

肿瘤药学专题

• 基础研究与进展 •

甲基转移酶 EZH2 在恶性肿瘤发生发展及治疗中的新进展*

朱永霞, 施丽红, 陈欣怡, 肖洪涛[△]

610041 成都, 四川省肿瘤医院·研究所, 四川省癌症防治中心, 电子科技大学医学院 临床药理学部 (朱永霞、施丽红、肖洪涛); 610041 成都, 四川大学华西医院 生物治疗国家重点实验室 (陈欣怡)

[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, 可作为核心催化亚基与其他成员形成多梳抑制复合物 2, 并通过调控转录活性进而促进肿瘤细胞的增殖、转移和耐药。EZH2 在多种肿瘤组织中过表达或产生功能获得性突变, 与肿瘤的发生发展及不良预后密切相关, 可作为肿瘤治疗的有效靶点。目前, 多种类型的 EZH2 抑制剂已用于肿瘤的基础和临床治疗研究, 并取得里程碑式的成功。本文将对 EZH2 在肿瘤发生发展中的作用、分子机制和相关抑制剂的研究新进展进行综述。

[关键词] 甲基转移酶; EZH2; PRC2 复合物; 恶性肿瘤; 抑制剂

[中图分类号] R730.231 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2021.10.003

引文格式: Zhu YX, Shi LH, Chen XY, *et al.* Research progress of methyltransferase EZH2 in the pathogenesis and treatment of malignant tumors [J]. *J Cancer Control Treat*, 2021, 34(10): 895-903. [朱永霞, 施丽红, 陈欣怡, 等. 甲基转移酶 EZH2 在恶性肿瘤发生发展及治疗中的新进展 [J]. *肿瘤预防与治疗*, 2021, 34(10): 895-903.]

Research Progress of Methyltransferase EZH2 in the Pathogenesis and Treatment of Malignant Tumors

Zhu Yongxia, Shi Lihong, Chen Xinyi, Xiao Hongtao

Department of Clinical Pharmacy, Sichuan Cancer Hospital & Institute, Sichuan Cancer Center, School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610041, Sichuan, China (Zhu Yongxia, Shi Lihong, Xiao Hongtao); State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China (Chen Xinyi)

Corresponding author: Xiao Hongtao, E-mail: xht927@163.com

This study was supported by grants from Department of Human Resources and Social Security of Sichuan Province (No. 2020-21), Health Commission of Sichuan Province (No. 20PJ108), and Science and Technology Department of Sichuan Province (No. 2021YFH0145, No. 2020JDTD0029).

[Abstract] Enhancer of *zeste* homolog 2 (EZH2) is the catalytic subunit of the polycomb repressive complex 2 (PRC2) that regulates downstream target gene expression, and promotes proliferation, metastasis and drug resistance of tumor cells. In many types of tumor, overexpressions and gain-of-function mutations of EZH2 correlate with the occurrence and development of tumors and poor prognosis. Therefore, EZH2 is a potential therapeutic target. Several inhibitors targeting EZH2 are in development, including basic research and clinical trials which have achieved a milestone. This article reviews the mechanism of EZH2, its role in tumorigenesis, and the new progress of EZH2-targeted inhibitors.

[Key words] Methyltransferase; EZH2; PRC2 complex; Malignant tumor; Inhibitors

[收稿日期] 2021-02-21 **[修回日期]** 2021-06-03

[基金项目] *四川省留学回国人员科技活动项目(编号:2020-21);四川省卫生健康科研课题(编号:20PJ108);四川省科技厅项目(编号:2021YFH0145,2020JDTD0029)

[通讯作者] [△]肖洪涛, E-mail: xht927@163.com

恶性肿瘤是严重威胁人类健康和社会发展的主

要疾病之一。近年来,肿瘤的发病率在全球范围内仍然呈增长趋势^[1-2]。*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,其作为核心催化亚基与其他成员形成多梳抑制复合物 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2), 并通过调控转录活性进而促进肿瘤细胞的增殖、转移和耐药^[3-4]。研究表明, EZH2 在多种肿瘤组织中过表达或产生突变, 且与肿瘤的发生发展及不良预后密切相关, 可作为肿瘤治疗的有效靶点^[5-6]。目前, 多种类型的 EZH2 抑制剂已用于肿瘤的基础和临床治疗研究, 并取得里程碑式的成功^[5, 7]。本文将对 EZH2 在肿瘤发生发展中的作用、分子机制和相关抑制剂的研究新进展进行综述。

1 EZH2 的概述

EZH2 是果蝇 *zeste* 基因的人类同源物, 其基因位于人源染色体 7q35 上, 含有 20 个外显子, 可编码含有 746 个氨基酸的蛋白^[8]。EZH2 具有多个功能结构域^[9-10]: 胚胎外胚层发育因子 (embryonic ectoderm development, EED) 结合区域结构域; SUZ12 结合区域: 结构域 1 (D1)、结构域 2 (D2); 2 个 SANT (SWI3-ADA2-N-CoR-TFIIB) 结构域, 允许染色质重塑蛋白质与组蛋白相互作用的结构域; 富含半胱氨酸的 CXC 结构域; 甲基化催化结构域 SET [Su (var) 3-9, Enhancer of *zeste*, Trithorax] (图 1)。

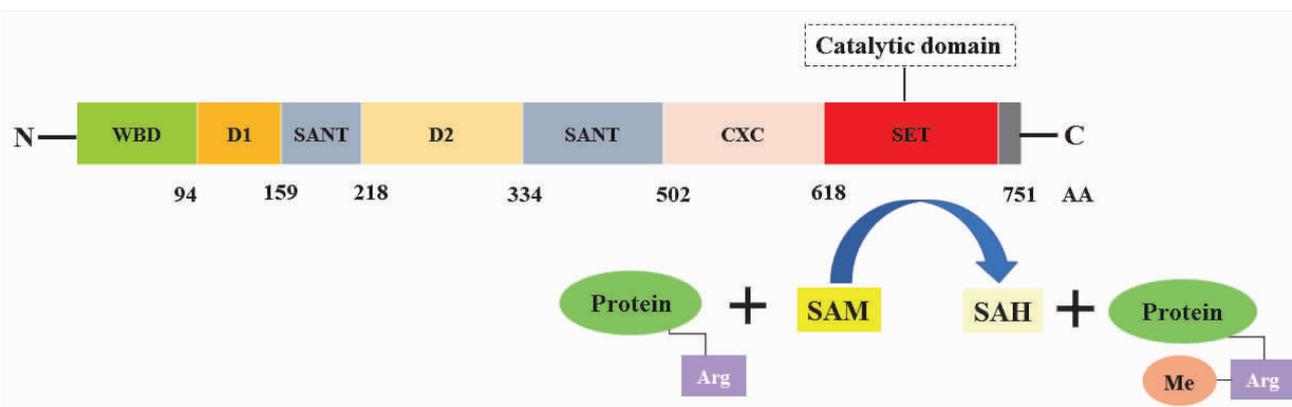


图 1 EZH2 的功能域示意图及 SET 结构域催化蛋白质上的赖氨酸残基甲基化的机制

Figure 1. Characterized Domains with Potential Functions of EZH2 and the Mechanism by Which the SET Domain Catalyzes the Methylation of Lysine Residues on Proteins

WBD: WD-40 binding domain; D1: Domain 1; SANT: SWI3-ADA2-N-CoR-TFIIB domain, histone interaction; D2: Domain 2, SUZ12 interaction; CXC: Cysteine-rich domain; SET: Catalytic domain. AA: Amino acid; Arg: Lysine; Me: Methylation; SAM: S-adenosylmethionine; SAH: S-adenosylhomocysteine.

EZH2 是表观遗传抑制因子 PcG 蛋白家族的重要成员之一, 可以与其他家族成员形成组蛋白甲基转移酶复合物 PRC2, 在 SET 催化结构域构成酶的催化活性中心^[3, 11]。如图 1 和图 2 所示, 含有 SET 结构域的 EZH2 可以催化 PRC2 复合物对底物蛋白质上的赖氨酸残基进行甲基化修饰, 其中底物包括组蛋白 H3 和非组蛋白, 进而参与大量基因表达的调控^[12]。目前, EZH2 的异常过表达与激活性突变在多种类型的癌症或肿瘤组织中被检测到, 包括乳腺癌、肺癌、黑色素瘤、卵巢癌以及弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)^[4, 13-15]。EZH2 的异常过表达与肿瘤的转移、恶性程度及不良预后密切相关^[4, 16], 因此, EZH2 是治疗肿瘤的有效靶点之一。

效靶点之一。

2 EZH2 的作用机制

2.1 经典的 PRC2 依赖的 H3K27 甲基化的转录调控

越来越多的证据表明, EZH2 可以通过多种方式发挥转录活性调控作用, 其中, 最早发现的是经典的 PRC2 依赖的 H3K27 甲基化的转录抑制调控^[3]。如图 2 所示, EZH2 首先与 EED、果蝇 *Zeste* 基因抑制因子 (spressor of *zeste* 12, SUZ12) 及视网膜母细胞瘤抑制因子相关蛋白 (retinoblastoma suppressor associated protein 46/48, RbAp46/48) 等聚合形成 PRC2 复合物, 然后通过 SET 结构域催化细胞核中组蛋白 H3 中 27

位的赖氨酸三甲基化(H3K27me3),随后抑制下游靶基因的转录,进而参与调控多种基因的表达^[3,17]。

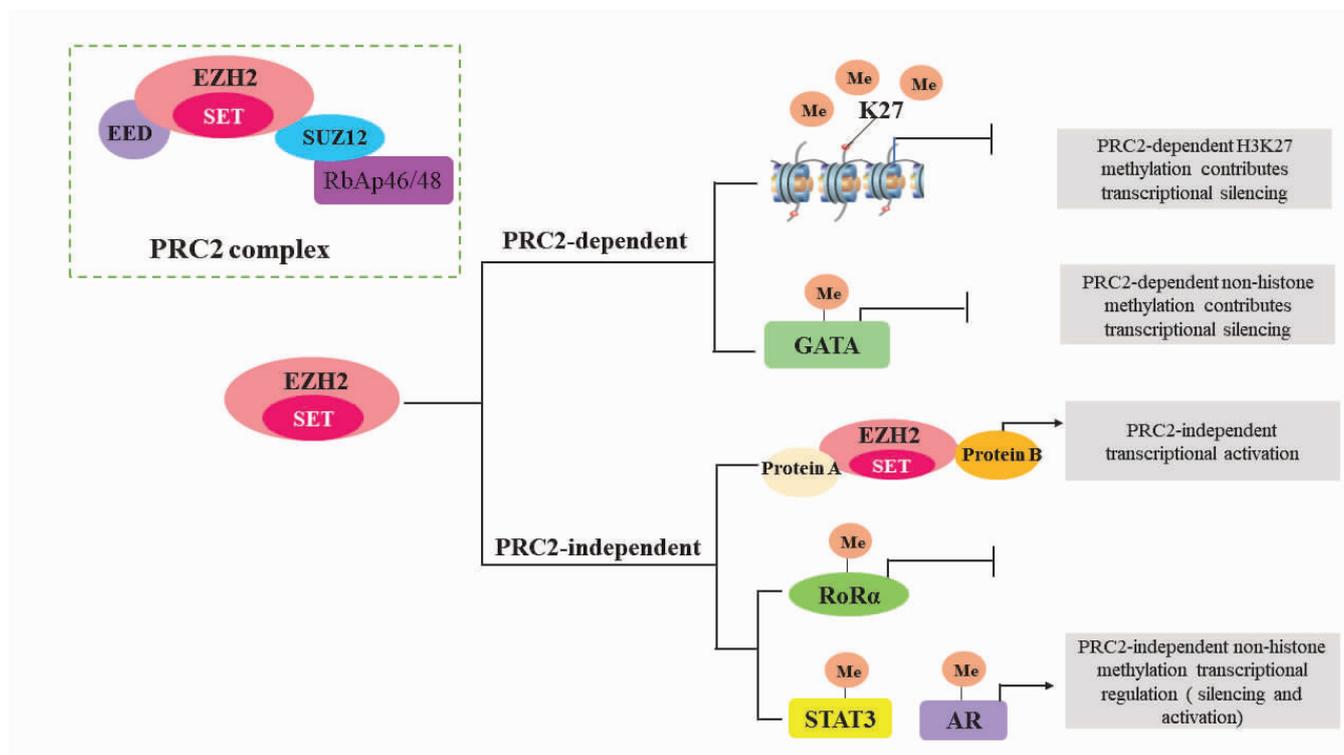


图2 EZH2 的作用机制图

Figure 2. Mechanism of EZH2

The PRC2 complex consists of the four core subunits: EZH2, EED, SUZ12, and RbAp46/48. The PRC2-dependent pathway methylates histone substrate (H3K27me3) and non-histone substrates (e.g. GATA.) in a PRC2-dependent manner; the PRC2-independent pathway regulates downstream gene transcription by methylation non-histone substrates (e.g. ROR α , STAT3, and AR) in a PRC2-independent manner or by forming transcription complexes with other factors.

2.2 PRC2 依赖的非组蛋白甲基化的转录调控

EZH2 还可以通过 PRC2 复合物依赖性的方式甲基化非组蛋白^[18]。EZH2 通过形成 PRC2 复合物,对心肌转录因子 4 (GATA binding factor 4, GATA4)中第 299 位的赖氨酸甲基化,从而减弱其与组蛋白乙酰转移酶 p300 的相互作用和乙酰化活性,促进 GATA4 的转录抑制和基因沉默^[19]。

2.3 不依赖于 PRC2 的非组蛋白甲基化的转录调控

研究发现,EZH2 也可以通过不依赖于 PRC2 的方式直接甲基化非组蛋白,进而影响下游靶基因的转录调控^[18]。这种不依赖于 PRC2 的非经典作用方式首次报道于去势抵抗性前列腺癌 (castration-resistant prostate cancer, CRPC)^[20]。Xu 等^[20]发现,AKT 通路会引起 EZH2 中第 21 位的丝氨酸发生磷酸化,磷酸化的 EZH2 会与雄激素受体 (androgen receptor, AR) 结合,引起 AR 及其相关蛋白发生甲基化,进而激活其下游靶基因的转录并促进 CRPC 的

生长。Kim 等^[21]发现,在胶质瘤干细胞中,激活的 EZH2 可与转录因子 STAT3 结合进而使 STAT3 蛋白在第 180 位的赖氨酸发生甲基化,甲基化的 STAT3 可增强其赖氨酸磷酸化的活性,最终激活其下游基因的转录。

此外, Lee 等^[22]的研究结果显示, EZH2 与视网膜相关孤儿受体 α (RAR-related orphan receptor α , ROR α) 结合并使 ROR α 蛋白第 38 位的赖氨酸发生甲基化,从而促进泛素连接酶复合物介导的 ROR α 泛素化并导致 ROR α 下游靶基因的沉默。这与 EZH2 引起 STAT3、AR 及 AR 相关蛋白甲基化进而激活靶基因的转录作用正好相反^[20-21]。

2.4 不依赖于 PRC2 的转录激活

EZH2 还可以通过不依赖于 PRC2 复合物而直接与多种其他因子形成转录复合物 (图 2),从而激活下游靶基因的转录,该作用与 EZH2 的酶催化活性无关^[23-25]。Lee 等^[23]的研究表明,在雌激素受体

(estrogen receptor, ER) 阴性的基底样乳腺癌细胞中, EZH2 与核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 组分 RelA/RelB 结合形成三元复合物, 进而激活 NF- κ B 靶基因的表达。Li 等^[24] 的结果显示, 在 ER 阳性的乳腺癌细胞中, EZH2 与 TRIM28、染色质重塑蛋白 SWI/SNF 结合形成复合物, 激活乳腺癌干细胞维持和导致不良预后的相关基因。

此外, Yan 等^[26] 发现, JAK3 会引起 EZH2 中第 244 位丝氨酸发生磷酸化, 在自然杀伤/T 细胞淋巴瘤中, 磷酸化的 EZH2 可以作为转录激活因子激活增殖相关基因, 该作用独立于 EZH2 的酶催化活性。

3 EZH2 在肿瘤中的作用

3.1 EZH2 与肿瘤细胞增殖

在黑色素瘤^[13]、乳腺癌^[15]、肺癌^[27] 等多种高度增殖的肿瘤中, EZH2 的表达明显高于癌旁组织或正常组织, 且与肿瘤患者的预后密切相关。在 DLBCL^[28]、滤泡性淋巴瘤^[29] 等淋巴瘤中, EZH2 的 SET 催化结构的 Y641 和 A677 等位点发生功能获得性突变, 使 H3K27me3 的水平高于正常细胞, 导致肿瘤的恶化^[14]。EZH2 的异常过表达或功能获得性突变可以通过 H3K27me3 沉默相关的肿瘤抑癌基因, 从而调控多条肿瘤信号通路, 包括 VEGF-A/AKT 信号通路^[30]、mTOR 信号通路^[31]、TGF- β -Smad-ASCL1 信号通路^[32] 等, 进而导致肿瘤细胞的恶性增殖。目前, 已有大量研究表明, 敲低 *EZH2* (siRNA 或 shRNA 法)、敲除 *EZH2* (CRISPR/Cas9 法) 及抑制 EZH2 可以明显抑制多种肿瘤细胞的增殖, 并在小鼠移植瘤模型中抑制肿瘤的生长^[5, 33-34]。

3.2 EZH2 与肿瘤细胞转移

近年来, EZH2 在肿瘤转移中的作用及机制引起广泛关注。与非病变组织相比, EZH2 在浸润性和转移性的黑色素瘤中过表达, 可导致肿瘤细胞中的 H3K27me3 水平明显增加^[35]。且 EZH2 的异常表达与黑色素瘤的转移和不良预后密切相关, 因此, EZH2 可作为治疗黑色素瘤转移的有效靶点^[13, 35]。Qu 等^[36] 和 Hirukawa 等^[37] 的研究结果显示, 敲除 *EZH2* 可以明显抑制乳腺癌细胞的骨转移和肺转移。此外, Yomtoubian 等^[15] 的研究结果表明, EZH2 过表达的肿瘤细胞具有较强的侵袭和转移能力, 而 EZH2 催化活性失活 (由 CRISPR/Cas9 技术构建 EZH2 SET 结构域突变引起), 可以明显抑制乳腺癌细胞的肺部转移。

3.3 EZH2 与肿瘤细胞耐药

肿瘤细胞对化疗药物耐药是众多肿瘤复发的重

要原因之一。铂类药物是治疗卵巢癌的一线药物, 多数患者对铂类药物的初始治疗敏感, 但近 80% 的卵巢癌患者在 2 年内会出现肿瘤复发和化疗耐药。Sun 等^[38] 最新的研究表明, 顺铂给药后可通过 C-Myc/miR-137 轴激活 EZH2 表达, 而 EZH2 的过表达可以激活卵巢癌细胞存活, 从而导致卵巢癌细胞产生顺铂耐药。Wu 等^[39] 的研究显示, EZH2 可以通过沉默雌激素受体 α (ER α) 辅因子 GREB1 导致他莫昔芬耐药。在接受他莫昔芬治疗的肿瘤样本中, EZH2 和 GREB1 的表达水平呈负相关, 可作为预测患者对内分泌治疗反应的重要指标。Bai 等^[40] 发现, 抑制或敲除 *EZH2* 可以克服前列腺癌细胞对恩杂鲁胺的耐药性。机制研究表明, 在恩杂鲁胺耐药的细胞中, EZH2 通过与前列腺特异性抗原启动子直接结合进而抑制前列腺特异性抗原的表达。

4 EZH2 抑制剂的研究进展

4.1 通过抑制 SAH 水解酶而间接抑制 EZH2 的抑制剂

2009 年, Miranda 等^[41] 发现第一个 EZH2 抑制剂 3-deazaneplanocin A (DZNep), 该化合物是一种 SAH 水解酶抑制剂, 可以间接抑制 SAM 依赖的甲基转移酶 EZH2 的酶催化活性。因此, DZNep 能够抑制多种甲基转移酶的催化作用, 对 EZH2 的活性抑制没有选择性^[42]。

4.2 与 SAM 竞争性结合 SET 活性位点的高选择性抑制剂

SET 结构催化域是 EZH2 发挥酶催化活性功能的重要结构域, SAM 为 EZH2 发挥催化的甲基供体。因此, 竞争性抑制 SAM 与 SET 结构域结合可有效抑制 EZH2 介导的催化活性^[5]。2012 年以来, 多种该类型抑制剂被开发, 其报道的结构类型比较多 (表 1), 包括: EI1^[43]、GSK126/GSK2816126^[44]、GSK343^[45]、GSK926^[45]、EPZ005687^[46]、EPZ6438/E7438 (tazemetostat)^[47]、EPZ011989^[48]、ZLD1039^[49]、CPI-1205^[50]、PF-06821497^[51] 等。该类抑制剂具有较好的活性和较高的选择性, 如 GSK126 可明显抑制野生型和 Y641 突变型 EZH2 的活性, 而对 EZH2 同源家族蛋白 EZH1 的抑制作用和对其他多种甲基转移酶的抑制作用较弱, 分别不及对 EZH2 抑制活性的 1/150 和 1/1 000^[44]。Epizyme 公司开发的 EPZ6438 同样具有较高的 EZH2 抑制选择性, 35 倍高于 EZH1, 4 500 倍高于其他甲基转移酶^[47]。

目前已有多种该类 EZH2 抑制剂已经或者正在进

行临床试验研究^[5],包括 EPZ6438/E7438 (tazemetostat, Epizyme 公司)^[52-53]、GSK126/GSK2816126 (葛兰素史克公司)^[54]、CPI-1205 (Constellation 药业)^[50]、PF-06821497 (辉瑞制药)^[51]和 SHR2554 (江苏恒瑞医药),适应症包括滤泡性淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、DLBCL 等血液系统恶性肿瘤和横纹肌瘤、肉瘤、神经系统肿瘤、肝癌和 CRPC 等实体瘤^[5,6,50,52-54]。2020 年初,美国 FDA 批准 EPZ6438 (tazemetostat) 用于晚期或转移性上皮样肉瘤的治疗,并通过快速审批途径允许 EPZ6438 用于 *EZH2* 突变的 DLBCL 和滤泡性淋巴瘤的治疗^[7,55]。

4.3 EZH1/EZH2 双靶点抑制剂

EZH1 作为 EZH2 同源家族蛋白,可参与介导 PRC2 依赖的 H3K27me3,同时也具有组蛋白甲基转移酶活性^[56]。考虑到 EZH1 或 EZH2 单个催化活性丧失就可以阻止肿瘤的发生发展,因此推测 EZH1/EZH2 双靶点抑制剂可能具有更好的抗肿瘤作用。2013 年, Konze 等^[57]发现了第一个口服 EZH1/EZH2 双靶点抑制剂 UNC1999,该化合物可以同时抑制 EZH1、野生型和 Y641 突变型 EZH2 的活性,而不影响其他靶蛋白。UNC1999 能降低细胞内 H3K27me3 的水平并选择性抑制 Y641 突变的 DLBCL 的生长^[57]。2017 年, Honma 等^[58]介绍了可口服的 EZH1/EZH2 双靶点抑制剂 OR-S1 和 OR-S2。OR-S1 和 OR-S2 在 Y641N 突变的 DLBCL 中表现出较强的体内外抗肿瘤活性,并且通过减少白血病干细胞的数目延长白血病患者的生存期^[59]。此外, EZH1/EZH2 双靶点抑制剂 DS-3201b 在多种 B 细胞和 T 细胞非霍奇金淋巴瘤的临床研究中也表现出一定的抗肿瘤活性^[60]。但是,除了组蛋白甲基转移酶活性, EZH1 在发育、天然免疫以及干细胞多功能性的维持中也发挥着重要的作用,导致 EZH1/EZH2 双靶点抑制剂存在一定的潜在毒副作用。

4.4 EZH2 降解剂

鉴于 EZH2 还可以通过 PRC2 非依赖性和非酶催化活性的方式发挥作用,且多种肿瘤对 EZH2 酶催化活性抑制剂不敏感,因此, EZH2 降解剂将会成为一种抑制 EZH2 的新策略。靶向蛋白水解的嵌合体 (proteolysis targeting chimeras, PROTACs) 和疏水性标签 (hydrophobic tagging, HG) 是高效的选择性降解靶蛋白的技术/策略^[61-62]。

2019 年, Ma 等^[33]使用 HG 技术开发出第 1 个

EZH2 选择性降解抑制剂 MS1943。MS1943 可以显著降低多种三阴性乳腺癌细胞中 EZH2 的表达,并诱导细胞产生凋亡,有效抑制肿瘤细胞的增殖。敲低/敲除 *EZH2* 基因与 MS1943 抑制细胞增殖的作用一致,且 MS1943 通过靶向降解 EZH2 可完全抑制体内肿瘤的生长。RNA-seq 实验结果显示, EZH2 降解可以引起 MS1943 敏感性细胞中持续发生内质网应激反应而导致未折叠蛋白响应途径持续过度活化,进而导致细胞产生凋亡。

2019 年底, Hsu 等^[63]和 Potjeyd 等^[64]几乎同时报道靶向 EED 的 PROTACs 分子可以有效降解 PRC2 复合物中的 EED、EZH2 和 SUZ12 蛋白。Hsu 等研究者所在的阿斯利康公司 (AstraZeneca) 发现的 PROTAC #1 和 #2 化合物,通过与靶蛋白 EED 结合,并与 E3 泛素连接酶一起促进三元复合物的形成,引起 PRC2 复合物中 EED、EZH2 和 SUZ12 蛋白的快速降解^[63]。PROTAC #1 和 #2 化合物可以有效抑制 EZH2 依赖性肿瘤细胞的增殖^[63]。Potjeyd 等合成的 UNC6852 也是一种靶向 EED 的 PROTAC 分子,分别与 EED 和 VHL 结合,从而诱导 PRC2 组分 (EED, EZH2 和 SUZ12) 的蛋白酶体降解。UNC6852 降解 PRC2 会抑制 EZH2 的甲基化转移酶活性,从而降低细胞中 H3K27me3 的水平。UNC6852 还可以降解野生型和突变型 EZH2,并表现出明显的抗增殖作用。2021 年, Liu 等^[65]报道了直接靶向 EZH2 降解 PRC2 复合物的 PROTACs 分子。其中, PROTAC 分子 E7 分别与 EZH2 和 E3 连接酶小脑蛋白 (cereblon, CRBN) 配体结合,通过泛素蛋白酶体途径降解 PRC2 的核心亚基 (EZH2、EED、SUZ12 和 RbAp48),在 EZH2 催化功能和非催化功能驱动的肿瘤细胞中均展现出很好的增殖抑制作用。

此外, Wang 等^[66]发现,天然产物新藤黄酸 (gambogenic acid, GNA) 及其衍生物 GNA002 不仅可以与 EZH2 共价结合抑制其催化活性,还可以引起 CHIP 介导的 EZH2 蛋白泛素化降解,进而完全抑制 EZH2 的致癌功能。Zhang 等^[67]的最新研究表明, EZH2 共价抑制剂 SKLB-0335 (表 1) 与 EZH2 蛋白的 SAM 口袋共价结合,抑制底物 H3K27me3 的表达水平,且在药物洗脱后表现出持续抑制作用。SKLB-0335 展现出优异的 EZH2 选择性,对 EZH1 下游基因未表现出明显调控作用,有别于 EZH2/EZH1 双靶点抑制剂,潜在毒副作用较小,具有良好的开发应用前景。

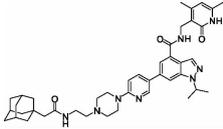
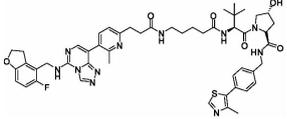
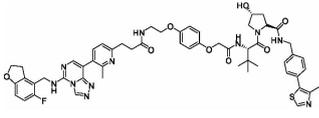
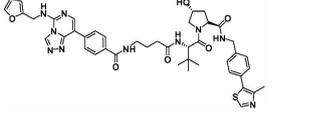
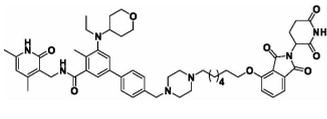
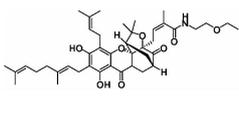
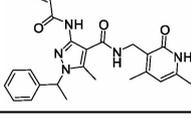
表 1 EZH2 抑制剂化学结构、作用机制及适应症汇总

Table 1. Chemical Structure, Mechanism and Indications of EZH2 Inhibitors

Compound	Chemical structure	Mechanism	Indication	Reference
DZNep		SAH hydrolase inhibitor	Breast cancer cells, bladder cancer cells, lung cancer cells	[41-42]
EI1		Selective SAM-competitive inhibitor	DLBCL cells	[43]
GSK126/ GSK2816126		Selective SAM-competitive inhibitor	EZH2-mutant lymphoma, solid tumor	[44,54]
GSK343		Selective SAM-competitive inhibitor	Breast cancer cells, prostate cancer cells, etc.	[45]
GSK926		Selective SAM-competitive inhibitor	Breast cancer cells, prostate cancer cells, etc.	[45]
EPZ005687		Selective SAM-competitive inhibitor	DLBCL cells	[46]
EPZ6438/E7438 (Tazemetostat)		Selective SAM-competitive inhibitor	NHL, DCBLC, follicular lymphoma, etc.	[47,52-53,55]
EPZ011989		Selective SAM-competitive inhibitor	DLBCL cells	[48]
ZLD1039		Selective SAM-competitive inhibitor	DLBCL cells, breast cancer cells, etc.	[49]
CPI-1205		Selective SAM-competitive inhibitor	DLBCL cells	[50]
PF-06821497		Selective SAM-competitive inhibitor	DLBCL cells	[51]
UNC1999		EZH1/EZH2 dual inhibitor	DLBCL cells, MCF7 cells, etc.	[57]
OR-S1 (X = Br) OR-S2 (X = Cl)		EZH1/EZH2 dual inhibitor	DLBCL cells, AML cells, solid tumor	[58-59]
DS-3201b		EZH1/EZH2 dual inhibitor	NHL cells	[60]

(Table 1 continues on next page)

(Continued from previous page)

Compound	Chemical structure	Mechanism	Indication	Reference
MS1943		EZH2 degrader	TNBC cells, DLBCL cells	[33]
PROTAC #1		EZH2 degrader (PRO-TACs targeting EED)	DLBCL cells	[63]
PROTAC #2		EZH2 degrader (PRO-TACs targeting EED)	DLBCL cells	[63]
UNC6852		EZH2 degrader (PRO-TACs targeting EED)	HeLa cells, DLBCL cells	[64]
E7		EZH2 degrader (PRO-TACs targeting EZH2)	DLBCL cells, NSCLC cells	[65]
GNA002		EZH2 covalent inhibitor	Head and neck cells	[66]
SKLB-0335		EZH2 covalent inhibitor	SU-DHL-6 cells	[67]

SAH: S-adenosylhomocysteine; SAM: S-adenosylmethionine; DLBCL: Diffuse large B-cell lymphoma; NHL: Non-Hodgkin lymphoma; AML: Acute myeloid leukemia; TNBC: Triple-negative breast cancer; PROTAC: Proteolysis targeting chimeras; NSCLC: Non-small cell lung cancer.

5 展望与讨论

EZH2 作为肿瘤治疗的一种新型有效靶点,已成为众多研究的热点。EZH2 可促进多种肿瘤细胞的增殖、转移和耐药。6 种 EZH2 抑制剂相关的 35 项临床试验研究正在进行中,但多数仍处于临床前研究阶段或 I/II 期临床试验研究。目前, FDA 唯一批准的 EZH2 抑制剂是 tazemetostat (Tazverik™), 用于晚期或转移性上皮样肉瘤的治疗。虽然 EZH1/EZH2 双靶点抑制剂具有更强的抗肿瘤效果,但潜在的毒副作用可能更大,已有 EZH2 抑制剂对 EZH1 的选择性有待提高,且存在给药剂量大的缺点,因此,低毒、高选择性抑制剂仍是未来 EZH2 抑制剂开发的主要方向。

目前,多数 EZH2 抑制剂主要是 SAM 竞争性结合 SET 活性位点的选择性抑制剂,考虑到 EZH2 还可以通过 PRC2 非依赖性和非酶催化活性的方式发挥作用, EZH2 降解剂或同系高选择性 EZH2 抑制剂

将成为抑制 EZH2 的新策略。虽然已有 EZH2 降解剂在开发,但其结构多样性有待丰富,且需要进一步的临床试验以评估其活性。此外, EZH2 抑制剂与其他疗法联合使用已经成为肿瘤治疗的新思路,且已有数据表明 EZH2 抑制剂与免疫治疗或者化学治疗具有协同作用,相关研究已进入临床试验阶段。总之, EZH2 抑制剂在肿瘤的临床治疗中已经取得里程碑式的成功,但仍需进一步的深入研究。

作者声明: 本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

学术不端: 本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议: 经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权:本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[参考文献]

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, *et al.* Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, *et al.* Cancer Statistics, 2021 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1):7-33.
- [3] Margueron R, Reinberg D. The polycomb complex PRC2 and its mark in life [J]. *Nature*, 2011, 469(7330):343-349.
- [4] Kim KH, Roberts CW. Targeting EZH2 in cancer [J]. *Nat Med*, 2016, 22(2):128-134.
- [5] Dockerill M, Gregson C, DH OD. Targeting PRC2 for the treatment of cancer: An updated patent review (2016 - 2020) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2021, 31(2):1-17.
- [6] Duan R, Du W, Guo W. EZH2: A novel target for cancer treatment [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):1-12.
- [7] Slater H. FDA grants priority review to tazemetostat for relapsed/refractory follicular lymphoma [J]. *Oncology*, 2020, 34(2):84.
- [8] Cardoso C, Mignon C, Hetet G, *et al.* The human EZH2 gene: Genomic organisation and revised mapping in 7q35 within the critical region for malignant myeloid disorders [J]. *Eur J Hum Genet*, 2000, 8(3):174-180.
- [9] Han Z, Xing X, Hu M, *et al.* Structural basis of EZH2 recognition by EED [J]. *Structure*, 2007, 15(10):1306-1315.
- [10] Kuzmichev A, Nishioka K, Erdjument-Bromage H, *et al.* Histone methyltransferase activity associated with a human multiprotein complex containing the enhancer of Zeste protein [J]. *Genes Dev*, 2002, 16(22):2893-2905.
- [11] Li H, Liefke R, Jiang J, *et al.* Polycomb-like proteins link the PRC2 complex to CpG islands [J]. *Nature*, 2017, 549(7671):287-291.
- [12] Jones BA, Varambally S, Arend RC. Histone methyltransferase EZH2: A therapeutic target for ovarian cancer [J]. *Mol Cancer Ther*, 2018, 17(3):591-602.
- [13] Hoffmann F, Niebel D, Aymans P, *et al.* H3K27me3 and EZH2 expression in melanoma; Relevance for melanoma progression and response to immune checkpoint blockade [J]. *Clin Epigenetics*, 2020, 12(1):1-12.
- [14] Li B, Chng WJ. EZH2 abnormalities in lymphoid malignancies: Underlying mechanisms and therapeutic implications [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):1-13.
- [15] Yomtoubian S, Lee SB, Verma A, *et al.* Inhibition of EZH2 catalytic activity selectively targets a metastatic subpopulation in triple-negative breast cancer [J]. *Cell Rep*, 2020, 30(3):755-770 e6.
- [16] Wan Z, Jiang H, Li L, *et al.* Carcinogenic roles and therapeutic effects of EZH2 in gynecological cancers [J]. *Bioorg Med Chem*, 2020, 28(7):115379.
- [17] Laugesen A, Højfeldt JW, Helin K. Molecular mechanisms directing PRC2 recruitment and H3K27 methylation [J]. *Mol Cell*, 2019, 74(1):8-18.
- [18] Gan L, Yang Y, Li Q, *et al.* Epigenetic regulation of cancer progression by EZH2: From biological insights to therapeutic potential [J]. *Biomark Res*, 2018, 6(1):1-10.
- [19] He A, Shen X, Ma Q, *et al.* PRC2 directly methylates GATA4 and represses its transcriptional activity [J]. *Genes Dev*, 2012, 26(1):37-42.
- [20] Xu K, Wu ZJ, Groner AC, *et al.* EZH2 oncogenic activity in castration-resistant prostate cancer cells is polycomb-independent [J]. *Science*, 2012, 338(6113):1465-1469.
- [21] Kim E, Kim M, Woo DH, *et al.* Phosphorylation of EZH2 activates STAT3 signaling via STAT3 methylation and promotes tumorigenicity of glioblastoma stem-like cells [J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(6):839-852.
- [22] Lee JM, Lee JS, Kim H, *et al.* EZH2 generates a methyl decon that is recognized by the DCAF1/DDDB1/CUL4 E3 ubiquitin ligase complex [J]. *Mol Cell*, 2012, 48(4):572-586.
- [23] Lee ST, Li Z, Wu Z, *et al.* Context-specific regulation of NF- κ B target gene expression by EZH2 in breast cancers [J]. *Mol Cell*, 2011, 43(5):798-810.
- [24] Li J, Xi Y, Li W, *et al.* TRIM28 interacts with EZH2 and SWI/SNF to activate genes that promote mammosphere formation [J]. *Oncogene*, 2017, 36(21):2991-3001.
- [25] Jung HY, Jun S, Lee M, *et al.* PAF and EZH2 induce Wnt/ β -catenin signaling hyperactivation [J]. *Mol Cell*, 2013, 52(2):193-205.
- [26] Yan J, Li B, Lin B, *et al.* EZH2 phosphorylation by JAK3 mediates a switch to noncanonical function in natural killer/T-cell lymphoma [J]. *Blood*, 2016, 128(7):948-958.
- [27] Zhang H, Qi J, Reyes JM, *et al.* Oncogenic deregulation of EZH2 as an opportunity for targeted therapy in lung cancer [J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(9):1006-1021.
- [28] Béguelin W, Popovic R, Teater M, *et al.* EZH2 is required for germinal center formation and somatic EZH2 mutations promote lymphoid transformation [J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(5):677-692.
- [29] Bödör C, O'riain C, Wrench D, *et al.* EZH2 Y641 mutations in follicular lymphoma [J]. *Leukemia*, 2011, 25(4):726-729.
- [30] Geng J, Li X, Zhou Z, *et al.* EZH2 promotes tumor progression via regulating VEGF-A/AKT signaling in non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Letters*, 2015, 359(2):275-287.
- [31] Wei FZ, 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.
- [32] Murai F, Koinuma D, Shinozaki-Ushiku A, *et al.* EZH2 promotes progression of small cell lung cancer by suppressing the TGF- β -Smad-ASCL1 pathway [J]. *Cell Disco*, 2015, 1(1):1-17.
- [33] Ma A, Stratikopoulos E, Park KS, *et al.* Discovery of a first-in-class EZH2 selective degrader [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(2):214-222.
- [34] Kim KH, Kim W, Howard TP, *et al.* SWI/SNF-mutant cancers depend on catalytic and non-catalytic activity of EZH2 [J]. *Nat Med*, 2015, 21(12):1491-1496.
- [35] Zingg D, Debbache J, Schaefer SM, *et al.* The epigenetic modifier EZH2 controls melanoma growth and metastasis through silencing of distinct tumour suppressors [J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1):1-17.
- [36] Qu J, Zhang L, Zhou Z, *et al.* EZH2 promotes breast cancer bone metastasis [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(13 Suppl):2739-2739.
- [37] Hirukawa A, Smith HW, Zuo D, *et al.* Targeting EZH2 reacti-

- vates a breast cancer subtype-specific anti-metastatic transcriptional program [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):1-15.
- [38] Sun J, Cai X, Yung MM, *et al.* miR-137 mediates the functional link between c-Myc and EZH2 that regulates cisplatin resistance in ovarian cancer [J]. *Oncogene*, 2019, 38(4):564-580.
- [39] Wu Y, Zhang Z, Cenciarini ME, *et al.* Tamoxifen resistance in breast cancer is regulated by the EZH2 - ER α - GREB1 transcriptional axis [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(3):671-684.
- [40] Bai Y, Zhang Z, Cheng L, *et al.* Inhibition of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) overcomes enzalutamide resistance in castration-resistant prostate cancer [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(25):9911-9923.
- [41] Miranda TB, Cortez CC, Yoo CB, *et al.* DZNep is a global histone methylation inhibitor that reactivates developmental genes not silenced by DNA methylation [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(6):1579-1588.
- [42] Lee JK, Kim KC. DZNep, inhibitor of S-adenosylhomocysteine hydrolase, down-regulates expression of SETDB1 H3K9me3 HMTase in human lung cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 438(4):647-652.
- [43] Qi W, Chan H, Teng L, *et al.* Selective inhibition of Ezh2 by a small molecule inhibitor blocks tumor cells proliferation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(52):21360-21365.
- [44] McCabe MT, Ott HM, Ganji G, *et al.* EZH2 inhibition as a therapeutic strategy for lymphoma with EZH2-activating mutations [J]. *Nature*, 2012, 492(7427):108-112.
- [45] Verma SK, Tian X, LaFrance LV, *et al.* Identification of potent, selective, cell-active inhibitors of the histone lysine methyltransferase EZH2 [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2012, 3(12):1091-1096.
- [46] Knutson SK, Wigle TJ, Warholc NM, *et al.* A selective inhibitor of EZH2 blocks H3K27 methylation and kills mutant lymphoma cells [J]. *Nat Chem Biol*, 2012, 8(11):890-896.
- [47] Knutson SK, Kawano S, Minoshima Y, *et al.* Selective inhibition of EZH2 by EPZ-6438 leads to potent antitumor activity in EZH2-mutant non-Hodgkin lymphoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(4):842-854.
- [48] Campbell JE, Kuntz KW, Knutson SK, *et al.* EPZ011989, a potent, orally-available EZH2 inhibitor with robust in vivo activity [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2015, 6(5):491-495.
- [49] Song X, Gao T, Wang N, *et al.* Selective inhibition of EZH2 by ZLD1039 blocks H3K27 methylation and leads to potent anti-tumor activity in breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1):1-15.
- [50] Vaswani RG, Gehling VS, Dakin LA, *et al.* Identification of (R)-N-((4-Methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-2-methyl-1-(1-(1-(2,2,2-trifluoroethyl)piperidin-4-yl)ethyl)-1H-indole-3-carboxamide (CPI-1205), a potent and selective inhibitor of histone methyltransferase EZH2, suitable for phase I clinical trials for B-cell lymphomas [J]. *J Med Chem*, 2016, 59(21):9928-9941.
- [51] Kung PP, Bingham P, Brooun A, *et al.* Optimization of orally bioavailable enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) inhibitors using ligand and property-based design strategies: Identification of development candidate (R)-5,8-dichloro-7-(methoxy(oxetan-3-yl)methyl)-2-((4-methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-3,4-dihydroisoquinolin-1(2H)-one (PF-06821497) [J]. *J Med Chem*, 2018, 61(3):650-665.
- [52] Morschhauser F, Tilly H, Chaidos A, *et al.* Tazemetostat for patients with relapsed or refractory follicular lymphoma: An open-label, single-arm, multicentre, phase 2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(11):1433-1442.
- [53] Stacchiotti S, Schoffski P, Jones R, *et al.* Safety and efficacy of tazemetostat, a first-in-class EZH2 inhibitor, in patients (pts) with epithelioid sarcoma (ES) (NCT02601950) [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(15 Suppl):11003-11003.
- [54] Yap TA, Winter JN, Giulino-Roth L, *et al.* Phase I study of the novel enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) inhibitor GSK2816126 in patients with advanced hematologic and solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(24):7331-7339.
- [55] Hoy SM. Tazemetostat: First approval [J]. *Drugs*, 2020, 80(5):513-521.
- [56] Shen X, Liu Y, Hsu YJ, *et al.* EZH1 mediates methylation on histone H3 lysine 27 and complements EZH2 in maintaining stem cell identity and executing pluripotency [J]. *Mol Cell*, 2008, 32(4):491-502.
- [57] Konze KD, Ma A, Li F, *et al.* An orally bioavailable chemical probe of the Lysine Methyltransferases EZH2 and EZH1 [J]. *ACS Chem Biol*, 2013, 8(6):1324-1334.
- [58] Honma D, Kanno O, Watanabe J, *et al.* Novel orally bioavailable EZH1/2 dual inhibitors with greater antitumor efficacy than an EZH2 selective inhibitor [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(10):2069-2078.
- [59] 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*, 2017, 32(4):855-864.
- [60] Honma D, Nosaka E, Shiroishi M, *et al.* DS-3201, a potent EZH1/2 dual inhibitor, demonstrates antitumor activity against non-Hodgkin lymphoma (NHL) regardless of EZH2 mutation [J]. *Blood*, 2018, 132(1 Suppl):2217-2217.
- [61] Liu J, Ma J, Liu Y, *et al.* PROTACs: A novel strategy for cancer therapy [J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 67(2):171-179.
- [62] Lebraud H, Heightman TD. Protein degradation: A validated therapeutic strategy with exciting prospects [J]. *Essays Biochem*, 2017, 61(5):517-527.
- [63] Hsu JH, Rasmussen T, Robinson J, *et al.* EED-targeted PROTACs degrade EED, EZH2, and SUZ12 in the PRC2 complex [J]. *Cell Chem Biol*, 2020, 27(1):41-46, e17.
- [64] Potjewyd F, Turner AW, Beri J, *et al.* Degradation of polycomb repressive complex 2 with an EED-targeted bivalent chemical degrader [J]. *Cell Chem Biol*, 2020, 27(1):47-56, e15.
- [65] Liu ZH, Hu X, Wang QW, *et al.* Design and synthesis of EZH2-based PROTACs to degrade the PRC2 complex for targeting the noncatalytic activity of EZH2 [J]. *J Med Chem*, 2021, 64(5):2829-2848.
- [66] Wang X, Cao W, Zhang J, *et al.* A covalently bound inhibitor triggers EZH2 degradation through CHIP-mediated ubiquitination [J]. *EMBO J*, 2017, 36(9):1243-1260.
- [67] Zhang QS, Hu X, Li L, *et al.* The discovery of SKLB-0335 as a paralog-selective EZH2 covalent inhibitor [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2021, 57(24):3006-3009.