

## EZH2 与神经胶质瘤的现状研究

王晓雪 王光明 丁跃明 潘云

**【摘要】** EZH2 是一种人类基因, 与果蝇 *zeste* 基因增强子同源, 属于 PcG (Polycomb group) 蛋白家族, 在多种肿瘤中高表达。目前研究认为 EZH2 是肿瘤发生、发展和转移中起重要作用的转录因子抑制基因, 有望成为肿瘤靶向治疗的理想新靶点。神经胶质瘤是发生于神经外胚层的肿瘤, 具有高发病率、高复发率、高病死率和低治愈率的特点, 故疗效不尽如人意。研究发现, EZH2 在神经胶质瘤中高表达; 在细胞水平的研究中, 利用 EZH2 基因沉默技术或者 EZH2 抑制剂可以抑制神经胶质瘤细胞的增殖, 因此以 EZH2 为靶点的治疗方法可能为临床神经胶质瘤治疗开辟新途径。本文就 EZH2 与神经胶质瘤的研究现状作一综述。

**【关键词】** 神经胶质瘤; EZH2; 靶点

**The research status between EZH2 and glioma** WANG Xiao-xue\*, WANG Guang-ming, DING Yue-ming, PAN Yun. \*Department of ENT, Affiliated Hospital of Dali College, Dali 671000, China  
Corresponding author: PAN Yun, Email: panyun09@163.com

**【Abstract】** EZH2 is a human gene, homologous with *Drosophila zeste* gene enhancer. It belongs to PcG (Polycomb group) protein family, and becomes the important epigenetic research object in recent years. EZH2 expresses highly in a variety of tumors such as breast cancer, prostate cancer, and glioma, and has been frequent studied currently as a transcription factor suppressor gene. Numerous studies have demonstrated that relationship between EZH2 and the occurrence, development of cancer, and EZH2 may become a new target for treating the glioma. Glioma is a cancer occurring in neuroectodermal tumor and originates from nerve stromal cells, with characteristics including high morbidity, high recurrence rate, high mortality and low cure. So the effect is not satisfactory. Many findings suggest that EZH2 is highly express in glioma, using EZH2 gene silencing technology can inhibit the proliferation of glioma cells at cell level, and therefore EZH2 as a target for clinical treatment methods may open new avenues for the treatment of glioma. In this paper, the researches status of EZH2 and glioma were reviewed.

**【Key words】** Glioma; Enhancer of *zeste* homolog2; Target

随着表观遗传学研究的不断深入, 人们逐渐意识到表观遗传变异对肿瘤的发生、发展、转移与预后具有重要影响。近年研究表明, EZH2 (enhancer of *zeste* homolog 2) 在多种肿瘤如乳腺癌、前列腺癌以及神经胶质瘤等中高表达, 是目前肿瘤研究中的重要研究对象<sup>[1]</sup>。神经胶质瘤, 是发生于神经外胚层的肿瘤, 起源于神经间质细胞。有相关研究证实, EZH2 在神经胶质瘤中高表达。本文就 EZH2 与神经胶质瘤的关系进行阐述。

### 一、EZH2 基因的发现、结构、功能及与肿瘤的关系

Chen 等<sup>[2]</sup>在 1996 年研究 Down 综合征时, 发现在致病基因位点附近有一段与果蝇 (*z*) 高度同源的序列, 命名为 EZH2, 将全长 cDNA 克隆后定位于染色体 21q22.2。1998 年 Cardoso 等<sup>[3]</sup>在对 EZH2 基因的基因组结构进行深入研究时, 却意外发现 EZH2 基因定位在人 7 号染色体 q35 区域, 而不是 21q22.2。

2003 年 Hillier 等<sup>[4]</sup>研究也得出了同种结果, 证实 EZH2 基因位于人染色体 7q35。EZH2 基因大小约 40 kb, 包含 20 个外显子, 开放读码框分布在 19 个外显子上, 外显子长度从 41~323 bp 不等; 内含子长度从 0.15~17.7 kb 不等; cDNA 全长 2.7 kb, 编码 613 个氨基酸的蛋白质。

EZH2 是一种人类基因, 与果蝇 *zeste* 基因增强子同源, 且属于 PcG (Polycomb group) 蛋白家族。PcG 蛋白家族是一组进化高度保守的基因调控因子, 通过对染色体的修饰作用而使同源异形基因维持沉默状态, 调节胚胎发育、组织发生、干细胞更新以及维持细胞的特性, 因而在生物胚胎发育过程中起到重要作用。在哺乳动物中, PcG 蛋白分为二个功能不同的多聚复合物, 即 Polycomb 抑制复合物 1 (PRC1) 和复合物 2 (PRC2)<sup>[6]</sup>。PRC1 包括癌基因 BMI、RING1、hPC1-3 (polycomb)、hPH1-3 (polyhomeotic) 和 YY1 (pleiohomeotic) 等。PRC2 包括 EZH2、EED、SU12、PHFI、组蛋白结合蛋白 RbAp46。EED 和 SU12 能够维持复合物的稳定性, 是 PRC2 复合物发挥催化作用的必要成分。

EZH2 具有转录抑制能力, 是 PcG 蛋白的核心成分<sup>[7]</sup>, 在

染色体的形成、基因表达调节和生长控制过程中均有涉及,因而具有多潜能性的特点。大量研究证明, EZH2 与肿瘤发生的关系尤为密切。癌症研究表明, EZH2 有助于多种肿瘤的发生和进展,如 B 细胞非霍奇金淋巴瘤、膀胱癌、恶性胶质瘤、前列腺腺黑色素瘤、乳腺癌等均有 EZH2 基因的高表达,与此同时,有多个基因的转录受到了抑制<sup>[8]</sup>。Cardoso 等<sup>[3]</sup>的研究中,5 例患有急性髓细胞白血病或骨髓增生异常综合征患者检测到了包括位于 EZH2 基因第 2 个内含子的标志物 D7S688 在内的等位基因缺失,表明 EZH2 基因定位于恶性骨髓疾病染色体中的关键区域,提示 EZH2 可能参与这些恶性疾病过程。Varambally 等<sup>[9]</sup>研究转移性前列腺癌的过程中发现 EZH2 mRNA 在癌组织中表达水平增高。随后, Kleer 等<sup>[10]</sup>研究发现乳腺癌肿瘤组织中 EZH2 蛋白表达水平与乳腺癌的侵袭性呈强相关,且其表达无论是在转录水平还是在蛋白水平都比正常乳腺上皮组织增高。Arisan 等<sup>[11]</sup>发现 EZH2 的表达与膀胱癌分期正相关,是肿瘤预后不良的指标。由此可以推断, EZH2 不仅与肿瘤的发生、发展有密切关系,还与肿瘤的复发、预后有关系,甚至可作为肿瘤预后的参考指标。

研究表明, EZH2 介导的组蛋白甲基化所致的基因沉默机制在肿瘤抑制因子的缺失中起作用<sup>[12]</sup>,而 EZH2 作为转录抑制因子通过抑制包括肿瘤抑制基因等多种靶基因而发挥作用。随着对 EZH2 结构和功能研究的不断深入,发现 EZH2 含有一个核心结构域,称为 SET 结构域,该结构域的完整性决定了 EZH2 能否进行转录抑制<sup>[13]</sup>。PRC2 复合物通过该结构域对核小体组蛋白 H3 赖氨酸位点 K27 (H3K27) 进行甲基化修饰,而 H3K27 甲基化后能够触发 PRC1 复合物成分在特定基因位点聚集,从而沉默目的基因,进而导致肿瘤的发生<sup>[14]</sup>。另外, Vire 等<sup>[15]</sup>研究表明, EZH2 和 EED 通过免疫沉淀法能够与人类全部 DNA 甲基转移酶 (DNMTs) 共沉淀,且沉默相关靶基因需要 EZH2 与 DNMTs 的共同参与,两者的合作可在不依赖 PRC1 复合物的情况下使靶基因沉默,从而导致肿瘤发生。而有大量实验结果表明组蛋白脱乙酰酶 HDACs 与 PRC2 二者短暂的相互作用也可以对体内某些转录酶起协调作用<sup>[9]</sup>。PRC2 与 1 型组蛋白脱乙酰酶 (HDAC1) 的相关反应也属于沉默机制的一部分。所以人们对 EZH2、HDACs 和 DNMTs 之间的相互关系产生一个新的观点,即三者所引领的三种不同类型的后天沉默机制均可导致肿瘤细胞中基因表达的控制异常。

## 二、EZH2 与神经胶质瘤

神经胶质瘤是发生于神经外胚层的肿瘤,来源于神经胶质细胞,亦称胶质细胞瘤,简称胶质瘤,或神经外胚层肿瘤或神经上皮肿瘤。根据其组织来源及生物学行为分为低级别胶质瘤,包括 I ~ II 级星形细胞瘤、毛细胞型及肥胖细胞型星形细胞瘤、纤维型及原浆型星形细胞瘤、少枝胶质瘤及神经节胶质瘤等,生存时间为 5 ~ 10 年,30% 病例有恶变的可能。高级别胶质瘤包括 III 级间变性星形细胞瘤、IV 级多形性胶质母细胞瘤、髓母细胞瘤等,神经胶质瘤的特点表现为“三高一低”,即:高发病率(占全部颅内肿瘤的 40% ~ 50%)、高复发率、高病死率和低治愈率,大部分肿瘤具有浸润性生长及恶性病变,手术即

使达到显微镜下和影像学全切,复发也难免。手术的治疗效果不甚理想,所以多采用手术治疗为主、术后辅以放射治疗或化学治疗的综合治疗手段。而放射治疗中的辐射可引起残余病灶的复发<sup>[16]</sup>,而化疗易导致机体耐受性的增强和严重的全身反应<sup>[17]</sup>。

为了提高神经胶质瘤的治疗效果,人们将目光投向了胶质瘤的分子发病机制上,并从中寻求治疗神经胶质瘤的新方法。Oldfield 于 1992 年首次采用基因治疗方法来治疗神经胶质瘤患者,并取得了一定疗效,使得基因治疗方法得到认同,并继续深入发展<sup>[18]</sup>。人们也逐渐将目光集中到参与肿瘤形成、发展的多种重要基因上,而 EZH2 作为其中之一备受瞩目。Smits 等<sup>[19]</sup>研究中将正常组织中 EZH2 的表达水平与各型胶质瘤细胞株中作比较,结果发现正常脑组织中 EZH2 不表达,但在多种胶质瘤细胞株内普遍高表达,其中以胶质瘤 U251 细胞株中表达最高。Orzan 等<sup>[20]</sup>研究结果显示, EZH2 蛋白在人神经胶质瘤组织中表达水平普遍增高,并随着胶质瘤的级别增高而升高,这表明 EZH2 基因的高表达与神经胶质瘤的发生和发展有密切联系。Wang 等<sup>[21]</sup>研究也证实了 EZH2 在神经胶质瘤中的高表达,同时也提出了沉默 EZH2 基因来治疗神经胶质瘤的观点。而这一观点给陷于困境中的神经胶质瘤的治疗带来了曙光。EZH2、HDACs 和 DNMTs 所引起的肿瘤抑制因子的后天沉默机制说明应用相关酶的抑制剂可作为潜在的治疗手段。Fiskus 等<sup>[22]</sup>研究表明在急性髓系白血病中联合应用全 HDAC 抑制 LBH589 和 DNMTs 抑制剂降低 DNMT1 和 EZH2 水平的作用比单独应用更强。而 EZH2 组蛋白甲基转移酶也是肿瘤治疗措施中一个重要的潜在靶点。迄今为止已知的最有效 PRC2 抑制剂是 deazaneplanocin (DZNep)<sup>[21]</sup>,已在膀胱癌和乳腺癌中得到效果肯定。它能够阻断 EZH2,抑制其所引起的甲基化,从而达到治疗肿瘤的作用,但 DZNep 应用于临床的安全性及是否还有其他的调控机制等仍待进一步研究探索。目前为止,上述药物能否应用到临床仍需大量实验和研究去证实。

另一方面,随着对基因沉默技术的研究日趋成熟,其已成为基因诊断、基因治疗的新技术。基因沉默技术机制是通过基因转移技术将人为构建的 RNA 导入宿主细胞,其目的是降解或者灭活靶基因的 mRNA,进而阻断靶基因的转录、蛋白的表达,导致目的基因沉默,从而降低肿瘤的恶性型,甚至可诱导肿瘤细胞的凋亡。如张嘉玲等<sup>[23]</sup>成功构建沉默 EZH2 基因表达的特异性 shRNA 细胞系,结果显示细胞增殖活性和侵袭能力均明显受到抑制。庞玉艳等<sup>[24]</sup>通过将含目的基因的 siRNA 转染入人肝癌 HepG2 细胞内来沉默 EZH2 基因的表达,实验结果显示转染后 48 h 癌细胞增殖开始表现出抑制趋势,并持续 48 h 以上;且 EZH2 mRNA 和蛋白表达均呈现明显下调趋势。随着 2005 年 Benand 等<sup>[25]</sup>研究发现 miRNA 可诱导胶质瘤细胞凋亡后,基因沉默技术治疗神经胶质瘤成为胶质瘤研究新热点。而 EZH2 作为目前肿瘤研究中的重要研究对象,则成为理想的靶基因。2011 年,林丽娜等<sup>[26]</sup>研究中筛选出靶向 EZH2 基因 3'-非翻译区的 miRNA,转染入 U87 胶质瘤细胞中,并检测荧光素酶活性,结果显示酶活性降低,miR-137 能抑制 EZH2 mRNA 和蛋白的表达。随后吕佳等<sup>[27]</sup>成功合成针对 EZH2 基因的重组质粒,并转

染入胶质瘤 U251 细胞, 利用实时荧光定量 PCR 和 Western blotting 在 mRNA 和蛋白质水平进行效果检测, 结果显示胶质瘤细胞的生长受到明显抑制, 转染 48 h 后, U251 细胞凋亡率较阴性质粒组和空白对照组均增加。

综上所述, EZH2 有望成为神经胶质瘤基因治疗的新靶点, 从而为提高神经胶质瘤的治愈率提供可能, 但仍需进一步进行相关研究, 为临床上基因治疗神经胶质瘤奠定坚实基础。

### 参 考 文 献

- [1] 朱静. EZH2 组蛋白甲基转移酶在肿瘤发生发展中的作用. 国际妇产科学杂志, 2011, 38: 415-418.
- [2] Chen H, Rossier C, Antonarakis SE. Cloning of a human homolog of the Drosophila enhancer of zeste gene (EZH2) that maps to chromosome 21q22. 2. Genomics, 1996, 38: 30.
- [3] Carlos Cardoso, Cecile Mignon, Gilles Hetet, et al. The human EZH2 gene: genomic organization and revised mapping in 7q35 within the critical region for malignant myeloid disorders. Eur J Hum Genetics, 2000, 8: 174.
- [4] Hillier LW, Fulton RS, Fulton LA, et al. The DNA Sequence of human chromosome 7. Nature, 2003, 424: 157.
- [5] Hobert O, Jallal B, Ullrich A. Interaction of Vav with ENX-1, a putative transcriptional regulator of bHLH gene expression. MCB, 1996, 16: 3066.
- [6] Levine SS, King IF, Kingston RE. Division of labor in polycomb group repression. Trends Biochem Sci, 2004, 29: 478-485.
- [7] Chase A, Cross NCP. Aberrations of EZH2 in cancer. Clin Cancer Res, 2011, 17: 2613-2618.
- [8] Rajasekhar VK, Beqemamann M. Concise Review: Role of polycomb Group Proteins in Development and Disease: A Stem Cell Perspective. Stem Cells, 2007, 25: 2498-2510.
- [9] Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, et al. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. Nature, 2002, 419: 624-629.
- [10] Kleer CG, Cao Q, Varambally S, et al. EZH2 is a marker of aggressive breast cancer and promotes neoplastic transformation of breast epithelial cells. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100: 11606-11611.
- [11] Arisan S, Buyuktuncer ED, Palavan-Unsal N, et al. Increased expression of EZH2, a polycomb group protein, in bladder carcinoma. Urol Int, 2005, 75: 252-257.
- [12] 祝宁侠, 陈海滨. EZH2 在胚胎干细胞和肿瘤方面的研究进展. 解剖科学进展, 2010, 16: 75-78.
- [13] Margueron R, Li G, Sarma K, et al. Ezh1 and Ezh2 maintain repressive chromatin through different mechanisms. Mol Cell, 2008, 32: 503-518.
- [14] McCabe MT, Brandes JC, Velino PM. Cancer DNA methylation: molecular mechanisms and clinical implications. Clin Cancer Res, 2009, 15: 3927-3937.
- [15] Vire E, Brenner C, Deplus R, et al. The Polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. Nature, 2006, 439: 871-874.
- [16] Partap S, Fisher PC. Update on new treatments and developments in childhood brain tumors. Curt Opin Pediatr, 2007, 19: 670.
- [17] Benesch M, Eder HG, Sovinz P, et al. Residual or recurrent cerebellar low-grade glioma in children after tumor resection: is re-treatment needed? A single center experience from 1983 to 2003. Pediatr Neurosurg, 2006, 42: 159-164.
- [18] 徐如祥. 神经胶质瘤基因治疗的现状与未来. 继续医学教育, 2006, 20: 31-33.
- [19] Smits M, Nilsson J, Mir SE, et al. miR-101 is down-regulated in glioblastoma resulting in EZH2-induced proliferation, migration, and angiogenesis. Oncotarget, 2010, 1: 710.
- [20] Orzan F, Pellegatta S, Poliani PL, et al. Enhancer of Zeste 2 (EZH2) is up-regulated in malignant gliomas and in glioma stem-like cells. Neuropathol Appl Neurobiol, 2011, 37: 381-394.
- [21] Wang C, Liu Z, Woo CW, et al. EZH2 Mediates epigenetic silencing of neuroblastoma suppressor genes CASZ1, CLU, RUNX3, and NGFR. Cancer Res, 2012, 72: 315-324.
- [22] Fiskus W, Wang Y, Sreekumar A, et al. Combined epigenetic therapy with the histone methyltransferase EZH2 inhibitor 3-deazaneplanocin A and the histone deacetylase inhibitor panobinostat against human AML cells. Blood, 2009, 114: 2733-2743.
- [23] 张嘉玲, 苏秀兰, 闫美荣, 等. shRNA 沉默 EZH2 表达对肺癌细胞增殖和侵袭能力的影响[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5: 5871-5874.
- [24] 庞玉艳, 冯震博, 李佳, 等. siRNA 干扰沉默 EZH2 基因对肝癌 HepG2 细胞增殖的影响. 山东医药, 2012, 52: 34-36.
- [25] Benard J, Douc-Rasy S. Micro-RNA and oncogenesis. BuU Cancer, 2005, 92: 757-762.
- [26] 林丽娜, 陈为, 王伟民, 等. miR-137 对 U87 胶质瘤细胞中 EZH2 表达和细胞增殖的影响. 中国微侵袭神经外科杂志, 2011, 16: 362-365.
- [27] 吕佳, 孙晓阳, 丁涟沭. EZH2 基因沉默对人脑胶质瘤 U251 细胞增殖和凋亡影响的研究. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19: 494-497.

(收稿日期: 2013-11-10)

(本文编辑: 郝锐)

王晓雪, 王光明, 丁跃明, 等. EZH2 与神经胶质瘤的现状研究 [J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7 (24): 11685-11687.