

· 综 述 ·

多发性骨髓瘤 SET 结构域蛋白相关靶向药物抗肿瘤作用机制的研究进展

陈 颖, 杨 清*

中国医科大学附属盛京医院 妇产科, 辽宁 沈阳 110004

摘 要: 多发性骨髓瘤 SET 结构域蛋白 (MMSET) 作为 NSD 组蛋白甲基转移酶家族的成员之一, 在人类胚胎发育等生理过程中发挥着重要的作用。近年来大量研究表明, MMSET 在多发性骨髓瘤、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、胃癌等各种恶性肿瘤中过表达, 抑制 MMSET 的表达能够通过抑制肿瘤增殖、抑制肿瘤侵袭转移、抑制肿瘤 DNA 损伤修复、抑制磷酸戊糖途径及逆转肿瘤耐药等来抑制肿瘤的发展。因此发展 MMSET 相关靶向药物有望成为肿瘤治疗的新方向。通过查阅国内外相关文献, 总结 MMSET 相关靶向药物可能的抗肿瘤机制及 MMSET 相关靶向药物的发展现状。

关键词: MMSET; 组蛋白赖氨酸甲基转移酶; 靶向药物; 抗肿瘤; 作用机制

中图分类号: R979.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2018)04-0997-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.04.059

Research progress on anti-tumor action mechanism of MMSET related targeted drugs

CHEN Ying, YANG Qing

Department of Obstetrics and Gynecology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China

Abstract: MMSET plays an important role in human embryonic development and other physiological processes as a member of NSD histone methyltransferase family. In recent years, a large number of evidence has shown that MMSET is frequently hyperactivated in multiple myeloma, prostate cancer, breast cancer, ovarian cancer, gastric cancer, and other malignant tumors. The expression of MMSET can be suppressed by inhibiting tumor proliferation, invasion and metastasis, DNA damage repair, pentose phosphate pathway, and reversing tumor resistance to inhibit the development of tumor. In this paper, the possible anti-tumor mechanisms and development status of MMSET related targeted drugs are summarized by referring to relevant literatures.

Key words: MMSET; histone lysine methyltransferase; targeted drugs; antitumor; action mechanism

多发性骨髓瘤 SET 结构域蛋白 (MMSET) 又名 Wolf-Hirschhorn 综合症候选基因 1 (WHSC1) 或核受体结合 SET 结构域蛋白 2 (NSD2), 是 NSD 组蛋白甲基转移酶家族的成员之一。MMSET 定位于人类 4 号染色体 p16.3 段上, 包含 90 个碱基, 25 个外显子, 经过可变剪接可形成 MMSET-I、MMSET-II 和 RE-IIBP 3 种转录本。MMSET-I 包含 1 个 PWWP 结构域和 1 个 HMG 结构域, MMSET-II 包含两个 PWWP 结构域, 4 个 PHD 结构域, 1 个 SET 结构域和 1 个 HMG 结构域。RE-IIBP 包含 1

个 PWWP 结构域、2 个 PHD 结构域和 1 个 SET 结构域。其中 SET 结构域具有催化活性, 因此不具备 SET 结构域的 MMSET-I 亚型不具有甲基转移酶活性, HMG、PWWP 和 PHD 结构域主要负责核定位、DNA 结合和组蛋白标记物识别^[1]。MMSET 与人类胚胎发育过程密切相关, MMSET 基因缺陷能够导致以生长发育迟缓、学习障碍、心脏缺陷、骨骼异常和颅面畸形等临床症状为特征的 Wolf-Hirschhorn 综合症^[2]。此外, 研究表明 MMSET 在多发性骨髓瘤、神经母细胞瘤、头颈项鳞癌、子宫内膜癌、前

收稿日期: 2018-01-26

基金项目: 辽宁省卵巢癌恶性肿瘤病例信息平台的建立及诊治技术规范推广项目 (LNCCC-A01-2015); 沈阳市科技计划项目 (17-230-9-10)

作者简介: 陈 颖, 女, 研究方向为妇科肿瘤的基础与临床研究。E-mail: 18270916865@163.com

*通信作者 杨 清 (1963—), 女, 教授, 主任医师, 博士生导师。E-mail: yangq@sj-hospital.org

列腺癌、肝癌、卵巢癌、宫颈癌等多种恶性肿瘤组织中过表达且与肿瘤的恶性程度及患者的不良预后相关^[3-10]。可见发展 MMSET 相关靶向药物有望成为肿瘤治疗的新方向, 本文通过查阅相关文献, 探讨 MMSET 相关靶向药物抗肿瘤的可能机制及 MMSET 相关靶向药物的发展现状。

1 抑制肿瘤增殖的形成

增殖在恶性肿瘤的发生发展进程中发挥着重要的作用, 近年来大量实验研究表明, 抑制恶性肿瘤中过表达的 MMSET 能够减弱恶性肿瘤的增殖能力。Min 等^[11]研究表明, t(4;14)易位的多发性骨髓瘤细胞系 KMS11 中过表达的 MMSET 是维持其增殖活性的重要因素, 使用阿霉素依赖的 shRNA 沉默 KMS11 细胞系中过表达的 MMSET, 其增殖能力显著降低, 移除阿霉素后其增殖能力在 3 d 内得以恢复。进一步探究其机制表明, MMSET 是通过与 mir-126 的启动子结合增加 H3K9 三甲基化, 抑制 H3 乙酰化, 从而降低 mir-126 的表达, 进而上调下游致癌基因 C-MYC 的表达增加癌细胞的增殖能力。Saloura 等^[5]研究表明, 头颈部鳞癌细胞 UD-SCC-2 中过表达的 MMSET 能够增强其增殖能力, 且该过程主要是 MMSET 通过上调下游 NIMA 相关激酶-7 (NEK7) 基因的表达来实现的, siRNA 沉默 MMSET 的表达能够抑制 UD-SCC-2 细胞的增殖能力。同样在 Garcia-Carpizo 等^[12]的研究中发现, 敲除肺癌细胞系 H1299 中过表达的 MMSET 能够显著地抑制该细胞的增殖能力, 与未处理的细胞相比有更少的细胞计数及集落形成。在小鼠异种移植模型中进一步验证 MMSET 的促增殖能力, 在肿瘤接种两个半月后处死小鼠, MMSET 基因沉默组的小鼠在处死时肿瘤大小及体积均小于对照组。鉴于 MMSET 在肿瘤增殖形成中的重要作用, 寻找靶向 MMSET 的相关药物是肿瘤研究的新热点。di Luccio 等^[13]研究发现, 化合物 LEM-06 能够抑制 MMSET 的表达, IC₅₀ 为 0.8 mmol/L, 基于此, LEM-06 及其衍生物有望成为过表达 MMSET 的恶性肿瘤的特异性治疗药物。Tisi 等^[14]也在寻找 MMSET 特异性抑制剂中做出相应的努力, 团队利用溶液相和晶体结构方法等最原始的实验方式来确定 MMSET 抑制剂。利用二维核磁共振实验确定 MMSET 的结构, 在 MMSET 的 SET 结构域的 N-末端螺旋结构设计了 5 个点突变并进行结晶实验, 最终确定 N-烷基丝氨酸衍生物对 MMSET 具有微小的抑制作用。这些

直接靶向 MMSET 的 SET 结构域的抑制剂能够通过抑制组蛋白 H3 的甲基化, 从而抑制下游 C-MYC、NIMA 等基因的表达, 从而抑制肿瘤增殖的形成。尽管直接靶向 MMSET 的抑制剂的研发尚处于初级阶段, 但鉴于 MMSET 在肿瘤形成中的重要作用, MMSET 抑制剂作为药物开发的潜力是巨大的, 日后随着研究的深入, 相信关于 MMSET 抑制剂的开发会有新的突破。除了直接靶向 MMSET 的抑制剂, EZH2 抑制剂及组蛋白去乙酰化酶抑制剂在 MMSET 相关肿瘤的治疗中也有良好的发展前景。组蛋白甲基转移酶 EZH2, 多梳蛋白抑制复合体 2 (PRC2) 的酶亚基, 该复合物能够通过催化 H3K27me3 甲基化来促进下游基因的转录沉默^[15]。Asangani 等^[16]研究表明了 EZH2 与 MMSET 之间的紧密联系, EZH2 能够通过 microRNAs 调控 MMSET 的表达。microRNAs miR-203、miR-26a 和 miR-31 作为肿瘤抑制因子能够抑制 MMSET 的表达。而 EZH2 通过催化激活 H3K27me3 抑制下游基因 miR-203、miR-26a 和 miR-31 的表达从而上调 MMSET 的表达, 基因沉默 EZH2, MMSET 基因表达水平随之降低。鉴于 EZH2 与 MMSET 之间的紧密联系, Popovic 等^[17]研究发现利用 EZH2 的抑制剂能够抑制过表达 MMSET 的多发性骨髓瘤细胞的增殖。Furukawa 等^[18]研究表明 MMSET 可与组蛋白去乙酰化酶形成复合物来发挥生物功能, 组蛋白去乙酰化酶抑制剂可以通过抑制两者复合物的形成来抑制过表达 MMSET 的肿瘤的发生。此外, 有研究表明硼替佐米能够降低肿瘤中 MMSET 的表达并抑制肿瘤的增殖, 且降低 MMSET 的表达能够增强肿瘤细胞对硼替佐米治疗的敏感性, 提示将来用 MMSET 抑制剂与硼替佐米联合用药抑制肿瘤发展的可能^[19-20]。综上可知, MMSET 在肿瘤的增殖形成过程中发挥着重要的作用, MMSET 靶向药物可通过抑制肿瘤的增殖形成来抑制肿瘤的发展。

2 抑制肿瘤的侵袭转移

Ezponda 等^[21]研究表明, 前列腺癌细胞系 LNCaP、PC-3、DU145、VCaP 及 22Rv1 与永生化、未转化的前列腺癌细胞系 BPH1 及 RWPE-1 相比具有更高水平的 MMSET 基因表达, 敲除前列腺癌细胞系 DU145 和 PC-3 中的 MMSET 基因可降低细胞的侵袭及转移能力。相反, 过表达永生化、未转化的前列腺癌细胞系 RWPE-1 中的 MMSET 基因能够增加其侵袭、转移及上皮间质转化能力。运用免疫

共沉淀法研究表明,过表达的 MMSET 能够直接与 TWIST1 结合,增加 H3K36 二甲基化水平的增加,从而介导前列腺癌细胞的侵袭、转移能力。基因沉默过表达 MMSET 的前列腺癌细胞系中 TWIST1 的表达水平,细胞的侵袭、上皮间质转化能力明显降低。相似地,在 Li 等^[22]的研究中发现,在 PTEN 缺失的前列腺癌细胞模型 LNCaP 和 PC3 中,由于 PTEN 的缺失导致 PI3K/AKT 通路的激活,上调下游 MMSET 基因的表达水平,进而增强细胞的侵袭、转移能力。相反,基因敲除 MMSET 的表达,PTEN 缺失细胞系的迁移能力随之降低。在异体移植瘤模型中观察到,过表达 MMSET 基因的小鼠相比低表达 MMSET 基因的小鼠 1 个月后可见更多的骨转移信号,2 个月后可具有更差的中位生存期及更严重的因骨病变导致的肢体瘫痪。Li 等^[23]研究表明, MiR-239 在胃癌组织及细胞中低表达,过表达的 MiR-239 能够抑制胃癌细胞在体内外的侵袭、转移等恶性行为。进一步研究表明,低表达的 MiR-239 能够上调胃癌细胞中 MMSET 的表达水平,抑制 MMSET 基因的表达同样能够降低胃癌细胞的侵袭、转移能力。MMSET 作为 EZH2 的下游基因,MMSET 介导的肿瘤侵袭转移等恶性行为受到 EZH2 的调控,Asangani 等^[16]通过抑制 EZH2 的表达来抑制 MMSET 介导的肿瘤侵袭转移,可见 EZH2 抑制剂能够通过抑制肿瘤的侵袭转移等恶性行为来抑制 MMSET 相关肿瘤的发展。此外,White-Al Habeeb 等^[24]研究表明,二甲双胍能够通过抑制 MMSET 的表达来抑制前列腺癌的侵袭转移,且 si-MMSET 与二甲双胍联合治疗能够进一步抑制前列腺癌的侵袭转移能力,可见二甲双胍可用于 MMSET 相关肿瘤的治疗,且将来可用 MMSET 抑制剂联合二甲双胍治疗来增强治疗的疗效。综上所述可知,MMSET 在肿瘤的侵袭转移进程中起着重要的作用,MMSET 靶向药物可通过抑制肿瘤的侵袭转移进程来抑制肿瘤的发展。

3 抑制肿瘤的 DNA 损伤修复

DNA 损伤修复过程对于维持细胞 DNA 复制的精确性以及基因组的稳定性来说至关重要^[25]。TP53BP1 是 DNA 损伤修复反应中的重要调节器,H4K20me2 在 TP53BP1 向 DNA 双链断裂位点的募集过程中发挥着重要的作用,Pei 等^[26]的研究表明,H4K20me2 的上调是通过 γ -H2AX-MDC1-MMSET 途径的激活实现的,进而诱导 TP53BP1 在 DNA 损伤

位点的募集,修复 DNA 损伤。Wang 等^[27]研究表明,U2OS 细胞中过表达的 diRNA,作为指导分子能够通过 AGO2 募集 MMSET 和 Tip60 到 DNA 双链损伤处,增强局部组蛋白 H4 甲基化和乙酰化,导致染色质结构松散,从而允许 Rad51 和 BRCA1 等 DNA 损伤修复蛋白结合到 DNA 断裂处,以修复 DNA 双链断裂。相反,抑制 MMSET 的表达,DNA 双链断裂处 Rad51 和 BRCA1 等蛋白的募集减少。可见 MMSET 在 DNA 损伤修复中发挥着重要的作用。Shah 等^[28]研究表明,过表达 MMSET 的 t(4;14)易位多发性骨髓瘤患者在使用 DNA 损伤诱导剂治疗后经常复发,可能是过表达的 MMSET 对 DNA 损伤进行了修复。在 U2OS 细胞中发现,MMSET 能够介导非同源末端连接修复以及同源重组修复,敲除 MMSET 可导致 DNA 损伤修复蛋白表达下调以及 DNA 双链断裂处 DNA 损伤修复蛋白的募集减少。利用高表达 MMSET 的细胞及低表达 MMSET 的细胞作对照实验,发现添加 DNA 损伤剂后,高表达 MMSET 的细胞与低表达 MMSET 的细胞相比能够更快速地修复 DNA 损伤并继续增殖。此外在鼠异体移植瘤模型中,shMMSET 的小鼠相比未做处理的小鼠,肿瘤的生长速率明显降低且对化疗药物更敏感。综上所述可知,MMSET 在肿瘤的 DNA 损伤修复中起到重要作用,MMSET 靶向药物可通过阻碍肿瘤的 DNA 损伤修复进程来抑制肿瘤的发展,并增加肿瘤对化疗药物的敏感性,因此在未来的肿瘤治疗中可以考虑 MMSET 靶向药物联合化疗药物用于 MMSET 相关肿瘤的治疗,减少化疗耐药,增加化疗疗效。

4 抑制肿瘤的磷酸戊糖途径

肿瘤的生长需要重新编排的葡萄糖代谢过程,以满足生物大分子合成过程中对糖酵解中间体的高需求。磷酸戊糖途径 (PPP) 作为细胞主要的抗氧化防御系统之一,是细胞中 NADPH 的主要来源。除了为核苷酸生物合成提供前体,近年来发现,激活的 PPP 还能够参与肿瘤的形成、增殖、侵袭、转移、血管形成及耐药等过程。抑制磷酸戊糖途径有望成为肿瘤治疗的新靶点^[29]。Wang 等^[30]研究表明,组蛋白甲基转移酶 MMSET 在他莫昔芬耐药乳腺癌细胞系及组织中过表达。进一步分析其耐药机制表明,过表达的 MMSET 能够结合到葡萄糖代谢关键酶基因的启动子上,促进 H3K36 二甲基化,进而上调糖酵解关键酶己糖激酶 2 (HK2)、磷酸戊糖途径

关键酶葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PD) 以及 TP53 诱导的糖酵解调节磷酸酶 TIGAR 的表达, 从而激活 PPP 途径并提高细胞中的 NADPH 水平以维持有效的氧化还原稳态。抑制 MMSET 的表达能使他莫昔芬耐药的乳腺癌细胞系重新对他莫昔芬治疗敏感。综上可知, MMSET 在调节肿瘤的糖代谢过程中发挥着重要的作用, MMSET 靶向药物可通过抑制磷酸戊糖途径来增加肿瘤对化疗药物的敏感性, 逆转肿瘤耐药。在不久的将来, 可以考虑利用 MMSET 靶向药物联合他莫昔芬来治疗他莫昔芬耐药的乳腺癌。

5 结语

在过去的十多年间, 随着人们对 MMSET 的深入了解, 发现 MMSET 在各种恶性肿瘤中高表达, 且与肿瘤的恶性进程及患者的不良预后等密切相关。抑制 MMSET 的表达能够抑制肿瘤细胞的增殖、侵袭转移、DNA 损伤修复、糖代谢进程并逆转肿瘤耐药, 可见 MMSET 相关靶向药物作为肿瘤新疗法的应用前景。目前, 有关 MMSET 相关靶向药物的研究尚不深入, 因此, 在未来仍需要大量的研究去寻找并合成相关的特异性靶向药物, 为肿瘤的治疗提供新的视觉与思路。

参考文献

- [1] Stec I, Wright T J, van Ommen G J, *et al.* WHSC1, a 90 kb SET domain-containing gene, expressed in early development and homologous to a Drosophila dysmorphia gene maps in the Wolf-Hirschhorn syndrome critical region and is fused to IgH in t(4;14) multiple myeloma [J]. *Hum Mol Genet*, 1998, 7(7): 1071-1082.
- [2] Blanco-Lago R, Malaga-Dieguez I, Granizo-Martinez J J, *et al.* Wolf-Hirschhorn syndrome. Description of a Spanish cohort of 51 cases and a literature review [J]. *Rev Neurol*, 2017, 64(9): 393-400.
- [3] 刘秀敏, 高波, 潘云. MMSET 在多发性骨髓瘤中的研究进展 [J]. *中国肿瘤*, 2017, 26(6): 465-470.
- [4] Hudlebusch H R, Skotte J, Santoni-Rugiu E, *et al.* MMSET is highly expressed and associated with aggressiveness in neuroblastoma [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(12): 4226-4235.
- [5] Saloura V, Cho H S, Kiyotani K, *et al.* WHSC1 promotes oncogenesis through regulation of NIMA-related kinase-7 in squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Mol Cancer Res*, 2015, 13(2): 293-304.
- [6] 肖敏. MMSET 在子宫内膜癌中的表达及其基因沉默对子宫内膜癌细胞生物学行为影响的实验研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨医科大学, 2013.
- [7] 上海生命科学研究院. 研究揭示组蛋白甲基转移酶 WHSC1 调控前列腺癌转移机制 [J]. *肿瘤防治研究*, 2017, 44(4): 314.
- [8] Zhou P, Wu L L, Wu K M, *et al.* Overexpression of MMSET is correlation with poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Pathol Oncol Res*, 2013, 19(2): 303-309.
- [9] Yang S, Zhang Y, Meng F, *et al.* Overexpression of multiple myeloma SET domain (MMSET) is associated with advanced tumor aggressiveness and poor prognosis in serous ovarian carcinoma [J]. *Biomarkers*, 2013, 18(3): 257-263.
- [10] Yin Z, Sun Y, Ge S, *et al.* Epigenetic activation of WHSC1 functions as an oncogene and is associated with poor prognosis in cervical cancer [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(4): 2286-2294.
- [11] Min D J, Ezponda T, Kim M K, *et al.* MMSET stimulates myeloma cell growth through microRNA-mediated modulation of c-MYC [J]. *Leukemia*, 2013, 27(3): 686-694.
- [12] Garcia-Carpizo V, Sarmentero J, Han B, *et al.* NSD2 contributes to oncogenic RAS-driven transcription in lung cancer cells through long-range epigenetic activation [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 32952.
- [13] di Luccio E. Inhibition of nuclear receptor binding SET domain 2/multiple myeloma SET domain by LEM-06 implication for epigenetic cancer therapies [J]. *J Cancer Prev*, 2015, 20(2): 113-120.
- [14] Tisi D, Chiarparin E, Tamanini E, *et al.* Structure of the epigenetic oncogene MMSET & inhibition by N-alkyl sinefungin derivatives [J]. *ACS Chem Biol*, 2016, 11(11): 3093-3105.
- [15] Di C L, Helin K. Transcriptional regulation by Polycomb group proteins [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20(10): 1147-1155.
- [16] Asangani I A, Ateeq B, Cao Q, *et al.* Characterization of the EZH2-MMSET histone methyltransferase regulatory axis in cancer [J]. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 80-93.
- [17] Popovic R, Martinez-Garcia E, Giannopoulou E G, *et al.* Histone methyltransferase MMSET/NSD2 alters EZH2 binding and reprograms the myeloma epigenome through global and focal changes in H3K36 and H3K27 methylation [J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(9): e1004566.
- [18] Furukawa Y, Kikuchi J. Epigenetic mechanisms of cell adhesion-mediated drug resistance in multiple myeloma [J]. *Int J Hematol*, 2016, 104(3): 281-292.
- [19] Xie Z, Bi C, Chooi J Y, *et al.* MMSET regulates expression of IRF4 in t(4;14) myeloma and its silencing potentiates the effect of bortezomib [J]. *Leukemia*, 2015,

- 29(12): 2347-2354.
- [20] Gu C, Feng L, Peng H, *et al.* MTDH is an oncogene in multiple myeloma, which is suppressed by Bortezomib treatment [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(4): 4559-4569.
- [21] Ezponda T, Popovic R, Shah M Y, *et al.* The histone methyltransferase MMSET/WHSC1 activates TWIST1 to promote an epithelial-mesenchymal transition and invasive properties of prostate cancer [J]. *Oncogene*, 2013, 32(23): 2882-2890.
- [22] Li N, Xue W, Yuan H, *et al.* AKT-mediated stabilization of histone methyltransferase WHSC1 promotes prostate cancer metastasis [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(4): 1284-1302.
- [23] Li J, Li T, Lu Y, *et al.* miR-2392 suppresses metastasis and epithelial-mesenchymal transition by targeting MAML3 and WHSC1 in gastric cancer [J]. *FASEB J*, 2017, 31(9): 3774-3786.
- [24] White-AI Habeeb N M, Garcia J, Fleshner N, *et al.* Metformin elicits antitumor effects and downregulates the histone methyltransferase multiple myeloma SET domain (MMSET) in prostate cancer cells [J]. *Prostate*, 2016, 76(16): 1507-1518.
- [25] Lord C J, Ashworth A. PARP inhibitors: Synthetic lethality in the clinic [J]. *Science*, 2017, 355(6330): 1152-1158.
- [26] Pei H, Zhang L, Luo K, *et al.* MMSET regulates histone H4K20 methylation and 53BP1 accumulation at DNA damage sites [J]. *Nature*, 2011, 470(7332): 124-128.
- [27] Wang Q, Goldstein M. Small RNAs recruit chromatin modifying enzymes MMSET and Tip60 to reconfigure damaged DNA upon double-strain break and facilitate repair [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(7): 1904-1915.
- [28] Shah M Y, Martinez-Garcia E, Phillip J M, *et al.* MMSET/WHSC1 enhances DNA damage repair leading to an increase in resistance to chemotherapeutic agents [J]. *Oncogene*, 2016, 35(45): 5905-5915.
- [29] Riganti C, Gazzano E, Polimeni M, *et al.* The pentose phosphate pathway: an antioxidant defense and a crossroad in tumor cell fate [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 53(3):421-436.
- [30] Wang J, Duan Z, Nugent Z, *et al.* Reprogramming metabolism by histone methyltransferase NSD2 drives endocrine resistance via coordinated activation of pentose phosphate pathway enzymes [J]. *Cancer Lett*, 2016, 378(2): 69-79.