

DOI: 10.13376/j.cbils/2017136

文章编号: 1004-0374(2017)10-1025-08



金颖, 中国科学院上海生命科学研究院和上海交通大学医学院研究员, 博士生导师, “973”首席科学家、上海曙光学者、中国科学院“百人计划”获得者、第二届百名华侨华人专业人士杰出创新奖、上海市优秀学科带头人和上海市领军人才。2006–2017任中科院干细胞生物学重点实验室主任。现任 *J Mol Cell Biol* 杂志副主编、*J Biol Chem* 和 *Stem Cell Res Ther* 杂志编委。实验室主要从转录调控、信号通路、表观遗传及代谢调控等方面揭示多能干细胞命运决定的分子机制。先后承担国家级重大研究项目、上海市及中科院课题 50 余项, 发表高质量学术论文 60 余篇, 文章发表在 *Cell Stem Cell* (2011/2017)、*Dev Cell* (2010)、*J Clin Invest* (2013)、*PNAS* (2010)、*Cell Res* (2009/2016)、*EMBO Rep* (2014)、*Stem Cell Rep* (2017) 等期刊。

## 表观遗传调控在胚胎干细胞命运决定中的作用及机制

肖峰, 金颖\*

(中国科学院上海生命科学研究院中科院干细胞重点实验室, 上海 200031)

**摘要:** 胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs) 具有无限自我更新和发育多能性两大特性, 可为基础研究、药物筛选及再生医学等提供无限的细胞来源。ESC 的命运决定受多个层次的调控, 主要包括信号通路、转录因子和表观遗传。越来越多的研究表明, 表观遗传调控在 ESC 命运决定中发挥着重要作用, 然而, 其中的分子机制仍不是十分清楚, 需要进一步揭示。以基金委重大研究计划“细胞编程和重编程的表观遗传机制”为依托, 金颖实验室从表观遗传角度揭示 ESC 自我更新和发育多能性的分子调控机制, 取得了多项重要进展。现主要对此研究计划中金颖实验室的原创性工作进行综述。

**关键词:** 胚胎干细胞; 自我更新; 发育多能性; 表观遗传

**中图分类号:** Q813; R329.2   **文献标志码:** A

## The function and mechanism of epigenetic regulation in the control of embryonic stem cell fate

XIAO Feng, JIN Ying\*

(CAS Key Stem Cell Biology Laboratory, Shanghai Institutes for Biological Sciences,  
Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**Abstract:** Unlimited self-renewal and pluripotency are hallmarks of embryonic stem cells (ESCs), providing unlimited cell sources for basic research, drug screening, and regenerative medicine. The unique properties of ESCs are controlled by multiple regulatory mechanisms, including those mediated by signaling pathways, transcription factors and epigenetic regulators. Though more and more studies have demonstrated important roles of epigenetic regulation in ESC fate determination, the underlying mechanism is not fully understood. Supported by grants from

收稿日期: 2017-08-28

基金项目: 国家自然科学基金委重大研究计划“细胞编程与重编程的表观遗传机制”(91019929, 91419309)

\*通信作者: E-mail: yjin@sibs.ac.cn

the Major Research Program “The Epigenetic Mechanism of Cell Programming and Reprogramming” of the National Natural Sciences Foundation of China (NSFC), we have achieved several important progresses from the perspective of epigenetic regulation in ESC fate determination. In this review, we summarize our original works supported by the Major Research Program funded by NSFC.

**Key words:** embryonic stem cells; self-renewal; pluripotency; epigenetics

## 1 胚胎干细胞

1981年, Evans和Kaufman<sup>[1]</sup>将小鼠早期囊胚的内细胞团(inner cell mass, ICM)在体外分离培养,成功地获得小鼠胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)。1998年, Thomson等<sup>[2]</sup>分离培养人早期囊胚的内细胞团细胞,成功地建立人ESC系。ESC具有无限自我更新能力(self-renewal)和发育多能性(pluripotency),即在一定条件下,ESC能够分化为体内三胚层来源的任何细胞类型,包括生殖细胞<sup>[3]</sup>。这两大特性使得ESC不仅成为基础科学中研究哺乳动物早期胚胎发育的重要细胞模型,而且为临床上药物筛选、细胞治疗、器官移植及再生医学等提供了丰富的细胞资源。

## 2 胚胎干细胞命运决定的分子机制

ESC自我更新和发育多能性的分子调控机制是干细胞领域中的研究热点之一。该研究不仅可以揭示哺乳动物早期胚胎发育的过程,而且可以加快ESC在临床上的应用。目前的研究发现,参与ESC自我更新和发育多能性调控的分子机制主要包括胞外信号介导的信号通路和胞内转录因子构成的转录调控网络<sup>[4-5]</sup>。

维持小鼠ESC自我更新的信号通路主要包括LIF/Stat3、BMP-Smad、PI3K-Akt和Canonical Wnt/ $\beta$ -catenin,而诱导小鼠ESC分化的信号通路主要包括Fgf-Mek-Erk1/2信号通路和Calcineurin-NFAT信号通路<sup>[6-7]</sup>。人ESC和小鼠ESC不同,维持人ESC自我更新的信号通路主要包括Fgf-Mek-Erk1/2、TGF- $\beta$ -SMAD2/3、PI3K-AKT等,而诱导人ESC分化的信号通路则包括BMP-Smad1/5、Canonical WNT/ $\beta$ -catenin等<sup>[6]</sup>。

信号通路可以将胞外信号传递到胞内,协同胞内转录调控网络,决定ESC的命运。无论是在小鼠ESC中,还是在人ESC中,都存在着一个以转录因子Oct4、Sox2和Nanog为核心的转录调控网络<sup>[3]</sup>。该转录调控网络一方面可以与胞内其他转录因子(如Klf4、Tfcp2l1、Esrrb等)一起维持ESC的特性<sup>[5]</sup>;另一方面也可以通过信号通路对一些胞

外信号做出应答,如在小鼠ESC中,Tfcp2l1是LIF-Stat3信号通路的一个直接下游靶基因,过表达Tfcp2l1可以使ESC在撤LIF的培养条件下仍然维持未分化状态。同时,Tfcp2l1的表达还受Wnt/ $\beta$ -catenin和Fgf-Mek-Erk1/2信号通路调控。用GSK3 $\beta$ 的抑制剂CHIR99021或Mek1/2的抑制剂PD0325901处理小鼠ESC,可以提高Tfcp2l1的表达水平<sup>[5,8]</sup>。因此,Tfcp2l1可以对LIF/Stat3、Wnt/ $\beta$ -catenin以及Fgf-Mek-Erk1/2信号通路产生应答,将细胞通路连接到转录因子构成的网络,进而调控细胞内基因表达,维持ESC自我更新和发育多能性<sup>[5]</sup>。

那么ESC内的这些关键转录因子是如何调控下游基因的表达呢?研究表明,转录因子不仅可以直接结合到自身、其他转录因子以及表观遗传调控因子的启动子或增强子区域,调控这些基因的表达,而且还可以招募表观遗传调控因子协同调控下游基因的表达。因此,转录因子与表观遗传调控因子的交叉互作在ESC命运决定过程中也发挥着重要功能。

## 3 表观遗传

表观遗传是指DNA序列不发生变化,而基因表达却发生了可遗传的改变,主要包括DNA甲基化、RNA甲基化、组蛋白修饰、组蛋白变体、染色质重塑、非编码RNA等调控。越来越多的研究表明,表观遗传调控在ESC命运决定中发挥着重要作用<sup>[9]</sup>。接下来,主要以本实验室近年的研究工作为基础揭示表观遗传调控在ESC命运决定中的作用机制。

### 3.1 组蛋白甲基化

组蛋白甲基化修饰是组蛋白修饰的重要组成部分,由组蛋白甲基转移酶(histone methyltransferase, HMT)和组蛋白去甲基化酶(histone demethylase, HDM)调控<sup>[10]</sup>。甲基化可发生在组蛋白的赖氨酸(Lys)和精氨酸(Arg)残基上,赖氨酸残基能够发生单甲基化(me1)、双甲基化(me2)、三甲基化(me3),而精氨酸残基能够发生单甲基化(me1)和双甲基化(me2),这些不同程度的甲基化修饰极大地增加了组蛋白修饰和调节基因表达的多样性与复杂性<sup>[11-12]</sup>。

组蛋白赖氨酸甲基化修饰主要发生在组蛋白 H3 的第 4、9、27、36 和 79 位的 Lys 残基 (H3K4、H3K9、H3K27、H3K36、H3K79) 以及组蛋白 H4 的第 20 位 Lys 残基 (H4K20) 上。精氨酸甲基化修饰通常发生在组蛋白 H3 的第 2、8、17、26 位 Arg 残基 (H3R2、H3R8、H3R17、H3R26) 以及组蛋白 H4 的第 3 位 Arg 残基 (H4R3) 上。

H3K9 甲基化修饰通常与基因转录抑制及异染色质形成有关<sup>[13-15]</sup>。H3K9 甲基化修饰发挥生物学功能的主要方式是抑制 RNA 聚合酶 II 结合到染色质上以及与其他表观遗传学修饰酶协同作用<sup>[16]</sup>。H3K9 甲基化修饰水平主要由 H3K9 甲基转移酶 (H3K9 methyltransferases) 和 H3K9 去甲基化酶 (H3K9 demethylases) 调控<sup>[17-18]</sup>。H3K9 甲基转移酶主要包括 Suv39h1/Kmt1a、Suv39h2/Kmt1b、Ehmt2 (G9a/Kmt1c)、Ehmt1 (Glp/Kmt1d)、Setdb1 (Eset/Kmt1e)、Setdb2 (Cil8/Kmt1f) 以及 Prdm2 (Riz1/Kmt8)<sup>[17-21]</sup>。H3K9 去甲基化酶主要包括 Lsd1/Kdm1a、Jmjd1a/Kdm3a、Jmjd1b/Kdm3b、Jmjd1c/Kdm3c、Jmjd2a/Kdm4a、Jmjd2b/Kdm4b、Jmjd2c/Kdm4c、Jmjd2d/Kdm4d 以及 Phf8/Kdm7b<sup>[22-28]</sup>。

本实验室对 H3K9 甲基化修饰在 ESC 命运决定中的作用感兴趣,发现大部分 H3K9 去甲基化酶在小鼠 ESC 中高表达,提示 H3K9 去甲基化酶在 ESC 中可能具有重要功能。组蛋白 H3K9 去甲基化酶 Jmjd1a/Kdm3a、Jmjd2b/Kdm4b 和 Jmjd2c/Kdm4c 已经被证明参与 ESC 的特性维持。其中, Loh 等<sup>[29]</sup>研究表明, Jmjd1a 和 Jmjd2c 分别通过促进全能性基因 *Tcl1* 和 *Nanog* 的表达来维持 ESC 自我更新。Das 等<sup>[30]</sup>的研究揭示 Jmjd2b 和 Jmjd2c 以协同和独立的方式维持 ESC 的自我更新:一方面, Jmjd2b 和 Jmjd2c 具有一些共同的下游靶基因,它们可以激活这些基因的表达;另一方面, Jmjd2b 可以协同 *Nanog* 激活多能性相关基因的表达,而 Jmjd2c 则可以协助 PRC2 抑制胚层分化相关基因的表达。2016 年, Pedersen 等<sup>[31]</sup>认为 Jmjd2a 和 Jmjd2c 在 ESC 中具有基因冗余效应,单独敲除 *Jmjd2a* 或者 *Jmjd2c* 不能导致 ESC 分化,同时敲除 *Jmjd2a* 和 *Jmjd2c* 会导致 ESC 增殖减慢,并向原始内胚层分化。以上这些研究结果表明组蛋白 H3K9 去甲基化酶在 ESC 中的调控机制呈现复杂和多样化。这些研究主要集中在 Jmjd2/Kdm4 家族蛋白,尤其是 Jmjd2c/Kdm4c 在 ESC 中的作用机制。因此,有必要去寻找和探究其他 H3K9 去甲基化酶在 ESC 自我更新和发育多

能性建立过程中的具体调控方式。

为了寻找新的参与维持小鼠 ESC 自我更新的组蛋白去甲基化酶,我们利用 RNAi 技术针对 H3K9 去甲基化酶进行了一个小规模筛选。研究结果表明,组蛋白 H3K9 去甲基化酶 *Jmjd1c* 参与维持 ESC 的自我更新。在 ESC 中,利用慢病毒介导的 shRNA 敲低 *Jmjd1c* 的表达 (*Jmjd1c* KD),激活 Erk/Mapk 信号通路和上皮-间充质细胞转变 (epithelial-mesenchymal transition, EMT),诱导 ESC 分化。用小分子抑制剂抑制 Erk/Mapk 信号通路或 EMT,则可以显著地恢复 *Jmjd1c* KD 引起的细胞分化表型。机制上, *Jmjd1c* 协同转录因子 *Klf4* 通过促进 miR-200 家族和 miR-290-295 簇的表达抑制 Erk/Mapk 信号通路和 EMT 发生,进而促进 ESC 特性维持。此外,我们还证明 *Jmjd1c* 对高效的体细胞重编程是必需的。在体细胞重编程中,敲低或敲除 *Jmjd1c* 的表达将导致体细胞重编程效率降低,而过表达 miR-200 家族则可以部分地恢复重编程效率。综上,我们的研究揭示了一个由组蛋白 H3K9 去甲基化酶协同转录因子对 microRNA 的转录调控轴 (*Jmjd1c*/Klf4-microRNA axis),并阐明了这一表观遗传介导的转录调控轴在 ESC 自我更新和体细胞重编程中的作用,为多能干细胞命运决定的分子机制提供了一个新视角 (图 1)<sup>[32]</sup>。

### 3.2 组蛋白变体

染色质由 DNA 和组蛋白构成,组蛋白变体可以通过影响染色质的松散结构来调控基因表达。因此,组蛋白变体在哺乳动物胚胎发育、ESC 命运决定等过程中发挥着关键作用<sup>[33]</sup>。人类细胞中组蛋白变体主要包括 8 个 H2A 变体 (H2A.X、H2A.Z.1、H2A.Z.2.1、H2A.Z.2.2、H2A.Bbd、macroH2A1.1、macroH2A1.2、macroH2A2)、2 个 H2B 变体 (H2B.W、TSH2B) 和 6 个 H3 变体 (H3.3、CENP-A、H3.1T、H3.5、H3.X、H3.Y)<sup>[33]</sup>。尽管已经有研究表明,组蛋白变体在小鼠 ESC 和重编程中具有关键作用,但组蛋白变体在人 ESC 命运决定中的功能和机制知之甚少<sup>[34]</sup>。

本实验室利用人全基因组范围转录因子 siRNA 文库筛选了参与人 ESC 自我更新的转录因子,发现一系列对维持人 ESC 特性具有重要作用的基因,并选取了 PHB 基因进行深入研究。以往的研究表明,PHB 参与哺乳类动物细胞的多种重要生命过程。但是,该基因在 ESC 中的功能尚无报道。本实验室的研究发现,PHB 在维持人 ESC 自我更新和促进

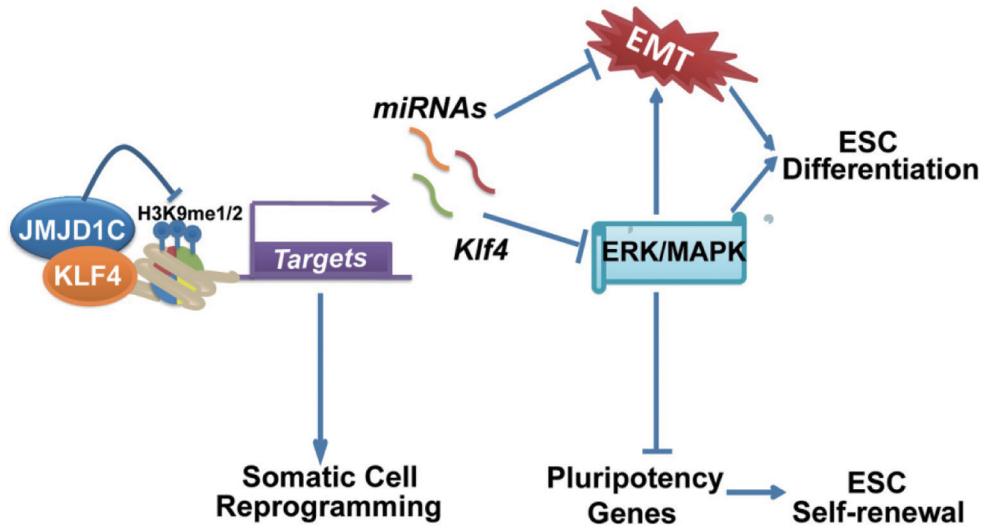


图1 组蛋白H3K9去甲基化酶Jmjd1c在小鼠ESC和体细胞重编程中的作用机制模式图<sup>[32]</sup>

体细胞的重编程过程中都发挥着重要的作用，特别是 PHB 在维持人 ESC 组蛋白甲基化修饰稳态方面发挥着独特的作用。进一步的研究发现，PHB 可以和组蛋白变体 H3.3 的伴侣蛋白 HIRA 复合体相互作用，并维持 HIRA 复合体成分的蛋白质稳定性。此外，PHB 和 HIRA 共同调控着全基因组范围内 H3.3 在染色质上的富集，特别是参与调控 H3.3 在异柠檬酸脱氢酶 (isocitrate dehydrogenases, IDHs) 基因启动子区域的富集及 IDH 基因的表达，从而控制对 ESC 命运具有重要作用的关键代谢产物  $\alpha$ -酮戊二酸 ( $\alpha$ -ketoglutarate,  $\alpha$ -KG) 的产生。已知  $\alpha$ -酮戊二酸是双氧酶，包括 DNA 去甲基化酶和含有 JmjC 结构域的组蛋白去甲基化酶的辅助因子。因此，PHB 通过调控  $\alpha$ -KG 的生成平衡细胞核染色质的修饰状态，维持人 ESC 自我更新和表观遗传学特性。综上，该研究首次证明，PHB 介导的 HIRA 蛋白复合体和 H3.3 对 IDH 基因表达和关键代谢产物  $\alpha$ -KG 产生的重要调控作用，揭示了人 ESC 特性维持的表观 - 代谢调控环路 (图 2)<sup>[35]</sup>。

此外，本实验室对 SOX2 是如何调控人 ESCs (human ESCs, hESCs) 和人神经祖细胞 (human neural progenitor cells, hNPCs) 命运决定这一科学问题十分感兴趣。为了揭示其中分子机制，我们通过 ChIP-seq、RNA-seq 和免疫共沉淀结合蛋白质组学的方法，全面比较了 SOX2 在 hESCs 和 hNPCs 中的全基因组范围内的结合位点、转录调控网络和相互作用蛋白网络，并结合实验证据对 hESCs 向神经分化的多

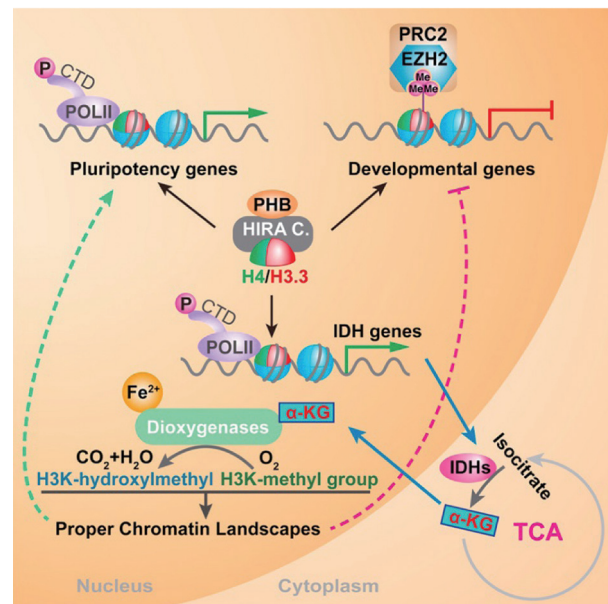


图2 PHB-HIRA-H3.3在人ESC中的作用机制模式图<sup>[35]</sup>

个阶段中 SOX2 的功能进行了剖析。我们发现，SOX2 通过调控细胞特异和发育阶段特异的转录网络来发挥不同的功能 (图 3)<sup>[36]</sup>。进一步的实验表明，SOX2 能够调控重要的信号通路并参与染色质调控来维持自我更新和促进神经分化。SOX2 在 hESCs 中直接结合自我更新相关的基因的调控序列并正向调控它们的表达，包括 WNT 信号通路的抑制因子 *SFRP2*。同时，SOX2 又能够与组蛋白变体 H2A.Z 相互作用，进而招募 PRC2 (polycomb repressive complex 2) 共同沉默发育相关基因的表达，包括 WNT 信号

通路的运输蛋白 *WLS*<sup>[36]</sup>。在 hESCs 中, SOX2 从这两个方面抑制经典 WNT 信号通路, 从而抑制非神经谱系发育。同时, SOX2 在 hESCs 中预先结合一群促神经分化基因, 包括 Notch 信号通路的成员, 在 hESCs 接受神经分化信号时激活这些基因的表达, 促进神经分化。在 hNPCs 阶段, SOX2 能够正向调控 FGF 和 Notch 这两条重要的维持 NPCs 自我更新的信号通路。最后, 在 hNPCs 向神经元分化时, SOX2 也通过抑制经典 WNT 信号通路来调节神经元分化。因此, 该工作为研究组织特异性转录因子如何协同表观遗传调控因子在不同细胞中发挥细胞特异性的功能来实现细胞命运决定提供了重要线索 (图 3)。

### 3.3 染色质重塑

染色质重塑 (chromatin remodeling) 主要是通过依赖于 ATP 的染色质重塑复合体, 利用水解 ATP 获得的能量, 改变组蛋白与 DNA 之间的相互作用, 使围绕核小体表面的 DNA 发生暴露, 进而影响基因表达<sup>[37]</sup>。哺乳动物中依赖于 ATP 的染色质重塑复合体 (ATP-dependent chromatin-remodeling complexes) 主要包括 SWI/SNF (yeast mating type switch/sucrose non-fermentable)、ISWI (imitation switch)、CHD (chromodomain helicase DNA-binding)、INO80 (inositol autotroph 80)<sup>[37]</sup>。

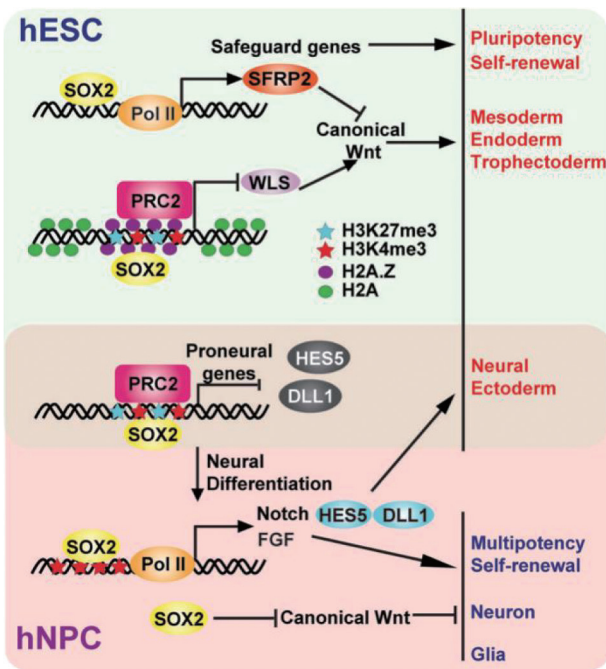


图3 转录因子SOX2在hESCs和hNPCs中的作用机制模式图<sup>[36]</sup>

其中, SWI/SNF 复合体又被称为 BAF (BRG/BRM-associated factor) 复合体, 该复合物由 11~15 个亚基组成, 总相对分子质量约  $2\ 000 \times 10^3$ 。由于该复合体在 ESC 中有独特的组成, 而被称为 esBAF<sup>[38]</sup>, 它在维持 ESC 自我更新、多能性调控中均有重要功能。在小鼠 ESC 中, 敲低 esBAF 复合体中的 ATPase Brg1 (Brahma-related gene 1) 的表达会导致 ESC 自我更新能力下降并诱导 ESC 发生分化<sup>[38]</sup>。此外, 在 ESC 中 Brg1 与核心转录因子 Oct4、Nanog 具有蛋白质-蛋白质相互作用, 它们在全基因组上的结合位点具有很高的相似性<sup>[39]</sup>。除了 BAF 复合体之外, 近来有研究表明, INO80 复合体在维持 ESC 自我更新、体细胞重编程以及胚胎发育中也具有重要作用<sup>[40]</sup>。在 ESC 中, Ino80 在 Oct4 和 Wdr5 的帮助下结合到一些全能性相关基因的启动子区域, 维持染色质的开放状态, 促进这些基因的转录, 进而维持 ESC 的未分化状态<sup>[40]</sup>。

CHD 染色质重塑复合体中研究最多的是 NuRD (the nucleosome remodeling and histone deacetylase) 复合体。NuRD 复合体由 ATPase/helicase Mi-2 蛋白 (Chd3 和 Chd4)、组蛋白去乙酰化酶 Hdac1 和 Hdac2、含甲基化 DNA 结合域的 Mbd2/3 和肿瘤转移相关蛋白 Mta1/2/3、含 WD40 重复结构域的 Rbbp7/4 以及功能研究较少的 Gatad2a/b 组成<sup>[41]</sup>。目前, 在 ESC 中对 NuRD 复合体的功能研究主要集中在 Mbd3。Mbd3 缺失的 ESC 不仅可以进行自我更新, 而且在撤 LIF 条件下依然能够维持未分化状态, 但 Mbd3 缺失的 ESC 不能正常分化<sup>[42-44]</sup>。

NuRD 复合体中其他成员在 ESC 命运决定中的作用仍然不清楚, 需要进一步研究揭示。其中, 染色质重塑因子 Chd4 在 ESC 中高表达, 但其在 ESC 中的功能和机制尚不清楚。本实验室的研究发现, Chd4 对于小鼠 ESC 的自我更新非常重要<sup>[45]</sup>。在 ESC 中, 敲低 *Chd4* 的表达 (*Chd4* KD) 会导致自我更新标志基因表达下降和分化相关标志基因表达上升。在诱导 ESC 分化形成拟胚体 (embryoid body, EB) 过程中, *Chd4* KD 可以促进 ESC 向各胚层方向的分化。转录组基因芯片分析表明, Chd4 可能是通过促进一些自我更新相关基因的表达, 同时抑制一些胚层分化相关基因的表达来维持 ESC 自我更新。在受 Chd4 调控的基因中, 我们发现了对于 ESC 自我更新和谱系分化起双重作用的转录因子 *Tbx3*<sup>[46]</sup>。进一步研究表明, Chd4 可以直接结合到 *Tbx3* 的启动子区域, 通过招募抑制性蛋白复合体

PRC2, 抑制 *Tbx3* 的转录表达。在 *Chd4* KD ESC 中敲低 *Tbx3* 的表达可以部分地恢复 *Chd4* KD 所引起的胚层标志基因的表达, 尤其是原始内胚层基因。另外, 我们还发现 *Chd4* 与组蛋白变体 H2A.Z 之间具有蛋白质-蛋白质相互作用。H2A.Z 可以通过抑制 26S 蛋白酶体介导的 *Chd4* 泛素化降解来提高 *Chd4* 的稳定性, 进而促进 ESC 的自我更新。综上所述, 该研究发现了一个不同于经典 NuRD 复合体功能的染色质重塑因子 *Chd4* 参与 ESC 特性维持, 并阐明了 *Chd4* 如何通过调控转录因子 *Tbx3* 的表达水平和与组蛋白变体 H2A.Z 相互作用实现其维持 ESC 自我更新的功能, 为 ESC 命运决定的分子机制提供了新的解释 (图 4)<sup>[45]</sup>。

#### 4 结语

以基金委重大研究计划“细胞编程和重编程的表观遗传机制”为依托, 本实验室从表观遗传角度揭示 ESC 自我更新和发育多能性的分子调控机制, 取得了一系列原创性进展: (1) 组蛋白去甲基化酶 *Jmjd1c* 协同转录因子 *Klf4* 通过促进 miR-200 和 miR-290-295 家族的表达来抑制 *Fgf-Mek-Erk1/2* 通路和 EMT, 进而维持小鼠 ESC 自我更新和高效的体细胞重编程; (2) PHB 对维持人 ESC 自我更新具有重要作用, 它与 HIRA 复合体共同调控组蛋白变体 H3.3 在人 ESC 中关键基因 (比如 *IDH*) 的启动子

区域的富集, 从而控制对人 ESC 命运决定具有重要作用的关键代谢产物  $\alpha$ -KG 的产生, 确保细胞核内染色质稳态, 维持人 ESC 自我更新和表观遗传学特性; (3) 转录因子 SOX2 招募组蛋白变体 H2A.Z 和抑制性蛋白复合体 PRC2 抑制经典 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路, 从而维持人 ESC 自我更新; (4) 染色质重塑因子 *Chd4* 通过调控 *Tbx3* 等重要基因的表达以及与组蛋白变体 H2A.Z 之间的相互作用实现维持小鼠 ESC 的特性。这一系列自主创新的研究成果将推进对 ESC 命运决定的认知, 为 ESC 的转化应用奠定了重要的理论基础。

目前, 研究表观遗传修饰对多能干细胞命运决定的机制往往集中在一个表观遗传调控因子或一种表观遗传修饰上。越来越多的研究表明, 位于不同或者相同残基上的不同组蛋白修饰可以互相影响。本实验室的研究发现, 表观遗传调控因子还可以通过调控或者协同其他表观遗传调控因子一起决定 ESC 命运, 如组蛋白 H3K9 去甲基化酶 *Jmjd1c* 可以通过直接促进 miR-200 家族的表达来维持 ESC 自我更新; 组蛋白变体 H2A.Z 可以增强染色质重塑因子 *Chd4* 的蛋白稳定性, 协同调控 ESC 自我更新。因此, 在研究表观遗传调控 ESC 命运决定时, 需要综合考虑不同表观遗传修饰之间的相互影响, 以及不同表观遗传因子之间的相互调控关系, 这样才能更加全面地阐明表观遗传在 ESC 命运决定中的

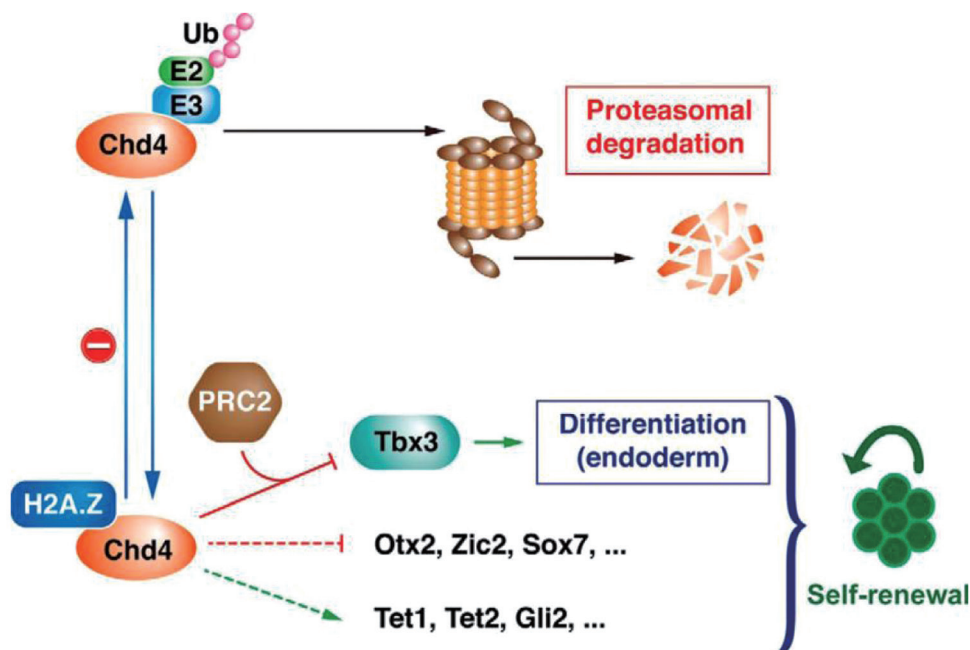


图4 染色质重塑因子Chd4在小鼠ESC中的作用机制模式图<sup>[45]</sup>

功能和作用机制。

此外, 目前关于表观遗传修饰在调控多能干细胞命运决定上的研究, 主要集中在小鼠 ESC/iPSC 中, 在人 ESC/iPSC 中的研究相对较少。随着人 ESC 培养条件的优化以及基因编辑技术的发展, 尤其 CRISPR/Cas9 技术的出现和完善, 使得人 ESC 的研究越来越受到关注。虽然, 小鼠多能干细胞在一定程度上能模拟人多能干细胞的特性, 但是两者之间仍然存在很大差异。人 ESC 的命运决定研究, 尤其人 ESC 的定向分化将成为干细胞领域中的热点, 而表观遗传调控无疑也会在这个领域中备受关注。

### [参 考 文 献]

- [1] Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, 1981, 292: 154-6
- [2] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, 282: 1145-7
- [3] Martello G, Smith A. The nature of embryonic stem cells. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 647-75
- [4] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663-76
- [5] Hackett JA, Surani MA. Regulatory principles of pluripotency: from the ground state up. *Cell Stem Cell*, 2014, 15: 416-30
- [6] Huang G, Ye S, Zhou X, et al. Molecular basis of embryonic stem cell self-renewal: from signaling pathways to pluripotency network. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72: 1741-57
- [7] Sun M, Liao B, Tao Y, et al. Calcineurin-NFAT signaling controls somatic cell reprogramming in a stage-dependent manner. *J Cell Physiol*, 2016, 231: 1151-62
- [8] Ye S, Li P, Tong C, et al. Embryonic stem cell self-renewal pathways converge on the transcription factor Tfcp2l1. *EMBO J*, 2013, 32: 2548-60
- [9] Chen T, Dent SY. Chromatin modifiers and remodellers: regulators of cellular differentiation. *Nat Rev Genet*, 2014, 15: 93-106
- [10] Wang X, Zhu WG. Advances in histone methyltransferases and histone demethylases. *Ai Zheng*, 2008, 27: 1018-25
- [11] Bernstein BE, Meissner A, Lander ES. The mammalian epigenome. *Cell*, 2007, 128: 669-81
- [12] Li B, Carey M, Workman JL. The role of chromatin during transcription. *Cell*, 2007, 128: 707-19
- [13] Grewal SI, Moazed D. Heterochromatin and epigenetic control of gene expression. *Science*, 2003, 301: 798-802
- [14] Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*, 2007, 128: 693-705
- [15] Martin C, Zhang Y. The diverse functions of histone lysine methylation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6: 838-49
- [16] Volkel P, Angrand PO. The control of histone lysine methylation in epigenetic regulation. *Biochimie*, 2007, 89: 1-20
- [17] Krishnan S, Horowitz S, Trievel RC. Structure and function of histone H3 lysine 9 methyltransferases and demethylases. *Chembiochem*, 2011, 12: 254-63
- [18] Wu H, Min J, Lunin VV, et al. Structural biology of human H3K9 methyltransferases. *PLoS One*, 2010, 5: e8570
- [19] Fritsch L, Robin P, Mathieu JR, et al. A subset of the histone H3 lysine 9 methyltransferases Suv39h1, G9a, GLP, and SETDB1 participate in a multimeric complex. *Mol Cell*, 2010, 37: 46-56
- [20] Ideno H, Shimada A, Imaizumi K, et al. Predominant expression of H3K9 methyltransferases in prehypertrophic and hypertrophic chondrocytes during mouse growth plate cartilage development. *Gene Expr Patterns*, 2013, 13: 84-90
- [21] Shinkai Y, Tachibana M. H3K9 methyltransferase G9a and the related molecule GLP. *Genes Dev*, 2011, 25: 781-8
- [22] Qi HH, Sarkissian M, Hu GQ, et al. Histone H4K20/H3K9 demethylase PHF8 regulates zebrafish brain and craniofacial development. *Nature*, 2010, 466: 503-7
- [23] Klose RJ, Yamane K, Bae Y, et al. The transcriptional repressor JHD3A demethylates trimethyl histone H3 lysine 9 and lysine 36. *Nature*, 2006, 442: 312-6
- [24] Kim SM, Kim JY, Choe NW, et al. Regulation of mouse steroidogenesis by WHISTLE and JMJD1C through histone methylation balance. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 6389-403
- [25] Kim JY, Kim KB, Eom GH, et al. KDM3B is the H3K9 demethylase involved in transcriptional activation of lmo2 in leukemia. *Mol Cell Biol*, 2012, 32: 2917-33
- [26] Fortschegger K, de Graaf P, Outchkourov NS, et al. PHF8 targets histone methylation and RNA polymerase II to activate transcription. *Mol Cell Biol*, 2010, 30: 3286-98
- [27] Berry WL, Janknecht R. KDM4/JMJD2 histone demethylases: epigenetic regulators in cancer cells. *Cancer Res*, 2013, 73: 2936-42
- [28] Chen M, Zhu N, Liu X, et al. JMJD1C is required for the survival of acute myeloid leukemia by functioning as a coactivator for key transcription factors. *Genes Dev*, 2015, 29: 2123-39
- [29] Loh YH, Zhang W, Chen X, et al. Jmjd1a and Jmjd2c histone H3 Lys 9 demethylases regulate self-renewal in embryonic stem cells. *Genes Dev*, 2007, 21: 2545-57
- [30] Das PP, Shao Z, Beyaz S, et al. Distinct and combinatorial functions of Jmjd2b/Kdm4b and Jmjd2c/Kdm4c in mouse embryonic stem cell identity. *Mol Cell*, 2014, 53: 32-48
- [31] Pedersen MT, Kooistra SM, Radziszewska A, et al. Continual removal of H3K9 promoter methylation by Jmjd2 demethylases is vital for ESC self-renewal and early development. *EMBO J*, 2016, 35: 1550-64
- [32] Xiao F, Liao B, Hu J, et al. JMJD1C ensures mouse embryonic stem cell self-renewal and somatic cell reprogramming through controlling microRNA expression. *Stem Cell Rep*, 2017, 9: 927-42

- [33] Buschbeck M, Hake SB. Variants of core histones and their roles in cell fate decisions, development and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18: 299-14
- [34] Turinetto V, Giachino C. Histone variants as emerging regulators of embryonic stem cell identity. *Epigenetics*, 2015, 10: 563-73
- [35] Zhu Z, Li C, Zeng Y, et al. PHB associates with the HIRA complex to control an epigenetic-metabolic circuit in human ESCs. *Cell Stem Cell*, 2017, 2: 274-89,e7
- [36] Zhou C, Yang X, Sun Y, et al. Comprehensive profiling reveals mechanisms of SOX2-mediated cell fate specification in human ESCs and NPCs. *Cell Res*, 2016, 26: 171-89
- [37] Curtis CD, Davis RB, Ingram KG, et al. Chromatin-remodeling complex specificity and embryonic vascular development. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69: 3921-31
- [38] Ho L, Ronan JL, Wu J, et al. An embryonic stem cell chromatin remodeling complex, esBAF, is essential for embryonic stem cell self-renewal and pluripotency. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 5181-6
- [39] Ho L, Jothi R, Ronan JL, et al. An embryonic stem cell chromatin remodeling complex, esBAF, is an essential component of the core pluripotency transcriptional network. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 5187-91
- [40] Wang L, Du Y, Ward JM, et al. INO80 facilitates pluripotency gene activation in embryonic stem cell self-renewal, reprogramming, and blastocyst development. *Cell Stem Cell*, 2014, 14: 575-91
- [41] Allen HF, Wade PA, Kutateladze TG. The NuRD architecture. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70: 3513-24
- [42] Kaji K, Nichols J, Hendrich B. Mbd3, a component of the NuRD co-repressor complex, is required for development of pluripotent cells. *Development*, 2007, 134: 1123-32
- [43] Kaji K, Caballero IM, MacLeod R, et al. The NuRD component Mbd3 is required for pluripotency of embryonic stem cells. *Nat Cell Biol*, 2006, 8: 285-92
- [44] Zhu D, Fang J, Li Y, et al. Mbd3, a component of NuRD/Mi-2 complex, helps maintain pluripotency of mouse embryonic stem cells by repressing trophectoderm differentiation. *PLoS One*, 2009, 4: e7684
- [45] Zhao H, Han Z, Liu X, et al. The chromatin remodeler Chd4 maintains embryonic stem cell identity by controlling pluripotency- and differentiation-associated genes. *J Biol Chem*, 2017, 292: 8507-19
- [46] Lu R, Yang A, Jin Y. Dual functions of T-box 3 (Tbx3) in the control of self-renewal and extraembryonic endoderm differentiation in mouse embryonic stem cells. *J Biol Chem*, 2011, 286: 8425-36