

# 蛋白质精氨酸甲基转移酶1抑制剂抗肿瘤研究进展

朱照宏, 杨娜, 孔博, 唐伟方\*

中国药科大学理学院, 江苏 南京

收稿日期: 2022年2月10日; 录用日期: 2022年3月8日; 发布日期: 2022年3月15日

## 摘要

精氨酸甲基化是哺乳动物体内组蛋白翻译后修饰的重要组成部分, 并由蛋白质精氨酸甲基转移酶 (protein arginine methyltransferases, PRMTs) 负责催化调控。蛋白质精氨酸甲基转移酶1 (PRMT1) 是 PRMTs 家族中第一个被发现的成员, 并参与了细胞信号传导、基因转录调节、RNA 代谢、DNA 损伤修复及蛋白质相互作用等多种细胞生理活动过程。PRMT1 的失调和异常通常会导致包括炎症、退行性疾病和癌症等多种疾病的发生。因此通过抑制 PRMT1 能够达到治疗相关疾病的效果。本文主要介绍 PRMT1 在癌症中的作用及其抑制剂的研究进展, 为以 PRMT1 为靶点的药物研发提供思路。

## 关键词

组蛋白, 翻译后修饰, 蛋白质精氨酸甲基转移酶, PRMT1 抑制剂

# Research Progress of Protein Arginine Methyltransferase 1 Inhibitors in the Treatment of Antitumor

Zhaohong Zhu, Na Yang, Bo Kong, Weifang Tang\*

College of Science, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu

Received: Feb. 10<sup>th</sup>, 2022; accepted: Mar. 8<sup>th</sup>, 2022; published: Mar. 15<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

Arginine methylation is a significant part of post-transcriptional modifications of histones occur-  
\*通讯作者。

ring in mammals and is catalyzed and regulated by protein arginine methyltransferases (PRMTs). Protein arginine methyltransferase 1 (PRMT1) is the first discovered member of the PRMT family, which involved in many physiological activity processes such as cell signaling, gene transcription regulation, RNA metabolism, DNA damage repair, and protein interaction process. Dysregulation and abnormality of PRMT 1 often lead to the development of various diseases including inflammation, degenerative diseases and cancers, so inhibition of PRMT1 can treat related diseases. This review mainly introduces the role of PRMT1 in the tumors and the research progress of PRMT1 inhibitors, hoping to provide ideas for its further research.

## Keywords

Histones, Post-Translational Modifications, Protein Arginine Methyltransferases, PRMT1 Inhibitors

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

组蛋白翻译后修饰(post-translational modifications, PTMs)是表观遗传中的重要组成部分, 主要包括甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化和糖基化[1]等, 其中甲基化在细胞信号转导、DNA 损伤修复、转录调节等多种细胞生命活动当中发挥着不可替代的作用。

组蛋白甲基转移酶(histone methyltransferases, HMTs), 也叫蛋白质甲基转移酶(protein methyltransferases, PMTs), 是组蛋白甲基化修饰的关键酶。组蛋白的甲基化主要发生组蛋白 H3 或 H4 中 *N*-末端的赖氨酸(Lysine, Lys)或者精氨酸(Arginine, Arg)残基上, 按照催化碱性氨基酸的不同可分为两类, 即蛋白质赖氨酸甲基转移酶(protein lysine methyltransferases, PKMTs)和蛋白质精氨酸甲基转移酶(protein arginine methyltransferases, PRMTs), 并且二者都是以 *S*-腺苷甲硫氨酸(*S*-adenosyl methionine, SAM)作为甲基供体, 将 SAM 上的甲基转移到 Lys 或者 Arg 上。在生物体内, PKMTs 主要与基因表达沉默、染色质浓缩有关, 而 PRMTs 在调控基因转录中通过催化甲基化增加了蛋白质的大小和疏水性, 从而影响了与其他蛋白的相互作用, 最终影响细胞信号转导、DNA 损伤修复、转录激活/抑制、细胞分化和胚胎发育等多种生理过程[2]。

自 1996 年 Lin [3]等发现了第一个 PRMTs 以来, 越来越多的研究证据表明 PRMT1 的失调在一些遗传性疾病和癌症中发挥着重要的作用。随着近些年来对多种甲基转移酶的深入研究探索, PRMTs 已经成为重要的抗癌靶点。本综述主要介绍 PRMTs 家族中 PRMT1 的生物学功能、与肿瘤的关系以及相关抑制剂的研究进展, 为以 PRMT1 为靶点的药物研发提供思路。

## 2. PRMTs 家族

组蛋白甲基化是人体内重要的表观遗传内容, 参与基因表达的激活、延伸或抑制, 能够维持哺乳动物细胞的功能多样性[4]。负责蛋白质甲基化的 PRMTs 家族主要存在于哺乳动物的细胞质中, 目前已报道的共有 11 种, 根据其催化所得到产物的不同可分为 3 种类型(如图 1): I 型包括 PRMT1, 2, 3, 4, 6, 8, 该类型主要催化形成单甲基精氨酸(monomethylarginine, MMA)和非对称二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA); II 型包括 PRMT5, 9, 该类型主要催化形成单甲基精氨酸和对称性二甲基精氨酸(symmetrical dimethylarginine, SDMA); III 型只有 PRMT7 一个成员, 其仅催化形成单甲基精氨酸[5]。

PRMT10 和 PRMT11 [6]不属于前三种类型, 因此一般被归为 IV 型, 有文献指出 IV 型 PRMTs 催化精氨酸胍基上的  $\delta$ -氮原子的甲基化, 但这一过程尚未完全了解。

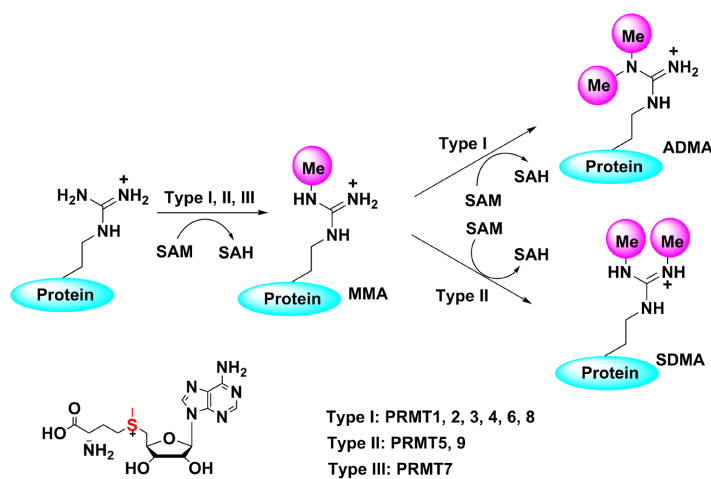


Figure 1. Classification of families of PRMTs [5]

图 1. PRMTs 家族的分类[5]

PRMTs 家族各个成员在序列上具有高度的同源性。如图 2 所示, 虽然该家族的 9 个成员碱基数在 361~845 个之间不等, 但是它们都包含有一个高度同源的 SAM-dependent MTase 的催化结构域, 不过该家族成员在 MTase 结构域之外含有不同的基序结构: PRMT1, 6 仅含有一个 MTase 催化结构域; 而 PRMT7, 9 含有重复的 MTase 催化结构域[7]; PRMT2, 3, 4, 5, 8, 9 在 MTase 催化结构域之前都含有 N-端基序。在哺乳动物体内, PRMT2 以配体依赖的方式作为激素受体的共激活因子, 增强雌激素受体的转录活性[8]; 而 PRMT1 是哺乳动物细胞中最主要的 I 型 PRMT, 占细胞 PRMT 活性的 85%, 参与许多生物功能; PRMT3 可以甲基化 40S 核糖体蛋白 S2, 并参与 80S 核糖体的适当成熟, 此外, 其对大鼠树突棘的成熟也具有重要的功能[9]; PRMT4 也被称为 CARM1 (coactivator-associated arginine methyltransferase 1), 最初被确定为几个核激素受体转录激活的增强子, 作为转录共激活因子, PRMT4 在染色质重塑和基因激活中也起着重要作用[10]; PRMT5 能使组蛋白 H2A 和 H4 以及其他许多蛋白甲基化。与其他 PRMTs 不同, PRMT5 的活性需要蛋白辅因子的存在, 如 MEP50、RioK1 和 pICln 等[11]。因此基序结构的不同可能导致这些家族成员之间功能上的某些差异。

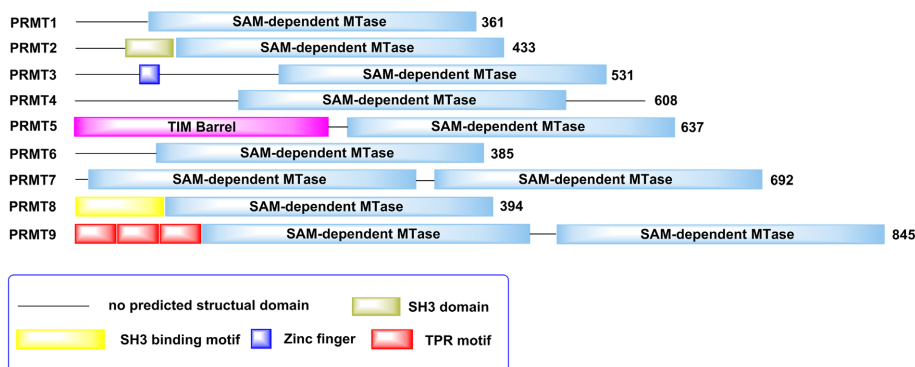


Figure 2. Sequence structure of PRMTs family members

图 2. PRMTs 家族成员的序列结构

### 3. PRMT1 的结构与生物学功能

PRMT1 是哺乳动物细胞中主要的 I 型 PRMT，人类 PRMT1 (hPRMT1) 由 19 号染色体上的 PRMT1 基因编码，由 12 个外显子和 11 个内含子组成。PRMT1 分子大小约 40 kDa，通常以 300~400 kDa 的大分子复合物形式存在[12]。目前只成功解析出大鼠以及酵母菌等生物的 PRMT1 与 SAH 或多肽的复合物晶体结构，而 hPRMT1 晶体结构尚不清楚。有研究表明 hPRMT1 一共有 7 种亚型(PRMT1-v1 至 PRMT1-v7)，每种亚型的分子量大小、N-末端结构、底物特异性、组织特异性或亚细胞定位等有所不同。在蛋白水平上，PRMT1 的经典结构包括两个功能域[13]：1) N-端甲基转移酶结构域，其特征是构成 SAM 结合口袋的罗斯曼折叠(Rossmann fold)；2) C-端  $\beta$  桶状结构域，形成与 Arg-底物结合位点的圆柱形结构。

作为哺乳动物细胞中最主要的 I 型 PRMT，PRMT1 在体内发挥着重要的作用并参与多种细胞过程。研究表明，小鼠胚胎敲除 PRMT1 基因会导致死亡[14]，说明 PRMT1 在胚胎生长发育中的重要性。在基因转录过程中(如图 3)，PRMT1 对组蛋白 H4 的 3 位精氨酸二甲基化形成 H4R3me2a，含 Tudor 结构域的蛋白 TDRD3 能够识别 H4R3me2a 并募集拓扑异构酶 III $\beta$  (Top III $\beta$ ) 形成复合物减少 R-环的形成，进而与 RNA 聚合酶 II (RNA pol II) 作用从而促进转录活性[15]。此外，由 PRMT1 催化得到的 H4R3me2a 能够诱导 H4K5 和 H4K8 的乙酰化，进而募集转录起始因子 TAFII250 并促进染色质开放，有利于激活基因的转录。在 RNA 剪接过程中，PRMT1 对 RNA 结合蛋白 hnRNPA1 (Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1) 甲基化，抑制了 hnRNPA1 的活性及与 RNA 结合的能力。PRMT1 还在富含脯氨酸的基序上不对称地对 RNA 结合蛋白 Sam68 [16] 进行二甲基化，降低了 Sam68 与其他蛋白质中的 SH3 结构域相互作用的能力，从而影响下游蛋白的表达。在 DNA 损伤修复过程中，PRMT1 对 MRE11 (Meiotic recombination 11)R58 的 C-端 GAR 基序进行甲基化，促进了 MRE11 从基质相关结构域 PML 核体到 DNA 损伤位点的重新定位，并增强了 MRE11 的核酸外切酶活性，从而有利于 DNA 的损伤修复[17]。在信号转导过程中，PRMT1 对雌激素受体- $\alpha$  (ER $\alpha$ ) 260 位精氨酸甲基化形成 met260ER $\alpha$ ，促进 ER $\alpha$ /PI3K/Src/FAK 复合物的形成以及下游激酶级联信号通路的激活[18]，从而调控细胞的增殖和存活。在红系分化(erythroid differentiation)过程中，PRMT1 对 p38 $\alpha$  的 R49 和 R149 甲基化促进了由 MKK3 (MAPK kinase 3) 激酶介导的 p38 MAPK (mitogen-activated protein kinases) 磷酸化过程[19]，进而激活下游信号通路的 MAPK 活化蛋白激酶 2，有利于红系分化的进行。

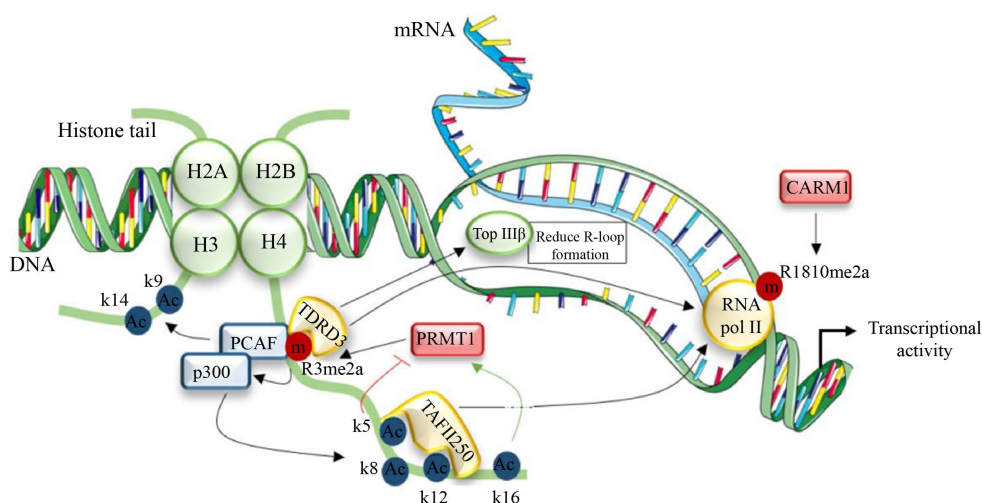


Figure 3. The role of PRMT1 in transcriptional regulation [15]

图 3. PRMT1 在转录调节中的作用[15]

## 4. PRMT1 与肿瘤的关系

### 4.1. 与乳腺癌的关系

多个研究表明,相比于健康组织,PRMT1 在乳腺癌肿瘤样本中有更高的表达,说明 PRMT1 与乳腺癌的发生具有一定的联系[20]。ER $\alpha$  是 PRMT1 的重要底物之一,ER $\alpha$  在雌激素或 IGF-1 作用下,通过 PRMT1 在 R260 残基上甲基化形成 met260ER $\alpha$ , met260ER $\alpha$  与 Src 和 PI3K 形成信号复合物,能够协调细胞的增殖和生存,有研究[21]发现该信号复合物在正常乳腺上皮细胞的细胞质中低水平表达,但在 55%的乳腺肿瘤中高表达,说明了 PRMT1 参与了乳腺癌的发生。此外,PRMT1 在维持乳腺癌细胞的干细胞样特性中也起着关键作用。例如,PRMT1 依赖的 EGFR 甲基化能够上调不同的信号通路级联,尤其是三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-468 中的 Akt、ERK 或 STAT3 信号通路,Nakai 等人[22]发现 PRMT1 通过激活调控上皮-间质转化的转录因子 ZEB1 来上调 EGFR/ERK 通路,从而促进乳腺癌细胞的迁移、入侵以及维持肿瘤干细胞特性。PRMT1 依赖的甲基化也会抑制某些底物的抑癌功能。例如,C/EBP $\alpha$  在 R35、R156 和 R165 位点被 PRMT1 甲基化,阻止了其辅抑制因子 HDAC3 的相互作用,从而促进细胞周期基因如 cyclin D1 的表达和乳腺癌细胞生长[23]。这些研究表明抑制 PRMT1 有望成为治疗乳腺癌的潜在靶点。

### 4.2. 与结直肠癌的关系

有临床报道[24],在结直肠癌患者中,PRMT1 的表达与不良预后有关。Yao 等人[25]发现,由 PRMT1 介导的 H4R3me2a 可以募集 SWI/SNF 复合物中的 ATPase 亚基 SMARCA4 到某些靶基因(如 EGFR)的启动子中并促进其表达,并且 PRMT1 依赖的 EGFR 信号增强与人类 CRC 细胞增殖和迁移能力呈正相关。此外,PRMT1 对 EGFR 中 R198 和 R200 的甲基化可导致 EGF 依赖性 EGFR 信号过度激活,并使细胞对抗 EGFR 单克隆抗体西妥昔单抗产生耐药性。研究表明,在 CRC 患者中,EGFR 甲基化率与西妥昔单抗治疗后较高的复发率和较低的患者总生存率直接相关[26]。

### 4.3. 与肺癌的关系

Elakoum 等人[27]报道,在 60 例非小细胞肺癌(NSCLC)患者的样本中,检测到了 PRMT1 和 CARM1 基因的过表达。Avasarala 等人[28]的一项研究强调,PRMT1 通过上皮间充质转化(EMT)相关转录因子 Twist1 在 R34 位点的甲基化参与 NSCLC 细胞的增殖和转移。Twist1 可以抑制 E-cadherin 从而促进上皮间充质转化,进而使得 NSCLC 肿瘤细胞的迁移和入侵更加有效。因此,通过抑制 PRMT1 能够逆转 Twist1 抑制 E-cadherin 的作用从而发挥治疗 NSCLC 的作用。

### 4.4. 与其他肿瘤的关系

有研究报道[29],在胰腺癌 PANC-1 和 SW1990 细胞中,PRMT1 的下调显著抑制了体外和体内异种移植瘤的增殖和侵袭。然而,PRMT1 过表达对胰腺癌细胞的功能没有影响。Chuang 等人[30]报道,PRMT1 在头颈癌中表达升高,通过腺苷二醛抑制蛋白精氨酸甲基化或 PRMT1 下调,可抑制口腔癌细胞的增殖和迁移。Zhang 等人[31]的研究发现 PRMT1 在胃癌中过表达,并且能够促进胃癌细胞的迁移和侵袭,但是抑制了胃癌细胞的增殖,呈现出了“迁移-增殖二分化”(migration-proliferation dichotomy)的现象。在 SK-N-SH 神经母细胞瘤细胞中, Lee 等人[32]发现 PRMT1 的下调导致生长阻滞和细胞衰老,并且敲除 PRMT1 的 SK-N-SH 细胞中观察到了 p53 和 p53 靶基因在 RNA 和蛋白水平上表达的增加。因此,利用小分子抑制剂靶向 PRMT1 可能逆转某些疾病的状态,这可能会是一种有效的癌症治疗策略。

## 5. PRMT1 抑制剂

近年来已经报道了不少的 PRMT1 抑制剂,包括泛-PRMTs 抑制剂和选择性 PRMT1 抑制剂两大类。

## 5.1. 泛-PRMTs 抑制剂

### 5.1.1. AMI-1

PRMT1 是第一个被发现的 PRMTs 蛋白, 目前还没有人源的 PRMT1 晶体被解析出来, 不过已有大鼠的 PRMT1 晶体已经被解析并用于研究其作用机制及相关抑制剂。

2004 年, Bedford 等人[33]针对一个包含 9000 种不同化学物质的数据库基于 ELISA 的高通量进行筛选, 发现的 9 个化合物(AMI-1-AMI-9)对所测试的 PRMTs (PRMT1、3、4、6)具有亚微摩尔水平的抑制活性。这些化合物对 PRMT1 具有不错的抑制效果, 其  $IC_{50}$  在 0.19~16.29  $\mu\text{M}$  之间, 不过只有化合物 AMI-1 (图 4)和 AMI-8 对测试的 PKMTs 家族无效。通过 GOLD 虚拟对接, Jung 等人[34]发现 AMI-1 的磺酰基与 Lys40、Arg62 和 Arg335 形成静电和氢键作用, 而羟基则与 Glu137 和 Gly86 的主链羰基形成氢键, 表明 AMI-1 可能与共底物结合位点而不是与底物口袋相互作用, 因此是一个 SAM 非竞争性抑制剂。在分子水平上, AMI-1 能够抑制 HeLa 细胞中外源性核仁蛋白 3 (Npl3)和内源性 Sam68 蛋白的甲基化水平, 并抑制 MCF7 细胞中 PRMT1 和 CARM1 对核受体依赖的转录激活作用。此外, AMI-1 可通过在体内抑制细胞蛋白的精氨酸甲基化, 从而调节来自雌激素和雄激素反应元件的核受体调控转录, 并抑制某些激素。Roth 等人[35]将 AMI-1 用于研究 PRMT1 在由抗原引起的慢性肺部炎症(Ag-induced pulmonary inflammation, AIPI)的 E3 大鼠模型中所起的作用, 与 PRMT1 基因敲除的大鼠相似, AMI-1 处理后的 AIPI 大鼠产生环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)和体液免疫反应的能力降低以及粘液分泌和胶原蛋白的产生消失。不过 AMI-1 较差的细胞渗透性限制了其在体内的应用。

Bedford 等人报道的 AMIs (arginine methyltransferase inhibitors)系列化合物尽管并不是选择性 PRMT1 抑制剂, 但是这是首个以 PRMTs 为靶点的小分子化合物, 为后面特异性和非特异性 PRMTs 抑制剂的研发提供了参考。

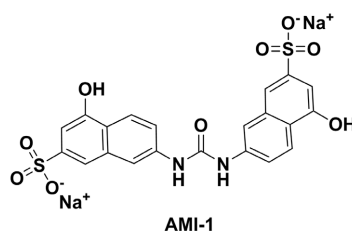


Figure 4. Structure of AMI-1

图 4. AMI-1 结构

### 5.1.2. MS023

受到选择性 PRMT6 抑制剂 EPZ020411 (PRMT6  $IC_{50}$  = 10 nM)和选择性 PRMT4 (CARM1)抑制剂 CMPD-1 (PRMT4  $IC_{50}$  = 30 nM)的启发, Jin 等人[36]保留了 EPZ020411 和 CMPD-1 结构中 PRMT4 和 PRMT6 抑制活性的主要来源和精氨酸类似物的乙二胺侧链, 并用 1,2,3-三唑或吡咯环取代 EPZ020411 的吡啶环, 对其主杂环的电子性质进行研究, 设计并合成了 MS023 (图 5)及其类似物。

差示扫描荧光测定法(DSF)或差分静态光散射(DLS)测试发现 MS023 是 I 型 PRMTs 的选择性抑制剂, 其对 PRMT1、3、4、6、8 的  $IC_{50}$  值分别约为 30、119、83、4、5 nM, 对 II 型和 III 型 PRMTs 无效。在选择性抑制甲基化实验当中, Jin 等人选择了 25 种 PKMTs 和 DNA 甲基化酶(DNMTs)以及 3 种赖氨酸去甲基化酶, 结果表明化合物 MS023 在 10  $\mu\text{M}$  浓度下并不会抑制这些 PKMTs、DNMTs (DNA methyltransferases)和去甲基化酶。此外, MS023 能剂量依赖性抑制 PRMT1 在 MCF7 细胞中催化 H4R3 甲基化

的活性和 PRMT6 在 HEK293 细胞中的过表达[36], 并降低了细胞中精氨酸不对称二甲基化的全身水平, 同时增加了精氨酸单甲基化和对称二甲基化。这些结果表明 MS023 是一个有效的选择性的 I 型 PRMTs 抑制剂。

用药后复发仍然是 MLL 重组(MLL-rearranged, MLL-r)急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)治疗失败的主要原因, Zhu 等人[37]发现, 在 MLL-r ALL 细胞中 PRMT1 水平升高, PRMT1 通过对 FLT3 甲基化促进 ALL 肿瘤的发展与维持, 而抑制 PRMT1 能显著抑制白血病细胞的生长和存活。此外, FLT3 酪氨酸激酶抑制剂 PKC412 与 MS023 联合治疗在人源性小鼠异种移植模型中, 相对于 PKC412 单独治疗增强了 MLL-r ALL 细胞的消除。而在另一篇研究中[38]也提到 FLT3 抑制剂 AC220 联合 MS023 能够显著地抑制 FLT3-ITD+ (FLT3 internal tandem duplication)突变 ALL 细胞的生长, 在 AML 小鼠模型中显示出了不错的疗效。Plotnikov 等人[39]发现 MS023 是一种有效的结肠癌细胞分化诱导因子, 经 MS023 处理后, HT-29 异种移植瘤在裸鼠体内的生长明显延迟, 肿瘤免疫组化显示分化改变。这些发现可能有助于开发基于肿瘤细胞分化机制的临床有效抗癌药物。MS023 在治疗 AML 方面表现出的良好的疗效使其成为一个很有前景的化合物, 可用于后续进一步的研究。

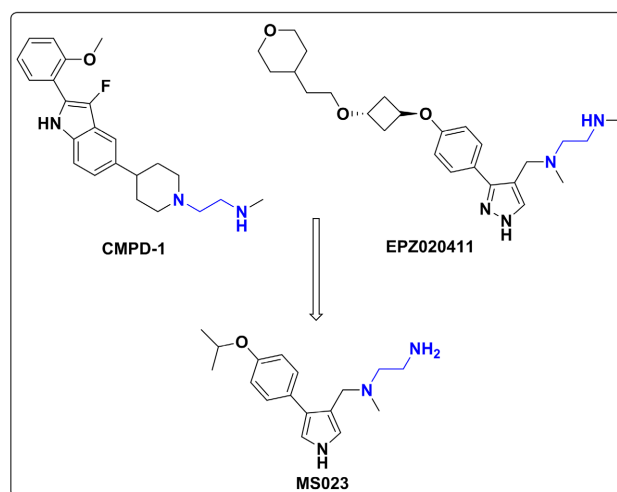


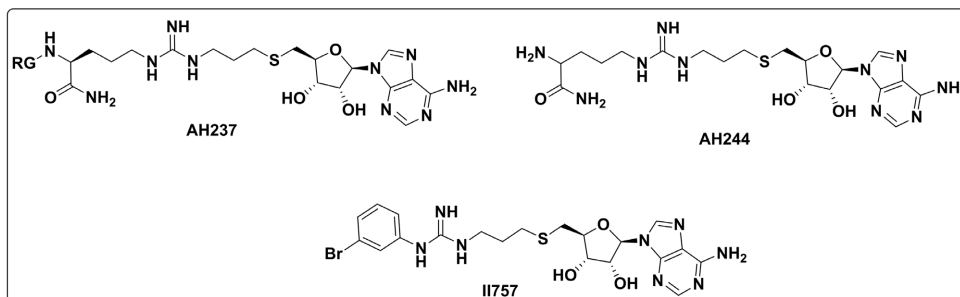
Figure 5. Structure of CMPD-1, EPZ020411, MS023

图 5. CMPD-1、EPZ020411、MS023 的结构

### 5.1.3. II757

AH237 是 Huang 课题组[40]研发的一个高效的 PRMT4/5 双靶点抑制剂, 包含一个 SAM 类似物部分和一个烷基取代胍基的三肽, 其对 PRMT4、5 的  $IC_{50}$  值分别为 2.8 nM 和 0.4 nM, 但是 AH237 较差的细胞渗透性限制了其应用。为了提高化合物的渗透性, Huang 等人将 AH237 衍生物 AH244 中的硫腺苷和胍基保留, 以保持对 PRMTs 的选择性, 同时用脂肪族或芳香基团替换氨基酸部分以保留对 PRMT1 的抑制活性。最后得到了 14 个 AH244 的衍生物[41], 这些化合物在亚微摩尔水平抑制 PRMT1 的活性, 要优于其母体化合物 AH244, 其中活性最好的是 II757 (图 6), 其 PRMT1  $IC_{50}$  为 16.4 nM。此外, II757 对测试的 PRMTs 家族中的 8 个成员都表现出了好的激酶抑制活性,  $IC_{50}$  在 5~555 nM 之间, 其中对 PRMT4 的活性最好,  $IC_{50}$  为 5 nM。在细胞水平方面, 使用 II757 处理 HEK293 细胞 48 小时, 在 10  $\mu$ M 浓度下才显著降低了细胞中 Arg3 (H4R3me2a)的不对称二甲基化。尽管胞内抑制二甲基化的浓度要远高于激酶抑制的浓度, 但 II757 对细胞具有一定的抑制作用。动力学分析显示, II757 是 PRMT1 的 SAM 竞争抑制剂, 这表明它可以与底物 SAM 竞争性结合, 并且 II757 比其他甲基转移酶(如 SETD7、G9a、NTMT1 和 NNMT)

表现出超过 1000 倍的选择性。总而言之, II757 是一个有效的泛-PRMTs 抑制剂, 可以作为 PRMTs 的探针用于 PRMTs 抑制剂的开发研究, 并且对其进一步优化可能得到对单个 PRMTs 家族成员的选择性抑制剂。

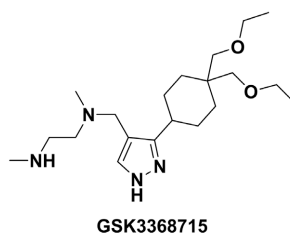


**Figure 6.** Structure of AH237, AH244 and II757

**图 6.** AH237, AH244 及 II757 结构

#### 5.1.4. GSK3368715

GSK3368715 (图 7)是葛兰素史克(GlaxoSmithKline)公司研发的 I 型 PRMTs 的可逆 SAM 非竞争性抑制剂, 可直接结合在 SAM 结合口袋相邻的肽位点。在细胞实验中, GSK3368715 单独用药可以诱导细胞内蛋白底物的甲基化状态实现从 ADMA 到 MMA 和 SDMA 的转变; 与 PRMT5 抑制剂联合使用可减弱 I 型 PRMT 抑制引起的 MMA 和 SDMA 的积累, 并对选择性剪接产生深远的影响, 使得剪接调节因子的活性下降, 从而抑制转录激活, 抑制细胞的生长。GSK3368715 在 12 种肿瘤类型的 249 个癌细胞系和原发性弥漫大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)患者样本中进行了检测[42], GSK3368715 对 50% 以上的癌细胞具有抑制作用, 并且对 DLBCL 患者样本中的抑制率在 80% 以上。此外, GSK3368715 具有良好的耐受性, 在 DLBCL、透明细胞肾癌、三阴性乳腺癌和胰腺腺癌的异种移植小鼠模型中, 其能显著地抑制肿瘤生长。目前, GSK3368715 抑制剂正在进行首次临床试验(NCT03666988), 用于实体瘤和弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者进行对安全性、耐受性和药代动力学性质的评估。



**Figure 7.** Structure of GSK3368715

**图 7.** GSK3368715 结构

虽然这些泛抑制剂的抑制活性比较高, 不过它们对其他 I 型 PRMTs 的高亲和性使得特异性 PRMT1 依赖效应的识别和表征变得困难, 因此如何正确识别和表征 PRMT1 依赖的效应以及降低泛抑制剂的毒性可能是接下来需要考虑的问题。

## 5.2. 选择性 PRMT1 抑制剂

### 5.2.1. TC-E-5003

TC-E-5003 (图 8)是一个选择性的 PRMT1 抑制剂(PRMT1  $IC_{50}$  = 1.5  $\mu$ M)。Shen 等人[43]发现, 用



TC-E-5003 处理细胞, 能降低细胞内的甲基化水平, 导致肌肉分化减少, 与线粒体生物合成和呼吸功能减弱一致。在 Kim 等人[44]的研究中, TC-E-5003 表现出了良好的抗炎作用, 其能够显著降低脂多糖(LPS)诱导的 NO 产生( $p < 0.01$ )和炎症因子(如 iNOS、COX-2、肿瘤坏死因子- $\alpha$  和白介素 IL-6 等)的表达( $p < 0.05$ ), 并且 TC-E-5003 下调核因子 NF- $\kappa$ B 亚基 p65 和 p50 以及活化蛋白-1 转录因子 c-Jun 的核易位。此外, 在 NF- $\kappa$ B 信号通路中, TC-E-5003 抑制了 I $\kappa$ B $\alpha$  和 Src 的活化, 从而发挥抗炎的作用。体外实验表明, TE-C-5003 对肺癌(A549  $IC_{50} = 0.7022 \mu\text{M}$ , NCL-H1299  $IC_{50} = 0.6844 \mu\text{M}$ )和乳腺癌(MCF-7  $IC_{50} = 0.4128 \mu\text{M}$ , MDA-MB-231  $IC_{50} = 0.5965 \mu\text{M}$ )具有良好的抗肿瘤作用。动物模型抗肿瘤实验表明, 负载 TC-E-5003 的 INEI 给药系统[45]能提高其抗肿瘤作用, 对异种移植人肺癌细胞生长的平均抑制率在 70% 左右。不过相对泛抑制剂来说, TC-E-5003 的蛋白抑制活性相对较差, 未来可能需要进一步改善提高其抑制活性。

### 5.2.2. C-7280948

Heinke 等人[46]利用药效团模型对 Chembridge 数据库筛选得到了选择性 PRMT1 抑制剂 C-7280948 (图 8)。研究表明, C-7280948 通过与底物结合口袋相互作用来抑制 PRMT1 的活性, 其  $IC_{50}$  值为  $12.8 \mu\text{M}$ 。Yin 等的研究表明 C-7280948 能够抑制结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 同时能够降低 KM12 细胞和 HCT8 细胞中 NONO 非对称二甲基精氨酸的水平。目前对于抑制剂 C-7280948 报道的比较少, 因此需要后续进一步的研究来探讨其在炎症、癌症等疾病中的作用。

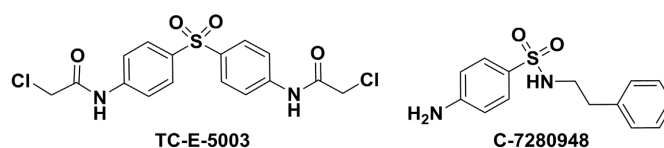


Figure 8. Structure of TC-E-5003 and C-7280948

图 8. TC-E-5003 和 C-7280948 结构

## 6. 总结与展望

PRMT1 是最主要的 I 型 PRMTs, 在体内其活性受多种调控机制的影响, 并且在多种肿瘤疾病的发生发展中起着非常重要的作用。开发靶向 PRMT1 的抑制剂将有助于达到治疗炎症、癌症、心血管疾病等多种疾病的目的。尽管目前为止已研究报道了一些 PRMT1 抑制剂, 但数量相对较少, PK 性质较差, 作用机制以及结合位点等尚不明确, 并且目前仅有 GSK3368715 这一个抑制剂进入 I 期临床, 其他更多的还是处于临床前和生物学测试阶段。此外, 缺少 hPRMT1 晶体结构的解析也为开发 PRMT1 抑制剂带来了困难和挑战。因此, 深入研究 PRMT1 在疾病中的作用机制以及成功解析出 hPRMT1 晶体结构将有助于开发更加高效的、更高选择性的 PRMT1 抑制剂。

## 参考文献

- [1] Zhang, G. and Pradhan, S. (2014) Mammalian Epigenetic Mechanisms. *IUBMB Life*, **66**, 240-256. <https://doi.org/10.1002/iub.1264>
- [2] Pal, S. and Sif, S. (2007) Interplay between Chromatin Remodelers and Protein Arginine Methyltransferases. *Journal of Cellular Physiology*, **213**, 306-315. <https://doi.org/10.1002/jcp.21180>
- [3] Lin, W., Gary, J.D., Yang, M.C., et al. (1996) The Mammalian Immediate-Early TIS21 Protein and the Leukemia-Associated BTG1 Protein Interact with a Protein-Arginine N-Methyltransferase. *Journal of Biological Chemistry*, **271**, 15034-15044. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.25.15034>
- [4] Bannister, A.J. and Kouzarides, T. (2011) Regulation of Chromatin by Histone Modifications. *Cell Research*, **21**, 381-395. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.22>

- [5] Hu, H., Qian, K., Zheng, Y.G., *et al.* (2016) Small Molecule Inhibitors of Protein Arginine Methyltransferases. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, **25**, 335-358. <https://doi.org/10.1517/13543784.2016.1144747>
- [6] Krause, C.D., Yang, Z.H., Kim, Y.S., *et al.* (2007) Protein Arginine Methyltransferases: Evolution and Assessment of Their Pharmacological and Therapeutic Potential. *Pharmacology & Therapeutics*, **113**, 50-87. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.06.007>
- [7] Hadjikyriacou, A., Yang, Y.Z., Espejo, A., *et al.* (2015) Unique Features of Human Protein Arginine Methyltransferase 9 (PRMT9) and Its Substrate RNA Splicing Factor SF3B2. *Journal of Biological Chemistry*, **290**, 16723-16743. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.659433>
- [8] Qi, C., Chang, J., Zhu, Y.W., *et al.* (2002) Identification of Protein Arginine Methyltransferase 2 as a Coactivator for Estrogen Receptor Alpha. *Journal of Biological Chemistry*, **277**, 28624-28630. <https://doi.org/10.1074/jbc.M201053200>
- [9] Bachand, F. and Silver, P.A. (2004) PRMT3 Is a Ribosomal Protein Methyltransferase That Affects the Cellular Levels of Ribosomal Subunits. *The EMBO Journal*, **23**, 2641-2650. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600265>
- [10] Naeem, H., Cheng, D.H., Zhao, Q.S., *et al.* (2007) The Activity and Stability of the Transcriptional Coactivator p/CIP/SRC-3 Are Regulated by CARM1-Dependent Methylation. *Molecular and Cellular Biology*, **27**, 120-134. <https://doi.org/10.1128/MCB.00815-06>
- [11] Wilczek, C., Chitta, R., Woo, E., *et al.* (2011) Protein Arginine Methyltransferase Prmt5-Mep50 Methylates Histones H2A and H4 and the Histone Chaperone Nucleoplasmin in *Xenopus laevis* Eggs. *Journal of Biological Chemistry*, **286**, 42221-42231. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.303677>
- [12] Bedford, M.T. (2007) Arginine Methylation at a Glance. *Journal of Cell Science*, **120**, 4243-4246. <https://doi.org/10.1242/jcs.019885>
- [13] Tewary, S.K., Zheng, Y.G. and Ho, M.C. (2019) Protein Arginine Methyltransferases: Insights into the Enzyme Structure and Mechanism at the Atomic Level. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **76**, 2917-2932. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03145-x>
- [14] Pawlak, M.R., Scherer, C.A., Chen, J., *et al.* (2000) Arginine N-methyltransferase 1 Is Required for Early Post-Implantation Mouse Development, but Cells Deficient in the Enzyme Are Viable. *Molecular and Cellular Biology*, **20**, 4859-4869. <https://doi.org/10.1128/MCB.20.13.4859-4869.2000>
- [15] Thiebaut, C., Eve, L., Poulard, C., *et al.* (2021) Structure, Activity, and Function of PRMT1. *Life*, **11**, 1147. <https://doi.org/10.3390/life11111147>
- [16] Côté, J., Boisvert, F.M., Boulanger, M.C., *et al.* (2003) Sam68 RNA Binding Protein Is an *in Vivo* Substrate for Protein Arginine N-methyltransferase 1. *Molecular Biology of the Cell*, **14**, 274-287. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-08-0484>
- [17] Déry, U., Coulombe, Y., Rodrigue, A., *et al.* (2008) A Glycine-Arginine Domain in Control of the Human MRE11 DNA Repair Protein. *Molecular and Cellular Biology*, **28**, 3058. <https://doi.org/10.1128/MCB.02025-07>
- [18] Le Romancer, M., Treilleux, I., Leconte, N., *et al.* (2008) Regulation of Estrogen Rapid Signaling through Arginine Methylation by PRMT1. *Molecular Cell*, **31**, 212-221. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.05.025>
- [19] Liu, M., Hua, W., Chen, C., *et al.* (2020) The MKK-Dependent Phosphorylation of p38 $\alpha$  Is Augmented by Arginine Methylation on arg49/arg149 during Erythroid Differentiation. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 3546. <https://doi.org/10.3390/ijms21103546>
- [20] Mathioudaki, K., Scorilas, A., Ardavanis, A., *et al.* (2011) Clinical Evaluation of PRMT1 Gene Expression in Breast Cancer. *Tumor Biology*, **32**, 575-582. <https://doi.org/10.1007/s13277-010-0153-2>
- [21] Poulard, C., Treilleux, I., Lavergne, E., *et al.* (2012) Activation of Rapid Oestrogen Signalling in Aggressive Human Breast Cancer. *EMBO Molecular Medicine*, **4**, 1200-1213. <https://doi.org/10.1002/emmm.201201615>
- [22] Nakai, K., Xia, W., Liao, H., *et al.* (2018) The Role of PRMT1 in EGFR Methylation and Signaling in MDA-MB-468 Triple-Negative Breast Cancer Cells. *Breast Cancer*, **25**, 74-80. <https://doi.org/10.1007/s12282-017-0790-z>
- [23] Liu, L.M., Sun, W.Z., Fan, X.Z., *et al.* (2019) Methylation of C/EBP $\alpha$  by PRMT1 Inhibits Its Tumor-Suppressive Function in Breast Cancer. *Cancer Research*, **79**, 2865-2877. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-3211>
- [24] Mathioudaki, K., Papadokostopoulou, A., Scorilas, A., *et al.* (2008) The PRMT1 Gene Expression Pattern in Colon Cancer. *British Journal of Cancer*, **99**, 2094-2099. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604807>
- [25] Yao, B., Gui, T., Zeng, X., *et al.* (2021) PRMT1-Mediated H4R3me2a Recruits SMARCA4 to Promote Colorectal Cancer Progression by Enhancing EGFR Signaling. *Genome Medicine*, **13**, 1-21. <https://doi.org/10.1186/s13073-021-00871-5>
- [26] Liao, H.W., Hsu, J.M., Xia, W., *et al.* (2015) PRMT1-Mediated Methylation of the EGF Receptor Regulates Signaling and Cetuximab Response. *Journal of Clinical Investigation*, **125**, 4529-4543. <https://doi.org/10.1172/JCI82826>

- [27] Elakoum, R., Gauchotte, G., Oussalah, A., *et al.* (2014) CARM1 and PRMT1 Are Dysregulated in Lung Cancer without Hierarchical Features. *Biochimie*, **97**, 210-218. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.10.021>
- [28] Avasarala, S., Van Scoyk, M., Kumar, M., *et al.* (2015) PRMT1 Is a Novel Regulator of Epithelial-Mesenchymal-Transition in Non-Small Cell Lung Cancer. *Journal of Biological Chemistry*, **290**, 13479-13489. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.636050>
- [29] Lin, Z.B., Chen, Y., Lin, Z.X., *et al.* (2018) Overexpressing PRMT1 Inhibits Proliferation and Invasion in Pancreatic Cancer by Inverse Correlation of ZEB1. *IUBMB Life*, **70**, 1032-1039. <https://doi.org/10.1002/iub.1917>
- [30] Chuang, C.Y., Chang, C.P., Lee, Y.J., *et al.* (2017) PRMT1 Expression Is Elevated in Head and Neck Cancer and Inhibition of Protein Arginine Methylation by Adenosine Dialdehyde or PRMT1 Knockdown Downregulates Proliferation and Migration of Oral Cancer Cells. *Oncology Reports*, **38**, 1115-1123. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5737>
- [31] Zhang, Y.L., Wang, D.W., Zhang, M.T., *et al.* (2018) Protein Arginine Methyltransferase 1 Coordinates the Epithelial-Mesenchymal Transition/Proliferation Dichotomy in Gastric Cancer Cells. *Experimental Cell Research*, **362**, 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.10.035>
- [32] Lee, Y.J., Chang, W.W., Chang, C.P., *et al.* (2019) Downregulation of PRMT1 Promotes the Senescence and Migration of a Non-MYC Amplified Neuroblastoma SK-N-SH Cells. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 1771. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38394-6>
- [33] Cheng, D., Yadav, N., King, R.W., *et al.* (2004) Small Molecule Regulators of Protein Arginine Methyltransferases. *Journal of Biological Chemistry*, **279**, 23892-23899. <https://doi.org/10.1074/jbc.M401853200>
- [34] Spannhoff, A., Heinke, R., Jung, M., *et al.* (2007) Target-Based Approach to Inhibitors of Histone Arginine Methyltransferases. *Journal of Medicinal Chemistry*, **50**, 2319-2325. <https://doi.org/10.1021/jm061250e>
- [35] Sun, Q., Liu, L., Roth, M., *et al.* (2015) PRMT1 Upregulated by Epithelial Proinflammatory Cytokines Participates in COX2 Expression in Fibroblasts and Chronic Antigen-Induced Pulmonary Inflammation. *The Journal of Immunology*, **195**, 298-306. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402465>
- [36] Eram, M.S., Shen, Y.D., Szewczyk, M.M., *et al.* (2016) A Potent, Selective, and Cell-Active Inhibitor of Human Type I Protein Arginine Methyltransferases. *ACS Chemical Biology*, **11**, 772-781. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.5b00839>
- [37] Zhu, Y.H., He, X., Dong, H.J., *et al.* (2019) Targeting PRMT1-Mediated FLT3 Methylation Disrupts Maintenance of MLL-Rearranged Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*, **134**, 1257-1268. <https://doi.org/10.1182/blood.2019002457>
- [38] He, X., Zhu, Y.H., Lin, Y.C., *et al.* (2019) PRMT1-Mediated FLT3 Arginine Methylation Promotes Maintenance of FLT3-ITD+ Acute Myeloid Leukemia. *Blood*, **134**, 548-560. <https://doi.org/10.1182/blood.2019001282>
- [39] Plotnikov, A., Kozer, N., Cohen, G., *et al.* (2020) PRMT1 Inhibition Induces Differentiation of Colon Cancer Cells. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 20030. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77028-8>
- [40] Al-Hamashi, A.A., Chen, D., Deng, Y., *et al.* (2021) Discovery of a Potent and Dual-Selective Bisubstrate Inhibitor for Protein Arginine Methyltransferase 4/5. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **11**, 2709-2718. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.10.013>
- [41] Iyamu, I.D., Al-Hamashi, A.A. and Huang, R. (2021) A Pan-Inhibitor for Protein Arginine Methyltransferase Family Enzymes. *Biomolecules*, **11**, 854. <https://doi.org/10.3390/biom11060854>
- [42] Fedoriw, A., Rajapurkar, S.R., O'Brien, S., *et al.* (2019) Anti-Tumor Activity of the Type I PRMT Inhibitor, GSK3368715, Synergizes with PRMT5 Inhibition through MTAP Loss. *Cancer Cell*, **36**, 100-114. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.05.014>
- [43] Shen, N.Y., Ng, S.Y., Toepp, S.L. and Ljubicic, V. (2018) Protein Arginine Methyltransferase Expression and Activity during Myogenesis. *Bioscience Reports*, **38**, BSR20171533. <https://doi.org/10.1042/BSR20171533>
- [44] Kim, E., Jang, J., Park, J.G., *et al.* (2020) Protein Arginine Methyltransferase 1 (PRMT1) Selective Inhibitor, TC-E 5003, Has Anti-Inflammatory Properties in TLR4 Signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 3058. <https://doi.org/10.3390/ijms21093058>
- [45] Zhang, P.C., Tao, H., Yu, L.Y., *et al.* (2020) Developing Protein Arginine Methyltransferase 1 (PRMT1) Inhibitor TC-E-5003 as an Antitumor Drug Using INEI Drug Delivery Systems. *Drug Delivery*, **27**, 491-501. <https://doi.org/10.1080/10717544.2020.1745327>
- [46] Heinke, R., Spannhoff, A., Meier, R., *et al.* (2009) Virtual Screening and Biological Characterization of Novel Histone Arginine Methyltransferase PRMT1 Inhibitors. *ChemMedChem*, **4**, 69-77. <https://doi.org/10.1002/cmdc.200800301>