

人类肿瘤基因组系统性突变分析带来的机遇*

田泽君^{1,2)} 郭 宁^{1)**}

(¹⁾军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850; ²⁾河北医科大学第二医院心内科, 石家庄 050000)

摘要 最近发表于《科学》杂志 (Science) 的“人类乳腺癌和结直肠癌共有编码序列”一文, 是继人类基因组计划完成后, 对人类疾病状态下基因组改变的首次无偏倚系统性分析. 对如何利用该研究发现的候选癌基因获得肿瘤治疗药物的新靶标作初步分析, 并介绍这些候选癌基因在识别肿瘤高危人群和依据分子机制更新肿瘤分型方面的潜在应用价值.

关键词 肿瘤, 基因组计划, 突变分析, 治疗靶标, 生物学标记物, 肿瘤分型

学科分类号 R730.5

2006年,《科学》杂志 (Science) 发表了题为“人类乳腺癌和结直肠癌共有编码序列”的论文^[1], 这是继人类基因组计划后, 对人类疾病状态下基因组改变的首次无偏倚系统性分析. 该论文的发表引起了科学界和公众媒体的广泛关注. 这项由美国多家著名研究机构及公司协作完成、斥资约 500 万美元的项目, 是对投资高达 15 亿美元的美国联邦“癌基因组图解计划 (The Cancer Genome Atlas)”的有力支持, 该计划于该文发表后不久即宣布启动, 首批研究对象选定为肺癌、恶性胶质瘤和卵巢癌.

1 “人类乳腺癌和结直肠癌共有编码序列”简介

目前普遍认为, 肿瘤的发生是由于原癌基因和肿瘤抑制基因系列突变所致. 人类基因组测序的完成、测序技术的进步和生物信息学的发展, 使肿瘤基因组分析这项更为复杂的工作成为一项可行的新使命. “乳腺癌和结直肠癌共有编码序列”是此项使命的先驱性工作, 主要成果为: a. 在两种肿瘤中发现了超出预想数量、有待验证的癌基因 (候选癌基因); b. 从方法学上建立了一种供后继“癌基因组图解计划”等肿瘤基因组分析研究参考的策略; c. 了解了体细胞突变在两种肿瘤中的系谱和累及程度. 本文仅关注其中第一项.

该研究采用 11 个乳腺癌和 11 个结直肠癌的细胞系或移植瘤样本, 通过对具有蛋白质编码功能、在共有编码序列 (CCDS) 数据库中登录的 13 023 个

基因进行突变分析, 鉴定出 1 149 个发生体细胞突变的基因. 然后, 利用两种肿瘤各自 24 个新样本, 确定了 189 个候选癌基因 (乳腺癌 122 个, 结直肠癌 69 个, 两肿瘤每个样本平均 11 个). 在这些候选癌基因中, 少数为已知, 多数为首次发现, 在数量上超出预想, 表明大规模突变分析对筛选未知癌基因是十分有效的手段. 在结直肠癌突变的好发部位是双核苷酸 5'-CpG-3', 而在乳腺癌则是双核苷酸 5'-TpC-3'. 在候选癌基因的种类或分布上, 不仅两种肿瘤之间存在显著差异, 同一种肿瘤不同样本之间也明显不同, 这可能是组织类型相同的肿瘤在生物化学、生物学及临床特征等方面显著不同的原因. 基于上述及其他发现, 可以认为现有动物和组织培养研究模型均不能反映人类癌症基因改变的真实情况. 遗憾的是, 在目前 CCDS 数据库登录的基因中未包括约 5 000 个已证实的基因. 在所分析的基因中约 10% 的序列未能成功测序. 检测内容未包括非编码基因突变、编码基因中非编码区突变、较大缺失和插入以及扩增和易位.

2 利用候选癌基因发现抗癌药物的新靶标

针对新发现的候选癌基因, 首先需要确认其是否为癌基因. 癌基因分为三种: a. 原癌基因, 对细

*北京市自然科学基金重点项目 (7051006), 国家重点基础研究发展计划 (973) 资助项目 (2006CB504300).

** 通讯联系人. Tel: 010-66931327, E-mail: ningguo@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2006-12-21, 接受日期: 2007-01-19

胞生长起促进作用, 突变的结果常导致蛋白质产物持续激活或活性异常增高, 为显性表型; b. 肿瘤抑制基因, 对细胞生长起抑制作用, 突变的结果常导致蛋白质产物活性减弱或丧失, 为隐性表型, 须在一对等位基因的两个拷贝均受累的情况下才影响功能; c. 管家基因, 不直接影响细胞生长, 但突变的结果使其他基因的突变率增加, 间接促进肿瘤的发生。

癌基因发现的重要意义之一是可能为抗癌药物提供新靶标。靶标既可选自癌基因本身, 也可选自其相关分子。一个理想的靶标应满足以下条件^[2]: a. 在肿瘤的发生和 / 或维持其生物学特性(促增殖, 抗凋亡, 促血管生成和侵袭等)中起关键作用; b. 在癌细胞中激活或过表达, 并与患者预后不良相关; c. 抑制其表达或活性, 可显著抑制肿瘤细胞增殖和 / 或促进凋亡和 / 或抑制血管生成及侵袭; d. 具有成药性, 易于通过高通量筛选方法获得小分子抑制剂或制备抗体, 如属于酶和细胞膜表面受体者; e. 在正常细胞中不表达或低表达。

在上述研究中, 观察突变所造成的癌基因功能改变是一项基本工作。常用方法是在相应 cDNA 中引入点突变, 并在外源启动子的调控下表达。但非生理性启动子的调控可能导致假象, 而应用 RNA 干扰等方法, 即通过抑制突变基因了解其功能, 可能更有价值。

基因突变所致持续激活或活性增高的原癌蛋白有可能成为药物设计的靶标, 而对于某些肿瘤抑制基因来说, 突变常导致其编码产物活性减弱或丧失, 自身不能作为靶标, 但受其抑制的蛋白则有可能成为药物作用的靶分子。此时, 可应用一种从酵母遗传学中“合成致死(synthetic lethality)”原理衍生的策略寻找新的靶标。即当肿瘤抑制基因由于突变而使其自身及其信号通路的功能减弱、引发另一个基因及其信号通路的功能增强时, 会导致肿瘤细胞的存活对功能增强的基因及其信号通路产生依赖性。若以该增强的基因或信号分子作为靶标, 抑制其功能, 则可能影响肿瘤细胞的存活, 而正常细胞无恙^[3]。例如, 当细胞中肿瘤抑制基因 PTEN 缺失时, PI3K-mTOR 信号通路的功能增强, 并使细胞存活对该通路产生依赖性, 此种变化赋予 mTOR 抑制剂显著的抗增殖作用^[4]。此外, 由于许多基因隶属于一个家族, 对该家族其他成员的研究也能为新靶标提供线索^[5]。

既然在一个肿瘤中可能存在较多肿瘤相关性基因突变, 是否一个治疗药物需要纠正所有由这些突变引起的缺陷才能有效? 事实未必如此。例如, 对于 TP53 或 RB1 基因发生突变的肿瘤细胞, 只要恢复它们的功能, 即可达到诱发凋亡、或阻断细胞周期、或恢复对化疗药物敏感性的目的。对这一现象的可能解释是, 一个突变的发生及功能依赖较前发生的另一个突变, 即使一个原本对肿瘤细胞有害的突变, 也可能由于之前的突变而对肿瘤细胞有利, 若纠正前一突变, 整个癌变过程就可能逆转^[6]; 另一种解释是, 多种突变的共存, 恰恰反应了机体具有强大的内在抗肿瘤机制, 可以将肿瘤设想成一把锁, 将突变设想成锁中的锯齿, 只要一个锯齿得到修复, 锁就不能再被原钥匙打开^[7]。这些解释的合理性有待证实。

针对上述靶标而发挥作用的“分子靶向药物”, 代表着抗肿瘤药物研发的新方向, 并已取得了初步成就。Imatinib(GleevecTM)是酪氨酸激酶小分子抑制剂, 对某些以酪氨酸激酶被持续性激活为特征的恶性肿瘤十分有效, 如染色体易位导致的慢性粒细胞性白血病等血液系统肿瘤及 c-Kit 基因突变导致的胃肠间质瘤^[8, 9]。Gefitinib(IressaTM)是表皮生长因子受体(EGFR)的小分子抑制剂, 对 EGFR 基因中存在某种突变的非小细胞肺癌疗效显著^[10], 然而有趣的是, 在 EGFR 基因 790 位上苏氨酸被甲硫氨酸取代的突变, 则与该药的耐药性有关^[11]。Trastuzumab(HerceptinTM)是针对 ErbB2 受体酪氨酸激酶的重组人源化抗体, 对 ErbB2 过表达的乳腺癌患者疗效显著^[12]。目前, 临床上正在验证几个以突变基因作为靶标的新抗癌药物, 例如, BRAF 丝 - 苏氨酸激酶抑制剂(治疗恶性黑色素瘤等)及 FLT3 受体酪氨酸激酶抑制剂(治疗混合系白血病), 且均取得了较好的初步结果^[13]。

癌变过程可能是一个需要克服多重障碍的复杂过程, 包括在缺乏促有丝分裂信号情况下进入增殖周期、抵抗凋亡反应、肿瘤细胞浸润周围组织及诱发新生血管生成。基因突变可能是肿瘤细胞为克服这些障碍而发生的变化, 也是生存压力下的选择, 应与细胞存活密切相关, 干预突变或其效应将对肿瘤细胞产生致命性的影响。因此, 在候选癌基因或相关分子中发现新靶标的工作存在着大量机遇, 并且可能是首先取得成果的领域。

3 候选癌基因在其他领域的应用

3.1 肿瘤高危人群的新生物学标志物

某些癌症表现出遗传易感性, 其中典型者称高外显综合征(highly penetrant syndromes), 提示在肿瘤的发生中除体细胞变异外, 种系变异也起一定作用. 越来越多的证据表明, 癌症的遗传易感性与某种或某些基因的突变有关. 利用突变基因作为生物学标志物识别肿瘤高危人群, 既往也有成功的先例. 如: 5%~10%的乳腺癌具有家族特征, 通过对大量特征明显的乳腺癌和卵巢癌患者的家族分析, 至少已发现了2种易感基因, 即BRCA1和BRCA2(均属于肿瘤抑制基因), 携带其突变者, 患上述2种肿瘤的风险显著增加; 遗传性非息肉病性结直肠癌和家族性腺瘤性息肉病是2种主要的遗传性结直肠癌, 已发现前者的易感基因为5个错配修复基因(hMLH1、hMSH2、hMSH6、PMS1和PMS2), 后者为APC基因, 携带这些基因的突变者, 患各自肿瘤的风险性显著增加. 对上述高危人群实施监视、给予预防性药物或进行预防性器官切除等已证明有效^[12-13]. 此外, 对上述突变基因的检测, 也有助于诊断. 目前正在寻找乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌及前列腺癌时与激素代谢, 及结肠癌时与叶酸合成代谢有关的遗传变异等, 以期发现用于识别相应肿瘤高危人群的新生物学标志物. 对于乳腺癌和结直肠癌候选癌基因的种系突变及肿瘤遗传易感性分析, 是一种值得尝试的、发现新型肿瘤生物学标志物的方法.

3.2 依据分子机制对肿瘤重新分型

对于基因组改变在肿瘤发生、发展中的重要作用虽然早有认识, 但一直未能体现在肿瘤的防治实践中. 临床长期沿用的肿瘤组织学分型, 既不能反映发病机制, 也不足以反映体内的生物学行为及临床表现的差异. 例如, 前列腺癌既可终生休眠无恙, 也可迅速恶化致死. 这种分型的结果, 在临床工作中会使将发病机制不同的肿瘤归为同一类型, 而相同者却归为不同类型, 因而无法受到恰当的治疗或疗效难以分析, 在流行病学调查中, 会使某种遗传或环境因素与肿瘤之间的关联性得不到显现, 因而妨碍肿瘤易感因素的识别和预防措施的开发.

通过对候选癌基因的确认和研究, 可能会揭示一批具有相同或相似分子机制的肿瘤亚型, 以此分型, 将使多方面工作得到改进. 特别在治疗工作中, 将能够有针对性地开发和验证治疗措施, 有的放矢

地将有效措施扩展到具有类似机制的其他肿瘤, 改进对治疗反应的预测、提高临床试验效率等. 另外, 对流行病学调查、诊断(特别是早期诊断)、免疫治疗和预测预后等亦有裨益.

4 展 望

“癌基因组图解计划”曾一度受到合理性和效益性等方面的质疑^[14], “人类乳腺癌和结直肠癌共有编码序列”一文对该计划不仅得出了有利的结论, 也提供了宝贵的技术经验. 另外, 该计划曾收到许多建议, 包括加强对基因调控或扩增区域的研究、重视影响基因开关的DNA甲基化等表观遗传学改变等^[15, 16], 相信“癌基因组图解计划”将以更合理、有效的方式展开, 并获得更丰富的基因组改变的信息.

“人类乳腺癌和结直肠癌共有编码序列”一文所发现的候选癌基因也可可为其他肿瘤的研究提供重要线索. 在未来乳腺癌和结直肠癌的诊治中, 或许对突变基因和/或关键分子的检测将起决定性作用, 成为比显微镜下组织学检查更重要的项目. 总之, 建立于分子机制基础上的“个性化医疗”已初显端倪, 通过不断完善, 这种全新的战略有望使人类与肿瘤之间的战役发生历史性转折以至赢得最终胜利.

参 考 文 献

- 1 Sjoblom T, Jones S, Wood L D, *et al.* The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science*, 2006, **314** (5797): 268~274
- 2 Sun Y. p53 and its downstream proteins as molecular targets of cancer. *Mol Carcinog*, 2006, **45** (6): 409~415
- 3 Kaelin W G Jr. The concept of synthetic lethality in the context of anticancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2005, **5** (9): 689~698
- 4 Neshat M S, Mellinghoff I K, Tran C, *et al.* Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (18): 10314~10319
- 5 Kaelin W G Jr. Choosing anticancer drug targets in the postgenomic era. *J Clin Invest*, 1999, **104** (11): 1503~1506
- 6 Arora A, Scholar E M. Role of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, **315** (3): 971~979
- 7 Yamanaka T, Okamoto T, Ichinose Y, *et al.* Methodological aspects of current problems in target-based anticancer drug development. *Int J Clin Oncol*, 2006, **11** (3): 167~175
- 8 Paez J G, Janne P A, Lee J C, *et al.* EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*, 2004, **304** (5676): 1497~1500
- 9 Imai K, Takaoka A. Comparing antibody and small-molecule

- therapies for cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, **6** (9): 714~727
- 10 Papadopoulos N, Kinzler K W, Vogelstein B. The role of companion diagnostics in the development and use of mutation-targeted cancer therapies. *Nat Biotechnol*, 2006, **24** (8): 985~995
 - 11 Weir B, Zhao X, Meyerson M. Somatic alterations in the human cancer genome. *Cancer Cell*, 2004, **6** (5): 433~438
 - 12 Guillem J G, Wood W C, Moley J F, *et al.* ASCO/SSO review of current role of risk-reducing surgery in common hereditary cancer syndromes. *Ann Surg Oncol*, 2006, **13** (10): 1296~1321
 - 13 Strate L L, Syngal S. Hereditary colorectal cancer syndromes. *Cancer Causes Control*, 2005, **16** (3): 201~213
 - 14 Elledge S J, Hannon G J. An open letter to cancer researchers. *Science*, 2005, **310** (5747): 439~441
 - 15 Kaiser J. Tackling the cancer genome. *Science*, 2005, **309** (5735): 693
 - 16 Kaiser J. First pass at cancer genome reveals complex landscape. *Science*, 2006, **313** (5792): 1370

Opportunities Provided by Systematic Mutational Analysis of Human Cancer Genome*

TIAN Ze-Jun^{1,2)}, GUO Ning¹⁾**

⁽¹⁾*Institute of Basic Medical Sciences, The Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;*

⁽²⁾*Department of Cardiology, Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)*

Abstract The recent report “The Consensus Coding Sequences of Human Breast and Colorectal Cancers” published in *Science* represents the first unbiased systematic mutational analysis of human genome at any disease states after the completion of The Human Genome Project. It was tentatively discussed how to take advantage of the candidate cancer genes found in this study in discovery of novel targets of therapeutic drugs. In addition, the penitential values of the candidate cancer genes in identification of patients at high risk of cancer, and in renewing classification of tumors based on underlying molecular mechanisms are introduced.

Key words cancer, Genome Project, mutational analysis, therapeutic targets, biomarker, tumor classification

*This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2006CB504305) and Beijing Natural Science Foundation (7051006).

**Corresponding author . Tel: 86-10-66931327, E-mail: ningguo@nic.bmi.ac.cn

Received: December 21, 2006 Accepted: January 19, 2007