

GDNF 与消化系统肿瘤关系研究进展

王小娟, 李小丽, 金正旭, 张德奎*

(兰州大学第二医院 消化内科, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 肠神经胶质细胞源性神经生长因子(GDNF)及其受体(RET)的异常表达与消化系统肿瘤的发生、发展及预后相关。胰腺癌中,GDNF及其受体RET与周围神经侵袭相关并呈剂量依赖性,RET(-)癌细胞则失去了侵袭并且破坏神经的能力;结肠癌中,RET突变促进结肠癌细胞增殖、迁移及存活,且与结肠癌患者预后较差相关;肝癌中,GDNF可独立于血管源性生长因子促进肝癌组织血管生成,为肿瘤细胞的增殖侵袭提供充足的营养;胃癌中发现GFR α 3启动子区域甲基化,且其程度和术后患者存活率之间呈反比关系。

关键词: 肠神经胶质细胞源性神经生长因子;肝癌;结肠癌;胰腺癌;胃癌

中图分类号:R735 文献标志码:A

Research of relation between glial cell line-derived neurotrophic factor and digestive system tumor

WANG Xiao-juan, LI Xiao-li, JIN Zheng-xu, ZHANG De-kui*

(Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Abnormal expression of GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) and its receptor(RET) are associated with the emergence and development of tumors in the digestive system. GDNF and RET are associated with peripheral nerve invasion with a dose-dependent manner in pancreatic cancer, while RET(-) cancer cells lose the ability to invade and destroy nerves. RET mutations promote the proliferation, migration and survival of colon cancer cells, and are associated with poor prognosis of colon cancer patients. GDNF can promote the angiogenesis of liver cancer tissues independently of vasogenic growth factor, providing sufficient nutrition for the growth and invasion of tumor cells. Methylation of the GFR 3 promoter was found in gastric cancer, and the degree of methylation was negatively related to postoperative survival of patients.

Key words: glial cell line-derived neurotrophic factor(GDNF);liver cancer;colorectal cancer;pancreatic cancer;gastric cancer

神经胶质细胞源性生长因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)是一种由肠神经胶质细胞分泌,促进肠神经元生长分化及维持肠道内环境稳态的物质。1993年,人们在鼠肠神经胶质细胞B49的培养上清中首次纯化了GDNF,证实肠神经胶质细胞可分泌GDNF^[1]。此后人们逐渐发现肠

道肌成纤维细胞、巨噬细胞等也可分泌GDNF。GDNF家族的配体(GFLs)目前包括4种营养因子:GDNF、neurturin, persephin和artemin。GDNF主要通过胶质细胞源性神经生长因子受体- α (glial cell line-derived neurotrophic factor receptors- α , GFR α s)亚基和受体酪氨酸激酶RET亚基两类受体发挥其

收稿日期:2019-10-24 修回日期:2020-03-22

基金项目:国家自然科学基金(81470808)

*通信作者(corresponding author):sczdk1972@163.com

相关作用,GDNF 先后分别与 GFR α 、RET 结合,即形成 GDNF-GFR α -RET 经典信号通路后激活下游信号通路,GDNF 必须激活 RET 后才能影响肿瘤的发生发展^[2-3]。GDNF 因具有促进大鼠胚胎中脑多巴胺能神经元生存和形态分化等作用从而一直是帕金森病治疗的研究热点^[4],但 GDNF 与结直肠癌、胰腺癌等消化系统肿瘤的发生、发展及预后相关,目前尚无系统性的报道,故本文就此做一阐述。

1 胶质细胞源性神经生长因子(GDNF)

1.1 GDNF 与肠神经胶质细胞

肠神经胶质细胞是肠神经系统的重要组成部分,一直以来被视为肠神经元的机械支撑,研究发现肠神经胶质细胞存在于肠道平滑肌间神经丛和肠黏膜下丛的神经节内^[5]。肠神经胶质细胞分泌多种承担外周神经元发育、存活和分化的因子,如神经生长因子(NGF)、GDNF 和神经营养因子-3 等(NF-3),不但在生理条件下对肠神经元有重要的营养作用,更在糖尿病等病理条件下对肠神经元起保护作用^[6],其中,肠神经胶质细胞分泌的 GDNF 在肠神经元的发育及其发挥功能、维持肠黏膜屏障的完整性以及肠道内环境稳态中发挥重要作用^[7]。

1.2 GDNF 家族配体及受体

GFLs 目前包括 4 种营养因子:GDNF、NRTN、PSPN、ARTN。GDNF 通过 RET-SRC-HER2 及 RET-AKT 信号通路促进癌细胞增殖及转移^[8-9]。

GDNF 家族受体由两类亚基组成,GFR α s 亚基和 RET 亚基,GFR α s 亚基又分为 4 个亚型,即 GFR α 1~4。GDNF 家族受体中 RET 为跨膜受体,GFR α 为共同受体,当跨膜受体和共同受体存在于同一种细胞时,称为 *Cis* 信号通路,即在同一细胞内通过 GDNF-GFR α -RET 信号通路传递信号;当跨膜受体和共同受体分布于不同细胞时,GFR α s 捕获 GDNF 后将其信号传递给另一细胞 RET 受体进而激活下游信号通路,称为 *Trans* 信号通路。体内 *Cis* 和 *Trans* 信号通路可以参与同一生理活动,并可能起增强 RET 信号的结果,但不能使产生的结果多样化^[10]。

2 胶质细胞源性神经生长因子(GDNF)信号通路

GFLs 可与相应 GFR α s 受体结合,通常,GDNF

主要与 GFR α 1 结合,NRTN 与 GFR α 2 结合,ARTN 与 GFR α 3 结合,PSPN 与 GFR α 4 结合。但 GDNF 也可以与 GFR α 2 结合,NRTN 可以与 GFR α 1 结合。GFL:GFR α :RET 复合体通常是由一个 GFLs 与两个 GFR α 受体亚型以及两个 RET 受体亚型结合形成^[11]。GFLs 依靠其糖基磷脂酰肌醇(glycosyl phosphatidylinositol,GPI)锚定于共同受体 GFR α s,之后 GFR α s 与 RET 结合并激活下游蛋白形成完整的信号通路^[10],GFLs 不能直接激活 RET 受体。

经典的 GFL:GFR α :RET 信号通路外还可能存在其他受体共同传导信号,硫酸乙酰肝素蛋白多糖,是由葡萄糖醛酸和乙酰氨基葡萄糖组成二糖单位,可以与 GFLs 及其受体相互作用,并且可以将 GFs 的信号传递给 RET^[12]。此外,GDNF 还可通过神经细胞黏附分子在突触的生长和形成中发挥重要作用^[13]。

3 胶质细胞源性神经生长因子(GDNF)与消化道肿瘤

3.1 胰腺癌

周围神经侵袭(perineural invasion,PNI)是胰腺导管腺癌发展过程中出现的一种现象,表现为癌细胞围绕着神经或者侵入神经系统增生,与胰腺癌患者发生瘫痪、疼痛、肿瘤复发以及低生存率相关^[14]。不同癌发生 PNI 的概率分别为:胰腺癌:70.0%~100.0%、前列腺癌:12.4%~83.6%、头颈部癌:5.2%~90.0%、结肠癌:15.7%~38.9%^[15],PNI 与多种肿瘤的发展相关,其在胰腺癌中发生率最高,约 70.0%~100.0%^[16]。已知 GDNF 及其受体 RET 与胰腺导管腺癌(PDAC)患者发生 PNI 相关并呈剂量依赖性,GDNF 通过 Ras-Raf-MEK-ER 和 PI3k/AKT 信号传导通路促进胰腺癌细胞的侵袭,敲除 *GFR α* 后可显著减少 PNI 的发生率^[17-18],GDNF 及其受体或许可为胰腺癌甚至多种肠道肿瘤的治疗提供新思路。

骨髓来源的巨噬细胞向胰腺癌周围神经系统微环境转移并分泌 GDNF 进而发生 PNI,并且是发生 PNI 的关键,抑制 GDNF 的分泌以及 RET 基因的表达均可降低胰腺癌细胞发生 PNI^[19]。由神经系统分泌的可溶性 GFR α 1,通过捕获 GDNF 并且将其呈

递到胰腺癌细胞表面用于激活 RET 受体, 激活的 RET 通过作用于 MAPK 通路导致癌细胞向神经迁移, 发生 PNI^[2-3]。然而 GFR α 1 的表达对于胰腺癌细胞嗜神经性并不是必需的, 即 GFR α 1(-) 的癌细胞仍然具有嗜神经性, RET(-) 癌细胞则失去了侵袭并且破坏神经的能力, 即 RET 对于发生 PNI 是必须的。因此可溶性神经源性 GFR α 1 必须通过激活 RET 及其下游信号通路介导癌细胞发生 PNI。

3.2 结直肠癌

受体酪氨酸激酶是一种与多种细胞的增殖、死亡、运动和侵袭有关的酶联受体, 通过对结肠癌患者 31 种受体酪氨酸激酶基因分析研究发现在结肠癌患者组织中存在 4 种不同 RET 的原癌基因变异, 其中 RET G533C 变异可以促进结肠癌细胞增殖、迁移以及其克隆细胞的存活, 由此提出 RET 参与结肠癌的发展并且为结肠癌的治疗新靶点^[20]。同时结直肠癌中还存在 RET 融合, 有 RET 融合的转移性结直肠癌患者的生存率较阴性患者生存率明显降低, 并指出 RET 重组患者在常规治疗中预后较差^[21-22]。RET 抑制剂对于存在 RET 融合的结直肠癌患者具有治疗作用^[21], 反向证明 RET 在结直肠癌发展中发挥作用, 并为结直肠癌患者的治疗的新靶点。GDNF 也可影响结肠癌细胞增殖和转移, 但机制目前尚不清楚^[18], 但前列腺癌中过度表达的 GDNF 可以通过上调基质金属蛋白酶的表达进而促进胰腺癌细胞的转移和神经侵袭^[17], 那么是否胰腺癌中高表达的 GDNF 通过增加基质金属蛋白酶的表达促进胰腺癌 PNI 的发生? 目前尚无相关报道。

3.3 肝癌

血管源性生长因子 A 是血管源性生长因子家族中研究最为广泛的一种蛋白质, 血管源性生长因子受体有血管源性生长因子受体 1 和血管源性生长因子受体 2 两种亚型, 其主要与血管源性生长因子

受体 2 作用导致内皮细胞增殖、存活、迁移和影响血管通透性, 在新血管形成中发挥着重要作用, 血管源性生长因子与血管源性生长因子受体 2 结合后通过形成新生血管为肿瘤细胞的增殖、迁移、存活及转移提供营养、氧气等物质^[2]。

在肝癌患者组织中, 脂肪干细胞以及肝癌细胞可分泌 GDNF, 而周围正常组织则不分泌 GDNF, 其机制目前尚不清楚。肝癌细胞分泌的 GDNF 在新生血管形成中发挥重要作用, 并且在缺乏血管源性生长因子的情况下, GDNF 仍可以促进新生血管生成, 表明 GDNF 可以完全独立于血管源性生长因子发挥促进肝癌组织血管生成。进一步研究发现, 在使用 RET 阻滞剂 RPI-1 特异性阻滞 GDNF 受体 RET 后, 血管生成被抑制, 表明 GDNF 是通过激活 RET 受体发挥促进血管生成的作用^[3]。

3.4 胃癌

胃癌中存在 GFR α 3 启动子区域发生甲基化, 并且甲基化程度和术后患者存活率之间为反比关系^[23]。但 GDNF 及其受体 RET 是否与胃癌的发生发展相关, 目前尚无相关报道。

4 问题与展望

特异性 RET 抑制剂-LOXO-292 已批准用于临床治疗携带 RET 变异的非小细胞肺癌和甲状腺髓样癌患者^[24], 结合 RET 抑制剂对于存在 RET 融合的结直肠癌具有治疗作用^[25], 而存在 RET 甲基化、GFR α 甲基化的结直肠癌、胃癌患者预后不良, 因此研究新的针对于存在 RET/GFR α 突变的消化系统肿瘤的生物制剂及其类似物成为可能。除了经典 GDNF-GFR α s-RET 信号通路外, 目前已发现 NCAM、MET 等 GDNF 的受体可独立于 RET 形成相关信号通路在胰腺癌、肺癌等的发生发展中发挥作用^[12], 且 RET 阻滞剂对于此类患者并无治疗作用, 因此, NCAM、MET 可能成为另一研究靶点。

参考文献:

[1] Lin LF, Doherty DH, Lile JD, et al. GDNF: A glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons[J]. Science, 1993, 260:1130-1132.

[2] Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2016, 17:611-625.

- [3] Zhong Z, Gu H, Peng J, *et al.* GDNF secreted from adipose-derived stem cells stimulates VEGF-independent angiogenesis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7:36829-36841.
- [4] Penttinen AM, Parkkinen I, Voutilainen MH, *et al.* Pre- α -pro-GDNF and Pre- β -pro-GDNF isoforms are neuroprotective in the 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease[J]. *Front Neurol*, 2018, 9:457.
- [5] Ochoa-Cortes F, Turco F, Linan-Rico A, *et al.* Enteric glial cells: A new frontier in neurogastroenterology and clinical target for inflammatory bowel diseases [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22:433-449.
- [6] Luo P, Liu D, Li C, *et al.* Enteric glial cell activation protects enteric neurons from damage due to diabetes in part via the promotion of neurotrophic factor release[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2018, 30:e13368.doi:10.1111/nmo.13368.
- [7] Bauman BD, Meng J, Zhang L, *et al.* Enteric glial-mediated enhancement of intestinal barrier integrity is compromised by morphine[J]. *J Surg Res*, 2017, 219:214-221.
- [8] Gardaneh M, Shojaei S, Kaviani A, *et al.* GDNF induces RET-SRC-HER2-dependent growth in trastuzumab-sensitive but SRC-independent growth in resistant breast tumor cells [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2017, 162:231-241.
- [9] Shabtay-Orbach A, Amit M, Binenbaum Y, *et al.* Paracrine regulation of glioma cells invasion by astrocytes is mediated by glial-derived neurotrophic factor[J]. *Int J Cancer*, 2015, 137:1012-1020.
- [10] Beshpalov MM, Sidorova YA, Tumova S, *et al.* Heparan sulfate proteoglycan syndecan-3 is a novel receptor for GDNF, neurturin, and artemin[J]. *J Cell Biol*, 2011, 192:153-169.
- [11] Sidorova YA, Beshpalov MM, Wong AW, *et al.* A novel small molecule GDNF receptor RET agonist, BT13, promotes neurite growth from sensory neurons *in vitro* and attenuates experimental neuropathy in the rat [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8:365.
- [12] McKeown SJ, Mohsenipour M, Bergner AJ, *et al.* Stamp, exposure to GDNF enhances the ability of enteric neural progenitors to? Generate an enteric nervous system [J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 8:476-488.
- [13] Heuckeroth RO, Schäfer KH, Gene-environment interactions and the enteric nervous system: Neural plasticity and hirschsprung disease prevention [J]. *Dev Biol*, 2016, 417:188-197.
- [14] Alrawashdeh W, Jones R, Dumartin L, *et al.* Perineural invasion in pancreatic cancer: proteomic analysis and *in vitro* modelling[J]. *Mol Oncol*, 2019, 13:1075-1091.
- [15] Chen SH, Zhang BY, Zhou B, *et al.* Perineural invasion of cancer: A complex crosstalk between cells and molecules in the perineural niche [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9:1-21.
- [16] Lin C, Cao W, Ren Z, *et al.* GDNF secreted by nerves enhances PD-L1 expression via JAK2-STAT1 signaling activation in HNSCC [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6:e1353860.doi:10.1080/2162402X.2017.1353860.
- [17] Baspinar S, Bircan S, Ciris M, *et al.* Expression of NGF, GDNF and MMP-9 in prostate carcinoma [J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213:483-489.
- [18] Zhong F, Zhang W, Cao Y, *et al.* LncRNA NEAT1 promotes colorectal cancer cell proliferation and migration via regulating glial cell-derived neurotrophic factor by sponging miR-196a-5p [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2018, 50:1190-1199.
- [19] Amit M, Na'ara S, Leider-Trejo L, *et al.* Upregulation of RET induces perineurial invasion of pancreatic adenocarcinoma [J]. *Oncogene*, 2017, 36:3232-3239.
- [20] Oliveira DM, Grillone K, Mignogna C, *et al.* Correction to: Next-generation sequencing analysis of receptor-type tyrosine kinase genes in surgically resected colon cancer: identification of gain-of-function mutations in the RET proto-oncogene [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37:112.
- [21] Gozgit JM, Chen TH, Song Y, *et al.* RET fusions observed in lung and colorectal cancers are sensitive to ponatinib [J]. *Oncotarget*, 2018, 9:29654-29664.
- [22] Kloosterman WP, Coebergh van den Braak RRRJ, Pieterse M, *et al.* A systematic analysis of oncogenic gene fusions in primary colon cancer [J]. *Cancer Res*, 2017, 77:3814-3822.
- [23] Eftang LL, Klajic J, Kristensen VN, *et al.* GFRA3 promoter methylation may be associated with decreased post-operative survival in gastric cancer [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16:225.doi:10.1186/s12885-016-2247-8.
- [24] FDA 授予Loxo Oncology 公司在研药物 LOXO-292 突破性疗法认定 [J]. *临床合理用药杂志*, 2018, 11:98.
- [25] Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2016, 17:611-625.