

神经内分泌肿瘤基础与转化研究进展

吉顺荣 徐晓武 虞先濬

复旦大学附属肿瘤医院神经内分泌肿瘤中心 复旦大学附属肿瘤医院胰腺外科 复旦大学上海医学院肿瘤学系 上海市胰腺肿瘤研究所 复旦大学胰腺肿瘤研究所 200032

通信作者:虞先濬,Email:yuxianjun@fudanpci.org

【摘要】 随着各种诊断技术的不断发展和人们生活水平的提高,神经内分泌肿瘤的检出率不断增加,越来越受到人们的重视,神经内分泌肿瘤的临床研究进展显著,治疗手段丰富。但是,由于神经内分泌肿瘤的异质性,复发转移依然是困扰临床医生的难题,疗效仍有待提高,亟需对其生物学行为展开深入研究。近年来,随着分子生物学的发展,神经内分泌肿瘤的基础与转化研究均取得了一定进展。本文围绕神经内分泌肿瘤的多组学(体细胞拷贝数变异、基因组学、转录组学等)、肿瘤微环境(免疫微环境、肿瘤微血管、肿瘤相关成纤维细胞等)、临床前研究模型构建(细胞系、类器官、人源性异种移植模型、基因工程小鼠)等前沿热点进行综述,并对具有临床转化意义的部分进行阐述。

【关键词】 神经内分泌肿瘤; 多组学; 肿瘤微环境; 模型

Advances in basic and translational research in neuroendocrine neoplasms

Ji Shunrong, Xu Xiaowu, Yu Xianjun

Center for Neuroendocrine Tumors, Fudan University Shanghai Cancer Center, Department of Pancreatic Surgery, Fudan University Shanghai Cancer Center, Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai Pancreatic Cancer Institute, Pancreatic Cancer Institute, Fudan University, Shanghai 200032, China

Corresponding author: Yu Xianjun, Email: yuxianjun@fudanpci.org

【Abstract】 With the development of diagnostic techniques and the improvement of people's living standards, the detection rate of neuroendocrine tumor has been increasing and people are paying more and more attention to it. With multiple treatment modalities, the clinical research progress of neuroendocrine tumor is remarkable. However, due to the tumor heterogeneity, metastasis and recurrence of neuroendocrine tumor remains a difficult problem for clinicians. The efficacy of neuroendocrine tumor still needs to be improved. Therefore, the biological behavior of neuroendocrine tumor needs to be further studied. In recent years, with the development of molecular biology, the basic and transformation research of neuroendocrine tumor has made some progress. In this paper, we focus on the hot topics of neuroendocrine tumor, such as multiomics (copy number variation, genomics, transcriptomics), tumor microenvironment (immune microenvironment, tumor microvasculature, tumor - associated fibroblasts, etc.), preclinical research model construction (cell lines, organoids, patient derived xenograft models, genetically engineered mice), etc. Specifically, the related clinical transformation significance will be elaborated.

【Key words】 Neuroendocrine neoplasms; Multi-omics; Tumor microenvironment; Model

DOI: 10.3760/cma.j.cn.441530-20210705-00261

收稿日期 2021-07-05 本文编辑 万晓梅

引用本文:吉顺荣,徐晓武,虞先濬.神经内分泌肿瘤基础与转化研究进展[J].中华胃肠外科杂志,2021,24(10):867-874. DOI:10.3760/cma.j.cn.441530-20210705-00261.



神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasm, NEN),泛指所有起源于肽能神经元和神经内分泌细胞的一系列的异质性肿瘤。其中,胃肠胰NEN(gastroenteropancreatic NEN, GEP-NEN)是最常见的NEN类型,占65%~75%。NEN治疗手段多样,包括手术、介入、化疗、生物治疗、靶向治疗、肽受体介导的放射性核素治疗等。尽管如此,NEN的治疗效果仍有待提高。既往认为,NEN的生物学行为趋于惰性,但其远处转移却并不少见。以胰腺NEN为例,有20%~64%的患者在确诊时已合并肝转移,且以弥漫性肝转移多见^[1]。因此,亟需对NEN的生物学特性展开深入研究。本文围绕NEN的多组学研究、肿瘤微环境、临床前研究模型3个方面进行综述,见图1。

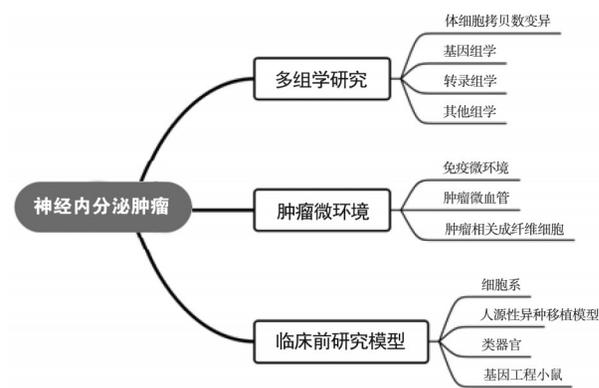


图1 神经内分泌肿瘤基础与转化研究热点方向

一、多组学研究

基因组学研究是阐明肿瘤发生发展分子机制的关键,也是精准医疗开展的前提。近年来,多组学的快速发展加速了人们对NEN基因层面的认识。

1. 体细胞拷贝数变异:体细胞拷贝数变异是指基因组发生重排,长度1 Kb以上的基因组大片的拷贝数增加或者减少,主要表现为亚显微水平的缺失和重复。细胞拷贝数变异在正常人的组织中普遍存在,并且随着年龄的增长而积累,被认为是癌前现象。在小肠神经内分泌瘤(small intestine neuroendocrine tumor, SI-NET)中,18号染色体的基因缺失是最常见的体细胞拷贝数变异,发生在超过60%的SI-NET中,即便如此,位于18号染色体上的重要抑癌基因SMAD4仍并未检测到突变^[2-3]。根据体细胞拷贝数变异,可以将SI-NET分为2个亚型,第1个亚型是18号染色体的基因缺失,是始发事件,随后发生其他染色体上的基因缺失;第2个亚型是18号染色体

完整的,但在4、5、7、14或20号染色体上发生基因拷贝数增加,此型虽然少见但预后更差,特别是14号染色体上抗凋亡蛋白DAD1的变异与不良预后相关^[4-5]。拷贝数变异也与肿瘤发生部位有关,分化良好的胰腺神经内分泌瘤(pancreatic neuroendocrine tumor, pNET)染色体畸变相对于其他部位NET更常见,特别是7号染色体拷贝数增加见于68%的pNET,而21号染色体基因缺失更少见^[6-7]。最新一项研究通过对84例胰岛素瘤和127例非功能性胰腺神经内分泌肿瘤(non-functional pancreatic neuroendocrine tumor, NF-pNET)进行全基因组/全外显子组测序,检测其突变谱和拷贝数变异模式,并根据拷贝数变异,将NF-pNET分为3型,其中有拷贝数增加或减少的NF-pNET复发风险很高^[8]。

2. 基因组学:早在2011年,一项研究对10例pNET进行全外显子组测序,并对另外58个pNET样本进行靶向测序,发现MEN1和参与mTOR通路的基因突变率高达44%,而在43%的样本中ATRX或DAXX是突变的,且ATRX和DAXX的突变是相互排斥的(它们不会同时发生在同一肿瘤中)^[9]。同年,另一项研究发现,61%的pNET显示异常端粒,而表现出这些异常端粒的pNET都具有ATRX或DAXX突变或核ATRX或DAXX蛋白丢失,ATRX和DAXX编码的蛋白质参与端粒和其他基因组位点的染色质重塑^[10]。在2013年,针对10例胰岛素瘤标本的全外显子测序,并在103例标本中验证,发现YY1的T372R突变在胰岛素瘤中突变率达30%,T372R突变导致了YY1的表达降低,可能为胰岛素瘤的治疗靶点^[11]。2017年,针对102个pNET标本全基因组测序,更详细地描述了pNET的突变特征。相对于胰腺癌,pNET具有更低的突变负荷。作者进一步定义了5个突变特征,其中由G:C>T:A颠换组成,在碱基切除修复基因MUTYH中具有已知的致病性或新的失活种系突变,并伴随着杂合性的丧失,这一突变特征占主导地位。在基因突变方面,这份研究除了进一步证实了以往的研究结果(MEN1突变频率最高,DAXX和ATRX存在互斥失活突变以及mTOR通路基因PTEN突变),还发现了尚未被报道的DEPDC5基因突变,而且DEPDC5基因突变与PTEN以及TSC2突变互斥^[12]。

3. 转录组学:在2008年,通过对比SI-NET和pNET的RNA表达谱,发现了385个差异表达的RNA。在SI-NET中,表达上调最多的基因是ECM1、VMAT1、

*HOXC6*和*RET*,这些基因主要与物质运输和细胞运动相关,可能与SI-NET的进展密切相关^[13]。在2018年,针对212例胃胰肠神经内分泌瘤(gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor, GEP-NET)的转录组学研究,帮助确定了GEP-NET的分子亚型,并进一步分析出转移性GEP-NET的主要调节基因,在体内验证了这些基因抑制剂的效应,为神经内分泌瘤(neuroendocrine tumor, NET)精准治疗提供新的方向^[14]。

4. 其他组学:除了基因组学和转录组学,NEN的其他组学研究进展缓慢。在代谢上,有研究发现,胰岛素瘤保留了胰岛β细胞的代谢特征,通过葡萄糖转运蛋白-2大量摄取葡萄糖,随后通过丙酮酸进入三羧酸循环,产生的能量以促进胰岛素的分泌^[15]。而NEN的整体蛋白组学尚未有报道。总而言之,NEN的多组学研究有待进一步完善,以更好地明确NEN的分子分型以及侵袭转移的分子机制,推动NEN的精准治疗。

二、肿瘤微环境研究

肿瘤的发生发展是基因突变与周围环境相互作用的结果,深入研究肿瘤微环境,才能更好地认识NEN的生物学特性。

1. 免疫微环境研究进展:随着免疫背景研究的深入,在NEN组织中也发现B细胞、T细胞、自然杀伤(nature killer, NK)细胞、肥大细胞、树突状细胞以及巨噬细胞等免疫细胞浸润,并与临床特性有相关性。例如,CD8⁺T淋巴细胞在低级别和高级别肺NET中均有浸润,而且浸润的密集程度是改善总生存期和无进展生存期的独立预测因素^[16];NK细胞活性与疾病状态有关,在恶性进展或对治疗有反应的GEP-NET患者中分别降低和增加^[17]。

三级淋巴结构是异位淋巴器官,在慢性炎症反应部位(包括肿瘤)的非淋巴组织中发育。三级淋巴结构在募集淋巴细胞和促进有效的肿瘤免疫微环境方面发挥重要作用,在多种肿瘤中与良好临床结果相关^[18]。在一项包含102个G1和G2级原发性SI-NET队列研究中,约2/3的病例观察到肿瘤内宿主免疫反应,约1/5的肿瘤显示异位淋巴结和生发中心激活,但这些三级淋巴结构在SI-NET中的生物学意义仍不清楚^[19]。本中心研究发现,在pNET中,三级淋巴结构的存在是可切除的G1/G2级非功能性pNET预后的独立保护因素^[20]。胞外诱捕网是一种独特的免疫细胞死亡过程,其特征是免疫细胞在刺激后产生由DNA骨架、组蛋白、颗粒蛋白和细胞质蛋白

组成的网状结构。本中心进一步研究表明,中性粒细胞胞外诱捕网和巨噬细胞胞外诱捕网的阳性程度是非功能性pNET预后的独立危险因素,而且胞外诱捕网染色阳性程度与非功能性pNET无进展生存期降低相关^[21]。更有意义的是,刚发表的一项研究,利用包含158例pNET的GEO数据集,总结免疫浸润情况并识别免疫相关特征,通过LASSO回归模型使用训练队列(125例)中具有统计学意义生存预测因子来构建首个NET免疫评分系统(immunoscore system for pan-NET, ISpnet)^[22]。基于ISpnet和独立临床风险因素的列线图可能有助于早期复发风险监测的决策,识别需要辅助治疗的高危患者,并为可能受益于临床免疫治疗的pNET患者提供辅助指导^[22]。

免疫检查点受体PD-1及其配体PD-L1/PD-L2在免疫抑制微环境的形成中起着关键作用。据报道,PD-1很少在GEP-NET中表达,PD-L1的肿瘤内表达是复杂的,在pNET和SI-NET之间存在大量的表达模式异质性,7.4%的pNET表达PD-L1,但在SI-NET中几乎不表达^[23]。即使如此,PD-1和PD-L1的表达还是与GEP-NEN存活率降低和肿瘤分级增加相关^[24]。而且PD-L1的表达也与转移性GEP-NEN患者的无进展生存期和总体生存率降低有关^[25]。由于PD-1/PD-L1的高表达与免疫疗法(包括抗PD-1/PD-L1药物)的强烈反应相关,提示PD-1/PD-L1在NEN中可能既是预后因素,也是免疫治疗疗效的预测因素。

2. 肿瘤微血管研究进展:尽管NEN表现出很大的异质性,肿瘤血管生成却是NEN微环境的共同特征。这是由于内分泌腺组织里有丰富的、由有孔内皮细胞构成的微血管,以促进激素分泌和释放到血液中^[26]。在GEP-NET中,血管的形成是在多个促血管生成因子和抗血管生成因子平衡对抗下的多步骤过程。与正常组织相比,在GEP-NET中,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)/血管内皮生长因子受体(VEGF receptor, VEGFR)系统通常过度表达^[27]。VEGF通过与两个高度相关的酪氨酸激酶受体VEGFR-1和VEGFR-2的结合来介导血管生成,这些受体主要限于内皮细胞,一旦激活,它们就会促进血管生成^[28]。值得注意的是,与非转移性患者相比,转移性GEP-NET患者的血浆循环VEGF浓度更高^[29]。但这不一定意味着VEGF是肿瘤细胞转移的充分条件,因为与高级别和(或)未分化形式的GEP-NET相比,在分化良好和低级别的肿

瘤中,血管生成的标志物有更高的表达,这被称为“神经内分泌悖论”(在其他上皮肿瘤模型,其中最高程度的血管化通常反映更具侵袭性的肿瘤,NEN则相反)^[30-31]。除了 VEGF/VEGFR 系统外,其他因素间接参与血管生成及其维持的过程。血管生成素-2 (angiopoietin-2, ANG-2) 结合内皮特异性受体酪氨酸激酶 2 (tyrosine kinase 2, TIE-2), 并在血管生成过程中作为 ANG-1/TIE-2 信号传导的负调节因子、或在某些情况下条件作为血管生成的启动子。在 pNET 中, ANG-2 上调了 8 倍, 而且表现出肿瘤特异性阳性, 在周围正常胰腺组织中不表达^[32-33]。

NEN 微血管生成的分子机制比较清晰, VEGF 通路抑制剂如贝伐单抗、舒尼替尼和索凡替尼等, 已在临床上取得一定效果。但 VEGF 通路抑制剂最多只能显示暂时的有益效果, 停药后很快恢复肿瘤生长和进展^[34]。在 GEP-NET 中, 肿瘤微环境参与对 VEGF 通路抑制剂治疗的抵抗性, 可能是通过局部产生非 VEGF 替代促血管生成信号, 维持肿瘤血管生成过程^[35]。

3. 肿瘤相关成纤维细胞: 成纤维细胞是肿瘤微环境的一个组成部分, 通过分泌生长因子和趋化因子, 产生细胞外基质以及促进内皮细胞和周细胞的血管生成募集, 并通过改变表型, “活化”为癌症相关成纤维细胞 (cancer associated fibroblast, CAF), 在癌症的恶性进展中发挥着重要作用^[36]。CAF 在 NEN 中的研究尚少。不过, 早在 20 世纪 90 年代初, 就有文献报道, BON-1 细胞系的条件培养基可以刺激成纤维细胞集落生长^[37]。进一步研究发现, BON-1 诱导的成纤维细胞增殖与 TGF- β 的释放有关, 而且在 TGF- β 作用下, 成纤维细胞介导的 IL-6 和 VEGF 分泌显著增加^[38]。此外, 多项研究表明, TGF- β 及其受体在 NET 的肿瘤和基质细胞中共同表达, 并且有证据表明, TGF- β 1 和 - β 2 及 - β 3 都可能驱动成纤维细胞合成 α -平滑肌肌动蛋白^[39-41]。在异质性 GEP-NET 队列中, 70% 的病例在肿瘤细胞和基质细胞上都检测到了血小板衍生生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF) 的免疫反应性, 而 PDGF- α 和 - β 受体的表达分别在肿瘤细胞和成纤维细胞中^[42]。然而, 血小板衍生生长因子受体- β (PDGF receptor- β , PDGFR- β) 在成纤维细胞中的表达有空间异质性, 在靠近 NET 细胞的成纤维细胞中相对高表达^[43]。尽管缺乏功能研究的直接证据, 但这些研究提示: NET 细胞可能诱导成纤维细胞中 PDGFR- β 的表达,

然后通过旁分泌和自分泌机制促进其增殖和活化^[42-43]。

三、临床前研究模型

长期以来, 缺乏具有代表性的 NEN 细胞系一直是 NEN 转化研究的主要难题。建立高质量的 NEN 实验模型是我们开展临床前研究的先决条件, 我们梳理了当前已报道的 NEN 模型, 包括细胞、类器官模型及异种移植瘤模型等。

1. 细胞系: 源自分化良好的 NET 细胞系包括 BON-1^[44]、QGP-1^[45] 和 GOT-1^[46] 早在几十年前已成功建立。胰岛素瘤细胞系 CM 表现出胰岛素分泌功能, 但小鼠异种移植仍然没有成功的报道^[47]。P-ST5 于 2009 年被建立, 后来被用作研究小肠 NET 分泌的体外模型^[48]。最近也报道了 NT-3 细胞系, 它是从功能性胰岛素瘤的转移淋巴结中建立的, 能够保持原始肿瘤良好分化的表型和功能, 并表现出与患者类似的 15%~20% Ki-67 指数^[49]。尽管这些细胞系难以长久维持细胞形态或神经内分泌特性, 二代测序结果也表明, NET 细胞系和患者肿瘤组织之间存在着相当大的基因组学差异, 但已建立的细胞系仍然有应用价值, 因为它们是目前罕见疾病最易于操作的研究模型^[50-52]。

2. 人源性异种移植模型: 人源性异种移植 (patient-derived xenograft, PDX) 模型是 NEN 细胞模型的一种替代研究工具, PDX 模型是通过人源肿瘤组织移植到动物体内形成的。该模型优势在于保留了源肿瘤的组织学和遗传特征, 并提供有价值的疾病建模平台, 适用于各种体内应用, 例如敏感靶点和药物筛选等。据研究报告, 目前已在小鼠中成功建立了 GEP-NET PDX 模型和胃肠胰神经内分泌癌 (GEP-NEC) PDX 模型^[53-54]。然而, GEP-NET 的植入成功率不到 10%^[54]。更令人忧心的是, 一些 GEP-NET 的 PDX 模型表现出 70%~90% 的 Ki-67 指数, 在当前诊断标准下更接近于 GEP-NEC^[54]。此外, 尽管 GEP-NEN 的 PDX 模型的组织学类似于源肿瘤, 但对 GEP-NEN 的 PDX 模型的分子生物学方面评估仍然未见研究报告。因此, 针对 GEP-NET 的 PDX 模型培养方法仍需要优化, 以及已建立的 GEP-NEN 的 PDX 模型也需要多方面综合评估。

3. 类器官: 与单层体外培养方法和体内模型相比, 类器官培养具有一些优势。与 2D 培养相反, 类器官中的细胞通过自组织和保留极性特征来维持组织结构, 基底侧与基质胶接触, 顶端侧朝向类器

官球体的内腔^[55-56]。此外,与 2D 培养相比,类器官培养的建效率更高^[56-57]。更重要的是,它允许未转化的正常细胞生长,而这在 2D 培养中仍然很难实现。类器官培养可以作为一种补充工具,也可以作为基因工程小鼠模型的延伸。作为一种体外模型,与体内模型相比,类器官可以很容易地繁殖和遗传以研究特定的目标。而同基因原位移植的类器官显示出类似于其来源组织的结构,因此提供了一个快速的体内模型。Dijkstra 等^[58]建立了 3 个源自胃和结肠 NEC 的类器官并发现其在突触素、嗜铬粒蛋白和 Ki-67 的表达方面与原始肿瘤非常相似,同时类器官化疗敏感性与患者的临床反应平行。April-Monn 等^[59]用原代胰腺 NEN 细胞去构建胰岛样肿瘤类器官,并将其作为舒尼替尼、依维莫司和替莫唑胺等治疗的药物筛选平台,并证明了该平台有可能在更大的队列中作为预测工具。低-中级别 NEN 的生长速度相对较慢,许多实验室培养方法无法捕捉到这一点。然而,由于组织体积小和生长速度缓慢是该疾病的特征,因此传统的药物反应测量在 NEN 类器官中无效。Gillette 等^[60]提出可以,通过一种无标记、无损的光学代谢成像方法来测量其药物反应。此外,Kawasaki 等^[61]建立了 25 个 NEN 类器官并对其进行了全面的分子表征检测,其概括了原始肿瘤的病理组织学和功能表型,随后通过全基因组测序揭示了消化道 NEC 中 *TP53* 和 *RBI* 的频繁遗传改变,以及消化道 NEN 特征性的全染色体杂合性丢失。

虽然今天可用的类器官技术仍有一些缺点,但它在 NEN 生物学的探索中仍然具有不可替代的优势,例如其高稳定性、与人类 NEN 高度相似的特征、预测疾病的进展和预后的能力和对测试药物的有效性和耐药性的作用。为了改进该模型的缺点,不少研究提出了一些新的观点,如 *CRISPR-Hot* 基因编辑技术、与其他细胞类型的共培养、芯片上的有机蛋白、NEN 中的液体压力模拟等^[62]。这些将是 NEN 类器官领域未来的研究方向。

4. 基因工程小鼠模型 (genetically engineered mouse model, GEMM): GEMM 是癌症研究的关键模型,因为它使肿瘤在小鼠免疫系统完整的情况下评估分子和表型之间的关系,这是细胞或组织异体移植小鼠模型所不具有的优势。GEP-NEN 的 GEMM 模型成功构建的研究已经被报道。*MEN1* 纯合敲除的小鼠易出现小鼠胚胎致死,而 *MEN1* 杂合敲除小鼠在多个器官中发展为肿瘤,包括 GEP-NEN^[63]。携

带 *ATP4A* 突变的 GEMM 常出现高胃泌素血症并发展成胃 NET^[64]。*MEN1* 和 *ATP4A* 敲除小鼠模型的 Ki-67 指数超过了 20%,符合 GEP-NET 的组织病理学标准^[65]。NEC 的 GEMM 模型成功构建的报道很少,目前主要为小细胞肺癌和前列腺 NEC 的模型。小细胞肺癌基因组测序已经确定了 *TP53* 和 *RBI* 突变导致其功能的丧失^[66]。类似地,*TP53* 和 *RBI* 基因突变在前列腺 NEC 中也被发现^[67]。有趣的是,Parisi 等^[65]报道了 *TP53* 和 *RBI* 基因敲除小鼠不仅会发生前列腺 NEC,还会发生其他消化系统肿瘤。由于这方面的研究报道数量有限,很难得出明确的结论,但很有可能存在除 *TP53* 和 *RBI* 突变之外的其他分子因素影响 NEC 的发生。我们也不能忽视 GEMM 的缺点,除了小鼠与患者存在种系之间明显的生物学差异外,GEMM 还存在其他局限性,例如肿瘤发生和发展潜伏期的差异。另外需要注意的是,大多数 GEP-NET 不具有家族遗传特征,从种系突变的 GEMM 中获得的研究发现,是否可以用来研究散发 GEP-NET 的特征仍有待证实。

四、结语

近年来,NEN 发病率逐年升高,已成为威胁人类生命健康的肿瘤之一。随着全基因组测序及单细胞测序的应用,NEN 的进化轨迹与肿瘤异质性有望被揭示;对肿瘤免疫微环境的认识,为 NEN 的治疗提供了新的理论依据。未来有望在 NEN 基础临床转化研究的基础上,明确 NEN 的发病机制,寻找新的治疗靶点,改善 NEN 患者的预后。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 陈洛海,陈洁. 胰腺神经内分泌肿瘤肝转移治疗策略[J]. 中国实用外科杂志, 2018, 38(7): 753-758. DOI: 10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2018.07.13.
- [2] Löllgen RM, Hessman O, Szabo E, et al. Chromosome 18 deletions are common events in classical midgut carcinoid tumors [J]. Int J Cancer, 2001, 92(6): 812-815. DOI: 10.1002/ijc.1276.
- [3] Cunningham JL, Díaz de Ståhl T, Sjöblom T, et al. Common pathogenetic mechanism involving human chromosome 18 in familial and sporadic ileal carcinoid tumors [J]. Genes Chromosomes Cancer, 2011, 50(2): 82-94. DOI: 10.1002/gcc.20834.
- [4] Andersson E, Swärd C, Stenman G, et al. High-resolution genomic profiling reveals gain of chromosome 14 as a predictor of poor outcome in ileal carcinoids [J]. Endocr Relat Cancer, 2009, 16(3): 953-966. DOI: 10.1677/ERC-09-0052.
- [5] Kulke MH, Freed E, Chiang DY, et al. High-resolution analysis

- of genetic alterations in small bowel carcinoid tumors reveals areas of recurrent amplification and loss [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2008, 47(7):591-603. DOI: 10.1002/gcc.20561.
- [6] Kim DH, Nagano Y, Choi IS, et al. Allelic alterations in well-differentiated neuroendocrine tumors (carcinoid tumors) identified by genome-wide single nucleotide polymorphism analysis and comparison with pancreatic endocrine tumors [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2008, 47(1):84-92. DOI: 10.1002/gcc.20510.
- [7] Stumpf E, Aalto Y, Höög A, et al. Chromosomal alterations in human pancreatic endocrine tumors [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2000, 29(1):83-87. DOI: 10.1002/1098-2264(2000)9999:9999<:aid-gcc1011>3.0.co;2-z.
- [8] Hong X, Qiao S, Li F, et al. Whole-genome sequencing reveals distinct genetic bases for insulinomas and non-functional pancreatic neuroendocrine tumours: leading to a new classification system [J]. *Gut*, 2020, 69(5):877-887. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-317233.
- [9] Jiao Y, Shi C, Edil BH, et al. DAXX/ATRX, MEN1, and mTOR pathway genes are frequently altered in pancreatic neuroendocrine tumors [J]. *Science*, 2011, 331(6021):1199-1203. DOI: 10.1126/science.1200609.
- [10] Heaphy CM, de Wilde RF, Jiao Y, et al. Altered telomeres in tumors with ATRX and DAXX mutations [J]. *Science*, 2011, 333(6041):425. DOI: 10.1126/science.1207313.
- [11] Cao Y, Gao Z, Li L, et al. Whole exome sequencing of insulinoma reveals recurrent T372R mutations in YY1 [J]. *Nat Commun*, 2013, 4:2810. DOI: 10.1038/ncomms3810.
- [12] Scarpa A, Chang DK, Nones K, et al. Whole-genome landscape of pancreatic neuroendocrine tumours [J]. *Nature*, 2017, 543(7643):65-71. DOI: 10.1038/nature21063.
- [13] Duerr EM, Mizukami Y, Ng A, et al. Defining molecular classifications and targets in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors through DNA microarray analysis [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2008, 15(1):243-256. DOI: 10.1677/ERC-07-0194.
- [14] Alvarez MJ, Subramaniam PS, Tang LH, et al. A precision oncology approach to the pharmacological targeting of mechanistic dependencies in neuroendocrine tumors [J]. *Nat Genet*, 2018, 50(7):979-989. DOI: 10.1038/s41588-018-0138-4.
- [15] Sadanandam A, Wullschleger S, Lyssiotis CA, et al. A cross-species analysis in pancreatic neuroendocrine tumors reveals molecular subtypes with distinctive clinical, metastatic, developmental, and metabolic characteristics [J]. *Cancer Discov*, 2015, 5(12):1296-1313. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-0068.
- [16] Wang H, Li Z, Dong B, et al. Prognostic significance of PD-L1 expression and CD8+ T cell infiltration in pulmonary neuroendocrine tumors [J]. *Diagn Pathol*, 2018, 13(1):30. DOI: 10.1186/s13000-018-0712-1.
- [17] Aparicio-Pagés MN, Verspaget HW, Peña AS, et al. Natural killer cell activity in patients with neuroendocrine tumours of the gastrointestinal tract; relation with circulating gastrointestinal hormones [J]. *Neuropeptides*, 1991, 20(1):1-7. DOI: 10.1016/0143-4179(91)90033-f.
- [18] Sautès-Fridman C, Petitprez F, Calderaro J, et al. Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(6):307-325. DOI: 10.1038/s41568-019-0144-6.
- [19] Cives M, Strosberg J, Al Duffalha S, et al. Analysis of the immune landscape of small bowel neuroendocrine tumors [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2019, 26(1):119-130. DOI: 10.1530/ERC-18-0189.
- [20] Zhang WH, Wang WQ, Han X, et al. Infiltrating pattern and prognostic value of tertiary lymphoid structures in resected non-functional pancreatic neuroendocrine tumors [J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2) DOI: 10.1136/jitc-2020-001188.
- [21] Xu SS, Li H, Li TJ, et al. Neutrophil extracellular traps and macrophage extracellular traps predict postoperative recurrence in resectable nonfunctional pancreatic neuroendocrine tumors [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:577517. DOI: 10.3389/fimmu.2021.577517.
- [22] Wei M, Xu J, Hua J, et al. From the immune profile to the immunoscore: signatures for improving postsurgical prognostic prediction of pancreatic neuroendocrine tumors [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:654660. DOI: 10.3389/fimmu.2021.654660.
- [23] da Silva A, Bowden M, Zhang S, et al. Characterization of the neuroendocrine tumor immune microenvironment [J]. *Pancreas*, 2018, 47(9):1123-1129. DOI: 10.1097/MPA.0000000000001150.
- [24] Bösch F, Brüwer K, Altendorf-Hofmann A, et al. Immune checkpoint markers in gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasia [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2019, 26(3):293-301. DOI: 10.1530/ERC-18-0494.
- [25] Kim ST, Ha SY, Lee S, et al. The impact of PD-L1 expression in patients with metastatic GEP-NETs [J]. *J Cancer*, 2016, 7(5):484-489. DOI: 10.7150/jca.13711.
- [26] Scoazec JY. [Endocrine tumors: biology and pathophysiology] [J]. *Ann Pathol*, 2005, 25(6):447-461. DOI: 10.1016/s0242-6498(05)86160-7.
- [27] Turner HE, Harris AL, Melmed S, et al. Angiogenesis in endocrine tumors [J]. *Endocr Rev*, 2003, 24(5):600-632. DOI: 10.1210/er.2002-0008.
- [28] Kanno S, Oda N, Abe M, et al. Roles of two VEGF receptors, Flt-1 and KDR, in the signal transduction of VEGF effects in human vascular endothelial cells [J]. *Oncogene*, 2000, 19(17):2138-2146. DOI: 10.1038/sj.onc.1203533.
- [29] Cigrovski Berković M, Čačev T, Catela Ivković T, et al. High VEGF serum values are associated with locoregional spread of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors (GEP-NETs) [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2016, 425:61-68. DOI: 10.1016/j.mce.2016.01.013.
- [30] Yazdani S, Kasajima A, Tamaki K, et al. Angiogenesis and

- vascular maturation in neuroendocrine tumors [J]. *Hum Pathol*, 2014, 45(4):866-874. DOI:10.1016/j.humpath.2013.09.024.
- [31] Cuny T, de Herder W, Barlier A, et al. Role of the tumor microenvironment in digestive neuroendocrine tumors[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2018, 25(11):R519-519R544. DOI:10.1530/ERC-18-0025.
- [32] Durkin AJ, Bloomston M, Yeatman TJ, et al. Differential expression of the Tie - 2 receptor and its ligands in human pancreatic tumors[J]. *J Am Coll Surg*, 2004, 199(5):724-731. DOI:10.1016/j.jamcollsurg.2004.07.021.
- [33] Detjen KM, Rieke S, Deters A, et al. Angiopoietin-2 promotes disease progression of neuroendocrine tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(2):420-429. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-09-1924.
- [34] Shojaei F, Ferrara N. Role of the microenvironment in tumor growth and in refractoriness / resistance to anti - angiogenic therapies [J]. *Drug Resist Updat*, 2008, 11(6):219-230. DOI:10.1016/j.drug.2008.09.001.
- [35] Bergers G, Hanahan D. Modes of resistance to anti-angiogenic therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(8):592-603. DOI:10.1038/nrc2442.
- [36] Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(5):392-401. DOI:10.1038/nrc1877.
- [37] Beauchamp RD, Coffey RJ Jr, Lyons RM, et al. Human carcinoid cell production of paracrine growth factors that can stimulate fibroblast and endothelial cell growth [J]. *Cancer Res*, 1991, 51(19):5253-5260.
- [38] Pickup M, Novitskiy S, Moses HL. The roles of TGF β in the tumour microenvironment [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(11):788-799. DOI:10.1038/nrc3603.
- [39] Chaudhry A, Oberg K, Gobl A, et al. Expression of transforming growth factors beta 1, beta 2, beta 3 in neuroendocrine tumors of the digestive system [J]. *Anticancer Res*, 1994, 14(5B):2085-2091.
- [40] Gilbert JA, Adhikari LJ, Lloyd RV, et al. Molecular markers for novel therapeutic strategies in pancreatic endocrine tumors [J]. *Pancreas*, 2013, 42(3):411-421. DOI:10.1097/MPA.0b013e31826cb243.
- [41] Wimmel A, Wiedenmann B, Rosewicz S. Autocrine growth inhibition by transforming growth factor beta-1 (TGF β -1) in human neuroendocrine tumour cells [J]. *Gut*, 2003, 52(9):1308-1316. DOI:10.1136/gut.52.9.1308.
- [42] Wulbrand U, Wied M, Zöfel P, et al. Growth factor receptor expression in human gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours [J]. *Eur J Clin Invest*, 1998, 28(12):1038-1049. DOI:10.1046/j.1365-2362.1998.00397.x.
- [43] Funa K, Papanicolaou V, Juhlin C, et al. Expression of platelet-derived growth factor beta - receptors on stromal tissue cells in human carcinoid tumors [J]. *Cancer Res*, 1990, 50(3):748-753.
- [44] Evers BM, Townsend CM Jr, Upp JR, et al. Establishment and characterization of a human carcinoid in nude mice and effect of various agents on tumor growth [J]. *Gastroenterology*, 1991, 101(2):303-311. DOI:10.1016/0016-5085(91)90004-5.
- [45] Kaku M, Nishiyama T, Yagawa K, et al. Establishment of a carcinoembryonic antigen - producing cell line from human pancreatic carcinoma [J]. *Gan*, 1980, 71(5):596-601.
- [46] Kölby L, Bernhardt P, Ahlman H, et al. A transplantable human carcinoid as model for somatostatin receptor-mediated and amine transporter - mediated radionuclide uptake [J]. *Am J Pathol*, 2001, 158(2):745-755. DOI:10.1016/S0002-9440(10)64017-5.
- [47] Gartner W, Koc F, Nabokikh A, et al. Long-term in vitro growth of human insulin - secreting insulinoma cells [J]. *Neuroendocrinology*, 2006, 83(2):123-130. DOI:10.1159/000094875.
- [48] Pfragner R, Behmel A, Höger H, et al. Establishment and characterization of three novel cell lines - P-STC, L-STC, H-STC-derived from a human metastatic midgut carcinoid [J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(6):1951-1961.
- [49] Benten D, Behrang Y, Unrau L, et al. Establishment of the first well-differentiated human pancreatic neuroendocrine tumor model [J]. *Mol Cancer Res*, 2018, 16(3):496-507. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-17-0163.
- [50] Tillotson LG, Lodestro C, Höcker M, et al. Isolation, maintenance, and characterization of human pancreatic islet tumor cells expressing vasoactive intestinal peptide [J]. *Pancreas*, 2001, 22(1):91-98. DOI:10.1097/00006676-200101000-00016.
- [51] Hofving T, Arvidsson Y, Almobarak B, et al. The neuroendocrine phenotype, genomic profile and therapeutic sensitivity of GEPNET cell lines [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2018, 25(3):367-380. DOI:10.1530/ERC-17-0445.
- [52] Vandamme T, Beyens M, Peeters M, et al. Next generation exome sequencing of pancreatic neuroendocrine tumor cell lines BON-1 and QGP-1 reveals different lineages [J]. *Cancer Genet*, 2015, 208(10):523. DOI:10.1016/j.cancergen.2015.07.003.
- [53] Jiang J, Wang DD, Yang M, et al. Comprehensive characterization of chemotherapeutic efficacy on metastases in the established gastric neuroendocrine cancer patient derived xenograft model [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(17):15639-15651. DOI:10.18632/oncotarget.3712.
- [54] Yang Z, Zhang L, Serra S, et al. Establishment and characterization of a human neuroendocrine tumor xenograft [J]. *Endocr Pathol*, 2016, 27(2):97-103. DOI:10.1007/s12022-016-9429-4.
- [55] Huch M, Dorrell C, Boj SF, et al. In vitro expansion of single Lgr5+ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration [J]. *Nature*, 2013, 494(7436):247-250. DOI:10.1038/nature11826.
- [56] Cheng D, Tuveson D. Kras in organoids [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, 8(10):a031575. DOI:10.1101/cshperspect.a031575.
- [57] Boj SF, Hwang CI, Baker LA, et al. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer [J]. *Cell*, 2015, 160(1-2):324-338. DOI:10.1016/j.cell.2014.12.021.

- [58] Dijkstra KK, van den Berg JG, Weeber F, et al. Patient-derived organoid models of human neuroendocrine carcinoma [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 627819. DOI: 10.3389/fendo.2021.627819.
- [59] April - Monn SL, Wiedmer T, Skowronska M, et al. Three-dimensional primary cell culture: a novel preclinical model for pancreatic neuroendocrine tumors [J]. *Neuroendocrinology*, 2021, 111(3): 273-287. DOI: 10.1159/000507669.
- [60] Gillette AA, Babiarz CP, Van Dommelen AR, et al. Autofluorescence imaging of treatment response in neuroendocrine tumor organoids [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(8) DOI: 10.3390/cancers13081873.
- [61] Kawasaki K, Toshimitsu K, Matano M, et al. An organoid biobank of neuroendocrine neoplasms enables genotype - phenotype mapping [J]. *Cell*, 2020, 183(5): 1420-1435. DOI: 10.1016/j.cell.2020.10.023.
- [62] Chen H, Zhuo Q, Ye Z, et al. Organoid model: a new hope for pancreatic cancer treatment? [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1875(1): 188466. DOI: 10.1016/j.bbcan.2020.188466.
- [63] Crabtree JS, Scacheri PC, Ward JM, et al. Of mice and MEN1: insulinomas in a conditional mouse knockout [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(17): 6075-6085. DOI: 10.1128/MCB.23.17.6075-6085.2003.
- [64] Calvete O, Varro A, Pritchard DM, et al. A knockin mouse model for human ATP4aR703C mutation identified in familial gastric neuroendocrine tumors recapitulates the premalignant condition of the human disease and suggests new therapeutic strategies [J]. *Dis Model Mech*, 2016, 9(9): 975-984. DOI: 10.1242/dmm.025890.
- [65] Parisi T, Bronson RT, Lees JA. Inactivation of the retinoblastoma gene yields a mouse model of malignant colorectal cancer [J]. *Oncogene*, 2015, 34(48): 5890-5899. DOI: 10.1038/ncr.2015.30.
- [66] George J, Lim JS, Jang SJ, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer [J]. *Nature*, 2015, 524(7563): 47-53. DOI: 10.1038/nature14664.
- [67] Ku SY, Rosario S, Wang YQ, et al. Rb1 and Trp53 cooperate to suppress prostate cancer lineage plasticity, metastasis, and antiandrogen resistance [J]. *Science*, 2017, 355(6320): 78-83. DOI: 10.1126/science.aah4199.

·读者·作者·编者·

本刊文稿中容易出现的错别字及不规范用语

箭头后为正确用语

阿霉素→阿霉素
 阿斯匹林→阿司匹林
 疤痕→瘢痕
 胞浆→细胞质
 报导→报道
 病原体→病原体
 侧枝→侧支
 成份→成分
 大肠→结肠
 发烧→发热
 返流性食管炎→反流性食管炎
 份量→分量
 浮肿→水肿
 幅射→辐射
 腹泄→腹泻
 肝昏迷→肝性脑病
 肛皮线→齿状线
 海棉→海绵
 合并症→并发症

何杰金病→霍奇金病
 横隔→横膈
 化验检查→实验室检查
 环胞素→环孢素
 机理→机制
 机率→概率
 机能→功能
 肌肝→肌酐
 基因片断→基因片段
 记数法→计数法
 甲氨喋呤→甲氨蝶呤
 节段性肠炎→局限性肠炎
 禁忌症→禁忌证
 抗菌素→抗生素
 克隆氏病→克罗恩病
 淋巴腺→淋巴结
 瘻道→瘻管
 录象→录像
 尿生殖隔→尿生殖膈

排便→排粪
 盆隔→盆膈
 剖腹产→剖宫产
 其它→其他
 牵联→牵连
 石腊→石蜡
 食道→食管
 适应症→适应证
 水份→水分
 丝裂酶素→丝裂霉素
 松弛→松弛
 探察→探查
 提肛肌→肛提肌
 体重→体质量
 同位素→核素
 图象→图像
 胃食管返流→胃食管反流
 血色素→血红蛋白
 血象→血常规

血液动力学→血流动力学
 炎症性肠病→炎性肠病
 已往→以往
 秩和检验→秩和检验
 应急性溃疡→应激性溃疡
 影象→影像
 瘀血→淤血
 愈合期→恢复期
 愈后→预后
 粘膜→黏膜
 粘液→黏液
 直肠阴道隔→直肠阴道隔
 指证→指征
 质膜→细胞膜
 转酞酶→转肽酶
 姿式→姿势
 综合症→综合征
 纵膈→纵隔
 H-E 染色→苏木精-伊红染色