

一个有机体加以综合分析,才能得出合理的结论。

## 摘 要

真核基因的表达调控是当前分子生物学研究领域的前沿科学,其中的发展日新月异,涉及面广,从染色质结构的改变到转录因子间的相互作用形成了一个复杂的网络关系,各因素之间的协调作用是真核生物体内基因表达调控的关键所在。

## 参 考 文 献

- [1] Peter, C L. and Tamkun, K W., 1995, *Trends Biochem. Sci.*, **20**:143-146.
- [2] Kingston, R E. et al., 1996, *Genes Dev.*, **10**: 905-920.
- [3] Hartzog, G A. and Winston, F., 1997, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **7**:192-198.
- [4] Tsukiyama, T. and Wu, C., 1997, *Cell*, **83**: 1011-1020.
- [5] Eisen, J A. et al., 1995, *Nucleic Acids Res.*, **23**:2715-2723.
- [6] Cote, H. et al., 1994, *Science*, **265**:53-60.
- [7] Burns, L G. and Peterson, C L., 1997, *Mol. Cell. Biol.*, **17**:4811-4819.
- [8] Gaudreau, L. et al., 1997, *Cell*, **89**:55-62.
- [9] Koleske, A J. and Young, R A., 1995, *Trends Biochem. Sci.*, **20**:113-116.
- [10] Ptashne, M. and Gann, A., 1997, *Nature*,

386:569-577.

- [11] Kim, Y J. et al., 1994, *Cell*, **77**:599-608.
- [12] Loidl, P., 1994, *Chromosoma*, **103**: 441-449.
- [13] Turner, B M., 1995, *Semin. Cell Biol.*, **6**: 229-236.
- [14] Grant, P A. et al., 1998, *Trends Cell Bio.*, **8**:193-197.
- [15] Turner, B M. et al., 1992, *Cell*, **69**: 375-384.
- [16] Lusser, A. et al., 1997, *Science*, **277**: 88-91.
- [17] Pazin, M J. and Kadonaga, J T., 1997, *Cell*, **89**:325-328.
- [18] Grant, P A. et al., 1997, *Genes Dev.*, **11**: 1640-1650.
- [19] Roberts, S M. and Winston, F., 1997, *Genetics*, **147**:451-465.
- [20] Ito, T. et al., 1997, *Genes Cell*, **2**:593-600.
- [21] Roth, S Y. and Alles, C D., 1996, *Cell*, **87**:5-8.
- [22] Smith, S. and Stillman, B., 1989, *Cell*, **58**:15-25.
- [23] Kamakaka, R T. et al., 1996, *Mol. Cell. Bio.*, **16**:810-817.
- [24] Tsukiyama, T. et al., 1995, *Cell*, **83**:1021-1026.
- [25] Varga-Weisz, P D. et al., 1997, *Nature*, **388**:598-602.
- [26] Ito, T. et al., 1997, *Cell*, **90**:145-155.
- [27] Taunton, J. et al., 1996, *Science*, **272**:408-411.
- [28] Tyler, J K. et al., 1996, *Mol. Cell. Bio.*, **16**: 6149-6159.

## 果蝇发育基因 Patched 与人皮肤基底细胞癌的发生

郑 杰

(南京铁道医学院病理教研室 南京 210009)

基底细胞癌(basal cell carcinoma, BCC)是一种起源于多潜能干细胞的皮肤恶性肿瘤,它常见于40岁以后的中老年人。肿瘤一般生长缓慢,呈浸润性生长,但很少发生转移。BCC常见于头颈部或其他日光照射部位,与280-320nm的紫外线辐射有很大关系。除了上述所谓散发性BCC外,约1%的BCC发生于遗传性疾病痣样基底细胞癌综合征(nevoid basal cell carcinoma syndrome, NBCCS,又称Gorlin氏

综合征)。NBCCS是一种常染色体显性遗传的疾病,特别容易发生皮肤基底细胞癌,还常伴有一些其他发育异常<sup>[1]</sup>,这说明NBCCS基因除了参与细胞的生长和分化外,还与正常发育有关。NBCCS基因目前已被克隆,它定位于染色体9q22.3。NBCCS基因现通常称作PTCH,因为该基因与果蝇发育基因patched(Ptc)同源,两者在核苷酸和氨基酸水平上分别有67%和60%的同源性<sup>[2,3]</sup>。许多遗传分析显示大多数遗

传性和非遗传性基底细胞癌患者都有染色体 9q22.3 区域的杂合性缺失 (loss of heterozygosity, LOH) 或 PTCH 基因突变, 提示 PTCH 基因是一种肿瘤抑制基因<sup>[3,4,5]</sup>。本文拟就 PTCH 基因在发育过程中的作用以及在人皮肤基底细胞癌发生过程中的角色作一简要综述。

### 痣样基底细胞癌综合征

一般认为肿瘤的发生是多基因多阶段作用的结果, 但 BCC 的发生目前认为与癌基因的激活关系不大, 而与果蝇发育基因 Ptc 同源的基因 PTCH 失活有很大关系<sup>[3,6]</sup>。众所周知, 许多人类遗传性肿瘤的发生与抑癌基因的突变或失活有很大关系, 例如家族性视网膜细胞瘤患者有 RB 基因突变、家族性肾母细胞瘤患者有 WT1 基因突变。NBCCS 是一种常染色体显性遗传的疾病, 特别容易发生皮肤基底细胞癌, 另外还容易发生髓母细胞瘤、卵巢纤维瘤、脑膜瘤、横纹肌肉瘤等。除了肿瘤外, NBCCS 还常伴有一些其他发育异常, 如牙齿、中脑畸形、颌骨囊肿、斜视、肋骨和脊柱异常、异位钙化、肠系膜囊肿等<sup>[1]</sup>。这些临床特点说明 NBCCS 基因除了与细胞生长和分化有关外, 还参与正常胚胎发育。NBCCS 基因目前已被克隆, 它定位于染色体 9q22.3, 与果蝇发育基因 ptc 同源<sup>[3]</sup>。许多遗传分析显示大多数家族性或散发性 BCC 患者都有染色体 9q22.3 区域的杂合性缺失或突变, 导致 PTCH 蛋白的截短或不稳定<sup>[7,8]</sup>, 说明 PTCH 基因是一种肿瘤抑制基因<sup>[3-5]</sup>。

PTCH 基因可被认为是一种遗传性癌基因 (inherited cancer genes)。所谓遗传性癌基因是指某一突变等位基因, 在经生殖细胞传给后代后, 会产生很高的肿瘤外显率。由于 NBCCS 患者体细胞存在 PTCH 基因突变, 即生殖细胞已有第一次“打击” (hit), 出生后只需再“打击”一次便可发病。故同散发性基底细胞癌比较, NBCCS 患者发生基底细胞癌的年龄较年轻, 而且呈多发性。这种情况就如同家族性视网膜细

胞瘤患者有 RB 基因突变, Li-Fraumeni 综合征患者有 TP53 基因突变一样, 他们发生肿瘤的年纪均较轻, 而且呈多发性。NBCCS 患者的发病情况符合 Knudson 的“二次打击模式或二次突变学说”<sup>[9]</sup>。

### Ptc 与果蝇胚胎发育控制 基因 hedgehog 的关系

Hedgehog (Hh) 基因是果蝇早期发育控制基因, 它控制果蝇发育过程中幼虫体节和器官芽正确位置和分化。Ptc 蛋白和 smoothened (Smo) 蛋白被认为是 Hh 基因编码蛋白的受体, 参与 Hh 蛋白信号传导。DNA 序列分析显示 Ptc 蛋白是一含有十二次跨膜结构域的膜蛋白, 有两个大的胞外结构域 (loop), 这两个大的胞外结构域对结合 Hh 蛋白是必不可少的, 它负调节 Hh 的功能<sup>[3]</sup>。Ptc 的突变或缺失可使 Hh 信号持续表达, Hh 过度表达可在小鼠诱发出 BCC<sup>[10]</sup>。肿瘤抑制基因蛋白以膜蛋白形式存在的目前仅发现 Ptc 蛋白一个。Smo 蛋白是一种七次跨膜蛋白, 它是 Hh 信号途径必不可少的, Smo 突变显示的表型与 Hh 突变显示的表型一致。但最近许多实验室的研究结果显示 Ptc 蛋白是 Hh 的特异性受体, 而 Smo 蛋白不是<sup>[8,11]</sup>。在正常情况下, Smo 与 Ptc 是以一种无活性复合体形式存在, 当 Hh 结合到 Ptc 后, Smo 与 Ptc 复合体的构型发生变化, Smo 从复合体游离出来, 它通过对转录因子 fused (Fu) 和 cubitus interruptus (Ci) 的正调节作用, 从而导致 Hh 靶基因的表达<sup>[8,12]</sup> (见图)。在果蝇, Ci 已显示是一锌指蛋白, 结合到 DNA 后能引起 DNA 的转录。与果蝇转录因子 Ci 同源的人基因为 Gli, Gli 被认为是一种与脑肿瘤发生有关的肿瘤基因<sup>[13]</sup>。当 Ptc 突变或丢失时, Smo 蛋白可能始终处于激活状态, 这将导致 Hh 信号的失控, 使 Gli 的持续激活, Gli 的高表达将会导致 BCC 的发生<sup>[14]</sup>。另外 Hh 信号的失控, 将会导致 decapentaplegic (Dpp), wingless (Wg) 和 Ptc 这些 Hh 靶基因的过度表达<sup>[8,15,16]</sup>。Hh

基因信号途径在真核生物是高度保守的,它不仅存在于果蝇,也存在于其他脊椎动物<sup>[2]</sup>。上调 Hh 靶基因的表达水平可能有助于肿瘤的发生。果蝇无翼(Wg)基因的脊椎动物同源序列 Wnt 基因(以往称为 Int1)激活时可在小鼠诱发出肿瘤<sup>[17]</sup>。正常情况下,PTCH 基因的表达水平低到几乎检测不出,但在发生 BCC 时,使用 Northern 印迹法和原位杂交方法很容易发现 PTCH 基因表达,表达水平呈上调现象<sup>[5]</sup>。另外发生 BCC 时,其他 Hh 靶基因的表达也呈上调现象。

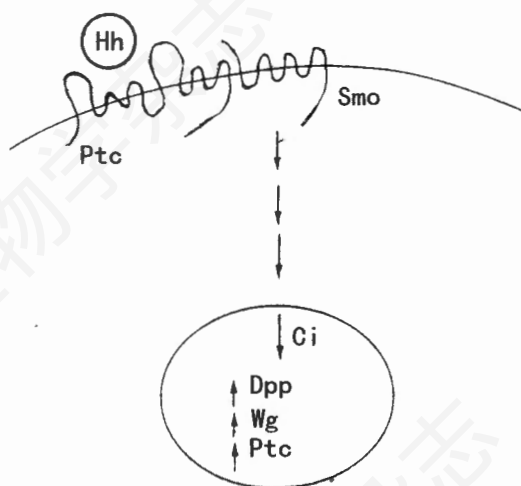


图 Hh 的信号传导途径

Ptc 被认为是 Hh 蛋白的受体,Ptc 通过与 Smo 形成复合体从而干扰 Hh 的信号传导,抑制 Hh 靶基因的转录。当 Hh 结合到 Ptc 后,Ptc 与 Smo 复合体的构型发生变化,Smo 从复合体游离出来,通过对 Ci 的正调节作用,从而导致 Hh 靶基因(Dpp,Wg 和 Ptc)的表达。

## PTCH 和基底细胞癌

如同 NBCCS 患者体细胞存在 PTCH 基因突变,散发性基底细胞癌也有较高比例的 PTCH 基因突变,也表现 9 号染色体上 PTCH 基因的杂合性缺失。当然基底细胞癌也会有其他染色体的丢失或突变,但无 9 号染色体变化的基底细胞癌是不存在的<sup>[18]</sup>。使用单链构象多态性(single-strand conformation polymorphism, SSCP)技术,Gailani 等人<sup>[15]</sup>对 36 例散

发性基底细胞癌患者的 Ptc 基因进行分析,发现 12 例有 PTCH 基因的突变失活,其中 9 例是 PTCH 基因的 LOH。另外 3 例有突变,但无 PTCH 基因的 LOH。其中仅 1/3 患者有 PTCH 基因的突变失活,可能与 SSCP 技术不够敏感有关。如果使用直接测序,将会有更高比例的 PTCH 基因的突变被检出。

1992 年 Gailani 等人<sup>[18]</sup>研究了 16 例散发性基底细胞癌,2 例遗传性基底细胞癌和 1 例遗传性卵巢纤维瘤的分子遗传学改变,发现 11/16 散发性基底细胞癌患者和 3 例遗传性肿瘤患者均有 9q31 等位基因的缺失。1996 年 Gailani 等人<sup>[19]</sup>又发表了他们新的研究报告,他们分析了 47 例 BCC 患者,不管肿瘤是否发生在日光照射部位和组织学特征如何,32(68%)例有 9q 等位基因的 LOH,说明 9q 等位基因的 LOH 比日光照射对皮肤 BCC 发生的意义更大。这些研究表明 9q22 存在的 PTCH 基因是一种肿瘤易感的“看门基因”(gatekeeper gene),它是皮肤 BCC 发生的第一关<sup>[20]</sup>。PTCH 基因的突变或失活可始发皮肤 BCC,但 BCC 的形成仍需其他基因突变,如肿瘤抑制基因 TP53 的失活或突变对 BCC 的生长可能起到促进作用。类似的肿瘤易感的“看门基因”还有视网膜细胞瘤患者的 RB 基因,结肠癌的 APC 基因,黑色素瘤的 CDK4 基因等。

由于 PTCH 基因属于肿瘤抑制基因(表现隐性遗传特性),故散发性基底细胞癌患者体细胞的 PTCH 基因需要两次突变才能诱发出肿瘤。因此同 NBCCS 患者的发病情况比较,散发性基底细胞癌患者发生基底细胞癌的年龄大多在 40 岁以后,60 岁才达到高峰,而且呈单发性。

PTCH 基因突变不仅见于 BCC,而且也被发现在某些皮肤良性肿瘤。Vorechovsky 等人<sup>[16]</sup>分析了 9 例毛发上皮瘤(在起源上可能与 BCC 类似),发现 2 例有 PTCH 基因移码突变和 mRNA 过度表达,提示 PTCH 基因也控制着其他皮肤肿瘤的发生,也充当其他某些皮肤

肿瘤的看门基因。除了皮肤肿瘤外,PTCH 基因突变也被发现存在于髓母细胞瘤<sup>[21]</sup>,髓母细胞瘤是一种神经外胚叶肿瘤,中枢神经系统缺陷是 NBCCS 的临床特点之一。但从目前的研究结果来看,皮肤<sup>[22]</sup>、肺和食管鳞癌是缺乏 PTCH 基因突变的<sup>[23]</sup>,提示这些肿瘤的发生不是由 PTCH 基因的突变所引起,而是与其他未知肿瘤抑制基因的突变有关。

## 结 语

大约 1/100 的癌起源于癌症易感遗传性疾病。对于这些癌症易感遗传性疾病的研究具有重要意义,它不仅可以提供遗传性癌和相应散发性癌的发病原因,而且还可验证很多发育调控方面的知识。NBCCS 是一种罕见的肿瘤易感同时又伴有明显的发育异常的常染色体显性遗传性疾病,它目前被认为主要与果蝇发育基因 Ptc 同源的 PTCH 基因突变或 LOH 有关。PTCH 基因突变或 LOH 主要影响遗传性癌和散发性 BCC 始动过程,其他肿瘤抑制基因如 TP53 的失活或突变可促进 BCC 的生长。因此对该基因的进一步研究,将有助于产生更多的分化与生长控制之间关系方面的知识。

## 参 考 文 献

- [1] Gorlin, R. J. 1995, *Dermatol. Clin.*, **13**: 113—125.
- [2] Hahn, H. et al., 1996, *J. Biol. Chem.*, **271** (21): 12125—12128.
- [3] Hahn, H. et al., 1996, *Cell*, **85**: 841—851.
- [4] Johnson, R. L. et al., 1996, *Science*, **272**: 1668—1671.
- [5] Gailani, M. R. et al., 1996, *Nat. Genet.*, **14**: 78—81.
- [6] Ananthaswamy, H. N. et al., 1996, *Cancer Res*, **48**: 3341—3346.
- [7] Chidambaram, A. et al., 1996, *Cancer Res*, **56**: 4562—4565.
- [8] Stone, D. M. et al., 1996, *Nature*, **384**: 129—134.
- [9] Knudson, A. G. 1971, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**: 820—823.
- [10] Oro, A. E. et al., 1997, *Science*, **276**: 817—821.
- [11] Altaba, A. R. 1997, *Cell*, **90**: 193—196.
- [12] Therond, P. P. et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**: 4224—4228.
- [13] Kinzler, K. W. et al., 1987, *Science*, **236**: 70—73.
- [14] Dahmane, N. et al., 1997, *Nature*, **389**: 876—881.
- [15] Gailani, M. R. and Bale, A. E. 1997, *J. Natl. Cancer Inst.*, **89**: 1103—1109.
- [16] Vorechovsky, I. et al., 1997, *Cancer Res.*, **57**: 4677—4681.
- [17] Nusse, R. J. 1994, *Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **43**: 9—12.
- [18] Gailani, M. R. et al., 1992, *Cell*, **69**: 111—117.
- [19] Gailani, M. R. et al., 1996, *J. Natl. Cancer Inst.*, **88**: 349—354.
- [20] Sidransky, D. 1996, *Nat. Genet.*, **14**: 7—8.
- [21] Raffell, C. et al., 1997, *Cancer Res.*, **57**: 842—845.
- [22] Eklund, L. K. et al., 1998, *Mol. Carcinog.*, **21**(2): 87—92.
- [23] Suzuki, K. et al., 1997, *Jpn. J. Cancer Res.*, **88**: 225—228.

## 端 粒 酶 与 肿 瘤

张如刚 袁金辉 谢 弘

(中国科学院上海细胞生物学研究所 上海 200031)

端粒(telomere)是存在于真核生物线性染色体末端,由串联重复的 DNA 序列及其相关蛋白所组成的结构。由于能防止染色体的端-端融合、重组和降解,故具有稳定染色体的作用。众所周知,参与真核生物线性 DNA 复制的

DNA 聚合酶并不能使染色体 DNA 完全复制,因而染色体末端的端粒序列在不断分裂的过程中逐渐缩短。当人染色体的末端,又称末端限制片断 TPF (terminal restriction fragments),缩短到 5—7Kbp 时,细胞就会发生衰老<sup>[1]</sup>,因此,