



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.014  
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.014  
Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(7):890-897.

· 文献综述 ·

## 溴结构域蛋白 4 在转录调节与肿瘤形成中的作用 及其抑制剂的研究进展

杨林瑞, 张风河

(山东大学口腔医学院·口腔医院 口腔颌面外科 / 山东省口腔组织再生重点实验室 / 山东省口腔生物材料与组织再生工程实验室, 山东 济南 250012)

### 摘要

溴结构域蛋白 4 (BRD4) 作为溴域及超末端结构家族中的一员, 通过调节细胞基因转录调节细胞周期, 在正常细胞以及肿瘤细胞的生理活动中扮演着重要角色。作为一种转录和表观遗传调控因子, BRD4 基因的过度表达以及基因重排和基因突变常与多种疾病、尤其是恶性肿瘤的发生有关。笔者对 BRD4 及其抑制剂在转录调节中的功能及其与肿瘤细胞的相互作用进行综述与分析, 从而为相应的临床治疗提供新的思路。

### 关键词

溴结构域蛋白 4; 转录因子; 癌基因; 抑制剂; 综述文献  
中图分类号: R73

## Research progress of bromodomain 4 in transcriptional regulation and neoplastic processes and its inhibitors

YANG Linrui, ZHANG Fenghe

(Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Stomatological Hospital, School of Stomatology, Shandong University/Shandong Provincial Key Laboratory of Oral Tissue Regeneration/Shandong Engineering Laboratory for Dental Materials and Oral Tissue Regeneration, Ji'nan 250012, China)

### Abstract

Bromodomain 4 (BRD4), a member of the bromodomain and extraterminal protein family, plays an important role in the physiological activities of normal cells and tumor cells by regulating gene transcription and cell cycle. As a transcriptional and epigenetic regulator, BRD4 gene overexpression, rearrangement and mutation are often associated with a variety of diseases, especially malignant tumors. Here, the authors review and analyze the function of BRD4 and its inhibitors in transcriptional regulation and their interaction with tumor cells, hoping to provide new ideas for relevant clinical treatment.

### Key words

Bromodomain 4; Transcription Factors; Oncogenes; Inhibitors; Review  
CLC number: R73

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR201709270028)。

收稿日期: 2020-04-26; 修订日期: 2020-06-22。

作者简介: 杨林瑞, 山东大学口腔医学院·口腔医院硕士研究生, 主要从事口腔颌面部恶性肿瘤方面的研究。

通信作者: 张风河, Email: zfengh@sdu.edu.cn

作为溴域及超末端结构 (bromodomain and extraterminal domain, BET) 家族中的一员<sup>[1]</sup>, 溴结构域蛋白4 (bromodomain 4, BRD4) 通过调节细胞基因转录从而调节细胞周期, 因此在正常细胞以及肿瘤细胞的生理活动中扮演着重要角色<sup>[2]</sup>。BRD4由以下几个结构域组成: 2个BD结构域 (bromodomains, BDs), 分别命名为BD1和BD2, BD结构域由4个被可变环区分开的 $\alpha$ 螺旋共同形成1个识别乙酰基赖氨酸的疏水空腔, 1个ET (extraterminal) 结构域, 1个富含丝氨酸的SEED结构域, 1个富含脯氨酸的C末端结构域 (C-terminal district, CTD) 以及最末尾的由83个氨基酸组成, 结合正性转录因子b (positive transcription elongation factor b, P-TEFb) 的区域 (P-TEFb binding region)。其功能的实现也依赖于上述结构<sup>[3-5]</sup>。

BET家族蛋白 (尤其是BRD4) 基因的过度表达以及基因重排和基因突变常与多种疾病, 尤其是恶性肿瘤的发生有关<sup>[6-7]</sup>。BET家族蛋白在促进多种血液学恶性肿瘤如混合谱系白血病 (mixed lineage leukemia, MLL)、急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 中c-myc等癌基因的异常表达、促进细胞异常增殖方面发挥重要作用<sup>[4, 8-10]</sup>。BRD4作为一种遗传易感性基因, 它能预测乳腺癌的进展、转移和预后, 并通过调节细胞外基质基因的表达控制乳腺癌转移<sup>[11-12]</sup>。在非小细胞肺癌细胞系中, BRD4表达明显上调, 并且高水平的BRD4往往与不良预后密切相关。而抑制非小细胞肺癌细胞系BRD4表达可降低肿瘤侵袭性, 抑制肿瘤细胞增殖, 加速细胞凋亡。2018年, Gao等<sup>[13]</sup>研究发现BRD4抑制剂可抑制eIF4E及下游基因表达, 进而延缓非小细胞型肺癌细胞的生长。BRD4在原发和转移性黑色素瘤组织中均高度表达, 而BRD4抑制剂可迅速下调关键的细胞周期基因 (如SKP2、ERK1和c-myc等) 的表达, 抑制黑色素瘤细胞增殖、肿瘤体积增长和在动物模型中的转移。并且BRD4抑制剂对于BRAF或NRAS基因突变型黑色素瘤细胞依然有效<sup>[14]</sup>。此外, BRD4蛋白在前列腺癌中也有显著表达。在去势性前列腺癌中, BRD4基因的下调导致细胞增殖能力和侵袭性的显著降低, 在小鼠模型中, BRD4抑制剂比直接应用雄激素拮抗剂表现出更强大的抗癌活性<sup>[15]</sup>。值得注意的是, BRD4可以作用于多种基因, 且对于绝大多数原癌基因来说, 它们几乎均受BRD4的

调控<sup>[16]</sup>, 这一发现也为治疗恶性肿瘤指明了新方向, 目前BRD4抑制剂被认为是治疗恶性血液病和恶性实体肿瘤的新希望。

本文分析BRD4及其抑制剂在转录调节中的功能及其与肿瘤细胞的相互作用, 综述BRD4抑制剂治疗肿瘤的优越性及局限性, 进而为相应的临床疗法提供可行性分析及新的思路。

## 1 BRD4 对于真核细胞转录的调节功能

作为一种转录和表观遗传调控因子, BRD4在胚胎发育和肿瘤形成过程中起着关键作用, 由于BRD4对乙酰化程度高的蛋白亲和力更高, 因此它们与染色质内高度乙酰化的组蛋白区紧密结合, 并作用于转录活性调控元件 (如启动子、增强子等), 在转录的起始和延伸阶段促进基因转录<sup>[17]</sup>。

BRD4最初被发现时被认为是一种控制细胞周期的蛋白。在有丝分裂过程中, 它能与染色体结合并标记在G<sub>1</sub>期准备转录的基因, 保证正常的细胞周期<sup>[18]</sup>。它还在胚胎的发育期通过直接或与转录因子协同的方式调控胚胎干细胞的转录过程以及实现多能干细胞的自我更新<sup>[19]</sup>。BRD4同时还在脂肪细胞和肌肉细胞的形成中起重要作用<sup>[20]</sup>。使用BRD4抑制剂干扰BRD4的活性, 还会影响成骨细胞矿化成骨<sup>[21]</sup>。总而言之, BRD4能识别组蛋白密码 (histone code), 并通过与具有谱系特异性的转录因子结合, 在高度乙酰化和具有强转录倾向的染色质区域 (主要是启动子和增强子) 中大量累积, 进而促进RNA聚合酶II (RNA-Pol II) 的活化<sup>[22-23]</sup>。这些功能的实现, 主要但并不完全依赖于BRD4的BD识别乙酰化蛋白的能力<sup>[21]</sup>。

### 1.1 BRD4 在真核细胞转录起始阶段的作用

RNA Pol II在转录前复合体 (preinitiation complex, PIC) 上与启动子结合, 并通过C末端结构域第5位丝氨酸 (Ser5) 磷酸化保持其结构的稳定并加强与启动子的结合<sup>[24]</sup>。PIC的形成, 既受增强子的影响又由转录因子和其他转录调控蛋白控制<sup>[25]</sup>。其中, 中介因子复合体 (Mediator) 发挥着中心作用。在转录起始阶段, 中介因子复合体与通用转录因子 (general transcription factors, GTFs) 相互作用, 促进PIC的形成和CTD的磷酸化, 还可促进增强子与转录因子结合并与启动子区域相互作用<sup>[26]</sup>。同时, 中介因子复合体还可与聚合酶II多肽M (polymerase II polypeptide M,

POLR2M)和超级延伸复合物相互作用,调控RNA Pol II引导的转录起始、暂停和延伸过程。BRD4作为中介因子复合体的辅助因子,与中介因子复合体在增强子,尤其是在超级增强子中共定位。

增强子由成簇的转录因子结合位点构成。这些结合位点构成可供转录调节复合体结合的平台<sup>[27]</sup>。一方面,转录因子主要与增强子结合,另一方面转录因子以及染色质修饰蛋白还可与BRD4相互作用,因此BRD4和转录因子之间的化学反应既影响BRD4与增强子的结合,又决定了靶基因对于BRD4的敏感性<sup>[23]</sup>。而转录因子通过乙酰基转移酶,促进核小体和/或其他的非组蛋白甚至转录因子自身的乙酰化,BRD4与这些乙酰化的组蛋白和转录因子的结合还将稳定转录因子与增强子的结合,从而维持高转录活性。在某些情况下,BRD4通过乙酰基转移酶的介导,在组蛋白乙酰化的启动子和增强子中聚集。而在另一些情况下,BRD4也可以直接作用于转录因子以及染色质修饰蛋白,这种直接作用既可以通过BDs<sup>[28]</sup>(这种方式依赖于转录因子的乙酰化状态),也可以通过其他的BRD4结构域,这种方式既不需要乙酰基转移酶的活性,也不受BRD4抑制剂的影响,并具有独特的选择特异性<sup>[29]</sup>。

通过这些相互作用,BRD4松解(de-compacting)染色质和加速mRNA的合成以促进转录起始。而BRD4与转录因子结合的特异性及其激活的下游信号通路对于研究BRD4靶基因的选择特异性有重要意义。

## 1.2 BRD4在真核细胞转录延长阶段的作用

启动子清除后, RNA延伸到23 nt时,即进入转录过程中的主要限速步骤。Pol II C末端结构域第五位丝氨酸被转录因子TFIIH的CDK7亚基磷酸化,磷酸化后的Pol II CTD能结合加帽酶并增强其活性,为新生的RNA链5'端加帽(capping)<sup>[30]</sup>,此时转录暂时停滞<sup>[31]</sup>,转录延伸抑制子(negative transcription elongation factor, NTEF)在其中起重要作用。NTEF由两部分组成,分别是DRB敏感性诱导因子(DRB-sensitivity inducing factor, DSIF)和负性延伸因子(negative elongation factor, NELF)<sup>[32]</sup>。加帽结束后,正向转录延长因子b(positive transcription elongation factor-b, P-TEFb)将DSIF的Spt5亚基<sup>[33]</sup>和NELF的RD亚基<sup>[34]</sup>分别磷酸化,磷酸化的NELF从RNA Pol II上解离,并解除抑制作用。磷酸化的DSIF仍留在RNA

Pol II上,并发生功能逆转起促进转录延伸的作用<sup>[32]</sup>。P-TEFb由细胞周期蛋白依赖性激酶CDK9与调节亚基周期蛋白Cyclin T1/T2a/T2b组成,并具有激酶活性<sup>[35]</sup>。它能进一步磷酸化Pol II CTD上的Ser2<sup>[36]</sup>,使得Pol II的转录延伸活性恢复,使转录继续进行。BRD4作为BET家族中唯一与P-TEFb反应者<sup>[22]</sup>,BRD4的CTD与P-TEFb的结合将减少P-TEFb与抑制型核糖核酸蛋白复合物7sk/HEXIM的结合(HEXIM通过将P-TEFb以非活性形式隔离以实现转录抑制)<sup>[37]</sup>,BRD4在高度乙酰化和具有转录活性的转录起始位点上的积累可作为P-TEFb的对接位点,从而促进RNA Pol II的激活及转录延长。其中最具有代表性的例子是精氨酸去甲基酶JMJD6<sup>[38]</sup>,JMJD6与BRD4选择性地共定位于一组特定的远程活性增强子,这些增强子的特征是高水平的组蛋白3第4号赖氨酸的甲基化(H3K4Me1)和组蛋白3第27位赖氨酸乙酰化(H3K27Ac),并被命名为抗暂停增强子。BRD4和JMJD6与抗暂停增强子结合后,一方面对与转录抑制相关的组蛋白4第3号精氨酸的甲基(H4R3Me1和H4R3Me2)去甲基化以解除转录抑制,另一方面对7SK RNA的5'-甲基-磷酸帽去甲基化,导致其降解及P-TEFb的局部活化,使转录延长继续进行。

BRD4除了在活性启动子和增强子上富集外,还与具有高度转录活性的基因主体(gene body)结合,基因表达活性的改变,都与BRD4在基因主体上的位置改变密切相关。核小体也可以阻止RNA-Pol II与基因主体结合,从而抑制转录延长和基因表达<sup>[38]</sup>。此外,放线菌素b对转录进行的干扰也显著减少了与靶基因结合的BRD4的量。基于这一现象,Kanno等<sup>[39]</sup>认为BRD4作为分子伴侣,利用其与乙酰化组蛋白相互作用的能力,促进RNA-Pol II快速通过高度乙酰化的核小体,完成转录延长。

## 1.3 BRD4如何作用于增强子/超级增强子

为了深入了解BRD4的致病功能,Zhang等<sup>[40]</sup>通过结合位点分析法(ChIP-seq)对BRD4在染色质中的位置进行全基因组分析,结果表明:无论是正常还是转化细胞,其基因组中几乎所有的有活性启动子以及数量众多的活性增强子均与BRD4有联系,这一发现符合其作为基本调节因子的假设。此外,BRD4在染色质中的位置还与几种不同的组蛋白乙酰化标记(如H4K5、H4K8、H3K9和H3K27)有关,这也符合它通过溴域介导的富集

机制<sup>[16]</sup>。

此外, Delmore等<sup>[41]</sup>通过对多发性骨髓瘤细胞系MM1.S的myc位点的进行观察发现,在该细胞系中,myc基因异常高表达。而BRD4抑制剂可以极大程度地抑制myc转录,且邻近的增强子区域常表现出高水平的BRD4占有率。值得注意的是,此区域中发生IgH增强子区域的易位(此易位常常与不良预后相关),并且IgH增强子区域的BRD4占用率比起启动子区域高10倍以上,这表明该细胞系主要是通过增强子以实现依赖BRD4的转录激活<sup>[8]</sup>。在白血病细胞中,虽然没有发生myc位点的基因重组,BRD4抑制剂同样能抑制myc基因转录。白血病细胞拥有一组可与BRD4特异性结合的增强子,这些增强子位于myc启动子下游1.7 MB (megabase),可与多种造血相关的转录因子结合,并与myc启动子发生长程环状相互作用<sup>[42]</sup>。基因组范围的研究表明,BRD4在基因组中广泛分布。然而,癌症相关基因的表达似乎均依赖于BRD4的c-myc模式<sup>[16]</sup>。虽然myc在大多数增殖的细胞中普遍表达,但调节该基因的增强子却具有高度细胞特异性,这也解释了为何不同细胞以及同种细胞myc位点上不同构型的增强子对BET抑制剂敏感性各异。

上文已经提到,BRD4可以作用于各种细胞基因组中的众多增强子,但在多发性骨髓瘤MM1.S细胞系中,只在IgH区域有不到300个增强子表现出了高亲和性,这些增强子因其对BRD4高亲和性以及横贯数十kb (kilobase)的大小而被命名为超级增强子。超级增强子是基因组中紧密相邻的大量增强子簇,具有与常规增强子不同的功能特性<sup>[43]</sup>。

Lovén等<sup>[16]</sup>提出一种假说,由超级增强子调控的基因对BET抑制剂更为敏感。这一假设基于在MM1.S细胞<sup>[16]</sup>和Ly1淋巴瘤细胞<sup>[44]</sup>中进行的全基因组分析发现与位于典型增强子附近的基因相比,位于超级增强子附近的基因的mRNA水平更容易被JQ1下调。然而这种差异的幅度相当小,但Lovén等<sup>[16]</sup>认为是因为缺乏对于不同mRNA半衰期差异的考虑,以及假设增强子只调节离它最近的基因的表达导致了这种差异性的减少。此外,最近Sengupta等<sup>[43]</sup>发现BET抑制剂的癌基因特异性可能是一个定量的结果:超级增强子区域中转录因子和调节因子结合的浓度,以及H3K27Ac和H3K3Me1的数量,均超过了常规增强子至少一个数量级。由此可见,在恶性肿瘤的发生发展过程

中,超级增强子在维持细胞特性,驱动特定癌细胞高度依赖的致癌基因的表达方面起核心作用。全基因组研究表明,超级增强子可标记多种恶性肿瘤中的特异性转录因子及原癌基因,说明超级增强子在肿瘤发生过程必不可少,而且为癌细胞特有,其在未发生转化的细胞中几乎不存在<sup>[45]</sup>。

## 2 BRD4 抑制剂治疗的优点及局限性

目前的BRD4抑制剂可分为单价型和二价型。单价BRD4抑制剂分别与BRD4蛋白的两个溴域结合。而二价BRD4抑制剂能够同时结合BRD4的2个溴域。单价BRD4抑制剂根据其化学结构,可分为三氮唑类衍生物、异恶唑类衍生物、吡啶类衍生物、四氢喹啉类衍生物等<sup>[46]</sup>。JQ1是发现最早、研究最透彻的小分子BRD4抑制剂,它通过与BRD4的Asn140、Tyr97残基形成氢键,从而与BRD4形成稳定的结合<sup>[17]</sup>,以它为代表的这些与乙酰化基团成分类似的分子,通过与染色质的乙酰化基团竞争结合位于BD上的乙酰赖氨酸结合口袋(acetyl-lysine binding pocket),将BRD4从染色质中分离出来,进而阻止原癌基因的转录<sup>[8]</sup>。

JQ1的疗效最早中线癌(midline carcinoma, NMC)中得到验证,它是一种以t(15;19)(q13,p13.1)易位为特征的低分化高致命性的鳞癌,其t19处的断点是BRD4的作用位点,BRD4可以通过染色体易位发生突变,并与NUT基因框内融合形成BRD4-NUT融合基因,该基因具有强致癌性<sup>[47]</sup>。由此产生的BRD4-NUT蛋白是一种异常的转录调节因子,其致癌功能依赖于BRD4的溴域。因此,这种恶性肿瘤为BET抑制剂的初步治疗评价提供了明确的理论基础<sup>[48]</sup>。在中线癌细胞系中,JQ1处理导致染色质释放BRD4-NUT,并引起鳞状细胞的终末分化和凋亡。此外,在患者来源的中线癌异种移植模型中,每日使用对正常组织毒性最小剂量的JQ1可延长荷瘤小鼠的存活时间<sup>[49]</sup>。而在预后较差的三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)中<sup>[50]</sup>,2016年,Shu等<sup>[51]</sup>发现BRD4抑制剂对三阴性乳腺癌具有显著疗效。除此之外,在口腔上皮鳞癌和唾液腺腺样囊性癌的体外实验中也证明,JQ1能够在不伤及正常口腔上皮细胞的情况下抑制肿瘤细胞生长、转移及侵袭<sup>[52-54]</sup>。

之前已经提到,BRD4作为通用调控因子,通过P-TEFb相互作用影响Pol II的活性进而调节转

录。JQ1作用于靶细胞导致mRNA水平和总Pol II ser2磷酸化水平的降低<sup>[16]</sup>。然而,并非所有基因都同等地受到JQ1的影响,在不同的位点上,转录受到不成比例的抑制。需要强调的是,BET抑制剂通常具有高度的选择特异性。例如,用JQ1治疗白血病细胞会导致显著的myc基因表达抑制,而用JQ1处理成纤维细胞则对myc水平的影响很小<sup>[10,55]</sup>。那么BET抑制剂在肿瘤治疗中的分子机制究竟是怎样的呢?

在转录的起始阶段,BET抑制剂干扰BRD4与中介因子复合体的共定位。BET抑制剂处理后,中介因子复合体在早期即解体成组成该复合体的各种调控蛋白。并且对于BET抑制剂敏感度越高的成分越早解体<sup>[56]</sup>。这表明了BET抑制剂细胞毒性的核心机制之一即为抑制中介因子复合体。BET抑制剂还能持续抑制BRD4富集的增强子中增强子相关RNA(enhancer-associated RNA, eRNA)的转录,使BRD4与目标增强子分离,阻止BRD4-RNA Pol II复合体与这些增强子的相互作用,导致RNA Pol II募集减少,进而eRNA合成减少<sup>[39]</sup>。那么这种选择性是如何产生的呢?Donato等<sup>[57]</sup>提出了一种可能影响BET抑制剂基因靶向选择性的代偿机制:对于BET抑制剂不敏感的基因可以通过增加转录起始位点上的RNA-Pol II募集和转录起始来弥补BRD4抑制引起的转录延长的损伤。然而这对BRD4高度依赖的基因却难以实现,因为这些基因为了维持高的转录率早已最大限度地在了转录起始位点上装载RNA-Pol II。BRD4抑制引起的转录延长阻滞阻碍了启动子的清除和RNA-Pol II的进一步补充,从而使BET抑制剂对高表达基因具有选择易感性<sup>[57]</sup>。

对于超级增强子的抑制会导致原癌基因表达的急剧下降,从而导致癌细胞生长抑制甚至死亡。Lovén等<sup>[16]</sup>发现BRD4与中介因子复合体以及P-TEFb在超级增强子上大量积累。超级增强子中,BRD4与中介因子复合体共同作为高密度转录复合体组装的催化剂,改变了染色质的结构及功能。BET抑制剂会优先抑制与这些转录元件(包括c-myc或其他与超级增强子相关的MM相关基因如IGLL5、IRF4和XBP1)结合的BRD4进而导致超级增强子功能的丧失,从而导致转录延长缺陷和癌基因表达的阻滞<sup>[16]</sup>。

然而俗话说得好,“道高一尺魔高一丈”,对于肿瘤来说,单一疗法往往会因耐药突变体的

产生而变得疗效不佳,BRD4抑制剂也是如此。许多肿瘤均以不同的方式表现出对BRD4抑制剂的耐受性<sup>[58-59]</sup>。研究表明,对BRD4抑制剂的获得性耐药也可能与突变无关。在AML中,当BRD4受抑制时,c-myc的表达可通过激活Wnt信号通路进行代偿,这一代偿的是通过局部转录环境的变化实现的。这一现象表明肿瘤细胞可通过局部激活myc增强子等其他方式进行转录调节以拮抗BET抑制剂。

除此之外,绝大多数的BRD4抑制剂只能同时抑制BD1和BD2,因此不能作为选择性化学探针来分别研究各个溴域的功能。并且由于BET家族蛋白在结构上具有高度同源性,但其下游基因调控却各不相同,上述药物对于BET家族成员的选择性较低,往往会影响到其他基因表达,导致一系列副作用<sup>[60]</sup>。因此,尽管BET抑制剂的体外和体内研究都证实了靶向抑制并显示出潜在的治疗效果;然而,在使用BET抑制剂的癌症患者中进行的I期临床试验却未能显示出显著的疗效,这表明BET抑制作为单一药物治疗的疗效可能有限<sup>[61-62]</sup>。

### 3 总结与展望

综上所述,BRD4是基因组功能和稳定性的重要组成部分。通过阅读组蛋白密码,BRD4可以检测到高度乙酰化的染色质位点(如增强子、端粒等),并在这些位点上积累,从而促进功能相关的多蛋白复合物的聚集和稳定<sup>[23]</sup>。BRD4在恶性肿瘤发生发展的过程中起到的中心作用为BET抑制剂的细胞毒性原理提供了新的解释,特别是为这些药物的临床应用提供了更加广泛的可能性。值得注意的是,即便是BRD4这样作用于众多基因的基础转录调控因子也可以在靶向药物的作用下诱发特定的生物学效应,这也为我们寻找其他染色质调控药物作用靶点提供新的思路。

越来越多的临床试验表明,BET抑制剂联合免疫治疗和其他药物疗效更佳。研究证明BRD4抑制剂能有效抑制他莫昔芬耐药乳腺癌细胞的生长,并且在他莫昔芬耐药的乳腺癌异种移植小鼠模型中,BRD4抑制剂和雌激素拮抗剂氟维司琼联合疗法具有强效而持久的抗癌作用<sup>[63]</sup>。在myc基因导致的淋巴瘤中,与单独使用任何一种治疗药物相比,联合使用JQ1和PD-1单克隆抗体显著降低了肿瘤大小并延长了总生存期<sup>[64]</sup>。鉴于许多激酶抑制剂的理化性质和药物动力学均已经研究的较为

透彻,开发“激酶加BRD4抑制剂”的联合疗法不失为一个有效策略。

尽管这些药物的成功应用已经从一开始的myc依赖性的血液恶性肿瘤扩展到实体肿瘤,但仍未完全明确这些药物对癌症特异性易感性是如何造成的。鉴于BRD4在各种体细胞中广泛表达。并在非癌细胞中也与许多启动子和增强子结合<sup>[23]</sup>,抑制BRD4这样的基础染色质调控因子是如何导致原癌基因的选择性抑制的,其机制尚未完全明确,加上BRD4对于BET家族较低的特异性,我们不妨将目光放在不同疾病中BRD4上游(如乙酰转移酶和转录因子)或下游(如内皮素相关因子或BCL2相关因子)效应因子。例如JMJD6因其能调控雌激素受体依赖的增强子和促进转录起始,现已成为潜在的药物治疗靶点<sup>[38]</sup>。因此,针对与BRD4相互作用的小分子蛋白可能是另一种新的药物研发策略。

#### 参考文献

- [1] Dolcet X, Llobet D, Pallares J, et al. NF- $\kappa$ B in development and progression of human cancer[J]. *Virchows Arch*, 2005, 446(5):475–482. doi: 10.1007/s00428-005-1264-9.
- [2] Tang X, Peng R, Ren Y, et al. BET bromodomain proteins mediate downstream signaling events following growth factor stimulation in human lung fibroblasts and are involved in bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *Mol Pharmacol*, 2013, 83(1):283–293. doi: 10.1124/mol.112.081661.
- [3] Barrero MJ. Epigenetic Strategies to Boost Cancer Immunotherapies[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6):1108. doi: 10.3390/ijms18061108.
- [4] Pérez-Salvia M, Esteller M. Bromodomain inhibitors and cancer therapy: From structures to applications[J]. *Epigenetics*, 2017, 12(5):323–339. doi: 10.1080/15592294.2016.1265710.
- [5] Zaware N, Zhou MM. Chemical modulators for epigenome reader domains as emerging epigenetic therapies for cancer and inflammation[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2017, 39:116–125. doi: 10.1016/j.cbpa.2017.06.012.
- [6] Bradner JE, Hnisz D, Young RA. Transcriptional Addiction in Cancer[J]. *Cell*, 2017, 168(4):629–643. doi: 10.1016/j.cell.2016.12.013.
- [7] Marazzi I, Greenbaum BD, Low DHP, et al. Chromatin dependencies in cancer and inflammation[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(4):245–261. doi: 10.1038/nrm.2017.113.
- [8] Dawson MA, Prinjha RK, Dittmann A, et al. Inhibition of BET recruitment to chromatin as an effective treatment for MLL-fusion leukaemia[J]. *Nature*, 2011, 478(7370):529–533. doi: 10.1038/nature10509.
- [9] Toyoshima M, Howie HL, Imakura M, et al. Functional genomics identifies therapeutic targets for MYC-driven cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(24):9545–9550. doi: 10.1073/pnas.112119109.
- [10] Zuber J, Shi J, Wang E, et al. RNAi screen identifies Brd4 as a therapeutic target in acute myeloid leukaemia[J]. *Nature*, 2011, 478(7370):524–528. doi: 10.1038/nature10334.
- [11] Alsarraj J, Hunter KW. Bromodomain-Containing Protein 4: A Dynamic Regulator of Breast Cancer Metastasis through Modulation of the Extracellular Matrix[J]. *Int J Breast Cancer*, 2012, 2012:670632. doi: 10.1155/2012/670632.
- [12] Glodzik D, Morganella S, Davies H, et al. A somatic-mutational process recurrently duplicates germline susceptibility loci and tissue-specific super-enhancers in breast cancers[J]. *Nat Genet*, 2017, 49(3):341–348. doi: 10.1038/ng.3771.
- [13] Gao Z, Yuan T, Zhou X, et al. Targeting BRD4 proteins suppresses the growth of NSCLC through downregulation of eIF4E expression[J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 19(5):407–415. doi: 10.1080/15384047.2018.1423923.
- [14] Segura MF, Fontanals-Cirera B, Gaziel-Sovran A, et al. BRD4 sustains melanoma proliferation and represents a new target for epigenetic therapy[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(20):6264–6276. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0122-T.
- [15] Asangani IA, Dommeti VL, Wang X, et al. Therapeutic targeting of BET bromodomain proteins in castration-resistant prostate cancer[J]. *Nature*, 2014, 510(7504):278–282. doi: 10.1038/nature13229.
- [16] Lovén J, Hoke HA, Lin CY, et al. Selective inhibition of tumor oncogenes by disruption of super-enhancers[J]. *Cell*, 2013, 153(2):320–334. doi: 10.1016/j.cell.2013.03.036.
- [17] Filippakopoulos P, Picaud S, Mangos M, et al. Histone recognition and large-scale structural analysis of the human bromodomain family[J]. *Cell*, 2012, 149(1):214–231. doi: 10.1016/j.cell.2012.02.013.
- [18] Dey A, Ellenberg J, Farina A, et al. A bromodomain protein, MCAP, associates with mitotic chromosomes and affects G(2)-to-M transition[J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(17):6537–6549. doi: 10.1128/mcb.20.17.6537-6549.2000.
- [19] Di Micco R, Fontanals-Cirera B, Low V, et al. Control of embryonic stem cell identity by BRD4-dependent transcriptional elongation of super-enhancer-associated pluripotency genes[J]. *Cell Rep*, 2014, 9(1):234–247. doi: 10.1016/j.celrep.2014.08.055.
- [20] Lee JE, Park YK, Park S, et al. Brd4 binds to active enhancers to control cell identity gene induction in adipogenesis and

- myogenesis[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):2217. doi: 10.1038/s41467-017-02403-5.
- [21] Najafova Z, Tirado-Magallanes R, Subramaniam M, et al. BRD4 localization to lineage-specific enhancers is associated with a distinct transcription factor repertoire[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(1):127–141. doi: 10.1093/nar/gkw826.
- [22] Bisgrove DA, Mahmoudi T, Henklein P, et al. Conserved P-TEFb-interacting domain of BRD4 inhibits HIV transcription[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(34):13690–13695. doi: 10.1073/pnas.0705053104.
- [23] Shi J, Vakoc CR. The mechanisms behind the therapeutic activity of BET bromodomain inhibition[J]. *Mol Cell*, 2014, 54(5):728–736. doi: 10.1016/j.molcel.2014.05.016.
- [24] Shilatifard A. Transcriptional elongation control by RNA polymerase II: a new frontier[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1677(1/3):79–86. doi: 10.1016/j.bbexp.2003.11.013.
- [25] Jonkers I, Lis JT. Getting up to speed with transcription elongation by RNA polymerase II[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16(3):167–177. doi: 10.1038/nrm3953.
- [26] Schilbach S, Hantsche M, Tegunov D, et al. Structures of transcription pre-initiation complex with TFIID and Mediator[J]. *Nature*, 2017, 551(7679):204–209. doi: 10.1038/nature24282.
- [27] Calo E, Wysocka J. Modification of enhancer chromatin: what, how, and why?[J]. *Mol Cell*, 2013, 49(5):825–837. doi: 10.1016/j.molcel.2013.01.038.
- [28] Huang B, Yang XD, Zhou MM, et al. Brd4 coactivates transcriptional activation of NF-kappaB via specific binding to acetylated RelA[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(5):1375–1387. doi: 10.1128/MCB.01365-08.
- [29] Wu SY, Lee AY, Lai HT, et al. Phospho switch triggers Brd4 chromatin binding and activator recruitment for gene-specific targeting[J]. *Mol Cell*, 2013, 49(5):843–857. doi: 10.1016/j.molcel.2012.12.006.
- [30] Pal M, Luse DS. Strong natural pausing by RNA polymerase II within 10 bases of transcription start may result in repeated slippage and reextension of the nascent RNA [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(1):30–40. doi: 10.1128/mcb.22.1.30–40.2002.
- [31] Kumar KP, Akoulitchev S, Reinberg D. Promoter-proximal stalling results from the inability to recruit transcription factor IIH to the transcription complex and is a regulated event[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(17):9767–9772. doi: 10.1073/pnas.95.17.9767.
- [32] Yamaguchi Y, Inukai N, Narita T, et al. Evidence that negative elongation factor represses transcription elongation through binding to a DRB sensitivity-inducing factor/RNA polymerase II complex and RNA[J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(9):2918–2927. doi: 10.1128/mcb.22.9.2918–2927.2002.
- [33] Yamada T, Yamaguchi Y, Inukai N, et al. P-TEFb-mediated phosphorylation of hSpt5 C-terminal repeats is critical for processive transcription elongation[J]. *Mol Cell*, 2006, 21(2):227–237. doi: 10.1016/j.molcel.2005.11.024.
- [34] Fujinaga K, Irwin D, Huang Y, et al. Dynamics of human immunodeficiency virus transcription: P-TEFb phosphorylates RD and dissociates negative effectors from the transactivation response element[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(2):787–795. doi: 10.1128/mcb.24.2.787–795.2004.
- [35] Peng J, Marshall NF, Price DH. Identification of a cyclin subunit required for the function of Drosophila P-TEFb[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(22):13855–13860. doi: 10.1074/jbc.273.22.13855.
- [36] Marshall NF, Peng J, Xie Z, et al. Control of RNA polymerase II elongation potential by a novel carboxyl-terminal domain kinase[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(43):27176–27183. doi: 10.1074/jbc.271.43.27176.
- [37] Jang MK, Mochizuki K, Zhou M, et al. The bromodomain protein Brd4 is a positive regulatory component of P-TEFb and stimulates RNA polymerase II-dependent transcription[J]. *Mol Cell*, 2005, 19(4):523–534. doi: 10.1016/j.molcel.2005.06.027.
- [38] Liu W, Ma Q, Wong K, et al. Brd4 and JMJD6-associated anti-pause enhancers in regulation of transcriptional pause release[J]. *Cell*, 2013, 155(7):1581–1595. doi: 10.1016/j.cell.2013.10.056.
- [39] Kanno T, Kanno Y, LeRoy G, et al. BRD4 assists elongation of both coding and enhancer RNAs by interacting with acetylated histones[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, 21(12):1047–1057. doi: 10.1038/nsmb.2912.
- [40] Zhang W, Prakash C, Sum C, et al. Bromodomain-containing protein 4 (BRD4) regulates RNA polymerase II serine 2 phosphorylation in human CD4+ T cells[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(51):43137–43155. doi: 10.1074/jbc.M112.413047.
- [41] Delmore JE, Issa GC, Lemieux ME, et al. BET bromodomain inhibition as a therapeutic strategy to target c-Myc[J]. *Cell*, 2011, 146(6):904–917. doi: 10.1016/j.cell.2011.08.017.
- [42] Shi J, Whyte WA, Zepeda-Mendoza CJ, et al. Role of SWI/SNF in acute leukemia maintenance and enhancer-mediated Myc regulation[J]. *Genes Dev*, 2013, 27(24):2648–2662. doi: 10.1101/gad.232710.113.
- [43] Sengupta S, George RE. Super-Enhancer-Driven Transcriptional Dependencies in Cancer[J]. *Trends Cancer*, 2017, 3(4):269–281. doi: 10.1016/j.trecan.2017.03.006.
- [44] Chapuy B, McKeown MR, Lin CY, et al. Discovery and characterization of super-enhancer-associated dependencies in diffuse large B cell lymphoma[J]. *Cancer Cell*, 2013, 24(6):777–790. doi: 10.1016/j.ccr.2013.11.003.
- [45] Hnisz D, Schuijers J, Lin CY, et al. Convergence of developmental

- and oncogenic signaling pathways at transcriptional super-enhancers[J]. *Mol Cell*, 2015, 58(2):362–370. doi: 10.1016/j.molcel.2015.02.014.
- [46] Ali I, Choi G, Lee K. BET Inhibitors as Anticancer Agents: A Patent Review[J]. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 2017, 12(4):340–364. doi: 10.2174/1574892812666170808121228.
- [47] French CA, Ramirez CL, Kolmakova J, et al. BRD-NUT oncoproteins: a family of closely related nuclear proteins that block epithelial differentiation and maintain the growth of carcinoma cells[J]. *Oncogene*, 2008, 27(15):2237–2242. doi: 10.1038/sj.onc.1210852.
- [48] Wang R, Cao XJ, Kulej K, et al. Uncovering BRD4 hyperphosphorylation associated with cellular transformation in NUT midline carcinoma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(27):E5352–5361. doi: 10.1073/pnas.1703071114.
- [49] Filippakopoulos P, Qi J, Picaud S, et al. Selective inhibition of BET bromodomains[J]. *Nature*, 2010, 468(7327):1067–1073. doi: 10.1038/nature09504.
- [50] 黄凯, 陈夏. 三阴性乳腺癌的临床病理特征和预后影响因素分析[J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(11):1578–1580. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.025.
- Huang K, Chen X. Analysis of clinicopathologic features and prognosis effects of triple negative breast cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2014, 23(11):1578–1580. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.025.
- [51] Shu S, Lin CY, He HH, et al. Response and resistance to BET bromodomain inhibitors in triple-negative breast cancer[J]. *Nature*, 2016, 529(7586):413–417. doi: 10.1038/nature16508.
- [52] Wang L, Wu X, Huang P, et al. JQ1, a small molecule inhibitor of BRD4, suppresses cell growth and invasion in oral squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(4):1989–1996. doi: 10.3892/or.2016.5037.
- [53] Wang L, Wu X, Wang R, et al. BRD4 inhibition suppresses cell growth, migration and invasion of salivary adenoid cystic carcinoma[J]. *Biol Res*, 2017, 50(1):19. doi: 10.1186/s40659-017-0124-9.
- [54] Wang M, Zhao L, Tong D, et al. BET bromodomain inhibitor JQ1 promotes immunogenic cell death in tongue squamous cell carcinoma[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 76:105921. doi: 10.1016/j.intimp.2019.105921.
- [55] Andrews FH, Singh AR, Joshi S, et al. Dual-activity PI3K-BRD4 inhibitor for the orthogonal inhibition of MYC to block tumor growth and metastasis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(7):E1072–1080. doi: 10.1073/pnas.1613091114.
- [56] Bhagwat AS, Roe JS, Mok BYL, et al. BET Bromodomain Inhibition Releases the Mediator Complex from Select cis-Regulatory Elements[J]. *Cell Rep*, 2016, 15(3):519–530. doi: 10.1016/j.celrep.2016.03.054.
- [57] Donato E, Croci O, Sabo A, et al. Compensatory RNA polymerase 2 loading determines the efficacy and transcriptional selectivity of JQ1 in Myc-driven tumors[J]. *Leukemia*, 2017, 31(2):479–490. doi: 10.1038/leu.2016.182.
- [58] Kurimchak AM, Shelton C, Duncan KE, et al. Resistance to BET Bromodomain Inhibitors Is Mediated by Kinome Reprogramming in Ovarian Cancer[J]. *Cell Rep*, 2016, 16(5):1273–1286. doi: 10.1016/j.celrep.2016.06.091.
- [59] Yin Y, Sun M, Zhan X, et al. EGFR signaling confers resistance to BET inhibition in hepatocellular carcinoma through stabilizing oncogenic MYC[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):83. doi: 10.1186/s13046-019-1082-6.
- [60] Amorim S, Stathis A, Gleeson M, et al. Bromodomain inhibitor OTX015 in patients with lymphoma or multiple myeloma: a dose-escalation, open-label, pharmacokinetic, phase 1 study[J]. *Lancet Haematol*, 2016, 3(4):e196–204. doi: 10.1016/S2352-3026(16)00021-1.
- [61] Stathis A, Bertoni F. BET Proteins as Targets for Anticancer Treatment[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(1):24–36. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-0605.
- [62] Berthon C, Raffoux E, Thomas X, et al. Bromodomain inhibitor OTX015 in patients with acute leukaemia: a dose-escalation, phase 1 study[J]. *Lancet Haematol*, 2016, 3(4):e186–195. doi: 10.1016/S2352-3026(15)00247-1.
- [63] Feng Q, Zhang Z, Shea MJ, et al. An epigenomic approach to therapy for tamoxifen-resistant breast cancer[J]. *Cell Res*, 2014, 24(7):809–819. doi: 10.1038/cr.2014.71.
- [64] Hogg SJ, Vervoort SJ, Deswal S, et al. BET-Bromodomain Inhibitors Engage the Host Immune System and Regulate Expression of the Immune Checkpoint Ligand PD-L1[J]. *Cell Rep*, 2017, 18(9):2162–2174. doi: 10.1016/j.celrep.2017.02.011.

( 本文编辑 姜晖 )

本文引用格式: 杨林瑞, 张风河. 溴结构域蛋白4在转录调节与肿瘤形成中的作用及其抑制剂的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29(7):890–897. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.014

Cite this article as: Yang LR, Zhang FH. Research progress of bromodomain 4 in transcriptional regulation and neoplastic processes and its inhibitors [J]. *Chin J Gen Surg*, 2020, 29(7):890–897. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.014