

沉默 SETDB1 对肾癌细胞生长的影响及分子机制研究

周颖, 陈萱

淮安市第一人民医院肾内科, 江苏 淮安 223300

摘要: **目的** 探讨组蛋白赖氨酸 N 端甲基转移酶 SET 结构域分支型 1 (SETDB1) 对人肾癌细胞增殖、凋亡的影响。**方法** 体外培养肾癌 ACHN 细胞及正常肾小管上皮 HK-2 细胞, qRT-PCR 及 Western blot 分别检测两种细胞系中 SETDB1 mRNA 及蛋白的表达。采用转染 SETDB1 特异性干扰性小核糖核酸 (siRNA) 敲低 ACHN 细胞中 SETDB1 表达, 并采用实时定量聚合酶链反应 (qRT-PCR)、Western blot 检测 SETDB1 的敲低效果, CCK-8 法、溴脱氧尿嘧啶核苷 (BrdU) 结合试验检测细胞活力与增殖, 流式细胞仪、caspase3/7 活性分析检测细胞凋亡的变化。采用 qRT-PCR、Western blot 检测沉默 SETDB1 后 p53 mRNA 及蛋白的表达水平。**结果** SETDB1 在肾癌 ACHN 细胞中表达水平明显高于正常肾小管上皮 HK-2 细胞 ($t = 14.435, P < 0.01$); 转染 SETDB1 特异性 siRNA 沉默 SETDB1 表达后, ACHN 细胞中 SETDB1 mRNA ($t = 13.091, P < 0.01$) 及其蛋白表达水平明显降低; ACHN 细胞活力显著降低 ($P < 0.05$); 细胞内 DNA 复制活性明显降低 ($P < 0.01$); 细胞凋亡率增加 ($t = 6.765, P < 0.01$); Caspase3/7 酶活性提高 ($t = 5.763, P < 0.01$); 同时 p53 mRNA ($t = 9.241, P < 0.01$) 及蛋白的表达水平显著提高。**结论** SETDB1 在肾癌细胞中表达升高, 下调 SETDB1 能够通过促进 p53 表达而发挥抗肿瘤生长作用。

关键词: 组蛋白赖氨酸 N 端甲基转移酶; SET 结构域分支型 1; p53; caspase3; caspase7; 肾癌; 细胞凋亡; 细胞转染

中图分类号: R-33 R 737.11 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2016)07-0896-05

The effect of SETDB1 silence on growth of human renal carcinoma cells and its molecular mechanism

ZHOU Ying, CHEN Xuan

Department of Nephrology, Huai'an First People's Hospital, Huai'an, Jiangsu 223300, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of SET domain bifurcated 1 (SETDB1), a member of the histone-lysine N-terminal methyltransferase family, on growth and apoptosis of human renal carcinoma cells. **Methods** Renal carcinoma ACHN cells and normal renal tubular epithelial HK-2 cells were cultured in vitro, and the expressions of SETDB1 mRNA and protein in them were respectively detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot method. The SETDB1 expression in ACHN cells was knocked down by transfecting SETDB1-specific small interfering RNA (siRNA), and the effect of knockdown was detected with real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot. Cell Counting Kit (CCK)-8 and bromodeoxyuridine (BrdU) binding test were used to detect the cell viability and proliferation. Flow cytometry and caspase3/7 activity assay were used to detect the cell apoptosis. The qRT-PCR and Western blot were used to respectively detect p53 mRNA and protein after silencing SETDB1. **Results** The expression level of SETDB1 in ACHN cells was significantly higher than that in HK-2 cells ($t = 14.435, P < 0.01$). After transfecting SETDB1-specific siRNA for silencing SETDB1 expression, the expression levels of SETDB1 mRNA ($t = 13.091, P < 0.01$) and protein in ACHN cells decreased significantly; the viability of ACHN cells decreased significantly ($P < 0.05$); DNA replication activity in the cells decreased significantly ($P < 0.01$); the cell apoptosis rate increased significantly ($t = 6.765, P < 0.01$); Caspase3/7 enzymatic activities rose significantly ($t = 5.763, P < 0.01$); the expression levels of p53 mRNA ($t = 9.241, P < 0.01$) and protein rose significantly. **Conclusion** SETDB1 presents high-expression in renal carcinoma cells, and down-regulation of SETDB1 could play the effect of anti tumor growth through promoting p53 expression.

Key words: Histone-lysine N-terminal methyltransferase; SET domain bifurcated 1; Renal carcinoma; p53; Caspase3; Caspase7; Renal carcinoma; Cell apoptosis; Cell transfection

肾癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤之一^[1]。肾癌早期无明显症状,多数患者发现时因发生远处转移而失去根治手术机会^[2]。随着肿瘤分子生物学的进展,癌基因与抑癌基因的相互作用在肾癌发生、发展中作用日益突出,但其具体分子机制仍有待进一步研究。

SET 结构域分支型 1 (SET domain bifurcated 1, SETDB1) 是组蛋白赖氨酸 N 端甲基转移酶家族中的一员^[3],其编码基因位于人类染色体 1q21 上^[4]。作为一种组蛋白甲基转移酶,SETDB1 能使组蛋白 H3K9 位点发生甲基化反应^[5]。有研究显示,SETDB1 基因具有促进脑胶质瘤细胞的生长作用^[6],对肝癌的转移也具有相当的促进作用^[7]。但 SETDB1 对肾癌细胞生物学行为的影响及其可能的分子机制目前尚不完全清楚。

本研究通过 qRT-PCR、蛋白免疫印迹等方法检测了 SETDB1 在肾癌细胞中的表达情况;利用 siRNA 特异性下调肾癌 ACHN 细胞中 SETDB1 的表达水平,检测抑制 SETDB1 表达对肾癌细胞增殖及凋亡能力的影响。旨在为 SETDB1 成为肾癌诊断及生物治疗靶点提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 细胞来源及主要试剂 肾癌 ACHN 细胞及正常肾小管上皮 HK-2 细胞来自中科院上海细胞库,DMEM 液体细胞培养基购自美国 Hyclone 公司,胎牛血清及青链霉素液体双抗购自美国 Gibco 公司。RNA 提取试剂 Trizol 及转染试剂脂质体 2000 (lipofectamineTM 2000) 购自美国 Invitrogen 公司;逆转录试剂盒 RevertAidTM First Strand cDNA Synthesis Kit (#1622) 和 RT-PCR 试剂盒 SYBR[®] Premix Ex TaqTM (Tli RNaseH Plus) (#RR420A) 分别购于购自美国 Fermentas 公司及宝生物工程(大连)有限公司;SETDB1 特异性 siRNA 购自美国 Santa cruz 公司。SETDB1 引物(上游 5'-TGAGCGAGTCATTGGGCTTT-3';下游 5'-TCCTGTGGTCAGGCTCACTA-3'), p53 引物(上游 5'-ACCTATGGAACTACTTCCTGAAA-3';下游 5'-CTGGCATTCTGGGAGCTTCA-3'), β -actin 引物(上游 5'-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-3';下游 5'-GCTGTACCTTACCGTTCC-3') 由上海生工生物科技有限公司合成;兔抗人 SETDB1 多克隆抗体(#2196)、兔抗人 p53 多克隆抗体(#2527) 及兔抗人 β -actin 多克隆抗体(#4970) 均购自美国 CST 公司。CCK-8 试剂盒购自上海生工生物有限公司、Annexin

V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自美国 Roche 公司;BrdU 细胞增殖检测试剂盒购自美国 CST 公司;Apo-ONE Homogeneous Caspase-3/7 检测试剂盒购自美国 Promega 公司。

1.2 细胞培养 肾癌细胞系 ACHN 和正常肾小管上皮细胞 HK-2 培养于含 10% FBS 及 1% 双抗的 1 × DMEM 培养基中,置于 37 °C、含 5% CO₂ 的饱和湿度培养箱中进行培养。稳定传代 2 ~ 3 代后进行实验。

1.3 qRT-PCR 检测 SETDB1 或 p53 mRNA 相对表达量 按 RNA 提取试剂说明书方法提取细胞 mRNA,按以下条件进行 RNA 反转录反应:预变性 70 °C 5 min,逆转录 37 °C 1 h,酶灭活 85 °C 5 min。以 2 μ l cDNA 配制 RT-PCR 体系,按如下条件进行 PCR 反应:预变性 95 °C 30 s,变性 95 °C 5 s,退火延伸 60 °C 30 s,扩增 40 个循环。以 β -actin 基因为内参,采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算 SETDB1 或 p53 mRNA 相对表达量。

1.4 Western blot 检测相关蛋白含量 细胞加入 RIPA 细胞裂解液置冰上裂解 10 min,裂解液收集于 1.5 ml EP 管中,4 °C、14 000 r/min 离心 10 min 后取上清。BCA 法测定总蛋白浓度,每孔加入 50 μ g 蛋白样品,10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白。采用 BIO-RAD 湿转系统,250 mA 转膜 80 min。5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h。分别以 1:1 000 稀释的 SETDB1、p53 及 β -actin-抗检测相应蛋白表达。0.01M TBST 漂洗 5 min × 3 次后加入 1:5 000 稀释的羊抗兔二抗,37 °C 孵育 1 h。0.01M TBST 漂洗 5 min × 3 次。于暗室内,在膜上滴加 ECL 溶液,采用 BIO-RAD 影像系统检测蛋白含量。

1.5 细胞转染 ACHN 细胞接种于 6 孔板中,用含 10% FBS 的 1 × DMEM 培养基培养细胞至融合度达 50% 左右,实验分组及处理如下:SETDB1 组每孔加入 100 pmol SETDB1 特异性 siRNA 及 5 μ l 转染试剂;NC(阴性对照)组每孔加入 100 pmol NC siRNA 及 5 μ l 转染试剂。每孔加入不含血清及双抗的 1 × DMEM 培养基调整终体积至 2 ml,置于 37 °C、5% CO₂、饱和湿度下培养 6 h 后,更换完全培养基继续培养。

1.6 CCK-8 法检测 ACHN 细胞活力变化 分别收集转染 0、24、48、72 h 后的 ACHN 细胞,用无血清的 DMEM 培养基调整细胞密度为 1 × 10⁵/ml,以 200 μ l/孔接种于 96 孔板,每组设 6 个复孔及 1 个空白对照孔,置于培养箱中过夜。每孔加入 10 μ l CCK-8 溶液,继续孵育 4 h,弃上清液,15 min 内用酶标仪检测 450 nm 波长下的光密度(OD)值。

1.7 溴脱氧尿嘧啶核苷 (BrdU) 结合分析 按试剂说明书分别配制相关溶液。将转染 siRNA 的 ACHN 细胞以 5 000/孔种植于 96 孔板培养至细胞贴壁。弃去培养基并用 PBS 清洗后加入 1/10 体积培养基的 10 × BrdU 溶液,培养箱孵育 24 h。弃培养基并用 PBS 清洗后加入 100 μl/孔的固定/变形液室温孵育 30 min。移除固定液用 PBS 清洗细胞,加入 100 μl/孔 1 × 检测抗体溶液,室温孵育 1 h。弃抗体检测溶液,1 × 洗脱缓冲液冲洗平板 3 次。加入 100 μl/孔 1 × HRP 结合二抗溶液,室温孵育 30 min,弃二抗工作液,1 × 洗脱缓冲液冲洗平板 3 次。加入 100 μl TMB 底物,室温孵育 30 min 后加入 100 终止溶液。30 min 内 450 nm 吸光度进行检测。

1.8 细胞凋亡检测及 Caspase3/7 活性分析 取转染 72 h 后的 ACHN 细胞,冷 PBS 溶液洗涤细胞 2 次,胰酶消化细胞,1 500 r/min 离心 5 min 后弃去上清,1 × Binding Buffer 重悬细胞,调整细胞数为 1 × 10⁶/ml 后每管加入细胞悬液 500 μl,再加入 5 μl Annexin V-FITC 和 10 μl PI 检测细胞凋亡。混匀后,室温下避光反应 10 min,进行流式细胞仪检测。将转染 72 h 后的 ACHN 细胞接种到 96 孔板,并设置 3 个空白孔。室温解冻 100 × Caspase 底物和 Apo-ONE[®] Caspase-3/7 缓冲液,涡旋混匀。取 100 μl 底物加入 9 900 μl 缓冲液中配置 Apo-ONE[®] Caspase-3/7 试剂。每孔加入 100 μl Apo-ONE[®] Caspase-3/7 试剂,摇床轻微混匀 30 s。室温孵育 2 h,使用 ELASA 平板计数器测量 499 nm 细胞荧光强度。

1.9 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验或 ANOVA 分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

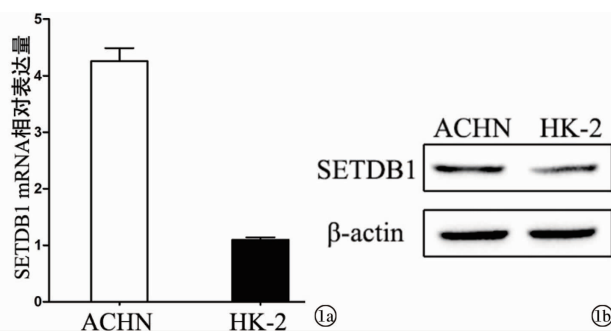
2.1 SETDB1 在 ACHN 及 HK-2 细胞中的表达 采用 qRT-PCR 技术检测两种细胞中提取的 SETDB1 mRNA 表达量,结果显示,ACHN 细胞中 SETDB1 mRNA 的相对表达量为 4.256 ± 0.231, HK-2 细胞中 SETDB1 mRNA 表达量为 1.098 ± 0.045,差异有统计学意义 (*P* < 0.01)。见图 1a。Western blot 结果显示,与 HK-2 细胞相比,ACHN 细胞中 SETDB1 蛋白表达明显升高。见图 1b。

2.2 siRNA 沉默 ACHN 中 SETDB1 的表达情况 利用脂质体法,将 SETDB1 siRNA 或 NC siRNA 瞬时转染入 ACHN 细胞中,通过检测 SETDB1 的表达水平来评价 siRNA 的抑制效率,结果显示:转染 SETDB1

siRNA 后可显著抑制 ACHN 细胞内 SETDB1 mRNA (*t* = 13.091, *P* < 0.01) (图 2a) 和蛋白 (图 2b) 的表达水平。

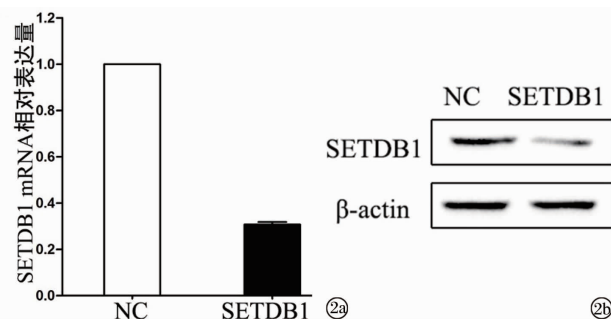
2.3 沉默 SETDB1 抑制 ACHN 细胞增殖并促进细胞凋亡 敲低 SETDB1 表达后,采用 CCK-8 法检测 ACHN 细胞 24、48、72 h 活力的变化。如图 3a 所示,与 NC 组相比,SETDB1 组细胞活力显著降低 (*P* < 0.05)。同时,BrdU 结合试验结果也显示,沉默 SETDB1 后细胞内 DNA 复制活性明显降低 [(77.39 ± 4.20) vs (105.37 ± 6.43), *t* = 5.840, *P* < 0.01] (图 3b)。沉默 SETDB1 后细胞内 caspase3/7 酶活性显著加强 [(117.65 ± 13.28) vs (93.71 ± 9.24), *t* = 5.763, *P* < 0.01] (图 3c)。流式细胞仪检测显示,在转染 SETDB1 siRNA 72 h 后,早期凋亡和晚期凋亡细胞比例较 NC 组显著升高 [(16.735 ± 1.908) vs (7.183 ± 1.024), *t* = 6.765, *P* < 0.01] (图 3d)。

2.4 下调 SETDB1 对 ACHN 细胞中 p53 表达的影响 在沉默 SETDB1 后经 qRT-PCR 及 Western-blot 检测 p53 的表达变化。结果显示,与 NC 组相比,下调 SETDB1 显著促进了 ACHN 细胞内 p53 mRNA (*t* = 9.241, *P* < 0.01) (图 4a) 和蛋白 (图 4b) 的表达水平。提示 SETDB1 可能是通过沉默 p53 而实现促肿瘤细胞生长作用的。



注:1a:qRT-PCR 技术检测 SETDB1 mRNA 表达;1b:Western blot 检测 SETDB1 蛋白表达。

图 1 SETDB1 在肾癌及 HK-2 细胞中的表达



注:2a:qRT-PCR 技术检测 SETDB1 mRNA 表达;2b:Western blot 检测 SETDB1 蛋白表达。

图 2 siRNA 干扰肾癌 ACHN 细胞中 SETDB1 表达

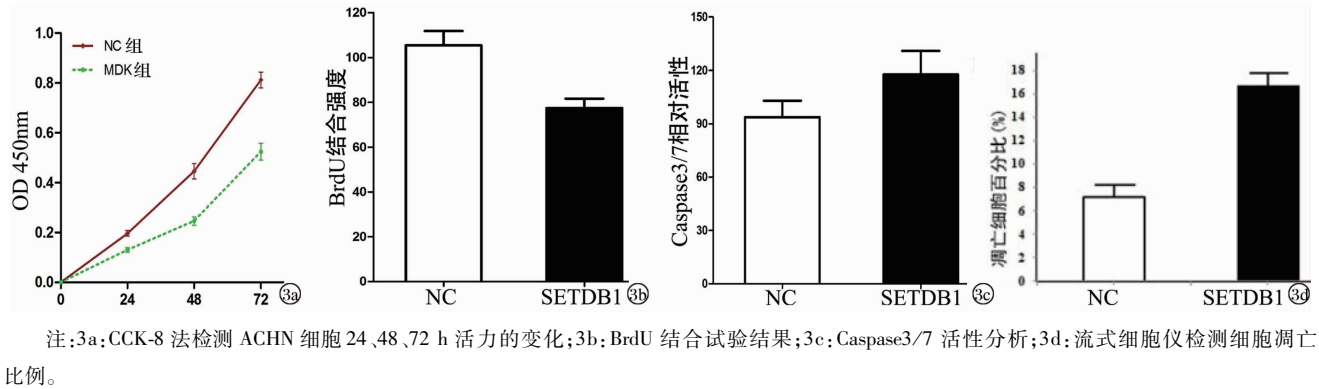


图 3 敲低 SETDB1 表达对 ACHN 细胞增殖、凋亡的影响

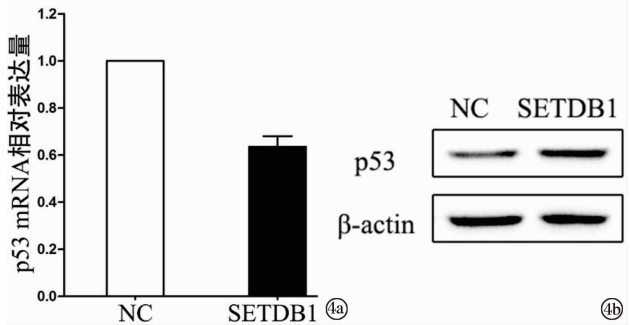


图 4 敲低 SETDB1 表达对 ACHN 细胞 p53 表达的影响

3 讨论

肾癌是最常见的上尿路肿瘤之一,研究肾癌发展过程中的微观生物学行为及其分子机制能够为肾癌的临床诊治提供有力的理论依据。

SETDB1 是新近发现的一种组蛋白甲基化转移酶,存在于人类 1 号染色体上。一般认为,SETDB1 能与异染色质蛋白 1(HP1)^[8] 及其共抑制子 KAP1^[9] 在异染色质结合而促进 H3K9me3 形成。最近,在肺癌中的研究表明^[10],高表达的 SETDB1 对细胞增殖及裸鼠皮移植瘤的生长具有显著的促进作用。在乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞中,通过 Ch-IP 分析发现,SETDB1 能够结合于转录因子 STAT3 的启动子区域进而促进 STAT3 的表达,最终诱导肿瘤细胞发生上皮细胞间质化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生^[11]。提示 SETDB1 在促进肿瘤生长、转移的过程中发挥重要作用。

在本研究中,首先检测了 SETDB1 在肾癌细胞和正常肾小管上皮细胞中表达情况,结果显示:SETDB1 高表达于肾癌细胞 ACHN 中。进而,通过 siRNA 沉默 ACHN 细胞中 SETDB1 的表达,经 CCK-8 分析表明,沉默 SETDB1 使肿瘤细胞增殖明显受抑,同时 BrdU 掺入试验表明 DNA 的合成亦受到阻碍。另一方面,沉默 SETDB1 至少能够通过提高凋亡相关酶

Caspase 3 和 Caspase 7 的活性来促进细胞凋亡的发生。下调 SETDB1 具有抗肾癌细胞增殖和促凋亡效应。

p53 是一种重要的抑癌基因,其表达对于肿瘤细胞生长具有显著的抑制效应^[12]。研究发现,在包括肾癌在内的多种人类恶性肿瘤中,p53 的表达缺失与异常的表观遗传学调控具有密切联系^[13]。SETDB1 作为一种甲基化转移酶能够特异性甲基化组蛋白 H3 的 K9 位点,形成 H3K9me3,进而抑制基因的转录。在本研究中,在沉默 SETDB1 后发现 p53 在基因水平和蛋白水平的表达均有明显回升,提示 SETDB1 的促肿瘤生长作用可能与阻碍 p53 的表达有关。这一结果与其他学者在非小细胞肺癌^[14]、肝细胞癌^[15] 和膀胱癌^[16] 中的研究结果一致。

综上所述,SETDB1 在肾癌细胞中高表达,下调 SETDB1 可能通过恢复 p53 的表达而抑制肾癌细胞的增殖并能够促进细胞凋亡。

参考文献

- [1] Cella D, Beaumont JL. Pazopanib in the treatment of advanced renal cell carcinoma[J]. Ther Adv Urol, 2016, 8(1): 61-69.
- [2] 魏礼杰, 庞诗语, 罗扬, 等. 肾部分切除术与肾癌根治术治疗局限性肾癌的预后比较的 Meta 分析[J]. 现代泌尿外科杂志, 2015, 20(6): 402-408.
- [3] Li L, Chen BF, Chan WY. An epigenetic regulator; methyl-CpG-binding domain protein 1 (MBD1)[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(3): 5125-5140.
- [4] Inoue Y, Matsuura S, Kurabe N, et al. Clinicopathological and Survival Analysis of Japanese Patients with Resected Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring NKX2-1, SETDB1, MET, HER2, SOX2, FGFR1, or PIK3CA Gene Amplification[J]. J Thorac Oncol, 2015, 10(11): 1590-1600.
- [5] Matsumura Y, Nakaki R, Inagaki T, et al. H3K4/H3K9me3 bivalent chromatin domains targeted by lineage-specific DNA methylation pauses adipocyte differentiation[J]. Mol Cell, 2015, 60(4): 584-596.

促进 AS 大鼠斑块形成及 VSMC 过度增殖。

参考文献

- [1] 林聪, 吴晓球, 邓可. 动脉粥样硬化的研究进展[J]. 医学综述, 2013, 19(6): 975-977.
- [2] Hartman J, Frishman WH. Inflammation and atherosclerosis: a review of the role of interleukin-6 in the development of atherosclerosis and the potential for targeted drug therapy [J]. *Cardiol Rev*, 2014, 22(3): 147-151.
- [3] Shah NR, Mahmoudi M. The role of DNA damage and repair in atherosclerosis: A review [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 86: 147-157.
- [4] 李丹, 李玉洁, 杨庆, 等. 血管内皮功能障碍与动脉粥样硬化研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 272-276.
- [5] Zhang L, Yang L. Anti-inflammatory effects of vinpocetine in atherosclerosis and ischemic stroke: a review of the literature [J]. *Molecules*, 2015, 20(1): 335-347.
- [6] 侯丹丹, 甄攀攀, 王雯. 高同型半胱氨酸血症与内皮祖细胞凋亡[J]. 生理科学进展, 2011, 42(2): 158-160.
- [7] 刘会娟, 周春阳. 硫化氢和同型半胱氨酸在动脉粥样硬化病变中的研究现状[J]. 川北医学院学报, 2012, 27(6): 547-551.
- [8] 罗国刚, 韩建峰, 王琳, 等. 血浆同型半胱氨酸与缺血性脑血管病患者颈动脉粥样硬化斑块的关系[J]. 中国脑血管病杂志, 2012, 9(3): 123-127.
- [9] 沈伟强, 李政, 樊树峰, 等. 颈动脉粥样硬化的 MRI 临床研究现

状[J]. 中华全科医学, 2014, 12(6): 984-986.

- [10] 张政军, 贾绍斌, 侯建军, 等. 高同型半胱氨酸血症大鼠主动脉组织中 Bcl-2 和 Bax 基因的表达[J]. 广东医学, 2013, 34(8): 1160-1162.
- [11] 鲍晓梅, 郑宏超. 同型半胱氨酸对大鼠血管平滑肌细胞增殖、迁移能力的影响及其可能机制[J]. 山东医药, 2015, 55(44): 25-27.
- [12] 庄秋红, 李譞, 赵学忠. 盐酸地尔硫卓对血管平滑肌细胞增殖与凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(10): 1820-1822.
- [13] 冯朝彩, 赵占胜, 李丹, 等. 波动性高糖对血管平滑肌细胞增殖及凋亡蛋白表达的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(11): 897-900.
- [14] Yang Z, Wang WE, Zhang Q. CIAPIN1 siRNA inhibits proliferation, migration and promotes apoptosis of VSMCs by regulating Bcl-2 and Bax [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2013, 10(1): 4-10.
- [15] Bagheri F, Goudarzi I, Lashkarbolouki T, et al. Melatonin prevents oxidative damage induced by maternal ethanol administration and reduces homocysteine in the cerebellum of rat pups [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 287: 215-225.
- [16] 孙文萍, 谢春香, 赵节绪. 同型半胱氨酸对 BMVECs 凋亡相关基因 BCL-2/BAX 表达的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2013, 30(11): 985-988.

收稿日期: 2016-04-18 修回日期: 2016-05-20 编辑: 周永彬

(上接第 899 页)

- [6] Spyropoulou A, Gargalionis A, Dalagiorgou G, et al. Role of histone lysine methyltransferases SUV39H1 and SETDB1 in gliomagenesis: modulation of cell proliferation, migration, and colony formation [J]. *Neuromolecular Med*, 2014, 16(1): 70-82.
- [7] Wong CM, Wei L, Law CT, et al. Up-regulation of histone methyltransferase SETDB1 by multiple mechanisms in hepatocellular carcinoma promotes cancer metastasis [J]. *Hepatology*, 2016, 63(2): 474-487.
- [8] Alagoz M, Katsuki Y, Ogiwara H, et al. SETDB1, HP1 and SUV39 promote repositioning of 53BP1 to extend resection during homologous recombination in G2 cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(16): 7931-7944.
- [9] Thompson PJ, Dulberg V, Moon KM, et al. hnRNP K coordinates transcriptional silencing by SETDB1 in embryonic stem cells [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(1): e1004933.
- [10] Rodriguez-Paredes M, Martinez de Paz A, Simó-Riudalbas L, et al. Gene amplification of the histone methyltransferase SETDB1 contributes to human lung tumorigenesis [J]. *Oncogene*, 2014, 33(21): 2807-2813.
- [11] Zhang H, Cai K, Wang J, et al. MiR-7, inhibited indirectly by lin-

cRNA HOTAIR, directly inhibits SETDB1 and reverses the EMT of breast cancer stem cells by downregulating the STAT3 pathway [J]. *Stem Cells*, 2014, 32(11): 2858-2868.

- [12] Nicolai S, Rossi A, Di Daniele N, et al. DNA repair and aging: the impact of the p53 family [J]. *Aging (Albany NY)*, 2015, 7(12): 1050-1065.
- [13] Li J, Bian EB, He XJ, et al. Epigenetic repression of long non-coding RNA MEG3 mediated by DNMT1 represses the p53 pathway in gliomas [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(2): 723-733.
- [14] Sun QY, Ding LW, Xiao JF, et al. SETDB1 accelerates tumorigenesis by regulating the WNT signalling pathway [J]. *J Pathol*, 2015, 235(4): 559-570.
- [15] Fei Q, Shang K, Zhang J, et al. Histone methyltransferase SETDB1 regulates liver cancer cell growth through methylation of p53 [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8651.
- [16] Lindgren D, Sjödhall G, Lauss M, et al. Integrated genomic and gene expression profiling identifies two major genomic circuits in urothelial carcinoma [J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38863.

收稿日期: 2016-02-16 修回日期: 2016-03-10 编辑: 王国品