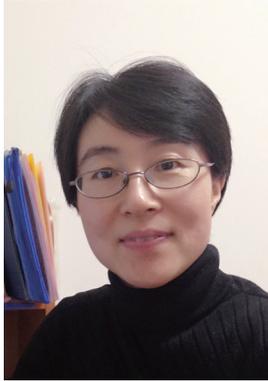


DOI: 10.13376/j.cblls/2017142

文章编号: 1004-0374(2017)10-1073-05



刘喆, 天津医科大学基础医学院教授, 博士生导师, 教育部新世纪优秀人才, 中国侨界创新人才奖获得者。现任中国细胞生物学会青年工作委员会委员, 中华医学会微生物与免疫学分会青年委员会副主任委员。主要研究方向是染色质高级结构调控基因功能的分子机制以及染色质高级结构紊乱在恶性肿瘤发生发展中的作用。主要研究工作包括: (1) 染色质高级结构在多启动子基因启动子活性调控中的功能; (2) 转录因子影响染色质高级结构促进肿瘤恶性转变的分子机制; (3) 非编码区 SNP 影响染色质高级结构促进肿瘤易感性的分子机制。在 *Cancer Cell*、*Immunity*、*Cancer Research*、*Autophagy* 等学术期刊发表研究论文多篇, 近期发表于 *Cancer Cell* 和 *Cancer Research* 的研究论文发现多个淋巴细胞特异性转录因子在实体肿瘤细胞异位表达, 改变肿瘤细胞染色质高级结构, 赋予实体肿瘤低黏附性和失巢凋亡抵抗特性等正常淋巴细胞具备的生物学特性, 提出实体肿瘤通过淋巴细胞拟态进行远端转移的新机制, 为肿瘤病因的基础研究开辟了新的方向。

染色质高级结构与肿瘤转移

林真真, 刘 喆*

(天津医科大学基础医学院免疫学系, 天津 300070)

摘 要: 染色质高级结构与基因的转录密切相关, 但是, 关于染色质高级结构的功能以及染色质高级结构如何促进肿瘤的恶性转变仍然是一个悬而未决的科学问题。在国家自然科学基金“细胞编程与重编程的表观遗传机制”重大研究计划项目支持下, 刘喆实验室研究了染色质高级结构在基因转录调控和肿瘤转移中的作用及机制, 取得了一系列原创性成果: 发现了染色质高级结构在多启动子基因不同启动子活性控制中的重要调控作用, 发现在实体肿瘤发生发展过程中染色质高级结构发生了显著变化, 并以染色质高级结构的变化为着眼点, 发现了淋巴细胞特异性的转录调控系统在实体肿瘤转移中的关键作用, 提出了实体肿瘤恶性转变的新的研究方向。现围绕“细胞编程与重编程的表观遗传机制”重大研究计划项目资助下刘喆实验室的原创性工作进行综述。

关键词: 染色质高级结构; 转录调控; 肿瘤

中图分类号: Q243; R730.23 **文献标志码:** A

Chromatin architecture and cancer metastasis

LIN Zhen-Zhen, LIU Zhe*

(Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract: Increasing evidence has shown that chromatin loops are highly dynamic and tightly correlated with gene function. However, whether these long-range interactions are a cause or consequence of dynamic changes in

收稿日期: 2017-08-02

基金项目: 国家自然科学基金“细胞编程与重编程的表观遗传机制”重大研究计划(91019012, 91519331)

*通信作者: E-mail: zheliu@tmu.edu.cn; Tel: 022-83336533

transcription initiation and how changes of chromatin architecture affect tumorigenesis are still open questions. Supported by the grants from the “Epigenetic Mechanisms in Cell Programming and Reprogramming” of the Major Research Plan of National Natural Science Foundation of China (NSFC), we studied the role of chromatin architecture in gene transcription and tumorigenesis. We find that chromatin architecture plays an important role in controlling alternative promoter usage. We also find that significant changes of chromatin higher order organization of adhesion-related genes are accompanied with cancer progression. The underlying mechanism is ectopic expression of lymphocyte restricted transcription factors. These transcription factors reconfigure chromatin architecture of adhesion-related genes, silence their expression, confer cancer cells anchorage independence and promote distal metastasis. Our work links epithelial cancer metastasis with lymphocyte transcriptional program, offering promise for further discoveries to explain mechanisms of lung tumorigenesis. In this article, we summarize our original works funded by the “Epigenetic Mechanisms in Cell Programming and Reprogramming” of the Major Research Plan of NSFC.

Key words: chromatin architecture; transcriptional regulation; cancer

1 染色质高级结构

真核细胞基因组除了编码蛋白的 DNA 片段外, 还含有大量的非编码但是具有重要功能的顺式调控元件, 如增强子、抑制子、绝缘子, 等等, 这些顺式调控元件精密调控基因的功能, 在机体发育、稳态维持中发挥着重要的作用。真核细胞基因结构复杂, 顺式调控元件与靶基因的相对位置多样, 很多顺式调控元件距离靶基因远达几兆碱基, 有些位于不同的染色体上, 甚至有的顺式调控元件同时调控多个基因的表达, 真核细胞如何实现远程调控是基因转录调控领域的重要科学问题之一。随着 3C 技术的出现, 人们发现顺式调控元件在发挥功能时与靶基因发生直接的相互作用, 如果相互作用的 DNA 片段在同一个染色质, 该染色质将形成环状结构, 如果相互作用的 DNA 片段位于不同的染色

质, 那么不同的染色质之间将发生共定位^[1-5](图 1)。因此, 一个基因在特定的状态下必定表现出特定的染色质高级结构, 而处于特定状态下的细胞具备特定的表达谱, 因而也具有特定的染色质高级结构。近年来, 很多实验室利用 3C 的衍生技术 Hi-C 在基因组水平研究 DNA 片段相互作用, 发现哺乳动物细胞的染色质具有区域性, 如拓扑相关结构域 (topological associating domains, TADs)。TAD 内部的 DNA 片段具有很高频率的相互作用, 不同的 TADs 之间的相互作用很少, TADs 具有明显的边界^[6-9]。对其结构的异常和对应功能的研究是近年来的热点。

2 染色质高级结构形成的分子机制

DNA 片段的相互作用源于蛋白质的相互作用, 转录因子募集蛋白复合体结合于顺式调控元件和启动子, 结合于不同 DNA 片段的蛋白质之间的相互

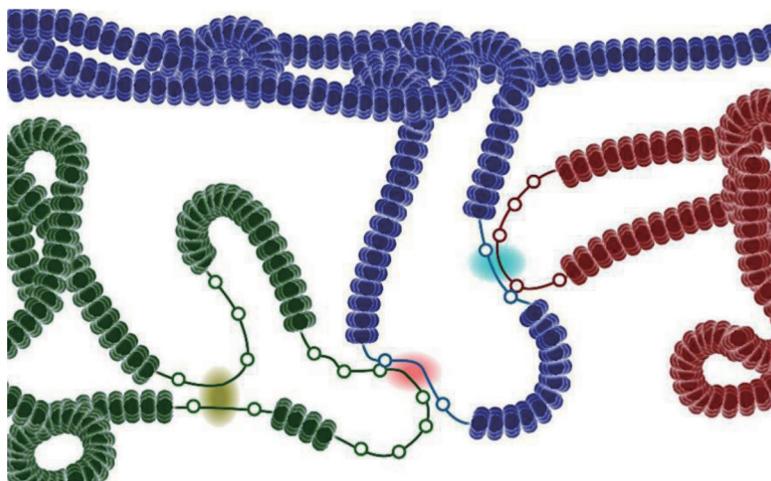


图1 同一染色质内部或不同染色质之间功能DNA片段的相互作用

作用导致了 DNA 片段之间的相互作用。研究发现, mediator 和 cohesin 能够介导染色质环的形成, 这些蛋白由转录因子募集到特异的 DNA 片段, 形成了精细的细胞特异性的染色质高级结构^[10-11]。也有研究证实 CTCF 能够介导染色质环的形成^[12-13]。

3 染色质高级结构的功能

越来越多的研究表明, 染色质的高级结构与基因的功能密切相关, 基因的活化往往伴随着增强子与启动子的相互作用, 基因的沉默也伴随着增强子和启动子相互作用的消失或者抑制子与启动子相互作用的形成^[14-15]。但是, 关于染色质高级结构的功能并不是很清楚。2017年, Bruneau 实验室将 CTCF 下调后, 染色质局部 TAD 边界消失, 邻近的 TADs 融合, 新形成了一些原来位于不同 TADs 的增强子和启动子的相互作用, 同时伴随着基因表达水平的变化^[16]。由于 CTCF 作为一个绝缘子 (insulator) 结合蛋白本身具有阻止增强子和启动子相互作用的功能, 因此, 很难确定新形成的增强子 - 启动子的相互作用是由于 CTCF 的下调, 还是由于 TAD 边界的消失, 也就无法回答染色质高级结构本身究竟只是基因转录过程中伴随出现的现象, 还是对基因转录起着调控作用这一染色质领域亟待解决的重要科学问题。真核基因组中有 60% 以上的基因具有多个启动子, 很多基因不同启动子转录出来的蛋白功能相反^[17]。刘喆实验室以多启动子基因 SHC1 为模型, 发现 SHC1 基因不同启动子之间 (相距 3.7 kb) 会发生相互作用, 这种相互作用将上游启动子置于一个很小的染色质环中, 阻止了转录起始复合体的结合以及随后的转录延伸 (未发表数据, 图 2), 是多启动子基因控制不同启动子活性的调控机制之一。这些结果证实了染色质高级结构在基因转录中具有调控作用。

4 染色质高级结构改变与恶性肿瘤的发生发展

由于染色质高级结构与基因的转录密切相关,

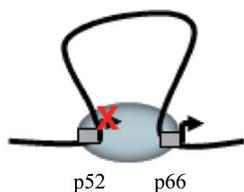


图2 多启动子基因不同启动子间的相互作用能够抑制上游启动子的活性

直接反映着基因的状态, 因此, 染色质高级结构在肿瘤细胞和其起源的正常细胞中是极为不同的。SHC1 基因的表达产物 p66Shc 在正常表皮细胞中表达, 部分蛋白定位在表皮细胞的黏附斑, 能够感受细胞贴附状态, 在细胞脱离基质时激活 RhoA 引发失巢凋亡, 是维持正常机体组织稳态和防止细胞异位生长的关键蛋白^[18]。通过分析 206 例肺表皮细胞, 包括正常肺表皮细胞、非小细胞肺癌细胞和小细胞肺癌细胞的转录谱, 我们发现 90% 以上的肺癌细胞中 p66Shc 表达出现不同程度下调或者完全缺失, 重新在肺癌细胞中导入 p66Shc 能够非常显著地降低肺癌细胞的转移能力^[19]。由此可见, p66Shc 蛋白的减少或缺失是肺癌发生发展中非常普遍的现象, 缺失 p66Shc 蛋白的肿瘤细胞由于无法感知贴附状态, 在脱离基质时仍能存活, 具备了通过血液系统转移到其他组织器官的潜力, 因此, p66Shc 的缺失是实体肿瘤转移过程中极为重要的分子生物学事件。如果能够重新激活 p66Shc 基因的表达, 增强肿瘤细胞对失巢凋亡的敏感性, 使得肿瘤细胞在脱离基质后发生凋亡, 将会降低肿瘤转移的效率, 临床上实现控制肿瘤的进一步转移。

我们研究了 SHC1 基因的染色质高级结构, 发现在正常表皮细胞中, SHC1 基因的 3 个增强子和 p66Shc 基因的启动子发生直接相互作用, SHC1 基因表现出多个环状结构, 但在肺癌细胞中, SHC1 基因的染色质高级结构发生改变, 一个关键的增强子 E2 与 p66Shc 启动子的相互作用消失 (图 3), SHC1 染色质高级结构的这种变化提示, E2 功能的消失是肺癌细胞中 p66Shc 基因沉默的主要因素。通过分析 E2 的序列, 我们发现 E2 含有转录因子 Aiolos 的结合位点。生理状态下 Aiolos 仅表达于淋巴细胞, 定位于异染色质, 主要起抑制基因转录的功能。淋巴细胞对失巢凋亡不敏感, 也不表达 p66Shc, 因而淋巴细胞特异性的转录因子 Aiolos 很可能是肺癌细胞中 p66Shc 基因沉默的主要因素。的确, 表皮细胞中外源导入的 Aiolos 能够结合在 p66Shc 基因的增强子 E2, 阻止 E2 与 p66Shc 启动子之间的相互作用, 产生与肺癌细胞中相同的 SHC1 染色质高级结构, 抑制 p66Shc 基因的表达。

随后, 我们利用大量的临床肺癌样本来检测 Aiolos 的表达, 发现 Aiolos 在转移能力强的小细胞肺癌细胞以及预后差的非小细胞肺癌细胞中表达, 而且 Aiolos 的表达与 p66Shc 表现出非常严格的负相关性^[20]。因此, 实体肿瘤其实是利用了淋巴细胞

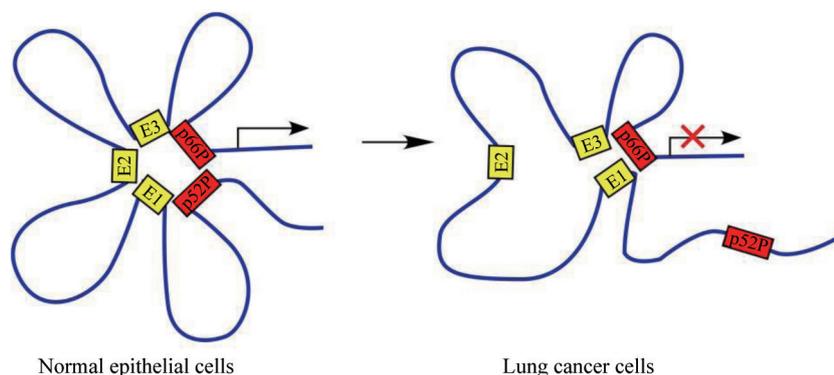
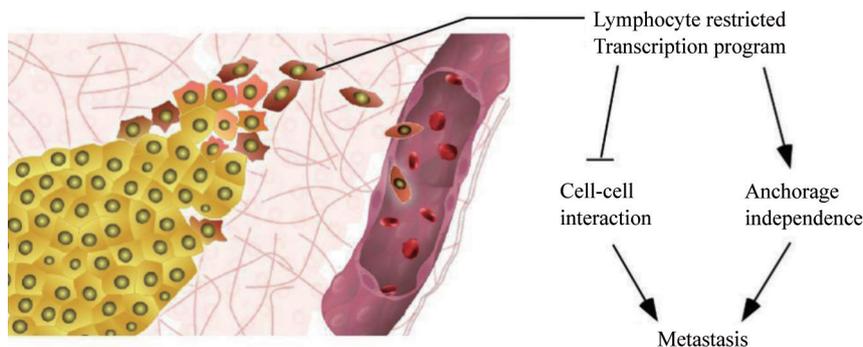


图3 SHC1基因染色质高级结构在正常表皮细胞中和肺癌细胞中的变化

的转录调控因子获得失巢凋亡抵抗这一生物学特性。另一个在肺癌细胞中异位激活的淋巴细胞特异性转录因子 SpiB 能够介导细胞紧密连接蛋白 Claudin-2 基因抑制子与启动子的染色质环相互作用抑制该基因的表达，破坏肿瘤细胞间连接，促进肿瘤细胞脱离原发灶转移至其他组织器官^[21]。这些发现的意义在于将实体肿瘤的发生发展与淋巴细胞的转录调控程序联系起来，实体肿瘤细胞在转移过程中需要具

有多种与淋巴细胞相类似的特点，如低黏附性、失巢凋亡抵抗特性、趋化性以及免疫调节特性等等，实体肿瘤细胞这些特性的获得很可能是通过直接异位激活淋巴细胞的转录调控网络(图4)，这一发现为实体肿瘤转移机理的研究打开了新的局面。以淋巴细胞转录因子为核心的转录调控网络的绘制以及淋巴细胞转录调控程序被异位激活机制的阐明将会为实体肿瘤的转移机制提出一个全新的认识。



部分肿瘤细胞中异位表达淋巴细胞特异性的转录调控因子，改变染色质高级结构，下调黏附相关基因的表达，促进肿瘤细胞从原发灶脱离，通过血液系统转移到其他的组织器官。

图4 实体肿瘤转移模型

5 靶向染色质高级结构进行临床肿瘤治疗的前景

在恶性肿瘤的发生发展过程中，精细的染色质高级结构发生了显著的变化；反之，染色质高级结构的变化也有可能引起肿瘤的恶性转变。例如，发生于非编码区 TAD 边界的遗传突变有可能改变染色质的 TAD，导致多个基因的异位激活或沉默，影响肿瘤的发生发展，在肿瘤细胞中对于这些位点

的修正有可能恢复正常的染色质高级结构，同时纠正多个基因的表达，在肿瘤的临床治疗中起到辅助作用。

6 结语

在国家自然科学基金“细胞编程与重编程表观遗传机制”重大研究计划支持下，我们实验室聚焦于特异基因的染色质高级结构，展开细致研究，获得了一系列原创性成果，发现不同启动子间相互作

用能够抑制上游启动子活性, 使得转录由下游启动子开始, 调控着多启动子基因不同启动子的活性, 证实了染色质高级结构本身对基因转录的调控作用; 发现肿瘤关键基因的染色质高级结构在肿瘤发生过程中发生改变, 并以此为着眼点, 发现了实体肿瘤细胞异位表达淋巴细胞特异性转录因子, 抑制细胞间连接和失巢凋亡信号通路, 利于远端转移, 提出了实体肿瘤利用淋巴细胞转录调控网络, 模拟淋巴细胞的某些特性, 进行远端转移的新机制, 为肿瘤恶性转变的基础研究提出了新的方向。

[参 考 文 献]

- [1] Dekker J, Rippe K, Dekker M, et al. Capturing chromosome conformation. *Science*, 2002, 295: 1306-11
- [2] Tolhuis B, Palstra RJ, Splinter E, et al. Looping and interaction between hypersensitive sites in the active β -globin locus. *Mol Cell*, 2002, 10: 1453-65
- [3] Liu Z, Garrard WT. Long-range interactions between three transcriptional enhancers, active κ gene promoters, and a 3' boundary sequence spanning 46 kilobases. *Mol Cell Biol*, 2005, 25: 3220-31
- [4] Lomvardas S, Barnea G, Pisapia DJ, et al. Interchromosomal interactions and olfactory receptor choice. *Cell*, 2006, 126: 403-13
- [5] Liu Z, Widlak P, Zou Y, et al. A recombination silencer that specifies heterochromatin positioning and ikaros association in the immunoglobulin kappa locus. *Immunity*, 2006, 24: 405-15
- [6] Lieberman-Aiden E, van Berkum N, Williams L, et al. Comprehensive mapping of long range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science*, 2009, 326: 289-93
- [7] Dixon JR, Selvaraj S, Yue F, et al. Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions. *Nature*, 2012, 485: 376-80
- [8] Du Z, Zheng H, Huang B, et al. Allelic reprogramming of 3D chromatin architecture during early mammalian development. *Nature*, 2017, 547: 232-5
- [9] Ke Y, Xu Y, Chen X, et al. 3D chromatin structures of mature gametes and structural reprogramming during mammalian embryogenesis. *Cell*, 2017, 170: 367-81
- [10] Kagey MH, Newman JJ, Bilodeau S, et al. Mediator and cohesin connect gene expression and chromatin architecture. *Nature*, 2010, 467: 430-5
- [11] Liu Z, Ma Z, Terada LS, et al. Divergent roles of RelA and c-Rel in establishing chromosomal loops upon activation of the $Ig\kappa$ gene. *J Immunol*, 2009, 183: 3819-30
- [12] Guo Y, Xu Q, Canzio D, et al. CRISPR inversion of CTCF sites alters genome topology and enhancer/promoter function. *Cell*, 2015, 162: 900-10
- [13] Ong CT, Corces VG. CTCF: an architectural protein bridging genome topology and function. *Nat Rev Genet*, 2014, 15: 234-46
- [14] Jing H, Vakoc CR, Ying L, et al. Exchange of GATA factors mediates transitions in looped chromatin organization at a developmentally regulated gene locus. *Mol Cell*, 2008, 29: 232-42
- [15] Sexton T, Bantignies F, Cavalli G. Genomic interactions: chromatin loops and gene meeting points in transcriptional regulation. *Semin Cell Dev Biol*, 2009, 20: 849-55
- [16] Nora EP, Goloborodko A, Valton AL, et al. Targeted degradation of CTCF decouples local insulation of chromosome domains from genomic compartmentalization. *Cell*, 2017, 169: 930-44
- [17] Davuluri RV, Suzuki Y, Sugano S, et al. The functional consequences of alternative promoter use in mammalian genomes. *Trends Genet*, 2008, 24: 167-77
- [18] Ma Z, Myers DP, Wu RF, et al. p66Shc mediates anoikis through RhoA. *J Cell Biol*, 2007, 179: 23-31
- [19] Ma Z, Liu Z, Wu RF, et al. p66(Shc) restrains Ras hyperactivation and suppresses metastatic behavior. *Oncogene*, 2010, 29: 5559-67
- [20] Li X, Xu Z, Du W, et al. Aiolos promotes anchorage independence by silencing p66Shc transcription in cancer cells. *Cancer Cell*, 2014, 25: 575-89
- [21] Du W, Xu X, Niu Q, et al. Spi-B-mediated silencing of Claudin-2 promotes early dissemination of lung cancer cells from primary tumors. *Cancer Res*, 2017, 77: 4809-22