

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.12.001

## · 基础研究 ·

# SETD8 基因表达对乳腺癌细胞周期、活性氧及药物敏感性的影响 \*

马丽思 翁怀玉 刘思璇 陈璇 宗祥云<sup>△</sup>

(上海交通大学附属第六人民医院普外科 上海 200233)

**摘要 目的:**构建 SETD8 重组慢病毒载体,探讨 SETD8 对人乳腺癌细胞周期、氧化应激的影响,并观察稳定敲低 SETD8 后对乳腺癌细胞多西他赛敏感性的影响。**方法:**构建含 SETD8 基因的重组慢病毒载体,经转染,荧光显微镜观察感染效率;采用 RT-qPCR 和 Western blot 检测 SETD8 mRNA 和蛋白相对表达量;采用流式细胞技术检测细胞周期及活性氧水平,通过 CCK-8 试剂检测稳定敲低 SETD8 基因的乳腺癌细胞对多西他赛的敏感性变化。**结果:**成功包装慢病毒,荧光观察慢病毒感染效率在 85% 左右,通过 PCR 和 WB 验证 SETD8 过表达及敲低稳转细胞系的效率显著( $P<0.01$ )。低表达 SETD8 的乳腺癌细胞周期停滞在 G2/M 和 S 期,细胞内 ROS 水平高于对照组。不同浓度多西他赛处理的 SETD8 敲低稳转细胞系的细胞活性较对照组明显降低( $P<0.01$ )。**结论:**慢病毒介导下调 SETD8 表达,使得乳腺癌细胞周期阻滞在 G2/M 期,细胞内 ROS 增多,与多西他赛发生协同作用,从而增加了药物敏感性。

**关键词:**慢病毒;细胞周期;SETD8;敏感性;活性氧

中图分类号:R-33;Q78;R737.9 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2020)12-2201-06

## Effect of SETD8 Gene Expression on Cell Cycle, Reactive Oxygen Species and Drug Sensitivity of Breast Cancer Cells\*

MA Li-si, WENG Huai-yu, LIU Si-xuan, CHEN Xuan, ZONG Xiang-yun<sup>△</sup>

(Department of General Surgery, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai, 200233, China)

**ABSTRACT Objective:** To construct a recombinant lentivirus vector of SETD8, to investigate the effect of SETD8 on the cell cycle and oxidative stress of human breast cancer, and to observe the effect of stable SETD8 knockdown on docetaxel sensitivity of breast carcinoma cells. **Methods:** Recombinant lentivirus vector containing SETD8 gene was constructed, transfected into cancer cells and the infection efficiency was observed by fluorescence microscopy. The relative mRNA and protein expressions of SETD8 were detected by RT-qPCR and Western blot. Flow cytometry cell cycle and reactive oxygen species levels were evaluated by flow cytometry. Changes in docetaxel sensitivity of breast cancer cells with stable SETD8 knockdown were detected by the CCK8 kit. **Results:** Lentivirus were successfully packaged, the infection efficiency of lentivirus was about 85% by fluorescence observation. The relative expression of SETD8 in MDA-MB-231-shSETD8 and MCF-7-SETD8 cells was significantly lower or higher than in control cells ( $P<0.01$ ). Compared with control cells, the biological behavior of MDA-MB-231-shSETD8 reduced, the cells at S and G2/M phase increased, and intracellular ROS level was also increased. The cell viability of MDA-MB-231-shSETD8 treated with docetaxel at different concentrations was significantly lower than that of the control group ( $P<0.01$ ). **Conclusions:** SETD8 recombinant lentiviral vector transfected breast carcinoma cells, successfully established the stable knockdown cell lines, it reduce the malignant biological behavior and enhance the in vitro inhibitory effects of docetaxel on breast carcinoma cell lines.

**Key words:** Lentivirus; Cell cycle; SETD8; Drug sensitivity; ROS

**Chinese Library Classification (CLC):** R-33; Q78; R737.9 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2020)12-2201-06

## 前言

乳腺癌是发生在乳腺上皮组织的恶性肿瘤。多年来,乳腺癌是全球女性最常见的癌症,是女性癌症死亡的第二大原因。近年来其发病率呈增加趋势,低龄化走向<sup>[1]</sup>。化疗是乳腺癌治疗

的重要手段之一,多西他赛作为一线治疗转移性乳腺癌的化疗药物<sup>[2]</sup>,主要作用于细胞周期 G2/M 期,抑制有丝分裂纺锤体微管蛋白的动力不稳定性并破坏有丝分裂,促进细胞凋亡<sup>[3]</sup>。尽管多西他赛是临床常用的化疗药物,疗效显著,但依旧会产生耐药性,影响患者预后。

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(8177101282)

作者简介:马丽思,女,硕士研究生,主要研究方向:乳腺肿瘤学,电话:17317818244, E-mail: 965091200@qq.com

△ 通讯作者:宗祥云,男,硕士生导师,副教授,主要研究方向:乳腺肿瘤,E-mail:tigerzong@msn.com

(收稿日期:2020-02-25 接受日期:2020-03-21)

SETD8 是 SET 基因家族的成员，作为赖氨酸单甲基转移酶，能够特异性地甲基化 H4 组蛋白第 20 位赖氨酸的酶，并参与多种肿瘤的发生发展<sup>[4-6]</sup>。前期研究表明，SETD8 能够促进乳腺癌细胞的合成代谢和 ATP 生成，进而促进乳腺癌细胞的增殖和克隆形成能力；SETD8 通过对缺氧诱导因子 HIF $\alpha$  (hypoxia-inducible-factor 1 $\alpha$ , HIF1 $\alpha$ )蛋白的翻译后修饰的改变促进其对下游代谢相关靶基因的转录活性，进而调控乳腺癌细胞的代谢谱；两者相互作用，形成正反馈协同调节乳腺癌细胞的糖代谢，促进糖酵解<sup>[7]</sup>。但其在细胞周期和氧化应激中的作用尚不清楚，是否与化疗药物敏感性相关也未曾有研究。因此，本研究探究了 SETD8 对乳腺癌细胞周期和氧化应激的影响，其与多西他赛敏感性的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系及主要试剂

人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231(复旦大学肿瘤医院馈赠)，MCF-7(购于上海市中科院)；多西他赛(Docetaxel, DOCE)购自江苏恒瑞医药；细胞周期检测试剂盒购自美国 BD 公司；CCK-8 试剂盒购自日本同仁化学研究所；ROS 试剂盒和 RIPA 裂解液购自上海碧云天生物技术有限公司；LipofectamineTM3000 购自赛默飞世尔科技有限公司；qPCR SYBR Green Master Mix 购于上海翊圣生物科技有限公司；一抗 ACTIN, SETD8, FLAG 购自 Proteintech 公司；胎牛血清，培养基 DMEM, 双抗均购自 Gibco 公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 质粒构建及病毒包装** SETD8 全长 cDNA 由人脑组织 PCR 扩增获得，通过连接酶反应直接连入酶切后的慢病毒表达载体 CMV 启动子下游，基因测序选出重组 SETD8 基因表达序列正确的载体 GV248。病毒包装：将 293T 细胞种板至 10 cm 培养皿，当细胞长至 60~70 % 密度时，用 TIANGEN 公司质粒抽提试剂盒提取慢病毒包装系统中 SETD8 干扰质粒、过表达质粒和慢病毒辅助质粒(pSPAX2, pMD.2.G)；按照目的质粒：pSPAX2:pMD.2.G=1:3:4 的比例添加，根据 Lipo3000 说明书完成转染步骤，转染 48h 后收集病毒，过滤浓缩提纯，测定最佳感染指数，分装冻存于 -80℃。

**1.2.2 细胞培养及稳转细胞系构建** MDA-MB-231, MCF-7 及 293T 细胞培养于含 10% 的胎牛血清及 1% 双抗的 DMEM 培养基内，置于 5% 的 CO<sub>2</sub>, 37℃ 培养箱中培养。将过滤提纯后的病毒液感染 6 孔板中 MCF-7 细胞获得稳定过表达；同样 sh-SETD8 慢病毒感染 MDA-MB-231 获得稳定沉默。感染 72h 后抽提细胞总 RNA 和蛋白。

**1.2.3 实时荧光定量** qRT-PCR 检测取处于对数生长期的对照和敲减及过表达细胞系，培养皿中加入 Trizol 试剂吹打裂解细胞，按照说明书提取 RNA，测定 RNA 浓度，逆转录 RNA 成 cDNA 后进行 qRT-PCR 检测，SETD8 正向引物：5'- CG-CAAACCTTACGGATTCT-3'，反向引物：5'- CGATGAGGT-CAATCTTCATT-3'；内参基因 ACTIN 正向引物：5'- CTACGTCGCCCTGGACTTCGAGC-3'，反向引物：5'- GATG-GAGCCGCCGATCCACACGG-3'；使用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 算法处理原始 CT 数值。

**1.2.4 蛋白提取与免疫印迹 Western blot 检测** 收取 6 孔板中的细胞，PBS 洗涤 2 次，加入 150 μL RIPA 裂解液，冰上裂解 20 min, 4℃, 12000 rpm, 离心 20 min, 收集蛋白上清液，BCA 定量后，加入 1/4 体积的 5×loading Buffer, 100℃ 金属浴变性 5 min 标注样品。SDS-PAGE 蛋白恒压电泳，恒流转膜，5% 脱脂奶粉封闭 1 h，兔抗人 SETD8 单克隆抗体，兔抗人 ACTIN 单克隆抗体按照 1:1000 稀释，4℃ 摆床孵育过夜，PBST 洗 3 次 × 10 min, HRP 标记的羊抗兔二抗室温孵育 1 h，PBST 洗 3 次 × 10 min, 洗涤后 ECL 发光液显影，获取图像，Image 软件对图像进行灰度分析。

**1.2.5 细胞周期检测** 转染后的乳腺癌细胞 1×10<sup>5</sup>/孔接种于 6 孔板，培养 24 h 后细胞密度达 80%-90%，胰酶消化、收集细胞，1000 r/min 离心 5 min；1 mL 预冷 PBS 洗涤细胞 2 次，转移至 15 mL 离心管，逐滴加入预冷的 3 mL 70% 乙醇中，置于 -20℃ 过夜固定。固定后 800 r/min×5 min 洗涤 3 次去除乙醇，加入 10 μL DNase-free RNase, 37℃ 孵育 30 min, 1500 r/min 离心 5 min，弃上清液，每管加入 500 μL PI 染色液，37℃ 避光孵育 1 h，流式细胞仪检测细胞周期分布。三次独立重复实验，分析实验数据。

**1.2.6 细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的测定** 按照 1:1000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA 探针，取 6 孔板中对数生长的稳转细胞消化收集到 1.5 mL 离心管中，去除培养液，加入适当体积稀释好的 DCFH-DA。37℃ 细胞培养箱中孵育 20 min，每隔 3-5 min 颠倒混匀，使探针和细胞充分接触。用无血清培养基洗涤 3 次后，尽快上流式细胞仪检测。每组 3 个样本，分别进行 3 次独立实验，分析实验数据。

**1.2.7 细胞活力检测** 将处于对数生长期的稳转细胞 MDA-MB-231-Control, MDA-MB-231-shSETD8A, MDA-MB-231-shSETD8B，接种于 96 孔板中，每孔接种 5000-8000 个细胞，培养 24h 后，分别加入不同浓度的多西他赛，其中空白对照孔加入溶剂 DMSO，设置 3 个复孔，继续培养 48h。弃去上清后加入新鲜 DMEM 100 μL/孔，加入细胞计数试剂盒 -8 (cell counting kit-8, CCK-8) 试剂 10 μL/孔，继续培养 4h，测定 450nm 波长的 OD 值即吸光度值，细胞抑制率 = [(实验孔 OD 值 - 对照孔 OD 值) / (对照孔 OD 值 - 空白孔 OD 值)] \* 100%，GraphPad Prism7.0 软件计算 IC<sub>50</sub> 值。

### 1.3 统计学分析

用 GraphPad Prism7.0 软件进行统计学分析，各组数据均属 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，组间进行双尾 t 检验，以 P<0.05 认为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 慢病毒载体的构建和转染鉴定

SETD8 的重组载体 PCR 扩增产物鉴定结果与预期的一致。将重组慢病毒目的质粒和辅助质粒共转染 293T 细胞，获得携带 SETD8 的重组慢病毒 GV248-sh-SETD8 (元件顺序：hU6-MCS-Ubiquitin-EGFP-IRES-puromycin)。测序结果表明，合成的 SETD8 核苷酸序列插入正确，无碱基缺失或替换。慢病毒的滴度为 6E+8 TU/mL，病毒感染细胞 72H 后，荧光显微镜观察标记基因 GFP 表达情况，转染效率达到 85%，且细胞状态良

好(图 1)。

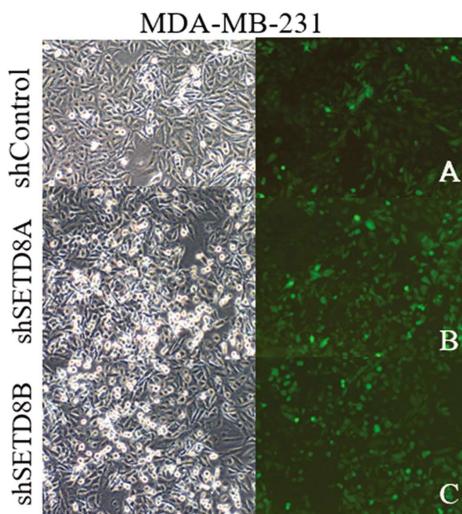


图 1 慢病毒转染使 SETD8 在 MDA-MB-231 细胞静默,如图是转染 72H 后荧光密度观察(A 为 MDA-MB-231 阴性对照稳转株,BC 为 MDA-MB-231 敲低 shSETD8 稳转株)

Fig.1 Lentiviral transfection silenced SETD8 in MDA-MB-231 cells, as shown in the fluorescence density observation after transfection for 72H (A: MDA-MB-231 negative control stable strain; BC: MDA-MB-231 knocked down shSETD8A&B stable strain).

## 2.2 过表达及敲低 SETD8 的稳转细胞效率验证

MCF-7 细胞内源性 SETD8 的 mRNA 和蛋白水平表达均较低,MDA-MB-231 细胞则均较高;故以慢病毒介导的 SETD8 shRNA 沉默 MDA-MB-231 细胞的 SETD8 的表达, 转染过表达 SETD8 mRNA 于 MCF-7 细胞。经 Western blot 及荧光定量 PCR 鉴定结果提示,SETD8 基因在 MCF-7 细胞中成功过表达,

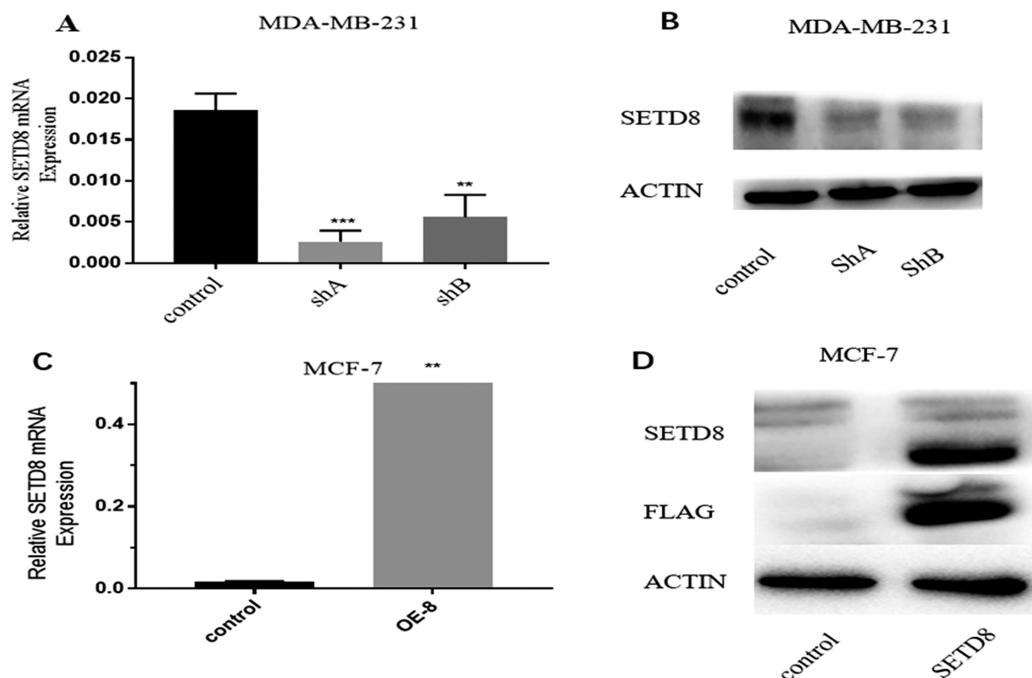


图 2 AC 通过 RT-qPCR 进行 SETD8 敲低和过表达 mRNA 效果检测;BD 通过 Western blot 进行慢病毒敲减和过表达 SETD8 蛋白效果检测

Fig.2 The detection of SETD8 mRNA inhibition and overexpression by RT-qPCR;

The detection of SETD8 protein inhibition and overexpression by Western blot

Note:\*\*P<0.01,\*\*\*P<0.001.

在 MDA-MB-231 细胞中成功沉默,差异有统计学意义, $P<0.01$ (图 2)。

## 2.3 SETD8 表达改变后对人乳腺癌细胞周期的影响

流式细胞术检测显示,慢病毒 shSETD8 转染的 MDA-MB-231 细胞出现 S 期及 G2/M 期比例的升高,特异敲低 SETD8 细胞阻滞于 G2/M 期和 S 期,差异有统计学意义, $P<0.001$ 。过表达 SETD8 引起了 G1 期阻滞,OE-SETD8-MCF-7 细胞 G0/G1 期细胞增多,S 期不变,G2/M 期细胞减少,差异有统计学意义, $P<0.05$ 。外源性过表达 SETD8 并未回补敲低 SETD8 引起的 S 期阻滞,证明 SETD8 的表达改变对细胞周期有影响(图 3)。

## 2.4 SETD8 表达改变后对乳腺癌细胞内 ROS 的影响

流式细胞检测结果表明:用 DCFH-DA 作为荧光探针测定细胞内 ROS 水平,与对照相比过表达 SETD8 的 MCF-7 细胞内活性氧水平显著降低,差异有统计学意义, $P<0.05$ 。沉默 SETD8 后的 MDA-MB-231 细胞内的 ROS 生成量增加,峰值右移,较对照组明显升高,差异有统计学意义, $P<0.01$ (图 4)。

## 2.5 低表达 SETD8 增加 MDA-MB-231 细胞对多西他赛敏感性

用阴性对照(control)或 SETD8 敲低病毒感染细胞,不同浓度的多西他赛刺激细胞 48 小时后,CCK8 法检测细胞对多西他赛的敏感性。检测如图显示(图 5),与 Control 组相比,sh-SETD8A 和 sh-SETD8B 组多西他赛的半数抑制浓度 (Inhibitory concentration  $IC_{50}$ ) 显著降低,差异有统计学意义, $P<0.01$ 。结果表明,SETD8 低表达可增加 MDA-MB-231 细胞对多西他赛的敏感性。

## 3 讨论

绝大多数乳腺癌患者死于肿瘤的复发转移,研究表明因肿

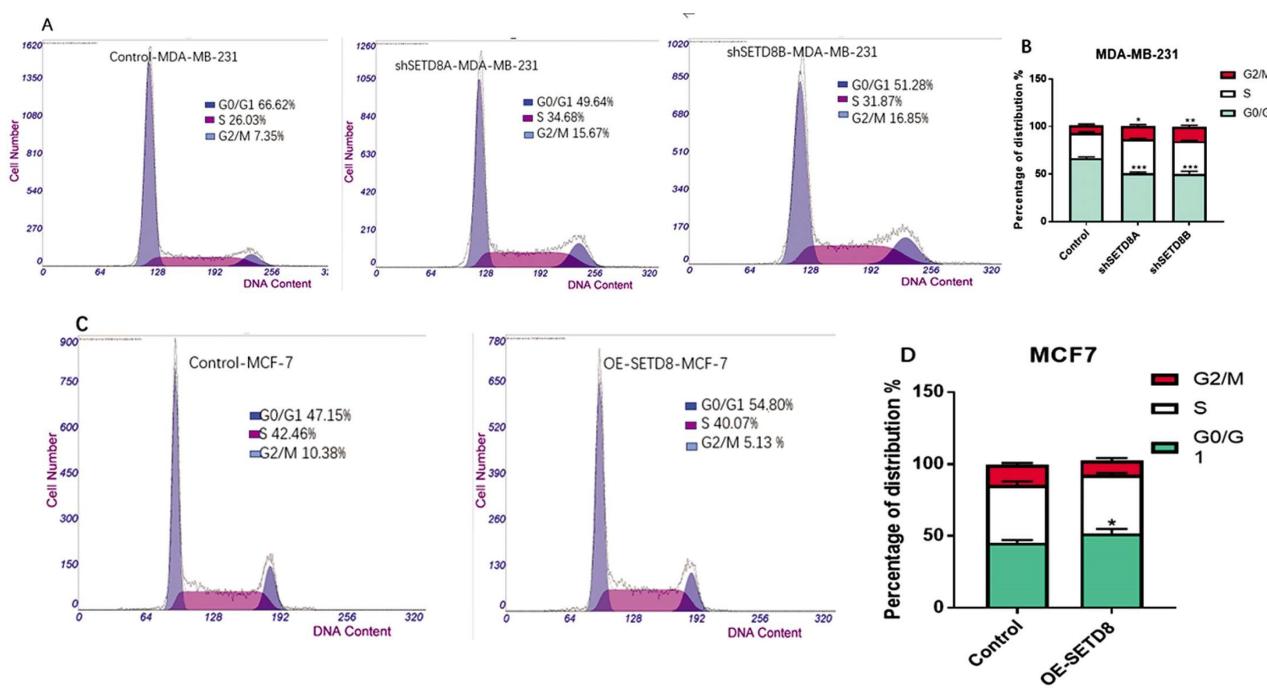


图 3 SETD8 能够参与调控乳腺癌细胞周期进程 A-B: shSETD8 转染 231 细胞后细胞周期比例变化与 control 组比较;

C-D: SETD8 转染 MCF-7 细胞后细胞周期比例变化与阴性对照组比较。\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001.

Fig.3 SETD8 is involved in the regulating of cell cycle in breast cancer cells A-B: The changes of cell cycle ratio of 231 cells transfected with shSETD8 compared with that in Control group. C-D: The changes of cell cycle ratio of MCF-7 cells transfected with SETD8 compared with that in negative control group \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001.

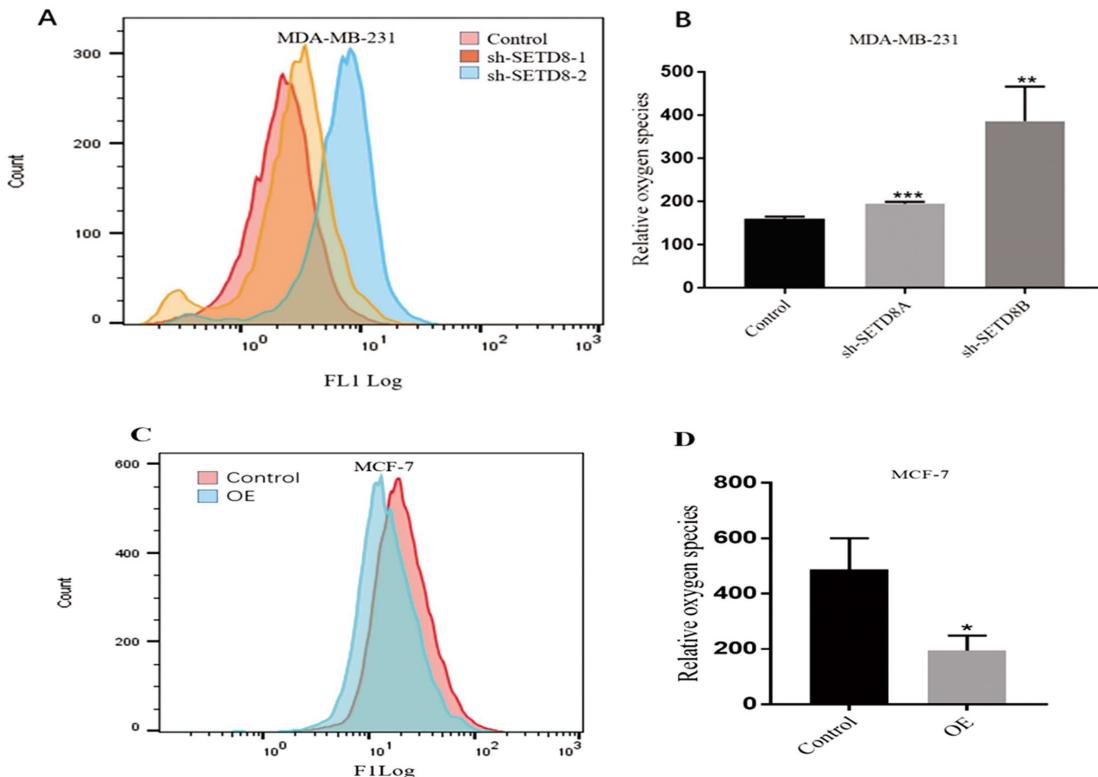


图 4 SETD8 对乳腺癌细胞内活性氧水平的影响

Fig.4 Effect of SETD8 on intracellular ROS levels in breast cancer cells

瘤复发转移死亡的患者中有 90% 的人发生耐药<sup>[8]</sup>。耐药的发生机制包括：肿瘤细胞的 EMT 特性，肿瘤干细胞的免疫逃逸作用，肿瘤代谢重编程，DNA 损伤修复能力强等<sup>[9,10]</sup>。因此，增强

肿瘤细胞对多西他赛的敏感性，提高疗效成为提高乳腺癌患者生存率的重要途径。

SETD8 不仅受到周期的严格调控，在不同周期含量发生

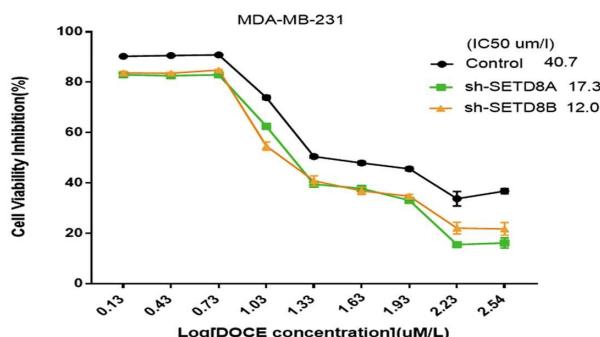


图 5 不同浓度多西他赛(DOCE)对 MDA-MB-231-Control 和 MDA-MB-231-shSETD8A, MDA-MB-231-shSETD8B 细胞敏感性的影响  
Fig.5 The relative inhibition rate of MDA-MB-231-Control and MDA-MB-231-shSETD8A, MDA-MB-231-shSETD8B cells induced by different concentrations of docetaxel(DOCE)

波动性变化<sup>[5,11]</sup>,也调控正常体细胞和肿瘤细胞的周期,参与肿瘤的多种生物学行为包括细胞凋亡,上皮间质转化(EMT)及DNA损伤修复等<sup>[12-14]</sup>。SETD8作为癌基因在多种肿瘤中高表达,并作为预测肿瘤预后的因子<sup>[15-18]</sup>,同时SETD8赋予肿瘤细胞自我更新及复发转移的能力<sup>[19]</sup>。Liu等人通过检测1192名乳腺癌患者的标本证明了SETD8高表达与患者不良预后相关<sup>[20]</sup>。由此可见SETD8的表达赋予肿瘤细胞耐药表型,我们推测SETD8的水平影响药物敏感性。

最新研究运用敲低SETD8的肿瘤细胞标本做基因组测序,生信分析出SETD8与周期调控的基因密切相关<sup>[17]</sup>。本研究通过应用shRNA特异性沉默MDA-MB-231细胞SETD8基因表达,通过流式细胞术观察到下调SETD8的表达后细胞发生S,G2/M期阻滞,表明SETD8可调控乳腺癌细胞周期。Veschi等通过化学筛选出SETD8是治疗神经母细胞瘤的重要靶点,研究表明沉默SETD8的表达可减少P53甲基化水平,导致P53经典通路的激活,发挥促进细胞凋亡和细胞周期阻滞的功能<sup>[21-24]</sup>。同样在Hela细胞中,沉默SETD8的表达后,细胞也表现出G2/M期阻滞,与耐药相关的周期蛋白CyclinB1的表达量也明显降低<sup>[25]</sup>。基于SETD8对细胞周期的调控作用,我们通过观察SETD8下调后细胞对多西他赛的敏感性,探讨SETD8在细胞水平对多西他赛抗肿瘤作用的影响。结果显示,SETD8下调后细胞内ROS增多,这与甲状腺癌细胞敲低SETD8后细胞内ROS水平呈一致现象<sup>[28]</sup>。用不同浓度多西他赛处理稳转细胞后,MTT结果显示各组细胞的增殖抑制率与药物浓度有明显浓度依赖性,干扰组的抑制率在不同浓度下均大于空白组。以上结果均表明SETD8下调能增强细胞对多西他赛的敏感性,其可能的机制是:干扰SETD8的表达后,细胞周期阻滞在G2/M期,很可能增加多西他赛作用的时间从而提高疗效;ROS生成的增加引起了DNA链断裂,半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶活化,C-Jun氨基末端激酶的激活等一系列级联反应,最后提高了细胞毒性效应<sup>[26,27]</sup>;它也可以通过表观修饰改变代谢通路,发挥毒性作用,影响肿瘤药物的敏感性<sup>[29]</sup>;目前已经有SETD8为靶标的抑制剂,并进入临床研究发挥抗肿瘤的作用<sup>[30]</sup>。

综上所述,SETD8与乳腺癌细胞的周期调控和氧化应激及多西他赛化疗敏感性密切相关,这为克服乳腺癌多西他赛耐

药提供了理论基础和实验依据。然而,SETD8通过何种机制影响多西他赛的敏感性还有待进一步研究,对其他不同作用机制的化疗药物也展开研究,观察SETD8是否会影响非周期性药物的敏感性。

#### 参 考 文 献(References)

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424
- Nabholtz JM, Falkson C, Campos D, et al. Docetaxel and doxorubicin compared with doxorubicin and cyclophosphamide as first-line chemotherapy for metastatic breast cancer: results of a randomized, multicenter, phase III trial [J]. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology, 2003, 21(6): 968-75
- Yvon AM, Wadsworth P, Jordan MA. Taxol suppresses dynamics of individual microtubules in living human tumor cells [J]. Molecular biology of the cell, 1999, 10(4): 947-59
- Fang J, Feng Q, Ketel CS, et al. Purification and functional characterization of SET8, a nucleosomal histone H4-lysine 20-specific methyltransferase[J]. Curr Biol, 2002, 12(13): 1086-99
- David R. Cell cycle: Disposing of SETD8 [J]. Nature reviews Molecular cell biology, 2010, 11(12): 819
- Chen X, Ding X, Wu Q, et al. Monomethyltransferase SET8 facilitates hepatocellular carcinoma growth by enhancing aerobic glycolysis[J]. Cell death & disease, 2019, 10(4): 312
- Huang R, Yu Y, Zong X, et al. Monomethyltransferase SETD8 regulates breast cancer metabolism via stabilizing hypoxia-inducible factor 1α[J]. Cancer Lett, 2017, 390
- Mansoori B, Mohammadi A, Davudian S, et al. The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review [J]. Adv Pharm Bull, 2017, 7(3): 339-48
- Hasan S, Taha R, Omri HE. Current Opinions on Chemoresistance: An Overview[J]. Bioinformation, 2018, 14(2): 80-5
- Ma L, Zong X. Metabolic Symbiosis in Chemoresistance: Refocusing the Role of Aerobic Glycolysis[J]. Frontiers in oncology, 2020, 10: 5
- Wu S, Rice JC. A new regulator of the cell cycle: the PR-Set7 histone methyltransferase [J]. Cell cycle (Georgetown, Tex), 2011, 10(1): 68-72
- Milite C, Feoli A, Viviano M, et al. The emerging role of lysine methyltransferase SETD8 in human diseases [J]. Clinical epigenetics, 2016, 8: 102
- Yang F, Sun L, Li Q, et al. SET8 promotes epithelial-mesenchymal transition and confers TWIST dual transcriptional activities [J]. The EMBO journal, 2012, 31(1): 110-23
- Niu C, Guo J, Shen X, et al. Meiotic gatekeeper STRA8 regulates cell cycle by interacting with SETD8 during spermatogenesis [J]. J Cell Mol Med, 2020 [Epub ahead of print]
- Hashemi M, Sheybani-Nasab M, Naderi M, et al. Association of functional polymorphism at the miR-502-binding site in the 3' untranslated region of the SETD8 gene with risk of childhood acute lymphoblastic leukemia, a preliminary report [J]. Tumour Biol, 2014, 35(10): 10375-9
- Yu N, Huangyang P, Yang X, et al. microRNA-7 suppresses the

- invasive potential of breast cancer cells and sensitizes cells to DNA damages by targeting histone methyltransferase SET8 [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(27): 19633-42
- [17] Takawa M, Cho HS, Hayami S, et al. Histone lysine methyltransferase SETD8 promotes carcinogenesis by deregulating PCNA expression[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(13): 3217-27
- [18] Lin Z-Z, Ming D-S, Chen Y-B, et al. KMT5A promotes metastasis of clear cell renal cell carcinoma through reducing cadherin-1 expression[J]. *Oncology letters*, 2019, 17(6): 4907-13
- [19] Veo B, Danis E, Pierce A, et al. Combined functional genomic and chemical screens identify SETD8 as a therapeutic target in MYC-driven medulloblastoma[J]. *JCI insight*, 2019, 4(1)
- [20] Liu B, Zhang X, Song F, et al. A functional single nucleotide polymorphism of SET8 is prognostic for breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(23): 34277-87
- [21] Shih CT, Chang YF, Chen YT, et al. The PPAR $\gamma$ -SETD8 axis constitutes an epigenetic, p53-independent checkpoint on p21-mediated cellular senescence[J]. *Aging cell*, 2017, 16(4): 797-813
- [22] Veschi V, Liu Z, Voss TC, et al. Epigenetic siRNA and Chemical Screens Identify SETD8 Inhibition as a Therapeutic Strategy for p53 Activation in High-Risk Neuroblastoma [J]. *Cancer cell*, 2017, 31(1): 50-63
- [23] Veo B, Danis E, Pierce A, et al. Combined functional genomic and chemical screens identify SETD8 as a therapeutic target in
- MYC-driven medulloblastoma[J]. *JCI insight*, 2019, 4(1): e122933
- [24] Dhami GK, Liu H, Galka M, et al. Dynamic methylation of Numb by Set8 regulates its binding to p53 and apoptosis [J]. *Molecular cell*, 2013, 50(4): 565-76
- [25] Houston SI, McManus KJ, Adams MM, et al. Catalytic function of the PR-Set7 histone H4 lysine 20 monomethyltransferase is essential for mitotic entry and genomic stability [J]. *The Journal of biological chemistry*, 2008, 283(28): 19478-88
- [26] Nikolaou KC, Moulous P, Harokopos V, et al. Kmt5a Controls Hepatic Metabolic Pathways by Facilitating RNA Pol II Release from Promoter-Proximal Regions[J]. *Cell reports*, 2017, 20(4): 909-22
- [27] Cruz-Bermúdez A, Laza-Briviesca R, Vicente-Blanco RJ, et al. Cisplatin resistance involves a metabolic reprogramming through ROS and PGC-1 $\alpha$  in NSCLC which can be overcome by OXPHOS inhibition[J]. *Free radical biology & medicine*, 2019, 135: 167-81
- [28] Liao T, Wang Y-J, Hu J-Q, et al. Histone methyltransferase KMT5A gene modulates oncogenesis and lipid metabolism of papillary thyroid cancer in vitro[J]. *Oncology reports*, 2018, 39(5): 2185-92
- [29] Karaman EF, Zeybel M, Ozden S. Evaluation of the epigenetic alterations and gene expression levels of HepG2 cells exposed to zearalenone and  $\alpha$ -zearalenol [J]. *Toxicol Lett*, 2020 [Epub ahead of print]
- [30] Blum G, Ibáñez G, Rao X, et al. Small-molecule inhibitors of SETD8 with cellular activity[J]. *ACS Chem Biol*, 2014, 9(11): 2471-2476

---

(上接第 2218 页)

- [29] Tan Z, Xiao L, Tang M, et al. Targeting CPT1A-mediated fatty acid oxidation sensitizes nasopharyngeal carcinoma to radiation therapy [J]. *Theranostics*, 2018, 8(9): 2329-47
- [30] Xiong Y, Liu Z, Zhao X, et al. CPT1A regulates breast cancer-associated lymphangiogenesis via VEGF signaling [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1-7
- [31] Pucci S, Zonetti MJ, Fisco T, et al. Carnitine palmitoyl transferase-1A (CPT1A): a new tumor specific target in human breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(15): 19982-96
- [32] Shao H, Mohamed EM, Xu GG, et al. Carnitine palmitoyltransferase 1A functions to repress FoxO transcription factors to allow cell cycle progression in ovarian cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(4): 3832-46