

本文引文格式:张晓静,陈延松,唐经纬,等. 敲低 SETD8 抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的转移及其机制研究[J]. 右江民族医学院学报, 2022, 44(5): 628-632, 643.

【论著与临床报道】

## 敲低 SETD8 抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的转移及其机制研究

张晓静, 陈延松, 唐经纬, 陈晨, 刘元, 金功圣, 刘先富

(蚌埠医学院第一附属医院肿瘤外科, 安徽 蚌埠 233000)

**摘要:**目的 研究赖氨酸甲基转移酶(SETD8)对乳腺癌 MCF-7 细胞转移的调控作用。方法 用 qRT-PCR 和免疫组化实验检测癌旁正常组织和乳腺癌组织中 SETD8 表达。使用 Lipofectamine 3000 分别将小干扰 RNA 阴性对照(Control), SETD8 的小干扰 RNA (siRNA-1、siRNA-2 组) 转染到 MCF-7 细胞中, Transwell 实验检测细胞的迁移、侵袭能力。qRT-PCR 检测 SETD8、Slug、Zeb1、Zeb2、Twist1、Snail 的 mRNA 表达量。Western blot 检测 SETD8 和 Slug 的蛋白表达水平。染色质免疫共沉淀(ChIP)实验检测 H4K20me1 修饰在 Slug 基因启动子上的富集情况。**结果** 与癌旁正常组织相比, 乳腺癌组织中 SETD8 的 mRNA 和蛋白水平均显著升高 ( $P < 0.05$ )。与 Control 组比较, 敲低组 SETD8 的 mRNA 和蛋白水平均显著降低 ( $P < 0.0001$ )。相比于 Control 组, 细胞迁移、侵袭能力减弱, Slug 蛋白表达水平降低。与 IgG 组比较, H4K20me1 修饰能够显著富集在 Slug 基因启动子上游 1500~2000 bp 之间 ( $P < 0.001$ )。**结论** 下调 SETD8 的表达能够抑制 MCF-7 细胞的转移能力, 其机制可能与 SETD8 调控 Slug 基因转录相关。

**关键词:** 乳腺肿瘤; 赖氨酸甲基转移酶; MCF-7 细胞; 转移

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2022)05-0628-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2022.05.003

### The study on the knockdown of SETD8 inhibiting the metastasis of breast cancer MCF-7 cells and its mechanism

Zhang Xiaojing, Chen Yansong, Tang Jingwei, Chen Chen, Liu Yuan, Jin Gongsheng, Liu Xianfu

(Department of Surgical Oncology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233000, Anhui, China)

**Abstract:** **Objective** To study the regulation of SETD8 in the metastasis of breast cancer MCF-7 cells.

**Methods** The qRT-PCR and immunohistochemistry were used to detect the expression of SETD8 in normal tissues adjacent to the cancer and breast cancer tissues. The small interfering RNA of negative control group and SETD8 groups (siRNA-1, siRNA-2) was transfected into MCF-7 cells by Lipofectamine 3000, respectively. The ability of cell migration and invasion was tested by Transwell assay. The mRNA expression of SETD8, Slug, Zeb1, Zeb2, Twist1 and Snail were determined by qRT-PCR. The protein expression levels of SETD8 and Slug were tested by Western blot. Chromatin immunoprecipitation (ChIP) assay was used to detect the enrichment of H4K20me1 on Slug gene promoter. **Results** Compared with the adjacent normal tissues, the mRNA and protein levels of SETD8 were significantly increased in breast cancer tissues ( $P < 0.05$ ). The mRNA and protein levels of SETD8 in the knockdown group were significantly decreased compared with the control group ( $P < 0.0001$ ). Compared with the control group, the ability of cell migration and invasion was reduced, and the expression levels of Slug protein was decreased in the knockdown group. Compared with the IgG group, H4K20me1 was significantly enriched in the upstream of Slug gene promoter of 1 500~2 000 bp

**基金项目:**安徽省教育厅重点课题(KJ2019A0341);蚌埠医学院自然科学基金重点项目(2020byzd132)

**第一作者简介:**张晓静(1986-),女,硕士,主治医师,研究方向:甲状腺及乳腺肿瘤的治疗,E-mail:zhangxj54321@163.com

**通讯作者简介:**刘先富(1983-),男,硕士,副主任医师,研究方向:甲状腺及乳腺肿瘤的治疗,E-mail:276325428@qq.com

( $P < 0.001$ ). **Conclusion** Down-regulation of SETD8 expression can inhibit the metastasis of MCF-7 cells, and the mechanism may be associated with the regulation of SETD8 in the Slug gene transcription.

**Key words:** breast cancer; SETD8; MCF-7 cells; metastasis

尽管在过去的几十年中,乳腺癌诊断和治疗取得了长足进步,但其仍是全世界女性中最常见的癌症之一,严重威胁着女性身心健康<sup>[1]</sup>。虽然早期发现和诊断的乳腺癌患者拥有较高的治愈率,但易复发和高转移特性是其治疗失败的主要原因<sup>[2]</sup>。许多诱因能够导致的乳腺癌发生,包括家族病史、遗传因素和激素水平等<sup>[3]</sup>。不幸的是,与乳腺癌复发和转移相关的分子靶标仍然知之甚少,特别是目前转移性乳腺癌的诊断和治疗方法仍然非常有限<sup>[4-5]</sup>。因此,迫切需要寻找和阐明与乳腺癌转移有关的治疗靶点和作用机制。赖氨酸甲基转移酶(SETD8)是催化组蛋白 H4 第 20 位赖氨酸单甲基化(H4K20me1)修饰的唯一赖氨酸甲基转移酶。目前国内外对于 SETD8 在乳腺癌发生发展中的作用研究较少,本研究将探究 SETD8 在乳腺癌转移中的作用及其分子机制,为乳腺癌的临床治疗提供一定的理论基础。

## 1 材料和方法

1.1 主要试剂 乳腺癌组织芯片(货号:BRD481)购于上海卓灏生物公司;Trizol 溶液, Lipofectamine 3000 购自美国 Invitrogen 公司;DMEM 培养基、胎牛血清购自美国 Gibco 公司;qRT-PCRMix、HiScript II Q RT SuperMix 逆转录试剂盒购自南京诺唯赞公司;Western blot(WB)蛋白裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒、染色质免疫共沉淀(Chromatin co-immunoprecipitation, ChIP)试剂盒购自上海碧云天生物公司;SETD8 siRNA 购于上海吉玛公司;SETD8、Slug 抗体购自美国 Abcam 公司;GAPDH 抗体购自武汉三鹰生物技术公司;实验中所有引物均由安徽通用生物公司合成。

1.2 免疫组化实验步骤及结果判读 将组织芯片置于 60 °C 烘箱中烤片 60 min,分别放入二甲苯 I、II、III 中浸泡 10 min,乙醇梯度脱水 2 min,去离子水冲洗干净,放入 0.01 M 的柠檬酸钠溶液(pH 6.0)使用高压锅进行抗原修复,待自然冷却后置于 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液中避光孵育 15 min,PBS 溶液洗涤 3 次,10 分钟/次。组织芯片上加入 5% BSA 稀释的 SETD8 抗体置于 4 °C 冰箱中过夜孵育,PBS 溶液洗涤 3 次,10 分钟/次;二抗室温 45 min,PBS 溶液洗涤 3 次,10 分钟/次。加入 DAB 溶液显色 10 min,PBS 溶液洗涤后加入苏木素复染,PBS 洗去残留的苏木素溶液;最后使用梯度乙醇脱水并加入中性树脂封片,用于后续拍照观察。使用高倍显微镜进行标本染色情况观察,统计阳性细

胞比例和阳性强度,根据阳性肿瘤细胞数目分为 5 组:无阳性细胞组(0 分)、25%以下组(1 分)、26%~50%组(2 分)、51%~75%组(3 分)、75%以上组(4 分);根据染色强度将样本划分为 4 组:不着色组(0 分)、淡黄色组(1 分)、棕黄色组(2 分)、棕褐色组(3 分),计算二者乘积作为样品染色结果。

1.3 细胞培养 人乳腺癌 MCF-7 细胞购于北纳生物,使用含有 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 mg/mL 链霉素的 DMEM 培养基进行培养,并置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中。

1.4 细胞转染及分组 将生长状态良好的 MCF-7 细胞接种于 6 孔板中过夜培养,待细胞达到 60% 融合时,使用 Lipofectamine 3000 将 SETD8 的小干扰 RNA(SETD8 siRNA-1、SETD8 siRNA-2)和 siRNA 阴性对照(Control)转染到 MCF-7 细胞中,转染方法根据 Lipofectamine 3000 说明书操作。

1.5 Western blot 检测 SETD8、Slug 的蛋白表达量 收集转染后的 MCF-7 细胞,使用 RIPA 裂解液冰上裂解 10 min,低温离心机 13 000 × g 离心 30 min,收集蛋白上清,随后使用 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度,进行定量和蛋白变性处理。样品准备好后通过 SDS-PAGE 胶电泳分离蛋白,并转膜至 PVDF 膜上。室温下用 5% 的脱脂牛奶封闭 2 h,4 °C 转盘中过夜孵育一抗,PBST 洗涤 3 次,15 分钟/次,室温条件下孵育对应的二抗 1 h,再次洗涤 3 次,使用 ECL 发光液显影、曝光。

1.6 qRT-PCR 检测 SETD8、Slug、Zeb1、Zeb2、Twist1、Snail 的 mRNA 表达量 收集转染后的 MCF-7 细胞,Trizol 法提取总 RNA,用逆转录试剂盒进行逆转录。依据 qRT-PCR 试剂盒说明书配制反应体系,随后使用荧光定量 PCR 仪进行扩增。PCR 程序为:95 °C 预变性 5 min;95 °C 预变性 10 s;60 °C 退火、延伸 30 s,循环 40 次。GAPDH 作为内参,使用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 计算基因相对表达量。所有引物序列见表 1。

1.7 Transwell 实验检测细胞的迁移、侵袭能力 将转染后的 MCF-7 细胞消化、计数,使用无血清培养基重悬,迁移实验直接在 transwell 小室上室接种 4 × 10<sup>4</sup> 个细胞;下室加入含 10% 胎牛血清的培养基,置于培养箱中继续培养 24 h,取出细胞进行固定、染色,去离子水洗涤干净用于拍照。侵袭实验需要提前在小室加入 100 μL 稀释好的基质胶,并放在 37 °C 培养箱凝固 1 h,其余步骤同迁移实验。

表 1 引物序列

基因名	上游引物	下游引物
SETD8	ACAAATGCTCTGGAATGCGTT	CCGCTAATGGTTTCCCCTG
Slug	CTGTGACAAGGAATATGTGAG	CAAATGCTCTGTTGCAGTGA
Zeb1	TTACACCTTTGCATACAGAACC	TTTACGATTACACCCAGACTG
Zeb2	CAAGAGGCGCAAACAAGCC	GGTTGGCAATACCGTCATCC
Twist1	GGAGTCCGAGTCTTACGAG	TCTGGAGGACCTGGTAGAGG
Snail	GGAAGCCTAACTACAGCGA	CTGGAAGGTAAACTCTGGATT
GAPDH	GAAGGTGAAGGTCGGAG	GAAGATGGTGATGGGATTTC

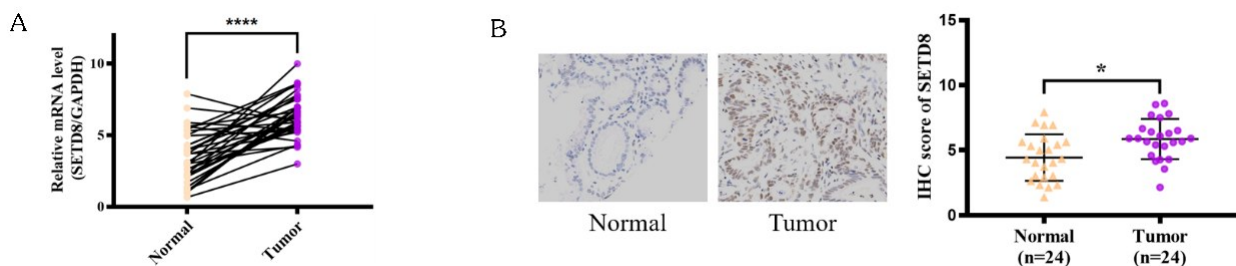
1.8 ChIP 实验检测 H4K20me1 在基因启动子上的富集情况 将 MCF-7 细胞培养于 10 cm 细胞培养皿中,待细胞长满使用 37% 甲醛交联,收集细胞并加入 SDS 裂解缓冲液进行超声,将基因组 DNA 大部分剪切在 200~1000 bp,随后加入抗体 4 °C 过夜孵育进行免疫沉淀,使用多种缓冲液仔细洗涤,随后加入洗脱缓冲液 65 °C 洗脱,将蛋白质和 DNA 分离开,使用 DNA 提取试剂抽提 DNA 用于 PCR 检测。详细步骤可参考碧云天 ChIP assay kit(货号:P2078)说明书。

1.9 统计学方法 实验数据使用 GraphPad Prism 7

软件进行统计分析和作图,计量数据均以( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组间比较使用 *t* 检验,多组间比较使用单因素方差分析。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 SETD8 在乳腺癌组织中高表达 qRT-PCR 结果显示:与癌旁正常组织相比,乳腺癌组织中 SETD8 的 mRNA 表达显著升高( $P < 0.001$ ),见图 1A。免疫组化实验(immunohistochemistry, IHC)结果证实:与癌旁正常组织比较,SETD8 在乳腺癌组织中显著高表达( $P < 0.05$ ),见图 1B。

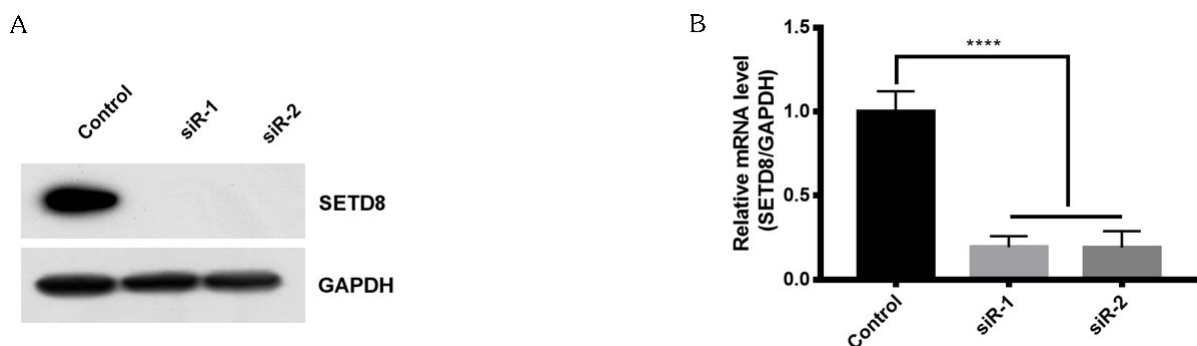


注:与癌旁正常组织比较,\* $P < 0.05$ 。

图 1 SETD8 在乳腺癌组织中的表达情况

2.2 SETD8 siRNA 敲低效果验证 MCF-7 细胞中转染 SETD8 siRNA 后, WB 结果表明:相比于 Control 组, siRNA-1、siRNA-2 组 SETD8 蛋白表达明显减少,

见图 2A。qRT-PCR 实验结果证实:相比于 Control 组,敲低组中 SETD8 mRNA 水平显著降低,且差异具有统计学意义( $P < 0.0001$ ),见图 2B。

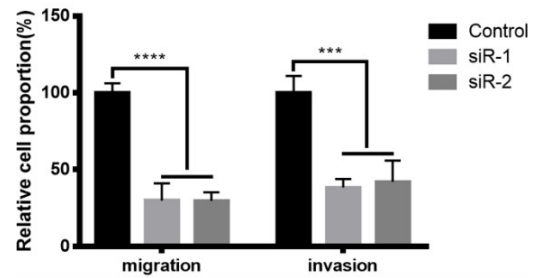
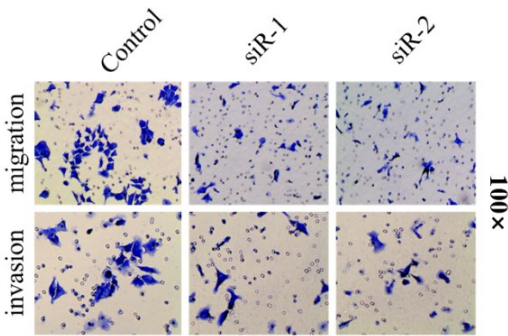


注:与 Control 组比较,\*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

图 2 MCF-7 细胞中 SETD8 siRNA 转染效率

2.3 敲低 SETD8 对细胞迁移、侵袭的影响 MCF-7 细胞转染 SETD8 siRNA 后,Transwell 实验表明:相

比于 Control 组,siRNA-1、siRNA-2 组的迁移、侵袭细胞数目均明显减少,见图 3。

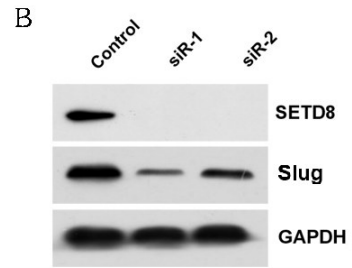
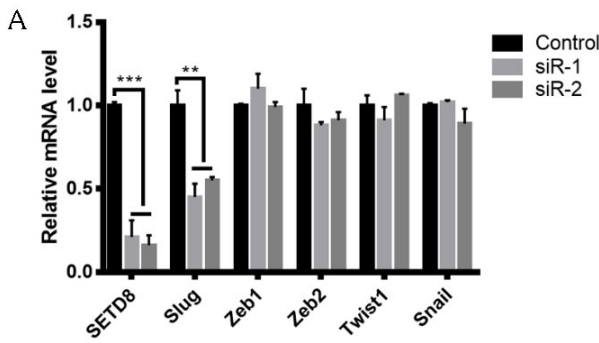


注:与 Control 组比较,\*\*\*  $P < 0.001$ ,\*\*\*\*  $P < 0.0001$ 。

图 3 敲低 SETD8 对细胞迁移、侵袭的影响

2.4 SETD8 对 Slug 的调控作用 敲低 SETD8 表达后,qRT-PCR 结果显示:相比于 Control 组,敲低组的 Slug mRNA 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ),而 Zeb1、

Zbe2、Twist1、Snail 的 mRNA 水平基本不变,见图 4A。WB 结果也证实,相比于 Control 组,siRNA-1、siRNA-2 组的 Slug 蛋白表达水平明显减少,见图 4B。

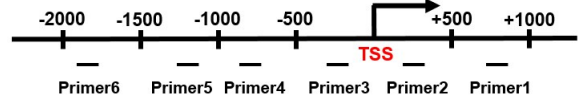


注:与 Control 组比较,\*\*  $P < 0.01$ ,\*\*\*  $P < 0.001$ 。

图 4 探寻 SETD8 的下游靶基因

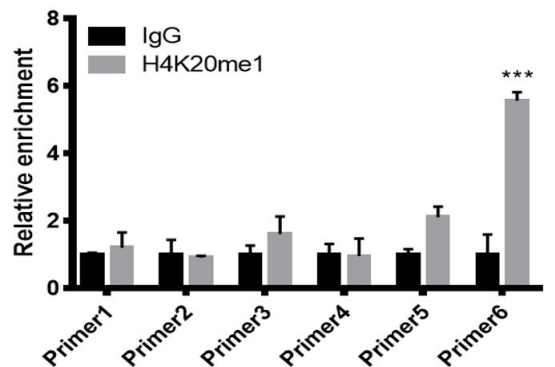
2.5 组蛋白 H4K20me1 修饰能够结合在 Slug 的启动子上 ChIP 实验结果显示:相比于阴性对照 IgG 组,H4K20me1 修饰能够显著富集在 Slug 的启动子上 ( $P < 0.001$ ),且结合位置在转录起始位点(TSS)上游 1500~2000 bp 之间,见图 5。

Schematic diagram of Human Slug Promoter



### 3 讨论

组蛋白是生物体中染色质的重要组成成分,它由 4 个核心组蛋白亚基(H2A、H2B、H3、H4)外围包裹着 147 个碱基对长度的 DNA 形成八聚体结构,其中在组蛋白亚基的氨基末端会产生伸向核小体外的组蛋白尾巴<sup>[6]</sup>。组蛋白尾巴上的氨基酸残基普遍带有正电荷,使得其可被多种酶催化修饰,这些修饰包括甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等<sup>[7]</sup>。



注:与 IgG 组比较,\*\*\*  $P < 0.001$ 。

图 5 H4K20me1 在 Slug 启动子上的结合情况

组蛋白甲基化是最为常见的翻译后修饰之一,它在染色质结构的调节、基因组稳定性、细胞有丝分裂、基因转录和细胞内信号转导等生理生化反应中起到了关键作用<sup>[8-10]</sup>。组蛋白甲基化主要发生在赖氨酸和精氨酸这两种氨基酸残基上,其中赖氨酸残基较为常见。组蛋白赖氨酸甲基化可以增加氨基酸残基的疏水性,更容易招募其他蛋白来识别甲基化的赖氨酸进而调控生物学进程<sup>[11-12]</sup>。赖氨酸残基的甲基化反应根据甲基基团的数目可分为 3 类:单甲基化、双甲基化和三甲基化,每一种形式的甲基化都可被特定蛋白质赖氨酸甲基转移酶(protein lysine methyltransferase, KMT)所催化<sup>[13]</sup>。KMT 可将 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl-L-methionine, SAM)的甲基基团催化转移到赖氨酸残基侧链的  $\epsilon$ -胺基上。大多数的 KMT 都有 SET [Su (var), Enhancer of zeste, Trithorax] 结构域<sup>[14]</sup>, 但有些不含 SET 结构域的蛋白也拥有赖氨酸甲基转移酶的活性,如 DOT1L、METTL 等<sup>[15]</sup>。

SET 结构域最早是在黑腹果蝇体内被发现的一段包含 3 个蛋白质的保守序列,这 3 种蛋白分别是花斑位置效应的调节蛋白, zeste 基因的染色质调节增强子和三空腔蛋白质染色质调节蛋白<sup>[16]</sup>。SET 结构域拥有 130 个氨基酸,并且在多种真核生物体内广泛发现。含有 SET 结构域的蛋白被称为 SET 蛋白家族,其有 SETD1、SETD2、SETD7、SETD8 等 9 个主要的成员,它们在调控基因表达,基因组印记,干细胞成熟等方面起到重要作用<sup>[17]</sup>。SETD8 催化的 H4K20me1 可以招募 53BP1 蛋白至 DNA 双链断裂处进行损伤修复,它在 DNA 复制,染色质沉默,细胞周期,转录调控中发挥着至关重要的作用<sup>[18-19]</sup>。SETD8 被发现在多种肿瘤,如非小细胞肺癌、肝癌、膀胱癌等中高表达且与不良预后有关,说明 SETD8 在肿瘤的发生发展中具有重要作用。本研究证实 SETD8 在乳腺癌组织中中高表达,且敲低 SETD8 能够抑制乳腺癌细胞的侵袭迁移能力,说明 SETD8 对于乳腺癌转移具有重要作用。Slug 又名锌指蛋白 Snai2,是 Snail 转录因子家族成员之一,是上皮-间质转化过程中一个重要的转录因子。研究表明 Slug 可以介导 RAF1 诱导的对于闭锁蛋白的转录抑制,导致上皮细胞的转化,在 EMT 过程中 Slug 可以结合在 CXCL12、BSG、E-cadherin 等基因的启动子的 E-box 序列上(CAGGTG)调控基因表达,促使细胞向间质状转化,提高细胞的侵袭和迁移能力<sup>[20-22]</sup>。本研究证实 SETD8 催化的 H4K20me1 修饰能够直接富集在 Slug 基因的启动子区域,进而调控其转录。

综上所述,本研究证实 SETD8 在乳腺癌组织中中高表达,且在 MCF-7 细胞中敲低 SETD8 表达能够抑制

细胞的侵袭、迁移能力,其机制可能与 SETD8 调控 Slug 基因转录相关。

#### 参考文献:

- [1] HARBECK N, PENAULT L F, CORTES J, et al. Breast cancer[J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 66-96.
- [2] KHODA BANDEH Z, VALILO M, VELAEI K, et al. The potential role of nicotine in breast cancer initiation, development, angiogenesis, invasion, metastasis, and resistance to therapy[J]. Breast Cancer, 2022, 29(5): 778-789.
- [3] SUN Y S, ZHAO Z, YANG Z N, et al. Risk factors and preventions of breast cancer[J]. Int J Biol Sci, 2017, 13(11): 1387-1397.
- [4] AL-MAHMOOD S, SAPIEZYNSKI J, GARBUZENKO O B, et al. Metastatic and triple-negative breast cancer: challenges and treatment options [J]. Drug Deliv and Transl Res, 2018, 8(5): 1483-1507.
- [5] 马宣传. 乳腺癌的 MRI 诊断价值及应用进展[J]. 右江民族医学院学报, 2020, 42(4): 512-515.
- [6] GHONEIM M, FUCHS H A, MUSSELMAN C A. Histone tail conformations: a fuzzy affair with DNA [J]. Trends Biochem Sci, 2021, 46(7): 564-578.
- [7] LIU J N, WANG Q, KANG Y J, et al. Unconventional protein post-translational modifications: the helmsmen in breast cancer[J]. Cell Biosci, 2022, 12(1): 22-50.
- [8] SCHOTT M, KAPPELMANN FENZL M, FISCHER S, et al. Impact of CYLD on chromatin structure and histone methylation in malignant melanoma[J]. Int J Mol Med, 2022, 49(5): 66-78.
- [9] LAM U T F, CHEN E S. Molecular mechanisms in governing genomic stability and tumor suppression by the SETD2 H3K36 methyltransferase[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2022, 144(5): 106155-106166.
- [10] CLIFTON N E, BOSWORTH M L, HAAN N, et al. Developmental disruption to the cortical transcriptome and synaptosome in a model of SETD1A loss-of-function[J]. Hum Mol Genet, 2022: ddac105.
- [11] KRAFT K, YOST K E, MURPHY S E, et al. Polycomb-mediated genome architecture enables long-range spreading of H3K27 methylation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(22): e2201883119.
- [12] LAM U T F, TANB K Y, POHJ J X, et al. Structural and functional specificity of H3K36 methylation[J]. Epigenetics Chromatin, 2022, 15(1): 17.
- [13] QIAN Y X, CHEN C L, JIANG L Y, et al. Genome-wide identification, classification and expression analysis of the JmjC domain-containing histone demethylase gene family in maize[J]. BMC Genomics, 2019, 20(1): 256.

(下转第 643 页)

- sponses [J]. *Trends Cell Biol*, 2001, 11(12): 471-477.
- [20] ZHANG G X, HU J L, RODEMER W, et al. RhoA activation in axotomy-induced neuronal death [J]. *Exp Neurol*, 2018, 306: 76-91.
- [21] AMANO M, FUKATA Y, KAIBUCHI K. Regulation and functions of Rho-associated kinase [J]. *Exp Cell Res*, 2000, 261(1): 44-51.
- [22] LI L S, ZHI D Y, SHEN Y L, et al. Effects of CC-chemokine receptor 5 on ROCK2 and P-MLC2 expression after focal cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats [J]. *Brain Inj*, 2016, 30(4): 468-473.
- [23] 刘维, 英振昊, 张国丽, 等. 从 Nogo-A-NgR 信号通路探讨 MCAO 大鼠皮脊髓束重塑的启动及复健片干预机制 [J]. *中风与神经疾病杂志*, 2019, 36(10): 896-901.
- [24] 吴锋, 李怀斌, 赵健等. 电针结合天麻素对局灶性脑缺血大鼠神经功能、额叶皮质勿动蛋白 A 及其受体表达的影响 [J]. *针刺研究*, 2016, 41(1): 65-69.
- [25] LIU L R, WANG Y X, HE L, et al. Constraint-induced movement therapy promotes neural remodeling and functional reorganization by overcoming Nogo-A/NgR/RhoA/ROCK signals in hemiplegic cerebral palsy mice [J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2021, 35(2): 145-157.
- [26] GONG P, LI R, JIA H Y, et al. Anfibatide preserves blood-brain barrier integrity by inhibiting TLR4/RhoA/ROCK pathway after cerebral ischemia/reperfusion injury in rat [J]. *J Mol Neurosci*, 2020, 70(1): 71-83.
- [27] NUNES K P, RIGSBY C S, WEBB R C. RhoA/Rho-kinase and vascular diseases; what is the link? [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(22): 3823-3836.
- [28] TAN D D, ZHANG H W, DENG J Y, et al. RhoA-GTPase modulates neurite outgrowth by regulating the expression of spastin and p60-katanin [J]. *Cells*, 2020, 9(1): 230.
- [29] SHI X W, YU W J, YANG T T, et al. Panax notoginseng saponins provide neuroprotection by regulating NgR1/RhoA/ROCK2 pathway expression, in vitro and in vivo [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 190: 301-312.

收稿日期: 2022-04-15; 修回日期: 2022-05-24

(上接第 632 页)

- [14] TAYLOR A P, SWEWCZYK M, KENNEDY S, et al. Selective, small-molecule co-factor binding site inhibition of a su(var)3-9, enhancer of zeste, trithorax domain containing lysine methyltransferase [J]. *J Med Chem*, 2019, 62(17): 7669-7683.
- [15] CAO K X, UGARENKO M, OZARK P A, et al. DOT1L-controlled cell-fate determination and transcription elongation are independent of H3K79 methylation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(44): 27365-27373.
- [16] 邢敬慈, 揭伟. 甲基转移酶 SET 结构域家族及其在心血管发育和疾病中的作用 [J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2022, 51(2): 251-260.
- [17] SINGH P K. Histone methyl transferases: A class of epigenetic opportunities to counter uncontrolled cell proliferation [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 166(8): 351-368.
- [18] MYERS J A, COUCH T, MURPHY Z, et al. The histone methyltransferase Setd8 alters the chromatin landscape and regulates the expression of key transcription factors during erythroid differentiation [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2020, 13(1): 16-37.
- [19] TJALSMAS J D, HORI M, SATO Y, et al. H4K20me1 and H3K27me3 are concurrently loaded onto the inactive X chromosome but dispensable for inducing gene silencing [J]. *EMBO Rep*, 2021, 22(3): 51989-52005.
- [20] DANA P, KARIYA R, VATEEEWOOTTACHARN K, et al. Upregulation of CD147 promotes metastasis of cholangiocarcinoma by modulating the epithelial-to-mesenchymal transitional process [J]. *Oncol Res*, 2017, 25(7): 1047-1059.
- [21] INGRUBER J, DUDAS J, SAVIC D, et al. EMT-related transcription factors and protein stabilization mechanisms involvement in cadherin switch of head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Exp Cell Res*, 2022, 414(1): 113084-113099.
- [22] WEI W D, CHEN W D, HE N F. HDAC4 induces the development of asthma by increasing Slug-upregulated CXCL12 expression through KLF5 deacetylation [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 258-272.

收稿日期: 2022-05-11; 修回日期: 2022-06-07