维普资讯 http://www.cqvip.com

第22卷 第2期 重庆医科大学学报 Vol.22 No.2
1997 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1997

黄曲霉毒素与肝细胞癌变机理研究进展

第二临床学院 陶小红* 综述 沈鼎明 审校

中图分类号 R730.231.3

自1960年由于食用黄曲霉毒素污染的食物发生英国约10万只火鸡幼维死亡和美国鳟鱼死亡事件以来，黄曲霉毒素与肝癌的关系开始受到重视。大量流行病学资料均显示黄曲霉毒素是肝细胞癌(HCC)的主要原因之一。动物实验中，黄曲霉毒素能引起几乎所的动物，包括灵卡类动物发生HCC[1]近年来，由于分子生物学实验技术的不断完善，新的抑癌基因和癌基因不断发现，黄曲霉毒素引起HCC的机理也有很大突破。本文主要综述黄曲霉毒素引起HCC的分子机理。

1 黄曲霉毒素引起DNA突变的早期研究

在热带和亚热带潮湿地区的霉变粮食中，黄曲霉菌可产生多种黄曲霉毒素，其中以黄曲霉毒素B_1(AFB_1)毒性最强。AFB_1由霉变食物进入体内后，经肝微粒$P^{'''}$代谢形成活性产物，活化AFB_1在体外或体内能与DNA分子中鸟嘌呤的N—7位点结合成加合物。活化AFB_1是一强诱变剂，能使AFB_1—N_7—鸟嘌呤加合物脱落形成无鸟嘌呤位点，或鸟嘌呤的咪唑环打开形成甲酰嘧啶。1983年Foster等[2]证实经活化的AFB_1可使大肠杆菌发生G.C→T.A颠换突变，其机理可能系活化AFB_1使DNA形成脱嘌呤位点，DNA复制时插入嘧啶而形成。此后报道在AFB_1诱发的鼠肝癌模型中，有ras12密码子G.C→T.A颠换突变。这种突变使癌基因ras激活，是导致肝癌形成的主要原因[3,8]。

2 黄曲霉毒素与抑癌基因P^{53}

2.1 P^{53}基因249密码子特异性突变

至1989年确定P^{53}基因是抑癌基因以来，P^{53}基因突变与肿瘤的关系已被广泛深入的研究。而黄曲霉毒素引起P^{53}基因突变也一直是近几年有争议的热门课题。1991年Hsu等[4]和Bressac等[5]同时报道，在黄曲霉毒素污染区，HCC标本中存在特异性P^{53}基因点突变。我国启东地区16例HCC中，8例有P^{53}基因249密码子第三碱基突变，7例为G→T颠换突变[4]，而南非地区的HCC中，5/10发生P^{53}基因点突变，其突变位置和碱基置换与Hsu等结果相同[5]。此后有多篇报道HCC中P^{53}基因249密码子突变，现列表总结如下：

HCC患者P^{53}基因249密码子突变情况

病例	突变例数	突变率(%)	地区	作者
16	8	50	启东	Hsu [4]
10	5	50	非洲南部	Bressac [5]
36	21	58	启东	Scorsone [6]
12	9	75	启东	Li [7]
25	14	53	启东	Fujimoto [8]
15	10	67	Senegal	Coursage [9]
28	14	50		Qin [10]

上表中Qin等[10]报道来自我国上海。从表中可见P^{53}基因249密码子突变率≥50%。然而，HCC的这种类型突变却表现有明显的地区差异。Ozturk等[11]联合16个实验室，收集14个国家共167例HCC标本，检测P^{53}基因突变，结果P^{53}基因249密码子点突变发生于食物AFB_1含量高的地区，如莫桑比克高达53%，而AFB_1含量低的北美、欧洲等地未发现此突变。Unsal等[12]报道4个地区80例HCC标本，莫桑比克发生P^{53}基因G→T颠换突变达69%，其中P^{53}基因249密码子突变50%，但其AFB_1含量较低的毗邻地区，13例仅2例(15%)发生P^{53}基因249密码子突变，中国P^{53}基因平均突变率19%，249密码子突变仅2/26，德国P^{53}基因突变率为37.5%，其突变形式为转换突变，无249密码子突变。日本249密码子突率也不高[13]。在中国也有很大地区差异性，除启东外，北方[8]、西北[14]、台湾[15]、香港[16]、地区P^{53}基因249密码子突变率均低。迄今为止，P^{53}基因249密码子突变仅发现于肝癌组织，其它类型肿瘤组织未发现此位点突变。以上资料表明，P^{53}基因249密码子突变是HCC和黄曲霉毒素的特征性变化，但没有普遍性。然而，在AFB_1诱

* 男，1957—10出生，主治医师

维普资讯 http://www.cqvip.com

发的动物肝癌中，没有这种P^{53}基因的特异性变化，我国启东县感染鸭型HBV的鸭经含AFB_1食物饲养1—2年，作P^{53}基因分析，无249密码子点突变[17]。在AFB_1诱发灵长类肝癌中，也无这种特异性点突变[18]。

2.2 P^{53}基因249密码子突变的实验研究

1991年Puisieux等[19]用活化AFB_1处理含P^{53}基因的质粒后，发现AFB_1能与P^{53}基因的鸟嘌呤结合形成加合物，诱发G→T突变，且249密码子是一突变热点。在HepG2细胞株培养中，加入AFB_1，再分析P^{53}基因247.248.249.250密码子突变情况，结果249密码子的G→T突变频率最高[20]。1994年Aguilar等[21]报道用美国、泰国和我国启东的HCC标本的癌旁正常组织，以限制性酶切长度多态性PCR法，选择、扩增、定量分析突变的P^{53}基因249密码子，结果启东肝脏标本细胞突变数为45—180个AGT突变/10^7个细胞，是美国和泰国细胞突变数的5—20倍。以上资料表明，AFB_1可致体外肝细胞P^{53}基因249密码子特异性突变，而启东肝癌癌旁正常组织即有这种特异性突变，提示P^{53}基因249密码子突变先于肝癌形成，表明AFB_1是肝癌的早期重要病因。然而，这种推测还必需排除肝内微小转移的可能。Livni等[22]报道肝癌癌旁正常组织有p^{53}蛋白高表达，也表明P^{53}基因在肝癌的早期形成起着重要作用。由于活化AFB_1的去毒反应是经环氧化物水解酶(EPHX)和谷胱苷肽转移酶M_1($GSTM_1$)的作用去毒，因此，似乎引起HCC的机理为EPHX和$GSTM_1$活性降低，导致活性AFB_1增高，再引起P^{53}突变。McGlynn等[23]报道来自我国上海的52例HCC标本，10例有P^{53}基因249密码子突变；该10例HCC均有EPHX等位基因突变，其中8例有$GSTM_1$突变。该作者同时比较了非洲加纳和中国海门两地区EPHX和$GSTM_1$基因型情况，发现我国海门有明显基因型差异，以EPHX突变型更为重要，提示AFB_1引起HCC过程中，有明显种族易感性。

众所周知，在P53基因认识过程中，经历了从癌基因到抑癌基因的过程，其原因就是部分突变型P^{53}基因不但丢失了其抑癌基因功能，且同时获得了类似癌基因的转化功能。因此，AFB_1致P^{53}基因249密码子突变后的另一个有兴趣的课题就:249密码子从AGG转变为AGT，其表达蛋白相应氨基酸从精氨酸转变为丝氨酸(P^{53}—249ser)，这种p^{53}—249ser是否属于这种功能获得性突变，具有癌蛋白的转化特点呢？Ponchel等[24]将含p^{53}—249ser的载体导入无P^{53}表达的肝癌细胞株Hep3B，使Hep3B获得表达P^{53}—249ser蛋白的功能。结果转染癌细胞株获得了新的表型，即细胞集落生长增多，有丝分裂活性显著增加，将细胞接种裸鼠，致癌作用明显，但对癌凋亡无抑制作用。Dumenco等[25]认为肝癌细胞系已具转化能力，而正常肝细胞系需导入病毒才能使其永生化均不适宜肝细胞P^{53}基因突变表达研究。因此，作者用高表达转化生长因子的正常鼠肝细胞系AML12，导入与人P^{53}—249ser相当的鼠源突变p^{53}—246ser基因，同时以突变的p^{53}—135val作对照，以观察P^{53}—246ser对正常肝细胞的转化作用。结果示p^{53}—246ser细胞集落形成数显著增多，集落形态明显增大，细胞在无血清培养基中生长良好，细胞形态表现明显异质性，但将该细胞接种裸鼠无致瘤作用。以上实验表明p^{53}—249ser蛋白可使细胞具有选择生长优势，但由于前者不能抑制癌细胞凋之[24]，后者不足以使正常细胞转化[25]，提示在HCC的形成过程中，除P^{53}—249ser蛋白外，尚有其它因素共同作用使肝细胞转化。此外，由于AFB_1不能致动物P^{53}基249密码子突变，因此，Dumenco的鼠肝细胞实验不能完全代表人肝细胞状况，尚需进一步用人类细胞株进行实验[26]。

3 AFB_1与HBV的协同致癌作用

AFB_1高污染区HCC患者P^{53}基因有明显249密码子突变，但有得注意的另一问题是这些地区同时又是HBV高流行区，几乎所有HCC患者同时感染有HBV。是否AFB_1与HBV在HCC发生中起有协同作用？从目前总结资料中来看[27]，这种协同致癌作用较为明确，但有关直接协同作用的资料报道不多。动物实验中，国内报道用AFB_1饲养感染HBV的树 ，两者对诱发肝癌有协同作用[28]，在HBV转基因鼠中，AFB_1可缩短肝癌形成时间[29]，

维普资讯 http://www.cqvip.com

在感染土拨鼠肝炎病毒后的土拨鼠经饲养AFB_1后，与未饲养AFB_1的土拨鼠比较，肝癌发生率显著增高，肝癌发生时间显著缩短[30]，均表明AFB_1与肝炎病毒有协同作用，但感染鸭型肝炎病毒的北京鸭，AFB_1的协同致癌作用不明显[31]。在人类，McGlynn等[23]评估了HB,A_g和EPHX基因型变化发生HCC的危险度，结果在HB,A_g-/EPHX突变型危险度增加3.3倍，HB,A_g+/EPHX正常型增加15倍，而HB,A_g+/EPHX突变型HCC危险增加达77倍，表明HBV和AFB_1有协同作用。但这种AFB_1与HBV的协同作用还需进一步从分子水平来阐明。

HCC的发病机理涉及多病因、多基因的逐步发生、发展过程，单纯的HBV、AFB_1或P^{53}基因、Ras基因是不能概括HCC发生、发展的全貌。Gu曾提出肝脏癌变过程的两种模式[32]：第一种模式为，宫内HBV感染引起早期肝损害、细胞增殖，在此基础上接触化学诱变剂如AFB_1，使原癌基因激活，最终引起肝细胞恶变；第二种模式为，早期接触化学诱变剂，致使癌基因激活，再感染HBV后诱导细胞增殖，其结果是选择性突变细胞克隆增殖形成HCC。此模式基本反映HCC的多病因过程，对HCC发病机理研究有一定指导意义，但随着新的抑癌基因不断发现，该模式有待进一步完善。相信HCC发病的分子机理将会逐步阐明。

参考文献

1.Wogan GN,Cancer Res,1992;52:2114s
2.Foster PL,et al.Proc.Natl.Acad,Sci.USA.1990;80:2695
3.McMAahon C,et al.Proc.Natl.Acad.Sci.USA.1990;87:1104
4.Hsu IC,et al.Nature.1991;350:427
5.Bressac B,et al.Natwre 1991;350:429
6.Scorsone KA.et al.Cancer Res.1992;52:1635
7.Li D,et al,Carcinogenesis,1993;14:169
8.Fujimoto Y.et al.Cancer Res.1994;54:281
9.Coursaget P,et al.Br.J.Cancer.1993;67:1395
10.Qin LX.et al.Oncol.Rep.1995;2:117
11.Ozturk M.et al.Lancet.1991;338:1356
12.Unsal H.et al.Proc.Natl.Acad.Sci.USA.1994;91:822
13.Hayshi H.et al.Liver.1993;13:279
14.朱明华，等.第四军医大学学报.1993;14:241
15Diamanitis ID,et al.J.Hepatol.1994;20:553
16.NG IO,et al.Oncogene.1994;9:985
Imazeki F.et al.J.Gastrol.Hepatol.1995;10:646
18.Fujimoto.Y.et al.Cancer Res.1992;52:1044
19.Puisieux A.et al.Cancer Res.1991;51:6185
20.Aguilar F.et al.Proc.Natl.Acad.Sci.USA.1993;90:8586
21.Aguilar F.et al.Science.1994;264:1317
22.Livni N.et al.Cancer.1995;75:2420
23.McGlynn KA.et al.Proc.Natl.Acad.Scad.Sci.USA.1995;92:2384
24.ponchel F.et al.Cancer Res.1994;54:2064
25.Dumenco L.et al.Hepatology.1995;22:1279
26.Liang TJ.Hepatology.1995;22:1330
27.Greenblatt MS.et al.Caner Res.1994;54:4855
28.严瑞琪，等.中华病理学杂志.1989;18:19
29.Sell S,et al.Cancer Res.1991;51:1278
30.Bannasch P.et al.Cancer Res.1995;55:3318
31.Seawright AA.et al.Hepatology.1993;18:188
32.Gu JR.Carcinogencsis.1988;9:697

(收稿日期 1996—09—02)

173-176 精囊腺 超微结构 生殖

精囊腺的超微结构及在生殖过程中的作用

基础医学院超微结构实验室 徐 晨* 综述 李维信 审校

中图分类号 Q-336

R32.4 R339.21

精囊腺(seminal vesicles)是雄性生殖系统重要的附属性腺，其分泌物占精浆总量的60～70%。长期以来人们认为精囊腺只是为精子提供营养物质，故多把附性腺研究重点放在附睾、前列腺上，而对精囊腺的研究有所忽视。近年来随着生化分析技术的不断提高，人们能更深入地了解精囊腺分泌物的理化性质及其在生殖生理中的作用，精囊腺的结构和功能研究日益受到重视，人们从中不断提高对精囊腺的认识，并寻求通过干扰精囊腺功能与结构以达到避孕的目的。本文综述有关人和啮齿类动物精囊腺的超微结构、功能及其在生殖过程中的作用的近年研究结果。

* 男，1963—04出生，讲师

1 精囊腺的超微结构