

NOTCH、VEGF 信号通路在急性髓性白血病发生及血管新生中的作用

贺今¹, 纪春岩²

1. 济南医院职业病科, 山东 济南 250013; 2. 山东大学齐鲁医院血液病科, 山东 济南 250012

关键词: 血管新生; 急性髓性白血病; NOTCH 信号转导通路; 血管内皮细胞生长因子

中图分类号: R 733.71 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)04-0558-03

急性髓性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是一种侵袭性很强的造血祖细胞恶性克隆性血液病, 近年研究表明 AML 的发生、发展及化疗敏感性都与血管新生密切相关^[1-2]。血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 与 NOTCH 通路在调节胚胎血管发育和肿瘤血管新生 (angiogenesis) 中起到关键调控作用。然而, VEGF 与 NOTCH 通路在血管新生中的具体作用机制仍不清楚。对两条信号通路的分子调控的深入研究, 有助于研发治疗 AML 的新型抗血管生成药物。本文就近年来的相关研究做一综述。

1 VEGF 信号通路在 AML 血管新生中的作用

AML 是进展迅速的恶性肿瘤, 其特征为白血病细胞在骨髓 (bone marrow) 中的恶性增殖导致正常骨髓造血受抑制, 非造血细胞如脂肪细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞在骨髓中增加, 近年的研究表明, AML 的发生及发展与骨髓血管新生密切相关^[3], 微血管密度 (microvascular density, MVD) 是反映血管新生最常用的一项指标, 肿瘤组织通过相关新生血管的形成, 建立了与全身血液循环的连续性, 使肿瘤细胞表达其关键的生长优势, 从而有利于肿瘤的转移扩散^[4], MVD 与原发性和继发性肺癌、肺癌等肿瘤细胞的淋巴结转移密切相关^[5-6], 可作为肿瘤患者预后的独立预测因子。国内外研究已经证明在成人及儿童 AML 发现 MVD 增加, 证实血管新生现象^[7-8], 且骨髓 MVD 的增加与 AML 的预后密切相关^[9]。叶绣锦等^[10]对 95 例成人急性白血病 (AL) 患者骨髓活检标本进行了研究, 表明 MVD 与骨髓干细胞 (bone marrow stromal cells, BMSCs) 百分数呈一定的相关性, 白血病细胞与血管新生之间关系密切, 白血病细胞分泌促血管新生因子, 可能诱导血管新生反应, 激活的 VEGF 等能引起白血病细胞增殖反应, 血管内皮细胞和白血病细胞彼此之间相互刺激, 是白血病细胞存活增殖的重要原因, 而初发未治和复发难治性白血病 MVD 增高也与体内残留白血病细胞持续产生血管新生的信号刺激内皮细胞而诱导血管新生反应密切相关。

国外研究也证实 VEGF 是调控血管新生的关键因子, 可通过促进血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1) 和细胞间黏附分子-

1 (ICAM-1) 在内皮细胞的表达, 从而促进自然杀伤细胞 (activated natural killer, NK) 对新生血管内皮细胞的黏附^[11-12], 所以 VEGF 是一种能特异作用于血管内皮细胞的生长因子, 其在 AML 血管新生过程中起重要作用^[3]。现已发现的 VEGF 家族包括 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E 和胎盘生长因子 (PGF), 有三种 VEGF 受体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR): VEGFR-1 (flt-1)、VEGFR-2 (flk-1-KDR)、VEGFR-3 (flt-4) 和神经纤毛 neuropilin (NRP1/NRP2)^[13]。VEGF-A 在组织和细胞中含量最丰富, VEGF165 为其最主要的同分异构体。在 VEGF 家族中, VEGF-A 和 VEGF-C 在 AML 的骨髓细胞中表达^[14], 研究表明在 AML 患者的白血病细胞可不断产生和分泌 VEGF-A 和 VEGF-C^[15], 发挥促血管生成因子作用, 增加 MVD, 促进 AML 的血管新生, 而使用沙利度胺抗血管生成药物化疗后的 AML 患者, VEGF-A 和 VEGF-C 的血清水平会明显下降^[16]。AML 患者的白细胞相关 VEGF 与骨髓血管新生增加, 在 AML 小鼠动物模型中和体外人白血病细胞培养均证明 VEGF 及其受体 (KDR 和 NRP-1) 的 mRNA 表达增高, 在小鼠髓性白血病模型中 VEGF165 的增加可增强粒细胞肉瘤 (即绿色瘤) 的生长和肿瘤新生血管的生成, 相反, VEGFR 拮抗剂 (sNRP-1) 能抑制肿瘤血管新生和肿瘤的生长^[17], 表明 VEGF 可促进 AML 的进展, 这为 VEGF 拮抗剂作为抗血管生成药物提供 AML 治疗的新的靶向治疗策略。国内 Wang 等^[18]采用 ELISA 法检测了 61 例难治性白血病患者 (35 例原发、6 例复发、20 例缓解期) 的血浆 VEGF 浓度, 认为 VEGF 信号通路是减少 AML 患者细胞凋亡的重要原因。

2 NOTCH 信号通路在 AML 血管新生中的作用

许多肿瘤的发生发展均与 NOTCH 受体表达异常有关, 在不同组织中肿瘤发展的不同阶段, 乃至同一系统肿瘤中不同 NOTCH 受体的作用可能不同, 如在乳腺癌中 NOTCH-1 的异常高表达并在不同发展阶段的作用可能不同^[19]。人类 NOTCH-1 最早是在染色体异常的 T 细胞白血病/淋巴瘤的细胞中被发现的。Ellisen 等^[20]研究发现, 在人类急性 T 淋巴细胞白血病 (T acute lymphoblastic leukemia, T-ALL) 中, 7 号和 9 号染色体易位 [t(7;9)(q34;q34.3)] 导致了位于 9 号染色体上的 NOTCH1 基因断裂, 使 NOTCH1 胞内段的编码区与 T 细胞受

体 β (TCR β) 基因的增强子和启动子发生融合。TCR β NOTCH1 融合基因编码截短的 NOTCH1 多肽段,定位于细胞核中,结构与正常情况下活化的 NOTCH1 胞内段相似,最终导致 NOTCH 信号过度激活,而 NOTCH1 胞内段可作用于 T 前体细胞使之向恶性形式转化,进而发展成 T 急性淋巴细胞白血病。此后在造血干细胞(CD34⁺ 或 CD34⁺ lin⁻)中相继检测到 NOTCH-1 基因,并对 NOTCH 基因在血管新生中的作用进行了研究。

血管新生依赖于多种促进血管发生因子和抑制血管发生因子的交互作用。血管发生过程中起始于内皮细胞在某梯度促血管发生因子,如 VEGF 的环境下被诱导,内皮细胞向促血管发生因子迁徙,并在迁徙的前沿增殖,然后内皮萌发分支,形成管腔。因此需要有一个顶端细胞来带领成体干细胞进行此过程,所以萌发的分支需要反复诱导和挑选尖端细胞来完成。研究显示,VEGF 和 NOTCH 信号传递途径参与了诱导和挑选尖端细胞的过程。NOTCH 配体是表达于细胞表面的单跨膜蛋白,是 NOTCH 信号通路中关键的转录调节因子,哺乳动物中,NOTCH 信号转导通路有 5 个配体,分别称之为 Jagged1、Jagged2 和 Delta-like1 (DLL-1)、DLL3、DLL-4。动物实验研究表明,DLL-4 主要在新生血管末端顶端细胞中表达,而其他类型细胞表达则很少。Suchting 等^[21]通过实验证明,当 VEGF 信号转导途径被阻断后小鼠血管内皮顶端细胞中 DLL4 的表达减少,从而使血管分支发育过程受阻。Maihos 等^[22]将人的乳腺癌细胞株种植到小鼠身上,4 周后可见肿瘤的形成,原位杂交检测证明,DLL4 的表达主要局限在肿瘤组织的血管内皮细胞上,而相邻的正常组织的血管几乎不表达 DLL4。NOTCH 信号在血管生成调控过程中伴随有 VEGF 通路的参与。VEGF 信号及缺氧可诱导 DLL4 的表达^[23],反之,DLL4 表达促使 VEGF 受体表达上调。考虑到 DLL4-NOTCH 信号传递途径是血管专一性的^[24],在活跃的血管系统而非在正常血管维护中扮演的角色,而且 DLL4 表达在未治疗的 AML 患者中表达是上调的^[25-26],因此有理由相信在 AML 中抑制 DLL4 对 AML 有重要的靶向治疗作用,该途径的调控有希望作为一种新的抗血管生成策略用于 AML 的治疗。

3 抑制 NOTCH 和 VEGF 双信号通路在 AML 靶向分子治疗中的展望

国外 Lee 等^[27]研究表明,抑制 VEGFR-3 可促使 AML 相关 NK 细胞的细胞毒性恢复,AML 患者体内的 NK 细胞能上调 VEGFR-3(主要的 VEGF-C 受体),而抑制 VEGFR-3 可恢复 NK 细胞的杀伤作用是由于 IFN- γ 水平的增高,因而可以推测通过阻断 VEGFR-3 信号通路可增强 NK 细胞杀伤的作用,并提供使用免疫细胞疗法治疗 AML 的可能性。由于 NOTCH 信号在血管生成调控过程中伴随有 VEGF 通路的参与,DLL4 表达可促使 VEGF 受体表达上调,因此,有理由推测,联合抑制 VEGFR 和 DLL4-Notch 信号通路有希望作为治疗 AML 的新的抗血管生成策略。

参考文献

[1] Ayala F, Dewar R, Kieran M, et al. Contribution of bone microenvi-

ronment to leukemogenesis and leukemia progression[J]. *Leukemia*, 2009, 23(12):2233-2241.

- [2] Hatfield K, Rynning A, Corbascio M, et al. Microvascular endothelial cells increase proliferation and inhibit apoptosis of native human acute myelogenous leukemia blasts[J]. *Int J Cancer*, 2006 119(10):2313-2321.
- [3] Hussong JW, Rodgers GM, Shami PJ. Evidence of increased angiogenesis in patients with acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2000, 95(1):309-313.
- [4] Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1990, 82(1):4-6.
- [5] Vartanian RK, Weidner N. Correlation of intratumoral endothelial cell proliferation with microvessel density (tumor angiogenesis) and tumor cell proliferation in breast carcinoma[J]. *Am J Pathol*, 1994, 144(6):1188-1194.
- [6] Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, et al. Relation of neovascularization to metastasis of non-small-cell lung cancer[J]. *Lancet*, 1992, 340(8812):145-146.
- [7] Jothilingam P, Basu D, Dutta TK. Angiogenesis and proliferation index in patients with acute leukemia: a prospective study[J]. *Bone Marrow Res*, 2014, 2014:634874.
- [8] 王敏, 顾健. 急性白血病骨髓微血管密度变化及临床意义[J]. *实用临床医药杂志*, 2006, 10(9):61-63.
- [9] Rabitsch W, Sperr WR, Lechner K, et al. Bone marrow microvessel density and its prognostic significance in AML[J]. *Leuk Lymphoma*, 2004, 45(7):1369-1373.
- [10] 叶绣锦, 林茂芳, 王丽君, 等. 成人急性白血病患者骨髓微血管密度的变化及临床意义[J]. *中华血液学杂志*, 2004, 25(2):119.
- [11] Melder RJ, Koenig GC, Witwer BP, et al. During angiogenesis, vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor regulate natural killer cell adhesion to tumor endothelium[J]. *Nat Med*, 1996, 2(9):992-997.
- [12] Padró T, Ruiz S, Bieker R, et al. Increased angiogenesis in the bone marrow of patients with acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2000, 95(8):2637-2644.
- [13] Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(5):1011-1027.
- [14] Fielder W, Graeven U, Ergün S, et al. Expression of FLT4 and its ligand VEGF-C in acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 1997, 11(8):1234-1237.
- [15] Ghannadan M, Wimazal F, Simonitsch I, et al. Immunohistochemical detection of VEGF in the bone marrow of patients with acute myeloid leukemia[J]. *Am J Clin Pathol*, 2003, 119(5):663-671.
- [16] Sanaat Z, Khalili R, Almasi S, et al. Does Chemotherapy Change Expression of VEGF A&C and MVD in Acute Myeloid Leukemia? [J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2014, 8(3):24-29.
- [17] Schuch G, Machluf M, Bartsch G Jr, et al. In vivo administration of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its antagonist, soluble neuropilin-1, predicts a role of VEGF in the progression of acute myeloid leukemia in vivo[J]. *Blood*, 2002, 100(13):4622-4628.

- asia, 2011, 52(3): e7 - e11.
- [6] Ramm-Petersen A, Stabell KE, Nakken KO, et al. Does ketogenic diet improve cognitive function in patients with GLUT1-DS? A 6-to 17-month follow-up study[J]. *Epilepsy Behav*, 2014, 39: 111 - 115.
- [7] Alter AS, Engelstad K, Hinton VJ, et al. Long-term clinical course of Glut1 deficiency syndrome[J]. *J Child Neurol*, 2015, 30(2): 160 - 169.
- [8] Dravet C. The core Dravet syndrome phenotype[J]. *Epilepsia*, 2011, 52 Suppl 2: 3 - 9.
- [9] Kang HC, Kim YJ, Kim DW, et al. Efficacy and safety of the ketogenic diet for intractable childhood epilepsy: Korean multicentric experience[J]. *Epilepsia*, 2005, 46(2): 272 - 279.
- [10] Nabbout R, Copioli C, Chipaux M, et al. Ketogenic diet also benefits Dravet syndrome patients receiving stiripentol: a prospective pilot study[J]. *Epilepsia*, 2011, 52(7): e54 - e57.
- [11] Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies; report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005 - 2009[J]. *Epilepsia*, 2010, 51(4): 676 - 685.
- [12] Oguni H, Tanaka T, Hayashi K, et al. Treatment and long-term prognosis of myoclonic-astatic epilepsy of early childhood[J]. *Neuropediatrics*, 2002, 33(3): 122 - 132.
- [13] Laux LC, Devonshire KA, Kelley KR, et al. Efficacy of the ketogenic diet in myoclonic-epilepsy of Doose[J]. *Epilepsia*, 2004, 45 Suppl 7: 251.
- [14] Caraballo RH, Cersósimo RO, Sakr D, et al. Ketogenic diet in patients with myoclonic-astatic epilepsy[J]. *Epileptic Disord*, 2006, 8(2): 151 - 155.
- [15] Hong AM, Turner Z, Hamdy RF, et al. Infantile spasms treated with the ketogenic diet: prospective single-center experience in 104 consecutive infants[J]. *Epilepsia*, 2010, 51(8): 1403 - 1407.
- [16] Eun SH, Kang HC, Kim DW, et al. Ketogenic diet for treatment of infantile spasms[J]. *Brain Dev*, 2006, 28(9): 566 - 571.
- [17] Kossoff EH, Hedderick EF, Turner Z, et al. A case-control evaluation of the ketogenic diet versus ACTH for new-onset infantile spasms[J]. *Epilepsia*, 2008, 49(9): 1504 - 1509.
- [18] Sharma S, Sankhyan N, Gulati S, et al. Use of the modified Atkins diet in infantile spasms refractory to first-line treatment[J]. *Seizure*, 2012, 21(1): 45 - 48.
- [19] Lemmon ME, Terao NN, Ng Y, et al. Efficacy of the ketogenic diet in Lennox-Gastaut syndrome: a retrospective review of one institution's experience and summary of the literature[J]. *Dev Med Child Neurol*, 2012, 54(5): 464 - 468.
- [20] Hughes JR. A review of the relationships between Landau-Kleffner syndrome, electrical status epilepticus during sleep, and continuous spike-waves during sleep[J]. *Epilepsy Behav*, 2011, 20(2): 247 - 253.
- [21] Loddenkemper T, Fernández IS, Peters JM. Continuous spike and waves during sleep and electrical status epilepticus in sleep[J]. *J Clin Neurophysiol*, 2011, 28(2): 154 - 164.
- [22] Bergqvist AG, Chee CM, Lutchka LM, et al. Treatment of acquired epileptic aphasia with the ketogenic diet[J]. *J Child Neurol*, 1999, 14(11): 696 - 701.
- [23] Nikanorova M, Miranda MJ, Atkins M, et al. Ketogenic diet in the treatment of refractory continuous spikes and waves during slow sleep[J]. *Epilepsia*, 2009, 50(5): 1127 - 1131.
- [24] Dagli A, Buiting K, Williams CA. Molecular and Clinical Aspects of Angelman Syndrome[J]. *Mol Syndromol*, 2012, 2(3/5): 100 - 112.
- [25] Thibert RL, Pfeifer HH, Larson AM, et al. Low glycemic index treatment for seizures in Angelman syndrome[J]. *Epilepsia*, 2012, 53(9): 1498 - 1502.
- [26] Yamamoto H, Okumura A, Fukuda M. Epilepsies and epileptic syndromes starting in the neonatal period[J]. *Brain Dev*, 2011, 33(3): 213 - 220.
- [27] Cusmai R, Martinelli D, Moavero R, et al. Ketogenic diet in early myoclonic encephalopathy due to non ketotic hyperglycinemia[J]. *Eur J Paediatr Neurol*, 2012, 16(5): 509 - 513.

收稿日期: 2015 - 11 - 07 修回日期: 2016 - 01 - 02 编辑: 王国品

(上接第 559 页)

- [18] Wang L, Zhang WJ, Ding Y, et al. Up-regulation of VEGF and its receptor in refractory leukemia cells[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 5282 - 5290.
- [19] 董学斌, 纪春岩, 马道新, 等. Notch 信号在人类乳腺癌中的作用[J]. *中华肿瘤杂志*, 2007, 29(6): 425 - 428.
- [20] 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.
- [21] Suchting S, Freitas C, le Noble F, et al. The notch ligand Delt like4 negatively regulates endothelial tip cell formation and vessel branching[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(9): 3225 - 3230.
- [22] Mailhos C, Modlich U, Lewis J, et al. Delta4 an endothelial specific notch ligand expressed at sites of physiological and tumor angiogenesis[J]. *Differentiation*, 2001, 69(2/3): 135 - 144.
- [23] Diez H, Fischer A, Winkler A, et al. Hypoxia-mediated activation of DLL 4-Notch-Hey 2 signaling in endothelial progenitor cells and adoption of arterial cell fate[J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(1): 1 - 9.
- [24] 纪春岩, 马道新, 郭农建, 等. Delta4 的功能性研究及与其他 Notch 配体的比较[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2003, 41(5): 477 - 480.
- [25] Zhang J, Ye J, Ma D, et al. Cross-talk between leukemic and endothelial cells promotes angiogenesis by VEGF activation of the Notch/dll4 pathway[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(3): 667 - 677.
- [26] Zhang J, Ma D, Ye J, et al. Prognostic impact of δ -like ligand 4 and Notch1 in acute myeloid leukemia[J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(4): 1503 - 1511.
- [27] Lee JY, Park S, Min WS, et al. Restoration of natural killer cell cytotoxicity by VEGF-3 inhibition in myelogenous leukemia[J]. *Cancer Lett*, 2014, 354(2): 281 - 289.

收稿日期: 2015 - 12 - 01 修回日期: 2016 - 01 - 18 编辑: 石嘉莹