

癌基因 (Oncogenes) . 续 .

南京铁道医学院 杨焕明 高翼之 综述 王世凌 审校

三、不同onc的协同作用

1983年onc研究的最重大进展,可以说是证明了正常细胞的完全恶变至少需要两个以上的不同 onc 的协同作用。

1. 协同作用的实验依据

Land等以激活的人c-ras^H-1或c-myc、v-myc来单独转染Fisher大鼠胚胎成纤维细胞的原代培养物,都未见细胞转化。但将激活的c-ras^H-1与v-myc一起用来“共转染(co-transfection)”,则能使细胞完全转化。分子杂交也表明,转化细胞中含有ras与myc片段的多个拷贝⁽³⁴⁾。

Ruley以Fisher大鼠正常肾细胞为材料,也证明能转化NIH 3T3与Rat-1细胞

移到远处淋巴结。Kurokawa认为⁽¹⁾,只有当瘤细胞在淋巴结内浸润到很大范围时,即当淋巴结正常结构被肿瘤严重破坏时,瘤细胞才通过淋巴结。本实验在大腿内侧皮下接种瘤细胞后15天和19天,部分动物左腹股沟淋巴结已见转移癌,但正常结构尚未被严重破坏,此时,左腋窝淋巴结也有瘤细胞散在或形成转移癌。这表明,在近侧淋巴结正常结构尚未被转移癌严重破坏时,远处淋巴结也可发生转移癌。这与Kurokawa的观察结果不完全相符。但与孙异临等⁽⁹⁾的观察结果相似。这表明淋巴结的机械性屏障作用可能很弱。除此之外,近侧淋巴结的输入淋巴管被肿瘤栓子阻塞,瘤细胞经淋巴管的侧支通路到达远处淋巴结也是有可能的。

小 结

1. 本实验用小鼠腹水型肝癌(Hepatoma 22)细胞移植于615系小鼠后肢大腿内侧皮下所建立的淋巴道转移模型,适用于肿瘤淋巴道转移的实验研究。

2. 在615系小鼠左后肢大腿内侧皮下接种小鼠腹水型肝癌(Hepatoma 22)细胞后,肿瘤的生长情况易于观察。近侧淋巴结易于检查或摘除。因而此接种途径颇具优点。

株的c-ras^H-1、多瘤病毒的中T基因(mT)、腺病毒早期1B基因(E1B)与E1A基因,都不能单独转化正常细胞。如果将E1A分别与这些基因进行“共转染”,能使正常细胞恶变⁽³⁵⁾。

Newbold等人以正常仓鼠皮肤成纤维细胞为材料,也证明激活的c-ras^H-1缺乏转化正常细胞的能力。如果将这些正常细胞以X线、二甲基硫酸盐(dimethyl sulphate)等致癌剂使之具备无限增殖的能力,则能被激活的c-ras^H-1完全转化⁽³⁶⁾。

2. 协同作用的可能机制

据功能的不同,可将已发现的onc及相关基因大致分为两个互补群(complementation group): ras^N、ras^H、mT、E1B

3. 转移癌在淋巴结内沿边缘窦、皮质、髓质方向生长、发展,最后淋巴结的正常结构完全被癌细胞所取代。

4. 近侧淋巴结正常结构尚未被转移癌严重破坏时,远处淋巴结也可能形成转移癌。

本实验承张锚链制片,放射自显影方法承钱振超副教授和曾耀英指导,特此致谢!

参 考 文 献

1. Kurokawa, Y.; Gann, '61, 461-471, 1970
2. 高 进: 肿瘤淋巴道转移实验研究的概述 天津医药肿瘤学附刊1: 39, 1980
3. Tsukagoshi, S. et al; Gann, '64, 189-191, 1973
4. Baldwin, R. W. (Ed): Secondary Spread of Cancer London: Academic press, pp. 91-15, 1973
5. Zeidman, I. and Buss, J. M.; Cancer Research, 14, 403-405, 1954
6. 王爱民译: 癌的侵袭和转移机理 衡阳医学院学报 1: 53, 1980
7. Carr, I. and McGinty, F.; The Journal of Pathology, 113: 85, 1974
8. 高 进等: 肿瘤淋巴道转移特性的实验研究 中国医学科学院学报 3 (增刊2): 53, 1981
9. 孙异临等: 在淋巴道转移过程中癌细胞在淋巴结内的命运及淋巴结的改变 解剖学报, 13(1): 97, 1982

等基因可列为一个互补群,其功能与正常细胞的表型改变及贴壁不依赖性(anchorage independent)有关,产物可能位于细胞膜;myc、1T (large T, 多瘤病毒的大T基因)、E1A (或许还有myb)同属另一个互补群,其功能相似于使细胞获得无限增殖能力的建株过程,其产物可能结合于细胞核内结构⁽³⁴⁾。

各互补群成员的功能又有强弱之分。myc-ras共转染形成的转化细胞,在裸鼠体内诱发的肿瘤并不能无限增大。而ras转化的Rat-1建株细胞,以及ras分别与1T、E1A共转染的细胞所诱发的肿瘤则能增大至宿主死亡。已知1T及E1A能影响细胞的血清不依赖性与无限增殖能力,具有“建株”的全部可能功能,而myc的功能就不及建株。因此,正常细胞完全癌变至少需要myc-ras以外的另一个因子。mT基因又不具备ras的全部功能,myc-mT共转染的转化细胞在体内诱发肿瘤的能力,又远不及myc-ras共转染的转化细胞。已知mT能诱导细胞表型改变与贴壁不依赖性。

现在可以形成这样的概念:正常细胞的完全癌变至少可分为两个阶段四个步骤:“建株”阶段与“恶变”阶段。“建株”阶段可以用1T与E1A基因(还有“自发”的、致癌剂诱发的)使正常细胞获得无限增殖的能力为代表,又分为myc作用步骤与另一未知因子的作用步骤。“恶变”阶段以ras的功能为代表,使建株细胞具备在体内诱发能无限增殖的肿瘤的能力,又分为mT作用步骤与另一未知因子作用步骤。这四个步骤可能没有严格的时间顺序,Land曾将正常细胞以c-ras^H-1转染后再建株,同样能够恶变⁽³⁴⁾。

3. 协同作用的支持证据

能使动物正常细胞一步性致瘤的病毒,几乎无不携有两个以上的不同的与致瘤相关的基因。除1T与mT、E1A与E1B外,还有鸟成红细胞增多症病毒基因组中的erbA与erbB⁽⁸⁷⁾,以及在鸟白血病毒基因组中的myb与新发现的ets⁽⁵⁰⁾。

在肿瘤细胞也见有检出两种不同的激活onc的报道。如在原幼粒白血病细胞株中曾发现结构有所改变的c-myc与激活的ras^H共同存在⁽⁸⁸⁾。在鸟淋巴样白血病病毒诱发的Bt细胞淋巴瘤细胞中,也曾发现原病毒

插入激活的c-myc与未知机制激活的Blym⁽²⁹⁾。而Ruley也证明正常c-ras^H-1并不能参与协同作用⁽³⁵⁾。

对协同作用持保留的只有Spandidos的报道:激活的c-ras^H-1如果再同时接上逆转录病毒的LTR与SV40病毒的增强子,使之能高度表达,也能使中国仓鼠等正常细胞转化,转化细胞也能使裸鼠致瘤⁽⁸⁹⁾。

onc产物的可能功能

一、蛋白激酶

已知至少abl、fes(fps)、ras、ros、src、yes等onc的产物具蛋白激酶活性,核苷酸序列都有较高度度的同源,氨基酸序列的相似程度更高,特别是与激酶活性有关的羧基端。有人合称之为“src家族”,多数产物具酪氨酸特异性激酶活性^(45,90)。

已发现至少abl、fes、ras、src的产物结合于细胞膜内侧,而且证明abl、ras^H、src产物中所含的类脂与结合于细胞膜的效率有关^(32,91)。一直认为与功能有关的src等产物的自身磷酸化,已证明与转化无关⁽⁹²⁻⁹⁴⁾。

早就发现src等产物作用于细胞骨架⁽⁴⁰⁾,最近又发现中间纤维的组成之一vinculin以及 α -spectrin可能是它的底物⁽⁹⁵⁾。src族产物还可能与糖代谢调节有关。烯醇酶与磷酸甘油酸变位酶等糖代谢的关键酶,在abl、fes(fps)、src、yes转化的细胞都已证实被磷酸化,从而加速了糖分解⁽³³⁾。

很多实验室注重研究ras“突变激活”的功能效应。但ras产物除了自身磷酸化外,迄今未检出对于别的底物的激酶活性⁽⁴⁵⁾。ras^H产物的氨基端与真核线粒体与原核细胞H⁺ATPase的 β 亚单位上ATP-ADP结合部位的序列高度同源⁽³⁰⁾,这一区段(如第12位氨基酸)的结构改变可能影响膜旁电化学势能。与乳酸脱氢酶等五种酶的氨基端序列比较也表明,第12位氨基酸如果被侧链较长的残基替换,可能导致高级结构的较大改变⁽³¹⁾。

c-onc在进化上的高度保守,提示c-onc具有正常的功能意义。src族的c-ras^H、c-ras^K(以及c-myc)等在几乎所有正常组织中的表达水平都较为恒定,可能与正常代谢有关。而c-abl、c-fos、c-src(以及c-fms)

等则具明显的组织与发育阶段特异性, 可能在分化、发育中起关键作用⁽⁹⁰⁻⁹³⁾。

二、类生长因子受体

Waterfield 小组将上皮生长因子受体 (EGF-R) 的 14 个肽段的氨基酸序列与 erbB 产物的推定序列进行比较, 发现其中 6 个片段高度相似, 同源程度近 90%。erbB 可能是 EGF-R 基因的一部分, 即 EGF-R 基因的跨膜区与膜内区的对应编码片段, 而丢失了膜外区 EGF 结合位置的编码片段。erbB 产物可能具有类似 EGF-R 接受 EGF 刺激后的促细胞分裂功能, 却丧失了接受 EGF 正常调控的能力, 因而使细胞异常增殖^(27, 28)。

erbB 与 src 显著同源, 有人认为应属 src 族成员。erbB 产物与 EGF-R 相似性的发现, 启示 src 族 onc 可能起源于生长因子受体的细胞编码序列。很多生长因子的受体

都具有酪氨酸特异性激酶活性, src 族 onc 的研究可望有新的发现。

三、类生长因子

sis 产物与血小板来源的生长因子 (PDGF) 的序列高度相似, 与 PDGF II 的同源程度达 87%; 存在的差异也足以用种间差异来解释。两者的生化与免疫特性也很接近。在多数结缔组织起源的肿瘤细胞中, 都检出了 sis 产物活性, 而这类组织细胞都具有 PDGF 受体, 也具酪氨酸特异性激酶活性⁽²³⁻²⁶⁾。

Blym 的产物与转铁蛋白的氨基端序列部分同源。已知转铁蛋白与细胞增殖关系密切, 有理由推测 Blym 是以类似于转铁蛋白的机制、或参与转铁蛋白调节系统而发挥功能的⁽²⁹⁾。

表 1

已在人基因组定位的 onc 或肿瘤相关基因

人基因符号	基 因 名 称	基 因 位 置	定 位 方 法
NRAS	c-ras ^N	1p31.1-p22.1	S, A
SK	鼠白血病病毒同源序列	1q12-qter	S
RAF1	c-raf-1	3	S, REa
RAF2P	c-raf-2 (p)	4	S, REa
FMS	c-fms	5q34	S, REa
MYB	c-myb	6q15-q24	S, RE
KRAS1P	c-ras ^K -1(p)	6p23-q12	S, RE
ERBB	c-erbB	7pter-q22	S, RE
MOS	e-mos	8q22	RE, A
MYC	e-myc	8q24	RE, A
ABL	c-abl	9q34	S, RE
HRAS1	c-ras ^H -1	11p15.1-p15.5	S, A, Me
WAGR	Wilm's 肿瘤相关基因	11p13	Ch
KRAS2	c-ras ^K -2	12p12.1-q24.2	S, A, Me
INT1	小鼠乳腺瘤病毒同源序列	12p14-qter	S, A
RB1	视网膜母细胞瘤相关基因	13q14.1	D, F
FES	c-fes	15q25-q26	S, A
ERBA1	c-erbA-1	17p11-q21	S, A
ERBA2	c-erbA-2	17	S, A
ERV1	内源性逆转病毒同源序列 1	18	S, RE
SRC	c-src	20	S
SIS	c-sis	22q12.3-q13.1	S, A
HRAS2	c-ras ^H -2	Xq26-q28	S

注:

A: 原位分子杂交

Ch: 与表型有关的染色体改变

D: 缺失法定位

F: 家系调查

Me: 减数分裂染色体原位分子杂交

RE: 限制性内切酶技术

RHa: RE结合体细胞杂交技术

S: 体细胞杂交

四、核蛋白

SV40等DNA肿瘤病毒的T抗原能直接与宿主染色质结合而直接参与DNA活化,其功能相似于宿主细胞合成的复制启动因子。已知myc产物也位于细胞核内,并具有与DNA结合的能力^(99,100),其作用机制很可能与T抗原相似。myb产物也初步定位于细胞核。这一互补群的作用机制,是有可能与ras互补群有较大差异,因而两者协同作用。

结 语

多少年来,关于致癌机制的假说已有:“体细胞突变”说、“两步突变”说、“启动——促进”模型、“基因失控”说、“病毒致癌”假说等等。他们都有一定的实验依据,但也无不有相当的局限性。1983年以来有关onc的重大发现,特别是“不同onc协同作用”的发现,使我们对致癌机制及所有“假说”有了较为全面、深入的认识,必将成为肿瘤研究的又一里程碑。

参 考 文 献

1. Newmark P, Nature 301:111, 1983
2. Capon DJ et al, Nature 302:33-37, 1983
3. Shimizu K et al, Nature 304:497-500, 1983
4. Colby WW et al, Nature 301:722-725, 1983
5. Devare SG et al, PNAS 80:731-735, 1983
6. Schwartz DE et al, Cell 32:853-869, 1983
7. Bonner TI et al, Cytogenet Cell Genet 37:424, 1984
8. McGrath JP et al, Nature 304:501-506, 1983
9. De la Chapelle A & Berger R, Cytogenet Cell Genet, 37:274-311, 1984
10. Rowley ID, Nature 301:290-291, 1983
11. Gilbert F, Nature 303:475, 1983
12. Merz B, JAMA 249:687-694, 1983
13. Yunis JJ, Science 221:227-236, 1983
14. Newmark P, Nature 302:476, 1983
15. Newmark P, Nature 301:654-655, 1983
16. Muschel RJ, Science 219:853-856, 1983
17. Feinberg AP et al, Science 220:1175-1177, 1983
18. Sukumar S et al, Nature 306:658-661, 1983
19. Yuasa Y et al, Nature 303:775-779, 1983
20. Capon DJ et al, Nature 304:507-513, 1983
21. Mardon G & Varmus HE, Cell 32:871-879, 1983
22. Van Beveren C et al, Cell 32:1241-1255, 1983
23. Waterfield MD et al, Nature 304:35-39, 1983
24. Robbins KC et al, Nature 305:605-608, 1983
25. Doolittle RF et al, Science 221:275-277, 1983
26. Marx JL, Science 221:248, 1983
27. Downward J et al, Nature 307:521-527, 1984
28. Marx JL, Science 223:806, 1984
29. Goubin G et al, Nature 302:114-119, 1983
30. Gay NJ & Walker JE, Nature 301:262-264, 1983
31. Wierenga RK & Hol WGJ, Nature 302:842-844, 1983
32. Garber EA et al, Nature 302:161-163, 1983
33. Cooper JA et al, Nature 302:218-223, 1983
34. Land H et al, Nature 304:596-602, 1983
35. Ruley HE, Nature 304:602-606, 1983
36. Newbold RF & Overall RW, Nature 304:648-651, 1983
37. Marx JL, Science 222:602-603, 1983
38. Temin HM, J Nat Cancer Inst 46:3-7, 1971
39. Todaro GJ & Huebner RJ, PNAS 69:1009-1015, 1972
40. Bishop JM, Scient Ame 246:80-92, 1982
41. Marx JL, Science 223:673-676, 1984
42. Clark SP & Mak TW, PNAS 80:5037-5041, 1983
43. Hall A et al, Nature 303:396-400, 1983
44. Duesberg PH, Nature 304:219-226, 1983
45. Bishop JM, Ann Rev Biochem 52:301-354, 1983
46. Cairns J, Nature 289:353-357, 1981
47. Tabin CJ et al, Nature 300:143-149, 1982
48. Reddy EP et al, Nature 300:149-152, 1982
49. Weinberg RA, Scient Ame 249:102-116, 1983
50. Leprince D et al, Nature 306:395-397, 1983
51. Feig LA et al, Science 223:698-700, 1984
52. Santos E et al, Science 223:661-664, 1984
53. Gambke C et al, Nature 307:476-478, 1984
54. Balmain A & Pragnell IB, Nature 303:72-74, 1983
55. Santos E et al, PNAS 80:4679-4683, 1983

放射加左旋咪唑治疗鼻咽癌

——一组前瞻性随机研究远期结果

湖北省肿瘤医院放疗科 李长青

恶性肿瘤多采用手术、放疗、化学药物方法治疗,近十余年肿瘤免疫的研究有较快的进展,为肿瘤的免疫治疗提供了初步的理论依据。在肿瘤免疫治疗的实践中,也逐步积累了资料,有了新的认识。因此,免疫治疗引起了人们的重视。本组从1979年7月至1980年3月采用随机分组方法对99例鼻咽

癌进行了放射加左旋咪唑和单纯放射的对比观察,均观察满5年以上。现总结如下:

资料和方法

一、临床资料:二组病人的性别、年龄、病理、放疗剂量、病期等见表1。从表可以看出,二组病人疗前基本情况相似,

56. Taparowsky E et al: Cell 34: 581-586, 1983
57. Wyke J: Nature 304: 491-492, 1983
58. Little CD et al: Nature 306: 194-196, 1983
59. Mushinski JF et al: Science 220: 795-798, 1983
60. Papkoff J et al: Cell 33: 161-172, 1983
61. Wang YJ: Nature 304: 400, 1983
62. Sheer D et al: PNAS 80: 5007-5011, 1983
63. Bishop JM: Cell 32: 1018-1020, 1983
64. Chang EH. et al: Nature 297: 479-483, 1982
65. Schwab M et al: Nature 303: 497-501, 1983
66. Hamlyn PH & Rabbitts TH: Nature 304: 135-139, 1983
67. Robertson M: Nature 302: 474-475, 1983
68. ar-Pushdi A et al: Science 222: 390-393, 1983
69. Gelmann EP et al: Nature 306: 799-303, 1984
70. Newmark P: Nature 301: 462, 1983
71. Neuberger MS & Calabi F: Nature 305: 240-243, 1983
72. Marx JL: Science 223: 675, 1984
73. Perry RP: Cell 33: 647-649, 1983
74. Khoury G & Gruss P: Cell 33: 313-314, 1983
75. Nishikura K et al: PNAS 80: 4822-4826, 1983
76. Kelly K et al: Cell 35: 603-610, 1983
77. Robertson M: Nature 306: 733-736, 1984
78. Klempnauer K-H et al: Cell 33: 345-355,

- 1983
79. Schwab M et al: Nature 305: 245-248, 1983
80. Rabbitts TH et al: Nature 306: 760-765, 1984
81. Giallongo A et al: Science 222: 430-432, 1983
92. 高翼之、杨焕明: 国外医学分子生物学分册 5: 251-259, 1983
83. Kuff EL et al: Nature 302: 547-548, 1983
84. Cohen JB et al: Nature 306: 797-799, 1983
85. Huerre C et al: Nature 305: 638-641, 1983
86. de Martinville B & Francke U: Nature 305: 641-643, 1983
87. Hayman MJ et al: Cell 32: 579-588, 1983
88. Murray MJ et al: Cell 33: 749-757, 1983
89. Newmark P: Nature 305: 470-471, 1983
90. Hoffman-Falk H et al: Cell 32: 589-598, 1983
91. Sefton BM et al: Cell 31: 465-474, 1982
92. Snyder MA et al: Cell 32: 891-901, 1983
93. Cross FR & Hanafusa H: Cell 34: 597-607, 1983
94. Der CJ & Cooper GM: Cell 32: 201-208, 1983
95. Greenberg ME & Edelman GM: Cell 33: 767-779, 1983
96. Müller R et al: Nature 304: 454-456, 1983
97. Jacobs C & Rübsamen H: Cancer Res 43: 1696-1702, 1983
98. Müller R et al: Nature 299: 640-644, 1983
99. Alitalo K et al: Nature 306: 274-277, 1983
100. Ralston R & Bishop JM: Nature 306: 803-806, 1984