

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00975

## Notch 信号通路与肿瘤的关系

刘 健,王 葵,沈 锋\*

第二军医大学东方肝胆外科医院综合一科,上海 200438

**[摘要]** Notch 信号转导通路对于细胞的生长发育具有广泛影响,主要是通过调控细胞的分化、增殖和凋亡影响正常生长。Notch 信号通路与其他肿瘤发生、发展的关键性通路相互作用。其与肿瘤的相关性最先在由点突变或染色体易位引起的 T 细胞白血病中确立。随着研究的深入,大量实验证明 Notch 信号通路的活性变化与其他肿瘤的发生、发展也有密切的关系,如皮肤癌、肝癌、脑肿瘤和乳腺癌等。Notch 信号通路对一些肿瘤(如脑肿瘤和乳腺癌)起促癌作用,对另外一些(如皮肤癌和肝癌)则体现为抑癌作用,并且与肿瘤干细胞关系密切。另外,Notch 信号通路在同一肿瘤的不同类型或不同发展阶段起的作用也可能不同。

**[关键词]** Notch;肿瘤干细胞;癌基因;抑癌基因

**[中图分类号]** R 730.231 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)08-0975-04

### Notch signal pathway and tumor

LIU Jian, WANG Kui, SHEN Feng\*

The First Comprehensive Treatment Department, Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

**[ABSTRACT]** Notch signal pathway has extensive influence on the growth and development of cells through modulating cell differentiation, proliferation and apoptosis. It also interacts with the key pathways of tumor formation and progression. Its relationship with tumor is initially established through T cell leukemia induced by mismatch or chromosome translocation. Increasing evidence showed that Notch pathway is associated with the formation and progression of the other types of tumor, such as skin cancer, liver cancer, brain tumors and breast cancers. Notch signal pathway has promoting effect on some tumors (such as brain tumors and breast cancer) and inhibitory effect on others (such as skin cancer and liver cancer). Close relationship was found between Notch pathway and tumor stem cells. Moreover, it may have different functions for different subtypes and different stages of one tumor.

**[KEY WORDS]** Notch; Tumor stem cell; oncogene; tumor suppress gene

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(8):975-978]

20 世纪 80 年代中期一种可引起果蝇翅膀残缺的跨膜受体基因被克隆出来,并被命名为 Notch 受体。研究发现包括哺乳动物在内的很多生物都能表达这种受体,Notch 信号通路与细胞的分化、增殖、凋亡、黏附及表皮细胞向间充质细胞的转化有密切联系<sup>[1]</sup>。

### 1 Notch 信号通路简介

1.1 Notch 信号通路的组成和结构 哺乳动物共有 4 个 Notch 受体,即 Notch1、2、3、4,分为胞外区、胞内区和跨膜区(transmembrane)。胞外区由数量可变的表皮生长因子(EGF)样结构(epidermal growth factor like repeats,与稳定配体结合相关)和 3 个 LNR(Lin-12/Notch repeats,与 Notch

的异二聚体形成相关)组成,可与相应配体结合并激活 Notch 信号通路;胞内区由 RAM 结构(high affinity CSL-binding site,结合下游信号蛋白)、6 个 cdc10/ankyrin(cell division cycle gene 10,调节下游信号转导)、NLS(nuclear localization signals)和 PEST(proline-glutamate-serine-threonine-rich region,与 Notch 蛋白的降解有关)组成。在哺乳动物中,Notch 信号转导通路有 5 个配体,分别为 Jagged1、Jagged2 和 Delta-like1、Delta-like3、Delta-like4<sup>[2]</sup>。

1.2 Notch 信号通路的转导途径和激活机制 合成的 Notch 首先从高尔基体转运到细胞膜上,被 furin 样转化酶切割成 2 个片段(S1 切割):一个包括绝大部分胞外结构,另一个包括剩余的胞外结构和全部胞内结构<sup>[2]</sup>。LNR 跨膜区

**[收稿日期]** 2008-01-05 **[接受日期]** 2008-06-25

**[作者简介]** 刘 健,博士生。E-mail:hopelessjian@yahoo.com.cn

\* 通讯作者(Corresponding author)。Tel:021-25070805,E-mail:shenfengDFGD@yahoo.com.cn

通过二硫键形成异二聚体,作为成熟的 Notch 受体,相邻 2 个细胞的受体和配体结合,EGF 样结构起稳定结合的作用(与钙离子浓度有关)<sup>[3]</sup>,引起 Notch 受体细胞外结构的改变,导致受体细胞外 S2 切割位点的暴露,然后通过 ADAM(a disintegrin and metalloprotease)家族的 TACE (TNF- $\alpha$  converting enzyme) 或 Kuz (Kuzbanian) 酶切,释放胞外段,这一过程使得 S3 切割位点被由 presenilin1、2、nicastrin、Pen-2、Aph-1 组成的 gamma-secretase 复合体催化<sup>[4-5]</sup>。最终释放 Notch 受体胞内区(NICD)进入细胞核,其中 RAM 区结合 CSL 蛋白(CBF1 in humans, suppressor of hairless in *Drosophila* and LAG in *C. elegans*, 没有与 NICD 结合时,CSL 与 Notch 信号转导通路的靶基因的启动序列结合抑制转录)。当 Notch 通路激活后,NICD 结合 CSL 并与 MAML(mastermind-like)结合成三聚体,此三聚体的直接靶基因 HES 和 HRT 都是有碱性螺旋环螺旋(basic helix loop helix, bHLH)结构的转录抑制因子<sup>[6]</sup>。MAML 募集组蛋白乙酰转移酶、P300/CBP 等乙酰化组蛋白的因子,最后使三聚体成为转录激活因子而激活基因转录。

Notch 信号转导通路除了 CSL 依赖途径外,还有 CSL 非依赖途径<sup>[7]</sup>。可转递 CSL 非依赖的 Notch 信号的介导子(mediators)目前还知之甚少,可能 CSL 非依赖的信号转导途径也不止 1 个。CSL 非依赖的信号有时仅仅表现在 NICD 与非 CSL 家族成员的其他转录因子相互作用;有时表现在 Notch 与细胞内其他蛋白相互作用,这种作用不影响基因表达而是改变目的蛋白的功能。在另外一些情况下,Notch 不释放 NICD 就可以介导一些生物学功能。

## 2 Notch 通路和肿瘤

最早认为,Notch 信号通路的功能是维持细胞的未分化状态,使细胞对诱导分化信息的反应变得容易,研究证明它能够抑制 T 细胞等血细胞的分化。进一步的研究表明 Notch 信号通路的功能远不止这些,Notch 信号通路通过调控细胞的分化、增殖和凋亡从而影响正常组织和细胞生长、发育和疾病发生的很多关键环节,不同种类细胞中的 Notch 通路能阻止或促进细胞的分化,并且在肿瘤干细胞向肿瘤发展的过程中也发挥重要作用,如 van Es 等发现在肠道中 Notch 通路被激活后肿瘤干细胞活性才能增加并形成肠道肿瘤<sup>[8-9]</sup>。据文献<sup>[10]</sup>报道 Notch 是通过 Akt、P38、STAT3 等基本信号通路调节干细胞增殖的。Notch 和肿瘤的关系最先是在 T 细胞白血病中发现的:由点突变或者染色体易位 t(7;9)(q34;q34.3)引起的 T 细胞白血病中,Notch 通路都是持续活化的<sup>[11]</sup>。随后的研究表明,许多肿瘤都与 Notch 信号通路活性的改变有关,本文仅列举皮肤癌、肝癌、脑肿瘤、乳腺癌以说明 Notch 信号通路在肿瘤的发生、发展中所发挥的作用。

2.1 Notch 通路和皮肤肿瘤 研究发现 Notch1、CSL、presenilin 1 和 presenilin 2 的缺失会使表皮细胞增殖,并使一些

化学致癌物容易诱导产生皮肤癌,而 P21 表达降低只能部分解释这种现象,因为 P21 缺失的转基因小鼠对化学致癌物相对更敏感<sup>[12]</sup>。随着研究的深入,研究者发现 Notch1 缺失后皮肤自发地发展为血管丰富的、类似于基底细胞癌的肿瘤<sup>[13]</sup>。这种类型的肿瘤常和 Shh(sonic hedgehog)信号紊乱有关,并且 Shh 信号下游的 Gli2 表达也出现紊乱<sup>[14]</sup>。与此相对应的是,人类基底细胞癌中 Notch1、Notch2、Jagged1 表达下降,导致了 Shh 信号紊乱,从而引起基底细胞癌<sup>[15]</sup>。Notch 还能引起 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号转导调节失控,Notch1 缺失会引起  $\beta$ -catenin 信号表达上调,而 Notch1 信号增强会引起  $\beta$ -catenin 信号表达下调,这部分也是通过 P21 起作用的<sup>[16]</sup>。Lefort 等<sup>[17]</sup>发现 Notch1 是 P53 的靶基因,通过下调 Rho 的效应基因 ROCK1/2 和 MRCK alpha 发挥抑癌基因的作用。所有这些都提示 Notch 在皮肤癌中起抑癌基因的作用。Notch 信号通路也通过调节肿瘤干细胞的生长而形成肿瘤。在黑素瘤中,Notch4 与表达 CD133 和 ABCG2 的肿瘤干细胞相互作用,促进肿瘤干细胞形成黑素瘤<sup>[18]</sup>。

2.2 Notch 通路和肝癌 Croquelois 等<sup>[19]</sup>在 Alagille 综合征小鼠研究 Notch 在胆管形成中的作用时,意外发现 Notch1 表达缺失的小鼠体内肝细胞持续增殖、形成结节,但不会引起肝内胆管的缺失,也不影响肝脏内血管的形成。在瞬时转染 Notch 的 SMMC-ICD7721 细胞中,cyclinA、cyclinD1、cyclinE、CDK2、磷酸化 Rb 的表达均明显降低,P21 表达明显增高,P53 表达增高 12 倍,JNK 信号的活性增强,抗凋亡的 Bcl-2 基因几乎不表达,提示 Notch 通过作用于细胞内的多条信号转导通路而抑制肝癌细胞的增殖和促进凋亡<sup>[20]</sup>。但也有相反结果的报道,如 Cantarini 等<sup>[21]</sup>认为 Notch 表达增高时,肝癌细胞(Hu7)的增殖和侵袭能力增强,在此过程中 Notch 起原癌基因的作用,可能是 Notch 的作用与细胞的种类有关,即同一种 Notch 受体在相同组织但不同类型细胞中的作用不同。Notch 受体的配体 Jagged1 在肝癌中表达明显升高,表达量与 HBx 相似,它们之间的相互作用可能是肝癌发生的原因之一;Delta-like 1 在肝癌组织中表达比正常组织中高,Delta-like 1 表达升高时肝癌的增殖能力升高,下降时肝癌细胞的增殖能力降低<sup>[22-23]</sup>。

2.3 Notch 通路和脑肿瘤 Notch 在脑肿瘤中作用的多样性、复杂性与组织类型和分化程度密切相关,Purow 等<sup>[24]</sup>的研究表明,Notch1 及其配体 Delta-like1、Jagged1 在 6 种人脑胶质瘤细胞系和原发性人脑胶质瘤中均呈过度表达。另外,他们还评价了 Notch1 在原发性人脑胶质瘤和非肿瘤性人脑皮质的表达,结果显示绝大多数 II 级和 III 级胶质瘤中 Notch1 蛋白有中到高水平表达,而 IV 级胶质瘤中 Notch1 蛋白表达很弱或检测不出。同时他们还利用 RNAi 技术诱导了胶质瘤细胞凋亡和增殖抑制。还有实验表明脑肿瘤中 Musashill 表达升高,从而抑制 Numb 表达,后者再进一步抑制 Notch1 表达,所以 Numb 下调会引起 Notch1 活性的增高<sup>[25]</sup>。Fan 等<sup>[26]</sup>研究发现,在髓母细胞瘤中 Notch2 呈高表

达,而 Notch1 表达较低,并且 Notch1 和 Notch2 对髓母细胞瘤的作用正好相反,Notch1 抑制髓母细胞瘤的生长,Notch2 则促进。Notch2 通过 HES1 起作用,而 Notch1 不是,HES1 表达高的患者生存时间明显比 HES1 表达低的时间短。Fan 等<sup>[26]</sup>研究还发现,Notch2 持续高表达使髓母细胞瘤中肿瘤干细胞数量增加 3 倍以上,而抑制 Notch 活性后肿瘤干细胞几乎全部被抑制。肿瘤干细胞中 Notch 信号表达比正常细胞高,抑制 Notch 活性后虽然还有有活性的肿瘤干细胞,但已经不能形成肿瘤,而对照组的肿瘤干细胞能够形成肿瘤,并且抑制 Notch 活性后肿瘤干细胞数量明显降低。所以 Notch 信号在肿瘤干细胞形成肿瘤过程中能够降低肿瘤干细胞向恶性肿瘤转变的能力<sup>[27]</sup>。

2.4 Notch 通路和乳腺癌 Weij 等<sup>[28]</sup>发现 Notch4 表达持续升高能导致正常小鼠乳腺上皮细胞转化为异型细胞。Parr 等<sup>[29]</sup>发现 Numb(Notch 的抑制基因)的表达与乳腺癌的分化有关,正常组织中的 Numb 表达比乳腺癌中高,而 Notch1 几乎表达,因此可以推测 Notch1 在乳腺癌中起癌基因的作用。配体 Jagged1 高表达的乳腺癌预后较差<sup>[30]</sup>。Liu 等认为乳腺中存在干细胞,其自我更新受 Notch、Wnt 等通路调节,其自我更新调节机制失控是最主要的致癌因素<sup>[31]</sup>。这些表明,Notch 信号通路与乳腺癌的发生、发展、分化和预后有关系<sup>[24-25]</sup>。

综上所述,Notch 在肿瘤中有时起原癌基因的作用,有时起抑癌基因的作用,这是因为组织细胞对 Notch 信号转导的反应是环境依赖性的。环境因素包括:(1)哪一种 Notch 受体被激活。不同的 Notch 受体所起的作用是不一样的,Notch1 抑制脑肿瘤的生长,Notch2 则相反<sup>[26]</sup>。(2)细胞的种类不同,Notch 的作用结果也不一样。在 Kaposi 肉瘤中 Notch 表达升高会抑制凋亡<sup>[32]</sup>,而在肝癌细胞中,Notch 受体表达上调促进肿瘤细胞的死亡<sup>[20]</sup>。(3)细胞所处的微环境不同,Notch 通路反应也不相同。活化的 Notch1 能抑制由粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor)诱导粒细胞的分化,但是不能抑制由粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)诱导的粒细胞分化;活化的 Notch2 能抑制由 GM-CSF 诱导粒细胞的分化,但是不能抑制由 G-CSF 诱导的粒细胞分化<sup>[33]</sup>。(4)活化的 Notch 受体的量,也影响 Notch 对细胞的作用。在 T 细胞白血病细胞中,低浓度活化的 Notch1 促进 NF- $\kappa$ B 的激活,而高浓度则相反<sup>[34]</sup>。(5)由于肿瘤组织包含多种细胞成分,Notch 信号转导通路对其中一些细胞起抑制作用,对另外一些起促进作用。例如,在一个乳腺癌标本中,Notch 对特定的癌细胞起促癌基因作用,而它能抑制血管内皮细胞的生长,起抑癌的作用。

### 3 展望

Notch 信号通路的活化和抑制与多种肿瘤的发生、发展有关,因此调节 Notch 通路可能是肿瘤治疗的一个新的靶

点。治疗与 Notch 相关的肿瘤,可以以 Notch 信号转导通路作为选择性杀死肿瘤细胞的活性靶点,通过活化或阻断 Notch 信号来抑制肿瘤细胞的增殖。但由于 Notch 有时起抑癌作用,有时起原癌基因的作用,必须分清 Notch 在特定肿瘤的中作用机制。虽然有关 Notch 信号通路在肿瘤发病机制中的作用和肿瘤的治疗尚有许多问题需要回答,但随着研究的深入,Notch 作为新一类抗肿瘤治疗靶点将具有广阔的应用前景。

### [参考文献]

- [1] Wharton K A, Johansen K M, Xu T, Artavanis-Tsakonas S. 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.
- [2] Blaumueller C M, Qi H, Zagouras P, Artavanis-Tsakonas S. Intracellular cleavage of Notch leads to a heterodimeric receptor on the plasma membrane[J]. Cell,1997,90:281-291.
- [3] Rand M D, Grimm L M, Artavanis-Tsakonas S, Patriub V, Blacklow S C, Sklar J, et al. Calcium depletion dissociates and activates heterodimeric Notch receptors [J]. Mol Cell Biol, 2000,20:1825-1835.
- [4] Mumm J S, Kopan R. Notch signaling: from the outside in[J]. Dev Biol,2000,228:151-165.
- [5] Edbauer D, Winkler E, Regula J T, Pesold B, Steiner H, Haass C. Reconstitution of gamma-secretase activity[J]. Nat Cell Biol,2003,5:486-488.
- [6] Iso T, Kedes L, Hamamori Y. HES and HERP families: multiple effectors of the Notch signaling pathway[J]. J Cell Physiol, 2003,194:237-255.
- [7] Martinex Arias A, Zecchini V, Brennan K. CSL-independent Notch signalling: a checkpoint in cell fate decisions during development[J]? Curr Opin Genet Dev,2002,12:524-533.
- [8] Fre S, Huyghe M, Mourikis P, Robin S, Louvard D, Artavanis-Tsakonas S. Notch signals control the fate of immature progenitor cells in the intestine[J]. Nature,2005,435:964-968.
- [9] van Es J H, van Gijn M E, Riccio O, van der Born M, Vooijs M, et al. Notch/gamma-secretase inhibition turns proliferative cells in intestinal crypts and adenomas into goblet cells[J]. Nature,2005,435:959-963.
- [10] Ellisen L W, Bird J, West D C, Soreng A L, Reynolds T C, Smith S D, et al. TAN-1, the human homolog of the Drosophila notch gene, is broken by chromosomal translocations in T lymphoblastic neoplasms[J]. Cell,1991,66:649-661.
- [11] Androutsellis-Theotokis A, Leker R R, Soldner F, Hoepfner D J, Ravin R, Poser S W, et al. Notch signaling regulates stem cell numbers *in vitro* and *in vivo*[J]. Nature,2006,442:823-826.
- [12] Nicolas M, Wolfer A, Raj K, Kummer J A, Mill P, van Noort M, et al. Notch1 functions as a tumor suppressor in mouse skin [J]. Nat Genet,2003,33:416-421.
- [13] Vauclair S, Nicolas M, Barrandon Y, Radtke F. Notch1 is essential for postnatal hair follicle development and homeostasis[J]. Dev Biol,2005,284:184-193.

- [14] Yamamoto N, Tanigaki K, Han H, Hiai H, Honjo T. Notch/RBP-J signaling regulates epidermis/hair fate determination of hair follicular stem cells[J]. *Curr Biol*, 2003, 13: 333-338.
- [15] Pan Y, Lin M H, Tian X, Cheng H T, Gridley T, Shen J, et al. gamma-secretase functions through Notch signaling to maintain skin appendages but is not required for their patterning or initial morphogenesis[J]. *Dev Cell*, 2004, 7: 731-743.
- [16] Devgan V, Mammucari C, Millar S E, Brisken C, Dotto G P. p21WAF1/Cip1 is a negative transcriptional regulator of Wnt4 expression downstream of Notch1 activation[J]. *Genes Dev*, 2005, 19: 1485-1495.
- [17] Lefort K, Mandinova A, Ostanio P, Kolev V, Calpini V, Kolfshoten I, et al. Notch1 is a p53 target gene involved in human keratinocyte tumor suppression through negative regulation of ROCK1/2 and MRCK $\alpha$  kinases[J]. *Genes Dev*, 2007, 21: 562-577.
- [18] Monzani E, Facchetti F, Galmozzi E, Corsini E, Benetti A, Cavazzini C, et al. Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumorigenic potential[J]. *Eur J Cancer*, 2007, 43: 935-946.
- [19] Croquelois A, Blindenbacher A, Terracciano L, Wang X, Langer I, Radtke F, et al. Inducible inactivation of Notch1 causes nodular regenerative hyperplasia in mice[J]. *Hepatology*, 2005, 41: 487-496.
- [20] Qi R, An H, Yu Y, Zhang M, Liu S, Xu H, et al. Notch1 signaling inhibits growth of human hepatocellular carcinoma through induction of cell cycle arrest and apoptosis[J]. *Cancer Res*, 2003, 63: 8323-8329.
- [21] Cantarini M C, de la Monte S M, Pang M, Tong M, D'Errico A, Trevisani F, et al. Aspartyl-Asparagyl hydroxylase over-expression in human hepatoma is linked to activation of insulin-like growth factor and Notch signaling mechanisms[J]. *Hepatology*, 2006, 44: 446-457.
- [22] Gao J, Chen C, Hong L, Wang J, Du Y, Song J, et al. Expression of Jagged1 and its association with hepatitis B virus X protein in hepatocellular carcinoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 356: 341-347.
- [23] Huang J, Zhang X, Zhu J D, Zhang Y L, Lin Y, Wang K S, et al. Up-regulation of DLK1 as an imprinted gene could contribute to human hepatocellular carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28: 1094-1103.
- [24] Purow B W, Haque R M, Noel M W, Su Q, Burdick M J, Lee J, et al. Expression of Notch1 and its ligands, Delta-like1 and Jagged1, is critical for glioma cell survival and proliferation[J]. *Cancer Res*, 2005, 65: 2353-2363.
- [25] Okano H, Imai T, Okabe M, Musashi: a translational regulator of cell fate[J]. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt 7): 1355-1359.
- [26] Fan X, Mikolaenko I, Elhassan I, Ni X, Wang Y, Ball D, et al. Notch1 and Notch2 have opposite effects on embryonal brain tumor growth[J]. *Cancer Res*, 2004, 64: 7787-7793.
- [27] Imatani A, Callahan R. Identification of a novel NOTCH-4/INT-3 RNA species encoding an activated gene product in certain human tumor cell lines[J]. *Oncogene*, 2000, 19: 223-231.
- [28] Wei jzen S, Rizzo P, Braid M, Vaishnav R, Jonkheer S M, Zlobin A, et al. Activation of Notch-1 signaling maintains the neoplastic phenotype in human Ras-transformed cells[J]. *Nat Med*, 2002, 8: 979-986.
- [29] Parr C, Watkins G, Jiang W G. The possible correlation of Notch-1 and Notch-2 with clinical outcome and tumour clinicopathological parameters in human breast cancer[J]. *Int J Mol Med*, 2004, 14: 779-786.
- [30] Dickson B C, Mulligan A M, Zhang H, Lockwood G, O'Malley F P, Egan S E, et al. High-level JAG1 mRNA and protein predict poor outcome in breast cancer[J]. *Mod Pathol*, 2007, 20: 685-693.
- [31] Liu S, Dontu G, Wicha M S. Mammary stem cells, self-renewal pathways, and carcinogenesis[J]. *Breast Cancer Res*, 2005, 7: 86-95.
- [32] Curry C L, Reed L L, Golde T E, Miele L, Nickoloff B J, Foreman K E. Gamma secretase inhibitor blocks Notch activation and induces apoptosis in Kaposi's sarcoma tumor cells[J]. *Oncogene*, 2005, 24: 6333-6344.
- [33] Bigas A, Martin D I, Milner L A. Notch1 and Notch2 inhibit myeloid differentiation in response to different cytokines[J]. *Mol Cell Biol*, 1998, 18: 2324-2333.
- [34] Guan E, Wang J, Laborda J, Norcross M, Baeuerle P A, Hoffman T. T cell leukemia-associated human Notch/translocation-associated Notch homologue has I kappa B-like activity and physically interacts with nuclear factor-kappa B proteins in T cells[J]. *J Exp Med*, 1996, 183: 2025-2032.

[本文编辑] 尹 茶