

染色质重组因子 Brg1 在肝癌中的研究进展

袁子田¹ 黄雨晨²

1. 天津医科大学 天津 300203

2. 四川大学华西临床医学院 四川 成都 610044

摘要:原发性肝癌是世界第六大恶性肿瘤,位居癌症死亡率第三。Brg1 作为 SWI/SNF 染色质重塑复合物的 ATP 酶亚基,具有调节基因转录表达的功能。Brg1 被发现在肝细胞癌和肝内胆管癌中表达水平显著上调,可通过提高肝肿瘤细胞增殖和侵袭能力、参与炎症和氧化应激、促进代谢重排及肝硬化发展等途径推动肝癌的发生发展。目前已有研究报道了针对 Brg1 的抗癌靶向药物,但其抗肿瘤效果及安全性还有待深入研究。

关键词:Brg1; 原发性肝癌; 研究进展

Progress of the Chromatin Reorganization Factor Brg 1 in Liver Cancer

Zitian Yuan¹ Yuchen Huang²

1.Tianjin Medical University, Tianjin 300203

2.West China Clinical Medical College, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610044

Abstract:Primary liver cancer is the sixth largest malignant tumor in the world, ranking the third mortality rate of cancer. Brg 1 acts as an ATP enzyme subunit of the SWI / SNF chromatin remodeling complex and has a function in regulating the expression of gene transcripts. Brg 1 was found to be significantly upregulated in hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma, which could promote the development of liver cancer by improving the proliferation and invasion of liver tumor cells, participating in inflammation and oxidative stress, promoting metabolic rearrangement and the development of cirrhosis. At present, some studies have reported the anticancer targeted drugs against Brg 1, but its anti-tumor effect and safety still need to be further studied.

Key words:Brg 1; Primary liver cancer; Research progress

引言:

原发性肝癌是世界第六大肝癌,而中国的肝癌病例数字约占全世界的 1/2^[1]。Brg1 作为 SWI/SNF 染色质重塑复合物的 ATP 酶亚基,在诸多肝脏肿瘤中表达升高,其可能通过多种表观遗传学机制促进肿瘤的发生发展。本文从 Brg1 的结构和基本功能、促进肝脏肿瘤发生的分子机制以及 Brg1 靶向治疗的研究现状三个方面进行阐述,以期对 Brg1 相关研究及临床转化提供新的思路。

1 Brg1 的结构与功能

Brg1(Brahma-related gene 1; 也被称为 SMARCA4),是进化上高度保守的 SWI/SNF 染色质重塑复合物的一种 ATP 酶亚基^[2]。SWI/SNF 复合物在基因调控、细胞因子应答、发育分化和肿瘤发生等过程中起重要作用,SWI/SNF 功能的缺失将导致细胞表型异常。Brg1 作为 SWI/SNF 复合物的核心组分,在分裂活跃的细胞中表达较高^[3]。

Brg1 蛋白具有溴结构域和解旋酶/ATP 酶活性,可发挥核小体编辑、修改 DNA 包装、增加染色体可及性功能^[4]。其中,溴结构域(BDs)是一类能够特异性识别组蛋白中乙酰化赖氨酸(KAc)的保守蛋白结构域,通过与乙酰化赖氨酸结合促使染色质重塑因子和转录因子等相关蛋白质富集于特定的基因转录位点,改变 RNA 聚

合酶 II 的活性,调节基因的转录表达。

然而,Brg1 是抑癌基因还是原癌基因暂无定论,但明确其调控多种疾病的发生发展^[5]。已有研究表明,Brg1 的表达水平在肝细胞癌患者中显著上调,且与患者的预后较差相关;Brg1 核表达情况可用于预测患者的早期复发风险^{[6][7]}。

2 Brg1 在肝脏肿瘤发生发展中可能的分子机制

2.1 促进肿瘤细胞的恶性增殖与转化

2.1.1 促进肿瘤细胞增殖、抑制凋亡

Brg1 蛋白可通过多种机制调控细胞周期,促进肿瘤细胞的增殖。(1)通过上调 SMAD6 的表达,影响 TGF- β 信号转导,促进 HCC 细胞进入细胞周期 S 期,同时也能够抑制细胞凋亡^[6]。(2)通过调控 p53 信号通路和包括 Cyclin B1 和细胞周期蛋白依赖性激酶

(CDK1) 在内的多个细胞周期基因表达, 调控肝细胞的增殖^[8]。(3) Brg1 与 pRb 相互作用, 形成复合体, 调控 E2F 的表达, 从而调节细胞的增殖与凋亡; 或者与 MLL1 交互作用, 通过改变 E2F1 活性调节参与细胞周期控制和复制基因的表达^[9]。

2.1.2 促进肝肿瘤干细胞的自我更新

肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC) 也称为肿瘤起始细胞 (tumor-initiating cells, TIC), 是肿瘤中具有自我更新能力并能产生异质性肿瘤细胞的细胞, 在肿瘤的发生、复发和转移中发挥重要的作用。研究显示, Brg1 蛋白可以与多种 lncRNA 相互作用, 共同促进肝脏 CSC 的自我更新。(1) lncFZD6-Brg1-Wnt5A/ β -catenin 通路。lncFZD6 在肝肿瘤细胞及肝 TIC 中高表达, 可将 Brg1 招募到 FZD6 启动子, 驱动 FZD6 的转录与表达, 并与高表达在肝脏非 TIC 细胞的 Wnt5A 作为结合, 激活肝 TIC 内的 Wnt/ β -catenin 信号通路, 促进肝 TIC 自我更新^[10]。(2) lncZic2-Brg1-MARCKS/MARCKSL1 通路。lncZic2 与 Brg1 相互作用, 并将其招募到豆蔻酰化富丙氨酸 C 激酶底物 (MARCKS) 和 MARCKS 样-1 (MARCKSL1) 基因的启动子上, 提高二者的表达, 促进 TIC 的自我更新^[11]。(3) lncBRM-Brg1-YAP1 信号通路。Yes 相关蛋白 1 (Yes-associated protein 1, YAP1) 是 Hippo 信号通路中的一个分子, 超激活状态下的 YAP1 可以促进细胞的增殖、转移及维持干细胞活性。lncBRM 在肝 TIC 和 HCC 中高表达, 可与 BRM 联合启动 Brg1/BRM 开关, 促使 Brg1 内嵌的 BAF 复合物激活 YAP1^[12]。此外, Brg1 还可以通过结合 SALL4 启动子, 使得本应在成人肝脏中沉默的癌胚蛋白 SALL4 重获表达, 提高 HCC 细胞的干性^[13]。

2.1.3 促进肝祖细胞的重编程和扩张

肝祖细胞 (hepatic progenitor cell, HPC) 是肝脏内少量具有干细胞性质的细胞, 在肝损伤、切除或肿瘤等刺激下, 能够分化为成熟的肝细胞和胆管上皮细胞。HPC 的大量扩张, 可能导致 HPC 恶性转化, 促进肿瘤的形成。Brg1 可通过表观遗传学修饰提高 HPC 的重编程能力^[14-15]。2021 年, Yujun Shi 团队发现 Brg1 可能通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路, 促进 HPC 扩张。其动物实验结果显示, 抑制 Brg1 表达可以逆转肝内胆管癌的发展^[16]。

2.1.4 参与肝脏损伤后的再生与修复

Brg1 通过调控多种分子的表达在肝脏的再生功能中发挥重要作用。值得注意的是, 这些分子大多数都被证实与肿瘤的发生发展有关。

(1) E2F5/TFDP1-Brg1-MYC 信号通路。MYC 基因是目前研究得最多的一种核蛋白类癌基因, 通过调节多种靶基因的转录参与细胞分化与增殖。研究显示, MYC-N 在肝脏再生过程中表达升高, 而 Brg1 可以通过以下两种途径促进 MYC-N 表达: ① BRG1 与 E2F5/TFDP1 相互作用, 并被招募到 MYCN 启动子上; ② BRG1 调控组蛋白 H3 乙酰化和 H3K4 三甲基化, 促进/稳定 MYC-N 启动子周围 RNA 聚合酶 II 的结合^[17]。(2) Brg1-LATS1-Hippo 信号通路。Hippo 是一条抑制细胞生长的信号通路。其异常表达在 HCC 中常见。2020 年, Junhua Gong 团队发现 Brg1 缺失会抑制肝损伤。这背后的机制可能是: Brg1 能促进 miR-187-5p 的转录, 从而抑制苏氨酸蛋白激酶 LATS1 的表达, 并使 Hippo 信号通路失活, 促进细胞周期相关蛋白的表达^[18]。此外, Brg1 还可以激活胆碱激酶 α (Chka)、Wnt/ β -catenin 信号通路以及促进嗜酸性粒细胞浸润来介导肝脏的再生修复功能^[19-21]。

2.2 提高肿瘤细胞的侵袭转移能力

Brg1 的高度表达可促进肝癌细胞的侵袭性。有研究表明, Brg1 能够与人肝癌细胞系中的基质金属蛋白酶相互作用以促进癌细胞侵袭^[22]。这与既往研究中发现的 Brg1 直接与基质金属蛋白酶 2 (MMP2) 和基质金属蛋白酶 7 (MMP7) 的启动子相互作用的结果一致^{[23][24]}。此外, 另一研究团队发现, Brg1 也可能作为促进 CD44 表达从而促进癌细胞侵袭转移的因素^[25]。

2.3 肝损伤与炎症和氧化应激

2.3.1 促进炎症反应的发生

Brg1 通过多种途径参与介导肝脏的慢性炎症, 可能促进肿瘤的发生发展。

(1) MKL1-Brg1-CRP 信号通路。C 反应蛋白 (CRP) 是一种典型的促炎介质。转录因子 MKL1 可以通过招募 Brg1 到 CRP 的启动子区域, 激活 CRP 的转录, 促进炎症反应^[26]。(2) MALAT1-Brg1-IL6/CXCL8 信号通路。长非编码 RNA MALAT1 被发现 HCC 肿瘤组织中高表达, 敲除 MALAT1 可抑制 HCC 细胞在脂多糖 (LPS) 刺激下的增殖、细胞周期和侵袭。进一步研究发现, MALAT1 可将 Brg1 募集到 IL-6 和 CXCL8 的启动子区域, 从而促进 NF- κ B 诱导这些炎症因子的表达^[27]。(3) AP-1-Brg1-CCL7 信号通路。实验证明, Brg1 可以与活化蛋白-1 (AP-1) 相互作用, 以氧化还原敏感的方式 (如通过酪氨酸激酶 2 (CK2) 催化 Brg1 磷酸) 调节肝细胞中 CCL7 的转录。同时, 在人肝活检标本中也发现 Brg1/CCL7 表达与巨噬细胞浸润的正相关关系^[28]。

2.3.2 促进肝损伤时 ROS 的产生

活性氧 (ROS) 是机体氧化应激时产生的主要分子, 能够氧化核酸碱基, 诱导 DNA 损伤, 改变癌基因和抑癌基因表达和转化。Brg1 可通过以下机制参与 ROS 的产生。(1) Brg1-DDIT4-p38-MAPK 信号通路。丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)-p38 通路是细胞内 ROS 信号网络的中心。试验证明, Brg1 能直接调控 DNA 损伤诱导转录因子 4 (DDIT4) 的表达情况, 通过 DDIT4 的亚硝化协助 p38-MAPK 促进 ROS 产生。同时, 在人类肝活检标本中检测到了 ROS 水平与 BRG1/DDIT4/S-亚硝基化 DDIT4 水平之间的正相关^[29]。(2) Brg1-MOF-NOX 信号通路。Brg1 可与组蛋白 H4K16 乙酰转移酶雄蛋白 (MOF) 相互作用, 激活 NADPH 氧化酶 (NOX1, NOX2, NOX4) 转录, 促进 ROS 的产生^[30]。

2.4 促进肝脏纤维化、肝硬化

当肝脏因为受损而启动修复机制时, 肝祖细胞 (HPC) 增殖、肝星状细胞 (HSC) 被活化以及发生上皮间充质化 (EMT), 介导纤维化及结节的形成。当肝脏反复出现修复时, 可能导致活化的细胞恶性转化, 形成肿瘤。

2.4.1 活化肝星状细胞

Brg1 可通过 TGF β /Smad 信号通路来调节 HSC 的激活, 以此介导活化的 HSC 中的促纤维化反应^[31]。Brg1 还可在肝细胞损伤时促进半乳糖凝集素-3 (Galectin-3) 表达, 进而激活 HSC^{[32][33]}。

2.4.2 促进上皮间充质化

肝窦内皮细胞在维持肝脏稳态中起着关键作用, 其破坏也与肝细胞癌和肝硬化等终末期肝病相关。NO 对于保持肝窦内皮细胞的分化状态有重要作用。在 LPS 作用下, 发现肝窦内皮细胞的 Brg1 表达上调, 并激活小窝蛋白-1 (CAV1) 的表达, 抑制内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 活性, 导致 NO 产生减少。肝窦内皮去分化, 丧失了筛孔结构, 无法再抑制 HSC 活化, 可加速肝脏纤维化。同时, NO 减少也会引起血流量减少, 促进肝硬化形成^[34]。

2.5 促进脂类合成积累及代谢重排

脂质代谢异常是肿瘤最突出的代谢变化之一。脂质合成或摄取的增强有助于癌细胞的快速生长和肿瘤的形成。脂质是一组高度复杂的生物分子, 不仅参与构成生物膜的结构基础, 而且还充当信号分子及参与供能。

Brg1-SREBF (SREBP1a, SREBP1c, SREBP2) 信号通路在调节肝脏脂类代谢中发挥重要作用。肝损伤时, Brg1 激活 TLR4 转录, 从而提高 SREBP1a 表达水平, 调

控下游靶基因 ACC α 和 FAS 的表达, 进而调节脂肪酸的合成, 影响肝脏内甘油三酯的含量。Brg1 还可通过招募 H3K9 甲基转移酶 KDM3A 来共同促胆固醇原转录, 调节胆固醇代谢。

除 SREBP 外, Brg1 还能通过抑制脂质代谢调节剂糖基化溶酶体膜蛋白 (GLMP) 的表达, 并改变磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) / 蛋白激酶 B (AKT) 的水平促进肝细胞中脂质液滴沉积。此外, Brg-1 还可以通过调节 CYP7A1 和 SHP 两个关键基因来反馈抑制胆汁酸生物合成进而影响脂肪代谢。

3 Brg1 靶向治疗研究现状

3.1 Brg1 靶向抑制剂

大量研究证明 Brg1 具有促进肝脏肿瘤发生发展的作用, 下调或抑制 Brg1 表达可能是未来的一种候选治疗方法。从基因表达角度上, 直接下调 Brg1 蛋白的转录与表达是最直接的靶向抑制方式。从蛋白质功能发挥的角度上, (1) Brg1 蛋白具有溴结构域和解旋酶 /ATP 酶活性, 可以分别设计能够特异性结合这两个功能结构域的小分子抑制剂, 从而抑制 Brg1 功能的发挥。(2) 靶向抑制 Brg1 所参与特定通路中的关键分子, 抑制肿瘤的发生、转移等。

目前, 已有相关的 Brg1 靶向抑制剂出现。Oleg Fedorov 团队于 2015 年发现一种名为 PFI-3 的分子能够选择性结合 Brg1 的溴结构域, 并具有抑制胚胎干细胞增殖、逆转肝内胆管癌的能力^[16]。此外, 2018 年, Henrik Möbitz 团队发现一种可以口服的 BRM/BRG1 ATP 抑制剂-1 在 Brg1 - 突变的肺肿瘤异种移植模型中显示出抗增殖活性。

3.2 Brg1 靶向抑制的安全性

虽然大量的实验证据表明 Brg1 具有促癌作用, 并且靶向抑制 Brg1 具有一定的抗肿瘤效应。Pan Wang 团队在 2020 年的一项研究中发现, Brg1 同时具有抑癌和促癌的作用, 这具体取决于肿瘤发生过程中的致癌刺激^[7]。同时, 部分研究显示, 在肺癌及多种肿瘤细胞系中 Brg1 的 mRNA 和蛋白质表达下调或缺失。这也提示 Brg1 在不同组织中的抑癌和促癌效应不同。此外, Brg1 蛋白还参与了机体中多种生物功能的正常行使, 如促进红细胞合成、B 细胞发育等。靶向抑制 Brg1 的功能可能会产生较大的副作用。

因此, Brg1 靶向抑制治疗的安全还有待研究。针对该问题, 可深入探究 Brg1 小剂量联合其它药物的治疗效果, 以及如何在不影响其它器官组织的基础上, 精准地将 Brg1 小分子抑制剂送达病变部位。

结 语：

目前的研究已发现 Brg1 可以通过多种表观遗传学机制参与肝癌的发生发展，本文总结了其内在的分子机制以及相关的靶向抑制剂。但对于 Brg1 在肿瘤中的表达机制及促 / 抑癌功能研究还尚未完全明确，存在着一定的不足与空白。因此，理论付诸于实践仍需要大量研究工作，将 Brg1 作为肝癌预后指标以及 Brg1 靶向治疗进入临床应用还有一条很长的路要走。如果研究进展顺利，将为肝癌的预防、治疗和预后提供一条新的途径，并可辅助和完善现有的医疗方式，让人们不再闻肝癌色变。

参考文献：

- [1]Cancer today. [cited 2022 September 11 2022]; Available from:<http://gco.iarc.fr/today>.
- [2]Hargreaves, D.C. and G.R. Crabtree, ATP-dependent chromatin remodeling: genetics, genomics and mechanisms. *Cell Res*, 2011. 21(3): p. 396-420.
- [3]Reisman, D.N., et al., The expression of the SWI/SNF ATPase subunits BRG1 and BRM in normal human tissues. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2005.13(1): p. 66-74.
- [4]Kumar, S., SWI/SNF (BAF) complexes: From framework to a functional role in endothelial mechanotransduction. *Curr Top Membr*, 2021.87: p.171-198.
- [5]Guerrero-Mart í nez, J.A. and J.C. Reyes, High expression of SMARCA4 or SMARCA2 is frequently associated with an opposite prognosis in cancer. *Sci Rep*, 2018. 8(1): p. 2043.
- [6]Chen, Z., et al., Hepatic SMARCA4 predicts HCC recurrence and promotes tumour cell proliferation by regulating SMAD6 expression. *Cell Death Dis*, 2018. 9(2): p. 59.
- [7]Wang, P., et al., Oncogene-dependent function of BRG1 in hepatocarcinogenesis. *Cell Death Dis*, 2020. 11(2): p. 91.
- [8]Wang, B., et al., Brg1 promotes liver regeneration after partial hepatectomy via regulation of cell cycle. *Sci Rep*, 2019. 9(1): p. 2320.
- [9]Swarnalatha, M., A.K. Singh, and V. Kumar, Promoter occupancy of MLL1 histone methyltransferase seems to specify the proliferative and apoptotic functions of E2F1 in a tumour microenvironment. *J Cell Sci*, 2013. 126(Pt 20): p. 4636-46.
- [10]Chen, Z., et al., LncFZD6 initiates Wnt/ β -catenin and liver TIC self-renewal through BRG1-mediated FZD6 transcriptional activation. *Oncogene*, 2018. 37(23): p. 3098-3112.
- [11]Chen, Z., et al., The long noncoding RNA lncZic2 drives the self-renewal of liver tumor-initiating cells via the protein kinase C substrates MARCKS and MARCKSL1. *J Biol Chem*, 2018. 293(21): p. 7982-7992.
- [12]Zhu, P., et al., LncBRM initiates YAP1 signalling activation to drive self-renewal of liver cancer stem cells. *Nat Commun*, 2016. 7: p. 13608.
- [13]Shi, D.M., et al., miR-296-5p suppresses stem cell potency of hepatocellular carcinoma cells via regulating Brg1/Sall4 axis. *Cell Signal*, 2020. 72: p. 109650.
- [14]Kleger, A., et al., Increased reprogramming capacity of mouse liver progenitor cells, compared with differentiated liver cells, requires the BAF complex. *Gastroenterology*, 2012. 142(4): p. 907-17.
- [15]Liebau, S., et al., A hierarchy in reprogramming capacity in different tissue microenvironments: what we know and what we need to know. *Stem Cells Dev*, 2013. 22(5): p. 695-706.
- [16]Zhou, Y., et al., Brahma-Related Gene 1 Inhibition Prevents Liver Fibrosis and Cholangiocarcinoma by Attenuating Progenitor Expansion. *Hepatology*, 2021. 74(2): p. 797-815.
- [17]Fan, Z., et al., An E2F5-TFDP1-BRG1 Complex Mediates Transcriptional Activation of MYCN in Hepatocytes. *Front Cell Dev Biol*, 2021. 9: p. 742319.
- [18]Gong, J., et al., Brg1 regulates murine liver regeneration by targeting miR-187-5p dependent on Hippo signalling pathway. *J Cell Mol Med*, 2020. 24(19): p. 11592-11602.
- [19]Fan, Z., et al., Trans-activation of eotaxin-1 by Brg1 contributes to liver regeneration. *Cell Death Dis*, 2022. 13(5): p. 495.
- [20]Kong, M., et al., Choline Kinase Alpha Is a Novel Transcriptional Target of the Brg1 in Hepatocyte: Implication in Liver Regeneration. *Front Cell Dev Biol*, 2021. 9: p. 705302.
- [21]Li, N., et al., Brahma related gene 1 (Brg1) contributes to liver regeneration by epigenetically activating

- the Wnt/ β -catenin pathway in mice. *Faseb j*, 2019. 33(1): p. 327–338.
- [22]Kaufmann, B., et al., BRG1 promotes hepatocarcinogenesis by regulating proliferation and invasiveness. *PLoS One*, 2017. 12(7): p. e0180225.
- [23]Ma, Z., et al., Brg-1 is required for maximal transcription of the human matrix metalloproteinase-2 gene. *J Biol Chem*, 2004. 279(44): p. 46326–34.
- [24]Saladi, S.V., et al., Modulation of extracellular matrix/adhesion molecule expression by BRG1 is associated with increased melanoma invasiveness. *Mol Cancer*, 2010. 9: p. 280.
- [25]Nakatsuka, T., et al., Impact of histone demethylase KDM3A-dependent AP-1 transactivity on hepatotumorigenesis induced by PI3K activation. *Oncogene*, 2017. 36(45): p. 6262–6271.
- [26]Fan, Z., et al., An interaction between MKL1, BRG1, and C/EBP β mediates palmitate induced CRP transcription in hepatocytes. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2019. 1862(9): p. 194412.
- [27]Huang, M., et al., lncRNA MALAT1 binds chromatin remodeling subunit BRG1 to epigenetically promote inflammation-related hepatocellular carcinoma progression. *Oncoimmunology*, 2019. 8(1): p. e1518628.
- [28]Kong, M., et al., Redox-sensitive activation of CCL7 by BRG1 in hepatocytes during liver injury. *Redox Biol*, 2021. 46: p. 102079.
- [29]Li, Z., et al., DDIT4 S-Nitrosylation Aids p38-MAPK Signaling Complex Assembly to Promote Hepatic Reactive Oxygen Species Production. *Adv Sci (Weinh)*, 2021. 8(18): p. e2101957.
- [30]Liu, L., et al., A Cross Talk Between BRG1 and Males Absent on the First Contributes to Reactive Oxygen Species Production in a Mouse Model of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Antioxid Redox Signal*, 2019. 30(12): p. 1539–1552.
- [31]Li, H., et al., Brg1 promotes liver fibrosis via activation of hepatic stellate cells. *Exp Cell Res*, 2018. 364(2): p. 191–197.
- [32]Joeh, E., et al., Mapping glycan-mediated galectin-3 interactions by live cell proximity labeling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020. 117(44): p. 27329–27338.
- [33]Li, Z., et al., Activation of Galectin-3 (LGALS3) Transcription by Injurious Stimuli in the Liver Is Commonly Mediated by BRG1. *Front Cell Dev Biol*, 2019. 7: p. 310.
- [34]Shao, J., Y. Xu, and M. Fang, BRG1 deficiency in endothelial cells alleviates thioacetamide induced liver fibrosis in mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020. 521(1): p. 212–219.

作者简介：

袁子田（2002- ），女，汉，四川成都人，本科在读，研究方向：肿瘤基础与转化。

黄雨晨（2002- ），女，汉，四川成都人，本科在读，研究方向：肿瘤基础与转化。