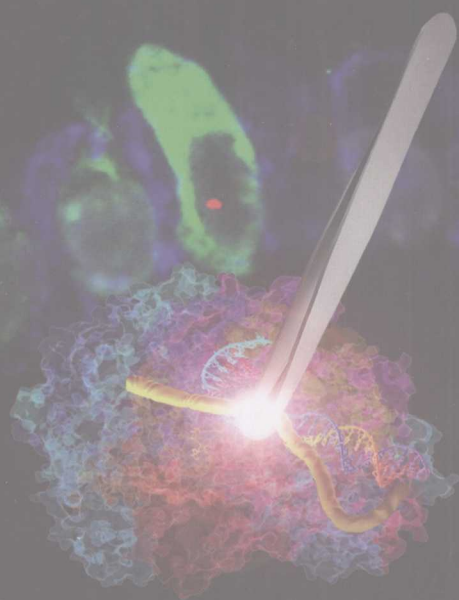


黑龙江省自然科学基金资助

Molecular Diagnosis and Targeted Therapy of Tumor

肿瘤分子诊断与 靶向治疗

主编 孙晓杰 李 珅



第二军医大学出版社

Second Military Medical University Press

黑龙江省自然科学基金资助

肿瘤分子诊断与靶向治疗

主 编 孙晓杰 李 琨
副主编 张 梅 郭红艳 张丽红 王晓霞
主 审 黄常志

第二军医大学出版社

内 容 提 要

肿瘤发病率逐年上升,死亡率居高不下。分子诊断和靶向治疗将肿瘤的诊治推向了一个前所未有的高度,引发了抗癌治疗理念的变革,探索肿瘤的发生、发展本质成为肿瘤诊断治疗的方向和动力。

本书系统地介绍:①肿瘤的发病因素、癌基因、抑癌基因、细胞周期、细胞凋亡、信号转导、肿瘤侵袭转移以及肿瘤分子标记物等;②肿瘤分子诊断技术、靶向治疗、基因治疗和 RNA 干扰在肿瘤治疗中的应用等;③各种常见肿瘤最新的分子诊断和生物治疗方法。

本书力求触及肿瘤分子诊断的前沿,帮助临床工作者更快地将领先技术应用于实践。适用于医学院校高年级本科生、研究生以及与临床肿瘤学相关的研究生和医疗工作者使用!

图书在版编目(CIP)数据

肿瘤分子诊断与靶向治疗/孙晓杰,李坤主编. —上海:
第二军医大学出版社,2009.7

ISBN 978-7-81060-729-2

I. 肿… II. ①孙…②李… III. ①肿瘤-分子生物学-实
验室诊断②肿瘤-治疗学 IV. R73

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 059898 号

肿瘤分子诊断与靶向治疗

主编 孙晓杰 李 坤

第二军医大学出版社出版发行

上海市翔殷路 800 号 邮政编码:200433

发行科电话/传真:021-65493093

全国各地新华书店经销

江苏句容排印厂印刷

开本:787×1092 1/16 印张:22 字数:586.7 千字

2009 年 7 月第 1 版 2009 年 7 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-81060-729-2/R·562

定价:80.00 元

序

肿瘤是危害人类健康的重大疾病,为了攻克肿瘤,人类在肿瘤的防治研究中作出了巨大的努力。随着科学研究技术的发展,肿瘤的发病机制得到了深刻认识。医学前沿学科分子肿瘤学的发展,开创了肿瘤研究的新篇章,它涉及当今肿瘤研究中最热门的各个领域,特别是在肿瘤的发生发展、细胞分化、侵袭、转移的分子机制和诊断防治方面,不断地涌现出大量革命性的新成果和新技术,引起了国内外从事生命科学以及相关学科研究的科学家的关注,极大地促进了肿瘤基础研究和临床应用研究的发展。

当今肿瘤研究的热点之一就是如何将分子肿瘤学的大量研究成果更好地应用于临床,以提高临床的肿瘤诊断水平和治疗效果。基于这一目的,一批从事肿瘤及相关学科研究的学者编撰了《肿瘤分子诊断与靶向治疗》一书。该书内容涵盖了肿瘤病因、癌基因和抑癌基因、细胞周期、细胞凋亡、信号转导、侵袭转移、肿瘤标志物、分子诊断技术、基因靶向治疗技术及策略、RNA 干扰技术的应用、常见肿瘤的分子诊断和治疗等内容。它既反映了分子肿瘤学当今的研究成果和理论,也阐述了新的肿瘤分子诊断技术、肿瘤靶向治疗和基因治疗的技术和策略,以及这些成果在临床上的应用,特别是对常见肿瘤的分子诊断和靶向治疗状况作了比较详细的描述。

《肿瘤分子诊断与靶向治疗》一书内容丰富、新颖,信息量大,描述了肿瘤研究的热点问题,是从事肿瘤研究及相关学科的科研人员的良好参考书,特别是对从事科研与临床结合研究的临床医生和学生更是一部有益的教材。

黄常志

2009年5月

前言

肿瘤一直是困扰着人类健康的世界性难题。上两个世纪里,人类对恶性肿瘤的治疗经历了两次飞跃,第一次是1890年Halsted提出肿瘤根治术的概念,第二次是20世纪70年代Fish将化学治疗整合于根治术(辅助化疗或新辅助化疗)。此后,恶性肿瘤的治疗停滞不前,对肿瘤发生发展本质的探索成为肿瘤治疗的方向和动力,肿瘤的分子诊断和靶向治疗应运而生。

我们在着手编撰《肿瘤分子诊断与靶向治疗》前,既定的主导思想是要让本书较全面系统地反映国内外现代肿瘤分子诊断与靶向治疗的基本原理和最新发展,着重阐述以下三点:第一,由于分子生物学检测和治疗手段的介入,现代肿瘤学的研究已迅速进入分子生物学水平,整个研究方法与传统的肿瘤学有巨大的差异,这些差异正是本书所探讨的主旨,从基础谈起渐渐延伸到肿瘤的分子诊断和靶向治疗中,希望通过我们的努力能让读者充分理解肿瘤分子诊断及靶向治疗与传统肿瘤诊治方法的不同,理解它们在肿瘤的诊治中划时代的意义和巨大的潜力。第二,肿瘤分子诊断与靶向治疗是分子肿瘤学的一个重要分支,主要内容是从分子水平研究肿瘤诊断和治疗的现象、本质及其规律。由于生命本质的高度一致性,在分子诊断和靶向治疗的过程中,可以使用同一套理论、同一套技术,来解释和研究不同肿瘤的临床表现,诊断治疗不同的肿瘤。同时,相同的治疗方法却不能诊断和治疗同一部位的不同分子来源的肿瘤。我们力求在撰写本书时能带给读者新的视角来探讨肿瘤的本质而非仅仅是叙述新方法和新理论。第三,本书所探讨的问题多是现代肿瘤基础研究和临床应用领域的前沿问题,内容很新,甚至有些内容在学术界还存在争议,但这正显示了肿瘤分子诊断与靶向治疗的快速发展和广阔的应用前景。我们希望通过对前沿科学的描述,能够将肿瘤分子诊断与靶向治疗辩证、全面地展现在读者面前。肿瘤分子诊断与靶向治疗已经进入了腾飞的阶段,将根本改变肿瘤的诊治现状、克服以往治疗的巨大弊端。希望读者能够学到科学的思维方式,完善从事现代肿瘤研究的科学家应具备的素质。

为了本书能够顺利出版,各位编委不辞辛劳,认真撰写,付出了诸多心血;中国协和医科大学肿瘤研究所、北京大学分子医学研究所、中国科学院微生物研究所、天津医科大学肿瘤医院以及美国俄亥俄州立大学等研究人员克服困难、加班加点,仔细审核校对;特别是中国医学科学院、中国协和医科大学肿瘤医院的黄常志教授在百忙之中为本书作序,在此一并表示真诚的感谢!由于肿瘤分子诊断与靶向治疗是一个全新的领域,众多的基础和应用问题远未得到解决,我们在撰写的过程中也深感肿瘤分子诊断与靶向治疗博大精深。尽管撰写本书的都是工作在临床和教学第一线的优秀教科研工作者,限于编者的经验和水平,难免会有不当和疏漏,恳请广大读者和同行专家给予批评和指正。

孙晓杰 李 琨

2009年5月

目 录

第一章 肿瘤的发病因素及机制	(1)
第一节 肿瘤发生的环境因素	(1)
第二节 肿瘤发生的遗传因素	(19)
第三节 肿瘤发生的多阶段多步骤特点	(24)
第二章 癌基因与肿瘤	(29)
第一节 概述	(29)
第二节 癌基因激活的机制	(31)
第三节 癌基因与人类肿瘤	(33)
第三章 抑癌基因与肿瘤	(54)
第一节 抑癌基因研究的发展历史	(54)
第二节 抑癌基因与人类肿瘤	(55)
第四章 细胞周期与肿瘤	(78)
第一节 概述	(78)
第二节 细胞周期调控因子	(80)
第三节 细胞周期监测点	(87)
第四节 细胞周期调控与肿瘤	(94)
第五章 细胞凋亡与肿瘤	(102)
第一节 概述	(102)
第二节 细胞凋亡的信号转导	(103)
第三节 细胞凋亡与肿瘤	(115)
第六章 细胞信号转导与肿瘤	(123)
第一节 G 蛋白与肿瘤	(123)
第二节 MAPK 信号通路与肿瘤	(129)
第三节 PI3K/Akt 信号通路与肿瘤	(132)
第四节 Wnt 信号通路与肿瘤	(137)
第七章 肿瘤侵袭转移的分子生物学	(144)
第一节 概述	(144)
第二节 肿瘤侵袭转移的分子生物学基础	(149)
第三节 肿瘤侵袭转移各阶段的影响因素	(156)
第四节 肿瘤侵袭转移的分子诊断及靶向治疗	(164)
第八章 肿瘤分子标记物	(172)
第一节 肿瘤标记物概述	(172)
第二节 常用肿瘤标记物	(176)

第三节 肿瘤分子标记物	(187)
第九章 肿瘤分子诊断技术	(198)
第一节 基因过表达引起肿瘤的分子诊断、治疗和预后的检测	(198)
第二节 基因突变引起肿瘤的分子诊断、治疗和预后的检测	(216)
第三节 等位基因不平衡引起肿瘤的分子诊断、治疗和预后的检测	(221)
第四节 微卫星不稳定性引起肿瘤的分子诊断、治疗和预后的检测	(222)
第五节 端粒酶与肿瘤分子诊断、治疗和预后的检测	(223)
第六节 基因诊断技术的展望	(224)
第十章 肿瘤生物靶向治疗	(228)
第一节 针对肿瘤酪氨酸激酶信号转导途径及其抑制剂的应用	(228)
第二节 抗血管生成的靶向治疗	(233)
第三节 免疫效应细胞与肿瘤的免疫治疗	(238)
第四节 针对肿瘤抗原的靶向治疗	(247)
第五节 靶向治疗存在的问题和展望	(253)
第十一章 肿瘤的基因治疗研究	(257)
第一节 肿瘤基因治疗的原则及途径	(257)
第二节 肿瘤基因治疗生物类载体的选择	(262)
第三节 肿瘤基因治疗非生物类载体的选择以及基因导入的方法	(268)
第四节 肿瘤基因治疗中靶向性和调控目的基因表达的研究	(274)
第五节 肿瘤基因治疗存在的问题与展望	(278)
第十二章 RNA 干扰技术及其在肿瘤研究中的应用	(281)
第一节 概述	(281)
第二节 RNA 干扰在肿瘤研究和治疗中的应用	(285)
第三节 miRNA 在肿瘤诊断和治疗中的应用	(291)
第十三章 常见肿瘤的分子诊断与治疗	(300)
第一节 肺癌	(300)
第二节 肝癌	(304)
第三节 胃癌	(308)
第四节 大肠癌	(311)
第五节 乳腺癌	(314)
第六节 甲状腺癌	(319)
第七节 前列腺癌	(322)
第八节 肾细胞癌	(325)
第九节 膀胱癌	(328)
第十节 展望	(332)
索 引	(335)

第一章 肿瘤的发病因素及机制

第一节 肿瘤发生的环境因素

绝大多数肿瘤是环境因素与遗传物质相互作用引起的。不同种族癌症发病率的变化、特定职业人群相应癌症的高发病率以及吸烟相关的癌症高发率等事实,证实了环境因素和生活方式是人类癌症危险性的主要决定因素。所谓的“环境因素”是指诸如香烟、膳食、环境污染物、药物、辐射和感染原等。有资料显示:改变生活方式或者改变暴露程度可以改变发生癌症的危险性。就环境因素而言,一般把致癌因素分为化学因素、物理因素和生物因素3类。人类主要是通过各种生活方式或职业接触暴露于这些致癌因素,而且在多数情况下,人类不是简单地暴露于单一的致癌因素,而往往是通过各种方式暴露于复杂的致癌混合物。

化学因素

200多年前,英国医生 Pott 就发现扫烟囱工人的阴囊癌与多年接触煤烟灰和沥青有关。20 世纪初,日本人山极和市川用煤焦油涂抹兔子的耳朵,成功诱发了局部皮肤癌,证明了化学致癌物可以诱发癌症。人类易发的肿瘤大约 80% 是由于与外界致癌物接触而引起,这些大多属于化学致癌物。目前世界上各种天然的或合成的化学物质有数百万种,其中有致癌作用的约有 1 000 多种。

化学致癌因素最初是通过观察特殊职业人群的肿瘤异常发生率来确定的。现在,几乎每种化学物质的致癌能力都经过许多动物实验验证。化学物质诱导实验动物致瘤和使培养细胞转化的事实揭示了有关癌症发病机制的一些重要概念。化学致癌物往往具有器官特异性,常以上皮细胞为靶点引起基因损伤。化学因素所致的 DNA 损伤既可以直接来自环境暴露,也可以间接来自内源性诱变途径的激活。大部分化学因素引起的肿瘤起源于单细胞克隆,从正常细胞到癌前直至癌症状态需要一个多阶段的基因改变累积过程。动物实验发现,当动物暴露于致癌物后,产生了与癌症发病机制相关的体细胞突变;同时,致癌物代谢途径的研究也证实了与癌症危险度有关的一系列基因变化。

目前认为,对人类总的癌症风险而言,最重要的化学致癌物是香烟中的致癌成分。其他的化学致癌物主要是燃烧和有机合成产物以及某些食物成分、微生物污染产物或食品制备过程中产生的物质。

(一) 化学致癌物的种类

1. 烷化剂(alkylating agent)

烷化剂是直接作用的化学致癌物,不需要体内代谢活化即可致癌,一般为弱致癌剂,致癌时间长。常被用于化疗、杀菌剂和灭菌剂,其特点是具有烷化性能及活泼的化学反应性。由于烷化剂是一类亲电子的化合物,因此很容易与生物体中大分子的亲核位点起反应,从而导致 DNA 发生各种类型的损伤。烷化剂有两类,一类是单功能基烷化剂,如甲基甲烷碘酸,只能使一个位点烷基化;另一类是双功能基烷化剂,化学武器如氮芥、硫芥等,一些抗癌药物如环磷酰胺、苯丁酸氮芥、丝裂霉素,某些致癌物如二乙基亚硝胺等均属此类,其两个功能基可同时使两处烷基化,结果就能造成 DNA 链内、链间以及 DNA 与蛋白质间的交联而致癌。

2. 多环芳烃化合物(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)

多环芳烃化合物指由多个苯环缩合而成的化合物及其衍生物,亦称稠环芳烃,广泛存在于汽车废气、香烟、煤烟及熏制食品中。广义上讲,稠环芳烃类化合物中还有许多杂环,特别是含氮杂环化学物质、带有硝基的稠环芳烃硝基化合物(nitroarenes)等。后一类物质是汽油、柴油燃烧废气中的主要成分,具有很强的致突变作用。PAH是致人类肺癌的一种主要化学因素,而且其所诱发的几乎都是鳞状细胞癌。稠环芳烃类化合物的代表有苯并芘、苯葱、二苯葱、3-甲基胆葱等,这些化合物在体外相当惰性,但经过体内活化后,能与DNA上的碱基(特别是鸟嘌呤)结合形成加合物,引起基因突变而致癌。

有资料表明,此类因素的大量暴露可引起白细胞中DNA损伤。PAH类的职业性暴露可增加次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶的突变频率,而后者与DNA加合物的水平相关。PAH类的饮食暴露主要引起白细胞中DNA加合物水平的增高。Esther等以核苷切除修复基因缺陷鼠($Xpa^{-/-}$)和更加敏感的 $Xpa^{-/-}/p53^{+/-}$ 鼠为实验材料,经过6个月的研究发现,苯并芘的暴露显示了很高的致癌性,在胃和食管导致肿瘤的形成,同时还检测到了LacZ的突变和苯并芘-二醇-环氧化物(BPDE)与DNA加合物的形成。而在肺组织,苯并芘的基因毒性作用同样被发现,但此DNA加合物既没有诱导LacZ突变也没有导致肺癌的形成,这些结果显示肿瘤危险度的评估有待论述。

3. 芳香胺类化合物(arylaminating compound)

大量资料涉及人类致癌作用中的芳香胺和酰胺。芳香胺如联苯胺、乙萘胺、硝基联苯、4-硝基联苯等均有致癌作用,其中联苯胺和乙萘胺为强的致膀胱癌的物质,尤其是职业性暴露的人群(如印染工人)和吸烟者。大部分致癌物的职业性暴露发生在印染工厂,尤其是暴露4,4'-亚甲基- α -氯苯胺的工人。烟民体内毒物水平远较非烟民高,并随戒烟而降低。而芳香酰胺类化合物,如杀虫剂2-乙酰氨基苄(2-AAF)可引起多种动物不同器官和部位如肝、肺、肠和乳腺等处的肿瘤。其他致突变的芳香胺是杂环胺,主要来自肉、家禽和鱼类的烹调过程,是氨基酸和肌酸在高温时分解、浓缩而成的,有时也存在于烟雾中。芳香胺类致癌物主要在肝代谢,其活化是在肝通过细胞色素氧化酶P450系统使其N端羟化形成羟胺衍生物,然后与葡萄糖醛酸结合成葡萄糖苷酸从泌尿道排出,并在膀胱水解释放出活化的羟胺而致膀胱癌。

4. 氨基偶氮染料

这类化合物含有偶氮基团-N=N-,常用作纺织品、食品和饮料的染料与添加剂,其致癌机制是将芳基胺残基转移到DNA上产生基因毒性。如以前在食品工业中曾使用过的奶油黄(二甲基氨基偶氮苯,可将人工奶油染成黄色的染料)和猩红,动物实验表明此类化合物能引起肝细胞性肝癌,而其致癌特点为:需长期大剂量才能致癌,且癌发生于远离给药部位的器官如肝和膀胱等。

5. 亚硝基化合物

亚硝基化合物分为N-亚硝胺、N-亚硝酰胺和亚硝肟,他们是在实验室中寻找新溶剂时发现的,根据接触后化学家发生严重肝病的线索,很快发现了这类化合物是很强的动物致癌剂,几乎能引发各种脏器与组织的肿瘤,而且是不需要活化的直接致癌物。

在自然情况下,亚硝胺类化合物主要存在于卷烟的烟雾中,亦存在于加入亚硝酸盐作保存剂的肉类、鱼类以及含水分较高而盐分较低的咸菜、酸菜中。另外,体内蛋白质分解代谢所产生的氨和亚硝酸根可经酶促作用或细菌、霉菌的作用合成N-亚硝胺。因此可以说,亚硝胺是体内形成的内生性致癌物。在胃中这种N-亚硝胺的形成由亚硝胺和用作保护剂的硝酸盐反应引起,硝酸盐可在细菌作用下转变为亚硝酸盐。宿主对N-亚硝胺的吸收与患胃癌、食管癌和肝癌的危险度有关,而香烟中的亚硝胺可能是肺癌的致病因素。研究还发现,同时服用维生素C可降低内源性亚硝胺的形成率。

有关亚硝胺的致癌机制研究很多,早在1962年就有人提出亚硝胺结合到蛋白质的证据。此后

很多报道提示：在体内外条件下，各种亚硝酰胺和二烷基亚硝胺共价结合到生物大分子上，烷化作用的主要部位在鸟嘌呤的 N-7。但后来发现，鸟嘌呤 N-7 的烷化作用在亚硝胺致癌作用中意义不大，而鸟嘌呤 O-6 的烷化却在亚硝基化合物的致癌作用与致突变作用中起着重要的作用。大多数亚硝胺经细胞色素 P450 酶代谢激活生成烷化剂，后者攻击 DNA 形成特异性加合物如 O⁶-烷基鸟嘌呤和 O⁴-烷基胸腺嘧啶等。若干研究显示，在亚硝胺作用的靶组织中存在其特异性 DNA 加合物，而且与癌症风险相关。研究表明亚硝胺很可能是我国河南林州市(林县)食管癌高发的原因，据报道该地区人群暴露于亚硝胺的水平以及食管中 O⁶-甲基鸟嘌呤 DNA 加合物的含量，均显著高于食管癌低发区人群。由 N-亚硝胺引起的 DNA 损伤可以修复，但修复率存在显著的个体差异。

6. 植物毒素

20 世纪 70 年代初，苏格兰就有人发现很多牲畜因食管癌和胃癌而大量死亡，其诱因是饲料中混入了大量蕨类植物。该类植物大多含有较强致癌的蕨内酰胺，奶牛食用后不但造成本身肿瘤而且可以通过乳汁影响乳牛，损伤其骨髓。日本胃癌发病率较高的原因之一就是该地居民以蕨类植物为蔬菜食用。植物致癌物已逐渐引起人们的重视，中国预防医学科学院病毒所曾毅院士对植物所含物质的促癌作用进行了研究，从 1 693 种中草药和植物中共检出 18 个科中的 52 种植物含有促癌物质。大多数植物致癌物有弱到中度的致癌性，植物致癌物包含很广的化学结构形式，如吡啶、杂环生物碱、呋喃香豆素、多酚化合物、烯键链基苯等。

对于天然植物中的致癌物研究较多的是曾作为食品和饮料中添加剂的黄樟素和千里光中的双稠吡咯碱，前者能诱发大鼠的肝癌和食管癌，而后者被牛、羊摄食后能引起这些动物的肝癌和膀胱癌。此外，还有我国早有资料报道的槟榔中多种生物碱属于氮杂环化合物，为较强的致癌物。在我国的两广及云南等地有嚼食槟榔的习惯，这与当地上消化道肿瘤的高发不无关系。

中药是我国的伟大历史遗产，几千年来，为保证人民的健康和中华民族的繁衍发挥了巨大的作用。随着中药的化学成分逐步明确，一些常用中草药的致癌作用引起了人们的重视，如马兜铃、米砂莲、关木通、青木香、淮通中含有的马兜铃酸属于亚硝基化合物，具有强致癌性。最近有报道马兜铃酸作为致癌物与人膀胱癌的发生发展有关，它在体内经过代谢形成 AAI-DNA 加合物，而细胞之中 NAD(P)H：醌氧化还原酶(NQO1)对于 AAI-DNA 加合物的形成具有重要的作用。

7. 金属致癌物

某些金属和类金属构成无机致癌物的主要类型，早在 19 世纪 20 年代 Pari 就报道了皮肤癌的发生和人暴露于砷化合物相关。后来又相继发现在铬生产和镍精炼工人中癌症的危险性增加。20 世纪 70 年代以来，对 20 多种金属和类金属的致癌性进行了试验，对 10~12 种元素检测了慢性毒性。目前认为砷、铍、铬、镉、镍是人和动物的致癌剂。其中无机的三价砷化合物能引起人肺癌和皮肤癌，铍和铍化合物与肺癌高发生率有关，镉与前列腺癌发生相关，而电池、颜料和制陶工业中使用的镍化合物与肺癌和鼻咽癌有关。除这 5 种元素外，铅、铁、钴和钨被认为是可能的致癌物或协同致癌物。5 种微量元素(硒、锌、铜、镁、钼)起着双向作用，在大剂量时是致癌的，在小剂量与其他致癌物一起给药是抗癌的。如最近报道在前列腺癌细胞中，硒能使 DNA 甲基化修饰的沉默基因和组蛋白再活化，表现为使 DNA 甲基化程度降低，引起部分启动子的去甲基化，使与肿瘤生长和转移相关的抑癌基因 APC 再表达等，因此金属元素硒能用于肿瘤的防治。

放射高能粒子或电磁辐射(放射性元素)、异物作用、化学和生物系统相互作用是金属和类金属引起的致癌作用的主要原因。金属致癌的主要方式是吸入以及污染皮肤后的吸收，这主要与职业有关。从分子水平上对重金属砷的致癌作用研究结果显示：低浓度的砷能增加端粒酶的活性、延长端粒的长度及促进细胞的增殖；而高浓度的砷降低端粒酶的活性、减少端粒的长度并导致细胞凋亡。最近在重金属粉尘的体外基因毒性研究中发现：重金属粉尘是潜在的体外诱导有机体突变的物质，在输入重金属微粒混合物后在相应的靶细胞会发现潜在的染色体/基因组的突变。

8. 真菌毒素和霉菌毒素

真菌毒素和霉菌毒素是自然产生的致癌物,20 世纪 60 年代初发现了黄曲霉毒素(aflatoxins),它具有强致癌性。这表明致癌物也可以是某些霉菌或微生物的代谢产物。黄曲霉毒素是由谷类、花生、高粱和大米污染的黄曲霉菌(*Aspergillus flavus*)和寄生曲菌(*Aspergillus parasticus*)所产生。常见的黄曲霉毒素主要有 4 种:黄曲霉毒素 B₁、黄曲霉毒素 B₂、黄曲霉毒素 G₁ 和黄曲霉毒素 G₂。其中 B₁ 的毒性与致癌性是最强的。大量的分子流行病学研究表明,黄曲霉毒素是人类肝癌的重要病因之一。患肝细胞癌的危险度与某一地域黄曲霉毒素的污染程度相关,而与在工业化国家的居留期间呈负相关。

大量文献报道,黄曲霉毒素具有很强的毒性、致突变性和致畸性。其致癌机制主要是代谢活化的黄曲霉毒素共价结合到生物大分子 DNA 上导致基因突变所致。由黄曲霉毒素暴露引起的加合物主要在鸟嘌呤的 N-7 位,这在体外实验、小鼠体内及在人类均已得到证实。在我国进行的黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)与肝癌关系的前瞻性分子流行病学研究也表明,尿中排出的 AFB-N⁷-鸟嘌呤加合物与黄曲霉毒素摄入量以及肝癌风险呈正相关,而且与乙型肝炎病毒感染有协同作用。

近年的研究表明:黄曲霉毒素引起的人肝细胞癌与抑癌基因 *p53* 密切相关。研究发现,暴露于高水平黄曲霉毒素的人群(如南部非洲和我国启东)发生的肝细胞癌,*p53* 突变类型主要是 G:C→T:A 突变,而且突变位点在 249 密码子。这与黄曲霉毒素在体外实验系统中诱发的突变谱一致。相反,在黄曲霉毒素暴露水平低的人群(如日本和其他欧美地区)中,肝细胞癌的 *p53* 几乎没有这种突变。因此认为,肝细胞癌中 *p53* 基因 249 密码子的 G:C→T:A 突变很可能是由黄曲霉毒素的暴露所引起的。肝脏感染 HBV 的转基因鼠模型说明随着黄曲霉毒素的暴露,肝癌发病率提高。最近报道,在由黄曲霉毒素 B₁ 所诱导的鼠肺癌中,在 *INK4a/ARF* 基因位点的启动子区检测到了等位基因的缺失、突变和 CpG 岛的高甲基化。因此,黄曲霉毒素主要是通过对 DNA 的损伤而致癌的。

(二) 致癌物与促癌物

检测化学致癌物的最终目的,是为了评定暴露于特定致癌物(或生活方式)对人类癌症的危险度,从而采取相应有效的预防措施。目前已确定的人类致癌物约有 200 多种,这些致癌物可分为两类,一类是“已知致癌物”,科学家有足够的证据证明其对人体存在致癌危险;另一类是“嫌疑致癌物”,动物实验已证实这类物质存在致癌危险,但对人体来说,证据尚不充分,需继续研究。表 1-1 列举了若干组织和机构报告的已知的和潜在的人类致癌物。

表 1-1 已知的和潜在的人类化学致癌物

靶器官	肿瘤类型	致癌物	职业
口腔	鳞癌	吸烟、饮酒、镍化合物	制鞋业、家具制造、异丙醇生产
食管	鳞癌	吸烟、酒精饮料	——
肺	鳞癌、小细胞和大细胞癌,腺癌	吸烟、石棉、晶体硅、苯并芘、铍、二(氯)乙酯、1,3-丁二烯、六价铬化合物、煤焦油、沥青、镍化合物、煤烟、芥子气	铝生产、煤气化、焦炭生产、赤铁矿开采、油漆工
胸膜	间皮瘤	石棉、毛沸石	——
胃	腺癌	烟熏食品、盐腌食品、酸渍食品	橡胶工业
肝	肝细胞癌、血管肉瘤	黄曲霉毒素、氯乙烯、吸烟、饮酒	——
结肠	腺癌	杂环胺类、石棉	模具制造
肾	肾细胞癌	吸烟	——
膀胱	移行细胞癌	吸烟、4-氨基苯胂、联苯胺、2-萘胺	品红、金胺生产

(续表)

靶器官	肿瘤类型	致癌物	职业
前列腺	腺癌	镭	—
皮肤	鳞癌、基底细胞癌	砷、苯并芘、煤焦油、沥青、矿物油、煤烟	煤气化、焦炭生产
骨髓	白血病、淋巴瘤	苯、吸烟、环氧乙烷、抗肿瘤药	橡胶工业

致癌物的致癌作用受宿主因素与环境因素的影响,宿主自身因素(如遗传特性、年龄、性别、免疫和营养状况等)在肿瘤的发生和发展过程中起重要作用。这些因素的研究对分析人类暴露于化学致癌物的结果和发展肿瘤预防措施都非常重要。动物实验表明,化学致癌物诱发的细胞癌变是一个多阶段的过程。这个过程包括启动(initiation)阶段,其突出特点是一系列基因突变;然后是促进(promotion)阶段,即已启动的细胞克隆选择和扩展,形成界限明显的癌前病灶;最后是发展(progression)阶段,即癌前病变进一步发展,形成具有高度侵袭性的肿块,并常常伴有向身体其他部位转移的特征。就致癌物而言,一些环境致癌因素(如香烟)所含致癌物在致癌过程中,既作用于启动阶段,又作用于促进和发展阶段。

促癌物对促进阶段和发展阶段均具有重要的作用。促癌物的特点是本身没有致癌性,但一旦与致癌物联合使用,则能大大增加肿瘤发生率。其作用有可逆性、有剂量反应关系及阈剂量。促癌物的种类包括巴豆油及其提纯的有效成分佛波酯(phorbol ester)、烟草中的儿茶酚类化合物,某些巴比妥酸盐、煤焦油、石蜡以及内源性的某些激素等。此外,有研究报道:富含高蛋白、高脂肪或低甲硫氨酸或胆碱的饲料对啮齿类动物具有促癌作用。并且许多基因毒致癌物本身也具有促癌剂的性质,对于给定剂量的基因毒致癌物所诱发的肿瘤而言,反复多次低浓度暴露比偶尔暴露于同等剂量的致癌物更易诱导产生肿瘤。

有关促癌物的作用机制,包括活化细胞膜表面受体、激活或抑制胞浆酶及核转录因子、促进细胞增殖、抑制凋亡和细胞毒作用等。促癌剂本身不与DNA相互作用,但它们却具有促使细胞分裂增殖和使调控细胞生长的基因表达发生显著改变的能力。研究发现,用促癌剂处理的细胞,其细胞中鸟氨酸脱羧酶、ATP酶和纤溶酶原激活物等多种酶的活性均增高。促癌剂佛波酯通过激活蛋白激酶C(PKC)导致细胞发生有丝分裂,并对细胞的间隙连接、某些生长因子受体的磷酸化产生抑制作用。此外,促癌剂可间接增加氧化应激反应和脂质过氧化,使DNA进一步损伤。已启动的细胞和正常细胞对促癌剂作用的反应是不同的,这是克隆选择的基础。可以说任何可引起癌前细胞克隆扩展的因素,都是促癌剂。然而,对于人类癌症的危险度而言,虽然环境中存在着大量的实验性促癌剂,但目前已明确的促癌剂只有烟草和石棉。总之,细胞癌变的促进作用是已启动的细胞持续暴露于基因毒致癌物或促癌物的结果,也可能与机体本身的营养和激素状况的改变有关。

(三) 化学致癌物的代谢及生物学特征

多种化学物质可引起人类和动物的癌症,但致癌过程各不相同。大多数化学致癌物可形成亲电子的衍生物,亲电子的致癌物在细胞内极易与亲核的细胞大分子如核酸和蛋白质发生相互作用,这类致癌物称基因毒性致癌物(genotoxic carcinogen)。有一些基因毒性致癌物本身就是亲电子化合物(如烷基与酰基致癌物),但大多数需要在细胞内经代谢才能转变成亲电子的衍生物,这个过程称代谢活化(metabolic activation)。需要代谢活化的母体致癌物称前致癌物(procarcinogen),可与细胞大分子结合的亲电子代谢产物为终致癌物(ultimate carcinogen)。

1. 致癌物代谢的酶系统及代谢过程

致癌物的代谢活化形式与体内的激素代谢以及其他外源性化学物的代谢一样,主要有氧化、

还原、水解和结合反应。这些代谢反应的原本目的是使非极性的脂溶性化合物变成极性的水溶性化合物,以便从体内清除出去。致癌物代谢的主要器官是在肝脏,这是因为肝脏中存在大量的促进致癌物代谢的酶类。致癌物在体内的代谢途径以及所涉及的酶类参见表 1-2。

表 1-2 致癌物代谢的酶系统和主要代谢途径

酶系统	底物	催化的反应	主要作用	同工酶数 (种)	可诱导性	多态性
细胞色素 P450	多环芳烃,亚硝胺类, 芳香胺类,杂环胺类,黄 曲霉毒素,苯并芘	N-或 C-氧化反应 (还原)	激活(解毒)	>40	+	+
微粒体黄素单加氧酶	2-萘胺	N-或 S-氧化反应	解毒	5	+	+
过氧化物酶类	芳香胺类	氧化反应	激活	多	+	+
NADPH/P450	芳香胺类	还原反应	解毒(激活)	1	+	+
还原酶,其他还原酶						
N-乙酰基转移酶	4-氨基联苯,2-氨基 芴,杂环胺类	N-或 O-乙酰化 反应	激活、解毒	>2	+	+
巯基转移酶	4-氨基联苯,2-氨基 芴,杂环胺类	O-硫酸酯化反应	激活(解毒)	>2	+	+
谷胱甘肽 S-转移酶	氧化致癌物质	谷胱甘肽结合反应	解毒(激活)	>10	+	+
UDP-葡萄糖醛酸转 移酶	4-氨基联苯,2-萘 胺,杂环胺类	N-或 O-葡萄糖醛 酸结合反应	解毒	>10	+	+
环氧化物水解酶	多环芳烃类	还原反应	解毒	3	+	+

解毒作用可发生于致癌物代谢的任一步骤,往往是亲电子致癌物与细胞内非关键的亲核成分如谷胱甘肽结合,而被转化为易于排泄的稳定的代谢产物。例如,黄曲霉毒素 B₁ 的代谢即是通过由微粒体环氧化物水解酶和由谷胱甘肽-S-转移酶结合至谷胱甘肽的途径解毒。通常,致癌物的代谢激活涉及在 C=C 双键或饱和碳原子上的氧化,后者需要进一步的酯化。芳香胺上的氮氧化或芳香族硝基化合物氮的还原可以产生活性中间产物,后者把一个芳基胺残基转移到 DNA 上。对于杂环胺致癌物而言,还需要一个酯化的中间产物。许多致癌物的中间代谢物常常具有激活和解毒两种作用,而决定致癌物作用强度的一个重要因素就是代谢活化和代谢解毒的平衡。由于不同种属、不同个体、乃至同一个体不同组织的致癌物活化和解毒水平有很大的差异,所以对于不同的动物和人,每一种致癌物都可能都有其不同的致癌性及独特的致癌谱。

现已知道,大多数致癌物代谢酶具有遗传多态性,这是导致个体间酶活性水平有极大差异的主要原因;此种基因多态性已被证明是肿瘤易感性的重要决定因素。多基因的细胞色素 P450 (CYP) 酶家族催化各种内源性和外源性化学物质的氧化代谢;在氧化过程中可产生亲电子的或致癌的代谢产物。其中 P450 1B1 (CYP1B1) 是环境致癌物苯并芘 (B[a]P) 活化的关键酶,具有多种遗传形式,对该酶的 6 种稀有突变和 4 种通用多态性在 B[a]P 代谢中作用研究的结果显示: CYP1B1 稀有的、与疾病相关的突变降低了该酶对 B[a]P-7,8-二醇的代谢,但这 4 种通用的单氨基酸多态性在这种代谢中并没有发现较大的不同。谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 是一种多功能酶,可以催化谷胱甘肽的亲电子性结合力,可结合包括苯并芘在内的最终致癌代谢物,此反应是致癌性多环芳烃的解毒途径。GST 有多种同工酶,其底物特异性、组织分布和个体活性均有差异。在大批量肾细胞癌 (RCC) 病例对照研究中发现, GSTM1/SL 基因型能增加杀虫剂职业暴露所导致的 RCC。GSTM1 整个基因的缺失会导致 GST-μ 的低活性,与肺癌的危险度相关。GST 的多态性也与人

肺组织中多环芳烃-DNA 加合物的增多、姐妹染色体互换的形成以及肺微粒体的诱变性等有关。

2. 致癌物的剂量效应和时间效应

化学致癌物的致癌作用依赖于致癌物的剂量,大剂量致癌物可增加肿瘤发生,缩短潜伏期;肿瘤的产生取决于致癌物的总剂量。例如,苯乙烯-7,8-氧化物(SO)可以以剂量和时间依赖的方式引起 PC12 细胞的细胞凋亡;溃疡性结肠炎和吸烟与人大肠癌的发生相关,对暴露在烟雾中的大鼠大肠炎症相关的肿瘤发生的作用调查结果显示:烟雾暴露是以剂量依赖的方式促进鼠大肠中炎症相关的腺瘤与腺癌的形成。

致癌作用的充分表达需要相当长的时间,无论致癌物的剂量与性质如何,在肿瘤形成前,总有一个最低限度的潜伏期,在细胞恶变以前,细胞存在着多阶段的癌前期变化。最近报道短期暴露于三氧化二砷具有长期的作用,基因组广泛的 DNA 低甲基化会增加基因组的不稳定性。几乎 96% 的白人男性肺癌都是由于吸烟所引起的,烟草中包括 3 500 种化学物质,其中的致癌物质超过了 20 种,如 PAHs、N-亚硝胺、芳香胺类等,在烟草暴露与癌症风险的研究中发现,每天吸烟的数量、年吸烟量、烟的类型及烟吸入的形式等都影响烟草的致癌作用。

此外,致癌物作用具有组织特异性。例如,亚硝胺的组织特异性激活会导致组织特异性的肿瘤形成,Hansen 等报道 N-nitrosopiperidine(NPIP)是有效的大鼠食管癌致癌剂,而与其结构相似的 N-nitrosopyrrolidine(NPYR)却诱导肝癌而不是食管癌,NPIP 是可能的人类食管癌致癌物。其原因是大鼠食管微粒体激活 NPIP 而不是 NPYR,而鼠肝脏微粒体能激活 NPIP 和 NPYR。

3. 致癌物的协同作用和拮抗作用

人类在生活环境中接触的化学致癌物是复杂多变的。在研究化学致癌时不仅要考虑各种致癌物的单独作用,而且还要注意到它们之间的联合作用。动物同时暴露于几个致癌物,对靶器官有协同或相加作用,但也有拮抗作用。单独作用时很弱的两个致癌物,在同时或先后给予的情况下会使肿瘤的发生作用大大增强,称之为协同致癌作用;而致癌物在非致癌物辅助下增强致癌作用的情况称为共致癌作用。

最近发现丙烯醛介导烟雾中的主要致癌物苯并芘(B[a]P)对 $p53$ 基因的作用。丙烯醛能通过直接的化学修饰以及细胞内氧化还原位点的改变抑制 $p53$ DNA 的结合和活性,因为丙烯醛和 B[a]P 在烟雾中都有发现,因此这种通过改变抑癌基因 $p53$ 的活性而相互作用的类型可能在肺癌的发生中起着重要的作用。

众所周知,吸烟是引起肺癌的重要原因,而烟雾中的主要致癌成分多环芳烃类化合物(PAHs)已被证实与肺癌的发生与发展相关。据报道铬暴露的肺癌患者在 $p53$ 基因的非转录链存在高百分率的 G→T 颠换突变,这是 PAH 诱导突变的证明。虽然铬能导致高百分率的 G→T 颠换突变但它却只具有弱的致突变性。这些结果提示在肺组织中铬能增强 PAH 与 $p53$ 结合的可能性,铬的暴露可以增强依赖于染色质结构的致癌物与 DNA 的结合。这个作用是由于铬和苯并芘-二醇-环氧化物(BPDE)在致突变和细胞转化中的协同作用,也可能与铬暴露人群中肺癌的高发生率有关。

化学致癌物不但有协同增强的一面,还有拮抗削减的一面。目前已发现多种化学物质具有抑制化学致癌的作用,而一些弱致癌物和非致癌性稠环芳烃可能通过竞争性抑制起抑癌作用。许多微量营养素和生物活性化合物可抑制包括启动、促进和发展阶段的实验性致癌作用。这些化合物通过各种作用机制,阻止化学致癌物引起的 DNA 损伤、基因突变和癌形成。目前已知的促癌作用抑制物包括抗炎类固醇、视黄素类、蛋白酶抑制剂、抗氧化剂和花生四烯酸代谢抑制剂等。

DNA 加合物是基因毒致癌物剂量暴露的内在的可靠指示剂,而癌症的风险已经显示出可以被饮食,尤其是被新鲜的蔬菜和水果以及抗氧化剂的摄入所调节。有资料显示蔬菜和水果的防癌作用主要依赖于其抗体细胞突变的作用,研究表明在分别摄入蔬菜、水果(柑橘)及维生素 C 后次黄

嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(HPRT)的突变频率明显降低了,而对于饮食中类胡萝卜素和 β -胡萝卜素的摄入却呈明显的U形,即在人群平均摄入量附近出现最低的突变频率,而在低和高摄入量时存在较高的突变频率。

(四) 化学致癌物与DNA的作用

化学致癌物可以是基因毒性的,也可以是非基因毒性的。通常非基因毒性化合物只有大剂量长时间暴露才在实验动物中表现出致癌性,其作用机制可能与其引起的细胞中毒死亡和过度增生有关,并且可能作为修饰因子与基因毒性物质协同作用;而基因毒性致癌物有较高的化学活性或能被宿主代谢成为活性中间产物,它们可与细胞核或线粒体中的大分子物质及DNA结合形成共价化合物而造成DNA的损伤。基因毒性致癌物造成的DNA损伤主要有两种类型:链断裂和致癌物-碱基加合物的形成。致癌物诱发DNA链断裂主要有两种机制:一是致癌物直接取代DNA的磷酸氧阴离子,形成磷酸三酯;磷酸三酯极易被水解而使磷酸骨架解离,导致DNA单链断裂。另一个是致癌物对鸟嘌呤N-7或腺嘌呤N-3以及对胞嘧啶或胸腺嘧啶O-2的亲电子取代反应,引起DNA脱嘌呤或脱嘧啶。

基因毒性致癌物与DNA反应主要是形成共价的致癌物-碱基加合物。动物实验显示,形成DNA加合物的能力和诱导产生肿瘤的能力之间存在正相关,所以DNA是大多数致癌物的终极目标。

1. 致癌物-DNA加合物

目前认为,基因毒性致癌物与DNA的反应是特定的,每种化学物质均有选择性地与特定的嘌呤或嘧啶进行反应。例如:烷化剂类易与杂环氮原子结合,尤其是高度亲核的鸟嘌呤N-7;多环芳烃类主要攻击可极性的、亲核的鸟嘌呤环外N-2;而芳香胺类则对鸟嘌呤的C-8有很高的亲和性;亚硝胺主要与鸟嘌呤的O-6结合。致癌物与DNA部位的选择性结合除了取决于最终致癌物的化学性质外,还取决于核酸的序列、宿主细胞或者选择性DNA修复过程。

许多致癌物-碱基加合物在DNA复制过程中可引起碱基错配。尤其能引起碱基修复错误或缺失导致错义或无义突变,此外,致癌物与DNA反应还可引起染色体断裂和大的缺失。例如在动物实验研究中发现,激活的Ras原癌基因的突变与暴露于亚硝胺化合物相关,在突变时,大多数G:C被A:T所替换,这可能是因为脱氧鸟苷在O-6甲基化,在DNA合成过程中被胸腺嘧啶错误修复所致。上述这些DNA结构改变一旦发生在肿瘤相关基因,即可能引起细胞癌变。

DNA加合物是人体暴露于致癌物的标志,人体接触环境致癌物后,能在细胞和体液中检出致癌物或其代谢物与DNA或血红蛋白共价结合的加合物。致癌物-DNA加合物可代表生物学有效剂量,它综合了暴露、易感表型及诱导诸因素(如代谢活化、逃避解毒作用、DNA修复酶的失活等)。致癌物-DNA加合物的检测方法有多种,如 ^{32}P 后标记法、免疫化学法、气相色谱-质谱法、荧光光谱法和电化学检测法等,每种检测方法都有其优点和局限性。个体对致癌物-DNA加合物的代谢作用在暴露的不同水平可能是不同的,在低暴露水平相对较高,而在高暴露时对加合物的代谢能力却降低了。

2. DNA损伤的修复

DNA修复是对抗基因毒致癌物的保护性机制,其最有力的证据是DNA修复机制缺陷的着色性干皮病患者皮肤癌发生率高。哺乳类细胞中存在一系列的DNA修复机制,可有效修复化学或物理因素引起的DNA损伤。其中,核苷酸切除修复(nucleotide excision repair)机制是一个涉及至少10个基因产物的复杂系统,这个系统主要切除修复致癌物-碱基加合物或紫外线引起的嘧啶二聚体。研究表明,涉及该修复系统的任一基因突变,均可造成DNA修复缺陷综合征,从而增加人类癌症的发生率。动物实验也证明,用基因工程技术建立的核苷酸切除修复缺陷的小鼠对化学致癌物的敏感性显著增加。最近有报道,Xpa缺陷鼠对自发性肝肿瘤和AFB1所诱导的肝胚细胞瘤的

敏感性均增加。

另一个重要的 DNA 修复酶是 O^6 -烷基脱氧鸟嘌呤-DNA 烷基转移酶,用于修复高度致突变的 O^6 -甲基鸟嘌呤。转基因动物实验证明,该酶的过表达可以保护小鼠,防止因暴露于甲基化制剂而引起的肝肿瘤以及结肠癌前病变和原癌基因 *K-ras* 突变。研究表明, O^6 -烷基脱氧鸟嘌呤-DNA 烷基转移酶在不同类型的组织与细胞中活性不同,而且该酶可因暴露于外源性致癌辅助因子而被抑制。如乙醛和烷化剂可抑制 DNA 修复酶的活性,吸烟却可诱导 O^6 -烷基脱氧鸟嘌呤-DNA 烷基转移酶。此外,对于 DNA 复制后错配的碱基可用多基因的核苷酸错配修复系统进行修复。研究发现,缺乏这种修复途径中基因的遗传工程小鼠易自发产生淋巴瘤,而人类结肠癌和其他癌症风险增加也与此错配修复(mismatch repair)系统的基因突变密切相关。

各种 DNA 修复酶的活性在不同个体、不同组织甚至不同细胞中具有显著差异。DNA 修复系统的遗传性差异决定了个体癌症的易患性,同时也是化学致癌物的作用具有组织和器官特异性的生物学基础。研究表明吸烟并且具有 *Xpd* 基因 312 位密码子基因型为天冬氨酸/天冬氨酸者可能具有 *p53* 基因突变的高风险,尤其是如果与其他的多态性相结合可能会导致 DNA 修复的缺陷,进而导致肺癌的发生。有报道显示,在非靶组织中形成的致癌物-DNA 加合物往往很快被修复;但在致癌物的靶组织中,特异的致癌物-碱基加合物却常常持续存在,或达到一个稳定的高水平状态。最近报道,在致癌因素环氧丙烷(PO)作用的靶组织比非靶组织存在更高范围的 DNA 烷基化,PO 能与 DNA 反应形成加合物 7-HPG;但对于环氧丙烷所诱发的鼻肿瘤而言,加合物 7-HPG 并不是足够的,可能有其他的诸如促进细胞增殖的因素在决定肿瘤暴露反应中起着重要的作用。可见,靶组织中致癌物-DNA 加合物的含量反映了特定致癌物的暴露水平及 DNA 损伤的程度,是连接致癌物与基因相互作用的重要生物标志物。

(五) 化学致癌物与癌基因和抑癌基因的作用

肿瘤的发生发展与原癌基因(proto-oncogene)的激活和肿瘤抑制基因的失活密切相关。体细胞突变、基因过度表达和基因重排是细胞原癌基因活化的重要机制。大量实验证明化学致癌物可诱发原癌基因突变,例如:用二甲基苯并蒽(DMBA)诱发的动物皮肤癌和乳腺癌有 *c-H-Ras* 基因的突变;用偶氮甲烷诱发的大鼠结肠肿瘤有 *c-Myc* 和 *c-H-Ras* 的高表达。致癌物诱发的 *Ras* 基因家族突变与人类许多肿瘤的启动相关,对化学致癌物诱发的 *Ras* 基因突变分析表明,突变谱与 DNA-加合物形成的模式密切相关。

原癌基因活化的另一机制是基因的过度表达。对转基因鼠的研究表明,*TGF- α* (肝、皮肤、乳腺)和 *Neu*(乳腺)癌基因的过度表达可以启动细胞转化过程,而通过化学暴露使癌基因的抑制因子失活将启动肠癌的形成。此外,基因重排也可使原癌基因活化,这种基因重排可能是自发的,也可能是由致癌物对 DNA 的损伤引起的,基因重排在肿瘤的发展阶段起重要作用。

肿瘤抑制基因在调节细胞周期、细胞凋亡、细胞间通讯和保持基因组稳定性等方面均起关键作用,他们在致癌过程中处于灭活状态。这些基因编码的蛋白质一旦出现异常,细胞增殖将失去正常控制从而导致肿瘤的发生。研究表明,DNA 突变和染色体异常,可使抑癌基因失活;而基因组印记(genomic imprinting)和基因产物的稳定性降低,亦能影响正常等位基因产物的功能。一些物理和化学致癌因素常引起染色体异常,并通过与 DNA 相互作用使抑癌基因失活而起致癌作用。例如 *Rb*(成视网膜细胞瘤基因)、*p53*(Li-Fraumeni 综合征相关基因)、*Wt1*、*Wt2*(Wilms 瘤基因)或 *APC*(家族性结肠息肉病基因)基因的遗传缺陷者,其特定肿瘤的发生率高,而且发病年龄也早。研究发现非家族性结肠癌,大部分癌细胞都有抑癌基因 *APC* 两个等位基因的丢失,而在许多人类癌前病变区常见 *p53* 抑癌基因的突变。研究发现,暴露黄曲霉毒素的培养人肝细胞中抑癌基因 *p53* 有明显损伤,尤其是第 249 位密码子 G:C→T:A 的转换;而肺癌中 *p53* 抑癌基因的 G→T 易

位、次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶的突变均与烟草所致的 DNA 损伤有关;头颈部癌症患者,尤其伴酗酒的烟民,其 *p53* 抑癌基因的非 CpG 位点突变频率明显增加。可见,化学致癌物可通过与癌基因或抑癌基因的相互作用而发挥其致癌作用。

(六) 化学因素致癌的评价

在人们的生活环境中,存在着各种各样的化学致癌物,但暴露于同样的致癌物中,有些人发生肿瘤,而另一些人则不发生肿瘤。例如,在吸烟者中也只有部分人发生肿瘤,在特定肿瘤的高风险区也只有某些个体发病,这表明化学因素不是肿瘤发生的决定性因素,越来越多的证据表明大多数肿瘤是环境-基因相互作用的结果。

目前只有一些由职业、药物、吸烟引起的肿瘤具有令人信服的流行病学资料,而大多数环境致癌物与人类肿瘤的关系还不确定。这是因为环境致癌物的定量风险评价是将动物实验资料外延到人,因为在外延过程中涉及许多假设,所以实际上它是一种很不肯定的推断性评价。分子流行病学将检测分子生物学标志物与流行病学研究相结合,从而使暴露因素与癌症发生的因果关系更加明确。根据癌变过程所发生的生物学事件,目前一般把分子生物学标志物分为三类:生物有效剂量(biologically effective dose)标志物、生物效应(biologic effect)标志物和易感性(susceptibility)标志物,前者反映进入体内与靶分子相互作用的致癌物的量,如致癌物-DNA 加合物;生物效应标志物是指在靶部位发生的与癌变有关的结构和功能的改变,如 DNA 断裂、基因突变和特定癌基因或抑癌基因改变等;而易感性标志物包括遗传的或获得的个体肿瘤易感性因素,如代谢和 DNA 修复能力的差异、遗传的抑癌基因突变、营养缺乏等。这些分子生物学标志物,可在靶细胞或替代细胞的 DNA 中测定。致癌物-DNA 加合物是连接致癌物暴露和个体易感性因素(如代谢激活、DNA 修复能力和细胞凋亡、细胞毒性调控机制)的重要的生物学标志物之一。DNA 加合物形成是致癌的重要事件,但不是致癌的惟一事件,所以它与癌症风险之间的定量关系尚未完全确定。目前还只能在人群基础上用它来推断癌症风险。

已知一些致癌物代谢酶在人群中呈多态性分布,个体间对特定致癌物的代谢能力差异高达数倍至数百倍。因此对于任何给定暴露量的致癌物,不同代谢能力的个体对其致癌的敏感性可能相差甚多。例如:多基因的细胞色素 P450(CYP)酶家族催化各种内源性和外源性化学物质的氧化代谢,在氧化过程中可产生亲电子的或致癌的代谢产物。许多细胞色素 P450 如 *CYP1A1*、*CYP1A2* 和 *CYP2E1* 都呈基因或表型多态性。*CYP1A1* 是苯并(a)芘等多环芳烃类致癌物的代谢激活酶,而且可被这类致癌物所诱导。而肺癌患者中 *CYP2D6* 基因-环境的相互作用研究说明,肺癌危险性与活跃的代谢表型和多环芳烃或石棉的暴露均有关。谷胱甘肽 S-转移酶(GST)催化谷胱甘肽与各种亲电子化合物反应,在多数情况下是一种解毒机制,由于基因多态性使 GST 缺失或活性低下可能导致宿主对致癌物作用的敏感性增加。如 *Gstm1* 基因的完全缺失在人群中的发生率 30%~50%,有报道显示该基因的存在可使苯并(a)芘、乙烯氧化物和苯乙烯等致癌物的活性代谢产物失活,而其缺失与肺癌和膀胱癌易感性增加相关。

此外,DNA 损伤的修复能力也与肿瘤易感性相关。例如,不同的人群对紫外线引起的 DNA 损伤修复能力有明显的差异,着色性干皮病患者由于对紫外线造成的 DNA 损伤修复缺陷,发生皮肤癌的风险比正常人高 100 多倍。有资料表明,DNA 修复能力随年龄的增加而降低;DNA 修复能力低下是一般人群和具有家族性皮肤癌病史者(非着色性干皮病)发生皮肤癌的重要危险因素。肺癌患者对致癌物苯并(a)芘二醇环氧化物引起的 DNA 损伤修复能力也显著低于健康对照者。不但有多种基因可影响环境化学致癌物的作用,年龄、性别和营养等非遗传因素,也可通过生理状态和激素作用等途径,影响个体的肿瘤易感性。

总之,化学致癌物与人类多种肿瘤的发生有关,其致癌作用受多种因素的影响,各种遗传的和