

Progress on EZH2 and Primary Ciliogenesis in Tumor Cells

Feifei Yu Lan Gao*

School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu, 730000, China

Abstract

Enhancer of Zeste homolog 2(EZH2) is an important methyltransferase and an important member of the PGCs gene family. As the core catalytic subunit, EZH2 participates in the formation of multi-comb inhibitory complex 2, which is involved in the occurrence and development of tumors by regulating transcriptional activity. As a kind of microtubule-based organelle, the abnormal structure and function of primary cilia often affect the proliferation, invasion and treatment sensitivity of tumor cells. The paper elaborates on the respective roles of the two in the occurrence and development of tumors, further exploring whether there is a combined effect of the two in the occurrence and development of tumors, and providing a certain reference basis for targeted therapy of tumors.

Keywords

EZH2; primary cilia; cancer treatment

EZH2 与肿瘤细胞初级纤毛发生的研究进展

余斐斐 高岚*

兰州大学生命科学学院, 中国·甘肃 兰州 730000

摘要

Zeste基因增强子同源物2 (enhancer of Zeste homolog 2, EZH2) 是一种重要的甲基转移酶, 是PGCs基因家族的重要成员之一。EZH2作为核心催化亚基参与构成多梳抑制复合物2, 以调控转录活性的方式参与肿瘤的发生与发展。初级纤毛作为一种以微管为基础的细胞器, 其结构和功能的异常往往也会影响肿瘤细胞的增殖, 侵袭与治疗敏感性。论文通过阐述两者分别在肿瘤发生发展中的作用, 进一步探讨二者在肿瘤的发生发展中是否存在联合作用, 以及为肿瘤的靶向治疗提供一定参考依据。

关键词

EZH2; 初级纤毛; 肿瘤治疗

1 引言

纤毛是由基体发出的一种位于细胞表面的特殊细胞器, 纤毛可分为初级纤毛 (Primary cilia) 与运动型纤毛 (kinocilia), 节点纤毛 (Node cilia) 三种^[1]。初级纤毛通常位于细胞表面接收与传递胞外信号, 对于某些恶性肿瘤的发生与发展起着重要的调控作用。EZH2 作为一种甲基转移酶, 在恶性肿瘤中往往过表达和突变, 是肿瘤治疗的热门靶点同时已有研究表明 EZH2 与初级纤毛在肿瘤的发生中存在着一定关系^[2,3]。论文综述了近年来 EZH2 通过恶性肿瘤细胞治疗靶点的调控机制加以结合初级纤毛调控恶性肿瘤细胞机制的研究进展, 为 EZH2 调控初级纤毛进而影响肿瘤细胞的发生与发展提供以及恶性肿瘤的治疗提供一定的参考依据。

【作者简介】 余斐斐 (1999-), 男, 中国甘肃平凉人, 在读硕士, 从事发育生物学研究。

【通讯作者】 高岚 (1965-), 女, 满族, 中国甘肃兰州人, 博士, 教授, 从事发育生物学研究。

2 初级纤毛

2.1 初级纤毛的结构与功能

初级纤毛 (Primary cilia) 是位于大多数脊椎动物细胞表面的一种以微管为基础的细胞器, 主要由基体 (Basal body), 纤毛膜 (Ciliary Membrane), 过渡区 (transition zone TZ), 纤毛轴丝 (Axoneme) 几部分构成^[1,4,5]。初级纤毛作为细胞的“天线”, 主要负责接收和传导胞外信号, 初级纤毛的纤毛膜上有着多种信号通路的受体参与调节细胞内的多种生理过程, 维持细胞内环境的稳定, 如 Hedgehog 信号通路、Wnt 信号通路、mTOR 信号通路^[5-8]。脊椎动物的光感受器及嗅觉也由初级纤毛参与形成, 除此之外初级纤毛作为一种感受器, 也能感知光, 机械能, 渗透压等的变化。因此初级纤毛的发生及功能异常可导致多囊性肾病^[9], 原发性睫状体运动障碍^[10]以及脑神经细胞初级纤毛功能异常所导致的 Joubert 综合征^[11]等多种人类遗传性疾病的发生, 并把这一类型的疾病一般统称“纤毛病”^[10]。所以说初级纤毛的基本结构是它发挥功能的核心, 作为一种特殊的细胞器。初级纤毛异常可导致细胞内多个信号通路的异常

以及细胞功能的异常。初级纤毛与机体生长的发育存在着密切联系^[11]。

2.2 初级纤毛与肿瘤的发生和治疗

2.2.1 初级纤毛的发生

初级纤毛的发生是一个紧密有序的过程，大多数纤毛的发生为胞内组装（intracellular pathway），其开始于G0/G1期，在进入有丝分裂期时，纤毛则开始解体^[12]。纤毛的发生大体可分为四个阶段，从高尔基体上分离出来的膜泡形成中性粒膜泡（centriolar vesicle）会覆盖在成熟的母中性粒的顶端，这时相当于初级纤毛发生的开关蛋白CP110和Cep97会从母中性粒的顶端移除。之后母中性粒开始延伸并获取成为基体所需的附属结构。随着更多的膜泡不断融合，中性粒膜泡形成次级中性粒膜泡（secondary centriolar vesicle）。母中心粒和次级中性粒膜泡开始向细胞质膜下迁移，之后锚定在细胞质膜下，次级中性粒膜泡与质膜融合，之后在鞭毛内运输系统（IFT）的进一步装配下形成初级纤毛。

2.2.2 初级纤毛与肿瘤的发生

初级纤毛作为一种膜性细胞器，参与了多种与肿瘤发生密切的信号通路，所以它发生以及功能的异常除了会导致遗传性疾病的发生外，往往还与恶性肿瘤的发生密切相关。目前在各系统不同恶性肿瘤中也已发现初级纤毛某些结构蛋白的异常以及信号通路的异常激活能够影响肿瘤细胞的增殖，迁移与治疗抵抗，其中涉及的机制也较为复杂^[13]。在脑部肿瘤中神经胶质瘤是最为常见的肿瘤，而胶质母细胞瘤（Glioblastoma GBM）是高度恶性的脑胶质瘤^[14]，A. Mathue等人发现当细胞周期蛋白依赖性激酶CDK20过表达后会促进原发性纤毛丢失从而导致U-251 MG细胞系中的胶质母细胞瘤增殖；当CDK20缺乏时，细胞的生长被抑制，随后恢复了纤毛发生。同时Loskutov等人研究发现星型胶质细胞作为胶质母细胞瘤起源类型的一种细胞，溶血磷脂酸受体1（LPA1）在正常人类星型胶质细胞中大量存在，但会被初级纤毛所抑制导致其无法与质膜上的效应分子相结合，但在缺少初级纤毛的永生化人星型胶质细胞中，激活溶血磷脂酸受体1（LPA1）信号通路，可以刺激永生化人星型胶质细胞增殖，在GBM小鼠模型中使用了小分子抑制剂来抑制LAP信号后，发现能够一定程度上限制颅内胶质母细胞瘤的生长。同时也说明了初级纤毛的发生与胶质母细胞瘤的增殖密切相关^[15]。

2.2.3 初级纤毛与肿瘤的治疗

初级纤毛除了能够影响肿瘤细胞的增殖与分化，还能够影响肿瘤细胞对于治疗方法的敏感性。针对初级纤毛也作为肿瘤治疗的靶点的研究将来临床上发现新的预防机制和治疗靶点是具有重要意义。近年来随着纤毛作为肿瘤治疗靶点研究主要集中在纤毛长短以及纤毛发生率高低去影响肿瘤细胞的耐药性与放疗敏感性^[16]。KIF7现已证明它的失活可以

增加纤毛的长度^[17]，马伟^[18]等人通过研究来自同一神经胶质瘤患者两种不同细胞系M059K和M059J发现，纤毛发生率较高的M059J细胞相比于纤毛发生率较低的M059K细胞，M059K细胞对于碳离子束和X-射线的敏感性要明显强于M059J细胞。组蛋白乙酰基转移酶（HAT）它可以通过诱导乙酰化来降低靶基因的表达水平。而HDAC6是一种脱乙酰基酶，它可以通过去除组蛋白中的乙酰基从而恢复通过乙酰化被降低的靶基因水平。HAT与HDAC6之间的动态平衡也影响着某些原癌基因与抑癌基因之间的平衡^[19,20]。

3 EZH2 概述

3.1 EZH2 结构与作用机制

EZH2全称Zeste基因增强子同源物2（enhancer of Zeste homolog 2）^[2]，其定位于第七条染色体长臂3区5带，含有20个外显子，19个内含子^[3]，是（Polycomb Group Genes PGCs）基因家族的重要成员之一，作为一种表观遗传调控的重要因子参与转录的调控。EZH2与PGCs家族的其他成员EED（embryonic ectoderm development，胚胎外胚层发育蛋白）和SUZ12（suppressor of zeste 12 homolog，zeste 12同源物抑制因子2）以及组蛋白结合蛋白RBBP4或RBBP7结合并与各种其他辅助因子相互作用，共同构成了多梳蛋白抑制复合物2（Polycomb repressive complexes 2，PRC2）^[21,22]，PRC2往往会在翻译后修饰组蛋白，它可以使组蛋白H3在赖氨酸27上的三甲基化（H3K27me3）。同时，这个标记可以招募PRC1，它将结合并促进染色质结构的改变从而调控基因沉默^[3]。

3.2 EZH2 与肿瘤细胞的发生

EZH2调控肿瘤细胞的发生与初级纤毛类似，根据肿瘤类型以及发生情况的不相同导致了EZH2虽然作为一个肿瘤治疗的靶点基因能在肿瘤的发生发展的过程中起着促进的作用，但已有研究发现EZH2也存在抑制肿瘤的作用^[3]。EZH2的致癌功能已被广泛报道，近代来的研究发现EZH2也存在着抑制肿瘤的功能，胰腺损伤是造成胰腺癌的一个重要因素^[23]。在由KRas突变所导致的胰腺癌中，也发现了EZH2的大量缺失与突变，EZH2可能在其中充当了抑癌基因的作用^[24]。T. Shimizu在JAK2-V617F突变的小鼠模型中同时敲除EZH2发现，小鼠血小板和中性粒细胞大量增加并且其骨髓纤维化的程度更加严重。作者推测造血细胞中EZH2的丢失可能有助于骨髓增生性肿瘤的发展，EZH2可能在其中发挥着抑癌的作用^[25]。

4 EZH2 与初级纤毛的发生

近年来，有一些文献表明EZH2也可以调控其他细胞器进而进一步调控肿瘤细胞增殖和治疗敏感性^[26,27]。初级纤毛作为一种参与细胞信号转导的重要细胞器，在Hh、wnt、Notch等信号通路中均发挥着重要的作用。初级纤毛功能的异常与肿瘤增殖，细胞周期以及放疗敏感性关系密切^[28,29]。EZH2调

控初级纤毛去影响肿瘤细胞的研究虽然报道得比较少,但已有学者开始了这方面的研究。Daniel Zingg 等人首先在黑色素瘤细胞上探讨 EZH2 通过调控初级纤毛影响黑色素瘤的形成。作者通过沉默与初级纤毛完整性相关的基因来驱动良性 *Braf*^{V600E} 和 *Nras*^{Q61K} EZH2 黑色素瘤的肿瘤发生,作者发现 EZH2 表达水平的增加会促进良性黑素细胞病变中初级纤毛的丧失。同时敲低 EZH2 会引起恶性黑色素瘤的纤毛发生和纤毛依赖性生长抑制。最后作者进一步证明了纤毛的丧失增强了促瘤性 WNT- β -catenin 信号传导,初级纤毛的解聚可以被看作是黑色素瘤发生的关键过程^[26]。同时, Sepideh Ardalan Khaled 等人他们通过实验发现在食管鳞状细胞癌细胞 (esophageal squamous cancer ESCC) 中 EZH2 的过表达可激活 Hh 和 Hippo 信号通路,下调 BMP 信号通路。且这几个通路受体都是与纤毛的发生密切相关,同时作者抑制 EZH2 基因表达后发现,抑制 EZH2 可导致 Hh 和 Hippo 信号通路的抑制,以及 BMP 信号的激活。此外, EZH2 能够增强 ESCC 的迁移能力,并且发现了 EZH2 上皮间质转化 (EMT) 相关。因此,作者推测 EZH2 在 ESCC 中的表达为原癌基因并且 EZH2 可能促进 ESCC 的发生和浸润性^[30]。

5 结论与展望

EZH2 的异常表达可以通过 H3K27me3 沉默许多抑癌基因去调控与肿瘤发生相关的信号通路,但 EZH2 具体是如何影响肿瘤生成的机制也尚未完全明确,是否存在不通过 H3K27me3 的情况下去调控肿瘤细胞的生成也尚不清楚。EZH2 作为肿瘤治疗的热门靶点,与肿瘤的发生,浸润,治疗抵抗的关系十分密切。同时纤毛作为细胞中一个接受细胞信号转导的重要细胞器参与多种与肿瘤相关的细胞信号通路。它的发生与功能异常同样能够影响肿瘤细胞, EZH2 联合初级纤毛影响肿瘤发生以及治疗文献目前较少。虽然研究表明在黑色素瘤细胞中 EZH2 的过表达可以使初级纤毛解聚从而使 WNT- β -catenin 信号通路过度激活。但其中也还存有未解决的问题: EZH2 调控纤毛的机制尚未明确同时 EZH2 是否通过影响纤毛还去影响了其他与肿瘤细胞相关的信号通路。总之 EZH2 与初级纤毛都作为肿瘤发生、转移以及放化疗敏感性密切相关的因素,两者在肿瘤的发生,转移以及治疗抵抗方面是否存在关联性还需进一步去研究。

参考文献

[1] Satir P, Pedersen L B, Christensen S T. The primary cilium at a glance[J]. *Journal of Cell Science*, 2010,123(4):499-503.
 [2] Kim K H, Roberts C W M. Targeting EZH2 in cancer [J]. *Nature Medicine*, 2016,22(2):128-134.
 [3] Duan R, Du W, Guo W. EZH2: a novel target for cancer treatment[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2020,13(1).
 [4] Satir P, Christensen S T. Overview of structure and function of mammalian cilia[J]. *Annual Review of Physiology*, 2007,69:377-400.

[5] Nishimura Y, Kasahara K, Shiromizu T, et al. Primary Cilia as Signaling Hubs in Health and Disease[J]. *Advanced Science*, 2019,6(1).
 [6] Mahjoub M R. The importance of a single primary cilium[J]. *Organogenesis*, 2013,9(2):61-69.
 [7] Anvarian Z, Mykytyn K, Mukhopadhyay S, et al. Cellular signalling by primary cilia in development, organ function and disease[J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2019,15(4):199-219.
 [8] Wei F Z, Cao Z, Wang X, et al. Epigenetic regulation of autophagy by the methyltransferase EZH2 through an MTOR-dependent pathway[J]. *Autophagy*, 2015,11(12):2309-2322.
 [9] Bergmann C, Guay-Woodford L M, Harris P C, et al. Polycystic kidney disease[J]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2018,4.
 [10] Horani A, Ferkol T W. Advances in the Genetics of Primary Ciliary Dyskinesia: Clinical Implications[J]. *Chest*, 2018,154(3):645-652.
 [11] Elliott K H, Brugmann S A. Sending mixed signals: Cilia-dependent signaling during development and disease[J]. *Developmental Biology*, 2019,447(1): 28-41.
 [12] Wu C, Chen H, Tang T K. Myosin-Va is required for preciliary vesicle transportation to the mother centriole during ciliogenesis[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2017,28.
 [13] Eguether T, Hahne M. Mixed signals from the cell's antennae: primary cilia in cancer [J]. *Embo Reports*, 2018,19(11).
 [14] Sarkisian M R, Semple-Rowland S L. Emerging Roles of Primary Cilia in Glioma[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2019,13.
 [15] Loskutov Y V, Griffin C L, Marinak K M, et al. LPA signaling is regulated through the primary cilium: a novel target in glioblastoma[J]. *Oncogene*, 2018,37(11):1457-1471.
 [16] Hassounah N B, Bunch T A, Mcdermott K M. Molecular Pathways: The Role of Primary Cilia in Cancer Progression and Therapeutics with a Focus on Hedgehog Signaling[J]. *Clinical Cancer Research*, 2012,18(9):2429-2435.
 [17] He M, Subramanian R, Bangs F, et al. The kinesin-4 protein Kif7 regulates mammalian Hedgehog signalling by organizing the cilium tip compartment[J]. *Nat Cell Biol*, 2014,16(7):663.
 [18] 马伟,马青龙,魏丽,等.电离辐射促进神经胶质瘤细胞初级纤毛发生[J].*辐射研究与辐射工艺学报*,2021,39(2):29-36.
 [19] Urdiciain A, Erasquin E, Melendez B, et al. Tubastatin A, an inhibitor of HDAC6, enhances temozolomide-induced apoptosis and reverses the malignant phenotype of glioblastoma cells[J]. *International Journal of Oncology*, 2019,54(5):1797-1808.
 [20] Guo P, Chen W, Li H, et al. The Histone Acetylation Modifications of Breast Cancer and their Therapeutic Implications[J]. *Pathology & Oncology Research*, 2018,24(4):807-813.
 [21] Blackledge N P, Klose R J. The molecular principles of gene regulation by Polycomb repressive complexes[J]. *Nature Reviews*

- Molecular Cell Biology, 2021,22(12):815-833.
- [22] Chase A, Cross N C P. Aberrations of EZH2 in Cancer[J]. Clinical Cancer Research, 2011,17(9):2613-2618.
- [23] Kobayashi T, Nakazono K, Tokuda M, et al. HDAC2 promotes loss of primary cilia in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Embo Reports, 2017,18(2):334-343.
- [24] Wang Y, Hou N, Cheng X, et al. Ezh2 Acts as a Tumor Suppressor in Kras-driven Lung Adenocarcinoma[J]. International Journal of Biological Sciences, 2017,13(5):652-659.
- [25] Shimizu T, Kubovcakova L, Nienhold R, et al. Loss of Ezh2 synergizes with JAK2-V617F in initiating myeloproliferative neoplasms and promoting myelofibrosis[J]. Journal of Experimental Medicine, 2016,213(8):1479-1496.
- [26] Zingg D, Debbache J, Peña-Hernández R, et al. EZH2-Mediated Primary Cilium Deconstruction Drives Metastatic Melanoma Formation[J]. Cancer Cell, 2018,34(1):69-84..
- [27] Jackson P K. EZH2 Inactivates Primary Cilia to Activate Wnt and Drive Melanoma[J]. Cancer Cell, 2018,34(1):3-5.
- [28] Alvarez-Satta M, Matheu A. Primary cilium and glioblastoma[J]. Therapeutic Advances in Medical Oncology, 2018,10.
- [29] Higgins M, Obaidi I, Mcmorrow T. Primary cilia and their role in cancer[J]. Oncology Letters, 2019,17(3):3041-3047.
- [30] Ardalan Khales S, Forghanifard M M, Abbaszadegan M R, et al. EZH2 deregulates BMP, Hedgehog, and Hippo cell signaling pathways in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Advances in medical sciences, 2022,68(1):21-30.