

## NOTCH1在急性T淋巴细胞白血病中的作用及研究进展

郭姗姗 糜坚青 王瑾

上海交通大学医学院附属瑞金医院血液科 200025

通信作者:王瑾, Email: jinwang@shsmu.edu.cn

基金项目:上海交通大学医学院高峰高原计划—“研究型医师”项目(20172002)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.02.014

### The role and research progress of NOTCH1 in T-cell acute lymphoblastic leukemia

Guo Shanshan, Mi Jianqing, Wang Jin

Department of Hematology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

Corresponding author: Wang Jin, Email: jinwang@shsmu.edu.cn

急性T淋巴细胞白血病(T-ALL)是一组异质性极强的血液系统恶性肿瘤,在儿童和成人ALL中分别占10%~15%和20%~25%<sup>[1]</sup>。成人T-ALL由于原发化疗耐药以及早期复发等原因致预后不良,5年无事件生存(EFS)率仅为20%~50%<sup>[1]</sup>。目前对T-ALL发病机制的相关研究还很欠缺,同时缺少大样本的临床试验,缺乏有效的靶向药物和免疫治疗策略,导致T-ALL的基础和临床研究进展受限。值得注意的是,在60%以上的T-ALL患者中鉴定出NOTCH1基因功能获得性突变,导致非配体依赖性和持续激活的NOTCH1受体信号转导,为T-ALL的治疗干预提供了新思路<sup>[2]</sup>。迄今为止,NOTCH1是T-ALL基础研究中最为热门的癌基因之一。本文将重点对NOTCH1在T-ALL发病中的作用和最新研究进展作一综述,并对新型NOTCH1靶向治疗在临床上的应用前景进行了展望。

#### 一、NOTCH1的结构和生理功能

人类NOTCH1基因位于染色体9q34.3区,其编码的蛋白属于异源二聚跨膜受体,可将胞外信号转化为核内基因表达变化,是一种配体激活的转录因子。作为NOTCH蛋白家族成员之一,NOTCH1受体蛋白由2555个氨基酸残基组成,相对分子质量约为 $272.5 \times 10^3$ ,其结构分为胞外结构域和跨膜胞内区域。胞外结构域主要由表皮生长因子样(endothelial growth factor-like, EGF-like)重复序列和Lin Notch重复序列(Lin Notch repeats, LNR)组成;跨膜胞内区域由核定位信号(nuclear localization signal, NLS)、RAM(RBP2J kappa associated molecular)基序、锚蛋白重复序列(ankyrin repeats, ANK)、翻译启动区(translational active domain, TAD)和末端PEST结构域(proline, glutamic acid, serine, and threonine domain, PEST)5部分组成<sup>[3]</sup>。目前已发现与NOTCH1相结合的五种配体为Delta样家族(DLL1/3/4)和Jagged家族(Jagged 1/2)。

NOTCH1蛋白的成熟和激活实质上是一系列蛋白质酶

切水解的过程。NOTCH1蛋白的成熟是由分泌途径中的弗林蛋白酶样转化酶(furin-like convertase)介导的:高尔基体内的弗林蛋白酶样转化酶在识别RQRR氨基酸序列之后,使NOTCH1前体蛋白在细胞外的S1位点处发生裂解,所得的多肽以异源二聚体(p120/p200)的形式存在于细胞表面。而NOTCH1的激活则需涉及到位于ala1710、val1711之间的S2和gly1743、val1744之间的S3两个位点的蛋白酶解,这是一个多步骤的连续过程。在细胞膜表面,NOTCH1蛋白受体与其同源配体相互作用引起构象改变,并被ADAM金属蛋白酶(S2)和 $\gamma$ -分泌酶复合物( $\gamma$ -secretase complex, GSC)(S3)裂解两次,在S2位点的切割产生称为NEXT(Notch extracellular truncation)的瞬时中间肽,最终使释放的NOTCH1胞内结构域(intracellular NOTCH1, ICN1)移位至细胞核,与RBPJ(recombination signal binding protein for immunoglobulin Kappa J region)/RBPSUH(recombining binding protein suppressor of hairless)蛋白形成转录激活复合物后进而激活下游特定靶基因的表达,由此产生许多生物学效应<sup>[4]</sup>。

NOTCH信号通路是一种进化上保守的细胞间信号传导途径,在调节细胞分化、增殖、凋亡和个体发育中起着关键作用。研究表明,NOTCH1参与正常造血谱系特异性分化和血管生成,尤其对于正常T、B谱系选择分化至关重要。Notch受体-配体相互作用与pre-TCR(pre-T cell receptor)信号一起驱动不可逆的T系造血分化,是胸腺中CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>细胞生成的主要调节因子<sup>[5]</sup>。另外,经典的NOTCH1转录信号负调控内皮细胞的增殖、迁移以及血管新生<sup>[6]</sup>。近年,有学者利用灌注微血管的工程有机模型并在小鼠模型中验证后发现,NOTCH1跨膜受体的激活还可以直接通过一种非典型的、不依赖转录的信号传导机制驱动黏附连接组装、直接调控血管屏障功能<sup>[7]</sup>。

#### 二、NOTCH1在T-ALL发生、进展中的作用机制

1. NOTCH1 在 T-ALL 中被异常激活: Ellisen 等<sup>[8]</sup>在 1991 年首次发现, 大约 1% 的 T-ALL 患者存在一种罕见的 t(7;9)(q34;q34.3) 染色体异常, 将 ICN1 融合到 TCR $\beta$  启动子/增强子处, 产生截短和组成型活性 NOTCH1 等位基因。

随后, Weng 等<sup>[2]</sup>于 2004 年首次报道超过 50% 的 T-ALL 患者存在 NOTCH1 功能获得性突变, 主要包括异二聚体 (heterodimerization, HD) 结构域和 PEST 结构域的错义突变、框内缺失或插入突变等。他们的发现极大地拓展了活化 NOTCH1 在人类 T-ALL 发病机制中的作用, 并为干扰 NOTCH1 信号传导的靶向疗法提供了强有力的依据。T-ALL 中的 LNR 突变、HD 结构域突变、近膜延伸 (juxtamembrane expansion, JME) 突变会破坏受体的负调控区, 引起不依赖配体的蛋白构象变化, 使 S2 裂解位点从疏水性口袋中直接暴露出来, 从而导致 NOTCH1 的转录活性形式, 即 ICN1 的产生增多; PEST 突变导致 NOTCH1 受体上位于 C 末端的 PEST 域被截短, ICN1 无法经泛素蛋白酶体途径介导的蛋白降解而积累增多, NOTCH1 信号终止受阻, 也同样引起不依赖配体的 NOTCH1 组成性激活<sup>[4]</sup>。以上两种途径均能触发 T-ALL 的发生。

2007 年, O'neil 等<sup>[9]</sup>在 10% ~ 15% 的 T-ALL 临床样本中发现 FBXW7 基因突变, 突变后的 E3 泛素化连接酶 FBXW7 不识别 NOTCH1 受体末端 PEST 结构域中的磷酸化基序, 因而不能介导 ICN1 泛素化和随后的蛋白酶体降解。这使得细胞内 ICN1 稳定性增加、半衰期延长, 从而造成 T-ALL 中异常激活的 Notch 信号传导。有研究还发现, 多种 NOTCH1 突变驱动的激活机制组合起来发挥作用时具有协同作用, 可产生异常高水平的 NOTCH1 激活信号, 加速 T-ALL 的发展<sup>[3]</sup>。

此外, Schwanbeck<sup>[10]</sup>和 Ferrante 等<sup>[11]</sup>最近发现, 组蛋白去乙酰化酶 3 (HDAC3) 通过对 ICN1 的去乙酰化作用, 正调控 ICN1 蛋白的稳定性。这说明 NOTCH1 通路还可以通过表观遗传学调控, 为其激活提供了另一种途径。

在小鼠和斑马鱼模型中也进一步证明了异常活化 NOTCH1 可以诱导 T-ALL 的发生<sup>[12]</sup>。这些发现均表明 NOTCH1 信号失调与 T-ALL 的发病机制直接相关。

需要注意的是, 有一些研究发现 NOTCH1 突变是亚克隆性的, 可以在初诊时不发生而在复发时才发生, 甚至可以在复发时发生突变类型的转换。这说明 NOTCH1 突变有时是可以作为白血病发生中的继发性事件获得的, 因此需要谨慎地将其用作独立的微小残留病 (MRD) 标志物<sup>[13]</sup>。近年, De 等<sup>[14]</sup>通过单细胞测序等实验发现, NOTCH1 突变通常是 T-ALL 疾病一系列基因组损伤中相对晚期发生的事件, 且不一定在所有亚克隆群中都存在, 这些也可能成为限制靶向 NOTCH1 治疗疗效的原因。

2. 主要的下游分子调控机制: 越来越多的研究开始关注于关键的 NOTCH1 下游信号和促成 T-ALL 发病的靶基因。在 T-ALL 中, 激活的 NOTCH1 可通过 PI3K/AKT/mTOR、NF- $\kappa$ B 和 MYC 等多条通路来促进白血病的发生<sup>[5,15-16]</sup>。

(1) NOTCH1 与 PI3K-AKT-mTOR 通路: NOTCH1 可以

激活 T-ALL 中 PI3K-AKT-mTOR 致癌信号通路, 导致细胞代谢、增殖、存活、分化和凋亡减弱。主要通过以下方式: ①作为 PI3K-AKT 信号的新型调节因子, PP2A (protein phosphatase 2A) 已被确定为 NOTCH1 基因的下游靶标, NOTCH1 通过激活 PP2A 增加 AKT、AMPK 和 p70S6K 的去磷酸化; ②抑癌基因 PTEN (10q23) 的丧失功能突变或缺失在 T-ALL 中也常见, 可导致 PI3K-AKT-mTOR1 信号的长期持续激活、GSI 抵抗以及 P53 介导的细胞凋亡的抑制等; ③在野生型 PTEN 的 T-ALL 中, NOTCH1 本身可能调节 PTEN 的翻译后失活, 或者通过直接转录抑制下调 PTEN 的表达以增强 PIP3 信号传导, 继而磷酸化 AKT 蛋白的 Ser473; ④ NOTCH1 还可以通过上调 IGF1R (insulin-like growth factor 1 receptor) 和 IL7R $\alpha$  (interleukin-7 receptor subunit  $\alpha$ ) 的水平, 招募 PI3K 并启动 PI3K-AKT 的信号级联反应<sup>[15]</sup>。接下来, 哺乳动物雷帕霉素复合物靶蛋白 1 (mTOR1) 是 NOTCH1 和 PI3K-AKT 信号转导途径的主要汇集点, AKT 进一步磷酸化 PRAS40 (proline-rich Akt substrate of 40 kDa), 使其对 mTOR 的抑制作用失效而激活 mTOR 信号。PI3K-AKT-mTOR 通路的激活可以与 NOTCH1 协同作用, 促进白血病的发生和发展, 并可减少白血病细胞增殖对 NOTCH 信号的依赖程度<sup>[17]</sup>。

(2) NOTCH1 与 NF- $\kappa$ B 通路: 经典的 NF- $\kappa$ B 信号通路已被描述为 NOTCH1 致癌功能的关键下游介质, 激活 I $\kappa$ B 激酶 (I $\kappa$ B kinase, IKK) 复合物, 导致 NF- $\kappa$ B 途径的激活, 继而上调下游靶基因的转录水平。Wu 等<sup>[16]</sup>还发现 NOTCH1 可以激活 Asb2 (Ankyrin repeat and SOCS box protein 2) 的转录, 然后刺激 T-ALL 细胞 NF- $\kappa$ B 中 I $\kappa$ B $\alpha$  (Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor-alpha) 的降解和解离而发挥其作用。NF- $\kappa$ B 途径在人 T-ALL 中异常活跃, 并且已通过细胞系和动物模型证实对该通路的阻断可有效地限制具有活化 NOTCH1 突变白血病细胞的生长。这些发现表明 NF- $\kappa$ B 途径在 NOTCH1 的下游起作用以促进白血病细胞的生长, 并且是潜在的治疗靶点。

(3) NOTCH1/MYC 调控轴: ICN1 入核后可作为转录因子直接激活一系列下游靶基因。其中, 在众多肿瘤中发挥作用的原癌基因 MYC 已被证实是 NOTCH1 的下游靶基因, 具有 NOTCH1 激活突变的 T-ALL 患者过表达 MYC。NOTCH1 通过一种高度进化保守的调控元件 NMe (NOTCH1 dependent MYC enhancer) 与 MYC 启动子中的近端调节序列直接相互作用, 形成长距离染色质环, 直接激活 MYC 表达<sup>[18]</sup>。对染色质标记的分析表明, NMe 是位于 MYC 基因座 +1, 427 kb 端粒的远端增强子, 只能在 T 细胞中被选择性地激活, 由此表明 NMe 是一种依赖于 NOTCH1 的 T 细胞特异性的超级增强子, 并且被鉴定为是直接参与人类白血病发病机制的远程致癌增强因子, 这些研究结果突出了 NOTCH1-MYC 调控轴在 T 细胞转化以及 T-ALL 中选择治疗靶点的重要性<sup>[5]</sup>。

(4) NOTCH1 与其他下游靶基因: NOTCH1 可以通过多种机制负调控 T-ALL 中抑癌基因 P53 的水平和活性。在

9p21 片段完整的 T-ALL 患者中, ARF (auxin response factor) 通过靶向破坏 MDM2 (murine double minute 2) 来稳定 P53, 而 ICN1 的诱导性表达降低了 ARF 的水平, 继而下调 P53 的表达水平; 而在大多数 9p21 处 CDKN2A 缺失或突变的情况下, NOTCH1 则通过另外一种机制来调节 P53, 由 mTOR1 信号下游的真核翻译起始因子 eIF4E 介导从而抑制 P53 在 Ser15、Ser20 和 Ser392 处的激活磷酸化, 以及 P53 的核定位<sup>[15]</sup>。但有趣的是, P53 错义突变在复发性 T-ALL 患者中更为常见 (7% ~ 28%), 这与小分子  $\gamma$ -分泌酶抑制剂 ( $\gamma$ -secretase inhibitors, GSI) 耐药机制等相关<sup>[19]</sup>。

CD44 上调是持续的 NOTCH1 信号传导的最早标志之一, 研究人员由此鉴定黏附分子 CD44 为 NOTCH1 的直接下游靶标; 同时, 抗 CD44 抗体在 T-ALL 异种移植小鼠模型中观察到有效的治疗效果, 这同样对复发 T-ALL 的疾病治疗具有借鉴意义<sup>[20]</sup>。致癌活性的 NOTCH1 还可以直接与 SHQ1 的启动子结合并激活其转录, SHQ1 耗竭会削弱广泛的 RNA 剪接, 引起包括 MYC 在内的一些基因的明显下调; 而过表达 MYC 可显著挽救因 SHQ1 失活导致的 T-ALL 细胞死亡, 阐明了 SHQ1 在 RNA 剪接和 T-ALL 发生中的关键作用<sup>[21]</sup>。

此外, 其下游靶基因还包括 Hes1 (hairy and enhancer of split-1)、Cyclin D、NRARP (NOTCH-regulated ankyrin repeat protein)、RUNX3 (runt-related transcription factor 3)、DEPTOR (DEP-domain containing mTOR-interacting protein) 和 USP7 (ubiquitin-specific protease 7) 等, 同时这些下游靶基因也是 T-ALL 发病过程中至关重要的调控因素<sup>[22-25]</sup>。

### 三、NOTCH1 突变与 T-ALL 预后评估

NOTCH1 突变最初在 2006 年被报道与 T-ALL 患者的预后相关, 但也有研究认为 NOTCH1 突变并不影响 T-ALL 的临床结局和预后<sup>[26-27]</sup>。GRAALL 研究小组证实 NOTCH1/FBXW7 (F-box/WD repeat-containing protein 7) 突变组患者预后良好, 可作为 T-ALL 个体治疗分层的依据<sup>[28]</sup>。之后的一些临床研究也发现 NOTCH1/FBXW7 突变是影响患者 EFS 和总生存 (OS) 率的良好预后因素<sup>[29-31]</sup>。2009 年发表的 UKALLXII/ECOG2993 研究结果显示单独分析 NOTCH1 或 FBXW7 突变对预后没有影响; 两者结合分析后发现: 尽管 NOTCH1 和 (或) FBXW7 突变组成人 T-ALL 患者 (58 例) 的 EFS 和 OS 率有高于 NOTCH1 和 FBXW7 野生组患者 (30 例) 的趋势, 但差异均无统计学意义 (EFS: 51% 对 27%,  $P=0.10$ ; OS: 54% 对 41%,  $P=0.30$ ), 这个结果可能和样本量较少有关<sup>[32]</sup>。此外, 在儿童 T-ALL 中, EORTC-CLG 临床试验也报道过类似的结果: NOTCH1/FBXW7 突变对治疗的早期反应具有积极的影响, 但突变组和野生组患者的 5 年 EFS 和 5 年 OS 率差异无统计学意义<sup>[33]</sup>。在成人 T-ALL 中, 2013 年的法国多中心随机临床研究 GRAALL-2003 和 GRAALL-2005 发现, 在 NOTCH1 和 FBXW7 突变的基础上, 结合 RAS/PTEN 基因突变的检测可明显增加预后指导价值: 在 RAS 和 PTEN 未突变的前提下, 伴有 NOTCH1/FBXW7 突变的患者预后更好; 相反, NOTCH1/FBXW7 无突变或伴有 RAS/PTEN

突变则提示预后不良<sup>[34]</sup>。

NOTCH1 在 T-ALL 的预后指导方面存在争议, 有可能是各临床研究报道的患者数量相对较少、患者种族、不同研究在治疗方法上的差异等所造成的<sup>[26-36]</sup>。随着临床试验中患者样本的扩大、治疗方案的改进、现代分子生物学和各种高通量测序手段的迅猛发展等, NOTCH1 对 T-ALL 的预后意义将会越来越明确, 有利于优化预后分层, 及时调整治疗策略。

### 四、NOTCH1 分子靶向治疗

抑制 NOTCH1 可诱导伴 NOTCH1 突变的 T-ALL 细胞系发生细胞周期阻滞、细胞凋亡等, 同时在 T-ALL 动物模型中也显示出强大的抗白血病作用<sup>[3]</sup>。这些临床前研究为 NOTCH1 抑制剂治疗 T-ALL 提供了理论依据, 目前临床上正在利用多种不同的策略来开发抑制 NOTCH1 受体本身或 NOTCH1 信号通路的其他组成部分的靶向药物<sup>[37]</sup>。

1. 小分子抑制剂: 第一代 NOTCH1 抑制剂是一种小分子 GSI, 它可以通过阻断 GSC 对 NOTCH1 受体 S3 位点的裂解步骤来有效抑制 NOTCH 信号传导。然而, 针对 GSI 的多项早期临床试验仅表现出有限的抗白血病作用, 剂量限制的靶标毒性和原发耐药性迅速出现, 且消化道等不良反应严重<sup>[38]</sup>。这是因为非选择性 NOTCH1 抑制剂同时阻断 NOTCH1 和 NOTCH2, 对肠上皮的靶向作用引起肠道毒性反应<sup>[39]</sup>。

PSEN1 (presenilin-1) 是某些  $\gamma$ -分泌酶复合物的组成部分, 在 T-ALL 中高表达。最近有一项研究发现选择性 PSEN1 抑制剂 MRK-560 处理 T-ALL 细胞系可有效减少突变的 NOTCH1 激活并导致细胞周期阻滞, 显著降低 PDX 小鼠模型中的白血病负荷并延长 OS 期, 而无任何相关的肠道毒性<sup>[40]</sup>。

另外, 近年有研究尝试通过酯键将叶酸与 SERCA (sarco-endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  ATPase) 抑制剂 thapsigargin 的醇衍生物缀合, 这种优化后的靶向药 JQ-FT 被膜上的叶酸受体识别后作为有效的抗白血病药物被递送至白血病细胞, 进而靶向突变的 NOTCH1 受体, 影响 S1 位点的切割, 干预突变体 NOTCH1 异二聚体的正确折叠<sup>[41]</sup>。同时, 新一代的选择性 SERCA 抑制剂 CAD204520 可在 T-ALL 的体内、外模型中实现抑制 NOTCH1 突变白血病细胞的生长且无  $Ca^{2+}$  相关的心脏毒性, 支持针对 Notch 依赖性癌症的 SERCA 抑制剂的开发和应用<sup>[42]</sup>。

2. NOTCH1 抑制性抗体: 目前的研究涉及到针对 NOTCH1 受体、配体、GSC 的单克隆抗体。针对 NOTCH1 受体负调控区的抑制性单克隆抗体 OMP-52M51 能够干扰金属蛋白酶 ADAM10 依赖性的加工过程, 阻断 NOTCH1 信号传导, 而不会影响 NOTCH2 的活性<sup>[43]</sup>。Minuzzo 等<sup>[44]</sup>的一项研究发现针对 NOTCH1 配体 DLL4 的抗体可以干扰配体诱导的 NOTCH1 信号的激活, 消除 T-ALL 异种移植小鼠模型体内白血病细胞的生长并增加其凋亡。针对 NOTCH1 受体胞外域的特异性抗体也正在临床前研究阶段<sup>[45]</sup>。此外, 针对



$\gamma$ -分泌酶 NCT(nicastrin)胞外域的单克隆抗体 A5226A 通过与体外底物结合竞争来抑制 GSC 的活性,下调 NOTCH1 信号传导活性,并在 T-ALL 异种移植模型中显示出抗癌作用<sup>[46]</sup>。

与上文小分子抑制剂 GSI 相比,NOTCH1 抑制性抗体由于特异性更好,对肠道隐窝祖细胞无影响,可避免 GSI 引起的肠道毒性反应,具有更好的安全性和更明显的优势,成为 GSI 之后的研究热点和新型治疗策略<sup>[43,45]</sup>。

3. 合成肽:除上述几类外,还有一类合成肽类的 NOTCH1 拮抗剂。Moellering 等<sup>[47]</sup>的研究表明其合成的烃类短肽 SAHMI 是一种 MAML1 (dominant negative Mastermind-like 1) 衍生物,可以高亲和力与 MAML1 竞争性结合并阻止 NOTCH1 活性转录复合物 ICN1-CSL (cBFI/suppressor of Haidess/Lag-1) 的组装,从而有效消除后续 NOTCH1 下游转录程序的激活;在白血病小鼠实验中未发现明显的不良反应,但仍需临床试验进一步评估安全性和有效性。

4. 其他药物:鉴于第一代 NOTCH1 抑制剂需要克服的困难,也有学者试图寻找与其他药物联用或间接拮抗 NOTCH1 活性的策略。目前基础研究结果显示有不少药物能协同增强 NOTCH1 抑制剂在 T-ALL 细胞系和疾病模型中的抗肿瘤作用,如 PI3K-AKT-mTOR 通路的抑制剂雷帕霉素、NF- $\kappa$ B 抑制剂 Parthenolide、BET (bromodomain and extra terminal domain) 抑制剂、HDAC 抑制剂和醉茄素 A 等<sup>[3,48-49]</sup>。Khoshamooz 等<sup>[50]</sup>发现,同时抑制 NOTCH1 和 PI3K/AKT 信号通路在 T-ALL 细胞中具有协同作用,有望成为 T-ALL 的一种治疗手段。Sanchez-Martin 等<sup>[48]</sup>在一个基于表达的虚拟药物筛选中发现并验证了 NF- $\kappa$ B 抑制剂可以提高 GSI 的抗白血病活性。此外,近年有研究发现热休克蛋白 90 (HSP90) 选择性抑制剂处理 T-ALL 细胞后可导致 ICN1 蛋白不稳定、显著降低 ICN1 水平,从而提供了拮抗致癌 NOTCH1 信号传导的一种替代策略<sup>[51]</sup>。

HDAC 抑制剂是目前国内外研究、应用较多的药物。纳摩尔浓度级别的 HDAC 抑制剂即可导致 ICN1 蛋白和 NOTCH1 靶基因的下调,并伴随着组蛋白乙酰化的局部降低<sup>[11]</sup>。Waibel 等<sup>[52]</sup>发现,泛 HDAC 抑制剂帕比司他可通过间接靶向 NOTCH1 驱动的转录网络(包括 Myc 的下调)影响 T-ALL 细胞的增殖和存活,显著降低 T-ALL 小鼠模型的肿瘤负荷,延长生存期。目前国外上市的泛 HDAC 抑制剂帕比司他、伏立诺他和贝利司他均处于临床试验阶段,结果尚未公布(ClinicalTrials.gov)。国产原研西达本胺可选择性抑制 HDAC1/2/3/10,有效诱导体外培养的 T-ALL 细胞系线粒体功能障碍、坏死和凋亡,目前也已进入临床试验阶段(ChiCTR1800015885 等)<sup>[53]</sup>。近期国内一项西达本胺临床试验共入组 17 例复发难治 T-ALL/LBL 患者,NOTCH1 突变率约 55%,结果令人鼓舞:与 19 例接受化疗的历史对照组相比,使用西达本胺联合化疗的患者在 1 个疗程后总有效率 (ORR) 达到 71%,2 个疗程后完全缓解 (CR) 率为 65%,2 年无进展生存 (PFS) 率为 54.2%,均明显高于对照组 (ORR 为

42%,CR 率为 37%,PFS 率为 23.2%);11 例获得 CR 的患者中有 9 例接受了异基因造血干细胞移植<sup>[54]</sup>。这些研究结果提示 HDAC 抑制剂联合化疗可能是针对 T-ALL 的极有前景的治疗策略。

## 五、小结与展望

NOTCH1 突变在 T-ALL 的发生和进展机制中起着核心作用,以 NOTCH1 为靶点的治疗显示出有效的抗白血病活性。然而,目前有关 NOTCH1 的各种基础和临床研究仍存在许多问题需要解决,譬如更多的下游靶基因和确切的发病机制还有待于进一步探索,靶向 NOTCH1 的更为安全有效的治疗策略亟待进一步设计开发等。在 T-ALL 中,调节 ICN1 蛋白稳定性和活性的关键步骤取决于其翻译后修饰过程中 PEST 结构域的磷酸化和 FBXW7-E3 泛素连接酶的募集,那么是否可以从其降解途径下调已激活的 NOTCH1 信号也是解决这一难题的新思路。

## 参考文献

- [1] Vadillo E, Dorantes-Acosta E, Pelayo R, et al. T cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL): New insights into the cellular origins and infiltration mechanisms common and unique among hematologic malignancies [J]. *Blood Rev*, 2018, 32(1):36-51. DOI: 10.1016/j.blre.2017.08.006.
- [2] Weng AP, Ferrando AA, Lee W, et al. Activating mutations of NOTCH1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Science*, 2004, 306(5694): 269-271. DOI: 10.1126/science.1102160.
- [3] Bellavia D, Palermo R, Felli MP, et al. Notch signaling as a therapeutic target for acute lymphoblastic leukemia [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(4): 331-342. DOI: 10.1080/14728222.2018.1451840.
- [4] Gordon WR, Roy M, Vardar-Ulu D, et al. Structure of the Notch1-negative regulatory region: implications for normal activation and pathogenic signaling in T-ALL [J]. *Blood*, 2009, 113(18):4381-4390. DOI: 10.1182/blood-2008-08-174748.
- [5] Sanchez-Martin M, Ferrando A. The NOTCH1-MYC highway toward T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2017, 129(9):1124-1133. DOI: 10.1182/blood-2016-09-692582.
- [6] Kangsamaksin T, Tattersall IW, Kitajewski J. Notch functions in developmental and tumour angiogenesis by diverse mechanisms [J]. *Biochem Soc Trans*, 2014, 42(6):1563-1568. DOI: 10.1042/BST20140233.
- [7] Polacheck WJ, Kutys ML, Yang J, et al. A non-canonical Notch complex regulates adherens junctions and vascular barrier function [J]. *Nature*, 2017, 552(7684): 258-262. DOI: 10.1038/nature24998.
- [8] 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. DOI: 10.1016/0092-8674(91)90111-b.
- [9] O'Neil J, Grim J, Strack P, et al. FBW7 mutations in leukemic

- cells mediate NOTCH pathway activation and resistance to gamma-secretase inhibitors [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(8):1813-1824. DOI: 10.1084/jem.20070876.
- [10] Schwanbeck R. The role of epigenetic mechanisms in Notch signaling during development [J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(5): 969-981. DOI: 10.1002/jcp.24851.
- [11] Ferrante F, Giaimo BD, Bartkuhn M, et al. HDAC3 functions as a positive regulator in Notch signal transduction [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(7):3496-3512. DOI: 10.1093/nar/gkaa088.
- [12] Zizioli D, Mione M, Varinelli M, et al. Zebrafish disease models in hematology: Highlights on biological and translational impact [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(3):620-633. DOI: 10.1016/j.bbdis.2018.12.015.
- [13] Kimura S, Seki M, Yoshida K, et al. NOTCH1 pathway activating mutations and clonal evolution in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(2):784-794. DOI: 10.1111/cas.13859.
- [14] De Bie J, Demeyer S, Alberti-Servera L, et al. Single-cell sequencing reveals the origin and the order of mutation acquisition in T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2018, 32(6):1358-1369. DOI: 10.1038/s41375-018-0127-8.
- [15] Hales EC, Taub JW, Matherly LH. New insights into Notch1 regulation of the PI3K-AKT-mTOR1 signaling axis: targeted therapy of  $\gamma$ -secretase inhibitor resistant T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(1):149-161. DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.09.021.
- [16] Wu W, Nie L, Zhang L, et al. The notch pathway promotes NF- $\kappa$ B activation through Asb2 in T cell acute lymphoblastic leukemia cells [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2018, 23:37. DOI: 10.1186/s11658-018-0102-4.
- [17] Efimenko E, Davé UP, Lebedeva IV, et al. PI3K $\gamma$ / $\delta$  and NOTCH1 Cross-Regulate Pathways That Define the T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia Disease Signature [J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(10):2069-2082. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0141.
- [18] Herranz D, Ambesi-Impombato A, Palomero T, et al. A NOTCH1-driven MYC enhancer promotes T cell development, transformation and acute lymphoblastic leukemia [J]. *Nat Med*, 2014, 20(10):1130-1137. DOI: 10.1038/nm.3665.
- [19] Yu CH, Chang WT, Jou ST, et al. TP53 alterations in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(1):229-238. DOI: 10.1111/cas.14238.
- [20] García-Peydró M, Fuentes P, Mosquera M, et al. The NOTCH1/CD44 axis drives pathogenesis in a T cell acute lymphoblastic leukemia model [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(7):2802-2818. DOI: 10.1172/JCI92981.
- [21] Su H, Hu J, Huang L, et al. SHQ1 regulation of RNA splicing is required for T-lymphoblastic leukemia cell survival [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):4281. DOI: 10.1038/s41467-018-06523-4.
- [22] McCarter AC, Wang Q, Chiang M. Notch in Leukemia [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1066:355-394. DOI: 10.1007/978-3-319-89512-3\_18.
- [23] Hu Y, Su H, Liu C, et al. DEPTOR is a direct NOTCH1 target that promotes cell proliferation and survival in T-cell leukemia [J]. *Oncogene*, 2017, 36(8):1038-1047. DOI: 10.1038/onc.2016.275.
- [24] Jin Q, Martinez CA, Arcipowski KM, et al. USP7 Cooperates with NOTCH1 to Drive the Oncogenic Transcriptional Program in T-Cell Leukemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(1):222-239. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1740.
- [25] Pinto I, Duque M, Gonçalves J, et al. NRARP displays either pro- or anti-tumoral roles in T-cell acute lymphoblastic leukemia depending on Notch and Wnt signaling [J]. *Oncogene*, 2020, 39(5):975-986. DOI: 10.1038/s41388-019-1042-9.
- [26] Aref S, El AM, Salama O, et al. Significance of NOTCH1 mutations detections in T-acute lymphoblastic leukemia patients [J]. *Cancer Biomark*, 2020, 27(2):157-162. DOI: 10.3233/CBM-190967.
- [27] Breit S, Stanulla M, Flohr T, et al. Activating NOTCH1 mutations predict favorable early treatment response and long-term outcome in childhood precursor T-cell lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2006, 108(4):1151-1157. DOI: 10.1182/blood-2005-12-4956.
- [28] Asnafi V, Buzyn A, Le NS, et al. NOTCH1/FBXW7 mutation identifies a large subgroup with favorable outcome in adult T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL): a Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (GRAALL) study [J]. *Blood*, 2009, 113(17):3918-3924. DOI: 10.1182/blood-2008-10-184069.
- [29] Valliyammai N, Nancy NK, Sagar TG, et al. Study of NOTCH1 and FBXW7 Mutations and Its Prognostic Significance in South Indian T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2018, 40(1):e1-e8. DOI: 10.1097/MPH.0000000000001006.
- [30] Feng J, Li Y, Jia Y, et al. Spectrum of somatic mutations detected by targeted next-generation sequencing and their prognostic significance in adult patients with acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1):61. DOI: 10.1186/s13045-017-0431-1.
- [31] Gianfelici V, Chiaretti S, Demeyer S, et al. RNA sequencing unravels the genetics of refractory/relapsed T-cell acute lymphoblastic leukemia. Prognostic and therapeutic implications [J]. *Haematologica*, 2016, 101(8):941-950. DOI: 10.3324/haematol.2015.139410.
- [32] Mansour MR, Sulis ML, Duke V, et al. Prognostic implications of NOTCH1 and FBXW7 mutations in adults with T-cell acute lymphoblastic leukemia treated on the MRC UKALLXII/ECOG E2993 protocol [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(26):4352-4356. DOI: 10.1200/JCO.2009.22.0996.
- [33] Clappier E, Collette S, Gardel N, et al. NOTCH1 and FBXW7 mutations have a favorable impact on early response to treatment, but not on outcome, in children with T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) treated on EORTC trials

- 58881 and 58951 [J]. *Leukemia*, 2010, 24 (12): 2023-2031. DOI: 10.1038/leu.2010.205.
- [34] Trinquand A, Tanguy-Schmidt A, Ben AR, et al. Toward a NOTCH1/FBXW7/RAS/PTEN- based oncogenetic risk classification of adult T-cell acute lymphoblastic leukemia: a Group for Research in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia study [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31 (34): 4333-4342. DOI: 10.1200/JCO.2012.48.5292.
- [35] Ma J, Wu M. The indicative effect of Notch1 expression for the prognosis of T-cell acute lymphocytic leukemia: a systematic review [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39 (5):6095-6100. DOI: 10.1007/s11033-011-1424-8.
- [36] Hof J, Kox C, Groeneveld-Krentz S, et al. NOTCH1 mutation, TP53 alteration and myeloid antigen expression predict outcome heterogeneity in children with first relapse of T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Haematologica*, 2017, 102(7):e249-e252. DOI: 10.3324/haematol.2016.157792.
- [37] Takebe N, Nguyen D, Yang SX. Targeting notch signaling pathway in cancer: clinical development advances and challenges [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 141 (2):140-149. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.09.005.
- [38] Papayannidis C, DeAngelo DJ, Stock W, et al. A Phase I study of the novel gamma-secretase inhibitor PF-03084014 in patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-cell lymphoblastic lymphoma[J]. *Blood Cancer J*, 2015, 5:e350. DOI: 10.1038/bcj.2015.80.
- [39] Andersson ER, Lendahl U. Therapeutic modulation of Notch signalling--are we there yet?[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13 (5):357-378. DOI: 10.1038/nrd4252.
- [40] Habets RA, de Bock CE, Serneels L, et al. Safe targeting of T cell acute lymphoblastic leukemia by pathology-specific NOTCH inhibition [J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11 (494): eaau6246. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau6246.
- [41] Roti G, Qi J, Kitara S, et al. Leukemia-specific delivery of mutant NOTCH1 targeted therapy[J]. *J Exp Med*, 2018, 215(1): 197-216. DOI: 10.1084/jem.20151778.
- [42] Marchesini M, Gherli A, Montanaro A, et al. Blockade of Oncogenic NOTCH1 with the SERCA Inhibitor CAD204520 in T Cell Acute Lymphoblastic Leukemia [J]. *Cell Chem Biol*, 2020,27(6):678-697.e13. DOI: 10.1016/j.chembiol.2020.04.002.
- [43] Agnusdei V, Minuzzo S, Frasson C, et al. Therapeutic antibody targeting of Notch1 in T-acute lymphoblastic leukemia xenografts [J]. *Leukemia*, 2014, 28 (2):278-288. DOI: 10.1038/leu.2013.183.
- [44] Minuzzo S, Agnusdei V, Pusceddu I, et al. DLL4 regulates NOTCH signaling and growth of T acute lymphoblastic leukemia cells in NOD/SCID mice[J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36 (1):115-121. DOI: 10.1093/carcin/bgu223.
- [45] Wu Y, Cain-Hom C, Choy L, et al. Therapeutic antibody targeting of individual Notch receptors[J]. *Nature*, 2010, 464(7291): 1052-1057. DOI: 10.1038/nature08878.
- [46] Hayashi I, Takatori S, Urano Y, et al. Neutralization of the  $\gamma$ -secretase activity by monoclonal antibody against extracellular domain of nicastrin[J]. *Oncogene*, 2012, 31 (6):787-798. DOI: 10.1038/onc.2011.265.
- [47] Moellering RE, Cornejo M, Davis TN, et al. Direct inhibition of the NOTCH transcription factor complex [J]. *Nature*, 2009, 462 (7270):182-188. DOI: 10.1038/nature08543.
- [48] Sanchez-Martin M, Ambesi-Impiombato A, Qin Y, et al. Synergistic antileukemic therapies in NOTCH1-induced T-ALL [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114 (8):2006-2011. DOI: 10.1073/pnas.1611831114.
- [49] Real PJ, Tosello V, Palomero T, et al. Gamma-secretase inhibitors reverse glucocorticoid resistance in T cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Nat Med*, 2009, 15 (1):50-58. DOI: 10.1038/nm.1900.
- [50] Khoshamooz H, Kaviani S, Atashi A, et al. Combination Effect of Notch1 and PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathways Inhibitors on T-ALL Cell Lines [J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2020, 14(2):99-109.
- [51] Wang Z, Hu Y, Xiao D, et al. Stabilization of Notch1 by the Hsp90 Chaperone Is Crucial for T-Cell Leukemogenesis [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23 (14):3834-3846. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2880.
- [52] Waibel M, Vervoort SJ, Kong IY, et al. Epigenetic targeting of Notch1-driven transcription using the HDACi panobinostat is a potential therapy against T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2018, 32 (1): 237-241. DOI: 10.1038/leu.2017.282.
- [53] Chi Z, Gao H, Liu H, et al. Chidamide induces necroptosis via regulation of cFLIPL expression in Jurkat and HUT78 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21 (2): 936-944. DOI: 10.3892/mmr.2019.10873.
- [54] Guan W, Jing Y, Dou L, et al. Chidamide in combination with chemotherapy in refractory and relapsed T lymphoblastic lymphoma/leukemia [J]. *Leuk Lymphoma*, 2020, 61 (4):855-861. DOI: 10.1080/10428194.2019.1691195.

(收稿日期:2020-08-13)

(本文编辑:王叶青)