

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.05.006

KMT6 在肝癌细胞转移中的作用及对肝癌预后的影响 *

李一鸣^{1,2} 鱼静敏^{1,2} 杨海蛟^{1,2} 李碧侠^{1,2} 王霞^{1,2} 唐娟^{1,2Δ}

(1 空军军医大学细胞生物学教研室 / 细胞工程研究中心, 肿瘤生物学国家重点实验室 陕西 西安 710032;

2 国家分子医学转化科学中心 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨组蛋白赖氨酸甲基转移酶 6(histone lysine methyltransferase 6, KMT6)对人肝癌细胞转移的调控作用及对肝癌患者预后的影响。**方法:**采用 RNA 干扰技术合成靶向 KMT6 的小干扰 RNA(KMT6 siRNA)片段,瞬时转染至人肝癌细胞系 Huh-7。随后,分别采用细胞黏附实验、细胞侵袭实验以及划痕迁移实验检测肝癌细胞的黏附、侵袭和迁移等肿瘤细胞转移能力。运用 Oncomine 数据库和 cBioportal 肝癌数据库分析 KMT6 的表达情况及对肝癌预后的影响。**结果:**靶向 KMT6 的小干扰 RNA(KMT6 siRNA)片段瞬时转染至人肝癌细胞系 Huh-7 后, KMT6 蛋白的表达显著下降,且黏附率、侵袭率和划痕修复率均显著降低($P<0.05$)。Oncomine 肝癌数据库分析表明肝癌组织 KMT6 的表达增加, cBioportal 肝癌数据库分析表明 KMT6 基因改变与肝癌患者预后不良密切相关。**结论:**KMT6 分子可促进肝癌细胞黏附、侵袭和迁移,其基因改变与肝癌患者预后不良显著相关。KMT6 分子有望成为肝癌治疗的新靶点。

关键词:肝癌;组蛋白赖氨酸甲基转移酶 6;转移;预后

中图分类号:R-33;R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)05-830-05

Effect of KMT6 on the Metastasis of Hepatocellular Carcinoma Cells and Prognosis of Hepatocellular Carcinoma Patients*

LI Yi-ming^{1,2}, YU Jing-min^{1,2}, YANG Hai-jiao^{1,2}, LI Bi-xia^{1,2}, WANG Xia^{1,2}, TANG Juan^{1,2Δ}

(1. Cell Engineering Research Center & Department of Cell Biology, State Key Laboratory of Cancer Biology,

Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 National Translational Science Center for Molecular Medicine, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of histone lysine methyltransferase 6 (KMT6) on metastasis of hepatocellular carcinoma (HCC) cells and prognosis of HCC patients. **Methods:** In this study, RNA interference was utilized to transiently downregulate the expression of KMT6 in Huh-7 cells. KMT6 siRNA was then used to investigate the effect of KMT6 on metastasis including adhesion, invasion and migration potentials in Huh-7. Oncomine database and cBioportal database were used to analyze the expression level of KMT6 and its effect on the prognosis of HCC. **Results:** The expression level of KMT6 protein in Huh-7 cells was significantly decreased after transient transfection of KMT6 siRNA compared to those transfected with the negative control siRNA. The numbers of attached cells, invaded cells and wound closure rate were significantly decreased in KMT6 siRNA transfected Huh-7 cells compared to those transfected with the negative control siRNA ($P<0.05$). Oncomine database showed that KMT6 expression is increased in HCC tissues. cBioportal database showed that KMT6 gene alteration correlates with poor prognosis of HCC patients. **Conclusion:** KMT6 can promote adhesion, invasion and migration of HCC cells. KMT6 gene alteration is significantly associated with poor prognosis in HCC patients. KMT6 may be a novel target for HCC treatment.

Key words: Hepatocellular carcinoma; Histone lysine methyltransferase 6; Metastasis; Prognosis

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)05-830-05

前言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的消化系统恶性肿瘤之一,其进展快,易转移,预后差^[1]。GLOBCAN 癌症统计数据表明 2018 年我国肝癌新发病例约 39.3 万人,死亡病例约 36.9 万人。目前,临床上针对中晚期肝癌病人疗效甚

微,约 90%的肝癌患者死于肿瘤转移相关并发症,转移是影响肝癌患者预后的最主要因素。高度侵袭转移是肝癌最主要的恶性表型,也是肝癌进展迅速、预后不良的直接原因^[2]。因此,研究有关肝癌细胞转移的调控因素将有助于我们更准确地把握肝癌发生发展的规律,对于新靶点、新策略的研发具有重要的科研与临床价值。

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81472700, 81502330);陕西省重点研发计划(2017KJXX-68)

作者简介:李一鸣(1992-),男,硕士,主要研究方向:肿瘤生物学, E-mail: sydlym@163.com

Δ 通讯作者:唐娟,副教授,博士,电话:(029)84774547, E-mail: tangjuan1@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2018-11-11 接受日期:2018-11-28)

肿瘤的转移是一个十分复杂的涉及多环节和多步骤的动态过程,涉及细胞黏附胞外基质、胞外基质降解清除运动障碍和细胞的迁移运动等一系列连续过程^[3,4]。组蛋白赖氨酸甲基转移酶 6(histone lysine methyltransferase 6, KMT6)是表观遗传调控分子多梳抑制复合体 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2)的核心亚基,属于组蛋白赖氨酸甲基转移酶家族,亚细胞定位在细胞核中,其 SET 结构域高度保守,可催化组蛋白 H3 第 27 位(H3K27m3)赖氨酸发生甲基化修饰,进而沉默多种抑癌基因转录,促进肿瘤的发生发展^[5]。因此,靶向阻断 KMT6 及其下游信号转导通路有望成为肿瘤靶向治疗新方向。

大量研究表明甲基转移酶 KMT6 高表达于多种肿瘤细胞,对于维持肿瘤细胞黏附、侵袭和迁移等促进肿瘤转移发挥重要作用,但 KMT6 是否调控肝癌细胞转移及影响患者预后,有待探究。本研究通过 RNA 干扰技术下调人肝癌细胞 KMT6 基因的表达,检测 KMT6 表达下调对人肝癌细胞黏附、侵袭和迁移等转移能力的影响,采用 Oncomine 数据库和 cBioportal 数据库分析 KMT6 在肝癌中的表达及对肝癌患者预后的影响,以期为肝癌的诊治提供新思路和新方法。

1 材料与方法

1.1 材料

肿瘤细胞培养基 RPMI1640 购自 GIBCO 公司。胎牛血清购自四季青公司。Matrigel 胶购自 Corning 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人肝癌细胞 Huh-7 购自上海生化与细胞生物研究所细胞库。KMT6 干扰片段购自吉玛基因。细胞接种至合适的培养瓶或平板中,添加含 10%胎牛血清的 RPMI1640 完全培养基,置于 5%CO₂、37℃培养箱内静置培养。一般 2-3 天换液或传代一次。

1.2.2 小干扰 RNA 瞬时转染 将细胞接种至六孔板中,待细胞密度达到 50%左右时,吸弃培养上清,添加 1.5 mL 不含胎牛血清的 RPMI1640 培养基。对于每孔细胞,将 5 μL 转染试剂 Lipo 2000 与 0.25 mL 不含胎牛血清的 RPMI1640 培养基小心混匀,静止 5 min。将小干扰 RNA 干涉片段用适量 DEPC 水溶解至所需浓度后,取 5 μL 小干扰 RNA 与 0.25 mL 不含胎牛血清的 RPMI1640 培养基小心混匀。然后将以上两种混合物轻轻混合均匀,静止 20 min。最后将以上 0.5 mL Lipo2000 与小干扰 RNA 混合溶液小心加入孔板中。置于 5%CO₂、37℃培养箱内静置培养。

1.2.3 蛋白免疫印迹实验 待细胞密度达到 70-80%左右时,弃培养上清,用 PBS 洗 2 次,加入 100 μL 含 1%PMSF 的 RIPA 裂解液,用细胞刮小心将细胞轻轻刮下,收集于 1.5 mL 离心管中,冰上裂解 20 min,然后 4℃12000×g 离心 15 min,收集蛋白上清。用 BCA 蛋白定量试剂盒对待测样品中总蛋白进行定量测定,将各组样品蛋白浓度调为一致。将浓度调齐的蛋白样品与还原性 Loading Buffer 按一定比例混匀后于沸水中煮 5 min,使蛋白充分变性。冷却后 4℃12000×g 离心 1 min,收集蛋白上清。配置 10%的 SDS-PAGE 分离胶和 5%的 SDS-PAGE 浓缩胶,把蛋白样品直接上样到 SDS-PAGE 胶加样孔内开始电泳,恒压 80 伏直至溴酚蓝前端进入分离胶中,升高电压至 120 伏,

溴酚蓝到达分离胶的底端处附近即可停止电泳。取下凝胶,对胶进行裁切,并切出标记,将胶放入电转缓冲液中平衡 10 min。PVDF 膜先在甲醇中浸泡 15 s,然后在电转缓冲液中平衡 1 min。制作转移装置:按照 3 层滤纸、PVDF 膜、凝胶、3 层滤纸的顺序制成“三明治”结构,将 PVDF 膜朝向阳极一侧,放入转印槽,在冰浴中以 100 V 恒压转印适当时间。将电转后的 PVDF 膜置于 5%脱脂奶粉,室温,脱色摇床封闭 30-60 min。按照适当比例用 TBST 稀释一抗,室温孵育 2h 或 4℃过夜。TBST 洗膜,10 min 每次,洗 3 次。按照适当比例用 TBST 稀释辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 1-1.5h。TBST 洗膜,10 min 每次,洗 3 次。混合 ECL 发光检测液 A:B(1:1),均匀滴加到半干状态 PVDF 膜上,置于发光检测系统中,进行拍照、扫描、定量。曝光时间视信号强弱而定。

1.2.4 黏附实验 Matrigel 胶 4℃溶解过夜。96 孔板包被 Matrigel 胶(5 μg/mL),每孔加入 100 μL Matrigel 胶,4℃过夜。去除上液,每孔加入含有 2%BSA 的 PBS 室温封闭 30 min,然后用 PBS 洗一遍。将事先用 siRNA 转染的细胞消化下来,计数后用含 0.1%的 BSA 无血清 RPMI1640 培养基重悬细胞,每孔接种 2×10⁴ 细胞,置于 5%CO₂、37℃培养箱内静置培养 60 min。吸除培养液和未黏附的细胞,每孔加入 50 μL 0.2%结晶紫(75%乙醇配制),室温染色 10 min 后,流水小心冲洗多余结晶紫,将平板置于空气中干燥 24 h。然后每孔加入 100 μL 50%乙醇(含 5%SDS)裂解细胞,37℃放置 30 min 后,利用酶标仪在 540 nm 波长下检测吸光值。

1.2.5 侵袭实验 Matrigel 胶 4℃溶解过夜。观察 Millicell 小室滤膜是否完整无破损,将小室放入无菌的 24 孔板中。以无血清 RPMI1640 培养基按 1:4 稀释 Matrigel 胶,加入小室上室,形成一连续薄层。每个小室 100 μL,于 37℃孵育 2-3h。吸出培养板中残余液体,每孔加入 50 μL 含 1%胎牛血清的培养液,于 37℃孵育 30 min。消化对数生长期(或转染的)细胞并计数,100 μL 含 1%血清培养基重悬,1×10⁵ 细胞接种于小室上室,在小室下室 24 孔板内加入 400 μL 含 10%血清的培养基。37℃,5%CO₂ 培养 24h。取出小室,弃去培养基,用棉签小心擦去小室膜上表面的未穿过的细胞,置于未用过的 24 孔板中,用 0.2%结晶紫/95%乙醇固定染色 30 min,用清水洗 3 遍。10×光镜下取五个视野计数穿膜细胞数,实验重复 3 次,计算平均值。

1.2.6 迁移实验 消化对数期生长的细胞,计数,在六孔板中均匀接种约 1×10⁶ 个细胞。置于 37℃,5%CO₂ 培养至细胞贴壁并形成均匀单层。待细胞贴壁后用枪头比着直尺,呈 45° 划痕,每次划痕力度均匀一致。用无血清 RPMI1640 培养基清洗细胞 2 次,去除划下的游离细胞,加入无血清培养基后拍照。37℃,5% CO₂ 培养 24 h,再次拍照。测量划痕宽度,计算划痕修复率。划痕修复率 = (0 h 的划痕宽度 - 24 h 的划痕宽度)/0 h 的划痕宽度×100%。实验重复 3 次,计算平均值。

1.3 统计学分析

采用统计学软件 GraphPad 进行数据分析,黏附、侵袭和迁移实验重复三次以上,统计学方法采用 Student t 检验, $P < 0.05$ 为差异统计学意义。

2 结果

2.1 小干扰 RNA(siRNA)抑制人 Huh-7 肝癌细胞 KMT6 的表达

我们将合成的 KMT6 干扰片段 (KMT6 siRNA) 转染人 Huh-7 肝癌细胞 36 小时, 采用蛋白免疫印迹技术检测 KMT6 的蛋白表达情况, 对照为转染无关干扰片段 (negative control siRNA, NC siRNA) 的 Huh7 细胞。结果表明 KMT6 干扰片段 (KMT6 siRNA) 可以明显抑制 KMT6 的蛋白表达(图 1)。

2.2 KMT6 表达下调对肝癌细胞黏附能力的影响

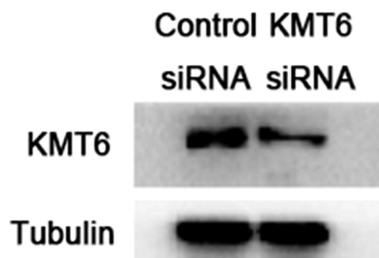


图 1 KMT6 干扰片段降低人肝癌细胞 KMT6 蛋白表达

Fig.1 KMT6 siRNA reduced the KMT6 expression in Huh-7 cells

2.3 KMT6 表达下调对肝癌细胞侵袭能力的影响

为探究 KMT6 表达水平变化是否影响细胞侵袭能力, 我们检测了转染无关干扰片段的 Huh-7 细胞(Huh-7-siNC)和干扰 KMT6 的 Huh-7 肝癌细胞 (Huh-7-siKMT6) 的侵袭能力。

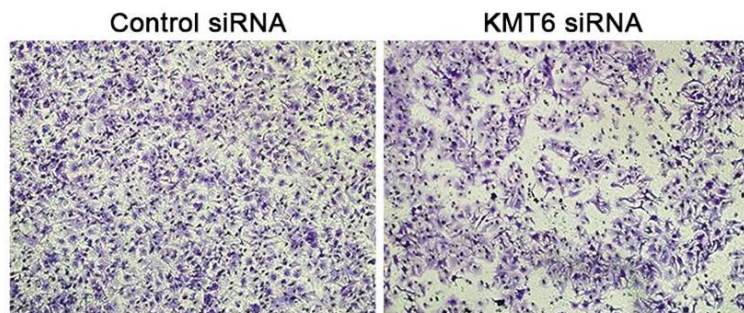


图 3 KMT6 siRNA 对肝癌细胞 Huh-7 侵袭能力的影响

Fig.3 Effect of KMT6 siRNA on the invasion potential of Huh-7 cells

2.4 KMT6 表达下调对肝癌细胞迁移能力的影响

为明确 KMT6 表达水平变化是否影响细胞迁移能力, 我们检测了转染无关干扰片段的 Huh-7 细胞(Huh-7-siNC)和干扰 KMT6 的 Huh-7 肝癌细胞(Huh-7-siKMT6)的迁移能力。细胞划痕实验结果显示: 与 Huh-7-siNC 相比, Huh-7-siKMT6 细胞迁移能力显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 4), 提示 KMT6 表达下调可降低肝癌细胞的迁移能力。

2.5 KMT6 在肝癌组织中的表达情况

基于 Oncomine 肿瘤数据库^[6,7], 我们分析了 Wurbach Liver Database 和 Roessler Liver 2 Database 两个肝癌数据库, 结果显示肝癌组织 KMT6 表达水平明显增高 (图 5), 提示 KMT6 可能在肝癌发生发展中发挥重要作用。

2.6 KMT6 基因的表达情况与肝癌患者预后的相关性

基于 cBioportal 肿瘤数据库^[8], 采用 TCGA Provisional 肝癌数据库纳入了 442 例肝癌患者, 结果显示 KMT6 基因改变患者总生存率显著低于 KMT6 基因未改变患者(图 6), 但无疾

为明确 KMT6 表达水平变化是否影响细胞黏附能力, 我们检测了转染无关干扰片段的 Huh-7 细胞(Huh-7-siNC)和干扰 KMT6 的 Huh-7 肝癌细胞(Huh-7-siKMT6)的黏附能力。结果显示: 与 Huh-7-siNC 相比, Huh-7-siKMT6 细胞黏附能力显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 2), 提示降低 KMT6 表达水平可抑制肝癌细胞黏附能力。

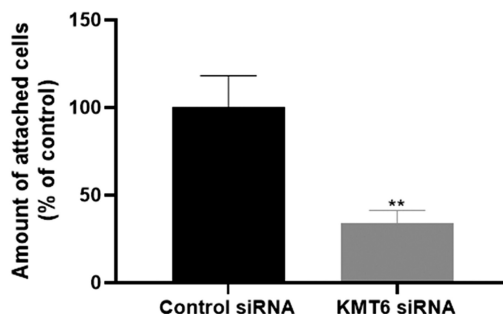
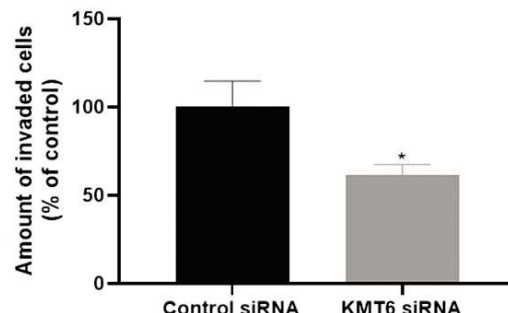


图 2 KMT6 siRNA 对肝癌细胞 Huh-7 黏附率的影响

Fig.2 Effect of KMT6 siRNA on the adhesion potential of Huh-7 cells

Transwell 侵袭实验结果显示: 与 Huh-7-siNC 相比, Huh-7-siKMT6 细胞侵袭能力显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 3), 提示 KMT6 表达下调可降低肝癌细胞的侵袭能力。



病进展期无显著差异, 提示 KMT6 基因改变与肝癌患者预后不良密切相关。

3 讨论

肿瘤转移是导致肿瘤患者死亡最常见的原因之一, 约 80% 以上的恶性肿瘤患者最终死于肿瘤转移相关并发症^[9,10]。明确肿瘤转移的分子机制并以此靶点阻断肿瘤的转移过程以达到治疗和预防肿瘤转移复发的目的, 是当前肿瘤研究领域的焦点问题^[11,12]。转移是肝癌最重要的恶性行为之一, 也是造成其高致死率的主要原因^[13,14]。组蛋白赖氨酸甲基转移酶 6(KMT6)对肝癌细胞的转移能力是否有影响有待探究。在本研究中, 我们采用小干扰 RNA(siRNA)技术抑制 KMT6 的表达, 发现 KMT6 表达改变影响了肝癌细胞 Huh-7 的黏附、侵袭和迁移等转移能力, 提示 KMT6 分子在肝癌细胞的转移过程中发挥着十分重要的作用。

KMT6 通过其甲基转移酶活性催化组蛋白 H3K27 三甲基

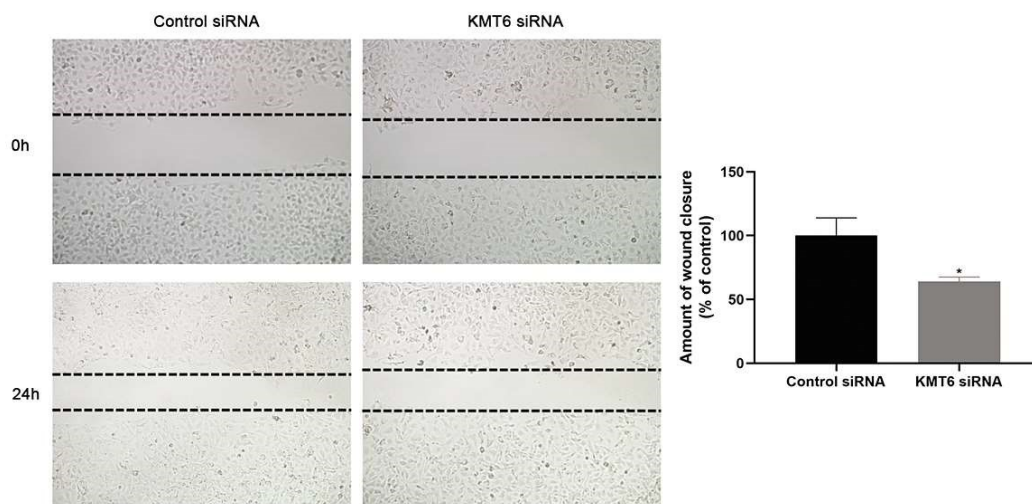


图4 KMT6 siRNA 对肝癌细胞 Huh-7 迁移能力的影响

Fig. 4 Effect of KMT6 siRNA on the migration potential of Huh-7 cells

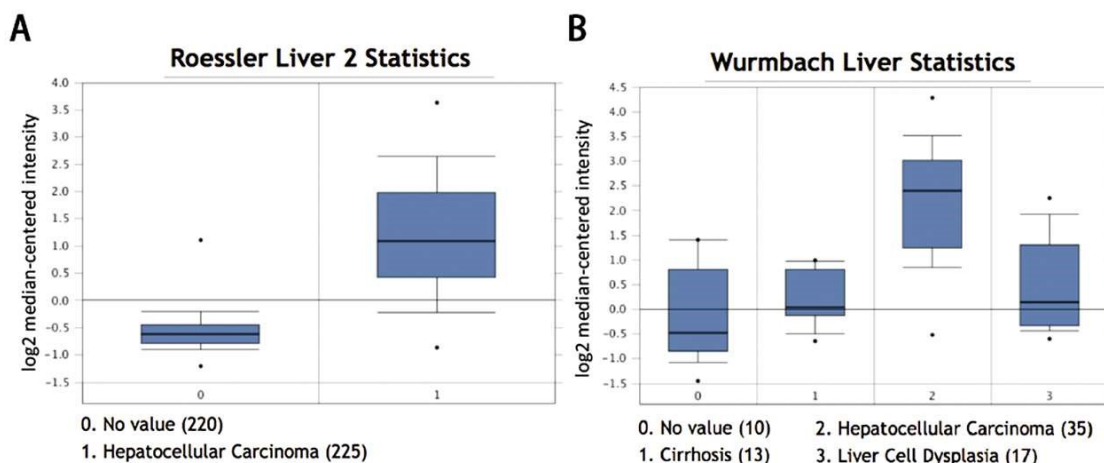


图5 KMT6 在肝癌组织中的表达情况

Fig. 5 Expression of KMT6 in the HCC tissues

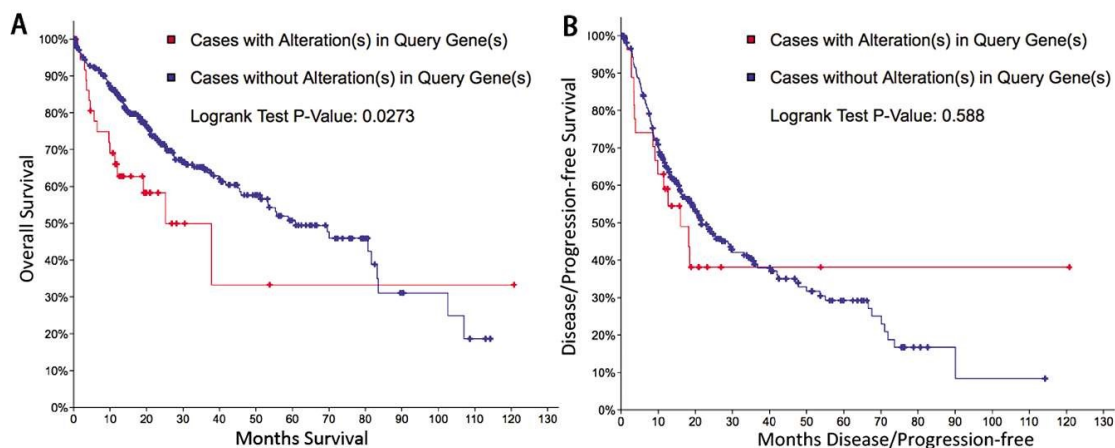


图6 KMT6 对肝癌患者预后的影响

Fig. 6 Effect of KMT6 on the prognosis of HCC patients

化,抑制下游多种靶基因转录,广泛参与细胞分化、胚胎发育、干细胞多能性维持、免疫应答等多种生物学过程^[15-18]。大量研究表明 KMT6 对于维持肿瘤细胞恶性表型也发挥重要作用^[18,19]。KMT6 在多种肿瘤细胞表达水平显著升高,其表达水平与患者

预后显著相关^[20,21]。KMT6 通过抑制靶基因 EphB3 转录进而促进胃癌细胞发生上皮-间质转换从而促进增殖和转移^[22]。KMT6 通过与 lncRNA SNHG1 相互作用促进结直肠癌进展^[23]。另有研究表明 KMT6 通过抑制 GDF15 表达调控非小细胞肺癌

增殖^[24]。KMT6 除通过表观遗传抑制靶基因转录促进肿瘤恶性增殖和转移外,还会在多种肿瘤细胞中发生不同类型的突变,导致其生物学功能的改变^[21]。有研究报道,KMT6 基因在淋巴瘤细胞中编码 SET domain 第 641 位酪氨酸突变导致甲基转移酶活性发生改变,催化组蛋白发生 H3K27 一甲基化能力下降,但二、三甲基化能力明显增加,进而沉默下游靶基因表达,促进肿瘤的发生发展^[25]。KMT6 除自身发挥甲基转移酶活性外,还可以招募 DNA 甲基转移酶或转录调节因子来沉默靶基因表达^[26,27]。

KMT6 作为重要的促癌基因,其成药性也一直是医药工作者研究的重点和难点。近年来,一系列针对 KMT6 这一靶点的高效性和高选择性的小分子抑制剂见诸报端^[28]。这些化合物大多含有 2-吡啶酮基团,因为抑制 2-吡啶酮基团的活性可以有效抑制其甲基转移酶的活性^[29]。在肿瘤临床试验中,首次报道的针对 KMT6 这一靶点的 2-吡啶酮抑制剂在以高表达突变型 KMT6(如 Y641N)为特征的淋巴瘤治疗中,其在体外和体内均显示出高效抑制肿瘤增殖活性,但最新改构化合物对高表达野生型 KMT6 的肿瘤也具有显著抗肿瘤活性^[30]。最近研究报道双甲基转移酶抑制剂在特定亚型白血病中比 KMT6 单选择性抑制剂更有效^[31]。近些年热门的癌症免疫疗法已经基本明确了免疫系统抗肿瘤能力的重要性。然而,肿瘤细胞和免疫细胞之间密切的高度动态的相互作用导致肿瘤遗传和表观遗传过程可能发生驱动基因选择性沉默或激活^[32]。当分子途径的免疫治疗同样出现肿瘤耐药时,以 KMT6 为代表的新型表观遗传治疗靶点具有增强肿瘤免疫治疗疗效的新希望^[33,34]。

总之,本研究表明 KMT6 分子可促进肝癌细胞黏附、侵袭和迁移,并与肝癌患者预后不良显著相关。KMT6 作为重要的组蛋白甲基转移酶,在肿瘤细胞中参与多种信号转导通路,在肿瘤的发生发展中发挥重要作用^[35,36]。作为潜在的抗肿瘤新靶点,靶向阻断 KMT6 及其下游调控分子有望为肝癌的分子生物治疗提供新的策略。

参考文献 (References)

- [1] Llovet JM, Villanueva A, Lachenmayer A, et al. Advances in targeted therapies for hepatocellular carcinoma in the genomic era [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2015, 12(8): 408-424
- [2] Sanz-Moreno V, Gadea G, Ahn J, et al. Rac activation and inactivation control plasticity of tumor cell movement [J]. *Cell*, 2008, 135 (3): 510-523
- [3] Lambert AW, Pattabiraman DR, Weinberg RA. Emerging Biological Principles of Metastasis[J]. *Cell*, 2017, 168(4): 670-691
- [4] Steinbichler TB, Dudas J, Riechelmann H et al. The role of exosomes in cancer metastasis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2017, 44: 170-181
- [5] Jones BA, Varambally S, Arend RC. Histone Methyltransferase EZH2: A Therapeutic Target for Ovarian Cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2018, 17 (3): 591-602
- [6] Rhodes DR, Yu J, Shanker K, et al. ONCOMINE: a cancer microarray database and integrated data-mining platform [J]. *Neoplasia*, 2004, 6 (1): 1-6
- [7] Rhodes DR, Kalyana-Sundaram S, Mahavisno V, et al. Oncomine 3.0: genes, pathways, and networks in a collection of 18,000 cancer gene expression profiles[J]. *Neoplasia*, 2007, 9(2): 166-180
- [8] Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data [J]. *Cancer Discov*, 2012, 2(5): 401-404
- [9] Yousefi M, Bahrami T, Salmaninejad A, et al. Lung cancer-associated brain metastasis: Molecular mechanisms and therapeutic options [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2017, 40(5): 419-441
- [10] Gdowski AS, Ranjan A, Vishwanatha JK. Current concepts in bone metastasis, contemporary therapeutic strategies and ongoing clinical trials[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 108
- [11] Liu Q, Zhang H, Jiang X, et al. Factors involved in cancer metastasis: a better understanding to "seed and soil" hypothesis [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 176
- [12] Massague J, Batlle E, Gomis RR. Understanding the molecular mechanisms driving metastasis[J]. *Mol Oncol*, 2017, 11(1): 3-4
- [13] Dutta R, Mahato RI. Recent advances in hepatocellular carcinoma therapy[J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 173: 106-117
- [14] Wang H, Huo X, Yang XR, et al. STAT3-mediated upregulation of lncRNA HOXD-AS1 as a ceRNA facilitates liver cancer metastasis by regulating SOX4[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 136
- [15] Connolly LR, Smith KM, Freitag M. The Fusarium graminearum histone H3 K27 methyltransferase KMT6 regulates development and expression of secondary metabolite gene clusters [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(10): e1003916
- [16] McCabe MT, Mohammad HP, Barbash O, et al. Targeting Histone Methylation in Cancer[J]. *Cancer J*, 2017, 23(5): 292-301
- [17] Italiano A. Role of the EZH2 histone methyltransferase as a therapeutic target in cancer[J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 165: 26-31
- [18] Rao M, Chinnasamy N, Hong JA, et al. Inhibition of histone lysine methylation enhances cancer-testis antigen expression in lung cancer cells: implications for adoptive immunotherapy of cancer [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(12): 4192-4204
- [19] Gollner S, Oellerich T, Agrawal-Singh S, et al. Loss of the histone methyltransferase EZH2 induces resistance to multiple drugs in acute myeloid leukemia[J]. *Nat Med*, 2017, 23(1): 69-78
- [20] Pan YM, Wang CG, Zhu M, et al. STAT3 signaling drives EZH2 transcriptional activation and mediates poor prognosis in gastric cancer[J]. *Mol Cancer*, 2016, 15(1): 79
- [21] Kim KH, Roberts CW. Targeting EZH2 in cancer [J]. *Nat Med*, 2016, 22(2): 128-134
- [22] Zhao K, He J, Wang YF, et al. EZH2-mediated epigenetic suppression of EphB3 inhibits gastric cancer proliferation and metastasis by affecting E-cadherin and vimentin expression[J]. *Gene*, 2018
- [23] Xu M, Chen X, Lin K, et al. The long noncoding RNA SNHG1 regulates colorectal cancer cell growth through interactions with EZH2 and miR-154-5p[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 141
- [24] Lu X, He X, Su J, et al. EZH2-Mediated Epigenetic Suppression of GDF15 Predicts a Poor Prognosis and Regulates Cell Proliferation in Non-Small-Cell Lung Cancer [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 12: 309-318
- [25] Guglielmelli P, Biamonte F, Score J, et al. EZH2 mutational status predicts poor survival in myelofibrosis [J]. *Blood*, 2011, 118 (19): 5227-5234

- [12] Mielcarek-Kuchta D, Simon K, Kondratowicz D, et al. Functional endoscopic sinus surgery (FESS) in unilateral sinus disease [J]. *Otolaryngol Pol*, 2017, 71(5): 29-35
- [13] Marchesi MC, Valli L, Angeli G, et al. Functional endoscopic sinus surgery in a cat with nasal tumor [J]. *J Vet Med Sci*, 2019, 81(8): 1219-1222
- [14] Thomas AJ, Smith KA, Newberry CI, et al. Operative time and cost variability for functional endoscopic sinus surgery [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2019, 9(1): 23-29
- [15] Georgalas C, Detsis M, Geramas I, et al. Quality of Life Outcomes in Frontal Sinus Surgery [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(7): 2145
- [16] Galletti B, Gazia F, Freni F, et al. Endoscopic sinus surgery with and without computer assisted navigation: A retrospective study [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2019, 46(4): 520-525
- [17] Yeo CD, Kim JS, Kwon SH, et al. Rhinocerebral mucormycosis after functional endoscopic sinus surgery: A case report [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(51): e13290
- [18] Jiang RS, Twu CW, Liang KL. Efficacy of nasal irrigation with 200 μ g/mL amphotericin B after functional endoscopic sinus surgery: a randomized, placebo-controlled, double-blind study [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2018, 8(1): 41-48
- [19] Escamilla Y, Cardesin A, Samara L, et al. Randomized clinical trial to compare the efficacy to improve the quality of surgical field of hypotensive anesthesia with clonidine or dexmedetomidine during functional endoscopic sinus surgery [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2019, 276(11): 3095-3104
- [20] Rezaeian A. Outcome of spray cryotherapy plus functional endoscopic sinus surgery on management of healing in nasal polyposis [J]. *Am J Otolaryngol*, 2018, 39(1): 10-13
- [21] Eloy P, Andrews P, Poirrier AL. Postoperative care in endoscopic sinus surgery: a critical review [J]. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2017, 25(1): 35-42
- [22] Wang YH, Chai JR, Xu XJ, et al. Pharmacological Characterization of Dezocine, a Potent Analgesic Acting as a κ Partial Agonist and μ Partial Agonist [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 14087
- [23] Li XT, Ma CQ, Qi SH, et al. Combination of propofol and dezocine to improve safety and efficacy of anesthesia for gastroscopy and colonoscopy in adults: A randomized, double-blind, controlled trial [J]. *World J Clin Cases*, 2019, 7(20): 3237-3246
- [24] Carr ZJ, Cios TJ, Potter KF, et al. Does Dexmedetomidine Ameliorate Postoperative Cognitive Dysfunction A Brief Review of the Recent Literature [J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2018, 18(10): 64
- [25] Constantin JM, Momon A, Mantz J, et al. Efficacy and safety of sedation with dexmedetomidine in critical care patients: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Anaesth Crit Care Pain Med*, 2016, 35(1): 7-15
- [26] Sleight JW, Vacas S, Flexman AM, et al. Electroencephalographic Arousal Patterns Under Dexmedetomidine Sedation [J]. *Anesth Analg*, 2018, 127(4): 951-959
- [27] 王鹏, 李庆丰, 林红, 等. 地佐辛经鼻给药对鼻内镜手术围拔管期血流动力学及眼内压的影响 [J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2016, 23(5): 305-306
- [28] Gu X, Tan X, Chen J, et al. The clinical effect of dexmedetomidine combined with parecoxib sodium on sedation, antianxiety and prevention of intubation stress in patients undergoing functional endoscopic sinus surgery: a randomised controlled trial [J]. *BMC Anesthesiol*, 2020, 20(1): 166
- [29] Kohanski MA, Tharakan A, London NR, et al. Bactericidal antibiotics promote oxidative damage and programmed cell death in sinonasal epithelial cells [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2017, 7(4): 359-364
- [30] Kawazoe Y, Miyamoto K, Morimoto T, et al. Effect of Dexmedetomidine on Mortality and Ventilator-Free Days in Patients Requiring Mechanical Ventilation With Sepsis: A Randomized Clinical Trial [J]. *JAMA*, 2017, 317(13): 1321-1328

(上接第 834 页)

- [26] Giambra V, Guscott S, Gracias D, et al. Epigenetic Restoration of Fetal-like IGF1 Signaling Inhibits Leukemia Stem Cell Activity [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(5): 714-726. e7
- [27] Louie KW, Saera-Vila A, Kish PE, et al. Temporally distinct transcriptional regulation of myocyte dedifferentiation and Myofiber growth during muscle regeneration [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 854
- [28] Fioravanti R, Stazi G, Zwergel C, et al. Six Years (2012-2018) of Researches on Catalytic EZH2 Inhibitors: The Boom of the 2-Pyridone Compounds [J]. *Chem Rec*, 2018, 18(12): 1818-1832
- [29] Barbui T, Tefferi A, Vannucchi AM, et al. Philadelphia chromosome-negative classical myeloproliferative neoplasms: revised management recommendations from European LeukemiaNet [J]. *Leukemia*, 2018, 32(5): 1057-1069
- [30] Gibaja V, Shen F, Harari J, et al. Development of secondary mutations in wild-type and mutant EZH2 alleles cooperates to confer resistance to EZH2 inhibitors [J]. *Oncogene*, 2016, 35(5): 558-566
- [31] Nakagawa M, Fujita S, Katsumoto T, et al. Dual inhibition of EZH1/2 over-activates WNT signaling to deplete cancer stem cells in multiple myeloma [J]. *Cancer Sci*, 2018
- [32] Huang T, Lin C, Zhong LL, et al. Targeting histone methylation for colorectal cancer [J]. *Therap Adv Gastroenterol*, 2017, 10(1): 114-131
- [33] Arenas-Ramirez N, Sahin D, Boyman O. Epigenetic mechanisms of tumor resistance to immunotherapy [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(22): 4163-4176
- [34] Dunn J, Rao S. Epigenetics and immunotherapy: The current state of play [J]. *Mol Immunol*, 2017, 87: 227-239
- [35] Yamagishi M, Uchamaru K. Targeting EZH2 in cancer therapy [J]. *Curr Opin Oncol*, 2017, 29(5): 375-381
- [36] Zhang H, Qi J, Reyes JM, et al. Oncogenic Dereglulation of EZH2 as an Opportunity for Targeted Therapy in Lung Cancer [J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(9): 1006-1021