

IDH1、IDH2 基因突变在肿瘤中的作用

刘翔 凌志强

【摘要】 异柠檬酸脱氢酶(IDH)是三羧酸循环中的一种关键酶,近年来在多种肿瘤中发现了频发的 IDH1、IDH2 基因突变,这些突变特异性改变酶的催化活性,即直接催化 α -酮戊二酸(α -KG)生成 R-2-羟戊二酸(R-2-HG),竞争性抑制组蛋白和 DNA 去甲基酶等多种 α -KG 依赖的双加氧酶,并可能由此促进肿瘤的发生发展,此外,IDH1、IDH2 基因突变状态与肿瘤患者预后相关。IDH1、IDH2 基因是一个潜在的肿瘤早期诊断、预后评估和靶向治疗的标志性基因。

【关键词】 异柠檬酸脱氢酶; 甲基化; 代谢疾病; 肿瘤

Effects of IDH1 and IDH2 genes mutations on tumors Liu Xiang*, Ling Zhiqiang. * Cancer Research Institute, Zhejiang Province Cancer Hospital, Hangzhou 310022, China

Corresponding author: Ling Zhiqiang, Email: lingzq@hotmail.com

【Abstract】 Isocitrate dehydrogenases (IDHs) are considered as key enzymes in the tricarboxylic acid cycle. Recurrent mutations in the IDH1 and IDH2 genes are recently found in several human cancers. Those point mutations specifically affect IDH1 and IDH2 active site arginine residues and confer a neomorphic enzyme function of directly catalyzing α -ketoglutarate (α -KG) to R-2-hydroxyglutarate (R-2-HG). R-2-HG can competitively inhibits α -KG-dependent enzymes and may therefore contribute to the occurrence and development of tumor. In addition, Mutation status of IDH1 and IDH2 are closely relative to the progress and prognosis of certain tumor. Thus IDH1 and IDH2 are considered to be promising biomarkers for early diagnosis and prognosis and targeted therapy.

【Key words】 Isocitrate dehydrogenase; Methylation; Metabolic diseases; Neoplasms

自从 1924 年德国生理学家 Warburg 发现肿瘤细胞在氧供充足的条件下仍然优先利用糖酵解途径获取能量这种代谢改变以来,代谢改变被认为在肿瘤发生发展中起到十分重要的作用,但是肿瘤细胞发生代谢改变的机制一直存在争议。近年来在肿瘤中发现 3 个代谢酶延胡索酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)基因突变,改变了细胞代谢并可能与肿瘤的发生发展相关。IDH1、IDH2 基因突变是最常见的代谢酶基因突变类型,在胶质瘤和急性髓细胞白血病(acute myelogenous leukemia, AML)的一些亚型中相当普遍。软骨肉瘤、胆管癌、副神经节瘤、大肠癌、前列腺癌、肺癌等实体

肿瘤也有报道^[1]。突变改变了酶的活性位点,并赋予酶新的催化活性,利用 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, α -KG)产生高水平的 R-2-羟戊二酸(R-2-hydroxyglutarate, R-2-HG),进而影响细胞增殖分化相关的多种信号通路。目前国内外的研究主要集中在 IDH 突变机制及其临床意义方面。

1 野生型 IDH 的生物学特征

IDH 是三羧酸循环的关键酶,催化异柠檬酸氧化脱羧生成 α -KG,同时烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD^+)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adeninedinucleotide phosphate, $NADP^+$)为还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide, $NADH$)、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(reduced form of nicotinamide adeninedinucleotide phosphate, $NADPH$),在生命活动中发挥重要作用。IDH1 和 IDH2 为 $NADP^+$ 依赖性 IDH,人类 IDH1、IDH2 分别存在于细胞质、过氧化物酶体和线粒体中,基因分别位于染色体 2q33.3、15q26.1。二者分别催化细胞质和线粒体中 $NADP^+$ 和异柠檬酸生成 α -KG 和 $NAD-$

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2015.05.008

基金项目:浙江省自然科学基金(LZ13H160002);浙江省卫生高层次创新人才培养工程基金;浙江省新世纪 151 人才工程重点资助基金

作者单位:310022 杭州,浙江省肿瘤医院肿瘤研究所(刘翔、凌志强);325035 温州医科大学检验医学院生命科学学院(凌志强)

通信作者:凌志强, Email: lingzq@hotmail.com

PH, 并且这两个过程都是可逆的^[2]。IDH1、IDH2 主要以同源二聚体形式存在, 构成同源二聚体的两个亚基的结构域共同构成酶的活性中心, 在酶活性中心, 一些保守的氨基酸序列决定 IDH 结合辅酶和底物的特异性^[2-3]。IDH3 为 NAD⁺ 依赖性的 IDH, 存在于线粒体中。Yang 等^[4]报道了 IDH3 在黄曲霉素 B1 诱导的肝损伤中表达上调, 表明其在磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B, PI3K/Akt) 通路介导的氧化应激中发挥作用。

2 人类肿瘤中 IDH 突变及其功能

IDH1、IDH2 基因突变最早发现于成人多形性胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiforme, GBM) 患者中^[5], 后来许多研究报道在 AML、软骨肉瘤、胆管癌、副神经节瘤、大肠癌、前列腺癌、肺癌等不同类型的肿瘤中检测到 IDH1、IDH2 基因突变^[1]。目前发现的 IDH 突变均为杂合型突变, 这些突变大多数位于酶催化活性中心的保守区域, 其中 IDH1R132、IDH2R172 是最常见的突变位点。

Dang 等^[6]应用代谢组学技术分析野生 IDH1 和突变 IDH1R132H 细胞的代谢物水平, 发现突变 IDH1R132H 细胞中 R-2-HG 水平明显升高, 同位素标记证实 R-2-HG 来源于 α -KG, 表明突变 IDH1 获得新的催化活性, 即利用 NADPH 还原 α -KG 生成 R-2-HG。随后一系列构建突变 IDH1、IDH2 的动物和细胞模型也进一步证实了该发现^[7-9]。

3 IDH 突变导致肿瘤发生机制

α -KG 不仅在物质代谢中发挥作用, 还参与细胞内多种重要信号通路的调节。真核生物体内至少存在 60 种 α -KG 依赖的双加氧酶, 参与机体胶原合成、脂肪酸代谢、DNA 损伤修复、DNA 和 RNA 染色体修饰及缺氧应激反应等重要生命活动过程, 具有十分广泛的生物学功能^[2]。该酶类必须与 Fe²⁺ 和 α -KG 结合才能发挥作用。2-HG 与 α -KG 分子结构极其相似^[6], 推测 2-HG 可能通过竞争抑制 α -KG 依赖的双加氧酶而发挥促癌作用。

Sasaki 等^[7]发现表达 IDH1R132H 突变基因小鼠模型血清 2-HG 水平明显升高, 而且大龄小鼠出现骨髓早期造血祖细胞数量增加、脾肿大、贫血及髓外造血等类似白血病的表现, 骨髓细胞中超过 80% 的 DNA CpG 岛 (CpG islands) 发生甲基化改变。同期, Lu 等^[10]构建的表达 IDH2R172K 和 IDH2R140Q 突变的 3T3-L1 脂肪细胞出现分化停滞, 组蛋白甲基化标志物水平明显升高。这些证据表明, IDH1、IDH2 基因突变及其产物 2-HG 可以影响细胞分化相关信

号通路来发挥促癌作用。因此 IDH 突变产物 2-HG 抑制 α -KG 依赖的双加氧酶活性被认为是 IDH 突变致癌主要机制。

3.1 2-HG 抑制脯氨酰羟化酶

脯氨酰羟化酶 (prolylhydroxylase, PHD) 是 α -KG 依赖的双加氧酶家族之一, 能够调节缺氧诱导因子-1 α (hypoxia induced factor-1 α , HIF-1 α) 的表达水平。后者参与细胞凋亡、物质代谢、血管生成等肿瘤发生进展相关的关键信号通路调节^[3,8-11]。

Zhao 等^[3]发现转染 IDH1R132H 突变的 U-87MG 和 HEK293T 细胞的细胞质中 HIF-1 α 水平明显升高, HIF-1 α 调节的靶基因葡萄糖转运体 1 (glucose transporter 1, Glut1)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、磷酸甘油酸激酶 1 表达上调。26 例胶质瘤患者样本的免疫组织化学结果显示合并 IDH 突变的胶质瘤样本 HIF-1 α 和 VEGF 都要高于无突变者 ($P < 0.001$)。Sasaki 等^[8]将 IDH1R132H 突变导入小鼠胚胎中, 发现胚鼠脑细胞中 HIF-1 α 及其调节的 VEGF 表达上调。Chowdhury 等^[12]在体外进一步验证了 2-HG 能够抑制 PHD 活性, 导致 HIF-1 α 水平的升高。这些证据支持突变 IDH1、IDH2 产物 2-HG 通过竞争抑制 PHD 与 α -KG 的结合而影响其调节功能, 导致细胞内 HIF-1 α 的积累, 进而启动下游相关靶基因的表达来促进肿瘤的发生。

3.2 2-HG 抑制 DNA 去甲基化酶

TET (ten-eleven translocation) 家族是调节 DNA 去甲基化的主要酶类, 该酶催化 5-甲基胞嘧啶 (5-methylcytosine, 5-mC) 转化为 5-羟甲基胞嘧啶 (5-hydroxymethylcytosine, 5-hmC), 实现 DNA 的去甲基化^[13]。TET2 是调节 DNA 去甲基化最主要的酶。临床观察发现 AML 中 IDH 突变与 TET2 突变具有相似的 DNA 甲基化表型, 并且二者相互排斥, 提示二者具有共同的致癌途径^[14]。

Noushmehr 等^[15]应用癌基因组图谱检测 207 例 GBM 患者标本, 发现 IDH1 突变与胶质瘤特异性的启动子 CpG 岛甲基化表型 (glioma-CpG island methylator phenotype, G-CIMP) 存在高度的相关性: 23 例 G-CIMP 阳性的 GBM 患者中有 18 例 (78%) 存在 IDH1 突变, 而 184 例 G-CIMP 阴性 GBM 中则无一存在 IDH1 突变。此外 G-CIMP 与 IDH 突变在不同亚型的胶质瘤中的分布也高度一致。为了进一步验证 IDH1 突变与 G-CIMP 的关系, Turcan 等^[16]使用相同基因型的人类永生星形胶质细胞分别构建表达 IDH1R132H 突变、野生型 IDH1 细胞模型, 发现表达突变 IDH1R132H 的星形胶质细胞大量的基因出现

高甲基化、5-hmC 水平明显减少以及组蛋白 H3K9、H3K27、H3K36 等甲基化标志物水平明显增加,而对照的野生型 IDH1 的细胞则无明显改变。Xu 等^[11]、Sasaki 等^[7]构建的细胞和动物模型中也观察到了相似 DNA 甲基化改变。这些证据证明突变 IDH1R132H 及其产物 2-HG 能够通过抑制 TET2 催化 5-mC 羟基化的活性,致使 DNA 异常甲基化,并最终生成肿瘤。

3.3 2-HG 抑制组蛋白去甲基化酶

组蛋白甲基化是近年来发现的表观遗传学修饰的重要形式,与异染色质形成、基因表达、X 染色体失活及 DNA 损伤修复都具有密切关系。含有 JmjC 结构域的组蛋白去甲基化酶(JmjC domain containing histone demethylase, JHDM)是一种重要的组氨酸去甲基化酶,主要催化组蛋白 H3K4、H3K9、H3K27、H3K36、H4K20 的去甲基化。近年来已有报道异常的组蛋白去甲基化与人类癌症的发生进展相关^[17]。

Xu 等^[11]报道了体外培养的 U-87MG 细胞中突变 IDH1R132H 和 R-2-HG 能够通过竞争 α -KG 来抑制 JHDM 的去甲基化作用。Xu 等^[11]对 10 例合并 IDH1R132H 突变和 10 例野生型 IDH1 的胶质瘤样本的检测也进一步证实了这种假说。Lu 等^[10]发现表达 IDH1R132H 突变和用细胞渗透性的 2-HG 处理的培养细胞模型中也出现多种组蛋白甲基化标志物的增加,随着细胞传代代数增加,细胞内也出现了 DNA 甲基化,并且组蛋白甲基化始终早于 DNA 甲基化的出现,提示组蛋白高甲基化可以诱导 DNA 甲基化。此外,Sasaki 等^[7]、Xu 等^[11]相应的细胞和动物模型同时存在组蛋白和 DNA 甲基化。目前已知组蛋白修饰与 DNA 甲基化相互影响,但对于组蛋白甲基化与其靶基因之间的调节关系所知甚少,因此需要广泛的基因组研究来揭示二者的关系。

3.4 IDH 突变致癌的其他可能机制

α -KG 依赖的双加氧酶家族中其他的成员也能被 2-HG 所抑制。胶原羟化酶家族中的脯氨酰-4-羟化酶 $\alpha 1$ (prolyl 4-hydroxylases $\alpha 1$, P4HA1) 已被证实可在体外可以被 2-HG 所抑制^[18]。此外,其他的 α -KG 依赖的双加氧酶还有调节 HIF-1 α 转录抑制因子 1、DNA 损伤修复相关的 ABH (human alkB homologue) 家族以及 RNA 去甲基化相关的肥胖基因等^[13]。

在 IDH1、IDH2 突变的多个位点中,除了 IDH1 R132、IDH1 R100、IDH2 R172、IDH2 R140 以外,其他位点的突变大多不能产生 2-HG^[26]。在胶质瘤中 IDH 突变发生早于 TP53 突变、1p/19q 缺失,是其发生进展过程的早期遗传学改变^[21]。这些证据提示

IDH 突变在肿瘤中的作用并不局限于突变产物 2-HG 对 α -KG 依赖的双加氧酶的竞争抑制,可能是影响多个信号通路的共同调节。

IDH 突变本身所导致的代谢改变就足以产生许多直接的影响:NADPH 是谷胱甘肽、硫氧还原蛋白和一些包括核因子- κ B、活化因子蛋白-1 (activator protein-1, AP1) 的转录因子的重要电子供体,在调节细胞内氧化还原状态上具有重要作用,IDH 突变导致细胞内 NADPH 的消耗增加导致细胞更容易受到活性氧的损伤,导致细胞膜破坏、酶活性改变和 DNA、RNA 氧化损伤等,由此激活相关致癌信号通路,最终导致肿瘤的发生和进展。

4 IDH 突变对临床诊断治疗的指导意义

4.1 肿瘤的诊断分型

IDH 突变状态与肿瘤病理分型密切相关,并且 IDH 突变是胶质瘤发生进展的早期事件^[20-21],因此,可以考虑将其作为胶质瘤诊断分型的标志物之一,这不仅能够在诊断上更为及时全面,而且对于进一步深入研究肿瘤发病机制和生物学特征具有重要意义。不仅如此,外周血中 IDH1、IDH2 突变的重要生化指标是 2-HG 水平异常升高^[6,19],据此,制定 2-HG 合适的医学参考值范围,或许能够作为敏感特异的预测指标。

4.2 预后评估及靶向治疗

合并 IDH 突变的胶质瘤往往预后较好^[22-23],而表达突变 IDH1R132H 胶质瘤细胞的增殖和迁徙能力减弱^[24],小鼠移植模型生存期也更长久^[24]。鉴于突变 IDH1、IDH2 及其产物在肿瘤发生进展中的重要作用,肿瘤治疗的另一策略是针对突变酶及产物的靶向治疗。Rohle 等^[25]和 Wang 等^[26]分别合成了特异性抑制突变 IDH1、IDH2 酶活性的小分子物质 AGI-5198、AGI-6780,能够抑制胶质瘤细胞和白血病细胞的增殖并恢复分化相关细胞因子的表达,成功诱导肿瘤细胞分化,证实了突变酶抑制剂靶向治疗此类肿瘤的可行性。最近,美国食品药品监督管理局批准了基于突变 IDH1、IDH2 酶的靶向抑制剂的药物 AG-120、AG-221 应用于临床试验。Ledford^[27]报道 7 例伴 IDH2 突变的 AML 中晚期患者在接受新药治疗 5 个周期后,5 例疗效极显著(外周血中检测不到肿瘤细胞)。尽管此次临床试验的规模很小,但试验结果依然鼓舞人心。

5 结语

突变 IDH1、IDH2 及其产物 2-HG 的检测在肿瘤早期诊断、治疗和预后评估中都具有重要的临床参考价值。近年来,对 IDH1、IDH2 基因突变致癌的分子

机制和功能研究也有助于突变 IDH1、IDH2 及其产物 2-HG 作为生物标志物的临床应用。IDH1、IDH2 基因突变机制和功能研究也有助于针对该突变位点及癌代谢物的靶向治疗药物的开发,使得靶向治疗更有效性、特异性,并减少不良反应。因此,针对 IDH1、IDH2 基因突变在肿瘤发生进展中作用的基础研究对于肿瘤的预防和治疗具有重要的指导意义。

参 考 文 献

- [1] Ye D, Ma S, Xiong Y, et al. R-2-hydroxyglutarate as the key effector of IDH mutations promoting oncogenesis[J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(3):274-276.
- [2] Kim W, Liao LM. IDH mutations in human glioma[J]. *Neurosurg Clin N Am*, 2012, 23(3):471-480.
- [3] Zhao S, Lin Y, Xu W, et al. Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1 α [J]. *Science*, 2009, 324(5924):261-265.
- [4] Yang C, Fan J, Zhuang Z, et al. The role of NAD(+) -dependent isocitrate dehydrogenase 3 subunit α in AFB1 induced liver lesion[J]. *Toxicol Lett*, 2014, 224(3):371-9.
- [5] Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme[J]. *Science*, 2008, 321(5897):1807-1812.
- [6] Dang L, White DW, Gross S, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate[J]. *Nature*, 2010, 465(7300):966.
- [7] Sasaki M, Knobbe CB, Munger JC, et al. IDH1(R132H) mutation increases murine haematopoietic progenitors and alters epigenetics[J]. *Nature*, 2012, 488(7413):656-659.
- [8] Sasaki M, Knobbe CB, Itsumi M, et al. D-2-hydroxyglutarate produced by mutant IDH1 perturbs collagen maturation and basement membrane function[J]. *Genes Dev*, 2012, 26(18):2038-2049.
- [9] Zhang C, Moore LM, Li X, et al. IDH1/2 mutations target a key hallmark of cancer by deregulating cellular metabolism in glioma[J]. *Neuro Oncol*, 2013, 15(9):1114-1126.
- [10] Lu C, Ward PS, Kapoor GS, et al. IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation[J]. *Nature*, 2012, 483(7390):474-478.
- [11] Xu W, Yang H, Liu Y, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases[J]. *Cancer cell*, 2011, 19(1):17-30.
- [12] Chowdhury R, Yeoh KK, Tian YM, et al. The oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases[J]. *EMBO Rep*, 2011, 12(5):463-469.
- [13] Losman JA, Kaelin WG Jr. What a difference a hydroxyl makes: mutant IDH, (R)-2-hydroxyglutarate, and cancer[J]. *Genes Dev*, 2013, 27(8):836-852.
- [14] Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation[J]. *Cancer Cell*, 2010, 18(6):553-567.
- [15] Nouchmeh H, Weisenberger DJ, Diefes K, et al. Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma[J]. *Cancer Cell*, 2010, 17(5):510-522.
- [16] Turcan S, Rohle D, Goenka A, et al. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype[J]. *Nature*, 2012, 483(7390):479-483.
- [17] Kooistra SM, Helin K. Molecular mechanisms and potential functions of histone demethylases[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(5):297-311.
- [18] Koivunen P, Lee S, Duncan CG, et al. Transformation by the (R)-enantiomer of 2-hydroxyglutarate linked to EGLN activation[J]. *Nature*, 2012, 483(7390):484-488.
- [19] Ward PS, Cross JR, Lu C, et al. Identification of additional IDH mutations associated with oncometabolite R(-)-2-hydroxyglutarate production[J]. *Oncogene*, 2012, 31(19):2491-2498.
- [20] Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(8):765-773.
- [21] Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, et al. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas[J]. *Am J Pathol*, 2009, 174(4):1149-1153.
- [22] Song Tao Q, Lei Y, Si G, et al. IDH mutations predict longer survival and response to temozolomide in secondary glioblastoma[J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(2):269-273.
- [23] Houillier C, Wang X, Kaloshi G, et al. IDH1 or IDH2 mutations predict longer survival and response to temozolomide in low-grade gliomas[J]. *Neurology*, 2010, 75(17):1560-1566.
- [24] Bralten LB, Kloosterhof NK, Balvers R, et al. IDH1 R132H decreases proliferation of glioma cell lines in vitro and in vivo[J]. *Ann Neurol*, 2011, 69(3):455-63.
- [25] Rohle D, Popovici-Muller J, Palaskas N, et al. An inhibitor of mutant IDH1 delays growth and promotes differentiation of glioma cells[J]. *Science*, 2013, 340(6132):626-630.
- [26] Wang F, Travins J, DeLaBarre B, et al. Targeted inhibition of mutant IDH2 in leukemia cells induces cellular differentiation[J]. *Science*, 2013, 340(6132):622-626.
- [27] Ledford H. Metabolic quirks yield tumour hope[J]. *Nature*, 2014, 508(7495):158-159.

(收稿日期:2014-09-25 修回日期:2015-01-28)