

结直肠癌早期检测的基因标志物

李 鹏,朱运峰*
(军事医学科学院附属医院肿瘤学研究室,北京 100071)

[摘要] 研究表明,肿瘤的发生和发展与癌基因和抑癌基因有着密不可分的关系。随着分子生物学理论和技术的发展,对癌基因和抑癌基因的检测已成为肿瘤临床预警和诊断的重要途径。自 Fearon 和 Vogelstein 1990 年提出结直肠癌发生的分子模型以来,结直肠癌发病的分子机制不断被阐明,通过对与结直肠癌相关的基因改变的检测可以为结直肠癌早期预警提供帮助。尤其是对具有家族病史的人进行相关基因改变的检测,检出率已经达到相当高的水平。本文对近年来被认为与结直肠癌相关的基因作一综述。

[关键词] 结直肠肿瘤;基因;突变;基因标志物

[中图分类号] R 730.231.3 [文献标识码] A [文章编号] 0258-879X(2007)08-0903-03

Gene markers for early detection of colorectal cancer

LI Peng,ZHU Yun-feng* (Department of Oncology,the Affiliated Hospital of Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071,China)

[ABSTRACT] It has been indicated that the oncogene and anti-oncogene are closely related to the development and progression of cancer. With the development of molecular biology, detection of oncogene and anti-oncogene has become an important approach for clinical warning and diagnosing of cancer. Since the establishment of the molecular model of colon cancer by Fearon and Vogelstein in 1990, the genetics of colorectal cancer has gained major advances in early diagnosis. Early detection of related gene mutations is helpful for the early warning of colorectal cancer,especially for palients with hereditary cancer(the detection rate is fairly high). This review summarizes the progression of study on biomarkers of colorectal cancer.

[KEY WORDS] colorectal neoplasms; gene; mutation; gene marker

[Acad J Sec Mil Med Univ,2007,28(8):903-905]

结直肠癌(colorectal cancer)是常见的消化道恶性肿瘤,在西方发达国家结直肠癌仅次于肺癌列恶性肿瘤的第2位,在我国上海结直肠癌已是第3位常见肿瘤。另外,老年人随着年龄的增高其结直肠癌发病率会不断上升,青年期结直肠癌的发病率也有升高趋势。研究结果显示,结直肠癌的预后与分期密切相关,如 O’Connell 等^[1]报道 1991~1999 年治疗的 20~40 岁的青年直肠癌 I、II、III、IV 期患者,其 5 年生存率分别为 87.9%、75.4%、51.3%、8.0%,60~80 岁的老年直肠癌患者的 5 年生存率则分别为 91.9%、69.8%、52.8%、6.6%。因此早期诊断是提高结直肠癌预后的关键。但是目前结直肠癌的早期检测并不令人满意,所以寻找一种特异性高、敏感性强的结直肠癌早期诊断方法非常必要。

癌症的基因标志物检测被认为是目前最有效的预警方式。经过研究,在结直肠癌发生过程中各个阶段存在明显基因改变的累积效应^[2-5],因此对于这些阶段性基因突变的检测是进行癌症预警的重要方向。现将关于结直肠癌各个阶段的基因标志物研究结果阐述如下。

1 腺瘤性结肠息肉病 (adenomatous polyposis coli,APC) 基因

APC 基因于 1986 年首先由 Herrera 等发现。已知 APC 基因位于染色体 5q21 上,APC 基因全长含有一个 8 538 bp 开放框架,共含有 15 个外显子,表达产物由 2 843 个氨基酸

残基组成,在很多细胞和组织中表达 APC 基因突变常见于家族性腺瘤性息肉病,其被认为是结直肠癌发生的早期标志之一^[6]。

Dihlmann 等^[7]对 500 多个家族性多发性腺瘤病(familial adenomatous polyposis,FAP)家族进行 APC 基因检测,约 80%家族有 APC 基因突变。对其中 176 例突变分析,98%以上的突变可导致 APC 蛋白截短,这些突变大多为无义突变(33%)、小插入(6%)、缺失(55%)。在对非 FAP 结直肠疾病患者的研究发现,35%~60%的患者也出现了 APC 等位基因缺失。APC 基因突变类型主要有点突变和框架移码突变,60%以上的突变位于第 15 号外显子,大约 95%的结果是在下游形成提前的终止密码子,使 APC 蛋白呈“截短”改变。密码子第 1 286~1 513 号之间的 10%左右的编码区集中了约 65%的体细胞突变,被称为“突变密集区 (mutation cluster region,MCR) ”。

[基金项目] 全军“十一五”面上课题(06MA317). Supported by the Foundation of the 11th Five-Years-Plan of PLA(06MA317).
[作者简介] 李 鹏. E-mail: penglee1985@yahoo. com. cn
* Corresponding author. E-mail: Zhuyf2004@163. com

2 环氧酶 2(cyclooxygenase-2, COX-2)基因

COX-2 基因位于第 1 号染色体 1q25.2~25.3,长约 8.3 kb,其外显子和内含子组成与 COX-1 相似,含 10 个外显子,其 mRNA 转录产物为 4.5 kb,编码一个含 604 个氨基酸的信号肽。COX 是合成前列腺素的限速酶,参与炎症反应,过度表达可以导致多种上皮性肿瘤的发生、发展。最近的研究发现^[8-11],超过 85% 的结直肠腺瘤患者发现了 COX-2 基因的过度表达,同时在 70.8% 的原发性结直肠癌患者、92.0% 淋巴结转移患者和近 100% 的肝转移患者中均可以检测到 COX-2 基因的过度表达。COX-2 基因的表达还与原发性肿瘤大小、肿瘤的浸润程度、淋巴结转移、甲状腺淋巴结转移阶段和肿瘤的复发有着显著的相关性^[11]。

3 K-ras 基因

K-ras 基因是一种原癌基因,位于染色体 12p12.1 上,编码蛋白质由 188~189 个氨基酸构成,相对分子质量为 21 000。K-ras 基因的激活能导致肿瘤发生,激活有多种形式,可以是表达增加,或是基因突变,或是内在的 GTP 酶活性下降,也可以是与 GTP 及 GDP 结合的亲和力降低。基因突变往往发生在 12、13 和 61 密码子,以 12 密码子最常见。超过 50% 的结直肠腺瘤患者出现 K-ras 的过表达^[2,12-13]。经过多年的研究,K-ras 基因在结直肠癌中具有高频率的突变,并且突变出现在结直肠癌的早期,可以作为结直肠癌早期检测的标志^[12-13]。

4 p53 基因

p53 基因是重要的抑癌基因,位于染色体 17p13.1 上,编码一个由 393 个氨基酸组成的核磷酸蛋白,有调控细胞的生长、维持基因组稳定的作用。突变的 p53 基因丧失了调节细胞周期的重要作用,导致肿瘤发生。在 5% 早期腺瘤患者、45% 有浸润现象发生的腺瘤患者、75% 结直肠癌患者中发现了 17 号染色体短臂等位缺失^[14-15]。研究人员对结直肠癌患者研究发现^[16],17 号染色体短臂断裂点位于 p53 基因位点,同时检测了另一等位基因上 p53 基因的编码区发现存在突变。这些研究表明 p53 基因与结直肠癌有很大的相关性。由于 17 号染色体短臂等位缺失多发生在结直肠癌患者中,而在腺瘤患者中发现较少,所以它被认为是腺瘤发展成为癌瘤的重要标志^[14-16]。

5 18 号染色体长臂缺失

大约 10% 的腺瘤患者和 75% 的结直肠癌患者被发现 18 号染色体长臂缺失^[17-18]。结肠直肠癌缺失基因(delete in colorectal carcinoma gene,DCC)被测序证明位于这个区域上,DCC 的氨基酸序列与神经细胞表面受体(NCAM)及其他相关的细胞表面糖蛋白具有同源性,这提示 DCC 功能的丢失可能导致细胞间接接触、黏附能力下降,从而提高癌细胞的

转移能力。DCC 和 p53 一样,多在癌瘤患者中发现,所以可以看作是腺瘤恶化的标志。

6 错配修复基因(mismatch repair gene,MMR gene)

MMR 基因在体细胞中相当于看家基因,当其发生杂合性缺失后细胞中由于自发性突变增加,最终导致细胞内各种功能下降,特别是各种抑癌基因的失活,最终导致肿瘤的发生。研究^[19-21]发现,在遗传性非息肉病性结直肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)和部分非遗传性结直肠癌即散发性结直肠癌(sporadic colorectal cancer, SRC)发生的早期常常出现 MMR 基因的突变,从而使肿瘤的发展按照复制错误路径进行。目前研究表明,至少有 6 个 MMR 基因与 HNPCC 发生有关,包括 hMSH2、hMLH1、hPSM1、hPSM2、hMSH6 和 hMSH3。在这 6 个基因中,hMSH2 和 hMLH1 基因突变占所检测到突变的 90% 以上^[19],说明这两个基因在 HNPCC 发生中起主导作用。

hMSH2(human mut S homolog 2)是第一个被分离到的人类错配修复基因,该基因与细菌的 Mut S 同源,位于 2p21~22,其基因 DNA 全长约 79 kb(不包括启动子),全长 cDNA 为 3 111 bp,含有长 2 727 bp 的开放阅读框架,翻译后编码一种由 909 个氨基酸组成的蛋白质;hMSH2 蛋白在错配修复过程中通过核苷酸聚合酶而起作用,它失活后可引起复制错误的累积,从而引起突变表型;hMSH2 在 HNPCC 中阳性表达约 60%^[22],能够加速腺瘤到癌的转变过程。

hMLH1(human mut L homolog 1)是一个与 HNPCC 发病有关的错配修复基因,是细菌错配修复基因 mut L 的同源物,与大约 30% 的 HNPCC 有关^[19]。该基因定位于 3p21,hMLH1 的 cDNA 全长 2 484 bp,编码长度为 2 268 bp 的开读框架。hMLH1 蛋白由 756 个氨基酸残基组成,它常与 hMLH3、hPMS2 或 hPMS1 的蛋白组成具有未知的酶活性的二聚体,被认为是一个分子修复标志。

7 小 结

自 Fearon 和 Vogelstein 1990 年提出结直肠癌发生的分子模型以来^[19],模型中的分子机制不断被充实,研究认为结直肠癌发生过程中基因的改变存在顺序性,这为从基因层面对结直肠癌的预警提供了可行性。目前,结肠结肠癌的生物学研究基本处于实验阶段,其主要的原因有两个:其一,结直肠癌缺乏特异性的基因,和结直肠癌相关的基因在其他癌症发生时也都存在改变,尤其是在消化道肿瘤中,如 APC 和 p53 在 60% 胃癌的患者中也存在突变^[23];其二,用于结直肠癌早期检测的方法多为组织化学染色和利用组织为本标的 PCR 检测,标本均为活检组织,在预警检测中存在标本来源困难的情况。

以上均为结直肠癌早期预警检测的桎梏。因此如何通过基因组合检测提高对结直肠癌的特异性和增加通过血液和粪便检测的覆盖率,将成为结直肠癌早期检测的重要研究

方向。

[参 考 文 献]

[1] O’Connell J B, Maggard M A, Liu J H, et al. Are survival rates different for young and older patients with rectal cancer [J]? Dis Colon Rectum, 2004,47:2064-2069.

[2] Frattini M, Balestra D, Suardi S, et al. Different genetic features associated with colon and rectal carcinogenesis[J]. Clin Cancer Res, 2004,10:4015-4021.

[3] Grady W M. Epigenetic events in the colorectum and in colon cancer[J]. Biochem Soc Trans, 2005,33(Pt 4):684-688.

[4] Wang X L, Yuan Y, Zhang S Z, et al. Clinical and genetic characteristics of Chinese hereditary nonpolyposis colorectal cancer families[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12: 4074-4077.

[5] Thorstensen L, Lind G E, Lovig T, et al. Genetic and epigenetic changes of components affecting the WNT pathway in colorectal carcinomas stratified by microsatellite instability[J]. Neoplasia, 2005,7:99-108.

[6] Johnson V, Lipton L R, Cummings C, et al. Analysis of somatic molecular changes, clinicopathological features, family history, and germline mutations in colorectal cancer families: evidence for efficient diagnosis of HNPCC and for the existence of distinct groups of non-HNPCC families[J]. J Med Genet, 2005,42:756-762.

[7] Dihlmann S, Gebert J, Siermann A, et al. Dominant negative effect of the APC¹³⁰⁹ mutation: a possible explanation for genotype-phenotype correlations in familial adenomatous polyposis [J]. Cancer Res, 1999, 59:1857-1860.

[8] Noguera Aguilar J F, Amengual Antich I, Plaza Martínez A, et al. Cyclooxygenase-2 inhibition in colon experimental carcinogenesis[J]. Rev Esp Enferm Dig(Madrid), 2005, 97:637-647.

[9] Huang R H, Chai J, Tarnawski A S. Identification of specific genes and pathways involved in NSAIDs-induced apoptosis of human colon cancer cells[J]. World J Gastroenterol,2006,12: 6446-6452.

[10] Sano H, Kawahito Y, Wilder R L, et al. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer[J]. Cancer Res, 1995,55:3785-3789.

[11] Soumaoro L T, Uetake H, Higuchi T, et al. Cyclooxygenase-2 expression :a significant prognostic indicator for patients with colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10:8465-8471.

[12] Sansom O J, Meniel V, Wilkins J A, et al. Loss of Apc allows phenotypic manifestation of the transforming properties of an endogenous K-ras oncogene *in vivo* [J]. Proc Natl Acad Sci USA ,2006,103:14122-14127.

[13] Pollock C B, Shirasawa S, Sasazuki T, et al. Oncogenic K-RAS is required to maintain changes in cytoskeletal organization, adhesion, and motility in colon cancer cells[J]. Cancer Res,2005,65:1244-1250.

[14] Khan Z A J, Jonas S K, Le-Marer N, et al. P53 mutations in primary and metastatic tumors and circulating tumor cells from colorectal carcinoma patients[J]. Clin Cancer Res, 2000,6: 3499-3504.

[15] Kleivi K, Lind G E, Diep C B, et al. Gene expression profiles of primary colorectal carcinomas, liver metastases, and carcinomatoses[J]. Mol Cancer,2007,6:2-17.

[16] Fazeli A, Steen R G, Dickinson S L, et al. Effects of p53 mutations on apoptosis in mouse intestinal and human colonic adenomas[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1997,94:10199-10204.

[17] Akkiprik M, Ataizi-Celikel C, Dusunceli F, et al. Clinical significance of *p53*, *K-ras* and *DCC* gene alterations in the stage I - II colorectal cancers[J]. J Gastrointestin Liver Dis,2007, 16:11-17.

[18] Eschrich S, Yang I, Bloom G, et al. Molecular staging for survival prediction of colorectal cancer patients[J]. J Clin Oncol, 2005,23:3526-3535.

[19] Fearon E R, Jones P A. Progressing toward a molecular description of colorectal cancer development [J]. FASEB J, 1992,6:2783-2790.

[20] Spaepen M, Vankeirsbilck B, Van Opstal S, et al. Germline mutations of the hMLH1 and hMSH2 mismatch repair genes in Belgian hereditary nonpolyposis colon cancer (HNPCC) patients[J]. Fam Cancer, 2006:179-189.

[21] Chialina S G, Fornes C, Landi C, et al. Microsatellite instability analysis in hereditary non-polyposis colon cancer using the Bethesda consensus panel of microsatellite markers in the absence of proband normal tissue[J]. BMC Med Genet, 2006,7: 5.

[22] Mehigan B J, Ashman J N, Baker R P, et al. Mismatch repair, p53 and chromosomal aberrations in primary colorectal carcinomas[J]. Acta Oncol, 2006,45: 61-66.

[23] Yamazaki K, Tajima Y, Makino R, et al. Tumor differentiation phenotype in gastric differentiated-type tumors and its relation to tumor invasion and genetic alterations[J]. World J Gastroenterol, 2006,12:3803-3809.

[收稿日期] 2007-01-30 [修回日期] 2007-04-25
[本文编辑] 尹 茶