

# 生物医学研究院科研季刊

2020 年第 3 季度

复旦大学生物医学研究院编

2020 年 9 月 30 日

## 目 录

- 分子细胞生物学团队在《Cell Reports》揭示 Tet2-Zscan4f 复合物促进体细胞重编程新机制
- 桑庆/王磊团队发现人类卵子及胚胎发育异常致病新基因
- 周玉峰团队与合作者揭示长链非编码 RNA 在儿童哮喘中的调控新机制
- 分子细胞生物学团队揭示 ASXL1 突变促进白血病发生发展的新机制
- 表观遗传团队在《Science Advances》揭示组蛋白 H3.3 突变促进肿瘤发生的机制

### 分子细胞生物学团队在《Cell Reports》揭示 Tet2-Zscan4f 复合物促进体细胞重编程新机制

TET 家族 5-甲基胞嘧啶羟化酶包括了 TET1, TET2 和 TET3, 催化 DNA 5 位甲基胞嘧啶 (5mC) 的三步氧化反应, 最终实现胞嘧啶的去甲基化过程, 在基因组表观遗传调控中扮演重要角色。与多数表观遗传修饰酶类似, TET2 蛋白本身并不具备识别特定 DNA 序列的结构域, 那么 TET2 是如何被招募道染色质上并发挥生物学功能呢?

从转录因子 WT1 和去甲基化酶 TET2 在急性髓系白血病 (AML) 中存在突变互斥的遗传学现象, 复旦大学生物医学研究院分子细胞生物学团队 (简称“MCB 团队”) 发现 WT1 招募 TET2 到基因组特定区域, 行使其去甲基化酶功能, 决定 WT1 下游靶基因转录 (Wang et al. Mol Cell. 2015)。该论文被选为 Mol Cell 编辑推荐文章, 配发同期述评, 也被 Cancer discovery 编辑选为亮点文章。受这项工作的启发, MCB 团队构建了包含 1400 多个转录因子文库, 筛选并发现了除 WT1 之外的一批与 TET2 蛋白相互作用的转录调节因子, 包括转录因子、转录共激活子、蛋白结构域等。进一步研究发现, TET2 通过转录共激活子 SNIP1 与转录因子 c-MYC 结合, 三者形成三元复合物, 调控 c-MYC 下游靶基因转录, 影响 DNA 损伤应激和细胞凋亡, 为解析 TET2 参与维持基因组稳定性提供了新机制 (Chen et al. Cell Reports. 2018)。

近日, MCB 团队的研究成果发现 ZSCAN 蛋白能够通过其 SCAN 结构域与 TET2 蛋白相结合, 为理解 TET2 是如何被招募道染色质上并发挥生物学功能提供了新

的认识。2020年7月14日，相关成果以《Zscan4-Tet2 转录轴调控代谢及蛋白质稳态促进诱导性多能干细胞重编程》(The Zscan4-Tet2 Transcription Nexus Regulates Metabolic Rewiring and Enhances Proteostasis to Promote Reprogramming) 为题在线发表于 Cell Reports 杂志。

Cell Reports

CellPress  
OPEN ACCESS

Article

## The Zscan4-Tet2 Transcription Nexus Regulates Metabolic Rewiring and Enhances Proteostasis to Promote Reprogramming

Zhou-Li Cheng,<sup>1,2</sup> Meng-Li Zhang,<sup>1,3</sup> Huai-Peng Lin,<sup>4</sup> Chao Gao,<sup>1,2</sup> Jun-Bin Song,<sup>1,2</sup> Zhihong Zheng,<sup>5</sup> Linpeng Li,<sup>6</sup> Yanan Zhang,<sup>7</sup> Xiaoqi Shen,<sup>7</sup> Hao Zhang,<sup>8</sup> Zhenghui Huang,<sup>9</sup> Wuqiang Zhan,<sup>1,2</sup> Cheng Zhang,<sup>1,2</sup> Xu Hu,<sup>10</sup> Yi-Ping Sun,<sup>1,2</sup> Lubing Jiang,<sup>9</sup> Lei Sun,<sup>1,2</sup> Yanhui Xu,<sup>1,2</sup> Chen Yang,<sup>8</sup> Yuanlong Ge,<sup>11</sup> Yong Zhao,<sup>11</sup> Xingguo Liu,<sup>6</sup> Hui Yang,<sup>3</sup> Pengyuan Liu,<sup>12</sup> Xing Guo,<sup>7</sup> Kun-Liang Guan,<sup>13</sup> Yue Xiong,<sup>14</sup> Mingliang Zhang,<sup>10,\*</sup> and Dan Ye<sup>1,2,15,16,\*</sup>

<sup>1</sup>Huashan Hospital, Fudan University, and Molecular and Cell Biology Lab, the Shanghai Key Laboratory of Medical Epigenetics, Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University, and the Key Laboratory of Metabolism and Molecular, Ministry of Education, Shanghai, China

<sup>2</sup>The International Co-laboratory of Medical Epigenetics and Metabolism, Ministry of Science and Technology, Beijing, China

<sup>3</sup>Department of Neurosurgery, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

SCAN 结构域是一个高度保守的区域，主要发现在 C2H2 锌指结构域的 N 端，并特异地存在于脊椎动物中。但是，大部分 ZSCAN 家族成员的生物学功能尚不明了。在人的 SCAN 家族蛋白中一共包含有 57 个成员，而在小鼠的 SCAN 家族蛋白中包含有 43 个成员。以 ZSCAN 家族成员之一 Zscan4f 为例，复旦 MCB 团队研究发现 Tet2 蛋白能被 Zscan4f 招募到其靶基因的启动子区域，去除 DNA 甲基化并激活基因表达，刺激糖酵解途径和提高蛋白酶体活性，最终促进诱导性多能干细胞的重编程，丰富了我们对于 TET2 调控靶基因转录和发挥生物学功能的科学认知。鉴于众多 ZSCAN 蛋白能够与 TET2 蛋白相结合，该工作也为 ZSCAN 蛋白功能研究提供了全新研究思路。

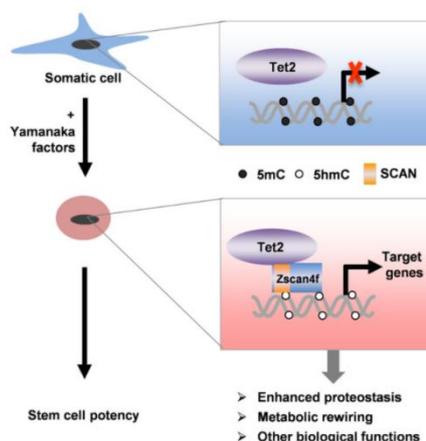


图1. Tet2-Zscan4f复合物参与调控靶基因转录和促进体细胞重编程

复旦大学博士程舟礼为本文第一作者；复旦大学生物医学研究院叶丹教授、上海交通大学医学院张明亮教授为共同通讯作者。该工作还得到了中国科学院广州生物医药与健康研究院刘兴国教授、中科院生化细胞所李劲松研究员、中国科学院上海巴斯德研究所江陆斌教授、浙江大学刘鹏渊教授和郭行教授等的大力支持。

## 桑庆/王磊团队发现人类卵子及胚胎发育异常致病新基因

2020年7月15日，复旦大学生物医学研究院桑庆副研究员、王磊教授，联合国内多家辅助生殖中心在 *Protein & Cell* 杂志上发表题为“*Biallelic mutations in CDC20 cause female infertility characterized by abnormalities in oocyte maturation and early embryonic development*”的研究成果。研究发现了导致人类卵子及胚胎发育异常的新突变基因 *CDC20*，并通过一系列体内/体外研究，揭示了 *CDC20* 突变导致卵子及胚胎发育异常的致病机制。同时针对携带突变患者卵子进行了非基因编辑的分子干预，逆转了疾病表型，并产生了基因组水平相对正常的囊胚（不具有大片段重复或缺失），为未来相关患者的干预治疗奠定了基础。

Protein Cell  
<https://doi.org/10.1007/s13238-020-00756-0>

Protein & Cell



LETTER

### **Biallelic mutations in *CDC20* cause female infertility characterized by abnormalities in oocyte maturation and early embryonic development**

在本研究中，团队成员首先在两个卵子 MI 期阻滞的近亲家系中发现了 *CDC20* 基因的不同纯合突变，随后通过全外显子测序方法，又在三个表现为受精障碍及早期胚胎停育的不孕家系中发现了三个 *CDC20* 复杂合突变（图 1），携带不同突变的患者表型存在多样性（图 1）。*CDC20*（细胞分裂周期蛋白 20）作为纺锤体组装检验点的重要靶向分子，已有众多研究发现其在有丝分裂以及减数分裂中均发挥重要作用。尽管 *CDC20* 作为一个热点基因，其生物学功能已被广泛研究，然而截至目前为止，并未有任何明确 *CDC20* 突变导致人类孟德尔遗传疾病的报道。

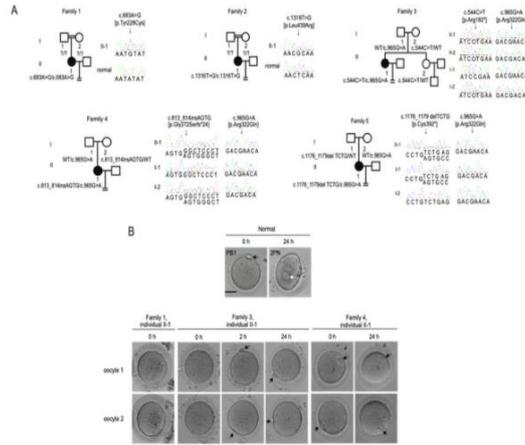


图1 卵子及胚胎发育异常的五个家系中发现CDC20基因不同纯合/复杂杂合突变

研究人员在细胞系及患者永生细胞中，发现突变导致 CDC20 蛋白表达降低以及蛋白截短，同时下游 cyclinB1 的异常积累，患者永生细胞系中突变同样导致蛋白表达降低（图 2）。小鼠卵子内，无义及移码突变影响 CDC20 的正常着丝粒定位。小鼠卵子内源敲降 Cdc20 会造成 MI 期阻滞，与野生型相比，突变型 cRNA 对小鼠卵子 MI 期阻滞表型回补能力显著降低（图 3）。以上均表明，突变会引起蛋白剂量降低、着丝粒定位丧失以及 MI 阻滞表型回补能力降低，导致突变后在减数分裂过程中无法正常发挥生理功能，最终导致卵子及胚胎发育异常。

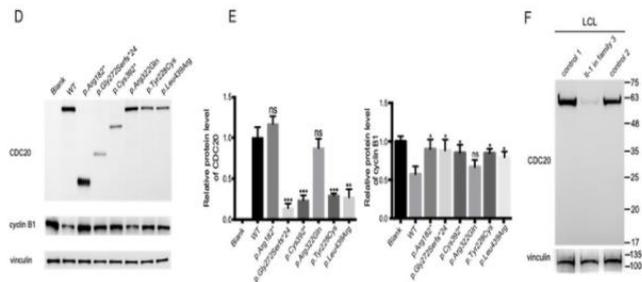


图2 在细胞系中发现突变导致CDC20蛋白截短、表达降低，下游cyclinB1异常积累；在患者永生细胞中，发现突变导致蛋白表达降低。

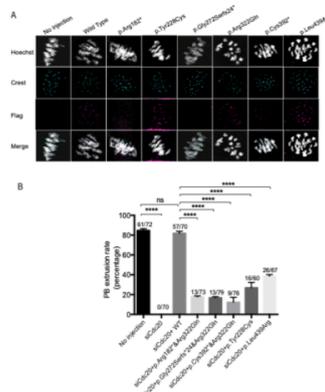


图3 在小鼠卵子中，无义及移码突变影响CDC20正常着丝粒定位。各纯合/复杂杂合突变导致对MI期阻滞回补能力显著降低。

此外，本研究还对其中两名突变患者的卵子体外注射一定剂量的野生型 CDC20 cRNA，该干预使两名患者卵子均可成功受精，部分受精卵发育至囊胚，对其中一枚进行胚胎植入前诊断发现其不存在大片段重复或缺失，表明得到的为基因组水平正常的囊胚（图 4），从而为相关患者的干预治疗奠定了基础。

据悉，桑庆副研究员及王磊教授为本论文的共同通讯作者，复旦大学生命科学学院博士赵琳，同济大学附属东方医院生殖中心薛松果、中南大学附属湘雅医院生殖医学中心姚仲元为共同第一作者，此外，上海交通大学附属第九人民医院匡延平团队、复旦大学附属妇产科医院集爱遗传与不育诊疗中心孙晓溪团队以及中科院巴斯德研究所梁小珍团队对该研究提供了大力支持。

近五年，复旦大学王磊、桑庆团队联合其他合作者共发现人类卵子成熟、受精及早期胚胎发育过程异常的 5 种新孟德尔遗传疾病及相关的 11 个致病基因，并明确了部分基因的致病机制。成果相继发表于 *N Engl J Med* (2016), *Sci Transl Med* (2019), *Am J Hum Genet* (2016, 2017, 2018, 2020a, 2020b), *Protein & Cell* (2020) 等。这些发现为相关患者的临床咨询及实现辅助生殖中的精准医学实践奠定了基础。

### 周玉峰团队与合作者揭示长链非编码 RNA 在儿童哮喘中的调控新机制

I 型糖尿病 (T1DM, 也称为胰岛素依赖型糖尿病) 是一种慢性自身免疫性疾病, 其临床表现可以发生在生命的任何时期; 患者胰岛素产生绝对不足, 需终身依赖外来胰岛素治疗。根据 2019 年国际糖尿病联盟 (International Diabetes Federation, IDF) 发表的第九版世界糖尿病地图, T1DM 发病率呈逐渐增长的趋势, 其中 10-14 岁患者是发病率最高的群体。2010-2013 年, 我国首次开展了 T1DM 登记注册研究, 与 20 年前 DIAMOND 调查结果相比, 15 岁以下儿童年发病率从 0.51 上升到 1.93/10 万人年, 增长约 3.8 倍。T1DM 严重影响了患者的生活质量, 使患者面临着多器官功能受累的风险和沉重的治疗负担。

在 T1DM 的发病过程中, 巨噬细胞是最早浸润胰岛的免疫细胞之一, 提示巨噬细胞在 T1DM 发病过程中发挥着重要作用。环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一类经反向剪接后、由 3' 末端和 5' 末端共价结合形成的环状非编码 RNA 分子。近年来, circRNA 已成为基因组中调控基因表达的研究新热点。然而目前 circRNA 对巨噬细胞活化的影响及在 T1DM 中的作用不清楚。近日, 我院周玉峰团队分别在 *Theranostics* 杂志和 *Frontiers in immunology* 杂志发表了题为 “Circular RNA circPPM1F modulates M1 macrophage activation and pancreatic islet inflammation in type 1 diabetes mellitus”, 和 “Hsa\_circ\_0060450 negatively regulates type I interferon-induced inflammation by serving as miR-199a-5p sponge in type 1 diabetes mellitus” 的文章, 首次揭示了 circRNA 在儿童 I 型糖尿病中的作用和调控机制。

## Circular RNA *circPPM1F* modulates M1 macrophage activation and pancreatic islet inflammation in type 1 diabetes mellitus

Caiyan Zhang<sup>1,2\*</sup>, Xiao Han<sup>1,2\*</sup>, Lan Yang<sup>1,2\*</sup>, Jinrong Fu<sup>1\*</sup>, Chengjun Sun<sup>3</sup>, Saihua Huang<sup>1,2</sup>, Wenfeng Xiao<sup>1,2</sup>, Yajing Gao<sup>1,2</sup>, Qiuyan Liang<sup>1,2</sup>, Xiang Wang<sup>1,2</sup>, Feihong Luo<sup>3</sup>, Wei Lu<sup>3</sup>, Yufeng Zhou<sup>1,2,3</sup>



### *Hsa\_circ\_0060450* Negatively Regulates Type I Interferon-Induced Inflammation by Serving as miR-199a-5p Sponge in Type 1 Diabetes Mellitus

Lan Yang<sup>1,2\*</sup>, Xiao Han<sup>1,2\*</sup>, Caiyan Zhang<sup>1,2\*</sup>, Chengjun Sun<sup>3\*</sup>, Saihua Huang<sup>1,2</sup>, Wenfeng Xiao<sup>1,2</sup>, Yajing Gao<sup>1,2</sup>, Qiuyan Liang<sup>1,2</sup>, Feihong Luo<sup>3</sup>, Wei Lu<sup>3</sup>, Jinrong Fu<sup>1\*</sup> and Yufeng Zhou<sup>1,2\*</sup>

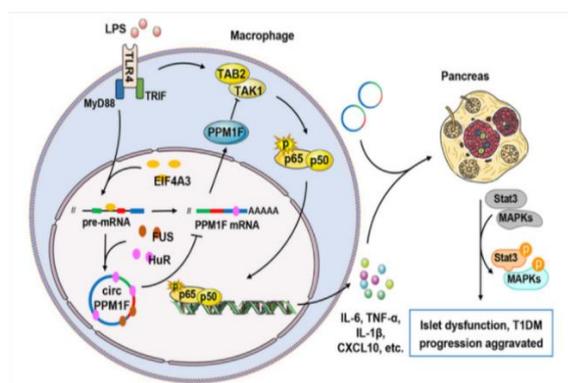
## OPEN ACCESS

Edited by:  
Menno de Wither, Amsterdam University Medical Center, Netherlands

<sup>1</sup>Institute of Pediatrics, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai Key Laboratory of Medical Epigenetics, International Co-laboratory of Medical Epigenetics and Metabolism, Ministry of Science and Technology, Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University, Shanghai, China, <sup>2</sup>National Health Commission (NHC) Key Laboratory of Neonatal Diseases, Fudan University, Shanghai, China, <sup>3</sup>Department of Pediatric Endocrinology and Inherited Metabolic Diseases, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai, China

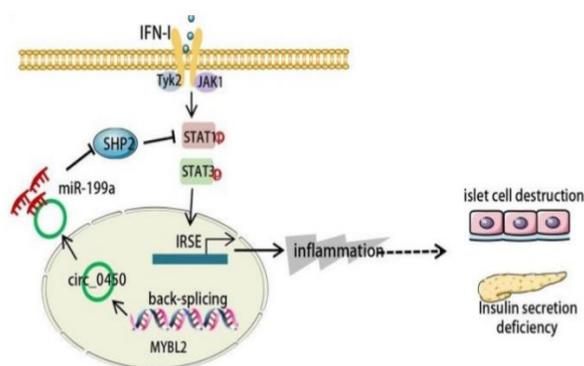
在 *Theranostics* 论文中，研究人员发现：（1）对儿童 T1DM 患者和正常儿童外周血单个核细胞（PBMC）进行环状 RNA 芯片表达谱（共 88371 条 circRNA）分析后，共有 58 个环状 RNA 呈现出差异表达的趋势。其中来源于 PPM1F 基因外显子的环状 RNA *circPPM1F* 在 T1DM 患者中明显高表达，并且 *circPPM1F* 的表达水平与 T1DM 患者血清中炎症因子 IL-6，IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的表达水平呈正相关。（2）通过分离人外周血 PBMC 中的 T、B 以及单核细胞，发现 *circPPM1F* 主要在单核细胞中表达。进一步的体外功能研究发现，在人的单核细胞 THP1 细胞系来源的巨噬细胞中，敲低 *circPPM1F* 能抑制 LPS-TLR4-NF- $\kappa$ B 信号通路的激活；相反，过表达 *circPPM1F* 能促进 LPS-TLR4-NF- $\kappa$ B 信号通路的激活，表明 *circPPM1F* 能促进 M1 型巨噬细胞活化。（3）机制研究表明：*circPPM1F* 主要定位于细胞核，通过与其母本基因 PPM1F 竞争性结合 HuR 蛋白，减少了 HuR 与 PPM1F 的结合，导致 PPM1F 这一蛋白磷酸酶的翻译能力下降，从而促进了 p65 的磷酸化及 NF- $\kappa$ B 通路的活化。（4）进一步发现 T1DM 患者中 EIF4A3 表达下调，FUS 表达上调，并且 *circPPM1F* 的生成受到 EIF4A3 和 FUS 的协调调控。（5）巨噬细胞与胰岛细胞体外共培养结果表明，*circPPM1F* 介导的 M1 型巨噬细胞活化可通过促进胰岛  $\beta$  细胞 MAPK 通路激活从而促进其凋亡过程。（6）最后，利用链脲菌素（streptozocin, STZ）诱导的 T1DM 小鼠模型，作者发现体内过表达 *circPPM1F* 加重了糖尿病小鼠的临床表型和胰岛损伤；进一步研究表明 *circPPM1F* 能够促进 M1 型巨噬细胞在胰岛的浸润，激活胰腺组织 MAPK 和 Stat3 信号通路，使胰腺细胞发生凋亡、氧化应激损伤和炎症反应。

据悉，复旦大学附属儿科医院博士研究生张彩艳、助理研究员韩晓、复旦大学生物医学研究院博士研究生杨兰和儿科医院付劲蓉主治医师为文章的第一作者；复旦大学生物医学研究院/附属儿科医院周玉峰研究员为文章的通讯作者。复旦大学附属儿科医院内分泌遗传代谢科主治医师孙成君、副主任医师陆炜、主任医师罗飞宏也对本研究做出了重要贡献。



在另一篇研究中，作者分析了另外一条在 T1DM 病人 PBMCs 样本中高表达的 circRNA hsa\_circ\_0060450 的功能和作用机制。后续的研究表明：细胞质中的 hsa\_circ\_0060450 可作为一种海绵状吸附体吸附 miR-199a-5p，使胞浆中游离的 miR-199a-5p 减少。而 miR-199a-5p 可通过靶向抑制磷酸化酶 SHP-2 的表达从而促进炎症反应。因此，hsa\_circ\_0060450 可通过增加 SHP-2 表达而抑制 I 型干扰素对巨噬细胞的活化和胰岛细胞的炎症损伤。揭示 hsa\_circ\_0060450 有可能成为 T1DM 治疗的分子药物。

据悉，复旦大学生物医学研究院博士研究生杨兰、复旦大学附属儿科医院助理研究员韩晓、博士研究生张彩艳和内分泌遗传代谢科孙成君主治医师为文章的第一作者；复旦大学附属儿科医院付劲蓉主治医师和生物医学研究院/儿科医院周玉峰研究员为文章的通讯作者。复旦大学附属儿科医院内分泌遗传代谢科副主任医师陆炜、主任医师罗飞宏也对本研究做出了重要贡献。

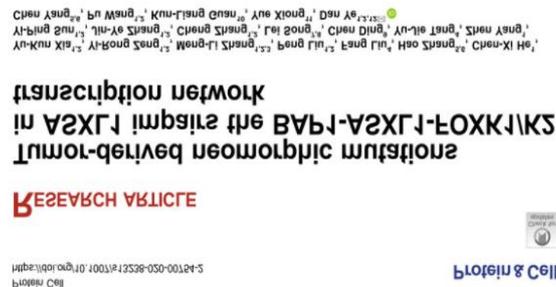


综上，两篇研究分别揭示了发挥促炎作用的 circPPM1F 和发挥抑炎作用的 hsa\_circ\_0060450 通过细胞核和细胞质两种不同的作用机制影响胰腺组织中 M1 型巨噬细胞活化进而参与 T1DM 发生发展的机理。从多角度阐明了 circRNA 在 T1DM 中的功能和分子机制，为今后 T1DM 的基础研究和临床治疗提供了新的思路。

## 分子细胞生物学团队揭示 ASXL1 突变促进白血病发生发展的新机制

ASXL1 (Additional sex combs-like) 与 BAP1 (BRCA1-associated protein 1) 组成的 PR-DUB 蛋白复合物是一类重要的表观遗传调控因子, 它通过催化组蛋白 H2AK119ub 的去单泛素化 (H2AK119ub1), 影响染色质凝缩状态和调控基因转录。已知 ASXL1 在多种髓系血液肿瘤中发生突变, 如骨髓增生异常综合征 (MDS)、骨髓增生性肿瘤 (MPN)、急性髓系白血病 (AML)、慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 等, 其突变往往发生在 ASXL1 第 12 个外显子附近, 导致该蛋白翻译过程的提前终止, 进而产生 ASXL1 缺失 C 端的截短型突变。近年来, 已有研究相继报道 C 端截短型 ASXL1 的突变蛋白能增强 BAP1 的去泛素化酶活性, 影响髓系造血细胞分化 (Balasubramani et al. Nat Commun. 2015); 还获得与 BET 家族中最重要的功能蛋白 BRD4 的结合能力, 影响组蛋白乙酰化水平, 导致 ASXL1 突变细胞对 BET 抑制剂类抗癌药物的敏感度增加 (Yang et al. Blood. 2018)。与众多表观遗传修饰酶类似, ASXL1 与 BAP1 均不具备识别特定 DNA 序列的蛋白结构域。那么, PR-DUB 蛋白复合物如何被招募到染色质上, 将 H2AK119ub1 等表观遗传信息传递并决定靶基因转录, 从而发挥其生物学功能?

近日, 复旦大学生物医学研究院分子细胞生物学团队 (简称“MCB 团队”) 回答了上述部分重要科学问题, 揭示了 ASXL1 突变促癌的新机理, 相关成果于 7 月 18 日以 “Tumor-derived neomorphic mutations in ASXL1 impairs the BAP1-ASXL1-FOXK1/K2 transcription network” 为题在线发表在 Protein & Cell 杂志上。



该研究主要发现: 1) 由 ASXL1 与 BAP1 构成的 PR-DUB 蛋白复合物, 通过与 FOXK1 和 FOXK2 等能识别特定 DNA 序列的转录因子结合, 进而被招募到基因组特定区域 (如基因启动子等), 降低该区域组蛋白 H2AK119ub1 水平, 转录激活下游靶基因, 如 *VHL*, *SOCS1/2*, *TXNIP* 等抑癌基因; 2) 在血液肿瘤中, C 端截短型 ASXL1 突变蛋白仍然结合 BAP1, 却完全丧失了与 FOXK1 和 FOXK2 蛋白的结合能力, 导致 ASXL1 突变体通过显性负性突变效应 (dominant-negative effect), 显著削弱 BAP1-ASXL1-FOXK1/K2 复合物的转录调控功能, 下调系列抑癌基因的表达, 进而调控葡萄糖代谢、缺氧感知、JAK-STAT 等肿瘤相关信号通路, 促进白血病细胞增殖、自我更新, 并抑制缺氧状态下的细胞凋亡。

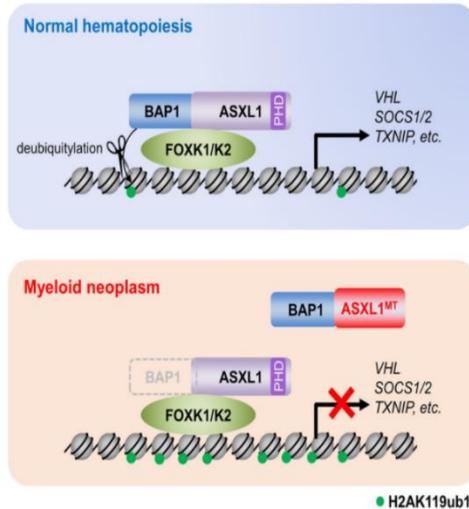


图1. 肿瘤来源ASXL1突变抑制BAP1-ASXL1-FOXK1/K2转录调控网络

事实上，除了 FOXK1 和 FOXK1 之外，ASXL1 和 BAP1 还分别与众多能识别特定 DNA 序列的转录因子结合，该工作丰富了我们对 PR-DUB 蛋白复合物决定下游靶基因转录的科学认知，也将为深入探讨 ASXL1 和 BAP1 突变如何调控肿瘤相关信号通路提供新的研究思路。

据悉，复旦大学博士夏玉坤、博士生曾伊蓉为本文共同第一作者，复旦大学生物医学研究院叶丹研究员为通讯作者。该工作还得到了复旦大学生命科学学院丁琛教授、复旦大学生物医学研究院杨桢副教授、中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所杨琛研究员、上海交通大学医学院唐玉杰教授的大力支持。

## 表观遗传团队在《Science Advances》揭示组蛋白 H3.3 突变促进肿瘤发生的机制

组蛋白 H3 是遗传物质的基本单位核小体的主要组成之一，其尾部含有多种组蛋白翻译后修饰，并且参与调控多种生物学过程。近年来，多个科研团队陆续在肿瘤组织中发现组蛋白 H3 上高频发性“驱动性突变”（Driver mutations）的存在，包括高级别少儿脑瘤中的 K27M 以及 G34R/V 突变，软骨细胞瘤中的 K36M 突变以及骨巨细胞瘤中的 G34W/L 突变等。

近日，复旦大学生物医学研究院郭睿副研究员与哈佛大学 Shi Yang 教授、St Jude 儿童研究医院 Suzanne J. Baker 教授等合作，发现并证明了染色质识别蛋白 RACK7 能够识别组蛋白 H3.3G34R 突变，并且抑制主要组织特异性抗原复合物（major histocompatibility complex, MHC）II 分子的产生以及细胞内转运过程，阐述了组蛋白 H3.3G34R 突变促进肿瘤发生的一种可能的分子生物学机制。7月17日，相关成果以“RACK7 recognizes H3.3G34R mutation to suppress expression of MHC class II complex components and their delivery

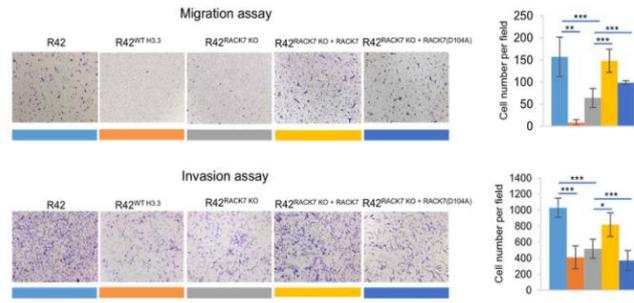
pathway in pediatric glioblastoma” 为题在线发表于 Science Advances 杂志上。



H3. 3G34R 突变主要发生在少儿胶质母细胞瘤(Glioblastoma multiforme , GBM)病人组织中,世界卫生组织 WHO 根据肿瘤的恶性程度将脑部肿瘤分为四级, GBM 属于恶性程度最高的 IV 级脑瘤, 它是最常见的实体脑瘤之一, 五年生存率不足 5%。H3. 3G34R 突变在脑瘤中的作用机制的研究对于 GBM 的治疗具有重要意义。

研究团队通过体外纯化重组蛋白,发现 RACK7 可以在体外特异性的识别含有 H3. 3G34R 突变的多肽以及重组核小体。并证明 RACK7 的 PHD 结构域是识别 H3. 3G34R 突变的关键结构域。随后, 研究团队从少儿胶质母细胞瘤中分离纯化培养得到含有 H3. 3G34R 突变的胶质母细胞瘤细胞系。在两例 H3. 3G34R 细胞系中 RACK7 均可以结合染色质, 而通过 CRISPR/Cas9 方法将 H3. 3G34R 突变更正为野生型 H3. 3 后, RACK7 对染色质的特异性识别显著降低。为了进一步验证 RACK7 与 H3. 3G34R 的关系, 研究团队发现将 H3. 3G34R 更正为 H3. 3 野生型或者敲除 RACK7 会造成相同基因的表达变化, 主要包括 MHC II 分子, 其伴侣蛋白 CD74, CIITA 以及囊泡相关基因。进一步分析发现是由于在 H3. 3G34R 细胞中 RACK7 识别 MHC II 分子的关键调控基因—CIITA 和囊泡基因染色质所致。MHC II 分子是 T 细胞调节细胞免疫过程的主要参与分子之一, 在抗原提呈细胞、小胶质细胞、神经干细胞等细胞中表达。新生成的 MHC II 分子在内质网上被组装之后, 通过多种囊泡结构, 依次转运加工直至插入细胞膜中, 被 CD4+ T 淋巴细胞所识别, 并参与免疫反应。该项研究表明 RACK7 与 H3. 3G34R 突变相互作用影响 MHC II 分子合成以及细胞内转运的整个过程。

除了抑制 MHC II 免疫应答过程, 研究团队还发现 RACK7 通过与组蛋白 H3. 3G34R 突变的相互作用, 可以在含有 H3. 3G34R 突变的肿瘤细胞中抑制细胞分化相关基因的表达。同时, 敲除 RACK7 或者将 H3. 3G34R 突变更正为野生型均可以降低肿瘤细胞的转移以及侵袭能力。这说明, H3. 3G34R 招募 RACK7 可以对少儿胶质母细胞瘤细胞的肿瘤特性产生影响。



RACK7敲除和将H3.3G34R突变为H3.3能够抑制细胞转移和侵袭

综上所述，该研究鉴定到组蛋白驱动性突变 H3.3G34R 的识别子 RACK7，并且在肿瘤组织中分离纯化得到的 H3.3G34R 细胞系中证明该相互作用。该研究首次指出 RACK7 在 H3.3G34R 的细胞中抑制 MHC Class II 体系免疫应答，维持 H3.3G34R 细胞的肿瘤特征。RACK7 可能成为含有 H3.3G34R 突变的这一类胶质母细胞瘤的治疗靶点。

据悉，该项研究第一作者为复旦大学生物医学研究院焦芳芳博士、李泽副研究员和郭睿副研究员，郭睿副研究员同时也是论文通讯作者。H3.3G34R 少儿胶质母细胞瘤细胞系由 St Jude 儿童研究医院 Suzanne J. Baker 教授课题组 Chen He 博士纯化分离完成。