DOI:10.16016/j.1000-5404.202002114

TET1 基因对肺癌细胞迁移和侵袭能力的影响

李 艳[1,2*],陈洪强[1*],刘晋祎[1],曹 佳[1],刘文斌[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)军事预防医学系毒理学研究所[1];650224 昆明,云南省昆明云桥医院急诊医学科[2]

[**摘要**] **目的** 探讨 TET1 基因表达水平对肺癌细胞迁移和侵袭能力的影响及其作用机制。**方法** 采用 RT-qPCR 检测正常支气管上皮细胞及肺癌细胞株中 TET1 基因的表达水平;通过构建 TET1 基因过表达和敲低表达肺癌细胞模型,采用划痕愈合实验和 Transwell 实验分析 TET1 基因不同表达水平对肺癌细胞迁移及侵袭能力的影响;通过 RT-qPCR 和蛋白印迹法对 TET1 下游调控基因 β-catenin(CTNNB1)、MMP7 的 mRNA 及蛋白表达水平进行检测并确定其可能的信号通路。**结果** 多种肺癌细胞中 TET1 基因表达水平较之正常支气管上皮细胞(human bronchial epithelial,HBE)均呈现显著下降($P<0.01$)。过表达 TET1 基因可明显抑制肺癌细胞迁移和侵袭能力,而敲低 TET1 基因表达水平后肺癌细胞侵袭及迁移能力明显增强($P<0.01$);mRNA 及蛋白表达水平检测发现,过表达 TET1 基因后其下游基因 CTNNB1、MMP7 的表达水平明显下降($P<0.01$),而敲低 TET1 基因表达后其下游基因 CTNNB1、MMP7 的表达水平显著上升($P<0.01$)。β-catenin 信号通路抑制剂处理可显著降低 TET1 对肺癌细胞迁移和侵袭的作用。**结论** TET1 基因表达在多种肺癌细胞株中显著下降。TET1 基因可能通过 Wnt/β-catenin 信号通路及其关键基因 CTNNB1、MMP7 的表达水平抑制肺癌细胞的迁移及侵袭。

[**关键词**] TET1 基因;肺癌;迁移;侵袭;Wnt/β-catenin 信号通路

[**中图法分类号**] R394.3; R730.23; R734.2 [**文献标志码**] A

Effect of TET1 gene expression on migration and invasion in lung cancer cells

LI Yan[1,2], CHEN Hongqiang[1], LIU Jinyi[1], CAO Jia[1], LIU Wenbin[1] [1]Institute of Toxicology, Faculty of Preventive Military Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038; [2]Department of Emergency, Yunqiao Hospital, Kunming, Yunnan Province, 650224, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the effect of ten-eleven translocation family 1 (TET1) gene expression on the migration and invasion of lung cancer cells and investigate its underlying mechanism. **Methods** The expression level of TET1 gene in normal human bronchial epithelial (HBE) cells and lung cancer cell lines (H460, H358, 95D and LTEP-a-2) was detected by quantitative RT-PCR. The effects of different expression level (overexpression and knockdown) of TET1 gene on the migration and invasion ability in lung cancer cells was analyzed by wound healing experiment and Transwell assay. The mRNA and protein expression levels of downstream regulatory gene β-catenin (CTNNB1) and MMP7 were detected by quantitative RT-PCR and Western blotting to determine the possible signal pathway. **Results** The expression level of TET1 gene was decreased in lung cancer cells compared with normal HBE cells ($P<0.01$). Overexpression of TET1 gene significantly inhibited the migration and invasion of lung cancer cells, while its knockdown enhanced the invasion and migration abilities of lung cancer cells ($P<0.01$). The mRNA and protein expression levels of CTNNB1 and MMP7 were decreased after TET1 overexpression, while the mRNA and protein levels of the 2 molecules were increased after knockdown ($P<0.01$). Blockade of CTNNB1 by its

* 同等贡献者

[**基金项目**] 国家自然科学基金面上项目(81573114,81872659);重庆市自然科学基金面上项目(CSTC2018jcyjAX0233)

[**通信作者**] 刘文斌,E-mail:wenbinliutmmu@sina.com

inhibitor significantly diminished the effect of TET1 on the migration and invasion of lung cancer cell lines. **Conclusion** The expression level of TET1 is down-regulated in lung cancer cell lines. TET1 gene may inhibit the migration and invasion of lung cancer cells mainly through Wnt/β-catenin signaling pathway and its key downstream genes CTNNB1 and MMP7.

[**Key words**] TET1 gene; lung cancer; migration; invasion; Wnt/β-catenin signaling pathway

LI Yan and CHEN Hongqiang contributed equally to the article. Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81573114, 81872659) and the General Program of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2018jcyjAX0233). Corresponding author: LIU Wenbin, E-mail: wenbinliutmmu@sina.com

在全球范围内,肺癌因其高发病率和病死率成为威胁人类生命健康的恶性肿瘤之一。近年来,肺癌在临床防治和发病机理研究方面均取得了长足进展,但遗憾的是因肺癌早期转移造成肺癌患者预后不良的状况依然是肺癌防治中的难点之一[1],常造成临床治疗困难且社会经济负担严重。因此,深入研究和探索肺癌转移的分子机制,对肺癌治疗过程中新的治疗靶点的确定及有效诊治肺癌、改善肺癌患者临床预后具有重要意义。

作为甲基胞嘧啶双加氧酶家族(ten-eleven translocation family)重要的成员之一,TET1 能够产生催化氧化作用并具备改写表观基因组的功能,可通过催化 5-甲基胞嘧啶转化为 5-羟甲基胞嘧啶进而调控脱氧核糖核酸甲基化的平衡进程[2-3]。研究表明 TET1 基因还广泛参与了包括生长发育、干细胞功能等多种生物学进程[4-5]。近年研究发现包括肺癌在内的许多肿瘤的发生、发展过程与 TET1 表达水平变化关系密切[6-7],提示该基因可能在肺癌发生、发展过程中发挥重要作用。因此,本研究采用多种生物学技术和实验方法观测该基因在肺癌细胞中表达水平及对肺癌细胞迁移和侵袭能力的影响,并初步探讨其调控的主要信号通路,为深入研究 TET1 基因与肺癌发生、发展的关系提供实验室数据和资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 DMEM 及 RPMI 1640 完全培养基购自美国 HyClone 公司,胎牛血清购自美国 Gibco 公司,Opti-MEM 培养基购自美国 Gibco 公司。ViaFect™ Transfection Reagent、GoScript™逆转录试剂盒、2×GoTaq® qPCR GreenMaster Mix 购自美国 Promega 公司。BCA 蛋白浓度测定试剂盒、RIPA 蛋白裂解液、SDS-PAGE 配胶试剂盒购自中国上海碧云天公司。鼠来源 TET1 抗体、β-catenin 抗体、MMP7 抗体购自美国 Santa Cruz 公司,鼠来源 β-actin 抗体购自中国上海碧云天公司。

1.1.2 细胞株 人正常支气管上皮细胞株(human bronchial epithelial,HBE)及肺癌细胞株 H460、H358、95D、LTEP-a-2 均购自于中国科学院上海细胞库。使用 DMEM 培养基(含 10%胎牛血清)培养 HBE 细胞,使用 RPMI 1640 培养基(含 10%胎牛血清)培养肺癌细胞株细胞(培养条件:温度 37℃、湿度 70%~80%、95%空气、5%CO_2),细胞达 80%~90%时进行传代培养并冻存(每个冻存管细胞数目大于 1×10^6 个细胞)。

1.2 实验方法

1.2.1 总 RNA 提取 细胞生长达到提取要求(80%~90%),去培养基后磷酸盐缓冲液冲洗 1 次,加入总 RNA 提取试剂(TRIzol 1 mL)吹打细胞至细胞脱落,移液器将溶液转移至离心管,加入氯仿后静置离心,取上层水相置入离心管,加入等体积异丙醇混匀,静置再次离心后去上清加 75%乙醇清洗晾干,加入焦碳酸二乙酯水溶解沉淀 RNA,测定浓度后于低温(-80 ℃)保存。

1.2.2 反转录和实时荧光定量 PCR(quantitative real-time PCR,RT-qPCR) 使用 GoScript™ 逆转录试剂盒,按照试剂盒说明书上的方法步骤进行逆转录合成 cDNA;然后使用 2×GoTaq® qPCR GreenMaster Mix 进行 RT-qPCR 试验,引物序列见表 1。反应条件如下:①1 个循环,预变性:95 ℃,40 s;②共 45 个循环,变性:95 ℃,40 s;退火:60 ℃,40 s;延伸:72 ℃,50 s;③72 ℃,5 min。以 β-actin 为内参,采用相对定量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对数据进行分析。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

基因	引物序列(5′- 3′)	产物长度/bp
TET1	正向:CCTTTGGGAACCGACTCCTC 反向:CACAAGGTTTTGGTCGCTGG	230
CTNNB1	正向:GCGCCATTTTAAGCCTCTCG 反向:AAATACCCTCAGGGGAACAGG	183
MMP7	正向:CATGATTGGCTTTGCGCGAG 反向:AGACTGCTACCATCCGTCCA	150
β-actin	正向:CATGTACGTTGCTATCCAGGC 反向:CTCCTTAATGTCACGCACGAT	250

1.2.3 蛋白质印迹法(Western blot) 取适量细胞加入 RIPA 蛋白裂解液进行裂解,低温离心后提取细胞蛋白。按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书步骤测定蛋白浓度。配制 SDS-PAGE 凝胶后取样本(每个样本 80 μg)进行电泳,转移至 PVDF 膜封闭,分别加入鼠来源 TET1 抗体(1∶1 000)、鼠来源 β-catenin 抗体(1∶1 000)、鼠来源 MMP7 抗体(1∶1 000)、鼠来源 β-actin 抗体(1∶1 000)后 4 ℃低温孵育过夜,TBST 缓冲液冲洗 3 次后室温孵育二抗,最后曝光显影分析。

1.2.4 细胞转染 采用带有绿色荧光蛋白标记的重组质粒构建 TET1 过表达和 TET1 敲低表达载体。接种适量细胞,待细胞生长达到 70%~80%时,配制转染体系进行细胞转染:ViaFect™ Transfection Reagent、质粒和 Opti-MEM 按 3 μL∶1 μg∶100 μL 的比例混合,室温孵育 20 min 后加入培养皿中,充分混匀并将细胞放至 5%CO_2,37 ℃恒温培养箱中培养。转染后 48 h 采用抗性标记 G418 筛选 10~14 d,挑选阳性克隆扩大培养,采用荧光显微镜观察细胞内绿色荧光蛋白报告基因表达情况,提取细胞 RNA 和蛋白采取 RT-PCR 和 Western blot 检测 TET1 表达,证明基因在细胞中的稳定表达。TET1 敲低表达质粒的转染使用 TET1 过表达稳定转染细胞进行。

1.2.5 划痕愈合实验 使用 6 孔板接种适量细胞待细胞贴壁,使用 TET1 差异表达质粒进行细胞转染,24 h 后去掉培养基用牙签在孔内均匀的划痕,加入无血清培养基进行培养并于划痕后 0、24、48 h 时在同一位置观察拍照,分析细胞迁移距离。

1.2.6 Transwell 实验 TET1 差异表达质粒进行细胞转染 24 h 后,胰酶消化、离心并重悬细胞。基质胶和无血清培养基按 1∶8混匀,均匀加入 Transwell 细胞小室中,细胞小室于 37℃恒温培养箱中放置 1 h,使基质胶充分凝固。加基质胶 Transwell 小室接种细胞(3×10^4/孔)检测细胞的侵袭能力;无基质胶 Transwell 小室接种细胞用于检测细胞迁移能力;24 h 后取出细胞小室,多聚甲醛固定 1 h 后用结晶紫染色 20 min,随机选取 5 处视野用显微镜拍照、计数。

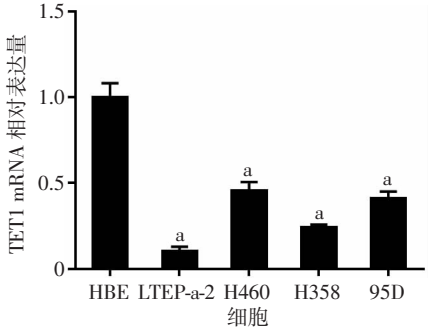
1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较应用 Student's t 检验(正态分布)或 Mann-Whitney U 检验(非正态分布)。检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 人肺癌细胞及正常支气管上皮细胞中 TET1 基因表达水平

通过 RT-qPCR 检测 HBE 细胞和 LTEP-a-2、H460、H358、95D 等 4 株肺癌细胞中 TET1 基因的 mRNA 表达水平。结果发现,与正常支气管上皮细胞 HBE 比较,各肺癌细胞中 TET1 基因的 mRNA 表达水平均表现出不同程度下降,其中 LTEP-a-2 细胞中 TET1 基因表达水平下降最明显($P<0.01$,图 1)。



a:$P<0.01$,与 HBE 细胞比较

图 1 TET1 基因在正常支气管上皮细胞株及肺癌细胞株中的表达水平

2.2 TET1 表达水平对肺癌细胞迁移和侵袭能力的影响

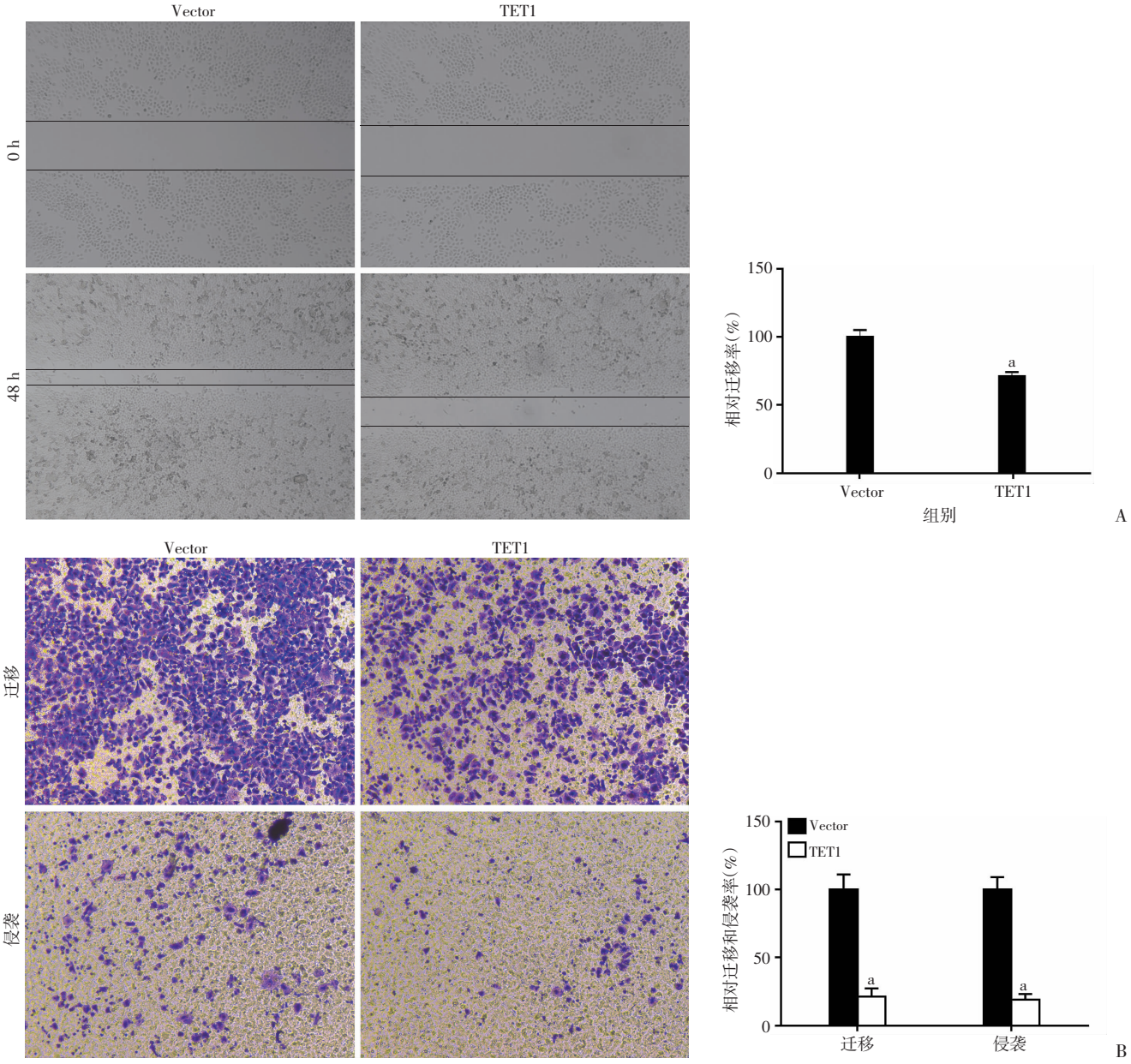
为探究 TET1 基因对肺癌细胞迁移和侵袭能力的影响,构建了 TET1 基因过表达载体,并选择 TET1 表达下降最明显的 LTEP-a-2 细胞进行功能检测。划痕愈合实验结果显示,过表达 TET1 的 LTEP-a-2 细胞迁移距离较对照组细胞明显降低($P<0.01$,图 2A)。Transwell 实验结果显示,在未加基质胶和加基质胶的小室中,过表达 TET1 后穿过细胞小室膜的 LTEP-a-2 细胞数量较对照组均明显减少($P<0.01$,图 2B)。提示 TET1 过表达能明显抑制肺癌细胞的迁移和侵袭。

选取 TET1 过表达稳转的 LTEP-a-2 细胞构建 TET1 敲低表达细胞模型,通过划痕愈合实验和 Transwell 实验验证 TET1 对肺癌细胞迁移和侵袭的影响。实验结果显示 LTEP-a-2 稳转细胞的迁移距离在敲低表达 TET1 后显著大于对照组细胞的迁移距离($P<0.01$,图 3A)。同时敲低表达 TET1 后,穿过细胞小室膜的 LTEP-a-2 稳转细胞的数量较对照组穿过小室膜的细胞数量均明显增多($P<0.01$,图 3B)。提示敲低 TET1 基因的表达可显著促进肺癌细胞的迁移和侵袭

能力。进一步证实 TET1 基因具有抑制肺癌细胞迁移和侵袭的功能。

2.3 TET1 基因下游分子 β-catenin(CTNNB1)和 MMP7 的表达

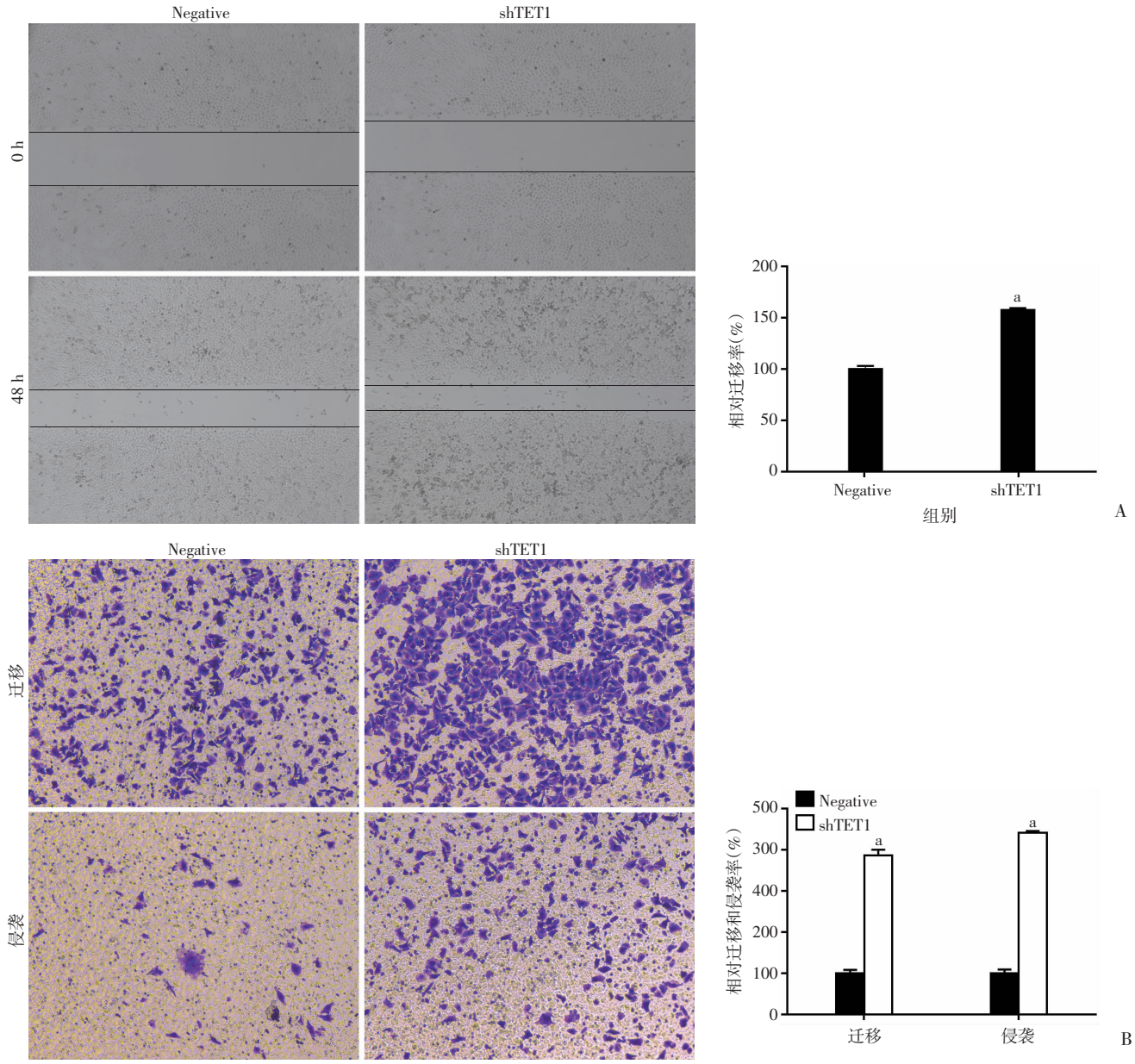
采用 RT-qPCR 和 Western blot 检测 TET1 下游分子 β-catenin(CTNNB1)和 MMP7 的表达。结果显示,过表达 TET1 后基因 CTNNB1 和 MMP7 的 mRNA 水平和蛋白水平均显著下调($P<0.01$,图 4A、C);敲低 TET1 表达后,基因 CTNNB1 和 MMP7 的 mRNA 水平和蛋白水平均显著上调($P<0.01$,图 4B、C)。提示 TET1 基因可能通过调控 Wnt/β-catenin 信号通路抑制肺癌细胞的迁移和侵袭。



a:$P<0.01$,与 Vector 对照组比较

A:划痕愈合实验(×100,左)及定量分析(右);B:Transwell 实验(结晶紫×200,左)及定量分析(右)

图 2 过表达 TET1 对肺癌细胞迁移及侵袭能力的影响



a: $P<0.01$,与 Negative 对照组比较

A:划痕愈合实验(×100,左)及定量分析(右);B:Transwell 实验(结晶紫×200,左)及定量分析(右)

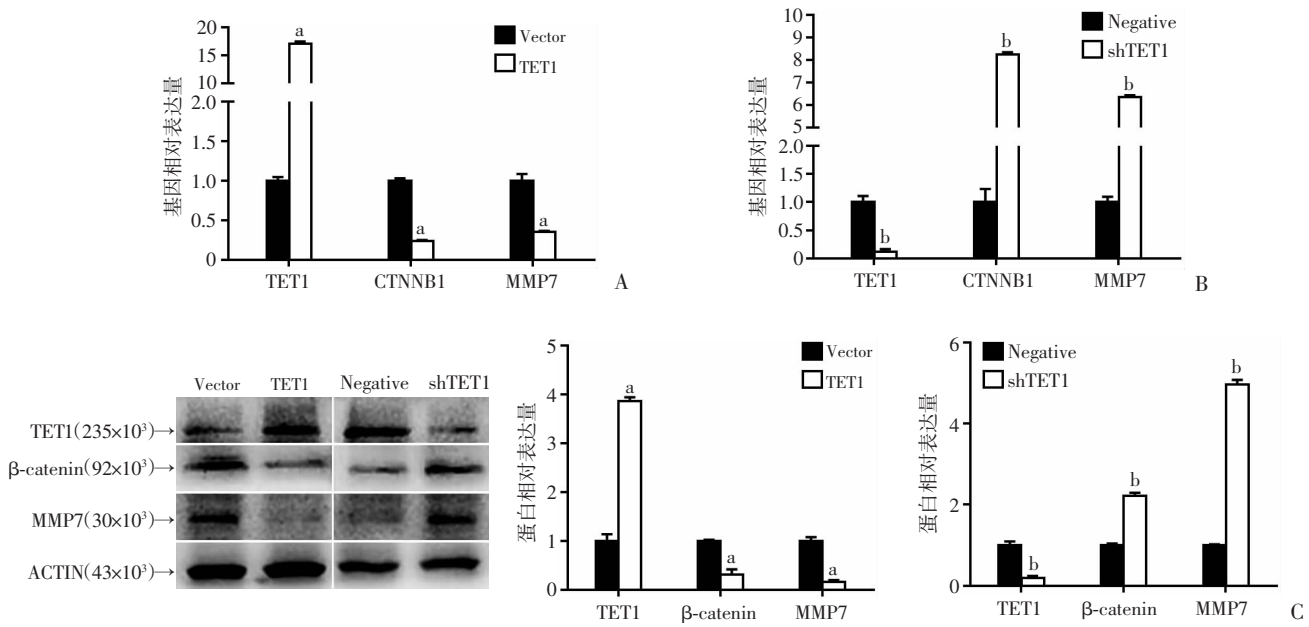
图 3 敲低 TET1 表达对肺癌细胞迁移及侵袭能力的影响

2.4 β-catenin 抑制剂对肺癌细胞迁移、侵袭能力的影响

在敲低 TET1 表达的同时加入 β-catenin 抑制剂 ICG-001(原理是拮抗 Wnt/β-catenin/TCF 介导的转录,并特异性结合到启动子结合蛋白)进行处理,采用 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭的能力。结果显示敲低表达 TET1 时,促进细胞迁移和侵袭($P<0.01$,图 5);同时加入 β-catenin 抑制剂处理后细胞迁移能力和侵袭能力明显的受到抑制($P<0.01$,图 5)。进一步证实 TET1 基因主要通过调控 Wnt/β-catenin 信号通路抑制肺癌细胞的迁移和侵袭。

3 讨论

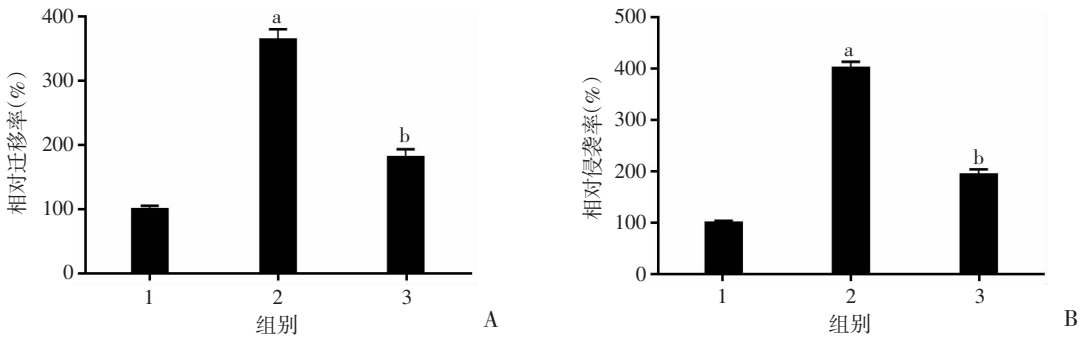
DNA 甲基化作为表观遗传调控的主要调控方式与肿瘤发生、发展过程密切相关。α-酮戊二酸依赖型 DNA 双加氧酶 TET1 基因可通过氧化 5-甲基胞嘧啶为 5-羟甲基胞嘧啶而参与 DNA 甲基化调节过程。随着对该基因研究的不断深入,研究发现该基因在肿瘤的发生、发展过程中发挥重要作用[7-8],TET1 基因过表达后可以明显抑制宫颈癌细胞增殖和迁移能力[8]。



a: $P<0.01$,与 Vector 对照组比较;b: $P<0.01$,与 Negative 对照组比较

A:RT-qPCR 检测过表达 TET1 对下游基因 CTNNB1 及 MMP7 mRNA 表达的影响;B:RT-qPCR 检测干扰 TET1 对下游基因 CTNNB1 及 MMP7 mRNA 表达的影响;C:Western blot 检测过表达及干扰 TET1 基因后下游基因 CTNNB1 及 MMP7 蛋白表达及半定量分析

图 4 TET1 下游基因 CTNNB1 及 MMP7 的表达水平



a: $P<0.01$,与 Negative 对照组比较;b: $P<0.01$,与 shTET1 组比较

1:Negative 对照组;2:shTET1 组;3:shTET1+β-catenin Inhibitor;A:各组肺癌细胞迁移能力;B:各组肺癌细胞侵袭能力

图 5 β-catenin 抑制剂处理对肺癌细胞迁移和侵袭能力的影响

我们前期研究表明 TET1 在肺癌细胞中出现了表达异常。因此,我们推测该基因与肺癌发生过程关系密切,有深入研究的必要。

本研究采用 RT-qPCR 检测不同肺癌细胞及正常支气管上皮细胞中该基因的表达水平,结果显示 TET1 基因在肺癌细胞中出现了不同程度的表达下降,表明该基因与肺癌的发生发展关系密切。为明确 TET1 基因表达水平对肺癌细胞的迁移和侵袭能力的影响,我们构建了 TET1 差异表达细胞模型,通过细胞迁移侵袭实验证实过表达 TET1 基因后可以明显抑制肺癌细胞迁移和侵袭能力,而干扰 TET1 基因则使肺癌细胞的迁移及侵袭能力增强。研究报道 TET1 在多种肿瘤中发挥作用都与 Wnt/β-catenin 等信号通路密切相关[6-8]。为探索 TET1 基因抑制肺癌迁移和侵袭能力的可能信号通路,本研究对该基因可能调控的下游基因的表达水平进行了检测,结果发现当过表达 TET1 基因后其下游基因 CTNNB1、MMP7 蛋白及 mRNA 表达水平下降,而干扰 TET1 基因后 CTNNB1、MMP7 蛋白及 mRNA 表达水平上升。证实 TET1 基因表达水平可以对其下游基因 CTNNB1、MMP7 的表达水平造成影响。由于 CTNNB1、MMP7 是 Wnt/β-catenin 信号通路的重要成员,而 Wnt/β-catenin 信号通路是恶性肿瘤转移过程中重要的信号通路之一[9-10],我们认为 TET1 对肺癌细胞迁移和侵袭能力的抑制作用可能主要是通

过抑制 Wnt/β-catenin 信号通路的结果,但相关作用机制仍需进一步研究证实。

K-ras 通过抑制 TET1 表达而促进 DNA 甲基化发生和细胞恶性转化。进一步机制研究发现,TET1 下调后可导致聚集在抑癌基因启动子区的 TET1 减少,羟甲基化水平降低,甲基化水平升高从而导致基因转录沉默。TET1 表达恢复后可以诱导抑癌基因重新表达并抑制细胞恶性转化。提示 TET1 介导的 DNA 去甲基化是 K-ras 介导的细胞恶性转化中至关重要的环节[11]。最新研究表明,TET1 还可通过结合 p53、NF-κB 等信号通路中关键基因的启动子区导致其羟甲基化水平升高和甲基化水平降低,促使基因表达水平升高,从而参与调控肿瘤细胞的生长和转移[12-14]。芯片聚类分析发现,TET1 介导羟甲基化水平修饰主要富集在参与细胞增殖、运动和血管生成、DNA 损伤修复等基因的启动子区[15]。TET1 可通过调控 β-catenin 通路抑制结肠癌的生长[16]及胰腺癌的 EMT 过程[7]。结合本研究发现和最新研究进展,我们推测:TET1 可能通过降低 β-catenin 通路基因的羟甲基化水平,从而导致其甲基化水平上升抑制基因表达水平,参与肺癌发生发展过程。后续我们将进一步围绕 TET1 如何调控该通路介导肺癌发生发展的分子机制进行深入探讨与研究。

综上所述,本研究结果显示 TET1 基因在肺癌细胞中表达下降。TET1 基因在肺癌中具有显著的抑癌基因的特征,明显抑制肺癌细胞迁移和侵袭且与 Wnt/β-catenin 信号通路密切相关。深入开展该基因的生物学功能及机制研究不仅对阐明肺癌发生发展机制、减少肺癌患者早期转移和改善肺癌患者预后意义重大,也为寻找肺癌诊疗及预后的早期生物标志物、研究靶点及相关策略提供了新思路。

参考文献:

[1] BIRKBAK N J, MCGRANAHAN N. Cancer genome evolutionary trajectories in metastasis[J]. Cancer Cell, 2020, 37(1): 8-19. DOI:10.1016/j.ccell.2019.12.004.

[2] SUN Z X, XU X G, HE J L, *et al*. EGR1 recruits TET1 to shape the brain methylome during development and upon neuronal activity[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 3892. DOI: 10.1038/s41467-019-11905-3.

[3] YANG X W, WONG M P M, NG R K. Aberrant DNA methylation in acute myeloid leukemia and its clinical implications [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(18): E4576. DOI:10.3390/ijms20184576.

[4] ALOIA L, MCKIE M A, VERNAZ G, *et al*. Epigenetic remodelling licences adult cholangiocytes for organoid formation and liver regeneration[J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(11): 1321-1333. DOI:10.1038/s41556-019-0402-6.

[5] ZHANG Y P, ZHANG Y D, CHEN D M, *et al*. Genome-wide alteration of 5-hydroxymethylcytosine in hypoxic-ischemic neonatal rat model of cerebral palsy[J]. Front Mol Neurosci, 2019, 12: 214. DOI:10.3389/fnmol.2019.00214.

[6] WU H X, CHEN Y X, WANG Z X, *et al*. Alteration in TET1 as potential biomarker for immune checkpoint blockade in multiple cancers[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 264. DOI:10.1186/s40425-019-0737-3.

[7] WU J, LI H Z, SHI M M, *et al*. TET1-mediated DNA hydroxymethylation activates inhibitors of the Wnt/β-catenin signaling pathway to suppress EMT in pancreatic tumor cells [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 348. DOI:10.1186/s13046-019-1334-5.

[8] SU P H, HSU Y W, HUANG R L, *et al*. TET1 promotes 5hmC-dependent stemness, and inhibits a 5hmC-independent epithelial-mesenchymal transition, in cervical precancerous lesions[J]. Cancer Lett, 2019, 450: 53-62. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.01.033

[9] KAHN M. Can we safely target the WNT pathway? [J]. Nat Rev Drug Discov, 2014, 13(7): 513-532. DOI:10.1038/nrd4233.

[10] PATEL S, ALAM A, PANT R, *et al*. Wnt signaling and its significance within the tumor microenvironment: novel therapeutic insights[J]. Front Immunol, 2019, 10: 2872. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02872.

[11] WU B K, BRENNER C. Suppression of TET1-dependent DNA demethylation is essential for KRAS-mediated transformation[J]. Cell Rep, 2014, 9(5): 1827-1840. DOI:10.1016/j.celrep.2014.10.063.

[12] FILIPCZAK P T, LENG S G, TELLEZ C S, *et al*. P53-suppressed oncogene TET1 prevents cellular aging in lung cancer[J]. Cancer Res, 2019, 79(8): 1758-1768. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1234.

[13] YOKOYAMA S, HIGASHI M, TSUTSUMIDA H, *et al*. TET1-mediated DNA hypomethylation regulates the expression of MUC4 in lung cancer[J]. Genes Cancer, 2017, 8(3/4): 517-527. DOI:10.18632/genesandcancer.139.

[14] COLLIGNON E, CANALE A, AL WARDI C, *et al*. Immunity drives TET1 regulation in cancer through NF-κB[J]. Sci Adv, 2018, 4(6): eaap7309. DOI:10.1126/sciadv.aap7309.

[15] PUTIRI E L, TIEDEMANN R L, THOMPSON J J, *et al*. Distinct and overlapping control of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine by the TET proteins in human cancer cells[J]. Genome Biol, 2014, 15(6): R81. DOI:10.1186/gb-2014-15-6-r81

[16] GUO H L, ZHU H Y, ZHANG J, *et al*. TET1 suppresses colon cancer proliferation by impairing β-catenin signal pathway[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(8): 12559-12565. DOI:10.1002/jcb.28522.

(**收稿**:2020-02-17;**修回**:2020-03-06)

(编辑 汪勤俭)