

# 以 ras 信号通路为靶标的抗肿瘤治疗研究进展

甄时建<sup>1,2</sup>, 杨举伦<sup>1</sup>

关键词: ras 原癌基因; ras 蛋白; 信号转导通路; 肿瘤治疗; 文献综述

中图分类号: R 73 文献标识码: A

文章编号: 1001-7399(2008)05-0607-06

研究发现大约 30% 的人类肿瘤存在 ras 基因突变, 且多种肿瘤均检测到 p21Ras 过表达, 表明 ras 基因突变和 p21Ras 过表达确实与恶性肿瘤的发生有关。因此, 针对 ras 蛋白的肿瘤靶向治疗也成为肿瘤治疗学的研究热点。本文将以 ras 信号通路为靶标的抗肿瘤治疗研究综述如下。

## 1 Ras 蛋白信号通路

p21Ras 是一种信号传递蛋白, 其功能是调节细胞的分化增殖。正常情况下为与 GDP 结合的非活化状态, 与 GTP 结合后则变成活化状态。p21Ras 的信号传递过程如下: 外源性增殖信号如表皮生长因子 (EGF) 与其细胞膜上的受体 (her2) 结合后, 该受体胞膜内侧的酪氨酸残基发生磷酸化, 磷酸化的酪氨酸残基又与其适配蛋白如 Grb2 的 SH2 区结合, Grb2 分子的 SH3 区又与 SOS 蛋白相合。SOS 蛋白是鸟嘌呤分离刺激因子, 在其作用下, p21Ras 与 GDP 分离后与 GTP 结合而活化 (图 1)。活化的 p21Ras 又激活下游的效应子如丝氨酸-苏氨酸激酶 raf-1、磷酸肌醇 3 激酶 PI3K、磷脂酶 C (PLC), 这些下游效应子的激活启动了相应的效应链, 从而导致细胞的增殖 (图 1)。因此, p21Ras 只有结合到细胞膜内表面才能发挥其信号传递功能, 细胞质内游离的 p21Ras 则处于非活化状态。

正常情况下 Ras 信号链只有短暂的活性, 因为细胞内的 GTP 酶激活蛋白 (GAP) 能激活 GTP 酶, 及时降解与 p21Ras 结合的 GTP, 此外 p21Ras 自身也有低度 GTP 酶活性, 能够降解与其结合的 GTP, 从而使 p21Ras 转变成与 GDP 结合的非活化状态。可是一旦出现下列情况, p21Ras 将与 GTP 长时间结合使细胞增殖失去控制, 导致细胞恶性转化:

(1) ras 基因突变 肿瘤细胞内由于几种不同类型的突变损伤导致 ras 蛋白信号通路出现异常改变。其中最显著

的就是 ras 基因本身的突变。大约 30% 的人类肿瘤中出现 ras 基因点突变, 最常见是 K-ras 的点突变 (约占 83%), 其次是 N-ras (约 15%), 再次是 H-ras (小于 1%)。这些点突变的 ras 蛋白失去 GTP 酶活性, 阻止 GTP 酶激活蛋白对 ras 蛋白活性形式的水解, 从而导致 ras 蛋白以活性结合形式存在。在人类肿瘤中, 几乎所有的 ras 蛋白活化是由编码子 12、13 和 61 的突变所致<sup>[1]</sup>。

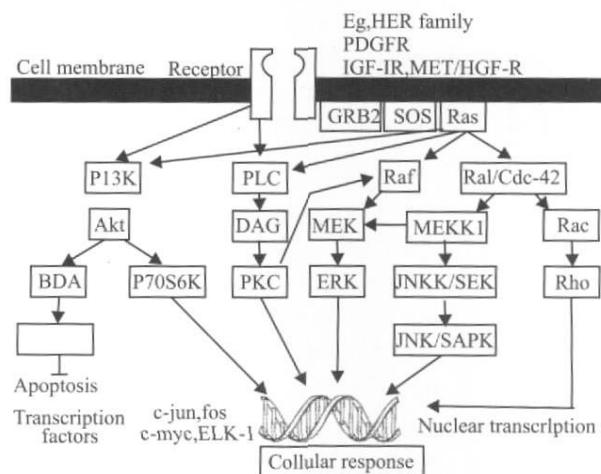


图 1 ras 蛋白上、下游信号通路 (引自 Alex A. Adjei Blocking oncogenic ras signaling for cancer therapy. Journal of the National Cancer Institute, 2001 93(14): 1062-1074)

(2) p21Ras 过表达 p21Ras 过表达见于乳腺癌、膀胱癌、基底细胞癌、鳞状细胞癌、皮脂腺癌、B 细胞淋巴瘤, 在乳腺癌、膀胱癌、鳞状细胞癌前驱病变中也发现 p21Ras 过表达。

(3) GTP 酶激活蛋白缺失 在肿瘤内 ras 蛋白也可能由于 GTP 酶激活蛋白的缺失而活化。最典型的例子就是由 NF1 基因编码的神经纤维素的缺失<sup>[2]</sup>, NF1 基因具有肿瘤抑制因子的所有特点。I 型神经纤维瘤病的患者伴有 NF1 基因的一个等位基因的缺失, 而 NF1 基因的 2 个等位基因缺失引起 ras 蛋白的持续活化从而导致恶性肿瘤的发生。

(4) 生长因子受体的活化 在肿瘤中, ras 蛋白信号通路经常由于生长因子受体酪氨酸激酶的过表达而活化。最常见的例子是 EGFR 和 ERBB2 在许多人类肿瘤包括乳腺癌、卵巢癌和胃癌中 ras 信号通路由于 EGFR 和 ERBB2 的过表达而活化<sup>[3]</sup>。

(5) ras 下游效应子的突变或扩增 最近, 研究显示在人类肿瘤特别是黑色素瘤 (约 70%) 和结肠癌 (约 15%) 中 BRAF 经常由于突变而活化; 在少部分卵巢肿瘤中磷酸肌醇

收稿日期: 2008-09-12 修回日期: 2008-10-06

基金项目: 本课题受云南省 2006 年“社会发展和科技攻关项目”资助 (2006SG11)

作者单位: <sup>1</sup> 成都军区昆明总医院病理科, 昆明 650032

<sup>2</sup> 昆明医学院昆明总医院临床学院, 昆明 650031

作者简介: 甄时建, 男, 研究生。E-mail: zhenshijian\_good@163.com  
杨举伦, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 通讯作者。Tel: (0871) 4774769 E-mail: yang.julun@yahoo.com

3激酶通路由于 P110 $\alpha$  基因的扩增而活化,同时在卵巢癌和乳腺癌中,磷酸肌醇 3激酶通路由于 PI3K 的下游靶标 AKT2 的扩增而活化<sup>[4]</sup>;而且,在肿瘤组织中,磷酸肌醇 3激酶通路的直接激活是由肿瘤抑制基因 PTEN 的缺失所致。Simpson 等<sup>[5]</sup>研究显示,30%~40%的人类肿瘤中 PTEN 基因发生缺失。

## 2 以 ras 信号通路为靶标的抗肿瘤治疗

因为 ras 蛋白在调控几种参与调节正常细胞增生的重要信号通路活性方面具有重要的作用,所以以 ras 蛋白和 ras 蛋白所调控的信号通路为靶标的肿瘤治疗在治疗由 ras 突变所导致的肿瘤中具有非常重要的价值。而且,这种治疗潜力很大,由于研究人员已经发现许多缺乏 ras 基因突变的肿瘤通过其它一些方式活化 ras 信号通路。

**2.1 法尼基化转移酶 (FTIs) 抑制剂** Ras 蛋白翻译后羧基端的法尼基化是 ras 蛋白定位于细胞膜内侧所必需的首要的修饰过程。因此,ras 蛋白翻译后羧基端的法尼基化是开发新的合理的抗 ras 信号通路治疗药物的早期靶标。

可以开发以下几种 ras 蛋白法尼基化抑制剂: (1) ras 蛋白 C 端的 CAAX 序列类似物,这种 CAAX 序列类似物能与法尼基化转移酶竞争性结合; (2) 开发一些能与已经法尼基化的焦磷酸基团竞争性结合的化合物; (3) 开发被称之为双底物类似物的药物同时具有法尼基化的焦磷酸盐和 CAAX 序列的特性,从而模拟 ras 蛋白法尼基化过程中的转变状态。

最近,一些制药公司通过使用“化合物库”的高通量筛选已经鉴定并开发出许多有潜力的法尼基化转移酶抑制剂<sup>[6-7]</sup>。这些药物在培养细胞中已显示出有效地抑制 H-p21 ras 蛋白的法尼基化,研究人员高度期待这些药物对 20% 的具有 ras 基因突变的人类肿瘤产生有效作用。Kohl 等<sup>[8]</sup>研究显示:在转基因小鼠实验中,多肽的法尼基化转移酶抑制剂能有效地逆转转基因小鼠高频率乳腺癌发生率。此外,研究显示他汀类药物与常规化疗药物联合应用能明显延长患者生存时间<sup>[9]</sup>; Kell 等<sup>[10]</sup>研究显示 AZD3409 在实验动物中具有较好的耐受性并且明显抑制肿瘤细胞生长; Morgan MA<sup>[11]</sup> 研究显示 FTIs 和他汀类药物联合使用能协同促进骨髓瘤细胞凋亡,降低瘤细胞的侵袭性,同时减少了 FTIs 和他汀类药物的使用剂量。目前,另二种 FTIs (tipifarnib/conafarnib) 正在进行临床试验<sup>[12-13]</sup>。因此,法尼基化转移酶抑制剂对人类肿瘤治疗显示广阔的前景。

**2.2 抗 ras 和 RAF 的反义寡核苷酸** 目前已进入临床试验阶段以 ras 蛋白信号通路为靶标的另一种治疗方法是抑制 H-ras 和下游靶标 c-RAF1 的表达。Crooke<sup>[14]</sup> 研究显示合成的小分子反义寡核苷酸能特异地与表达 H-ras 蛋白和 c-RAF1 蛋白的 mRNA 结合并能抑制 H-ras 蛋白和 c-RAF1 蛋白的表达。ISIS 药物 (ISIS2503 ISIS1532) 已经被成功开发成几种稳定的能有效地减少细胞内 H-ras 或 c-RAF1 表达的反义寡核苷酸磷硫酰衍生物<sup>[15,16]</sup>。Agan 等<sup>[17]</sup> 研究显示 RNAi 技术能抑制 Capan-I 细胞突变的 K-ras 蛋白表达,从而导致

ERK 活性下调,阻止 Capan-I 细胞克隆形成和裸鼠肿瘤形成<sup>[17]</sup>。

**2.3 以 ras 效应子通路为靶标的激酶抑制剂** 近几年,制药公司一直努力研发有效的蛋白激酶抑制剂,临床上印象最深的蛋白激酶抑制剂是 BCR-ABL 抑制剂,这种抑制剂应用于治疗慢性髓细胞性白血病是一个巨大飞跃<sup>[18]</sup>。由于 MAPKs ERK1 和 ERK2 的磷酸化状态决定了 RAF-MAPK 通路的活化<sup>[19]</sup>,并且大约 30% 的人类肿瘤中 RAF-MAPK 通路处于活化状态。几年前,研究人员就开发出作用于 MEK1 和 MEK2 的抑制剂。PD98059 和 UO126 是高度特异性的非 ATP 竞争 MEK 抑制剂,现已被广泛应用于科研,这二种药物有效地抑制 ERK 活性并且在某些条件下能抑制一些肿瘤细胞系的增生、生存和活力<sup>[20]</sup>。MEK 抑制剂也被证实能有效地抑制裸鼠体内的肿瘤生长,如 MEK 抑制剂 PD184352 已广泛用于结肠癌的研究<sup>[21]</sup>。目前,PD184352 已完成临床 II 期试验,研究表明 PD184352 能有效地治疗伴有活化的 ERK-MAPK 信号通路的肿瘤。但由于该药的局限性,现已开发出第二代药物 PD0325901 和 AZD6244 且已进入临床试验<sup>[22-25]</sup>。此类药物还有 BAY43-9006 且已进入临床试验阶段, BAY43-9006 是一种口服活化的 c-RAF1 抑制剂,它以 ATP 结合位点为靶点<sup>[26]</sup>,同时也具有抗 BRAF 活性,因此很可能 BAY43-9006 能有效地逆转由 ras 或 BRAF 突变所致的 ERK 的活化。此外,研究表明 PI3K 抑制剂 (Wortmannin 和 LY-294002) 能促进细胞凋亡、阻止细胞周期进程<sup>[27-29]</sup>。

即使在一些不具有 ras 突变的肿瘤内,ras 蛋白也可能通过 ras 蛋白上游信号通路的异常活化而被激活。如生长因子受体酪氨酸激酶,特别是表皮生长因子受体及与它密切相关的 ERBB2。以 EGFR 或 ERBB2 为靶标的治疗也许对某些过量表达 EGFR 或 ERBB2 的肿瘤有效,从而导致不能激活内源性的野生型 ras 蛋白,同时也不能激活 ras 蛋白下游增殖性和抗凋亡信号通路。而且,这种靶向治疗也可能具有治疗 ras 本身突变的肿瘤的潜力,因为 ras 基因突变的细胞也能产生大量的自分泌表皮生长因子家族的生长因子<sup>[30]</sup>。对转基因小鼠的研究显示:表达中等水平 ras 蛋白的皮肤肿瘤形成主要取决于自分泌的 EGFR 的活化<sup>[31]</sup>。迄今为止,研究人员已开发出小分子酪氨酸激酶抑制剂<sup>[32-33]</sup>和抗 EGFR 细胞外结构域的人源化抗体<sup>[34]</sup>。它们都有效地阻断 EGFR 酪氨酸激酶的活性并在某种程度也能抑制 ERBB 蛋白家族的其它成员。其中最具有代表的两种药物是 ID1839 和 OSI-774。

Heibst<sup>[35]</sup> 研究报道 ID1839 单一药物对晚期非小细胞肺癌、头颈部肿瘤和前列腺癌具有抗肿瘤活性,而对转移性肾细胞癌无效。临床 III 期随机化试验中, ID1839 与吉西他滨和顺铂或者与紫杉醇和卡铂联合使用治疗非小细胞肺癌无效,这与早期的临床试验结果不同。

OSI-774 的药理学特点与 ID1839 相似,体外试验显示 OSI-774 抑制 EGFR 激酶活性的半数有效性比 ID1839 低 10 倍左右<sup>[36]</sup>。临床 II 期试验显示单独使用 OSI-774 治疗非小

细胞肺癌、卵巢癌和头颈部肿瘤有效。

**2.4 抗体药物** 自从 1975 年 Kohler 和 Milstein 建立杂交瘤技术生产单克隆抗体以来,以肿瘤特异性蛋白为靶标的抗体药物也得到长足发展,其中以 ras 蛋白为靶标的抗体药物开发也成为研究热点。

以与 ras 蛋白信号通路有关的 ERBB 蛋白家族受体为靶标的治疗药物就是人源化的单克隆抗体。单克隆抗体药物能与受体分子的胞外结构域结合,从而阻止配体与受体的结合而抑制受体的活化并且促进受体的内化和下调。最好的抗 EGFR 单克隆抗体药物是嵌合抗体西妥昔单抗 (MC-C25), I 期试验表明该药具有相当好的耐受性<sup>[37]</sup>,并且临床 II 期试验显示对进展期结肠癌有较好的治疗效果。目前,该药与吉西他滨联合用于治疗胰腺癌显示较好疗效<sup>[38-39]</sup>。

另一种重要的抗受体药物是曲妥单抗 (Herceptin)。研究显示该药对高表达 ERBB2 的乳腺癌治疗有效,临床 II 期试验显示经 Herceptin 治疗的乳腺癌患者中位生存从 20.3 个月延长至 25.1 个月<sup>[40]</sup>。

Alvarez 等<sup>[41]</sup>构建抗 ErbB2 的 ScFv-5R,并在氨基端加上前导序列,羧基端加上内质网的滞留信号,将 ScFv-5R 亚克隆入逆转录病毒载体,导入小鼠成纤维细胞 NIH 3T3 中,结果显示:单链抗体与 ErbB2 结合并滞留于内质网中,NIH 3T3 细胞表面的 ErbB2 表达选择性受到抑制。阳性 NIH 3T3 细胞表型得到完全的逆转。运用编码抗 ErbB2 的 ScFv 的重组腺病毒导入人卵巢癌 (SKOV3) 细胞,同时以宫颈癌 (Heh) 细胞系为对照,发现靶向卵巢癌细胞发生凋亡,对宫颈癌细胞影响不大,负荷人卵巢癌的裸鼠的生存期明显延长。随后一期临床试验证明了用腺病毒介导抗 ErbB2 的 ScFv 在卵巢癌临床 I 期试验是有效的。Deshane<sup>[42]</sup>将抗 ErbB2 的 ScFv 亚克隆入腺病毒中并在羧基端插入靶向内质网的滞留信号序列 (KDEL),转染人卵巢癌细胞 (SKOV3),结果表明: ErbB2 及抗 ErbB2 的 ScFv 复合物滞留于内质网中,除了显著下调卵巢癌细胞表面 ErbB2 的表达外,还对转染的肿瘤细胞有明显细胞毒性效应。另有报道在肺癌细胞中也存在类似现象。Mamot 等<sup>[43]</sup>将抗 EGFR ScFv 或截短突变抗 EGFR-VIII ScFv 与包含各种报告基因或抗癌药物的脂质体共价结合形成免疫脂质体,导入过度表达 EGFR (ErbB1) 或 EGFR-VIII 的脑神经胶质瘤细胞中,体外试验显示免疫脂质体在高表达 EGFR (ErbB1) 或 EGFR-VIII 脑神经胶质瘤及乳腺癌细胞中摄入、内化表达,靶向细胞毒性明显强于低表达 EGFR 的肿瘤细胞,体内实验靶向 EGFR 免疫脂质体是高度稳定,半衰期也较长。Hyland 等<sup>[44]</sup>采用内抗体捕获技术 (IAC) 来验证 EGFR ScFv 与 EGFR 相互作用特点。体外 GST Pull down 及免疫共沉淀实验证明抗 EGFR ScFv 与 EGFR 的激酶功能域相互作用,体内实验显示在脑神经胶质瘤及表皮癌细胞的胞质中都有 EGFR ScFv 表达并与 EGFR 共定位于胞膜上。体内外实验提示 ScFv 与 EGFR 的激酶功能域相互作用后抑制 EGFR 转移到细胞表面,从而失活 EGFR 潜在转化能力。

经显微注射入血清依赖性的 NIH 3T3 细胞内能阻止血清诱导的 NIH 3T3 细胞进入细胞周期 S 期,并且能使由活化的 H-ras 诱导的细胞恶性表型发生逆转。

Cochet 等<sup>[46]</sup>构建了抗 p21ras 的单链抗体片段 (ScFv Y13-259),实验结果显示:在蟾蜍卵母细胞及 NIH 3T3 成纤维细胞中,ScFv (Y13-259) 特异性抑制 ras 信号传导通路,而且在体外 ScFv (Y13-259) 特异性中和 ras 从而促进人直肠癌细胞凋亡。荷瘤试验表明腺病毒载体介导抗 p21ras 的 ScFv 能明显抑制裸鼠体内直肠癌的形成。用细胞内抗体捕获技术分离能与 ras 蛋白相结合的内抗体,将可溶性较大的 ScFv 核心结构突变成标准核心结构,实验表明核心结构是内抗体发挥功能的区域,即使功能域中无二硫键连接。通过将轻、重链可变区的抗原互补决定簇插入核心结构后,改建 ScFv 与 ras 蛋白呈现高亲和力并且明显抑制 ras 介导 NIH 3T3 细胞的转化<sup>[47]</sup>。Russell 等<sup>[48]</sup>构建表达抗 p21ras 的 ScFv 的腺病毒载体 (AV1Y28),分别导入人脑神经胶质瘤、胰腺癌、结肠癌细胞系中,通过一定剂量的射线照射已转染的肿瘤细胞,实验发现转染 AV1Y28 的肿瘤细胞生存率比对照组减少 40% ~ 50%,相反正常细胞对射线敏感度不受转染 AV1Y28 的影响,这些数据表明转染抗 p21ras 的 ScFv 的腺病毒可以增强肿瘤细胞对射线的敏感度,而正常细胞不受影响。进一步实验发现用 AV1Y28 腺病毒导入人脑神经胶质瘤 U251 细胞中,由射线诱导的 NF- $\kappa$ B 活性明显降低,主要是  $\kappa$ B 激酶  $\kappa$ B $\alpha$  磷酸化被抑制。抗 p21ras 的 ScFv 也可通过过氧化氢及铁氰化合物抑制 NF- $\kappa$ B 活性,而对由  $\alpha$ -肿瘤坏死因子诱导 NF- $\kappa$ B 活性无影响。Lener 等<sup>[49]</sup>证实从噬菌体文库筛选出抗 p21ras 的 ScFv 在体内能与 ras 蛋白相互作用并能抑制其功能。

此外,研究表明活化 ras 蛋白能诱导与肿瘤形成、浸润、转移有关的细胞因子分泌。因此,细胞因子也成为肿瘤治疗靶标,早期研究显示抗 IL-8 和 IL-6 的中和性抗体具有抗肿瘤活性<sup>[50-51]</sup>。

**2.5 与 ras 蛋白相关的其它治疗方法** 临床上除了以 ras 蛋白信号通路为靶标外,还有一些处于临床试验中的药物是以 ras 信号通路外周成分为靶标或以与 ras 信号通路明显相关的其它信号通路为靶标。如前所述,RAF-MAPK 信号通路的活性能诱导基质金属蛋白酶和血管形成因子的表达<sup>[52]</sup>。Zucker 等<sup>[53]</sup>研究表明现有的几种基质金属蛋白酶抑制剂具有抑制肿瘤的浸润和转移。一些血管形成信号抑制剂特别是血管内皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂正处于临床试验阶段<sup>[54]</sup>。

其它一些以 ras 蛋白为靶标的治疗包括基因治疗和免疫疗法。基因替代疗法很可能是治疗肿瘤的有效方法;基因定向酶前体药物 (也称自杀基因治疗) 治疗表现出更好的未来<sup>[55]</sup>;以伴有 P53 或 Rb 信号通路失调的细胞为靶标的溶瘤细胞病毒疗法更令人兴奋<sup>[56]</sup>。

### 3 问题及展望

尽管 30 多年来,人们对 ras 基因、ras 蛋白的结构和功

Mukahy 等<sup>[45]</sup>研究显示抗 p21ras 单克隆抗体 Y13-259

能、ras蛋白活化机制、ras蛋白的信号通路以及 ras蛋白与肿瘤关系的研究已达到一定深度。但是,人体是一个有机的、复杂的相互联系信号网络系统;而且人类肿瘤的发生是一个多步骤、多阶段、多基因参与的系统过程;肿瘤细胞的增生、凋亡、浸润和转移牵涉到一系列复杂的分子事件。虽然目前以 ras信号通路为靶标的抗肿瘤治疗取得了一定进展,但仍有许多问题需要解决。如:①在人体复杂的信号网络系统中,还有哪些蛋白参与 ras信号通路以及它们的作用是什么?这些蛋白在肿瘤形成过程中怎样被活化?②在治疗人类肿瘤中,法尼基化转移酶抑制剂的作用机理有待进一步深入研究。③在细胞内,K、N-ras蛋白可绕过法尼基化转移酶的作用,在 GGT转移酶的催化下发生翻译后的加工修饰;然而,K-ras蛋白是人类肿瘤中最常见的突变类型;因此,法尼基化转移酶抑制剂应用于治疗由 K、N-ras突变所致的人类肿瘤时值得进一步探讨。④现已开发的以 ras蛋白为靶标的法尼基化转移酶抑制剂也能抑制其它大部分蛋白的法尼基化(可能包括一些正常人体蛋白),这是一个值得注意的问题。⑤目前开发的反义寡核苷酸抗肿瘤药物的特异性和靶向性问题等等。

随着人类基因组计划的完成,人类步入后基因组时代,相信人类一定在功能基因组学、蛋白质组学等方面最终阐明人类肿瘤发生机理;详细阐明 ras蛋白在人类肿瘤发生、发展中的作用;掌握了解 H、N、K-ras的不同作用并且进一步掌握 ras蛋白家族(如 RRAS、MRAS、RAP和 RAC)相关成员的作用;阐明 ras蛋白每一种效应子信号通路的特殊生物学作用;确认 ras蛋白每一种效应子信号通路对肿瘤性转化的有关作用;开发能有效阻断人类肿瘤中 ras癌基因活性的药物等。随着对这些问题的研究、解决,人们将对肿瘤的预防、诊断和治疗提供更新更有效的方法。

#### 参考文献:

- [1] Bos JL. Ras oncogenes in human cancer: a review [J]. *Cancer Res* 1989, 49(17): 4682-4689.
- [2] Weiss B, Bollag G, Shannon K. Hyperactive Ras as a therapeutic target in neurofibromatosis type 1 [J]. *Am J Med Genet* 1999, 89(1): 14-22.
- [3] Mendelsohn J, Baselga J. The EGF receptor family as targets for cancer therapy [J]. *Oncogene* 2000, 19(56): 6550-6565.
- [4] Bellacosa A, de Feo D, Godwin A K, *et al*. Molecular alterations of the AKT2 oncogene in ovarian and breast carcinomas [J]. *Int J Cancer* 1995, 64(4): 280-285.
- [5] Simpson L, Parsons R. PTEN: life as a tumor suppressor [J]. *Exp Cell Res* 2001, 264(1): 29-41.
- [6] Sefti SM, Hamilton A D. Farnesyltransferase and geranylgeranyltransferase I inhibitors and cancer therapy: lessons from mechanism and bench-to bedside translational studies [J]. *Oncogene* 2000, 19(56): 6584-6593.
- [7] Cox A D, Der C J. Farnesyltransferase inhibitors: promises and realities [J]. *Curr Opin Pharmacol* 2002, 2(4): 388-393.
- [8] Kohl N E, Omer C A, Conner M W, *et al*. Inhibition of farnesyltransferase induces regression of mammary and salivary carcinomas in ras transgenic mice [J]. *Nat Med* 1995, 1(8): 792-797.
- [9] Kawata S, Yamasaki E, Nagase T, *et al*. Effect of pravastatin on survival in patients with advanced hepatocellular carcinoma: A randomized controlled trial [J]. *Br J Cancer* 2001, 84(7): 886-891.
- [10] Kelly J. The prenyltransferase inhibitor AZD3409 has anti-tumor activity in preclinical models of urothelial carcinoma [Proc Am Assoc Cancer Res (Meeting Abstract), 2005, 46: 5962].
- [11] Morgan M A, Sehit T, Aydiak E, *et al*. Combining prenylation inhibitors causes synergistic cytotoxicity, apoptosis and disruption of RAS-to-MAP kinase signalling in multiple myeloma cells [J]. *Br J Haematol* 2005, 130(6): 912-925.
- [12] Rowinsky E K. Lately, it occurs to me what a long strange trip it's been for the farnesyltransferase inhibitors [J]. *J Clin Oncol* 2006, 24(19): 2981-2984.
- [13] Basso A D, Kinschreiber P, Bishop W R. Lipid posttranslational modifications: Farnesyl transferase inhibitors [J]. *J Lipid Res* 2006, 47(1): 15-31.
- [14] Crooke S T. Potential roles of antisense technology in cancer chemotherapy [J]. *Oncogene* 2000, 19(56): 6651-6659.
- [15] Chen G, Oh S, Monia B P, *et al*. Antisense oligonucleotides demonstrate a dominant role of c-RAS proteins in regulating the proliferation of diploid human fibroblasts [J]. *J Biol Chem* 1996, 271(45): 28259-28265.
- [16] Monia B P, Johnston J F, Geiger T, *et al*. Antitumor activity of a phosphorothioate antisense oligodeoxynucleotide targeted against C-raf kinase [J]. *Nat Med* 1996, 2(6): 668-675.
- [17] Brummekamp T R, Bernards R, Agami R. Stable suppression of tumorigenicity by virus-mediated RNA interference [J]. *Cancer Cell* 2002, 2(3): 243-247.
- [18] Sawyers C L. Rational therapeutic intervention in cancer kinases as drug targets [J]. *Curr Opin Genet Dev* 2002, 12(1): 111-115.
- [19] Hoshino R, Chatani Y, Yamori T, *et al*. Constitutive activation of the 41-/43-kDa mitogen-activated protein kinase signaling pathway in human tumors [J]. *Oncogene* 1999, 18(3): 813-822.
- [20] Sebolt-Leopold J S. Development of anticancer drugs targeting the MAP kinase pathway [J]. *Oncogene* 2000, 19(56): 6594-6599.
- [21] Sebolt-Leopold J S, Dudley D T, Herera R, *et al*. Blockade of the MAP kinase pathway suppresses growth of colon tumors in vivo [J]. *Nat Med* 1999, 5(7): 810-816.
- [22] Lonuso P, Krishnamurthy S, Rinehart J R, *et al*. A phase 1-2 clinical study of a second generation oral MEK inhibitor PD0325901 in patients with advanced cancer [J]. *J Clin Oncol* (Meeting Abstract), 2005, 23: 3011.
- [23] Menon S S, Whitfield L R, Sadis S, *et al*. Pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of PD0325901, a second generation MEK inhibitor after multiple oral doses of PD0325901 to advanced cancer patients [J]. *J Clin Oncol* (Meeting Abstract), 2005, 23: 3066.

- [24] Wang D, Boerner SA, Winkler JD, *et al*. Clinical experience of MEK inhibitors in cancer therapy[ J]. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773(8): 1248–1255
- [25] Chow L Q M, Eckhardt S G, Reid J, *et al*. A first in human dose-ranging study to assess the pharmacokinetics, pharmacodynamics and toxicities of the MEK inhibitor ARRY-142-886(AZD6244), in patients with advanced solid malignancies[ J]. *Biol Clin Appl* 2005; 162
- [26] Lyons J F, Wilhelm S, Hübner B, *et al*. Discovery of a novel Raf kinase inhibitor[ J]. *Endocr Relat Cancer* 2001; 8(3): 219–225
- [27] Gysin S, Lee S H, Dean N M, *et al*. Pharmacologic inhibition of  $\text{RAF} \rightarrow \text{MEK} \rightarrow \text{ERK}$  signaling elicits pancreatic cancer cell cycle arrest through induced expression of p27Kip1[ J]. *Cancer Res* 2005; 65(11): 4870–4880
- [28] Miza AM, Gysin S, Malek N, *et al*. Cooperative regulation of the cell division cycle by the protein kinases RAF and AKT[ J]. *Mol Cell Biol* 2004; 24(24): 10868–10881.
- [29] Bondar VM, Sweeney-Gotsch B, Andreeff M, *et al*. Inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase-AKT pathway induces apoptosis in pancreatic carcinoma cells in vitro and in vivo[ J]. *Mol Cancer Ther* 2002; 1(12): 989–997.
- [30] Nomanno N, Bianco C, De Luca A, *et al*. The role of EGF-related peptides in tumor growth[ J]. *Front Biosci* 2001; 6 D685–D707.
- [31] Sibiak M, Fleisdmann A, Behrens A, *et al*. The EGF receptor provides an essential survival signal for SOS-dependent skin tumor development[ J]. *Cell* 2000; 102(2): 211–220.
- [32] Fabbro D, Parkinson D, Matter A. Protein tyrosine kinase inhibitors: new treatment modalities? [ J]. *Curr Opin Pharmacol* 2002; 2(4): 374–381.
- [33] Wakeling AE. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors[ J]. *Curr Opin Pharmacol* 2002; 2(4): 382–387.
- [34] DeBono J S, Rowinsky E K. The ErbB receptor family: a therapeutic target for cancer[ J]. *Trends Mol Med* 2002; 8(4 Suppl): S19–S26.
- [35] Herbst R S. ZD1839: targeting the epidermal growth factor receptor in cancer therapy[ J]. *Expert Opin Investig Drugs* 2002; 11(6): 837–849.
- [36] Hidalgo M, Siu L L, Nemunaitis J, *et al*. Phase I and pharmacologic study of OSI-774, an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced solid malignancies[ J]. *J Clin Oncol* 2001; 19(13): 3267–3279.
- [37] Robert F, Ezekiel M P, Spencer S A, *et al*. Phase I study of anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer[ J]. *J Clin Oncol* 2001; 19(13): 3234–3243.
- [38] Swog S. Phase III randomized study of gemcitabine with versus without cetuximab as first-line therapy in patients with locally advanced unresectable or metastatic adenocarcinoma of the pancreas[ J]. *Clin Adv Hematol Oncol* 2004; 2(4): 201–252.
- [39] Graeven U, Kröner B, Sudhoff T, *et al*. Phase I study of the humanized anti-EGFR monoclonal antibody matuzumab (EMD 72000) combined with gemcitabine in advanced pancreatic cancer[ J]. *Br J Cancer* 2006; 94(9): 1293–1299.
- [40] Skon D J, Leyland-Jones B, Shak S, *et al*. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2[ J]. *N Engl J Med* 2001; 344(11): 783–792.
- [41] Alvarez R D, Barnes M N, Gomez-Navarro J, *et al*. A cancer gene therapy approach utilizing an anti-erbB-2 single-chain antibody-encoding adenovirus (AD21): a phase I trial[ J]. *Clin Cancer Res* 2000; 6(8): 3081–3087.
- [42] Deshane J, Siegal G P, Wang M, *et al*. Transductional efficacy and safety of an intraperitoneally delivered adenovirus encoding an anti-erbB-2 intracellular single-chain antibody for ovarian cancer gene therapy[ J]. *Gynecol Oncol* 1997; 64(3): 378–385.
- [43] Manot C, Drummond D C, Greiser U, *et al*. Epidermal growth factor receptor (EGFR)-targeted immunoliposomes mediate specific and efficient drug delivery to EGFR- and EGFRVIII-overexpressing tumor cells[ J]. *Cancer Res* 2003; 63(12): 3154–3161.
- [44] Hyland S, Beerli R R, Barbas C F, *et al*. Generation and functional characterization of intracellular antibodies interacting with the kinase domain of human EGF receptor[ J]. *Oncogene* 2003; 22(10): 1557–1567.
- [45] Mukahy L S, Smith M R, Stacey D W. Requirement for ras proto-oncogene function during serum-stimulated growth of NIH 3T3 cells[ J]. *Nature* 1985; 313(5999): 241–243.
- [46] Codet Q, Knegsberg M, DelumEAU I, *et al*. Intracellular expression of an antibody fragment-neutralizing p21 ras promotes tumor regression[ J]. *Cancer Res* 1998; 58(6): 1170–1176.
- [47] Tanaka T. Intrabodies based on intracellular capture frameworks that bind the RAS protein with high affinity and impair oncogenic transformation[ J]. *EMBO J* 2003; 22: 1025–1035.
- [48] Russell J S, Lang F F, Huet T, *et al*. Radiosensitization of human tumor cell lines induced by the adenovirus-mediated expression of an anti-Ras single-chain antibody fragment[ J]. *Cancer Res* 1999; 59(20): 5239–5244.
- [49] Lener M, Hom R, Cardinale A, *et al*. Diverting a protein from its cellular location by intracellular antibodies: The case of p21Ras[ J]. *Eur J Biochem* 2000; 267(4): 1196–1205.
- [50] Spamann A, Bar-Sagi D. Ras-induced interleukin-8 expression plays a critical role in tumor growth and angiogenesis[ J]. *Cancer Cell* 2004; 6(5): 447–458.
- [51] Ancrik B, Lim K H, Counter C M. Oncogenic Ras-induced secretion of IL6 is required for tumorigenesis[ J]. *Genes Dev* 2007; 21(14): 1714–1719.

# 重视病理诊断思维方法

占新民

关键词: 病理学; 诊断

中图分类号: R 36 文献标识码: B

文章编号: 1001-7399(2008)05-0612-02

病理诊断工作是个系统工程,它包括系列专业技术工作和病理学家的理论知识和实践经验的运用,病理学家对受检标本通过大体和镜下观察,并结合临床表现进行分析、综合、判断才最后作出病理诊断,这就是理论知识和实践经验的运用过程,在此过程中思维方法往往起着重要作用。

在日常外检工作中,有时同一张切片由不同专家阅片常得出不同的诊断,甚至同一个专家先后阅同一张切片,也可能得出不同的诊断,究其原因,除阅片者的专业水平和经验不同因素外,思维方法不同可能是重要因素。很多著名病理学家都非常强调诊断思维的重要意义。正确的思维方法,就是病理学家在观察、思考判断过程中,遵循唯物辩证法的法则和应用逻辑学的方法。人们对病理诊断思维方法的认识可能是不自觉的。但病理学家在日常工作中自然应形成一定的工作程式(思维模式)和方法(思维方法),结合个人的工作经验和体会,在此提出一个参考模式:细致观察→深入思考→慎重诊断→留有余地。

## 1 细致观察

细致观察是诊断工作的开始和重要阶段,它要求掌握临床、大体、镜下足够的信息,作为诊断者要知晓主要临床病史和送检目的。通过标本的大体检查(表面、切面),对病变形成了宏观的总体概念。切片镜检是观察的关键环节,通过低倍-高倍反复阅片,了解病变的结构和细胞组成成分,如对一个淋巴结病变,就必须弄清结构是否破坏,增生的细胞是些什么成分,还要辨别那些是肿瘤细胞,那些是反应细胞,细致观察才能真实掌握病变形态的全貌,为下一步的思考、判断提供可靠的信息。

收稿日期: 2008-08-04

作者单位: 江西省九江学院临床医学院 附属医院, 九江 332000

作者简介: 占新民,男,教授。Tel (0792)8853714

## 2 深入思考

病理医师通过对标本的观察和病史的了解,虽然获得了大量信息,但是,浩瀚复杂的病变形态,是难以通过“看图识字”或“对号入座”的方法获得病理诊断的,标本的大体和镜下形态是病变的表现,而诊断则是病变的本质。马克思指出:事物的表现和它的本质并不是直接合而为一的,所以病理医师通过对标本的细致观察,进行系列抽象思维活动,以达到对病变本质的认识(作出病理诊断)。思维的核心,主要是对病变的分析、综合和判断。

分析和综合是辩证的统一,分析是综合的基础,一个病变,首先必需弄清其细胞成分和形态以及组合形成,还有它和间质的关系等,然后再从总体上去认识病变的性质(判断),在此过程中切忌在思想方法上出现错误。如下几个关系值得注意分析和思考。

**2.1 病理诊断中病理形态与临床资料的关系** 病理诊断属于疾病诊断,病理医师对疾病临床症状、体征及各种检查(特别是手术所见)的了解,对于病理诊断的形成有十分重要的意义,因此,病理医师不仅要熟悉本身专业,而且要求有足够的临床知识,在诊断过程中,要认真阅读送检单所提供的病史,如有疑问要再向临床医师询问,有时还要亲自观察病人(冷冻切片更需如此)。有些病例仅依据病变形态很难作出诊断,而在亲自观察病人后则决断更有依据了,特别像皮肤病的病理诊断,更需要结合临床表现才能作出诊断,骨肿瘤的诊断要做到病理、放射、临床三结合。

疾病的临床表现是复杂多样的,病史提出的临床诊断与病理实际有时可毫无联系,外科手术中对病变的定位和周围关系的描述,有时可能是不够准确的。因此,病理医师对临床病史既要重视了解,更要作分析研究,不能让病史起着错误导向作用。病理诊断应主要是立足于病变形态特征,它和临床诊断有可能不符,遇到两者诊断不一致时,首先应排除送检标本的真实性。

**2.2 标本的大体观察与镜下观察的关系** 对标本进行大体和镜下观察是外科病理工作中的主要方法,它是对病变从宏观到微观的多层次研究,微观是宏观的基础,宏观是微观的综合,两者密切相关。

[52] Schulze A, Lehmann K, Jefferies H B, *et al*. Analysis of the transcriptional program induced by raf in epithelial cells[J]. *Genes & Dev*, 2001, 15(8): 981-994.

[53] Zucker S, Cao J, Chen W T. Critical appraisal of the use of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatment[J]. *Oncogene*, 2000, 19(56): 6642-6650.

[54] Rosen L S. Angiogenesis inhibition in solid tumors[J]. *Cancer J*

2001, 7(Suppl3): S120-S128.

[55] Kim D, Niculescu-Duvaz I, Hallen G, *et al*. The emerging fields of suicide gene therapy and virotherapy[J]. *Trends Mol Med*, 2002, 8(4 Suppl): S68-S73.

[56] Biedner C, Ries S, Brandts C H, *et al*. Replication-selective viruses for cancer therapy[J]. *J Mol Med*, 2002, 80(3): 163-175.