维普资讯 http://www.cqvip.com

315-318 肺肿瘤. 表皮生长因子. 受体 (39)

第24卷 第3期 重庆医科大学学报 Vol.24 No.3
1999 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1999

R734.202

表皮生长因子及其受体与肺癌

第二临床学院肺科 蒋幼凡* 综述 薛亚梅 审校

中图分类号 R734

随着肺癌的生物学及分子病理学研究的迅速发展,原癌基因、癌基因、肿瘤抑制基因、生长因子及其受体在肿瘤发生发展中的作用已引起人们的极大关注。目前研究表明,表皮生长因子(epidermal growth factor EGF)及受体(epidermal growth factor receptor EGFR)作为细胞信号系统的一部分,通过EGF与其细胞膜上的受体(EGFR)结合,在肿瘤中形成自分泌或旁分泌环,传递信号至细胞核,调节基因表达,促进肿瘤生长。EGF/EGFR系统在肿瘤发展中占有重要地位。本文就EGF及EGFR的结构、受体的激活机制及其在肺癌方面的相关研究作一概述。

1 EGF及EGFR的生物学结构、功能

1.1 表皮生长因子(EGF)与转化生长因子(TGF) 表皮生长因子(EGF)是一种生物活性多肽,由53个氨基酸构成,分子量为6.45KD,内含三个双硫键。EGF首先是由Cohen发现,并成功地从雄性小鼠的下颌下腺中提取。随后从尿中分离出成熟的人表皮生长因子(hEGF)。EGF由人的肾、乳腺、唾液腺等分泌,以外分泌的形式分泌到尿液、乳汁、唾液及一些体液中,血小板中也存在EGF[1]。Aida等用免疫组化和电镜证实,EGF可从支气管腺体中分泌到支气管表面的液体中[2]。血清中检测到的EGF含量比血浆中高5.4倍,差别的出现是由于血液凝固过程中,血小板释放出EGF所致,但其来源除血小板释放外,其他途径的来源尚需进一步研究[3]。EGF是一种多功能的细胞生长调节因子,能刺激培养细胞的增生,亦能促进表皮细胞及其他多种组织的生长和分化,特别是EGF与特定的EGFR结合后,对多种间质细胞、上皮细胞来源的肿瘤细胞有不同程度的促生长作用。转化生长因子(transforming growth factor, TGF)包括TGF-α和TGF-β[4]。TGF-α为单链多肽,分子量6KD,因为它与EGF有33%~44%的同源性,也能与EGFR相结合,故TGF-α又被称为EGF样的转化生长因子。研究表明TGF-α同样能刺激细胞生长,且与EGF的生物效应相似,活性比EGF更强。TGF-β的分子结构、生物学效应、结合的受体均与TGF-α不同。TGF-β是一种分子量为25KD的二硫化物联合二聚体,不能与EGFR结合,可通过与TGF-β受体结合,传递生长调节信息,对某些肿瘤的增殖有抑制作用[1]。

1.2 表皮生长因子受体(EGFR)与相关的癌基因 表皮生长因子受体(EGFR)广泛存在于人体器官中,包括:内分泌腺、表皮、肝脏、脑、骨、胎盘等,它是由1186个氨基酸组成的单链跨膜糖蛋白,分子量为170KD。EGFR由三部分组成,胞外区(external domain)、跨膜区(transmenbrane portion)和胞内区(internal domain),其中胞外区能与EGF、TGF-α及其他相应配体高效结合,胞内区包括有ATP结合位点和酪氨酸激酶区[4]。EGFR与其他酪氨酸激酶(TK)型受体一样具有蛋白激酶活性和受体自身磷酸化功能,或导致细胞信号系统的一系列变化,对细胞的增殖产生重要的影响[5]。同时,在鸟成红细胞增多症病毒(AEV)转化的细胞中发现一种V-erbB癌基因,这种癌基因编码的蛋白质即erbB-2,分子量约185KD,结构与EGFR高度同源。目前,学者们认为这种蛋白质就是一个缺失胞外区的、被激活的EGFR。erbB-2分子自身磷酸化后胞内区也具有酪氨酸激酶活性,且erbB-2和EGFR可通过磷酸根转移形成异二聚体互相影响,在肿瘤中共同表达[6]。然而,erbB-2不能与EGF、TGF-α等配体结合,到目前为止,人们已逐渐认识到它在肿瘤发生、发展中的作用,但erbB-2蛋白结合的配体尚需进一步研究阐明。

* 女,1963-09出生,硕士生

维普资讯 http://www.cqvip.com

2 EGF及EGFR的作用机制

EGF作为一种配体能与胞外区上有特定位点的EGFR结合，激活调节蛋白及酶反应物质，引起一系列生化过程产生生物效应。EGF与EGFR结合后，受体的结构改变，形成受体的二聚体化，激活胞内区的酪氨酸激酶(TK)，活化的TK使受体羧基末端的酪氨酸残基自磷酸化，导致受体上有激酶活性的结合位点充分暴露，提高了受体对配体的亲和力。同时，TK活化后磷酸化的受体酪氨酸残基还能识别和结合一些底物，催化底物的酪氨酸磷酸化，其中的磷脂酶Cγ－亚基(PLC－γ)磷酸化可促使二磷酸磷脂酰肌醇(PIP_2)分解生成二酰基甘油(DAG)和三磷酸肌醇(IP_3)。DAG和IP_3被认为是第二信使，IP_3能促使细胞内钙离子的释放，引起细胞离子浓度改变，加强钙离子参与的细胞反应，刺激细胞生长；而DAG可以激活蛋白激酶C(PKC)，PKC又可再识别、激活其他的酶和蛋白(如：PLC－γ等)，通过这样不断的识别、结合、启动酪氨酸磷酸化的连环放大反应，造成细胞内信号的连续放大及传递，最终影响核基因的转录及DNA合成，促进细胞的增殖[7]。

3 EGF及EGFR在肺癌中的表达

人们认为生长因子和受体在一些肿瘤中是通过一种"自泌环autocrine loop"的自泌调节起作用的。恶性肿瘤细胞在培养过程中外源性生长因子的需要减少，这一特性使人们确信人类肿瘤细胞能产生EGF及其相应的受体(EGFR)[8]。有作者研究发现肿瘤细胞产生EGF的量与EGFR的量不是完全相等，提示肿瘤细胞除自泌以外，还有一种经"旁泌"的途径分泌EGF的能力，虽然这种旁泌EGF的来源目前尚不清楚，但EGF自泌或旁泌机制在肺癌发展过程中发挥的重要作用已较肯定。Chen等[8]用Norther Blot方法从RNA表达水平上检测4个人肺癌细胞系(包括2个腺癌细胞系、1个大细胞癌和1个小细胞癌细胞系)中EGF及EGFR的表达。显示所有细胞系均有EGF的mRNA表达，3/4有EGFR的mRNA表达。用抗－EGF和抗－EGFR的抗体能抑制细胞系的增殖，支持肺癌细胞中存在生长因子的自泌环，而生长因子的自泌刺激是癌细胞无控制生长的主要原因。Dittadi、Diez、Veale[9,10,11]用放射受体结合分析方法对原发性NSCLC和正常肺组织标本检测，发现正常肺组织和肺癌组织均含有两个不同亲和力的EGFR结合位点，肺癌组织的受体浓度高于正常组织，由于受体数量增加，可引起受体自身磷酸化活性增加1.2～2.8倍，受体的亲和力无明显改变。Hendler等[12]对细胞培养液及细胞转染实验的研究表明肺鳞癌细胞培养液中EGFR量高于正常上皮细胞培养液，将EGFR转染到NIH3T3细胞中，将其基因转移到动物体内引发动物形成肿瘤，这时如果给动物注射EGF将使肿瘤发病的潜伏期缩短，从而进一步说明了EGF和EGFR在细胞增殖中扮演着重要角色。

免疫组化方法用于检测肺癌组织中EGF及EGFR 表达已有多个作者报告。Cerny等[13]对6例肺癌检测发现86%的鳞癌EGFR染色阳性，而15例SCLC染色均为阴性，作者认为EGFR检测对区别SCLC和NSCLC有一定价值，Veale等[4]的研究结果也表明在NSCLC中，EGFR的阳性表达率可达50%～55%，其中鳞癌的表达显著高于其他非小细胞癌。但有关EGFR表达与肺癌组织学类型的关系也有与上述结果不一致的报告。Dazzi等则提出在NSCLC中，EGFR的表达在各型之间无显著的差别[5]。以上结论的不一致可能与肿瘤细胞的生长状态及病人选择不同有一定关系，同时也说明不同组织学类型的肿瘤能表达组成相似的自泌或旁泌环。因此，将EGFR表达作为肺癌分型的指标是不可靠的。观察EGF及EGFR的染色状况，发现EGF主要表现为肿瘤细胞的细胞浆染色阳性，而EGFR则多为肿瘤细胞细胞浆和/或细胞膜染色阳性。增殖期细胞EGFR表达多显示膜染色，分裂期细胞为细胞浆内局限性染色，说明EGF和EGFR在肿瘤细胞中存在染色的多变性和多相性，EGF及EGFR的染色与细胞周期有关。

4 EGFR表达与肺癌病人预后的关系

EGFR表达与肺癌病人预后的关系受到人们的普遍重视。Veale等[4]用免疫组化法检测

维普资讯 http://www.cqvip.com

NSCLC中EGFR表达发现,EGFR表达与肿瘤的分期有关,30例Ⅲ期肿瘤比47例Ⅰ～Ⅱ期的肿瘤染色强。随后他们又用放射受体结合分析方法观察到生存期长的病组,EGFR平均浓度为:16.1fmol/mg,而生存期短的病组,平均浓度为68.6fmol/mg,后者受体浓度明显增高。Pavelic等[14]认为EGFR阳性表达与低分化、高增殖率有关,相信EGFR的表达对预后的判断有一定的价值。有作者研究发现如果EGFR与erbB－2在肺癌特别是肺腺癌中同时表达,则表现出预后差[15]。表明EGFR和erbB－2不仅在结构上相似,而且在肿瘤发生、发展中发挥协同的生长刺激作用,对肿瘤的预后产生影响[6]。另一些报道却提出了不同观点、Diez等用放射受体结合分析方法测定NSCLC中EGFR的浓度,分析其与预后的关系,结果是EGFR增高与肿瘤的分化程度,有丝分裂指标及淋巴转移无显著关系,且发现已存活2年的病人其EGFR浓度低于临界值的有40%,超过临界值的仅有25%,低于临界值的发生率还略高,认为EGFR的表达对预后判断的意义不大。尽管目前EGFR表达在预后判断中尚无定论,但其在肿瘤转移中的作用已逐渐被人们认识。Yudoh等[16]发现在高转移的鼠肉瘤细胞株中EGFR表达比低转移细胞株高,将EGF加入EGFR高表达的细胞,这些细胞可表现出穿透力、粘附性增加,当加入抗EGFR的单克隆抗体后,由于阻断了EGF的刺激,可使接种动物肺转移率大大降低。Tateishi等[15]对原发性肺腺癌病人的检测也表明,有远处转移的病人(M1)EGFR表达高于没有远处转移的病人(M0),两者之间差别显著。在表达EGFR的人胚胎癌细胞系Tere－2等细胞中加入EGF后,细胞呈单层分散生长,具有高度移动性,当缺乏EGF时呈聚集球状生长[17]。说明EGF与EGFR结合后,可影响细胞的移动性,在肺癌及其他肿瘤转移中起一定作用。EGFR在肺癌中的表达能否作为一个单独判断预后的指标用于临床,有待进一步研究。

5 EGF和EGFR在肺癌治疗中的应用

随着肺癌发病率的增高,探索新的治疗措施已成为人们追求的目标。EGFR在肺癌中的过度表达,使其成为肿瘤基因治疗的合适靶子。目前已生产出抗人EGFR的单克隆抗体,单抗与EGFR结合后,封闭配体结合位点,阻断EGF和TGF－α与受体结合,抑制信号传递通路,达到治疗肿瘤的目的。Dean等[18]在对肺癌细胞株的试验中发现多种用于治疗的鼠单克隆抗体中,疗效最好的是ICK_{62},它不仅能阻断生长因子与受体的互相作用,还能激活宿主免疫效应器的功能,增强宿主的免疫力,抑制肿瘤生长。Modjtahedi等[19]用这种鼠单抗对11例头、颈部鳞癌和9例肺磷癌病人进行了Ⅰ期临床试验,发现病人使用ICK_{62}很安全,即使剂量达100mg也无明显毒性,并能使有EGFR表达的肿瘤得到控制,是一种有临床应用价值的措施。单抗除了封闭结合位点的作用外,还可作为载体,将抗癌药物特异性导向肿瘤部位。有学者发现将EGFR单抗与阿霉素相联结,组成的抗体复合物仍保持与EGFR的结合能力,其与肿瘤表达的EGFR结合后,表现出明显的肿瘤杀伤效果[20]。至今为止,尽管用单克隆抗体及其他方法能治疗过度表达EGFR的肺癌,但多局限在体外实验和Ⅰ期临床试验阶段,要在临床推广应用,尚有许多工作要做。

6 小结

目前人们对EGF和EGFR在肺癌发生和发展中所起的重要作用已有一定程度的了解。大量资料表明,EGF和EGFR在肺癌特别是NSCLC中表达增高,并对其预后和转移产生影响。但由于肺癌形成的多因素及复杂过程,EGF和EGFR在肺癌中的作用机制、产生的生物效应以及在治疗中的作用还需进一步深入研究,以不断探索治疗肺癌的新措施,改善患者预后。

参 考 文 献

1.Goustin AS,et al. Cancer Res,1986;46:1015
2.Aida S,et al.Respiration,1994;61(3):161
3.陆国钧,等.中华核医学杂志 1993;13:22
4.Veale D.,et al.Br J Cancer,1987;55:513
5.Dazzi H.,et al.Br J Cancer,1989;59:746
6.Rachwal WJ,et al.Br J Cancer,1995;72:56

维普资讯 http://www.cqvip.com

7.Ullrich A,et al.Cell,1990;61:203
8.Chen J.,et al.Chung Hua Ping li Hsueh Tsa Chih,1995:24(1):25
9.Dittadi R.,et al.Br J Cancer,1991;64:741
10 Diez M,et al.Arch－bronconeumol,1994;30(6):282
11.Veale D.,et al.Cancer Res,1989;49:1313
12.Hendler FJ.,et al.J Clin Invest,1984;74:647
13.Cerny T.,et al.Br J Cancer,1986;54:265
14.Pavelic K,et al.Anticancer Res,1993;13:1133
15.Tateishi M,et al.Surg－Oncol,1994;3(2):109
16.Yudoh K,et al.Jpn J Cancer Res,1994;85:63
17.Muler BM.,et al.Cancer Res,1991;51:2192
18.Dean C,et al.Int J Cancer Suppl,1994:8:103
19.Modjtahedi H,et al.Br J Cancer,1996;73(2):228
20.Morishige K,et al.Cancer Res,1991;51:5951

(收稿日期 1998－05－05)

细胞凋亡. 细胞因子. 癌基因

318-322

细胞凋亡及其与细胞因子和癌基因的研究进展

(40)

基础医学院病理生理教研室 段积华*

R730.231.3

中图分类号 R730.231

1972年爱丁堡大学病理学家Kerr JFR和Wyllie AH等首先提出细胞凋亡(Apoptosis)这一概念。它在形态上不同于坏死(Necrosis)[1]细胞凋亡是一组生化、形态特征明确的细胞死亡形式,它是一种形态学概念。细胞接受内、外各种刺激后出现核固缩、染色质浓集、细胞膜皱折,并经出泡形成油滴状小粒,即说明细胞出现了凋亡。多种因素、多个途径均可导致细胞凋亡的发生,但必须强调的是细胞凋亡并非是代谢细胞死亡的途径,而仅仅是众多途径的最终产物[2]。自从90年代开展分子生物学研究以来,人们对细胞凋亡基因调控、基因表达及基因产物活化的研究越来越深入。本文仅对细胞凋亡的特征、概念及其与细胞因子和癌基因的研究进展作一简要的综述。

1 细胞凋亡的特征与概念

1.1 细胞凋亡的特征 1980年Wyllie AH等对细胞凋亡的特征(形态、生化方面)进行了概括[3]。在形态上,细胞凋亡初期表现出细胞与周围组织失去联系,核固缩,染色质浓集,细胞膜表面绒毛消失,并形成大的水泡状物,细胞呈出泡状,最后裂解成许多有膜包裹的颗粒,称为凋亡小体(Apoptosis body)。凋亡小体被周围的细胞和巨噬细胞所吞噬(图1)。生化方面,细胞凋亡的染色质DNA被激活的内源性核酸内切酶切割降解成寡聚核苷酸碎片,其碎片在琼脂凝胶电泳中显示为"梯子状"DNA带纹图谱－Ladder shape。这种特征性表现与坏死完全不同。

1.2 细胞凋亡的概念

1.2.1 细胞凋亡和细胞坏死 细胞凋亡和细胞坏死都有自身特有的形态和生化特征。在形态学方面,细胞坏死最早的变化是细胞膜和细胞器(尤其是线粒体)肿胀,细胞核仅有轻微变化。这些变化则导致细胞器溶解,细胞膜崩溃,细胞内成分漏出至细胞间隙引起炎症反应。这主要是细胞内能量代谢障碍,细胞膜功能破坏,导致选择性的细胞渗透作用丧失,从而出现离子顺浓度梯度转运,细胞内游离Ca^{2+}增多,释放大量蛋白水解酶,继之发生一系列生化反应。而细胞凋亡的启动首先是细胞核固缩、变小,细胞缩小,空泡化,细胞表面绒毛消失,平滑化。这些变化就会引起细胞内的核酸内切酶活化,染色质DNA被降解。细胞凋亡后期,细胞降解成为很多凋亡小体,并释放到组织间隙,被邻近的细胞所吞噬。细胞凋亡过程中细胞膜的完整性始终未受到破坏,依然保持有效的代谢活性,直

*男,1936－10出生,教授