DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.02.019

·综述·

癌基因成瘾——肿瘤分子靶向药物研发的一种新思路

唐明青 综述;王启钊,许瑞安 审阅(华侨大学 分子药物学研究所 & 分子药物教育部工程研究中心,福建 泉州 362021)

[摘　要] 肿瘤作为一种多基因突变的慢性累积病,某些肿瘤的生成和发展存在着依赖于某个癌基因的现象,即癌基因成瘾或癌基因依赖现象。癌基因成瘾理论由 Weinstein 在 2002 年首先提出,癌基因成瘾的机制目前有"怪诞"网络模型、致癌性休克模型和选择淘汰模型三种假设。肿瘤发生、发展的复杂性和显著的个体差异性,使得确认所谓的依赖性癌基因变得较为困难,除了基因组分析、高通量的蛋白功能分析、基因敲除等方法外,通过 RNA 干扰技术来寻找依赖性癌基因日益受到关注。癌基因依赖理论能够很好地解释某些分子靶向药物良好疗效的机制,为分子靶向药物的研发增添了理论依据,具有较好的临床应用价值,但该理论同时也面临着巨大的挑战,有待于进一步深入研究并加以完善。

[关键词] 肿瘤;癌基因成瘾;靶向药物
[文献标志码] A　　[文章编号] 1007-385X(2010)02-0213-08

Oncogene addiction: a new approach for tumor-targeted drugs

TANG Ming-qing, WANG Qi-zhao, XU Rui-an (Institute of Molecular Medicine, Engineering Research Center of Molecular Medicine of Ministry of Education, Huaqiao University, Quanzhou 362021, Fujian, China)

[**Abstract**] Tumor is a chronic disease caused by accumulation of gene mutation, but the development and progression of certain tumors is dependent on one or a few genes, which is called oncogene addiction or oncogene dependent phenomenon. Weinstein first described this phenomenon as 'oncogene addiction' early in 2002, and to date there have been 3 models to explain this phenomenon, namely, the 'bizarre circuitry model', 'oncogenic shock model', and 'oncogenic selection model'. The complexity of cancers and heterogeneity of cancer patients set great barriers for identifying the 'additive oncogene'. Here we introduce the high-throughput screening methods for identifying the state of oncogene addiction, including genomics, high-throughput proteomics, gene knockout system, and the emerging RNA interference. The 'oncogene addiction' theory can well explain the mechanism of target therapy and enforce the evidence for development of molecular target agents. 'Oncogene addiction' theory has been viewed as of great potential for cancer target therapy, although it faces some challenges and needs further research.

[**Key words**] neoplasms; oncogene addiction; target drug

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(2): 213-220]

癌症作为严重威胁人类生存和社会发展的重大疾病,是 21 世纪最严重的医疗卫生问题之一,是各国政府必须要面对的健康挑战。来自国际癌症研究机构的"世界癌症报告"[1]指出,在 2008 年一年中全球肿瘤新增患者 1 200 万,死亡 700 万;到 2010 年,癌症将跃居为全球的头号杀手。各国政府投入了大量的人力、物力、财力进行不屈不挠的抗癌行动,但整体效果欠佳,癌症(实体瘤)患者 5 年生存期并未得到显著的改善,病死率仍居高不下。大量研究证明,分子靶向治疗具有选择性好、特异性高等优点,是肿瘤治疗的一种理想的选择[2]。癌基因依赖现象的发现及其理论的提出则为分子靶向治疗增添了理论依据。

1 癌基因成瘾理论的提出

癌症作为一种慢性病,它无疑是众多功能各异、

[基金项目] 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(No. 2008AA02Z135)。Project supported by the National High Technology Research and Development (863 Progam) Program of China (No. 2008AA02Z135)

[作者简介] 唐明青(1982 -),男,江西省南昌市人,博士研究生,主要从事癌症的基因治疗研究。E-mail: Tangmingqing2222@163.com
[通信作者] 许瑞安(XU Rui-an, corresponding author), E-mail: ruianxu@hqu.edu.cn

彼此关联的基因突变长期累积的结果[3]。但有些肿瘤的生成和发展明显依赖于某个癌基因,该基因一旦失活,这些癌细胞就会发生异于正常癌细胞的改变,如出现生长抑制、凋亡等现象;而对正常细胞来说,这个癌基因的失活并不会导致上述现象。Weinstein 等[4-5]将这一现象解释为癌基因成瘾或癌基因依赖(oncogene addiction),并提出相应的癌基因成瘾理论。癌基因依赖现象的发现和癌基因成瘾理论的提出不仅为肿瘤的分子靶向治疗增添了一个理论依据,更为分子靶向药物的研发提供了一种新思路。

2　癌基因成瘾理论的证据

早在 1997 年,Weinstein 等[6]就注意到用特异性抑制剂部分抑制 pRb/E2F1 信号通路中的细胞周期蛋白 D1(cyclin D1),就能明显阻碍食道癌细胞的生长(图 1)。

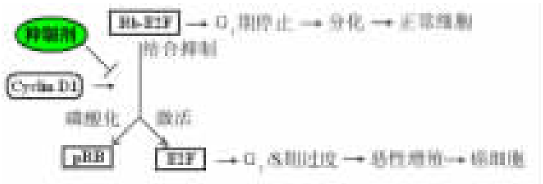

图 1　癌基因成瘾的最初证据

随后,Felsher 等[6]在转基因小鼠实验中发现,*Myc* 癌基因的表达能导致 T 淋巴细胞/髓细胞白血病(T cell and myeloid leukemia)的发生,而一旦Myc 被关闭,白血病细胞则停止分裂转而进行分化,并且出现凋亡现象[7]。同期,Tokunaga 等[8]用锤头状核酶成功抑制突变型 *k-Ras* 癌基因在结肠癌细胞株 SW480 中的表达,发现癌细胞明显出现生长抑制、凋亡和血管生成因子下调的现象,裸鼠移植瘤成瘤能力急剧下降。当然,最令人信服的证据还是来自于众多癌基因选择性抑制剂运用于癌症的临床治疗并取得显著疗效,从早期的受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)HER-2/Neu 的特异性抗体曲妥珠单抗(trastuzumab)成功用于乳腺癌的临床治疗,到目前的多种致癌性蛋白磷酸酶抑制剂的显著疗效,都说明了癌基因依赖理论的正确性[9]。到目前为止,越来越多的证据支持癌基因成瘾理论,除了小鼠实验、人细胞株实验、临床数据之外,还有某些肿瘤耐药及复发模型(表 1)。例如,慢性髓细胞白血病患者在经过一段时间选择性酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼(imatinib)的治疗,会变得对伊马替尼不再敏感进而复发。研究表明,导致这种“癌基因依赖逃逸(escape from the oncogene addiction)”现象的原因是在患者的 *BCR/ABL* 蛋白激酶结构域中出现了新的变异,从此癌细胞不再依赖于原来的 *BCR/ABL*,而转变为突变型 *BCR/ABL* 依赖性,即所谓的“癌基因成瘾漂移(oncogene addiction change)”,这一现象同样可以通过癌基因成瘾理论来解释[10]。

3　癌基因成瘾的机制

虽然很多肿瘤研究学者已经认同癌基因成瘾现象的存在,却仍未对这种现象发生机制提出一种公认合理的解释[37]。目前主要有如下几种假设:

3.1　Weinstein 的“怪诞网络”模型

Weinstein[4-5,9]认为,由于每一种蛋白都呈现多种功能,肿瘤形成中各种癌基因活化及抑癌基因失活的综合效应不同于它们单独效应的简单相加;而且即使是同一种蛋白,它在肿瘤细胞中的功能也不同于正常细胞;肿瘤中的信号传递及通讯将不同于正常细胞,也就是说肿瘤细胞是处在一种相对正常细胞来说非常怪异的复杂网络结构中,这就是所谓的“怪诞网络(bizarre circuitry)”。在这种情况下,某种癌基因可能占据相对主要地位。癌细胞为了保持其结构、功能的完整性,就必须维持一种平衡稳定态(homeostasis achieved)。这样一来,癌细胞将比正常细胞变得更加依赖于这个癌基因,最终出现癌基因成瘾现象。该模型的缺点是未能完整地阐述在关闭依赖性癌基因后,究竟是什么原因促使癌细胞的死亡或凋亡[37]。

3.2　致癌性休克模型

Settleman 等[38-39]提出,肿瘤细胞中的癌基因应同时具有促进癌细胞生长(pro-survival)和促凋亡(pro-apoptosis)的双重功效,但促凋亡效应信号降解得比较慢,在体内持续时间比促生长效应信号长。所以一旦某一癌基因被关闭,经过一段时间的平衡后,促凋亡效应将掩盖促生长效应,迫使癌细胞走向凋亡。因此,肿瘤中存在的癌基因成瘾现象应该是由于癌基因关闭之后随之而来的两种效应不同衰减速率造成的依赖“假象(illusion)”,Settleman 将此模型称为“致癌性休克(oncogenic shock)”(图 2)。这种模型弥补了 Weinstein 模型的不足,较好地解释癌细胞在关闭依赖性癌基因之后走向凋亡的原因和靶向依赖性癌基因药物发挥作用的机制。

表 1　主要的依赖性癌基因

依赖性癌基因	肿瘤类型	临床用药	参考文献	
			实验鼠模型	细胞株
ABL	慢性粒细胞白血病	伊马替尼(imatinib)		[11]
ALK	间变性大细胞淋巴瘤			[12]
AURORA kinase	结肠癌		[13]	
	乳腺癌		[14]	
BRAF	黑素瘤			[15]
EGFR	非小细胞肺癌	吉非替尼(gefitinib),厄洛替尼(erlotinib)	[16]	
	胰腺癌	厄洛替尼		[17]
	结肠癌	西妥昔单抗(cetuximab),帕尼单抗(panti-umumab)		
FGFR3	骨髓瘤		[18]	
HER-2	乳腺癌	曲妥珠单抗,拉帕替尼(lapatinib)	[20]	[19]
	非小细胞肺癌			[21]
KIT	胃肠道间质瘤	伊马替尼	[22]	
MET	非小细胞肺癌			[23]
	胃癌			[24]
MYC	淋巴瘤		[25]	[26]
	白血病		[25]	[27]
PDGFR	胃肠道间质瘤	伊马替尼, 舒你替尼(sunitinib)	[28]	
	胶质瘤			[29]
RAS	胰腺癌		[30]	[31]
	结肠癌			[8]
	黑素瘤			[32]
	非小细胞肺癌		[33]	[34]
RET	甲状腺癌			[35]
VEGF	血管生成	贝伐单抗(bevacizuma),舒你替尼,索拉非尼(sorafenib)	[36]	

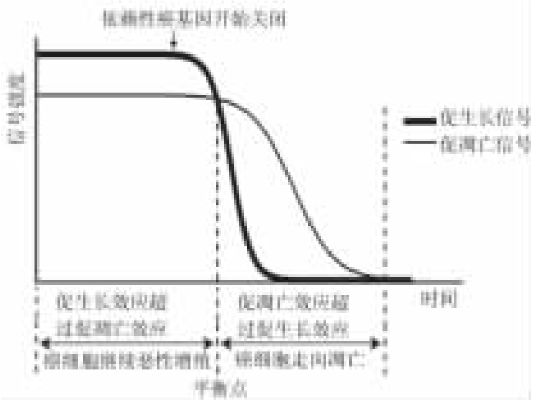

图 2　癌基因成瘾机制的致癌性休克模型

3.3　选择淘汰模型

该模型(图 3)[37]认为,起初,同时有多个癌基因(如图中 a、b、c、d、e、f 等)或通路参与癌细胞的生成,其中的少数对癌细胞的生存贡献较大,占据主要位置。后来,癌细胞不断受到外界基质的影响,不断作出有利选择,结果使其他次要的癌基因由于没有正向选择优势而逐渐萎缩,最后出现某个癌基因(如图中 a)一枝独秀的局面,癌基因依赖现象就这样产生了(图 3)。该模型的出发点是建立在长时间的选择压力基础之上,只有经过足够长的时间才能使其他次要癌基因或通路萎缩;而在某些情况下,肿瘤建立癌基因依赖的时间是非常短的,如临床治疗

中的癌基因依赖漂移就是在很短时间内完成的,这样就产生了一个时程上的矛盾。

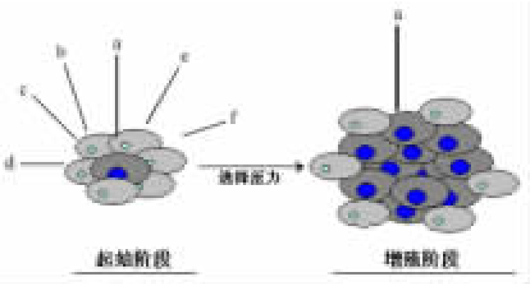

图 3　癌基因成瘾机制的选择淘汰模型

4　依赖性癌基因的筛选

根据癌基因依赖理论,只要寻找到某一癌症患者的依赖性癌基因,即 Weinstein 所说的"Achilles heel",就有可能开发出它的特异性抑制剂或阻断剂,即分子靶向药物。但目前为止,由于没有一种方法能够对细胞分裂、分化、凋亡的各种影响因素做出一个全面、彻底的评价,加上肿瘤涉及的突变太多,个体差异又极为显著,以致想要顺利地找到一个依赖性癌基因并不是一件容易的事。当前科学家用于寻找依赖性癌基因的方法主要有 RNA 干扰、基因组分析、高通量的蛋白功能分析、基因敲除等。由于肿瘤细胞中蛋白功能的多样性,且又不同于正常细胞。在这种情况下,以癌细胞基因组分析、高通量蛋白功能分析方法来筛选依赖性癌基因不仅需要昂贵复杂的仪器设备,而且显得不够直观。而小分子 RNA (如 shRNA、反义 RNA、microRNA 等)能够使特定的基因沉默,使癌细胞呈现出相应的缺省表型,通过细胞周期(细胞流式仪法)、生长和凋亡(凋亡通路 caspase 等)分析,人们可以找出哪个基因是维持癌细胞生长和分裂所必须的而不是正常细胞所必须的。因此这种方法日益受到人们的青睐[5]。但这种方法也有不足之处,如高效、专一的干扰 RNA 分子设计比较困难,RNA 转染时易产生复杂的背景效应,如干扰效应[40]、脱靶与错靶现象[41]、与癌细胞自身 microRNA 竞争行为等[42]。所以很多通过 RNA 干扰初步筛选出来的靶基因,很可能是由于非特异性靶向、毒性所致的假象,需要用其他方法如基因敲除进行进一步地验证[43-45]。

最近,Settleman 等[45]不仅用 RNA 干扰方法证实了人肺癌中 *EGFR* 这个依赖性癌基因,而且还以此为基础设计出一种"原癌基因补救(oncogene rescue)"方法,进而发现了人肺癌不仅依赖于正常的 *EGFR*,同样依赖于某些特定变异的 *EGFR*,这为肺癌的分子靶向治疗开拓了新的思路。

5　癌基因依赖理论在肿瘤治疗中的应用

5.1　单一治疗

虽然肿瘤本身的复杂性及个体的巨大差异决定了特定的依赖性癌基因有它的适用范围,也许是一类肿瘤,或许是一小亚类,更可能是某一个体。作为科研人员可以从中找出具有一定适用范围的依赖性癌基因,进而设计出相应的靶向药物,从而实某现一类患者的单一治疗。目前已进入临床的吉非替尼和厄洛替尼就是通过抑制表皮生长因子受体(EGFR)-酪氨酸激酶这一依赖性癌基因实现对存在 EGFR 突变的一类肺癌患者的单一治疗。但由于肿瘤复杂性和癌基因成瘾漂移现象的普遍存在,致使到目前为止肿瘤的单一治疗进展缓慢。

5.2　联合治疗

癌基因成瘾现象不仅有空间限制,而且还受时间限制。实验动物模型及临床数据均表明,癌细胞接受某种靶向药物治疗后很容易摆脱原先依赖的癌基因,使治疗药物失效,其原因可能是由于癌细胞的不稳定性导致基因和通路的突变所致。因此,临床上治疗癌症不可能只用一种药物就达到持久长效的目的,联合治疗由于同时针对多个靶点同时用药越来越受到重视(表 2)。临床试验表明,肿瘤分子靶向药物联合常规化疗药物(如 DNA 和核酸复制的抑制剂)能大大地提高疗效。比如在晚期乳腺癌患者中使用紫杉醇(paclitaxel)能显著提高患者对 *HER-2* 癌基因靶向药物西妥昔单抗的敏感性;同样贝伐单抗或西妥昔单抗联合细胞毒性化疗药物治疗晚期结肠癌患者也能明显地提高中位生存期[9]。

表 2　针对依赖性癌基因的临床联合用药方案

依赖性癌基因	肿瘤类型	用药方案
EGFR	非小细胞肺癌	吉非替尼或厄洛替尼联合铂类
EGFR	头颈瘤、结肠癌	西妥昔单抗联合核酸抑制剂
EGFR	胰腺癌	厄洛替尼联合核酸抑制剂
HER-2	乳腺癌	曲妥珠单抗联合核酸抑制剂
VEGF	乳腺癌、结肠癌、肾瘤	贝伐单抗联合核酸抑制剂

5.3　拓展应用

Weinstein 等[5]虽然注意到某些癌细胞依赖于某

一抑癌基因的失活这种现象,却没有把它归纳进癌基因成瘾理论中,他当时将这种现象称为“抑癌基因超敏化(tumor suppressor gene hypersensitivity)”。如果把成瘾性癌基因比作为攻城主帅的话,那 Weinstein 当初提到的“超敏化抑癌基因”就是那个守城主将,要想打赢这场攻防战,既可以削弱进攻也可以加强防守;跟“原癌基因成瘾”一样,我们同样可以通过筛选出某些癌细胞依赖的“超敏化抑癌基因”,针对它们设计出这些基因的补救药物用于癌症的治疗。虽然这一现象到目前为止并没有给予合适的界定,但我们却可以通过癌基因成瘾理论一并将它应用到临床。目前很多基于超敏化抑癌基因补救的肿瘤治疗实验已经展开,并且取得了令人振奋的成绩[46]。一些超敏化抑癌基因补救药物如广谱性去甲基化药物 5-氮杂胞苷(5-azacytidine)和刚上市的 zebularine 已经成功地应用于肿瘤的临床治疗[47]。

6 癌基因成瘾理论面临的挑战

原癌基因成瘾理论从提出至今,虽然得到了众多学者的认同,但不可否认也存有较多争议。Felsher 等[48]认为,虽然癌基因依赖现象在某些情况下的确存在,该现象对肿瘤靶向治疗的重大意义,但癌基因成瘾理论缺陷太多。首先,原癌基因成瘾理论不能解释癌基因失活对不同肿瘤会产生凋亡、完全逆转、部分逆转、肿瘤潜伏、部分萎缩、肿瘤复发等多种不同的结果。其次,癌基因成瘾论没有解释清楚肿瘤自我更新这个根本性的特点。最后,它不能解释癌转移中普遍存在的细胞自动宿主行为(cell autonomous host)和导致癌细胞萎缩的非细胞自动宿主现象(non-cell autonomous host)。Felsher 综合以前的实验结果,对癌基因决定癌细胞命运这一现象提出了一个全新的解释:癌基因失忆(oncogene amnesia)。客观地说,癌症本身的复杂性、差异性和不稳定性决定了在众多基因中确定那么几个所谓的依赖性癌基因不是一件很容易的事,连 Weinstein 本人都认为,除了针对依赖性癌基因 EGFR 的肿瘤治疗取得一定疗效外,针对其他依赖性癌基因的研究都还都处在实验室探索阶段,离进入临床还很遥远[37]。其次是理论本身也存在不完善方面,因为肿瘤的发生不仅是癌基因的活化,还涉及抑癌基因的失活、信号通路的异常、外基质的改变等,每一部分都应该有所谓的依赖性成分。目前已经找出了一些 Weinstein 所谓的“超敏化抑癌基因”(表 3),因此癌基因依赖理论必需加以完善,应该把这些都考虑进去。

表 3 主要的超敏化抑癌基因

抑癌基因	肿瘤类型	参考文献	
		实验鼠模型	细胞株
101F6	多数实体瘤	[50]	
ABR	白血病		[51]
APC	结肠癌	[52]	
ARLTS1	卵巢癌	[53]	
BIN1	乳腺癌		[54]
BRCA1	乳腺癌		[55]
BRCA2	卵巢癌		[55]
DLC-1	肝癌		[56]
FAS	结肠癌		[57]
FHIT	乳腺癌		[58]
	卵巢癌	[53]	
	肺癌		[59]
IRF-1	白血病	[60]	
LKB1	黑斑息肉综合征		[61]
P53	大部分肿瘤	[62]	[63]
PTEN	胶质瘤		[64]
RASSF1A	胆管癌		[65]
Rb	成视网膜细胞瘤	[66]	
TESTIN	乳腺癌、子宫瘤	[67]	
WWOX	乳腺癌		[68]
	前列腺癌	[69]	
	肺癌	[70]	

目前,肿瘤分子靶向药物设计尚在起步阶段。相信随着细胞分子生物学、系统学、网络结构学的快速发展和靶向药物机制的深入研究,根据癌基因依赖理论设计开发特定的肿瘤分子靶向药物将会变得更便利。肿瘤的个体化、选择性治疗将成为可能[49]。

[参考文献]

[1] Boyle P, Levin B. World cancer report 2008[M]. Lyon: IARC, 2008: 52-70.

[2] 孙 燕. 肺癌治疗的个体化思考[J]. 肿瘤: 第四届中国肺癌南北高峰论坛特刊, 2008: 12.

[3] Greenman C, Stephens P, Smith R. Patterns of somatic mutation in human cancer genomes[J]. Nature, 2007, 446(7132): 153-158.

[4] Weinstein IB. Addiction to oncogenes - the achilles heal of cancer [J]. Science, 2002, 297(5578): 63-64.

[5] Weinstein IB, Joe AK. Mechanisms of disease: oncogene addiction – a rationale for molecular targeting in cancer therapy [J]. Nat Clin Pract Oncol, 2006, 3(8): 448-457.

[6] Arber N, Doki Y, Han EK, Sgambato A, Zhou P, Kim NH, *et al.* Antisense to cyclin D1 inhibits the growth and tumorigenicity of human colon cancer cell [J]. Cancer Res, 1997, 57(8): 1569-1574.

[7] Felsher DW, Bishop JM. Reversible tumorigenesis by MYC in hematopoietic lineages [J]. Mol Cell, 1999, 4(2): 199-207.

[8] Tokunaga T, Tsuchida T, Kijim H, Okamoto K, Oshika Y, Sawa N, *et al.* Ribozyme-mediated inactivation of mutant K-ras oncogene in a colon cancer cell line [J]. Br J Cancer, 2000, 83(6): 833-839.

[9] Weinstein IB, Joe A. Oncogene addiction [J]. Cancer Res, 2008, 68(9): 3076-3080.

[10] Gorre ME, Mohammed M, Ellwood K, Hsu N, Paquette R, Rao PN, *et al.* Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification [J]. Science, 2001, 293(5531): 876-880.

[11] Golas JM, Arndt K, Etienne C, Lucas J, Nardin D, Gibbons J, *et al.* SKI-606, a 4-anilino-3-quinolinecarbonitrile dual inhibitor of Src and Abl kinase is a potent antiproliferative agent against chronic myelogenous leukemia cells in culture and causes regression of K562 xenografts in nude mice [J]. Cancer Res, 2003, 63(2): 375-381.

[12] Hsu FY, Zhao Y, Anderson WF, Johnston PB. Downregulation of NPM-ALK by siRNA causes anaplastic large cell lymphoma cell growth inhibition and augments the anti-cancer effects of chemotherapy *in vitro* [J]. Cancer Invest, 2007, 25(4): 240-248.

[13] Soncini C, Carpinelli P, Gianellini L, Fancelli D, Vianello P, Rusconi L, *et al.* PHA-680632, a novel aurora kinase inhibitor with potent antitumoral activity [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(13): 4080-4089.

[14] Wilkinson RW, Odedra R, Heaton SP, Wedge SR, Keen NJ, Crafter C, *et al.* AZD1152, a selective inhibitor of aurora B kinase inhibits human tumor xenograft growth by inducing apoptosis [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(12): 3682-3688.

[15] Hingorani SR, Jacobetz MA, Robertson GP, Herlyn M, Tuveson DA. Suppression of BRAF (V599E) in human melanoma abrogates transformation [J]. Cancer Res, 2003, 63(17): 5198-5202.

[16] Ohashi k, Rai K, Fujiwara Y, Osawa M, Hirano S, Takata K, *et al.* Induction of lung adenocarcinoma in transgenic mice expressing activated EGFR driven by the SP-C promoter [J]. Cancer Sci, 2008, 99(9): 1747-1753.

[17] Blaine SA, Ray KC, Branch KM, Robinson PS, Whitehead RH, Means AL. Epidermal growth factor receptor regulates pancreatic fibrosis [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2009, 297(3): G434-441.

[18] Trudel S, Stewart AK, Rom E, Wei E, Li ZH, Kotzer S, *et al.* The inhibitory anti-FGFR3 antibody, PRO-001, is cytotoxic to t(4; 14) multiple myeloma cells [J]. Blood, 2006, 107(10): 4039-4046.

[19] Wong TW, Lee FY, Yu C, Luo FR, Oppenheimer S, Zhang H, *et al.* Preclinical antitumor activity of BMS-599626, a pan-HER kinase inhibitor that inhibits HER1/HER2 homodimer and heterodimer signaling [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(20 pt1): 6186-6193.

[20] Lewis Phillips GD, Li G, Dugger DL, Crocker LM, Parsons KL, Mai E, *et al.* Targeting HER2-positive breast cancer with trastuzumab-DM1, an antibody-cytotoxic drug conjugate [J]. Cancer Res, 2008, 68(22): 9280-9290.

[21] Ren XL, Xu YM, Bao W, Fu HJ, Wu CG, Zhao Y, *et al.* Inhibition of non-small cell lung cancer cell proliferation and tumor growth by vector based small interfering RNAs targeting HER2/neu [J]. Cancer Lett, 2009, 281(2): 134-143.

[22] Garton AJ, Crew AP, Franklin M, Cooke AR, Wynne GM, Castaldo L, *et al.* OSI-930: a novel selective inhibitor of kit and kinase insert domain receptor tyrosine kinases with antitumor activity in mouse xenograft models [J]. Cancer Res, 2006, 66(2): 1015-1024.

[23] Puri N, Khramtsov A, Ahmed S, Nallasura V, Hetzel JT, Jagadeeswaran R, *et al.* A selective small molecule inhibitor of c-met, PHA665752 inhibits tumorigenicity and angiogenesis in mouse lung cancer xenografts [J]. Cancer Res, 2007, 67(8): 3529-3534.

[24] Zou HY, Li Q, Lee JH, Arango ME, McDonnell SR, Yamazaki S, *et al.* An orally available small-molecule inhibitor of c-met, PF-2341066, exhibits cytoreductive antitumor efficacy through antiproliferative and antiangiogenic mechanisms [J]. Cancer Res, 2007, 67(9): 4408-4417.

[25] Wu CH, van Riggelen J, Yetil A, Fan AC, Bachireddy P, Felsher DW. Cellular senescence is an important mechanism of tumor regression upon c-myc inactivation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(32): 13028-13033.

[26] Klapproth K, Sander S, Marinkovic D, Baumann B, Wirth T. The IKK2/NF-kappaB-pathway suppresses MYC-induced lymphomagenesis [J]. Blood, 2009, 114(12): 2448-2458.

[27] Fang ZH, Dong CL, Chen Z, Zhou B, Liu N, Lan HF, *et al.* Transcriptional regulation of surviving by c-Myc in BCR/ABL-transformed cells: implications in antileukemic strategy [J]. J Cell Mol Med, 2008, Oct, 13[Epub ahead of print].

[28] Blaskovich MA, Lin Q, Delarue FL, Sun J, Park HS, Coppola D, *et al.* Design of GFB-111, a platelet-derived growth factor binding molecule with antiangiogenic and anticancer activity against human tumors in mice [J]. Nat Biotechnol, 2000, 18(10): 1065-1070.

[29] Laird AD, Vajkoczy P, Shawver LK, Thurnher A, Liang C, Mohammadi M, *et al.* SU6668 is a potent antiangiogenic and antitumor agent that induces regression of established tumors [J]. Cancer Res, 2000, 60(15): 4152-4160.

[30] Carrière C, Young AL, Gunn JR, Longnecker DS, Korc M. Acute pancreatitis markedly accelerates pancreatic cancer progression in mice expressing oncogenic K-ras [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 382(3): 561-565.

[31] Ji B, Tsou L, Wang H, Gaiser S, Chang DZ, Daniluk J, *et al.* Ras activity levels control the development of pancreatic diseases [J]. Gastroenterology, 2009, 137(3): 1072-1082.

[32] Eskandarpour M, Huang F, Reeves KA, Clark E, Hansson J. Oncogenic N-Ras has multiple effects on the malignant phenotype of human melanoma cells cultured *in vitro* [J]. Int J Cancer, 2009, 124(1): 16-26.

[33] Dupage M, Dooley AL, Jacks T. Conditional mouse lung cancer models using adenoviral or lentiviral delivery of Cre recombinase [J]. Nat Protoc, 2009, 4(7): 1064-1072.

[34] Liu M, Bryant MS, Chen J, Lee S, Yaremko B, Lipari P, *et al.* Antitumor activity of SCH 66336, an orally bioavailable tricyclic inhibitor of farnesyl protein transferase, in human tumor xenograft models and wap-ras transgenic mice [J]. Cancer Res, 1998, 58 (21): 4947-4956.

[35] Akeno-Stuart N, Croyle M, Knauf JA, Malaguarnera R, Vitagliano D, Santoro M, *et al.* The RET kinase inhibitor NVP-AST487 blocks growth and calcitonin gene expression through distinct mechanisms in medullary thyroid cancer cells [J]. Cancer Res, 2007, 67(14): 6956-6964.

[36] Cheng SY, Huang HJ, Nagane M, Ji XD, Wang D, Shih CC, *et al.* Suppression of glioblastoma angiogenicity and tumorigenicity by inhibition of endogenous expression of vascular endothelial growth factor [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996, 93(16): 8502-8507.

[37] Garber K. New insights into oncogene addiction found [J]. J Natl Cancer Inst, 2007, 99(4): 264-265, 269.

[38] Sharma SV, Fischbach MA, Haber DA, Settleman J. 'Oncogenic shock': Explaining oncogene addiction through differential signal attenuation [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(14 Suppl): 4392s-4395s.

[39] Sharma SV, Settleman J. Oncogene addiction: setting the stage for molecularly targeted cancer therapy [J]. Genes Dev, 2007, 21 (24): 3214-3231.

[40] Bridge AJ, Pebernard S, Ducraux A, Nicoulaz AL, Iggo R. Induction of an interferon response by RNAi vectors in mammalian cells [J]. Nat Genet, 2003, 34(3): 263-264.

[41] Jackson AL, Bartz SR, Schelter J, Kobayashi SV, Burchard J, Mao M, *et al.* Expression profiling reveals off-target gene regulation by RNAi [J]. Nat Biotechnol, 2003, 21(6): 635-637.

[42] Grimm D, Streetz KL, Jopling CL, Storm TA, Pandey K, Davis CR, *et al.* Fatality in mice due to over saturation of cellular microRNA/short hairpin RNA pathways [J]. Nature, 2006, 441 (7092): 537-541.

[43] Mackeigan JP, Murphy LO, Blenis J. Sensitized RNAi screen of human kinases and phosphatases identifiles new regulators of apoptosis and chemoresistance [J]. Nat Cell Biol, 2005, 7(6): 591-600.

[44] Moffat J, Grueneberg DA, Yang X, Kim SY, Kloepfer AM, Hinkle G, *et al.* A lentiviral RNAi library for human and mouse genes applied to an arrayed viral high-contents screen [J]. Cell, 2006, 124(6): 1283-1298.

[45] Rothenberg SM, Engelman JA, Le S, Riese DJ 2nd, Haber DA, Settleman J. Modeling oncogene addiction using RNA interference [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(34):12480-12484.

[46] Foley DL, Craig JM, Morley R, Olsson CA, Dwyer T, Smith K, *et al.* Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy [J]. Nature, 2004, 429(6990): 457-463.

[47] Balch C, Yan P, Craft T, Young S, Skalnik DG, Huang TH, *et al.* Antimitogenic and chemosensitizing effects of the methylaiton inhibitor zebularine in ovarian cancer [J]. Mol Cancer Ther, 2005, 4(10): 1505-1514.

[48] Felsher DW. Oncogene addiction versus oncogene amnesia: perhaps more than just a bad habit [J]. Cancer Res, 2008, 68(9): 3081-3086.

[49] 王启钊,吕颖慧,许瑞安. 干细胞与肿瘤干细胞 [M]// 许瑞安, 陈　凌, 肖卫东. 分子基因药物学. 北京: 北京大学医学出版社, 2008: 629-675.

[50] Ji L, Nishizaki M, Gao B, Burbee D, Kondo M , *et al.* Expression of several genes in the human chromosome 3p21.3 homozygous deletion region by an adenovirus vector results in tumor suppressor activities *in vitro* and *in vivo* [J]. Cancer Res, 2002, 62(9): 2715-2720.

[51] Tan EC, Leung T, Manser E, Lim L. The human active breakpoint cluster region-related gene encodes a brain protein with homology to guanine nucleotide exchange proteins and GTPase-activating proteins [J]. J Biol Chem, 1993, 268(36): 27291-27298.

[52] Fodde R. The APC gene in colorectal cancer [J]. Eur J Cancer, 2002, 38(7): 867-871.

[53] Petrocca F, Iliopoulos D, Qin HR, Nicoloso MS, Yendamuri S, Wojcik SE, *et al.* Alterations of the tumor suppressor gene ARLTS1 in ovarian cancer [J]. Cancer Res, 2006, 66(21): 10287-10291.

[54] DuHadaway JB, Sakamuro D, Ewert DL, Prendergast GC. Bin1 mediates apoptosis by c-Myc in transformed primary cells [J]. Cancer Res, 2001, 61(7): 3151-3156.

[55] Randall TC, Bell KA, Rebane BA, Rubin SC, Boyd J. Germline mutations of the BRCA1 and BRCA2 genes in a breast and ovarian cancer patient [J]. Gynecol Oncol, 1998, 70(3): 432-434.

[56] Zhou X, Thorgeirsson SS, Popescu NC. Restoration of DLC-1 gene expression induces apoptosis and inhibits both cell growth and tumorigenicity in human hepatocellular carcinoma cells [J]. Oncogene, 2004, 23(6): 1308-1313.

[57] Schneider P, Bodmer JL, Holler N, Mattmann C, Scuderi P, Terskikh A , *et al.* Characterization of Fas (Apo-1, CD95)-Fas ligand interaction [J]. J Biol Chem, 1997, 272(30): 18827-18833.

[58] Sevignani C, Calin GA, Cesari R, Sarti M, Ishii H, Yendamuri S, *et al.* Restoration of fragile histidine triad (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in breast cancer cell lines [J]. Cancer Res, 2003, 63(6): 1183-1187.

[59] Roz L, Gramegna M, Ishii H, Croce CM, Sozzi G. Restoration of fragile histidine triad (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in lung and cervical cancer cell lines [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(6): 3615-3620.

[60] Kim PK, Armstrong M, Liu Y, Yan P, Bucher B, Zuckerbraun BS, *et al.* IRF-1 expression induces apoptosis and inhibits tumor growth in mouse mammary cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. Oncogene, 2004, 23(5): 1125-1135.

[61] Qanungo S, Haldar S, Basu A. Restoration of silenced Peutz-Jeghers syndrome gene, LKB1, induces apoptosis in pancreatic carcinoma cells[J]. Neoplasia, 2003, 5(4): 367-374.
[62] Ventura A, Kirsch DG, McLaughlin ME, Tuveson DA, Grimm J, Lintault L, *et al.* Restoration of p53 function leads to tumour regression *in vivo*[J]. Nature, 2007, 445(7128): 661-665.
[63] Oh YK, Lee HJ, Jeong MH, Rhee M, Mo JW, Song EH, *et al.* Activation of p53 in cervical carcinoma cells by small molecules [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(15): 8501-8506.
[64] Tian XX, Pang JC, To SS, Ng HK. Restoration of wild-type PTEN expression leads to apoptosis, induces differentiation and reduces telomerase activity in human glioma cells[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 1999, 58(5): 472-479.
[65] Chen YJ, Tang QJ, Zou SQ. Inactivation of RASSF1A, the tumor suppressor gene at 3p21.3 in extrahepatic cholangiocarcinoma [J]. World J Gastroentrol, 2005, 11(9): 1333-1338.
[66] Alfred G, Knudson Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1971, 68(4): 820-823.
[67] Sarti M, Sevignani C, Calin GA, Aqeilan R, Shimizu M, Pentimalli F, *et al.* Adenoviral transduction of TESTIN gene into breast and uterine cancer cell lines promotes apoptosis and tumor reduction *in vivo*[J]. Clin Cancer Res, 2005, 806(11): 806-813.
[68] Iliopoulos D, Fabbri M, Druck T, Qin HR, Han SY, Huebner K. Inhibition of breast cancer cell growth *in vitro* and *in vivo*: effect of restoration of WWOX expression[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(1): 268-274.
[69] Qin HR, Iliopoulos D, Semba S, Fabbri M, Druck T, Volinia S, *et al.* A role for the WWOX gene in prostate cancer[J]. Cancer Res, 2006, 66(13): 6477-6481.
[70] Fabbri M, Iliopoulos D, Trapasso F, Aqeilan RI, Cimmino A, Zanesi N, *et al.* WWOX gene restoration prevents lung cancer growth *in vitro* and *in vivo*[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(43): 15611-15616.

[收稿日期] 2009-09-11　　**[修回日期]** 2010-02-10
[本文编辑] 王　莹

· 科技动态 ·

记忆性 T 细胞发育分子机制的新观点

有关记忆性 T 细胞的发育过程中 T 细胞前体和记忆 T 细胞亚群的分化关系至今仍然不太清楚,而且形成和维持记忆状态的分子机制也有待研究。最近,*Science* 上发表的 2 篇文章就此问题提出了新的观点。

目前存在 2 种 $CD8^+$ 记忆性 T 细胞发育模型。不对称分裂模型(asymmetric division model)认为,记忆性 T 细胞直接来源于激活的初始型 T 细胞而不是效应性 T 细胞,那些细胞毒功能并表达颗粒酶 B(granzyme B)等分子的 T 细胞将失去复制潜能并最终死亡。线性分化模型(linear differentiation model)则提出,记忆性 T 细胞来源于增殖潜能缺失的效应性 T 细胞,但可在记忆期逐渐恢复增殖能力。

Bannard 小组培育了一种转基因小鼠,该小鼠中表达颗粒酶 B 的 $CD8^+$ T 细胞可经 tamoxifen(三苯氧胺)诱导表达 eYFP(增强黄色荧光蛋白)。实验用流感病毒感染转基因小鼠,在初次应答过程中注射三苯氨胺,结果显示,病毒特异性 T 细胞在感染后早期即表达颗粒酶 B,但这一现象与 T 细胞增殖、进入记忆期或介导再次克隆增殖能力的消失无关。该结果与不对称分裂模型不符,而基本符合线性分化模型,只是没有提及增殖功能恢复的阶段。

Teixeiro 小组研究了 TCR 在记忆性 T 细胞发育中的作用。实验培育了 OT-I TCR 转基因小鼠,其 OVA 特异性 TCR 的跨膜结构域中包含一个点突变。表达突变 TCR 的 T 细胞仍保持对 OVA 肽发生应答的能力,因此表达突变或野生型 TCR 的 $CD8^+$ T 细胞的初次应答效应是相似的。但研究 $CD8^+$ T 细胞应答的扩增期、收缩期和记忆期时发现,表达突变 TCR 的 T 细胞分化为记忆性 T 细胞的功能受损,表现为记忆性 T 细胞的数量和产生再次应答的能力均受到抑制。突变 TCR 能够识别抗原并在受刺激后产生一些早期信号(如钙代谢信号),但是,突变 TCR 不能极化至免疫突触并诱导 NF-κB 信号。以上结果提示,效应性和记忆性 T 细胞分化所需信号是相互独立的,而且至少部分取决于 TCR 信号。

该两项研究扩展了有关记忆性 T 细胞发育分子机制的认识,对于优化疫苗的免疫策略具有重要意义。

[徐　安 摘译,李　楠 审阅. Bannard O, Kraman M, Fearon DT. Science, 2009, 323(5913): 505-509. Teixeiro E, Daniels MA, Hamilton SE, Schrum AG, Bragado R, Jameson SC, *et al.* Science, 2009, 323(5913): 502-505.]