

. 综 述 .

Notch 信号通路在胶质瘤中作用的研究进展

夏小超 王子豪 熊 平 宋旅萌 程银川 李 舜

【摘要】 Notch 信号通路是一条重要的细胞信号传导途径。Notch 受体经历三次切割后转位到细胞核,调节靶基因的转录,参与多种组织器官的发育和稳态。Notch 信号通路异常与肿瘤发生、发展密切相关。研究表明,Notch 信号通路在胶质瘤中的异常激活促进肿瘤细胞增殖、侵袭,影响肿瘤微环境和维持干细胞稳态。因此,有学者认为 Notch 信号通路可能是胶质瘤一种潜在的治疗靶点。有研究报道抑制 Notch 信号通路治疗胶质瘤,但这些药物的疗效有待商榷。近年来,随着 Notch 信号通路在胶质瘤中研究的不断深入,其有望为胶质瘤的治疗提供新的思路。本文就 Notch 信号通路在胶质瘤中的作用机制及其研究进展进行综述。

【关键词】 胶质瘤; Notch 信号通路; 肿瘤微环境; 肿瘤干细胞

【文章编号】 1009-153X(2024)11-0686-04 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41

Research advances on the function of Notch signaling pathway in glioma

XIA Xiao-chao, WANG Zi-hao, XIONG Ping, SONG Lü-meng, CHENG Yin-chuan, LI Shun. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China

【Abstract】 The Notch signaling pathway, functioning as a critical intercellular signaling conduit, exerts a vital role in the development and homeostasis maintenance of diverse tissues and organs. Once the Notch receptor undergoes three proteolytic cleavages, its intracellular domain (NICD) translocates to the nucleus and governs the transcriptional expression of a series of target genes. Researches conducted in recent years have indicated that the aberrant activation of the Notch signaling pathway is closely associated with the genesis and progression of tumors, particularly in glioma. The excessive activation of the Notch signaling pathway not only promotes the proliferation and invasion of tumor cells but also influences the tumor microenvironment and maintains the homeostasis of glioma stem cells. Consequently, the Notch signaling pathway is regarded as one of the potential therapeutic targets for glioma. Despite the fact that there have been studies reporting the treatment of glioma by inhibiting the Notch signaling pathway, the clinical efficacy of existing drugs still requires further validation. With the in-depth investigation of the mechanism of the Notch signaling pathway in glioma, this pathway is anticipated to offer novel strategies and notions for the treatment of glioma. This article will review the mechanism of the Notch signaling pathway in glioma and its latest research advancements.

【Key words】 Notch signaling pathway; glioma; Tumor Microenvironment; Tumor stem cells

脑胶质瘤是中枢神经系统中最常见的原发性肿瘤,其中胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)恶性程度最高,也最为多见。目前,手术辅助放疗化疗是胶质瘤的标准治疗方案。然而,由于恶性胶质瘤具有增殖速度快、侵袭能力强等表型特征,肿瘤复发率高,预后差,中位生存期仅为 14.6 个月^[1]。因此,了解胶质瘤的发病机制,寻找新的治疗方案和潜在靶点已成为必然趋势。

Notch 信号通路是一种高度保守的信号传导途径,在细胞增殖、分化、凋亡以及胚胎发育和组织生长等过程中都起重要作用^[2]。近年来,Notch 信号通

路在胶质瘤中的研究越来越受到关注,并取得了显著进展^[3]。本文就 Notch 信号通路在胶质瘤的作用机制及研究进展进行综述。

1 Notch 信号通路概况

Notch 受体是由两条非共价相关的多肽链形成的单通道跨膜蛋白。在哺乳动物中,有四种同源蛋白 Notch1、Notch2、Notch3 和 Notch4,它们结构相似,但内部的 EGF 重复序列数量、糖基化水平和 PEST 结构域长度等方面存在差异^[4,5]。这些差异可能会影响 Notch 受体的功能和表达模式。Notch1 在胚胎干细胞、肌肉细胞和神经细胞表达显著;Notch2 在肝脏、胰岛和心脏等细胞中高表达;Notch3 在血管平滑肌细胞中表达升高;Notch4 在内皮细胞中含量更高^[6]。哺乳动物 Notch 受体的表达差异为 Notch 信号转导途径的调控提供了重要的线索。Notch 受体的配体

均为单通道跨膜蛋白,分别是 DLL1、DLL3、DLL4、JAG1 和 JAG2。Notch 配体之间的结构差异导致它们与 Notch 受体的结合特异性和亲和力不同,从而发挥各自独特的功能,其中 Delta/Serrate/Lag-2 (DSL) 结构域能与 Notch 受体结合启动下游信号通路^[7]。

Notch 信号通路可以通过经典和非经典途径激活。经典的 Notch 途径是由三种蛋白酶水解切割导致受体与配体特异性结合的一系列反应,最终促进下游靶基因包括 HES/HEY 家族基因 (HES1、HES5 和 HEY1) 和一些谱系特异性基因发生转录^[8,9]。而非典型 Notch 途径则相反,主要表现在 Notch 受体通过非典型配体依赖性和不依赖配体性机制发挥其生物学功能^[10]。

2 Notch 信号通路在胶质瘤中的研究进展

2021 年,世界卫生组织发布了第五版《世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类》,将病理学特征和分子生物学信息纳入主要肿瘤组的分类、分型和分级标准。新的指南有助于更好地识别不同类型的中枢神经系统肿瘤,并提供更准确的诊断和治疗方案。近年来,基因测序在神经胶质瘤中的广泛应用以及 Notch 通路在肿瘤调控中作用的关注增加,大量文献报道了神经胶质瘤中的异常 Notch 信号传导。与正常脑细胞相比,Notch1、Notch4、Dll4、Jagged1、Hey1、Hey2 和 Hes1 的 mRNA 和蛋白质水平在脑肿瘤细胞中升高,并且与血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 和磷酸化 Akt 表达增加以及 PTEN 水平降低相关。Notch 信号通路分子在不同级别胶质瘤中的表达水平各异,与病人预后密切相关^[9,11]。

2.1 Notch 信号通路调控胶质瘤干细胞 (glioma stem cells, GSCs) 肿瘤干细胞在放化疗抵抗及肿瘤复发中发挥重要作用。GSCs 与神经干细胞在形态学和功能等方面有较多相似之处,而 Notch 信号为神经干细胞状态的关键调节因子^[9]。Li 等^[12]发现与传统细胞系相比,Notch1 在神经胶质瘤干细胞中过表达,并且通过调节 CXCR4 的表达上调 PI3K 通路活性,促进 GSCs 的自我更新、侵袭和肿瘤生长。研究发现 Notch1/Hes1 通路可上调 GSCs 放疗后磷酸化 Akt 和 Bcl-2 等抗凋亡蛋白表达,增强胶质瘤细胞的放疗抗性,促使 GSCs 在放疗中存活,导致治疗失败,而 γ 分泌酶抑制剂对 Notch 通路的抑制可以使 GSCs 对临床相关剂量的辐射更加敏感^[13]。Liu 等^[14]发现 ZNF117 能与 JAG2 相互作用并调节 Notch 信号,控制 GSCs 向

少突神经胶质细胞谱系分化,促进 GBM 对替莫唑胺 (temozolomide, TMZ) 化疗的敏感性。这提示 Notch 通路调节 GSCs 的自我更新和多谱系分化能力,表现出侵袭性和血管生成潜力等,导致治疗抵抗,因此从 GSCs 探索新的治疗方式尤为重要。

2.2 胶质瘤微环境介导 Notch 信号通路 与肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 的相互作用是肿瘤发生、发展、转移以及对治疗反应的决定性因素。研究表明,Notch 信号通路在 TME 中发挥重要的调节作用,与胶质瘤细胞异常增殖、血管生成、缺氧、转移和耐药等现象密切相关。肿瘤的生长和发展不但需要充足的营养和氧供应,还要求有对代谢废物和二氧化碳排泄的能力。这些需求与肿瘤的新生血管形成密切相关,并且通过血管生成过程中的多种细胞因子和信号通路实现。研究发现,跨膜蛋白 Vasorin (VASN) 在胶质瘤细胞中高表达,并且影响病人的预后;对 VASN 过表达处理,肿瘤细胞血管生成相关因子如 ANGPT2、CCR2 和 VEGF-A 等 mRNA 及蛋白水平平均增高,过表达 VASN 可抑制 Notch1 和 Notch 细胞结构域 (Notch intracellular domain, NICD) 的表达^[15]。这表明 Notch1 可能是 VASN 的靶分子,在肿瘤进展和血管新生中具有重要作用。Sengupta 等^[16]发现,分化成熟的神经胶质瘤细胞 (differentiated glioma cells, DGC) 可以分泌一种蛋白聚糖纤维调节蛋白,通过内皮细胞中整合素-FAK-Src-KLF8-JAG1 的旁分泌信号促进神经胶质瘤肿瘤血管生成和生长。这提示 Notch 信号通路可以通过多个靶基因及信号通路作用于 TME,促进新生血管形成,影响肿瘤进展。

实体肿瘤细胞快速且不受控制的增殖还受限于氧的可用性。氧供应有限和血液供应不足导致实体瘤存在缺氧的微环境特征。氧供应减少 (缺氧) 是 TME 的标志,是由于氧消耗增加和氧供应不足之间的不平衡造成的。长期的缺氧条件会导致肿瘤脉管系统分布不规则,进而毛细血管之间的距离增加,超过氧扩散的能力,最终导致血管周围 180 μ m 范围内的肿瘤细胞坏死^[17]。Qiang 等^[18]研究表明,缺氧有利于 GSCs 的维持,阻碍其分化;胶质瘤细胞母细胞系经过 24 h 缺氧处理,表达 Nestin (一种神经干细胞标记物) 和 GFAP (一种星形胶质细胞标记物) 的相关细胞百分比明显增加;此外,与 GSCs 显著相关的神经球数量增加,表明缺氧有利于 GSCs 的维持并阻碍其分化;而且,缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 与 NICD 相互作用并稳定 NICD,激活 Notch 下游基因的转录,最后达到促进 GSCs 的

维持。Man 等^[19]进一步发现,HIF-1 α /STAT3 共激活因子复合物在低氧条件下可诱导 GSCs 产生 VASN,通过阻断 Numb 介导的泛素化和溶酶体降解,结合并稳定细胞膜上的 Notch1。这提示,筛选 VASN 抑制剂有助于开发更适合胶质瘤治疗的药物。

2.3 Notch 信号通路调控胶质瘤上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT) EMT 在胚胎发育、慢性炎症、组织重建和多种纤维化疾病中发挥重要的作用。研究表明,Notch 信号通路的异常激活与 EMT 的发生过程有关,并对胶质瘤的发生、侵袭、转移和获得性耐药产生重要影响。Gao 等^[20]发现,lncRNA ZFAS1 的表达增加与胶质瘤病理级别和预后有关;抑制 ZFAS1 可以显著降低 EMT 相关蛋白 N-cadherin 和 Snail 的表达,同时增加 E-cadherin 的表达,Notch 信号通路相关蛋白 Hes1 和 NICD 的表达也下调;抑制 ZFAS1 还可以诱导细胞凋亡,抑制胶质瘤细胞的增殖表型,降低细胞迁移和侵袭能力。这表明,ZFAS1 可能通过调节 EMT 和 Notch 信号通路来促进胶质瘤的增殖、迁移和侵袭。Maciaczyk 等^[21]研究发现,CBF1 是 Notch 信号通路的核心转录调节因子,在 GBM 中高表达,并且对病人预后不良有重要影响;而缺氧环境刺激作为主要诱因,促使 CBF1 在 GBM 内异质性表达;阻断 CBF1 可以显著减少细胞体外侵袭行为,并促使 EMT 激活物 ZEB1 的表达下降。因此,靶向 CBF1 可能是一种有效的抗 EMT 的治疗方法,可阻止胶质瘤细胞的侵袭性,增加化疗敏感性。

2.4 Notch 信号通路调控胶质瘤耐药性 近年来,细胞耐药已成为恶性肿瘤治疗的主要障碍之一。肿瘤耐药的根源包括多种因素,如基因突变、TME、外泌体、miRNA、细胞药物外排率高等,这些因素构成了基因异质性的复杂网状结构。研究表明,TMZ、贝伐单抗和奥沙利铂等可重复诱导 Notch,促使 Notch 控制的药物外排、代谢重编程、GSCs 和 TME 的调控等,导致获得性耐药。TMZ 是治疗 GBM 和星形细胞瘤的首选烷基化剂,通过破坏 DNA 和刺激程序性细胞死亡发挥抗肿瘤作用。Alafate 等^[22]研究表明,在 TMZ 耐药的 GBM 细胞中,PLK2 的过表达可以通过破坏 Notch1 的稳定性来减弱 GBM 细胞系对 TMZ 的耐药性。因此,PLK2 可能是 GBM 化疗耐药的生物标志物和潜在治疗靶点。Rios 等^[23]将一种新型抗 Notch1 受体药物 brontictuzumab(BRON)在 GBM 细胞系中进行试验分析,发现 BRON 可以抑制 Notch1 受体信号通路,使得肿瘤细胞侵袭力显著降低;与传统

的 GSI 或 Notch1 基因抑制对比,BRON 效果更加显著;Notch 信号对组成 TME 的不同细胞的相互关系具有调控作用,从而导致 GBM 复发和耐药。

2.5 Notch 信号通路调控胶质瘤外泌体 外泌体是直径 30~150 nm 的细胞外囊泡,主要通过将细胞内外泌体的重要成分释放到细胞外环境中,引起相应功能的维持或改变。常见的外泌体成分包括 DNA、RNA、脂质、代谢物以及细胞溶质和细胞表面蛋白质等。外泌体与免疫反应、病毒致病性、妊娠、心血管疾病、中枢神经系统相关疾病以及癌症进展有关,其输送到受体细胞中的蛋白质、代谢物和核酸可有效改变它们的生物学反应,如抗细胞凋亡、转移、血管生成、免疫逃避和化学抗性等^[24]。研究发现,GSCs 可释放含有 Notch1 蛋白的外泌体,一旦这些外泌体被非 GSCs 胶质瘤细胞吸收,Notch 信号即可被激活并且传递 Notch1 蛋白,介导非 GSC 胶质瘤细胞去分化为 GSCs,使其增殖、神经球形成、侵袭能力和致癌性显著增加^[25]。目前 Notch 信号通路在胶质瘤外泌体中的研究仍较少,寻找调控 Notch 信号通路的外泌体相关基因有着巨大的研究潜力。

3 小结与展望

本文重点介绍了 Notch 信号通路的作用机制以及在胶质瘤中的发生发展过程。从 GSCs、新生血管形成、缺氧、EMT、肿瘤耐药性以及外泌体等多方面进行了阐述,有助于更好地了解 Notch 信号通路在胶质瘤发生发展、复发、治疗耐药中的作用机制。随着新疗法的发展,Notch 通路也将成为治疗胶质瘤的重要靶点,包括 Notch 信号抑制剂在内的多种联合治疗有望提供有前景的治疗方法,从而进一步改善病人的预后。

【利益冲突声明】:本文不存在任何利益冲突。
【作者贡献声明】:夏小超负责查阅文献、撰写论文;熊平、王子豪、宋旅萌、程银川参与查阅文献;李舜负责拟定写作思路及修改论文。

【参考文献】

[1] WANG Z, ZHANG H, XU S, *et al.* The adaptive transition of glioblastoma stem cells and its implications on treatments [J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 124.
[2] CONDORELLI AG, EL HACHEM M, ZAMBRUNO G, *et al.* Notch-ing up knowledge on molecular mechanisms of skin fibrosis: focus

on the multifaceted Notch signalling pathway [J]. J Biomed Sci, 2021, 28(1): 36.

[3] AKIL A, GUTIERREZ-GARCIA AK, GUENTER R, *et al.* Notch signaling in vascular endothelial cells, angiogenesis, and tumor progression: an update and prospective [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 642352.

[4] ZHOU B, LIN W, LONG Y, *et al.* Notch signaling pathway: architecture, disease, and therapeutics [J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 95.

[5] FERREIRA A, ASTER JC. Notch signaling in cancer: complexity and challenges on the path to clinical translation [J]. Semin Cancer Biol, 2022, 85: 95–106.

[6] CANALIS E. Clinical and experimental aspects of notch receptor signaling: Hajdu-Cheney syndrome and related disorders [J]. Metabolism, 2018, 80: 48–56.

[7] TEODORCZYK M, SCHMIDT MHH. Notching on cancer’s door: Notch signaling in brain tumors [J]. Front Oncol, 2014, 4: 341.

[8] AGGARWAL V, TULI HS, VAROL M, *et al.* NOTCH signaling: journey of an evolutionarily conserved pathway in driving tumor progression and its modulation as a therapeutic target [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2021, 164: 103403.

[9] BAZZONI R, BENTIVEGNA A. Role of Notch signaling pathway in glioblastoma pathogenesis [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(3): 292.

[10] AYAZ F, OSBORNE BA. Non-canonical Notch signaling in cancer and immunity [J]. Front Oncol, 2014, 4: 345.

[11] SHABANI M, JAVANSHIR HT, BEREIMPOUR A, *et al.* Contradictory effect of notch1 and notch2 on phosphatase and tensin homolog and its influence on glioblastoma angiogenesis [J]. Galen Med J, 2021, 10: e2091.

[12] LI Y, ZHOU XC, TAO L, *et al.* Notch1 signaling pathway promotes invasion, self-renewal and growth of glioma initiating cells via modulating chemokine system CXCL12/CXCR4 [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 339.

[13] SHEN Y, CHEN H, ZHANG J, *et al.* Increased Notch signaling enhances radioresistance of malignant stromal cells induced by glioma stem/progenitor cells [J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0142594.

[14] LIU J, WANG X, CHEN AT, *et al.* ZNF117 regulates glioblastoma stem cell differentiation towards oligodendroglial lineage [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 2196.

[15] LIANG W, GUO B, YE J, *et al.* Vascularin stimulates malignant progression and angiogenesis in glioma [J]. Cancer Sci, 2019, 110(8): 2558–2572.

[16] SENGUPTA S, MONDAL M, PRASASVI KR, *et al.* Differentiated glioma cell-derived fibromodulin activates integrin-dependent Notch signaling in endothelial cells to promote tumor angiogenesis and growth [J]. Elife, 2022, 11: e78972.

[17] JING X, YANG F, SHAO C, *et al.* Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment [J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 157.

[18] QIANG L, WU T, ZHANG HW, *et al.* HIF-1α is critical for hypoxia-mediated maintenance of glioblastoma stem cells by activating Notch signaling pathway [J]. Cell Death Differ, 2012, 19(2): 284–294.

[19] MAN J, YU X, HUANG H, *et al.* Hypoxic induction of vascularin regulates Notch1 turnover to maintain glioma stem-like cells [J]. Cell Stem Cell, 2018, 22(1): 104–118.

[20] GAO K, JI Z, SHE K, *et al.* Long non-coding RNA ZFAS1 is an unfavourable prognostic factor and promotes glioma cell progression by activation of the Notch signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 87: 555–560.

[21] MACIACZYK D, PICARD D, ZHAO L, *et al.* CBF1 is clinically prognostic and serves as a target to block cellular invasion and chemoresistance of EMT-like glioblastoma cells [J]. Br J Cancer, 2017, 117(1): 102–112.

[22] ALAFATE W, XU D, WU W, *et al.* Loss of PLK2 induces acquired resistance to temozolomide in GBM via activation of notch signaling [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 239.

[23] HERRERA-RIOS D, LI G, KHAN D, *et al.* A computational guided, functional validation of a novel therapeutic antibody proposes Notch signaling as a clinical relevant and druggable target in glioma [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 16218.

[24] HAN QF, LI WJ, HU KS, *et al.* Exosome biogenesis: machinery, regulation, and therapeutic implications in cancer [J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 207.

[25] SUN Z, WANG L, ZHOU Y, *et al.* Glioblastoma stem cell-derived exosomes enhance stemness and tumorigenicity of glioma cells by transferring Notch1 protein [J]. Cell Mol Neurobiol, 2020, 40(5): 767–784.

(2023-03-20收稿, 2023-11-06修回)