270
17.4.2 肿瘤坏死因子的生物活性作用	239	18.4.2 基因转移的靶细胞	273
17.4.3 肿瘤坏死因子抗肿瘤作用及其机理	239	18.4.3 细胞因子基因疗法	274
17.5 白细胞介素	241	18.4.4 细胞自杀基因治疗	276
17.5.1 白介素-1 (IL-1)	241	18.4.5 病毒导向酶联药物前体疗法	276
17.5.2 白介素-2 (IL-2)	242	18.4.6 诱导细胞杀伤性免疫反应疗法	277
17.5.3 白介素-4 (IL-4)	246	18.4.7 抑癌基因治疗	277
17.5.4 白介素-6 (IL-6)	247	18.4.8 耐药基因治疗	277
17.5.5 白介素12(IL-12)	249	18.4.9 反义核酸治疗	278
17.6 集落刺激因子	251	19 恶性肿瘤诱导分化	282
17.6.1 概论	251	19.1 肿瘤诱导分化剂	282
17.6.2 集落刺激因子的主要功能	252	19.1.1 肿瘤诱导分化剂的发现	282
17.6.3 集落刺激因子与白血病关系	252	19.1.2 肿瘤诱导分化剂的种类	282
17.6.4 集落刺激因子在抗肿瘤治疗中的应用	254	19.1.3 诱导分化剂的构效关系和作用专一性	283
17.7 生长抑制因子	254	19.2 肿瘤诱导分化研究	285
17.7.1 转化生长因子	254	19.2.1 肿瘤诱导分化的体外研究	285
17.7.2 抑瘤素M	255	19.2.2 肿瘤诱导分化的体内研究	287
17.7.3 白血病抑制因子	256	19.3 肿瘤诱导分化剂作用机理	289
17.8 细胞因子治疗肿瘤的研究	256	19.3.1 影响细胞膜	289
17.8.1 细胞因子治疗肿瘤的一般原则	256	19.3.2 影响细胞质	289
17.8.2 细胞因子治疗肿瘤方法的改进	257	19.3.3 影响细胞核	290
17.8.3 细胞因子抗肿瘤疗法是系统工程	257	19.4 肿瘤诱导分化研究展望	295
18 肿瘤的基因治疗	261	20 抗病毒药物治疗	298
18.1 外源基因导入细胞的方法	261	20.1 抗病毒药物的研究概况	298
18.1.1 病毒法	261	20.1.1 抗病毒药物的作用机理	298
18.1.2 化学法	262	20.1.2 抗病毒药物的筛选	300
18.1.3 融合法	262	20.1.3 抗病毒药物研究的困难和对策	301
18.1.4 物理法	262	20.2 常用抗病毒药物	301
18.2 逆转录病毒作为基因载体系统	262	20.2.1 碘苷	301
18.2.1 逆转录病毒基因组的结构与功能	263	20.2.2 阿昔洛韦	302
18.2.2 逆转录病毒载体系统的构建	264	20.2.3 齐多夫定	303
18.2.3 逆转录病毒载体的类型和特征	265	20.2.4 双脱氧肌苷	304
18.2.4 逆转录病毒载体的应用	266	20.2.5 干扰素	305
		20.3 天然抗病毒药物	306
		20.4 其他抗病毒药物	307

第一篇 肿瘤病毒的特征

1 病毒概论

1892 年俄国学者 Ivanovcki 发现烟草花叶病的病原体可以通过除菌滤器, 1898 年荷兰学者 Beijerinck 重复试验和肯定了 Ivanovcki 的上述结果, 定名此病原体为烟草花叶病毒 (TMV)。本世纪 30 年代中期已有很多动、植物疾病被认为是由病毒引起的。1935 年美国生物化学家 Stanly 第 1 次提取与分离 TMV 结晶, 用其溶液感染烟草健康植株, 并使烟叶罹患同样的疾病, 从而进一步证实此结晶具有传染性。40 年代 Avery 证明无毒的肺炎双球菌能转化成有毒菌株, 其转化物质是该菌的 DNA, 第 1 次确切地把 DNA 和基因概念联系在一起, 标志着分子生物学时代的开始。其后, 利用病毒材料进行这类试验, 均证明核酸 (DNA 或 RNA) 携带着遗传信息。

1949 年 Enders 建立单层细胞培养法, 其后的 10 年中, 现有人类病毒的 90% 是用此法分离得到的。细胞培养法不仅为病毒的实际应用, 如病毒的定量、诊断、疫苗生产提供新的方法, 而且对研究病毒理论, 如病毒复制 (replication)、抗病毒药物作用机理以及病毒的细胞培养中引致细胞转化等都起到重要的作用。1953 年 Watson 和 Crick 提出 DNA 双螺旋模型, 为分子生物学的发展奠定了基础。60 年代对于遗传三联密码、核酸复制、DNA 转录为 mRNA, 进而以 mRNA 为模板生物合成蛋白质, 提出所谓“中心法则”, 病毒研究都作出了重大的贡献^[1]。

60 年代已知一些含有 DNA 的病毒如多瘤病毒、SV40 病毒以及腺病毒 (adenoviruses) 能在动物体内引起肿瘤。但病毒的致癌机理 70 年代才逐步阐明。溶原性噬菌体的前噬菌体学说启发人们作出溶原性可能就是病毒致癌模型的假设, 后来从发现肿瘤病毒的 DNA 或其片段与细胞染色体的整合现象得到证实。美国 Gilbert 用化学标记法和英国 Sanger 建立加减法, 均可快速而简便地分析 DNA 序列, 从而大大地促进了解决 DNA 病毒的致癌问题。由于 60 年代发现的很多肿瘤病毒, 几乎分布于所有含 DNA 的病毒中, 而在 RNA 病毒仅逆转录病毒 (retroviruses) 具有致癌性。逆转录病毒对抑制 DNA 合成的药物具有敏感性, 于 1970 年 Temin 和 Baltimore 在 Rous 肉瘤病毒颗粒中发现含有逆转录酶, 该酶将病毒的 RNA 逆转录成 DNA。这不仅说明致癌性逆转录病毒为何对抑制 DNA 合成的药物具敏感性, 且还使 RNA 肿瘤病毒和 DNA 肿瘤病毒的致癌性认识得到了统一。

随着 70 年代遗传工程技术的兴起, 除质粒外, 揭示病毒是把某一基因片段从一种细胞转移至另一种细胞的分子载体上。遗传工程技术是研究基因定位、结构功能的有力工具。这一方法也必然为研究病毒引致肿瘤提供重要手段。

在本章中将着重介绍病毒的基本结构、病毒的复制以及病毒的分类。

1.1 病毒的结构与化学组成^[2,3]

1.1.1 病毒的结构

完整而具感染性的病毒颗粒称病毒体、毒粒或成熟病毒(virion),它是由核酸(DNA 或 RNA)和蛋白质组成。病毒的核心为核酸,含有病毒的基因组。核酸外面包裹蛋白质外壳,称为衣壳(capsid)。衣壳与被包绕的核酸统称为核衣壳(nucleocapsid)。核衣壳是病毒的基本结构,一些病毒在核衣壳外面还包被主要由脂质构成的包膜(envelope)。

衣壳由大量壳粒(capsomere)组成,是电镜下可见的形态学单位。壳粒由单一或多个肽分子构成,是衣壳的化学单位或结构单位。肽分子呈对称排列,围绕着核酸形成一保护层。由于核酸的形态和结构各异,多肽的排列也不相同,因而形成几种对称形式,在病毒的分类上可作为一种指标。在电镜下,绝大多数病毒呈杆状或球状。杆状病毒具有螺旋对称结构,球状病毒多具有二十面体对称结构。

(1) 螺旋对称结构 一些病毒如 TMV 的核酸呈伸展状,螺旋衣壳非常坚固,而另一些病毒如流感病毒的核酸则柔韧而卷曲,包围在外层衣壳的蛋白质分子,亦围绕着核酸呈螺旋状对称。属于这种结构的人类病毒有流感病毒、仙台病毒、水泡性口炎病毒及与肿瘤有关的 Rous 肉瘤病毒等。

(2) 二十面立体对称结构 很多球形病毒的衣壳均呈二十面立体对称,病毒的核酸浓集成球状或近似球状结构,由蛋白质分子组成的衣壳壳粒呈立体对称排列。动物病毒多呈二十面立体对称,如腺病毒、脊髓灰质炎病毒(poliovirus)等。一些病毒还有附属结构,如腺病毒顶角上呈纤维状突起。

此外,有一些病毒衣壳壳粒排列与上述两种均不相同,比较复杂,称为复合对称如痘病毒(poxviruses)、噬菌体。

小型病毒仅有核衣壳,称为裸露病毒,核衣壳的功能可保护核酸不受核酸酶或其他不利环境因素的破坏,并能介导病毒核酸进入宿主细胞。核衣壳具有抗原性,能引起机体的免疫应答。尚有一些病毒在核衣壳的外面包绕一层包膜,这是病毒核衣壳在成熟过程中穿过细胞膜时,以“出芽”(budding)方式向外释放时,从细胞膜(少数病毒包膜来自胞质内空泡或核膜)获得的。因此,它含有宿主细胞膜的化学成分(主要是脂质)。由于包膜含有宿主细胞的脂质成分,故有包膜的病毒对脂溶剂敏感。

1.1.2 病毒的化学组成

绝大多数病毒是由核酸与蛋白质组成的。一些比较简单的病毒,如腺病毒仅由核衣壳即核蛋白组成;而有包膜的病毒,如单纯疱疹病毒,除核蛋白外还含有脂类和非核酸的糖类。

(1) 病毒的核酸 位于病毒体中心,构成病毒的核心,其化学成分为 DNA 或 RNA,并据此将病毒分为 DNA 病毒和 RNA 病毒两大类。病毒的核酸可为双链或单链。分子量(M_r)为 $(2\sim 160) \times 10^6$ 。动物病毒的 DNA 病毒大多为双链, RNA 病毒则大多为单链。通常用核酸分子杂交法对不同病毒核酸结构进行比较,可了解病毒在分类与进化方面的相互关系,借此研究病毒的同源性。

病毒核酸组成有下列特点: ①一切生物的 DNA 呈双链,大多数病毒 DNA 也呈双链,

如腺病毒、单纯疱疹病毒等。此外,病毒 DNA 也有呈单链的,如微小 DNA 病毒。在自然界,单链环状 DNA 仅发现存在于少数病毒中,但在病毒 DNA 中还发现有双链环状的,如多瘤病毒、SV40 病毒等。一般生物的 RNA 是单链的,脊髓灰质炎病毒及大多数植物病毒均含有一单链 RNA 分子如 TMV;但也有极少数病毒如呼肠孤病毒,则含有双链 RNA;②不论是双链 DNA 或双链 RNA,其碱基组成有一定规律:嘌呤的总数等于嘧啶的总数;含氨基的碱基总数等于含酮基的碱基总数;腺嘌呤(A)与胸腺嘧啶(T)或尿嘧啶(U)的克分子(mol)数相同,而鸟嘌呤(G)与胞嘧啶(C)的 mol 数也相同。这一规律对 DNA 或 RNA 双螺旋的形成非常重要。如碱基组成中 $A + C \neq G + T$ (或 U), $A \neq T$ (或 U), $G \neq C$ 的病毒核酸都不是双链 DNA 或 RNA,而是单链 DNA 或 RNA;③在双链 DNA 病毒中,不同病毒的碱基成分有差异,甚至含有异常的碱基。这可能使人们在宿主细胞 DNA 存在的情况下,测定病毒 DNA 的增殖(multiplication)。在双链 DNA 病毒中,如呼肠孤病毒可含有 10 个或更多的互不重叠的节段,每个节段可转录单独的 mRNA,产生一单独的多肽链。而单链 RNA 病毒,有的不分节段,也有的分节段。这些病毒大多数有一 RNA 正链,即在细胞内起 mRNA 作用,并有 3' 端的多聚腺苷酸(poly A)序列和 5' 端的帽状结构。负链病毒的 RNA 在病毒内转录酶作用下可转录至互补 mRNA 上;④在病毒 DNA 或 RNA 缺陷型病毒体中,有些仅含有一段正常核酸的互补链。这些病毒颗粒无感染性,但可在同时感染正常病毒的细胞内增殖,甚至比正常病毒增殖更快,在感染的同一个细胞内可干扰正常病毒的增殖。

核酸是病毒增殖、遗传和变异的物质基础。病毒核酸的主要功能是作为遗传信息的储存所,但病毒与高等有机体不同,若是正链 RNA 时则起 mRNA 的作用;若是 DNA 时,就不能直接行使 mRNA 的功能,但可作为转录 mRNA 的模板。

(2) 病毒的蛋白质 是病毒结构中的主要成分之一,构成衣壳全部成分与包膜的主要成分,并与许多二十面体病毒的核酸紧密联结构成病毒内部蛋白或核心蛋白,这些统称为结构蛋白,亦是病毒基因组的编码产物。一些病毒,如小 RNA 病毒无包膜、而正粘病毒(orthomyxoviruses)与副粘病毒(paramyxoviruses)则有包膜,并有一种具有特殊功能的蛋白质称为血凝素,能凝集某些动物的红细胞。就正粘与副粘病毒来说,血凝素为糖蛋白突起,可用于鉴定病毒及定量病毒。

此外,一些病毒尚含有酶系统,其中主要有:①神经氨酸酶,位于病毒包膜表面糖蛋白突起部分。在病毒增殖过程中,此酶能水解血凝素受体,使血凝消失,因而可将病毒释放出来,如正粘病毒;②RNA 多聚酶,多种病毒均含此酶,能使进入宿主细胞的病毒核酸表达其活性。此酶对不能以 RNA 作为 mRNA 的 RNA 病毒至关重要,在病毒增殖中可催化 RNA 转录 mRNA;③逆转录酶,是一种 RNA 依赖性 DNA 多聚酶,RNA 肿瘤病毒均有此酶。它可将病毒单链 RNA 转录为双链 DNA,然后整合在宿主细胞的基因组内,与肿瘤发生密切相关。

(3) 病毒的脂类与糖蛋白 有包膜的病毒含有脂类,具有下列特性:①一些病毒核衣壳外有一包膜包绕,其包膜中的脂类是病毒在增殖过程中以出芽方式释放时,来自宿主细胞的细胞膜;②如用有机溶剂、某些去垢剂或溶脂酶处理,可使大多数含有脂类的病毒分解并失去感染性。去除包膜中的脂类,可使病毒失去吸附和侵入易感宿主的能力。病毒包膜中也常含有糖蛋白,而以突起的形式出现,如正粘病毒与副粘病毒的血凝素与神经氨酸酶均含有糖蛋白。

1.2 病毒的增殖

病毒的增殖又称病毒的复制,因病毒核酸是以复制的方式进行增殖的。由于病毒仅在活细胞内才能增殖,其间由宿主细胞提供合成病毒核酸与蛋白质的原料。病毒核酸携带编码病毒成分的遗传信息,使宿主细胞合成病毒的核酸与蛋白质。此时,细胞的新陈代谢并未受到明显影响,在细胞合成病毒成分的同时仍能继续进行本身的代谢活动。

病毒的增殖一般可分为吸附、穿入、脱壳、生物合成与释放 5 个相互关联的过程^[4]。病毒核酸的遗传信息可通过不同方式从亲代传至于子代,而不同种类病毒亦可通过不同途径合成 mRNA,从而进一步合成蛋白质。在病毒 mRNA 的 5' 端有甲基化的“帽状”结构,在 3' 端有 poly A。帽状结构可能有利于翻译蛋白质。

除病毒体外,业已证实无蛋白衣壳的核酸也有感染性,其特点为:①高度纯化的许多动物病毒 RNA 和 DNA 是有感染性的,即也能引起病毒增殖,但其感染效率仅为完整病毒体的 1%;②核酸的宿主范围比病毒为广,它可感染缺乏病毒受体的细胞,如鸡细胞缺乏对脊髓灰质炎病毒的受体,其 RNA 却可感染鸡细胞,即能感染病毒抗性细胞;③感染性核酸不受病毒抗体的影响,表明在免疫力存在的情况下病毒的核酸也是有效的感染剂。

实际上,仅一些病毒如乳多空病毒(papovaviruses)、腺病毒、若干疱疹病毒(herpesviruses)、披盖病毒以及小 RNA 病毒可产生感染性核酸,而逆转录病毒可从感染细胞中获得感染性 DNA。

根据病毒增殖能否释放出完整病毒,可将病毒的增殖分为生产性增殖(productive multiplication)和流产性增殖(abortive multiplication)。前者为病毒的正常增殖过程,后者则为异常、不完全的增殖过程。流产性增殖发生的原因或来自细胞或来自病毒,以致不能产生有感染性的病毒。

1.2.1 病毒的吸附

在含有病毒和敏感宿主细胞培养下,病毒附着在细胞表面的过程称为吸附。吸附作用与病毒颗粒表面蛋白质结构和宿主细胞表面受体有关。如完整的脊髓灰质炎病毒颗粒可吸附于灵长类动物细胞,而不能吸附于啮齿类动物细胞。因后者无相应受体;然而用病毒的核酸感染则不受上述细胞种类的影响,但其子代病毒却不能继续感染培养物中未被感染的细胞。此种现象表明,细胞对病毒的吸附取决于病毒颗粒表面的特异性结构。用核酸感染,即转染(transfection)细胞的效率远较完整病毒感染为低。

另一方面,细胞表面结构在病毒的吸附中也起重要作用。有包膜的病毒一般可与细胞表面受体结合,然后通过病毒脂蛋白包膜与细胞膜融合吞入病毒(virophagocytosis)而进入细胞。细胞表面受体具有特异性,如人及灵长类的肠上皮细胞及中枢神经细胞表面有特殊脂蛋白,是脊髓灰质炎病毒的受体,故易被这种病毒感染。又如人及动物的上呼吸道上皮细胞上有糖蛋白,其末端是半乳糖-N-乙酰神经氨酸,是流感病毒及副流感病毒的特异受体。可被霍乱弧菌产生的神经氨酸酶,即受体破坏酶破坏上皮细胞的受体后,即不再吸附流感病毒。由此可见,所谓不同病毒对不同细胞的亲嗜性,实际上是由受体所决定的。如果消除细胞上的受体,即可免受病毒感染。

1.2.2 病毒的穿入