



袁卫平研究员, 博士生导师, 中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所)实验血液学国家重点实验室课题组长, 实验血液学国家重点实验室造血衰老与疾病创新团队PI。协和学者特聘教授。袁卫平博士1998年博士毕业于美国佛罗里达大学, 2009年回国在实验血液学国家重点实验室建立实验室。目前课题组主要从事运用不同模式动物与人类血液疾病模型, 研究关键信号通路在正常造血、造血衰老及异常造血中的作用, 特别是关键表观因子在造血克隆恶变演变过程中的作用。课题组成员至今已经发表SCI论文100余篇, 作为第一或通讯作者文章30余篇, Web of Science引用超4 000次。目前主持和参加国家自然科学基金委自然科学基金及科技部国家重点研发计划干细胞及转化研究专项等多项国家级课题/子课题。

<http://www.skleh.ac.cn/laboratories/teaching/tutor/4283.html>

SET蛋白家族分类、功能及其在血液系统中研究进展

李孟柯[#] 初雅婧[#] 袁卫平^{*}

(中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所), 实验血液学国家重点实验室,
国家血液系统疾病临床医学研究中心, 细胞生态海河实验室, 天津 300020)

摘要 SET蛋白家族包含保守的SET结构域, 很多家族成员可以利用S-腺苷甲硫氨酸对底物进行甲基化修饰。SET蛋白家族主要对组蛋白进行甲基化修饰, 包括组蛋白H3K4、K9、K27、K36以及组蛋白H4K20, 调控真核生物中基因的激活和沉默。除组蛋白外, 部分SET蛋白家族成员对各种非组蛋白也具有催化酶活性。SET蛋白突变所导致的表观遗传学异常通常和疾病的发生发展密切相关。SET蛋白家族成员在血液系统及恶性肿瘤中存在高频突变, 该文主要对SET蛋白家族的功能进行归纳和总结, 并介绍其在血液系统及恶性肿瘤中的最新研究进展。

关键词 SET结构域; SAM; 白血病; 造血

The SET-Domain Protein Family: Classification and Biological Functions in Hematopoiesis

LI Mengke[#], CHU Yajing[#], YUAN Weiping^{*}

(State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases,
Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital,
Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

收稿日期: 2021-11-05 接受日期: 2021-11-29

国家自然科学基金(批准号: 82170117、81670120、82170135、81770155)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通讯作者。Tel: 022-23909418, E-mail: wpyuan@ihcams.ac.cn

Received: November 5, 2021 Accepted: November 29, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82170117, 81670120, 82170135, 81770155)

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding author. Tel: +86-22-23909418, E-mail: wpyuan@ihcams.ac.cn

Abstract The SET-domain protein family possess a conserved catalytic domain which can utilize the cofactor SAM (*S*-adenosyl-*L*-methionine) to achieve methylation of its substrates and catalyze the methylation of H3K4, H3K9, H3K27, H3K36 and H4K20 to regulate the activation or repression of genes. Additionally, SET-domain proteins have also been shown to possess catalytic activity towards various non-histone proteins. Mutations of SET-domain proteins have been shown to be linked to human disease initiation and progression. High frequency mutations of SET-domain protein family in hematopoietic system have been related to hematologic malignancies. This review summarizes the classifications and biological functions of the SET-domain protein family and the most recent advances of their roles in hematopoiesis and leukemia.

Keywords SET-domain; SAM; leukemia; hematopoiesis

组蛋白主要由H2A、H2B、H3和H4组成,组蛋白的翻译后修饰是基因表达调控的重要因素,包括组蛋白的甲基化、乙酰化、磷酸化和泛素化。组蛋白的翻译后修饰是动态变化的,以响应胞内和胞外的调控信号。本文将重点讨论SET蛋白家族,一类主要负责催化组蛋白甲基化修饰的甲基转移酶。

SET蛋白存在于目前研究发现的所有真核生物中,该家族含有一个约130个氨基酸的蛋白结构域:SET结构域。最初在果蝇蛋白Su(var)3~9(suppressor of variegation 3~9)、E(z)(enhancer of zeste)以及Trx(trithorax)中被发现并由此命名。SET结构域对赖氨酸的ε-氨基具有酶催化活性,可以以*S*-腺苷甲硫氨酸(*S*-adenosyl-*L*-methionine, SAM)作为甲基供体,转移甲基基团到赖氨酸残基,从而对组蛋白赖氨酸进行一甲基化、二甲基化和三甲基化修饰^[1]。组蛋白表观遗传学修饰的调控异常以及SET蛋白家族成员的突变和表达异常与不同亚型的血液肿瘤及其他疾病均具有较强的相关性。目前在人的基因组中已鉴定出了共约50种精氨酸和赖氨酸的组蛋白甲基转移酶(histone methyl transferases, HMTs),其中至少有22种与人类或小鼠模型中的癌症或其他疾病有关^[2],而血液系统恶性肿瘤占大多数。

1 SET蛋白家族分类

SET蛋白家族主要对组蛋白的赖氨酸进行甲基化修饰^[1]。基于组蛋白赖氨酸靶标的特异性,将SET蛋白家族分为六大类:组蛋白H3赖氨酸4甲基转移酶(histone 3 lysine 4 methyltransferase, H3K4 KMTs)、组蛋白H3赖氨酸9甲基转移酶(histone 3 lysine 9 methyltransferase, H3K9 KMTs)、组蛋白H3赖氨酸27甲基转移酶(histone 3 lysine 27 methyltransferase, H3K27 KMTs)、组蛋白H3赖氨酸36甲基转移酶(histone 3

lysine 36 methyltransferase, H3K36 KMTs)、组蛋白H4赖氨酸20甲基转移酶(histone 4 lysine 20 methyltransferase, H4K20 KMTs)以及靶向非组蛋白底物的甲基转移酶(表1)。

近来有研究发现,SET蛋白家族也可以靶向许多非组蛋白底物^[3],包括转录因子、肿瘤抑制分子以及细胞信号通路调控分子等,并且有的SET蛋白例如SET7/9(KMT7),主要对非组蛋白进行甲基化修饰^[4]。此外,SET蛋白家族在发挥其催化酶活性时,通常不是作为一个独立的蛋白存在,而是通过与多个其他蛋白共同作用来发挥其特异的催化酶活性。下面将介绍并总结SET蛋白家族的生物学功能和作用底物,以及其在血液系统和恶性肿瘤中的最新研究进展。

2 组蛋白H3K4甲基转移酶

2.1 H3K4甲基转移酶组成成员

H3K4me1/2/3通常和常染色质有关,在转录活跃的染色质中发挥作用。组蛋白H3K4的甲基转移酶在真核生物中保守存在。Set1是酵母中唯一的H3K4甲基转移酶,可以催化H3K4一甲基化、二甲基化和三甲基化的修饰。哺乳动物中存在六种Set1的同源蛋白:SETD1A和SETD1B(和果蝇的Set1同源),对H3K4进行二甲基化和三甲基化修饰^[5];MLL1和MLL2(和果蝇的Trx同源)在大多数组织细胞中不影响泛H3K4的甲基化水平,但MLL2是卵母细胞中关键的H3K4me3的甲基化修饰酶^[6];MLL3和MLL4(和果蝇的Trr同源)是H3K4的一甲基化修饰酶^[7]。

哺乳动物中的H3K4的甲基转移酶仅在和核心蛋白成员结合形成完整的蛋白复合体后才可以发挥正常的催化活性。上述六种蛋白都可以和ASH2L、

表1 根据组蛋白赖氨酸靶标进行的SET结构域蛋白分类
Table 1 Classifications of SET domain-containing proteins

分类 Classification	组蛋白靶标位点 Histone target site	成员组成 Membership	参考文献 Reference
H3K4 KMTs	H3K4me1/2/3	SETD1A/SET1DB MLL1/MLL2 MLL3/MLL4	HALLSON, et al, 2012 ^[5] ANDREU, et al, 2010 ^[6] HERZ, et al, 2012 ^[7]
H3K9 KMTs	H3K9me1/2/3	SUV39H1/SUV39H2 G9A/GLP SETDB1/SETDB2 PRDM3/PRDM16	REA, et al, 2012 ^[8] TACHIBANA, et al, 2005 ^[9] SCHULTZ, et al, 2002 ^[10] HOHENAUER, et al, 2012 ^[11]
H3K27 KMTs	H3K27me1/2/3	EZH1/EZH2	MARGUERON, et al, 2008 ^[12]
H3K36 KMTs	H3K36me1/2/3	SET2 NSD1/NSD2/NSD3 ASH1L SETMAR	EDMUNDS, et al, 2008 ^[13] LI, et al, 2009 ^[14] TANAKA, et al, 2007 ^[15] FNU, et al, 2011 ^[16]
H4K20 KMTs	H4K20me1/2/3	SUV420H1/SUV420H2 SETD8	SCHOTTA, et al, 2004 ^[17] COUTURE, et al, 2005 ^[18]
Non-histone protein KMTs	Non-histone target	H3K4/K9/K27/K36 KMTs H4K20 KMTs SETD7	LU, et al, 2010 ^[19] SHI, et al, 2007 ^[20] DEL, et al, 2011 ^[4]

WDR5、RBBP5、DPY30、HCFC1结合^[1], 核心蛋白成员的结合可以促进蛋白复合物的装配并增加SET结构域的组蛋白甲基转移酶活性。除了相同的结合蛋白, 哺乳动物的六种H3K4甲基转移酶也存在各自的特异性结合蛋白, 共同促进蛋白复合物的稳定性。

2.2 H3K4甲基转移酶在造血系统和白血病中的作用

MLL1在果蝇中的同源物Trx可以维持*Hox*基因簇的表达, *Mll1*纯合敲除会导致小鼠胚胎在第11.5~14.5天死亡。*Vav-Cre*介导的*Mll1*敲除, 成体骨髓和胎肝的造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)数目没有明显改变, 但影响HSC的竞争移植能力^[21]。此外, MLL1蛋白所在基因位置可以发生染色体易位产生新的融合蛋白, 导致急性白血病的发生, 以MLL融合蛋白为主要突变的白血病占儿童白血病的70%以上, 占成人急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)约10%, 常见的融合蛋白有AF4、AF9、ENL、AF10和ELL^[22]。联合抑制Menin-MLL和FLT3可以靶向治疗MLL重排白血病^[23]。MLL2作为MLL1的同源蛋白, 它的缺失同样会导致胚胎致死, 并伴随严重的神经管发育缺陷和细胞凋亡。*Mll1/2*敲除小鼠导致胚胎致死, 但是仅选择性敲除MLL1的SET结构域, 小鼠可以正常产生后代^[24], 这些结果说明SET蛋白家族的功能不仅限于SET结构

域, 可能有其他的独立于SET的结构发挥重要作用。

哺乳动物中*Mll3*可以抑制造血干/祖细胞(hematopoietic stem/progenitor cell, HSPC)的分化, 在HSPC细胞中敲降*Mll3*会出现MDS样表型。*MLL3*基因位于人第7号染色体的长臂, 而第7和7q染色体缺失经常发生在MDS和AML患者中, *MLL3*单倍缺失可以促进髓系白血病的发生发展, 这些结果提示*MLL3*是位于7号染色体长臂上的肿瘤抑制基因^[25]。最近有研究表明, *MLL4*在人慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)中存在高频失活型突变^[26], 这一结果提示, *MLL4*在CLL中可能作为抑癌基因存在。

小鼠*Setd1a*的全身敲除会导致胚胎致死, *Vav-Cre*介导敲除*Setd1a*的小鼠模型中, HSC的数目在小鼠出生后第9天急剧减少, 部分出生后第7到第20天死亡, 提示缺失*Setd1a*的造血干细胞在产后新生儿阶段无法进行扩增。移植条件下, 他莫昔芬(tamoxifen)诱导*Cre-ERT2*敲除*Setd1a*虽不影响HSC的数目, 但会损伤HSC的功能并降低其重建能力。机制研究发现, SETD1A通过DNA损伤信号转导和DNA修复途径阻止DNA损伤的积累使造血干细胞免受炎症刺激^[27]。此外, SETD1A通过其FLOS结构域调控*Fancd2*在内的DNA损伤应答基因的表达, 敲降SETD1A可以抑制DNA损伤应答, 诱导AML细胞

的凋亡^[28]。以上的结果说明, 尽管哺乳动物中六种H3K4 KMT存在重叠的酶活性, 但是彼此间基因调控的特异性作用明显不同。

3 组蛋白H3K9甲基转移酶

3.1 H3K9甲基转移酶组成成员

SUV39H1是第一个被报道的H3K9甲基转移酶, 含SET结构域。科研人员在哺乳动物中发现一系列的H3K9 KMTs, 包括SUV39H1和SUV39H2[和果蝇Su(var)3~9同源]、G9a和GLP(和果蝇G9a同源)、SETDB1和SETDB2(和果蝇Eggless同源)、PRDM3和PRDM16(和果蝇Hamlet同源)^[1], 其中PRDM3和PRDM16属于PRDM蛋白家族, 其N-端包含一个PR结构域, 该结构域和SET结构域高度相似。

SUV39H1和SUV39H2是一对同源核蛋白, 它们通过其C-端的SET结构域催化H3K9me3, 其N-端有chromo结构域可以和H3K9me2/me3结合。G9a与GLP是高度同源的蛋白, 可以形成聚合体催化H3K9的一甲基化和二甲基化^[9], G9a/GLP在蛋白的N-端和富半胱氨酸(Cys)结构域有核定位信号。SETDB1/2包含一个分割成两部分的SET结构域, 依据SET结构域分割的差异分为SETDB1和SETDB2, SETDB1可以对常染色质基因进行H3K9me2/me3修饰, 沉默基因的表达^[10]。

3.2 H3K9甲基转移酶在造血系统和白血病中的作用

SUV39H1在胚胎和成体中稳定存在, 造血系统中单一缺失*Suv39h1*或*Suv39h2*对造血干细胞功能和造血各系发育均无影响。但双敲型小鼠的造血系统出现衰老表型, 胸腺发育异常, 胎肝长周期造血干细胞数目减少, 竞争移植能力下降。*Suv39h1/2*双敲除导致异染色质结构的缺失和DNA损伤的增加, 进而导致造血系统出现衰老表型^[29]。此外, *Suv39h1*的缺失可以参与CD8⁺ T细胞的终末分化成熟^[30]。我们实验室发现, *SUV39H1*在AML中低表达并和疾病预后生存期呈正相关, 在携带MLL-AF9的AML细胞中过表达*Suv39h1*可以诱导细胞凋亡, 延缓白血病进展^[31]。*Suv39h1*过表达增加H3K9me3修饰, 导致*Hoxb13*和*Six1*在白血病细胞中表达下调以及*Hoxa9/Meis1*下游靶基因表达下调^[31-32], 提示SUV39H1具有肿瘤抑制作用。

有研究发现 *G9a*属于原癌基因^[33], 它可以促进

*Hoxa9/Meis1*的转录活性, 调控AML的疾病进展, 靶向*G9a/GLP*在AML以及CML治疗中也显示出较好的效果^[34-35], 这些结果提示, *G9a*可能是治疗白血病的一个潜在靶点。在急性T淋巴细胞白血病(acute T-lymphoblastic leukemia, T-ALL)细胞系中, *G9a*抑制剂的处理可以抑制白血病细胞的增殖, 下调H3K9一甲基化和二甲基化水平^[36]。*GLP*在CLL中高表达, 且与CLL预后不良有关, 使用*G9a/GLP*抑制剂处理可以促进CLL细胞的凋亡, 降低CLL细胞的生存能力^[37]。

*Setdb1*缺失会导致小鼠胚胎致死, *Setdb1*参与调控造血干/祖细胞的维持, 它的缺失会导致造血干/祖细胞的快速耗竭^[38]。在MLL-AF9的AML模型中, *Setdb1*缺失导致白血病干细胞减少, 小鼠生存期延长^[38]。与之矛盾的是, 另有研究发现, SETDB1可以介导AML细胞启动子区的H3K9me3修饰, 抑制*Hoxa9*和*Meis1*的表达, 在MLL-AF9 AML中过表达*Setdb1*可以延缓小鼠生存期^[39-40]。这些结果表明, *Setdb1*对白血病细胞的调控可能不限于单一的信号通路, 因此*Setdb1*可能作为潜在的治疗靶点^[41]。SETDB2受到AML1-ETO的直接调控, 在携带AML1-ETO的AML中高表达, 伴随明显预后不良, 敲降*Setdb2*可以显著抑制白血病细胞的生长和增殖^[42]。尽管*Setdb2*在AML中被认为是原癌基因, 但其对正常造血的干/祖细胞的增殖没有明显作用^[43]。

这些研究阐明了H3K9甲基转移酶在造血系统和血液肿瘤的作用和具体调控机制, 既可以抑制又能够活化血液系统恶性肿瘤, 这也提示造血系统中H3K9甲基转移酶的精确调控对于维持造血系统的稳态和防止恶性血液肿瘤的发生至关重要。

4 组蛋白H3K27甲基转移酶

哺乳动物中的EZH1和EZH2可以对H3K27进行甲基化修饰, 属于PRC2(polycomb repressive complex 2)的活性催化成员, 和果蝇的E(z)同源。EZH2可以对H3K27进行二甲基化和三甲基化修饰, 也能够靶向非组蛋白底物。EZH1是一个催化活性较弱的甲基转移酶, 可以对H3K27进行二甲基化和三甲基化修饰, 主要表达在增殖不活跃的细胞, EZH1和EZH2在功能上存在一定的冗余^[12]。与H3K4 KMT类似的是, E(z)/EZH1/EZH2也需要和核心蛋白结合才能发挥酶催化活性, 果蝇中的核心成员包括E(z)、

Su(z)、Esc/Esc1和Nurf55, 哺乳动物中对应EZH1/2、SUZ12、EED和RBBP4/7, 共同构成PRC2复合物, 维持机体的正常发育和基因表达^[44]。

*Ezh2*位于染色体7q36.1, *Ezh2*全身敲除导致胚胎致死。*Ezh2*敲除的胎肝HSC淋系重建功能受损, 胎肝HSC的H3K27me3水平显著下降; 但成体诱导敲除在蛋白水平并未见明显的H3K27me3水平改变^[45], 提示Polycomb复合物的表观调控在胎肝HSC向成体HSC转变过程中存在动态变化。*Rosa26-Cre-ERT2*成体诱导*Ezh2*敲除的小鼠, 随着周龄的增加, 会出现MDS/MPN以及MDS表型, 表现为骨髓异常增生、脾肿大及髓外造血, LSK细胞数量增加^[46]。基因表达谱分析发现, 在造血干/祖细胞中, *Ezh2*敲除后初期3个月, PRC2靶基因被去抑制, 但在后期9~12个月MDS和MDS/MPN发展过程中有部分恢复, 进一步研究表明, 部分EZH2靶标的H3K27me3水平可由EZH1弥补^[46]。*Ezh1*敲除对造血各系血细胞没有明显影响, 但*Ezh1/2*双敲除导致HSC数目和三系重建能力严重受损^[46]。这些结果揭示了*Ezh1*在*Ezh2*缺失导致的造血系统恶性肿瘤中具有重要作用。此外, EZH2的高表达通常和AML以及高危MDS患者的预后不良呈正相关, 靶向抑制EZH1和EZH2可以治疗AML和多发性骨髓瘤^[47-48]。

*Ezh2*的缺失可以促进*JAK2V617F*突变诱导的骨髓纤维化的发生发展^[49], *Ezh2*缺失协同*NRas^{G12D}*突变可以诱导小鼠发生MPN样肿瘤, 而*NRas^{G12D}*背景下敲除*Ezh2*和*Ezh1*不会导致MPN疾病的发生^[50], 提示EZH1在MPN疾病发展中发挥重要作用。这些结果加深了对稳态造血向血液肿瘤转换的理解, 完善了具体的分子调控机制。

5 组蛋白H3K36甲基转移酶

5.1 H3K36甲基转移酶组成成员

组蛋白H3K36甲基化是活跃转录的标志, 出芽酵母Set2是第一个被发现的H3K36甲基转移酶, 哺乳动物中的H3K36 KMTs包括SETD2、NSD1-3、ASH1L和SETMAR^[51]。SETD2在哺乳动物和酵母中保守存在, 酵母中SETD2可以对H3K36进行1-3甲基化修饰, 哺乳动物中对H3K36进行三甲基化修饰。NSD和ASH1L则作为果蝇Mes-4和Ash1同源物存在, NSD1-3以及果蝇的同源蛋白更倾向对H3K36进行二甲基化修饰^[14]。SET蛋白家族中, ASH1L与SETD2

更同源, ASH1L可以进行二甲基化修饰。ASH1L和NSD1在SET和post-SET结构域之间都包含一个自身抑制结构, 通过和核小体结合以及特定蛋白结合后会解除催化酶结构域的抑制效果, E(z)也存在类似的自身抑制结构^[51]。SETMAR也具备H3K36的二甲基化作用^[16], 除了H3K36的甲基化底物外, NSD1-3和SETMAR也可以对非组蛋白底物进行甲基化^[19,52]。

5.2 H3K36赖氨酸甲基转移酶在造血系统和白血病中的作用

小鼠造血系统敲除*Setd2*会导致白细胞减少、贫血、血小板增加, 并伴有骨髓细胞减少、红细胞发育不良和轻度纤维化。敲除*Setd2*导致造血干细胞静息受损、凋亡增加以及多系分化潜能降低。在NUP98-HOXD13转基因小鼠(NHD13, NHD13转基因小鼠具有MDS的特征)中, *Setd2*缺失可以促进MDS向AML转换^[53-55]; *SETD2*在急性白血病中经常发生功能失活型突变, 在*SETD2*突变的白血病细胞中观察到缺失的H3K36me3修饰^[56]。在小鼠中*Setd2*杂合敲除或失活型突变可以促进MLL-AF9疾病进程, 并表现出阿糖胞苷的耐药性。*Setd2*缺失可以下调抑癌基因, 上调原癌基因, 增加DOT1L介导的H3K79me3修饰^[57-58]。但是纯合敲除会延缓疾病进展, 这可能和*SETD2*在疾病中常发生杂合突变相关^[59]。这些结果提示, SETD2-H3K36me3的表观遗传修饰可以作为治疗白血病的潜在靶点。

NSD1是H3K36特异性的二甲基化酶。NSD1对正常小鼠胚胎发育至关重要, 血液系统敲除*Nsd1*可以导致红白血病的发生^[60]。据报道, 约15%的儿童急性髓系白血病中发生t(5;11)(q35;p15.5)染色体易位, 导致*NSD1*与核孔蛋白编码基因*NUP98*融合, 产生新的融合蛋白NUP98-NSD1, NUP98-NSD1单独存在或与FLT3激酶突变共存可以驱动AML的发生, 靶向NSD1的SET结构域, 可以抑制NUP98-NSD1的白血病细胞恶性程度^[61]。NSD2 SET结构域纯合缺失的小鼠无法存活超过10天^[62]。在15%~20%的多发性骨髓瘤(multiple myeloma)患者中存在t(4;14)染色体易位, 导致NSD2表达的增加, 而下调NSD2的表达可以抑制细胞增殖和DNA修复^[63]。和上述NSD1/2相似, *NSD3*也是一个原癌基因, 在AML或骨髓增生异常综合征患者中检测到NSD3和NUP98的融合蛋白, 产生类似NUP98-NSD1的NUP98-NSD3, 同样可以驱动AML疾病发生, 靶向抑制NSD3的PWWP1结

构域可以抑制白血病细胞的增殖^[64]。NSD家族蛋白在驱动疾病发生发展过程中的获得性突变、染色体易位以及表达水平的上调,提示HMTase的抑制剂可以作为治疗肿瘤的有效靶点。

ASH1L可以对H3K36进行二甲基化修饰,参与基因的转录活化^[15]。最近的研究表明,ASH1L对MLL重排白血病的发生发展至关重要,目前,已发现靶向ASH1L蛋白SET结构域的抑制剂AS-99可以显著减轻白血病负荷^[65]。ASH1L催化的H3K36me2可以被LEDGF识别,之后招募MLL蛋白到*Hoxa9*和*Meis1*等白血病活跃表达的基因,促进基因表达和疾病进展,下调ASH1L表达可以下调*Hoxa9*的表达,显著延缓MLL重排白血病的恶性程度,然而MLL重排白血病中ASH1L介导的LEDGF和MLL的募集可以被H3K36me2去甲基化酶KDM2A和Polycomb沉默复合物抑制^[66]。这一结果提示,H3K36和H3K27甲基化之间存在平衡拮抗,参与血液系统恶性肿瘤的发生发展,可以为疾病的治疗和预防提供新的思路。

6 组蛋白H4K20甲基转移酶

SETD8是H4K20的一甲基转移酶^[18]。SUV420H1和SUV420H2可以对H4K20进行二甲基化和三甲基化修饰^[17]。在小鼠中敲除*Setd8*导致胚胎致死,H4K-20me1/2/3修饰明显抑制并伴随异常的细胞周期进

程^[67]。*Suv420h1*敲除小鼠死于围产期,*Suv420h2*敲除小鼠发育正常,*Suv420h1/Suv420h1*双敲小鼠也会导致围产期死亡,这些结果提示,H4K20 KMTs参与胚胎期和围产期的发育^[68]。H4K20甲基转移酶的调控模式尚不明确,通常被认为是转录抑制的标志,但也具有转录激活的效果^[69-70]。除此之外,SETD8也可以靶向非组蛋白,例如SETD8可以一甲基化P53第382位赖氨酸,抑制癌细胞中P53依赖的转录激活^[20]。

SETD8在红系细胞中特异性高表达^[71],红系特异性敲降*Setd8*会损伤红细胞的成熟,导致严重的贫血,小鼠胚胎在第11.5天死亡。转录谱分析发现,*Setd8*缺失破坏了基因的转录抑制,异常调控的基因与终末红细胞成熟有关^[72]。

7 总结与展望

SET蛋白家族通过靶向组蛋白和靶向非组蛋白对基因进行转录激活和抑制性修饰,参与稳态造血和恶性血液病转化的多种调控机制(图1)。SET结构域蛋白在不同的生物中高度保守,同一SET蛋白家族成员具有相似的蛋白结构、催化酶活性以及统一的相互作用分子,基于此特性可以寻找靶向蛋白复合体的催化活性结构域或复合体相关蛋白的小分子药物或特异性抑制剂,作为血液系统恶性疾病的共同潜在治疗靶点。除血液系统肿瘤外,SET结构域在神

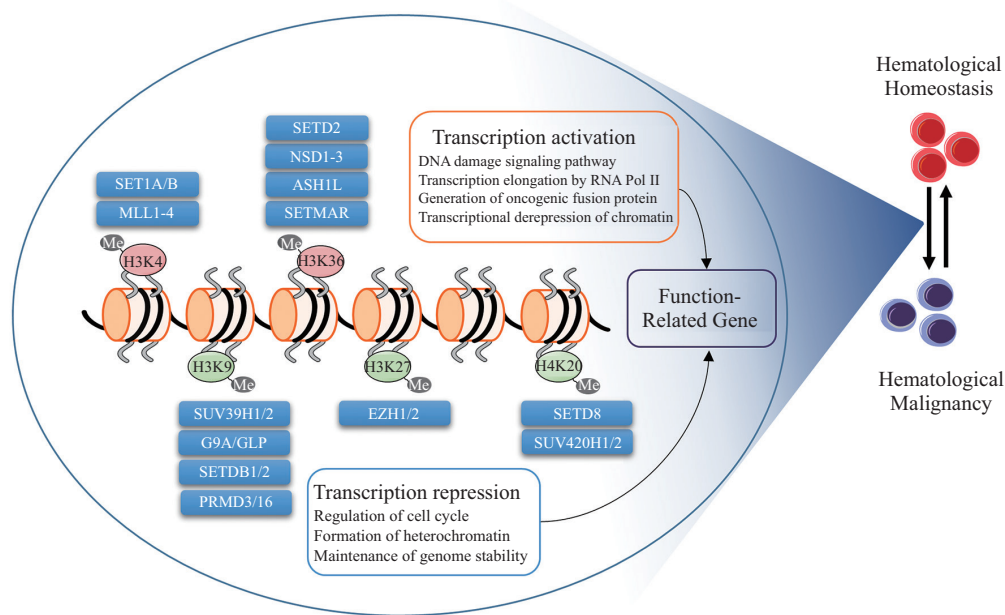


图1 SET蛋白家族调控稳态造血和恶性血液病转化机制(根据参考文献[1]修改)

Fig.1 The mechanism of SET-domain protein family in the regulation of hemostasis and malignant transformation (modified from reference [1])

经系统疾病、乳腺癌、结直肠癌以及其他组织肿瘤中也存在着高频突变。考虑到SET结构域的保守性,造血系统及其恶性肿瘤中的SET蛋白家族的调控机制在其他组织或系统中也许同样适用。

尽管同一SET蛋白家族具有相似的蛋白结构和催化酶活性,但每一个SET/MLL家族成员在体内都具有独特的生物学功能,除统一的相互作用分子外,不同的SET蛋白也存在特异的结合蛋白,已经有文献报道,在小鼠中仅选择性敲除MLL1的SET结构域,小鼠可以正常产生后代,该实验对造血系统没有明显影响^[73],这提示SET蛋白家族的功能可能不仅局限于SET结构域,也可能依赖于其他独立于SET结构域的部分或其相互作用蛋白。除去研究较为清晰的SET蛋白,仍存在许多SET蛋白,其是否具有组蛋白催化酶活性,以及其催化活性是否和疾病直接相关尚不完全清楚或有争议。

SET蛋白家族的高度保守为疾病的治疗提供了一个良好的方向。但由于SET蛋白种类的多样性、结构功能的复杂性和调控机制的特异性及未知性,其作为疾病靶点的治疗和预防也存在新的挑战,未来仍需要在各个方向进行更详尽的基础研究和探索,为临床应用打下坚实的前期基础。

参考文献 (References)

- [1] HERZ H M, GARRUSS A, SHILATIFARD A. SET for life: biochemical activities and biological functions of SET domain-containing proteins [J]. Trends Biochem Sci, 2013, 38(12): 621-39.
- [2] ALBERT M, HELIN K. Histone methyltransferases in cancer [J]. Semin Cell Dev Biol, 2010, 21(2): 209-20.
- [3] WILKINSON A W, DIEP J, DAI S, et al. SETD3 is an actin histidine methyltransferase that prevents primary dystocia [J]. Nature, 2019, 565(7739): 372-6.
- [4] DEL RIZZO P A, TRIEVEL R C. Substrate and product specificities of SET domain methyltransferases [J]. Epigenetics, 2011, 6(9): 1059-67.
- [5] HALLSON G, HOLLEBAKKEN R E, LI T, et al. dSet1 is the main H3K4 di- and tri-methyltransferase throughout *Drosophila* development [J]. Genetics, 2012, 190(1): 91-100.
- [6] ANDREU-VIEYRA C V, CHEN R, AGNO J E, et al. MLL2 is required in oocytes for bulk histone 3 lysine 4 trimethylation and transcriptional silencing [J]. PLoS Biol, 2010, 8(8): e1000453.
- [7] HERZ H M, MOHAN M, GARRUSS A S, et al. Enhancer-associated H3K4 monomethylation by Trithorax-related, the *Drosophila* homolog of mammalian Mll3/Mll4 [J]. Genes Dev, 2012, 26(23): 2604-20.
- [8] REA S, EISENHABER F, O'CARROLL D, et al. Regulation of chromatin structure by site-specific histone H3 methyltransferases [J]. Nature, 2000, 406(6796): 593-9.
- [9] TACHIBANA M, UEDA J, FUKUDA M, et al. Histone methyltransferases G9a and GLP form heteromeric complexes and are both crucial for methylation of euchromatin at H3-K9 [J]. Genes Dev, 2005, 19(7): 815-26.
- [10] SCHULTZ D C, AYYANATHAN K, NEGOREV D, et al. SETDB1: a novel KAP-1-associated histone H3, lysine 9-specific methyltransferase that contributes to HP1-mediated silencing of euchromatic genes by KRAB zinc-finger proteins [J]. Genes Dev, 2002, 16(8): 919-32.
- [11] HOHENAUER T, MOORE A W. The Prdm family: expanding roles in stem cells and development [J]. Development, 2012, 139(13): 2267-82.
- [12] MARGUERON R, LI G, SARMA K, et al. Ezh1 and Ezh2 maintain repressive chromatin through different mechanisms [J]. Mol Cell, 2008, 32(4): 503-18.
- [13] EDMUNDS J W, MAHADEVAN L C, CLAYTON A L. Dynamic histone H3 methylation during gene induction: HYPB/Setd2 mediates all H3K36 trimethylation [J]. EMBO J, 2008, 27(2): 406-20.
- [14] LI Y, TROJER P, XU C F, et al. The target of the NSD family of histone lysine methyltransferases depends on the nature of the substrate [J]. J Biol Chem, 2009, 284(49): 34283-95.
- [15] TANAKA Y, KATAGIRI Z, KAWAHASHI K, et al. Trithorax-group protein ASH1 methylates histone H3 lysine 36 [J]. Gene, 2007, 397(1/2): 161-8.
- [16] FNU S, WILLIAMSON E A, DE HARO L P, et al. Methylation of histone H3 lysine 36 enhances DNA repair by nonhomologous end-joining [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(2): 540-5.
- [17] SCHOTTA G, LACHNER M, SARMA K, et al. A silencing pathway to induce H3-K9 and H4-K20 trimethylation at constitutive heterochromatin [J]. Genes Dev, 2004, 18(11): 1251-62.
- [18] COUTURE J F, COLLAZO E, BRUNZELLE J S, et al. Structural and functional analysis of SET8, a histone H4 Lys-20 methyltransferase [J]. Genes Dev, 2005, 19(12): 1455-65.
- [19] LU T, JACKSON M W, WANG B, et al. Regulation of NF-kappaB by NSD1/FBXL11-dependent reversible lysine methylation of p65 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(1): 46-51.
- [20] SHI X, KACHIRSKAIA I, YAMAGUCHI H, et al. Modulation of p53 function by SET8-mediated methylation at lysine 382 [J]. Mol Cell, 2007, 27(4): 636-46.
- [21] MCMAHON K A, HIEW S Y, HADJUR S, et al. Mll has a critical role in fetal and adult hematopoietic stem cell self-renewal [J]. Cell Stem Cell, 2007, 1(3): 338-45.
- [22] ARMSTRONG S A, LOOK A T. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(26): 6306-15.
- [23] DZAMA M M, STEINER M, RAUSCH J, et al. Synergistic targeting of FLT3 mutations in AML via combined menin-MLL and FLT3 inhibition [J]. Blood, 2020, 136(21): 2442-56.
- [24] TERRANOVA R, AGHERBI H, BONED A, et al. Histone and DNA methylation defects at Hox genes in mice expressing a SET domain-truncated form of Mll [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(17): 6629-34.
- [25] CHEN R, OKEYO-OWUOR T, PATEL R M, et al. Kmt2c mutations enhance HSC self-renewal capacity and convey a selective advantage after chemotherapy [J]. Cell Rep, 2021, 34(7): 108751.

- [26] YI S, YAN Y, JIN M, et al. High incidence of MYD88 and KM-T2D mutations in Chinese with chronic lymphocytic leukemia [J]. *Leukemia*, 2021, 35(8): 2412-5.
- [27] ARNDT K, KRANZ A, FOHGRUB J, et al. SETD1A protects HSCs from activation-induced functional decline *in vivo* [J]. *Blood*, 2018, 131(12): 1311-24.
- [28] HOSHII T, CIFANI P, FENG Z, et al. A non-catalytic function of SETD1A regulates Cyclin K and the DNA damage response [J]. *Cell*, 2018, 172(5): 1007-21.e17.
- [29] KEENAN C R, IANNARELLA N, NASELLI G, et al. Extreme disruption of heterochromatin is required for accelerated hematopoietic aging [J]. *Blood*, 2020, 135(23): 2049-58.
- [30] PACE L, GOUDOT C, ZUEVA E, et al. The epigenetic control of stemness in CD8⁺ T cell fate commitment [J]. *Science*, 2018, 359(6372): 177-86.
- [31] CHU Y, CHEN Y, GUO H, et al. SUV39H1 regulates the progression of MLL-AF9-induced acute myeloid leukemia [J]. *Oncogene*, 2020, 39(50): 7239-52.
- [32] CHU Y, CHEN Y, LI M, et al. Six1 regulates leukemia stem cell maintenance in acute myeloid leukemia [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(7): 2200-10.
- [33] KATO S, WENG Q Y, INSCO M L, et al. Gain-of-function genetic alterations of G9a drive oncogenesis [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(7): 980-97.
- [34] KONDENGADEN S M, LUO L F, HUANG K, et al. Discovery of novel small molecule inhibitors of lysine methyltransferase G9a and their mechanism in leukemia cell lines [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 122: 382-93.
- [35] ZHOU M, ZHANG X, LIU C, et al. Targeting protein lysine methyltransferase G9A impairs self-renewal of chronic myelogenous leukemia stem cells via upregulation of SOX6 [J]. *Oncogene*, 2021, 40(20): 3564-77.
- [36] HUANG Y, ZOU Y, LIN L, et al. Effect of BIX-01294 on proliferation, apoptosis and histone methylation of acute T lymphoblastic leukemia cells [J]. *Leuk Res*, 2017, 62: 34-9.
- [37] ALVES-SILVA J C, DE CARVALHO J L, RABELLO D A, et al. GLP overexpression is associated with poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia and its inhibition induces leukemic cell death [J]. *Invest New Drugs*, 2018, 36(5): 955-60.
- [38] KOIDE S, OSHIMA M, TAKUBO K, et al. Setdb1 maintains hematopoietic stem and progenitor cells by restricting the ectopic activation of nonhematopoietic genes [J]. *Blood*, 2016, 128(5): 638-49.
- [39] ROPA J, SAHA N, HU H, et al. SETDB1 mediated histone H3 lysine 9 methylation suppresses MLL-fusion target expression and leukemic transformation [J]. *Haematologica*, 2020, 105(9): 2273-85.
- [40] ROPA J, SAHA N, CHEN Z, et al. PAF1 complex interactions with SETDB1 mediate promoter H3K9 methylation and transcriptional repression of Hoxa9 and Meis1 in acute myeloid leukemia [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(31): 22123-36.
- [41] STREPKOS D, MARKOULI M, KLONOU A, et al. Histone methyltransferase SETDB1: a common denominator of tumorigenesis with therapeutic potential [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(3): 525-34.
- [42] MU G, CHEN F. Oncogenic roles of a histone methyltransferase SETDB2 in AML1-ETO positive AML [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 783-92.
- [43] LIN C H, WONG S H, KURZER J H, et al. SETDB2 links E2A-PBX1 to cell-cycle dysregulation in acute leukemia through CDKN2C repression [J]. *Cell Rep*, 2018, 23(4): 1166-77.
- [44] MARGUERON R, REINBERG D. The polycomb complex PRC2 and its mark in life [J]. *Nature*, 2011, 469(7330): 343-9.
- [45] MOCHIZUKI-KASHIO M, MISHIMA Y, MIYAGI S, et al. Dependency on the polycomb gene Ezh2 distinguishes fetal from adult hematopoietic stem cells [J]. *Blood*, 2011, 118(25): 6553-61.
- [46] MOCHIZUKI-KASHIO M, AOYAMA K, SASHIDA G, et al. Ezh2 loss in hematopoietic stem cells predisposes mice to develop heterogeneous malignancies in an Ezh1-dependent manner [J]. *Blood*, 2015, 126(10): 1172-83.
- [47] FUJITA S, HONMA D, ADACHI N, et al. Dual inhibition of EZH1/2 breaks the quiescence of leukemia stem cells in acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2018, 32(4): 855-64.
- [48] NAKAGAWA M, FUJITA S, KATSUMOTO T, et al. Dual inhibition of enhancer of zeste homolog 1/2 overactivates WNT signaling to deplete cancer stem cells in multiple myeloma [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(1): 194-208.
- [49] YANG Y, AKADA H, NATH D, et al. Loss of Ezh2 cooperates with Jak2V617F in the development of myelofibrosis in a mouse model of myeloproliferative neoplasm [J]. *Blood*, 2016, 127(26): 3410-23.
- [50] GU Z, LIU Y, CAI F, et al. Loss of EZH2 reprograms BCAA metabolism to drive leukemic transformation [J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(9): 1228-47.
- [51] WAGNER E J, CARPENTER P B. Understanding the language of Lys36 methylation at histone H3 [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(2): 115-26.
- [52] WILLIAMSON E A, RASILA K K, CORWIN L K, et al. The SET and transposase domain protein Metnase enhances chromosome decatenation: regulation by automethylation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(18): 5822-31.
- [53] ZHOU Y, YAN X, FENG X, et al. Setd2 regulates quiescence and differentiation of adult hematopoietic stem cells by restricting RNA polymerase II elongation [J]. *Haematologica*, 2018, 103(7): 1110-23.
- [54] CHEN B Y, SONG J, HU C L, et al. SETD2 deficiency accelerates MDS-associated leukemogenesis via S100a9 in NHD13 mice and predicts poor prognosis in MDS [J]. *Blood*, 2020, 135(25): 2271-85.
- [55] ZHANG Y L, SUN J W, XIE Y Y, et al. Setd2 deficiency impairs hematopoietic stem cell self-renewal and causes malignant transformation [J]. *Cell Res*, 2018, 28(4): 476-90.
- [56] ZHU X, HE F, ZENG H, et al. Identification of functional cooperative mutations of SETD2 in human acute leukemia [J]. *Nat Genet*, 2014, 46(3): 287-93.
- [57] DONG Y, ZHAO X, FENG X, et al. SETD2 mutations confer chemoresistance in acute myeloid leukemia partly through altered cell cycle checkpoints [J]. *Leukemia*, 2019, 33(11): 2585-98.
- [58] BU J, CHEN A, YAN X, et al. SETD2-mediated crosstalk between H3K36me3 and H3K79me2 in MLL-rearranged leukemia [J]. *Leukemia*, 2018, 32(4): 890-9.
- [59] MAR B G, CHU S H, KAHN J D, et al. SETD2 alterations impair DNA damage recognition and lead to resistance to chemo-

- therapy in leukemia [J]. *Blood*, 2017, 130(24): 2631-41.
- [60] LEONARDS K, ALMOSAILLEAKH M, TAUCHMANN S, et al. Nuclear interacting SET domain protein 1 inactivation impairs GATA1-regulated erythroid differentiation and causes erythroleukemia [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2807.
- [61] HUANG H, HOWARD C A, ZARI S, et al. Covalent inhibition of NSD1 histone methyltransferase [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(12): 1403-10.
- [62] NIMURA K, URA K, SHIRATORI H, et al. A histone H3 lysine 36 trimethyltransferase links Nkx2-5 to Wolf-Hirschhorn syndrome [J]. *Nature*, 2009, 460(7252): 287-91.
- [63] LAURING J, ABUKHDEIR A M, KONISHI H, et al. The multiple myeloma associated MMSET gene contributes to cellular adhesion, clonogenic growth, and tumorigenicity [J]. *Blood*, 2008, 111(2): 856-64.
- [64] BÖTTCHER J, DILWORTH D, REISER U, et al. Fragment-based discovery of a chemical probe for the PWWP1 domain of NSD3 [J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(8): 822-9.
- [65] ROGAWSKI D S, DENG J, LI H, et al. Discovery of first-in-class inhibitors of ASH1L histone methyltransferase with anti-leukemic activity [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2792.
- [66] ZHU L, LI Q, WONG S H, et al. ASH1L links histone H3 lysine 36 dimethylation to MLL leukemia [J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(7): 770-83.
- [67] ODA H, OKAMOTO I, MURPHY N, et al. Monomethylation of histone H4-lysine 20 is involved in chromosome structure and stability and is essential for mouse development [J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(8): 2278-95.
- [68] SCHOTTA G, SENGUPTA R, KUBICEK S, et al. A chromatin-wide transition to H4K20 monomethylation impairs genome integrity and programmed DNA rearrangements in the mouse [J]. *Genes Dev*, 2008, 22(15): 2048-61.
- [69] HOUSTON S I, MCMANUS K J, ADAMS M M, et al. Catalytic function of the PR-Set7 histone H4 lysine 20 monomethyltransferase is essential for mitotic entry and genomic stability [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(28): 19478-88.
- [70] CONGDON L M, HOUSTON S I, VEERAPPAN C S, et al. PR-Set7-mediated monomethylation of histone H4 lysine 20 at specific genomic regions induces transcriptional repression [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 110(3): 609-19.
- [71] MYERS J A, COUCH T, MURPHY Z, et al. The histone methyltransferase Setd8 alters the chromatin landscape and regulates the expression of key transcription factors during erythroid differentiation [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2020, 13(1): 16.
- [72] MALIK J, LILLIS J A, COUCH T, et al. The methyltransferase Setd8 is essential for erythroblast survival and maturation [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(9): 2376-83.
- [73] MISHRA B P, ZAFFUTO K M, ARTINGER E L, et al. The histone methyltransferase activity of MLL1 is dispensable for hematopoiesis and leukemogenesis [J]. *Cell Rep*, 2014, 7(4): 1239-47.