

由Ras致癌基因產物的致癌能力與膽固醇合成之關係談未來之臨床應用

王朝鐘

中山醫學院 生化學科

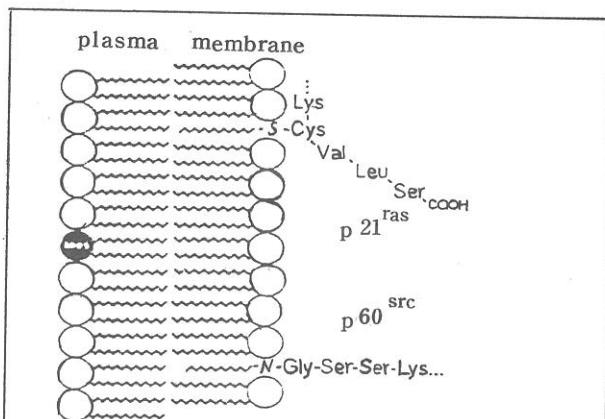
摘要

Ras 致癌基因產物為 P²¹ 蛋白，具有GTP結合的活性，通常在許多腫瘤中發現其蛋白產物的胺基酸序列會有一個胺基酸改變，尤其在12.13或59.60的位置。其致癌能力也與基因轉譯後的修飾作用（post-translational modification）有關，而此種修飾作用被發現與 mevalonate（一種膽固醇合成途徑的中間物）的濃度有關，所以膽固醇合成可能影響 Ras 致癌基因的致癌能力。在某些癌症細胞發現有 90% 以上均有 Ras 癌基因的活化（如胰臟癌），因此發展應用某些化學物質干擾膽固醇合成的途徑，減少 Ras 基因的活化，而達到減少癌症發生的可能性，已被研究癌症治療學者所重視。

一.前言

細胞癌基因的致癌能力，綜合過去學者的研究大致可歸類(1)點突變作用（point mutation）；(2)加強子（enhancer）或促進子（promotor）由病毒的攜帶嵌入（integration）；(3)擴增作用（amplification）；(4)經由染色體的轉位（translocation）；(5)C端的刪減（deletion）作用；(6)約束基因（supressor gene）的去活化等作用方式。另一種致癌基因的活化為轉譯時修飾（Co-translational modification），對於致癌之能力也是絕對必需的。舉例來說，Src 致癌基因轉譯為 P⁶⁰ 蛋白後，必須磷酸化（phosphorylation）才具致癌能力，它的磷酸化推測與DNA的結合

能力有關。另外一種修飾作用為醃基化（acylation），PP⁶⁰（磷酸化後之Src基因蛋白）在轉譯後必須再加上一種含14個碳的脂肪酸（myristic acid），而P²¹（ras致癌基因蛋白）轉譯後則經由 palmitic acid之共價結合修飾（見圖一之說明）。很多證據顯示這些癌基因蛋白必須經修飾後才能接觸位於細胞膜，才具有轉形能力（transformation，為一種致癌能力的評估），所以此種轉譯後之修飾與致癌能力有著密切之關係。最近發現 Ras 基因產物的另一種修飾作用，似乎與膽固醇合成途徑有關，癌症治療學者已重視影響膽固醇的代謝，減少 Ras 基因的致癌能力，減少腫瘤的發生與惡化



圖一：真核細胞蛋白（癌基因產物）之轉譯後修飾作用 P⁶⁰^{src} 是經由 Gly 之胺基與 myristic acid 之羧基結合；P²¹ Ras 是經由 Cys 之 SH 基與 palmitic acid 之羧基結合。

，本篇將在此介紹有關這方面的最新發展。

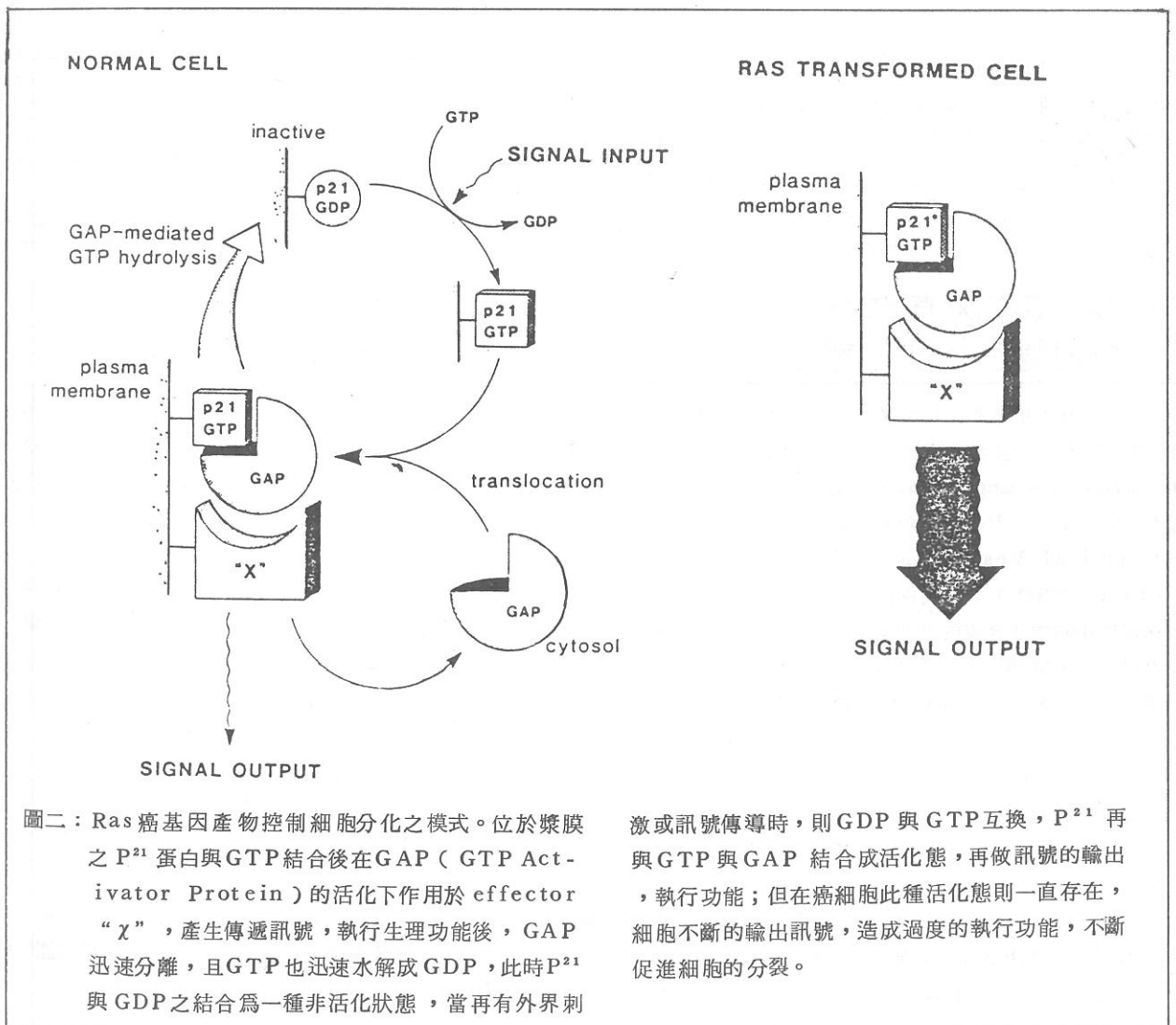
二. Ras癌基因產物 P²¹

Ras 癌基因產物為 P²¹，位於漿膜內層表面，為一種 GTP 結合蛋白，可能與促進細胞的生長與分化有關。其控制細胞分裂的過程如圖二之說明。

圖二中癌細胞之失去控制係由於 Ras 基因的活化作用，其機制是大部份顯示在 P²¹ 蛋白的第 12, 13, 或 59, 60 等位置的胺基酸突變成蛋白質構形改變，影響與 GTP 結合之作用。在人類許多腫瘤均發現有此現象，如肺癌、肝癌、胰臟癌、腸癌等均有 Ras 基因產物的突變作用，尤其是胰臟癌高達 90% 以上發現 P²¹ 有的胺基酸序列有點的突變作用 (point mutation)。

三. Ras癌基因產物致癌作用與胆固醇合成的相關背景

在單套染色體的酵母菌中，MATa mating type (此種 type 的酵母細胞循環停留在 G1 相，為了準備進行 mating)，能分泌一種具 12 個胺基酸的胜肽，其次序為 Tyr - Ile - Ile - Lys - Gly - Val - Phe - Trp - Asp - Pro - Ala - Cys，我們稱之為 a 因子，此種 a 因子在轉譯後能夠被接上 farnesyl moiety，此基團是膽固醇合成的中間物，此種轉譯後的 farnesylation，其過程為(1) a 因子 c 端後的三個胺基酸被切斷 (~~~~ Cys - Ala - Ala - X - COOH)，箭頭代表切斷位置，χ 可為任一胺基酸，(2) Cys 被 methoxylation 為 ~~~~ Cys - OCH₃，(3) farnesyl group 接上



圖二：Ras 癌基因產物控制細胞分化之模式。位於漿膜之 P²¹ 蛋白與 GTP 結合後在 GAP (GTP Activator Protein) 的活化下作用於 effector "X"，產生傳遞訊號，執行生理功能後，GAP 迅速分離，且 GTP 也迅速水解成 GDP，此時 P²¹ 與 GDP 之結合為一種非活化狀態，當再有外界刺

激或訊號傳導時，則 GDP 與 GTP 互換，P²¹ 再與 GTP 與 GAP 結合成活化態，再做訊號的輸出，執行功能；但在癌細胞此種活化態則一直存在，細胞不斷的輸出訊號，造成過度的執行功能，不斷促進細胞的分裂。

圖二

a-factor	V	F	W	D	P	A	C	V	I	A
RAS Proteins										
RAS1	E	Y	S	G	G	C	C	I	I	C
RAS2	S	G	S	G	G	C	C	I	I	S
DRAS	P	N	C	R	F	K	C	K	M	L
HRAS	G	C	M	S	C	K	C	V	L	S
KRAS	K	K	S	K	T	K	C	V	I	M
RAL	K	R	I	R	E	R	C	C	I	L
APLYSIA RHO	K	K	K	K	G	G	C	V	V	L
SC RHO1	E	K	K	K	K	K	C	V	L	L
SC RHO2	E	P	G	A	N	C	C	I	I	L
S. POMBE. RAS	E	V	S	T	K	C	C	V	I	C

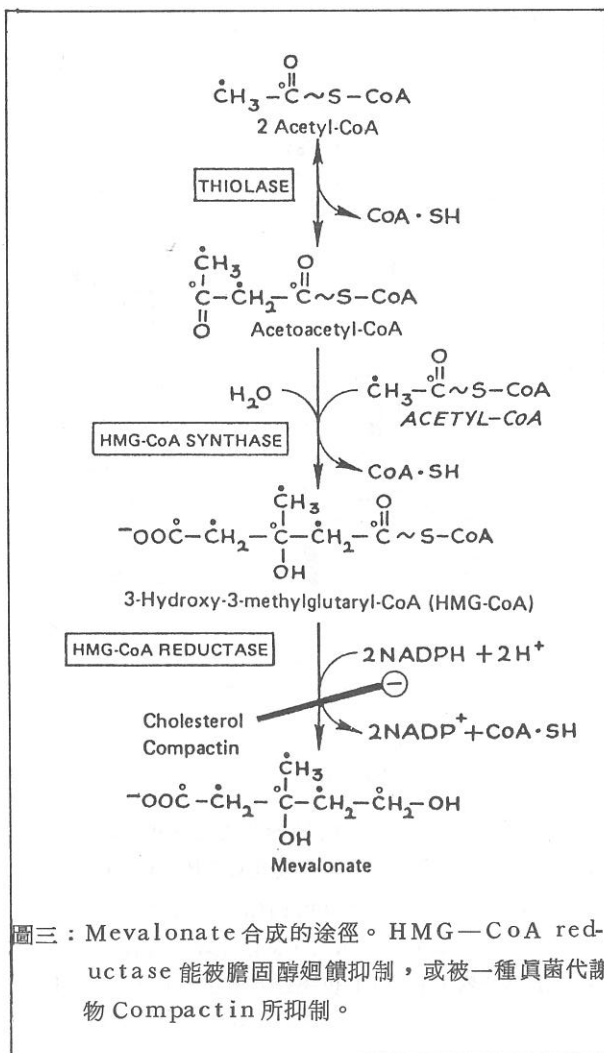
表一：酵母 *a*-因子與 Ras 基因蛋白 C 端胺基酸序列的比較。

表一

去後此蛋白可連接於細胞膜，*a* 因子才具有活性。在表一中我們比較各種 Ras 癌基因產物與 *a*-factor C 端序列，發現 C 端倒數的第四個胺基酸均有 Cys，且上述發生在 *a*-factor 的修飾作用也發生在 Ras 蛋白（除了 farnesylation 尚未被證實），因此許多學者想到 Ras 致癌基因產物的活化作用可能與膽固醇合成途徑有關。

四. Ras 癌基因產物與膽固醇合相關的證據

在 1989 年柏克萊加州大學生化系教授 Schafer, W. R. 等，首先發現人類 Ras 基因產物的致癌能力是 mevalonate-dependent，這個證據是(1)他發現以人類 C-H-ras^{v12} 注入 xenopus oocytes 會誘導它們 Germinal Vesicle Breakdown (GVB，一種 meiosis 的指標)；(2)利用 mevalonate (膽固醇合成途徑的中間物)合成的抑制劑如 Compactin (見圖三)可以很顯著的抑制 Ras 基因產物的致癌能力(見表二之說明)；(3)Mevalonate 的消耗會造成酵母 *a*-因子轉譯後的共價修飾失去，同時也會造成人類 Ras 癌基因產物無法轉譯後修飾，而失去致癌能力；(4)在缺乏 HMG-CoA reductase (其作用見圖三)之突變細胞中，發現 Ras 基因產物只位於細胞質的萃取部份，而在此突變細胞中(無法合成 mevalonate)加入 mevalonate 則 Ras 基因產物則發現於細胞膜的萃取部份，由此可知 Ras 基因的轉譯後修飾作用是 mevalonate-dependent，而 Ras 基因產物也只有在接觸於細胞膜才具有致癌能力。綜合以上的證據，顯示 Ras 致癌基因產物的轉



圖三：Mevalonate 合成的途徑。HMG-CoA reductase 能被膽固醇迴饋抑制，或被一種真菌代謝物 Compactin 所抑制。

圖三

Source	Compactin (ng)	H-Ras ^{Va112} (ng)	Mevalonate (ng)	Oocytes with GVB
Experiment 1	1.25	0	0	0/6
	0.125	0	0	0/6
	0.0625	0	0	0/6
	0.0125	0	0	0/6
Experiment 2	0	56	0	6/6
	0	28	0	6/6
	0	14	0	6/6
	0	7	0	0/6
Experiment 3	12.5	56	0	0/6
	1.25	56	0	0/6
	0.125	56	0	0/6
	12.5	0	0	0/3
	1.25	0	0	0/3
	0.125	0	0	0/3
	0	56	0	5/5
Experiment 4	0.125	28	4	6/6
	0.125	28	40	6/6
	0.125	28	400	6/6
	0	28	0	3/3
	0.125	0	0	0/3
	0	0	4	0/3
	0	0	40	0/3
	0	0	400	0/3

表二：人類C—H—ras^{Va112}的活化與mevalonate之相關性。在實驗一及三中加入compactin抑制mevalonate的合成，則不會引起oocytes的meiosis；實驗二則在沒有compactin存在下H—Ras^{Va112}能被活化；實驗四，則顯示加入compactin後，另外添加mevalonate也會造成Ras基因蛋白的活化。

表二

譯後修飾作用，mevalonate必佔有相當重要的角色。

五.未來的臨床應用及討論

從以上的說明知道Ras癌基因轉譯後修飾接觸至細胞膜，才具有致癌的能力，而此種作用是依靠膽固醇合成途徑的中間物mevalonate的濃度而定，因此許多癌症治療的研究學者正傾力於利用膽固醇合成途徑的干擾的化學物質，抑制Ras致癌基因的活化。在臨床上已經發現有20%以上人類的癌症具有活化的Ras癌基因產物，有些癌症甚至高達90%以上有Ras癌基因產物（如胰臟癌），因此對於具Ras癌基因活化之腫瘤，此種干擾膽固醇合成的途徑，更值得進一步發展。目前有些降膽固醇的藥物，原理在於抑制HMG—CoA reductase而減少

膽固醇的合成，一般來說此類藥物具有較小的副作用，因此利用此類藥物來抑制Ras癌基因產物的活化，在化學療法的領域裡應有其價值之存在。

參考文獻

1. L. Tong, et al. Nature, 337, 90, 1989.
2. L. Gutierrez, et al. EMBO J. 8, 1093, 1989.
3. J.L. Bos, Cancer Res. 49, 4682, 1989.
4. F. McCormick, Cell, 56, 5, 1989.
5. W.R. Schafer, et al. Science, 245, 379, 1989.
6. J.A. To bert, Am. J. Cardiol, 62, 16J, 1988.
7. M. Barbacid, Annu. Rev. Biochem. 56, 779, 1987.
8. A.M. Devos, et al., Science, 239, 888, 1988.
9. B.M. Sefton, J. Cell. Biol. 104, 1449, 1987.