

Notch 信号通路在胃肠道肿瘤机制研究中的新进展

傅涛, 李佳欢, 蔡逊

(广州军区武汉总医院, 湖北 武汉 430070)

摘要: Notch 信号通路是一条进化上十分保守的信号转导系统, 它对细胞的增殖、分化、凋亡过程的生物学行为进行调控, 而且在胚胎发育阶段和成熟组织的自我更新过程中对维持干细胞的稳定有着重要作用。在不同组织微环境中 Notch 信号的紊乱与机体多种肿瘤的发生有关。胃肠道肿瘤是威胁人类健康的重大疾病之一, 进一步了解其发病分子机制, 有助于分子治疗靶向药物的研发。现将 Notch 信号在胃肠道肿瘤机制中作用的新发现作一综述。

主题词: Notch 信号; 胃肿瘤; 结直肠癌; 分子机制

中图分类号: R735 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2015)10-0852-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2015.10.B015

Progress in Notch-mediated Signaling Pathway in Gastrointestinal Cancer

FU Tao, LI Jia-huan, CAI Xun

(Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Area Command, Wuhan 430070, China)

Abstract: The Notch system is an evolutionarily conserved signaling pathway that regulates many cellular processes, including stem cell maintenance, proliferation, differentiation and apoptosis. Aberrant Notch signaling has been implicated in several tumors, where Notch can act both as an oncogene or a tumor-suppressor gene, depending on the context. Gastrointestinal cancer is an important global health problem. Therefore, a better understanding of the molecular alterations underlying gastrointestinal cancer may contribute to the development of rationally designed molecular targeted therapies. This article reviews what is currently known about the Notch signaling, focusing first on the activation and modulation of this system, then on its role in gastrointestinal cancers.

Subject words: Notch signaling; gastric neoplasms; colorectal neoplasms; molecule mechanism

20 世纪 80 年代中期, Notch 最早被 Artavanis-Tsakona^[1]研究小组从果蝇中克隆, 在 1991 年 Notch1 首次被揭示在 T 细胞急性淋巴细胞白血病 (T cell acute lymphocytic leukemia, T-ALL) 被激活^[2]。通过研究逐渐发现, Notch 信号的效应依赖于细胞的微环境, 既可是致癌基因角色, 亦可扮演抑癌基因角色^[3]。有研究指出, Notch 信号在胃癌和结直肠癌的发病机制中起着重要的作用, 在胃癌组织中, 已证实 Notch 配体 DLL1 激活了 Notch1 信号通路, 而 Notch1 的抑制则与低分化淋巴瘤型胃癌有着密切

关系。最近的数据显示, 与胃癌不同, 结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 细胞系中, DLL1 的表达不被启动子的甲基化所调节, 而且 Notch1 受体不受任何突变的影响, 这些数据显示在胃癌和结直肠癌中 Notch1 信号有不同的调节作用。我们现将近来针对 Notch 信号在胃肠道肿瘤的激活及调控作用作一综述。

1 Notch 信号的途径及其调节

在哺乳动物中, 存在有 4 个 Notch 受体 (Notch1~4), 5 种配体即 Jagged 家族 (Jagged1, 2), Delta-like 家族 (DLL1, DLL3, DLL4)。当细胞膜上的

基金项目: 武汉总医院青年基金项目 (YZ201534)

通讯作者: 蔡逊, 主任医师, 博士; 广州军区武汉总医院普外科, 湖北省武汉市武昌路 627 号 (430070); E-mail: caiwenqian@sina.com

收稿日期: 2014-09-11; **修回日期:** 2014-10-10

Notch 配体与相邻细胞细胞膜上的 Notch 受体相结合后,Notch 信号即被激活。受体与配体相互结合后,启动连续两次蛋白水解,引起 Notch 受体构象发生变化。第一次水解是由 ADAM 家族的金属蛋白酶调节,剪切掉跨 Notch 受体膜区域外端的 12~13 个氨基酸序列(在 S2 位点),胞外结构域脱落后,启动由多蛋白复合体 γ -secretase 分泌酶所介导的跨膜区域的第二次裂解(在 S3 位点),使得 Notch 受体胞内段(Notch intracellular-domain, NICD)释放于胞浆,然后被转移至胞核,在细胞核内 Notch 作用于靶基因,激活转录。NICD 结合于转录抑制子 CSL(如 CBF-1 或 RBP-jk),将其转换为转录激活因子,并招募其他共激活物,包括 MAML1~3,以及组蛋白乙酰转移酶 P300^[4],并顺次募集 MED8-介导的转录激活复合物,从而引起下游靶基因的转录表达。而 Notch 作用的靶基因包括 HES、Hesrp/Hes 家族,细胞周期调节蛋白 cyclin D1、p21、c-Myc 和 Deltex。譬如,在消化道,Hes1 对 Math1/HATH1 的抑制起着重要的调节作用^[5]。Notch 信号通路受多阶段调节, γ -secretase 分泌酶抑制剂(GSI)可以通过抑制受体与配体结合后的第二次跨膜区域裂解,从而阻断 Notch 通路的信号转导。

MicroRNA 以及翻译后的修饰如:磷酸化、泛素化、糖基化、岩藻糖基化,可在不同水平阶段对 Notch 信号进行调节。NICD 丝氨酸残基的糖基化,使得 NICD/Su(H)构象发生变化,引起 Notch 信号胞内段活化。Notch 信号活化后很快被 E3 泛素连接酶进行蛋白降解而失活^[6]。EGF 样重复序列的糖基化使得 Jagged 配体与受体的结合受到抑制,而使 DLL 激活 Notch 信号的途径得到保护^[7]。

2 Notch 信号在肿瘤生成过程中的作用

在不同组织微环境中 Notch 信号的紊乱影响到对致癌基因或抑癌基因的调控,与机体多种肿瘤的发生有关^[8]。Notch 信号的紊乱是许多肿瘤及其细胞微环境的特征,Notch 信号的作用即可作为致癌基因,也作为抑癌基因。譬如,在急性 T 淋巴细胞白血病(T cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)、乳腺癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌以及结直肠癌中,Notch 信号起着致癌基因的作用,而相反地,在皮肤、胰腺上皮细胞中,Notch 信号起着肿瘤抑制基因的作用^[9,10],

而对于肝癌细胞,在不同的微环境中,Notch 信号通路既可作为致癌基因,又可作为抑癌基因,其作用机制有待进一步研究。

最近有研究报道,将人源性卵巢肿瘤接种至小鼠体内,通过 γ -secretase 抑制剂(GSI)阻断 Notch 信号可以观察到其降低了小鼠体内肿瘤生长速度^[11]。

3 Notch 信号对胃肠道细胞分化的影响

在肠道的内稳态环境中,对维持前体分化干细胞稳定,以及涉及决定细胞分化为分泌细胞系或是吸收细胞系的过程中 Notch 信号起着重要的作用^[12-14]。在基因敲除 HES1(HES1^{-/-})的小鼠体内发现,肠上皮细胞中肠内分泌细胞系增多。相反的表现,吸收细胞系的增多则在 Math 敲除(Math^{-/-})的小鼠中表现出来^[15,16]。因而,过表达 Math1 促使肠上皮细胞因分泌样化生而消失^[17]。更为重要的,通过 γ 分泌酶(γ -secretase),或者通过 Math1 敲除(Math1^{-/-})的转基因小鼠致使 RBP-jk 的缺失从而导致 Notch 信号阻断,可以导致杯状上皮细胞的化生,因此提示 Notch 信号可通过对 Math1 的抑制进而阻止分泌细胞的分化^[18-20]。除 Math1 外,其他蛋白亦参与肠上皮细胞向分泌细胞、潘氏细胞、杯状细胞的分化选择。特别是,神经源素(Neurogenin 3)对于肠内分泌细胞分化是重要的^[21,22],Klf4 (Kruppel-like factor 4) 和 Spdef(SAM pointed domain containing Ets transcription factor)对杯状细胞的分化是必需的^[23,24],而 Sox9 则对潘氏细胞的分化是必需的^[25,26]。生长独立因子(growth factor independent 1, GFI1)在潘氏细胞和杯状细胞上均有表达。

在 Notch 的 5 个配体中,DLL1 是肠隐窝上皮细胞中 Notch1 最重要的配体,缺少 DLL1 将导致杯状细胞的增多^[27]。

4 Notch 信号对胃肠道肿瘤形成可能的机制

4.1 Delta-like 家族对胃肠道肿瘤形成的可能作用

DLL1 是 Notch 信号转导途径的配体之一。有研究证实,在胃癌细胞系中,DLL1 的表达是通过其启动子的超甲基化来调节的^[28]。在 KATO III、SNU601、

SNU719、AGS 等胃癌细胞系中通过测序发现高浓度的启动子甲基化导致 DLL1 的不表达, 以及在 SNU16、MKN1、MKN45、TMK1 胃癌细胞系中有 DLL1 的表达而没有启动子的甲基化。在 SNU719 胃癌细胞系中, 激活 DLL1, 或者在 SNU601 胃癌细胞系中过表达 DLL1, 都可导致 Notch 信号的活化, 引起下游分子信号 HES1 的上调以及 HATH1 的下调。Piazzi 等^[28]通过对 52 例原发性胃癌样本分析证实, DLL1 启动子的超甲基化与胃癌的组织分型有着密切的关系, DLL1 启动子超甲基化与弥漫性组织分型胃癌有着相关性。同样, 在小鼠胃肠肿瘤模型中, DLL1-Notch1 级联信号影响着胃癌的组织分型, 并证实 DLL1 的 mRNA 在机体广泛表达而其启动子并没有甲基化。

在 RKO、LOVO、HT29、HCT116 和 SW480 结直肠癌细胞系中发现, DLL1 都是表达的, 并且启动子都没有被甲基化。因而提示, 在胃癌和结直肠癌中 Notch 信号的调节机制是不一样的。

在 43 例肠型胃癌患者中, DLL1 的表达与 HES1 是一致的, 而 HATH1 的表达与组织类型为弥漫型及混合型的胃癌相关的。在另外 52 例临床胃癌患者中, DLL1 启动子甲基化引起的 DLL1 的不表达与弥漫型胃癌组织分型是有关联的。由此提示, Notch1 信号的活化可以阻止弥漫型胃癌的分化。但只在 50% 弥漫型胃癌病例中发现 DLL1 的甲基化, 并且有着 HATH1 的高表达, 提示 DLL1 的表达只是受到甲基化的部分调节, 以及 HATH1 的表达调节存在有独立于传统 Notch1 信号之外的信号传递^[29]。

对 180 例胃癌患者样本检测发现, DLL4 在恶性肿瘤组织和正常间质组织中有着明显的表达差异, 提示抗-DLL4 有可能成为胃癌治疗的有效手段^[30]。

4.2 Notch1 信号对胃肠道肿瘤形成的可能作用

体外细胞实验提示, 将胃癌细胞与 γ -secretase 抑制剂 DAPT 共培养, 阻断 Notch1 信号通路, 胃癌细胞的生长、侵袭、转移以及分化能力得到抑制^[31]。

胃肠道存在着一个复杂的信号传递网络, 除了 Notch, 还有其他的途径, 例如 Wnt、Bmp 以及 Hedgehog。例如, 在结直肠癌细胞中, 激活 Wnt/ β -catenin 通路可引起 HATH1 降解^[32-34], 而激活 Notch1 信号将会通过染色质修饰下调 Wnt/ β -catenin 的靶基因^[35]。有相关研究报道, 激活 Notch1 信号会抑制 BGC-823

胃癌细胞的增殖, 而激活 Wnt/ β -catenin 通路将促进 BGC-823 胃癌细胞的增殖, 同时激活 Notch1 和 Wnt/ β -catenin 通路仍会促进 BGC-823 胃癌细胞的增殖, 提示 Wnt/ β -catenin 通路促增殖作用占据优势地位^[36]。

活化 Notch1 信号后, 有可能通过 COX-2 促进胃癌发展。SC-MI 胃癌细胞 Notch1 信号活化后, 其增殖、侵袭、转移能力得到提高, 而应用 COX-2 抑制剂 NS-398 或将 COX-2 基因敲除后, SC-MI 胃癌细胞的上述能力受到减弱。给予了外源性的 COX-2 或者前列腺素 PGE2, 其能力又得到恢复^[37,38]。

随着技术的发展, 通过 micro-RNA 对 Notch 受体的调节将可能成为治疗胃肠道肿瘤的新手段。有研究显示, 在 Kato III 胃癌细胞中重建表达 miR-34 可以下调靶基因如 Notch、Bcl-2 以及 HMGA2 的表达, miR-34a 已被证明可以介导细胞的凋亡^[39,40]。

5 小 结

Notch 与胃肠道肿瘤也即胃癌和结直肠癌的发病机制有着密切相关。在细胞的分化进程中, Notch 的致癌作用有着细胞类型的特异性以及环境的依赖性。在有的组织中, Notch 信号可以抑制其向恶性转化, 而在有的组织中则促进恶变。对比分析生理和病理条件下特别是恶性转化情形下 Notch 信号的调节通路。从临床意义来说, 在有可能癌变的临床病人中给予阻断 Notch1 信号, 有可能预防或阻止胃癌的发生, 或者在胃癌患者中给予过表达 miR-34, 是否可成为胃癌治疗的新手段等, 这些研究进展将很有可能提供新的治疗策略。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] Koch U, Radtke F. Notch and cancer: a double-edged sword [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(21):2746-2762.
- [4] Kopan R, Ilgan MX. The canonical Notch signaling pathway: unfolding the activation mechanism [J]. *Cell*, 2009, 137(2):216-233.
- [5] Jensen J, Pedersen EE, Galante P, et al. Control of endodermal endocrine development by Hes-1 [J]. *Nat Genet*, 2000, 24(1):36-44.

- [6] Lai EC. Protein degradation: four E3s for the notch pathway [J]. *Curr Biol*, 2002, 12(2): R74–R78.
- [7] Haines N, Irvine KD. Glycosylation regulates Notch signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(10): 786–797.
- [8] Borggrefe T, Liefke R. Fine-tuning of the intracellular canonical Notch signaling pathway [J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(2): 264–276.
- [9] Ranganathan P, Weaver KL, Capobianco AJ. Notch signalling in solid tumours: a little bit of everything but not all the time [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(5): 338–351.
- [10] Lobry C, Oh P, Aifantis I. Oncogenic and tumor suppressor functions of Notch in cancer: it's Notch what you think [J]. *Exp Med*, 2011, 208(10): 1931–1935.
- [11] Groeneweg JW, DiGloria CM, Yuan J, et al. Inhibition of notch signaling in combination with paclitaxel reduces platinum-resistant ovarian tumor growth [J]. *Front Oncol*, 2014, 7(4): 171.
- [12] Fre S, Pallavi SK, Huyghe M, et al. Notch and Wnt signals cooperatively control cell proliferation and tumorigenesis in the intestine [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(15): 6309–6314.
- [13] van Es JH, van Gijn ME, Riccio O, et al. Notch/gamma-secretase inhibition turns proliferative cells in intestinal crypts and adenomas into goblet cells [J]. *Nature*, 2005, 435(7044): 959–963.
- [14] VanDussen KL, Carulli AJ, Keeley TM, et al. Notch signaling modulates proliferation and differentiation of intestinal crypt base columnar stem cells [J]. *Development*, 2012, 139(3): 488–497.
- [15] Yang Q, Bermingham NA, Finegold MJ, et al. Requirement of Math1 for secretory cell lineage commitment in the mouse intestine [J]. *Science*, 2001, 294(5549): 2155–2158.
- [16] Shroyer NF, Helmrath MA, Wang VY, et al. Intestine-specific ablation of mouse atonal homolog 1 (Math1) reveals a role in cellular homeostasis [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(7): 2478–2488.
- [17] VanDussen KL, Samuelson LC. Mouse atonal homolog 1 directs intestinal progenitors to secretory cell rather than absorptive cell fate [J]. *Dev Biol*, 2010, 346(2): 215–223.
- [18] Kazanjian A, Noah T, Brown D, et al. Atonal homolog 1 is required for growth and differentiation effects of notch/gamma-secretase inhibitors on normal and cancerous intestinal epithelial cells [J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(3): 918–928, 928, e1–e6.
- [19] van Es JH, de Geest N, van de Born M, et al. Intestinal stem cells lacking the Math1 tumour suppressor are refractory to Notch inhibitors [J]. *Nat Commun*, 2010, 1(2): 1–5.
- [20] Kim TH, Shivdasani RA. Genetic evidence that intestinal Notch functions vary regionally and operate through a common mechanism of Math1 repression [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(13): 11427–11433.
- [21] Jenny M, Uhl C, Roche C, et al. Neurogenin3 is differentially required for endocrine cell fate specification in the intestinal and gastric epithelium [J]. *EMBO J*, 2002, 21(23): 6338–6347.
- [22] Mellitzer G, Beucher A, Lobstein V, et al. Loss of enteroendocrine cells in mice alters lipid absorption and glucose homeostasis and impairs postnatal survival [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(5): 1708–1721.
- [23] Katz JP, Perreault N, Goldstein BG, et al. The zinc-finger transcription factor Klf4 is required for terminal differentiation of goblet cells in the colon [J]. *Development*, 2002, 129(11): 2619–2628.
- [24] Noah TK, Kazanjian A, Whitsett J, et al. SAM pointed domain ETS factor (SPDEF) regulates terminal differentiation and maturation of intestinal goblet cells [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316(3): 452–465.
- [25] Mori-Akiyama Y, van den Born M, van Es JH, et al. SOX9 is required for the differentiation of paneth cells in the intestinal epithelium [J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(12): 539–546.
- [26] Bastide P, Darido C, Pannequin J, et al. Sox9 regulates cell proliferation and is required for Paneth cell differentiation in the intestinal epithelium [J]. *J Cell Biol*, 2007, 178(4): 635–648.
- [27] Pellegrinet L, Rodilla V, Liu Z, et al. Dll1- and dll4-mediated notch signaling are required for homeostasis of intestinal stem cells [J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(4): 1230–1240.
- [28] Piazza G, Fini L, Selgrad M, et al. Epigenetic regulation of Delta-Like1 controls Notch1 activation in gastric cancer [J]. *Oncotarget*, 2011, 2(12): 1291–1301.
- [29] Piazza G, Bazzoli F, Ricciardiello L. Epigenetic silencing of Notch signaling in gastrointestinal cancers [J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(23): 4323–4327.
- [30] Ishigami S, Arigami T, Uenosono Y, et al. Clinical implications of DLL4 expression in gastric cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2013, 32(1): 46.
- [31] Li LC, Peng Y, Liu YM, et al. Gastric cancer cell growth and epithelial-mesenchymal transition are inhibited by γ -secretase inhibitor DAPT [J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(6): 2160–2164.
- [32] Peignon G, Durand A, Cacheux W, et al. Complex interplay between β -catenin signalling and Notch effectors in intestinal tumorigenesis [J]. *Gut*, 2011, 60(2): 166–176.
- [33] Tsuchiya K, Nakamura T, Okamoto R, et al. Reciprocal targeting of Math1 and beta-catenin by Wnt glycogen synthase kinase 3 β in human colon cancer [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(1): 208–220.
- [34] Aragaki M, Tsuchiya K, Okamoto R, et al. Proteasomal degradation of Atoh1 by aberrant Wnt signaling maintains the undifferentiated state of colon cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(4): 923–929.
- [35] Kim HA, Koo BK, Cho JH, et al. Notch1 counteracts WNT/ β -catenin signaling through chromatin modification in colorectal cancer [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(9): 3248–3259.
- [36] Li H, Mo J, Jia G, et al. Activation of Wnt signaling inhibits the pro-apoptotic role of Notch in gastric cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(6): 1751–1756.
- [37] Yeh TS, Wu CW, Hsu KW, et al. The activated Notch1 signal pathway is associated with gastric cancer progression through cyclooxygenase-2 [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(12): 5039–5048.
- [38] Mao XY, Wang XG, Lu XL, et al. COX-2 expression in gastric cancer and its relationship with angiogenesis using tissue microarray [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(25): 3466–3471.
- [39] Ji Q, Hao X, Meng Y, et al. Restoration of tumor suppressor miR-34 inhibits human p53-mutant gastric cancer tumourspheres [J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 266–278.
- [40] Wang Z, Li Y, Sarkar FH. Notch signaling proteins: legitimate target for cancer therapy [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2010, 11: 398–408.