

肿瘤是细胞异常增殖所形成的细胞群。根据肿瘤侵袭性生长程度的不同，可将其分为良性肿瘤和恶性肿瘤。良性肿瘤一般只在某处生长而不侵袭邻近组织，大多对宿主无害；而恶性肿瘤能侵袭临近组织和发生转移，而肿瘤转移是肿瘤导致死亡的主要原因。

根据肿瘤起源的组织类型，可以把肿瘤分为以下几类：癌（carcinoma）是指上皮来源的恶性肿瘤，占有恶性肿瘤病例的 80%~90%。癌又可以根据其起源的上皮细胞的功能分为两种主要亚型，有些上皮细胞主要作用是封闭腔血或管道的表面保护其下的细胞，这种上皮细胞发展而来的癌称为鳞状细胞癌；有些上皮组织存在特殊的具有分泌功能的细胞，这些细胞来源的癌称为腺癌。肉瘤（sarcoma）是指起源于支持组织和结缔组织的恶性肿瘤，例如骨肉瘤，平滑肌肉瘤，纤维肉瘤，脂肪肉瘤等。白血病（Leukemia）是来源于骨髓造血细胞的恶性肿瘤，该类肿瘤通常与未成熟白细胞的过度产生相关。骨髓瘤（myeloma）是来源于骨髓中浆细胞的恶性肿瘤。淋巴瘤（Lymphoma）发生在免疫系统的腺体或淋巴结中，是淋巴细胞聚集而成的恶性肿瘤。根据肿瘤存在的方式还可以将肿瘤分为实体瘤和非实体瘤。上述的肿瘤类型里，白血病和骨髓瘤的肿瘤细胞是散布在循环系统中的单细胞群，称为非实体瘤。而其他类型的肿瘤细胞会聚集形成肿块，称为实体瘤。

肿瘤的发生是一个多因素，多基因参与的多阶段，多途径的复杂过程。环境因素和遗传基础共同决定肿瘤的发生。物理，化学和生物的致癌物可以引起细胞遗传物质的损伤，是诱发肿瘤的环境因素。一些与细胞生长，分化以及 DNA 损伤修复相关的基因在肿瘤形成过程中起关键作用，包括癌基因，抑癌基因，以及维持基因组稳定性的基因，这些是导致肿瘤发生的遗传因素。

## 第一节 肿瘤发生的遗传因素

### 1.1 肿瘤的遗传现象

通过系谱分析和流行病学调查都表明肿瘤的发生具有明显的遗传基础。例如，1895，Warthin 医生开始调查和报道了 G 家族的肿瘤发生聚集性。1971 年 Lynch 医生总结并发表了 G 家族研究结果，在 650 名家族成员里，有 95 名患有不同类型的恶性肿瘤，主要为结肠癌（52 人），子宫内膜癌（18 人）和胃癌（8 人）。其中 13 名（14%）患多发性肿瘤，19 人在 40 岁之前发病，72 名患者的双亲之一也患癌，男性和女性患者分别为 47 人和 48 人，发病无性别差异，符合常染色体显性遗传。

双生子发病一致性也可以判断疾病发生是否具有遗传因素。2016 年，一项北欧人群大型双生子队列（共包含 203691 名双生子）的研究共诊断出 27,156 例新发癌症，涉及 23980 名个体，累积发病率为 32%。1383 对单卵（2766 名个体）和 1933 对双卵（2866 名个体）双生子中均有癌症发生。其中，38%的同卵和 26%的异卵双生子被诊断为相同类型的癌症。双生子中，若同卵双生子中的配对另一半被诊断为癌症，其累积风险会显著增加，相对于总体队列的累积风险，异卵双生子增加了 5%的绝对风险，同卵双生子增加了 14%的绝对风险。对于大多数癌症类型来说，存在显著的家族性风险，而单卵双生子的累积风险高于双卵双生子。

此外，有些肿瘤在不同种族人群中的发生频率有很大差异也提示遗传因素对肿瘤发生的影响。例如，澳大利亚昆士兰地区黑色素瘤的发病率是日本的 155 倍；中国香港鼻咽癌的发病率是英国人群的 100 倍；而中国乳腺癌的发病率是北欧的 1/6。然而这一证据并不能排除不同地区人群生活环境差异的贡献。例如，日本人患胃癌的风险比美国人高 6-8 倍，然而对移民到美国的日本人进行的研究表明，他们的第一代子女患胃癌的风险就已经与周围的美国人相差无几了。

根据肿瘤的发生机制和遗传模式，可以将肿瘤分为遗传性肿瘤 (hereditary cancer)，家族性聚集性肿瘤 (familial cancer) 和散发性肿瘤 (sporadic cancer)。遗传性肿瘤一般是单个基因突变引起的，其代间传递符合孟德尔遗传规律，占有肿瘤的 5-10%。家族聚集性肿瘤是指可能在同一家族的多个成员中发生同一类型的肿瘤，表型出一定的家族聚集性，一级亲属的发病率显著高于一般人群，与家族成员对某些肿瘤的遗传易感性较高有关，其遗传模式类似于多基因病。导致遗传性肿瘤和家族聚集性肿瘤的基因突变均是继承自父母的种系突变，属于可代际遗传的肿瘤。而散发性肿瘤是指引起肿瘤发生的突变是病变组织的细胞后天获得的体细胞突变，因此不会传递给下一代，是非遗传性的，绝大多数肿瘤 (75 ~ 80%) 都属于散发性肿瘤。

## 1.2 遗传性肿瘤 (hereditary cancer)

人类的一些癌前病变或恶性肿瘤是由单基因异常引起的，其传递符合孟德尔遗传规律，总的来说，遗传性肿瘤较为少见。

视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, RB, OMIM #180200)。视网膜母细胞瘤是一种发生在儿童身上的眼部恶性肿瘤，一般在五岁之前发病，呈常染色体显性遗传。临床表现为早期出现眼底灰白色肿块，由于多发育婴幼儿，患儿不能自述有无视力障碍，因此不易早期发现，直到肿瘤突入到玻璃体或接近晶状体才被发现，此时瞳孔呈黄色光反射，称为“猫眼”。RB 可以是单侧发或双侧发病，大约 60% 的患者患有单侧 RB，平均诊断年龄为 24 个月；约 40% 的患者患有双侧 RB，平均诊断年龄为 15 个月。致病基因为 RB1 定位于 13q14.2，RB1 也是第一个被克隆的抑癌基因。RB1 编码一种广泛表达的核蛋白，该核蛋白参与细胞周期调节 (G1 到 S 期的转换)。RB 蛋白在进入 S 期之前被细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 系统的成员磷酸化。在磷酸化时，其口袋结构域的结合活性丧失，导致调控细胞增殖的 E2F 转录因子的释放。

肾母细胞瘤 (Wilms tumor, WT, OMIM #194070)，德国医生 Max Wilms 于 1899 年首次描述了这种肿瘤，因此也称为 Wilms 瘤。Wilms 瘤是儿童时期最常见的肾脏肿瘤，发病率为万分之一，中位确诊年龄为 3 至 4 岁，呈常染色体显性遗传。Wilms 瘤被认为由肾发育过程中异常残留的胚胎细胞发展而来。在组织学上，Wilms 瘤反映了正常肾脏的发育过程，通常由 3 种细胞类型组成：胚芽组织、上皮细胞和基质细胞。临床表现除了腹部肿块外，还包含腹痛，血尿，尿路感染，精索静脉曲张，高血压，发烧，贫血等。Wilms 瘤致病基因为 WT1，定位于 11p13，属于抑癌基因，编码产物为转录因子，在泌尿生殖系统等正常发育中起着至关重要的作用。

家族性腺瘤性息肉病 (Familial adenomatous polyposis, FAP, OMIM #175100)。家族性腺瘤性息肉病是一种常染色体显性遗传疾病, 发病率约为 1/8000。受影响的个体通常会在结肠和直肠中出现数百至数千个腺瘤性息肉, 其中一小部分如果不进行手术治疗, 将发展为结直肠癌。致病基因为 APC, 定位于 5q22.2, 属于抑癌基因, 为 Wnt 信号通路的拮抗剂, 还参与细胞迁移和粘附, 转录激活, 细胞凋亡等生物学过程。

I 型神经纤维瘤 (neurofibromatosis type I, NF1, OMIM #162200)。I 型神经纤维瘤是一种常染色体显性遗传疾病, 其临床特征为牛奶咖啡斑、Lisch 结节和皮肤纤维瘤, 发病率约为 1/3000, NF1 有时也被称为“外周神经纤维瘤病”。在儿童时期即可出现神经纤维瘤, 主要分布于躯干, 从针尖至橘子大小, 质软, 数多。致病基因为 NF1, 定位于 17q11.2, 属于抑癌基因, 编码产物为神经纤维蛋白。神经纤维蛋白是一种 GTP 酶激活蛋白, 可抑制 RAS 通路。

### 1.3 染色体不稳定性综合征 (chromosome instability syndromes)

在遗传性肿瘤里, 有一组特殊的疾病被称为染色体不稳定综合征, 其主要表现为隐性遗传疾病, 发病机制与 DNA 修复机制缺陷有关, 导致患者染色体不稳定、染色体断裂和一系列临床表型, 包括恶性肿瘤发病率显著增加。

Fanconi 贫血症 (Fanconi anemia, FA, OMIM #227650)。FA 是一种罕见的儿童造血系统疾病。其临床特征为全血细胞减少、癌症易感性高 (主要为白血病)、身材矮小、小头畸形、发育迟缓和多种异常。目前已报道了 22 个致病基因 (FANC), 超过 80% 的患者的突变基因是 FANCA、FANCC 和 FANCG, 遗传模式包括常染色体隐性遗传、常染色体显性遗传和 X 连锁遗传。基因突变导致 DNA 修复障碍, 细胞无法修复链间交联引起的 DNA 损伤, 这种缺陷最终导致染色体不稳定。

共济失调毛细血管扩张症 (ataxia telangiectasia, AT, OMIM #208900)。AT 是一种常染色体隐性遗传疾病, 通常在儿童早期发病, 主要表现为小脑性共济失调, 并且与儿童期淋巴瘤发展的易感性有关。AT 患者在成年期患癌症的风险增加, 包括胃肠道肿瘤、内分泌肿瘤和乳腺癌。AT 是由共济失调毛细血管扩张突变 (ATM) 基因突变引起的, 导致 ATM 蛋白完全丢失或水平降低。在正常情况下, ATM 蛋白识别 DNA 损伤并激活 DNA 修复机制以减少遗传损伤。ATM 基因调节功能的缺陷导致体细胞突变, 从而导致疾病的表现。

Nijmegen 断裂综合征 (Nijmegen breakage syndrome, NBS, OMIM #251260)。NBS 是一种与免疫缺陷相关的常染色体隐性疾病。其临床特征为小头畸形、生长迟缓、免疫缺陷, 以及易患淋巴系统恶性肿瘤。AT 是由 8q21 上的 nibrin (NBN) 基因突变引起的。该蛋白产物参与 DNA 双链断裂修复、碱基切除修复、减数分裂重组和端粒维持。

Bloom 综合征 (Bloom syndrome, BS, OMIM #210900)。BS 是一种常染色体隐性遗传疾病。其临床特征为身材矮小, 小头畸形。通常伴有各种其他特征, 包括毛细血管扩张、日光敏感面部红斑、牛奶咖啡斑和其他真皮色素沉着异常、具有高音调、吱吱作

响的特征性面部外观、免疫系统缺陷伴感染增加、生育能力下降、胃肠道不适、喂养问题和内分泌异常。BS 还伴有癌症的患病风险增加，癌症比正常人更早发展，许多 BS 患者会患上多种癌症。据报道，几乎所有癌症类型都在 BS 患者中被报道过，最常见的是白血病、淋巴瘤、结直肠癌和乳腺癌。早发型 2 型糖尿病和慢性阻塞性肺疾病也是 BS 的常见并发症。BS 由 BLM 基因突变导致 BLM 解旋酶缺乏而引起。BLM 基因编码 RecQ 解旋酶和 RECQL3，称为布洛姆综合征蛋白 (BLM)，有助于维持 DNA 稳定性，尤其是在重组修复和复制过程中。该蛋白质还与参与 DNA 损伤监视和修复的其他分子有关。

着色性干皮病 (xeroderma pigmentosum, XP, OMIM #278700)。XP 是一种罕见的常染色体隐性遗传皮肤病，患者修复 DNA 损伤（如紫外线造成的损伤）的能力下降。症状可能包括在阳光下晒几分钟就会严重晒伤、暴露在阳光下的部位出现雀斑、皮肤干燥和皮肤色素改变。神经系统也可能出现问题，如听力减退、协调能力差、智力功能丧失和癫痫发作。并发症包括患皮肤癌的风险很高，如果不采取预防措施，大约有一半的人在 10 岁时就会患上皮肤癌和白内障。XP 是由核苷酸切除修复基因突变引起的。核苷酸切除修复系统能够清除紫外线引起的 DNA 损伤，如嘧啶二聚体和嘧啶 6-4 嘧啶酮。XP 的发展是由于未修复的 DNA 损伤累积所致。目前已发现了 8 个 XP 的致病基因，其中 XPA, XPC 和 XPV 基因突变占全部 XP 病例的 75%。

## 第二节 肿瘤发生的遗传学基础

正常机体内，细胞的生长，增殖，分化和凋亡等过程均受到多种基因严格的调节与控制，从而确保正常生命活动的有序进行。这些关键基因突变导致细胞增殖失控是肿瘤细胞区别于正常细胞的显著特征。与肿瘤发生密切相关的基因可按照其功能分三类：(1) 原癌基因 (proto-oncogenes)，起作用通常是促进细胞生长增殖，阻止细胞分化，抵抗凋亡；(2) 抑癌基因，也称肿瘤抑制基因 (tumor suppressor genes)，通常抑制细胞增殖，促进分化，诱发凋亡；(3) DNA 损伤修复基因 (DNA repair genes)，主要参与 DNA 损伤修复，维持基因组稳定性。当细胞在环境因素和遗传因素的共同作用下，可引起原癌基因或抑癌基因的结构或表达调控异常，导致原癌基因活化或抑癌基因失活，进而导致细胞生长增殖的失控而形成肿瘤。而 DNA 损伤修复基因并不直接抑制细胞增殖，但这类基因异常时可导致基因组不稳定，从而间接地通过增加基因突变频率、使原癌基因激活或抑癌基因失活而引发肿瘤发生。因此，广义上讲，DNA 损伤修复基因也归于抑癌基因。

### 2.1 原癌基因/癌基因

癌基因是指能够导致细胞发生恶性转化和诱发癌变基因，绝大多数癌基因是细胞内正常的原癌基因发生突变或表达异常升高转变而来的。根据癌基因的来源，可以将其分为两类：病毒癌基因 (viral oncogene, v-onc) 和细胞癌基因 (cellular oncogene, c-onc)。

#### 2.1.1 癌基因的发现

癌基因的发现可追溯到 20 世纪初对动物致癌病毒的研究。Rous 博士于 1911 年首先发现一种鸡肉瘤病毒，后来以他的名字命名为 Rous 肉瘤病毒（Rous sarcoma, RSV，一种逆转录病毒），可以使鸡胚成纤维细胞在培养基中发生转化，也能在给鸡接种后使其诱发肿瘤。据此 Rous 提出了病毒致癌假说，即致癌病毒感染可导致细胞转化及肿瘤发生。然而这一超前学说在当时并未引起重视，时隔 55 年后，Rous 才因发现致癌病毒的研究被授予 1966 年的诺贝尔生理学或医学奖。既然 RSV 可以使细胞发生恶性转化，随后的研究科学家们致力于在病毒基因组中寻找这一可以使细胞转化的关键因子。1970 年，通过对突变型 RSV 的研究，Duesberg 等发现 RSV 基因组的 3' 末端一段序列是病毒转化细胞的关键基因，这一基因后来被命名为 src (sarcoma)，该基因的序列最终在 1980 年被测定，这是首个被发现的癌基因。随后通过对逆转录致癌病毒的研究，人们陆续鉴定出了 30 多个癌基因。

由于 src 基因并不是 RSV 复制所必须的，那么这一基因到底从何而来？为了确定 src 的起源，1976 年，Bishop 和 Varmus 等使用 src 基因的特异性 DNA 探针，在未被感染的鸡细胞，以及多种其他正常鸟类，甚至人基因组中均可识别到相应的同源序列。这一结果表明，src 基因本身是脊椎动物中一个功能保守的重要基因，RSV 中的 src 序列是逆转录病毒插入到鸡基因组中，再通过遗传重组整合到病毒基因组中的。随后通过突变累积，原本正常功能的 src 基因突变为可使细胞发生恶性转化的癌基因。因此，癌基因是细胞内正常基因即原癌基因的突变及功能异常版本。这一关于癌基因起源的划时代的发现为 Bishop 和 Varmus 赢得了 1989 年的诺贝尔生理学或医学奖。

大部分的人类肿瘤并不是致癌病毒感染产生的，可以推测人肿瘤中的癌基因是源于细胞内原癌基因的功能异常。为鉴定人肿瘤细胞中的癌基因，人们将肿瘤细胞的基因组片段，通过 DNA 转染技术转入小鼠成纤维细胞 NIH 3T3，观察某些片段是否可以使细胞发生细胞转化。通过这一技术，1982 年 Weinberg 在人膀胱癌中发现了癌基因 Ras，这是首个从人肿瘤中分离鉴定出的癌基因。DNA 转染研究可识别出了其他未通过逆转录病毒研究发现的癌基因，包括 MET、TRK、MAS 和 RET。由于原癌基因可以通过基因扩增来激活，因此人们也可以通过各种技术（例如基因印迹和荧光原位杂交等）检测相关基因的扩增情况来鉴定癌基因。例如，N-MYC 在大约 30% 的神经母细胞瘤中被扩增，在晚期病例中，这一比例上升到 50%，基因扩增可达 1000 倍。在人小细胞肺癌中也表现出 MYC、N-MYC 和 L-MYC 的扩增。

### 2.1.2 原/癌基因的功能

目前报道癌基因数目已超过 100 个，根据其正常蛋白产物的功能和生化性质，可将其分为 6 类：（1）生长因子；（2）生长因子受体；（3）信号转导因子；（4）转录因子；（5）细胞周期调控因子和细胞凋亡抑制因子；（6）表观修饰调控因子；（7）其他。

#### （1）生长因子

生长因子是一类由细胞分泌的，类似于激素的信号分子，多数为肽类或蛋白质类

物质，具有调节细胞生长与分化的作用。1983 年首次报道了第一个属于生长因子的癌基因，在一种致癌的猿肉瘤病毒中发现了一个源于血小板衍生生长因子（PDGF）细胞基因的癌基因（sis）。PDGF 是一种存在于人体血液中的蛋白质。用这种病毒转化的培养细胞会向培养基中分泌大量 PDGF，这导致细胞以不受控制的方式增殖。PDGF 的过度表达与胶质瘤的发生有关。

## （2）生长因子受体

生长因子受体接受细胞外的生长因子信号并将其传入细胞内。生长因子受体的膜内侧结构域，往往具有酪氨酸特异的蛋白激酶活性。在一种致癌的禽成红细胞增多症病毒中发现了携带了一个编码 EGF 受体的癌基因（erbB），但该受体缺少部分结合生长因子的蛋白质的细胞外域。这种结构突变的受体会持续性地刺激细胞，无论培养基中是否存在其生长因子，因此携带该突变的细胞会以不受控制的方式增殖。生长因子受体已经成为癌症靶向治疗的首选目标，通过抗体或小分子抑制剂抑制其激酶活性。

## （3）信号转导因子

信号分子到达细胞后，借助一系列胞内信息传递体系，将接受的信号由胞内传递至核内，促进细胞生长。信号转导分子多为蛋白激酶，使下游蛋白质特定氨基酸残基磷酸化。过度活跃的蛋白激酶产生异常的信号传递，导致细胞过度增殖，从而作为癌基因发挥作用。例如，Raf 是一种丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶，是细胞内主要的生长控制信号通路——MAP 激酶级联反应的起始点。突变可能导致 Raf 始终处于酶活“开启”等状态，并导致细胞生长失去控制。Raf 与黑色素瘤关系最为密切，约 70% 的患者有 BRAF 突变。第一个被发现的癌基因 src 也编码一种蛋白激酶，它磷酸化其蛋白质底物上的酪氨酸残基。携带 src 的肿瘤病毒转化细胞时，会伴随着各种蛋白质的磷酸化。src 的底物中包括参与信号传导、细胞骨架控制和细胞黏附的蛋白质。

## （4）转录因子

许多癌基因编码产物为转录因子的蛋白质，转录因子作用于细胞核内，与靶基因的调控元件结合，调控其转录活性。细胞周期的进程需要及时激活（或抑制）大量基因，这些基因的产物以各种方式促进细胞生长和分裂。因此，控制这些基因表达的转录因子的异常可能严重扰乱细胞的正常生长模式。例如，作为转录因子的癌基因 Myc 调控大量蛋白质和非编码 RNA 的表达，这些蛋白和非编码 RNA 涉及细胞生长和增殖。MYC 基因是人类肿瘤中最常被改变的原癌基因之一，通常在基因组中发生基因扩增或因染色体易位而异常高表达，从而产生过量的 Myc 蛋白。

## （5）细胞周期调控因子和细胞凋亡抑制因子

细胞周期的异常可能导致不受控制的细胞生长，例如在 G1 期细胞致力于 S 期的 DNA 合成，或 G2 期进入有丝分裂期的细胞分裂。细胞周期依赖性激酶在肿瘤细胞中经常失调，尤其是 Cdk4 和 Cdk6，调节这些 Cdk 的蛋白 Cyclin D1 也是一个常见的癌基因。

细胞凋亡是人体在肿瘤细胞向恶性进展的早期阶段清除这些异常细胞的关键机制之一，失去细胞凋亡调节的细胞可能无限增殖并形成肿瘤。与细胞凋亡关系最密切的癌基因是 BCL2，它编码一种抑制凋亡的膜结合蛋白。当 BCL2 基因的产物异常高表达时，就可能导致肿瘤发生。例如，在滤泡性淋巴瘤中，BCL2 基因由于易位到编码抗体分子重链的基因旁边而异常高表达，BCL2 基因的过表达导致淋巴组织中的凋亡抑制，使异常细胞得以增殖形成淋巴瘤。

#### (6) 表观修饰调控因子

包括影响细胞染色质构象的表观遗传调控因子。一些癌基因编码影响 DNA 甲基化或组蛋白修饰的蛋白质。这些蛋白质包括 DNA 甲基转移酶、组蛋白乙酰化酶和去乙酰化酶、组蛋白甲基转移酶和去甲基化酶，以及染色质重塑复合物中的成员。这些基因的突变都可能通过增加或减少涉及细胞增殖、生存、迁移及其他功能的各种信号来促进肿瘤发生。例如，DNMT3A、TET2、IDH1 和 IDH2 突变分别见于 28%、14%、9% 和 10% 的 AML 病例。

#### (7) 其他

端粒酶也可以认为是一种癌基因。端粒是真核生物染色体末端的特殊结构，由端粒 DNA 和蛋白质组成，人和其他哺乳动物的端粒 DNA 序列由 TTAGGG 构成的串联重复序列构成。端粒在维持基因组稳定性及染色体结构完整性方面发挥着重要作用。由于 DNA 的半保留复制无法合成完整的染色体末端序列，如果没有特定机制来完整端粒的复制，每次细胞分裂时均会导致染色体末端的缩短。端粒酶作为一种逆转录酶，是维持端粒长度所必需的。在人类生殖细胞和胚胎细胞中，端粒序列长约为 15 kb，随着细胞分化，端粒酶活性在所有体细胞组织中下降。随着端粒酶功能的丧失，端粒缩短，每次细胞分裂会失去大约 35 bp 的端粒重复序列，经过数百次细胞分裂后，染色体末端受到损伤，导致细胞停止分裂并进入细胞周期的 G0 期，细胞最终会经历凋亡并死亡。在骨髓等组织的高度增殖细胞中，端粒酶会持续表达，允许细胞和组织的自我更新。

在许多肿瘤中都观察到了端粒酶的持续高表达，这使得肿瘤细胞能够无限增殖。端粒酶活性的上调可由端粒酶基因突变直接导致，也可能由其他癌基因的异常而间接导致。肿瘤细胞通常具有相对较短的端粒，其端粒酶的激活使得短端粒造成的基因组不稳定的肿瘤细胞得以存活。

### 2.1.3 原癌基因的激活机制

一般情况下，原癌基因不能使正常细胞发生转化，只有当被激活后其编码产物过度表达或活性增强，才能促使细胞癌变。原癌基因的激活可通过多种遗传学和表观遗传学的机制而发生。

#### (1) 基因扩增

基因扩增是指原癌基因通过拷贝数的增加，使其产物过度表达。癌基因扩增最常见的细胞遗传学表现形式为双微体（double-minute chromosomes）和均质染色区（homogeneous staining region, HSR）。在某些情况下，癌基因的扩增片段会脱离染色体，形成双点样的结构，即双微体，在约 10% 的肿瘤中特别是在晚期肿瘤中可观察到这种现象。当扩增片段未脱离染色体时，染色体的某个节段相对解旋，长度增加从而形成染色均匀一致的区域，称为 HSR。

## （2） 基因突变

基因突变可发生在编码区或非编码区，可导致基因结构或表达发生改变，两者均可引起原癌基因的激活。例如，ras 基因中的点突变时第一个被发现的原癌基因点突变，其改变了原癌蛋白的结构，使其持续处于活性状态，导致原癌基因的激活。在约 1/3 的恶性脑胶质瘤中，EGF 受体由于突变丢失了大部分胞外区域，这种缺失使其即使在没有 EGF 配体结合的情况下，持续将生长刺激信号传递到胞内。

## （3） 染色体易位与重排

由于染色体断裂和易位重接，导致形成新的融合蛋白，而新产生融合蛋白可能具有促进作用；或者易位使得某些原癌基因位于活跃转录基因的强启动子/增强子下游，导致其产物异常高表达从而激活原癌基因。例如，在 1960 年，费城的医生首次描述了慢性髓系白血病（CML）患者白血细胞中的一种异常染色体，这种异常染色体被称为费城染色体（Philadelphia chromosome），是一种后天获得的异常，在这些患者的血液或骨髓细胞中发现，但在其他组织中不存在。费城染色体是由 9 号染色体和 22 号染色体的长臂相互易位，即  $t(9;22)(q34;q11)$ ，形成的较小易位染色体。这种染色体重排在 90% 的 CML 患者中可见，可认为是 CML 的特异性标记染色体。并且费城染色体先于临床症状出现，可用于 CML 的早期诊断。研究发现这种易位会形成由 c-ABL 和 BCR 基因组成的融合基因，此融合蛋白具有细胞转化活性。

## （4） 启动子/增强子插入

原癌基因附近一旦被插入强大的启动子或增强子，也可能被激活。例如，原癌基因附近被一些转座元件插入，这些转座元件可能发挥启动子或增强子的作用，从而使原癌基因异常上调。

## （5） 表观遗传修饰改变

与正常细胞相比，肿瘤细胞的表观基因组的各个层面都显示出异常。例如，肿瘤全基因组异染色质区域的低 DNA 甲基化，以及某些基因启动子区域的高 DNA 甲基化；肿瘤全基因组组蛋白 H4K16ac 和 H4K20me3 修饰的显著减少。此外，通过大样本肿瘤基因组分析表明，表观遗传调控相关的众多基因在多种肿瘤类型中均会发生高频突变。这些剧烈的表观修饰的改变可能导致某些原癌基因的异常高表达，促进细胞增殖和肿瘤发生。



## 2.2 抑癌基因

抑癌基因也称为肿瘤抑制基因，是正常细胞中存在的一类抑制细胞过度生长，繁殖从而抑制肿瘤发生的负调节基因。抑癌基因与原癌基因协调表达以维持细胞正常的生长、增殖和分化，抑癌基因失活在肿瘤发生发展中与原癌基因的激活起着同样重要的作用。

### 2.2.1 抑癌基因的发现

1969 年，Ephrussi 和 Harris 通过体细胞杂交技术，将小鼠恶性肿瘤细胞与同种正常成纤维细胞融合，发现形成的四倍体杂种细胞并无恶性表型，将其接种到宿主动物体内，这些细胞也丧失了形成肿瘤的能力。而四倍体融合细胞不稳定，在传代过程中会丢失部分染色体，随着来源于正常细胞的染色体丢失，杂种细胞的恶性表型又会逐渐恢复。这一实验有力的表明了，正常细胞中存在有可以抑制肿瘤发生的基因，他们的丢失或者突变，可以导致肿瘤发生。

在同时期，Knudson 通过对家族性及散发性视网膜母细胞瘤的发病动力学研究表明，存在一个突变后可引起视网膜母细胞瘤的抑癌基因（命名为 Rb 基因）。在散发性视网膜母细胞瘤中，该基因需要发生两次独立的遗传打击事件；而在家族性视网膜母细胞瘤中，由于患儿已从父母一方中获得了一个突变的 Rb 基因，因此在随后的发育过程中，仅需再发生一次遗传打击事件就可以导致肿瘤的发生，这一理论被称为二次突变或二次打击假说（two-hit hypothesis）。

随后科学家们致力于 Rb 基因的定位和克隆。首先人们发现一些视网膜母细胞瘤患者在 13 号染色体的长臂上存在缺失，Gallie 等表明一家族中的视网膜母细胞瘤与 13q 区域的致病基因的连锁关系；随后，Murphree 等人证明在部分 13q 缺失和视网膜母细胞瘤患者中酯酶 D 的低表达，得出 Rb 的位置接近于 13q14 带上的酯酶 D 基因。最终在 1986 年，Dryja 等从 13 号染色体中鉴定出三个克隆的 DNA 片段，其中一个在 37 个视网膜母细胞瘤中有两个缺失，用此片段进行 cDNA 文库的筛选，克隆了首个抑癌基因——Rb。

通过对视网膜母细胞瘤的研究，人们发现了 Rb 基因存在杂合性丢失的现象（loss of heterozygosity, LOH），即在一个同时存在正常基因和致病突变基因的杂合子细胞中，正常基因会发生突变或丢失，使细胞成为致病基因纯合子的现象。多种分子机制可能造成杂合性丢失，包括有丝分裂重组，基因转换以及染色体不分离等。这一机制可以解释二次打击假说中的一个问题，即对于散发性视网膜母细胞瘤，理论上通过两次连续的独立突变而使抑癌基因失活的概率是非常低的。而杂合性丢失发生的频率远高于基因突变的发生频率，因此在视网膜母细胞瘤的发生过程中，第二个野生型 Rb 基因的丢失更多的依赖于杂合性缺失现象，而不是直接的基因突变。后续的研究表明，杂合性丢失在肿瘤形成过程中是一个普遍现象，人们根据肿瘤细胞基因组中杂合性丢失的现象发现并克隆了数十个抑癌基因（表 X）。

### 2.2.2 常见抑癌基因的功能

从表 X 中可以看出, 抑癌基因及其编码产物可通过多种机制抑制肿瘤的进展。从表 X 中可以看出, 抑癌基因及其编码产物可通过多种机制抑制肿瘤的进展。根据抑癌基因编码蛋白的功能, 可以将抑癌基因分为以下几类: (1) 转录抑制因子; (2) 细胞周期抑制因子; (3) 信号通路抑制因子; (4) 细胞凋亡诱导因子; (5) DNA 损伤修复基因。研究较早且较为透彻的两个抑癌基因是 Rb 和 p53, 它们也是人类肿瘤发生过程中起广泛作用的两个抑癌基因。

#### (1) *Rb*

RB 的主要功能是调节细胞周期, 其调节作用与其蛋白产物 pRB 的磷酸化状态相关。pRB 帮助调节细胞从细胞周期的 G1 阶段进入 S 期, 在 S 期中进行 DNA 合成。从 G1 到 S 的过渡是细胞的一个关键时刻, 一旦细胞进入 S 期, 它不可避免地会继续完成剩余的细胞周期并进入有丝分裂。G1 到 S 的过渡伴随着许多不同基因的激活, 这些基因编码从 DNA 聚合酶到细胞周期蛋白和组蛋白的各种蛋白质。在激活 S 期所需基因的转录因子中, 有 E2F 家族的成员, 是 pRB 的关键靶点。

图 X 展示了 pRB 在控制 E2F 活性中的作用模型。在 G1 期期间, E2F 蛋白通常与 pRB 结合, 阻止 E2F 分子激活下游许多编码 S 期活动所需蛋白质的基因 (例如, 细胞周期蛋白 E 和 DNA 聚合酶)。研究表明, E2F-pRB 复合物与 DNA 结合, 可抑制基因表达。随着 G1 期结束临近, 调节 G1-S 过渡的细胞周期依赖性激酶会磷酸化 pRB-E2F 复合物中的 pRB 亚基。一旦被磷酸化, pRB 释放其结合的 E2F, 允许该转录因子激活基因表达, 这标志着细胞不可逆地进入 S 期。

由于 RB 基因突变导致失去 pRB 活性的细胞, 将无法抑制 E2F, 从而解除进入 S 期的某些限制。除 E2F 外, pRB 可结合其他数十种蛋白质, 表明 pRB 还具有其他许多功能。pRB 蛋白含有至少 16 个可被细胞周期依赖性激酶磷酸化的丝氨酸和苏氨酸残基, 其不同氨基酸残基组合的磷酸化可能允许该蛋白与不同的下游靶点相互作用。

#### (2) *TP53*

TP53 基因因其编码的产物为 53kD 大小的蛋白质而得名。p53 蛋白最初被识别为与 T 抗原结合的宿主细胞蛋白, T 抗原是 DNA 肿瘤病毒 SV40 的主要转化致癌基因。在克隆了小鼠的 p53 基因后, 发现该基因能够与活化的 Ras 共同作用, 作为一个致癌基因在体外转化初级啮齿动物细胞。随后, 在小鼠 Friend 病毒诱导的红细胞白血病细胞中, p53 的失活被频繁发现, 这使得人们认为 TP53 基因实际上是一种抑癌基因。

约 50% 的人类恶性肿瘤中存在 p53 基因突变, 是所有已知与癌症发生相关基因中突变最频繁的基因。TP53 缺失会导致一种罕见的遗传性疾病——Li-Fraumeni 综合征, 患有这种疾病的人会有极高的几率患上各种癌症, 包括乳腺癌、脑癌和白血病。癌症中细胞死亡率通过改变的凋亡途径经常减少, 而凋亡的主要激活因子是 TP53, 因此 p53 被称为“基因组的守护者”。p53 蛋白是一个多聚体复合物, 它在细胞周期的 G1 期 (进入 S 期之前) 起检查点控制作用, 与包括细胞周期蛋白和 p21 在内的其他因子相互作用, 防

止损伤的 DNA 被复制。突变的 p53 蛋白单体比正常的 p53 蛋白更稳定，并且可以与正常的野生型 TP53 形成复合物，以显性负效应的方式使其失活。

### 2.2.3 抑癌基因的失活机制

#### (1) 基因突变

可发生在抑癌基因的编码区或非编码区，可导致突变基因编码的蛋白产物丧失功能，或表达量降低。例如，分析能够导致家族性腺瘤性息肉病的致病基因 APC 的突变谱发现，很多突变会引起 APC 蛋白翻译的提前终止，从而使其丢失了能够与  $\beta$ -catenin 和 Axin 相结合并引起  $\beta$ -catenin 降解的重要结构域， $\beta$ -catenin 蛋白聚集是 APC 基因失活引起的最重要的后果。

#### (2) 基因缺失

基因缺失导致抑癌基因整个拷贝或部分序列丢失，导致其丧失正常功能。例如，在对部分视网膜母细胞瘤患者的染色体核型分析的研究发现，这些患者等 13 号染色体长臂的 1 区 4 带，即 13q14 区域都存在缺失，也为后续定位和克隆 Rb 基因奠定了基础。

#### (3) 启动子 DNA 甲基化

抑癌基因的启动子区域发生高 DNA 甲基化，进而导致基因沉默。很多不同类型肿瘤中均存在着抑癌基因被 DNA 甲基化沉默的现象。例如，在许多不同的恶性肿瘤中均报道了 RASSF1A 启动子区域的 DNA 高甲基化。RASSF1A 启动子区域 DNA 异常高甲基化的比例在肺癌、乳腺癌和前列腺癌中高达 88%、95% 和 99%，而在正常周围组织中为 0%。此外 RASSF1A 启动子 DNA 甲基化也与肿瘤病理特征和侵袭性等临床表型有关。

## 第三节 肿瘤发生的遗传学理论

### 3.1 Knudson 的二次打击理论

二次打击理论可以非常好的解释视网膜母细胞瘤的流行病学调查结果。对于遗传性 Rb，第一次打击事件发生在生殖细胞，继承自父母一方，通常造成患者所有 RB1 基因的一个等位基因失活，另外一个等位基因仍能维持正常功能，仅蛋白产物减少 50%。该个体任何体细胞一旦受到第二次打击事件，将使得另一个正常等位基因失活，从而引起肿瘤的发生，因此具有发病早，常双侧发病或单侧多发等特点。而对于散发性 Rb，两次打击事件均发生在出生后的同一细胞，使得两份正常 RB1 等位基因失活，这种概率一般较小，因此具有发病晚，常为一侧单个肿瘤的特点。除 Rb 外，这一模型还可以解释 Wilms 瘤等儿童肿瘤的发病特点。

### 3.2 肿瘤发生的多阶段遗传物质损失理论

对于单基因控制的肿瘤，无论是遗传性的还是散发性的，只要两个正常等位基因失活，就会导致肿瘤发生。但是对于大多数常见肿瘤而言，其发生是一个长时间，多因

素共同作用的结果。根据肿瘤的多阶段遗传物质损失理论，正常细胞需要经过多次遗传损伤，并涉及多个肿瘤相关基因的协同作用，并需要长时间多阶段的演化过程才能完成恶性转化，在肿瘤的发生过程中，一些环境因素的影响也不容忽视。

流行病学的调查显示，年龄是癌症发病的一个重要因素，许多肿瘤的发生需要经历十几年甚至几十年的发生与发展【图 X，年龄与肿瘤发病的关系】。病理学的证据也表明，结肠癌的发生从正常上皮细胞开始，经历了异常增生，早期腺瘤，中期腺瘤，晚期腺瘤和侵袭性癌等多个阶段，从小腺瘤性息肉进展到侵袭性癌症的过程可能需要 5 到 10 年时间。分子生物学的研究表明，在结肠癌发生发展的不同阶段，会发生和累积不同的遗传学或表观遗传学打击事件。例如，在早期腺瘤阶段就已经出现了 5 号染色体长臂的杂合性丢失，这一区域会涉及到 APC 基因；在中晚期腺瘤阶段，会发生 K-ras 基因突变以及 18 号染色体长臂的杂合性丢失；随后几乎一半的结肠癌会在此基础上发生 17 号染色体短臂的杂合性丢失，这一区域会涉及到 TP53 基因。此外大部分进展中的癌前病变组织中均存在着广泛的全基因组 DNA 甲基化降低，这一表观遗传学改变可能与染色体不稳定性相关【结直肠癌进展示意图】。

## 第四节 常见肿瘤发生的分子生物学机制

### 4.1 乳腺癌

乳腺癌是女性中发病率和死亡率最高的恶性肿瘤，在中国每年新发病例达到 42 万（2020 年）。大多数乳腺癌源乳腺腺泡和导管中的上皮细胞，约 80% 的乳腺癌起源于导管，5-10% 为浸润性小叶癌，其余来自多种细胞类型。

乳腺癌的发展有许多风险因素，其中最显著的是家族史。约 5% 的乳腺癌被认为是遗传性的，由致癌倾向的生殖系突变引起，主要包括两个高外显率的抑癌基因 BRCA1 和 BRCA2。15-20% 有家族史的乳腺癌女性被发现携带 BRCA1 突变，BRCA1 突变携带者的乳腺癌发病中位年龄为 42 岁，比散发病例早 20 年。BRCA1 和 BRCA2 蛋白在 DNA 修复和细胞周期调控的通路中起作用。其他与 BRCA1 和 BRCA2 相互作用的 DNA 修复蛋白，如 Chk2 和 FANCD1 基因，也是乳腺癌易感基因。Li-Fraumeni 综合征、Cowden 病和毛细血管扩张性共济失调也可造成乳腺癌的高发，表明 P53、PTEN 和 ATM 的生殖系突变也与乳腺癌的易感相关。

在散发性乳腺癌中，也发现了许多在其他常见癌症中广泛存在的突变。近 30% 的乳腺癌携带 TP53 突变。超过 20% 的乳腺癌携带体细胞获得的 PIK3CA 突变，约 9% 表现出 PIK3CA 扩增。其他在乳腺癌中经常扩增的基因包括 CMYC 和 ERBB2（即 Her2）。对乳腺癌的转录组分析揭示了许多在乳腺癌中常高表达的基因，包括 C-SRC、CCND1 和 BCL2。

### 4.2 肺癌

肺癌是全球造成死亡人数最多的癌症，据统计 2020 年全球癌症死亡人数 996 万例，其中肺癌死亡 180 万例，远超其他癌症类型。最常见的两种肺癌类型（小细胞癌和鳞状

细胞癌)与吸烟密切相关。估计 90%的男性肺癌和 85%的女性肺癌可归因于吸烟。腺癌(与吸烟中度相关)和肺泡细胞癌(与吸烟无关)占有所有肺癌的 10%。除了吸烟,石棉、辐射和空气污染等其他环境因素也与肺癌有关。肺部肿瘤起源于肺泡、细支气管和支气管的上皮细胞)。肺癌有四种组织学类型,分为两大组。鳞状细胞癌、腺癌和大细胞癌统称为非小细胞肺癌(NSCLC),它们共同组成了 75%的肺部肿瘤。由于这一组癌症往往在疾病的后期才转移,早期检测和手术切除可以带来许多治愈机会。剩下的四分之一肺癌是小细胞肺癌(SCLC),这是最具侵略性的转移性肿瘤,因此也是最难有效治疗的。

与许多常见的癌症不同,肺癌一般不以家族遗传形式出现。因此,没有已知的强烈影响肺癌易感性的基因。然而,有充分的证据表明,遗传因素确实影响高风险吸烟者的肺癌发生率。例如,患有视网膜母细胞瘤的患者在晚年被发现肺癌的发生率比正常人群高。因此,尽管 RB1 突变在视网膜母细胞瘤发展的外显率几乎为 100%,但其在肺癌中的外显率较低但仍然显著。一个非常罕见的 EGFR 种系突变,位置为 T790M,被认为与遗传性肺腺癌易感性有关。

肺癌中最常见的基因异常包括 TP53 的失活, KRAS 或 EGFR 的突变(主要在腺癌中),以及 CDKN2A/ARF/RB1 通路的改变。在大约 50%的 NSCLC 和超过 90%的 SCLC 中发现了 TP53 突变。许多与吸烟相关的突变是发生在 TP53 编码区的突变热点中的 G→T 转换,这一特征性突变可直接归因于暴露于香烟烟雾中的致癌物 BPDE。

在散发性肺癌中发现了多种高频率突变的癌症基因。肺癌中最常见的突变基因是 TP53。TP53 突变在约 50%的 NSCLC 和 90%的 SCLC 中发现。许多与吸烟相关的突变是 G→T 转换,发生在 TP53 编码区的突变热点。这些特征突变可以直接归因于烟草烟雾中的致癌物 BPDE。MDM2 的扩增在 5%到 10%的 NSCLC 中发生。体细胞 RB1 突变在相当比例的散发性肺癌中发现。RB1 在 30%到 40%的 NSCLC 和三分之二的 SCLC 肿瘤中失活。在 NSCLC 中, RB1 突变与更晚期的肿瘤相关,这表明 RB1 的丧失发生在肿瘤发生的后期阶段。CDKN2A 和 CDKN2B 的缺失在约 20%的 NSCLC 中发现。同样,编码细胞周期调控因子 cyclin D 的基因 CCND1 在一部分 NSCLC 中扩增。EGFR 编码的受体酪氨酸激酶在约 10%的患者中因突变而激活。这些突变为新开发的药物提供了靶点。

一组独特的 NSCLC 患者携带一种导致基因融合的染色体易位,称为 EML4-ALK。ALK 是一个原癌基因,编码受体酪氨酸激酶。ALK 最初在间变性淋巴瘤中发现,可以激活多个细胞内信号传导通路,包括 RAS 通路。EML4-ALK 融合基因突变一般与 KRAS 和 EGFR 的突变互斥。含有 EML4-ALK 的肺癌(称为 ALK 阳性)与从不或轻度吸烟史、较小年龄和独特的组织学特征相关。只有 3%到 4%的 NSCLC 是 ALK 阳性,但这些肿瘤对靶向 ALK 活性的药物——克唑替尼药物高度敏感。

在肺腺癌中, TP53、STK11、CDKN2A 和 SMARCA4 等抑癌基因突变高频发生。约三分之一肺腺癌中发现 KRAS 突变,其他癌基因的突变较少见,包括 ERBB2 和 MET。肺腺癌转录组数据表明, MAPK 和 PI3K 通路在这种亚型中常常被激活,但其激活的遗传机制仍不清楚。

### 4.3 前列腺癌

前列腺癌是除肺癌外男性中最常被诊断出的癌症，约八分之一的男性最终会被诊断出这种疾病。前列腺癌与衰老关系密切，因此在 40 岁以下的男性中极为罕见。前列腺癌发展非常缓慢，许多患有这种疾病的男性最终死于其他原因。前列腺是一个位于膀胱底部附近的核桃大小的腺体。大多数发展成前列腺恶性肿瘤的病变发生在腺体的外围，而大约 20% 的癌前病变发生在环绕尿道的区域，称为过渡区。过渡区经常发生肥大，导致一种常见的病症，称为良性前列腺增生（BPH）。BPH 可以与前列腺癌共存，但不是一种癌前病变。

前列腺腺体中癌前病变的发生非常常见。45 岁以上的男性中，几乎有三分之一的人有组织学上可识别的前列腺癌前病变，称为前列腺上皮内瘤变（PIN）。许多 PIN 病变是多灶性的，这表明它们代表了独立发生的多个病变。PIN 病变被认为是前列腺癌的前驱，但大多数 PIN 病变不会发展成临床上可检测到的前列腺肿瘤。

前列腺癌的进展具有高度的多样性。虽然全世界 PIN 的发生率相似，不同人群中的前列腺癌发病率却高度依赖于种族和地理位置。这种变异可能是遗传和环境因素共同作用的结果，其中大部分因素未知。此外，前列腺癌的遗传病因也因病例而异。没有发现单一基因在大多数前列腺癌中发生突变，但 TP53 突变在约一半的转移性疾病病例中出现。TMPRSS-ERG 基因融合也非常常见，发生在超过 40% 的病例中。前列腺细胞对称为雄激素的男性激素高度敏感。因此，睾酮等雄激素是前列腺肿瘤生长的生理驱动因素。TMPRSS-ERG 基因融合导致雄激素信号通路的改变，使细胞变得对雄激素不敏感。雄激素受体本身通过基因扩增经常过度表达。约 15% 的转移性前列腺癌病例中 PTEN 失活。BRCA2 和 APC 的体细胞突变也在相当比例的病例中发现。

前列腺癌病例在高风险家族有聚集现象。家族聚集研究表明，5-10% 的前列腺癌可归因于常染色体显性癌基因的遗传。据报道，患有这种疾病家族史的男性患前列腺癌的相对风险增加约三倍，与携带 BRCA1 或 BRCA2 种系突变的男性相同，这些突变更常与女性的乳腺癌相关。虽然这些流行病学证据表明前列腺癌具有显著的遗传成分，但尚未发现强烈易感前列腺癌的等位基因。

### 4.4 结直肠癌

结直肠癌发病率在男性中仅次于肺癌和前列腺癌，在女性中仅次于乳腺癌。全球结直肠癌死亡人数 2020 年为 91.6 万例，仅次于肺癌。良性结直肠病变通常在不同的病理学阶段可能进展为侵袭性和转移性癌症，其进展与高度特征性的基因突变相关。

结直肠癌起源于腺瘤性息肉的前体病变。这些在结肠和/或直肠上皮内的病变前体可能与遗传性癌症综合征相关，但最常见的是在没有易感突变的情况下出现。不同类型的息肉具有不同程度的风险。增生性息肉是良性的，恶变潜力低；而腺瘤是癌前病变。腺瘤可以根据其细胞生长的组织学模式进一步分类。管状腺瘤是圆形的，绒毛状腺瘤有指状突起，锯齿状息肉在显微镜下呈锯齿状。较大的腺瘤（>1 厘米）比较小的腺瘤具有

更高的恶变风险。很多情况下，可以在内镜检查期间切除较大的息肉，大大降低未来恶变的风险。据估计，全面实施结肠镜筛查可以将结直肠癌的发病率降低 80%。

大多数结直肠癌是散发性的，只有约 5% 的病例为遗传性。家族性腺瘤性息肉病 (FAP) 由 APC 基因的显性突变或更罕见的 MUTYH 基因的隐性突变引起。受影响的个体会发展出大量的癌前腺瘤，大大增加了其最终的患癌风险。

大多数结直肠癌 (90%) 具有 APC 的截断突变。在一些具有野生型 APC 的肿瘤中发现了 CTNNB1 的激活突变。其他一些 APC 野生型肿瘤经常发生独特的基因融合，这些基因融合通常与 R-spondin 分泌蛋白家族相关。其中的 RSPO2 和 RSPO3，已被证明与 WNT 配体相互作用以促进经典的 WNT/APC 信号传导。APC、CTNNB1 和编码 R-spondin 蛋白的基因突变相互排斥。这些突变表明了 WNT 信号通路在结直肠癌中发生中的重要作用。超过 50% 的结直肠癌中发现了 TP53 和 KRAS 的突变，此外 PIK3CA 和 FBXW7 也是结直肠癌常发现的高频突变。

#### 4.5 肝癌

肝癌是全球第三大癌症死亡原因，2020 年死亡人数 83 万例。我国是肝癌大国，新发病率中，我国占 45.3%。四分之三的肝癌起源于肝脏中的主要上皮细胞——肝细胞，这些肿瘤被称为肝细胞癌 (HCC)。较少见的肝癌可起源于胆管 (胆管癌)、血管 (间质肿瘤) 和免疫细胞 (淋巴瘤)。起源于肝外部位 (主要是结肠) 的癌症常转移到肝脏；这些继发性肿瘤不被认为是肝癌。肝癌的主要风险因素包括慢性感染乙型肝炎病毒 (HBV) 和丙型肝炎病毒 (HCV)、食物被黄曲霉毒素 B1 污染以及过量饮酒。男性患肝癌的比例是女性的两倍多。

大多数 HCC 会发生 p53 的功能失活。饮食中的黄曲霉毒素 B1 可引起 TP53 的突变，黄曲霉毒素 B1 常由霉变的玉米、大米和花生产生。黄曲霉毒素 B1 在 TP53 密码子 249 处引起 G 到 T 的转换，而该位点在其他癌症类型中很少突变。在低黄曲霉毒素 B1 摄入的地区，可观察到不同的 TP53 突变谱。在 HBV 相关的 HCC 中，p53 蛋白与一种称为 HBx 的病毒蛋白相互作用。由于 HBV 基因组频繁整合到宿主细胞 DNA 中，HBx 被表达，且除 p53 外还直接结合多种细胞蛋白。HBx 会阻碍 p53 与其基因组靶序列的结合，从而抑制 p53 介导的转录并促进细胞周期进程。此外，HBV 感染引起的慢性炎症是一种更普遍的恶性转化风险因素。与 HBV 不同，HCV 的基因组不编码 HBx 的功能同源物。因此，HCV 感染引起的 HCC 风险主要归因于慢性炎症的影响。

除了 TP53 外，肝细胞癌中还会出现 CTNNB1 激活的高频突变，该基因编码 WNT 信号通路激活因子  $\beta$ -catenin。肝内胆管癌中常见的突变基因包括 TP53、KRAS、BAP1、IDH1 和 SWI/SNF 复合体中的染色质重塑蛋白 ARID1A。

一些导致肝脏组织破坏和炎症的罕见遗传疾病可增加肝癌风险，疾病包括血色素沉着症 (一种铁过载疾病)、肝豆状核变性 (一种铜过载疾病)、卟啉症 (一种血红素色素过载疾病) 和  $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶缺乏症。

## 4.6 胃癌

在我国，胃癌发病率和死亡率在各种恶性肿瘤中均位列第三。全球每年新发胃癌病例约 120 万例，我国占 40%。我国早期胃癌占比很低，约 20%，大多发现时已是进展期，5 年总体生存率不足 50%。

环境因素在胃癌发生中起到了重要作用。胃癌与慢性炎症密切相关。导致大约 60% 病例的一个重要病因是幽门螺杆菌，该菌引起溃疡性疾病。胃癌在幽门螺杆菌感染高发的发展中国家尤为普遍。慢性萎缩性胃炎的炎症病变是侵袭性癌症的前驱病变。其他涉及胃黏膜炎症和增加胃癌风险的疾病状态包括恶性贫血和 EB 病毒感染。

胃腺癌是胃最常见的癌症类型，起源于胃上皮腺体。已确定了两种组织学上不同的胃腺癌类型：一种形成腺样结构的肠型，以及一种浸润性的弥漫型。肠型多见于年龄较大的个体，起源于前驱病变，并通过血液转移到肝脏。相比之下，弥漫型胃腺癌在所有年龄组中都有发生，没有可识别的前驱病变，并主要通过邻近组织扩散。大多数胃腺癌以晚期病变形式呈现，因此具有较高的死亡率。肠型与环境因素更密切相关，而弥漫型更多与遗传因素相关。

在约 1/3 的散发性胃癌中检测到 TP53 突变。约 20% 的肿瘤通过 ARID1A 失活而发生染色质重塑失调。约 15% 的肿瘤携带 CDH1 的失活突变。CDH1 编码 E-钙黏附蛋白，是细胞间黏附的重要调节因子。

大约 10% 的胃癌具有家族遗传性，1-3% 具有明确的遗传模式。最明确的遗传性胃癌是遗传性弥漫性胃癌 (HDGC)。约 30% 的 HDGC 家族携带 CDH1 的生殖系突变，最常见的是提前终止密码子突变，突变 CDH1 等位基因的外显率很高。例如，在该疾病最早被发现的家族中，有 25 多人在 14 岁时就死于胃癌。患病女性还明显增加了小叶性乳腺癌的发病风险。此外，胃癌也是遗传性非息肉性结直肠癌 (HNPCC) 疾病谱系的重要组成部分。因此，许多胃癌也与微卫星不稳定相关。

## 第五节 肿瘤的靶向治疗

### 5.1 靶向治疗的概念

手术，放疗，化疗，靶向治疗以及免疫治疗是肿瘤治疗的主要手段。放疗是使用一定剂量的高能电离辐射破坏肿瘤细胞的 DNA，从而导致细胞死亡。化疗是使用细胞毒性药物破坏肿瘤细胞 DNA 和 RNA 的合成，阻断有丝分裂等方式，抑制活跃增殖的肿瘤细胞的存活。放疗和化疗无法有效区分肿瘤细胞和正常细胞，这类疗法统称为传统治疗方法，以区分具有特异性的靶向治疗和近年来快速发展的免疫治疗。

靶向治疗 (targeted therapy) 是一种针对控制肿瘤细胞生命活动的关键分子进行阻断的肿瘤个治疗方式，这些关键分子称为分子靶点 (molecular targets)，针对这些靶点所开发的药物称为靶向药物。靶向治疗的药物通过影响参与肿瘤生长的分子而发挥作用，其可以通过不同的方式发挥作用，包括：(1) 阻断导致肿瘤细胞失控增殖的信号分子及



相关蛋白；(2) 抑制肿瘤血管生成过程；(3) 诱导肿瘤细胞凋亡；(4) 向肿瘤细胞特异性递送细胞杀伤物质；(5) 标记肿瘤细胞增强免疫系统对肿瘤细胞的杀伤效力。与传统的肿瘤治疗方法相比，靶向药物主要针对肿瘤细胞上的特异性靶点，对正常细胞影响较小，因此靶向治疗具有特异性强，疗效显著，而副作用小的优点。靶向治疗的局限性在于并非所有患者的肿瘤都具有合适的靶点，因此寻找新的有效靶点是肿瘤靶向治疗的关键。靶向治疗可以单独使用，也可以跟其他疗法联合使用。

## 5.2 分子靶向药物

1997 年美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准了首个靶向肿瘤药物利妥昔单抗 (Rituximab) 用于治疗慢性淋巴细胞白血病以及某些类型的非霍奇金淋巴瘤，其针对的靶点是 B 淋巴细胞抗原 CD20 分子。2001, FDA 批准了针对 BCR-ABL 融合蛋白的小分子药物伊马替尼 (imatinib)，用于治疗髓系慢性白血病，这是首个批准上市的抗肿瘤小分子药物。目前已有上百个针对不同肿瘤类型的靶向药物获批上市，并取得了显著的治疗效果。

根据药物的性质，靶向药物可分为两大类：(1) 小分子药物，一般为激酶抑制剂；(2) 单克隆抗体药物，一般靶向细胞外配体蛋白，或细胞膜受体蛋白。小分子药物和抗体药物在肿瘤治疗中的优缺点见表 X (癌生物学 p873)

### 5.2.1 蛋白激酶抑制剂

蛋白激酶是一种磷酸转移酶，负责催化 ATP 中的  $\gamma$ -磷酸基团转移到含有羟基的蛋白质上的特定氨基酸残基上。它在细胞生长、增殖和分化中起着重要作用，人类激酶组包含约 535 种蛋白激酶。根据底物残基的不同，蛋白激酶可分为两大类：酪氨酸激酶，包括受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase, RTKs) 和非受体酪氨酸激酶，主要作为生长因子受体或直接与生长因子受体相互作用；以及丝氨酸/苏氨酸激酶，它们响应多种细胞信号，包括酪氨酸激酶下游的信号。蛋白激酶的失调与多种疾病，尤其是癌症相关。蛋白激酶是研究最广泛的肿瘤治疗靶点，目前已经报道了大量蛋白激酶抑制剂，其可以通过多种机制起作用，包括通过竞争性 ATP 结合来抑制激酶的活性构象 (I 型) 或非活性构象 (II 型)，通过结合激酶的其他区域进行变构抑制 (III 型和 IV 型)。此外，跨越激酶结构域两个不同区域的双价分子属于 V 型抑制剂。I 型至 V 型抑制剂都是可逆的，而 VI 型抑制剂是不可逆的，其会与激酶活性位点共价结合。除了小分子抑制剂，也已开发了针对细胞外结构域的单克隆抗体药物。

#### (1) 靶向 EGFR 家族的抑制剂

人类 EGFR 家族包含 ErbB1/EGFR、ErbB2/HER2、ErbB3/HER3 和 ErbB4/HER4。除 HER2 外，EGFR 家族其他成员通过与配体 (如 EGF、上皮调节素、转化生长因子- $\alpha$  和神经调节素) 结合形成同源二聚体和异源二聚体而被激活。EGFR 激酶活性突变或过表达发生在多种实体瘤中，大约 25% 的乳腺癌患者表现出 HER2 基因扩增或过表达。这些遗传变化导致 EGFR 以非配体依赖的方式异常激活。

在过去的几十年中，已经开发了数种靶向 EGFR 的酪氨酸激酶抑制剂 (TKI)，并在临床上用于治疗携带激酶活性突变的 NSCLC 患者。吉非替尼 (gefitinib) 和厄洛替尼 (erlotinib) 是第一代 EGFR-TKI，与 EGFR 的 ATP 结合口袋的活性或非活性构象相互作用。第二代 EGFR-TKI，如阿法替尼 (afatinib) 和达克替尼 (dacomitinib)，是不可逆的 EGFR 抑制剂，通过与 EGFR 的 ATP 结合口袋共价结合发挥作用。第一代和第二代 EGFR-TKI 对具有 EGFR 激酶活性突变的患者中有着非常好的疗效，但最终患者仍会获得耐药性突变 (大约一半的 NSCLC 患者对第一代 EGFR-TKI 产生耐药性)，例如 T790M 突变。EGFR T790M 突变通过空间阻碍和增强的 ATP 结合两方面限制了 EGFR-TKI 的治疗效果。针对 T790M 突变的 EGFR-TKI 已被开发并在临床上使用，奥希替尼 (osimertinib) 是第三代 EGFR-TKI，通过与 ATP 结合口袋中的半胱氨酸-797 残基形成共价键来抑制 EGFR 激酶活性，对突变型 EGFR (L858R 或同时携带 T790M 的第 19 外显子缺失突变) 的抑制作用约为对野生型 EGFR 的 200 倍。另一种第三代 EGFR-TKI，拉泽替尼 (lazertinib)，是一种口服可用的、可穿透中枢神经系统的不可逆 EGFR-TKI，可以抑制 EGFR T790M 和激酶活性突变。目前批准用于临床治疗 HER2 阳性乳腺癌患者的小分子激酶抑制剂包括拉帕替尼 (lapatinib)、奈拉替尼 (neratinib) 和妥卡替尼 (tucatinib)。拉帕替尼是一种口服可用的 TKI，可逆地与 EGFR 和 HER2 的 ATP 结合位点相互作用，而奈拉替尼通过共价结合 EGFR 和 HER2 的酪氨酸激酶结构域的 ATP 结合位点，从而导致 EGFR/HER2 不可逆抑制。妥卡替尼是一种选择性的、可逆的 HER2 抑制剂，可竞争性地与 HER2 的 ATP 结合位点相互作用。

除了小分子激酶抑制剂，靶向 EGFR 和 HER2 的单克隆抗体也已在临床上使用。EGFR 单克隆抗体，包括西妥昔单抗 (cetuximab) 和帕尼单抗 (panitumumab)，已用于治疗转移性结直肠癌患者。靶向 HER2 的单克隆抗体，如曲妥珠单抗 (trastuzumab) 和帕妥珠单抗 (pertuzumab)，已批准用于 HER2 阳性乳腺癌患者。HER2 双特异性抗体泽尼达妥单抗 (zanidatamab) 被批准用于 HER2 表达的胆道癌患者。

## (2) 靶向 PDGFR/VEGFR/FGFR 的抑制剂

肿瘤血管生成是癌症的标志之一。几种生长因子及其受体，如血小板源性生长因子 (PDGF) /PDGFR、血管内皮生长因子 (VEGF) /VEGFR、成纤维细胞生长因子 (FGF) /FGFR，调控癌细胞的生长、分化和迁移以及血管内皮细胞的血管生成活。

PDGFs 属于半胱氨酸结 (cysteine knot) 生长因子超家族的成员，这些成员至少含有三个二硫键，并形成同二聚体或异二聚体。已鉴定出五种 PDGF 二聚体 (PDGF-AA、PDGF-AB、PDGF-BB、PDGF-CC 和 PDGF-DD)，这些 PDGFs 通过结合两种异构体的 PDGFR (PDGFR- $\alpha$  和 PDGFR- $\beta$ ) 传递信号。PDGF-AA 和 PDGF-CC 是与这些 PDGFR 结合的配体，它们对 PDGFR- $\alpha$  具有高亲和力，而 PDGF-BB 和 PDGF-DD 通过 PDGFR- $\beta$  传递信号。PDGFR- $\alpha$  在间充质和成纤维细胞的发育中起到一般和特定的作用；PDGFR- $\beta$  在血管平滑肌细胞和周细胞等血管壁细胞的形成中起重要作用。PDGFR- $\alpha$  和 PDGFR- $\beta$  的改变分别与血管疾病和间充质细胞/成纤维细胞驱动病理状态有关。PDGFR- $\alpha$  的改

变，如点突变和扩增，存在于约 5%的胃肠道间质瘤（GIST）患者和 5-10%的多形性胶质母细胞瘤患者中。

VEGF 家族由五种糖蛋白组成，包括 VEGFA (VEGF)、VEGFB、VEGFC、VEGFD (FIGF) 和胎盘生长因子 (PlGF 或 PGF)。VEGF 以多种可变剪接异构体形式表达，具有促或抗血管生成作用；其中，VEGF165 是主要的促血管生成异构体，在各种实体肿瘤中过表达。VEGF 通过结合 VEGFR 家族受体，VEGFR1 (FLT1)、VEGFR2 (KDR) 和 VEGFR3 (FLT4) 来激活信号传导。VEGFR2 主要在血管内皮细胞中表达，VEGF/VEGFR2 信号通过控制血管通透性、血管内皮细胞的增殖、迁移和存活，在血管生成中起关键作用。VEGF 还通过募集骨髓来源的造血祖细胞和内皮祖细胞来刺激肿瘤中的血管发生。VEGFC 和 VEGFD 结合 VEGFR3 并调节淋巴管生成，通过淋巴系统促进转移。除了对血管内皮细胞的这些血管生成作用外，VEGF 还对肿瘤有多种促进作用，如增加癌细胞增殖、迁移、侵袭、干性，免疫抑制和前转移位点形成。

FGF 家族生长因子，包括 18 个成员，被分类为六个亚家族，通过结合 FGFRs 来激活信号传导。目前已知五种 FGFRs (FGFR1-FGFR5)，FGFR1-FGFR4 具有酪氨酸激酶活性；FGFR5 缺乏细胞内酪氨酸激酶结构域，但作为 FGFR1 的共受体起作用，并调节配体介导的信号传导。肝素硫酸糖胺聚糖 (HSGAG) 与 FGF 和 FGFR 结合，保护 FGFs 免受降解，稳定配体和受体之间的相互作用，并促进 FGF 结合的 FGFR 二聚化。在癌细胞中，由于 FGFR 扩增、激活性 FGFR 突变、FGFR 单核苷酸多态性、FGFR 与各种结合伙伴形成的融合蛋白以及磷脂酶 C $\gamma$ 1 (PLC $\gamma$ 1, FRS1) 和 FGFR 底物 2 (FRS2) 失调所导致的 FGF/FGFR 信号的异常激活，促进了癌细胞的存活、增殖、血管生成、获得上皮-间质转化 (EMT) 表型、侵袭和转移。

目前已开发了同时靶向上述多种激酶的多激酶抑制剂。例如，索拉非尼 (sorafenib)、舒尼替尼 (sunitinib)、培唑帕尼 (pazopanib)、仑伐替尼 (lenvatinib)、瑞戈非尼 (regorafenib)、凡德他尼 (vandetanib)、卡博替尼 (cabozantinib)、阿昔替尼 (axitinib)、替沃扎尼 (tivozanib)、阿伐替尼 (avapritinib)、瑞派替尼 (ripretinib)、厄达替尼 (erdafitinib)、培米替尼 (pemigatinib)、英菲格拉替尼 (infigratinib)、德拉赞替尼 (derazantinib)、福巴替尼 (futibatinib)、塞普替尼 (setiprecatinib) 和普拉替尼 (pralsetinib)。此外，单克隆抗体，如贝伐珠单抗 (bevacizumab) 和雷莫西尤单抗 (ramucirumab)，或重组蛋白阿柏西普 (aflibercept) 也已在临床使用。

### (3) 靶向 ALK 的抑制剂

ALK 是一种受体酪氨酸激酶，其结构与白细胞酪氨酸激酶同源，属于胰岛素受体超家族。在正常组织中，ALK 主要在神经系统中表达，并在神经系统发育和功能的生理调节中起重要作用。ALK 基因的染色体重排以及与多个伴侣蛋白 (EML4、NPM)、TPM3 和 TPM4) 产生融合蛋白、ALK 基因扩增或 ALK 突变会导致持续活化的 ALK 蛋白的过表达。ALK 的改变已在几种类型的癌症中发现，如间变性淋巴瘤、神经母细胞瘤和 NSCLC。大约 3-7%的 NSCLC 患者，尤其是腺癌亚型患者，被报道携带 ALK 重排；ALK 突变与 KRAS

和 EGFR 突变相互排斥。

目前有多种 ALK 抑制剂已获批在临床上用于治疗 NSCLC 患者。克唑替尼 (crizotinib) 是第一代 ALK 抑制剂, 可与 ATP 竞争性抑制, 于 2011 年获临床批准。克唑替尼最初被开发为 MET 抑制剂, 然而, 基于克唑替尼在药理相关浓度下对 ALK 的抑制效果以及 ALK 和 ROS1 之间 ATP 结合位点的结构同源性, 克唑替尼在携带这些基因改变的患者中的临床疗效得到了评估。克唑替尼已被用作 NSCLC 患者中 ALK、ROS1 或 MET 改变的第一或第二线治疗。然而, 由于对克唑替尼的耐药性迅速出现及其穿透血脑屏障的能力较弱, 又开发了新的 ALK 抑制剂。第二代 ATP 竞争性 ALK/ROS1 抑制剂塞瑞替尼 (ceritinib) 和 ATP 竞争性 ALK 抑制剂阿雷替尼 (alectinib) 已被批准用于治疗对克唑替尼耐药的 NSCLC 患者。与克唑替尼和塞瑞替尼不同, 阿雷替尼可以穿透血脑屏障, 治疗具有脑转移的 NSCLC 患者并预防脑转移的进展。其他能穿透血脑屏障的 ATP 竞争性 ALK-TKI 包括布加替尼 (brigatinib), 其对 FLT3、IGF-1R、EGFR 及几种与克唑替尼、塞瑞替尼和阿雷替尼耐药相关的 ALK 突变有效, 以及劳拉替尼 (lorlatinib), 其对所有已知的 ALK 突变 (除了 L1198F 突变外) 具有抑制效果。

#### (4) 靶向 BCR-ABL 融合蛋白的抑制剂

Abelson (ABL) 家族激酶 (ABL1 和 ABL2) 是非受体酪氨酸激酶, 通常包含特定的结构域, 包括 SH3 结构域 (与富含脯氨酸序列结合)、SH2 结构域 (与磷酸化酪氨酸位点结合)、SH1 结构域 (酪氨酸激酶结构域)、介导与含 SH3 结构域蛋白质相互作用的 PXXP 基序, 以及 C 端 F-肌动蛋白结合结构域。ABL1 还包括一个 DNA 结合结构域、核定位信号和核输出信号, 并介导 DNA 损伤修复。ABL2 主要通过其 F-肌动蛋白和微管结合结构域存在于细胞质中的富含肌动蛋白的区域, 并介导细胞骨架重塑。ABL 激酶的激活通过自抑制的分子内相互作用、与其他蛋白质的分子间相互作用来破坏或维持自抑制构象以及 Src 或其他蛋白介导的酪氨酸磷酸化 (如通过 Y245 和 Y412 磷酸化激活 ABL1)、丝氨酸/苏氨酸磷酸化、乙酰化、肉豆蔻酰化和多泛素化等翻译后修饰进行严格调控。ABL 的致癌突变, 包括在白血病中由染色体易位引起融合蛋白形成 (如费城染色体阳性 (Ph<sup>+</sup>) 慢性粒细胞白血病 (CML) 中的 BCR-ABL1) 以及在实体瘤中的扩增和体细胞突变, 可持续激活 ABL 介导的信号通路, 促进癌细胞的生存、增殖、去分化、迁移和侵袭。

目前已有多种靶向 BCR-ABL 融合蛋白的激酶抑制剂已被开发并用于临床。伊马替尼 (imatinib) 是第一代 BCR-ABL 抑制剂, 为 ATP 竞争性 II 型 TKI。ATP 结合区域的 T315I 突变会导致 ABL 维持活跃构象并对伊马替尼及其他相关 TKI 产生耐药性。伊马替尼中心氨基苯环中的酰胺取代对于酪氨酸激酶抑制至关重要, 而氨基苯环中的 6-甲基残基增加了对 BCR-ABL 的选择性。由于 ABL、c-Kit 和 PDGFR 之间的结构相似性, 伊马替尼也对 PDGFR 和 c-Kit 有抑制作用。为了克服由 ABL 点突变引起的伊马替尼耐药性, 开发了第二代 BCR-ABL 抑制剂。尼洛替尼 (nilotinib) 是一种 ATP 竞争性的 II 型激酶抑制剂, 与伊马替尼相比, 其效力大大提高。与伊马替尼类似, 尼洛替尼抑制 ABL 激

酶的不活跃构象，虽然 T315I 突变的 BCR-ABL 会对其产生耐药性，尼洛替尼可抑制大多数对伊马替尼耐药的 BCR-ABL 突变体。博舒替尼 (bosutinib) 是 ATP 竞争性 SFK/ABL 双抑制剂，具有对与伊马替尼耐药相关的突变，扩增的 BCR-ABL 以及携带 T315I 突变的 BCR-ABL 的抑制作用。博舒替尼已用于治疗对伊马替尼耐药或不耐受的 Ph+ CML 患者。其他临床批准的药物包括拉多替尼 (radotinib)，一种二代 BCR-ABL 抑制剂，对野生型和某些伊马替尼耐药的 BCR-ABL 和 PDGFR 突变形式具有抑制作用；阿西米尼 (asciminib)，一种结合于 BCR-ABL 肉豆蔻酸口袋的变构抑制剂，对 T315I 突变的 BCR-ABL 有效。普那替尼 (ponatinib) 是一种三代抑制剂，对野生型和 T315I 突变的 BCR-ABL 都具有抑制作用，还对多种激酶 (包括 FLT3、c-Kit、VEGFR、PDGFR 和 Src) 的活性具有抑制作用。自 2012 年以来，普那替尼已用于治疗 T315I 阳性的 CML 患者或 T315I 阳性的 Ph+ ALL 患者。

### 5.2.2 靶向下游信号通路的抑制剂

激活的酪氨酸激酶会触发下游效应蛋白的磷酸化和激活，这些效应分子主要是丝氨酸/苏氨酸激酶。主要的相关下游信号通路是 PI3K/Akt/mTOR 和 RAS/RAF/MEK/ERK 通路。这些通路中的很多成员的遗传学改变在各种癌症中都有报道，因此被认为是可成药的靶点。细胞周期蛋白也是这些信号级联的下游效应分子，通过与细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 结合，在调节细胞周期进程和各种生化过程 (如基因转录、DNA 损伤修复和代谢) 中起重要作用。在各种癌症类型中都观察到细胞周期蛋白和 CDK 的改变，目前已开发了多种 CDK 抑制剂并获得了临床使用的批准。

#### (1) RAS/RAF/MEK/ERK 抑制剂

RAS 是一种鸟嘌呤核苷酸结合蛋白，在细胞增殖和分化中起重要作用，RAS 的法尼基化 (由 RAS 法尼基转移酶 FTase 催化) 对 RAS 的膜结合及其转化活性至关重要。RAS 突变通常会持续激活。在三种 RAS 家族成员中 (KRAS、HRAS 和 NRAS)，KRAS 是最常见的突变成员，其 G12D、G12V、G12C、G13D 和 Q61R 是癌症患者中最显著的 RAS 突变。基于 RAS FTase 在调节 RAS 转化活性中的重要作用，已研发了几种 FTase 抑制剂，但由于疗效有限，尚无一种被批准临床使用。最近，两种靶向 KRAS<sup>G12C</sup> 突变的抑制剂，索托拉西布 (sotorasib) 以及阿达格拉西布 (adagrasib) 已获批上市。

GTP 结合状态下的激活 RAS 导致 RAF 蛋白的结合，形成 RAF 同源或异源二聚体，RAF 磷酸化，随后激活下游信号分子 MEK 和 ERK。在三种 RAF 家族成员中 (ARAF、BRAF 和 CRAF)，BRAF 的突变，尤其是 V600 残基 (如 V600E) 的突变，在几种癌症 (包括黑色素瘤、乳头状甲状腺癌和结直肠癌) 中高频发生。V600E 突变可导致 BRAF 非 RAS 依赖性的激活，占肿瘤 BRAF 突变病例的 90% 以上。目前已有三种 RAF 抑制剂和三种 MEK 抑制剂用于临床治疗。表 X 中列出了临床批准的 BRAF 和 MEK 抑制剂。

#### (2) PI3K/Akt/mTOR 抑制剂

PI3K/Akt/mTOR 通路在调节细胞增殖、生存、生长和代谢中起重要作用。通过 PIK3CA

突变或扩增（编码 PI3K 的 p110 $\alpha$  亚基）、磷酸酶和 PTEN 失活及 mTOR 的过度激活所导致的 PI3K/Akt/mTOR 通路失调在各种癌症类型中普遍存在并与肿瘤抗药性相关。因此已有不少针对 PI3K、Akt 和 mTOR 的抑制剂临床实验中，其中一些已获批上市用于肿瘤治疗。由于 PI3K、p110 $\gamma$  和 p110 $\delta$  亚基在造血系统中特异性表达，PI3K 通路调节 B 细胞受体 (BCR) 信号传导的关联性，以及泛 PI3K 或双 PI3K/mTOR 抑制剂的不良毒性，特异性靶向 PI3K $\delta$  或 PI3K $\gamma$  的 PI3K 抑制剂已用于淋巴瘤患者的治疗。一些 mTOR 抑制剂，特别是与 FKBP12 形成复合物并抑制 mTORC1（但不抑制 mTORC2）活性的雷帕霉素类似物已获批临床使用。表 X 中列出了临床使用的 PI3K（如 idelalisib、duvelisib、copanlisib 和 alpelisib）和 mTOR 抑制剂（如 sirolimus、temsirolimus 和 everolimus）。

### （3）CDK 抑制剂

在 CDK 家族蛋白的 20 多个成员中，CDK4 和 CDK6 可通过多种方式调控细胞周期，例如诱导参与细胞周期从 G1 期到 S 期进程、DNA 复制、染色质结构、染色体分离等过程的蛋白表达，以及纺锤体组装检查点相关蛋白的磷酸化（包括视网膜母细胞瘤致癌蛋白 RB）并激活 E2F 介导的转录，从而在促进细胞周期进程中发挥关键作用。因此，CDK4/6 被认为是有吸引力的抗癌治疗靶标。三种 CDK4/6 抑制剂，哌柏西利（Palbociclib）、瑞波西利（ribociclib）和玻玛西尼（abemaciclib），已用于治疗 HR 阳性晚期乳腺癌患者。

## 5.2.3 靶向抑癌基因

肿瘤抑制因子是肿瘤中最常见的突变基因，但针对它们的靶向治疗比较困难，因为恢复突变蛋白质的功能通常比抑制其功能更困难。尽管如此，目前已有一些基于抑癌基因突变导致合成致死（synthetic lethality）原理的药物已获批临床应用。

### （1）靶向 BRCA1/2

BRCA1 和 BRCA2 通过同源重组（HR）修复双链断裂（DSBs），从而维持基因组完整性，其突变在乳腺癌和卵巢癌中常见。BRCA1/2 突变可导致对 PARP 抑制剂的敏感性。PARP1 是一种 DNA 损伤感受器，它与单链 DNA 断裂结合，并在自身和 DNA 断裂附近的目标蛋白上合成多聚 ADP-核糖（PAR）链，从而招募额外的 DNA 修复效应分子。PARP 抑制剂与 PARP1 的辅因子 NAD<sup>+</sup> 竞争，抑制 PARP 催化活性，将 PARP“捕获”在受损 DNA 上，导致复制叉停滞和 DSBs。在 HR 功能正常的细胞中，HR 相关蛋白包括 BRCA1/2 会被招募进行 DNA 修复。然而，BRCA1/2 突变细胞会转向易错（error-prone）的非同源末端连接修复，导致基因组碎片化和细胞死亡。多种 PARP 抑制剂显示出显著的临床效果，包括奥拉帕利（olaparib）、尼拉帕利（niraparib）、瑞卡帕布（rucaparib）、他拉唑帕尼（talazoparib）和维利帕尼（veliparib）。此外，没有 BRCA1/2 突变的患者也可能对 PARP 抑制也有反应，包括一些其他 HR 相关基因（如 RAD51、PALB2）突变的患者。

### （2）靶向 TP53

抑癌基因 TP53 是癌症中最常见的突变基因。大约 90% 的 TP53 突变是发生在其 DNA 结合结构域的错义突变，导致功能丧失或功能获得。大多数 TP53 错义突变会改

变 p53 蛋白的构象，因此寻找能够稳定 p53 构象的小分子是研发 TP53 靶向药的主要思路，然而目前还没有临床批准针对 TP53 突变的靶向药。APR-246 是目前在临床实验阶段的 p53 重激活剂，其本身是一种前药，分解产物可与 p53 中的两个半胱氨酸残基形成共价键，从而热稳定突变蛋白，有利于向野生型 p53 构象的转变。在临床试验中，APR-246 能够恢复 p53 DNA 结合功能和激活凋亡。

## 5.2.4 靶向表观调控因子

除了遗传学水平的改变，肿瘤细胞基因组通常也具有异常的表现遗传修饰，很多表观调控因子的高频突变在很多肿瘤类型中都被报道。表观修饰调控因子按功能可分为书写器 (writer)，阅读器 (reader)，擦除器 (eraser) 和移动器 (mover)。书写器添加修饰，包括 DNA 甲基转移酶 (DNMT)、组蛋白赖氨酸甲基转移酶 (KMT) 和组蛋白乙酰转移酶 (HAT)，而擦除器去除翻译后修饰，包括组蛋白赖氨酸去甲基化酶 (KDM) 和组蛋白去乙酰化酶 (HDAC)。阅读器通过特定的结构域可识别相应修饰。移动器是染色质重塑蛋白，它们移动核小体并实现基因转录。尽管已有众多表观遗传调控蛋白被报道可作为潜在的抗肿瘤靶点，但目前只有少数表观遗传药物获准临床使用。

### (1) 靶向 DNA 甲基化转移酶

DNA 甲基转移酶(DNA Methyltransferases, DNMT)是催化 DNA 甲基化的一类重要酶的统称，哺乳动物细胞中已知有活性的 DNMT 有 3 种，分别是 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b。DNMT1 可维持复制过程中甲基化位点的遗传稳定性，DNMT3a 和 DNMT3b 可催化新的甲基化位点形成。研究证明 DNA 甲基化异常与肿瘤发生有关。在多种肿瘤细胞中，DNMT 表达上调和抑癌基因的不正常甲基化抑制了抑癌基因的表达，使细胞周期失控，发生癌变。目前已有两种 DNMT 抑制剂阿扎胞苷 (azacitidine) 和地西他滨 (decitabine) 获批上市用于治疗急性髓性白血病、慢性粒单核细胞白血病和骨髓增生异常综合征。16%~17%的骨髓增生异常综合征患者和 20%~40%的 AML 患者接受上述药物治疗后可达到缓解。

### (2) HDAC 抑制剂

组蛋白去乙酰化酶(Histone Deacetylase, HDAC)对染色体的结构修饰和基因表达调控发挥着重要的作用。在癌细胞中，HDAC 的过度表达导致去乙酰化作用的增强，通过恢复组蛋白正电荷，增加了 DNA 与组蛋白之间的引力，使松弛的核小体变得十分紧密，抑制抑癌基因的表达。

目前有 4 种 HDAC 抑制剂，伏立诺他 (vorinostat)、罗米地辛 (romidepsin)、贝利司他 (belinostat) 和帕比司他 (panobinostat) 已获得美国 FDA 批准，第 5 种药物西达本胺 (chidamide) 已获得我国药监局的批准上市。伏立诺他和罗米地辛已被美国 FDA 批准用于治疗皮肤 T 细胞淋巴瘤，罗米地辛和贝利司他已被批准用于治疗周围 T 细胞淋巴瘤，帕比司他联合地塞米松已被批准用于治疗多发性骨髓瘤。抑制 HDAC 可实现全基因组多种乙酰化的上调 (如 H3K9ac、H3K18ac、H3K23ac、H3K56ac、H4K5ac、H4K8ac

和 H4K16ac)。通过直接结合 HDAC，抑制剂可阻止赖氨酸去乙酰化，从而实现不受限制的 HAT 活性和高乙酰化。乙酰化会中和带正电荷的赖氨酸，减少它们对带负电荷的 DNA 的静电吸引力，这样可使染色质结构松弛并开放染色质，从而转录可抑制细胞生长或诱导分化表型的基因。这一过程被认为是 HDAC 抑制剂的典型作用机制。

### (3) HMT 抑制剂

组蛋白甲基转移酶(histone methyltransferases, HMTs)是组蛋白修饰的关键酶，其中 EZH2 编码的组蛋白甲基化转移酶在药物研究中具有巨大的临床意义。该酶突变或异常激活与细胞异常增殖相关联，EZH2 靶点抑制剂能够抑制 H3K27 甲基化，从而抑制肿瘤的增长。他泽司他 (tazemetostat) 是目前最成熟的 EZH2 抑制剂，先后被批准应用于 EZH2 突变淋巴瘤和 INI1 缺失的软组织肉瘤。伐美妥司他 (valemertostat) 是 EZH1/EZH2 的双重抑制剂已在日本被批准上市用于治疗成人 T 细胞白血病/淋巴瘤 (ATL)。

### 本章小结