

赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1 在肿瘤中的研究进展

孙 曼 综述, 生秀杰 审校

(广州医学院第三附属医院, 广东 广州 510150)

摘要:赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1(LSD1)是第一个被发现的组蛋白去甲基化酶,调控基因的转录和 p53 的活性,在多种肿瘤组织中高表达,与癌症的发生发展高度相关。全文对近年来 LSD1 在肿瘤中的最新研究进展进行综述。

关键词:组蛋白;甲基化;赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1(LSD1);肿瘤

中图分类号:R73 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2013)04-0292-04

Research Progress in Lysine Specific Demethylase 1 in Neoplasm

SUN Man, SHENG Xiu-jie

(The Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510150, China)

Abstract: Lysine specific demethylase 1(LSD1), the first discovered histone demethylase, plays an important role in the regulation of gene transcription and suppresses the activity of p53, and is overexpressed in various tumor tissues and highly relates to carcinogenesis. The new progress of LSD1 in neoplasm in recent years was reviewed.

Subject words: histone; methylation; lysine specific demethylase 1(LSD1); neoplasms

在真核细胞中, DNA 以染色质的形式存在, 核小体是染色质的基本组成单位, 每个核小体由 146bp 的 DNA 围绕组蛋白八聚体形成。组蛋白八聚体由两个 H2A、H2B、H3 和 H4 亚基组成, 每个核心组蛋白有一个折叠区和一个氨基末端结构域组成, 氨基末端可发生乙酰化、磷酸化、甲基化和泛素化等多种共价修饰, 继而影响染色质结构以及转录过程。一直以来组蛋白甲基化作用被认为是不可逆的, 直到 2004 年 Shi 等^[1]首次发现了赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1(lysine specific demethylase 1, LSD1), 改变了人们先前的观点。这种去甲基化酶的发现使组蛋白甲基化过程更具动态性, 为组蛋白修饰机制的深入研究提供了新的思路和方法, 极大地丰富了表观遗传学的内容。

LSD1 又名 KDM1、KIAA0601、AOF2、BHC110、

通讯作者: 生秀杰, 主任医师, 教授, 硕士生导师; 广州医学院第三附属医院妇产科, 广东省广州市荔湾区多宝路 63 号 (510150); E-mail: xjsheng@gzemail.cn。

收稿日期: 2012-09-03

p110b 和 NPAO, 是一种黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD)依赖的单胺氧化酶, 通过氨基氧化作用生成甲醛和去甲基化的赖氨酸残基, 达到去除甲基的目的^[1]。LSD1 具有多种染色质调节功能, 它能使得赖氨酸单甲基(me1)或双甲基(me2)去甲基, 可特异性作用于组蛋白 H3 第 4 位赖氨酸(histone H3 lysine 4, H3K4)位点, 抑制转录^[1]; 在雄激素受体(androgen receptor, AR)的招募下, 可作用于组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸(histone H3 lysine 9, H3K9)位点, 激活转录^[2]。LSD1 与癌症之间的潜在联系目前被理解为与多种肿瘤中 H3K4 的甲基化水平下降和 H3K9 水平上升的现象相关。有研究发现 LSD1 调控的靶标还有抑癌基因 p53, 它能使羧基末端第 370 位赖氨酸单甲基化(K370Me)和二甲基化(K370Me2)的 p53 去甲基化, 调控 p53 的生物学活性, 抑制 p53 信号途径的传递^[3]。LSD1 在肿瘤中的作用已成为研究的热点, 在表观遗传治疗的大好前景下, LSD1 越来越显示出它作为一个潜在治疗靶点

的优越性。

1 LSD1 与肿瘤

1.1 LSD1 与乳腺癌

核小体重塑及组蛋白去乙酰化(nucleosome remodeling and deacetylase, NuRD)复合体是一个多亚基的复合体,包括染色体重塑 ATP 酶部分和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)部分,广泛参与基因转录抑制。Wang 等^[4]利用 anti-FLAG 亲和层析联合质谱和免疫共沉淀等实验方法证明 LSD1 是 NuRD 复合体的一个亚基,揭示了组蛋白去甲基化和组蛋白去乙酰化这两种重要的组蛋白修饰在染色质重塑中相互协调作用的机制。Huang 等^[5]实验证实,联合使用 LSD1 和 HDACs 抑制剂后组蛋白 H3 第 4 位赖氨酸的双甲基化(H3K4me2)和组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸的乙酰化(acetylated histone 3 lysine 9, AcH3K9)水平升高,从而调控多种基因的表达,并且使乳腺癌细胞生长受抑制。由此认为,协同抑制 LSD1 和 HDACs 是一种新颖的表现遗传学抗肿瘤方法。

人类基因组中约 580 个启动子的激活与雌激素受体(estrogen receptor, ER)相关,这些启动子区域有 60%富含 LSD1。Garcia 等^[2]对乳腺癌细胞 MCF7 的进一步研究发现 LSD1 能活化 ER 调控基因的启动子,从而进一步调控下游基因的表达。Lim 等^[6]发现 LSD1 在 ER 阴性的乳腺癌组织中表达升高, LSD1 的抑制剂能够抑制乳腺癌细胞的生长, RNA 干扰敲除 LSD1 的表达后引起与增殖相关的基因 *p21*、*ErbB2* 和 *CCNA2* 表达改变。而此后 Pollock 等^[7]的研究发现, RNA 干扰敲除 LSD1 的表达与 LSD1 抑制剂能使 ER 阳性和 ER 阴性的乳腺癌细胞增殖均明显受抑制,即 LSD1 促进乳腺癌细胞增殖的功能跟 ER 状态无关。表明 LSD1 可能是不同类型乳腺癌治疗的共同潜在靶点,尤其对治疗手段选择少的 ER 阴性乳腺癌来说意义更大。

1.2 LSD1 与前列腺癌

前列腺癌与雄激素关系密切,临床上普遍应用内分泌治疗法阻断雄激素治疗晚期前列腺癌,然而大部分雄激素依赖性前列腺癌经过一段时间的治疗将进展为去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant

prostate cancer, CRPC),目前尚无有效治疗 CRPC 的方法。研究发现前列腺癌细胞与前列腺上皮细胞一样高表达 AR, LSD1 在 AR 的协同作用下,使 H3K9me1/2 去甲基化,增强 AR 依赖性基因的表达,促进前列腺肿瘤细胞增殖^[2]。Kahl 等^[8]发现在雄激素缺乏的情况下, LSD1 过表达依然能促进 AR 依赖的转录,认为 LSD1 可能广泛地调控基因表达且参与了前列腺癌的进展,对前列腺癌预后随访也发现 LSD1 的高表达与前列腺癌的高复发率和低生存率明显相关,提示 LSD1 是一个新的前列腺癌预后指标。Willmann 等^[9]发现选择性 LSD1 抑制剂 Namoline 能够削弱 LSD1 去甲基化功能,抑制前列腺癌细胞 LNCaP 增殖;动物实验也证实抑制 LSD1 能够抑制裸鼠移植瘤生长。表明 LSD1 可作为一种新型的前列腺癌治疗靶标。

1.3 LSD1 与神经母细胞瘤

在体内, LSD1 存在于细胞中 HDAC 复合物中,该复合物含有 CoREST、BHC80、HDA1/2 和 BRAF35 等,其中以 REST 辅助蛋白(CoREST)作为桥梁连接 HDACs 去乙酰化和 LSD1 去甲基化这两种不同的组蛋白修饰酶活性^[10]。神经元限制性沉默因子(repressor element silencing transcription factor, REST)与某些基因中相应的神经元限制沉默原件(repressor element, RE-1)相结合使组蛋白发生去乙酰化,抑制转录,从而关闭相关神经元分化基因^[11]。LSD1 与 CoREST 复合物相互作用,提示 LSD1 的过表达可能抑制神经元的分化。Schulte 等^[12]研究发现 LSD1 的表达与神经母细胞瘤预后和分化程度呈明显负相关,分化程度越低 LSD1 表达越高,全反式维甲酸诱导 SH-SY5Y 细胞分化后 LSD1 表达降低。小分子干扰 RNA 沉默 LSD1 表达与 LSD1 抑制剂使 H3K4 甲基化水平升高、分化相关基因表达增加和癌细胞生长减慢。体外成瘤实验也证实抑制 LSD1 能够抑制神经母细胞瘤移植瘤生长。因此认为,抑制 LSD1 能够改变神经母细胞瘤的转录程序并抑制瘤生长,从而为神经母细胞瘤治疗提供了一个新的治疗靶标。

1.4 LSD1 与结肠癌

研究发现抑制 LSD1 的表达后在结肠癌发生发展中沉默的基因会重新表达, LSD1 参与调控结肠癌发生发展相关的基因^[13]。Huang 等^[14]对结肠癌细胞

HCT116 的研究发现,使用 LSD1 剂抑制后抑癌基因 *SFRP* 会重新表达,联合使用 LSD1 抑制剂与 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)抑制剂能够明显诱导沉默的抑癌基因 *SFRP2* 的重新表达,体外动物实验也显示联合使用二者的抑制剂能够明显抑制肿瘤的生长。表明联合使用 LSD1 和 DNMT 抑制剂是一个非常具有前途的治疗结肠癌的表现遗传学方法。Clements 等^[15]研究发现 DNMT1 并非通过其催化活性中心来调控基因的表达,而是通过与组蛋白修饰酶的相互作用。进一步实验结果显示, DNMT1 招募 LSD1 作用于其靶基因启动子抑制靶基因的表达。这与之前的研究结果相符,进一步表明 LSD1 作为一种组蛋白修饰酶参与对基因的调控,参与肿瘤的发生和发展,是一种新型抗肿瘤作用的靶标。

1.5 LSD1 与白血病

TAL1/SCL 是碱性螺旋—环—螺旋(bHLH)转录因子家族中的一员,具有造血功能特异性,在红细胞的末端分化过程中起着重要的调控作用,而 TAL1/SCL 在 T 细胞发育过程中的异常表达会导致 T 细胞急性淋巴细胞白血病的发生^[16]。GFI1b(growth factor independence 1b)是红系、巨系生成和分化过程中的一种必需转录因子^[17],GFI1b 的异常表达与急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia, AML)发生密切相关^[18]。近期研究表明 TAL1/SCL 和 GFI1b 能够招募 LSD1/HDAC1 复合物作用于靶基因启动子从而抑制转录^[19,20],下调 LSD1 的表达能够使受抑制的基因重新表达^[21],另有研究发现 LSD1 与 *MLL-AF9* 融合基因协同作用能够促进白血病的发生,抑制白血病细胞分化和凋亡^[22]。表明 LSD1 与白血病发生发展相关,是一种潜在的白血病治疗靶标。全反式维甲酸(all trans retinoic acid, ATRA)是急性早幼粒细胞白血病的临床首选药物,但对其他 AML 没有效果。Schenk 等^[23]认为 AML 对 ATRA 不起反应可能是因为 ATRA 作用的基因关闭,其研究发现使用 LSD1 抑制剂反苯环丙胺(tranylcypromine, TCP)可以开启 ATRA 作用的基因,使癌细胞对 ATRA 敏感,并且使髓细胞分化相关基因表达上调。动物实验也显示 ATRA+TCP 联合使用有着强大的抗白血病效果。表明 LSD1 可作为白血病的治疗靶标,联合使用 ATRA+TCP 是一个非常具有前途的适用于治疗多种白血病的方法。

1.6 其他肿瘤

Schildhaus 等^[24]分析 468 个间叶性肿瘤组织发现 LSD1 在尤文氏肉瘤、横纹肌肉瘤等恶性软组织肉瘤中高表达, LSD1 抑制剂能够抑制尤文氏肉瘤细胞生长。Lv 等^[25]研究发现 LSD1 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中高表达,患者总体生存率与 LSD1 的表达呈负相关,体外实验证实 LSD1 促进肺癌细胞增殖、侵袭和转移。表明 LSD1 是一种新型的肿瘤诊断指标和治疗靶点。

2 结 语

HDACs 已成为抗肿瘤作用的重要靶点, LSD1 在多种肿瘤组织高表达, RNA 干扰沉默 LSD1 的表达能抑制癌细胞增殖,使得 LSD1 作为一种组蛋白修饰酶有望与 HDACs 一样成为癌症治疗药物开发的靶蛋白。Wang 等^[26]研究发现合成的 LSD1 抑制物 CBB1003 与 CBB1007 能够选择性地抑制恶性生殖细胞瘤,如畸胎瘤、胚胎瘤、精原细胞瘤、绒毛膜瘤和卵黄囊瘤,表明 LSD1 抑制剂具有潜在的临床应用价值,是癌症治疗药物开发的新方向。LSD1 通过调节转录影响相关基因的表达,继而调控肿瘤的发生与发展,但是其具体作用的分子机制尚不明确,仍需要进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] Shi Y, Lan F, Matson C, et al. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1[J]. Cell, 2004, 119 (7): 941-953.
- [2] Garcia-Bassets I, Kwon YS, Telese P, et al. Histone methylation-dependent mechanisms impose ligand dependency for gene activation by nuclear receptors [J]. Cell, 2007, 128 (3): 505-518.
- [3] Huang J, Sengupta R, Espejo AB, et al. p53 is regulated by the lysine demethylase LSD1[J]. Nature, 2007, 449 (7158): 105-108.
- [4] Wang Y, Zhang H, Chen Y, et al. LSD1 is a subunit of the NuRD complex and targets the metastasis programs in breast cancer[J]. Cell, 2009, 138 (4): 660-672.
- [5] Huang Y, Vasilatos SN, Boric L, et al. Inhibitors of histone demethylation and histone deacetylation cooperate in regulating gene expression and inhibiting growth in human breast cancer cells[J]. Breast Cancer Res Treat, 2012, 131

- (3):777–789.
- [6] Lim S, Janzer A, Becker A, et al. Lysine-specific demethylase 1 (LSD1) is highly expressed in ER-negative breast cancers and a biomarker predicting aggressive biology[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(3):512–520.
 - [7] Pollock JA, Larrea MD, Jasper JS, et al. Lysine-specific histone demethylase 1 inhibitors control breast cancer proliferation in ER α -dependent and -independent manners[J]. *ACS Chem Biol*, 2012, 7(7):1221–1231.
 - [8] Kahl P, Gullotti L, Heukamp LC, et al. Androgen receptor coactivators lysine-specific histone demethylase 1 and four and a half LIM domain protein 2 predict risk of prostate cancer recurrence [J]. *Cancer Res*, 2006, 66 (23):11341–11347.
 - [9] Willmann D, Lim S, Wetzel S, et al. Impairment of prostate cancer cell growth by a selective and reversible lysine-specific demethylase 1 inhibitor [J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(11):2704–2709.
 - [10] Ouyang J, Shi Y, Valin A, et al. Direct binding of CoREST1 to SUMO-2/3 contributes to gene-specific repression by the LSD1/CoREST1/HDAC complex [J]. *Mol Cell*, 2009, 34(2):145–154.
 - [11] Aoki H, Hara A, Era T, et al. Genetic ablation of rest leads to in vitro-specific derepression of neuronal genes during neurogenesis[J]. *Development*, 2012, 139(4):667–677.
 - [12] Schulte JH, Lim S, Schramm A, et al. Lysine-specific demethylase 1 is strongly expressed in poorly differentiated neuroblastoma: implications for therapy[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(5):2065–2071.
 - [13] Huang Y, Greene E, Murray Stewart T, et al. Inhibition of lysine-specific demethylase 1 by polyamine analogues results in reexpression of aberrantly silenced genes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(19):8023–8028.
 - [14] Huang Y, Stewart TM, Wu Y, et al. Novel oligoamine analogues inhibit lysine-specific demethylase 1 and induce reexpression of epigenetically silenced genes [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(23):7217–7228.
 - [15] Clements EG, Mohammad HP, Leadem BR, et al. DNMT1 modulates gene expression without its catalytic activity partially through its interactions with histone-modifying enzymes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(10):4334–4346.
 - [16] Kassouf MT, Chagraoui H, Vyas P, et al. Differential use of SCL/TAL-1 DNA-binding domain in developmental hematopoiesis[J]. *Blood*, 2008, 112(4):1056–1067.
 - [17] Randrianarison-Huetz V, Laurent B, Bardet V, et al. Gfi-1B controls human erythroid and megakaryocytic differentiation by regulating TGF- β signaling at the bipotent erythro-megakaryocytic progenitor stage [J]. *Blood*, 2010, 115(14):2784–2795.
 - [18] Dührsen U, Möry T. Growth factor independent 1b (Gfi1b) and a new splice variant of Gfi1b are highly expressed in patients with acute and chronic leukemia[J]. *Int J Hematol*, 2009, 89(4):422–430.
 - [19] Li Y, Deng C, Hu X, et al. Dynamic interaction between TAL1 oncoprotein and LSD1 regulates TAL1 function in hematopoiesis and leukemogenesis [J]. *Oncogene*, 2012. [Epub ahead of print]
 - [20] Laurent B, Randrianarison-Huetz V, Frisan E, et al. A short Gfi-1B isoform controls erythroid differentiation by recruiting the LSD1-CoREST complex through the dimethylation of its SNAG domain [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(Pt 4):993–1002.
 - [21] Hu X, Li X, Valverde K, et al. LSD1-mediated epigenetic modification is required for TAL1 function and hematopoiesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(25):10141–10146.
 - [22] Harris WJ, Huang X, Lynch JT, et al. The histone demethylase KDM1A sustains the oncogenic potential of MLL-AF9 leukemia stem cells [J]. *Cancer Cell*, 2012, 21(4):473–487.
 - [23] Schenk T, Chen WC, Göllner S, et al. Inhibition of the LSD1 (KDM1A) demethylase reactivates the all-trans-retinoic acid differentiation pathway in acute myeloid leukemia[J]. *Nat Med*, 2012, 18(4):605–611.
 - [24] Schildhaus HU, Riegel R, Hartmann W, et al. Lysine-specific demethylase 1 is highly expressed in solitary fibrous tumors, synovial sarcomas, rhabdomyosarcomas, desmoplastic small round cell tumors, and malignant peripheral nerve sheath tumors[J]. *Hum Pathol*, 2011, 42(11):1667–1675.
 - [25] Lv T, Yuan D, Miao X, et al. Over-expression of LSD1 promotes proliferation, migration and invasion in non-small cell lung cancer[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e35065.
 - [26] Wang J, Lu F, Ren Q, et al. Novel histone demethylase LSD1 inhibitors selectively target cancer cells with pluripotent stem cell properties [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(23):7238–7249.