

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.19.044

## Notch 信号通路及其与胃癌相关性研究的进展\*

王 璟 综述,刘宏斌<sup>△</sup> 审校

(1. 兰州大学第二临床医学院,兰州 730000;2. 兰州军区兰州总医院普通外科,兰州 730050)

关键词:Notch;胃肿瘤;受体;信号通路

中图分类号:R735.2

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)19-2509-03

胃癌是一个全球性的健康问题,严重危害人类健康,它是第 4 大常见的恶性肿瘤和第 2 大常见的癌症相关死因<sup>[1-2]</sup>。由于 Notch 基因在不同肿瘤中有起原癌基因作用和抑癌基因两种作用<sup>[3-4]</sup>,所以探求 Notch 信号通路在胃癌的发生、发展过程中的分子机制显得尤为重要,可为针对 Notch 信号通路的分子靶向药物的开发和临床试验提供理论指导,从而达到有效干预胃癌发生、发展并进行安全有效的靶向治疗。本文旨在对 Notch 信号通路及胃癌发生、发展的相关研究中的进展作一综述。

## 1 Notch 信号通路概述

Notch 基因最初发现于果蝇基因,因该基因部分功能缺失可导致果蝇翅缘缺口而被命名。1991 年 Ellisen 等<sup>[5]</sup>首次在人类 T 淋巴细胞白血病中发现与果蝇 Notch 基因具有高度同源性的基因。Notch 信号通路是在进化过程中高度保守的信号转导机制,由跨膜的 Notch 受体、Notch 配体和胞内 DNA 结合蛋白及靶基因组成<sup>[6]</sup>。目前在哺乳动物中发现有 5 种 Notch 配体, DLL1 (Delta-like-1)、DLL3 (Delta-like-3)、DLL4 (Delta-like-4) 和 Jagged1 (JAG1)、Jagged2 (JAG2),以及 4 种 Notch 受体 (Notch1-4)<sup>[7]</sup>。

**1.1 Notch 信号通路受体** Notch 受体是一种具有细胞表面受体和细胞核内转录调控双重功能的 I 型跨膜蛋白,包括细胞外、跨膜区和细胞内结构域三部分。Notch 受体胞外域 (notch extracellular domain, NECD) 是与配体 DSL 结构域结合并激活 Notch 信号通路的部位,其包括数量可变的连接于跨膜受体结合区的 EGF-R 重复序列和 3 个串联的 LNR 重复序列 (Lin/Notch repeats, LNR),以及 1 个异二聚体区域<sup>[8-9]</sup>。Notch 的跨膜域内含有 S3 蛋白水解位点。Notch 受体胞内域 (notch intracellular domain, NICD) 包括 RAM 结构域、6 个 ANK 重复序列、2 个核定位信号 NLS、1 个转录激活结构域 TAD 和 1 个 PEST 结构域等。RAM 结构域是与 CSL 结合的区域,ANK 结构域是一些对 Notch 信号通路有调节作用蛋白的结合位点,PEST 结构域与 Notch 受体蛋白的降解和稳定性有关<sup>[10]</sup>。

**1.2 Notch 信号通路配体** Notch 配体又名 DSL (Delta Serate Lag-2) 蛋白,是 I 型跨膜蛋白。Notch 配体的胞内域较短,功能不明。其胞外域含有 N 端 DSL 结构域和长度不等的表皮生长因子样重复序列 (epidermal growth factor-like repeats, EGF-R)<sup>[8-9]</sup>。典型的 Notch 配体存在 DSL 结构域与受体结合力高。

**1.3 Notch 信号通路的激活** Notch 信号通路的激活方式是“三步酶切裂解法”<sup>[11]</sup>,三次酶切水解后 Notch 受体活化,具有 NSL 的 NICD 释放入细胞质中,并易位转移至细胞核与转录

因子结合,从而发挥对靶基因的调控作用,其中  $\gamma$ -分泌酶是 Notch 信号激活过程关键酶。Notch 下游靶基因主要包括 Hes 和 Hey 基因家族。Notch 信号通路的转导过程中无需蛋白激酶和第二信使级联放大的参与,就可直接接受相连细胞信号并传导至细胞核,激活相关转录因子表达,从而达到精确调控目的。

**1.4 Notch 信号通路的功能** Notch 信号通路反复参与调节细胞增殖、分化和凋亡,对正常发育至关重要,进一步研究显示其与肿瘤的发生、发展关系密切,具有促癌或抑癌作用<sup>[12-13]</sup>。促癌机制是通过上调核转录因子 (NF- $\kappa$ B) 的表达诱导细胞过度增殖;抑癌机制通过上调 p21 基因表达,阻滞细胞周期于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期,降低癌基因 Bcl-2 表达,从而促进细胞凋亡。研究发现 Notch 信号通路在血液系统肿瘤、乳腺癌、结肠癌、胰腺癌和胃癌中表达上调,而在小细胞肺癌、肝癌、皮肤癌和前列腺癌中表达下调<sup>[14-16]</sup>。可见 Notch 信号通路参与肿瘤的发生、发展过程较为复杂,推断可能是由于其信号通路的广泛共享性导致其功能的多样性。

**1.5 Notch 信号通路的调节** Notch 信号通路不仅受胞内和胞外蛋白以不同分子机制进行调节,还受泛素化相关蛋白和自我反馈调节。典型的胞内蛋白 Fringe 是一种糖基化转移酶,能对 NECD 的重复 EGF-R 系列进行糖基化修饰,可以从正负双向调控 Notch 配体激活受体的能力,从而使其对不同配体的敏感性发生变化<sup>[17]</sup>。哺乳动物的 Fringe 能明显增强 DLL 配体介导的 Notch1 信号通路<sup>[18]</sup>。Numb 属于重要的细胞命运决定因子,是一种接头蛋白,通过不对称有丝分裂拮抗 Notch 胞质膜受体,其 N 端磷酸酪氨酸结合位点可与 NICD 结合而抑制 Notch 信号转导<sup>[19]</sup>。而 Numb 的特异性拮抗剂 Musashi 同源物-1 (musashihomolog1, Msi1) 是一种 RNA 结合蛋白,特异表达于胃窦增殖区,可能是胃窦部干细胞的表面标志,可与 Numb RNA 结合,通过抑制 Numb 翻译而激活 Notch 信号通路<sup>[20]</sup>。肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 原本是一种能够直接杀伤肿瘤细胞而对正常细胞无明显毒性的细胞因子,也是迄今为止直接杀伤肿瘤作用最强的生物活性因子之一。但 Liu 等<sup>[21]</sup>最近研究表明:TNF- $\alpha$  能够以一种非传统的方式激活下游 Notch 信号通路,并使其表达上调,进而促进细胞的增殖和肿瘤的发生、发展。Notch 通路还可被 Phyllopod、PI3K/Akt 和 GSK3- $\alpha/\beta$  等其他通路调节<sup>[22]</sup>,这些都可能为胃癌的治疗提供新的策略和靶点。

## 2 Notch 信号通路在正常胃组织中生理功能及表达

研究发现,在正常胃黏膜组织中有大量管状腺,主要分布

\* 基金项目:国家科技部、财政部科技惠民计划项目(2012GS620101);甘肃省科技重大专项(2011GS04390)。 作者简介:王璟(1985-), 硕士,主要从事胃肠道肿瘤及其微创治疗。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: liuhongbin999@163.com。

于胃体和胃底。黏膜组织包括大量壁细胞和数量有限的干细胞和祖细胞,Notch 信号通路维持腺体中干细胞的数量动态平衡并使其处于未分化状态<sup>[23]</sup>。Notch 信号通路参与胃上皮细胞分化成胃小凹腺体,Notch1、Notch2、Notch3 受体和 JAG1、JAG2 配体以及下游靶基因 Hes1 和 Hath1 在人类正常胃黏膜中均有表达<sup>[24-26]</sup>。Sander 等<sup>[27]</sup>研究发现,Notch1、Notch2、JAG1、JAG2 在贲门处黏膜都有表达,且在黏膜组织底层的表达最高,其中 Notch1 和 JAG2 的表达增高尤为显著。该研究认为活化的 Notch 信号通路,可能反映潜在的胃癌风险<sup>[28]</sup>。

### 3 Notch 信号通路与胃癌的发生、发展

国内学者杨晓东等<sup>[29]</sup>研究表明:采用免疫组织化学技术检测 Notch 信号通路相关蛋白表达,发现胃癌组织较正常胃黏膜组织中 Notch1、JAG1、DLL1 和 NF- $\kappa$ B 表达水平显著增高,并且 Notch1 的表达与胃癌的分化程度呈正相关,Notch1 可能参与胃黏膜癌变过程。赵恩昊等<sup>[30]</sup>在胃癌 BGC-823 细胞株中用 siRNA 干扰 Notch1 基因后研究表明:Notch1 基因表达的降低可抑制胃癌细胞的增殖,降低肿瘤迁移和侵袭能力,其可能与胃癌的发生、发展和转移有密切联系。但是 Li 等<sup>[31]</sup>在实验中却发现 Notch1 的活化可抑制 BGC-823 胃癌细胞的增殖并且能够与激活的 Wnt/ $\beta$ catenin 信号通路共同促进 BGC-823 细胞的增殖。Sun 等<sup>[28]</sup>采用组织芯片技术检测胃癌组织标本和胃癌细胞株中 Notch1、Notch2 和 Hes1 基因的表达状况,提示胃癌的发生和胃黏膜肠上皮样化生与信号通路中 Notch1 和 Notch2 的上调表达密切相关。Li 等<sup>[32]</sup>研究证实激活 DLL4 介导的 Notch 信号通路可促进基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)的表达和分泌,影响胃癌的进展,而在该过程中 MMP-9 的表达水平也下降,并且 DLL4 基因的表达与胃癌的浸润深度和转移呈正相关。Guo 等<sup>[33]</sup>研究表明:Notch2 激活 PI3K-AKT 信号通路调节可能会增强胃癌细胞的侵袭能力。可见 Notch 信号通路参与胃癌的发生、发展机制是通过其相关配体和(或)受体表达上调。

国外学者 Sekine 等<sup>[24]</sup>在 8 种胃癌细胞株和正常胃黏膜组织中检测 7 种 Notch 信号通路相关基因(Notch1/2/3, Hes1/2/3, Hath1),证实 8 种胃癌细胞株和正常胃黏膜中均有 Notch1-3 和 Hes1 表达,而 Hath1 仅在正常胃黏膜和 3 种胃癌细胞株中有表达,在另外不表达 Hath1 的 5 种胃癌细胞株中推测是因为 Hes1 基因在胞内对 Hath1 基因的转录存在抑制作用,同时在该研究中还发现 Hath1 的表达模式与主细胞的标志物 MUC6 密切相关,推测 Notch 信号通路可以通过抑制主细胞分化导致胃癌发生。研究显示:胃癌组织中 Notch1、Notch3、Jagged1 和 Jagged2 表达较正常胃黏膜组织中显著增加,统计学分析显示 MUC2 与 Notch3 或 Jagged1 的表达和 MUC5AC 与 Jagged1 或 Hes1 的表达都呈负相关,而 NOTCH3 和 Jagged2 的过表达见于肠型癌或分化较好的胃癌,提示 Notch3 在胃癌中可能与良好的预后相关。Hashimoto 等<sup>[34]</sup>研究表明,用 MicroRNA181c 甲基化沉默靶基因 Notch4 和 K-ras,可以减缓和抑制胃癌细胞的增殖,说明 Notch4 可能促进胃癌的发生、发展。

Yeh 等<sup>[35]</sup>研究表明,Notch 配体 Jagged1 与胃癌侵袭性密切相关,Notch 信号通路的活性与胃癌患者生存率密切相关,胃癌中 Notch1 和 Jagged1 高表达的患者生存时间明显低于 Notch1 与 Jagged1 低表达的患者。随后 Tseng 等<sup>[36]</sup>的研究首次证明 Notch2-COX-2 信号轴影响胃癌进展。以上两项研究

中分别存在 Notch1 受体和 Notch2 受体的活化,促进人胃腺癌细胞集落形成和侵袭生长能力从而促进肿瘤进展,Notch1 受体和 Notch2 受体的胞内域都通过 C 启动子结合因子 1(CBF1)绑定环氧合酶-2(COX-2),导致 COX-2 表达升高,促进人胃腺癌细胞增殖和转移瘤生长,从而促进胃癌的发生、发展。以上国外学者的两项研究提示在胃癌中 Notch 信号通路与 COX-2 存在相关性,提示激活的 Notch 信号通路至少部分是通过 COX-2 途径促进胃癌进展。

综合以上国内外研究结果证实:Notch 信号通路参与胃癌的发生、发展和肿瘤浸润转移,但其机制较为复杂,具有促癌和抑癌作用,仍需进一步完善相关研究。

### 4 Notch 信号通路与胃癌的靶向治疗

Notch 信号通路的调节点以及激活的关键酶都有可能成为胃癌靶向治疗的靶点。目前 Notch 信号通路相关的靶向治疗方式主要有 Notch 受体拮抗剂、 $\gamma$ -分泌酶抑制剂、小分子干扰 RNA 3 种。随着相关领域的实验和临床研究的不断深入,胃癌的综合治疗手段必将得到完善和丰富。

蛋白 Fringe 是一种 Notch 受体拮抗剂,可以从正负双向调控 Notch 配体激活受体,从而使其对不同配体的敏感性发生变化。Numb 蛋白可与 NICD 结合而抑制 Notch 信号转导,而 Msi1 可与 Numbm RNA 结合,通过抑制 Numb 翻译而激活 Notch 信号通路<sup>[21-22]</sup>。

$\gamma$ -分泌酶是 Notch 信号通路激活过程中的关键酶。 $\gamma$ -分泌酶抑制剂可以阻断 Notch 信号通路中 NICD 产生的  $\gamma$ -分泌酶抑制剂不仅能直接作用于肿瘤细胞,还可以干扰肿瘤新生微血管形成<sup>[28]</sup>。因此  $\gamma$ -分泌酶抑制剂可以用来治疗有 Notch 通路激活的肿瘤,是一种具有潜在临床价值的抗肿瘤药。

小分子干扰 RNA(small-interfering RNA, siRNA)是一种基因工程技术。Notch 受体的 siRNA 可使特定的 Notch 受体失活,抑制 Notch 受体过表达,从而抑制肿瘤细胞增殖和诱导凋亡,在干扰过程中 Notch 受体表达正常或较低的细胞基本不受影响。

### 5 展 望

Notch 信号通路是影响细胞命运和分化的重要信号通路,但其广泛共享性导致其功能机制的复杂多样性。目前研究认为,Notch 信号通路与胃癌的发生、发展、分化程度、浸润转移及预后密切相关。随着现代分子生物学技术的发展,对 Notch 信号通路研究的逐渐深入将有助于揭示肿瘤的发生机制,针对 Notch 信号通路的靶向治疗或许有望成为胃癌及癌前病变新的预防及治疗方法,为目前肿瘤的预防和治疗提供新的思路。

### 参考文献:

- [1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008; GLOBOCAN 2008 [J]. Int J Cancer, 2010, 127(12):2893-2917.
- [2] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2):69-90.
- [3] Moss SF, Blaser MJ. Mechanisms of disease: inflammation and the origins of cancer[J]. Nat Clin Pract Oncol, 2005, 2(2):90-97.
- [4] Katoh M, Katoh M. Notch signaling in gastrointestinal tract(review)[J]. Int J Oncol, 2007, 30(1):247-251.
- [5] 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.
- [6] Fiuza UM, Arias AM. Cell and molecular biology of Notch [J]. *J Endocrinol*, 2007, 194(3): 459-474.
- [7] Dsouza B, Miyamoto A, Weinmaster G. The many facets of Notch ligands [J]. *Oncogene*, 2008, 27(38): 5148-5167.
- [8] Gordon WR, Arnett KL, Blacklow SC. The molecular logic of Notch signaling a structural and biochemical perspective [J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(Pt 19): 3109-3119.
- [9] Bridges E, Oon CE, Harris A. Notch regulation of tumor angiogenesis [J]. *Future Oncol*, 2011, 7(4): 569-588.
- [10] Bouras T, Pal B, Vailtiant F, et al. Notch signaling regulates mammary stem cell function and luminal cell fate commitment [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(4): 429-441.
- [11] Logeat F, Bessia C, Brou C, et al. The Notch1 receptor is cleaved constitutively by a furin-like convertase [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(14): 8108-8112.
- [12] Andorutsellis-Theotokis A, Leker RR, Soldner F, et al. Notch signalling regulates stem cell numbers in oivo vitro and vivo [J]. *Nature*, 2006, 442(7104): 823-826.
- [13] Koch U, Radtke F. Notch and cancer: a double-edged sword [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(21): 2746-2762.
- [14] Leong KG, Karsan A. Recent insights into the role of Notch signaling in tumorigenesis [J]. *Blood*, 2006, 107(6): 2223-2233.
- [15] Kopan R, Ilagan MX. The canonical Notch signaling pathway: unfolding the activation mechanism [J]. *Cell*, 2009, 137(2): 216-233.
- [16] Mullendore ME, Koorstra JB, Li YM, et al. Ligand-dependent Notch signaling is involved in tumor initiation and tumor maintenance in pancreatic cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(7): 2291-2301.
- [17] Moloney DJ, Panin VM, Johnston SH, et al. Firnge is a glycosyltransferase that modifies Notch [J]. *Nature*, 2000, 406(6794): 369-375.
- [18] Yang LT, Nichols JT, Yao C, et al. Firnge glycosyltransferase diferentially modulate Notch1 proteolysis induced by Deltal and Jagged [J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(2): 927-942.
- [19] Cheng X, Huber TL, Chen VC, et al. Numb mediates the interaction between Wnt and Notch to modulate primitive erythropoietic specification from the hemangioblast [J]. *Development*, 2008, 135(20): 3447-3458.
- [20] Kawahara H, Imai T, Imataka H, et al. Neural RNA-binding protein Musashi1 inhibits translation initiation by competing with eIF4G for PABP [J]. *J Cell Biol*, 2008, 181(4): 639-653.
- [21] Liu M, Lee DF, Chen CT, et al. IKK $\alpha$  activation of NOTCH links tumorigenesis via FOXA2 suppression [J]. *Mol Cell*, 2012, 45(2): 171-184.
- [22] Yin L, Velazquez OC, Liu ZJ. Notch signaling: emerging molecular targets for cancer therapy [J]. *Biochen Pharmacol*, 2010, 80(5): 690-701.
- [23] Kim TH, Shivdasani RA. Notch signaling in stomach epithelial stem cell homeostasis [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(4): 677-688.
- [24] Sekine A, Akiyama Y, Yanagihara K, et al. Hath1 upregulates gastric mucin gene experssion in gastirc cells [J]. *Bioehem Biophys Res Commun*, 2006, 344(4): 1166-1171.
- [25] Kang H, An HJ, Song JY, et al. Notch3 and Jagged2 contribute to gastric cancer development and to glandular differentiation associated with MUC2 and MUC5AC expression [J]. *Histopathology*, 2012, 61(4): 576-586.
- [26] Brzozowa M, Mielańczyk L, Michalski M, et al. Role of Notch signaling pathway in gastric cancer pathogenesis [J]. *Contemp Oncol(Pozn)*, 2013, 17(1): 1-5.
- [27] Sander GR, Powell BC. Expression of notch receptors and ligands in the adult gut [J]. *J Histochem Cytoehem*, 2004, 52(4): 509-516.
- [28] Sun Y, Gao X, Liu J, et al. Differential Notch1 and Notch2 expression and frequent activation of Notch signaling in gastric cancers [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2011, 135(4): 451-458.
- [29] 杨晓东, 张辉, 白志刚, 等. Notch 信号通路在胃癌组织中的表达及其意义 [J]. *中华普通外科杂志*, 2009, 24(2): 146-148.
- [30] 赵恩昊, 金鑫, 沈志勇, 等. RNAi 沉默 Notch1 基因对胃癌 BGC-823 细胞增殖和迁移及侵袭能力的影响 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2012, 15(12): 1296-1300.
- [31] 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.
- [32] Li GG, Li L, Li C, et al. Influence of up-regulation of Notch ligand DLL4 on biological behaviors of human gastric cancer cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(28): 4486-4494.
- [33] Guo LY, Li YM, Qiao L, et al. Notch2 regulates matrix metalloproteinase 9 via PI3K/AKT signaling in human gastric carcinoma cell MKN-45 [J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(48): 7262-7270.
- [34] Hashimoto Y, Akiyamay Y, Otsutot T, et al. Involvement of epigenetically silenced microRNA-181c in gastric carcinogenesis [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(5): 777-784.
- [35] 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.
- [36] Tseng YC, Tsai YH, Tseng MJ, et al. Notch2-Induced COX-2 Expression Enhancing Gastric Cancer Progression [J]. *Mol Carcinog*, 2012, 51(21): 939-951.