



第四章 癌基因与抑癌基因

倪培华

<http://www.shsmu.edu.cn/>



基因肿瘤标志物研究简史

1911 **Rous** 肿瘤病毒 鸡肉瘤上清

1960 **Huebner** 病毒肿瘤基因

1970 **Martin** Rous肉瘤src基因

1976 **Bishop** 原癌基因 (V-src)、癌基因 1989 Nobel

1986 **Dryja** 抑制肿瘤生长基因Rb

1987 **Lee** 抑癌基因

1988 **Steeg** 肿瘤转移抑制基因 nm23 鼠黑色素瘤

1989 **Ebralidze** 肿瘤转移基因 mts1 鼠乳腺肉瘤

2009年3月

上海交通大学医学院

癌的病因学曾有
病毒致癌
化学致癌
遗传因素

病毒癌基因

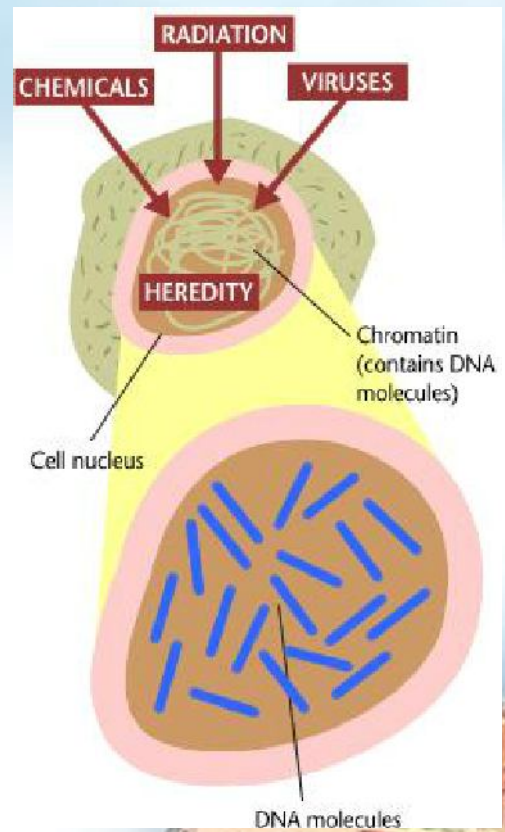
(virus oncogene, v-onc)

正常细胞癌基因

(cellular oncogene, c-onc)

抑癌基因

(suppressor gene)

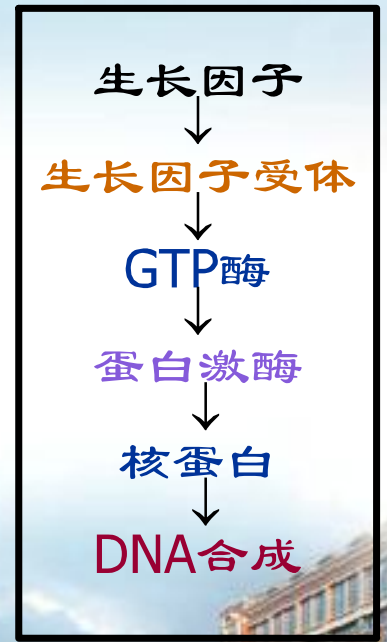
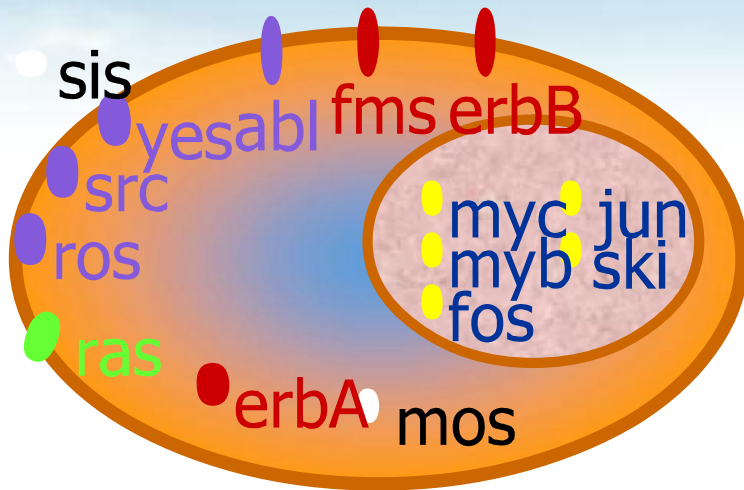


2009年3月

上海交通大学医学院

原癌基因

一类编码关键性调控蛋白质的正常细胞基因，发生恶变后转变为癌基因的基因序列。



癌基因

能参与或直接导致正常细胞发生恶变的任何基因序列。

2009年3月

上海大学八子区子院



正常细胞的生长增殖由两大基因调控

正调控信号：促进细胞生长和增殖，并且阻止其发生终末分化——癌基因。

负调控信号：促进细胞成熟，向终末分化，最后凋亡（apoptosis）——抑癌基因。

两种信号保持着动态平衡，对正常细胞的生长、增殖、死亡精确地调控，当平衡被破坏，正调控信号基因功能过盛或负调控信号基因失活，导致细胞增殖调控的混乱而使细胞恶变。



2009年3月

上海交通大学医学院



讲课内容

1

癌基因

2

抑癌基因

3

原癌基因与抑癌基因的检测及评价

2009年3月

上海交通大学医学院





1

癌基因

2

抑癌基因

3

原癌基因与抑癌基因的检测及评价



2009年3月

上海交通大学医学院



第一节 癌基因

Oncogene

一、癌基因 (oncogene, onc) 及其表达产物的作用

1、定义:

癌基因包括病毒癌基因 (v-onc) 和细胞癌基因 (c-onc) 两种, 具有潜在诱导细胞恶性转化的特征。

A gene that causes normal cells to change into cancerous tumor cells.

2009年3月

上海交通大学医学院



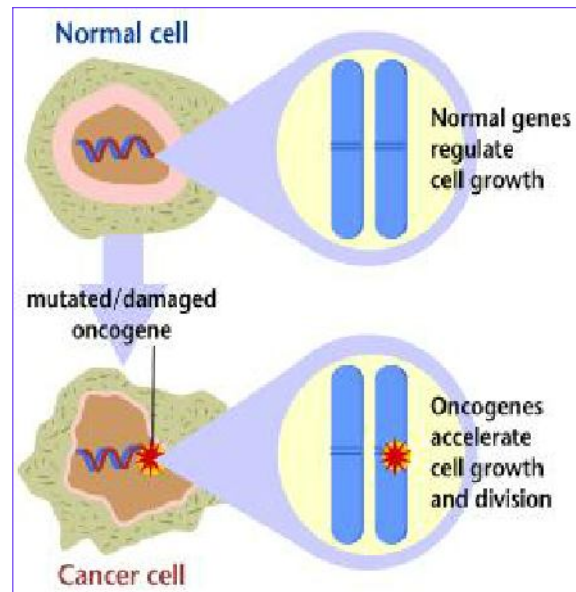
2、特点:

(1) v-onc是病毒基因组中特殊的核苷酸序列，能引起细胞转化

(2) c-onc是存在于正常细胞基因组中的癌基因，在正常情况下处于静止或低表达的状态，不仅对细胞无害，且对维持细胞正常功能具有重要作用，但在异常表达时，其产物可使细胞无限制分裂。



2009年3月



上海交通大学医学院



(3) 癌基因的表达

用3个斜体小写字母表示，如 *ras*、*src*、*myc*等

病毒癌基因：在其名称前冠以前缀“v”，如 *v-ras*，

细胞癌基因：在其名称前冠以前缀“c”，如 *c-ras*。

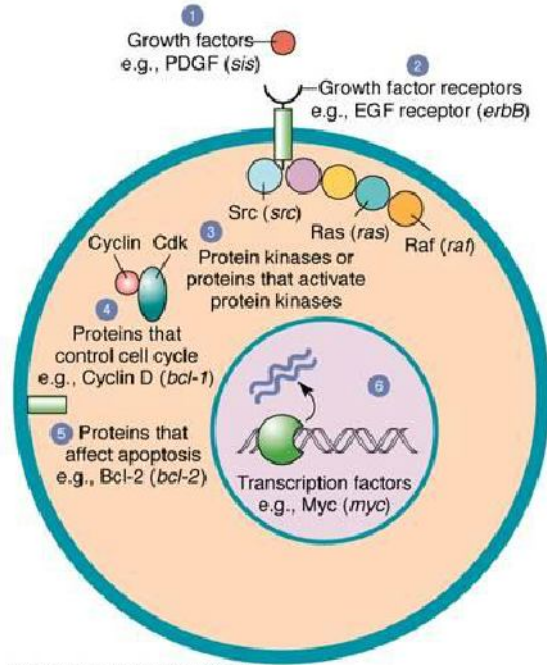


2009年3月

上海交通大学医学院

(一) 病毒癌基因

病毒癌基因是在以Rous肉瘤病毒 (Rous sarcoma virus, RSV) 为代表的逆转录病毒中发现的。



2009年3月

上海交通大学医学院



常见病毒癌基因及其表达产物

病毒癌基因	宿主	病毒	染色体定位	肿瘤	产物
<i>src</i>	鸡	RSV	20q12-13	肉瘤	P60-v- <i>src</i>
<i>myb</i>	鸡	AMV		白血病	P35-v- <i>myb</i>
<i>erbA</i>	鸡	AEV	17q21-22	白血病	P75-v- <i>erb</i>
<i>erbB</i>	鸡	AEV		白血病	P40-v- <i>erb</i>
<i>myc</i>	鸡	鸟类髓细胞瘤病毒	8q24	淋巴瘤	P35-v- <i>myc</i>
<i>abl</i>	小鼠	Abelson 白血病病毒	9q34	淋巴瘤	P120-v- <i>gag-abl</i>
<i>mos</i>	鼠	Moloney 鼠肉瘤病毒		肉瘤	P37-v- <i>mos</i>
<i>H-ras</i>	大鼠	Harvey 鼠肉瘤病毒	11p15.5	肉瘤	P21-v- <i>Ha-ras</i>
<i>K-ras</i>	大鼠	karsten 鼠肉瘤病毒		肉瘤	P21-v- <i>K-ras</i>
<i>sis</i>	猴	猴肉瘤病毒	22q12.3-13.1	肉瘤	P28-v- <i>sis</i>
<i>yes</i>	鸡	y73 肉瘤病毒		肉瘤	P90-v- <i>gag-yes</i>
<i>fps</i>	鸡	Fujinami 肉瘤病毒		肉瘤	P140-v- <i>gag-fps</i>
<i>ros</i>	鸡	UR-2 病毒		肉瘤	P68-v- <i>gag-ros</i>

2009年3月

上海交通大学医学院



原癌基因的产物主要包括

- ❖ ①生长因子: *sis*
- ❖ ②生长因子受体: *fms*、*erbB*
- ❖ ③蛋白激酶及其它信号转导组分: *src*、*ras*、*raf*
- ❖ ④细胞周期蛋白: *bcl-1*
- ❖ ⑤细胞凋亡调控因子: *bcl-2*
- ❖ ⑥转录因子: *myc*、*fos*、*jun*

2009年3月

上海交通大学医学院



一些原癌基因的功能



原癌基因	功能	相关肿瘤
sis	生长因子	Erwing网瘤
erb-B	受体酪氨酸激酶, EGF受体	星形细胞瘤、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胃癌
fms	受体酪氨酸激酶, CSF-1 受体	髓性白血病
ras	G-蛋白	肺癌、结肠癌、膀胱癌、直肠癌
src	非受体酪氨酸激酶	罗氏肉瘤
Abl-1	非受体酪氨酸激酶	慢性髓性白血病
raf	MAPKKK, 丝氨酸/苏氨酸激酶	腮腺肿瘤
vav	信号转导连接蛋白	白血病
myc	转录因子	Burkitt 淋巴瘤、肺癌、早幼粒白血病
myb	转录因子	结肠癌
fos	转录因子	骨肉瘤
jun	转录因子	
erb-A	转录因子	急性非淋巴细胞白血病
bcl-1	cyclinD1	B细胞淋巴瘤

2009年3月

上海交通大学医学院



- ❖ 1911年Rous发现鸡肉瘤无细胞滤液能引起鸡产生新的肉瘤
证实了病原体为Rous's sarcoma virus (RSV)
获得1966年的诺贝尔奖
- ❖ 1970年Temin 和Batimore证实RSV是一种反转录病毒
获1975年诺贝尔奖

2009年3月

上海交通大学医学院





Point mutations identified in human tumors

Oncogen	Mutation	Tumor	Protein function
H-ras	↑GTPase acitivity ↓nucleotide exchang rate	Bladder	GTPase
K-ras	↑GTPase acitivity ↓nucleotide exchang rate	Colorectal Pancreatic Lung	GTPase
N-ras	↑GTPase acitivity ↓nucleotide exchang rate	Acute myeloid leukemia	GTPase
Ret	Extracellular domain	Multiple endocrine neoplasia type 2A	Receptor tyrosine kinase
Ret	Kinase domain	Multiple endocrine neoplasia type 2B	Receptor tyrosine kinase
Met	Kinase domain	Hereditary papillary renal carcinoma	Receptor tyrosine kinase
Kit	Kinase domain	Mast cell leukemia	Receptor tyrosine kinase
Cdk4	Loss of interaction with p16	Melanoma	Cell cycle regulator

Oncogen amplification in human tumors



Oncogen	Tumor	Protein function
c-myc	SCLC Promyelocytic leukemia Glioblastoma	Transcription factor
N-myc	SCLC Neuroblastoma Glioblastoma	Transcription factor
L-myc	SCLC	Transcription factor
EGFR	Glioblastoma	Receptor tyrosine kinase
Her-2	Breast Gastric Ovarian	Receptor tyrosine kinase
Cyclin D1	Hepatic and esophageal Squamous cell carcinoma of the head and neck	Cell cycle regulator

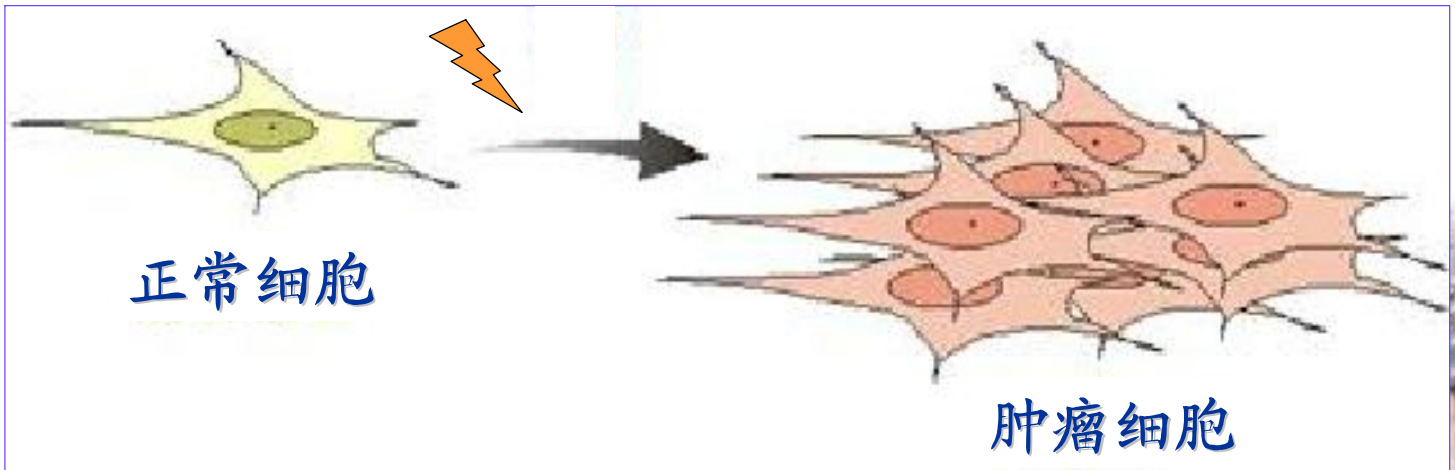
SCLC: small cell lung carcinoma

Chromosomal translocations commonly occurring in human tumors



Oncogen	Translocation	Tumor	Protein function
c-myc	t(8;14)(q24;q32) t(2;8)(p12;q24) t(8;22)(q24;q11)	Burkitt's lymphoma	Transcription factor
bcr-abl	t(9;22)(q23;q11)	Chronic myelogenous leukemia	Non-receptor tyrosine kinase
Trk	Not mapped	Papillary thyroid carcinoma	receptor tyrosine kinase
ret	Inv(10)(q11.2;q21)	Papillary thyroid carcinoma	receptor tyrosine kinase
PDGFR	t(5;12)(q33;q13)	Chronic myelomonocytic leukemia	receptor tyrosine kinase
bcl-1 (cyclin D1)	t(11;14)(q13;q32)	B-cell lymphoma	Cell cycle regulator
PRAD-1 (cyclin D1)	Inv(11)(p15;q13)	Parathyroid adenoma	Cell cycle regulator
bcl-2	t(14;18)(q32;q21)	Parathyroid adenoma	Cell cycle regulator

在正常情况下，病毒癌基因无活性，一旦受到辐射或化学致癌剂的影响，就会全部或部分活化，诱导肿瘤的发生。



2009年3月

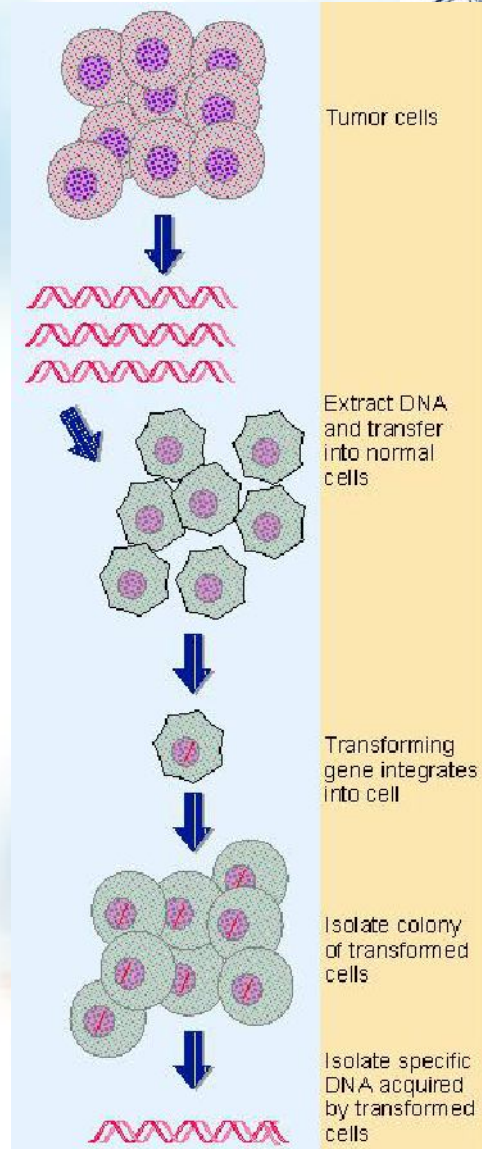
上海交通大学医学院



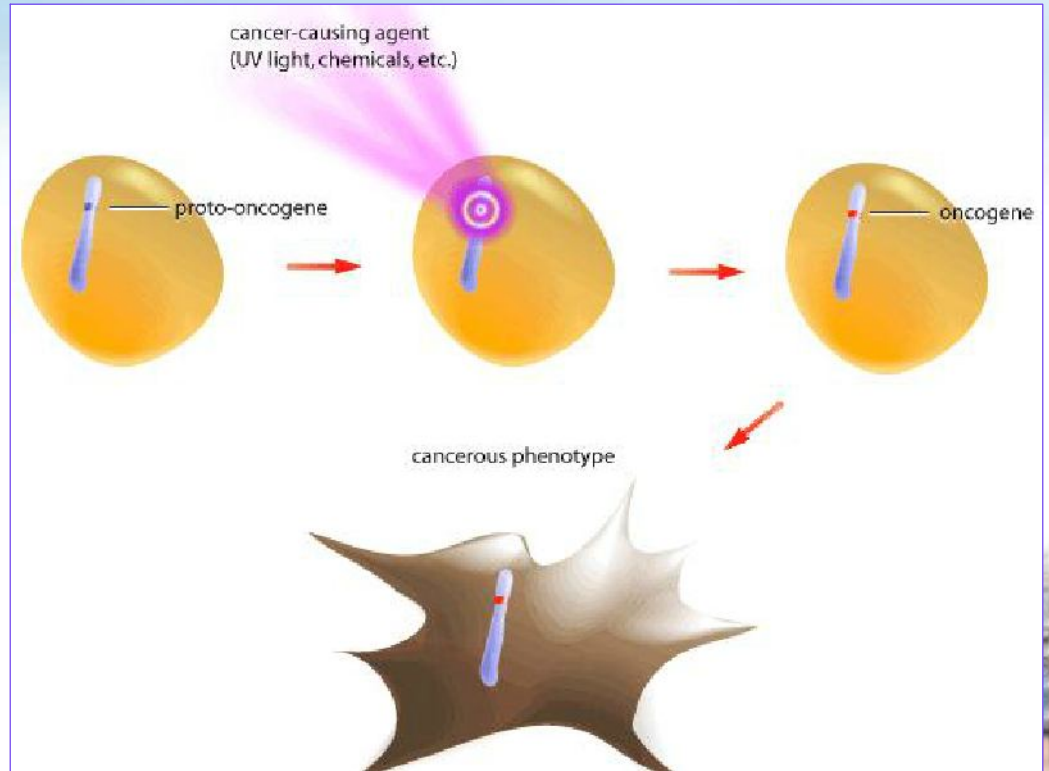
(二) 细胞癌基因

癌基因被引入正常细胞时能使正常细胞转化为癌细胞。将细胞中的这种癌基因称为细胞癌基因 (c-onc) 或原癌基因 (proto-onc)。

2009年3月



细胞癌基因与病毒癌基因核酸序列有同源性即它们的DNA序列是相对应的，表达产物也基本相同。



2009年3月

上海交通大学医学院



细胞癌基因的作用：通过其表达产物蛋白质来体现的，通常根据编码的表达产物的功能

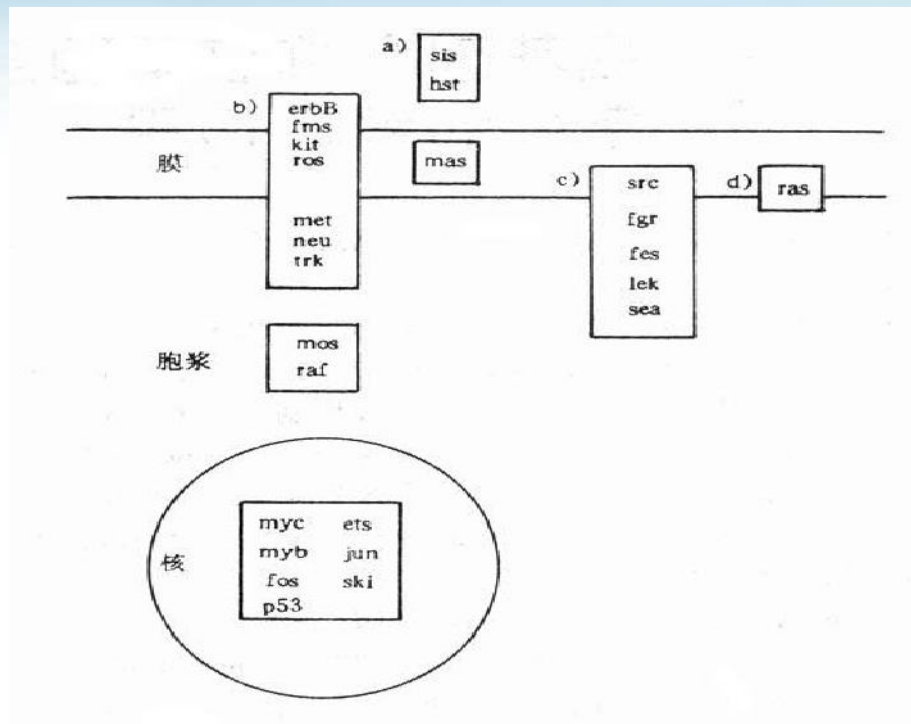
细胞癌基因分类

细胞癌基因家族	癌基因	表达产物类别
<u>sis</u> 家族	<u>sis</u>	生长因子类
<u>erb</u> 家族	<u>erb-A</u> 、 <u>erb-B</u> 、 <u>fms</u> 、 <u>mas</u> 、 <u>kit</u>	受体蛋白类
<u>src</u> 家族	<u>abl</u> 、 <u>fes</u> 、 <u>fgf</u> 、 <u>fps</u> 、 <u>fyn</u> 、 <u>lck</u> 、 <u>lyn</u> 、 <u>src</u> 、 <u>tkl</u> 、 <u>yes</u>	蛋白激酶类
<u>ras</u> 家族	<u>H-ras</u> 、 <u>K-ras</u> 、 <u>N-ras</u>	GTP 结合蛋白类
<u>myc</u> 家族	<u>c-myc</u> 、 <u>L-myc</u> 、 <u>N-myc</u> 、 <u>fos</u> 、 <u>myb</u> 、 <u>ski</u> 、 <u>jun</u>	反式作用因子类

2009年3月

上海交通大学医学院

癌基因产物的细胞定位



2009年3月

上海交通大学医学院



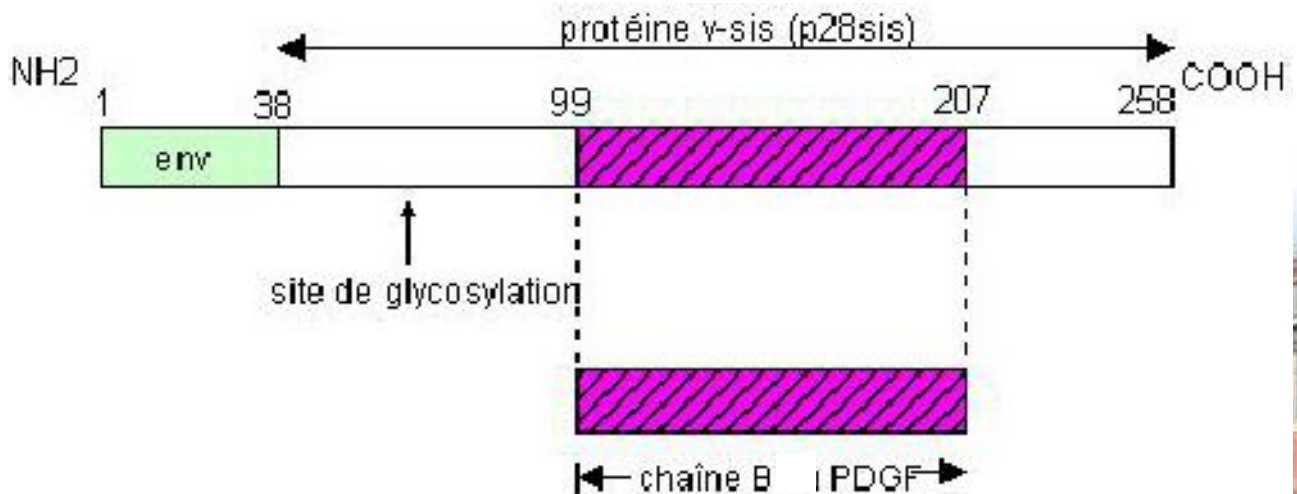
1、*sis*家族

一个基因，即 *c-sis*

定位：人类第22号染色体，5个外显子

编码：241个氨基酸的蛋白质（p28）

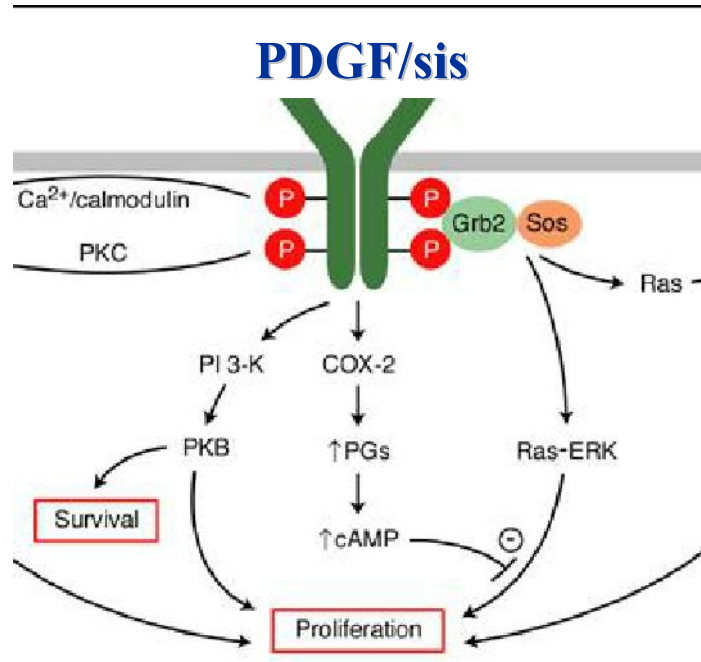
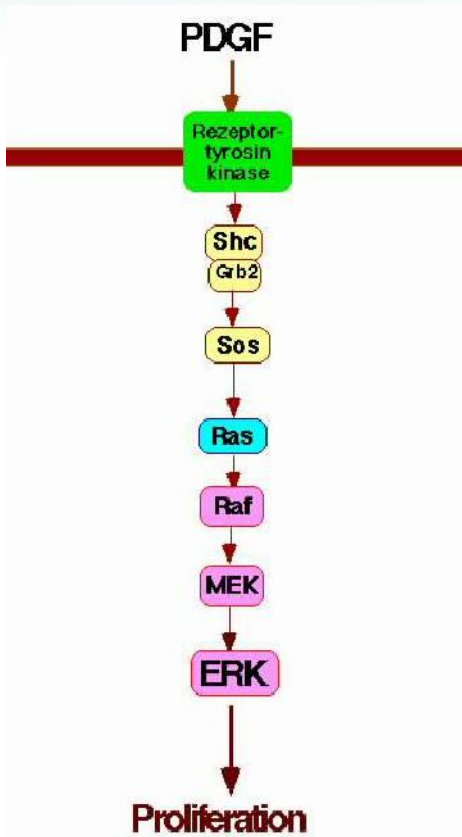
特点：与人类的血小板衍生生长因子（PDGF）有87%的同源性，可与PDGF受体结合。



2009年3月

上海交通大学医学院

作用：PDGF能促进结缔组织细胞及神经胶质细胞的增殖，故*c-sis*作用于PDGFR，可刺激细胞的生长及转化。





2. erb家族

表达产物：细胞骨架蛋白

作用：在细胞运动、分裂、信息传递、能量转换、代谢调控以及维持细胞形态方面具有重要作用。

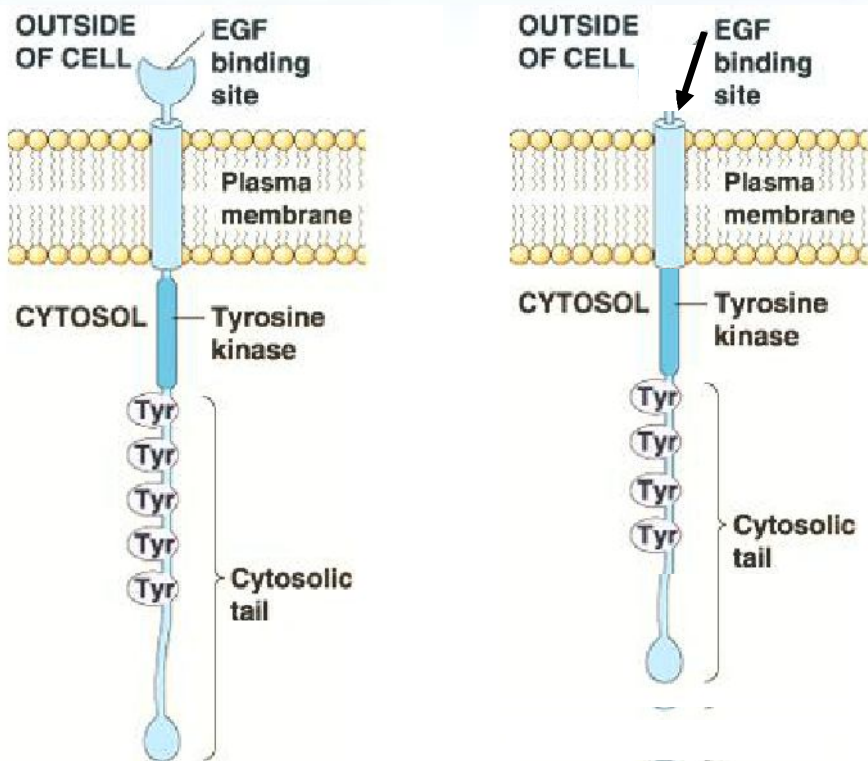
2009年3月

上海交通大学医学院





人erb-B编码的是“掐头”的表皮生长因子(EGF)受体，这个“截短”受体和其配体-表皮生长因子长期结合，从而可永远向细胞内传导促进生长的信号。

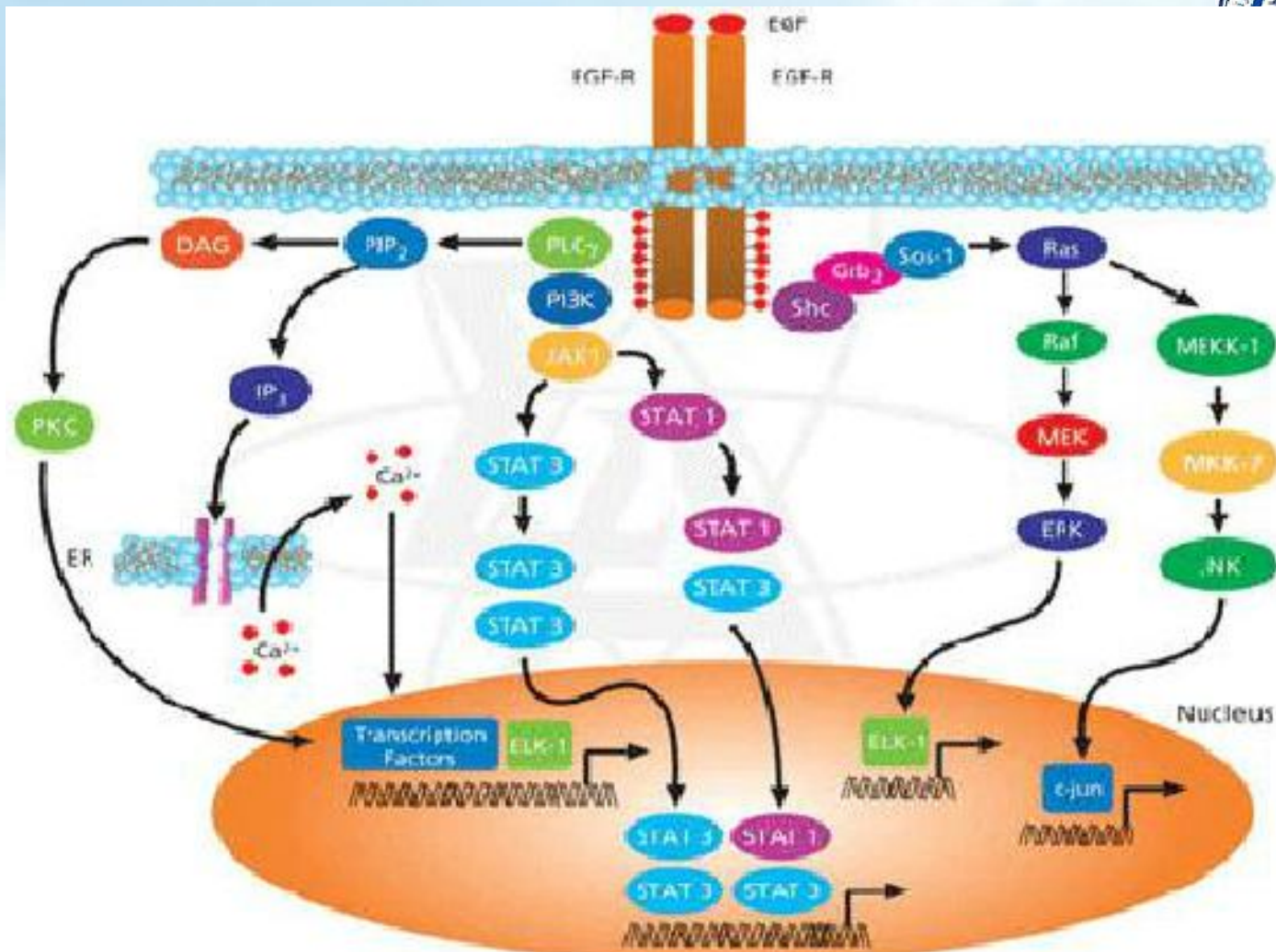


2009年3月

与野生型受体相比，跨膜区域无变化，但受体的两端变短，尤其是全部细胞外结构区域都被删除。



上海交通大学医学院



2009年3月

上海交通大学医学院



3. *src*家族

定位: *c-src*定位于第20号染色体, 17个外显子

编码: 60kDa的蛋白质, 具酪氨酸蛋白激酶

(tyrosine protein kinase, TPK)活性。

特点: 有一个250个氨基酸组成的同源结构区,
其表达产物均具有TPK活性。

作用: 通过激酶的磷酸化作用, 使其结构发生改变, 增加激酶对底物的活性, 加速生长信号在胞内的传递, 与细胞无限生长关系密切。

2009年3月

上海交通大学医学院



4. ras家族

数量: H-ras、K-ras、N-ras

H、K-ras分别来自大鼠肉瘤病毒Harvey、Kirsten株

N-ras从入神经母细胞瘤(neuroblastoma)中获得

编码: 4个外显子组成, 蛋白质为21Kd

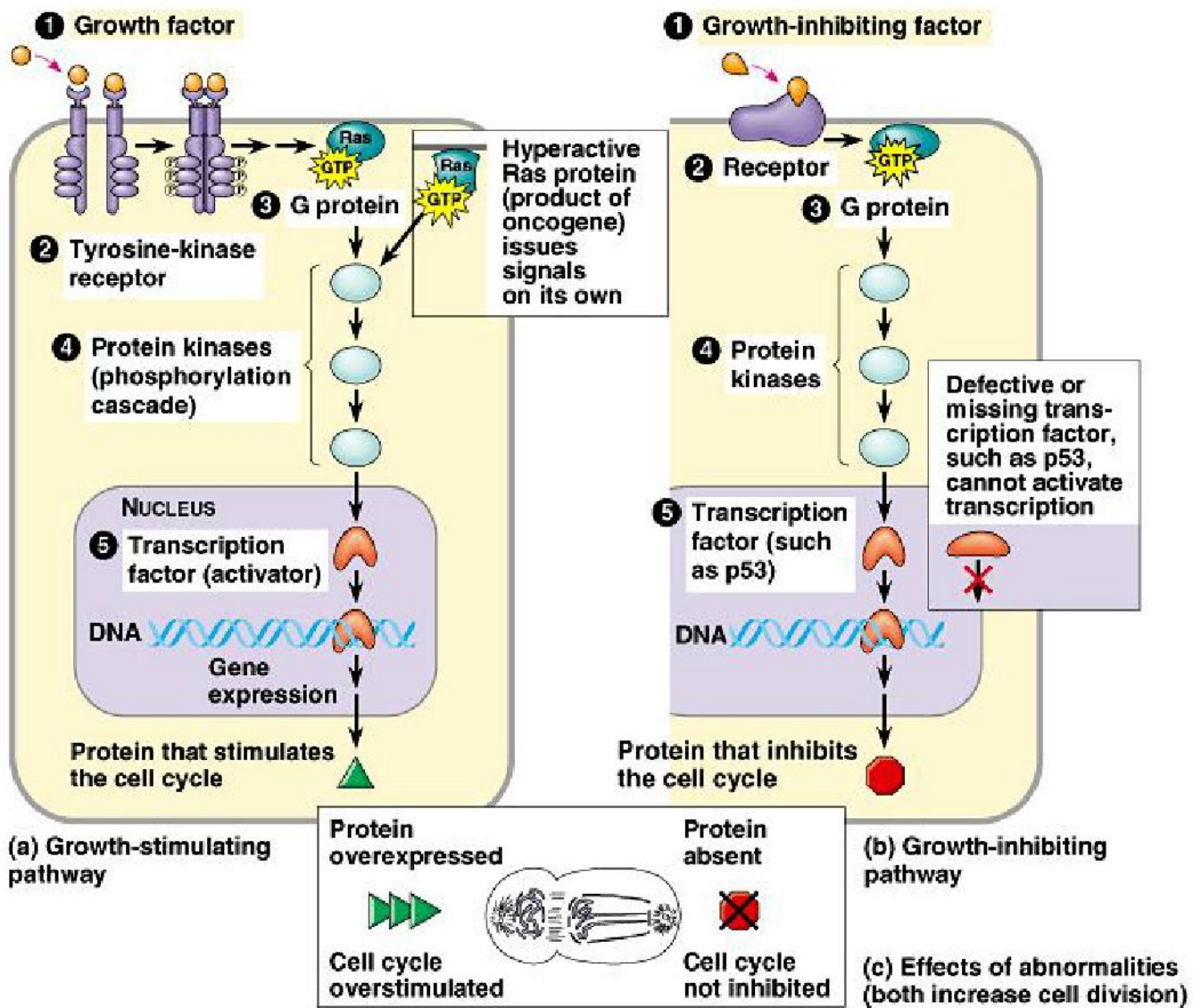
特点: 编码的氨基酸顺序有85%的同源性, 主要位于细胞膜的内侧面, 属G蛋白

作用: 参与细胞增殖信号的细胞内转导过程, 是维持细胞生长和分化的重要信号转换器。

2009年3月

上海交通大学医学院







5. myc家族和myb家族

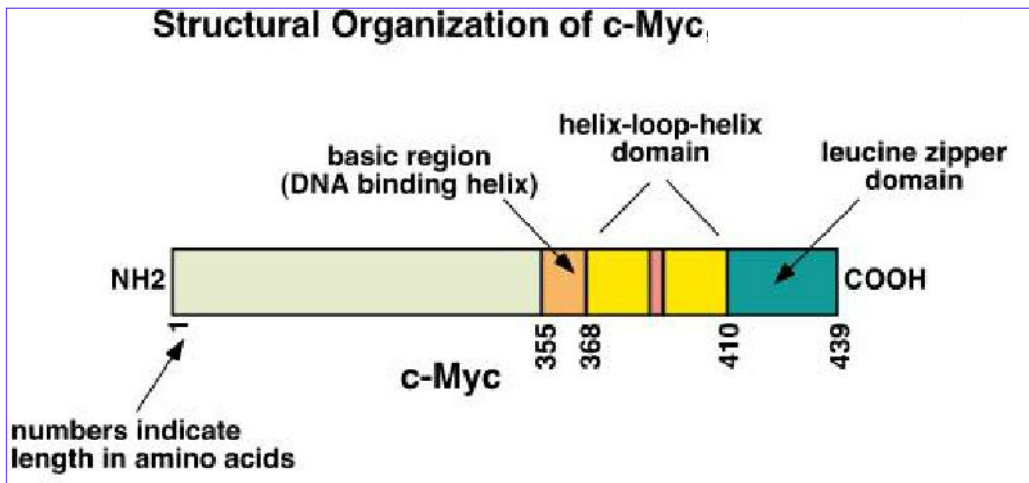
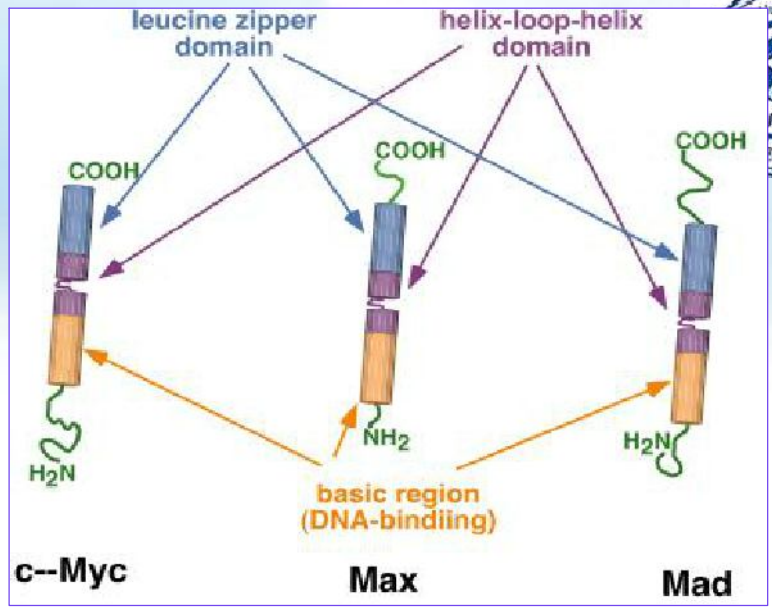
数量: c-myc, N-myc、L-myc、R-myc

编码: 3个外显子组成, Exon1不编码, 缺少ATG, 但多个终止密码子; 另外两个外显子表达62-64kDa或66-67kDa的蛋白

特点: 位于核内, 属于DNA结合蛋白类, 与DNA复制起动的有关

myb家族编码的产物本身就是反式作用因子, 在生长因子调控细胞增殖过程中起重要作用。

作用: 两个家族的癌基因产物都位于细胞核内, 可与某些特定DNA相结合, 影响DNA复制的起动的过程或对转录进行调控, 从而实现其调节细胞生长、增殖、分化的目的。



2009年3月

上海交通大学医学院



二、原癌基因的激活机制

原癌基因具有正常的生理功能，被激活时又具有致癌能力，因此研究原癌基因如何被激活是很重要的。

现已证实

射线辐射

化学致癌剂

病毒感染



2009年3月

上海交通大学医学院



二、原癌基因的激活机制

- (一) 原癌基因点突变
- (二) 原癌基因获得外源启动子而激活
- (三) 原癌基因甲基化程度降低
- (四) 原癌基因的扩增
- (五) 染色体易位或基因重排

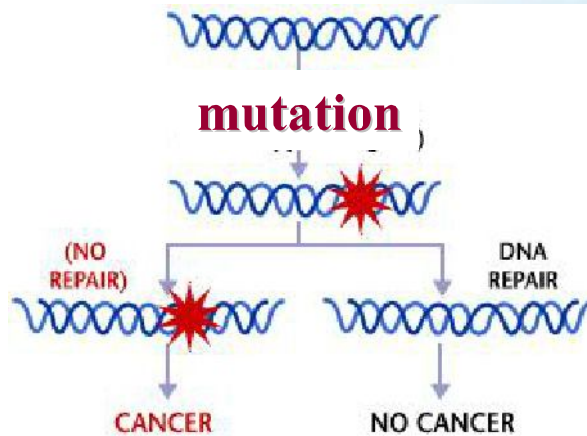
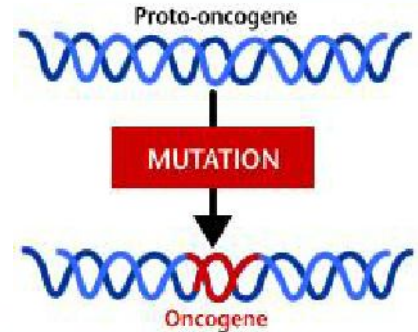
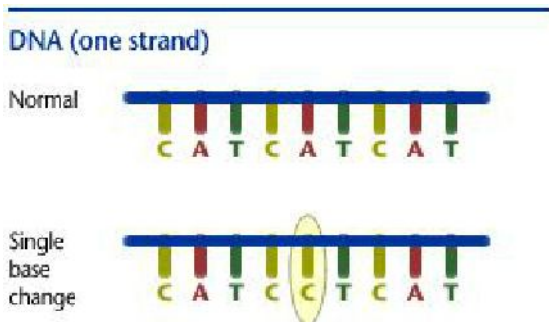


2009年3月

上海交通大学医学院

(一) 原癌基因点突变 (point mutation)

癌基因在编码顺序的特定位置上的某一个核苷酸发生突变，使其表达蛋白质中相应的氨基酸发生变化，从而获得了转化细胞的活性。



2009年3月

上海交通大学医学院

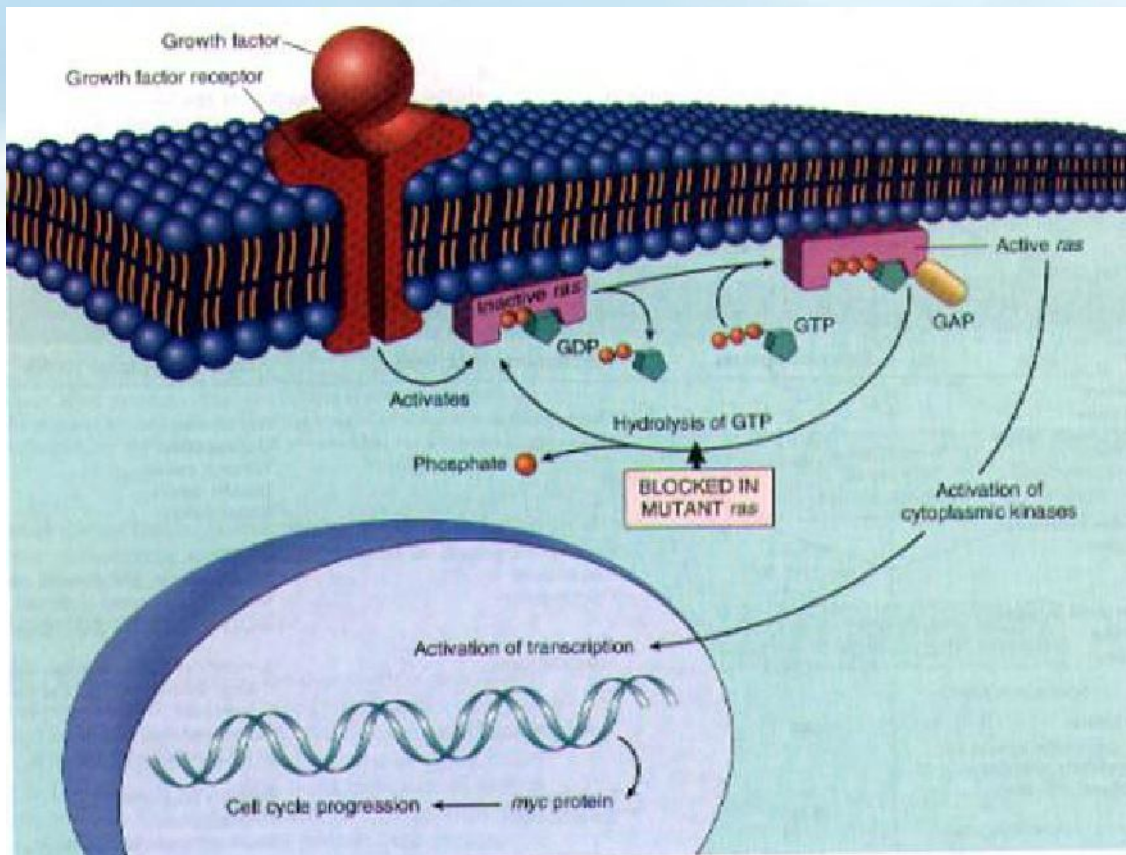


癌基因	密码子突变	氨基酸替换	诱发肿瘤
<i>H-ras</i>	12 位, GGC→GTC	<u>Gly</u> →Val	膀胱癌 FJ/T24/J82
<i>K-ras</i>	61 位, CAG→CTG	<u>Gln</u> → <u>Leu</u>	HS242 肺癌
<i>K-ras</i>	12 位, GGA→GTT	<u>Gly</u> →Val	SW480 结肠癌
<i>K-ras</i>	12 位, GGC→TGT	<u>Gly</u> → <u>Cys</u>	Calu-1 肺癌
<i>N-ras</i>	61 位, GAN→AAN	<u>Gln</u> →Lys	神经母细胞瘤 SK-N-SII

人类 *ras* 基因的单核苷酸替换

2009年3月

上海交通大学医学院



2009年3月

上海交通大学医学院



(二) 原癌基因获得外源启动子而激活

肿瘤细胞中原癌基因的表达水平可以其转录的mRNA或翻译产物蛋白质的含量来表示。

在原癌基因的上游插入外源性启动子或增强子可激活原癌基因，使其表达产物增多。

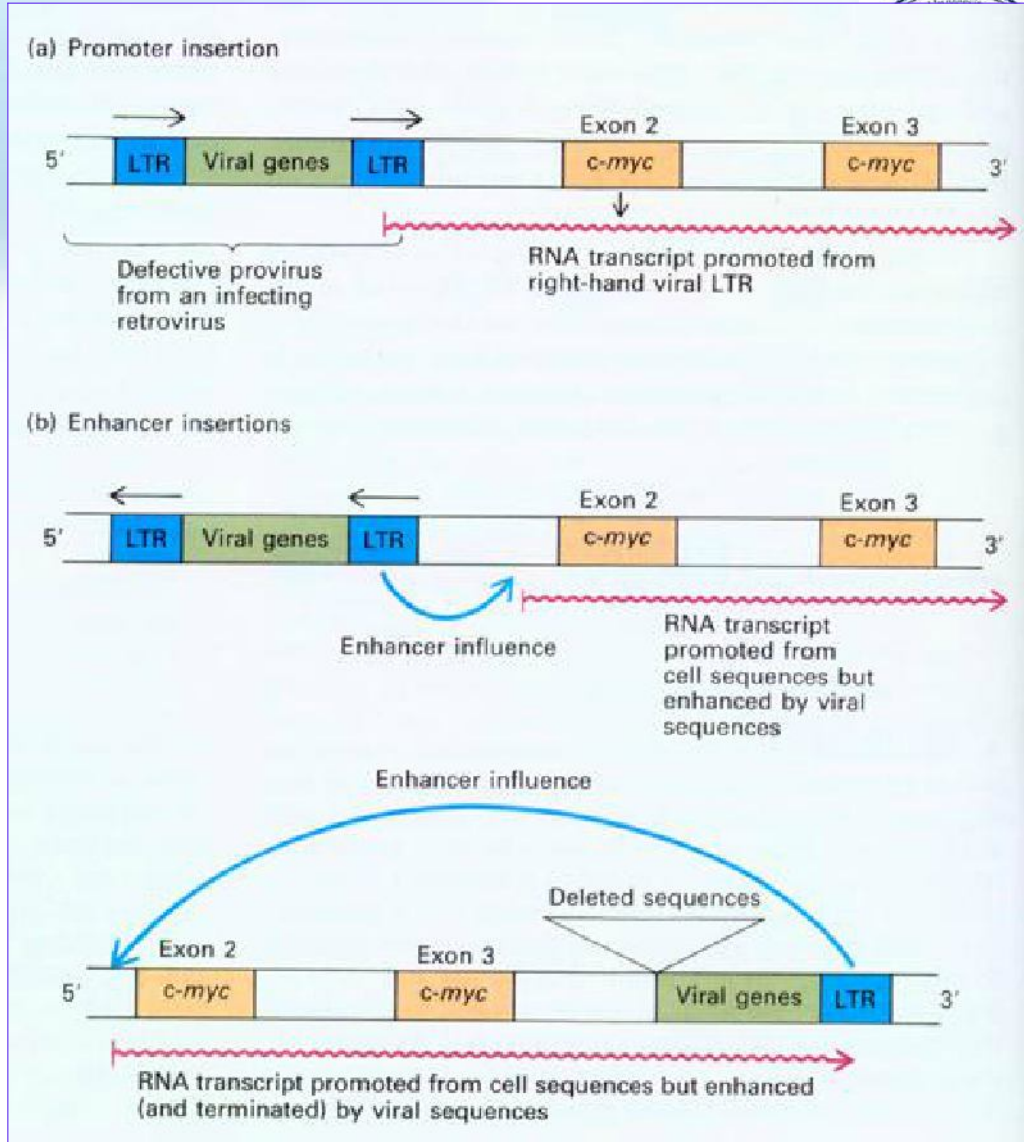


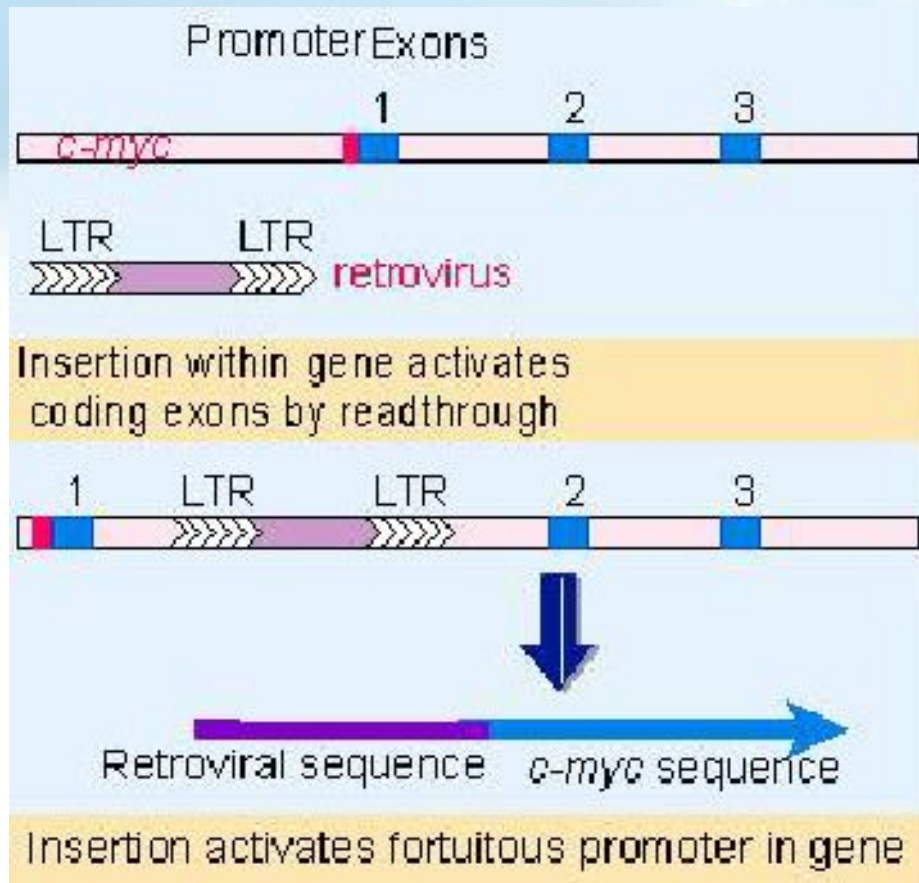
2009年3月

上海交通大学医学院

病毒的增强子常位于5'端的长末端重复序列 (long terminal repeat, LTR) 内。如果增强子插入到原癌基因的附近或远处，均使之激活，促使癌基因的表达比正常表达增高几十甚至上百倍。

2009年3月





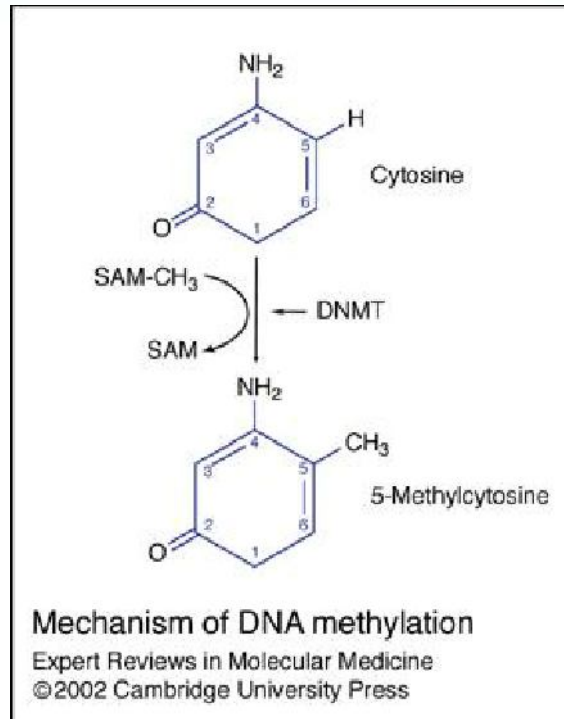
2009年3月

上海交通大学医学院



(三) 原癌基因甲基化程度降低而激活

DNA分子中的甲基化 (methylation) 对抑制基因的转录具有重要作用。

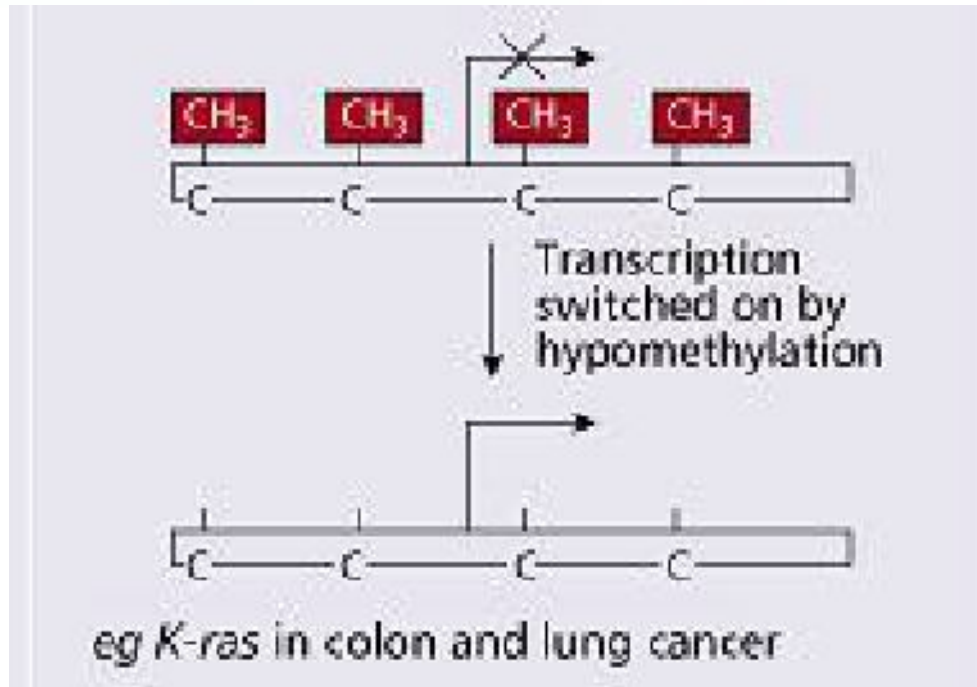


2009年3月

上海交通大学医学院



现已发现在结肠腺癌和小细胞肺癌的细胞中，ras基因的DNA甲基化水平比其邻近的正常细胞明显偏低，提示某些原癌基因是由于甲基化程度降低而激活。



2009年3月

上海交通大学医学院





(四) 原癌基因的拷贝数增加

基因扩增 (amplification):

某些癌基因通过一些机制在原来的染色体上复制多个拷贝，超出了正常细胞的癌基因剂量，导致基因产物的增加，从而使细胞正常功能紊乱。

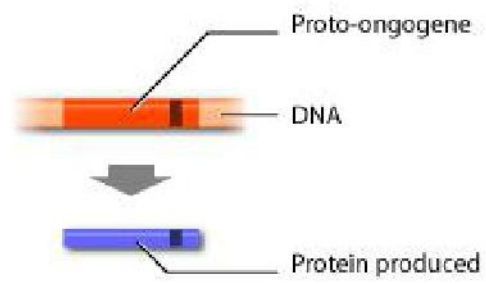
例如:

人视网膜母细胞瘤: N-myc扩增了10-200倍, 相应的mRNA和蛋白质产物也都大量增加。

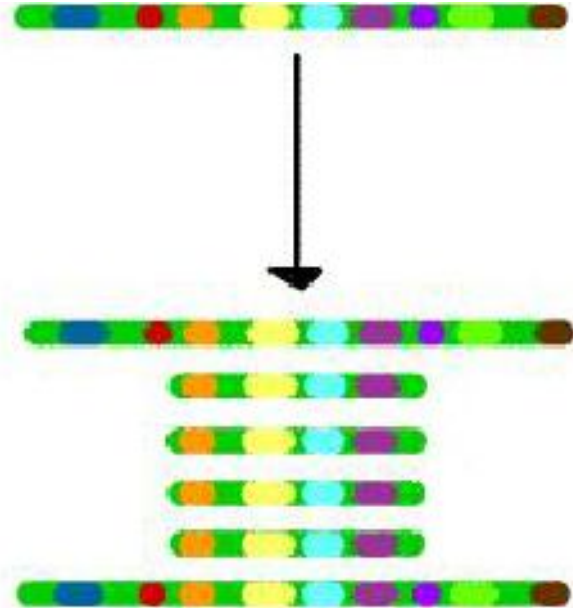
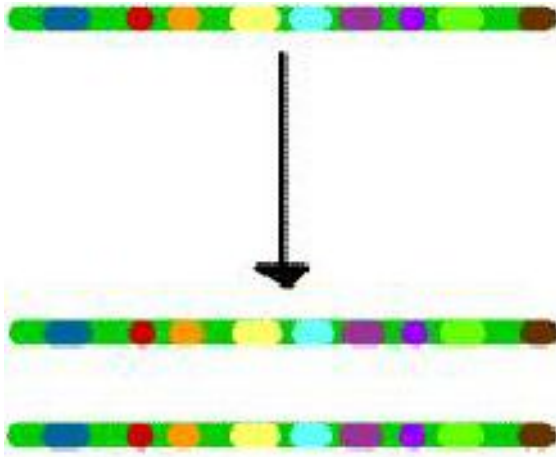
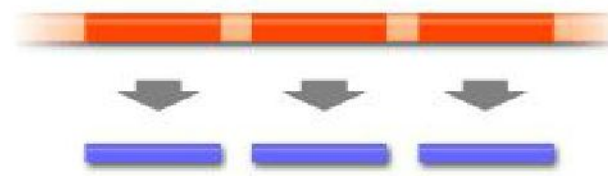


2009年3月

上海交通大学医学院



2. Gene Amplification: normal protein produced in much higher amounts



normal cell



Nucleolus

tumor cell

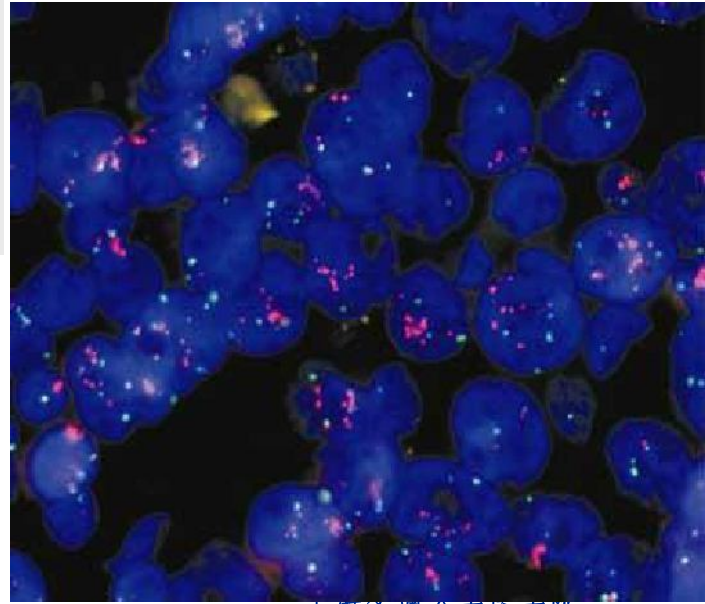
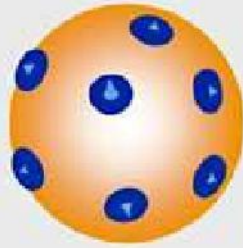
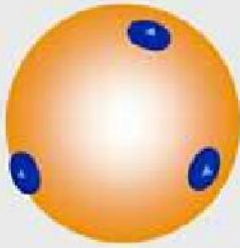


HER2
HER2 gene

Gene amplification

HER2 protein

overexpression
of HER2 proteins
(10- to 100-fold)



2009年3月

上海交通大学医学院



(五) 基因易位或重排使原癌基因激活

基因易位 (translocation)

基因重排 (rearrangement):

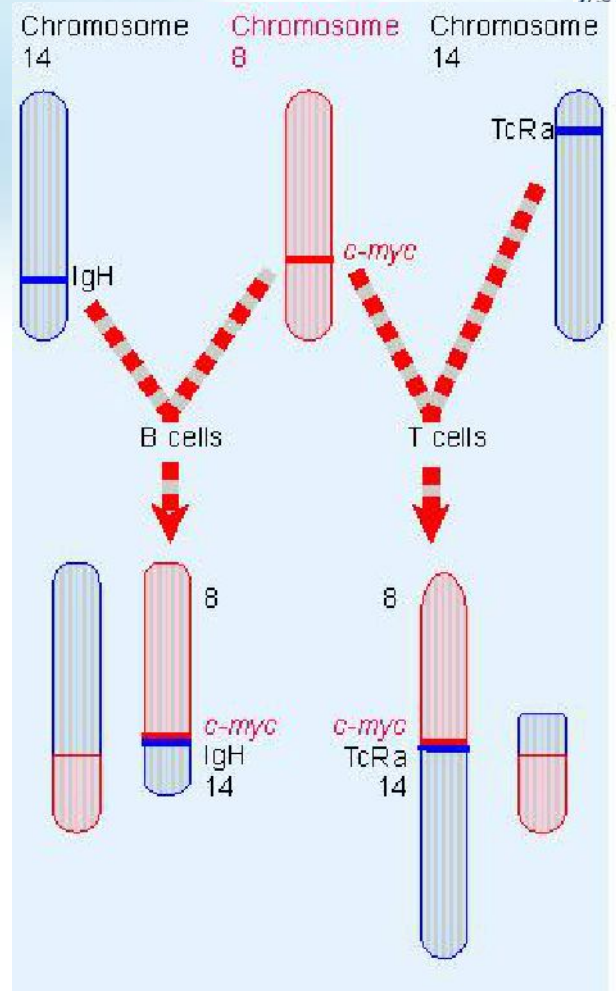
有些癌基因从其染色体的正常位置转移到另一染色体的某个位置, 由于调控环境发生变化, 导致从相对静止状态变成激活状态, 使原癌基因表达产物显著增加而导致肿瘤的发生。



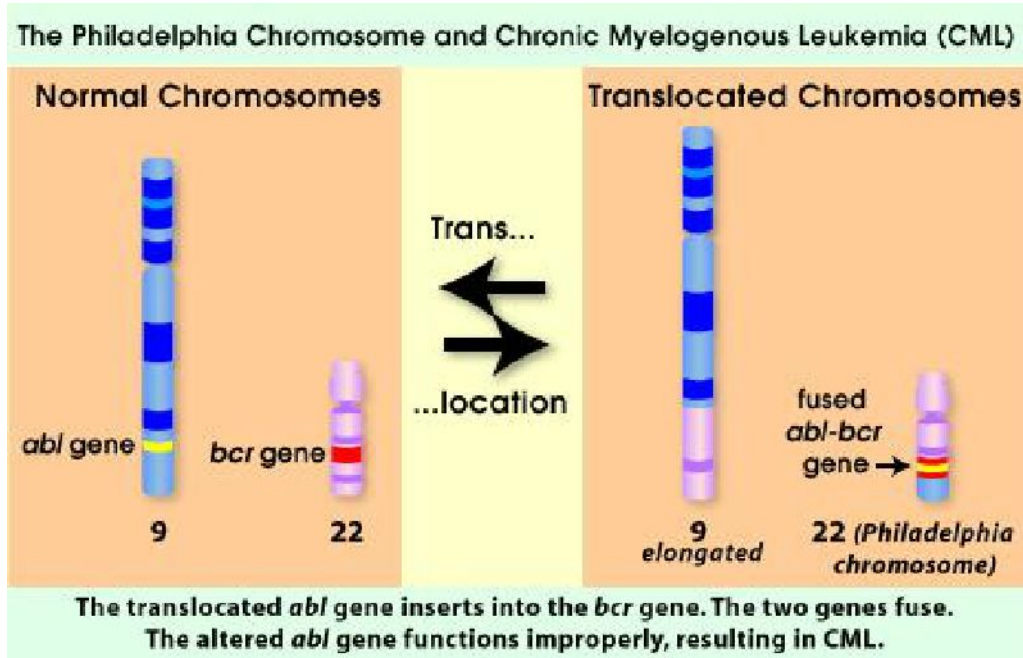
2009年3月

上海交通大学医学院

人c-myc基因定位于8q24，可易位到IgH（定位于14q32）、Igκ（定位于2p12）、Igλ（定位于22q11）基因的高活性转录区，从而组成一个c-myc基因的高转录活性的重排基因，启动c-myc转录，使c-myc基因表达增强，促进细胞恶变，最终导致肿瘤的发生。



染色体易位使位于9q34的c-abl基因转移到第22对染色体上，重排形成bcr-abl融合基因，使表达增高，蛋白质产物也由p145变成p210，其酪氨酸蛋白激酶活性大为增加，导致慢性粒细胞白血病的发生。



2009年3月

上海交通大学医学院



1

癌基因

2

抑癌基因

3

原癌基因与抑癌基因的检测及评价

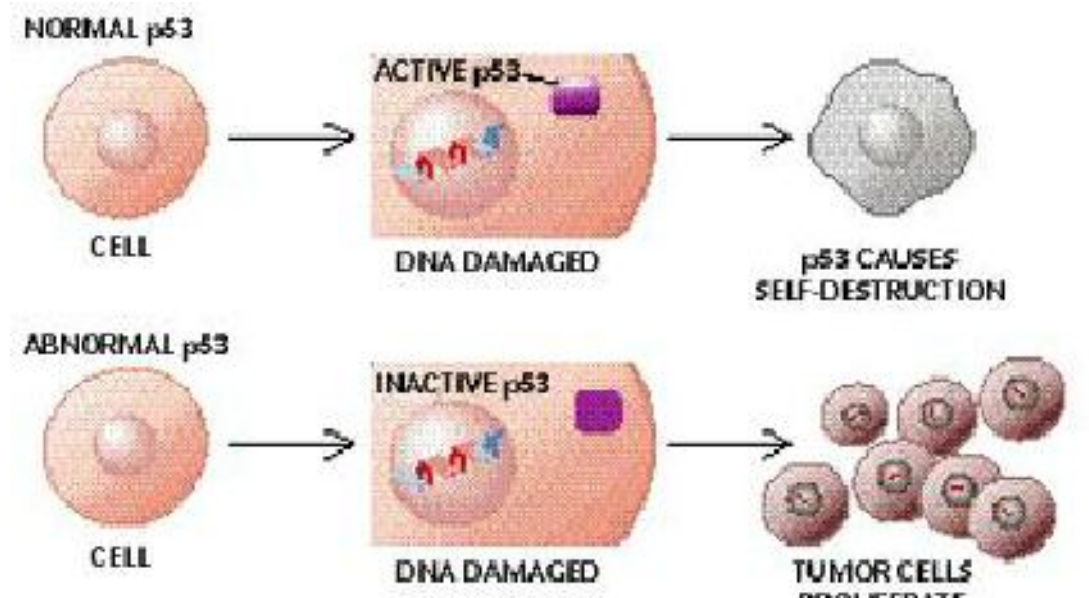


2009年3月

上海交通大学医学院

第二节 抑癌基因

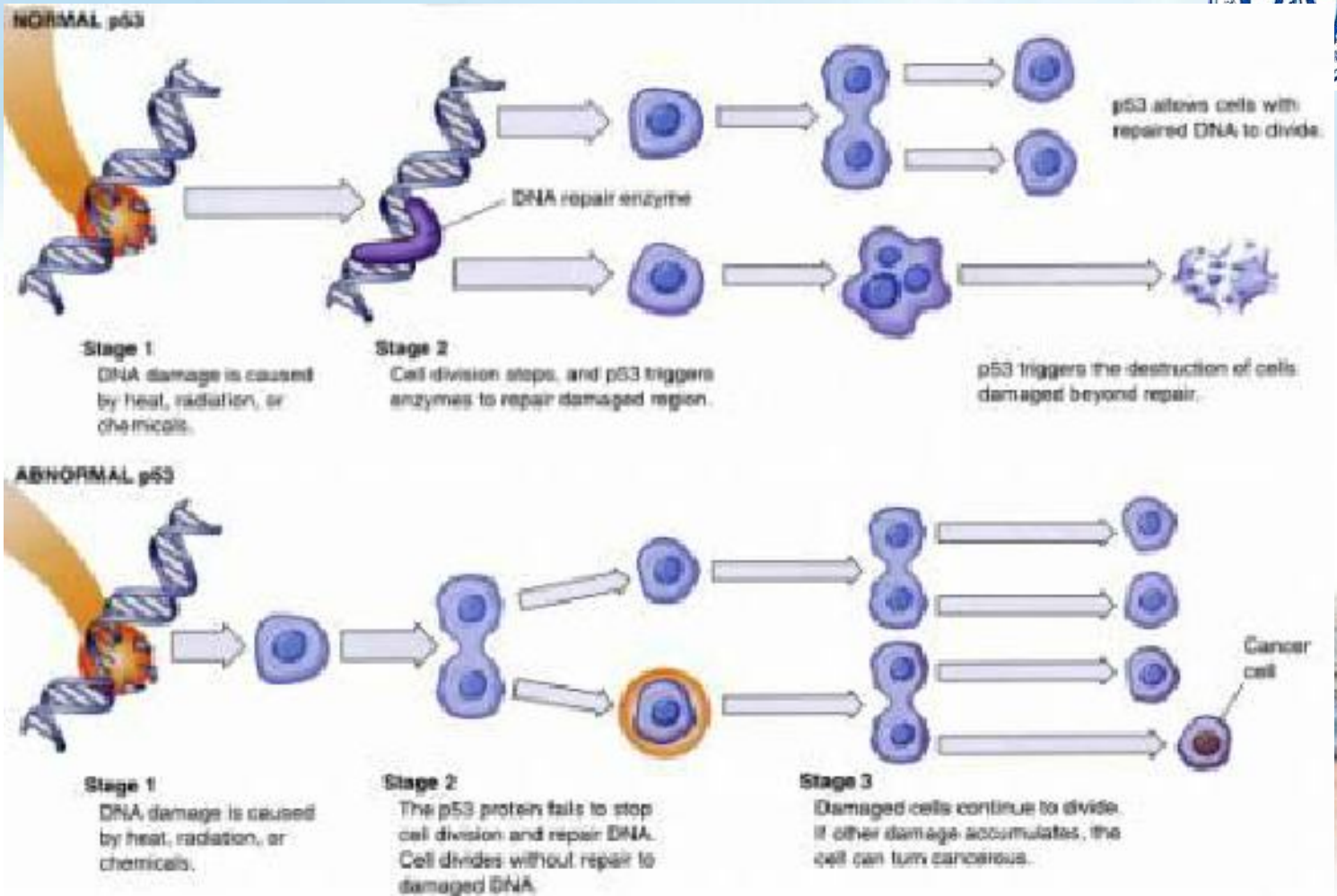
抑癌基因 (suppressor gene) 又称抗癌基因 (anti-onc), 是存在于正常细胞内的一类可抑制细胞生长的基因, 并有潜在抑癌作用。当这类基因发生突变、缺失或失活时, 可引起细胞恶性转化而导致肿瘤的发生。



2009年3月

上海交通大学医学院





2009年3月

上海交通大学医学院



抑癌基因的功能:

- ❖ 诱导终末分化
- ❖ 维持基因稳定
- ❖ 触发衰老, 诱导细胞程序性死亡
- ❖ 抑制蛋白酶活性或改变DNA甲基化酶活性
- ❖ 调节血管形成
- ❖ 促进细胞间联系



2009年3月

上海交通大学医学院



一、抑癌基因及其表达产物

抑癌基因与调控细胞分裂和分化过程相关，可能与生长因子、某些蛋白激酶类活性密切相关，只是抑癌基因给予细胞的信号与原癌基因相反。

基因	染色体定位	表达产物定位	主要相关肿瘤
APC	5q21	细胞膜	结肠癌
BRCA	17q21	细胞浆	乳腺癌、皮肤癌
DCC	18q21	细胞膜	结、直肠癌
p16	9p21	细胞浆	黑色素瘤等多种肿瘤
FHIT	3p14	细胞浆	消化道肿瘤、肾癌
K-REV-1	1p	细胞浆	纤维母细胞瘤
NF1	17q11	细胞浆	神经纤维瘤
NF2	22q12	质膜	斯万细胞瘤、脑膜瘤
p53	17p13	细胞核	肝癌、肺癌、乳癌、骨肉瘤等
Rb	13q14	细胞核	视网膜母细胞瘤、骨肉瘤、肺癌等
WT1	11p13	细胞核	肾母细胞瘤

常见抑癌基因的定位、表达产物与相关肿瘤



抑癌基因的产物主要包括:

- ❖ ① 转录调节因子: Rb、p53
- ❖ ② 负调控转录因子: WT
- ❖ ③ 周期蛋白依赖性激酶抑制因子 (CKI): p15、p16、p21
- ❖ ④ 信号通路的抑制因子: ras GTP酶活化蛋白 (NF-1), 磷脂酶 (PTEN)
- ❖ ⑤ DNA修复因子: BRCA1、BRCA2

2009年3月

上海交通大学医学院





一些抑癌基因的功能

抑癌基因	功能	相关肿瘤
<i>Rb</i>	转录调节因子	RB、成骨肉瘤、胃癌、SCLC、乳癌、结肠癌
<i>p53</i>	转录调节因子	星状细胞瘤、胶质母细胞瘤、结肠癌、乳癌、成骨肉瘤、SCLC、胃癌、磷状细胞肺癌
<i>WT</i>	负调控转录因子	WT、横纹肌肉瘤、肺癌、膀胱癌、乳癌、肝母细胞瘤
<i>NF-1</i>	GAP, ras GTP酶激活因子	神经纤维瘤、嗜铬细胞瘤、雪旺氏细胞瘤、神经纤维瘤
<i>DCC</i>	细胞粘附分子	直肠癌
<i>p21</i>	CDK抑制因子	前列腺癌
<i>p15</i>	CDK4、CDK6抑制因子	成胶质细胞瘤
<i>BRCA1</i>	DNA修复因子, 与RAD51作用	乳腺癌、卵巢癌
<i>BRCA2</i>	DNA修复因子, 与RAD51作用	乳腺癌、胰腺癌
<i>PTEN</i>	磷酸酶	成胶质细胞瘤

2009年3月

上海交通大学医学院



二、抑癌基因失活机制

- ❖ 抑癌基因突变
- ❖ 染色体丢失
- ❖ 同源性重组
- ❖ 基因重排



2009年3月

上海交通大学医学院



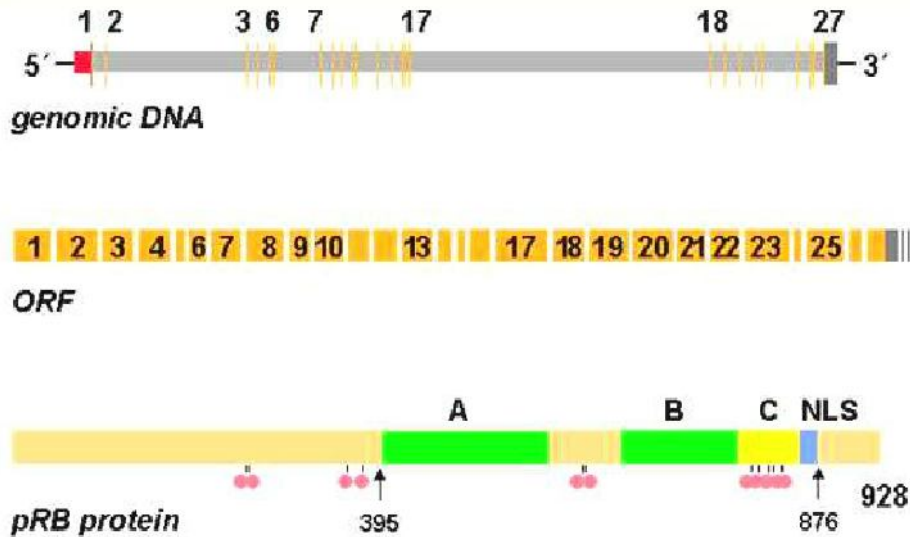
二、抑癌基因失活机理

1、视网膜母细胞瘤 (retino-blastoma, Rb)

(1) 特点:

★基因组组成: 27个外显子, 3-17外显子区域是基因重组和突变的热点。

★编码: p105的蛋白质, 其有结合DNA的活性, 可受多种激酶系统催化而发生磷酸化。



2009年3月

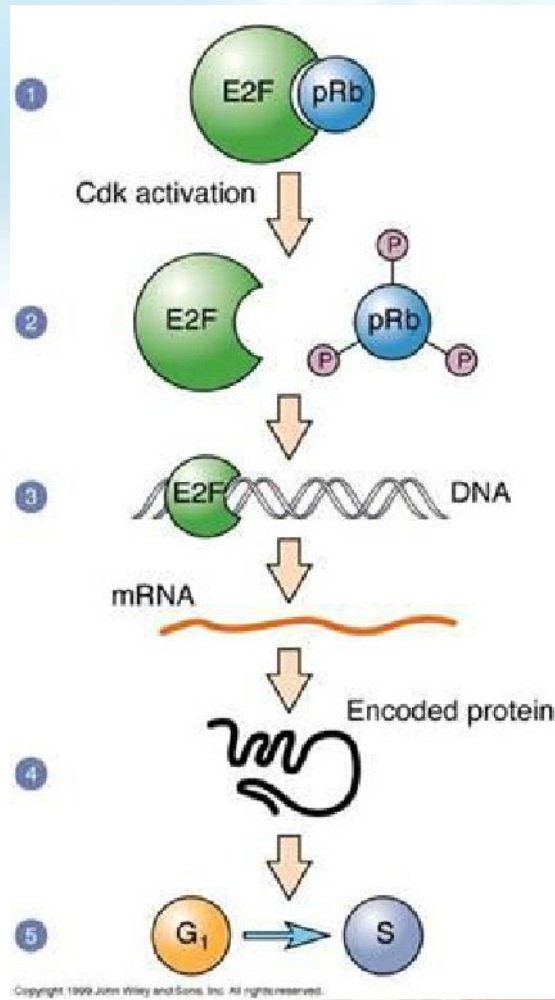
上海交通大学医学院



(2) 作用:

不同程度磷酸化
后, 都可使p105活性缺
乏或完全消失。

在G1期Rb与E2F结合, 抑制
E2F的活性, 在G1/S期Rb被
CDK2磷酸化失活而释放出
转录因子E2F, 促进蛋白质
的合成

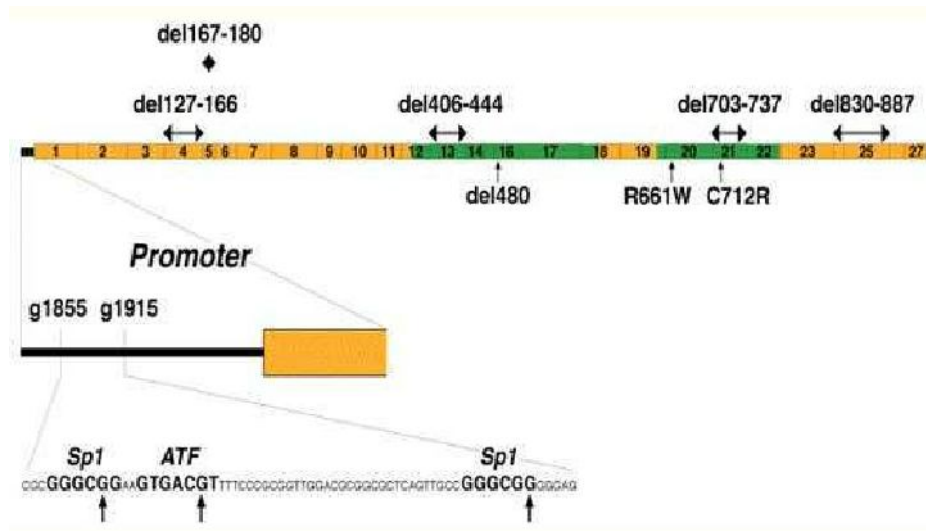


2009年3月

上海交通大学医学院



对于大量来自视网膜母细胞瘤的Rb基因序列进行分析，发现Rb基因完全或部分发生缺失；另一些Rb肿瘤中，基因完整，但序列分析显示有一个突变，它常发生于剪接点上，由于这一变异导致Rb mRNA组装时有外显子被漏掉，因而产生异常Rb蛋白质。



2009年3月

上海交通大学医学院



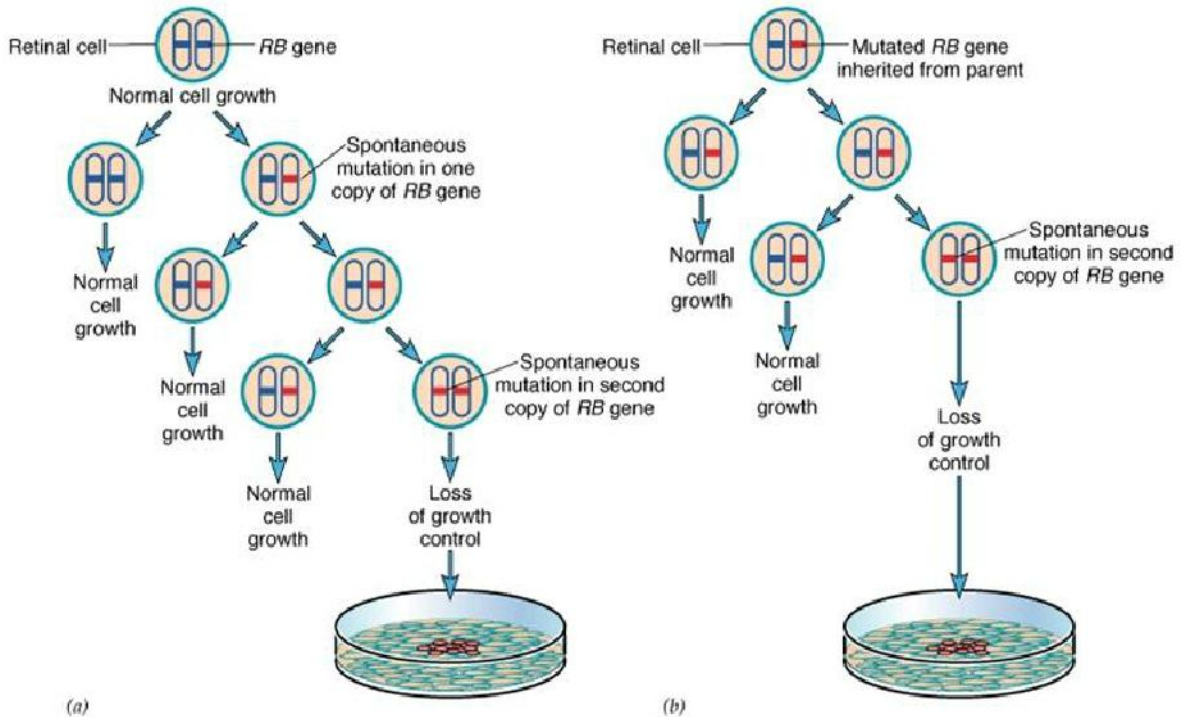
Rb（人类视网膜细胞瘤）基因是第一个被克隆的抑癌基因。Rb的突变导致视网膜瘤。散发性Rb发生较晚，一般只危及一眼，遗传性Rb往往危及双眼，3岁左右发病形成多个肿瘤。



2009年3月

上海交通大学医学院

散发性和遗传性Rb功能丧失的机理



Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

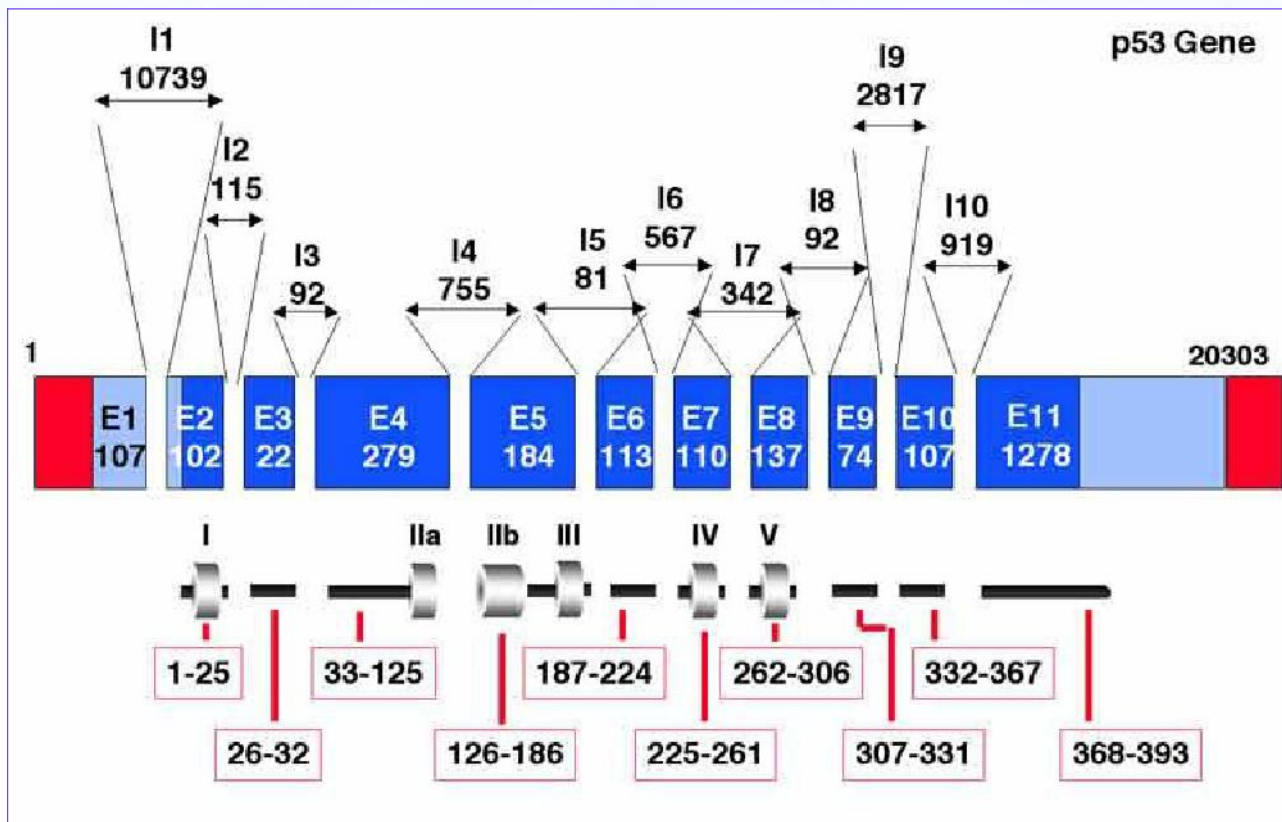
2009年3月

上海交通大学医学院

(2) p53基因

★特点：17p13，11个外显子，10个内含子

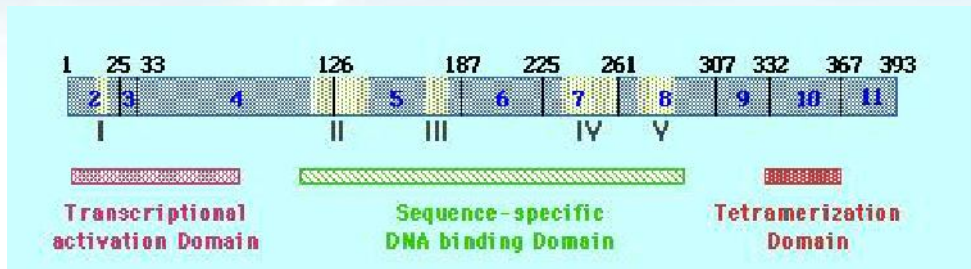
★编码：393个氨基酸，p53



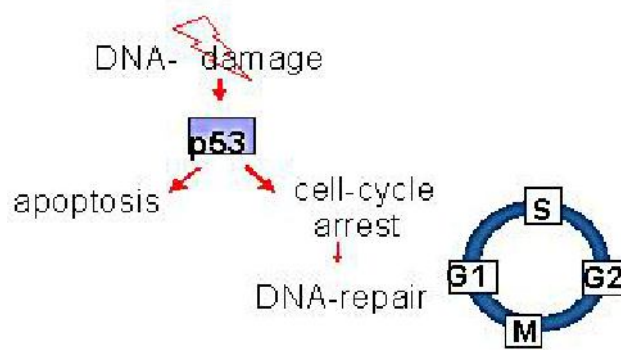


★作用：产物能结合DNA和被磷酸化。

(1) 抑制肿瘤细胞停滞在修复前期不能进入S期复制DNA而促使细胞凋亡。

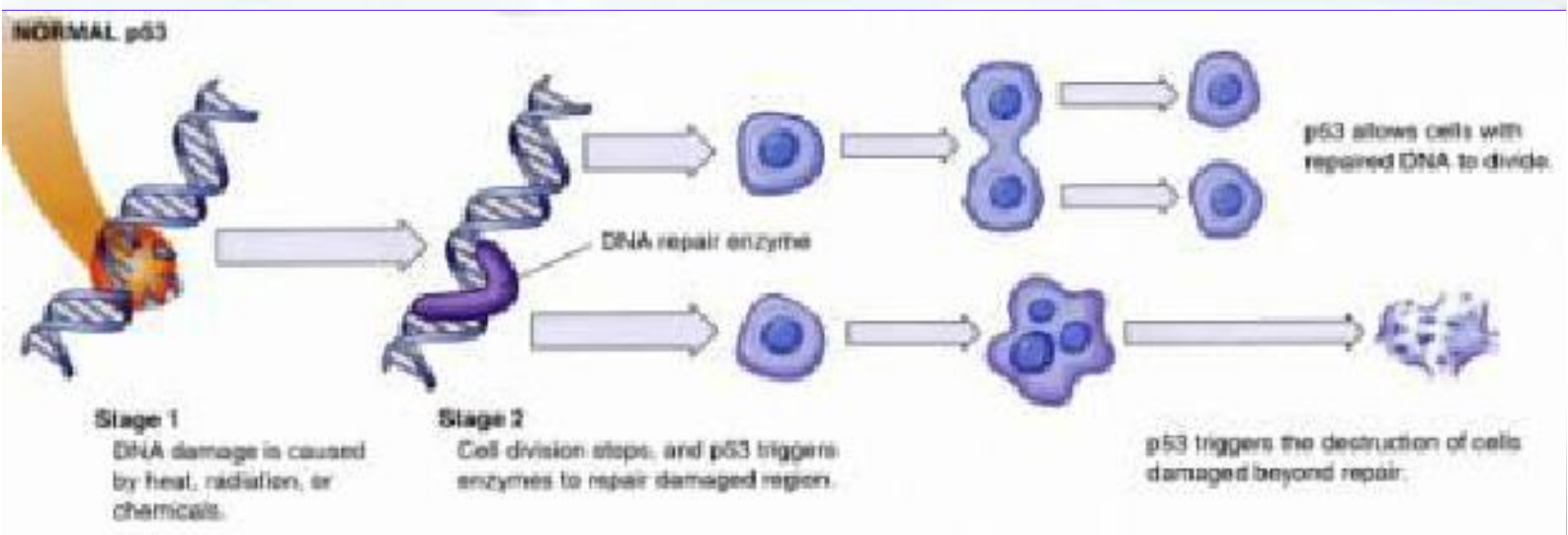


p53 – biologic function



2009年3月

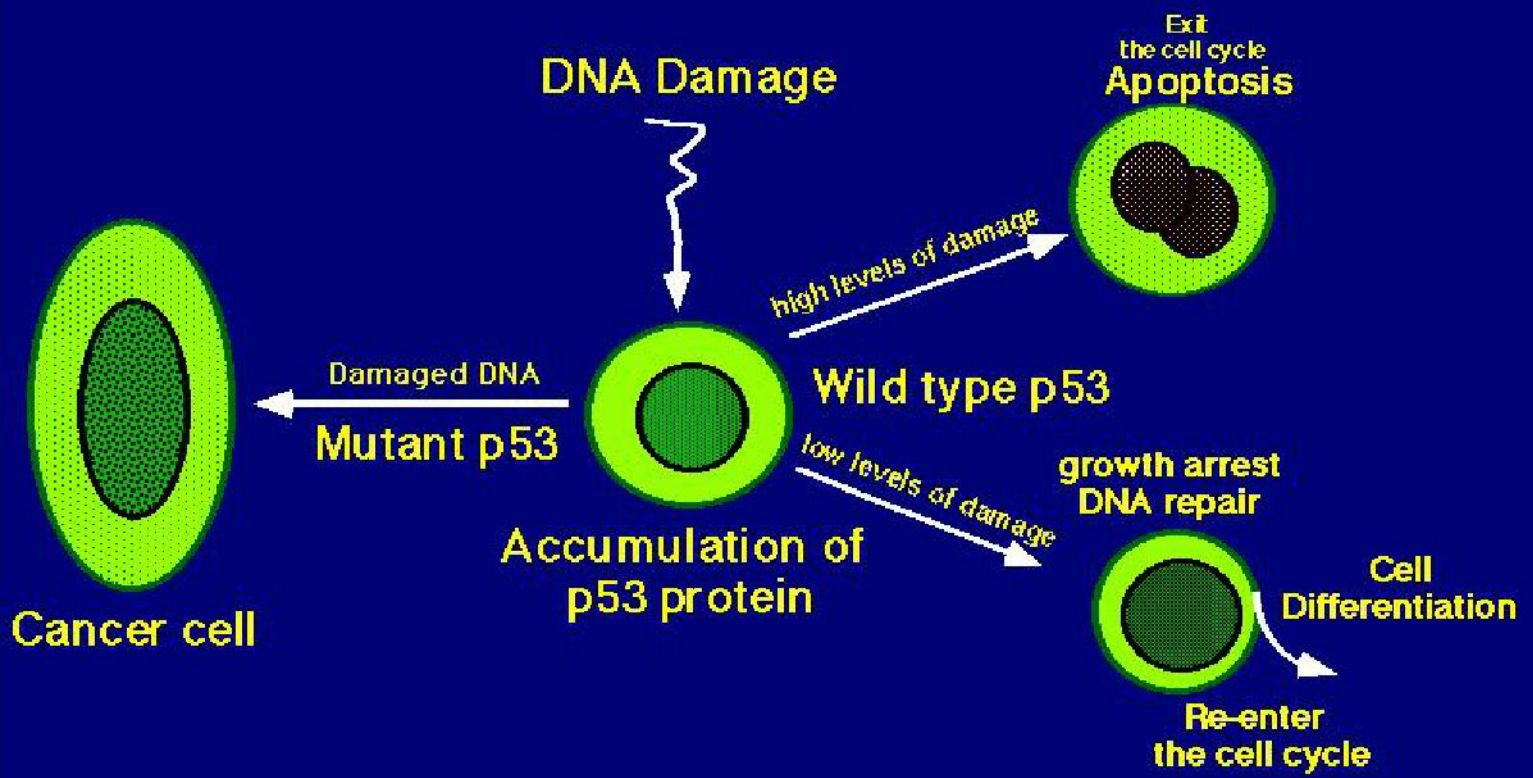
上海交通大学医学院



2009年3月

上海交通大学医学院



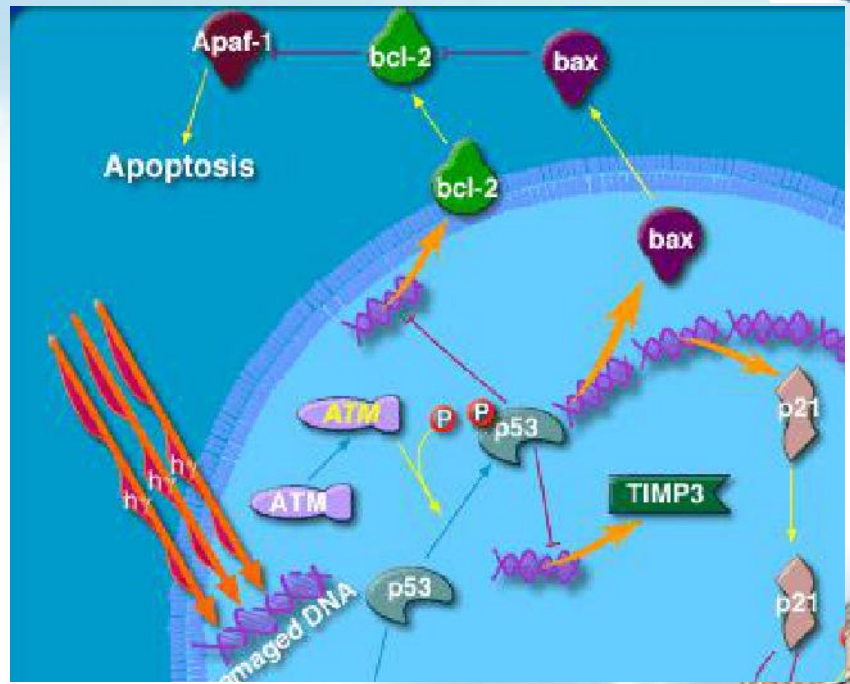


2009年3月

上海交通大学医学院

野生型p53的蛋白质

p53下调bcl-2而上调bax，促进细胞凋亡过程。向丢失p53等位基因的肿瘤细胞中导入野生型p53就会使肿瘤细胞凋亡

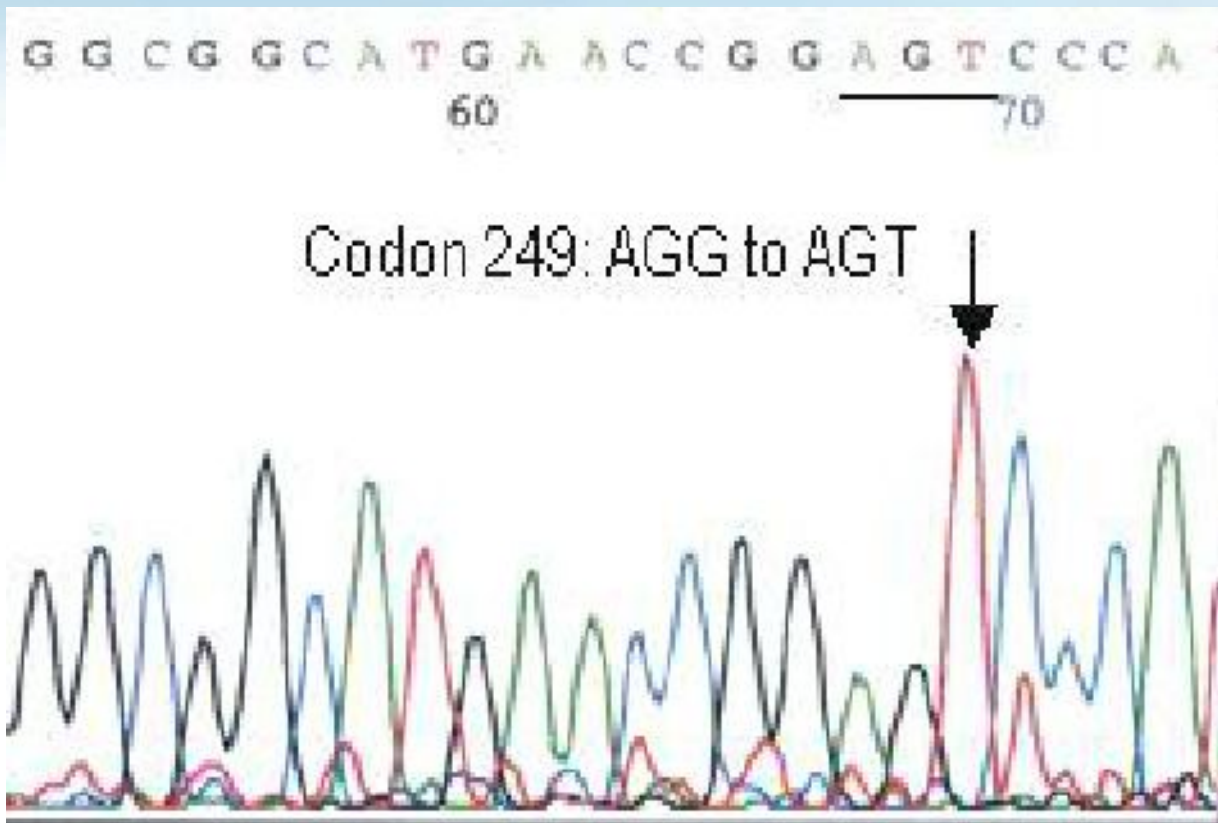


2009年3月

上海交通大学医学院



肝细胞癌p53基因249位G → T

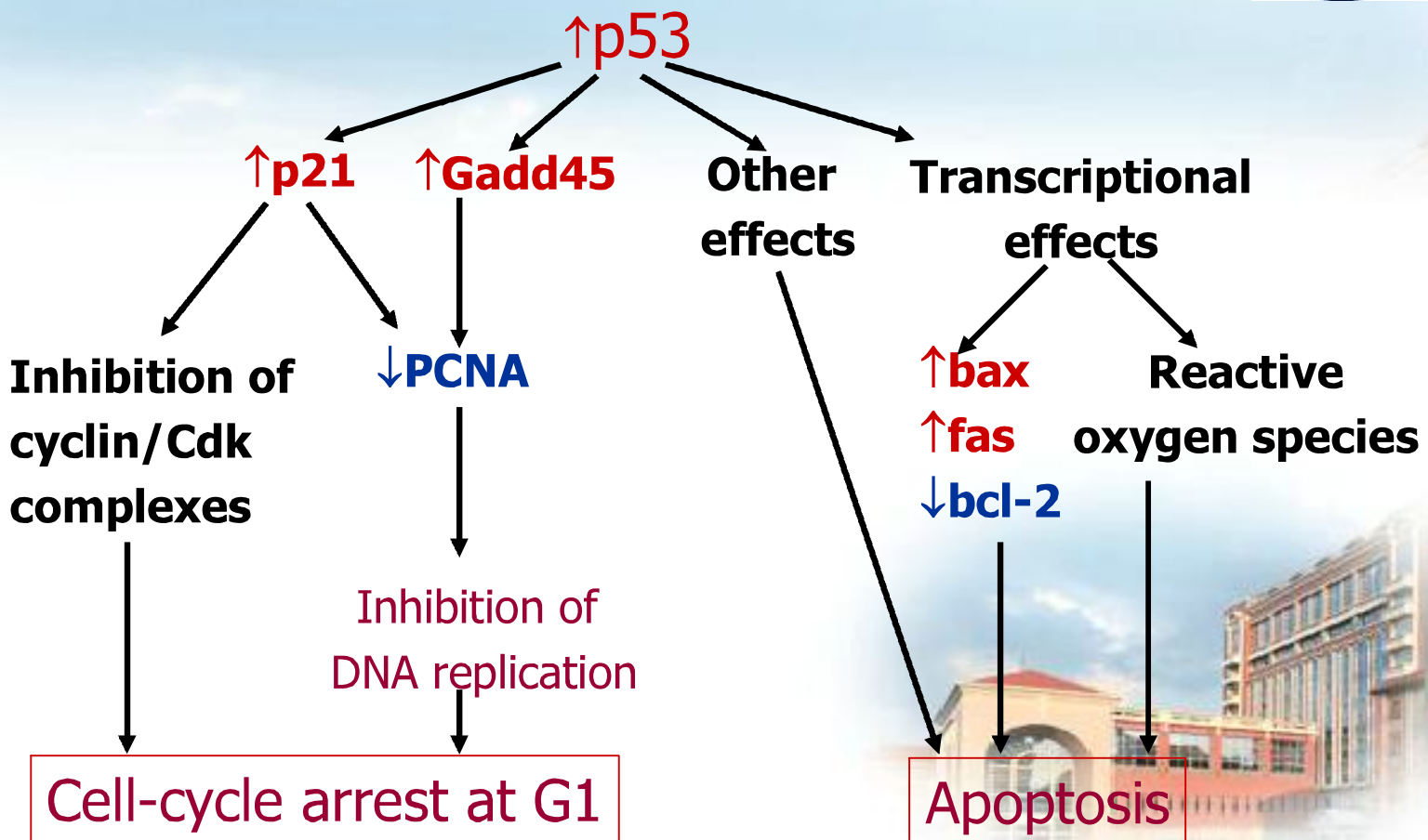


2009年3月

上海交通大学医学院



DNA damage



2009年3月

上海交通大学医学院



三. 肿瘤发生中的基因变化

(一) 肿瘤发生学说

多种致癌因素综合作用的结果

物理因素(如紫外线、电离辐射等)

化学因素(如黄曲霉毒素)

生物因素(DNA或RNA致癌病毒)

经多次打击多阶段变化便形成了肿瘤。



2009年3月

上海交通大学医学院

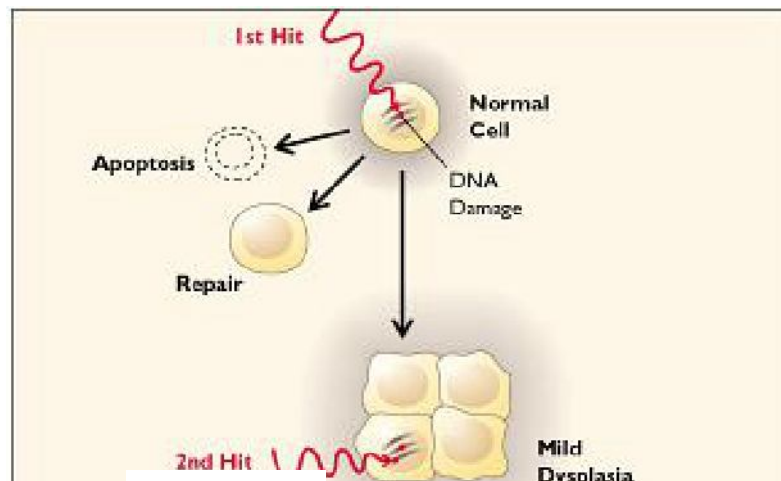
1、启动阶段

◆启动因子作用：

细胞的DNA分子已发生改变，但表型仍显示正常。

◆剂量：

以极低剂量与细胞接触一次，即可启动细胞癌变过程，各种干细胞及处于增殖状态的细胞比静止状态的细胞对启动因子的作用更加敏感。



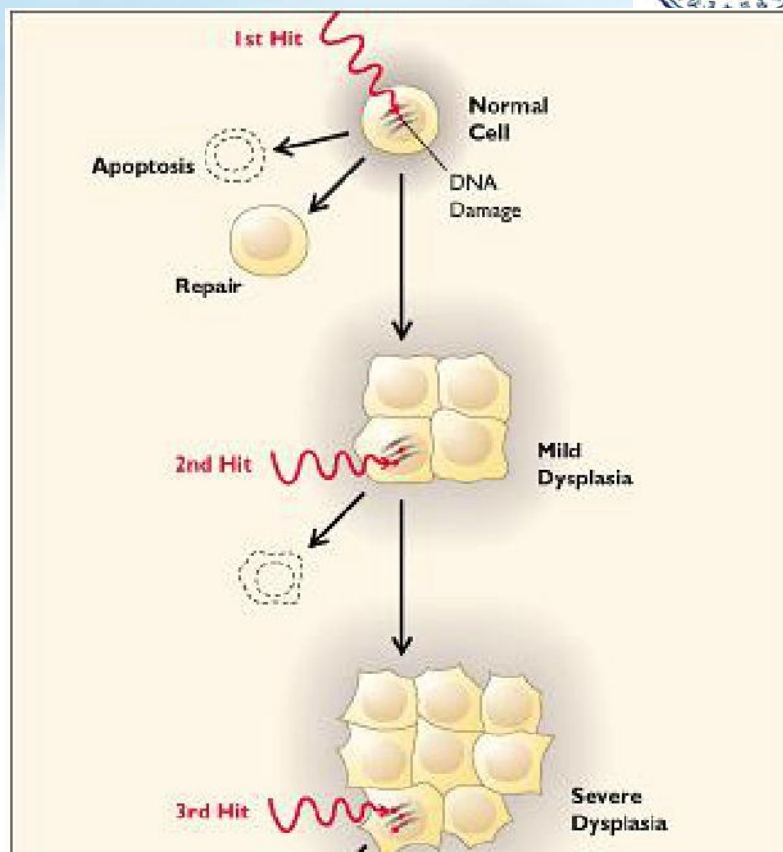
2009年3月

上海交通大学医学院

2、促癌阶段

◆癌前细胞（表型正常而DNA已发生变化）

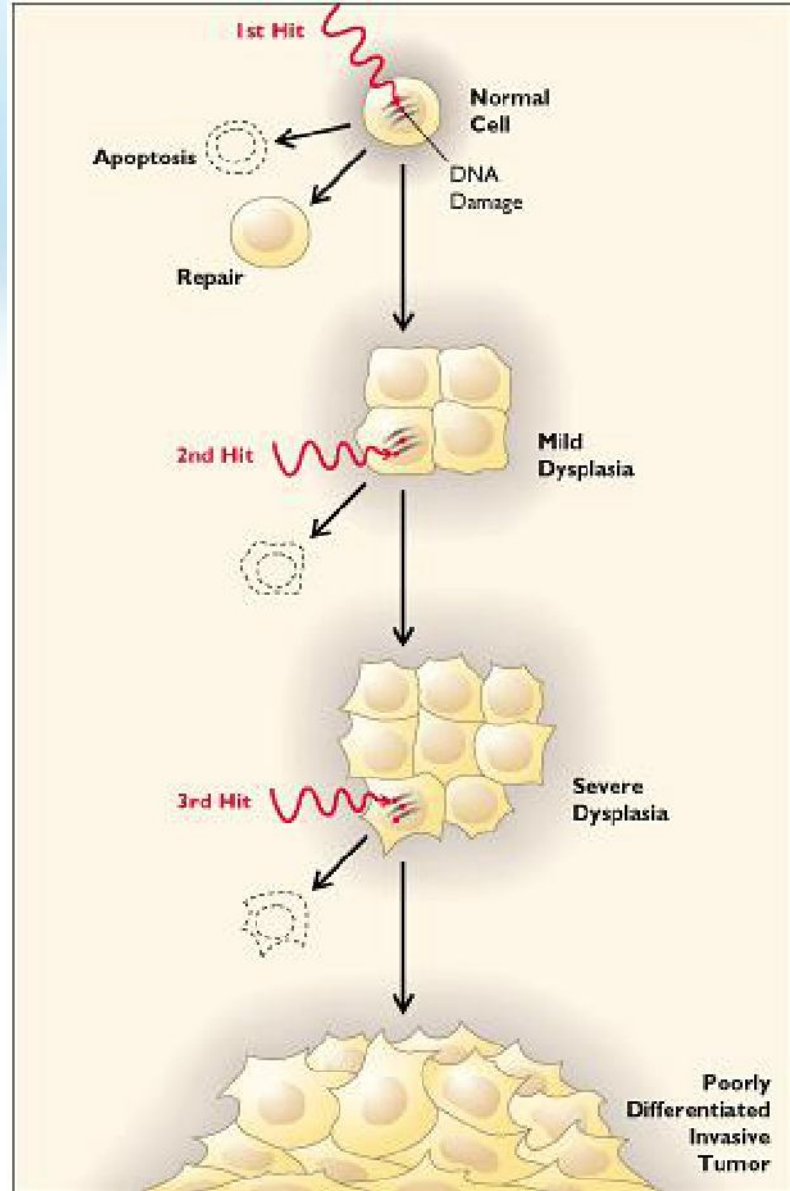
在启动因子和促癌因子的协同作用下，细胞的表型发生变化，表现出癌细胞的表型。



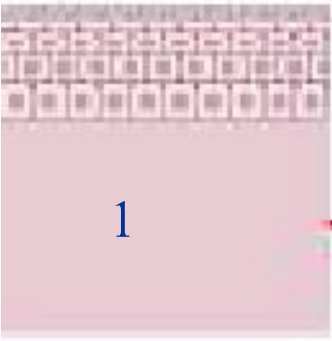
3、转化阶段

已恶变的细胞进入自主分裂增殖状态。促癌阶段形成的增生性病灶会进一步浸润、转移。

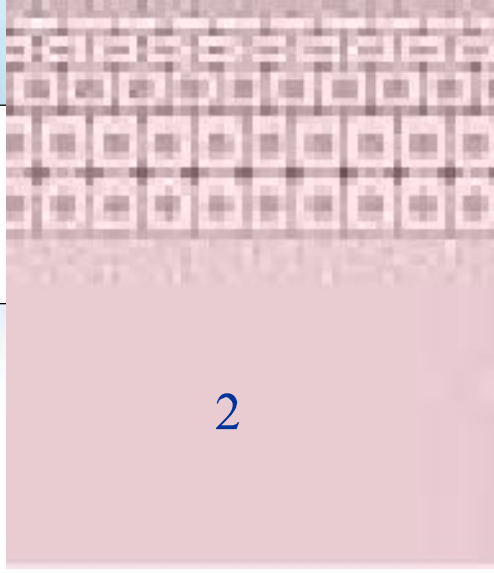
2009年3月



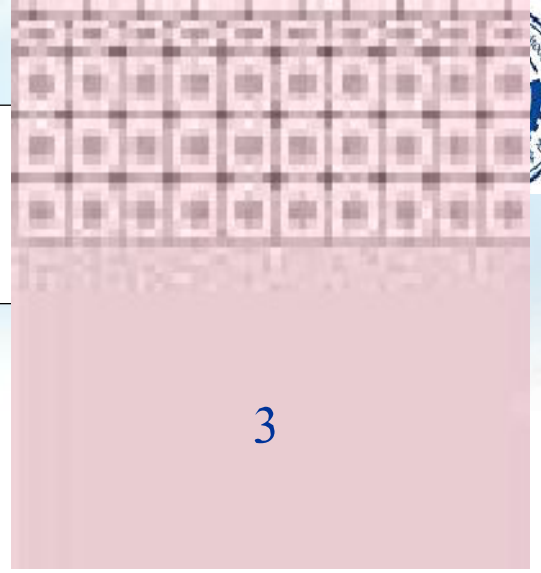
Infection



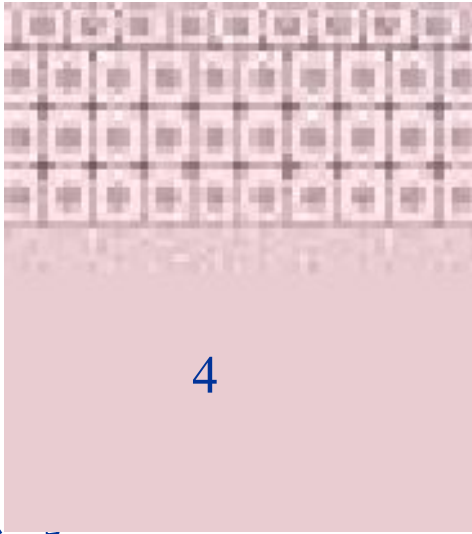
1



2



3



4



5

2009年3月



医学院



实验验证:

肿瘤是由多步骤多阶段或多次打击而发生的疾病。

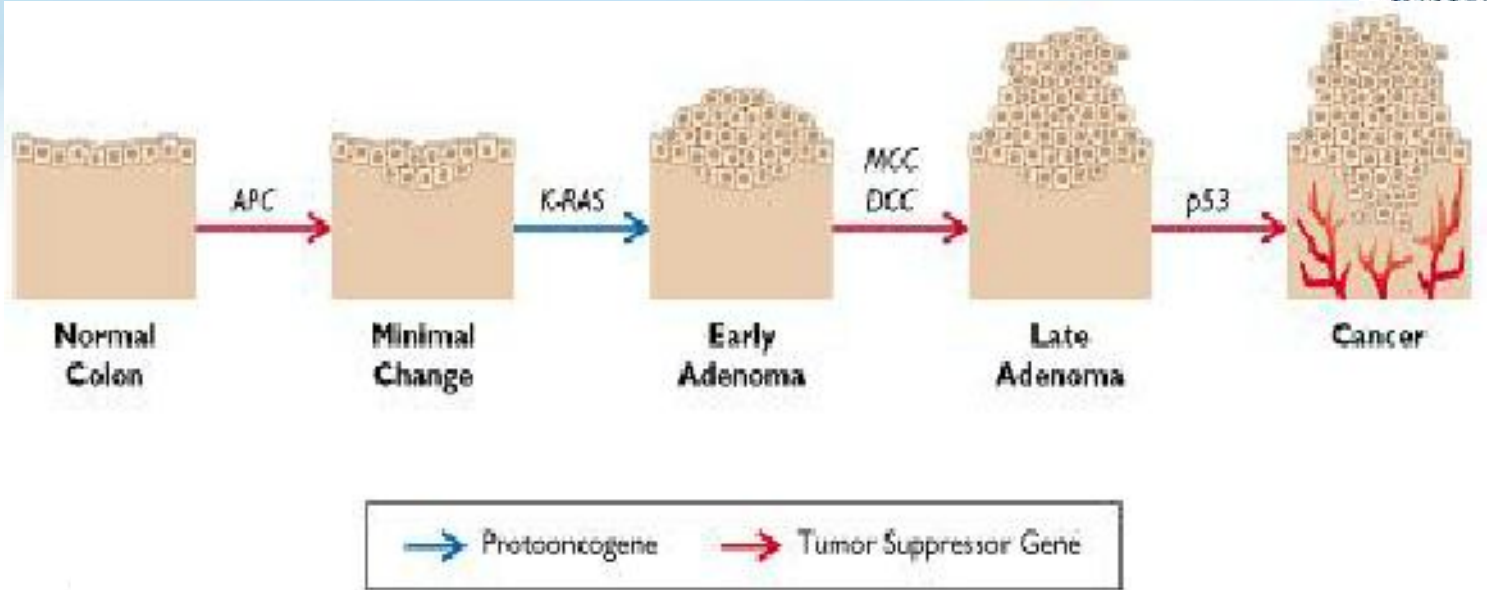
人类结肠癌的发展需要5-6个步骤的顺序

- ras的突变
- 抑癌基因家族性多发性腺瘤（FAP）、结肠癌缺失(DCC)的丢失
- c-myc基因的过度表达
- p53的缺失

是这些变化的积累，而不是它们之间发生的顺序。

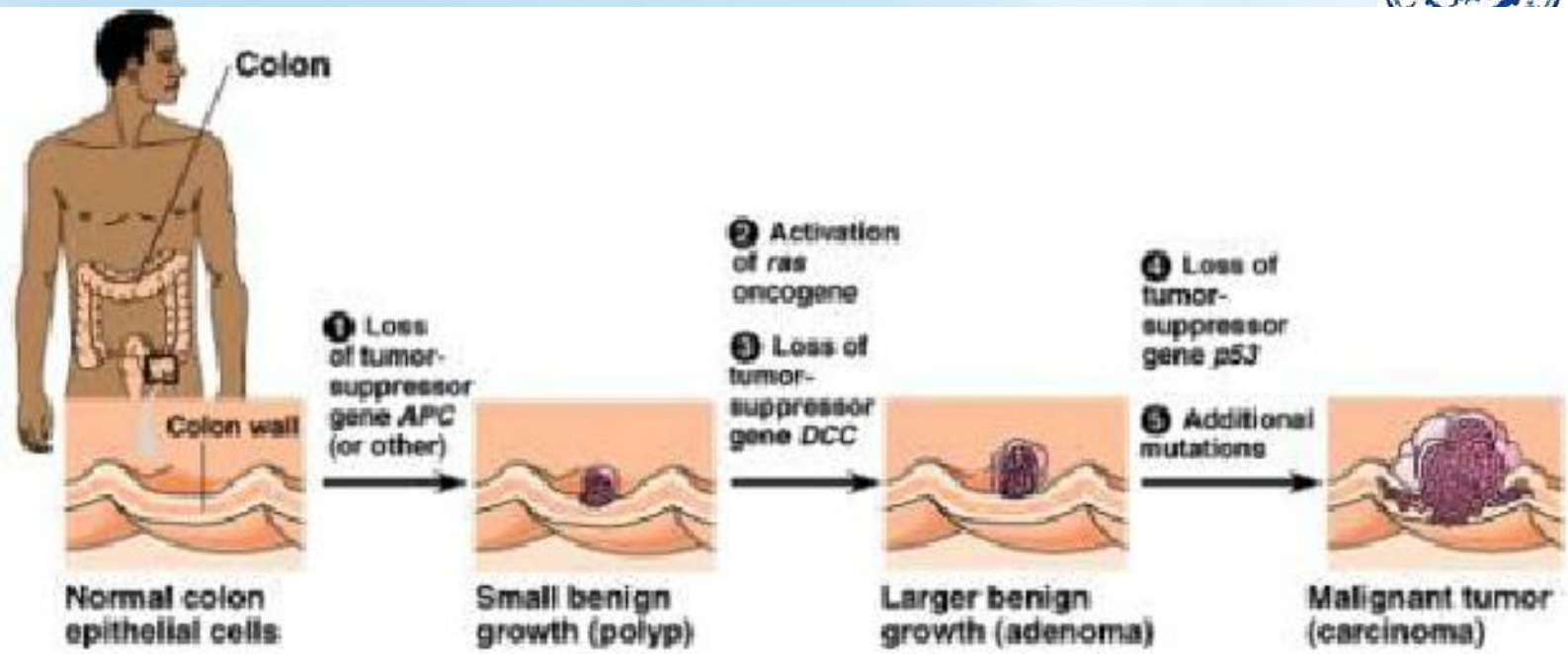
2009年3月

上海交通大学医学院



2009年3月

上海交通大学医学院



2009年3月

上海交通大学医学院



(二) 原癌基因的激活

1. ras基因的变异
2. myc基因的变异



2009年3月

上海交通大学医学院



(三) 抑癌基因的失活

- 1、Rb基因的失活
- 2、p53基因的失活
- 3、其他：

BRCA1和BRCA2：与遗传性高发乳腺癌相关的基因，与卵巢癌的发生也紧密相关。



2009年3月

上海交通大学医学院



1

癌基因

2

抑癌基因

3

原癌基因与抑癌基因的检测及评价



2009年3月

上海交通大学医学院



第三节 原癌基因与抑癌基因的检测及评价

- **基因检测**

核酸扩增: PCR, RT-PCR

凝胶电泳: DGGF (变性梯度凝胶电泳)

核酸杂交: Southern blot, Northern blot, FISH

基因芯片技术

- **基因产物的检测**

蛋白质: 原位检测, ELISA, RIA



2009年3月

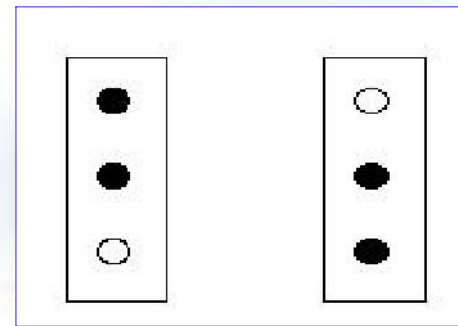
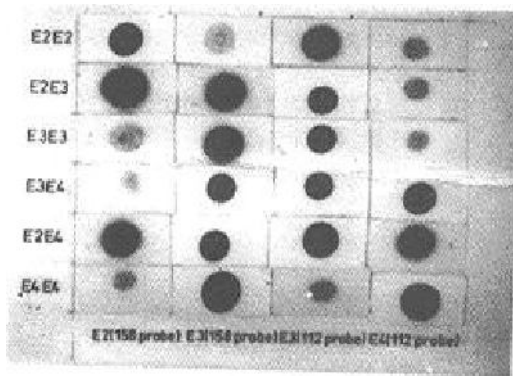
上海交通大学医学院



一、检测方法:

1、PCR / ASO探针法 (PCR-allele-specific oligonucleotide)

该方法快速、灵敏度高，但点突变的检出仅限于突变探针的探测位点，不能检出探针邻近部位的点突变。

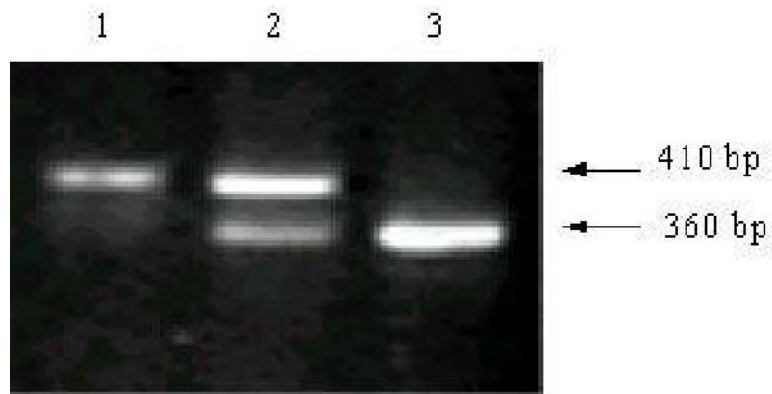


2009年3月

上海交通大学医学院



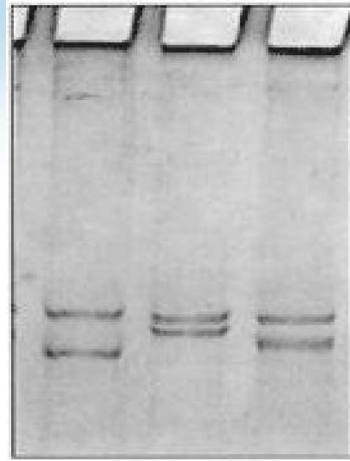
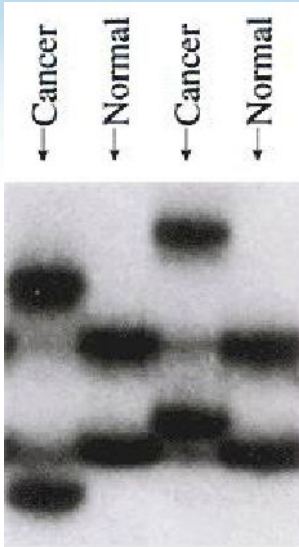
2、限制性片段长度多态性 (RFLP) 分析



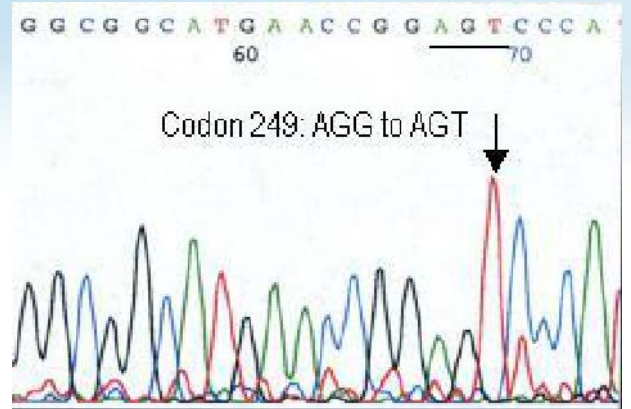
2009年3月

上海交通大学医学院

3、PCR-SSCP、测序等



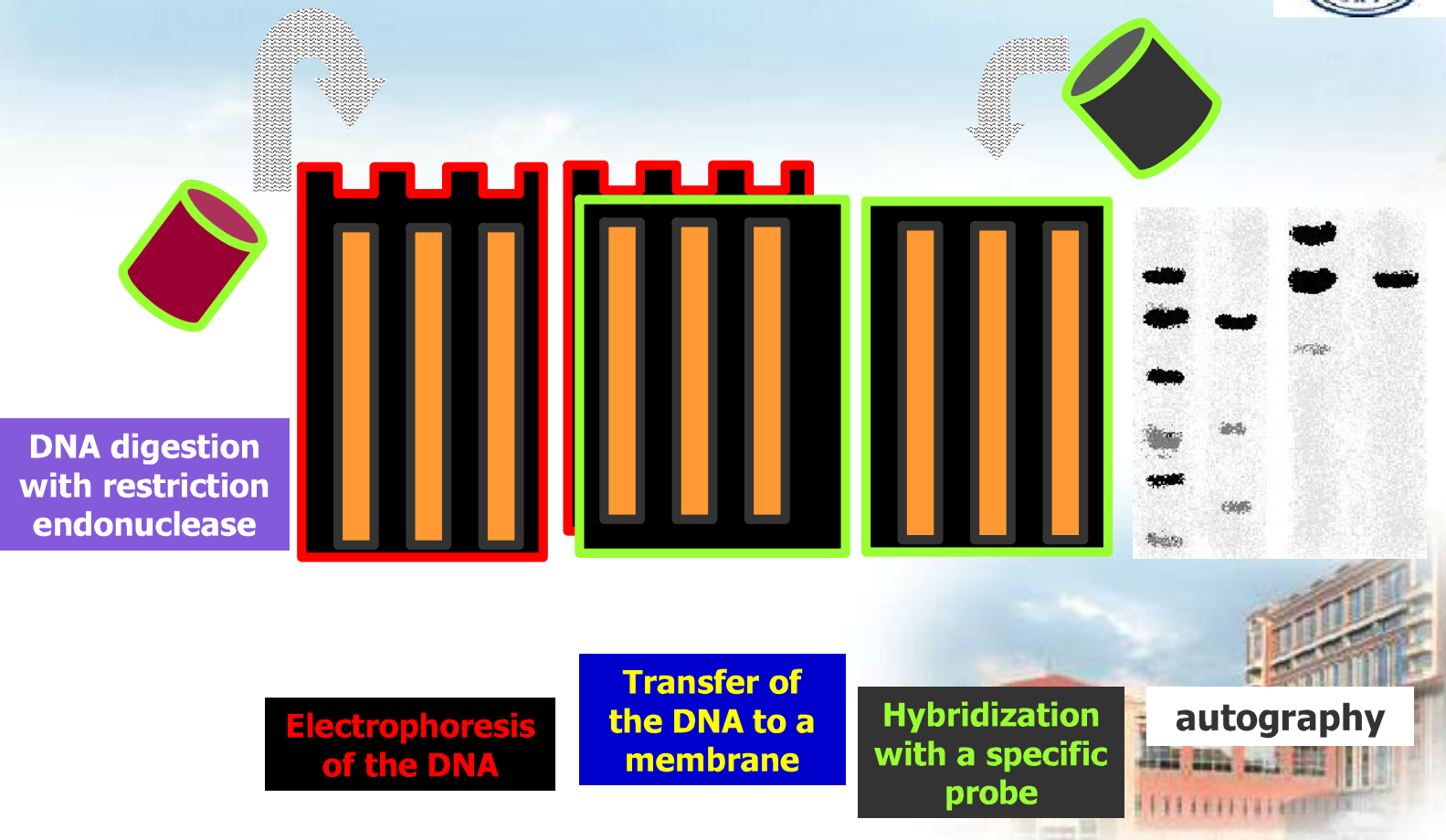
Silver stain



2009年3月

上海交通大学医学院

4、Southern Blot



2009年3月

上海交通大学医学院

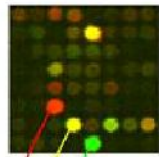
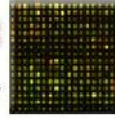


基因芯片

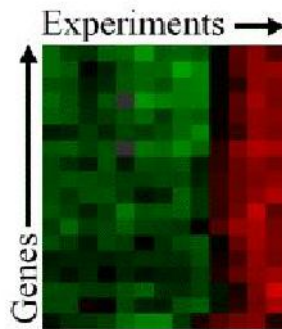
Stanford 乳腺癌微矩阵 (Perou et al. 1999)



Stanford Breast Cancer Microarray Project
 The web supplement to C.M. Perou et al. (1999)
Proceedings of the National Academy of Sciences of America **96**: 9212-9217



200	10000	50.00	5.64	■
4800	4800	1.00	0.00	■
9000	300	0.03	-4.91	■
$Cy3$	$Cy5$	$\frac{Cy5}{Cy3}$	$\log_2\left(\frac{Cy5}{Cy3}\right)$	



2009年3月

上海交通大学医学院





三、肿瘤相关基因检测的临床应用与评价

只有极少数人肿瘤与其相关基因有密切特异性，如视网膜母细胞瘤与Rb基因、家族性结肠息肉与APC基因具有很高特异性，大多数肿瘤还不可能归纳出特异的基因改变。

肿瘤的基因诊断尚不能作为第一诊断手段。



2009年3月

上海交通大学医学院



与肿瘤诊断有关的癌基因

在肿瘤中较普遍表达	c-myc、c-fos、H-ras、k-ras
在肿瘤中特异性表达	c-abl、c-sis
临床意义尚不明确	c-mos、cyes、cfps、c-sac等
白血病	abl、ras
多发性结肠息肉	c-myc
结肠癌，胰腺癌，肺癌	ras
乳腺癌，卵巢癌	BRCA1、c-erbB-2

2009年3月

上海交通大学医学院



肿瘤相关基因的临床应用

肿瘤的早期诊断和筛检

- 1) **Oncogene amplification :**
neuroblastoma N-myc, C-erb-B2
- 2) **Oncogene overexpression :**
small cell lung carcinoma C-myc
- 3) **Oncogene mutation :**
bladder cancer H-ras
- 4) **Suppressor gene deletion :**
retinoblastoma RB gene

2009年3月

上海交通大学医学院





复习思考题

名词解释:

癌基因

细胞癌基因

基因扩增

抑癌基因

点突变

简答题:

- 1、简述原癌基因的激活机制。
- 2、简述肿瘤发生机制。

2009年3月

上海交通大学医学院



