

# JMJD3在胶质瘤发生发展中的作用及机制研究

汇报人：李侠

导师：王哲教授

- 胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤
- 发病率: 5/10万
- 男女: 1.5:1

# WHO胶质瘤分级与分类

WHO 2007版

•WHO 分级：I、II、III和IV

•WHO 分类：9类，30余种

➤ **星形细胞肿瘤**

- ✓ 毛细胞型星形细胞瘤（毛黏星）
- ✓ 多形性黄色星形细胞瘤
- ✓ 弥漫型星形细胞瘤
- ✓ 间变型星形细胞瘤
- ✓ 胶质母细胞瘤
- ✓ 大脑胶质瘤病

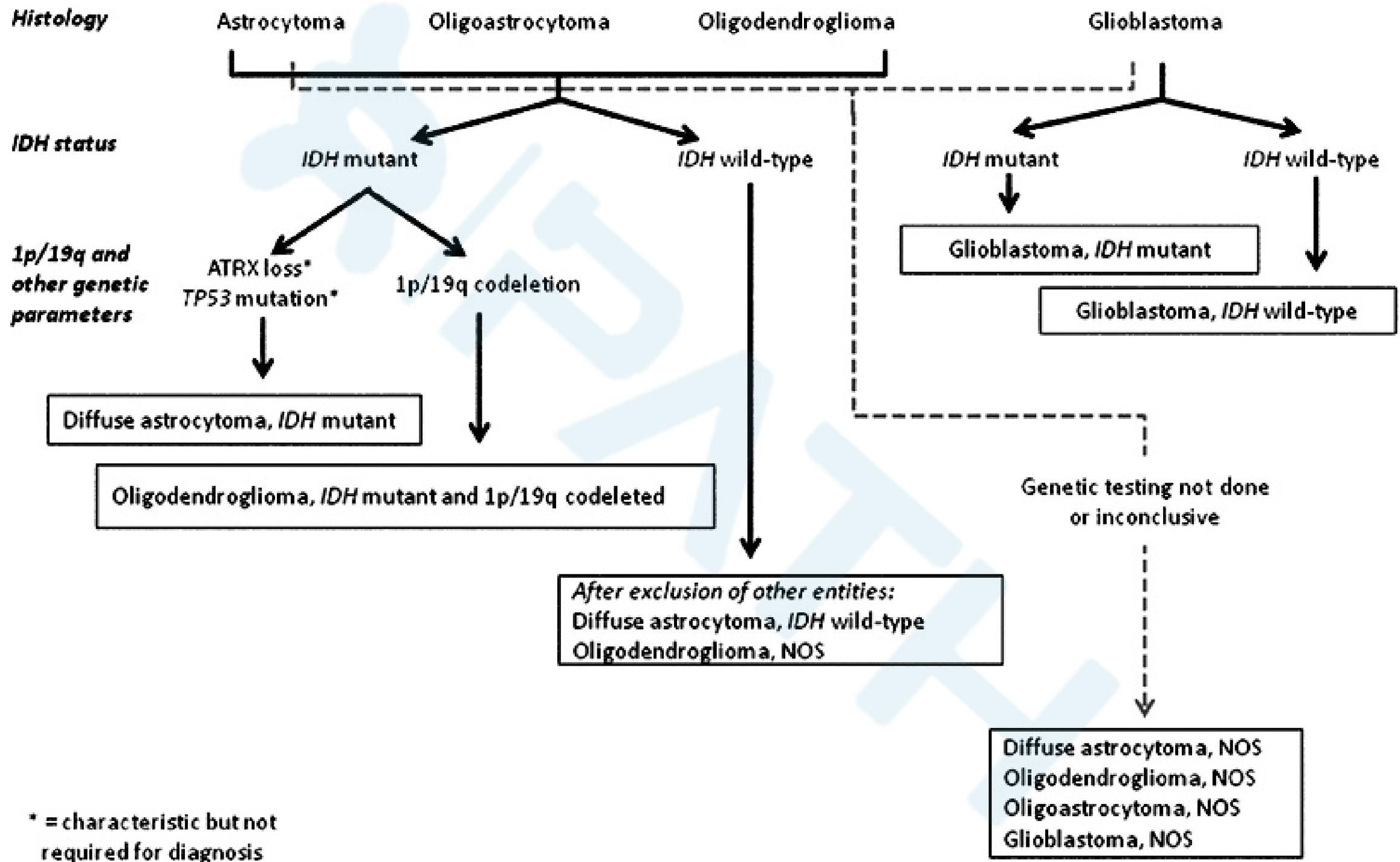
➤ **少突胶质细胞肿瘤**

- ✓ 少突胶质细胞瘤
- ✓ 间变型少突胶质细胞瘤
- ✓ 少突星形胶质细胞瘤
- ✓ 间变型少突星形胶质瘤细胞瘤

➤ **其他神经上皮肿瘤**

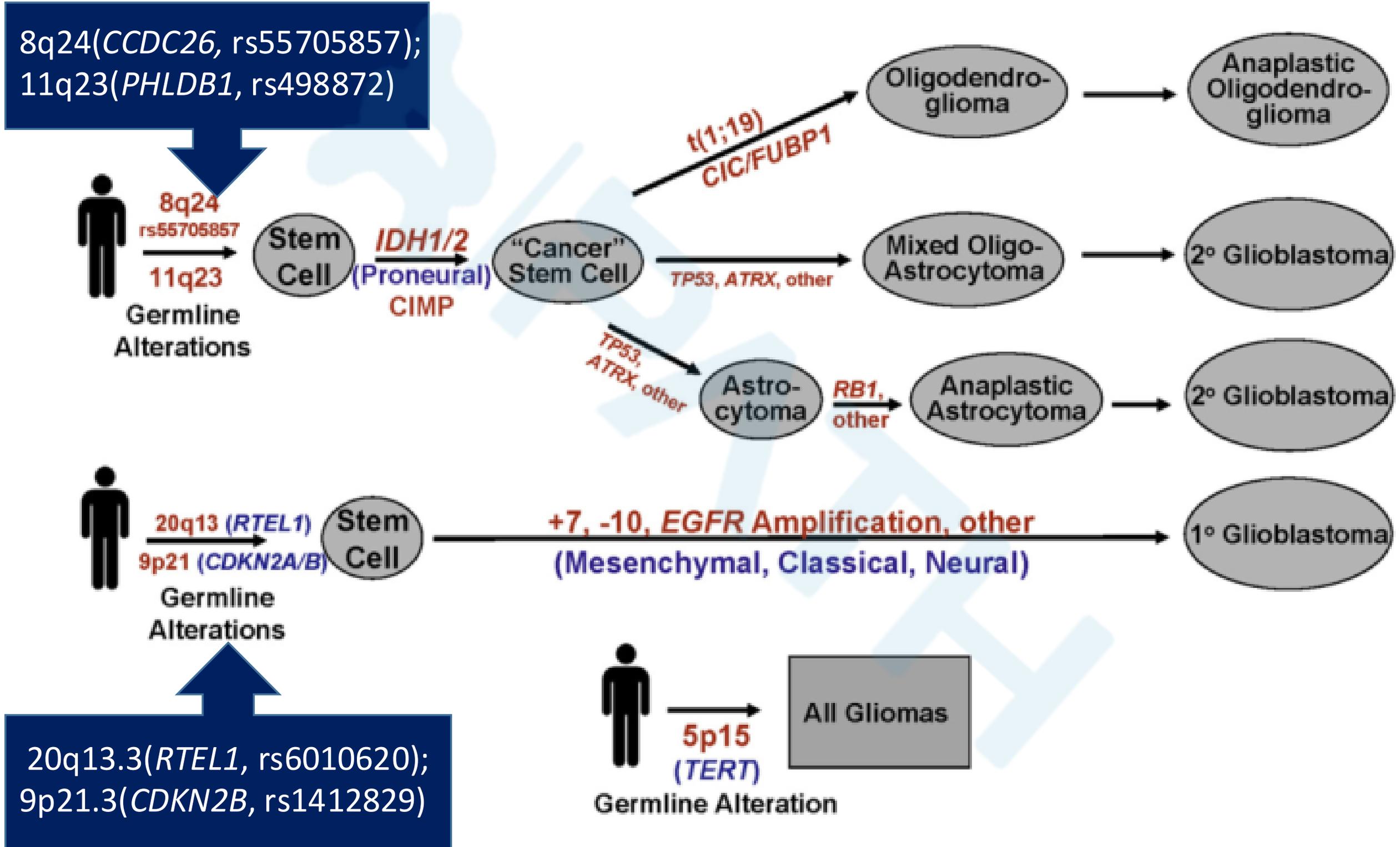
- ✓ 星形母细胞瘤
- ✓ 第三脑室脊索瘤样胶质瘤
- ✓ 血管中心性胶质瘤

# 胶质瘤分子分型



Louis, D. N. et al., The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. ACTA NEUROPATHOL 131 803 (2016)

# 胶质瘤发生的通路图



# 胶质瘤分子分型相关的检测

- 1p/19q共缺失
- IDH突变
- ATRX缺失/TP53突变
- CIC/FUBP1突变
- H3 K27M突变--弥漫型中线胶质瘤
- RELA基因融合--室管膜瘤
- Braf-KIAA1549基因融合—毛细胞型星形细胞瘤
- Braf (V600E) 突变—PXA
- TERT启动子突变—少突胶质细胞瘤



## 2007版

### ➤ 星形细胞肿瘤

- ✓ 毛细胞型星形细胞瘤（毛黏星）
- ✓ 多形性黄色星形细胞瘤
- ✓ 弥漫型星形细胞瘤
- ✓ 间变型星形细胞瘤
- ✓ 胶质母细胞瘤
- ✓ ~~大脑海质瘤病~~

### ➤ 少突胶质细胞肿瘤

- ✓ 少突胶质细胞瘤
- ✓ 间变型少突胶质细胞瘤
- ✓ 少突星形胶质细胞瘤
- ✓ 间变型少突星形胶质瘤细胞瘤

### ➤ 其他神经上皮肿瘤

- ✓ 星形母细胞瘤
- ✓ 第三脑室脊索瘤样胶质瘤
- ✓ 血管中心性胶质瘤

## 2016版

### ➤ 弥漫星形细胞和少突胶质细胞肿瘤

- ✓ 弥漫型星形细胞瘤 (IDH突变、IDH野生、NOS)
- ✓ 间变型星形细胞瘤 (IDH突变、IDH野生、NOS)
- ✓ 胶质母细胞瘤 (IDH突变、IDH野生、NOS)
- ✓ 弥漫中线胶质瘤，H3 K27M突变
- ✓ 少突胶质瘤 (IDH突变与1p/19q缺失，NOS)
- ✓ 间变型少突胶质瘤 (IDH突变伴1p/19q缺失，NOS)
- 少突星形胶质细胞瘤，NOS
- 间变型少突星形胶质细胞瘤，NOS

### ➤ 其他星形细胞肿瘤

- ✓ 毛细胞型星形细胞瘤（毛黏星）
- ✓ 室管膜下巨细胞星形细胞瘤（SEGA）TSC
- ✓ 多形性黄色星形细胞瘤
- 间变型多形性黄色星形细胞瘤

### ➤ 其他胶质瘤

- 第三脑室脊索瘤样胶质瘤
- 血管中心性胶质瘤
- 星形母细胞瘤

## 2007版

### ➤ 髓母细胞瘤

- ✓ 髓母细胞瘤，经典型
- ✓ 促纤维增生/结节型
- ✓ 广泛结节形成型
- ✓ 间变型
- ✓ 大细胞型

## 2016版

### ➤ 髓母细胞瘤

### ➤ 髓母细胞瘤，NOS

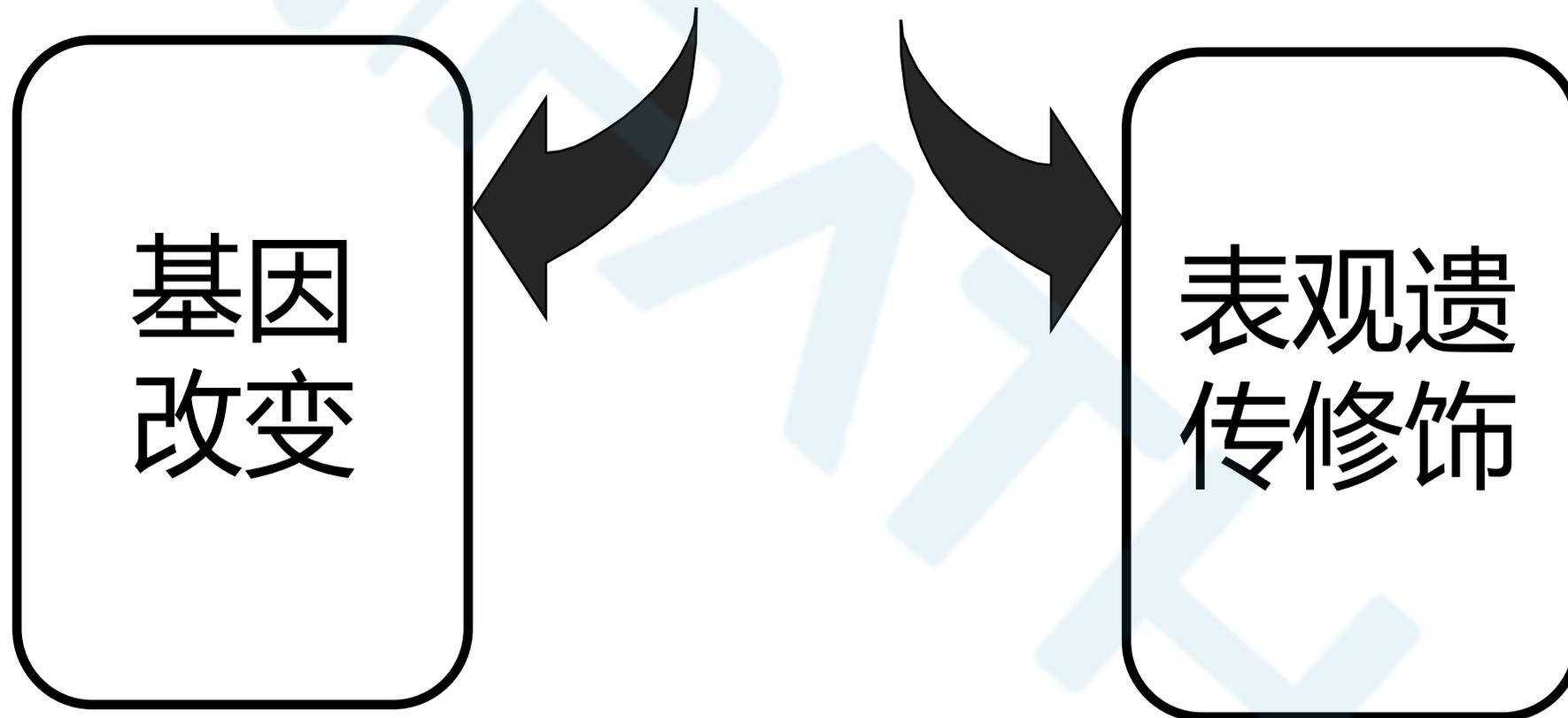
### ➤ 髓母细胞瘤，遗传学分型

- ✓ 髓母细胞瘤，WNT激活型
- ✓ 髓母细胞瘤，SHH激活型与TP53突变
- ✓ 髓母细胞瘤，SHH激活型与TP53野生
- ✓ 髓母细胞瘤，非WNT/非SHH型

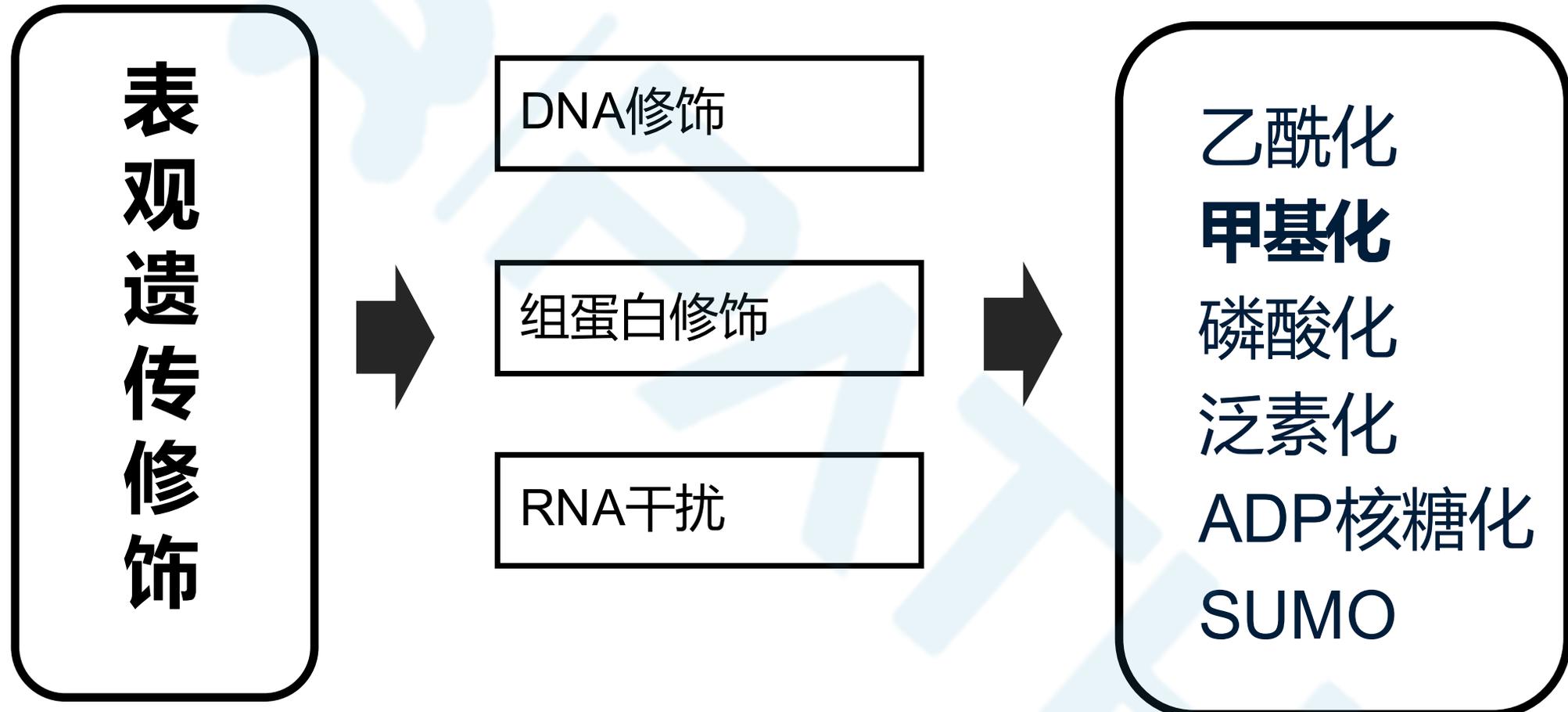
### ➤ 髓母细胞瘤，组织分型

- ✓ 髓母细胞瘤，经典型
- ✓ 促纤维增生/结节型
- ✓ 广泛结节形成型
- ✓ 大细胞/间变型

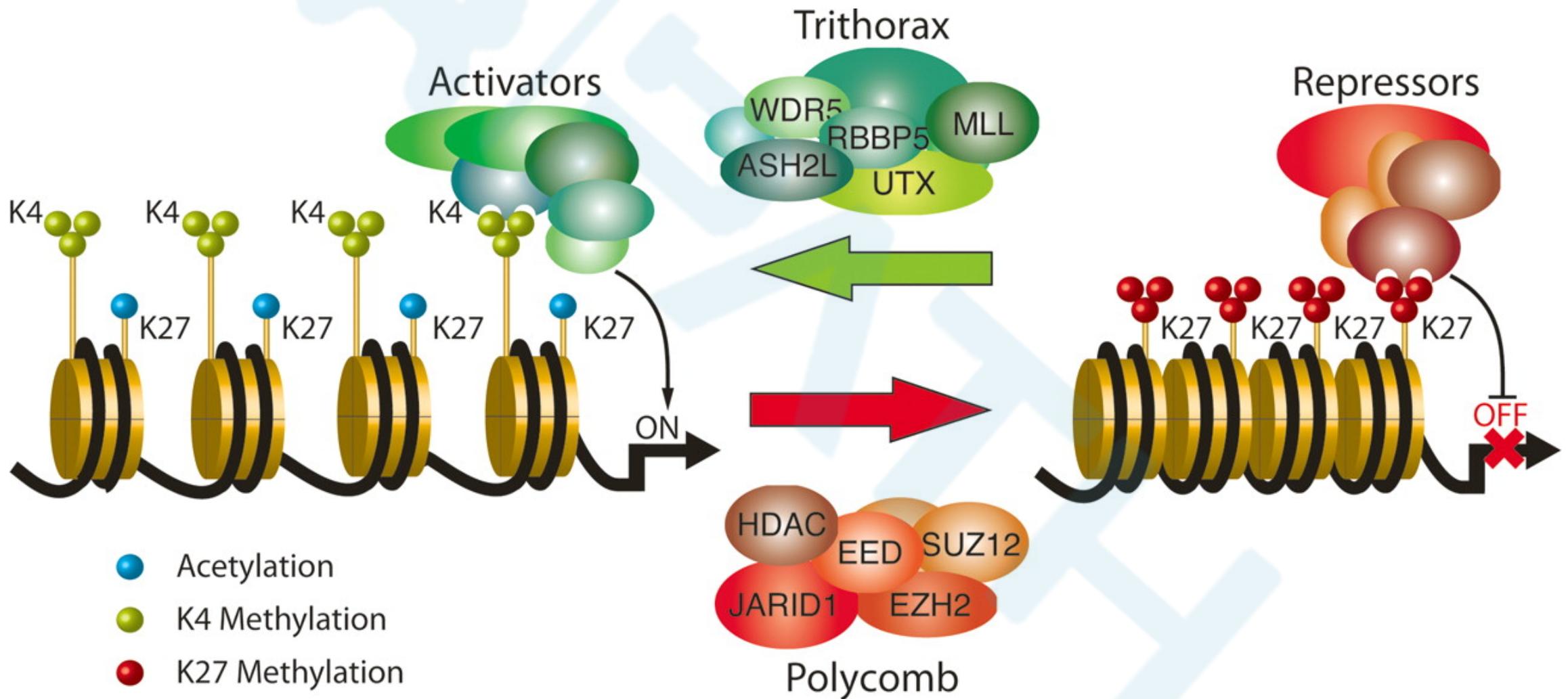
## 胶质瘤发生发展的机制



# 表观遗传学修饰



# 组蛋白甲基化修饰

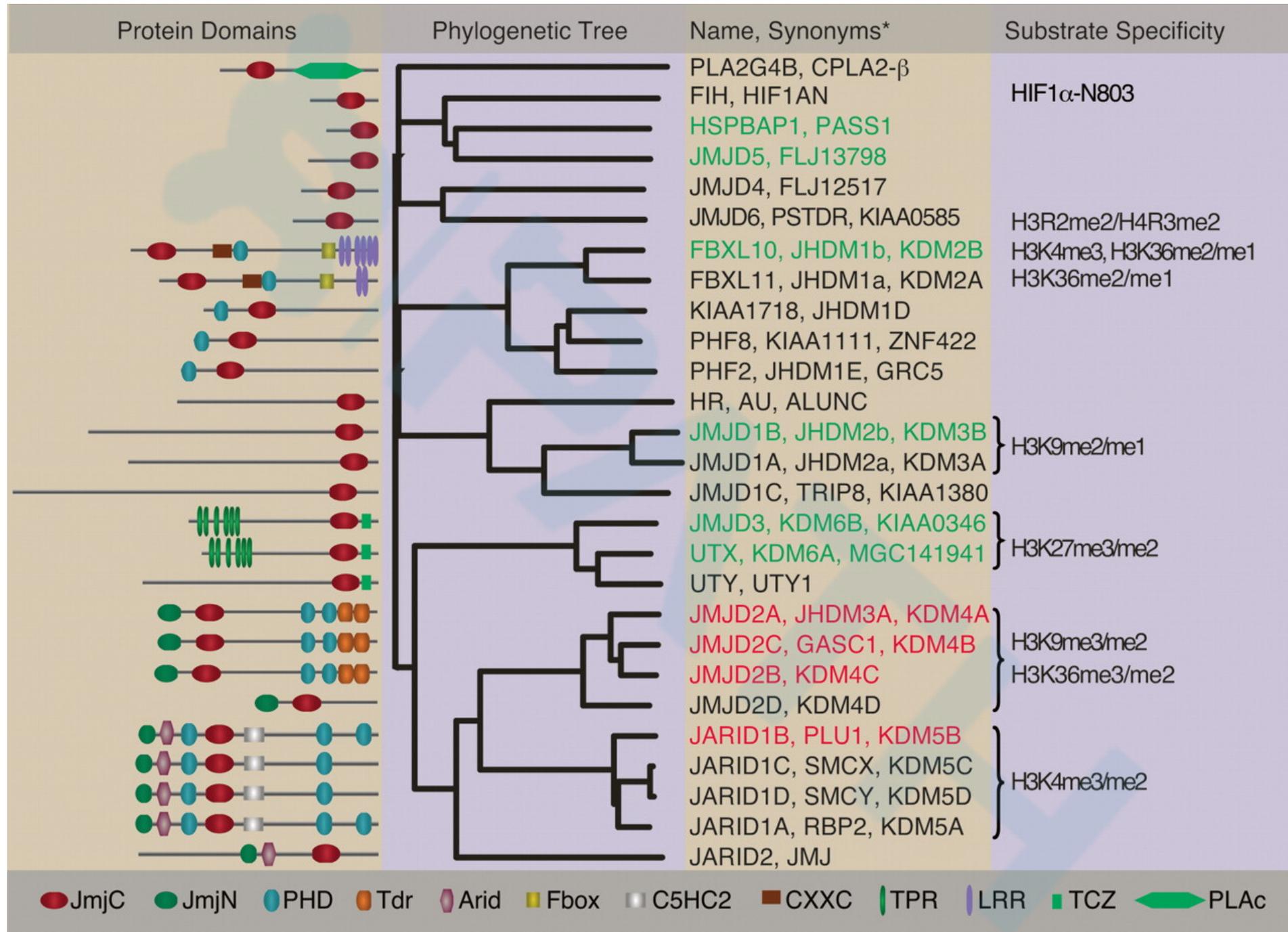


# 组蛋白甲基化修饰

**转录激活**：H3K4、H3K36、H3K79

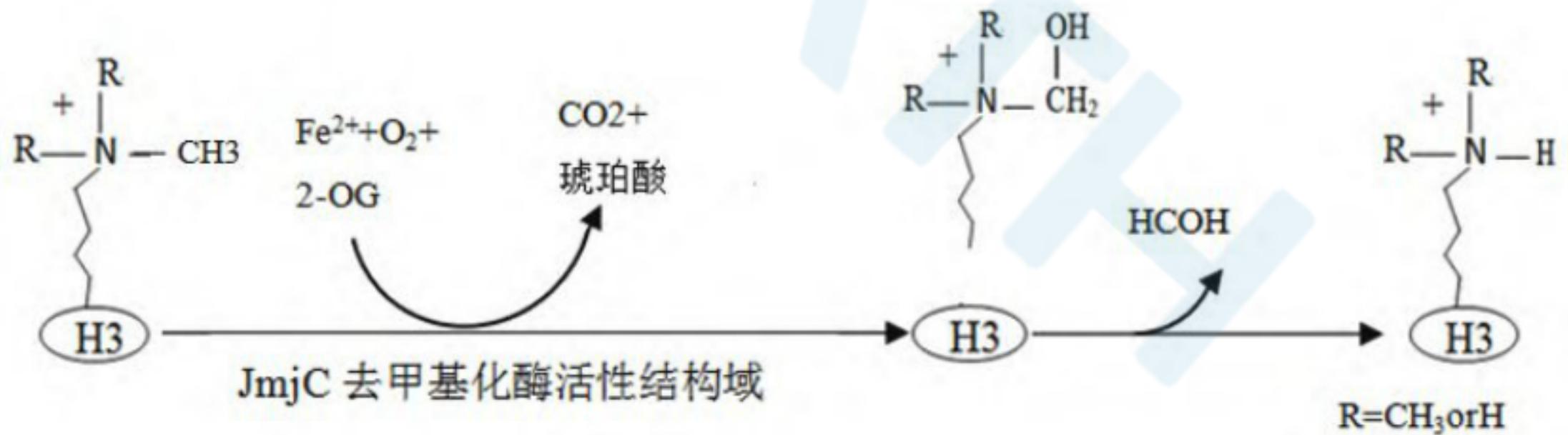
**转录抑制**：H4K20、H3K9、**H3K27**

# 组蛋白去甲基化酶



Cloos P A et al. Genes Dev. 2008;22:1115-1140

Chr 17

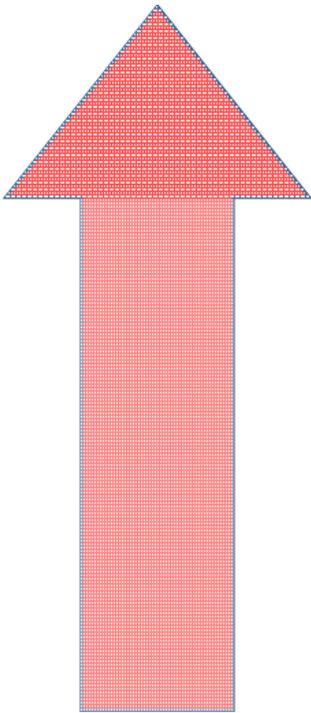


# JMJD3与肿瘤

肺癌  
结肠癌  
胰腺癌



乳腺癌  
肾细胞癌  
前列腺癌  
恶性间皮瘤



抑癌 & 促癌



- 抑制胶质母细胞瘤干细胞的生长和神经球形成。
- 胶质母细胞瘤肿瘤干细胞分化时，JMJD3 表达水平升高。
- JMJD3在胶质瘤中的表达较瘤旁脑组织中低

- JMJD3在胶质瘤发生发展中的作用？
- JMJD3表达下调的分子机制？

## **JMJD3在人体正常组织和胶质瘤中的表达及与 临床病理特征和患者预后的关系**

## ★ 组织芯片和病例

正常组织组合芯片FDA999d

胶质瘤病例 152例

## ★ 电话随访

存活时间（首次确诊至最后随访/死亡时间）

## ★ 免疫组织化学染色

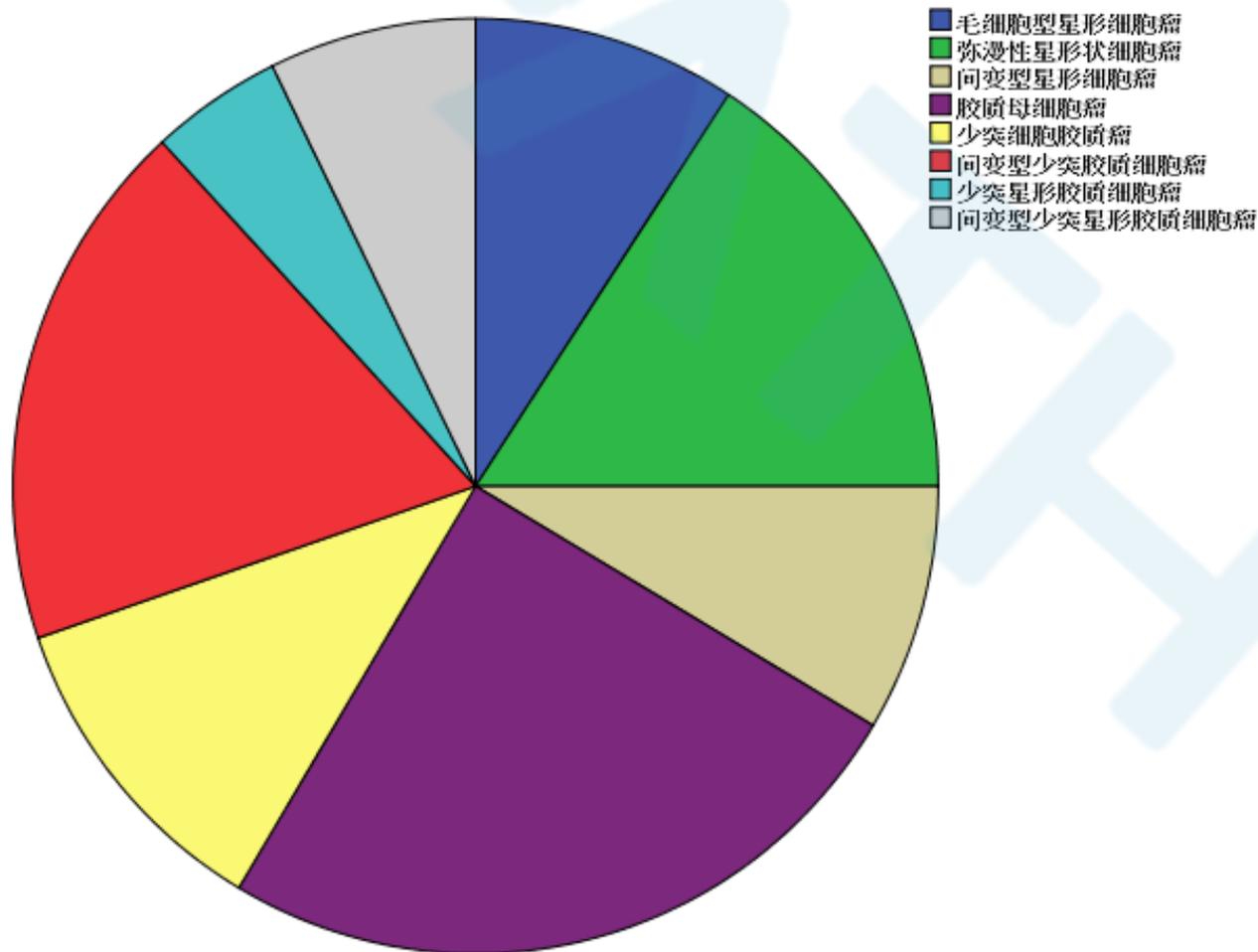
## ★ 统计学方法

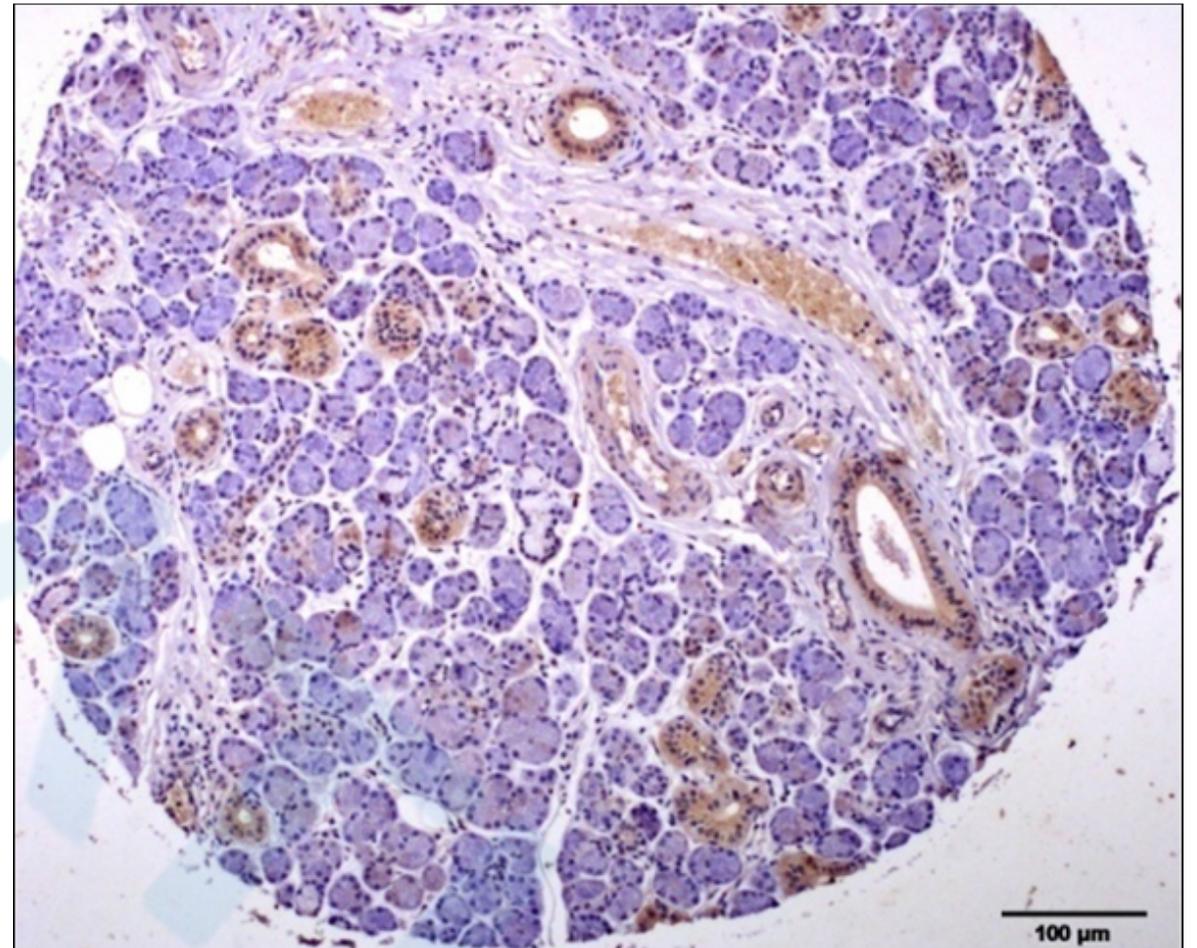
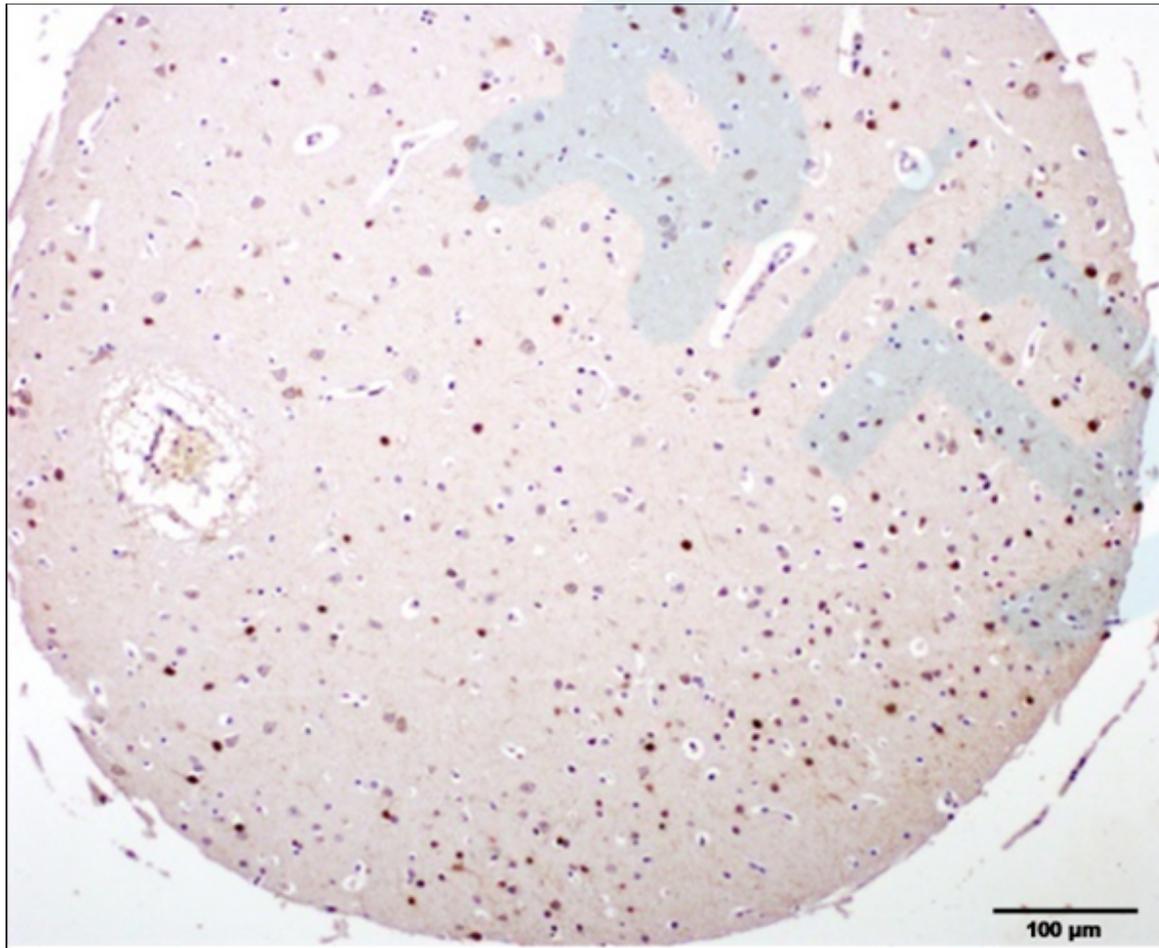
Kaplan-meier法

Cox多因素分析

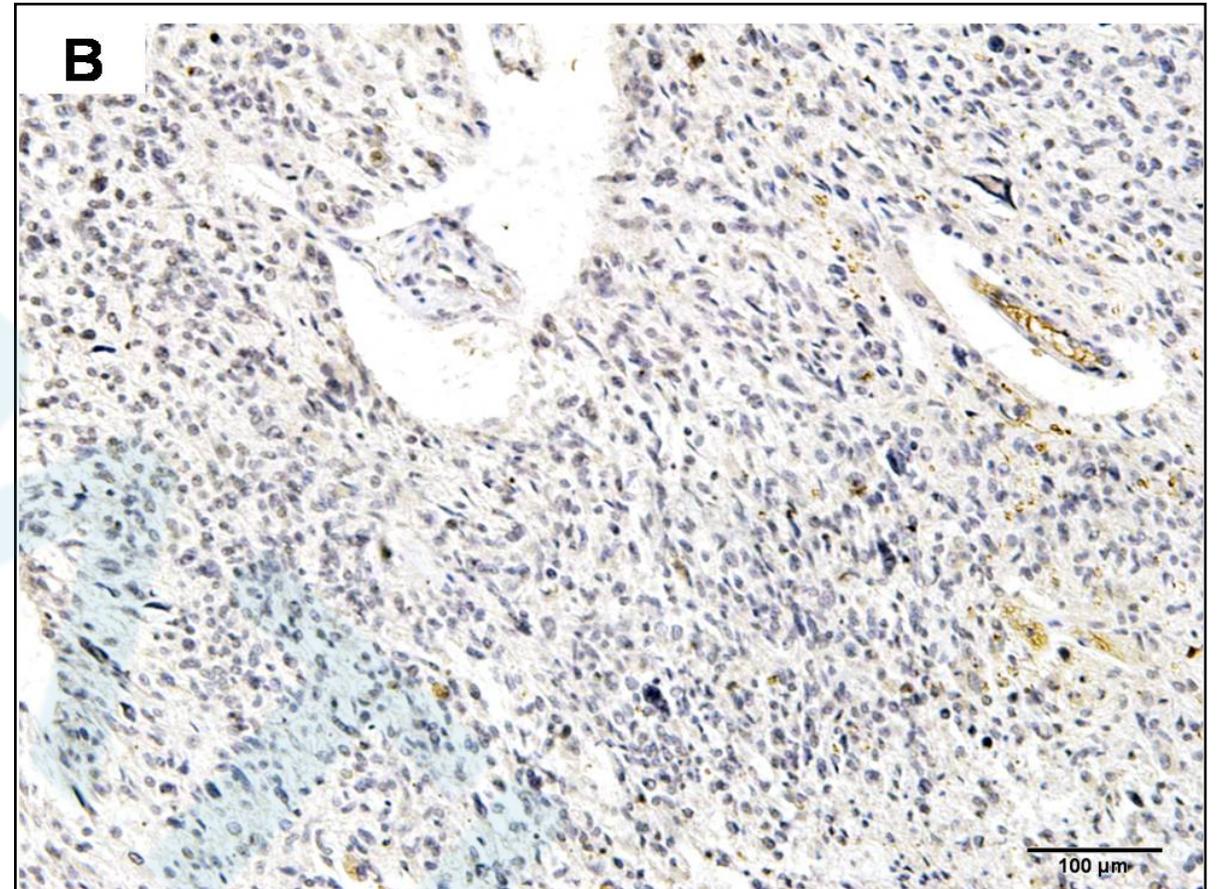
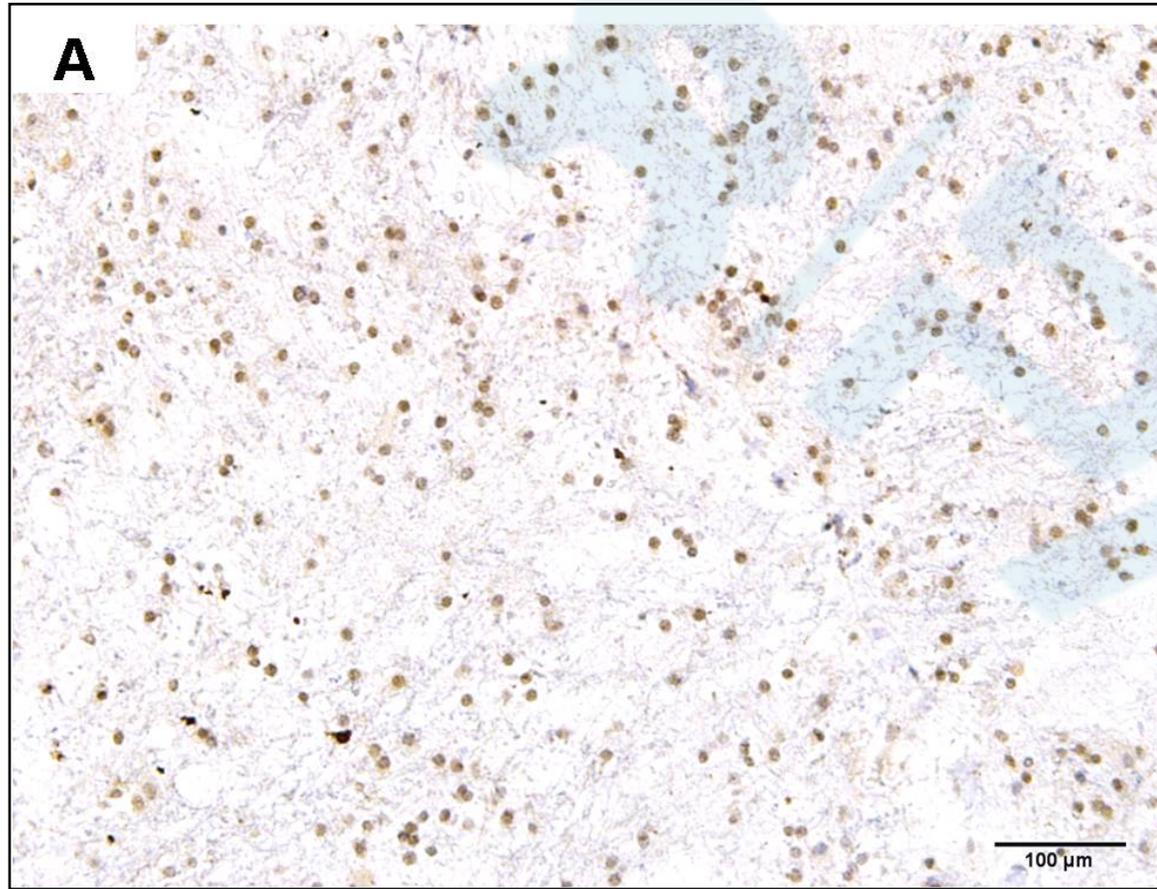
# 胶质瘤样本

- 总计 152 例
- 性别 男76 女76
- 年龄 3-76岁 中位数 41.5岁

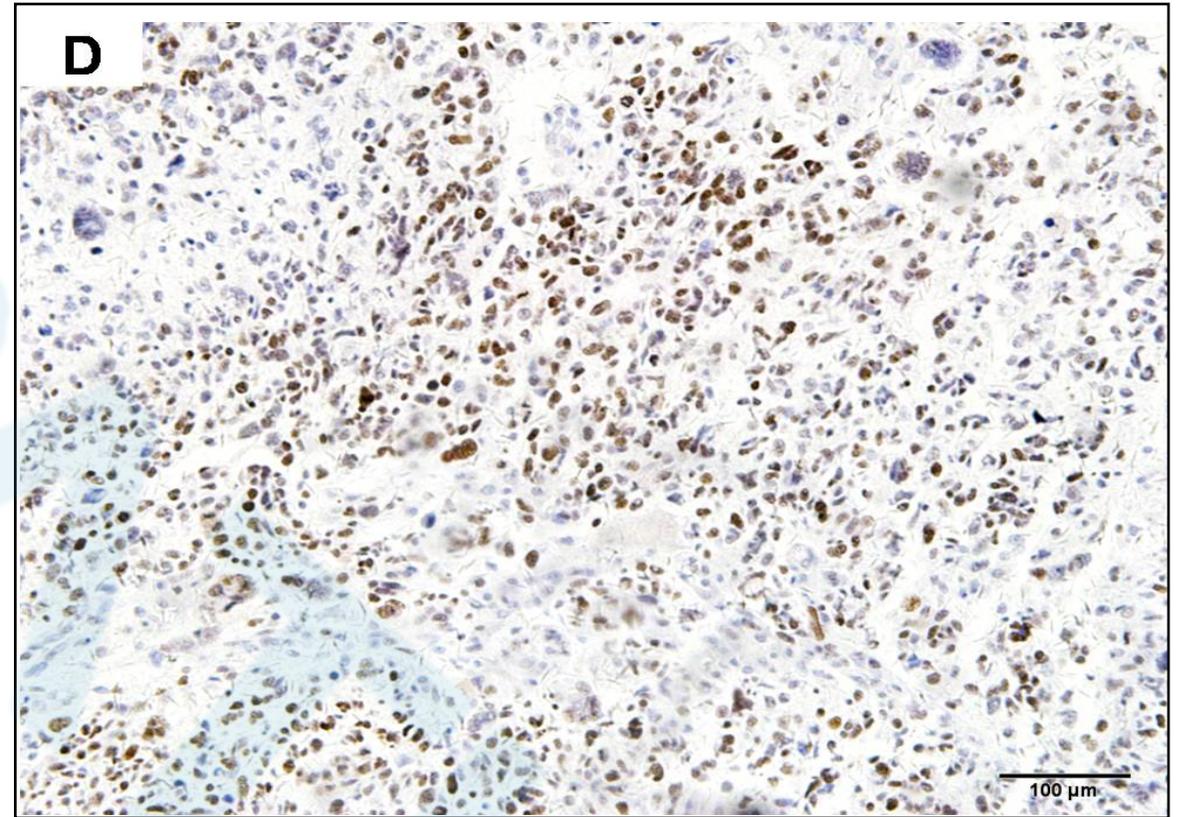
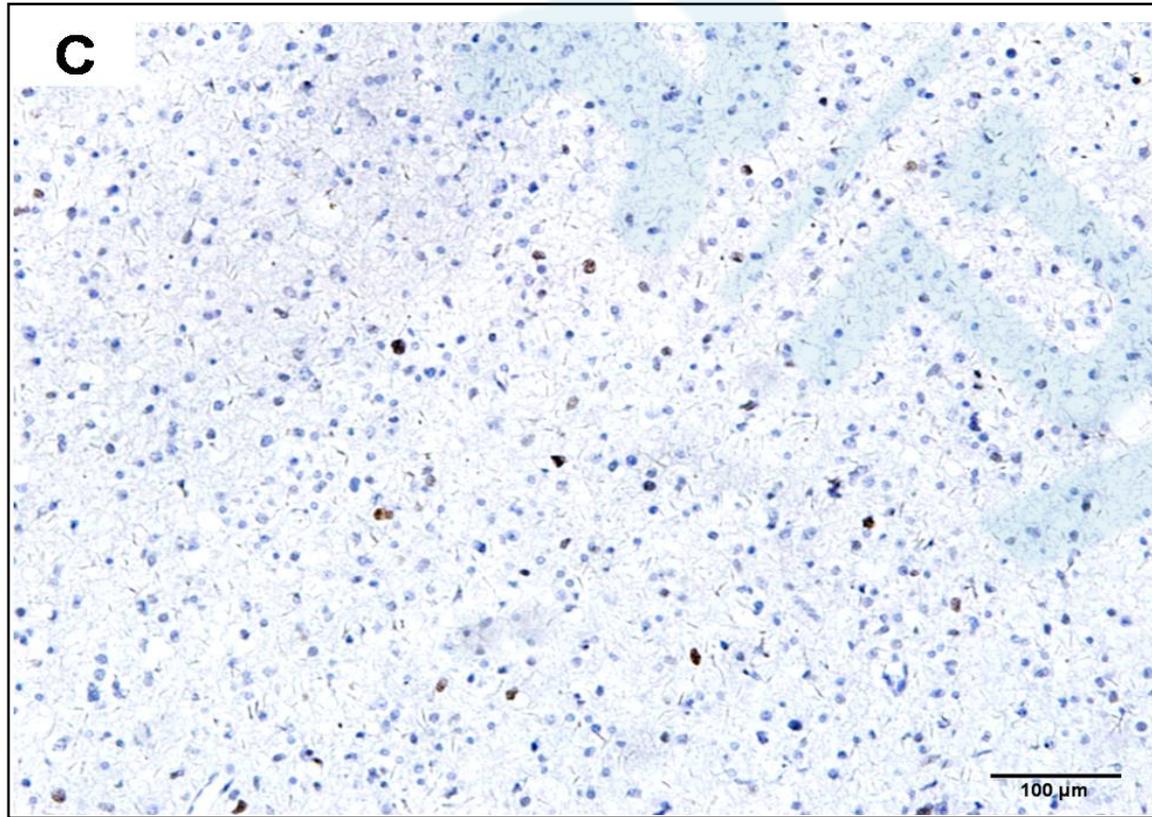




大脑（左）、涎腺组织（右）



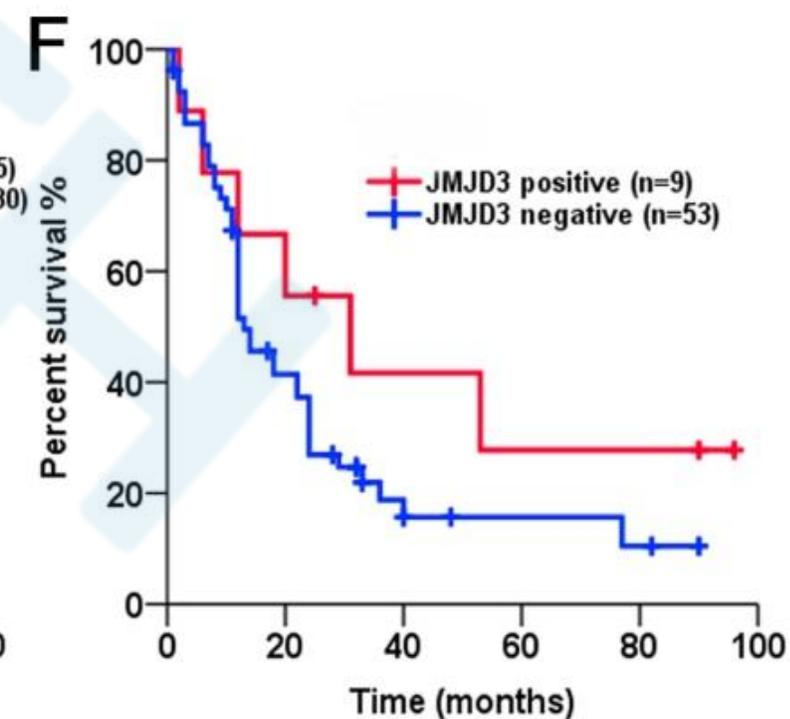
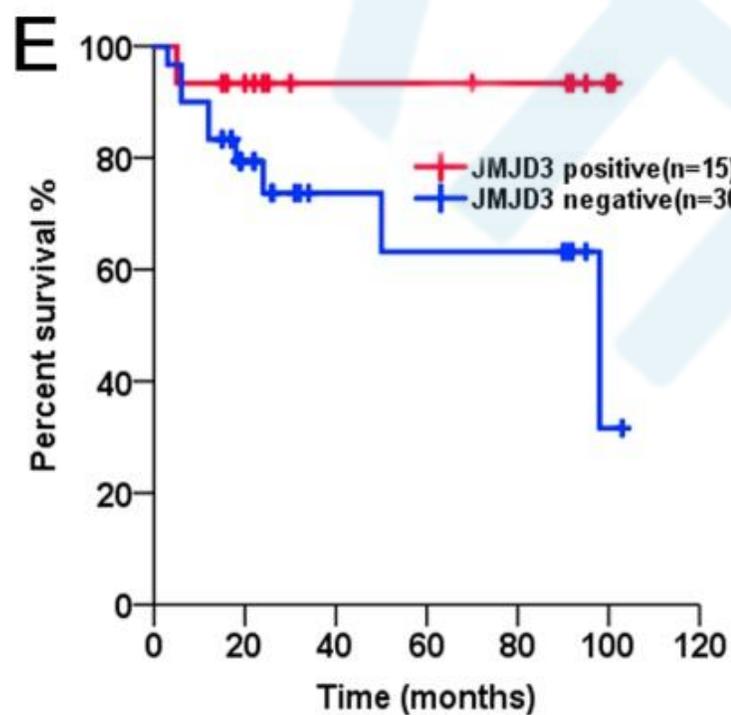
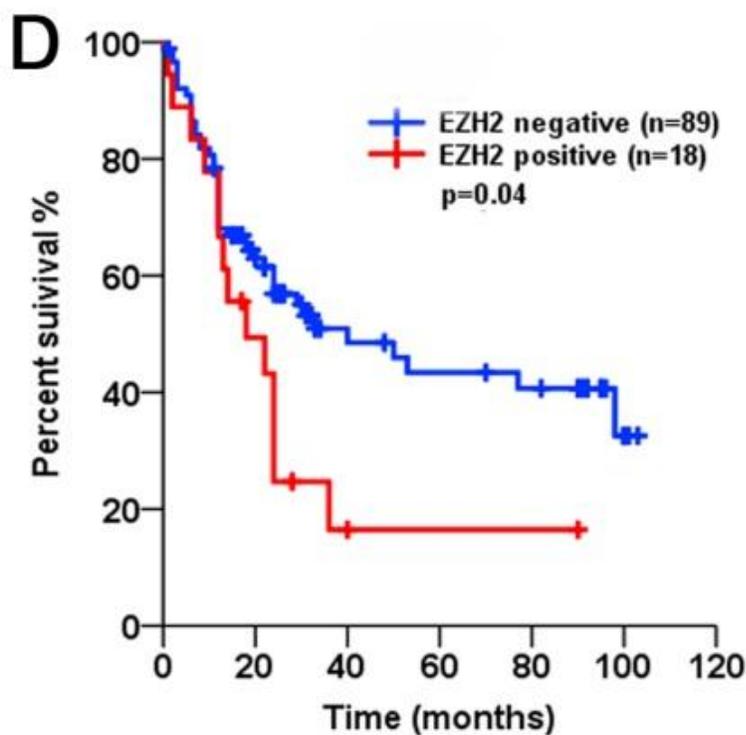
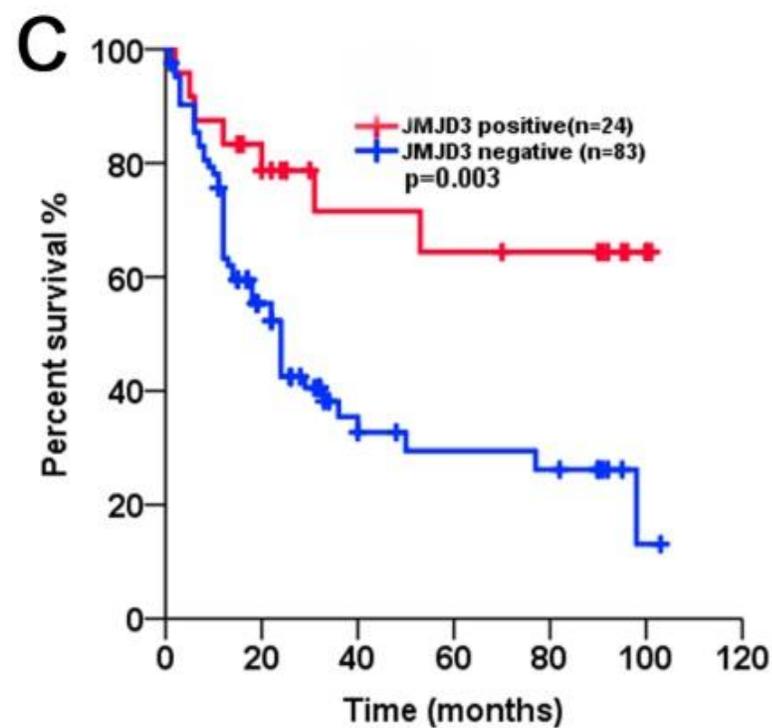
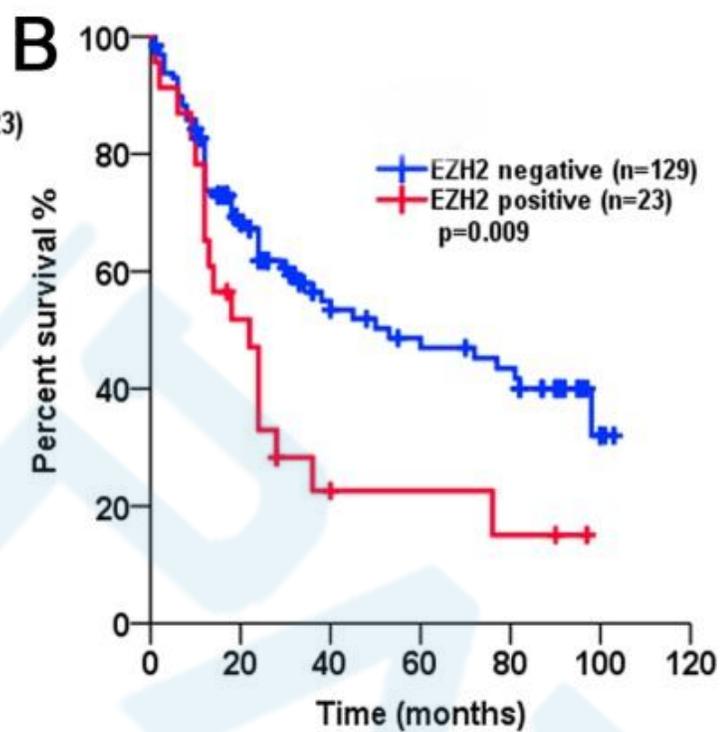
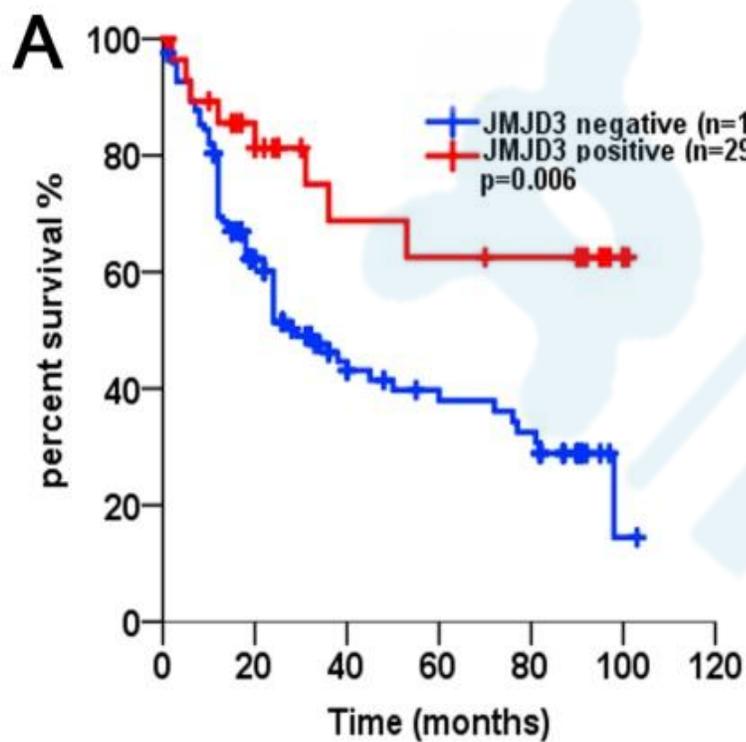
**低级别 (A)、高级别 (B)**



**低级别（C）、高级别（D）**

级别	JMJD3			EZH2			H3K27me3		
	阳性	阴性	<i>P</i>	阳性	阴性	<i>P</i>	阳性	阴性	<i>P</i>
WHO I 级	2	12		0	14		4	10	
WHO II 级	15	34		1	48		18	31	
WHO III 级	9	43		9	43		18	34	
WHO IV 级	3	34		13	24		10	27	
高、低级别分类			0.037			0.025			0.655
低级别	17	46		1	62		22	41	
高级别	12	77		22	67		28	61	
组织学类型			0.105			0.37			0.94
星形、少突-星形 胶质细胞肿瘤	24	83		18	89		35	72	
少突胶质细胞肿瘤	5	40		5	40		15	30	

# 胶质瘤中JMJD3和EZH2表达和预后的关系



变量	单因素分析	多因素分析		
	P 值	RR	95%CI	P 值
临床特征				
年龄(>45/≤45 岁)	<0.001	1.323	0.45 ~ 3.892	0.611
性别(男/女)	0.31			
WHO 级别(高级别/低级别)	<0.001	3.90	0.78 ~ 19.54	0.098
免疫表型				
Ki67(>10%/≤10%)	<0.001	37.27	4.66 ~ 298.31	0.001
EZH2 (阳性/阴性)	0.04	4.76	0.94 ~ 24.01	0.059
JMJD3 (阳性/阴性)	0.003	0.246	0.69 ~ 0.88	0.031
突变状态				
IDH1(突变型/野生型)	0.06	0.764	0.24 ~ 2.46	0.652

临床病理特征	n	JMJD3阳性	JMJD3阴性	P 值
性别				0.015
男	59	8	51	
女	48	16	32	
年龄 ( 岁 )				0.12
≤45	61	17	44	
>45	46	7	39	
Ki67				0.045
≤10%	43	17	26	
> 10%	37	7	30	
级别				0.021
低级别	45	15	30	
高级别	62	9	53	
IDH1				0.692
突变型	29	6	13	
野生型	34	9	25	

- ★ 脑组织中的JMJD3蛋白表达水平高。
- ★ JMJD3表达水平随胶质瘤的级别和增殖指数升高而降低。
- ★ JMJD3是ATs和OATs患者OS的独立预后因子。

**JMJD3与胶质瘤分子分型相关的重要分子在原发性和复发性星形细胞肿瘤中的表达/突变及与患者预后的关系**

- ★ 胶质瘤病例                      原发 和复发肿瘤 47对
- ★ 电话随访                          PFS（首次确诊至肿瘤复发）
- ★ 免疫组织化学染色
- ★ PCR和Sanger测序
- ★ 统计学方法                      Kaplan-meier法 Cox多因素分析

# 星形细胞肿瘤演进中JMJD3、EZH2、H3K27me3表达及MGMT和ATRX丢失

组织类型	n	JMJD3		EZH2		H3K27me3		MGMT		ATRX	
		+	频率% P	+	频率% P	+	频率% P	-	频率% P	-	频率% P
原发	A 和 AA	24	6 25.00 0.27	3 12.50 0.02	4 16.67 0.72	16 66.67 0.92	12 50.00 0.01				
	pGBM	23	2 8.70	10 43.48	5 20.83	15 65.21	3 13.04				
复发和 sGBM	A、AA	24	3 12.50 0.61	7 29.17 0.11	8 33.33 0.68	17 70.83 0.47	11 45.83 0.01				
	rGBM <sub>1</sub>	23	1 4.35	12 52.17	9 36.0	14 60.87	3 13.04				

A, 星形细胞瘤; AA, 间变型星形细胞瘤; pGBM, 原发性胶质母细胞瘤; sGBM, 继发性胶质母细胞瘤; rGBM<sub>1</sub>, 初次复发的原发性胶质母细胞瘤。

组织类型	n	IDH1 R132		TP53		TERTp					
		突变 频率%	P	突变 频率%	P	突变 频率%	P				
原发	A 和 AA	24	18	75.00	<0.0001	15	62.50	<0.0002	3	12.5	0.043
	pGBM	23	3	13.04		2	8.70		12	52.17	
复发	A、AA 和 sGBM	24	18	75.00	<0.0001	15	62.50	<0.0002	2	8.33	0.007
	rGBM <sub>1</sub>	23	3	13.04		2	8.70		14	60.87	

A, 星形细胞瘤; AA, 间变型星形细胞瘤; pGBM, 原发性胶质母细胞瘤; sGBM, 继发性胶质母细胞瘤; rGBM<sub>1</sub>, 初次复发的原发性胶质母细胞瘤。

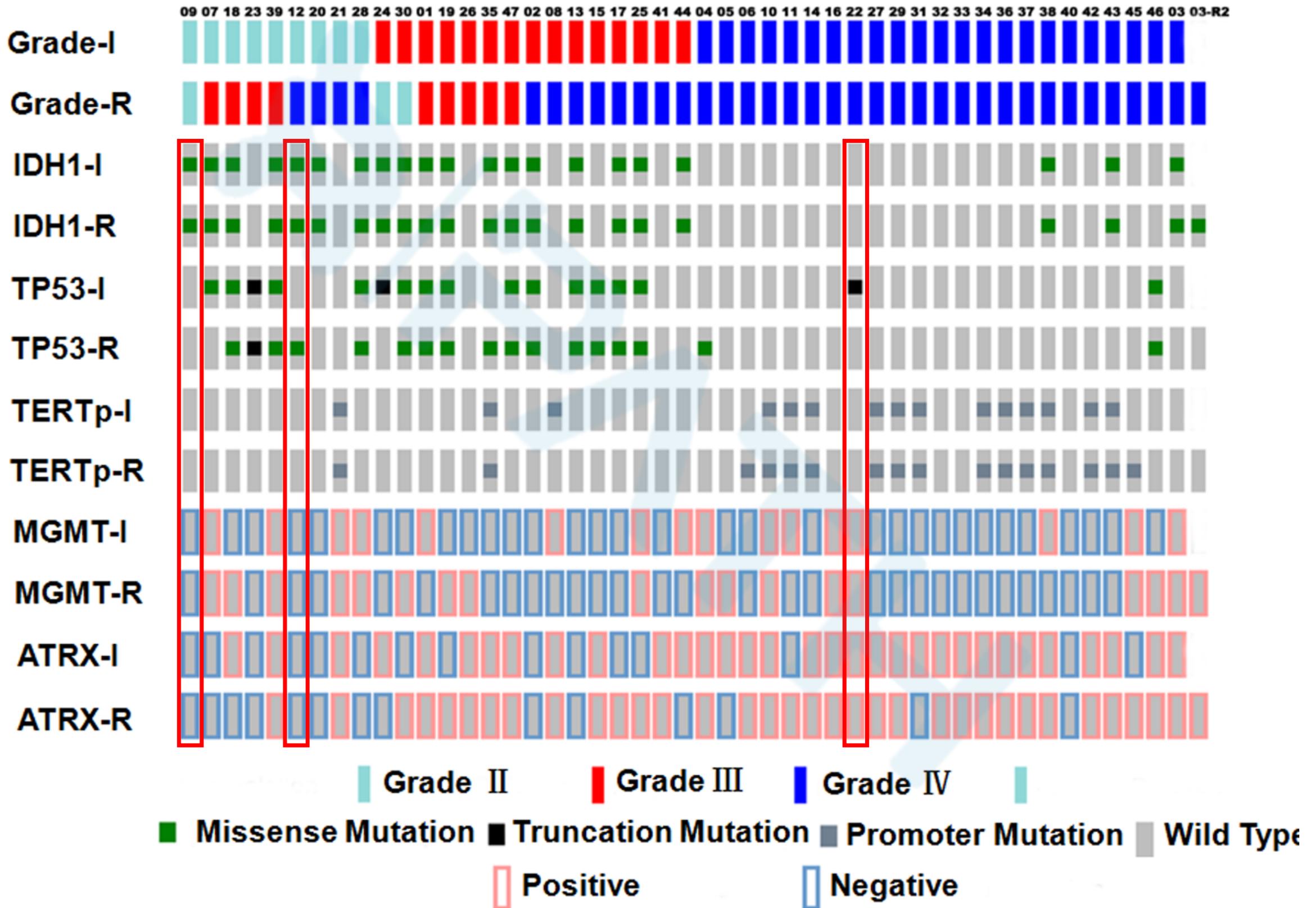
# 实验二

## 星形细胞肿瘤演进中JMJD3、EZH2、H3K27me3表达及MGMT和ATRX丢失

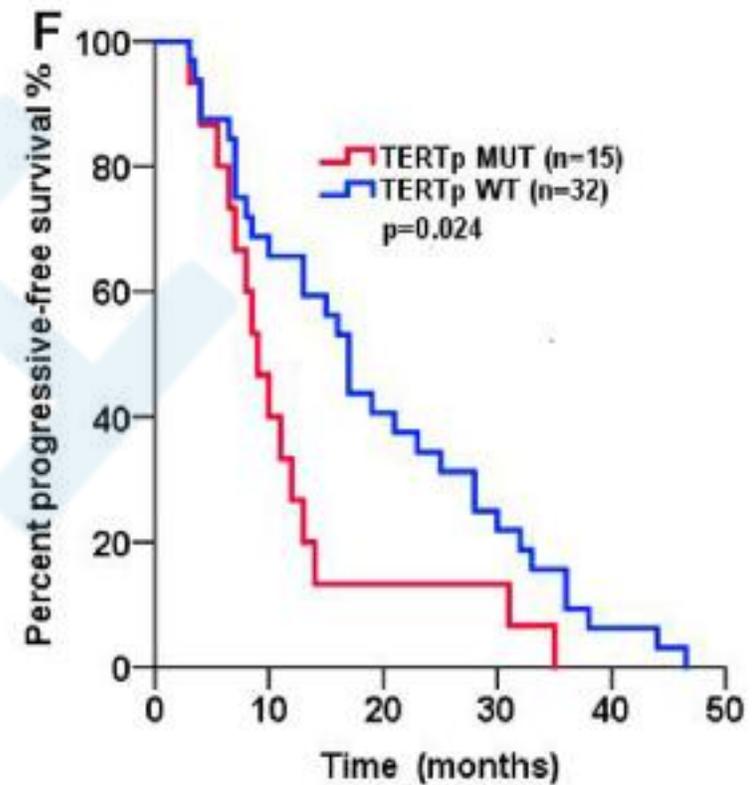
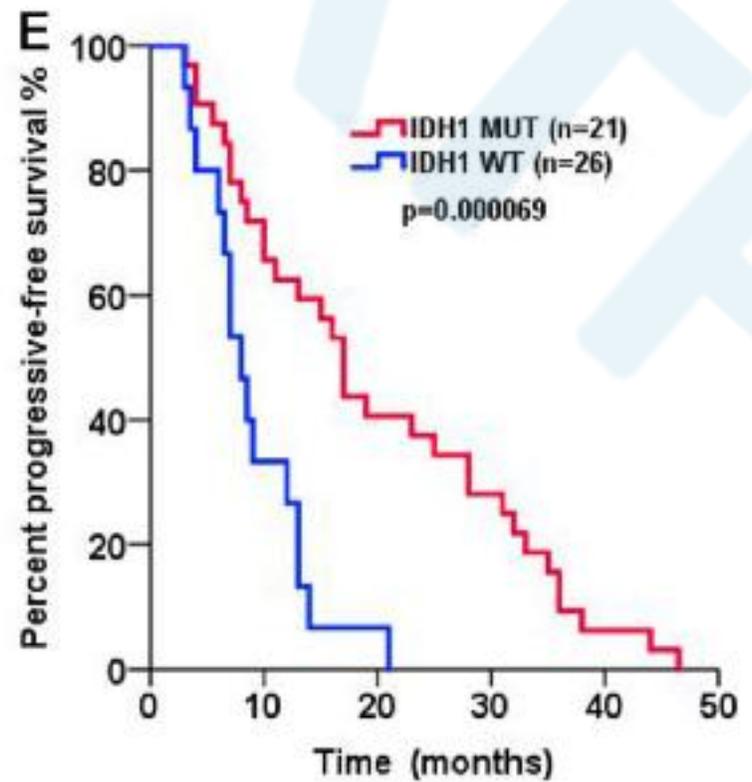
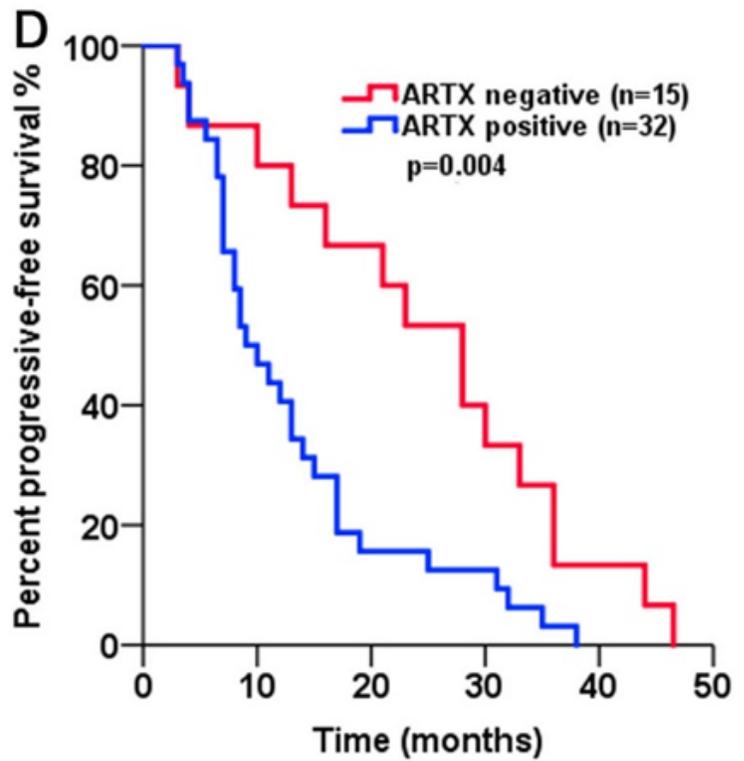
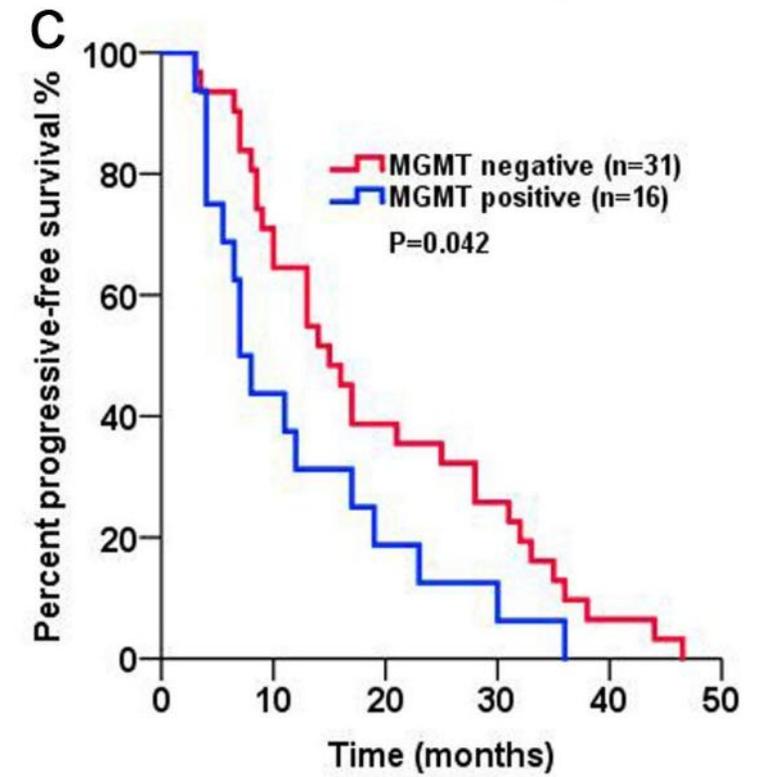
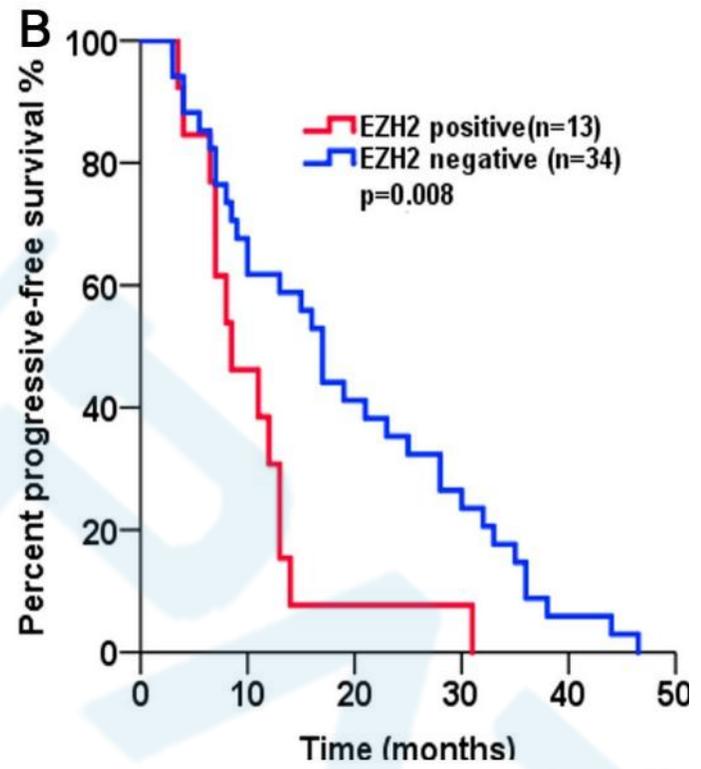
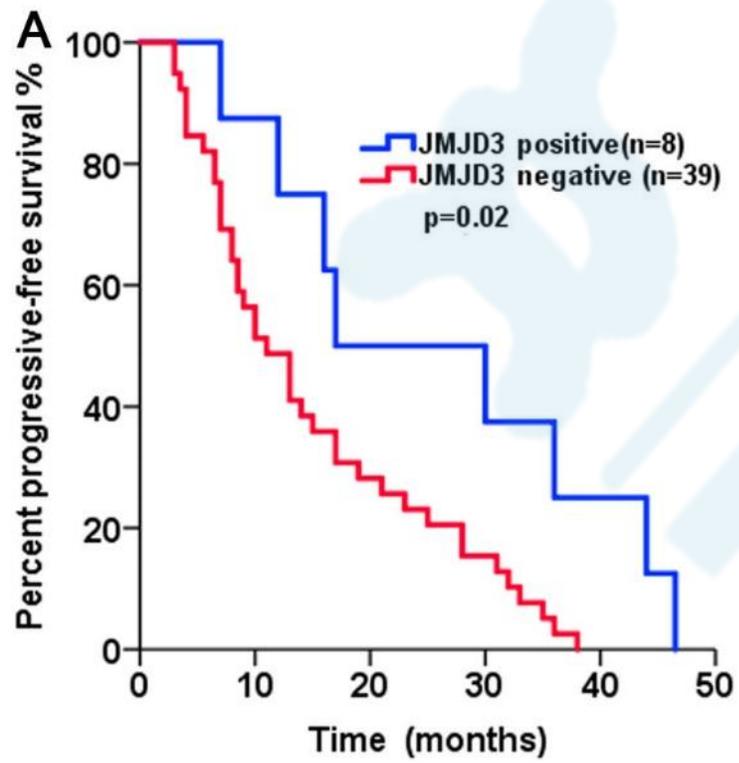
原发	复发										Measure of agreement		McNemar test	
	JMJD3		EZH2		H3K27me3		MGMT		ATRX		Kappa	P	P	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-				
JMJD3	+	1	7									0.06	P=0.657	P=0.34
	-	3	36											
EZH2	+			9	4							0.349	P=0.013	P=0.18
	-			10	24									
H3K27me3	+					9	6					0.172	P=0.215	P=0.17
	-					13	19							
MGMT	+							11	5			0.487	P=0.001	P>0.05
	-							6	25					
ATRX	+									27	5	0.452	P=0.002	P>0.05
	-									6	9			

原发		复发						Measure of agreement		McNemar test
		IDH1		TP53		TERTp		Kappa	P	P
		MUT	WT	MUT	WT	MUT	WT			
IDH1	MUT	21	0					1	P<0.001	P>0.05
	WT	0	26							
TP53	MUT			14	3			0.724	P<0.001	P>0.05
	WT			3	27					
TERTP	MUT					14	1	0.856	P<0.001	P>0.05
	WT					2	30			

# 星形细胞肿瘤的演进



# 分子标记物和PFS的关系



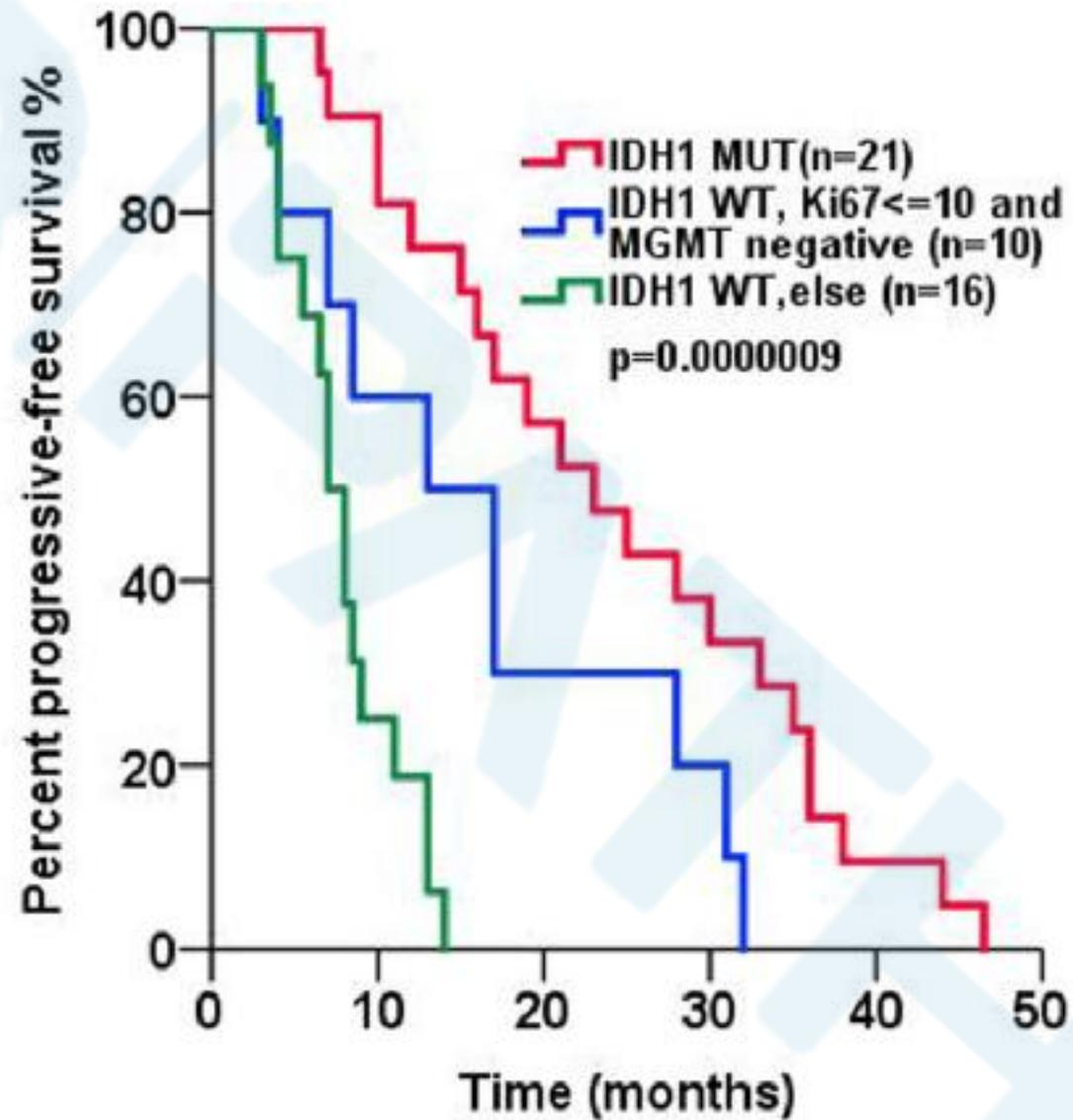
## 星形细胞肿瘤患者PFS的多因素分析

变量	n	中位 (月)	单因素分 <i>P</i>	多因素分析 RR	95% CI	<i>P</i>
临床特征 (原发肿瘤)						
年龄			0.015			
>45 岁	29	10				
≤45 岁	18	19				
性别			0.841			
男	31					
女	16					
WHO 分级			0.000021			
II/III	23	23				
IV	24	8.5				
突变状态 (原发肿瘤)						
<i>TP53</i>			0.193			
MUT	17	21				
WT	30	9				
<i>IDH1</i>			0.000069	3.513	1.206~10.238	0.021
MUT	21	23				
WT	26	8				
<i>TERT</i> p			0.024			
MUT	15	17				
WT	32	9				

## 星形细胞肿瘤患者PFS的多因素分析

变量	n	中位 (月)	单因素分 <i>P</i>	RR	多因素分析 95% CI	<i>P</i>
免疫表型 (原发肿瘤)						
Ki67			0.000425	2.887	1.248 ~ 6.679	0.013
Ki67 > 10%	14	8				
Ki67 ≤ 10%	33	17				
JMJD3						
+	8	17	0.02			
-	39	11				
EZH2						
+	13	8.5	0.08			
-	34	17				
H3K27me3			0.84			
+	9	17				
-	38	11				
MGMT			0.042	3.763	1.530 ~ 9.258	0.004
+	16	7				
-	31	15				
ATRX			0.004			
+	32	9				
-	15	28				

# 分子标记物和PFS的关系

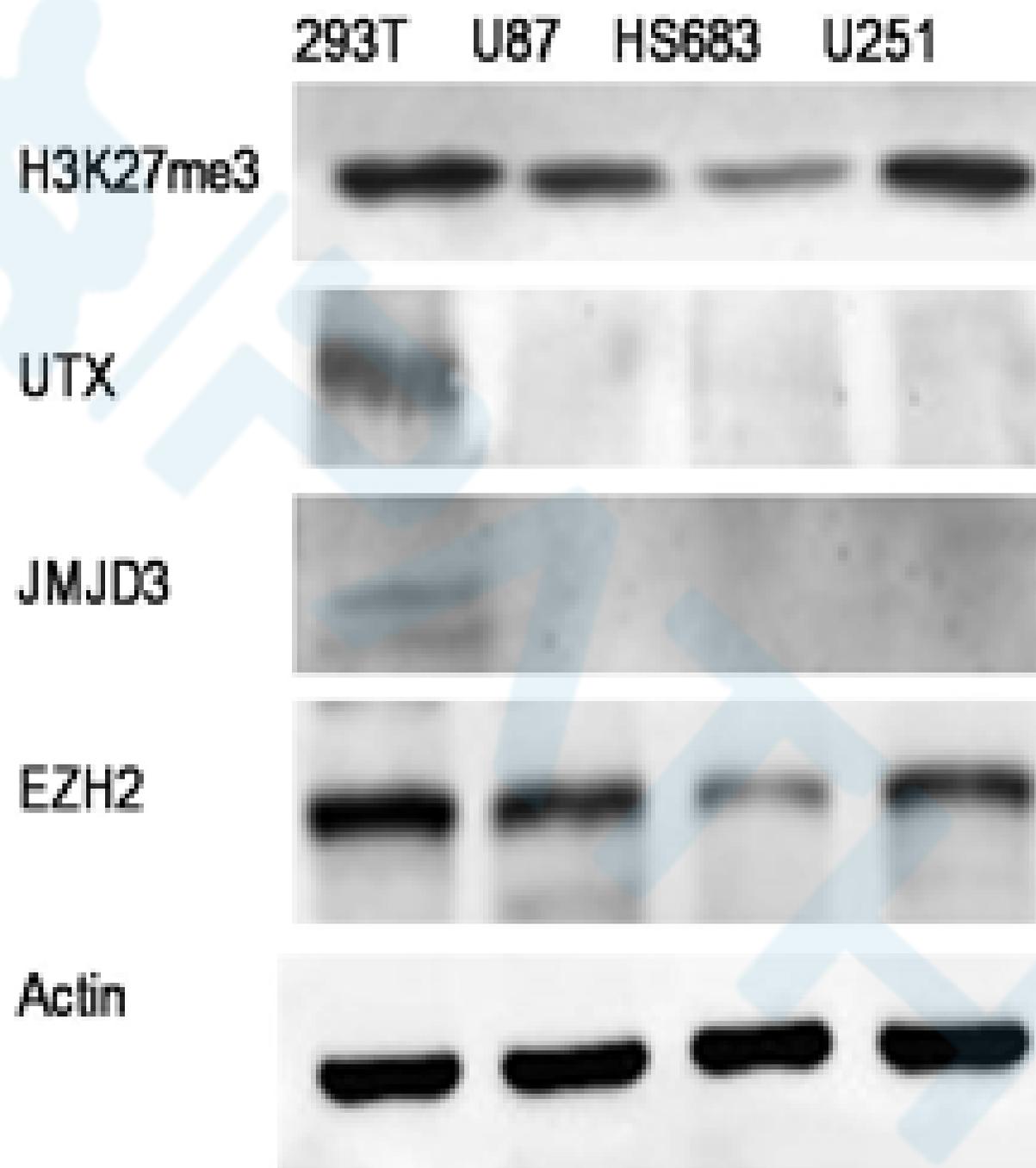


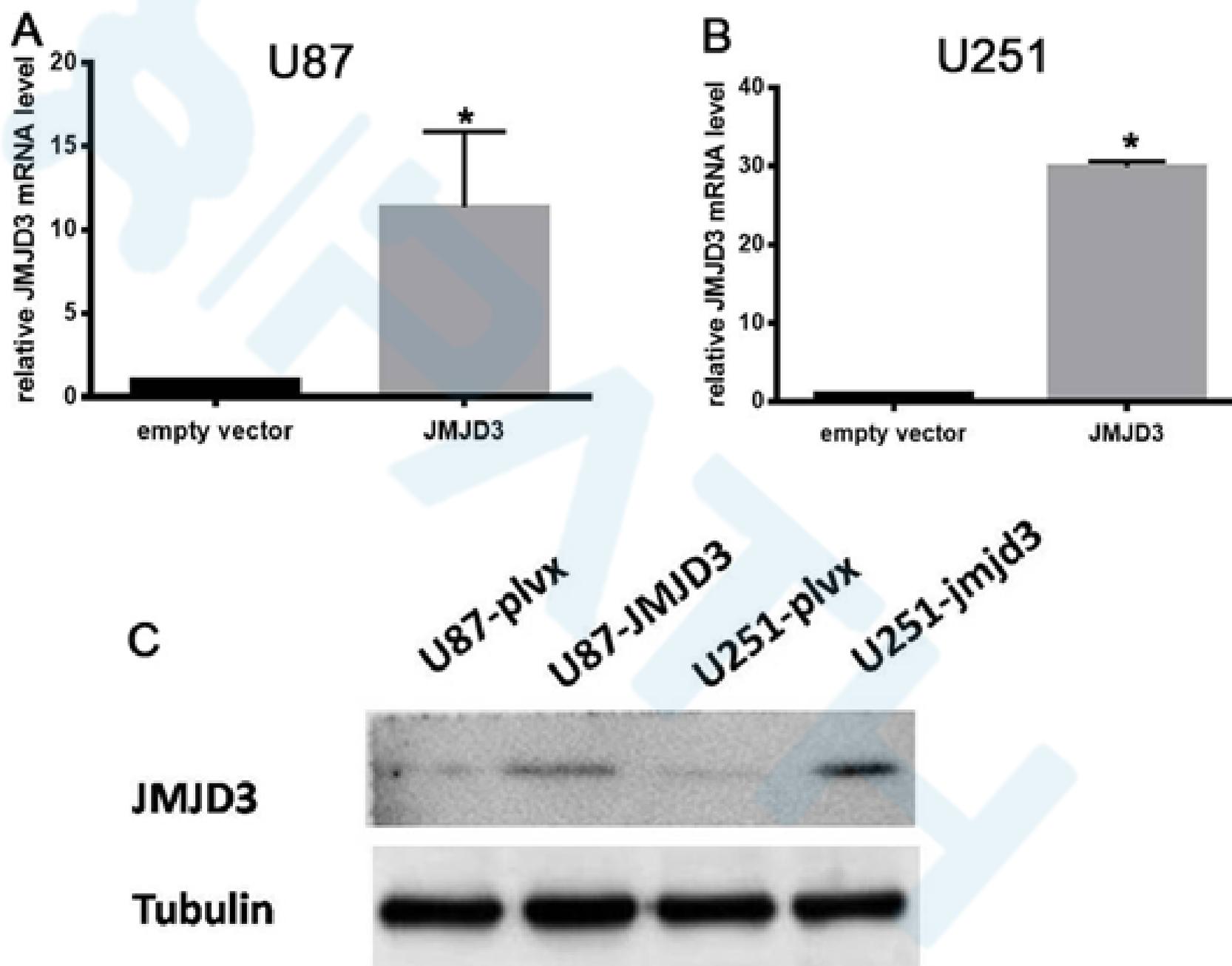
- ★ JMJD3、EZH2和H3K27me3表达水平在肿瘤复发前后一致性低，提示随着肿瘤的复发和进展，其的表达水平发生变化。
- ★ MGMT和ATRX的表达水平在肿瘤复发前后保持中等程度的一致。
- ★ IDH1、TP53、TERTp在肿瘤复发前后的突变状态高度一致，说明其是胶质瘤发生的早期事件。

- ★ **胶质瘤复发的模式不同，一部分遵循干线型克隆进化的模式，一部分遵循侧支克隆进化的模式。**
- ★ **Ki67增殖指数、MGMT表达水平及IDH1突变状态相结合可以更好判断星形细胞肿瘤患者的无病进展期。**

## JMJD3在胶质瘤中的作用及分子机制研究

- ★ 胶质瘤细胞系：U251 U87 Hs683
- ★ 质粒：hJMJD3/pLVX
- ★ RT-PCR和Western Blot
- ★ 平板克隆和CCK-8
- ★ Transwell
- ★ MS-PCR

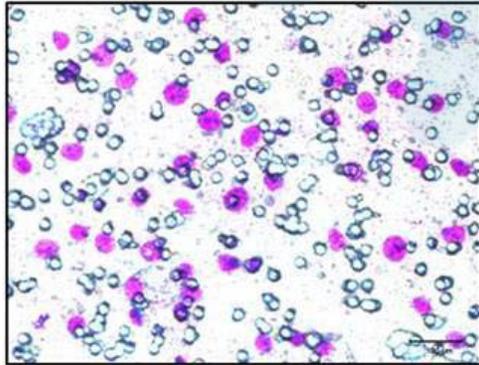




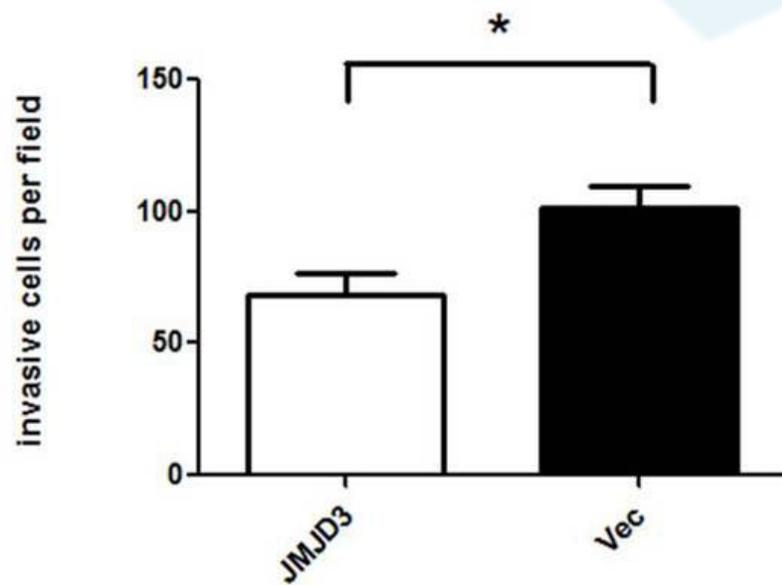
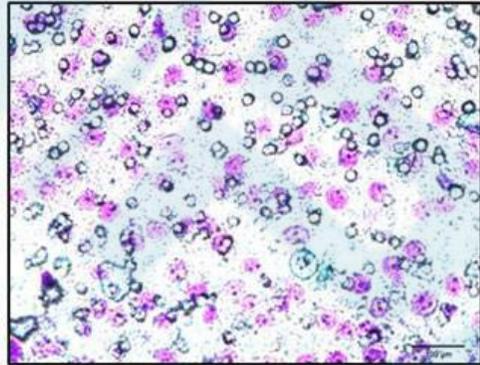
## A

### U251

JMJD3



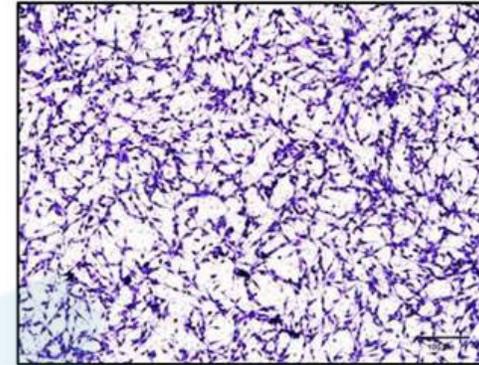
Vec



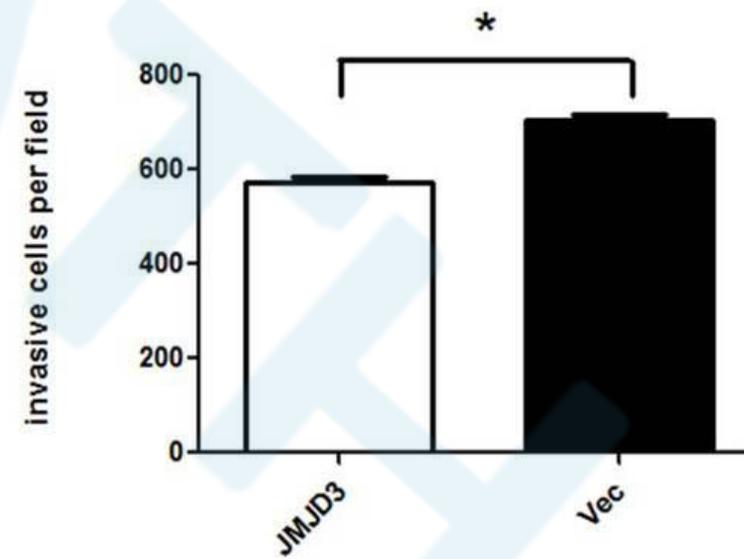
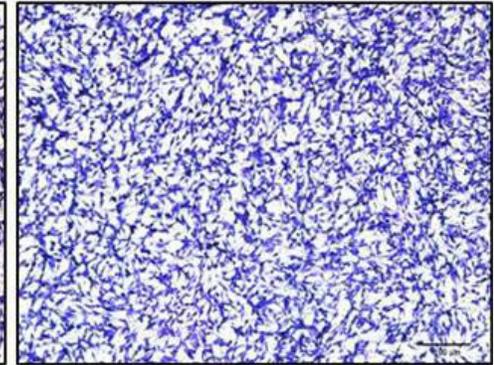
## B

### U87

JMJD3



Vec



## A U251

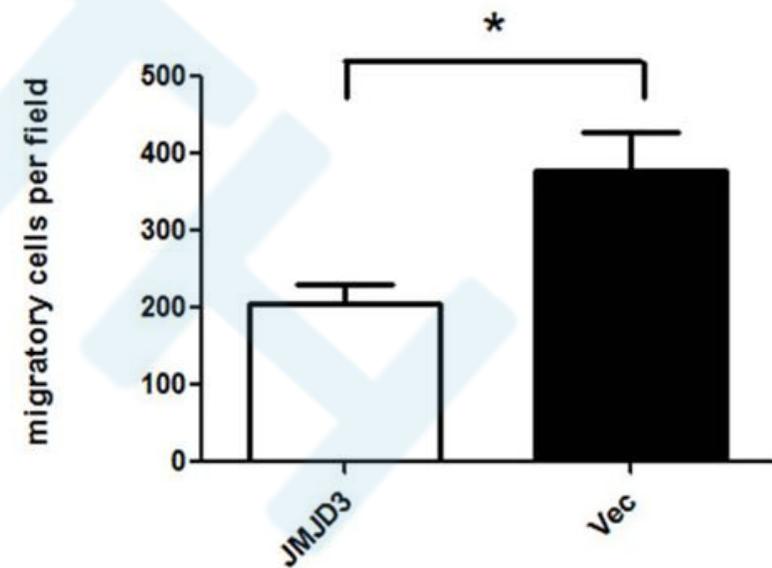
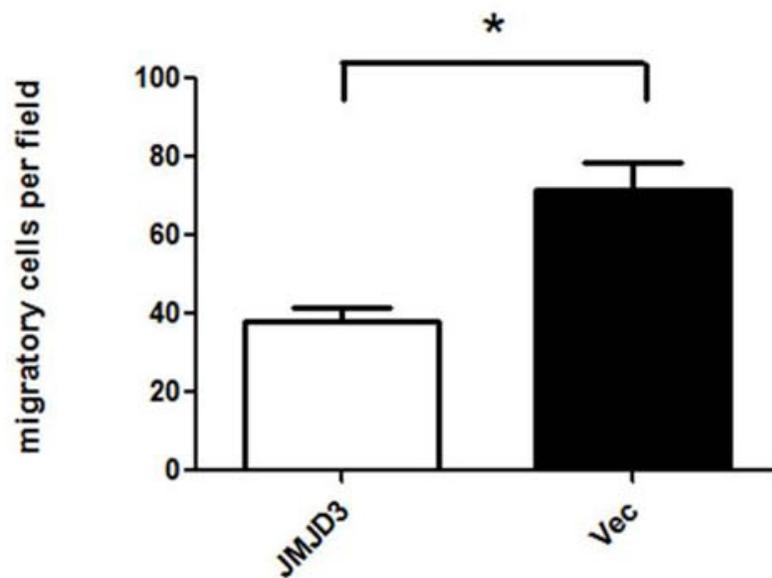
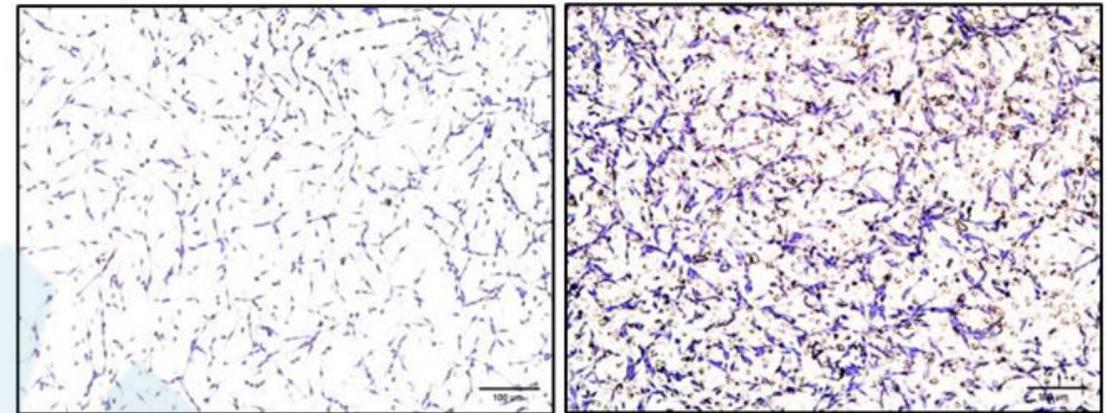
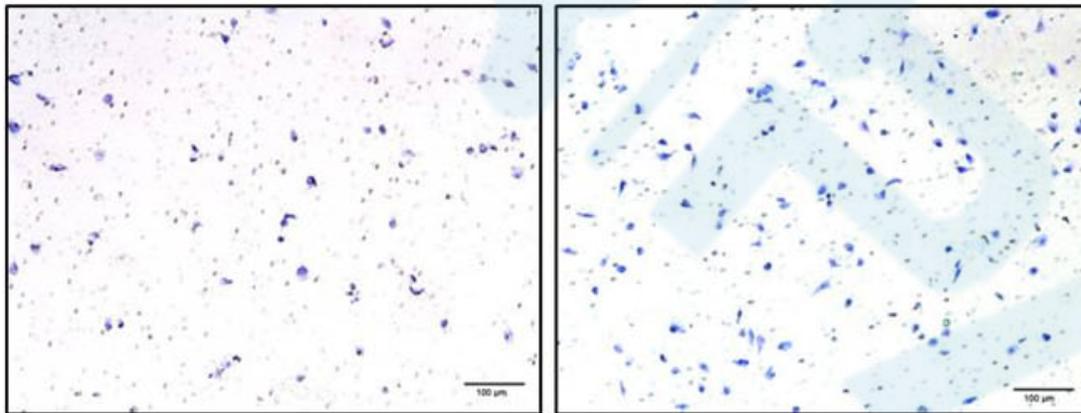
## B U87

JMJD3

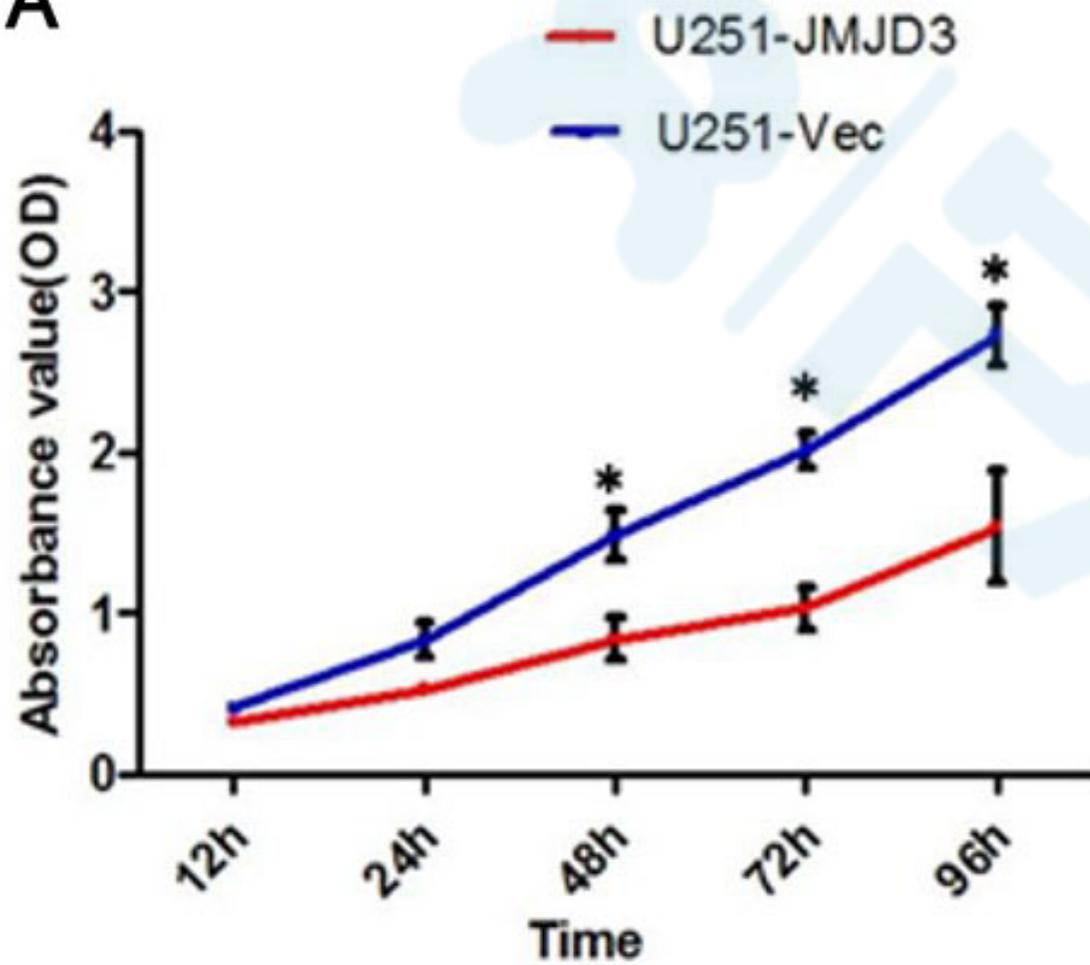
Vec

JMJD3

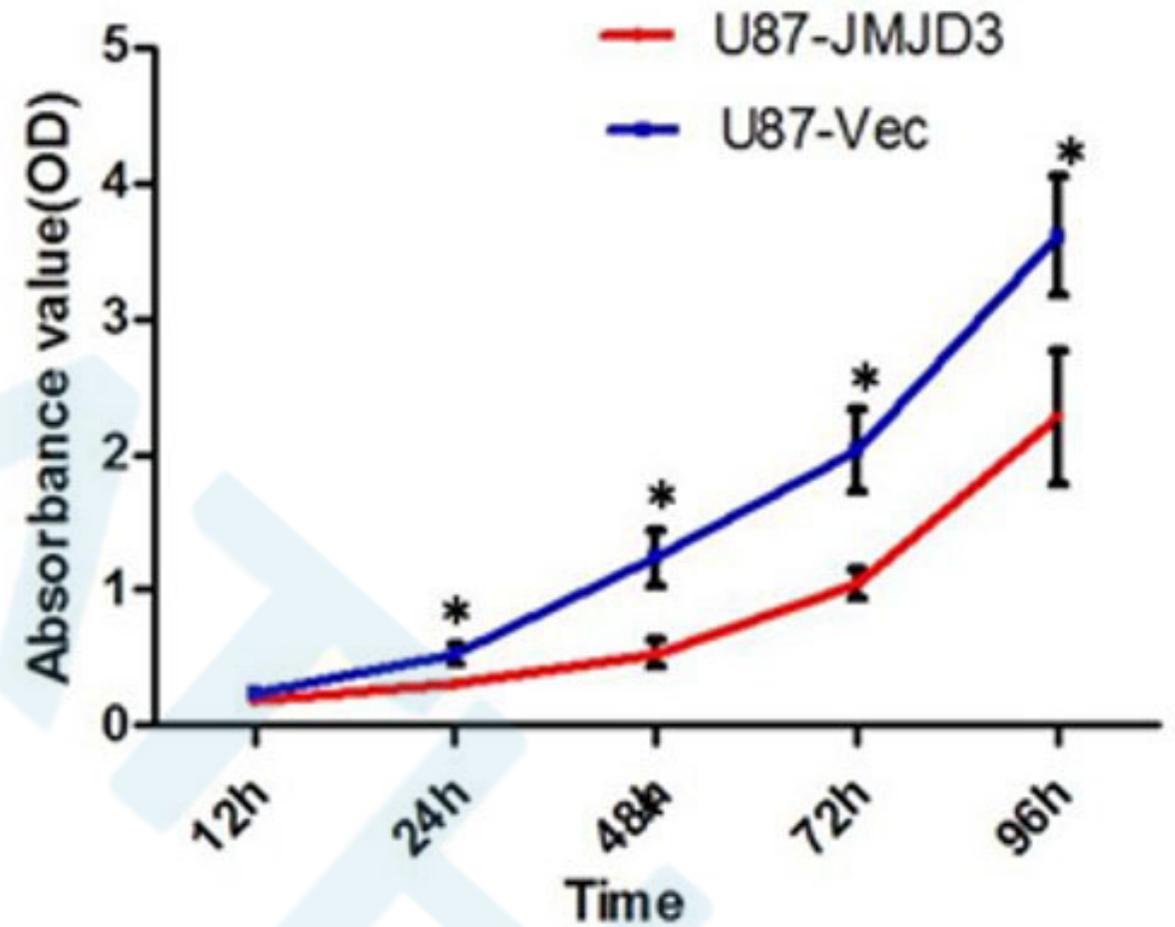
Vec



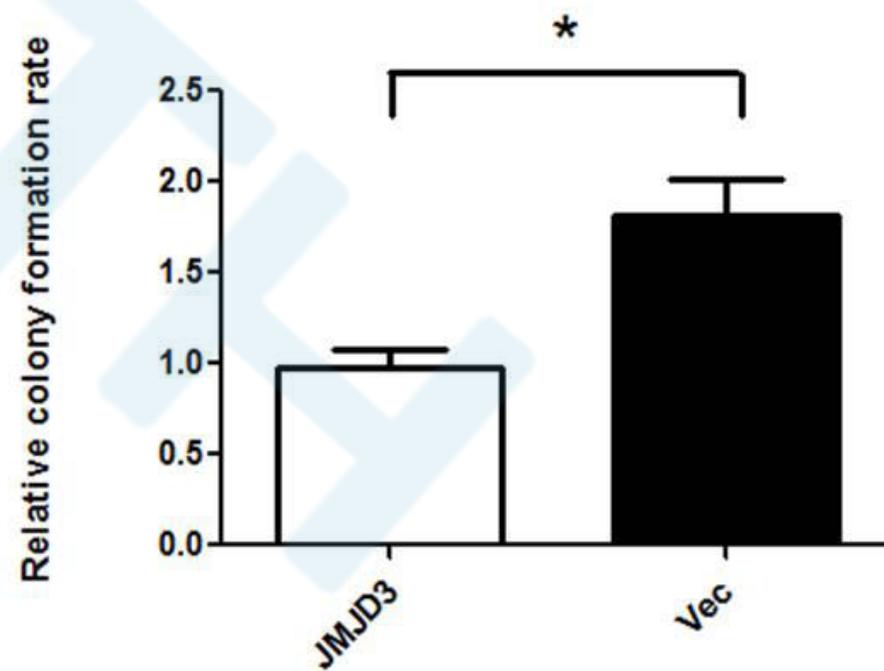
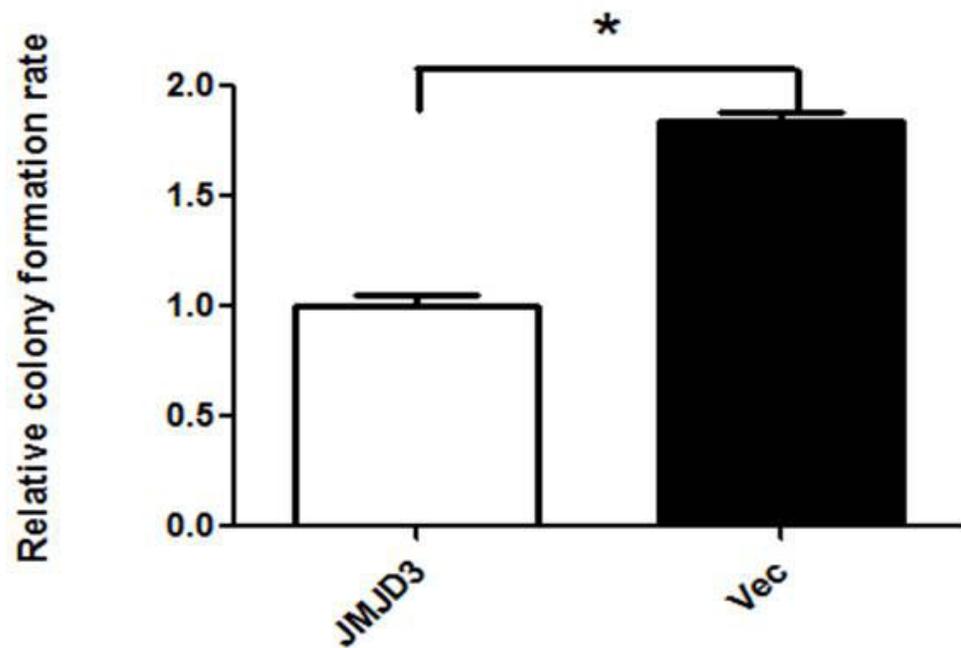
A

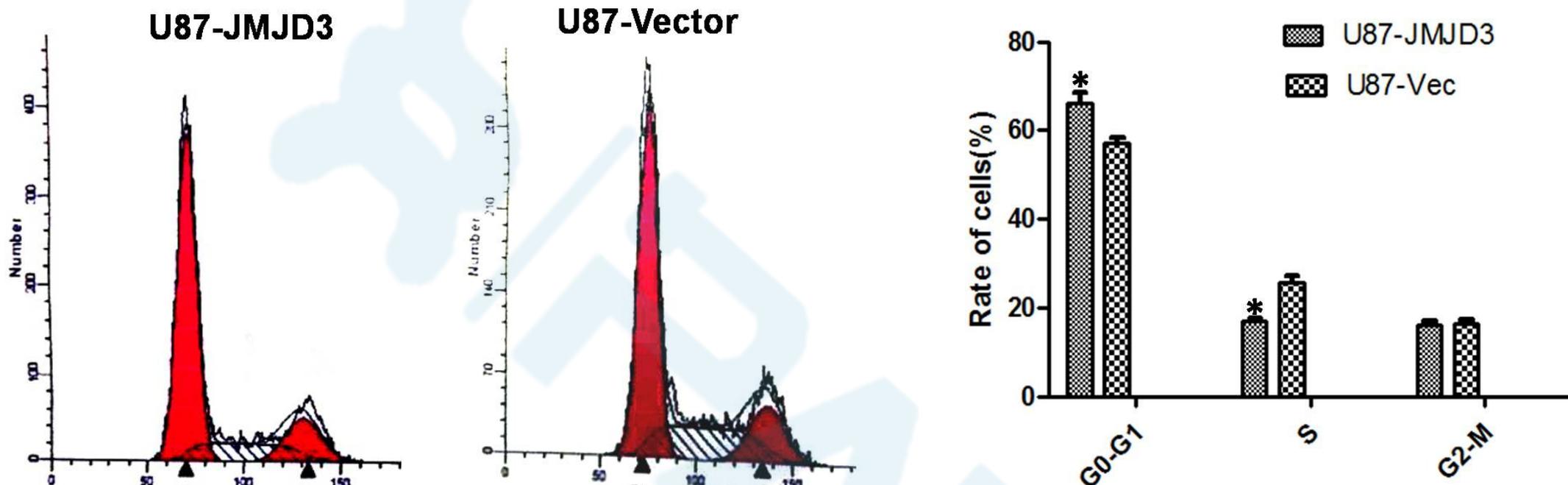


B

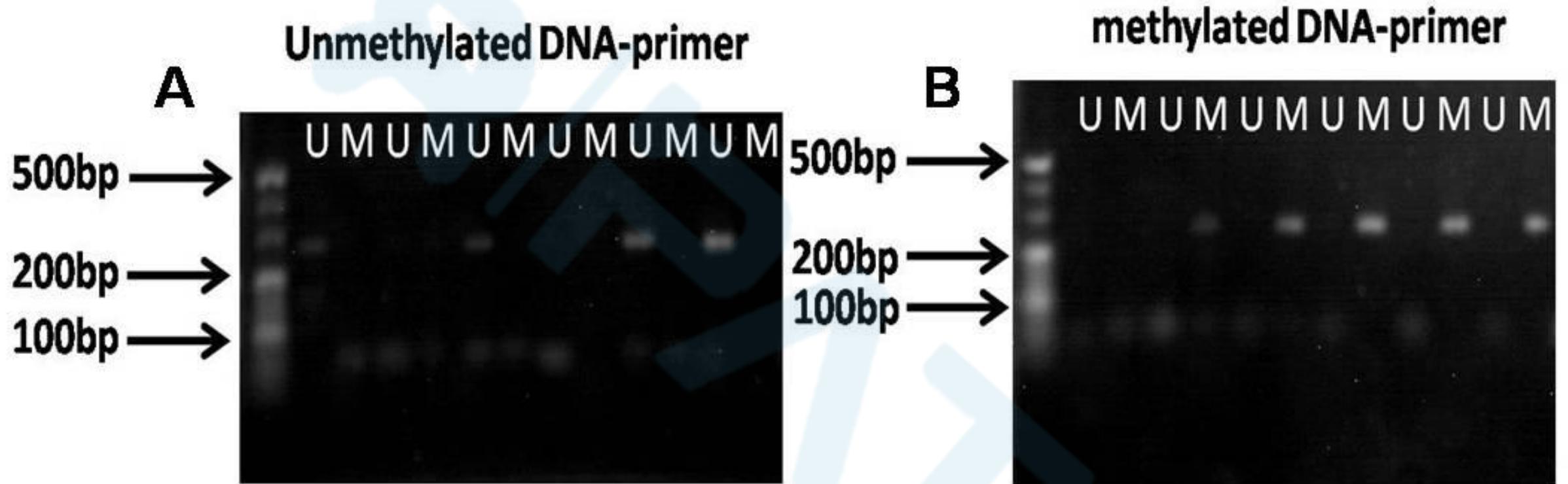


# JMJD3对胶质瘤细胞系增殖能力的影响



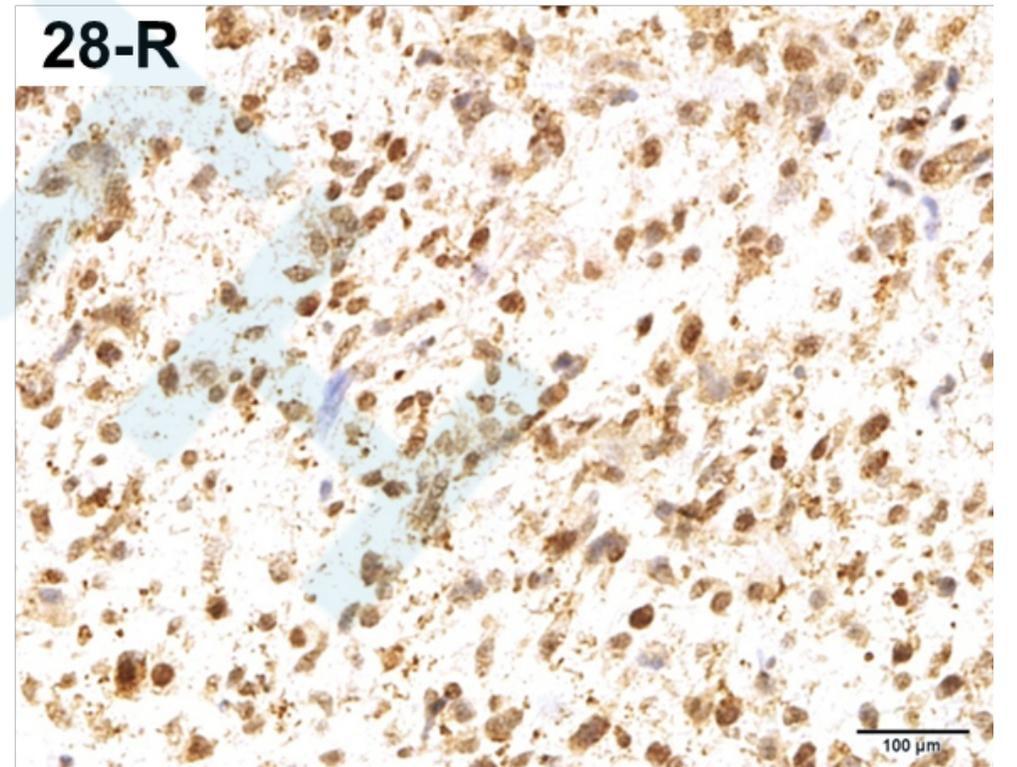
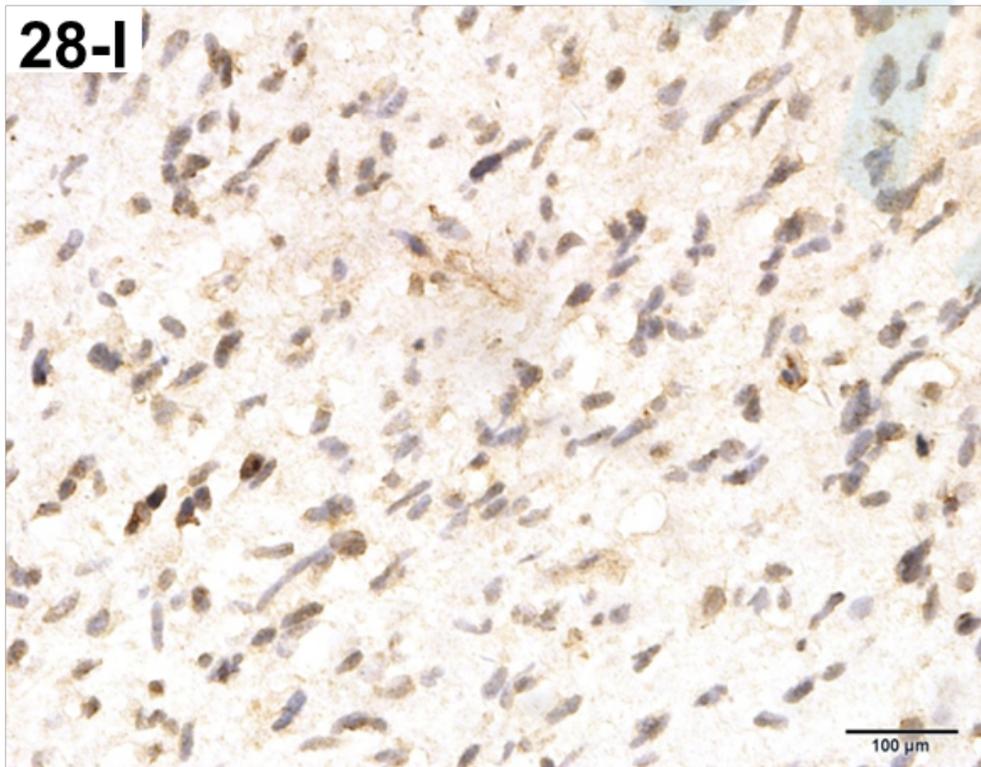
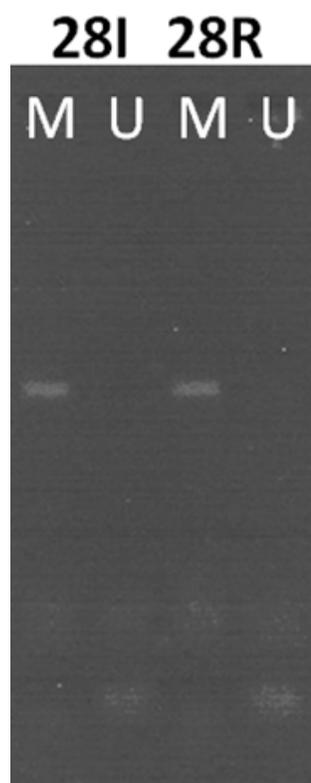
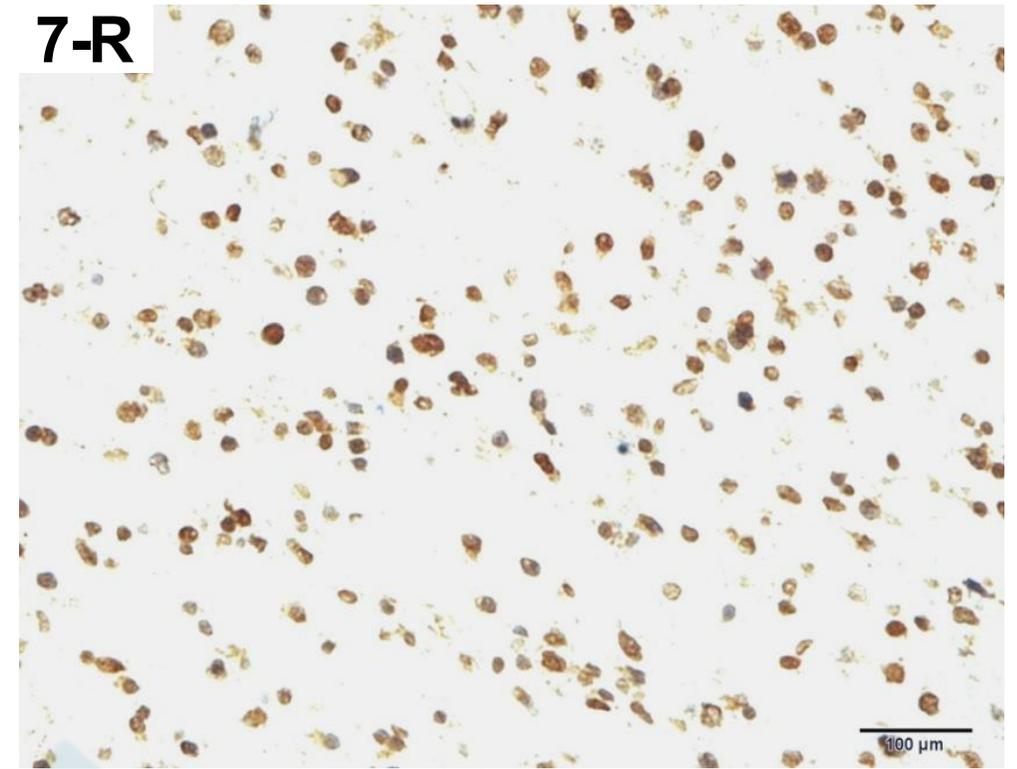
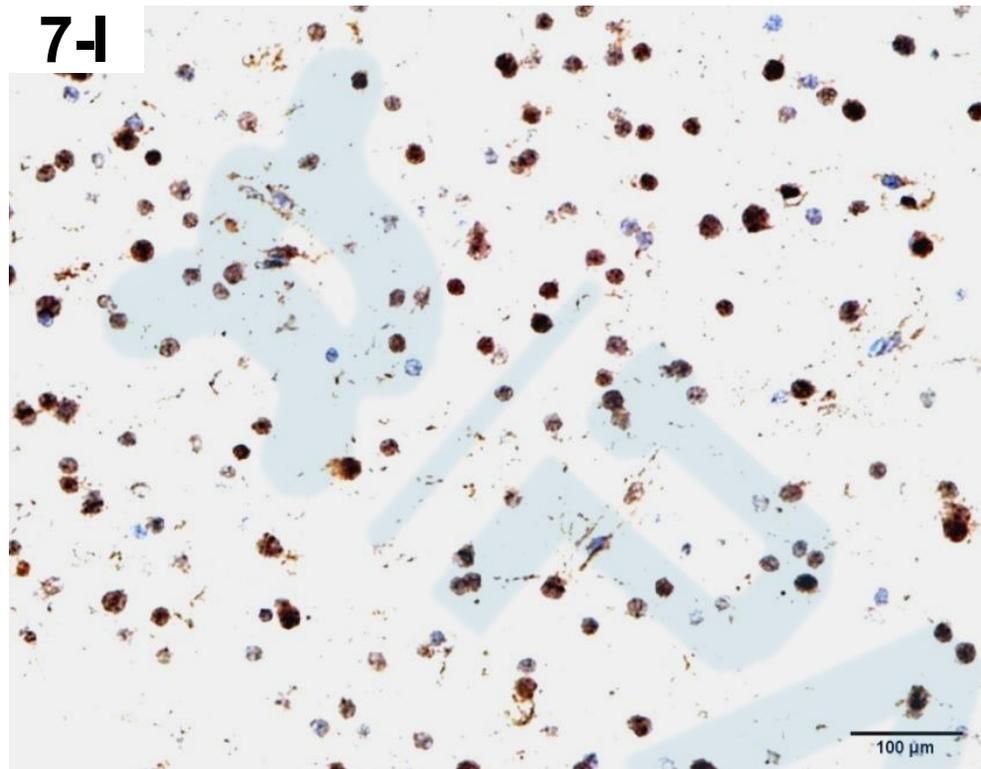


细胞系	G0/G1 (%)	S (%)	G2-M (%)
hJMJD3/U87	66.21±2.27	17.18±0.49	16.17±0.95
Vec/U87	57.14±1.17	25.75±1.45	16.59±0.77



# 实验三

# 胶质瘤中JMJD3启动子甲基化和蛋白表达水平



	JMJD3		合计	<i>P</i>
	阳性	阴性		
启动子甲基化	4	5	9	0.358
启动子非甲基化	5	2	7	
合计	9	7	16	

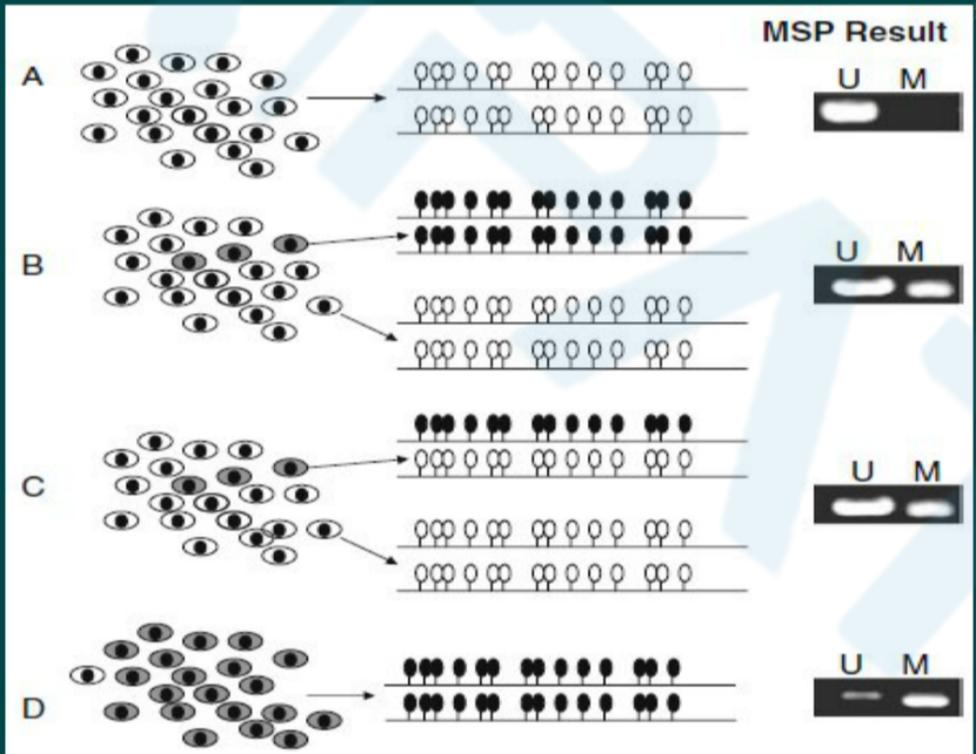
- ★ JMJD3抑制胶质瘤细胞系的侵袭、迁移和增殖能力，提示其在胶质瘤中发挥抑瘤作用。
- ★ 过表达JMJD3导致细胞周期阻滞于G0/G1关卡，而抑制胶质瘤细胞增殖。
- ★ JMJD3启动子甲基化是导致JMJD3蛋白表达水平下调的原因之一，可能还存在其他的调控机制。

1. JMJD3在脑组织中的表达水平高。
2. JMJD3表达水平随胶质瘤的级别和增殖指数升高而降低。
3. JMJD3 可以作为星形和少突-星形胶质细胞肿瘤的独立预后因子。
4. JMJD3在肿瘤复发前后表达一致性低，提示随着肿瘤的复发和进展，JMJD3的表达水平发生变化。

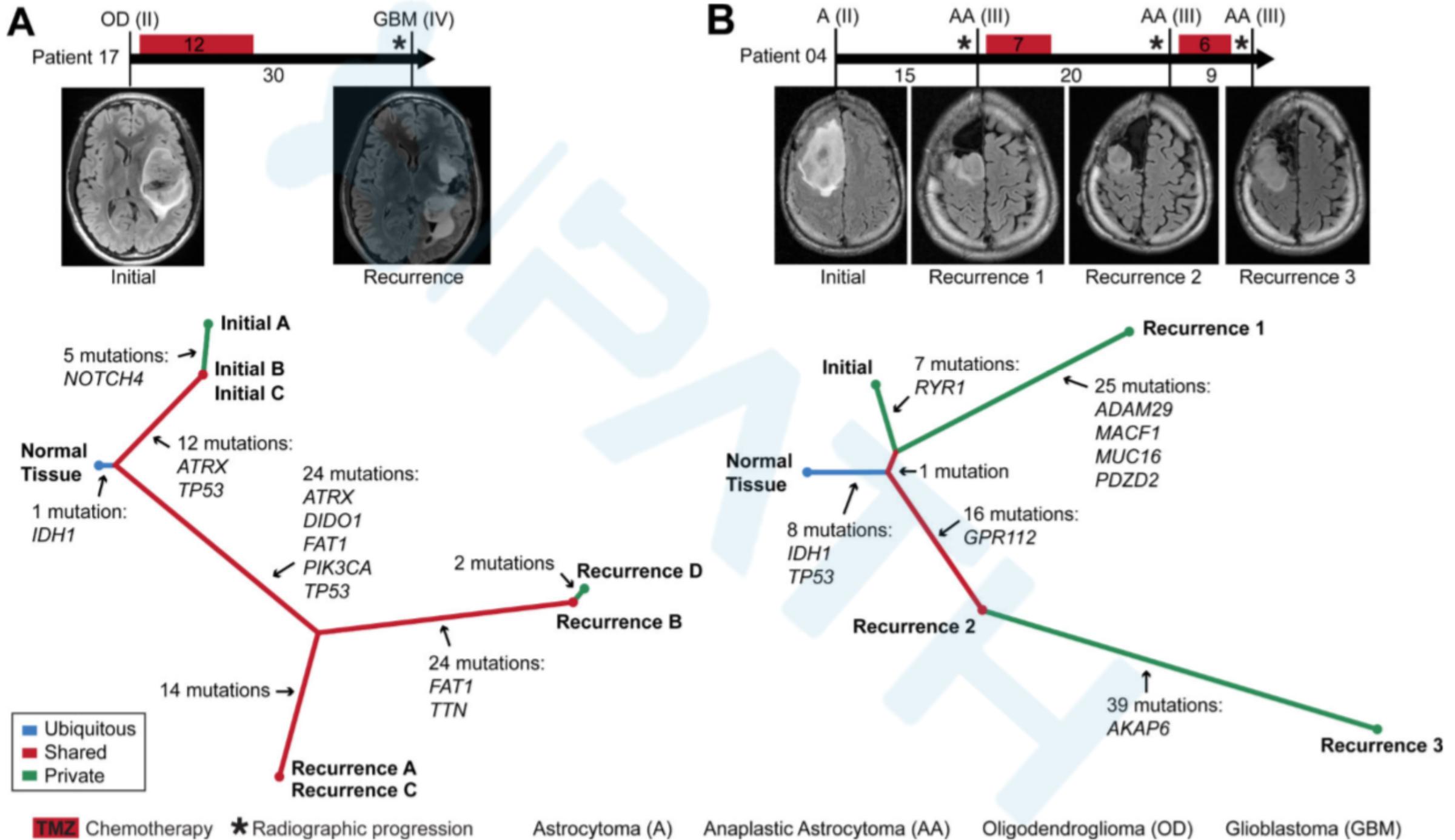
5. *IDH1*、*TP53*、*TERT*p在肿瘤复发前后的突变状态高度一致，说明其是胶质瘤发生的早期事件。
6. JMJD3可以抑制胶质瘤细胞的侵袭、迁移和增殖能力，说明其在胶质瘤中发挥着抑瘤作用。
7. 过表达JMJD3导致细胞周期阻滞于G0/G1关卡，而抑制胶质瘤细胞增殖。
8. JMJD3启动子甲基化是导致JMJD3蛋白表达水平下调的原因之一，可能还存在其他的调控机制。

谢谢...





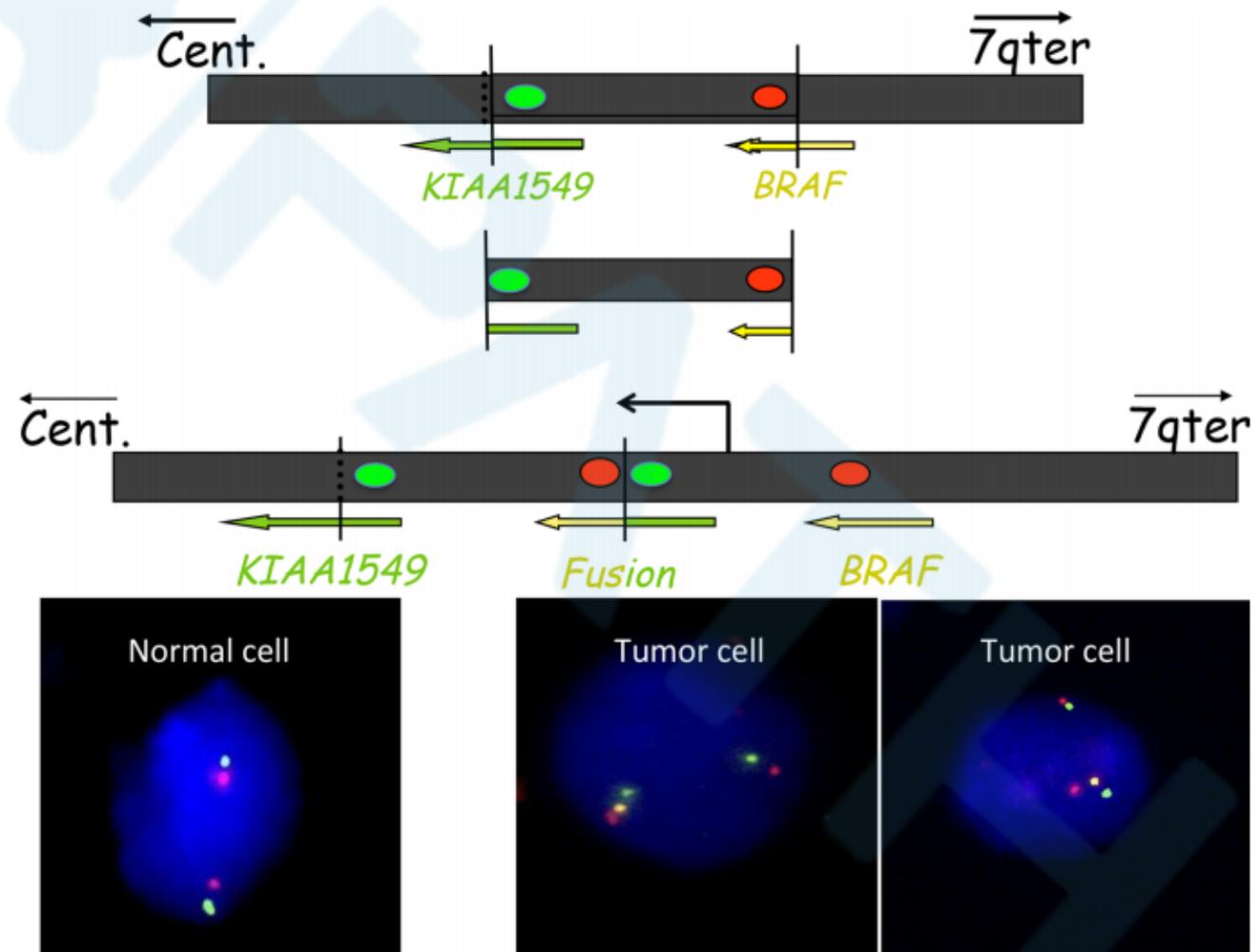
# 星形细胞肿瘤的演进



Johnson B E, et al. Mutational Analysis Reveals the Origin and Therapy-Driven Evolution of Recurrent Glioma[J]. Science. 2014, 343(6167): 189-193.

# BRAF-KIAA1549 融合

## 检测方法——FISH



Pilocytic astrocytoma: pathology, molecular mechanisms and markers. Acta Neuropathol (2015) 129:775–788

