

患者是安全而有效的。

尽管这些治疗手段多停留在实验阶段或只是少数的病例报道,但随着对 NF1 相关血管病变发病机制不断深入地了解,必将揭开 NF1 相关血管病变的神秘面纱,从而获得有效的治疗途径。

参考文献

- 1 Piotrowski A, Xie J, Liu YF, *et al.* Germline loss - of - function mutations in LZTR1 predispose to an inherited disorder of multiple schwannomas[J]. *Nat Genet*,2014, 46(2): 182 - 187
- 2 Bajaj A, Li QF, Zheng QX, *et al.* Loss of NF1 expression in human endothelial cells promotes autonomous proliferation and altered vascular morphogenesis[J]. *PLoS One*,2012, 7(11): e49222
- 3 Johnson KJ, Hussain I, Katherine W, *et al.* Development of an international internet - based neurofibromatosis Type 1 patient registry[J]. *Contemp Clin Trials*, 2013, 34(2): 305 - 311
- 4 Kaas B, Huisman TA, Tekes A, *et al.* Spectrum and prevalence of vasculopathy in pediatric neurofibromatosis type 1[J]. *J Child Neurol*,2013, 28(5): 561 - 569
- 5 Ghosh PS, Rothner AD, Emch TM, *et al.* Cerebral vasculopathy in children with neurofibromatosis type 1[J]. *J Child Neurol*,2013, 28(1): 95 - 101
- 6 Jett K, Friedman JM. Clinical and genetic aspects of neurofibromatosis 1[J]. *Genet Med*,2010, 12(1): 1 - 11
- 7 Santoro C, Rocco FD, Manoelle K, *et al.* Moyamoya syndrome in children with neurofibromatosis type 1: Italian - French experience[J]. *Am J Med Genet: Part A*, 2017, 173(6): 1521 - 1530
- 8 Phi JH, Choi JW, Seong MW, *et al.* Association between moyamoya syndrome and the RNF213 c.14576G > A variant in patients with neurofibromatosis type 1[J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2016, 17(6): 717 - 722
- 9 Baek ST, Tallquist MD. Nfl limits epicardial derivative expansion by regulating epithelial to mesenchymal transition and proliferation[J]. *Development*,2012, 139(11): 2040 - 2049
- 10 Kawachi Y, Maruyama H, Ishitsuka Y, *et al.* NF1 gene silencing in-

- duces upregulation of vascular endothelial growth factor expression in both Schwann and non - Schwann cells[J]. *Exp Dermatol*,2013, 22(4): 262 - 265
- 11 Jousma E, Rizvi TA, Wu JQ, *et al.* Preclinical assessments of the MEK inhibitor PD - 0325901 in a mouse model of Neurofibromatosis type 1[J]. *Pediatr Blood Cancer*,2015, 62(10): 1709 - 1716
- 12 Lasater EA, Li F, Bessler WK, *et al.* Genetic and cellular evidence of vascular inflammation in neurofibromin - deficient mice and humans [J]. *J Clin Invest*,2010, 120(3): 859 - 870
- 13 Li F, Downing BD, Smiley LC, *et al.* Neurofibromin - deficient myeloid cells are critical mediators of aneurysm formation in vivo[J]. *Circulation*,2014, 129(11): 1213 - 1224
- 14 Bessler WK, Hudson FZ, Zhang HF, *et al.* Neurofibromin is a novel regulator of Ras - induced reactive oxygen species production in mice and humans[J]. *Free Radical Biol Med*,2016, 97:212 - 222
- 15 Bessler WK, Kim G, Hudson FZ, *et al.* Nfl^{+/-} monocytes/macrophages induce neointima formation via CCR2 activation[J]. *Human Mol Genet*,2016, 25(6): 1129 - 1139
- 16 Mayes DA, Rizvi TA, Titus M, *et al.* Nfl loss and Ras hyperactivation in oligodendrocytes induce NOS - driven defects in myelin and vasculature[J]. *Cell Rep*,2013, 4(6): 1197 - 1212
- 17 Gutmann DH, Ferner RE, Titus - Mitchell H, *et al.* Neurofibromatosis type 1[J]. *Nat Rev Dis primers*,2017, 3:17004
- 18 Padmanabhana A, Lee JS, Fraz AI, *et al.* Cardiac and vascular functions of the zebrafish orthologues of the type I neurofibromatosis gene NFI[J]. *PNAS*, 2009, 106(52):22305 - 22310
- 19 Meyerholz DK, Ofori - Amanfo GK, Leidinger MR, *et al.* Immunohistochemical markers for prospective studies in neurofibromatosis - 1 porcine models[J]. *J Histochem Cytochem*,2017, 65(10): 607 - 618
- 20 Ishigaki J, Kawasaki R, Matsuda H, *et al.* Endovascular treatment for a ruptured lumbar artery aneurysm in a patient with von recklinghausen disease[J]. *EJVES Short Rep*,2018, 38:1 - 3

(收稿日期:2019 - 02 - 25)

(修回日期:2019 - 04 - 22)

三氧化二砷在髓母细胞瘤治疗中对 SHH 通路抑制机制的研究进展

方黄毅 张哲 庞晨 盛汉松

摘要 髓母细胞瘤(medulloblastoma, MB)是小儿中枢神经系统常见的恶性肿瘤之一。SHH(sonic hedgehog signaling pathway)信号通路是小脑的发育形成过程中重要的信号通路,它可以调控神经细胞发育和增殖,维持小脑正常的功能结构。当 SHH

基金项目:浙江省科技厅基金资助项目(2016C33SA300055);温州市科技局科研基金资助项目(Y20180665)

作者单位:325035 温州医科大学(方黄毅、张哲、庞晨);325027 温州医科大学附属第二医院神经外科(盛汉松)

通讯作者:盛汉松,副主任医师,电子信箱:shs951052@163.com

信号通路中的某些基因发生突变时,会导致小脑细胞异常增殖形成 MB。三氧化二砷(ATO)作为 SHH 信号通路的一种靶向抑制剂,对抑制 MB 的增殖生长具有一定作用。本文主要就三氧化二砷对 SHH 信号通路的靶向抑制作用做一综述。

关键词 髓母细胞瘤 SHH 信号通路 三氧化二砷

中图分类号 R74

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.12.037

髓母细胞瘤(MB)是儿童中枢神经系统最常见的恶性肿瘤之一,约占15岁以下儿童所有脑部肿瘤的20%^[1]。MB具有恶性程度高、容易转移、术后易复发等特点。通过对髓母细胞瘤的患者采取手术、放疗及化疗的综合治疗,髓母细胞瘤患者的术后生存率(0.1~20.3年)达到70%。尽管常规疗法对大部分髓母细胞瘤患者有效果,但大多数存活者长期忍受放疗和化疗带来的不良反应,包括发育、神经以及内分泌等方面的失调^[2]。因此,寻找更加安全、高效及低廉的靶向抑制治疗具有重要的意义。

在细胞分子研究中,MB包含了多个分子亚型:SHH型、WNT型、第3组型(group3)、第4组型(group4)。髓母细胞瘤亚群显示高度不同的细胞遗传学、突变谱和基因表达特征,此外还有不同的临床表型,例如肿瘤细胞组织学和患者预后的差异^[3]。SHH型基本为促纤维增生/结节型髓母细胞瘤,好发于婴幼儿和成人,预后较差。在大多数情况下,SHH亚组涉及SHH通路的一个或多个基因(如PTCH1、SUFU或SMO等)的体细胞突变,导致通路异常激活,进一步导致MB的发生。

三氧化二砷(ATO)作为SHH信号通路的一种靶向抑制剂,主要通过抑制SHH信号通路下游GLI蛋白在肿瘤细胞中的特异性表达,从而抑制通路下游的靶基因的过度激活来发挥抑制肿瘤细胞增殖生长的作用^[4]。

一、MB中SHH通路的异常表达与调节

SHH信号通路的激活在胚胎发育过程中对于不同组织和器官的增殖分化是必不可少的。在胚胎发育阶段之后,该通路通过控制细胞增殖和分化来促进成体组织的稳定和修复。然而,当这种途径被异常激活时,会导致不同器官肿瘤的产生^[1]。在小脑的胚胎发育过程中,SHH信号通路主要通过调控小脑外颗粒层的普肯野细胞(purkinje cell)增殖从而促进小脑发育增殖,但在胚胎期之后仍维持其激活可能导致MB的发生。通路的异常激活在MB中发生机制通常表现为PTCH1或者通路下游基因的突变^[5]。SHH信号通路中的SHH蛋白的相对分子质量为45000,具有自催化活性,可分为N端和C端(分别为20000和

25000)^[6]。SHH的N端羧基发生变化,形成胆固醇,增强蛋白的结合、分泌和转运活性。当SHH与PTCH1跨膜受体结合时,SMO(通常被PTCH1抑制的受体)被释放,经历构象改变,并转移到细胞质中。SMO与细胞质中融合同源物(SUFU)的抑制剂结合,从而释放属于GLI家族的蛋白质。GLI蛋白转运到细胞核,在细胞核中它们作为转录因子调节不同靶点的表达,例如GLI1、PTCH1、CYCLIND和MYC,这些靶点涉及细胞存活、增殖和分化,当这些转录因子异常激活或抑制则可能导致MB的发生^[5]。研究表明,GLI家族蛋白中GLI2在SHH激活中起核心作用。GLI1蛋白与GLI2一起转录,但是没有起主要作用,仅作为该通路的激活标记^[7]。并且有相关实验表明GLI2基因敲除引起的细胞数目减少是由G₀细胞周期阻滞引起的,不会发生细胞凋亡^[8]。这些发现表明在MB的治疗中GLI2是可能的治疗目标。导致SHH通路活化的一个机制是抑制调节基因的突变,这种机制的一个例子是PTCH1同源物编码基因的体细胞突变和杂合性丢失^[9]。

PTCH是一种12次跨膜蛋白受体,SMO是一种7次跨膜蛋白受体,属于G蛋白偶联受体超家族的一员。在人类体内发现存在两种PTCH同源基因为PTCH1和PTCH2,PTCH蛋白位于细胞膜表面,具有两种功能,一是与SHH蛋白结合,二是抑制SMO蛋白。当PTCH1同源物编码基因发生改变,SHH蛋白与PTCH结合,PTCH对SMO的抑制作用就被解除,SMO将信号向胞内传递,可导致MB发生。有研究发现,两个GLI等位基因的失活导致PTCH杂合小鼠中MB的形成,这表明SHH信号可以独立指导肿瘤的发生^[7]。SHH的激活还涉及其他基因的突变,婴幼儿和成人中最常见的是SUFU和SMO突变^[7]。在4~17岁的患者中TP53基因突变占到50%。这些结果表明考虑患者的年龄范围和存在的遗传改变,可以更好地指导MB的治疗。此外,其他信号通路可与SHH通路发生交叉调节。通过血管内皮生长因子(EGF)和重组SHH(N-shh)刺激可上调细胞中PI₃K、MAPK和SHH信号通路的表达,细胞表面生长因子(EGF)通过EGFR介导的信号的诱导强烈激活

ERK1/2 和 AKT^[10]。ERK1/2 和 AKT 通过上调 SHH 下游靶基因 GLI1 的转录水平且不影响 GLI3A/GLY3R 比值来增强 SHH 通路活性。这些信号通路抑制剂的联合使用是 MB 靶向治疗的一种潜在的选择。

二、当前针对 SHH 通路的靶向治疗

SHH 通路抑制剂是一类针对 SHH 通路基因异常激活进行靶向治疗的药物,天然甾体生物碱环杷明(cyclopmine)是最早发现具有 SHH 通路抑制活性的药物之一。它通过选择性地结合 SMO 发挥作用,具有抑制细胞增殖分化和体内肿瘤转移的能力^[11,12]。这些发现也促进了包括 vismodegib (GDC - 0449) 在内的 SMO 抑制剂类药物的发展^[13]。首例接受 SHH 髓母细胞瘤治疗的成人患者对 vismodegib 迅速产生耐药性,后来发现其 SMO 点突变 D473H, D473H 突变破坏了 vismodegib 与 SMO 的结合能力,导致耐药性的发生^[14]。有研究发现, vismodegib 和 mebendazole 联合使用可抑制 SHH 信号通路^[13]。mebendazole 是一种抗寄生虫药,通过抑制原纤毛的形成来抑制 SHH 信号通路的异常激活,这对于 SMO 突变的肿瘤细胞具有一定的抑制效果。此外,SHH 信号通路上游的小分子抑制剂被证明能够有效抑制 SHH 通路的异常表达。Robotnikin 是该通路上游常见的小分子抑制剂,它能够与 SHH 蛋白竞争性结合,拮抗 SHH 蛋白与 PTCH1 受体结合从而抑制 SHH 信号通路异常表达^[15]。但是,在 SHH 基因发生突变时,这种抑制剂也可能会失去作用。所以,多种 SHH 信号通路靶向抑制剂的联合使用可能减少耐药性的发生。

有研究表明 SHH 型髓母细胞瘤尤其是合并有 GLI2 转录活跃的患者,其预后往往较差,拮抗 SHH 信号通路下游 GLI 基因的异常激活,可能能够提高患者的预后^[16]。GANT61、GANT58 是 SHH 信号通路下游的 GLI 常见的转录拮抗剂,它们通过与 GLI 基因位点特异性结合,拮抗 GLI 蛋白转录活性从而抑制 SHH 信号通路的异常激活^[17]。所以,SHH 信号通路下游基因位点的靶向抑制对肿瘤治疗同样具有重要的作用,而且为解决抑制剂耐药性等问题提供了新的思路。

三、ATO 作用机制

ATO 作为一种已知的用于治疗急性早幼粒细胞白血病 M3 的药物,其对早幼粒细胞白血病蛋白(PML)的影响已经得到很好的证实。ATO 通过与目标蛋白附近的半胱氨酸的巯基直接相互作用而发挥

其生物效应^[7]。在 SHH 通路的研究中 ATO 主要通过抑制 GLI2 在纤毛积聚并促进 GLI2 降解从而抑制肿瘤生长。研究表明,砷与微管蛋白相互作用影响 GLI 蛋白向纤毛的转移能力,并且这种作用可以通过破坏 GLI 蛋白结构来介导^[18]。相关实验还表明 ATO 抑制生长的作用与 GLI 蛋白水平有关,ATO 影响了几种 GLI1 或 GLI2 蛋白表达水平高的肿瘤细胞系的生长,但对 GLI 蛋白表达水平低的细胞系影响不大,这提示对于患者的预后具有积极作用。在与人类肿瘤高度相似的小鼠胚胎肿瘤实验中,用 ATO 处理后 SHH 通路中多个靶基因蛋白(PTCH1、GLI1 和 GLI2)显著下调,同时检测到肿瘤细胞中 Ki67 蛋白减少,表明 ATO 通过抑制 SHH 信号通路下游的靶基因的过度激活而发挥抑制肿瘤细胞增殖生长的作用^[19]。人骨肿瘤的实验研究表明,ATO 还可通过促进 DNA 损伤积累导致肿瘤细胞凋亡^[20]。上述研究均提示 ATO 对于 SHH 信号通路异常激活的肿瘤细胞有着良好的抑制作用,尤其是在对 SMO 抑制剂产生耐药性的情况下。在治疗 MB 的药物实验中,ATO 与 SHH 通路的其他靶向抑制剂联合使用能够更加有效地抑制 MB 的生长。在与 ATO 研究相关动物实验中,伊曲康唑作为 SMO 的一种特异性抑制剂与 ATO 联合治疗 MB 有着不错的效果,在 PTCH 阳性和 TP53 阴性的动物身上进行两种药物的试验,发现对肿瘤体积的减少有协同作用^[7]。许多研究表明 ATO 与 SHH 通路其他靶基因抑制剂联合使用能够更有效地拮抗通路多种靶基因的异常表达,从而抑制 MB 的生长。

四、ATO 在 MB 治疗的前景

当前对 MB 治疗的策略还处于探索之中。早期研究集中在 SHH 通路及其组分 PTCH1、SMO 和 SUFU,并开发阻断通路的特异性药物。治疗初期,药物干预的临床结果是积极的。然而,在一段时间的治疗后观察到耐药性。相对于通路中 PTCH1 和 SMO,下游 GLI 基因是一个探索较少的基因,对该基因进行靶向抑制可能将会更有效地拮抗 SHH 通路的异常激活。所以,直接阻断 GLI 的药物可能将被包括在标准治疗方案[多药化疗和(或)放疗]中。ATO 是具有独特的历史、丰富的临床应用和良好的中枢神经系统渗透性的药物,目前仍在白血病以外的领域对其进行研究。在涉及 SHH 通路的 MB 中 ATO 的临床前研究已经得到证明,在联合化疗的 MB 动物模型中,该药物的评估也较为良好^[5]。

参考文献

- 1 Murase M, Saito K, Abiko T, *et al.* Medulloblastoma in older adults: a case report and literature review [J]. *World Neurosurg*, 2018, 117: 25 - 31
- 2 Kool M, Korshunov A, Remke M, *et al.* Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta - analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas [J]. *Acta Neuropathol*, 2012, 123(4): 473 - 484
- 3 王凯, 张妹, 施露, 等. 2016 年世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类概述[J]. *磁共振成像*, 2016, 7(12): 881 - 896
- 4 Kim J, Aftab BT, Tang JY, *et al.* Itraconazole and arsenic trioxide inhibit Hedgehog pathway activation and tumor growth associated with acquired resistance to smoothened antagonists [J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(1): 23 - 34
- 5 盛汉松, 林中啸, 蔡铭, 等. SHH 信号通路在髓母细胞瘤治疗中的研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(5): 16 - 18
- 6 Shahi MH, Rey JA, Castresana JS. The sonic hedgehog - GLII signaling pathway in brain tumor development [J]. *Exp Opin Therapeut Targets*, 2012, 16(12): 1227 - 1238
- 7 Klinger PH, Andrade AF, Delsin LE, *et al.* Inhibition of SHH pathway mechanisms by arsenic trioxide in pediatric medulloblastomas: a comprehensive literature review [J]. *Genet Mol Res*, 2017, 16(1): doi:10.4238/qmr16019412
- 8 Buczkowicz P, Ma J, Hawkins C. GLI2 is a potential therapeutic target in pediatric medulloblastoma [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2011, 70(6): 430 - 437
- 9 Robinson GW, Orr BA, Wu G, *et al.* Vismodegib exerts targeted efficacy against recurrent sonic hedgehog - subgroup medulloblastoma: results from phase II pediatric brain tumor consortium studies PBTC - 025B and PBTC - 032 [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(24): 2646 - 2654
- 10 Qi YJ, Zhao WD, Wang ZG, *et al.* Cross regulation of signaling pathways in gastrointestinal stromal tumor [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 6770 - 6776
- 11 Tang Y, Gholamin S, Schubert S, *et al.* Epigenetic targeting of Hedgehog pathway transcriptional output through BET bromodomain inhibition [J]. *Nat Med*, 2014, 20(7): 732 - 740
- 12 Khatua S, Song A, Sridhar DC, *et al.* Childhood medulloblastoma: current therapies, emerging molecular landscape and newer therapeutic insights [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2018, 16(7): 1045 - 1058
- 13 Samkari A, White J, Packer R. SHH inhibitors for the treatment of medulloblastoma [J]. *Exp Rev Neurother*, 2015, 15(7): 763 - 770
- 14 Priel S, Conelazzi B, Dal Col V, *et al.* Smoothened (SMO) receptor mutations dictate resistance to vismodegib in basal cell carcinoma [J]. *Mol Oncol*, 2015, 9(2): 389 - 397
- 15 Petrova E, Rios - esteves J, Ouerfelli O, *et al.* Inhibitors of hedgehog acyltransferase block sonic hedgehog signaling [J]. *Nat Chem Biol*, 2013, 9(4): 247 - 249
- 16 Faria CC, Golbourn BJ, Dubuc AM, *et al.* Foretinib is effective therapy for metastatic sonic hedgehog medulloblastoma [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(1): 134 - 146
- 17 Lin Z, Li S, Sheng H, *et al.* Suppression of GLI sensitizes medulloblastoma cells to mitochondria - mediated apoptosis [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2016, 142(12): 2469 - 2478
- 18 Kim J, Kato M, Beachy PA. Gli2 trafficking links Hedgehog - dependent activation of Smoothened in the primary cilium to transcriptional activation in the nucleus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(51): 21666 - 21671
- 19 Beauchamp EM, Ringer L, Bulut G, *et al.* Arsenic trioxide inhibits human cancer cell growth and tumor development in mice by blocking Hedgehog/GLI pathway [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(1): 148 - 160
- 20 Nkamura S, Nagano S, Nagao H, *et al.* Arsenic trioxide prevents osteosarcoma growth by inhibition of GLI transcription via DNA damage accumulation [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69466

(收稿日期:2019 - 01 - 30)

(修回日期:2019 - 03 - 15)

炎症小体与非酒精性脂肪性肝炎

俞建顺 陈芝芸

摘要 NLR 等作为炎症小体的核心,通过识别 PAMPs 和 DAMPs,经衔接蛋白 ASC 活化 Casp1,从而促进 IL - 18 和 IL - 1 β 等细胞因子的分泌,在非酒精性脂肪性肝炎的发生与发展中起到了重要作用。本文对炎症小体在非酒精性脂肪性肝炎发生机制中的最新研究进行综述。

关键词 炎症小体 非酒精性脂肪性肝炎

中图分类号 R575

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.12.038

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LY15H270010)

作者单位:310006 杭州,浙江中医药大学第一临床医学院(俞建顺、陈芝芸);310007 杭州市丁桥医院(陈芝芸)

通讯作者:陈芝芸,研究员,博士生导师,电子信箱:zhiych123@163.com