



肿瘤发生发展和转移过程中的分子进化机制

王斐^{1,2}, 侯雨杉², 杨冬^{2*}

1. 河北大学生命科学学院, 保定 071000;

2. 军事科学院军事医学研究院生命组学研究所, 国家蛋白质科学中心(北京), 北京蛋白质组研究中心, 蛋白质组学国家重点实验室, 北京 102206

* 联系人, E-mail: yangdongbprc@163.com

收稿日期: 2020-04-03; 接受日期: 2020-06-12; 网络版发表日期: 2020-08-13

国家自然科学基金项目(批准号: 31671376)、国家国际科技合作专项(批准号: 2014DFB30020)和国家重大科学研究计划(批准号: 2014CBA02001)资助

摘要 肿瘤的发生发展和转移是肿瘤细胞不断进化的过程, 伴随着大量分子进化事件的发生, 使肿瘤细胞逐渐获得生存与增殖优势, 并促进了肿瘤异质性的形成. 深入理解肿瘤分子进化机制将有助于人们更清楚地认识肿瘤发生发展和转移的内在机制, 开发针对性的治疗策略, 阻断肿瘤的发展和转移, 提升治疗效果. 本文总结了肿瘤发生发展和转移过程中的基因突变、基因拷贝数变异、全新基因的产生及染色体异常改变等分子进化事件及其与肿瘤发展进程的关系, 概括了肿瘤分子进化的主要理论模型, 并对未来的研究趋势进行了展望, 为今后本领域更深入的理论和应用研究提供参考信息.

关键词 肿瘤, 分子进化, 肿瘤发生, 肿瘤发展, 转移

恶性肿瘤是目前对人类健康威胁最大的疾病之一, 其相对于良性肿瘤最明显的特征是发展迅速且会发生转移(下文中“肿瘤”一词, 主要指恶性肿瘤). 肿瘤的发生发展和转移过程, 是肿瘤细胞进化的过程^[1,2]. 无论是基因突变, 还是染色体的异常改变等, 通常作为进化的“原材料”, 经自然选择后, 形成群体效应, 最终被保留下来, 形成进化^[3]. 肿瘤细胞的产生, 源自个别体细胞发生变异, 逃脱了免疫监视, 获得了快速增殖的能力. 在肿瘤细胞不断增殖的过程中, 产生了多样性的变异, 形成了不同方向的进化. 由于肿瘤细胞向不同方向的进化, 同一肿瘤内形成不同的亚克隆, 这就形成了肿瘤的异质性^[4]. 在机体环境的选择压力作用下, 有

的肿瘤细胞克隆获得了增殖和转移的优势. 肿瘤异质性及优势克隆的形成, 是导致肿瘤耐药、复发的主要原因^[5]. 因此, 全面认识肿瘤的分子进化机制, 尤其是形成生存、增殖和转移优势克隆的机制, 将有助于开发针对性的治疗策略, 阻断肿瘤的发展和转移, 提升治疗效果, 为肿瘤治疗提供新思路.

随着基因组大规模测序技术的不断进步, 人们对肿瘤细胞进化过程中分子水平变异的认识日益充分^[6]. 本文从基因突变、基因拷贝数变异、全新基因的产生、染色体异常改变等角度综述了肿瘤发生发展和转移过程中的分子进化事件, 及其与肿瘤发展进程机制的关系.

引用格式: 王斐, 侯雨杉, 杨冬. 肿瘤发生发展和转移过程中的分子进化机制. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 1418–1426

Wang F, Hou Y S, Yang D. Molecular evolutionary mechanisms underlying tumorigenesis, tumor development, and metastasis (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2020, 50: 1418–1426, doi: 10.1360/SSV-2020-0118

1 基因突变

基因突变是指基因组DNA分子上发生的突然的、可遗传的变异现象(gene mutation)(源自网站: <https://www.nature.com/scitable/definition/mutation-8/>). 从分子水平上看, 基因突变是指基因在结构上发生碱基对组成或排列顺序的改变. 基因编码区的突变与肿瘤有很大关系, 由于复制错误或DNA损伤而引起相关基因的点突变、小片段缺失和插入, 进而引起密码子的错义、终止和移码突变, 致使其表达的蛋白质由于序列的改变而丧失正常功能, 导致细胞增殖失控^[7-9]. 基因突变, 尤其是驱动性的突变, 能够赋予肿瘤细胞生命力, 改变新生成的肿瘤细胞的生物特性, 加快肿瘤细胞增殖的速度, 减少肿瘤细胞的死亡, 对肿瘤的发展和转移起促进作用, 而普通突变几乎不会对生物体产生任何影响. 因此, 区分肿瘤内的突变是驱动突变还是普通突变对于肿瘤研究, 以及针对患者的靶向治疗有十分重要的意义^[10].

驱动突变大都发生在肿瘤进化的早期, 并且在转移过程中持续存在, 在转移样本中驱动突变含量丰富. 此外, 研究显示转移样本中的平均驱动突变高于原发性样本, 74%的转移样本中能够发现在原发性样本中未曾发现的驱动突变^[11].

突变后可导致肿瘤发生的基因, 一般是原癌基因或抑癌基因. 原癌基因突变可驱动正常细胞转化为癌细胞^[7]. 当原癌基因的结构或调控区发生变异时, 大多会出现基因产物增多或活性增强的情况, 导致细胞过度增殖, 形成肿瘤^[12]. 同样, 当原癌基因的“对立面”——抑癌基因出现被抑制或丢失的情况时, 其也无法发挥抑制细胞过度增殖的作用, 最终也会形成肿瘤^[13]. 因此对于这两者来说, 任何一种基因发生突变, 都有可能发展成癌变.

基因突变往往会破坏其蛋白产物正常的蛋白质间或蛋白质与其他大分子间的相互作用, 使得与肿瘤发生相关的信号通路被异常激活或抑制. 以骨髓增殖性肿瘤中的原癌基因*JAK2*为例: 机体处于正常状态时, *JAK2*的JH2结构域对JH1激酶结构域的活性起负调控作用; 当*JAK2*基因可读框1849位的G被T替换时, 会导致*JAK2*蛋白质序列第617位的缬氨酸变为苯丙氨酸(该位点位于JH1区域), 苯丙氨酸的出现使JH2结构域对JH1激酶结构域的负调控作用降低, 从而导致*JAK2*

激酶结构域的激活, 随后使JAK-STAT信号通路被异常激活^[14,15], 导致异常的细胞增殖, 进而引起骨髓增殖性肿瘤的发生.

*TP53*是典型的抑癌基因. 在大约50%的人类癌症中, *P53*蛋白都会发生突变, 突变后除了失去野生型的肿瘤抑制功能外, 突变型*P53*蛋白通常获得新的致癌功能, 这种现象被称为突变型*P53*的功能获得(gain-of-function, GOF). 目前研究认为, *P53* GOF形成的原因主要包括两方面^[16]: (i) *P53*的错义突变使*P53*与其他转录因子形成了新的蛋白质-蛋白质相互作用, 导致异常的促进肿瘤转录程序的形成. 这种在肿瘤进化过程中新的调控模式的形成, 使得这种突变获得了新的功能, 进而形成生存优势, 被保留下来. (ii) *TP53*的显性负效应(dominant-negative effect, DNE)突变(即其中一个*TP53*等位基因发生突变, 同时也损害了另一个等位基因的正常功能)可导致细胞中*P53*的正常功能(抑癌作用)失活, 使得细胞增殖旺盛, 占据优势地位, 被保留下来.

多种研究也证实了GOF型肿瘤的确具有更高的致癌潜力^[17,18]. Zhu等人^[19]通过分析癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)观察到, 在GOF型肿瘤中*MLL1*, *MLL2*和*MOZ*的RNA表达明显高于*P53*缺失型肿瘤, 并发现*MLL*通路可能有助于GOF型肿瘤的致癌表型, 从而促进肿瘤的发展; 并且发现, 当*MLL1*被敲除后, GOF细胞失去了生长和形成肿瘤的潜力, 因此更加证明了*MLL1*, *MLL2*和*MOZ*对于GOF的形成具有重要意义. 它们将成为基因治疗的重要靶点.

此外, 不只是GOF对肿瘤的发生发展有影响, *TP53*的缺失同样能够促进肿瘤的发生和发展, 而且还能对肿瘤更快地转移起到促进剂的作用. *P53*蛋白能够直接调控*KAI-1/CD82*, *miR-34*等, 这些因素本身在机体中起到抑制细胞转移的作用, 当*P53*蛋白发挥正调控作用激活它们后, 将会促进它们的表达, 发挥其自身的功能, 最终达到抑制肿瘤的目的. 同样, *PCDH7*, *CXCR4*, *FAK*等因素在机体内本来是细胞转移不可或缺的条件, 但是*P53*对它们会起到负调控作用, 因此也会起到抑制肿瘤细胞转移的作用^[20]. 因此, 缺失*P53*的肿瘤能够更快地生长、进化以及获得随机转移的能力, 这对预后、诊断和治疗决策具有十分重要的意义.

此外, 在肿瘤的转移过程中, *Hras*, *Kras*, *Fat1*等基因和Notch信号通路中的*Notch1*, *Notch3*和*Trp63*基因

等反复突变^[21], 对肿瘤的转移过程也具有十分重要的意义。

那么, 究竟哪些因素促使了这些基因的突变? 除了外界环境因素的影响, 部分基因的突变会促使基因组稳定性降低, 引起其他基因的突变。其中一个很重要的实例是*APOBEC3*(胞苷脱氨酶家族)基因的突变。正常情况下, *APOBEC3*起到抑制基因组中逆转座元件的作用, 当其发生突变时, 这种抑制作用可能会消失而使基因组容易发生变异^[22]。在肿瘤的发生发展过程中, 常常伴随着*APOBEC3*的突变, 在多种类型的肿瘤中都能观察到*APOBEC3*突变呈现从早期到晚期增加的趋势。De Bruin等人^[5]研究发现, 大量亚克隆突变的存在也可归因于*APOBEC3*的作用。*APOBEC3*的突变可导致原本受抑制的逆转座事件发生, 使正常的基因结构受到破坏, 在多种肿瘤中造成基因组序列突变, 诱导亚克隆的出现并促进其增长, 进而促使肿瘤细胞进化^[23,24]。因此, 抑制*APOBEC3*发生突变, 将使得肿瘤细胞失去进化潜力, 从而提高肿瘤治疗的有效性。

2 拷贝数变异

拷贝数变异(copy number variation, CNV)是一种基因组片段发生重复以及个体之间基因组片段重复数量不同的现象^[25]。CNV的产生, 是由影响到大量碱基对的基因组序列复制或缺失事件导致的^[26]。CNV主要表现为两种模式: 一种是由DNA修复错误所引起的局灶性CNV(focal CNV, fCNV), 其范围多局限于一小部分染色体^[27,28]; 另一种是由于有丝分裂过程中染色体的错误分离而发生的广泛性CNV(broader CNV, bCNV), 其范围延伸到染色体臂的很大部分^[29]。频繁发生fCNV的基因组区域在肿瘤研究中特别值得关注, 诸多实验证实它们编码了驱动肿瘤生长的关键基因^[30]。例如, 许多已知的原癌基因, 如*ERBB2*, *EGFR*和*CCND1*, 经常被扩增^[31,32]; 许多已知的抑癌基因, 如*CDKN2A*, *PTEN*, *NF1*和*RBI*, 在各种类型的肿瘤中经常缺失^[33]。Pollack等人^[34]发现, 乳腺癌组织中的fCNV能够影响基因的表达, 总体来看, 乳腺肿瘤中至少存在12%的基因表达变异可以直接归因于fCNV的影响。这些发现证明了fCNV可以直接导致基因表达的全面失调, 这可能有助于肿瘤的发生与发展。

在肿瘤基因组中观察到的基因拷贝数异常, 对于

同一种肿瘤来说, 多表现为间歇性拷贝数的增加, 且增加时间通常为相似的分子时间^[6]。在野生型小鼠的实验中, McCreery等人^[21]使用外显子组测序数据构建肿瘤的基因拷贝数图谱, 观察到野生型小鼠肿瘤细胞的7号染色体的拷贝数增加, 但是*Hras*^{-/-}小鼠中没有出现该现象, 这表明*Hras*是拷贝数增加的背后驱动力, 缺少*Hras*基因则不会产生拷贝数增加的情况, 因此也不会形成肿瘤。对于侵袭性肿瘤来说, 在人体可能出现的梭形肿瘤中最常发现的拷贝数变化是染色体9p上*CDKN2A*位点的缺失和*MET*的扩增或拷贝数增加, 在未来的研究中, *MET*扩增作为治疗反应的标志的有效性有待进一步探索。

3 全新基因的出现

全新基因, 又称*de novo*基因, 是指没有任何祖先基因的新基因, 它们一般起源于非编码DNA, 并可能在所有新基因中约占10%^[35]。现有的研究中, 人们多关注于蛋白质编码基因, 然而其只占基因组的一小部分, 人类基因组的3/4是非编码RNA的基因^[36]。研究表明, 99%的癌症突变位于非编码区^[37]。许多人认为非编码RNA基因突变后的异常翻译是人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)配体的潜在来源。2018年, Laumont等人^[38]研究发现, 非编码区异常翻译的蛋白质, 是可进行靶向治疗的肿瘤特异性抗原的主要来源。非编码RNA基因突变后异常翻译的抗原可引起细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTL)反应, 从而有助于癌症模型小鼠的整体存活, 并且作为新抗原不易受免疫耐受机制的影响, 从而可作为免疫介导肿瘤治疗的有效靶点。2020年, Perreault团队^[39]在高级别浆液性卵巢癌样本中鉴定到大量存在于框外外显子区域(out-of-frame exonic translation)与非编码区域的肿瘤特异性抗原, 且在许多肿瘤中共有, 具有潜在治疗价值。因此, 在肿瘤发生发展过程中可能存在大量全新基因的产生, 从而赋予肿瘤细胞明显的生存优势, 并与肿瘤免疫等存在密切联系, 值得被全面鉴定和分析。

4 染色体异常改变

染色体不稳定性(chromosomal instability, CIN)是

肿瘤分子进化的核心驱动因素,也是肿瘤发生发展的主要驱动因素^[2,40]. CIN会造成持续性的基因组改变,包括整个染色体的获得或丢失(whole-chromosomal instability, W-CIN)或结构畸变(structural-chromosome instability, S-CIN)^[40]. 染色体片段的丢失、染色体的断裂以及重排对肿瘤的发生发展有十分重要的影响^[41~44]. 染色体片段的丢失往往包含肿瘤抑癌基因片段的丢失或破坏,例如,脊索瘤中的*FBXW7*, *WRN*, *CDKN2A*等基因^[45], 结肠癌中的*NOTCH2*, *EXO1*, *MLL3*等基因^[46]都随着染色体片段的丢失而丢失,这些抑癌基因的消失导致细胞过度增殖形成肿瘤.

肿瘤中的染色体重排,具体形式包括重复、倒置和易位,多由DNA双链断裂的错误修复引起^[47]. 染色体大片段的重排会导致多种基因的拷贝数发生改变,一些基因可能面临被破坏的危险,并且有可能在断裂点出现新的融合基因使得新生成的表型迅速发展. 这些基因产生的变化,对于肿瘤的发生发展具有重要意义^[41]. 此外,染色体的重排还可促使抑癌基因的破坏和原癌基因的放大^[43],也能促进肿瘤发生发展过程中的分子进化.

最近的研究发现,由于染色体的不稳定性^[48],有丝分裂过程中因染色体分离错误而产生的非整倍体细胞在大多数肿瘤中并不十分稳定,且在非整倍体细胞中,额外染色体上的数百到数千个基因表达异常,会对细胞中蛋白质周转机制的新陈代谢过程产生较大的影响. 虽然过去的研究经常认为染色体重排与非整倍体是独立发生、互不打扰的关系,但事实上由于染色体的不稳定性,非整倍体细胞极易发生染色体大片段的重排,证明了两之间存在一定的联系. 因此,非整倍体细胞作为肿瘤的标志性事件,也被广泛认为在肿瘤的发生和发展中起十分重要的作用^[49,50].

在肿瘤转移性亚克隆中,染色体异常改变也是一个经常被发现的遗传标志. Turajlic等人^[51]对575例原发活检和335例转移活检样品进行研究,根据最终的数据证明了肿瘤转移的能力是由染色体的复杂性提供的,其中染色体9p的丢失是肿瘤转移和造成透明肾细胞癌患者死亡的强驱动性因素. 染色体异常改变驱动了以上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和炎症为特征的转移性肿瘤的形成. 通过实验数据可以了解到,在肿瘤转移患者中,染色体不稳定水平增高,其每条染色体畸变数量是原发性肿瘤

的两倍. 这些都证明了染色体异常改变的出现以及随后的耐受性是肿瘤转移过程中一个重要的节点^[52]. 此外,染色体异常改变还极有可能驱动拷贝和突变异质性(丢失了携带克隆性突变的基因组片段)^[24],使得染色体分离错误,从而导致慢性cGAS活性的降低,最终起到促进肿瘤迁移、侵袭和转移的作用^[52].

5 肿瘤细胞进化模式

综上,分子进化事件在肿瘤发生发展和转移过程中扮演重要的角色,那么这些分子进化事件导致的肿瘤细胞进化有哪些模式呢? 如果人们能更好地了解肿瘤发生发展和转移中肿瘤细胞的进化模式,则有可能揭示原发肿瘤和转移性肿瘤治疗易感性的差异,阐明转移定植的时间模式和路径^[2].

目前,被学术界广泛接受的肿瘤细胞进化理论包括4种主要的理论模型(图1).

(1) 线性进化. 随着驱动突变累积,肿瘤恶性程度增加,驱动突变赋予了肿瘤细胞绝对的选择优势,其表现了肿瘤是以单个细胞进化而来的,且成顺序突变即有序突变,每一次的突变都能够加速肿瘤生长^[53]. 线性进化有助于理解驱动突变顺序的获取,以及其如何潜在地导致更晚期的恶性肿瘤. Vilarinho等人^[54]利用外周血白细胞、肝细胞腺瘤(hepatocellular adenoma, HCA)、肝癌、癌栓和脑转移中提取的DNA进行了全外显子组测序. 结果表明,随着HCA的发展,体细胞突变和拷贝数的变化逐步增加,显示为肿瘤的线性进化模式,并且血管DNA和脑转移DNA与原发性肝细胞样本具有共同的祖先,遵循线性进化模式. Ge等人^[55]通过对肺癌患者的原发和复发肿瘤样本进行突变图谱分析发现,患者的肉瘤样肺癌(pulmonary sarcomatoid carcinoma, SC)组织包含所有在肺腺癌(lung adenocarcinoma, ADC)中发现的基因改变,以及两个独特的改变(包括*TP53*剪接突变和*AXIN2*中的同义单核酸变异),这证明了患者从原发性ADC到SC,再到复发的SC是呈现线性进化模式.

(2) 分支进化. 早期肿瘤细胞出现后,在不同肿瘤团块中平行进化,不同类型肿瘤细胞均具有一定的选择优势,相对线性进化,分支进化中生存压力较小. 在乳腺癌和肾癌中通常能看到分支较长的情况^[56~58],而其他的癌症类型,如肝癌、卵巢癌、乳腺癌等的进化

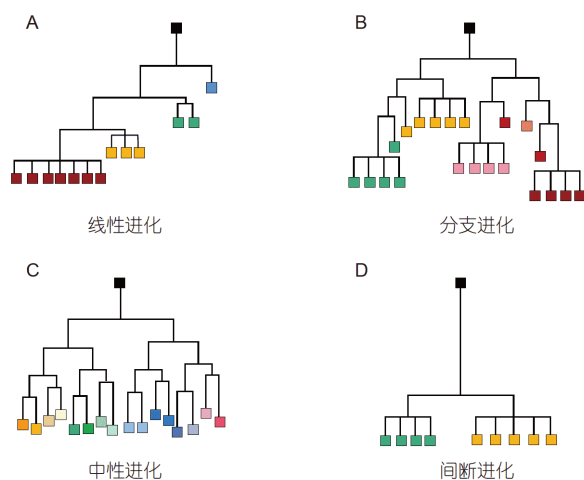


图1 克隆谱系和系统发育树(基于参考文献[4]修改)。来自不同肿瘤进化模式的系统发育树: 线性进化(A)、分支进化(B)、中性进化(C)、间断进化(D)。不同颜色表示具有不同基因型的克隆

Figure 1 Clonal lineages and phylogenetic trees (modified based on Ref. [4]). Phylogenetic trees reflecting different tumor evolution patterns: (A) Linear evolution, (B) branching evolution, (C) neutral evolution, and (D) punctuated evolution. The different colors represent clones with different genotypes

“树干”比较长, 而分支较少^[57,59,60]。Marusyk等人^[61]对分支进化研究发现, 体内*IL6*基因的表达能够增加肿瘤的大小, 对于肿瘤的发展起到促进作用。其他研究表明, *Wnt1*过表达的模型显示出基础亚群和管腔亚群在促进肿瘤发展的过程中起到协同作用, 共同促进肿瘤的发生发展^[62]。但这并不代表多种亚克隆在体内“和谐”存在仅仅是因为相互之间的协同作用。事实上, 大多数情况下, 多种亚克隆之间能够“和谐相处”是因为相互之间缺少直接竞争。

实验中通常通过肿瘤进化有向图(tumor evolutionary directed graphs, TEDG)分析肿瘤转移模式是线性进化还是分支进化(图2)^[63]。这两种模式, 过去理论通常认为其为竞争关系, 但事实上, 它们并不是“竞争”关系, 而是各自会出现在生物体的不同时刻, 互不打扰^[2]。

(3) 中性进化。中性进化属于分支进化的极端情况, 假设肿瘤在生长期间不存在选择压力和适应性进化, 随着时间进展, 瘤内异质性增加。Williams等人^[60]假设肿瘤的进化可能通常由中性进化主导, 并基于外显子组数据分析证实了TCGA研究中1/3的肿瘤的进化模式符合中性进化的特点。基于实验数据, 他们提出了

一个理论模型: 在启动肿瘤生长的基因组变化的“满屋”积累之后, 一些肿瘤将出现中性扩张, 产生大量“乘客”突变, 这些突变也是导致瘤内异质性(intra-tumor heterogeneity, ITH)主要的原因。该模型同样可应用于判断哪些肿瘤的数据是与中性进化一致的, 能够直接反映患者的肿瘤进展特征。

(4) 间断进化。新近研究中提出的间断进化模式认为, 在进展早期, 短时间内发生大量变异, 瘤内异质性在早期就已极高, 后期少数优势克隆稳定存在。Baca等人^[42]通过对57名患者的研究, 发现了一种被称为chromoplexy(一种染色体重排)的现象, 在这种现象中, 全基因组易位和拷贝数变异是相互依赖的, 并在很短的时间内同时发生。此外, 间断进化也与全基因组非整倍体的发生有关。这些研究证实了拷贝数变异和染色体结构重排在肿瘤的发展过程可能都是通过间断进化模式进化的^[4]。这种模式能够解释之前两种模式难以解释的问题, 比如为什么肿瘤数目出现的速度远远大于基因组或染色体不稳定进化的速度, 同样也能够解释肿瘤细胞的突然出现的原因^[64]。

从肿瘤进展的不同时期中的进化模式来看, 线性进化大都发生在肿瘤进化的最早阶段^[65], 并且随着肿瘤的进展, 后续可能会出现分支进化模式或间断进化模式, 也有可能同时存在这两种模式^[42,58]。

6 总结与展望

目前, 人们对肿瘤发生发展和转移过程中的分子进化事件和机制已有较多的认识, 并形成了4种肿瘤细胞进化的理论模式。但本领域的研究仍很不全面, 主要体现在: (i) 肿瘤进化研究所涉及的肿瘤类型还不全面。虽然国际上相关科学计划TCGA、临床蛋白质组肿瘤分析联盟(Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium, CPTAC)以及国内的中国人类蛋白质组计划(Chinese Human Proteome Project, CNHPP)产出了大量肿瘤多组学数据, 但目前还主要局限于单个肿瘤位点, 相信随着将来大量多克隆位点组学数据的出现, 会更加促进肿瘤分子进化机制的研究。(ii) 以往的肿瘤进化研究多基于基因组序列的变异信息, 而肿瘤细胞进化过程中, 表观遗传特征、蛋白质表达水平、翻译后修饰和相互作用等角度的进化现象和机制还有待于全面检测和深入解析。在该方向上研究的拓展, 将为

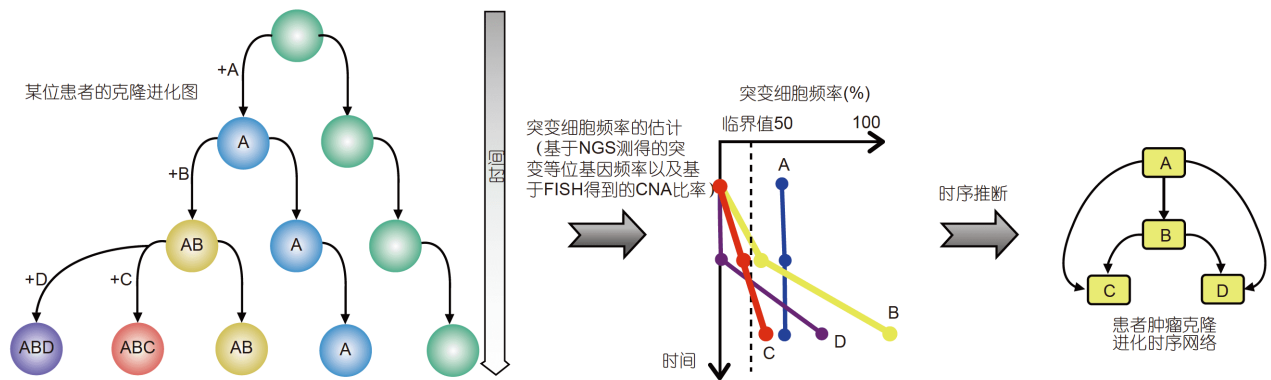


图 2 TEDG图展示的是患者克隆进化的示例, 通过对患者的不同时间点采样分析, 并分析基因组数据获得^[58,63]. 具体地说, 针对每个患者, 在不同的时间点进行标记扩增子库的下一代测序和荧光原位杂交分析, 以此评估驱动基因损伤的存在并量化其克隆丰度. 然后使用突变细胞频率对数据进行调整和统一(中图). 在此时序推断的基础上, 建立该患者的肿瘤进化时序网络(右图)

Figure 2 Tumor evolutionary directed graph (TEDG) framework shows an example of the evolution of patient cloning by sampling different time points and analyzing genomic data^[58,63]. Specifically, for each patient, tagged-amplicon library next generation sequencing (NGS) and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) analyses were carried out at different time points to evaluate the presence and quantify the clonal abundance of possible driver genetic lesions. Then, mutation cell frequency (MCF) was used to adjust and unify the data (middle panel). Based on this longitudinal data, a sequential network of one patient was built (right panel)

肿瘤基因组进化和肿瘤细胞表型进化之间搭建桥梁.

人类研究肿瘤的进化过程, 不仅是为了理解肿瘤的发生发展和转移机制, 而且希望通过对肿瘤进化模式的研究, 实现对肿瘤更精准的治疗. 随着科技的进步, 越来越多的新技术被应用于生物医学研究, 多区域活检技术和液体活检技术的结合使用, 可用于检测肿瘤进化模式^[66], 通过不同患者的肿瘤情况制定治疗方案, 从而实现靶向治疗. 近10年来, 肿瘤的问题越来越受到人们的关注, 新技术层出不穷, 大量与肿瘤相关的关键基因被发现, 染色体不稳定性如何对肿瘤细胞的转移产生影响也逐渐获得人们的重视, 越来越多针

对关键基因的靶向治疗药物被研发出来, 新技术的出现为人们研究患者体内的肿瘤进化模式提供了更多的方法^[4], 这都为未来的癌症治疗提供了希望.

但是, 从目前的情况来看, 人类对肿瘤进化的研究仍处于初步探索阶段, 仍存在许多未知的问题需要研究. 比如, 为什么某些肿瘤类型的转移会侵袭多个器官, 为什么有的转移只局限于肿瘤中的一个器官^[67]? 转移的驱动因素是否与原发肿瘤不同^[11]? 目前的治疗方式会不会使肿瘤细胞增加耐受性, 变得更“百毒不侵”? 应该采取怎样的治疗措施达到更好的治疗效果? 更多的问题, 引导人们向更深奥的方向踏出探究之旅.

参考文献

- 1 Turajlic S, Sottoriva A, Graham T, et al. Resolving genetic heterogeneity in cancer. *Nat Rev Genet*, 2019, 20: 404–416
- 2 Turajlic S, Swanton C. Metastasis as an evolutionary process. *Science*, 2016, 352: 169–175
- 3 Kutschera U, Niklas K J. The modern theory of biological evolution: an expanded synthesis. *Naturwissenschaften*, 2004, 91: 255–276
- 4 Davis A, Gao R, Navin N. Tumor evolution: Linear, branching, neutral or punctuated? *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1867: 151–161
- 5 McGranahan N, Swanton C. Clonal heterogeneity and tumor evolution: Past, present, and the future. *Cell*, 2017, 168: 613–628
- 6 Gerstung M, Jolly C, Leshchiner I, et al. The evolutionary history of 2,658 cancers. *Nature*, 2020, 578: 122–128
- 7 Martincorena I, Campbell P J. Somatic mutation in cancer and normal cells. *Science*, 2015, 349: 1483–1489
- 8 Alexandrov L B, Nik-Zainal S, Wedge D C, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*, 2013, 500: 415–421
- 9 Rustici G, Kolesnikov N, Brandizi M, et al. ArrayExpress update—Trends in database growth and links to data analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 2012, 41: D987–D990

- 10 Hou X, Du Y, Deng Y, et al. *Sleeping Beauty* transposon system for genetic etiological research and gene therapy of cancers. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16: 8–16
- 11 Yates L R, Knappskog S, Wedge D, et al. Genomic evolution of breast cancer metastasis and relapse. *Cancer Cell*, 2017, 32: 169–184.e7
- 12 Montarras D, Pinset C. Proto-oncogenes. *Biochimie*, 1987, 69: 171–176
- 13 Yap T A, Aerts J G, Popat S, et al. Novel insights into mesothelioma biology and implications for therapy. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17: 475–488
- 14 Oku S, Takenaka K, Kuriyama T, et al. JAK2 V617F uses distinct signalling pathways to induce cell proliferation and neutrophil activation. *Br J Haematol*, 2010, 150: 334–344
- 15 Boissinot M, Cleyrat C, Vilaine M, et al. Anti-inflammatory cytokines hepatocyte growth factor and interleukin-11 are over-expressed in polycythemia vera and contribute to the growth of clonal erythroblasts independently of JAK2V617F. *Oncogene*, 2011, 30: 990–1001
- 16 Stein Y, Rotter V, Aloni-Grinstein R. Gain-of-function mutant p53: All the roads lead to tumorigenesis. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 6197
- 17 Dittmer D, Pati S, Zambetti G, et al. Gain of function mutations in p53. *Nat Genet*, 1993, 4: 42–46
- 18 Olive K P, Tuveson D A, Ruhe Z C, et al. Mutant p53 gain of function in two mouse models of Li-Fraumeni syndrome. *Cell*, 2004, 119: 847–860
- 19 Zhu J, Sammons M A, Donahue G, et al. Gain-of-function p53 mutants co-opt chromatin pathways to drive cancer growth. *Nature*, 2015, 525: 206–211
- 20 Powell E, Piwnica-Worms D, Piwnica-Worms H. Contribution of p53 to metastasis. *Cancer Discov*, 2014, 4: 405–414
- 21 McCreery M Q, Halliwill K D, Chin D, et al. Evolution of metastasis revealed by mutational landscapes of chemically induced skin cancers. *Nat Med*, 2015, 21: 1514–1520
- 22 Poon S L, Huang M N, Choo Y, et al. Mutation signatures implicate aristolochic acid in bladder cancer development. *Genome Med*, 2015, 7: 38
- 23 Kanu N, Cerone M A, Goh G, et al. DNA replication stress mediates *APOBEC3* family mutagenesis in breast cancer. *Genome Biol*, 2016, 17: 185
- 24 Jamal-Hanjani M, Wilson G A, McGranahan N, et al. Tracking the evolution of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2017, 376: 2109–2121
- 25 Frank B, Bermejo J L, Hemminki K, et al. Copy number variant in the candidate tumor suppressor gene *MTUS1* and familial breast cancer risk. *Carcinogenesis*, 2007, 28: 1442–1445
- 26 Sharp A J, Locke D P, McGrath S D, et al. Segmental duplications and copy-number variation in the human genome. *Am J Humn Genet*, 2005, 77: 78–88
- 27 Mermel C H, Schumacher S E, Hill B, et al. GISTIC2.0 facilitates sensitive and confident localization of the targets of focal somatic copy-number alteration in human cancers. *Genome Biol*, 2011, 12: R41
- 28 Beroukhim R, Mermel C H, Porter D, et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature*, 2010, 463: 899–905
- 29 van Gent D C, Hoeijmakers J H J, Kanaar R. Chromosomal stability and the DNA double-stranded break connection. *Nat Rev Genet*, 2001, 2: 196–206
- 30 Guichard C, Amaddeo G, Imbeaud S, et al. Integrated analysis of somatic mutations and focal copy-number changes identifies key genes and pathways in hepatocellular carcinoma. *Nat Genet*, 2012, 44: 694–698
- 31 Bhargava R, Gerald W L, Li A R, et al. *EGFR* gene amplification in breast cancer: correlation with epidermal growth factor receptor mRNA and protein expression and HER-2 status and absence of *EGFR*-activating mutations. *Mod Pathol*, 2005, 18: 1027–1033
- 32 Smith J S, Tachibana I, Passe S M, et al. PTEN mutation, *EGFR* amplification, and outcome in patients with anaplastic astrocytoma and glioblastoma multiforme. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93: 1246–1256
- 33 Illei P B, Rusch V W, Zakowski M F, et al. Homozygous deletion of *CDKN2A* and codeletion of the methylthioadenosine phosphorylase gene in the majority of pleural mesotheliomas. *Clin Cancer Res*, 2003, 9: 2108–2113
- 34 Pollack J R, Sørle T, Perou C M, et al. Microarray analysis reveals a major direct role of DNA copy number alteration in the transcriptional program of human breast tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 12963–12968
- 35 Schlötterer C. Genes from scratch—The evolutionary fate of *de novo* genes. *Trends Genets*, 2015, 31: 215–219
- 36 Kanaseki T, Torigoe T. Proteogenomics: advances in cancer antigen research. *Immunol Med*, 2019, 42: 65–70
- 37 Khurana E, Fu Y, Chakravarty D, et al. Role of non-coding sequence variants in cancer. *Nat Rev Genet*, 2016, 17: 93–108
- 38 Laumont C M, Vincent K, Hesnard L, et al. Noncoding regions are the main source of targetable tumor-specific antigens. *Sci Transl Med*, 2018, 10: eaau5516
- 39 Zhao Q, Laverdure J P, Lanoix J, et al. Proteogenomics uncovers a vast repertoire of shared tumor-specific antigens in ovarian cancer. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8: 544–555

- 40 Sansregret L, Vanhaesebroeck B, Swanton C. Determinants and clinical implications of chromosomal instability in cancer. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15: 139–150
- 41 Liu P, Erez A, Nagamani S C S, et al. Chromosome catastrophes involve replication mechanisms generating complex genomic rearrangements. *Cell*, 2011, 146: 889–903
- 42 Baca S C, Prandi D, Lawrence M S, et al. Punctuated evolution of prostate cancer genomes. *Cell*, 2013, 153: 666–677
- 43 Holland A J, Cleveland D W. Chromoanagenesis and cancer: mechanisms and consequences of localized, complex chromosomal rearrangements. *Nat Med*, 2012, 18: 1630–1638
- 44 Zhang C Z, Leibowitz M L, Pellman D. Chromothripsis and beyond: rapid genome evolution from complex chromosomal rearrangements. *Genes Dev*, 2013, 27: 2513–2530
- 45 Stephens P J, Greenman C D, Fu B, et al. Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. *Cell*, 2011, 144: 27–40
- 46 Kloosterman W P, Hoogstraat M, Paling O, et al. Chromothripsis is a common mechanism driving genomic rearrangements in primary and metastatic colorectal cancer. *Genome Biol*, 2011, 12: R103
- 47 Stephens P J, McBride D J, Lin M L, et al. Complex landscapes of somatic rearrangement in human breast cancer genomes. *Nature*, 2009, 462: 1005–1010
- 48 Lengauer C, Kinzler K W, Vogelstein B. Genetic instability in colorectal cancers. *Nature*, 1997, 386: 623–627
- 49 Gordon D J, Resio B, Pellman D. Causes and consequences of aneuploidy in cancer. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 189–203
- 50 Holland A J, Cleveland D W. Losing balance: the origin and impact of aneuploidy in cancer. *EMBO Rep*, 2012, 13: 501–514
- 51 Turajlic S, Xu H, Litchfield K, et al. Tracking cancer evolution reveals constrained routes to metastases: TRACERx Renal. *Cell*, 2018, 173: 581–594.e12
- 52 Bakhoum S F, Cantley L C. The multifaceted role of chromosomal instability in cancer and its microenvironment. *Cell*, 2018, 174: 1347–1360
- 53 Swanton C. Cancer therapeutics through an evolutionary lens. *J R Soc Med*, 2018, 111: 8–14
- 54 Vilarinho S, Erson-Omay E Z, Mitchell-Richards K, et al. Exome analysis of the evolutionary path of hepatocellular adenoma-carcinoma transition, vascular invasion and brain dissemination. *J Hepatol*, 2017, 67: 186–191
- 55 Ge J, Yao B, Huang J, et al. Molecular genetic characterization reveals linear tumor evolution in a pulmonary sarcomatoid carcinomas patient with a novel PHF20-NTRK1 fusion: a case report. *BMC Cancer*, 2019, 19: 592
- 56 Gerlinger M, Horswell S, Larkin J, et al. Genomic architecture and evolution of clear cell renal cell carcinomas defined by multiregion sequencing. *Nat Genet*, 2014, 46: 225–233
- 57 Zhang J, Fujimoto J, Zhang J, et al. Intratumor heterogeneity in localized lung adenocarcinomas delineated by multiregion sequencing. *Science*, 2014, 346: 256–259
- 58 Wang Y, Waters J, Leung M L, et al. Clonal evolution in breast cancer revealed by single nucleus genome sequencing. *Nature*, 2014, 512: 155–160
- 59 de Bruin E C, McGranahan N, Mitter R, et al. Spatial and temporal diversity in genomic instability processes defines lung cancer evolution. *Science*, 2014, 346: 251–256
- 60 Williams M J, Werner B, Barnes C P, et al. Identification of neutral tumor evolution across cancer types. *Nat Genet*, 2016, 48: 238–244
- 61 Marusyk A, Tabassum D P, Altrock P M, et al. Non-cell-autonomous driving of tumour growth supports sub-clonal heterogeneity. *Nature*, 2014, 514: 54–58
- 62 Cleary A S, Leonard T L, Gestl S A, et al. Tumour cell heterogeneity maintained by cooperating subclones in Wnt-driven mammary cancers. *Nature*, 2014, 508: 113–117
- 63 Wang J, Khiabani H, Rossi D, et al. Tumor evolutionary directed graphs and the history of chronic lymphocytic leukemia. *eLife*, 2014, 3: e02869
- 64 Navin N, Kendall J, Troge J, et al. Tumour evolution inferred by single-cell sequencing. *Nature*, 2011, 472: 90–94
- 65 Fearon E R, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 1990, 61: 759–767
- 66 Amirouchene-Angelozzi N, Swanton C, Bardelli A. Tumor evolution as a therapeutic target. *Cancer Discov*, 2017, 7: 805–817
- 67 Nguyen D X, Massagué J. Genetic determinants of cancer metastasis. *Nat Rev Genet*, 2007, 8: 341–352

Molecular evolutionary mechanisms underlying tumorigenesis, tumor development, and metastasis

WANG Fei^{1,2}, HOU YuShan² & YANG Dong²

1 College of Life Science, Hebei University, Baoding 071000, China;

2 State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Proteome Research Center, National Center for Protein Sciences (Beijing), Beijing Institute of Lifeomics, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 102206, China

Tumorigenesis and the subsequent development and metastasis of tumors are continuous evolutionary processes that are a result of several molecular evolutionary events. During these processes, the tumor cells gradually gain advantages of survival and proliferation and promote tumor heterogeneity. An in-depth understanding of the mechanism underlying the molecular evolution of tumor cells will help us understand the intrinsic mechanism of tumorigenesis, tumor development, and metastasis. This in turn will aid in the development of targeted treatment strategies for blocking tumor development and metastasis as well as improve the therapeutic effects of these strategies. This review systematically summarizes the molecular evolutionary events, such as gene mutation, gene copy number variation, the generation of *de novo* genes, and chromosome abnormality, during the process of tumorigenesis, tumor development, and metastasis as well as their relationship with tumor development. This review summarizes the main theoretical models of molecular evolution in tumor cells and discusses future research trends and prospects. Furthermore, it provides valuable reference information for additional in-depth theoretical and applied research in this field in the future.

tumor, molecular evolution, tumorigenesis, tumor development, metastasis

doi: [10.1360/SSV-2020-0118](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0118)