

- cal Responses in Cancer Progress toward Potential Applications, 2: 121—144.
- [10] Trinchieri G, et al., 1985, *Immunology Today*, 6: 131—136.
- [11] Herberman RB, et al., 1984, In: Natural Killer Activity and Its Regulation, Hoshino T, et al., Excerpta Medica, P. 409—414.
- [12] Reynolds CW, et al., 1982, *Eur J. Immunol.*, 12: 557—582.
- [13] Minato N, et al., 1982, *J. Exp. Med.*, 152: 124—137.
- [14] Robb RJ, 1984, *Immunology Today*, 5: 203—209.
- [15] Nikaido T, et al., 1984, *Nature*, 311: 631—635.
- [16] Leonard WJ, et al., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 6957—6961.
- [17] Domzig W, et al., 1983, et al., 130: 1970—1973.
- [18] Andrew JH, et al., 1985, *J. Immunol. Meds.*, 83: 1—27.
- [19] Oppenheim JJ, et al., 1986, *Immunology Today*, 7: 45—56.
- [20] March CJ, et al., 1985, *Nature*, 315: 641—646.
- [21] Dinarello CA, 1984, *Rev. Infect. Dis.*, 6: 51—95.
- [22] Scala G, et al., 1984, *Nature*, 309: 56—59.
- [23] Herman J, et al., 1985, *J. Immunol.*, 135: 2882—2886.
- [24] Fruehauf JP, et al., 1982, *Immunopharmacology*, 5: 65—74.
- [25] 张宗梁等, 1984, *实验生物学报*, 17: 435—445.
- [26] 张宗梁等, 1985, *实验生物学报*, 18: 417—431.
- [27] Ichimura O, et al., 1983, In: Proceedings of 13 International Congress of Chemotherapy, Vienna, Austria, Janssen Pharmaceutica, P. 287/454.
- [28] Ichimura O, et al., 1984, In: Natural Killer Activity and Its Regulation, Hoshino T, et al., Excerpta Medica, P. 208—213.
- [29] Allavena P, 1985, *Cancer. Immunol. Immunotherapy*, 19: 121—126.
- [30] Procopio ADG, et al., 1985, *J. Immunol.*, 135: 3264—3271.

## 癌症研究的新前沿——肿瘤形成的遗传抑制(续)

Ruth Sager

与正常细胞的胞间相互作用所产生的转化细胞生长的抑制效应

正常细胞可以产生抑制转化细胞生长的物质。20多年前, Stoker 报道多瘤病毒转化的 BHK 细胞(一株叙利亚仓鼠肾细胞)的生长受到正常小鼠纤维母细胞的抑制<sup>[53]</sup>。汇合生长的单层正常细胞抑制了与其接触的多瘤病毒转化的 BHK 细胞的生长。一旦细胞单层形成, X 光照射也不能减弱这一抑制效应。Stoker 认为该效应是由正常细胞内的生长抑制分子所介导的, 它向转化细胞的转移需要细胞间的直接接触。有人提出这种接触通过间隙连接(gap junction), Loewenstein 等对这种看法进行了检验, 他们对细胞的生长进行测量并对荧光示踪剂在细胞间的传递进行测定<sup>[54]</sup>, 并表明细胞生长的抑制与该连接沟通的程度相关。在

正常的与转化的 C3H/10T1/2 细胞系细胞接触时曾看到抑制效应<sup>[55]</sup>, 以此两系细胞为材料实验中, 用腺苷环化酶活化剂(forskolin)或环腺苷磷酸二酯酶提高细胞内环腺一苷的水平, 连结沟通增强, 生长抑制效应达到最高点; 相反用维生素 A (retinol)处理, 胞间沟通减弱, 导致转化细胞群体生长加速。

间隙连接可使分子量在 1500 以下抑制物分子通过, 这包括很少的多肽、脂类, 代谢的中间产物以及离子。但尚未证实生长抑制因子的大小正好在这一范围之内。

### 肿瘤生长抑制的机制

#### 1. 癌基因作用的逆转

虽然单个癌基因不能引起癌症, 但癌基因有很强的细胞表型效应。狭义地说, 肿瘤抑制基因的最简单

的作用机制仅是逆转癌基因的效应。可能,正常基因的等位基因可以抑制突变体的表型。

正常的与变异的 *ras* 的等位基因均已克隆,检验上述看法是可行的<sup>[56]</sup>。*ras* 基因的产物, P 21 是一种 G 蛋白,作为来自膜受体信号的转导者,在细胞内代谢过程中起着关键的作用。虽尚不知 P 21 有何特定的效应,但其可能参予控制细胞的增殖。

P 21 蛋白与 GTP 结合后即处于功能的活化状态。P 21 水解 GTP 成 GDP,该复合体即被去活化,在此意义上,该反应是自我限制的。突变型的与 P 21 在 GTP 的结合上与野生型的并无区别,但在水解活性上则确有差别。突变型水解 GTP 的速度较野生型的慢 10 倍,从而导致活化态的复合体在突变型中累积。显然,这一效应并不因为正常的相应等位基因的竞争而逆转。例如 Chang 等证实 P 21 的表达水平[因 Harvey 肉瘤病毒的末端长重复顺序(LTR)相接]提高引起 NIH<sub>3</sub>T<sub>3</sub> 细胞的转化,而不是使细胞的转化表型受抑<sup>[57]</sup>。

## 2. 生长因子与抑素

细胞生长的调节是一种精密调节的过程。细胞对外来刺激作出反应,特别是对由它种细胞产生的、通过专一膜受体介导的效应因子作出反应。肿瘤细胞的特征之一是减少对生长因子的需求,以及对正常调节机制的敏感性降低。对生长因子的需求是由基因控制的。

抑素是一熟知的细胞增殖的抑制因子,但尚未被纯化。与其有关的文献可见最近的一篇综述<sup>[58]</sup>。由于抑素的含量极低,难以检测并在实验中将其与细胞毒素相区别,对它的研究落后于对生长因子的研究。一些新近的结果是由 Wang 等纤维母细胞生长的抑制物<sup>[59]</sup>以及 Iype 等对大鼠肝细胞的抑制因子的研究<sup>[60]</sup>所提供的。

Holley 已从肾上皮细胞中成功地纯化了一种生长抑制因子<sup>[61]</sup>。晚近的研究表明,该因子与生长促进因子之一, TGF $\beta$ ( $\beta$  型转化生长因子)相同,至少极为类似<sup>[62]</sup>。随着细胞以及实验条件的不同,这类物质可表现促进或抑制生长的性质。维生素 A 酸及其类似物也有同样性质,它们可随细胞类型不同,或使细胞分化或形成肿瘤。仅有生长抑制作用的基因也可能存在,并可能积累在高度受抑的细胞中。例如,前述静止期正常细胞可通过胞间接触而抑制转化细胞的生长的这一事实提示有望从这类细胞中抽提 mRNA,继之选择有抑制效应的基因。

## 3. 干扰素

新近的研究表明,干扰素可抑制细胞的 DNA 复制,包括处于细胞周期中以及由静止期重新进入 G<sub>1</sub> 期的细胞的 DNA 复制<sup>[63]</sup>。 $\beta$ -干扰素与 PDGF(血小板来源的生长因子)联合使用,可阻止由 PDGF 诱导产生的多种蛋白的出现<sup>[63]</sup>。因 PDGF 作用而脱离静止期的 Balb/c<sub>3</sub>T<sub>3</sub> 不仅促进生长因子的基因得以转录,且在细胞周期后期,干扰素合成出现<sup>[64]</sup>。干扰素可能参与与调节正常生长的反馈路线中的抑制相。该反馈路线最初为生长促进相,有促进生长信号出现,而在细胞周期后期则有抑制生长的信号的存在。根据现有的资料,可以认为干扰素是抑素或生长抑制物一类因子。

## 4. 对肿瘤的血管生成的控制

血管生成(angioemesis)指血管网形成的过程。其在成瘤过程中的作用于本世纪初被临床医师注意到了。Folkman 证实直径在 1 毫米以上的肿瘤若无血液供应,则生长停止,而后消退<sup>[65,66]</sup>。肿瘤细胞必须产生并分泌肿瘤血管生成因子(TAF'S)方可生存。从而抑制 TAF'S 产生可成为抑制肿瘤的途径之一。

新近几种有 TAF'S 活性的分子已见报道(67-71)。一种名为血管生成素(angioenin)的分子量约为 13000 的小分子蛋白基因已被克隆<sup>[71]</sup>。由此对其生理功能及其调节研究可望迅速开展。

## 5. 利用表面抗原抑制肿瘤

如果肿瘤细胞带有能被免疫系统所识别的表面抗原,就会对免疫杀伤作用敏感。例如,细胞毒 T 淋巴细胞的作用对象是主组织相容性抗原复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类蛋白,新有证据提示该抗原在抑癌中起作用<sup>[72]</sup>。

Van der Eb 及其同事提供了这类研究的背景,他们探讨了 12 型人腺病毒(Ad 12)在大鼠中致瘤而 5 型人腺病毒(Ad 5)则否的原因<sup>[73,74]</sup>。他们表明在 Ad 12 转化的细胞中 MHC I 类抗原的表达明显受抑,而由 Ad 5 转化的细胞的这些抗原表达很强。无成瘤性(non-tumorigenic)是因为免疫系统认出并杀死带有这类抗原的转化细胞。

Tonaka 等将一个 MHC I 类基因引入这些不表达该基因并且有高度成瘤性的细胞内。得到的那些表达导入的 MHC I 类基因的细胞克隆植入动物后,无成瘤性<sup>[72]</sup>。

## 6. 调节分化过程抑制肿瘤

终末分化细胞已失去分裂的能力,所以不会成为

肿瘤发生的靶细胞。而在分化中间阶段受阻的细胞则是诱发肿瘤以及肿瘤抑制的靶细胞。白血病即是由特定分化阶段的粒细胞或成红细胞衍生而来。与其类似, Rb 与 Wilms' 瘤也是起源于分化中间阶段的细胞。

显然, 如果分化不完全的细胞能够被诱导至终末分化, 则其对生命也就无潜在的威胁了。因此, 维生素 A 及其它一些诱导分化的物质有可能用于抗癌治疗。在遗传性疾病的情况下, 一旦那些与发癌遗传倾向的基因(如 Rb)被证实并克隆, 用其正常的等位基因进行基因治疗也是可行的途径之一。

#### 7. 通过阻止染色体畸变来抑制肿瘤

因为染色体不稳定可产生与癌症相关的遗传变化, 所以抑制肿瘤的最好办法是针对染色体不稳定性本身。但是染色体何以不稳定以及使细胞群体从增生进展高度恶化的原因, 我们都还不清楚。

有人认为, 癌细胞的染色体的不稳定性是可迁移的遗传因子的转座所驱使的<sup>[71]</sup>。对玉米<sup>[76]</sup>以及果蝇<sup>[77]</sup>的研究表明, 转座本身是受遗传控制的。在有关的调节基因被证实后, 阻断转座是可能的。例如, 一些果蝇 P 因子在基因组中有着转座的潜力。对 P 因子基因转录的抑制可使其失活, 无法转座<sup>[78]</sup>。当将 P 因子引入不含有 P 因子及其抑制因子的果蝇受精卵中, 卵的基因组结构便产生紊乱, 出现杂种发育不全的现象 (hybrid dysgenesis)<sup>[79]</sup>。可见, 对转座或任一导致染色体不稳定的抑制能从根本上阻断肿瘤形成过程。

癌细胞中最常见的畸变是染色体的三体化或单体化。这都是由有丝分裂时姐妹染色单体不分离的结果, 一个细胞含有两条完全相同的染色体和一条不完全相同的同源染色体, 而另一个细胞含有另一条。如前所述, 在 Rb 与 Wilms' 肿瘤中, 这一过程是导致染色体的纯合化的机制之一。这一过程的机制可能与转座不同, 应进行单独研究。倘若我们对其机制有所了解, 并人为控制该过程的话, 很多类型的癌即使不被完全清除, 也能得到缓解。

#### 肿瘤抑制基因的鉴定及克隆

在分子水平上对肿瘤抑制因子的研究前景是十分光明的。遗传学的研究方法的威力在于其选择过程不需了解机制。人们可以先选择出无成瘤性的表型细胞, 而将有关生化水平上的研究留到以后去做。如同对癌基因的研究一样, 分子遗传学技术可为解析基因组, 寻找有专一功能的单个基因提供强有力的工具。同样, 细胞遗传学, 特别是 DNA 转染的方法学为鉴

定及检验抗癌基因提供了手段。

以当代生物学手段, 人们可在“DNA→RNA→”蛋白质“过程中选择最适合于它们工作的环节。象成功地证实 H-ras 基因为癌基因那样, 采用转染方法对基因组 DNA 进行筛选这一途径已用来去寻找那些与 RNA 肿瘤病毒无关的癌基因<sup>[81]</sup>。将从表达基因的 mRNA 制备的 cDNA 库插入有表达性质的质粒 DNA 中, 可通过转染选择有兴趣的基因。倘若有抑制功能的蛋白被鉴定, 纯化并进行了顺序分析, 则可根据其氨基酸顺序, 制备寡核苷酸作为探针去分离基因。

对肿瘤抑制进行研究的经典途径是对有抑制功能的蛋白进行生化分离。一些研究者就是采用这一方法<sup>[59-62]</sup>。Holley 已经纯化了一生长抑制物质 (GI) 并证实它与 TGF β 相似, 随着细胞和检验方法的不同可产生促进或抑制生长的效应。

Todaro 等最近从横纹肌肉瘤中部分地纯化了两种细胞生长抑制因子<sup>[82,83]</sup>。这些因子抑制人的肿瘤细胞株的生长, 却促进正常细胞增殖。虽然在化学性质上它们与 TGF β 不同。但与 TGF β 功能上类似, 其效应随细胞不同而异。然而明确地表明鉴定增殖抑制物的性质是困难的, 这反映了生长控制的复杂性, 并可能在目前仍影响这类实验方法的有效性。

与此相反, 遗传学手段则非常有效。一般来说, 是基于寻找那些被正常细胞的 DNA 转染而受抑的肿瘤细胞。之后在实验手段上与用于克隆癌基因的方法相同。

无论采用转染还是其它方法, 诸如电穿导 (electroporation)<sup>[84]</sup>的方法, DNA 的转移都是一个效率很低的过程, 它需要强有力的选择手段去检出受抑制的转染的细胞。根据细胞培养习性上的差别 (如在低血清培养基以及无锚着性生长) 用溴化尿嘧啶十紫外线照射进行负选择, 可从转化细胞群体中选择出回复变异的细胞<sup>[85]</sup>。由于上述特性与成瘤性的相关性并不很好, 这一方法在选择出无成瘤性的回复变异细胞的研究中价值有限。因而应优先考虑选择与成瘤性密切相关的性状。

Noda 和 Bossin 发现 K-ras 转化的 NIH/3T<sub>3</sub> 细胞对 ouabain 比扁平的回复变异细胞敏感<sup>[86]</sup>。倘若肿瘤细胞在对 ouabain 的敏感性普遍与正常细胞的有差别, 用 ouabain 进行正选择是极好的方法。

Der 和 Stanbridge 发现一种见于 HeLa 细胞表面而不见于正常人的纤维母细胞表面的抗原<sup>[87]</sup>。此抗原亦不存在于无成瘤性的 HeLa 与正常人细胞间的杂交细

胞表面,与成瘤能力相关性很好。现在这一抗原的单株抗体已被制备成功<sup>[66]</sup>。这些抗体为用荧光活化分离器从大量转化细胞中分离出其成瘤性受到抑制的细胞提供了基础。同样的原则可应用于其表达与肿瘤状态相关的任一抗原,例如为 Springe 所研究的 T 与 Tm 抗原<sup>[69]</sup>,

因此,建立合适的检测系统,选出成瘤性受抑的细胞是成功地以 DNA 转染方法去克隆抗癌基因的关键。随着筛选方法的改进,我们将会发现一类新的基因,包括我们曾经预期的和尚无法预期的那些基因。后者将会使我们对在肿瘤中紊乱的调节机制有新的了解。

研究抗癌基因受益不浅,不仅可使我们对成瘤抑制有更为完善及全面的理解,而且所提供的知识可有无限的应用前景。这些研究通过有抑制肿瘤活性的抗癌基因产物的鉴定和工业化的生产,为癌症治疗提供一个全新的治疗途径。

中国科学院上海细胞生物研究所

朱景德译

### 参 考 文 献

- [53] Stoker, M., 1964, *Virology* 24:165—174.
- [54] Mehta, P. P., Bertram, J. S., and Lowenstein, W. R., 1986, *Cell* (in press).
- [55] Bertram, J. S., and Faletto, M. B. 1985, *Cancer Res.* 45: 1946—1952.
- [56] Capon, D. J., Chen, E. Y., Levinson, A. D., Seeburg, P. H., and Goeddel, D. V. 1983, *Nature* 302: 33—37.
- [57] Chang, E., Gonda, M. A., Ellis, R. W., Scolnick, E. M., and Lowy, D. R., 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79: 4848—4852.
- [58] Iverson, D. H. The chalones. In: R. Baserga (ed), 1981, *Handbook of Experimental pharmacology*, pp. 491—550. New York: Springer Verlag.
- [59] Hsu, Y. M., Barry, J. M., and Wang, J. L., 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81: 2107—2111.
- [60] McMahon, J. B., Farrelly, J. G., and Iype, P. T., 1982, *Prod. Natl. Acad. Sci.* 79: 456—460.
- [61] Holley, R. W., Bohlen, P., Fava, r., Baldwin, J. H., Kleeman, G., and Armour, R., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 77: 5989—5992.
- [62] Tucker, R. F., Shipley, G. D., Moses, H. L., and Holley, R. W., 1984, *Science* 226: 705—707.
- [63] Tominaga, S., and Lengyel, P., 1985, *J. Biol. Chem.* 260: 1975—1978.
- [64] Zullo, J. N. Cochran, B. H., Huang, A. S., and Stiles, C. D. 1985, *Cell* (in press):
- [65] Folkman, J. 1974, *Cancer Res.* 34: 2109—2113.
- [66] Folkman, J. *Angiogenesis. In: E. A. Jaffe* (ed.), 1984, *Biology of Endothelial Cells*, pp. 412—420. The Netherlands, Martinus-Nijhoff.
- [67] Shing, Y., Folkman, J., Sullivan, R., Butterfield, C., Murray, J., and Klagsbrun, M. 1984, *Science* 223: 1296—1299.
- [68] Maciag, T. 1984. *Prog. Hemostasis Thromb.* 7: 167—182.
- [69] Fett, J. W., Strydom, D. J., Lobb, R. R., Alderman, E. M., Bethune, J. L., Riordan, J. F., and Vallee, B. L. 1985. *Biochemistry* 24: 5480—5486.
- [70] Strydom, D. J., Fett, J. W., Lobb, R. R., Alderman, E. M., Bethune, J. L., Riordan, J. F., and Vallee, B. L. *Biochemistry* 24: 5486—5494.
- [71] Kurachi, K., Davie, E. W., Strydom, D. J., Riordan, J. F., and Vallee, B. L. 1985, *Biochemistry* 24: 5494—5499.
- [72] Tanaka, K., Isselbacher, K. J., Khoury, G., and Jay, G. 1983, *Science* 228: 26—330.
- [73] Schrier, P. I., Bernards, R., Vanssen, R. T. M. J., Houweling, A., and van der Eb, A. J. 1983, *Nature* 305: 771—775.
- [74] Bernards, R., Schrier, P. I. Houweling, A., Bos, J. L., and van der Eb, A. J. 1983, *Nature* 305: 776—779.
- [75] Sager, R. 1984, *Cancer Surveys* 3: 321—334.
- [76] McClintock, B. 1956, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 21: 197—216.
- [77] Rubin, G. M. Dispersed repetitive DNAs in *Drosophila*. In: J. A. Shapiro (ed.), 1983, *Mobile Genetic Elements*, pp. 329—358. New York: Academic Press.
- [78] Bingham, P. M., Kidwell, M. G., and Rubin, G. M. 1982, *Cell* 29: 995—1004.
- [79] Bregliano, J. -C., and Kidwell, M. G. Hybrid dysgenesis determinants. In: J. A.

(下转 160 页)