

SETD2 与肿瘤的研究进展

杨吉安 陈谦学

摘 要 组蛋白甲基化转移酶 SETD2 是重要的表观遗传学调节因子,在调节组蛋白甲基化、基因转录和维持基因稳定性等生物学过程中发挥重要作用。近年来多项大规模高通量基因组学研究结果显示 SETD2 基因在多种人类肿瘤中存在突变,其蛋白表达水平高低可能与患者预后相关。进一步研究发现 SETD2 在多种人类肿瘤中可能发挥抑癌因子的作用,是潜在的表观遗传学治疗靶点。然而 SETD2 在肿瘤中的作用尚不十分明确且与其相关的作用机制有待更深入的研究。

关键词 表观遗传学 组蛋白甲基化 SETD2 肿瘤 抑癌因子

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.09.048

表观遗传学调节能引起基因活性的可遗传改变却不改变基因 DNA 序列本身,广泛地参与发育、代谢等诸多生命过程的调节。表观遗传学调控异常与疾病特别是肿瘤的发生、发展有着非常密切的联系。组蛋白修饰是表观遗传学调节中的最重要机制之一,通过磷酸化、乙酰化、泛素化、甲基化和其他多种修饰方式活化或抑制基因的表达,一直是被关注的热点^[1]。SETD2 是唯一的组蛋白 3 第 36 号位赖氨酸三甲基化转移酶。近年来大规模高通量基因组测序分析结果提示组蛋白甲基化转移酶 SETD2 在多种人类肿瘤中存在突变,进一步研究表明其表达水平高低与肿瘤患者的预后相关。本文就近年来 SETD2 与肿瘤的研究进展作如下综述。

一、SETD2 基因及其编码蛋白质的结构

SETD2 基因又称为也称为 HYPB, HSPC069, HBP231 或 KMT3A 等,位于人类第 3 号染色体短臂的 2 区 1 带(3p21.31),长度大约为 147kb,包括 23 个外显子和 22 个内含子。SETD2 基因最初在人类 CD34⁺造血干/祖细胞(HSPCs)内发现并被克隆,被命名为 HSPC069。同时有研究表明其编码蛋白的 C 端能够与 Huntington 疾病(HD)蛋白 Huntington 相互作用,参与 HD 病理过程,因而也被命名为亨廷顿结合蛋白(Huntington interacting protein B, HYPB)。Northern blot 法检测结果显示 HYPB 基因在几乎所有组织内表达。HYPB 基因编码的蛋白在酵母菌和脊椎动物组织内保守表达,其含有保守的 SET 结构域,

能够选择性调节组蛋白 3 第 36 位赖氨酸甲基化,同时 HYPB 蛋白通过其 WW 结构域与超磷酸化的 RNA 聚合酶 II 结合并激活转录过程,因而被重新命名为 SETD2^[2]。

SETD2 蛋白由 2564 个氨基酸残基组成,分子质量约 290kDa,在骨髓、肾脏、乳腺及膀胱等多种组织器官内表达。SETD2 蛋白主要由 6 个结构域组成:①SET(Su(var)3~9, enhancer of zeste (E(z)) and trithorax (trx))结构域约含 130 个氨基酸残基,在进化上保守,具有组蛋白甲基化转移酶(HMTase)活性;②AWS(associate with SET)结构域;③PostSET 结构域是 1 个 SET 结构域后富含半胱氨酸的模体,与 AWS 结构域位于 SET 结构域两侧形成 AWS-SET-PostSET 三联结构域发挥 HMTase 作用;④LCR(low-charge region)结构域,包括 230 个氨基酸残基,该区域内绝大多数氨基酸不带电荷;⑤WW 结构域位于 C 端,含 127 个氨基酸残基,在真核生物中广泛表达,与富脯氨酸片段和 SH3 模体蛋白相互作用;⑥SRI(Set2 Rpb1 Interacting)结构域位于 SETD2 C 端末尾,与 RNA 聚合酶 II C-terminal repeat domain (CTD)相互作用并与组蛋白甲基化相关^[3]。

二、SETD2 的生理学作用

1. 组蛋白甲基化修饰和转录调节:SETD2 的 SET 结构域具有进化保守性,能够使组蛋白 3 第 36 位赖氨酸甲基化,特异性催化 H3K36me3^[4]。SETD2 的 WW 结构域和 SRI 结构域与高磷酸化状态 RNA 聚合酶 II 的 C-端结构域(CTD)相互结合,形成转录延长复合物并与 DNA 结合。转录激活之后,SET 结构域可以特异性地催化 H3K36me3 修饰,促进转录延长。剪接作用促使 SETD2 募集至 RNA 聚合酶 II 参与转

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372683)

作者单位:430060 武汉大学人民医院神经外科

通讯作者:陈谦学,教授,电子信箱:chenqx666@sohu.com

录调节。在转录延长过程中,SETD2 与 Spt6 和 IWS1 形成复合体,促进活化基因 mRNA 从细胞核输出到细胞质。SETD2 蛋白通过其 WW 结构域及 SET 结构域与 p53 相互作用并上调其转录因子活性,选择性介导其下游如 Puma、Noxa、Huntingtin、Tsp1、Fas 和 p21 等基因的表达。SETD2 通过作用于 HDM2 启动子区域降低其表达抑制 p53 泛素化降解进而增加 p53 蛋白的稳定性。近期研究显示 SETD2 调节染色体转录促进复合体(FACT)的募集和核小体形成,进而抑制转录启动^[5]。在肿瘤细胞中 SETD2 突变导致转录通读并形成 RNA 嵌合体,导致促癌基因的异常表达。研究显示 SETD2 表达高低并不影响 DNA 甲基化水平。SETD2 及 H3K36me3 在血管发育、胚胎干细胞分化和胚胎植入等过程中发挥作用^[6]。

2. 维持基因组稳定和 DNA 损伤修复:组蛋白修饰在 DNA 双链断裂(DSBs)修复过程中发挥重要作用。研究显示 SETD2 基因框移突变与直肠癌中高微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)相关。SETD2 功能缺陷细胞通常会出现基因组 MSI,其自发突变频率增加,SETD2 通过催化 H3K36me3 募集错配识别蛋白 hMutS α (hMSH2 - hMSH6)介导错配修复。最近有研究显示透明细胞肾细胞癌中 SETD2 突变与 MSI 没有明显相关性,但是 SETD2 突变和 H3K36me3 低表达与基因组不稳定相关,SETD2 功能丧失 DNA 损伤增加且阻碍 DNA 损伤修复。在同源重组过程中,SETD2 通过催化 H3K36me3 募集 C-端结合蛋白(CtIP),介导复制蛋白 A(RPA)和 RAD51 与 DNA 损伤部位结合促使细胞同源重组修复并维持基因组稳定性。SETD2 还可通过活化 p53 参与 DNA 双链断裂修复^[7]。

三、SETD2 与肿瘤

表观遗传学改变在人类疾病特别是肿瘤发生、发展中的作用日益凸显,其改变包括表观遗传调控修饰异常,也包括表观遗传调控相关基因本身的改变^[8]。SETD2 和其他组蛋白修饰基因突变与过度发育、精神障碍和癫痫和肿瘤相关。在许多人类肿瘤中都可以检测到 SETD2 基因突变,无义突变和移码突变最为常见,SETD2 是肿瘤中赖氨酸甲基转移酶(lysine methyltransferases, PKMTs)中最常发生突变的基因^[9]。

1. 泌尿系统肿瘤:透明细胞肾细胞癌中常出现 3 号染色体片段缺失和突变。Dalglish 等对 101 例透明细胞肾细胞癌组织进行基因组 DNA 分析发现有

3% 的肿瘤标本可检测到 SETD2 基因存在截短突变。Duns 等也在透明细胞肾细胞癌组织中观察到 SETD2 基因突变,进一步 Western blot 法检测透明细胞肾细胞癌细胞系中 H3K36me3 表达水平,结果显示 10 个细胞系中有 7 个细胞系 H3K36me3 表达水平降低,提示 SETD2 是一个新的抑癌基因。DNA 测序研究进一步表明肾透明细胞癌中可检测到 SETD2 基因突变(10% ~ 15%),主要为框移突变和无义突变,且 H3K36me3 表达水平降低与 SETD2 基因突变相关。随后有诸多研究证实了透明细胞肾细胞癌中存在 SETD2 基因突变^[10]。尽管临床资料显示透明细胞肾细胞癌中 SETD2 基因突变没有明显的影像学特征,SETD2 DNA 改变和 mRNA 表达水平高低对于患者生存时间无明显相关性,但是 SETD2 基因突变与透明细胞肾细胞癌肿瘤级别增高、肿瘤转移和肿瘤患者不良预后相关^[11]。最近有研究显示 SETD2 和 H3K36me3 低表达与非转移性透明细胞肾细胞癌患者不良预后相关。对不同类型肾细胞癌进行复制数变异分析后发现透明细胞肾细胞癌中 SETD2 基因存在复制数缺失^[12]。Ibragimova 等分析发现透明细胞肾细胞癌中染色体修饰相关基因包括 SETD2 启动子区域极少出现超甲基化现象。大样本分析结果显示透明细胞肾细胞癌中 SETD2 突变与广泛 DNA 低甲基化、RNA 处理障碍和染色体结构暴露相关^[13]。最近有研究显示乳头状肾细胞癌组织中 SETD2 基因存在复制数变异和多种截短突变。杆状透明细胞肾细胞癌组织和集合小管癌组织中可检测到 SETD2 基因突变^[14]。

细胞实验研究显示在透明细胞肾细胞癌细胞中,SETD2 参与 DNA 双链断裂修复和激活 p53 介导的检查点,SETD2 功能缺陷细胞不能激活 p53 阻碍 DNA 损伤修复。SETD2 缺陷透明细胞肾细胞癌细胞对 PI₃K β 抑制剂更加敏感,具体机制于 SETD2 功能丧失后错配修复能力减弱有关。高表达 SETD2 能够上调 p53 表达进而抑制透明细胞肾细胞癌细胞增殖并介导其细胞凋亡^[15]。

2. 乳腺肿瘤:组蛋白修饰基因改变与人类乳腺癌病理和预后相关。与邻近的非肿瘤组织相比,乳腺癌组织中可检测到 SETD2 mRNA 和蛋白表达水平降低。通过对 153 例乳腺癌组织进行定量 PCR 检测和为期 10 年的随访调查发现,恶性乳腺癌组织中 SETD2 mRNA 表达水平明显降低,且与肿瘤分期呈负相关。肿瘤转移、局部复发或因乳腺癌死亡的患者中

SETD2 表达水平较正常对照明显降低。Jing 等对 100 例乳腺纤维上皮肿瘤组织进行外显子测序后发现 SETD2 在乳腺分叶状肿瘤中突变率高达 21%。另一个研究组对分叶状肿瘤进行大规模平行测序却发现 SETD2 基因在交界性和恶性分叶状肿瘤中几乎没有检测到突变^[16]。

3. 胶质瘤:Fontebasso 等对 60 例儿童高级别胶质瘤组织进行全外显子测序,结果显示 15% 的儿童高级别胶质瘤中存在 SETD2 基因突变,突变类型主要为截短突变。在分析另一组成人高级别胶质瘤样本是发现 8% (5/65) 的成人高级别胶质瘤可检测到 SETD2 基因突变。含 SETD2 基因突变的儿童和成人高级别胶质瘤主要分布在大脑半球。进一步 Western blot 法检测发现 SETD2 基因突变的肿瘤组织中 H3K36me3 表达水平降低。随后的研究也证实了儿童高级别胶质瘤组织和常用胶质母细胞瘤细胞系中可检测到 SETD2 基因突变,提示 SETD2 在胶质瘤中能够发挥抑制因子作用^[17]。

4. 消化道肿瘤:免疫组织化学方法检测 SETD2 在肝癌组织中的表达发现肝癌组织中 SETD2 蛋白表达水平降低,高表达 SETD2 能够抑制人类肝癌干细胞在裸鼠体内生长。Huang 等^[18]对侵袭性 GI 间质肿瘤(GISTs)外显子测序结果分析显示消化道 GISTs 中可检测到 SETD2 突变,SETD2 突变 GIST 患者无复发生存时间明显缩短。在消化道黏膜上皮细胞 GES-1 中,敲低 SETD2 介导 CDH1 第 8 号外显子剪接转录,与消化道肿瘤发展相关^[19]。

5. 肺癌:EGFR/KRAS/ALK 阴性肺腺癌组织中可检测到 SETD2 基因突变(6%),提示 DNA 损伤修复相关基因参与非吸烟肺腺癌肿瘤形成。测序结果显示非小细胞肺癌组织和侵袭性黏液性肺腺癌组织中存在 SETD2 基因突变,主要为缺失突变。

6. 血液系统肿瘤:Zhang 等对 T 细胞前体急性淋巴白血病患者 DNA 进行全基因组测序,结果显示 T 细胞前体急性淋巴白血病肿瘤 DNA 中可检测到 SETD2 突变。Zhu 等运用全基因组测序一对同卵双胞胎进行检测,发现 SETD2 双等位基因突变。进一步研究发现 6.2% 急性白血病患者中可检测到 SETD2 基因突变,SETD2 基因点突变导致其功能丧失,下调 H3K36me3 表达,同时也发现,白血病 SETD2 基因突变常伴有染色体异常。随后的研究提示 SETD2 基因在人类白血病中功能丧失在白血病进展过程中发挥作用。表观遗传调控因子包括 SETD2 基

因突变产生涉及儿童急性淋巴细胞白血病复发过程,提示表观遗传调控因子突变与肿瘤复发和治疗抵抗相关。

7. 其他肿瘤:外显子测序结果提示黏液样脂肪瘤、滑膜肉瘤和骨肉瘤组织中可检测到 SETD2 基因突变。同样可以检测到 SETD2 基因突变的肿瘤包括胸腺瘤、恶性间质肿瘤、黑色素瘤和恶性胸腺间皮瘤等。Mariano 等通过比较基因组杂交芯片检测到原发性和继发性转移性多形性腺瘤组织存在 SETD2 复制数变异。

四、展 望

越来越多的研究表明,表观遗传相关基因突变和表达改变在诸多人类肿瘤的发生和发展过程中发挥作用,肿瘤中组蛋白修饰过程异常改变已经成为肿瘤治疗的靶点。目前,已经有一些组蛋白去乙酰基酶抑制剂进入临床试验用于肿瘤治疗,如 5-aza-cytidine 和 5-aza-decitabine 被用于治疗骨髓增生异常综合征。然而,这些与组蛋白修饰相关的药物在临床实验中的表现远不如预期,药物的临床反应并不十分一致,也很少能够得到临床前研究模型所显示的良好效果。

研究显示在肿瘤细胞中 SETD2 被抑制,进而影响其他基因表达。SETD2 基因突变肿瘤细胞对某些低分子抑制剂敏感。高通量手段药物筛选为寻求 SETD2 作用相关的药物提供了可能。这说明 SETD2 可能成为潜在的表观遗传治疗靶点。SETD2 作为一个新的抑癌因子,在诸多人类肿瘤中表现出基因突变或蛋白低表达,然而尚不明确其确切的机制。SETD2 基因突变或蛋白表达水平改变后所引起的肿瘤相关基因表达变化还鲜有报道。目前仍然缺乏相应的实验研究特别是体外实验研究。深入研究 SETD2 在肿瘤形成和发展过程中的作用和机制,对于未来的疾病特别是肿瘤的诊断、治疗和预防具有重要意义。

参考文献

- Greer EL, Shi Y. Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance[J]. Nat Rev Genetics, 2012, 13(5):343-357
- Sun XJ, Wei J, Wu XY, et al. Identification and characterization of a novel human histone H3 lysine 36-specific methyltransferase[J]. J Biol Chem, 2005, 280(42):35261-35271
- Rebhem J, Revy P, Faure G, et al. Expanding the SRI domain family: a common scaffold for binding the phosphorylated C-terminal domain of RNA polymerase II [J]. FEBS Lett, 2014, 588(23):4431-4437