

1 型神经纤维瘤病肿瘤发生机制的研究进展

程芙蓉 李伟峰 周列民

【摘要】 1 型神经纤维瘤病 (neurofibromatosis 1, NF 1) 是源于神经嵴细胞分化异常而导致的多系统损害的常染色体显性遗传病,至今其具体的发病机制仍不太清楚,现从 NF1 分子遗传学水平的改变、激素、端粒酶、促血管生成因子以及肿瘤微环境和电生理等方面对其进行了综述。

【关键词】 1 型神经纤维瘤病; 神经纤维瘤; 神经纤维蛋白; 发病机制; 血旺细胞

Advance in the Pathogenesis of Neurofibromas in Neurofibromatosis Type 1 CHENG Fu-rong, LI Wei-feng, ZHOU Lie-min. (Department of Neurology; the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Corresponding author: ZHOU LIE-min. Email: lmzhou_2002@yahoo.com.cn

【Abstract】 Neurofibromatosis type 1 (NF1) is an autosomal dominant disorder, characterized by multiple system damage derived from the abnormal differentiation of the neural crest cells, but its pathogenesis is still unclear. Significant advances have been made in the research of the molecular, genetic, changes of NF1, we now review them in this article.

【Key words】 Neurofibromatosis type 1; Neurofibroma; Neurofibromin; Pathogenesis; Schwann cell

NF1 是源于神经嵴的细胞分化异常而导致的多系统损害的常染色体显性遗传病,是最常见的神经遗传性疾病之一,全世界患病率约 1/3500 ~ 1/3000, NF1 常见的临床表现是色素异常,如牛奶咖啡斑、皮肤雀斑、虹膜错构瘤,以及广泛的中枢神经系统异常,而且,儿童和成人可以发展为包括大脑和周围神经的良性、恶性肿瘤。近年来随着分子生物学,细胞生物技术的广泛应用,对 NF1 肿瘤的发病机制有了广泛的认识,现就此进行了综述。

1 分子遗传学水平

1.1 基因水平的改变: NF1 基因于 1990 年被克隆出来,定位于 17q11.2, 其全长约 350 kb, 包含 60 个外显子, 可以转录形成 11 ~ 13 kb 的 mRNA, 编码 2818 个氨基酸的蛋白, 称之为神经纤维蛋白, 它包括一段由外显子 21 ~ 27 编码的约 360 个氨基酸与 GTP 酶激活蛋白 (GAP) 相关的功能区 (GRD), GAP

蛋白能通过激活 ras 活化的 GTP 结合形式转变成为无活性的 GDP 结合形式而终止 ras 介导信号传导通路,因此, NF1 基因的肿瘤抑制功能被认为主要是依赖它的下调原癌基因 ras 而实现的^[1]。NF1 基因表达的丢失导致神经纤维素 RasGAP 功能的丧失,最终导致 Ras 活性的增加,细胞增生以及肿瘤的形成^[2]。

Dasgupta 最近研究发现神经纤维素可以调节星形胶质细胞中 cAMP 产生,从而激活 Rap1 来阻遏星形胶质细胞的生长,星形胶质细胞中 Rap1 活性的消弱与神经纤维素的丢失有关。这些结果表明,神经纤维素可以上调细胞内 cAMP 水平^[3,4],近而调节细胞的生长分化。提示神经纤维素的生长调节功能除了调节分子内 Ras 的活性之外,还包括 cAMP 等其他细胞内信号途径。

Hedgehogs (Hhs) 是调控中枢神经系统以及周围神经系统胚胎发育的细胞内源性信号分子,在脊椎动物中存在 3 种 Hh 类似物,如 Shh、Ihh、Dhh^[5],在 Ras 突变活化的 HacaT 细胞中可看到 PTCH Smo 的表达增加, Smo 可与 PTCH 或 PTCH2 形成受体复合物介导 Hh 信号途径传导,因此,在 NF1^{-/-} Schwann

基金项目: 卫生部科研基金资助项目(961126)
作者单位: 510080 广州, 中山大学附属第一医院神经内科
通讯作者: 周列民 (E-mail: Lmzhou_2002@yahoo.com.cn)

细胞中,神经纤维素的缺失可通过 Smo 表达增加来增强 Hh 信号途径。为研究 Hh 信号途径在 NF1 发病机制中的作用,神经纤维素在这一途径中的作用还有待进一步研究。

关于 MPNST 的发病机制最近几年关于其分子遗传学和生物学研究取得了重大进展,研究发现 NF1 基因突变导致 Ras 活性的增加不是 MPNST 形成的惟一启动因素,附加基因突变如 *p27-kip1*、*p53*、*p16* 等也起一定作用^[6]。Weiping 等^[7]对 MPNST 的研究发现,CD44⁺ 的过度表达与 MPNST 的侵袭表型的形成有关,由焦磷酸残基转移酶抑制剂所导致的 Ras 失活可抑制 MPNSTNF1^{-/-} Schwann 细胞的增殖生长,但不能抑制 NF1^{-/-} Schwann 细胞的侵袭活性。NF1 神经纤维瘤 Schwann 细胞中即使 Ras 活性的增加,CD44⁺ 表达也不会增加,说明 MPNST Ras-GTP 活性的增强不会促进肿瘤细胞的侵袭活性。有趣的是,NF1、p53 突变的 MPNST 大鼠模型和 MPNST 患者的 Schwann 细胞都有 EGF 的反应性增生,由细胞外配体或通过其他信号途径串连对话形式活化的 EGFR 可激活一系列信号瀑布途径,如 PP60^c-Rrc、Ras-MAP 激酶和磷脂酶 C- γ 途径。EGFR 的过度表达可以促进 Ras-GTP 和 MAP 激酶的活性的增高。提示神经纤维素的丢失所导致的 RasMAP 激酶和 PI3K 途径的激活以及 EGFR 的过度表达和其他改变可协同促进 MPNST 的细胞增生。说明 MPNST 肿瘤细胞的侵袭行为可由 EGFR 的表达增加导致 Src 激酶的活化从而使 CD44 表达增加所引起,也可以由 EGF 诱导的 PI3K 活化所引起,至于 Src 激酶和 PI3K 在细胞侵袭表型形成中的作用地位仍需进一步探讨。

Fashold 等研究发现,尽管 GRD 是 NF1 基因上的重要功能区,但并不是导致 NF1 发病的惟一因素,除 GRD 区之外,还存在尚未被认识的其他重要区域,如位于 GRD 区 N 端的约 80 个氨基酸残基的片段内有一些微管蛋白结构决定因子,而微管蛋白能抑制 GAP 酶的活性;另外,在 27 号内含子中包埋了 3 个按相反方向转录的基因 (*EVI2A*、*EVI2B*、*OMGP*),他们的功能以及与 NF1 的关系仍不很清楚,可能参与 NF1 基因功能的修饰。总之,在 NF1 发病机制中,修饰基因的调节作用,相邻基因的缺失对其表型的影响,3 个包埋于内含子的基因所引起的作用等因素的价值有待探讨。

1.2 NF1 mRNA 编辑与肿瘤发生: mRNA 编辑是指一个嘌呤或嘧啶碱基的转录后修饰,使核糖体阅读

的 mRNA 顺序发生改变。Skuse 等发现,人类 NF1 mRNA 有一个近似典型的停泊序列,通过编辑使 3916 nt 处的 C 变为 U,致使 Arg 密码子 CGA 变为终止密码子 UGA。结果产生 1 个在 GRD-N 端区域截短的蛋白产物,使 NF1 基因肿瘤抑制功能丧失。根据二次突变理论,肿瘤抑制作用的丧失是抗癌基因纯合失活的结果。研究发现,许多 NF1 肿瘤中存在 LOHs,但也有一部分 NF1 肿瘤没有 LOH,说明它们的发生机制可能不同。无论 NF1 位点是否有基因突变,都可通过 mRNA 编辑修饰其转录产物,导致两个 NF1 等位基因功能的丧失。这样,没有 LOH 的 NF1 肿瘤可能是由 NF1 mRNA 异常编辑引起的。

Cappione 等^[8]为研究编辑在 NF1 肿瘤发生中的作用,分析了 19 例 NF1 肿瘤和 4 例其他肿瘤中的 RNA。结果发现,在不同样本中 NF1 mRNA 的编辑水平不同,在恶性肿瘤(如神经纤维肉瘤)中的编辑比在良性肿瘤(如皮肤神经纤维瘤)中要高,丛状神经纤维瘤中 NF1 mRNA 的编辑水平居于二者之间。他们通过比较相同 NF1 肿瘤患者的肿瘤组织和正常组织中的 mRNA 编辑水平,发现 NF1mRNA 编辑的组成型水平差异甚微,且与其他肿瘤(非 NF1 肿瘤)中的编辑水平相近,同一患者中的肿瘤组织总比正常组织具有较高的 NF1 mRNA 编辑水平。这说明异常的 NF1mRNA 编辑在 NF1 肿瘤发生中确实起作用。

2 激素与神经纤维瘤的发生

NF1 患者神经纤维瘤的外显有明显的年龄依从性,即青春期后出现,成年期明显增加,晚年则停止或减少。Cunha 等也发现了这一现象,认为体内激素水平影响着 NF1 患者神经纤维瘤的发生发展。

激素影响的根据还不清楚,有些研究者通过研究证实了 NF1 患者神经纤维瘤组织中有生长激素受体的表达^[9],由于生长激素在其他一些良恶性肿瘤中有增生活性,可通过启动各种信号途径如 STATs、Ras、MAP 激酶、IRS 等促进细胞增生,所以生长激素在 NF1 散发肿瘤的生长调控中可能起一定作用。

神经纤维瘤的这种外显规律与体内雌激素分泌的生理特征有明显的相关性,提示体内雌激素水平的变化可能也参与和介导了神经纤维瘤的形成和发展^[10]。

Margaret 等^[11]研究发现大多数神经纤维瘤表达 PR,提示孕激素可能是调控神经纤维瘤生长的重要激素。在原代 Schwann 细胞的培养中已经检测到

PR, Schwann 细胞可通过自分泌方式分泌孕酮, 孕酮通过结合 Schwann 细胞上的 PR 刺激转录因子 Krox-20 来促进髓鞘再生, 促进髓磷脂蛋白基因的转录, 神经纤维瘤可导致神经损伤, 促进周围 Schwann 细胞的聚集, 周围 Schwann 细胞可上调 PR, 促进髓鞘再生, 神经修复中的 Schwann 细胞会去分化, 丢失 Schwann 细胞标记, PR 阳性的 Schwann 细胞可通过旁分泌因子促进肿瘤性 Schwann 细胞的增生生长。

3 端粒酶与肿瘤发生

端粒酶是一种能够延长端粒的特殊的反转录酶, 其激活与细胞永生化和肿瘤发生、发展密切相关^[12]。hTERT 的表达调控是端粒酶的激活的限速步骤。端粒酶活性增加能够保持端粒一定的长度, 是细胞获得无限制增殖潜能(即细胞永生)所必需的, 这也是肿瘤形成的先决条件之一。在 NF1 神经纤维瘤中, 周列民等研究发现雌激素可以增加 hTERT 的表达, 活化端粒酶而引起细胞增殖。

4 促血管生成因子和肿瘤发生

在肿瘤的演化中促血管生成是关键环节, 许多生长因子如 FGFs、VEGF、PTN、MK 等可促进血管生成^[13], 促血管生成因子与抑制因子的表达可能与致癌基因和抑癌基因密切相关, 肿瘤抑制因子神经纤维素可通过生长因子的诱导引起促血管生成的表现。

人类和大鼠神经纤维瘤中, 神经纤维素缺乏的 Schwann 细胞可促进血管生成, 研究发现在 NF1^{-/-} Schwann 细胞中有 PDGF、FGF2、MK、PTN 生长因子的表达, 至于每个生长因子对促血管生成过程的贡献程度和对内皮细胞增生的刺激强度仍不是太清楚。在 NF1^{-/-} Schwann 细胞中, 血管生成抑制因子的下调以及血管生成刺激因子的上调共同作用有助于内皮细胞的激活^[14]。

5 肿瘤微环境的作用

神经纤维瘤主要以 ECM 的过多沉积和肿瘤中各种细胞如 Schwann 细胞, 成纤维细胞, 内皮细胞以及肥大细胞等细胞间的紧密连接的阻断为特征, 发病机制还不太清楚, 研究推测炎症性肥大细胞在肿瘤演化中起一定作用。肿瘤微环境和伴随炎症细胞浸润的促血管形成在肿瘤发生发展过程中是必不可缺少的。

实验证实, NF1^{-/-} Schwann 细胞可分泌各种蛋白,

这些蛋白与炎症细胞向肿瘤微环境积聚有关, 其中 KitL 是促进 NF1^{+/-} 肥大细胞移行的主要生长因子^[15,16]。这种 NF1 纯合性丢失的 Schwann 细胞分泌生长因子的详细机制还不清楚。

关于 ras 激活对细胞移行和黏附作用的研究已经产生了矛盾的结果, 所以 NF1^{+/-} 肥大细胞移行与 Ras 活性增加的关系仍不清楚。

6 电生理与肿瘤发生

研究表明, Schwann 细胞增生与膜电流之间存在联系, Schwann 细胞主要是电压门控性 K⁺ 通道为主, K 通道在细胞增生和分化过程中起非常重要的调控作用^[17], 当胶质细胞离子通道阻断后, 细胞增生也会被抑制, 微摩尔的奎尼丁抑制电压门控性 K⁺ 通道可以阻断 Schwann 细胞增生的启动, 但奎尼丁对已经启动的 Schwann 细胞的增生无任何影响。Schwann 细胞中能阻断 K 离子流的奎尼丁 (100 mmol/L)、四乙胺 (5 mmol/L) 足以阻断 Schwann 细胞的增生。

关于 K 通道导致神经胶质瘤和 T 淋巴细胞增生的机制由两种假设, 一种是关于细胞静息电位的改变学说, 一种是细胞体积改变的调控学说: ①支持细胞静息电位学说的研究来自 K⁺ 通道的活性增加可引起细胞的超极化, 这是细胞通过 G₁ 期所必需的, 细胞超极化也可导致强大的电学梯度, 允许 Ca²⁺ 内流进入细胞内, 细胞内 Ca²⁺ 的增加是细胞增生的关键步骤; ②由离子通道诱导细胞体积的改变进行增生调控有助于维持细胞周期调控蛋白的浓度和其他细胞骨架蛋白的浓度, 这是细胞周期蛋白 D1 合成以及细胞周期通过 G₁ 期所必需的^[18]。

总之, 电压依赖性离子通道和 NF1 Schwann 细胞的异常增生之间的联系仍需进一步研究。

7 展望

综上所述, 关于 NF1 肿瘤发病机制的研究最近不论从基因水平还是从肿瘤的促发因素各方面都取得了重大进展, 随着分子生物学技术的不断发展以及动物模型的建立, 有望在不久的将来对 NF1 的肿瘤发病机制有更深刻, 更详细的了解, 从而发现有效的治疗途径。

参 考 文 献

1 Harrisningh MC, Perez-Nadaless E, Parkinson DB, et al. The Ras/Raf/ERK signalling pathway drives schwann cell dedifferentiation. The

- EMBO Journal , 2004;23: 3061-3071
- 2 Gottfried ON, Viskochil DH, Fults DW, *et al.* Molecular, genetic, and cellular pathogenesis of neurofibromas and surgical implications. *Neurosurgery*, 2006, 58:1-6.
 - 3 Dasgupta B, Dugan LL, Gutmann DH, *et al.* The neurofibromatosis 1 gene product neurofibromin regulates pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-mediated signaling in astrocytes. *J Neurosci*, 2003, 23:8949-8954.
 - 4 Tong J, Hanna F, Zhu Y, *et al.* Neurofibromin regulates G protein-activated adenylyl cyclase activity. *Nat Neurosci*, 2002, 5:95-96.
 - 5 Endo H, Vtani A, Mastumoto F, *et al.* A possible paracrine hedgehog signalling pathway in neurofibromas from patients with neurofibromatosis type 1. *Br J Dermatol*, 2003, 148:337-341.
 - 6 Zhu Y, Zhao D, Liu L, *et al.* Early inactivation of p53 tumor suppressor gene cooperating with NF1 loss induces malignant astrocytoma. *Cancer cell*, 2005, 8:119-0
 - 7 Su WP, Sin M, Darrow S, *et al.* Malignant peripheral nerve sheath tumor cell invasion is facilitated by Src and aberrant CD44 expression. *Int J Dermatol*, 2003, 42:350-358
 - 8 Cappione AJ, French BL, Skuse GR. A potential role for NF1 mRNA editing in the pathogenesis of NF1 tumors. *Am J Hum Genet*, 1997, 60:305-312.
 - 9 Cunha KS, Barboza EP, Da Fonseca EC. Identification of growth hormone receptor in localised neurofibromas of patients with neurofibromatosis type 1. *J Clin Pathol*, 2003, 56:758-753.
 - 10 Plunkett RJ, Lis A, Barone TA, *et al.* Hormonal effects on glioblastoma multiforme in the nude rat model. *J Neurosurg*, 1999, 90:1072-1077.
 - 11 Margaret E, Jacks J. Progesterone receptor expression in neurofibromas. *Cancer Res*, 2003, 63:752-755.
 - 12 Mergny JL, Riou JF, Mailliet P, *et al.* Natural and pharmacological regulation of telomerase. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30: 839 -865.
 - 13 Kawachi Y, Xu X, Ichikawa E, *et al.* Expression of angiogenic factors in neurofibromas. *Exp Dermatol*, 2003, 12:412-417.
 - 14 Mashour GA. Circulating growth factor levels are associated with tumorigenesis in neurofibromatosis type 1. *Clin Cancer Res*, 2004, 10:5677-5783.
 - 15 Dang I, Nelson JK, DeVries GH, *et al.* c-Kit receptor expression in normal human schwann cells and schwann cell lines derived from neurofibromatosis type 1 tumors. *J Neurosci Res*, 2005, 82:465-471.
 - 16 Zhu Y. Neurofibromas in NF1: schwann cell origin and role of tumor environment. *Science*, 2002, 296: 920-922.
 - 17 Lynne A. Fiebber Voltage-mated ion currents of schwann cells in cell culture models of human neurofibromatosis. *J Exp Zoolog*, 2003, 300:76-83
 - 18 Fieber LA, Gonzalez DM, Wallace MR, *et al.* Delayed rectifier K currents in NF1 Schwann cells. pharmacological block inhibits proliferation. *Neurobiol Dis*, 2003, 13:136-146.

(收稿日期:2006-01-05)

(本文编辑:孙岩伟)

(上接 133 页)

- 26 Lau TW, Leung TN, Chan LY, *et al.* Fetal DNA clearance from maternal plasma is impaired in preeclampsia. *Clin Chem*, 2002, 48: 2141-2146.
- 27 Cotter AM, Martin CM, O'leary JJ, *et al.* Increased fetal DNA in the maternal circulation in early pregnancy is associated with an increased risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 191 : 515-520.
- 28 Levine RJ, Qian C, Leshane ES, *et al.* Two-stage elevation of cell-free fetal DNA in maternal sera before onset of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 190 : 707-713.
- 29 Farina A, Sekizawa A, Sugito Y, *et al.* Fetal DNA in maternal plasma as a screening variable for preeclampsia. A preliminary nonparametric analysis of detection rate in low-risk nonsymptomatic patients. *Prenat Diagn*, 2004, 24 : 83-86.
- 30 Sekizawa A, Farina A, Sugito Y, *et al.* Proteinuria and hypertension are independent factors affecting fetal DNA values: a retrospective analysis of affected and unaffected patients. *Clin Chem*, 2004, 50 : 221-224.
- 31 Farina A, LeShane ES, Romero R, *et al.* High levels of fetal cell-free DNA in maternal serum: a risk factor for spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 193:421-425.
- 32 Farina A, LeShane ES, Lambert-Messierian GM, *et al.* Evaluation of cell-free fetal DNA as a second-trimester maternal serum marker of Down syndrome pregnancy. *Clin Chem*, 2003, 49:239-242.
- 33 Spencer K, de Kok JB, Swinkels DW. Increased total cell-free DNA in the serum of pregnant women carrying a fetus affected by trisomy 21. *Prenat Diagn*, 2003, 23:580-583.
- 34 Wataganara T, LeShane ES, Farina A, *et al.* Maternal serum cell-free fetal DNA levels are increased in cases of trisomy 13 but not trisomy 18. *Hum Genet*, 2003, 112:204-208.

(收稿日期:2007-04-03)

(本文编辑:孙岩伟)