

DOI: 10.13376/j.cbls/2022057

文章编号: 1004-0374(2022)05-0489-07

· 评述与综述 ·

组蛋白修饰异常在伴*MLL*重排白血病发生中的作用及靶向治疗进展

俞繁华¹, 洪耀南¹, 叶宝东^{1,2}, 周郁鸿^{1,2}, 吴迪炯^{1,2*}

(1 浙江中医药大学第一临床医学院, 杭州 310053; 2 浙江中医药大学附属第一医院血液科, 杭州 310006)

摘要: *MLL* 基因重排 (*MLL* rearrangement, *MLL-r*) 是导致混合谱系白血病 (mixed lineage leukemia, MLL) 发生的关键因素, 通常被认为是急性白血病的不良预后标志。由于 *MLL-r* 白血病具有较低的存活率和缺乏有效的靶向治疗, 从而引起了人们对该恶性肿瘤的广泛研究。大量的证据表明, 表观遗传修饰能够调控由 *MLL* 融合蛋白介导的异常基因表达程序, 直接或间接地参与 *MLL-r* 白血病的发生。近年来的研究提示, 组蛋白修饰异常在疾病发病中发挥重要作用。与遗传变化相反, 组蛋白修饰通常是可逆的, 这种特有的可逆性为利用组蛋白修饰酶特定抑制剂进行靶向治疗提供了潜在途径。该文将对组蛋白修饰在 *MLL-r* 白血病发病机制及组蛋白靶向治疗方面的研究进展予以综述。

关键词: 表观遗传学; *MLL* 重排白血病; 组蛋白修饰

中图分类号: R733.7 文献标志码: A

Role of abnormal histone modifications in the development and targeted therapy of leukemia with *MLL*-rearrangement

YU Fan-Hua¹, HONG Yao-Nan¹, YE Bao-Dong^{1,2}, ZHOU Yu-Hong^{1,2}, WU Di-Jiong^{1,2*}

(1 The First School of Clinical Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2 Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China)

Abstract: *MLL* rearrangement (*MLL-r*) is a critical factor in mixed lineage leukemia (MLL) and is generally considered as a poor prognosis marker in acute leukemia. Due to the low survival rate of *MLL-r* leukemia and the lack of effective targeted therapies, extensive research has been conducted on this malignancy. There are abundant evidences showed that epigenetic modifications regulate the abnormal gene expression mediated by *MLL* fusion protein and are directly or indirectly involved in the occurrence of *MLL-r* leukemia. Recent studies have demonstrated the important role of histone-modification abnormalities in the pathogenesis of diseases. In contrast to genetic changes, histone modifications are usually reversible, and due to their unique reversibility, potential targeted therapies against specific inhibitors of histone-modifying enzymes are considerable. In this paper, we reviewed the research progress of histone modifications in the pathogenesis and targeted therapy of *MLL-r* leukemia.

Key words: epigenetics; leukemia with *MLL*-rearrangement; histone modifications

混合谱系白血病 (mixed lineage leukemia, MLL) rearrangement, *MLL-r*), 并且与造血系统恶性肿瘤的基因位于染色体 11q23, 涉及 *MLL* 基因重排 (*MLL* 发生发展密切相关。*MLL-r* 白血病具有不同于其他

收稿日期: 2021-12-07; 修回日期: 2022-02-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(81503296); 浙江省自然科学基金项目(LY21H290003, LY14H290001); 浙江省中医药科学研究基金项目(2020ZB085)

*通信作者: E-mail: wudijiong@zcmu.edu.cn; Tel: 0571-86620325

亚型白血病的特征,因此,2008年“造血和淋巴组织肿瘤 WHO 分类”将 *MLL-r* 白血病作为急性白血病 (acute leukemia, AL) 重要亚型之一单独列出。伴有 *MLL-r* 的白血病约占 AL 的 10%, 其在婴儿患者 (< 1 岁) 中更为常见: 在婴儿急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 中占 70%~80%, 在婴儿急性髓性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 中占 35%~50%^[1]。研究证明, 伴有 *MLL-r* 的急性白血病患者大多具有恶性程度高、易发生中枢神经系统白血病、常规化疗不敏感、预后不佳、平均生存期短等特征, 并且和与之易位的伙伴染色体密切相关。深入认识这些特点对临床治疗策略的选择具有重要意义。

1 *MLL* 基因及重排

MLL 基因又称 *ALL-1/KMT2A*, 位于染色体 11q23, 由 37 个外显子组成^[2]。该基因编码一种组蛋白甲基转移酶 MLL1, 能特异性地对 H3 第 4 位赖氨酸 (H3K4) 进行甲基化修饰, 直接结合并正向调节包括 *HOX* (homeobox) 与 *MEIS1* (myeloid ecotropic leukemia integration site-1) 等基因的转录。*MLL* 基因参与染色体易位、部分串联重复和扩增, 其中以易位最为常见。目前, 约有 135 种 *MLL* 基因重排已被发现, 其中 94 种易位伙伴基因已经在分子水平上被鉴定^[3], 最常见的 11q23 染色体易位为 t(4;11)(q21;q23)、t(9;11)(p22;q23)、t(11;19)(q23;p13.3)、t(10;11)(p12;q23)、t(6;11)(q27;q23), 分别产生 MLL-AF4、MLL-AF9、MLL-ENL、MLL-AF10、MLL-AF6 融合蛋白, 约占 *MLL-r* 白血病的 80%^[4]。*MLL* 易位在 ALL 和 AML 中都可以出现, 但是不同的伙伴基因在各个谱系具有特异性, 其中 MLL-AF4 好发于 ALL, MLL-AF9 好发于 AML。

2 *MLL* 蛋白的结构和功能

MLL 基因编码一种由 3 969 个氨基酸构成的多结构域蛋白, 该产物被苏氨酸天冬氨酸酶 1 (taspase 1) 切割成两个不同的多肽 (MLL-N 和 MLL-C), 并通过结构域 FYRN 和 FYRC 形成一个完整的活性蛋白^[5]。目前已有研究证明未切割的 MLL 显示出比组装的二聚体 (MLL-N/MLL-C) 具有更高的稳定性^[6]。MLL-N 端依次由 3 个 AT 钩 (AT hook) 结构域、2 个 SNL (speckled nuclear localization) 结构域、1 个转录抑制域 (repression domain, RD)、4 个锌指结构域 (plant homeodomain, PHD)、1 个 Bromo 结构域 (bromodomain,

BRD)(存在于第 3 个和第 4 个 PHD 锌指结构域之间) 和 2 个 FYR (F/Y-rich) 结构域 (FYRN 和 FYRC) 组成。MLL-C 端由一个反式激活区 TA 和一个 SET 结构域组成, MLL 蛋白通过其 SET 结构域的甲基转移酶活性修饰其靶基因组蛋白 H3K4, 从而调节下游靶基因, 维持造血系统的稳定性^[7]; 此外, 与其他类型的 AML 相比, *MLL-r* 白血病对 H3K4 甲基化的改变高度敏感, 因为 MLL 关键靶基因 *HOXA9* 和 *MEIS1* 的表达高度依赖于 H3K4 甲基化状态^[8]。

MLL 基因易位重排会导致 MLL 融合蛋白的产生, 其主要断裂点位于 RD 结构域和 PHD 结构域之间, 所编码的融合蛋白由 MLL 蛋白 N 端的 AT 钩结构域、SNL 结构域和 RD 结构域与融合伙伴蛋白的 C 端组成。MLL 蛋白 C 端的 PHD 结构域、TA 结构域和 SET 结构域均被融合伙伴蛋白序列替代。因此, 产生的 MLL 融合蛋白丧失了部分功能, 例如和 C 端结构域相关的 H3K4 甲基转移酶活性。而由于伙伴基因的不同, MLL 融合蛋白也具有不同的功能, 并通过融合蛋白靶基因的转录失调诱导造血干细胞和祖细胞转化为白血病细胞^[7,9]。

3 表观遗传修饰和 *MLL-r*

表观遗传修饰是指未涉及 DNA 序列改变而影响基因表达的一种修饰机制。表观遗传修饰主要包括 DNA 甲基化、组蛋白的共价修饰和核小体的重塑和复位。其中, 组蛋白共价修饰包括磷酸化、甲基化、泛素化、乙酰化等。组蛋白修饰如何调节基因的表达是过去 30 年来一个重要的研究领域。组蛋白被认为是表观遗传信息的载体之一, 能够与 DNA 一起构成染色质。染色质的基本重复单位是核小体, 每个核小体由一个 H3/H4 四聚体和两个 H2A/H2B 二聚体组成^[10]。组蛋白的共价修饰被认为是多细胞生物在发育和分化过程中, 保证关键基因在空间和时间上紧密表达的重要表观遗传机制。研究发现, *MLL-r* 白血病基因组稳定性强, 很少有染色体某区域缺失或扩增的现象^[11], 这表明 *MLL-r* 白血病在很大程度上是由表观遗传失调驱动的。而表观遗传修饰 (如组蛋白修饰) 通常是可逆的, 这为使用特异性抑制剂进行靶向治疗提供了机会。下文重点围绕 *MLL-r* 白血病中的组蛋白修饰进行相关研究进展回顾。

3.1 组蛋白乙酰化修饰与 *MLL-r* 白血病

核心组蛋白 N 端的乙酰化修饰引起的染色质结构的改变在真核细胞基因表达调控中起重要作用

用。组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferase, HAT) 能够使染色质处于相对松散的结构从而促进基因的表达, 而组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 则能够使染色质结构致密从而抑制基因的表达。组蛋白的乙酰化与基因调控密切相关, 其表达异常在白血病细胞增殖和分化中起着很重要的作用。组蛋白乙酰化修饰异常最主要的例子就是 HAT 与其他基因易位导致的染色体重排, *MLL* 基因能够与 CBP/P300 易位产生 MLL-CBP 和 MLL-P300 融合蛋白。研究证明, CBP 能够使 MLL 的 N 端乙酰化, 并导致下游靶点 *HOX* 基因家族的异常表达从而引起白血病。HAT 与 *MLL-r* 白血病的关系并不仅限于两者能够产生融合蛋白。例如, MOF 的乙酰转移酶活性对于 MLL-AF9 引起的白血病至关重要^[12], 而 BRD4 能够招募 MLL 融合蛋白到特定的染色体位点以激活致癌基因的表达^[13]。HAT 和 HDAC 活性的平衡与 *MLL-r* 白血病密切相关, 尽管 HAT 抑制剂的选择性和生物利用度较差, 但 HDAC 抑制剂 (HDACi) 已显示出较好的治疗效果^[14]。

3.1.1 HDAC抑制剂的探索研究

研究发现, 在 *MLL-r* 白血病患者中具有 HDAC 高表达和低乙酰化等特点^[15], HDAC 可以与 MLL 融合蛋白相互作用并调节染色质重塑, 从而诱导肿瘤驱动基因的表达^[16]。HDAC 抑制剂是一种重要的表观遗传调控药物, 通过抑制组蛋白去乙酰化从而开放染色质构型, 解除低乙酰化对基因转录的抑制, 使异常沉默的基因得以重新表达, 以实现治疗肿瘤的目的。有研究发现, 高度保守的孤儿受体 Nur77/Nor1 在白血病中起到抑制因子的作用, 其表达在白血病干细胞中被抑制; 研究人员在 *MLL-r* 白血病细胞中使用 HDAC 抑制剂 SNDX-275 抑制组蛋白去乙酰化酶活性能恢复 Nur77/Nor1 的表达, 并广泛诱导白血病细胞凋亡^[17]。本团队发现, HDAC8 抑制剂 (HDAC8i) 能够增强 P53 蛋白乙酰化并诱导 *MLL-r* 白血病细胞凋亡, 而敲除 P53 可抑制由 HDAC8i 引起的凋亡^[18]。但是, 在 *MLL-r* 白血病中单用 HDAC 抑制剂仅能取得一定的反应性。2019 年, 有研究团队证明 HDAC 抑制剂西达本胺和 Menin-MLL 抑制剂 MI-3 在伴有 *MLL-r* 的 AML 细胞中具有高度协同作用。从机制上来说, 联合应用西达本胺和 MI-3 能够使 *MLL-r* 白血病细胞线粒体膜电位丧失和活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 急剧增加, 从而诱导 *MLL-r* 白血病细胞发生凋亡^[19]。因此, 联合 HDAC 抑制剂来提高 *MLL-r* 白血病临床疗效

值得进一步深入研究。

3.1.2 MOF抑制剂

MOF 是 MYST 组蛋白乙酰基转移酶家族成员之一, 其主要功能是作为催化亚基将组蛋白 H4K16 位点乙酰化^[20]。MOF 作为染色质状态的细胞型依赖性调节因子, 在真核生物的转录调控中起重要作用, 控制各种细胞过程, 如 T 细胞分化、DNA 损伤反应、细胞周期进展和胚胎干细胞自我更新和多能性。有研究表明, MOF 的 HAT 活性对于 MLL-AF9 白血病的维持是极其重要的, 该重要性可能是通过 DNA 损伤修复来实现的。研究人员发现, 敲除 MLL-AF9 细胞的 MOF 基因可抑制 H4K16 乙酰化, 并通过增加染色质紧密性从而影响 DNA 损伤反应和染色质完整性^[12]。由此可知, 抑制 MOF 的 HAT 活性可能是开发新型小分子抑制剂的良好靶点, 可以为 *MLL-r* 白血病患者的治疗提供一种新思路。

3.1.3 CBP/p300抑制剂

CBP (cAMP 反应元件结合蛋白 CREBBP) 和 p300 (腺病毒 E1A 相关蛋白) 是组蛋白乙酰转移酶中重要的大分子蛋白, 因为两者的结构有极高的同源性而被认为具有相同的功能^[21]。CBP/p300 在功能上与多种人类癌症的发展息息相关, 包括血液系统恶性肿瘤^[22]。CBP/p300 常见的易位为 t(11;16)(q23;p13), 为 *MLL* 基因与 16 号染色体 p13 上的 *CBP* 基因融合形成; 此融合蛋白保留 CBP 的 HAT 结构区、MLL 的 N 端与 CBP/p300 的溴结构域, 通过 MLL 作用于基因组的靶区域, 使组蛋白乙酰化异常, 从而导致 *MLL-r* 白血病的发生^[23]。CBP/p300 能够和 c-MYB 原癌基因结合并通过与 MLL-AF9 融合基因相互作用从而促进白血病细胞转化^[24]。早在 2015 年已有科研团队发现了一种能够特异性靶向 CBP/p300 溴结构域的抑制剂分子 I-CBP112。I-CBP112 能够影响融合基因与 CBP/p300 的相互作用, 从而阻断白血病细胞异常自我更新, 并以剂量依赖方式在体外和体内实验中显著抑制 MLL-AF9 细胞的白血病诱发潜能^[25]。2017 年, CBP/p300 抑制剂 A-485 的研发是该领域取得的重大突破。与当时广泛应用的 CBP/p300 抑制剂相比, 新的化合物 A-485 不是靶向 BRD, 而是结合并抑制 CBP/p300 的催化核心, 具有高效性、选择性和细胞通透性等特点, 并在 *MLL-r* 白血病细胞中表现出抑制作用^[26]。

3.1.4 BRD4抑制剂

BRD4 (bromodomain-containing protein 4) 属于 BET (bromodomain and extraterminal domain) 家族成

员, 已被证实和 *MLL-r* 白血病有关^[27]。BRD4 含有两个串联溴结构域模块, 能够识别乙酰化的赖氨酸残基, 并且通过与 PAFc (polymerase associated factor complex) 和 SEC (super elongation complex) 相互作用, 招募 MLL 融合蛋白到特定的染色体位点, 以激活致癌基因的表达^[13]。通过靶向抑制 BRD4, 阻碍 BRD4 与乙酰化的赖氨酸残基的相互作用, 从而发挥抗肿瘤作用。因此, BRD4 作为一种极具潜力的抗肿瘤靶点, 近些年被广泛关注。早在 2010 年就有两个团队发现了 BRD4 的两种抑制剂: I-BET151^[13] 和 JQ1^[27]。其中, I-BET151 通过从染色质中置换出 BRD3、BRD4、PAFc 和 SEC, 抑制 BCL2、C-MYC 和 CDK6 的转录, 从而诱导 MLL-AML 细胞系的凋亡, 而 JQ1 则可通过抑制 BRD4 发挥抗白血病作用。

3.2 组蛋白甲基化修饰与 *MLL-r* 白血病

组蛋白甲基化通常可发生在组蛋白 N 末端的赖氨酸 (K) 或精氨酸 (R) 残基上, 其功能与位点和甲基化程度 (单、二或三甲基化) 相关, 通常 H3K4me3、H3K36me3、H3K79me3、H4R3me1 和 H4-K20me1 可促进基因表达, 而 H3K9me3 和 H3K27me3 则抑制基因转录^[28]。组蛋白甲基转移酶 (histone methylation transferase, HTM) 和组蛋白去甲基化酶 (histone demethylase, HDM) 共同调控组蛋白的甲基化修饰状态, 从而调控下游基因表达。大多数 MLL 融合蛋白将会导致下游基因 *HOXA9* 和 *MEIS1* 的表达上调, 这对于推动白血病的发生至关重要。此外, 在伴有 MLL 融合蛋白的白血病中, *HOX* 基因簇的调节与 H3K79 甲基化密切相关; 与转录延长相关的标记是 H3K79 甲基化, 而不是典型的 MLL 底物 H3K4^[29]。因此, 抑制 DOT1L (disruptor of telomeric silencing-1-like; 人类中唯一已知的 H3K79 甲基转移酶) 是一种很有前景的治疗 *MLL-r* 白血病的方法。另外, 特异性赖氨酸脱甲基酶 1 (lysine-specific demethylase 1, LSD1)、H3K27 甲基转移酶 Zeste 基因增强子同源物 2 (enhancer of Zeste homolog 2, EZH2) 和蛋白质精氨酸甲基转移酶 (protein arginine methyltransferase, PRMT) 也由于在白血病发病过程中具有重要作用而引起了研究人员的广泛关注。

3.2.1 DOT1L 抑制剂

DOT1L 能催化组蛋白 H3K79 甲基化, 是目前发现的唯一一种无 SET 结构域的组蛋白赖氨酸甲基转移酶。野生型 MLL 蛋白包含具有组蛋白甲基转移酶活性的 SET 结构域, 该结构域能够甲基化 H3K4, 进而激活 *HOX* 基因表达^[30]。MLL 基因重

排时产生的融合蛋白中无 SET 结构域, 而是被 AF4、AF9、AF10、ENL 蛋白的部分序列取代, 这些序列招募 DOT1L 蛋白后结合到 MLL 蛋白作用位点, 导致组蛋白 H3K79 高度甲基化, 从而异常活化白血病生成相关基因 *HOXA9*、*MEIS1* 的转录, 导致白血病的发生^[31]。由于 *MLL-r* 白血病的发生需要 DOT1L 的异常甲基转移酶活性, 因此 DOT1L 可作为治疗 *MLL-r* 白血病的潜在靶点。小分子药物 EPZ5676 已被确定为 DOT1L 高效抑制剂, 能特异性识别 DOT1L 并杀死带有 MLL1 易位的急性白血病细胞。在药理学实验中, EPZ5676 具有口服利用度低、清除率高等特点^[32]。2018 年的一项 I 期临床研究显示, EPZ5676 在各种用药剂量水平下均能抑制 H3K79 甲基化, 但是其作为单药治疗的疗效不高^[31], 今后的研究需进一步证明 EPZ5676 与其他药物联合是否可以增强对 *MLL-r* 白血病患者的疗效。

3.2.2 LSD1 抑制剂

LSD1 是最早被发现的组蛋白赖氨酸去甲基化酶, 能够特异性地去除组蛋白 H3K4 和 H3K9 的一甲基化和二甲基化^[33]。在 AML 中 LSD1 能够与 CoREST (corepressor of REST) 形成转录抑制复合物, 抑制 LSD1 的表达可以抑制 AML 细胞的自我更新和增殖, 诱导其分化并促进凋亡^[34]。研究发现, 在伴 MLL-AF9 的 AML 中, LSD1 对维持 MLL-AF9 白血病干细胞的干性是至关重要的, 并确定 LSD1 是 MLL-AF9 白血病的有效治疗靶点^[35]。LSD1 抑制剂作用于 MLL-AF9 白血病细胞后, 可以阻断 LSD1 和转录抑制因子 GFI1 的结合, 使下游分化基因表达上调^[36]。ORY-1001 是第一种进入临床试验的 LSD1 抑制剂, 具有高效、安全和高选择性等特点, 有望作为治疗 MLL 的靶向药物应用于临床^[37]。

3.2.3 EZH2 抑制剂

果蝇 EZH2 是组蛋白 H3K27 甲基转移酶, 它是多梳抑制复合物 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2) 的一部分。EZH2 能够催化组蛋白 H3K27 发生二甲基化和三甲基化, 从而调节下游基因的表达。研究发现, 无论是 EZH2 发生突变、过表达或者低表达, 甚至表达缺失, 都可能参与肿瘤的发生、发展和转移, 这与 EZH2 的功能多样性有关^[38], 甚至在骨髓增殖性肿瘤中发挥抗肿瘤作用^[39]。而在 *MLL-r* 白血病中, 研究发现, EZH2 的突变失活可以抑制 MLL-AF9 的发生, 促进白血病细胞分化, 提示 EZH2 参与了疾病的进展^[40]。EZH2 表达缺失的白血病细胞更倾向于转变为慢性粒单核细胞性白血病

(chronic myelomonocytic leukaemia, CMML)^[41]。此外, 当 $EZH2$ 表达缺失时, $EZH1$ 可能代偿性高表达进而促进白血病发生, 因此抑制 $EZH1/2$ 的表达已经成为治疗 $MLL-r$ 白血病的一种新策略^[42]。UNC1999 是首个有效的具有口服活性的 $EZH1/2$ 选择性抑制剂, 可靶向抑制 $H3K27$ 甲基化并诱发一系列抗白血病作用, 包括抑制增殖以及诱导分化和凋亡^[43]。

3.2.4 PRMT抑制剂

精氨酸甲基化是组蛋白甲基化的一种, 是一种重要的翻译后修饰, 涉及转录、染色质重塑、RNA 剪切和 DNA 损伤修复^[44], 主要受 PRMT 家族调控。目前发现的 9 种 PRMT 家族成员以三种不同的形式调控精氨酸甲基化: I 型催化形成不对称二甲基精氨酸 (asymmetrical dimethylarginine, ADMA); II 型催化形成对称二甲基精氨酸 (symmetrical dimethylarginine, SDMA); III 型催化形成单甲基精氨酸 (monomethylarginine, MMA)^[45]。多项研究表明 PRMT 家族与癌症有关, 现在的研究方向主要集中在 I 型的 PRMT1 与 II 型的 PRMT5。PRMT1 和赖氨酸特异性去甲基酶 4C (KDM4C) 能够被 MLL 融合蛋白共同募集, 进而调节 MLL 融合蛋白下游靶基因如 $HOXA9$ 的表达, 下调 PRMT1 的表达能够抑制 $MLL-r$ 白血病的发展^[46]。研究发现, 在 $MLL-r$ 白血病细胞中依赖 PRMT5 的 $H4R3me2$ 活性是维持白血病干细胞群和加强 MLL 融合白血病的髓样分化阻滞特征所必需的, 主要机制是 PRMT5 通过表观遗传修饰导致白血病细胞中 $CDKN1a$ 转录沉默; 此外, 实验中还发现使用 PRMT5 抑制剂 EPZ015666 (GSK3235025) 可逆转 $MLL-r$ 白血病细胞的分化阻滞并延缓疾病进展^[47]。然而, 抑制 PRMT5 的酶活性并不能直接影响 MLL 融合蛋白靶点的表达, 因此将 PRMT5 抑制剂与其他靶向药物联合使用将获得更佳的治疗效果。有研究团队发现, 在 $MLL-r$ 白血病细胞中将 PRMT5 抑制剂与 DOT1L 抑制剂联合应用表现出了协同抗肿瘤作用, 以剂量依赖性方式导致细胞增殖减少、分化与凋亡增加、靶基因表达下调, 并增强了白血病细胞对化疗的敏感性^[48]。

3.3 组蛋白泛素化修饰与 $MLL-r$ 白血病

组蛋白泛素化修饰是调节基因转录和 DNA 损伤修复的关键表观遗传修饰。泛素是一种存在于所有真核细胞中的由 76 个氨基酸残基构成的多肽, 其主要功能是参与细胞中大部分蛋白质的选择性降解。泛素化是通过泛素激活酶 (E1)、泛素结合酶 (E2) 和泛素连接酶 (E3) 的协同作用产生的。首先, 在

ATP 依赖性反应中, 泛素被 E1 活化, 然后转移到 E2, 最后通过负责底物特异性的 E3 连接到靶蛋白的赖氨酸残基上^[49]。蛋白质泛素化水平能够被去泛素化酶 (deubiquitinase, DUB) 反向动态调节。异常的组蛋白泛素化可以通过改变肿瘤抑制因子和癌基因的表达、错误调节细胞分化和促进癌细胞增殖来驱动肿瘤发生^[50]。RNF20 (又称 BRE1A) 是哺乳动物细胞中主要的组蛋白 H2B 特异性泛素连接酶, 其靶向赖氨酸 120 进行单泛素化 ($H2BK120ub1$)^[51]。研究表明, DOT1L 的催化活性受到 $H2BK120ub1$ 的调控, 在 $MLL-r$ 白血病中 RNF20 的低表达导致 $H3K79me2$ 水平普遍降低, 而 RNF20 过表达则产生相反的结果, 因此 RNF20 可能是 $MLL-r$ 白血病的重要靶点^[52]。有研究团队发现 HDAC 抑制剂 LBH589 在 $MLL-r$ 白血病患者中不仅使乙酰化减少, 还下调 RNF20 导致 $H2BK120ub1$ 标记水平降低^[53]。BMI1 (B-cell-specific moloney murine leukemia virus insertion site 1) 属于多梳蛋白家族 (polycomb group, PcG), 是 RING1A/RING1B E3 泛素连接酶的激活剂。有研究表明 BMI1 在 AML 细胞中过量表达, 并能够通过组蛋白 H2A 在 Lys119 位点的单泛素化 ($H2AK119ub1$) 来抑制包括 $INK4A/ARF$ 基因座在内的关键肿瘤抑制基因的表达, 从而促进癌细胞的自我更新^[54]。在 $MLL-r$ 白血病细胞中, BMI1 的小分子抑制剂 PTC-596 能够降低 BMI1 表达和 $H2AK119ub1$ 水平, 并诱导细胞凋亡, 同时它还提高了 AML 异种移植小鼠模型的存活率^[55]。

色素框同源蛋白 8 (chromobox homolog 8, CBX8), 也称为 HPC3 (human polycomb 3), 是 PcG 蛋白家族重要成员^[56]。CBX8 最初被表征为转录抑制因子, 可以与 RING1A/B、BMI1 相互作用并组成多梳抑制复合物 1 (PRC1), 与 PRC2 共同诱导并维持基因的抑制状态^[57-58]。研究发现, CBX8 与 $MLL-AF9$ 和 TIP60 的交互作用对于 $MLL-AF9$ 白血病是必需的, 敲除 CBX8 或抑制其交互作用可以干扰 $HOXA9$ 基因的表达从而抑制白血病的发生^[58]。因此, CBX8 可作为 $MLL-r$ 白血病潜在的治疗靶点。

4 结语与展望

虽然在过去的几年时间里对 $MLL-r$ 白血病的研究逐渐深入, 但针对该疾病的治疗基本上没有重大改变, 造血干细胞移植与常规化疗的效果仍然不佳。而对现有疗法的改进在于进一步研究 MLL 融合蛋白导致白血病的分子机理。研究表明, 在治疗包括

MLL-r 白血病在内的各种血液肿瘤时, 联合表观遗传靶向药物比单一疗法具有更好的治疗效果。随着越来越多的伙伴基因被发现以及表观遗传靶向药物的不断开发, 针对 *MLL-r* 白血病的治疗有望取得新的突破。

[参 考 文 献]

- [1] Wong NM, So CWE. Novel therapeutic strategies for *MLL*-rearranged leukemias. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2020, 1863: 194584
- [2] Marschalek R. Systematic classification of mixed-lineage leukemia fusion partners predicts additional cancer pathways. *Ann Lab Med*, 2016, 36: 85-100
- [3] Meyer C, Burmeister T, Gröger D, et al. The *MLL* recombinome of acute leukemias in 2017. *Leukemia*, 2018, 32: 273-84
- [4] Chan AKN, Chen CW. Rewiring the epigenetic networks in *MLL*-rearranged leukemias: epigenetic dysregulation and pharmacological interventions. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 81
- [5] Li X, Song Y. Structure, function and inhibition of critical protein-protein interactions involving mixed lineage leukemia 1 and its fusion oncoproteins. *J Hematol Oncol*, 2021, 14: 56
- [6] Zhao Z, Wang L, Volk AG, et al. Regulation of *MLL*/COMPASS stability through its proteolytic cleavage by *taspase1* as a possible approach for clinical therapy of leukemia. *Genes Dev*, 2019, 33: 61-74
- [7] 黎彦璟, 陈勇. 组蛋白甲基转移酶*MLL1*的结构与功能研究进展. *中国细胞生物学学报*, 2014, 36: 857-68
- [8] Wong SH, Goode DL, Iwasaki M, et al. The H3K4-methyl epigenome regulates leukemia stem cell oncogenic potential. *Cancer Cell*, 2015, 28: 198-209
- [9] Krivtsov AV, Armstrong SA. *MLL* translocations, histone modifications and leukaemia stem-cell development. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7: 823-33
- [10] Castelli G, Pelosi E, Testa U. Targeting histone methyltransferase and demethylase in acute myeloid leukemia therapy. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 131-55
- [11] Radtke I, Mullighan CG, Ishii M, et al. Genomic analysis reveals few genetic alterations in pediatric acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106: 12944-9
- [12] Valerio DG, Xu H, Chen CW, et al. Histone acetyltransferase activity of MOF is required for *MLL*-AF9 leukemogenesis. *Cancer Res*, 2017, 77: 1753-62
- [13] Shan X, Fung JJ, Kosaka A, et al. Correction: replication study: inhibition of BET recruitment to chromatin as an effective treatment for *MLL*-fusion leukaemia. *Elife*, 2018, 7: e34573
- [14] Saygin C, Carraway HE. Emerging therapies for acute myeloid leukemia. *J Hematol Oncol*, 2017, 10: 93
- [15] Vega-García N, Malatesta R, Estella C, et al. Paediatric patients with acute leukaemia and *KMT2A (MLL)* rearrangement show a distinctive expression pattern of histone deacetylases. *Br J Haematol*, 2018, 182: 542-53
- [16] Zhang J, Gao X, Yu L. Roles of histone deacetylases in acute myeloid leukemia with fusion proteins. *Front Oncol*, 2021, 11: 741746
- [17] Zhou L, Ruvolo VR, McQueen T, et al. HDAC inhibition by *SNDX-275 (Entinostat)* restores expression of silenced leukemia-associated transcription factors *Nur77* and *Nor1* and of key pro-apoptotic proteins in AML. *Leukemia*, 2013, 27: 1358-68
- [18] Wu D, Li M, Zhang L, et al. HDAC8 promotes *MLL*-rearranged acute myeloid leukemia by inhibiting p53 acetylation. *Blood*, 2019, 134: 642
- [19] Ye J, Zha J, Shi Y, et al. Co-inhibition of HDAC and *MLL*-menin interaction targets *MLL*-rearranged acute myeloid leukemia cells via disruption of DNA damage checkpoint and DNA repair. *Clin Epigenetics*, 2019, 11: 137
- [20] Secanechia YS, Lancrin C. MOF histone acetyltransferase in blood cell development. *Trends Genet*, 2020, 36: 632-4
- [21] Xiong Y, Zhang M, Li Y. Recent advances in the development of *CBP/p300* bromodomain inhibitors. *Curr Med Chem*, 2020, 27: 5583-98
- [22] Attar N, Kurdistani SK. Exploitation of *EP300* and *CREBBP* lysine acetyltransferases by cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2017, 7: a026534
- [23] Yokoyama A. Leukemogenesis via aberrant self-renewal by the *MLL/AEP*-mediated transcriptional activation system. *Cancer Sci*, 2021, 112: 3935-44
- [24] Pattabiraman DR, McGirr C, Shakhbazov K, et al. Interaction of *c-Myb* with *p300* is required for the induction of acute myeloid leukemia (AML) by human AML oncogenes. *Blood*, 2014, 123: 2682-90
- [25] Picaud S, Fedorov O, Thanasopoulou A, et al. Generation of a selective small molecule inhibitor of the *CBP/p300* bromodomain for leukemia therapy. *Cancer Res*, 2015, 75: 5106-19
- [26] Lasko LM, Jakob CG, Edalji RP, et al. Discovery of a selective catalytic *p300/CBP* inhibitor that targets lineage-specific tumours. *Nature*, 2017, 550: 128-32
- [27] Zuber J, Shi J, Wang E, et al. RNAi screen identifies *Brd4* as a therapeutic target in acute myeloid leukaemia. *Nature*, 2011, 478: 524-8
- [28] Hyun K, Jeon J, Park K, et al. Writing, erasing and reading histone lysine methylations. *Exp Mol Med*, 2017, 49: e324
- [29] Dhall A, Zee BM, Yan F, et al. Intersection of epigenetic and metabolic regulation of histone modifications in acute myeloid leukemia. *Front Oncol*, 2019, 9: 432
- [30] Sarno F, Nebbioso A, Altucci L. *DOT1L*: a key target in normal chromatin remodelling and in mixed-lineage leukaemia treatment. *Epigenetics*, 2020, 15: 439-53
- [31] Stein EM, Garcia-Manero G, Rizzieri DA, et al. The *DOT1L* inhibitor pinometostat reduces H3K79 methylation and has modest clinical activity in adult acute leukemia. *Blood*, 2018, 131: 2661-9
- [32] Basavapathruni A, Olhava EJ, Daigle SR, et al. Nonclinical pharmacokinetics and metabolism of *EPZ-5676*, a novel *DOT1L* histone methyltransferase inhibitor. *Biopharm Drug Dispos*, 2014, 35: 237-52

- [33] Karakaidos P, Verigos J, Magklara A. LSD1/KDM1A, a gate-keeper of cancer stemness and a promising therapeutic target. *Cancers*, 2019, 11: 1821
- [34] Magliulo D, Bernardi R, Messina S. Lysine-specific demethylase 1a as a promising target in acute myeloid leukemia. *Front Oncol*, 2018, 8: 255
- [35] Ryan L, Lawrence CK, Lakowski TM. Selective DOT1L, LSD1, and HDAC class I inhibitors reduce HOXA9 expression in MLL-AF9 rearranged leukemia cells, but dysregulate the expression of many histone-modifying enzymes. *J Proteome Res*, 2018, 17: 2657-67
- [36] Barth J, Abou-El-Ardat K, Dalic D, et al. LSD1 inhibition by tranlycypromine derivatives interferes with GF11-mediated repression of PU.1 target genes and induces differentiation in AML. *Leukemia*, 2019, 33: 1411-26
- [37] Maes T, Mascaró C, Tirapu I, et al. ORY-1001, a potent and selective covalent KDM1A inhibitor, for the treatment of acute leukemia. *Cancer Cell*, 2018, 33: 495-511.e12
- [38] Duan R, Du W, Guo W. EZH2: a novel target for cancer treatment. *J Hematol Oncol*, 2020, 13: 104
- [39] Takafumi S, Lucia K, Ronny N, et al. Loss of Ezh2 synergizes with JAK2-V617F in initiating myeloproliferative neoplasms and promoting myelofibrosis. *J Exp Med*, 2016, 213: 1479-96
- [40] Tobias N, Amit US, Michael JK, et al. Polycomb repressive complex 2 is required for MLL-AF9 leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 5028-33
- [41] Satomi T, Satoru M, Goro S, et al. Ezh2 augments leukemogenicity by reinforcing differentiation blockage in acute myeloid leukemia. *Blood*, 2012, 120: 1107-17
- [42] Rinke J, Chase A, Cross NCP, et al. EZH2 in myeloid malignancies. *Cells*, 2020, 9: 1639
- [43] Xu B, On DM, Ma A, et al. Selective inhibition of EZH2 and EZH1 enzymatic activity by a small molecule suppresses MLL-rearranged leukemia. *Blood*, 2015, 125: 346-57
- [44] Blanc RS, Richard S. Arginine methylation: the coming of age. *Mol Cell*, 2017, 65: 8-24
- [45] Al-Hamashi AA, Diaz K, Huang R. Non-histone arginine methylation by protein arginine methyltransferases. *Curr Protein Pept Sci*, 2020, 21: 699-712
- [46] Cheung N, Fung TK, Zeisig BB, et al. Targeting aberrant epigenetic networks mediated by PRMT1 and KDM4C in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*, 2016, 29: 32-48
- [47] Kaushik S, Liu F, Veazey KJ, et al. Genetic deletion or small-molecule inhibition of the arginine methyltransferase PRMT5 exhibit anti-tumoral activity in mouse models of MLL-rearranged AML. *Leukemia*, 2018, 32: 499-509
- [48] Secker KA, Keppeler H, Duerr-Stoerzer S, et al. Inhibition of DOT1L and PRMT5 promote synergistic anti-tumor activity in a human MLL leukemia model induced by CRISPR/Cas9. *Oncogene*, 2019, 38: 7181-95
- [49] Marsh DJ, Ma Y, Dickson KA. Histone monoubiquitination in chromatin remodelling: focus on the histone H2B interactome and cancer. *Cancers*, 2020, 12: 3462
- [50] Jeusset LMP, McManus KJ. Developing targeted therapies that exploit aberrant histone ubiquitination in cancer. *Cells*, 2019, 8: 165
- [51] Sethi G, Shanmugam MK, Arfuso F, et al. Role of RNF20 in cancer development and progression-a comprehensive review. *Biosci Rep*, 2018, 38: BSR20171287
- [52] Sharma A, Khan H, Singh TG, et al. Pharmacological modulation of ubiquitin-proteasome pathways in oncogenic signaling. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 11971
- [53] Garrido Castro P, van Roon EHJ, Pinhanços SS, et al. The HDAC inhibitor panobinostat (LBH589) exerts *in vivo* anti-leukaemic activity against MLL-rearranged acute lymphoblastic leukaemia and involves the RNF20/RNF40/WAC-H2B ubiquitination axis. *Leukemia*, 2018, 32: 323-31
- [54] Yuan J, Takeuchi M, Negishi M, et al. Bmi1 is essential for leukemic reprogramming of myeloid progenitor cells. *Leukemia*, 2011, 25: 1335-43
- [55] Nishida Y, Maeda A, Kim MJ, et al. The novel BMI-1 inhibitor PTC596 downregulates MCL-1 and induces p53-independent mitochondrial apoptosis in acute myeloid leukemia progenitor Cells. *Blood Cancer J*, 2017, 7: e527
- [56] Shi D, Ao L, Yu H, et al. Chromobox homolog 8 (CBX8) in human tumor carcinogenesis and prognosis: a pancancer analysis using multiple databases. *Front Genet*, 2021, 12: 745277
- [57] Ma RG, Zhang Y, Sun TT, et al. Epigenetic regulation by polycomb group complexes: focus on roles of CBX proteins. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2014, 15: 412-28
- [58] Tan J, Jones M, Koseki H, et al. CBX8, a polycomb group protein, is essential for MLL-AF9-induced leukemogenesis. *Cancer Cell*, 2011, 20: 563-75