

·综述· 文章编号 1000-2790(2008)02-0184-03

## Notch 信号在中枢神经系统肿瘤中的研究进展

李斌 综述 甄海宁 章翔 审校

(第四军医大学西京医院神经外科, 陕西 西安 710033)

【关键词】Notch 信号 中枢神经系统肿瘤 神经胶质瘤

【中图分类号】R739.4 【文献标识码】A

### 0 引言

Notch 信号是一个在进化过程中高度保守的信号通路,广泛存在于无脊椎动物和脊椎动物的多个物种之中。它通过细胞间相互作用的方式精确地调节着细胞的分化、增殖和凋亡,在生物体发育过程中决定着细胞的不同命运<sup>[1-5]</sup>。Notch 信号已成为近年来发育生物学、细胞生物学、免疫学、血液学以及肿瘤学等多个领域的研究热点之一,本文就该信号通路的组成及其在中枢神经系统肿瘤中的研究进展作一综述。

### 1 Notch 信号

20 世纪初期,遗传学家 Morgan 等<sup>[6]</sup>观察到果蝇的某种基因突变会导致其翅边缘产生锯齿样缺损(notches),因而将该基因命名为“Notch”。1983 年,Artavanis-Tsakonas 等<sup>[7-8]</sup>首次成功地克隆了 Notch 基因,随后人们对该基因的结构和生物学功能进行了大量研究。

1.1 Notch 受体 迄今为止,在人类共发现了 4 种 Notch 受体,即 Notch 1/TAN 1, Notch 2, Notch 3 和 Notch 4/int 3。Notch 受体属于 I 型膜蛋白,分子量约 300 kD,由细胞外亚基(Notch extracellular subunit, N<sup>EC</sup>)和跨膜亚基(Notch transmembrane subunit, N<sup>TM</sup>)组成,两个亚基之间通过 Ca<sup>2+</sup> 依赖的非共价键结合在一起形成异源二聚体。Notch 受体以单链前体的形式合成,在高尔基复合体内被 furin 样蛋白酶在其 S<sub>1</sub> 位点酶切为两条多肽链,即 N<sup>EC</sup> 和 N<sup>TM</sup>。N<sup>EC</sup> 包括一组串联排列的表皮生长因子样重复序列和 3 个 Lin-12/Notch 重复序列,其中表皮生长因子样重复序列与 Notch 受体和配体的相互作用有关,而 Lin-12/Notch 重复序列则介导了 N<sup>EC</sup> 和 N<sup>TM</sup> 之间 Ca<sup>2+</sup> 依赖的相互作用。N<sup>TM</sup> 包括跨膜区(transmembrane region)、RAM 序列(RBP-J $\kappa$ -associated molecule sequence)、锚蛋白重复序列(Ankyrin repeats)、核定位序列(nuclear localization sequence)、多聚谷氨酰胺序列(polyglutamine stretch)以及 PEST 序列(proline-glutamate-serine-threonine-rich sequence)<sup>[3]</sup>。其中 RAM 序列和锚蛋白重复序列是 Notch 受体与 DNA 结合蛋白 CBF-1(C promoter-binding factor-1),即 RBP-

J $\kappa$ (recombination signal binding protein-J $\kappa$ )相结合的区域,而 PEST 序列与 Notch 受体半衰期的调节密切相关。

1.2 Notch 配体 目前在人类共发现了 5 种 Notch 配体,即 Delta-like-1, Delta-like-3, Delta-like-4, Jagged-1 和 Jagged-2。Notch 配体又名 DSL 蛋白,DSL 是果蝇 Notch 配体 Delta、Serrate 和线虫 Notch 配体 Lag 2 三种同源体蛋白首字母的缩写。与受体相似,Notch 配体均为单次跨膜蛋白,胞外区包括一组串联排列的表皮生长因子样重复序列和 DSL 结构域<sup>[9]</sup>。DSL 结构域在配体家族中高度保守,是与 Notch 受体结合所必需的功能结构域。Notch 配体的胞内区较短,功能尚未阐明。

1.3 Notch 信号通路 Notch 配体与受体的结合是 Notch 信号激活的必要条件。两者结合后促使 N<sup>EC</sup> 与 N<sup>TM</sup> 发生解离,同时激活后续的两次酶切事件。首先,在 N<sup>TM</sup> 细胞膜外侧靠近细胞膜处,由 ADAM(a disintegrin and metalloprotease)金属蛋白酶家族的 ADAM10/Kuz(Kuzbanian)或 ADAM17/TACE(TNF- $\alpha$  converting enzyme)对其 S<sub>2</sub> 位点进行酶切,产生 C 端的酶切产物 NEXT(Notch extracellular truncation)。随后由早老素 1(Presenilin-1)或早老素 2(Presenilin-2),Pen-2, Aph1, Nicastrin 组成的  $\gamma$ -secretase 在细胞膜内部靠近胞浆侧的 S<sub>3</sub> 位点对 NEXT 进行酶切,从而释放了 Notch 受体真正的激活形式 NICD(Notch intracellular domain)。NICD 随即转位入细胞核发生核内应答。

经典的 Notch 信号通路又称为 CBF-1/RBP-J $\kappa$  依赖途径。CBF-1/RBP-J $\kappa$  为细胞核内组成型的转录抑制因子,是 CSL 转录因子家族的一员,CSL 一词为哺乳动物 CBF-1、果蝇 Su(H)(Suppressor of Hairless)和线虫 LAG-1 三个同源体蛋白首字母的缩写。CBF-1/RBP-J $\kappa$  能够特异性与 DNA 序列“CGTGG-GAA”相结合,并通过募集 SMRT 或 N-coR, SKIP, CIR, I 类/II 类组蛋白去乙酰化酶,SHARP, CtBP/CtIP 等蛋白形成“共抑制复合物(corepressor complex)”,抑制下游基因的转录。当 Notch 信号被激活后,NICD 通过 RAM 序列与 CBF-1/RBP-J $\kappa$  结合使“共抑制复合物”发生解离,并募集 SKIP, MAML1(在果蝇称之为 Mastermind)以及组蛋白乙酰转移酶 PCAF, GCN5 或 p300 等蛋白组成“共激活复合物(coactivator complex)”,从而激活下游靶基因的转录。另外,解离后的 N<sup>EC</sup> 与配体形成复合物,通过胞吞作用进入配体表达细胞,经过一系列的酶切反应后释放配体的胞内段。目前推测,配体胞内段可能也具有信号转导作用,但具体机制有待进一步研究<sup>[10]</sup>。

1.4 Notch 信号下游元件 激活的 Notch 信号是通过调节其下游元件发挥生物学效应的。Notch 信号下游元件主要是碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)转录抑制因子家族成员,其中包括 HES 1(hairy and enhancer of split 1), HES 5, HESR 1(HES-related 1), HESR 2 以及新近发现的 BLBP(brain lipid-binding protein)<sup>[4,11]</sup>。

### 2 Notch 信号与中枢神经系统发育

基于果蝇等模式生物的初步研究表明,Notch 信号能够通过放大并固化相邻细胞间的分子差异而影响细胞发育的命

收稿日期 2007-07-16; 接受日期 2007-09-30

通讯作者:章翔. Tel: (029) 84775323 Email: xzhang@fmmu.edu.cn

作者简介:李斌. 硕士生(导师章翔). Tel: (029) 84775330

Email: forangel@gmail.com

运,在多种生物体中枢神经系统发育过程中发挥着重要作用<sup>[5]</sup>。在果蝇胚胎发育的早期阶段,表达有 Ac-Sc( Achaete-Scute complex)和 atonal 两种原神经基因的外胚层细胞具有向神经系统和表皮分化的潜能。其中最先表达 Delta 配体的细胞通过细胞与细胞间的相互作用激活了受体表达细胞的 Notch 信号,从而抑制受体表达细胞中两种原神经基因的表达,使其失去了向神经系统分化潜能而向表皮分化。因此只有最先表达 Delta 配体的细胞才能最终向神经系统分化<sup>[12]</sup>。之后,Notch 信号继续发挥作用,使得向神经系统分化的细胞进一步分化成为中枢神经系统的神经母细胞(neuroblast),也称之为神经胶质母细胞(neuroglioblast),以及周围神经系统的感觉器官前体细胞(sensory organ precursor, SOP)。在神经母细胞的发育过程中,Notch 信号在不同的发育时间点上分别抑制了神经元和少突胶质细胞的分化,促进了放射状胶质细胞和星形胶质细胞的分化<sup>[4,12]</sup>。

**3 Notch 信号与中枢神经系统肿瘤** Notch 信号与肿瘤的关系最早发现于急性 T 淋巴细胞白血病,染色体易位 t(7;9)(q34;q34.3)使 9 号染色体上 Notch 1 基因的胞内段编码区与 7 号染色体上 T 细胞受体(T cell receptor, TCR) $\beta$  基因的增强子和启动子区融合,导致 Notch 信号组成型激活,引起了肿瘤的发生<sup>[13]</sup>。其后越来越多的研究证实 Notch 信号与肿瘤的关系密切。目前已发现 Notch 信号参与了人类多数实体肿瘤的发生发展,包括宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、乳腺癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌以及骨肉瘤、间皮瘤等<sup>[3]</sup>。但 Notch 信号在中枢神经系统肿瘤的研究相对较少,目前已证实 Notch 信号通路异常存在于髓母细胞瘤<sup>[14-16]</sup>、脑膜瘤<sup>[17]</sup>及胶质瘤<sup>[10,18,19]</sup>中。

Fan 等<sup>[14]</sup>发现 Notch 2 在髓母细胞瘤中呈高表达,而 Notch 1 很少表达或检测不到。在体外细胞实验及裸鼠皮下肿瘤模型中,激活的 Notch 2 能够促进髓母细胞瘤细胞的生长和增殖,而激活的 Notch 1 则抑制其生长和增殖。这提示 Notch 1 和 Notch 2 在髓母细胞瘤中可能具有相反的作用。Cuevas 等<sup>[17]</sup>发现在脑膜瘤中 Notch 1, Notch 2 及 Jagged 1 的表达均高于正常脑膜组织,其中 Notch 2 的表达较 Notch 1 的表达要高。应用  $\gamma$ -secretase 抑制剂阻断脑膜瘤细胞的 Notch 信号能够抑制脑膜瘤细胞的存活。因此认为 Notch 1 和/或 Notch 2 促进了脑膜瘤的形成,但两者的相互作用关系有待进一步研究。

Notch 信号的激活可能还参与了胶质瘤的发生过程。Purow 等<sup>[10]</sup>首次发现 Notch 1 在胶质瘤的表达明显高于正常脑组织,其中在 II、III 级星形细胞瘤和少突胶质细胞瘤的表达高于多形性胶质母细胞瘤,Delta-like 1 在少突胶质细胞瘤的表达高于正常脑组织,而在星形细胞瘤的表达与正常脑组织无明显差异。Jagged 1 在星形细胞瘤中的表达与正常脑组织相比有增高的趋势。抑制三者的表达能够促进胶质瘤细胞的凋亡,抑制其增殖和存活,还可延长颅内荷瘤裸鼠的生存期。该研究提示 Notch 1 及 Delta-like 1, Jagged 1 在胶质瘤生物学行为中发挥着重要作用。国内易海波等<sup>[19]</sup>发现胶质瘤标本中 Notch 1 在 mRNA 水平呈高表达,其中高度恶性胶质瘤(III ~

IV 级胶质瘤)的表达高于低度恶性胶质瘤(I ~ II 级胶质瘤),表明 Notch 1 的过表达可能与脑胶质瘤的发生发展有关。另有学者认为,Notch 信号的抑制可能参与了胶质瘤的发生发展,在正常胶质细胞演变成弥漫型星形细胞瘤(diffuse astrocytoma, DA)继而进展成为间变型星形细胞瘤(anaplastic astrocytoma, AA)及继发性多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)的过程中具有关键作用。Somasundaram 等<sup>[18]</sup>指出,与正常脑组织相比,在 DA、AA 及继发性 GBM 中 Delta-like 1, Jagged 1 的表达增高,ASCL 1( Achaete-scute complex-like 1)和 HES 6 的表达也增高,而 HES 1 的表达反而降低。因此推测在胶质瘤发生发展过程中,HES 6( HES 6 不属于 Notch 信号通路元件)可能抑制了 HES 1 对 ASCL 1 的转录抑制作用,使得 ASCL 1 的表达上调,之后 ASCL 1 激活 Delta-like 1, 高表达的 Delta-like 1 在内质网或高尔基体内与 Notch 受体形成细胞内异源复合物(intracellular heteromeric complexes),减少了细胞膜上 Notch 受体的表达,从而抑制了 Notch 信号的激活。正是这种“Notch 信号的抑制”为正常胶质细胞演变发展为胶质瘤提供了适宜的环境。而原发性 GBM 中 Delta-like 1, Jagged 1 及 HES 1 高表达,但并未发现 HES 6 和 ASCL 1 的表达增高。这可能是由于 Notch 信号在原发性 GBM 中处于激活状态。

#### 4 结论

Notch 信号转导机制具有高度保守性,是一个既简单又复杂的信号通路。由于信号转导过程中无需第二信使,使得信号放大的效率较低,但却增强了信号的特异性,减少了其他信号的干扰。Notch 信号的整个过程存在着复杂的调节机制,与其他通路之间存在着广泛的对话,因此其功能复杂而强大。

在中枢神经系统发育和中枢神经系统肿瘤中,Notch 信号的作用机制有着很多相似之处。因此通过对比两者的研究结果可能有助于加深对中枢神经系统肿瘤发生发展机制的理解。例如在中枢神经系统发育过程中,Notch 信号抑制少突胶质细胞前体细胞(oligodendrocyte precursor)向少突胶质细胞分化,而在少突胶质细胞瘤中 Notch 1 呈高表达,这提示 Notch 1 可能通过抑制少突胶质细胞的分化促进了肿瘤的形成。再者,Somasundaram 等发现在 DA, AA 及继发性 GBM 中 Delta-like 1 与 ASCL 1 表达均增高,这与外胚层细胞向神经系统分化的机制是类似的。

值得注意的是,Notch 信号在中枢神经系统肿瘤中的研究结果尚不完全一致。Purow 等<sup>[10]</sup>认为 Notch 1, Delta-like 1, Jagged 1 的表达促进了胶质瘤的存活和增殖,而 Somasundaram 等<sup>[18]</sup>则认为“Notch 信号的抑制”是胶质瘤发生发展的重要事件。此外,各组研究资料之间均有未涉及的相关内容,例如 Purow 等人没有检测 Notch 信号下游元件的表达;Somasundaram 等人没有检测 Notch 受体的表达;易海波等人的研究仅以恶性程度分组比较了 Notch 1 的表达,而未分亚型进行比较。因此,Notch 信号在中枢神经系统肿瘤发生和发展中的作用和机制尚有待更深入的研究。

## 【参考文献】

- [1] Ehebauer M, Hayward P, Martinez-Arias A. Notch signaling pathway [J]. *Sci STKE*, 2006, 2006(364):cm7.
- [2] Miele L, Golde T, Osborne B. Notch signaling in cancer [J]. *Curr Mol Med*, 2006, 6(8):905-918.
- [3] Miele L. Notch signaling [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(4):1074-1079.
- [4] Louvi A, Artavanis-Tsakonas S. Notch signalling in vertebrate neural development [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7(2):93-102.
- [5] Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development [J]. *Science*, 1999, 284(5415):770-776.
- [6] Mohr OL. Character Changes Caused by Mutation of an Entire Region of a Chromosome in *Drosophila* [J]. *Genetics*, 1919, 4(3):275-282.
- [7] Artavanis-Tsakonas S, Muskavitch MA, Yedvobnick B. Molecular cloning of Notch, a locus affecting neurogenesis in *Drosophila melanogaster* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1983, 80(7):1977-1981.
- [8] Wharton KA, Johansen KM, Xu T, et al. Nucleotide sequence from the neurogenic locus notch implies a gene product that shares homology with proteins containing EGF-like repeats [J]. *Cell*, 1985, 43(3 Pt 2):567-581.
- [9] Kopan R. Notch: a membrane-bound transcription factor [J]. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt 6):1095-1097.
- [10] Purow BW, Haque RM, Noel MW, et al. Expression of Notch-1 and its ligands, Delta-like-1 and Jagged-1, is critical for glioma cell survival and proliferation [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(6):2353-2363.
- [11] Anthony TE, Mason HA, Gridley T, et al. Brain lipid-binding protein is a direct target of Notch signaling in radial glial cells [J]. *Genes Dev*, 2005, 19(9):1028-1033.
- [12] Gaiano N, Fishell G. The role of notch in promoting glial and neural stem cell fates [J]. *Annu Rev Neurosci*, 2002, 25:471-490.
- [13] Ellisen LW, Bird J, West DC, et al. TAN-1, the human homolog of the *Drosophila* notch gene, is broken by chromosomal translocations in T lymphoblastic neoplasms [J]. *Cell*, 1991, 66(4):649-661.
- [14] Fan X, Mikolaenko I, Elhassan I, et al. Notch1 and Notch2 have opposite effects on embryonal brain tumor growth [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(21):7787-7793.
- [15] Hallahan AR, Pritchard JI, Hansen S, et al. The SmoA1 mouse model reveals that notch signaling is critical for the growth and survival of sonic hedgehog-induced medulloblastomas [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(21):7794-7800.
- [16] Yokota N, Mainprize TG, Taylor MD, et al. Identification of differentially expressed and developmentally regulated genes in medulloblastoma using suppression subtraction hybridization [J]. *Oncogene*, 2004, 23(19):3444-3453.
- [17] Cuevas IC, Slocum AL, Jun P, et al. Meningioma transcript profiles reveal deregulated Notch signaling pathway [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(12):5070-5075.
- [18] Somasundaram K, Reddy SP, Vinnakota K, et al. Upregulation of ASCL1 and inhibition of Notch signaling pathway characterize progressive astrocytoma [J]. *Oncogene*, 2005, 24(47):7073-7083.
- [19] 易海波, 石松生, 杨卫忠, 等. Notch-1 基因在人脑胶质瘤中的表达及其意义 [J]. *肿瘤防治研究*, 2006, 33(10):701-703.
- [20] 易海波, 石松生, 杨卫忠. Notch 信号通路与脑肿瘤 [J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2005, 32(6):566-569.
- [21] 鲁苗壮, 王立生, 吴祖泽. Notch 信号通路研究进展 [J]. *生理科学进展*, 2004, 35(2):135-138.

编辑 王雪萍

· 综述 · 文章编号 1000-2790(2008)02-0186-04

## 骨保护素/核激活因子受体配体/核激活因子受体(OPG/RANKL/RANK)系统与人工关节置换术后的假体周围骨溶解

孔令攀<sup>1</sup> 朱庆生<sup>2</sup>

(第四军医大学西京医院骨科, 陕西 西安 710033)

【摘要】人工关节置换术的推广和发展使得多种关节终末期疾病所致的病变获得了良好的临床改善,但术后假体周围骨质溶解这一问题却影响了人工关节远期疗效。长期的研究发现破骨细胞是骨溶解主要原因,而近年研究发现的 OPG/RANKL/RANK 系统是破骨细胞分化过程中的一个重要信号

收稿日期 2007-10-18; 接受日期 2007-11-28

作者简介:孔令攀, 硕士生(导师朱庆生)。Tel:(029)84774390

Email: empyrealkon@gmail.com

传导通路,且体内多种激素或因子通过影响骨髓微环境内的 OPG/RANKL 比率来调节骨代谢。为了给人工关节置换术后骨溶解所致的并发症的防治开辟新的思维,我们综述了 OPG/RANKL/RANK 系统及其调控破骨细胞生成、分化对假体周围骨溶解的作用机制。

【关键词】骨保护素;核因子  $\kappa$ B 受体活化因子配体;核因子  $\kappa$ B 受体活化因子;骨溶解

【中图分类号】R683 【文献标识码】A

## 0 引言

随着人工关节置换术的不断普及,人工关节置换术是治疗包括髋、膝关节等严重的关节终末期疾病的重要手段,并取得了令人满意的临床疗效,且随着组织工程学、材料学的发展和假体工艺的不断改进,术后感染、假体折断等并发症已减少,是患者重返正常生活的主要手术方式。然而目前在全世界每年超过一百万接受过人工关节置换术后的患者中,行翻修术者却达到了 20%<sup>[1]</sup>。其中原因包括:人工关节机械性不稳定、疼痛复发、人工关节失败等诸多因素,但人工假体周围骨溶解引起的假体无菌性松动仍然是影响人工关节远期疗效的主要原因。目前多数学者认为假体周围破骨细胞性骨溶解