

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.08.008

· 基础研究 ·

## 胃癌组织中 G9a 表达的预后意义及其对胃癌细胞增殖和凋亡的影响

李厚雷<sup>1,3</sup>, 赵昕辉<sup>2,3</sup>, 刘俊<sup>3</sup>, 张翔<sup>3</sup>, 贺奋飞<sup>2</sup>, 张瑞<sup>3</sup>, 李纪鹏<sup>2</sup>, 杨安钢<sup>4</sup>, 吴宏<sup>5</sup> (1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 空军军医大学 西京消化病医院 肿瘤生物学国家重点实验室, 陕西 西安 710032; 3. 空军军医大学 基础医学院生物化学与分子生物学教研室 肿瘤生物学国家重点实验室, 陕西 西安 710032; 4. 空军军医大学 基础医学院免疫学教研室 肿瘤生物学国家重点实验室, 陕西 西安 710032; 5. 西安西电集团医院, 陕西 西安 710000)

**[摘要]** **目的:** 探究组蛋白甲基转移酶 G9a 在胃癌组织中的表达及其与预后的相关性, 并观察 G9a 抑制剂对胃癌细胞增殖和凋亡的影响。 **方法:** 通过 Kaplan-Meier Plotter 和 Oncomine 数据库分析 G9a 在胃癌组织中的表达水平及其与预后的相关性。选用人胃癌细胞株 SGC-7901 和 MKN-45 为研究对象, Western blotting 方法检测细胞中 G9a 蛋白表达水平, 以 G9a 抑制剂 BIX01294 处理胃癌细胞, 观察细胞形态变化, CCK-8 法和集落形成实验检测胃癌细胞增殖能力和集落形成率的变化, 流式细胞术检测细胞凋亡的变化。 **结果:** G9a 在胃癌组织中高表达 ( $P < 0.01$ ), 其高表达与预后不良呈正相关 ( $P < 0.01$ )。 BIX01294 能使胃癌细胞体积缩小、细胞间连接消失, 甚至细胞皱缩、变圆、脱落等。 BIX01294 能显著抑制胃癌细胞集落形成和胃癌细胞的增殖 (均  $P < 0.05$ ), 同时促进胃癌细胞凋亡 ( $P < 0.05$ )。 **结论:** G9a 在胃癌组织中高表达, 其高水平表达与预后不良呈正相关; 抑制 G9a 的表达可显著抑制胃癌细胞的增殖和促进细胞凋亡。

**[关键词]** 胃癌; SGC-7901 细胞; MKN-45 细胞; 甲基转移酶; G9a; 增殖; 凋亡

**[中图分类号]** R730.23; R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)08-0797-06

## Prognostic prediction value of G9a expression in gastric cancer tissues and its effect on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells

LI Houlei<sup>1,3</sup>, ZHAO Xinhui<sup>2,3</sup>, LIU Jun<sup>3</sup>, ZHANG Xiang<sup>3</sup>, HE Fenfei<sup>2</sup>, ZHANG Rui<sup>3</sup>, LI Jipeng<sup>2</sup>, YANG Angang<sup>4</sup>, WU Hong<sup>5</sup> (1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi, China; 2. State Key Laboratory of Cancer Biology, Xijing Digestive Disease Hospital Affiliated to Air Force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China; 3. State Key Laboratory of Cancer Biology, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, Air Force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China; 4. State Key Laboratory of Cancer Biology, Department of Immunology, Institute of Basic Medical Sciences, Air Force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China; 5. Department of General Surgery, Xi'an XD Group Hospital, Xi'an 710000, Shaanxi, China)

**[Abstract] Objective:** To investigate the expression of histone methyltransferase G9a in gastric cancer tissues and its correlation to prognosis, and to observe the effect of G9a inhibitor on the proliferation and apoptosis of gastric cancer cells. **Methods:** The expression level of G9a in gastric cancer tissues and its correlation to prognosis were analyzed by using the Kaplan-Meier Plotter and Oncomine database. Human gastric cancer cell line SGC-7901 and MKN-45 were selected as study subject. The expression level of G9a protein was detected by Western blotting. The morphological change of gastric cancer cells after the treatment of G9a inhibitor BIX01294 was observed. CCK-8 proliferation experiment and plate colony formation assay were used to examine the proliferation ability and clone formation rate of gastric cancer cells. The changes of cell apoptosis were detected by Annexin-V staining. **Results:** G9a was highly expressed in gastric cancer tissues ( $P < 0.01$ ), and the high expression of G9a was positively correlated with poor prognosis of gastric can-

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (No. 81424003); 西安市科技计划项目资助 [No. 2017113SF/YX007(7)]; 肿瘤生物学国家重点实验室 (空军军医大学) 开放基金研究项目 (No. CKSKL201726)。 Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31390431); the Science and Technology Program Foundation of Xi'an City [No. 2017113SF/YX007(7)], and the Open Fund Research Projects of the State Key Laboratory of Cancer Biology (Air Force Medical University) (No. CKSKL201726)

**[作者简介]** 李厚雷 (1989-), 男, 硕士生, 主要从事消化系统肿瘤基础与临床研究, E-mail: lihouleil63@126.com

**[通信作者]** 吴宏 (WU Hong, corresponding author), 主任医师, 硕士生导师, 主要从事普外科尤其胃肠肿瘤的临床研究, E-mail: wuhong666@163.com

cer patients ( $P < 0.01$ ). After the treatment of BIX01294, the morphology of gastric cancer cells was changed, the volume of gastric cancer cells reduced, the intercellular connections disappeared, and even the apoptotic manifestations appeared, such as the shrinking, becoming round and cast-off etc. BIX01294 could significantly inhibit the proliferation and colony formation but promote the apoptosis of gastric cancer cells (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Histone methyltransferase G9a was highly expressed in gastric cancer tissues, and its high expression level was positively correlated with poor prognosis. The proliferation of gastric cancer cells was obviously inhibited while the apoptosis was significantly promoted after inhibiting G9a expression.

**[Key words]** gastric cancer; SGC-7901 cell; MKN-45 cell; methyltransferase; G9a; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(8): 797-802. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.08.008]

胃癌是恶性肿瘤中较为频发的疾病,早期起病隐匿且无明显症状,发病早期检出率较低,明确诊断困难,同时由于局部浸润和远处转移发生早,使得胃癌患者预后差、病死率高<sup>[1]</sup>。虽然胃癌的诊疗手段在不断改进,但是与其他恶性肿瘤相比,胃癌患者尤其是中晚期患者生存率较低<sup>[2]</sup>。因此,寻找新的作用于胃癌细胞特异性位点的治疗靶点迫在眉睫。近年来,随着在基因水平上对疾病机制的不断认识和阐明,使得药物研发更具精确性,针对致病机制中关键酶或受体的精准靶向药物设计不断取得突破。DNA甲基化、异染色质的形成以及基因转录沉默等过程与组蛋白甲基化密切相关,而这些过程与在肿瘤的发生发展有重要联系<sup>[3]</sup>。组蛋白甲基转移酶G9a能将甲基从S-腺苷基甲硫氨酸(S-adenosyl-l-methionine, SAM)上转移到目的赖氨酸残基的 $\epsilon$ -氨基上<sup>[4]</sup>,主要催化组蛋白3(H3)K9和K27位点的二甲甲基化修饰。现有研究<sup>[5-8]</sup>表明,G9a在乳腺癌、肺癌、头颈部癌和卵巢癌等多种肿瘤的发生发展中发挥重要作用。本研究应用组蛋白甲基转移酶抑制剂BIX01294处理胃癌细胞,观察其对胃癌细胞增殖的影响,为进一步研究组蛋白甲基转移酶G9a在胃癌细胞中发挥作用的机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系、主要材料与试剂

胃癌细胞株SGC-7901和MKN-45由西京消化病医院卢媛媛博士惠赠,用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液在5% CO<sub>2</sub>、37 °C恒温培养箱中培养(每天更换1次培养液)。G9a抑制剂BIX01294购自Selleck公司,RPMI 1640购自Gibco公司,胎牛血清购自TBD Science公司,胰蛋白酶购自MP Biomedical公司,G9a/EHMT2单克隆抗体购自CST公司, $\beta$ -actin抗体购自Sigma公司,羊抗兔IgG、羊抗鼠IgG及BCA蛋白定量试剂盒均购自晶彩生物公司,CCK-8法检测试剂盒购自Biosharp公司,各种类型的细胞培养板和培养皿均购自Thermo公司,细胞凋亡检测AnnexinV-FITC试剂盒购自BD公司。

### 1.2 生物信息学方法分析胃癌组织中G9a的表达与患者预后的关系

在肿瘤信息数据库Oncomine中,对DErrico Gastric数据集进行分析,获取G9a在正常胃组织和胃癌组织中的表达差异,将组间表达差异大于2倍的样品资料纳入分析。在肿瘤预后分析数据库Kaplan-Meier Plotter中,以mRNA表达为参考,评价G9a mRNA表达水平与胃癌患者总生存率(overall survival, OS)之间的关系。对G9a在胃癌组织中表达、预后相关性进行分析。

### 1.3 Western blotting检测G9a在胃癌细胞中的表达

收集生长状态良好的胃癌细胞SGC-7901、MKN-45,消化、离心重悬后,将细胞裂解,RIPA裂解液与蛋白酶抑制剂cocktail按100:1混合用于提取细胞蛋白,冰上裂解30 min,每隔10 min在涡旋器上震荡,以充分裂解细胞,4 °C 12 000×g离心20 min,收集上清液,蛋白定量保证两组蛋白上样量一致,按5:1比例加入SDS上样缓冲液,100 °C沸水煮5 min后行SDS-PAGE,100 V的恒压进行转膜约2.5 h,将蛋白转移至NC膜上,5%脱脂奶粉常温封闭1 h, TBST充分洗膜,加特异性一抗,放置于4 °C孵育过夜,加入山羊抗兔IgG二抗,37 °C孵育1 h。TBST充分洗膜后,加入ECL发光液反应1 min,随后进行显影,观察蛋白条带。

### 1.4 荧光倒置显微镜观察G9a抑制剂对胃癌细胞形态的影响

取生长状态良好的SGC-7901、MKN-45细胞,胰酶消化后离心、重悬,以每孔 $3 \times 10^5$ 个细胞数铺于6孔板,加入2.5  $\mu\text{mol/L}$ 的G9a抑制剂BIX01294处理细胞,加入DMSO作为对照组,24 h后在显微镜下观察细胞形态变化。

### 1.5 集落形成实验检测G9a抑制剂对胃癌细胞集落形成的影响

取对数生长期SGC-7901、MKN-45细胞胰酶消化后离心、重悬,接种24孔板( $1 \times 10^5$ 个/孔),过夜培养,分别以0.5、2、5、10  $\mu\text{mol/L}$ 的梯度加药BIX01294,处理细胞48 h后弃去培养液,PBS冲洗2~3次,40 g/L多聚甲醛固定30 min,PBS冲洗2~

3次,结晶紫染色 15 min, PBS 冲洗 2~3 次,拍照并计数集落形成数。

### 1.6 CCK-8 实验检测 G9a 抑制剂对胃癌细胞增殖的影响

取对数生长期的 SGC-7901、MKN-45 细胞株胰酶消化后重悬,以  $2 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板,每组设置 5 个复孔,培养过夜后使用终浓度为 0、0.5、2、5、10  $\mu\text{mol/L}$  的抑制剂处理细胞,加药后每隔 24 h 加入 CCK-8 试剂 10  $\mu\text{l}$ /孔,酶标仪检测波长 450 nm 处的光密度(D)值,连续检测 5 d,绘制增殖抑制曲线。实验重复 3 次。

### 1.7 流式细胞术检测 G9a 抑制剂对胃癌细胞凋亡的影响

取对数生长期的 SGC-7901、MKN-45 细胞,胰酶消化后重悬,以每孔  $3 \times 10^5$  个细胞数铺于 6 孔板,培养后以终浓度 0.5、10  $\mu\text{mol/L}$  的剂量加入抑制剂,48 h 后收集细胞,胰酶消、离心、弃掉培养液, PBS 洗涤 3 次,弃净 PBS 后每管加入 200  $\mu\text{l}$  结合缓冲液按重悬细胞,在避光条件下每管加入 5  $\mu\text{l}$  AnnexinV-FITC,室温孵育 15 min,最后每管样品加 10  $\mu\text{l}$  碘化丙啶(PI)。上述试剂加完后在 15 min 内进

行流式检测。

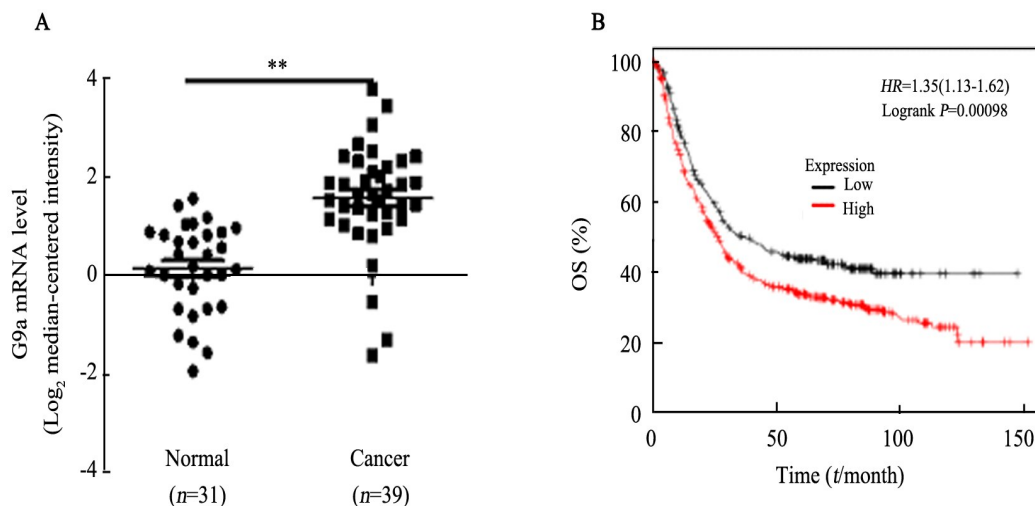
### 1.8 统计学处理

采用 Prism 5 (GraphPad) 和 SPSS 20.0 统计软件进行分析,所有实验至少 3 次重复。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),两组间比较时采用 *t* 检验。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 G9a 在胃癌组织中高表达且与预后不良相关

利用 Oncomine 肿瘤数据库分析网站对 DErrico Gastric 数据集中 G9a 的表达水平进行分析,结果(图 1A)显示:与对照组正常胃组织样品相比,胃癌组织中 G9a 表达水平显著升高( $t=5.811,67, P < 0.01$ )。在肿瘤预后评价数据库 Kaplan-Meier Plotter 中,对 G9a 表达水平与预后相关性进行分析,结果显示(图 1B): G9a 表达水平与胃癌患者预后密切相关,与低水平表达 G9a 的患者相比,高水平表达 G9a 的患者其总生存率显著降低[ $HR=1.35(1.13 \sim 1.16), P < 0.01$ ],由此推测, G9a 分子的高水平表达能够作为一项独立的预后测评因素。



A: G9a mRNA expression in the gastric cancer tissues and normal gastric tissues;

B: Survival rate of gastric cancer patients with high or low G9a mRNA expression level

图1 G9a在正常胃组织和胃癌组织中的表达情况以及与胃癌患者预后的关系

Fig.1 Relative expression of G9a in normal gastric tissues and gastric cancer tissues and it's correlation to the prognosis of patients with gastric cancer

### 2.2 G9a 在胃癌细胞株中高表达

Western blotting 方法检测 SGC-7901、MKN-45 胃癌细胞中 G9a 表达水平,可见 G9a 在两株胃癌细胞中表达丰富(图 2)。

### 2.3 G9a 抑制剂 BIX01294 引起胃癌细胞形态改变

用 2.5  $\mu\text{mol/L}$  的 G9a 抑制剂 BIX01294 处理胃癌

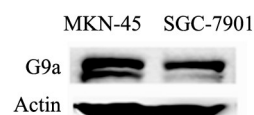


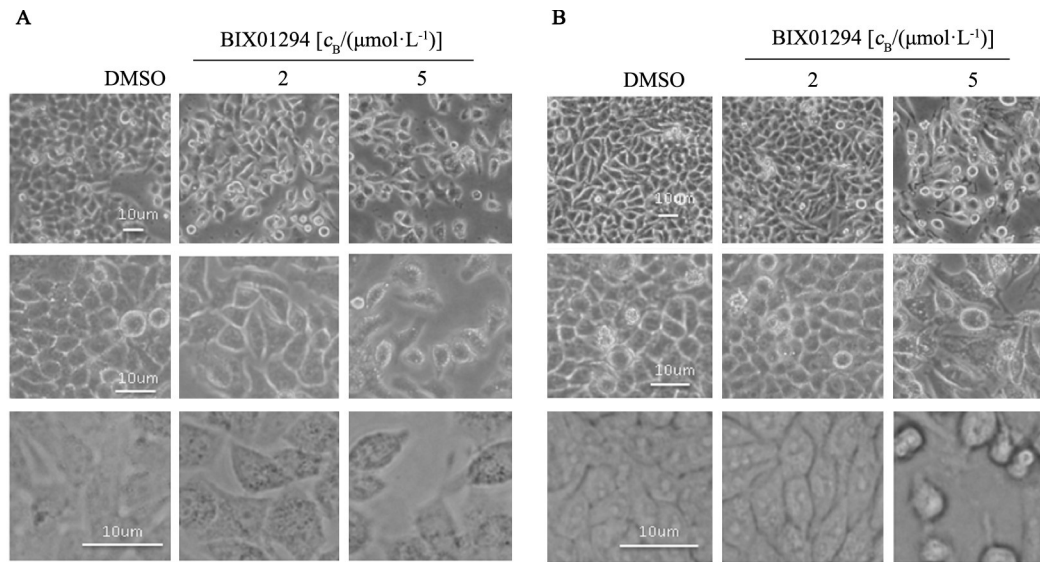
图2 G9a在胃癌细胞中的表达水平

Fig.2 Expression level of G9a in gastric cancer cells



细胞 SGC-7901、MKN-45 24 h 后观察细胞形态变化发现(图3),胃癌细胞体积缩小、细胞间连接消失、与

周围的细胞脱离。高浓的抑制剂还可引起胃癌细胞皱缩、变圆、脱落。



A: Morphologic changes of SGC-7901 cells after the treatment of BIX01294 (2, 5 μmol/L) for 24 h, DMSO as negative control;

B: Morphologic changes of MKN-45 cells after the treatment of BIX01294 (2,5 μmol/L) for 24 h, DMSO as negative control

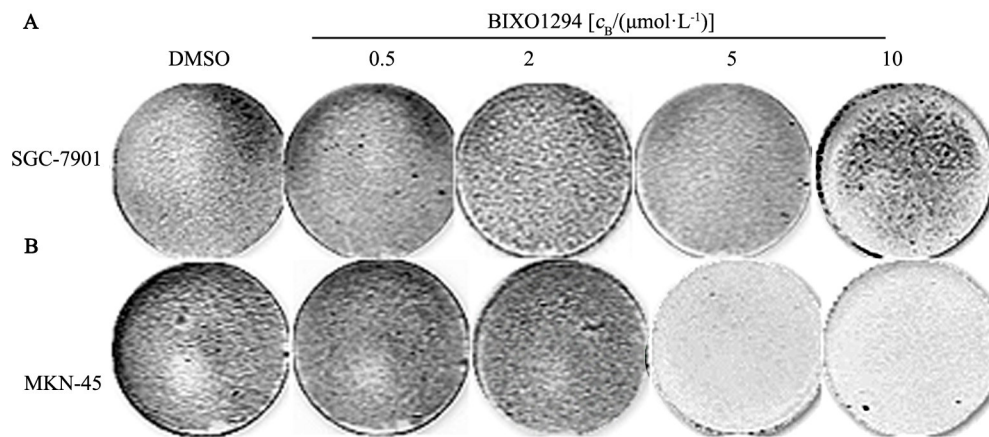
图3 G9a 抑制剂 BIX01294 引起胃癌细胞形态改变

Fig.3 G9a inhibitor BIX01294 induced morphologic changes of gastric cancer cells

### 2.4 BIX01294 抑制胃癌细胞集落形成

细胞集落形成实验结果(图4)显示,使用 BIX01294 处理胃癌细胞 24 h 后,细胞集落形成明显受抑制,随药物浓度升高,集落形成数量减少;并且

在 BIX01294 浓度为 5 μmol/L 时,MKN-45 细胞几乎无集落形成,而 SGC-7901 细胞仍有少量细胞集落形成,说明 MKN-45 细胞系对 BIX01294 的敏感性高于 SGC-7901 细胞。



A: The influence of BIX01294 on SGC-7901 cell colony formation detected by plate colony assay;

B: The influence of BIX01294 on MKN-45 cell colony formation detected by plate colony assay

图4 BIX01294 抑制胃癌 SGC-7901、MKN-45 细胞的集落形成

Fig.4 BIX01294 inhibited the colony formation of gastric cancer cell line SGC-7901 and MKN-45

### 2.5 BIX01294 抑制胃癌细胞的增殖

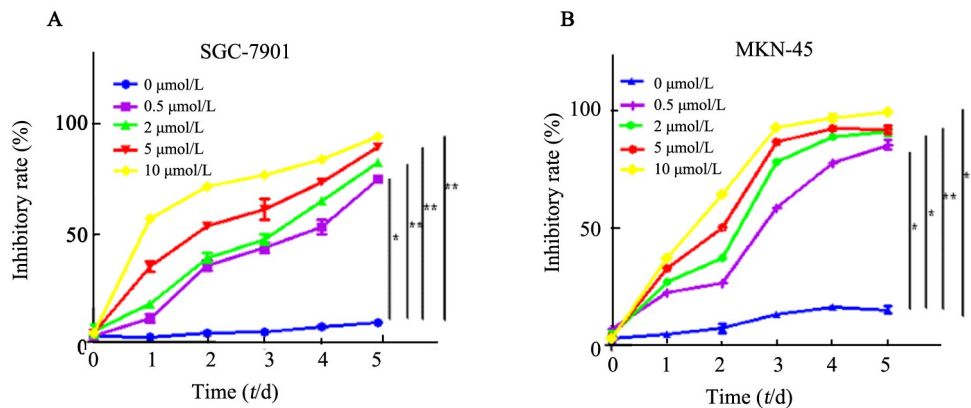
CCK-8 实验检测结果(图5)发现,与对照组相比,G9a 抑制剂 BIX01294 处理后,SGC-7901、MKN-45 细胞的增殖活性明显降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

### 2.6 BIX01294 诱导胃癌细胞的凋亡

流式细胞术检测结果(图6)显示,与对照组相比,2.5 μmol/L ( $t=12.27$ ;  $P < 0.01$ ) 和 5 μmol/L ( $t=22.34$ ;  $P < 0.01$ ) BIX01294 组中 SGC-7901 细胞的凋亡率显著

升高, 且 5  $\mu\text{mol/L}$  BIX01294 处理的细胞凋亡率显著高于 2.5  $\mu\text{mol/L}$  处理组 ( $t=8.219; P<0.01$ )。MKN-45

细胞的凋亡结果与 SGC790 细胞相似。

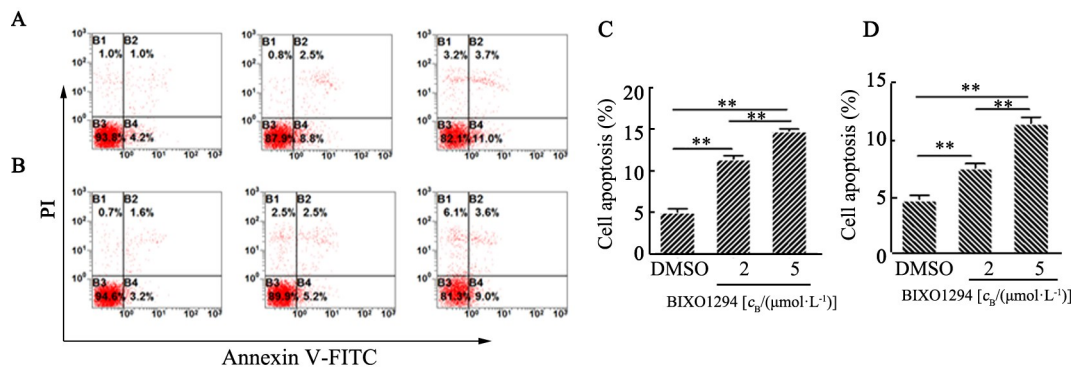


A: Proliferation inhibitory rate of SGC-7901 cells detected by CCK-8 (all  $P<0.01$ );

B: Proliferation inhibitory rate of MKN-45 cells detected by CCK-8 (all  $P<0.01$ )

图 5 BIX01294 抑制胃癌 SGC-7901、MKN-45 细胞的增殖

Fig.5 BIX01294 inhibited proliferation of gastric cancer SGC-7901 and MKN-45 cells



A: Cell apoptosis of SGC-7901 cells detected by Annexin V-FITC; B: Cell apoptosis of MKN-45 cells detected by Annexin V-FITC;

C: Statistical analysis of SGC-7901 cell apoptosis; D: Statistical analysis of MKN-45 cell apoptosis

图 6 BIX01294 促进胃癌 SGC-7901、MKN-45 细胞的凋亡

Fig.6 BIX01294 promoted apoptosis of gastric cancer SGC-7901 and MKN-45 cells

### 3 讨论

近年来, 随着分子生物等学科的不断发 展, 使人们从更微观的角度认识肿瘤, 无论是在发病机制的探究还是在肿瘤治疗的手段等方面都不断取得突破。胃癌由于早期发病隐匿, 多数患者在出现症状时已经进入中晚期, 治疗效果差, 虽然手术、化疗和放疗等综合治疗方法能在一定程度上延长患者生命, 但远期效果仍不甚理想。肿瘤分子生物学的发展及精准医疗的实施, 使得靶向治疗和免疫治疗得到快速发展, 并且在乳腺癌、结直肠癌中的疗效获得肯定, 但是靶向治疗在胃癌中的应用相对滞后<sup>[9-12]</sup>。

组蛋白修饰在肿瘤的发生发展中有重要作用, 其主要修饰位点发生在组蛋白 N 端氨基酸残基, 可发

生甲基化、乙酰化、磷酸化、腺苷酸化、泛素化和腺苷二磷酸核糖基化等化学修饰<sup>[13-14]</sup>。本研究重点关注组蛋白甲基化修饰在胃癌中发挥的作用, 组蛋白甲基化修饰的位点不同, 对基因表达的信息也不同。组蛋白 H3 第 4 位赖氨酸残基三甲基化引起转录激活, 而组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸残基三甲基化和 H3 第 27 位赖氨酸残基三甲基化引起转录抑制<sup>[15-16]</sup>。

组蛋白甲基转移酶 G9a 又称为常染色质组蛋白赖氨酸 N-甲基转移酶 2 (euchromatic histone-lysine N-methyltransferase 2, EHMT2), 主要催化组蛋白 3 (H3) K9 和 K27 位点的甲基化<sup>[17]</sup>。有研究<sup>[18]</sup>表明, G9a 在肝癌、膀胱癌、骨髓癌、结肠癌和前列腺癌多种癌变组织中都发现表达升高, 并且癌组织中 G9a 的表达水平与病情进展以及预后不良呈正相关<sup>[19]</sup>。G9a 能够通

过组蛋白3(H3)K9位点甲基化和DNA-CpG岛甲基化引起抑癌基因的异常沉默<sup>[20-21]</sup>。小分子化合物BIX01294特异性抑制阻断组蛋白H3K9位点的甲基转移酶(HMT)的活性;构象研究<sup>[22]</sup>揭示了BIX01294通过占据HMT中与底物结合的部位阻止甲基化反应发生,而BIX01294在调控胃癌细胞生长发挥作用的机制尚未阐明。

本研究中,通过分析肿瘤信息数据库发现G9a在胃癌组织中表达增高;生存预后分析表明,G9a的高表达与预后不良呈正相关;提示G9a在胃癌中的表达可作为一项独立的预测因素,可预测胃癌患者预后。Western blotting明确了G9a在胃癌组织中的高表达,为应用小分子抑制剂BIX01294靶向调控胃癌细胞生长提供物质基础。进一步研究发现,使用G9a抑制剂BIX01294后,能够显著抑制胃癌细胞的增殖和集落形成,促进胃癌细胞凋亡。

总之,本研究通过使用特异针对组蛋白甲基转移酶G9a活性的小分子抑制剂BIX01294处理胃癌细胞,确认了G9a在胃癌细胞中扮演促进增殖和抑制凋亡的重要角色。阐明G9a作为组蛋白甲基转移酶在胃癌中发挥的作用机制,将为靶向治疗胃癌提供一种新的治疗思路。在后续的研究中将深入探讨G9a在胃癌细胞恶性生物学行为中所参与的分子网络和调控机制。

#### [参考文献]

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER M, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90. DOI: 10.3322/caac.20107.
- [2] OBA K, PAOLETTI X, BANG Y J, et al. Role of chemotherapy for advanced/recurrent gastric cancer: an individual-patient-data meta-analysis[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(7): 1565-1577. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.12.016.
- [3] CASCIELLO F, WINDLOCH K, GANNON F, et al. Functional role of G9a histone methyltransferase in cancer[J]. *Front Immunol*, 2015, 6(487): 1-12. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00487.
- [4] TACHIBANA M, SUGIMOTI K, FUKUSHIMA T, et al. SET domain-containing protein, G9a, is a novel lysine-preferring mammalian histone methyltransferase with hyperactivity and specific selectivity to lysines 9 and 27 of histone H3[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(27): 25309-25317. DOI:10.1074/jbc.M101914200.
- [5] CHANG C C, WU M J, YANG J Y, et al. Leptin-STAT3-G9a signaling promotes obesity-mediated breast cancer progression[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(11): 2375-2386. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-14-3076.
- [6] LIU S, YE D, GUO W, et al. G9a is essential for EMT-mediated metastasis and maintenance of cancer stem cell-like characters in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(9): 6887-6901. DOI:10.18632/oncotarget.3159.
- [7] HUA K T, WANG M Y, CHEN M W, et al. The H3K9 methyltransferase G9a is a marker of aggressive ovarian cancer that promotes peritoneal metastasis[J]. *Mol Cancer*, 2014, 13(11): 189-191. DOI: 10.1186/1476-4598-13-189.
- [8] YUAN Y, TANG A J, CASTORENO A B, et al. Gossypol and an HMT G9a inhibitor act in synergy to induce cell death in pancreatic cancer cells[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(3): 690-697. DOI:10.1038/cddis.2013.191.
- [9] HE L, GU J, LIM L Y, et al. Nanomedicine-mediated therapies to target breast cancer stem cells[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 313 [2018-04-08]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2016.00313/full>. DOI: 10.3389/fphar.2016.00313.
- [10] VENUR V A, LEONE J P. Targeted therapies for brain metastases from breast cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9): 1543. DOI: 10.3390/ijms17091543.
- [11] OHHARA Y, FUKUDA N, TAKEUCHI S, et al. Role of targeted therapy in metastatic colorectal cancer[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2016, 8(9): 642-655. DOI: 10.4251/wjgo.v8.i9.642.
- [12] 屠江锋, 潘文胜, 陈小君, 等. 胃癌早期筛查的研究进展[J]. *实用肿瘤杂志*, 2016, 31(6): 560-564.
- [13] PINNEY S E, SIMMONS R A. Epigenetic mechanisms in the development of type 2 diabetes[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2010, 21(4): 223-229. DOI: 10.1016/j.tem.2009.10.002.
- [14] PORTELA A, ESTELLER M. Epigenetic modifications and human disease[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(10): 1057-1068. DOI:10.1038/nbt.1685.
- [15] GUENTHER M G, LEVINE S S, BOYER L A, et al. A chromatin landmark and transcription initiation at most promoters in human cells[J]. *Cell*, 2007, 130(1): 77-88. DOI:10.1016/j.cell.2007.05.042.
- [16] HOWE F S, FISCHL H, MURRAY S C, et al. Is H3K4me3 instructive for transcription activation? [J]. *Bioessays*, 2017, 39(1): 1-12. DOI: 10.1002/bies.201600095.
- [17] DUNHAM I, SARGENT C A, KENDALL E, et al. Characterization of the class III region in different MHC haplotypes by pulsed-field gel electrophoresis[J]. *Immunogenetics*, 1990, 32(3): 175-182. DOI: 10.1007/BF02114970.
- [18] HUANG J, DORSEY J, CHUIKOV S, et al. G9a and Glp methylate lysine373 in the tumor suppressor p53[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(13): 9636-9641. DOI:10.1074/jbc.M109.062588.
- [19] CHEN M W, HUA K T, KAO H J, et al. H3K9 histone methyltransferase G9a promotes lung cancer invasion and metastasis by silencing the cell adhesion molecule Ep-CAM[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(20): 7830-7840. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0833.
- [20] WATANABE H, SOEJIMA K, YASUDA H, et al. Deregulation of histone lysine methyltransferases contributes to oncogenic transformation of human bronchoepithelial cells[J]. *Cancer Cell Int*, 2008, 8(6): 15-18. DOI:10.1186/1475-2867-8-15.
- [21] WOZNIAK R J, KLIMECKI W T, LAU S S, et al. 5-Aza-2'-deoxycytidine-mediated reductions in G9a histone methyltransferase and histone H3 K9 di-methylation levels are linked to tumor suppressor gene reactivation[J]. *Oncogene*, 2007, 26(1): 77-90. DOI: 10.1038/sj.onc.1209763.
- [22] CHANG Y, GANESH T, HORTON J R, et al. Adding a lysine mimic in the design of potent inhibitors of histone lysine methyltransferases [J]. *Mol Biol*, 2010, 400(1): 1-7. DOI: 10.1016/j.jmb.2010.04.048.

[收稿日期] 2018-04-09

[修回日期] 2018-06-19

[本文编辑] 黄静怡