论著

文章编号:1000-5404(2014)09-0868-05

组蛋白H3、H4乙酰化及H3K4甲基化对人妊娠子宫平滑肌细胞PRA/PRB的影响

罗 慧,陈 诚,梁志清 (400038 重庆,第三军医大学西南医院妇产科)

[摘要] **目的** 通过组蛋白去乙酰化酶抑制剂(trichostatin A,TSA)、H3K4甲基化酶抑制剂(5'-deoxy-5'-methylthioadenosine, MTA)处理人妊娠子宫平滑肌细胞,干预组蛋白H3、H4乙酰化及H3K4甲基化水平,探讨组蛋白H3、H4乙酰化及H3K4甲基化对人妊娠子宫平滑肌细胞PRA/PRB的影响。**方法** 分离纯化人妊娠子宫平滑肌细胞($n=16$),免疫组化定位孕激素受体(progesterone receptor, PR)及孕激素受体B(progesterone receptor B, PRB)在子宫平滑肌细胞核的表达。分别利用不同浓度TSA、MTA对其进行处理,Real-time PCR检测PR、PRA、PRB mRNA的表达;染色质免疫共沉淀技术(Chromatin immunoprecipitation, ChIP)比较处理前后PRA、PRB启动子区H3、H4乙酰化及H3K4三甲基化水平。**结果** TSA可使PRA/PRB明显增高($P<0.05$),使PRA启动子区H3、H4乙酰化水平明显上升($P<0.05$)。MTA可使PRA/PRB明显下降($P<0.05$),PRA启动子区H3K4乙酰化水平明显下降($P<0.05$)。两种药物的干预主要通过对PRA的调控来调节PRA/PRB比值。**结论** 组蛋白H3、H4乙酰化和H3K4甲基化均可使人妊娠子宫平滑肌细胞PRA/PRB比值发生改变,可能参与"功能性孕激素撤退"机制的调节。

[关键词] 组蛋白乙酰化;H3K4甲基化;妊娠;子宫平滑肌细胞

[中图法分类号] R322.65; R714.14; R977.3 [文献标志码] A

Effects of histone acetylation and H3K4 methylation on PRA/PRB in human uterine smooth muscle cells during pregnancy

Luo Hui, Chen Cheng, Liang Zhiqing (Department of Gynecology and Obstetrics, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effects of histone acetylation and H3 lysine 4 (H3K4) methylation on the ratio of A and B isoforms of the human progesterone receptor (PRA/PRB) in human uterine smooth muscle cells during the course of pregnancy. **Methods** Human uterine smooth muscle cells of pregnancy were isolated from 16 full-term pregnant women receiving caesarean section, and then purified by collagenase digestion. The expression of PR and PRB was detected by immunohistochemistry in the cells and in the cells treated with different concentrations of histone deacetylase inhibitor, trichostatin A (TSA) or H3K4 methyltransferase inhibitor, 5′-methylthioadenosine (MTA). The mRNA levels of PR, PRA and PRB were detected by real-time PCR. Chromatin immunoprecipitation (ChIP) was used to analyze acetylation of histones H3 and H4, and trimethylation of H3K4 in the promoter regions of PRA and PRB. **Results** TSA treatment resulted in obviously increase in the ratio of PRA/PRB ($P<0.05$) and in the acetylation of histones H3 and H4 in the promoter region of PRA ($P<0.05$). While, MTA treatment led the ratio of PRA/PRB significantly decreased ($P<0.05$) and reduced the trimethylation of H3K4 in the promoter region of PRA ($P<0.05$). Both TSA and MTA regulated the expression of PRA to exert effect on the ratio of PRA/PRB. **Conclusion** Both the acetylation of histones H3 and H4 and the methylation of H3K4 regulate the ratio of PRA/PRB, and might be involved in the mechanism of "functional progesterone withdrawal" in the human uterine smooth muscle cells of pregnancy.

[**Key words**] histone acetylation; histone acetylation and H3 lysine 4 methylation; pregnancy; uterine smooth muscle cells

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (30901611). Corresponding author: Liang zhiqing, E-mail: zhiq.lzliang@gmail.com

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金(30901611)

[通信作者] 梁志清,E-mail: zhiq.lzliang@gmail.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140314.1519.004.html(2014-03-14)

人类妊娠分娩是一个极其复杂的生理过程,因其启动并不依赖于血清孕激素水平的改变而有别于其他动物分娩启动的“孕激素撤退”机制,所以人们提出了“功能性孕激素撤退”来解释人类分娩的启动机制[1]。人类妊娠晚期是通过调整孕激素受体(progesterone receptor, PR)两个亚型 PRA、PRB 的相对比值来改变子宫平滑肌细胞对孕激素的敏感性而最终启动分娩[2]。在此过程中,人体内的孕激素水平并不会出现明显下降,但 PRB 与孕激素结合后可通过上调孕激素激活基因表达发挥舒张子宫平滑肌作用,PRA 则可抑制 PRB 该作用。因此,当“功能性孕激素撤退”发挥作用,PRA/PRB 比值升高,继而子宫的舒张稳态消失、收缩作用增强,导致分娩启动、产程开始[3-4]。

基因表达调控是分子生物学的核心,在不影响基因序列的情况下改变基因组的修饰就可以影响基因的表达。组蛋白修饰包括乙酰化、磷酸化、甲基化、泛素化等多种形式,其中组蛋白乙酰化及 H3K4 甲基化均是与转录激活相关联的组蛋白表观修饰[5]。

为了解组蛋白乙酰化修饰及 H3K4 甲基化修饰是否会对 PR 在妊娠子宫平滑肌细胞表达产生影响,本研究拟分别利用组蛋白去乙酰化酶抑制剂(trichostatin, TSA)抑制组蛋白去乙酰化酶(histone aeacetyltranferase, HDAC)促进组蛋白乙酰化及 H3K4 甲基化酶抑制剂(5’-deoxy-5’-methylthioadenosine, MTA)抑制组蛋白甲基转移酶(Set1)进而抑制 H3K4 甲基化,观察妊娠子宫平滑肌 PRA、PRB 表达及 PRA/PRB 的变化趋势,并通过 ChIP 分析 H3、H4 乙酰化和 H3K4 三甲基化水平,进而探讨其对妊娠子宫平滑肌细胞 PRA/PRB 的影响,为“功能性孕激素受体撤退”学说提供实验数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织取材 选择年龄 23 ~ 35 岁、无术前感染史、心肺肝脏等重要脏器功能正常、2012 年 4 月至 2013 年 1 月入住本科产程未启动而行择期剖宫产的足月龄产妇(n = 16)(本研究通过第三军医大学西南医院伦理委员会批准,取材前均已征得患者、家属同意,并签署《知情同意书》),取子宫下段切口上缘平滑肌组织约 0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm。置入消毒预冷的 0.01 mol/L PBS 液冰浴,取材后 3 h 内行胶原酶消化法培养妊娠子宫平滑肌细胞。

1.1.2 药物及主要试剂 DMEM(Sigma 公司)、胎牛血清(Gibco 公司);Ⅱ型胶原酶(Sigma 公司);胰蛋白酶(HyClone 公司);兔抗人 Calpin、alpha smooth muscle actin(α-SMA)、鼠抗人 myosin smooth muscle heavy chain 1 and 2(SM-MHC)(Abcam 公司);小鼠抗人 PR、PRB 抗体(Abcam 公司);兔抗人组蛋白乙酰化 H3、H4 抗体(Millipo 公司);兔抗人组蛋白 H3K4 三甲基化抗体(Millipo 公司);山羊抗小鼠 IgG(中杉金桥公司);荧光二抗(Invitrogen 公司);TSA(Milliop 公司);MTA(Sigma 公司);TRIzol(Invitrogen 公司); PrimeScript@ RT reagent Kit Perfect Real Time(TaKaRa 公司);SYBR@ Premix Ex *Taq*™ Ⅱ(TaKaRa 公司);PR、PRB 及内参引物(Invitrogen 公司);Total RNA 提取试剂(TaKaRa 公司)。

1.2 方法

1.2.1 妊娠子宫平滑肌细胞纯化、培养 取材组织块用消毒预冷的 0.01 mol/L PBS 冲洗 3 次,眼科剪剪碎至 1.0 mm × 1.0 mm × 1.0 mm 大小,胶原酶消化法分离后 10% FBS 的 DMEM 完全培养基重悬细胞。接种于 T-25 培养瓶,置于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中培养 24 h 后换液去除血细胞、未贴壁细胞及胶原组织,每 72 小时换液 1 次。细胞生长达 80% 融合时,利用胰酶消化、传代。

1.2.2 免疫荧光鉴定妊娠子宫平滑肌细胞 取第 3 代妊娠子宫平滑肌细胞制作细胞爬片,4% 多聚甲醛固定,0.3% Triton X-100 4 ℃透化,5% BSA 室温封闭 30 min,1% BSA 稀释兔抗人 Calpin(1∶500)、α-SMA(1∶300)、小鼠抗人 SM-HMC(1∶300),4 ℃孵育过夜,分别加入 Cy3 标记山羊抗兔 IgG(1∶100)和 FITC 标记山羊抗小鼠 IgG 抗体(1∶100)37 ℃避光孵育 1 h,DAPI 复染,抗荧光淬灭剂封片后观察。

1.2.3 免疫组化定位 PR、PRB 在子宫平滑肌细胞核的表达 对子宫平滑肌样本进行免疫组化 S-P 法染色,EDTA 高压修复,一抗鼠抗人 PR、PRB(1∶500)4 ℃孵育过夜;PBS 洗 3 min × 3 遍;苏木精复染胞核 1 min,自来水小心冲洗至玻片呈蓝色;梯度酒精脱水(70%、90%、100%)二甲苯透明,中性树胶封片观察。

1.2.4 细胞分组及药物干扰 第 3 代妊娠子宫平滑肌细胞生长融合至 80% ~ 90% 后,将细胞分为 3 组:TSA 药物干预组,分别加入含 62.5、125、250、500、1 000 nmol/L TSA 的 10% FBS DMEM 培养液;MTA 药物干预组,分别加入含 62.5、125、250、500、1 000 μmol/L MTA 的 10% FBS DMEM 培养液;空白对照组,仅给予 10% FBS DMEM 培养液。孵育 24 h 后收集细胞行 PR 及 PRB mRNA 测定。

1.2.5 RT-PCR 检测 用 Trizol 试剂盒提取各实验组细胞总 RNA,1.0% 琼脂糖凝胶电泳证实 RNA 无降解,核酸蛋白检测仪测定纯度并定量。根据 RT-qPCR 试剂盒进行逆转录、扩增。扩增反应体系 25 μL(Ex-*Taq* 酶 12.5 μL,cDNA 2.0 μL,上下游引物各 1.0 μL,灭菌 DEPC 水 8.5 μL)。PR 上游引物:5′-GTGGGAGCTGTAAGGTCTTCTTTAA-3′,下游引物:5′-AACGATGCAGTCATTTCTTCCA-3′。PRB 上游引物:5′-TCGGACACCTTGCCTGAAGT-3′,下游引物:5′-CAGGGCCGAGGGAAGAGTAG-3′。β-actin 上游引物:5′-CCTTCCTGGGCATGGAGTCCTG-3′,下游引物:5′-GGAAGCAATGATCTTGATCTTC-3′。扩增条件为:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃变性 30 s,62 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 30 s,45 个循环。用参照基因的 ΔCt 法计算基因的相对表达量。PRA、PRB 由同一基因编码,PRB 转录起始位点位于 PRA 上游,PRB 下游与 PRA 有一段共有序列[6],本实验采用的 PR 引物是针对 PRA 与 PRB 共同序列部分,检测的是 PRA 与 PRB 表达的总和;PRB 引物针对的是 PRA 转录位点以前的 PRB 序列以检测 PRB 表达量,最后 PRA 的表达量由 PR 减去 PRB 得到。

1.2.6 染色质免疫共沉淀 ChIP 检测 PRA、PRB 启动子区 H3、H4 乙酰化 H3K4 甲基化。第 3 代细胞融合至 80% ~ 90%,分别用 TSA 62.5 nmol/L、MTA 62.5 μmol/L 干预 24 h,1% 甲醛固定 7 min,取出细胞后细胞裂解液冰上裂解 10 min,超声打断 DNA 片段至 200 ~ 500 bp,15.0 μL 的蛋白 A/鲑鱼精 DNA 琼脂 4 ℃旋转台孵育 15 min,取上清加入组蛋白乙酰化 H3、H4 抗体、组蛋白 H3K4 三甲基化抗体 4 μL,其中包括 1 个 IgG 阴性对照。4 ℃旋转孵育过夜。60 μL 蛋白 A/鲑鱼精 DNA 琼脂收

集蛋白质-DNA复合物,65 ℃解交联,分离纯化DNA,PCR扩增,扩增条件95 ℃预变性5 min;95 ℃变性30 s,65 ℃退火15 s,72 ℃延伸30 s,45个循环。启动子引物:PRB上游引物:5′-ACGGGTGGAAATGCCAACT-3′;下游引物:5′-GCCCCTCCCTACCCCAAT-3′。PRA上游引物:5′-CGGTCCAGCCACATTCAAC-3′;下游引物:5′-ATAGGGGCAGAGGGAGGAGA-3′。

1.3 统计学分析

使用SPSS 18.0统计学软件,数据以$\bar{x} \pm s$表示,2组间的比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 人妊娠子宫平滑肌细胞生长形态观察

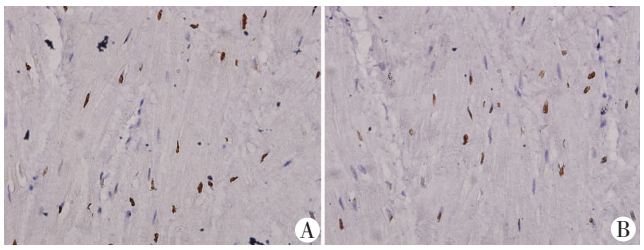
分离所得的子宫平滑肌细胞呈透亮圆形或椭圆形,12 h开始贴壁,24 h贴壁基本完成,细胞呈长梭形,无规则排列。72 h细胞数量增多。7 d时细胞排列紧密"谷峰样"生长,见图1。

2.2 人妊娠子宫平滑肌细胞鉴定

通过免疫荧光双标检测对培养人妊娠子宫平滑肌细胞进行鉴定,利用其标志性蛋白Calponin、α-SMA(兔抗人)及SM-MHC(小鼠抗人)三种抗体可清晰观察到平滑肌细胞骨架结构及共表达情况,见图2。

2.3 PR及PRB在子宫平滑肌细胞核的表达

通过免疫组化染色观察可见PR及PRB在子宫平滑肌细胞核上表达,见图3。

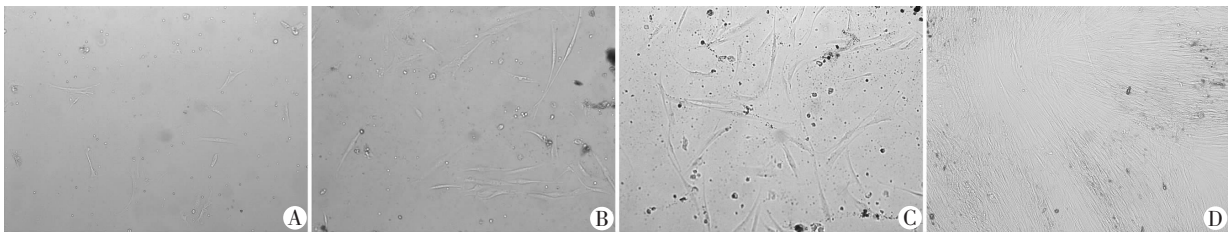


A:PR;B:PRB

图3 免疫组化检测人妊娠子宫平滑肌细胞PR、PRB表达 (S-P ×100)

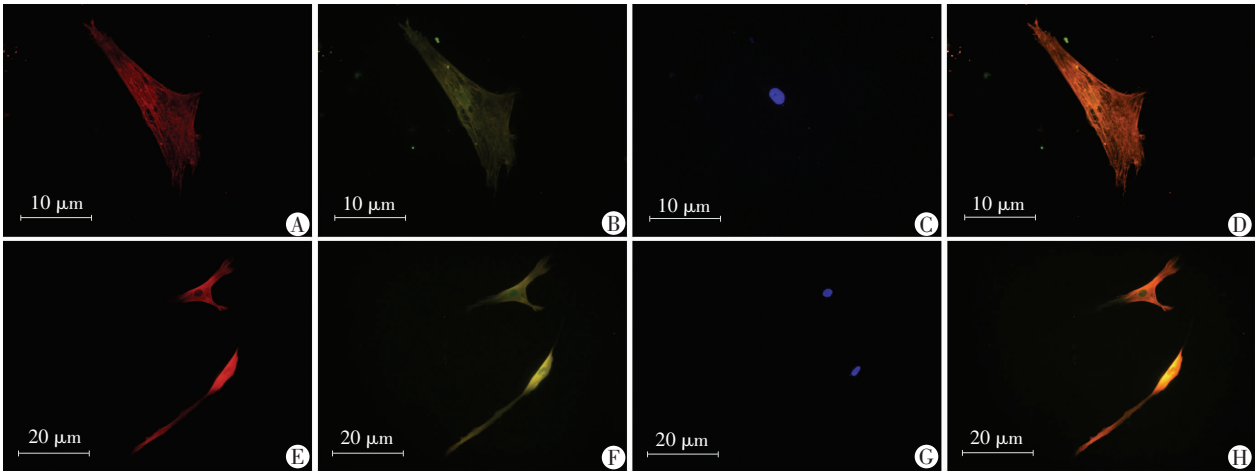
2.4 TSA对PR、PRA、PRB mRNA表达及对PRA/PRB的影响

PR、PRA的mRNA表达量在TSA浓度为125 nmol/L时显著上升($P<0.01$),PRB表达无明显变化,PRA/PRB在TSA 250、1 000 nmol/L药物浓度时值明显上升($P<0.05$,图4)。



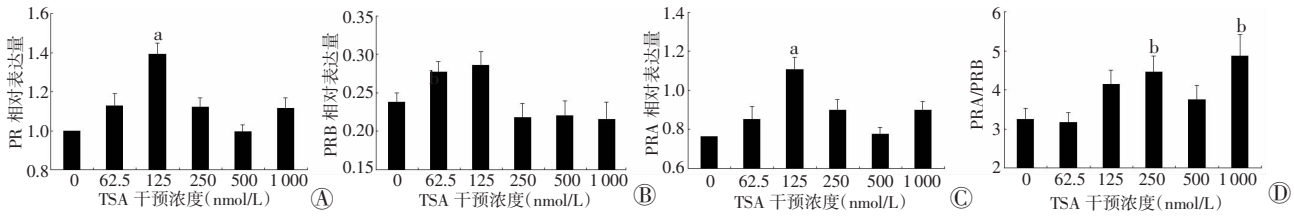
A~D:分别为贴壁12、24、72 h和7 d

图1 人妊娠子宫平滑肌细胞形态观察 (倒置显微镜×100)



A:Calponin;B、F:SM-MHC;E:α-SMA;C、G:DAPI复染;D、H:叠加图

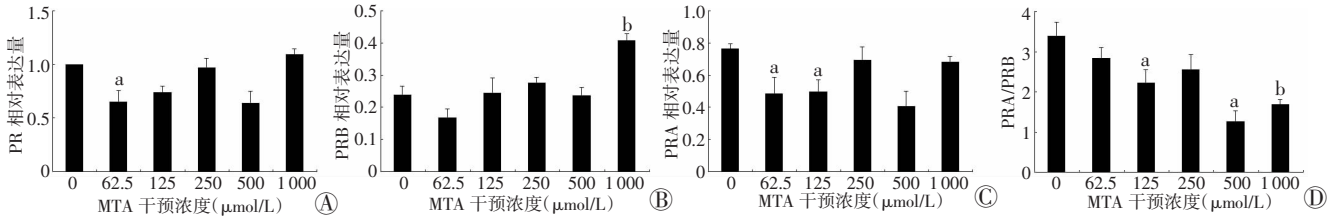
图2 免疫荧光双标检测子宫平滑肌标志蛋白表达



a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与对照组(0 nmol/L)比较

A:PR;B:PRB;C:PRA;D:PRA/PRB

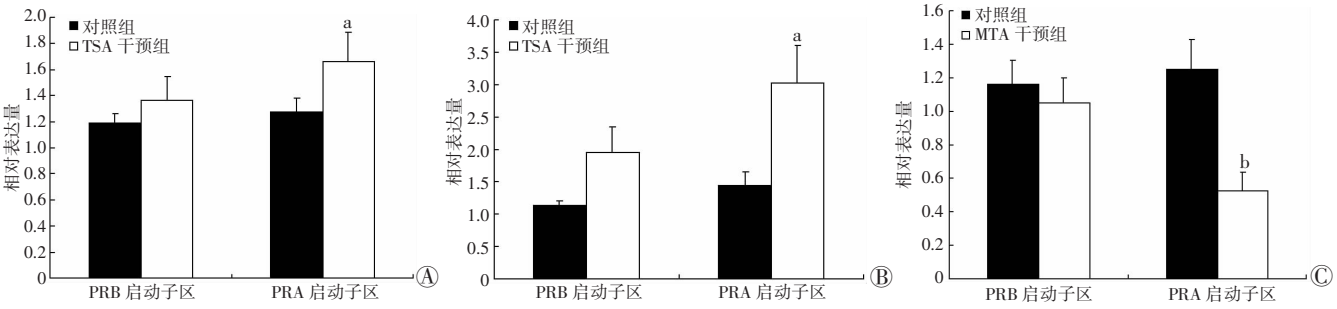
图4 TSA干预24 h后子宫平滑肌细胞PR、PRA、PRB mRNA相对表达量及PRA/PRB变化 ($n=8$)



a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与对照组(0 μmol/L)比较

A:PR;B:PRB;C:PRA;D:PRA/PRB

图 5 MTA 干预 24 h 后子宫平滑肌细胞 PR、PRA、PRB mRNA 相对表达量及 PRA/PRB 变化 ($n=8$)



a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与对照组比较

A:TSA 干预前后 PRB、PRA 启动子 H3 乙酰化水平;B:TSA 干预前后 PRB、PRA 启动子 H4 乙酰化水平;C:MTA 干预前后 PRB、PRA 启动子 H3K4 三甲基化水平

图 6 ChIP 分析 H3、H4 乙酰化及 H3K4 三甲基化水平

2.5 MAT 对 PR、PRA、PRB mRNA 表达及对 PRA/PRB 的影响

PR 在 MTA 62.5 μmol/L,PRA 在 MTA 62.5、125 μmol/L 时表达明显下降($P<0.05$),PRB 在 MTA 1 000 μmol/L 有显著升高($P<0.01$),PRA/PRB 在 MTA 62.5 μmol/L 时下降,在 MTA 500、1 000 μmol/L 时显著下降($P<0.01$,$P<0.05$,图 5)。

2.6 ChIP 检测 PRA、PRB 启动子区 H3、H4 乙酰化及 H3K4 三甲基化水平

根据前期的检测结果,我们选定 TSA 62.5 nmol/L、MTA 62.5 μmol/L 作为细胞干预浓度。TSA 干预 24 h 后,PRA 启动子区 H3、H4 乙酰化水平均有上升($P<0.05$);MTA 干预 24 h 后,PRA 启动子区 H3K4 三甲基化水平下降($P<0.05$),但二者对 PRB 启动子区上述表观修饰均无明显影响(图 6)。

3 讨论

近年来的研究已逐步证实:PRA/PRB 的改变是人类分娩"功能性孕激素撤退"构成机制之一。人类孕晚期分娩发动时,体内的孕激素水平会一直与雌激素共同维持在孕期的高水平状态,完全不同于其他动物分娩是由体内孕激素水平撤退而启动的。孕激素可确保孕期子宫处于松弛状态,孕晚期的高孕激素水平显然不利于分娩的发动。为解释上述现象,人们提出了"功能性孕激素撤退"机制,认为孕晚期子宫平滑肌细胞孕激素受体亚型 PRA/PRB 发生变化进而使平滑肌细胞对孕激素的敏感性改变最终启动了人类分娩过程。研究发现子宫平滑肌细胞在分娩启动后 PR 表达量及 PRA/PRB 发生特征性的改变,即 PRA 出现表达升高,而 PRB 不出现明显变化,PRA/PRB 增高。由于 PRB 介导平滑肌细胞对孕激素的敏感性,而 PRA 对 PRB 的该作用有拮抗性,最终 PR 及 PRA/PRB 增高成为产程启动的关键[7]。

近期对子宫内膜癌、前列腺癌等多种肿瘤细胞的研究发现:表观遗传对 PR 基因的表达起到了至关重要的作用[8-10]。我们据此认为 PR 及其亚型的表达在妊娠子宫平滑肌细胞也受表观遗传调控。

组蛋白的甲基化、乙酰化是常见的基因修饰,参与基因表达调控过程[11]。因此,本研究通过药物对体外培养妊娠子宫平滑肌细胞的组蛋白甲基化和乙酰化进行干预,进而观察表观遗传组蛋白修饰是否参与调控 PRA、PRB 在妊娠子宫平滑肌的表达而引起 PRA/PRB 发生改变。

组蛋白乙酰化可使核小体的结构发生改变,使染色质构象处于开放状态,促进转录相关的因子结合到染色体 DNA 上,利于 DNA 的基因转录和表达[12]。组蛋白乙酰化是可逆的动态过程,由组蛋白乙酰化酶(histone aeacetyltranferase, HAT)和 HDAC 调控,TSA 是组蛋白去乙酰化酶抑制剂,能有效抑制 HDAC 活性,促进组蛋白的乙酰化修饰,调控蛋白表达[13]。研究结果发现 TSA 干预对 PRB 表达量无明显影响,而 PRA 表达显著增高,进而引起 PR 及 PRA/PRB 增高。

我们根据TSA干预结果选择对PRA mRNA表达量改变最显著的浓度干预细胞后行ChIP检测示:PRA启动子区H3、H4乙酰化水平升高,对PRB启动子区的H3、H4乙酰化修饰并无显著影响,由此我们推断,组蛋白H3、H4乙酰化参与调节PRA的表达,并由此影响PRA/PRB,可能参与了调节"功能性孕激素撤退"机制。

组蛋白甲基化主要发生在组蛋白赖氨酸K和精氨酸R侧链的氮原子上,由不同的特异性组蛋白甲基转移酶催化形成,组蛋白甲基化可以促进和抑制甲基化位点的转录,而组蛋白赖氨酸甲基化是近几年的研究热点,有研究表明H3第4位赖氨酸的双甲基化和三甲基化与高乙酰化和基因激活相关[14]。H3K4三甲基化作为活化性组蛋白修饰可以被特定的蛋白质识别并招募下游的共调节分子,促进分子基因转录表达[15]。MTA作为特异性H3K4甲基化抑制剂主要是通过下调Set1的表达而抑制H3K4甲基化尤其是三甲基化程度的高低,从而降低基因的转录表达[16-17]。在此前提下,我们用MTA干预体外培养的妊娠子宫平滑肌细胞,来检测PR、PRA、PRB表达及PRA/PRB。除PRB无明显变化外,PR的表达随PRA表达的减少而减少,进而PRA/PRB亦减少,且随MTA浓度增高而降低。而ChIP检测发现PRA启动子区H3K4三甲基化水平降低,组蛋白H3K4三甲基化的基因激活效应下降,抑制了PRA基因的转录,对PRB的转录无明显影响,从而降低PRA/PRB,这种特异性影响PRA启动子区H3K4三甲基化,从而降低PRA/PRB的现象,可能参与了"功能性孕激素撤退"机制启动分娩的调节。

综上所述,组蛋白的乙酰化、H3K4甲基化均可以调控妊娠子宫平滑肌内PR亚型的表达,主要是通过调控PRA的表达使PRA/PRB发生了明显变化。这种特异性的增高PRA,改变PRA/PRB,从而改变妊娠子宫平滑肌对孕激素的敏感性,可能是参与分娩启动的主要分子机制。本研究仅就PR及其亚型的表达在足月未临产的妊娠子宫组织细胞中的改变进行了实验观察,但未与未孕子宫及非围产期子宫平滑肌细胞进行对照实验,故无法证明上述现象是妊娠子宫所特有的,还是在非孕、围产期及妊娠子宫普遍存在的,这是后续实验需进一步完善的地方。

参考文献:

[1] 崔亚杰, 屈新中. 功能性孕激素撤退与分娩发动[J]. 中国妇幼健康研究, 2007, 18(5): 384-386.

[2] Mesiano S, Welsh T N. Steroid hormone control of myometrial contractility and parturition[J]. Semin Cell Dev Biol, 2007, 18(3): 321-331.

[3] Mesiano S, Wang Y, Norwitz E R. Progesterone receptors in the human pregnancy uterus: do they hold the key to birth timing? [J]. Reprod Sci, 2011, 18(1): 6-19.

[4] Merlino A A, Welsh T N, Tan H, *et al*. Nuclear progesterone receptors in the human pregnancy myometrium: evidence that parturition involves functional progesterone withdrawal mediated by increased expression of progesterone receptor-A[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(5): 1927-1933.

[5] Miao F, Natarajan R. Mapping global histone methylation patterns in the coding regions of human genes[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(11): 4650-4661.

[6] Giangrande P H, McDonnell D P. The A and B isoforms of the human progesterone receptor: two functionally different transcription factors encoded by a single gene[J]. Recent Prog Horm Res, 1999, 54: 291-314.

[7] Mesiano S, Chan E C, Fitter J T, *et al*. Progesterone withdrawal and estrogen activation in human parturition are coordinated by progesterone receptor A expression in the myometrium[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87(6): 2924-2930.

[8] Sasaki M, Tanaka Y, Perinchery G, *et al*. Methylation and inactivation of estrogen, progesterone, and androgen receptors in prostate cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2002, 94(5): 384-390.

[9] Sasaki M, Dharia A, Oh B R, *et al*. Progesterone receptor B gene inactivation and CpG hypermethylation in human uterine endometrial cancer[J]. Cancer Res, 2001, 61(1): 97-102.

[10] Sasaki M, Kaneuchi M, Fujimoto S, *et al*. Hypermethylation can selectively silence multiple promoters of steroid receptors in cancers[J]. Mol Cell Endocrinol, 2003, 202(1/2): 201-207.

[11] 徐梦瑶, 王延州, 徐惠成. 大鼠骨髓间充质干细胞向膀胱平滑肌细胞分化的标志基因表达受组蛋白乙酰化调控[J]. 第三军医大学报, 2013, 35(21): 2295-2300.

[12] An W. Histone acetylation and methylation: combinatorial players for transcriptional regulation[J]. Subcell Biochem, 2007, 41: 351-369.

[13] Ai T, Cui H, Chen L. Multi-targeted histone deacetylase inhibitors in cancer therapy[J]. Curr Med Chem, 2012, 19(4): 475-487.

[14] Hung T, Binda O, Champagne K S, *et al*. ING4 mediates crosstalk between histone H3 K4 trimethylation and H3 acetylation to attenuate cellular transformation[J]. Mol Cell, 2009, 33(2): 248-256.

[15] Sims R J 3rd, Millhouse S, Chen C F, *et al*. Recognition of trimethylated histone H3 lysine 4 facilitates the recruitment of transcription postinitiation factors and pre-mRNA splicing[J]. Mol Cell, 2007, 28(4): 665-676.

[16] Huang J, Kent J R, Placek B, *et al*. Trimethylation of histone H3 lysine 4 by Set1 in the lytic infection of human herpes simplex virus 1[J]. J Virol, 2006, 80(12): 5740-5746.

[17] Tang Z, Chen W Y, Shimada M, *et al*. SET1 and p300 act synergistically, through coupled histone modifications, in transcriptional activation by p53[J]. Cell, 2013, 154(2): 297-310.

(**收稿**:2014-02-02;**修回**:2014-02-26)

(编辑 吴培红)