

# 生物医学研究院科研季刊

2020 年第 1 季度

复旦大学生物医学研究院编

2020 年 3 月 31 日

## 目 录

- 染色体重塑机制新理解！我院徐彦辉课题组在《科学》主刊发表新成果
- 祝贺刘妍君研究员获得“人类前沿科学计划”青年科学家项目资助
- 雷群英团队在《Nature Cell Biology》报道支链氨基酸代谢重塑在胰腺导管腺癌早期发生中的重要作用和分子机制
- 柳素玲团队在《Science Advances》揭示干扰 MSN-NONO 复合体激活的 CREB 信号通路可以为三阴性乳腺癌提供潜在的治疗新策略
- 蓝斐团队与合作者在《Cell Research》揭示减数分裂同源重组命运决定的表观遗传学基础
- 余发星团队与合作者在《Protein & Cell》报道 RNF43 在结直肠印戒细胞癌中发生高频突变
- 黄鑫欣团队发现激活一氧化氮通路可以促进造血干细胞的归巢和植入
- 张晓燕和 Jun-O Jin 团队在《Nature Communications》报道大肠杆菌粘附素 FimH 蛋白作为佐剂可用于肿瘤免疫治疗
- 王磊团队与合作者在《Cell Research》解析人源 Pannexin 1 通道的结构与功能
- 徐薇/赵世民团队及其合作者揭示高同型半胱氨酸致病新机制

### 染色体重塑机制新理解！我院徐彦辉课题组在《科学》主刊发表新成果！

北京时间 1 月 31 日，《科学》(Science) 杂志在线发表了复旦大学生物医学研究院和附属肿瘤医院研究员徐彦辉课题组题为《人源 BAF 复合物结合核小体的结构》(“Structure of Nucleosome-bound human BAF Complex”) 的研究论文 (Research Article)。该成果报道了人源染色质重塑复合物 BAF 结合核小体的冷冻电镜结构,对染色质重塑机制和 BAF 高频突变致癌机制的理解起到重要推动作用。

作为真核生物遗传物质的载体,染色质结构高度致密,这种致密结构有利于机体更加有效的储存遗传物质,同时也对基本生命活动的正常进行设置了屏障。因此,染色质的动态调控与基因表达以及基因损伤修复等密切相关。为了更好地调控染色质状态,真核细胞发展出了一系列调控机制。染色质重塑是染色质表观遗传调控的重要方式,染色质重塑复合物 (chromatin remodeling complex) 通

过水解 ATP 提供能量打破核小体（染色质的基本重复单位）中 DNA 与组蛋白之间的相互作用，从而改变染色质的组成与结构。

BAF 是哺乳动物 SWI/SNF 家族的染色质重塑复合物，由十余个亚基构成分子量超过一百万道尔顿（1 Megadalton）的复合物，约 20% 肿瘤的发生均与 BAF 亚基突变密切相关。BAF 复合物的组装模式与染色质重塑的机制研究兼具重要性与挑战性。

徐彦辉课题组经多年研究与不断尝试，首次解析人源 BAF-核小体复合物的超高分辨冷冻电镜结构，整体分辨率为 3.7 Å，Base 模块分辨率为 3.0 Å。超高分辨率的结构清晰展示 BAF 复合物十余个亚基的组装方式以及整个复合物识别核小体的方式（如图所示）。其中两个肿瘤中存在突变频率的亚基，ARID1A 和 SMARCB1，分别对复合物的组装和核小体的结合起重要作用。

这一工作阐明了 BAF 复合物组装和识别核小体的机制，并从结构的角度加深了对 BAF 执行核小体剔除功能和 BAF 突变致癌机制的理解。

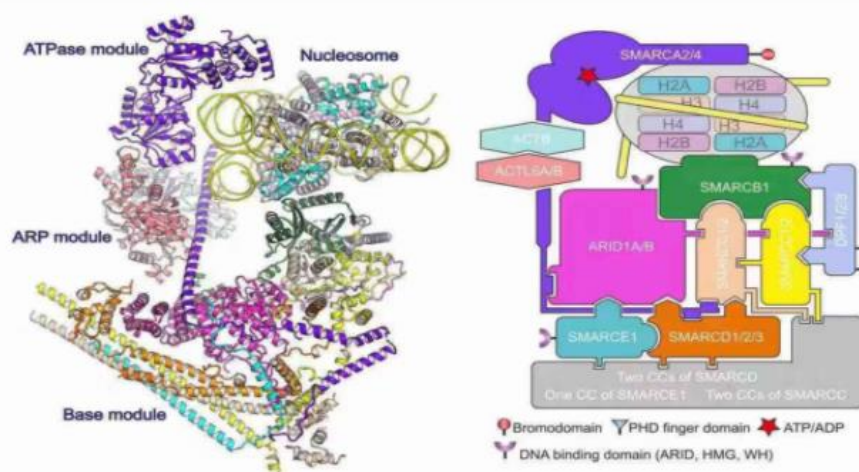


图1 BAF-核小体复合物结构和组装模式图

复旦大学生物医学研究院和附属肿瘤医院为共同第一单位，复旦大学博士后何爽、2016 级博士生武子涵、2014 级博士生田原为本文共同第一作者，徐彦辉为通讯作者。中科院生物物理所成像中心、上科大电镜中心、国家蛋白质中心以及正在建设中的复旦大学电镜中心对数据收集给予了重要的支持。

### 祝贺刘妍君研究员获得“人类前沿科学计划”青年科学家项目资助

2020 年 3 月 26 日，“人类前沿科学计划”宣布 2020 年资助项目名单，我院刘妍君研究员获得“青年科学家”项目国际资助。刘妍君和她的两位海外合作者（分别来自西班牙和奥地利）申请的课题为“Mechanosensitive dynamics at

the fertilization synapse”，该项目在本年度全球青年科学家申请中排名第一，将在未来三年获得总计 105 万美元的资助。她也是该计划 2020 年支持的唯一中国（大陆地区）学者。



**HFSP AWARDS 2020**

<b>Mechanosensitive dynamics at the fertilisation synapse</b>		
<b>RUPRECHT</b> Verena	Cell and Tissue Dynamics Group Centre for Genomic Regulation (CRG) University Pompeu Fabra (UPF) Barcelona	SPAIN (AUSTRIA)
<b>LIU</b> Yan-Jun	Shanghai Institute of Cardiovascular Diseases, and Institutes of biomedical sciences Fudan University Shanghai	CHINA
<b>PAULI</b> Andrea	Pauli Lab. IMP Vienna	AUSTRIA (GERMANY)

“人类前沿科学计划”（Human Frontier Science Program, HFSP）是国际著名科研资助机构，主要面向全球生命科学领域的具有前沿性、创新性、多学科交叉的基础研究（novel, innovative and interdisciplinary basic research）。特别鼓励生物学家与物理、化学、数学、计算机科学及工程科学专家进行跨国合作，研究生命科学的前沿课题。自 1990 年以来，已有 28 位受人类前沿科学计划资助的研究者获得诺贝尔奖。2020 年，HFSP 共收到 702 项申请，其中有来自美国、加拿大、英国、德国、瑞士、奥地利、西班牙和中国等国家的 8 个项目（23 位科学家）获得“青年科学家”项目资助（Young Investigator）。

据了解，HFSP 每年在国际上颁发青年科学家项目十项左右。刘妍君研究员是第六位获得 HFSP 青年科学家资助的中国国内学者，此前五位的大陆学者包括罗敏敏（清华大学，2006）、蒋兴宇（国家纳米中心，2007）、唐淳（中国科学院武汉物数所，2011）、薛天（中国科学技术大学，2014）、李海涛（清华大学，2015）。

刘妍君现为复旦大学生物医学研究院和附属中山医院双聘教授。多年来，一直致力于微流控芯片与生物医学交叉科学研究，主要应用微流控芯片模拟重构体内细胞微环境及精准调控细胞行为。迄今为止，在生物、物理、化学等不同学科期刊 Cell、Phys. Rev. Lett.、J. Am. Chem. Soc. 等发表多篇研究论文。其中，关于微流控芯片技术在细胞迁移等生物学行为方面的研究成果于 2015 年发表于 Cell 杂志，并被该杂志同期以 Preview 的形式给予了高度评价，至今被他引超过 340 余次。法国发行量最大的《世界报（Le Monde）》科学版对此研究工作做了专题报道，评价此工作开辟了使用微流控技术模拟重构体内细胞微环境，研究细胞迁移等生物学行为的先河。

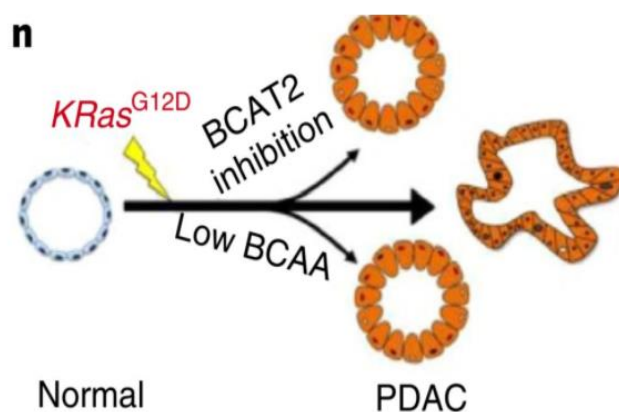
## 雷群英团队在《Nature Cell Biology》报道支链氨基酸代谢重塑在胰腺导管腺癌早期发生中的重要作用和分子机制

胰腺癌是癌中之王，没有早期诊疗的靶点，目前五年生存率低于 8%。由于胰腺导管腺癌（pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC）临床诊断较晚并且对化疗耐药，因此在全球范围 PDAC 是造成癌症相关死亡的主要原因之一。目前可用于 PDAC 的有效治疗方案仍非常有限。先前的研究表明，在胰腺癌早期诊断之前病人血清中的支链氨基酸（Branched-chain amino acid，BCAA）是异常的，但是在 PDAC 发展中的作用及其机制不明。

近日，我院雷群英课题组在 Nature Cell Biology 杂志上发表了文章 BCAT2-mediated BCAA catabolism is critical for development of pancreatic ductal adenocarcinoma，首次揭示了癌基因 Kras 突变驱动的 BCAA-BCAT2（支链氨基酸-支链氨基酸转氨酶 2）代谢轴在 PDAC 早期发生中的重要作用和分子机制，以及靶向抑制 BCAT2 或饮食中 BCAA 限制如何减缓 PDAC 的进展。



在这项研究中，雷群英课题组通过多种研究手段在细胞水平、组织特异性小鼠模型和临床样品水平发现 KRAS 突变导致的支链氨基酸代谢重塑促进胰腺癌的发展，尤其在早期发生中的关键作用。进一步通过筛选和深入研究阐明了其内在的分子机制。最后，利用 PDAC 小鼠模型研究了低 BCAA 饮食或 Bcat2 抑制剂潜在的临床相关性。



值得一提的是，Nature Cell Biology 同期配发专题评论文章 The KRAS-BCAA-BCAT2 axis in PDAC development。该评论指出“这项研究凸显了肿瘤细胞在肿瘤发展过程中的巨大可塑性。作者指出了 BCAA-BCAT2 代谢轴在 Kras 突变驱动的导管细胞肿瘤发生中的重要作用并阐明了 BCAT2 上调的分子机制。在临床前动物水平上，通过药物配合饮食干预治疗肿瘤，该研究给出了令人鼓舞的结果”。

据悉，复旦大学生物医学研究院和附属肿瘤医院为共同第一单位，复旦大学 2014 级博士生李金涛，2015 级博士生王迪和尹淼博士为论文共同第一作者，雷群英教授为论文通讯作者。

### 柳素玲团队在《Science Advances》揭示干扰 MSN-NONO 复合体激活的 CREB 信号通路可以为三阴性乳腺癌提供潜在的治疗新策略

三阴性乳腺癌 (Triple-negative breast cancer, TNBC) 由于多种受体 (ER, PR, HER-2) 的表达缺乏治疗方法有限，一直是乳腺癌研究的热点和治疗的难点 [1]。随着对三阴性乳腺癌的研究深入，研究人员一直在寻找三阴性乳腺癌治疗的分子靶点，试图开发出更为有效的三阴性乳腺癌治疗方案。

近日，我院柳素玲团队在 Science Advances 杂志在线发表了题为 Interfering MSN-NONO complex-activated CREB signaling as a therapeutic strategy for triple-negative breast cancer 的研究性论文，揭示了三阴性乳腺癌特异性高表达的 MSN 可以通过与核蛋白 NONO 相互作用促进激酶 PKC  $\zeta$  的核定位，从而磷酸化 CREB 并激活了其下游信号通路，为基于 MSN 和下游信号通路开发新的针对三阴性乳腺癌的治疗方法提供了有力的证据。

SCIENCE ADVANCES | RESEARCH ARTICLE

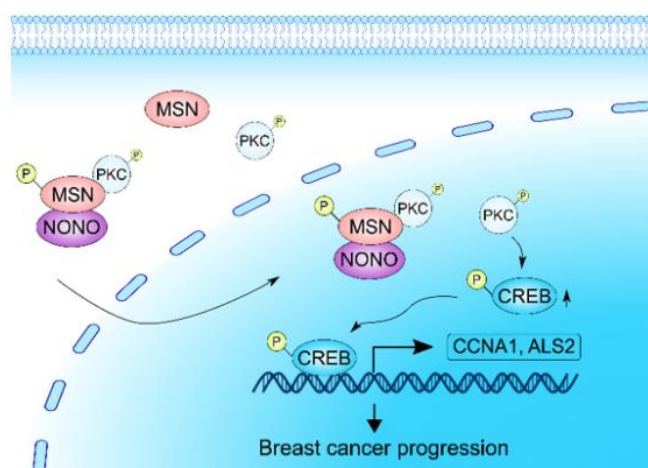
CANCER

#### Interfering MSN-NONO complex-activated CREB signaling serves as a therapeutic strategy for triple-negative breast cancer

Yuanyuan Qin<sup>1,2\*</sup>, Weilong Chen<sup>1,2\*</sup>, Guojuan Jiang<sup>1</sup>, Lei Zhou<sup>1,2</sup>, Xiaoli Yang<sup>1</sup>, Hongqi Li<sup>3</sup>, Xueyan He<sup>1</sup>, Han-lin Wang<sup>4,5</sup>, Yu-bo Zhou<sup>5</sup>, Shenglin Huang<sup>1</sup>, Suling Liu<sup>1†</sup>

为了寻找在三阴性乳腺癌中富集表达的基因以期发现新的三阴性乳腺癌治疗的分子靶点，柳素玲团队的博士研究生秦媛媛等人通过对三阴性乳腺癌和非三阴性乳腺癌的细胞系和临床样本进行了 RNA 测序分析发现 MSN 在三阴性乳腺癌中特异性高表达。MSN 属于 ERM 家族蛋白，蛋白的 558 位点的苏氨酸残基能够发生磷酸化修饰 [2]，体内外实验发现 MSN 显著促进乳腺癌的进展，并且这种现象强烈依赖于其 558 位点苏氨酸残基的磷酸化。

机制上，他们发现 MSN 能够与核蛋白 NONO 相互作用。以往研究报道 MSN 主要分布于细胞质和细胞膜突起的内侧，而 NONO 是一个核定位的蛋白。他们通过观察 MSN 蛋白在细胞中的分布情况发现细胞中的 MSN 蛋白不仅存在于细胞质中，还具有较强的入核倾向，并且实验证实 MSN 和 NONO 的相互作用是 MSN 入核的关键。NONO 是 cAMP 响应的信号通路中的一个组成部分，他们通过实验发现 MSN 通过与 NONO 的相互作用促进 CREB 的蛋白磷酸化及上调下游基因的表达水平。据相关报道，NONO 参与 cAMP 信号通路的过程是通过缩减 RNA 聚合酶和带有 CREB 响应元件的下游基因的启动子区域来促进基因的转录，这个过程并未涉及 CREB 的磷酸化水平的改变[3]。CREB 是一种核定位的蛋白，其蛋白磷酸化需要细胞核内的激酶发挥作用。他们在 MSN 过表达细胞系的蛋白质免疫沉淀样品中检测到了激酶 pPKC  $\zeta$  存在。进一步探究 pPKC  $\zeta$  在 MSN-NONO 相互作用促进 CREB 磷酸化过程中的作用，他们发现 pPKC  $\zeta$  的核定位水平在 MSN 或者 NONO 敲低的细胞系中被显著下调。此外，在利用 PKC 的小分子抑制剂 Go6983 处理乳腺癌细胞之后 MSN 过表达促进 CREB 磷酸化的现象被显著回补。综上所述，当 MSN 与 NONO 发生相互作用在 NONO 的帮助下进入细胞核时，激酶 pPKC  $\zeta$  也通过与 MSN 的相互作用被带入细胞核中，pPKC  $\zeta$  入核之后使得核内的 CREB 磷酸化，激活了 CREB 信号通路并进一步促进了乳腺癌的进展。另外他们利用来自临床三阴性乳腺癌患者的异种移植瘤模型评估了 CREB 作为三阴性乳腺癌治疗靶点的效果。结果显示，CREB 抑制剂 666-15 单独施加就对体内实验中乳腺癌的生长有更好的抑制作用，而与化疗药物多西他赛联合使用抑制肿瘤生长的效果更加显著。总结来看，本研究表明磷酸化的 MSN 及其激酶 PKC  $\zeta$  在核蛋白 NONO 的帮助下进入细胞核。pPKC  $\zeta$  的核定位上升使得 CREB 磷酸化，从而 CREB 信号通路被激活，增强了含有 cAMP 响应元件的相关基因的表达如 ALS2 及 CCNA1，最终促进乳腺癌的进展。



据悉，复旦大学生物医学研究院/附属肿瘤医院博士研究生秦媛媛、陈为龙为论文共同第一作者，柳素玲教授为通讯作者。

## 蓝斐团队与合作者在《Cell Research》揭示减数分裂同源重组命运决定的表观遗传学基础

减数分裂为生殖细胞所特有的生物学事件，是生物有性生殖的基础。在减数分裂过程中，同源染色体的非姐妹染色单体间发生配对、联会和重组交换，而非同源染色体分配时自由组合，从而使配子呈现遗传多样化，增加了后代的适应性。因此，减数分裂是保证物种繁衍、染色体数目稳定和物种适应环境变化而不断进化的基本前提。遗传变异是否与表观遗传调控有关是学术界长期关注的问题，本研究为回答该问题提供了一些重要线索。

同源重组是减数分裂的核心事件，它不仅是减数分裂过程中遗传物质交换的基础，也是同源染色体正确分离的保障。其过程高度复杂且受到严密调控。以小鼠为例，减数分裂同源重组起始于 SPO11 和 GM960 复合物所介导的 DNA 双链断裂 (Double-Stranded Breaks, DSBs)；随后，断裂位点经 5' 末端切割、单链入侵等而使 DSB 获得修复；最终在同源染色体之间形成交叉 (Crossover) 或非交叉 (Non-Crossover)，其中，大部分 DSBs 修复形成非交叉，大约仅有 10% DSBs 修复生成交叉。

DSB 位点并非随机分布，而是具有明显的偏好性，称之为热点 (hotspot)。尽管已知 PRDM9 及其介导的 H3K4me3 修饰在在多数哺乳动物 DSB 热点选择中发挥着关键作用，但是，关于 PRDM9 介导的 H3K4me3 在 DSB 修复过程中是如何演化的，PRDM9 及其介导的 H3K4me3 是否参与调控 DSB 修复过程即同源重组命运决定，以及其它表观修饰因子是否也在其中发挥作用，等等，目前均不清楚。因为难以获取高纯度的各种亚型的哺乳动物减数分裂前期 I 细胞，所以同源重组命运决定机制一直是哺乳动物减数分裂研究的难点和热点。

2020 年 2 月 11 日，我院蓝斐课题组与中科院分子细胞卓越创新中心（上海生物化学与细胞生物学研究所）童明汉课题组、北京大学汤富酬课题组合作在 Cell Research 上发表论文“Refined spatial temporal epigenomic profiling reveals intrinsic connection between PRDM9-mediated H3K4me3 and the fate of double-stranded breaks”。与之前 PRDM9 决定 DSB 热点研究不同，该文提出 PRDM9 及其介导的 H3K4me3 协同局部染色质环境可能参与了 DSB 修复过程，与同源重组命运决定相关；发现早期生成的 DSBs 更倾向于修复形成交叉。本文不仅为同源重组命运决定和交叉稳态的调控研究提供了新视角，也证实了遗传物质交换机制和表观遗传调控的相关性。

## Refined spatial temporal epigenomic profiling reveals intrinsic connection between PRDM9-mediated H3K4me3 and the fate of double-stranded breaks

Yao Chen, Ruitu Lyu, Bowen Rong, Yuxuan Zheng, Zhen Lin, Ruofei Dai, Xi Zhang, Nannan Xie, Siqing Wang, Fuchou Tang, Fei Lan & Ming-Han Tong

得益于童明汉课题组前期建立的分离小鼠任意类型生精细胞的技术体系，使获取高纯度同步发育的任意类型生精细胞成为现实，因此有可能对精子发生过程中关键生物学事件的分子机制进行精细研究。比如，童明汉课题组曾经基于上述体系与汤富酬、李劲松课题组合作，2018年7月30日在 *Cell Research* 上发表了题为“Single-cell RNA-seq uncovers dynamic processes and critical regulators in mouse spermatogenesis”的论文，绘制了精子发生过程中生精细胞转录组的动态变化图谱，系统地阐明了这种动态变化的可能分子基础，为哺乳动物精子发生调控的分子机制研究提供了基础数据。

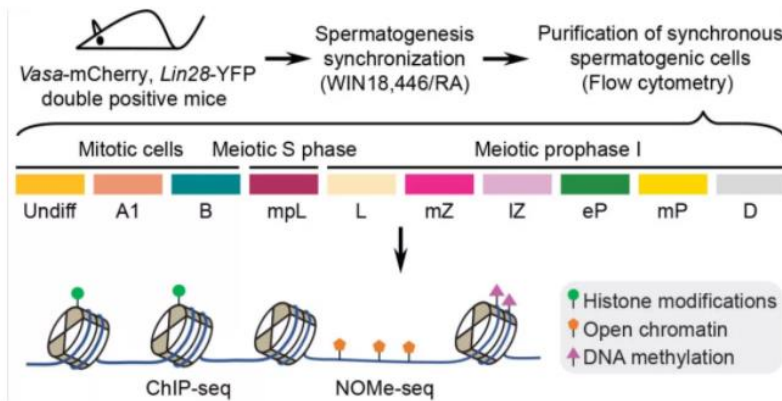


图 1: 基于精细分期的减数分裂重组过程表观遗传组的建立

作为减数分裂系列研究的一部分，为了阐明表观遗传是否以及如何调控减数分裂同源重组，本文在纯化各级生精细胞的基础上，将减数分裂前期 I 细胞细分为 7 个时期进行研究（图 1），结合 ChIP-seq 技术，分析了包括 H3K4me3 在内的 8 种组蛋白修饰在减数分裂前后的动态变化；应用 NOMe-seq，观察了 DNA 甲基化以及染色质开放状态的动态变化（图 1），揭示了之前难以发现的减数分裂前期 I 细胞演化的未知规律。

结果显示，PRDM9 介导的 H3K4me3 修饰在细线期(Leptotene)开始生成，至偶线期中期达到峰值，随后逐步消失（图 2a）；同时，越早产生的 H3K4me3 越晚消失。这种 H3K4me3 动态变化与 DSB 修复过程中同源重组中间产物的演变



高度相关，提示 PRDM9 介导的 H3K4me3 可能参与了 DSB 修复过程。根据生成和消失时间，研究人员继而将与重组热点相关的 H3K4me3 分为四种类型，发现早期产生的 H3K4me3 信号强度与宽度均最强，且富集了更长的 PRDM9 结合基序（图 2b-e）；那些快速消失的 H3K4me3 信号强度与宽度均最弱，且为较晚产生。这些结果表明早期生成的 PRDM9 介导的 H3K4me3 可能通过影响同源重组稳定中间体 dHJ(double Holliday Junction)，从而进一步调控交叉形成；而那些弱而快速消失的则指导生成非交叉。

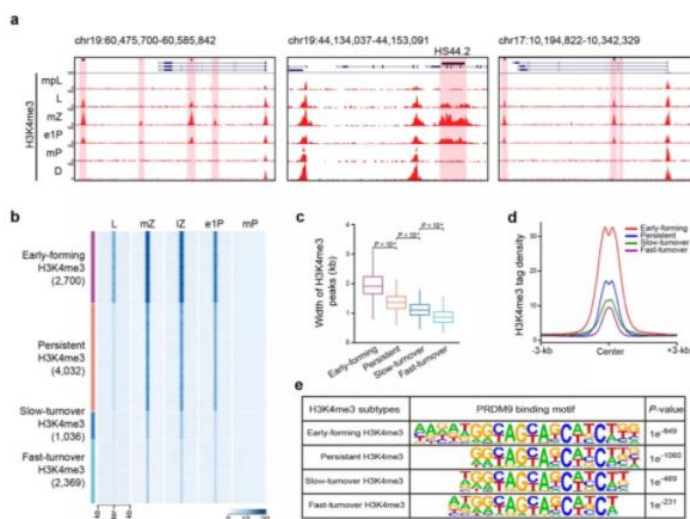


图 2: PRDM9 介导的 H3K4me3 修饰的特性 a. PRDM9 介导的 H3K4me3 代表性 UCSC track, 浅红色背景指示 PRDM9 介导的 H3K4me3 信号; b. 热图展示了 H3K4me3 信号强度, 依据 H3K4me3 修饰的周转时间将其分为四种类型; c-d. mZ 阶段 H3K4me3 修饰信号的平均宽度与强度在上述四种类型中的比较; e. PRDM9 结合基序在上述四种类型中的富集情况。

与 H3K4me3 相比, H3K4me1 修饰在重组热点上出现得更早, 消失得更晚, 并且覆盖了更多的核小体。有意思的是, 在偶线期阶段可以明显观察到 DSB 核心区域核小体 H3K4me1 被 H3K4me3 所替代的情况。鉴于体外实验证实 PRDM9 具有催化 H3K4me1 的活性, 研究人员推测 H3K4me1 可能是 PRDM9 催化产生 H3K4me3 过程的中间态; 而早出现的 H3K4me1 则提示重组热点决定发生的时间可能更早。

除上述修饰外, 本研究还发现了 H3K36me3 与 H3K27ac 也富集于重组热点, 而 H3K9me2 修饰则缺失于重组热点; 同时, 观察到重组热点区域的染色质与全基因组相比更加开放。有意思的是, 不论 H3K36me3 与 H3K27ac 的富集, 还是 H3K9me2 的缺失, 抑或染色质的开放, 均随 Prdm9 敲除而变化, 表明上述表观因子均为 PRDM9 依赖性的。与 H3K4me3 类似, 相比于其它类型, 早期产生的 H3K36me3 与 H3K27ac 具有更强的信号强度与宽度, 染色质也最为开放, 提示 H3K36me3, H3K27ac 以及染色质开放可能与 H3K4me3 一起共同在 DSB 命运决

定中发挥调控作用。同时，研究者根据上述表观遗传规律，发现了 4537 个潜在的 DSB 热点，其中置信度最高的 302 个位点值得后续进行深入的机理分析。

综上所述，本研究系统地阐述了 PRDM9 介导的 H3K4me3 以及 H3K4me1、H3K36me3、H3K27ac、H3K9me2 和染色质开放在减数分裂过程及其前后的动态变化，阐明了 PRDM9 及其介导的 H3K4me3 修饰与 DSB 命运决定的相关性，提出了“PRDM9 及其介导的 H3K4me3 修饰不但能决定 DSB 位点选择，而且可能调控 DSB 形成后的修复过程，从而决定 DSB 命运”的假说。该假说将是相关团队的下一个重点研究目标。

据悉，中国科学院分子细胞卓越创新中心（上海生物化学与细胞生物学研究所）陈瑶博士，复旦大学生物医学研究院吕瑞途博士、荣博文博士生，北京大学未来基因诊断高精尖创新中心博士生郑宇轩与中国科学院分子细胞卓越创新中心（上海生物化学与细胞生物学研究所）林震博士为共同第一作者。蓝斐研究员、中科院分子细胞卓越创新中心（上海生物化学与细胞生物学研究所）童明汉研究员与北京大学汤富酬研究员为文章共同通讯作者。

### 余发星团队与合作者在《Protein & Cell》报道 RNF43 在结直肠印戒细胞癌中发生高频突变

结直肠癌是全球最常见的恶性肿瘤之一。由于缺乏有针对性的靶向疗法，结直肠癌目前已成为第二大致死瘤种。印戒细胞癌（signet-ring cell cancer, SRCC）是结直肠癌的一种特殊亚型。根据 2010 年版 WHO 的组织学分类标准，印戒细胞癌被定义为组织内 50% 以上的肿瘤细胞由胞浆中富含黏蛋白的腺癌细胞构成，黏蛋白充满细胞质并使细胞核移位，在显微镜下呈典型印戒细胞样结构。在结直肠癌中，印戒细胞癌是较为少见，占有结直肠癌的 1% 左右。印戒细胞癌的发病年龄较传统腺癌明显提前；预后比传统腺癌较差，5 年生存率在 0%-36% 之间；发现时的病期较晚，约 60% 的印戒细胞癌患者在确诊时已经处于 III 期或 IV 期。此外，印戒细胞癌极易发生淋巴结转移及腹膜转移，转移率分别高达 79% 及 35.7%，却较少发生肝转移。因此，结直肠印戒细胞癌虽发病率低，但破坏力大、预后差，值得关注。然而，有关结直肠印戒细胞癌的发生、发展、转移和耐药的生物学机制目前尚不清楚。

近日，我院余发星研究团队与复旦大学附属肿瘤医院彭俊杰副主任医师及复旦大学放射医学研究所华国强研究员合作在 Protein & Cell 杂志发表了题为 Frequent RNF43 mutation contributes to moderate activation of Wnt signaling in colorectal signet-ring cell carcinoma 的文章。该研究通过对 29 例结直肠印戒细胞癌样本的全外显子测序，结合与腺癌、粘液腺癌的表达谱对比分析，揭示了这一罕见癌的分子特征。



LETTER

**Frequent *RNF43* mutation contributes to moderate activation of Wnt signaling in colorectal signet-ring cell carcinoma**

该研究中，在结直肠 SRCC 中的最常见的突变基因为 TP53 (55.2%)，RNF43(34.5%)，MUC16(31.0%)，TTN (31.0%)，PCDH17 (27.6%)，KMT2D(24.1%) 和 SMAD4 (20.7%)。与 TCGA 中结直肠癌的腺癌 (Adenocarcinoma, AC; n=458) 及粘液腺癌 (mucinous adenocarcinoma, MAC; n=59) 测序数据相比，SRCC 中 RNF43 的突变频率明显增高，而 APC 的突变频率仅为 3.4% (1/29)，后者在 AC 及 MAC 中突变率高于 70%。同时，RNF43 在 SRCC 和 AC/MAC 的突变模式不同，SRCC 中的 RNF43 突变多为 N 端的无义突变 (p.Glu43\* 和 p.Arg132\*)；AC/MAC 中，多数 RNF43 突变为 C 段的热点移码突变 (p.Gly659fs)。APC 和 RNF43 都是 WNT 途径的关键调控因子，它们的失活可稳定  $\beta$ -catenin 并导致核移位。这表明 SRCC 和 AC/MAC 激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的方式有所不同。此外，MAPK 和 PI3K 通路相关基因在 SRCC 的突变率较低。除已报道的 KRAS、PIK3CA 的突变率较低外，研究人员还发现 PTEN、IRS2 和 BRAF 等驱动突变在 SRCC 中也很少发生。缺乏 MAPK 和 PI3K 通路的激活可能是导致 SRCC 低增殖表型的原因。

该研究对 6 对 SRCC/AC/MAC 肠癌组织进行 RNA-seq，发现在不同亚型的肠癌中，Wnt 通路均被激活，但在 SRCC 中的激活状态较弱，这可能与 RNF43 突变对 Wnt 通路的作用较弱有关。此外，SRCC 与上皮-间充质转化、血管生成和独特的代谢基因表达谱相关，可能是 SRCC 高侵袭性生物学行为的原因。

值得指出的是，该研究是首个对结直肠印戒细胞癌的较大规模测序分析，为 SRCC 致癌机制提供了新的见解。RNF43 突变是第一个被报道的可能导致 SRCC 特异表型的基因变异事件。该研究发现的独特的 SRCC 分子特征，为日后 SRCC 的基础及转化研究奠定了基础。

据悉，我院余发星研究员、复旦大学附属肿瘤医院大肠外科彭俊杰副主任医师及复旦大学放射医学研究所华国强研究员为本文的通讯作者，复旦大学附属肿瘤医院李雅琪博士、王仁杰博士及生物医学研究院李健为本文的共同第一作者。该研究得到了复旦大学基础医学院刘赟研究员、生物医学研究院黄胜林研究员大力支持。

目前缺少用于结直肠印戒细胞癌发生机理及抗印戒细胞癌药物开发的接近临床肿瘤生物学特性的实验材料。在前期研究中，彭俊杰/华国强课题组构建并鉴定了首例结直肠印戒细胞癌类器官系及细胞系，相关研究发表于

Carcinogenesis 中，为印戒细胞癌的研究提供了体外研究工具。另外，余发星及徐彦辉课题组近期在 Protein & Cell 发表 USP47 通过去泛素化 YAP 促进结直肠癌癌细胞生长的工作，提供了新的结直肠癌发生发展分子机制。

## 黄鑫欣团队发现激活一氧化氮通路可以促进造血干细胞的归巢和植入

造血干细胞（Hematopoietic Stem Cell, HSC）是一类具有多能性并能够自我更新的成体干细胞，一直以来都是细胞治疗和基因治疗的前沿和研究热点。造血干细胞移植之后可以重建机体的血液和免疫系统，因此在临床上广为应用，是治疗各种遗传性和恶性血液疾病的最有效方法。当前我国等待造血干细胞移植的患者有 100 多万，并且每年都有大量新增患者，如果能够进一步增加造血干细胞移植效率，将有助于提高移植成功率和患者的存活率，具有很高的临床应用价值。

脐带血是临床移植所用的造血干细胞的重要来源之一，脐带血移植具有一系列优势，例如资源丰富，配型相对容易，移植后发生抗宿主反应和病毒感染的风险较低等，在临床上应用于治疗 80 多种血液疾病和遗传性疾病。迄今脐带血移植已有 45000 多例，世界各国陆续建立了 450 多个脐带血库。限制脐带血更广泛应用的一个关键瓶颈是接受脐带血移植的患者，尤其是成人患者移植后的造血功能恢复和免疫系统重建迟缓。为了解决这个瓶颈问题，最近的研究聚焦在通过新的方法增加干细胞迁移到骨髓中——归巢（Homing）来促进移植效率。

2020 年 3 月 3 日，我院黄鑫欣课题组和美国印第安纳大学 Hal Broxmeyer 课题组合在 Leukemia 杂志上发表了文章“Pharmacological activation of nitric oxide signaling promotes human hematopoietic stem cell homing and engraftment”，首次报道了一氧化氮通路在促进人源脐带血造血干细胞归巢和移植方面的作用，以及进一步运用靶向该信号通路的小分子增进临床造血干细胞移植的潜在策略。

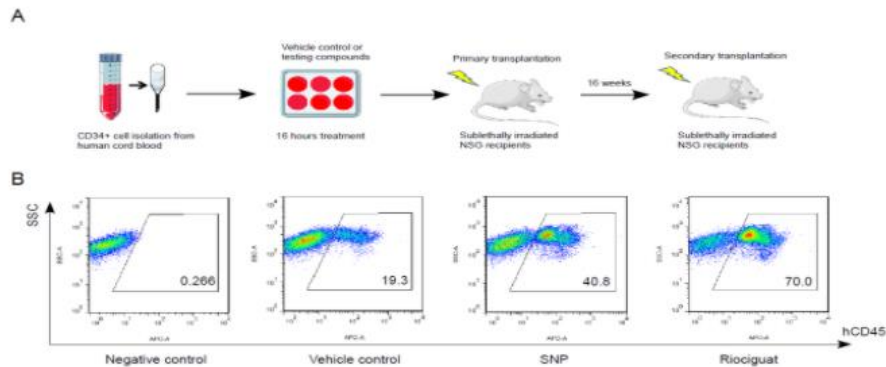


一氧化氮是一类气体小分子，也是哺乳动物细胞中一种重要的信号分子，参与调控各种生理过程，例如突触可塑性、内皮细胞松弛和免疫反应。一氧化氮可以自由穿过细胞膜，并激活细胞质中的鸟苷基环化酶（soluble guanylate cyclase, sGC）。sGC 进一步把三磷酸鸟苷（GTP）转变成环磷酸鸟苷（cGMP），cGMP 充当重要的第二信使，再激活 cGMP 依赖性蛋白激酶（PKG），从而广泛的调节

下游过程。cGMP 特异性的磷酸二酯酶 5 (PDE5) 参与降解细胞内的 cGMP, 使信号减弱, 是一氧化氮通路的负调控因子。

研究者先从脐带血中分离得到富含造血干细胞和前体细胞的 CD34 阳性细胞, 预处理 SNP (一氧化氮供体) 和 Riociguat (sGC 激动剂), 再通过免疫缺陷小鼠的移植模型分析不同处理组之间在体移植的效果差异。研究发现预处理 SNP 和 Riociguat 相比对照组能够增加造血干细胞的在体移植效率, 促进干细胞的长期植入。同时, 运用 PDE5 的抑制剂 Sildenafil 也具有相同的效果, 验证了一氧化氮通路的激活能够促进 CD34 阳性细胞在小鼠的骨髓中的植入效果。

研究者通过转录组分析发现一氧化氮信号的激活能够促进细胞迁移相关基因的表达, 其中 CXCR4 的转录水平有显著增加。研究者进一步验证了造血干细胞表面 CXCR4 蛋白水平也同样显著增加, 并运用体外的细胞迁移实验发现激活一氧化氮信号通路可以促进 CD34 阳性细胞向 SDF1 的趋化迁移(chemotaxis)。最后, 研究者用在体实验证明了一氧化氮的激活能够促进造血干细胞的归巢。



总的来说, 该研究的一大亮点是丰富了促进造血干细胞归巢和移植的机制, 并充分阐明了一氧化氮信号通路在造血干细胞归巢过程中的重要作用, 为进一步的临床应用提供理论依据。下一步的研究目标将是临床验证这一方法的可行性。

据悉, 黄鑫欣课题组的研究助理徐丹华和复旦大学附属妇产科医院的主治医师杨旻为论文的共同第一作者, 黄鑫欣博士和美国印第安纳大学医学院的 Hal Broxmeyer 教授为本文的共同通讯作者, 该工作还得到了上海交大医学院郭滨研究员和印第安纳大学的 Maegan Capitano 和万钧教授的大力支持和帮助。

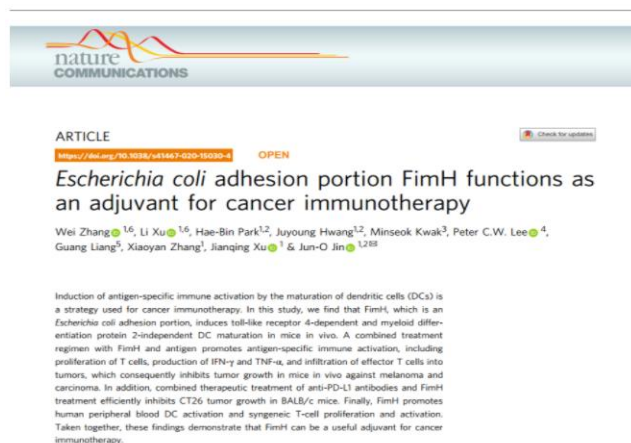
## 张晓燕和 Jun-O Jin 团队在《Nature Communications》报道大肠杆菌粘附素 FimH 蛋白作为佐剂可用于肿瘤免疫治疗

长期以来, 癌症作为一种病因复杂的异质性疾病, 被认为是全球范围内最致命的疾病之一。随着医学水平的不断进步, 癌症的治疗手段不断更新换代, 免疫疗法作为一种新兴的癌症治疗手段引起学者们地广泛关注, 其中通过诱导机体内

树突状细胞（Dendritic Cells, DCs）的成熟，进而引发抗原特异性免疫应答是癌症免疫治疗的一种有效途径。然而，有效免疫佐剂的缺乏成为这一治疗途径的重要限制因素。

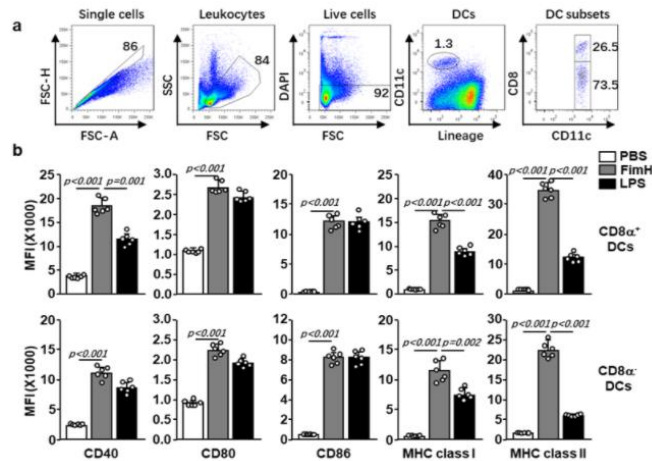
FimH 是大肠杆菌等革兰氏阴性菌表面 I 型菌毛的粘附素，位于 I 型菌毛的尾端，是一种高度保守的蛋白。研究表明，FimH 与致病性大肠杆菌（*Escherichia coli*, *E. coli*）的粘附和移动有关，基于 FimH 的系统性疫苗接种可有效预防黏膜 *E. coli* 侵染。据报道，FimH 作为一种 Toll 样受体 4（Toll Like Receptor 4, TLR4）的配体，通过与 TLR4 结合，可激活小鼠和人的 NK 细胞。但其作为免疫佐剂应用于抗癌免疫治疗方面的研究尚未见报道。

2020 年 3 月 4 日，我院张晓燕团队 CO-PI Jun-O Jin 组在 *Nature Communications* 上在线发表论文“*Escherichia coli* adhesion portion FimH functions as an adjuvant for cancer immunotherapy”，在小鼠体内和人外周血细胞中共同揭示大肠杆菌粘附素 FimH 在癌症免疫治疗中的佐剂效应，为癌症免疫治疗佐剂提供新的候选。



研究者借助大肠杆菌 pET28a 表达纯化了 FimH 蛋白，并分别在小鼠体内和人外周血细胞中证明 FimH 处理可有效诱导相应 DCs 亚群的活化，并通过增强 Th1 和 Tc1 细胞发挥作用。同时通过利用基因敲除小鼠证明 FimH 对 DCs 的活化依赖于 TLR4 但不依赖于髓样分化蛋白 2（MD2）。

在 DCs 研究基础上，研究者进一步在小鼠体内和人外周血中证明 FimH 可有效诱导抗原特异性 T 细胞增殖和免疫应答，并利用模式抗原 OVA 和肿瘤自体抗原在肿瘤小鼠体内证明抗原和 FimH 联合应用可有效抑制小鼠体内肿瘤细胞的生长，同时小鼠体内抗原特异性细胞因子表达的细胞数显著增多。



基于 FimH 作为 I 型菌毛最表面的粘附素，拥有与机体黏膜结合的天然优势，研究者对 FimH 的黏膜佐剂作用进行了评估，通过小鼠鼻腔注射发现 FimH 可通过黏膜途径诱导 DCs 活化，并进而促进抗原特异性 T 细胞增殖，同时肿瘤抗原和 FimH 联合作用可显著抑制小鼠肺部肿瘤生长，增加体内抗原特异性细胞的数量。

考虑到免疫检查点阻断的同时促进癌症抗原特异性的免疫反应已成为现如今有极大应用潜力的免疫治疗方式，本研究最后研究者在动物模型中对 FimH 联合抗-PD-L1 的免疫增强效应进行探究，并证明抗-PD-L1 和 FimH 共同作用可消除肿瘤生长，增强抗肿瘤效果。

综上所述，本课题围绕大肠杆菌粘附素 FimH 在动物模型和人外周血中多方面、多角度证明其作为新型免疫佐剂可有效诱导 DCs 活化，促进抗原特异性免疫应答，进而发挥抗癌作用，同时对 FimH 作为黏膜佐剂和联合免疫检查点共同作用的可能性进行了探讨，为基于 DCs 的癌症免疫治疗提供新的佐剂候选以及实验依据。

据悉，Jun-O Jin 课题组研究助理张薇和徐丽为论文共同第一作者，Jun-O Jin 教授为本文通讯作者，本课题工作得到了复旦大学附属上海市公共卫生临床中心、生物医学研究院徐建青教授和张晓燕教授的大力支持。本研究得到了国家自然科学基金的经费支持。

## 王磊团队与合作者在《Cell Research》解析人源 Pannexin 1 通道的结构与功能

2020 年 3 月 12 日，我院王磊课题组与中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心（神经科学研究所）竺淑佳课题组以及中科院上海药物所余学奎课题组合作完成了题为“Cryo-EM structure of human heptameric Pannexin 1 channel”

（《人源七聚体 Pannexin 1 通道的冷冻电镜结构》）的研究论文，合作解析了人源 Pannexin 1 通道的结构与功能。

## Cell Research

Letter to the Editor | Published: 12 March 2020

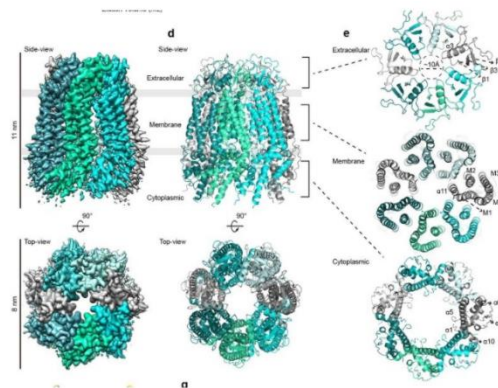
### Cryo-EM structure of human heptameric Pannexin 1 channel

Ronggui Qu, Lili Dong, Jilin Zhang, Xuekui Yu , Lei Wang  & Shujia Zhu 

Cell Research (2020) | Cite this article

细胞之间的交流是细胞发育及细胞稳态维持的基础。Pannexin 蛋白通道家族是一类大孔径通道，在细胞与细胞之间的交流过程中起着至关重要的作用。其中，Pannexin 1 是研究最为广泛的一种亚型。它广泛参与三磷酸腺苷（ATP）及离子的通透，与多种生理和病理功能密切相关。前期，王磊课题组在四个独立家系中发现由 Pannexin 1 基因突变引起的孟德尔显性遗传病，这些突变体通过影响蛋白糖基化和加速 ATP 释放最终导致卵子死亡（Sang et al., *Sci Transl Med.* 2019）。在此研究中，竺淑佳课题组通过爪蟾卵母细胞的电生理实验，证实这些突变体可以激活 Pannexin 1 通道的活性。但因缺乏 Pannexin 通道蛋白的高分辨率三维结构，限制了这些突变体分子机制的解析及靶向药物的设计。

研究人员通过真核细胞重组表达了人源野生型 Pannexin 1 蛋白，并摸索了蛋白纯化条件。用单颗粒冷冻电镜解析了 3.2 埃分辨率的人源野生型 PANX1 三维结构，并揭示其七聚体的组装形式，完全不同于之前领域内普遍认为 Pannexin 1 是六聚体通道的结论。通过结构的分析，研究人员进一步解析了 ATP 通透的限制性位点，揭示了胞外端 74 位的色氨酸形成一个直径小于 10 埃的门控环。结合 ATP 通透性检测、观察突变体表型、电生理记录等一系列功能学实验，进一步证实了 74 位的色氨酸对 ATP 通透的选择性调控机制。Pannexin 1 通道蛋白的结构与功能解析，将为与人类 Pannexin 1 基因突变相关疾病的治疗药物开发提供重要信息。





复旦大学研究生曲荣贵负责所有的生化及功能实验，药物所博士后冬黎黎参与了数据分析及模型搭建，为该论文共同第一作者。卓越中心研究助理张继林参与了数据采集及功能实验。IBS 为第一单位及共通讯单位。本项目得到科技部国家重点研发计划、中国科学院战略性先导科技专项（B类）、上海市科技重大专项、上海市启明星项目等基金的支持。

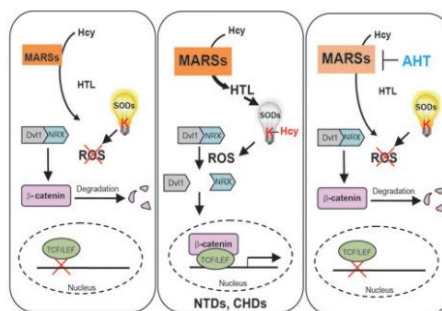
### 徐薇/赵世民团队及其合作者揭示高同型半胱氨酸致病新机制

代谢物同型半胱氨酸（Hcy）作为一项重要的人体健康指标，其水平升高被作为卒中等心脑血管病的危险因素；同时 Hcy 也调控心脏等组织器官发育过程，临床及模式动物研究提示 Hcy 是包括先天性心脏病（CHD）、神经管畸形（NTD）、唐氏综合征（DS）在内的出生缺陷的独立风险因子，但致病机理不明。

2020年1月31日，我院徐薇/赵世民研究团队及其合作者在 *EMBO Molecular Medicine* 杂志发表了题为“*Inhibiting MARSs reduces hyperhomocysteinemia-associated neural tube and congenital heart defects*”的研究论文，发现同型半胱氨酸可以修饰蛋白质赖氨酸残基影响修饰底物蛋白性质，抑制修饰酶甲硫氨酰 tRNA 合成酶（MARS）的活性可显著降低神经管畸形和先天性心脏病这两种高 Hcy 相关出生缺陷的发生率。



甲硫氨酰 tRNA 合成酶 MARS 将 Hcy 信号以蛋白质赖氨酸 Hcy 修饰的形式传递至下游底物蛋白；进一步通过蛋白质学、生物信息学的方法鉴定到包括超氧化物歧化酶（SOD1/2）在内的数百种蛋白质赖氨酸 Hcy 修饰底物蛋白；并且高 Hcy 信号通过蛋白质赖氨酸 Hcy 修饰抑制 SOD1/2 活性，导致细胞内 ROS 累积进而调控凋亡及 Wnt 信号通路；进而参与神经管畸形和先天性心脏病的发生。



上述发现为血液 Hcy 水平升高是已知的先天性心脏病等多种出生缺陷的重要风险因素,但在细胞及动物水平抑制同型半胱氨酸水平均不能降低这些疾病的发病率提供了新解释,因为高 Hcy 通过 MARS 致病。重要的是,他们用 Hcy 结构类似的小分子化合物乙酰同型半胱氨酸硫醚(AHT)竞争抑制 Hcy 修饰,在小鼠模型中显著降低了神经管畸形和先天性心脏病这两种高 Hcy 相关出生缺陷的发生率。为临床干预提供了新的方向。

徐薇副研究员,附属妇产科医院/代谢与整合生物学研究院赵世民、王红艳教授,生命科学学院赵健元教授团队参与了研究,梅馨予博士等人为同等贡献第一作者。