

第十六章

癌基因、抑癌基因与生长因子

(oncogenes, tumor suppressor genes and growth factors)

大连医科大学

燕秋 于铭

本章要求

- 掌握癌基因和抑癌基因的概念与分类
- 熟悉原癌基因激活的机制,及两种重要的抑癌基因(*TP53*, *Rb*)抑制肿瘤的作用
- 了解常见的生长因子种类及激活下游信号通路机制

第一节 癌基因

- 癌基因的概念
- 癌基因的分类与功能
- 原癌基因激活的机制

一、癌基因（Oncogenes）

定义：

引起体外培养的细胞发生恶性转化，在敏感宿主体内诱发肿瘤的一类基因，因此又称之为转化基因（transforming gene）。

表示方法：

3个小写的斜体字母：*src*, *myc*, *ras* 。

病毒癌基因（viral oncogene, V-onc）

多种引起肿瘤的病毒基因组中都存在癌基因，即**病毒癌基因**。

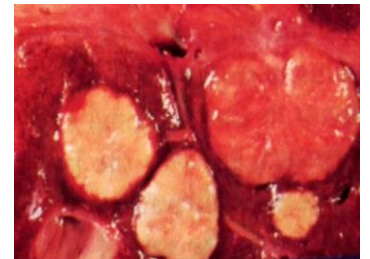


Rous肉瘤病毒（Rous sarcoma virus, RSV）

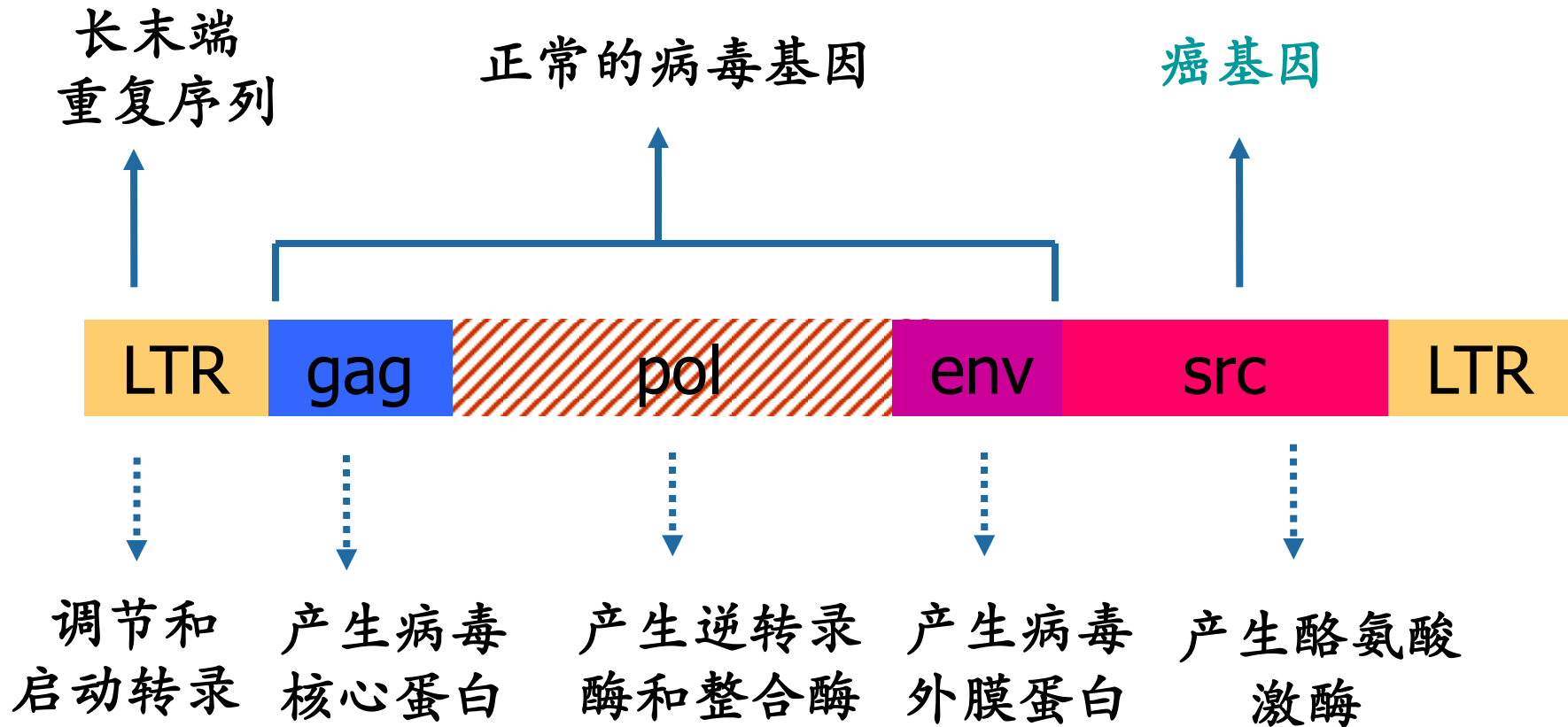


Peyton Rous
1966年获诺贝尔生理或医学奖

1910年从鸡的肉瘤滤液中发现了第一个逆转录病毒（retrovirus），即Rous肉瘤病毒（Rous sarcoma virus, RSV）。鸡肉瘤滤液可诱发新的肿瘤，推测RSV是诱发鸡肉瘤的原因。



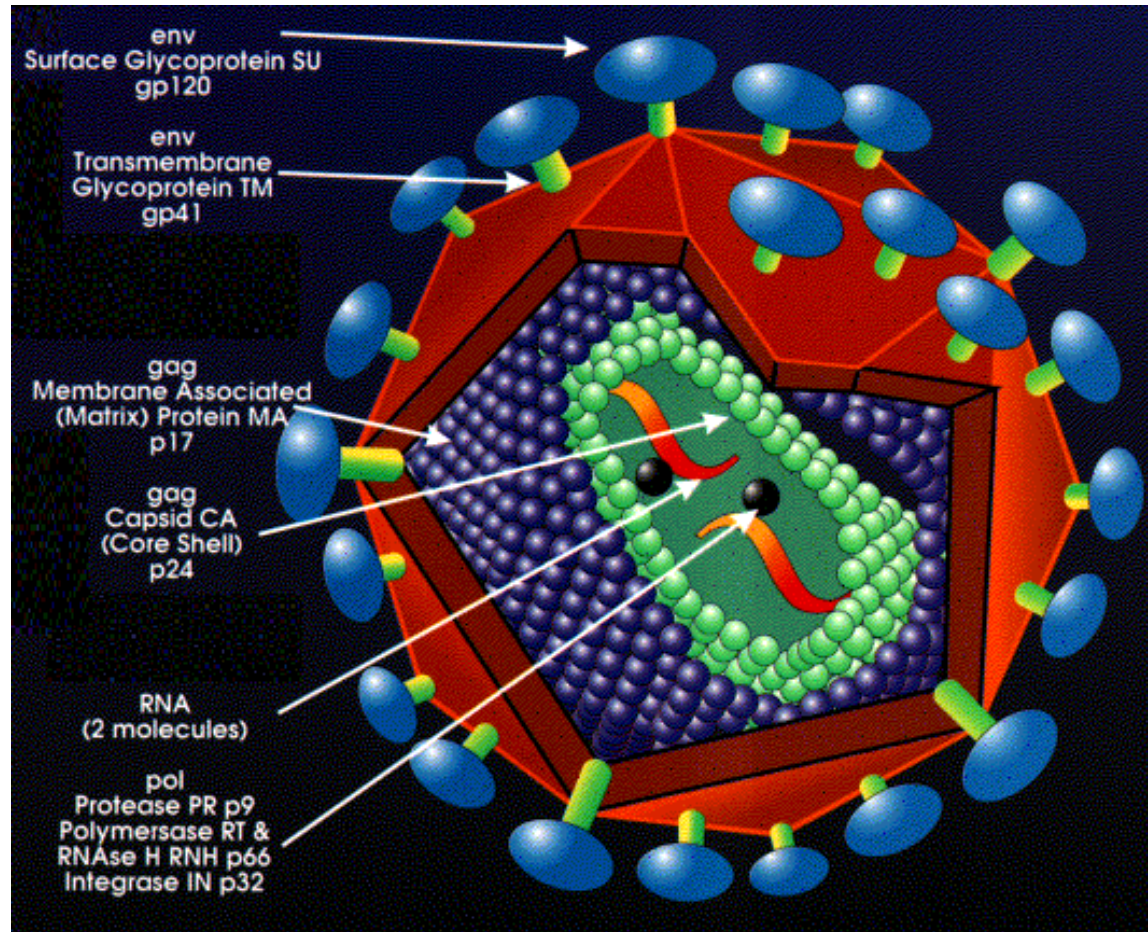
RSV基因组结构



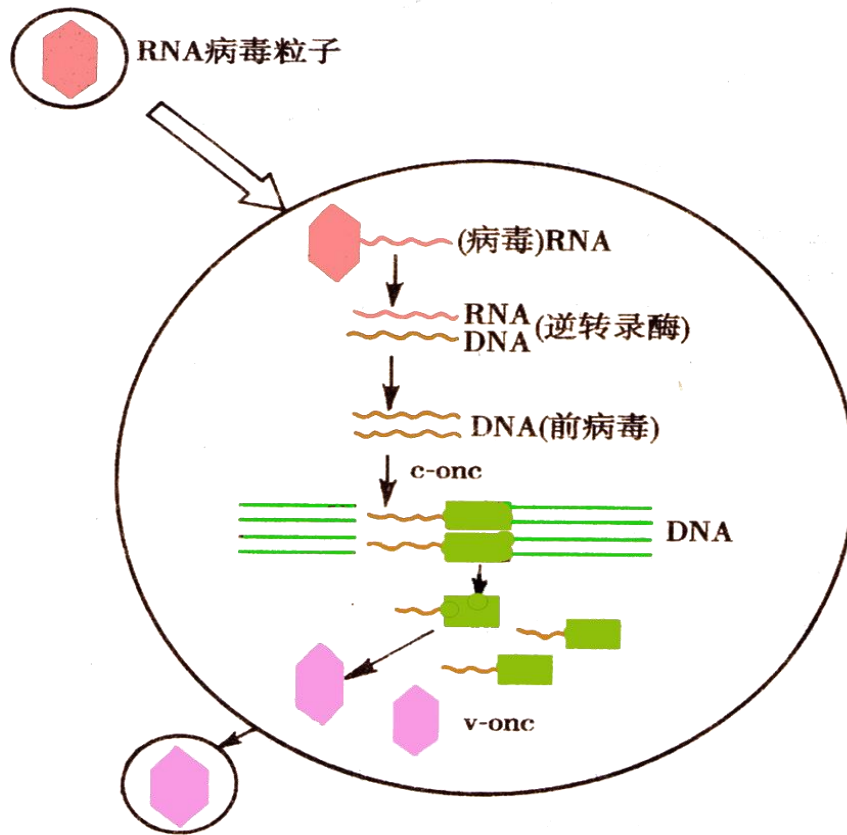
LTR (long terminal repeated sequence) 长末端重复序列

5' LTR: 含有启动子、增强子等转录调节序列;

3' LTR: 含有多聚腺苷酸化信号)



逆转录病毒结构



逆转录病毒的感染过程

病毒 **RNA** 基因组

反(逆)转录

病毒 **DNA** 基因组 (前病毒, provirus)



前病毒整合到宿主细胞的基因组中



病毒 **mRNA**



病毒蛋白质



病毒

细胞癌基因(c-onc)

定义:

在正常细胞的基因组中普遍存在与病毒癌基因高度同源的相应序列，又称**原癌基因**(proto-onc)。

细胞癌基因的特点

普遍性：广泛存在于生物界中；

保守性：在进化过程中，基因序列呈高度同源性；

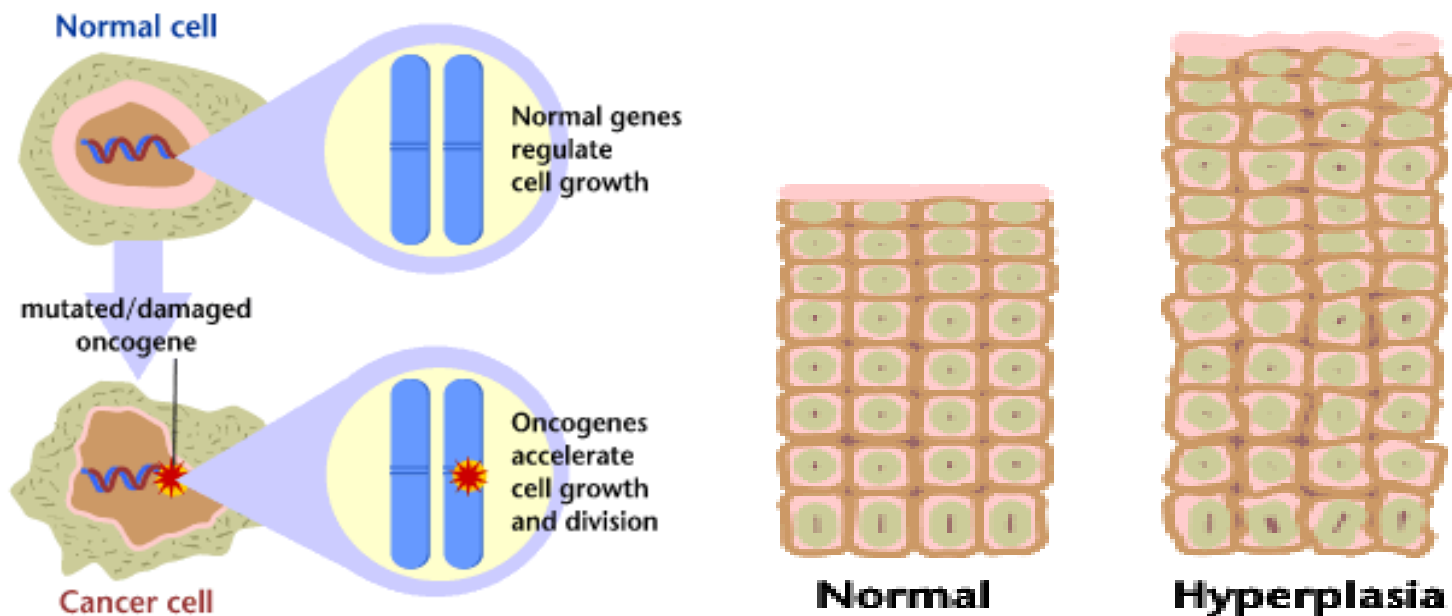
重要性：表达产物精密调控细胞增殖、分化和凋亡；

危害性：表达产物结构和数量上的变化，可致细胞癌变或肿瘤生成。

异常表达与肿瘤相关性

正常状态：对细胞无害，对维持细胞正常功能有重要作用。

异常状态：肿瘤增殖。



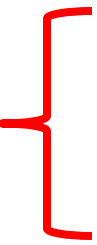
二、癌基因的分类与功能

1. 生长因子 (growth factor)

编码多肽类生长因子，其结构和功能与细胞分泌的正常生长因子相似。

举例：癌基因 *sis* 编码产物与**血小板源生长因子**（PDGF）的**B链**结构相似，形成的二聚体也可与细胞膜表面的**PDGF受体**结合而引起受体**异常激活**。

2.生长因子受体

- 
- 酪氨酸蛋白激酶型受体
 - 非酪氨酸蛋白激酶受体

3.胞内信号转导蛋白

举例：

***ras* 家族**（*H-ras*、*K-ras*、*N-ras*）表达产物是**小G蛋白**。小G蛋白与G蛋白 α 链的功能类似，具有结合和水解GTP的作用。

突变的*ras*基因仍具有结合GTP能力，但失去水解GTP的酶活性。介导的下游信号转导途径**过度激活**。

4. 核内转录因子

细胞外生长信号经跨膜及细胞内的级联传递，最终引起核内转录因子活化，启动生长相关的基因转录。

细胞受到生长信号刺激后，这些核内转录因子可迅速表达，并上调其他靶基因的表达，促进细胞生长和增殖。

三、原癌基因的激活

1. 点突变（point mutation）

定义：

在致癌因素的作用下，原癌基因编码序列上的单个碱基被置换，或少数几个碱基有缺失或插入改变。

正常细胞 *H-ras* 基因 ATG ACG GAA TAT AAG CTG GTG GTG GTG GGC GCC GGC GGT GTG

肿瘤细胞 *H-ras* 基因 ATG ACG GAA TAT AAG CTG GTG GTG GTG GGC GCC GTC GGT GTG

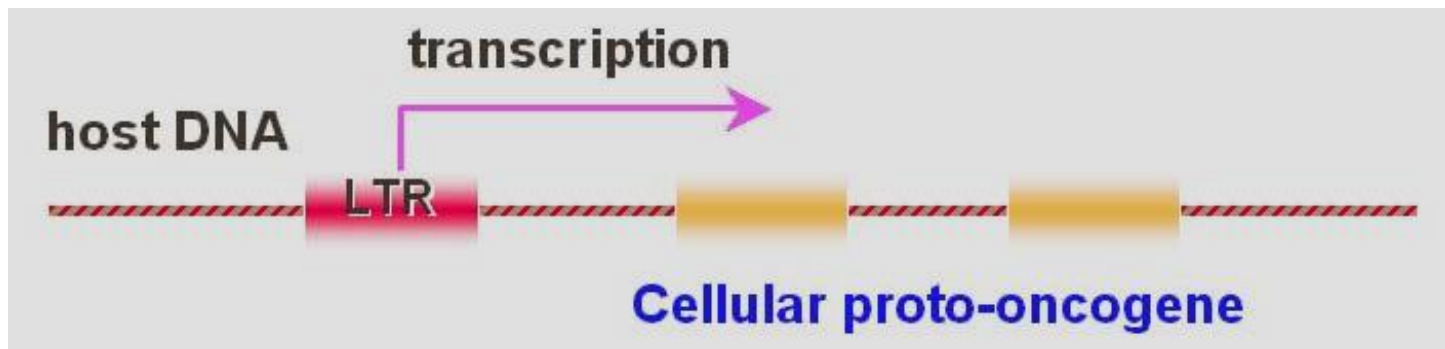
正常细胞 p21 蛋白 Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Ala Val

肿瘤细胞 p21 蛋白 Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Ala Val

2. 获得启动子和增强子

某些不含 **v-onc** 的弱转化逆转录病毒，其前病毒 (**Provirus DNA**) 含有强启动子和增强子的**LTR**。

若前病毒整合到原癌基因邻近位置，会使该原癌基因过度表达，导致肿瘤的发生。

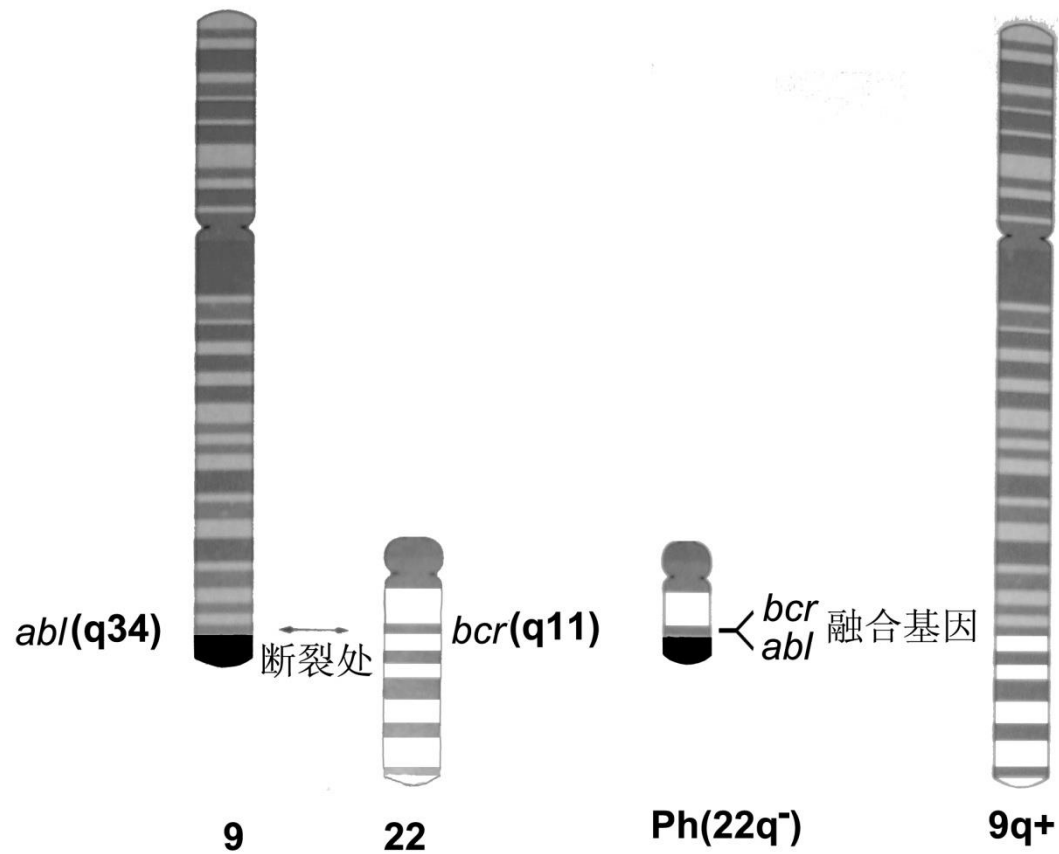


3. 染色体的易位和重排

(translocation and rearrangement)

原癌基因从它所在染色体的正常位置**易位**至另一个染色体上，使其转录的调控环境发生改变而被激活。

慢性髓细胞白血病的Ph染色体和BCR/ABL融合基因



4. 基因扩增

原癌基因拷贝数异常大量增加，导致编码产物过度表达，进而引起**细胞增殖失控**。

举例：

在人类恶性肿瘤中，细胞周期蛋白D1（**cyclin D1**）、表皮生长因子受体（**EGFR**）及 C-*myc*癌基因扩增现象较常见。

5.甲基化程度降低

位于DNA转录调控区及启动子上的CpG重复序列（又称CpG岛），常被DNA甲基转移酶（DNMTs）甲基化为5-甲基胞嘧啶。

高甲基化（hypermethylation）使基因组稳定并使基因表达沉默。

低甲基化（hypomethylation）是基因转录激活的特征之一。乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌等有染色体基因组整体水平的低甲基化。

高甲基化低表达，低甲基化高表达。

6.乙酰化水平升高

构成核小体的组蛋白的乙酰化水平增加，促进癌基因的转录。

乙酰化水平取决于**组蛋白乙酰化酶**（**histone acetylases, HATs**）和**组蛋白去乙酰化酶**（**histone deacetylases, HDACs**）。

HATs可**促进基因的转录**，而**HDACs**则**抑制基因的转录**，二者失衡与肿瘤的发生有关。

第二节 抑癌基因

- 抑癌基因的概念
- 常见的抑癌基因及作用机理

一、抑癌基因

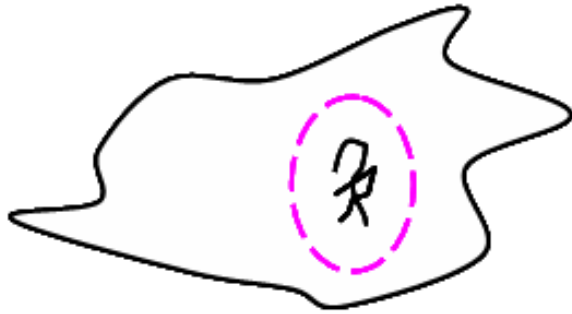
抑癌基因，又称肿瘤抑制基因，大多编码与细胞周期调控有关的抑制蛋白，可调控正常细胞的生长。

当抑癌基因发生缺失或突变时，细胞不能表达或表达无活性的抑制蛋白，细胞增殖失控而导致肿瘤的发生。

抑癌基因通常用2或3个字母来表示。

抑癌基因的发现

小鼠正常细胞



细胞融合



肿瘤细胞



无致瘤性

常见的抑癌基因

基因	定位	功能	相关肿瘤
<i>APC</i>	5q21	编码G蛋白，调节	结肠癌
<i>BRCA</i>	17q21	转录因子	乳腺癌、卵巢癌
<i>DCC</i>	18q21	细胞表面黏附分子	结肠癌
<i>NF1</i>	17q12	GTP酶激活剂	神经纤维瘤
<i>Nm23</i>	17q3	肿瘤转移抑制分子	胃癌、骨肉瘤
<i>MLH1</i>	3p23	DNA错配修复	畸胎瘤、黑色素瘤
<i>P16</i>	9p21	p16蛋白 (CDK4、6抑制剂)	乳腺癌、黑色素瘤
<i>P21</i>	6q21	p21蛋白 (CDK4、6抑制剂)	前列腺癌
<i>P53</i>	17p13	p53 (转录因子)	结肠癌等多种肿瘤

抑癌基因失活机制

1. 基因缺失或突变使表达产物含量降低和/或失去活性、表达产物的磷酸化程度改变及表达产物与癌基因产物结合使其活性被抑制等。
2. 调控抑癌基因表达的甲基化、乙酰化及 microRNAs (微小RNA) 的异常，也可导致这些抑癌基因表达下降，引起肿瘤发生。

*Rb*基因

发现:

1971年Alfred George Knudson 在对儿童视网膜母细胞瘤遗传学特点的研究中发现了*Rb*基因

基因特点:

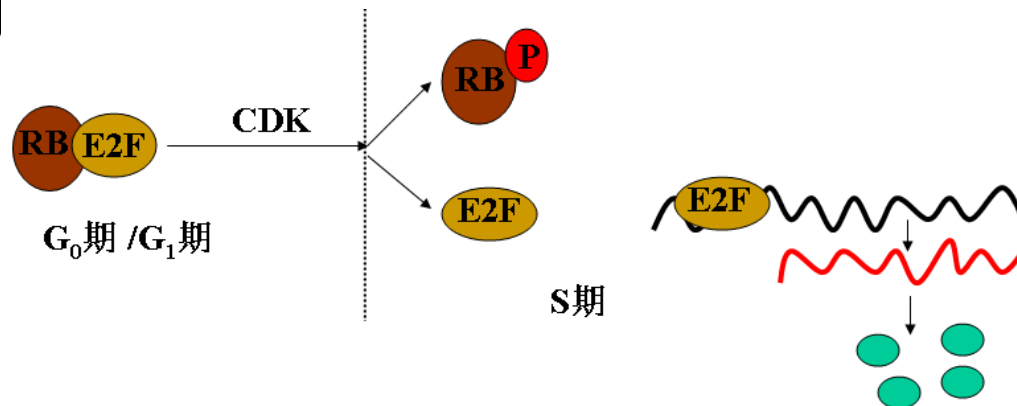
位于人染色体13q14, 含27个外显子, 其mRNA为4.7kb, 编码产物为含928个氨基酸的单链分子, 定位于核内。由于分子量约为105kDa, Rb蛋白又称为p105(pRb)。



Rb蛋白的作用机制

核内蛋白，在 G_0/G_1 期，**非磷酸化型 Rb** 蛋白与促进细胞分裂的转录因子 E2F 结合形成复合物，阻断细胞进入 S 期。

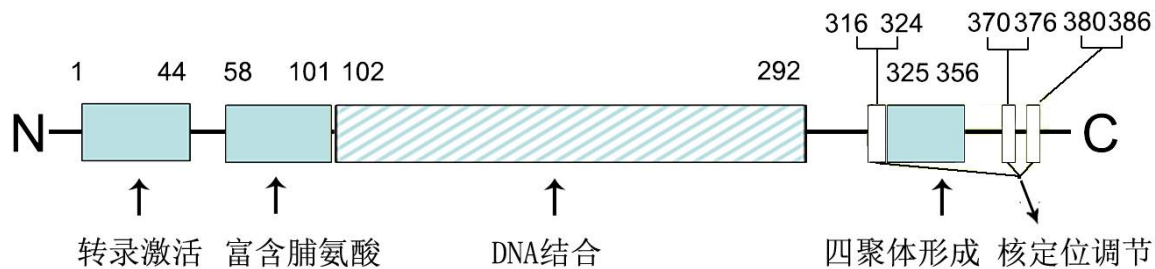
周期蛋白依赖的蛋白激酶 (cyclin dependence protein kinase, CDK) 使 Rb 蛋白磷酸化，**高磷酸化型 Rb** 蛋白与 E2F 转录因子分离，E2F 呈现活性，促进基因转录，使细胞进入 S 期



*TP53*基因

***TP53*基因**位于染色体17p13，含11个外显子，mRNA为2.5kb，编码含393个氨基酸的核蛋白。
*TP53*基因于1979年被首次发现，1989年**野生型**（wild type）的*TP53*基因才被确定为抑癌基因。

p53 蛋白结构



p53 蛋白中 6 个常发生突变的氨基酸位点:

Arg 175	}	在核心区
Gly 245		
Arg 248		
Arg 249		
Arg 273		
Arg 282		

野生型p53的功能

1. 监控DNA的完整性

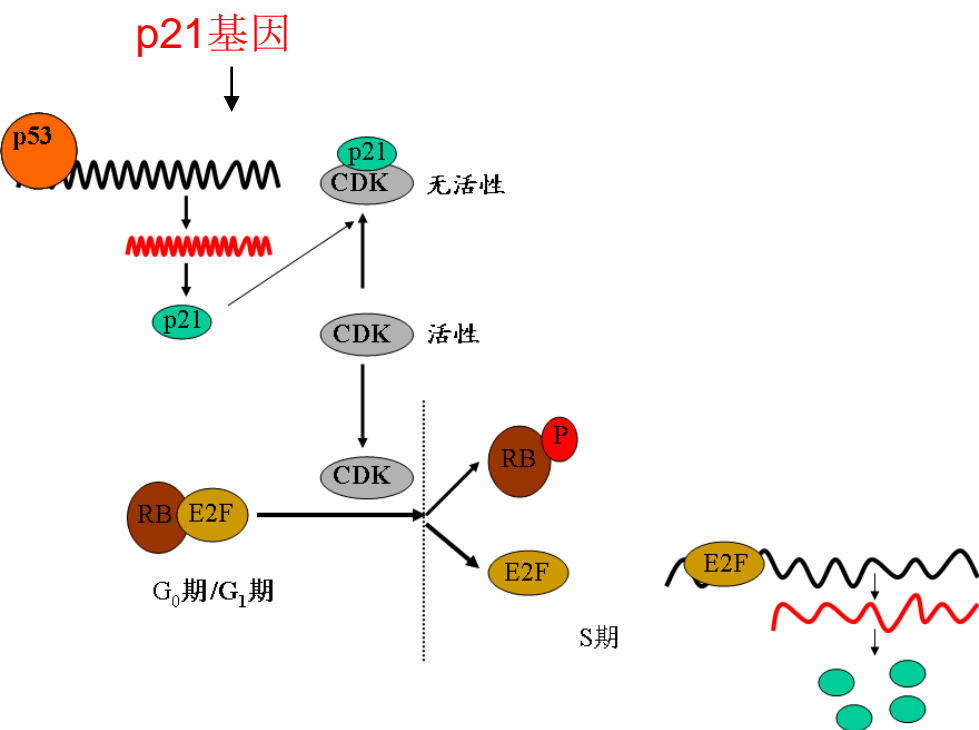
染色体DNA损伤后，p53蛋白含量及活性应激性升高并启动细胞DNA修复系统，使细胞周期阻滞于G1期，便于细胞在此期间进行损伤的染色体DNA修复。

2. 诱导细胞凋亡

p53蛋白不能使损伤的染色体DNA修复，则诱导细胞发生凋亡而被清除。p53蛋白诱导凋亡作用与上调*Bax* 等促凋亡基因表达，下调抗凋亡蛋白*Bcl-2*等的基因表达有关。

3. 抑制细胞周期

促进p21蛋白表达， p21蛋白与CDK结合，抑制CDK的活性。



CDK激酶和酪氨酸激酶 II催化 p53蛋白不同的部位发生磷酸化反应而转变为磷酸化型 p53，其抑制DNA复制的作用增强。

4. 抑制癌基因的表达

p53蛋白可下调多种癌基因的表达，如C-*myc*、C-*fos*、C-*jun*和增殖细胞核抗原（PCNA）基因等。

*TP53*基因的突变

*TP53*基因的缺失和突变，其含量和结构异常，使p53蛋白失去抑制细胞增殖作用。

正常细胞中的*TP53*基因，又称野生型*TP53*基因所表达的p53蛋白，不易检测到，而检测到的p53蛋白实际是突变型的或应激性升高的p53蛋白。

第三节 生长因子

- 生长因子的概念
- 生长因子的作用机理
- 生长因子与疾病

一、生长因子

定义：

一类由细胞分泌，对细胞生长、增殖和分化起调节作用的多肽类分子。生长因子参与了机体内的多种生理和病理过程，如胚胎发育、血管生成、创伤修复、免疫调节及纤维增生性疾病和肿瘤等。

人体内常见生长因子

生长因子	组织来源	作用
EGF	颌下腺、肾脏	促进表皮和上皮细胞生长
NGF	颌下腺、神经元	营养交感神经和神经元
EPO	肾脏	红细胞成熟和增殖
HGF	肝脏	促进肝细胞生长和上皮细胞生长和迁移
IGF-1, IGF-2	胎盘、胎肝、血浆	具有胰岛素样作用
PDGF	血小板	促进间质形成及胶质细胞和血管内皮细胞生长
TGF- α	肿瘤细胞、转化细胞	类似于EGF
TGF- β	血小板	对细胞生长起促进（或抑制）作用
VEGF	平滑肌、肿瘤	促进血管内皮细胞生长及血管生成

二、生长因子的作用机理

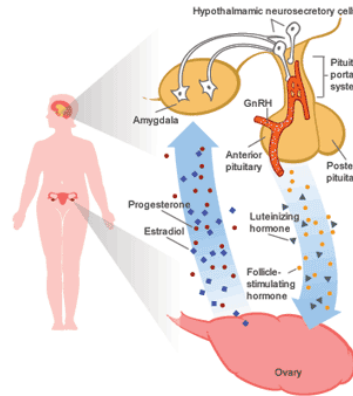
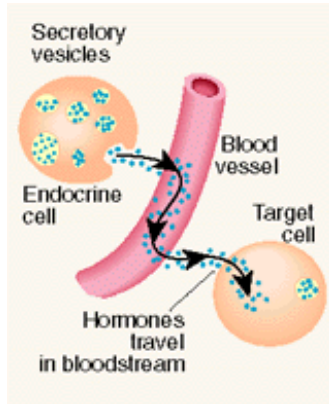
生长因子有以下三种作用方式：

内分泌（endocrine）是指少数生长因子由细胞分泌后，经血液运送至其他远端靶组织发挥作用。

旁分泌（paracrine）是生长因子分泌后，不经血液运送，直接作用于分泌细胞邻近的其他靶细胞。

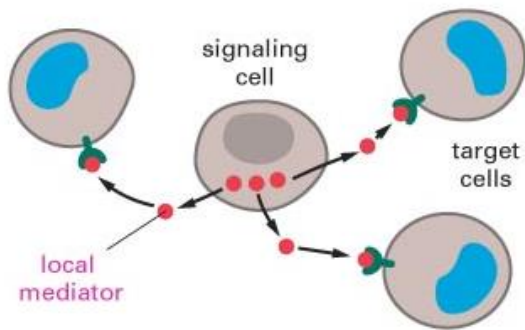
自分泌（autocrine、则是生长因子被细胞合成和分泌后，又反过来对自身起作用。

作用方式



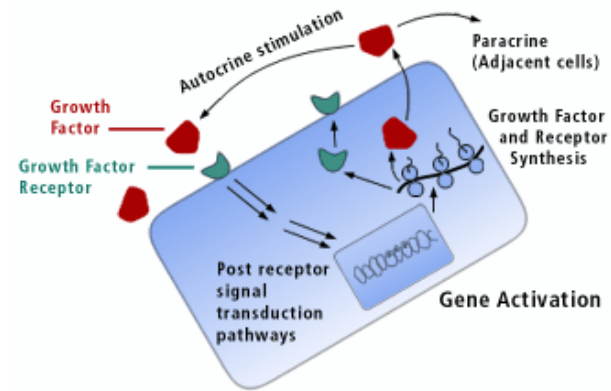
内分泌
(endocrine)

(B) PARACRINE



旁分泌 (paracrine)

Cell Signaling



自分泌 (autocrine)

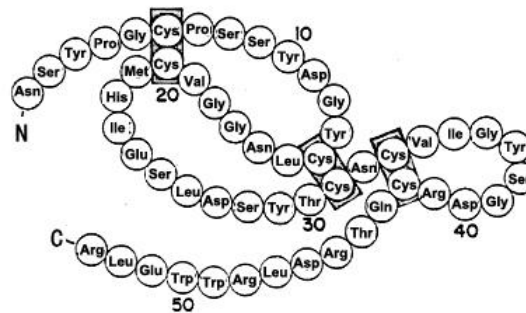
三、生长因子与疾病

生长因子对维持机体正常的生理功能非常重要，其表达受到严格的时间特异性和空间特异性调控。

在正常情况下，它们对维持细胞的生长与分化起十分重要的作用。当原癌基因被激活后，其产生表达产物的“质”和“量”的异常可导致细胞生长、增殖和凋亡失控，并引起肿瘤。

EGF

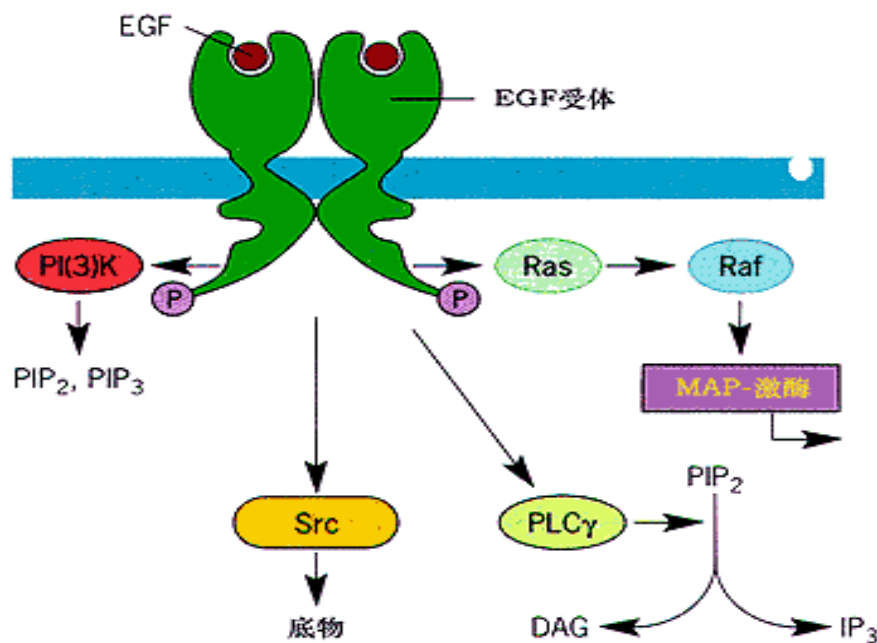
EGF基因位于人染色体4q25，mRNA为4.8kb，所合成的EGF前体分子（含1217个氨基酸）经剪切后产生含53个氨基酸的活性肽，分子量为6.2KDa。EGF分子中的3对二硫键，对其空间结构形成及生物活性起重要作用。



EGF的功能

主要功能是促进表皮和上皮细胞生长和分化。

通过与EGF受体结合发挥作用，EGF与EGFR结合后，EGFR发生二聚体和磷酸化从而激活下游信号转导通路。



PDGF

主要由血小板合成，对成纤维细胞，平滑肌细胞和神经胶质细胞等有促进有丝分裂作用的多肽类生长因子。

PDGF与靶细胞膜上特异的PDGF受体（PDGFR）结合介导的信号转导途径包括TPK、Ras/MAPK、PI3K/Akt等。

应用PDGF拮抗剂、重组可溶性受体及PDGFR胞内区酪氨酸蛋白激酶抑制剂等，可阻断这些异常激活的信号转导途径，进行肿瘤的靶向治疗。

名词解释

1. 癌基因
2. 抑癌基因
3. 表皮生长因子受体
4. 基因扩增
5. 癌基因的甲基化

思考题

1. 简述癌基因的分类与主要功能。
2. 原癌基因激活的机制主要有哪些？
3. p53蛋白抑制肿瘤发生的作用有哪些？
4. 根据癌基因在肿瘤中的改变，请设计抗肿瘤分子靶向药物。

谢谢

