

山东泰山科技专著出版基金资助出版



肿瘤分子靶向治疗学

ZHONGLIU FENZI BAXIANG ZHILIAOXUE

主 编 吴 旻 马 洁 张 林 李 岩



山东科学技术出版社
www.lkj.com.cn

山东泰山科技专著出版基金资助出版



肿瘤分子靶向治疗学

ZHONGLIU FENZI BAXIANG ZHILIAOXUE

主 编 吴 旻 马 洁 张 林 李 岩

江苏工业学院图书馆
藏书章

图书在版编目 (CIP) 数据

肿瘤分子靶向治疗学 / 吴旻等主编. — 济南: 山东科学技术出版社, 2009
ISBN 978-7-5331-5094-5

I. 肿... II. 吴... III. 肿瘤—治疗学 IV. R730.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 142012 号

山东泰山科技专著出版基金资助出版

肿瘤分子靶向治疗学

主 编 吴旻 马洁 张林 李岩

出版者: 山东科学技术出版社

地址: 济南市玉函路 16 号

邮编: 250002 电话: (0531) 82098088

网址: www.lkj.com.cn

电子邮件: sdkj@sdpress.com.cn

发行者: 山东科学技术出版社

地址: 济南市玉函路 16 号

邮编: 250002 电话: (0531) 82098071

印刷者: 山东新华印刷厂潍坊厂

地址: 潍坊市潍州路 753 号

邮编: 261031 电话: (0536) 2116918

开本: 787mm×1092mm 1/16

印张: 35.75

版次: 2009 年 3 月第 1 版第 1 次印刷

ISBN 978-7-5331-5094-5

定价: 80.00 元

主 编	吴 旻	马 洁	张 林	李 岩
副 主 编	夏桂民	梁 婧	梁江久	黄常志
	宁 康	顾 禾		

编 委	(以汉语拼音为序)			
-----	-----------	--	--	--

白晓枫	蔡建强	崔 晶	戴亚云	顾洪涛
官 印	管考鹏	郭亦媛	赫淑倩	李长岭
李玉萍	李 琤	李景泉	黎 莉	吕晓霞
梁 军	刘风军	刘海荣	刘 联	刘 敏
刘晓琳	刘学丽	刘芝华	吕红英	马建辉
毛海婷	苗 青	潘文萍	孙殿水	孙 青
孙淑娟	田 军	王建宁	徐兵河	杨春艳
张建东	张永明	赵建军	周志祥	

第一篇 肿瘤学原理

第一章 肿瘤分子生物学	3
第一节 分子生物学概论	3
第二节 癌基因、抑癌基因与肿瘤	5
第三节 细胞信号传导与肿瘤	11
第四节 细胞的生长、凋亡与肿瘤	13
第五节 生长因子与肿瘤	18
第六节 肿瘤的浸润和转移	21
第二章 肿瘤病因	25
第三章 肿瘤分子病理学	33
第一节 免疫组织化学	33
第二节 DNA 定量	34
第三节 肿瘤标志物	36
第四章 肿瘤分子遗传学	50
第一节 肿瘤与遗传	50
第二节 细胞遗传学	52
第三节 肿瘤易感遗传机制	67
第四节 肿瘤分子遗传学诊断原理	70
第五节 肿瘤分子遗传学诊断技术	71
第六节 小突变	77
第五章 肿瘤免疫学	88
第一节 概论	88
第二节 肿瘤发生与机体免疫状态	88
第三节 肿瘤抗原	89
第四节 T 细胞识别的人类肿瘤抗原	91
第五节 肿瘤抗原的加工和递呈	92
第六节 机体抗肿瘤的免疫效应机制	94
第七节 肿瘤的免疫逃逸机制	99
第八节 肿瘤的免疫诊断	101
第六章 肿瘤的研究方法	103

第一节	实验肿瘤学基础	103
第二节	组织培养在肿瘤研究中的应用	110
第七章	肿瘤的处理原则	114
第一节	外科治疗	114
第二节	化学治疗	119
第三节	放射治疗	124
第四节	生物治疗	129
第五节	介入治疗	130
第六节	物理治疗	133
第七节	中医中药治疗	138

第二篇 肿瘤分子靶向治疗导论

第八章	肿瘤分子靶向治疗的定义及相关概念	149
第一节	肿瘤分子治疗新时代的曙光	149
第二节	肿瘤分子靶向治疗的概念	149
第九章	抗肿瘤药物研究的现状	152
第一节	抗肿瘤药物发展策略	152
第二节	抗肿瘤药物研究的新靶点和新方向	154
第三节	抗肿瘤分子靶向药物的研究	164
第十章	肿瘤分子靶向治疗研究基础	169
第一节	肿瘤靶向治疗的分子基础与病人选择	169
第二节	肿瘤靶向治疗临床前研究的问题	170
第三节	单克隆抗体在肿瘤研究中的应用	172

第三篇 靶向性策略在肿瘤基因治疗中的应用

第十一章	目的基因转移的靶向性	177
第一节	以病毒为载体的基因靶向转移	177
第二节	受体/配体介导的基因靶向转移	186
第三节	以纳米材料为载体的基因靶向转移	192
第十二章	目的基因的靶向转录	200
第一节	肿瘤特异性调控元件对基因转录的调控	200
第二节	组织特异性调控元件对基因转录的调控	205

第四篇 针对不同途径的肿瘤靶向治疗研究

第十三章	异常基因与肿瘤靶向治疗	215
第十四章	针对信号传导的靶向治疗	227
第一节	概述	227

第二节	G 蛋白介导的信号传导系统	230
第三节	酶耦联受体介导的信号传导系统	234
第四节	信号传导抑制剂	236
第十五章	针对酪氨酸激酶信号传导途径的靶向治疗	240
第一节	概述	240
第二节	针对 EGFR 酪氨酸激酶信号传导途径的靶向治疗	241
第三节	针对 VEGF 酪氨酸激酶信号传导途径的靶向治疗	249
第十六章	针对肿瘤抗原的靶向治疗	254
第一节	针对肿瘤抗原的单抗药物治疗	254
第二节	针对肿瘤抗原的肿瘤疫苗治疗	256
第十七章	抗肿瘤血管生成治疗	264
第一节	肿瘤组织血管生成的机制	264
第二节	抗肿瘤血管生成治疗药物的研究进展及优势	269
第三节	抗肿瘤血管生成治疗的局限性及发展趋向	272
第十八章	肿瘤的免疫调节治疗	275
第十九章	肿瘤的细胞因子治疗	284
第一节	概述	284
第二节	常用的细胞因子及其作用机制	285
第三节	肿瘤的细胞因子靶向治疗	290
第二十章	肿瘤的内分泌治疗	307
第一节	乳腺癌的内分泌治疗	307
第二节	前列腺癌的内分泌治疗	310
第三节	其他与内分泌有关肿瘤的内分泌治疗	313

第五篇 常见肿瘤的靶向治疗

第二十一章	恶性淋巴瘤	321
第一节	恶性淋巴瘤的分子生物学基础	321
第二节	恶性淋巴瘤的分子靶点研究及应用进展	323
第二十二章	白血病	344
第一节	白血病的抗体治疗	344
第二节	疫苗治疗	353
第三节	过继性 T 细胞治疗	358
第二十三章	肾癌	362
第一节	肾细胞癌的分子生物学和遗传学基础	362
第二节	肾细胞癌的分子靶点研究及应用进展	367
第二十四章	前列腺癌	387
第一节	前列腺癌的分子生物学基础	387

第二节 前列腺癌的分子靶点研究及应用进展	391
第二十五章 脑肿瘤	406
第一节 脑肿瘤的分子遗传学基础	406
第二节 恶性脑肿瘤的基因治疗进展	412
第三节 抗肿瘤血管生成在脑肿瘤治疗中的研究进展	415
第四节 恶性脑肿瘤分子靶向治疗	416
第二十六章 甲状腺癌	422
第一节 甲状腺癌的分子遗传学基础	422
第二节 甲状腺癌的分子靶向治疗	434
第二十七章 胃癌	440
第一节 胃癌的分子生物学基础	440
第二节 胃癌的分子靶点研究及应用进展	443
第三节 胃肠道间质瘤的分子靶点研究及应用进展	449
第二十八章 大肠癌	457
第一节 大肠癌的分子生物学基础	457
第二节 大肠癌的分子靶点研究及应用进展	460
第二十九章 原发性肝癌	468
第一节 原发性肝癌的分子生物学基础	468
第二节 肝癌的分子靶点研究及应用进展	483
第三十章 乳腺癌	487
第一节 乳腺癌的分子生物学基础	487
第二节 乳腺癌的分子靶点研究及应用进展	502
第三十一章 肺癌	527
第一节 肺癌的分子生物学基础	527
第二节 肺癌的分子靶点研究及应用进展	545

第一篇

ZHONG LIU XUE
YUAN LI

肿瘤学原理

第一章 肿瘤分子生物学

第一节 分子生物学概论

现代医学的快速发展揭示了多种人类疾病的发病机制,并使多数疾病的预防和治疗成为可能。但仍有许多疾病,尤其是肿瘤,其发病机制不甚明确,更缺乏有效的预防和治疗手段,严重危害人类生命和健康。因此,迫切需要对肿瘤的发病机制和采取措施进行广泛、深入、细致的研究。长期以来,人们一直在同肿瘤进行斗争,很多国家为此投入了巨大的人力和物力,在全球范围的民用科学研究领域中,肿瘤研究几乎是投入最多和队伍最大的。迄今为止,人类征服癌症最好的途径是预防和早期发现。来自美国的资料显示,在过去的30年间,肿瘤患者的5年生存率从50%提高到63%,提高的13%全是因为早期发现;对转移肿瘤的治疗与30年前未显示明显区别。如果能在癌变早期准确预报,肿瘤的防治就会有战略性突破。然而由于技术水平的限制,目前临床诊断的肿瘤患者多处于中晚期,治疗效果较差。要想从根本上遏制肿瘤,就必须知道肿瘤是怎么发生和如何发展的。在这个认识过程中,处在基础医学研究前沿的分子肿瘤学发挥着越来越重要的作用。

肿瘤研究是一个庞大的系统工程,它需要众多学科的共同参与和相互补充,如病理学、细胞生物学、医学遗传学、肿瘤免疫学、肿瘤药理学以及内科、外科和放射医学等学科。然而,这些学科的传统研究方法,难以胜任对肿瘤的深入探索。二十

世纪七八十年代蛋白、基因研究取得重大突破,尤其是基因克隆技术及其他相关技术的迅速发展,催生了一门崭新的学科——分子肿瘤学(或称肿瘤分子生物学)。

人类细胞中有几万个基因,这些基因在正常细胞中组成了结构稳定、层次复杂、运行有序,对外界环境能作出迅速、准确应答,并且有自动纠错功能的信号网络。理论上,这样的完善网络不易发生紊乱,然而肿瘤细胞的出现正是这个完善网络发生错乱的结果。肿瘤生长表现为细胞不受控制地异常增生。科学家进一步发现,“狂野”的肿瘤细胞,其实是因为癌基因与抑癌基因的平衡失调和此消彼长而在人体组织和器官内“作乱”。因此可以说,20世纪80年代初癌基因和抑癌基因的发现,标志着肿瘤研究真正进入分子肿瘤学时代。近二十年来与肿瘤发生分子机制有关的多项基础研究,如癌基因的发现、细胞周期及其调控的发现、细胞信号传导领域的多项成果,多次获得诺贝尔医学和生理学奖。

目前,临床上的放、化疗和手术等治疗肿瘤的方法还是比较被动的,副作用也很大。而分子肿瘤学研究是期望在肿瘤刚刚“萌芽”,甚至仅仅是萌芽所需“土壤”刚刚形成的早期,找到其发生发展的关键环节(基因或蛋白),一方面可以将这些基因或蛋白作为肿瘤早期诊断的指标,另一

方面可以作为阻断肿瘤生长和转移侵袭的靶点。这种阻断是在分子层面的特异性阻断,既比传统方法更加有效,又能避免对正常细胞的伤害,变过去的盲目性治疗为靶向治疗。

传统的肿瘤治疗模式(手术、放疗、化疗)依然是目前肿瘤治疗的主要手段。然而进入 20 世纪后半叶,生物学出现了革命性进展——分子生物学的出现导致临床医学包括肿瘤学的重大变革,靶向治疗正是这一变革的产物。靶向治疗是指抗肿瘤药物靶向性地与肿瘤的不同特异性位点(靶标)发生作用从而杀死肿瘤细胞,对正常组织影响较小,是目前最理想的治疗模式。靶向治疗具有较轻的不良反应和良好疗效,能明显提高患者的生活质量,代表着肿瘤治疗的未来趋势。不同阶段、不同种类肿瘤的靶向治疗是不同的,如第一种抗血管生长药物 Avastin 用于结直肠癌的一线治疗,该药通过靶向作用于血管生长的关键介质——血管内皮生长因子(VEGF)治疗转移性结直肠癌。

靶向治疗是建立在肿瘤分子生物学的研究发展基础之上的。随着对肿瘤发生、发展的研究深入,肿瘤的诊断不再停留在简单的器官部位阶段,而是逐渐向细胞学、分子生物学标记乃至基因组学分类诊断方向纵深发展。最初的诊断是乳腺癌、结直肠癌、肺癌、胃癌等,之后逐步深入到癌细胞组织类型的诊断,如肺癌中的腺癌、鳞癌等,随后发展到分子生物学指标方面的诊断,如 B 细胞型非霍奇金淋巴瘤等具有特定免疫标志物的肿瘤,以及从基因表达的差异来进行肿瘤分类诊断,如癌基因 HER-2 阳性(过度表达)乳腺癌等。针对各阶段分类性诊断指标可以研发不同的靶向治疗药物,从而避免药物对靶标以外的正常细胞产生损伤,大大降低

了以往治疗模式常出现的正常细胞、组织损伤的副作用;同时,这也将促进肿瘤疾病分类学方面的发展。

最先用于靶向治疗的药物希罗达是由 FDA 批准用于治疗乳腺癌和结直肠癌的口服化疗药物。这种药物只在肿瘤细胞内通过其特有的胸苷嘧啶磷酸化酶活化,转变成细胞毒药物 5-Fu,从而起到杀死肿瘤的作用。利妥昔单抗是通过肿瘤细胞的免疫学特征来鉴别靶标,从而最大限度地靶向性消灭 B 细胞型非霍奇金淋巴瘤。曲妥珠单抗则是针对过度表达癌基因 HER-2 的细胞进行靶向治疗。对于这种以基因表达差异为治疗靶标的药物应用来说,先寻找治疗的靶标,即筛选、诊断出 HER-2 过度表达的病人是关键。因此,肿瘤诊断学发展与肿瘤的靶向治疗是密切关联的。其他的靶向治疗药物中, Tarceva 用于治疗非小细胞肺癌,这是一种表皮生长因子受体(EGFR)靶向性抗肿瘤药物,其作用靶点是人类表皮生长因子受体-1(HER-1)。HER-1 是 EGFR 信号通路的主要组成部分,是肿瘤细胞生长繁殖的重要调控因素,而抑制 HER-1 活性可达到抑制肿瘤细胞生长的目的。吉非替尼是最近研究比较多的一种用于治疗非小细胞肺癌的分子靶向药物,通过选择性地抑制表皮生长因子受体酪氨酸激酶(EGFR-TK)的信号传导通路而发挥作用。研究发现,吉非替尼对亚洲人群的有效率比欧美人群高很多,原因是因为该基因的一个突变位点在亚洲人群中的突变频率比欧美人群要高很多。

可见,肿瘤分子生物学的发展为肿瘤的靶向治疗奠定了坚实的基础,更加深入的分子生物学研究必将产生更多的靶向治疗药物。

第二节 癌基因、抑癌基因与肿瘤

一、癌基因的发现

早在 1910 年, Rous 就发现鸡肉瘤的无细胞滤液(含肉瘤病毒)能使鸡诱发新的肉瘤, 证明肉瘤病毒基因组含致癌基因。此后的研究表明, Rous 肉瘤病毒基因组是一条单链 RNA, 只含几个结构蛋白基因和一个癌基因(Src 基因), 在分类上属于反转录病毒科。Rous 肉瘤病毒侵染细胞后, 以反转录方式大量繁殖并诱发细胞癌变。该病毒基因组中的 Src 基因编码产物是分子量为 60 k 的蛋白质, 故称做 p60src, 具有酪氨酸蛋白激酶(TPK)活性, 能使多个靶蛋白的酪氨酸残基发生磷酸化, 促使细胞癌变。

1952 年, Boyland 第一次证明了致癌物主要作用于 DNA 而非酶和蛋白质; 1953 年, Watson 和 Crick 提出了 DNA 双螺旋模板学说, DNA 双螺旋的发现为研究基因缺失与肿瘤的关系开创了一个新时代。

组织培养技术的广泛应用为研究病毒与肿瘤的关系开辟了一条新途径。1951 年, Gross 证明小鼠白血病的无细胞提取物可导致白血病的发生。1960 年, Nowell 和 Hungerford 发现费城染色体(Ph')与慢性粒细胞性白血病(chronic myeloid leukemia, CML)密切相关。1964 年, Brooks 和 Lawly 用实验证明致癌物可使 DNA 发生突变, 同时也明确了某些致癌物的致癌性与 DNA 亲和性之间有直接关系, 从而为明确环境因素与遗传因素相互作用在肿瘤中的作用奠定了理论和实验的基础。

自此, 人们开始探索病毒如何使正常

细胞发生恶性转化。1965 年, Fried 分离到一种温度敏感的多瘤病毒, 虽然在非理想的温度下不能转化正常细胞, 但是它能在细胞内复制。这一研究结果表明病毒具有转染和复制的能力。Vogt 和 Toyoshima 在 1969 年以及 Martin 在 1970 年分别分离到温度敏感的突变型 Rous 肉瘤病毒。Dulbecco 等在 1968 年证明, SV40 病毒不仅能够转染细胞并能将病毒 DNA 序列整合到细胞的基因中。

1969 年, Heubner 与 Todaro 提出了癌基因学说。肿瘤病毒的研究进展源于反转录酶的发现。1970 年, Baltimore 和 Temin 发现反转录酶, 后者是一种由 RNA 模板合成 DNA 的一种酶, 打破了只由“DNA-RNA-蛋白质”的法则, 导致了病毒学领域的一场革命。此发现提示了病毒 RNA 序列可以感染细胞, 病毒也可以从宿主细胞借用 DNA 序列。

1971 年, Knudson 通过对视网膜母细胞瘤的研究, 假设视网膜母细胞瘤的发生至少存在两步突变, 提出了抑癌基因的假说。1973 年, Rowley 证明费城染色体是由 9 号和 22 号染色体异位而形成的。科学的重大发现归功于新的试验技术的突飞猛进, 从癌基因的发现到抑癌基因假说的提出, 再到被科学界广泛认可是一段漫长的岁月。

二、癌基因的分类

癌基因(oncogene, Onc)有两种形式。存在于正常细胞基因组者, 称为原癌基因(protooncogene)或细胞癌基因(cellular oncogene, C-onc), 其正常功能可能是调节细胞生长, 只在一定的条件改变而有过度

表达时,才可能与肿瘤形成机制有联系。它们能使正常细胞转化为肿瘤细胞。细胞转化基因是存在于人体正常细胞中的原癌基因的突变产物,这类基因广泛存在于生物界,在进化过程中是高度保守的,属于“管家基因”,起着调控细胞生长和分化的作用。当原癌基因在某些环境或内源因素作用下发生数量或结构变化时,就形成了细胞转化基因,最终产生癌细胞。另一形式是存在于肿瘤病毒基因组的癌基因,称为病毒癌基因(viral oncogene, V-onc)。V-onc主要是指反转录病毒所带的癌基因,是病毒复制所必需的,包括反转录病毒致癌基因、腺病毒癌基因、多瘤病毒癌基因。其中研究最多且最早的是反转录病毒致癌基因,它们能使靶细胞发生恶性转化,这是 DNA 肿瘤病毒癌基因和 RNA 肿瘤病毒(逆转病毒)癌基因之间的重要生物性区别。

原癌基因,有时称细胞癌基因,指正常细胞基因组中与病毒癌基因同源性很高的基因片段,能编码一些与细胞分裂调控有关的蛋白激酶。正常情况下,这些基因的表达受抑制,不具有致癌能力;但在某些环境或其他因子影响下,这些基因会发生 DNA 扩增、重排或调控序列改变而被“激活”成为癌基因(更准确地说是致癌基因之中的细胞转化基因)。这样,细胞生长分化失去控制,具有致癌能力,因此导致细胞持续分裂和癌变。

癌基因编码的蛋白主要包括生长因子与生长因子受体、信号转导通路中的分子、基因转录调节因子和细胞周期调控蛋白等几大类型。原癌基因所编码的蛋白质主要有酪氨酸激酶(包括部分细胞质内蛋白和膜结合蛋白)、生长因子、GTP 结合蛋白和核蛋白。可以看出,癌基因与原癌基因所编码的蛋白质基本上是一致的,所

不同的是蛋白质产物在活性、数量及功能上发生了改变。原癌基因正常表达起着调控正常细胞的生长、发育和分化的作用,对维持细胞的正常生长和增殖是不可缺少的;而癌基因则是不正常表达或过量表达调节蛋白(通过基因放大或改变调节的方式增加正常产物,或者是通过活性发生改变或大小发生改变而导致产物发生改变),导致细胞癌变。

三、癌基因的激活机制

癌基因的激活涉及细胞原癌基因的遗传学改变,这种遗传学改变的结果使得细胞具有生长优势。在人类,肿瘤的发生、发展过程中大概有以下几种机制激活原癌基因:①点突变;②染色体重排;③插入激活;④基因扩增。这些机制导致原癌基因的结构改变或表达增加。肿瘤的发生是一个多步骤、多阶段的过程,通过一系列肿瘤相关基因的改变而导致肿瘤的形成。事实上,此过程经常涉及原癌基因的激活和抑癌基因的失活。

(一)点突变

癌细胞内癌基因序列结构与其相应的原癌基因序列结构相比,两者仅有微小的差别,甚至只是一个碱基的差别。这种单个碱基的改变,称为点突变(point mutation)。常见的点突变有碱基替换、插入和缺失。

在 Ras 基因家族中存在着许多原癌基因点突变激活的例子。正常细胞中 H-ras 基因并无细胞转化活性,但在膀胱癌、肺癌和乳腺癌细胞中,克隆的该基因却能诱发细胞转化,原因是该基因的第二个或第二个外显子发生了点突变,致使编码产物 p21 蛋白中的单个氨基酸被取代,从而引起蛋白质构象的变化,转化活性大大提高。同样,在肺癌和结肠癌细胞中的 K-

ras 基因也发生了点突变激活,突变部位在第一个外显子中第 12 位密码子。

(二)染色体重排

染色体重排真核细胞中,当两个位于同一 DNA 链上的基因之间的距离小于规定长度时,其中一个基因转录将会受到抑制,此称为基因领域效应(gene territorial effect)。由于基因领域效应的存在,正常细胞中的某些原癌基因表达受到旁侧序列的抑制;当染色体发生重排和基因易位,原癌基因被激活。原癌基因在细胞中都定位于一定染色体的一定位置上。在一些肿瘤中可见到异常染色体,通过基因分带定位研究,发现在有些异常染色体上有基因易位。

原癌基因在正常情况下表达水平较低;但当发生染色体的易位或倒位时,由于处于活跃转录基因强启动子的下游,而产生过度表达。例如,Burkitt 淋巴瘤细胞中,位于 8 号染色体上的 C-myc 移位到 14 号染色体,使 C-myc 与 Ig 重链基因的调控区为邻;由于免疫球蛋白重链基因表达十分活跃,其启动子为强启动子,且在 CH-VH 之间还有增强子区,致使 C-myc 过表达。再例如,在良性甲状旁腺肿瘤患者的染色体中,CyclinD1 基因倒位处于甲状旁腺素基因启动子下游而过度表达,使细胞出现异常增殖。基因易位造成的另一个后果是产生融合基因,如慢性粒细胞白血病(CML)具有标记染色体——费城染色体(Ph'),它由第 9 号染色体与 22 号染色体发生交互易位[t(9;22)(q34;q11)]而形成。

染色体易位的主要原因是人类染色体存在着脆性位点,而染色体重排的断裂热点多位于脆性位点。恶性肿瘤的染色体重排是获得性的体细胞变化,而不是发生在生殖细胞内的变化。

(三)插入激活

在研究慢性转化型反转录病毒的转化机制中,发现病毒基因组两端含长末端重复序列(LTR),内含启动子(promoter);当其插入至原癌基因附近,会使原癌基因表达增强。如反转录病毒 MoSV 感染鼠类成纤维细胞后,病毒两端各有一个相同的冗长末端重复序列(LTR),它们不编码蛋白质,而含有启动子、增强子等调控成分;病毒基因组的 LTR 整合到细胞癌基因 C-mos 邻近处,使 C-mos 处于 LTR 的强启动子和增强子作用之下而被激活,导致成纤维细胞转化为肉瘤细胞。再例如,鸟类白血病病毒 ALV 不含 V-onc,但插入 C-myc 的上游,导致基因过度表达。

(四)基因扩增

基因扩增(gene amplification)即基因拷贝数增加。正常的细胞每经历一个细胞周期,DNA 只能复制一次;但在某些情况下,DNA 可复制数十次甚至更多。细胞原癌基因在细胞基因组内拷贝数增加及其表达水平的提高,通过基因的剂量效应,使细胞无控制地生长并向异常的方向分化。

在某些造血系统恶性肿瘤中,癌基因扩增是一个极为常见的特征,如前髓细胞性白血病细胞系和这类病人的白血病细胞中,C-myc 扩增 8~32 倍。癌基因扩增的染色体结构有:①双微体(double minute chromosomes,DMs),无着丝粒,成对分布于细胞中的微小染色体;②均染区(homogenously stained region,HSR),是染色局部扩增形成的;③姊妹染色单体非均等交换(unequal sister chromatid exchange,USCE),G₂ 期由于姊妹染色单体之间发生了非均等交换,结果一个子细胞中该染色体较长,具有同源重复(基因扩

增),另一个细胞中对应的染色体较短(基因删除)。其中 DMS 和 HSR 是最常见的类型,在具有 DMS 或 HSR 的直肠癌患者中,C-myc mRNA 含量是正常人的 30 倍。此外,Erb-B 和 Erb-B₂ 基因扩增也常见于人类肿瘤;Erb-B 基因扩增见于胶质细胞瘤和鳞状细胞癌;Erb-B₂ 基因与小鼠神经母细胞瘤中发现的 Neu 基因相同,故又称 Neu 基因,在乳腺癌、卵巢癌、和宫颈癌中均有扩增。

四、抑癌基因

顾名思义,所谓抑癌基因就是能够抑制肿瘤发生的基因。这也是一类在正常细胞内存在的基因,在正常情况下发挥各自的生物学功能;当这类基因发生突变、缺失等异常时,细胞发生癌变。抑癌基因在癌的发生上与癌基因同等重要,甚至更为重要。如果说癌基因是难以驾驭的细胞生长加速器,那么抑癌基因就是不希望细胞生长的制动器。目前了解最多和最重要的两种抑癌基因是 Rb 基因和 p53 基因,其他还有 NF-1 基因、WT-1 基因、结肠腺瘤性息肉(APC)基因和结肠癌缺失(DCC)基因等。在正常情况下,抑癌基因通过其蛋白产物控制细胞生长(如 Rb、p53),或通过酶激活蛋白使癌基因失活(如 NF-1)。若抑癌基因的功能丧失,则可能促进细胞的恶性转化。由此看来,肿瘤的发生可能是癌基因激活和抑癌基因失活共同作用的结果。

(一)Rb 基因

首个被发现的抑癌基因是 Rb 基因,是在研究一种有时呈显性遗传的儿童肿瘤——成视网膜细胞瘤(retinoblastoma, Rb)时发现的。Knudson 通过流行病学调查发现,这类肿瘤中的 40% 具家族性,有遗传倾向,多发生在婴儿,肿瘤常呈双侧性

多发,如早期检出并行外科手术切除,患者长大后仍有发生骨肉瘤等危险;其余 60% 为散发性,无家族史,发生于幼儿,常为单侧单发,比较少见。1971 年,Knudson 提出“两阶段突变”或“二次打击”假说(two-hit hypothesis),认为一个正常的成视网膜细胞变成癌细胞需经两次突变,如果第一次突变已存在于双亲之一的配子中,任何一个成视网膜细胞发生第二次突变即可变成癌细胞。因此,遗传性成视网膜细胞肿瘤患者发病早,常呈多发和双侧性。散发性的患者没有从父母中遗传到第一次突变,必须在同一个成视网膜细胞先后发生两次突变,方能成为癌细胞,因此发生几率低,发病晚,多呈单侧性。1982 年研究发现成视网膜细胞肿瘤患者的染色体 13q14.1 有缺失;1986 年,Friend 等首次发现一段定位于 13q14 的基因序列在 4 例成视网膜肿瘤细胞中不表达,而在成视网膜细胞系中表达,并进一步克隆出该基因,命名为 Rb 基因。30% 以上的成视网膜细胞瘤有大范围的 13q14 缺失,其余则表现为一个外显子缺失到点突变等。在其他很多肿瘤如膀胱癌、乳腺癌及肺癌中,也都检测到 Rb 基因的缺失或突变。进一步的研究则发现,Rb 基因存在于所有检测过的组织中,是 DNA 结合蛋白,可被 CDC2 磷酸化,参与细胞周期的调控。Rb 基因突变约见于 40% 的成视网膜细胞瘤患者。Rb 基因还与成骨肉瘤、软组织肉瘤、小细胞肺癌、乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、食管癌及膀胱癌有关。

(二)p53 基因

继发现 Rb 基因之后又发现和鉴定了许多其他抑癌基因,其中有些被确定为少见的遗传性癌症的病因,有些则在常见的非遗传性成人癌症中呈缺失或突变。大

多数抑癌基因既参与遗传性癌,也参与非遗传性癌的发生。有些抑癌基因的突变是导致人类肿瘤发生的最常见的分子改变。其中最重要的一个就是 p53 基因,1993 年底被美国的 Science 周刊评为“分子明星”。P53 基因在大多数的人类癌症中呈失活状态,是人类恶性肿瘤中最常见的基因改变。最初认为 p53 是癌基因,因为分离到的是突变型,可同 Ras 协同作用转化正常细胞;野生型的 p53 是抑癌基因。

P53 基因定位于人类第 17 号染色体 17p13 区,由 11 个外显子和 10 个内含子组成。人类肿瘤中 p53 基因突变主要在高度保守区内,以 175、248、249、273、282 位点突变率最高,不同种类肿瘤的突变类型不同。此外,p53 变化形式还有缺失、基因重排与肿瘤病毒癌蛋白结合而失活。P53 基因编码 393 个氨基酸残基的蛋白质,即 p53 蛋白。P53 抑癌蛋白是一种多功能蛋白,在 DNA 损伤、低氧血症、热休克、RNA 耗尽或代谢改变等应激情况下,直接或通过其他转录因子间接导致细胞生长阻滞,细胞凋亡。P53 的生物学功能是调节细胞周期和细胞凋亡,是 G_1 期 DNA 损伤的检查点。致突变因子引起的 DNA 破坏,迅速激活 p53 基因,而 p53 蛋白可激活 p21 和 Gadd45 基因并导致相应(growth arrest and DNA damage inducible)蛋白的合成增加。P21 蛋白可以抑制细胞周期和 DNA 复制,Gadd45 蛋白可以使损伤的 DNA 获得修复的机会。这时细胞周期阻滞于 G_1 期,启动 DNA 修复机制,直到 DNA 修复完成,细胞周期继续;如果 DNA 不能被修复,则诱导细胞凋亡,清除携带有突变的细胞。有突变的 p53 蛋白则丧失了 DNA 破坏后细胞周期停顿的能力,导致突变几率增高,细胞基因组

不稳定。这种基因组的不稳定性是癌细胞的一种常见特征,在肿瘤进展中可对癌基因和抑癌基因进一步改变的积累起作用。缺乏 p53 蛋白的肿瘤细胞不能凋亡,维持了肿瘤细胞的生存,也增加了其对化疗药物和放疗的耐药性和抵抗性。P53 基因失活对肿瘤细胞生存的这些作用,解释了人类恶性肿瘤中的高频率 p53 基因突变。

一种十分罕见的常染色体显性遗传综合征——Li-fraumeni 癌症综合征家族中存在 p53 突变体的传递,凡获得一个 p53 突变体等位基因的个体,多在 30 岁前后患恶性肿瘤,恶性肿瘤的种类也五花八门,有骨肉瘤、软组织肉瘤、脑瘤、乳腺癌、肠癌、白血病等。突变的位点在不同家族中略有不同,发病时间也有早至婴幼儿时期者。这说明这些突变体携带者具有遗传易感性,类似于 Rb1 和 WT1 突变体的携带者。虽然 Rb1 和 WT1 能在生殖细胞中传递并具有致瘤性已为人所知,利用 Rb1、WT1 探针行产前诊断,预测胎儿患成视网膜细胞瘤和肾母细胞瘤的风险也已为临床所采用,但这两种肿瘤都是罕见儿童肿瘤,临床实用范围较窄;而 p53 则是成人常见肿瘤中经常出现突变的抑癌基因,Li-fraumeni 癌症综合征又含有若干成人常见肿瘤。因此,上述发现为探索成人常见肿瘤遗传易感性提供了启示。

(三)BRCA1 和 BRCA2 基因

1994 年下半年,犹他大学和某公司的科学家联手克隆出位于 17q 的遗传性乳腺癌的易感基因 BRCA1,随后又克隆了位于 13 号染色体上的 BRCA2,它们参与修复受诱导辐射而受损的 DNA。正常情况下,这些基因的蛋白质产物有助于 DNA 复制错误的修复,一旦基因发生突变不能正常工作,其修复作用便无法发挥,受损