

JMJD2B 通过 ERK-MAPK 途径影响人结直肠癌细胞的恶性表型

陈丽莎,徐永成,余志金,曾书君,罗程,程进伟,陈惠新*

(中山大学附属惠州市中心人民医院消化内科,广东 惠州 516000)

[摘要] 目的:探讨组蛋白去甲基化酶 JMJD2B 影响人结直肠癌细胞恶性表型所介导的信号通路。方法:以 RNA 干扰技术靶向沉默人结直肠癌细胞 HCT116 和 SW480 中 JMJD2B 的表达,采用蛋白质印迹法检测人结直肠癌细胞 ERK-MAPK 信号通路的变化,并分别采用 CCK-8、流式细胞分析检测细胞增殖和细胞周期分布、凋亡情况。结果:转染 JMJD2B siRNA 能特异性抑制 JMJD2B 的表达并导致 ERK2 表达下调,其磷酸化水平也降低,肿瘤细胞发生 G₂/M 或 G₀/G₁ 期阻滞,细胞凋亡比例增加,增殖显著受抑($P < 0.05$)。结论:抑制 JMJD2B 可通过阻断 ERK-MAPK 信号转导而抑制人结直肠癌细胞的恶性表型。

[关键词] 结直肠肿瘤;组蛋白去甲基化酶 JMJD2B;细胞外信号调节 MAP 激酶类;细胞增殖

[中图分类号] R735.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)07-962-06

doi:10.7655/NYDXBNS20150713

Effects of JMJD2B mediated ERK-MAPK signaling pathway in malignant phenotype of human colorectal cancer cells

Chen Lisha, Xu Yongcheng, Yu Zhijin, Zeng Shujun, Luo Cheng, Cheng Jinwei, Chen Huixin*

(Department of Gastroenterology, Sun Yat-sen University Affiliated Huizhou Municipal Central Hospital, Huizhou 516000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the signal pathway through which JMJD2B affected the malignant phenotype of human colorectal cancer cells. **Methods:** Human colorectal cancer cell lines HCT116 and SW1480 were interfered with siRNAs for silencing JMJD2B expression. The expression of ERK-MAPK signal pathway was detected by Western blotting, and cell proliferation was determined by CCK-8 assay, while cell cycle distribution and apoptosis were assessed by flow cytometry. **Results:** JMJD2B siRNA effectively and specifically inhibited the expression of JMJD2B, which decreased ERK2 and its phosphorylation expression, and subsequently led to cell cycle arrest in G₂/M or G₀/G₁ phase, increasing rates of cell apoptosis and significant cell proliferation inhibition ($P < 0.05$). **Conclusion:** Inhibition of histone demethylase JMJD2B restrained the malignant phenotype of human colorectal cancer cells via the inhibition of ERK-MAPK signal pathway transduction.

[Key words] colorectal tumor; histone demethylase JMJD2B; extracellular-signal regulated MAP kinases; cellular proliferation

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(07):962-967]

ERK1/2 是 ERK/MAPK 通路胞外信号调节激酶(又称丝裂原激活蛋白激酶)家族蛋白的成员之一,在调节细胞周期、增殖、转录、分化、衰老、细胞死亡、迁移、黏附等行为中发挥重要作用^[1-2]。目前发现在结肠癌^[3]、乳腺癌^[4]、前列腺癌^[5]、黑色素瘤^[6]等恶性肿瘤中均存在 ERK/MAPK 的异常表达及激活,尤其是 ERK 蛋白的异常活化往往贯穿早期癌前病变至肿瘤发生发展的整个环节^[7-8]。近年来,关于

组蛋白甲基化的研究亦越来越多,揭示了组蛋白去甲基化酶在胚胎发育、干细胞的维持和分化、肿瘤发生发展等中的重要作用。含 Jumonji 结构域的蛋白 2B (Jumonji domain-containing protein 2B, JMJD2B) 属于组蛋白去甲基化酶家族成员之一,它可将组蛋白 H3 上三甲基化修饰的第 9 位赖氨酸(trimethylated lysine 9 of histone H3, H3K9me3) 特异性地去甲基化。本课题组前期研究发现,与正常组织相比,大肠

[基金项目] 广东省自然科学基金面上项目(S201310011923);惠州市科技计划项目(2013Y009)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:13802473695@139.com

癌组织中 JMJD2B 表达明显升高,提示 JMJD2B 与大肠癌的发生发展密切相关^[9],但其影响人结直肠癌细胞恶性表型所介导的信号通路研究甚少。本研究通过观察抑制人结直肠癌细胞 JMJD2B 的表达后 ERK-MAPK 信号通路表达水平的变化,以及靶向沉默 JMJD2B 表达对肿瘤细胞的影响,探讨 JMJD2B 影响人结直肠癌细胞恶性表型所介导的信号通路,明确两者在结直肠癌发生、发展中的相互作用。

1 材料与方法

1.1 材料

人结直肠癌细胞株 HCT116、SW480 由惠州中心人民医院消化实验室保存,人结直肠上皮细胞 HCEpi C(Scien Cell 公司,美国)。ERK-MAPK 阻断剂 U0126(Sigma-Aldrich 公司,美国),ERK2 siRNA (ON-TARGET plus Human ERK2 siRNA-SMART-pool)、JMJD2B siRNA (ON-TARGET plus Human JMJD2B siRNA-SMART pool)、阴性对照 siRNA (siGLO RISC-Free Control siRNA,与任何靶基因无序列同源性)(上海吉玛公司),转染试剂 Lipofectamine 2000(Invitrogen 公司,美国),BCA 蛋白定量试剂盒(Thermo Fisher Scientific 公司,美国),Cell Counting Kit-8(CCK-8 试剂盒,同仁化学研究所,日本),兔抗 JMJD2B 单克隆抗体(Bethyl Laboratories, 美国),鼠抗 p42 MAPK (ERK2)单克隆抗体、兔抗 phospho-p44/42 MAPK (ERK1/2)(Thr202/Tyr204)(197G2)单克隆抗体、兔抗 α -tubulin 抗体(内参照)(Cell Signaling Technology, 美国),HRP 标记的山羊抗兔和山羊抗鼠二抗(上海康成公司),碘化丙啶 PI(propidium iodide,上海碧云天生物技术有限公司),RNA 酶 A 溶液(D202, TaKaRa 公司,日本),Annexin V Apoptosis Detection Kit I (BD Pharmingen 公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

HCT116、SW480 和 HCEpi C 细胞分别培养于含 10%胎牛血清的 McCoy's 5A、RPMI-1640 培养基中,5% CO₂、95%空气培养箱,37℃、95%湿度条件下传代培养。

1.2.2 U0126 干预

对数生长期细胞以无血清培养基培养 24 h 同步化后,分别加入含终浓度 0、20 μ mol/L U0126 的完全培养基培养 24 h。

1.2.3 siRNA 转染

对数生长期细胞以 0.25%胰蛋白酶消化后,按 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板,24 h 后待细胞生长至密度约 50%时,参照转染试剂说明将 ERK2 siRNA、JMJD2B siRNA 或阴性对照 siRNA 转染入细胞内,48 h 后收集细胞进行分析。

1.2.4 蛋白质印迹法

细胞按上述分组行 U0126 干预或 siRNA 转染。离心回收细胞,抽提蛋白,BCA 法蛋白定量。取 50 μ g 蛋白上样,SDS-PAGE 电泳分离,稳压冰浴电转至硝酸纤维素膜,一抗、二抗孵育,ECL 显色,X 线放射自显影 1 min,扫描蛋白条带,行灰度分析。目的蛋白相对表达量=对照组 α -tubulin 灰度值/实验组 α -tubulin 灰度值 \times 实验组目的蛋白灰度值。实验重复 3 次,结果取均值。

1.2.5 CCK-8 实验

对数生长期的 HCT116 和 SW480 细胞以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板,每孔 200 μ L,24 h 后待细胞生长至密度约 50%时转染 siRNA,48、72 h 后分别行 CCK-8 实验。设 JMJD2B siRNA 组、阴性对照 siRNA 组和不加细胞、只含培养基的空白组,每组设 3 个复孔。参照 CCK-8 试剂盒说明进行操作,以酶标仪读取各孔 450 nm 波长处吸光度值(A 值)。细胞相对存活率(%)=(A_{实验组}-A_{空白组})/(A_{对照组}-A_{空白组}) $\times 100\%$ 。实验重复 3 次,结果取均值。

1.2.6 细胞周期分析

对数生长期细胞分别以含血清 McCoy's 5A 和 RPMI-1640 培养 24 h,按上述分组转染 siRNA,每组设 3 个复孔。48 h 后 0.25%胰蛋白酶消化、收集细胞,用预冷的 70%乙醇 4℃固定过夜,PBS 洗涤 2 次,加入 100 U/mL RNA 酶 A 1 mL,37℃水浴 30 min,加入 50 g/mL 含 Triton X-100 的 PI 染液 0.5 mL,4℃避光 30 min,上流式细胞仪检测。实验重复 3 次,结果取均值。

1.2.7 细胞凋亡分析

对数生长期细胞分别以含血清 McCoy's 5A 和 RPMI-1640 培养 24 h,按上述分组转染 siRNA,每组设 3 个复孔。48 h 后 0.25%胰蛋白酶消化、收集细胞,4℃ 1 500 r/min 离心 5 min,弃上清,PBS 洗涤 1 次,再以同样条件离心,弃上清,结合缓冲液调整细胞密度为 1×10^6 个/mL,取 1 mL 细胞重悬液置于 1.5 mL 离心管中(此时细胞绝对数为 1×10^6 个),4℃ 3 000 r/min 离心 5 min,弃上清,加入 100 μ L 结合缓冲液和 2.5 μ L AnnexinV 的混合液,重悬细胞,室温避光 30 min,再加入 200 μ L 结合缓冲液和 5 μ L PI 的混合液,室温避光 5 min,上流式细胞仪检测。

实验重复 3 次,结果取均值。

1.3 统计学方法

应用 SPSS11.0 统计软件,实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间均数的比较采用单因素方差分析,两组之间比较用 *t* 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人结直肠癌细胞中 JMJD2B 和 ERK 磷酸化显著高于正常人结直肠上皮细胞

人结直肠癌细胞 HCT116、SW480 和正常人结直肠上皮细胞 HCEpi C 在相同条件下培养后,提取蛋白,经蛋白质印迹法结果显示,HCT116 和 SW480 中 JMJD2B 和 ERK2、p-ERK2 的表达明显高于 HCEpi C(图 1)。

2.2 ERK2 siRNA、U0126 阻断人结直肠癌细胞 ERK2 的活化,但对 JMJD2B 的表达没有影响

蛋白质印迹法结果显示,经 ERK2 siRNA 和 ERK-MAPK 阻断剂 U0126 处理的 HCT116、SW480 细胞,p-ERK2 表达明显降低,证实 ERK2 siRNA 和 U0126 能阻断人结直肠癌细胞 ERK2 的磷酸化,而 JMJD2B 的表达无明显变化(图 2)。

2.3 JMJD2B siRNA 抑制人结直肠癌细胞 ERK2 的表达及其磷酸化

蛋白质印迹法结果显示,转染 JMJD2B siRNA

的 HCT116 和 SW480 细胞,ERK2 蛋白表达较阴性对照组明显降低,抑制率分别达 13.7%和 11.7%,phospho-p42 MAPK(ERK2)(Tyr204)蛋白表达亦降低(图 3),证实 JMJD2B siRNA 能特异性抑制人结直肠癌细胞 ERK2 的表达及其磷酸化水平。

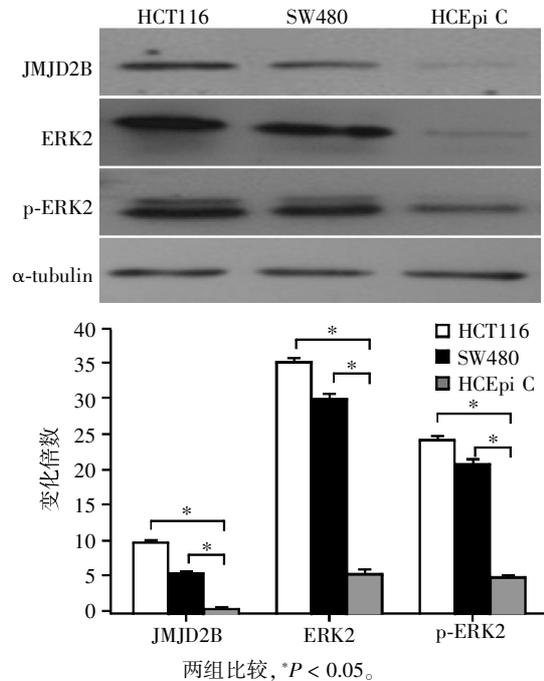


图 1 HCT116、SW480 和 HCEpi C 中 JMJD2B、ERK2 和 p-ERK2 的表达

Figure 1 The expression of JMJD2B, ERK2 and p-ERK2 in HCT116, SW480 and HCEpi C

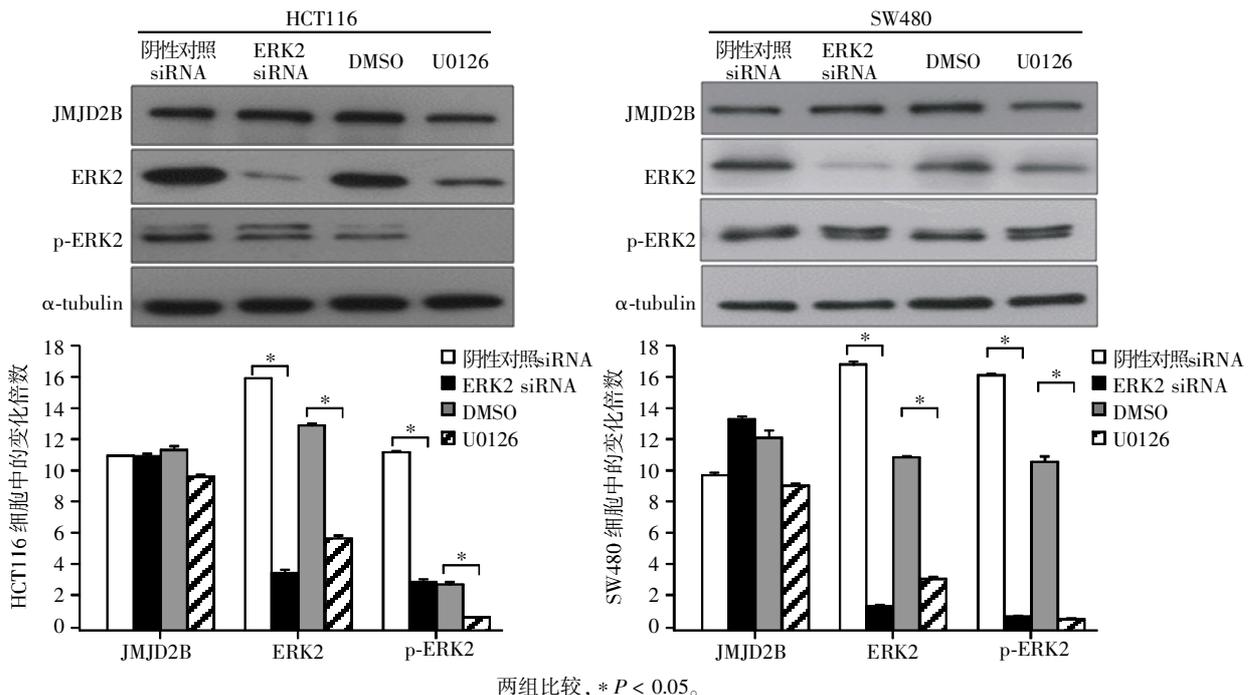


图 2 阻断 ERK2 活化对 JMJD2B 表达的影响

Figure 2 The effect of ERK2 inhibition on JMJD2B expression

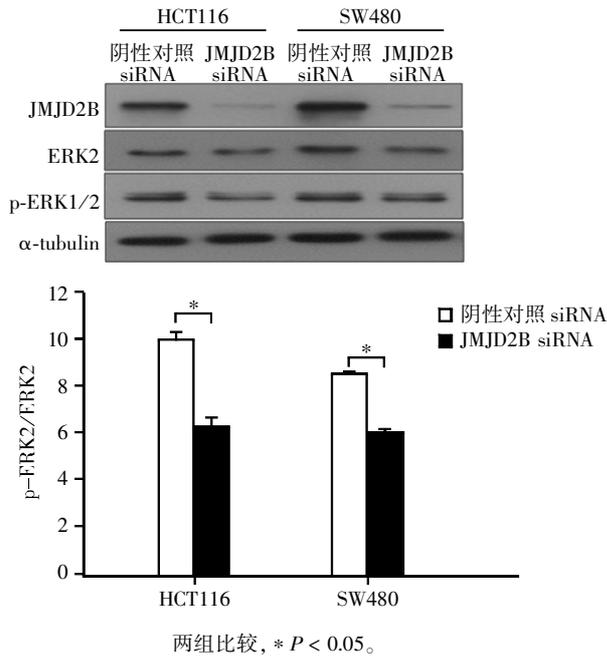


图 3 JMJD2B siRNA 特异性抑制 HCT116 和 SW480 ERK2 的表达及其磷酸化活化

Figure 3 JMJD2B siRNA specifically inhibited the expressions of ERK2 and its phosphorylation in HCT116 and SW480

2.4 抑制 JMJD2B 对人结直肠癌细胞增殖的影响

CCK-8 实验结果显示, 转染 JMJD2B siRNA 的 HCT116 和 SW480 细胞相对增殖率显著低于阴性对照组(图 4), 二者之间的差异有统计学意义($P < 0.05$), 表明抑制 JMJD2B 表达能抑制人结直肠癌细胞增殖。

2.5 抑制 JMJD2B 对人结直肠癌细胞细胞周期分布的影响

流式细胞分析结果显示, 转染 JMJD2B siRNA 的 HCT116 细胞, G_2/M 期细胞比例较阴性对照组显著增多, G_0/G_1 期细胞比例较阴性对照组显著减少, 而转染 JMJD2B siRNA 的 SW480 细胞, G_0/G_1 期细胞比例较阴性对照组显著增多(图 5), 推测抑制 JMJD2B 表达可通过诱导细胞发生 G_2/M 或 G_0/G_1 期阻滞而抑制细胞增殖。

2.6 抑制 JMJD2B 对人结直肠癌细胞凋亡的影响

流式细胞分析结果显示, 转染 JMJD2B siRNA 的 HCT116 和 SW480 细胞, 凋亡细胞比例较阴性对照组显著增多(图 6), 推测抑制 JMJD2B 表达可通过诱导细胞发生凋亡而抑制细胞增殖。

3 讨论

结直肠癌的发生、发展是一个多因素参与、多

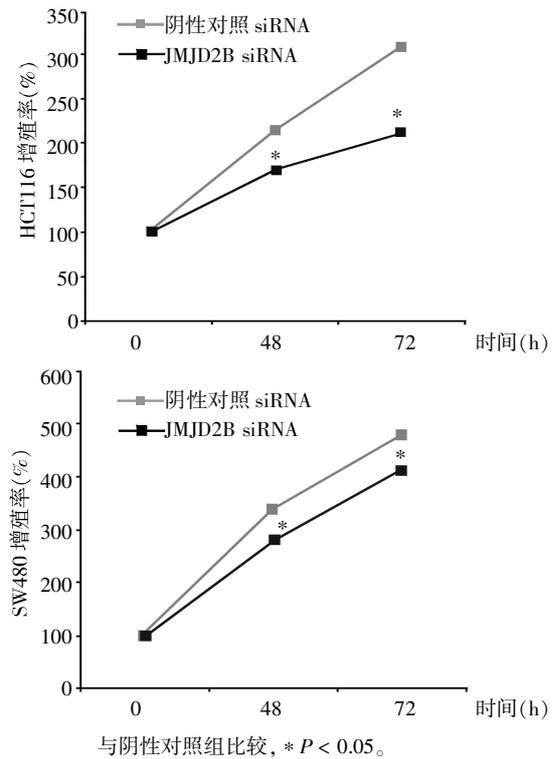


图 4 JMJD2B siRNA 转染抑制 HCT116 和 SW480 细胞增殖

Figure 4 JMJD2B siRNA transfection significantly inhibited cell proliferation in HCT116 and SW480

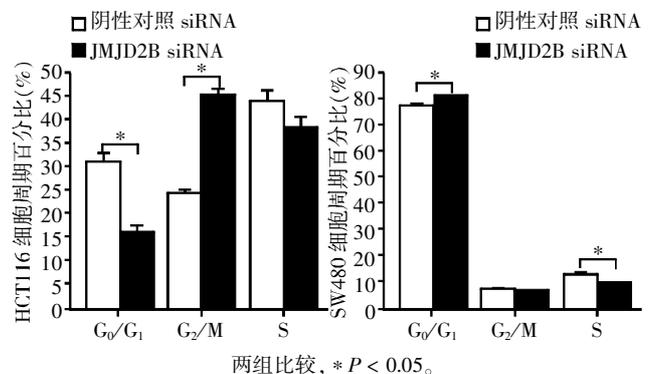


图 5 JMJD2B siRNA 转染诱导 HCT116 细胞 G_2/M 期阻滞, 而 SW480 细胞发生 G_0/G_1 期阻滞

Figure 5 JMJD2B siRNA transfection led to cell cycle arrest in G_2/M phase in HCT116 and G_0/G_1 phase in SW480

步骤演进的复杂病理过程, 涉及信号通路转导异常和基因表达调控异常。研究证实 ERK-MAPK 信号通路可介导和(或)调控与细胞增殖、分化、凋亡相关的基因表达, 与消化系统肿瘤如结直肠癌的发生、发展密切相关^[2-3]。近期研究亦发现组蛋白去甲基化酶 JMJD2B 在促进结直肠癌恶性表型中发挥重要作用, 但其在结直肠癌发生、发展中作用的分子机制则尚未完全阐明。

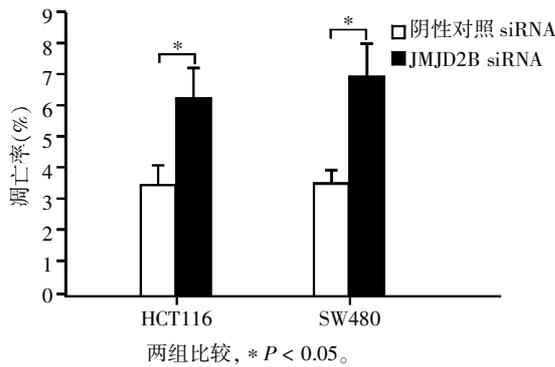


图 6 JMJD2B siRNA 转染诱导 HCT116 和 SW480 细胞发生凋亡

Figure 6 JMJD2B siRNA transfection induced cell apoptosis in HCT116 and SW480

本课题组的前期实验结果^[9]显示,阻断人结直肠癌细胞株 HCT116、SW480 的 JMJD2B 抑制了结直肠癌细胞的生长。有研究显示组蛋白 H3K27me3 甲基化酶 EZH2 基因在肿瘤细胞中的过表达受 MEK、ERK 信号通路调控^[10],MEK-ERK 途径可通过激活组蛋白甲基转移酶 EZH2 的表达介导乳腺癌和胰腺癌的恶性表型^[11-12],在结肠癌细胞的研究中也证实了这一观点^[13],而另一项研究则发现激活 ERK 下调了组蛋白甲基转移酶 EZH2 的表达从而抑制了乳腺癌细胞的增殖^[14],ERK 对 EZH2 的不同作用可能与细胞系相关,但均提示了 ERK 信号通路参与调节组蛋白甲基化修饰。本研究则发现在人结直肠癌细胞中,ERK2 siRNA 和 ERK 抑制剂 U0126 阻断 ERK-MAPK 信号转导后,组蛋白去甲基化酶 JMJD2B 的表达无明显改变,而靶向抑制 JMJD2B 的表达则显著下调了 ERK2 的表达及其磷酸化水平,提示 ERK-MAPK 信号通路在人结直肠癌细胞发生发展中的作用是受组蛋白去甲基化酶 JMJD2B 调控的。

肿瘤发生、发展过程中的表观遗传学变化涉及 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重构、非编码 RNA 改变等^[15],其中组蛋白甲基化的动态变化在胚胎发育、干细胞的维持和分化、肿瘤发生发展等中起重要作用。多项研究证实了 MAPK/PI3K 信号通路在表观遗传修饰中的作用^[16],p44/42 MAPK 抑制剂 PD98059 即可诱导 GLUT5 基因转录区域第 9 位赖氨酸的二甲基化^[17]从而抑制下游基因的转录活化,Sarkar 等^[18]的研究则发现 HDAC 抑制剂可通过抑制 ERK 信号通路从而调节 DNA 甲基转移酶 1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1) 及其 DNA 甲基化活性。近期研究发现在转移性结肠癌细胞中^[13],抑制 ERK 和 AKT 途径可下调 EZH2 的表达,Peláez

等^[19]的研究则提示 RAS 激活的信号通路 MEK-ERK-MSK1 参与调节结直肠癌细胞上皮-间质转化过程中组蛋白甲基化修饰的过程,进一步证实了 ERK 与组蛋白甲基化修饰在人结直肠癌细胞发生发展中的相互关系。组蛋白赖氨酸甲基转移酶 SMYD3 在多种肿瘤细胞中过表达,近期在鼠胰腺导管腺癌和肺腺癌细胞中的研究发现,SMYD3 通过调节 MAP3K2 第 260 位赖氨酸的甲基化激活了 MEK-ERK 信号通路,进而促进肿瘤的发生发展^[20],Colón-Bolea 等^[21]亦发现 SMYD3 通过调节 MAP3K2 的甲基化水平促进了 K-Ras 诱导的 ERK1/2 激活。另一项在肝细胞癌中的研究则证实,敲除组蛋白甲基转移酶 ASH1L、C17ORF49 和 SETD4 激活了 ERK 信号通路^[22]。本研究结果则发现,以 JMJD2B siRNA 靶向沉默 HCT116、SW480 细胞的 JMJD2B 表达后,ERK2 磷酸化水平明显降低,表明在人结直肠癌细胞中诱导 ERK2 磷酸化活化是由 JMJD2B 部分介导,进而诱导 ERK2 下游肿瘤相关基因的转录活化和蛋白表达上调,然而 JMJD2B 调节 ERK2 的机制及其对 ERK2 组蛋白甲基化的影响仍有待进一步研究。

大量研究显示, JMJD2B 参与调节细胞凋亡、细胞周期、增殖相关基因如 caspase-8、Cdc25C 的表达^[9,23],诱导细胞发生肿瘤性转化,并对多种肿瘤细胞具有促增殖、抑制凋亡作用,该作用可能与其介导 ERK2 磷酸化,进而调节相关基因的转录活化有关。本研究结果显示,以 RNA 干扰技术靶向沉默人结直肠癌细胞的 JMJD2B 表达后,肿瘤细胞增殖显著受抑,细胞周期和凋亡分析显示细胞增殖受抑是由细胞周期 G₂/M 或 G₀/G₁ 期阻滞、细胞凋亡比例增加所致,与上述研究结果相符。

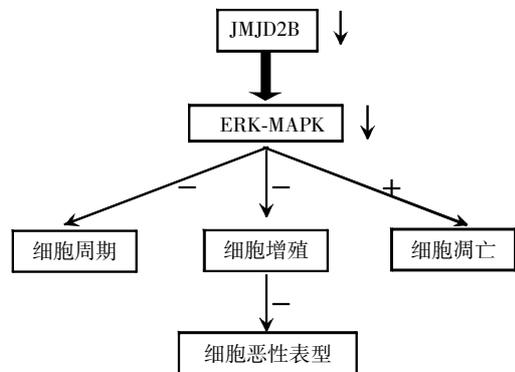


图 7 JMJD2B 通过 ERK-MAPK 途径影响人结直肠癌细胞的恶性表型

Figure 7 Effect of JMJD2B mediated ERK-MAPK signal pathway on malignant phenotype of human colorectal cancer cells

综上所述, 本研究发现抑制 JMJD2B 可能通过阻断 ERK2 磷酸化而下调肿瘤相关基因表达, 从而抑制人结直肠癌细胞的恶性表型(图 7)。进一步分析组蛋白去甲基化酶 JMJD2B、ERK-MAPK 信号通路和肿瘤相关基因表达三者间的相互作用, 将有助于深入了解信号转导和组蛋白修饰在结直肠癌发生、发展中的相互作用, 对探索通过纠正组蛋白甲基化紊乱防治结直肠癌具有一定意义。

[参考文献]

- [1] Yoon SG, Seger R. The extracellular signal-regulated kinase: Multiple substrates regulate diverse cellular functions [J]. *Growth Factors*, 2006, 24(1): 21-44
- [2] Wortzel I, Seger R. The ERK cascade: Distinct functions within various subcellular organelles [J]. *Genes Cancer*, 2011, 2(3): 195-209
- [3] Fang JY, Richardson BC. The MAPK signalling pathways and colorectal cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2005, 6(5): 322-327
- [4] Jadeski L, Mataraza JM, Jeong HW, et al. IQGAP1 stimulates proliferation and enhances tumorigenesis of human breast epithelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(2): 1008-1017
- [5] Fu Z, Smith PC, Zhang L, et al. Effects of raf kinase inhibitor protein expression on suppression of prostate cancer metastasis [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2003, 95(12): 878-889
- [6] Schuierer MM, Bataille F, Hagan S, et al. Reduction in Raf kinase inhibitor protein expression is associated with increased Ras-extracellular signal-regulated kinase signaling in melanoma cell lines [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(15): 5186-5192
- [7] Malumbres M, Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(6): 459-465
- [8] Dhillon AS, Hagan S, Rath O, et al. MAP kinase signalling pathways in cancer [J]. *Oncogene*, 2007, 26(22): 3279-3290
- [9] Fu L, Chen L, Yang J, et al. HIF-1 α -induced histone demethylase JMJD2B contributes to the malignant phenotype of colorectal cancer cells via an epigenetic mechanism [J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(9): 1664-1673
- [10] 李晶, 张云生, 李宁, 等. MEK-ERK 信号通路调控 H3K27me3 甲基化酶和去甲基化酶基因表达的研究 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2013, 29(2): 183-188
- [11] Fujii S, Tokita K, Wada N, et al. MEK-ERK pathway regulates EZH2 overexpression in association with aggressive breast cancer subtypes [J]. *Oncogene*, 2011, 30(39): 4118-4128
- [12] Fujii S, Fukamachi K, Tsuda H, et al. RAS oncogenic signal upregulates EZH2 in pancreatic cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 417(3): 1074-1079
- [13] Ferraro A, Mourtoukou D, Kosmidou V, et al. EZH2 is regulated by ERK/AKT and targets integrin alpha2 gene to control Epithelial-Mesenchymal Transition and anoikis in colon cancer cells [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(2): 243-254
- [14] Hua WF, Fu YS, Liao YJ, et al. Curcumin induces down-regulation of EZH2 expression through the MAPK pathway in MDA-MB-435 human breast cancer cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 637(1-3): 16-21
- [15] Brookes E, Shi Y. Diverse epigenetic mechanisms of human disease [J]. *Annu Rev Genet*, 2014, 48(1): 237-268
- [16] Suzuki K, Oneyama C, Kimura H, et al. Down-regulation of the tumor suppressor C-terminal Src kinase (Csk)-binding protein (Cbp)/PAG1 is mediated by epigenetic histone modifications via the mitogen-activated protein kinase (MAPK)/phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pathway [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(18): 15698-15706
- [17] Mochizuki K, Takabe S, Goda T. Changes on histone H3 modifications on the GLUT5 gene and its expression in Caco-2 cells co-treated with a p44/42 MAPK inhibitor and glucocorticoid hormone [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 371(2): 324-327
- [18] Sarkar S, Abujamra AL, Loew JE, et al. Histone deacetylase inhibitors reverse CpG methylation by regulating DNMT1 through ERK signaling [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(9): 2723-2732
- [19] Peláez IM, Kalogeropoulou M, Ferraro A, et al. Oncogenic RAS alters the global and gene-specific histone modification pattern during epithelial-mesenchymal transition in colorectal carcinoma cells [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(6): 911-920
- [20] Mazur PK, Reynoird N, Khatri P, et al. SMYD3 links lysine methylation of MAP3K2 to Ras-driven cancer [J]. *Nature*, 2014, 510(7504): 283-287
- [21] Colón-Bolea P, Crespo P. Lysine methylation in cancer: SMYD3-MAP3K2 teaches us new lessons in the Ras-ERK pathway [J]. *Bioessays*, 2014, 36(12): 1162-1169
- [22] Li GM, Wang YG, Pan Q, et al. RNAi screening with shRNAs against histone methylation-related genes reveals determinants of sorafenib sensitivity in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(3): 1085-1092
- [23] Yang J, Jubb AM, Pike L, et al. The histone demethylase JMJD2B is regulated by estrogen receptor α and hypoxia, and is a key mediator of estrogen induced growth [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(16): 6456-6466