

人類的致癌基因 (Oncogenes)

〈Scientific American, Vol.246, No.3 March 1982〉

原作者 J. Michael Bishop
翻譯者 陳雅涵
指導者 蔡妍菊

癌症能真正地理解嗎？至今仍無法充分解釋正常細胞是如何控制它的生長。而癌細胞的生長乃被認為是一種不正常的細胞生長法則。科學家們正試圖著探索其作用機轉。最近已證實致癌基因及其蛋白產物的存在。雖然致癌基因最先在病毒內被發現，但它並非原屬病毒基因本身，而可能是每一個活細胞與生俱來的。

腫瘤病毒(Tumor Viruses)

病毒是由DNA或RNA的基因訊息外加上蛋白外衣所組成。DNA與RNA均是由四種核苷酸順序排列成長鏈。而構成基因(gene)。依核苷酸排列順序，決定胺基酸的排列次序，而得以決定形成某一特定的蛋白質，(如酶或構成元素)。

病毒基因為數可能少於5個，但不會超過數百個，而較複雜的生物則可能有成千個基因。病毒的繁殖是模仿細胞的，但是病毒的構造單純，較細胞易於研究與瞭解。

在細胞中，DNA轉複製RNA，RNA又參與蛋白質的製造。當細胞感染病毒時，病毒就會慢慢紆迴進入細胞的作用機轉上，而控制細胞來製造病毒蛋白，以組成新的病毒體。如此，在某些情況下能使寄主細胞發生癌化現象。

1910年，Peyton Rous發現雞肉瘤細胞(Sarcoma)分離液，可以誘發其他雞細胞產生同樣的肉瘤。十年後，Rous以物理技術及電子顯微鏡方法，證明腫瘤病毒的存在而成為諾貝爾獎得主。

有些腫瘤病毒，只在其他動物體上誘發癌症，而並不作用於其原宿主。但有些病毒亦會使其原寄主致癌。其原因至今仍未能十分明瞭。

形質轉換(Transformation)

許多許多腫瘤病毒有一特殊的性質，即在培養基上能使培養細胞發生致癌性的變化，稱之形質轉換(圖2)。利用這種變化可明瞭致癌病毒與寄主在人為控制的環境下，二者間的

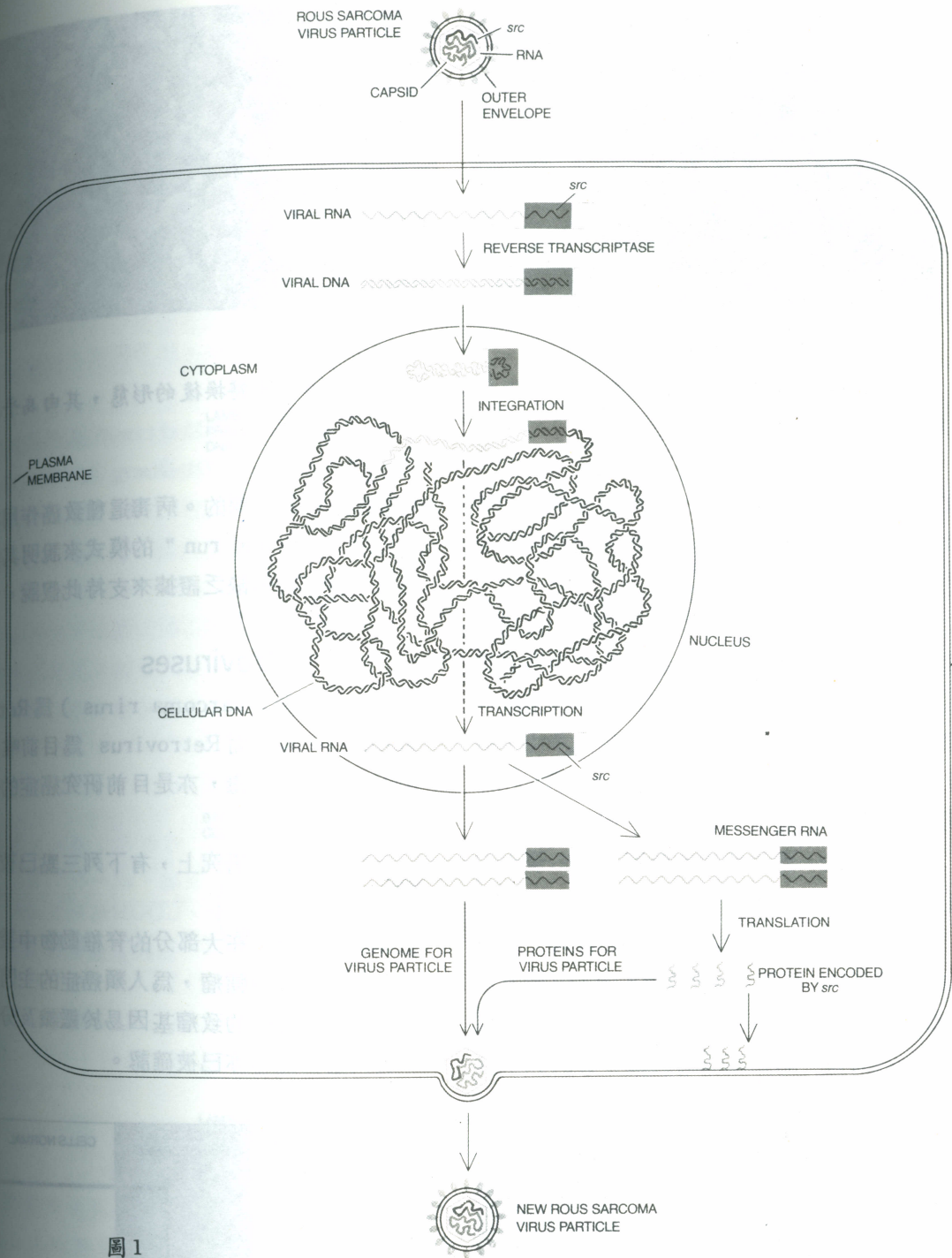


圖 1

Oncogene 又稱為 *src*，會誘導雞細胞癌化，為勞司氏肉瘤病毒 (Rous Sarcoma Virus，一種 retrovirus) 內 RNA 基因組的一部分。

當細胞感染 retrovirus 時，病毒 RNA 會藉逆轉錄酶 (reverse transcriptase) 複製成雙鏈的環狀 DNA，然後併入寄主細胞的 DNA 中。當寄主 DNA 轉寫為 RNA 時，同時亦進行病毒 DNA 的轉寫以產生新的病毒體。*src* 基因的產物，並不是病毒粒子的成分之一，是一種蛋白激酶，與細胞內膜結合，能使細胞蛋白質發生磷酸化，則細胞變為癌化。

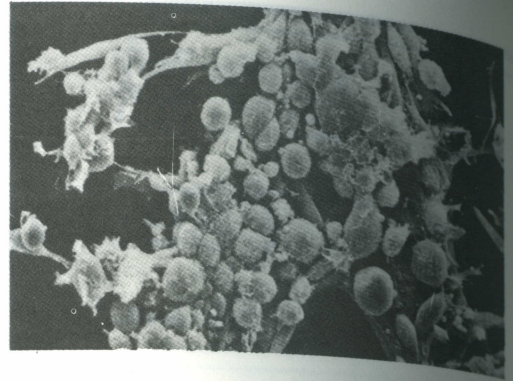
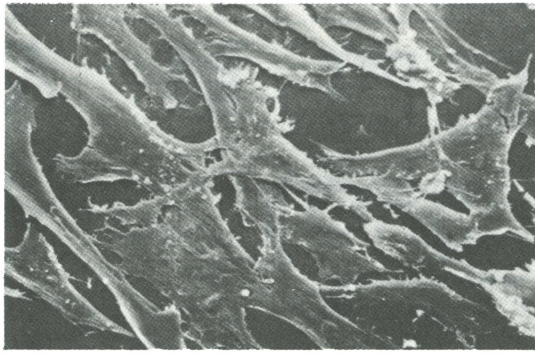


圖 2

左為正常纖維母細胞的掃描電子顯微鏡照片，右為經過形質轉換後的形態，其由扁平單層細胞變為多層圓形的癌變細胞。

相互關係。值得一提的是，有些腫瘤病毒並無形質轉換的能力，但對動物體而言仍具強力的致癌性。

有些病毒只由一個基因，但有些則是由幾個 oncogene 來誘發腫瘤。致癌基因作用很快，其活性會超越其他基因，僅須數日或數星期即能誘發腫瘤產生。形質變換的發生多由於病毒具有致癌基因。當然，仍有少數病毒缺乏致癌基因，且不能發生形質變換，但仍具致瘤性，其作用緩慢，產生腫瘤的時間約須六至十二個月。

二者均可於宿主內持續相當的時間。大致上的病毒DNA可併入宿主DNA中，但是有些病毒卻能於細胞內自成一單位，獨立地進行複製。一般而言，病毒基因的持續存在對其致瘤

性來說是相當重要的。病毒這種致癌作用有時可以用“hit and run”的模式來說明其感染過程，但目前仍缺乏證據來支持此假說。

Retroviruses

肉瘤病毒 (sarcoma rirus) 為 Retrovirus 的一種，而 Retrovirus 為目前唯一的 RNA 致瘤性病毒，亦是目前研究癌症的一種有效工具。

目前在肺癌研究上，有下列三點已被證實：

- ① Retrovirus 在大部分的脊椎動物中被發現，可誘發多種腫瘤，為人類癌症的主因。
- ② Retrovirus 的致瘤基因易於鑑識及分離，且其基因產物亦已被確認。

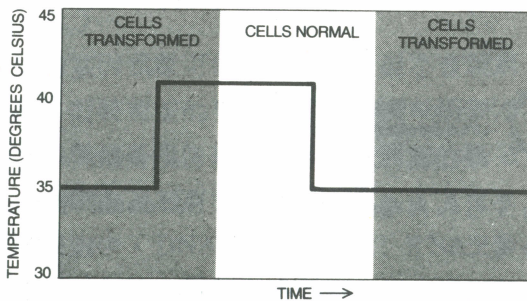
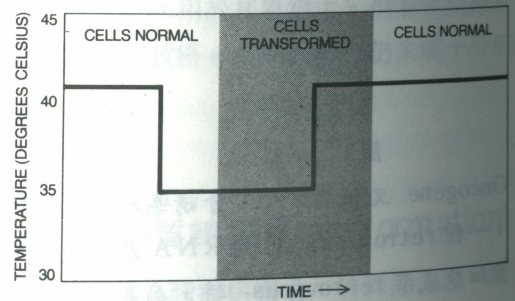


圖 3

基因的條件性突變能使基因或其蛋白產物發生可逆的不活性化。當培養細胞受 ts-src 感染時，在 35°C 下能進行形質轉換，而在 40°C 時則呈正常狀態。



③Retrovirus 致癌基因並不是病毒與生俱來

的，而可能是當在宿主細胞內複製時，由宿主的基因抄錄而來。

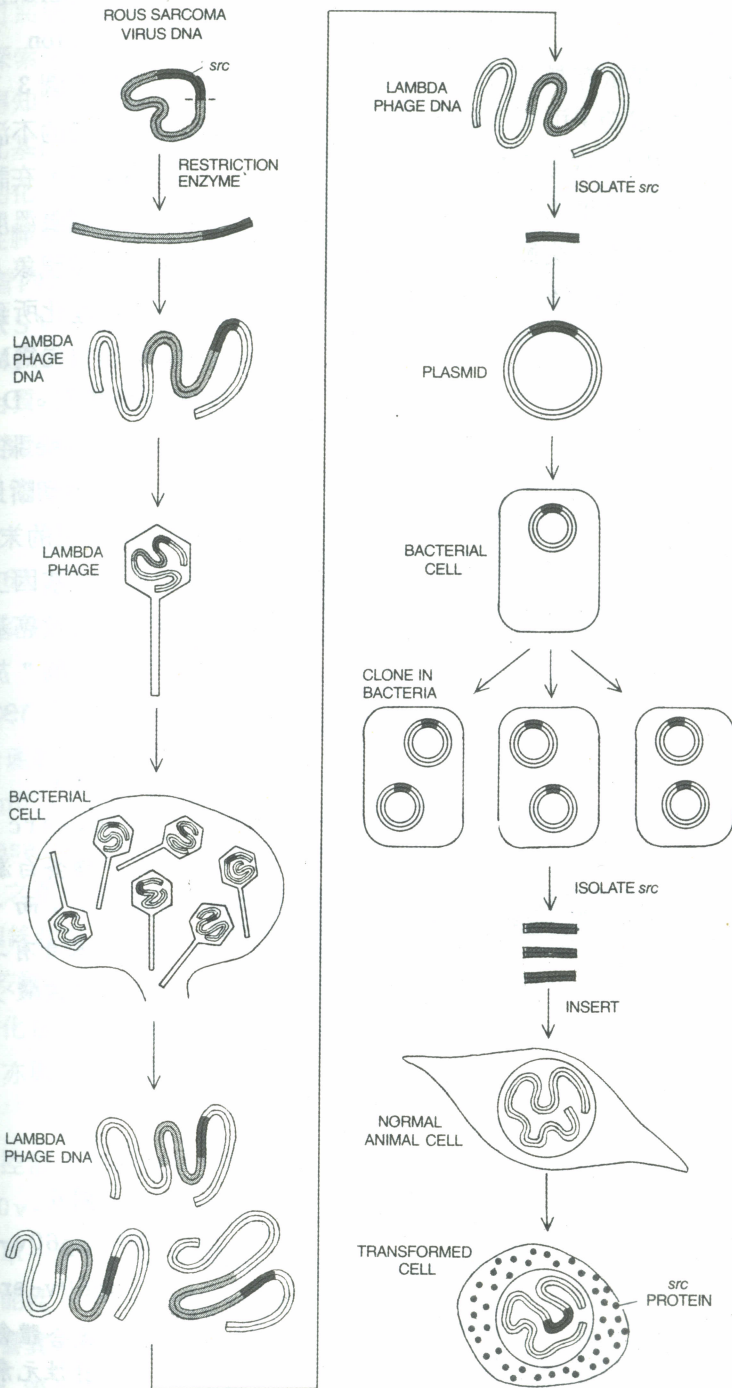


圖 4

RSV 的環狀 DNA 以“制限酵素”作用後插進入一噬菌體 DNA 上。藉著噬菌體而在細菌內製造病毒 DNA。再分離出 *src* 基因併入 plasmid，如此 *src* 基因可大量地被精製。若將其導入培養細胞中則會誘發形質轉換現象。

Retrovirus 的 RNA 得先轉錄成爲 DNA，再進行增殖，這種作用主要藉逆轉錄酶 (Reverse transcriptase) 來完成。(此酶於 1970 年被發現。)

Retrovirus 是依存於其與寄主的協同作用裏，病毒若感染成功，則可主宰整個宿主的生物活性。感染初期，病毒 RNA 靠著逆轉錄酶產生 DNA。DNA 再進入寄主細胞的基因，則病毒基因藉著寄主進行複製 (圖 1)。

病毒感染對寄主細胞而言，一般並不造成損害，因爲病毒在尋得一個蛋白外衣後會離開寄主細胞。但若具有致癌基因，則不但會破壞寄主細胞，還可能導致癌症的發生。若病毒不含致癌基因，則會干擾插入部位附近的宿主基因，而引起突變。而在某些特定部位發生突變時，亦可能會誘發癌症。其與致癌基因的作用並不相似，但有密切的關係。當然，基因突變亦可能導致癌症的發生。

src 基因 (The src Gene)

1970 年，G.S. Martin 證實溫度感受性條件突變 (temperature-sensitive "conditional" mutation) 的發生能影響病毒對培養細胞的作用 (圖 3)。這種 "條件突變" 能使基因發生可逆的不活性化。當培養細胞受 ts-RSV 感染時，在許可溫度內，則會進行形質轉換。若在制限溫度下 ("restrictive")，則細胞呈正常現象。此乃因爲在制限溫度下突變基因不活性化所致。

src 基因首先爲 Martin 所提出，其爲 RSV 的致癌基因。Duesberg 和 Weissmann 利用 ribonuclease 將 RSV 野生種與其 deletion mutants 的基因切斷比較。發現其致癌基因是位於 RSV 基因組的末端。

近年來由於基因工程的進步，使得學者們更能正確地找出致癌基因及試知其致癌性的大小。即以 "制限酶" 於特定部位將 DNA 切成

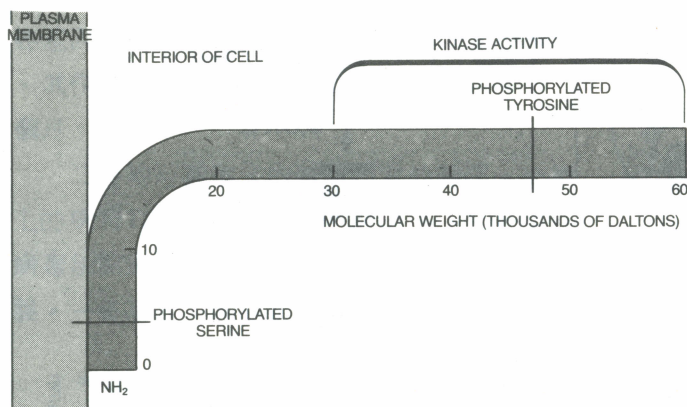


圖 5

pp60v-src 約由 520 個胺基酸組成，是一種蛋白激酶。以 -NH_2 端結合於細胞膜上，而 -COOH 端則為磷酸化部位。其本身有二個胺基酸被磷酸化 (絲氨酸與酪氨酸)。

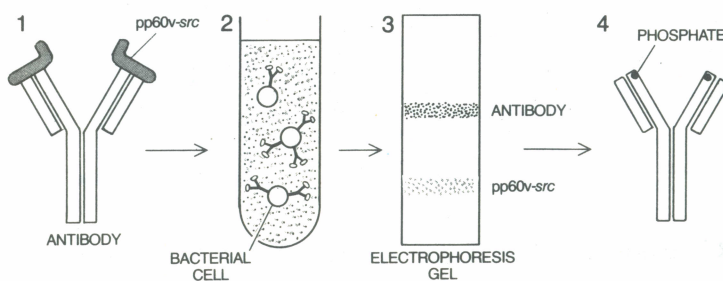


圖 6

證明 pp60v-src 具有蛋白激酶活性：

- 1 pp60v-src 與其抗體形成複合體。
- 2 此複合體會移到細菌體表面，再加入放射性元素磷化物 (小灰點)。
- 3 以電氣泳動法分離 pp60v-src 與抗體，抗體部位呈放射性。
- 4 表示 pp60v-src 將抗體的二條重鏈上的酪氨酸磷酸化。

片段，藉著細菌體大量製造，然後再分離出來重新置入培養細胞中則 DNA 上的基因即可表現出來（圖 4）。如是可將病毒 DNA 切成帶有單一基因的片斷，以探索引起形質變換的基因究竟為何。由 RSV 得知其使細胞形質轉變為一單獨基因的作用，此基因產生一單一的蛋白質產物，而促使細胞癌化。若能鑑識此蛋白質及其作用，則可知惡性腫瘤是如何產生的。

R.L. Erikson 在試管內以野生種的 RSV 基因合成蛋白質，再以 RSV 來誘發兔子產生癌症，促其製造 src 蛋白質的抗體。此抗體可與試管內合成的 src 蛋白質及引起形質變換的蛋白質結合。如有力的證明 src 基因所譯成的蛋白質與其致癌作用是密切相關的。此蛋白質被命名為 pp60v-src（圖 5，pp 示其為磷蛋白，60 示其分子量為 60,000 daltons 及 v-src 為病毒 src 基因之意。）

癌化酶(A Cancer Enzyme)

分離出來的 src 蛋白產物又是如何導致癌症的發生呢？實際上，pp60v-src 就是一種蛋白激酶（protein kinase），能使蛋白質發生磷酸化（圖 6）。一般之蛋白激酶的基質為蘇胺酸（Threonine）與絲胺酸（serine）上，而 pp60v-src 為酪胺酸（Tyrosine）專一性作用。酪胺酸的磷酸化成為致癌基因所產生的專一特性。但此反應亦與正常細胞的生長調節有關。

蛋白質磷酸化反應為控制生長細胞活性的主要方式之一。關於 pp60v-src 目前有兩種假說被提出；其一是酶將單一的蛋白發生磷酸化反應，而增加致癌的可能性。另一說法是將多數的蛋白磷酸化，而影響其功能。現以第二種說法較為可能。Hunter 等發現當 src 使細胞發生形質轉換時，其酪胺酸磷酸化的量增加約十倍左右。此乃因 pp60v-src 的活性增大之故。目前的問題是：究竟細胞內那個蛋白質發生磷酸化？而此蛋白質在細胞內到底又扮演

著那些角色呢？

作用部位(Site of Action)

pp60v-src 作用的部位最初被認為係位於細胞核內，直接干擾細胞 DNA 的複製。

Beug 等人發現除去細胞核的細胞內 src 蛋白依然有其活性。而且只有少數的 pp60v-src 在細胞核中。大部分會與細胞質膜內壁結合，進而控制細胞與外界的一切活動。許多生物學者認為細胞生長是由細胞膜及其聯結的胞器來控制的。

Rohrschneider 利用特殊光學顯微鏡技術，觀察出 pp60v-src 集中地附著在膜表面上（圖 7、8）。但在癌細胞中，這種附著性斑點（adhesion plaque）呈分散狀，而促使癌細胞易從組織脫離而轉移到他處。根據 Rohrschneider 這一發現，推測 pp60v-src 可能是使膜上的一個或幾個蛋白質發生磷酸化，而使細胞間附著性降低。

Sefton 和 Singer 提出 pp60v-src 能使 Vinculin（是形成附著斑點所須的一蛋白成分）上的酪胺酸發生磷酸化，而使附著性斑點崩解。但這些現象在癌細胞脫軌的形為上究竟有何重要，至少仍未能確立。曾經一度認為癌基因的作用只是在產生新的病毒體上，而現在知道 retrovirus 的複製通常不須有癌基因存在。如此又要如何解釋 retrovirus 中多有癌基因的發生；及在其進化的過程中，又如何保存此癌基因呢？經過十數年的研究，得知 retrovirus 的致癌基因，是當病毒複製時，由細胞基因獲得的。

癌基因的來源(The Origin of Oncogenes)

Huebner 與 Todaro 提出一假說：認為 retrovirus 的致癌基因是細胞中遺傳物質的一部分，而可能是病毒感染時所必須的。此致

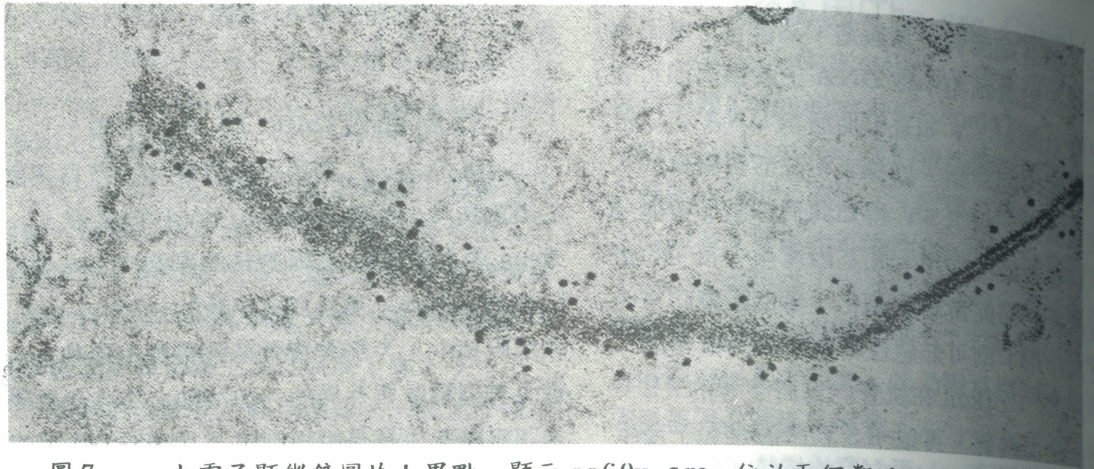


圖7 由電子顯微鏡圖片上黑點，顯示 pp60v-src 位於兩個鄰近細胞的細胞質膜上。

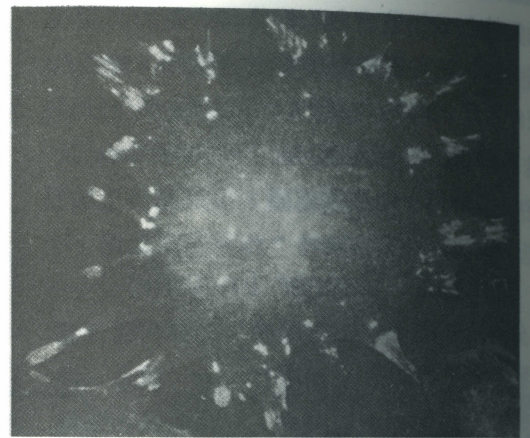
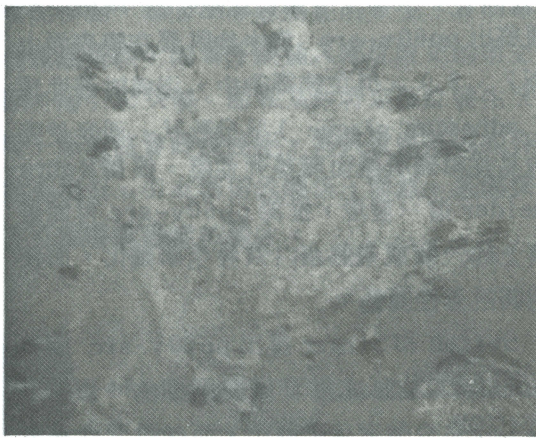


圖8 左為 interference-reflection micrograph 顯示附著黑斑 (adhesion plaques) 出現於細胞表面上。右則為螢光顯微像，可見大部分的 pp60v-src 都位在附著黑斑內。

癌基因通常是不活性的，一受致癌物質等的刺激，則使細胞變為癌化。若這假設成立，則當可在正常細胞的DNA內尋得 src 基因。

脊椎動物 DNA 包含有成千上萬的基因，爲了探索 src 基因，D. Stehelin 將 src 基因經逆轉錄酶作用抄錄製成具放射活性的 DNA，再利用此DNA 來探索與 src 基因有著類似核苷酸序列的細胞 DNA (圖9)。發現 src 所產生的 copy 能與未經病毒感染的雞或其他鳥類的 DNA 產生核酸雜化 (hybridization)。所以 Huebner-Todaro 的假說可能是正確的。

根據最近研究發現，在脊椎動物所找到的

致癌基因並非源自 retrovirus，而是細胞基因，稱之 c-src (圖10)。c-src 包括幾個 exons 和介於其間的 introns。c-src 的神祕處在於此基因不但存在於正常細胞中，而且又具有轉寫爲 m-RNA，再譯成蛋白質的活性。此細胞性蛋白質產量極小，可與 pp60v-src 所產生的抗體發生反應，藉此可將其分離出來，稱爲 pp60c-src。pp60v-src 與 pp60c-src 的分子大小，化學構造相似，均能使酪氨酸發生磷酸化反應，且都牢牢地與細胞膜結合。此二者可視爲異曲同工之物。(在形質轉換細胞時爲 pp60v-src 在正常細胞則爲 pp60c-src)。

細胞性癌基因 (Cellular Oncogenes)

目前知道有 17 種 retrovirus 的癌基因，而有 16 種常見於脊椎動物細胞內（表 1）。c-src 能長期存在，且在正常細胞內是具活性的。許多病毒學家現認為 retrovirus 的致癌基因是由細胞性基因上抄錄而來的（圖 11）。至於詳細轉則尚不得而知。

產生 retrovirus 致癌基因的細胞基因被稱為致癌基因原（proto-oncogenes）。假若 retrovirus 的癌基因只是正常細胞基因的複

印（copy），那麼對感染細胞而言其病毒基因的作用又是什麼呢？這有兩種解釋被提出。其一是突變性的假說：病毒癌基因與致癌基因原是有所差異的，但它主要是由於發生突變而導致的（當細胞基因複印入病毒基因中所生的突變）。譬如 pp60v-src 與 pp60c-src 具有相似的酶活性，但在細胞內可能由於作用標的相異，則對細胞行為就產生不同的影響。其二是基因數量假說（圖 12）：當細胞蛋白過量生產時，則病毒癌基因就會開始發揮其作用。依此觀點而言，癌化與病毒蛋白的產量有關。目前以後者較為學者們所接受。

當病毒基因的活性一旦被激發，就能大量地產生病毒蛋白質。假若病毒癌基因與細胞性癌基因在功能上實屬相同的話，則在特定情況下，細胞性基因很可能是會誘發癌性生長的。

細胞基因癌化

(Cellular-Gene Oncogenesis)

Hanafusa 等人發現，缺乏 src 大部分基因的突變種，其對實驗動物無法誘發肉瘤產生。若將此缺陷的病毒注入雞體中，卻發現 v-src 在感染細胞內再被組合起來。在鳥類亦發

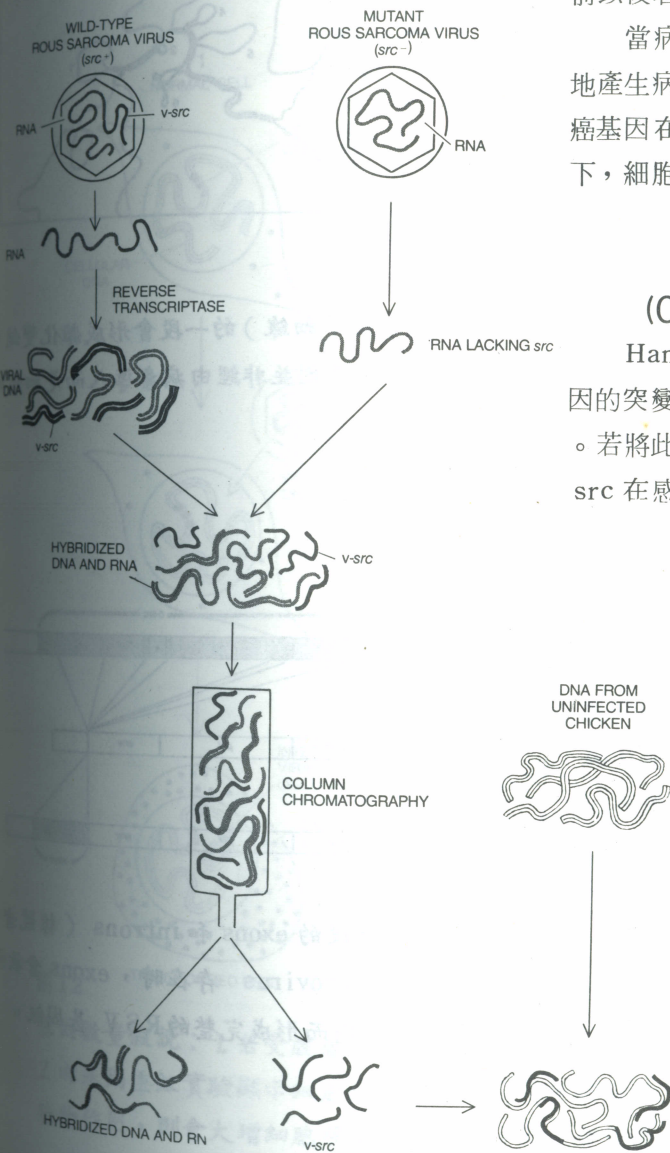


圖 9

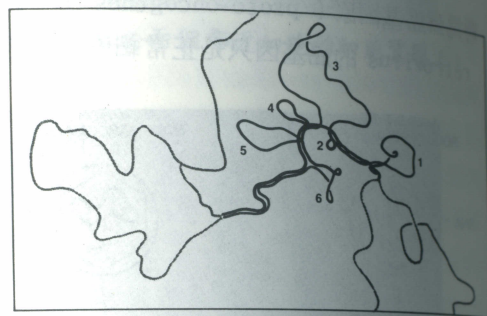
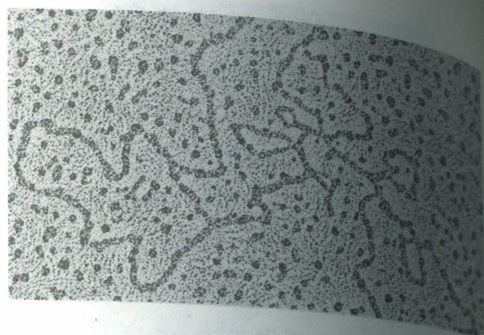
左上為具 v-src 基因的 RSV，藉逆轉錄酶製造具放射性的 DNA（粗線）。此 DNA 經變性後與 src-RNA（右上）混合，除 src 片段以外，大部分 DNA 可與 RNA (src⁻) 產生核酸雜化。再分離出 v-src 片段，其能與正常雞細胞 DNA（右下）發生雜化，而證實了細胞內致癌基因原（c-src）的存在。

現 c-src 能與病毒基因發生重組現象。雖然約有四分之三的癌基因是由細胞基因重組而來的，這些重組基因仍有致癌性。Hanafusa 認為 c-src 與 v-src 基本上功能是相同的，只是許多的腫瘤病毒學家對細胞性基因的致腫瘤可能仍有所置疑。

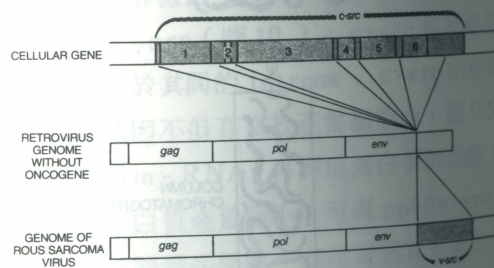
目前，Vande Woude 和 Scolnick 已證明 Hanafusa 的說法。他們以基因工程技術分離出三種細胞的癌基因（二個源自老鼠，一個源自小白鼠），且證明其能直接導致培養細胞的癌性生長。他們提出一病毒“promoter”的理論（圖 12-2）。依據基因數量假說，當 src-promoter complex 被導入細胞內，細胞若受病毒癌基因作用，則發生形質轉換。假若是細胞癌基因的話，在病毒的命令下，它們的產生就困難得多了。且由老鼠所得的二個癌基因都能產生大量的蛋白質，這亦符合了基因數量假說所言的理論。

為何當正常的蛋白質過度量產時會發生如此的破壞行為呢？可能細胞性癌基因在正常的細胞生長及發育的調節網上參與了一微妙的角色，一旦過度的活性化將使調節的平衡崩解，細胞則不受限制地增殖起來。

Cohen 提出酪胺酸磷酸化與正常細胞的 house keeping 有密切的關係。他發現 EGF (epidermal growth factor) 在細胞表面結合後，能促進 DNA 合成與細胞分裂。至於這種命令如何由細胞表面傳入細胞內部呢？其證實 EGF 結合後能促使蛋白質發生磷酸化，如同 pp60v-src 般，亦是酪胺酸專一性的。而且受 EGF 磷酸化的蛋白質亦能被 pp60v-src 作用，所以在細胞分裂調節上，EGF 與 pp60v-src 可說是作用在同一鍵盤上。由此可見 pp60c-src 的磷酸化反應，參與了正常細胞的生長調節。



與細胞基因（細線）的一段會形成雜化雙鏈，如此可知癌基因並非經由病毒導入而是細胞與生俱來的。



C-src 由數段的 exons 和 introns（標號者）組成。當 retrovirus 存在時，exons 會被插入病毒基因內而形成完整的 RSV 基因組。

In Search of a Unified Theory

retrovirus 並不完全是人類癌症產生的主因，一般的推測認為主要是由於 DNA 遭受損害而導致的。有些學者認為可能正常細胞內有癌性基因存在，此基因的活性一旦為發癌物質啓發，則細胞就會趨於癌性化（圖 13）。

W. S. Hayward 等發現雞的 lymphoma（一種致命性的免疫系統腫瘤）病毒並沒有癌基因，而病毒 DNA 總是很快的併入 c-src 基因附近的 DNA 中，如此則使細胞致癌基因擴大（amplified）。

將 lymphoma 病毒 DNA 放進寄主的基因中，就如同發生突變或致癌物質對宿主基因產生傷害，如此而激發致癌基因的活性。所以只要能尋出病毒基因插入的部分，或許可以發現真正的癌症基因呢？！

A Final Common Pathway

很多的正常細胞都具有這種所謂致癌性基因，只是若沒有經過致癌物質的刺激就沒有表現出來罷了（圖 13）。這些致癌的機轉，雖然經過一連串的研究，至今仍是不大明瞭，但是

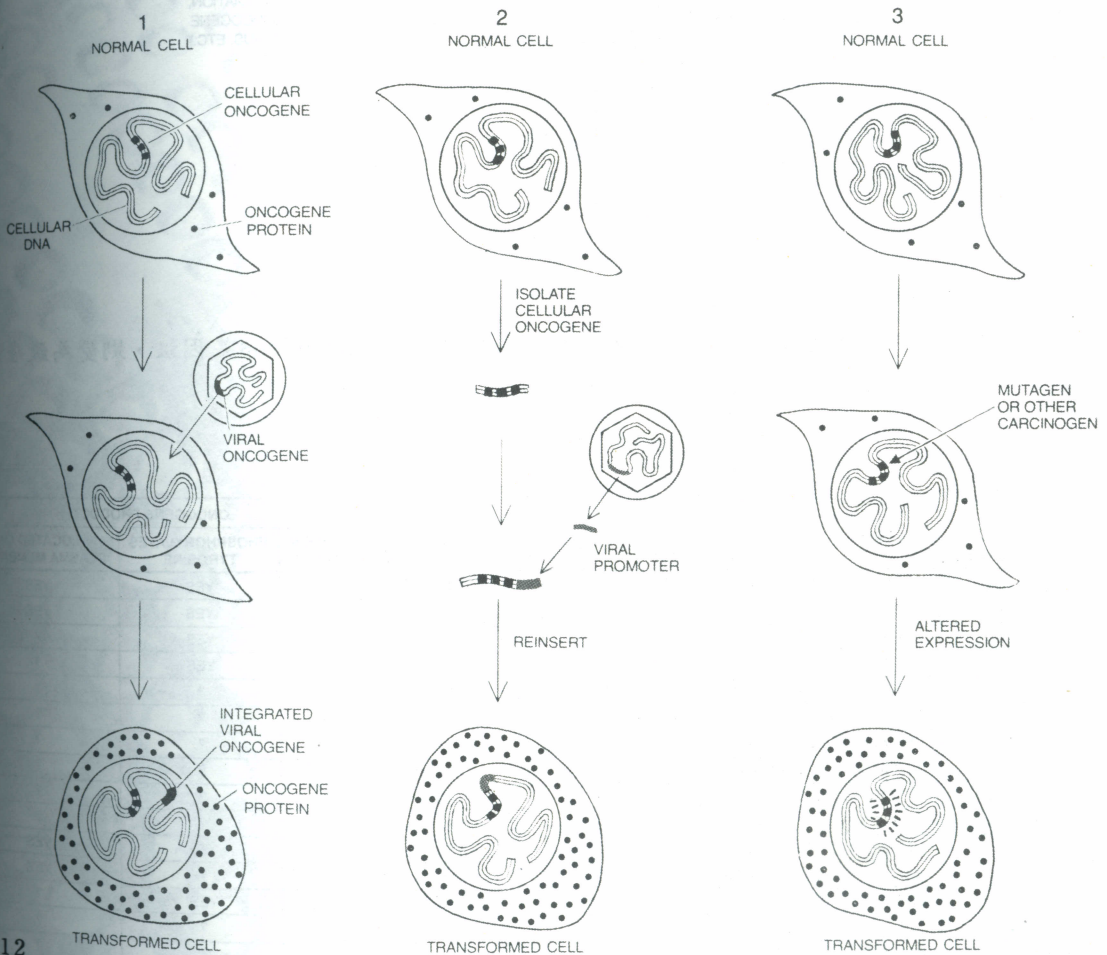


圖 12

基因數量假說：1 若受腫瘤 retrovirus 感染，蛋白質的過量生產受病毒致癌基因所控制。
2 由基因重組實驗顯示細胞致癌基因具有誘發腫瘤的可能性。3 若細胞 DNA 受突變原或致癌物作用，則會大增細胞癌基因的活性，而大量製造蛋白質促使細胞癌化。

一直被認為其作用機轉與一般正常的細胞並沒有多大的不同之處，所以在這方面仍有待研究，也是當今的主要一大課題。

姑且不論病毒是否為真正導致癌症的主要原因，無可置疑地，有關致癌病毒機轉的研究，畢竟對人類腫瘤疾病的瞭解有著相當重要的貢獻。

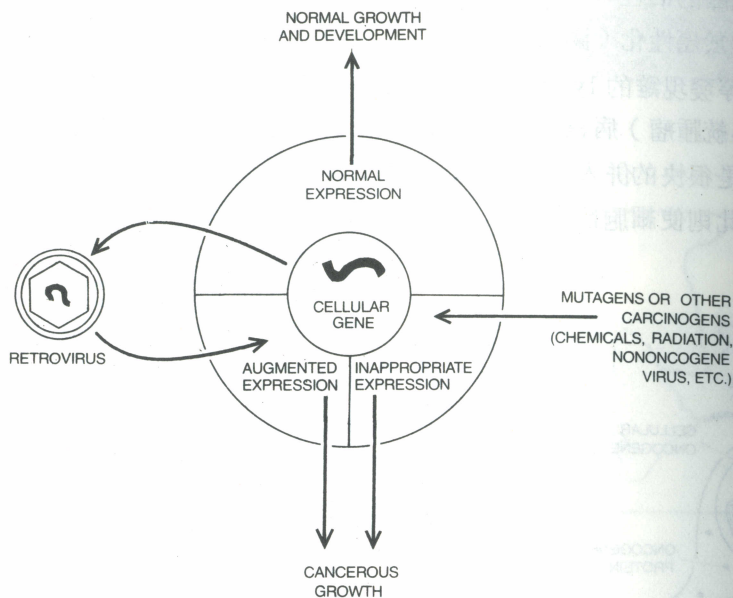


圖 13

細胞基因是細胞正常生長與發育所須的。當其植入一 retrovirus 基因組，則變為致癌基因(左)。突變原或致癌物亦能導致細胞癌化(右)。

ONCOGENE	SPECIES OF ORIGIN	TYPE OF TUMOR	PROTO-ONCOGENE IN VERTEBRATE DNA	ONCOGENE PRODUCT		
				PROTEIN KINASE	PHOSPHORYLATES TYROSINE	LOCATED ON PLASMA MEMBRANE
v-src	CHICKEN	SARCOMA	YES	YES	YES	YES
v-fps	CHICKEN	SARCOMA	YES	YES	YES	YES
v-yes	CHICKEN	SARCOMA	YES	YES	YES	?
v-ros	CHICKEN	SARCOMA	YES	YES	YES	?
v-myc	CHICKEN	CARCINOMA, SARCOMA, LEUKEMIA	YES	?	?	?
v-erb	CHICKEN	LEUKEMIA, SARCOMA	YES	?	?	?
v-myb	CHICKEN	LEUKEMIA	YES	?	?	?
v-rel	TURKEY	LYMPHOMA	YES	?	?	?
v-mos	MOUSE	SARCOMA	YES	?	?	?
v-bas	MOUSE	SARCOMA	YES	?	?	?
v-abl	MOUSE	LEUKEMIA	YES	YES	YES	YES
v-ras	RAT	SARCOMA, LEUKEMIA	YES	YES	?	YES
v-fes	CAT	SARCOMA	YES	YES	YES	?
v-fms	CAT	SARCOMA	YES	YES	?	?
v-sis	MONKEY	SARCOMA	YES	?	?	?

表 1

retrovirus 致癌基因一覽表。每一致癌基因均得自脊椎動物的致癌基因原。至少有 8 種基因產物證實為蛋白激酶。