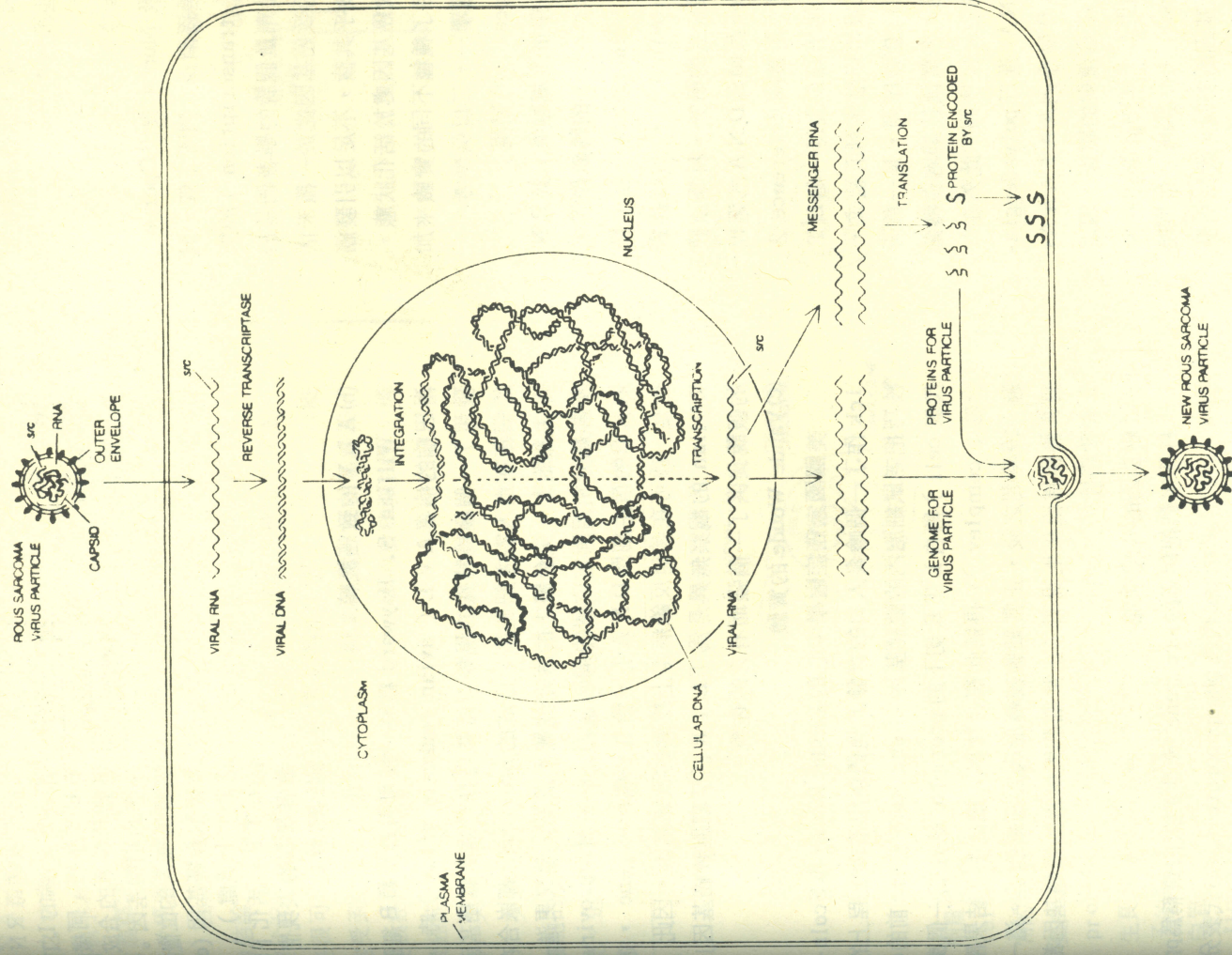


致 癌 基 因



執 導 老 師 王 正 誼
筆 許 秉 毅

前言：

西元1910年，美洛克非勒醫學研究中心的Reyton Rous 發現了一種致癌物質。他將蘆花雞的肉瘤（chicken sarcoma）磨碎後之濃液接種至正常的蘆花雞身上，引發了一種梭形細胞肉瘤的產生。數十年之後，這個致癌物質經過種種物理方法純化及電子顯微鑑定，確認為一種RNA腫瘤病毒，即目前所謂之反錄病毒retrovirus。隨後，其他的科學家們陸續地發現了更多的反錄病毒，並進一步分離出它們的致癌基因，例

如Rous sarcoma virus的src gene。而尤令人深為震撼的是：近年來，Spector及Bishop等人更在許多魚類、鳥類、哺乳類動物的正常細胞中發現了許多致癌基因的存在。迄今，於17種已知的反錄病毒致癌基因中，已發現有16種存於正常脊椎動物的細胞中，這誠然為一件駭人聽聞的事！

隨著胞內致癌基因的發現，許多科學家們的心中不禁深感大惑不解。因為既然正常細胞中帶有致癌基因，為何不致引發癌症的產生呢？對於這個頗詭異與味的問題

生物醫學界目前大致持有兩種不同的看法，一認為細胞內致癌基因處於不活化狀態，故不能引起癌症。一認為細胞內與病毒內的致癌基因有所差別，故功能不一。二者究竟孰是孰非，尚在未定之天。不過，我們不妨從以下所述的許多實驗中去獲得一些啟示！

劑量假說 (Dosage hypothesis)

自一九六〇年代，Jacob 及 Monod 提出 Operon Model 後，基因活化調節的問題逐漸為人們所了解，對 promotor 促進真核細胞轉錄 (transcription) 的機轉也有了更深一層的認識。支持劑量假說的學者們基於這一個觀點，認為正常細胞中的致癌基因處於一種未活化的狀態，產生之致癌物質量微乎其微，不足以引發癌症。而癌細胞或反錄病毒中的致癌基因處於活化狀態，可以充分發揮作用。他們並運用了種種不同的實驗來加以證實這一假說的正確性。茲列舉一、二以供參考。

(a) LTR (long terminal repeat) 的發現：

如眾所周知的，反錄病毒感染宿主細胞後，其 RNA genome 先經 reverse transcriptase 的轉錄作用，合成 DNA，此 DNA 繼而嵌入 (integrate) 宿主細胞之染色體上，形成原病毒 (provirus)，然後經過某種機轉引起癌症的產生。依據最近的研究，科學家們發現：反錄病毒在 RNA genome 反轉錄 DNA 的過程中，曾經過二次複雜的跳躍過程 (請參閱 Reference 2)，而使新生之 provirus 的首尾兩端各獲得一個 LTR。這 LTR 由 U₃，R，U₅ 三段核苷酸序列所組成，其中 U₃ 段內含有 TATAA 的核苷酸序列，是一種所謂的 promotor sequence，為絕大多數真核細胞在轉錄作用開始進行之時，所必須具備的一段序列。此外在 LTR 內，科學家們也發現了 mRNA 進行 polyadenylation 時，所必須具備的特殊核苷酸序列 AATAAA，故 LTR 與 mRNA 的成熟也有極為重要的關係。因此，許多學者們認為反錄病毒在利用 LTR 中之 promotor 活化自身 (結構) 基因 (gap, pol, env gene) 的同時，也帶動了自身或宿主細胞致癌基因的表現，進而引發癌症的產生。

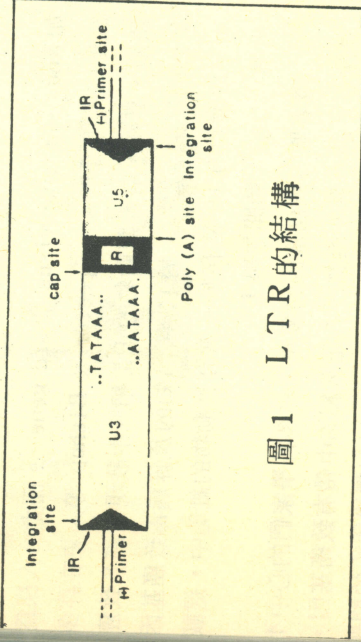
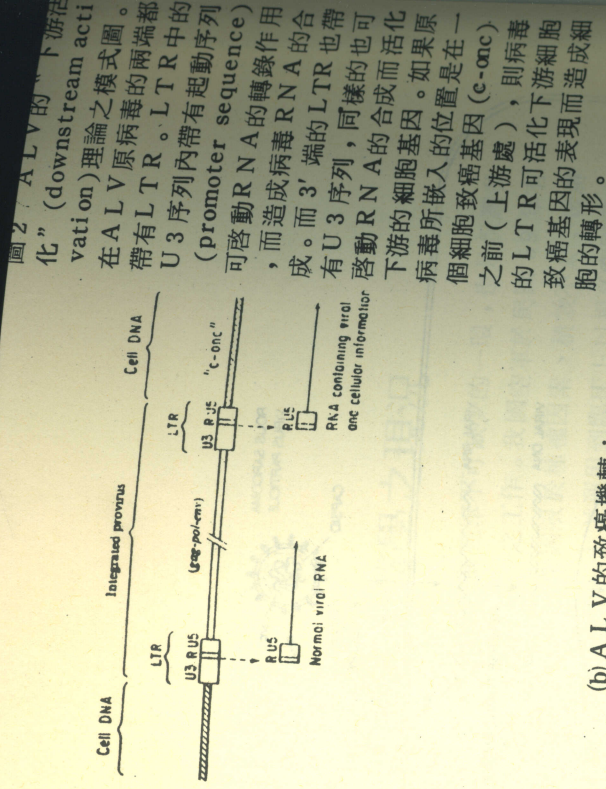


圖 1 LTR 的結構



(b) A L V 的致癌機轉：

William S. Hayward 觀察一種可引起鳥類 B 細胞淋巴瘤的病毒 A V L (avian leukosis virus) 時，發現了一個極為特殊的現象：這種自身不具有致癌基因的病毒在進入寄生細胞後，合成的 provirus 都嵌合在寄生細胞某一染色體上的固定位置。於是，他又更進一步詳細分析這固定位置的周圍基因，終於發現 provirus 嵌合處的宿主細胞 DNA 上，恰有一個 myc gene，這也是一種可在其他反錄病毒上找到的致癌基因。因此 William 的觀察無異是為「LTR 活化細胞致癌基因」的假說提供了一個強而有力的佐證。

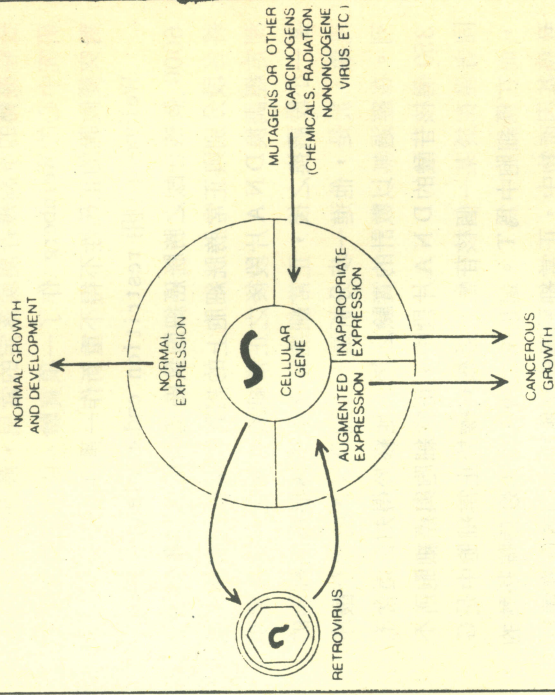
(c) Vande Woude 的實驗

美國國家癌症醫學研究中心的 Vande Woude 與 Scolnick 作了一個膾炙人口的實驗。他們運用基因工程上的技巧把老鼠細胞內的致癌基因 c-src gene (src 前的 c 代表 cell) 與自 LTR 切下的 promotor 結合成一個複合物 (complex)，再將此複合物移入細胞中，結果經過一段時間之後，正常細胞被轉形成為癌細胞了。這一個實驗極為直接地說明了正常細胞與病毒致癌基因都具有致癌性。

(d) 致癌基因的生理功能

科學家們把病毒 src gene 產生的蛋白質稱為 pp60 v-src，其中 pp 代表 phosphoprotein，60 代表分子量 6 萬。v-src 代表病毒 src gene。這是一種特殊的蛋白質激酶 (protein kinase)，可將磷酸基加到蛋白質上的 Tyrosine，而與一般胞內蛋白質激酶將磷酸基加到 serine 或 threonine 上的作用有別。科學家們深信致癌基因便是藉著 (大量) 產生這種特殊的蛋白質激酶，來改變胞內多種蛋白質的作用，影響細胞的正常生理活動，進而導致癌症的產生。例如，Larry R. Rohrschneider 便發現一個有趣的現象：Vinculin (一種細胞膜蛋白) 被 pp60v-src 磷酸化後，細胞膜上具有粘附作用的粘附板 (adhesion plaque) 便無法形成，因而，使細胞極易離開原位，轉移至他處。

圖 4 致癌基因與細胞成長的關係

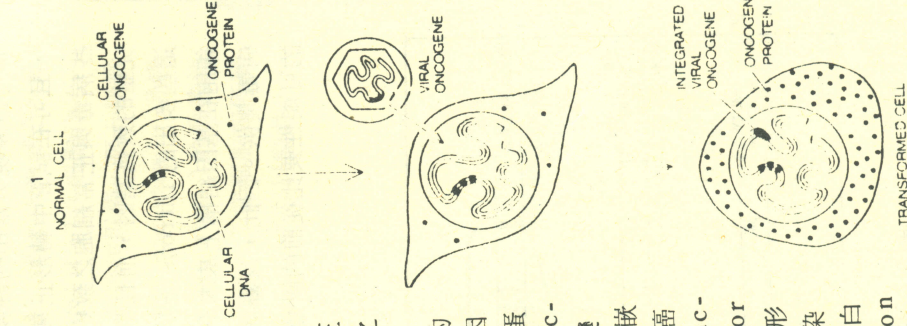


另外，Stanley Cohen 發現細胞若受上皮生長因子 (epidermal growth factor) 作用後，不但胞內 DNA 之複製與分裂速率顯著提高，同時胞內許多蛋白質之 tyrosine 被磷酸化的現象也大大增加，這二者之間似乎存在著十分不尋常的密切關係。除此，Wigler 也觀察發現：正常人類的細胞中，本來就存在有極微量的致癌基因產物，例如 p 21 (ras gene 之產物)。

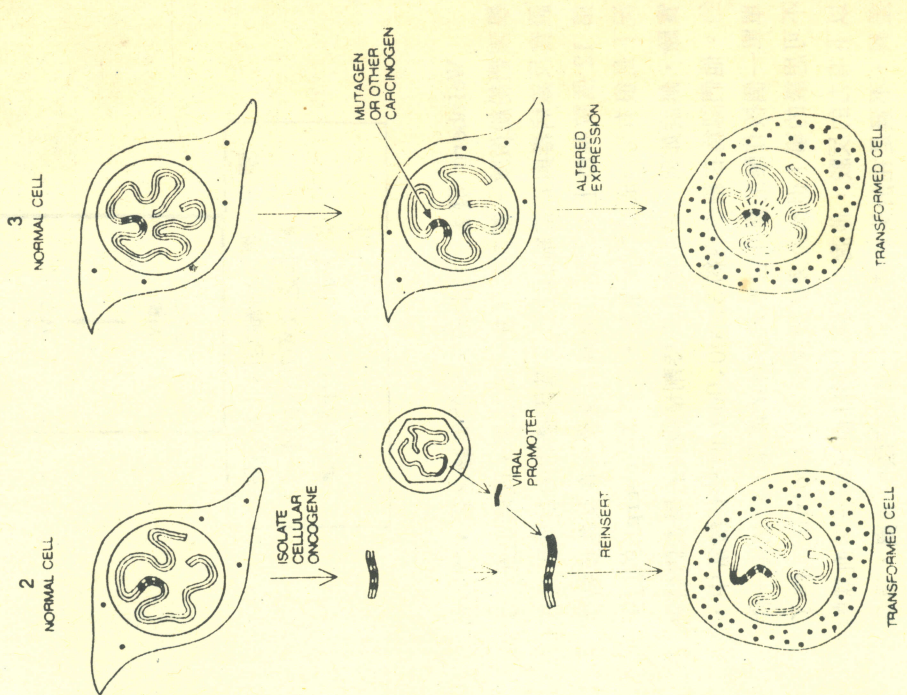
因此，由以上的實驗與觀察中，我們不難獲得以下的結論：致癌基因乃是正常細胞的固有基因。在正常生理狀況下，它們的表現受到抑制，產物之量微乎其微，但很可能具有調節細胞生長分裂的功能。可是，一旦細胞受到化學致癌物，放射線照射等刺激，或病毒感染，導致致癌基因活性劇增，便會產生大量的致癌蛋白質，導致癌症產生。(參考圖 3)

B. 突變假說 (Mutation hypothesis)

突變假說乃是指：正常細胞的致癌基因與病毒或癌細胞的致癌基因有非常細微的差異，因此各具不同的功能。這種假說因為缺乏實驗的證明，在過去一直未受到



劑量假說：cellular oncogene 在正常的狀態下，可產生少量之蛋白質產物 (oncogenic protein)，以維持細胞的生長與繁殖。但若受某些因子的影響，使胞內的致癌蛋白質產物產生 overproduction 的現象，細胞便會變入細胞染色體上，導致致癌蛋白質產物的 overproduction。(1) viral promoter 與 cellular oncogene 形成之 complex 嵌入細胞染色體上，也可導致致癌蛋白質產物的 overproduction。(3) cellular oncogene 受 mutagen 或其他 carcinogen 的作用而活化，產生大量致癌蛋白質產物，引發癌症的產生。



重視，而許多學者更甚至於對其不屑一提。但是，就在致癌機轉的爭論幾近塵埃落定的當兒，最近，麻州科技研究中心的Weinberg作了一項實驗，使得生物醫學界對突變假說的正確性不得不重新作一番評估！

Weinberg利用 restriction endonuclease 將含6000個核苷酸之膀胱癌細胞致癌基因切為許多小段，將各段分別與正常膀胱細胞上的相對段落彼此調換，並測定經調換DNA片段後之正常細胞的變化。結果發現某一小段調換之後，正常細胞竟產生了轉形為癌細胞的現象。於是，他進一步分析這一小段DNA的核苷酸序列。在經過無以數計的實驗之後，他終於得知在這含有350個核苷酸的DNA片段中，正常細胞與癌細胞所不同者僅在於某一個核苷酸，這核苷酸於正常細胞中是G，而在癌細胞中為T。這也便是說在含189個胺基酸的致癌基因產物中，正常細胞與癌細胞所不同者僅在第12個胺基酸自glycine變為valine，而這一個小小的點突變（point mutation）便是致癌的關鍵所在。

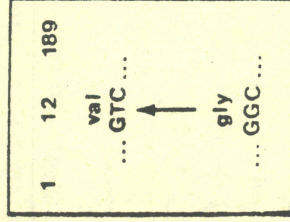


圖5 膀胱癌細胞與正常膀胱細胞之致癌基因的不同點在於一個核苷酸的變化。

Weinberg發表了這個破天荒的實驗之後，許多科學家們紛紛做效，都得到了相同的結果，同時也進一步證實反錄病毒與正常細胞之致癌基因產物的差異正是在第12個胺基酸上。因此，突變假說致少在某些致癌情況下是很有可能成立的。當然，單憑Weinberg的這項實驗，無論如何，是不能令支持劑量假說的學者們信服的。他們認為在細胞內約3,000,000個核苷酸當中，單單一個核苷酸的變化會導致癌症的產生，實在是一件不可思議的事！但支持突變假說存在的Scolnick作了以下有力的反駁，他說：「鐮刀形紅血球與正常血球的差異，不過是在於染色體上，一個核苷酸的改變，這個改變使紅血球之血紅素的生理功能產生了要命的改變，同時也導致了鐮刀形紅血球貧血症的產生。因此“牽一髮而動全局”的例子在奇妙的生物世界中是很有可能發生的。」

自演化觀點看致癌基因：

不論突變假說與劑量假說孰是孰非，或皆是皆非，細胞內存在有致癌基因的觀念已廣為被學者們所接受。許多科學家們更就演化的觀點指出：由於在長遠的生物演化過程中，脊椎動物細胞中之致癌基因一直都沒有什麼顯著的改變，而不論是在魚類、鳥類、乃至人類，它們的結構都是大同小異。因此，正常細胞的致癌基因似乎在細胞的正常生理活動上扮演著一個極重要的角色。這個論點我們也許可從前述之Stanley Cohn觀察上皮生長因子作用的實驗中獲得一些線索。

反錄病毒致癌基因之根源：
由於致癌基因之發現溯自反錄病毒之研究，因此，過去有許多學者都認為正常細胞中的致癌基因乃是得自於反錄病毒。但後來J. Michael Bishop作了一個著名的實驗使得這個觀念產生了180度的轉變，現在絕大多數的學者都相信反錄病毒的致癌基因乃是掠奪自正常細胞。

Bishop的實驗是將一個不具完整致癌基因之反錄病毒接種於動物體內，並於數週後檢查動物身上的新病毒。他發現分離出的許多新病毒帶有完整的腫瘤基因，且可在試管中轉形正常細胞。於是，他又仔細分析這些病毒與正常細胞之致癌基因，發現正常細胞中不但有完整的致癌基因，而且還由introns分割成許多片段。這些多出的introns正是真核生物細胞與其他簡單生物細胞在基因結構上基本不同之處，似乎不太可能直接由病毒提供。因此，反錄病毒之致癌基因得之於宿主細胞的可能性要比從前的假想大得多。

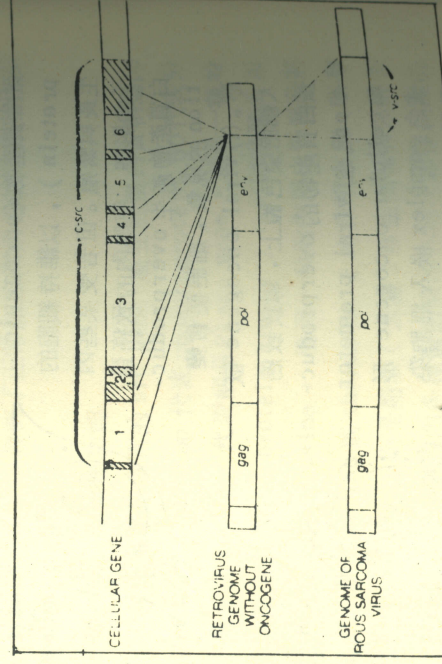


圖6 不帶致癌基因之反錄病毒基因群獲得細胞致癌基因(1, 2, 3, 4, 5, 6為exon)斜線部份為introns)而形成sarcoma virus之基因群。

最近，有人提出了一個較為合理的模式來說明反錄
 錄致癌基因之獲取（參見圖7）。首先，我們假設一
 個致癌基因的原病毒嵌入在 c-oncogene 的 5' 端前
 面。由於基因的突變導致某一小段基因的缺失，造成
 了原病毒和 c-oncogene 連結在一起的現象。接著在轉
 錄作用及形成 m-RNA 的過程中，c-oncogene 間的
 introns 初剪接掉了。後來，在一次基因重組的情況下
 新的病毒接上了一個正常病毒 3' 端的某些序列，而
 成一個完整的反錄病毒。

自古以來，不論中外，都曾經發生過無以數計的戰
 爭，但從未有一次戰爭像人類對抗癌症一般長遠、廣大
 辛酸。近年來，致癌基因的發現與探討總算使人們對
 致癌的機轉有了突破性的認識與了解。雖然劑量假說與
 變異假說尚有待進一步的實驗證實，但它們已為今後致
 癌機轉之研究歸劃出了兩個探究的方向。

當然，在整個致癌過程的研究上，尚有許多其他新
 課題有待我們繼續努力去解答。例如，致癌基因之產
 物究竟如何影響細胞生理活動，使其失去控制，不斷增
 殖？另外，我們必須格外留心的是：過去，科學家們研
 究致癌基因時，大都採用 NIH3T3 細胞株來測定反錄
 病毒的轉形能力。但是，實際上 NIH3T3 細胞乃是一
 種臨變形邊緣的細胞，受致癌基因作用後，馬上變為
 腫瘤細胞，其間似乎僅經過一個步驟（one step），這情
 形與自然界中經過多步驟（multiple step）的致癌過
 程比較起來，似乎簡化了許多！因此，正常細胞如何變
 為 NIH3T3 細胞的詳細過程仍有待我們加以探討！

圖7 一個非轉形性 (non-trans-
 forming) 的反錄病毒 (retrovirus)
 如何自細胞內擷取細胞腫瘤基因的一
 個可能的轉機。A 代表一個細胞腫瘤
 基因；B 一個無轉形基因的原病毒
 DNA 嵌入在 c-onc 基因的前方；C
 在原病毒的 3' 端發生一次基因缺失 (c-onc
 deletion) 突變，使得原病毒與 c-onc
 連接在一起；D 由病毒 LTR 起始的
 轉錄作用產生一條很長的 RNA 將病
 毒與 c-onc 一起轉錄產物再經過
 polyadenylation 及剪接的處理過
 程；F 處理過的 RNA 被包在病毒顆
 粒中，與另一條完整的病毒 RNA 次
 單位一起形成一異質性的雙體 (hetero-
 zygotic dimer)；G 在感染另
 一個細胞，經由基因重組的過程，產
 生一個帶有 v-onc 的轉形病毒。

