

PRMT5在癌症中的研究进展

何伶俐[#] 邹成[#] 贺琴菊 冯宇晴 张定校^{*}

(湖南大学生物学院, 分子医学与肿瘤学研究所, 长沙 410082)

摘要 蛋白质精氨酸甲基转移酶(protein arginine methyltransferases, PRMTs)是真核生物中常见的一种酶,可催化组蛋白和非组蛋白底物中的精氨酸残基发生甲基化。在人类的基因组中,PRMTs由9个基因编码。作为最主要的II型精氨酸甲基转移酶,PRMT5是PRMT家族成员之一,参与了包括信号转导、转录调控、RNA剪切及DNA损伤修复在内的多种生物学过程;在多种人类恶性肿瘤中表达上调,发挥着类似致癌基因的作用。该文对PRMT5在多种癌症中的研究进展进行综述,并对现有的PRMT5小分子抑制剂进行总结(包括其结构和潜在的癌症靶向治疗应用前景)。

关键词 癌症; 蛋白质精氨酸甲基转移酶; PRMT5; 基因表达调控; 小分子靶向治疗

Recent Advances of PRMT5 in Cancer

HE Lingjing[#], ZOU Cheng[#], HE Qinju, FENG Yuqing, ZHANG Dingxiao^{*}

(Center of Tumorigenesis and Molecular Medicine, College of Biology, Hunan University, Changsha 410082, China)

Abstract Protein arginine methylation is one of the most abundant and evolutionarily conserved post-translational modifications catalyzed by the PRMTs (protein arginine methyltransferases). PRMTs, encoded by nine genes in the human genome, can methylate histone and nonhistone proteins. As the main type II arginine methyltransferase, PRMT5 has been implicated in the control of many cellular processes such as cell cycle progression, signal transduction, gene expression regulation, RNA splicing and DNA-damage response. Overexpression of PRMT5 is frequently found in numerous human cancers with evidence indicative of an oncogene-like function. Here, an update on the recent advances of PRMT5 in cancer research is provided and the promise of targeting PRMT5 by small molecular inhibitors is discussed for treating aggressive human cancers.

Keywords cancer; protein arginine methyltransferases; PRMT5; gene expression regulation; targeted cancer therapy with small molecules

癌症是由于细胞恶性增殖、迁移和侵袭引发的一类疾病,是导致人类死亡的第二大因素。据美国癌症协会统计,2020年美国新增癌症病例180.7万例,新增死亡病例60.7万例^[1]。在我国,统计显示2015年新发恶性肿瘤病例约392.9万例(占世界总新发病例的23.7%),恶性肿瘤死亡病例约233.8万(占世界总

死亡病例的30.2%),说明我国是一个“肿瘤大国”^[2-3]。更为严重的是,十多年来,我国癌症发病率和死亡率总体呈现逐年上升趋势。国内总体发病率(不分性别)前10位的恶性肿瘤分别为肺癌、胃癌、结直肠癌、肝癌、乳腺癌、食管癌、甲状腺癌、子宫颈癌、脑癌和胰腺癌,约占全部新发病例的76.7%;而肺癌、

收稿日期: 2020-08-12 接受日期: 2020-12-25

国家自然科学基金(批准号: 81972418)和中央高校基本科研业务费(批准号: 531119200130)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通讯作者。Tel: 15391542415, E-mail: zdx1980@hnu.edu.cn

Received: August 12, 2020 Accepted: December 25, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81972418), and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No.531119200130)

[#]This authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding author. Tel: +86-15391542415, E-mail: zdx1980@hnu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5497>

肝癌、胃癌、食管癌、结直肠癌、胰腺癌、乳腺癌、脑癌、白血病和淋巴瘤是前10位的致死癌种,约占全部死亡病例的83.0%。另外,由于我国不同地域生活习惯的差别和医疗资源的不均等因素,导致癌症发病率和死亡率呈区域化分布,整体表现为城市恶性肿瘤发病率高于农村,而农村恶性肿瘤死亡率高于城市^[3]。目前,我国恶性肿瘤的5年相对生存率约为40.5%,与美国等发达国家还有很大差距^[3]。

据世界卫生组织(WHO)统计,近六分之一的死亡由癌症导致。目前,恶性肿瘤的整体治疗效果(主要包括手术、放疗/化疗、分子靶向治疗和免疫治疗等)不尽人意,解析癌症的致病机理和寻找新的治疗方案仍是当前癌症研究领域内的“卡脖子”问题。早期的癌症研究主要侧重于基因组变异对癌症发生发展的影响(比如遗传水平的插入缺失、单核苷酸多态性等);而近年来许多研究发现,一些核酸碱基/氨基酸的化学修饰(不改变基因核苷酸/氨基酸的序列)与癌症的发生发展有着密切的关联。目前,该方向(即表观遗传学)已成为癌症研究中的热点领域之一。表观修饰主要包括DNA甲基化和组蛋白修饰,其中组蛋白修饰为近5年发展起来的癌症研究热点。组蛋白修饰主要包括甲基化、乙酰化、磷酸化和泛素化四种类型,以组蛋白甲基化最为常见且广泛存在于真核生物的多种生命调节过程中。因受制于技术难点,相较于被广泛研究的DNA甲基化而言,组蛋白甲基化在癌症中的研究相对滞后^[4]。

1 蛋白质精氨酸甲基化修饰

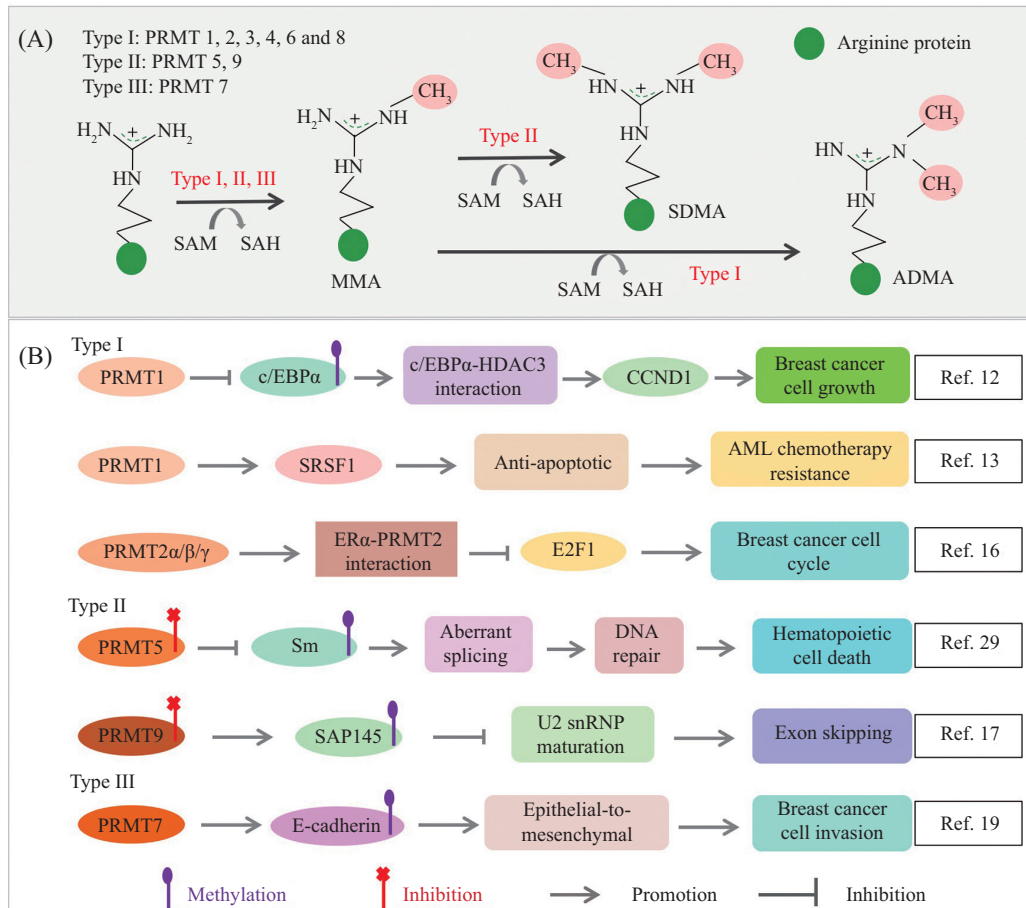
精氨酸甲基化是组蛋白甲基化的一种,是哺乳动物中最常见的翻译后修饰之一,主要受PRMT基因家族调控。PRMTs可以将S腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl-L-methionine, AdoMet/SAM)上的甲基基团转移到蛋白质精氨酸侧链的胍基氮原子上,生成甲基化精氨酸^[5]。PRMTs以三种不同的形式调控精氨酸甲基化:单甲基精氨酸(monomethylarginine, MMA)、不对称二甲基精氨酸(asymmetrical dimethylarginine, ADMA)和对称二甲基精氨酸(symmetrical dimethylarginine, SDMA)甲基化(图1A)。每种甲基化修饰对被修饰蛋白(即底物)生物活性的影响不同^[6],故蛋白质精氨酸的甲基化修饰可通过多种机制(如RNA选择性剪切、转录调控、翻译后调控等)来广泛影响细胞的生物学功能(图1B)^[7-9]。在哺乳动物中共有9

个PRMTs,分为三型:I型(PRMT1、2、3、4、6、8;主要催化生成MMA和ADMA)、II型(PRMT5、9;主要催化生成MMA和SDMA)和III型(PRMT7;主要催化生成MMA)^[10]。PRMTs能够甲基化组蛋白和多种非组蛋白^[6]。

PRMTs组织表达谱广泛,暗示其功能的多样性和重要性。通过上述三种形式的蛋白质甲基化修饰,PRMTs广泛参与信号转导、基因转录调控、RNA剪切、DNA损伤修复、染色质重塑、干细胞命运决定和细胞凋亡等重要过程^[6,11](图1)。正是由于PRMTs底物的多样性以及其参与的各种生命过程,近年来在癌症研究中备受关注。已有研究表明,PRMTs酶活性的改变、基因突变或缺失通常会导致动物个体发育异常,同时也诱导了癌症的发生、发展或转移。比如,PRMT1在乳腺癌^[12]和白血病^[13]中高表达,并与乳腺癌^[12]、前列腺癌^[14]和结肠癌^[15]患者的不良预后有关。PRMT2在乳腺癌中存在三种剪切亚型(splicing isoforms):PRMT2 α 、PRMT2 β 和PRMT2 γ 。这些剪切亚型可以促进雌激素受体ER和PRMT2的互作,进而调控雌激素信号通路并促进乳腺癌的发展^[16]。PRMT9可以使剪切因子SAP145在第508位的精氨酸发生对称二甲基化,进而影响细胞内整体RNA剪切图谱(splicing landscape)^[17],而RNA剪切图谱的异常是癌症发生发展的重要标志之一^[18]。此外,PRMT7可通过抑制上皮型钙黏蛋白E-cadherin的表达从而促进上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),进而促进乳腺癌的转移^[19]。在众多PRMTs中,PRMT5近年来研究相对较多,关注度高,故为本文的焦点。

2 PRMT5的基因结构和生物学功能

人的PRMT5基因位于14号染色体,全长8 867 bp,共有18个外显子,可通过选择性剪切组成六种不同的转录本。PRMT5蛋白质的催化结构域具有高度保守性,由4个明确定义的结构域构成,在N-端含有三聚磷酸异构酶结构域(triosephosphate isomerase, TIM),中间包含一个罗斯曼折叠结构域(Rossmann-fold domain),在C-端含有二聚化 β -barrel结构域以及插在 β -barrel结构域中间约60个氨基酸的二聚体结构域^[20]。PRMT5可以通过N-端结构域与其自身相互结合,形成PRMT5四聚体,并在此基础上与4个甲基转移酶复合体蛋白50(methylosome protein 50, MEP50)特异性结合,形成以PRMT5四聚体为核心的



A: 蛋白质精氨酸甲基化的三种类型; B: 精氨酸甲基化的生物学功能(比如基因组稳定性、基因表达调控、RNA剪切、剪切体组装、细胞增殖等)。
A: three types of methylation on arginine residues; B: biological roles of arginine methylation (genome stability, expression regulation, RNA splicing, spliceosome, cell proliferation, etc).

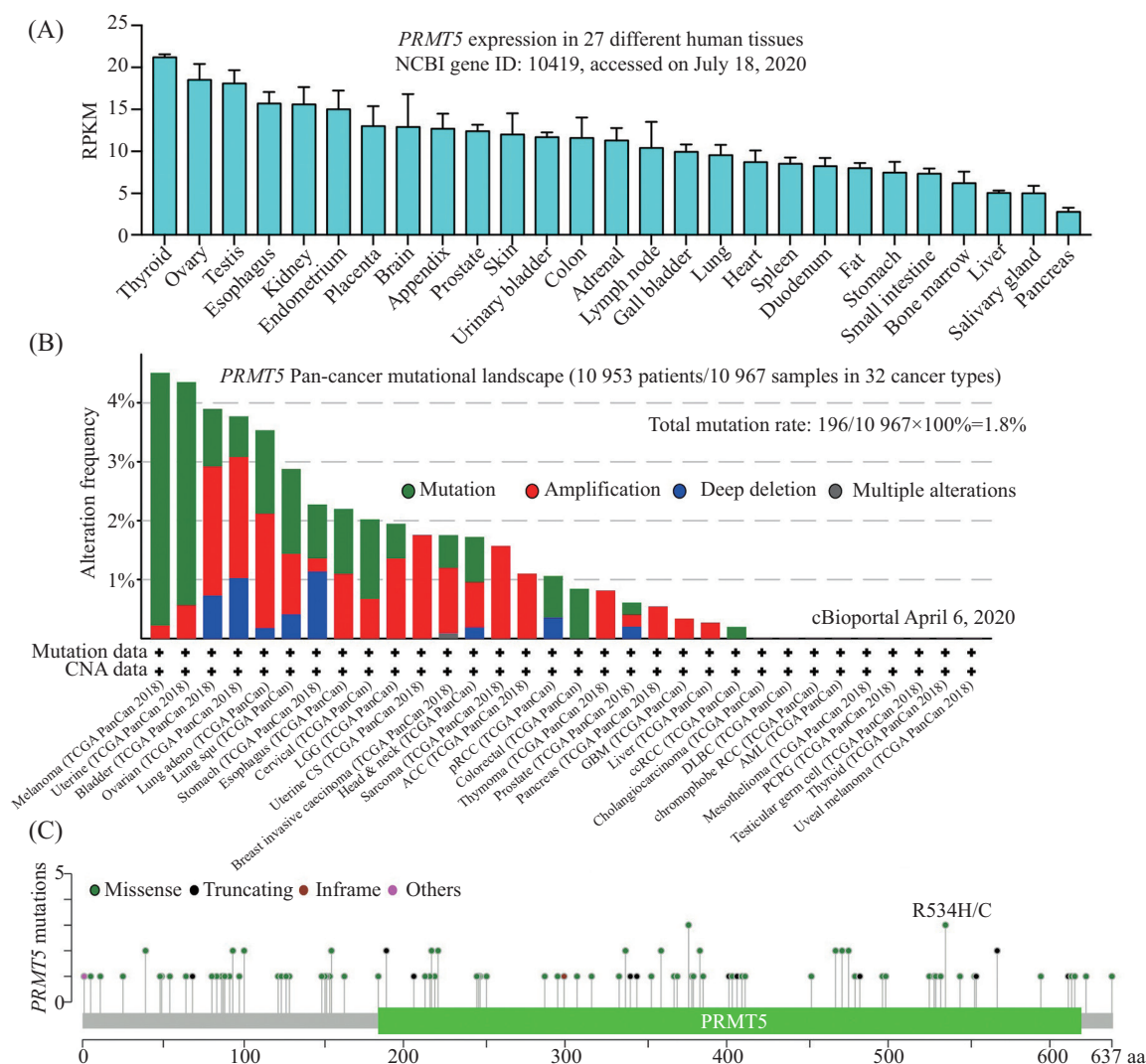
图1 蛋白质精氨酸甲基化的类型及其功能
Fig.1 Types of methylation on arginine residues and their biological roles

异八聚体复合物,启动并提高PRMT5的酶活性^[21]。

PRMT5是主要的II型精氨酸甲基转移酶,可以甲基化组蛋白和多种非组蛋白,进而调控众多的生命过程^[10]。PRMT5在哺乳动物的细胞核和细胞质中均有表达。在核中,PRMT5可与染色质重塑复合体SWI/SNF及核小体重构和组蛋白脱乙酰酶(nucleosome remodeling complex, NuRD)形成染色质重塑复合体,并甲基化修饰多种癌症相关基因和转录因子,进而调控特定靶基因的表达^[22]。在胞质中,PRMT5参与形成20S蛋白质精氨酸甲基转移酶复合物,被称为“甲基体”,该复合体由剪切体Sm蛋白、PRMT5、pICln和WD重复蛋白(MEP50/WD45)组成,PRMT5甲基化Sm蛋白进而调控剪切体的活性和下游基因的表达^[23]。

与PRMT2、3、6等家族成员的组织特异性表达模式不同,PRMT5在人体多个组织中均有较高的

表达水平(图2A),暗示着该基因发挥更为广谱的功能。TEE等^[24]研究发现,PRMT5具有类似干细胞因子的作用:PRMT5缺失的小鼠胚胎不能正常发育,进一步研究证实,PRMT5在维持胚胎干细胞的全能性及神经干细胞的增殖和分化过程中起着不可或缺的作用^[10]。另外,诸多研究发现,PRMT5在多种肿瘤组织中异常高表达,但其背后的分子机制尚不明确。一方面,在淋巴瘤中PRMT5和miR-92b及miR-96之间存在负反馈调控,PRMT5通过抑制miR-96的转录来增强自身的表达^[22],表明PRMT5的表达受到microRNA的调控。另一方面,测序发现PRMT5在多种癌症中有一定的突变频率(16种癌症中突变频率>1%,图2B),且有研究表明,PRMT5的特定突变与癌症的恶性进展密切相关。有许多突变会造成氨基酸序列的改变[特别是位于酶活区(enzymatic domain)的突变]或截断(图2C),这些突变是否通过介导



A: 人体组织PRMT5基因表达谱; B: PRMT5基因在人类32种癌症中的突变图谱; C: 突变对PRMT5基因所编码蛋白质的影响。

A: PRMT5 expression in human tissue; B: mutations of PRMT5 in 32 human cancers; C: location and potential effect of PRMT5 mutations on its protein.

图2 人PRMT5的组织表达谱和其泛癌突变图谱

Fig.2 The expression pattern of PRMT5 in human tissues and its pan-cancer mutational landscape

PRMT5酶活性的改变或自身表达差异来发挥调控功能, 仍有待进一步深入研究。

3 PRMT5在癌症中的研究进展

研究报道, PRMT5在许多不同瘤种中均存在差异表达, 故被认为是治疗癌症的一个新靶标。目前在多种肿瘤中, 针对该基因都有一些不同程度的研究。由于不同瘤种之间的高度异质性, PRMT5调控肿瘤发生发展的分子机制也不尽相同。总体而言, PRMT5主要通过三种方式发挥其生物学功能(图3): (1) 甲基转移酶、(2) 转录辅助因子、(3) 剪切因子。作为甲基转移酶, PRMT5可对下游靶基因的特定染色质区域进行甲基化修饰, 进而调控靶基因的转

录并影响下游一系列生物学过程。在乳腺癌发展过程中, PRMT5被招募至转录因子FOXP1的启动子区域, 促进该区域的H3R2me2s和H3K4me3修饰, 进而上调FOXP1的表达水平, 最终促进乳腺癌干细胞的自我更新和成瘤能力^[25]。2019年, QIN等^[26]发现, PRMT5可以结合E3泛素连接酶FBW7的启动子区域, 抑制FBW7的表达, 进而增强MYC的稳定性, 对胰腺癌的恶性进展起到促进作用。另外, PRMT5也可通过催化底物发生甲基化修饰进而起到转录辅助因子的作用。在人骨肉瘤细胞系SAOS2中, 转录因子E2F-1可以促进细胞发生DNA损伤诱导凋亡, 而PRMT5则可与PRMT1竞争性地结合E2F-1, 并通过对其甲基化修饰, 使细胞仍处于细胞周期内, 促进骨肉瘤细胞增

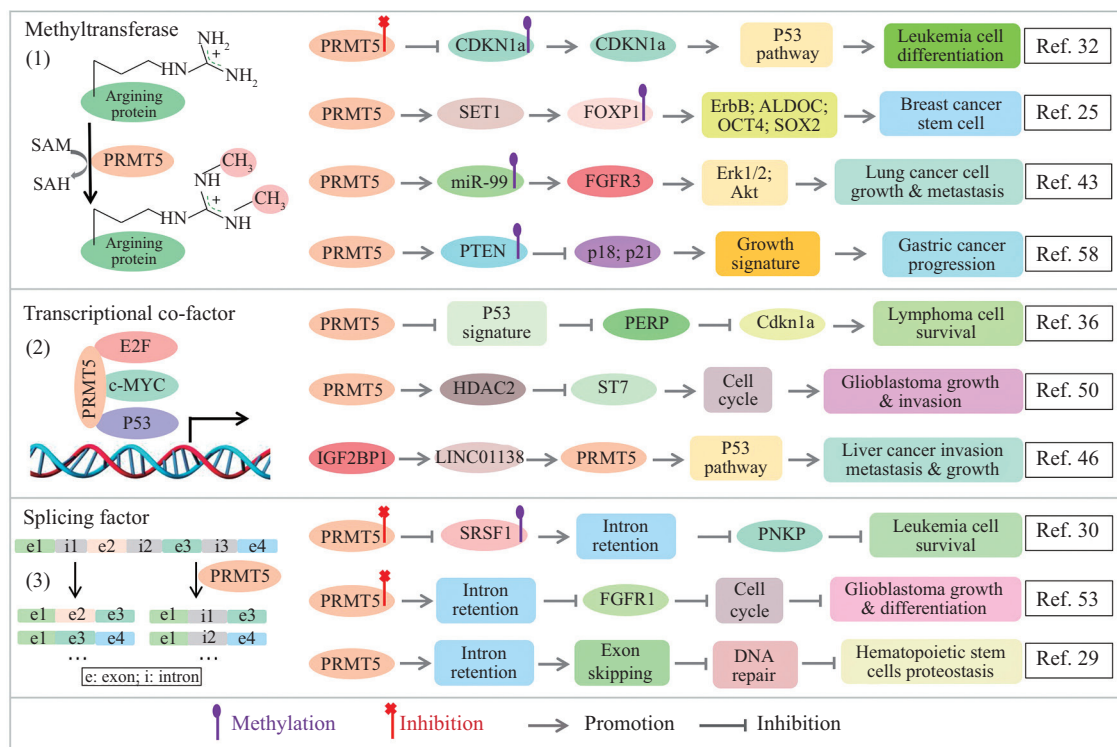
殖^[27]。2020年, WOJCIECH等^[28]发现, 在结肠癌细胞系HCT116中, PRMT5可和E2F形成PRMT5-E2F1转录轴, 调控E2F1的靶基因网络, 最终促进癌细胞的增殖和侵袭。作为剪切因子, 研究证实, PRMT5可以调控下游mRNA前体的选择性剪切, 进而影响整个转录表达谱。2019年, TAN等^[29]发现, 在造血干细胞中, PRMT5可以通过调控DNA修复相关基因的剪切来维持其基因组的完整性。同年, RADZISHEUSKAYA等^[30]在白血病中发现, PRMT5缺失会导致许多重要癌症相关基因的选择性剪切发生异常, 最终抑制白血病细胞的存活。综上, PRMT5不同作用的发挥其实都跟甲基转移酶的活性有一些关联。现就PRMT5在一些常见肿瘤中的调控功能及其潜在分子机制进行简述(表1)。

3.1 PRMT5在液体瘤中的研究进展

液体肿瘤起源于原发性或继发性淋巴细胞的恶性转化, 包括白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤三种主要类型。在临床上, 骨髓移植、放射治疗、免疫治疗和化疗是治疗血液肿瘤的主要策略。然而, 由于剂量毒副作用和药物针对肿瘤细胞的靶向性

差等因素, 多种化疗药物在临床治疗过程中均会产生用药局限以及耐药等问题, 导致病人治疗受益有限^[33]。得益于近年来高通量测序技术的发展和运用, 科学家发现许多液体瘤患者的癌细胞内发生了PRMT5的突变或异常表达, 表明该基因在液体瘤的发生发展过程中发挥着重要的作用^[30]。

3.1.1 PRMT5与白血病 白血病是一类造血干细胞异常的克隆性恶性疾病, 其中急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)发病迅猛, 如不及时治疗, 死亡率接近100%。AML患者经常会出现混合谱系白血病(mixed lineage leukemia, MLL), MLL患者体内发生了MLL1基因的重排, 导致病人预后更差。MLL1是组蛋白甲基转移酶家族的成员, 根据全基因组ChIP-seq研究发现, 它是转录起始位点特异结合的基因转录调控因子, 对体内稳态维持和促进胚胎造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)的增殖必不可少。当MLL基因染色体易位平衡被打破后, 易引起婴儿急性淋巴细胞性白血病(acute lymphocytic leukemia, ALL)或AML以及继发性AML; 所以选择性靶向MLL融合癌蛋白而不损害野生型的



PRMT5的主要生物学作用和分子机制: (1) 甲基转移酶、(2) 转录辅助因子、(3) 剪切因子。

The main roles of PRMT5 in biological processes: (1) methyltransferase, (2) transcription co-factor, (3) splicing factor.

图3 PRMT5在癌症中的功能机制示意图

Fig.3 The molecular mechanisms of PRMT5's function in human cancers

表1 PRMT5在不同癌症中的研究进展
表1 Research progress of PRMT5 in different cancers

癌种 Cancer type	PRMT5表达异常 Dysregulation of PRMT5	注释 Annotation	参考文献 Reference
Leukemia	Up	Regulates splicing and inhibits p21 expression; blocks differentiation of leukemic stem cell and apoptosis to enhance cellular proliferation	[31-34]
Lymphoma	Up	Methylates key transcriptional factor p53 and relevant splicing factors to modulate down-stream transcription and RNA splicing; causes splicing dysregulation that favors B cell oncogenic growth	[35-37]
Breast	Up	Maintain the cancer genome stability and stemness of BCSCs (breast cancer stem cells); regulates mRNA stability and so as the expression of cell mobility-related genes via splicing; may function as an anti-cancer gene by upregulating tumor suppressor STC-1 revealed by sporadic studies	[22,38-41]
Lung	Up	Inhibits the expression of tumor suppressive miR-99 to promote lung cancer cell proliferation and invasion (e.g., metastasis to lymphatic system); decreases the ubiquitination level of anti-apoptotic protein CFLAR _L to enhance cell survival	[42-44]
Liver	Up	Methylates SREBP1a to promotes de novo lipogenesis and tumor growth and metastasis; inhibits the activity of HNF4 α and enhances the self-renew of liver CSCs; restricts hepatitis B virus replication through epigenetic repression of covalently closed circular DNA transcription and interference with pregenomic RNA encapsidation	[45-49]
Brain	Up	Promotes glioblastoma cell proliferation, genome stability, and metastatic properties; diminishes the expression of tumor suppressors ST7 and PTEN; regulates oncogenic splicing events that favor tumor progression	[50-54]
Stomach	Up	Methylates the promoter of tumor suppressor IRX1 to epigenetically silence its expression that leads to tumorigenicity and metastasis of gastric cancer; upregulates MYC expression by sponging miR-145 and miR-1304; interacts with and modulates MYC signaling to promotes cancer progression	[56-58]
Colon	Up	Inhibits and promotes the expression of tumor suppressors and oncogenes (especially in KRAS mutated subtypes), respectively; involved in PRMT5/YBX1/NF- κ B and PKC γ /PRMT5/NF- κ B oncogenic signaling to promote tumor progression	[59-63]

MLL功能对治疗白血病至关重要^[31]。MLL重排白血病对常规治疗抵抗性强,迫切需要鉴定新的治疗靶点。在MLL小鼠模型中,敲低PRMT5蛋白表达或使用小分子抑制剂遏制PRMT5的酶活性均可起到一定的抗肿瘤效果。封闭PRMT5的酶活性可以通过表观修饰机理抑制*CDKN1a*的转录,打破白血病细胞的分化阻滞,进而促进癌细胞的分化^[32]。最新研究表明,PRMT5对AML细胞的存活必不可少,抑制PRMT5的活性会影响SRSF1发挥剪切因子的功能,进而造成全基因组水平RNA选择性剪切图谱的改变;表明PRMT5可通过调控RNA剪切来影响AML的恶性进展^[30]。此外,SECKER等^[34]还发现,将PRMT5抑制剂与其他药物联用,如端粒沉默扰乱因子1(disruptor of telomeric silencing 1-like, DOT1L)抑制剂,可在单药处理的基础上进一步抑制AML细胞的增

殖,促进细胞的分化和凋亡,并增强AML细胞对治疗的敏感性。

3.1.2 PRMT5与淋巴瘤 淋巴瘤是具有高度异质性的一类肿瘤,其临床表现多样,但病因不明。虽然好发于淋巴结,但由于淋巴系统的全身性分布,使得淋巴瘤几乎可以转移到全身任何组织和器官。根据淋巴细胞的起源,淋巴瘤可分为B细胞、T细胞和NK细胞淋巴瘤。2015年KOH等^[35]发现,PRMT5在B细胞淋巴瘤中过表达并与患者的不良预后相关。PRMT5一方面可以甲基化一些癌症相关的关键转录因子(如p53)来调控下游基因的转录;另一方面它也可以甲基化关键的剪切因子进而调控mRNA前体的加工^[35]。2019年LITZLER等^[36]研究发现,PRMT5不仅对淋巴瘤细胞的存活必不可少,而且在B细胞正常发育过程中也起着重要的作用(它可通过精确调控

特定基因mRNA的剪切来影响B细胞的命运);说明PRMT5活性异常所介导的RNA剪切紊乱应该是B细胞癌变的分子机制之一。在药物联用方面,最近LU等^[37]发现,PRMT5可通过甲基化BCL6来促进生发中心(germinal center)的形成和成熟,同时抑制PRMT5和BCL6的活性可协同性地杀伤淋巴瘤细胞。

3.2 PRMT5在实体瘤中的研究进展

液体瘤本质属于血液系统疾病,而实体瘤则是发生在实体组织中的异常增生或癌变,且有良性和恶性之分;两类肿瘤无论是在临床表型还是发病机制上都存在巨大的差异。已有研究表明,PRMT5在多种实体瘤的发生和恶性进展中扮演着重要的类似“致癌基因”的角色。

3.2.1 PRMT5与乳腺癌 乳腺癌是导致女性癌症病人死亡的主要因素之一^[1]。乳腺癌干细胞可进行不对称分裂(产生一个可自我更新的干细胞和一个子祖细胞),具有相对分裂速度慢和DNA修复能力强的特点,对诸多治疗均有一定的抵抗性^[25]。2017年CHIANG等^[25]证实,PRMT5是乳腺癌干细胞的一个重要正向调节因子。随后,WANG等^[38]发现,PRMT5可通过促进OCT4/A、KLF4和MYC等基因的表达,维持乳腺癌细胞的干性,且PRMT5的活性和肿瘤细胞对临床治疗敏感性的降低相关,表明PRMT5可作为治疗乳腺癌的潜在分子靶标。类似地,最近研究表明,PRMT5可甲基化KLF4并调节其表达,进而促进三阴性乳腺癌细胞的干性和基因组稳定性^[39]。值得注意的是,PRMT5作为剪切体(spliceosome)的一员,本身具有剪切因子的作用。RENGASAMY团队^[40]发现,PRMT5缺失会导致大量增殖/迁移相关基因的异常剪切和降解,进而拮抗乳腺癌的恶性进展。虽然目前大部分研究发现,PRMT5在乳腺癌中起到类似致癌基因的作用,但亦有部分研究显示PRMT5的高表达和病人的良好预后相关。比如2018年HUANG等^[41]发现,CAPG基因可以与PRMT5竞争性结合促癌基因STC-1的启动子区域(从而消弱PRMT5对STC-1的转录抑制作用),增强STC-1的转录表达,进而促进乳腺癌转移。相应地,CAPG的高表达与乳腺癌患者的不良预后相关,而PRMT5则相反。以上这些研究一方面证实,PRMT5可通过多个层面(图3)来调控乳腺癌的细胞生物学;另一方面也说明,PRMT5的调控功能可能具有情景依赖(context-dependent)的特征,需要考虑不同的遗传背景。

3.2.2 PRMT5与肺癌 肺癌死亡率和发病率均位于我国恶性肿瘤的首位^[3]。早期研究发现,PRMT5的表达水平在肺癌(相比于正常)组织中异常升高,将其沉默后可显著抑制体外肺癌细胞的增殖和体内肿瘤的生长^[42]。最近JING等^[43]发现,PRMT5不仅对肺癌细胞的增殖有正向调控作用,而且与肺癌向淋巴系统转移和病人的不良预后密切相关。分子机制研究表明,PRMT5可以通过对称二甲基化修饰组蛋白H4R3从而抑制miR-99家族的转录,进而上调FGFR3(fibroblast growth factor receptor 3)的表达并激活ERK1/2和Akt信号通路,对肺癌细胞的生长和转移起到促进作用^[43]。另外,PRMT5还可以降低CFLAR_L(抗凋亡蛋白)的泛素化水平进而上调其蛋白水平,促进肺癌细胞的存活;而PRMT家族另一成员PRMT1则会上调CFLAR_L的泛素化水平并促其降解^[44]。有趣的是,进一步研究发现PRMT5/PRMT1的突变对CFLAR_L的影响与野生型相同,表明CFLAR和PRMT1/PRMT5之间相互的物理作用调节了CFLAR_L的降解,而不是PRMT5酶促活性起到了决定性作用^[44]。目前,关于PRMT5在肺癌中的研究相对较少,其生物学功能及潜在机制仍需进一步探索。

3.2.3 PRMT5与肝癌 肝癌可分为原发性和继发性两大类,是我国高发且危害极大的恶性肿瘤之一^[3]。目前,原发性肝癌发生发展的分子机制尚不清楚,但有研究证实,PRMT5在肝癌的恶性进展过程中扮演着重要的角色。肝癌发生的重要机制之一是癌细胞中脂质合成的异常激活,这一过程受到胆固醇调节元件结合蛋白SREBP(sterol-regulatory element binding protein)的调控。2016年LIU等^[45]发现,SREBP是PRMT5的底物之一,后者可通过对称二甲基化前者R321位点促进其表达,并协助前者逃脱泛素连接酶FBXW7介导的泛素化降解;进而上调SREBP并加速脂质合成,最终促进肝癌细胞的体内和体外生长。在临床上,SREBP蛋白R321位点的甲基化修饰状态与肝癌的恶性程度密切相关,并可以作为独立的预后指标之一^[45]。PRMT5自身亦可受到泛素化酶的调控。2018年LI等^[46]发现,基因间长链非编码RNA LINC01138可以通过直接与PRMT5结合,阻断PRMT5的泛素化降解途径,进而促进肝癌细胞的增殖、侵袭和转移。肝细胞核因子4 α (hepatocyte nuclear factor 4 alpha, HNF4 α)

可调控肝细胞的命运决定并抑制一些致癌基因(比如*CCND1*)的表达,从而起到抑癌作用^[47]。最新研究发现,PRMT5可通过结合并甲基化修饰*HNF4α*的启动子区域而抑制其表达,进而维持肝癌干细胞的自我更新^[48]。以上研究均证实,PRMT5对肝癌的发生发展起到一定的促进作用。乙肝病毒是诱发肝癌的重要因素之一。2017年ZHANG等^[49]发现,PRMT5可通过两种协同途径抑制乙肝病毒的复制:一方面PRMT5可表观修饰并抑制乙肝病毒环状DNA的转录;另一方面PRMT5可干扰其前基因组RNA(pregenomic RNA)的壳体化(encapsidation)过程。这些研究或许提示在临床上,对由乙肝病毒诱发的肝癌进行靶向治疗时,针对PRMT5这个靶点需要斟酌。

3.2.4 PRMT5与脑癌 鉴于大脑在人体器官中的绝对重要地位,脑癌对人类造成的危害不言而喻。作为脑内肿瘤的泛称,脑癌包括很多亚型,其中以星形胶质瘤和胶质母细胞瘤最为常见。大量研究证实,PRMT5可通过多种途径促进胶质瘤的恶性进展,表明它是一个潜在的治疗靶标。PRMT5在胶质瘤中过表达,与病人不良预后相关;抑制PRMT5的活性一方面可促进肿瘤细胞的周期停滞和凋亡,降低其转移能力^[50-52];另一方面还可恢复胶质瘤中抑癌基因(比如*ST7*^[50]和*PTEN*^[52]等)的重新表达。其机理之一是PRMT5抑制剂可解除它与抑癌基因*ST7*启动子区域的结合而恢复*ST7*的表达^[50]。作为一个重要的剪切因子,下调或抑制PRMT5的活性可特异性地扰乱mRNA前体加工中内含子去除的过程,从而引发细胞周期、增殖等相关基因的降解,拮抗肿瘤生长^[53]。此外,2019年DU等^[54]还发现,PRMT5可以通过影响胶质瘤基因组的稳定性来调控癌症进展。甲硫腺苷磷酸化酶(5'-methylthioadenosine phosphorylase, *MTAP*)是一个抑癌基因,在*MTAP*缺失的胶质瘤细胞中,PRMT5的活性受到抑制,进而下调E3泛素连接酶SMURF2的表达,引发下游组蛋白H2AX的稳定性降低,最终导致肿瘤细胞基因组不稳定^[54]。这暗示,PRMT5可能起到促进基因组稳定性的作用,与2014年SHINSEOG等^[55]对PRMT5在干细胞中的研究结果一致。

3.2.5 PRMT5与胃癌 在我国,胃癌发病率和死亡率均高居前三位。据国家卫生健康委员会数据显示,我国每年新增胃癌患者约50万人。目前,关于PRMT5在胃癌中的研究十分匮乏,截至2020年11

月,在PubMed中以“gastric cancer”和“PRMT5”为关键词进行检索,仅有8篇报道,其中与胃癌和PRMT5均有直接联系的仅6篇(2016~2020年)。这些报道发现,PRMT5可以通过拮抗抑癌基因和促进促癌基因的表达而促进胃癌的发生发展。2018年,LIU等^[56]发现,PRMT5可以通过招募DNMT3A到抑癌基因*IRX1*的启动子区域进行DNA甲基化修饰,抑制*IRX1*的表达水平,最终提升癌细胞的致癌能力并促进转移。2019年,DU等^[57]发现,PRMT5可以通过形成环状RNA(circRNA)的方式调控肿瘤进展。他们发现,circ-PRMT5可以大量吸附miR-145和miR-1304,缓解其对MYC的抑制作用,促进胃癌的发生发展。在促进致癌基因表达的同时,2020年LIU等^[58]通过体内外实验发现,PRMT5可以直接与MYC结合,对一系列抑癌基因(如*PTEN*、*p63*、*CDKN1A*等)进行抑制,进而促进癌细胞的增殖。综上所述,PRMT5在胃癌中的研究起步较晚,研究范围较窄;其在胃癌中发挥致癌基因作用的详细分子机理尚有待进一步研究(目前仅有促进致癌基因和抑制抑癌基因表达两个方面的研究)。

3.2.6 PRMT5与结直肠癌 在我国,结直肠癌发病率和死亡率分别位于常见癌种的第三位和第五位。有报道称,PRMT5在结直肠癌的恶性进展中发挥致癌基因的作用。DEMETRIADOU等^[59]发现,PRMT5受乙酰转移酶NAA40调控,后者在结直肠癌种高表达,可通过上调PRMT5和其酶活性来促进癌细胞的增殖。在RAS基因家族中,KARS与人类肿瘤的发生发展关系最为密切,且与临床治疗抵抗相关,约45%的结直肠癌中含有*KRAS*基因突变^[60]。SHIFTEH等^[61]发现,PRMT5在*KRAS*突变的结肠癌细胞中进一步上调表达(与*KRAS*野生型相比),此时抑制PRMT5的表达可获得对癌细胞更显著的抑制作用(比如细胞周期受阻和促进凋亡等),表明在此类结直肠癌亚型中,PRMT5可作为潜在的治疗靶点。2020年,HARTLEY课题组^[62-63]发现两个新的信号通路(PRMT5/YBX1/NF-κB和PKCα/PRMT5/NF-κB)与结直肠癌恶性进展密切相关,提示通过靶向PRMT5来阻断这些信号通路是一个新的抗癌策略。

4 PRMT5抑制剂的研究进展

由于PRMT5的表达在多种癌症中异常升高,抑制其酶活性已成为靶向治疗癌症的新策略。目前,

来自世界各地的众多研究小组已报道了多种PRMT5小分子抑制剂(表2), 包括SAM类似物、CMP5及其衍生物(如HLCL-61和EPZ015666等)和其他抑制剂, 其中有部分抑制剂已进入临床I期试验阶段。

4.1 SAM类似物

2015年SMIL等^[64]通过PRMT5的公共晶体学数据, 发现了SAM类似物DS-437可与PRMT5的E444号谷氨酸形成氢键而结合, 进而抑制它与SAM结合。DS-437是PRMT5-PRMT7的双特异性抑制剂, 它能抑制细胞中PRMT5底物发生对称二甲基化, 而对其他29种人类蛋白质、DNA和RNA甲基转移酶没有活性。2019年动物实验表明, DS-437(通过阻断PRMT5活性)可抑制调节性T细胞的功能并诱导肿瘤的免疫反应而显著改善小鼠体内的抗癌效果^[65]。MTAP的底物MTA是另一种SAM类似物, 结构更为简单, 在针对甲基转移酶活性的生化分析中显示出对PRMT5具有特异且有效的抑制效果。在MTAP缺失的结肠癌细胞中, 由于MTA的大量累积而大幅度压制PRMT5的活性, 使肿瘤细胞对靶向MAT2A/PRMT5/RIOK1通路的治疗更加敏感^[66]。

4.2 CMP衍生物

基于多个物种中PRMT5的晶体结构模型, 辅以计算机优化建模(virtual docking), 2015年ALINARI

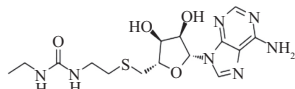
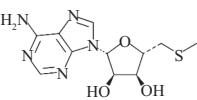
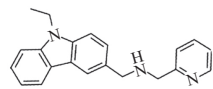
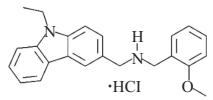
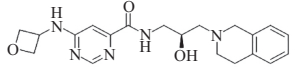
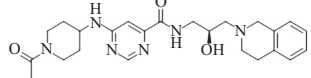
等^[67]从包含10 000种CMP的ChemBridge CNS-Set文库中预测出8种可与PRMT5的SAM和精氨酸结合口袋相嵌合的小分子化合物; 进一步细胞实验筛选出CMP5可特异性地抑制PRMT5的酶活性。在淋巴瘤中, CPM5可抑制由EBV病毒驱动的B细胞永生化疗变, 并重新激活抑癌基因*PTPROt*的表达^[67]。随后, TARIGHAT等^[68]在CPM5基础上通过化学改造得到抑制效果更佳的HLCL-61。在白血病中, PRMT5与Sp1相互结合形成一个转录抑制体(后通过PRMT5介导的H4R3甲基化遏制miR-29b的表达), HLCL-61处理可通过抑制PRMT5的活性而增强miR-29b的表达, 进而激活多种下游抗癌通路^[68]。2016年CHAN-PENEBRE团队^[32,69]进一步优化了CPM5的结构, 合成出世界上首个具有口服活性的PRMT5小分子抑制剂EPZ015666, 它可以特异且高效地抑制PRMT5的酶活性, 并在淋巴瘤和白血病动物模型中起到良好的抗癌效果(该药正处于临床应用的积极推广中)。

4.3 GSK3326595

GSK3326595是近年来新发现的PRMT5小分子抑制剂。2019年, GERHART等^[70]发现GSK3326595可以与PRMT5/MEP50复合体形成共结晶, 阻碍其甲基转移酶的功能; 而且它与PRMT5/MEP50复合体结合的特异性远高于其他20种甲基化转移酶(如

表2 不同PRMT5小分子抑制剂的基本信息

表2 Small molecule inhibitors of PRMT5

分类 Types	分子式 Formula	分子量 Molecular weight	结构式 Structure
DS-437	C ₁₅ H ₂₃ N ₇ O ₄ S	397.45	
MTA	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₃ S	297.30	
CPM5	C ₂₁ H ₂₁ N ₃	315.41	
HLCL-61	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O·ClH	380.91	
EPZ015666	C ₂₀ H ₂₅ N ₅ O ₃	383.44	
GSK3326595	C ₂₄ H ₃₂ N ₆ O ₃	452.55	

PRMT9)。GERHART等^[70]检测了GSK3326595对多种肿瘤的抑制效果,发现对乳腺癌、AML和骨髓瘤的抑制效果最佳。机制上,GSK3326595通过干扰PRMT5/MEP50的功能,影响细胞内剪切、RNA加工、转录和翻译等相关基因的甲基化修饰,调节细胞内RNA的稳态。另外,该药处理可促进细胞周期相关基因的表达,使癌细胞停滞在G₁期,并诱导癌细胞死亡。GSK3326595还可抑制癌基因的表达,并重新激活抑癌基因。在淋巴瘤细胞系种,GSK3326595会使癌基因MDM4丢失第6外显子,丧失对p53通路的抑制作用,进而恢复p53通路的抗肿瘤活性。GERHART等还发现,GSK3326595对p53野生型和突变型的肿瘤细胞抑制效果有显著差别,提示该抑制剂的抗肿瘤作用有明显的情景依赖(context-dependent)特征。目前,GSK3326595已被应用于临床I期的液体瘤和实体瘤试验中(NCT02783300, clinicaltrials.gov)。

5 总结与展望

近年来,蛋白质甲基化修饰已成为癌症表观遗传研究领域的新热点。作为重要的蛋白质(主要为组蛋白)甲基化酶,PRMT5在人体多个组织中广泛表达,在众多生物学过程中扮演着重要的调控角色。研究证实,PRMT5在多种癌症组织中异常高表达,可通过多种分子信号途径来促进肿瘤的恶性进展,发挥类似致癌基因的作用(表1)。然而,由于不同癌种的高度异质性和不同研究论文所侧重方向的差异性,使得已报道的PRMT5在不同肿瘤中的致癌机理并不一致。本文对近年来PRMT5在多种癌症中的研究进展进行了总结,有助于研究者清晰地认识、比较和分析PRMT5在不同癌种中致癌分子机制的异同(图3)。简而言之,PRMT5主要通过三种方式发挥其功能:(1)作为甲基转移酶,PRMT5可以甲基化修饰多种底物(包括非组蛋白)并改变其生物活性,或影响其相关通路基因的转录调控(其中一些底物可以调控肿瘤细胞的恶性生物学行为);(2)作为转录辅助因子,PRMT5可以在启动子区域与其他转录因子共结合,从而影响下游基因的表达调控(比如特异性地增强或减弱一些致癌或抑癌基因的活性);(3)作为剪切因子,PRMT5可以影响癌细胞全基因组水平的RNA剪切图谱,特异性地调节一些与肿瘤相关基因的异常剪切,进而起到促进肿瘤发生发展的

作用。

PRMT5可作为多种癌症的生物标志物和潜在的治疗靶标;一些特异性的小分子抑制剂已用于临床试验,但总体研究仍处于初级阶段。PRMT5在不同癌种中的作用以及其潜在的分子机制依然不明朗。许多已发表的研究具有明显的癌种特异性,而有些癌种的PRMT5研究却比较缺乏。比如,本文中并没有提到对中老年男性健康造成极大威胁的前列腺癌,主要是因为目前PRMT5在前列腺癌中的研究较为稀少。有报道显示,PRMT5在前列腺癌中高表达,但关于PRMT5的生物学功能目前仍不清楚,且已有的研究亦存在一定的争议。2016年DENG等^[71]发现,敲低PRMT5只影响雄激素受体阳性(Androgen receptor, AR⁺)的LNCaP细胞增殖,而不影响AR⁻的DU145和PC3细胞的体外增殖;且敲低PRMT5会抑制AR靶基因的表达。然而,同年MOUNIR等^[72]发现,下调PRMT5并不影响LNCaP细胞的体外增殖和AR的转录活性。由此可见,PRMT5在前列腺癌中的作用存在争议,需要后期进一步深究。此外,尽管目前绝大多数研究显示,PRMT5是一个“致癌基因”,但仍有少部分研究反驳该观点。比如前文所提到的CAPG基因可以通过促进STC-1(促转移基因)的转录水平,促进乳腺癌细胞转移;而作为转录抑制因子的PRMT5可以通过与CAPG竞争性结合STC-1,拮抗CAPG的促转移作用^[41]。有趣的是,PRMT5的亚细胞定位可能会影响其具体功能。有报道显示,细胞质定位的PRMT5会加快,而细胞核定位的PRMT5会抑制前列腺癌细胞系的生长^[73]。最近,LATTOUF等^[74]通过免疫组化实验发现,所有乳腺癌的细胞胞质中均高表达PRMT5,而只有约64%的癌细胞核中有PRMT5表达;关联分析发现,细胞核中高表达PRMT5的病人有更好的预后(说明核PRMT5可能抑癌)。可见,这些研究一方面提示PRMT5可通过多个层面来发挥其癌症调控功能(图3),但具体的主效功能取决于哪一层面要“因人而异”;另一方面,对PRMT5的精准定位,以及利用单细胞测序技术对肿瘤组织进行精细的细胞分群,将进一步明确PRMT5对癌细胞的复杂调控机制。

前文所总结的PRMT5与不同癌种之间的关系,均是由于PRMT5异常表达而引起的下游靶基因/信号通路的改变,最终影响了癌症的发生和发展。癌症基因组测序发现,PRMT5在16种癌症中的突变频

率超过1%; 结合PRMT5所扮演的角色(甲基化转移酶、转录因子和剪切因子), 不难推测其特定位点的突变可能与癌症的发生发展相关。然而, 目前关于PRMT5突变与肿瘤之间关系的报道十分稀少。大多数是在实验条件下, 人为引入PRMT5酶活性区域的定点突变来检测其酶活改变; 而对其他位点的突变研究甚少。比如在白血病^[32]、乳腺癌^[74]和肺癌^[44]中, PRMT5酶活区域突变可以显著影响其甲基化修饰的功能, 进而影响其下游靶基因的表达和肿瘤的细胞生物学行为。推而广之, 作为转录因子PRMT5的功能依赖其转录识别结构域与靶基因的结合, 因此发生在该区域内的突变理论上应该会通过影响其与DNA的互作来“打乱”整个转录图谱。此外, PRMT5自身还是剪切因子(其自身也可形成环形RNA circ-PRMT5), 故凡是可以影响PRMT5对mRNA前体剪切位点识别及成环位点选择的突变, 也均可能会影响其下游靶基因表达, 进而影响癌细胞增殖和侵袭。

尽管目前已开发出多种针对PRMT5的小分子抑制剂, 但大部分抑制剂的相关研究也仅仅是停留在体外细胞生物学层面, 加上PRMT5在不同癌种中致癌机理的不明确性, 后期仍需投入大量科研精力用于解析PRMT5的致癌机制, 并开发新一代高效、减毒、特异的抑制剂。鉴于小分子化合物的固有特征, 多肽抑制剂的研发或许是一条新的道路。多肽药物是近年来被广泛看好、前景广阔、可以靶向undruggable靶点的新型抑制剂。值得注意的是, PRMT5的一些功能对正常细胞的存活亦必不可少, 因此, 需要进行大量精准的实验来确定各种抑制剂的安全使用剂量, 并排除抑制剂可能对人体正常发育和正常器官稳态维持所带来的不利影响。

参考文献 (References)

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-32.
- [3] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志(ZHENG R, SUN K, ZHANG S, et al. Report of cancer epidemiology in China, 2015 [J]. *Chin J Oncol*, 2019(1): 19-28.
- [4] SUZUKI T. Special issue: (Bio) chemical aspects of epigenetics [J]. *Chem Rec*, 2018, 18(12): 1659.
- [5] LORENZO, A D, BEDFORD, M T. Histone arginine methylation [J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(13): 2024-31.
- [6] YANG Y Z, BEDFORD M T. Protein arginine methyltransferases and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(1): 37-50.
- [7] ROTHBART, S B, STRAHL, B D. Interpreting the language of histone and DNA modifications [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1839(8): 627-43.
- [8] VELAND N, HARDIKAR S, ZHONG Y, et al. The arginine methyltransferase PRMT6 regulates DNA methylation and contributes to global DNA hypomethylation in cancer [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(12): 3390-7.
- [9] LORTON, B M, SHECHTER D. Cellular consequences of arginine methylation [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(15): 2933-56.
- [10] STOPA N, KREBS, J E & SHECHTER, D. The PRMT5 arginine methyltransferase: many roles in development, cancer and beyond [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(11): 2041-59.
- [11] BLANC R S, RICHARD S. Arginine methylation: the coming of age [J]. *Mol Cell*, 2017, 65(1): 8-24.
- [12] LIU L M, SUN W Z, FAN X Z, et al. Methylation of C/EBPalpha by PRMT1 inhibits its tumor-suppressive function in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(11): 2865-77.
- [13] ZOU L, ZHANG H, DU C, et al. Correlation of SRSF1 and PRMT1 expression with clinical status of pediatric acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Hematol Oncol*, 2012, 5: 42.
- [14] SELIGSON D B, HORVATH S, SHI T, et al. Global histone modification patterns predict risk of prostate cancer recurrence [J]. *Nature*, 2005, 435(7046): 1262-6.
- [15] LIAO H W, HSU J M, XIA W, et al. PRMT1-mediated methylation of the EGF receptor regulates signaling and cetuximab response [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(12): 4529-43.
- [16] ZHONG J, CAO R X, ZU X Y, et al. Identification and characterization of novel spliced variants of PRMT2 in breast carcinoma [J]. *FEBS J*, 2012, 279(2): 316-35.
- [17] YANG Y, HADJIKYRIACOU A, XIA Z, et al. PRMT9 is a type II methyltransferase that methylates the splicing factor SAP145 [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6428.
- [18] KAHLES A, LEHMANN K V, TOUSSAINT N C, et al. Comprehensive analysis of alternative splicing across tumors from 8 705 patients [J]. *Cancer Cell*, 2018, 34(2): 211-24.e6.
- [19] YAO R, JIANG H, MA Y, et al. PRMT7 induces epithelial-to-mesenchymal transition and promotes metastasis in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(19): 5656-67.
- [20] SUN L, WANG M Z, LÜ Z Y, et al. Structural insights into protein arginine symmetric dimethylation by PRMT5 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(51): 20538-43.
- [21] ANTONYSAMY S. The structure and function of the PRMT5: MEP50 complex [J]. *Subcell Biochem*, 2017, 83: 185-94.
- [22] PAL S, BAIOCCHI T A, BYRD J C, et al. Low levels of miR-92b/96 induce PRMT5 translation and H3R8/H4R3 methylation in mantle cell lymphoma [J]. *EMBO J*, 2007, 26(15): 3558-69.
- [23] GU Z, GAO S, ZHANG F et al. Protein arginine methyltransferase 5 is essential for growth of lung cancer cells [J]. *Biochem J*, 2012, 446(2): 235-41.
- [24] TEE W W, PARDO M, THEUNISSEN T W et al. Prmt5 is essential for early mouse development and acts in the cytoplasm to maintain ES cell pluripotency [J]. *Genes Dev*, 2010, 24(24): 2772-7.
- [25] CHIANG K, ZIELINSKA A E, SHAABAN A M, et al. PRMT5 is a critical regulator of breast cancer stem cell function via histone methylation and FOXPI expression [J]. *Cell Rep*, 2017,

- 21(12): 3498-513.
- [26] QIN Y, HU Q, XU J et al. PRMT5 enhances tumorigenicity and glycolysis in pancreatic cancer via the FBW7/cMyc axis [J]. *Cell Commun Signal*, 2019, 17(1): 30.
 - [27] ZHENG S, MOEHLENBRINK J, LU Y C, et al. Arginine methylation-dependent reader-writer interplay governs growth control by E2F-1 [J]. *Mol Cell*, 2013, 52(1): 37-51.
 - [28] BARCZAK W, JIN L, CARR S M, et al. PRMT5 promotes cancer cell migration and invasion through the E2F pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7): 572.
 - [29] TAN Q C, LI Y, YANG C, et al. PRMT5 modulates splicing for genome integrity and preserves proteostasis of hematopoietic stem cells [J]. *Cell Rep*, 2019, 26(9): 2316-28.16.
 - [30] RADZISHEUSKAYA A, SHILIAHA P V, GRINEV V et al. PRMT5 methylome profiling uncovers a direct link to splicing regulation in acute myeloid leukemia [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2019, 26(11): 999-1012.
 - [31] JUDE C D, CLIMER L, XU D, et al. Unique and independent roles for MLL in adult hematopoietic stem cells and progenitors [J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(3): 324-37.
 - [32] KAUSHIK S, LIU F, VEAZEY K J, et al. Genetic deletion or small-molecule inhibition of the arginine methyltransferase PRMT5 exhibit anti-tumoral activity in mouse models of MLL-rearranged AML [J]. *Leukemia*, 2018, 32(2): 499-509.
 - [33] DESHANTRI A K, VARELA M A, ECKER V, et al. Nanomedicines for the treatment of hematological malignancies [J]. *J Control Release*, 2018, 287: 194-215.
 - [34] SECKER K A, 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 [J]. *Oncogene* 2019, 38(46): 7181-95.
 - [35] KOH C M, BEZZI M, LOW D H, et al. MYC regulates the core pre-mRNA splicing machinery as an essential step in lymphomagenesis [J]. *Nature*, 2015, 523(7558): 96-100.
 - [36] LITZLER L C, ZAHN A, MELI A P, et al. PRMT5 is essential for B cell development and germinal center dynamics [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 22.
 - [37] LU X, FERNANDO T M, LOSSOS C et al. PRMT5 interacts with the BCL6 oncoprotein and is required for germinal center formation and lymphoma cell survival [J]. *Blood*, 2018, 132(19): 2026-39.
 - [38] WANG Z, KONG J, WU Y et al. PRMT5 determines the sensitivity to chemotherapeutics by governing stemness in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 168(2): 531-42.
 - [39] ZHOU Z, FENG Z, HU D, et al. A novel small-molecule antagonizes PRMT5-mediated KLF4 methylation for targeted therapy [J]. *EBioMedicine*, 2019, 44: 98-111.
 - [40] RENGASAMY M, ZHANG F, VASHISHT A, et al. The PRMT5/WDR77 complex regulates alternative splicing through ZNF326 in breast cancer [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(19): 11106-20.
 - [41] HUANG S, CHI Y, QIN Y, et al. CAPG enhances breast cancer metastasis by competing with PRMT5 to modulate STC-1 transcription [J]. *Theranostics*, 2018, 8(9): 2549-64.
 - [42] SHENG X, BOWEN N, WANG Z X. GLI pathogenesis-related 1 functions as a tumor-suppressor in lung cancer [J]. *Mol Cancer*, 2016, 15: 25.
 - [43] JING P, ZHAO N, YE M, et al. Protein arginine methyltransferase 5 promotes lung cancer metastasis via the epigenetic regulation of miR-99 family/FGFR3 signaling [J]. *Cancer Lett*, 2018, 427: 38-48.
 - [44] LI M, AN W, XU L, et al. The arginine methyltransferase PRMT5 and PRMT1 distinctly regulate the degradation of anti-apoptotic protein CFLARL in human lung cancer cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 64.
 - [45] LIU L, ZHAO X, ZHAO L, et al. Arginine methylation of SREBP1a via PRMT5 promotes *de novo* lipogenesis and tumor growth [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(5): 1260-72.
 - [46] LI Z, ZHANG J, LIU X, et al. The LINC01138 drives malignancies via activating arginine methyltransferase 5 in hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1572.
 - [47] BONZO J A, FERRY C H, MATSUBARA T, et al. Suppression of hepatocyte proliferation by hepatocyte nuclear factor 4alpha in adult mice [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(10): 7345-56.
 - [48] ZHENG B N, DING C H, CHEN S J et al. Targeting PRMT5 activity inhibits the malignancy of hepatocellular carcinoma by promoting the transcription of HNF4alpha [J]. *Theranostics*, 2019, 9(9): 2606-17.
 - [49] ZHANG W, CHEN J, WU M, et al. PRMT5 restricts hepatitis B virus replication through epigenetic repression of covalently closed circular DNA transcription and interference with pre-genomic RNA encapsidation [J]. *Hepatology*, 2017, 66(2): 398-415.
 - [50] YAN F, ALINARI L, LUSTBERG M E, et al. Genetic validation of the protein arginine methyltransferase PRMT5 as a candidate therapeutic target in glioblastoma [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(6): 1752-1765.
 - [51] BANASAVADI-SIDDEGOWDA Y K, WELKER A M, AN M et al. PRMT5 as a druggable target for glioblastoma therapy [J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(6): 753-63.
 - [52] BANASAVADI-SIDDEGOWDA Y K, RUSSEL L, FRAIR E, et al. PRMT5-PTEN molecular pathway regulates senescence and self-renewal of primary glioblastoma neurosphere cells [J]. *Oncogene*, 2017, 36(2): 263-74.
 - [53] BRAUN C J, STANCIU M, BOUTZ P L, et al. Coordinated splicing of regulatory detained introns within oncogenic transcripts creates an exploitable vulnerability in malignant glioma [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(4): 411-26.e11.
 - [54] DU C, HANSEN L J, SINGH S X, et al. A PRMT5-RNF168-SMURF2 axis controls H2AX proteostasis [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(12): 3199-211 e3195.
 - [55] KIM S, GUNESDOGAN U, ZYLICZ J J, et al. PRMT5 protects genomic integrity during global DNA demethylation in primordial germ cells and preimplantation embryos [J]. *Mol Cell*, 2014, 56(4): 564-79.
 - [56] LIU X, ZHANG J, LIU L, et al. Protein arginine methyltransferase 5-mediated epigenetic silencing of IRX1 contributes to tumorigenicity and metastasis of gastric cancer [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(9 Pt B): 2835-44.
 - [57] DU W, LI D, GUO X, et al. Circ-PRMT5 promotes gastric cancer progression by sponging miR-145 and miR-1304 to upregulate MYC [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 4120-30.
 - [58] LIU M, YAO B, GUI T, et al. PRMT5-dependent transcriptional repression of c-Myc target genes promotes gastric cancer progression [J]. *Theranostics*, 2020, 10(10): 4437-52.

- [59] DEMETRIADOU C, PAVLOU D, MPEKRIS F, et al. NAA40 contributes to colorectal cancer growth by controlling PRMT5 expression [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 236.
- [60] BOS J L. Ras oncogenes in human cancer: a review [J]. *Cancer Res*, 1989, 49(17): 4682-89.
- [61] SHIFTEH D, SAPIR T, PAHMER M, et al. Protein arginine methyltransferase 5 as a therapeutic target for KRAS mutated colorectal cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(8): 2091.
- [62] HARTLEY A V, WANG B, MUNDADE R, et al. PRMT5-mediated methylation of YBX1 regulates NF-kappaB activity in colorectal cancer [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 15934.
- [63] HARTLEY A V, WANG B, JIANG G, et al. Regulation of a PRMT5/NF-kappaB axis by phosphorylation of PRMT5 at serine 15 in colorectal cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3684.
- [64] SMIL D, ERAM M S, LI F, et al. Discovery of a dual PRMT5-PRMT7 inhibitor [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2015, 6(4): 408-12.
- [65] NAGAI Y, JI M Q, ZHU F et al. PRMT5 associates with the FOXP3 homomer and when disabled enhances targeted p185(erbB2/neu) tumor immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 174.
- [66] MARJON K, CAMERON M J, QUANG P, et al. MTAP deletions in cancer create vulnerability to targeting of the MAT2A/PRMT5/RIOK1 axis [J]. *Cell Rep*, 2016, 15(3): 574-87.
- [67] ALINARI L, MAHASENAN K V, YAN F, et al. Selective inhibition of protein arginine methyltransferase 5 blocks initiation and maintenance of B-cell transformation [J]. *Blood*, 2015, 125(16): 2530-43.
- [68] TARIGHAT S S, SANTHANAM R, FRANKHOUSER D, et al. The dual epigenetic role of PRMT5 in acute myeloid leukemia: gene activation and repression via histone arginine methylation [J]. *Leukemia*, 2016, 30(4): 789-99.
- [69] CHAN-PENE BRE E, KUPLAST K G, Majer C R, et al. A selective inhibitor of PRMT5 with *in vivo* and *in vitro* potency in MCL models [J]. *Nat Chem Biol*, 2015, 11(6): 432-7.
- [70] GERHART S V, KELLNER W A, THOMPSON C, et al. Activation of the p53-MDM4 regulatory axis defines the anti-tumour response to PRMT5 inhibition through its role in regulating cellular splicing [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 9711.
- [71] DENG X, SHAO G, ZHANG H T, et al. Protein arginine methyltransferase 5 functions as an epigenetic activator of the androgen receptor to promote prostate cancer cell growth [J]. *Oncogene*, 2017, 36(9): 1223-31.
- [72] MOUNIR Z, KORN J M, WESTERLING T, et al. ERG signaling in prostate cancer is driven through PRMT5-dependent methylation of the androgen receptor [J]. *Elife*, 2016, 5: e13964.
- [73] GU Z, LI Y, LEE P, et al. Protein arginine methyltransferase 5 functions in opposite ways in the cytoplasm and nucleus of prostate cancer cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e44033.
- [74] LATTOUF H, KASSEM L, JACQUEMETTON J, et al. LKB1 regulates PRMT5 activity in breast cancer [J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(3): 595-606.