

王英南,吴建华,吴忱思,等. 靶向人 SET8 单抗的制备及对肝癌细胞增殖、凋亡及细胞周期的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(12): 70-76.

Wang YN, Wu JH, Wu CS, et al. Preparation of human SET8 monoclonal antibody and its effect on hepatocellular carcinoma cell proliferation, apoptosis, and cell cycle [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(12): 70-76.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.12.008

靶向人 SET8 单抗的制备及对肝癌细胞增殖、凋亡及细胞周期的影响

王英南¹, 吴建华², 吴忱思¹, 张风宾¹, 张瑞星¹, 郭占军^{3*}

(1.河北医科大学第四医院消化内科,石家庄 050011;2.河北医科大学第四医院动物中心,石家庄 050011;
3.河北医科大学第四医院风湿免疫科,石家庄 050011)

【摘要】 目的 制备针对人 SET8 的单克隆抗体,并探索其对肝癌细胞增殖、凋亡及细胞周期的影响,同时评估其在肝癌小鼠模型中的抗肿瘤效果。方法 通过人 SET8 多肽片段免疫小鼠,筛选并融合 B 细胞与骨髓瘤细胞,建立稳定分泌 SET8 单抗的杂交瘤细胞株。通过小鼠腹腔注射、腹水采集的方式生产并纯化。采用 CCK-8 法、流式细胞术及 Western blot 技术,分别分析 SET8 单抗对肝癌细胞增殖、凋亡、细胞周期及凋亡相关蛋白表达的影响。最后,构建人肝癌细胞移植瘤小鼠模型,体内评估 SET8 单抗对肿瘤生长的抑制作用。结果 人 SET8 单抗在 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下显著抑制 Huh-7 和 Mahlavu 肝癌细胞活力 ($P<0.05$),且浓度越高抑制效果越强。流式细胞术分析显示,相较于空白对照组,SET8 单抗、紫杉醇及二者联合处理均显著提高 Mahlavu 细胞凋亡率,且联合组效果最佳 ($P<0.05$)。同时,SET8 单抗诱导 Mahlavu 细胞周期阻滞于 S 期和 G_2 期,减少 G_1 期细胞。Western blot 分析显示,该单抗增加凋亡相关蛋白 Bax 和 Caspase-3 的表达 ($P<0.05$)。体内实验显示,SET8 单抗单独或联合紫杉醇均有效抑制肝癌细胞在裸鼠体内的增殖,联合组治疗效果最为显著 ($P<0.05$)。结论 制备的人 SET8 单抗有效抑制肝癌细胞增殖,促进肝癌细胞凋亡,并在动物体内展现出良好的抗肿瘤效果。

【关键词】 人 SET8 单抗;肝癌细胞;细胞增殖;细胞凋亡;细胞周期;动物模型

【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856 (2024) 12-0070-07

Preparation of human SET8 monoclonal antibody and its effect on hepatocellular carcinoma cell proliferation, apoptosis, and cell cycle

WANG Yingnan¹, WU Jianhua², WU Chensi¹, ZHANG Fengbin¹, ZHANG Ruixing¹, GUO Zhanjun^{3*}

(1. Department of Gastroenterology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China.

2. Animal Center, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011. 3. Department of Rheumatology and Immunology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011)

【Abstract】 **Objective** To prepare human SET8 monoclonal antibody and explore its effects on the proliferation, apoptosis, and cell cycle of hepatoma cells, and to evaluate its anti-tumor effect in mouse models of hepatocellular carcinoma. **Methods** We immunized mice with human SET8 polypeptide fragment and screened and fused B cells and

[基金项目] 河北省级科技计划资助 (21377759D)。

[作者简介] 王英南 (1985—), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 消化道肿瘤的基础及临床研究。E-mail: wyn0701001@163.com

[通信作者] 郭占军 (1973—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 肿瘤免疫治疗的基础及临床研究。E-mail: zjguo5886@aliyun.com

myeloma cells to establish a hybridoma cell line that stably secreted SET8 monoclonal antibody. Production was expanded by intraperitoneal injection into mice and the collection and purification of ascites. We investigated the effects of SET8 monoclonal antibody on the proliferation, apoptosis, cell cycle, and apoptosis-related protein expression of hepatocellular carcinoma cells by CCK-8, flow cytometry, and Western blot, respectively. Finally, we constructed a mouse model of human hepatocellular carcinoma by cell transplantation to evaluate the inhibitory effect of SET8 monoclonal antibody on tumor growth *in vivo*. **Results** Human SET8 monoclonal antibody significantly inhibited the viability of Huh-7 and Mahlavu hepatoma cells at concentrations of 50 and 100 $\mu\text{g/mL}$, in a concentration-dependent manner ($P<0.05$). Flow cytometry analysis showed that SET8 monoclonal antibody, paclitaxel, and their combination significantly increased the apoptosis rate of Mahlavu cells compared with the blank control group, with the combination group having the greatest effect ($P<0.05$). SET8 monoclonal antibody also induced Mahlavu cell cycle arrest in S and G_2 phases and reduced G_1 phase cells. Western blot analysis showed that the monoclonal antibody increased the expression of the apoptosis-related proteins Bax and Caspase-3 ($P<0.05$). SET8 monoclonal antibody, alone or in combination with paclitaxel, also effectively inhibited the proliferation of hepatocellular carcinoma cells in nude mice, with the combination therapy having the most significant effect ($P<0.05$). **Conclusions** The prepared human SET8 monoclonal antibody effectively inhibited the proliferation and promoted the apoptosis of hepatocellular carcinoma cells, and showed good anti-tumor effects in mice.

[Keywords] human SET8 monoclonal antibody; liver cancer cells; cell proliferation; cell apoptosis; cell cycle; animal model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)是全球范围内最常见且恶性程度极高的肿瘤之一,具有发病隐匿、进展迅速、生存期短等特点,其治疗一直是世界性难题。SET8 又称 PR-set7、SETD8 或 KMT5A,定位于人类基因组中的第 12 号染色体长臂区域,是目前发现的唯一能够特异性单甲基化组蛋白 H4 第 20 位赖氨酸(H4K20)的赖氨酸甲基转移酶。目前,大量研究发现 SET8 在乳腺癌、前列腺癌、肺癌、结直肠癌及肝癌等多种肿瘤组织中均表达上调,影响着肿瘤的发生、发展^[1-5]。这些研究不仅强化了 SET8 作为肝癌等肿瘤治疗潜在靶点的地位,也激发了科学界对开发靶向 SET8 抑制剂的浓厚兴趣。然而,尽管已有少数 SET8 抑制剂被初步鉴定,但这一领域仍面临诸多挑战,至今尚无 SET8 抑制剂成功进入临床应用阶段。本研究旨在制备靶向人 SET8 的单克隆抗体,并探索其对肝癌细胞增殖、凋亡及细胞周期的影响,同时评估其在肝癌小鼠模型中的抗肿瘤效果,以期为肝癌的治疗提供一种毒副作用小、高效的抗肿瘤活性物质。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雌性 BALB/c 裸鼠 24 只,4 周龄,体重(20 ± 2) g,购自北京斯贝福生物技术有限公司[SCXK(京)2024-0001]。小鼠统一饲养在河北医

科大学第四医院实验动物中心[SYXK(冀)2022-011],温度 22~24 $^{\circ}\text{C}$ 、昼夜光照均 12 h 的屏障环境中,并提供标准的啮齿动物饲料和饮水。动物实验按照美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)实验动物护理和使用指南^[6]进行,实验过程中遵循实验动物 3R 原则,并经河北医科大学第四医院机构动物护理和伦理委员会批准(20231205)。

1.1.2 细胞

人类肝癌细胞系 Huh-7、Mahlavu 由武汉普诺赛生命科技有限公司提供。

1.2 主要试剂与仪器

CCK-8 试剂盒(日本同仁化学研究所,批号:MA02181108H);细胞凋亡试剂盒 PE Annexin V Apoptosis Detection Kit I(美国 BD 公司,批号:5306537);兔抗人 Bax 抗体(杭州华安生物技术有限公司,批号:ET1603-34);兔抗人 Caspase-3 抗体(杭州华安生物技术有限公司,批号:ET1602-39); β -actin 抗体(Bioworld technology 公司,批号:3523062901);HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体(杭州华安生物技术有限公司,批号:HA1001)。

细胞培养箱(美国 Thermo 公司);电泳仪及垂直凝胶电泳系统(美国 Bio-Rad 公司);超灵敏全自动化学分析系统(FluorChem M,美国 Alpha Innotech 公司);流式细胞仪(NAVIOS,美国 Beckman Coulter 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 靶向人 SET8 单抗的制备

人 SET8 单抗由美国 Affinity Biosciences 公司协同制备,其制备过程总结如下:通过血蓝蛋白(keyhole limpet hemocyanin, KLH)偶联人 SET8 多肽片段(CPNQKSEAAEPPKTPP)作为抗原免疫 BALB/c 小鼠后获取相关效应 B 细胞,然后再与骨髓瘤细胞 SP2/0 融合后制备稳定分泌 SET8 单抗的杂交瘤细胞株。通过小鼠腹腔注射、腹水采集纯化的方式扩大生产并纯化。具体见补充材料 1。

1.3.2 细胞培养

将 Huh-7 和 Mahlavu 肝癌细胞在含有 10% 胎牛血清(FBS)的 DMEM 培养基中培养(37 °C, 5% CO₂)。

1.3.3 SET8 单抗工作浓度的筛选及细胞增殖实验

将对数生长期的 Huh-7 和 Mahlavu 细胞以 1×10^4 /孔接种到 24 孔板,加入不同浓度 SET8 单抗(1、2、5、10、20、50 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$),干预 72 h 后计算细胞数量,分析 SET8 单抗的抑制作用,确定最佳抑制浓度。接着,以 1×10^3 /孔的密度将 Huh-7 和 Mahlavu 细胞接种到 96 孔板,分成空白对照组、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ SET8 单抗组和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ SET8 单抗组处理细胞,在药物处理后不同时间点(0、12、24、48、60 和 72 h),加入 CCK-8 试剂,孵育 2 h 后测定 490 nm 波长下的吸光度值,以分析 SET8 单抗对肝癌细胞增殖的影响。

1.3.4 细胞凋亡实验

将对数生长期 Huh-7 和 Mahlavu 细胞以 1×10^3 /孔接种于 6 孔板,分成空白对照组、SET8 单抗组、紫杉醇组和联合组 4 组处理 48 h。细胞经胰酶消化、洗涤后,用 Binding Buffer 重悬并加入 Annexin V-FITC 和碘化丙啶(PI)染色,避光孵育 15 min。再洗涤、重悬后,用流式细胞仪检测细胞凋亡情况,实验重复 3 次以确保结果可靠性。

1.3.5 细胞周期实验

将对数生长期 Huh-7 和 Mahlavu 细胞以 1×10^3 /孔接种于 6 孔板,分成空白对照组、SET8 单抗组、紫杉醇组、联合组处理,每组设置 3 个复孔。处理 48 h 后,胰酶消化细胞,PBS 清洗,之后将细胞重悬于 PBS 并加入冷乙醇固定过夜。次日,去除乙醇,PBS 清洗,PI 染色 15 min,流式细胞仪分析细胞周期。

1.3.6 Western blot 实验

使用 RIPA 裂解液从 SET8 单抗处理后的 Huh-

7 和 Mahlavu 细胞中提取总蛋白。BCA 法定量后上样 50 μg 至聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳。将电泳分离后的蛋白转至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,经 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后再与 Bax、Caspase-3、 β -actin 抗体(稀释浓度分别为 1 : 1000、1 : 1000、1 : 20 000)4 °C 孵育过夜。次日,TBST 洗膜后,加辣根过氧化物酶(HRP)偶联的抗兔 IgG 二抗(1 : 10 000)室温孵育 2 h,再用 TBST 洗膜。最后,使用 ECL 发光液显影,FluorChem M 成像系统捕获和分析图像。以 β -actin 为内参分析 Bax 和 Caspase-3 蛋白表达情况。

1.3.7 动物分组及体内抑瘤实验

小鼠左肩胛区皮下接种 Huh-7 细胞(5×10^6 细胞/小鼠,200 μL DMEM),待肿瘤体积达 200 ~ 300 mm^3 时,随机分为 4 组:空白对照组(生理盐水)、SET8 单抗组(5 mg/kg)、紫杉醇组(10 mg/kg)和联合组,连续给药 4 周,每周 2 次。监测肿瘤生长,绘制生长曲线。肿瘤体积的计算遵循以下公式:肿瘤大小 = 长度 $\times$ 宽度²/2。28 d 后终止实验,剥离肿瘤测量。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析处理。对于呈正态分布的计量资料,采用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)的形式进行描述。为了比较不同组别之间的差异,若仅涉及两组数据,则采用独立样本 *t* 检验;若涉及多组数据,则采用单因素方差分析(ANOVA)。所有统计分析均设定 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 人 SET8 单抗对 Huh-7 和 Mahlavu 肝癌细胞增殖作用的影响

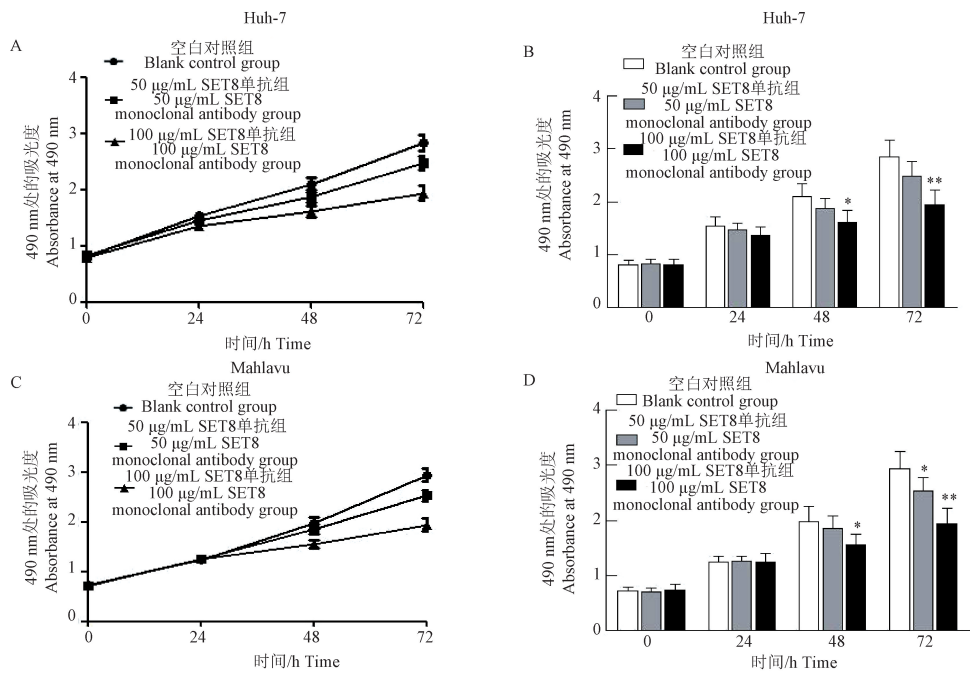
该实验使用的人 SET8 单抗的抗体效价已经过 ELISA 检测(见补充材料 1)。CCK-8 检测结果显示,不同浓度人 SET8 单抗(1、2、5、10、20、50 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)显著抑制了 Huh-7 和 Mahlavu 肝癌细胞的活力,且抑制效果随着药物浓度的增加而增强,其中,以 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度抑制作用最为明显,因此,后续实验采用 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 这两个浓度。

进一步研究显示,与空白对照组相比,50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ SET8 单抗对 Huh-7 和 Mahlavu 细胞的抑制效果随作用时间的延长而增强,至 72 h 时抑制效果最为显著($P < 0.01$),见图 1。

2.2 人 SET8 单抗对 Mahlavu 肝癌细胞的凋亡作用

如图 2 流式细胞仪检测显示,空白对照组凋亡

率为 (5.46 ± 0.49) % , SET8 单抗组为 (17.81 ± 1.87) % 、紫杉醇组为 (64.30 ± 4.01) % ,联合组为 (80.31 ± 5.69) % ,与空白对照组相比,SET8 单

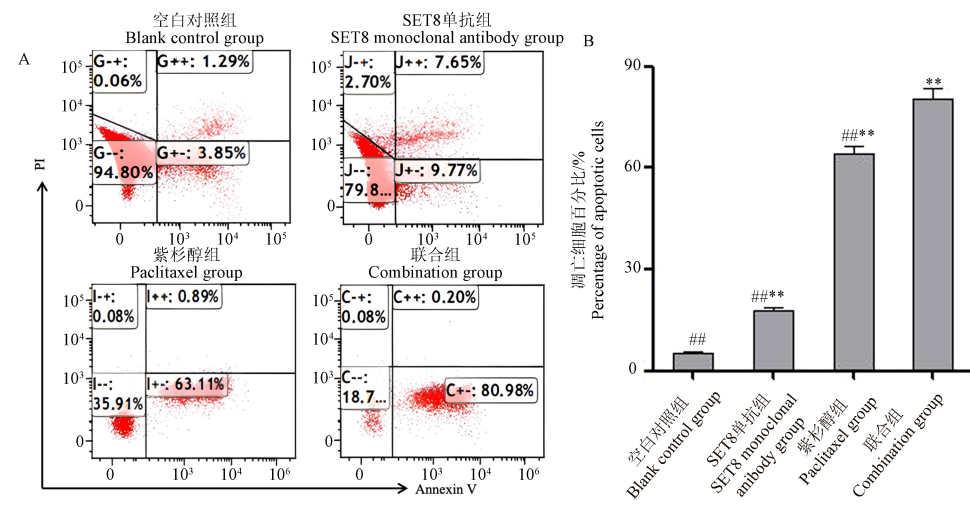


注:A;CCK-8 测定显示 SET8 单抗抑制 Huh-7 肝癌细胞增殖;B;对 A 结果的定量分析;C;CCK-8 测定显示 SET8 单抗抑制 Mahlavu 肝癌细胞增殖;D;对 C 结果的定量分析。与空白对照组相比, **P*<0.05, ***P*<0.01。

图 1 50 μg/mL 和 100 μg/mL 人 SET8 单抗对 Huh-7 和 Mahlavu 肝癌细胞增殖作用的影响

Note. A, CCK-8 assay showed that SET8 monoclonal antibody inhibited the proliferation of Huh-7 hepatoma cells. B, Quantitative analysis of A result. C, CCK-8 assay showed that SET8 monoclonal antibody inhibited the proliferation of Mahlavu hepatoma cells. D, Quantitative analysis of C result. Compared with the blank control group, **P*<0.05, ***P*<0.01.

Figure 1 Effect of 50 μg/mL and 100 μg/mL human SET8 monoclonal antibody on the proliferation of Huh-7 and Mahlavu hepatoma cells



注:A;PE-Annexin V/7-AAD 检测细胞凋亡;B;各组对 Mahlavu 肝癌细胞的凋亡作用。与空白对照组相比, ***P*<0.01;与联合组相比, ****P*<0.01。

图 2 人 SET8 单抗对 Mahlavu 肝癌细胞的凋亡作用

Note. A, PE-Annexin V/7-AAD for apoptosis detection. B, Apoptosis effect of each group on Mahlavu hepatoma cells. Compared with the blank control group, ***P*<0.01. Compared with the combination group, ****P*<0.01.

Figure 2 Effect of human SET8 monoclonal antibody on apoptosis of Mahlavu hepatoma cells

抗组、紫杉醇组以及联合组均导致 Mahlavu 细胞凋亡率增加 ($F=297.951, P<0.01$), 且联合组显著高于单独用药组 ($P<0.01$), 提示人 SET8 单抗有增敏紫杉醇的抗肿瘤能力。

2.3 人 SET8 单抗对肝癌细胞凋亡调节蛋白的影响

Western blot 结果显示, 50 $\mu\text{g/mL}$ 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 人 SET8 单抗组与空白对照组相比, 凋亡相关蛋白 Bax ((0.39 ± 0.07) 、 (0.98 ± 0.17) 与 (0.24 ± 0.06) 相比, $P<0.05$) 和 Caspase-3 ((0.24 ± 0.05) 、 (0.46 ± 0.07) 与 (0.16 ± 0.05) 相比, $P<0.05$) 的表达均增高, 差异具有统计学意义, 见图 3。

2.4 人 SET8 单抗对 Mahlavu 肝癌细胞细胞周期的影响

流式细胞仪分析细胞周期结果显示, 50 $\mu\text{g/mL}$ 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 人 SET8 单抗能诱导 Mahlavu 肝癌细胞周期阻滞在 S 和 G_2 期, 而处于 G_1 期的细胞相对减少, 见图 4。

2.5 体内抑瘤实验结果

如图 5 体内实验结果表明, 与空白对照组相比, SET8 单抗组 ($P<0.05$)、紫杉醇组、联合组对肿瘤均具有明显的抑制作用 ($P<0.01$), 其中联合组抑制作用最为明显 ($P<0.01$)。

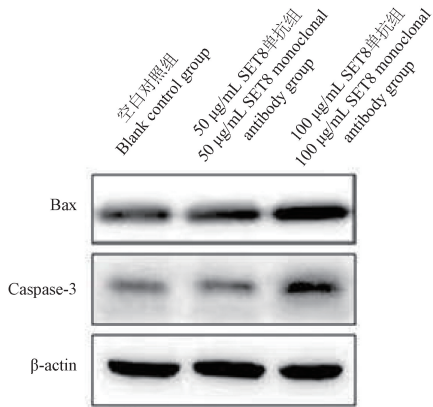


图 3 Western blot 检测肝癌细胞凋亡调节蛋白的表达
Figure 3 Expression of apoptosis regulatory proteins in hepatocellular carcinoma cells detected by Western blot

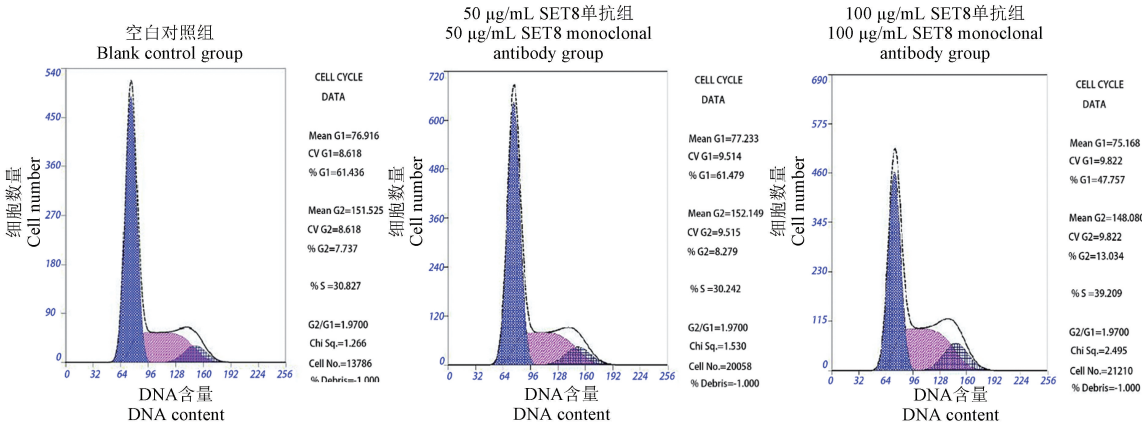
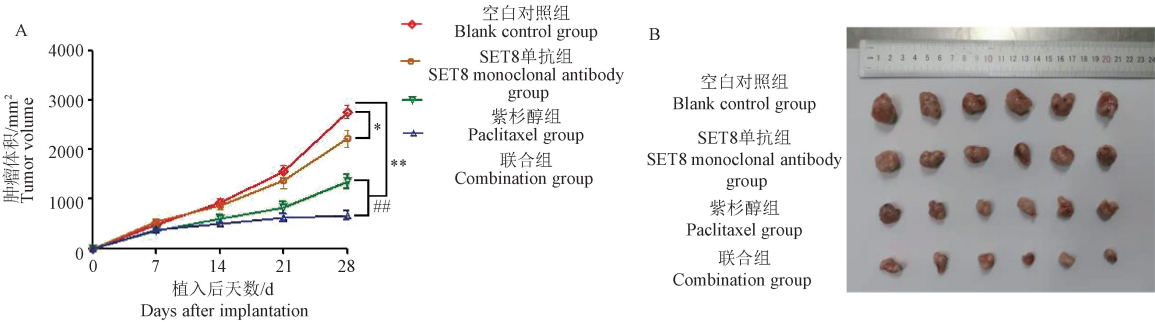


图 4 流式细胞仪检测细胞周期

Figure 4 Cell cycle was measured by flow cytometry.



注: A: 异种移植肿瘤的生长曲线; B: 各组成瘤体大小测量。与空白对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与紫杉醇组相比, ## $P<0.01$ 。

图 5 体内抑瘤实验结果

Note. A, Growth curves of xenograft tumors. B, Size of each component tumor was measured. Compared with the blank control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. Compared with the paclitaxel group, ## $P<0.01$.

Figure 5 Results of tumor suppression *in vivo*

3 讨论

原发性肝癌是比较常见的恶性肿瘤之一,据国际癌症研究机构 2022 年数据显示,全球约有 86.5 万新发病例和 75.8 万死亡病例,给各国人民带来了沉重的疾病负担^[7]。而中国尤为显著,作为肝癌的高发国家,每年新增病例高达 36.8 万,死亡病例接近 31.7 万,占比全球总数的一半左右,严重威胁着国民健康^[8]。近年来,尽管分子靶向治疗与免疫治疗的发展为肝癌治疗开辟了新途径,但仍要面临整体疗效有限、耐药性问题频发以及治疗伴随显著副作用等挑战^[9]。因此,深入探索肝癌的新型治疗靶点,并研发更为高效、低毒的全身治疗药物显得尤为重要。

SET8,作为一种关键的核小体 H4K20 的单甲基化转移酶,其表达水平常常在肝癌等多种肿瘤中异常升高,这种高表达不仅促进了肿瘤细胞的能量代谢,还加速了肿瘤的进展、侵袭与转移过程。相反,抑制 SET8 的表达则能有效诱导肿瘤细胞凋亡,从而改善患者的预后情况^[10-11]。基于这些发现,SET8 成为了开发新型肝癌治疗药物的潜在靶点,为肝癌治疗带来了新的希望与方向。在过去十年里,很多化学家致力于 SET8 抑制剂的开发和设计,然而,迄今为止,针对 SET8 的抑制剂数量有限,而且只有少数具有一定程度的抗肿瘤活性^[12]。本研究成功制备出了人 SET8 单克隆抗体,并观察了其对肝癌细胞增殖、凋亡及细胞周期的影响,以及对紫杉醇化学敏感性的协同增强作用,最后通过动物实验验证了其在体内的有效性及安全性。

有研究发现,SET8 在哺乳动物细胞周期调控中扮演着重要角色,抑制 SET8 的表达可能会导致 G₂ 期 SET8 的失活,进而引发染色体固缩障碍、G₂ 期阻滞,最终导致细胞周期障碍和细胞凋亡^[13-14]。本研究所制备的人 SET8 单克隆抗体有效地抑制了转染 SET8-siRNA 的肝癌细胞的增殖,通过流式细胞术检测细胞周期,发现细胞周期被阻滞在 S 期和 G₂ 期,进而促进了细胞凋亡。同样,吴建华等^[15]在食管癌的研究中证实,SET8 表达沉默可导致细胞周期于 G₂/M 期阻滞,并诱导食管癌细胞的凋亡,这提示本研究制备的 SET8 单抗能够有效地抑制 SET8 的表达,并促进肝癌细胞的凋亡,有望为肝癌的治疗提供新的策略。

此外,本研究还发现 SET8 单抗与紫杉醇联合应用相较于单独应用紫杉醇,显著提升了细胞的凋

亡率,这一发现提示抑制 SET8 能够增强紫杉醇的抗肿瘤能力,这与既往报道的结论一致^[16]。其相关的机制研究发现,紫杉醇通过与 β -微管蛋白结合,干扰了 α 、 β 微管蛋白二聚体与微管间的动态平衡,促使微管蛋白异常聚合,形成稳定的微管结构,并且阻止其正常解聚,最终导致细胞周期被阻断在 G₂/M 期^[17]。此外,SET8 不仅可以作为微管蛋白与 α -微管蛋白直接作用,而且可以通过转录因子 LSF 将 SET8 募集到微管以促进 SET8 将 α -微管蛋白甲基化^[18]。因此,SET8 阻断后可能通过降低微管蛋白甲基化而改变微管解聚聚合的动态稳定性而抑制细胞周期的进行,并可协同紫杉醇调控微管蛋白的作用来抑制癌细胞的增殖。目前,紫杉醇是肺癌、食管癌等多种肿瘤的重要治疗药物,而化疗的耐药成为肿瘤治疗的主要障碍^[19],本研究的联合治疗策略表明通过抑制 SET8 可以协同紫杉醇抗癌效果,也为临床克服紫杉醇耐药提供了新的策略。

最后,本研究还通过体内动物实验进一步确认所制备的 SET8 单抗的有效性,并展示了与紫杉醇的协同抗肿瘤效果。重要的是,SET8 单抗在动物实验中展现出了良好的安全性,未导致小鼠出现额外痛苦或体重显著减轻,这为 SET8 单抗在肝癌治疗中的临床转化奠定了坚实的理论基础。总之,本研究成功制备了人 SET8 单克隆抗体,并在肝癌细胞及动物模型中验证了其有效性及安全性,这不仅为探索 SET8 靶点的机制研究提供了关键工具,也有望为肝癌患者带来全新的治疗选择和治疗希望。

参考文献:

- [1] PENG X, MA L, CHEN X, et al. Inhibition of FBP1 expression by KMT5A through TWIST1 methylation is one of the mechanisms leading to chemoresistance in breast cancer [J]. *Oncol Rep*, 2024, 52(2): 110.
- [2] ALEBADY Z A H, AZIZYAN M, NAKJANG S, et al. CDC20 is regulated by the histone methyltransferase, KMT5A, in castration-resistant prostate cancer [J]. *Cancers*, 2023, 15(14): 3597.
- [3] LIU S, TIAN W, LI B. Integrative bioinformatics analysis the clinical value of KMT5A in different subtypes of lung cancer [J]. *Comput Biol Chem*, 2022, 96: 107603.
- [4] KE B, YE K. SETD8 promotes glycolysis in colorectal cancer via regulating HIF1 α /HK2 axis [J]. *Tissue Cell*, 2023, 82: 102065.
- [5] WU J, QIAO K, DU Y, et al. Downregulation of histone methyltransferase SET8 inhibits progression of hepatocellular carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 4490.

[6] PREPARED BY THE ANIMAL FACILITIES STANDARDS COMMITTEE OF THE ANIMAL CARE PANEL. Guide for laboratory animal facilities and care [J]. ILAR J, 2021, 62 (3) : 345-358.

[7] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3) : 229-263.

[8] ZHOU Y, SONG K, CHEN Y, et al. Burden of six major types of digestive system cancers globally and in China [J]. Chin Med J, 2024, 137(16) : 1957-1964.

[9] ZHENG S, CHAN S W, LIU F, et al. Hepatocellular carcinoma; current drug therapeutic status, advances and challenges [J]. Cancers, 2024, 16(8) : 1582.

[10] QI J, CHEN X, WU Q, et al. Fasting induces hepatocellular carcinoma cell apoptosis by inhibiting SET8 expression [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 3985089.

[11] CHEN X, DING X, WU Q, et al. Monomethyltransferase SET8 facilitates hepatocellular carcinoma growth by enhancing aerobic glycolysis [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(4) : 312.

[12] BARGHOUT S H, MACHADO R A C, BARSYTE-LOVEJOY D. Chemical biology and pharmacology of histone lysine methylation inhibitors [J]. Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech, 2022, 1865(6) : 194840.

[13] MAZIAN M A, YAMANISHI K, RAHMAN M Z A, et al. CRL4^{Cdt2} ubiquitin ligase, A genome caretaker controlled by Cdt2 binding to PCNA and DNA [J]. Genes, 2022, 13(2) : 266.

[14] ZHANG H. Regulation of DNA replication licensing and re-replication by Cdt1 [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(10) : 5195.

[15] 吴建华, 郭占军, 史艳君, 等. SET8 siRNA 对食管癌 TE1 细胞周期以及化疗敏感性的影响 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(12) : 933-938.

WU J H, GUO Z J, SHI Y J, et al. Effects of SET8 siRNA on cell cycle and chemosensitivity of TE1 cells [J]. Chin J Cancer Prev Treat, 2020, 27(12) : 933-938.

[16] CHEN Y, LI X, XU J, et al. Knockdown of nuclear receptor binding SET domain-containing protein 1 (NSD1) inhibits proliferation and facilitates apoptosis in paclitaxel-resistant breast cancer cells *via* inactivating the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Bioengineered, 2022, 13(2) : 3526-3536.

[17] DENG S, BANERJEE S, CHEN H, et al. SB226, an inhibitor of tubulin polymerization, inhibits paclitaxel-resistant melanoma growth and spontaneous metastasis [J]. Cancer Lett, 2023, 555: 216046.

[18] CHIN H G, ESTEVE P O, RUSE C, et al. The microtubule-associated histone methyltransferase SET8, facilitated by transcription factor LSF, methylates α -tubulin [J]. J Biol Chem, 2020, 295(14) : 4748-4759.

[19] 杨晓华, 郭莉莉, 路丽明. 耐紫杉醇肺原位小鼠移植瘤模型的建立和鉴定 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(3) : 275-283.

YANG X H, GUO L L, LU L M. Establishment and characterization of a xenotransplant paclitaxel-resistant model of human lung cancer cells [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29 (3) : 275-283.

[收稿日期] 2024-08-22