



CXorf67在PFA型室管膜瘤中作用及其机制的研究进展

韩记昌¹, 宋晓敏², 刘亚超³, 李林^{1,2,3*}

1. 国科大杭州高等研究院生命与健康科学学院, 浙江省系统健康科学重点实验室, 杭州 310024;

2. 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心(生物化学与细胞生物学研究所), 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031;

3. 上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210

* 联系人, E-mail: lli@sibs.ac.cn

2022-05-17 收稿, 2022-07-04 修回, 2022-07-05 接受, 2022-07-06 网络版发表

国家自然科学基金(82103123, 92053201) 资助

摘要 CXorf67(chromosome X open reading frame 67)在绝大多数的细胞系以及成体组织和器官中均不表达, 因而在很长时间内对这个蛋白质的研究和功能认识非常有限. 2018年, 研究发现CXorf67特异性地在PFA(posterior fossa group A)亚型室管膜瘤中高表达, 这开启了对CXorf67功能和机制的探索. PFA型室管膜瘤是9种室管膜瘤亚型中恶性程度和发病率最高的一种, 这种亚型的肿瘤多发生于婴幼儿, 由于缺少治疗药物以及缺乏有效的治疗策略, 预后较差. 目前的研究表明CXorf67可以通过抑制PRC2的活性和抑制DNA同源重组修复等不同机制在PFA型室管膜瘤中发挥功能, 暗示其很可能是一个重要的用以发展靶向治疗的突破口. 本文主要对目前发现的CXorf67功能及其机制进行了梳理和总结, 并对潜在的PFA型室管膜瘤的治疗策略进行了探讨, 为后续有待解决的科学问题进行了展望.

关键词 CXorf67, PFA型室管膜瘤, PRC2, 同源重组修复, 靶向治疗

CXorf67位于染色体的Xp11.22位置, 只含有一个外显子, 其mRNA包含1939个碱基, 其中开放阅读框有1512个碱基, 编码503个氨基酸, 分子量为51.9 kD, 除了位于N端、中间和C端一小段序列外, 大部分序列预测为无序结构(图1). CXorf67主要定位在细胞核中, 在进化上极不保守, 人源和鼠源的同源性仅为39%, 目前尚未有关于其全长或片段的三维结构信息. 在胚胎发育过程中, CXorf67在早期胚胎植入前高表达, 但在内细胞团期表达则显著下降. 在成体中, CXorf67只在卵母细胞、胎盘和睾丸中表达^[1,2]. 病理条件下, 目前只报道其在PFA(posterior fossa group A)亚型室管膜瘤和子宫内间质肉瘤(作为融合基因)中表达^[1,3].

1 PFA型室管膜瘤

室管膜瘤(ependymomas)是发生在中枢神经系统

(central nervous system, CNS)神经上皮的恶性肿瘤, 它可以沿着整个神经轴发生, 按位置分为脊髓、幕上和幕下. 室管膜瘤在成人和儿童中均有发生, 发生于脊髓的室管膜瘤多见于成人, 而脑部室管膜瘤则多见于儿童, 其中幕下的占大多数(约75%)^[4].

在2015年之前, 室管膜瘤的分类主要基于组织病理学特征, 被分为WHO I ~ III级^[5]. 然而这种分级和预后之间的相关性并不明确, 不能有效地对肿瘤的恶性程度和病人的生存期作出判断和预测^[6]. 2015年, Pajtlar和他的同事^[7]通过对500个肿瘤样本基因组的DNA甲基化谱分析, 将室管膜瘤分成了9个亚型, 其中位于脊髓(spine, SP)、幕上(supratentorial, ST)和幕下(posterior fossa, PF)的室管膜瘤亚型各有3个, 它们依次被命名为SP-SE、SP-MPE、SP-EPN, ST-SE、ST-EPN-YAP1、ST-EPN-RELA, PF-SE、PF-EPN-A、PF-EPN-

引用格式: 韩记昌, 宋晓敏, 刘亚超, 等. CXorf67在PFA型室管膜瘤中作用及其机制的研究进展. 科学通报, 2022, 67: 3976–3983

Han J C, Song X M, Liu Y C, et al. Research progress on the function and mechanism of CXorf67 in PFA ependymoma (in Chinese). Chin Sci Bull, 2022, 67: 3976–3983, doi: [10.1360/TB-2022-0565](https://doi.org/10.1360/TB-2022-0565)

B(图2). 在室管膜瘤的9种类型中, PF-EPN-A(简称为PFA)占比最高, 接近50%. PF室管膜瘤的3种亚型中, PF-SE主要见于成人患者, PF-EPN-B(简称为PFB)主要发生在青少年和成人人群中(中位30岁), 而PFA大多数

发生在婴儿和幼童中, 中位年龄只有3岁. PFA预后生存期最差, 5年总生存期(overall survival, OS)约为60%, 而无进展生存期(progression-free survival, PFS)则仅为33%^[4,8]. PFA型室管膜瘤的一个重要特征是超过70%的

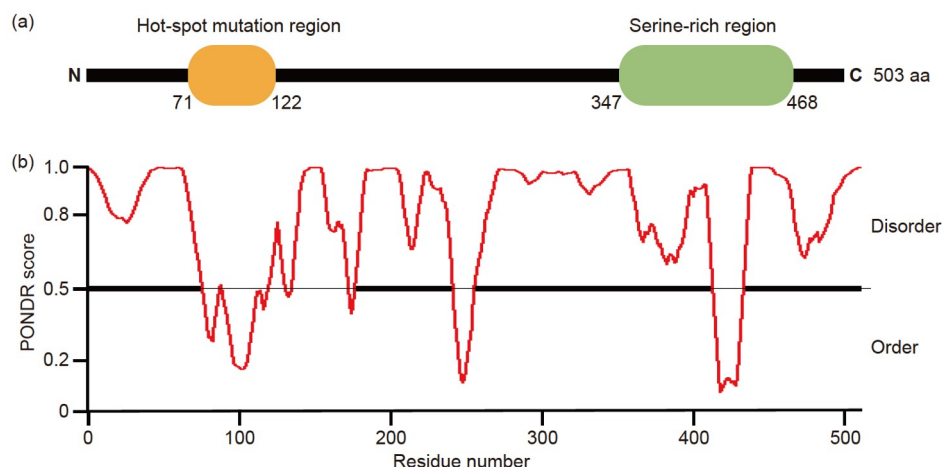


图 1 CXorf67的结构域组成和无序区域预测. (a) CXorf67包含503个氨基酸, ~10%的PFA肿瘤中发现CXorf67突变, 这些突变主要集中在CXorf67靠近N端氨基酸71~122的位置(hot-spot mutation region); (b) PONDR (predictor of natural disordered regions)分数高于0.5的是无序区域, 低于0.5的为有序区域, 横坐标对应的是CXorf67蛋白的氨基酸残基位置

Figure 1 Domain structure and disordered regions prediction of CXorf67. (a) CXorf67 contains 503 amino acids, and its mutations which are mainly located at the N-terminal region (71–122 aa) are found in ~10% of PFA tumors; (b) PONDR (predictor of natural disordered regions) score higher than 0.5 is a disordered region, and below 0.5 is an ordered region. The abscissa corresponds to the amino acid residue number of CXorf67 protein

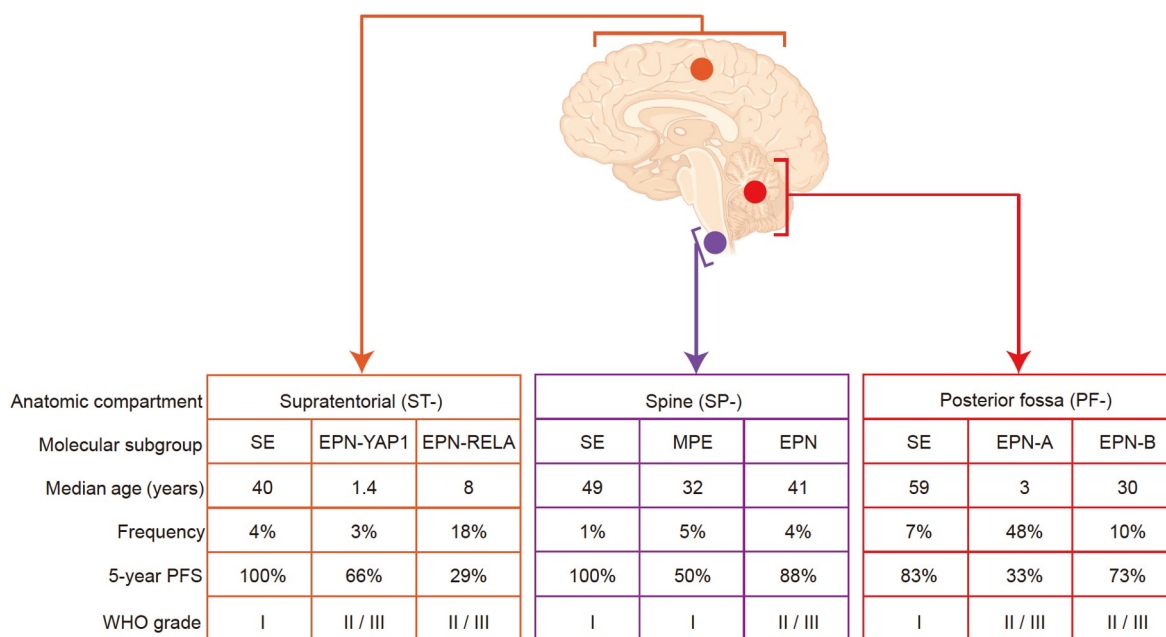


图 2 室管膜瘤分类. 基于DNA甲基化谱分析, 室管膜瘤被分成9个亚型, 其中位于脊髓、幕上和幕下各有3种亚型, 在这9个亚型中, PFA占比最高, 且预后较差

Figure 2 Classification of ependymomas. Based on DNA methylation profiling, ependymomas are classified into 9 subgroups, and 3 in each anatomical compartment of the CNS, spine, posterior fossa, supratentorial. Among the 9 subgroups, PFA is most prevalent and has poor outcomes

肿瘤存在*CXorf67*高表达。此外,接近10%的肿瘤中*CXorf67*存在突变,这些突变主要集中在*CXorf67*靠近N端一段有序的结构上^[1](图1(a))。目前尚未发现这些突变体对*CXorf67*功能的影响,也没有发现这些突变与临床表现存在任何相关性^[9,10]。

尽管过去已有多个针对室管膜瘤的化疗临床试验,遗憾的是,这些临床试验结果表明化疗并没有显著改善病人的生存期^[11,12]。这些化疗手段失败的一个重要原因是室管膜瘤如前所述包含分子异质性的多种亚型,而不同分子分型的肿瘤对放射疗法、化疗和靶向治疗的敏感性有差异。目前PFA型室管膜瘤的主要治疗手段是手术联合放疗。由于对其病理机制等的认识不足,缺少有效的治疗手段和方案,PFA型室管膜瘤复发率较高,预后较差。基于上述这些原因,人们一直在努力开发针对PFA型室管膜瘤的化疗和靶点药物治疗手段。

2018年,Pajtl和他的同事^[1]通过对675个PFA型室管膜瘤样本DNA甲基化谱和基因表达谱的深入分析,将其进一步划分为9个次亚型,这些次亚型之间仍存在分子异质性,且生存期和预后等参数依然表现出一定程度的不同。PFA型室管膜瘤虽然具有很低的体细胞突变,但是其基因组不稳定性特征显著,具有较高的基因拷贝数变异(copy number variations, CNV)^[13]。在大约17.3%的PFA中发现了1q扩增,并且和预后存在显著相关性。此外,PFA还有22q缺失(6.9%)、6q缺失(6.4%)和10q缺失(5.2%)等^[1,14~16]。值得一提的是,没有发现*CXorf67*突变和1q扩增出现在同一个肿瘤样本中,暗示它们的产生可能是互斥的,但是其背后的原因目前并不清楚^[1]。2020年,Gojo等人^[17]通过对室管膜瘤进行单细胞RNA测序同样发现肿瘤中含有较高的CNV,而且相比于另外两种PF型室管膜瘤,PFA型室管膜瘤中未分化、干细胞类似基因特征谱的细胞群占比更多,这种细胞群的富集很可能和PFA型室管膜瘤预后不良以及肿瘤复发相关。

2 *CXorf67*通过类似于H3K27M突变体的作用机制抑制PRC2的活性

2016年,有研究报道,PFA型室管膜瘤一个显著特征是组蛋白3赖氨酸27三甲基化(H3K27me3)水平的下降^[18]。2018年,研究人员在Daoy细胞中利用免疫沉淀结合质谱蛋白质组学鉴定*CXorf67*可能结合的蛋白质时,发现其中含有多梳抑制复合体2(polycomb repressive complex 2, PRC2)的3个核心成员EZH2(enhancer of

zeste homolog 2)、SUZ12(suppressor of zeste 12)和EED(embryonic ectoderm development)^[1]。随后的多个研究证实,*CXorf67*主要通过结合抑制EZH2的甲基转移酶活性从而降低H3K27me3的水平^[2,10,19,20]。机制研究表明,*CXorf67*利用与H3K27M(Lysine-to-methionine)突变类似的作用原理抑制了PRC2的活性。弥漫内生型脑桥胶质瘤(diffuse intrinsic pontine gliomas, DIPG)同样是一个主要发生在儿童中的恶性脑肿瘤,其中超过80%存在H3K27M突变,突变后的组蛋白由原来的EZH2的底物变成了其抑制剂,从而降低了H3K27me3水平^[21,22]。序列比对发现,位于*CXorf67*碳末端的403~416氨基酸序列(K27M-like peptide, 即KLP)和H3K27M发生突变位置的序列存在同源性,其中M406对应K27M突变位点(图3(a))。研究表明,合成的KLP肽段可以在体外实验中抑制EZH2的活性,而含有M406E突变的KLP肽段则失去活性;与这个结果一致,体内实验表明M406E突变的*CXorf67*不再能和PRC2相互作用,也不再能促进H3K27me3水平下降^[23]。之所以在这以前的研究中没有发现*CXorf67*和PRC2之间存在相互作用,一个重要原因是实验室常用的细胞系中,除了U2OS和Daoy,大部分都不表达*CXorf67*。正是由于发现能够抑制EZH2甲基转移酶的活性,*CXorf67*被重新命名为EZHIP(EZH inhibitory protein)^[2]。这些研究表明,*CXorf67*和H3K27M采用相似的机制,通过抑制EZH2,导致细胞H3K27me3的水平下降(图3(b))。

在大约3.7%的DIPG中并没有H3突变,但是会伴有*CXorf67*的表达上调^[24];同时,在大约4.2%的PFA型室管膜瘤中没有发现*CXorf67*的高表达,但是却有H3K27M突变^[1,13]。这表明,这2个蛋白质介导的调控过程很可能是互斥的,即如果肿瘤细胞中存在H3K27M突变,则其*CXorf67*的表达必然处于抑制状态;反之,如果肿瘤细胞中*CXorf67*呈现高表达,则其H3K27M突变不会发生^[9]。目前这种互斥现象背后的机制和原因,即为什么PFA型室管膜瘤和DIPG肿瘤细胞会分别偏好*CXorf67*和H3K27M突变去实现同一个目标——抑制H3K27me3,仍然是一个未解之谜。有趣的是,在子宫内膜间质肉瘤中,发现MBTD1(malignant brain tumor domain containing 1)和*CXorf67*形成的融合蛋白包含MBTD1大部分(只缺少末端39个氨基酸)和*CXorf67*的碳末端一段(氨基酸254~503),这个融合蛋白也可以抑制H3K27me3^[3,10]。这一结果支持了*CXorf67*靠近碳末端的区域主导了其抑制PRC2的功能,且暗示这一机制

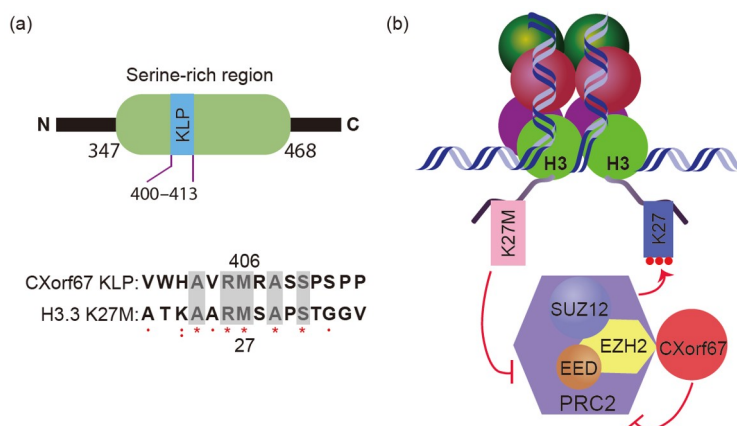


图3 CXorf67和H3K27M采用类似的机制抑制H3K27的三甲基化。(a) 序列比对发现位于CXorf67碳末端的KLP序列和H3K27M发生突变位置的序列存在同源性, 其中M406对应K27M突变位点; (b) CXorf67和H3K27M采用类似的机制, 通过结合EZH2, 使PRC2的活性被抑制, 从而不能对H3K27进行三甲基化修饰

Figure 3 CXorf67 inhibits H3K27me3 through a H3K27M-like mechanism. (a) Sequence alignment reveals a H3K27M-homologous sequence at the C-terminal region of CXorf67, in which M406 corresponds to K27; (b) similar to the mechanism underlying H3K27M, CXorf67 binds to EZH2 and thereby inhibits the activity of PRC2, which consequently blocks H3K27 methylation

在除PFA型室管膜瘤的其他肿瘤中可能也存在。

3 CXorf67通过阻断PALB2-BRCA2的结合抑制DNA同源重组修复

目前, 绝大多数关于CXorf67的研究都是围绕其在EZH2活性抑制和H3K27me3下调中所发挥的功能和机制展开的。那么除了结合和抑制EZH2外, CXorf67是否还存在其他功能和机制呢? 我们实验室近期的一个工作揭示了CXorf67另一个重要的功能, 即CXorf67可参与调控DNA同源重组(homologous recombination, HR)修复^[25]。我们首先通过生物信息学分析, 发现CXorf67高表达的细胞对DNA损伤试剂(如camptothecin、etoposide和doxorubicin等)更加敏感。通过在U2OS细胞中进行的免疫沉淀-质谱分析, 发现CXorf67可能结合的蛋白质中, 除了已知的EZH2和EED等外, 还含有一些和DNA损伤修复相关的蛋白质, 如PALB2和BRCA1等。功能实验发现, CXorf67的高表达可以显著抑制DNA损伤诱导的RAD51 foci的形成。随后的机制研究发现, CXorf67含有一段与BRCA2 PBM(PALB2 binding motif, 即PBM)序列相似的13个氨基酸(420~432), 介导了CXorf67与PALB2的结合(图4(a))。进一步研究发现, CXorf67通过和BRCA2蛋白竞争结合PALB2蛋白, 抑制了BRCA2-PALB2复合物的形成, 进而抑制HR修复过程(图4(b))^[25]。

需要指出的是, CXorf67调控HR修复的功能, 并不会因为M406E突变而发生改变, 表明CXorf67这一新发

现的功能并不依赖其结合和抑制EZH2的活性。这个发现除了揭示了CXorf67一个重要的新功能以外, 更重要的是它为PFA型室管膜瘤的治疗提出了一个新的思路。利用合成致死的原理, PARP抑制剂(PARP inhibitor, PARPi)目前已经被批准用于治疗HR修复缺陷的肿瘤。由于PFA肿瘤中高表达CXorf67, 其HR修复处于一个被抑制的状态, 如果这时加入PARP抑制剂, 使DNA单链断裂无法被修复, 经过一轮复制后变成DNA双链断裂, 那么HR修复缺陷的肿瘤细胞就因为无法进行DNA修复从而走向死亡。我们利用室管膜瘤病人原代细胞系和人源肿瘤异种移植小鼠模型, 证实CXorf67高表达的肿瘤对PARP抑制剂确实具有更高的敏感性, 而且在与放射性治疗联合使用时对肿瘤的杀伤作用更为显著^[25]。这是因为放疗可以引起肿瘤细胞内更多的DNA损伤, 而这时由于CXorf67和PARP抑制剂的同时作用, 导致肿瘤细胞不能有效对这些DNA损伤进行修复, 从而增强了肿瘤的治疗效果。

4 CXorf67的表达调控研究

CXorf67特异地在PFA型室管膜瘤中高表达, 目前关于这个现象背后的原因和机制尚不清楚。有研究发现, CXorf67的高表达通常伴随其启动子区域的低甲基化, 但是发生机制仍不清楚^[1]。此外, PFA型室管膜瘤细胞在低氧环境培养时, 可以上调PRC2抑制基因的表达(如CXorf67和C17orf96), 但是对PRC2核心亚基的表达并没有影响。同时发现, PFA型室管膜瘤的缺氧基因特

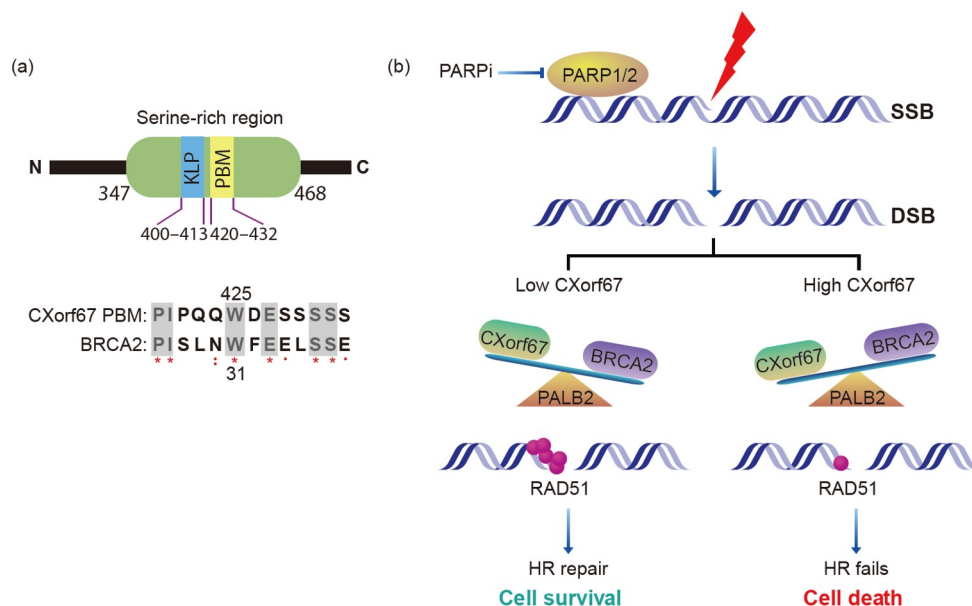


图 4 CXorf67通过和BRCA2竞争结合PALB2来抑制HR修复. (a) 序列对比显示, CXorf67碳末端含有一段与BRCA2的PBM序列相似的一段序列, 这段序列介导了CXorf67与PALB2的结合; (b) CXorf67通过和BRCA2蛋白竞争结合PALB2蛋白, 抑制了BRCA2-PALB2复合物的形成, 进而对HR修复过程发挥抑制作用, 如果此时用PARP抑制剂同时抑制DNA的单链修复, 则肿瘤细胞因为无法进行DNA的损伤修复而走向死亡. PBM: PALB2结合基序

Figure 4 CXorf67 inhibits HR repair through a competitive binding with BRCA2 for PALB2. (a) A fragment at the C-terminal region of CXorf67 is homologous to the PMB motif of BRCA2, which is revealed to also mediate interaction of CXorf67 with PALB2; (b) CXorf67 interacts with PALB2 to block BRCA2-PALB2 interaction and thereby inhibits HR repair, during which if PARP inhibitors are introduced simultaneously, tumor cells would die due to DNA repair failure. PBM: PALB2 binding motif

征(hypoxic gene signature)和其预后不良显著相关^[26,27]。有趣的是, 该肿瘤独特的代谢表型和后脑发育中的胶质细胞谱系(gliogenic lineage)的代谢改变表现出类似的特征。有研究表明, PFA型室管膜瘤细胞可能来源于胶质元祖细胞(gliogenic progenitors)和顶板状干细胞(roof-plate-like stem cells)^[28]。通过对小鼠后脑发育过程中不同时间点取样的单细胞RNA-seq测序分析, 上述这两类细胞达到峰值时的基因表达谱表现出一种缺氧反应基因表达特征谱, 与PFA型室管膜瘤有着非常高的相似性^[27]。该肿瘤细胞这种独特的代谢特征仅仅反映了早期后脑细胞的起源, 还是在后来某种原因导致的低氧状态下获得的一种表型呢, 这一问题目前尚未有答案。低氧条件是如何诱导CXorf67上调, 其背后的分子机制是什么, 以及CXorf67的上调是否是PFA肿瘤发生的关键因素, 这些问题目前也都是未解之谜。此外, 尽管CXorf67通常由于DNA高度甲基化而不表达, 但如果去甲基化得以实现(如PFA型室管膜瘤细胞中), 其表达的转录激活信号机制显然是一个有趣的问题等待解答。

5 以CXorf67为靶点的治疗策略在PFA型室管膜瘤中的应用

CXorf67自2018年被发现特异性地在PFA型室管膜瘤中高表达, 随后的一系列研究发现其靠近碳末端的KLP序列和H3K27M类似, 都是通过抑制EZH2, 从而抑制肿瘤细胞中的H3K27me3水平^[29]。这些发现暗示, CXorf67可能成为一个药物靶点, 通过化学干预CXorf67-EZH2的相互作用, 从而达到抑制PFA肿瘤细胞生长的目的。2020年, 我们实验室发现了CXorf67不依赖其抑制PRC2活性的另一个功能——抑制HR修复^[25]。这两种功能提供了两条不同的针对该肿瘤的治疗策略: 一种思路是阻断CXorf67-EZH2的相互作用, 从而恢复细胞H3K27me3水平, 进而抑制促癌基因的表达, 达到抑制肿瘤细胞增殖的目的。目前虽然还没有获得可以化学干预其相互作用的小分子或多肽, 但是这个方向仍是充满希望和吸引力的。沿着这个方向, 理想的药物应能特异性地阻断CXorf67-EZH2的相互作用, 而不影响EZH2和其底物的结合以及其酶活和功能。与这个尚处在理论阶段的治疗策略相比, 另一种基于

CXorf67调控HR修复功能的治疗策略则可以比较快地进入临床试验阶段。鉴于目前已有靶向PARP的抑制剂被批准用于临床上治疗乳腺癌和卵巢癌等存在同源重组缺陷的肿瘤,因此PARP抑制剂联合放疗或化疗是一个可以很快应用于临床试验的治疗策略。目前我们已经和相关医院开展放疗联合PARP抑制剂治疗PFA型室管膜瘤的临床试验。此外,随着CXorf67表达调控机制逐渐明确,以CXorf67抑制HR修复为基础,对CXorf67的表达水平加以干预,也可能是一个有效的补充治疗策略。例如提高PFA型室管膜瘤中CXorf67蛋白的表达水平,进一步抑制肿瘤细胞的HR修复,使得肿瘤细胞对PARP抑制剂更加敏感,从而得到更好的治疗效果。

最近,研究发现PFA型室管膜瘤中可能富集了比较高比例的干细胞基因特征谱类似的细胞群^[17],这类细胞群的特征与CXorf67的表达是否有关系仍不清楚。但是,针对这个细胞群未分化状态的信号通路可能也是一个阻止PFA型室管膜瘤生长以及复发的重要药物靶标。

6 总结与展望

室管膜瘤的9个亚型中以PFA亚型的发病率及恶性程度最高,且主要发生在婴幼儿,往往无法接受放疗,再加上缺乏有效的化疗药物,导致术后整体预后较差,因此寻找有效的靶向性药物成为了治疗该型肿瘤的一个难题。

目前CXorf67被发现在PFA型室管膜瘤中发挥两种独立的功能,即抑制PRC2和抑制HR修复。这些发现暗示CXorf67可能成为一个药物靶点:一种是化学干预CXorf67-EZH2的相互作用,从而达到抑制PFA肿瘤细胞生长的目的;另外一种是基于CXorf67高表达导致的HR修复缺陷,从而使得肿瘤细胞对PARP抑制剂更加敏感,达到选择性杀死肿瘤细胞的效果。

有趣的是,CXorf67这两个独立功能的保守性很不相同。CXorf67调控PRC2的功能是比较保守的,尽管CXorf67在昆虫中并不表达,但是在果蝇的翅成虫盘(imaginal wing discs)中过表达人源的CXorf67时,仍能够引起H3K27me3的显著减少^[23]。而CXorf67抑制HR功能的保守性很低,与人源CXorf67相比,鼠源的CXorf67几乎完全丧失了对HR修复调控的功能(未发表结果)。

为什么人源CXorf67会获得独特的调控DNA损伤修复的功能,这和PFA型室管膜瘤最开始的形成是否相关,这些问题背后的原因和机制还有待进一步地探索。

此外,针对PFA型室管膜瘤临床前研究的一个困难是,缺乏能反映该肿瘤特征的肿瘤细胞系、移植瘤模型和动物模型。鉴于CXorf67特异性在PFA型室管膜瘤中高表达,研究者思考其是否为该肿瘤发生的驱动因素。有研究发现,虽然过表达CXorf67可以引发H3K27me3的降低,但是目前通过子宫内电穿孔技术引入CXorf67过表达质粒或者接种表达CXorf67的神经干细胞到小鼠中,都不能产生PFA型室管膜瘤^[2]。这些尝试可能忽略了人源CXorf67的另一重要功能——抑制DNA同源重组修复,而鼠源CXorf67不具有这一功能。人源CXorf67的这两种相互独立功能则可能驱动PFA型室管膜瘤发生。当然,不排除CXorf67可能需要其他因子的辅助才能导致细胞的癌变。需要指出的一种可能是,CXorf67的异常上调需要发生在某一特定细胞群的某一个特定的窗口期,只有时空特异性地表达上调,才能导致该群细胞癌变这一过程的发生。构建人源CXorf67条件性敲入的基因工程小鼠,使得CXorf67具有上述两种相互独立的功能,即抑制PRC2和抑制HR;再通过观测特定时期和细胞中CXorf67的表达等,可以探究CXorf67是否能够单独驱动PFA型室管膜瘤发生。

总之,令人感到振奋的是,近期关于CXorf67抑制HR修复的发现提供了一个可以马上用于临床试验的方案,即放疗(或化疗)结合PARP抑制剂。需要指出的是,由于PFA型室管膜瘤病人CXorf67的表达水平区别也很大,因此,致力于探究CXorf67的表达调控机制,发现相关关键靶点,有可能进一步完善基于上述机制针对PFA型室管膜瘤病人的治疗策略。此外,CXorf67在DIPG^[24]和生殖细胞瘤^[1]等肿瘤中也存在一定程度的高表达,并且生存率分析发现CXorf67高表达的病人预后更差,暗示CXorf67在这些癌症中也是潜在的一个肿瘤治疗标志物。希望在不久的将来,通过研究者和医生的共同努力能够发现和提出更加有效和安全的治疗方案,从而较大幅度地改善目前PFA型室管膜瘤以及其他CXorf67高表达肿瘤病人所面临的预后不良、生存期较差且无药可用的困难处境。

参考文献

- 1 Pajtler K W, Wen J, Sill M, et al. Molecular heterogeneity and CXorf67 alterations in posterior fossa group A (PFA) ependymomas. *Acta Neuropathol*, 2018, 136: 211–226

- 2 Hubner J M, Muller T, Papageorgiou D N, et al. EZHIP/CXorf67 mimics K27M mutated oncohistones and functions as an intrinsic inhibitor of PRC2 function in aggressive posterior fossa ependymoma. *Neuro Oncol*, 2019, 21: 878–889
- 3 Dewaele B, Przybyl J, Quattrone A, et al. Identification of a novel, recurrent *MBTD1-CXorf67* fusion in low-grade endometrial stromal sarcoma. *Int J Cancer*, 2014, 134: 1112–1122
- 4 Pajtler K W, Pfister S M, Kool M. Molecular dissection of ependymomas. *Oncoscience*, 2015, 2: 827–828
- 5 Louis D N, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: A summary. *Acta Neuropathol*, 2016, 131: 803–820
- 6 Ellison D W, Kocak M, Figarella-Branger D, et al. Histopathological grading of pediatric ependymoma: Reproducibility and clinical relevance in European trial cohorts. *J Negat Results Biomed*, 2011, 10: 7
- 7 Pajtler K W, Witt H, Sill M, et al. Molecular classification of ependymal tumors across all CNS compartments, histopathological grades, and age groups. *Cancer Cell*, 2015, 27: 728–743
- 8 Witt H, Mack S C, Ryzhova M, et al. Delineation of two clinically and molecularly distinct subgroups of posterior fossa ependymoma. *Cancer Cell*, 2011, 20: 143–157
- 9 Nambirajan A, Sharma A, Rajeshwari M, et al. EZH2 inhibitory protein (EZHIP/CXorf67) expression correlates strongly with H3K27me3 loss in posterior fossa ependymomas and is mutually exclusive with H3K27M mutations. *Brain Tumor Pathol*, 2021, 38: 30–40
- 10 Piunti A, Smith E R, Morgan M A J, et al. CATAcomb: An endogenous inducible gene that antagonizes H3K27 methylation activity of Polycomb repressive complex 2 via an H3K27M-like mechanism. *Sci Adv*, 2019, 5: eaax2887
- 11 Bouffet E, Foreman N. Chemotherapy for intracranial ependymomas. *Childs Nervous Syst*, 1999, 15: 563–570
- 12 Bouffet E, Tabori U, Huang A, et al. Ependymoma: Lessons from the past, prospects for the future. *Childs Nerv Syst*, 2009, 25: 1383–1384
- 13 Petralia F, Tignor N, Reva B, et al. Integrated proteogenomic characterization across major histological types of pediatric brain cancer. *Cell*, 2020, 183: 1962–1985.e31
- 14 Kilday J P, Mitra B, Domerg C, et al. Copy number gain of 1q25 predicts poor progression-free survival for pediatric intracranial ependymomas and enables patient risk stratification: A prospective European clinical trial cohort analysis on behalf of the Children's Cancer Leukaemia Group (CCLG), Société Française d'Oncologie Pédiatrique (SFOP), and International Society for Pediatric Oncology (SIOP). *Clin Cancer Res*, 2012, 18: 2001–2011
- 15 Korshunov A, Witt H, Hielscher T, et al. Molecular staging of intracranial ependymoma in children and adults. *J Clin Oncol*, 2010, 28: 3182–3190
- 16 Godfraind C, Kaczmarek J M, Kocak M, et al. Distinct disease-risk groups in pediatric supratentorial and posterior fossa ependymomas. *Acta Neuropathol*, 2012, 124: 247–257
- 17 Gojo J, Englinger B, Jiang L, et al. Single-cell RNA-seq reveals cellular hierarchies and impaired developmental trajectories in pediatric ependymoma. *Cancer Cell*, 2020, 38: 44–59.e9
- 18 Bayliss J, Mukherjee P, Lu C, et al. Lowered H3K27me3 and DNA hypomethylation define poorly prognostic pediatric posterior fossa ependymomas. *Sci Transl Med*, 2016, 8: 366ra161
- 19 Jain S U, Do T J, Lund P J, et al. PFA ependymoma-associated protein EZHIP inhibits PRC2 activity through a H3 K27M-like mechanism. *Nat Commun*, 2019, 10: 2146
- 20 Ragazzini R, Pérez-Palacios R, Baymaz I H, et al. EZHIP constrains polycomb repressive complex 2 activity in germ cells. *Nat Commun*, 2019, 10: 3858
- 21 Schwartzentruber J, Korshunov A, Liu X Y, et al. Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. *Nature*, 2012, 482: 226–231
- 22 Wu G, Broniscer A, McEachron T A, et al. Somatic histone H3 alterations in pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas and non-brainstem glioblastomas. *Nat Genet*, 2012, 44: 251–253
- 23 Jain S U, Rashoff A Q, Krabbenhoft S D, et al. H3 K27M and EZHIP impede H3K27-methylation spreading by inhibiting allosterically stimulated PRC2. *Mol Cell*, 2020, 80: 726–735.e7
- 24 Castel D, Kergrohen T, Tauziède-Espariat A, et al. Histone H3 wild-type DIPG/DMG overexpressing EZHIP extend the spectrum diffuse midline gliomas with PRC2 inhibition beyond H3-K27M mutation. *Acta Neuropathol*, 2020, 139: 1109–1113
- 25 Han J, Yu M, Bai Y, et al. Elevated CXorf67 expression in PFA ependymomas suppresses DNA repair and sensitizes to PARP inhibitors. *Cancer Cell*, 2020, 38: 844–856.e7
- 26 Panwalkar P, Tamrazi B, Dang D, et al. Targeting integrated epigenetic and metabolic pathways in lethal childhood PFA ependymomas. *Sci Transl Med*, 2021, 13: eabc0497
- 27 Michealraj K A, Kumar S A, Kim L J Y, et al. Metabolic regulation of the epigenome drives lethal infantile ependymoma. *Cell*, 2020, 181: 1329–1345.e24
- 28 Vladoiu M C, El-Hamamy I, Donovan L K, et al. Childhood cerebellar tumours mirror conserved fetal transcriptional programs. *Nature*, 2019, 572: 67–73
- 29 Piunti A, Shilatifard A. The roles of polycomb repressive complexes in mammalian development and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22: 326–345

Summary for “CXorf67在PFA型室管膜瘤中作用及其机制的研究进展”

Research progress on the function and mechanism of CXorf67 in PFA ependymoma

Jichang Han¹, Xiaomin Song², Yachao Liu³ & Lin Li^{1,2,3*}

¹ Key Laboratory of Systems Health Science of Zhejiang Province, School of Life Science, Hangzhou Institute for Advanced Study, University of Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310024, China;

² State Key Laboratory of Molecular Biology, CAS Center for Excellence in Molecular Cell Science, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;

³ School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China

* Corresponding author, E-mail: lli@sibs.ac.cn

CXorf6 (chromosome X open reading frame 67) protein contains 503 amino acids and is predicted *in silico* to be mostly disordered. *CXorf67* is barely expressed in most cell lines and human tissues. Therefore, for rather a long time, our understandings regarding functions of this protein are quite limited. In 2018, Pajtler et al. discovered a high expression of *CXorf67* specifically in posterior fossa A (PFA) ependymomas. After that, *CXorf67* attracts increasing attention and efforts to explore its potential roles in PFA ependymomas. Based on DNA methylation profiling, ependymomas have been classified into 9 molecular subgroups. Of these 9 subgroups, PFA is one of the most malignant and aggressive ones with the highest incidence. PFA ependymomas mostly happen in infants and young children with a median age of ~3 years old, and are generally refractory to chemotherapies. Current standard therapy for intracranial ependymomas is surgical resection combined with radiotherapy. However, the lateral localization of PFA ependymomas renders them hard to be removed completely, and together with a lack of chemotherapy options, they generally have a poor prognosis. Research from different labs has so far revealed two independent functions of *CXorf67* in PFA ependymomas. One function of *CXorf67* is related to the inhibition of PRC2 (Polycomb repressive complex 2) enzymatic activity and thus a global H3K27me3 reduction in PFA ependymomas. Results from several studies consistently suggested that *CXorf67* functions as an inhibitor of PRC2 through an H3K27M-like mechanism. These findings implicate *CXorf67* as a promising therapeutic target for PFA ependymomas, and efforts to develop drugs based on this PRC2-related function of *CXorf67* remain on the way. On the other hand, a recent study revealed the other function of *CXorf67* that is involved in DNA damage repair—*CXorf67* inhibits DNA homologous recombination repair through blocking PALB2-BRCA2 interaction. This new function of *CXorf67* renders it as a biomarker for PARP inhibitor treatment and provides a new treatment option for PFA patients with immediate clinical applicability. In this review, we summarize current findings about the functions and mechanisms of *CXorf67*, as well as the possible regulatory mechanisms of *CXorf67* expression in PFA ependymomas. We also discussed the clinical implications of the two functions of *CXorf67* for PFA ependymomas. In addition to PFA ependymomas, *CXorf67* expression is also observed in diffuse intrinsic pontine gliomas (DIPG) and germ cell tumors. We believe that it will be of great significance to investigate whether *CXorf67* expression could also sensitize these two tumors to PARP inhibitors. Moreover, *CXorf67* is specifically unregulated in PFA, but not in any other ependymoma subgroup; and reasons for this remain currently unclear. Understanding of how *CXorf67* expression is turned on in PFA ependymomas might enable a controllable expression of *CXorf67* in other types of tumors, thereby opening up new opportunities not only for PFA patients, but possibly also for other cancer patients.

CXorf67, PFA ependymoma, PRC2, homologous recombination repair, target therapy

doi: [10.1360/TB-2022-0565](https://doi.org/10.1360/TB-2022-0565)