

# 肺癌相关基因检测用于肺癌早期诊断研究进展

杨传标<sup>1</sup>, 薛军<sup>2</sup>综述 叶玉坤<sup>1</sup>, 徐克成<sup>1</sup>审校

(1. 广州复大肿瘤医院, 广东 广州 510300; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510407)

**摘要:**肺癌相关基因在肺癌早期即有异常表达,有利于早期诊断肺癌。全文综述检测肺癌相关基因用于肺癌早期诊断的研究进展。

**关键词:**肺肿瘤;基因;早期诊断

**中图分类号:**R734.2

**文献标识码:**A

**文章编号:**1671-170X(2004)05-0360-03

## Progress on Lung Cancer Related Genes for The Diagnosis of Early Stage Lung Cancer

YANG Chuan-biao<sup>1</sup>, XUE Jun<sup>2</sup>, YE Yu-kun<sup>1</sup>, et al.

(1. Guangzhou Fuda Cancer Hospital, Guangzhou 510300, China;

2. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510407, China)

**Abstract:** The abnormal expression of lung cancer related genes occur in early stage lung cancer, so it is useful to diagnosis of early stage lung cancer. The progress on lung cancer related genes for the diagnosis of early stage lung cancer is reviewed in this paper.

**Key words:** lung neoplasms; gene; diagnosis in early stage

肺癌是临床极为常见的肿瘤,由于早期常无特殊临床表现,80%的患者就诊时已属中晚期,致使治疗效果差,1年生存率约为12%。而早期肺癌手术根治后5年生存率达70%。近年来,随着分子生物学技术的发展,人们开始从分子水平探讨肺癌的发病过程,研究肺癌相关基因在早期肺癌中的异常表达情况成为肺癌早期诊断研究领域中最有前景的科学探索。

### 1 肺癌发病的分子生物学基础

分子生物学研究表明,肺癌的发病是一个多因素参与、多基因变异积累和多阶段演变的复杂的病理过程,这个过程可概括为始动、促进和发展三个阶段<sup>[1]</sup>。始动阶段是外部致癌

因素,如辐射或化学致癌物等引起人体细胞基因突变的过程,是肺癌发病的最早事件。在始动阶段,细胞遗传信息的传递受到干扰,引起细胞遗传特性的改变而使细胞基因发生了变化。基因变化主要包括DNA突变、原癌基因激活和抑癌基因失活等。如中等剂量放射线(1Gr)照射即可使大部分细胞始动,但其中多数细胞在停止照射后可逆转为正常细胞,即通过免疫系统的识别、DNA修复而恢复正常,也可以通过凋亡途径以消除异己。不能被逆转或清除的少数细胞在多种促进因素诱导下进入促进阶段。

促进阶段主要涉及基因表达异常,细胞过度生长和增殖。促进阶段是癌症是否发生的关键阶段,其中促进子起关键作用。所谓促进子,是一类化合物,如含氮的碳氢化合物、酒精、激素、巴比妥类似物等<sup>[2]</sup>。它与致癌物共同作用于始动期细胞促使其向恶性转化。促进阶段仍具可逆性,即促进期细胞可因施加某些因素而抑制其恶性转化,如实验证明维生素A类似物、硒和3-氨基苯酰胺等即可减少放射线照射等引

基金项目:广东省中医药局立项资助课题(No. 102009)

收稿日期:2004-03-01;修回日期:2004-05-29

起的细胞转化<sup>[3]</sup>。

如果促进阶段未能被阻止,促进期细胞恶性转化即成癌细胞,进入发展阶段。在发展阶段癌细胞持续增殖,并从局部生长浸润到附近组织,从一个器官向远处器官转移或扩散,这是肿瘤的实质性发展阶段,在病理上反映为原位癌向周围扩展为浸润癌及通过血管或淋巴管转移扩散的进展过程。

肿瘤发病的多阶段学说提示在肿瘤未出现之前,有一个较长时间的癌前期演变过程,也就是始动和促进阶段。从始动阶段起存在两种不同调节因子的调节失衡,即原癌基因激活和抑癌基因失活,期间伴随有很多分子和细胞遗传学的改变,说明肿瘤发病的最初期阶段已经涉及基因表达的改变。研究表明,肺癌发生的初始阶段涉及多个基因表达的异常,如 ras、myc、p53、Rb、p16 等,研究它们在肺癌亚临床阶段(始动和促进阶段)改变的规律将对肺癌的早期诊断有重大意义。

## 2 肺癌相关基因检测

### 2.1 原癌基因激活

原癌基因激活可启动细胞增殖信号,使细胞无限繁殖形成癌症。与肺癌早期诊断相关的原癌基因有 ras 基因族、myc 基因族、bcl-2、c-erbB2 等。ras 基因突变在非小细胞肺癌中达 15%~20%左右,其中以腺癌最多见(占 20%~30%),而小细胞肺癌中很少发现 ras 基因突变。在肺癌的 ras 基因族突变中,90%为 K-ras,且主要影响密码 12。Somers 等<sup>[4]</sup>采用外切酶配对扩增俘获技术(Exonuclease amplification coupled capture technique, EXACCT)检测 K-ras 基因点突变,可在 15000 个正常细胞中检出 1 个点突变细胞,同时对石蜡包埋腺癌标本及 54 例病人痰标本进行检测,结果 50%的病人标本发生 K-ras 点突变。在临床确诊肺癌前 1 个月至 4 年,其痰标本即检出 K-ras 基因,说明采用敏感技术检测 K-ras 基因突变具早期诊断肺癌作用。美国 John Hopkins 肺癌研究中心<sup>[5]</sup>对常规细胞学检查阴性的疑诊肺癌患者,再利用痰标本进行 K-ras 基因突变检测,10 例患者有 8 例为阳性,随访 1 年后均经临床病理证实为肺腺癌。他们的结论是痰液脱落细胞 K-ras 基因突变检测可以使肺癌的诊断提前 12 个月,尤其有利于肺腺癌的早期诊断。Myc 基因族、bcl-2 基因激活几乎与所有小细胞肺癌和许多非小细胞肺癌有关,如李玉皓等<sup>[6]</sup>检测 35 例肺癌手术标本,结果 C-myc 基因阳性表达率为 80%,bcl-2 基因阳性表达率为 91.4%,均显著高于正常肺组织。提示 C-myc 和 bcl-2 的过表达参与了肺癌的发生,检测 C-myc 和 bcl-2 具有早期诊断价值。c-erbB2 基因与肺癌的发生关系密切,梁坤等<sup>[7]</sup>用免疫组化法检测 55 例肺癌患者组的纤支镜活检标本,结果 44%的患者 c-erbB2 过度表达,而且 c-erbB2 过度表达与淋巴结转移具有显著相关性( $P<0.05$ )。结论认为,研究 c-erbB2 过度表达的特点有助于肺癌的早期诊断和预后评估。

### 2.2 抑癌基因失活

抑癌基因失活包括点突变、杂合性缺失或启动序列的异

常甲基化等,致使抑癌基因不能表达,从而导致癌症的发生。研究发现,抑癌基因 p53 失活是肺癌中的一个频发事件,几乎所有的小细胞肺癌和 42%的非小细胞肺癌有 p53 基因的缺失或点突变<sup>[8]</sup>。Mao 等<sup>[9]</sup>报道,痰细胞学检查阴性病例,经过随访证实为肿瘤,再利用储存的痰标本检测 p53 基因进行回顾性研究,发现痰脱落细胞 p53 突变可比临床诊断提前 13 个月,证明痰标本的 p53 基因检测可用于肺癌的早期诊断。刘宝刚等<sup>[10]</sup>报道,对 64 例疑诊肺癌但病理学阴性患者的纤支镜标本进行 p53 基因检测,结果发生 p53 基因突变者 18 例,无突变者 46 例,经过 28 个月的随访,p53 基因突变组有 8 例确诊为肺癌,占 44.4%,无突变组仅 2 例诊断为肺癌(占 4.7%),两组间差异有显著性,说明 p53 基因分析对肺癌高危人群的早期诊断有非常重要的意义。

Rb 和 p16 基因在细胞周期调控中发挥着重要作用,是抑制细胞异常生长的关键因素。叶玉坤等<sup>[11]</sup>采用免疫组化、双重原位杂交等方法检测 106 例肺癌组织标本 Rb 和 p16 基因,结果肺癌细胞 Rb 和 p16 基因在蛋白和 mRNA 水平的表达明显低于正常肺组织。较早期肺癌(I、II 期)即有较显著的 Rb 和 p16 基因失活,因此认为 Rb 和 p16 基因在肺癌发生发展中起重要作用,有可能是肺癌发生的始动环节,对肺癌的早期诊断有重要意义。Belinsky<sup>[12]</sup>研究发现,在肺鳞癌的发生发展中,从细胞的过度增生、鳞状化生到原位癌的不同阶段,抑癌基因 p16 甲基化的发生率分别达 17%、14%和 50%。p16 基因甲基化在肿瘤组织及癌前病灶均有发生,提示检测 p16 基因甲基化对肺癌早期诊断有较大意义。张文等<sup>[13]</sup>研究显示,周围型肺癌痰脱落细胞的 p16 基因甲基化特异性 PCR 阳性率明显高于良性周围型肺结节及正常人,以此诊断周围型肺癌的阳性预测值为 96.4%,阴性预测值 22.7%,灵敏度 61.4%,特异性 83.0%。说明检测痰脱落细胞 p16 基因甲基化对周围型肺癌具有一定的诊断价值。

### 2.3 微卫星不稳定

通过肿瘤 DNA 与正常 DNA 比较发现,肿瘤标本 DNA 中微卫星标志等位基因存在杂合性缺失现象,也可检测到新的等位基因的存在,表明基因组微卫星的不稳定性。在非小细胞肺癌患者中,染色体 3p、5q、9p 及 17p 杂合性缺失非常常见,3p、17p 及 13q14 的缺失也出现在大多数小细胞肺癌中。Cuda 等<sup>[14]</sup>对小细胞和非小细胞肺癌患者外周血细胞 DNA 的微卫星检测发现,肺癌患者外周血能检测出微卫星异常,提示其有可能成为肺癌早期诊断的手段。易斌等<sup>[15]</sup>用 PCR-银染法,在 94 例的肺癌患者血浆中成功检测到 3p 位点的微卫星不稳定性,其 I、II 期患者血浆中游离 DNA 的微卫星改变阳性率达 74.1%,I 期就有 65.2%,具有较强的早期诊断意义,可以作为肺癌早期诊断的一种新途径。

## 3 结 语

肺癌的发生和发展是多因素综合作用的结果,从正常细

胞到恶性转化及发展表明癌症是逐渐演变的多步骤过程,而其最初阶段是可以逆转的。肺癌相关基因检测用于肺癌早期诊断的研究已有很多进展,但仍存在特异性差、敏感度不高、致临床未能普及应用。随着分子生物学的不断发展,相信通过深入研究肺癌相关基因异常表达在肺癌发生发展过程中的内在规律和对多基因异常表达的综合分析,将有可能建立早期肺癌基因诊断模式,并能对癌前病变积极指导其脱离致癌原或进行必要的干预,实现在癌变的最初阶段向正常细胞的逆转。

#### 参考文献:

- [1] Farber E. The multistep nature of cancer development[J]. *Cancer Res*, 1984,44(10):4217-4223.
- [2] Wattenberg LW. Inhibition of carcinogenesis by minor dietary constituents[J]. *Cancer Res*, 1992, 52(Suppl):2085-2099.
- [3] Lotan R. Retinoids and their receptors in modulation of differentiation, development and prevention of head and neck cancer[J]. *Anticancer Res*, 1996, 16(4c):2415-2419.
- [4] Somers VA, Pietersen AM, Theunissen PH, et al. Detection of K-ras point mutations in Sputum from patients with adenocarcinoma of the lung by point EXACCT[J]. *J Clin Oncol*, 1998, 16:3061-3068.
- [5] 周清华. 肺癌基础研究与临床治疗进展[M]. 北京:科学出版社,1999.163-197.
- [6] 李玉浩,王新允,张乃鑫,等. 细胞凋亡与相关基因 bcl-2, bax 及 c-myc 在非小细胞肺癌中的表达[J]. *中国肿瘤临床*, 2000, 27(9):687-689.
- [7] 梁坤,戚好文. 癌基因蛋白 c-erbB2 和 p21ras 在肺癌中的表达及意义[J]. *海军总医院学报*, 2002,15(1):4-6.
- [8] 叶玉坤. 肺癌发生发展中的分子事件与肺癌早期诊断[J]. *中华外科杂志*,2000,38(7):485-487.
- [9] Mao L, Hruban RH, Boyle JO, et al. Detection of oncogene mutation in sputum precedes diagnosis of lung cancer[J]. *Cancer Res*, 1994, 54(7):1634-1637.
- [10] 刘宝刚,李雅杰,张伟兵,等. p53 突变在肺癌早期诊断中的应用[J]. *中国实验诊断学*, 2003, 7(2):54-56.
- [11] 叶玉坤,苏长青,汪栋,等. 抑癌基因 p16 和 Rb 与肺癌早期诊断的临床实验研究[J]. *中华外科杂志*,2000, 38(7):537-542.
- [12] Belinsky SA, Nikula KJ, Paimisano WA, et al. A aberrant methylation of p16(INK4a) is an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998,95:11891-11896.
- [13] 张文,孙玉鹞,卢光明. 检测痰脱落细胞 p16 基因甲基化对周围型肺癌的诊断价值[J]. *中国肺癌杂志*, 2004, 7(1):46-49.
- [14] Cuda G, Gallelli A, Nistica A, et al. Detection of microsatellite instability and loss of heterozygosity in serum DBA of small and non-small cell lung cancer patients; a tool for early diagnosis? [J]. *Lung Cancer*, 2000, 30:211-214.
- [15] 易斌,杨和平,阮志华. 肺癌患者血浆游离 DNA 微卫星检测的意义[J]. *第三军医大学学报*, 2003, 25(5):434-436.