

文章编号 1006-8147(2023)02-0120-07

论 著

# LATS2 对恶性周围神经鞘瘤细胞的调控作用及分子机制探讨

赵洋<sup>1</sup>, 孙亚敏<sup>1</sup>, 朱香熹<sup>2</sup>, 陈毓锴<sup>3</sup>, 朱泽<sup>1</sup>

(1.天津医科大学基础医学院病原生物学系,天津 300070;2.遵义医科大学珠海校区临床医学系,珠海 519090;3.天津医科大学南开临床学院,天津 300102)

**摘要** 目的:探讨大肿瘤抑制激酶 2 (LATS2)对恶性周围神经鞘瘤(MPNST)细胞增殖和迁移的影响及机制。方法:LATS2 过表达慢病毒感染 ST88-14、STS26T 细胞,实验分为阴性对照组及 LATS2 过表达组,利用 CCK-8、细胞划痕实验检测过表达 LATS2 对细胞增殖、迁移的影响。实时荧光定量 RT-PCR 和免疫印迹实验检测细胞中 LATS2、多梳抑制复合物 2(PRC2)核心组分、Yes 相关蛋白(YAP)、含有 PDZ 结合位点的转录共激活因子(TAZ)的 mRNA 和蛋白表达,以及组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸上的三甲基化(H3K27me3)水平。结果:与对照组相比,LATS2 过表达抑制 ST88-14、STS26T 细胞增殖( $t=4.219, 14.66, 11.5$ , 均  $P<0.05$ ;  $t=5.674, 7.118, 10.77$ , 均  $P<0.01$ )、迁移( $t=4.838, 4.736$ , 均  $P<0.01$ )。与对照组相比,LATS2 过表达不影响 ST88-14、STS26T 细胞中 YAP/TAZ 的 mRNA 和总蛋白水平,但升高其蛋白磷酸化水平( $t=6.233, 3.759$ , 均  $P<0.01$ ;  $t=3.44, 2.947$ , 均  $P<0.05$ )。与对照组相比,LATS2 过表达不影响 ST88-14、STS26T 细胞中 PRC2 核心组分 SUZ12、EZH2、EED 的 mRNA 和蛋白水平,但 H3K27me3 水平明显升高( $t=6.569, 16.68$ , 均  $P<0.01$ )。结论:LATS2 在 MPNST 细胞系中表达下降,过表达 LATS2 升高 H3K27me3 表达水平,同时促进 YAP/TAZ 的磷酸化,从而抑制 MPNST 细胞的增殖、迁移,在 MPNST 中发挥肿瘤抑制因子的作用。

**关键词** LATS2;恶性周围神经鞘瘤;YAP/TAZ;增殖;迁移

中图分类号 R739.43

文献标志码 A

## Regulatory effect and molecular mechanism of LATS2 on malignant peripheral nerve sheath tumor cells

ZHAO Yang<sup>1</sup>, SUN Ya-min<sup>1</sup>, ZHU Xiang-xi<sup>2</sup>, CHEN Yu-kai<sup>3</sup>, ZHU Ze<sup>1</sup>

(1.Department of Pathogen Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2.Department of Clinical Medicine, Zhuhai Campus of Zunyi Medical University, Zhuhai 519090, China; 3. Department of Nankai Clinical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300102, China )

**Abstract Objective:** To investigate the effect and mechanism of large tumor suppressor kinase 2 (LATS2) on the proliferation and migration of malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) cells. **Methods:** LATS2 overexpressing lentivirus was infected with ST88-14 and STS26T cells, and the experiment was divided into negative control group and LATS2 overexpressing group, and the effect of LATS2 overexpression on cell proliferation and migration was detected using CCK-8 assay and cell scratch assay. Real-time fluorescence quantitative (RT-PCR) and Western blotting assays were performed to detect the mRNA and protein expression levels of LATS2, core fraction of polycomb repressive complex 2 (PRC2), Yes-associated protein (YAP), transcriptional co-activator with PDZ-binding motif (TAZ), and the trimethylation level on lysine 27 of histone H3 (H3K27me3) in the cells. **Results:** Compared with the control group, LATS2 overexpression inhibited the proliferation ( $t=4.219, 14.66, 11.5$ , all  $P<0.05$ ;  $t=5.674, 7.118, 10.77$ , both  $P<0.01$ ) and migration ( $t=4.838, 4.736$ , both  $P<0.01$ ) of ST88-14 and STS26T cells. Compared with the control group, LATS2 overexpression did not affect the mRNA and total protein levels of YAP and TAZ in ST88-14 and STS26T cells, but elevated their protein phosphorylation levels ( $t=6.233, 3.759$ , both  $P<0.01$ ;  $t=3.44, 2.947$ , both  $P<0.05$ ). Compared with the control group, LATS2 overexpression did not affect the mRNA and protein levels of PRC2 core components SUZ12, EZH2 and EED in ST88-14 and STS26T cells, but H3K27me3 protein levels were significantly higher ( $t=6.569, 16.68$ , both  $P<0.01$ ). **Conclusion:** LATS2 expression is decreased in MPNST cell lines, and overexpression of LATS2 increases the expression level of H3K27me3, while promoting the phosphorylation of YAP/TAZ, thus inhibiting the proliferation and migration of MPNST cells and acting as a tumor suppressor in MPNST.

**Key words** LATS2; MPNST; YAP/TAZ; proliferation; migrate

基金项目 国家自然科学基金(81672650)

作者简介 赵洋(1997-),女,硕士在读,研究方向:病原生物学;通信作者:朱泽, E-mail: zhuzhe@tmu.edu.cn。

恶性周围神经鞘瘤(malignant peripheral nerve sheath tumor, MPNST)是一种侵袭性的高度恶性软组织肉瘤,起源于施万细胞或施万前体细胞<sup>[1]</sup>,约占软组织肉瘤的5%~10%,易早期转移,由于对放化疗有耐药性而预后较差、死亡率较高。近年来,随着对表观遗传学的深入了解,越来越多的研究关注于推动癌症进展的表观遗传机制。多梳抑制复合物2(polycomb repressive complex, PRC2)核心组分由Zeste12抑制因子(suppressor of zeste 12, SUZ12)、Zeste基因增强子同源物2(enhancer of zeste homolog 2, EZH2)和负责变构激活的胚胎外胚层发育基因(embryonic ectoderm development, EED)组成,作为重要的表观遗传修饰酶,已被证明在MPNST中存在多组分的缺失,不能催化组蛋白3第27位赖氨酸上的三甲基化(trimethylation of lysine 27 on histone3, H3K27me3)形成,解除对基因沉默的维持作用,驱动良性前体肿瘤恶性转化为MPNST<sup>[2]</sup>。本课题组前期研究也显示, SUZ12和H3K27me3在42例国内MPNST临床组织样本也存在缺失现象,并明确了SUZ12缺失的意义<sup>[3]</sup>。

在HIPPO信号通路的经典途径中大肿瘤抑制激酶1/2(large tumor suppressor kinase 1/2, LATS1/2)磷酸化下游效应因子Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)和含有PDZ结合位点的转录共激活因子(transcription coactivator with PDZ-binding motif, TAZ),使其发生胞浆滞留,不能入核执行转录激活作用,从而调控组织器官的体积及大小<sup>[4]</sup>。一项研究采用免疫组化的方法在45例MPNST组织标本中验证了YAP和TAZ的核表达阳性率,分别是58%和72%<sup>[5]</sup>,表明YAP和TAZ在MPNST中呈过度激活状态,然而, HIPPO通路中很少发生突变,其信号的失调很可能是由于上游基因的表观遗传改变等异常引起<sup>[6]</sup>。相关研究报道显示,在Schwann细胞中敲除LATS1/2会导致YAP/TAZ的过度激活,并形成MPNST样肿瘤<sup>[7]</sup>。此外,研究发现LATS2在Hela-S3细胞中正向调控PRC2组分的蛋白和转录水平,以维持H3K27me3的完整性<sup>[8]</sup>,表明LATS2在维持表观遗传完整性方面具有一定的作用。因此,课题组前期对MPNST细胞系进行了RNA-seq,发现LATS2存在缺失现象,为验证其缺失是否参与调控MPNST恶性进展,本研究通过在MPNST细胞系中过表达LATS2探讨其对PRC2组分的表达是否存在调控作用,并探索LATS2对MPNST细胞系增殖、迁移的影响及机制,为临床治疗提供新的理论基础。

## 1 材料与方法

1.1 材料和仪器 STS26T、ST88-14细胞株由天津医科大学肿瘤医院杨吉龙教授馈赠;过表达慢病毒购自上海吉凯公司;LATS2、YAP、TAZ、SUZ12、EZH2、EED引物由浙江金唯智公司合成;CCK-8试剂盒购自新赛美公司;TAZ抗体购自Proteintech公司;p-TAZ抗体购自CST公司;LATS2、YAP、p-YAP、SUZ12、EZH2、EED、H3K27me3抗体购自Abcam公司;BIRC5、CTGF抗体购自Wanleibio公司;荧光定量PCR仪购自Applied Biosyst公司;电泳仪和凝胶成像分析仪购自BIORAD公司。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人MPNST细胞系STS26T、ST88-14采用含10%胎牛血清和1%青/链霉素的DMEM完全培养基,于37℃、7.5%CO<sub>2</sub>孵箱培养。

1.2.2 慢病毒感染人MPNST细胞系STS26T、ST88-14实验分为阴性对照(LV-VETOR)组、过表达LATS2(LV-LATS2)组。对数生长期的细胞接种于6孔板,保证第2天细胞密度为20%~30%。根据细胞最适MOI(MOI=50)及细胞数、病毒滴度计算需加入病毒量。病毒于冰上融化,细胞换液并预留加入病毒液体积,分别加入病毒及感染增强液。37℃培养16h后更换为正常培养基,继续培养至72h后荧光显微镜观察感染效率,细胞绿色荧光率>80%用于后续实验。

1.2.3 CCK-8实验 感染后处于对数生长期的细胞消化并计数,调整为细胞密度 $3 \times 10^4$ 个/mL的细胞悬液,取100  $\mu$ L细胞悬液接种于4块96孔板,设3个复孔。分别培养24、48、72、96 h,弃液并加入110  $\mu$ L含10  $\mu$ L CCK-8试剂的无血清培养基。37℃孵育2 h后使用酶标仪测定450 nm处吸光度值。

1.2.4 划痕实验 6孔板底部划线,每孔均匀穿过5条直线,观察点为直线与划痕的交叉点。感染后处于对数生长期的细胞消化并计数,每组取 $7 \times 10^5$ 个细胞接种于6孔板,过夜培养。用200  $\mu$ L枪头垂直底部横线竖向划痕,PBS清洗3次后加入含1% FBS的DMEM培养基,继续培养。观察并拍照记录0、48 h细胞迁移情况。

1.2.5 免疫印迹实验 慢病毒感染细胞至72 h时,加入RIPA裂解液提取总蛋白,取上清进行BCA蛋白定量测定蛋白浓度,金属浴中加热10 min,保存于-20℃。蛋白上样量20  $\mu$ g,经SDS-PAGE电泳分离蛋白,转膜条件为300 mA恒流,80 min,封闭2 h。一抗:LATS2(1:1 000)、YAP(1:1 000)、p-

YAP(1:1 000)、TAZ(1:1 000)、p-TAZ(1:1 000)、BIRC5(1:500)、CTGF(1:500)、SUZ12(1:1 000)、EZH2(1:1 000)、EED(1:1 000)、H3K27me3(1:1 000)、GAPDH(1:3 000)、 $\beta$ -actin(1:3 000)。4℃孵育过夜,室温二抗孵育 1 h,显影并曝光。

1.2.6 实时荧光定量 RT-PCR 慢病毒感染细胞至 48 h 时,用 Trizol 裂解法提取细胞总 RNA,紫外分光光度计测定 RNA 浓度,并逆转为 cDNA,以此为模板进行荧光定量 RT-PCR 检测。引物序列列表 1。

表 1 LATS2、YAP1、TAZ、BIRC5、CTGF、SUZ12、EZH2、EED 引物序列

Tab 1 Primer sequences of LATS2, YAP1, TAZ, BIRC5, CTGF, SUZ12, EZH2 and EED

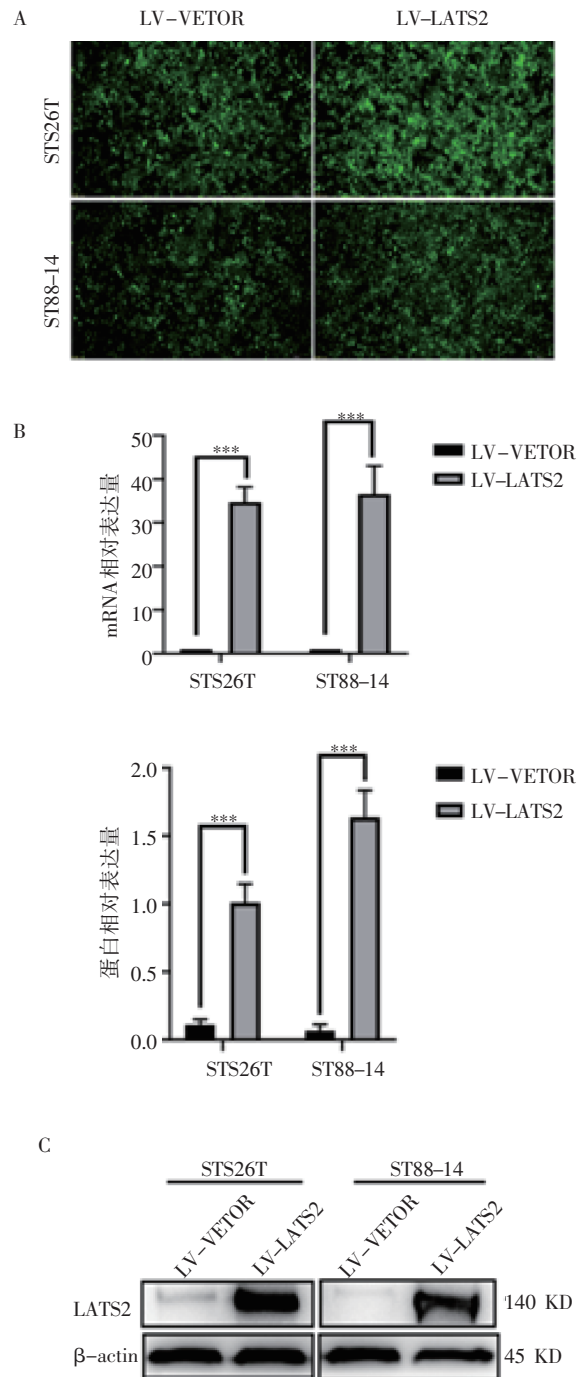
基因名称		引物序列(5'→3')
LATS2	正向	TAGAGAGAGGCGCGGAAG
	反向	CCAACACTCCACCAGTCACAGA
YAP	正向	TAGCCCTGCGTAGCCAGTTA
	反向	TCATGCTTAGTCCACTGTCTGT
TAZ	正向	AGTACCCTGAGCCAGCAGAA
	反向	GATTCTCTGAAGCCGACGTT
BIRC5	正向	ATTGCTCCGCTTGCGCTTTCC
	反向	CACGGCGCACTTTCTCCGCAG
CTGF	正向	CCAATGACAACGCCCTCCTG
	反向	TGGTGCAGCCAGAAAGCTC
SUZ12	正向	TTGCAGCTTACGTTTACTGCTT
	反向	GGAACCTTGCCTTATTGGACAACT
EZH2	正向	ACGGCTTCCCAATAACAG
	反向	CAGCACCCTCCA CTCCA
EED	正向	TTTCCTGGGACATTGGTG
	反向	CGATGTAAGGTCCGTTGG

注:LATS2: 大肿瘤抑制激酶 2;YAP:Yes 相关蛋白;TAZ:含有 PDZ 结合位点的转录共激活因子;BIRC5:杆状病毒凋亡抑制蛋白 5;CTGF:重组人结缔组织生长因子;SUZ12:Zeste12 抑制因子;EZH2:Zeste 基因增强子同源物 2;EED:负责变构激活的胚胎外胚层发育基因

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8.0 和 Image J 软件进行数据分析和作图。数据符合正态分布,采用  $t$  检验进行差异分析, $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 慢病毒介导的 LATS2 过表达效果检测 慢病毒感染人 MPNST 细胞系 ST88-14、STS26T 72 h 荧光感染效率(图 1A);实时荧光定量 RT-PCR 结果显示,与 LV-VETOR 组相比,LV-LATS2 组 ST88-14、STS26T 细胞 LATS2 mRNA 表达水平明显升高( $t=9.516, 16.75$ , 均  $P<0.001$ , 图 1B);Western 印迹结果显示,与 LV-VETOR 组相比,LV-LATS2 组 ST88-14、STS26T 细胞 LATS2 蛋白表达水平明显升高( $t=13.58, 10.86$ , 均  $P<0.001$ , 图 1C)。



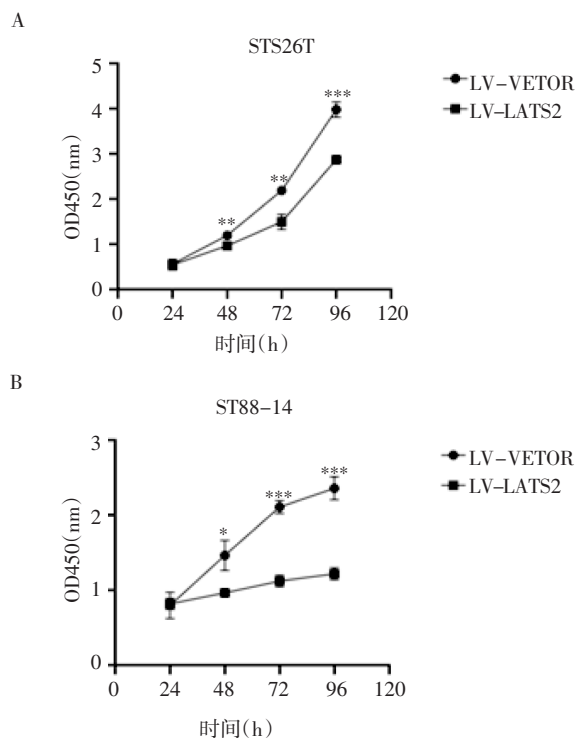
注:A:慢病毒感染 72 h 荧光效率(100 $\times$ );B:RT-qPCR 检测 mRNA 相对表达水平;C:Western 印迹检测蛋白表达水平;与对照组相比,\*\*\* $P<0.001$ ;LATS2:大肿瘤抑制激酶; $\beta$ -actin:内参蛋白

图 1 慢病毒介导的 LATS2 过表达效果检测

Fig 1 Detection of the effect of lentiviral-mediated LATS2 over-expression

2.2 过表达 LATS2 显著抑制人 MPNST 细胞系的增殖能力 CCK-8 实验结果显示,与 LV-VETOR 组相比,LV-LATS2 组 ST88-14、STS26T 细胞 48、72、96 h OD 值均显著降低( $t=4.219, 14.66, 11.5$ , 均  $P<0.05$ ;  $t=5.674, 7.118, 10.77$ , 均  $P<0.01$ ) (图 2)。





注:A、B:CCK-8检测细胞增殖能力;与对照组相比,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$

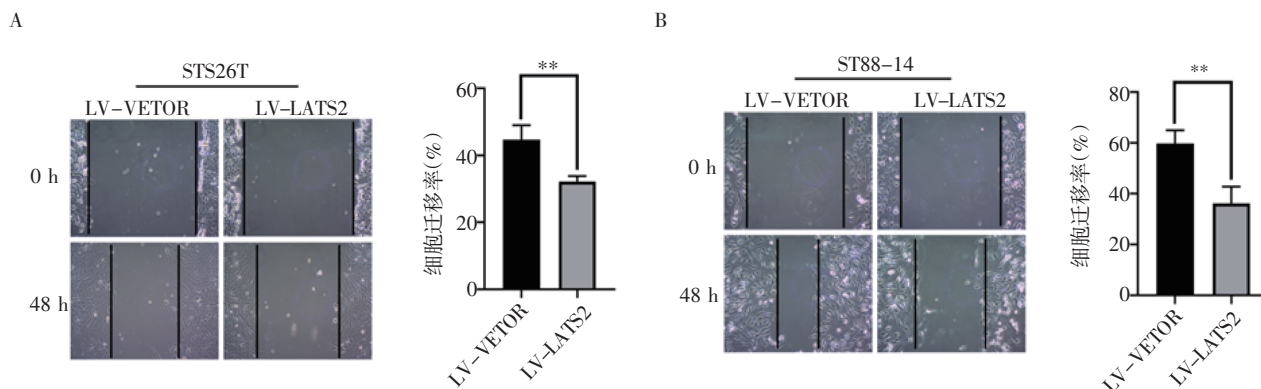
图2 过表达 LATS2 对人 MPNST 细胞系增殖的影响

Fig 2 Effect of LATS2 overexpression on the proliferative of human MPNST cell lines

2.3 过表达 LATS2 显著抑制人 MPNST 细胞系的迁移能力 划痕实验结果显示,与 LV-VETOR 组相比, LV-LATS2 组 ST88-14 细胞迁移率降低 23.6% ( $t=4.838$ ,  $P<0.01$ ), STS26T 细胞迁移率降低 12.5% ( $t=4.736$ ,  $P<0.01$ ) (图 3)。

2.4 过表达 LATS2 升高 YAP/TAZ 蛋白的磷酸化水平,从而影响下游基因表达 实时荧光定量 RT-PCR 结果显示,与 LV-VETOR 组相比, LV-LATS2 组 ST88-14 细胞、STS26T 细胞的 YAP、TAZ mRNA 表达水平差异均无显著统计学意义 ( $t=0.655$ 、2.266, 均  $P>0.05$ ;  $t=1.500$ 、2.489, 均  $P>0.05$ ), BIRC5、CTGF mRNA 表达水平均显著降低 ( $t=10.65$ 、7.349, 均  $P<0.01$ ;  $t=14.73$ 、15.11, 均  $P<0.001$ ) (图 4A); Western 印迹结果显示,与 LV-VETOR 组相比, LV-LATS2 组 ST88-14 细胞、STS26T 细胞 YAP、TAZ 总蛋白表达水平均无显著统计学差异 ( $t=0.778$ 、2.002, 均  $P>0.05$ ;  $t=0.018$ 、1.030, 均  $P>0.05$ ), 磷酸化水平均显著升高 ( $t=6.233$ 、3.759, 均  $P<0.01$ ;  $t=3.440$ 、2.947, 均  $P<0.05$ ), BIRC5、CTGF 蛋白表达水平均显著降低 ( $t=5.134$ 、5.138, 均  $P<0.01$ ;  $t=5.676$ 、8.205, 均  $P<0.01$ ) (图 4B)。

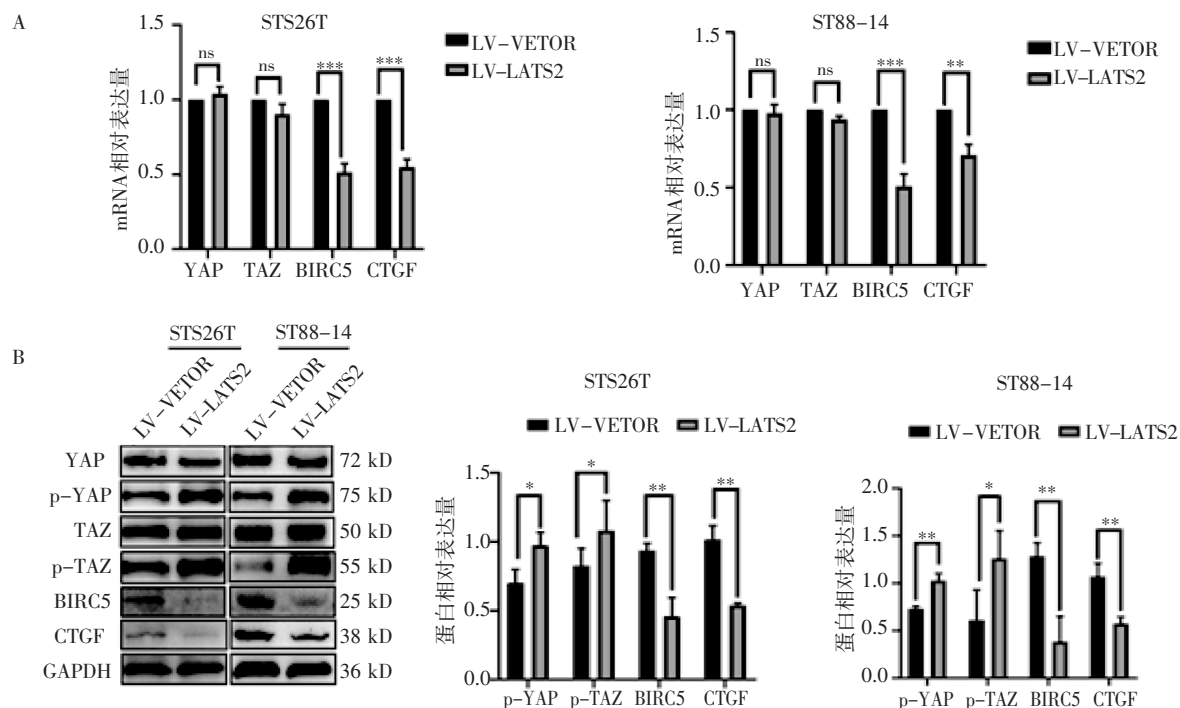
2.5 过表达 LATS2 对 PRC2 核心组分转录及蛋白水平无显著影响但升高 H3K27me3 蛋白水平 实时荧光定量 RT-PCR 结果显示,与 LV-VETOR 组相比, LV-LATS2 组 ST88-14、STS26T 细胞中 SUZ12、EZH2、EED mRNA 表达水平均无显著统计学差异 ( $t=1.465$ 、2.149、1.202, 均  $P>0.05$ ;  $t=0.328$ 、0.875、1.982, 均  $P>0.05$ ) (图 5A); Western 印迹结果显示,与 LV-VETOR 组相比, LV-LATS2 组 ST88-14、STS26T 细胞 SUZ12、EZH2、EED 蛋白表达水平均无显著统计学差异 ( $t=1.262$ 、1.196、0.312, 均  $P>0.05$ ;  $t=0.264$ 、0.340、0.579, 均  $P>0.05$ ), H3K27me3 表达水平明显升高 ( $t=6.569$ 、16.68, 均  $P<0.01$ ) (图 5B)。



注:A、B:划痕实验检测细胞横向迁移能力(100×);与对照组相比,\* $P<0.01$

图3 过表达 LATS2 对人 MPNST 细胞系迁移的影响

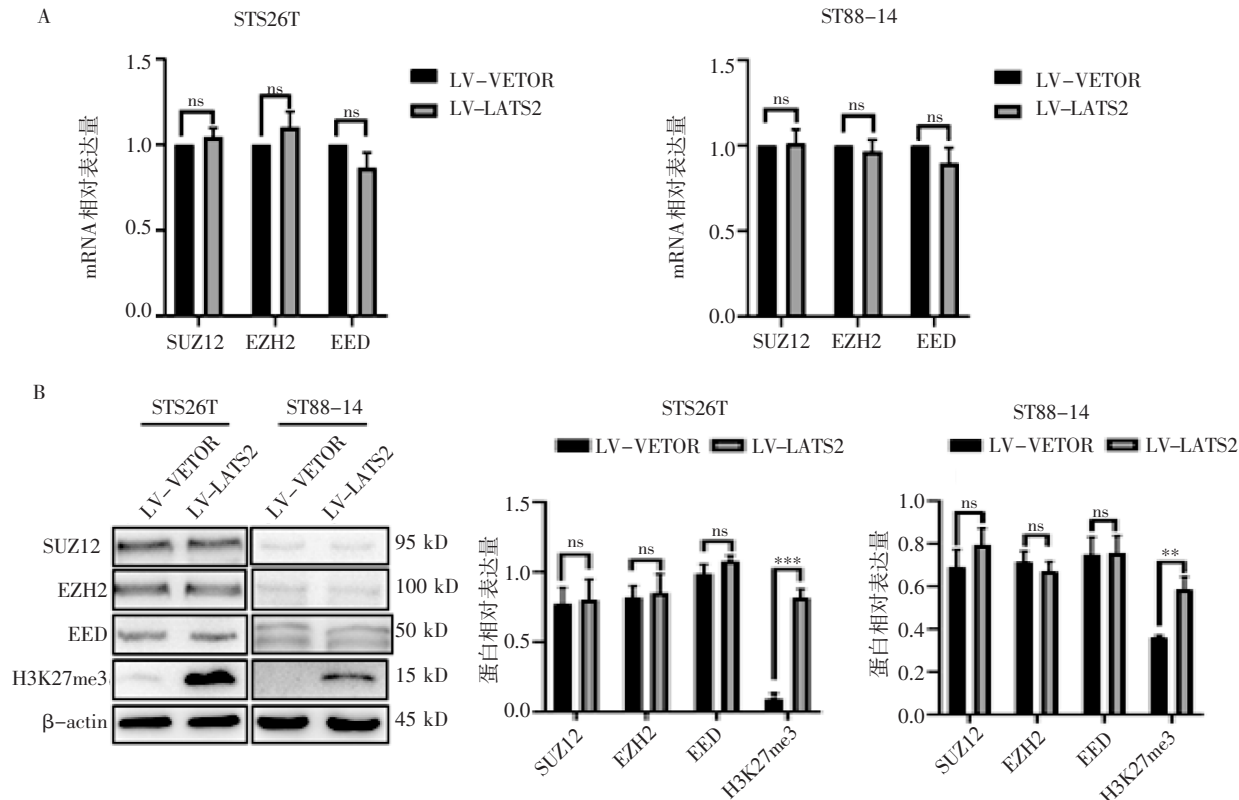
Fig 3 Effect of LATS2 overexpression on the migration of human MPNST cell lines



注:A:RT-qPCR 检测细胞 YAP/TAZ 及下游基因 BIRC5、CTGF mRNA 表达水平;B:Western 印迹检测细胞 YAP/TAZ 蛋白磷酸化水平及下游基因 BIRC5、CTGF 蛋白表达水平;与对照组相比,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;;YAP:Yes 相关蛋白;TAZ:含有 PDZ 结合位点的转录共激活因子;BIRC5:杆状病毒凋亡抑制蛋白 5;CTGF:重组人结缔组织生长因子;GAPDH:内参蛋白

图 4 过表达 LATS2 对人 MPNST 细胞系 YAP/TAZ 磷酸化水平的影响

Fig 4 Effect of LATS2 overexpression on YAP/TAZ expression levels in human MPNST cell lines



注:A:RT-qPCR 检测细胞 SUZ12、EZH2、EED mRNA 表达水平;B:Western 印迹检测细胞 SUZ12、EZH2、EED、H3K27me3 蛋白表达水平;与对照组相比,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$ ;SUZ12:Zeste12 抑制因子;EZH2:Zeste 基因增强子同源物 2;EED:负责变构激活的胚胎外胚层发育基因; $\beta$ -actin:内参蛋白

图 5 过表达 LATS2 对人 MPNST 细胞系 PRC2 组分表达水平的影响

Fig 5 Effect of LATS2 overexpression on the expression level of PRC2 components in human MPNST cell lines

### 3 讨论

MPNST 由于其基因层面的异质性,诊断治疗方法的局限性以及高度侵袭性,使其在临床上一直属于难治性肿瘤,可分为 NF1 相关型、散发型及放疗相关型,分别占 50%、40%、10%,其中 NF1 相关型 MPNST 被证明预后最差<sup>[9]</sup>。I 型神经纤维瘤病(neurofibromatosis type 1, NF-1)是一种常染色体显性遗传病,发病率为 1/3 000,由 NF1 基因缺失突变引起,患者发展为 MPNST 的风险是普通人群的 1 000 倍<sup>[10]</sup>。大量研究表明,NF1 基因的缺失仅引起良性病变,恶性转化的发生依赖于额外的遗传变异,尤其是表观遗传机制的异常,包括 PRC2 核心组分缺失引起的 H3K27me3 表达水平异常<sup>[11]</sup>。目前临床上仍然缺乏有效治疗药物,严峻的现实急需对促进 MPNST 发生、发展的机制进行新的探索,以寻找新的治疗靶点。

LATS2 定位于染色体 13q11-12,编码 Ser/Thr 激酶,参与多种生物学过程,包括细胞周期 G1/S 转换<sup>[12]</sup>、有丝分裂<sup>[13]</sup>、DNA 损伤<sup>[14]</sup>等。LATS2 在肿瘤恶性进展中的作用和机制十分复杂,其通过 HIPPO 经典途径 MST1/2-LATS2/1/2-YAP/TAZ 轴抑制肿瘤进展的相关研究已被大量文献报道,如 Guo 等<sup>[15]</sup>,Shi 等<sup>[16]</sup>的研究指出 LATS2 在胶质瘤中通过灭活 YAP 抑制胶质瘤细胞的恶性行为。另外,LATS2 可通过直接抑制 MDM2 的活性促进 P53 的稳定性<sup>[17]</sup>,且通过 P53 依赖性机制下调 Bcl 家族的抗凋亡蛋白发挥诱导凋亡的作用<sup>[18]</sup>,从而抑制肿瘤发生、发展。最近,有研究发现在 Hela-S3 细胞中 LATS2 可与染色质上的 PRC2 结合并使其磷酸化,影响 PRC2 的 HMTase 能力,以激酶依赖的方式调控 H3K27me3 表达,同时可正向调控 PRC2 组分的蛋白及转录水平<sup>[4]</sup>。本课题组前期研究显示,在 42 例国内 MPNST 临床组织样本中存在 SUZ12 和 H3K27me3 缺失现象<sup>[3]</sup>,因此,提出 LATS2 参与调控 MPNST 表观遗传机制的假设。

课题组前期对 MPNST 细胞系 ST88-14 及 STS26T 进行了 RNA-seq,发现 LATS2 均存在缺失现象,因此本研究旨在阐明 LATS2 对 MPNST 细胞系 H3K27me3 表达的影响,探讨其与 PRC2 核心组分之间的相互作用关系,验证 LATS2 对细胞增殖、迁移的影响及机制。研究结果显示,过表达 LATS2 一定程度上抑制 MPNST 细胞系的增殖和迁移。数据显示,ST88-14 和 STS26T 细胞中过表达 LATS2 明显提高 YAP/TAZ 的蛋白磷酸化水平,并降低下游效应因子 BIRC5、CTGF 的表达,这一发现证实了 LATS2 在 MPNST 中通过调控 YAP/TAZ 的磷酸化

水平发挥抑癌作用。而且,过表达 LATS2 明显提高 H3K27me3 蛋白水平,表明在 MPNST 细胞系中 LATS2 具有参与协调表观基因组的作用。Wu 等<sup>[7]</sup>报道,在 Schwann 细胞系中敲除 HIPPO 通路的 LATS1 和 LATS2 会产生组织学与 MPNST 相似的肿瘤。Inoue 等<sup>[19]</sup>建立了 LATS 驱动的 GEM-MPNST 模型和 NF1/P53 驱动的 GEM-MPNST 模型,并进行了转录本比较,发现两种肿瘤均缺乏 LATS1/2 蛋白,并且含有高水平的 TAZ 蛋白,且均显示出不同程度的 H3K27me3 丢失,这与笔者的结果相一致。值得注意的是,过表达 LATS2 并未对 PRC2 核心组分 SUZ12、EZH2、EED 的 mRNA 和蛋白水平产生影响。据报道,在爆发性肝功能衰竭中 lncRNA NEAT1 可向 LATS2 启动子区招募 EZH2,EZH2 通过促进 H3K27me3 形成抑制 LATS2 的表达<sup>[20]</sup>,而且在 MPNST 中 EZH2 已被证明未发生突变,相比于 SUZ12、EED 缺失现象,一些 MPNST 中表现出 EZH2 的过度表达<sup>[21]</sup>,这可能解释了过表达 LATS2 后 ST88-14 及 STS26T 中 H3K27me3 升高的现象,并提示 EZH2 在 MPNST 发病机制中的潜在作用,这一假设还需进一步实验验证。另外,一项研究采用 CRISPR Cas9 技术在人类永生 Schwann 细胞模型和人类 MPNST 细胞系中,分别诱导 103 个肿瘤抑制基因(TSG)和癌基因候选基因的功能缺失突变,其中 TAOK1、GDI2、NF1 和 APC 基因中的功能缺失突变导致永生 Schwann 雪旺细胞的转化和异种移植模型中的肿瘤形成,且导致 HIPPO/YAP 信号的激活,这可能是 MPNST 中 YAP/TAZ 过度激活的又一诱因,有望为揭示 MPNST 发病机制开启新的方向<sup>[22]</sup>。

综上所述,本研究证实了 LATS2 过表达后可升高 H3K27me3 表达水平,并通过改变 YAP/TAZ 的磷酸化水平,降低下游基因 BIRC5、CTGF 表达,从两个方面调控 MPNST 细胞系的增殖和迁移,阐明了 LATS2 在 MPNST 细胞系中参与调控表观遗传,其低表达是促 MPNST 恶性进展的重要因素,有助于为临床抗肿瘤治疗提供新的靶点和理论参考。

#### 参考文献:

- [1] KI D H, HE S, RODIG S, et al. Overexpression of PDGFRA cooperates with loss of NF1 and p53 to accelerate the molecular pathogenesis of malignant peripheral nerve sheath tumors[J]. *Oncogene*, 2017, 36(8): 1058-1068.
- [2] LEE W, TECKIE S, WIESNER T, et al. PRC2 is recurrently inactivated through EED or SUZ12 loss in malignant peripheral nerve sheath tumors[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(11): 1227-1232.

(下转第 160 页)

dothelial to mesenchymal transition (EndoMT) in the pathogenesis of human fibrotic diseases[J]. *J Clin Med*, 2016, 5(4):45.

- [20] WIECZOREK K, WIKTORSKA M, SACEWICZ-HOFMAN I, et al. Filamin A upregulation correlates with Snail-induced epithelial to mesenchymal transition (EMT) and cell adhesion but its inhibition increases the migration of colon adenocarcinoma HT29 cells[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 359(1):163-170.
- [21] TIAN H, LIU X, HAN W, et al. Differential expression of filamin A and its clinical significance in breast cancer[J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(3):681-686.

- [22] CARGNELLOM, ROUXPP. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2011, 75(1):50-83.
- [23] TOOMER K, SAULS K, FULMER D, et al. Filamin-a as a balance between Erk/Smad activities during cardiac valve development[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2019, 302(1):117-124.
- [24] LI Y, GAO J, YANG X, et al. Combination of curcumin and ginkgolide B inhibits cystogenesis by regulating multiple signaling pathways[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(3):195.

(2022-09-25 收稿)

(上接第125页)

- [3] 张静. MPNST 中 SUZ12 过表达及敲除稳定细胞株的构建及意义[D]. 天津医科大学, 2020.
- [4] 周欣, 李伟芸, 王红艳. MST1/2 调控先天免疫的功能和机制[J]. *遗传*, 2017, 39(7):642-649.
- [5] ISFORT I, ELGES S, CYRA M, et al. Prevalence of the hippo effectors YAP1/TAZ in tumors of soft tissue and bone[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):19704.
- [6] ZANCONATO F, CORDENONSI M, PICCOLO S. YAP/TAZ at the roots of cancer[J]. *Cancer Cell*, 2016, 29(6):783-803.
- [7] WU LMN, DENG Y, WANG J, et al. Programming of Schwann cells by Lats-1/2-TAZ/YAP signaling drives malignant peripheral nerve sheath tumorigenesis[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(2):292-308.
- [8] TORIGATA K, DAISUKE O, MUKAI S, et al. LATS2 positively regulates polycomb repressive complex 2[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7):e0158562.
- [9] WIDEMANN B C. Current status of sporadic and neurofibromatosis type 1-associated malignant peripheral nerve sheath tumors[J]. *Curr Oncol Rep*, 2009, 11(4):322-328.
- [10] MIETTINEN M M, ANTONESCU C R, FLETCHER CDM, et al. Histopathologic evaluation of atypical neurofibromatous tumors and their transformation into malignant peripheral nerve sheath tumor in patients with neurofibromatosis 1—a consensus overview [J]. *Hum Pathol*, 2017, 67:1-10.
- [11] CARROLL S L. The challenge of cancer genomics in rare nervous system neoplasms: malignant peripheral nerve sheath tumors as a paradigm for cross-species comparative oncogenomics[J]. *Amer J Pathol*, 2016, 186:464-477.
- [12] LI Y, PEI J, XIA H, et al. Lats2, a putative tumor suppressor, inhibits G1/S transition[J]. *Oncogene*, 2003, 22(28):4398-4405.
- [13] ABE Y, OHSUGI M, HARAGUCHI K, et al. LATS2-Ajuba complex regulates gamma-tubulin recruitment to centrosomes and spindle organization during mitosis[J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(3):782-788.
- [14] REUVEN N, ADLER J, MELTSEER V, et al. The Hippo pathway

- kinase Lats2 prevents DNA damage-induced apoptosis through inhibition of the tyrosine kinase c-Abl[J]. *Cell Death Differ*, 2013, 20(10):1330-1340.
- [15] GUO C, LIANG C, YANG J, et al. LATS2 inhibits cell proliferation and metastasis through the Hippo signaling pathway in glioma[J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(5):2753-2761.
- [16] SHI Y, GENG D, ZHANG Y, et al. LATS2 inhibits malignant behaviors of glioma cells via inactivating YAP[J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 68(1):38-48.
- [17] AYLON Y, MICHAEL D, SHMUELI A, et al. A positive feedback loop between the p53 and Lats2 tumor suppressors prevents tetraploidization[J]. *Genes Dev*, 2006, 20(19):2687-2700.
- [18] SHAO D, ZHAI P, HU C, et al. Lats2 promotes heart failure by stimulating p53-mediated apoptosis during pressure overload[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):23469.
- [19] INOUE A, JANKE L J, GUDENAS B L, et al. A genetic mouse model with postnatal *Nf1* and *p53* loss recapitulates the histology and transcriptome of human malignant peripheral nerve sheath tumor [J]. *Neurooncol Adv*, 2021, 3(1):v-dab129.
- [20] WANG Q, LIU L, ZHANG S, et al. Long noncoding RNA NEAT1 suppresses hepatocyte proliferation in fulminant hepatic failure through increased recruitment of EZH2 to the LATS2 promoter region and promotion of H3K27me3 methylation[J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(3):461-472.
- [21] ZHANG P, GARNETT J, CREIGHTON C J, et al. EZH2-miR-30d-KPNB1 pathway regulates malignant peripheral nerve sheath tumour cell survival and tumorigenesis[J]. *J Pathol*, 2014, 232(3):308-318.
- [22] VÉLEZ-REYES G L, KOES N, RYU J H, et al. Transposon mutagenesis-guided CRISPR/Cas9 screening strongly implicates dysregulation of Hippo/YAP signaling in malignant peripheral nerve sheath tumor development[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(7):1584.

(2022-10-09 收稿)