DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.09.001
第23卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 9
2001年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2001

文章编号:1000-5404(2001)09-1005-02

专家论坛

胃癌发生的分子基础

Molecular mechanisms of gastric carcinogenesis

房殿春 (第三军医大学附属西南医院全军消化专科中心,重庆 400038)

近20年来,由于分子生物学技术的发展,人们从原来注重分析癌细胞本身的生物学特性,开始更注重对正常细胞演变为癌过程中基因水平的分析。认识到细胞癌变及恶性肿瘤发生、发展的根本原因可能在于细胞内部基因结构及表达的异常改变。大量研究表明,胃癌的发生发展是由多因素引起、多基因参与并经历了多阶段的演变过程。

1 癌基因与抑癌基因

1.1 癌基因

与胃癌密切相关的癌基因主要有ras、TPR-met、c-erbB-2、β-catenin和Bcl-2基因等。我们的研究发现,胃癌Ha-ras基因12位密码子突变率为14.8%,肠上皮化生、异型增生及胃癌Ki-ras 12位密码子突变率为6.4%~11.5%,提示ras基因12位密码子突变可能与胃癌的发生或发展有关。肠型胃癌中Ki-ras突变率及蛋白表达率显著高于胃型胃癌,提示Ki-ras异常可能与肠型胃癌的发生有关[1]。我们在Beggle犬肠化生粘膜发现有Ki-ras P21蛋白表达,亦支持上述结论[2]。研究发现在胃癌细胞系,浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠化生和胃癌各期病变中均存在TPR-met mRNA高表达,提示TPR-met mRNA高表达是胃癌的早期变化。约半数胃癌有TPR-met基因重排,胃癌及癌旁组织还存在c-met基因扩增,c-met的扩增主要发生在胃型胃癌[3]。c-erbB-2基因编码185×10^3跨膜糖蛋白,参与信号传导及细胞生长的调节。正常细胞中p185主要分布于线粒体嵴,肿瘤细胞p185位于细胞膜上,可能是由于基因发生突变所致。我们检测p185表达,肠型胃癌中阳性率显著高于胃型胃癌,表达阳性的胃癌侵袭性较强,提示检测c-erbB-2的表达对胃癌预后的判断可能有一定帮助。β-catenin是新近被确认的癌基因,胃癌有β-catenin外显子3突变,突变主要为错义突变,并且主要发生在肠型胃癌,提示β-catenin的突变可能参与了肠型胃癌的发生。bcl-2基因参与抑制细胞的程序性死亡。我们研究发现在胃粘膜肠上皮化生、异型增生及胃癌组织均有较高频率的bcl-2表达,Ⅲ型肠化bcl-2的表达显著高于Ⅰ、Ⅱ型肠化,肠型胃癌表达显著高于弥漫型胃癌,提示bcl-2过表达在胃粘膜由肠化生,异型增生向癌的转变中可能起重要作用[4]。

1.2 抑癌基因

与胃癌发生发展相关的抑癌基因主要有APC/MCC、DCC、p53和p16等基因。胃癌组织中APC基因突变率为20%~40%,杂合缺失率30%~60%左右。APC突变将引起编码蛋白异常,进一步导致细胞的粘附、生长、分化、增殖及凋亡的重要改变。我们研究发现在犬胃粘膜肠化生阶段即有APC蛋白异常表达,胃癌APC第15外显子突变率22.1%,缺失率亦在20%以上,肠型胃癌中APC突变率显著高于胃型胃癌,提示该基因可能是肠型胃癌的易感基因[2,5]。MCC基因在胃癌及癌前病变中的研究国内外报道较少,我们发现在肠化生、异型增生和胃癌中有MCC基因LOH,胃、肠两型胃癌MCC基因LOH率无显著差别[6]。我们还发现DCC基因在肠化生及异型增生组织中LOH检出率分别为4.3%和12.5%,胃癌为43.1%。DCC基因LOH率及mRNA表达丢失(LOE)率随着肿瘤体积增大、浸润深度增加及淋巴结转移而增高,临床Ⅲ、Ⅳ期胃癌组DCC基因LOH率显著高于Ⅰ、Ⅱ期,提示DCC基因可能与胃癌的进展相关[6,7]。胃癌p53突变率为31.5%,突变蛋白表达为36.5%;肠化生组织p53基因突变率为29.8%,突变蛋白表达率为10.0%。突变集中在5~8外显子。肠型胃癌p53突变率显著高于胃型胃癌。我们还发现p53基因异常与肿瘤增大、浸润深度增加、及淋巴结转移密切相关,提示p53基因在胃癌进展期起重要作用[8,9]。胃癌组织中p16纯合缺失率约为15%~23%,且缺失见于低分化、有淋巴结转移的进展期胃癌,这一结果提示p16基因缺失是胃癌的晚期改变,可能与胃癌转移相关[10]。研究表明,除以上基因外,还有nm23、和待定的抑癌基因YNZ22、p73、FHIT等可能也参与了胃癌的发病过程。

应该指出的是上述基因变化并非胃癌发生所特有,也出现在其他器官癌变过程中,其生物学意义尚需进一步研究。

2 基因不稳

基因不稳在肿瘤的发生中起重要作用,可分为2种不同的形式,即染色体不稳(Chromosome instability),亦称肿瘤抑制途径(Suppressor pathway)和微卫星不稳(Microsatellite instability, MSI),也称MSI途径(MSI pathway)。在前者,由于染色体的不稳,使染色体大片段丢失、易位和重排,导致了大量的异倍体细胞;而在后者,由于错配修复基因突变,使单核苷酸水平突变率增加,导致广泛的MSI[11]。

胃癌、腺瘤和肠化组织MSI的检出率均在30%以上,提示MSI发生于胃粘膜癌变的早期阶段,但亦有持相反意见者。以上矛盾结果可能与微卫星位点选择不同,取材和实验条件的差异,以及种族和地缘因素的差别有关。我们根据胃癌MSI检出位点的多少,将胃癌分为高频率MSI(MSI-H)、低频率MSI(MSI-L)和无MSI(MSS),发现MSI-H胃癌表现为高频率的TGF-βRII、IGF-ⅡR、BAX、hMSH3基因的移码突变和低频率的APC、MCC和DCC的杂合丢失,而MSI-L和MSS胃癌却表现为相反的结果[12]。Kim等[13]将胃癌分为二型,Ⅰ型为起源于腺瘤的胃癌,Ⅱ型为非起源于腺瘤的胃癌,发现胃腺瘤MSI的检出率为21%,Ⅰ型胃癌的检出率为30%,显著高于Ⅱ型胃癌。Ⅰ型胃癌常伴有错配修复基因突变,且TGF-βRII的突变多发生于Ⅰ型胃癌的早期阶段。最近发现,除上述基因改变外,MSI-H胃癌还有高频率E2F4基因的移码突变、低频率的TP53的突变、错配修复基因hMLH1启动子甲基化、hMSH2和hMIH1错配修复基因表达的下调等,而MSI-L和MSS胃癌则与此相反。在MSI的临床表型方面,MSI-H多见于多发胃癌,多位于胃窦,组织学上多

作者简介:房殿春(1951-),男,吉林省长春市人,博士,主任医师,教授,博士生导师,现任中华医学会消化内科学会常委、消化内镜学会常委、重庆消化病学会主任委员,主要从事胃癌发生的分子机制及防治研究,发表论文200余篇。电话:(023)68754124

收稿日期:2001-06-25

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

为肠型, 血清学幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)抗体多为阳性, 少有淋巴结转移, 多数认为恶性程度较低, 预后较好。以上说明 MSI-H 胃癌无论在临床病理特点还是在基因改变方面均与 MSI-L 和 MSS 胃癌有明显不同[12]。

晚近发现, 胃癌除表现细胞核基因不稳以外, 还表现为线粒体基因不稳。线粒体 DNA(mtDNA)是线粒体自身的遗传物质, 由于其所处的环境以及其自身的某些缺陷, 易受致癌物的攻击, 而成为致癌物损伤的靶点, 使 mtDNA 突变或发生微卫星不稳定性(mtMSI)改变。Habano 等[14] 报道 62 例胃癌中 16% 的病例出现 mtMSI 表型, 且 mtMSI 常与 mtDNA 损伤或突变同时存在。我们对 30 例胃癌 mtMSI 进行检测, 结果检出 mtMSI 11 例, 占 36.7%, 提示 mtMSI 在胃癌是常见现象。我们的研究还发现, 部分胃癌及其癌前病变细胞核基因组中存在 mtDNA 序列, 由浅表性胃炎→萎缩性胃炎→癌前病变→胃癌 mtDNA 序列的检出率似乎有增加的趋势, 提示 mtDNA 可整合到核基因组中, 其意义值得进一步研究。我们还发现这种 mtDNA 核基因组整合现象主要发生于 Hp 感染胃粘膜, 提示可能与 Hp 感染有关。我们推测这种整合至少可通过两条途径引起细胞癌变: ①通过引起核基因组的不稳定性引起癌变; ②通过改变细胞能量产生, 提高线粒体氧化压力, 引起线粒体酶表达异常和/或调控凋亡等途径来影响细胞的生物学行为。以上推论尚需进一步研究来证实。

3 DNA 甲基化异常的研究

DNA 甲基化是指 DNA 在 DNA 甲基转移酶(DNA-MTase)催化下将 s-腺苷甲硫苷酸提供的甲基基团, 转移到特定碱基上的过程。DNA 中主要的修饰碱基是 5-甲基胞嘧啶(5-mC)。DNA 甲基化的不平衡为肿瘤的特性之一, DNA 去甲基化或各种原因导致低甲基化, 均可引起染色体结构松散、重排, 脆性位点不稳定。DNA 局部高甲基化同样可以引起染色体结构的改变, 促进杂合缺失或者等位基因的缺失。但真正有意义的只是个别特殊基因的甲基化改变, 就是与细胞生长分化有密切关系的癌基因和抗癌基因。CpG 位点是肿瘤基因甲基化异常的热点部位。在胃癌中发现有 DNA 甲基化异常的基因主要有 DNA 错配修复基因、p16 基因、p14 基因、CD44 基因、金属蛋白酶 3 组织抑制物基因(TIMP-3)、pS2 基因和 E-钙粘蛋白基因等。

MSI-H 胃癌多表现为 hMLH1 表达的丢失和 hMLH1 启动子区甲基化, MSI-L 和 MSS 肿瘤则少有甲基化, 提示 hMLH1 启动子区甲基化可能是引起 MSI-H 胃癌的主要机制。Leung[15] 检测 35 例 MSI-H 胃癌, 发现 100% 病例有 hMLH1 基因 CpG 岛高甲基化, 90% 的病例伴有 hMLH1 蛋白表达的丢失和 mRNA 水平的降低, MSI-L 和 MSS 胃癌均无甲基化发现, hMSH2 蛋白表达在各组胃癌均为正常, 提示 MSI-H 胃癌系由于 hMLH1 启动子区高甲基化所致。胃癌常有 p16 基因表达丢失, 但少有 p16 基因突变。CpG 岛甲基化与 p16 表达丢失密切相关, 可能是 p16 基因失活的重要机制之一。弥漫型胃癌 p14 基因启动子甲基化频率高于肠型胃癌, 提示 p14 基因启动子甲基化与弥漫性胃癌的发生有关。无 CD44 基因表达胃癌细胞株 MKN-28 常伴有 CD44 启动子区高甲基化, 而表达 CD44 的胃癌细胞株则无甲基化。应用去甲基化制剂 5-氮杂胞苷可恢复 CD44 基因表达, 提示胃癌细胞株 MKN-28 CD44 基因表达可被 DNA 甲基化所抑制。金属蛋白酶 3 组织抑制物基因(TIMP-3)表达的丢失与 TIMP 转录起始部位异常甲基化有关。应用去甲基化合物 5 氮杂-2′-脱氧胞苷处理可恢复 TIMP-3 基因的表达, 提示 TIMP-3 基因是一种肿瘤相关 DNA 甲基化异常的靶位。pS2 启动子区甲基化导致的 pS2 表达减少可能参与了高分化胃癌的早期发生过程。大约半数胃癌存在 E-钙粘蛋白基因启动子区的高甲基化。早期胃癌和晚期胃癌 E-钙粘蛋白基因启动子区的高甲基化频率相同, 甲基化均发生在转录起始部位 CpG 岛序列, 常伴有表达的下调, 发生在胃癌的早期阶段。胃癌 E-钙粘蛋白的甲基化可伴随 p16 和 hMLH1 的甲基化[16]。

由于 DNA 甲基化状态可被逆转, 通过恢复未发生突变或丢失, 而仅仅被抑制的生长调控基因的表达而恢复细胞正常生长调控功能, 从而可达到治疗的目的。正常人体细胞基因不受 CpG 岛甲基化的控制, 因此抑制甲基化不影响正常细胞中基因的表达。因甲基化错误而处于功能静止状态的基因对于阻断 DNA 甲基化的药物如 5-杂氮胞苷等非常敏感, 可使其活性恢复。5-杂氮胞苷被认为是细胞分化诱导剂, 其药理作用是多样复杂的, 只有对其药物动力学进一步了解才有可能将其用于临床肿瘤治疗。应用 DNA 甲基转移酶 5′端的反义 DNA 片段, 抑制 DNA 甲基转移酶的表达, 可导致细胞总的 DNA 低甲基化, 使细胞恶性表型逆转, 细胞生长受抑, 凋亡增加。

目前虽对甲基化模式的改变与肿瘤之间的关系有所认识, 但仍有很多问题, 对这一领域进一步深入研究, 对胃癌的诊断、治疗、预后的评估及预防可能有重要价值。

关键词: 胃肿瘤; 遗传学
中图法分类号: R735.202 文献标识码: A

参考文献:

[1] 房殿春, 罗元辉, 鲁 荣. 胃癌组织 Ki-ras 第 12 密码子点突变的研究[J]. 新消化病杂志, 1996, 4(2): 80—81.
[2] Wang D X, Fang D C, Liu W W. Induction of intestinal metaplasia in stomach of dogs and expression of tumor-related proteins in animal gastric mucosa lesions[J]. Chin Med J, 2000, 113(4): 336—339.
[3] Yu J, Miehlke S, Ebeot MPA, *et al*. Frequency of TR-MET rearrangement in patients with gastric carcinoma and in first-degree relations[J]. Cancer, 2000, 88(8): 1 801—1 806.
[4] 王东旭, 房殿春, 罗元辉, 等. 胃粘膜中 PCNA、p53、K-ras、bcl-2 基因蛋白的表达[J]. 中华消化内镜杂志, 1998, 15(4): 220—223.
[5] 王东旭, 房殿春, 罗元辉, 等. 胃癌组织 DCC、APC/MCC 基因杂合性缺失研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 1996, 13(5): 269—272.
[6] Fang D C, Jass J R, Wang D X. Loss of heterozygosity and loss of expression of the DCC gene in gastric cancer[J]. J Clin Pathol, 1998, 51(6): 593—596.
[7] 王东旭, 房殿春, 刘为纹, 等. 胃粘膜肠化生组织中多种抑癌基因杂合缺失的研究[J]. 中华病理学杂志, 1999, 28(4): 264—267.
[8] 王东旭, 房殿春, 刘为纹, 等. 胃粘膜肠化生组织中 p53、APC、K-ras 基因突变的研究[J]. 第三军医大学学报, 1999, 21(6): 403—405.
[9] 王东旭, 房殿春, 罗元辉, 等. 胃癌组织 17p13.3 杂合性丢失及 p53 蛋白异常表达的研究[J]. 中华病理杂志, 1997, 26(3): 134—136.
[10] 吕有勇, 高崇峰, 崔建涛, 等. 胃癌中 MTS1/p16 基因缺失及表达异常的研究[J]. 中华肿瘤杂志, 1996, 18(3): 189—191.
[11] 房殿春, 罗元辉, 杨仕明, 等. 胃癌微卫星不稳及其相关突变研究[J]. 中华医学杂志, 1999, 79(12): 920—922.
[12] Fang D C, Jass J R, Wang D X, *et al*. Infrequent loss of heterozygosity of APC/MCC and DCC genes in gastric cancer showing DNA microsatellite instability[J]. J Clin Pathol, 1999, 52(6): 504—508.
[13] Kim H S, Woo D K, Bae S I, *et al*. Microsatellite instability in the adenoma-carcinoma sequence of the stomach[J]. Lab Invest, 2000, 80(1): 57—64.
[14] Habano W, Sugai T, Nakamura S I, *et al*. Microsatellite instability and mutation of mitochondrial and nuclear DNA in gastric carcinoma[J]. Gastroenterology, 2000, 118(5): 835—841.
[15] Leung S Y, Yuen S T, Chung L P. hMLH1 promoter methylation and lack of hMLH1 expression in sporadic gastric carcinomas with high-frequency microsatellite instability[J]. Cancer Res, 1999, 59(1): 159—64.
[16] Tamura G, Yin J, Wang S, *et al*. E-Cadherin gene promoter hypermethylation in primary human gastric carcinomas[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(7): 569—573.

(编辑 郭建秀)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net