文章编号:1000-5404(2006)02-0091-02

专家论坛

肿瘤分子病理和分子靶向治疗进展

王 东[1,2] (第三军医大学大坪医院野战外科研究所:[1]肿瘤中心,[2]病理科,重庆 400042)

临床肿瘤学的发展,直接得益于基础科学,特别是分子生物学和分子病理学的研究进步,正如第41届ASCO主席DH Johnson教授所指出的那样"提高肿瘤治疗水平,最终依靠科学进步"。现仅就肿瘤分子病理和分子靶向治疗方面,主要包括DNA损伤修复与肿瘤基因治疗,以及肝细胞癌研究的某些进展简要进行综述,其中有些研究结果对于今后的肿瘤治疗、预防可能具有一定的实际意义。

1 DNA损伤修复与肿瘤基因治疗

人体细胞,乃至所有生物细胞都存在着DNA损伤修复系统,该系统的存在对于维持基因组的完整与稳定,排除复制错误,避免基因突变起着至关重要的作用。内源和环境的诸多因素,包括电离辐射、UV射线、氧自由基、水解以及烷化类化疗药物都可直接损伤DNA。目前,已在哺乳动物细胞中发现4个较为完善的DNA修复通路,分别是碱基切除修复(base excision repair)、核苷酸切除修复(nucleotide excision repair)、双链断裂修复(double strand break repair)和错配修复(mismatch repair)。脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶(apurinic/apyrimidinic endonuclease, APE1),又称氧化还原因子(redox factor-1, Ref-1),是一个多功能的DNA碱基切除修复途径(base excision repair, BER)的限速酶,是细胞DNA放射性损伤和烷化剂致伤重要的修复因子[1]。通过碱基切除修复机制,APE1可以修复细胞内大量存在的嘌呤嘧啶缺失位点。这种位点具有细胞毒性及基因毒性,如不能修复,将导致基因突变、染色体微卫星不稳定或细胞凋亡。此外,APE1还具有氧化还原功能(reduction-oxidation, redox),通过维持细胞内多种转录因子的激活还原态,而参与多种关键的细胞反应。例如氧化应激、转录因子调节、细胞周期控制与凋亡。已报道受APE1调控的转录因子包括p53、HIF-1a、NF-kB、Fos/Jun(AP-1)、ATF/CREB家族、PAX-8等。APE1是一个多功能的生物大分子复合体,其N端的开放式结构与其氧化还原功能密切相关,参与调控不同的转录因子,而C末端高度保守序列,行使DNA碱基位点的酶活性[2]。APE1基因敲除小鼠在胚胎早期即死亡,表明APE1是决定细胞存活的关键基因。Hela细胞在X线照射、HOCl、H_2O_2等产生的ROS作用下APE1核酸内切酶活性可以暂时的升高,而且神经母细胞瘤NT2外源性过表达APE1能显著提高其对放射性的抵抗。为了探讨APE1在人骨肉瘤中的作用,我们首先检测了60例骨肉瘤组织APE1的表达,发现80%骨肉瘤APE1蛋白过表达,而且APE1蛋白过表达与肿瘤转移和预后密切相关该结果提示。APE1可能成为骨肉瘤治疗潜在的靶分子;进而我们应用RNA干扰技术(RNAi)抑制培养骨肉瘤细胞APE1的表达(其抑制率可达90%以上),从而促进肿瘤细胞凋亡,显著提高对多种细胞毒性化疗药物,以及放射线的敏感性[3]。在上述实验结果的基础上,我们成功构建了APE1 siRNA载体pSilence APE1,并且该载体能有效地敲低骨肉瘤细胞APE1基因表达[4]。应用pSilence APE1可显著抑制骨肉瘤细胞诱导的血管内皮细胞迁徙,并且可能与内皮抑素(endostatin, ES)具有协同抗血管生成的作用,该结果在国内外少见报道[5]。此外,牟江洪等[6]探讨了APE1在大肠癌的表达特点及其与血管内皮生长因子(VEGF)和血管密度的关系。结果显示大肠癌APE1移位于细胞浆的异常表达可能涉及大肠癌的发生,并且可能与VEGF表达和肿瘤血管生成有关。此外,卿毅等[7]用铱-192射线和铜-252中子射线分别以不同的剂量照射人骨肉瘤细胞HOS,彗星分析法检测照射后细胞的DNA损伤情况。结果表明彗星分析法与MTT法及克隆形成分析的结果是一致的,说明彗星分析法是一种能够较准确检测细胞放射敏感性的方法;而且,铜-252中子对HOS细胞的杀伤效果优于普通光子射线,说明铜-252中子放射治疗骨肉瘤是一种具有发展潜力的放射治疗方法。肖华亮等应用免疫组化S-P法检测97例未经治疗的脑胶质瘤中DNA损伤修复基因6-氧甲基鸟嘌呤DNA甲基转移酶(MGMT)、拓扑异构酶Ⅱ(ToPoⅡ)和其他4种耐药相关蛋白表达,包括P-糖蛋白(P-gP)、多药耐药相关蛋白(MRP)、胎盘型-谷胱甘肽S转移酶(GST-π)、和胸苷酸合成酶(TS)。结果提示耐药相关蛋白在脑胶质瘤的表达存在明显异质性,常规联合检测这些蛋白的表达状况有助于临床合理选择化疗方案。鉴于APE1在哺乳动物细胞DNA损伤修复中的特殊作用,以及对细胞放疗的保护作用,我们提出外源性过表达APE1对肺放射性损伤的可能保护作用。为此,谭永红等[8]应用首先建立了大鼠半胸照射模型,并通过光镜及电镜观察辐射致鼠肺纤维化病变发生过程的病理学特征及其规律。结果显示照射后1、3、7 d可见肺实质细胞的损伤,内皮细胞核损伤出现最早,提出血管内皮细胞可能为辐射最敏感的肺实质细胞。该实验为今后进一步的研究奠定了基础。

2 肝细胞癌分子病理和分子靶向治疗

肝细胞癌是最常见的恶性肿瘤之一,在美国、欧洲和亚洲地区,随着慢性肝炎、肝硬化、肥胖发生率的提高,肝细胞癌的发病率也不断上升[9],虽然由于外科手术的进步和早期诊断水

作者简介:王 东(1964-),男,天津市人,博士,主任医师,教授,主要从事肿瘤化疗、放疗的分子机制及基因治疗方面的研究,发表论文50余篇。电话:(023)68757706,E-mail: dongwang64@hotmail.com

收稿日期:2005-12-02;修回日期:2005-12-28

平的提高，肝细胞癌的切除率有所提高，但根治性切除、肝移植等方法仅适用于少数病人，对于进展期 HCC，部分切除术、化疗栓塞及系统化疗仍是目前常用的治疗方法。然而，对于不能切除的 HCC 患者，上述方法虽然能够提高存活率，却不能显著改善总的生存率。因此，目前仍迫切需要探索新的治疗方法。何怡等[10]探讨表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor, EGFR）抑制剂吉非替尼对人肝癌细胞株 SMMC-7721 增殖和凋亡的影响，结果显示吉非替尼能够通过诱导细胞凋亡抑制 SMMC-7721 细胞生长，有望为肝癌的分子靶向治疗提供新的有效途径。张沁宏等[11]以人肝癌细胞系 SMCC-7721 为实验对象，将载有人野生型 p53 cDNA 的重组腺病毒（Ad-p53）感染 SMCC-7721 细胞及肿瘤组织，体外体内实验观察 Ad-p53 对 SMCC-7721 细胞生长的影响。Ad-p53 转导野生型 p53 基因可能是一种有效的肝癌基因治疗途径。

肿瘤干细胞的研究是肿瘤研究的热点之一，极有可能为今后肿瘤的彻底治愈提供新的技术和思路。肝干细胞是一类具有长期自我更新和多向分化能力的细胞，除了来源于以肝内卵圆细胞为代表的原始细胞外，还可以来源于骨髓或外周循环系统干细胞的转化。王阁等[12]观察 94 例肝细胞癌、12 例肝内胆管细胞癌和 10 例混合型肝癌的肝干细胞的免疫表型，结果表明不同病理组织类型的肝癌组织中均存在不同分化状态和不同来源的肝干细胞。Tec（tyrosine kinase expressed in hepatocellular carcinoma）最早是从肝癌组织中筛选出的一种重要的非受体型蛋白酪氨酸激酶，它存在于胞质内，主要在 T 细胞、B 细胞、造血细胞及肝脏中表达。邓婧、王阁对 Tec 上下游主要作用分子作了综述。同时通过酵母双杂交技术筛选作用蛋白 RAI16，进一步利用相应的计算机软件及数据库，对 RAI16 cDNA 序列进行分析和比较，并对编码的蛋白质氨基酸序列及其二级结构进行分析和预测，结果显示其 cDNA 序列由2 863个核苷酸组成，编码 759 AA 蛋白质，具有多个功能基序，其中包括3个酪氨酸磷酸化位点。从而推测 RAI16 蛋白与细胞分化有关，很可能在肝癌细胞的诱导分化信号转导转录中与 Tec 协同发挥重要作用[13]。随着今后研究的深入，Tec 很可能成为肝癌细胞治疗的潜在靶分子，具有重要的临床意义。

此外，杨志祥等[14]的研究发现视黄酸及其依赖的融合基因表达可协同诱导 MCF-7 细胞凋亡，caspases 和 bcl-2 家族成员表达变化可能是其作用的主要分子机制。咖啡酸苯乙酯（caffeic acid phenethyl ester, CAPE）作为蜂胶抗肿瘤作用的主要活性成分，对人白血病和多种实体瘤细胞有抑制增殖和诱导凋亡作用，且发现 CAPE 可显著降低转基因小鼠（转染突变型 APC 基因）和致癌剂诱发的大鼠大肠肿瘤的发生率。向德兵等[15]以大肠癌细胞株 HCT116 和 SW480 为研究对象，应用间接免疫荧光、Western blotting 检测 CAPE 处理细胞 β-catenin 表达变化，发现 CAPE 能明显下调 β-catenin 蛋白表达并阻止其核转位，这可能是其抗癌作用的重要分子机制。

恶性肿瘤是一类严重危害人类健康和生命的多发病、常见病，临床肿瘤学正处于一个重大的变革时期，有机遇，更有挑战。生命基础科学、多种科学技术交叉、循证医学等使肿瘤的治疗获得了前所未有的发展。传统的手术、化疗和放疗各自都有了长足的发展。分子靶向治疗和基因治疗面临重大突破。相信随着基础研究的成果和各种先进技术的融合，将不断涌现新的治疗肿瘤方法。

关键词：肿瘤；分子病理学；分子靶向

中图法分类号：R730.59　　**文献标识码**：A

参考文献：

[1] DEMPLE B, SUNG J S. Molecular and biological roles of APE1 protein in mammalian base excision repair[J]. DNA Repair, 2005, 4(12): 1442 - 1449.

[2] TELL G, DAMANTE G, CALDWELL D, *et al*. The intracellular localization of APE1/Ref-1: More than a passive phenomenon[J]? Antioxidants & Redox Signaling, 2005, 7(3): 367 - 384

[3] WANG D, LUO M, KELLEY MARK R. Human apurinic endonuclease1 (APE1) expression and prognostic significance in osteosarcoma: Enhanced sensitivity of osteosarcoma to DNA damaging agents using silencing RNA APE1 expression inhibition[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2004, 3(6): 679 - 686.

[4] 王　东，仲召阳，李增鹏，等. APE1 siRNA 表达载体的构建及其对骨肉瘤细胞 APE1 表达的抑制作用[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：97 - 100.

[5] 王　东，仲召阳，李增鹏，等. pSilence APE1 对骨肉瘤诱导血管内皮细胞迁徙抑制作用的实验研究[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：93 - 96.

[6] 牟江洪，肖华亮，向德兵，等. 大肠癌 Ref-1/APE 的表达特点及其意义[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：111 - 113.

[7] 卿　毅，王　东，李增鹏，等. 人骨肉瘤细胞 HOS 锕-252 中子放射敏感性的研究[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：117 - 120.

[8] 谭永红，王　东，肖桃元，等. 大鼠半胸照射致肺纤维化模型的病理学观察[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：104 - 106.

[9] EL-SERAG H B, DAVILA J A, PETERSEN N J, *et al*. The continuing increase in the incidence of hepatocellular carcinoma in the United States: an update[J]. Ann Intern Med, 2003, 139: 817 - 823.

[10] 何　怡，王　东，张沁宏，等. EGFR 抑制剂吉非替尼对肝癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：125 - 128.

[11] 张沁宏，王　东，牟江洪，等. 重组腺病毒介导的 p53 基因对肝癌细胞生长抑制作用的研究[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：121 - 124.

[12] 王　阁，索金友，邓　婧，等. 原发性肝癌不同病理组织类型中肝干细胞的起源分析[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：114 - 116.

[13] 邓　婧，王　阁，杨　进，郑继军等. Tec 激酶区作用蛋白 RAI16 的筛选和结构功能分析[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：133 - 135.

[14] 杨志祥，糜漫天，王　东，等. 视黄酸依赖 Fas/RARα 融合基因诱导 MCF-7 细胞凋亡的分子机制研究[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：107 - 110.

[15] 向德兵，何渝军，牟江洪，等. 咖啡酸苯乙酯对大肠癌细胞 β-catenin 蛋白表达的影响[J]. 第三军医大学学报，2006，28(2)：101 - 103.

（编辑　汪勤俭）